

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03292

研究課題名(和文) 擬態花の進化:腐肉・発酵物・キノコに擬態する植物共通メカニズムの解明

研究課題名(英文) Evolution of floral mimicry: unveiling the mechanisms underlying mimicry of carrion, fermented substrates and mushrooms

研究代表者

奥山 雄大 (OKUYAMA, YUDAI)

独立行政法人国立科学博物館・植物研究部・研究主幹

研究者番号：40522529

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：カンアオイ属では系統全体の花の香りプロファイルについて網羅的に解析した上で、10種でそれぞれ(多くの場合)異なる種のハエ類が送粉者となることを確認した。またカンアオイ属の詳細な系統関係を解析することで、系統内での花香形質の分布パターンを詳細に解明した。さらにカンアオイ属の擬態に関与する花香形質と関連する複数の遺伝子の特定に成功した。テンナンショウ属ではキノコ擬態の他に、性擬態によって送粉者を誘引していると思われる現象を見出した。これらの知見をもとに、カンアオイ属やテンナンショウ属において「擬態する花」が日本列島での適応放散に結びついたとする仮説を提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

送粉者を欺き、一方的に搾取するような花「擬態花」は、被子植物の複数の系統で進化した驚くほど巧妙かつ精緻な形質であり、これらの植物がいかにして「ふつうの花」から擬態形質を獲得し、進化し得たのだろうか?という問いは、素朴でありながら生物学的に興味深い問題を多く含んでいる。しかし、上記の謎を解き明かすための基盤情報として、そもそも花の擬態を実現する形質そのもの、そしてその生理・分子メカニズムについてはほとんど解明されていない。本研究は、近年の技術革新によって、これまでモデル植物の研究では成しえなかった擬態花の進化メカニズムの解明に先鞭をつけるものである。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the overall patterns of floral scent profiles in the whole *Heterotropa* (genus *Asarum*; *Aristolochiaceae*) lineage and revealed that different species of dipterans are pollinating on the 10 *Heterotropa* species. The floral scent profiles were further mapped onto the phylogeny of *Heterotropa* and used to identify the genes whose expression patterns are associated with the traits. In *Arisaema* (*Araceae*), we discovered not only the mushroom mimicry but also the possible cases of sexual mimicry. From the overview of these plant lineages, we have proposed that pollinator deception mechanism could be the key in the adaptive radiation of these plants.

研究分野：進化生物学

キーワード：送粉者 擬態 トランスクリプトーム 分子系統樹 カンアオイ属 テンナンショウ属 適応放散

## 1. 研究開始当初の背景

花とその花粉を媒介する昆虫(送粉者)との関係は、相利共生の典型例としてよく挙げられるが、実際には送粉者を一方的に搾取するような系が多数知られている。このような花には単純な無報酬花や、そばに咲く報酬のある花に擬態するベイツ型擬態花などの「花に擬態する花」も多く知られる一方、特筆すべき存在として昆虫が繁殖場所などに集まる性質を利用し、繁殖に必要な信号(色、形、香りなどの組み合わせ)で昆虫を騙し、誘引する擬態花が知られている。このような擬態形質は驚くほど巧妙かつ精緻であるため、いかにして「ふつうの花」から擬態形質を獲得し、進化し得たのだろうか?という問いが自然と湧いてくる。この素朴な問いは、進化生物学における重要かつ古典的な問題「新規の適応形質(evolutionary novelty)の獲得進化」の典型例であると言える。また擬態花の進化は、送粉者との相利共生的な関係から、送粉者を一方的に搾取する関係への大きな生態的転換を伴うものであり、このようなダイナミックな変化がどのような条件で進化するのかが進化生態学上大きな問いである。さらになぜサトイモ科やラン科、キョウチクトウ科といった特定の系統でのみ頻繁に進化し、多くの被子植物では進化していないのか、なぜ繰り返し擬態モデルを転換する進化とそれに伴う種多様化が起きているかなど解き明かすべき謎が多い。

