

氏名(本籍)	伊藤知子(新潟県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第6114号
学位授与年月日	平成24年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	<b>Genetic Structure of <i>Ecklonia cava</i> (Phaeophyceae, Laminariales) Populations Revealed by Microsatellite Polymorphism</b> (褐藻綱コンブ目カジメのマイクロサテライトによる集団構造解析)

主査	筑波大学教授	理学博士	稲葉一男
副査	筑波大学教授	理学博士	濱健夫
副査	筑波大学教授	博士(理学)	石田健一郎
副査	東北大学准教授	博士(理学)	青木優和

### 論文の内容の要旨

カジメは褐藻綱コンブ目の大型多年生海藻で、日本の中部から南部の沿岸に海中林と呼ばれる密な群落を構成している。海中林は多くの沿岸生物の生息場所や産卵基質となり、沿岸の水産資源保護のためにも生物多様性保全のためにも重要であると認識されている。最近、日本沿岸の海中林面積は顕著に減少しており、これを補うために多くの藻場修復の試みが行われてきた。カジメについても投石や藻礁の設置、植林などを始めとする多くの試験研究が行われてきたが、これらは主に経験値に基づくものであり、カジメの分散能や個体群の拡大力を遺伝的に解析した結果を踏まえての研究はほとんどなかった。

本学位論文は、下田臨海実験センター周辺に調査地点を設け、まず褐藻綱コンブ目カジメの分布調査を行った。具体的には、初齢個体、2歳以上の個体、および全個体についての分布を調べた。それぞれ平均値と分散値をもとに(分散値/平均値)により空間分布解析を行った。その結果、初齢個体は明らかな集中分布を示すが2歳以上では一様分布となり、全個体を含めるとランダム分布になることが分かった。この結果から、遊走子着底が集中的に生じ、その後の成長と競争で個体間の間置きが生じることが示唆された。

次に、このような分布を可能とするカジメの分散や繁殖戦略を知るために、遺伝マーカーの開発を行った。多型性の高い遺伝マーカーであるマイクロサテライトを用いた集団解析が行うことができれば、より正確にカジメの分散過程を知ることができる。また、遺伝的多様度の保全という観点や、海中造林の際の効果的な植林密度や造成個体群の維持方法を知るためにも、その開発は極めて重要である。しかしながら、多量の多糖類の含有によるDNA抽出の難しさ、マイクロサテライトプライマー開発の難しさなどの要因が妨げとなり、これまで遺伝子解析による集団構造の解明が全く試みられていなかった。本学位論文では、マイクロサテライトマーカーの開発とそれを用いた集団構造解析を行った。

カジメ葉片からCTABおよびISOPLANR IIを用いてDNA抽出を行い、それを用いてマイクロサテライトプライマーのスクリーニングを行った。スクリーニングには、マグネティックビーズを用いる方法と、レポーターゲノムを用いる方法を併用した。可能なプライマー領域を絞り込んだ結果、前者および後者の方法で共に6種類ずつ、合計で12種類デザインした。これらのプライマーを用いて、天然個体群の集団構造解析を

試みた。区画内の全長 10 mm 以上の 256 個体から、付着物の無い若い葉片を切り取り、DNA を抽出後、9 個のマイクロサテライトプライマーを用いて PCR 増幅断片の比較解析を行った。その結果、全個体の総当たりの近交係数から、親個体に近いほど近交係数が高く、親個体からの距離が離れるにしたがって値は急激に低下し、2 m でほぼ 0 になることが明らかになった。このことから、近親個体はきわめて近距離に着生していることが示唆された。区画内からは初齢幼体の親も特定されており、空間構造解析の結果と合わせて考えると、同じ親を起源としてごく近隣から流れてきた遊走子群がパッチ状に着底するという結果が得られた。

## 審査の結果の要旨

大型海藻は、沿岸生物の生態系を維持す上で極めて重要である。しかしながら、大型海藻の分布や繁殖戦略に関する遺伝マーカーを用いた研究はなく、将来の海中造林や環境保護という観点でも、そのような研究が待ち望まれていた。本学位論文では、まず一定区域における褐藻類カジメの分布調査を行った。さらに、その生態における親子関係や繁殖戦略を知る目的で、同種におけるマイクロサテライトプライマーの開発を行い、有効なマーカーの開発に成功した。開発したプライマーのいくつかを用いた研究により、近親個体が自然界で存在することをはじめて明らかにした。また、それら近親個体がきわめて近距離に着生していることと、区画内に初齢幼体の親が存在することを明らかにした。この結果と空間構造解析の結果を照らし合わせ、同一親に由来する遊走子群が極めて近くにパッチ状に着底して新たな個体群を形成することを示唆する結果を得た。本研究は、大型海藻である褐藻類カジメではじめて遺伝マーカーを開発した点、さらにそれを用いて自然界でのカジメの空間分布と親子関係を明らかにした点で、極めて独創的である。本研究の成果により、今後、カジメの集団構造をさらに詳細に知ることができる他、異なる環境に生育する他の海域にカジメについての集団構造解析や、近縁のアラメやクロメなどのケルプ類についての解析も期待される。さらに本研究は、磯焼けや震災による沿岸の回復、将来的な遺伝的多様性の保全といった分野にも応用されうる重要な研究成果である。総じて、以上の一連の研究で得られた知見は、海洋生態学において新規かつ極めて重要である研究成果である。

平成 24 年 1 月 24 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。