

## 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 21日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21370013

研究課題名（和文）協調的送粉形質のシフトに関する実験分子生態学的研究：キスゲ属をモデルに

研究課題名（英文）Molecular and Experimental Ecology in *Hemerocallis*: As a good model to study evolutionary shift of Pollination syndromes

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（和文）：

F2雑種の分離から、ハマカンゾウ（蝶媒）とキスゲ（蛾媒）の開花時間と花色の違いは、主要遺伝子によることを明らかにした。花粉一粒ごとの遺伝子型を決定することに成功し、蝶・蛾の花色に対する選好が、実際に花色への淘汰圧として作用していることを実証した。実証データに基づいて、進化プロセスのシミュレーションを行い、開花時間の違いが自然選択及び生殖隔離の両方に効果のある形質であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We showed that flowering time and flower color of *Hemerocallis fulva*; Pollination by swallowtail butterflies and *H. citrina*; Pollination by hawkmoths were regulated by major loci using segregation of F2 hybrids. We successful for genotyping individual pollen grains, thus we showed that swallowtail butterflies preferentially visited reddish flowers and hawkmoths preferentially visited yellowish flowers. We evaluated the possibility of the evolution by simulation using our genetic and experimental data. We found that flowering time having pleiotropic effects both on natural selection and assortative mating, and promote evolution of *H. citrina* from *H. fulva*.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2010年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2011年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：送粉シンドローム、花色、花香、開花時間、種分化、キスゲ属

## 1. 研究開始当初の背景

生物の種間には、しばしば対照的な適応戦略が見られる。これらの適応戦略は、複数の形質セットの協調的作用によって実現している。最近では、協調的にはたらく適応形質の進化的シフトには、主要遺伝子による不連続的な形質の変化が関与したことを示す証拠が増えてきた。しかし、複数の形質が協調的にはたらく場合、単一の形質の変化は一般

的には適応度を低下させる。このような「適応度の谷」をこえて、適応形質の進化的シフトが起きる機構は、未解決の課題である。

## 2. 研究の目的

蝶媒に適応したハマカンゾウと蛾媒に適応したキスゲを用いて、協調的にはたらく適応形質のセットが、ある状態から他の状態へと進化的にシフトする機構を解明する。

### 3. 研究の方法

ハマカンゾウとキスゲのF2雑種を用いて、遺伝学・生態学・分子生物学的アプローチを統合した研究を行った。

(1) 花形質の遺伝的基礎を明らかにするために、F2雑種集団を用いて、遺伝学・分子生物学的実験を行った。

①F2雑種集団の開花時間・花色の分離パターンを解析した。

②花色の遺伝的基礎を明らかにするために、アントシアニン色素の有無に注目し、アントシアニン色素合成経路の酵素遺伝子の解析を行った。アントシアニン色素の有るハマカンゾウと、色素の無いキスゲについて、アントシアニン色素合成経路の酵素遺伝子の配列比較を行った。さらに、これらの遺伝子について、発現量の比較を行った。特に平成23年度は、発現量の定量をより正確に行うため、リアルタイム定量RT-PCRを行った。

(2) F2雑種個体を用いて、野外で自然淘汰プロセスの実証研究を行った。

①平成21年度は、ハマカンゾウ24株F2雑種12株の混生集団で、訪花された株を交換して実験を行った。

②平成22年度には、ハウス内で、訪花経験を持たない羽化直後のアゲハチョウ類を用いて実験を行った。

③平成21年度の結果から、スズメガは蜜報酬があり、かつ集団中で優占する花色を嗜好するという仮説を立て、平成23年度は、ハマカンゾウ12株とF2雑種24株の混生集団におけるスズメガの訪花実験を行った。

(3) これまでの遺伝学的解析と野外実験の実証データにもとづいて、ハマカンゾウからキスゲへの進化プロセスのシミュレーションを行った。開花時間を決定する遺伝子座を2つ、誘引形質(花色)を決定する遺伝子座を1つとした。昼にアゲハチョウ、夜にスズメガが訪花するとし、雑種の開花時間の割合は、実証データ(Nittta et al. 2010)にもとづいて推定した。送粉者の選好性は、花色の遺伝子型に依存するとした。

