

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：38005

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25840152

研究課題名(和文) 南西諸島の沿岸生態系保全に向けた多重スケールにおける海産生物の動態解明

研究課題名(英文) Population dynamics of marine organisms on multiple scales for conservation of coastal ecosystems in the Nansei Islands

研究代表者

中島 祐一 (NAKAJIMA, Yuichi)

沖縄科学技術大学院大学・海洋生態物理学ユニット・研究員

研究者番号：50581708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：近年の環境変動や攪乱により個体群の減少が危惧される南西諸島の造礁サンゴについて、DNAマーカーを用いた分子系統解析と集団遺伝学的解析により、種多様性、遺伝的多様性、集団遺伝構造を評価した。さらに、遺伝子型から地点内での種の分布や繁殖特性を評価した。対象としたアザミサンゴ属、トゲサンゴ属、ハナヤサイサンゴ属において隠蔽種の存在が明らかとなった。さらに、遺伝的多様性と地点間遺伝的分化は属により異なり、有性生殖様式の違いや生息数などが影響している可能性がある。同じ種でも地点毎に繁殖特性が異なり、個体群形成時期や局所環境などが個体群の遺伝的構成に影響していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In recent years, coral populations in the Nansei Islands, Japan, have declined due to environmental changes and anthropogenic disturbances. Species diversity, genetic diversity, and genetic structure were evaluated using molecular phylogenetic analysis and population genetic analysis, based upon DNA markers for the genera *Galaxea*, *Seriatopora*, and *Pocillopora*. In addition, clonal distribution and reproductive characteristics were evaluated based on genotypes. Cryptic species were apparent in all three genera. Furthermore, genetic diversity and differentiation between sites differed by genus, and appeared to be influenced by reproductive mode and by population size and density. Clonal distribution differs for each location, even within the same species. The age of these populations and local environmental factors have affected their genetic compositions.

研究分野：集団遺伝学

キーワード：遺伝子流動 遺伝的多様性 隠蔽種 マイクロサテライト 南西諸島 保全遺伝学 クローン

## 1. 研究開始当初の背景

造礁サンゴは沿岸生態系であるサンゴ礁を構成する生物種として重要であるが、地球規模、地域規模の攪乱により生息が脅かされている。沿岸生態系の保全のためには、沿岸域に生息する生物の遺伝的多様性と遺伝的分化を集団遺伝学的解析から評価して、個体群の動態予測を行うことが必要である。南西諸島には400種ほどの造礁サンゴが生息するが、これまで遺伝的な解析が行われたのは、ミドリイシ属を中心としたわずかな種のみであった。さらに、近年の遺伝子解析から、造礁サンゴにおいては形態から種を見分けることが困難な場合も多く、適切な種多様性評価の必要性も生じていた。集団遺伝学的解析に別種が含まれた場合、遺伝的多様性と遺伝的分化を過大に評価してしまうことになる。

## 2. 研究の目的

本研究では、南西諸島全域を対象に遺伝マーカーを用いて、有性生殖様式や生息数などの特徴が異なる複数の属の造礁サンゴの集団遺伝学的解析を行った。種多様性、遺伝的多様性、および集団遺伝構造を評価して、さらに、地点内での種の分布や繁殖特性、遺伝的多様性の評価を行う。個体群の維持と回復に影響を及ぼす地理的要因や生物学的要因が何であるかを推定することにつながり、将来的に海洋保護区の設定や沿岸域に生息する生物の攪乱防止策を講じる上で有益である。得られた結果を、「種間スケール」「種内ラージスケール」「種内ローカルスケール」という多重スケールで包括的に考察する。

