

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22710235

研究課題名（和文） 熱帯性海草類の遺伝的多様性解析—保全に向けた総合的理解

研究課題名（英文） Analysis of genetic diversity of tropical seagrasses: A comprehensive understanding for the conservation.

研究代表者

中川 昌人（NAKAGAWA MASATO）

島根大学・汽水域研究センター・研究員

研究者番号：60462206

研究成果の概要（和文）：

南西諸島の海草藻場の保全に必要な基礎情報の収集を目的として、海草類 3 種について分子遺伝マーカーを用いた遺伝的多様性、集団遺伝構造の解析を行った。3 種のうち、2 種では島嶼間での明瞭な遺伝的分化は確認されず、保全すべき単位を認識できなかった。むしろ遺伝的多様性が低い環境変動に脆弱な可能性が示唆された。残りの 1 種では種分類が不十分であり、形態変異の解析も含めた分類学的再検討が必要であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Genetic diversity and population structure were analyzed in three tropical seagrass species in Nansei Islands, Japan, aiming to obtain basic information for the conservation of seagrass meadows. In two species, any conservation unit was not recognized at the populations in the islands because of the lower genetic differentiation. Instead, the low genetic diversity suggested the presence of vulnerability to global climatic change. The rest species was revealed to contain multiple distinct genetic units, which required taxonomical revision including the morphological analysis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：植物集団生物学

科研費の分科・細目：資源保全学・資源保全学

キーワード：生物多様性保全、集団遺伝学、海草藻場、遺伝的多様性、南西諸島

1. 研究開始当初の背景

海草藻場は広く世界中の浅海域に成立し、高い生物多様性を涵養している。しかしながら、人為的な影響により、世界中で衰退しつつあり、保全が必要となっている。

これまでの研究では、保全に向けた基礎研究として、海草藻場を一つの「場」と捉え、環境条件との関連や具体的な移植法などの検討がなされてきた。しかし同時に、海草藻場の存続には、海草類の個々の種がその場で

世代をつなぎうることも重要であり、そのためには分子生態学的アプローチによる現状把握が必要である。

南西諸島には約 9 種の花葉類が分布し、世界的に見ても種多様性の高い熱帯性の海草藻場が成立している。保全の必要性は高いが、現状把握は必ずしも十分ではなく、これまでに集団遺伝解析はほとんど行われていなかった。

2. 研究の目的

本研究では南西諸島に分布する海草類について、

(1) 遺伝的多様性の多寡を評価し、島嶼間の比較を行うことで保全すべき単位 (ESU) の探索を行う。

(2) 集団遺伝構造から海草藻場の維持メカニズムを評価する。

(3) 得られた結果から海草藻場の遺伝的多様性保全の指針を提唱する。

3. 研究の方法

(1) 研究材料

本研究では南西諸島に分布する海草類のうち、3種 (ベニアマモ、リュウキュウアマモ、ウミヒルモ) を対象とした解析を行った。これら3種は水深・離岸距離に応じて異なる生態分布を示し、海草藻場全体の保全を考える上で必要な情報が得られると判断し、選択した。

(2) 野外調査・サンプリング

南西諸島にある4つの島嶼のまとめり (奄美諸島、沖縄本島周辺、宮古島周辺、八重山諸島) を代表するよう藻場を選定し、野外調査を行い、分布を確認できた種については実験解析に必要なサンプルを採集した。

各地域での調査地域数は以下のようになる。沖縄本島周辺では環境省 (2000) にリストとされている全藻場での網羅的なサンプリングを行った。

奄美諸島…5 藻場

沖縄本島周辺…48 藻場

宮古島周辺…6 藻場

八重山諸島…8 藻場

(3) 遺伝解析

本研究では4つの分子遺伝マーカーを用いて解析を行った。

①アロザイム酵素多型解析…標準的なプロトコールに従い、約20酵素種でのテストを行った。明瞭なバンドパターンが得られた酵素種を解析に用いた。

②葉緑体マイクロサテライト (cpSSR) …8つのユニバーサルプライマー (ccmp2, 3, 6, 10, NTCP9, 12, 37, 39) を用いた。

③RAPD 解析…40の10塩基のプライマー (Operon A-1~20, B-1~20) でスクリーニングを行い、解析した。

④AFLP 解析…ABI社の基本的に標準プロトコールに従い、実験・解析を行った。16プライマーセットでテストし、解釈しやすい3セットを解析に用いた。

得られた遺伝子型データについては適宜、解析ソフトを利用し、集団遺伝学的パラメーターの計算を行った。

4. 研究成果

(1) ベニアマモ

① 主な結果

・予備的な解析の結果、cpSSR、RAPD 解析ではいずれも多型は認められなかった。アロザイム酵素多型解析では変異が1遺伝子座、1サンプルでのみ認められ、多型性は極めて低いものであった。

