

## アポミクシスはスジアオノリの適応戦略に影響するか？

市原健介<sup>1, 2\*</sup>・河野重行<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 日本学術振興会特別研究員（PD）

<sup>2</sup> 東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻

〒277-8562 千葉県柏市柏の葉 5-1-5

(\* 現所属: 北海道大学北方生物圏フィールド科学センター水圏ステーション室蘭臨海実験所 〒051-0013 室蘭市舟見町 1 丁目 133-31)

Apomixis influence adaptaiton strategy of green seaweed *Ulva prolifera*.

Key words: Apomixis, asexual reproduction, sex determination, sexual reproduction, *Ulva*  
Kensuke Ichihara<sup>1,2</sup> and Shigeyuki Kawano<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science

<sup>2</sup> Department of Integrated Biosciences, Graduate School of Frontier Sciences,  
The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8562, Japan

(\* Current address: Hokkaido University, Field Sciencee Center for Northern Biosphere,  
Muroran Marine Station, 1-133-31, Funami-cho, Muroran, Hokkaido, 051-0013, JAPAN)

DOI: 10.24480/bsj-review.8c3.00122

### 1. 植物の有性生殖と無性生殖

多くの生物は異なる個体同士の間で遺伝子交換をおこない、子孫を残す有性生殖をおこなう。一方で単独で自分と同じ遺伝子セットを持った子孫を残す無性生殖をおこなう生物も存在する。両生殖方法にはメリットとデメリットがあり、有性生殖ではさまざまな環境要因を乗り越えて交配相手を探す必要がある一方で、遺伝的な多様性を保つことができるので環境の変動に強いと考えられている。無性生殖では単独での繁殖が可能なので高い繁殖力をもつが、遺伝的多様性を保つことができず、環境の変動には弱いと考えられている。しかし、有性生殖と無性生殖の実際の自然環境での適応的意義を議論するためには、近縁種、できれば同種内で有性生殖個体と無性生殖個体が存在していることが必要である。

陸上植物ではアポミクシスと呼ばれる無性生殖の様式があり、これは種子形成を介した無性生殖として知られ、40 属 400 種以上がそれをおこなう (Schmidt et al. 2015)。陸上植物の雌性配偶体である胚囊は、通常の有性生殖過程では、胚のう母細胞が減数分裂し、胚囊細胞となり、核分裂を経て卵細胞、中心細胞、助細胞を含む胚囊が形成され、卵細胞と中心細胞へ重複受精が成立することで胚発生が進む。一方でアポミクシスでは珠心の細胞が単為発生をするアポスポリーと、胚のう母細胞で減数を伴わない減数分裂不全（アポマイオシス）がおこり、2N の雌性配偶体が単為発生するディプロスポリーがあることが知られている (Bicknell and Koltunow 2004; Sharbel et al. 2010; Schmidt et al. 2015)。

## 2. 緑色海藻アオサ属の生活史

私たちが研究材料としているアオサ属は大型海藻類の仲間で、アオサ藻綱に含まれている (van den Hoek et al. 1995)。主な生育域はもちろん沿岸域であるが、中には汽水域や淡水域にまで生育範囲を広げている種も含まれており、様々な水環境に適応したグループであると考えられる (Shimada et al. 2008; Ichihara et al. 2009; Mareš et al. 2011)。またこの環境への適応能力の高さからか、しばしば大量に繁茂し、沿岸域や海岸に堆積してしまう「緑潮 (グリーンタイド)」を引き起こす原因種としても知られている (Hernández et al. 1997; Shimada et al. 2003; Hiraoka et al. 2004)。2008年の北京オリンピックの際にはボートレース会場となった中国の青島で大量発生し、沿岸域一面が緑に染まった写真が報道されたのを覚えている人もいるだろう (Leliaert et al. 2009; Hiraoka et al. 2011)。アオサ属には細胞が二層膜状に並んだタイプと一層チューブ状のタイプが含まれており (Hayden et al. 2003)、日本語では前者を総称してアオサ、後者をアオノリと呼んでいる (吉田 1998)。アオサ属は同型世代交代をおこなう生物の代表として生物学の教科書にも取り上げられることもあり、お好み焼や焼きそばにふりかける食品として目にする機会も多いため、比較的馴染みのある海藻類といえるだろう。

