

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 8 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07918

研究課題名(和文)アキアミ類の分類学的再検討と系統群分離及び種分化

研究課題名(英文) A revision of classification of genus *Acetes*, stock identification and species speciation

研究代表者

今井 秀行 (Imai, Hideyuki)

琉球大学・理学部・准教授

研究者番号：10359987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：インド・太平洋に広く分布する浮遊性エビ類のアキアミとジボガアキアミについてミトコンドリアDNA調節領域を増幅するためのPCRプライマーを設計して遺伝的多様性と系統群分離を行った。両種ともに遺伝的多様性が中程度から高い地域集団が示され、近隣の個体群を除いて多くの個体群間で遺伝的差異が明らかになった。アキアミ類の系統群の持続的利用に科学的な管理ができる。オキナワハクセンシオマネキの幼生分散期による遺伝子流動は、インドネシアのジャワ海にあるウォレス線と強い関係が明らかとなった。DNA塩基配列に基づくアキアミ属の分子系統樹は、Omori (1975) の形態データに基づく系統樹と同じ結果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アキアミ類は甲殻類の漁獲量で世界一であり、アジア諸国において重要な水産資源である。アキアミ類の持続的利用に主眼をおいた高度な資源管理において、ジボガアキアミとアキアミで系統群と呼ばれる遺伝的に独立した地方集団を明らかにすることができた。さらに環境変動や耐病性に関係することで知られている遺伝的多様性についても明らかにした。熱帯種であるジボガアキアミが沖縄島で発見して日本初記録となり、その和名を提唱した。インド・太平洋に分布するアキアミ類の系統関係について塩基配列に基づいて再検討した結果、Omori (1975) の形態に基づく系統樹と同様となって普遍性を裏付けることともに未記載種を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Newly designed primers for mitochondrial control region were amplified to aid in genetic diversity and stock identification of the widely distributed pelagic shrimp, *Acetes japonicus* and *A. sibogae*. These results showed from middle to high genetic diversity levels and significant genetic differences among stocks without close geographical distance between populations. Thus, we can scientifically manage each stock of *Acetes* shrimp for sustainable yield. *Austruca perplexa* gene flow as larval dispersal period have a distinct relationship with Wallace's Line in Java Sea, Indonesia. Our phylogenetic tree of genus *Acetes* using DNA sequence data suggested same results by Omori (1975) showed species relationship using morphological data.

研究分野：水圏生産科学

キーワード：アキアミ 系統群 集団構造 遺伝的多様性 資源管理

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) アキアミ類は駿河湾のサクラエビ(*Lucensosergia lucens*)に近縁な小型の沿岸性エビ類で、大西洋東部を除く世界の熱帯～暖海域に広く分布し、生物量が極めて多く、沿岸及び汽水生態圏の主要群を成している。特に熱帯アジア圏で高い種分化を遂げており、南・東南アジアではクルマエビ類につぐ産業重要群として古くから漁業開発され、漁獲物は食材や魚醤原料として重用されるなどアジアの食文化に欠かせない存在である。我が国でも幾つかの産地で漁獲され、地域特産種として流通しているほか、アジア各国から食品素材としてかなりの量が輸入されている。

(2) 近年の系統地理学研究の進展はインド・西太平洋に生息する多くの海産生物が従来考えられていたより遙かに多様で複雑な遺伝的多様性を有する地域個体群を内包するメタ個体群を構成している実態を明らかにすると同時に、隠蔽的種分化を遂げた複合種群の存在を示す実態を浮かび上がらせた。このように複雑に構造化された遺伝的多様性を抱えた海洋生物種・群の発見は、アジア地域の生物多様性の成立とその駆動要因に大きな関心を引き起こすと共に、多様かつ貴重な遺伝資源の保護とそれらの維持・管理への重要性を再認識させる契機となった。

2. 研究の目的

アキアミ類はOmori (1975) によって体系分類の基礎が確立されて以降、非常にまとまった生物群と認識されてきた。そうした中ごく最近、形態情報をベースに新たな高次分類体系が提言された。また、種内で明らかに形態を異にする地域個体群や、広域分布種の中には地域間で環境耐性や繁殖特性に違いが見られる事例が指摘されてきた。これらが生態的適応によるものか、あるいは種の違いを反映した隠蔽種群と捉えるべきか等々、現行の分類体系には再検討すべき問題点や未解明の課題が多々残されている。また、高次分類に関して我々の予備的解析は現行と異なる体系の可能性を示唆している。このような課題の解決に向け、遺伝子解析等を取り込んだ新たなアプローチによる基礎的研究が不可欠となっている。

