

鯨研叢書 No.17

## 遺伝データを活用した鯨類の系群識別に関する 国際ワークショップ

太地町 2024年2月18~22日



太地町立くじらの博物館(Taiji Whale Museum)

一般財団法人 日本鯨類研究所

### 鯨 研 叢 書 No.17

## 遺伝データを活用した鯨類の系群識別に関する 国際ワークショップ

太地町 2024年2月18~22日

一般財団法人 日本鯨類研究所

## 緒言

ある生物種の健全な保全・管理に関する施策には、その種の系群の数および時空間 的分布に関する情報が必要である。その理由は、同種であっても系群が異なる(個 体群動態学的特性が異なる)ケースがあり、この場合、環境ストレス要因に対する 反応が系群によって異なる可能性があるためである。

一般財団法人日本鯨類研究所 (ICR) は 1987 年の設立以来、この原則を認識している。ICR は、1991 年にクロミンククジラの系群識別を目的とする遺伝研究を開始した。その後、研究対象を他のヒゲクジラ類にも拡大し、評価・管理の観点から、南極海および北太平洋での鯨類資源目視調査で得られた資源量推定値をそれらの種の系群構造情報と関連付けて解釈する取り組みを行ってきた。

近年、遺伝学的実験手法や遺伝データの解析ツールが急速に進歩している。この急速な進歩を考えると、大型鯨類の保全・管理を目的とする集団遺伝解析を実施している各国の研究機関の間で、それらの手法・手順を用いて得られた知見を共有することが必要である。このことが、ドイツ、アイスランド、ノルウェーおよび日本の研究者が参加するこの国際ワークショップを計画した主な動機であった。

そのため、このワークショップの主な目的は以下の2つである。

- 1. ドイツ、アイスランド、ノルウェーおよび日本の研究機関における大型鯨類の系群構造研究に使用される遺伝学的(実験および解析)手法に関する情報を交換すること
- 2. ヒゲクジラ類の集団遺伝構造に関する今後の共同研究テーマを明確化すること

第一目的のために、i) 経験豊富なドイツ人研究者による一塩基多型 (SNP) 解析演習、ii)和歌山県の太地町に建設される国際鯨類施設内に発足した当研究所の新たな研究拠点 (ICR 太地事務所) の視察、およびiii) ドイツ、アイスランド、ノルウェー、日本で実施された鯨類をはじめとする海洋生物の集団遺伝学研究に関する口頭発表が行われた。発表のテーマは、主に各国でヒゲクジラ類の分類、集団構造および法医学 (forensic) 研究に用いられている遺伝学的 (実験および解析) 手法の使用についてであった。

すべての発表が終了した後、第二目的のため、ヒゲクジラ類の集団遺伝学的研究に関して、各国の研究者が共通して関心を示すテーマを確認するためのセッションを実施した。以降に示す会議記録には、口頭発表および今後の共同研究テーマに関する議論の要約を示す。

上記のi) とii) の活動はICR 太地事業所で、iii) の口頭発表ならびに自由討論は施設建設上の理由から、太地町立くじらの博物館で実施された。

太地町では、このワークショップを皮切りとして、鯨類の評価・保全・管理に関連する研究の様々な側面についての国際ワークショップが、今後開催されていくことが期待される。

Luis A. PASTENE 博士 科学アドバイザー (一財)日本鯨類研究所 共同座長 田口美緒子博士 チーム長 (一財) 日本鯨類研究所 共同座長

## 参加者(アルファベット順)

後藤睦夫、主任研究員 (一財) 日本鯨類研究所 東京事務所 東京都、日本 goto@cetacean.jp

Kevin A. GLOVER、教授、 集団遺伝学研究グループ部長 海洋研究所 ベルゲン、ノルウェー kevin.glover@hi.no

片山侑駿、研究員 (一財) 日本鯨類研究所 太地事務所 和歌山県、日本 katayama@cetacean.jp

Katrin KIEMEL、研究員 (一財) 日本鯨類研究所 東京事務所 東京都、日本 kiemel@cetacean.jp

Christophe S. PAMPOULIE、研究部長海洋淡水調査研究所ハフナルフィヨルズゥル、アイスランドchristophe.s.pampoulie@hafogvatn.is

Luis A. PASTENE、科学アドバイザー (一財) 日本鯨類研究所 東京事務所 東京都、日本 pastene@cetacean.jp 杉本太郎、研究員 (一財) 日本鯨類研究所 太地事務所 和歌山県、日本 sugimoto@cetacean.jp

田口美緒子、チーム長 (一財) 日本鯨類研究所 東京事務所 東京都、日本 taguchi@cetacean.jp

Ralph TIEDEMANN、教授 ポツダム大学進化生物学研究室 ポツダム、ドイツ tiedeman@uni-potsdam.de

## プログラム

### 実技演習(2月18~19日)

09:00~17:00: Juno および EP1 を使用した SNP ジェノタイピングのトレーニングコース (Kiemel、片山、杉本、田口)

#### 口頭発表と質疑応答(2月20~22日)

座長: Pastene, 田口

### 1日目(2月20日)

09:30~09:45: 開会の辞

**09:45~10:30**: 招待講演: アイスランドにおける大型鯨類の **DNA** 登録および集団遺伝学的研究の概要 (**Pampoulie**)

10:30~10:45:質疑応答

10:45~11:15: 日本鯨類研究所における大型鯨類研究の遺伝学的実験手

法 (Pastene)

11:15~11:30:質疑応答

11:30~13:00:昼食

13:00~13:30:太地事業所および遺伝研究施設の視察(杉本、片山)

 $13:30\sim14:00: SNP$  により得られる知見:各大洋におけるシロナガスクジラの集団遺伝学的研究(Kiemel)

14:00~14:15:質疑応答

14:15~14:45:北太平洋ミンククジラの集団遺伝学的研究(後藤)

14:45~15:00:質疑応答

15:00~15:30:休憩

15:30~16:00: 北太平洋の摂餌場におけるニタリクジラの集団遺伝構造 (杉本) 16:00~16:15:質疑応答

16:15~16:45: 北太平洋およびその近隣海域におけるナガスクジラの系群構造: ミトコンドリアおよびマイクロサテライトDNAによる推定(田口)

16:45~17:00:質疑応答

17:00:終了

#### 2 日目 (2 月 21 日)

10:00~10:45: 招待講演: ノルウェーで捕獲されたミンククジラの DNA 登録 (Glover)

10:45~11:00:質疑応答

11:00~11:30:ハイスループット時代の到来:日本鯨類研究所における SNP ジェノタイピング手法の構築 (Kiemel)

11:30~11:45:質疑応答

11:45~13:30: 昼食

13:30~14:00: 南極海の摂餌域はミナミセミクジラの"るつぼ"(片山、Kiemel)

14:00~14:15: 質疑応答

14:15~14:45: クロミンククジラの集団遺伝学的研究(Pastene、後藤)

14:45~15:00:質疑応答

15:00~15:30:休憩

15:30~16:00:南半球のザトウクジラの集団遺伝学的研究(後藤、

Pastene)

16:00~16:15:質疑応答

16:15:終了

## 3 日目 (2 月 22 日)

10:00~10:45: 招待講演: 水生哺乳類の集団ゲノミクス: ネズミイルカ、クジラおよびカワウソから得られた知見(Tiedemann)

10:45~11:00:質疑応答

11:00~11:45: 大型鯨類の遺伝学的共同研究の可能性(実験的手法を含む)についての自由討論

11:45~13:00: 昼食

13:00~:捕鯨関連史跡の視察(太地町立くじらの博物館、捕鯨に関連

する伝承地など)

18:00~: 公式ディナー

ステーキハウスひのき

那智勝浦町築地1丁目1-13

発表要旨 (プログラム順)

# アイスランドにおける大型鯨類の DNA 登録実施と集団遺伝学的研究の概要

#### Christophe Pampoulie

海洋淡水調査研究所、ハフナルフィヨルズゥル、アイスランド

#### 要旨

アイスランドの海洋淡水調査研究所(Marine and Freshwater Research Institute)が遺伝 研究施設を設立したのは 1991 年であるが、それまでは、大型鯨類の集団構造の遺伝 学的解析は非常に限定的に行われていたに過ぎなかった。当時、大型鯨類の遺伝構 造を検討するために実施されていた遺伝学的手法は、アロザイム遺伝子座や炭酸脱 水酵素の分析であった。これらのデータは主として種同定または遺伝学的特性検討 の手法として使用されたが、一部の結果から、北大西洋におけるナガスクジラの集 団構造が認められ、本種がカナダ、アイスランド、ノルウェーの間で遺伝的に分化 していることが示された。その後、アイスランドが 2002 年に国際捕鯨委員会 (IWC) に再加盟し、北大西洋ミンククジラの捕獲調査に対する科学許可発給(2003~2007 年)を開始するまでは、大型鯨類の集団構造解析は何らかの理由で限定的にしか実 施されていなかった。この期間中に、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) およびマイク ロサテライト遺伝子座の分析が開発され、海洋哺乳類の集団構造を迅速かつ高い費 用効率で分析できるようになった。そのため、新たな研究施設では、科学許可発給 を背景として、16 のマイクロサテライト遺伝子座およびミトコンドリア DNA (mtDNA) の調節領域の塩基配列を用いて、北大西洋ミンククジラの集団構造を検 討した。いずれの遺伝マーカーでも一致した結果が得られ、遺伝的集団構造がみら れないことが示唆された。同時期に、3 つの出来事が起こった。第一に、2006 年に 実行可能性を検証する予備調査としてナガスクジラの商業捕鯨が実施され、2009 年 に正式に再開された。第二に、遺伝研究施設が閉鎖され、遺伝学的研究がアイスラ ンドの公的研究機関の Matís OHF の検査施設に移管された。第三に、所管省が DNA 組織バンクおよび DNA 登録を含む鯨製品の完全トレーサビリティプロセスを義務付 けた。Matis OHF の新たな検査施設では、マイクロサテライト遺伝子座のジェノタイ ピングおよび mtDNA の調節領域のシーケンシングが順調に実施された。当時の遺伝 学的解析は、主として北大西洋ナガスクジラを対象に実施され、その結果は、北大 西洋におけるナガスクジラの分布域全体にわたって集団構造がみられないことを再 び示した。2011年以降、ナガスクジラの遺伝学的解析の焦点は近縁関係の検討に置 かれており、北大西洋内の互いに離れた海域から親子ペアが発見された。2013年と 2018 年に実施された遺伝学的研究では、ナガスクジラとシロナガスクジラの雑種個 体の検出に成功した。北大西洋ミンククジラの集団構造解析は、2016年にポツダム 大学 (ドイツ) の Ralph Tiedemann 教授の研究室に移管された。その後、さらに多く の個体の一塩基多型(SNP)ジェノタイピングが実施され、これらのデータを現在 解析中である。現在では、座礁個体から商業捕鯨で捕獲された個体に至るまでのす べての海洋哺乳類から採取した組織を登録対象として、DNA組織バンクおよびDNA 登録が完全に機能している。

# 日本鯨類研究所における大型鯨類研究での遺伝学的実験手法の実施

Luis A. Pastene (一財) 日本鯨類研究所、東京、日本

#### 要旨

日本鯨類研究所(ICR)では、南極海鯨類捕獲調査(JARPA)で得られた遺伝子サ ンプルに基づき、大型ヒゲクジラ類の集団構造の遺伝学的解析を1991年に開始した。 ICR は所内に遺伝研究施設を備えていなかったため、発表者が博士課程修了後に研 究を実施していた東京大学海洋研究所(現東京大学大気海洋研究所)の遺伝研究施 設で、これらの遺伝データを収集した。ICR は、1994 年に宮城県の鮎川に独自の実 験施設を設置するまで外部研究施設を利用した。当初使用していた遺伝学的手法は、 ミトコンドリア DNA (mtDNA) の全領域における Restriction Fragment Length Polymorphism (制限酵素断片長多型: RFLP) であった。RFLP データの統計解析で は、南極海の摂餌場におけるクロミンククジラに有意な遺伝的異質性が認められ、 これにより本種の集団構造に関する予備的な仮説が提唱された。1994年に、鮎川実 験場の遺伝研究施設にポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法が導入され、PCR 増幅した mtDNA 制御領域の RFLP 解析が実施可能となった。同アプローチを用いて、北太平 洋のニタリクジラおよびミンククジラの集団遺伝構造を検討し、有力な仮説を提唱 した。鮎川実験場の遺伝研究施設では、1996年に mtDNA 調節領域のシーケンシン グ法を確立し、1997年にマイクロサテライトDNAを遺伝マーカーとして初めて導入 した。2002 年以降は、ICR 内に 2 つの遺伝研究施設が稼動していた。鮎川実験場に 最初に設置された研究施設では、主として mtDNA シーケンシング解析を実施し、東 京に設置された研究施設では、mtDNA シーケンシングとマイクロサテライト DNA 解析の両方を実施した。鮎川実験場の研究施設は、2011年の東日本大震災による地 震と津波によって破壊された。それ以降、東京の遺伝研究施設のみが稼動しており、 2つの主な手法(mtDNA シーケンシングとマイクロサテライト DNA 解析)による解 析を実施してきた。両手法は最近まで、集団構造(例:クロミンククジラ、南極海 のザトウクジラ、北太平洋のナガスクジラ、イワシクジラ、ニタリクジラ、ミンク クジラおよびセミクジラ)、系統発生(例:ミンククジラ)、および分類(例:ミン ククジラとクロミンククジラ、シロナガスクジラ)に関する疑問の解明に幅広く併 用されてきた。東京の遺伝研究施設では 2023 年から、一塩基多型 (SNP) と呼ばれ る手法が構築・実施されつつある。ICR では、遺伝学的実験手法と同様に、遺伝デ ータを様々な用途で解析するための解析手順も着実に進歩しつつある。ICR の遺伝 研究施設は、2024年に東京から太地事業所に移転した。このことは、各種手法 (例:mtDNA シーケンシング、マイクロサテライト DNA 解析、SNP 解析)に基づ くすべての遺伝データが、本年から太地事業所の研究施設で得られることを意味す る。この発表では、1991年から近年までの ICR による様々な遺伝学的実験手法の実 施状況について情報を提示するとともに、公表されている研究成果の点からも、各 手法の有用性に関する情報を示す。

