

研究助成 平成24年度 報告書

財団法人 黒潮生物研究財団
理事長 深田 純子 殿

作成日のみ記入して下さい

作成日 平成25年 3 月 8 日
受領日 平成25年 月 日

貴財団の研究助成により、下記の成果を上げましたので報告いたします

助成者対象者氏名(ふりがな)	式場 はるか (しきば はるか)
----------------	------------------

学生の方はこちらに記入してください

学校名	琉球大学	学部 学科 講座 等	理工学研究科 海洋自然科学専攻
学 年	博士前期課程2年	区 分	卒研・ 修研 ・博研・その他 ()
指導教官 氏 名	James Davis Reimer	指導教官の所属・職	亜熱帯島嶼科学超域研究推進機構・特命准教授

一般の研究者の方はこちらに記入してください

所属		職名	
最終学歴		学位等	

研究課題名	黒潮流域に生息するイソバナ類の多様性の解明
助成を受けた研究内容について、学会等での発表、学術誌等への公表を行った場合には、下欄にその内容（講演の場合：学会名、期日、タイトル、発表者名等、著作の場合：著者、発行年月、タイトル、雑誌名等）を記入して下さい	

研究の内容(研究成果)報告書の作成要領

- 研究成果をA4の用紙1枚にまとめて下さい。1枚に収まらないときはご相談下さい。
- 言語は日本語とします
- 1行目に研究課題名、2行目に研究の実施者名(助成対象者名に○印をつける)を記入してください
- 以下は図表、テキスト等、自由にレイアウトして結構です
- 報告書は、一太郎2013、花子2013、MS-Word 2010、MS-Excel 2010、MS-PowerPoint 2010等で表示可能なファイル、またはPDF形式、JPG形式等、一般的なフリーソフトで表示および印刷可能なファイルでお送り下さい。
- 特殊なフォントを使用される場合は、埋め込んで下さい
- 成果報告書は当財団のホームページ等に公表しますので、著作権やデータの取り扱い等には十分ご注意下さい
- 報告書(この紙と成果報告書の2枚)は、出力したものを郵送した上で、ファイルを電子メールまたはCD等の媒体に納めてお送り下さい
- 提出期限は平成25年3月15日とする

イソバナ科は、花虫綱八放サンゴ亜綱ウミトサカ目に属する底生無脊椎動物である。日本では伊豆半島以南から 4 属 14 種が報告されているが、専門家による調査は伊豆半島と沖縄島周辺でしか行なわれておらず、国内における分布調査は十分とは言い難い。その原因は、イソバナ科の種判別に有用な分類形質が明確にされておらず、種判別が非常に困難だからである。そこで本研究では、先行研究によって単系統性が支持されたイソバナ科 *Melithaea* 属に焦点をあて、種レベルでの分子系統解析を試み、その結果に基づいて有用な分類形質を検討した。さらに、伊豆と沖縄の中間地点である高知沿岸で *Melithaea* 属の分布状況を調査し、黒潮流域における *Melithaea* 属の多様性の解明を試みた。

高知沿岸の 11 地点から採集した *Melithaea* spp. 20 標本、および琉球列島から採集した 26 標本について、DNA を抽出した後、PCR 法によって核の ITS-rDNA (internal transcribed spacer of ribosomal DNA) 領域、28S-rDNA (28 large subunit ribosomal DNA) 領域を増幅した。得られた配列について、近隣結合法 (Neighbor Joining)、最尤法 (Maximum Likelihood) による分子系統樹を作成した。群体の外部形態については、群体先端部の枝の分岐角度を測定した。共肉部の骨片の形態については、先行研究に基づいて 4 つのタイプ (capstan、unilaterally spinose spindles、spindles、clubs) に分別し、それぞれの骨片タイプの組成および長さを調べた。

