

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440212

研究課題名(和文) 魚類における「かたち」の多様化とその進化パターンの解明～メバル科・カジカ科を例に

研究課題名(英文) An evolutionary perspective on the diversification of shape in fishes: lessons from Sebastidae and Cottidae

研究代表者

甲斐 嘉晃 (Kai, Yoshiaki)

京都大学・フィールド科学教育研究センター・助教

研究者番号：30379036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：生物は様々な「かたち」をしているが、それを明示的・定量的に評価した研究は少なかった。本研究では、北太平洋で爆発的種分化を遂げたメバル科・カジカ科を対象に、「かたち」を標識点位置座標そのものの関数として定義する幾何学的形態測定学を用いることで「かたち」の定量化を行い、分子系統樹で明らかになった系統関係と比較して、「かたち」の進化パターンを明らかにすることを目的とした。メバル科魚類においては「かたち」の差異が何らかの適応の結果である可能性が示唆されるケースが多く認められたが、カジカ科魚類においては、必ずしもそうではないことが示唆され、その進化過程は大きく異なる可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Fishes exhibit an enormous diversity in their shapes, but little is known about how they have acquired and evolved. In this study, the pattern of shape evolution was evaluated by using a geometric morphometric approach and compared with a molecular phylogenetic hypothesis, focusing on the species-rich groups, family Sebastidae and Cottidae. Both members have been speciated mainly in the North Pacific. In the species of Sebastidae, the shape has been evolved associated with the habitat characteristics, however, in the species of Cottidae, it has no correlation with the latter. Therefore, the evolutionary history of shape variation in those two families are quite different.

研究分野：魚類系統分類学

キーワード：生物多様性 形態学 進化 分子系統

1. 研究開始当初の背景

生物は様々な「かたち」(=shape, 形からサイズを取り除いたもの)をしており,それは我々にとってもっとも基本的でわかりやすい「生物多様性」の側面である。これら生物の「かたち」は,どのように形成され,またどのように進化してきたのか,ということに対して,比較形態学的,発生生物学的側面からの研究が進んできた。例えば,ホメオボックス遺伝子群などの形態形成に関わる遺伝子の発見は,生物がどのように「かたち」作られるかという理解へ貢献した。一方で,従来から行われてきた比較形態学が対象としてきた「かたち」の研究は,古典的であると捉えられるのではなく,遺伝学的情報とどのように統合させるかが現在の大きな課題となっている。

ところが,伝統的な比較形態学では「かたち」の認知に対して,明示的な量的方法が取られることは少なかった。例えば,申請者が研究対象としている魚類では,「頭部はやや丸い」,「頭部はほぼ直線状」であることで種を区別できるという表現がしばしば見受けられ,それ以上の明示的な比較方法が提示されることは少ない。さらに,生物のかたちの数量化においては,形態上の点の間の距離変量が基本的な情報として用いられ,「体長に対する体高の比」などの形質の比で大きな「かたち」を記載しようとしてきた。ところが,正規分布する2変量の比がどのような確率分布をするのか,あるいは比に関する推定や検定はどうすればいいのか,という基本的な数学的問題にさえ議論に決着が付いていない(James and McCulloch, 1990)。そのような状況で,生物の「かたち」を標識点位置座標そのものの関数として定義する「幾何学的形質測定学」が近年注目を浴びている。

「幾何学的形質測定学」では,まず対象とする生物を座標上におき,回転や拡大・縮小などの整列を行って「かたち」そのものの比較を行う。標識点間のプロクラステス距離によって「かたち」の違いを数量化するとともに,形態の変形や変異を局所的に解析する方法も開発されている。このような定量的な方法を用いる事で,「かたち」の違いを明示的に比較することが可能となり,その進化的・適応的意義の考察まで可能となった。例えば魚類では,食性が異なる近縁種を比較することで,顎付近の局所的な「ひずみ」を検出し,その適応的意義(食性との対応)を考察した研究例などが知られている(図1:シンボルの色は食性,形は系統的な類似性を表す。顎の「ひずみ」は系統的な類似性よりも食性による適応の影響が大きい)。

