

日本－タイ・スリランカ・フィリピン 国際共同研究 「農業（アジアの動物遺伝資源の保存、改良と活用）」 2021 年度 年次報告書	
<b>研究課題名（和文）</b>	南方性アジ類の遺伝資源の保全と持続的利用に関する国際共同研究
<b>研究課題名（英文）</b>	Assessment on Genetic Diversity and Reproductive Biology of Golden trevally, <i>Gnathanodon speciosus</i> , and Giant trevally, <i>Caranx Tignobilis</i> , for Sustainable Use and Conservation
<b>日本側研究代表者氏名</b>	中嶋 正道
<b>所属・役職</b>	東北大学大学院農学研究科・准教授
<b>研究期間</b>	2020 年 4 月 1 日 ～ 2023 年 3 月 31 日

## 1. 日本側の研究実施体制

氏名	所属機関・部局・役職	役割
中嶋 正道	東北大学・大学院農学研究科・准教授	集団の解析、日本側研究体制の統括と課題の取りまとめ
酒井 義文	東北大学・大学院農学研究科・准教授	DNA 配列情報の解析
横井 勇人	東北大学・大学院農学研究科・助教	遺伝子の発現解析

## 2. 日本側研究チームの研究目標及び計画概要

令和 3 年度は以下の課題に取り組むことを予定している。

### 1) DNA マーカーの開発継続（新たな種に関しては新規開発）

令和 3 年度もロウニンアジ、コガネシマアジに関してはマーカーの開発は継続する。新たに追加された種、イトヒキアジ、グッピーについてはマーカーの開発を開始する。

### 2) 得られた遺伝マーカーにおける連鎖地図の作成

ロウニンアジ、コガネシマアジ、イトヒキアジ、グッピーにおいて得られた遺伝マーカーの染色体での位置を特定する。

### 3) 集団解析の開始

得られたサンプルを用い、得られたサンプル全体での遺伝的多様性や集団構造の解析を進める。遺伝マーカーとして前年度開発したマイクロサテライトや SNP を用いる予定である。遺伝的多様性の指標として平均ヘテロ接合体率と対立遺伝子数（アリルリッチネス）を用いる予定である。集団構造の解析には AMOVA 解析、PCA 解析、STRUCTURE 解析等を行う予定である。集団解析を進める過程で不足と考えられる水域等が出た場合、さらなるサンプルの取得を試みる。

### 4) 生理形質関連遺伝子の定量解析

予定ではそれぞれの種において前年度選択した生理形質関連遺伝子の各成長段階での定量解析を行うことになっていたが、この課題を今年度行うこととなる。また、対象種としてイトヒキアジを用いることとする。これはイトヒキアジがタイにおける重要漁獲対象種であるとともに養殖対象種でもあるためである。また、グッピーは実験魚としての実績があることから、イトヒキアジとの比較対象種として本課題へ加えた。イトヒキアジに関しては既に養殖技術が確立されており、様々な成長段階でのサンプルを入手することができる。このことから、現地へ赴き RNA 抽出用サンプルを得ることが可能と考えられるためである。

## 3. 日本側研究チームの実施概要

今年度はロウニンアジ、コガネシマアジ、イトヒキアジ、グッピーについて解析を行った。ロウニンアジとコガネシマアジは（1）DNA マーカー開発を継続すると共に、（2）得られた遺伝マーカーにおける連鎖地図の作成し、（3）集団解析を開始している。また、イトヒキアジとグッピーについては、（1）DNA マーカーの開発を始めている。これら 4 種の解析結果は以下の通りである。

#### ■ロウニンアジ

昨年度開発したマイクロサテライトマーカーを用い、タイ(Th-Group)と沖縄(Ok-Group)のサンプルにおける遺伝的多様性を調べた。次世代シーケンスで得られたゲノム情報から 150 のマイクロサテライト領域を抽出した。これら 150 の領域からリピート数、アニーリング温度等の条件から 32 領域に絞りプライマーペアを作成した。32 マーカーのうち変異が観察されたのは 25 マーカーであった。また、ヘテロ接合体率（観察値）を算出し、今回開発したマイクロサテライトマーカーが有効であることを確認した。なお、Ok-Group と Th-Group 間の遺伝的差異を FST 値で調べたところ有意差は観察されなかった。

遺伝的変異性が比較的高く地域間での遺伝的差異が無かったことはロウニンアジの集団構造のためと考えられる。ロウニンアジは移動性が高く、地域間の遺伝的差異が少ないことが予想された。今後より広い範囲での解析が必要となる。

#### ■コガネシマアジ

コガネシマアジにおいても昨年度開発したマイクロサテライトマーカーを用い、タイ(Th-Group)とフィリピン(Ph-Group)のサンプルにおける遺伝的多様性を調べた。次世代シーケンスで 51 のマイクロサテライト領域を抽出した。これら 51 の領域からリピート数、アニーリング温度、バンドの明瞭性等の条件から 32 領域に絞りプライマーペアを作成した。変異は 32 マーカー座すべてで観察された。

分析に用いた個体数が少なかったことからヘテロ接合体率の算出は行わなかった。しかし、対立遺伝子数の多さと Th-Group と Ph-Group 間で有する対立遺伝子の異なるマーカー座が存在したことから、今回開発したマイクロサテライトマーカーが今後の分析において有効であると考えられる。

地域間で有する対立遺伝子に差異がみられたことはコガネシマアジの集団構造によると考えられる。ロウニンアジと比べ定着性が高いと考えられ、地域間の遺伝的差異が生じてい

る可能性が考えられた。今後より広い範囲での多くの個体の解析が必要となる。以上のコガネシマアジにおける結果は 2021 年度日本動物学会大会において発表された。また報文として投稿中である。

■イトヒキアジ

タイで得られたイトヒキアジを用いショートリードとロングリードの次世代シーケンスからゲノム情報を得た（全体として 601Mbp）。今後この配列から DNA マーカーの開発を行う。

■グッピー

ショートリードとロングリードの次世代シーケンスからゲノム情報を得た（全体として 767Mbp）。得られた配列から 56 のマイクロサテライト DNA マーカーの開発を行った。