

学 位 論 文 題 名

Molecular phylogeny and genetic population structure
of freshwater sculpins, *Cottus* and *Trachidermus* species,
from the Far-East region

（極東域産カジカ属およびヤマノカミ属魚類の
分子系統および遺伝的集団構造）

学位論文内容の要旨

カジカ属魚類(*Cottus*)は北半球の広い範囲の淡水域に分布し、約 40 種を有する種多様性に富んだ分類群である。分類学的には未整理ではあるが日本列島には本属魚類は 7 種が分布し、そのうち 5 種は日本固有種である。多くの本属魚類は河川性または湖沼性の生活史を有するが、日本産本属魚類の生活史は降河回遊性、両側回遊性、湖沼性および河川性と多様である。また、東アジア地域には、本属魚類に近縁とされ、降河回遊性の生活史をもつヤマノカミ属魚類ヤマノカミ(*Trachidermus fasciatus*)が分布する。これらのことから、日本を含む極東域はカジカ属魚類の種分化の中心地のひとつであると考えられる。

多様性に富むこの地域のカジカ属魚類については、生活史進化および種分化に関する研究が行われてきたが、議論の基盤となるカジカ属内の種間および近縁属間の系統関係を明確に示した研究はない。

そこで、本研究ではミトコンドリア DNA(mtDNA)の塩基配列データを用いて、極東域に分布するカジカ属およびヤマノカミ属魚類について、種間や種内といった様々なレベルの系統関係を推定することによって、種分化過程、系統地理、遺伝的集団構造および生活史の進化パターンを考察することを目的とした。

東アジア、ロシア、ヨーロッパおよび北米から得られた、カジカ属魚類 14 種およびヤマノカミについて mtDNA の調節領域および 12S rRNA の塩基配列（計 1710bp）に基づいた分子系統解析を、*Mesocottus haitej*、*Leptocottus armatus* およびギスカジカを外群に用いて行った。

その結果、カジカ属魚類およびヤマノカミは 2 つの単系統群（グループ I および II）に分けられた。グループ I はヤマノカミおよびアユカケ、一方グループ II はアユカケ

を除いたカジカ属魚類で各々構成されていた。アユカケがグループ I に含まれたことから、カジカ属は単系統群ではなく側系統群であることが示唆された。さらに、グループ II に含まれたカジカ属魚類は4つの単系統群（サブグループ IIa-IId）に分けられた。

サブグループ IIa はヨーロッパ、バイカル湖および北米に分布する種（*Cottus gobio*、*C. kessleri*、*C. cognatus* および *C. aleuticus*）から、サブグループ IIb はアムール川およびヨーロッパ産の *C. poecilopus* の3つの遺伝子型から、サブグループ IIc は（エゾハナカジカーハナカジカ）および（カンキョウカジカーキビレカジカ）の2つの単系統群から、サブグループ IId はカジカ種群およびコウライカジカから、各々構成されていた。各サブグループ間の遺伝的距離はほぼ同程度(4.46-5.88%)であり、各サブグループの分化がほぼ同じ時期に起こったものと考えられた。

次に、通し回遊性のカジカ属魚類の遺伝的集団構造を明らかにするために、ロシア極東域、サハリンおよび北海道に分布する両側回遊性のエゾハナカジカについて、mtDNA の塩基配列データの解析を行った。

上述した分布域から採集された 60 個体について mtDNA の調節領域(420bp)を解析した結果、得られた遺伝子型は2つのみであり、それらは1塩基の置換で特徴づけられる非常に近縁なものであった。このことから、エゾハナカジカの遺伝的集団構造は地域集団間の遺伝子流動が大きく、地域集団間に長期間の隔離は存在しなかったと推察された。このような遺伝的集団構造は、本種が孵化仔魚期に沿岸域で過ごす両側回遊性の生活史を有し、河川間の個体の移動が海を通じて起こるためにもたらされたと考えられた。

一方、一生を河川で過ごす河川性種の遺伝的集団構造を明らかにするために、北海道全域と東北地方の一部に分布する河川性のハナカジカについて mtDNA の調節領域の塩基配列（421bp および 973bp）を用いて分子系統学的解析を行った。

