

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月10日現在

機関番号：10101
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21570085
 研究課題名（和文） タロイモシヨウジョウバエ属とサトイモ科植物との送粉共生系進化に関する包括的研究

研究課題名（英文） Comprehensive study on the evolution of pollination mutualisms between *Colocasiomyia* flies and Araceae plants

研究代表者

戸田 正憲（TODA MASANORI）
 北海道大学・低温科学研究所・教授
 研究者番号：40113592

研究成果の概要（和文）：サトイモ科植物とタロイモシヨウジョウバエ属との間の送粉共生系の実態と、その進化の道筋を明らかにするために、タロイモシヨウジョウバエ属の分類、系統、生物地理、繁殖生態および寄主植物の開花・送受粉生態を研究した。その結果、本送粉共生系のさまざまな多様性ととも、寄主植物がその開花過程のいろいろな段階・部位で、熱・匂いを発散し、成虫に対する餌報酬物質を提供して、送受粉を促している実態が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：To comprehensively reveal pollination mutualisms between *Colocasiomyia* flies and Araceae plants from a point of evolutionary view, we studied taxonomy, phylogeny, biogeography and reproductive ecology of the genus *Colocasiomyia* and flowering/pollination ecology of their host plants. As a result, it has been revealed that there is a large diversity in this pollination mutualism system, and that to promote pollination host plants attract and guide pollinator flies by emitting heat and odor and providing food rewards timely from proper regions of inflorescence through flowering process.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：昆虫分類学・生態学

科研費の分科・細目：基礎生物学，生物多様性・分類

キーワード：タロイモシヨウジョウバエ属，サトイモ科，送粉共生系，繁殖生態，系統，分類，生物地理，中国：マレーシア：インドネシア

1. 研究開始当初の背景

(1) タロイモシヨウジョウバエ属 (*Colocasiomyia*) は、東洋区亜熱帯～熱帯に固有なシヨウジョウバエ科の1属で、既知種23種に加えて、未記載の新種46種が発見されていた。形態形質に基づく分岐分析により、

本属の中に5つの単系統群が認められ、それぞれは *baechlii*, *crassipes*, *cristata*, *toshiokai*, *zeylanica* 種群として分類されていたが、他に種群未定の2種が知られていた。しかし、これらの種群および種群未定種との系統関係は未解明であった。

(2) 5つの種群は、サトイモ科 (Araceae) 植物を中心として比較的古い被子植物のそれぞれ特異的な分類群 (*baechlii* 種群—スキスマトグロツティス連 [サトイモ科], *cristata* 種群—タロイモ連 [サトイモ科], *toshiokai* 種群—ホマロメナ連 [サトイモ科], *crassipes* 種群—モクレン科, *zeylanica* 種群—ヤシ科) の花を訪れることが知られていた。

(3) 送粉共生の研究は、タロイモ連の花を利用する *cristata* 種群を中心に行われ、1) ハエは、寄主植物の花序上で、摂食、交尾、産卵を行い、幼虫は花序および果実序で生育し (成虫、幼虫ともに、植物を加害することはない: 幼虫は雌花柱頭からの分泌物や花粉放出後腐敗する雄蕊の組織を食べる)、生活史のほぼ全ステージを寄主植物の花に依存している; 2) 寄主植物は、もっぱらタロイモショウジョウバエによって送受粉されている; 3) 2種のタロイモショウジョウバエが、同じ寄主植物を利用する場合は、一方が雌花部を、他方が雄花部を利用するというように、互いに繁殖部位を分けて共存していることが多い、ということがわかっていた。また、沖縄に分布するクワズイモ (*Alocasia odora*) は、開花時に発熱し、特有な匂いを発散してタロイモショウジョウバエ (*C. alocasiae*, *C. xenalocasiae*) を誘引し、繁殖成功度を上げていることが明らかにされていた。しかし、以下の諸点が未解明の問題として残されていた:

