

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430208

研究課題名(和文) 遺伝的多様性の解析による植物の自生、外来の識別と保全への応用

研究課題名(英文) Discrimination between native and exotic plants by analysis of genetic polymorphism and its application to conservation

研究代表者

池谷 祐幸 (Iketani, Hiroyuki)

岡山理科大学・生物地球学部・教授

研究者番号：10391468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：日本のリンゴ属植物の野生集団、在来の栽培系統とその実生集団について、フローサイトメトリーと染色体観察による倍数性の解析を行った。野生、栽培個体では2, 3, 4倍体が見られた。また、実生集団ではさらに5, 6倍体も見られた。さらにマイクロサテライトによる遺伝子型解析を行った結果、2倍体は有性生殖だが、高次倍数体では無融合生殖が中心でさらに、時に有性生殖も行っている可能性が判明した。

また、日本のモモの野生集団と在来栽培系統についてマイクロサテライトによる集団の遺伝的構造を解析した結果、野生集団は栽培系統と同一の遺伝的構造を持ち、かつ遺伝的多様性も小さいため、真の自生ではないと推定された。

研究成果の概要(英文)：Ploidy of wild populations, local cultivated lines, and their seedling populations of Japanese Malus were analyzed with flow cytometry and chromosome observation. Wild and cultivated individuals showed di-, tri-, and tetraploid. Seedlings additionally showed penta- and hexaploid. Microsatellite genotyping revealed that diploids undergo sexual reproduction while polyploids do facultative apomixis, that is, they sometimes reproduces sexually.

Wild populations and local cultivated lines of peach in Japan were analyzed for genetic structure of populations using microsatellite. Wild populations showed the same genetic structure as local cultivated lines. As both of them were poor in genetic diversity, wild population is deduced to be not true native.

研究分野：栽培植物分類学

キーワード：種内倍数性 細胞遺伝学 無融合生殖 多様性保全 栽培植物

1. 研究開始当初の背景

自生植物と外来植物は多様性やその成因が大きく異なることがあり得るため、進化や多様性を扱う研究分野では、両者を厳密に区別することが望まれる。しかし、特に近代以前に移入された外来植物は自生植物と区別し難いため、日本の場合でも歴史時代以前に帰化したと推定される植物(史前帰化植物)などの古い外来植物は、研究・保全行政いづれにおいても自生植物と特に区別されていない。このために、科学的に両者の区別を可能とするような研究が必要である。

自生植物と外来植物は遺伝的な分化を解析すれば有意な差がある可能性が高い。実際に研究代表者らは、ミチノクナシとヤマナシとの浸透交雑を解析した研究において、前者に比べ後者の遺伝的多様性が非常に小さいことを見出し、前者は自生植物、後者は史前帰化植物と推定することができた。

一方、自生植物の中には歴史時代以降に自然分布を広げて定着した可能性があるものもあるが、これらを実証的に解析した研究例は知られていない。日本の中でもアジア大陸に近い九州には、大陸と隔離分布する植物が幾つも知られており、その一部はこうした新しい分布の可能性がある。例えば、日本国内では九州のみに分布する3種のリンゴ属植物(ノカイドウ、ツクシカイドウ、タカナベカイドウ)は、鳥による長距離散布の可能性が考えられるが、後の2種は野生絶滅の状態であるため、人為的移入が大陸からの自然分布かは曖昧なままである。

また、バラ科の木本植物には、ナシ以外にも果樹や観賞木として古くから栽培され、さらに天然林内に野生個体が見いだされる植物として、モモ、ビワ、ウメ、スモモなどがあり、これらが自生植物か古い時代の外来植物の何れであるかは古くから議論されてきた。また、これらの植物では、過去に野生集団と在来品種が交雑をおこし、その結果野生集団に在来品種の遺伝的特徴が残存する、ないしその逆の可能性もあるが、いずれについても実証的な研究は進んでいない。

