

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 秋元 清治

キンメダイは日本周辺海域において重要水産資源であるが、近年、漁獲高が急激に減少しつつあり、早急に資源回復するための方策を講ずることが望まれている。しかしながらキンメダイ資源については、資源管理の根幹となる集団構造および卵、仔稚魚の分布、移送様式、稚魚の着底時期などの初期生態に関してはほとんど知見が得られていない。さらに、キンメダイ、フウセンキンメ、ナンヨウキンメのキンメダイ属3種の卵仔稚魚期における判別は困難で、キンメダイの適正な資源管理を推進する上で大きな障害となっている。そこで本研究は、ミトコンドリア DNA 分析によりキンメダイ属3種の種判別法を確立し、日本周辺海域におけるキンメダイの集団構造の解析を試みるとともに、卵仔魚の分布様式を明らかにすることを目的とした。

第1章では、伊豆諸島および小笠原諸島周辺海域で採集し、中坊(2000)の方法に従い形態的特徴から同定したキンメダイ、フウセンキンメ、ナンヨウキンメ成魚筋肉から全 DNA を調製し、16S rRNA 遺伝子領域を PCR で増幅した。その結果、3種間で11座位に塩基置換がみられ、これら種間変異を利用することで3種の判別は可能であった。また、近隣結合法により作成された分子系統樹上で、フウセンキンメはナンヨウキンメに比べてキンメダイにより近縁であることが示された。さらに、オーストラリア産の標本で GenBank にキンメダイとして登録されている塩基配列データ (AF221886) は本研究のフウセンキンメのデータと一致した。

第2章では、シトクロム *b* 遺伝子の5'端側一部領域 307 bp の塩基配列を決定したところ、キンメダイおよびフウセンキンメで、それぞれ11および3ハプロタイプが得られた。これら日本産の試料の塩基配列データを GenBank に登録されているニューカレドニア産キンメダイ A および W 種のデータと比較したところ、A 種は日本産キンメダイのハプロタイプと、一方、W 種は日本産フウセンキンメのハプロタイプとほぼ一致し、ニューカレドニア産キンメダイ A 種および W 種はそれぞれ、キンメダイおよびフウセンキンメと同定された。両種とも最も頻度の高いハプロタイプが日本産とニューカレドニア産の試料集団で一致し、太平洋の南北両半球にわたる広範囲な海域における遺伝子流動の可能性を示した。次に、日本周辺の漁場で採集したキンメダイの成魚筋肉から全 DNA を調製し、制御領域全長の中央領域の塩基配列を決定した。824 bp 中、塩基置換は54箇所のみられ、試料間で同一のハプロタイプは認められなかった。また、平均塩基置換率は漁場内、漁場間でほとんど差が見られなかった。さらに、純塩基置換係数は異なる漁場試料間で低く、明白な遺伝的分化は認められなかった。

第3章では、伊豆諸島海域で採集しキンメダイ属の形態的特徴をもつ浮遊卵を現場で5%ホルマリン溶液中に固定し、1ヶ月以内に99.5%エタノール溶液に置換した。16S rRNA 遺伝子一部領域を対象とするPCRに供したところ、6割で増幅DNA断片が得られ、決定した塩基配列は全てキンメダイのそれと一致した。次に、八丈島北方の黒瀬海穴付近でノルパックネットの表層曳きおよび鉛直曳きによりキンメダイ属の形態的特徴をもつ卵および仔魚を採集し、現場でエタノール溶液中に保存した。採集試料から無作為に抽出した卵および仔魚を分析に供したところ、キンメダイ遺伝子と同じPFLPパターンおよび塩基配列を示した。以上の分析から採集試料が全てキンメダイの卵と推定されたので、採集された卵仔魚の分布様式を検討した。その結果、卵は採集地点により分布密度が大きく異なり、パッチ状に存在するものと考えられた。一方、表層水平曳きで採集されたキンメダイ卵は鉛直曳きで採集されたものに比べて、発生段階が進んでいるものが多かったことから、海底付近で産卵された後、発生が進むにつれて表層付近まで上昇するものと考えられた。

以上、本研究は、ミトコンドリア16S rRNA 遺伝子の種間変異からキンメダイ属3種の種判別を行った。また、シトクロム*b* 遺伝子の解析からキンメダイおよびフウセンキンメが太平洋の南北両半球にまたがる広範囲の海域で遺伝子流動をもたらしていることを示唆し、一方、制御領域の解析から日本周辺のキンメダイは漁場間で遺伝的差異はほとんどないことが示された。さらに、これら分子生物学的成果を応用して、キンメダイ卵は発生が進むにつれて表層付近まで上昇し、表層付近にパッチ状に分布することを明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。