分布域全体から得られた 93 個体について解析した結果、21 の遺伝子型が見出された。それらの遺伝子型は遺伝的に分化した3つの系統に分けられ（約3%）、各々の系統はそれぞれ北海道、東北北部、および山形県に分布していた。また、各系統内においても河川毎に固有の遺伝子型を有し、河川間で同じ遺伝子型を共有することはほとんどなかった。このことから、本種は地域および河川間の隔離が長期間にわたり維持され、地域集団間の遺伝子流動がほとんどない遺伝的集団構造を有していると推定された。このことは、ハナカジカが河川性の生活史を有し、その分散能力が低く、地域集団間で隔離が生じやすいためにもたらされたと考えられた。

エゾハナカジカとハナカジカはカジカ属内で最も近縁な関係にあるとされてきたが、全く異なる遺伝的集団構造を有していることが示された。その違いは両者の生活

史の違いによってもたらされたと考えられた。

次に、エゾハナカジカとハナカジカの遺伝的類縁関係を mtDNA の調節領域の塩基配列(421bp)に基づいて推定したところ、エゾハナカジカで見いだされた 2 つの遺伝子型はともにハナカジカの北海道の系統に含まれ、2 種の mtDNA の系統は入り交じっていることが示された。さらに、エゾハナカジカの遺伝子型の 1 つとハナカジカの北海道南部集団から得られた遺伝子型は同一であり、他の 1 つも近縁であった。これは、北海道南部においては 2 種間に mtDNA の浸透交雑が生じたためであると考えられた。

カジカ属およびヤマノカミ属魚類における多様な生活史の進化を分子系統樹に基づいて復元することを試みた。系統樹上に産卵場所をマッピングした結果、グループ I は海水域、グループ II は淡水域が産卵場所であり、卵および胚の淡水適応能を獲得したグループ II の祖先系統から両側回遊性、河川性および湖沼性の各生活史が進化したと考えられた。また、グループ II の日本を含む東アジア地域に分布する複数のサブグループにおいて、両側回遊性と河川性種が姉妹群（エゾハナカジカ－ハナカジカ、カンキョウカジカ－キビレカジカ、およびカジカ中卵型－カジカ大卵型）を構成したことから、これらの生活史進化が複数の系統で平行的に進化したことが示された。この生活史の平行進化は、両側回遊性と河川性への分化という共通した進化パターンが、本地域のカジカ属魚類が様々な淡水環境に適応する過程で平行的に生じたことを示唆する。

以上の結果から、カジカ属およびヤマノカミ属魚類の種分化、分散過程および遺伝的集団構造については以下のように考えられる。海産のカジカ科魚類から東アジア地域において淡水域に侵入した系統から、海水域で産卵する系統（グループ I の祖先）と、淡水域で産卵する形質を獲得した系統（グループ II の祖先）が出現し、後者は東アジアからバイカル湖を含むシベリア、ヨーロッパ、および北米大陸へとそれぞれ分散しながら種分化した。また、上記したように東アジア地域におけるグループ II の各サブグループでは生活史分岐を伴う種分化が平行的に生じていたと考えられる。そのような進化過程を経て生じた近縁種間において、その遺伝的集団構造は生活史の違いに対応して異なった構造を呈し、さらに、一部地域においてはエゾハナカジカとハナカジカ間でみられたように、mtDNA の異種間浸透も生じたと考えられる。

学位論文審査の要旨

主査	教授	荒井克俊
副査	教授	嵯峨直恆
副査	助教授	後藤晃
副査	助教授	矢部衛

学位論文題名

Molecular phylogeny and genetic population structure
of freshwater sculpins, *Cottus* and *Trachidermus* species,
from the Far-East region

(極東域産カジカ属およびヤマノカミ属魚類の
分子系統および遺伝的集団構造)

申請者は、極東域に分布するカジカ属およびヤマノカミ属魚類を対象に、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の塩基配列解析を行い、それらの種間と種内の様々なレベルにおける系統関係を推定するとともに、種分化プロセス、系統地理、遺伝的集団構造および生活史進化パターンについての研究を行い、以下の評価すべき結果を得た。

