

琵琶湖内湖における
湿生植物ヨシ (*Phragmites australis* (Poaceae)) の
種子繁殖特性

金子 有子¹

Characteristics of seed propagation in marsh plant,
Phragmites australis (Poaceae)
in the attached lagoons (*naiko*) of Lake Biwa

Yuko KANEKO

Abstract

The seed set and germinating rates of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel (Poaceae) were investigated in the attached lagoons (*naiko*) of Lake Biwa. For the four populations with relatively high self-compatibility, mean seed set rates under natural conditions, self-pollination, and cross-pollination were 3.13%, 17.2%, 3.00%, respectively. For the four populations with lower self-compatibility, mean seed set rates under natural conditions, self-pollination, and cross-pollination were 3.57%, 0.20%, 7.90%, respectively. Based on these results of pollination experiments, *P. australis* was shown to be at least partially self-compatible and pollen limitation was shown to be the important factor in decreasing seed production under natural conditions. For all of the studied populations, mean germinating rates was 32.5%. Some seeds after self-pollination germinated and survived normally for at least 30 days.

Keywords : Lake Biwa, *Phragmites australis*, pollen limitation, seed germinating rate, seed set rate, self-incompatibility

¹ 東洋大学文学部自然科学研究室 112-8606 東京都文京区白山 5-28-20

Natural Science Laboratory, Faculty of Letters, Toyo Univ., 5-28-20, Hakusan, Bunkyo-ku, Tokyo 112-8606, Japan

1. はじめに

野生植物は、さまざまな自然撓乱による群落の破壊と再生を繰り返すことにより世代更新する動的な存在である。水辺の代表的な優占種であるヨシ (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel (Poaceae)) もまた撓乱依存性で、洪水後に出現する立地が更新適地となる先駆種である。これに対し、「自然状態でヨシが種子から群落を形成できるのは、出水後にできる砂質で日当たりの良い浅瀬だけであるのに、琵琶湖では近年水位が安定しているために種子による世代更新をすることができなくなっている」との指摘が1980年代からされてきている(立花、1983; 立花、1984; 立花、1999)。立花(1980)は、琵琶湖「南湖の大きく古い株では遺伝的な異常花粉が多い」との報告もしている。また、琵琶湖より内陸部のヨシ集団についても、種子繁殖の機会減少が示唆される状況が報告されている(辻本ほか、2013)。これらの報告では、有性生殖による新たなジェネットの加入を制限している可能性のある要因として、主に以下のようなものが挙げられている。①流域の治水設備や琵琶湖の水位操作により洪水や冠水などの自然撓乱が抑制されているため、実生の発芽・定着に必要な更新適地が形成されなくなっていること、②ジェネットの老齢化に伴う花粉の稔性の低下などにより結実率が低下、もしくは種子の発芽率が低下していること、③長期に安定していることにより群落の稈密度が増し、実生が新規に加入する空間的余地がないことや被陰などにより実生の死亡率が増大していること、である。

野生植物の種子生産に影響を与える要因は多岐にわたる。これらの他にも、他殖性、自家和合性、種内倍数性、集団のサイズおよび遺伝的多様性、資源量、送受粉者、病虫害などの多様な要因が互いに関連し複合的に作用している。本研究では、琵琶湖内湖のヨシ集団を対象に、野外条件下における自然結実率、および、強制自家・他家受粉による結実率を比較することにより、花粉供給量の状況と自家和合性・自家不和合性の程度について考察した。また、上記の野外実験から得られた充実種子の実験条件下における発芽率を調べ、種子の発芽能力を確認したので、合わせて報告する。

2. 方法

2.1 結実調査および野外受粉実験

琵琶湖に附属する内湖(本湖岸より陸側に位置し本湖と水系で連結している小規模な水域)のうち、高島市の浜分沼・エカイ沼・五反田沼、大津市の堅田内湖、近江八幡市の北沢沼、安土町の西の湖、彦根市の曾根沼・野田沼に発達するヨシの野外8集団において、2006年、2007年の各年7~12月にかけて、結実調査および野外受粉実験を行った(図1; 表1; 写真1)。各集団から、それぞれ異なるクローンを3ないし4株を選定し、各株からコントロールとする花序、および、各実験処理を施す花序を選定した。実験処理として、自然条件で開放、開花前に袋がけし強制自家受粉、開花前に袋がけし強制他家受粉、の3処理を設けた(写真2)。

