

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2014

課題番号：23570109

研究課題名(和文) 爆発的種分化した隠蔽種：幼形進化的シラスウオ科魚類の多様化プロセスの解明

研究課題名(英文) Global patterns of diversification in the evolutionary history of the paedomorphic fish *Schindleria* (Gobioidei, Schindleriidae)

研究代表者

昆 健志 (KON, Takeshi)

東邦大学・理学部・訪問研究員

研究者番号：10401192

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：インド-太平洋のサンゴ礁域に広く分布するハゼ亜目シラスウオ類は、幼形進化的な小さな脊椎動物(体長20mm, 重さ2mg以下)であり、最も早熟でもある(最短成熟齢23日)。これらの多様化プロセスを明らかにするために、ハゼ亜目を網羅したスーパーマトリクス法による500種近くの大規模系統解析、分岐年代推定および多様化速度とハビタットの變遷の推定をおこなった。これらの結果から、シラスウオ類は3000万年前頃に海で遊泳性のタンザクハゼ類と分岐したと考えられた。多様化速度の変化は他のハゼ類と比較して急激な上昇などは検出されず、分岐が古いことからハゼ類全体の多様化速度と同程度であることが推定された。

研究成果の概要(英文)：The extremely paedomorphic fish *Schindleria* (Gobioidei, Schindleriidae) includes one of the smallest and youngest reproducing vertebrates and is broadly distributed in the Indo-Pacific Oceans inhabiting coral reef lagoons. This study aimed to elucidate the evolutionary process of this tiny fish, by applying whole mitochondrial DNA (mtDNA) and three nuclear DNA genes sequencing, supermatrix analysis, divergence time and speciation rate estimations, and its ancestral habitat reconstruction. My results suggested that *Schindleria* was diverged from *Oxymetopon* at 30 Mya. Phylorate plots for speciation using the gobioid phylogeny showed that the speciation rate of *Schindleria* was not higher acceleration than the mean rate of all gobioids.

研究分野：海洋生物学

キーワード：ハゼ亜目 魚類 隠蔽種 多様性 種分化 分子系統 スーパーマトリクス法

1. 研究開始当初の背景

地球上の生物多様性の形成プロセスを理解することは、進化生物学の最大の問題の一つであるばかりでなく、合理的な自然保全・管理を考える上での重要な基礎となる。近年、分子系統解析の発展と普及によって、幅広い動物分類群に多くの隠蔽種(形態的に判別の出来ない種)の存在が知られるようになった。これらは生物多様性に見積りに大きな影響を与えると予測されている。隠蔽種が多く含まれるグループの代表として、研究代表者らが日本産およびパラオ産から25種もの隠蔽種を発見した小型で幼形進化的なシラスウオ属魚類があげられる。このような分類群は熱帯・亜熱帯域を中心に数多く知られ、多数の隠蔽種を含んでいる可能性が高く、特にこの地域における生物多様性と進化を理解する上で無視できない存在であると言える。

ハゼ亜目シラスウオ類は、成魚でも外部形態が仔魚に似る幼形進化的な最小クラスの脊椎動物(体長6-20mm, 重さ2mg以下)である。これらはインド-太平洋の熱帯・亜熱帯域に広く分布し、一生をサンゴ礁池で過ごし優占的である。研究代表者を中心とした研究グループは、このグループの生物学的研究を十年來に渡り継続し、現在までに(1)最も早熟な脊椎動物である(最短成熟齢23日, 世代交代10回/年), (2)隠蔽種数が非常に多い(西太平洋で25種以上)ということをも明らかにしている。

