

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 9 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21446

研究課題名（和文）水平伝播遺伝子から探る根寄生植物の宿主特異性の進化

研究課題名（英文）Evolutionary changes in host specificity of holoparasitic plants revealed by horizontal gene transfer

研究代表者

高山 浩司（Takayama, Koji）

京都大学・理学研究科・准教授

研究者番号：60647478

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：海洋島では大陸における共存種が欠如しているため、新たに進出した生物同士の種間関係が結ばれることがある。この過程を紐解くことは、海洋島での生物多様性の創出機構を理解する上で重要である。本研究では、小笠原諸島に固有で絶対寄生植物であるシマウツボの宿主特異性、集団形成史、宿主種からの水平伝播遺伝子の有無を調べた。シマウツボは大陸の近縁種とは科レベルで異なる宿主種に寄生していた。さらに、父島と母島の個体は異なる宿主種に寄生しており、島間で宿主の選好性に違いが生じている可能性が示された。また、発現遺伝子の比較解析によって、シマウツボ内に過去の宿主種から水平伝播したと推測される遺伝子が複数個検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

絶対寄生植物において、近縁な種間あるいは同一種内で宿主種が変化している例は少なく、異なる島の集団間で異なる科の植物に寄生しているシマウツボはその類まれな例であると言える。本研究によって、水平伝播に由来する可能性がある遺伝子が複数個見つかった。今後、水平伝播遺伝子の来歴に関する解析を深めることで、過去の宿主種を含めた宿主転換の過程を解明することができる。また、寄生植物の中には生態系への影響が大きいものや、農業被害をもたらすものもいる。シマウツボで見出された水平伝播遺伝子の機能解析を実施することで、遺伝子の水平伝播と新たな寄生能力の獲得との関連性への理解が進むと期待される。

研究成果の概要（英文）：Oceanic islands provide a unique setting for studying the novel interactions between plants. *Orobanche boninsimae* is a holoparasitic plant endemic to the Ogasawara Islands. Our study revealed that individuals of *O. boninsimae* on Chichijima Island primarily parasitize *Ochrosia nakaiana* (Apocynaceae), whereas those on Hahajima Island parasitize *Melicope grisea* (Rutaceae). In contrast, the closest relative, *O. coerulescens*, parasitizes *Artemisia* spp. (Asteraceae) in continental region. Population genetic analyses suggested that Hahajima populations originated from Chichijima and Ototojima. These findings indicated significant host shifts in *O. boninsimae*. We investigated horizontally transferred genes (HGT genes) from the host species. We screened approximately 55,000 contigs representing the amino acid sequences of *O. boninsimae* using reference transcriptomes/proteins from diverse angiosperm lineages, and identified 11 genes as potential candidates for HGT genes.

研究分野：植物進化多様性

キーワード：寄生植物 水平伝播遺伝子 小笠原諸島 海洋島 宿主特異性

1. 研究開始当初の背景

海洋島は海底噴火によって形成されるため、陸上生物が全くいない状態から始まり、そこに定着できる生物は総じて少ない。そのため、大陸における共存種が欠如していることが多く、海洋島に進出した生物同士の種間関係が結ばれることがある。新たな種間関係が形成される過程を紐解くことは、海洋島における生物多様性の創出機構を理解するうえでの重要な課題である。

絶対寄生植物は他の植物に全ての栄養を依存する植物である。絶対寄生植物が海洋島へ定着するためには、様々な宿主から栄養を摂取できる方が有利であると考えられる。一方で、長期的には、宿主の防御をかいぐり、効率的に栄養摂取を摂取するために、特定の宿主への特異性を進化させた方が生存に有利となるだろう。絶対寄生植物はこのような進化的背景のもと、宿主特異性を変化させてきたと予想されるが、海洋島における絶対寄生植物の宿主特異性の変遷過程を調べた研究は皆無である。

近年のゲノム解析の進展により、様々な生物種で異なる個体間での遺伝子の移動、すなわち遺伝子の水平伝播の痕跡が見出されている。ハマウツボ科の植物でも、宿主から水平伝播したと推測される遺伝子が複数見つかってきている (Yoshida et al. 2010; Sun et al. 2016; Kado & Innan 2018)。そこで本研究では、寄生植物と宿主植物との間の水平伝播遺伝子を検出することで、寄生植物の宿主転換の歴史を解明することを着想した。

2. 研究の目的

本研究では、小笠原諸島に固有な寄生植物シマウツボ (*Orobanche boninsimae*) に着目した。シマウツボはハマウツボ科ハマウツボ属の絶対寄生植物で、最も近縁な種は大陸に広く分布するハマウツボ (*O. coerulescens*) である (Li et al. 2017)。ハマウツボはキク科のヨモギ属植物に寄生しているが、現在、小笠原諸島にはヨモギ属の植物は自生していない。また、これまでの解析により、シマウツボは小笠原諸島内の父島と母島では宿主植物が異なっている可能性が示唆されている。従って、シマウツボは海洋島への進出時のみならず、島間でも宿主植物が変化している可能性が高く、絶対寄生植物の宿主特異性の変遷過程を調べる上で、優れた研究対象である。

