

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19570092

研究課題名 (和文) 紅藻類の無配生殖化と雑種強勢に関する進化生態学的研究

研究課題名 (英文) Evolutionary ecology on red algal apomixis and heterosis

研究代表者

神谷 充伸 (KAMIYA MITSUNOBU)

公立大学法人福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授

研究者番号：00281139

研究成果の概要 (和文)：世界各地から単離された広塩性紅藻セイヨウアヤギヌについて遺伝子解析と交雑実験を行った結果、以下のことが明らかになった。(1) 異なる系統群で何度も無配生殖化が起こった；(2) 解析した無配生殖株の 7 割以上はヘテロ接合体 (フロリダとオーストラリアの株は異質 3 倍体)；(3) 遺伝子型がホモの無配生殖株は有性生殖を行うことがある；(4) 遺伝的に分化した有性生殖株の間で交雑を行った場合、F₁ 胞子体が無配生殖化する場合がある。

研究成果の概要 (英文)：Genetic analyses and crossing tests were performed using euryhaline red alga *Caloglossa leprieurii* isolated worldwide, and the following results were obtained: (1) Apomixis occurred several times in the *C. leprieurii* lineages; (2) 13 out of 18 apomictic strains were heterogeneous, and the strains from Florida and Australia were allotriploid; (3) The homogeneous apomicts frequently produced tetraspores that grew into gametophytes; (4) Obligate apomixis was generated through the outcrossing between the genetically divergent sexual strains.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：海藻、無配生殖、世代交代、交雑、異数倍数体

1. 研究開始当初の背景

(1) 被子植物やシダ植物では、種間あるいは属間交雑によって、有性生殖を介さない無配生殖 (アポミクシス) が誘導されること

が知られている。同じ植物界に属する紅藻類でも、様々な分類群において無配生殖種が見つかっているが、無配生殖化メカニズムに関する遺伝学的、分子生物学的研究はほとんど

皆無である。

(2) 紅藻 *Caloglossa monosticha* の培養株を用いた申請者らの実験により、遺伝的に異なる集団間の交雑によって F₁ 胞子体が無配生殖化することが明らかになった。異株間交雑による無配生殖化は藻類において初めての報告であり、極めて画期的な発見であったが、この現象が自然界において実際に起こっているのかどうかは確認されていない。

(3) 紅藻の無配生殖株は世界各地で確認されており、集団によっては有性生殖株よりも優占していることが知られている。もし異株間交雑による無配生殖化が自然界でも起こっているとすれば、その無性生殖株は雑種強勢 (heterosis) を示す可能性があるが、藻類では雑種強勢についての報告はほとんどなく、無配生殖株が優占する理由は分かっていない。

2. 研究の目的

(1) 遺伝的に異なる株間の交雑により無配生殖化が起こるとすれば、無配生殖株は高いヘテロ接合度を示すはずである。そこで自然界から単離されている数多くの無配生殖株について、進化速度の速い核遺伝子のヘテロ接合度を解析し、異株間交雑による無配生殖化が自然界でも起こっているのか否かを検証する。

(2) 無配生殖株では有性生殖による遺伝子のミキシングが起こらないため、異株間交雑によって生じた無配生殖株では両親由来の遺伝子型が保持されている可能性が高い。無配生殖株と近縁な有性生殖株の間で遺伝子型を比較することにより、各無配生殖株がどの有性生殖株の交雑によって生じたのかを探る。

(3) 無配生殖株が異株間交雑によって生じたならば、無配生殖株に雑種強勢現象が見られる可能性がある。そこで、無配生殖株と有性生殖株について成熟条件を比較して無配生殖種における雑種強勢の可能性を探るとともに、なぜ無配生殖種が特定の集団で優占しているのか、その原因を推察する。

3. 研究の方法

(1) 無配生殖株の同定：これまで世界各地で単離したセイヨウアヤギヌ (*Caloglossa leprieurii*) について、継代培養を行い、有性生殖株か無配生殖株かを同定する。