冒頭に述べた生物多様性の形成プロセスを理解するという研究課題を達成するには、充実した(1)系統木の獲得と(2)それに基づく系統分岐の歴史的パターン解析が不可欠である。研究代表者らは、(1)の系統解析に有用なミトゲノム全塩基配列(約1万7000塩基対)を用いて解析を進めてきたが、シラスウオ類には大規模な遺伝子の配置変動などが一部にみられたため、(2)のパターン解析において必要不可欠な対象分類群全種を網羅したデータを得るには、従来のNested PCR法では多くの種特異的なプライマーを設計するなどの多大な時間とコストが壁となっていた。しかし、2010年、従来よりも速度とコストを大幅に向上させたパイロシーケンシング法による次世代型シーケンサーのコンパクト機が商品化されたことで、研究代表者らにその壁を乗り越える機会が到来した。それに先立ち2007年には多くの種のミトゲノム全塩基配列を同時に決定することを可能とする並列タグシーケンス法(PTS法)が開発されていたことから、現在、これらの新解析技術「超並列塩基配列解析」を本課題へと効果的に導入できる環境が整う状況となった。実際、海棲哺乳類のシャチでは143個体のミトゲノム全塩基配列が並列に決定され、部分塩基配列では見出されなかった隠蔽種が発見という感度の高い成果が生まれている。

以上のことから、研究代表者は、研究実績があり、サンゴ礁域で優占的かつ隠蔽種が顕著に多いシラスウオ類に焦点をあて、新技術を利用してミトゲノム全塩基配列による高密度な分子系統解析とそれに基づく分岐パターンの数理的な解析を実施すれば、本分類群の多様化プロセスの解明のみならず、特にサンゴ礁生態系における生物多様性の再評価やその形成プロセスの理解に貢献できる研究になると着想した。

2. 研究の目的

上述の背景を踏まえて、シラスウオ類の全世界的な多様性とそのプロセスを明らかにするために、日本沿岸や太平洋に続いてインド洋にも調査地域を拡大し、それらがハゼ亜目全体の中でいつ・どのように多様化したかをミトコンドリアゲノム(ミトゲノム)と核ゲノムの塩基配列を用いた系統解析、それに基づく分岐年代推定および多様化パターン解析によって解明することを目指した。

3. 研究の方法

本課題は現在までに構築してきた人的ネットワークによる研究協力を得て、(1)データのないインド洋産標本を収集して分布域全域をカバーする、(2)ミトゲノム全塩基配列と核ゲノムを併用した系統解析とシラスウオ属種間の交雑の検出、(3)進化速度の変異の影響を少なくした分岐年代推定および(4)分岐パターンの数理的解析と進め、DNAデータバンクの大量登録データを活用・統合したハゼ亜目全体での解析との比較を行うことにより、成果の公表を目指す。各作業の詳細は以下の通りである。

(1) 標本の収集

太平洋およびインド洋の採集地点を選定し、協力者との綿密な相談を経て、現地天候が安定する時期を選び実施した。海外での夜間採集は治安上危険が伴うので、特に安全が確認されている場所で採集した。採集地点は、マーシャル諸島マジュロ、グアム、ニューカレドニア(以上太平洋)、プーケット、モーリシャス、ドバイ(以上インド洋)である。紅海のエジプトも計画していたが、政情不安のため断念し、インド洋のモルジブに関しては期間内に採集許可書が得られずに断念した。標本は形態観察後にDNA実験に用いた。

(2) 網羅的分子系統解析および多様化パターン解析

① ハゼ亜目の主要な系統を網羅した標本群に基づき、シラスウオ属を含むハゼ亜目125種(+外群2種)を用いた系統解析

を最尤法とベイズ法によって進めた。解析した 125 種のうち、97 種はミトコンドリア DNA の全長塩基配列 (14,743bp) と 3 つの核遺伝子 (*rag1*, *gpr85*, および *zic1*) の部分塩基配列 (計 3,297bp) を用い、他 28 種はミトコンドリア DNA 全長配列の登録データのみを使用した。

- ② 多数の部分塩基配列登録データをスーパーマトリクス法により統合して、ハゼ類全体の 1/4 に及ぶ 500 種近くを網羅した大規模な系統樹を作成した。
- ③ 化石情報などを年代較正に用いた分岐年代推定をプログラム mcmctre (PamlX version 1.1) を用いておこない、時間軸付き系統樹を構築した。
- ④ この時間軸付き系統樹上における多様化率の変遷をベイズ法で推定した。プログラムは BAMM (Bayesian Analysis of Macroevolutionary Mixtures) version 2.1.0. を用いて、その際にはサンプリングの偏りの補正もおこなった。ハビタットの変遷については、プログラム Mesquite version 3.0 を用いて推定し、ハゼ亜目魚類の中でシラスウオ類はどのようなハビタットの変化をしつつ多様化したのかを推定した。

