

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 29 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25291091

研究課題名(和文) 極限環境に適応したカワゴケソウ科の形態多様化に関する遺伝学的解析

研究課題名(英文) Genetic Analyses of Morphological Diversity in Podostemaceae adapted to Extreme Environments

研究代表者

加藤 雅啓 (KATO, Masahiro)

独立行政法人国立科学博物館・その他部局等・名誉研究員

研究者番号：20093221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：生物進化の仮説によれば、選択圧がないか弱い環境では形態が中立進化する。そのような事例が、競争者がいない特異な環境に適応したカワゴケソウ科植物に存在する可能性がある。本研究では、網羅的な遺伝子の進化学的解析から、同義置換速度が上昇し、突然変異率が上昇したこと、および非同義置換が著しく蓄積しており、負の選択圧が緩和したことが示唆された。カワゴロモ属群の中に、単子葉化した種が4種あり、単子葉化が複数回起こり、その1種で胚期で細胞分裂が変更したことが観察された。

研究成果の概要(英文)：An evolutionary biological theory claims that the evolution of morphology is neutral under no or little pressure of selection. It may be possible that neutral evolution of morphology is involved in the diversification of the aquatic flowering plant family Podostemaceae living in extreme habitats with no or few competitors. In comprehensive analyses of genes, we found high synonymous substitution rates or mutation rates, and also numerous nonsynonymous substitutions. It may be likely therefore that Podostemaceae evolved in a condition of relaxed negative selection. We also found four monocotyledonous species in Hydrobryum, and the evolution of monocotly is recurrent. In a monocotyledonous species, unusual cell divisions take place in an early stage of embryogenesis.

研究分野：植物分類学

キーワード：進化 形態多様性 適応進化 中立進化 遺伝子

1. 研究開始当初の背景

(1) 植物は、地球の隅々に広がるさまざまな環境で適応進化を繰り返して多様化を遂げた。適応進化は「中立的な形質プールから特定の適応的形質が選択されること」と説明される。この概念に基づけば、適応進化に先立って中立的（非選択的）な形態が作り出され、選択圧が弱いとかそれがいない状況では中立的形態が保存されるはずである。しかし、非選択的な形態進化の実例は極めて少ない。本研究は、他に類例を見ないほど特異な水生被子植物カワゴケソウ科の進化と多様化に焦点を当てて解析する。

カワゴケソウ科植物は、熱帯・亜熱帯の早瀬や滝の急流中の岩の上にのみ生え、雨期は急流の中で岩にへばりついて成長するが、乾期に水位が下がると空中に露出し、短期間に開花・結実し、枯死する。本科はオトギリソウ科に近い祖先植物から起源し、競争相手がほとんどいない生存限界といえる環境に侵入を果たした。その後、そこで分布拡大と種分化を繰り返して54属300種余にまで多様化した。さらに全54属中22属（41%）が1種のみからなる単型属の割合の高いことは、分類群間の形態変異が急激であったことを意味する。このように急速に多様化した形態を制御する遺伝子群は、進化速度が早く、かつ強い正の選択が働いたか中立進化したかかもしれない。

(2) 他生物の侵入が困難で競争相手が皆無に近い極限環境において、器官構成や形態が大きく異なる種が同所的に生育することから、本科の形態進化には、顕著な適応進化と中立進化あるいは弱選択圧下の進化の両方が含まれると予想されている。しかし、形態レベルの進化が中立進化か適応進化かを立証することはこれまで困難であり、極限環境への進出に不可欠な生理的機能面での適応進化性については全く明らかになっていない。近年、遺伝子解読技術の進歩により、網

羅的な配列情報を集団遺伝学の理論に基づいて解析することで、どのような遺伝子がどのような自然選択をうけて進化したかを検出することができるようになった。一方、各器官形成を担う責任遺伝子経路が解明されるようになった。両者を併せることで、間接的に形態への自然選択を客観的に評価できる。また、遺伝子配列を網羅的に得ることで、形態からは分からない生理機能に関わる形質の進化過程も推測できる。カワゴケソウ科は、陸上とは異質の選択圧がかかる環境へ適応し、急速かつ著しい形態進化が生じていることから、このような進化ゲノム学的解析によりダイナミックな進化を検出できる。

2. 研究の目的

本研究では、急流中の岩上という極限環境に適応したカワゴケソウ科を対象に、中立的形態進化の実像を示したい。そのために、各器官で働く遺伝子を網羅的に明らかにし、器官にかかる自然選択様式を、器官形成に関わる遺伝子全てに対する選択様式の総和として評価する。また、器官の消失や異数子葉性を例に、形態の中立進化を検証し、その背景にある進化機構を解明する。

