

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－オーストラリア研究交流）

1. 研究課題名：「石灰化大型海藻類の遺伝的多様性と地球規模環境変動に対する脆弱性に関する研究」
2. 研究期間：平成21年8月～平成24年3月
3. 支援額： 総額9,500千円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	川井浩史	神戸大学自然科学系先端融合研究環内海域環境教育研究センター	教授
研究者	羽生田岳昭	神戸大学自然科学系先端融合研究環内海域環境教育研究センター	助教
研究者	山岸隆博	神戸大学自然科学系先端融合研究環重点研究部	助教
研究者	栗原 暁	神戸大学自然科学系先端融合研究環内海域環境教育研究センター	研究員
研究者	孫忠民	神戸大学自然科学系先端融合研究環内海域環境教育研究センター	研究員
研究者	Ni-Ni-Win	神戸大学自然科学系先端融合研究環内海域環境教育研究センター	研究員
参加研究者 のべ 6名			

オーストラリア側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Carlos F. Gurgel	アデレード大学	研究員
研究者	John W. Runcie	シドニー大学生物科学部	連携研究員
研究者	Corey Bradshaw	アデレード大学	教授
研究者	Marty Deveney	南オーストラリア研究展開研究所	主任研究員
研究者	Tracey Spokes	アデレード大学	院生
研究者	Stephanie Papantoniou	アデレード大学	学生
参加研究者 のべ 6名			

5. 研究・交流の目的

本研究交流は主として熱帯・亜熱帯域に分布し、サンゴ礁の形成・保持に大きな役割を果たしている石灰化海藻類を対象に、その生物多様性と、異なる海水環境下での光合成能・成長特性の解析を行い、その生存性に関する生態系モデル構築を行うことを目的とする。

具体的には日本側の遺伝的多様性解析・室内培養に関する技術と、オーストラリア側の光合成測定・生態系モデル構築に関する技術を組み合わせ、海水のpH低下、CO₂上昇、昇温などの変化が石灰化海藻類に及ぼす影響について考察する。

日本とオーストラリアが交流を通じて相互的に取り組むことで、地球規模気候変動がサンゴ礁生態系に及ぼす影響に関する基礎的な知見が蓄積されることが期待される。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

(日本側の成果)

日本とオーストラリアの両海域に共通して分布する石灰質を沈着する海藻類のうち、紅藻ピロウドガラガラ属（特にナガガラガラ *Galaxaura rugosa*）、褐藻ウミウチワ属（特にウスバウミウチワ *Padina australis*）およびその近縁種について各地域集団の遺伝的多様性を解析し、これまでほとんど研究例のないサンゴ礁域における石灰化海藻類の遺伝的多様性（特に種間関係、種内の地理的構造）に関する多くの新たな知見が得られた。また、緑藻サボテングサ属（*Halimeda*）について、初めて日本沿岸に分布する種について遺伝子マーカーを用いた種同定を行い、オーストラリア沿岸と共通して分布する種を明らかにした。これらの研究成果については第6回 Asian Pacific Phycological Forum（韓国麗水、H23年10月）および日本藻類学会大会（富山、H23年3月）において発表し、それぞれの内容について英文原著論文として投稿準備中である。また、ウミウチワ属の遺伝的多様性に関する研究協力の過程で明らかになった、近縁属 *Lobophora* 属の生物地理および分類に関して、日豪研究者で共著の論文を発表した。

1) 紅藻ナガガラガラ（*Galaxaura*）地域集団の遺伝的多様性の解析



対象種の系統関係と集団間の遺伝的多様性を明らかにするために解析した遺伝子・遺伝子間領域のうち、種間レベルの比較には葉緑体 *rbcL* 遺伝子、集団内の比較にはミトコンドリア *cox1* 遺伝子と *cox2-cox3* 介在配列が有効であることが明らかになった。そこで、*cox1* 遺伝子部分配列（1,005塩基）を用いた解析の結果、日本、オーストラリア、コスタリカ産

ナガガラガラの単系統性が確認された。一方、ミトコンドリアおよび核マーカーを用いた解析から、ナガガラガラ集団内に遺伝的に異なる6系統（日本2、オーストラリア2、コスタリカ太平洋岸1、同国カリブ海岸2）の存在が示され、これら6系統間に種あるいは種分化しつつある系統群が混在することが明らかになった。

