

沖縄島南方沖で得られた深海性フエダイ科仔魚と DNA バーコーディング法による同定の試み (マチ類の資源評価・資源回復調査, 資源管理体制推進事業)

上原匡人*・岩本健輔**

Larvae of deep-water snappers collected off Okinawan waters and species identification using DNA barcoding

Masato UEHARA, Kensuke IWAMOTO

沖縄島南方沖に設定された北大九曽根保護区で仔稚魚採集を行い、得られたフエダイ科仔魚の種判別を試みた。2012年8月と10月に、沖縄県漁業調査船「図南丸」により稚魚ネットを用いた昼夜の表層曳を行った結果、フエダイ科仔魚8個体(3.61–5.04 mm)が採集された。これらの発育段階は前屈曲期および屈曲期仔魚で、体型、背鰭および腹鰭の伸長、黒色素胞の分布様式など形態学的特徴から3タイプに識別され、タイプ1と2はハマダイ亜科、タイプ3はアオダイ属に同定された。ミトコンドリアDNAのCOI領域および16S rRNA領域をターゲットとしたDNAバーコーディングの結果からは、タイプ1および2はそれぞれヒメダイ属、アオダイ属であると同定され、形態的特徴から同定した結果と概ね一致した。

沖縄県の漁船漁業における重要な漁獲対象資源であるアオダイ *Paracaesio caeruleus*, ハマダイ *Etelis coruscans*, ヒメダイ *Pristipomoides sieboldii*, オオヒメ *Pr. filamentosus* のフエダイ科4種を含む深海性フエダイ類の漁獲量は、1980年頃をピークに急減し、2004年以降、盛期の約1/10で推移している(青沼ら, 2014)。このような現状を受け、琉球列島海域では、特に漁獲量の多いアオダイ、ハマダイ、ヒメダイおよびオオヒメの4種(以下、特に記載がない限りは、マチ類はこれら4種を指す)を対象に、2005年より資源の維持・回復を図るための調査・研究および資源管理の取組を実施しており、資源の現状を評価するために不可欠な生物情報や漁業情報については明らかにしつつある(上原ら, 2013)。しかし、卵稚仔の分布や仔魚期の分散など管理方策を検討する上で重要な初期生態に関する知見は乏しい。そこで、本研究では沖縄島南方沖に設定された保護区(北大九曽根)で仔稚魚採集を行い、得られたフエダイ科仔魚について、DNAバーコーディング法を用いた種判別を試みた。なお、本稿の一部は、2013年度日本魚類学会年会で発表した(岩本・上原, 2013)。

材料及び方法

(1) 仔稚魚の採集

2012年8月と10月に、沖縄県水産海洋技術センターの漁

業調査船図南丸(176トン)を用いて仔稚魚採集を行った。採集には、口径1.3 m、側長4 m、目合1 mmの円錐型の稚魚ネットを用いて北大九曽根保護区で行い、昼夜の表層曳を船速約1ノットで10分間行った(ただし、10月の昼については、波浪の影響が大きく、採集が困難であった)。採集物は、船上で70%アルコールで保存した後、研究室に持ち帰り、仔稚魚、稚イカ、フィロゾーマ幼生、その他に選別した。

仔稚魚の同定は、主として沖山(1988)やLeis and Carson-Ewart(2004)を参考に、可能な限り下位の分類群まで同定を試みた。マチ類仔魚については、Leis and Lee(1994)やLeis et al.(1997)も参考にした。種レベルでの同定が困難な場合は、属、科のタイプあるいは属、科、目の不明個体として、また、破損して同定が困難な個体は、破損個体としてそれぞれ取り扱った。採集された魚類の発育段階は、Kendall et al.(1984)に従った。

(2) DNAバーコーディング法による種同定

形態によりタイプ分けされたフエダイ科仔魚は、右体側または右眼より組織を採取し、フェノールクロロフォルム抽出法またはキレックス法により粗全DNAを抽出した。得られた粗全DNAを鋳型として、ミトコンドリアDNAのCOI領域の約650bpをフォワードプライマーであるFishF1またはFishF2とリバースプライマーであるFishR1またはFishR2(Ward et al.,

