

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：32641

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21305

研究課題名（和文）品種間差異を利用したハスの花の発熱・恒温性機能の解明

研究課題名（英文）Exploring the thermogenic and thermoregulatory functions of lotus flowers using interspecific differences.

研究代表者

高田 まゆら（Takada, Mayura）

中央大学・理工学部・教授

研究者番号：10466807

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：「ハス花の発熱が訪花昆虫を誘引し結実率を高める」という仮説を検証するために行った自動撮影カメラでのハス花の訪花昆虫の撮影を含む複数の野外実験・室内実験の結果、発熱器官である花托の一部切除による発熱の程度の低下は雄蕊の開薬率を低下させること及び訪花昆虫を減少させることが示唆され、また雄蕊の十分な開薬には30度以上という高い温度が必要であることがわかったことから、ハス花の発熱・恒温性は開花2日目早朝という適切なタイミングで雄蕊を開薬させ、訪花昆虫を誘引する役割を持つことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界でもごく稀な花の発熱・恒温性の機能および進化メカニズムについて、「ハスの発熱・恒温性は雄蕊の開薬を促進し、その結果訪花昆虫の誘引に寄与する」という新たな仮説を提唱し、それを実験的に検証するために必要な、野外でハスの発熱の程度を操作することに成功した。さらに、園芸学の手法・技術を活かした生態学的研究という新たな研究分野の開拓の一歩となった。

研究成果の概要（英文）：Several field and laboratory experiments including insect visitation analysis of lotus flowers photographed by an automatic camera were conducted to test the hypothesis that "thermogenesis and thermostability of lotus flowers attracts pollinator insects and increases fruiting rate". A reduction in the degree of heat production by partial excision of the heat-generating organ, the receptacle, reduces the anther dehiscence rate and the number of flower-visiting insects. High temperature of 30 or higher is required for sufficient anther dehiscence, suggesting that the thermogenesis and thermostability of lotus flowers play a role in attracting pollinators by releasing pollen at an appropriate time in the early morning of the second day of flowering.

研究分野：生態学

キーワード：送粉共生系 花の発熱 画像解析 自動撮影 深層学習 物体識別

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ハスは、花托と呼ばれる花の中心部分が発熱し、開花前日から約3日間30度から35度の間に昼夜問わず維持される「恒温性」という機能を持つ。自ら発熱する植物は幅広い分類群で確認されているが、外気温が低いと発熱し高すぎると放熱することで一定の温度幅に維持する恒温性を持つ植物は極めて稀である。ハスの発熱・恒温性は訪花昆虫を花に誘引し送粉を促すためであると考えられているが、研究例は非常に限られておりその因果関係はよくわかっておらず、またこの機能を維持する分子機構や遺伝的背景等も不明である。

一方ハスは観賞用(花ハス)や食用(レンコン)として広く栽培されている重要な園芸植物の一つであることから、園芸学的研究は活発に行われており、最近では中国古代ハスの全ゲノム配列が解読された。東京大学大学院農学生命科学研究科附属生態調和農学機構(以下生態調和機構)では、花ハスの研究・教育を目的とし、古代種を含む野生種から極端な形質を持つ園芸品種まで幅広く約300品種のハスが栽培されている。これらの品種は花の形態(一重、八重、千弁咲き)や色がさまざまであり、熱が発生する花托のサイズにもばらつきがあることから、品種間で発熱や恒温性の程度が異なることが予想された。

2. 研究の目的

本研究では、多数のハス品種を対象に花托の発熱パターンを調べ、品種間での形態的及び遺伝的変異を利用することで、「発熱が訪花昆虫を誘引することで結実率を高める」という仮説の検証及び発熱・恒温性に関与する遺伝子の同定を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

研究対象とする品種選定のためのハスの花形質調査

生態調和機構で栽培されているハス品種から花器官の形態にばらつきを持たせて約30を選び、雄蕊数、雌蕊数、花托の体積、花弁数、各乾重量、花の色、発熱・恒温性の程度といった様々な花形質を調査した。

ハス花の発熱・恒温性と訪花昆虫相及び結実率との関係の検証(担当:高田・郭)