・AFLP 解析では10%程度の遺伝子座で多型が認められたが、遺伝子座の数も少なく、多型性は低かった。また、島嶼・藻場間での明瞭な遺伝的分化は認められなかった。

③ まとめ

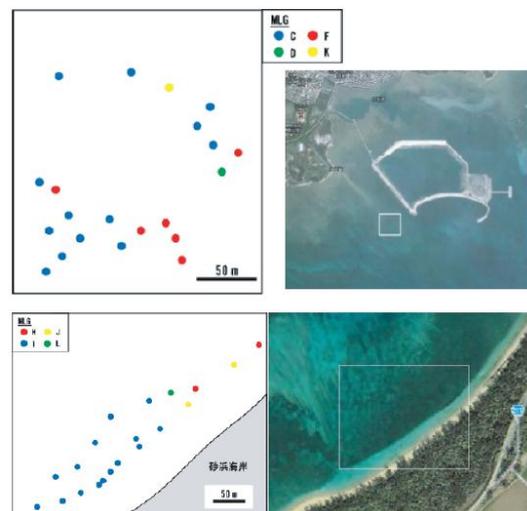
4つの分子遺伝マーカーでの解析の結果、ベニアマモは極めて低い遺伝的変異量しかもたないことが明らかになった。海草を含む水生植物では、アロザイム酵素多型については時に遺伝的変異がないことが報告されているが、AFLPなどのDNAレベルの多型解析でも遺伝的変異量が少なかったことは、南西諸島のベニアマモ全体の特徴として遺伝的多様性が少ないことを示していると考えられる。

(2) リュウキュウアマモ

① 主な結果

・cpSSR、RAPD 解析では多型を確認することが出来なかった。アロザイム酵素多型では一定の遺伝的多型が認められ、藻場ごとに異なる遺伝子型 (クローン) が優占し、遺伝的組成に差異が確認された (下図)。また、遺伝的多様性は他の海草類の平均と同程度であることも明らかになった。

図：リュウキュウアマモのアロザイム酵素多型・多遺伝子座遺伝子型の集団内での分布。上、泡瀬集団；下、美田良浜集団 (異なる遺伝子型を異なる色で表す)



・AFLP 解析では 15%程度の遺伝子座で多型が認められ、最も多型性の高いマーカーであったが、多型遺伝子座の数は少なく、集団内で数 10 m にわたるクローンが形成されていることは示唆される結果が得られたが、詳細な遺伝構造の解析には十分ではなかった。少なくとも、島嶼間、藻場間での明瞭な遺伝的分化は認められなかった。

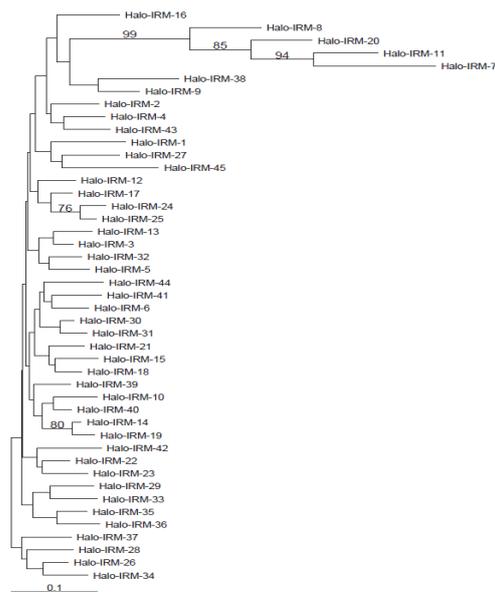
②まとめ

4つの分子遺伝マーカーでの解析の結果、リュウキュウアマモは低い遺伝的変異量しか示さず、均質な遺伝構造をもつことが明らかになった。ベニアマモよりは多型性に富むものの、AFLP などの DNA レベルの多型解析でも遺伝的変異量が少なかったことは、南西諸島のリュウキュウアマモ全体の特徴として遺伝的多様性が少ないことを示している。

