

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06120

研究課題名(和文) 長期の無性繁殖を行うタケ類における有性繁殖の適応的意義の解明

研究課題名(英文) Adaptive significance of sexual reproduction in bamboos that have long-term asexual reproduction

研究代表者

久本 洋子 (Hisamoto, Yoko)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教

研究者番号：60586014

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：タケ類は長期間無性繁殖を続けた後に開花する。モウソウチクは開花後に結実、つまり有性繁殖をして芽生えから竹林が回復するが、ハチクは開花しても結実せず、無性繁殖で竹林が回復する。本研究では、タケ類における有性繁殖の役割として長期の無性繁殖で蓄積された有害遺伝子を排除するためという仮説を立て、異なる開花周期をもつモウソウチク3系統と開花前と開花後のハチクで塩基配列の多型を調べた。その結果、モウソウチクでは開花周期の異なる系統で体細胞突然変異の数は変わらず、長期の無性繁殖を続けても体細胞突然変異は蓄積されないことを示した。一方ハチクではラメットによっては多くの体細胞遺伝子変異が見られることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

長期の無性繁殖後に有性繁殖をするという特異な生活史特性を持つタケ類において有性繁殖の役割が明らかになれば、タケ類のみならずクロール植物における適応的意義の解明に繋がると考えられる。また、例えばモウソウチクの地下茎は一年間で平均約2m、長いものは5m以上伸長するが、このようなタケ類の旺盛な栄養繁殖により近年利用されず放置された竹林が周囲の森林等へ拡大する問題が生じている。そのため、タケ類の繁殖特性を明らかにすることは竹林拡大問題の解決にもつながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Bamboos bloom and show sexual reproduction after a long-termed asexual reproduction that propagate with bamboo shoots and rhizomes. *Phyllostachys pubescens* bear fruit after flowering and recovers from the seedlings, whereas *P. nigra* var. *henonis* does not bear fruit after flowering and recovers through asexual reproduction. This study tested the hypothesis that the role of sexual reproduction in bamboos is to eliminate somatic mutations accumulated through long-termed asexual reproduction. Sequence polymorphisms were examined in *P. pubescens* with different flowering cycles. The results showed that the amount of polymorphisms did not change between lineage, indicating that somatic mutations do not accumulate significantly in Moso bamboo even with long-term vegetative reproduction. On the other hand, comparison of sequence polymorphisms before and after flowering revealed that many somatic gene variants were found in one ramet in *P. nigra* var. *henonis*.

研究分野：森林分子生態学

キーワード：bamboo 一斉開花 有害遺伝子 体細胞突然変異 ジェネット

1. 研究開始当初の背景

モウソウチク、マダケ、ハチクといったタケ類は無性繁殖を行うクローナル植物である。例えばモウソウチクの地下茎は一年間で平均約 2m、長いものは 5m 以上伸長成長する。一方、タケ類は数十年に一度一斉に開花し枯死するという有性繁殖も行う。この有性繁殖の特性はタケ類の種類によって異なる(図-1)。例えば、タケノコを食用されるモウソウチクでは、1930 年に発芽した個体が 1997 年に一斉開花し、開花周期が 67 年であることが報告された(柴田 1999)。一斉開花後には開花稈は枯死したが、結実して翌年発芽した実生によって群落が回復した。一方、茶せんなどの材料として用いられるハチクは、文献での開花記録から 120 年周期で開花するといわれており、ここ数年全国的に開花が報告されている。ハチクはモウソウチクと異なり、開花後にほとんど穎果を作らず、開花稈は枯死するものの、生残した地下茎から再び稈を出して群落を回復させる。

