

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：22604

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25840138

研究課題名(和文) 遺伝地図ベースでのゼンマイ類における適応進化と自然選択圧の解析

研究課題名(英文) Map-based analyses of adaptive evolution in the genus *Osmunda*

研究代表者

角川 洋子 (Kakugawa, Yoko)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：70575141

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：溪流沿い植物ヤシャゼンマイとゼンマイの間において種間の詳細な比較観察および形質測定を行い、細葉形質に関わる3形質以外にも葉柄の太さや葉面積あたりの重さで種差があったので、作成した雑種後代で各形質間の表現型相関を解析した。その結果、細葉形質と葉柄の太さの間には相関がみられた。いずれの形質も単一の遺伝子で支配されておらず、複数の連鎖群上の遺伝子に支配されていることが明らかになった。それぞれの遺伝効果は大きくないが、異なる形質を支配する遺伝子が互いに同じ連鎖群上の近傍に位置していた。つまり、ひとつのゲノム領域にみられる遺伝的分化が結果的に大きな形態形質の差異を生み出していることが考えられた。

研究成果の概要(英文)： *Osmunda lancea* has morphological adaptations that allow it to grow along streams where it is frequently submerged. One such adaptation is stenophylly. Another adaptation is their short sterile fronds with thick petioles. Although these morphological traits were segregated in doubled haploids and F2 hybrids that originated from a putative F1 hybrid between *O. lancea* and *O. japonica*, they are strongly correlated. Map-based analysis using doubled haploids and F2 hybrids revealed a locus on linkage group 10 that appeared to be associated with the angle of the pinna base. It was also suggested that several other genes affecting stenophylly were present on other linkage groups, accounting for the phenotypic correlation observed between adaptive traits.

研究分野：植物系統分類学

キーワード：生物多様性 種分化 シダ植物 表現型相関 遺伝相関 溪流沿い植物

1. 研究開始当初の背景

生物多様性研究においては生態系ごとに種記載や種内の遺伝子多様性を調べることに重点が置かれてきた。しかし、陸上植物は種分化過程で新たな生育環境に進出する機会が多いことから、種分化過程で起こる適応進化によって形態形質や遺伝子型の多様性が生じると考えられる。

陸上植物の種分化研究は適応的な形態形質が明らかかなものが少ないことから、遺伝学的な解析がされているものは非常に限られている。被子植物を材料とした場合は、花粉媒介者を誘因する形質などに注目し、繁殖成功度が解析対象とした研究がよく知られている (Bradshaw et al. 1995)。本研究では、溪流沿い植物を材料とすることにより、生存率 (個体の適応度) に直接関わる形態形質を解析対象とした。

溪流沿い植物は、河川の増水によって冠水するところに生育する植物で、強い水流抵抗に耐えるため、系統的に離れた多くの分類群で葉が細くなる細葉形質がみられる。本研究では日本固有の溪流沿い植物であるシダ植物ヤシャゼンマイを材料とするが、姉妹種のゼンマイと比較すると葉の小羽片が細いという特徴が知られていた。申請者の実験と観察から細葉形質以外に、短い栄養葉や太い葉柄、高い自配受精能 (一つの前葉体上で孢子体を形成可能な率) などの適応的な形質があることが明らかになり、これらの形質を支配する遺伝子を含むゲノム領域を解析することにより、種分化過程で起きた適応進化の遺伝的背景を明らかにできると考えた。

今までの研究で、120 の分子マーカーを含んだ遺伝地図を作成しており、分子マーカーと形態形質の相関解析から、細葉形質は複数の遺伝子に支配されているが、それらの遺伝子の一つは連鎖群 10 上に存在し、葉の小羽片の基部の角度に影響を与えていることが明らかになった。ヤシャゼンマイとゼンマイ

