

マイクロサテライトによる個体群構造解析

○西谷 豪・長井 敏
(瀬戸内水研)

キーワード：Cochlodinium polykrikoides・分布拡大・マイクロサテライト・個体群構造

【目的】有害赤潮藻 *Cochlodinium polykrikoides* の赤潮発生により、マダイ・ブリ・トラフグ・アワビ・サザエなどの天然や養殖の魚介類が大量に死滅し、韓国と西日本ではこれまで年間数百万～十数億円の莫大な漁業被害が生じている。本種の存在は 1975 年頃から熊本県八代海において確認されていたが、1980 年代以降、韓国および西日本において本種の分布域は爆発的に拡大した。また 2000 年代に入ると、これまで赤潮による被害がほとんど報告されていなかった山陰沿岸域においても本種の赤潮が発生し、分布域は現在もおお拡大の一途を辿っている。しかしながら、その分布拡大経路については未だ不明のままである。そこで本研究では、日本および韓国沿岸域に生息する *C. polykrikoides* 個体群の遺伝的構造とその類縁関係をマイクロサテライト多型によって解析し、日本沿岸域における本種の分布拡大経路の解明を目的とした。

【方法】(1) クローン培養株の確立・集藻・DNA 抽出

日本および韓国沿岸の計 11 地点から採集した海水から、クローン培養株 (合計 421 株) を確立した。韓国は 2005 年と 2007 年、熊本では 2006 年と 2007 年にそれぞれ培養株を確立し、計 13 個体群を得た。全株を培養・集藻した後、DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) により DNA を抽出した。

(2) マイクロサテライト解析

開発した 15 個のマーカーのうち、PCR 増幅が良好であった 10 個のマーカーにより、全株の DNA を用いて PCR 増幅を行った。ゲルシークエンサーにより各 PCR 産物のバンドサイズの決定後、各個体の遺伝子型を決定した。集団遺伝学的解析を複数のソフトを用いて行い、各対立遺伝子の出現頻度、個体群間の遺伝距離、主成分分析、集団分化の有意差検定などを行った。また、個体群間の移動を明らかにするため、同じ遺伝子型を持つ個体 (ペア) を全 421 株の中から検索した。

【結果と考察】13 の *C. polykrikoides* 個体群について、Nei の遺伝距離を用いた UPGMA 樹形図および主成分分析による解析を行った結果、13 個体群は大きく 3 つのグループ、①韓国 05, 07 年・対馬・鳥取・京都、②鹿児島・九十九島・大分・高知・播磨・三重、③熊本 06, 07 年に区分できた。グループ①は対馬暖流に沿った地点のみが含まれており、且つグループ②、③における個体群間より遺伝距離が著しく小さいことから、韓国で発生した *C. polykrikoides* 個体群の一部が対馬暖流により日本海沿岸域に運ばれたことが強く示唆された。また樹形図上で、2005 年と 2007 年に採取した韓国個体群、および 2006 年と 2007 年に採取した熊本の個体群がそれぞれ近接し高いブートストラップ値によりその類似性が支持されたことから、一つの個体群内における遺伝的構造の年変動は小さいことが示された。

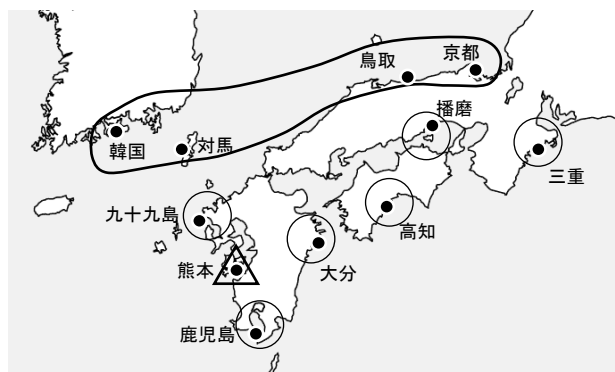


図 マイクロサテライト多型解析から推定された *C. polykrikoides* 個体群の遺伝的構造

集団分化について、Fisher's test による有意差検定と Bonferroni correction を行ったところ、鹿児島・九十九島・大分・高知・播磨・三重・熊本の各個体群間では、ほぼ全ての個体群間で有意な集団分化が見られた。この結果は、これらの個体群間の混合があまりなく、遺伝子流動の程度が小さいことを示すものである。一方、韓国、対馬、鳥取、京都の個体群間では高い P 値が得られ、これらの個体群が遺伝的に近似することが明らかとなった (同じデータセットを入力すると $P=1$ となる)。

また、各個体群間の類縁関係をより詳細に推定するため、同じ遺伝子型を持つ個体を探索した結果、韓国 05, 07 年、対馬、鳥取、京都間で多数のペアが検出され、本結果からも対馬暖流による韓国沿岸から山陰沿岸への移送が示された。一方、地理的に 680 km も離れた九十九島と三重県の個体群間においても多数のペアが検出された。長崎県と三重県は日本における真珠養殖の有数の産地として知られ、過去に両産地間で真珠貝の母貝や稚貝種苗の移植を行ってきた経緯がある。人為的な要因として、これらの種苗とともに本種が運搬された可能性が考えられる。

以上、マイクロサテライト多型を利用した集団遺伝学的解析により、本種の個体群を識別する技術開発に成功し、幾つかの重要な新知見を得た。①基本的に各海域間では明瞭な遺伝的な分化が見られ、各個体群はその出現海域で栄養細胞あるいはシストとして越冬し、至適環境の整った時点で増殖し赤潮形成に至ること、②一方で、人為的要因として水産種苗の移植に伴う他海域への移送があり、③自然要因として、対馬暖流による大規模な輸送が生じていること、これが分布拡大要因となっていることが強く示唆された。