2. 研究の目的

(1) リンゴ属植物の生殖動態及び遺伝的多様性の推定

欧米での鑑賞用リンゴ栽培個体の研究によると、リンゴ属植物は、木本では世界的に研究例の少ない条件的無融合生殖による集団内外の倍数性多型が疑われる植物である。日本には6種の野生種と数種の古くからの栽培種が知られているが、木本植物では試料採取が困難なため、特に野生集団では染色体数などの細胞遺伝学的研究がほとんど行われていない。そこで、実験用個体の育成から手掛け、集団内外の倍数性変異を解析し、その結果から各種、各集団の生殖動態を推定する。さらに集団遺伝学的解析により、遺伝的多様性を推定する。

(2) モモの野生集団と栽培個体の遺伝的な関係、及び遺伝的多様性の推定

モモは、前述したバラ科の栽培木本植物の中では最も広域的に野生集団が分布し、日本各地の石灰岩地帯などで見られる。また、この植物では、果樹としての現代の栽培品種はすべて明治以降の海外導入品種に由来し、江戸時代までの在来系統は遺伝資源としても残存していない。一方、観賞系統(花桃)では、果樹のような新しい品種の導入はなかったため、古い栽培系統の遺伝的影響を残しているものがある可能性がある。また、琉球地方には、本土のモモとは栽培特性が大きく異なる在来系統(キムム)があることが知られている。このように、モモにおいては遺伝的特性の異なる可能性がある様々な在来栽培系統があるため、これらのすべてについて野生集団とともに集団遺伝学的な解析を行い、モモが自生植物か外来植物かの問題に加え、野生集団と在来系統の遺伝的關係や多様性を解析、推定する。さらに、これらの結果を元に遺伝資源の再同定を行い、野生集団、在来栽培系統及び保存遺伝資源の遺伝的独自性や新たな有用遺伝子の探索の可能性を検討する。

3. 研究の方法

(1) 細胞遺伝学による集団解析

リンゴ属植物について、日本各地の野生集団や在来栽培系統のフィールド調査を行って、穂木と種子を採取し、野生個体のクローン栽培個体及び実生集団個体を育成する。研究開始以前から多くの個体を収集しているが、さらに九州を中心に、野生集団や栽培系統を収集する。

育成した個体について、フローサイトメトリーによる倍数性の推定を行う。これに加えて実生集団については、根端試料による染色体数の解析を行う。

(2) 個体の遺伝子型推定等による生殖動態の推定

上述の育成個体について、マイクロサテライト遺伝子座を調査し、個体の遺伝子型を推定する。さらに、一部の個体については、花粉の稔性を調査する。

これらの結果と細胞遺伝学解析の結果を総合し、各集団の生殖動態を推定する。

(3) 集団遺伝学解析による遺伝的構造の推定

モモの日本国内各地の野生集団、日本本土の観賞用の在来系統(近代以前から栽培されていた植物の子孫とされる系統)、琉球地方の在来系統、現在の栽培品種の祖先品種を含む近代初期(明治年間)の導入品種を材料として、野生集団と栽培系統についてマイクロサテライト遺伝子座を調査し、得られたデータをベイズ法によるAdmixture解析(STRUCTURE)などで分析して遺伝的構造の推定を行う。

4. 研究成果

(1) 現地調査及び解析個体の育成

3年間の現地調査により、以前から育成した個体と合わせ、リンゴ属植物について、接ぎ木による野生個体のクローン約80系統と野生集団から採取した種子による実生集団個体約700個体を育成した。

(2) リンゴ属植物の細胞遺伝学による集団解析

野生個体のクローン栽培個体の解析

フローサイトメトリーにより倍数性を解析した。その結果、ズミでは、北海道と本州中部では2倍体、東北地方では4倍体であり、エゾノコリンゴは4倍体であった。一方、九州地方のリンゴ属は集団により倍数性が異なり、大分県日田市のズミ自生集団は3倍体、佐賀県唐津市のズミ自生集団は2倍体、えびの高原のノカイドウ自生集団は3倍体、熊本県美里町のツクシカイドウ(野生絶滅)は3倍体、宮崎県高鍋町のタカナベカイドウ(野生絶滅)は2倍体であることが判明した。また、一部の個体について正確な染色体数を決定した。その結果、2倍体は $2n=34$ 、3倍体は $2n=51$ 、4倍体は $2n=68$ となり、異数体ではない正倍数体であった。

実生集団個体の解析

フローサイトメトリーにより実生個体の倍数性を解析した。その結果、北海道と本州中部のズミ2倍体では、実生個体も2倍体であった。一方、東北地方のズミ4倍体とエゾノコリンゴ(4倍体)では、多くの実生は4倍体であったが、稀に5ないし6倍体と思われる個体が出現した。また、ノカイドウでは、自生個体(3倍体)より採取した実生はすべて3倍体であったが、自生個体を接ぎ木繁殖させた自生地外栽培個体からの実生では4倍体も出現した。さらに、一部の実生個体について正確な染色体数を決定した。その結果、フローサイトメトリーで6倍体と推定された個体の染色体数は $2n=102$ であり、6倍体であることが確認された。

(3) リンゴ属植物の生殖動態の推定

野生個体のクローン系統と実生集団個体について、マイクロサテライト解析を行って遺伝子型を推定した。その結果、2倍体植物(北海道と本州中部、佐賀県唐津のズミ、タカナベカイドウ)は、同一集団における各個体の遺伝子型が異なり、有性生殖していることが推定された。一方で、3倍体植物(大分県日田市のズミ、えびの高原のノカイドウ、ツクシカイドウの栽培個体群)や4倍体植物(エゾノコリンゴ、東北地方のズミ)では、同じ遺伝子型を持つ複数の個体が同一集団内に出現するため、無融合生殖していることが推定された。特に、集団サイズの小さい大分県日田市のズミとえびの高原のノカイドウでは、調査したすべての個体が同一遺伝子型を示し、集団内の多様性が消失していることが判明した。さらに、花粉の生成調査を行った結果、ノカイドウとツクシカイドウでは

花粉粒が形成されていないことが判明した。両種の集団とも正常に結実し稔性の有る種子をつけるため、このことから無融合生殖が裏付けられた。一方、エゾノコリンゴ4倍体の実生集団個体で、5、6倍体が得られたことから、倍数体の無融合生殖は条件的で、時に有性生殖を行っている可能性が示唆された。

(4) モモの集団構造の推定

マイクロサテライトマーカーにより、集団遺伝学的な解析を行い、集団構造を推定した。その結果、野生集団と日本本土の在来系統は、ともに遺伝的多様性が少なく、かつ同一の遺伝的構造が推定された。しかし、どちらのグループでも近代導入品種の遺伝的影響の見られる個体が混在していた。また、琉球地方の在来系統では独自の遺伝的構造が推定されたが、西日本(特に九州)の野生集団でもこの構造の影響が見られた。

(5) 自生、外来の識別

リンゴ属では、海外の材料を得られなかったため、特に問題になっている九州のリンゴ属植物において、自生か外来かを十分に識別するには至らなかったが、ツクシカイドウとノカイドウは無融合生殖であることが判明したので、自然要因による大陸からの分布拡大の可能性があり得ると推定した。また、両種ともに遺伝的多様性が存在しない理由が近年の分布拡大と遺伝的多様性の消滅の何れであるかは、推測できなかった。

モモについては、野生集団は真の自生ではなく、在来の栽培系統が野生化したものと推定された。また、現存する在来の栽培系統は観賞用のみであるが、かつての果樹の在来系統も同様の遺伝的背景を持っていたと推定された。

(6) 成果の位置づけと今後の展望

本研究により、日本のリンゴ属植物は、有性生殖を行う2倍体と条件的無融合生殖を行う倍数体があることが判明した。また、特に九州の個体群では、分類群を問わず遺伝的多様性が減少ないし消失しており、重点的な保全対策の必要性が示唆された。この場合、無融合生殖集団は、一見個体数や結実率が良く見えるため、集団の衰退に気づきにくいいため、注意が必要である。また、ズミとエゾノコリンゴは、分布域の端の集団を除けば、遺伝的多様性は維持されているが、集団の倍数性に地域間差が見られたため、園芸用の利用に際しては、地域間での移動において配慮が必要であると思われる。

一方、モモ野生個体は真の自生でないことが推定されたが、西日本の野生化集団では、琉球の在来系統の影響で遺伝的多様性が増加しており、遺伝資源保全における重要性が認められる。

リンゴ属の高次倍数体の材料では、マイクロサテライトによる遺伝子型推定が十分にできず、遺伝的構造の推定には至らなかった。これらの問題点の解消を今後は検討してい

きたい。

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)

Iketani H, Horii Y, Ooue M, Iwatsubo Y (2012). New record of *Malus baccata* var. *mandshurica* (Rosaceae) from Northern Tohoku region seashores, Japan. The Journal of Japanese Botany 92: 112-115. (査読有). http://www.jjbotany.com/pdf/JJB_092_112_115_abstract.pdf.
Katsuki T, Iketani H (2016). Nomenclature of Tokyo cherry (*Cerasus* × *yedoensis* 'Somei-yoshino', Rosaceae) and allied interspecific hybrids based on recent advances in population genetics. Taxon 65: 1415-1419. (査読有). DOI: <https://doi.org/10.12705/656.13>.
Iketani H (2016). Native fruit tree genetic resources in Japan. Breeding Science 66: 82-89. (査読有). DOI: <https://doi.org/10.1270/jsbbs.66.82>.
Sato K, Yamazaki T, Iwatsubo Y (2016). Karyotype analysis of three alpine *Taraxacum* species (Asteraceae) in Japan. Cytologia 80: 489-493. (査読有). DOI: <https://doi.org/10.1508/cytologia.80.489>.

[学会発表](計4件)

早瀬裕也、小林知春、宮下啓子、新田雅志、川島有貴、岩坪美兼。日本産ヨモギ属の雑種 北陸植物学会 2015 年度大会。2016.6.21。金沢大学サテライト・プラザ。
岩坪美兼。公開シンポジウム「染色体から見てきた富山の植物の多様性」。日本植物分類学会第 15 回大会。2016.3.9。富山大学五福キャンパス。
村口加奈、岩坪美兼。シャクヤクとウメの染色体数。園芸学会北陸支部。2015.11.27-28。富山市・パレブラン高志会館。
池谷祐幸、間瀬誠子、八重垣英明、澤村豊、末貞佑子、山本俊哉。日本の野生化モモと栽培モモの遺伝的關係。日本植物分類学会第 14 回大会。2015.3.6-8。福島大学。

[図書](計2件)

五百川裕、池谷祐幸、池田博、遠藤泰彦、大橋広好、勝木敏雄、加藤英寿、加藤雅啓、門田裕一、黒沢高秀、國府方吾郎、瀬戸口浩彰、立石庸一、根本智行、米倉浩司、日本の野生植物 第 3 巻、2015、ISBN 978-4-582-53533-4。338pp。
Mase N. Genetic Studies on a

Pollen-Part Self-Compatible Mutant in Japanese Pear. Ph.D. Thesis, University of Tsukuba. 2016. 115pp. <http://hdl.handle.net/2241/00144308>.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池谷 祐幸 (IKETANI, Hiroyuki)
岡山理科大学・生物地球学部・教授
研究者番号：10391468

(2) 研究分担者

岩坪 美兼 (IWATSUBO, Yoshikane)
富山大学・大学院理工学教育部理学領域・教授
研究者番号：10201344
間瀬 誠子 (MASE, Nobuko)
農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物研究センター・上級研究員
研究者番号：10355365
兼松 聡子 (KANEMATSU, Satoko)
農業・食品産業技術総合研究機構・本部・調整監
研究者番号：40355433
(平成 26~27 年度)

(3) 連携研究者

山本 俊哉 (YAMAMOTO, Toshiya)
農業・食品産業技術総合研究機構・果樹茶業研究部門・品種育成研究領域・ゲノムユニット長
研究者番号：60355360
中尾 登志雄 (NAKAO, Toshio)
宮崎大学・名誉教授
研究者番号：40038310