

学位論文題名

Molecular ecological studies on hybridization
among the three greenlings (Hexagrammudae) :
Reproductive isolation and hemiclinal reproduction

(アイナメ科魚類3種間の交雑に関する分子生態学的研究：
生殖的隔離機構と半クローン生殖)

学位論文内容の要旨

交雑帯では、交雑を起こしながらも両親種が遺伝的な差異を維持していることが多く、遺伝子流動に対する障壁、すなわち生殖的隔離機構の進化過程に関する研究が数多く行われてきた。アイナメ科魚類は北太平洋沿岸に優占する底生魚であり、北海道南部には、亜寒帯性種であるスジアイナメと温帯性種であるクジメおよびアイナメが、同所的に生息している。この海域では、スジアイナメとクジメおよびスジアイナメとアイナメの雑種が採集され、交雑帯が形成されている。3種の系統関係からは、クジメとアイナメが姉妹種であり、スジアイナメの祖先種から分岐した後に、温帯域で両種が分岐したと考えられている。

本研究では、アイナメ属3種間の生殖的隔離機構を解明するため、まず3種の繁殖場所の選好性や分布を調べ、交雑を誘起する要因を検討した(第1章)。そのうえで、実際に交配が起こる組み合わせを明らかにし、交配前隔離機構について検討した(第2章)。交配後隔離機構については、人為交配により受精率と胚発生率を比較することで明らかにした(第3章)。さらに、交雑帯におけるアイナメ属魚類の遺伝的集団構造を、分子マーカーを用いて明らかにした(第4章)。その中で、雑種が減数分裂と受精を伴う通常の有性生殖を行っていない可能性が示唆されたため、雑種の生殖様式に関する検証を行い(第5章)、アイナメ属3種の生殖的隔離機構、および交雑帯における集団構造の形成・維持機構の解明を試みた。

1. 生息地隔離とその崩壊

3種の繁殖なわばりの分布は固着生物の分布に大きく影響を受けており、スジアイナメやクジメはスガモ(海草)やマクサ(紅藻)が繁茂する場所に繁殖なわばりを構えていたのに対し、アイナメはコケムシが優占する場所になわばりを構えていた。天然の岩礁域では海藻や海草は浅場の藻場に、コケムシは深場に生息しているため、アイナメと他の2種の分布は重複しなかった。しかし防波堤周辺の人為環境では、3種が選好する環境が狭い範囲に混在しており、3種の縄張りも重複した。急峻で複雑な地形を持つ防波堤が浅場と深場の環境を混在させ、アイナメと他の2種間の生息地隔離を崩壊させている可能性が示唆された。

2. 非対称な交配前隔離機構

3種は防波堤周辺において繁殖場所が重複しており、繁殖期も重なっていたことから、空間的、時間的には交雑は妨げられないと考えられた。しかし交雑が生じる組み合わせは、スジア

イナメ雌×クジメ雄、スジアイナメ雌×アイナメ雄の2パターンに限られており、雌雄が逆のパターンは観察されなかった。この方向性から、スジアイナメの雌には同種を識別する機構がしっかりと備わっていない可能性が示唆された。またクジメとアイナメは、なわばりが近接する場所においても互いに交配しなかったことから、この2種間では同種の識別機構が働いていると考えられた。

3. 非対称な交配後隔離機構

人為交配では、すべての組み合わせで高い受精率が得られた。しかし、クジメやアイナメの精子で媒精したスジアイナメ卵は正常に発生し、高い孵化率が得られるのに対し、スジアイナメの精子で媒精したクジメ卵およびアイナメ卵は発生過程ですべて奇形となり、孵化まで至らなかった。アイナメとクジメの交配では、どちらも正常に発生し孵化した。スジアイナメは他の2種に比べて核あたりのDNA量が少なく、他の2種とは大きく遺伝的に分化していることが示唆された。スジアイナメの遺伝的分化が進行していることが、スジアイナメと他の2種との間に遺伝的不和合を生じさせたと考えられた。

4. 形態と分子を用いた雑種代数の判別と交雑帯の集団構造

3種が同所的に分布しない海域同様、交雑帯においても、3種は明瞭な形態的・遺伝的差異を維持していた。雑種はすべて雌で繁殖力があり、野外では父方種の雄と戻し交配を行っていることが示唆された。しかし、雑種はすべて両親種の中間的な形態的・遺伝的特徴をもつF1雑種であり、戻し交配雑種と推定される個体は存在しなかった。頻繁な戻し交配にもかかわらず、3種間の遺伝子浸透が見られなかったことから、遺伝子流動を妨げる要因がF1雑種の形成以降の過程に存在することが示唆された。

