

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05744

研究課題名（和文）貝類の海面養殖による遊走子分散のブロックが海中林の形成に与える影響の解明

研究課題名（英文）Effects of inhibition of zoospore dispersal by marine bivalve farming on the formation of marine forests

研究代表者

青木 優和（Aoki, Masakazu）

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：70251014

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）： 褐藻類アラメの海中林はパッチ状群落を単位とするメタ個体群構造である。水塊を隔てた局所群落間の距離による隔離は、低頻度の遊走子の交流によって繋がれていると考えられる。本研究では、湾内の養殖筏における二枚貝類による濾水活動が、群落パッチ間の遊走子による交流を阻む可能性に着目した。大規模に二枚貝養殖が行われている志津川湾10地点と女川湾8地点におけるアラメ群落のSNPの検出による遺伝構造解析の結果をそれぞれの海域における二枚貝養殖筏の分布と照合すると、養殖筏が存在すると遺伝的隔離が生じ、アラメ群落の存在する地点間の距離が短いにもかかわらず分散が妨げられていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究における遺伝子解析の結果から、二枚貝類の養殖場における濾過摂食活動が褐藻アラメの遊走子分散を妨害することによってアラメの藻場形成に影響を与える可能性が示唆された。これまで、二枚貝類の養殖業と藻場・海中林の造成事業は、水産学の中でも、別個の学問分野として研究が行われてきた。この両者をつなぎ、その相互影響について検討する必要があることが、本研究により示された。ここで得られた遺伝子交流の情報をもとに、アラメの局所個体群間の遊走子の交流が可能となるような『遊走子の道』を二枚貝養殖場に確保することも可能となるはずである。

研究成果の概要（英文）： The marine forest of the brown alga *Eisenia bicyclis* consists of a metapopulation structure with patchy populations as the unit. Isolation by distance between local communities separated by water masses is thought to be linked by low-frequency migratory exchanges of zoospores. In this study, we focused on the possibility that water filtering activity by bivalve molluscs on aquaculture rafts in the bay may prevent migratory exchanges of zoospores between local population patches. The results of genetic structure analysis by SNP detection of *E. bicyclis* communities at 10 sites in Shizugawa Bay and 8 sites in Onagawa Bay, where large-scale bivalve aquaculture is conducted, were compared with the distribution of bivalve aquaculture rafts in the respective areas. The results suggest that the presence of culture rafts causes genetic isolation and prevents zoospore dispersal despite the short distance between the sites of local population.

研究分野：水圏植物生態学

キーワード：海中林 遺伝構造解析 メタ個体群 コンブ目褐藻類 近交弱勢 養殖筏 遊走子 遺伝的隔離

1. 研究開始当初の背景

貝類の海面養殖業は、三陸の沿岸海域においては、最も主要な水産養殖業で、主な養殖対象種はホタテガイおよびマガキである。これらの貝類養殖は湾内の専有海域の海面下で稚貝の無給餌育成によって行われている。稚貝は水塊中からプランクトンを吸い込んで濾過摂食することによりエネルギーを得て成長および繁殖を行う。無給餌で育成ができ、海水の清浄化にも貢献でき、残餌などによる養殖場の汚染もないため、貝類の養殖における欠点となる要素については、ほとんど想定されることがなかった。

二枚貝類の海面養殖専有面積は湾によって異なるが、海域によっては、総面積の3割を超えることもある。個々の貝が濾過摂食を行うため、二枚貝類の養殖場は巨大な濾過ポンプであると捉えることができ、春季の植物プランクトンのブルーム期においても貝類養殖場を通過した海水は透明になることが航空写真から確認することができるほどの濾過力である。

動物の幼生や海藻の胞子のプランクトンとしての浮遊生活は、重要な移動の過程である。このため、移動の途上に巨大な濾過ポンプである二枚貝類の養殖場が存在した場合、動物の幼生や海藻の胞子は吸引されてしまい、正常な移動や個体群の拡大を行うことができない可能性がある。二枚貝類の養殖場が動物の幼生や海藻の胞子の移動をブロックしているとすれば、沿岸の動物群群集の形成過程や多様性に影響が生じるかもしれない。また、海藻の胞子の移動拡散がブロックされれば、新規着底や遺伝子交流が阻害されるかもしれない。これらの疑問が本研究の背景となっている。

