

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 8 日現在

機関番号：82708

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580240

研究課題名（和文） 分子生態学によるアワビ近縁種の分化メカニズムの解明

研究課題名（英文） The genetic relations between the abalone close species based on molecule ecology

研究代表者

原 素之（HARA MOTYUKI）

水産総合研究センター・増養殖研究所・主幹研究員

研究者番号：30372048

研究成果の概要（和文）：

エゾアワビ、クロアワビ、マダカ、メガイの関係は、まずメガイが大きく分岐していた。次に、マダカのクレードはメガイのクレードに属し、根の近くから派生していたことから、マダカは、エゾアワビ・クロアワビとメガイの交雑で生じたと示唆された。マイクロサテライトとミトコンドリア DNA で類縁関係が異なっていたが、この矛盾は地域集団間でもみられ、マーカーによる進化速度や環境適応性との違いと考えられ、分化が一方方向でなく、様々な歴史的イベントに起因していると推察された。

研究成果の概要（英文）： In the relation of the four species, *Haliotis discus hannai*, *H. d. discus*, *H. madaka* and *H. gigantes*, *H. gigantes* had a solid boundary between the other three species. Next, the clade of *H. madaka* belonged to the clade of *H. gigantes*, and it was derived from near the root, suggesting that *H. madaka* arose in crossing of *Haliotis discus* species and *H. gigante*. The results of genetic relations using a microsatellite and mitochondrial DNA were different and this inconsistency was found also between local populations. It was considered to be the difference from the rate of evolution and adaptation to environment nature, and it was guessed that specialization originated in various historical events instead of one way.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計			

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産一般

キーワード：遺伝育種・保全遺伝学・アワビ・マイクロサテライトDNA・ミトコンドリアDNA・集団分化・類縁関係・種苗放流基準

1. 研究開始当初の背景

70 種以上の水産生物で種苗放流が行われてきたが、その中には分類が曖昧な非在来種などの放流も含まれている。ある生物種が近縁種の分布域に放流されると雑種が生じ、長い進化の過程で獲得してきた環境適応力の低下がみられる。近縁種の系統関係を正しく理解し、種の地理的分布様式に沿った放流を行うこと、すなわち遺伝資源としての適切な種(集団)の保全管理が、非在来集団による遺伝子攪乱を回避し、持続的な生物生産を実現する有効な方法である。

エゾアワビ(エゾ、寒冷型)とクロアワビ(クロ、温暖型)の移植・放流は30年以上続けられている。両者は異所的分布をするが、種苗生産上の問題から、クロ生息県の半数以上でエゾ種苗が放流されている。これは両者での形態的間型の存在や、識別する遺伝マーカーがなかったことから、“交換可能”であるとみなされたためである。しかし、最近、マイクロサテライト(ms)DNA マーカーの開発で、主分布域のエゾとクロの集団が明確に分けられ、さらに個体識別が可能になってきた。しかし、分布境界域での分析は進んでおらず、両者のゲノムが混合することなく生殖隔離されているのか、それとも相互に浸透しつつある状態なのか全くわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、(1) エゾアワビやクロアワビと近縁とされる北東太平洋に分布するアワビ属を含めた日本のアワビの系統関係を解析し、(2)それを基に両者の遺伝的類縁関係及びそれらの種(集団)分化メカニズムを分子進化の観点から解明し、(3)さらに、アワビ類の移植・放流における地理的移動許容範囲など、保全遺伝学的観点からの放流管理基準を提案することを目的とする。

3. 研究の方法

既に開発済みのマイクロサテライト(ms)DNA と本課題で開発するミトコンドリア(mt)DNA を併用し、エゾアワビとクロアワビの分布境界域を中心に、遺伝的分化指数(F_{ST} 、 D_A など)を基にした集団構造解析および Assignment test や個体間距離による個体レベルでの構造解析を行い、両者における遺伝的類縁関係を明らかにする。また、mtDNA を用いて北太平洋に分布する *Haliotis* 属の系統遺伝学的分析を進め、それらの情報を基にエゾアワビとクロアワビのルーツを分子進化的観点から考察し、近縁種の分化のメカニズムを解明する。さらに、得られたアワビの集団構造と分子進化情報を基に、保全遺伝学的観点からのアワビ人工種苗放流管理基準を提案する。