- 1) 日本を含む東アジア、ロシア、ヨーロッパおよび北米から得られたカジカ属 14 種とヤマノカミ属ヤマノカミを対象に、mtDNA の調節領域および 12S rRNA の塩基配列を決定し、分子系統解析を行った結果、これらのカジカ属魚類とヤマノカミは大きく 2 つの単系統群 (グループ I および II) に分けられた。
- 2) グループ I はヤマノカミおよびアユカケ、一方グループ II はアユカケを除いたカジカ属魚類で各々構成されていた。アユカケがグループ I に含まれたことから、カジカ属は単系統群ではなく側系統群であることが示唆された。さらに、グループ II に含まれたカジカ属魚類は 4 つの単系統群 (サブグループ IIa-IId) に分けられた。
- 3) サブグループ IIa はヨーロッパ、バイカル湖および北米に分布する種 (*Cottus gobio*, *C. kessleri*, *C. cognatus* および *C. aleuticus*) から、サブグループ IIb はアムール川およびヨーロッパ産の *C. poecilopus* の 3 つの遺伝子型から、サブグループ IIc は (エゾハナカジカ-ハナカジカ) および (カンキョウカジカ-キビレカジカ) の 2 つの単系統群から、サブグループ II d はカジカ種群およびコウライカジカから、各々構成されていた。各サブグループ間の遺伝的距離はほぼ同程度 (4.46-5.88%) であり各サブグループの分化がほぼ同じ時期に起こったものと考えられる。

- 4) 通し回遊性のカジカ属魚類の遺伝的集団構造を明らかにするために、ロシア極東域、サハリンおよび北海道に分布する両側回遊性のエゾハナカジカについて、上述した分布域から採集された 60 個体について mtDNA の調節領域(420bp)を解析した結果、得られた遺伝子型は 2 つのみであり、それらは 1 塩基の置換で特徴づけられる非常に近縁なものであった。このことから、エゾハナカジカの遺伝的集団構造は地域集団間の遺伝子流動が大きく、地域集団間に長期間の隔離は存在しなかったと推察された。このような遺伝的集団構造は、本種が両側回遊性の生活史を有し、河川間の個体の移動が海を通じて起こるためにもたらされたと考えられる。
- 5) 一生を河川で過ごす河川性種の遺伝的集団構造を明らかにするために、北海道全域と東北地方の一部に分布する河川性のハナカジカについて mtDNA の調節領域の塩基配列 (421bp および 973bp) を用いて分子系統学的解析を行った。分布域全体から得られた 93 個体について解析した結果、21 の遺伝子型が見出された。それらの遺伝子型は遺伝的に分化した 3 つの系統に分けられ (約 3%)、各々の系統はそれぞれ北海道、東北部、および山形県に分布していた。また、各系統内においても河川毎に固有の遺伝子型を有し、河川間で同じ遺伝子型を共有することはほとんどなかった。このことから、本種は地域および河川間の隔離が長期間にわたり維持され、地域集団間の遺伝子流動がほとんどない遺伝的集団構造を有していると推定された。
- 6) エゾハナカジカとハナカジカの遺伝的類縁関係を mtDNA の調節領域の塩基 (421bp) に基づいて推定したところ、エゾハナカジカで見いだされた 2 つの遺伝子型はともにハナカジカの北海道の系統に含まれ、2 種の mtDNA の系統は入り交じっていることが示された。さらに、エゾハナカジカの遺伝子型の 1 つとハナカジカの北海道南部集団から得られた遺伝子型は同一であり、他の 1 つも近縁であった。これは、北海道南部においては 2 種間に mtDNA の浸透交雑が生じたためであると考えられる。
- 7) カジカ属およびヤマノカミ属魚類における多様な生活史の進化を分子系統樹に基づいて復元することを試みた。系統樹上に産卵場所をマッピングした結果、グループ I は海水域、グループ II は淡水域が産卵場所であり、卵および胚の淡水適応能を獲得したグループ II の祖先系統から両側回遊性、河川性および湖沼性の各生活史が進化したと考えられた。また、グループ II の日本を含む東アジア地域に分布する複数のサブグループにおいては、両側回遊性と河川性種の姉妹群 (エゾハナカジカ-ハナカジカ、カンキョウカジカ-キビレカジカ、およびカジカ中卵型-カジカ大卵型) の生活史が平行的に進化したことが示された。
- 8) 以上の結果から、カジカ属およびヤマノカミ属魚類は、海産のカジカ科魚類から東アジア地域において淡水域に侵入した系統から、海水域で産卵する系統 (グループ I の祖先) と、淡水域で産卵する形質を獲得した系統 (グループ II の祖先) が出現し、後者は東アジアからバイカル湖を含むシベリア、ヨーロッパ、および北米大陸へとそれぞれ分散しながら種分化したと推察される。

申請者による以上の研究成果は、水圏生物の多様性の実態とその起源の解明に大きく寄与するものであり、審査員一同は博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。