## 3. 研究の方法

### 3-1. 対象の造礁サンゴ種

本研究では、南西諸島に生息するアザミサンゴ属、トゲサンゴ属、ハナヤサイサンゴ属の分子系統解析と集団遺伝学的解析を行った。アザミサンゴ属は雌雄異体の放卵放精型サンゴで、刺胞の形態で2つのタイプに分けられることが知られている。さらにこの刺胞タイプはミトコンドリアDNA(mtDNA)タイプ(Lタイプ、Sタイプ)と関連していることが先行研究によりわかっている。トゲサンゴ属は幼生保育型のサンゴで、近年個体群が激減している種の一つである。日本ではトゲサンゴ、フトトゲサンゴ、*Seriatopora stellata*の3種が分布している。ハナヤサイサンゴ属は種によって有性生殖様式が異なり、日本には6種が分布しているが、近年の研究ではハナヤサイサンゴ属の種を形態から判別することが困難であることが知られ、mtDNAマーカーで種判別する方法が一般的になっている。

### 3-2. マイクロサテライトDNA(SSR)マーカーの開発と使用

次世代シーケンサーを用いて、アザミサンゴ属とハナヤサイサンゴ属のマイクロサテライトDNA(SSR)マーカー開発を試みた。集団遺伝学的解析に有効なSSRマーカーをそれぞれ11座と13座単離することができた。アザミサンゴ属のSSRマーカーはこれまで開発されていなかったが、ハナヤサイサンゴ属ではすでに開発されており、その中で14座有効であることも判明したため、計27座使用可能となった。トゲサンゴ属のSSRマーカーはオーストラリアですでに開発されており、本研究では7座使用することができた。

### 3-3. 分子系統解析及び多重スケールでの集団遺伝構造解析

南西諸島においてシュノーケリングまたはスキューバダイビングによりサンゴ片を採取し、エタノール中に保存した。DNA抽出キットを用いて、採取したサンゴ試料からDNAを抽出した。分子系統解析においては、mtDNAマーカーを用いた。集団遺伝学的解析においては、SSR領域を増幅することができるDNAプライマーを用いてPCR、DNAシーケンサーを用いてフラグメント解析を行い、地点毎の遺伝子型とその頻度を求めた。得られた遺伝子型からクローン多様度、遺伝的多様性を求め、さらに遺伝的分化係数の算出とベイズ法クラスタリングを行うことで、遺伝的分化と集団遺伝構造を評価した。これらの結果から調査域を選定して、地点内のクローンマップを作成することで繁殖特性を種間、地域間で比較するとともに、ローカルスケールでの個体群の動態解明を試みた。

## 4. 研究成果

### 4-1. 分子系統解析と集団遺伝構造にもとづく種多様性評価

沖縄県読谷村残波に生息する97群体のアザミサンゴ属を、開発した11座のSSRマーカーで解析した。その結果、多くのクローンが見られ(クローン多様度  $R = 0.17$ )、一斉産卵を介した有性生殖だけでなく破片分散による無性生殖も個体群の維持に貢献していることが示唆された。さらに、同所的に生息しているもののタイプ間で有意な分化が見られた。この2タイプは同一種として記載されているが、mtDNAマーカーを用いた先行研究の結果を支持するものであった。その他の海域では、mtDNAマーカーとSSRマーカーの両方から、未報告のタイプ(L+タイプ)も検出された。L+タイプは、LタイプやSタイプとは遺伝的に大きく分化していた。

幼生保育型のトゲサンゴ属はSSRマーカー

を用いたベイズ法クラスタリングで地理的距離に従わない3つの遺伝的タイプの存在が明らかになったが、mtDNAのハプロタイプと関連することが新たに分かった。さらに分子系統樹上では、3つのタイプのうち2つがトゲサンゴの形態であるにもかかわらず、遺伝的にフトゲサンゴグループに近いことも判明した。一方、フトゲサンゴのタイプの1つとトゲサンゴは遺伝的多様性の減少が見られ、近縁の群体間で同系交配が起こっている可能性も示唆された。

