

アロザイム解析による中海の残存アマモ群落の 繁殖特性の検討

荒木 悟¹・國井秀伸¹

Allozymic study on the reproductive traits of a remaining *Zostera marina* population in Lake Nakaumi, Japan.

Satoru Araki¹ and Hidenobu Kunii¹

Abstract: The reproductive trait of *Zostera marina* population in Lake Nakaumi was studied by the use of allozyme analysis. The studied population is one of the remaining seagrass beds in Lake Nakaumi. Among nine loci analyzed, Pgm-1 showed two alleles (a and b) while other eight were monomorphic by the fixation of single allele. Among 26 leaf samples analyzed, 21 indicated genotype ab (heterozygotes) and 5 were genotype bb (homozygotes). No sample was genotype aa. The frequency of heterozygotes was significantly higher than the expected value in the Hardy-Weinberg equilibrium. This suggests the population has been maintained mainly by clonal growth (vegetative reproduction). Because each of the samples was collected from different growth patch, the result also suggests that patches were formed not only by seed dispersal but also by clonal spread or dispersal of vegetative shoots.

Key words: allozyme; clonal growth; Lake Nakaumi; seagrass bed; *Zostera marina*

はじめに

アマモ等の海草や、ホンダワラ等の海藻が繁茂する海域は、一般に藻場と呼ばれ、漁場として古くから利用されている。藻場には、内湾などの砂泥質の浅場に発達するアマモ場や、岩場に発達するガラモ場、アラメ場などがある。コンブ・カジメ類が繁茂する場所は、海中林とも呼ばれる(横浜, 2003)。これらの藻場は、魚類、甲殻類、貝類などの様々な生物の生活、産卵の場として利用され、また、海草、藻類が枯死した後の残骸は、海浜、沿岸域の小動物、微生物の腐食連鎖に利用される。そのため、藻場は、沿岸生態系の生物群集の重要な基盤となっている(den Hartog, 1970; 川崎, 2003; Nakaoka, 2005)。

島根県の中海では、1950年代まで、沿岸の広い範

囲がアマモ場だった(平塚, 2004)。中海のアマモ場は、弓ヶ浜半島周辺の干拓、航路の浚渫による生育場所の消失などの影響で減少し、現在、境港市外江(とのえ)町の沿岸などに、小規模な群落が残存する。中海のアマモ場を回復するには、アマモが生育可能な砂泥質の浅場の再生と水質の改善に加え、種子、または、草体(以下、シュートと呼ぶ)の移植が必要と考えられる。外江町などの残存群落は、中海の環境に適した遺伝的性質を保持していると考えられるため、中海のアマモ場の回復を進める上で、種子、およびシュートの供給源として重要である。また、群落を保全し、拡大を促進するためには、その生態的特徴の理解が必要である。

瀬戸内海や浜名湖などの一部では、冬にシュートが消滅し、種子だけが越冬する一年生のアマモ個体

¹ 島根大学汽水域研究センター Research Center for Coastal Lagoon Environments, Shimane University

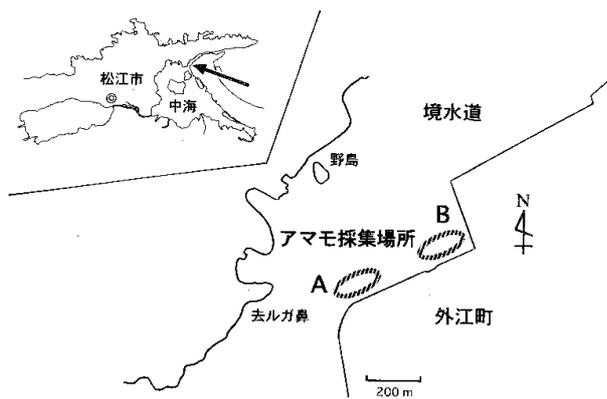


図1. 調査地。

Fig. 1. Study site. Two areas (A and B) in which leaf samples of *Zostera marina* were collected are indicated.

