

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440209

研究課題名(和文) 倍数体化と雑種形成を伴うヒルムシロ属植物の種分化と環境応答性の多様化の比較解析

研究課題名(英文) Effect of polyploidy and hybridization on the species-specific variation in response to environmental stress in aquatic Potamogeton plants

研究代表者

小菅 桂子 (Kosuge, Keiko)

神戸大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50215266

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：水生植物、ヒルムシロ属のササバモとヒロハノエビモは近縁にもかかわらず、生態的に多様化している。植物ホルモン、アブシシン酸(ABA)溶液で栽培すると、両者はともに気孔をもつ陸生葉を形成し、陸上で生育できる。しかし、ABAが誘導される塩や低温ストレス栽培では、ササバモのみが陸生葉を形成した。ABA合成を律速する酵素遺伝子の発現は、ササバモは長期にわたり誘導されたが、ヒロハノエビモは一過的であった。このように、両種はともに陸生葉を形成する能力をもつが、ABAが関与するストレスへの応答の違いにより、それぞれ異なる生育環境、淡水から陸上と淡水から汽水域に適応している。

研究成果の概要(英文)：Two aquatic Potamogeton plants, amphibious *P. wrightii* and obligate submerged *P. perfoliatus*, are closely related but ecologically diverse. By the exogenous abscisic acid (ABA) treatment, both plants produced stomatal leaves and could survive on land. However, under salinity or low temperature treatments, which promote ABA biosynthesis, stomatal leaves underwater were formed only in *P. wrightii*. The expression of key enzyme genes in ABA biosynthesis was consistently up-regulated in *P. wrightii*, but only temporarily in *P. perfoliatus* under salinity stress. These results suggest that the two Potamogeton species have an innate morphogenetic ability to grow on land, but the actual production of shoot with stomatal leaves depends on ABA-mediated stress responses specific to each species and habitat.

研究分野：植物分類・生態学

キーワード：異質倍数体 環境ストレス 水生植物 アブシシン酸 気孔 異形葉性

1. 研究開始当初の背景

異なるゲノムの組み合わせを生み出す異質倍数性は、環境への応答性の多様化や種分化に重要な働きをされると考えられている。陸上から水生環境に適応した水草では倍数化が頻繁に起こっている。水草で最大の群のヒルムシロ科では、四倍体種が陸上・淡水・汽水域や熱帯から亜寒帯と幅広い環境に多様に分化している。これまでの分子系統学的研究により、淡水から陸上に生育できる水陸両生型のササバモと淡水から汽水域に生育する完全沈水生型のヒロハノエビモは過去の交雑によって生じた異質倍数体であることが示されている。

2. 研究の目的

本研究は、生態的に多様化を遂げてきたヒルムシロ属四倍数体の姉妹種において、形態やストレス耐性が生育環境にあわせて適応的に進化してきた様相を検証するため、環境ストレスに対する表現型と遺伝子応答を解析するものである。

3. 研究の方法

低温処理を行ったササバモとヒロハノエビモの葉から抽出した RNA を用い、RNA-Seq 法により、ストレスにより誘導される遺伝子の配列を解析した。2種の植物を塩や低温などのストレス条件で約1か月栽培し、表現型の変化、ストレス耐性、ストレス応答遺伝子の発現量を比較した。

4. 研究成果

(1) アブシシン酸による陸生型の誘導

ササバモのように、ふつう気孔のない葉をつけて沈水生活を営み、渇水期には気孔のある葉をつけて陸生型に変化して陸上で生育することは、幅広い分類群の水生植物で見られる。これら異形葉性の水生植物では、アブシシン酸 (ABA) により陸生型が誘導される

ことが古くから知られている。

本研究では、自然状態では陸生型を生じないヒロハノエビモにおいて ABA 処理を試みた。その結果、高濃度 (10 μ M) の ABA 溶液中で栽培するとヒロハノエビモでもササバモのように気孔を持つ葉を新たに形成し、陸上で生存できるようになることが示された (表 1.)。また、ABA を除去すると、両種ともに陸生型から沈水型に変化した。気孔形成にかかわる stomagen や転写因子などの遺伝子の発現は、ABA 処理後の 1 日目で認められた。

表 1. ヒルムシロ属植物の生態的特徴と表現型可塑性

分布	ササバモ	ヒロハノエビモ
地理的分布	熱帯～亜寒帯	温帯～亜寒帯
生育水域	淡水	淡水～汽水
生育型		
陸上 ^{*)}	陸生型	-
淡水 ^{*)}	沈水型	沈水型
アブシシン酸 (1 μ M) ^{*)}	陸生型	沈水型
アブシシン酸 (10 μ M) ^{*)}	陸生型	陸生型
海水 (1/3 希釈) ^{*)}	陸生型	沈水型
ポリエチレングリコール (20%) ^{*)}	陸生型	沈水型
低温馴化 (淡水 25°C/15°C)	陸生型	沈水型
高温馴化 (淡水 30°C/25°C) ^{*)}	沈水型	沈水型

^{*)} Iida et al. 2007, ^{*)} Iida et al. 2016, ^{*)} Amato et al. 2012.

