

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：82708

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07929

研究課題名(和文) 血縁解析によるクルマエビ若齢個体の海域間交流の分析

研究課題名(英文) Assessment of connectivity among the neighboring cohorts of kuruma prawn juveniles based on genetic relatedness analysis.

研究代表者

菅谷 琢磨 (Sugaya, Takuma)

国立研究開発法人水産研究・教育機構・瀬戸内海区水産研究所・主任研究員

研究者番号：30426316

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：平成29年から3ヵ年、6～9月に瀬戸内海、豊後水道、紀伊水道の合計7地点で毎月クルマエビの稚仔を採集し、SSRマーカーとmtDNAマーカー分析を行った結果、豊後水道の多様性が比較的高かったものの、地点間に顕著な差は無かった。しかし、SSRマーカーでの血縁度の分析では、豊後水道と燧灘東岸の間と周防灘と播磨灘の間にそれぞれ違いが見られ、前者はmtDNA分析でも差違が認められた。また、Structure解析では瀬戸内海東部(燧灘東岸と播磨灘)の稚仔が他と異なる集団に由来する傾向が示され、瀬戸内海には東部と西部にそれぞれ親集団が存在し、稚仔の交わりが距離によって制限されている可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、年級毎の詳細なサンプリングと個体間の血縁度に基づく解析によって、これまで解析が難しかった小規模な地理的スケールでの集団構造を把握することに成功した。これらのことは、海洋生物の遺伝的多様性の維持機構を新たな視点で分析するうえで重要な成果であるとともに、クルマエビの資源管理においても非常に重要な知見である。

研究成果の概要(英文)：We investigated the connectivity among seven neighboring cohorts of kuruma prawn juveniles sampled in Seto Inland Sea, Bungo Channel, and Kii Channel from 2017 to 2019 by using eight SSR markers and a mitochondria DNA (mtDNA) marker. Although SSR markers did not show any significant F_{st} values among the seven cohorts, the genetic relatedness was significantly weak between the cohorts in Bungo Channel and Hiuchi nada, and between those in Suo-nada and Harima-nada, respectively. The former pair also shows significant F_{st} value based on mtDNA marker analysis. Besides, the juveniles sampled at eastern part of Hiuchi nada and Harima nada tend to be assigned into a different population from other juveniles. From those, it can be suggested that there are at least two different mother populations in the three sea areas, and the juvenile transfer has been restricted by isolation-by-distance.

研究分野：集団遺伝学

キーワード：クルマエビ 集団構造 血縁解析 稚仔

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

クルマエビ *Penaeus japonicus* は日本の沿岸漁業の重要対象種である。本種では 1960 年代後半から漁獲物の水産資源学的な分析や人工種苗の放流試験が行われており、現在では各地で漁獲サイズの制限や大規模な放流事業が行われている。しかし、1980 年代後半に全国で 4000 トン近くあった漁獲量は現在では 500 トンを下回るまでに減少しており、資源の維持に成功しているとはいえない。この点については、既往の研究においてクルマエビの再生産過程に問題がある可能性が指摘されており、更なる研究の必要性が提言されている。また、その中では、1980 年代後半から 2000 年代初めまでの漁獲量が、瀬戸内海東部(燧灘東部、播磨灘、大阪湾及び紀伊水道)では約 500t から 100t に減少しているものの、西部(燧灘西部、周防灘、伊予灘及び豊後水道)では 700t 前後で維持されていたことから、両海域の調査によってクルマエビの資源減少要因解明への手掛かりが得られる可能性が指摘されている。

一般的に、クルマエビの親は春から秋にかけて浅海域で産卵し、ふ化した幼生は 2 週間程度の浮遊生活を経て干潟域に着底する。着底後は成長に伴って深部へ移動し、分布域を拡大する。瀬戸内海では、着底後の稚エビの移動や成長について漁獲物の体長組成や標識放流調査に基づいた分析が行われており、西部海域では当歳の個体が周防灘から伊予灘で越冬し、翌年の春から夏に豊後水道に移動しながら成熟及び産卵しているものと考えられている。また、瀬戸内海の東部海域では、同様の調査によって、播磨灘や大阪湾で成育した稚エビが紀伊水道へ移動しているものと推測されている。しかし、これらの調査は比較的漁獲量が多かった時期(1970~1980 年代)に実施されたものであり、現在も同様の生活環が維持されているかどうかは不明である。実際に、最近の燧灘での調査では、過去の調査に比べ稚エビの着底時期が遅くなっていることが示唆されている。加えて、近年では瀬戸内海西部でも漁獲量の減少が続いており、瀬戸内海での資源加入の現状については、再度詳細な調査が必要と考えられる。