沖縄県宮古島の2地点で採取されたハナヤサイサンゴ属90群体を用いてmtDNAマーカーによる分子系統解析を行なった結果、7種と考えられる遺伝的タイプが検出された。27座のSSRマーカーによる解析でも、種間で明確な集団遺伝構造が見られ、分子系統解析の結果を支持した。しかし、2地点のうち1地点はほぼ1種類のタイプで占められていた。本研究でこれまで対象としてきたアザミサンゴ属やトゲサンゴ属と同様に、群体の形態から遺伝的グループに基づく種判別を行うことは困難であることが示された。加えて、これまで北西太平洋域では報告されていなかったタイプも見つかり、本海域でのサンゴの分類方法と種多様性の再評価が必要不可欠であることが示唆された。

#### 4-2. ラージスケールにおける造礁サンゴ個体群の遺伝的多様性と集団遺伝構造

南西諸島の17地点505群体のアザミサンゴのうち、289群体がLタイプ、205群体がSタイプ、11群体がL+タイプであった。タイプの比は地点毎に大きく異なっていたが、LタイプとSタイプのうち片方のタイプしか採取されなかった地点は1地点のみであった。また、Lタイプ、Sタイプどちらのクローン多様度も地点毎に大きく異なっており、緯度との相関は見られなかった。LタイプとSタイプのどちらの遺伝的多様性も、緯度が上がっても維持されていることが示された。11座のSSRマーカーのうち遺伝子型識別が容易な8座を用いた解析では、タイプ内の遺伝的分化はタイプ間の分化に比べて低かったものの、地域間でも有意な遺伝的分化が見られ、地域間では任意交配しておらず、主に地域内で個体群が維持されていることが判明した。

沖縄、慶良間、宮古、八重山の10地点のトゲサンゴ182群体を7座のSSRマーカーで解析した結果、遺伝的多様性が大きく低下した地点が見られたものの、個体群は主に有性生殖で維持されていた。また、典型的な放卵放精型の海産生物種とは異なり、数kmしか離れていない地点間で大きな遺伝的分化が見られた。トゲサンゴ属は幼生保育型のサンゴであり、産卵時には発達した幼生を放出するため、放卵放精型サンゴよりも幼生の分散期間が短い。さらに、南西諸島では生息数が少ないことも指摘されているため、地点間を

移動して定着できる幼生はまれであると推定された。つまり、トゲサンゴ属は地域個体群が絶滅してしまうと、回復の可能性が極めて低いと考察される。

#### 4-3. ローカルスケールにおけるサンゴ個体群の繁殖特性と個体群維持機構

南西諸島の3地点、奄美・国直、沖縄・残波、宮古・上野におけるアザミサンゴ属のローカルスケールでのmtDNAタイプとクローンの分布において、地点間で異なるパターンが見られた。国直では28群体中Lタイプが16群体、Sタイプが12群体で、LタイプとSタイプが地点内で同所的に分布していたものの、クローンが検出されず、生息する群体がそれぞれ異なる遺伝子型を保有していた。残波では89群体中Lタイプが28群体、Sタイプが61群体で、国直同様にLタイプとSタイプが同所的に広がっていたが、クローンが広範囲に広がっていた。一方、上野の48群体のうちLタイプが20群体、Sタイプが26群体、L+タイプが2群体でクローンの広がりも広範囲であったが、国直や残波と異なりタイプ間で住み分けが生じていた。この住み分けは生息環境が影響していると考えられるが、個体群の形成過程で偶発的に生じた可能性もあり、今後さらに研究を進めていく必要がある。

宮古島の2地点に生息するハナヤサイサンゴ属のうち、2地点両方で採取できた1タイプにおいては、地点間の集団遺伝構造も見られた。このタイプもトゲサンゴなどと同様に幼生保育型であることと個体群サイズが小さいことで、地理的に狭いスケールでも遺伝的な違いが大きいと考えられる。遺伝子型と採取群体数の割合から、このタイプは破片分散による無性生殖も行うと推定された。造礁サンゴではクローン群体同士の配偶子は受精しない場合が多く、生息群体数が増加しても個体群維持に貢献する幼生数が少ないために地点間での幼生加入が起こりにくい可能性も考えられる。