(2) 環境ストレスによる陸生型の誘導

異形葉性の水生植物では、浸透圧ストレスにより内生 ABA 量が増加し、陸生型が誘導されることが報告されている。ABA 合成を促進させる条件、希釈海水、ポリエチレングリコール、低温栽培を行った結果、ササバモではいずれの処理でも陸生型が誘導された。しかし、ヒロハノエビモではそのような形態の変化は認められなかった (表 1.)。

(3) ストレス耐性の比較

ABA、希釈海水、ポリエチレングリコール処理により、ササバモの成葉は褐変するが、ヒロハノエビモではそのような変化は認められなかった (図 1.)。低温栽培では両者ともに褐変などの影響は認められなかった。このようにヒロハノエビモはササバモに比べ、ABA が関与する浸透圧ストレスへの耐性が高いことが示された。

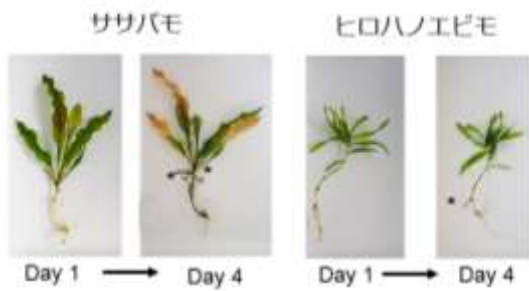


図 1. ABA(10 μ M)処理開始 1 日と 4 日後の植物体。* : 陸生型シュートに分化する芽

(4) ストレス耐性の比較

塩ストレスにおける ABA 合成の律速酵素 NCED (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) 遺伝子の発現量を調べた結果、ササバモは長期にわたり誘導されたが、ヒロハノエビモは一過的であった。このような種間での NCED の発現パターンの違いは、ササバモのみに陸生型を生じさせたポリエチレングリコールや低温ストレスでも認められた。

本研究により、完全沈水生のヒロハノエビモも水陸両生のササバモと同様に、異形葉性を持つことが明らかとなった。両者の自然状態における陸生葉形成能の違いは、ストレスへの ABA 応答の違いに起因することが示された。また、塩ストレスに対して耐性を持ち、表現型を変化させないことで、ヒロハノエビモは淡水から汽水域に分布を拡大することができるようになったと推定された。

異質倍数体では、倍加した対立遺伝子間でその発現レベルが変化することが栽培植物で報告されている、同祖ゲノムを共有する異質四倍体のヒロハノエビモとササバモでのストレス応答の違いが、そのような対立遺伝子の発現レベルの差に起因するのかを今後明らかにする。

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 4 件)

- ① Iida, S., Ikeda, M., Amano, M., Sakayama, H., Kadono, Y., Kosuge, K. (2016) Loss of heterophylly in aquatic plants: not ABA-mediated stress but exogenous ABA treatment induces stomatal leaves in *Potamogeton perfoliatus*. J Plant Res. (2016 年 5 月 13 日受理) 査読有
- ② Kurita, Y., Baba, K., Ohnishi, M., Anegawa, A., Shichijo, C., Kosuge, K., Fukaki, H., Mimura, T. (2014) Establishment of a shortened annual cycle system; a tool for the analysis of annual re-translocation of phosphorus in the deciduous woody plant (*Populus alba* L.). J Plant Res. 127:545-51. (DOI: 10.1007/s10265-014-0634-2) 査読有
- ③ Kosuge, K., Iida, S., Katou, K., Mimura, T. (2013) Circumnutation on the water surface: female flowers of *Vallisneria*. Scientific Reports 3: 1133. (DOI: 10.1038/srep01133) 査読有
- ④ Iida, S., Kadono, Y., Kosuge, K. (2013) Maternal effects and ecological divergence in aquatic plants: a case study in natural reciprocal hybrids between *Potamogeton perfoliatus* and *P. wrightii*. Plant Species Biology 28: 3-11. (DOI: 10.1111/1442-1984.12006) 査読有