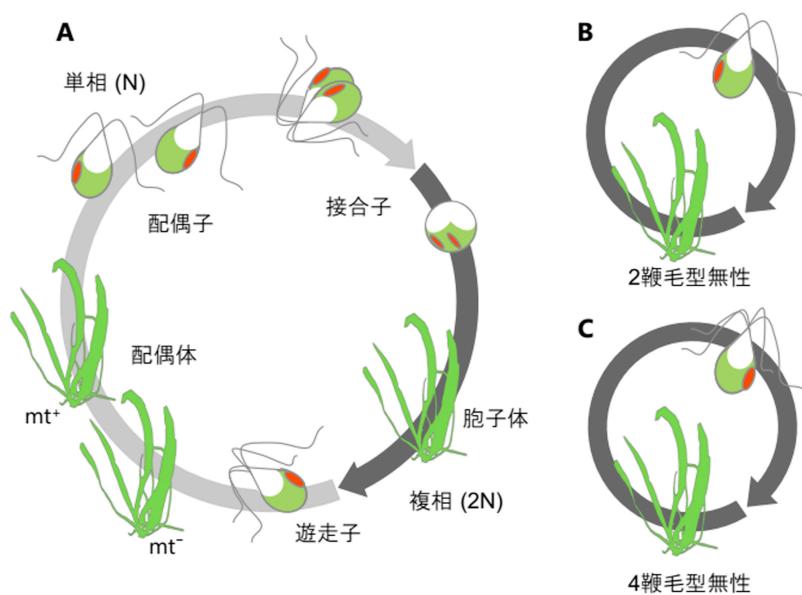


図1.アオノリの一般的な生活史  
(A) 有性生殖型、  
(B) 2本鞭毛の無性生殖型、  
(C) 4本鞭毛の無性生殖型を示す。

アオサ属の生活史を図1にまとめた。 $mt^+$ 型、 $mt^-$ 型の配偶体は2本鞭毛で正の走光性をもつ配偶子を放出し、これが接合し、発生することで胞子体となる。胞子体からは減数分裂により4本鞭毛性の遊走子が放出され、これが発生することで両接合型の配偶体となる。このように有性生殖をおこなう個体では同形の配偶体と胞子体が生殖細胞を介して繰り返される生活史をもつ。また配偶体から放出された配偶子は接合に失敗した場合には単為発生することが可能である。この有性型生活史に加えて、生活史の中で有性生殖をおこなわず、無性の遊走細胞を介して世代交代をおこなう無性型生活史の個体群も存在する。特にアオサ属では同種内に有性生殖株と無性生殖株がともに存在しているケースが多く、それぞれの種内で独立に複数回の無性生殖化が起きたと考えられる (Hiraoka et al. 2003a; Hiraoka et al. 2003b)。この無性型生活史をおこなう個体群には2鞭毛性の遊走子をつくるタイプと4鞭毛性の遊走子

をつくるタイプが知られているが、体細胞を用いた顕微測光による DNA 量の推定により、有性生殖型個体の胞子体と同じ DNA 量をもつことがわかつており、それぞれ複相と考えられている (Hiraoka et al. 2003b)。また野外で採集したアオノリで、ゲノム中に 1 コピーしかない *Hsp90* 遺伝子の第 6 エキソンの一部の領域のジェノタイピングをおこなったところ、無性個体にも個体内多型を持つ個体が含まれていたことからアオノリの無性生殖個体はアポミクシス由来である可能性が指摘されている (Ogawa et al. 2015)。しかしながら、アオノリでは遺伝学的な研究やゲノム解析が不足しており、これまでに性に連鎖した遺伝子座が知られておらず、無性個体のゲノム構造はわからないままであった。

### 3. アオサ属のゲノム解析と接合型特異的な染色体領域の発見

2010 年代になって海藻類においても全ゲノム解析が盛んにおこなわれるようになっており、褐藻ではシオミドロ (Cock et al. 2010), コンブ (Ye et al. 2015), オキナワモズク (Nishitsuji et al. 2016), 紅藻でもスサビノリ (Nakamura et al. 2013), ツノマタの一種 (Collen et al. 2013) で論文が報告されている。アオサ藻綱でもこれまでにミトコンドリアや葉緑体ゲノムの配列は報告されていたが (Leliaert and Lopez-Bautista 2015; Melton et al. 2015), 全ゲノム解析について報告例がなく遅れている状態であった。そこで、私たちの研究グループは、アオノリの一種である *Ulva partita* とスジアオノリのゲノムの解析を進め、長鎖の DNA 断片を読むことができる一分子シーケンサー PacBio や Illumina HiSeq といった次世代シーケンサーを利用することで、表 1 にまとめたようにアオサ属藻類でも緑藻クラミドモナスや緑藻ボルボックと同程度の精度のゲノムデータを得ることに成功した。このゲノムデータから両接合型間で配列分化や染色体構造の再構成が認められる、接合型特異的な染色体領域を発見できている (図 2A)。

表 1. *Ulva partita*, 緑藻クラミドモナス, 緑藻ボルボックスの核ゲノムデータの比較

種名	染色体数	総塩基数 (Mbp)	スカフォールド		
			数	最長(Mbp)	N50 (Mbp)
<i>U. partita</i> (mt <sup>-</sup> )	n.d.	110	851	10.6	2.6
<i>U. partita</i> (mt <sup>+</sup> )	12*	116	1,385	7.3	1.7
<i>C. reinhardtii</i>	17	121	1,557	n.d.	1.6
<i>V. carteri</i>	14	141	1,327	n.d.	1.5

Merchant et al. (2010), Prochnik et al. (2010) を参照

この接合型特異的な領域にはそれぞれの接合型に特異的な遺伝子の他に、両接合型で共有された配列が分化した遺伝子（ガメトログ）も存在する。この領域の遺伝子をクラミドモナスやボルボックスの性染色体領域と比較したところ、緑藻の性決定因子と考えられている *MID* 遺伝子 (Ferris and Goodenough 1997; Umen 2014) にわずかながら相同性を示す遺伝子 (*UpRWPI*) が見つかった。そこで *UpRWPI* と *MID* が含まれる RWP-RK 遺伝子ファミリーの遺伝子で分子系統樹を構築したところ、*UpRWPI* は *MID* と同一のクレードに含まれず、クラミドモナスやボルボックスとは性決定の機構が異なることが示唆された。この接合型特異

的な領域がアオサ属で保存されているものかを確かめるために、ガメトログの一つ *PRA1* (*Proliferation-associated protein 1*) 遺伝子とこの領域のすぐ外側に存在する *GTB1* (*G-strand telomere binding protein 1*) 遺伝子を他のアオサ属の 7 種の両接合型の株から単離し、分子系統解析をおこなった。その結果、*GTB1* 遺伝子では当然、同種内の両接合型株で配列の分化はほとんど見られなかつたが、*PRA1* 遺伝子では種内の両接合型の株間で明確な配列の分化が示され、接合型ごとにまとまつたクレードを形成した（図 2B, C）。

