

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07533

研究課題名(和文) 分子マーカーで探る褐藻ホンダワラ属を例とした海藻類の分散能力の解明

研究課題名(英文) The elucidation of dispersal capacity of seaweed based on molecular data using Sargassum species

研究代表者

羽生田 岳昭 (Hanyuda, Takeaki)

神戸大学・内海域環境教育研究センター・助教

研究者番号：40379334

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、褐藻ホンダワラ属藻類を対象として、地域集団間及び集団内の遺伝的多様性の違いをもとに分散能力の違いを明らかにした。

日本各地においてホンダワラ属藻類を採集し、ミトコンドリアゲノムの塩基配列(約2.5kb)を決定した。日本沿岸で同じような分布域を示すヒジキとタマハハキモクを比較したところ、顕著な地理的遺伝構造の違いが見られた。また、西日本沿岸で同じような分布域を示すキレバモク/タマキレバモクとヒイラギモクを比較したところ、遺伝的多様性や地理的遺伝構造に大きな違いは見られなかった。ヒジキとタマハハキモクの間の地理的遺伝構造の違いは、これら2種の間での分散能力の違いに起因すると推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、不明な点が多かった日本沿岸に生育する海藻類の分散能力について的一端が明らかとなった。日本沿岸で同じような分布域をもつヒジキとタマハハキモクの間に見られた地理的遺伝構造の違いは、分散能力の違いに起因すると推測され、流れ藻としての出現割合(ヒジキ：低、タマハハキモク：高)の違いが分散能力の違いに影響を及ぼしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)： The purpose of this study was to investigate the genetic diversity of Sargassum species and to reveal the dispersal capacity of each Sargassum species and the cause of its differences.

Several Sargassum species were collected from various areas in Japan, and the mitochondrial DNA sequences (ca. 2.5 kb) were determined. The result of the comparison between *S. fusiforme* and *S. muticum*, which show a similar pattern of distribution around Japan, the remarkable difference of geographic genetic structure between these two species was revealed. The result of the comparison between *S. alternato-pinnatum*/*S. polyporum* and *S. ilicifolium*, which show a similar pattern of distribution around west Japan, the differences of genetic diversity and geographic genetic structure between these two species were not revealed.

It was suggested that the difference of geographic genetic structure between *S. fusiforme* and *S. muticum* caused by the difference of dispersal capacity between these two species.

研究分野：系統地理、生物地理

キーワード：分散能力 ホンダワラ属

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋生物の地域集団間の遺伝的分化の程度には、分散能力の違いが大きな影響を及ぼすことが明らかになっている。気泡の有無などにより種間の浮力の違いが非常に大きい海藻類は、分散能力の違いと遺伝的分化の関係について研究するのに非常に適した生物であるが、日本沿岸に生育する海藻類の分散能力については未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究は、褐藻ホンダワラ属藻類を対象として、地域集団間及び集団内の遺伝的多様性の違いを基にそれぞれの種の分散能力や繁殖戦略を明らかにするとともに、種間の分散能力の違いを引き起こす要因を考察することを目的とした。

3. 研究の方法

日本各地においてホンダワラ属藻類（ヒジキ、タマハハキモク、キレバモク、タマキレバモク、ヒラギモクなど）を採集し、ミトコンドリアゲノムの *cox3* 遺伝子領域及び *nad3* 遺伝子から 16S rRNA 遺伝子の間の塩基配列を決定した。また、RNA-seq 解析により得られた配列情報をもとにマイクロサテライトマーカーの開発を行った。

4. 研究成果

日本沿岸で同じような分布域を示すヒジキとタマハハキモクを比較したところ、どちらも同程度の数のハプロタイプ（ヒジキ：25，タマハハキモク：20）が認められた。ヒジキについては、東北・関東タイプや日本海・大陸タイプ、瀬戸内海タイプなど遺伝的に分化した6~8の地理的グループが認められた（図1）。一方、タマハハキモクについては、2つのグループしか認められず、1つは北海道南部から九州にかけての非常に幅広い範囲で分布が見られた（図2）。こうした遺伝的分化の地理的構造の違いは、これら2種の分散能力の違いに起因すると考えられ、流れ藻としての出現割合（ヒジキ：低，タマハハキモク：高）の違いが分散能力の違いに影響を及ぼしていると考えられた。