4. 研究成果

(1)①初年度は分化時間の推定などに有効なミトコンドリアDNAの新規遺伝マーカーの開発や両種の分化メカニズム解明の鍵となる境界域での集団構造の解析を進めた。塩基配列データベース情報からミトコンドリアDNA上の15遺伝子領域を解析するための遺伝マーカーの開発に成功した。そのうち8マーカーが両種間で有意な違いが認められ、種間関係や集団分化のメカニズム解明に重要な情報が得られることが示された。②太平洋側の境界域(福島県から茨城県沿岸)におけるアワビにおいて、マイクロサテライトDNA分析ではクロアワビに近く、ミトコンドリアDNAではエゾアワビに近かった。この矛盾は、マーカーによる進化(置換)速度や環境適応性との違いと考えられ、両種の分化が単純な一方向でなされたのではなく、様々な歴史的イベントに起因していることを示す意義深い事実と考えられる。③日本海側の境界域(青森県西部から秋田県南部沿岸)における両種の個体の帰属解析では、それぞれへの帰属率が連続的に変化していることが観察された。さらに、同緯度地域に海域における岸側と沖側(島嶼)集団の遺伝的違いも明らかになり、境界域では複雑な集団構造を形成している可能性が示唆された。この地域での詳細な集団構造の調査は、エゾアワビとクロアワビの

分化メカニズムを解明するための重要な情報になると考えられる。

(2)①前年度に開発したミトコンドリア15遺伝子(Mt)を用いて、前述の2種に近縁種とされているマダカアワビを加えた3種間における類縁関係を調べた。マダカアワビ2集団、クロアワビ4集団とエゾアワビ4集団の分析を行った結果、マダカ2集団のハプロタイプ多様度(h)はいずれも1.000、塩基多様度($\pi \times 100$)は0.303と0.383で、クロとエゾの値($h = 0.995-1.000$ 、 $\pi \times 100 = 0.273-0.363$)と同程度であった。集団間には有意な遺伝的分化($F_{ST} = 0.028$)が検出され、生息域内で分集団化していることが示唆された。②種間では有意な遺伝的分化が検出されず($F_{CT} = -0.0025$)、ハプロタイプ系統樹においても、マダカアワビ、クロアワビ、エゾアワビの系統は混じり合い、種間の分岐は認められなかった。③マダカアワビの種分化はごく最近生じており、種分化時の人口学的変動は大きなものでなかったことが示唆される。④17座のマイクロサテライトDNAを用いた3種間の関係では、殆どの個体で形態分類と一致しており、マーカーによる矛盾が生じた。

(3)①前年度3年目は、この矛盾とエゾアワビとクロアワビ2種の遺伝的關係をより詳細に解析するためメガイを加えて分析を行った。メガイの分布域をほぼカバーする5標本集団の遺伝特性は、ハプロタイプ多様度(h)が全て1.000であったが、塩基多様度($\pi \times 100$)が0.296~0.526で、エゾアワビ・クロアワビやマダカに比べて低い値を示した。標本集団間の遺伝的分化についてAMOVA分析により検討したところ、 $F_{ST} = 0.0116$ ($P < 0.05$)を示し、徳島と他の標本集団間の分化が顕著であった。ハプロタイプ系統樹を作成した結果、エゾアワビ・クロアワビが起源となりマダカが分岐し、さらにメガイが明確に異なったクレードを形成した。②マダカの特異なクレードはメガイのクレードに属し、根に近いところから派生していた。以上の結果から、マダカは、エゾアワビ・クロアワビとメガイ間の過去の交雑によって生じたことが示唆された。③マーカーによる近縁種間の関係の矛盾は、地域集団間の関係もみられ、マーカーによる進化(置換)速度や環境適応性との違いと考えられ、両種の分化が単純な一方向でなされたのではなく、様々な歴史的なイベントに起因していることが推察された。

5. 主な発表論文等

(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0件)

〔学会発表〕(計3件)

①西迫真澄, 池田実, 木島明博, 原素之、集団ミトゲノム解析によって検討したマダカアワビの起源、日本水産学会、2012年3月28日、東京海洋大学

②西迫真澄, 池田実, 木島明博, 原素之、mtDNA15遺伝子のシーケンス分析によるマダカアワビ集団の遺伝的分化、日本水産学会、2011年3月28日、東京海洋大学

③池田実, 木島明博, 原素之、mtDNA分析によるアワビ集団の遺伝的多様性評価、日本水産学会、2010年3月27日、東京海洋大学

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計◇件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原 素之 (MOTOYUKI HARA)

水産総合研究センター・増養殖研究所・主
幹研究員

研究者番号：30372042

(2) 研究分担者

池田 実 (MINORU IKEDA)

東北大学・農学部・准教授

研究者番号：70232204

木島明博 (AKIHIRO KIJIMA)

東北大学・農学部・教授

研究者番号：50161451

(3) 連携研究者

()

研究者番号：