

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19380116

研究課題名 (和文) 有害・有毒渦鞭毛藻の個体群における遺伝的分化と遺伝子交流に及ぼす要因の解明

研究課題名 (英文) Elucidation of the factors which influence genetic differentiation and gene flow in populations of harmful algal bloom causing species

研究代表者

長井 敏 (NAGAI SATOSHI)

水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所・主任研究員

研究者番号：80371962

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：プランクトン・個体群構造

### 1. 研究計画の概要

近年、本申請者の研究グループでは、複数の有害・有毒プランクトンについて高度多型を有するマイクロサテライトマーカーの開発に成功し、各種個体群の遺伝的多様性などについての解析を進めてきた。その結果、個体群構造は種によって大きく異なることが明らかになってきた。本課題では、*Heterocapsa circularisquama*、*Alexandrium tamarense*、*A. catenella* (3種) の有害・有毒プランクトンについて、各個体群内における遺伝的多様性、個体群間の遺伝的類似性、遺伝的分化、地理的類縁性の検討を行い、1) 遺伝子型のデータベース化、2) 遺伝子流動に及ぼす自然及び人為的要因の影響解明、3) 個体群における遺伝的構造の経年変動の解明、4) 種間で見られる遺伝的多様性、集団分化や遺伝子流動の程度などの差から、各種個体群の遺伝的構造に影響を及ぼす要因 (生物学的要因、環境要因、人為的要因) を解明する。

### 2. 研究の進捗状況

(1) *A. tamarense* については、広島湾、大阪湾、三重県英虞湾、仙台湾、北海道 (噴火湾、苫小牧、浦賀)、ロシアのアニヤ湾の海水及び海底泥サンプルから単離したクローン培養株 (合計 363 株) について、8 個の MS マーカーを用いて分析を行い、以前、解析を実施した 485 株のデータと合わせて解析した (合計 848 株)。*A. tamarense* の集団遺伝構造において、遺伝距離と地理的距離の間には、有意な正の相関関係が認められ、また、約半分のペア個体群間で有意な遺伝的分化

が見られた。これらの結果は、基本的に本種の地方集団は遺伝的に分化しており、混合がほとんどないことを示す。一方で、地理的に 1,000km も離れた仙台・大船渡-広島湾・広島県呉湾の個体群は、有意な遺伝的分化は見られず、むしろ遺伝的な類似 (遺伝子流動) が検出された。おそらく、カキ種苗の大規模な移植に伴う本種の移送過程があることを示唆する。

(2) *A. catenella* については、日本沿岸 8 地点、台湾沿岸 3 地点、フランス地中海沿岸 1 地点の海水および海底泥から単離したクローン培養株 (合計 752 株) について、8 個の MS マーカーを用いて、集団遺伝学的解析を行った。その結果、*A. catenella* 個体群は、フランス、日本海、瀬戸内海、中国 (八代海を含む) の大きく分けて 4 つのグループに分けられることが判明した。日本海の個体群は形態学的に他とは異なる形質を有しており、集団解析の結果も、他とは異なる遺伝的背景を有する個体群であることが示唆された。また、アメリカ合衆国およびイタリアの研究者から指摘された、日本からフランス地中海沿岸へのカキ種苗の移植による本種の新規移入に関しては、現時点において否定的な結果となった。

(3) *H. circularisquama* については、15 個の MS マーカーの開発に成功した。2006 年英虞湾、2007 年浜名湖、熊本県楠浦湾および 2009 年佐渡島加茂湖からそれぞれ 45、40、40、44 株のクローン培養株 (合計 169 株) を単離・培養し、13 個のマイクロサテライトマーカーを用いて、多型解析を実施した。その結果、いずれのペア個体群間においても、弱いなが

ら有意な集団分化が検出され、本種が日本で初めて確認されて以来、わずか十数年しか経過していないにもかかわらず、遺伝構造に分化が生じていることが示唆された。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。対象種について、高度多型分子マーカーをそれぞれ開発し、既に 600-800 個体以上の解析を修了し、種ごとの集団構造が明らかになりつつある。