群が知られている(鷺山ほか, 2002)。しかし、ふつう、アマモは多年生であり、地下茎を伸長して新たなシュートを形成するクローン成長によっても繁殖する。この場合、新たに形成されるシュートは、元のシュートと遺伝的に同一なクローンである。同じクローンに属するシュートをまとめてジェネットと呼ぶ。

本研究では、外江町のアマモ個体群を対象にアロザイム解析を行ない、この群落は、どのように繁殖、存続しているか検討した。外江町沿岸の個体群は、冬の間もシュートが見られるので明らかに多年生である。しかし、種子とクローン成長の両方でシュートが作られているのか、それともシュートは主にクローン成長で作られ、種子に由来するものはごく一部なのか、あるいはその逆かといった、繁殖の具体的な特徴は理解されていない。自然状態での分布の拡大速度や、浚渫、土砂の流入などの攪乱が生じた場合の個体群の回復力は、その個体群がどのように繁殖するかによって大きく変わってくる。そこで、中海に残存する個体群を対象に、アロザイム解析を行ない、その繁殖特性を検討した。

方 法

アロザイム解析は、細胞が生産する酵素の対立遺伝子と遺伝子型の頻度から、生態、進化を推定する手法である。植物生態学では、交配様式、雑種の推定、集団間の遺伝的交流、地理的変異の解析などに利用される(Soltis and Soltis, 1989; 工藤・嶋村, 2005)。

外江町の群落が広がる水域の南岸に沿って、分析用の葉の採集を行なった(図1)。外江町のアマモ群

落は、様々な大きさのパッチ(シュートがある範囲にまとまって生育する状態)からなり、小型のパッチは数十cm四方、大型のものは数m四方に及ぶ。小型のパッチは、シュート同士が地下茎でつながった同一のクローンの可能性がある。今回は、なるべく群落全体の遺伝的組成を解析するため、岸辺に分布する各パッチから1枚ずつ葉を採集した。群落南岸の西側3分の1(図1の領域A)で12枚、東側3分の1(領域B)で14枚、そして中央の3分の1の領域(AとBの間)は岸辺にパッチが殆どなかったために1枚、合計27枚の葉を採集した。

葉は乾燥しないように持ち帰り、Soltis et al. (1983) および Araki and Kadono (2003) の方法によって、シキミ酸脱水素酵素(SkD)、リンゴ酸脱水素酵素(MDH)、グルコースリン酸イソメラーゼ(PGI)、6-ホスホグルコン酸脱水素酵素(6PG)、アルコール脱水素酵素(ADH)、ホスホグルコムターゼ(PGM)の6種の酵素を分析した。これらの酵素の電気泳動パターンから、複数の対立遺伝子の存在が示された遺伝子座について、以下の2点を検討した。

(1) 領域Aと領域Bの間で、対立遺伝子頻度を比較した(Fisherの正確確率検定)。これによって、二つの領域の間で、花粉のやり取り、種子の分散といった遺伝的交流が制限され、分断化が生じているかどうかを検討した。

(2) ホモ接合体とヘテロ接合体の頻度を、Hardy-Weinberg平衡(HW平衡)の場合の期待頻度と比較した(G検定)。HW平衡は、全個体がランダム交配に由来すると仮定したときの遺伝子型頻度である。これによって個体群の繁殖特性を検討した。HW平衡の場合の期待頻度は、全体のサンプル数が少ないため、Leveneの式によって算出した(根井, 1990)。検定は、各遺伝子型の頻度をホモ接合体とヘテロ接合体にまとめて行ない、Williamsの方法によるG値の修正を行なった(Sokal and Rohlf, 1995)。

結 果

解析の結果、Mdh-1, Mdh-2, Mdh-3, Pgi-1, Pgi-2, 6pg, Adh, Pgm-1, Pgm-2の、9遺伝子座の酵素活性が検出された。SkDの活性は検出されなかった。活性が検出されたもののうち、Pgm-1以外の8つの遺伝子座については、対立遺伝子の変異がなく、27サンプル全てについて単型だった。一方、Pgm-1には2つの対立遺伝子(a, b)があった。領域Bで採集した葉のうち1枚は、PGMの酵素活性が失

表 1. 外江町アマモ個体群の Pgm-1 各遺伝子型の頻度と HW 平衡での期待頻度.

