HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	The reproductive isolation mechanisms between the closely related nine-spined stickleback species, the freshwater type and the brackish water type of Pungitius pungitius, and its evolutionary interpretation for each of their speciation processes [an abstract of dissertation and summary of dissertation review]
Author(s)	目黒, 悠一朗
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第11047号
Issue Date	2013-06-28
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53222
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuichiro_Meguro_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（水産科学）	氏　名	目黒　悠一朗

学　位　論　文　題　目

The reproductive isolation mechanisms between the closely related nine-spined stickleback species, the freshwater type and the brackish water type of *Pungitius pungitius*, and its evolutionary interpretation for each of their speciation processes

（トミヨ属淡水型と汽水型間における生殖的隔離機構および各種の種分化プロセス）

生物多様性は地球からの人類共有の財産であり、その価値は計り知れない。しかしながら、生物多様性の消失が日々進行している危機的状況において、生物多様性の創出・維持機構についての知見は未だ限られている。特に、種レベルにおける多様性は生物多様性保全において最も一般的かつ重要な保全指標であることからも、種の創出・維持機構について明らかにすることは生物学における重要な研究課題のひとつである。近年、種分化の初期状態にあると考えられる多くの系統を内包するトゲウオ科に属するイトヨ種群を研究対象として、いかにして新たな種が創出されるのかについて多くの研究がなされ、種分化メカニズムの初期状態に関する重要な知見が蓄積されつつある。しかし、種分化の初期状態から、より強固な生殖的隔離が成立する要因を深く理解するために、種レベルの多様性に乏しいイトヨ属魚類に代わる新たなモデルシステムが待望されている。

同じトゲウオ科に属するトミヨ属魚類は類似した生物学的特性や分布を有し、属内に８種以上という高い種多様性を有することから、新たなモデルシステムとして期待を集めている。近年、高橋洋（私信）と他の研究者によって北半球広範をカバーするトミヨ属魚類の分子系統地理学的解析が行われ、極東アジア産トミヨ属魚類の進化史が次のとおり推定されている。およそ３万年前の氷期による異所的隔離により、トミヨ属淡水型（以下、淡水型と略称）の祖先種とトミヨ属汽水型（以下、汽水型と略称）の祖先種が分岐した後、およそ２万年頃に淡水型を含む多くの種が祖先種から派生し、１万年頃までに近縁ではあるが直接の姉妹種関係にはない淡水型と汽水型が二次的接触によって北海道の一部地域で

同所的分布域を形成したと推定されている。そこで本研究では、近縁な淡水型と汽水型において２種の繁殖生態を明らかにするとともに、生殖的隔離の機構とその進化を解明することによって、２種それぞれの種分化プロセスについて考察することを目的とした。

本学位論文の第２章では、ゲノム生物であるイトヨの既存データベースを活用し、イトヨ属魚類およびトミヨ属魚類で保存されたゲノム領域においてマイクロサテライトマーカーを設計することで、同所的に生息するトゲウオ類５種において増幅可能な13のマイクロサテライトマーカーを開発した。

第３章では、同所的河川における２種の繁殖実態を観察するため、これらのマイクロサテライトマーカーによる親子解析と種判別から構成される統合的な遺伝解析方法を確立した。そして、この方法によって営巣雄と巣内の卵塊を用いた親子解析により交配数・親子関係・交配相手の遺伝子型を推定した。その後、親子関係が明らかとなった個体や推定された交配相手の遺伝子型に基づいて集団遺伝学的解析を行い、解析対象中における集団数の判定・種判別・交雑現象の有無を判定した。さらに、2006年５～７月において、これまで繁殖域が重複する可能性が指摘されていた同所的河川の一部流域においてシュノーケリングによる営巣雄の観察および採集を行った。そして、営巣雄およびその雄が保護する巣内の卵塊あるいは仔魚から成る43のサンプルセットを採集し、これらのサンプルについて統合的な遺伝解析を行った。その結果、淡水型と汽水型の両種が混生する調査域内において淡水型(195交配)、汽水型（126交配）の交配を遺伝的手法を用いて再構築した。それらをフィールドでの生態学的調査の結果と照らし合わせると、再現された交配の大半が同類交配によるものであり（淡水型：99.0%、汽水型95.2%）、両種の雄が隣接して営巣する状況下においても、極めて強い交配前生殖的隔離機構が働いていることが明らかとなった。一方、８例（淡水型２例、汽水型６例）についてはF_1雑種以降の雑種との交雑によるものであることが明らかとなり、自然環境下における両種間の交雑が初めて直接的に証明された。また、分子的手法を用いて両種の混生域における交配結果を個体毎に明らかにすることで、トミヨ属魚類の雄に代替繁殖戦略が存在することが初めて明らかとなった。淡水型においては、４個体の営

