

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：38005

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K15179

研究課題名（和文）比較ゲノムを基盤とした自然および人為的サンゴ集団成立機構の解析

研究課題名（英文）Evaluate possible coral nurseries in Onna to work as source of larvae.

研究代表者

座安 佑奈（Zayasu, Yuna）

沖縄科学技術大学院大学・マリンゲノミクスユニット・研究員

研究者番号：50746691

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：一般的に生物の野生への放流には、遺伝的攪乱、遺伝的多様性の低下、病気の持ち込みなどのリスクが懸念される。適切で効果的な保全再生活動のため、サンゴの自然状態における増殖状況や遺伝的多様性を基準とした、具体的な指針づくりに役立つ科学的知見を集めることを目的とした。沖縄県恩納村で大規模に行われているサンゴ養殖場の遺伝的多様性、クローン群体の割合を野生のサンゴ群集とをマイクロサテライトを多型マーカーとして集団遺伝学的に比較した。また一塩基多型を取得・分析し、久米島のサンゴ集団および、恩納村の養殖場内のサンゴ群体とその周辺野生群体の遺伝的関係性について詳細かつ解像度の高い集団遺伝学的解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サンゴ保全活動の長期モニタリング記録が少ないことが指摘される中、養殖サンゴの遺伝的多様性や、養殖サンゴが周辺の野生海域へ幼生供給基地としてどれくらいの効果があるのかを調べたことは保全活動の効果を知る上で意義があると考えられる。広範囲に渡る集団遺伝学的解析はソースシンクを調べる上で必須であるが、実際に保全活動が行われる地域スケールの情報も重要である。MIG-seqで得られたSNPs解析の結果は島内という狭い範囲の遺伝的構造を明らかにするのに十分な解像度があることが確かめられた。

研究成果の概要（英文）：Generally, there are concerns about the risks of stocking and releasing animals to the wild, such as the breakdown of population structure, a reduction of genetic diversity, and the spread of diseases. This study aimed to collect helpful scientific knowledge for creating concrete guidelines based on the genetic diversity of corals in their natural state for appropriate and practical conservation activities. We assessed the genetic diversity and the proportion of clonal colonies of corals in farms in Onna Village, Okinawa Prefecture used microsatellite markers. Then, we compared them with that of the wild. In addition, single nucleotide polymorphisms (SNPs) were detected using MIG-seq methods. We conducted population genetic analyses of corals in Kumejima and kinship analyses of the coral colonies in the farms in Onna Village and the surrounding wild colonies.

研究分野：海洋生物学

キーワード：集団遺伝学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

2016 年は沖縄を含む、世界各地で有藻性サンゴ類（以下サンゴ）の深刻な白化が見られ話題になった。白化とは、高すぎる海水温や強すぎる日射しにより細胞内に共生する褐虫藻との関係が崩れる現象で、サンゴが栄養不足に陥り死んでしまう場合もあり、90 年代以降、規模や頻度が深刻になっている。

海産魚類種の 25% が生息するサンゴ礁は、海の熱帯林として知られ、極めて高い生物多様性を有し、他種生物や人間社会にとっても重要な生態系である。しかし世界のサンゴ礁の多くが白化を含む、様々な人為的ストレスの影響を受けて危機的状況にあるとされており、適切な対策を講じる必要がある。移植による人為的な増殖はその対策の一つの要とされ、世界中で移植養殖を含む、積極的な保全活動、介入が盛んになってきている。しかし、サンゴ保全活動に関する調査研究の歴史は 40 年ほどと比較的浅く、改善すべき点をいくつか含んでいる (Omori 2019)。

サンゴゲノムは 2011 年に初めて解読され (Shinzato et al. 2011, Nature) 2014 年には 2 種の比較ゲノム解析により、理論上ミドリイシ属全種に有効なマイクロサテライトマーカー 14 個を開発された (Shinzato et al. 2014, Front Mar Sci)。私たちはこの「ミドリイシ多種個体識別マーカーセット」を用いて、南西諸島全域の野生ミドリイシの集団遺伝学的研究を行い、放出された配偶子や浮遊幼生は黒潮に乗って長距離分散するという通説に反し、実際にはサンゴ集団はもっと地域レベルで分化していることを示した (Zayasu et al. 2016, Ecol Evol)。

遺伝的多様性の有無と質は個体の進化のみならず生態系にも重要な影響を与える (Kasada et al. 2014, PNAS)。サンゴの増殖方法には、無性生殖法 (株分け) と有性生殖法 (受精卵の使用) が用いられている。しかし無性生殖法で増えたサンゴはクローンであるため、遺伝的多様性の低下が懸念されてきた。

ウスエダミドリイシ養殖集団からの放卵放精も確認されており (Zayasu & Shinzato 2016, Higa et al. 2018)、周辺海域の幼生供給源になっていることが予測された。