しかし、上記の謎を解き明かすための基盤情報として、そもそも花の擬態を実現する形質そのもの、そしてその生理・分子メカニズムについてはほとんど解明されていない。これは擬態花をつける植物のほとんどが世代時間の長い多年草や木本であるなど、モデル植物の研究との大きな乖離によるところも大きい。しかしいわゆる次世代DNAシーケンサーなどの技術革新によって、擬態花をつける植物を研究するための多様なアプローチが可能になりつつある。

## 2. 研究の目的

本研究では、擬態花の典型的モチーフとして特に「動物の死骸/糞」「発酵物」「キノコ」への擬態(特に香りに関する化学擬態)が多くの植物で繰り返し進化していることに着目する。特に、共通の擬態モチーフを取る植物間の共通性や、擬態花を進化させた系統群間の共通性を探ることで、擬態モデルをスイッチングする際に必要な遺伝的変化や擬態の前適応となるような生理・分子メカニズム(進化の至近要因)を解明する。これによって進化の究極要因を含む、上述の擬態花にまつわる多くの謎について深い理解を目指す。また、これまでに擬態の詳細が明らかになっていない植物群において、野外観察、実験といった自然史研究アプローチを通して、新しい現象の発見を目指す。

## 3. 研究の方法

ウマノスズクサ科カンアオイ属およびサトイモ科テンナンショウ属では、非常に近縁な種間で擬態対象(モデル)が全く異なる系が存在する。そこでこれらの植物をモデルとし、以下の3つの研究アプローチで研究を実施した。

### 1) カンアオイ属における網羅的な花の香りの解析と送粉様式の解明および進化解析

日本列島を中心として多様化を遂げた単系統群カンアオイ属カンアオイ節全62種のうち、50種250個体について、筑波実験植物園のリビングコレクションとして収集し、花から放出される揮発性成分を分析同定した。この結果を類型化することで、カンアオイ属全体における擬態様式の多様性の全体像の把握を行なった。また擬態花の実態を解明するため、10種について野外調査を実施しその送粉者の解明を試みた。さらに、カンアオイ節のほとんどの種をサンプルに含む縮約ゲノム配列(ddRAD-seq法による)データセットを用いて、カンアオイ節全体の系統解析を行い、花の香り等の擬態花の形質の系統内での進化パターンの解析を行った。

### 2) カンアオイ属を利用した腐肉擬態遺伝子(群)の特定

1)の結果から、カンアオイ属では、腐肉擬態花を特徴づける花香物質であるジメチルジスルフィドを放出する花が繰り返し進化しており、この形質進化の謎に迫るため系統的独立比較という手法を用いることが可能であることが明らかとなった。そこでカンアオイ属の中でジメチルジスルフィドを出す種、出さない種の系統的に独立な組み合わせ7ペア計14種について、花(主として香りを放出している萼組織)の全発現遺伝子解析(RNA-seq)を実施した。また、多検体について高スループットで網羅的遺伝子発現解析を行う手法Lasy-seq(Kamitani et al. 2019)を用いて、特に香りを放出している花で特異的に発現している遺伝子の絞り込みも行なった。この結果を詳細に比較解析し、特に硫黄代謝に関わる遺伝子群に着目して詳細な解析を行った。