袋がけには、ヨシ花粉が通過しないナイロンメッシュを用い、設置後密閉した。他家受粉には、琵琶湖地域と遺伝的に有意に分化していることが既知のヨシ集団のうち、地理的に最も近い採取地点である京都府宇治市にある向島集団から、受粉のタイミングに合わせて花粉を放出している花序を採取し、4℃の保冷下で搬送し、当日のうちに強制受粉に用いた。

また、クローン判別は以下の遺伝分析により行った。各実験株の葉試料から改良CTAB法によりゲノムDNAを抽出し、マイクロサテライトマーカー 5 遺伝子座 (*PaGT4*, 8, 9, 12, 16; Saltonstall 2003) について、シーケンサー (Genetic analyzer 3130xl, Applied Biosystems) を用いて多型解析を行った。マイクロサテライト遺伝子型での対立遺伝子の有無を (0, 1) でコードすることによって、核DNAのマルチローカスジェノタイプを決定し、クローン判別を行った。推定されたクローン構成からクローン多様性 (ジェノタイプック多様性) の指数として、ジェネット数/試料数を計算した (表 1)。地域集団間の遺伝距離については、既に手法を確立していた AFLP 法を用いた 169 遺伝子座の分析により、各調査集団と向島集団間の遺伝距離を推定した (金子・川瀬、未発表)。

2.2 結実率の算出方法

結実瘦果数のカウントは以下の方法によった。1) ひとつの小穂の中には小花が 2～4 個 (多くは 3 個) ある。花序の全体からできるだけ偏りなく小穂を 50 個ほど集め 10 個程度ずつ別々のガラスシャーレに分けた。2) シャーレに入った小穂を顕微鏡下で分解し、各小花をピンセットで外から挟んでふくらんでいないもの (結実しているものは確実な膨らみと硬さがあるため、硬さのないもの) を結実していない「しいな」と判断した。3) 少なくとも 100 小花を調べ、必要な場合は後から数を増した。4) 結実していそうなものは中身をあけて確かめてから瘦果を袋に回収した。「しいな」と判断したものも小花ごとに全て一つの袋に回収、それ以外の余った小穂や残った花序も一つの袋に回収した。

結実率の最終計算は以下の方法によった。1) ガラスのシャーレに厚手の濾紙を敷き、十分に水を吸わせ、その上に上記でサンプル毎に回収されている「結実瘦果」、「しいな」、それ以外の「未調査小穂」の各種子を播種してシャーレに蓋をした。2) インキュベーター (日本医化器械製作所製、NC-350S) 内で、ヨシ種子の発芽に適した条件 (明期 12 時間、28℃; 暗期 12 時間、18℃) を保った。3) 「結実瘦果」が実際にどれくらい発芽するかを数えた。4) 「しいな」と判断したものの中で発芽してくるものがないかを確かめた。5) 「未調査小穂」の中からどれくらい発芽してくるかを確かめた。6) 最後に、「結実瘦果」「しいな」の発芽状況も加味して結実率を算出した。また、実際にカウントした結実率が 0% の場合は、残った「未調査」のサンプルから発芽するものがあれば結実率を「1%未満」などとし、それでも全く発芽しなかった場合に「0%」とした。

2.3 室内発芽試験

2.2 の方法で発芽試験を行った種子について、それぞれの属性 (採取集団、採取株、実験処理) 毎に集計した結果から、自然結実由来、強制自殖由来、強制他殖由来の種子における各発芽率を算出した (写真 3)。また、発芽 30 日後までインキュベーター内で実生の生育に適した温度・光条件 (明期 12 時間、28℃; 暗期 12 時間、18℃) の下で、成長・生存

