

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05686

研究課題名(和文)イバラトミヨ雄物型局所個体群の遺伝的構造に着目した潜在的絶滅要因の解明

研究課題名(英文)Elucidation of potential extinction factors based on the genetic structure of local populations of *Pungitius kaibarae*

研究代表者

高田 啓介 (Takata, Keisuke)

信州大学・理学部・特任准教授

研究者番号：90197096

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：遺存固有分布期にあるイバラトミヨ雄物型局所個体群を用いて、有効な保全策を立案するために遺伝学的、生態学的解析を行った。RAD-seqによる家系分析等を用いた遺伝的集団構造の解明や、生態学的情報を組み合わせた個体群持続性分析を行い、今後100年間の絶滅確率を推定した。山形県内の3個体群間に直近の世代間で個体の移動はないと推定され、それぞれの個体群の有効集団サイズと一腹卵数等の生態学的情報を用いた個体群持続性分析により、3個体群ともに今後100年間に56%から78%の高い確率で絶滅すると推定された。これらのことから生息地の保全と危険分散に基づく施設飼育などの管理が必要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本では、淡水魚類の多くは程度の差こそあれ絶滅危惧種に指定されている。本研究ではP. kaibarae種群に属するイバラトミヨ雄物型個体群を例に遺伝子解析を用いることにより、保全する際の基本情報である有効集団サイズを推定することができることを示した。これを基に個体群の絶滅確率を的確に予測することができるようになった。

これまで保全活動を行う際に、絶滅という最悪の状態がどの程度起こりうるかを客観的に示すことが難しかった。遺伝的集団構造の解明および生態学的データや環境変動データを用いた百年単位での絶滅確率の推定を組み合わせることにより、保全対象個体群の状況を客観的に示すことができるようになった。

研究成果の概要(英文)： Genetic and ecological elucidations were performed to formulate effective conservation measures on the Ibaratomiyo Omono-type (*Pungitius kaibarae*) endemic populations in Yamagata. RAD-seq family analysis, which gives effective population size, and the ecological information, such as longevity, clutch size etc. were enabled to perform the population viability analysis (PVA analysis) to estimate the extinction probability for the next 100 years. It was estimated there is no dispersal among the three populations in the most recent generations. Population viability analysis based on the ecological and the genetic information revealed the three populations are at high risk of extinction from 56% to 78% within the next 100 years. These suggest that habitat management and facility breeding based on risk dispersion is necessary.

研究分野：保全生態学

キーワード：Pungitius kaibarae mtDNA ddRAD-seq COLONY Sequoia Ne PVA

## 1. 研究開始当初の背景

種の分布縁辺部では、個体群や種が直面する絶滅や個体数減少リスクの複合要因を解析する絶好の機会を与えてくれる。特に、遺存固有分布期にある種の局所個体群を用いた遺伝学的あるいは生態学的解析は、絶滅要因解析に極めて有効な情報を提供する。材料として選定したイバラトミヨ雄物型(以降雄物型)はかつて京都・兵庫の一部に生息し、絶滅したミナミトミヨ(*Pungitius kaibarae*)と同種とされ、遺存固有分布を示す。雄物型を材料に絶滅要因解析を試みるには、雄物型を取り巻く生物学的環境要因や非生物学的環境要因を網羅的に把握し評価することが不可欠である。雄物型が発見(Takata et al., 1987)されて以降、生態学的な知見が蓄積されつつある(高橋・高田, 2003)。こうした遺伝学的、生態学的知見の蓄積と個体群の遺伝的構造と個体群存続性分析(PVA)による絶滅確率の推定を組み合わせることにより、雄物型のより効果的な保全策を導く機会が得られるようになった。

これまで雄物型ではその生息地である山形県東根市と天童市で様々な保全策が講じられてきた。しかし、生息個体数を指標としてその保全成果を見ると、必ずしも成功しているとは言い難い。従来の保全策で漠然と経験的に挙げられている生息地数や個体数の減少の要因とそれらへの対応策を見直さなければならない時に来ている。保全遺伝学的解析に基づいて対象個体群の遺伝的集団構造を明確に把握すること、および、既知の生態学的知見を総合する形で将来の絶滅確率を客観的に推定することにより、新しい視座からの保全策の立案が可能となってきた。

## 2. 研究の目的

### (1) 遺伝的集団構造の解明

東根市および天童市の雄物型3集団のmtDNA解析、および、核DNA解析により、遺伝的集団構造、特にそれぞれの集団の血縁推定と有効集団サイズを推定することを目的とした。

