

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570095

研究課題名(和文) 双子葉植物から単子葉植物への進化の道すじの推定 -単子葉植物の起源を探る第一段階-

研究課題名(英文) Presumption on phylogenetic relationship between the dicotyledons and the monocotyledons -the first stage for investigating the origin of the monocotyledons-

研究代表者

田村 実 (TAMURA MINORU)

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：20227292

研究成果の概要(和文)：単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物の推定結果は、解析の材料と方法によって異なった。それは、マツモ目を含めて最節約法で解析するとモクレン目とクスノキ目の群に、マツモ目を除いて最節約法で解析するとコショウ目に、マツモ目を含めても除いても最尤法で解析するとコショウ目・モクレン目・クスノキ目の群になった。しかし、いずれもブートストラップ値は低かった。近年、それは真正双子葉類とマツモ目の群という報告がしばしばなされるが、今回の結果はその類縁を支持しなかった。

研究成果の概要(英文)：The results of presumption on the extant dicotyledons that are most closely related to the monocotyledons were not constant depending on the materials and methods used for the study. It was a group of Magnoliales and Laurales when we used a method of maximum parsimony with a material of Ceratophyllales. It was Piperales when we used maximum parsimony without Ceratophyllales. And, it was a group of Piperales, Magnoliales and Laurales when we used a method of maximum likelihood regardless of Ceratophyllales. However, the bootstrap values were low in all cases. Recently, it was often reported that it was a group of eudicots and Ceratophyllales. However, the present results did not support the relationship.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：植物系統分類学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：原始的被子植物、単子葉植物、分子系統樹

1. 研究開始当初の背景

単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物の探索は、被子植物の初期進化の道すじの解明を目指した分子系統学的研究の一環としてしばしば行われてきた。しかし、この研究の結果は、最近、大きく変わりつつある。

私達が今回の研究の計画調書を提出した2007年10月の段階で、既に、現存する被子植物の中で最初に分岐したのがアンボレラ

目、次に分岐したのがスイレン目、その次がアウストロバイレヤ目という現在よく受け入れられている研究結果がほとんどであった。時々、最初に分岐したのはアンボレラ目とスイレン目のクレードという研究結果もあるにはあったが、多くはなかった。

しかし、アウストロバイレヤ目の次に分岐した植物については、わかっていなかった。アンボレラ目、スイレン目、アウストロバイ

レヤ目を除いた現存の被子植物は、センリョウ目、カネラ目、コショウ目、クスノキ目、モクレン目、マツモ目、真正双子葉類、単子葉植物に分けられることもよく受け入れられていたが、それらの間の系統関係がわかっていなかったのである。従って、単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物もわかっていなかった。そのため、私達は今回の研究を計画した。

その後、2007年12月に、種子植物の葉緑体DNAの長い塩基配列を解析した2本の論文が出版された。Moore *et al.* (2007) は45サンプルの42519 bpを、Jansen *et al.* (2007) は64サンプルの76583 bpを最尤法で解析した結果、両論文とも、現存する被子植物の中では、アンボレラ目、スイレン目、アウストロバイレヤ目の順に分岐することを裏付け、その次に、センリョウ目、カネラ目、コショウ目、クスノキ目、モクレン目のクレードが分岐すると推定した。

単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物についてであるが、Moore *et al.* (2007) は、それはマツモ目と真正双子葉類のクレードと推定した。Jansen *et al.* (2007) は、マツモ目を解析に含めておらず、それは真正双子葉類と推定した。

Moore *et al.* (2010) は、種子植物83サンプルの葉緑体DNAの66741 bpを最尤法で解析した結果、Moore *et al.* (2007) と基本的に同じトポロジーを得て、単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物は、やはりマツモ目と真正双子葉類のクレードと推定した。

Soltis *et al.* (2011) は、解析した塩基配列こそ25260 bpとそれほど長くはなかったが、種子植物の640サンプルを最尤法で解析した。しかし、その結果も、Moore *et al.* (2007) と基本的に同じトポロジーで、単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物は、やはりマツモ目と真正双子葉類のクレードとなった。

