

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02499

研究課題名(和文) 貝殻に住む矮小シクリッドが平行進化した遺伝機構の解明

研究課題名(英文) Genetic mechanism of parallel evolution in a shell brooding dwarf cichlid

研究代表者

高橋 鉄美 (Takahashi, Tetsumi)

兵庫県立大学・自然・環境科学研究所・教授

研究者番号：70432359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：タンガニカ湖に固有なシクリッドである *Telmatochromis temporalis* には、岩場に生息する普通型と、巻貝の空き殻が敷き詰められたシェルベッドに生息する矮小型が生息する。矮小型は、湖沿岸に広く分布する普通型から、2カ所で平行して進化したことが分かっている。本研究は、この平行進化の分子機構を解明することを目的とした。研究期間に、普通型と矮小型を交雑してF2世代を作成し、QTL解析を行った。その結果、少なくとも4遺伝子座が体サイズと関係することが示された。また、本種に第三の生態型である瘦身型の素性を調べるため形態と分子の解析を行、本型が他の型や種とは異なることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

*Telmatochromis temporalis* の普通型と矮小型は、体サイズを介した生態的種分化の例である。また両型の体サイズは分断自然選択と生殖隔離の両方と関係することから、マジックトレイトと考えられる。両型は遺伝的に近いことから、種分化の途上にあると考えられる。このことから、多様な生物を創出したメカニズムの一つと考えられる生態的種分化の詳細を調べるのに適した材料であり、本研究でその遺伝的基盤を探索したことは、進化生物学的にも意義がある。昨今、高校でも進化について深く学ぶようになってきた。代表者は積極的に本成果を高校生や一般の方にセミナーで話しており、本研究の社会的意義は高いと考える。

研究成果の概要(英文)：The endemic cichlid species to Lake Tanganyika, *Telmatochromis temporalis*, consists normal morph, which inhabits rocky bottom, and dwarf morph, which inhabits shell-bed. The dwarf morph evolved from the normal morph in parallel at two localities. This study aimed to reveal molecular mechanism of the parallel evolution. During study period, we produced F2 individuals from a cross family between the normal and dwarf morphs, and conducted a QTL analysis. As a result, we found at least four loci that associate with difference in body size between the morphs. Further, we conducted morphological and molecular analyses for the third morph "slender morph", and revealed that this morph is different from the other morphs of *T. temporalis* or the other species.

研究分野：魚類学

キーワード：古代湖 シクリッド 平行進化 適応放散 国際協力

## 1. 研究開始当初の背景

アフリカ大地溝帯のタンガニカ湖には約250種ものシクリッド科魚類が生息し、ほとんどが湖に固有であることから、湖内で爆発的に種分化したと考えられる。また、これらは形態や生態が極めて多様であることから、生物多様性の進化を説明するモデルとして、世界的に注目されている。この多様性を解明する研究は、これまで主に形態と生態の関係に注目して行われてきた。しかし、体サイズの進化はほとんど注目されてこなかった。

タンガニカ湖に固有な *Telmatochromis temporalis* は藻類食者で、移動分散が少ないため、地理的に緩やかな遺伝構造を形成する。この種には、沿岸の岩場に生息して岩の隙間に隠れる普通型(最大体長8cm)と、岩場に隣接するシェルベッド(巻貝の空き殻が敷き詰められた、タンガニカ湖特有の底質)に生息して貝殻に隠れる矮小型(同4cm)が存在する。両型の体サイズの違いは、コモンガーデン実験により遺伝的であることが示されている。また野外実験などにより、シェルベッドでは貝殻を隠れ場所や産卵場所に利用できる小さな体サイズが、より適応的であることが示されている。さらに、分子系統や地理的分布などから、ザンビア沿岸の2ヶ所のシェルベッドに生息する矮小型が、それぞれ近くの岩場に生息する普通型から別々に、並行して進化したことが示されている。