#### 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4件)

Nakajima Y, Nishikawa A, Iguchi A, Nagata T, Uyeno D, Sakai K, Mitarai S. Elucidating the multiple genetic lineages and population genetic structure of the brooding coral *Seriatopora* (Scleractinia: Pocilloporidae) in the Ryukyu Archipelago. *Coral Reefs* 36: 415–426. 2017. 査読有  
doi: 10.1007/s00338-017-1557-x

Nakajima Y, Zayas Y, Shinzato C, Satoh N, Mitarai S. Genetic differentiation and connectivity of morphological types of the broadcast-spawning coral *Galaxea fascicularis* in the Nansei Islands, Japan. *Ecology and Evolution* 6: 1457–1469. 2016. 査読有  
doi: 10.1002/ece3.1981

Nakajima Y, Shinzato C, Satoh N, Mitarai S. Novel polymorphic microsatellite markers reveal genetic differentiation between two sympatric types of *Galaxea fascicularis*. *PLoS One* 10: e0130176. 2015. 査読有  
doi: 10.1371/journal.pone.0130176

Shinzato C, Yasuoka Y, Mungpakdee S, Arakaki N, Fujie M, Nakajima Y, Satoh N. Development of novel, cross-species microsatellite markers for *Acropora* corals using next-generation sequencing technology. *Frontiers in Marine Science* 1: 11. 2014. 査読有  
doi: 10.3389/fmars.2014.00011

[学会発表](計 5 件)

中島祐一・井口亮・西川昭・長田智史・上野大輔・酒井一彦・御手洗哲司. 琉球列島のトゲサンゴ属の遺伝的グループと地点間分化. 日本サンゴ礁学会第 19 回大会. 2016 年 12 月 2 日. 沖縄県・那覇市

中島祐一. 琉球列島のサンゴの遺伝子流動と環境変動に関する最新の知見と予測. 日本サンゴ礁学会第 19 回大会自由集会「地質・化石が囁く琉球列島のサンゴ礁地形・生態系変遷史 2016」. 2016 年 12 月 1 日. 沖縄県・那覇市

Nakajima Y, Zayas Y, Shinzato C, Wepfer PH, Satoh N, Mitarai S. Population genetic analysis at various spatial scales of the broadcast-spawning coral, *Galaxea fascicularis*, in the Nansei Islands, Japan. 13th International Coral Reef Symposium. 2016 年 6 月 21 日. ホノルル(アメリカ合衆国)

中島祐一・井口亮・西川昭・長田智史・上野大輔・御手洗哲司・酒井一彦. 琉球列島のトゲサンゴ *Seriatopora hystrix* の遺伝的多様性と集団遺伝構造. 日本生態学会第 62 回大会. 2015 年 3 月 21 日. 鹿児島県・鹿児島市

中島祐一・新里宙也・座安佑奈・佐藤矩行・御手洗哲司. 南西諸島に生息するアザミサ

ンゴのタイプ間・地域間遺伝的分化と繁殖特性. 日本サンゴ礁学会第 17 回大会. 2014 年 11 月 29 日. 高知県・高知市

[産業財産権]

取得状況(計 1 件)

名称: Cross-species and intraspecies microsatellite markers for acropora corals

発明者: 新里宙也・Sutada Mungpakdee・中島祐一

権利者: 学校法人 沖縄科学技術大学院大学 学園

種類: 出願特許

番号: 20170058363

出願年月日: 2015 年 4 月 10 日

取得年月日: 2017 年 3 月 2 日

国内外の別: 外国(アメリカ合衆国)

6. 研究組織

研究代表者 中島 祐一 (NAKAJIMA, Yuichi)  
沖縄科学技術大学院大学・海洋生態物理学ユニット・研究員

研究者番号: 50581708