しかし、長い塩基配列を解析した最近の分子系統学的研究では、既にGenBankに登録されている塩基配列情報を解析に加えており、サンプルが有用植物に偏りがちであった。例えば、単子葉植物ではイネ科に集中する傾向にあった。Moore *et al.* (2007, 2010) では、イネ科のサンプル数を減らしているが、それでもなお単子葉植物8サンプルまたは11サンプルのうち、3サンプルがイネ科であった。

Soltis *et al.* (2011) は、非常に多くのサンプルを解析しているが、その結果、多くの科や属を含む目のサンプル数が多くなる傾向にあった。また、全データセットの41%の塩基の情報が欠損している点でも問題が残っていた。

形態形質や他の非分子形質の観点からは、単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植

物の候補として、コショウ目、モクレン目、スイレン目、まれにキンボウゲ目などが挙げられてきた (Dahlgren *et al.* 1985)。従って、真正双子葉類に含まれるキンボウゲ目の「まれ」な場合を除いて、単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物は真正双子葉類とマツモ目のクレードとする最近の分子系統解析の結果は、形態形質や他の非分子形質からみて決して受入れやすいものではなかった。

2. 研究の目的

今回の研究の目的は、形態的に前進的な被子植物に偏らないサンプリングを行い、それらの塩基配列をできるだけ欠損データなく決定して、被子植物の分子系統樹を構築することによって、単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物は、本当に真正双子葉類とマツモ目の群でいいのかどうかを確かめることである。

3. 研究の方法

今回の研究で知りたいことは、単子葉植物が出現した近辺の時代に、どのような順序で分類群の分岐が進んだかなので、今回の研究では、後に科や属の数を増やしたと考えられる大きな分類群からの過剰なサンプリングを控え、形態的に原始的な植物を中心にサンプリングを行うことを試みた。

今回の材料植物としては、単子葉植物の姉妹群候補となる原始的な双子葉植物を中心に選んだ22種の双子葉植物 (アンボレラ目1種、スイレン目2種、アウストロバイレヤ目2種、センリョウ目1種、コショウ目3種、クスノキ目3種、モクレン目3種、マツモ目1種、真正双子葉類6種) と、単子葉植物全11目の各目から少なくとも1種を選び、それにいくつかの原始的な単子葉植物を加えた合計21種の単子葉植物 (ショウブ目1種、オモダカ目4種、サクライソウ目2種、ヤマノイモ目2種、タコノキ目2種、ユリ目3種、クサスギカズラ目3種、ヤシ目1種、ツユクサ目1種、ショウガ目1種、イネ目1種) を用いた。

特に単子葉植物のサンプリングに関しては、最近の分子系統学的研究と比較しても、目間でサンプル数に大きな偏りがなく、形態的に原始的な目に重点を置いていることがわかる (表1)。

今回解析した遺伝子とそれらの塩基配列のアラインメント後の長さは、葉緑体の *ndhF* (2102 bp)、*matK* (1852 bp)、*atpB* (1480 bp)、*rbcL* (1372 bp)、*rpl2* (1212 bp)、*rps4* (610 bp)、*rpoC1* (487 bp)、*rpoB* (409 bp)、ミトコンドリアの *matR* (3008 bp)、*cox1* (2050 bp)、*atp1* (1186 bp)、*atpA* (1141 bp)、*nad5* (1095 bp)、*cob* (938 bp)、*cox3* (759 bp)、核の

18SrDNA (1696 bp)で、合計 21397 bp であった。これらの塩基配列のうちの多くは、私達が今回新たに決定したものであるが、一部は日本 DNA データバンク (DDBJ) から引用したものである。今回のデータセットでの塩基情報の欠損の割合は 6% であった。

表 1 Moore *et al.* (2007), Jansen *et al.* (2007), Moore *et al.* (2010), Soltis *et al.* (2011) と今回の研究で使われた単子葉植物のサンプル数の比較。破線より上の目は、概して形態的に原始的で、系統樹のより根元付近から分岐するもの。破線より下の目は、概して形態的に前進的で、系統樹のより端部付近から分岐するもの。