# SNP により得られる知見:各大洋におけるシロナガスクジラの集団遺伝学的研究

Katrin Kiemel

(一財) 日本鯨類研究所、東京、日本

#### 要旨

シロナガスクジラ (Balaenoptera musculus) は、19~20 世紀の捕鯨時代に激減したため、現 在では絶滅危惧種に指定されている。そのため、シロナガスクジラ種は高い科学的関心を集 めており、従来のマーカー(単一のミトコンドリア遺伝子、ミトコンドリア遺伝子の調節領 域、マイクロサテライトなど)を用いて集団構造が検討されてきた。これらの研究では、大 洋域(すなわち、北太平洋、南太平洋、南大洋およびインド洋)間で大きな遺伝的分化が認 められた。この遺伝的分化から、大洋域の集団間で遺伝子流動が制限されていることが示さ れ、5つの亜種 (B. m. musculus、B. m. intermedia、B. m. indica、B. m. brevicauda、未命名のシ ロナガスクジラ亜種:チリのシロナガスクジラ)の存在が示唆された。この示唆を裏付ける 証拠が、形態計測学的研究 (Clarke ら、1978; Branch ら、2007; Pastene ら、2020)、音響学 的研究(McDonaldら、2006)、および遺伝学的研究(LeDucら、2007; 2016; Torres-Lorezら、 2014) によって示されている。従来のマーカーから一塩基多型 (SNP) のようなハイスルー プットアプローチへの移行は、シロナガスクジラの集団構造を検討する新たな機会を生み出 した。本研究の目的は、SNP解析を活用し、シロナガスクジラの大洋間および各大洋内の集 団構造を解明することである。各大洋(大西洋を除く)のシロナガスクジラ314頭のddRAD データを用いることにより、フィルタリング後、237頭の 12,131の SNP 情報が得られた。全 体の admixture 解析では、3つの遺伝的クラスターが明らかになり、大洋域(すなわち、太平 洋、インド洋、南大洋)に一致した。この結果は、 $F_{ST}$  値が  $0.048 \sim 0.119$  の範囲であること により裏付けられた。さらに、admixture 解析では、南大洋においてピグミーシロナガスク ジラの回遊個体 4 頭および IWC 管理海区第 III 区において雑種個体 (ピグミーシロナガスク ジラ×南極海シロナガスクジラ) 9頭が確認された。Attard ら(2012) の過去の研究では、20 のマイクロサテライト遺伝子座およびミトコンドリア遺伝子の制御領域を用いた検討で、回 遊個体4頭のほか、雑種個体6頭のみが確認されており、我々の結果は彼らの研究結果と一 致するものである。各大洋内の解析では、インド洋および南大洋内で分集団構造は認められ なかった。Attard らの研究(2016)では、20のマイクロサテライト遺伝子座を用いた検討で、 南極海内に3つの同所的集団が確認されており、我々の結果は同氏らの研究結果と矛盾する ものであった。しかし、南太平洋と北太平洋の間で構造の違いが検出され(南太平洋東部 vs. 北太平洋西部: F<sub>ST</sub>=0.0289、南太平洋東部 vs. 北太平洋東部: FST=0.0274)、提唱する亜 種(チリのシロナガスクジラ)が存在することと整合した。興味深いことに、南太平洋東部 では、過去に報告されていない回遊個体と推定される 1 頭(南大洋-南太平洋東部)が新た に検出された。北太平洋西部と北太平洋東部の間に認められた集団構造は弱かったが(Fst =0.0037)、この結果はおそらく、北太平洋東部のサンプル数が少なかったこと (n=6) の影 響と考えられる。各大洋内の解析では、インド洋でピグミーシロナガスクジラの分集団構造 は認められなかった。この研究の結果は、従来のマーカーに基づく過去の調査結果とほぼ一 致するものであった一方で、インド洋と南大洋の間で新たな雑種個体が検出され、これによ り IWC 管理海区第 III 区の重要性が浮き彫りになった。以上の結果は、示唆された 5 つの亜 種のうち4つの存在をさらに裏付けるものである。しかし、サンプル数の不足により、イン ド洋のシロナガスクジラの検討を実施できなかったことから、この大洋域の検討が今後も必 要であることが明らかになった。

## 北太平洋ミンククジラの集団遺伝学的研究

後藤睦夫

(一財) 日本鯨類研究所、東京、日本

#### 要旨

北西太平洋のミンククジラ 4.275 頭を 16 のマイクロサテライト DNA 遺伝子座を使用 して検討し、STRUCTURE プログラムを用いて各個体を J 系群または O 系群に割り 付けた。サンプルは、日本の特別許可のもとで実施された北西太平洋鯨類捕獲調査 (JARPN/JARPNII) (1994~2014 年、n = 2,637) および日本周辺の様々な管理海区 (サブエリア:SA) で定置網に混獲された個体(2001~2014年、n=1.638) から採 集された。ベイズのクラスター分析の結果、対象個体は遺伝的に分化した 2 系群 (J 系群および O 系群) に属することが確認された。使用するマイクロサテライト遺伝 子座数を増やすと、いずれの系群にも割り付けられない個体数が減少した。いずれ の系群にも割り付けられない個体は地理的に広く分布していた。16 遺伝子座を使用 したところ、90%を超える個体がいずれかの系群に割り付けられた。日本海側 (SA6E および SA10E) のほぼすべての個体はJ系群に属していた一方で、北太平洋 沖合(SA7WRの東側)のほぼすべての個体はO系群に属していた。その中間のエリ ア (SA7CN、7CS および SA11) には、J 系群に属する個体と O 系群に属する個体が 混在していた。本州南岸(SA2C)の個体の多くはJ系群であった。SA2Cでは、年 間を通して、J系群が最も多数を占めた(約80%の割合)。SA7CS および SA7CN で は、J 系群の占める割合が秋冬に増加し春夏に減少する。mtDNA ハプロタイプの系 統樹は、大きく2つのクラスター(J系群およびO系群)に分かれた。これらのクラ スターを構成するハプロタイプの大半は各系群に特有のものであり、J系群とO系群 の個体に共通のハプロタイプはわずかであった。割り付けされなかったサンプルは、 ほとんどのハプロタイプに均等に分布していた。北西太平洋におけるミンククジラ の系群構造をさらに検討するため、マイクロサテライトデータ(16 遺伝子座)を用 いて、主成分判別分析(DAPC)、空間主成分分析(sPCA)および親子(P-O)ペ アの解析を実施した。K=2での DAPC による解析では、2つのクラスターが明らか になり、その分布は J 系群と O 系群の既知の分布に相当した。sPCA の解析結果は DAPCの解析結果に一致した。P-Oペアの解析については、これまでに同定されたP-O ペア総数は、O 系群が 40 ペア、J 系群が 13 ペアである。O 系群の場合、沿岸と沖 合のサブエリアを跨ぐP-Oペアが数ペア発見されたが、J系群のP-Oペアの一部は日 本の日本海側と太平洋側を跨ぐ関係性を示しており、O 系群に複数の系群が存在す るという仮説とは一致しない。結論として、今回の DAPC、sPCA および P-O ペアの 解析では、O系群およびJ系群以外の系群が存在するという証拠は得られなかった。

## 北太平洋の摂餌場におけるニタリクジラの集団遺伝構造

杉本太郎

(一財) 日本鯨類研究所、太地、日本

#### 要旨

ニタリクジラ(Balaenoptera brydei)は中型のヒゲクジラ類であり、熱帯および暖温 帯海域(北緯約 40°~南緯約 40°)で通年みられる。ニタリクジラは低緯度海域と高 緯度海域(夏季の摂餌域)を 1 年周期で回游しており、回游距離は一般的に他のヒ ゲクジラ類よりも短く、年間を通して低緯度海域に留まる個体も一部存在する。繁 殖域の正確な位置はほとんど知られていないが、低緯度海域のどこかにあるとされ ている。また、繁殖期が周年に及んでおり、10月末~1月に幅広いピークがみられ るとされている。経度で分割した3つのエリア、すなわち1W(東経135°~165°)、 1E(東経165°~180°) および2(西経180°~155°) で採集された標本を対象として、 計 1.195 個体分のミトコンドリア制御領域配列(約 500 bp)および 17 のマイクロサ テライト遺伝子座の1.182個体分のデータを用いて、北太平洋中央部および西部の摂 餌域におけるニタリクジラの遺伝構造を解析した。分析した遺伝子サンプルは、日 本における過去の商業捕鯨、第二期北西太平洋鯨類捕獲調査(JARPNII)、日本での 鯨類目視調査でのバイオプシー採集など約30年(1979~2016年)の間に様々なソー スから得られたものであった。ニタリクジラの遺伝的多様性は海域間で同程度であ り、ハプロタイプのネットワーク分析では地理的構造は認められなかったが、 AMOVA (Analysis of Molecular Variance) では、遺伝構造が認められた。この構造は 弱いものであることが、ペアワイズ Fst および Gst の推定値、ならびに異質性検定に よって示唆されたが、エリア 1W/1E とエリア 2 の間で有意な分化が認められた。 DAPC による解析では、エリア 1W および 1E の標本と比較して、エリア 2 の標本で は、遺伝構造に階層的傾向がわずかに認められた。データセットを 3 つの期間 (1979~1984年、2000~2009年、2010~2016年) に層別した時系列的な遺伝学的解 析も実施したところ、3 つの層で得られた要約統計量から、エリア 1W および 1E に 認められた遺伝的同質性が、経時的な安定性を示していることが示唆された。個体 間の地理的距離と遺伝的距離の関係をマンテル検定を用いて調べた結果、遺伝的分 化に弱い空間的勾配が認められた。これらの結果から、系群構造は以下の 2 つのシ ナリオが考えられる:(1)任意交配でない単一の集団からなり、近縁個体間に摂餌 域の選好性がある、(2) 選好する摂餌域が異なる2つの集団(エリア1Wまたは2) からなり、エリア 1E 周辺で両集団の混合が起きている。今後の研究では、2 つのシ ナリオのいずれに該当する可能性が高いかを明らかにするとともに、繁殖域からさ らなる情報を収集する取り組みが必要である。

北太平洋およびその近隣海域におけるナガスクジラの系群構造:ミトコンドリアおよびマイクロサテライト DNA による推定

田口美緒子

(一財) 日本鯨類研究所、東京、日本

#### 要旨

計 613 のミトコンドリア制御領域配列 (mtDNA) および 16 座位のマイクロサテライト DNA (msDNA) の311遺伝子型を用いて、北太平洋およびその近隣海域におけるナガス クジラの系群構造を検討した。最初に、任意の地理的サンプル群に基づき、両マーカー を用いて、探索的解析(すなわち要約統計量の算出、F<sub>ST</sub>の比較および異質性検定)を 実施し、その結果に基づき、次の 5 つの層にサンプルを分割して以降の解析を実施し た:日本海(SOJ)、北太平洋西部+オホーツク海南部(WNP)、ベーリング海(BRS)、 北太平洋東部沖合+アラスカ湾(ENP)および北太平洋東部沿岸(C-ENP)。この層別 に、同じ統計解析を再度実施した。mtDNA ハプロタイプ間の系統学的関係を推定する ため、ハプロタイプのネットワーク図を作成した。サンプルの先験的なグループ化を行 わずに遺伝構造を検討するため、msDNA データを用いて空間主成分分析(sPCA)を実 施した。北太平洋全域における遺伝的異質性を検討するため、2 つの遺伝的統計量 (sPCA で得られる PC1 および mtDNA ハプロタイプ多様性) の高分解能解析も、3 つの 層(WNP、ENP および C-ENP)を用いて実施した。ハプロタイプ多様性は、他の層 (0.942~0.964) よりも SOJ (0.885) および C-ENP (0.917) で低く、msDNA のヘテロ 接合度の期待値(SOJで 0.74、C-ENPで 0.61、他の層で 0.75~0.76)にも同様のパター ンが認められた。異質性検定では、SOJと C-ENP の間の遺伝的分化が両マーカーで認め られ、少なくとも mtDNA については、WNP、ENP、BRS 間でさらなる分化が認められ た。mtDNAのF<sub>ST</sub>推定値から、海区間(C-ENPまたはSOJを含む比較を除く)の分化度 (0.0037~0.0149) は様々であることが示唆された。ハプロタイプのネットワーク図で は、個別の mtDNA 系統と特定の海区との関連は認められなかったが、一部のハプロタ イプは C-ENP に高頻度で、または C-ENP のみで認められた。これらの結果から、少な くともSOJおよびC-ENPには、それぞれ異なる系群が存在する可能性が高い。さらに、 sPCA による解析は 2 つのクラスターを持つ遺伝構造を示し、一方のクラスターは主に 東経 175°以西の北太平洋およびオホーツク海に、もう一方のクラスターは主に東経 175° 以東の北太平洋およびベーリング海に分布していた。この結果は高分解能解析(すなわ ち、2 つの遺伝統計量が北西太平洋と北東太平洋の間で変化を示した解析)によっても 支持された。総じて、今回の遺伝学的解析では、調査対象エリアに以下の 3 つの系群が 存在することが明らかになった:(1) 東経 175°以西の北太平洋およびオホーツク海に主 に分布する「WNP」系群、(2) 東経 175°以東の北太平洋およびベーリング海に主に分 布する「ENP」系群、(3) 日本海に分布する「SOJ」系群。コルテス海に分布すること が知られている地域系群 (Bérubé ら、2002) を含めると、北太平洋およびその近隣海域 には、4 系群のナガスクジラが分布する可能性が高い。sPCA による解析では、「WNP」 系群と「ENP」系群が北太平洋の様々な海域において、様々な割合で空間的に混在して いることも示され、このことは、 $F_{ST}$ 推定値が様々な遺伝的分化程度を示したことと矛 盾しなかった。

