

機関番号：14301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21770025

研究課題名 (和文)

キスゲ属植物における送粉シンドロームの平行進化: 交雑による遺伝子浸透仮説の検証

研究課題名 (英文) Parallel evolution of pollination syndrome in genus of *Hemerocallis*:
Test for introgressive hybridization hypothesis

研究代表者

安元 暁子 (YASUMOTO AKIKO)

京都大学・生態学研究センター・研究員 (科学研究)

研究者番号：10516751

研究成果の概要 (和文)：野外調査ではニッコウキスゲはハナバチ媒花で 24-48 時間咲きであった。日本全国からサンプリングを行い、葉緑体 DNA の系統樹を作成したところ、蛾媒花と蝶媒花がそれぞれ複数回進化したことが示唆された。蛾媒花キスゲの分布から交雑が見かけ上の複数回進化に寄与した可能性が高い。また、種子を作れない 3 倍体ヤブカンゾウは、全国に分布しながらも葉緑体 DNA の変異がほとんどなく、人によって持ち運ばれたと考えられる。

研究成果の概要 (英文)：The flowers of *H. middendorffii* showed bee-pollination syndrome. Phylogenetic tree of chloroplast DNA of genus of *Hemerocallis* suggested that butterfly-pollination syndrome and hawk-moth-pollination syndrome have probably evolved in multiple times from bee-pollination syndrome (ancestral status). The distribution of *H. citrina* in Japan implies that maybe introgressive hybridization acts as a main force for the multiple origins of these two syndromes. In addition, the triploid species *H. fulva* showed no variable nucleotide site across Japan although the other species showed several variable sites within each island (e.g. Honshu, Kyushu). The reasons why there are no variable sites might be that triploid taxon is asexually reproducing and is probably transferred by human.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：基礎生物学

科研費の分科・細目：環境・生態

キーワード：(1) 種分化 (2) キスゲ属 (3) 雑種形成 (4) 遺伝子浸透 (5) 送粉シンドローム (6) 平行進化 (7) 葉緑体 DNA と核 DNA の系統 (8) 浸透性交雑

1. 研究開始当初の背景

(1) 適応的な複数形質群の平行進化の謎

適応的な複数形質群が平行進化したメカニズムは生物学における大きな謎の 1 つである。それは、まず一回の進化が起きるにも、それぞれの形質に突然変異を蓄積されるま

で長い時間が必要とされ、また、蓄積されるまでは不適応的な形質の組み合わせを経験せねばならないからである。そのため、起こりにくい適応的な複数形質群の進化が繰り返し起きる(平行進化する)可能性はきわめて低いと予想されている。しかし、野外では、

ポリネーションシンドロームやチョウの翅の擬態など、複数の形質が協調して適応的に働く形質群が平行進化を遂げている例がある(Whitall et al. 2007)。本研究は、適応的な複数形質群の平行進化を引き起こすメカニズムの1つとして、これまで注目されてこなかった「交雑による適応形質群の遺伝子浸透が適応形質群の見かけ上の平行進化を引き起こした」という仮説を提案し、検証を試みる。

キスゲ科キスゲ属は、蛾へ適応した薄黄色で甘い花香を持つ夜咲きの花を咲かす蛾媒花種と、赤色で花香がなく朝咲きの花を咲かす蝶媒花種を含む。加えて、オレンジ色で薄い香りを放つ朝咲きの花を咲かす種も含まれるが、主要な送粉者は良く分かっていない。キスゲ属では蛾媒花種が平行進化したと言われている。つまり、花色、花香、開花時間の3形質が揃って平行進化したとされている(Noguchi and De-yuan 2004)。しかし、作成された葉緑体 DNA 系統樹のブーツストラップ値が低く、また用いられた種や分布にも大きな偏りがあったため、蛾媒花の平行進化は支持されたとは言えていない。また、キスゲ属の植物は、庭の植え込みの観察から、交雑により種間で花形質の遺伝子浸透が起こりうる可能性が示唆されている(堀田 1993)。これらのことから、キスゲ属では交雑が主要な原動力となり、形質群の平行進化を引き起こした可能性がある。従って、キスゲ属植物のポリネーターシンドロームは、適応形質群の見かけ上の平行進化を交雑が引き起こしたという仮説の検証に適している。