	Moore <i>et al.</i> (2007)	Jansen <i>et al.</i> (2007)	Moore <i>et al.</i> (2010)	Soltis <i>et al.</i> (2011)	今回の 研究
ショウブ目					
Acorales	1	2	1	1	1
サトイモ目					
Alismatales	0	0	1	10	4
サクランソウ目					
Petrosaviales	0	0	0	0	2
ヤマノイモ目					
Dioscoreales	1	1	1	1	2
タコノキ目					
Pandanales	0	0	0	2	2
ユリ目					
Liliales	0	0	0	3	3
クサスギカズラ目					
Asparagales	2	2	2	11	3
ヤシ目					
Arecales	0	1	1	2	1
ツユクサ目					
Commelinales	0	0	0	2	1
ショウガ目					
Zingiberales	0	1	1	3	1
イネ目					
Poales	4	7	4	8	1
合計	8	14	11	43	21

このデータセットに基づいて、最節約法と最尤法の両方で分子系統樹を構築した。また、マツモ目は long branch attraction を引き起こす可能性があるため、マツモ目を解析に含める場合と除く場合の両方を試した。

今回の研究では、最節約法と最尤法の両方とも、切断と最接続の枝交換 (TBR) による発見的探索法 (heuristic) で行った。ブートストラップ解析は、最節約法で 1000 回、最尤法で 10 回の反復で行った。最尤法のモデル選択は、階層的尤度比検定 (hLRT) を行い、マツモ目をデータセットに含めるか否かにかかわらず、GTR+I+G モデルが選択された。

以前の分子系統学的研究の結果から、被子植物の中ではアンボレラ目とスイレン目がまず分岐することがわかっているため、今回の研究では、アンボレラ目とスイレン目の 3 種を外群として分子系統樹を構築した。

4. 研究成果

まず、マツモ目を含めて、最節約法で分子系統解析を行った結果、樹長 = 20675、CI = 0.48、RI = 0.53 の 2 個の最節約系統樹が得られ、その厳密合意樹を図 1 に示した。この解析では、単子葉植物の姉妹群はモクレン目とクスノキ目のクレードになったが、そのブートストラップ値は 50% 以下と低かった。

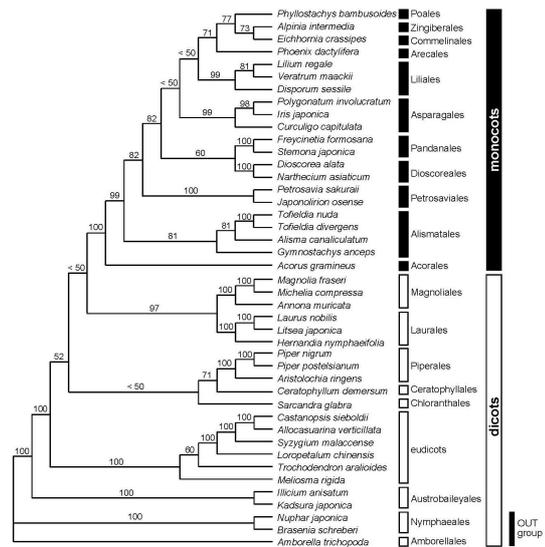


図 1 葉緑体 *atpB*, *matK*, *ndhF*, *rbcL*, *rp12*, *rp16*, *rp18*, *trnK* 遺伝子、ミトコンドリア *atpA*, *atp1*, *cox1*, *cox2*, *cox3*, *matR*, *nad5* 遺伝子、核 18S rDNA 領域の塩基配列データから推定した 43 種の被子植物 (マツモ *Ceratophyllum demersum* を含む) の最節約系統樹 (樹長 = 20675, CI = 0.48, RI = 0.53) 2 個の厳密合意樹。枝の上の数字はブートストラップ 1000 の値 (%)。

次に、マツモ目を除いて、最節約法で解析を行うと、樹長 = 19795、CI = 0.48、RI = 0.54 の 2 個の最節約系統樹が得られた。その厳密合意樹を図 2 に示した。この解析では、単子葉植物の姉妹群はコショウ目になったが、そのブートストラップ値は 50% 以下と低かった。

