

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2007年度～2008年度
 課題番号：19370012
 研究課題名(和文) 送粉シンドロームのシフトに関する実験進化生態学的研究:キスゲとハマカンゾウを例に
 研究課題名(英文) Experimental evolutionary ecology of a pollination syndrome shift in *Hemerocallis citrina* and *H. fulva*

研究代表者
 矢原 徹一 (YAHARA TETSUKAZU)
 九州大学・大学院理学研究院・教授
 研究者番号：90158048

研究成果の概要：

夜咲き種キスゲ(夜咲き／黄色い花／甘い花香)と昼咲き種ハマカンゾウ(昼咲き／赤い花／花香なし)の花形質の違いは少数の主要遺伝子の支配によること、また、送粉者が花香よりも花色を頼りに訪花することが明らかになった。昼咲き種から夜咲き種の進化は、突然変異により開花時間が昼から夜に変化し、送粉者の花色への選好性が淘汰圧として働き、蛾の誘引をより強めるために花香の突然変異が起きたのではないかと考えられる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,300,000	2,190,000	9,490,000
2008年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
年度			
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

研究分野：生態・環境

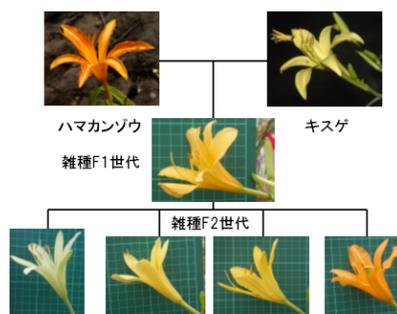
科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：種分化、キスゲ、ハマカンゾウ、送粉シンドローム、時間的隔離、*Hemerocallis*、適応進化、適応度の谷

1. 研究開始当初の背景

動物媒の花は、特定の動物に対して適応した一群の形質を持つ。たとえば主にアゲハ類に送粉されるハマカンゾウ(図：左側)は、朝に開花、夕方に閉花し、アゲハ類が好むと言われる赤い花をつけ、花香はほとんどない。花は上向きに開き、めしべが長く、花筒が短い。一方、スズメガ類に送粉されるキスゲ(図：右側)は、夕方に開花、朝に閉花し、匂いのある黄色の花をつける。花は横向きに開き、めしべはより短く、花筒が長い。これら2種間の開花時間・色・匂い・形態の違いは、アゲハ類またはスズメガ類を誘引し、これらに効率よく送粉されるように適応進化した結果で

あると考えられる。このような一群の花形質は、送粉シンドロームと呼ばれ、各形質は相互に協調して機能することによって、送粉成功を高めている。



送粉シンドロームはいくつもの形質が組織化され、協調して機能する系なので、対照的な送粉シンドローム間のシフトは一見困難に見える。たとえばキスゲ属では、アゲハ媒シンドロームからスズメガ媒シンドロームが進化したと考えられるが、両者の中間の状態では、適応度は低いだらう。このような送粉シンドローム間の進化的シフトは、いったいどのようにして実現したのだろうか。本研究は、この問題を解くことを通じて、「適応進化は微小な遺伝的変化の累積によって生じる」という進化生態学の伝統的な仮定を再検討する。

Schemske と Bradshaw の *Mimulus* 属を用いた研究は、雑種第2世代を育成し、種差の原因遺伝子の特定を進める一方で野外実験を行うことで同様の問題に挑戦している。ただし、*Mimulus* 属の2種は、花色と花形態が異なるだけである。一方、ハマカンゾウとキスゲはこれらに加え、花の匂いと開花時間に対照的な違いがある点がユニークであり、マクロ突然変異の組み合わせによる適応進化を研究する系としては、*Mimulus* 属より優れている面がある。キスゲ属植物のキスゲとハマカンゾウを用いて、これまでに F1、F2 雑種が計 500 個体ほど育成されており、また F1 雑種の蕾で発現されている mRNA 情報を含んだ EST ライブラリーも作成されている。そのため、開花時間・花色・花香の3形質の全てについて F2 における分離パターンを調べ、著しい種差の原因遺伝子を特定し、さらには両親種に雑種を混ぜた進化の初期状態を模した野外実験を行うことも可能である。EST ライブラリーにより、開花時間・花色・花香に関わる遺伝子の情報が 80 以上得られており、種差をもたらす発現調節系の解明も可能である。この解明が進めば、エコゲノミクス分野での画期的な成果となり、*Mimulus* 属の研究を凌駕できるだろう。