一方、多くの場合、クルマエビを含む海洋生物の生活圏は広く、卵稚仔の移動や分散を野外で直接観察することは容易ではない。このような中で、近年、多産性の海洋生物について、一つの年級群に関わる親の数は比較的少なく、各年級群に同胞(両親が共通:兄弟及び姉妹)や半同胞(片親のみ共通)が存在し得ることが明らかになり、そうした血縁個体の分布から海域間の稚仔の移動や分散が捉えられるようになった。クルマエビにおいても、申請者らが全国 4 海域(伊勢・三河湾、伊予灘、八代海、有明海)の成エビそれぞれ約 100 個体を分析し、天然集団中に血縁個体が存在することを報告している。これらのことは、天然海域でのクルマエビの稚仔の移動や分散が血縁解析によって把握できる可能性を示しており、資源生態学的な情報に基づいた調査を行うことで、資源加入について新たな知見が得られることが期待される。

2. 研究の目的

クルマエビについては、漁獲量の減少が顕著になった 1990 年代以降、基礎的な資源生態学的研究は少なく、減少要因の解明や資源回復に向けた知見は十分には蓄積されていない。本研究では、クルマエビの主要漁場の一つである瀬戸内海において DNA マーカーを用いたクルマエビ稚仔の血縁解析を行い、海域間の個体の移動を分析することによって、資源加入の現状を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

1) 瀬戸内海の灘別及び時期別の稚仔の出現状況の調査とサンプリング

平成 29 年~令和元年の 6~10 月に毎月、豊後水道、燧灘、備讃瀬戸、播磨灘及び紀伊水道沿岸の 9 地点の干潟でクルマエビの稚仔の分布調査とサンプリングを行った(図 1)。調査では、位置情報ロガーを携行しながら、水深約 10~70cm の砂地において桁網様小型ソリネットを人力で曳網した。また、採集した稚仔についてはまず実体顕微鏡下で外部形態に基

づいて種を同定した。さらに、クルマエビと判定された個体については、ミトコンドリア DNA(mtDNA)の COI 領域または調節領域の塩基配列に基づいて種を確定した。各調査では、曳網距離から導いた曳網面積と稚子の数から曳網別の密度を算出し、出現時期を推定した。