①サトイモ科植物の多くは、雌性先熟 (先に受粉し、続いて花粉を放出する) である。また、タロイモ属とクワズイモ属の花では、雌性 (受粉) 期が終わると、仏炎苞が雌花部の上 (中性花部) できつく絞まって、ハエの出入りができなくなる。このような開花特性に合わせて、受粉時には下部の雌花部に、花粉放出時には上部の雄花部に送粉昆虫を誘導するための詳しいメカニズムは、まだわかっていなかった。

②幼虫に対する食物提供はある程度わかっていたが、成虫に対する食物 (報酬) 提供はなぞであった。クワズイモ送粉共生系での予備的な観察で、雌性期にはハエが中性花下部に集まって、中性花の側壁を舐めているが、雌性期→雄性期の移行期から雄性期の特定の時期には、雄花部の特定の部位に集まって、雄蕊の側壁を、前脚の棘で削り取って食べていることがわかった (花粉は食べない)。成虫に対する報酬提供の時期と部位の違いが、熱・匂いの放出とともに、ハエの誘導に関係している可能性があり、植物が提供しているそれぞれの物質と、その生産、放出のメカニズムを明らかにする必要があった。

③比較的よく調べられている2種共存系に比べて、1種占有系、3種から最大8種までの多様共存系における繁殖生態、共存機構についてはまだ十分にわかっていなかった。

2. 研究の目的

主にサトイモ科植物との間で高度に相利的な送粉共生系を共進化させた、タロイモショウジョウバエ属について、その分類、系統、生物地理、繁殖生態および寄主植物の開花・送受粉生態を包括的に研究し、比較的原始的な被子植物とタロイモショウジョウバエ属との間に見られる特異な送粉共生系の実態と、その進化の道筋を明らかにすることをめざした。

3. 研究の方法

(1) タロイモショウジョウバエ各種の寄主選択は比較的種特異性が高いため、新たな寄主植物上で新たなタロイモショウジョウバエ種が見つかる可能性が高い。本送粉共生系の全貌を把握するために、東洋区亜熱帯~熱帯地域でさらなる共生系の発見に努めた。

(2) 系統関係の解明

①種群および種群未定種間の系統関係を解明するために、形態形質とDNA塩基配列情報を用いた系統解析を行った。

②送粉共生生態が比較的よく研究されている *cristata* 種群について、寄主植物の系統関係との対応を見るために、本種群内の系統関係をDNA分子系統解析によって求め、両者の共進化過程を推定することをめざした。

(3) タロイモショウジョウバエ1種占有系から最大8種までの多様共存系における繁殖生態の変異を観察し、それらの共存機構の共通性と違いを明らかにすることをめざした。

(4) 沖縄のクワズイモ送粉共生系について、成虫に提供される報酬 (餌) 物質の生化学的な同定とその提供メカニズム (細胞、組織、花序の部位、時間)、および熱・匂い物質放出の部位と時間を、開花過程のなかで明らかにし、寄主植物が送受粉を効率的に行なうために送粉昆虫 (タロイモショウジョウバエ) を巧みに誘導するメカニズムを解明することをめざした。

4. 研究成果

(1) 新たに、中国雲南省、ベトナム、インドネシアから合計9種が発見され、タロイモショウジョウバエ属は、23既知種+55新種となった (図1)。

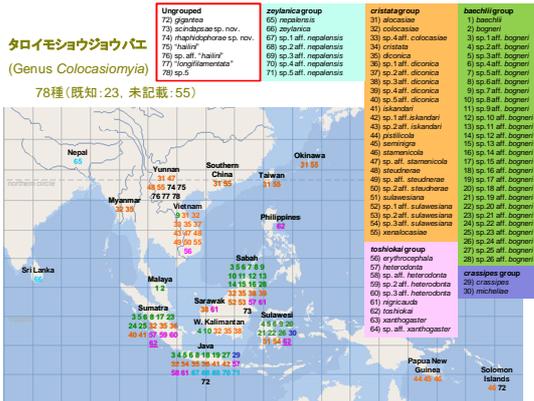


図1 タロイモショウジョウバエ属の全種チェックリストと地理的分布

(2) タロイモショウジョウバエ属の系統関係

①70の形態形質によって推定された分岐系統樹(図2A)と28SrRNA遺伝子の塩基配列による分子系統樹(図2B)とともに、これまで種群未定であった2種は中国雲南省から発見されたもう1種とともに、*cristata*種群の姉妹群として単系統群を形成した。この系統群は、さらに中国雲南省から発見された4種を加えて、新種群 *gigantea* 種群として設立される予定である。