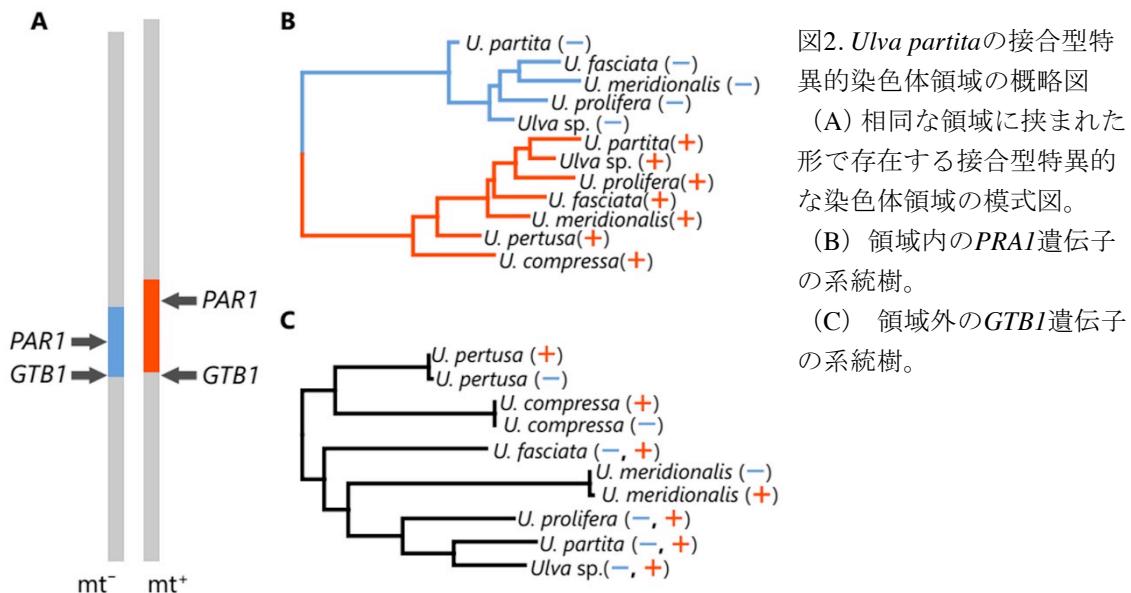


図2. *Ulva partita*の接合型特異的染色体領域の概略図

(A) 相同な領域に挟まれた形で存在する接合型特異的な染色体領域の模式図。

(B) 領域内の*PRA1*遺伝子の系統樹。

(C) 領域外の*GTB1*遺伝子の系統樹。

この接合型特異的な領域はアオサ属が出現した時には存在し、両接合型間で組換えを経験せず、異なる進化過程を辿ったと考えられる。この接合型特異的な染色体領域の発見によって、アオノリでも性決定や無性化といった性の起源と進化についての研究をおこなう基盤ができつつある。遺伝子導入法は 2000 年以降も研究が続けられていたが (Kakinuma et al. 2009), 最近になり PEG 法を用いて安定した形質転換体の作出も可能になっており (Oertel et al. 2015; Suzuki et al. 2016), 逆遺伝学的な解析も今後可能になるだろう。上述のゲノム情報の整備と遺伝子導入技術の確立によって、アオノリも新たなモデル海藻となるだろう。

#### 4. 四万十川のスジアオノリの奇妙な分布

「日本最後の清流」と呼ばれる四万十川にはテナガエビや鮎を始めとしてさまざまな生き物が生育しているが、アオノリの仲間、スジアオノリも構成種の一つである。スジアオノリの生殖型に着目し、上流域から下流域までの分布を調べると、低塩濃度である上流域ではほぼ 100% の割合で有性生殖個体が生育しているのに対して、塩濃度の高い河口域に近づいていくに連れて、2 本鞭毛性の無性株（本稿では便宜的に「無性配偶体」と呼ぶことにする）や 4 本鞭毛性の無性株（同様に「無性胞子体」と呼ぶ）の割合が高くなり、さらに塩濃度が高くなる河口域では有性個体はほとんど姿を消し、ほぼ無性型個体のみが生育していた (Hiraoka and Higa 2016)。この分布の偏りは調査がおこなわれていた 2004~2007 年の間維持されており、また最近おこなつた調査でも同様に維持されていた（図 3）。

塩濃度の低い上流に有性個体群、中程度の下流域に有性と無性、塩濃度が高く海水と同程度の河口域には無性個体が優占しているが、この分布の偏りはどのように形成されたのだろうか。例えば、生殖型によって遺伝子発現に変化が生じ、その結果低塩濃度耐性に差が生じて、生育地に偏りが出ているのか、それとも分布域の塩濃度の差、環境の差がストレスとなってスジアオノリの生殖型に影響を及ぼし、このような生殖型による生育地の偏りを生み出しているのだろうか。同種内の生殖型の違いによって低塩濃度に対する適応度に差があるよう見えるスジアオノリは、生殖型による環境への適応度の問題を議論するのに適した植物であるといえるのではないだろうか。私たちのグループは、現在、スジアオノリにみられるこの生殖型と環境への適応度の関係性について研究を進めているところである。