5. 半クローン生殖（雑種生殖）の検証

人為交配で作出した戻し交配雑種も、F1雑種同様、両親種のゲノムを一對ずつ持つ2倍体のヘテロ接合体となっていた。また戻し交配雑種には、母方の祖母のゲノムと父親のゲノムが伝わっていることが、遺伝マーカーから明らかになった。このことから、雑種は卵形成の過程で父方の染色体を排除し、組み換えなしで母方の染色体のみを含む半数体の卵（半クローン）を生産していることが示唆された。そして半数体卵は、通常の数分裂で生産された近縁種の半数体精子と受精し、2倍体となって発生する。このような生殖様式は「雑種生殖」と呼ばれる。魚類では淡水魚のポエキリオプシス属でのみ知られていた特殊な生殖様式であり、海産魚類では初めての発見である。雑種が雌だけであること、および3種間の遺伝子流動が完全に妨げられてきたことは、雑種生殖により説明できるかもしれない。

本研究では、地理的分布や系統的関係の異なるアイナメ属3種を用いて、生殖隔離機構の進化に関する生態学的・遺伝学的研究を行った。ともに温帯性種で姉妹種であるクジメとアイナメは、生息場所が浅場と深場で分かれているが、人為環境で生息地隔離が崩壊しても交雑を起こさなかった。両種間には交配後隔離がほとんど見られず、両種は種の識別に基づく堅固な交配前隔離機構によって生殖的に隔離されていることが明らかになった。地理的障壁がない中で浅場と深場というような異なるニッチへの適応を維持するためには、交配前隔離の成立が必須だったのであろう。一方、亜寒帯性種であり異所的種分化によって生じたと考えられているスジアイナメは、温帯性2種との共存の歴史が浅く交配前の隔離機構が不十分なため、似たようなニッチを占めるクジメとだけでなく、全く異なるニッチを占めるアイナメとさえも交雑を起こすと考えられる。一方、本研究で明らかになったアイナメ属魚類の交雑、すなわちスジアイナメ雌×クジメ雄およびスジアイナメ雌×アイナメ雄の雑種は、雑種生殖を行っていた。雑種生殖では、有性生殖により多様性が維持されている父親のゲノムを体細胞に取り込むため、組み換えを行わないことによる遺伝的多様性の減少を補うことが可能である。また親種間の交雑により、毎世代新たな遺伝子が雑種集団に加わる可能性もあるだろう。雑種生殖は、遺伝的多

様性の維持機構という視点からも、単為生殖や雌性生殖などのクローン生殖より、永続性に優れているように思われる。またスジアイナメの遺伝子にとって、雄を生産せず、半クローンとして効率的に自分の遺伝子を残すことができる雑種生殖は、純系のスジアイナメとして有性生殖するよりも適応的かもしれない。クジメやアイナメは精子の供給源として不可欠だが、スジアイナメは雑種生殖する雑種集団の出現に対して非常に脆弱であるように思われる。本属の交雑帯では、雑種は親種の中間的な環境に多く出現するという報告もあり、ニッチを細分化することで、有性生殖する3種と半クローン生殖する2種類の雑種を含む5つの遺伝子集団の共存が可能になっているのかもしれない。

学位論文審査の要旨

主 査 准教授 宗 原 弘 幸

副 査 教 授 木 村 正 人

副 査 教 授 東 正 剛

副 査 教 授 阿 部 周 一 (北海道大学

水産科学研究科)

副 査 教 授 河 田 雅 圭 (東北大学大学院

理学研究科)

学位論文題名

Molecular ecological studies on hybridization among the three greenlings (Hexagrammudae) : Reproductive isolation and hemiclinal reproduction

(アイナメ科魚類3種間の交雑に関する分子生態学的研究 :

生殖的隔離機構と半クローン生殖)

申請者は、北海道南部におけるアイナメ属3種間の生殖的隔離機構を解明するため、雑種2型を含む5遺伝子集団の生態学的ならびに遺伝学的研究を体系的に行った。主論文は序章に続く5章および総合考察からなり、野外観察と遺伝子分析による交配前隔離機構、交配後隔離機構、遺伝学的集団構造、雑種生殖を解明した。

