#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号: 32607 研究種目: 若手研究 研究期間: 2019~2023

課題番号: 19K16217

研究課題名(和文)海水魚類の種分化過程における生殖隔離の進化に生理・生態・行動からせまる

研究課題名(英文)Ecological, physiological, and behavioral aspects of marine fish speciation

## 研究代表者

武藤 望生(Muto, Nozomu)

北里大学・海洋生命科学部・講師

研究者番号:50724267

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文): 本研究はメバル属魚類を例として,海水魚における種分化がどのような生殖隔離機構に基礎づけられているか明らかにすることを目的とした.互いに近縁で種間交雑が高頻度におきている種間では,生態的な差異(生息水深の分離)が生殖隔離に寄与していると考えられた.一方,より遠縁の種間には遺伝的な不知合性が進化していることもわかった.さらに,種分化の過程での交雑が新たな集団(種)の形成につな がっていた可能性も示唆された.

研究成果の学術的意義や社会的意義 本研究は、海水魚の生物多様性が創出・維持されるしくみの一端を解明した.とりわけ、近縁種間の種の境界 が生態的差異によって維持されているとの結果は,人為的要因による気候変動が海洋生物の生息環境を大きく改変しつつある中で重要な意味をもつ.環境の改変が種の多様性の喪失にもつながりうることを示唆するからであ る.

研究成果の概要(英文): We aimed to elucidate isolating mechanisms underlying marine fish speciation by using the genus Sebastes as a model. We demonstrated that bathymetric habitat segregation contributes to the incomplete isolation between two closely related Sebastes species. We also observed genetic incompatibility between more distantly related species, suggesting that various isolating mechanisms operate at different points along this genus's speciation continuum. Finally, our results suggest that hybridization has played a significant role in the diversification of the group, possibly leading to the formation of distinct species.

研究分野: 魚類の多様性科学

キーワード: 生殖隔離 種分化 ゲノム 耳石 安定同位体

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

# 1.研究開始当初の背景

生物の集団間に生理・生態・行動の違いなどの要因にもとづく生殖隔離が成立することにより、新種が誕生する.この種分化過程で,どの要因がどれくらい生殖隔離に寄与するか?それらの要因を進化させるものはなにか?こうした問いを追究する研究が様々な生物群で行われ,生物学の重要課題である「種はいかにして分化するか」に対する一定の回答を提示してきた.しかし,海洋生物を対象とした研究は淡水や陸上の生物と比較して少なく,多様な環境下で種分化がどのようにしておきるかについての総論的な理解をさまたげている(Faria et al. 2021).

#### 2.研究の目的

本研究はメバル属魚類をモデルとして,海水魚では種間にどのような生殖隔離機構がはたらくことで種分化がおきるのか明らかにすることを目的とする.とりわけ,交雑が頻繁に観察される近縁種キツネメバルとタヌキメバル(以下キツネメバル種群と総称)の関係に着目する.これら二種間の生理・生態・行動的差異を調査することによって,どのような生殖隔離機構が種分化の初期段階を駆動しているかを推定する.さらに,これら二種よりも遠縁の関係にあるメバル属魚類クロソイとシマゾイの関係も補助的に調査することで,種分化の最終段階から完了後にかけてはどのような生殖隔離機構が種の境界を維持しているかを推定する.

#### 3.研究の方法

#### 【キツネメバル種群】

キツネメバル種群の標本計 186 個体を,本州中部日本海沿岸,北海道日本海沿岸,本州北部太平洋沿岸の3地点から採集した.これらの標本から遺伝解析用の組織片ならびに耳石を採取し,体長・体重・生殖腺重量を測定した.

組織片から粗 DNA を抽出し, double digest RAD-seq に供した.これにより取得した塩基配列データを用いて,ゲノム全体から約2,000か所の一塩基多型(SNPs)情報を取得した.このSNPs情報をもちいて主成分分析とSTRUCTURE分析を実施した.

生殖腺重量と体重から生殖腺体指数 (GSI)を算出し、その季節変動から種ごとに繁殖周期を推定した.耳石は薄片標本化し、輪紋の計数により各標本の年齢を推定した.また、本州中部日本海沿岸から採集したキツネメバルとタヌキメバルの雌それぞれ5個体ずつの耳石薄片標本は、各年齢帯を2ないし3層に分割して、層ごとにマイクロドリリングによって粉末試料を作成した.各層の粉末試料を酸素同位体比(δO)分析に供することにより、δOの時系列データを取得した.

# 【クロソイとシマゾイ】

天然のシマゾイ雄とクロソイ雌を人工交配し、F1 雑種家系を作出した.F1 雑種の雌とクロソイ雄、F1 雑種の雌とシマゾイ雄をそれぞれ人工交配し、2 方向の戻し交配家系を作出した(以下それぞれ BC\_Ssc 、BC\_Str と表記).BC\_Ssc と BC\_Str それぞれ,誕生直後に 48 個体,誕生から約一年後に 96 個体をサンプリングした.これらのサンプルの DNA を抽出し,double digest RAD-seq に供した.これにより取得した塩基配列データを用いて,ゲノム全体から SNPs 情報を取得した.この SNPs 情報をもちいて,サンプル集団ごとに 1)各 SNP における分離比の歪

み,および2)物理的に連鎖していない任意の2SNPs間の遺伝子型頻度の相関,を調査した.

