

平成 30 年 6 月 29 日現在

機関番号：55501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00629

研究課題名(和文) 越夏出来ない単年性アマモ場の群落維持機構の解明～種子供給だけで維持されるのか？

研究課題名(英文) Clarification of maintenance mechanism for an annual community eelgrass bed that cannot be over summer

研究代表者

中野 陽一 (NAKANO, YOICHI)

宇部工業高等専門学校・物質工学科・教授

研究者番号：10325152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：2013年～2015年の調査において、広島県竹原市船島周辺の浅場のアマモ場は越夏できないアマモ場であった。2015年の調査では、このアマモ場で形成される生殖株数に対して、冬に測定した土壌中のアマモの種子が多かった。したがって、芸予諸島周辺から種子が供給され、次年度にアマモ場が維持されることが予測された。5～7月にかけて周辺海域の流れアマモに種子が含まれて浮遊していた。同時期にGPSを装着した漂流ブイの調査で、芸予諸島内で浮遊していることが示された。

また、このアマモ場の近隣のアマモ場3地点とのマイクロサテライト分析を行った結果、非常に類似しており周辺から種子を供給されていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the survey from 2013 to 2015, the shallow eelgrass bed around Funashima Takehara City in Hiroshima Prefecture was an eelgrass bed that cannot be summer. In the survey of 2015, It measured in the winter that the number of seeds of eelgrass in the soil on the eelgrass was larger than the number of reproductive strains formed in this field. Therefore, it was predicted that seeds will be supplied from around the Georgetown Islands and the field of eelgrass will be maintained in the next year. The flow of the surrounding sea area from May to July Seeds was contained in sea cucumber and was floating. A survey of drifting buoys equipped with GPS at the same season showed that they were floating within the Geiyo Islands area. Also, as a result of microsatellite analysis with three sites of eelgrass near this eelgrass bed, it was suggested that they are very similar and that seeds are supplied from the surrounding area.

研究分野：環境工学

キーワード：アマモ場 種子供給 群落維持機構 単年性アマモ場

1. 研究開始当初の背景

近年、日本のアマモ群落は全国的に減少している。瀬戸内海の場合、アマモ群落の面積は1960年代から1990年代にかけて約7割にわたって減少した¹⁾。その原因として、埋め立てや水質汚染が挙げられる。

日本ではNPO法人や市民団体などが主体となり、アマモ群落などの藻場を再生する取り組みを各地で実施した。「自然再生推進法」に基づいて、「自然再生基本方針」が平成15年4月に閣議決定され、自然再生を目的としたアマモ群落造成の動きを加速させた。それにも関わらず、衰退したアマモ群落の回復におけるアマモ群落造成技術は未だ確立されていないため、造成されても台風などの影響によって数年で衰退してしまうアマモ群落が多く存在している。

2. 研究の目的

本研究は、種子供給でリンクしたアマモ群落間における相互維持機構を明らかにし、種子供給源となる種母のアマモ群落を特定し、種母群落を重点的に保全することで地域全体のアマモ群落を間接的に保全する方法を確立することである。

その結果、種子供給でリンクされたアマモ群落間の種子の輸送機構を解明することによって、種母アマモ群落から種子供給経路に人工アマモ場を造成することで、持続的にアマモ群落を維持する人工造成が可能となり、維持費用も削減できる。また、種子供給リンクを考慮に入れた人工アマモ場の適切な造成地の選定、種母となるアマモ群落の造成方法の開発にも応用することを目指す。

その研究場所として、芸予諸島内の船島周辺の浅場は、越夏できない単年性のアマモ場を選択し、そのアマモ場を中心として、周辺の種子供給によって維持されている機構を解明する。

3. 研究の方法

3.1 漂流アマモ調査

アマモの繁殖期に当たる6月から7にかけて、船舶を用いて芸予諸島全域における漂流アマモをマッピングおよびサンプリングを行い、サンプルを-30℃の冷凍庫で保管した。また、採取したサンプルから生殖株の有無を確認した。調査を行った海域をFig.1に示す。



Fig.1 漂流・漂着アマモ調査海域

3.2 GPSを用いた表層潮流調査

湾の中に大規模アマモ群落が存在する、芸予諸島の生野島を中心としてGPSを数日間に渡って漂流させ、その位置情報を測定し、表層の潮流を調査した。GPSはSoftBank みまもりGPS 201Zを用いた。