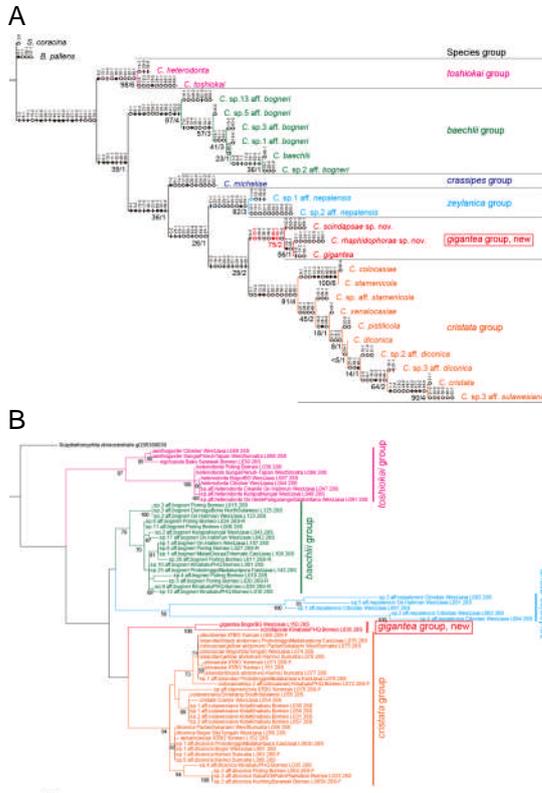


図2 タロイモショウジョウバエ属の系統関係。
A: 70形態形質による最節約樹, B: 28SrRNA 遺伝子の塩基配列による最尤樹

種群間の関係については、両系統樹ともにあまり解像度はよくなかったが、*toshiokai*種群が最初に分岐した点では一致していた。②*cristata*種群の分子系統と訪花・繁殖生態の進化

*cristata*種群の寄主選択と繁殖生態の進化過程を明らかにするために、ミトコンドリア遺伝子のND2遺伝子座858塩基対を解析し、近隣接合系統樹、最尤系統樹、最節約系統樹の3つから系統ネットワークを構築した。Okada(1986)は「進化の過程で雄花繁殖型種と雌花繁殖型種のペア生じ、それが異なる寄主植物上に分化していった」という仮説を立てていた。タロイモ(*Colocasia esculenta*)とクワズイモ(*Alocasia odora*)で繁殖する雄花繁殖型種と雌花繁殖型種のペアの分岐関係はOkada(1986)の仮説を否定しなかったが、他の*cristata*種群の寄主選択と繁殖型の進化はずっと複雑であることが明らかになった(図3)。たとえば、1)ボルネオの*Alocasia macrorrhizos*では雌花繁殖型の姉妹種が共存する。2)雲南で発見された中性花に産卵するタロイモショウジョウバエ(*C. sp. aff. stamencicola*)は雌花利用型種のクレードに含まれる。3)雌花部に産卵し幼虫は雄花部に移動する*C. steudnerae*は雄花繁殖型である*C. alocasiae*・*C. colocasiae*と同じクレードに含まれる。



図3 *cristata*種群の系統関係と繁殖パターンおよび寄主植物との関係

(3) タロイモショウジョウバエの訪花・繁殖生態

①寄主選択

従来、寄主選択の種特異性が高いとされてきた1種系(1対1対応)や2種系(2対1対応)でも、新たな寄主が発見され、複数の寄主植物種を訪花するケースがあることがわかった(調査を拡大することによって、さらに例数が増えることが予想される)。今後、複数寄主植物の季節的・地理的使い分けの実態を明らかにすることによって、寄主選択性進化のメカニズムを解明する道が開かれる可能性がある。一方、共通のタロイモショウジョウバエによって訪花される比較的近縁なサトイモ科植物にとっては、かれらが種間交雑を促す花粉媒介者になっている可能性もある。