[学会発表] (計 20 件)

- ① 飯田 聡子, 坂山 英俊, 角野 康郎, 小菅 桂子, 水生植物の気孔形成と塩ストレス応答, 日本生態学会第 63 回全国大会, 2016 年 3 月 20 日-24 日, 仙台国際センター (宮城県)
- ② Keiko Kosuge, Satoko Iida, Comparative studies of low temperature stress in aquatic plants of *Potamogeton*, 日本植物生理学会第 57 回年会, 2016 年 3 月 18 日-20 日, 岩手大学 (岩手県)

- ③ Hitomi Fujiwara, Hidetoshi Sakayama, Miwa Ohnishi, Kimitsune Ishizaki, Koichi Toyokura, Tatsuaki Goh, Hiroyuki Sekimoto, Tomoaki Nishiyama, Hisato Ikegaya, Satamoi Kanno, Ayumi Tezuka, Atsushi J. Nagano, Keiko Kosuge, Hidehiro Fukaki, Tetsuro Mimura, Evolutional analysis of phosphate transport mechanism in plant cells, 日本植物生理学会第 57 回年会, 2016 年 3 月 18 日-20 日, 岩手大学 (岩手県)
- ④ Shoko Iwamura, Yuko Kurita, Kei'ichi Baba, Miwa Ohnishi, Keiko Kosuge, Kimitsune Ishizaki, Hidehiro Fukaki, Tetsuro Mimura, Seasonal changes in phosphorus metabolites in leaves of the deciduous woody plant, *Populus alba*, 日本植物生理学会第 57 回年会, 2016 年 3 月 18 日-20 日, 岩手大学 (岩手県)
- ⑤ Shun Manabe, Yuko Kurita, Kei'ichi Baba, Kotaro Yamamoto, Katsutoshi Takahashi, Miwa Ohnishi, Keiko Kosuge, Kimitsune Ishizaki, Hidehiro Fukaki, Tetsuro Mimura, Re-translocation of nutrients during heartwood formation of Poplar tree, 日本植物生理学会第 57 回年会, 2016 年 3 月 18 日-20 日, 岩手大学 (岩手県)
- ⑥ Yuko Kurita, Kei'ichi Baba, Satomi Kanno, Ryohei Sugita, Atsushi Hirose, Miwa Ohnishi, Keiko Kosuge, Kimitsune Ishizaki, Hidehiro Fukaki, Keitaro Tanoi, Yasuko Kaneko, Tomoko M. Nakanishi, Tetsuro Mimura, Analysis of seasonal re-translocation of phosphate in a deciduous woody plant, *Populus alba*, 日本植物生理学会第 57 回年会, 2016 年 3 月 18 日-20 日, 岩手大学 (岩手県)
- ⑦ 飯田 聡子, 坂山 英俊, 角野 康郎, 小菅 桂子, 水生植物の異形葉形成と海水適応, 第 4 回近畿植物学会講演会, 2015 年 11 月 7 日, 大阪市立大学理学部 附属植物園 (大阪府)
- ⑧ 栗田 悠子, 馬場 啓一, 菅野 里美, 杉田 亮平, 廣瀬 農, 大西 美輪, 小菅 桂子, 石崎 公庸, 深城 英弘, 田野井 慶太郎, 金子 康子, 中西 友子, 三村 徹郎, ポプラにおけるリン酸転流経路の季節変化, 日本植物学会第 79 回大会, 2015 年 9 月 6 日-5 日, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター(新潟)
- ⑨ 栗田 悠子, 馬場 啓一, 菅野 里美, 杉田 亮平, 廣瀬 農, 大西 美輪, 姉川 彩, 小菅 桂子, 七條 千津子, 石崎 公庸, 深城 英弘, 田野井 慶太郎, 金子 康子, 中西 友子, 三村 徹郎, 落葉性木本植物のリン酸分配・転流機構の解析, 第 56 回日本植物生理学会年会, 2015 年 3 月 16 日-18 日, 東京農業大学 (東京都)
- ⑩ 真鍋 瞬, 栗田 悠子, 馬場 啓一, 大西 美輪, 小菅 桂子, 七條 千津子, 石崎 公庸, 深城 英弘, 三村 徹郎, 木本植物の心材形成時における栄養塩回収機構の解析, 第 56 回日本植物生理学会年会, 2015 年 3 月 16 日-18 日, 東京農業大学 (東京都)
- ⑪ 藤原 ひとみ, 大西 美輪, 坂山 英俊, 石崎 公庸, 豊倉 浩一, 郷 達明, 関本 弘之, 西山 智明, 七條 千津子, 小菅 桂子, 深城 英弘, 三村 徹郎, 植物細胞リン酸輸送機構とその進化について, 第 56 回日本植物生理学会年会, 2015 年 3 月 16 日-18 日, 東京農業大学 (東京都)
- ⑫ Hitomi Fujiwara, Miwa Ohnishi, Hidetoshi Sakayama, Kimitsune Ishizaki, Koichi Toyokura, Tatsuaki Goh, Hiroyuki Sekimoto, Tomoaki Nishiyama, Chizuko Shichijo, Keiko Kosuge, Hidehiro Fukaki, Tetsuro Mimura, Evolutionary analysis of phosphate transport mechanisms in plant