2. 研究の目的

もし、二枚貝類の養殖が幼生や胞子の移動のブロックによって、動植物の個体群維持の重要な過程を妨害しているとするならば、沿岸の動植物群集に影響が生じることになり、なんらかの対策を講じる必要がある。そこで、コンブ目褐藻類のアラメ海中林に焦点を当てて、『二枚貝類の養殖による遊走子分散のブロックが、沿岸域における海中林の形成過程に影響を及ぼしている』という仮説を検証することを、本研究の目的とした。

三陸沿岸では水深 5 m 以浅に生育するコンブ目褐藻類であるアラメは、胞子体である藻体からの遊走子（胞子）の放出で個体群の拡大を行う。本研究では、遺伝子解析をツールとして調査海域ごとに沿岸のアラメ海中林の遺伝構造解析を行うとともに、遊走子拡散の具体的な過程を調べた。また、その結果を調査海域ごとの養殖筏の配置と対照させて検討を行うことで、貝類養殖が海中林形成に与える影響を測ることを試みた。

3. 研究の方法

(1) 調査地および葉片の採集

2022年7月20日、7月21日に宮城県牡鹿郡女川町の女川湾内8地点から、2023年1月11日、13日に宮城県南三陸町の志津川湾の10地点からアラメの葉片を採取した。採集はスキューバ潜水によって行い、同じ個体を選ばないように十分注意しながら、葉上生物が付着してないできるだけ若い葉を選んだ。各地点で30個体ずつ葉片(10 cm²程度)を採集した。葉片は冷やしながら実験室に持ち帰り、-30°Cで冷凍保存した。

(2) DNA 抽出

アラメ葉片は液体窒素を用いて破砕したのち、ChloroPure (Beckman Coulter 社) を用いて DNA を抽出した。DNA は Nuclease free Water を用いて濃度を 5 μM に調整した。

(3) SNP の検出

得られた DNA から Multiplexed ISSR genotyping by sequencing (MIG-seq 法; Suyama et al. 2022) を用いて一塩基多型を検出した。Suyama et al. (2022) のプロトコルに従って 2 回の PCR により、ライブラリを作成した。まず、1st PCR では Suyama and Matsuki (2015) の開発した MIG-seq primer set 1 と Multiplex PCR Assay Kit ver.2 (タカラバイオ社) を用いて、単純反復配列 (SSR) に挟まれた領域を増幅した。次に、AMpure XP (Beckman Coulter 社) を用いて 1st PCR 産物の精製を行った。2nd PCR では、MIG-seq primer set 2 と Prime Star GXL DNA polymerase (タカラバイオ社) を用いて、精製された 1st PCR 産物にインデックス配列を結合した。各 PCR は T100 Thermal Cycler (BIO RAD 社) を用いて行い、反応条件は 1st PCR が 94°C 60 秒→94°C 30 秒→40°C 60 秒→伸長 72°C 60 秒 (繰り返し 35 回) →72°C 10 分、2nd PCR が 98°C 10 秒→54°C 15 秒→68°C 60 秒 (繰り返し 12 回) であった。2nd PCR 産物を等量ずつ混合し、精製したのち、qPCR で定量化し、MiSeq Regent kit v3 150 cycle (Illumina 社) を用いて次世代シーケンサー (MiSeq, Illumina 社) でシーケンスした。生データから Trimomatic v. 0.39 (Bolger et al. 2014) を用いてアダプター配列をトリミングし、低品質およびリード数が 10000 以下のサンプルを除去した。SNP の検出は Stacks 2.61 (Rochette et al. 2019) を用いて行い、全サンプルの 90%が保有する SNP を選抜した結果、112 の SNP が検出された。また、選抜した SNP の欠損率が 70%を超えるサンプルについてはその後の解析から除外した。

(4) 遺伝的多様性および遺伝子交流の解析

遺伝的多様性は、ソフトウェアは FSTAT 2.9.4 (Goudet 2003) を使用し、各地点の対立遺伝子多様度 (A_r)、ヘテロ接合度観察値および期待値 (H_o 、 H_e)、近交係数 (F_{is}) を算出した。また、各地点間の遺伝的分化の指数として F_{ST} も求めた。