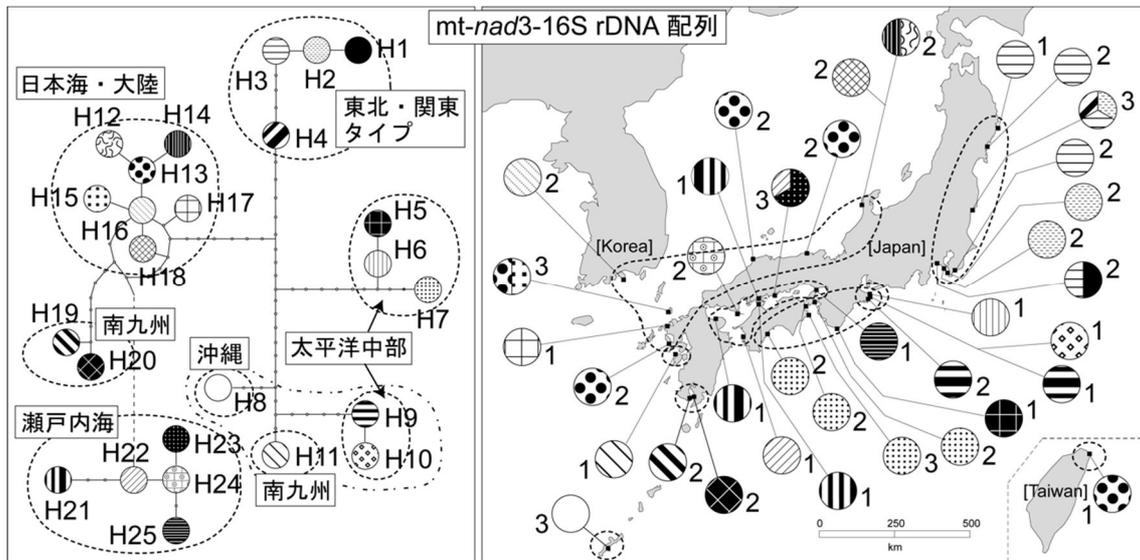


図1 ヒジキのmtDNA 配列(*nad3-16S rDNA*)によるハプロタイプ間の関係（左図）と各ハプロタイプの地理的分布（右図）

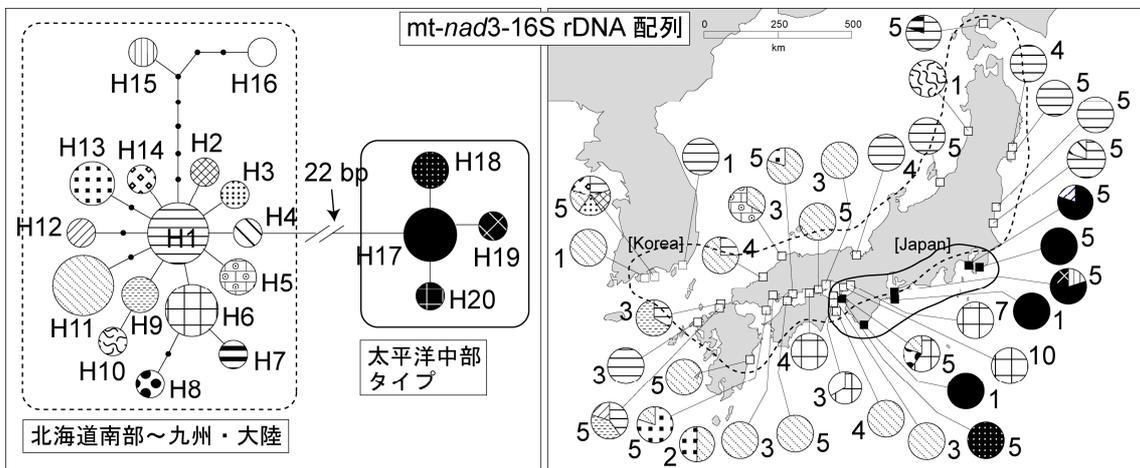


図2 タマハハキモクの mtDNA 配列(nad3-16S rDNA)によるハプロタイプ間の関係(左図)と各ハプロタイプの地理的分布(右図)

また、西日本沿岸で同じような分布域を示すキレバモク/タマキレバモクとヒイラギモクを比較したところ、遺伝的多様性や地理的遺伝構造に大きな違いは見られなかった(図3, 4)。キレバモク/タマキレバモクには13ハプロタイプが認められ、一部のハプロタイプは沖縄、四国、本州に広く分布していた。一方、九州には沖縄と共通するハプロタイプは分布せず、遺伝的分化が認められた。過去数十年間に九州で新たに分布を拡大した地域の結果から、この種が高い遺伝的多様性を保持しながら分布を拡大していることが示唆された。また、ヒイラギモクには13ハプロタイプが認められ、その一部は沖縄から九州、四国、本州まで広く分布していた。キレバモク/タマキレバモクと同様に地域固有のハプロタイプが認められたものの、キレバモク/タマキレバモクに比べて地域間の遺伝的分化レベルは低かった。

