

研究課題名 隠蔽種群における生物多様性の変動機構

所属研究機関 独立行政法人 富山大学

研究者氏名 山崎 裕治

・研究計画の概要

研究の趣旨・目的

近年、生物多様性とその保護・保全の重要性が指摘されており、様々な生態的地位を有する生物種に対する実践的な研究が求められている。生物多様性保全の実践的な研究においては、正確な種の認識による種多様性の把握、それら種間における相互作用の解明による生態的多様性の理解、そして構成種・集団における遺伝的多様性の評価が必要である。そしてこれら様々なレベルの多様性は、生物の周辺環境に影響を受け、常に変動すると考えられている。しかし、その変動パターンやそれを決定する要因を明らかにした研究はほとんど行われていない。このような研究課題に取り組む上で、隠蔽種群は適した対象といえる。隠蔽種群とは、形態的特徴が類似しているにも関わらず、厳密な生殖的隔離が存在する生物種群を指す。そのため、対象種群の判別や生態的特性の比較自体が、種の存在形態を理解することにつながり、また表現型が類似するために、周辺環境に対する応答における種間での差異を明らかにする際に、表現型の影響を排除した純粋な応答評価が可能となる。

研究計画の概要

そこで本研究では、スナヤツメ隠蔽種群(北方種と南方種)を対象として、これら隠蔽種群の系統分類学的位置及び遺伝的集団構造を明確にした上で、様々な環境下に生息する集団を対象として、遺伝的多様性の継続評価を実施する。多様性評価に当たり、各種 DNA 多型分析法の確立を目指す。なお、個体からの DNA 試料の採取においては、個体に与える影響を最小限に抑えるために、体組織の一部のみを用いることが有効であり、この技術開発も行う。また、種間に働く生殖的隔離機構を調査し、種の維持機構を解明する。このために定期的な生態学的調査を実施し、両種の繁殖様式を明らかにすると共に、これまで指摘されてきた種認知機構の検証を行うために、行動学的解析に加え、発生・組織学的な分析を実施する。さらに、両種の共存機構を明らかにするために、2 種の生息を決定する環境要因の特定を行うと共に、両種の同所的生息地及び単独生息地において、個体及び個体群レベルの追跡調査を実施し、共存生物及び周辺環境が、対象個体の成長や個体群動態に与える影響を明らかにする。また、ここで構築された仮説を検証するために、実験区における操作実験を行う。

以上一連の研究を通して、隠蔽種群の存在・維持機構を明らかにし、隠蔽種群が有する様々なレベルの多様性における決定要因及び変動要因の解明を目指す。これにより、野生生物における生物多様性の実態把握と、生物多様性の意義を具体化することを目指す。

研究計画の詳細報告

(単位:百万円)

研究項目	所要経費					
	13年度	14年度	15年度	16年度	17年度	合計
1. 遺伝的多様性の分析						
(1) 多型分析技術の確立	← 12.5	13.3	0.5 →			26.3
(2) 遺伝的多様性評価		← 3.0	7.9	→		10.9
(3) 多様性変動に関わる要因推定				↔		
(4) 変動機構の解明					↔	
2. 生殖的隔離・共存機構の解明						
(1) 繁殖生態・個体群動態に関する基礎情報収集	← 1.0	0.5 →				1.5
(2) 隔離機構に関する行動学的実験			↔ 1.2			1.2
(3) 共存機構に関する行動学的実験				↔		
(4) 生殖的隔離及び共存機構の解明					↔	
所要経費(合計) (間接経費を含む)	13.5	16.8	9.6			39.9