### 2. 研究の目的

一般的に生物の野生への放流には、遺伝的攪乱、遺伝的多様性の低下、病気の持ち込みなどのリスクが懸念される。適切で効果的な保全再生活動のため、サンゴの自然状態における増殖状況や遺伝的多様性を基準とした、具体的な指針づくりに役立つ科学的知見を集めることを目的とした。以下 3 つの研究課題を設けた。

(1) 沖縄県恩納村のサンゴ養殖場では 1998 年の世界規模で起きた大白化以降、生き残ったサンゴ群体を保護し、保全再生活動を行ってきた。大きく育った群体を株分けする無性生殖法では、増殖時期や種のコントロールが可能であり、初期減耗が比較的少ないメリットがあるが、特定のクローンが増えすぎることによる集団内の遺伝的多様性の低下が危惧されてきた。そこで私たちは養殖場と野生のサンゴ集団を集団遺伝学的手法で比較することにより、遺伝的多様性やクローンの割合を評価することを目的とした。

(2) 研究課題 1 で野生集団と比べて遺伝的多様性に遜色がない可能性が示された人為的なサンゴ群集があることで、周辺の野生環境へどのような影響を与えているのか、幼生供給基地として機能している場合はどれくらいの効果があるのか、を調べることを目的とした。

(3) 広範囲に渡る集団遺伝学的解析はソースシンク集団を調べる上で必須であるが、実際に保全活動が行われるスケールである地域的な情報も重要である。これまでの南西諸島全体のコピミドリイシ (Nakajima et al. 2010; Shinzato et al. 2015) とウスエダミドリイシ (Zayasu et al. 2016) の集団遺伝学的研究から、両種は同じミドリイシ属に所属し、放卵放精型という同じ産卵生態をとるが、集団遺伝構造は異なることが知られていた。またこれまでの研究には久米島のサンプルはあまり含まれていなかった。そこで、久米島東部におけるサンゴ集団の成り立ちについて、コピミドリイシとウスエダミドリイシを対象に遺伝学的に理解することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 恩納村の前兼久サンゴ養殖場と恩納サンゴ養殖場でスキューバダイビングを用いて潜水し、養生されているウスエダミドリイシ群体から枝先を 2cm ほど採集した。採集する際、全ての杭に番号が印字されたタグを結束バンドでつけ、採捕群体を後で追跡できるようにした。前兼久から 112 群体、恩納から 20 群体の計 132 群体について、マイクロサテライトマーカーを用いて遺伝的多様性指数、クローンである群体の割合を評価した。それを南西諸島の野生の 15 地点の合計 298 群体の集団遺伝学的データと比較した。対象種は 2 つの養殖場で最も保有群体数の多い種であるウスエダミドリイシを用いた。

(2) および (3) について、次世代シーケンサーを用いた塩基配列決定方法は MIG-seq という

比較的安価な手法 (Suyama and Matsuki 2015) を用いて、次世代シーケンサーにより一塩基多型を検出した。

(2) 杭上の養殖サンゴ群集と、周辺海域の自然加入サンゴとの間で親子判定を行い、放流効果の推定を行った。

(3) 一塩基多型を多数取得・解析し、詳細な集団遺伝解析を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 恩納村養殖の集団は、周辺の野生集団と同一の集団に属することが確認された (Zayasu et al. 2018)。特定のクローン集団のみが過剰に増え、将来的に人為的サンゴ群集内の遺伝的多様性の低下を招き、受精率の低下や近交弱勢を招く可能性があるため、株分けの際には、現在も行なっている様に番号付きのタグや配置による管理などトラッキングすることを推奨するが、現状の養殖場の遺伝的多様性のレベルは、南西諸島の他の野生の地域に比べて遜色ないことを確認した (Zayasu et al. 2018)。

(2) 391SNPs を用い、予備実験で得た閾値と照合して近縁関係の推定を行なった。まず遺伝子流動の方向性の推定を行なった結果、養殖場から野生へ遺伝子流動が起きた可能性が示唆された。また親子関係にある養殖-野生の組み合わせは 69 組であった。親子関係にある養殖-野生の組み合わせ 69 組は 52 集団から成り、そのサンプル詳細を見て比較した。ウスエダミドリイシは放卵放精、多産多死の生殖様式をとるが、興味深いことに親集団候補の出現回数 (= 生残の成功率) に偏りがあることがわかった。このような結果が起こる理由としては受精率または生残率のよい配偶子を放出する集団に偏りがあること、または放出する配偶子の量に偏りがあること、その集団の放卵放精の日にち、海況が幼生の生存や着底に適していたことなどが可能性として考えられる。遺伝子流動の方向性推定の結果から養殖場の集団が親で野生の集団が子であると仮定した場合、養殖サンゴと親子関係にある可能性のある野生集団は全体で 25.4% に上った。これらの結果に基づいて論文執筆中である。