②同じ寄主植物(クワズイモ)の花を利用

するタロイモショウジョウバエ 2 種系と 3 種系の共存機構

日本の四国南部からインドネシア、インドにまで広く分布するクワズイモの花で繁殖するタロイモショウジョウバエには、2 種系 (*C. alocasiae*, *C. xenalocasiae*: 琉球列島, 台湾, 中国南部) とこの 2 種にさらにもう 1 種を加えた 3 種系 (*C. alocasiae*, *C. xenalocasiae*, *C. sp. aff. stamenicola*: 中国西南部の雲南省西双版纳) が知られている。それぞれの系における構成種の産卵部位を比較すると、2 種系で *C. alocasiae* は雄花部を中心に部分的には中性花~雌花部にも産卵、*C. xenalocasiae* は中性花下部~雌花部に産卵、3 種系では *C. sp. aff. stamenicola* が中性花下部を占有し、*C. alocasiae* はもっぱら雄花部、*C. xenalocasiae* は雌花部に産卵するというほぼ完全な産卵部位の分離が見られた (図 4)。3 種系におけるこの産卵部位の分離が第 3 の種 (*C. sp. aff. stamenicola*) による干渉型競争の結果であるかどうかを検証するために、3 種系個体群で第 3 の種を排除する野外 (エンクロージャ) 実験を行った。その結果、第 3 の種の存否に関わらず、他 2 種の産卵パターンは変わらず、2 種系と 3 種系の *C. alocasiae*, *C. xenalocasiae* 個体群間で見られた産卵パターンの違いは、遺伝的に規定された行動様式の違いによるものと推測される。しかし、3 種系において 2 種系とは異なる産卵行動が進化した要因として、第 3 の種と共存することによる競争による選択が働いた可能性は否定できない。

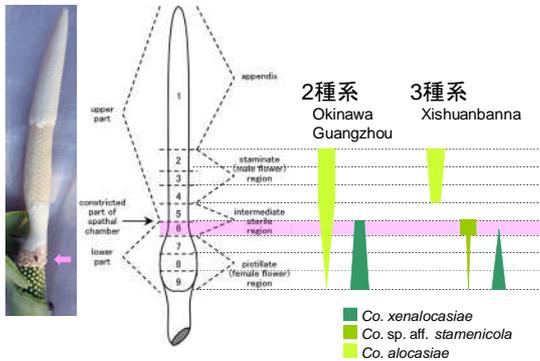


図 4 クワズイモの花で繁殖するタロイモショウジョウバエ 2 種系と 3 種系における産卵部位の比較

③多種系の共存機構

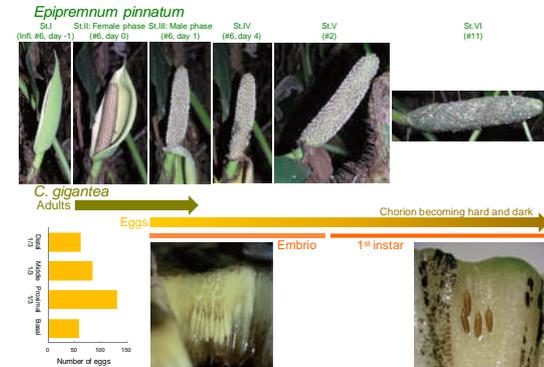
マレーシア・サバ州 (ボルネオ島) のキナバル山周辺では、*baechrii* 種群の 12 種がスキスマトグロツティス連を中心とする 9 種のサトイモ科植物の花を、互いに部分的に共有しながら (1 種の寄主植物を最大 8 種のタロイモショウジョウバエが共有) 利用するという多対多の送粉共生関係が見られた。かれらは、同所的に生えている複数の寄主植物間、同じ寄主植物の季節間および局所集団間で、その利用パターンを互い