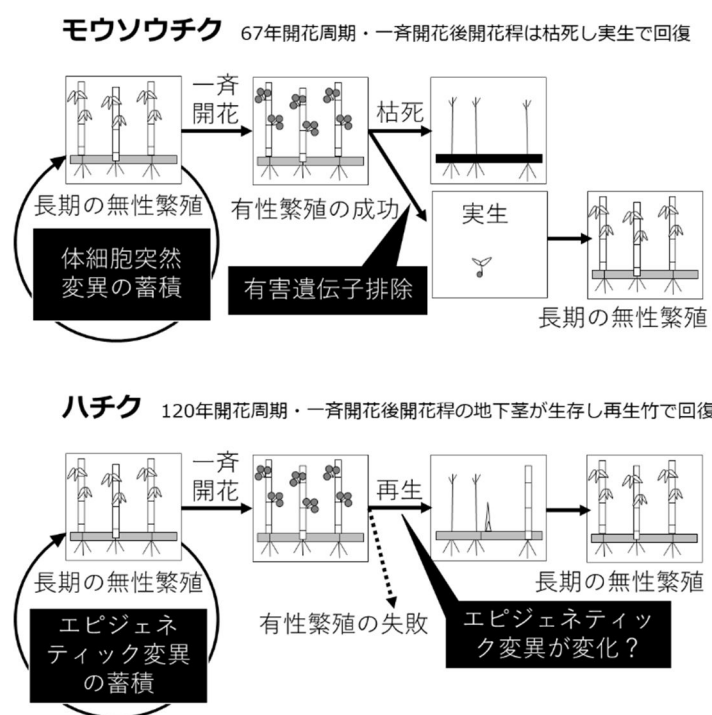


図-1 タケ類2種における開花様式の違いと研究当初に予想した仮説

クローナル植物における有性繁殖の意義についてはいくつかの仮説があり、そのひとつに有害遺伝子排除説がある(荒木・福井 2017)。これは無性繁殖を続けると体細胞突然変異によって有害遺伝子が蓄積されるためゲノムの組換えを伴う有性繁殖によってこれらを排除するという仮説である。タケ類では一般的に体細胞突然変異率が高いとされる報告があり(小林 2017)、実際に斑入りや枝変わりも多く、園芸種として維持されている。前述のようにモウソウチクでは開花後結実して実生によって群落が回復するため、有害遺伝子を排除するために有性繁殖を行うという仮説に合致する。しかし、ハチクでは一斉開花するにも関わらず不稔で結実しないため結局無性繁殖で群落を回復させる。すなわち、数十年間無性繁殖によってクローンサイズを拡大して大面積を占有したジェネットを開花によって枯死させるにも関わらず、遺伝的に同一である地下茎から無性繁殖するために、有性繁殖のメリットを享受していないことになる。それにも関わらず、タケ類は定期的な一斉開花機構をなぜ維持しているのだろうか。

ところで、近年 DNA のメチル化といった塩基配列の変化を伴わない変異が知られ、エピジェネティック変異と呼ばれている。エピジェネティック変異は生物の生活史、多様性、進化に関わる重要な変化であることが明らかになってきた。荒木(2017)はクローナル植物であるコンロンソウの野外集団のエピジェネティック変異を調べ、同一ジェネットの中に複数のエピジェノタイプがあることを示し、クローナル植物の表現型の違いに関与することを示した。もしタケ類の一斉開花が有性繁殖による遺伝的組換えを必要としないエピジェネティックな変異を誘発するものであれば、タケ類が定期的な一斉開花機構を維持している意義があるといえるだろう。

まとめると、タケ類は一回繁殖型といわれているが、実際は種類によって有性繁殖を成功させるものと失敗させるものがあるということ、そして有性繁殖に至るまでの無性繁殖の期間が 60

~120年と非常に長いという特徴がある。これはタケ類が無性繁殖のメリットを享受して進化してきたことを示唆し、一方で数十年という長周期でありながらも有性繁殖の機構を放棄していないことから、有性繁殖を行うことに何がしかのメリットがあることをも示唆するだろう。以上から、長期的に旺盛な栄養繁殖を行うタケ類において数十年に一度という一斉開花枯死は適応的なのかという問いを立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、開花特性の異なる2種のタケ類において、ジェネット内の体細胞突然変異とエピジェネティック変異を調べることで、タケ類における有性繁殖は適応的なのかを検証することである。