3. 研究の方法

(1) 網羅的発現遺伝子解析による適応的・中立的・保存的形質の探索および自然選択様式の検出 カワゴケソウ科の姉妹群オトギリソウ科1種、カワゴケソウ科の基部分類群トリスティカ亜科の2種、ウェッデリナ亜科1種、本科の90%以上の種を含むカワゴケソウ亜科の4種の現地採集で得た、あるいは国立科学博物館所蔵の種子を発芽させて得られた実生（根とシュートを含む）からmRNAを抽出し、標準的なRNA-seqライブラリおよび平均化ライブラリを作成した。Illumina HiSeq2000を用い、リード長100bpのペアエンドシーケンスを行い生データを取得した。アセンブルを行ない、コンティグを得た。

セイヨウトドリとカワゴケソウ科の7種から得られた配列情報について、アマ(同じキントラノオ目に属し概要ゲノム配列のある陸生のアマ科)を含めて対応する遺伝子の多重アラインメントを行い、アマの配列を外群として遺伝子の相対進化速度を求めた。

また、非同義置換率(dN)、同義置換率(dS)、非同義/同義置換率の比(dN/dS)を計算し、どのような選択圧を受けたかを推定した。各遺伝子が関与する組織・器官の発生過程・代謝経路をシロイヌナズナの情報を参照して調べた。

(2) 保存的形質の中立的な多様化の解析 カワゴロモ群の果実および種子をタイとラオスでサンプリングし、胚および実生の形態を網羅的に観察した。また、胚発生を詳細に比較し、どのような発生過程の変化により単子葉性の進化が起こったのかを推定した。

(3) 保存的形質の中立的な多様化の解析 カワゴロモ群の果実および種子をタイとラオスでサンプリングし、胚および実生の形態を網羅的に観察した。また、胚発生を詳細に比較し、どのような発生過程の変化により単子葉性の進化が起こったのかを推定した。

4. 研究成果

(1) 中立進化の可能性がある形態進化を引き起こした遺伝子進化を探るため、カワゴケソウ科の3亜科7種と姉妹群オトギリソウ科セイヨウトドリ科のRNA-Seq.解析により網羅的に取得した配列から得られた2048遺伝子について分子進化学的解析を行なった。その結果、科内で派生的なカワゴケソウ科において、大部分の遺伝子で相対進化速度が大きくなる傾向があり、同義置換率が高くなっていったことから、突然変異率自体が上昇していることが示唆された。一方、非同義置換率もカワゴケソウ科の多くの遺伝子で上昇しており、さらに負の選択圧の緩和が起き

たと考えられる。以上より、何らかの理由で本種の突然変異率が上昇し、さらに選択的制約の緩和により新たな遺伝子進化が促進され、形態進化や種分化に貢献した可能性が示唆された。

(2) カワゴケソウ科は姉妹群オトギリソウ科とともに双子葉類であり、その中で単子葉化が複数回起こった。また、単子葉を持った種類は、子葉の間につくられるはずの幼芽分裂組織が分化しないカワゴロモ属群に属し、単子葉化が幼芽分裂組織の消失と関連している可能性がある。子葉枚数の変異が中立進化の結果かどうかを解明するために、胚・実生の形態観察を行って、*Hydrodiscus koyamae* およびカワゴロモ属の4種では子葉が1枚しか生じないことを確かめた。さらに、胚発生を詳細に観察し、16細胞期から球状胚期へ移行する段階において細胞分裂の方向が変化したことが単子葉化に関与したと示唆された。形質進化の過程を推定した結果、単子葉性の進化は独立に4回起こったと推定された。

(3) 既知の種属とは顕著に異なる種類を海外で発見した。新属と思われ、形態的にも近縁属とは大きく隔たるなど、跳躍進化が起こったと考えられる種類などを追加し、急速進化がカワゴケソウ科でより一般的であることが推定された。根がリボン状から葉状へ、反対に葉状からリボン状へ複数回進化し、また雄しべ数が1本から2本へ、反対に2本から1本へ進化したことが推定された。このような共通性の高い環境で起こった双方向の形態進化は、中立進化である可能性が示唆された。

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 6件)

Koi, S., M. Kato, The taxonomy of Podostemaceae subfamily Tristichoideae in Laos, with descriptions of seven new species. *Acta Phytotax. Geobot.*, 査読あり, 66 (2015), 61-79.