の調査では、品種間で発熱・恒温性の程度に大きな違いは見られなかったため、花托の一部切除・切込みなど花托への操作を行うことで発熱の程度をコントロールできるかどうかを実験的に検証した。また、「ハスの発熱・恒温性は雄蕊の開花を促進し、その結果訪花昆虫の誘引に寄与する」という新たな発熱・恒温性の役割の可能性を野外実験により検証した。さらに、花托操作の有無により発熱の程度をコントロールした花の開花直前に自動撮影カメラ(一眼レフカメラを改造したもの)を設置し、開花約4日の間訪花昆虫類を5秒ごとに撮影した。撮影された昆虫類をなるべく種名まで同定し、花ごとに訪花した昆虫類の種・個体数をデータ化した。ハスの実が十分熟した後、調査対象とした花の結実率(結実数÷雌蕊数)を調べ、訪花昆虫種・個体数-発熱・恒温性程度-結実率」という3つの関係性を検証した。

ハス花の発熱・恒温性に関与する遺伝子の同定(担当:樋口)

ザゼンソウの発熱にはミトコンドリアにおける呼吸活性の上昇が関与しており、シアン耐性呼吸酵素(AOX)や脱共役タンパク質(PUMP)の活性上昇が報告されている。一方で、ハスはこれまで報告がある発熱植物の中で唯一双子葉植物に分類されることから、進化的に遠縁なザゼンソウとは異なる発熱機構が存在する可能性がある。そこで、ハス花托の発熱機構を明らかにするため、開花1日目の花托(発熱)と花弁、雄蕊、雌蕊の花器官、および開花5日目の花托(非発熱)を用いてRNA-seq解析を実施し、花器官における網羅的な遺伝子発現変動を解析すると同時に発熱特異的な発現変動を示す遺伝子群の抽出を試みた。

4. 研究成果

4-1. ハス花の発熱・恒温性と訪花昆虫相及び結実率との関係の検証(Nagai et al. 2022, Kimura et al. in preparation)

発熱器官である花托を開花1日目に切除して花托温度と周辺の気温とを測定したところ、夜間の発熱の程度が未処理の花より3~10度下がる一方、花弁の開閉運動に大きな影響がないことが確認され、花托を処理することでハスの発熱の程度を操作できることが確認された(図1)。次に花托一部切除が

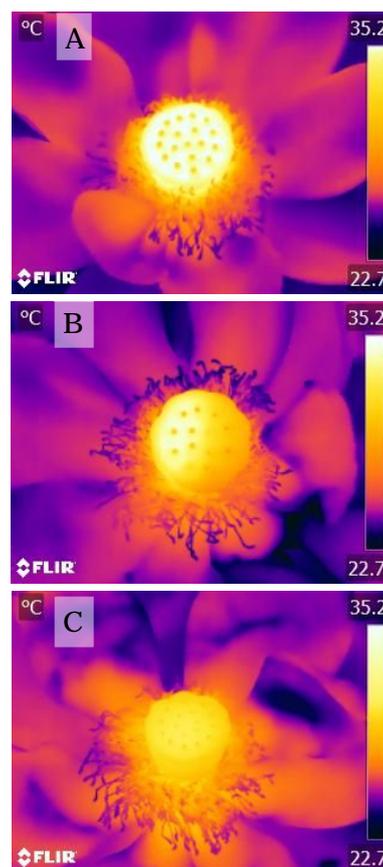


図1 サーモカメラで撮影した、ハスの花托を切除することによる花托温度の変化の様子。A: 対照ハス、B: 花托下1/2切除、C: 花托を上に乗せる操作。

雄蕊の開薬率に与える影響を調べたところ、花托一部切除した花は未処理の花より開薬率が低下することがわかった(図2)。また恒温器を用いて開薬前日の雄蕊を様々な温度に12時間維持し、温度と開薬率の関係を調べたところ、温度の低下に伴い開薬率が低下し、十分な開薬には30度以上の高い温度で維持される必要があった。さらに花托一部切除により訪花昆虫数も減少することが示された。

また、12品種で訪花昆虫の訪花パターンと結実率との関係および気象条件や捕食者の影響を解析したところ、開花2日目の5-7時台のハナバチ類の訪花が結実に有効であることがわかった(図3)。

