

研究成果報告書（第28回学術研究助成）

2021年10月27日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団
理事長 野村茂樹 殿

所属機関名 北海道大学大学院環境科学院
職 名 博士課程2年
氏 名 都築 洋一

1. 研究課題

なぜ同一集団の個体間で開花時期が異なるのか：フェノロジーと繁殖戦略の統合による植物の時間利用戦略の解明

2. 共同研究者

なし

3. 研究報告

I. 研究の目的

近年の気候変動に伴い植物の開花フェノロジーが変化している。例えば早春に開花する様々な種で開花日が年々早まっている。開花時期が変化すると、送粉昆虫などの共生者との間に活動時期のずれが生じ、その結果種子生産量の低下、ひいては適応度の低下が起きる可能性がある。そこで気候変動の影響評価を目的に、様々な種でフェノロジーの変化の規模やその適応度への影響が調べられてきた。

種レベルでフェノロジーの変化が研究されている一方で見過ごされているのがフェノロジーの個体間変異である。特に開花時期は、同所的に生育し気温などの環境条件が同じ同種個体間であってもずれが存在する場合がある。このことは、植物の開花時期は環境条件に応じて受動的に決まっているだけではない可能性を示唆している。そこで、開花時期の個体間変異は「どのタイミングで繁殖に資源を投資するか」という時間利用戦略の違いに起因するのではないかと考えた。

これまでに、植物は個体サイズ（個体が持つ資源量）に応じて、多様な繁殖様式（e.g., 有性生殖、無性生殖）や性表現を見せることが知られている。本研究は開花時期においても資源量に応じた繁殖戦略が存在するのではないかと考えて、**①個体サイズに応じた繁殖器官と開花時期への資源投資と、②繁殖成功率に対する開花時期の影響**、を解明することを目的とした。

II. 研究の方法

調査地・研究対象種

調査地は北海道十勝地域の帯広・広尾の2地点とした。2地点とも十勝地域に属するものの、内陸部にある帯広の方でより春季の気温上昇・植物の開花早期化が顕著に進んでいる（気象庁HP上の1958～2019年の4,5月の日平均気温、およびサクラの開花日を解析して検証済み）。よってこの2地点間で比較研究により、開花時期の変異を気候変動と関連付けて考察できると考えた。

対象種は十勝地域に広く分布するオオバナノエンレイソウ (*Trillium camschatcense*) である。本種は落葉広葉樹林に生育し、5月に開花する虫媒性の多年生草本植物である。開花個体は1個体あたり1-3株が生え、一株に両性花を一つ咲かせる。十勝地域の集団は自家不和合性であり、種子生産をおこなう上で送粉昆虫が欠かせない。

①個体サイズに応じた繁殖器官と開花時期への資源投資

各調査地に3 m 四方の調査区を2つずつ、計4つ設けた。4月上旬に各調査区に温度ロガーを設置し、2時間間隔で気温を記録した。4月末～6月頭に定期的に観察をおこない、調査区内で開花した全ての花を標識し、開花日と花が枯れた日を記録した。各個体の葉長・葉幅を記録し、その積を個体サイズの指標とした。花への資源配分量を評価するために、花卉のサイズ（全長・幅）、萼片のサイズ（全長・幅）をそれぞれ記録した。また、花粉と胚珠への資源配分量を評価するために、各調査区の周りで15個体をランダムに標識し、葉・花卉・萼片のサイズに加えて花粉数と胚珠数を調べた。開裂直後の葯を一本採取し、90 %エタノール1 mL入りの1.5 mLチューブ内でよく懸濁した後、10 μLを取り出して光学顕微鏡下で中に含まれる花粉を計数した。計数は3回繰り返し、その平均を花粉数とした。7月に果実を採取して、種子数と結実してない胚珠数を数えて、その和から胚珠数を求めた。

調査地ごとに、開花時期に関する変数（開花日、花が枯れた日、開花日数）、繁殖器官に関する変数（花卉サイズ（=全長×幅）、萼片サイズ（=全長×幅）、花粉数、胚珠数）、それぞれに対する個体サイズ（=葉長×葉幅）の効果をGLMMで推定した。

②繁殖成功率に対する開花時期の影響

①の調査区の周囲で開花時期の操作実験を実施した。開花シーズンを前半と後半の2期間に分けて、後半にセロハンを被せて前半のみ開花させる処理と、前半にセロハンを被せて後半のみ開花させる処理を、それぞれ15個体ずつ施した。そして処理個体の葉・花卉・萼片のサイズ（全長および幅）を記録した。また、①の調査区内からランダムに個体を選び、コントロール（無処理個体）として扱った。

結実期の7月上旬に、果実を採取し、種子数（S）、受精はしているものの成熟していない胚珠数（E）、未受精の胚珠数（O）、をそれぞれ計数した。受粉率と結実率を以下のように定義し、調査地ごとに、調査区と処理を固定効果、個体をランダム効果にしたGLMM（誤差分布は二項分布）を実施し、Hochberg法で処理間の多重比較をおこなった。

$$\text{受粉率} = (S+E)/(S+E+O) \quad \text{結実率} = S/(S+E+O)$$

III. 研究結果

①個体サイズに応じた繁殖器官と開花時期への資源投資

開花期間に関する3つの変数（開花日・花が枯れた日・開花日数）に対して、個体サイズの効果は見られなかった（表1-a）。一方で、繁殖器官に関する花サイズ、萼片サイズ、胚珠数、花粉数に対して有意な効果が検出され（P値 < 0.05）、いずれも個体サイズが大きいほど大きな値をとった（表1-b）。