遺伝的集団構造は、ソフトウェア STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) の混合モデルを使用し、burnin として 20,000 回の試行の後、マルコフ連鎖モンテカルロ法によるサンプリングを 20,000 回、各クラスター数 (K) の値 ($K=1-8$) につき 10 回ずつ行って推定した。最適クラスター数は最大 ΔK 値に従う方法 (Evanno et al. 2005) で決定し、 ΔK 値の算出には、ソフトウェア STRUCTURE HARVESTER v0.6.94 (Earl and von Holdt 2012) を使用した。

個体群の遺伝的距離と地理的距離の関係については、遺伝的距離を $F_{ST}/(1-F_{ST})$ として、地理的距離の自然対数との相関関係について、ソフトウェア GenAIEx 6.5 (Peakall and Smouse 2012) を使用し、9999 通りの順列を用いたマンテル検定によって算出した。

歴史的な遺伝子流動のパターンは、ソフトウェア divMigrate online (Keenan et al. 2013, Sundqvist et al. 2016) を使用し、遺伝子流動の相対的な方向性と大きさを推定した。また最近 (過去 2、3 世代) の遺伝子流動は、ソフトウェア Bayesass 3.0.5.6 (Wilson and Rannala 2003) を使用し、1,000,000 回の MCMC 反復を行って推定した。1,000,000 回の MCMC 反復のうち 100,000 回を burnin として捨てた。なお、Wilson and Rannala (2003) を参考に、移住率、対立遺伝子頻度、近交係数が推奨される採択率に収まるように調整した (それぞれ 0.10、0.70、0.30)。

4. 研究成果

本研究では女川湾と志津川湾におけるアラム個体群に関して、それぞれの遺伝的な集団構造や遺伝的多様性、遺伝子交流について調べ、遊走子の分散に関して推定した。そして、それぞれの海域におけるアラム個体群の保全活動について考察した。女川湾と志津川湾のアラム個体群

における大きな相違点として、遺伝子交流の頻度が挙げられる。遺伝子流動の結果と遺伝的分化を示す F_{ST} の結果によると女川湾では湾内の遺伝子交流が乏しいが、志津川湾では全体的に遺伝子交流が盛んで特に湾内の離島が盛んな遺伝子交流に寄与していた。また、この結果は地理的距離と遺伝的距離の相関関係にも表れていて、女川湾では弱い相関だったのに対し、志津川湾では強い相関があった。

女川湾と志津川湾はともに海流や潮流などの水の流れが遺伝子交流を形成していることが示唆されたが、この影響には差異があり、遺伝子交流の頻度に差異をもたらしていると考えられる。両海域はともに三陸地方沿岸域の南部にあり、経度はほぼ変わらず、女川湾の真北約 30km のところに志津川湾が位置している。三陸地方の沖合では、年間を通して北から南に流れる海流が卓越しているが (海上保安庁)、夏季は北上する黒潮由来の流れが、冬季は南下する親潮由来の流れが優勢になるため、緯度の違いによって季節ごとの海流の方向や強さが変化し、これが遺伝子交流の頻度に影響を与えている可能性がある。また、両海域ともに環境省の閉鎖性海域ネットに掲載されており、周囲を陸に囲まれ、外海との海水循環がしにくい閉鎖性海域としての特徴を持っているが、志津川湾はリアス式の開放性内湾の代表例として紹介されており、リアス式の中では比較的外洋の影響を強く受けやすいとされている。この湾の形状による海流の影響の受けやすさの違いも遺伝子交流の頻度に影響を与えている可能性がある。