日本産ナガガラガラは、日本近海で分化したと考えられる固有集団（以後、日本固有集団と称す）と、現在のところ種子島だけで分布が確認され、台湾・フィリピンのものと近縁な南方系集団の2系統で構成されていることが示された。このうち日本固有集団は明瞭な遺伝的分化を示す地域集団から構成されていた。一方、オーストラリア集団は、グレートバリアリーフのある東海岸から西オーストラリア州中部にかけての同国熱帯・亜熱帯域に広く分布する系統と、西オーストラリア州中部、南西部のみに分布する系統で構成され、また両系統が西オーストラリア州 Ningaloo 付近で混ざり合っていることが明らかになった。

日本、オーストラリア、コスタリカ産ナガガラガラの遺伝的多様性および地理的構造を初めて示したが、日本固有集団内では、地理的距離が非常に近いにもかかわらず有意な遺伝的差異を示す地域集団の存在が示された。このような地理的構造は、海洋動物ウミホタル（貝形類）では報告があるが、日本沿岸に分布する海藻類で見つかったのは初めてである。本発見は、遺伝的分化を維持する機構（例えば島間の遺伝子流動の有無、隔離機構など）の解明に向けた興味深い研究課題になると考えている。興味深いことに、日本周辺の集団ではわずか数十キロ程度しか離れていない隣接する島ごとに顕著な遺伝的隔離（多様性）が認められるのに対してオーストラリア周辺では数百キロを超える大きな地理的な距離にもかかわらず顕著に小さな

遺伝的な違いしか見られない。

海藻類でこれまでに明らかになっている例（例えばコンブ類、ウミウチワ類、アオサ類など）では日本とハワイのように地理的に大きく離れた海域間で、地峡などによって隔てられていない場合、集団間の遺伝的多様性は比較的小さい。一方、ナガガラガラの日本周辺の集団ではその距離と比べて著しく大きいことから、かなり特異な現象である。これは、この種が石灰を含み海藻類としてかなり「重い」ことや生殖細胞が有性生を持たないことから、漂流や他の移動性の大きい生物への着生による分布の拡大が起こりにくいことに起因する可能性が考えられるが、一方、同種または近縁種のオーストラリア集団では比較的小さい。

いずれにせよ、これらの遺伝的な違いがそれぞれの個体や集団が持つ光合成などの生理的な機能の違いとある程度相関がある（すなわちルビスコなどの遺伝子間で多様性が大きい場合、機能的な遺伝子にもより大きな変異が認められる可能性がある）と仮定すると、このことから気候変動などによる生育環境の変化が起こった場合、海域間あるいは近縁種間でその変化に対する生存率の変化などに大きな違いが見られる可能性があることを示している。したがって、環境変動に伴う石灰化海藻の生存率の推定のためのモデル構築において、種ごと、または海域ごとの不均一性を考慮する必要があることが初めて明らかになった。

このような現象がガラガラ類に特徴的な現象なのかどうか、近縁の石灰化紅藻やサボテングサ類などの詳細な解析が待たれる。以上の研究結果は、日本・オーストラリアのサンゴ礁における石灰化海藻類の将来予測のためのモデル構築に必須なパラメータであり、当初の計画通りの成果が出ていると考えている。

その他の新知見として、ミトコンドリア *cox1* 遺伝子の部分塩基配列に基づく分子系統解析の結果から、奄美大島・徳之島産 *Galaxaura 'pacifica'* および小笠原産、オーストラリア産 *G. filamentosa* の分類学的再検討の必要性を明らかにした。

石垣島大浜産個体（平成 22 年 10 月 7 日に採集）から単藻培養株を確立し、神戸大学海藻類系統コレクション（KU-MACC）へ寄託した。

2) 褐藻ウミウチワ属 (*Padina*) の研究



日本・オーストラリアに共通して分布するウスバウミウチワ (*P. australis*) の遺伝的多様性を把握することを目的に、まず分子系統学的手法を用いて両国沿岸から得られた以下の標本の分子同定・形態観察を実施した：日本 13 地点（沖縄本島、石垣島、奄美大島、宮古島）計 375 標本、オーストラリア 5 地点（Ningaloo、Heron Island、Lizard Island、Sydney、Newcastle）計 209 標本。

葉緑体 *rbcL* 遺伝子部分配列（1,275 塩基）を用いた分子系統解析の結果、日本には、*P. ishigakiensis*、*P. minor*、*P. tetrastromatica* が広く分布することが示され、解析対象種である *P. australis* は宮古島と石垣島でのみ採集された。一方、オーストラリア産 *P. australis* は Heron Island でのみ分布が確認された。日本とオーストラリア産 *P. australis* の間では 3.74% の塩基置換がみられ、ウミウチワ類における種内変異としては大きな変異が見られた。このことから、近縁種 *P. ishigakiensis* との系統関係も絡めた分類の再検討が必要であることが明らかになった。