2. 研究の目的

ハマカンゾウは昼間に開花し、赤い花をつけ、花香はなく、主としてアゲハチョウ類に送粉される。キスゲは夜間に開花し、黄色い花をつけ、花香を持ち、主としてスズメガ類に送粉される。本研究の目的は、(1) 対照的な2種の花形質の違いがどのような遺伝的基礎に基づくかを明らかにすること、(2) 形質が分離した F2 個体の送粉成功率を調べ、各花形質への送粉昆虫による淘汰圧を評価すること、(3) 昼咲き種からの夜咲き種の進化を説明可能なモデルの作成、(4) 受粉実験による遺伝的不和合性の解明などを総合して、昼咲き種から夜咲き種への種分化機構を解明することである。

3. 研究の方法

(1) 花形質の違いの遺伝的基礎

花形質の違いの基礎となる主要遺伝子の存在とその数を明らかにするために、両親種と F1、F2 雑種の表現型を調べ、特に F2 雑種における花形質の分離パターンを調べた。さらに、それらの主要遺伝子を特定するために、F1 の蕾から作成した EST ライブラリーに含まれる cDNA 配列の情報を解析した。

①開花時間について

デジタルビデオカメラで 15 分間隔のインターバル撮影を行い、開花の様子を記録した。

②花色について

液体高速クロマトグラフィでアントシアニン色素を同定し、その後分光光度計で色素の有無と量を測定した。EST ライブラリーにアントシアニン合成系の遺伝子が全て含まれており、種差の原因となる遺伝子を特定するために、発現解析を行った。カロテノイドは、先行研究と EST ライブラリーの情報を元に、解析を行った。

③花香について

ガスクロマトグラフィで花香成分を調べた。

(2) アゲハチョウ類とスズメガ類の花色・花香への選好性

ハマカンゾウ 24 個体に F2 雑種 12 個体を混ぜた実験集団を野外に設置し、送粉者の訪花行動をデジタルハイビジョンカメラで撮影した。F2 雑種は花色と花香が分離しているため、送粉者の選好性における花色と花香の相対的重要性を調べることが可能である。

(3) 時間的隔離の数理モデル

開花時間・花色・花香のうち、昼咲き種から夜咲き種への進化において、開花時間が最も重要だったと考えられる。開花時間にだけで生殖隔離が成り立つかを調べるために、開花時間が異なる 2 植物間での遺伝子流動の数理モデルを作成した。

(4) 遺伝的不和合性の進化

キスゲとハマカンゾウ間には、F1 が生まれる種間交雑時に非対称的な生殖隔離があることが分かっている(キスゲ花粉親×ハマカンゾウ母親の場合にだけ稔性が低下する)。授粉実験を行い、F1 を生み出す種間交雑に引き続く、戻し交雑時の種子稔性を遺伝的不和合性の指標として調べた。

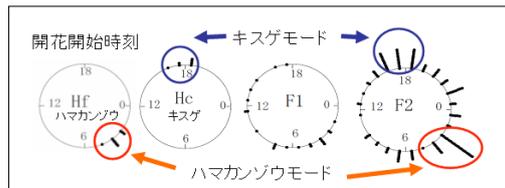
4. 研究成果

(1) 花形質の違いの遺伝的基礎

①開花時間について

F1・F2 世代における開花時間の変異を解析し、開花開始と閉花開始が別の主要遺伝子の制御を受けていることを明らかにした。開花開始に関しては、下図のように、F1 世代において表現型が著しく可塑的であり、同じ個体の中でもさまざまな時間に開花すること

がわかった。この結果から、開花開始遺伝子は、サーカディアンリズムの振動子による転写制御を受け、ヘテロ接合体である F1 世代では、午前に増える振動子と午後を増える振動子の両方が転写誘導を行なうため、開花開始がばらつくというモデルを提唱した。ヘテロ接合体におけるこのような開花時間の可塑性は、昼咲き集団において夜咲き型対立遺伝子が生じた場合に、変異型が野生型（昼咲き）と交配する機会を失わないことを示唆し、夜咲きの進化を考えるうえで重要な発見となった。



