

平成22年 5月31日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20770067
 研究課題名 (和文) シダ植物の無配生殖種における双方向性有性生殖能とその遺伝的多様性の維持機構の解明
 研究課題名 (英文) A study of the reciprocal sexual ability of apogamous fern species

研究代表者
 篠原 渉 (SHINOHARA WATARU)
 京都大学・大学院理学研究科・助教
 研究者番号：30467443

研究成果の概要 (和文)：マレーシア・キナバル山のマレーホウビシダに含まれる、形態形質と細胞学的形質で区別できる4個のサイトタイプ (「2倍体・有性生殖・大型」、「3倍体・無配生殖・標準型」、「3倍体・無配生殖・大型」、「4倍体・無配生殖・大型」) 間の生育環境の差異を明らかにした。さらに遺伝的解析により、「3倍体・無配生殖・大型」が「2倍体・有性生殖・大型」と「3倍体・無配生殖・小型」の交雑起源であることを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：The difference in habitat between four cytotypes in *Hymenasplenium unilaterale* in Kinabalu in Malaysia were revealed. The data derived from several genetic markers supported that (triploid / apogamous / large leaf) formed as hybrids between (diploid / sexual / large leaf) and (triploid / apogamous / small leaf).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生物多様性・分類

キーワード：遺伝的多様性

1. 研究開始当初の背景

シダ植物には無配生殖という無性生殖がある。無配生殖と有性生殖では生活環が異なっており (図1)、有性生殖種では核相 $2n$ の胞子体上に通常1個の胞原細胞から4回の体細胞分裂で16個の胞子母細胞ができ、そのそれぞれが減数分裂をおこなうことにより核相 n の64個の胞子を形成する。その胞子から前葉体ができ、前葉体上に造卵器または

造精器がつくられ、その卵と精子が接合し、核相 $2n$ の次世代胞子体が形成される (図1a)。それに対し無配生殖では3回の体細胞分裂をおこなった後に4回目の分裂で核同士が再度融合 (復旧核形成) し、核相 $4n$ の8個の胞子母細胞ができる。そのそれぞれが減数分裂をおこなうことにより、核相 $2n$ の胞子が32個できる。その胞子からつくられた前葉体の細胞から直接次世代胞子体が発生する (図

1b)。

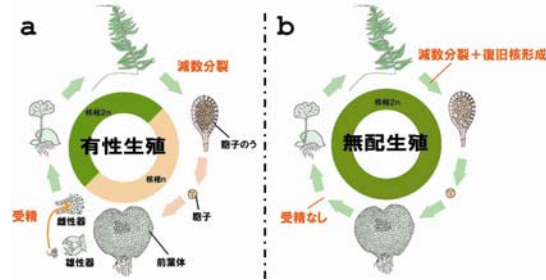


図1. シダ植物の有性生殖種と無配生殖種の生活環

シダ植物の無配生殖はシダ植物以外の植物に比べて特に報告例が多く、例えばシダ植物の分類学的研究が進んでいる日本産のシダ植物の場合、13%もの種が無配生殖をおこなっている。分子系統学的解析から、シダ植物の無配生殖種はそれぞれの系統で独立に有性生殖から進化したことが明らかとなっている。

無性生殖のみで増殖する個体の次世代は基本的に親と遺伝的にまったく同一のクローンとなり、少しでも適応度の高いクローンのみが種内に急速に広がっていくため、無性生殖種の遺伝的多様性は一般的に低いと考えられている。シダ植物の無配生殖は無性生殖の一種であるため、理論的には遺伝的多様性は少ないことが予想されていた。