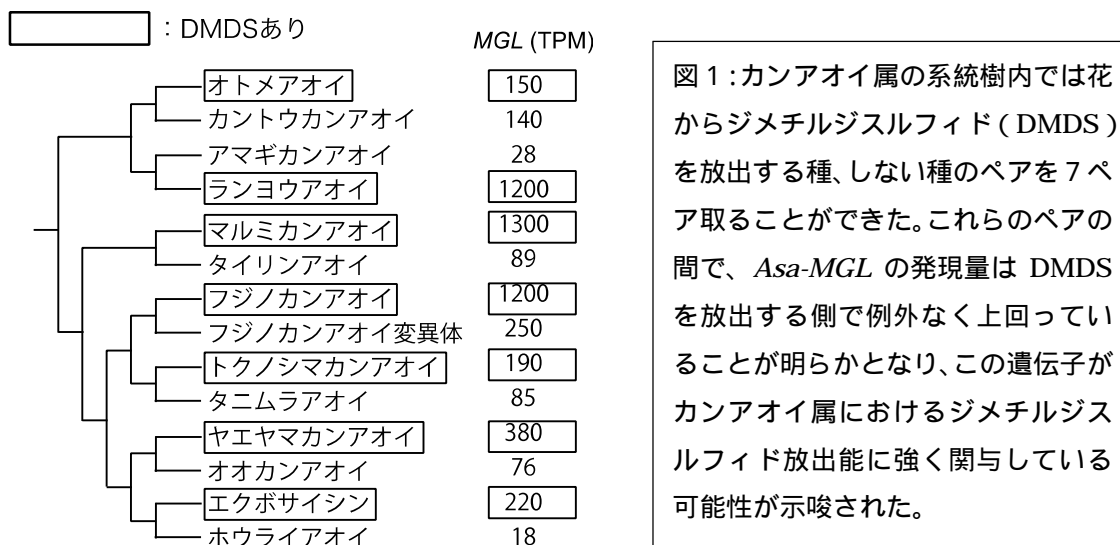
### 3) テンナンショウ属における多様な擬態様式の解明

日本列島を中心として多様化を遂げているテンナンショウ属15種について送粉者を解明すべく野外調査を行った。きのこに擬態しているとみられるユキモチソウについては、実際に花の香りが送粉者を誘引していることを確認するため、花序を完全に覆い隠し、それでも送粉者が誘引されるかを確認する実験を実施した。さらに、マムシグサ節のほとんどの種をサンプルに含む

縮約ゲノム配列(ddRAD-seq 法および MIG-seq 法による)データセットを用いて、マムシグサ節全体の系統解析を行い、擬態花の形質、特にユキモチソウに特異的なキノコ擬態の起源を解明した。

#### 4. 研究成果

- 1) カンアオイ属全体の花の香りプロファイルについて網羅的に解析し、その多様性のパターンを解明した。またカンアオイ属のほとんどの種については、同一個体の複数開花年における香りデータも取得し、これらの比較から、少なくとも日中においては花の香りは個体ベースで安定な形質であることを確認した。さらにカンアオイ属の詳細な系統関係を ddRAD-seq 法を用いたゲノムワイドな手法で解析することで(Okuyama et al. 2020)、系統内での花香形質の分布パターンを詳細に解明した。特に 28 種 31 個体について、主要花香物質 33 種類の放出量についてのデータマトリクスを完成させ、それぞれの種の花における遺伝子発現パターンとの相関を解析する基盤を整備した。
- 2) カンアオイ属のうち、フジノカンアオイ、タニムラアオイ、ハツシマカンアオイ、トクノシマカンアオイ、ナゼカンアオイ、タマノカンアオイ、タイリンアオイなどの種について野外調査を実施し、多くの場合異なる種のハエ類が送粉者となることを確認した(Kakishima and Okuyama, 2020; Kakishima et al. 2021)。
- 3) 特に動物性タンパク質の腐敗、分解時に放出される物質であり、腐肉擬態などによって送粉者を誘引するラフレシア、ショクダイオオコンニャクの花の主要な香り成分であるジメチルジスルフィドについて、この花香形質と相関する遺伝子の中でも特にその放出メカニズムと関与すると考えられる遺伝子を探索した。その結果 *Asa-MGL* などの複数の遺伝子を形質と強く相関する遺伝子として検出した(図 1)。



