

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06129

研究課題名(和文) アポミクシス植物の有性繁殖の可能性と無性繁殖としての利点の解明

研究課題名(英文) Possibility of sexual reproduction in apomixis plants and its advantages

研究代表者

井上 みずき (INOUE, Mizuki)

日本大学・文理学部・准教授

研究者番号：80432342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：理論的には無性繁殖の方が有性繁殖より有利であると考えられており、「有性繁殖の進化」は生物学上のパラドックスの一つといわれている。アポミクシスは有性生殖器官を利用して行う無性繁殖である。アポミクシス植物の可能性のあるドクダミの訪花昆虫相観察や花への袋掛け実験・種子の播種実験から、ドクダミは目立つ白い花序をつけ、昆虫を引き付けるにもかかわらず、実際には昆虫による送粉を必要とせず結実し発芽することが可能であり、アポミクシスによる無性繁殖を行っていることが示された。また、MIG-Seq法によるゲノムワイドなSNP解析を用いてドクダミの遺伝的多様性と個体群の遺伝的な分化の程度について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

社会的意義としては、身近に存在する雑草であるドクダミの生活史や歴史を明らかにすることで、植物への関心が高まる。また、医薬品や食品としても扱われるドクダミの系統地理学的研究を行うことでドクダミの遺伝的多様性保全にもつながる。SDGsの目標15の陸の豊かさを守ろう、にもつながっていく。

学術的意義としては、他のクローナル植物との相違点、似ている点を比較することで、より進化の袋小路に陥ったと考えられるアポミクシス植物の進化について理解が深まる。

研究成果の概要(英文)：Theoretically, asexual reproduction is considered more advantageous than sexual reproduction. It is said to be one of the biological paradox. Apomixis is an asexual reproduction using sexual reproductive organs. Flower visitor observation of *Houttuynia cordata*, experiments of bagging flowers, and seeding seeds showed that *Houttuynia cordata* has white inflorescences that attract insects, but in reality it can be pollinated by no pollinators. Thus, I confirmed *Houttuynia cordata* is asexual reproduction by apomixis. Genome-wide SNP analysis by the MIG-Seq was also used to clarify the genetic diversity of *Houttuynia cordata* and found the degree of genetic differentiation of the population.

研究分野：生態学

キーワード：アポミクシス 無性繁殖 クローン繁殖

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

温帯植物の約 7 割は、種子で繁殖する有性繁殖に加えて無性繁殖をしていると推定されている。無性繁殖としては、タケのように地下茎を伸ばしてタケノコという形態で増えたり、ヤマノイモが葉腋にムカゴを作り散布したりする方法などがある。それ以外に、アポミクシスと呼ばれる受精を伴わない種子生産によるものもある。こうした無性繁殖による個体は親と遺伝的な違いがないクローンである。有性繁殖に比べてすべての遺伝子が子に受け継がれる点、また 1 個体でも繁殖が可能なおことから無性繁殖には大きなメリットがある。一方で、無性繁殖では遺伝的な組み換えが起きないために変動環境や進化速度の速い病原体に迅速に対応できない可能性が指摘されている。理論的研究の成果からは有性繁殖のメリットは無性繁殖のメリットを超えられないとされている。ただし、実際には無性繁殖のみに頼っている生物種は少ないといわれており、「有性繁殖の進化」は、生物学上のパラドックスの 1 つと言われている。

アポミクシスは植物の有性繁殖器官(花)上での無性繁殖であるため、アポミクシス植物は有性繁殖をせず、無性繁殖のみに頼っている生物種であると従来考えられてきた。しかし、近年、アポミクシス種子で増えるセイヨウタンポポの花粉が二倍体のタンポポにかかることで、種間交雑が起きていることが明らかになってきた。このことから、アポミクシスをする植物であっても、無性繁殖のみ行っているわけではない可能性がでてきた。一方で、有性繁殖器官で無性繁殖をするという資源の無駄遣いとも思える繁殖方法にはなんらかのメリットがあると考えられるものの、そうした視点からの研究はされてこなかった。種子は乾燥からの胚の保護(休眠性)と散布の点から進化してきたといわれている。したがって、無性繁殖体が種子形態をとるメリットは、この 2 点にあるかもしれない。東アジアに広がる日華植物区系(日本・中国南部からヒマラヤ付近)に広域に生育するドクダミは地下茎とアポミクシスによる無性繁殖を行う多年生草本であるといわれている。本研究ではドクダミを扱うこととした。

2. 研究の目的

林縁や林床・空き地などに生育する多年生草本ドクダミは、地下茎で無性繁殖するとともに 4 枚の白い総苞片をもつ花序を発達させる。この花序にできた種子は一般にアポミクシスによるとされている。このドクダミを材料として有性繁殖の可否、地下茎に加えてアポミクシスによる無性繁殖をするメリットについて明らかにする。また、系統地理関係や繁殖方法を明らかにし、アポミクシス植物の進化を考える。