Table 1. The detected and expected genotype frequencies of Pgm-1 in the *Zostera* population at Tonoe.

遺伝子型 Genotype	観測頻度 Detected	期待頻度 Expected
aa	0	4.1
ab	21	12.8
bb	5	9.1
Total	26	26

われていたため、解析できたのは、領域 A で 12 シュート、領域 B で 13 シュート、その間で 1 シュートの、合計 26 シュートである。

領域 A の 12 シュートと中央の 1 シュートは、全て遺伝子型が ab のヘテロ接合体だった。領域 B の 13 シュートのうち、5 シュートは bb のホモ接合体、8 シュートは ab のヘテロ接合体だった。今回分析した 26 シュートの中に、遺伝子型が aa のホモ接合体は見られなかった。

対立遺伝子頻度は、領域 A は、a, b とともに 0.50、領域 B は、a が 0.31, b が 0.69 だった。Fisher の正確確率検定の結果、二つの領域間の対立遺伝子頻度の差は有意ではなかった ($P > 0.05$)。

26 シュート中のホモ接合体とヘテロ接合体の頻度、および、HW 平衡の場合の期待頻度を表 1 に示す。G 検定の結果、外江町の個体群は、HW 平衡に比べて、有意にヘテロ接合体の割合が多く、ホモ接合体が少ないことが判った ($G = 10.96$, $df = 1$, $P < 0.005$)。

考 察

1. 繁殖様式

外江町のアマモ群落は、岸沿いのパッチの分布は途中で途切れているものの、対立遺伝子頻度は領域 A と B の間で有意な差は無かった。よって、この個体群が東西に分集団化し、互いに独立して存続しているという傾向は示されなかった。

個体群全体で見ると、Pgm-1 の遺伝子型は、明らかにヘテロ接合が多かった。通常、ヘテロ接合体の過剰は、種子からの定着が少なく、かつ、ヘテロ接合体のジェネットがクローン成長で広まった場合に生じる。よって、外江町のアマモ群落は、種子ではなく、主にクローン成長で存続していると考えられる。ただし、ab, bb といった遺伝子型の変異があっ

たことから、群落全体は、単一ではなく、複数のジェネットを含むと考えられる。また、ヘテロ接合体だけに限っても、全てが同じジェネットのクローンとは限らない。

クローン成長で存続する個体群は、遺伝的な性質の多様性に乏しいため、有性繁殖（この場合は種子繁殖）で存続する個体群に比べて環境の変化に弱いと言われることがある。しかし、遺伝的な性質の違いに応じたジェネットの存続/消滅を引き起こすような環境の変化が、自然界で実際にどのくらい生じているかということは、必ずしも理解されていない。そういった環境の変化が生じなければ、個体群がクローン成長によって長期間存続することはあり得る。実際、アマモでは、同じジェネットが数十年～数百年存続していると推測される例が知られている (Reusch et al., 1998; 1999)。

2. 繁殖様式とパッチ形成の関係

全サンプルを異なるパッチから採集したにも関わらず、その遺伝的組成にクローン成長による増殖の効果が見られたことから、次の 3 つの可能性が示唆される。

- (1) 一つのジェネットからなる小型のパッチが、クローン成長によって複数の方向に拡大し、間の古いシュートが枯死することによって、互いに離れたパッチを形成してきた。
- (2) 元々はパッチ状の分布ではなく、少数のジェネットからなる連続したアマモ場が広がっていたが、何らかの攪乱によって群落の細分化が生じ、現在みられるように小型のパッチが散在する状態になった。
- (3) 何らかの理由で、地下茎での他のシュートとの連結が切れたシュートが漂流し、流れ付いた所で再び埋もれて定着し、新たなパッチが形成されてきた。

種子以外のシュート部分の分散とその定着は、アマモでは詳しく知られていないが、他の海草で報告、または示唆されており (Waycott and Barnes, 2001; Campbell, 2003)、海草の分布拡大の一つの方法と考えられる。ただし、もし分散と定着が頻繁に生じていれば、パッチの周辺のあちこちに、単独のシュート、または数本のシュートだけからなるシュート群が散在するはずである。外江町アマモ群落は必ずしもそうなおらず、シュート部分であれ、種子であれ、分散によるパッチの形成は頻繁ではないと考えられる。