(3) コビミドリイシとウスエダミドリイシのそれぞれについて、その集団遺伝学的構成を主成分分析法により調べた。まず、コビミドリイシについては 7 つの集団の 140 個体から 384 箇所の SNP を使用し、コビミドリイシに関しては久米島内で有意な個体集団遺伝学的な分化は起こっていないと結論づけられた。ウスエダミドリイシは久米島内で 2 つのクレードに分かれた。同じ放卵放精の産卵様式を持つミドリイシ属のサンゴ同士で種によって集団形成が異なる点は興味深い。さらに久米島沿岸という比較的狭い場所を考えると、このような狭い範囲で海流などの特徴を反映した集団分化が生まれていることも注目に値する。ウスエダミドリイシの両クレードは同所的に存在する場所もあり、物理的な障壁だけでは説明がつかなかった。そこで fastSTRUCTURE を用いて解析したところ、両クレード同士は交雑もほとんどしていない可能性が示された。以上のことから両クレードは隠蔽種の可能性があり、遺伝的攪乱防止の観点から、ウスエダミドリイシの自然集団に手を加える場合は、この問題を明確に解決すべきである。遺伝的多様性指標としてヘテロ接合度の期待値、ヘテロ接合度の観察値、近交係数を求めた。いずれも、遺伝的多様性の低下を示唆しており、南西諸島の他の海域と同様にオニヒトデ食害、高水温による白化などによる攪乱の記録を反映していると考えられた。

本研究の MIG-seq で得られた結果は、先行研究のマイクロサテライトマーカーや全ゲノム SNPs の研究結果とも整合性のとれる内容であった。MIG-seq は比較的安価で詳細な結果が得られることから、島内などの狭い範囲の詳細な解析に適していると思われる。これらの内容は Aquatic Conservation に受理され印刷中である (Zayasu et al. in press)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Zayasu Yuna, Suzuki Go	4. 巻 27
2. 論文標題 Comparisons of population density and genetic diversity in artificial and wild populations of an arborescent coral, <i>Acropora yongei</i> : implications for the efficacy of “artificial spawning hotspots”	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Restoration Ecology	6. 最初と最後の頁 440 ~ 446
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/rec.12857	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 -
1. 著者名 Zayasu Yuna, Satoh Noriyuki, Shinzato Chuya	4. 巻 26
2. 論文標題 Genetic diversity of farmed and wild populations of the reef-building coral, <i>Acropora tenuis</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Restoration Ecology	6. 最初と最後の頁 1195 ~ 1202
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/rec.12687	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 -
1. 著者名 Shinzato Chuya, Zayasu Yuna, Kanda Miyuki, Kawamitsu Mayumi, Satoh Noriyuki, Yamashita Hiroshi, Suzuki Go	4. 巻 5
2. 論文標題 Using Seawater to Document Coral-Zooxanthella Diversity: A New Approach to Coral Reef Monitoring Using Environmental DNA	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Marine Science	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） 10.3389/fmars.2018.00028	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 -
1. 著者名 Shinzato Chuya, Khalturin Konstantin, Inoue Jun, Zayasu Yuna, Kanda Miyuki, Kawamitsu Mayumi, Yoshioka Yuki, Yamashita Hiroshi, Suzuki Go, Satoh Noriyuki	4. 巻 38
2. 論文標題 Eighteen Coral Genomes Reveal the Evolutionary Origin of <i>Acropora</i> Strategies to Accommodate Environmental Changes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 16 ~ 30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/molbev/msaa216	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 -

1. 著者名 Zayasu Yuna, Takeuchi Takeshi, Nagata Tomofumi, Kanai Megumi, Fujie Manabu, Kawamitsu Mayumi, Chinen Wakana, Shinzato Chuya, Satoh Noriyuki	4. 巻 in press
2. 論文標題 Genome-wide SNP genotyping reveals hidden population structure of an acroporid species at a subtropical coral island: Implications for coral restoration.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Aquatic Conservation	6. 最初と最後の頁 in press
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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Zayasu Yuna, Shinzato Chuya, Satoh Noriyuki
2. 発表標題 Selective breeding of white and colored corals for thermal tolerance. Presentation
3. 学会等名 The 4th Asia Pacific Coral Reef Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Zayasu Yuna
2. 発表標題 Stocking effectiveness of coral farms on natural population in Okinawa.
3. 学会等名 Tohoku Forum for Creativity Emerging Perspectives Program OIST-TOHOKU Joint Workshop on Marine Science 'Ocean - Collapse and Regeneration' ( (国際学会)
4. 発表年 2021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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------