

氏 名(本籍) いけ 池 だ 田 みのろ 実

学位の種類 博 士 (農 学)

学位記番号 農 第 505 号

学位授与年月日 平 成 6 年 12 月 8 日

学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当

学位論文題目 日本産ヌマエビの地理的分布と種内分化
に関する遺伝学的研究

論文審査委員(主 査) 教 授 藤 尾 芳 久

教 授 谷 口 旭

教 授 大 方 昭 弘

論文内容要旨

序論

地球上の遺伝資源は種として維持されている。種は遺伝的に均一な個体の集まりではなく、それぞれの種内には変異が見られ、多様性が存在する。この種内の変異性が地理的分布と対応する場合、亜種や地域集団として認識される。それらの特性を遺伝学的に把握しておくことは種の存在様式をとらえることになり、育種素材の開発および遺伝資源の保全において重要な知見となる。

北海道を除く日本の淡水域に生息するヌマエビ (*Paratya compressa*) は、南方域に分布し頭胸甲上に棘を有するヌマエビ (*P. c. compressa*) と、北方域に分布し棘のないヌカエビ (*P. c. improvisa*) の2亜種に分けられている。しかし、種内における卵サイズの変異が棘の有無とは対応せず、日本産ヌマエビの分化様式についてははっきりとした結論が出されていない。また本種は人為的繁殖や移殖がなされておらず、自然における遺伝資源の存在様式を知るためには良い材料である。

本研究はアイソザイム遺伝子を標識として、分布域全体でヌマエビとヌカエビの地域集団の遺伝的分化と形態的分化の程度について明らかにし、種内の遺伝的分化と地理的分布の対応について検討することによって日本産ヌマエビの存在様式を明らかにすることを目的とした。

第一章 日本産ヌマエビの亜種間の遺伝的差異

頭胸甲上の棘の有無で分けたヌマエビとヌカエビの2亜種間の遺伝的分化の程度を明らかにするため、15酵素についてアイソザイム分析を行った。その結果、2亜種とも15酵素を支配する18アイソザイム遺伝子座が推定できた。このうち7遺伝子座 (*Aat-1*, *Ao*, *Fdp-1*, *G3pdh*, *Idhp-1*, *Idhp-2*, *Ldh*) は、2亜種間で共通の対立遺伝子を持たない分岐遺伝子座であった(表1)。2亜種間のNeiの遺伝的距離 (D) は0.5973で、甲殻類をはじめとした他の動物の種間および亜種間の遺伝的距離と比較すると、両者の遺伝的分化の程度は亜種よりも種レベルに相当すると考えられた。

第二章 北日本に生息するヌカエビ地域集団における遺伝的分化

北日本に生息するヌカエビの地域集団の遺伝的分化の程度について明らかにするため、分布域全体から採集した26採集地について18アイソザイム遺伝子座について調べた。その結果、採集地間では少なくとも一つの遺伝子座の対立遺伝子頻度に有意な差異がみられたことから、各採集地はそ

れぞれ独立した繁殖集団とみなすことができた。さらに、*Fdp-1*、*Fdp-2*、*G3pdh* の 3 遺伝子座では地域間で共通の対立遺伝子を持たない分岐がみられ、それらの特異的な対立遺伝子の組み合わせにより、ヌカエビは 4 つの地域集団（東北日本海、東北太平洋、関東、東海）に分けられた（図 1）。これらの 4 地域集団間の *Nei* の遺伝的距離（*D*）を算出したところ 0.0882 から 0.2103 の値を示し、これらの値は亜種レベルに相当すると考えられた。