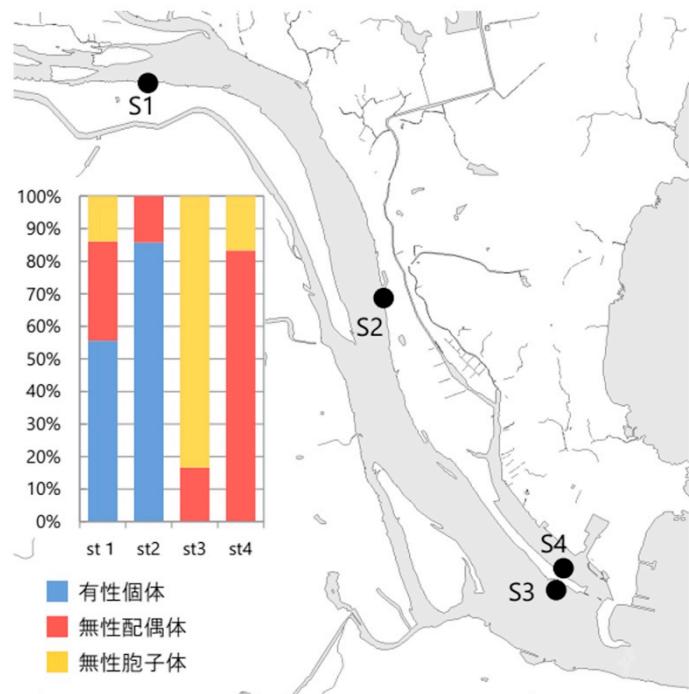


図3. 2015年4月と2016年4月の四万十川でのスジアオノリの分布

棒グラフは各生殖型の個体の存在比を示す。採集地点は Hiraoka and Higa (2016) に準拠した。地図は、国土地理院発行の5万分1地形図を使用した。

## 5. アオノリの無性生殖個体はどのように生じるのか

スジアオノリの無性生殖個体群はどのように出現しているのだろうか。もちろん有性生殖個体からなんらかの過程を経て出現しているのだろうが、その出現経路の詳細はわかつていなかった。現在、私たちのグループでは上述のゲノム情報と生殖細胞や減数分裂過程の観察を組み合わせることで、この無性個体の出現経路があきらかにできつつある。まず各生殖細胞のDNA量を測定してみたところ、両接合型の配偶子に対して、無性配偶子および無性胞子は2倍量の値を示し、複相であることが明らかとなった。次に、上述の性染色体領域の発見によって得られた性に連鎖した遺伝子をマーカーとしたジェノタイピングをおこなった。その結果、全国各地で採集されたスジアオノリでもマーカーは完全に接合型に連鎖していることが明らかとなった。一方で、無性配偶体と無性胞子体は単純な生殖細胞の形態からのイメージでは、無性配偶体は有性配偶体が倍数化したもの、無性胞子体は有性胞子体が無性化したものであると想像されたが、実際には両無性個体とともに複数の株の全てで両接合型のマーカーが検出されるという結果であった。無性配偶体も無性胞子体も共に両接合型のゲノムを有していることから、両無性個体は有性胞子体から出現していると考えられる。

有糸分裂期および減数分裂期の染色体動態を観察した。まず有糸分裂期の細胞を観察したところ、有性配偶体 (N) では7本、有性胞子体、無性配偶体、無性胞子体では14本の染色

体が観察できた。このことから両無性個体はやはり、両接合型のゲノムを持った複相世代であることがわかる。減数分裂前期では配偶体は7本、有性胞子体、無性配偶体、無性胞子体では14本の染色体が観察でき、中期になると各生殖型の細胞で、赤道面に染色体が並ぶのが観察された。有性配偶体では7本、有性胞子体、無性配偶体、無性胞子体でも同様に染色体は7本で、複相の細胞では二価染色体を形成していることが示唆された。第一減数分裂終了時には有性胞子体で7本の染色体が観察されるのに対して、無性配偶体、無性胞子体では減数していなかった。また有性胞子体での観察を続けたところ、一部の細胞では無性配偶体や無性胞子体と同様の染色体数の減数を伴わない分裂を観察することができた。

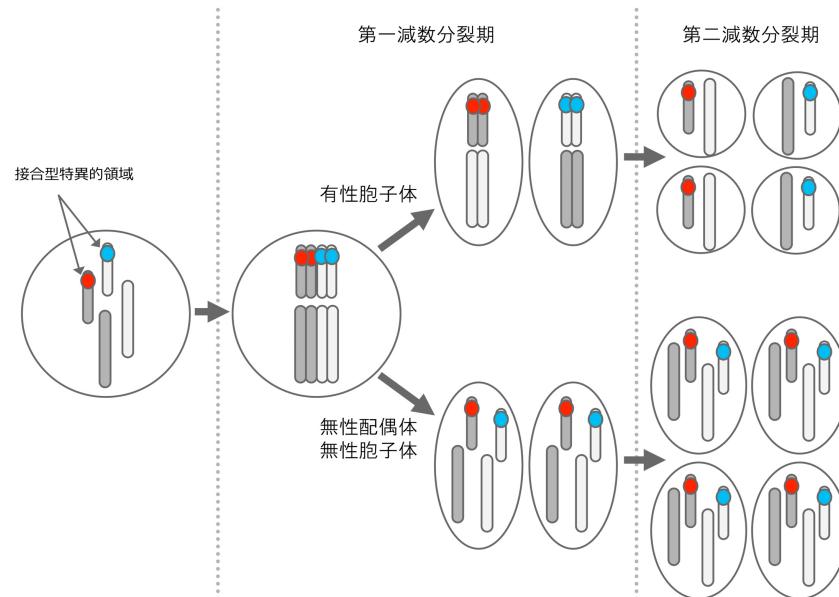
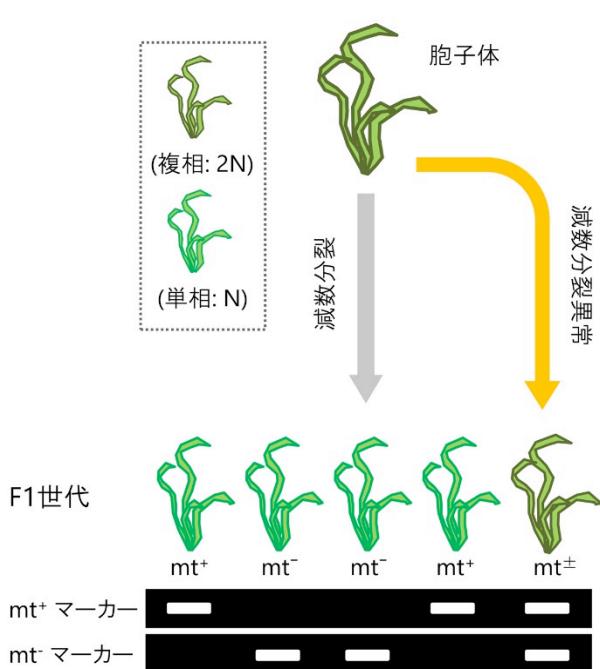