### 4. 研究成果

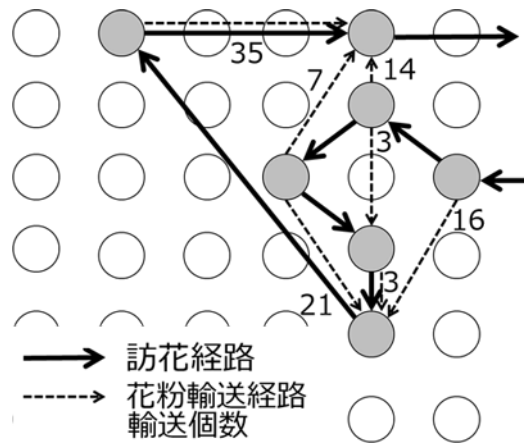
(1) ハマカンゾウとキスゲの花形質、特に開花時間と花色の違いは、主要遺伝子によることが明らかになった。

①F2雑種の分離解析から、開花時間については、2つの主要な遺伝子で支配されることを明らかにした。花色については、アントシアニン色素の有無について、1つの主要な遺伝子で支配されることを明らかにした。

②アントシアニン色素の無いキスゲの花弁では、F3'H, ANS, 3GT, RTの発現量が少ないこと

が明らかになった。この結果から、花色の進化には調節遺伝子が関与したと考えられる。

(2) 野外実験により、自然淘汰プロセスの実証データを得た。さらに、めしべ上の花粉を回収し、一花粉粒PCRにより花粉の遺伝子型を決定することに成功した。この技術により、訪花に伴う花粉の輸送を観察し(図1)、アゲハチョウ類・スズメガ類の花色に対する選好が、花色に対する淘汰圧として実際に作用し



ていることを実証した。

図1 アゲハチョウによる送粉の一例

①平成21年度にハマカンゾウ24株F2雑種12株の混生集団で訪花された株を交換した場合、スズメガは赤花選好を示す結果が得られた。スズメガ類は野外では黄花を好むが、赤花個体が多い実験集団では、黄花に対して赤花を嗜好することを明らかにした。

②平成22年度にはハウス内で、訪花経験を持たない羽化直後のアゲハチョウ類を用いて実験を行った結果、アゲハチョウ類は生得的に黄花に対して赤花を嗜好することを明らかにした。

③平成23年度は、ハマカンゾウ12株とF2雑種24株の混生集団を用いてスズメガ類の選択圧を測定した。その結果、花色に選好性はみられなかった。これは中間的な花色の花が全体の1/3を占めたためと考えられる。

(3) シミュレーションの結果、ハマカンゾウが固定した集団からキスゲ集団の進化及び維持が、同所的な条件であっても十分に可能であることが明らかになった(図2)。特に開花時間の違いが自然選択及び生殖隔離の両方に効果のある形質であることが明らかになり、ハマカンゾウ、キスゲ間の種分化にこの形質が重要な役割を果たしていた可能性が示唆された。

