

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07548

研究課題名(和文) 集団ゲノミクスによる海洋島環境における浅海性魚類アカハタの集団構造形成史の解明

研究課題名(英文) Population genomics of Blacktip Grouper in the Izu-Bonin arc

研究代表者

栗岩 薫 (KURI IWA, Kaoru)

独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・短時間非常勤研究員

研究者番号：50470026

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：日本周辺海域における数少ない海洋島環境である伊豆・小笠原弧上の島嶼群(伊豆諸島・豆南諸島・小笠原群島・火山列島)について、ハタ科アカハタを用いた集団ゲノミクスによる遺伝的集団構造の形成史の解明を試みた。mtDNA部分配列約2.1kbpおよび核DNAマイクロサテライト11座位による予備解析の後、高精度全ゲノム配列の決定、および脳・心臓・肝臓・筋肉におけるRNA Seqを行った。現在、これらをリファレンスとしてGRAS-Di解析によるジェノタイプピングを行っている。

また、火山列島で採集した標本からカザンクレナイトゲメギスおよびコブキカイウツボを日本初記録種として論文にまとめ発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

伊豆・小笠原弧全域から採集したハタ科アカハタを用いて集団ゲノミクス解析を行う本研究課題は、海洋島および島弧における海産魚類の生物地理学的研究の重要なモデルケースとなりうる。全長約1,400 kmにもおよぶこの巨大な島弧は多くの無人島嶼群を含むため網羅的なサンプリングが困難であったが、本研究課題で初めてそれを可能とした。mtDNA部分配列および核DNA SSRsを用いた解析に加え、全ゲノム配列決定およびRNA seqを完了、現在GRAS-Di解析による集団ゲノミクス解析を遂行中である。また、採集調査では日本初記録種が複数得られており、未知であった当該海域における種多様性についても明らかとした。

研究成果の概要(英文)：Phylogeographic structure of Blacktip Grouper, *Epinephelus fasciatus* (Perciformes: Serranidae), in the Izu-Bonin (Ogasawara) arc, was revealed by population genomics analyses. The island arc is a part of huge Izu-Bonin-Mariana (IBM) arc and one of the few oceanic islands in Japanese waters. Preliminary analyses via partial 2.1 kb of mtDNA sequences and 11 loci of nuclear microsatellites for 495 individuals of the species indicated three genetic populations in the island arc. Subsequently, whole genome sequences (110.8 Gb) and RNA-seq of the four organs (brain, heart, liver, and muscle; 6.7-7.7 Gb) of the species were successfully determined. In the present, the GRAS-Di analysis is applied to those data as references. Furthermore, the following two species, collected from the Volcano Islands, southern Japan, were published as the first record in Japanese waters; *Suttonia lineata* (Perciformes: Serranidae) and *Uropterygius oligospondylus* (Anguilliformes: Muraenidae).

研究分野：生物地理学

キーワード：伊豆・小笠原弧 集団ゲノミクス 生物地理 小笠原 火山列島 南硫黄島

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

伊豆・小笠原弧は伊豆・小笠原・マリアナ弧 (IBM arc: Izu-Bonin-Mariana arc) の中北部を形成する全長約 1,400 km におよぶ巨大な島弧である。当該海域は日本の浅海性魚類の種多様性および遺伝的多様性の形成史を解明する上で重要であるだけでなく、日本周辺海域で数少ない海洋島環境にあることから、生物地理学的にも興味深い海域である。しかし、島弧を形成する島嶼群の大部分が無人島であることから網羅的なサンプリングが困難で、その実態を明らかにした研究は皆無であった。本研究代表者はこれまでに、伊豆諸島および小笠原群島の有人島だけでなく、伊豆諸島と小笠原群島の間に位置する無人島嶼群・豆南諸島および小笠原群島北部の無人島嶼群・聳島列島でのサンプリングを成功させており、本研究課題によって火山列島 (北硫黄島・硫黄島・南硫黄島) のサンプリングを行い、当該海域における網羅的なサンプリングを完了し、島弧および海洋島環境における浅海性魚類の多様性形成を解明することを目指した。また、近年普及しつつある次世代シーケンサー (NGS: Next Generation Sequencer) を用いたゲノムワイドな大規模変異解析 (集団ゲノミクス) により、詳細で正確な実態解明が期待されている。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、伊豆・小笠原弧における浅海性魚類の遺伝的集団構造の形成史の解明を大目標としている。それを実現させるため、まず火山列島におけるサンプリングを行って、当該島弧上の島嶼群における網羅的なサンプリングを完了させることを第一の目的とした。続いて、火山列島で採集した標本および撮影した水中写真から魚類相をまとめ、既報の琉球列島や伊豆諸島、小笠原群島における魚類相と比較することにより、当該島弧における浅海性魚類の種多様性を明らかとすることを第二の目的とした。さらに、当該海域で採集したハタ科アカハタを材料に、採集全個体について mtDNA および核 DNA マイクロサテライトを用いた集団解析を行った後、得られた集団構造を元に、NGS を用いた集団ゲノミクス解析を行うことを最終第三の目的とした。