*Email: ueharmst@pref.okinawa.lg.jp

**現所属: 株式会社 WDB 環境バイオ研究所

2005) のプライマーセット, 16S rRNA 領域の約 1,200bp を 16Sar と 16Sbr (Palumbi, 1996) のプライマーセットを用いて PCR 法によって増幅した. PCR には Veriti Thermal Cycler を使用した. 得られた PCR 産物は, シークエンス反応をおこなった後, 3500 Genetic Analyzer を用いたダイレクトシーケンシングに供し, 塩基配列を決定した. 得られた塩基配列はアライメントした後, DNA Data Bank of Japan 相同性検索プログラム (DDBJ BLAST) を用いて既知の配列と比較することで種同定を試みた.

結果及び考察

(1) 保護区で採集された仔稚魚

採集された仔稚魚のリストを表 1 に示す. 調査期間中, 少なくとも 9 目 27 科 35 種以上の仔稚魚が採集された. 最も多く採集されたのはアジ科 Carangidae (ムロアジ属 *Decapterus*) 59 個体で, 全体の約 2 割を占めた. 次いでサバ科 Scombridae (55 個体), ハダカイワシ科 Myctophidae (45 個体), イットウダイ科 Holocentridae (15 個体), ヨコエソ科 Gonostomatidae (14 個体) と続いた. フエダイ科 Lutjanidae は第 10 位であった. 採集された仔稚魚の中には, 採集個体数は少ないものの, ヒメジ科 Mullidae, ニシキベラ属 *Thalassoma*, モチノウオ属 *Cheilinus*, テンス属 *Iniistius*, ブダイ科 Scaridae, クロユリハゼ *Ptereleotris evides* など沿岸性の魚種も出現した.

(2) 採集されたフエダイ科仔魚の同定

本研究中, フエダイ科仔魚 8 個体 (脊索長 3.61–5.04 mm) が採集された. これらの発育段階は前屈曲期および屈曲期の仔魚で, 体型, 背鰭および腹鰭の伸長, 黒色素胞の分布様式など形態学的特徴から 3 タイプに識別され (図 1), タイプ 1 と 2 はハマダイ亜科, タイプ 3 はアオダイ属に同定された. 特にタイプ 3 は, Leis et al. (1997) で示された東シナ海産のアオダイ属 morpho type A と酷似した.

ミトコンドリア DNA の COI 領域および 16S rRNA 領域をターゲットとした DNA バーコーディングの結果から, 形態学的特徴から同定されたハマダイ亜科の 2 タイプ (タイプ 1 および 2) は, 塩基配列の間に置換が認められず, 同一種であると考えられた. また, 得られた塩基配列を既知の情報と照合した結果, 南シナ海に産するヒメダイ属の 1 種 *Pristipomoides* sp. (DDBJ Accession No. JQ681340) の塩基配列と 99 % の高い一致率を示し, また, カリブ海に産するモモイロヒメダイ *Pristipomoides aquilonaris* (HQ162403) とは 97 % の一致率を示した. 今回, 得られたハマダイ亜科が, 大西洋に分布するモモイロヒメダイとは考えにくい. また, 高い一致率を示したヒメダイ属の 1 種は, 標本の登録がなされていないことから, 確認する手段はないが, いずれにしてもヒメダイ属であることは間違いなさそうである. 一方, アオダイ属と同定されたタイプについては, データベースに登録されているアオダイ属の塩基配列と 93 ~ 97 % の範囲で一致した.

このように, DNA バーコーディング法は重要なツールと成り得るが, そのデータベースに登録されている魚種については,

標本が確認できない等の問題もある. 10 年以上の市場調査の結果から, 沖縄海域では, ハマダイの親魚が極めて少ない状態が続いているが, その状況とは相反し, 近年, 加入の良い時期が続いていた可能性がある (上原ら, 未発表). 加藤ら (2005) は, アロザイム電気泳動法による遺伝子解析から, 南西諸島および小笠原海域のハマダイの系群構造について報告しており, それによれば, 卵稚仔期に広汎に分散し, 着底して以降の移動は小規模である可能性を言及している. ハマダイ, ヒメダイ, オオヒメの分布を考慮すると, 南方からの仔稚魚の輸送も十分考えられることから, 今後は遺伝子情報と標本を併せて保存し, その充実を図るとともに, 正確な種同定を行い, 加入量のモニタリングが急務である.