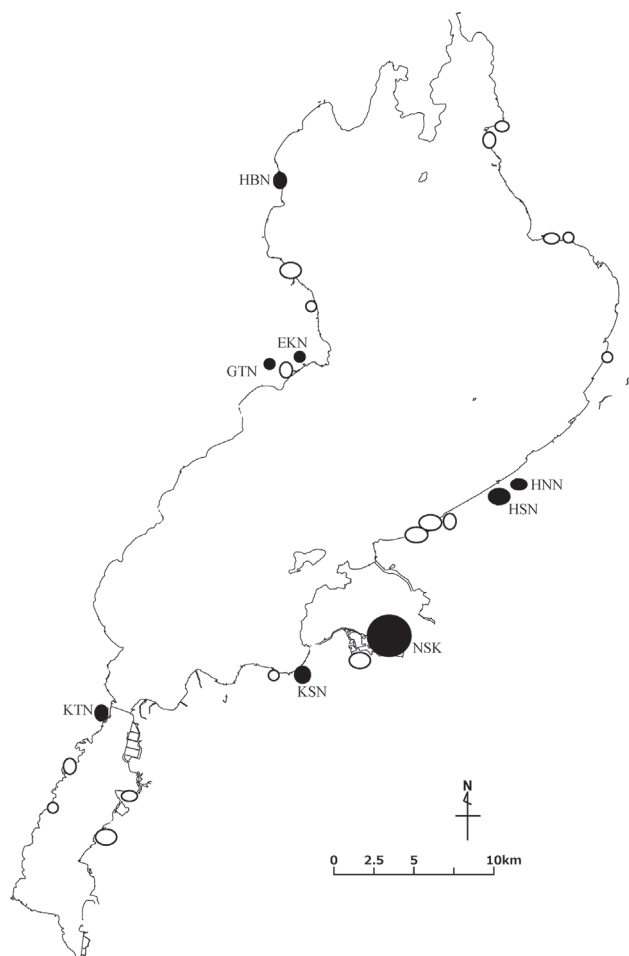


図1 琵琶湖地域の主要ヨシ集団（○、●）と結実調査集団（●）の位置図

表1 結実調査集団一覧

集団名	略号	ヨシ条例による 保全区域の指定	クローン多様性 (ジェネット数/試料数)	ヨシ群落面積(ha)	内湖面積(ha)	
					1940年頃	現在
北沢沼	KSN	指定外	0.519	0.566	4.9	4.9
堅田内湖	KTN	指定外	0.267	0.976	7.9	7.9
五反田沼	GTN	指定外	0.133	0.997	1.2	1.2
エカイ沼	EKN	指定外	0.391	1.784	2.0	2.0
彦根野田沼	HNN	指定(普通地域)	0.188	0.804	15.0	8.4
曾根沼	HSN	指定(保全地域)	0.119	0.804	87.0	21.6
西の湖	NSK	指定(保全地域)	0.300	108.849	221.9	221.9
浜分沼	HBN	指定(保全地域)	0.069	1.220	5.4	5.4

a)



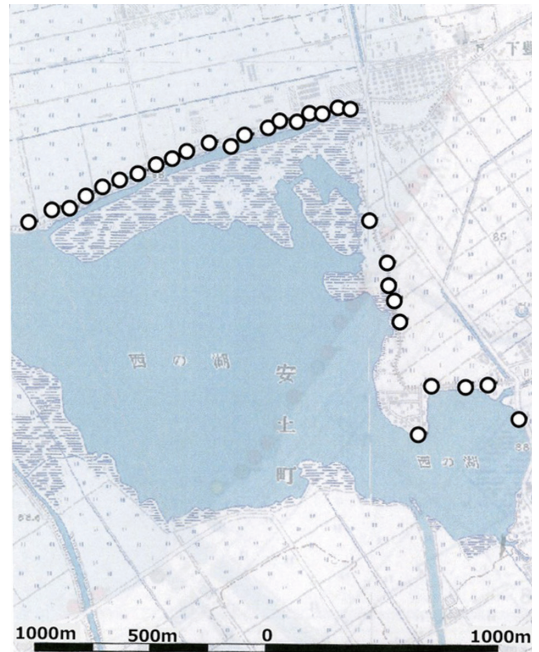
b)



c)



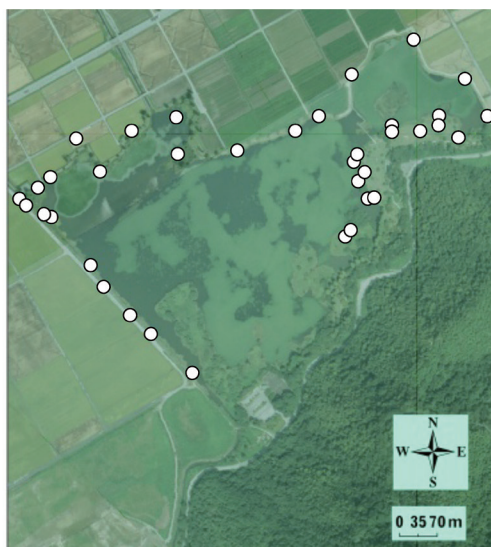
d)



e)



f)



g)



h)