### 3. 研究の方法

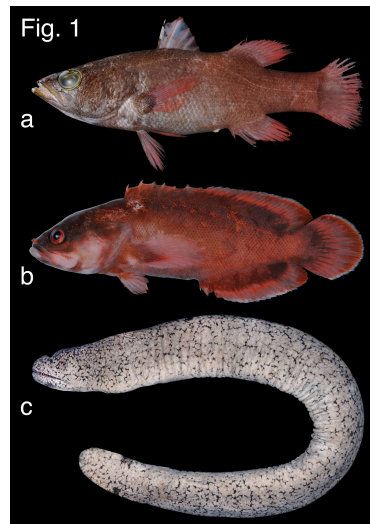
第一の目的・火山列島におけるサンプリングは、小笠原群島・父島の漁船をチャーターして 6 日間の採集調査を行った。集団ゲノミクス解析用のアカハタを効率的に採集するため、本研究代表者の得意とする素潜り・手鉈を用いたスピアフィッシングを行なうとともに、種多様性解明用に鹿児島大の学生一人に乗船してもらい、スクーバダイビング・タモ網を用いたサンプリングを依頼した。同時に、父島のダイビングサービスのインストラクターにも乗船してもらい、できるだけ多くの魚種について水中撮影を依頼した。

当該海域における浅海性魚類の遺伝的集団構造の形成史解明のため、採集したアカハタ全個体から DNA を抽出し、集団解析用に用いた。まず、伊豆諸島・豆南諸島・小笠原群島・火山列島 11 集団 495 個体のアカハタについて、mtDNA 調節領域を含む約 2.1 kb の部分配列に基づく数万年規模の集団解析を行なうとともに、核 DNA マイクロサテライト 11 座に基づく直近数世代における集団解析を行なった。これらにより得られたデータから当該島弧上における集団構造の概要を把握し、次に行なう NGS を用いた集団ゲノミクス解析の土台とした。集団ゲノミクス解析に先立ち、小笠原水産センターより譲渡された生きたアカハタ 1 個体から血液を採取し、高品質 DNA を抽出、これを用いて高精度全ゲノム配列決定および 4 組織 (脳・心臓・肝臓・筋肉) による RNA seq を行なった。続いて、これらにより得られた配列データをレファレンスとして、6 集団 96 個体のアカハタについて、高濃度ランダムプライマーとシーケンスアダプター配列を用いてジェノタイプングする GRAS-Di (Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct) 解析を行なった。