また、アラムの分布の密度と大きさも遺伝子交流の頻度に差異を生み出していると考えられる。女川湾では女川湾奥にアラムの分布は確認できず、また、女川湾の外側に比べて内側の分布が小さい印象を受けた。一方で、志津川湾では湾の奥や湾内に点在する離島でもアラムの分布が確認でき、密度も女川湾に比べると高い印象を受けた。Gaylord et al. (2006) では、コンブ目の *Macrocystis pyrifera* において、1km 以上の遊走子分散に関して、供給源となる海流林の密度が高く、分布面積が大きいほど遊走子の到達確率が高くなることを明らかにしている。本研究の結果から、アラムの遊走子分散についても同じことが示唆された。両海域の分布の違いを説明できる要因の一つとして、地形がある。各海域の海底地図を比較すると、女川湾は陸から離れると急に深くなる地形をしており、ほとんどの地点が沖合 1km 未満のところ、アラムの生息下限水深である 20m より深くなる。一方で志津川湾は遠浅な地形をしており、沖合 2~3km でも水深が 20m 未満の地点が多く、場所によっては離島や岩礁域となっている。以上より、地形の違いによる分布の密度と大きさが遺伝子交流の頻度に差異をもたらしていると考えられる。

女川湾と志津川湾ともに、アラムの分布が消失、縮小、または小さい地点において二枚貝類の養殖が行われていることが分かった (図 1, 2)。このことから、二枚貝類の濾過活動がアラムの遊走子分散を阻害し、分布を制限している可能性が考えられる。養殖漁業が行われる場所は波が穏やかな場所であるため、水の流れによる影響や、水の流れを養殖漁業が物理的に阻害していることも考えられるが、いずれにしても因果関係の特定と対処が必要である。

本研究はアラムの集団遺伝学的研究を細かいスケールで網羅的に行ったものであり、海域ごとの遺伝子交流を比較することでアラムの遊走子分散過程についての知見を得られた。本研究で得られた遺伝学的情報は、アラム個体群の藻場造成や保全にとって精確な判断材料を提供するものである。

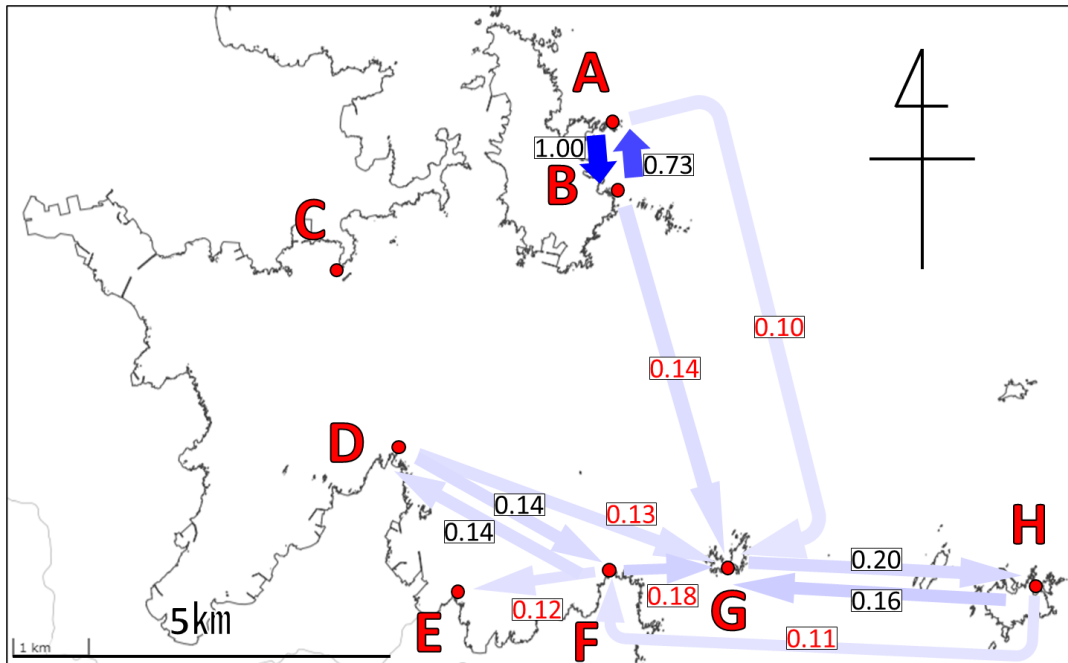


図 1 女川湾のアラメ 8 個体群間の歴史的な遺伝子流動の方向と相対的な大きさ(0.10 以上)の推定値. 赤文字は有意な遺伝子流動.