このような方法が開発されている現在,「かたち」の定量化は,数種を対象とした適応的意義の考察だけでなく,より多くの種間で比較することで,「進化パターン」そのものを正当に評価することが可能となりつつ

ある。「かたち」の進化パターンを考察するには,対象生物がどのような進化をしてきたのか,信頼性の高い系統仮説が分かっていることが条件となる。つまり,ある形質を共有しているということは,系統的に近縁であるために共通祖先に由来しているということと,系統的には遠縁であるが似たような生態的地位に適応したため,結果的に同じ形質を進化させた,という2通りの解釈ができる。したがって,対象生物の系統類縁関係が分かっているなければ,生物の「かたち」の進化パターンが2通りのどちらに起因するか考えることは不可能である。しかし,近年のDNAデータベースの拡充により,多くの分類群において種間の系統関係も明らかになりつつある。

申請者は,これまで主にメバル科魚類やカジカ科魚類の分類学的・系統学的研究を進めてきた。メバル科もカジカ科とも100種以上を含む多様なグループであり,主に北太平洋で爆発的に種分化したと言う共通した特徴を持つ。これらは形態的・生態的にも多様化しており,例えばメバル科魚類においては,海底の岩礁域に身を潜めている種では体幅が大きく,尾鰭が丸い,下顎が短いなどの特徴を有している。一方,藻場周りなどの中層に生息する種では,体幅が小さく,尾鰭は二又する,下顎が上顎よりも長い,などの形質を有している。このような形質は,かつて属や亜属を設定するのに用いられていた。しかし,近年の分子系統学的研究により,形態学的に設定された属や亜属はまとまりを持たない可能性が指摘されている。つまり,そのような形態形質は,それぞれの生息場所に適応して,繰り返し独立に進化したと考えられる。カジカ科においても,岩礁域に生息する種,泥底に生息する種,中層に生息する遊泳性の種などが見られ,形態的にも多様化している。しかし,属や亜属の設定に用いられてきた形態形質は定量化されたものではなく,その進化パターンを考える上では正当に評価されているとは言い難い。

このような形態形質については,正確な系統関係に基づいて再評価するとともに,その進化パターンについて明らかにする必要があると考えられる。

2. 研究の目的

生物は様々な「かたち」をしているが,それを明示的・定量的に評価した研究は少なかった。本研究では,北太平洋で爆発的種分化を遂げたメバル科・カジカ科を対象に,(1)「かたち」を標識点位置座標そのものの関数として定義する幾何学的形質測定学を用いることで「かたち」の定量化を行うこと,(2)分子系統樹で明らかになった系統関係と比較して,多様に種分化した分類群の中で「かたち」の進化パターンを明らかにすること,

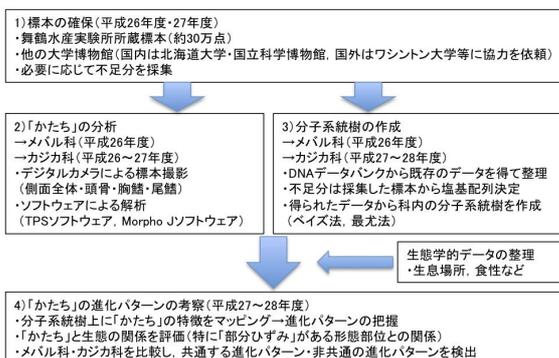
(3)生態学的な情報を組み合わせ、「かたち」がどのような理由で進化したのか(=適応的意義)を明らかにすること、(4)2科を比較することで共通・非共通の進化パターンを検出し、その原因を考察すること、を目的とした。

