

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06807

研究課題名(和文) 褐藻アカモクにおける生殖隔離機構の解明

研究課題名(英文) Analyses on the reproductive isolation mechanism(s) in *Sargassum horneri*

研究代表者

上井 進也 (UWAI, Shinya)

神戸大学・内海域環境教育研究センター・教授

研究者番号：00437500

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)：本課題により、褐藻アカモクにおける同所的な季節性集団が遺伝的分化を伴うものであることが確認され、それと同時に一定の遺伝子流動を持ちながら、それぞれの固有性を維持していることが明らかになった。培養実験の結果から、季節集団の成熟時期の違いは光周性の違いにより説明でき、また季節集団間の交雑個体が総性をもつことも確認された。これらの結果は野外サンプルの成熟時期の観察や遺伝的解析結果と矛盾しない。また、新潟と瀬戸内海という異なる地域の季節性集団が遺伝的に大きく異なることも確認され、瀬戸内海のアカモクの遺伝的距離に比べると、新潟の季節性集団間の遺伝的距離は非常に小さいものであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アカモクの季節性集団については、瀬戸内海で詳細な生態的研究がなされているが、遺伝的解析は実施されていない。本研究により、季節集団間の遺伝的分化や交配可能性、遺伝子流動の存在が確認された。日本沿岸における海藻の多様化プロセスの理解を進める上で、これらの知見は重要であると言える。また、アカモクについては、藻場構成種として生態的重要性が認識されてきたが、近年では食用海藻としても注目が集まるとともに、ブルーカーボンとして藻場造成に利用されたりもしている。本研究の示した同所集団の遺伝的・生理的多様性は、アカモクの産業的利用や保全を進める上での基礎的知見として、かかすことのできないものであると言える。

研究成果の概要(英文)：Clear evidences of genetic and physiological differentiation between sympatric seasonal populations of *Sargassum horneri* (Phaeophyceae) in Niigata Prefecture were provided in this study; in addition, this project suggested that some numbers of hybrids between the seasonal populations are there as estimated by genetic assignment provability of experimental hybrids, and therefore, these populations keep the identity in face of certain amount of gene flows. In congruence with these data, Genetic analysis based on SNPs showed that genetic distance between the seasonal populations is far smaller than the distances between seasonal populations in Seto Inland Sea.

研究分野：藻類学 系統分類学 集団遺伝学

キーワード：褐藻 アカモク 季節集団 遺伝的分化 光周性 遺伝子流動

1. 研究開始当初の背景

海藻類において同種集団間の分化を維持する隔離機構については、ほとんど明らかにされていない。褐藻ホンダワラ科の中には、アカモクのように同所的な同種集団間で異なる季節性を示す例や、ヨレモクとアキヨレモクのように近縁種間で季節性の分化がみられることが知られており、季節的消長が集団分化、種分化に与える影響が示唆されてきた。アカモクにおいては、瀬戸内海において季節集団の存在がよく知られているが、それ以外にも課題代表者らにより、新潟県沿岸の季節集団が確認され、この地域の冬成熟集団と春成熟集団の間でミトコンドリアハプロタイプの分化が報告されていた。また、核マイクロサテライトマーカーでも遺伝的分化が示唆されていた。

2. 研究の目的

本課題においては、

- 1) 培養下における季節集団間の交配実験と、マイクロサテライトマーカーを用いた、野外における季節集団間の交雑の遺伝的検証
 - 2) 発生初期(受精卵発芽体)および成熟(生殖器官形成)誘導にみられる季節集団間の分化の検討と交雑の影響の解明
 - 3) SNPにもとづく瀬戸内海および新潟県沿岸の季節集団の遺伝的関係の解明
- の3点から、同所的・異所的な季節集団間の遺伝的分化について明らかにするとともに、各季節集団の固有性を維持する隔離機構について明らかにすることを目的として研究を実施した。

3. 研究の方法

1) 野外における交雑の検出については、培養下における交配実験の結果をもとにして、野外の交雑個体の検出を実施した。野生集団に対してマイクロサテライトマーカー12マーカーによるアサインメント解析を実施し、野外の季節集団における遺伝的分化を検証するとともに、この解析でいずれか片方の遺伝的グループに高い所属確率をしめした個体を母藻として、培養株を確立した。このように確立された単藻培養株について、マイクロサテライトマーカーで遺伝的所属確率を確認した上で、培養実験下における交配実験に用いた。得られた交雑個体について、兄妹交配により雑種第2代を形成させて稔性を確認するとともに、マイクロサテライトマーカーによる解析を実施し、アサインメント解析における所属確率を求めることで、交雑個体、あるいは最近の交雑に起源をもつ個体の示しうる所属確率について見積もった。これらの値をもちいて、天然個体にどの程度の割合で、最近の交雑由来と推定できる個体が存在するか見積もった。

2) 成熟誘導条件における生理的分化については、上記と同様の方法(ただし8マーカーにもとづく)で遺伝的所属を確認した天然由来、あるいは実験室における交配由来の単藻培養株を用いて、15度8-14時間明期条件下におけるリセプタクル形成能を確認した。培養実験は、照度および光質を調整可能な小型培養庫6台を用いて実施し、PESI培養液中で通気培養した。