Koi, S., H. Ikeda, R. Rutishauser, M. Kato, Historical biogeography of river-weeds (Podostemaceae). *Aquat. Bot.*, 査読あり, 127 (2015), 62-69.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2015.08.003>

Koi, S., M. Kato, Additions to Podostemaceae subfamily Podostemoideae of Laos. *Acta Phytotax. Geobot.*, 査読あり, 66 (2015), 181-187.

Kato, M., S. Koi, C. Tsutsumi, N. Katayama, A new crustose species of *Zeylanidium* from Kerala, India. *Rheedea*, 査読あり, 25 (2015), 156-158.

Kato, M., Multidisciplinary studies of the diversity and evolution in river-weeds. *J. Plant Res.*, 査読あり, 印刷中

DOI 10.1007/s10265-016-0801-8

Werukamkul, P., L. Ampornpan, M. Kato, S. Koi, New species and new records of Podostemaceae from Phitsanulok, northern Thailand. *Acta Phytotax. Geobot.*, 査読あり, 印刷中

[学会発表](計 11件)

片山なつ、水平ポディプランをもつカワゴケソウ科の進化形態学的研究(招待講演) 日本植物学会第77回大会、2013年9月13日~2013年9月15日、北海道大学(札幌市)

片山なつ、西山智明、厚井聡、倉田哲也、山田敏弘、今市涼子、加藤雅啓、カワゴケソウ科の劇的な形態進化を引き起こした遺伝子進化、日本植物学会第77回大会、2013年9月13日~2013年

9月15日、北海道大学(札幌市)

厚井聡、加藤雅啓、カワゴケソウ科カワゴロモ属における単子葉性の進化、日本植物分類学会第13回大会、2014年3月21日~2014年3月23日、熊本大学(熊本市)

片山なつ、西山智明、厚井聡、倉田哲也、今市涼子、加藤雅啓、分子進化速度の上昇による劇的な形態進化の可能性、日本進化学会第16回大会、2014年8月21日~2014年8月23日、高槻現代劇場(高槻市)

片山なつ、西山智明、厚井聡、倉田哲也、今市涼子、加藤雅啓、カワゴケソウ科における分子進化速度の上昇と進化可能性、日本植物学会第78回大会、2014年9月12日~2014年9月14日、明治大学(川崎市)

片山なつ、今市涼子、加藤雅啓、日本におけるカワゴケソウ科植物の生育適地の分布と遺伝的分化、日本植物分類学会第14回大会、2015年3月6日~3月7日、福島大学(福島)

Satoshi Koi, Ryoko Imaichi, Masahiro Kato, Evolution of root morphology in Podostemaceae, Contribution of Genetics to Plant Conservation, Brazil - Japan International Workshop 2015, 2015年2月2日~2015年2月4日, Piracicaba (ブラジル)

片山なつ、西山智明、厚井聡、倉田哲也、今市涼子、加藤雅啓、珍奇なカワゴケソウ科における分子進化速度の上昇、日本進化学会第17回大会、2015年8月20日~2015年8月23日、中央大学(東京)

片山なつ、西山智明、厚井聡、倉田哲也、今市涼子、加藤雅啓、網羅的遺伝子で明らかにする水生植物カワゴケソウ科の多

様化の鍵、日本植物学会第79回大会、
2015年9月6日～2015年9月9
日、朱鷺メッセ（新潟）

Kato M., S. Koi, Podostemaceae of
Cambodia, Laos and Vietnam, Botanical
Research in Tropical Asia, 2015年
12月6日～2015年12月11日,
Vientiane (Laos)

加藤雅啓、厚井聡、ラオスの変なカワゴ
ケソウ一種の系統と形態、日本植物分類
学会第15回大会、2016年3月6日
～2016年3月8日、富山大学（富山
市）

〔図書〕（計 1件）

加藤雅啓、北隆館、原色植物分類図鑑：
世界のカワゴケソウ、2013、308。

〔産業財産権〕

出願状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤雅啓 (KATO, Masahiro)
国立科学博物館・名誉研究員
研究者番号：20093221

(2) 研究分担者

片山なつ (KATAYAMA, Natsu)
日本女子大学・理学部・研究員

研究者番号：20723638

西山智明 (NISHIYAMA, Tomoaki)
金沢大学・学内共同利用施設等・助教
研究者番号：50390688

厚井聡 (KOI, Satoshi)
大阪市立大学・大学院理学研究科・講師
研究者番号：60470019

山田敏弘 (YAMADA, Toshihiro)
金沢大学・大学院自然システム系・准教授
研究者番号：70392537

(3) 連携研究者

()

研究者番号：