②花色について

ハマカンゾウの花は、アントシアニンであるデルフィニジンを持つが、キスゲの花ではデルフィニジンが生産されない。F1・F2 世代における色素量の分離比から、デルフィニジン生産に関しては2つの主要遺伝子の関与が示唆された。これらの遺伝子を特定するために、キスゲ・ハマカンゾウ・F2 雑種の花から mRNA を抽出し、アントシアニン合成系の酵素遺伝子、転写因子の発現を比較した。

ハマカンゾウの花は、カロテノイドであるルテイン、ゼアキサントンを持つが、キスゲの花では両者が生産されない。この違いに関与する候補遺伝子として、リコペンβシクラーゼおよびβカロテンヒドロキシラーゼの遺伝子の配列をESTから得た。

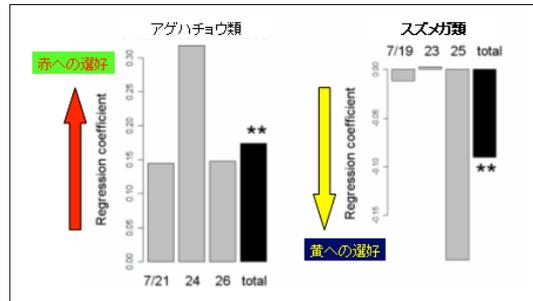
③花香について

ハマカンゾウとキスゲ、F1、F2 雑種の花香成分をガスクロマトグラフィで調べた結果、リナロール、インドール、α-ファルネセンがキスゲ特異的成分であることが判明した。特にリナロールは一般的な蛾媒花特有の花香成分として知られる。このリナロール生産に関与する候補遺伝子としてモノテルペン合成酵素遺伝子の配列をESTから得た。

(2)アゲハチョウ類とスズメガ類の花色・花香への選好性

ハマカンゾウとF2 雑種からなる野外実験集団を用いて、アゲハチョウ類とスズメガ類の訪花行動を観察し、花色・花香形質を説明変数とする一般化線形モデルにより、両者の花色・花香への選好性を調べた。F2 雑種では花色・花香形質が独立に分離しているため、両者の単独効果を評価できた。左図のように、アゲハチョウ類は赤色に、スズメガ類は黄色に対して、有意な選好性を示した。しかし、両者とも、花香に対しては、有意な選

好性を示さなかった。花香は、遠距離から群落に誘引するうえでは効果があるが、近距離での花選択には影響しないと考えられる。この結果から、昼咲き種から夜咲き種への進化の初期過程において、花香よりも花色の変化が重要だったことが示唆された。



(3) 時間的隔離の数理モデル

開花時間の違いが種間の花粉流動にどのような影響を与えているのかを調べるために、開花時間が異なる2種間の花粉流動について数理モデルを作成した。送粉者の活動時間帯が1種の花のみが咲いている時期(A)と2種の花が咲いている時期(B)の2つから成るとする。送粉者は単位時間あたり一定の率で花間を移動し、(B)でどちらの花に訪花するかは2種の花数の相対頻度で決まると仮定した。また送粉者に付着した花粉は直前に訪れた花の花粉に全て置き換えられ、どちらの花粉で授粉されるかは2種それぞれの花粉を持つ送粉者の相対頻度で決まるとした。その結果、(A)-(B)の順と(B)-(A)の順のどちらでも、交雑の発生におおきな影響を与える要因は、2種の花数の相対頻度と、先行する時期にどれだけの花が受粉されるかの2つであった。

(4) 遺伝的不和合性の進化

F1 に至る交雑過程では非対照的な果実稔性の低下（キスゲ花粉親×ハマカンゾウ母親の場合にだけ稔性が低下する）があるが、戻し交雑においては、対照的な果実稔性の低下が生じることを明らかにし、Dobzhansky-Muller 型の交雑不和合性因子の存在を示唆した (Yasumoto & Yahara, 2008)

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 2 件)

Yasumoto AA, Yahara T (2008) Reproductive isolation on interspecific backcrosses of F1 pollen to parental species, *Hemerocallis fulva* and *H. citrina* (Hemerocallidaceae) Journal of Plant Research, The Botanical Society of Japan, 121:

