

# 論文内容要旨 (和文)

平成 20年度入学 大学院博士後期課程

地球共生圏科学専攻 生物学 分野  
氏 名 齊藤 真一



論文題目 Biodiversity and evolutionary process of planktonic copepods in  
the marine lakes of Palau

(パラオ諸島の海水湖における浮遊性カイアシ類の生物多様性  
と進化プロセス)

## <研究の背景と目的>

海洋生物では、地理的障壁の想定や集団の分割が困難であるため、これまで異所的種分化に関する実証的な研究は限られていた。特に、海洋終生プランクトン(holoplankton)においては、大陸塊や海洋循環などが地理的障壁として機能する全球的スケールでの種分化が進行することは考えられてきたが、より小規模な時空間スケールでの種分化や、その初期過程である集団間の遺伝的分化についてはほとんど研究されていない。

海洋生物の異所的種分化を研究するための最適のフィールドとして、本研究では、南西太平洋のパラオ諸島の「海水湖(marine lake)」に着目した。パラオ海水湖は、隆起石灰岩島の内部にあって外海とはさまざまな程度で隔離されており、それぞれの湖で水質や生物群集の組成が違うので、異なる環境下で選択がどのように生じるかを比較できる絶好の研究場所である。本研究では、隔離された海水湖が海洋生物の異所的種分化を促進するという新たな仮説のもとで、海洋の広域に分布するholoplanktonが隔離されたあとで、どのように変化するかを、分子マーカーを用いて明らかにすることを計画した。具体的な調査対象として、海水湖の生物群集において重要な生態的地位を占める浮遊性カイアシ類(甲殻亜門:顎脚綱)を選び、その多様性を調査してmicroevolutionの過程を明らかにすることを研究目的とした。

## <研究方法>

Step 1 種多様性の評価: さまざまな環境条件の海水湖群の動物プランクトン試料を採集し、形態学的手法により種同定をおこない、それぞれの海水湖における種組成の特徴・種多様度指数を明らかにする。

Step 2 種多様性と環境条件の関連付け: 多変量解析を用いて種組成データ、化学的条件(塩分、水温など)、地理学的条件(湖の形、深度、隔離の度合いなど)を統合的に分析し、パラオ諸島全域の群集構造を明らかにし、種多様性を決定する環境要因を明らかにする。

Step 3 遺伝的多様性の評価: 海水湖に優占的に分布する種を対象として集団遺伝学的解析を行い、海水湖集団間の遺伝的分化の状況を定量化する。分子マーカーはミトコンドリアシトクローム c オキシダーゼサブユニット 1 遺伝子(mtCOI)を用いる。

Step 4 自然選択の有無を検定: 種分化を促進する要因として、海水湖環境への適応的な正の選択の有無を検定する。



### <研究結果>

**Step 1 & 2** : 2004年から2007年にかけて現地調査をおこない、小型動物プランクトン試料を採集し、海水湖16地点と沿岸域8地点での種組成を調べた。各採集地点のカイアシ類群集の種多様度指数を算出し、多変量解析（階層的クラスタリング、多次元尺度構成法）を用いて群集構造を解析した。種組成調査の結果、カラヌス目、キクロプス目、ハルパクチクス目、ポエキロストム目を含む、全36の種・属レベルの分類群を同定した。Bray-Curtis similarity indexに基づく多変量解析により、海水湖の種組成がその生息環境によって大きく3つのタイプに分かれることが明らかになった: (i)部分循環湖、(ii)浅く平坦な湖盆の完全循環湖(Type A)、(iii)深い湖盆の完全循環湖(Type B)と全ての沿岸域。部分循環湖は、汽水性の2種*Bestiolina similis*と*Oithona dissimilis*のみが優占し、種多様性が著しく低下しているという特徴をもっていた。Type Aの海水湖の種多様性はわずかに低いレベルであり、一方Type Bの海水湖の種多様性は高く、沿岸域と同等のレベルであった。このことは、Type Bの海水湖の動物プランクトン群集は湖の外の沿岸域群集と密接に関連していることを示している。これらの結果は、浮遊性カイアシ類の種多様性が、それぞれの海水湖の局所的環境条件と隔離の程度によってさまざまに変化することを示唆している。