### (2) 個体群存続性分析(PVA)による絶滅確率の推定

遺伝的解析結果によって推定されたそれぞれの集団の有効集団サイズ、これまでの生息環境調査結果や、繁殖形質や成長様式、寿命等の既報の情報を組み合わせ、それぞれの集団について個体群存続性分析(PVA解析)を行い、絶滅確率を推定することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) RAD-seqによる血縁推定と有効集団サイズの推定

山形県の3集団合計93個体(高木32、大富31、荷口30)のRAD-seqデータを使用し、COLONY(Jones and Wang, 2010)およびSequoia(Huisman, 2017)の2つのソフトウェアを用いて血縁推定を行った。また、結果の信頼性の評価のために、高木の2個体間の人工授精によって作成した既知のfull-sib(全同胞)2個体を同時に解析した。両ソフトウェア共に、両親ともに重婚を想定したアルゴリズムを採用した。なお、RAD-seqデータは、depthが3以上、genotyping rateが75%以上、minor allele frequencyが0.01以上、genotyping error rateが1%以下という条件でフィルタリングした。また、各集団について、COLONYを用いてランダムマッチングを想定したモデルに基づき、有効集団サイズを推定した。

### (2) 個体群存続性分析(PVA)による絶滅確率の推定

RAD-seqによって得られた3集団の有効集団サイズ( $N_e$ )と寿命、成熟年齢、一腹卵数、産卵回数、環境変動や環境収容力等の既往の学術情報を基に、Vortex 10.4.0.0(Miller & Lacy, 2005)を用いて100年間の個体数の変動を1000回のシミュレーションを行い、それぞれの絶滅確率を推定した。

#### 4. 研究成果

##### (1) RAD-seq による家系分析と有効集団サイズの推定

RAD-seq データに対するフィルタリングの結果、合計 1109 座位の SNPs データが家系分析に用いられた。家系分析の結果を図 1 に示す。家系分析の結果、COLONY では 18 の full-sib が検出され、それらには 72 個体が含まれた。一方 Sequoia では 13 の full-sib が検出され、それらには 40 個体が含まれた。なお、既知の全兄弟 2 個体は、両ソフトウェアにおいて full-sib として正確に検出され、またそれらに他個体は含まれなかった。両ソフトウェアにおいて、3 集団間にまたがる full-sib または half-sib (半同胞) は検出されなかった。従って、直近の世代では、3 集団間に個体の移動は無いと推定された。

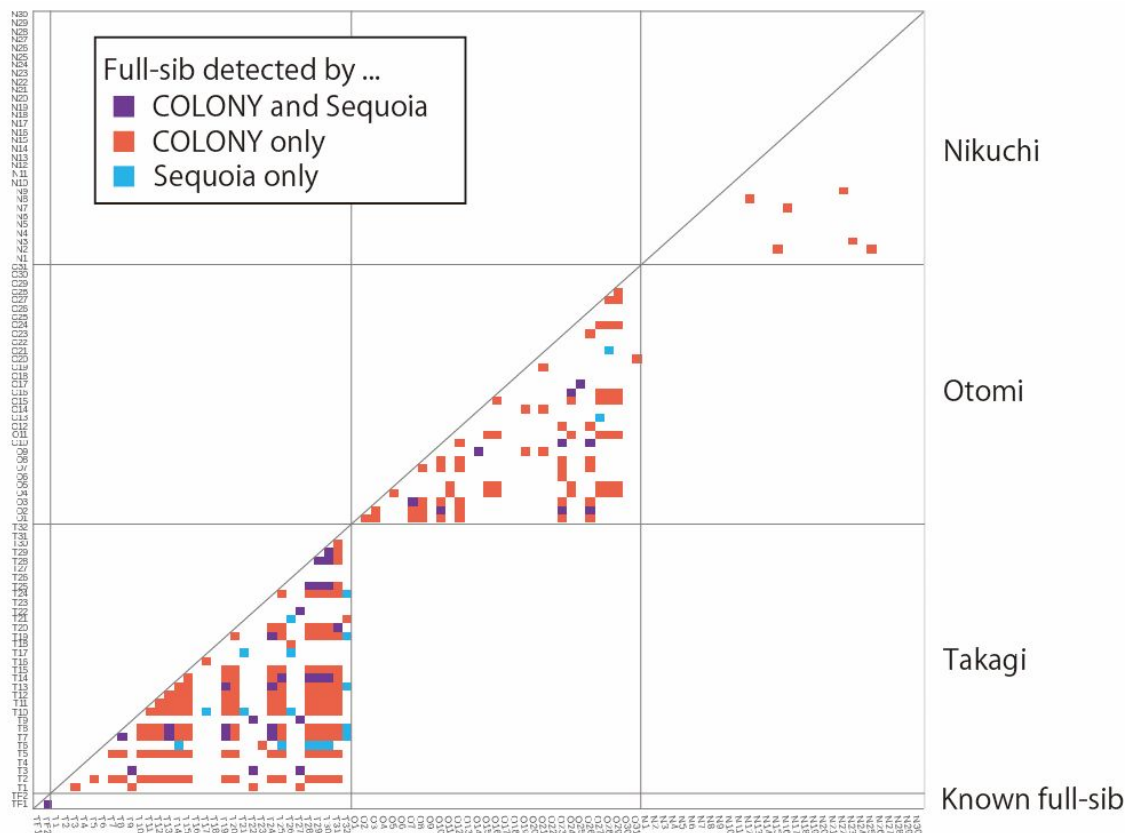


図 1 . 1109 座位の SNPs データによる家系分析

各集団について、家系分析と同様のフィルタリングを行った結果、高木は 2393 座位、大富は 1974 座位、荷口は 1989 座位のデータが有効集団サイズ推定に用いられた。COLONY を用いて有効集団サイズを推定したところ、高木が  $N_e = 175$ 、大富が  $N_e = 439$ 、荷口が  $N_e = 532$  だった。

##### (2) 個体群存続性分析による絶滅確率の推定

COLONY を用いて推定された有効集団サイズ、高木  $N_e = 175$ 、大富  $N_e = 439$ 、荷口  $N_e = 532$  と、これまでに明らかにされている最長寿命 (河内・高田, 2006)、一腹卵数、環境収容力 (河内・大井, 2007) などを変数として Vortex 10.4.0.0 (Miller & Lacy, 2005) を用いて絶滅のシミュレーションを行った。環境収容力の変動はプログラムの特性上最大 33% に設定した。また、湧水等の突発的な生息環境の悪化は 10 年に 1 回、通常産卵に参加するメスの 30% のメスしか産卵できないまでに悪化すると想定した。

その結果、高木では今後 100 年の間に 78% という非常に高い確率で絶滅すると推定され、大富では 66%、そして、最も絶滅確率が低い荷口でも 56% の高い確率で絶滅すると推定された (図 2)

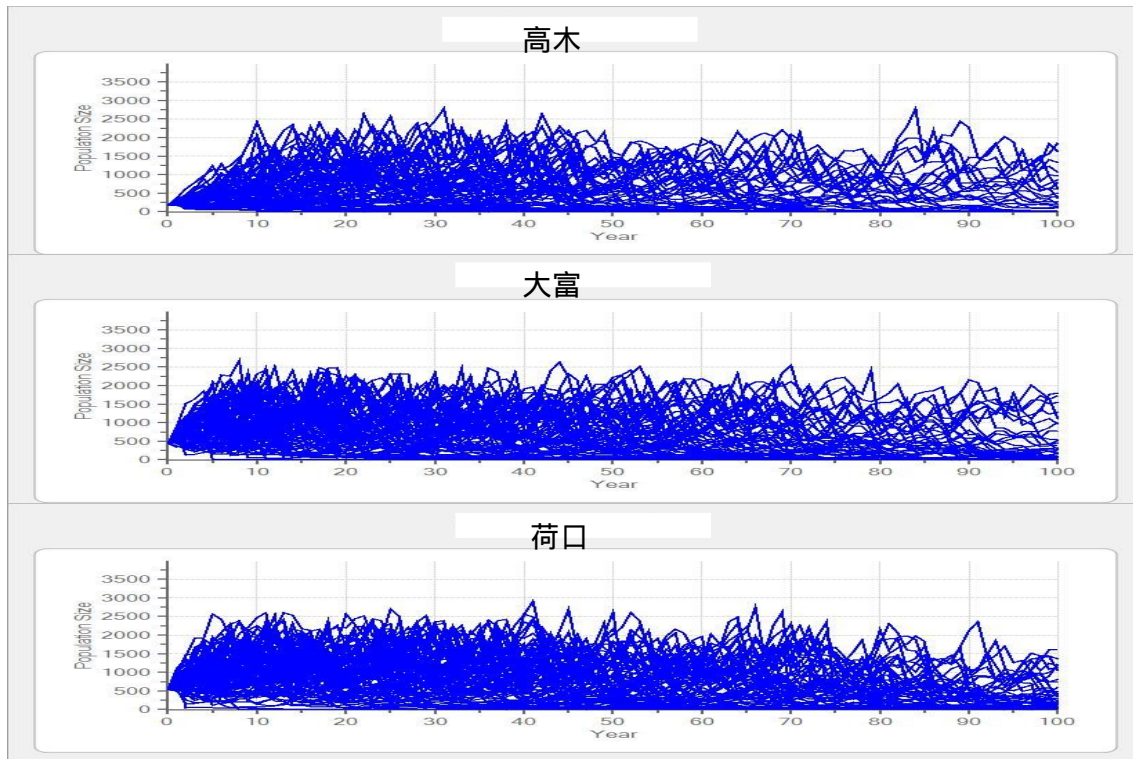


図 2 . イバトミヨ雄物物型 3 個体群の今後 100 年間の個体数変動のシミュレーション

3 集団間の遺伝的差異が検出されなかったこと、および、直近の世代での 3 集団間の個体の移動はないと推定されたことから、本集団の遺伝的多様性は極めて低く、環境の変化に脆弱であることが示唆される (Frankham et al. 2002)。さらに、PVA 解析でも、いずれの集団も今後 100 年間に絶滅する確率が 56% から 78% と極めて高いことから、それぞれの生息地を保全することはもとより、適切な繁殖補助や危険分散に基づく施設飼育などを通して管理をしていくことが必要であると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hiroshi Takahashi, Taiki Kurogoushi, Ryo Shimoyama, Hiroyuki Yoshikawa	4. 巻 68
2. 論文標題 First report of natural hybridization between two yellowtails, <i>Seriola quinqueradiata</i> and <i>S. lalandi</i> .	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ichthyological Research	6. 最初と最後の頁 139-144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10228-020-00752-8	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 Yo Y. Yamasaki, Ryo Kakioka, Hiroshi Takahashi, Atsushi Toyoda, Atsushi J. Nagano, Yoshiyasu Machida, Peter R. Moller, Jun Kitano	4. 巻 375
2. 論文標題 Genome-wide patterns of divergence and introgression after secondary contact between <i>Pungitius sticklebacks</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences	6. 最初と最後の頁 20190548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rstb.2019.0548	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
1. 著者名 M. Ishihara, K. Morita, Y. Iguchi, K. Takaku, K. Takata, T. Kitagawa	4. 巻 36
2. 論文標題 Examination of unidentifiable spined loach individuals found in overlapping zones of two tetraploid species within a single river in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Applied Ichthyology	6. 最初と最後の頁 668-674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jai.14081	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 Ishikawa Asano, Kabeya Naoki, Ikeya Koki, Kakioka Ryo, Cech Jennifer N., Osada Naoki, Leal Miguel C., Inoue Jun, Kume Manabu, Toyoda Atsushi, Tezuka Ayumi, Nagano Atsushi J., Yamasaki Yo Y., Suzuki Yuto, Kokita Tomoyuki, Takahashi Hiroshi et al.	4. 巻 364
2. 論文標題 A key metabolic gene for recurrent freshwater colonization and radiation in fishes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 886 ~ 889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aau5656	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

1. 著者名 M. Ishihara, K. Morita, Y. Iguchi, K. Takaku, K. Takata, T. Kitagawa	4. 巻 36
2. 論文標題 Examination of unidentifiable spined loach individuals found in overlapping zones of two tetraploid species within a single river in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Applied Ichthyology	6. 最初と最後の頁 668-674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jai.14081	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 Iguchi Yuka, Nakao Ryohei, Takata Keisuke, Kitagawa Tadao	4. 巻 12
2. 論文標題 Development of a single-copy nuclear DNA sequence marker for the detection of artificially caused genetic introgressions in Japanese wild medaka populations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Conservation Genetics Resources	6. 最初と最後の頁 311~317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12686-019-01106-x	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3件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 柿岡 諒・北野 潤・石川麻乃・永野 惇・八杉公基・高橋 洋
2. 発表標題 トゲウオ科魚類における形態の収斂進化の遺伝基盤
3. 学会等名 日本進化学会第21会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Takahashi
2. 発表標題 Molecular diagnostic methods for identifying pufferfish species and their hybrid to prevent pufferfish poisoning
3. 学会等名 The 35th Annual Meeting of the Korean Society of Food Hygiene and Safety (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yo Yamasaki, Tomoyuki Kokita, Koki Kato, Asato Irifune, Mitsuki Kuroda, Hiroshi Takahashi, Yoshiyasu Machida, Asano Ishikawa, Mikiko Tanaka, Seiichi Mori, Atsushi Toyoda, Jun Kitano
2. 発表標題 Multiple paths to the same goal: the repeated use of hotspot genes for convergent plate reduction in sticklebacks
3. 学会等名 The 68th Annual Meeting of the Ecological Society of Japan (ESJ67) (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
研究分担者	高橋 洋  (Takahashi Hiroshi)  (90399650)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産大学校・准教授   (82708)	

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
---------	---------