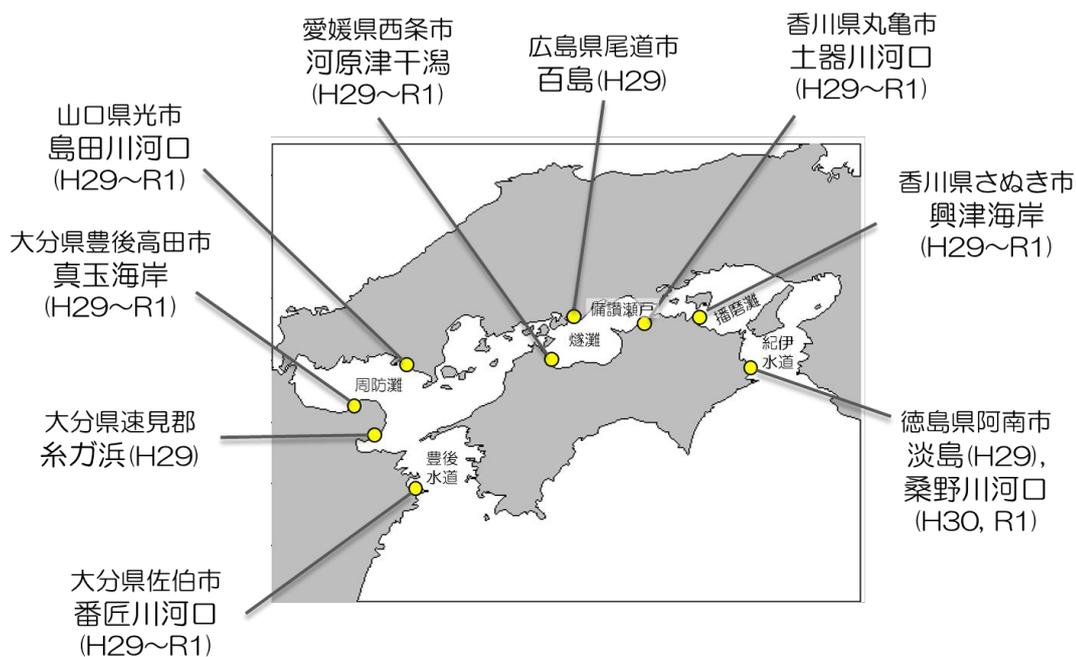


図 1 本研究におけるクルマエビ稚子の調査地点と調査年

2) 稚子の遺伝的変異性と地点間の遺伝的関係の分析

クルマエビ稚子の遺伝的変異性の分析には mtDNA 分析の調節領域 672bp の塩基配列の多型と、既報の 4 マーカーを含む 8 つの SSR マーカー(*CSPJ002*, *CSPJ012*, *Mja06*, *Mja22*, *AQZI9_46*, *AUT2R_123*, *AXKFO_55*, *Mja4_04*)を用いた。得られた多型データについては、コンピューター・ソフトウェアの Arlequin ver 3.5 を用いてハプロタイプ多様度、ヘテロ接合体率及び地点間の F_{st} を算出し、各地点の遺伝的変異性と地点間の遺伝的関係を解析した。また、地点間の遺伝的関係については Identix と Strucuture を用いた個体レベルの解析も行った。前者ではアليل共有度に基づく個体間の血縁度を算出し、その平均値に基づいて地点間の遺伝的関係を解析した。後者においては、各個体のアليل型と mtDNA のハプロタイプ、及び採集地点の情報に基づき、集団構造の推定を行った。

4. 研究成果

1) 瀬戸内海の灘別及び時期別の稚子の出現状況の調査とサンプリング

調査の結果、平成 29 年には 420 個体、平成 30 年には 555 個体の稚子が入手された。また、令和元年には外部形態からクルマエビと判定された稚子が 675 個体採集された。いずれの年においても、1 年を通した稚子の生息密度は番匠川河口で最も高かった。また、番匠川河口と桑野川河口では 6~7 月からある程度の密度(0.1~0.3 尾/m²)で稚子が確認されたのに対して、瀬戸内海の他の地点では 8 月以降になるまで稚子はほぼ確認されなかった。さらに、最も高い時期でも生息密度が 0.3 尾/m² に達することはなかった。

2) 稚子の遺伝的変異性と地点間の遺伝的関係の分析

平成 29 年と 30 年のサンプルの mtDNA 分析の結果、それぞれ 325 及び 421 のハプロタイプが検出され、ハプロタイプ多様度はいずれも 0.987 であった。最もハプロタイプ多様度が高かった地点は両年とも番匠川河口であった(図 2)。また、平成 29 年と 30 年のハプロタイプ頻度に有意な違いは見られなかったため、2 か年分のサンプルをまとめて地点間の遺伝的関係を解析した結果、全体に遺伝的距離 (F_{st}) は非常に小さく (-0.005 ~ 0.009)、瀬戸内海全体に大きな遺伝的交流があることが示された。しかし、番匠川河口と土器川河口の間の遺伝的距離は有意であり、番匠川河口と糸ヶ浜及び真玉海岸は互いに非常に近い関係にあ

った(図3)。

また、平成29年のサンプルについてSSRマーカーを用いた分析を行った結果、 F_{st} は非常に小さく(-0.024~0.010)、瀬戸内海全体の遺伝的な交流が大きいことを示していたものの、個体間の血縁度に基づく解析では番匠川河口と土器川河口、真玉海岸と興津海岸が有意に離れていることが示され、西部と東部の間では稚仔の交流が少ない可能性が考えられた(図6)。さらに、集団構造解析ソフトStructureを用いてmtDNAとMS-DNAの情報を統合した解析を行った結果、土器川河口と興津海岸のサンプルは由来する親集団が異なる傾向があることが示された(図7)。

以上の結果から、瀬戸内海のクルマエビは全体として遺伝的に大きな一つの集団を形成しているものの、稚仔の交わり方は均質ではなく、距離によって異なっている可能性が考えられた。また、瀬戸内海に稚仔を供給している親集団は少なくとも2つあることが示唆され、そのうち一つが豊後水道に存在する可能性が高いものと考えられた。