褐藻ウミウチワ属を使った解析により、ウミウチワ属ではオーストラリアにおいてこれまで報告のない 3 種（オキナワウミウチワ *P. okinawaensis*、モフィットウミウチワ *P. moffittiana*、新種 *Padina* sp.）の分布を新たに確認した。

3) 緑藻サボテングサ属 (*Halimeda*) の研究

サボテングサ類はサンゴ礁生態系を構成する最も重要な石灰化海藻類の1つである。オーストラリア側ではサボテングサ類の遺伝子マーカーを用いた分類に関する知見が蓄積されているが、日本産の種については形態に基づく分類情報しか存在しなかった。そこで、今後の遺伝的多様性解析の基礎となる、遺伝子マーカーを用いた種分類を確立し、両海域に共通して分布する種を明らかにするため、日本産サボテングサ類について系統分類学的研究を実施した。



南西諸島、小笠原諸島、本州太平洋沿岸などの約 50 地点から採集された約 600 標本をもとに、葉緑体 *tufA* 遺伝子部分配列 (772 塩基) を用いた解析と形態観察を実施した。その結果、11 種 (サボテングサ、ソリハサボテングサ、ヒロハサボテングサ、ヒメサボテングサ、ヒラサボテングサ、フササボテングサ、ミツデサボテングサ、“*H. cuneata*”、*H. discoidea*、*H. minima* (日本新産種)、*Halimeda* sp. (未記載種あるいは新種)) の分布を確認した。一方、西オーストラリア州 Rottneest Island で得られたサボテングサ属の標本 (14 点) は、分子系統学的解析の結果、形態的に *H. cuneata* と呼ばれる種であること、ただしこの “*H. cuneata*” は遺伝的に異質な複数の種の総称であるらしく、両国海域で見つかった “*H. cuneata*” が同一の種でない可能性が明らかとなった。

(オーストラリア側の成果)

二酸化炭素濃度の上昇、海水中の pH 低下、昇温が石灰化大型藻類へ及ぼす生態学的影響について検討するための室内培養設備を設計・設置し、この装置を用いて生理生態学的実験を行った。本実験には、藻体の形状、石灰化の程度、炭酸カルシウムの結晶構造、石灰沈着部位など、形態学的、生態学的、生理学的特性および系統的に異なるオーストラリア南部産の紅藻 3 種 (*Spongites hyperellus*、*Halitilon roseum*、*Ganonema codii*) を用いた。

その結果、これら 3 種の光合成活性は高 CO₂ 濃度、海水中の低 pH 条件下においても、現在の海洋における濃度・pH を模した対照実験環境下と同様に維持され、特に *H. roseum*、*G. codii* の 2 種に関しては高 CO₂ 濃度、海水中の低 pH 条件下においても有意な成長が見られた。これは、これまで熱帯産石灰化海藻を使った実験で報告されてきたことと異なる意外な結果であった。ただし *S. hyperellus* では、低 pH 条件下でバイオマスの低下や藻体の白化 (体表面の約 3 割) が観察された。

本実験の結果は、オーストラリア産温帯性石灰化紅藻では、昇温や海洋酸性化に対する影響が種によって大きく異なることを示しており、総体としては従来考えられてきたものよりも低くなる可能性を示唆していることから、対象種を広げた解析をさらに行う必要性が示された。

● 「相手国との協力による研究への相乗効果」の観点から

(日本側の成果)

オーストラリア側から提供された紅藻ナガガラガラを用いた解析により本種集団間の遺伝的多様性がより詳細に解析できるようになった。すなわち、オーストラリア産ナガガラガラにおいても遺伝的に分化した 2 系統の存在が明らかになり、第 1 の系統は、オーストラリア東海岸グレートバリアリーフ以北から西オーストラリア州中部以北まで、第 2 の系統は西オーストラリア州中南部のみの (亜) 熱帯域に分布域を持つものと推定された。Ningaloo は両方の系統が交じり合っている地域と考えられるが、ミトコンドリアマーカーだけでなく両性遺伝する核マーカーにおいても両系統が明瞭に区別されることから、Ningaloo では両系統間で遺伝子交流が妨げられ、現在種分化が起きかけている

状態にある可能性が示唆された。

(オーストラリア側の成果)