図4. スジアオノリで観察された減数分裂の模式図

(N=2だった場合)

有性胞子体の多くの細胞では上側の通常の減数分裂を行なう。しかし、有性胞子体の一部の細胞、無性型個体では下側の第一減数分裂終了後に染色体が減数しない分裂をおこなっていた。

減数分裂過程の結果をまとめると 有性胞子体の一部の細胞や無性配偶体、無性胞子体では二価染色体の形成までは通常の減数分裂過程と同様に進むようだが、その後、姉妹染色分体が分離し、両極へ移動することで染色体数の減数を回避した分裂がおこなわれていると推定され、陸上植物のアポマイオシスと同様の過程であると思われた（図4）。この現象は野外で採集された無性胞子体や無性配偶体の全てにおいて両接合型ゲノムが検出されたことからも支持される。また実際に有性胞子体から得られた F1 配偶体のジェノタイピングをおこなったところ、10%程度の個体で両接合型ゲノムを有する個体 ( $mt^{\pm}$  株) が検出された（図5）。得られた  $mt^{\pm}$  株

図5. 有性胞子体からの  $mt^{\pm}$  型個体の出現

有性胞子体から得た F1 配偶体世代を接合型特異的領域の遺伝子をマーカーとして PCR によるジェノタイピングをしたところ  $mt^+$  型、  $mt^-$  型個体に加えて、両マーカーが検出される  $mt^{\pm}$  個体が含まれていた。図4で示した減数分裂異常によって出現したと考えられる。

を成熟させ、生殖細胞を観察したところ、2本鞭毛を持つ遊走子で、DNA量は無性配偶子や無性胞子と同様に2Nであった。以上のことから、有性胞子体で減数分裂が正常に進行しない細胞が一定数あり、ここから無性個体が出現すると推定された。つまりスジアオノリでも陸上植物のアポミクシス、特にディプロスボリーに似た経路によって無性株が出現しているということになる。

## 6. アポミクシスの分子メカニズム

アポマイオシスの分子メカニズムについてはシロイヌナズナで変異体解析がおこなわれ、減数分裂期の染色体の配向を調整している DYAD/SWITCH (SW1) 遺伝子の変異体 (Ravi et al. 2008) や、*Atspo11-1/Atrec8/osd1* の三重変異体 (d'Erfurth et al. 2009) では二価染色は形成されるが、第一分裂で姉妹染色分体が両極に引き離され、染色体数が減数しない分裂過程をおこなうことが報告されている。さらに近年発達した次世代シーケンス技術とマイクロダイセクション法等の技術をあわせて用いることで生殖細胞系列でのトランскriプトーム解析もおこなわれ、アポスボリーをおこなう *Hieracium praealtum* では減数分裂関連の遺伝子が発現していないのに対して (Okada et al. 2013)，ディプロスボリーをおこなうアブラナ科の *Boechera gunnisoniana* では主要な減数分裂関連遺伝子が発現していることも明らかになってきた (Schmidt et al. 2014)。陸上植物では遺伝的な基盤を明らかにするためのアポミクシス研究が進められている。

スジアオノリではどのような遺伝子群がアポミクシスに関わっているのだろうか。次に、スジアオノリのそれぞれの栄養細胞と生殖細胞を用いておこなった RNA-seq 実験の結果を紹介する。減数分裂関連遺伝子に着目して見たところ、SYN3 や SCC3 といった姉妹染色分体の対合の維持に働いているコヒーシン関連遺伝子 (Carlile and Amon 2008; Yuan et al. 2012; Grelon 2014) の発現量が無性配偶子や無性胞子で低くなっていることが明らかとなった。これは無性配偶体や無性胞子体における生殖細胞形成時の減数分裂過程で姉妹染色分体が最初に両極側に分離してしまうという推定を裏付けるものとも考えられる。今後はゲノム情報の整備を進めるとともに、生殖細胞形成時の減数分裂関連遺伝子の発現量の推移を調べることで、スジアオノリのアポマイオシスの原因遺伝子の特定を目指したいと考えている。