の葉の小羽片における形の違いは基部の角度以外にも、最下側から分岐する脈の数や細長さ (葉形指数) にもみられるが、これらの形質と強い相関がみられる分子マーカーはみつかっていないことから、葉形の適応進化を明らかにするためにはより精度の高い相関解析や QTL マッピングが必要である。

また、ヤシャゼンマイの高い自配受精能は、溪流沿いという特殊な生育環境で分布を拡げるために有利だと考えられるが、人工交配集団の解析の結果から、ゼンマイにみられる劣性有害遺伝子 (もしくは劣性致死遺伝子) が失われていることによる可能性が高いと考えられた。この遺伝子座は連鎖群 11 上に存在し、解析の結果、野外雑種集団ではヘテロ接合度が高く、ヤシャゼンマイでみられる有害な効果をもたない対立遺伝子はゼンマイ集団に遺伝子浸透しやすいことなどが示唆された。シダ植物では自配受精を妨げる劣性致死遺伝子の存在が仮説として提唱されていた (Klekowski 1969) が、実際に遺伝学的に調べられたことはない。この遺伝子を含むゲノム領域を詳細に解析することにより、自配受精を妨げ、他殖性を維持する遺伝子の存在が明らかにできれば、集団内で遺伝的多様性を保つ機構が解明されることになる。

2. 研究の目的

種分化は生物多様性を生み出す原動力であり、種分化過程で陸上植物は新たな生育環境に進出し適応的な形質を進化させる。溪流沿い植物ヤシャゼンマイは、既に適応的な形態形質が複数明らかになっていて、申請者により分子マーカーの遺伝地図が作成されているので、姉妹種ゼンマイからの適応進化の過程で獲得した形質やその遺伝的背景を明らかにすることを目的とした。適応的な形質を支配する遺伝子を含むゲノム領域を特定した上で、野生集団や人工交配集団における種間の遺伝子浸透や様々な遺

伝子型の適応度を調べることにより、自然選択圧が適応進化に及ぼす影響を調べる。

3. 研究の方法

ヤシャゼンマイにおいて適応的な形質を支配する遺伝子座にはゼンマイとの間に分断性淘汰がかかっていることが考えられ、種間で異なる対立遺伝子に固定していたり、ヤシャゼンマイで対立遺伝子の多様度が低くなっていたりすることが考えられる。適応的な形質を支配する遺伝子座が近接して存在するのであれば、それらの形質はヒッチハイキング効果により協調的に遺伝することが考えられる。適応的な形質を支配する遺伝子座が複数含まれるゲノム領域では、現在も強い分断性淘汰で遺伝的な分化が保たれているはずであるが、種分化過程でも強い自然選択圧がかかり、種分化で重要な役割を果たした領域であると考えられる。

本研究では、細葉形質以外にも、種差がみられ、かつ溪流沿いの生育環境で適応的だと考えられる形質について観察と測定を行い、人工交配集団を用いて遺伝地図上にマップ可能なものに関してはマップした。

自配受精能に関わる遺伝子座は、今までの解析結果では葉の形態形質と相関のあった遺伝子座とは異なる連鎖群上にある。また、ヤシャゼンマイの対立遺伝子はゼンマイに遺伝子浸透し易いことや近傍の遺伝子座におけるヒッチハイキング効果が示唆されている。ゼンマイ集団で他配受精や他殖を促し遺伝子型の多様性を保つ役割のある遺伝子も、環境によっては自然選択圧の影響を受け、頻度が下がることが考えられる。特に、離島では、ボトルネック効果や創始者効果によって劣性致死遺伝子の頻度が下がって、自配受精率が下がることが考えられたので、伊豆諸島を含む日本国内からゼンマイの胞子を集め、自配受精率を調べるとともに、ゼンマイの種内で解析可能な多型の検出を試みた。