第三章 琵琶湖産ヌマエビの MDH アイソザイムの重複

琵琶湖産ヌマエビの MDH アイソザイムにおいて他の地域では見られない 2 つのゾーン（MDH-1 と MDH-2）が観察された（図 2）。そこで、MDH の遺伝子支配を明らかにするために、琵琶湖産ヌマエビの MDH-2 のヘテロ個体のバンドの濃度比を調べたところ、1 : 2 : 1 となり、MDH-1 と MDH-2 は異なる遺伝子座（*Mdh-1* と *Mdh-2*）によって支配されていることがわかった。一方、MDH-1 のみが出現した久保田川、日置川、高岡産ヌマエビ、玉川産ヌカエビのヘテロ個体のバンドの濃度比を調べたところ、1 : 2 : 1 であった。したがって MDH-1 の位置に MDH-2 が重なって出現しているのではないことが示された。ヌマエビと近縁で MDH-1 と MDH-2 が出現するミゾレヌマエビおよびミナミヌマエビについて調べた結果、2 つの遺伝子座にそれぞれ、活性を持たないヌル遺伝子の多型がみられた。したがって琵琶湖以外のヌマエビ、ヌカエビの *Mdh-2* がヌル遺伝子で固定されていることがわかった。

第四章 南日本に生息するヌマエビ地域集団における遺伝的分化

南日本に生息するヌマエビ地域集団の遺伝的分化の程度を明らかにするため、分布域から採集した 15 採集地について *Mdh-2* を加えた 19 アイソザイム遺伝子座の対立遺伝子頻度を調べた。その結果、ほとんどの採集地間（105 組み合わせ中 103 組）で少なくとも一つの遺伝子座の対立遺伝子頻度に有意な差異がみられたことから、各採集地はそれぞれ独立した繁殖集団とみなすことができた。また、琵琶湖以外の集団では *Mdh-2* がヌル遺伝子で固定されていた。

調べたヌマエビの 15 集団は 3 遺伝子座（*Aat-1*、*Idhp-2*、*Ldh*）の分岐によって I 型と II 型の二つに明確に大別できた。二型間の *Nei* の遺伝的距離（*D*）は 0.4898 で、遺伝的分化の程度は種レベルに相当するものと考えられた。I 型は太平洋と日本海の両側の河川のみにもみられ、集団間は低い分化

程度 ($D = 0.0027$) であるのに対し、II型は日本海側のみの河川および湖沼にみられ、亜種レベル($D = 0.1$) に相当する5つの地域集団に分けられた(図3)。

I型とII型に形態的差異が存在するかどうかを調べた結果、頭胸甲上の棘の数は、I型ではすべての個体が2本以上(平均は2.298)を示したが、II型では多くの個体が1本を示し(平均は1.053)、集団によっては亜種ヌカエビの特徴である頭胸甲上に棘のない個体もみられた。したがって、これまで形態で分類されていたヌマエビとヌカエビについて、総合的に遺伝的分化を解析する必要性が示された。

第五章 日本産ヌマエビの地理的分化と形態的分化

日本産ヌマエビ41集団の遺伝的類縁関係を総合的に明らかにするため、19アイソザイム遺伝子座の対立遺伝子頻度から各集団間の遺伝的距離を求め、枝分かれ図を作成した。その結果、図4に示したように日本産ヌマエビは日本の北部、中部、南部の3つの大きなグループに分けられ、ヌマエビII型はヌマエビI型よりもヌカエビと遺伝的に近縁であることが示された。各グループの形態をみると、北部グループの集団は頭胸甲上の棘を持たず大卵を示し、典型的なヌカエビであった。南部グループの集団は棘を持ち小卵で、典型的なヌマエビであった。一方、中部グループにはヌカエビ関東、ヌカエビ東海、ヌマエビII型が含まれ、中卵を示す琵琶湖集団を除いて大卵であったが、棘を持つ個体のみから構成される集団、持たない個体のみから構成される集団、両方の個体から構成される集団の3種類が存在した(図5)。このことから中部グループには遺伝的、形態的に分化した集団が混在するものと考えられた。

まとめ

以上の結果から日本産ヌマエビは遺伝的に均一な集団として存在するのではなく、遺伝的および形態的に分化した北部、中部、南部の3大グループに分けられ、これらの3大グループは亜種レベル以上に分化した10の地域集団から構成され、さらにそれぞれの地域集団は各地に独立した繁殖集団より構成されるという階層構造を持つことが示された。

