

氏名	西沢 徹
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第714号
学位授与の日付	平成17年3月22日
学位授与の要件	課程博士(学位規則第4条第1項)
学位授与の題目	マムシグサ(サトイモ科)における雌雄性のサイズ依存性と花粉流動に関する研究
論文審査委員(主査)	植田 邦彦(自然科学研究科・教授)
論文審査委員(副査)	櫻井 勝(自然科学研究科・教授), 笹山 雄一(自然計測応用研究センター・教授), 木下 栄一郎(自然計測応用研究センター・助教授), 綿野 泰行(千葉大学・教授)

## 学位論文要旨

### Abstract

*Arisaema serratum* possesses a pitfall-trap flower pollination system. However, little is known about the efficiency and pattern of pollen movement in this species. Thus, the aims of this study are: (1) to develop microsatellite markers, which enable to perform paternity analysis; (2) to determine the paternal parents of the seeds; and (3) to elucidate pollen movement in a natural population.

Seeds were collected from the natural population of *A. serratum* in 2001 at Horigane, Japan. Small midges were trapped in female spathe tubes during the flowering period. Highly polymorphic six microsatellite markers were developed, and paternity analysis using these markers was performed. We found that: (1) seeds in a fruit were fertilized by multiple sires; (2) seeds sired by a paternal parent showed either a clumped, exclusive, or random distribution on the spadix, depending on the parent; (3) a few males contributed to a great extent as sires; (4) distance from a female was not a factor in the inequality of reproductive success among males; (5) male reproductive success was not correlated with its size.

We conclude that pollen carryover and the trap-flower pollination system are most likely to result in multiple paternity and inequality in male success. This study sheds light on the pollination syndrome in trap-flower pollination, or provides a basis on which to test the size-advantage hypothesis in *A. serratum*.

マムシグサ *Arisaema serratum* (Thunb.) Schott は、サトイモ科テンナンショウ属の多年生草本で、日本には北海道から沖縄にかけて約 30 種が分布する。この属の大部分の種では、花は花被が退化して雌しべだけになった雌花と、雄しべだけになった雄花をつける。多数のそれらが花軸にらせん状に配列して肉穂花序をつくる。基本的に一つの肉穂花序には雌花あるいは雄花のどちらかの花がつく：雌花のみをつける個体を雌、雄花のみをつける個体を雄とよぶ。この肉穂花序のまわりを仏炎苞がとりかこんでいる。

テンナンショウ属植物では、個体の性表現が年によって変化する性転換の現象が知られ

ている。個体の性表現が生活史の過程で変化する性転換の現象は、多くの系統群で知られており、その進化的安定性については、理論的な側面から多くの議論がされている。性転換の進化的安定性を予測した理論モデルでは、個体のサイズにともなう雌雄の繁殖成功率の変化が重要な要素の一つになっている。この視点から性転換の進化条件を予想した考え方の一つにサイズ有利性仮説 (Size-advantage hypothesis) があり、テンナンショウ属における性転換の現象は、このサイズ有利性仮説で説明できると考えられている。

性転換の進化的安定性に関する理論的な研究が進められる一方で、繁殖成功率の実測、とりわけ植物集団では花粉親としての繁殖成功率を実測することの困難さから、検証的な研究はまだ十分には行われていない。サイズ有利性仮説をテンナンショウ属に適用することに関しても、実測された繁殖成功率に基づいた仮説の検証が課題として残されている。

性表現が年とともに変化する現象以外に、テンナンショウ属植物の種では、花序が訪花昆虫に対してトラップになるという特異な送粉機構を持つことでも知られる。テンナンショウ属は虫媒であり、開花期の終わり頃になると、雌花序の仏炎苞の中に昆虫がトラップされているのが観察できる。一般的に、テンナンショウ属の花序内で観察される昆虫としては、双翅目の昆虫が知られている。しかし、トラップされていた訪花昆虫が、実際のどの程度送粉効率に寄与しているのかは、判っていない。テンナンショウ属植物では、トラップ式という特殊な送粉機構をもつことによって、繁殖能力とサイズとの関係に雌雄間で差が生じ、性転換を引き起こす一つの要因となったと推定されている。しかしながら、野生集団におけるマムシグサの花粉の流動様式に関してはほとんど解明されていない。自然集団における雄の繁殖成功率は、花粉媒介者の行動を含めた花粉流動の様式によって大きく左右される。したがって、自然集団における花粉流動を明らかにすることは、雄の繁殖成功を測る上で重要な示唆を与えるものと考えられる。

本論文では、テンナンショウ属植物における性転換の進化機構を明らかにする目的の一環として、マムシグサ *A. serratum* の野生集団における花粉流動の解明と性転換サイズの比較に焦点をあて、(1) 種子の花粉親を推定するためのマイクロサテライトマーカーの開発、(2) トラップ式花序における花粉流動のパターンの解析、(3) 2 集団における性転換サイズの集団間比較、を検討した一連の研究をまとめたものである。

序章では、マムシグサの基本的な体制に関して述べた上で、テンナンショウ属を対象とした性型システムや生活史に関する研究、性転換の理論的研究についての歴史的背景を中心に記述し、本研究の目的を明らかにした。

第1章では、種子の花粉親を推定するための分子マーカーを開発することを目的に、マムシグサにおいてマイクロサテライトマーカーを開発した詳細について述べた。その結果、5 遺伝子座においてマーカー化に成功した。個体識別を目的としたマーカーの解像度を検討するために、二つの集団から複数の個体を抽出し、遺伝子型の決定を行った。その結果、観察された対立遺伝子数はそれぞれの集団で、平均 21.4, 22.0 となった。また、ヘテロ接合体頻度の期待値は、それぞれ平均 0.75, 0.74 となり、開発したマーカーには高い多型性が認められ、種子の花粉親推定に有効であることが示された。

第2章では、開発したマイクロサテライトマーカーを用いて、種子の親子鑑定を行い、マムシグサの野生集団における花粉流動パターンについて解析を行った。

マムシグサはサイズに依存して雄花序あるいは雌花序を形成する。マムシグサの花序は、

円筒形の仏炎苞に囲まれた肉穂花序の下部に花被のない多数の花がついて雌花群あるいは雄花群を形成し、上部は花がつかない付属体となっている。花序の基本的な構造においては雌雄で違いはないが、仏炎苞の基部の形態には雌雄で明白な違いがあり、雄花序では仏炎苞の基部に小さな隙間があるのに対して、雌花序ではこの隙間がほとんどなく、この隙間の有無は訪花昆虫の運命を大きく左右する。訪花昆虫は、仏炎苞の開口部の縁や付属体にとまり、やがて仏炎苞内部へと落ち込んでいくが、一度仏炎苞内部に入り込んだ昆虫は、仏炎苞の口からは外にでることができない。しかし雄花序では、昆虫は基部にある小さな隙間から脱出が可能である。このとき、訪花昆虫の体には花粉が付着している。これに対して雌花序では、仏炎苞基部の隙間がほとんどないために、訪花昆虫は脱出することができず、訪花昆虫に対してトラップ構造になっている。雄花序から脱出してきた訪花昆虫が雌花序に入ると、出口を求めて雌の仏炎苞内を移動する間に柱頭に花粉が付着し、受粉が行われる。花粉媒介を昆虫に依存している植物では、花粉媒介の効率、分散距離、結実率などが、訪花昆虫の行動によって影響をうけることが知られている。トラップ式の花や花序は花粉媒介者との間で、送粉の効率を高めるために特殊化した関係と考えられているが、トラップ式の送粉機構をもった植物の花粉流動のパターンや花粉媒介の効率に関してはまだ不明な点が多い。第2章では、マムシグサの野生集団を対象とし、(1) 一つの肉穂花序内に結実した種子の花粉親を推定する、(2) 野生集団における花粉流動パターンを明らかにすることを目的とした。

長野県南安曇郡堀金村の自然集団に永久方形区を設置し、2001年にこの集団で生産された種子をすべて採集し、新たに開発した分を含めた6遺伝子座のマイクロサテライトマーカーで、種子の花粉親を推定した。さらに、花粉親が判明した種子については、それぞれの花粉親の肉穂花序上における空間的位置関係を解析した。

その結果、(1) 一つの雌花序は複数の雄の花粉によって受精されており、さらに一つの果実に複数の種子が結実した場合、それぞれが異なる花粉親によって受精されている場合がある (multiple paternity); (2) それぞれの花粉親によって受精された種子は、肉穂花序上において、集中的、排他的あるいはランダムな分布パターンを示す; (3) 花粉親としての繁殖成功は分散が大きく、少数の雄が大きく受精に貢献している; (4) 雄の繁殖成功の分散は、交配個体間距離とは無関係である; (5) 雄の繁殖成功とサイズには相関が認められない、ことを明らかにした。

マムシグサにおいてこのような送粉パターンが認められた要因について、訪花昆虫が雌花序でトラップされるまでに複数の雄花序を通過することによって起こる花粉の持ち越し (pollen carryover) と、トラップ式の送粉機構の存在が深く関係している点から考察をおこなった。一つの雌花序には複数の種類の昆虫がトラップされていたが、なかでもキノコバエ科とクロバネキノコバエ科の昆虫が効果的な送粉に関与している可能性が大きかった。また、少数の雄が大きく受精に寄与していたが、これらの花粉粒は同一個体の昆虫によって雌花序に持ち込まれたものと考えられた。雄の繁殖成功の分散が大きい傾向は、他の植物でも報告があるが、それらの大部分では交配個体間距離が大きく寄与していることが知られている。しかし、マムシグサにおける雄の繁殖成功の分散は、雌のまわりに存在している雄の密度に依存しており、交配個体間距離によっては規定されていないことが明らかとなった。これは今回の研究から得られた新たな知見である。この距離に非依存的な雄の

繁殖成功のパターンは、昆虫のランダムな訪花パターンの元で、トラップ式の送粉機構によって引き起こされたものと考察した。

第3章では、マムシグサの性転換の現象において、サイズ有利性仮説を適用することの有効性について検討した。長野県安曇郡堀金村の集団と石川県金沢市の野生集団に永久方形区を設置し、2000年から2003年まで個体追跡を行い、サイズと性表現の関係を調査した。その結果、金沢市の集団の方が長野県堀金村の集団よりも性転換サイズが大きいことが明らかになった。サイズ有利性仮説では、繁殖成功度とサイズとの関係をプロットした繁殖成功度曲線 (fitness gain curve) の形が雌雄間で異なる場合、その交点のサイズで性転換すると予想されている。何らかの要因によって、繁殖成功度曲線がシフトした場合には、性転換サイズが異なると考えられている。金沢集団と堀金集団において性転換サイズに集団間変異が認められた事実から、繁殖成功度曲線がそれぞれの集団で異なる、すなわち雌雄の繁殖成功度の関係がこれらの集団間で異なっていると解釈できる。金沢集団では、非常に多数の訪花昆虫がトラップされているのに対し、堀金集団では金沢集団よりも有意に少なかった。このことから、堀金集団では花粉媒介者制約 (pollinator limitation) が強くはたらいており、雄の繁殖成功が金沢集団よりも低くなっており、性転換サイズが小さくなっていると考察した。

第4章では、各章で得られた結果から、マムシグサの野生集団における花粉流動のパターンに関して総括した。また、トラップ式の送粉機構とサトイモ科の雌雄性の進化傾向について考察を行うとともに、今後の課題と展望について述べた。

## 学位論文審査結果の要旨

本論文は、テンナンショウ属植物における性転換の進化機構を明らかにする目的の一環として、マムシグサの自然集団における花粉流動の解明と性転換サイズの比較に焦点をあて、(1) マイクロサテライトマーカーの開発、(2) 自然集団における花粉流動のパターンの解析、(3) 性転換サイズにおける集団間変異の解析、を行った一連の研究を纏めたものである。6 遺伝子座においてマイクロサテライトマーカーを開発し、それらを用いた父性解析のデータから、マムシグサの自然集団における花粉流動の様式を推定した。その結果、(1) 一つの果実内の種子が別々な雄によって受精されている場合がある (Multiple paternity); (2) 花粉親としての繁殖成功の分散は、交配個体間距離には依存していない; (3) サイズ非依存的な雄の繁殖成功、について明らかにした。このような花粉流動のパターンは、訪花昆虫による花粉の持ち越し (pollen carryover) と、トラップ式の花序を持つことによって引き起こされた現象であると考えた。さらに、雄の繁殖成功がサイズ非依存的であるという結果をもとに、性転換の進化的安住性を説明する理論モデルの一つであるサイズ有利性仮説を、マムシグサにおいて適用することの有効性について検討を行った。

以上の結果は従来ほとんど実証的データに基づいた議論がなされていなかった送粉機構について価値ある実証的研究となっており、学位論文として高く評価出来る。