第1章において、3種の繁殖なわばりの分布を自然環境下と人為的環境改変を受けている消波帯で調べ、自然環境下では3種間の生息地隔離が働いているが、消波帯では3種のなわばりが近接し、生息地隔離が十分機能しない可能性を示唆した。この結果は、入念な潜水観察に基づくもので、研究成果とともに、申請者の労力と生態学研究者としての資質が高く評価される。

第2章では、アイナメ属が雄親が卵塊を保護するという繁殖習性を利用し、保護卵塊のミトコンドリアDNA多型を遺伝マーカーに交雑の実態を調査した。その結果、スジアイナメの雌がアイナメおよびクジメの雄と交雑するが、それ以外ではほとんど交雑が行われない、非対称的な交雑を明らかにし、1章と合わせてアイナメ属3種間の交配前隔離機構の実態を解明した。精度の高い種判別遺伝マーカーの開発とこのツールによる交雑集団の素性を捉えた調査は、日本生態学会および国際シンポジウムで優秀賞を受賞するなど関連学会でも高く評価されている。

第3章では、3種相互に雌雄を入れ替え合計9組の人工授精を行い、交配後隔離機

構を調べた。その結果、スジアイナメ雄とクジメ雌およびスジアイナメ雄とアイナメ雌の組み合わせでのみ配偶子不和合が確認された。この結果から、近縁なクジメとアイナメ間では、交配前隔離機構が堅固に働いているために交雑をしないこと、スジアイナメ雌と他の2種雄とは交配前も交配後も隔離機構が不十分であることが示唆された。また、フローサイトメトリーにより3種のゲノムサイズを比較したところ、スジアイナメが他の2種より有意に大きいことが分かり、配偶子不和合の原因の一つであると推定された。本章の研究結果は、3種間それぞれ特有の遺伝学系統学的距離を明らかにしたものであり、本研究の中核をなす。また、ゲノムサイズの違いは、本研究の最もオリジナリティーの高い第5章の雑種生殖の実証につながるパワフルな遺伝マーカーツールにもなり、手法的にも本章は重要な研究結果を得たと評価できる。

第4章では、隔離機構が不十分なために高頻度で生ずる雑種個体を含めた交雑帯におけるアイナメ属5遺伝子集団の形態的・遺伝学的特徴を明らかにした。この目的のために、スジアイナメの分布しない三重県のクジメとアイナメ、およびクジメとアイナメが分布しない北海道厚岸町のスジアイナメとも比較した。その結果、3種と雑種は明瞭に識別されること、3種内の地理的差異はないこと、雑種はすべてF1雑種であることが明らかになった。隔離機構が働かないにもかかわらず、種間の遺伝子流動を妨げる要因がF1雑種形成以降に存在すること突き止めた研究で、高いオリジナリティーと興味深い遺伝学的集団構造の発見は、日本進化学会における優秀発表賞として評価されている。

第5章では、遺伝子流動を妨げる要因を解明するため、人工授精による戻し交配雑種とF1雑種の遺伝様式を調べた。その結果、母親と父親のゲノム一組づつが子に遺伝すること、母親から子に遺伝するゲノムは祖母のゲノムのみで、祖父のゲノムは卵形成の過程で排除されることが明らかになった。このようなアイナメ属で見られる生殖様式は、雑種生殖と呼ばれる50年前に淡水魚のポエキリオプシス属魚類で報告された特殊な半クローン生殖と同一のものである。この生殖様式は、4章までに明らかになった種間の遺伝子流動が生じない現象を説明するもので、雑種生殖の再発見と並び学術的価値の優れた研究成果と極めて高い評価を与えられる。

総合考察では、3種の系統関係と地理的分布および雑種を含む集団間の生息地選好性の差異など既往の知見と本研究の成果を結実させ、生殖隔離機構の進化過程に関する仮説および2つの雑種集団を含む5つの遺伝子集団の共存メカニズムに関する仮説を提唱した。これらの仮説は、特殊な生殖様式やそれをもたらすゲノムの種間差など内在する生殖隔離の要因と、種間の生態的差異などマクロな観察結果を良く反映し、高いオリジナリティーと合わせて、優れた研究であると評価される。

以上の研究成果について、審査委員一同は学術的価値を高く評価し、大学院博士課程における研鑽や修得単位と合わせ、研究者としての将来性を確信し、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。