巣雄が保護する巣内から６個体の雄によるスニーキングが計２１例遺伝的に確認された。一方、汽水型においては２個体の営巣雄の巣内に卵泥棒によるものと推定される他個体の交配による卵塊が存在したことが明らかとなった。

第４章では、雄の求愛行動について動画解析を適用することで、両種それぞれの進化史で獲得された相互に異なると予測される求愛行動を行動学的手法によって解析した。その結果、淡水型の求愛行動は“かみつき”に代表されるような攻撃的な行動要素と“ファニング”や“巣の修繕”に代表されるような父性保護によって構成される種特異的な求愛行動要素が存在することが明らかになった。一方、汽水型の求愛行動では比較的単純な行動要素から構成され、長くゆっくりとした“ジグザグダンス”に代表されるように種特異性が不明瞭な求愛行動が示された。

第５章においては、本研究結果と既報の知見から、淡水型と汽水型それぞれの種分化プロセスを以下のとおりに推定した。先ず、約３万年前の最終氷期における気候変動によって淡水型を派生する祖先種と汽水型の祖先種の間に異所的隔離が生じた。この異所的隔離期間において、塩分濃度をはじめとする２つの異なる環境における生態的分岐選択が各集団に作用し、祖先種間における種分化の初期ステージが進行したと考えられる。その後、各祖先種はそれぞれの塩分耐性に対応する河川の各流域に適応し、淡水型を派生させた祖先種からは多くの種が分岐した。この間、汽水型はエスチュアリー等の汽水域に生息し、その環境特性である豊富な食物資源および繁殖資源に適応した形質を進化させた。そして、汽水型では生息場所の汽水域における浸透圧調節への高いエネルギー投資の代償として、雄の求愛行動において観察されたような消極的で控えめな行動が種内競争や性選択によって進化した。対照的に、淡水域に隔離された淡水型は食物資源や繁殖資源が乏しい河川中－上流域に生息し、限られた資源を巡る激しい種内競争に適応した形質を進化させた。特に、なわばり行動に関わる攻撃性の増加、発達した父性保護、雄のスニーキング行動は激しい競争を介した生態的分岐選択をよく反映していると考えられた。これらの生態的分岐が両種のそれぞれにおいて進行する一方で、１万年前頃には温暖化に伴って汽

水型は氷期に隔離されていたベーリング海から北海道東部まで分布域を拡大した。それによって一部の同所的河川において淡水型と汽水型の間に二次的接触が生じ、両種間に交雑現象が生じたと推定される。第３章で明らかとなった強固な同類交配がありつつも少数の交雑が生じる状況は、生殖的隔離の成立機構の仮説として提唱されている「交雑現象を介した隔離の強化仮説」に合致している。したがって、第４章で明らかとなった種間で大きく分化した雄の求愛行動のような繁殖形質は交雑時に生じた雑種個体への自然選択を強化するものと予想され、姉妹種より遠縁な関係にある淡水型と汽水型間において「交配前隔離の強化」が働いたことが示唆された。

姉妹種より遠縁な関係にある種間における交雑現象がトゲウオ科魚類の種分化に果たす役割の可能性について明らかにした本研究は、本研究対象２種およびトゲウオ科魚類における種分化プロセスは元より、より一般的な種の創出・維持機構の理解にも寄与し得るものと考えられる。淡水型の求愛行動に見られた“かみつき”行動が近縁な*Culaea*属において雌の配偶者選択形質として機能していることが報告されていることから、今後、淡水型および汽水型の雌による配偶者選択機構を明らかにするとともに、両種の同所的河川集団と異所的河川集団における雌の配偶者選択の進化について研究することで、種の創出・維持機構の成立について興味深い知見をもたらすものと期待される。