

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：14602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26650132

研究課題名(和文) 囊舌類ウミウシにおける盗葉緑体の進化的要因

研究課題名(英文) Factors promoting the evolution of kleptoplasty in sacoglossan sea slugs

研究代表者

遊佐 陽一 (Yusa, Yoichi)

奈良女子大学・自然科学系・教授

研究者番号：60355641

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：囊舌類ウミウシは、藻類から葉緑体を盗んで光合成に利用できるが、その葉緑体の維持期間は0(維持できない)から数ヶ月まで、種によって大きく異なる。しかし、その能力が進化の過程でどのように獲得されてきたのかについては、よくわかっていない。今回、新たに40種の光合成能維持期間と環境データを得た。また、既知のものを含め219種の分子系統樹を作成し、光合成能に関する祖先形質を推定した。その結果、光合成能の獲得と長期化は囊舌類の系統の中で複数回起こり、餌の質がその進化に重要な要因として働いていた可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Sacoglossan sea slugs can incorporate chloroplasts from their food algae and utilize them for photosynthesis. Although the duration of functional chloroplast retention differs greatly among species from 0 (non-retention) to several months, it is not fully understood when and why the ability of photosynthesis evolved. We collected data on the duration of photosynthesis and environmental factors possibly related to the evolution of photosynthetic ability for 40 sacoglossan species. Moreover, we constructed a molecular phylogeny of 219 sacoglossans including newly sequenced ones, and inferred the ancestral states concerning photosynthetic ability. The results showed that both the acquisition and long-term retention of photosynthetic ability evolved multiple times in the sacoglossan lineage. Food quality might be an important factor that influenced their evolution.

研究分野：生態学

キーワード：進化 盗葉緑体 囊舌類 光合成 系統

1. 研究開始当初の背景

植物と異なり、動物は本来、葉緑体を持たない。サンゴやシャコガイなど、動物でも体内で生産される光合成産物から栄養を得ているものが知られているが、そのほぼすべては共生藻が光合成を行っており、動物自体が光合成しているわけではない。ところが囊舌類に属するウミウシ(図1)は、餌の海藻から葉緑体を細胞内に取り込み、光合成に利用する(盗葉緑体現象)。つまり囊舌類は、葉緑体を外部から得る必要はあるものの、植物が光合成しているのと同じ意味で、葉緑体を用いて光合成している唯一の動物である。

盗葉緑体現象の分子機構については近年盛んに研究され、その成果の一つとして、藻類から囊舌類への核遺伝子の水平伝播が発見された。一方、囊舌類が盗んだ葉緑体を機能的に維持できる期間は0日(=盗葉緑体能を持たない)から数ヶ月と種によってさまざまであるが、なぜ一部の囊舌類が盗葉緑体能を獲得し、さらに長期間の維持が可能になったかについての研究は、世界的にほとんどない。

申請者らは、囊舌類にとっての進化(適応)的意義という観点から近年研究を進めている。まず、国内の囊舌類について盗葉緑体能を持つ種を新たに8種報告した(Yamamoto Y. et al. 2009, Endocyt. Cell. Res.)。次に、葉緑体を数ヶ月という長期間維持できるチドリミドリガイという種では、明条件下では暗条件下に比べ、餌を与えない個体の生存率や成長が向上するという、光合成の適応的意義を示唆する結果を得た(Yamamoto S. et al. 2013, J. Mar. Biol. Ass. U. K.)。さらに、ヒラミルミドリガイなど葉緑体が数日しか維持できない種では、餌のない条件では明暗間で生存や成長に差はほとんどないが、餌のある条件では暗条件下より明条件下で成長がよくなるという結果を得た(論文業績2)。盗葉緑体能は、まず短期的に葉緑体を体内で機能させることから始まったと考えられているため、この結果は、盗葉緑体の獲得の意義が従来考えられてきたような飢餓への適応ではなく、餌のある状態での栄養の補給であることを示唆する。もしこれが正しいならば、盗葉緑体能の獲得に関与した要因は餌不足よりも質の悪い餌の利用であり、一方、餌不足は光合成能の長期維持に重要であったというシナリオが考えられる。しかし、これらの仮説が検証されたことはない。また、現場での光量や温度(代謝活性などを通して維持期間に影響する可能性がある)といった生態的要因も、盗葉緑体能の進化に関与した可能性があるが、これらについて検討されたことはなかった。



図1. 囊舌類コノハミドリガイ。

2. 研究の目的

本課題では、(1)囊舌類各種が利用する餌の質や量、生息地での光量などの生態的特性を調べ、(2)採集された囊舌類について光合成能維持期間を調べる。さらに、(3)遺伝子の塩基配列をもとに系統樹を描き、光合成能維持期間を系統樹上にプロットして祖先形質を推定することによって、盗葉緑体能の獲得と光合成能の長期維持化の進化過程を推定し、それらに関与した生態的要因について検討を加える。

3. 研究の方法

(1)採集と野外調査:国内で囊舌類が多く観察されている場所(佐渡島,和歌山県白浜町,広島県向島,鹿児島市,沖縄本島など)で、囊舌類とその食藻の採集と現地調査を行った(図2)。なお、当初の計画にはなかったものの、長期維持種のデータが不足していたため、葉緑体を長期維持することが知られている *Elysia timida* が生息するスペインの地中海沿岸でも採集・調査を行った。各地点で、まず、基本的に囊舌類が多く採れる水深5mまでにおいて、汀線と平行にトランセクトを5本(基本的に1×10mであるが藻類の密度により短くした)設置し、各トランセクトで水深(3カ所の平均)を記録した。その後、トランセクト内の藻類(囊舌類の餌となることが判明している緑藻類と紅藻類)を採集した。これらの藻類は種ごとに分けて持ち帰り、室内で湿重を測定し、洗い出しによって囊舌類を採集した。この際、各種につき数個体は後にDNA塩基配列をみるためにエタノール固定し、最大10個体程度は(2)のテーマで光合成能の測定に用いるため活かしたまま奈良に持ち帰った。ある囊舌類が複数個体着生していた海藻、室内で摂食を確認した海藻、または囊舌類体内の葉緑体 *rbcL* 遺伝子から同定された海藻をその囊舌類の食藻とみなした。調査は、囊舌類が最も多く採集される3-8月に行った。

同時に、現地で光量を測定した。防水センサー付き光量子計で、水上から海底まで等間隔で光量を測定し(各深度5反復)、各地点での水深と光の減衰パターンとの関係を得た。さらに各地の3-8月の積算日照時間のデータを気象庁ウェブページから得た。



図 2. 調査地の様子 (沖縄本島).

(2) 室内実験: 野外で採集された嚢舌類と食藻は、速やかに本学に持ち帰り、嚢舌類の光合成能維持期間と食藻の質(灰分量)のデータを得た。まず、光合成能維持期間は、光化学系 II の最大収率の指標 (PAM と呼ばれる原理で嚢舌類を活かしたまま測定可能) の時間的变化によって評価した。

食藻の質の評価として、各食藻の灰分含有量を測定した。嚢舌類は、特殊な歯で海藻の細胞壁に穴を開けて、そこから細胞内液を吸い取る。そのため、灰分量として測定される海藻の硬さは、嚢舌類の摂食を阻害する一因だとされている。食藻を約 1 g とり、湿重測定後に、80 で 4 日間乾燥させてから乾重を測定し、さらに 550 の高温炉で 5 時間燃焼させ、灰分量を測定した。

(3) 系統樹の作成: エタノールで保存された嚢舌類から抽出キットを用いて DNA を抽出し、核 28S rDNA と H3 およびミトコンドリア COI と 16S rDNA 遺伝子の塩基配列を、定法に従い決定した。それに加えて、既知の嚢舌類の塩基配列を GenBank から得て、新たに塩基配列を決定したものと合わせて、最尤法によって嚢舌類の系統樹を得た。

光合成能維持期間を非保持・短期保持・長期保持に分け、系統樹上にプロットし、ソフトウェア Mesquite で祖先形質の推定を行った。カテゴリー変数を用いるのは、連続変数について、汎用性のある祖先形質の推定法が存在しないためである。

4. 研究成果

(1) 野外における採集と環境要因に関する調査

佐渡島, 和歌山県白浜町, 広島県向島, 鹿児島市, 沖縄本島, 西表島, マールメノール (スペイン) など国内外の約 20 か所で調査と採集を行い、稀少な種を含む嚢舌類 40 種を採集した。同時に食藻の密度, 水深, 水温, 光強度などの環境データを取得した (うち一部の成果は論文業績 1 で発表した)。

(2) 室内における光合成能維持期間と餌の質の測定

嚢舌類 40 種 (計 68 個体群) の光合成能維

持期間を新たに測定した (図 3; うち一部の成果は論文業績 2 で発表した)。うち 18 種が光合成能をもち、5 種が 3 週間以上の長期維持種と判断された。

餌の質の指標として、食藻 54 個体群分 (種名未確定のものを含む) の灰分量を測定した。予備的な解析の結果、光合成能維持期間 (0, つまり光合成能を持たない場合も含む) と灰分量との間に正の関係がみられた。この結果は、餌の質が選択圧となって光合成能の獲得や長期維持化が可能になった可能性を示唆する。

(3) 複数遺伝子を用いた系統樹作成と進化過程の推定

遺伝子配列が報告されている種と合わせ、計 219 種の嚢舌類について、最大 4 遺伝子座の塩基配列情報を得た。それを用いて、嚢舌類の系統樹を最尤法で描いた (図 4)。得られた系統樹は、一部異なる箇所も見られたが、概ね既知の系統関係を反映していた。しかし、従来の分類体系とは必ずしも一致していなかった。

次に、得られた系統樹を基に盗葉緑体の進化過程を調べるため、祖先形質の推定を行った。その結果、非保持から短期保持、短期保持から長期保持が、嚢舌類の進化においてそれぞれ複数回生じたことが示された。

本研究では、嚢舌類の光合成能維持期間や生態的要因、系統関係に関する世界で最も詳細な結果を得た。これらのうち光合成能維持期間と系統関係については、ベイズ法による系統関係の推定など若干の追加解析の後、論文化する予定である。さらに、光合成能の獲得やその長期化に影響を及ぼしてきた生態的要因について、種間比較法を用いて検討を行う予定である。

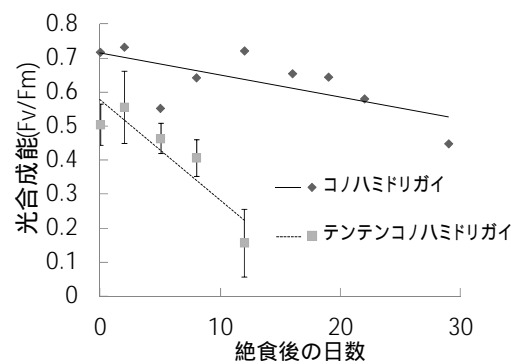


図 3. 絶食下におかれた嚢舌類の光合成能維持期間の例。Fv/Fm が 0.5 以上の間は光合成能をもつとされる。