表1. ヌマエビとヌカエビの18アインゾンザイム遺伝子座における対立遺伝子頻度

分岐遺伝子座			非分岐遺伝子座						
単型	遺伝子座	対立遺伝子 (95)	ヌマエビ	ヌカエビ	対立遺伝子 (105)				
Ao	A	1.000	0	1.000	Aldh	A	1.000	1.000	
	B	0	1.000	1.000	Alp	A	1.000	1.000	
Fdp-1	A	0	1.000	1.000	Est	A	1.000	1.000	
	B	1.000	0	0	Me	A	1.000	1.000	
Idhp-2	A	0	1.000	1.000	6Pgd	A	1.000	1.000	
	B	1.000	0	0	最大対立遺伝子頻度が				
Ldh	A	0	1.000	1.000	Aat-2	A	1.000	0.990	
	B	1.000	0	0	0.95以上				
Aat-1	A	0.010	0	0	Mdh	A	0.989	1.000	
	B	0.980	0	0	B	B	0.011	0	
	C	0.010	0	0	Pgm				
	D	0	1.000	0	A	A	0.005	0	
Idhp-1	A	0	0.010	0.990	B	B	0.995	0.990	
	B	0	0.990	0	C	C	0	0.010	
	C	1.000	0	0	最大対立遺伝子頻度が Fdp-2				
G3pdh	A	0	1.000	1.000	A	A	0	0.192	
	B	0.080	0	0	B	B	1.000	0.808	
	C	0.893	0	0	Gpi				
	D	0.027	0	0	A	A	0.184	0.500	
最大対立遺伝子頻度が				0.95以下(多型)					
G3pdh				Mpi					
0.95以下(多型)				A				0.844	0
				B				0.116	0.770
				C				0	0.230