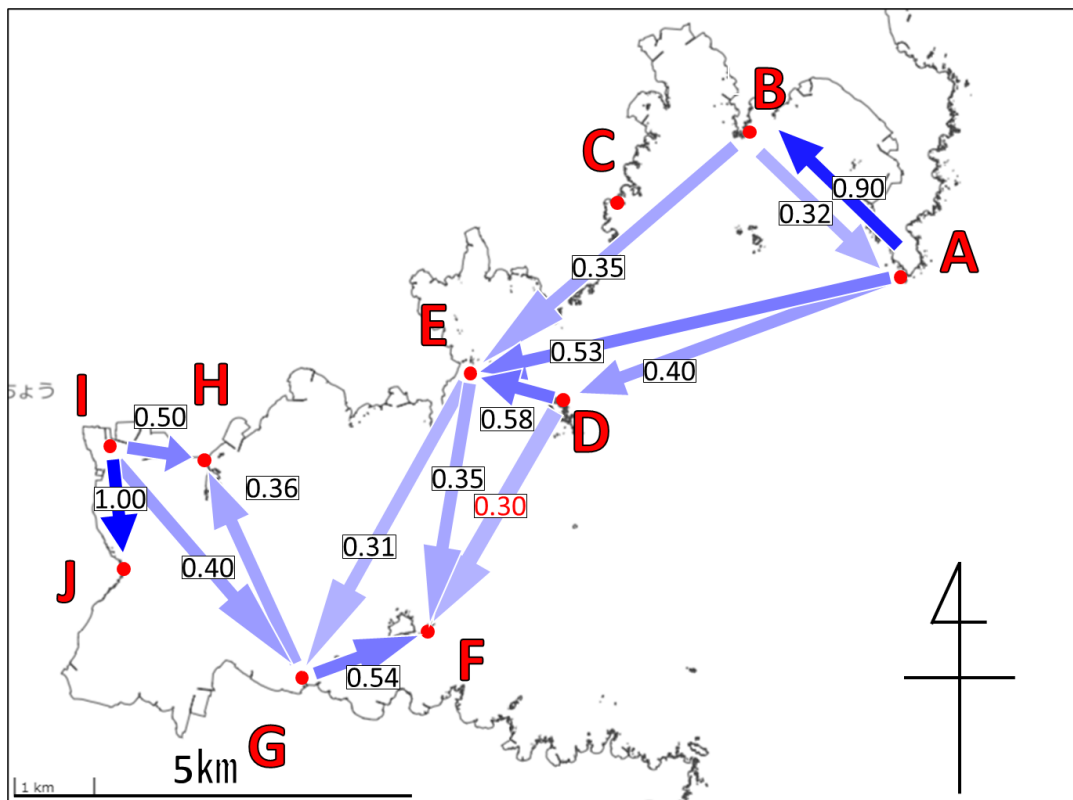


図 2 志津川湾のアラメ 10 個体群間の歴史的な遺伝子流動の方向と相対的な大きさ(0.30 以上)の推定値. 赤文字は有意な遺伝子流動.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0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 AGATSUMA YUKIO、AOKI MASAKAZU	4. 巻 87
2. 論文標題 Recent research developments for seaweed and sea urchin production	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 NIPPON SUISAN GAKKAISHI	6. 最初と最後の頁 685～685
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2331/suisan.WA2867-0	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 AOKI MASAKAZU、CHUMA YU、SUZUKI HARUKA	4. 巻 87
2. 論文標題 Zoospore dispersal processes of Eisenia bicyclis and Ecklonia cava	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 NIPPON SUISAN GAKKAISHI	6. 最初と最後の頁 689～689
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2331/suisan.WA2867-4	査読の有無 無
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 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 青木優和
2. 発表標題 アラメとカジメの遊走子による分散過程
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会春季大会シンポジウム：海藻とウニの生産に向けた新たな研究展開（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 吾妻 行雄、青木 優和、畑中 富美子	4. 発行年 2022年
2. 出版社 仮説社	5. 総ページ数 54
3. 書名 うに：とげとげいきもの きたむらさきうにの ひみつ	

〔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
---------	---------