#### ノルウェーで捕獲されたミンククジラの DNA 登録

Kevin A. Glover 海洋研究所、ベルゲン、ノルウェー

#### 要旨

国際捕鯨委員会(IWC)が全世界的なモラトリアムを設定した後、ノルウェーは 1988~1993 年にミンククジラの捕獲を全面的に停止した。ノルウェーで捕獲された ミンククジラの DNA 登録(Norwegian Minke Whale DNA register:NMDR)は 1997 年 の商業捕鯨再開後、程なくして設立された。NMDR 設立以降、ノルウェーで捕獲さ れたすべてのミンククジラから DNA サンプルが採集されており、現在、DNA 登録 には北大西洋東部のノルウェー海域で捕獲された 15,000 頭弱のミンククジラの遺伝 的プロファイルが登録されている。登録されているDNAプロファイルは、10種類の マイクロサテライトおよび性判定マーカー(すべての年)、mtDNA の調節領域 (2015年まで)、ミンククジラ種および種間雑種を完全に同定できる診断用 SNP(約 25 の SNP) データ (2016 年以降) である。登録用の DNA 解析は最初にカナダ、次 いでアイスランド(2年間)で実施され、最終的にノルウェー海洋研究所(Institute of Marine Research: IMR) で 2007 年から実施されている。いずれの解析でもブライ ンドテストが繰り返され、法医学的プロトコールに従って実施された。NMDR は、 ノルウェーにおける捕鯨の国内管理システムとして使用されており、近年では、ノ ルウェーから日本への鯨肉輸出の認証制度として利用されている。DNA サンプルは 捕鯨船で採取される。現在操業している捕鯨船は約20隻である(以前はそれより多 くの捕鯨船が操業していたが、操業隻数は次第に減少している)。DNA 登録は捕獲 された鯨の生体計測データと紐づけられており、ミンククジラの遺伝構造の研究に、 世界的に比類のない機会を提供している。NMDR を利用した研究には、集団遺伝構 造(またはこの海域の集団遺伝構造の欠如)の検討、クロミンククジラの北極海へ の回遊(種間雑種および第2世代とその親世代との交雑の記録を含む)、世界的規模 で種間雑種を同定できる診断用 SNP の同定、捕鯨操業で生じた残滓を餌とする際の ニシオンデンザメの摂食行動の追跡などがある。これらの研究をまとめた 8 報の学 術論文が発表されている。B. acutorostrata acutorostrata(北大西洋ミンククジラ)の ゲノムが IMR で解明されたが、未発表である。IMR は、多くの全ゲノムのリシーケ ンスデータ(プールデータ)も保有しているが、未発表である。これらのデータは、 全世界のミンククジラ(すべての種および亜種)を同定できる診断用 SNP を同定し た研究(発表済み)に使用された。これらの研究の多くは、日本の日本鯨類研究所 (ICR)との緊密な共同研究として実施されており、IMR の研究施設は、これらの 共同研究のため、日本から IMR に輸出されたサンプルを保存している。NMDR は現 在も、ミンククジラの種間雑種の兆候の発見、商業捕鯨および輸出の監視、集団遺 伝構造の検討や、近縁解析による分集団構造の検討方法としての同胞ペアの同定に 積極的に使用されている。北大西洋東部の様々な海域での集団遺伝構造を RAD-seq 法により検討する共同研究では、アイスランドが NMDR 登録の解析を実施した時期 の DNA サンプルが、ポツダム大学の R. Tiedemann 教授と共有されている。 IMR で現 在実施中の研究は、上記の全ゲノム配列データを用いた、全世界のミンククジラ種 間および亜種間でのゲノムの差異の同定などである。

# ハイスループット時代の到来:日本鯨類研究所における SNP ジェノタイピング手法の構築

#### Katrin Kiemel

(一財) 日本鯨類研究所、東京、日本

#### 番片

次世代シーケンシングの開発によってハイスループットゲノミクスの時代が到来してから 20 年以上が経過した。当初、この技術は限られた数の研究者によって採用されたにすぎな かったが、費用対効果が急速に向上した結果、現在では、科学界で完全に確立された技術と なっている。日本鯨類研究所(ICR)での解析は現在、マイクロサテライト、ミトコンドリ ア遺伝子の調節領域などの従来のマーカーに依拠しているが、集団遺伝解析に一塩基多型 (SNP) を用いた研究の公表論文数は増加の一途をたどっており、ICR でもこの手法を導入 する強い必要性が浮き彫りになっている。ICR は、スタンダード・バイオツールズ株式会社 (SB社)のシステム(すなわち、JUNOおよび EP1を使用したハイスループットジェノタ イピング)を 2019年から保有しており、2024年までにこの手法を完全に確立することを目 指している。我々の目標は、個体識別、近縁関係の評価および集団への割り振りに用いる SNPパネルを確立することである。この目的のため、各大洋で採集されたシロナガスクジラ 314 頭の ddRAD データを利用し、SNP 検出用のバイオインフォマティクスパイプラインを 構築した。このパイプラインには、O'Leary ら (2018) の報告にある各種フィルタリングス テップが組み込まれている。フィルタリングステップ後に残った 12,131 の SNP および 237 頭の個体に基づき、集団遺伝解析 (admixture 解析、PCA、DAPC、sPCA、要約統計量など) を実施した。その後、雑種個体の除外後に実施したadmixture解析の結果、3つのクラスター が確認され、個体の60%超がいずれか1つのクラスターに割り振られた。これらの個体を用 いて、集団同定用パネルを作成した。Wright  $OF_{ST}$ を用いて遺伝的分化を推定し、 $F_{ST}$ 値が最 も高い SNP のみを選択した。各大洋(インド洋、南大洋、南太平洋東部、北太平洋東部、 北太平洋西部)のシロナガスクジラ間で遺伝的分化が最も大きかった 48 の SNP ( $F_{ST}$  値: 0.31~0.43) を選択した。さらに、大きく 2 つに分けたグループ(北太平洋西部+北太平洋 東部+南大洋 vs. 南太平洋東部+インド洋) 間で遺伝的分化が最も大きかった別の 48 の SNP (F<sub>ST</sub>値:0.39~0.46) も選択した。同時に、近縁解析・個体識別用パネルを作成した。この パネルは、96 の SNP (Wright の  $F_{ST}$  が 0 でヘテロ接合度が 0.5) からなる。これらの SNP は、 近縁関係の効率的な判定に利用できる情報をできる限り多く入手する目的で選択した。96 の SNP および 237 頭の個体を対象として、ドライラボ条件下 (admixture 解析、PCA および DAPCによる)で SNP パネルの識別能を評価した。さらに、297 頭の個体を対象として、近 縁解析および重複個体の検出を実施した。ドライラボでのパネルのバリデーション後、各大 洋で採集された 95 サンプル (南大洋: n = 27、インド洋: n = 15、南太平洋東部: n = 15、北 西太平洋:n=18、北東太平洋:n=20) を用いて、SB 社のシステムによるウェットラボで の検査を実施した。使用したサンプルの DNA 量は 3.84~348.33 ng/uL であった。集団遺伝解 析用パネルを用いた予備的な検査では、94頭の個体における91のSNPのジェノタイピング に成功した。一方、近縁関係の遺伝学的解析用パネルでは、93 頭の個体における 76 の SNP のジェノタイピングに成功した。SNP 検出用の ddRAD パイプライン、SNP パネルデザイン および SB 社システムによる解析後のデータ処理は、関心の対象であるいずれの種にも適用 でき、追加の作業負荷はほとんど発生しない。これにより、ICR はハイスループット時代へ と円滑に移行し、系群評価、集団遺伝解析、重複個体の検出および近縁関係の評価に SNP を今後利用していく。

#### 南極海の摂餌域はミナミセミクジラの"るつぼ"

片山侑駿¹、Katrin Kiemel²

- 1(一財)日本鯨類研究所、太地、日本
- 2 (一財) 日本鯨類研究所、東京、日本

#### 要旨

ミナミセミクジラは南半球の南極周囲に分布している。近年の非遺伝学的な調査で は、低緯度の繁殖場と高緯度の摂餌場(例:南極海)との間を季節的に回游するこ とが明らかになっている(Mackay ら、2020)。しかし、摂餌場は多くの場合、沖合 にあり、直接アクセスすることが実施上難しいことから、大西洋を除く現在の索餌 海域での遺伝情報はほとんど得られていない。本研究では、南極海周辺海域(イン ド太平洋域、東経 80°~135°、以下「クイーンメリーコースト」と呼ぶ)、その他の 南極海域、およびオーストラリア南西部の摂餌場におけるミナミセミクジラの現在 の集団構造を解明するため、次の3つのデータセットを使用した:(1) ミトコンド リア (mtDNA) 調節領域配列 (n=177)、(2) ddRAD-seg により取得した一塩基多型 (SNP) 遺伝子型 (32,903 の SNP、n = 104)、(3) マイクロサテライト遺伝子型 (14 座位、n = 169)。遺伝データは、南極海鯨類捕獲調査(JARPA/JARPAII)、新南極海 鯨類科学調査計画(NEWREP-A) および IWC の国際鯨類調査 10 ヵ年計画/南大洋 鯨類牛熊系調査(IDCR/SOWER)プログラムで採集されたバイオプシー標本から得 られた。mtDNA 解析については、Carroll ら(2011、2015、2020年)が解析した公表 データ (n = 685) も使用した。mtDNA解析では、摂餌場と繁殖場(ブラジル、アル ゼンチン、南アフリカ、オーストラリア南西部、オーストラリア南東部、ニュージ ーランド)の間でのハプロタイプ頻度の差を、ペアワイズ固定指数(Fst)を用いて 評価した。mtDNA ハプロタイプの系統樹を再構築した。SNP 解析として、ペアワイ ズ比較により求めたハミング距離に基づく neighbor-net 解析により、摂餌場内および 摂餌場間でかなりの混合がみられるか否かを検討した。SNP データの PCA および ADMIXTURE 解析を実施するとともに、マイクロサテライト解析では、分散率に性 差がみられる可能性を検討した。neighbor-net 解析では、インド大西洋集団および太 平洋集団と推定される2つの遺伝的集団の存在が示され、2つの集団間の遺伝子流動 が限定的であることが示唆された。mtDNA の体系的な系統発生解析では、繁殖場へ の忠実性によって、インド大西洋系統と太平洋系統の間の遺伝的分化が進んだ経緯 があるという仮説が支持された。我々のマイクロサテライト解析データからは、分 散率の性差は認められなかった。SNPのPCAおよびADMIXTURE解析では、クイー ンメリーコーストおよびオーストラリア南西部の摂餌場は、インド大西洋および太 平洋からの回遊の目的地であることが示された。クイーンメリーコーストの摂餌場 では、そのような異質性がみられるものの、その mtDNA ハプロタイプ頻度は太平洋 海盆の繁殖集団と極めて類似していた。以上の結果と、大西洋の繁殖場において mtDNA ハプロタイプが系統に関わらず多様化していることを併せると、進化の過程 で太平洋集団からインド大西洋集団への分散があったことが示唆された。また、ミ ナミセミクジラは長寿命であることから、クイーンメリーコーストへの摂餌回遊に よって大洋間で分散が生じ、その結果として、繁殖域に部分的な変動が生じること を仮説として提唱する。