に少しずつ変異させて競争を軽減させ、共存していると考えられた。

⑤*gigantea* 種群の訪花・繁殖生態

長い間不明であった、*C. gigantea* の繁殖寄主植物がサトイモ科ホウライショウ亜科の *Epipremnum pinnatum* であることが判明した。

A



B

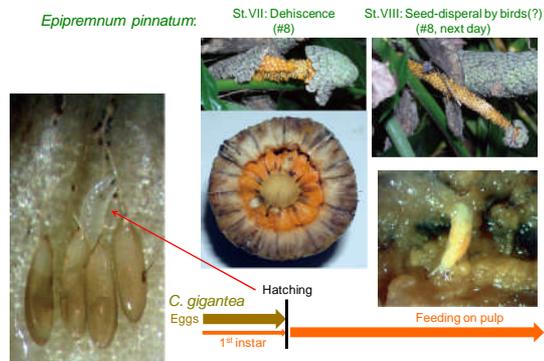


図 5 *Colocasiomyia gigantea* の訪花・繁殖生態。

A: 訪花, 産卵, 胚発生; B: 孵化, 幼虫期

本種の成虫は、*E. pinnatum* の花序が開花するとすぐに訪花し、約 2 日間滞在する (図 5A)。寄主の花序は、両性花が基部から先端までびっしりと配置されており、雌性期 (開花日) には雄蕊は表面から見えず、雌蕊が亀甲模様に非常にコンパクトに並んでいる。翌日になると雄蕊が雌蕊の隙間から伸長し、葯を表面に出し、花粉を分泌する。雌成虫は、寄主の花序が雄性期になると、雌蕊と雌蕊の狭い隙間に導卵突起を挿入し、雌蕊の側面、表面からやや奥まった位置に (しばしば卵塊状に) 産卵する (図 5A)。卵には特徴的な糸状突起があり、その先端は花序の表面近くまで達している (図 5A)。卵殻内で胚発生は非常にゆっくり進行し、約 2 週間かかって初齢幼虫になるが、すぐには孵化しない (他の種群では、産卵後ほぼ 1 日以内に孵化する)。開花後数ヶ月はたったと思われる古い果実序 (Stage VI) を解剖すると、卵殻が固く茶色になり、中に生きた初齢幼虫がいる卵ばかりが見つかる (図 5A)。果実序が成熟し、雌蕊の基部にオレン

ジ色の果肉に包まれた果実ができると、それまで内部をしっかりと包んでいた雌蕊上部層が開裂し、成熟果実が外部に曝される (St. VII, 図 5B)。この時に幼虫が一斉に孵化し、成熟した果肉を食べ始める (図 5B)。実験室条件では、幼虫は 6~9 日で蛹化し、3~8 日で羽化した。

gigantea 種群に属す全ての種は、蔓性のホウライショウ亜科植物の花序・果実序を寄主としている。その繁殖生態は、わかっている限りほぼ *C. gigantea* と同じと推定され、非常に長い卵期 (胚発生期+卵殻内の初齢幼虫期) によって特徴づけられる。タロイモショウジョウバエの他の種群には見られない卵の非常に長い糸状突起は、この期間の卵殻内幼虫の呼吸管として機能するものである。孵化のタイミングは、幼虫の餌となる果肉の成熟に合わせているものと考えられるが、孵化を促す至近要因は、果肉の成熟そのものではない。果実成熟前の St. V-VI の果実序を解剖すると、雌蕊がばらばらにされた直後から、胚発生を完了している卵から次々に幼虫が孵化してくる。多分、コンパクトに密着していた雌蕊がばらばらにされたことによる圧力からの解放か、光の挿入が孵化の刺激になっているものと考えられる。

中国雲南省西部からは、*Rhaphidophora decursiva* の花を 4 種の *gigantea* 種群のハエが利用する系が見つかった。それらには、花序上の産卵部位が異なる 2 つのグループが認められ、一方は *C. gigantea* と同じように花序全体に産卵するが、もう一方の産卵部位は基部に限られていた。後者は、雌蕊の表面に近い部位に産卵し、卵の糸状突起も短い。また、初齢幼虫の孵化も早く、前者のグループとは異なる生活史が類推される。