写真1 遺伝分析試料採取株および結実調査株 (○) の位置図 a) 浜分沼、b) 五反田沼、c) エカイ沼、d) 西の湖、e) 彦根野田沼、f) 曾根沼、g) 堅田内湖、h) 北沢沼 (背景：国土地理院)



写真2 野外受粉実験の様子

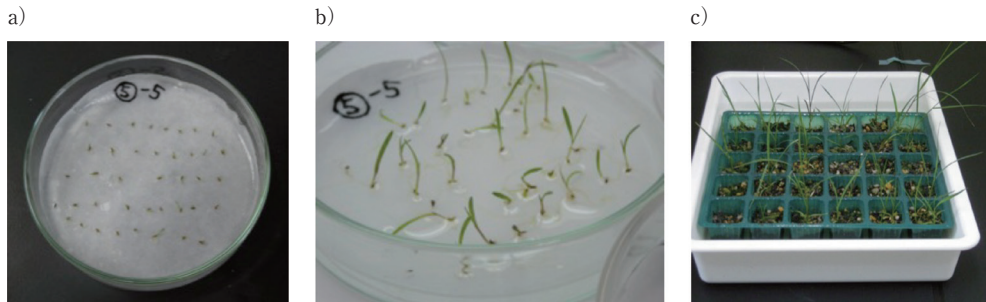


写真3 室内発芽実験の様子

a) シャーレに播種後1日目、b) 播種後3日目、c) 培養トレイに植え替え後

の状況を追跡した。発芽試験に供した種子数は、8集団×3株×3処理の72パターンにつき、各10～20粒の種子、合計約1,500粒の種子をシャーレに播種した。播種後、1つのシャーレにつき、1～3日おきに、茎長および根長を計測し、生存を確認した。死亡した場合には生育状況から死亡要因（病害、菌害、形態異常など）を推定した。

3. 結果

3.1 自然受粉、強制自家受粉、強制他家受粉による結実率

強制自家受粉実験の結果、調査した8集団の中に、自家和合性の集団（浜分沼、エカイ沼、曽根沼、堅田内湖）と自家不和合性の集団（五反田沼、西の湖、彦根野田沼、北沢沼）が見られた。自家和合性・自家不和合性の程度は集団ごとに異なっていた。

自家不和合性の4集団では、自家受粉の結実率は自然受粉の結実率よりも他家受粉の結実率よりも有意に低かった（いずれも χ^2 検定、 $p<0.001$ ）。他家受粉の結実率は自家受粉の結実率よりも有意に高かった（ χ^2 検定、 $p<0.001$ ）（図2）。他家受粉に供した向島集団との遺伝距離は、西の湖（0.118）、彦根野田沼（0.065）、北沢沼（0.094）、五反田沼（0.097）であった。向島集団とこれら琵琶湖地域の集団とはAFLPの結果から遺伝的に有意に分化していた。自家受粉結実率と他家受粉結実率の比較においては、他殖による結実率の上昇と外交配弱勢による結実率の低下が相殺された結果と考えられる。

自家和合性の4集団では、自家受粉の結実率は自然受粉の結実率よりも他家受粉の結実率よりも有意に高かった（いずれも χ^2 検定、 $p<0.001$ ）。自然受粉の結実率と他家受粉の結実率には有意差はなかった（図3）。向島集団との遺伝距離は、エカイ沼（0.081）、曾根沼（0.081）、浜分沼（0.081）、堅田内湖（0.081）であった。向島集団とこれら琵琶湖地域の集団とはAFLPの結果から遺伝的に有意に分化していた。自家受粉結実率と自然受粉結実率の比較から、花粉不足の改善により結実率が高くなったことが示唆される。また、自家受粉結実率と他家受粉結実率の比較からは、外交配弱勢による結実率の低下が起きたと考えられる。