目的変数	z value		P値	
	帯広 FE	広尾 HR	帯広 FE	広尾 HR
(a) 開花期間に関する変数				
開花日	-0.098	-0.798	0.922	0.425
花が枯れた日	0.202	-0.014	0.840	0.989
開花日数	0.525	0.806	0.600	0.420
(b) 繁殖器官に関する変数				
花サイズ	17.194	15.459	<0.001	<0.001
萼片サイズ	15.640	13.663	<0.001	<0.001
胚珠数	8.575	6.926	<0.001	<0.001
花粉数	1.951	2.682	0.059	0.012

表1 各目的変数に対して、個体サイズ（=葉長×葉幅）を固定効果、調査区と個体をランダム効果にしたGLMMの結果。(a)の3つの目的変数及び(b)の胚珠数はポアソン分布を、残りは正規分布を、それぞれリンク関数に指定した。調査地ごとに実施し、z valueとP値の結果を示している

②繁殖成功率に対する開花時期の影響

帯広では、開花時期を後半のみにした個体で受粉率・結果率が共に有意に低下した（図1左、2左）。その一方で、開花時期を前半だけにした個体では、全期間開花した無処理個体と同程度の受粉率・結果率が見られた（図1左、2左）。

広尾では開花期間の処理は受粉率に影響を与えなかったが（図1右）、結果率の方では前半のみ

開花させた個体で有意な低下が見られた（図2右）。

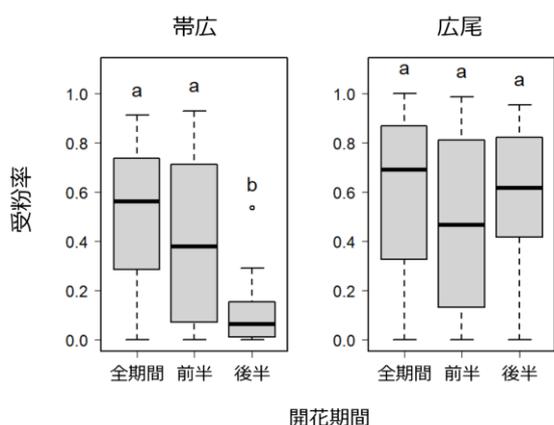


図1 開花期間の実験処理と受粉率の関係. (左) 帯広、(右) 広尾

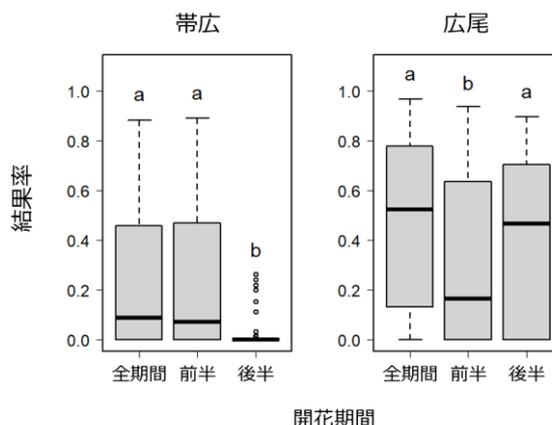


図2 開花期間の実験処理と結果率の関係. (左) 帯広、(右) 広尾

IV. 考察

①個体サイズに応じた繁殖器官と開花時期への資源投資

開花日、花が枯れた日、開花日数は、いずれも個体サイズの影響を受けていなかった。この結果から、開花時期の個体間変異は、個体が持つ資源量の違いに起因していない可能性が示唆された。微環境の違いや遺伝的変異といった、他の要因を今後探索していく必要がある。

一方で、花卉サイズ・萼片サイズ・胚珠数・花粉数はいずれも、個体サイズが大きいほど高い値をとることがわかった。このことから、蓄えている資源量が多い個体ほど、繁殖器官への資源投資量が増えているのだと考えられる。

②繁殖成功度に対する開花時期の影響

帯広では、開花期間が後半のみになると受粉率が顕著に低下することがわかった。この結果は、花粉を運ぶ送粉者とのフェノロジーの一致が、開花期間の前半で主に生じていることを示唆している。一方で広尾では受粉率に時期は影響しないこと、前半ないし後半だけでも受粉率が減少していないことから、送粉者が開花期間全体を通じて十分量存在している可能性が考えられる。温暖化が比較的顕著に進んでいる帯広では、送粉者の活動時期が早まっていて、その結果開花期間の後半で送粉昆虫が少なくなっている可能性がある。

広尾では受粉率と結実率の結果が異なるパターンを示しており、開花期間前半でのみ開花させた個体で結実率が低下していた。受粉には成功したものの結実に至らなかった胚珠の割合が高いのだと考えられる。この原因として、中絶（受精が成功した胚珠に資源が転流されず結実に至らないこと）や病虫害といった、種子生産に影響しうる送粉以外の要因の影響が考えられる。

V. 成果発表

なし

VI. 今後の課題

本研究の結果からは、開花フェノロジーが個体の持つ資源量に依存して決まっているとは言えず、開花フェノロジーの個体間変異の原因は解明できなかった。今後は、遺伝的変異や微環境、資源配分のトレードオフといった、開花期間を決めうる様々な他の要因を探索していく必要がある。

帯広では開花期間前半に送粉が集中している可能性が示唆された。訪花昆虫種およびそのフェノロジーを調べることで、フェノロジーの重複度合いを実際に調べて検証する必要がある。また、広尾では、開花期間前半のみ開花させた際に結実率が低くなる原因を解明するために、経年で同様の結果が得られるのか検証すると共に、中絶や病虫害の影響を評価する必要がある。