

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：94316

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14897

研究課題名(和文) 隠蔽種ゲノム比較で探るアオリイカ類の異種間交配ホットスポット

研究課題名(英文) Genomic comparisons of cryptic species to investigate interspecific hybridization hotspots in oval squid

研究代表者

筈野 哲史 (TOMANO, Satoshi)

リージョナルフィッシュ株式会社(研究開発部)・研究開発部・研究員

研究者番号：30866570

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)：本研究では、人工授精と飼育実験を用いた異種間交配試験等を通じて、アオリイカ3種間における生殖隔離および遺伝子浸透の実態を明らかにするを目的としていた。まず、初年度と2年度では、新型コロナウイルス感染症流行拡大が重なったこと、また、2年度から代表者の所属先がかわり、実験の立ち上げに時間を要した。しかしながら、アオリイカにおける人工授精方法を確立し、6割程度の受精成功率を得ることができた。この結果は既往研究に比較して非常に高い値であり、アオリイカ類の人工授精技術を大きく発展させたといえる。さらにアオリイカ属複数種間での人工授精を試み、授精がおき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

アオリイカにおける人工授精方法を確立し、6割程度の受精成功率を得ることができた。この結果は既往研究に比較して非常に高い値であり、アオリイカ類の人工授精技術を大きく発展させたといえる。さらにアオリイカ属複数種間での人工授精を試み、授精がおきることが示唆された。これは近年注目されているアオリイカ類の完全養殖や、養殖に適した系統の作出に非常に有益である。さらに、本研究で得られた知見の一部は、4件の国際誌、国際学会および国内学会に発表する成果となった。これはイカ類の繁殖生態や集団遺伝学的研究に大きく寄与するものといえる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to examine the status of reproductive isolation and introgression among the three species of oval squid through interspecific hybridization tests using artificial insemination and breeding experiments. First of all, it took time to start up the experiment until the second year of the project due to the spread of the coronavirus epidemic and the change of the representative's affiliation. However, we established an artificial insemination method for the oval squid and were able to achieve a fertilization success rate of about 60%. This result is high compared to previous studies and represents a significant advance in artificial insemination technology for squids. Furthermore, artificial insemination among multiple species of the oval squid genus was investigated, and it was suggested that hybridization may occur.

研究分野：水圏生命科学

キーワード：頭足類 種間交雑 アオリイカ 遺伝的多様性 生殖隔離

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アオリイカは「イカの王様」の異名をもち、商品価値が極めて高い優良資源である。申請者のこれまでの研究によって、アオリイカ類 3 種は海域によって各種の割合がことなり、さらに 3 種が同所的に生息する海域が明らかとなった。しかし、3 種間の異種間交配の実態や、それが資源や生態系へ与える質的な影響は未知であるため、まずは実態を把握することが急務といえる。本課題では、アオリイカ類における異種間交配の実態を明らかにするため、雑種個体が占める割合を地理的に比較し、ゲノム情報から遺伝子浸透の歴史を推定する。

2. 研究の目的

本研究では、人工授精と飼育実験を用いた異種間交配試験、野外採集卵と成熟メスの DNA 解析、3 種のゲノム比較を通して、アオリイカ 3 種間における生殖隔離および遺伝子浸透の強さを明らかにする。その結果に基づき、異種間交配が起こりやすい組み合わせや、既に遺伝子浸透が進んでいる組み合わせを特定することを予定している。さらに、漁獲される 3 種の割合が海域ごとに異なることを踏まえつつ、人工産卵礁を用いたサポート事業がアオリイカ類の異種間交配に与える影響を評価へとつなげることを最終的な目標としている。

3. 研究の方法

本研究では、次の 5 つの小課題を遂行することで、アオリイカ類における異種間交配の実態を明らかにする。

人工授精によって異種間交配の有無を確認する：アオリイカ類 3 種の成熟卵と精子を用いて人工受精を行い、異種間の配偶子で受精が起こるかどうか調べる。メスの輸卵管から取り出した受精卵に、精子懸濁液を混ぜ合わせインキュベートする。第一卵割が起きた場合は受精が起きたと判断する。

異種間交配によって生まれた雑種を判別する DNA マーカーを選別する：申請者は核ゲノムに存在する繰り返し領域をターゲットにした DNA マーカーをアカイカとシロイカから新規開発している。その中から 3 種に特異的な増幅断片長を示し、かつ断片長が 3 種でオーバーラップしないマーカーを選別する。申請者はすでにシロイカとアカイカで特異的なアレルを示すマーカーを選別しており、クアイカにおいても同様に選別を行う。

集団に占める雑種の割合を海域ごとに比較する：小課題 1 にて選別した雑種判別マーカーを用いて、雑種のシグナルを示す個体を検出する。申請者がこれまで採集してきた日本沿岸 22 地点集団を使用する。雑種シグナルを 3 種の組み合わせ別に示し、海域ごとに比較する。