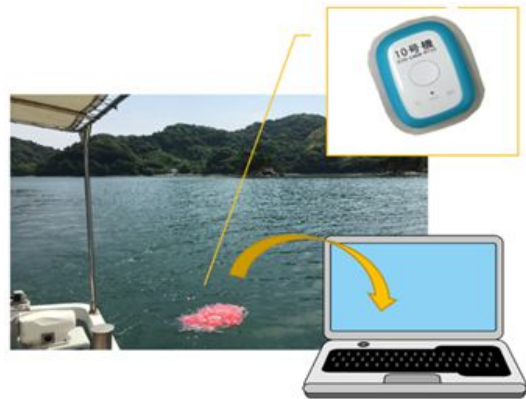


Fig.2 潮流調査

3.3 単年性アマモ群落の面積調査

これまで単年性とされていた船島近辺のアマモ場において、繁殖期の7月および本来アマモが枯死する衰退期の10月に、海底のアマモの有無を確認しながら外周をマッピングし、アマモ場の面積を測定した。また、衰退期の12月にライトランセクト法で400mのラインを引き、0.5m×0.5mのコドラートを用いて、100m毎に海底の残存アマモを採取した。採取した残存アマモの株数を計測し、アマモ場全体の面積から衰退期における残存アマモ株数を算出した。

3.4 マイクロサテライト分析

アマモの移動経路を潮流調査によって明らかにし、種子供給源となるアマモ群落を特定するために、本研究ではマイクロサテライト分析を用いる。マイクロサテライトとは、ゲノムDNAの中で、通常15bp以下の反復単位で10回から100回程度の繰り返し配列のことである²⁾。マイクロサテライトは個々によって異なっているため、マイクロサテライトの長さや組み合わせを調べることによって個々の遺伝情報を得ることが可能となる。マイクロサテライトを用いる利点としては、遺伝的にも安定していること、少量のサンプル数でも分析できることが挙げられる。よって、マイクロサテライト分析を行うことで各アマモ群落の類似した生態系を推測することが可能となる。また、種子移動によって繁殖したことを証明し、どのアマモ群落からどの場所に流れ着いているのかも解明することができる。Fig.3に示した地図上の竹原市周辺3地点のS1、S2、S3の地点において採取した漂流アマモサンプルについてマイクロサテライト分析を行った。分析の方法として、現地で採取したサンプルを-30℃の冷凍庫に保存し、その後DNAの抽出・精製

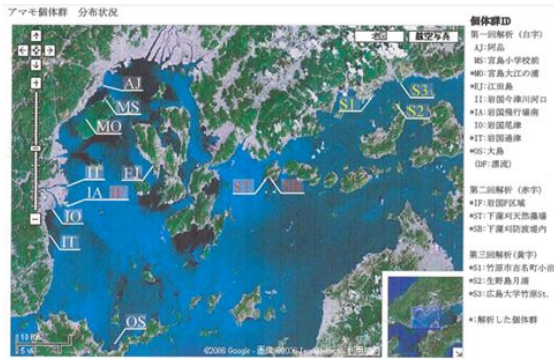


Fig. 3 マイクロサテライト分析地点

を行い、UV測定でDNAの純度と濃度を測定した。純度の良いものからPCRにかけて増幅させ、電気泳動によって増幅を確認し、シーケンサーでフラグメント解析を行った。

DNAの抽出は、アマモサンプルからのDNA抽出にはQIA Dneasy Plant Mini Kit(QIAGEN)を用いた。複数のマイクロサテライト部位を同時に増幅した。5種類のマイクロサテライトを用いて分析を行った。Table IにPCRに用いた反応液組成、Table IIにPCRの反応条件を示した。

Table 反応条件

Temperature	Time(m:s)	
95	15:00	}
94	0:30	
57	1:30	
72	1:00	27cycle
60	30:00	
4	-	

PCRで得られたフラグメントの分画はキャピラリー電気泳動によって行った。装置はABI PRISM 3100 Genetic Analyzerを用い、塩基配列および増幅断片長の解析にはGENESCAN™ analysis software version 3.7 and GENOTYPERTM analysis software version 2.0(Applied Biosystems)を用いた。解析は、DNAシーケンスによって得られたデータを用いた遺伝的多様性と分化統計解析にはFis:Fstat version 2.9.3.2, Pairwise Fst:AMOVA(GenAlEx version 6) および Molecular Variance:GenAlEx version 6を用いた。