しかしシダ植物の複数の無配生殖種において、それらの種内に有性生殖種と同様か、またはそれ以上の高い遺伝的多様性が維持されていることが最近次々と明らかになってきた。これらの無配生殖種がどのようにして高い遺伝的多様性を維持しているかは未だに大きな謎であった。シダ植物の無配生殖種は一般的に精子を生産する能力があり、父親能力を有することは報告されていた(図2)。また無配生殖種の減数分裂時における不均分裂(Lin et al.1992)を行い、染色体数を減数させて次世代を残す能力があることも報告されている(図2)。さらにベニシダ類の一部の種では減数分裂時の同祖染色体間の組み換えも低頻度に起こっていることが報告されており(図2)、これらの機構が遺伝的多様性の創出に寄与している可能性がこれまで考えられていた。しかし、これらの機構が、シダ植物の無配生殖種の野外集団において実際に機能しているかどうかはこれまで調べられていない。そこで私たちはマレーシア・キナバル山で新しく見つかったマレーホウビシダの無配生殖型を材料として、シダ植物の無配生殖種が遺伝的、形態的多型を生み出す機構の解明を目指した。

2004年のキナバル山の調査から、これまで報告例の無い、大型の葉をもつマレーホウビシダが見つかった(図3)。まずキナバル

産のマレーホウビシダ類の生殖様式を網羅的に調べた結果、標準的なマレーホウビシダは無配生殖であったのに対し、大型のマレーホウビシダには有性生殖と無配生殖の2種類の生殖様式が含まれていた。さらにそれぞれのタイプの染色体数を調べたところ、標準型の葉で無配生殖をおこなう個体は $2n = 117$ の3倍体であり、大型の葉で有性生殖をする個体は $2n = 78$ の2倍体、大型の葉で無配生殖をする個体の中には $2n = 117$ の3倍体と $2n = 155$ の4倍体の2種類の倍数性がみつけた(図4)。

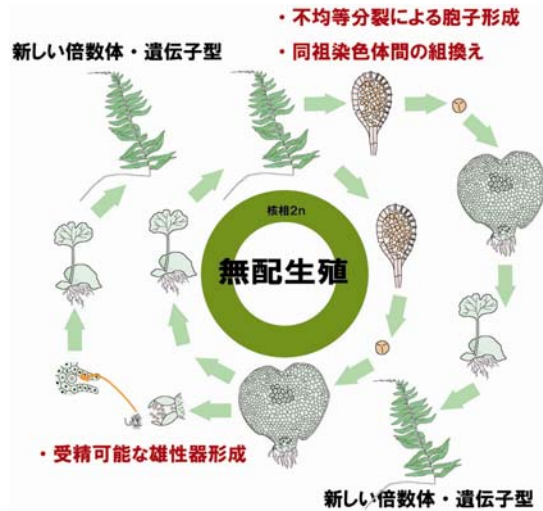


図2. シダ植物の無配生殖種が遺伝的多様性を生み出す機構



図3. キナバル産マレーホウビシダの標準型(左)と大型(右)

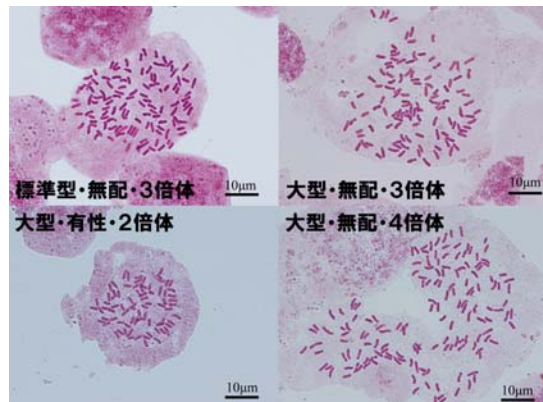


図4. キナバル産マレーホウビシダに見つかった4個のサイトタイプ

2. 研究の目的

本研究ではマレーシアのキナバル山の全山におけるマレーホウビシダを網羅的に採集し、サイトタイプ間の生育環境の比較と個体間の遺伝的関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) キナバル山の複数の集団においてマレーホウビシダを採集し、それらの染色体数、生殖様式をまず決定し、それらの集団の生育環境の比較を行った。

(2) さらに採集した全個体について核の共優性遺伝マーカー、および母性遺伝する葉緑体 DNA 解析を行うことによって、個体間の関係（交雑起源や遺伝子交流の有無）を推定した。

4. 研究成果

(1) サイトタイプ間の生育環境の比較

大型の葉をもつ2倍体有性生殖型と3倍体無配生殖型は川から離れた林道沿いの、やや乾燥した場所に同所的に生育していたのに対して、大型の葉をもつ4倍体無配生殖型は林床の川沿いに、標準型の葉をもつ3倍体無配生殖型は林冠が開けた川沿いにそれぞれ生育していた。さらに同所的に生育していた大型の葉をもつ2倍体有性生殖型と3倍体無配生殖型の個体別マッピングをおこない、生育環境の差異を比較したところ、3倍体無配生殖型は2倍体有性生殖型よりも林冠の開けて明るくやや乾燥した場所に生育していた。つまりキナバル山の4つのタイプ間では生育環境が異なっていた（図5）。



図5. 各サイトタイプの生育環境

(2) サイトタイプ間の遺伝的関係

核由来の複数の遺伝子座の対立遺伝子を調べることによって各タイプ間の関係を明らかにすることができる。またシダ植物では葉緑体は母性遺伝することが知られているため、葉緑体上の遺伝子を調べれば、その個体

の母方を明らかにすることができる。これらの遺伝マーカーをもちいてタイプ間の遺伝的構成を比較したところ、大型の葉をもつ4倍体無配生殖型は標準型の葉をもつ3倍体無配生殖型と大型の葉をもつ2倍体有性生殖型との雑種起源であり、葉緑体 DNA が3倍体無配生殖型と同じであったことから、3倍体無配生殖型が母親となっている可能性が示された（図6）。これまで無配生殖種の母親としての能力はまったく報告がない（Takamiya 2001）。無配生殖型に受精可能な卵をつくる能力が備わっていれば、無配生殖個体間の交雑、他の有性生殖種との交雑によって遺伝的多様性を集団に持ち込むことが可能になるため非常に重要である。

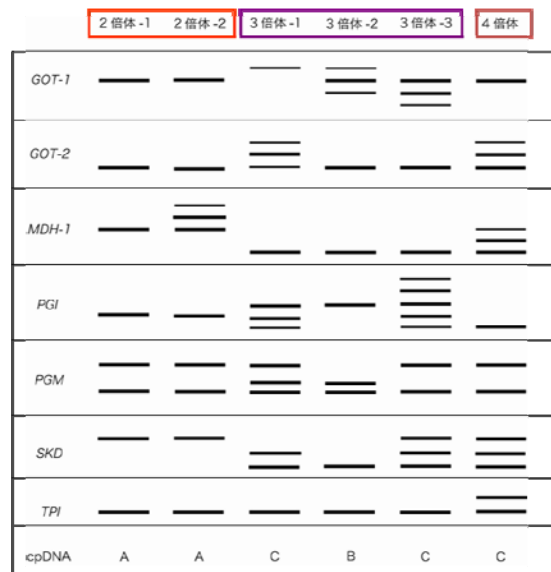


図6. 各サイトタイプの遺伝子型

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 3 件）

① 篠原 渉 「多様性を生み出すシダ植物の無配生殖-キナバル産マレーホウビシダを例にして」第41回種生物学シンポジウム、東京、八王子セミナーハウス、2009年12月12日

② Wataru Shinohara “Genetic relationship between sexual and apogamous individuals in *Hymenasplenium unilaterale* in Kinabalu in Malaysia.” Symposium of the 3rd International Symposium of the Biodiversity & Evolution, Global COE Project, (Kyoto International Community House, Kyoto, Japan), July 24th. 2009.

③篠原渉、村上哲明、Idris Mohd Said、Rimi Repin 「キナバル産マレーホウビシダにみられるサイトタイプ間の遺伝的關係」日本植物学会第 72 回大会、高知、高知大学、2008 年 9 月 25 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

篠原 渉 (SHINOHARA WATARU)
京都大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号：30467443

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：