矮小型が平行進化した要因として、祖先的である普通型に遺伝的多型が維持されており(SGV: standing genetic variation)、シェルベッドに進出した際に自然選択が働いて、小さな体サイズを発現するアレル(矮小アレル)に固定した可能性が高いと考えられる。

また、当時は本種に二型しか知られていなかったが、さらに別の型(瘦身型)の存在が示唆されていた。しかし、その詳細については知られていない。瘦身型の存在は、本種が矮小型だけでなく、SGVを利用して底質によって様々に進化した可能性を示している。

## 2. 研究の目的

矮小型が平行進化した要因を探るため、体サイズの遺伝的基盤を調べる。また瘦身型について、その素性を形態学的、遺伝学的に明らかとする。

## 3. 研究の方法

普通型と矮小型の体サイズの違いの遺伝的基盤を探るため、量的形質遺伝子座(QTL)解析を行った。QTL解析では、二型を交雑したF2世代の表現型のバラツキを利用する。このため、普通型オスと矮小型メスを現地で採集し、交配させた。両者は体サイズの違いが大きいため交配が困難であったが、現地で複数ペアを水槽に入れて飼育したところ、1ペアのみで交配に成功した。このペアを日本の実験室に持ち帰ってF2世代を作出し、成熟するまでオスで16ヶ月、メスで13ヶ月の間飼育した。その結果、F2オスを100個体、F2メスを106個体得ることができた。親世代の2個体とF2世代の206個体から double digested restriction site associated DNA (ddRAD) sequencing によってDNAの変異データを取得し、連鎖地図を作成してQTL解析を行った。

瘦身型については、タンガニカ湖のザンビア沿岸にあるカセンガ村において、採集を行った。この地点では、普通型が浅い岩場に生息しており、瘦身型は深い岩混じりの砂底に生息することが知られている。瘦身型の素性を調べるため、近縁の種や同種の別個体群も含めて解析した。解析に用いた個体数は、*T. temporalis* 瘦身型が1地点から51(形態解析)と62(分子解析)個体、普通型が10地点から277と304個体、矮小型が3地点から93と97個体、*T. brachygnathus* が3地点から49と64個体、そして *T. dhonti* が1地点から20と20個体である。形態解析では、各個体から13の計測形質と10の計数形質を測定し、それぞれ多変量共分散分析と多変量分散分析を用いて、瘦身型と他の個体群の違いを解析した。分子解析では、ミトコンドリアDNAのcytb領域の配列(580bp)を決定し、RAxMLを用いた最尤系統樹の推定と、Arlequinを用いた集団間の違い( $\Phi_{st}$ )の推定をした。

## 4. 研究成果

QTL解析に先駆けて、F0世代2個体とF2世代206個体のddRAD sequencingを行い、708 SNPsから22連鎖群を得た。これらのSNPsに由来するシーケンスをNCBIのデータベースで検索したところ、全ての連鎖群が既知のナイルティラピア(*Oreochromis niloticus*)の22連鎖群に相当

することが明らかとなり、得られた連鎖群の信頼性が高いことが示された。さらに、この連鎖群上で体サイズと連鎖する SNPs を調べたところ (QTL 解析)、第 7 連鎖群上に有意なシグナルが、また第 2、6、8、12、20 連鎖群上にサジェスティブなシグナルが検出された。これらの遺伝子座において、遺伝子型と体サイズの関係を調べたところ、第 2、6、7、20 連鎖群上の 4 遺伝子座において、普通型アレルのホモで体サイズが大きく、矮小型アレルのホモで体サイズが小さかった。よって、これらが普通型と矮小型の体サイズの違いと関係すると推測された。本研究成果は、BMC Genomics 誌から出版された。今後は、association study などを用いて更なる遺伝領域の絞り込みを行い、最終的には遺伝子を特定することを考えている。