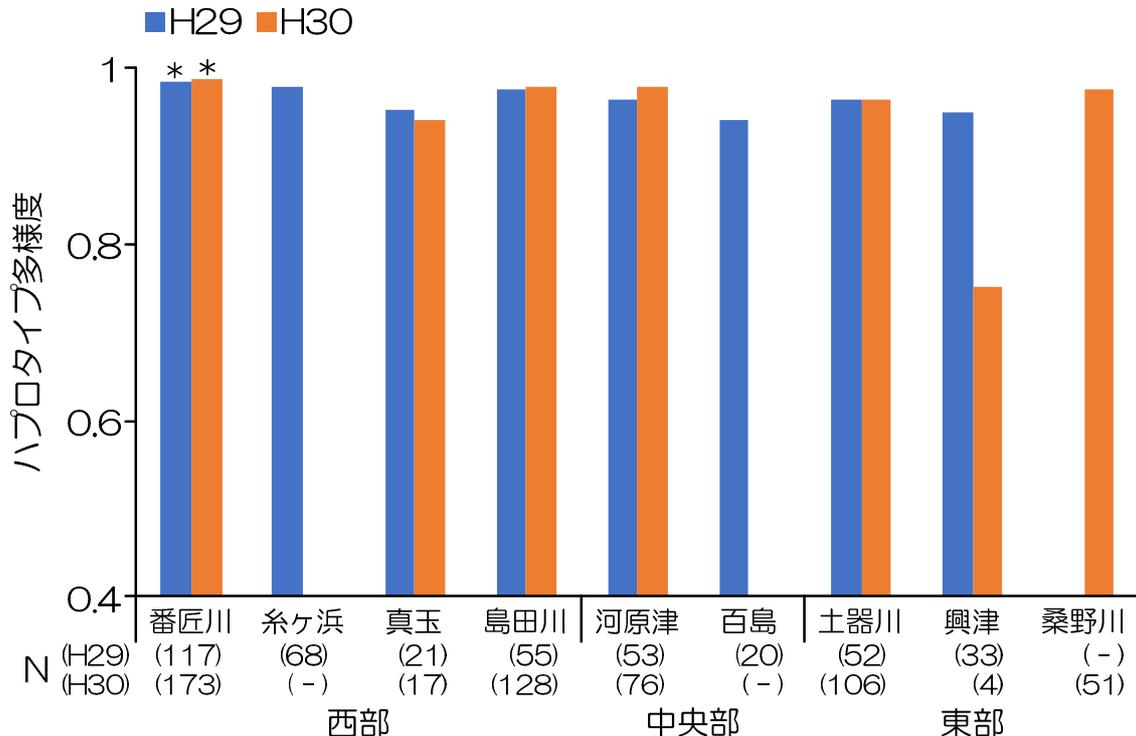


図2. 各地点における年別のハプロタイプ多様度.*リサンプリングによって算出した期待値に比べて有意に高い(モンテカルロ法, 10000回試行, $P < 0.05$).

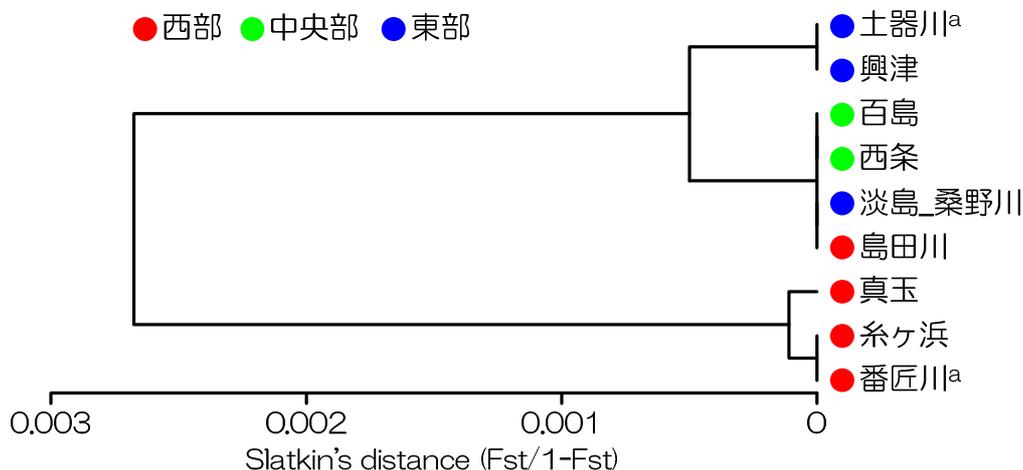


図3 ミトコンドリアDNA分析に基づく地点間の遺伝的關係.*記号が共通する地点間の遺伝的距離は有意(モンテカルロ法, 10000回試行, $P < 0.05$).