・研究成果の概要

研究成果の概要

本研究は、大きく「a. 遺伝的多様性の分析」と「b. 生殖的隔離・共存機構の解明」とに区分できるため、以下に個別に記す。

a. 遺伝的多様性の分析

スナヤツメ隠蔽種群の遺伝的集団構造を明らかにするために、ミトコンドリア DNA 塩基配列分析を実施した。分析に当たり、COI 遺伝子領域及び cytb 遺伝子領域を特異的に増幅するプライマーを設計し、これを用いて塩基配列を決定した。この結果、集団間分化の程度は北方種に比べて南方種で高かった。また Nested Clade Analysis の結果、南方種の集団構造として地理的な近隣集団同士が遺伝的特徴も類似していたのに対して、北方種では同様の傾向は認められなかった。このことは、両種における分布域形成プロセスの差異を反映したものと考えられる。すなわち、日本列島の中部以西を主な生息地とする南方種は、氷期に連結した河川を通じて徐々に分布域を広げたために、近隣集団間の遺伝的構造が類似したと考えられる。これに対して、北日本に生息する北方種は、短い期間に分布を広げたものが現在では遺存的な分布をしているため、集団間分化が地理的構造と一致しなかったと考えられる。

また、河川内局所集団における遺伝的多様性の年変動及び河川内集団構造を明らかにするために、RAPD 法による解析を実施した。これまでの結果、いずれの種においても同所的な生息地における遺伝的多様性の有意な年変動は認められなかった。さらに、河川内構造として、大規模河川における局所集団はメタ集団構造を構成している可能性が示唆された。これは集団間の自由な遺伝子流動が妨げられていることを意味しており、集団の分断化と小型化が懸念される。これに加え、いずれの種においても、局所集団内の遺伝的多様性は、他魚種のそれと比較して、低いことが明らかになった。これらの結果は、本種群の遺伝的多様性保全施策を集団毎に早急に構築する必要性を示唆している。このためにも、共優性マーカーであるマイクロサテライト法を用いて、本研究項目で実施している遺伝的多様性評価を継続することにより、多様性の変動パターンと決定要因を明らかにすることが重要である。

b. 生殖的隔離・共存機構の解明

生殖的隔離機構解明のために、自然河川における定期調査を実施した。2 種の同所的な生息域において、北方種の繁殖期が 11 月から 3 月まで続いたのに対し、南方種のそれは 4 月から 6 月に渡ると推察された。このように北方種と南方種の繁殖時期に不連続性が認められたことから、両種間では時間的生殖的隔離機構が働いている可能性が示唆された。一方、他の河川で行われた研究(既報)では、繁殖期が両種間で重複し、種特異的な認知機構に基づく行動学的生殖的隔離機構が存在することが指摘されている。これらのことから、両種の繁殖期には可塑性が存在し、採用する隔離機構も生息場所によって異なることが示唆された。

生息場所選好性調査において、各コドラートにおける生息密度に影響を与える環境要因を推定するために、ステップワイズ重回帰分析を行った結果、北方種・南方種いずれにおいても、底泥の深さ及び水草繁茂率が採択された。また、いずれの環境要因も密度と有意な正の相関を示した。これらの結果は、両種共に、泥深が深く、また水

草が繁茂した場所を生息場所として好むことを意味している。このように幼生期における微生物環境の選好性は、両種間で一致しており、空間レベルでの資源分割は生じていないことが明らかになった。さらに、Cassie の方法による年齢群分解とその周年変化追跡による成長解析の結果、2 種間で成長パターンは同調していたが、同一年齢群間の平均体サイズは常に北方種で大型であった。これは、孵化時期の違いとそれによる初期成長パターンの違いに起因すると考えられた。今後は、現在の調査を継続するとともに、各種単独域における調査を実施して可塑性を明らかにすると共に、操作実験により上記結果を検証することにより、種の維持、あるいは個体群特性が周辺環境に受ける影響を明らかにする予定である。