### 4. 研究成果

火山列島におけるサンプリングおよび水中写真から、11 目 50 科 246 種の魚種を記録した。採集した魚類はすべて学術標本として国立科学博物館、神奈川県立生命の星・地球博物館、および鹿児島大学総合研究博物館に分散登録し、撮影した水中写真は神奈川県立生命の星・地球博物館の魚類写真資料データベースに登録した。琉球列島および小笠原群島の魚類相との比較から、小笠原群島および火山列島の魚類相は琉球列島に比べ種数が少なく、海洋島環境を反映した種組成であることが分かった。さらに、小笠原群島に比べて火山列島はさらに特異な種組成であることが判明した。具体的には、フエダイ、ツキベラ、アカササノハベラなど温帯性種および東アジア亜熱帯性種の魚類相に占める割合の少なさ (小笠原群島約 10.0%、火山列島約 2.8%)、アカツキハギ、トンプソソウチョウウオ、イレズミゴンベなど中央太平洋に分布の中心を持つ魚種の多さ (小笠原群島約 5.7%、火山列島約 12.1%)、およびユウゼン、ダイダイヤッコ、ボンハナダイなど小笠原固有種の存在 (小笠原群島約 2.5%、火山列島約 4.0%)、ゴンベ科やニザダイ科、モンガラカワハギ科など特定の分類群に偏った優占種、である。これらは、当該島弧が生物地理区におけるインド・西太平洋区の東端に位置することに加え、火山列島が伊豆・小笠原弧の南端に位置すること、島自体が火山であり、内湾がなく、火山性の砂地が広がる中に硬く少ない岩場が存在するという、特異的な環境が大きく影響していると考えられた。

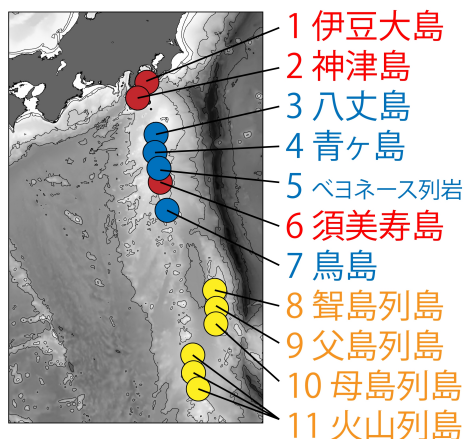
火山列島で採集した魚類のうち、以下の魚種について論文として発表した：日本で3例目の採集例となる稀種、ハタ科ハナスズキ属モモハナスズキ *Liopropoma pallidum* (吉田・栗岩・本村, 2018) (Fig. 1a), 日本初記録種のハタ科クレナイトゲメギス属カザンクレナイトゲメギス *Suttonia lineata* (Yoshida, Kuriwa, and Motomura, 2018) (Fig. 1b), 日本初記録種のウツボ科アミキカイウツボ属コブキカイウツボ *Uropterygius oligospondylus* (Hibino and Kuriwa et al., 2020) (Fig. 1c). 現在、日本初記録種のハタ科トゲメギス属の1種について論文の査読を受けているところであり、さらに未記載種の可能性があるササウシノシタ科トビササウシノシタ属の1種およびハゼ科オオモンハゼ属の1種について分類学的研究を進めている。



集団ゲノミクス解析に先立ち、伊豆・小笠原弧上の島嶼群11集団(伊豆大島, 神津島, 八丈島, 青ヶ島, ベヨネース列岩, 須美寿島, 鳥島, 聳島列島, 父島列島, 母島列島, 火山列島) (Fig. 2) で採集した495個体のアカハタについて、mtDNA調節領域を含む約2.1 kbの部分配列を決定し、各集団間のマンテル検定を行なった結果、地理的距離に相関した集団間の分化 (IBD: Isolation-By-Distance) が認められた ( $P=0.016$ ). 続いて、核DNAマイクロサテライト11座についてSTRUCTURE解析を行なったところ、11集団は遺伝的に2つの集団に分かれることが示された ( $K=2$ ). 主成分分散分析 (DAPC分析) および主成分分析 (PCA分析) の結果も同様だったが ( $P<0.05$ ), 有意差は出なかったもののさらに3集団に分けられる傾向を示した. そのため多次元尺度法 (nMDS解析) を行なった結果、11集団は遺伝的に以下の3集団に分かれることが示された ( $P<0.05$ ); 伊豆・小笠原弧上の北部集団 = 伊豆諸島北部および豆南諸島の一部 (伊豆大島, 神津島, 須美寿島, Fig. 2中の赤字), 同・中央集団 = 伊豆諸島南部および豆南諸島 (八丈島, 青ヶ島, ベヨネース列岩, 鳥島, Fig. 2中の青字), 同・南部集団 = 小笠原群島および火山列島 (Fig. 2中の緋字).