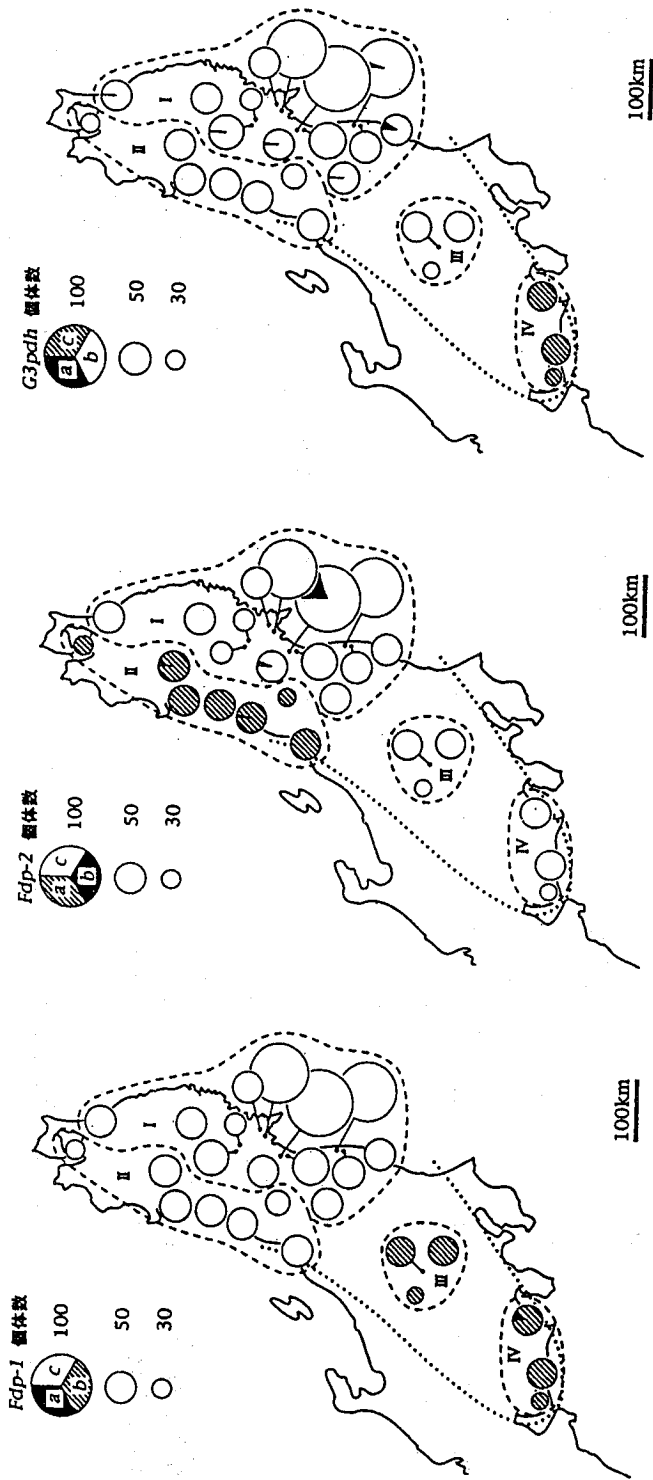


図1. ヌカエビの3遺伝子座における対立遺伝子の地理的分布. I: 東北太平洋グループ; II: 東北日本海グループ; III: 関東グループ; IV: 東海グループ.