cells, The 2nd International Symposium on Plant Environmental Sensing, 2015年3月13日-15日, 産業総合研究所(東京都)

- ⑬ Yuko Kurita, Keiichi Baba, Satomi Kanno, Miwa Ohnishi, Keiko Kosuge, Aya Anegawa, Kazuya Okada, Youichi Masuda, Taro Suzuki, Chizuko Shichijo, Kimitsune Ishizaki, Hidehiro Fukaki, Tetsuro Mimura, 2015年3月13日-15日, 産業総合研究所(東京都)
- ⑭ 栗田 悠子, 馬場 啓一, 大西 美輪, 姉川 彩, 小菅 桂子, 七條 千津子, 石崎 公庸, 深城 英弘, 三村 徹郎, 落葉性木本植物のリン酸分配・転流機構の解析, 日本植物学会第78回大会, 2014年9月12日-14日, 明治大学(神奈川県)
- ⑮ 真鍋 瞬, 栗田 悠子, 馬場 啓一, 大西 美輪, 小菅 桂子, 七條 千津子, 石崎 公庸, 深城 英弘, 三村 徹郎, 木本植物におけるイオン輸送機構の解析, 日本植物学会第78回大会, 2014年9月12日-14日, 明治大学(神奈川県)
- ⑯ 藤原 ひとみ, 大西 美輪, 坂山 英俊, 石崎 公庸, 豊倉 浩一, 関本 弘之, 西山 智明, 七條 千津子, 小菅 桂子, 深城 英弘, 三村 徹郎, 植物細胞リン酸輸送機構とその進化について, 日本植物学会第78回大会, 2014年9月12日-14日, 明治大学(神奈川県)
- ⑰ 小菅桂子, 松本研人, 篠野静香, 柴坂三根夫, 飯田聡子, 且原真木, 沈水植物ヤナギモにおける水輸送タンパク質 PIP の働き, 第55回 日本植物生理学会年会, 2014年3月18日-20日, 富山大学(富山県)
- ⑱ 栗田 悠子, 馬場 啓一, 大西 美輪, 姉川 彩, 小菅 桂子, 七條 千津子, 石崎 公庸, 深城 英弘, 三村 徹郎, 落葉性木本植物のリン酸分配・転流機構

の解析, 第55回 日本植物生理学会年会, 2014年3月18日-20日, 富山大学(富山県)

- ⑲ 飯田聡子, 池田美幸, 天野百々江, 角野康郎, 小菅桂子, 水生植物ヒルムシロ属における生態的多様化-ストレス耐性と表現型可塑性, いずれをとるか? 第61回 日本生態学会大会, 2014年3月14日-18日, 広島国際会議場(広島県)
- ⑳ 小菅桂子, 飯田聡子, 角野康郎, ヒルムシロ属における同倍数性交雑による種分化, 日本植物学会第77回大会, 2013年9月13日-15日, 北海道大学(北海道)

[図書] (計 2件)

- ① 小菅桂子 冠水耐性, 水草, つると巻きひげ, 植物学の百科事典, 日本植物学会(編集)/三村 徹郎(編集), 丸善出版, (2016) 800 (426-427, 546-547)
- ② 小菅桂子, 館野正樹, 深城英弘 ほか著, 光合成生物の進化と生命科学, 陸上環境への適応と環境シグナルの受容, 三村 徹郎/川井 浩史 編著, 培風館, (2014) 194 (89-123)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小菅 桂子 (KOSUGE, Keiko)
神戸大学・理学研究科・准教授
研究者番号: 50215266

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし