

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2013

課題番号：20580159

研究課題名(和文)カエデ属樹木の性転換が森林更新に与える影響

研究課題名(英文)Effects of sex change in maple trees on forest regeneration

研究代表者

名波 哲(NANAMI, Satoshi)

大阪市立大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70326247

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、雌雄異株の高木ウリハダカエデ(カエデ科)の個体群の空間的遺伝構造、送粉による遺伝子流動、種子の両親間の血縁度を調べ、二親性近親交配の程度を評価した。さらに、稀に見つかる両性個体の自殖率を調べ、雌雄異株が自殖による近親交配を避ける有効なシステムであるかを考察した。その結果、種子の両親の血縁度は距離が近いものほど高く、送粉は主に近隣個体間で行われていたことから、二親性の近親交配が起きていることが示唆された。また両性個体の自殖率は高く、ウリハダカエデは、自家不和合性を持たず、雌雄異株というシステムが近親交配を避けるために有効であることが示された。

研究成果の概要(英文)：The spatial genetic structure, gene flow through pollination and relatedness between parents of seeds were investigated in an *Acer rufinerve* population, a dioecious tree. The efficiency of the sex expression, dioecy, was evaluated by estimating selfing rate of bisexual *A. rufinerve* trees. The *A. rufinerve* population has a significant spatial genetic structure. The spatially close trees tended to have a similar genotypes. The short-distant gene flows through pollination were dominant, and selfing rate of bisexual trees was high (75%). It means self incompatibility was low in this species. The sex expression, dioecy, would be efficient in *A. rufinerve* to avoid selfing and inbreeding depression.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：森林 生態 個体群 繁殖 更新動態 性表現

### 1. 研究開始当初の背景

植物は、配偶子や個体の移動を風や水、動物に頼っており、その移動できる距離に限度がある。とりわけ、雌雄同株の種では自殖が起きやすくなる。これは固着性生物である植物にとって、交配相手が存在しない状況においても種子生産できるという点において好都合である一方、劣性有害遺伝子がホモ接合となり、近交弱勢による子の生存力や繁殖力の低下する恐れも伴う。植物集団では、自殖をはじめとする近親交配、それに伴う近交弱勢を避けるべく、さまざまな繁殖様式が知られている。中でも雌雄の性機能を個体レベルで分業する雌雄異株は、他殖でのみ種子が生産されるシステムであり、自殖を避ける有効なシステムだと解釈されてきた。

### 2. 研究の目的

雌雄異株樹木であるウリハダカエデの集団中には、稀に両性個体が見られることが知られている。本研究では、ウリハダカエデの両性個体における自殖率を調べ、雌雄異株という繁殖システムが自殖に伴う近親交配を避ける有効なシステムであるかを考察した。また、ウリハダカエデは、個体の健康状態の悪化に伴って雄から雌へ性転換を行うことが先行研究から明らかになっている。この適用的意義(究極要因)を明らかにするため、ウリハダカエデの野生集団における性転換の長期間の実態を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では照葉樹林内に設置された7.04ha(220m×320m)を調査区内の、胸高直径(DBH)約10cm以上のウリハダカエデ129個体を対象とした。毎年、開花期である5月に、全て対象個体の開花状況を樹下から双眼鏡で観察し、性の判別を行った。次に全ての対象個体が生葉を1~3枚採取した。さらに、結実期である9月に、開花量の多かった10個体を選び、種子を20個以上採集した。その際、調査区の端に位置する個体については、調査区外からの送粉の頻度が高い可能性があり、花粉親が見つからない種子の頻度が高い恐れがあるため、種子の採集対象から外した。採取した生葉からmodified CTAB法によりDNAを抽出した。種子からは、QIAGEN社のDneasy Plant Mini Kitを用いてDNAを抽出した。

対象個体の葉および採取種子のDNAサンプルの12個のマイクロサテライト遺伝子座についてサーマルサイクラー(Verti, GeneAmp PCR System 9700, 共にApplied Biosystems社)を用いてPCR反応を行ってPCRを行い、オートシーケンサー(3130/3130xl Genetic Analyzer, Applied Biosystems社)を用いて遺伝子型を判定した。

野外調査の際に10本の開花した個体から採集した種子の花粉親を推定した。まず、フ

ラグメント解析により得たデータをもとに種子とその親木の遺伝子型を直接的に比較し(単純排除法)、親子として矛盾がないかを確認した。続いて解析ソフトCervus3.0(Marshall *et al.* 1998)を用いて遺伝子型から最尤推定法による父性解析を行った。シミュレーションに用いた設定は、シミュレーションサイクル10000回、花粉親候補81個体、花粉親候補のサンプリング率100%、タイピングエラー率1.0%、信頼レベル80%とした。

解析ソフトSPAGeDi(Hardy & Vekemans, 2002)を用いて、個体*i*と*j*ペアの空間距離とペアワイズ近縁係数(*F<sub>ij</sub>*: Loiselle *et al.* 1995)の関係を求めた。距離階級は0~20 m, 20~40 m, 40~80 m, 80~160 m, 320 m以上の6つに分けて設定し、それぞれの距離階級に属している個体ペアの平均*F<sub>ij</sub>*の値を求めた。また、個体の位置の並び替えを1,000回試行し、*F<sub>ij</sub>*値の95%信頼区間を求めた。

### 4. 研究成果

#### (1) 性表現

開花個体の性比(図1)は、調査期間の全ての年において、オスに偏った。年によって変動するものの、オスとメスの個体数の比は、およそ2:1であった。また毎年数本の両性個体が観察された。幹直径が大きくほどに非開花個体が少なくなり、またっていること、雌花をつけた個体が相対頻度が高くなった。この傾向は毎年変らなかった。

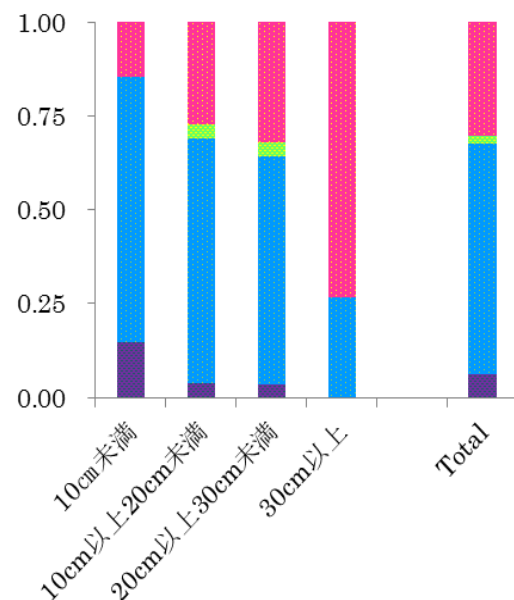


図1. 2013年におけるウリハダカエデ集団の性比。非開花個体、オス個体、両性個体、メス個体の相対頻度を胸高直径のサイズクラスごとに示す。

#### (2) 空間的遺伝構造

6つの距離クラスについて空間距離とペアワイズ近縁係数*F<sub>ij</sub>*の関係を推定した(図2)。

距離クラス 0~20 m において 0.06 であり、これは 95%信頼区画から大きく外れていた。80~160 m、160~320 m の距離クラスにおいては、 $F_{ij}$  の値は 95%信頼区画より下回っていた。つまり、近距離の個体間ほど血縁度が高く、遠距離の個体間では血縁度が低かった。

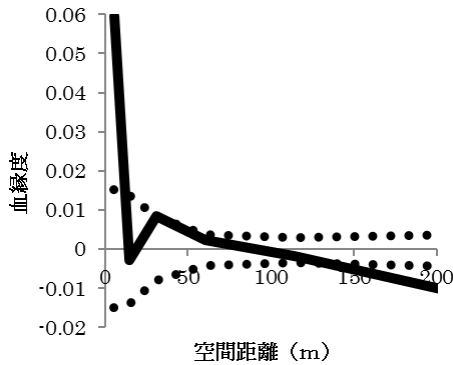


図 2 空間距離とペアワイズ近交係数  $F_{ij}$  (血縁度の指標) の関係。点線は各距離クラスにおける 95%信頼区間の上限値と下限値、実線は各距離クラスにおける  $F_{ij}$  の値を示す。

### (3) 自殖率と送粉距離

種子の父性解析から明らかになった花粉親と種子親の間の送粉のマップを図 3 に、送粉距離の累積相対頻度を図 4 に示す。送粉距離の実測値は、ランダムに交配したときの期待値よりも上回っており、花粉親と種子親の距離が 100 m 以内である送粉が全体の 70%以上を占めており、近距離での送粉、交配の頻度が多かった。また、両性個体の自殖率は、75%という高い値であり、ウリハダカエデにおいては、雌雄異株という性表現が自殖を避けるために必要かつ有効繁殖システムとして機能していると考えられた。自殖も含め、近距離個体間の送粉が卓越していたことは、ウリハダカエデの主な送粉者が飛翔力がそれほど大きくない双翅目昆虫に起因するのかもしれない。

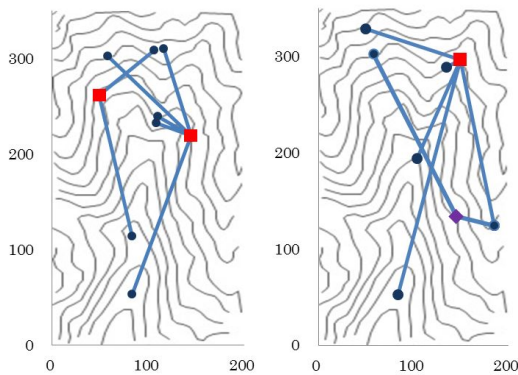


図 3. メスの種子親( )、両性の種子親( )、花粉親( )の間で観察された送粉を直線(青色)表している。背景は 7.04ha 調査区の等高線である。両性の種子親の自殖率は 75%であった。

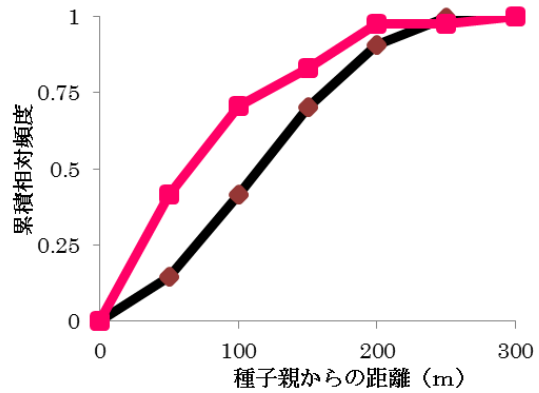


図 4. 観察された送粉距離の累積相対頻度(赤の実線)と種子親が調査区内の成木とランダムに交配したときに期待される送粉距離の相対頻度分布(黒の実線)。

### (4) 種子の両親間の血縁度

採集した種子のうち他殖由来の種子について両親の血縁度を求めた(図 5)。他殖種子の両親間の血縁度  $F_{ij}$  の平均値は 0.0458、95%信頼区間の上限値は 0.0427、下限値は -0.0465 となり、血縁度の平均値は 95%信頼区間より高い値を示したため、両親の血縁度は有意に高いと判断された。これは、空間的遺伝構造が見られる集団(図 2)の中で、近距離個体間の送粉が卓越していた(図 3、図 4)によるものと考えられる。

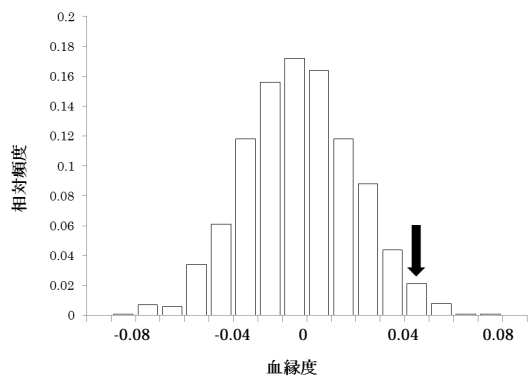


図 5. 調査区内の個体がランダム交配したときに期待される種子の両親間の血縁度の相対頻度分布。矢印は両親の血縁度の観察値の平均値(= 0.0458)。

### (5) 考察

花粉親推定の結果より、雌雄同株の個体の自殖率は 75%だったことから、ウリハダカエデには自家不和合性がないと考えられる。また、送粉距離の累積相対頻度の結果より、近距離での送粉、交配の頻度が高かったことから、ウリハダカエデの種子は散布距離が短いことも示されている。したがって、ウリハダカエデのように自家不和合性がなく、送粉に長けていない種においては、近親交配による近交弱勢を避ける繁殖システムとして雌雄異株は有効であるといえる。しかし、自家不

和合性がないこと、近距離での送粉、交配の頻度が高いことが要因となり、空間的遺伝構造の結果で得られたように、空間距離の近い個体ほど血縁度が高くなっている現状を引き起こしていると考えられる。また、種子の両親間の血縁度の推定の結果より、両親の血縁度は有意に高いことが示されているので、二親性の近親交配の可能性が示唆される。よって、近交弱勢をさける繁殖システムとして雌雄異株における他殖は有効であっても、特に遠距離の非血縁個体との交配が重要だと考えられる。そのためには、より遠距離への送粉のシステムが重要だと考えられる。

#### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔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

名波 哲 (NANAMI, Satoshi)

大阪市立大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：70326247

##### (2) 研究分担者

伊東 明 (ITO, Akira)

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：40274344

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：