## クロミンククジラの集団遺伝学的研究

Luis A. Pastene、後藤睦夫 (一財) 日本鯨類研究所、東京、日本

#### 要旨

南極海鯨類捕獲調査(JARPA および JARPAII)により南極海のインド太平洋域で採集された 遺伝サンプルに基づき、クロミンククジラの集団構造の遺伝学的解析を実施した。JARPA で採集されたサンプルの解析結果は、国際捕鯨委員会の科学委員会(IWC SC) による JARPA レビュー会合で発表した。集団構造は、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の Restriction Fragment Length Polymorphism (制限酵素断片長多型: RFLP、6種類の制限酵素) およびマイクロサテライト DNA (msDNA) (6座位) を用いて検討した。使用したサンプル は、1987/88 年~2004/05 年の南半球の夏季に採集したものである。JARPA および JARPAII の 調査海域である、経度により分割された 6 つの海区(第 III 区東側 [東経 35°~70°]、第 IV 区西側「東経 70°~100°]「北側および南側」、第 IV 区東側「東経 100°~130°]、第 V 区西側 「東経 130°~165°]、第 V 区東側「東経 165°~西経 170°]「北側および南側〕および第 VI 区 西側「西経 170°~145°]) を層として、サンプルを層別した。mtDNA および msDNA 解析に 使用したサンプル数は、それぞれ 6.256 頭および 6.260 頭であった。いずれのゲノム解析で も遺伝的多様性が高く、mtDNA 解析ではハプロタイプ多様度が 0.856~0.891 であり、 msDNA解析では、全サンプルのヘテロ接合度の期待値平均が 0.807 であった。全体として、 いずれのマーカーに基づく結果も同程度であり、層間で空間的な遺伝的異質性が大きいこと が示された。いずれの遺伝マーカーの解析でも、地理的に最も遠い層間(第 III 区東側、第 IV 区と、第 V 区東側、第 VI 区西側)で遺伝的分化が認められた。この結果は、JARPA 調査 海域に少なくとも 2 つの系群が分布するという仮説と矛盾しなかった。以上の結果は、 JARPAII で採集されたサンプルの解析結果によって裏付けられ、IWC SC による JARPAII レ ビュー会合で発表した。JARPAII で採集されたサンプルについては、mtDNA 調節領域配列 (338 bp) および 12 遺伝子座の msDNA を用いて集団遺伝構造を検討した。JARPAII では、 2005/06~2010/11 年の南半球の夏季に鯨のサンプルが採集された。「インド洋セクター」は 東経 35°~130°の海域であり、「太平洋セクター」は東経 165°~西経 145°の海域であった。 インド洋セクターおよび太平洋セクターで得られた mtDNA/msDNA のサンプル数は、それ ぞれ 1.210/1.372 頭および 795/882 頭であった。遺伝的多様性は、いずれのマーカーでも高 く、2 つのセクターで同程度であった。ミスマッチ分布から、いずれのセクターにおいても 単一の集団が平衡状態にあることは示唆されなかった。異質性検定の結果、2 つのセクター の間に大きな遺伝的差異が認められ、南極海の太平洋セクターとインド洋セクターに異なる 集団が生息することが示唆された。msDNA 解析では、雌よりも雄の分散率が高いこと、ま た、ある程度の経年変動があることが示された。Hardy-Weinberg 平衡からの有意な逸脱が認 められ、摂餌場内の一部の地理的範囲で2つの集団が混在することが示唆された。南極海の インド洋セクターおよび太平洋セクターの摂餌海域で確認された2つの集団は、それぞれ東 インド洋および南太平洋西部の示唆される繁殖海域に関連すると考えられた。南極海の摂餌 場における集団の分離は、特定海域への鯨類の回帰性およびオキアミの密度によって説明が つくと考えられる。JARPA/JARPAII に続く調査である新南極海鯨類科学調査計画 (NEWREP-A) および最新の南極海鯨類資源調査 (JASS-A) で採集された最近のサンプ ル、ならびに新たな遺伝マーカー (例:一塩基多型「SNPT)に基づき、クロミンククジラ の集団構造に関するさらなる遺伝学的解析を現在実施中である。

## 南半球におけるザトウクジラの集団遺伝学的研究

後藤睦夫、Luis A. Pastene (一財) 日本鯨類研究所、東京、日本

#### 垂旨

南極海の摂餌場における繁殖系群の分布および混合を明らかにするため、南極海鯨類捕 獲調査(JARPA/JARPAII) および国際鯨類調査 10ヵ年計画/南大洋鯨類生熊系調査 (IDCR/SOWER) の調査中に南極海で採集されたザトウクジラ 575 頭の遺伝子サンプル、 ならびに南太平洋および東インド洋の低緯度海域で採集されたザトウクジラ 1.057 頭の 遺伝子サンプルを解析した。低緯度海域で採集された 1,057 頭のサンプルのシークエン スデータは、国際捕鯨委員会(IWC)のデータアクセスプロトコルによって提供された。 低緯度海域の遺伝子サンプルは、西オーストラリア (n = 185)、東オーストラリア (エ デン、タスマニア) (n = 104) 、ニューカレドニア (n = 243) 、トンガ (n = 240) 、 クック諸島 (n = 56) 及びフランス領ポリネシア (n = 62) のものであり、主としてバイ オプシー標本採集によって得られたが、脱落した皮膚片および座礁鯨からも採取された。 南極海の摂餌場のサンプルは、第 III 区東側 (n=106)、第 IV 区 (n=231)、第 V 区 (n = 171) および第 VI 区 (n = 67) のものであり、バイオプシー標本採集のみによって得 られた。いずれのデータセットの遺伝子サンプルについても、mtDNA 調節領域の前半 部分を解析した。重複したサンプルは解析から除外し、親子ペアの場合はいずれか一方 の配列のみを使用した。両データセットから得られた配列のアライメントを行い、137 のハプロタイプからなる 1 つのデータセットとした。IWC の科学委員会(IWC SC)で 過去に合意された D、E および F 系群の系群構造に関する仮説に基づき、南極海におけ る繁殖系群の分布および混合を検討するため、3種類の解析(Fstの解析、混合率および 最大尤度の比較)を実施した。全体として、結果は地理的関係と矛盾しなかった。6系 群仮説の下で、第 III 区東側における割合が最も高かった系群は西オーストラリア (D) 系群であった。しかし、この結果は Fst 解析と一致しなかった。西インド洋で採集され たベースラインサンプルを解析に含めれば、第 III 区東側で得られた結果がより正確に 解釈できる可能性がある。第 IV 区西側および第 IV 区東側における割合が最も高かった 系群は西オーストラリア系群であり、この結果は  $F_{ST}$ 解析と一致した。第 V 区西側にお ける割合が最も高かった系群は東オーストラリア (E1) 系群であり、この結果は  $F_{ST}$  解 析と一致した。第V区東側における割合が最も高かった系群はニューカレドニア(E2) 系群であった。しかし、この結果は FsT 解析と一致しなかった。第 VI 区における割合が 最も高かった系群はトンガ (E3) 系群であり、この結果は  $F_{ST}$  解析と一致した。クック 諸島 (F1) およびフランス領ポリネシア (F2) 系群の個体は、南極海のいずれの調査海 域でも認められず、第 VI 区に(クック諸島の系群が)少数認められたにすぎなかった。 この結果は Fst 解析と一致した。今後の遺伝学的解析には、最近の研究プログラム (例:新南極海鯨類科学調査計画「NEWREP-A」および南極海鯨類資源調査「JASS-A]) で得られたバイオプシーサンプルを含める必要がある。また、過去の調査で対象 とされなかった低緯度海域からもバイオプシー標本を得る必要がある。南極海の西オー ストラリア (D) 系群および東オーストラリア (E) 系群の資源量推定および資源量傾 向はこれまで、IWC 管理区域 IV と V の境界に基づき解釈されてきたが、その解釈には、 系群の分布および混合域に関する情報を使用する必要がある。

## 水生哺乳類の集団ゲノミクス:ネズミイルカ、クジラおよびカ ワウソから得られた知見

Ralph Tiedemann ポツダム大学進化生物学研究室、ドイツ

#### 要旨

本講演では、水生哺乳類に関する我々の最新のゲノミクス研究の概要を説明する。本講演の内 容には、リファレンスゲノムの構築、全ゲノムリシーケンシング、ddRAD 法、SNP によるマス ジェノタイピングと、関連するバイオインフォマティクス解析が含まれる。我々は、ネズミイ ルカのリファレンスゲノムを作製した。さらに、北大西洋およびその近隣海域の検討に、 ddRAD 法および全ゲノムリシーケンシングの両方を用いたところ、北大西洋に分集団は形成さ れておらず、大西洋を中心とする海域間に距離による遺伝子流動の制限があるものと推定され た。しかし、グリーンランド北西部およびバルト海では遺伝的分化が認められ、各地に適応し た集団の存在を反映するものと推定される。ネズミイルカの染色体上に SNP をプロットしたと ころ、北大西洋/北海およびバルト海域で「islands of differentiation (他の地域/海域と比べて高 い遺伝的分化を示す地域/海域) | が確認され、特定の遺伝子座で選択が起きていることが示 された。この選択は、バルト海内の塩分濃度が低いことに関連する可能性が高い。我々は、バ ルト海 (Baltic proper: バルト海中央部) の東部に分集団を確認した。この集団は個体数が少な く、遺伝的多様性が低い。全ゲノムデータから過去の集団動態を推定した結果、北大西洋では 集団の拡大、バルト海中央部では集団の縮小が認められた。我々の研究成果に基づき、座礁/混 獲個体から採集された標本のマスジェノタイピングに価値のある SNP パネルを構築することが できた。ザトウクジラについて、南太平洋東部(エクアドル、チリ)および南極海で採集され た標本の全ゲノムデータを作製した。これらのデータは概して、繁殖場(エクアドル)と摂餌 場(チリ、南極海)の間の既知の関係を裏付けるものであったが、予備的解析によれば、マゼ ラン海峡で採集された標本は予想よりも遺伝的類似性が高いと考えられる。詳細な集団ゲノミ クス解析を現在実施中である。ミンククジラについては、ddRAD 法を用いて構築した新たな SNP データにより、北大西洋で3つの遺伝的クラスターが確認されている。いずれのクラスター も北大西洋で共存しているが、その存在割合には地理的な差異が認められる。我々のデータは、 現在の系群仮説(西部、中央部および東部の系群)と一致する。また、我々のデータから系群 の混合率が得られ、その情報は(国際捕鯨委員会における)資源管理において、系群構造に関 するシミュレーションに役立てることができる。ただし、我々が実施した北大西洋東部の解析 は限定的なものであることに注意が必要である。現時点で解析に含まれている北海からの標本 は1頭の標本のみである。しかし最近、ノルウェーのサンプル提供を受け、北大西洋全域の系群 構造をさらに解明するための我々の解析パイプラインに追加することができた。我々はそのこ とに深く感謝している。我々のユーラシアカワウソに関するゲノム研究は、極めて応用的な視 点を持つものである。ドイツでは、カワウソはほぼ絶滅の瀬戸際まで追い込まれていたが、現 在では個体数が回復しつつある。このことは総じて高く評価されているものの、カワウソは陸 上養殖に重大な損害をもたらすおそれがある。養魚施設の関連地域におけるカワウソ個体の移 動パターンを解明するため、野生で採集した糞サンプルに基づき、遺伝的標識再捕調査に価値 のある SNP パネルを構築した。サンプルの品質が低かったにもかかわらず、我々の成功率は妥 当に高いものであり、影響を受ける養魚施設の関連地域におけるカワウソ個体の行動圏を検討 し、地域の個体数を推定することできる。我々のネズミイルカ/鯨類研究は、Christophe Pampoulie (ネズミイルカ、北大西洋ミンククジラ)、María Quintela Sanchez (ネズミイルカ)、 Kevin Glover(北大西洋ミンククジラ) および Luis Pastene (南太平洋東部のザトウクジラ) とい った多くのパートナーとの共同研究によるものである。ポツダム大学進化生物学研究室では、 Enrique Celemín Amaro (ネズミイルカ、ザトウクジラ)、Anja Ernst (ミンククジラ) および Maxi Tomowski (カワウソ) がこの研究に携わっている。

今後の共同研究テーマに関する自由討論の要約

以下に示す今後の共同研究テーマが、参加者によって明確化された。

#### 1. 遺伝子サンプル/データの保存および管理

アイスランド、ノルウェーおよび日本は、様々な大洋での長年にわたる調査で採集された大 規模な遺伝子サンプルと遺伝子データセットを保有している。それらのデータセットには、 様々な種類の組織および各種遺伝マーカーから得られたデータが含まれている。また、遺伝 子データと、その情報に関するメタデータを効率的に紐づける必要がある。

データセットの保存・管理方法は国によって異なる。参加メンバーは、サンプルおよびデータの保存・管理に今後使用する方法についての情報を交換するため、各国の関係者が定期的な会合を開くことで合意した。

#### 2. 北太平洋のニタリクジラおよびイワシクジラの近縁解析

参加メンバーは、Tiedemann らの方法、ならびに ICR で得られた遺伝的および生物学的データに基づき、北太平洋のイワシクジラおよびニタリクジラの近縁解析をさらに実施すべきであることで合意した。共同研究には、主としてドイツおよび日本の研究者が参加する。

#### 3. シロナガスクジラの近縁解析

南極海、インド洋、南太平洋東部および北太平洋のシロナガスクジラの SNP データが利用 可能となった。参加メンバーは、南半球と北太平洋におけるシロナガスクジラの近縁関係 に関するドイツと日本の研究者による共同研究に、この SNP データを使用すべきであることで合意した。

#### 4. 近縁関係データに基づくミナミセミクジラの資源量推定

Skaug の方法によるミナミセミクジラの近縁関係の検討には、マイクロサテライト DNA データが使用されている。次のステップでは、ノルウェーと日本の研究者による共同研究で、ミナミセミクジラの資源量推定に近縁関係データを使用する。

### 5. 北太平洋および南半球におけるナガスクジラとシロナガスクジラの雑種個体の可能 性に関する探索

北大西洋では、シロナガスクジラとナガスクジラの雑種個体が数頭報告されている。参加メンバーは、北太平洋および南半球でシロナガスクジラとナガスクジラの雑種個体がみられる可能性について、シロナガスクジラ(利用可能なデータ)およびナガスクジラ(利用可能なddRADデータ、検討に適した SNP を抽出する必要あり)の SNP データを用いて、ドイツ、アイスランドおよび日本の研究者による共同研究で検討すべきであることで合意した。