4. 研究成果

溪流沿い植物ヤシャゼンマイがゼンマイから種分化した過程で獲得した適応的な形質を支配するゲノム領域を明らかにした結果、表現型相関がみられる形質は互いに近傍にマップされ、同じゲノム領域に存在することが示された。このことから、各形質に及ぼす遺伝効果が小さい場合でも複数の形質に遺伝効果があることにより、大きく形態が変わり、強い分断性淘汰の影響を受けることが示唆された。

具体的な解析内容は以下の通りである。種間の詳細な比較観察および形質測定を行い、細葉形質に関わる3形質（葉形指数、小羽片の基部の角度、脈の数）以外にも葉柄の太さや葉面積あたりの重さで種差があったので、作成した雑種後代で各形質間の表現型相関を解析した。その結果、細葉形質と葉柄の太さや葉面積辺りの重さで種差があったので、作成した雑種後代で各形質間の表現型相関を解析ところ、細葉形質と葉柄の太さの間には相関がみられた（図1）。

いずれの形質も単一の遺伝子で支配されておらず、複数の連鎖群上の遺伝子に支配されていることが明らかになった。それぞれの遺伝効果は大きくない場合が多いが、異なる形質を支配する遺伝子が互いに同じ連鎖群上の近傍に位置していた。つまり、ひとつのゲノム領域にみられる遺伝的分化が結果的に大きな形態形質の差異を生み出していることが考えられる（図2）。ヤシャゼンマイの場合、個体が小さいときに冠水による強い選択圧を受けていることが先行研究によって示されていたが、少数のゲノム領域における遺伝的分離によって葉柄が太く、小さいうちに三出複葉になる細葉形質をもつ個体が生じることも明らかになった。溪流沿いの生育環境への適応には、複数の遺伝子が関わっているが、ゲノム領域としては限られていて、

野外集団における集団遺伝学的な解析から種分化後も遺伝子浸透がある領域があることも示唆された。

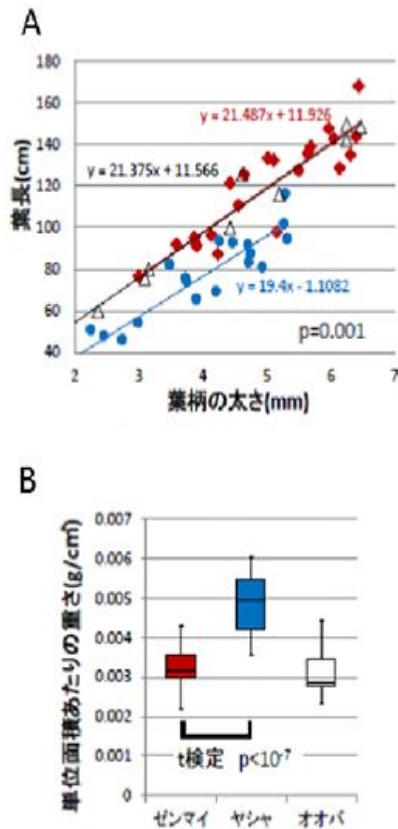


図1 ゼンマイ類での形態の解析結果
A: 菱形がゼンマイ、丸がヤシャゼンマイ、三角が雑種オオバヤシャゼンマイ

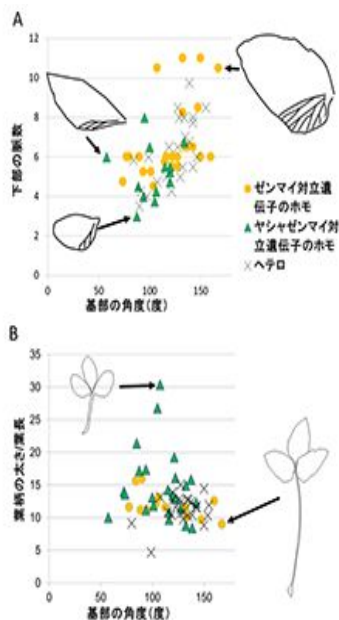


図2 遺伝子型(A: EST815, B: EST219)と表現型値

種間で開発された既存の 12 個のマーカーの元になった E S T 配列に基づいてプライマーを設計しなおすことにより種内変異の探索を行なった。このことにより、連鎖群 11 において計 15 領域の多型を調べることが可能となった。ただし、次世代シーケンサーを用いて取得したデータからは連鎖群 11 において種内変異の解析に用いることができる分子マーカーは開発できていない。