3. 研究の方法

3-1. モウソウチクのサンプリング

モウソウチクは1736年に中国から鹿児島県の島津藩礎庭園に植栽された株が日本へ最初に導入された株といわれ、現在もその導入された株が同園に系統保存されている。この株は植栽後から現在まで開花が知られていないため約300年近く開花していない。一方、東京大学千葉演習林（以下、千葉演習林）には開花周期試験のためのモウソウチク林が維持されている。この株は1930年に横浜市緑区の民家の竹林で開花・結実した実生2個体由来で、1997年に一斉開花したことから67年開花周期である。1997年開花後に多数の実生が発生し、現在約20年生の竹林に回復している。静岡県三島市にある富士竹類植物園は世界や日本のタケ類を収集した植物園である。ここには上記の300年近く未開花な株（以下、300年株と呼ぶ）と、67年開花周期の株（以下、67年株）また、25年開花周期の株（以下、25年株）が系統保存されている。これらについて、植栽区画内に調査地を設置し、区内のすべての稈（ラメット）から葉をサンプリングした。

3-2. ハチクのサンプリング

ハチクは2010年代後半から全国的に開花が確認されている。2017年より埼玉県荒川流域の三ツ又沼ピオトープにおいて、ピオトープ内に生育するハチク林の一部で開花が認められた。この地域で調査地を設定し、開花の生態調査を行うとともに、開花直前と推測される群落内の稈（以下、開花前株と呼ぶ）と、開花翌年に地下茎から出現した再生竹（以下、開花後株）について葉をサンプリングした。

3-3. 遺伝子解析

モウソウチクは300年株、67年株、25年株からそれぞれ3ラメット、ハチクは2調査区において開花前株と開花後株からそれぞれ3ラメットを選んでDNAを抽出した。精製したDNAを株式会社生物技研へ委託し、次世代シーケンサーによるGRAS-Di®法でジェネット解析を行った。

各サンプルのジェノタイプング結果からMEGA11ソフトウェアを用いてNJ系統樹を作成した。また、ラメットごとに、当該ラメットのみが保有する塩基配列多型の数（以後、固有多型）を算出して比較した。なお、本研究期間中にはエピジェネティック変異の実験を実施することができなかった。

4. 研究成果

仮説として、モウソウチクは有性繁殖を成功させる種なので、有性繁殖によって有害遺伝子が排除される機構を有しているのならば、300年株では固有の突然変異率が高く、67年株や25年株では突然変異率が低くなると予想した。また、ハチクは有性繁殖をせず無性繁殖で群落が回復するため、仮説として開花前株と開花後株の突然変異率はほぼ同等であると予想した。

モウソウチクでは240遺伝子座で多型がみられた。そのうち、3つの株間での多型は145遺伝子座であった（表-1）。NJ系統樹では各株が単系統群を形成した（図-2）。各株内におけるラメットの固有多型数は10~20個で、ラメット間では差はみられなかった。

ハチクでは335遺伝子座で多型がみられた。NJ系統樹に見られるように調査地1と2、開花前と後での明確な遺伝構造は見られなかった。調査地1では開花前と開花後での固有の多型数は10以下と少なく、差はほぼ無かったのに対し、もう1つの調査地2ではラメット3の固有多型数が238遺伝子座と顕著に多かった。

仮説では、モウソウチクは開花周期の長い系統ほど突然変異率は高くなり、ハチクでは開花前後の突然変異率はほぼ同等と想定したが、仮説とは逆の結果となった。すなわち、モウソウチクで開花周期の異なる系統での多型数には差がないということは、長期の栄養繁殖を続けていても体細胞遺伝子変異が大幅に蓄積されるわけではないことが示唆された。一方、ハチクでは開花前後で多型数の異なる株があった結果から、ラメットによっては体細胞突然変異が蓄積されている可能性が考えられた。

しかし、本研究で用いたサンプル数が少ないという点、またエピジェネティック変異の比較を行うことができなかった点から、有性繁殖によって有害遺伝子が排除される可能性についてはさらなる研究が求められる。