4. 研究成果

(1) シラスウオの多様性

研究期間中にマーシャル諸島マジュロ、グアム、ニューカレドニア (以上太平洋)、モーリシャス (以上インド洋) で採集に成功し、1000 個体以上の標本を得ることができた。また、ガラパゴス諸島で採集された個体の塩基配列も研究協力者より入手することができた。非常に多くの個体を得られたことで、標本の観察は継続中であるが、地域固有性が高い傾向があると同時に、ミトゲノムおよび核ゲノム解析においても沖縄からガラパゴスまで広範囲に生息する種の存在も示唆された。また、シラスウオ類における種間における交雑も確認できなかった。

(2) 系統関係および多様化プロセス

上述の解析方法による結果を総合すると、65Mya 前後 (6500 万年前、新生代と中生代の境界付近) におけるツバサハゼ科+ドンコ科クレードとその他のハゼ亜目魚類の分岐が最も古く (ハゼ亜目系統の根元)、初期のハゼ亜目は汽水性であった可能性が示唆された。ゴビオネルス科とハゼ科+スナハゼ科は 55Mya 前後に分岐し、初期のハゼ科も汽水性であった可能性が高かった。また、気候が温暖だった 50Mya 前後には、ハゼ科において海を中心とした生活への移行と多様化が始まったことが推定された。

その中でシラスウオ類は 30Mya 頃に海洋で遊泳性のタンザクハゼ類と分岐したと考

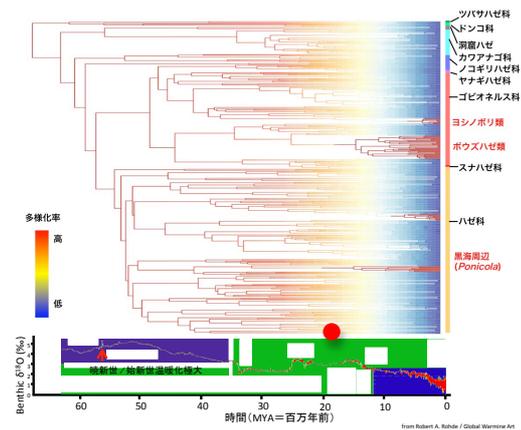


図. ハゼ亜目系統樹に多様化率の変遷を示す。赤色の枝だが高多様化率を示す。赤丸はシラスウオ類の分岐が始まった時期 (約 1800 万年前)。その後の多様化の率の上昇は見られない。図の下部のグラフは気温の高さ (海水準) を示す。赤丸の時期は温暖で海水準が高かったと考えられる。

えられた。シラスウオ類が爆発的に種分化したかどうかを判断する指標となる多様化率の変化は、他の多くのハゼ類と比較しても、その後の急激な上昇などは見られなかった (図を参照)。多様化率の上昇が見られたのは、ゴビオネルス科のヨシノボリ類やボウズハゼ類、ハゼ科のコバンハゼ類、黒海周辺の *Ponticola* であった。

シラスウオ類は、種間で形態の変異が少ないことから、種分化してから間もないことも考えられた。しかしながら、本研究の結果、姉妹群との分化が 30Mya と比較的早く、多様性が高いハゼ類において、長い間、形態に変化があまり生まれなかったことが示唆された。また、現生のシラスウオ類の多様化は 18Mya の温暖で浅海域が広がっていた時期と推定された。

今後は、他の分類群との比較や、未精査であるシラスウオ類の形態観察を進めることにより研究成果の精度を高めて、論文およびウェブページにより成果を公表する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 12 件)