培養実験においては、室内における藻類の培養についての豊富な経験を持つ日本側の研究者がオーストラリア側の培養施設を訪問し、培養設備の設計、培養条件の設定、実験に使用する種の選定などについて助言を行い、これらを踏まえてオーストラリア側が培養実験の立ち上げを行った。

● 「当該研究の今後の展開見込、社会への波及効果」の観点から

- 1) 今回得られた石灰化海藻の遺伝的多様性の解析結果を踏まえて、種の多様性の再検討を進め、石灰化紅藻またはガラガラ類に特徴的な各地域集団間の遺伝的多様性の違いがどの系統群で認められるか、また高い遺伝的隔離が成立する要因がどのようなものであるかについて明らかにすることができると考えている。
- 2) 遺伝子マーカーによる解析結果と生理生態学的な実験結果を合わせて解析を行い、日本およびオーストラリアにおける石灰化する海藻類の生存に関する予想モデル計算を行い、その結果やサンゴ礁の将来予測について考察する予定である。これにより、地球温暖化などの大規模気候変動によりこれらの種およびサンゴ礁生態系が受ける変化の予測に関わる基礎的な知見が蓄積される。またこれらのモデルを適用することで、日本とオーストラリアに限らず、世界のサンゴ礁において起こりうる石灰化海藻類の変化についての予測が期待される。
- 3) 新たに浮上した分類学的研究課題への取り組みについて
 - オーストラリアで見つかったウミウチワ属の新種 *Padina* sp. について、豪州側の研究者と協力してさらなる標本採集と分布域の調査、生殖器官の観察などを行った後、国際的な専門誌へ論文を投稿する。
 - オーストラリア北西岸で見つかった2系統のナガガラガラが共存する分布の移行帯を確定し、両系統間の遺伝子交流の有無の確認を検討する。
 - 日本とオーストラリアに共通して分布するサボテングサ類を探索する。

6-2 人的交流の成果

日本側研究代表者・川井は平成21年10月にアデーレドを訪問し、オーストラリア側共同研究者全員と研究内容に関する打ち合わせを行った。また、平成22年3月と平成23年2月にシドニー及びパースにおいて現地研究者とともに現地調査を行った。

平成23年9月20日-22日に日豪ワークショップ「石灰質を含む海藻類の遺伝的多様性と生育環境の変化がその育成と分布におよぼす影響について」を神戸大学で実施した。ワークショップには日豪の本プロジェクト参加研究者（日本側4名・オーストラリア側3名）に加え、日豪の関連領域の研究者（神谷充伸・福井県立大学教授、寺田竜太・鹿児島大学水産学部准教授、Alan Millar・シドニー大学教授）および日本側の博士研究員、大学院生、学部学生が参加し、意見交流を行った。ワークショップは研究成果報告とその内容に関する議論に加えて、本プロジェクトにおいてオーストラリア側が光合成測定に用いた最新の機器、日本側で同様の目的で使用している機器のデモンストレーションと情報交換を行ったほか、合同での野外調査を淡路島において実施した。これらの機会を通して、今後の研究協力に向けた意見交換が行えたほか、関連分野に興味を持つ大学院生、学部学生の国際化に向けての教育的な効果も得られた。

本プロジェクト期間中にオーストラリア側で完成に至らなかった石灰化海藻類の生存に関する予測モデル構築を継続して実施する。その成果については日豪の研究者の連名で国際雑誌での論文発表を目指す。

石灰化海藻類の遺伝的多様性研究を通じて新たに浮上した分類学的研究課題に関して、日本とオーストラリア研究者が研究協力を継続する。具体的には、紅藻ナガガラガラのオーストラリア産2系統が混ざり合う地域の境界線の決定、遺伝的に分化した地域集団の分化の維持機構の解明（2系統間の遺伝的交流の有無の確認）；褐藻ウミウチワ属についてはLizard Islandで発見された新種（*Padina* sp.）の新種記載；緑藻サボテングサ属については日本とオーストラリアに共通する種類の探索などである。

7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手国側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	<ul style="list-style-type: none"> ・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、出願番号、出願人、発明者等 	備考
論文	Sun, Z.-M., Hanyuda, T., Lim, P.-E., Tanaka, J., Gurgel, C.F.D., Kawai, H. Taxonomic revision of the genus <i>Lobophora</i> (Dicytiales, Phaeophyceae) based on morphological analyses and <i>rbcL</i> and <i>cox3</i> gene sequences. <i>Phycologia</i> . 53: in press (2012)	共著論文