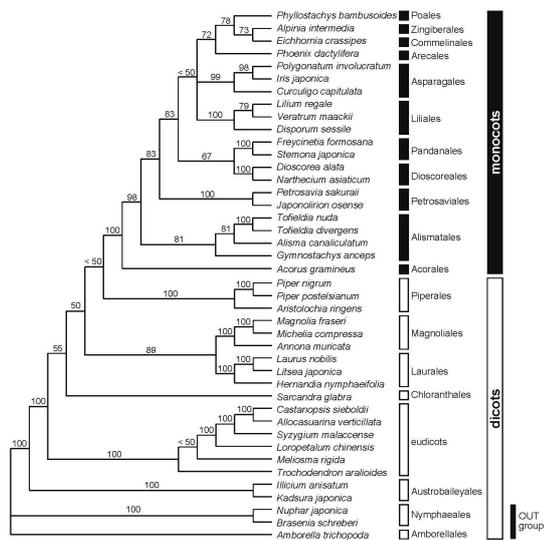


図 2 葉緑体 *atpB*, *matK*, *ndhF*, *rbcL*, *rp12*, *rp16*, *rp18*, *trnK* 遺伝子、ミトコンドリア *atpA*, *atp1*, *cox1*, *cox2*, *matR*, *nad5* 遺伝子、核 18S rDNA 領域の塩基配列データから推定した 42 種の被子植物 (マツモ *Ceratophyllum demersum* を除く) の最節約系統樹 (樹長 = 19795, CI = 0.48, RI = 0.54) 2 個の厳密合意樹。枝の上の数字はブートストラップ 1000 の値 (%)。

次に、最尤法で解析を行い、系統樹を構築した。マツモ目を含めたもの (図 3) と除いたもの (図 4) の両方において、単子葉植物の姉妹群はコショウ目・モクレン目・クスノキ目のクレードになった。しかし、そのブートストラップ値は、いずれも 50% 以下と低かった。

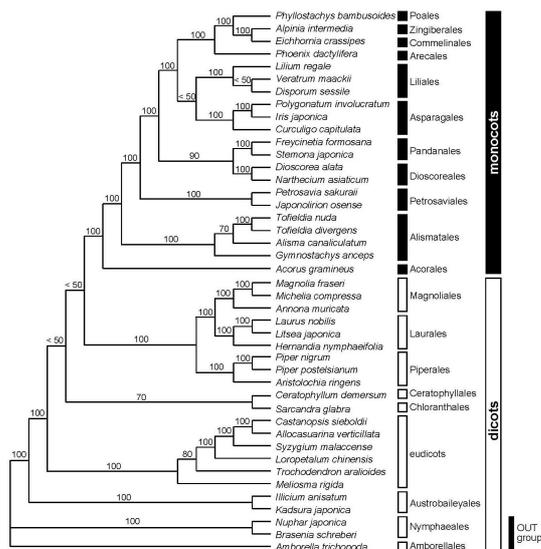


図3 葉緑体 *atpB*, *matK*, *ndhF*, *rbcL*, *rp12*, *rp16*, *rp18*, *trnK*, *trnL*, *trnS* 遺伝子, ミトコンドリア *atp4*, *atp1*, *cox1*, *cox2*, *cox3*, *matR*, *nad5* 遺伝子, 核18S rDNA領域の塩基配列データから推定した43種の被子植物(マツモ *Ceratophyllum demersum* を含む)の最尤系統樹 (階層的尤度比検定 (hLRT), GTR+I+Gモデル)。枝の上の数字はブートストラップ10の値 (%)。

