

研究成果報告書（第28回学術研究助成）

2022年 4月 30日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団
理事長 野村茂樹 殿

所属機関名 広島大学大学院統合生命科学研究科
職 名 准教授

氏 名 嶋村正樹

1. 研究課題

人工交配実験を通じたコケ植物の有性生殖における自他認識の研究

2. 共同研究者

石井結果（広島大学大学院統合生命科学研究科 修士課程）

3. 研究報告

I. 研究の目的

コケ植物では、有性生殖が行われる際に、造精器で形成された鞭毛をもった精子が、外部環境を遊泳し、造卵器中の卵細胞まで到達することで受精が成立する。世界には約2万種、日本国内にも2,000種類近くのコケ植物が生育しており、春や秋には同時期に多くの種が精子を放出し受精を行っている。つまり精子は、多くのコケ植物種が混生する生育する環境で、同種の植物の造卵器に泳ぎ着き、受精を行う必要がある。しかし、精子は実際に同種のコケ植物を見分けて卵細胞に到達できているのか、近縁種間での雑種形成を防ぐための何らかの生殖隔離の機構があるのかなどについては、全く知見を欠いている。種子植物では異種間の交配は、人為的交配を基にした遺伝学や育種、自然界における遺伝的多様性や種分化の観点からよく観察されており、花粉と雌蕊、精細胞と卵の間での自他認識の分子機構などについても研究が進められてきた。コケ植物は4億年以上前に出現した初期陸上植物と似た体制や生活環を維持していると考えられ、コケ植物の有性生殖における自他認識のあり方についても研究が進むことで、陸上植物の有性生殖の共通性、多様性、進化を考える上で重要な知見を得ることができると考える。本研究では、実験植物として生殖器官の誘導と人工交配、受精と胚発生過程の観察が容易であるゼニゴケに注目する。ゼニゴケの近縁種である同属の植物（亜種を含む）は、日本国内に7種分布する。互いに混生して生育しうる種もあり、形態学的特徴から雑種と考えられる植物を稀に生じる（図1）。ゼニゴケを含むゼニゴケ属植物の異種間で人工交配を行い、精子の造卵器への侵入と卵との受精の成否に関わる「交配前隔離」、受精後の胚発生の成否、胞子の稔性に関わる「交配後隔離」それぞれの有無を検証し、コケ植物の有性生殖における自他認識機構の基本的な仕組みを明らかにすることを目的とする。

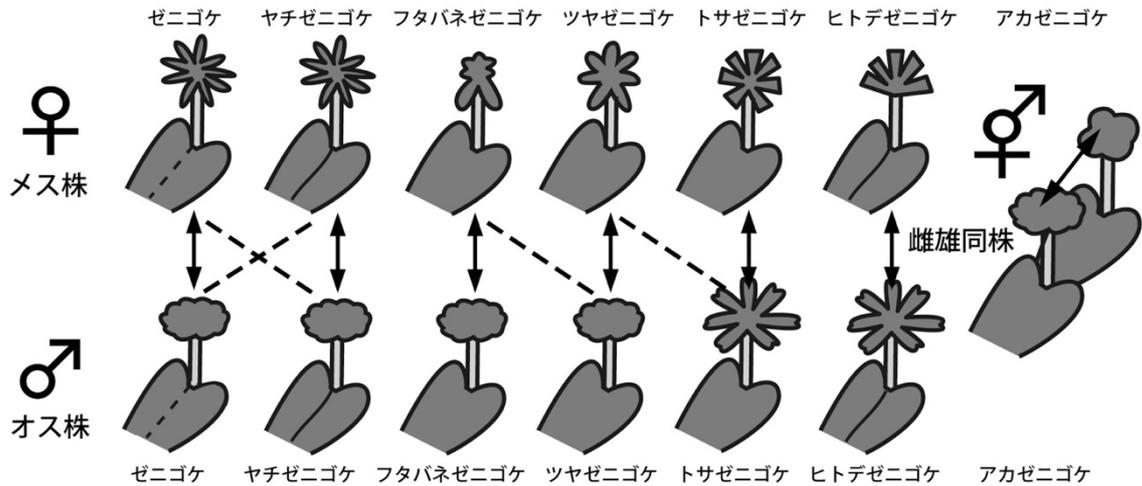


図1. 日本産ゼニゴケ7種（亜種を含む）の雌雄の生殖枝（雌器床、雄器床）の形態および、これまでの研究で雑種の可能性がある植物が報告されている組み合わせ（破線）

II. 研究の方法

日本国内に生育するゼニゴケ属 (*Marchantia*) 植物7種について、雌雄の植物を得て、異種間の人工交配実験を行う。これにより、異種間の不和合が有性生殖過程のどの段階でおきているのかを検証する。