(4) 沖縄のクワズイモ送粉共生系における開花過程とハエの行動の対応関係

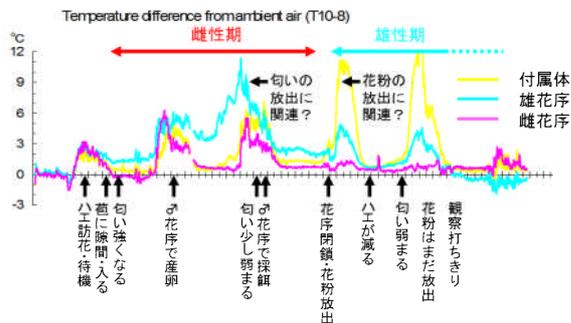


図 6 クワズイモ花序各部位の発熱および開花過程とタロイモショウジョウバエの訪花行動の対応

①発熱：クワズイモの肉穂花序を構成する付属体，雄花部，雌花部の温度変化を熱電

対ロガーで記録し、開花過程ならびにタロイモショウジョウバエの訪花行動と比較した (図 6)。

その結果、[1] 発熱の開始・匂いの放出・ハエの訪花は同調する、[2] 花序全体が周期的に日中発熱する、[3] 付属体は花粉の放出時前後にもっとも発熱し、雄花部は開花初期に発熱する、[4] 花粉の放出後もハエは 2~3 日のあいだ花に滞在し続け、付属体もそのあいだは発熱を繰り返す、ということが明らかになった。

②花蜜：雌性期中性花部でハエが舐めている粘液 (図 7) を二次元薄層クロマトグラフィーで分析すると、アミノ酸およびブドウ糖・果糖・ショ糖と対応するスポットが得られた (図 8)。

中性花から分泌されている粘液は花蜜であり、クワズイモは糖類とアミノ酸を中性花から提供することで送粉者を雌花部付近に誘導し、受粉を促進していると考えられた。クワズイモ属の中性花部分は、雄花よりも花序下部にある雌花に花粉が掛からないように仏炎苞が物理的に遮断 (自家受粉を避けるための雄花と雌花の異所的隔離) する際の分離帯と考えられてきたが、中性花部下部の不稔雄蕊は、送粉者に花蜜を提供するための報酬器官として機能している可能性が高い。

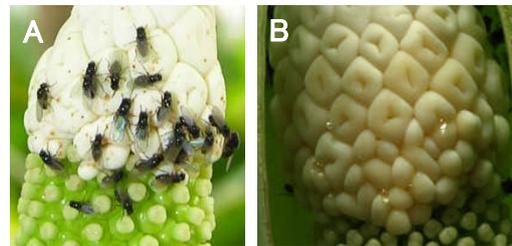


図 7 中性花を舐めるハエ(A)と花蜜(B)