インド・オーストラリア地理区においてアキアミ類と同所的に生息するオニテナガエビの遺伝的多様性のパターンが Huxley 線や Wallace 線で分断される事例が多数見つかっている。また、環境障壁としてのマレー半島の重要性も認識された。アキアミ類の遺伝子研究は、世界的にも極めて高い生物多様性を誇るインド・オーストラリア地理区における海生生物相の成立とそれを駆動した地史的変遷などの外的要因の解明に重要な知見を与えるものと期待される。さらに、本研究の成果は地理分布及び種分化の傾向が一致するクルマエビ類や熱帯アジアで高い多様性を誇るテーティス起源と推察される海産生物群が共有する種分化の過程を明らかにするうえで重要な貢献を為すものと期待する。

既に述べた通り、アキアミ類はアジアの沿岸水域において極めて高い生態的重要性並びに産業的価値が認識されているにも拘わらず、遺伝的多様性に関する研究は緒に就いたばかりである。その一方、人口増や経済発展に伴う開発行為によってアキアミ類の主要な生息域である沿岸浅海やマングローブ環境の劣化・消失がアジアの至る所で進行している。さらに機械化が進んだ結果、漁業による過度の開発が行われ、有用資源種の多くで急激な減少や地域個体群の消失を招いている。こうした背景から、本生物群の遺伝的多様性について早急に全体像を把握すると共に重要海産生物としてのアキアミ類の保全及び利用・管理に対して学術的データに基づいた地理スケールでの適切な取り組みが急務となっている。

アキアミの各種及び種内の地域個体群の遺伝子データは成果の公表に伴ってジーンバンクへの登録が求められ、これら塩基配列データはオープンデータとして利用可能である。従って、これらは様々な生物学的研究の基盤データとして活用されることになる。これらの基礎データは漁業対象となっているアキアミの個体群サイズの正確な評価のみならず、漁業・遺伝資源の保全や管理指針の策定にも不可欠な科学データとなる。本研究はアジア・オーストラリア域主体の中規模スケールで開始し、今後、南アジアからインド・西太平洋へ重心を移し、さらにアメリカ大陸へと展開することを目指し現地研究者とコンタクトを図るなど準備を進めてきた。また、我々の研究によってアジアのみならず南米等他地域での研究啓発につながることも期待される。

3. 研究の方法

本研究ではOmori (1975) をベースに種の初期判別を行い、それらを基に形態形質の詳細解析と遺伝子マーカーによるデータ解析を並行して行った。それぞれの解析手法で得られたデータは相互にフィードバックしあい効率的なデータ収集を図った。本研究では、今井が遺伝子分野の解析を行い、研究協力者として国内外の小型甲殻類の分類・生態研究に経験と実績を持つ元中央水産研究所の花村幸生博士が形態分野を担当した。両分野から得られたデータに基づく解析と評価は両名が共同して行った。本研究では最も普遍的かつ多くの生物群のデータが揃ったミトコンドリア遺伝子の特定領域 (COI, 16S rRNA) を分析対象にし、種及び個体群間の遺伝的多様性及びネットワークを解析した。また、広域分布種の系統解析については歴史的変遷過程の解析においてミトコンドリア遺伝子より有効とされる核遺伝子の解析を含めた。

アキアミ類の遺伝的分化についてシオマネキ類、汽水性メダカ類、二枚貝類など沿岸性海生生物の遺伝的構造と比較することによって、種分化及び遺伝的分化の過程とその要因について多くの情報を得ることができる。集団遺伝解析は、遺伝子マーカーとしてミトコンドリア DNA 調節領域 (D ループ) の塩基配列に基づき実施した。公表されたデータの他、我々がこれまで甲殻類

や軟体動物の一部のグループで広域的調査を進めてきた中で蓄積されたデータも活用できる。これらを基に、比較的研究データが揃っているこの地域の地史変動と我々が目指している遺伝子進化に係るデータとの検討を通じ課題の検証に取り組む。形態の解析では、固定標本では保存性の低い色彩、付属肢等の脆弱な形質は可能な限り現地で新鮮なサンプルを材料にデータを得る。必要に応じ画像データ等で保存する。これまで甲殻類や軟体動物の一部のグループで広域的調査を進めてきた経験があり、アキアミ類についても試料とデータの蓄積を図ってきた。以上の研究成果を公表することによってこの分野で世界のトップグループに位置すると認識している。