287-291. 査読有

矢原徹一 (2007) 「花香と花色 : キスゲとハマカンゾウの種差の遺伝的背景を探る(第 6 回日本植物分類学会賞受賞記念論文)」分類、7: 93-110. 査読無

[学会発表] (計 11 件)

Nitta K, Yasumoto AA, Yahara T "Variation of flower opening time and flower closing time in F1 and F2 hybrids between *Hemerocallis fulva* and *H. citrine*", 25th Symposium in Plant Biology, Riverside, 2009.1.29-31

廣田峻, 新田梢, 川窪伸光, 安元暁子, 矢原徹一 「アゲハ類とスズメガ類の花色・花香への選好性—キスゲとハマカンゾウの F1・F2 雑種を用いた野外実験」第 40 回種生物学シンポジウム、茨城、2008 年 12 月 5-7 日

矢原徹一, 廣田峻, 新田梢, 安元暁子 「昼咲きから夜咲きへの進化: F2 雑種を使った野外実験と EST による候補遺伝子探索」日本進化学会第 10 回大会シンポジウム『適応進化を支えた遺伝基盤』東京、2008 年 8 月 22-24 日

新田梢, 坂口祐美, 安元暁子, 矢原徹一 「キスゲにおける花色の進化: 雑種 F2 世代の表現型と EST を用いた候補遺伝子の探索」日本進化学会第 10 回大会、東京、2008 年 8 月 22-24 日

松本知高, 安元暁子, 矢原徹一, 舘田英典 「開花時間が異なる 2 植物間での遺伝子流動のモデル化」日本進化学会第 10 回大会、東京、2008 年 8 月 22-24 日

新田梢, 安元暁子, 矢原徹一 「夜咲き種キスゲと昼咲き種ハマカンゾウから開花時間の遺伝的基礎に迫る」第 55 回日本生態学会大会、企画集会『時を操る遺伝子の分子機構と生殖隔離』福岡、2008 年 3 月 15 日

廣田峻, 新田梢, 金潤姫, 加藤彩, 川窪伸光, 安元暁子, 矢原徹一 「送粉昆虫による花形質の選択—ハマカンゾウとキスゲの F1・F2 雑種を使った野外実験」第 55 回日本生態学会大会、福岡、2008 年 3 月 15 日

廣田峻, 新田梢, 金潤姫, 加藤彩, 川窪伸光, 安元暁子, 矢原徹一 「送粉昆虫による花

形質の選択—ハマカンゾウとキスゲの F1・F2 雑種を使った進化生態学的研究」第 458 回九州支部・地区合同例会(日本動物学会, 日本植物学会, 日本生態学会)、福岡、2007 年 12 月 8 日

新田梢, 安元暁子, 矢原徹一 「キスゲとハマカンゾウの送粉適応と生殖隔離」日本進化学会第 9 回大会シンポジウム『適応的分化と生殖隔離』、京都、2007 年 9 月 2 日

新田梢, 安元暁子, 矢原徹一 「開花時間の遺伝的基礎を探る□ キスゲ属雑種 F2 の開花パターン」三学会合同大会(日本生態学会 52 回) 福岡、2007 年 5 月 20 日

安元暁子・新田梢・矢原徹一 「キスゲとハマカンゾウでは花粉管の伸長パターンが異なる」九州支部・地区合同大会(日本動物学会{第 60 回}, 日本植物学会{第 57 回}, 日本生態学会{第 52 回}), 福岡、2007 年 5 月 20 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢原 徹一 (YAHARA TETSKAZU)
九州大学・大学院理学研究院・教授
研究者番号: 90158048

(2) 研究分担者

川窪 伸光 (KAWAKUBO NOBIMITSU)
岐阜大学・応用生物科学部・准教授
研究者番号: 60204690

陶山 佳久 (SUYAMA YOSHIHISA)
東北大学・農学研究科・准教授
研究者番号: 60282315

舘田 英典 (TATSIDA HIDENORI)
九州大学・大学院理学研究院・教授
研究者番号: 70216985
2007 年度

(3) 連携研究者

舘田 英典 (TATSIDA HIDENORI)
九州大学・大学院理学研究院・教授
研究者番号: 70216985
2008 年度