

[別紙 1]

論文の内容の要旨

水圏生物科学専攻

平成15年度博士課程 進学

氏 名 峰岸 有紀

指導教員名 塚本 勝巳

論文題目 ウナギ属魚類の集団構造と分類に関する研究

分子遺伝学の急速な発展は、これまでの形態形質に基づく伝統的な分類学に対して、多くの疑問を投げかけた。世界中で15種3亜種が認められているウナギ属魚類 *Anguilla* の分類においても同様である。解像度の高い分子マーカーを用いた集団解析の結果、ウナギ属魚類のいくつかの「種」は、遺伝的に明らかに異なる複数の繁殖集団を含むことが示され、分類の見直しが必要とされている。しかしながら、これらの集団解析は、対象種や研究者によって用いた分子マーカーや解析法が異なっているため、それぞれの結果を相互に比較し、遺伝的な分化程度をウナギ属全体で俯瞰することはできなかった。

そこで本研究では、ウナギ属魚類の遺伝的変異を調べることにより集団構造を明らかにし、これらに基づく新たな分類体系を確立することを目的とした。まず、(1) *A. marmorata*, *A. bicolor*, *A. australis* の3種を対象に、核DNA(マイクロサテライト)とミトコンドリアDNA(以下、mtDNA)の調節領域を用いて集団構造を詳細に調べた。次に、(2) 上記3種と検出された繁殖集団のウナギ属における系統的位置を明らかにするため、ウナギ属魚類全種と集団の系統推定を行った。さらに、(3) 集団、亜種、種の各分類段階の分化程度を明らかにするため、mtDNAを用いて各集団内、集団間、亜種内、亜種間、種内、種間の遺伝的変異量をウナギ属全体で比較した。これらの結果に基づいて、(4) 新たなウナギ属魚類の分類体系を提唱した。

1. *A. marmorata*の集団構造

インド洋西部から太平洋東部まで広く分布する*A. marmorata*の集団構造を明らかにするため、8個のマイクロサテライト遺伝子座と調節領域の塩基配列を用いて集団解析を行った。本種の分布域を網羅するように、マダガスカル、レユニオン、スマトラ、スラウェシ、フィリピン、台湾、日本、グアム、アンボン、パプアニューギニア、ニューカレドニア、フィジー、タヒチの計13地点から採集した計455個体を解析に用いた。

マイクロサテライト遺伝子座から遺伝的分化程度の指標となる固定指数(F_{ST})を算出したところ、北太平洋の4地点(日本、台湾、フィリピン、スラウェシ)、南太平洋の4地点(タヒチ、フィジー、ニューカレドニア、パプアニューギニア)、およびインド洋の3地点(スマトラ、レユニオン、マダガスカル)については、一部を除き、それぞれの地域の地点間で有意な差異は認められなかった。一方、これらの3地域とアンボン、およびグアムの2地点の間では互いに有意な差異が認められた。調節領域から算出した F_{ST} においても、マイクロサテライト遺伝子座と同様の結果が得られた。遺伝距離に基づく遺伝子系統樹では、北太平洋の4地点が1つの枝にまとまり、南太平洋、インド洋、グアム(マリアナ海域)は概ね地域ごとにまとまるものの、明瞭には分かれなかった。また、アンボンの標本は、主に北太平洋と南太平洋の枝に分かれて出現した。以上のことから、*A. marmorata*は4つの遺伝的に異なる集団(北太平洋集団、南太平洋集団、インド洋集団、マリアナ集団)からなることが明らかとなった。このうち北太平洋集団は他の集団から大きく分化しているのに対し、残りの3集団は互いに分化が浅いことが分かった。アンボンには、北太平洋集団と南太平洋集団に由来する個体が混在すると考えられた。

2. *A. bicolor*の集団構造

*A. bicolor*は、インド洋(*A. bicolor bicolor*)と太平洋(*A. bicolor pacifica*)に計2亜種をもつとされている。本種の集団構造を明らかにするため、インド洋東部(スマトラ)、インド洋西部(マダガスカル、レユニオン、セイシェル、マヨット)、太平洋(フィリピン)の計6地点から採集した計145個体を用いて解析を行った。

5個のマイクロサテライト遺伝子座から F_{ST} を算出したところ、インド洋の東西の地点は、どちらも太平洋と有意に異なることが分かった。これに対し、インド洋の東西の間に有意な差はないことが明らかになった。調節領域を用いて算出した F_{ST} も、マイクロサテライト遺伝子座と同様の結果を示した。また、調節領域の遺伝距離に基づく近隣結合樹においても、インド洋と太平洋の個体群はそれぞれ明瞭に異なるグループを形成する一方で、インド洋の個体群は東西でそれぞれがまとまることはなかった。以上のことから、インド洋と太平洋の2亜種は遺伝的に明瞭に異なり、インド洋の*A. bicolor bicolor*については、その東西で分化していないことが明らかとなった。