以上の結果より、ハスの発熱・恒温性は開花2日目早朝という適切なタイミングで雄蕊を開薬させ訪花昆虫を誘引する役割を有することが示唆された。

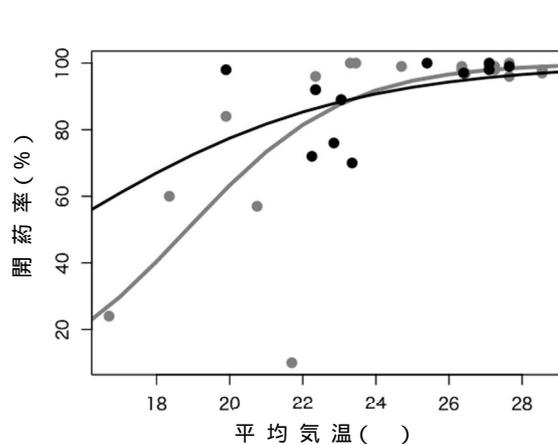


図2 ハスの花托操作の有無による、開花1,2日目平均気温と開薬率の関係。黒は未操作のハス、灰色は花托に操作を行ったハス。

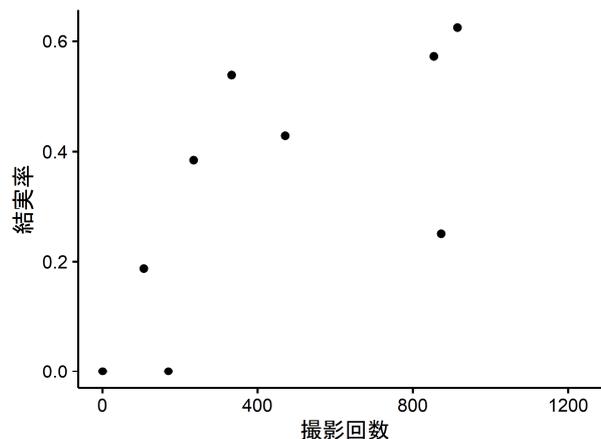


図3 開花2日目5-7時台のハチ類の訪花(撮影)回数とハスの結実率の関係。

4-2. ハス花の発熱・恒温性に関する遺伝子の同定 (Inoue et al. in preparation)

ハスの開花および熟生産時の遺伝子発現ネットワークを包括的に理解するため、ハス花器官の発熱リズム解析とトランスクリプトーム解析を行った。まず2022年と2023年の6月から9月までの開花期において、連続開花性の花ハス品種‘毎葉蓮’(MAYR)を用い、開花数日前から開花5日目までの花托の温度を19サンプルの花について経時的に記録した結果、開花数日前から花托の温度は外気温より高くなり、花弁が完全に脱落する5日目は発熱が終了していることがわかった。この結果を受け、開花1日目の花弁、雄蕊、雌蕊、花托(発熱)と開花5日目の花托(非発熱)をそれぞれサンプリングしてRNAを抽出し、NovaSeq 6000によるRNA-Seq解析を行った(3反復)。その結果、全体で29683遺伝子の発現が検出された。各花器官での発現変動遺伝子(Differentially Expressed Genes; DEGs)の数は最も大きい比較で雄蕊(D1_St)と雌蕊(D1_Pi)の12502個であり、最も少ないのは開花後日数の異なる花托同士(D1_ReとD5_Re)の比較で2380個であった。この花托におけるDEGsに対しGO解析を行ったところ、光合成や呼吸関連のGOが見つかった。発熱時の花托で特異的に発現している遺伝子群のうち、他の発熱植物で発熱への関与が報告されているミトコンドリア電子伝達経路の一つであるシアン耐性呼吸経路、末端酸化酵素のalternative oxidase(AOX)とミトコンドリア内膜に偏在するuncoupling protein(UCP)と高い相同性を示す遺伝子が見つかった。これらの遺伝子と類似の発現パターンを示す遺伝子リストを作成したところ、呼吸関連の遺伝子として解糖系のenolase 1-like、解糖系とクエン酸回路に関与するpyruvate dehydrogenase complex E1、電子伝達系のNADH dehydrogenaseや、動物にも存在する通常の電子伝達経路で機能するcytochrome oxidase(COX)、などの遺伝子が検出された。これら遺伝子について開花時の花托での経時的な遺伝子発現変動を解析した結果、花托温度の経時変化と類似した発現パターンを示したものがあつた。以上の結果より、ハスの発熱に関与すると考えられるNnAOX1、NnUCP1/2を同定し、それらと類似の発現パターンを示す発熱関連の新規候補遺伝子を複数同定することに成功した。