文献

青沼佳方, 名波敦, 鈴木伸明, 2014: 平成 25 年度マチ類 (奄美・沖縄・先島諸島) の資源評価. 平成 25 年度我が国周辺水域の漁業資源評価第 2 分冊, 1098-1134.

岩本健輔, 上原匡人, 2013: 沖縄島南方沖で得られた深海性フエダイ類仔魚と DNA バーコーディング法による同定の試み. 2013 年度日本魚類学会講演要旨.

加藤雅也, 木曾克裕, 小菅丈治, 2005: ハマダイの集団遺伝構造; 沖縄や鹿児島島の食卓を飾る深海魚. 2005 年度日本魚類学会講演要旨, 65.

Kendall A.W., Ahlstrom E.H. Jr, Moser H.G., 1984: Early life history stages of fishes and their characters in: "Ontogeny and systematics of fishes" (Moser H.G., Richards W.J., Cohen D.M., Fahay M.P., Kendall A.W. Jr, Richardoson S.L., eds), American Society of Ichthyologists and Herprtologists Special Publication, Lawrence, 11-22

Leis J. M., Bullock S., Bray D.J., Lee K., 1997: Larval development in the lutjanid subfamily Apsilinae (Pisces): the genus *Paracaesio*. *Bulletin of Marine Science*, 61: 697-742.

Leis J.M., Carson-Ewart B.M., 2000: The larvae of Indo-Pacific coastal fishes An identification guide to marine fish larvae. Brill, Boston, pp.850

Leis J.M., Lee K., 1994: Larval development in the lutjanid subfamily Etelinae (Pisces): the genera *Aphareus*, *Aprion*, *Etelis* and *Pristipoides*. *Bulletin of Marine Science*, 55: 46-125.

沖山宗雄. 1988. 日本産稚魚図鑑. 東海大学出版会, 東京. 1154 pp.

Palumbi S.R., 1996: Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: *Molecular Systematics* (eds Hillis D.M., Moritz C. and Mable B.K.) pp. 205-247.

上原匡人, 仲盛淳, 南洋一, 秋田雄一, 太田格, 海老沢明彦, 2013: 2012 年度に沖縄海域で漁獲されたマチ類 4 種の漁場別漁獲量および体長組成 (資源管理体制推進事業・生物情報収

集調査). 平成 24 年度沖縄県水産海洋研究センター事業報告書, 74 : 97-112.

Ward R.D., Zemplak T.S., Innes B.H., Last P.R. Hebert P.D.N., 2005: DNA Barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Science*, 360: 1847-1857.