3.2 強制自家受粉および強制他家受粉による種子の発芽率

自然受粉、自家受粉、他家受粉に関する袋かけ実験を行い、種子の稔性を調査した結果、自然条件下では花粉不足が起きていること、自家和合性の集団と自家不和合性の集団の両方が見られること、琵琶湖集団と向島集団の間で外交弱勢が生じていること等が示唆された。種子の発芽率は調査を行った全集団の平均で32.5%であった。また、他家受粉の結実率が高かった自家不和合性集団では、他家受粉由来の実生には健全に成長するものが見られたが、自家受粉由来の実生は発芽後30日以内に全て死亡した（図4）一方、自家受粉の結実率が高かった自家和合性集団では、自家受粉由来の実生には健全に成長するものが見られたが、他家受粉由来の実生は発芽後30日以内に全て死亡した（図5）。

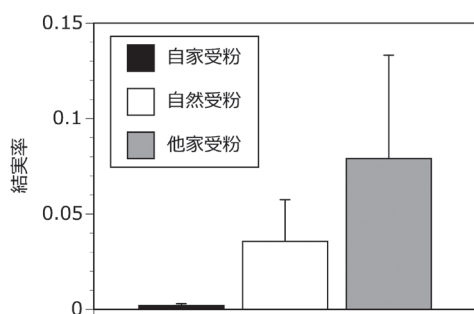


図2 自家不和合性集団の各結実率。平均値+標準誤差を示す。

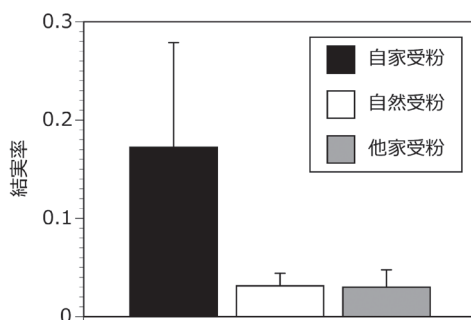


図3 自家和合性集団の各結実率。平均値+標準誤差を示す。

4. 考察

4.1 自家和合性と近交弱勢、外交配弱勢

ヨシの繁殖様式については、自家不和合であるという報告 (Gustafsson & Simak, 1963) や、淀川 (大阪府) の事例で自家結実率は低く、野外 2 集団 (大阪市、摂津市) の平均で 5.9% という報告 (Ishii & Kadono, 2002) がある。また、北海道の事例においても種子の稔実率は大きく変動し、特に石狩地方の稔実率 (39%) は他の地方と比べて有意に高く、石狩地方の中では、手形沼 (美唄市) の稔実率 (64%) は高いが、旧石狩川下流域 (石狩市) の稔実率 (9%) は低い。ヨシの利用が進む釧路や宗谷地方の平均稔実率 (10%) は、極めて低かったが、一部の地点の値 (61%) は、石狩地方のそれと同様に高かった。これらの結果から、同一地域、同一箇所 (環境) 内においても、穂の形態や稔実率は大きく異なっており、穂形質に関する遺伝的多様性の存在が示唆されている (中島ほか、未発表)。

本研究において、琵琶湖の内湖 8 集団 (高島市の浜分沼・エカイ沼・五反田沼、大津市の堅田内湖、近江八幡市の北沢沼、安土町の西の湖、彦根市の曾根沼・野田沼) で調べた結果でも、自家結実率は平均 7.4% であった。自家受粉処理でできた種子からの実生にはしばしば形態異常等が見られた。これらのことは、ヨシが他殖を好む植物であることを意味している。

集団間の遺伝的多様性が生物の絶滅に強い影響を及ぼす現象の第一には、健全な次世代を残せなくなることが挙げられる。植物では、広範に起こる絶滅リスク増大への影響として、異系交配による外交配弱勢の発現や正常な受粉の阻害等が知られている。外交配弱勢とは、遺伝的に分化した集団間の交配によって、子や孫など後の世代で、発生異常や繁殖能力の低下といった有害な影響が現われ適応度の減少が起こることである。向島集団と琵琶湖集団は遺伝的に有意に分化していた。自家和合性の集団では、他家結実率は自家結実率より低く、琵琶湖地域集団と向島集団の間で外交配弱勢が生じていると考えられた。琵琶湖淀川水系には少なくとも 8 倍体と 10 倍体が混在していることが分かっており、遺伝的