(2) 系統解析：シングルコピー核遺伝子としてアクチン遺伝子を、母性遺伝する葉緑体遺伝子としてルビスコスパーサー領域に着目し、有性生殖株と無配生殖株の塩基配列を決定する。ヘテロ接合体の場合は、クローニングしてそれぞれの対立遺伝子の配列を決定する。配列情報を元に系統樹を構築し、有性生殖株と無配生殖株の類縁関係を明らか

にする。

(3) 交雑実験による無配生殖化の誘導：無配生殖株に近縁な有性生殖株を用いて交雑実験を行い、生殖親和性の有無や F₁ 胞子体の稔性をチェックする。

(4) 倍数性の解析：通常の有性生殖株では、胞子体の胞子形成の際に減数分裂が起こるが、無配生殖株では減数分裂が起こらず F₁ が親と同じ複相になると考えられている。本研究で同定された無配生殖株でも同様に減数分裂が起こっていないかどうか、DNA の蛍光量を比較して倍数性を調査する。具体的には、配偶体、胞子体、無配生殖化胞子体の栄養細胞核を SYBr Gold で蛍光染色し、蛍光顕微鏡と冷却 CCD カメラを使用して、核の蛍光を撮影する。蛍光画像解析システムを使用して得られた画像の輝度をもとに蛍光量を算出し、それを相対的 DNA 量とみなして藻体間の数値を比較する。

(5) 成熟条件の比較：オーストラリアで単離されたササバアヤギヌ (*C. vieillardii*) の無配生殖株 2 株と有性生殖株の配偶体 5 株・胞子体 2 株を 12、14、16、18、20°C の 5 条件で培養し、成熟の有無を比較する。

4. 研究成果

(1) 無配生殖株の遺伝子型：セイヨウアヤギヌの無配生殖株は、フロリダ (3 株)、サウスカロライナ、メキシコ (7 株)、エルサルバドル、ギアナ、ブラジル、インド、オーストラリア、マレーシア (2 株) から単離されている。これらのアクチン遺伝子配列を解析したところ、サウスカロライナ、メキシコ (1 株)、マレーシア (2 株)、インドの無配生殖株は遺伝子型がホモであり、それ以外の無配生殖株はヘテロだった。無配生殖株の繁殖様式を観察したところ、ヘテロの無配生殖株は常に胞子体だけで繁殖を繰り返すのに対し、ホモの無配生殖株からはしばしば配偶体も生じることが分かった (ただし、ホモのメキシコ株はごく最近単離されたため配偶体形成は未確認。サウスカロライナ株は長期にわたって生殖器官を形成していない)。交雑実験において、遺伝的に異なる有性生殖株間の交雑により無配生殖化が誘導され、生じたヘテロ無配生殖個体から配偶体の形成は確認されていないことから、遺伝子型 (ホモ or ヘテロ) と無配生殖株の繁殖様式には何らかの相関があると考えられる。また、ヘテロ無配生殖株が単離された集団からは、同じハプロタイプの配偶体は見つかっていないのに対して、ホモ無配生殖株は同じハプロタイプの配偶体と同所的に生育している。これらの結果から、本藻には少なくとも、遺伝的に異なる個体間交雑による無配生殖化と、有性生殖株からの突発的な無配生殖化の 2 通りのメカニズムが存在することが示唆された。

(2) 系統解析：天然で単離されたオーストラリアとフロリダの無配生殖株には、それぞれ3つずつ対立遺伝子が見つかった。有性生殖株との類縁関係をみたところ、フロリダ株の3つの対立遺伝子は、それぞれフロリダ、ペルー、中米&マダガスカルの有性生殖株の対立遺伝子と類似していたことから、少なくともフロリダ株については、遺伝的に分化した集団間の交雑によって無配生殖化した可能性が強く示唆された。一方、ギアナ、ブラジル、メキシコ、エルサルバドルの無配生殖株には、それぞれ2つの対立遺伝子が見つかったが、塩基配列にほとんど見られなかったため、集団内における交雑由来である可能性が高い。