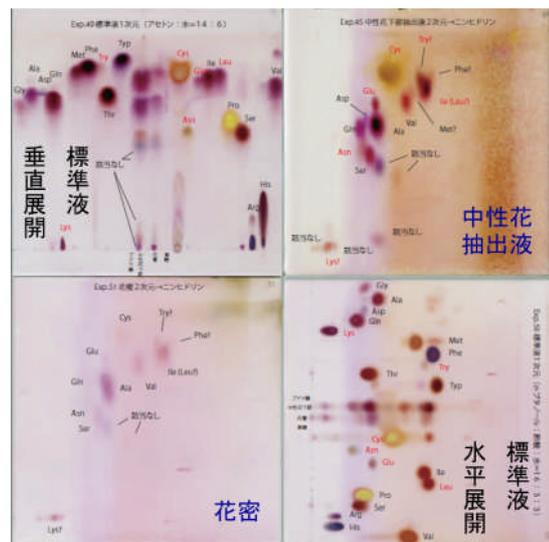


図 8 中性花抽出液・花蜜を二次元薄層クロマトグラフィーで展開しニンヒドリン反応で検出されたスポットをアミノ酸標準液と比較したもの

③雄花部からの採餌行動は、花粉の放出前後に見られ、さらに花序の発熱が見られる日中に同期しているようであった。

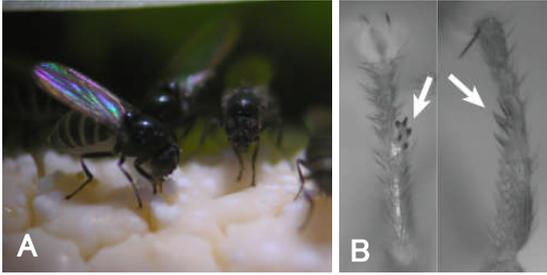


図9 雄花表面から採餌するタロイモショウジョウバエと前脚第2附節の棘

④匂い：サトイモ科植物では花の香りが送粉者を誘引する重要な要因であると考えられているが、訪花後の昆虫を適切な時期に適切な部位に誘導する花序の分業体制は明らかになっていない。付属体・雄花部・仏炎苞上部・仏炎苞下部ごとに、開花初期－開花中期－開花後期に分けて匂いの採取を行った。今後 GC-MASS で分析し、標品が手に入る物質であれば、タロイモショウジョウバエに対する誘因効果をバイオアッセイする予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① Takenaka Takano, K., Repin, R., Mohamed, D. M. B., Toda, M. J. Pollination mutualism between two taxonomically undescribed *Colocasiomyia* species (Diptera: Drosophilidae) and their host, *Alocasia macrorrhizos* (Araceae), in Sabah, Borneo. *Plant Biology*, 査読有, 2012, doi:10.1111/j.1438-8677.2011.00541.x
- ② Toda, M. J., Lakim, M. B. Genus *Colocasiomyia* (Drosophilidae: Diptera) in Sabah, Bornean Malaysia: High species diversity and use of host aroid inflorescences. *Entomological Science*, 査読有, Vol.14, No.3, 2011, pp.262-270
- ③ Takenaka Takano, K., Suwito, A., Gao, J.-j., Yin, J.-t. Molecular phylogeny of the *crinata* species group of the genus *Colocasiomyia* (Diptera: Drosophilidae). *Low Temperature Science*, 査読有, Vol.69, 2011, pp.19-28

[学会発表] (計4件)

- ① 戸田正憲, 同じ寄主植物(クワズイモ)の花を利用するタロイモショウジョウバエ2種系と3種系における行動・繁殖生

態の比較, 日本昆虫学会第71回大会,

2011年9月18日, 信州大学(松本市)

- ② 高野(竹中)宏平, タロイモショウジョウバエとサトイモ科植物の送粉共生. ワークショップ「ショウジョウバエ研究のいまとこれから—特に, キイロショウジョウバエ以外の研究に注目して—」, 2010年9月23日, 北海道大学(札幌市)
- ③ 高野(竹中)宏平, クワズイモの中性花は送粉者への報酬器官であった: 開花時には花蜜を分泌し開花後には腐って幼虫の餌となる, 第57回日本生態学会大会, 2010年3月16日, 東京大学(東京都)
- ④ 高野(竹中)宏平, サトイモ科植物とタロイモショウジョウバエの送粉共生: 特にクワズイモが送粉者に提供する報酬(餌物質)について, 2009年度長崎県三学合同例会, 2009年12月19日, 長崎大学(長崎市)

[図書] (計1件)

- ① 高野(竹中)宏平, 文一総合出版, 種生物学研究第35号 種間関係の生物学: 共生・寄生・捕食の新しい姿 (第8章 サトイモ科植物とタロイモショウジョウバエの送粉共生). 2012, 195-216

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸田 正憲 (TODA MASANORI)

北海道大学・低温科学研究所・教授

研究者番号: 40113592

(2) 研究分担者

片桐 千仞 (KATAGIRI CHIHIRO)

北海道大学・低温科学研究所・助教

研究者番号: 90002245

(平成21年度)

高野 宏平 (TAKANO KOHEI)

総合地球環境学研究所・研究部・プロジェクト研究員

研究者番号: 40448501

研究者番号: 40448501

(3) 連携研究者

なし