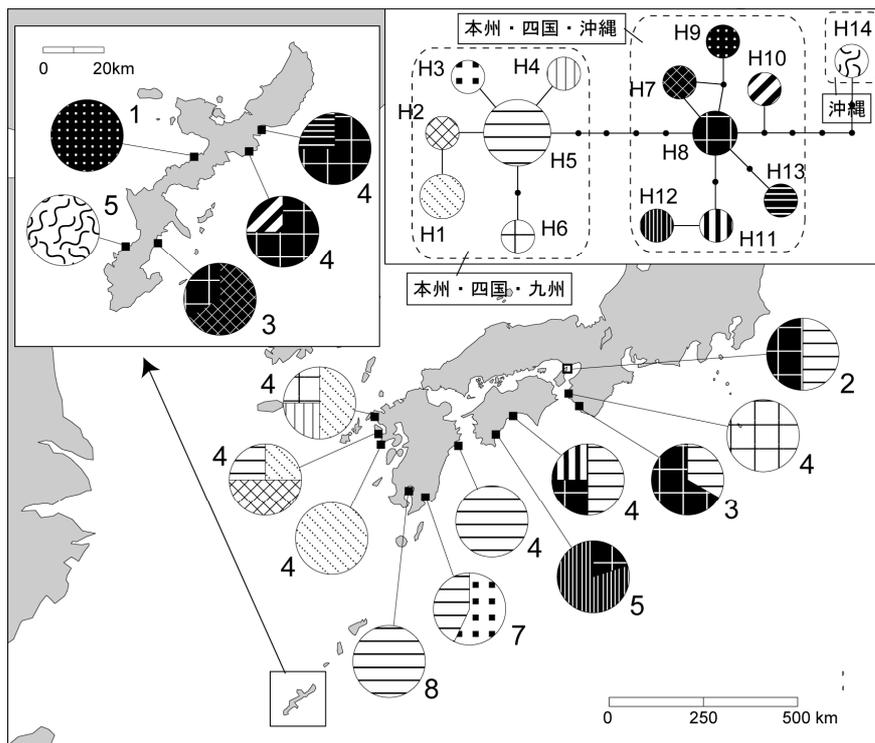


図3 キレバモク/タマキレバモクの mtDNA 配列(nad3-16S rDNA)によるハプロタイプ間の関係と各ハプロタイプの地理的分布

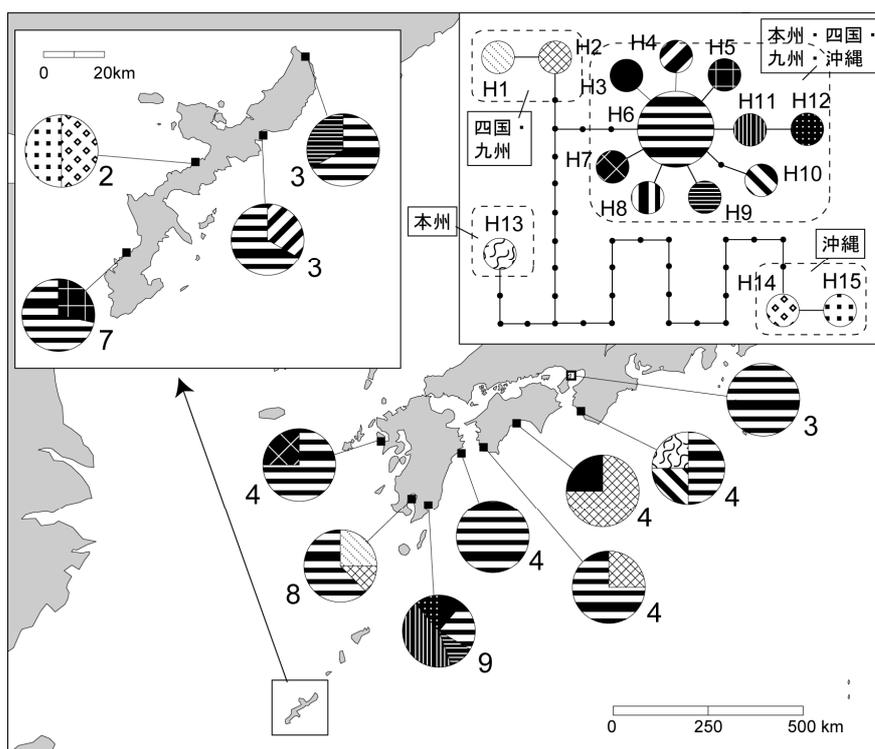


図4 ヒイラギモクの mtDNA 配列(nad3-16S rDNA)によるハプロタイプ間の関係と各ハプロタイプの地理的分布

タマハハキモクの繁殖生態や集団間の遺伝的分化などを明らかにするため、本研究ではその第一歩としてマイクロサテライトマーカーの開発を行った。RNA-seq 解析により得られた mRNA