- 4) カンアオイの花において、一部の花香成分の代謝経路を直接証明する手法を開発した。
- 5) 同所的に生育する近縁なマムシグサ節の複数種が、それぞれ特異的な送粉者を利用し、生殖隔離を実現させていることを明らかにした。(Kakishima et al. 2019; Suetsugu et al. 2021)
- 6) マムシグサ節の 2 種において、送粉者の特異的誘引には付属体の存在が重要であり、付属体から何らかの特異的誘引物質が放出されていることを確認した。またオスのみが誘引されるためそのメカニズムとして性擬態が存在する可能性を示唆した。この結果を受けて、テンナンショウ属 20 種について花付属体ジクロロメタン抽出物の化学分析を行い、性擬態に関与していると考えられる物質を複数確認した。またウラシマソウ、ナンゴクウラシマソウ、ムサシアブミ、カントウマムシグサ、キシダマムシグサ、キリシマテンナンショウ、コウライテンナンショウ、スルガテンナンショウ、タシロテンナンショウ、ヒガンマムシグサ、ヒトヨシテンナンショウ、ホソバテンナンショウ、ホロテンナンショウ、マムシグサ、ミミガタテンナンショウ、ヤマグチテンナンショウ、ユキモチソウなど 17 種(亜種、変種含む)以上の種についてその送粉者を特定した (Kakishima et al. 2019, 2020; Suetsugu et al. 2021)。
- 7) ユキモチソウにおいて、視覚的信号を排除してもなお特異的送粉者であるキノコショウジョウバエ類を誘引することを確認した。また、縮約ゲノム配列を利用した系統解析の結果、ユキモチソウはマムシグサ節全体の系統樹内で派生的な位置にあり、最近になってきのこ擬態の形質を獲得したことが示唆された。
- 8) カンアオイ属、テンナンショウ属について、「擬態する花」が両属の日本列島における適応放散に結びついたとする仮説を提唱し、総説論文として発表した(Okuyama and Kakishima, 2022)。