4. 研究成果

4.1 漂流アマモ調査

Fig. 4およびFig. 5に漂流アマモを確認した地点を示す。また、Fig. 6にサンプリング

した漂流アマモの生殖株の有無を示す。アマモの繁殖期には芸予諸島全域で漂流アマモを確認することができた。芸予諸島内においては沿岸部に漂着物と共に漂着アマモも確認できたが、芸予諸島外の特に愛媛県沿岸部においては、漂着物自体が少数しか存在しておらず、漂着アマモも確認できなかった。



Fig. 4 芸予諸島内における漂流アマモの分布

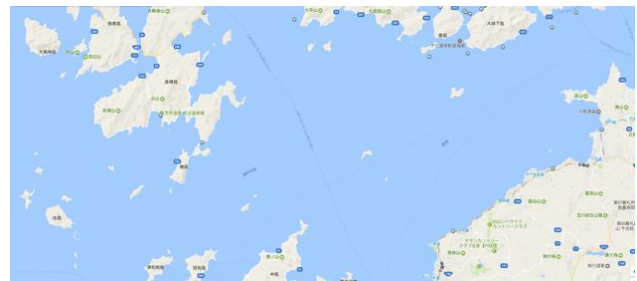


Fig. 5 芸予諸島外における漂流アマモの分布

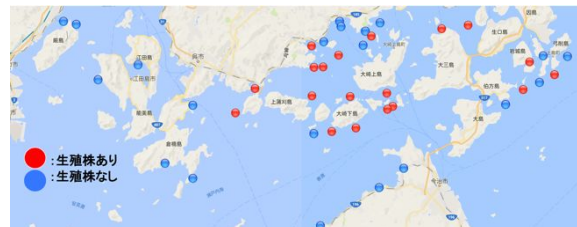


Fig. 6 生殖株の有無

芸予諸島内では種子の散布が広範囲で起きているため、生育の条件が揃えばアマモ場の形成が起こる可能性がある。しかし、芸予諸島外の海域に芸予諸島の漂流アマモが流出している可能性は低く、芸予諸島の漂流アマモ種子によるアマモ群落の形成は起こりにくいと考えられる。

4.2 GPSを用いた表層潮流調査

Fig. 7に測定した位置情報から確認した潮流を示す。

生野島周辺ではアマモの繁殖期に起こる大潮の影響もあり、干満の差が大きいため潮流が早く、短時間で長距離の移動が行われる。また、東西流の他に南北流も存在することで、漂流アマモの諸島外への流出に寄与していると考えられる。



Fig.7 生野島周辺の表層潮流

4.3 単年性アマモ群落の面積調査

繁殖期の7月と衰退期の10月に船島のアマモ群落の外周に沿ってマッピングしたものをFig.7およびFig.8に示す。

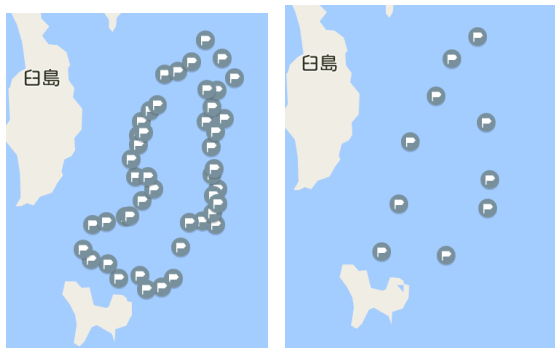


Fig.8 7月(左図)及び10月(右図)の生息範囲

単年性アマモであればこのアマモ群落は、衰退期にはアマモが枯死して存在しなくなっているはずである。しかし、衰退期の10月においてアマモの株数は減少しているが、面積にほとんど変化は見られなかった。また、12月に同じ方法でマッピングを行い、位置情報から算出したアマモ群落の広がりを見せる。



Fig.9 12月における面積

Fig.9 からアマモ群落の面積は約449,360m²と求められた。ライトランセクト法で残存アマモ数を計測し、上記の群落面積を用いて算出した残存株数は290万本余りとなった。船島周辺アマモ群落は潮流による種子供給と潮流の変化などの外的な要因によって単年性から多年生へと変わりつつあると考えられる。