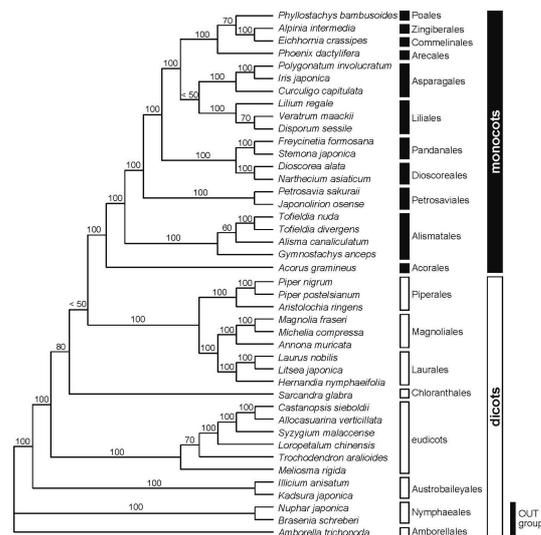


図4 葉緑体 *atpB*, *matK*, *ndhF*, *rbcL*, *rp12*, *rp16*, *rp18*, *trnK*, *trnL*, *trnS* 遺伝子, ミトコンドリア *atp4*, *atp1*, *cox1*, *cox2*, *cox3*, *matR*, *nad5* 遺伝子, 核18S rDNA領域の塩基配列データから推定した42種の被子植物(マツモ *Ceratophyllum demersum* を除く)の最尤系統樹 (階層的尤度比検定 (hLRT), GTR+I+Gモデル)。枝の上の数字はブートストラップ10の値 (%)。

今回の研究の結果では、最節約法、最尤法によらず、また、マツモ目を解析に含めるか否かによらず、アウストロバイレヤ目の次に真正双子葉類が分岐した (図1-4)。そのブートストラップ値は低い場合が多かったものの (図1-3)、マツモ目を除いて最尤法で解析を行った場合は、80%と比較的高かった (図4)。また、マツモ目の系統的位置については、最節約法の場合はブートストラップ値 71%でコショウ目の姉妹群になり (図1)、最尤法の場合はブートストラップ値 70%でセンリョウ目の姉妹群になった (図3)。いかなる場合においても、真正双子葉類とマツモ目が姉妹群関係になることはなかった (図1-4)。

以上の解析の結果から、単子葉植物に最も近縁な現存する双子葉植物は、必ずしも真正双子葉類とマツモ目の群であるとは限らないことが判明した。しかし、それではいったいどの双子葉植物が単子葉植物に最も近縁なのかについては、現段階では不明であった。今回のサンプルの塩基配列をより長く決定し、それに基づいた分子系統解析を行うことによって、単子葉植物の姉妹群が決まることを期待する。

〔引用文献〕

- ① Dahlgren, R. M. T., Clifford, H. T. and Yeo, P. F. 1985. The Families of the Monocotyledons. 520 pp. Springer, Berlin.
- ② Jansen, R. K., *et al.* 2007. Analysis of 81 genes from 64 plastid genomes resolves relationships in angiosperms and identifies genome-scale evolutionary patterns. PNAS **104**: 19369-19374.
- ③ Moore, M. J., Bell, C. D., Soltis, P. S. and Soltis, D. E. 2007. Using plastid genome-scale data to resolve enigmatic relationships among basal angiosperms. PNAS **104**: 19363-19368.
- ④ Moore, M. J., Soltis, P. S., Bell, C. D., Burleigh, J. G. and Soltis, D. E. 2010. Phylogenetic analysis of 83 plastid genes further resolves the early diversification of eudicots. PNAS **107**: 4623-4628.
- ⑤ Soltis, D. E., *et al.* 2011. Angiosperm phylogeny: 17 genes, 640 taxa. Amer. J. Bot. **98**: 704-730.

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)

〔学会発表〕 (計1件)

- ① Tamura, M. N. Is the sister group of the monocots really eudicots? East Asian Botany: International Symposium 2011, Tsukuba, Japan, 19 March 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田村 実 (TAMURA MINORU)
京都大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：20227292

(2) 研究分担者

山下 純 (YAMASHITA JUN)
岡山大学・資源植物科学研究所・助教
研究者番号：20432627

布施 静香 (FUSE SHIZUKA)
兵庫県立人と自然の博物館・自然環境評価
研究部・主任研究員
研究者番号：30344386

(3) 連携研究者

なし