そこで本研究では、シマウツボの分布域を網羅するように野外調査を実施して、シマウツボの現在の宿主範囲とその変遷過程を調べた。さらに、近年のゲノム解析により、ハマウツボ科の植物において宿主植物からの水平伝播遺伝子が発見されていることから着想し、シマウツボ内の水平伝播遺伝子の痕跡を探り、過去の宿主植物が推定できるかどうかを調べた。これらの解析を通じて、シマウツボの過去から現在に至る宿主変遷過程を推定することを目的とした。



図1 研究対象のシマウツボ

3. 研究の方法

(1) 宿主範囲

シマウツボの現在の宿主範囲を解明するために、小笠原諸島で過去に生育記録があった島において、生育状況の調査を実施した。シマウツボの個体群を発見した際には、複数の個体の地下部を注意深く掘り取り、シマウツボが接合している寄生植物の根を採集した。周囲に生育している樹木の DNA も併せて採集して、葉緑体 DNA の *psbA-trnH* 領域を比較することで根の種別別 (DNA バーコーディング) をおこなった。

(2) 集団形成史

小笠原諸島におけるシマウツボの個体群の分布形成過程を解明するために、発見した全ての個体群から DNA 解析用の試料を収集した。次世代シーケンサーを用いてショットガンシーケンスを行い、得られたデータから葉緑体 DNA の全長配列と核リボソーム DNA の ITS 領域の塩基配列を抽出した。さらに、MIG-seq 法によるゲノムワイドな一塩基多型の検出を行い、これらのデータをもとに系統的・集団遺伝学的な解析を実施した。

(3) 水平伝播遺伝子

父島および母島のシマウツボ、日本列島に生育するハマウツボ、(1)の解析で判明した現在の宿主植物および小笠原諸島の固有樹種の約 20 種の RNA 試料を採取し、RNA-seq を実施した。得られたデータから発現遺伝子の断片配列を作成し、配列間の相同性と系譜を種間で比較し、水平伝播遺伝子候補の絞り込みをおこなった。さらに、シマウツボの高品質な DNA を回収し、ロングリード方により塩基配列を決定し、ドラフトゲノムの構築をおこなった。

4. 研究成果

(1) 宿主範囲

野外調査により父島、弟島、母島から合計 17 カ所で個体群を発見し、DNA バーコーディング法により 35 個体の宿主を同定した。父島と弟島で採集した個体の 9 割以上がキョウチクトウ科のヤロードに寄生していたのに対して、母島で採集した個体はほぼすべての個体がミカン科のオオバシロテツに寄生していることが明らかとなった。ハマウツボ属の他の植物では、キョウチクトウ科やミカン科への寄生は報告例が無く、小笠原諸島で独自にこれらの科の植物への寄生が生じたと考えられる。さらに、ヤロードとオオバシロテツは現在、父島列島や母島列島に広く生育する植物である。シマウツボの個体群の周辺でも同所的に生育していることが多く、このことは、シマウツボの父島と母島の個体群では宿主の選好性に違いが生じている可能性を示唆している。今後は、実験室内での宿主への感染実験の系を確立することで、直接的に寄生能力の違いを測定し、宿主選好性の違いに関連する生理的機構を解明することが課題である。

(2) 集団形成史

葉緑体 DNA の全長配列と核リボソーマル DNA の ITS 領域を用いた系統解析から、小笠原諸島のシマウツボが単系統群であることが明らかとなり、父島列島と母島列島の個体群は単一祖先に由来する可能性が高いことが示唆された。約 600 遺伝子座の一塩基多型情報をもとにおこなった集団遺伝学的解析では、父島や弟島の個体群に対して、母島の個体群が派生的であることが示唆された。この結果は、葉緑体や核 ITS の系統解析とも矛盾はしなかった。宿主範囲の解析結果と併せて考えると、シマウツボは小笠原諸島に定着する際に宿主を劇的に変化させ、さらに諸島内でヤロードからオオバシロテツへとさらなる宿主の変化が生じたと推測できる。しかしながら、シマウツボが小笠原に定着した際の最初の宿主がヤロードであったのか、ヤロードからオオバシロテツへの直接の宿主転換が生じたのか等、宿主転換過程の詳細は不明なままである。宿主植物の小笠原諸島への定着時期の解析や、シマウツボ内の水平伝播遺伝子の来歴を探ること、宿主転換過程の詳細を明らかにする必要がある。