(3) 交雑実験による無配生殖化の誘導：フロリダ産無配生殖株と遺伝的に近縁な雄性生殖株（フロリダ2株、サウスカロライナ2株、テネシー1株、ニュージャージー1株、ペルー1株、マダガスカル1株、グアテマラ1株、メキシコ1株）を用いて交雑実験を行ったところ、サウスカロライナ、テネシー、ニュージャージー株間では稔性のあるF₁配偶体が形成された。一方、マダガスカル産の雄性配偶体1株とサウスカロライナ産の雌性配偶体2株間では四分胞子体が生じたが、四分胞子はほとんど発芽できず、わずかに発芽した個体はふたたび四分胞子体となった。このことから、遺伝的に分化した個体間の交雑により、無配生殖化が誘導されることが確認された。

(4) 倍数性の解析：フロリダ産無配生殖株のDNA量は、正常なフロリダ産四分胞子体のDNA量の約1.5倍あることから、異質三倍体であることが確認された。ヘテロ接合体のメキシコ産無配生殖株とホモ接合体のインド産無配生殖株は、どちらも二倍体であることが分かった。交雑実験で用いたマダガスカル産雄性配偶体とサウスカロライナ産雌性配偶体は、どちらも一倍体であり、それらの交雑によって作出されたF₁無配生殖株は二倍体だった。以上の結果より、セイヨウアヤギヌの無配生殖株は多くが二倍体である可能性が高く、異質三倍体が大多数を占めるシダ植物や被子植物とは異なっていることが示唆された。

(5) 成熟条件の比較：オーストラリアで単離されたササバアヤギヌの無配生殖株2株と有性生殖株の配偶体5株・胞子体2株を12、14、16、18、20℃で培養したところ、有性生殖株は14℃以上で成熟したのに対し、無配生殖株はすべての条件で成熟した。有性生殖集団の分布のはずれであるオーストラリア南部に無配生殖集団が生育しているのは、低温で成熟可能であるためと考えられる。

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5件)

- ① Ichinomiya, M., Yoshikawa, S., Kamiya, M., Ohki, K. & Kuwata, A. 2010. Isolation and characterization of Parmales (Heterokonta/Heterokontophyta/Stramenopiles) from the Oyashio region, western north Pacific. *J. Phycol.* in press (査読あり)
- ② Kamiya, M., Nishio, T., Yokoyama, A., Yatsuya, K., Nishigaki, T., Yoshikawa, S. & Ohki, K. 2010. Seasonal variation of phlorotannin in sargassacean species from the coast of the Sea of Japan. *Phycol. Res.* 58: 53-61. (査読あり)
- ③ Kamiya, M. & West, J. A. 2008. Origin of apomictic red algae: outcrossing studies of different strains in *Caloglossa monosticha* (Ceramiales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 44: 977-984. (査読あり)
- ④ Ohki, K., Kamiya, M., Honda, D., Kumazawa S. & Ki Ho, K. 2008. Morphological and phylogenetic studies on unicellular diazotrophic cyanobacteria (Cyanophytes) isolated from the coastal waters around Singapore. *J. Phycol.* 44: 142-151. (査読あり)
- ⑤ Kawai, H., Kamiya, M., Komatsu, T., Nakaoka, M., Yamamoto, T. & the Marine Life Research Group of Takeno. 2007. Ten Years' Monitoring of Intertidal Macroalgal Vegetation of Hyogo Prefecture, Northwestern Coast of Honshu, Japan to Assess the Impact of the Nakhodka Oil Spill. *Algae* 22(1): 1-10. (査読あり)

[学会発表] (計2件)

- ① Tetraspore-recycling hybrid derived from the outcrossing between genetically distant strains of *Caloglossa leprieurii* (Ceramiales, Rhodophyta). Kamiya, M. and West., J. A. 9th International Phycological Congress, 5, August 2009, Tokyo.
- ② 広塩性紅藻 *Caloglossa leprieurii* の無配生殖集団の起源. 神谷充伸・West, J. A. 2008年8月22日、平成20年度日本進化学会、東京.

[図書] (計1件)

- ① Kamiya, M. and West, J.A. 2010. Investigations on reproductive affinities in red algae. In Seckbach, J. & Chapman, D. [eds] Red algae in the genomic age. Springer, Berlin, Germany. pp. 495

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神谷 充伸 (KAMIYA MITSUNOBU)
公立大学法人福井県立大学・海洋生物資源
学部・准教授
研究者番号：00281139

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

John A. West
Melbourne University