2. 研究の目的

(1) キスゲ属のポリネーターシンドロームを明らかにする。蝶媒花種・蛾媒花種の主要ポリネーターが報告通りかを確認する。同時に、特に、ポリネーターシンドロームが不明なニッコウキスゲについて、直接観察を行う。

(2) 葉緑体 DNA 系統樹を作成することで、キスゲ属においてポリネーターシンドロームの複数回進化が起きている可能性があるかを明らかにする。

(3) 核 DNA 系統樹を作成することで、過去の交雑の履歴を調べると同時に、キスゲ属においてポリネーターシンドロームの複数回進化が起きたか、また、その際に葉緑体 DNA の浸透と核 DNA の浸透のどちらが重要であったかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 野外サンプリングと野外観察

日本全国の九州から北海道までの29箇所で行った野外調査を行い、乾燥葉のサンプリングを行った。サンプリングの際に花が咲いていた場合は、目視とデジタルカメラのインターバル

撮影機能を併用してポリネーターの訪花の観察を行った。また、目視による花色の記録や人の鼻による花香の有無を記録した。さらに、デジタルカメラのインターバル撮影機能を利用して開花時間・閉花時間も調べた。

写真1：蛾媒花キスゲ



写真2：蝶媒花種ハマカンゾウ



(2) 葉緑体 DNA を用いた系統樹作成
上記の野外サンプリングで得た乾燥葉から DNA を抽出した。葉緑体 DNA の trnL 領域・trnL intron 領域・atpB-rbcL 領域を用いて、系統樹を作成した。外群としてキスゲ属の姉妹属植物キキョウランの配列決定を試していた、葉緑体 DNA の3領域中の1領域(atpB-rbcL)でアライメントがとれず、2領域の系統樹では信頼できるブーツストラップ値が得られなかった。同じ3領域について比較的近縁な *Muscari comosum* の配列を DDBJ から得て系統樹を作成したところ、信頼できる系統樹が得られた。2領域のみを用いてキキョウランも加えた系統樹を作ったところ、*M. comosum* とキキョウランは1つの外群のグループになり、外群グループとキスゲ属内のグループとの関係は、キキョウラン抜きで3領域のみで系統樹を作成した場合と同じで

あった。そのため、外群の位置に大きな問題は無いと考えられる。

(3) 核 DNA を用いた系統樹作成

当初は、①中立的な挙動を示す核 DNA 領域を用いて、ポリネーターシンドロームが複数回進化したかを確認して、葉緑体 DNA 系統樹と比較することで交雑の有無や複数回進化への交雑の寄与を明らかにすること、②花色・花香の種差の原因となる遺伝子をコードする核 DNA 領域を用いて、ポリネーターシンドロームの複数回進化が交雑による花色・花香遺伝子そのものの遺伝子浸透で生じたかを明らかにする予定であった。しかし、葉緑体 DNA 系統樹の外群の位置の特定に時間を要したこと、また、中立的な ITS 領域でバンド数が多く綺麗な塩基配列を得られなかったこと、そして、花色・花香については、候補遺伝子を絞り込む作業にも時間を要したため、本研究の終了時までには、核 DNA を用いた系統樹作成は進まなかった。

4. 研究成果

(1) ハナバチ媒花の存在

開花時間の詳細が分かっていたニッコウキスゲでは、花寿命が朝咲き朝閉じの約 24 時間であること、エゾカンゾウでは、花寿命が朝咲き朝閉じの約 48 時間であることが分かった。また、この 2 種にはマルハナバチの訪花が頻繁に観察され、チョウやガの訪花も稀に観察された。この 2 種の葯と柱頭間の距離は蛾媒花や蝶媒花に比べて短く、また、蜜を溜める花筒も蛾媒花や蝶媒花に比べて非常に短く、主な送粉者はマルハナバチであると考えられた。この 2 種は、他の蝶媒花種や蛾媒花種が開花する 7-8 月に先駆けて、まだ気温の低い 6 月に開花し、開花のピークを迎える。気温が低い中でも動き回ることが可能なマルハナバチに適応することは合理的であると考えられる。