3 種のゲノム比較を比較し、異種間交配と遺伝子浸透の歴史を明らかにする：3 種間の異種間交配の歴史がもっとも長い海域を明らかにする。小課題 2 で明らかとなった 3 種の雑種割合が多い海域から得た個体を対象とし、3 種のゲノムから広範囲に遺伝子浸透のシグナルを調べる。複数の海域から得た個体を解析し、遺伝子浸透の程度がもっとも大きい海域を特定する。アオリイカ類 3 種と近縁種であるアメリカアオリイカやオーストラリアアオリイカのゲノムも比較することで、アオリイカ属のゲノム解析は万全とする。この小課題は、国内外の他の研究機関の研究者と協力してすすめ、申請者は、検体採集とデータ解析、論文執筆を担当する予定である。

アオリイカ類における異種間交配ホットスポットを明らかにする：小課題 3 で得られた雑種個体が多い海域と、小課題 4 で得られた遺伝子浸透の歴史が深い海域を考慮し、日本沿岸におけるアオリイカ類の異種交配ホットスポットを明らかとする。異種間交配の実態を考慮し、人工的な繁殖サポートや資源管理を効率ために行うための方策を考察する。

4. 研究成果

初年度、次年度の研究計画では、大きく 3 つの研究小課題へ着手した。それは人工授精試験、行動観察試験、およびゲノム比較解析である。まず人工授精試験の概要としては、アオリイカ類 3 種の成熟卵と精子を用いて人工受精を行い、異種間の配偶子で受精が起こるかどうか調べる。メスの輸卵管から取り出した受精卵に、精子懸濁液を混ぜ合わせインキュベートする。第一卵割が起きた場合は受精が起きたと判断する。これに基づきアオリイカ類の 2 種で種間交配を試みたが、そもそも同種内での受精がうまく起こらないという課題に直面した。よって、初年度はこの課題を解決することに注力した。沖縄科学技術大学院大学の研究協力の下、最終的には同種内で 6 割程度の受精成功率を得ることができた。ただし、3 種間の交配については、アオリイカ採集シーズンと新型コロナウイルス感染症流行拡大が重なってしまい、実施するのが難しい状況であった。しかしながら、上記の結果は既往研究に比較して非常に高い値であり、アオリイカ類の人工授精技術を大きく発展させたといえる。2 年度から 3 年度目では、飼育試験に関しては、所

属機関を変更後に飼育環境を整え、かけ流しや循環環境の構築に成功した。本研究において、アオリイカにおける人工授精方法を確立し、6割程度の受精成功度を得ることができた。この結果は既往研究に比較して非常に高い値であり、アオリイカ類の人工授精技術を大きく発展させたといえる。さらに、本研究で得られた知見の一部は、4件の国際誌、1件の国際学会また複数の国内学会に発表する成果となった。

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 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yutaro Yamashita, Gustavo Sanchez, Kentaro Kawai, Satoshi Tomano, Hiroki Fujita, Tetsuya Umin	4. 巻 9
2. 論文標題 The role of the isolation of the marginal seas during the Pleistocene in the genetic structure of black sea bream <i>Acanthopagrus schlegelii</i> (Bleeker, 1854) in the coastal waters of Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PeerJ	6. 最初と最後の頁 e11001
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7717/peerj.11001	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 Noritaka Hirohashi, Noriyosi Sato, Yoko Iwata, Satoshi Tomano, Md Nur E Alam, Ligia Haselmann Apostolico, Jose Eduardo Amoroso Rodriguez Marian	4. 巻 16
2. 論文標題 Context-dependent behavioural plasticity compromises disruptive selection of sperm traits in squid	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plos One	6. 最初と最後の頁 e0256745
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0256745	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 Riho Murai, Mamiya Shiomi, Masa-aki Yoshida, Satoshi Tomano, Yoko Iwata, Kyoko Sugai, Noritaka Hirohashi	4. 巻 175
2. 論文標題 All the spermatangia on a female were implanted by single-pair copulation in giant squid <i>Architeuthis dux</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers	6. 最初と最後の頁 103585
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dsr.2021.103585	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 Azad Kamrun Naher, Alam Md. Nur E., Nagata Makoto, Tomano Satoshi, Ono Hiroki, Sugai Kyoko, Hirohashi Noritaka	4. 巻 14
2. 論文標題 Males conditionally inseminate at three female body locations according to female mating history and female maturity status in a squid	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11702
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-024-62062-7	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 菅野哲史	4. 巻 253
2. 論文標題 頭足類の集団遺伝研究: アオリイカの隠れた3種を研究事例に	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 海洋と生物	6. 最初と最後の頁 113-118
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3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Saotshi Tomano
2. 発表標題 Mitochondrial DNA analysis reveals phenotypic plasticity in swordtip squid (<i>Uroteuthis edulis</i>): morphologically different but genetically homogeneous populations
3. 学会等名 Cephalopod International Advisory Council 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅野哲史・中山新・細野将汰・岩田容子
2. 発表標題 ヤリイカにおける人工孵化手法の確立
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菅野哲史
2. 発表標題 ヤリイカにおける人工孵化手法の確立
3. 学会等名 第4回イカタコ研究会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

・菅野のホームページにて研究内容を紹介 <https://www.tomano.org>
・2023/1/29 一般向け 講演会米国加州スタンフォード大学日本人会のトーク会にて一般向け講演会を実施

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