配列から 2~6 塩基の反復配列を含む配列を抽出し、計 100 遺伝子座についてプライマーを設計してマーカーの有効性の判別に用いた。その結果、16 の遺伝子座 (2~5 塩基の反復配列) について 2~8 の対立遺伝子が確認された (表 1)。大半の遺伝子座においてヘテロ接合度の期待値 (H_e) と観察値 (H_o) には大きな差が見られ、近交係数 (F_{is}) は 0 から離れた値 (0.468~1.000) を示した。この結果は自殖に由来すると推測された。PIC の平均値は 0.454 であり、ウミトラノオの SSR マーカーの平均値 (0.473, Liu et al. 2016) とほぼ同程度であった。STRUCTURE 解析 (K : 1-10) の結果は、 $K = 2$ の時に K が最大値を示した。 $K = 2$ の設定の場合、1 つのクラスターには由良、安楽島、油壺が含まれ、残りのクラスターには因島、大洗、津井、万石浦、プリティッシュ・コロンビア、オレゴンが含まれた。また、安楽島と油壺では 2 つのクラスターの要素が混じった個体が確認された。これらの結果は、ミトコンドリアハプロタイプの結果と高い類似性を示した。

表 1 マイクロサテライト 16 遺伝子座の特徴, アレル数 (A), ヘテロ接合度 (観察値 (H_o), 期待値 (H_e)), 多型情報含有値 (PIC)

| Locus | Repeat motif | Size range (bp) | 9 集団 (n = 48) | | | | |
|-------|----------------|-----------------|---------------|-------|-------|-------|----------|
| | | | A | H_o | H_e | PIC | F_{is} |
| Smu1 | (GCA)13 | 128-147 | 2 | 0.042 | 0.418 | 0.328 | 0.901 |
| Smu5 | (TCAA)8 | 167-183 | 3 | 0.063 | 0.511 | 0.432 | 0.879 |
| Smu6 | (TTCC)8 | 123-135 | 2 | 0.021 | 0.368 | 0.298 | 0.944 |
| Smu9 | (TTGCC)6 | 162-172 | 3 | 0.083 | 0.543 | 0.431 | 0.848 |
| Smu11 | (CAG)8 | 108-126 | 4 | 0.104 | 0.69 | 0.62 | 0.850 |
| Smu20 | (ACT)8 | 157-247 | 5 | 0.042 | 0.63 | 0.552 | 0.935 |
| Smu24 | (CAG)8 | 113-125 | 3 | 0.042 | 0.341 | 0.293 | 0.879 |
| Smu56 | (CAG)8 | 127-133 | 3 | 0 | 0.347 | 0.307 | 1.000 |
| Smu57 | (CAG)8 | 168-186 | 6 | 0.104 | 0.575 | 0.513 | 0.820 |
| Smu72 | (CT)14 | 130-134 | 3 | 0.125 | 0.62 | 0.545 | 0.800 |
| Smu73 | (AT)14 | 148-178 | 5 | 0.313 | 0.617 | 0.575 | 0.496 |
| Smu78 | (AT)12 | 155-177 | 5 | 0.125 | 0.779 | 0.732 | 0.841 |
| Smu85 | (CA)3(TA)10 | 159-173 | 4 | 0.083 | 0.549 | 0.458 | 0.850 |
| Smu86 | (TA)11 | 173-203 | 8 | 0.313 | 0.584 | 0.553 | 0.468 |
| Smu92 | (CT)10 | 137-141 | 2 | 0.063 | 0.389 | 0.311 | 0.841 |
| Smu99 | (TA)10TCG(AT)4 | 123-125 | 2 | 0.083 | 0.399 | 0.317 | 0.793 |

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 1件）

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

| |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名 羽生田岳昭 |
| 2. 発表標題 分子系統地理学的なアプローチで探る海藻類の移入 |
| 3. 学会等名 日本植物分類学会講演会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 羽生田岳昭・寺内真・川井浩史 |
| 2. 発表標題 褐藻タマハキモクのマイクロサテライトマーカーの開発 |
| 3. 学会等名 日本藻類学会第42回大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Hanyuda T., Shimabukuro H. and Kawai H. |
| 2. 発表標題 Phylogeography of two fucal species <i>Sargassum fusiforme</i> and <i>S. muticum</i> in the Northwest Pacific, especially around Japan |
| 3. 学会等名 8th Asian Pacific Phycology Forum（国際学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 羽生田岳昭・孫忠民・川井浩史 |
| 2. 発表標題 褐藻ホンダワラ亜属3種（キレバモク、タマキレバモク、ヒイラギモク）の系統地理学的研究 |
| 3. 学会等名 日本藻類学会第44回大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 北山太樹・羽生田岳昭 |
| 2. 発表標題 八丈島沖を漂流するアカモク（褐藻綱ヒバマタ目）の生殖器官と由来について |
| 3. 学会等名 日本藻類学会第44回大会 |
| 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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|