3. 研究の方法

(1) 日本と海外のドクダミの遺伝構造

MIG-Seq 法によるゲノムワイドな SNP 解析を用いてドクダミの遺伝的多様性と個体群の遺伝的な分化の程度について明らかにした。海外 16 地点(生物多様性条約締結前に採取されたサンプルであり、かつ、現地に共同研究者がおり、使用許可がおりているサンプル)日本 30 地点から採取したドクダミの葉、計 504 サンプルから CTAB により DNA を抽出した。MIG-Seq 法により分析、フィルタリングし 403 サンプル、92SNPs をもとに解析した。Structure, DAPC, NJ 系統樹等を利用した。また、葉緑体 DNA をもとに rbcL をはじめとした塩基多型を抽出し NJ 系統樹を作成した。

(2) 有性繁殖由来のドクダミ種子の存在

東京大学小石川植物園にてドクダミの花の訪花昆虫を捕獲する調査を2019年に3回おこなった。採取場所、採取日、採取時間を記録し、昆虫は冷凍した。その後、昆虫種を同定した。

さらに、同植物園にて、無処理、袋掛け、除雄して袋掛けの3処理を計101花序に対し、行った。無処理はナンバリングのみで花の数を計数し、結実後に果実数を計数した。袋掛け処理は開花前の花序の花数を計数し、1mmメッシュのネット状の袋をかけ、結束バンドで袋の出口を縛りナンバリングした。開花終了後には袋は外し、結実後に果実を計数した。除雄して袋掛け処理は開花日に葯が未裂開状態であることを確認し、ピンセットで花糸をつまんで除雄を行い、その後、雌花数を計数し、袋掛けの場合と同様に1mmメッシュのネット状の袋をかけ、結束バンドで袋の出口を縛りナンバリングした。開花終了後には袋は外し、結実後に果実を計数した。

(3)ドクダミ種子の休眠性の有無

小石川植物園から果実序を採取し屋外埋土処理をした(50種子/セット)。採取直後、3ヶ月後に種子を掘り出し、国際種子検査協会が定める方法を一部改変し種子の生存を確認した。また、小石川植物園の一面にドクダミが生えている場所から土壌を20cm×20cm×3cmの範囲で土壌を採取し、比重分離法により種子を分別した。採取した種子は21度に設定したインキュベータで発芽させた。

4. 研究成果

(1)日本と海外のドクダミの遺伝構造

Structure(図1), DAPC(図2), NJ系統樹の結果からは、日本が1つにまとまる一方で海外サンプルは多様であることが分かった。ネパールが独立のクラスターを形成し、また広東省などの南部地域も1つのクラスターを形成した。

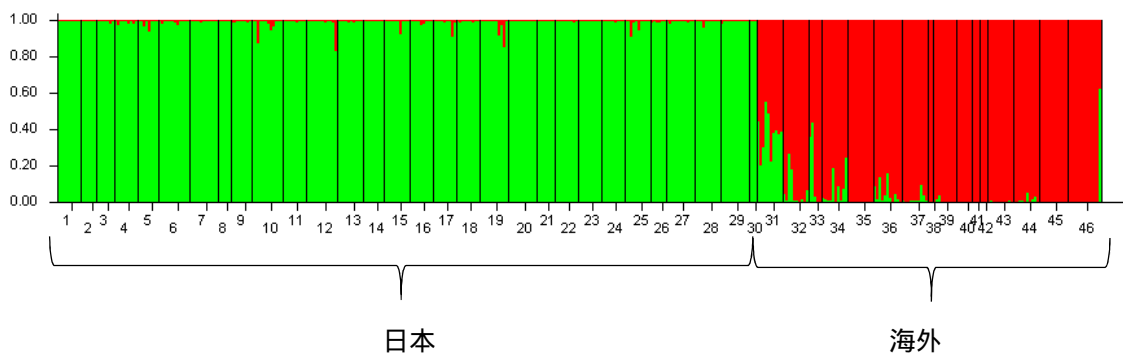


図1. MIG-Seq法による92SNPsに基づいたStructure解析(K=2)