- ① 昆健志. ハゼ亜目魚類における両側回遊の進化とプロセス. 2014 年度日本魚類学会年会シンポジウム (2014 年 11 月 17 日). 神奈川県立生命の星・地球博物館 (神奈川県小田原市).
- ② 昆健志, 佐土哲也, Lukas Ruber, 佐藤崇, 吉野哲夫, 西田睦, 宮正樹. ハゼ亜目魚類多様化プロセスの概要. 2014 年度日本魚類学会年会 (2014 年 11

月 16 日) 神奈川県立生命の星・地球博物館 (神奈川県小田原市)。

- ③ 昆 健志, ハゼ亜目魚類における両側回遊の進化と多様化プロセス. 平成 26 年度ゴリ研究会 (2014 年 8 月 2 日). 日本大学生物資源科学部 (神奈川県藤沢市)。
- ④ 昆 健志, 西田 睦, 佐土哲也, 宮 正樹. 川と海を回遊するイーブーの起源: ハゼ亜目魚類における両側回遊のプロセス. 沖縄生物学会第 51 回大会 (2014 年 5 月 21 日). 琉球大学西原キャンパス (沖縄県中頭郡)。
- ⑤ 昆 健志, 佐土哲也, Lukas Ruber, 佐藤 崇, 吉野哲夫, 西田 睦, 宮 正樹. ハゼ亜目魚類の多様化プロセス: ミトゲノム全長配列と Supermatrix 法による網羅的系統解析. 2013 年度日本魚類学会年会 (2013 年 10 月 5 日). 宮崎観光ホテル (宮崎県宮崎市)。
- ⑥ 昆 健志, ハゼ亜目の多様化プロセス解明への挑戦: ミトゲノム全長配列と Supermatrix 法による網羅的系統解析. 平成 25 年度ゴリ研究会 (2013 年 8 月 3 日). 愛知県碧南市役所 (愛知県碧南市)。
- ⑦ Takeshi Kon, Masaki Miya, Tetsuya Sado, Lukas Ruber, Takashi P. Satoh, Tetsuo Yoshino, Mutsumi Nishida. Evolution of the paedomorphic gobioid fishes revealed by whole mitogenome sequences with supermatrix analysis. 魚類の系統と多様性に関する国際シンポジウム (2013 年 7 月 6 日). 国立科学博物館 (東京都台東区)。
- ⑧ Takeshi Kon, Yukio Iwatsuki. Molecular phylogeny of the caesionid fishes (fusilier fish or Gurukun) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. 9th Indo-Pacific Fish Conference (2013 年 6 月 26 日). 沖縄コンベンションセンター (沖縄県宜野湾市)。
- ⑨ 昆 健志, 坂上治郎, 鈴木寿之. 砂浜に潜むリュウキュウナミノコハゼのミトコンドリア DNA および核 DNA に基づく分子系統解析 (2013 年 5 月 23 日). 第 49 回沖縄生物学会. 琉球大学西原キャンパス (沖縄県中頭郡)。
- ⑩ 昆 健志, 岩槻幸雄. タカサゴ科魚類のミトコンドリア DNA および核 DNA に基づいた分子系統解析. 日本魚類学会 (2012 年 9 月 23 日). (独) 水産大学校 (山口県下関市)。
- ⑪ 昆 健志, 岩槻幸雄. 沖縄の県魚グルクン (スズキ亜目タカサゴ科) の分子系統解析. 沖縄生物学会 (2012 年 5 月 26 日). 琉球大学西原キャンパス (沖縄県中頭郡)。
- ⑫ 昆 健志. ミトコンドリアゲノム全長配列によるハゼ亜目魚類の分子系統解析: 幼形進化的シラスウオ属魚類の起源を中心に. 日本魚類学会 (2011 年 10

月 1 日). 弘前大学文京町キャンパス (青森県弘前市)。

〔図書〕 (計 1 件)

昆 健志 (松浦啓一 編): "もっとも幼形進化的な魚類～シラスウオ類の隠された多様性. 黒潮の魚たち (叢書・イクチオロギア)" 東海大学出版会. 183-200 (2012)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

昆 健志 (KON, Takeshi)

東邦大学・理学部・訪問研究員

研究者番号: 10401192

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし