

平成31年度白滝ジオパーク研究助成報告書

北海道大学大学院環境科学院 塩谷 悠希

研究課題名:「繁殖干渉が高山植物の分布・形質の変化に及ぼす影響」

1. 研究の背景

生物の分布や種分化のパターンは、種間相互作用に強く影響される。例えば近縁な生物種同士が接触するとき、相互に排除し合う分布パターンが生じやすいことが知られている¹。このような排他的分布パターンは、近縁種が生態的に類似した特性をもつことにより、利用資源をめぐる競争が激化することが原因で生じると考えられてきた^{2,3}。近年、資源をめぐる競争だけでは野外生物の分布パターンを十分に説明できない可能性が指摘され始めている⁴。生物の分布パターンを決定する要因として、「繁殖干渉(Reproductive interference)」の重要性が注目されている。繁殖干渉とは、「繁殖の過程で生じ、適応度を低下させるようなあらゆる種類の種間相互作用」を指す用語である⁵。例えば、被子植物の近縁種間で、異種花粉が柱頭を覆ってしまうことで同種の受粉が妨害されることや、異種花粉との受精により生育不良の雑種が形成されることなどは、繁殖干渉の一例である。繁殖干渉は、資源をめぐる競争よりもより急速に分布や形態の変化を引き起こすことが理論的に予測されている⁶。しかし、繁殖干渉の実証研究は、一部の分類群や(一年生の草本植物や昆虫など)、在来種と外来種の関係などに限定されているのが現状である。木本植物や人為的攪乱の少ない場所での在来種間における繁殖干渉の実証研究は、これまでほとんど行われていない。本研究は、野外で繁殖干渉を検証するために、高山生態系に注目した。その理由は、高山生態系はわずか



な環境の違いで植生がモザイク状に配列されるため⁷、近縁種が隣接して生育しやすく、分布パターンや繁殖干渉の研究に適していると考えられるからである。本研究の対象種には、ツツジ科の低木であるエゾイソツツジ

(*Rhododendron diversipilosum*)とヒメイソツツジ(*R. subarcticum*)を選んだ(図 1)。両種の分布が重なる場所は、北海道の遠軽町、美瑛町、新得町などに限定される。これら地域の高山帯の風衝地(尾根筋の吹きさらしの環境)では、両種がしばしば同所的に生育している様子が観察される。本研究は、高山帯で同所的に現れる上記のツツジ科近縁 2 種について、形態形質、微小スケールでの分布特性、開花時期の調査によって両種の生態特性を比較し、その相互排他的なパターンを検証するとともに、受粉実験や発芽実験を通して、周囲の異種個体が引き起こす繁殖干渉について検証することを目的とした。

2. 材料と方法

2.1 対象種と調査地

エゾイソツツジは北東アジアに分布し、日本では東北地方から北海道の低標高～亜高山帯・高山帯まで幅広い標高に生育する種である⁸。体高は 30-70 cm ほどで、わずかに自家和合性を持っており⁹、倍数性は 4 倍体である(未発表データ)。一方ヒメイソツツジは、北東アジアから北アメリカまで広く分布するが、日本では北海道の高山帯の風衝地環境にのみ生育している⁸。体高は 20 cm ほどであり、自家和合性をもつかは不明だが、倍数性は 2 倍体とされる¹⁰。両種は北海道の遠軽町や美瑛町などの高山帯に同所的に生育している。

調査は北大雪山系の 4 つの山城で行った(遠軽町の平山と天狗岳、上川町の武華山、新得町のヒサゴ山、図 2)。以下に示す各調査は、2018-2019 年に、各山城の高山帯(>1400 m)でエゾイソツツジ、ヒメイソツツジの両種が同所的に生育している場所で行った。

2.2 相互排他的なパターンの検証

エゾイソツツジ・ヒメイソツツジ間に相互排他的なパターンが存在するかを検証するため、以下のように 3 つの側面から生態特性についての種間比較を行った。最初に、2 種の形態形質を比較した。各調査地で各種 20 個体をランダムに選択し、単位面積当たりの葉重量(LMA)、葉の推定寿命(葉の生命表を作成することで計算¹¹)、一年当たりの葉の総生産量、そして体高を計測した。得られたデータを一般化線形モデル(GLM)を用いて解析した。

次に、種間の微小スケールでの分布が相互排他的かを検証するため、生育地利用調査を行った。この調査にあたって、風衝地に生育しているハイマツ(*Pinus pumila*)の被度に注目した。ハイマツは高山帯で周囲の植生よりも植物



図 3 : ベルトトランセクト法の図示

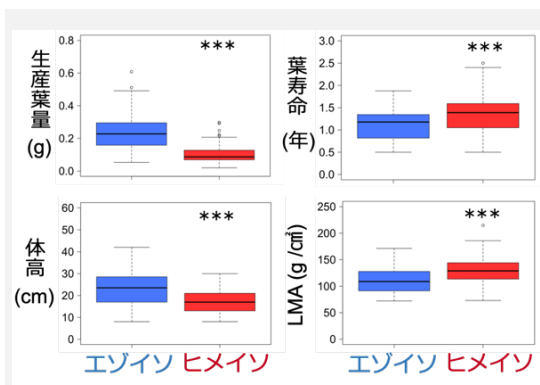


図 4 : GLM による形態観察の比較結果

左上 : 一年当たりの葉の総生産量
 右上 : 葉の推定寿命, 左下 : 体高
 右下 : 単位面積当たりの葉重量(LMA)
 (確率分布 : ガンマ分布

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$)

高が大きいため、周囲の植物を被陰し、風衝地の強光や紫外線、強風を緩和させる効果を持つ。そのため、ハイマツの被度の違いは、周囲の環境を変化させ、植物の分布パターンにも影響を及ぼすと考えられる。本研究は、以下で示すようなベルトトランセクト法を用いて生育地利用調査を行った。各調査地で、ハイマツの優占している場所を起点として、ハイマツの被度が少なくなる方向へ5つの1 × 1 m²コドラートを設置した(図3)。そして各コドラート内のエゾイソツツジ、ヒメイソツツジ、ハイマツの被度を測定した。各調査地で8-10個の反復が行われ、得られたデータを一般化線形混合モデル(GLMM)を用いて解析した。

最後に、種間の開花特性の違いを検証するため、開花時期調査を行った。この調査は各調査地で3回にわたって行った(6月下旬、7月上旬、7月中旬)。各時期で、6つの1 × 1 m²コドラートをランダムに設置し、コドラート内に開花しているエゾイソツツジとヒメイソツツジ

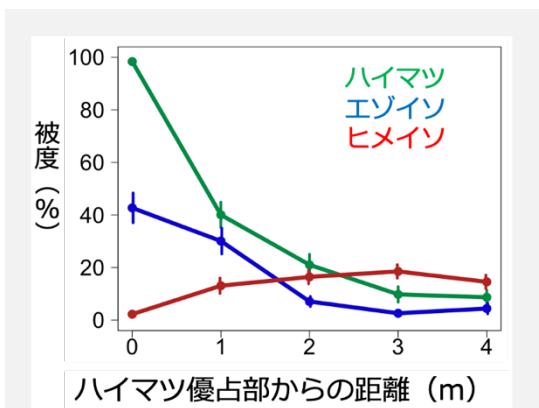


図5：GLMMによる生育地利用調査の比較結果

(確率分布：ガンマ分布, 応答変数：各種の被度, 説明変数：ハイマツの被度
ランダム効果：プロット, エラーバーは標準誤差)

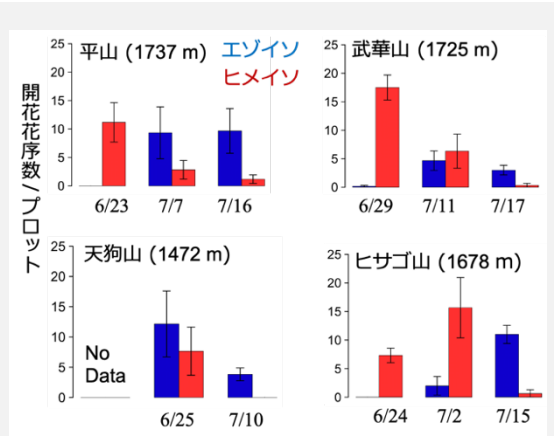


図6：開花期調査の比較結果

左上：平山, 右上：武華山
左下：天狗岳, 右下：ヒサゴ山
エラーバーは標準誤差

の開花花序数を記録した。

2.3 繁殖干渉の検証

エゾイソツツジとヒメイソツツジの間で繁殖干渉が生じているかを検証するために、以下に示すような調査を行った。最初に、ヒサゴ山で受粉実験を行った。各種について、無処理、自家受粉処理(同一個体の花序内の花粉を受粉させ、自家和合性があるかを検証)、袋がけ処理(昆虫による花粉運搬なしで受粉するかを検証)、他家受粉処理(同種他個体の花粉を受粉させ、潜在的な結実能力を検証)、そして異種間受粉処理(異種の花粉のみを受粉させ、種間で交雑した時に結実するかを検証)の5つの処理を6-20個体ずつ行った。その後花序を回収し、正常な成熟種子数と未熟な胚珠数を記録し、その割合から結実率を求めた。また、他家受粉で得られた種子と異種間受粉で得られた種子について、25°C・12時間明期条件で発芽実験を行った。発芽実験は、1シャーレごとに30種子を用い、各種4反復を用意した。得られたデータをGLMMを用いて解析した。

次に、自然状態における繁殖干渉の調査を行った。繁殖干渉は、周囲の異種個体が増えるほど強く働くと予想される。そこで、エゾイソツツジに対してはヒメイソツツジの頻度が、ヒメイソツツジに対してはエゾイソツツジの頻度が周囲で増加するのに伴い、適応度が低下するかを検証した。各調査地で各種 20 花序をランダムに選択し、ナンバーテープでタグ付けた。次にその個体周囲の半径 2 m 以内に存在しているエゾイソツツジとヒメイソツツジの開花花序数を記録した。その後選択した個体の結実率を求め、発芽実験を行った。発芽実験は、十分な種子を得られたヒサゴ山、武華山、天狗岳

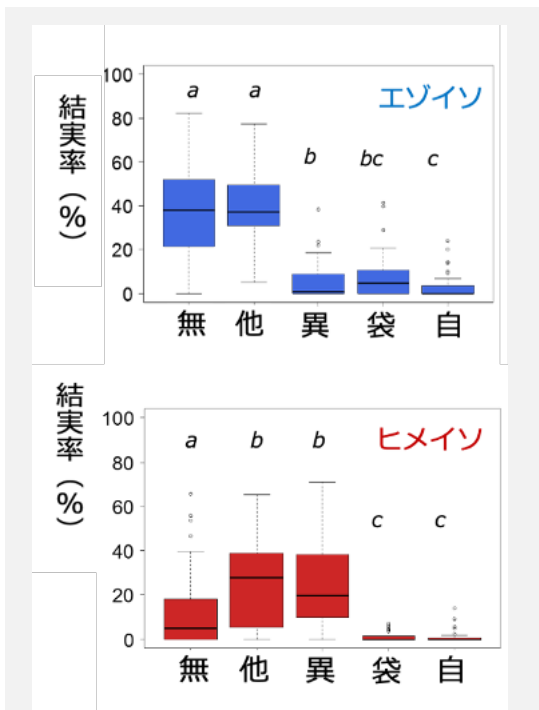


図 7：Tukey's test による受粉実験の比較結果

無：無処理，他：他家受粉処理

異：異種間受粉処理，袋：袋がけ

自：自家受粉処理

(異なる文字は $P < 0.05$ の水準で有意であることを示す)

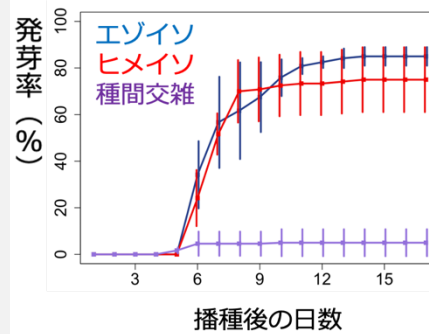


図 8：GLMM による発芽実験の比較結果

(確率分布：二項分布)

応答変数：成熟種子/未熟胚珠

説明変数：種，ランダム効果：シャーレ
エラーバーは標準誤差)

のサンプルを用いて行った。得られたデータを GLM(結実率)、または GLMM(発芽率)を用いて解析した。

最後に、自然条件における種間交雑の有無を検証するために、フローサイトメトリーによる倍数性の推定を行った。もしエゾイソツツジ(4 倍体)とヒメイソツツジ(2 倍体)の間で種間交雑が生じているならば、3 倍体個体が生じていると考えられる。天狗岳から 2 個体、ヒサゴ山から 2 個体、自然条件で得られた種子を発芽させて実生を得た後、フローサイトメトリーによる DNA 量の計測、倍数性の推定を行った。

3. 結果と考察

3.1 相互排他的なパターンの検証

形態測定の結果、同所的に生育する高山帯では、ヒメイソツツジはエゾイソツツジよりも体高と生産葉量が有意に低く、LMA と葉の推定寿命が有意に高い値を示した(図 4)。高い LMA と長い葉の寿命は、厳しい環境下における適応的な形態であるため¹²、ヒメイソツツジの方がより高山帯の風衝地へ特化した形態を持って

いると考えられる。

また、ベルトランセクト法による生育地利用調査の結果、エゾイソツツジの被度はハイマツの被度が減少するのに伴って減少する傾向が見られたのに対し($P < 0.001$)、ヒメイソツツジの被度は増加する傾向が見られた($P < 0.001$, 図 5)。この結果は、種間でハイマツの被度に依存した微小スケールの空間的分離が存在していることを示唆している。高山帯へ特化したヒメイソツツジは、より環境ストレスの大きいハイマツ被度の小さい場所を利用する傾向があるのに対して、広標高域に分布するエゾイソツツジは、被陰の大きいハイマツの優占部を利用する傾向があると考えられた。

また、開花期調査の結果、天狗岳以外の山域では、ヒメイソツツジがエゾイソツツジよりも1週間ほど開花が早い傾向が見られた(図 6)。天狗岳においては6月の調査の時点で両種はすでに開花していた。高山植物の開花は、一般的に有効積算温度によって決定されることが知られている¹³。天狗岳では低い標高のため積算温度の蓄積が早く、開花フェノロジーが早まった結果、種間の開花時期の違いが小さくなったと考えられる。しかし、どの山域でもあ

る程度両種の開花時期は重複していた(図 6)。

3.2 繁殖干渉の検証

受粉実験の結果、両種ともに自家受粉処理と袋がけ処理で結実率が有意に低下した(図 7)。ヒメイソツツジでは、他家受粉処理で結実率が上昇した(図 7)。種間交雑の結果は非対称的であり、エゾイソツツジにヒメイソツツジの花粉を受粉させた時はほとんど結実しないが、ヒメイソツツジにエゾイソツツジの花粉を受粉したときは高い結実率を示すことが判明した(図 7)。両種は受粉のためにポリネーターを必要としている。ヒメイソツツジでは他家受粉処理で結実率が上昇したことから、自然状態でポリネーターの不足、つまり花粉制限(pollen limitation)が起きている可能性が示された。ヒメイソツツジはエゾイソツツジよりも開花時期が早いいため、シーズン初期のポリネーター活性の低さの影響を受けていると考えられる。

発芽実験の結果、他家受粉で得られた種子は、両種ともに高い発芽率を示し、種間で有意な差はなかった(図 8)。一方で、種間交雑で得られた種子はほとんど発芽しなかった(図 8)。すなわち雑種種子は通常の同種花粉の受精

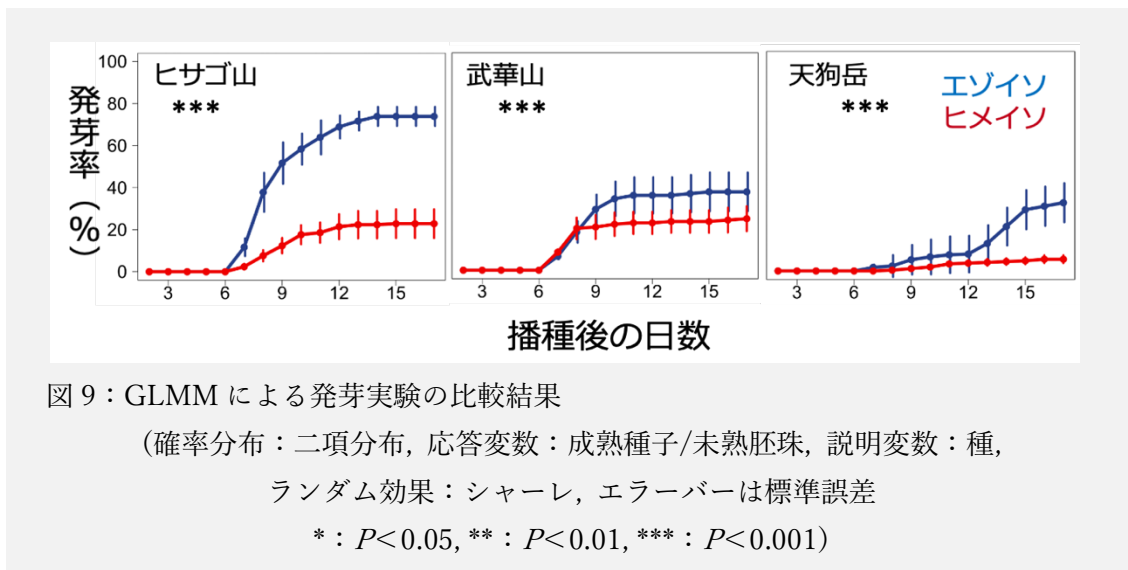


図 9 : GLMM による発芽実験の比較結果

(確率分布 : 二項分布, 応答変数 : 成熟種子/未熟胚珠, 説明変数 : 種,

ランダム効果 : シャーレ, エラーバーは標準誤差

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$)

で得られた種子よりも発芽能力が低いことが明らかになった。そのため、ヒメイソツツジで種間交雑が起きた場合、発芽の段階で負の影響を及ぼし、適応度を低下させると考えられる。

自然状態における繁殖干渉実験の結果、エゾイソツツジとヒメイソツツジともに周囲の異種頻度が増加しても結実率、発芽率に変化はなかった(P 値 > 0.05)。しかし、種間比較を行ったところ、全ての山域において、ヒメイソツツジはエゾイソツツジよりも有意に発芽率が低かった(図 9)。さらに、フローサイトメトリーの結果、エゾイソツツジ のサンプルは、すべての山域で4倍体だったが、ヒメイソツツジのサンプルはヒサゴ山で 2 倍体で、天狗岳のサンプルは 3 倍体であることが判明した(図 10)。フローサイトメトリーの結果は、少なくとも天狗岳では種間交雑による雑種形成が起きていることを示している。他家受粉処理で得られた種子は両種ともに高い発芽率だったのに対し、自然状態で得られたヒメイソツツジの種子発芽率が低下しているのは、種間交雑の結果発芽能力の低い雑種種子が形成されている可能性を示すものである。以上の結果は、ヒメイソツツジにおいて、自然状態で繁殖干渉による適応度の低下が

起きている可能性を示唆している。

両種の間には、空間的、時間的にある程度分離したパターンが検出された。しかし、これらの分離は、繁殖干渉の完全な回避には十分でない可能性が示された。その原因は、これらの分離が制限されているからかもしれない。空間的な分離については、両種の微小スケールの分離がハイマツに依存して起きていた。しかし、ハイマツから大きく離れた風衝地の中心には、ヒメイソツツジも生育していない。このことは、ヒメイソツツジがハイマツからさらに距離をとることが難しい可能性を示している。時間的な分離についても、ヒメイソツツジは花粉制限を受けているため、さらに開花期を早めてエゾイソツツジから完全に開花期を分離することは困難だと考えられる。したがって、両種は繁殖干渉の存在下で長い期間共存してきたと考えられる。

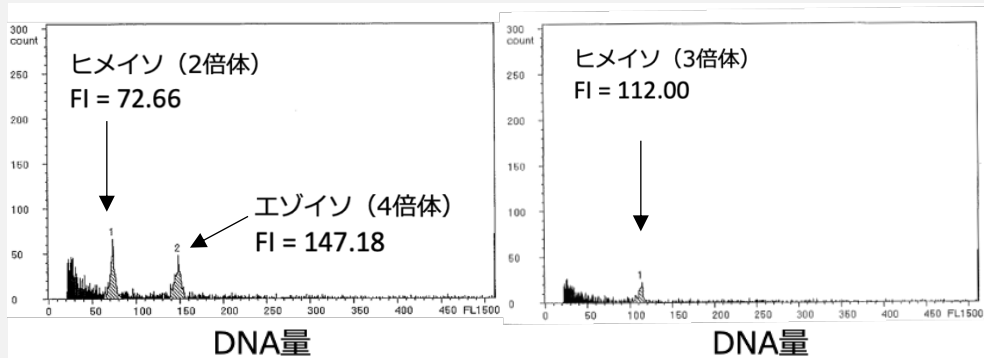


図 10：フローサイトメトリーの比較結果

左：典型的なエゾイソツツジ とヒメイソツツジの DNA 量

右：天狗岳で見出された 3 倍体雑種の DNA 量

(FI 値は DNA の相対的な量を示す)

4. まとめと展望

エゾイソツツジとヒメイソツツジの種間では、空間的、時間的にある程度分離したパターンが存在するが、繁殖干渉の完全な回避には不十分であり、ヒメイソツツジのみが雑種種子形成と発芽率低下による適応度の低下を受けている可能性が示された。今後は分子実験を解析に加えることにより、各種の個体群が高山帯

でどのように維持されているかを集団遺伝学の観点から解明することが必要である。また、本研究の調査地の1つである遠軽町の天狗岳は、他の山域よりも標高が低いことによる特異な開花フェノロジーが観察された。天狗岳では開花期の重複が他の山域よりも大きい可能性があり、両種の繁殖干渉を研究する上で重要な地点になると考えられる。

参考文献

1. Morin P. *Community Ecology Second Edition*. Chichester: Wiley; 2011.
2. 岸 茂樹, 西田 隆義. 繁殖干渉の視点から競争実験を再検討する. *日本生態学会誌* 2012;62:225-238.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/seitai/62/2/62_KJ00008157393/_article/-char/ja/.
Accessed March 6, 2020.
3. Gause G. *The Struggle for Existence*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1934.
https://books.google.co.jp/books?hl=ja&lr=lang_ja%7Clang_en&id=a_6zDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=gause+1934+struggle&ots=fjVq4cUYVF&sig=YlftTaH9FmQkcz6jBGg8OSvHDI.
Accessed March 6, 2020.
4. 高倉 耕一, 西田 隆義. *繁殖干渉*. 名古屋: 名古屋大学出版会; 2018.
5. Kyogoku D. Reproductive interference: ecological and evolutionary consequences of interspecific promiscuity. *Popul Ecol*. 2015;57(2):253-260. doi:10.1007/s10144-015-0486-1
6. Kuno E. Competitive exclusion through reproductive interference. *Res Popul Ecol (Kyoto)*. 1992;34:275-284.
7. Kameyama Y, Kudo G. Clarification of the genetic component of hybrids between *Phyllodoce caerulea* and *Phyllodoce aleutica* (Ericaceae) in Hokkaido, northern Japan. *Plant Species Biol*. 2011;26(1):93-98. doi:10.1111/j.1442-1984.2010.00301.x
8. 五百川 裕, 倉重 祐二, 高橋 英樹. ツツジ科. In: 大橋 広好, 門田 裕一, 邑田 仁, 米倉 浩司, 木原 浩, 編. *日本の野生植物 新版 4巻*. 東京: 平凡社; 2016:235.
9. 我妻 尚広, 瓶井 美知子, 八巻 奈津子, 岡本 吉弘. 苫小牧東部地域に自生するイソツツジ (*Ledum palustre* var. *diversipilosum* Nakai)の生育特性. *酪農学園大学紀要*. 2006;33(1):111-116.
10. Lantai K, Kihlman B. The Chromosome Numbers of *Ledum palustre* ssp. *decumbens* and of Some Related Taxa. *Hereditas*. 1995;122(2):181-184. doi:10.1111/j.1601-5223.1995.00181.x
11. Xiao Y. Variation in needle longevity of *Pinus tabulaeformis* forests at different geographic scales. *Tree Physiol*. 2003;23(7):463-471. doi:10.1093/treephys/23.7.463

12. Kudo G. Effect of snow-free duration on leaf life-span of four alpine plant species. *Can J Bot.* 1992;70(8):1684-1688. doi:10.1139/b92-207
13. Kudo G, Suzuki S. Flowering phenology of alpine plant communities along a gradient of snowmelt timing. *Polar Biosci.* 1999;12:100-113.