シダ植物において、島嶼地域では創始者効果やボトルネック効果の結果、劣性致死遺伝子が失われ、自殖率や自配自家受精率が上がると考えられているが、遺伝子多様性も下がるので、中立的な分子マーカーによる検証は難しい。そこで、日本全国及び伊豆諸島において孢子の収集を行い、培養条件下で自配自家受精率を調べた。その結果、八丈島のゼンマイ個体において 30% 程度の高い個体が見つかった。既にマッピングされている劣性致死遺伝子における遺伝子型を調べることによって、比較検証が可能になった。

< 引用文献 >

- Bradshaw et al. 1995. Nature 376: 762-765
- Klekowski 1969. Reproductive biology of the pteridophyte, II. Theoretical considerations. Bot. J. Lin. Soc. 62: 347-359

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

1. Yoko Yatabe-Kakugawa, Chie Tsutsumi, Yumiko Hirayama, Shizuka Tsuneki, Noriaki Murakami & Masahiro Kato. Transmission ratio distortion of molecular markers in a doubled haploid population originated from a natural hybrid between *Osmunda japonica* and *O. lancea*. Journal of plant Research 査読

有 2013. 126: 469-82

DOI: 10.1007/s10265-012-0540-4.

〔学会発表〕(計 7 件)

1. 飯塚佳凜、角川洋子、堤千絵 ヤシャゼンマイにおける溪流帯への適応様式 日本植物分類学会第 14 回大会 2015 年 3 月 5 日～8 日 (福島大学、福島市)

2. 堤千絵、角川洋子、平山裕美子、加藤雅啓. 2014. ゼンマイとヤシャゼンマイの遺伝的分化とヤシャゼンマイの起源推定. 日本植物学会第 78 回大会 2014 年 9 月 12 日～14 日 (明治大学生田キャンパス、川崎市)

3. 飯塚佳凜、角川洋子、堤千絵 "溪流沿い植物ヤシャゼンマイと近縁種ゼンマイの野外集団における葉形と葉柄形質の解析" 日本植物学会第 78 回大会 2014 年 9 月 12 日～14 日 (明治大学生田キャンパス、川崎市)

4. Yoko Yatabe Kakugawa, Chie Tsutsumi, Masahiro Kato "Map based analyses of adaptation and speciation in Osmundaceae." Asian Fern Symposium, 2014 年 8 月 26 日～28 日 (Bali Botanical Garden, Indonesia).

5. 角川洋子・村上哲明・堤千絵・加藤雅啓 ゼンマイ亜属の雑種第二代と倍加半数体における葉形解析 日本植物分類学会第 13 回大会 (熊本大学、熊本) 2014 年 3 月 20 日～23 日

6. Yatabe-Kakugawa, Y. Map based analyses of adaptive evolution and speciation in ferns. East Asian plant diversity conservation 2013; International Symposium of 10th

Anniversary of Korea National

Herbarium 2013 年 11 月 6 日～8 日 (Soul, Korea)

7. 堤千絵・平山裕美子・山本薫・角川洋子・加藤英寿・村上哲明・塚谷裕一 神津島天上山の風衝地における細葉型ゼンマイ 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 1 件)

1. Yoko Yatabe Kakugawa and Ryo Ootsuki "Development and analysis of CAPS markers in ferns." Yuri Shavrukov [ed.] Cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) markers in plant biology. Nova publishers, 2014, 243 (21-30).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

角川 洋子 (Kakugawa, Yoko)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号: 7 0 5 7 5 1 4 1