表-1 モウソウチクおよびハチクの各株および各ラメットにおける塩基配列多型数

種	サンプル	ラメットの固有多型数	株内の固有多型数	株間の多型数
モウソウチク	300年株-ラメット1	15		
	300年株-ラメット2	21	53	30
	300年株-ラメット3	17		
	67年株-ラメット1	19		
	67年株-ラメット2	12	49	42
	67年株-ラメット3	18		
	25年株-ラメット1	16		
	25年株-ラメット2	18	52	73
	25年株-ラメット3	18		
ハチク	調査地1-開花前-ラメット1	0		
	調査地1-開花前-ラメット2	1	5	0
	調査地1-開花前-ラメット3	4		
	調査地1-開花後-ラメット1	3		
	調査地1-開花後-ラメット2	2	9	0
	調査地1-開花後-ラメット3	4		
	調査地2-開花前-ラメット1	5		
	調査地2-開花前-ラメット2	19	262	4
	調査地2-開花前-ラメット3	238		
	調査地2-開花後-ラメット1	2		
	調査地2-開花後-ラメット2	1	3	0
	調査地2-開花後-ラメット3	0		

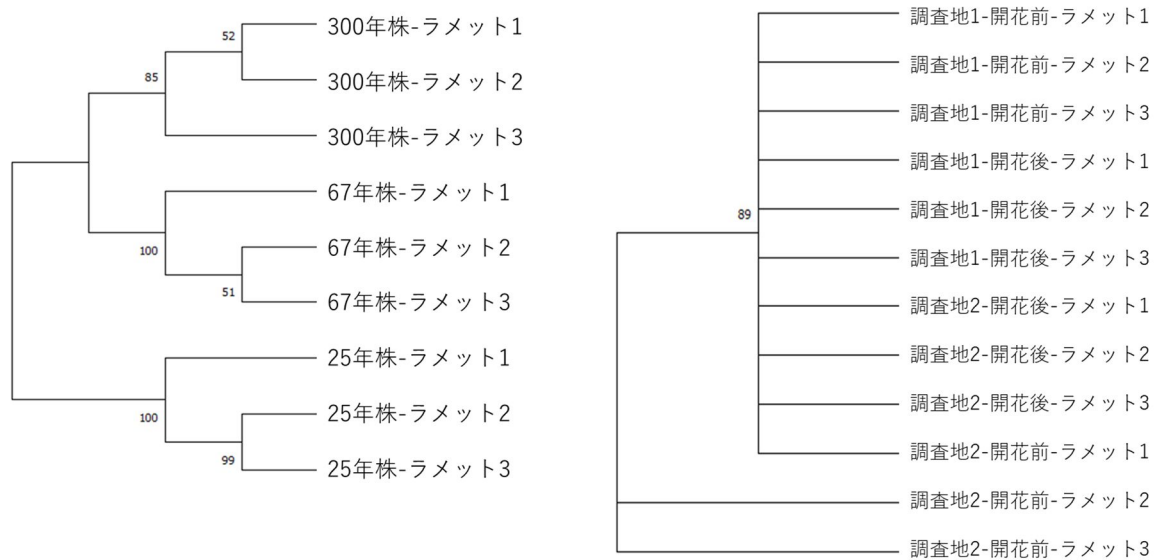


図-2 モウソウチク（左）とハチク（右）のNJ系統樹。
枝の数字はブートストラップ確率を示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 久本洋子	4. 巻 28
2. 論文標題 タケ類の不思議な生態	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tree Doctor	6. 最初と最後の頁 118-122
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 金道 知聖・楠本 大・後藤 晋・久本 洋子	4. 巻 32
2. 論文標題 地中の障害物がモウソウチク実生の成長および地下茎の伸長に及ぼす影響	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bamboo Journal	6. 最初と最後の頁 11-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 久本洋子	4. 巻 144
2. 論文標題 荒川河川敷におけるハチクの一斉開花枯死と生態系への影響	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 竹	6. 最初と最後の頁 21-24
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 久本洋子
2. 発表標題 数十年に一度起こるタケ類の一斉開花現象の解明を目指して
3. 学会等名 第29回日本時間生物学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林慧人・久本洋子・福島慶太郎・鈴木重雄・河合洋人・小林剛
2. 発表標題 タケ類開花の現況と開花記録の収集：市民参加型調査に向けて
3. 学会等名 第134回日本森林学会大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関