#### 6. ブラジルのドワーフミンククジラの全ゲノムシーケンシング (WGS)

様々な大洋に分布するミンククジラの系統学的関係および分類は、mtDNA およびマイクロサテライト DNA を用いて検討されている。また、過去の研究では、ミンククジラの雑種個体検出に価値のある SNP の検索に WGS も使用された。WGS データは、約 40 頭の北太平洋ミンククジラ、約 40 頭の北大西洋ミンククジラ、約 40 頭のクロミンククジラに加えて、13 頭のドワーフミンククジラについて得られている。ICR では、ブラジルのドワーフミンククジラ数頭の DNA サンプルを利用可能である。参加メンバーは、これらの DNA サンプルの DNA の質を評価し、その後、日本およびノルウェーの研究者による共同研究で配列を決定するとともに、学術論文を共同執筆することを全体の目標とすることで合意した。

#### 7. 全世界のシロナガスクジラの詳細な SNP 解析(北大西洋のデータを含む)

ICR におけるシロナガスクジラの SNP の研究には、北大西洋のサンプルが含まれていない。参加メンバーは、アイスランドで得られている北大西洋シロナガスクジラの遺伝子サンプルを、この研究に追加する可能性を検討することで合意した。サンプルの国際輸送は、適用されるワシントン条約 (CITES:絶滅のおそれのある野生動植物の種の国際取引に関する条約)の規制に従う。

#### 8. 各国の DNA 登録に用いる遺伝マーカー

アイスランド、ノルウェーおよび日本は少なくとも今後 3~5 年間、DNA 登録の遺伝マーカーとして、mtDNA およびマイクロサテライト DNA を引き続き使用する。ノルウェーは雑種個体および大西洋以外のミンククジラの同定に mtDNA 解析を用いておらず、診断用 SNP を使用している。ノルウェーは将来的に、ノルウェーの登録全体を SNP に変換する計画である。日本も SNP データを追加する計画である。SNP データを追加する際、日本は、SNP およびマイクロサテライト DNA の両方を引き続き用いることを明らかにした。

#### 9. クロミンククジラの系群構造の詳細な統計解析

クロミンククジラのマイクロサテライト DNA データについて、PCA に基づく詳細な統計解析が提案された。参加メンバーは、このアプローチに基づく新たな解析を、ドイツと日本の研究者による共同研究で実施することで合意した。

## 10. 南半球におけるザトウクジラの地域への適応に関する全ゲノムシーケンシングを用いた研究

参加メンバーは、環境ストレス要因が異なる南太平洋東部および東インド洋のザトウクジラを WGS により検討し、各集団の地域への適応を評価することで合意した。この研究は、チリ、ドイツおよび日本の研究者が共同で実施する。

## 謝辞

太地町の皆様の温かいおもてなしとご支援のおかげで、本ワークショップが成功したことに国際ワークショップの参加者一同は深謝の意を表明する。太地町の三軒一高町長および漁野洋伸副町長には、料理も雰囲気も素晴らしい会場で素敵なディナーを催していただいたことに謝意を表する。太地町立くじらの博物館の稲森大樹館長にも、博物館の会議室をご準備いただき、館内の展示といくつかの海洋哺乳類のマリンショーの見学を手配いただいたことに謝意を表する。また、櫻井敬人氏にも、太地町内の史跡伝承地をご案内いただき、わかりやすく詳細な説明をいただいたことに謝意を表する。

フォトギャラリー

1. ICR 太地事務所の遺伝解析室で実施された Kiemel 博士による SNP ジェノタイピ ングの実技演習







## 2. 太地町立くじらの博物館で開催された口頭発表と自由討論





後藤睦夫博士、日本鯨類研究所、東京



杉本太郎博士、日本鯨類研究所、太地

Dr. Katrin Kiemel、日本鯨類研究所、東京



田口美緒子博士、日本鯨類研究所、東京

Dr. Christophe S. Pampoulie、海洋淡水調査 研究所、アイスランド



Professor Ralph Tiedemann、ポツダム大学進化生物学研究室、ドイツ



Professor Kevin A. Glover、海洋研究所、 ノルウェー

Dr. Luis A. Pastene、日本鯨類研究所、東京

## 3. ICR 太地事業所の視察







## 4. 太地町内の捕鯨にまつわる史跡伝承地の視察(櫻井敬人氏のガイドによる)







## 5. 太地町立くじらの博物館および水族館の視察



6. 三軒一高町長および漁野洋伸副町長の主催による国際ワークショップの公式 ディナー



遺伝データを活用した鯨類の系群識別に関する 国際ワークショップ 太地町 2024年2月18~22日

鯨 研 叢 書 No.17 2024年10月28日発行

発行者 一般財団法人 日本鯨類研究所 〒 104-0055 東京都中央区豊海町 4-5 豊海振興ビル 5 F 電 話 03-3536-6521

印 刷 野崎印刷紙器株式会社 〒 230-0001 神奈川県横浜市鶴見区矢向 3-15-27 電 話 045-571-3508

6. OFFICIAL DINNER OF THE INTERNATIONAL WORKSHOP HOSTED BY TAIJI MAYOR KAZUTAKA SANGEN AND TAIJI DEPUTY MAYOR HIRONOBU RYONO



## 5. TAIJI WHALE MUSEUM AND AQUARIUM



## 4. EXCURSION TO HISTORICAL AND TRADITIONAL WHALING PLACES IN TAIJI LEAD BY MR. HAYATO SAKURAI









Professor Kevin A. Glover, IMR, Norway

Dr. Luis A. Pastene, ICR-Tokyo

## 3. VISIT TO ICR-TAIJI OFFICE









Dr. Mioko Taguchi, ICR-Tokyo

Dr. Christophe S. Pampoulie, MFRI, Iceland



Professor Ralph Tiedemann, Potsdam University, Germany

### 2. ORAL PRESENTATIONS AT THE TAIJI WHALE MUSEUM





Dr. Mutsuo Goto, ICR-Tokyo

Dr. Yukitoshi Katayama, ICR-Taiji



Dr. Taro Sugimoto, ICR-Taiji

Dr. Katrin Kiemel, ICR-Tokyo

## 1. TRAINING COURSE BY DR. KATRIN KIEMEL FOR SNP GENOTYPING AT THE ICR'S GENETIC LABORATORY IN TAIJI







## PHOTO GALLERY

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

The participants of the international workshop express their deep gratitude to the people of Taiji by their warm hospitality and assistance, which contributed to the success of the workshop. We thank Taiji Mayor Kazutaka Sangen and Taiji Deputy Mayor Hironobu Ryono for hosting a wonderful dinner, which was excellent both in food quality and nice human environment. We also thank Director of the Taiji Whale Museum Daiki Inamori for facilitating the meeting room at the museum, and for allowing us to watch the museum itself and several marine mammals shows! Also, we thank Hayato Sakurai for the excursion and clear and detailed explanation of Taiji's historical and traditional places.

#### 6. Whole Genome Sequencing (WGS) in dwarf minke whales from Brazil

Phylogenetic relationship and taxonomy in minke whales from different oceanic basins have been studied using mtDNA and microsatellite DNA. Also, a previous study used WGS to search for informative SNPs to detect minke whale hybrids. WGS data are available for 13 individual dwarf minke whales in addition to approximately 40 North Pacific, 40 North Atlantic and 40Antarctic minke whales. A number of Brazilian dwarf minke whale DNA samples are available at the ICR. Members agreed that these DNA samples should be examined for DNA quality and subsequently sequenced in a collaborative study between Japanese and Norwegian scientists, with the overall aim of producing a joint scientific paper.

#### 7. Further SNPs analyses in blue whales worldwide including North Atlantic data

The ICR study of blue whale SNPs does not cover samples from the North Atlantic. The group agreed to consider the possibility to add genetic samples of the North Atlantic blue whale available in Iceland to the study. Applicable CITES regulations for the transportation of samples from one country to another will be followed.

#### 8. Genetic markers for national DNA registry

At least for the next three- to five years, Iceland, Japan, and Norway will continue using mtDNA and microsatellite DNA as the genetic markers of their DNA registries. Norway does not analyse mtDNA anymore but used diagnostic SNPs for identification of hybrids and non-Atlantic minke whales. Norway plans in the future to convert the entire Norwegian register over the SNPs. Japan also has a plan to add SNPs data. It was clarified that in such case Japan will continue using both SNPs and microsatellite DNA.

#### 9. Further statistical analyses on stock structure in the Antarctic minke whale

Further statistical analyses based on PCA were suggested for the Antarctic minke whale microsatellite DNA data. The group agreed that new analyses based on this approach be conducted in collaboration between German and Japanese scientists.

## 10. Study on local adaptation in Southern Hemisphere humpback whales by using Whole Genome Sequencing

The group agreed that eastern South Pacific and eastern Indian Ocean humpback whales should be investigated by WGS to investigate local adaptation of each population, which are under different environmental stress. The study will be carried out in collaboration among Chilean, German, and Japanese scientists.

The following topics for future research collaborations were identified by the participants:

#### 1. Genetic sample/data storage and management

Iceland, Japan, and Norway have large genetic samples and genetic data sets from many years of surveys in different oceanic basins. Different kinds of tissues and data from different genetic markers are included in those data sets. In addition, there is the need to connect efficiently between the genetic data and the meta-data from which the information was obtained.

The different countries have been working with different methods for storing and managing the data sets. Members agreed to have regular meetings among relevant people in each country to exchange information on the methods being used to store and manage samples and data.

#### 2. Kinship analyses in North Pacific Bryde's and sei whales

The members agreed that further kinship analyses on North Pacific sei and Bryde's whales should be conducted based on the Tiedemann et al.'s method and the genetic and biological data available at the ICR. The collaboration will involve primarily German and Japanese scientists.

#### 3. Kinship analyses in blue whales

SNP data became available for Antarctic Ocean, Indian Ocean, eastern South Pacific and North Pacific blue whales. Members agreed that such data should be used for studies on kinship in this species in the Southern Hemisphere and the North Pacific, in collaborative effort between German and Japanese scientists.

#### 4. Abundance estimates in southern right whales based on kinship data

Microsatellite DNA data have been used to investigate kinship relationship in southern right whales using Skaug's method. In the next step kinship data will be used for abundance estimates of this species in a collaborative study between Norwegian and Japanese scientists.

## 5. Exploring the possibility of fin-blue whale hybrids in the North Pacific and South Hemisphere

Several cases of blue-fin whale hybrids individuals have been reported for the North Atlantic. Members agreed that the possibility of blue-fin whales hybrids in the North Pacific and Southern Hemisphere should be investigated using SNPs data for blue (data available) and fin (ddRAD data available; suitable SNPs need to be retrieved) whales in a collaborative study between German, Icelandic, and Japanese scientists.

# SUMMARY OF THE OPEN DISCUSSION ON TOPICS FOR FUTURE RESEARCH COLLABORATIONS

# Population genomics of aquatic mammals: lessons from porpoises, whales, and otters

Ralph Tiedemann Evolutionary Biology/Syst. Zoology, University of Potsdam, Germany

#### **Abstract**

In this lecture, I will provide an overview of our latest genomic research on aquatic mammals, encompassing erection of reference genomes, whole genome resequencing, ddRAD techniques, SNP mass genotyping, and associated bioinformatics analysis. For the harbour porpoise, we produced a reference genome. Further, we applied both ddRAD and whole genome resequencing in the North Atlantic (NA) and adjacent waters, enabling us to infer a transatlantic isolation by distance pattern without distinct populations across the North Atlantic. There are however differentiations in the North West of Greenland as well as in the Baltic Sea, putatively reflecting locally adapted populations. Plotting SNPs onto porpoises's chromosomes identifies 'islands of differentiation' among North Atlantic/North Sea and the Baltic region, pointing towards selection at particular loci, most probably related to decreased salinity within the Baltic Sea. We identified a separate population in the eastern part of the Baltic Sea ('Baltic proper'). This population is small in number and genetically depauperated. Whole genome data enable inference of past demography, which indicated population expansion in the North Atlantic, but contraction in the Baltic proper. Our findings enabled erection of an informative SNP panel for mass genotyping of stranded/bycaught specimens. For the humpback whale, we have produced whole genomes for specimens of the eastern South Pacific (Ecuador, Chile) and Antarctica. These data generally support known connections between breeding grounds (Ecuador) and feeding grounds (Chile, Antarctica), however, specimens from Magellan Strait appear genetically more similar than expected, according to preliminary analyses. Further population genomics analysis are under way. For the common minke whale, novel SNP data erected with ddRAD identify three genetic clusters in the North Atlantic, all of which co-occur across the North Atlantic, however, in geographically different proportions. Our data are in agreement with some current stock hypothesis (western, central, and eastern stock) and provide mixing proportions which could inform simulations on stock structure in a management context (i.e., at the International Whaling Commission). One caveat is still our restricted analysis of the eastern North Atlantic: so far, only a single specimen from the North Sea has been included, but we highly appreciate having recently received Norwegian samples to be added to our analytical pipeline to further clarify stock structure throughout the entire North Atlantic. Our genomic work on Eurasian otter has a very applied perspective: after otters had been driven almost to extinction in Germany, populations are currently recovering. This is generally appreciated, however, otters can cause considerable damage in land-locked aquaculture. To understand movement patterns of individual otters relative to fish farms, we have developed an informative SNP panel for genetic mark recapture, based on faeces samples collected in the wild. Despite of low sample quality, our success rate is reasonably high and enables characterization of individual otters' home ranges and an estimation of local population sizes, relative to affected fish farms. Our porpoise/whale research constitutes collaborations with many partners, among them Christophe Pampoulie (harbour porpoise, NA minke whale), María Quintela Sanchez (harbour porpoise), Kevin Glover (NA minke whale), and Luis Pastene (eastern South Pacific humpback whale). Within the Unit for Evolutionary Biology at the University of Potsdam, this is the work of Enrique Celemín Amaro (porpoises, humpack whale), Anja Ernst (minke whale), and Maxi Tomowski (otters).