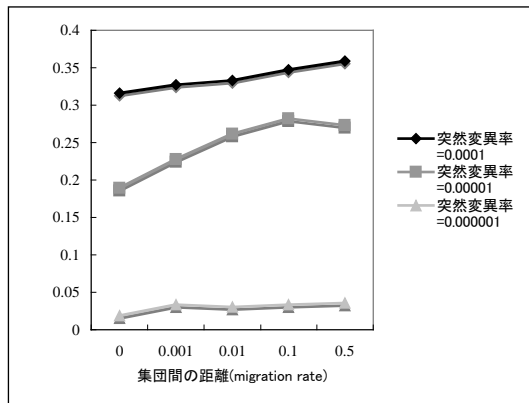


図2 集団間の距離と進化が起こる確率

## 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8件)

- ①Hirota SK, Nitta K, Kim Y, Kato A, Kawakubo N, Yasumoto AA, Yahara T., Relative role of flower color and scent on pollinator attraction: experimental tests using F1 and F2 hybrids of daylily and nightlily., PLoS ONE, 査読有, 2012, Accepted
- ②Tanaka A, Ohtani M, Suyama Y, Inomata N, Tsumura Y, Middleton BA, Tachida H and Kusumi J., Population genetic structure of a widespread coniferous tree *Taxodium distichum* [L.] Rich. (Cupressaceae) in the Mississippi River Alluvial Valley and Florida., Tree Genetics and Genomes, 査読有, 2012, Accepted
- ③Yokota S and Yahara T., Pollination biology of *Lilium japonicum* var. *abeanum* and var. *japonicum*: evidence of adaptation to the different availability of diurnal and nocturnal pollinators., Plant Species Biology 査読有, vol.27, 2012, pp.96-105
- ④Nitta K, Yasumoto AA, and Yahara T., Variation of flower opening and closing times in F1 and F2 hybrids of daylily (*Hemerocallis fulva*; Hemerocallidaceae) and nightlily (*H. citrina*)., American Journal of Botany, 査読有, vol. 97, 2010, pp. 261-267
- ⑤Yahara T., Donoghue M, Zardoya R, Faith D, and Cracraft J., Genetic diversity assessments in the century of genome science, Current Opinion in Environment Sustainability, 査読有, vol. 2, 2010, pp. 43-49
- ⑥Yoshida T, Nagai H, Yahara T., Tachida H., Genetic structure and putative selective

sweep in the pioneer tree, *Zanthoxylum ailanthoides*, Journal of Plant Research, 査読有, vol. 123, 2010, pp.607-616

- ⑦Miyake K, Miyake T, Terachi T, and Yahara T., Relative fitness of females and hermaphrodites in a natural gynodioecious populations of wild radish, *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae): comparison based on molecular genotyping., Journal of Evolutionary Biology, 査読有, vol. 22, 2009, pp.2012-2019
  - ⑧Toyama H and Yahara T., Comparative phylogeography of two closely related *Viola* species occurring in contrasting habitats in the Japanese archipelago., Journal of Plant Research, 査読有, vol. 122, 2009, pp.389-401
- [学会発表] (計15件)
- ①Hirota SK, Nitta K, Suyama Y, Kawakubo N, Yasumoto AA, Yahara T., Both butterflies and hawkmoths mediate selection on red flower color against yellow: evidence from genotyping individual pollen grains on the stigma., The 5th EAFES International Congress, 2012年3月19日, 龍谷大学瀬田キャンパス
  - ②Hirota SK, Nitta K, Suyama Y, Kawakubo N, Yasumoto AA, Yahara T., Butterflies and hawkmoths mediate selection on floral traits: evidence from genotyping individual pollen grains on the stigma., Conservation and Sustainable Use of Pollinators: towards Global Assessments, 2012年1月27-29日, 九州大学箱崎キャンパス
  - ③松本知高, 安元暁子, 新田梢, 廣田峻, 矢原徹一, 舘田英典, 夜咲きの進化～ハマカンゾウとキスゲに関する理論的研究～、第43回種生物学シンポジウム(招待講演)、2011年12月10日、富士 Calm
  - ④廣田峻, 新田梢, 陶山佳久, 川窪伸光, 安元暁子, 矢原徹一, アゲハもスズメガも赤花を選択する? : 花粉一粒ジェノタイプングを用いた送粉成功評価、第43回種生物学シンポジウム、2011年12月10日、富士 Calm
  - ⑤Matsumoto T, Yasumoto AA, Nitta K, Hirota SK, Yahara T., Tachida H., Evolution of sphingophily: a case study of *Hemerocallis* species., SMBE 2011(国際分子進化学会議), 2011年7月27日, 京都大学吉田キャンパス
  - ⑥Nitta K, Murai Y, Sakaguchi Y, Ozeki Y, Yasumoto AA, Iwashina T, Rausher MD, Yahara T., Genetic basis of flower

anthocyanins: flower color evolution in daylily (*Hemerocallis fulva*) and nightlily (*H. citrina*)., SMBE 2011(国際分子進化学会議), 2011年7月27日, 京都大学吉田キャンパス