3. *A. australis*の集団構造

タスマン海を挟み東西で別亜種とされている*A. australis*の集団構造を明らかにするため、オーストラリアとニュージーランドから採集した計73個体の標本を用いて解析を行った。

3個のマイクロサテライト遺伝子座から F_{ST} を算出したところ、オーストラリアとニュージーランドの個体群は有

意に異なることが明らかになった。また、調節領域を用いた場合も同様の結果が得られた。しかしながら、調節領域の遺伝距離に基づく近隣結合樹では、それぞれの地域ごとにまとまらないことが分かった。以上のことから、オーストラリアの*A. australis australis*とニュージーランドの*A. australis schmidtii*は遺伝的に異なる集団ではあるが、両者の分化は非常に浅いと考えられた。

4. 系統関係

ウナギ属魚類の系統関係を明らかにすることにより、分類体系確立の一助とするため、mtDNA全塩基配列から15187サイトを用いて、ベイズ法によりウナギ属全種の系統推定を行った。また、4集団が検出された*A. marmorata*について、cytochrome *b* (以下、*cyt b*) 遺伝子の1139サイトを用いて遺伝距離を算出し、近隣結合法により集団間の系統推定を行った。

その結果、ウナギ属内では現在アフリカ大陸東岸に生息する*A. mossambica*が最も早く派生し、その後大きな2つの系統に分岐したことが分かった。そのうちの一方の系統では、まずインドネシア・ボルネオ島に固有の*A. borneensis*が派生し、*A. australis*を含むオセアニアの3種・亜種と大西洋の2種が姉妹群となることになった。他方の系統は、*A. marmorata*と*A. bicolor*を含むインド洋から太平洋に広く生息する計11種・亜種から構成されていた。地理的に大きく離れたオセアニアと大西洋の種群が姉妹群になることから、ウナギ属全体の種分化と分散の過程を、現在の各種の分布域から単純に説明することは難しいものと考えられた。また、*A. marmorata*は、最初に1つの系統が派生した後、2つの系統に分岐した。このうち、最初に派生した1つと、後に派生した2つの系統のうち一方、さらにはもう一方の系統の一部が北太平洋集団を構成し、残りの系統から最近になって南太平洋、マリアナ、インド洋の3集団が派生したことが明らかとなった。

5. 分類

ウナギ属魚類の分類を見直すため、従来による種と亜種、および本研究で明らかになった繁殖集団におけるmtDNAの3遺伝子領域の変異サイト数を算出し、相互に比較した。

その結果、16S ribosomal RNA遺伝子では、*A. marmorata*の集団間変異(0~8サイト)は、*A. australis*の亜種間変異(0~7)とほぼ同程度の範囲と値を示した。また、*A. bicolor*の亜種間変異(9~18)は、すでにウナギ属の種間変異(14~58)のレベルに達していることが明らかになった。同様に、他の2遺伝子領域(調節領域、*cyt b*遺伝子)においても、*A. marmorata*の集団間変異は、12例中10例の組み合わせで*A. australis*の亜種間変異よりも大きいことが分かった。これらのことから、従来広く認められていた集団、亜種、種という分類の階層構造は、遺伝的変異量で表される分化程度と正確には対応しないものと考えられた。また一方で、本研究で独立した繁殖集団と認められた9集団(*A. marmorata*の4集団、*A. bicolor*と*A. australis*の各々2亜種、*A. japonica*の1種)の集団内変異を見てみると、例えば調節領域の最大値は15~77サイトであり、繁殖集団により大きく異なった。これは種を認識する共通の基準として、遺伝的変異量(変異サイト数)のある一定の値を適用することはできないことを示唆している。

そこで本論では、遺伝的分化程度の大小や分化後の経過時間にかかわらず、他と生殖隔離が明確な繁殖集団を、それぞれ種として取り扱うことが適切と考えた。こうして得られた「種」は、これまで明らかになっている形態形質の特徴や生態学的特性と矛盾しない。以上より、本論で得られた集団解析の結果とシノニムの記載に基づいて、ウナギ属魚類を以下の21種に分類することを提案した；*A. marmorata*, *A. fidjensis*, *A. mauritiana*, *A. marianaensis*, *A. bicolor*, *A. pacifica*, *A. australis*, *A. schmidtii*, *A. anguilla*, *A. borneensis*, *A. celebesensis*, *A. dieffenbachii*, *A. interioris*, *A. japonica*, *A. megastoma*, *A. mossambica*, *A. nebulosa*, *A. labiata*, *A. obscura*, *A. reinhardtii*, *A. rostrata*.

以上本研究では、集団、亜種、種という各分類段階における遺伝的変異量を比較検討することにより、ウナギ属魚類にはそのような階層的な分化段階が存在しないことを明らかにした。またウナギ属魚類をそれぞれの繁殖集団ごとに「種」と考え、新たな分類体系を提唱した。これは従来のウナギ属の分類の混乱を解消し、ウナギ属魚類の生物学と水産学の発展に貢献する。さらに、分類学一般の新しい研究展開の端緒となるものと考えられる。