

論文の内容の要旨

農学国際 専攻
平成17年度博士課程 進学
氏名 高木 映
指導教員名 黒倉 壽

論文題目

インドシナ半島におけるナギナタナマズ *Notopterus notopterus* の
遺伝的多様性に関する研究

第一章 緒言

インドシナ半島を含む東南アジアは生物地理区分上、インド亜大陸と共に東洋区に分類されている。東洋区は熱帯に属しており、高い生産性を有しており、さらに変化に富んだ地形が生物に様々な生活環境を与え、多くの生物を育んでいる。このように、東洋区は世界的にみても生物の多様性の非常に高い地点の一つである。また他の多くの生物同様、淡水魚の多様性も非常に高い地点である。

東洋区は地球上の全陸地の十分の一にも満たない狭い地点でありながら、全淡水魚の三分の一にも及ぶ三千種以上が生息しているといわれている。同地点では、特にコイ目とナマズ目が卓越しており、これら二つの目で全体の半分以上を占めている。これら優勢を誇っている魚たちは、個々の生息場所の環境に特化して適応しているために、種類は非常に豊富だが、分布域としては狭い魚が多い。逆に、広い分布域を有する魚は例外的であるといえる。そのような例外的な魚の代表としてナギナタナマズの一種である *Notopterus notopterus* があげられる。

これまで、同地点で優占している魚種について科学的研究がある程度なされてきたが、これらの主要な魚だけで東南アジアの魚類の多様性が形成されているわけではない。しかし、研究も殆どされてこなかったような魚たちが、同地点の淡水魚類の多様性を一層華やかなものにしてきているのも事実である。

そこで本研究では、ナギナタナマズ科の一種である *N. notopterus* がどのようにアジアで分布を拡大していき、その過程で多様性がどのように形成されてきたのかを分子生物学的手法を用いて解明する事を目的とした。そして、他魚種との比較検討によって、特にインドシナ半島という地点の魚類の多様性がどのように育まれてきたのかを考察した。

第二章 ナギナタナマズ *N. notopterus* の分布拡大経路

どのような経路をたどり、*N. notopterus* は現在のように西はインド亜大陸、東は中国南部にまで分布を拡大してきたのだろうか。そこで本章では、本種の分布拡大経路解明のため、分子生物学的手法を用いて調べた。

東南アジア各地、バングラデシュからカンボジアまで 7 水系 13 地点から合計 599 個体を採集しミトコンドリア DNA (mtDNA) 解析を行った。解析方法は全 DNA を抽出し、PCR 法及び直接塩基配列決定法により mtDNA の NADH 脱水素酵素サブユニット 2 (ND2) 領域の全域 1047 塩基対の配列を決定した。得られた全個体の塩基配列を比較し、ハプロタイプに整理したのち近縁種である *Chitala ornata* を外群として、近隣接合法によるクラスタ解析し、樹形図を作成した。また全個体について標本採集地点内および地点間の平均塩基置換率と、遺伝的分化の指標となる F_{ST} を算出し、遺伝的異質性について検討した。

ND2 領域のクラスタ解析結果から得られた遺伝的なクレードの中から代表的な個体について同様に mtDNA の Cytochrome b (Cyt b) 領域の塩基配列決定を行い、ND2 領域の結果とあわせ、再解析を行った。

ND2 領域の解析結果から、599 個体は 136 のハプロタイプに分けられた。そこから得られた樹形図では、概ね水系ごとにまとまったクレードを形成した。唯一例外として、メコン川中流部と下流部が異なるクレードを形成した。地点内の平均塩基置換率は 1%未満と低い値にまとまっていた。地点間でも同一水系内では基本的に低く 1%未満であった。しかしながら同一水系内でありながら、メコン川の中流部と下流部では 2%と比較的高い値を示した。一方で、水系も異なり、距離的にも離れている南タイとカンボジアでは 0.6%前後と同一水系内のような低い値であった。水系の異なる地点間では、隣り合っているミャンマーのイラワジ水系とサルウィン水系間の 0.84 ~ 0.89%という比較的低い値を除き、その他の地点間では 2 ~ 3%の違いがあった。特にバングラデシュと他の地点間では 10%と非常に高い値であった。ちなみに、近縁種の *C.ornata* との平均塩基置換率は 11 ~ 12%程度であった。遺伝分化指数 F_{ST} に関しても概ね同じような結果であった。

ND2 領域に Cytb 領域を加えた樹形図から、*N. notopterus* は分布拡大に時間的な差はあるものの、順次西から東へ、すなわちバングラデシュからカンボジアへだんだんと分布を

拡大していった事が示唆された。これだけ広域に分布しているナギナタナマズは、やはり遺伝的に均質ではなく、分布を拡大していく中で、地点ごとに分化し、多様性を高めていったと考えられる。