3) SNPにもとづく季節集団間の遺伝的分化の解析については、新潟県、および瀬戸内海の季節集団をサンプルとした。新潟県についてはこれまでの研究で明らかになっている典型的冬成熟および春成熟集団を用いた。また、瀬戸内海については、既報の情報を元に、秋成熟、および春成熟のアカモク集団と、現在はアカモクと同種とされているが、雌雄性の異なるシダモク集団をサンプルとして用いた。GRAS-Diを用いてSNPの抽出を行い、アサインメント解析、および系統樹構築を実施した。GRAS-Diについては外部委託し、納品されたデータについて、stacksのdenovo_map.plでSNPの抽出を行なった。リード数の少なかつた3個体を除去の上で改めて共有率50%でフィルタリングを行い、各遺伝子座から最初の1SNPを抽出したデータセットで集団構造解析、および系統解析を実施した。

4. 研究成果

1) いずれかの遺伝的グループに所属確率0.98の雌雄(雌:冬成熟集団由来、雄:春成熟集団由来、STRUCTUREによる解析)を用いて、培養条件下において交配実験を行い、複数の交雑個体を得ることができた。雑種第一代の3個体は、グループ1(冬成熟集団に相当)への遺伝的所属確率が0.55-0.67という値をしめしたが、雑種第二代(4個体)になると、グループ1への所属確率は0.50-0.81と非常に大きな幅をしめした。なお、NewHybridによる解析では、雑種第一代は「F1」とされることはなく(確率<0.03)、雑種第二代(確率>0.5)か、戻し交配個体(>0.3)という推定が示された。

STRUCTUREによる解析の数値から、野外サンプルの中で「最近の交雑由来とみなせる個体」の割合を算出した(43集団、548個体)。その結果、交雑個体に由来すると推定される個体の割合は、4月の37.8%をピークとして、21.6%(5月)、18.3%(3月)、12.3%(2月)

12.5% (1月、6月)と、成熟期間のいずれの月でも10%を超えていることが確認された。これらの数値は、ハプロタイプ頻度から想定される二つの季節集団の成熟が重複する時期(4月)と一致している反面、研究計画立案時の想定(高くても10%)よりもはるかに大きな数値(全体で19.0%)であり、季節集団間に大きな遺伝子流動が存在していることが明らかになった。これらの結果は、マイクロサテライトマーカーにもとづく遺伝的構造の解析結果とあわせて *Marine Ecology Progress Series* 誌に発表した (Homma et al. 2020)。多くの個体が交雑由来と推定されたことから、一定の頻度で季節集団間の交雑がおこるものの、同時期に成熟する個体との間で戻し交配が起こることで、いずれかの季節集団としての遺伝的性質が強くなっていく可能性が考えられる。

2) 所属確率 0.9 を基準としたときに、遺伝的に冬集団に属する1株(野外採取)、春集団に属する1株(室内交配由来)、季節集団間の交雑株6株(いずれのグループにも所属確率 < 0.9; 室内交配2系統4株、野外採取1系統2株)について、成熟誘導に関する光周性の確認を行なった。春集団に属する1株については、8時間では全く成熟せず、8時間明期から14時間明期以上に移動させる長日処理によって、移動後3週間から一ヶ月で成熟することが確認された (n=6)。12時間明期条件下では二ヶ月以上かかって野外で見られるものよりかなり小型なりセブタクルを形成した (n=5)。11時間、および10時間明期条件下では成熟が確認されなかった (n=4)。一方で、遺伝的に冬集団とみなせる1株と、交雑株6株については、成熟に長日処理を必要とせず、8時間明期条件下で成熟が確認された。また、室内交雑により得られた2系統4株については、雌雄の季節性を入れ替えた2系統について、明確な光周性を示さないことを確認することができた。

さらに遺伝的に春集団に所属する室内交配由来の3株を中心に光周性の解明を実施したところ、2株については、13時間/日以上明期を必要としたのに対し、1株のみは11時間/日でもりセブタクルを形成することが明らかになった。この株は、雌親が他の2株と同じであるにもかかわらず異なる光周性を示し、本課題で用いている遺伝的判別で「春集団」としているものの光周性に多型が存在していることが明らかになった。

3) GRAS-Di により得られた SNP は 1762 サイトで、これらに基づき STRUCTURE 解析を実施した結果、既報で得られた結果と同様、新潟の冬成熟集団と春成熟集団は、遺伝的に区別されることがわかった。既報とは異なり、冬集団と春集団の間の遺伝的交流を示唆する結果は見られなかったが、サンプリングの問題である可能性が高いと考えられる。さらに、兵庫県日本海沿岸の春成熟集団(香美町)は、新潟の春成熟集団と同じ遺伝的グループに所属し、広い地理的範囲にわたって、春集団が遺伝的にまとまっていることが示唆された。また、瀬戸内海の集団は、季節性や雌雄性にかかわらず、単一のグループとしてまとまった。しかしながら、おなじデータを用いた系統解析においては、日本海側の春集団と冬集団が小さな遺伝的距離で区別されるのみであった一方、瀬戸内海の3集団(秋アカモク、春アカモク、シダモク)の間には明確な分化が確認できた。STURCUTURE の結果は、瀬戸内海のサンプルが少なかったことが原因である可能性が考えられる。いずれにしても、本年度に実施した解析の結果から、日本海側の季節集団の遺伝的分化が再確認され、また、季節性集団の分化はそれぞれの地域で生じた可能性が高いことが示唆された。今年度の結果については、サンプルを追加して結果を確認した上で、論文として投稿する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 Homma Y, Okuda S, Kasahara M, Takahashi F, Yoshikawa S, Uwai S	4. 巻 642
2. 論文標題 Phenological shifts and genetic differentiation between sympatric populations of <i>Sargassum horneri</i> (Fucales, Phaeophyceae) in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Marine Ecology Progress Series	6. 最初と最後の頁 103 ~ 116
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3354/meps13332	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上井 進也
2. 発表標題 褐藻アカモクの季節集団間にみられる遺伝的分化について
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019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
---------	---------