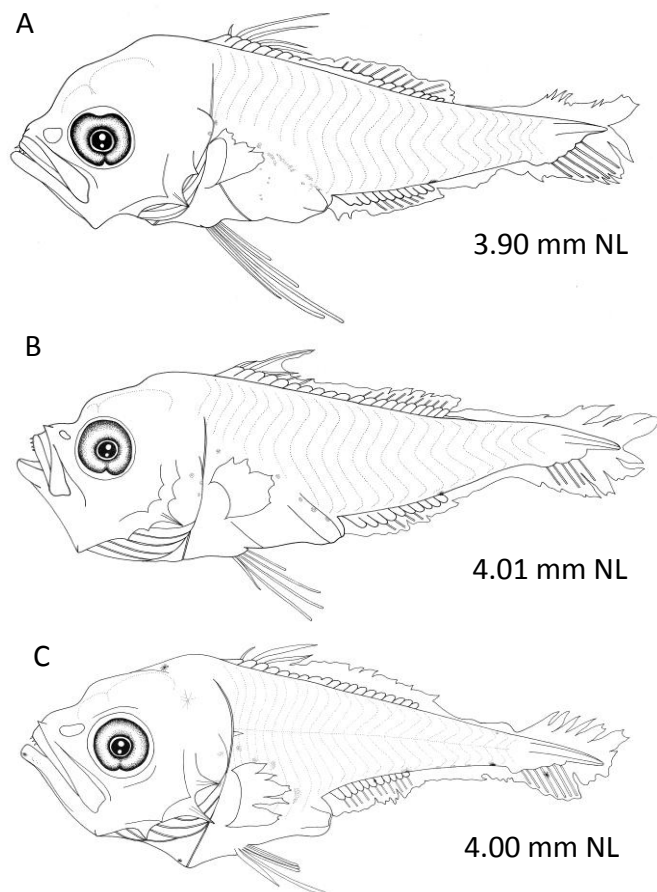


図1 採集されたフエダイ科仔魚. A, B, ヒメダイ属 ty.1 ; C, アオダイ属 ty.1.

表 1 2012 年に北大九曾根で採集された仔稚魚

目	科	種	2012		合計
			8月	10月	
ウナギ目	ウツボ科	ウツボ科ty.1	0	1	1
ワニトカゲギス目	ヨコエソ科	ユメハダカ属ty.1	0	1	1
		ヨコエソ科ty.1	0	10	10
		ワニトカゲギス目ty.1	0	3	3
ヒメ目	ハダカエソ科	ハダカエソ科ty.1	0	1	1
ハダカイワシ目	ハダカイワシ科	ハダカイワシ科ty.1	36	4	40
		ハダカイワシ科ty.2	2	0	2
		ハダカイワシ科ty.3	0	1	1
		ハダカイワシ科ty.4	0	2	2
タラ目	サイウオ科	サイウオ科ty.1	0	1	1
アンコウ目	アンコウ科	アンコウ科ty.1	1	0	1
		アカグツ科ty.1	1	0	1
	アカグツ科	アンコウ目ty.1	1	0	1
		アンコウ目ty.2	1	0	1
キンメダイ目	イットウダイ科	イットウダイ科ty.1	7	0	7
		イットウダイ科ty.2	2	0	2
		イットウダイ科ty.3	0	5	5
		イットウダイ科ty.4	0	1	1
スズキ目	ホウボウ科	ホウボウ科ty.1	1	0	1
	セミホウボウ科	セミホウボウ科ty.1	1	0	1
	ホタルジャコ科	ホタルジャコ属ty.1	0	1	1
		ホタルジャコ科?	0	1	1
	ハタ科	イッテンサクラダイ属ty.1	0	1	1
		キントキダイ科ty.1	1	1	2
	キントキダイ科	キントキダイ科ty.2	2	0	2
		キントキダイ科ty.3	0	4	4
		キントキダイ科ty.4	0	4	4
	シイラ科	シイラ	4	0	4
	アジ科	ムロアジ属ty.1	59	0	59
	ハチビキ科	ハチビキ	0	2	2
	フエダイ科	アオダイ属ty.1	1	0	1
		ヒメダイ属ty.1	5	0	5
	ヒメジ科	ヒメジ科ty.1	0	2	2
	ベラ科	ニシキベラ属ty.1	0	2	2
		モチノウオ属ty.1	0	1	1
		テンス属ty.1	0	1	1
	ブダイ科	ブダイ科ty.1	1	0	1
	ホカケトラギス科	ホカケトラギス科?	0	1	1
	ワニギス科	ワニギス属ty.1	0	1	1
	ハゼ科	ハゼ科ty.1	1	0	1
		ハゼ科ty.2	0	1	1
	クロユリハゼ科	クロユリハゼ	11	0	11
	マカジキ科	マカジキ科ty.1	4	2	6
	サバ科	キハダ	17	0	17
		メバチ	1	0	1
		カツオ	17	0	17
		サバ属ty.1	0	1	1
		ソウダガツオ属ty.1	19	0	19
	ヒシダイ科	ヒシダイ属ty.1	3	0	3
		スズキ目不明	0	1	1
		フグ亜目ty.1	3	0	3
フグ目		魚卵	0	5	5
		破損個体	6	4	10
			208	66	274