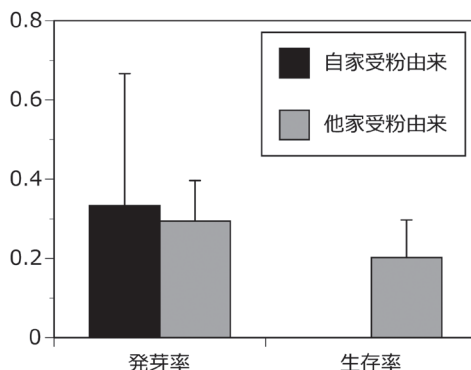


図4 自家不和合性集団における種子の発芽率と実生の初期生存率。平均値+標準誤差を示す。

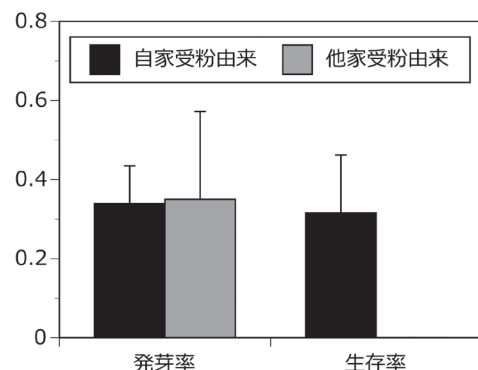


図5 自家和合性集団における種子の発芽率と実生の初期生存率。平均値+標準誤差を示す。

分化の程度だけでなく、種内倍数性による交雑の制限や繁殖阻害が起こっている可能性も考えられる (Kaneko 2012; Nakagawa et al., 2013)。

4.2 種子の発芽能力

琵琶湖地域のヨシが持つ遺伝的特徴として、琵琶湖地域には8倍体の系統が広く分布しており、10倍体系統の産地は点在する数カ所であること、国内他地域の集団に比べて、クローン多様性が低いことが分かっている。クローン多様性の低さには、水位操作や湖岸の人工改変によって有性生殖による世代更新が阻害されていることや、挿し木苗の植栽によってクローン多様性が低下していること、植栽が異なる倍数体の混在を招いた可能性があることなどが影響していると考えられる。一般に多くの種では、遺伝的多様性の低下は、遺伝的多様性の消失と近親交配のレベルが直接関係することを介して、健全な種子の生産、繁殖適応度の減少をもたらす。しかし、本研究からは、現時点において、琵琶湖内湖のヨシは高い発芽率と成長能力のある種子を生産していることが確認された。

琵琶湖地域において種子繁殖による新たなジェネットの加入を制限している要因としてより懸念すべき問題は、実生の発芽・定着に必要な更新適地や成長する空間的余地が十分に提供されていないことである可能性が示唆された。

引用文献

- Kaneko Y (2012) Biology of the common reed (*Phragmites australis*) surrounding Lake Biwa. In H. Kawanabe et al. (eds) Lake Biwa: Interactions between Nature and People. 137-138. Springer.
- Nakagawa M, Ohkawa T, Kaneko Y (2013) Flow cytometric assessment of cytotype distributions within local populations of *Phragmites australis* (Poaceae) around Lake Biwa, the largest lake in Japan. *Plant Species Biology* 28(1): 94-100
- 立花吉茂 (1980) ヨシ (*Phragmites australis*) の種子繁殖とその初期成長. びわ湖とその集水域の環境動態 昭和54年度報告: 79-89
- 立花吉茂 (1983) 湖辺および内湖の生物群集の現状 ヨシ群落の現況. H.門田編「琵琶湖沿岸域の水生植物の生態に関する研究」プロジェクト研究報告9-20. 滋賀県琵琶湖研究所, 大津
- 立花吉茂 (1984) 琵琶湖沿岸のヨシについて. 水草研究会18: 2-6
- 立花吉茂 (1999) 琵琶湖の湖岸に分布するヨシとその特性について. 関西自然保護機構会報 21: 2
- Ishii J, Kadono Y (2002) Factors influencing seed production of *Phragmites australis*. *Aquatic Botany* 72: 129-141
- 辻本典顕・荒木希和子・近江戸伸子・長谷川博 (2013) 滋賀県湖東地域に現存するヨシ小集団の生育状況. 保全生態学研究18: 203-212

- Saltonstall (2003) Microsatellite variation within and among North American lineages of *Phragmites australis*. Molec. Ecol. 12: 1689-1702
- Gustafsson A and Simak M (1963) X-ray photography and seed sterility in *Phragmites communis* Trin. Hereditas 49: 442-450