- ⑦ 新田梢, 廣田峻, 安元暁子, 矢原徹一, キスゲ属における送粉シンドロームに関する花形質の遺伝的基礎, 第58回日本生態学会大会(招待講演), 2011年3月9日, 札幌コンベンションセンター
- ⑧ 廣田峻, 新田梢, 陶山佳久, 川窪伸光, 安元暁子, 矢原徹一, アゲハを介した送粉過程: 花粉1粒 DNA 解析を用いた各花形質の送粉貢献度の測定, 第58回日本生態学会大会, 2011年3月9日, 札幌コンベンションセンター
- ⑨ 廣田峻, 新田梢, 陶山佳久, 川窪伸光, 安元暁子, 矢原徹一, アゲハ媒における各花形質の送粉貢献度: 花粉1粒 DNA 解析を用いた実測, 第42回種生物学シンポジウム, 2010年12月11-12日, 京都大学理学研究科セミナーハウス(京都府)
- ⑩ Nitta K, Sakaguchi Y, Mishima M, Ozeki Y, Yasumoto AA, Yahara T., Genetic basis of flower color evolution in daylily (*Hemerocallis fulva*) and nightlily (*H. citrina*)., the 26th International Prize for Biology, 2010年12月7-8日, つくば国際会議場
- ⑪ 新田梢・坂口祐美・三島美佐子・小関良宏・安元暁子・矢原徹一, キスゲとハマカンゾウにおける花色の違いの遺伝的背景, 第57回日本生態学会大会[ポスター賞(進化分野)優秀賞受賞], 2010年3月17日, 東京大学(駒場)
- ⑫ 廣田峻・新田梢・陶山佳久・川窪伸光・安元暁子・矢原徹一, アゲハとスズメガによる花色・花香の選択: 花粉一粒PCRを用いた実測, 第57回日本生態学会大会, 2010年3月16日, 東京大学(駒場)
- ⑬ 新田梢・坂口祐美・三島美佐子・小関良宏・安元暁子・矢原徹一, 花色の違いの遺伝的背景を探る: キスゲとハマカンゾウにおける雑種の表現型と色素合成系遺伝子の解析, 第41回種生物学シンポジウム, 2009年12月12日, 東京都八王子市
- ⑭ 廣田峻, 新田梢, 陶山佳久, 川窪伸光, 安元暁子, 矢原徹一, アゲハ類・スズメガ類による花形質への選択: 花粉一粒 PCR に基づいた送粉成功の評価, 第41回種生物学シンポジウム, 2009年12月12日, 東京都八王子市
- ⑮ 新田梢・坂口祐美・三島美佐子・小関良宏・安元暁子・矢原徹一, キスゲとハマカンゾウの花色の違いの遺伝的背景: 雑種の表現型と色素合成系遺伝子の解析, 第73回日本植物学会, 2009年9月19日, 山形

大学

[その他]

ホームページ等

[http://news.sci.kyushu-u.ac.jp/jovtip7as-18/#\\_18](http://news.sci.kyushu-u.ac.jp/jovtip7as-18/#_18)

開花時間の遺伝的基礎を明らかにした研究が、九州大学理学部の研究発信 web ページ「九大理学部ニュース」で紹介された。「花時計は主要遺伝子が制御」2010年4月20日掲載。

アウトリーチ活動

本研究の材料を用いた、高校生による研究活動の指導を行ってきた。福岡県立小倉高等学校(文部科学省 SSH 指定校)の SS 生命科学研究会の野外送粉観察、DNA 実験、開花時間の観察の指導を行った。これらの活動を通して、高校生の研究活動への興味や理系進学への意識を高めることに、貢献してきた。

## 6. 研究組織

### (1) 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

### (2) 研究分担者

館田 英典 (TACHIDA HIDENORI)  
九州大学・大学院理学研究院・教授  
研究者番号: 70216985

### (3) 研究分担者

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