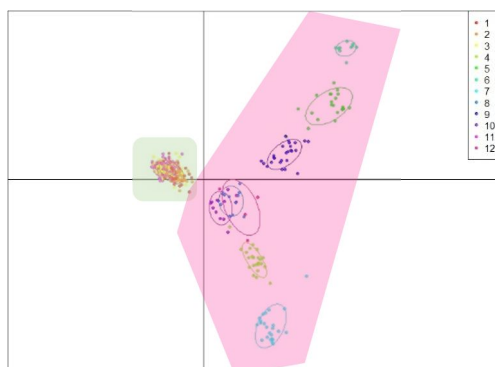


図 2. MIG-Seq 法による 92SNPs に基づいた DAPC

緑の四角は日本、赤の五角形は海外のサンプルが含まれている。

(2) 有性繁殖由来のドクダミ種子の存在

訪花昆虫相を明らかにしたところ、アブ、単独性ハナバチ等が捕獲された。

次に花への袋掛け実験を行ったところ、除雄した後袋掛けを行っても果実が実り、種子が生産されることが明らかとなり、アポミクシスであることが示された(図 3)。ドクダミは目立つ白い花序をつけ、昆虫を引き付けるにもかかわらず、実際には昆虫による送粉を必要とせず結実することが可能であり、地下茎に加えてアポミクシスによる無性繁殖を行っていることが証明された。

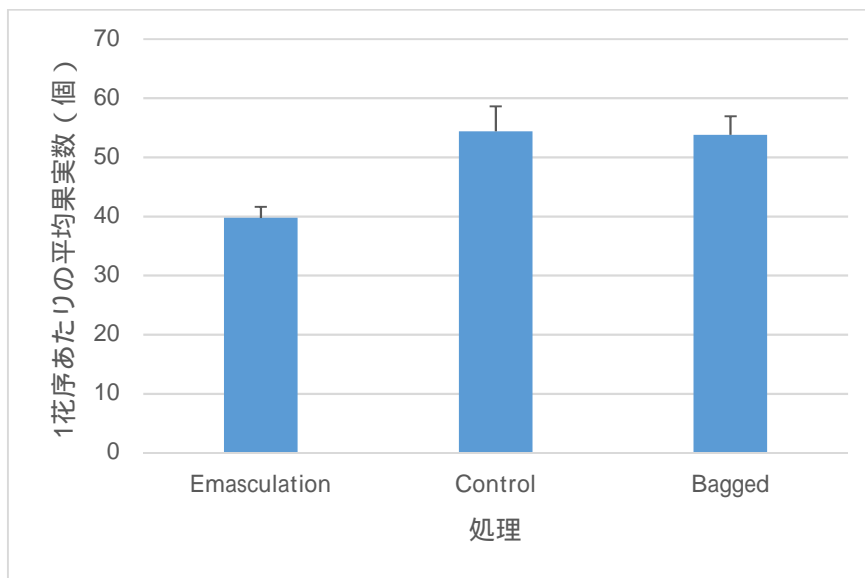


図 3 . 3 処理 (Emasculation: 除雄後袋掛け、Control: 無処理、Bagged: 袋掛け) した場合の 1 花序当たりの平均果実数

(3) ドクダミ種子の休眠性の有無

採取した種子を播種したところ、十分な光と水分があれば発芽することが明らかになった(図 4)。また、土壌からは埋土種子はそれほど発見されず、長期的に無性繁殖体が種子の形態で保存されるわけではないのかもしれない。

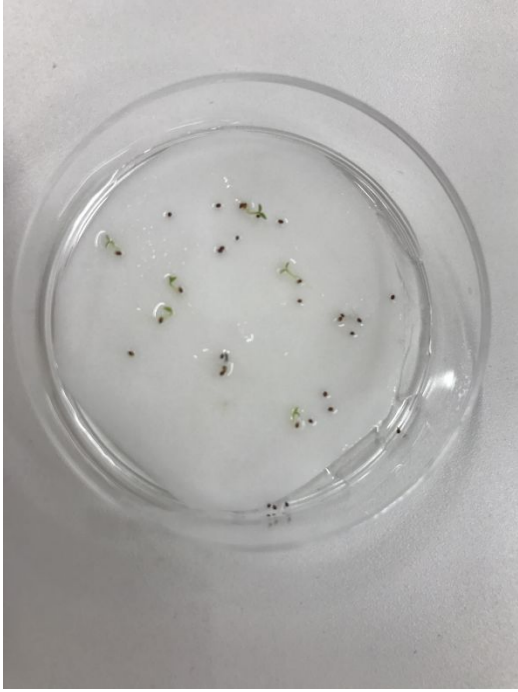


図 4 . 採取した種子を播種し発芽した写真

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井上(高橋) みずき, 大江 修平, 阪口 翔太, 佐藤 光彦, 松尾 歩, 陶山 佳久, 瀬戸口 浩彰
2. 発表標題 MigSeq法によるアボミクス植物ドクダミの遺伝構造解析
3. 学会等名 第68回日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上(高橋) みずき, 飛田 空, 佐藤 光彦, 松尾 歩, 陶山 佳久, 瀬戸口 浩彰
2. 発表標題 倍数性植物ドクダミの遺伝的多様性と個体群構造
3. 学会等名 第67回日本生態学会
4. 発表年 2020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
---------	---------