4.4 マイクロサテライト分析

マイクロサテライト分析結果をTableおよびTableに示す。

Table 各遺伝子座のFis値

	Population			Whole Pop
	S1	S2	S3	
CT-3	0.149	0.130	0.054	0.025
CT-12	0.092	0.146	0.094	0.072
CT-19	0.089	0.004	0.061	0.060
GA-2	0.041	0.139	0.107	-0.126
GA-3	0.090	0.104	0.029	0.038
All	0.060	0.026	0.002	0.030

交係数Fis値が正であることから、少なくとも竹原市周辺3地点では近親交配が起こっている可能性が高い。また、Fst値が小さいことから、少なくとも竹原市周辺3地点のA

アマモについては遺伝的分化の程度は小さいと言える。

Population	S1	S2	S3
S1	*	0.002	0.146
S2	0.027	*	0.001
S3	0.006	0.038	*

近

4. まとめ

本研究では芸予諸島に生息するアマモについて焦点を当て、漂流アマモの分布調査と同時期の潮流調査、単年性アマモ群落の面積調査、竹原市周辺3地点のマイクロサテライト分析を行った。

その結果、以下のことが明らかになった。

1) 芸予諸島では、潮汐による海流に乗って広範囲にアマモの生殖株が散布される。

2) 生殖株の散布により、大規模アマモ群落周辺への種子供給が海域全体にわたって起こっている。諸島外周への供給も海流によりなされている。

3) 上記にもかかわらず、竹原市周辺3地点のアマモのマイクロサテライト解析の結果は、近親交配を示唆する結果となった。竹原市周辺3地点は主として生野島のアマモ場が種子供給先である可能性が高い。

4) 下蒲刈島天然藻場等で採取されるアマモのマイクロサテライト解析結果3)は、竹原3地点のアマモとは異なるため、種子供給先が異なるものと考えられる。

今後は、今回竹原市周辺3地点でのみ行ったマイクロサテライト分析を、芸予諸島全域で採取した漂流アマモについても同様に行い、種子移動と種子供給源のアマモ群落についてさらに検討する。

参考文献

1) 環境自然保護局, (財)海中公園センター, "第4回自然環境保全基礎調査 海域生物環境調査報告書(干潟, 藻場, 珊瑚礁調査)-藻場-, 2, pp.400, 1994

2) E Guichoux · S Wagner · P Chaumeil · P. Leger · O. Lepais · C. Lepoittevin · T Malausa · E Revardel · F Salin · RJ Petit, "Current trends in microsatellite genotyping", Molecular Ecology Resources, 11, pp.591-611, 2011

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2件)

杉本 憲司、中野 陽一、土田 孝、岡田 光正、浚渫土を利用した藻場生育基盤造成によ

る 藻場生態系の長期評価、土木学会論文集 B2(環境工学)、査読有、Vol.71,2015, pp1447-1452

Kenji Sugimoto, Yoichi NAKANO, Tetsuji OKUDA, Satoshi NAKAI, Wataru NISHIJIMA, Mitsumasa OKADA、Coexistence between *Zostera* marine and *Zostera japonica* in seagrass beds of the Seto Inland Sea、*Journal of Ecology and Environment*、Vol.41,査読有、2017、pp1-5

[学会発表](計2件)

杉本憲司、本廣一紗、伊藤達哉、笹本健生、中野陽一、奥田哲士、中井智司、西嶋渉、岡田光正、アマモ類の生育分布に及ぼす海底地盤高と陸上地形の影響、日本水環境学会、2015年09月14日~2015年09月16日、信州大学 長野キャンパス

中西 叶、青木 薫、日野 英壺、藤井貴敏、伊達 勇介、須崎 萌実、中野 陽一、Planar distribution of *Zostera marina* leaves drifted in the east central sea area of Geiyo islands and microsatellite analysis、日本化学会中国四国、2016年11月15日~2016年11月16日、香川大学幸町キャンパス

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

発明者：
種類：
番取得年月日：
国内外の別：
〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織 (1) 研究代表者

中野陽一 (NAKANO, Yoichi)
宇部工業高等専門学校、物質工学科、教授
研究者番号：10325152

(2) 研究分担者

杉本憲司 (SUGIMOTO, Kenji)
宇部工業高等専門学校、物質工学科、准教授
研究者番号 : 40634176

(2) 研究分担者

青木薫 (AOKI, Kaoru)
米子工業高等専門学校、物質工学科、准教授
研究者番号 : 40634176

(3) 連携研究者

研究者番号 :

(4) 研究協力者

藤井貴敏 (Fujii, Takatoshi)
米子工業高等専門学校、物質工学科、准教授