## Population genetics study of southern humpback whales

Mutsuo Goto and Luis A. Pastene Institute of Cetacean Research, Tokyo, Japan

#### **Abstract**

Genetic samples from 575 humpback whales obtained in the Antarctic during surveys of the Japanese Whale Research Program under Special Permit in the Antarctic (JARPA/JARPA II) and International Decade for Cetacean Research/Southern Ocean Whale and Ecosystem Research (IDCR/SOWER), and from 1,057 whales from low latitude localities of the South Pacific and eastern Indian Ocean were analyzed to describe the distribution and mixing of breeding stocks in the Antarctic feeding grounds. Sequence data from the 1,057 samples from low latitude areas were obtained through the data access protocol of the International Whaling Commission (IWC). Genetic samples from low latitude localities were obtained mainly by biopsy sampling but also from sloughed skin and stranded whales: Western Australia (WA, n = 185), Eastern Australia (Eden, Tasmania) (EA, n = 104), New Caledonia (NC, n = 243), Tonga (TG, n = 240), Cook Islands (CI, n = 56) and French Polynesia (FP, n = 62). In the Antarctic feeding grounds, samples were obtained only by biopsy sampling: Areas IIIE (n =106), IV (n = 231), V (n = 171) and VI (n = 67). Genetic samples of both data sets were examined for approximately the first half of the mtDNA control region. Duplicated samples were excluded from the analysis. In the case of mother/calf pairs only one sequence was used. Sequences from both data sets were aligned to produce a single data set comprising 137 haplotypes. Three kinds of analyses were conducted to examine the distribution and mixing of breeding stocks in the Antarctic under hypotheses on stock structure agreed by the IWC Scientific Committee (IWC SC) previously for Stock D, E and F: analysis of  $F_{ST}$ , mixing proportion and maximum likelihood comparison. In general results were consistent with the geography. Under the six-stock hypothesis, the largest proportion in Area IIIE was of the WA (D) stock. However, this result was not consistent with the  $F_{ST}$  analysis. A better interpretation of the results in Area IIIE would be possible if the analysis includes baseline samples from the western Indian Ocean. The largest proportion in Areas IVW and IVE was of the WA stock, and this was consistent with the  $F_{ST}$  analysis. The largest proportion in Area VW was of the EA (E1) stock, and this result was consistent with the  $F_{\rm ST}$  analysis. The largest proportion in Area VE was of the NC (E2) stock. However, this result was not consistent with the  $F_{\rm ST}$ analysis. The stock with the largest proportion in Area VI was the TG (E3) stock, and this result was consistent with the F<sub>ST</sub> analysis. None of the Antarctic Areas investigated was represented by whales of the CI (F1) and FP (F2) stocks, or just with a limited representation in Area VI (case of the CI stock). This result was consistent with the  $F_{ST}$  analysis. Future genetic analyses should include biopsy samples obtained during more recent research programs, e.g., former New Whale Research Program in the Antarctic (NEWREP-A) and Japanese Abundance and Stock structure Survey (JASS-A). Also, biopsy samples should be obtained from low latitude areas not covered by previous surveys. The information on stock distribution and areas of mixing should be used in the interpretation of the abundance estimates and abundance trends of the Western (D) and Eastern Australian (E) stocks in the Antarctic, which has been based so far on the boundaries of IWC Management Areas IV and V.

## Population genetics study of Antarctic minke whales

Luis A. Pastene and Mutsuo Goto Institute of Cetacean Research, Tokyo, Japan

#### **Abstract**

Genetic analyses on population structure of Antarctic minke whale were based exclusively on genetic samples collected by the Japanese Whale Research Program under Special Permit in the Antarctic (JARPA and JARPAII) during surveys conducted in the Indo-Pacific sector of the Antarctic. Results of the analyses of JARPA samples were presented to the JARPA review workshop organized by the International Whaling Commission Scientific Committee (IWC SC). Population structure was investigated using mitochondrial DNA (mtDNA) restriction fragment length polymorphism (RFLP, six restriction enzymes) and microsatellite DNA (msDNA) (six loci), and samples obtained from 1987/88 to 2004/05 austral summer seasons. Samples were grouped into the six longitudinal strata used by JARPA surveys: IIIE (35°-70°E); IVW (70°-100°E) (north and south); IVE (100°-130°E); VW (130°-165°E); VE (165°E-170°W) (north and south) and VIW (170°W-145°W). The total sample sizes used in the mtDNA and msDNA analyses were 6,256 and 6,260 animals, respectively. The level of genetic diversity was high for both genomes: the nucleon diversity at the mtDNA ranged from 0.856 and 0.891 and the mean expected heterozygosity at the msDNA was 0.807 for the total samples. In general results based on both markers were similar, showing substantial spatial genetic heterogeneity among the strata. For both genetic markers whales in the most distant geographic strata (IIIE, IV and VE, VIW, respectively) were differentiated genetically. Results were consistent with the hypothesis of at least two stocks distributed in the JARPA research area. These results were confirmed by those of analyses of JARPAII samples, which were presented to the IWC SC JARPAII review workshop. This time population genetic structure was investigated using mtDNA control region sequence (338 bp) and msDNA at 12 loci. Whale samples were obtained during the austral summer seasons 2005/06-2010/11. The 'Indian Sector' comprised the area between 35° and 130°E, while the 'Pacific Sector' was between 165°E and 145°W. The mtDNA/msDNA sample sizes in the Indian and Pacific sectors were 1,210/1,372 and 795/882 animals, respectively. The level of genetic diversity was high for both genomes and was similar for the two sectors. In both sectors, the mismatch distribution for whales did not suggest a population at equilibrium. Results of a heterogeneity test showed significant genetic differences between whales in the two sectors, suggesting that different populations inhabit the Pacific and Indian sectors of the Antarctic. MsDNA analyses showed more dispersal in males than females, and some degree of annual variation. Significant departure from Hardy-Weinberg equilibrium suggested some geographical overlap of the populations in the feeding grounds. The two populations identified in the Antarctic feeding areas of the Indian and Pacific sectors could be related to the suggested breeding areas in the eastern Indian Ocean and western South Pacific, respectively. The segregation of the populations in the Antarctic feeding grounds could be explained by the fidelity of whales to specific areas with krill concentrations. Further genetic analyses on population structure in the Antarctic minke whales are being conducted based on previous as well more recent samples collected by the former New Whale Research Program in the Antarctic (NEWREP-A) and the current Japanese Abundance and Stock structure Surveys in the Antarctic (JASS-A), and new genetic markers, e.g., single nucleotide polymorphism (SNPs).

# Antarctic feeding grounds as migratory destination of southern right whales from different oceans

Yukitoshi Katayama<sup>1</sup> and Katrin Kiemel<sup>2</sup>
<sup>1</sup>Institute of Cetacean Research, Taiji, Japan,
<sup>2</sup>Institute of Cetacean Research, Tokyo, Japan

#### **Abstract**

The southern right whale has a circumpolar distribution in the Southern Hemisphere. Recent non-genetic surveys have shown their seasonal movements between breeding at lower latitudes and feeding grounds at higher latitudes, e.g., Antarctic Ocean (Mackay et al., 2020). However, feeding grounds are typically offshore and logistically difficult to access directly, leading to little genetic information on contemporary foraging areas except for the Atlantic Ocean. To understand the current population structure of southern right whales around the Antarctic Ocean including the Indo-Pacific sector (80°-135°E; referred to as "Queen Mary Coast"), other Antarctic sectors (referred to as "Antarctica"), and southwest Australian feeding ground, we used three datasets: (1) mitochondrial (mtDNA) control region sequences (n = 177), (2) single nucleotide polymorphism (SNP) genotypes generated from ddRAD-seq (32,903 SNPs, n =104), and (3) microsatellite genotypes (14 loci, n = 169). The genetic data was generated from specimens biopsied under the JARPA/JARPAII, NEWREP-A and IWC-IDCR/SOWER programs. As for the mtDNA analysis, the published data (n = 685) generated by Carroll et al. (2011, 2015, 2020) was also used. In the mtDNA analyses, differences in haplotype frequencies between the feeding grounds and breeding grounds (Brazil, Argentina, South Africa, Southwest Australia, Southeast Australia, New Zealand) were tested using calculated pairwise fixation index (FST). A phylogenetic tree among mtDNA haplotypes was reconstructed. As a SNP analysis, a neighbor-net based on pairwise Hamming distances tests considerable admixture within and between feeding grounds. PCA and ADMIXTURE analyses were applied to SNP data, and a possible sex-biased dispersal was assessed in the microsatellite analysis. The neighbor-net analysis showed two genetic populations, i.e., putative Indo-Atlantic and Pacific populations, suggesting limited gene flow between them. Structured mtDNA phylogeny supports the hypothesis that breeding-site fidelity facilitates historical genetic differentiation between Indo-Atlantic and Pacific derived lineages. Sex-biased dispersal has not been shown from our microsatellite data. The PCA and ADMIXTURE analyses of SNPs revealed that Queen Mary Coast and southwest Australian feeding ground are migratory destinations from Indo-Atlantic and Pacific oceans. Despite such heterogeneity in Queen Mary Coast, its haplotype frequency of mtDNA is quite similar to ones in breeding populations in the Pacific basin. Together with the ubiquitous haplotype frequencies of mtDNA in the Atlantic breeding grounds regardless of its lineages, we propose that evolutionary dispersal from the Pacific populations to the Indo-Atlantic populations occurred in the past and that feeding migration to the Queen Mary Coast elicits the interoceanic dispersal by this long-lived species, resulting in partly fluctuating breeding sites.

# Entering the high-throughput era: Development of SNP genotyping techniques at the Institute of Cetacean Research

Katrin Kiemel Institute of Cetacean Research, Tokyo, Japan

#### Abstract

While the era of high-throughput genomics began more than two decades ago with the development of next-generation sequencing, initially adopted by only a limited number of scientists, it has now transitioned to full establishment in the scientific communities due to its rapidly increasing cost-effectiveness. The increasing number of publications utilizing single nucleotide polymorphisms (SNPs) for population genetic analysis has emphasized a strong need for the introduction of this method at the Institute of Cetacean Research (ICR), which currently relies on traditional markers such as microsatellites, mitochondrial genes, or the control region for analysis. The ICR has owned a Fluidigm system (i.e., high throughput genotyping using JUNO and EP1) since 2019 and aims to fully establish this method by 2024. The goal is to establish SNP panels for the identification of individuals, kinship assessment and population assignment. For this purpose, a bioinformatic pipeline utilizing ddRAD data from 314 blue whales across oceans was developed for SNP detection, incorporating different filtering steps outlined in O'Leary et al., (2018). Population genetic analyses, including admixture, PCA, DAPC, sPCA and summary statistics, were conducted based on 12,131 SNPs and 237 individuals remaining after the filtering steps. Subsequently, a population identification panel was created based on admixture results, excluding admixed individuals, and retaining those with over 60% assignment to one of the three identified clusters. Wright's  $F_{\rm ST}$  was employed to estimate genetic differentiation, and only SNPs with the highest  $F_{\rm ST}$ values were selected. A total of 48 SNPs were selected to maximize differentiation between the blue whales across oceans, i.e., Indian Ocean (IO), Southern Ocean (SO), eastern South Pacific (ESP), eastern North Pacific (ENP), western North Pacific (WNP) with F<sub>ST</sub> ranging from 0.31-0.43. Additionally, another 48 SNPs were selected to maximize differentiation between two main groups (WNP, ENP, SO and ESP, IO) with  $F_{\rm ST}$  ranging from 0.39-0.46. Simultaneously. a kinship and individual identification panel was designed, comprising 96 SNPs with a Wrights  $F_{\rm ST}$  of 0 and heterozygosity of 0.5. This selection aimed to maximize the information available to determine kinship status effectively. The SNP panel's discriminatory power was evaluated under dry laboratory conditions through admixture analyses, PCA and DAPC conducted on 96 SNPs and 237 individuals. Additionally, kinship analysis and detection of duplicated individuals were performed on 297 individuals. Following dry lab panel validation, wet lab testing was carried out on the Fluidigm system using 95 samples across oceans (i.e.,  $n_{so} = 27$ ,  $n_{\text{IO}} = 15$ ,  $n_{\text{ESP}} = 15$ ,  $n_{\text{WNP}} = 18$ ,  $n_{\text{ENP}} = 20$ ), with DNA quality ranging from 3.84 -348.33 ng/ $\mu$ L. Preliminary testing successfully genotyped 91 SNPs in 94 individuals in the population genetic panel, while the kinship genetic panel achieved successful genotyping of 76 SNPs in 93 individuals. The ddRAD pipeline for SNP detection, along with the SNP panel design and post-Fluidigm data processing, can be applied to any species of interest with minimal additional workload. This facilitates the ICR's transition into the high-throughput era, utilizing SNPs for stock assessment, population genetics, duplicate individual detection, and kinship status assessment.