分子系統解析の結果、ITS-rDNA の系統樹では 4 つのクレード、*Melithaea* A (NJ=74%, ML<50%)、*Melithaea* B (NJ=56%, ML=58%)、*Melithaea* C (NJ=98%, ML<50%)、*Melithaea* D (NJ=100%, ML=100%) が得られた (図 1)。高知沿岸と琉球列島から採集された *Melithaea* spp. は、各クレード内に混在した。先行研究に基づき、群体の外部形態および骨片の形態によって種同定を行ったところ、*Melithaea* A、B、C と *Melithaea* D の一部は *Melithaea ochracea* (オオイソバナ) に同定された。Houzaki2 (*Melithaea* D) はいずれの既記載種にも同定されなかった。今回は ITS-rDNA の系統樹で 70%以上のブーツストラップ値で支持された *Melithaea* A、C、D に基いて形態の比較を行った。標本の形態を統計的に比較、検定した結果、枝の分岐角度について *Melithaea* A が C、D よりも有意に小さかった。骨片の形態では、capstan の長さについて、*Melithaea* A が他クレードに比べて有意に小さかった。Unilaterally spinose spindles、spindles、clubs の長さについては、*Melithaea* D が他クレードに比べて有意に大きかった。

これらの結果から、*Melithaea* A、C、D はそれぞれ別種であり、枝の分岐角度および骨片の長さは系統を反映した形質であると考えられる。枝の分岐角度は過去に分類形質として用いられており、琉球列島では、群体先端部の枝の分岐角度でオオイソバナと区別されるリュウキュウイソバナ (*Melithaea* sp.) が生息すると言われていた (西村、1992)。枝の分岐角度によって種同定を行えば、*Melithaea* A がリュウキュウイソバナ、*Melithaea* C または *Melithaea* D がオオイソバナと判断される。この種同定を明確にするためには、原記載標本との比較を行うなど分類学的精査が必要である。また先行研究において、国内の黒潮流域から報告されている *Melithaea* 属は 8 種であった。本研究によりその内の 1 種、オオイソバナには複数種が含まれる可能性が示され、*Melithaea* 属の種多様性が従来よりも高いことが示唆された。

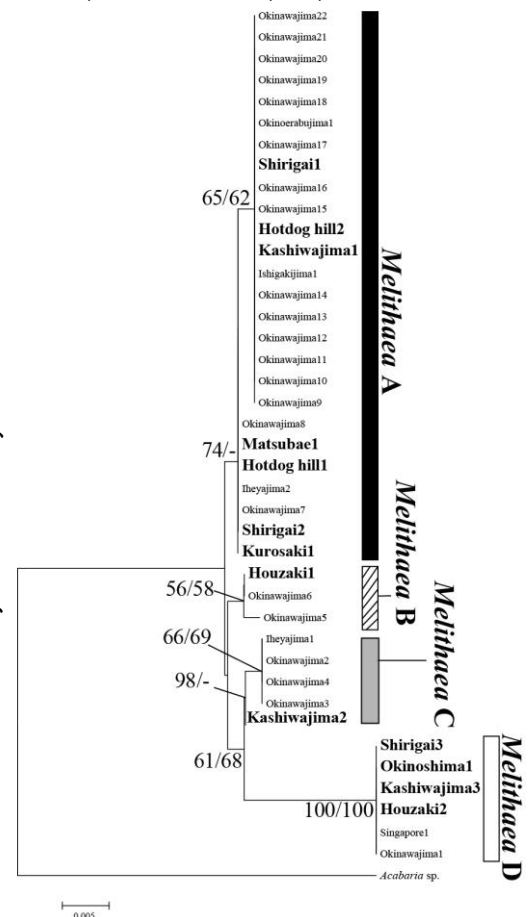


図 1. 近隣結合法による ITS-rDNA 系統樹。ブーツストラップ値 (>50%) を枝の根元に示した (NJ/ML)。高知沿岸域から採集された標本は太字で示した。外群はイソバナ科 *Acabaria* 属。