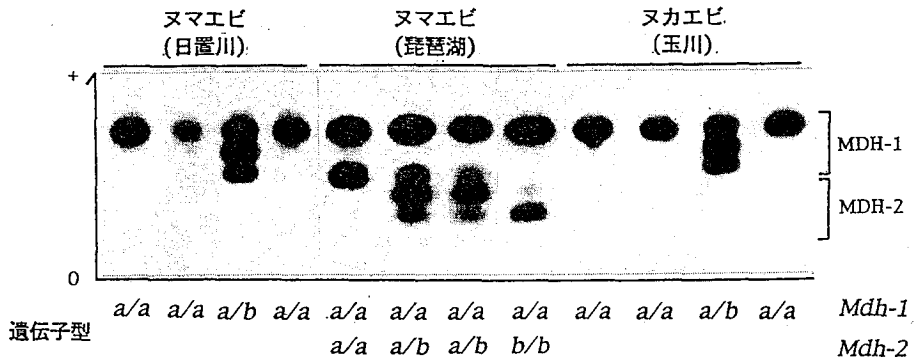


図2. 琵琶湖産又マエビと他地域の又マエビ、又カエビのMDHアイソザイムの電気泳動像

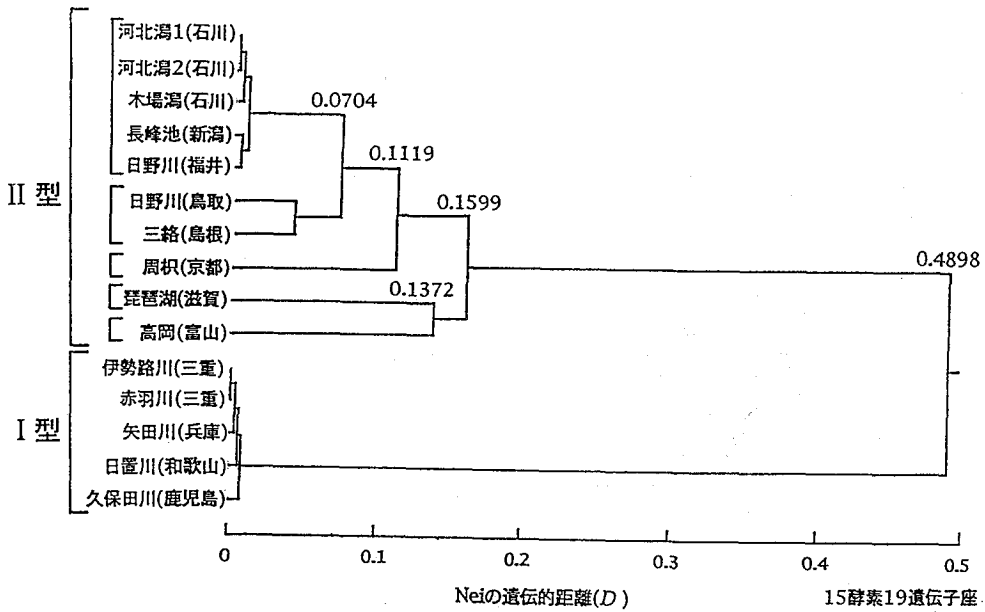


図3. 又マエビ15集団の遺伝的類縁関係

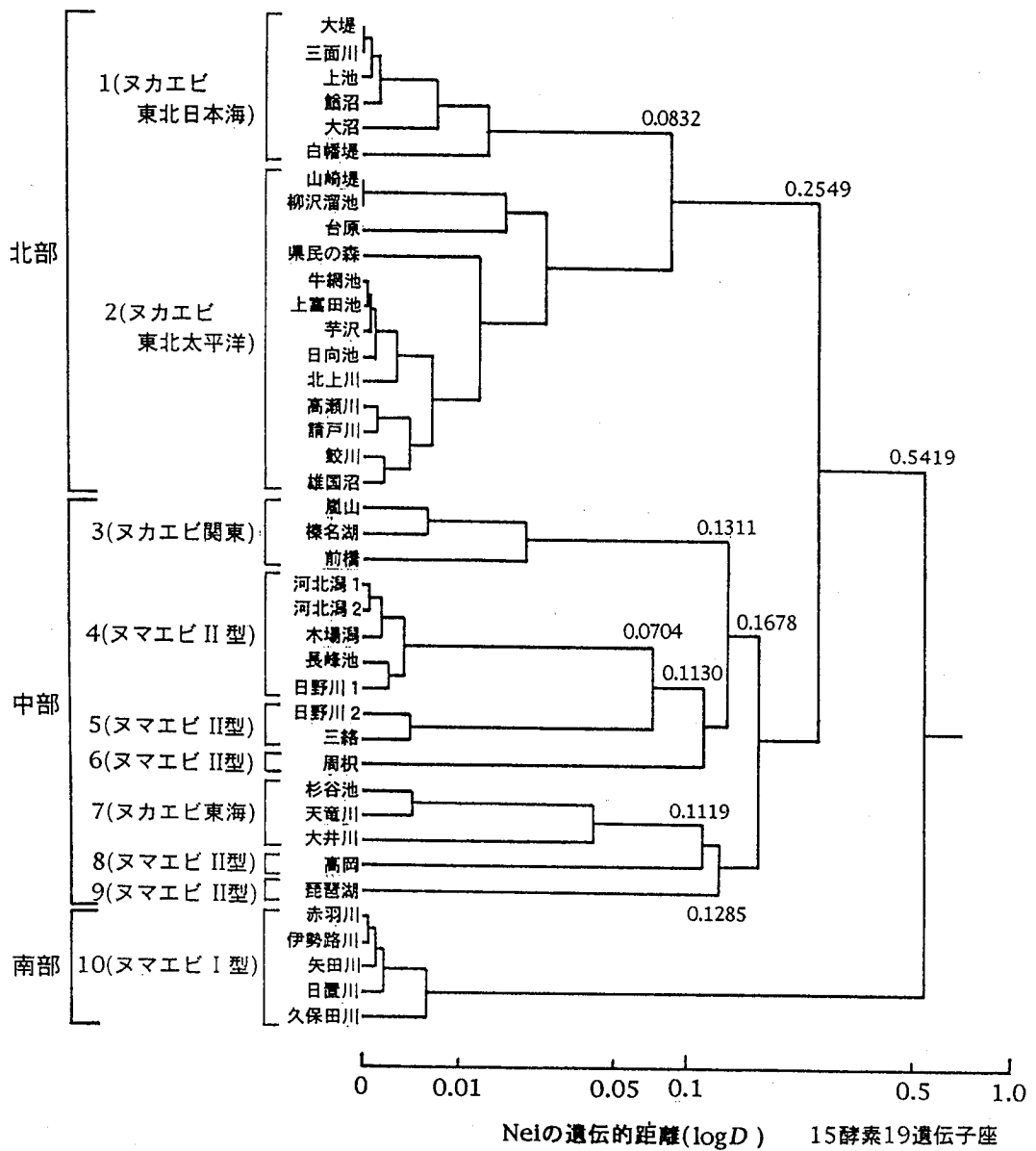


図4. 日本産ヌマエビ41集団の遺伝的類縁関係

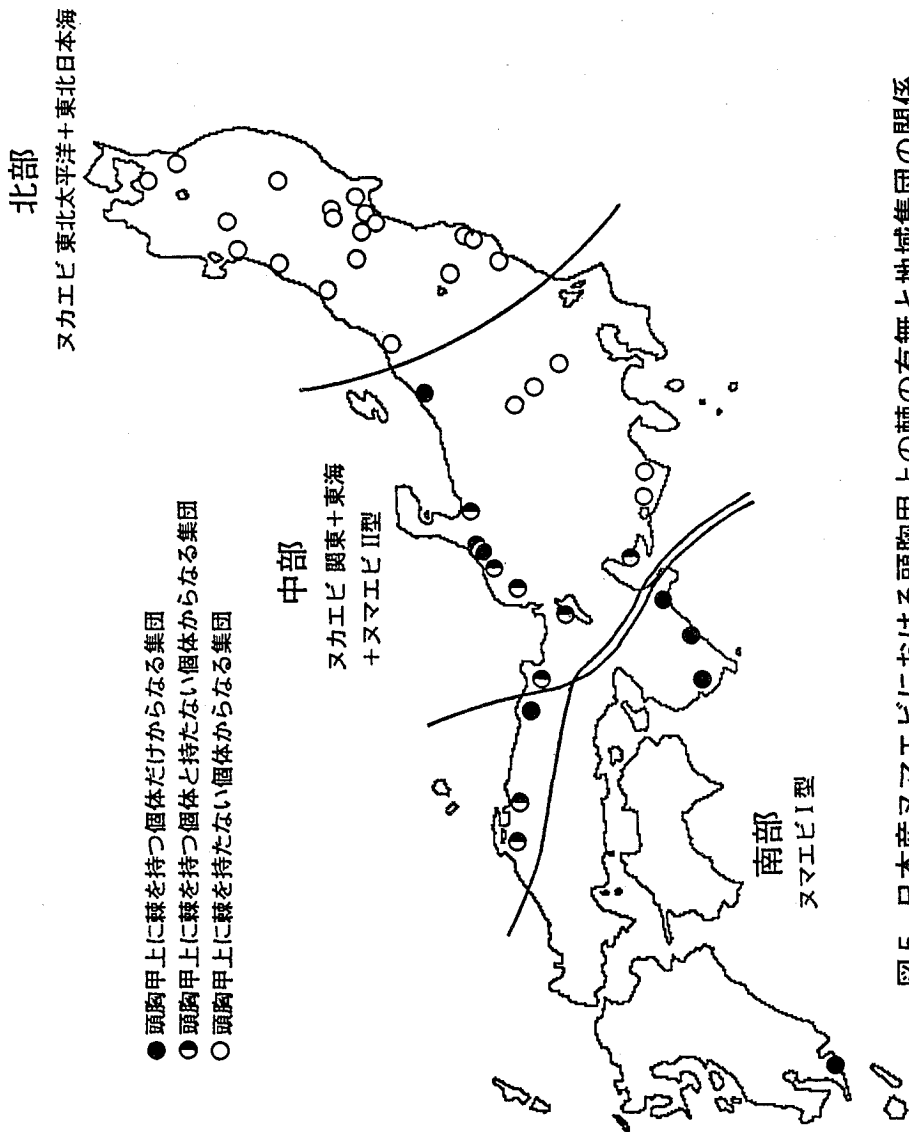


図5. 日本産ヌカエビにおける頭胸甲上の棘の有無と地域集団の関係

論文審査の要旨

遺伝資源である生物種を対象とした育種素材の開発や保全法の確立が望まれている。このためには遺伝資源としての種の存在様式を把握することが必要である。しかし、産業的に重要な水産生物は人為繁殖や移殖放流がなされ、自然状態とは程遠い。ヌマエビは北海道を除く日本の淡水域に普通に生息し、人為的繁殖や移殖放流がなされていないことから、自然の遺伝資源の存在様式を知る上で適した種である。また、ヌマエビには頭胸甲上のトゲの有無によって2亜種に分類され、それらは中部以北と以南に生息するという地理的分化が認められている。