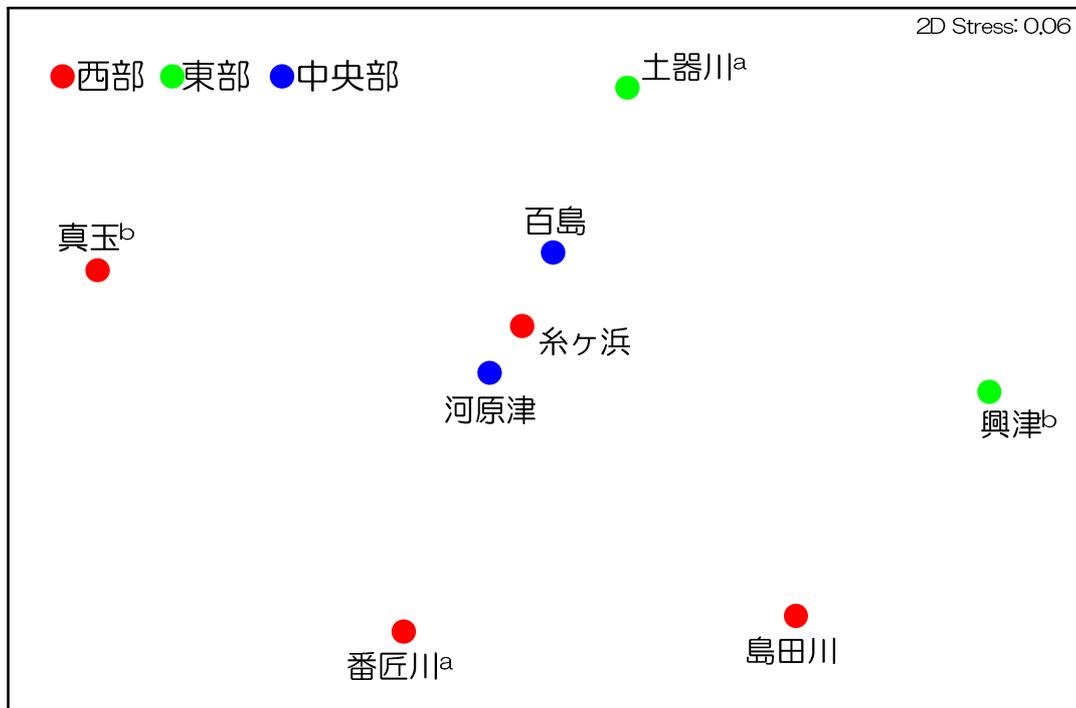


図 6. 平成 29 年度の稚エビサンプルにおける個体間の血縁度に基づいた地点間の遺伝的関係. ^{a,b} 記号が共通する地点間の遺伝的距離は有意(モンテカルロ法, 10000 回試行, $P < 0.05$).

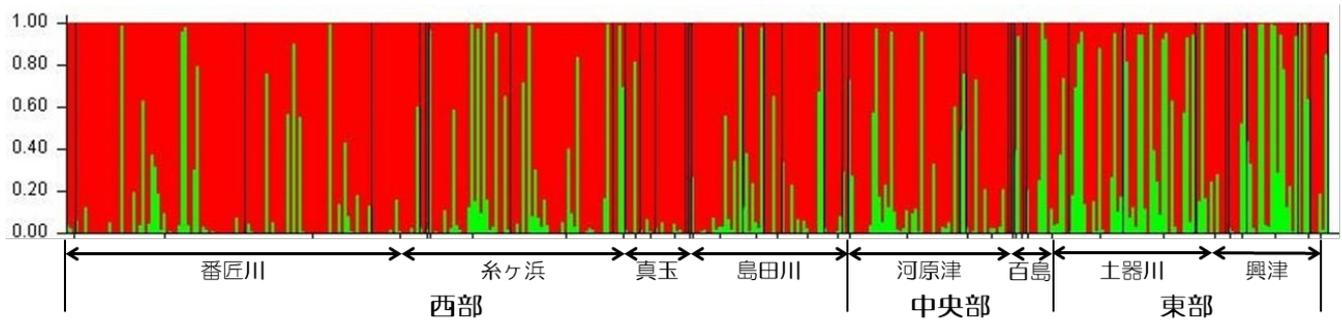


図 7. 平成 29 年度の稚エビサンプルについて mtDNA と MS-DNA の情報を用いて集団構造解析ソフト Structure で瀬戸内海の集団構造を分析した結果. 東部と中・西部では稚エビが由来する親集団が異なる傾向があることが示された.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 菅谷琢磨・佐藤 琢・阪地英男・羽野健志・伊藤克敏・大久保信幸・中尾拓貴・山本宗一郎・徳丸泰久・伊藤龍星・渡邊昭生・山本昌幸・上田幸男
2. 発表標題 着底個体のmtDNA多型に基づく瀬戸内海のクルマエビの地域間交流の分析
3. 学会等名 平成31年度春季水産学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	佐藤 琢 (SATO TAKU) (20455504)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・瀬戸内海区分水産研究所海産無脊椎動物研究センター・甲殻類グループ長 (82708)	
連携研究者	阪地 英男 (SAKACHI HIDEO) (20371883)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・中央水産研究所資源研究センター・主幹研究員 (82708)	