## The Norwegian Minke Whale DNA Register

Kevin A. Glover Institute of Marine Research, Bergen, Norway

#### Abstract

Norway ceased all harvest of common minke whales in the period 1988-1993 following the global moratorium laid down by the International Whaling Commission (IWC). In 1997, shortly after commercial harvest was reinstated, the Norwegian Minke Whale DNA register (NMDR) was established. From this point onwards, all capture of common minke whales in Norway was combined with DNA sampling. As of today's date, the DNA register now contains the genetic profiles of just under 15,000 minke whales harvested in Norwegian waters in the NE Atlantic. The DNA profile includes 10 microsatellites and sex determining markers for all years, mtDNA D-loop up to and including 2015, and data from ~25 fully diagnostic SNPs to permit identification of minke whale species and inter-species hybrids from 2016 onwards. DNA analyses for the register were first conducted in Canada, then Iceland (2 years), and finally at the Institute of Marine Research (IMR) in Norway from 2007 onwards. All analyses are blind-duplicated and carried out according to forensic protocols. The NMDR is used as an internal control system for Norwegian catch, and, used to certify meat exported from Norway to Japan in more recent years. Samples are taken by the whaling boats themselves, of which approximately 20 now operate (a higher number of boats participated in the early years, but this has reduced with time). The DNA register, together with biometric data from the harvested whales, has provided globally unique opportunities to study genetic structure in minke whales. These include the investigation of population genetic structure (or lack of in this region), migration of Antarctic minke whales to the Artic including the documentation of inter-species hybridization and second generation back-crossing, identification of diagnostic SNPs to identify inter-species hybrids on a global scale, and finally, to track feeding movements of Greenland sharks feeding on offal from whaling operations. This work has collectively resulted in eight scientific publications. A B. acutorostrata acutorostrata (North Atlantic common minke whale) genome has been produced at IMR, but not published. IMR also sits on significant whole-genome re-sequence data (pooled) that were used in the published work identifying diagnostic SNPs for minke whales globally (for all species and sub-species). Much of this work has been conducted in close collaboration with the Institute of Cetacean Research (ICR) in Japan, and the IMR laboratory still holds samples exported from Japan to IMR for these collaborations. The register is still actively used to look for signs of hybridization between minke whale species, to monitor commercial capture and export, to look at population genetic structure, and to identify sibling pairs as a way of investigating population sub-structure with close-kin approaches. DNA samples from the period in which Iceland conducted the analyses for the NMDR register have been shared with R. Tiedemann, Potsdam University, in a collaborative effort to look at population genetic structure across multiple areas in the NE Atlantic with RAD-seq technology. Ongoing work at IMR includes identification of the genomic differences between the minke whale species and sub-species globally using the whole-genome sequence data resources described above.

# Stock structure of fin whales in the North Pacific and adjacent waters inferred from mitochondrial and microsatellite DNA

Mioko Taguchi Institute of Cetacean Research, Tokyo, Japan

#### **Abstract**

The stock structure of fin whales in the North Pacific and adjacent waters was investigated using a total of 613 mitochondrial control region sequences (mtDNA) and 311 microsatellite genotypes (msDNA) at 16 loci. Firstly, exploratory analyses, i.e., summary statistics,  $F_{ST}$ comparisons and heterogeneity test, were performed using both markers based on arbitrary geographical sample groups, which resulted in a setting of five sample strata for the subsequent analyses: the Sea of Japan (SOJ), the western North Pacific plus the southern Okhotsk Sea (WNP), the Bering Sea (BRS), the offshore eastern North Pacific plus Gulf of Alaska (ENP), and the coastal eastern North Pacific (C-ENP). The same statistical analyses were repeated based on this stratification. Haplotype network was depicted to infer the phylogenetic relationships among mtDNA haplotypes. The spatial Principal Component Analysis (sPCA) was conducted using msDNA data to examine genetic structure without a prior sample grouping. A high-resolution analysis of the two genetic statistics, i.e., PC1 generated in sPCA and mtDNA haplotype diversity, was also conducted using the three strata, i.e., WNP, ENP and C-ENP, in order to examine the genetic heterogeneity across the North Pacific. The haplotype diversity was lower in SOJ (0.885) and C-ENP (0.917) than in other strata (0.942-0.964), and a similar pattern was observed for the expected heterozygosity (0.74 in SOJ, 0.61 in C-ENP, and 0.75-0.76 in other strata) in msDNA. The heterogeneity test also showed the genetic divergence of SOJ and C-ENP for both markers and further differentiations among WNP, ENP and BRS at least for mtDNA. The mtDNA FST estimates suggested that the degree of differentiations vary among comparisons (0.0037-0.0149), excepting pairs involving C-ENP or SOJ. The haplotype network found no evidence of distinct mtDNA lineages associated with particular localities, but some haplotypes were abundant in or unique to C-ENP. Taken these findings together, it is highly possible that different stocks exist in each of SOJ and C-ENP at least. Additionally, the sPCA analysis showed a genetic structuring with two clusters: one cluster mostly occurs in the North Pacific west of 175°E and the Okhotsk Sea, and the other distributed mainly in the North Pacific east of 175°E as well as in the Bering Sea. This finding was also favored by the high-resolution analysis, i.e., the two statistics switched between the western and eastern North Pacific. Overall, the present genetic analyses demonstrated the existence of three stocks in the research area: (1) 'WNP' stock that distributes mainly in the North Pacific west of 175°E and in the Okhotsk Sea, (2) 'ENP' stock that distributes mainly in the North Pacific east of 175°E and in the Bering Sea, and (3) 'SOJ' stock that distributes in the Sea of Japan. Taking the local stock known in the Sea of Cortez (Bérubé et al., 2002) into account, it is likely that there are four stocks of fin whales in the North Pacific and adjacent waters. The sPCA analysis also implied that the 'WNP' and 'ENP' stocks mixed spatially in different regions of the North Pacific at different proportions, which was consistent with the  $F_{\rm ST}$  estimates showing different degree of genetic differentiations.

# Population genetic structure of Bryde's whales in the North Pacific feeding grounds

Taro Sugimoto Institute of Cetacean Research, Taiji, Japan

#### Abstract

Bryde's whale (Balaenoptera brydei) is a medium-sized baleen whale found year-round in the tropical and warm temperate waters of major oceans between approximately 40°N and 40°S. Bryde's whale undertakes annual migrations between low-latitude waters and the summer feeding grounds at higher latitudes, and the migration distance is typically shorter than that undertaken by other baleen whales with some whales even remaining at lower latitudes throughout the year. Little is known about the exact location of their breeding grounds, but it has been hypothesized that the breeding grounds are located somewhere in low-latitude waters and that mating takes place throughout the year with a broad peak from the end of October to January. The genetic structure of Bryde's whale on the central and western North Pacific feeding grounds was investigated using a total of 1,195 mitochondrial control region sequences (approximately 500 bp) and 1,182 microsatellite genotypes at 17 loci in specimens collected from three longitudinal areas, 1W (135°E–165°E), 1E (165°E–180°), and 2 (180°–155°W). Genetic samples analyzed were obtained from various sources, over a period of 30 years (1979– 2016), such as from historical Japanese commercial whaling, the Japanese Whale Research Program under Special Permit in the North Pacific, second phase (JARPNII), and biopsy sampling under Japanese dedicated sighting survey. Genetic diversities were similar among areas and a haplotype network did not show any geographic structure, while an analysis of molecular variance found evidence of genetic structure in this species. Pairwise  $F_{ST}$  and  $G_{ST}$ estimates and heterogeneity tests attributed this structure to weak but significant differentiation between areas 1W/1E and 2. DAPC analysis showed a slight tendency of stratification of specimens from area 2, relative to those from areas 1W and 1E. Time-series genetic analyses, stratifying the data sets into three periods (1979–1984, 2000–2009, 2010–2016), were also conducted and summary statistics from the three strata suggested that there is generally an overall temporal stability in terms of the genetic homogeneity observed in areas 1W and 1E. A Mantel test and a high-resolution analysis of genetic diversity statistics showed a weak spatial cline of genetic differentiation. These findings could be reconciled by two possible stock structure scenarios: (1) the occurrence of a single population that is not panmictic, with some kin-association being responsible for feeding ground preference and (2) the occurrence of two populations, each of which has a preferred feeding ground, i.e., areas 1W or 2; both populations mix geographically around area 1E. Future studies should be undertaken to clarify which of the two scenarios proposed is most likely and efforts should focus on obtaining additional information from breeding grounds.

## Population genetics study of North Pacific common minke whales

Mutsuo Goto Institute of Cetacean Research, Tokyo, Japan

#### **Abstract**

A total of 4,275 western North Pacific common minke whales were examined with a set of 16 microsatellite DNA loci and the program STRUCTURE to assign individual to either J or O stocks. Samples were available from Japanese Whale Research Program under Special Permit in the North Pacific (JARPN/JARPNII) (1994-2014; n = 2,637), and by-catches (2001-2014; n = 2,637) = 1,638), from different management sub-areas (SA) around Japan. Results of the Bayesian clustering analysis confirmed that the whales came from two genetically differentiated stocks, J and O stocks. The number of unassigned individuals decreased with the increase in the number of microsatellite loci used, and they were geographically widely distributed. By using 16 loci, more than 90% of the individual whales were assigned to either stock. Almost all of the individuals collected from the Sea of Japan side (SA6E and SA10E) belonged to the J stock, whereas almost all of the individuals from the offshore North Pacific (east of SA7WR) belonged to the O stock. Intermediate areas (SA7CN, 7CS and SA11) contained individuals from both stocks. The southern coast of Honshu Island (SA2C) was mainly occupied by the J stock. In SA2C the J stock was predominant (around 80% in proportion) around the year. In SA7CS and SA7CN the proportion of the J stock increases in autumn/winter and decrease in spring/summer. A phylogenetic network tree of mtDNA haplotypes was divided into two main clusters, J and O stocks. Most of the haplotypes that consist of these clusters were stock-specific, and there were only a few haplotypes that were shared by J and O stock individuals. The unassigned samples were evenly distributed among most haplotypes. To further investigate stock structure in western North Pacific common minke whale Discriminant Analysis of Principal Component (DAPC), Spatial Analysis of Principal Component (sPCA) and parentoffspring (P-O) pairs analyses were conducted using microsatellite data (16 loci). The DAPC analyses at K = 2 clearly showed two clusters with distribution corresponding to the known distribution of J and O stocks. Results of the sPCA analyses were consistent with those of the DAPC analyses. Regarding the P-O pairs analysis, the total number of P-O pairs identified so far is 40 for the O stock and 13 for the J stock. In the case of the O stock, several of the P-O pairs were between coastal and offshore sub-areas while that some of the J stock pairs were between the Sea of Japan and the Pacific side of Japan, which is inconsistent with the specifications of the multi stock hypothesis. In conclusion, the present DAPC, sPCA and P-O pair studies showed no evidence for the existence of additional stocks other than O and J stocks.

## Insights through SNPs: Population genetic study of the blue whale across oceans

Katrin Kiemel Institute of Cetacean Research, Tokyo, Japan

#### **Abstract**

Blue whales (Balaenoptera musculus) have been significantly depleted during the whaling era in the 19th and 20th centuries and therefore are currently listed as endangered species. As a result, the species has attracted considerable scientific attention, investigating population structure using traditional markers, including single mitochondrial genes, the control region, and microsatellites. These studies have revealed pronounced genetic differentiation among ocean regions (i.e., North Pacific, South Pacific, Southern Ocean, and Indian Ocean). This differentiation indicates restricted gene flow between populations of ocean regions and suggests the existence of five subspecies (B. m. musculus, B. m. intermedia, B. m. indica, B. m. brevicauda, B. m. unnamed subspecies: Chilean blue whale). Evidence supporting this suggestion is provided by studies on morphometrics (Clarke et al., 1978, Branch et al., 2007, Pastene et al., 2020), acoustics (McDonald et al., 2006) and genetics (LeDuc et al., 2007, 2016, Torres-Lorez et al., 2014). The shift from traditional markers to high-throughput approaches like single nucleotide polymorphism (SNPs) created a new opportunity to investigate the population structure of blue whales. This study aims to elucidate the population structure of blue whales, both across and within oceans, leveraging the power of SNPs. By utilizing ddRAD data from 314 blue whales across oceans (excluding the Atlantic Ocean), we were able to retrieve 12,131 SNPs in 237 individuals after filtering. Global admixture analysis unveiled three distinct genetic clusters consistent with oceans (i.e., Pacific Ocean, Indian Ocean, Southern Ocean). This finding is supported by  $F_{\rm ST}$  values ranging from 0.048 - 0.119. Additionally, admixture analysis confirmed the occurrence of four pygmy blue whale migrants in the Southern Ocean and nine admixed individuals (pygmy blue whales and Antarctic blue whales) occurring in the IWC management area III. This finding is consistent with previous research by Attard et al. (2012), who identified four migrants and only six admixed individuals using 20 microsatellite loci and the mitochondrial control region. Analysis within oceans indicated no substructure in the Indian and Southern Ocean. This contradicts findings of Attard et al. (2016), who identified three sympatrically occurring populations in the Antarctic Ocean using 20 microsatellite loci. However, structural differences between the Southern and Northern Pacific Ocean were detected (ESP vs. WNP:  $F_{ST} = 0.0289$ , ESP vs. ENP:  $F_{ST} =$ 0.0274), aligning with the proposed subspecies, the Chilean blue whale. Interestingly, an additional putative migrant (SO-ESP) was detected in the ESP, not reported previously. Structure between the western and eastern North Pacific was weak ( $F_{ST} = 0.0037$ ), possibly influenced by the limited sample size in the ENP (n = 6). Within ocean analysis revealed no substructure of pygmy blue whales in the Indian Ocean. While the results of this study are largely consistent with previous surveys based on traditional markers, the detection of additional admixed individuals between the Indian and the Southern Ocean, highlights the importance of IWC management area III. The findings further support the suggestion of the presents of four of the five subspecies. However, testing for the Indian Ocean true blue whale was hindered by a lack of samples, emphasizing the need for further investigation in this region.