**Step 3** : 閉鎖的な海水湖で優占するカラヌス目カイアシ類*B. similis*を対象とした集団遺伝学的解析を実施した。3つの閉鎖的海水湖からの採集個体をそれぞれ1つのサンプル集団として、全94個体のmtCO1 1173 bpを解析した。検出されたハプロタイプに基づき統計的最節約ネットワークを構築し、海水湖集団間の固定指数を算出した。解析の結果、海水湖間でのハプロタイプの共有が見られず、各海水湖の高頻度ハプロタイプから数塩基置換で派生した固有ハプロタイプが検出された。さらに、集団間の固定指数は非常に高くかつ有意な値を示した。これらの結果は、海水湖集団で遺伝子流動が制限されていて、各海水湖で固有の塩基置換が生じていることを示唆している。このように今回みられた遺伝的分化は、異所的種分化の初期段階である可能性を示した。

以上から、パラオ海水湖のカイアシ類群集は、当初に期待したとおり、海洋生物の小規模な時空間スケールでの異所的種分化の実証的研究に適した研究材料であることが示唆された。しかしながら、Step 4の課題である、海水湖群集に特異的に働く自然選択を検出することはできていない。今後は、海水湖における異所的種分化を解明するために、ストレスタンパク質(*Hsp20*, *Hsp70*)、脂肪合成に関わる遺伝子(*ELOVL*, *FABP*, *RDH*)などを新たな分子マーカーとしたさらなる調査・解析が必要である。



# 論文内容要旨 (英文)

平成 20年度入学 大学院博士後期課程

地球共生圏科学専攻 生物学

分野

氏 名 齊藤 真一



論文題目 Biodiversity and evolutionary process of planktonic copepods in the marine lakes of Palau

Molecular ecological research was conducted on biodiversity of marine organisms in the “marine lakes” of the Palau islands, which is an ideal research field to study allopatric speciation for marine organisms. The marine lakes of Palau are isolated from the outer open ocean to varying extents. The fauna and water environment also are different among each lake. Thus, such uniqueness may provide insights into how selection acts under a variety of environment conditions. Based on the hypothesis that isolated marine lakes might accelerate allopatric speciation for marine organisms, it was expected that the field survey unveils the extent of species diversity and provides information about a process of genetic differentiation in marine holoplankton after geographic isolation. Planktonic (or pelagic) copepods were chosen as target species, since they occupy an important ecological niche within marine lake ecosystem.

Step 1 Assessing species diversity; Zooplankton samples were collected from a variety of marine lakes and identification based on morphological features was carried out. Species abundance and distribution were investigated and diversity indices were calculated at each sampling site.

Step 2 Correlation between species diversity and environmental conditions; By a unified analysis including chemical and geographical conditions using multivariate analyses, the copepod community structure and environmental factors that are associated with species diversity were revealed.

Step 3 Assessing genetic diversity; Population genetics were carried out, to estimate the level of genetic differentiation among marine lake populations.

Step 4 Checking natural selection; Checking which environmental parameters act on as a factor to accelerate speciation in the marine lakes.

Results from the species and genetic diversity analyses showed that the copepod community in marine lakes is influenced by various and local environmental conditions; not only physicochemical and limnological factors can affect the species diversity, but also the level of isolation from the outer environment. In addition, the level of genetic diversity within a population was relatively low, while that among populations was high, indicating the restricted gene flow or complete isolation. Observed haplotype network showed that there were no shared haplotypes between marine lake populations and unique substitutions occurred in each marine lake. The present study thus provides for the first time the empirical data of genetic differentiation of copepods in isolated environment.