## 7. おわりに

スジアオノリの無性生殖株の出現経路はこれまでの研究でおおよそ明らかになってきた。それでは実際にスジアオノリでは生殖型によって低塩濃度への適応度に差があるのだろうか。著者のグループでは有性配偶体、無性配偶体、無性胞子体を淡水条件と海水条件で培養した際の遺伝子発現変動の差異を明らかにするために、RNA-seq 解析も並行して進めている。遺伝子発現変動を比べてみると、生育地点の異なる有性配偶体、無性配偶体、無性胞子体では、淡水条件への応答性がはっきりと異なることが明らかになった。一方で、淡水条件と海水条件で培養し、生長率を比較しても、株間にはほとんど差がみられなかった。さらに、細胞内のイオン濃度やアミノ酸組成等も調べることで、より詳細に遺伝的、生理的な違いを明らかにしたいと考えている。

今後は四万十川で採集した個体群や他地域の有性株、無性株を用い RAD-seq による集団構造の解析を行なうことで無性株の出現の頻度や各地の有性株と無性株の系統関係等を明らかにする実験も計画中である。このような様々なアプローチからの研究を重ねることで、最終的にスジアオノリの生殖型の進化が、環境適応にどのように結びついているのかを明らかにすることができればと考えている。

## 引用文献

- Carlile, T.M. & Amon, A. 2008. Meiosis I is established through division-specific translational control of a cyclin. *Cell* 133:280–291.
- Cock, J.M., Sterck, L., Rouzé, P., Scornet, D., Allen, A.E., Amoutzias, G., Anthouard, V., Artiguenave, F., Aury, J.M., Badger, J.H., Beszteri, B., Billiau, K., Bonnet, E., Bothwell, J.H., Bowler, C., Boyen, C., Brownlee, C., Carrano, C.J., Charrier, B., Cho, G.Y., Coelho, S.M., Collén, J., Corre, E., Da Silva, C., Delage, L., Delaroque, N., Dittami, S.M., Doulbeau, S., Elias, M., Farnham, G., Gachon, C.M., Gschloessl, B., Heesch, S., Jabbari, K., Jubin, C., Kawai, H., Kimura, K., Kloareg, B., Küpper, F.C., Lang, D., Le Bail, A., Leblanc, C., Lerouge, P., Lohr, M., Lopez, P.J., Martens, C., Maumus, F., Michel, G., Miranda-Saavedra, D., Morales, J., Moreau, H., Motomura, T., Nagasato, C., Napoli, C.A., Nelson, D.R., Nyvall-Collén, P., Peters, A.F., Pommier, C., Potin, P., Poulain, J., Quesneville, H., Read, B., Rensing, S.A., Ritter, A., Rousvoal, S., Samanta, M., Samson, G., Schroeder, D.C., Ségurens, B., Strittmatter, M., Tonon, T., Tregebar, J.W., Valentin, K., von Dassow, P., Yamagishi, T., Van de Peer, Y., & Wincker, P. 2010. The *Ectocarpus* genome and the independent evolution of multicellularity in brown algae. *Nature* 465:617–621.
- Collén, J., Porcel, B., Carré, W., Ball, S.G., Chaparro, C., Tonon, T., Barbeyron, T., Michel, G., Noel, B., Valentin, K., Elias, M., Artiguenave, F., Arun, A., Aury, J.M., Barbosa-Neto, J.F., Bothwell, J.H., Bouget, F.Y., Brillet, L., Cabello-Hurtado, F., Capella-Gutiérrez, S., Charrier, B., Cladière, L., Cock, J.M., Coelho, S.M., Colleoni, C., Czjzek, M., Da Silva, C., Delage, L., Denoeud, F., Deschamps, P., Dittami, S.M., Gabaldón, T., Gachon, C.M., Groisillier, A., Hervé, C., Jabbari, K., Katinka, M., Kloareg, B., Kowalczyk, N., Labadie, K., Leblanc, C., Lopez, P.J., McLachlan, D.H., Meslet-Cladiere, L., Moustafa, A., Nehr, Z., Nyvall Collén, P., Panaud, O., Partensky, F., Poulain, J., Rensing, S.A., Rousvoal, S., Samson, G., Symeonidi, A., Weissenbach, J., Zambounis, A., Wincker, P., & Boyen, C. 2013. Genome structure and metabolic features in the red seaweed *Chondrus crispus* shed light on evolution of the Archaeplastida. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 110:5247–5252.
- d'Erfurth, I., Jolivet, S., Froger, N., Catrice, O., Novatchkova, M., & Mercier, R. 2009. Turning meiosis into mitosis. *PLoS Biol.* 7(6): e1000124.
- Ferris, P.J. & Goodenough, U.W. 1997. Mating type in *Chlamydomonas* is specified by mid, the minus-dominance gene. *Genetics* 146:859–869.
- Geng, S., De Hoff, P. & Umen, J.G. 2014. Evolution of sexes from an ancestral mating-type specification pathway. *PLoS Biol.* 12(7):e1001904.
- Grelon, M. 2014. The Molecular Biology of Meiosis in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 66:1–16.
- Hayden, H.S., Blomster, J., Maggs, C.A., Silva P.C., Stanhope, M.J., & Waaland, J.R. 2003. Linnaeus K. Ichihara & S. Kawano- 8