(3) ウミヒルモ

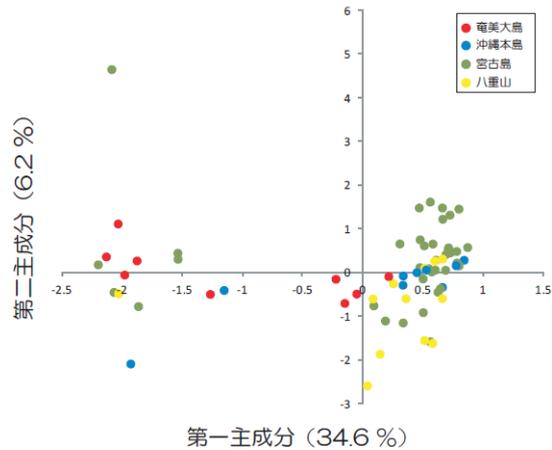
①主な結果

- ・cpSSR では多型を確認することが出来なかった。
- ・アロザイム酵素多型解析では変異は認められたものの、いずれも2倍体の遺伝子型として解釈することができず、十分な解析を行うことが出来なかった。
- ・RAPD 解析ではスクリーニングの結果、8プライマーで安定した増幅が認められ、予備的に行った西表島南風見田浜のサンプルでは、68 遺伝子座が確認された。それらのうち、約 90%で多型が確認され、サンプル間で大きい遺伝的分化があることが確認された（下図）。



図：西表島南風見田浜のウミヒルモサンプル間の遺伝的類似図。RAPDに基づくJaccard距離を用い、近隣接合法によって作図した。

・AFLP 解析では RAPD 解析と同程度の多型が認められたが、遺伝子座の数が多く、より有効な分子遺伝マーカーであると判断できた。RAPD 解析の場合と同様に、大きく2つの遺伝的まとまりを認識できることが示された（下図）。また、4つの島嶼間での分化は明瞭ではなかった。



図：南西諸島のウミヒルモサンプルについてのAFLP遺伝子型にもとづく主成分分析の結果。第一、第二主成分のプロットとして示す。

②まとめ

ウミヒルモにおける遺伝的分化は地理的なものと言うより、系統的な分化に対応するものと考えられた。ウミヒルモについては近年、分類学的再検討が幾つかの研究グループによって行われており、本研究の結果はこのような状況を反映していると考えられる。しかしながら、種の分類には統一した見解は得られていない。今回の解析サンプルについても植物体のサンプルも同時に採集していたが、これまでの分類による識別形質とは明確には対応していないことも確認された。

複数の種があることは保全すべき単位を設定する際に重要な基準であり、今後はより詳細な形態解析を行い、遺伝的分化との対応関係を明らかにする必要がある。

(4) 研究のまとめと今後の課題

①南西諸島のベニアマモ、リュウキュウアマモはいずれも低い遺伝的多様性しかもたない種であることが判明した。このことは遺伝的に比較的均質な遺伝構造をもつことを示唆する。少なくとも本研究の結果からは南西諸島内に複数の保全すべき単位があるとは認識できない。

遺伝的に均質な集団は様々な攪乱に弱いとされる。ベニアマモ、リュウキュウアマモについては遺伝的多様性が低く、大規模な気候変動・温暖化など今後の人間活動の影響に脆弱である可能性がある。この点については生理生態的特性の把握を行うなど、より広い

観点からの現状把握を進める必要がある。

②ウミヒルモについては島嶼というよりは藻場内でも大きな遺伝的分化を示し、ウミヒルモと認識される種の中に複数の種が存在する可能性が高い。保全策は種ごとに策定する必要があるが、種分類のあり方には問題点も存在する。今後は本研究で得られた研究成果を基礎として、形態変異との対応関係を明確にし、適切な種の識別を行える状況を整える必要がある。

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1件)

- ① 中川昌人、琉球列島における熱帯性海草類ベニアマモ、リュウキュウアマモ(シオニラ科)のアロザイム多型の解析、湿地研究、査読有、4巻、2013、印刷中

[学会発表] (計1件)

- ① 中川昌人、琉球列島における熱帯性海草類ベニアマモ、リュウキュウアマモの遺伝的多様性、日本植物分類学会第12回大会、2013年3月15-17日 千葉大学(千葉市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 昌人 (NAKAGAWA MASATO)
島根大学・汽水域研究センター・研究員
研究者番号：60462206