4. 研究成果

インド・太平洋に分布するアキアミ属の大部分の種を集めることができ、分子系統樹の構築に使用した遺伝子領域のPCRが可能であった。我々が明らかにした分子系統樹は、Omori (1975) による形態学的アプローチで構築された系統樹とほぼ一致し、我々の結果の信頼度を裏付けていた。つまり *erythraeus* グループと *japonicus* グループに大別され、前者では *A. erythraeus*、*A. sibogae* および *A. vulgaris* が含まれ、後者では *A. indicus*、*A. serrulatus*、*A. japonicus* および *A. chinensis* が含まれた。今後、中南米に分布するアキアミ属種群を含めることによってアキアミ属の進化・系統が明らかになると考えられた。

アキアミ *A. japonicus* の遺伝的多様性は、前者では新潟、三河湾、伊勢湾で高いレベルにあり ($h=0.93$ 、 $\pi=2.1\%$)、スマランで低かった ($h=0.24$ 、 $\pi=0.06\%$)。遺伝的集団構造は、国内6地点・台湾とインドネシア2地点の間に大きな遺伝的分化が見られ ($F_{st}=0.89$)。ハプロタイプ系統樹とネットワーク図は、大きく日本・台湾のクレードとインドネシアのクレードに分かれた。アキアミが地理的に離れた日本・台湾とインドネシアの間を移動するほどの長距離分散しないことが考えられた。台湾集団は、国内6地点との間に遺伝的分化が見られた ($F_{st}=0.63$)。日本6地点内では新潟、三河湾、伊勢湾のサブクレード1、岡山、大分、有明海のサブクレード2に分かれ、遺伝的分化も見られた ($F_{st}=0.53$)。台湾とサブクレード1の間では $F_{st}=0.63$ であったが、台湾とサブクレード2との間では $F_{st}=0.88$ であった。ネットワーク図でもサブクレード2よりも1の方が台湾集団のハプロタイプに近接した。今後さらに採集地点を増やして詳細に検討していきたい。

Acetes sibogae sibogae を沖縄島で採集し、日本初記録および北限分布記録として新和名ジボガアキアミを提唱した。この種は偶然採集されたものではなく、沖縄島で個体群を維持していることも判明した。この発見の意義は大きく、水産資源として持続的利用の可能性があるとともに、生息地がラムサール条約に登録されているために渡り鳥の重要な餌にもなっている可能性もあり、今後行政が積極的に生態学的調査や環境保全対策を立てることが望まれる。

ジボガアキアミの遺伝的多様性は、ハプロタイプ多様度では沖縄島で最も低く ($h=0.5$)、その他の地域で中間的であった ($h=0.79-0.97$)。沖縄島集団の低い遺伝的多様性は、創始者効果が考えられた。一方、塩基多様度はすべての地域で低いレベルであった ($\pi=0.17\sim 0.86\%$)。遺伝的集団構造解析は、すべての地域間で遺伝的分化があり ($P<0.001$)、 $F_{st}=0.23$ であった。以上から親エビの回遊や幼生期の海流による分散によるジボガアキアミの遺伝子流動はほとんどなく、生活史の一生を湾内で完結し、Huxlery 線や Wallace 線とは関係がほとんどないものと考えられた。Huxlery 線に関連して汽水性のジャワメダカ *Orzyias javanicus* についても解析を実施した結果、ジボガアキアミと同様にすべての地域の間で遺伝的分化が認められた。

アキアミと比較するために分布がほぼ同じハクセンシオマネキ *Austruca lactea* について解析を実施した。遺伝的多様性は、アキアミよりも高いレベルを示した ($h=1.0$ 、 $\pi=1.7\sim 2.4\%$)。遺伝的集団構造解析は、近接した地域間では遺伝的分化が小さく、瀬戸内海グループ、九州グループそして台湾グループに分かれた。