波及効果、発展方向、改善点等

以上に記した本研究課題で得られた情報は、単なる遺伝子の構造や生態的特性の記載に留まらず、自然界に生息する生物が持つ遺伝的多様性の実態と、生物間相互作用の可塑性を推定する上で、有用な内容を表現していると判断出来る。特に、一つの種群を対象として遺伝子から生態まで様々な方面から研究を実施し、それらを総合的に考察した例は極めて少ない。ここで得られた情報は、当初から目的としている生物多様性の意義を、遺伝子・種・生態系の各レベルにおいて具体化することに繋がると期待されると共に、この分野における先行的研究と位置づけられ、牽引的な役割を担っていくものと考えられる。しかし、これまでの研究成果は、あくまで途中経過であり、上記研究計画に沿った継続調査の必要性が強く示唆され、それにより本研究課題がより発展するものと考えられる。

具体的には、まず、各集団の遺伝的多様性分析においては、これまで RAPD 法で行ってきた。本方法は、簡便に高い変異性を検出することが可能であるが、その一方で再現性などの問題点が指摘されている。そのため、共優性マーカーであるマイクロサテライト法の開発とこれを用いた解析が必要であり、現在進行中である。次に、遺伝的多様性分析及び生物間相互作用のいずれにおいても、年変動や季節変化を捉える必要があり、これも現在継続中である。そして各課題において提案された仮説に対して、検証実験を実施する予定である。

また、本研究課題においては、スナヤツメ隠蔽種群に留まらず、ここで開発・確立された研究方法を用いることにより、小型コイ科魚類の隠蔽種群(アブラハヤとタカハヤ)における資源利用とその季節変動、遺伝学的手法による在来種(サクラマス)と移入種(アマゴ)との天然交雑個体の検出、そして海産無脊椎動物(ヤツデヒトデ)の遺伝的集団構造、特に無性分裂繁殖様式の実体解明、などの研究及び学会発表を通して、分類群の枠を越えた生物多様性の実態解明に取り組んでいる。

. 研究成果発表等の状況

(1) 研究発表件数

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	5 件	6 件	7 件	18 件
国際	1 件	0 件	2 件	3 件
合計	6 件	6 件	9 件	21 件

(2) 特許等出願件数

合計 0 件(うち国内 0 件, 国外 0 件)

(3) 受賞等

0 件(うち国内 0 件, 国外 0 件)

(4) 主な原著論文による公表の内訳

国内誌

- (1) Yamazaki, Y., S. Konno and A. Goto: 「Interspecific differences in egg size and fecundity among Japanese lampreys」, Fisheries Science, 67, 375-377, (2001)
- (2) Goto, A., R. Yokoyama, Y. Yamazaki and H. Sakai: 「Geographical distribution pattern of the fluvial sculpin, *Cottus nozawae* (Pisces: Cottidae), supporting its position as endemic to the Japanese Archipelago」, Biogeography, 3, 69-76, (2001)
- (3) Yamazaki, Y., T. Nagai, A. Iwata and A. Goto: 「Histological comparisons of intestines in parasitic and nonparasitic lampreys, with reference to the speciation hypothesis」, Zoological Science, 18, 1129-1135, (2001)
- (4) Yamazaki, Y.: 「Molecular phylogeny of *Lethenteron* species from the Far East, with their taxonomic problems」, Fisheries Science, 68 (Supplement I), 67-70, (2002)
- (5) Yamazaki, Y., N. Fukutomi, K. Takeda and A. Iwata: 「Embryonic development of the Pacific lamprey, *Entosphenus tridentatus*」, Zoological Science, 20, 1095-1098, (2003)

国外誌

- (6) Yamazaki, Y., A. Goto and M. Nishida: 「Mitochondrial DNA sequence divergence between two cryptic species of *Lethenteron*, with reference to an improved identification technique」, Journal of Fish Biology, 62, 591-609, (2003)

(5)主要雑誌への研究成果発表

Journal	Impact Factor	合計
Journal of Fish Biology	1.249	1.249
Zoological Science	0.969	0.969
Fisheries Science	0.495	0.495

隠蔽種群における生物多様性の変動機構