しかし、卵サイズの変異は必ずしもトゲの有無や地理的分化とは一致せず、種内分化の様相は明確ではない。本論文ではヌマエビの分布域全体から採集した地域集団を対象として、アイソザイム遺伝子を指標とした遺伝的分化と地理的分布の対応、および形態的分化との対応を解析し、日本産ヌマエビの種の存在様式を明らかにすることを目的としている。

本研究はまず、頭胸甲上のトゲの有無で分類上亜種とされるヌマエビとヌカエビの遺伝的分化を18アイソザイム遺伝子を指標として調べ、2亜種間に共通対立遺伝子を持たない7つの分岐遺伝子座が存在すること、およびそれら間の Nei の遺伝的距離が0.5973であることを示し、2亜種分化が一般に報告されている種レベルであることを明らかにした。

そこで北日本に生息する亜種ヌカエビを対象に、分布域を網羅するように採集した26地点で遺伝的分化の程度を調べている。その結果、各採集地点はそれぞれ遺伝的に独立した繁殖集団を形成するが、東北地方太平洋側と日本海側、関東地方、および東海地方ではそれぞれ地域によって特異的な対立遺伝子を保有することがわかり、亜種ヌカエビには地理的分布と対応した4地域集団が存在することを明らかにした。

つぎに亜種ヌマエビの遺伝的分化を明らかにするために南日本の15地点から標本を採集した。この時、琵琶湖産のヌマエビにおいて特異的にバンドが発現したMDH-2アイソザイムについて遺伝様式の分析を行い、ヌマエビのMDHには2つの遺伝子座が存在し、バンドの発現がみられない個体はMdh-2遺伝子座に活性を示さないヌル遺伝子で固定されていることを示した。そこで19アイソザイム遺伝子座を指標としてヌマエビの15地点間の遺伝的分化の程度を調べた。その結果、15地点は3遺伝子座の遺伝的分岐の存在によって2型（Ⅰ型とⅡ型）に分けられ、それらは種レベルの遺伝的距離を示すことを明らかにした。さらに日本海側の河川と湖沼にみられたⅡ型には亜種レベルに相当する遺伝的分化をした5地域集団に分けられた。これら5地域集団の中には亜種ヌカエビの特徴とされる頭胸甲上にトゲのない個体が存在し、形態的に分類されているヌマエビとヌカエビに対して総合的な遺伝的分化の解析が必要になった。

そこで日本産ヌマエビ41集団を対象として19アイソザイム遺伝子を指標に集団間の遺伝的分化の程度と地理的分布を解析したところ、日本産ヌマエビは日本の北部、中部、南部の種レベルの分化程度を示す3つの大きなグループに分けられ、これらは亜種レベルに分化した10地域集団から構成され、さらにそれぞれの地域集団は採集地点ごとに遺伝的に独立した繁殖集団によって構成されるという階層構造を明らかにしている。よって、博士（農学）の学位を授与するに十分な価値があると判断する。