- was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *Eur. J. Phycol.* 38:277–294.
- Hernández, I., Peralta, G., Pérez-Lloréns, L., Vergara, J.J., & Niell, F.X. 1997. Biomass and dynamics of growth of *Ulva* species in Palmones River estuary. *J. Phycol.* 33:764–772.
- Hiraoka, M., Dan, A., Shimada, S., Hagiwara, M., Migita, M. & Ohno, M. 2003a. Different life histories of *Enteromorpha prolifera* (Ulvales, Chlorophyta) from four rivers on Shikoku Island, Japan. *Phycologia* 42:275–284.
- Hiraoka, M., & Higa, M. 2016. Novel distribution pattern between coexisting sexual and obligate asexual variants of the true estuarine macroalga *Ulva prolifera*. *Ecol. Evol.* 6:3658–3671.
- Hiraoka, M., Ichihara, K., Zhu, W., Ma, J., & Shimada, S. 2011. Culture and hybridization experiments on an *Ulva* clade including the qingdao strain blooming in the yellow sea. *PLoS One* 6(5): e19371.
- Hiraoka, M., Shimada, S., Serisawa, Y., Ohno, M., & Ebata, H. 2003b. Two different genetic strains of stalked-*Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) grow on intertidal rocky shores in Ebisujima, central Japan. *Phycol. Res.* 51:161–167.
- Hiraoka, M., Shimada, S., Uenosono, M. & Masuda, M. 2004. A new green-tide-forming alga, *Ulva ohnoi* Hiraoka et Shimada sp. nov. (Ulvales, Ulvophyceae) from Japan. *Phycol. Res.* 52:17–29.
- van den Hoek, C., Mann, D.G. & Jahns, H.M. 1995. Algae. An Introduction to Phycology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ichihara, K., Arai, S., Uchimura, M., Fay, e.J., Ebata, H., Hiraoka, M., & Shimada, S. 2009. New species of freshwater *Ulva*, *Ulva limnetica* (Ulvales, Ulvophyceae) from the Ryukyu Islands, Japan. *Phycol. Res.* 57:94–103.
- Kakinuma, M., Ikeda, M., Coury, D., Tominaga, F., Kobayashi, I., & Amano, H. 2009. Isolation and characterization of the *rbcS* genes from a sterile mutant of *Ulva pertusa* (Ulvales, Chlorophyta) and transient gene expression using the *rbcS* gene promoter. *Fish. Sci.* 75:1015–1028.
- Leliaert, F. & Lopez-Bautista, J.M. 2015. The chloroplast genomes of *Bryopsis plumosa* and *Tydemania expeditiones* (Bryopsidales, Chlorophyta): compact genomes and genes of bacterial origin. *BMC Genomics* 16:204.
- Leliaert, F., Zhang, X., Ye, N., Malta, E., Engelen, A.H., Mineur, H.V., & De Clerck, O. 2009. Identity of the Qingdao algal bloom. *Phycol. Res.* 57:147–151.
- Mareš, J., Leskinen, E., Sitkowska, M., Skácelová, O., & Blomster, J. 2011 True identity of the european freshwater *Ulva* (Chlorophyta, Ulvophyceae) revealed by a combined molecular and morphological approach. *J. Phycol.* 47:1177–1192.
- Melton, J.T., Leliaert, F., Tronholm, A. & Lopez-Bautista, J.M. 2015. The complete chloroplast and mitochondrial genomes of the green macroalga *Ulva* sp. UNA00071828 (Ulvophyceae, Chlorophyta). *PLoS One*. 10(4): e0121020.
- Merchant, S.S., Prochnik, S.E., Vallon, O., Harris, E.H., Karpowicz, S.J., Witman, G.B., Terry, A., Salamov, A., Fritz-Laylin, L.K., Maréchal-Drouard, L., Marshall, W.F., Qu, L.H., Nelson, D.R., Sanderfoot, A.A., Spalding, M.H., Kapitonov, V.V., Ren, Q., Ferris, P., Lindquist, E., Shapiro, H., Lucas, S.M., Grimwood, J., Schmutz, J., Cardol, P., Cerutti, H., Chanfreau, G., Chen, C.L., Cognat, K. Ichihara & S. Kawano- 9