瘦身型の形態解析では、計測形質と計数形質の両方で、調査した全ての個体群と有意な違いが見られた。しかし、側所的に生息する普通型を含めた多くの個体群と、形態の分布が大きく重なった。ミトコンドリアの系統解析では、全体で大きく 4 つのクレードがあること、瘦身型、及び側所的に生息する普通型はそのうちの 2 つのクレードを持つことが分かった。しかしその頻度は異なり、 $\Phi_{st}$  を用いた集団解析において、瘦身型は側所的に生息する普通型と最も遺伝的に近いが、有意に異なることが示された。これらのことから、瘦身型は他の集団とは異なる集団であること、しかし形態やミトコンドリアのシーケンスデータから、瘦身型を同定することは難しいことが明らかとなった。このことから、瘦身型を種として記載するよりも、*Telmatochromis temporalis* の第三の生態型とするのが適当と考えられた。この成果は、Hydrobiologia 誌から出版された。今後は、瘦身型がどのような環境に適しており、なぜ側所的に生息する普通型と生殖隔離をしているのか、さらにはどのような遺伝子が SGV と関連するのかを調べる予定である。

また本研究は、タンガニカ湖シクリッドの適応放散を解明しようとする大きな研究の一部である。このため、本魚類を用いた性決定遺伝子座の特定、托卵ナマズに托卵される種の特定、口内保育による卵仔魚保護の効率の推定、体色の進化に関する研究など、さまざまな成果も同時に挙げた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahashi Tetsumi, Nagano Atsushi J., Kawaguchi Lina, Onikura Norio, Nakajima Jun, Miyake Takuya, Suzuki Noriyasu, Kanoh Yoshihiko, Tsuruta Tetsuya, Tanimoto Takuya, Yasui Yukio, Oshima Noriyuki, Kawamura Kouichi	4. 巻 21
2. 論文標題 A ddRAD-based population genetics and phylogenetics of an endangered freshwater fish from Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Conservation Genetics	6. 最初と最後の頁 641 ~ 652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10592-020-01275-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Tetsumi, Koblmuller Stephan	4. 巻 96
2. 論文標題 Brood parasitism of an open water spawning cichlid by the cuckoo catfish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Fish Biology	6. 最初と最後の頁 1538 ~ 1542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jfb.14350	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Takahashi Tetsumi	4. 巻 832
2. 論文標題 Colour variation of a shell-brooding cichlid fish from Lake Tanganyika	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hydrobiologia	6. 最初と最後の頁 193 ~ 200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10750-018-3717-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Tetsumi	4. 巻 65
2. 論文標題 Function of nuchal humps of a cichlid fish from Lake Tanganyika: inferences from morphological data	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ichthyological Research	6. 最初と最後の頁 316 ~ 323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10228-018-0614-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Tetsumi	4. 巻 848
2. 論文標題 A new morph of <i>Telmatochromis temporalis</i> (Cichlidae; Cichliformes) from Lake Tanganyika	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hydrobiologia	6. 最初と最後の頁 3655 ~ 3665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10750-020-04433-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Tetsumi	4. 巻 99
2. 論文標題 A new linkage group involved in sex determination in haplotilapiine cichlids	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Fish Biology	6. 最初と最後の頁 1765 ~ 1768
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jfb.14869	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Tetsumi, Nagano Atsushi J., Sota Teiji	4. 巻 22
2. 論文標題 Mapping of quantitative trait loci underlying a magic trait in ongoing ecological speciation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 615
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-021-07908-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計2件

1. 著者名 一般社団法人日本魚類学会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 756
3. 書名 魚類学の百科事典	

1. 著者名 一般社団法人日本魚類学会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 756
3. 書名 魚類学の百科事典	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	曾田 貞滋  (Sota Teiji)  (00192625)	京都大学・理学研究科・教授    (14301)	
研究分担者	渡邊 正勝  (Watanabe Masakatsu)  (90323807)	大阪大学・生命機能研究科・准教授    (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
ザンビア	Department of Fisheries		