# 4. 研究成果

# 【キツネメバル種群】

主成分分析により標本はおおきく 3 つのクラスターに分離した.また,これらのクラスターの中間にプロットされる標本も認められた.3クラスターのうち2つは,標本の体色からキツネメバルとタヌキメバルにそれぞれ同定された.残るクラスターの標本はキツネメバルとタヌキメバルの中間的な体色を示した(以下中間集団と称する).STRUCTURE分析では2つの繁殖集団がみとめられ、主成分分析によりみとめられたキツネメバルとタヌキメバルに一致した.一方,2つの繁殖集団の遺伝的要素を併せもつ標本もみとめられ、それらは主成分分析でみとめられた中間集団に属する標本であった.各採集地におけるキツネメバル,タヌキメバル,中間集団の分布は次の通りであり,3者の分布は部分的に重複した本州中部日本海沿岸:キツネメバル・タヌキメバル;本州北部太平洋沿岸:3集団すべて;北海道日本海沿岸:中間集団.以上より,当初の想定に反してキツネメバル種群には遺伝的に区別可能な3種が含まれることがあきらかになった.さらに、そのうち1種はキツネメバルとタヌキメバルの交雑に由来すると推測された.GSIの季節変動パターンはキツネメバルとタヌキメバルの間で明瞭に異なっておらず、これら2種間の生殖隔離は繁殖期の分離では説明できないと考えられた.

耳石 δO は 4 歳付近まではいずれの種でも大きく変動した.また,平均的にはタヌキメバルがキツネメバルより大きい値を示す傾向があったものの,種間で大きく重複した.4 歳付近から7歳付近にかけては両種ともにδO が増加していく傾向が認められた.増加の割合はタヌキメバルの方が大きく,7歳付近までに両種のδO は重複しないほど明瞭な差異があらわれ,7歳以降この差異は維持された.先行研究から,キツネメバル複合種群は4歳付近で成熟を開始する個体が現れはじめ,7歳から9歳にかけて多くの個体が成熟することが明らかにされている(飯塚,1994;後藤・高梨,2020).以上の結果は,両種ともに生活史の初期には水温変動の著しい浅海域に生息するが,生活史の進行にともなって深所に移動すること,ならびに成熟後はそれぞれ異なる水深帯に分布することを示唆する.両種の生殖隔離は,このような生息水深帯の分離によるものと推測される.

# 【クロソイとシマゾイ】

家系(BC\_Ssc vs. BC\_Str)ごと,サンプリングのタイミングが異なる集団(誕生直後 vs. 誕生から一年後)ごとに,分離比歪みを示す遺伝子座が多数認められたものの,複数の集団に共通して分離比の歪みを示す遺伝子座は少なかった.このことは,両種間には非対称かつ発育段階特異的にはたらく遺伝的不和合性が進化していることを示唆する.本研究の成果は Muto et al. (2023)として発表した.

# 【引用文献】

Faria R, et al. 2021. Speciation in marine environments: Diving under the surface. *Journal of Evolutionary Biology* 34: 4–15.

後藤友明・高梨愛梨 . 2020 . 三陸沿岸におけるタヌキメバル Sebastes zonatus の年齢 , 成長および成熟特性 . 水産海洋研究, 84:104-108 .

飯塚景記 .1994 .キツネメバル .日本の稀少な野生水生生物に関する基礎資料(I) .水産庁 ,東京 , pp. 251-261.

Muto N, et al, 2023. Genetic architectures of postmating isolation and morphology of two highly diverged rockfishes (genus *Sebastes*). *Journal of Heredity* 114: 231–245.

# 5 . 主な発表論文等

「雑誌論文】 計2件(うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件)

1 . 著者名	4 . 巻
Muto Nozomu, Kawasaki Takuma, Kakioka Ryo, Nagano Atsushi J, Shimizu Yuta, Inose Shu, Shimizu	114
Yohei, Takahashi Hiroshi	
2.論文標題	5.発行年
Genetic architectures of postmating isolation and morphology of two highly diverged rockfishes	2023年
(genus <i>Sebastes</i> )	
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Journal of Heredity	231 ~ 245
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1093/jhered/esad007	有
オープンアクセス	国際共著
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	-

1.著者名	4.巻
Muto Nozomu、Kai Yoshiaki	138
2.論文標題 Allopatric origin, secondary contact and subsequent isolation of sympatric rockfishes (Sebastidae: <i>Sebastes</i> ) in the north-western Pacific	5 . 発行年 2023年
3.雑誌名 Biological Journal of the Linnean Society	6.最初と最後の頁 37~50
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolinnean/blac135	査読の有無   有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著

# 〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 1件/うち国際学会 2件)

1.発表者名

武藤望生,甲斐嘉晃

2 . 発表標題

ヤナギノマイとガヤモドキは地理的隔離と二次的接触を経て分化した

- 3 . 学会等名 日本魚類学会年会
- 4 . 発表年 2022年
- 1.発表者名

武藤望生,柿岡諒,永野惇,坪井健人,清水 祐大,猪瀬周,清水洋平,川崎琢真,高橋洋

2 . 発表標題

メバル属魚類の接合後隔離と形態分化にかかわる遺伝領域の探索

3 . 学会等名

2021 年度 日本魚類学会年会

4.発表年

2021年

1.発表者名 Nozomu Muto, Takeshi Moritani
2
2 . 発表標題 GENETIC AND ENVIRONMENTAL SEX DETERMINATION IN A ROCKFISH Sebastes vulpes A PRELIMINARY REPORT
a. W.A.Mr.
3 . 学会等名 7th International Conference for Fisheries and Aquatic Sciences(国際学会)
4 . 発表年 2023年
1.発表者名
Nozomu Muto
2 . 発表標題 Cause and consequence of hybridization in marine fishes: cases of two species complex in the western Pacific
3.学会等名
Guest Lecture Program of Universitas Brawijaya(招待講演)(国際学会)
4 . 発表年 2024年
〔図書〕 計0件
〔產業財産権〕
〔その他〕
- 6.研究組織
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) (機関番号) (機関番号)

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