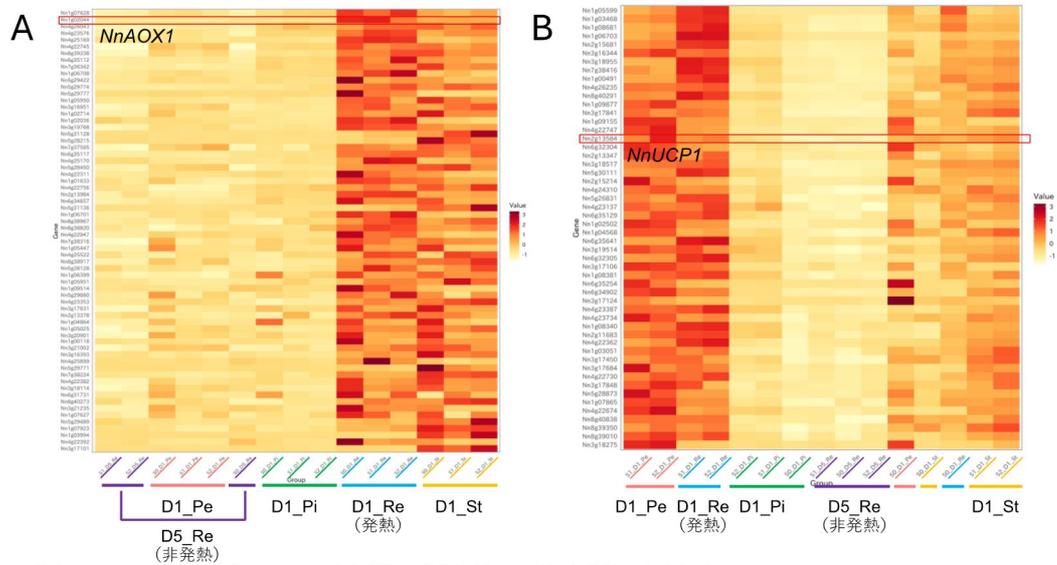


図4. *NnAOX1*および*NnUCP1*と類似の発現パターンを示す遺伝子リスト
 開花1日目と5日目の花托のDEGsとして検出された遺伝子の中で*NnAOX1* (A), *NnUCP1* (B)と類似の発現パターンを示す遺伝子のリストと発現量をヒートマップで示した。D1_Pe: 開花1日目の花弁、D1_Re: 開花1日目の花托、D5_Re:開花5日目の花托、D1_St: 開花1日目の雄蕊、D1_Pi: 開花1日目の雌蕊。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mihoko Nagai, Yohei Higuchi, Yusei Ishikawa, Wei Guo, Tokihiro Fukatsu, Yuki G Baba, Mayura B Takada	4. 巻 12
2. 論文標題 Periodically taken photographs reveal the effect of pollinator insects on seed set in lotus flowers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11051
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-15090-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 木村縁、黒岩由衣、森本大地、永井美穂子、石川祐聖、深津時広、樋口洋平、郭威、馬場友希、高田まゆら
2. 発表標題 ハス花の発熱は訪花昆虫を誘引する？：発熱の程度を操作した野外実験による検証
3. 学会等名 第71回日本生態学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Inoue M, Ishimori M, Takada MB, Higuchi Y.
2. 発表標題 A comprehensive transcriptome-based characterization of genes involved in floral organ formation, thermogenesis, and growth phase transition in <i>Nelumbo nucifera</i> .
3. 学会等名 The 4th Asian Horticultural Congress
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木村縁、黒岩由衣、永井美穂子、石川祐聖、深津時広、樋口洋平、郭威、馬場友希、高田まゆら
2. 発表標題 ハス花の発熱は送粉昆虫を誘因するか？：開葯と温度の関係に注目して
3. 学会等名 第70回日本生態学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Grison, S., Takada, M.B., Higuchi, T., Ishikawa, T., Baba, Y.G., Fukatsu, T., Guo, W.
2. 発表標題 Detecting and Studying Honey Bees Visiting Behavior in Lotus Flowers.
3. 学会等名 The 8th International Horticulture Research Conference. (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

5秒おきの撮影で昆虫の訪花が種子生産に寄与するタイミングが明らかに～ハスの花を用いた実験的検討～
<https://www.chuo-u.ac.jp/aboutus/communication/press/2022/07/61398/>
 中央大・東大・農研機構、昆虫による植物の送粉研究における連続写真撮影の有効性を示す論文を発表
https://www.nikkei.com/article/DGXZRSP636094_Y2A700C2000000/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	樋口 洋平 (Higuchi Yohei) (00746844)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授 (12601)	
研究分担者	郭 威 (Guo Wei) (70745455)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------