- V., Croft, M.T., Dent, R., Dutcher, S., Fernández, E., Fukuzawa, H., González-Ballester, D., González-Halphen, D., Hallmann, A., Hanikenne, M., Hippler, M., Inwood, W., Jabbari, K., Kalanon, M., Kuras, R., Lefebvre, P.A., Lemaire, S.D., Lobanov, A.V., Lohr, M., Manuell, A., Meier, I., Mets, L., Mittag, M., Mittelmeier, T., Moroney, J.V., Moseley, J., Napoli, C., Nedelcu, A.M., Niyogi, K., Novoselov, S.V., Paulsen, I.T., Pazour, G., Purton, S., Ral, J.P., Riaño-Pachón, D.M., Riekhof, W., Rymarquis, L., Schröder, M., Stern, D., Umen, J., Willows, R., Wilson, N., Zimmer, S.L., Allmer, J., Balk, J., Bisova, K., Chen, C.J., Elias, M., Gendler, K., Hauser, C., Lamb, M.R., Ledford, H., Long, J.C., Minagawa, J., Page, M.D., Pan, J., Pootakham, W., Roje, S., Rose, A., Stahlberg, E., Terauchi, A.M., Yang, P., Ball, S., Bowler, C., Dieckmann, C.L., Gladyshev, V.N., Green, P., Jorgensen, R., Mayfield, S., Mueller-Roeber, B., Rajamani, S., Sayre, R.T., Brokstein, P., Dubchak, I., Goodstein, D., Hornick, L., Huang, Y.W., Jhaveri, J., Luo, Y., Martínez, D., Ngau, W.C., Otillar, B., Poliakov, A., Porter, A., Szajkowski, L., Werner, G., Zhou, K., Grigoriev, I.V., Rokhsar, D.S., & Grossman, A.R. 2010. The *Chlamydomonas* genome reveals the evolution of key animal and plant functions. *Science* 318:245–250.
- Nakamura, Y., Sasaki, N., Kobayashi, M., Ojima, N., Yasuike, M., Shigenobu, Y., Satomi, M., Fukuma, Y., Shiwaku, K., Tsujimoto, A., Kobayashi, T., Nakayama, I., Ito, F., Nakajima, K., Sano, M., Wada, T., Kuhara, S., Inouye, K., Gojobori, T., & Ikeo, K. 2013. The first symbiont-free genome sequence of marine red alga, Susabi-nori (*Pyropia yezoensis*). *PLoS One* 8(3): e57122.
- Nishitsuji, K., Arimoto, A., Iwai, K., Sudo, Y., Hisata, K., Fujie, M., Arakaki, N., Kushiro, T., Konishi, T., Shinzato, C., Satoh, N., & Shoguchi, E. 2016. A draft genome of the brown alga, *Cladosiphon okamuranus*, S-strain: a platform for future studies of “mozuku” biology. *DNA Res.* 23 (6): 561-570.
- Oertel, W., Wichard, T. & Weissgerber, A. 2015. Transformation of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) by vector plasmids integrating into the genome. *J. Phycol.* 51:963–979.
- Ogawa, T., Ohki, K. & Kamiya, M. 2015. High heterozygosity and phenotypic variation of zoids in apomictic *Ulva prolifera* (Ulvophyceae) from brackish environments. *Aquat. Bot.* 120:185–192.
- Okada, T., Hu, Y., Tucker, M.R., Taylor, J.M., Johnson, S.D., Spriggs, A., Tsuchiya, T., Oelkers, K., Rodrigues, J.C., & Koltunow, A.M. 2013. Enlarging cells initiating apomixis in *Hieracium praealtum* transition to an embryo sac program prior to entering mitosis. *Plant Physiol.* 163:216–31.
- Prochnik, S.E., Umen, J., Nedelcu, A.M., Hallmann, A., Miller, S.M., Nishii, I., Ferris, P., Kuo, A., Mitros, T., Fritz-Laylin, L.K., Hellsten, U., Chapman, J., Simakov, O., Rensing, S.A., Terry, A., Pangilinan, J., Kapitonov, V., Jurka, J., Salamov, A., Shapiro, H., Schmutz, J., Grimwood, J., Lindquist, E., Lucas, S., Grigoriev, I.V., Schmitt, R., Kirk, D., & Rokhsar, D.S. 2010. Genomic analysis of organismal complexity in the multicellular green alga *Volvox carteri*. *Science* 329:223–226.
- Ravi, M., Marimuthu, M.P. & Siddiqi, I. 2008. Gamete formation without meiosis in *Arabidopsis*. *Nature* 451:1121–1124.
- Schmidt, A., Schmid, M.W. & Grossniklaus, U. 2015. Plant germline formation: common concepts and developmental flexibility in sexual and asexual reproduction. *Development* 142:229–241.

- Schmidt, A., Schmid, M.W., Klostermeier, U.C., Qi, W., Guthörl, D., Sailer, C., Waller, M., Rosenstiel, P., & Grossniklaus, U. 2014. Apomictic and sexual germline development differ with respect to cell cycle, transcriptional, hormonal and epigenetic regulation. *PLoS Genet.* 10(7): e1004476.
- Sharbel, T.F., Voigt, M.L., Corral, J.M., Galla, G., Kumlehn, J., Klukas, C., Schreiber, F., Vogel, H., & Rotter, B. 2010. Apomictic and sexual ovules of *Boechera* display heterochronic global gene expression patterns. *Plant Cell* 22:655–671.
- Shimada, S., Hiraoka, M., Nabata, S., Iima, M., & Masuda, M. 2003. Molecular phylogenetic analyses of the Japanese *Ulva* and *Enteromorpha* (Ulvales, Ulvophyceae), with special reference to the free-floating *Ulva*. *Phycol. Res.* 51:99–108.
- Shimada, S., Yokoyama, N., Arai, S. & Hiraoka, M. 2008. Phylogeography of the genus *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta), with special reference to the Japanese freshwater and brackish taxa. *J. Appl. Phycol.* 20:979–989.
- Suzuki, R., Ota, S., Yamazaki, T., Toyoda, A., Nonaka, S., Matsukura, C., Kuwano, K. & Kawano, S. 2016. Morphological changes of giant mitochondria in the unicellular to multicellular phase during parthenogenesis of *Ulva partita* (Ulvophyceae) revealed by expression of mitochondrial targeting GFP and PEG transformation. *Phycol. Res.* 64:176–184.
- Ye, N., Zhang, X., Miao, M., Fan, X., Zheng, Y., Xu, D., Wang, J., Zhou, L., Wang, D., Gao, Y., Wang, Y., Shi, W., Ji, P., Li, D., Guan, Z., Shao, C., Zhuang, Z., Gao, Z., Qi, J., & Zhao, F. 2015. *Saccharina* genomes provide novel insight into kelp biology. *Nat. Commun.* 6:6986.
- Yuan, L., Yang, X., Ellis, J.L., Fisher, N.M., & Makaroff, C.A. 2012. The *Arabidopsis* SYN3 cohesin protein is important for early meiotic events. *Plant J.* 71:147–160.
- 吉田忠生 1998. 新日本海藻誌. pp. 1222. 内田老鶴園, 東京.