(3) 水平伝播遺伝子

父島および母島のシマウツボ、近縁なハマウツボ、(1)の解析で判明した現在の宿主植物および小笠原諸島の固有樹種の約 20 種について、RNA-seq による発現遺伝子の網羅的な解析を実施した。シマウツボについて、被子植物の主要発現遺伝子のうち約 80% をカバーする品質のデータを取得することができ、最終的には約 450,000 の断片配列を得ることができた。GenBank および自ら取得した小笠原諸島固有樹種の発現遺伝子との比較を行い、約 450,000 の断片配列のうち約 1.2%にあたる 5,500 の断片配列が、近縁種のハマウツボ以外の植物と類似性が高いことが示された。さらに、類似性が十分に高く、塩基配列長も十分に長い断片配列のみに絞り込みをして、遺伝子系統樹に基づく比較を行い、最終的には 11 個の遺伝子を水平伝播に由来する可能性があるものとして抽出した。11 個の遺伝子には、核、ミトコンドリア、葉緑体の遺伝子が含まれていた。そのうちの 2 個は、ヤロードやオオバシロテツから水平伝播した可能性があるものであったが、残りの 9 個は他の小笠原諸島固有樹種から由来した、あるいは現時点では由来不明のものであった。

水平伝播遺伝子の候補がシマウツボのゲノム中に確実に存在することを確認するために、シマウツボのドラフトゲノムの構築を実施した。野外から採集した個体から破損の少ない DNA を抽出し、ドラフトゲノムを構築した。シマウツボはゲノムサイズが 6.7Gb と比較的大きいため、染色体レベルでのゲノム構築には至っていないものの、水平伝播遺伝子の特定のために必要な情報が得られる程度のゲノムが構築することができた (N50: 27Mbp, L50: 77)。現在、RNA-seq のデータから絞り込まれた水平伝播遺伝子が、シマウツボのゲノム中に存在するかどうかを検証している。これらのデータをもとに、シマウツボの過去の宿主植物を特定し、水平伝播が起こった時期について解析を進めることが今後の課題である。

< 引用文献 >

- Kado T, Innan H. Horizontal gene transfer in five parasite plant species in Orobanchaceae. *Genome Biol Evol.* 2018, 3196-3210. doi: 10.1093/gbe/evy219.
- Li X, Jang TS, Temsch EM, Kato H, Takayama K, Schneeweiss GM. Molecular and karyological data confirm that the enigmatic genus *Platypholis* from Bonin-Islands (SE Japan) is phylogenetically nested within *Orobanche* (Orobanchaceae). *J Plant Res.* 2017, 273-280. doi: 10.1007/s10265-016-0888-y.
- Sun T, Renner SS, Xu Y, Qin Y, Wu J, Sun G. Two hAT transposon genes were transferred from Brassicaceae to broomrapes and are actively expressed in some recipients. *Sci Rep.* 2016, 6:30192. doi: 10.1038/srep30192.
- Yoshida S, Maruyama S, Nozaki H, Shirasu K. Horizontal gene transfer by the parasitic plant *Striga hermonthica*. *Science.* 2010, 1128. doi: 10.1126/science.1187145.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nishimura Akihiro, Takayama Koji	4. 巻 38
2. 論文標題 First record of potential bird pollination in the holoparasitic genus Orobanche L.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Species Biology	6. 最初と最後の頁 6~17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1442-1984.12389	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 高山浩司	4. 巻 14
2. 論文標題 非調和な森が織りなす小笠原諸島固有植物の進化	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 milsil	6. 最初と最後の頁 9-11
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 無
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 西村明洋、右田祐基、高山浩司	4. 巻 46
2. 論文標題 小笠原諸島固有寄生植物シマウツボの弟島での発見	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 小笠原研究年報	6. 最初と最後の頁 25-29
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 西村明洋、高山浩司
2. 発表標題 小笠原固有寄生植物シマウツボにおける宿主転換の歴史と遺伝的背景
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西村明洋、高山浩司
2. 発表標題 日本列島におけるハマウツボとオカウツボの系統解析
3. 学会等名 日本植物分類学会第22回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西村明洋、高山浩司
2. 発表標題 海洋島におけるハマウツボ属寄生植物の送粉者シフト
3. 学会等名 日本植物分類学会第21回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高山浩司
2. 発表標題 小笠原諸島の自然環境と固有植物
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koji Takayama
2. 発表標題 Endemic species on an uninhabited island as a witness for extinct lineages: an example from the Bonin Islands
3. 学会等名 Island Biology Symposium 2020（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村明洋・加藤英寿・布施静香・田村実・高山浩司
2. 発表標題 小笠原諸島固有寄生植物シマウツボにおける集団間分化と宿主転換の関係性
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村明洋、高山浩司
2. 発表標題 小笠原固有寄生植物シマウツボにおける集団動態と宿主転換の歴史性
3. 学会等名 日本植物分類学会第23回大会
4. 発表年 2024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	吉田 聡子 (Yoshida Satoko) (20450421)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授 (14603)	

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		
台湾	台湾中興大学		