3. まとめと保全上の問題

以上から、外江町のアマモ個体群は、全体が同一のクローンではないものの、その存続にはクローン成長が大きく寄与しており、現在みられるパッチ状分布の形成にも、種子だけでなく、クローン成長が関与していると考えられる。

また、種子からの定着が少ないと考えられることから、大規模な土砂の流入や浚渫などの攪乱があった場合、群落の回復に時間がかかると予想される。このような攪乱が生じないように保全するべきである。また、この場所で種子からの定着が少ない理由として、(1) この群落の水域に、種子の発芽、または、その後の成長を阻害する何らかの要因がある、(2) 群落が小規模すぎて、生産された種子が殆ど流出してしまっているという二つの可能性が考えられる。もし(1)であるとするれば、中海のアマモ場の再生を進める上で、外江町の水域環境を参考にするのは必ずしも最善ではないということになる。種子からの定着率は、波浪、底質などの条件で変化するため(van Katwijk and Wijgengangs, 2004)、なるべく種子からの定着が生じやすい条件の場所を創出する注意が必要である。

引用文献

- Araki, S. and Kadono, Y.(2003) Restricted seed contribution and clonal dominance in a free-floating aquatic plant *Utricularia australis* R. Br. in southwestern Japan. *Ecol. Res.*, 18: 599–609.
- Campbell, M. L.(2003) Recruitment and colonization of vegetative fragments of *Posidonia australis* and *Posidonia coriacea*. *Aquat. Bot.*, 76: 175–184.
- den Hartog, C.(1970) *The sea-grasses of the world*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 273 pp.
- 平塚純一 (2004) 1960年以前の中海における肥料藻採集業の実態. *エコソフィア*, 13: 97–112.
- 川崎保夫 (2003) 海草群落 (アマモ場) の機能と修復・創生. *海洋と生物*, 145: 85–91.
- 工藤洋・嶋村良治 (2005) 湿原における種子の水散布. : 草木を見つめる科学. (編) 種生物学会. pp.183–204. 文一総合出版, 東京.
- Nakaoka, M. (2005) Plant-animal interactions in seagrass beds: ongoing and future challenges for understanding population and community dynamics. *Popul. Ecol.*, 47: 167–177.
- 根井正利 (1990) 分子進化遺伝学. 培風館, 東京, 433 pp.
- Reusch, T. B. H., Stam, W. T. and Olsen, J. L. (1998) Size and estimated age of genets in eelgrass, *Zostera marina*, assessed with microsatellite markers. *Mar. Biol.*, 133: 519–525.
- Reusch, T. B. H., Bostrom, C., Stam, W. T. and Olsen, J. L. (1999) An ancient eelgrass clone in the Baltic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 183: 301–304.
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1995) *Biometry*. 3rd ed. Freeman and Co., New York, 887 pp.
- Soltis, D. E., Haufler, C. H., Darrow, D. C. and Gastony, G. J. (1983) Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *Am. Fern J.*, 73: 9–27.
- Soltis, D. E. and Soltis, P. S. (eds.) (1989) *Isozymes in plant biology*. Discorides Press, Portland, 268 pp.
- van Katwijk, M. M. and Wijgengangs, L. J. M. (2004) Effects of locally varying exposure, sediment type and low-tide water cover on *Zostera marina* recruitment from seed. *Aquat. Bot.*, 80: 1–12.
- 鷲山裕史・吉川康夫・永谷隆行・石渡達也 (2002) 浜名湖におけるアマモの分布について. 静岡県水産試験場研究報告, 37:37–40.
- Waycott, M. and Barnes, P. A. G. (2001) AFLP diversity within and between populations of the Caribbean seagrass *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae). *Mar. Biol.*, 139: 1021–1028.
- 横浜康継 (2003) 海の森と地球環境. *海洋と生物*, 145: 80–84.