これら3集団間におけるペアワイズ  $F_{st}$  値を算出したところ、それぞれで有意な遺伝的分化が見られた ( $P=0$ ) 一方、マンテル検定は棄却され ( $P=0.057$ ), IBDは認められなかった. 続いてBayesAss解析を行い、3集団間における移住率を算出したところ、それぞれにおいて低頻度の移住が認められたものの (4.8–22.1%), 高いself-recruitmentが認められ (72.3–90.3%), これら3集団間の遺伝的分化が支持された. 以上から、伊豆・小笠原弧上の島嶼群において、アカハタは地理的距離に相関“しない”北部・中央・南部という遺伝的集団構造を取ることが示された. そして、当該島弧は黒潮の大蛇行域に位置しており、各集団間の遺伝的ギャップは、黒潮の流路変動に当てはめるとうまく説明がつくことが分かった. つまり、通常の流

Fig. 2



路により北部集団と他2集団が分断され、十数年に一度の大蛇行の際に黒潮が北緯10度付近まで南下することで中央集団と南部集団の分断が起こるといふ仮説である.

この仮説を検証するため、北部・中央・南部集団それぞれから2集団ずつ、1集団あたり16個体 (計6集団96個体) のアカハタについて、集団ゲノミクス解析を行なった. まず、生きたアカハタ1個体から血液を採取し、最高品質のDNAを抽出、これを用いて全ゲノム配列決定および脳・心臓・肝臓・筋肉の4組織を用いたRNA seqを行なった. ゲノム配列は約110.8 Gb (Q20: 93.0%, Q30: 86.3%), RNA seqは脳6.7 Gb (Q20: %, Q30: %), 心臓7.6 Gb (Q20: %, Q30: %), 肝臓7.7 Gb (Q20: %, Q30: %), 筋肉6.9 Gb (Q20: %, Q30: %) である. 現在、これらにより得られた配列データをレファレンスとして、高濃度ランダムプライマーとシーケンスアダプター配列を用いてジェノタイピングするGRAS-Di解析による最終的な集団ゲノミクス解析を進めている.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 吉田朋弘・栗岩 薫・本村浩之	4. 巻 65(1)
2. 論文標題 火山列島から得られたハタ科魚類の稀種モモハナスズキ <i>Liopropoma pallidum</i> の記録	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 魚類学雑誌	6. 最初と最後の頁 67-70
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11369/jji.17-038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomohiro Yoshida, Kaoru Kuriwa, and Hiroyuki Motomura	4. 巻 23
2. 論文標題 First Confirmed Japanese Record of <i>Suttonia lineata</i> (Perciformes: Serranidae) from Iwo Island, Volcano Islands	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Species Diversity	6. 最初と最後の頁 229-232
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.12782/specdiv.23.229	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 佐野 貴司、栗岩 薫、谷 健一郎	4. 巻 464
2. 論文標題 西ノ島マグマへのスラブ影響	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 月刊地球	6. 最初と最後の頁 288 ~ 294
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yusuke Hibino, Kaoru Kuriwa, Tetsuya Yamada, Kiyotaka Hatooka, Kar Hoe Loh, and Tetsuro Sasaki	4. 巻 25
2. 論文標題 First Records of <i>Uropterygius oligospondylus</i> (Anguilliformes: Muraenidae) from Minami-Iwo-to Island, Southern Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Species Diversity	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 栗岩 薫・佐久間 啓・千葉 悟・武島弘彦・松浦啓一
2. 発表標題 伊豆・小笠原弧におけるアカハタの遺伝的集団構造
3. 学会等名 日本魚類学会2018年度年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗岩 薫、吉田 朋弘、田代 郷国、本村 浩之、瀬能 宏
2. 発表標題 日本最後の秘境・火山列島（北硫黄島・硫黄島・南硫黄島）の魚類相と生物地理
3. 学会等名 日本魚類学会2017年度年会
4. 発表年 2017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
研究分担者	武島 弘彦  (Takeshima Hirohiko)  (50573086)	総合地球環境学研究所・研究部・外来研究員    (64303)	