#### < 引用文献 >

1. Mari Kamitani, Makoto Kashima, Ayumi Tezuka, Atsushi J. Nagano. 2019. Lasy-Seq: a high-

- throughput library preparation method for RNA-Seq and its application in the analysis of plant responses to fluctuating temperatures. *Scientific Reports*, 9: 1-14.
2. Satoshi Kakishima, Nobuko Tuno, Kentaro Hosaka, Tomoko Okamoto, Takuro Ito, Yudai Okuyama. 2019. A specialized deceptive pollination system based on elaborate mushroom mimicry. *BioRxiv*: 819136.
  3. Satoshi Kakishima, Masahiro Sueyoshi, Yudai Okuyama. 2020. Floral visitors of critically endangered *Arisaema cucullatum* (Araceae) endemic to Kinki Region of Japan. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany*. 46: 47-53.
  4. Yudai Okuyama, Nana Goto, Atsushi Nagano, Masaki Yasugi, Goro Kokubugata, Hiroshi Kudo, Zhechen Qi, Takuro Ito, Satoshi Kakishima, Takashi Sugawara. 2020. Radiation history of Asian *Asarum* (sect. *Heterotropa*, Aristolochiaceae) resolved using a phylogenomic approach based on double-digested RAD-seq data. *Annals of Botany*. 126: 245-260.
  5. Satoshi Kakishima, Yudai Okuyama. 2020. Further insights into the floral biology of *Asarum tamaense* (sect. *Heterotropa*, Aristolochiaceae). *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany*. 46: 129-143. doi: 10.50826/bnmnsbot.47.4\_227
  6. Kenji Suetsugu, Rikuo Sato, Satoshi Kakishima, Yudai Okuyama, Masahiro Sueyoshi. 2021. The sterile appendix of two sympatric *Arisaema* species lures each specific pollinator into deadly trap flowers. *Ecology*. doi:10.1002/ecy.3242
  7. Satoshi Kakishima, Masahiro Sueyoshi, Yudai Okuyama. 2021. Floral visits of *Cordyla murina* (Mycetophilidae) and other dipterans to *Asarum asaroides* (Aristolochiaceae) and the possible role of mushroom-like scents. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany*. 47: 227-236. Doi: 10.50826/bnmnsbot.47.4\_227
  8. Yudai Okuyama, Satoshi Kakishima. 2022. Possible adaptive and non-adaptive radiation in three plant genera in the Japanese Archipelago. *Population Ecology*. 64: 130-135.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Satoshi Kakishima, Masahiro Sueyoshi, Yudai Okuyama	4. 巻 46
2. 論文標題 Floral visitors of critically endangered <i>Arisaema cucullatum</i> (Araceae) endemic to Kinki region of Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany	6. 最初と最後の頁 47~53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Okuyama Yudai, Goto Nana, Nagano Atsushi J, Yasugi Masaki, Kokubugata Goro, Kudoh Hiroshi, Qi Zhechen, Ito Takuro, Kakishima Satoshi, Sugawara Takashi	4. 巻 126
2. 論文標題 Radiation history of Asian <i>Asarum</i> (sect. <i>Heterotropa</i> , Aristolochiaceae) resolved using a phylogenomic approach based on double-digested RAD-seq data	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Botany	6. 最初と最後の頁 245~260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/aob/mcaa072	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
1. 著者名 Satoshi Kakishima, Yudai Okuyama	4. 巻 46
2. 論文標題 Further insights into the floral biology of <i>Asarum tamaense</i> (sect. <i>Heterotropa</i> , Aristolochiaceae).	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany.	6. 最初と最後の頁 129~143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Suetsugu Kenji, Sato Rikuo, Kakishima Satoshi, Okuyama Yudai, Sueyoshi Masahiro	4. 巻 102
2. 論文標題 The sterile appendix of two sympatric <i>Arisaema</i> species lures each specific pollinator into deadly trap flowers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecology	6. 最初と最後の頁 e03242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ecy.3242	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Satoshi Kakishima, Yudai Okuyama	4. 巻 47
2. 論文標題 Floral visits of <i>Cordyla murina</i> (Mycetophilidae) and other dipterans to <i>Asarum asaroides</i> (Aristolochiaceae) and the possible role of mushroom-like scents.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany.	6. 最初と最後の頁 227 ~ 236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Okuyama Yudai, Kakishima Satoshi	4. 巻 64
2. 論文標題 Possible adaptive and non adaptive radiation in three plant genera in the Japanese archipelago	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Population Ecology	6. 最初と最後の頁 130 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1438-390X.12121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suetsugu Kenji	4. 巻 4
2. 論文標題 <i>Arisaema:</i>                      Pollination by lethal attraction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLANTS, PEOPLE, PLANET	6. 最初と最後の頁 196 ~ 200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ppp3.10261	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 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 奥山雄大、柿嶋聡
2. 発表標題 カンアオイ属で繰り返し進化した「臭い花」の謎に迫る
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柿嶋聡、松本哲也、芹沢俊介、邑田仁、奥山雄大
2. 発表標題 網羅的な送粉者相調査とMIG-seqを用いた系統解析から見てきた日本産テンナンショウ属の多様化メカニズム
3. 学会等名 第51回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柿嶋聡、松本哲也、大野順一、星山耕一、大西憲太郎、伊東拓朗、常木静河、芹沢俊介、邑田仁、奥山雄大
2. 発表標題 ゲノムワイドSNPデータを用いた系統解析から明らかになるテンナンショウ属マムシグサ節の多様化と送粉様式の進化
3. 学会等名 日本植物分類学会第19回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥山雄大
2. 発表標題 日本列島を舞台とする植物の種分化メカニズムとしての花の香りの進化
3. 学会等名 日本生態学会大会シンポジウム「S24: 昆虫 植物を結ぶシグナルと認識機構」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥山雄大、柿嶋聡、水野貴行、仲里猛留
2. 発表標題 「擬態する花」の研究モデルとしてのカンアオイ属
3. 学会等名 第52回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥山雄大
2. 発表標題 チャルメルソウ属・カンアオイ属から見た屋久島
3. 学会等名 屋久島学ソサエティ大会第8回（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柿嶋聡、松本哲也、大野順一、星山耕一、大西憲太郎、早瀬裕也、末次健司、伊東拓朗、常木静河、永野惇、小林禎樹、芹沢俊介、邑田仁、奥山雄大
2. 発表標題 日本列島におけるテンナンショウ属の適応放散に送粉者相の転換が果たした役割
3. 学会等名 日本生態学会第68回全国大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥山雄大、柿嶋聡
2. 発表標題 日本列島におけるカンアオイ節の適応放散と深まる擬態花の謎
3. 学会等名 日本生態学会第68回全国大会シンポジウム S10「花を利用する虫、虫を利用する花」（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yudai Okuyama
2. 発表標題 Pollinator-mediated speciation in endemic flora of Japan associated with dynamic changes of floral scents.
3. 学会等名 36th Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年



〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	岡本 朋子  (OKAMOTO TOMOKO)  (50588150)	岐阜大学・応用生物科学部・助教   (13701)	
研究 分担者	未次 健司  (SUETSUGU KENJI)  (70748839)	神戸大学・理学研究科・准教授   (14501)	

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
---------	---------