

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 平井惇也

---

本論文では、分子生物学的な手法を用い、カイアシ類の群集構造の解析手法を確立し、知見が少なく形態分類も困難である太平洋熱帯・亜熱帯におけるカイアシ類の多様性や生物地理を明らかにすることを目的とした。

第一章では、カイアシ類の種判別のための遺伝子マーカーの条件として、遺伝子増幅の過程である PCR で成功率の高い共通プライマーを設計できること、ならびに種間で十分な配列の差があることとし、マーカー領域を検討した。形態分類した 244 個体の亜熱帯性カラヌス目カイアシ類を用い、候補となる遺伝子マーカーを調査した。カイアシ類で一般的に利用されているミトコンドリア DNA の COI 領域は変異速度が速く、共通プライマーによる PCR 成功率は低かった。一方、核 DNA の 28S 領域とそれに隣接する ITS2 領域は、保存的領域に挟まれており、共通プライマーの設計が容易で、244 個体中 232 個体で ITS2-28S 領域の遺伝子増幅が確認できた。これらの結果から、ITS2-28S 領域はカイアシ類の種同定に有用であると考えられた。ITS2-28S 領域の中でも、ITS2 は種間で挿入や欠失が頻繁に起き、カイアシ類の系統関係を把握することは困難であったが、28S 領域には系統関係が正確に反映されていた。

第 2 章では、メタゲノム解析技術をプランクトンネットで採取された試料に応用し、カイアシ類の群集構造を明らかにする手法の開発を行った。メタゲノム解析の目的領域は、「種間で差がある」、「系統関係を反映している」、「成功率の高い共通プライマーが設計できる」、「約 400 bp と超並列シーケンサーで解読できる長さである」という特徴から 28S の D2 領域が最適であると判断した。はじめに、大量の遺伝子配列のデータ処理方法を確立するため、33 種の既知のカイアシ類を入れた試料のメタゲノム解析を行った。既知のカイアシ類試料のメタゲノム解析の結果から、97%の相動性で Molecular Operational Taxonomic Unit (MOTU)への分類を行うと、高い種レベルの分解能を維持しつつ、解析エラーを除去できることがわかった。また、MOTU 数で種数を、MOTU 内の遺伝子配列数で生物量が反映されることが示された。次に、黒潮域 3 点の表層(0–200 m)で採取した試料をそれぞれ等分割し、メタゲノム解析及び形態分類を行った。メタゲノム解析で得たプランクトンネット試料の種多様性の高い地域、各分類群組成、優占分類群等の結果は、形態分類の結果とおおむね一致した。この結果、メタゲノム解析が実際の試料の解析に適することを確認され、迅速かつ網羅的なカイアシ類群集の把握方法が確立された。

第 3 章では、確立された新たな手法を用い、太平洋熱帯・亜熱帯におけるカイアシ類の群集構造解析を行った。黒潮内側域は特有の群集構造を示し、沿岸性の生態系であることが示唆された。その他の測点は黒潮流軸・外側域及び赤道域を含む黒潮・赤道グループ、南北亜熱帯循環域を含む亜熱帯循環グループに大別された。この結果は、黒潮・赤道域、南

北亜熱帯循環域に分布の中心を持つ MOTU が多く見られたことと一致し、亜熱帯・熱帯太平洋では餌料環境の違いがカイアシ類の分布に関与していることが示唆された。

第 4 章では、種内の集団構造も解析が可能なミトコンドリア DNA COI 領域により、*Pleuromamma abdominalis* の分子系統地理を調べた。471 個体の系統解析の結果、*P. abdominalis* は 2 つのグループ (*P. abdominalis* 1 及び *P. abdominalis* 2) に分かれ、この 2 つのグループは生殖隔離のある隠蔽種であることが判明した。遺伝的距離による推定から、種分化は約 11.6–16.0 百万年前の中新世中期に起こったと予想された。これは、寒冷化や一次生産量の増加時期と一致した。また、各隠蔽種内の分子系統地理により、北太平洋亜熱帯域、赤道域、南太平洋亜熱帯域で大きく異なる集団構造が見られ、近縁種の進化が現在の地理分布と密接につながっている構造が明らかとなった。

以上、本研究により、カイアシ類の群集構造の迅速かつ網羅的な把握方法が確立され、太平洋熱帯・亜熱帯におけるカイアシ類の多様性や生物地理に関しての知見が得られた。また、分子生物地理の結果と合わせることで、現在の環境条件のみならず、集団の隔離や交流が種の分布や多様性に影響を与えていることが示唆された。これらの成果は、カイアシ類の多様性や生物地理の一端を明らかにしたものであり、生物群集の成り立ちや種間関係を解明する上で重要な新知見を数多く提供するものである。よって審査委員一同は本論文が学位（農学）に値するものと判断した。