ジボガアキアミと比較するために分布がほぼ同じオキナワハクセンシオマネキ *A. perplexa* について解析を実施した。ハプロタイプ多様度は、すべての地域で中間的レベルであった ($h=0.80\sim 0.97$)。一方、塩基多様度はすべての地域で低かった ($\pi=0.30\sim 0.45\%$)。遺伝的集団構造解析は、遺伝子流動が Huxlery 線によって見事に隔てられていた。ジボガアキアミが汽水域を好むのに対してオキナワハクセンシオマネキは異なる。幼生期の浮遊期間が両種で大きく異なることから、集団構造の違いは塩分濃度など環境に依存するものと考えられた。

ジボガアキアミよりも広域に分布するシマイセエビ *Panurilus penicillatus* について沖縄近海の地域についても集団遺伝解析を実施した。遺伝的多様性は非常に高いレベルにあった。遺伝的集団構造解析は、異質性が認められず、300日間の幼生期間と海流条件が活発な遺伝子流動を促進して遺伝的分化を抑制していると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fukuchi J, Hanamura Y, Imai H	4. 巻 19
2. 論文標題 First record of <i>Acetes sibogae sibogae</i> Hansen, 1919 in Japan.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biogeography	6. 最初と最後の頁 31-34
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 -

1. 著者名 Abdullah MF, Cheng JH, Chen TI, Imai H	4. 巻 19
2. 論文標題 Development of compound polymorphic microsatellite markers for the pronghorn spiny lobster <i>Panulirus penicillatus</i> and comparison of microsatellite data with those of a previous mitochondrial DNA study performed in the northwestern Pacific	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biogeography	6. 最初と最後の頁 61-68
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 該当する

1. 著者名 Tokuyama T, Shy J, Lin H, Henmi Y, Mather P, Hughes J, Tsuchiya M, Imai H	4. 巻 49
2. 論文標題 Genetic population structure of the fiddler crab <i>Austruca lactea</i> (De Haan, 1855) based on mitochondrial DNA control region sequences.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Crustacean Research	6. 最初と最後の頁 -
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hardianto E, Fukuchi J, Hanamura Y, Wijayanti D P, Sabdono, Imai H
2. 発表標題 Genetic diversity and population structure of Sergestid shrimp <i>Acetes sibogae sibogae</i> in the Indo-West Pacific region based on mitochondrial control region sequences
3. 学会等名 The 2019 Spring Annual Meeting of Japan Society of Fisheries Science. Tokyo
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高田賢人・今井秀行
2. 発表標題 ミトコンドリアDNA調節領域の塩基配列に基づくオオテナガエビの遺伝的集団構造解析
3. 学会等名 沖縄生物学会第55回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hardianto E, Wijayanti P D, Imai H
2. 発表標題 Genetic diversity and population structure of fiddler crab, <i>Austruca perplexa</i> in the east and west part of Indonesia based on mitochondrial control region sequences
3. 学会等名 The 55th Annual Meeting of the Biological Society of Okinawa
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hardianto E, Fukuchi J, Wijayanti D P, Hanamura Y, Imai H
2. 発表標題 Genetic diversity and population structure of <i>Acetes sibogae sibogae</i> in the Indo West Pacific region based on mitochondrial control region sequences
3. 学会等名 The 21st meeting of the Japanese Coral Reef Society
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hardianto E, Fukuchi J, Hanamura Y, Sabdono A, Wijayanti D P, Imai H
2. 発表標題 Genetic diversity and population structure of the sergested shrimp <i>Acetes sibogae sibogae</i> , in the Indo-West Pacific region
3. 学会等名 The Japanese Society of Fisheries Science, Spring Meeting 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福地順・花村幸生・今井秀行
2. 発表標題 沖縄島から採集された日本初記録のジボガアキアミ（新称）
3. 学会等名 沖縄生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福地順・花村幸生・鶴崎直文・Mantini R・大塚攻・今井秀行
2. 発表標題 ミトコンドリアDNAの調節領域におけるアキアミ <i>Acetes japonicus</i> の遺伝的集団構造
3. 学会等名 日本甲殻類学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福家悠介・北野忠・今井秀行
2. 発表標題 日本のテナガエビ属の系統関係と形態形質による雌雄平等同定法
3. 学会等名 日本甲殻類学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福家悠介・今井秀行
2. 発表標題 日本産テナガエビ類の系統関係と複数の隠蔽系統
3. 学会等名 水生生物勉強会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

琉球大学研究者データベース
http://kenkyushadb.lab.u-ryukyu.ac.jp/html/100000827_ja.html
今井研究室ホームページ
<mailto:labo.web.fc2.com/>

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
研究協力者	花村 幸生 (Hanamura Yukio)		