### 4. 今後の研究の推進方策

A. *tamarensis* については、マイクロサテライトより鋭敏だと報告のある AFLP マーカーを新たに開発し、AFLP マーカーを用いて集団遺伝学的解析を行い、鉛直コアの層別のサンプル間で、遺伝構造に変動があるかどうか検討することで、50-100 年間の変動を解析することが可能である。A. *catenella* については、新たに 3 個のハプロタイプマーカーの開発に成功した。現在、ハプロタイプネットワーク解析を実施中である。H. *circularisquama* については、さらに多くの海域の個体群の解析を行う。

### 5. 代表的な研究成果

(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 7 件)

1) Genovesi B, Nishitani G, Masseret E, Grzebyk D, Berrebi P, Nagai S. Genetic structure of Asian geographic populations in *Alexandrium catenella* (Dinophyceae): a study using microsatellite markers. Proceedings of 13<sup>th</sup> International Conference on Harmful Algae, Hong Kong, China (in press). 査読有り (㊦)

2) Masseret E, Grzebyk D, Nagai S, Genovesi B, Lasserre B, Laabir M, Collos Y, Vaquer A, Berrebi P (2009). Unexpected genetic diversity among and within populations of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* revealed with nuclear microsatellite markers. Applied and Environmental Microbiology, 75: 2037-2045. (㊦)

3) Linda A. R. McCauley, Erdner DL, Nagai S, Richlen ML and Anderson DM (2009). Biogeographic analysis of the globally distributed harmful algal bloom species *Alexandrium minutum* (Dinophyceae), based on LSU rDNA and ITS sequences, and microsatellite markers. J. Phycol. 45: 454-462. (㊦)

4) Cho SY, Nagai S, Han MS. Development of microsatellite markers in red-tide causative species *Prorocentrum micans* (Dinophyceae). Conservation genetics 10: 1151-1153. (㊦)

5) Cho SY, Nagai S, Nishitani G, Han MS. Development of compound microsatellite markers in red-tide causing species *Akashiwo sanguinea* (Dinophyceae). Molecular Ecology Resources 9:

915-917. (㊦)

6) Nagai S, Yamaguchi S, Lian CL, Nishitani G, Itakura S. and Yamaguchi M (2007). Development of microsatellite markers in the noxious red tide-causing algae *Heterocapsa circularisquama*, Molecular Ecology Notes, 7: 993-995. (㊦)

7) Nishitani G, Nagai S, Masseret E, et al. Development of compound microsatellite markers in the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* (Dinophyceae). Plankton & Benthos Research, 2: 128-133 (2007). (㊦)

[学会発表] (計 6 件)

1) Genovesi B, Nishitani G, Masseret E, Grzebyk D, Berrebi P, Nagai S. Genetic structure of Asian geographic populations in *Alexandrium catenella* (Dinophyceae): a study using microsatellite markers. 3 Nov, 2008. The 13<sup>th</sup> International Conference on Harmful Algae, p39. Hong Kong, China.

2) Masseret E, Grzebyk D, Nagai S, Genovesi B, Lasserre B, M Laabir M, Collos Y, Vaquer A, Berrebi P. Microsatellite markers reveal unexpected diversity among and within populations of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. 3 Nov, 2008. Abstract of the 13<sup>th</sup> International Conference on Harmful Algae abstract, p28. Hong Kong, China.

3) Evans K, Nagai S, Chepurnov VA, Vanormelingen P, Mann DG. Highly restricted gene flow between populations of freshwater diatoms: implications for species. Sep. 2008. Abstract of the International Diatom Symposium, p49. Dubrovnik, Croatia.

4) Nagai S. Transfer of harmful algal bloom species in Japanese and Korean coastal waters through natural and human associated dispersals revealed by microsatellites. Abstract of the Fifth International Marine Bioinvasions Conference, p107 (2007.05). Boston, USA.

5) 長井 敏. マイクロサテライト DNA マーカーによる赤潮プランクトンの集団遺伝解析の現状と問題点. 第 1 回海洋生物育種工学研究会講演要旨集, p14 (2007 年 12 月). 福山大学 (広島県福山市).

6) 山口早苗・長井 敏・練 春蘭・西谷 豪・山口峰生・板倉 茂. 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* のマイクロサテライトマーカーの開発とその特徴. 2008 年度日本水産学会春季大会講演要旨集 (2008 年 3 月発表). 東京海洋大学 (東京都港区).

[その他]

ホームページ

<http://feis.fra.affrc.go.jp/HABD/TPS/to-p-page.htm>