第三章 ナギナタナマズ *N. notopterus* メコン水系内での集団分化

第二章の結果から、メコン川では中流部と下流部で遺伝的に明確に異なる少なくとも二つのグループが存在することが明らかになった。そこで本章では、より詳細にメコン川内部での現在のナギナタナマズの集団の分化を明らかにするために第二章と同様なミトコンドリア DNA 解析に加え、核 DNA の Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 解析を行った。

メコン川中流部のラオスから 2 地点、下流部のカンボジアから 7 地点、それと比較の為に隣国タイを流れるチャオプラヤ水系の 1 地点及びどちらとも水系の異なっている南タイの標本を含む計 11 地点から計 505 個体を採集して解析に用いた。

核 DNA の RAPD 解析の結果から、メコン川の中流部と下流部では全く異なるバンドパターンを示した。このことから、現在においても、中流部と下流部は遺伝的に隔てられていることが示唆された。

以上の分析の結果から本種のメコン川における集団の形成過程を次のように推測した。*N. notopterus* が西側のインド亜大陸からインドシナ半島へと順次、分布を広げてきた過程において、少なくとも 3 つ以上のグループが形成され、そのひとつがタイのチャオプラヤ水系に侵入し、別のグループが現在のメコン水系の中流域へと侵入し、また別のグループが、マレー半島を南下した。これらのうちマレー半島を南下したグループがマレー半島とカンボジアとが陸続きになった時期に、現在のカンボジア平原へと侵入し、分布を広げたのではないだろうか。そのために現在は海に隔てられたカンボジアと南タイの個体が遺伝的に非常に近縁な関係にあるという仮説が考えられた。

第四章 ナギナタナマズ *N. notopterus* と他三魚種との比較

上記の *N. notopterus* でみられた遺伝的な変異が、この地域の魚に広くに共通することなのか、それとも特殊な事例であるかを検証するために、スズキ目のキノボリウオ *Anabas testudineus*、タウナギ目の *Macrogathus siamensis*、コイ目の *Thynnichthys thynnoides* の三魚種と比較を行った。キノボリウオは、ナギナタナマズ同様に東洋区全体に生息する数少ない比較対象魚種として、広範囲での比較に用いた。残りの *M. siamensis* と *T. thynnoides* とは、メコン水系及びチャオプラヤ水系という限定された地点のみに生息する魚として、それぞれ、ナギナタナマズとの生態の違いからメコン川内での多様性の比較を行った。

供試魚の採集は、キノボリウオは東南アジア各地、バングラデシュからカンボジアまで 5 水系 13 地点から合計 602 個体。タウナギ目の *M. siamensis* は、メコン水系内のラオス 2 地点、カンボジアの 2 地点から合計 46 個体。コイ目 *T. thynnoides* は、ラオス 1 地点、カンボジア 3 地点から合計 79 個体をそれぞれ採集した。それらの標本を用い mtDNA の直

接塩基配列決定法を用いた解析を行った。

その結果、キノボリウオでもナギナタナマズと同様に、基本的には水系ごとに分化している事が明らかになった。しかしながら、分布拡大経路としては、ナギナタナマズは西から東へと順次分布を拡大しているのに対して、キノボリウオは、ミャンマーとタイ中間地点あたりから、西に分布を拡大したものと、反対に東に分布を拡大していったグループにわかれそれぞれの地点で多様化していったことが示唆された。このことから、魚種によって分布拡大過程には違いがあることがわかった。

メコン川内という狭い範囲内での遺伝的な分化については、タウナギ目の *M. siamensis* は、ナギナタナマズ同様に、中流部と下流部で遺伝的に明確に分化していた。一方コイ目の *T. thynnoides* は中流部と下流部で遺伝的な分化は認められなかった。移動性の低いタウナギ目と、移動回遊性の高いコイ目という生態的な違いによって、遺伝的な多様性の生じ方には違いがある事が示唆された。

第五章 総合考察

ナギナタナマズ *Notopterus notopterus* は侵入経路や分布拡大時期といった過去のイベントを経て、現在のような遺伝的な多様性を獲得していった事が示唆された。

このように東南アジアにおける淡水魚の多様性は地点からの侵入のような歴史的背景および、東南アジアの変化に富んだ気候や地理的条件といった現在の状況と共に、それぞれの魚のもつ生態的な特徴が有機的に働く事によって形成され、現在も変化を続けているのであろう。

本研究は、*N. notopterus* では特にインドシナ半島におけるナギナタナマズの分布拡大経路を明らかにした。今後さらにインド全域や中国南部からも標本を採取し、本種の分布域のすべてをカバーすると共に、より多くの他魚種を併せて解析する事によって、東洋区に生息する淡水魚の遺伝的多様性の更なる解明の一助となる事を強く期待する。