写真 3：ニッコウキスゲに訪花するマルハナバチ



(2-1) 蛾媒花・蝶媒花の平行進化と交雑

葉緑体 DNA の 3 領域を用いた系統樹から、日本国内のキスゲ属は、西日本と東日本で大きく 2 つのグループに分けられることが判明した。西日本のグループは蛾媒花と蝶媒花を含んでいた。東日本のグループはハナバチ媒花と蛾媒花と蝶媒花を含んでいた。その結果、蛾媒花・蝶媒花・ハナバチ媒花のどの形質群が祖先形質群だとしても、他の 2 つの形質群が複数回進化したことが示唆された。*Muscari* 属の送粉シンドロームはハナバチ媒花が主であると考えられる。そのため、キスゲ属ではハナバチ媒花から、蝶媒花・蛾媒花がそれぞれ複数回進化したと可能性が高い。また、蛾媒花に注目すると、西日本グループは半日咲きのキスゲのみを含み、東日本グループは一日咲きのエゾキスゲと半日咲き蛾媒花種キスゲの両方を含んでいた。加えて、東日本グループ内で半日咲きのキスゲは西日本グループとの接触域のみに分布していた。この半日咲きのキスゲの分布は、グループ間での交雑の結果、葉緑体 DNA や花形質に関わる核 DNA が浸透し、見かけ上の蛾媒花の平行進化が起きた可能性を強く示唆している。ただし、本研究では核 DNA による系統樹が完成しなかったため、葉緑体 DNA と核 DNA のどちらの遺伝子浸透が重要であったかは不明である。

(2-2) 萬葉人が持ち運んだヤブカンゾウ

3 倍体種ヤブカンゾウでは南は大分から北は岩手まで遺伝的変異がほとんどなかった(塩基置換は起きておらず、数塩基のギャップが 2, 3 見付かっただけだった)。そして、九州・本州に広く分布するにも関わらず、葉緑体 DNA 系統樹上では、東日本グループの中で 1 つのまとまりを形成した。そのため、比較的最近に人の手によって、日本全国に広がった可能性が高い。ヤブカンゾウは 3 倍体で八重咲きであり、種子を通して繁殖することができず、根でクローン繁殖をする。また、ヤブカンゾウは唐の時代に中国から日本へ伝えられ、萬葉集にて「忘れ草」として歌われながら、人の手により全国に広まったという言い伝えがある。本研究の結果は、その言い伝えに反しない。

写真4：八重咲きのヤブカンゾウ



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1件)

① Nitta K, Yasumoto AA, Yahara T. Variation of flower opening and closing times in F1 and F2 hybrids of daylily (*Hemerocallis fulva*) and nightlily (*H. citrina*). American Journal of Botany. 査読有. 97. 2010. 261-267

[学会発表] (計13件)

① Akiko A. Yasumoto et al. The differentiation in pattern of pollen tube elongation between *Hemerocallis citrina*, *H. fulva* and hybridization. University Research Priority Program Retreat 2010, 平成22年3月1-2日, Ascona, Switzerland.

② Akiko A. Yasumoto et al. cpDNA phylogenetic tree of *Hemerocallis* in Japan. SMBE 2010 - Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, July 4-8, 2010, Lyon, France

③ 松本知高, 安元暁子, 新田梢, 矢原徹一, 舘田英典. 隔離要因としての開花時間の理論的解析. 第11回日本進化学会大会. 平成20年9月2-4日. 札幌, 北海道.

④ 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. 平成21年9月18-20日. 小白川, 山形

⑤ 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回種生物シンポジウム. 平成21年12月12日. 八王子, 東京.

⑥ 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回種生物シンポジウム. 平成21年12月12日. 八王子, 東京.

⑦ 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. 平成22年3月17日. 駒場, 東京.

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. 平成22年3月16日. 駒場, 東京.

⑨ 松本知高, 安元暁子, 新田梢, 廣田峻, 矢原徹一, 舘田英典. ハマカンゾウ, キスゲ間に存在する隔離要因に関する理論的研究. 第12回日本進化学会大会. 平成22年8月2日. 東京・大岡山

⑩ 矢原徹一, 新田梢, 廣田峻, 安元暁子. 蝶媒花と蛾媒花の花形質の遺伝子基盤: キスゲ属を例に, 公開シンポジウム「複合適応形質の進化」, 平成22年9月17日, 東京

⑪ 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回種生物学会シンポジウム. 平成22年12月10日. 京都.

⑫ 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・企画集会「適応進化における形質間の機能的・遺伝的つながりの意義」. 平成23年3月9日. 札幌, 北海道

⑬ 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. 平成23年3月9日. 北海道・札幌

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安元 暁子 (YASUMOTO AKIKO)
京都大学・生態学研究センター・
研究員 (科学研究)

研究者番号: 10516751