研究室で継続的に栽培・培養しているゼニゴケ *Marchantia polymorpha* subsp. *ruderalis*に加え、野外から同属 (*Marchantia*属) の、ヤチゼニゴケ、フタバネゼニゴケ、ツヤゼニゴケ、トサゼニゴケ、ヒトデゼニゴケ、アカゼニゴケの雌雄植物を採取する（アカゼニゴケ以外は雌雄別株）。そして、雄株から隔離して栽培した未受精の雌株（雌雄同株であるアカゼニゴケについては成熟前の雄器床を除去したもの）をそれぞれの種について準備する。それぞれの雌器床に他種の雄器床から得られた精子の懸濁液を添加し、30分後、2時間後、10時間後に造卵器を固定、DNA蛍光染色し、精子の造卵器への侵入や卵細胞との精子の融合がみられるかを検証する。受精が確認できた種については、栽培を継続し、接合子の分裂、胚発生、孢子形成を観察する。孢子が形成された場合には培地に播種して稔性を確認し、生じた植物について葉緑体ゲノムと核ゲノムのマーカー遺伝子を用いて父系、母系に由来する遺伝子型を検証する。

III. 研究結果

1. ゼニゴケとフタバネゼニゴケの人工交配

ゼニゴケとフタバネゼニゴケの雌雄植物間で交配実験を行い、受精とその後の孢子体の発生過程を経時的に観察した。その結果、精子は別種の造卵器内部にも侵入し、受精（精子の卵への侵入）が起こることが明らかになった。しかし、孢子体が成長し、孢子形成に至ったのは同種同士の交配組み合わせのみであった。その一方でフタバネゼニゴケ精子とゼニゴケの卵の間では他の交配組み合わせよりも、受精の開始に長時間を要することが観察された。（日本植物学会第58回大会で研究発表）。

2. マーカー遺伝子を利用したフタバネゼニゴケとツヤゼニゴケの雑種植物の発見

雑種植物を判別するために、日本産ゼニゴケ属7種について、葉緑体ゲノムと核ゲノムのマーカー遺伝子を用いて父系、母系に由来する遺伝子型を判別する実験系を確立した。日本各地に生育するフタバネゼニゴケとツヤゼニゴケの野外集団を解析した結果、フタバネゼニゴケ（母系）とツヤゼニゴケ（父系）の交雑に由来する植物を発見した。この植物は、*rbcL*遺伝子（葉緑体ゲノム）では典型的なフタバネゼニゴケの配列、*ITS1*（核ゲノム）では典型的なツヤゼニゴケの配列を示した。

IV. 考察

コケ植物における基本的な生殖隔離機構が、他種の造卵器への精子侵入や受精自体が起こらない受精前隔離なのか、胞子体の発生が妨げられる受精後隔離なのかについて明らかになっていなかった。しかし、本研究により、造卵器への精子の侵入や、精核の卵への侵入が異種間（ゼニゴケとフタバネゼニゴケ）の交配においても起きることが確認されたため、少なくともゼニゴケとフタバネゼニゴケにおける生殖隔離は、受精後隔離に相当することが明らかとなった。その一方でフタバネゼニゴケ精子とゼニゴケの卵の間では他の交配組み合わせよりも、受精の開始に長時間を要することが観察された。このことは、精子と卵の間に何らかの種認識の機構が存在し、緩やかな受精前隔離機構として、異種間の受精の成否に影響を与える可能性を示唆する。

ゼニゴケ属の一部の種間で交雑由来の植物が存在することが示唆されていたが、今回の研究で雑種の存在が遺伝子レベルでも確かめられた。

V. 成果発表

[国内学会での発表]

石井結香・嶋村正樹 2021. タイ類ゼニゴケ属における異種間交配実験 2021年9月16日 日本植物学会第58回大会（オンライン）。

VI. 今後の課題

研究期間中、コロナウイルスの蔓延による外出制限もあり、有性生殖を観察する適切な時期にサンプリングが実行できなかったこともあり、多くの組み合わせで十分な人工交配実験を実行できなかった。今のところ、栽培下で生殖器官を誘導できるのはゼニゴケだけあり、ゼニゴケ属の他の種では同様の条件（長日下、遠赤色光添加）では、生殖器官の形成が見られない。他の種についても栽培条件を検討し、生殖器官誘導ができれば、野外での特定の時期の採集に頼らず、効率的に交配実験が進められると考えている。