# Implementation of laboratory genetic techniques for the studies of large whales at the Institute of Cetacean Research

Luis A. Pastene Institute of Cetacean Research, Tokyo, Japan

#### **Abstract**

Genetic analyses on population structure of large baleen whales started at the Institute of Cetacean Research (ICR) in 1991 based on genetic samples obtained during the whale research program under scientific special permit in the Antarctic. As the ICR did not have its own genetic laboratory, genetic data were obtained in the genetic laboratory of the Ocean Research Institute, University of Tokyo where the author of this presentation was carrying out postdoctoral studies. The same modality of using an external laboratory was used until the ICR constructed its own laboratory in the marine station of Ayukawa in 1994. The genetic technique used initially was Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) of whole mitochondrial DNA (mtDNA). The statistical analyses of RFLP data revealed significant genetic heterogeneity for Antarctic minke whales in the Antarctic feeding ground, and a preliminary population structure hypothesis of this species was proposed based on such data. Polymerase Chain Reaction (PCR) technology was introduced at the Ayukawa genetic laboratory in 1994. Then, the implementation of RFLP of the PCR-amplified mtDNA control region was possible, and that approach was used to examine the population genetic structure of North Pacific Bryde's and common minke whales, where plausible hypotheses were proposed. Direct sequencing of the mtDNA control region was established in the Ayukawa genetic laboratory in 1996 while microsatellite DNA was introduced initially at this laboratory in 1997. Since 2002, two ICR genetic laboratories were used, the original one in Ayukawa was focused mainly on mtDNA sequencing analyses, and the Tokyo laboratory was focused on both mtDNA sequencing and microsatellite DNA analyses. The Ayukawa laboratory was destroyed by the earthquake and tsunami affecting northern Japan in 2011 and since that date, only the Tokyo genetic laboratory has been operating using two main techniques, mtDNA sequencing and microsatellite DNA analyses. Both techniques have been used jointly and extensively until recently to respond questions on population structure (e.g., Antarctic minke whales, Antarctic humpback whales, North Pacific fin, sei, Bryde's, common minke and right whales), phylogeny (e.g., minke whales), and taxonomy (e.g., minke whales, blue whales). From 2023 the technique called Single Nucleotide Polymorphism (SNP) is being developed and implemented at the Tokyo genetic laboratory. Same as the case with genetic laboratory techniques, analytical procedures to analyze genetic data for different purposes have also been evolving steadily in ICR. From 2024 the ICR genetic laboratory moved from the Tokyo office to the Taiji office, which meant that from this year all genetic data based on different techniques, e.g., mtDNA sequencing, microsatellite DNA and SNP will be obtained at this laboratory. This presentation provides information on the implementation of different genetic laboratory techniques by the ICR from 1991 to recent years. The presentation also provides information on the utility of each technique in terms of published outputs.

# Implementation of the DNA registry and overview of population genetics' studies on large whales in Iceland

Christophe Pampoulie Marine and Freshwater Research Institute, Hafnarfjörður, Iceland

#### Abstract

Genetic analysis on population structure on large whales was very limited until 1991when the Marine and Freshwater Research Institute of Iceland created its own genetic laboratory. At that time, the genetic technology implemented for genetic structure of large whales relied on allozyme loci and carbonic anhydrase. While these data were mainly used as a mean of species identification or genetic characterization, some results showed that fin whale was structured in the North Atlantic Ocean with differences observed among Canada, Iceland, and Norway. The analysis on population structure of large whales was then somehow limited, until Iceland rejoined the International Whaling Commission (IWC) in 2002 and started a scientific permit on North Atlantic common minke whale (2003-2007). During this period, the development of Polymerase Chain Reaction (PCR) and the development of microsatellite loci permitted a rapid and cost-efficient analysis of population structure of marine mammals. In the context of the scientific permit, the new laboratory therefore used 16 microsatellite loci and sequencing of the D-loop region of the mitochondrial DNA (mtDNA) to investigate population structure of North Atlantic common minke whale. Both types of genetic markers revealed congruent results, suggesting the absence of genetic structure. Concurrently, three events happened: first, the commercial exploitation of fin whale was conducted as a feasibility operation in 2006 and started officially in 2009; second, the genetic laboratory closed, and genetic studies were moved to Matís ohf. research facilities and third, the ministry requested a full traceability process of whale products including a DNA tissue bank and a DNA registry. The genotyping of microsatellite loci and sequencing of the D-loop of the mtDNA were successfully implemented in the new laboratory in Matís. At that time, genetic analyses were mainly focused on the North Atlantic fin whale, and once again results failed to show any structure across the distribution of the species in the North Atlantic. From 2011 onwards, genetic analysis of fin whale has been focusing on relatedness approaches, which revealed the presence of parentsoffspring pairs from distant oceanic localities. In 2013 and 2018, the genetic protocols in place successfully led to the detection of fin x blue whales hybrids. In 2016, the analyses of population structure of North Atlantic common minke whale were moved to the laboratory of Prof. Ralph Tiedemann at the University of Potsdam, Germany. A larger number of individuals were then genotyped with Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) and these data are still under analysis. Nowadays, the DNA tissue bank and the DNA registry are fully functional for all marine mammals' tissues collected, from stranded to commercially collected animals.

# ABSTRACTS OF THE PRESENTATIONS (ORDER OF THE PROGRAM)

## Day 3 (22 February)

10:00-10:45: Invited lecture: Population genomics of aquatic mammals: lessons from porpoises, whales, and otters (Tiedemann)

10:45-11:00: Discussion

11:00-11:45: Open discussion on possible research collaboration on large whale's genetics (including laboratory techniques)

11:45-13:00: Lunch

13:00-: Excursion

Visit to Taiji Whale Museum, traditional whaling-related facilities and others

18:00-: Official dinner

Steak House Hinoki

1-1-13 Tsukiji, Nachikatsuura Town

16:00-16:15: Discussion

16:15-16:45: Stock structure of fin whales in the North Pacific and adjacent waters inferred from mitochondrial and microsatellite DNA (Taguchi)

16:45-17:00: Discussion

17:00: End

### Day 2 (21 February)

10:00-10:45: Invited lecture: The Norwegian Minke Whale DNA Register (Glover)

10:45-11:00: Discussion

11:00-11:30: Entering the high-throughput era: Development of SNP genotyping techniques at the Institute of Cetacean Research (Kiemel)

11:30-11:45: Discussion

11:45-13:30: Lunch

13:30-14:00: Antarctic feeding grounds as migratory destination of southern right whales from different oceans (Katayama/Kiemel)

14:00-14:15: Discussion

14:15-14:45: Population genetics study of Antarctic minke whales (Pastene/Goto)

14:45-15:00: Discussion

15:00-15:30: Coffee break

15:30-16:00: Population genetics study of southern humpback whales (Goto/Pastene)

16:00-16:15: Discussion

16:15: End

### **PROGRAM**

#### Laboratory activity (18-19 February)

09:00-17:00: A training course for SNP genotyping using Juno and EP1 (Kiemel, Katayama, Sugimoto and Taguchi)

### Orral presentation and free discussion (20-22 February)

Chairperson: Pastene, Taguchi

### Day 1 (20 February)

09:30-09:45: Welcome remarks

09:45-10:30: Invited lecture: Implementation of the DNA registry and overview of population genetics' studies on large whales in Iceland (Pampoulie)

10:30-10:45: Discussion

10:45-11:15: Implementation of laboratory genetic techniques for the studies of large whales at the Institute of Cetacean Research (Pastene)

11:15-11:30: Discussion

11:30-13:00: Lunch

13:00-13:30: Visit to ICR Taiji Office and genetic laboratory (Sugimoto/Katayama)

13:30-14:00: Insights through SNPs: Population genetic study of the blue whale across oceans (Kiemel)

14:00-14:15: Discussion

14:15-14:45: Population genetics study of North Pacific common minke whales (Goto)

14:45-15:00: Discussion

15:00-15:30: Coffee break

15:30-16:00: Population genetic structure of Bryde's whale in the North Pacific feeding grounds (Sugimoto)

## PARTICIPANTS (ALPHABETIC ORDER)

Mutsuo GOTO, Senior Scientist, Institute of Cetacean Research, Tokyo Office, Tokyo, Japan goto@cetacean.jp

Kevin A. GLOVER, Professor, Head of Population Genetics Research Group, Institute of Marine Research, Bergen, Norway kevin.glover@hi.no

Yukitoshi KATAYAMA, Scientist, Institute of Cetacean Research, Taiji Office, Wakayama Prefecture, Japan katayama@cetacean.jp

Katrin KIEMEL, Scientist, Institute of Cetacean Research, Tokyo Office, Tokyo, Japan kiemel@cetacean.jp

Christophe S. PAMPOULIE, Research Director, Marine and Freshwater Research Institute, Hafnarfjörður, Iceland christophe.s.pampoulie@hafogvatn.is

Luis A. PASTENE, Scientific Adviser, Institute of Cetacean Research, Tokyo Office, Tokyo, Japan pastene@cetacean.jp Taro SUGIMOTO, Scientist, Institute of Cetacean Research, Taiji Office, Wakayama Prefecture, Japan sugimoto@cetacean.jp

Mioko TAGUCHI, Team Leader, Institute of Cetacean Research, Tokyo Office, Tokyo, Japan taguchi@cetacean.jp

Ralph TIEDEMANN, Professor, Evolutionary Biology/Syst. Zoology, University of Potsdam, Potsdam, Germany tiedeman@uni-potsdam.de It is expected that this workshop will be the starting point for a series of future international workshops in Taiji dealing with different aspects of whale research relevant for their assessment, conservation, and management.

Dr. Luis A. PASTENE Scientific Advisor Institute of Cetacean Research Co-Chair Dr. Mioko TAGUCHI Team Leader Institute of Cetacean Research Co-Chair

### **FOREWORDS**

Sound policies on conservation and management require information on the number and spatial and temporal distribution of stocks within a species. This is because different stocks of the same species could have different demographic characteristics and therefore, they could respond in different ways to environmental stressors.

This principle has been recognized by the Institute of Cetacean Research (ICR) since its foundation in 1987. The ICR started genetic studies for stock identification of the Antarctic minke whale in 1991. Subsequently the institute extended this type of study to other species of baleen whales. From the point of view of assessment and management, effort has been made by the ICR to interpret abundance estimates of baleen whale species derived from dedicated sighting surveys both in the Antarctic and North Pacific in the context of the information on stock structure of those species.

Laboratory genetic techniques as well as the analytical tools to analyze genetic data have progressed very quickly in recent years. Given this rapid development, there is a need to share experiences in applying those techniques and procedures among laboratories of different countries carrying out population genetic analyses for the conservation and management of large whales. This was the main motivation for organizing this international workshop with colleagues from Germany, Iceland, Japan, and Norway.

Consequently, the workshop had two main objectives:

- 1. To interchange information on genetic techniques -laboratory and analytical- used on large whale's stock structure studies in institutes in Germany, Iceland, Norway, and Japan.
- 2. To identify future collaborative research topics on population genetic structure of baleen whales.

The first objective was implemented through the following activities: i) training of ICR scientists in the use of the Single Nucleotide Polymorphism (SNP) technique by an experienced German scientist; ii) visit and advices from experienced foreign scientists on the recently established ICR, Taiji office, which is part of the newly International Cetacean Center (ICC) constructed in Taiji, Wakayama, including the genetic laboratory; and iii) oral presentations on population genetic studies on whales conducted in Germany, Iceland, Norway and Japan. The oral presentations dealt with the use of genetic laboratory and analytical techniques used for studies on taxonomy, population structure and forensic of baleen whales in those countries.

The second objective was addressed by a session carried out after the oral presentations, which was aimed to identify common topics of interest among countries in the study of population genetics of baleen whales. Both the summaries of the oral presentations and the discussions on topics for future collaborations are presented in these proceedings.

Activities i) and ii) above were carried out at the ICR Taiji office. As the construction work of the ICC was not entirely completed by the time of the workshop, activity iii) and the discussions on future research collaborations were carried out at the Taiji Whale Museum.

### Geiken-sosho No.17

## INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE USE OF GENETIC DATA FOR WHALES' STOCK IDENTIFICATION PURPOSES

Taiji, 18-22 February 2024

Institute of Cetacean Research

International Workshop on the Use of Genetic Data for Whales' Stock Identification Purposes
Taiji, 18-22 February 2024

ISSN: 2758-4038

Copyright © 2024, The Institute of Cetacean Research (ICR).

Editorial correspondence should be sent to:

Editor, Geiken-Sosho

The Institute of Cetacean Research,

4-5 Toyomi-cho, Chuo-ku, Tokyo 104-0055, Japan

Phone: +81 (3) 3536 6521 Fax: +81 (3) 3536 6522

E-mail: webmaster@icrwhale.org

Geiken-sosho is available online at https://www.icrwhale.org/sousyo.html (in Japanese)



Geiken-sosho No.17

## INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE USE OF GENETIC DATA FOR WHALES' STOCK IDENTIFICATION PURPOSES

Taiji, 18-22 February 2024



国際鯨類施設(The International Cetacean Center)

Institute of Cetacean Research