メバル属魚類もカジカ科魚類も北太平洋と言う同じ海域で様々な適応放散した分類群であること、ほとんどが浅海性であるため生態的な知見の蓄積も多いこと、近年の網羅的な分子系統解析により系統類縁関係がある程度明らかになっていること、から「かたち」の進化パターンの解明には最適である。幾何学的測定学がこれほど多くの種数を含む分類群に適応された例はなく、また同時に2科を比較することで、「かたち」の進化パターンの理解に大きく貢献すると考えている。

魚類における「かたち」の研究は、アフリカ大陸の湖で爆発的進化を遂げたシクリッド科魚類を対象として精力的に行われてきた。現在は、そのようなモデル生物を対象に「かたち」の進化がどのような遺伝的基盤を持つのか、とすることに注目され、その量的形質遺伝子座(QTL)解析などの次のステップへ向かおうとしている。モデル生物でこのような研究が進むと、次に対象となるのは「かたち」の多様化研究に適した非モデル生物である。メバル科・カジカ科魚類は非モデル生物であるが、「かたち」の進化パターンを提示しておくこと、次の研究対象として、その遺伝的基盤の理解へとつながっていくと期待される。

3. 研究の方法

本研究では、(1)対象となる分類群の標本の確保、(2)「かたち」の分析、(3)分子系統樹の作成、(4)「かたち」の進化パターンを考察、という4段階を設定して進めていくこととした(下図参照)。



(1) 標本の確保

標本は申請者の所属する舞鶴水産実験所蔵標本を主に使用した。標本は約30万点あり、これまで研究をおこなってきたメバル科やカジカ科は特に標本数が多い。不足する種は、ワシントン大学、米国国立自然史博物館(スミソニアン)、国立科学博物館、神奈

川県立生命の星地球博物館、高知大学など、国内外の大学・国公立博物館などを訪問して補った。

(2) 「かたち」の分析

かたちの分析は、標本が手元にほぼ揃っており、予備的データのあるメバル科魚類(おもにユメカサゴ属魚類)から開始した。特に外部の「かたち」は、古くから属や亜属を設定する際に用いられた形質であると同時に、生態との関連性も疑われる形質である。このような形質について、コピースタンドなどで正確に水平を取ってデジタルカメラで撮影を行う。得られた画像ファイルからTPSソフトウェア(TPSdgi V.2.32)により標識点の設定を行い、「かたち」を座標化した。座標化したデータはさらにTPSソフトウェアによる「部分的なひずみ」の分析のほか、MorphoJ V.1.06ソフトウェアによる主成分分析を行った。同時にメバル科魚類の他種とカジカ科魚類の採集を北海道周辺で主に行った。

(3) 分子系統樹の作成

メバル科、カジカ科とも大まかな分子系統樹は既に発表されており、このもととなった塩基配列をDNAデータバンクよりダウンロードして使用した。比較的データが揃っている領域はミトコンドリアDNAのチトクローム*b*, CO1, 12Sr RNA, 16Sr RNA 遺伝子領域、調節領域のほか、核DNAの*myh6*, *RYR3*, *TMO4* 遺伝子領域などを対象とした。DNAデータバンクにない対象種については、本研究で上記の遺伝子領域の塩基配列を決定した。また、より細かい遺伝的差異の検出にはマイクロサテライトを用いた。標本については、申請者の所属する舞鶴水産実験所に保管されているDNA分析用の組織標本コレクションを利用するほか、海外種については海外の博物館に保管されているDNA分析用の筋肉サンプルを用いた。データ量が多いことから、主に系統解析にはベイズ法(MrBayesソフトウェア)を中心に、最尤法(RA×MLソフトウェア)も用いて分析を進めた。完全なデータマトリックスにならないことが予想されるが、その場合には不完全なデータでもSuper Matrix Treeによる系統樹推定を行うことにした。このほか、遺伝的分化の程度が低いグループに関しては、ネットワーク図や、Structureソフトウェアによる帰属性分析などでその特徴を明らかにした。

(4) 「かたち」の進化パターンの考察

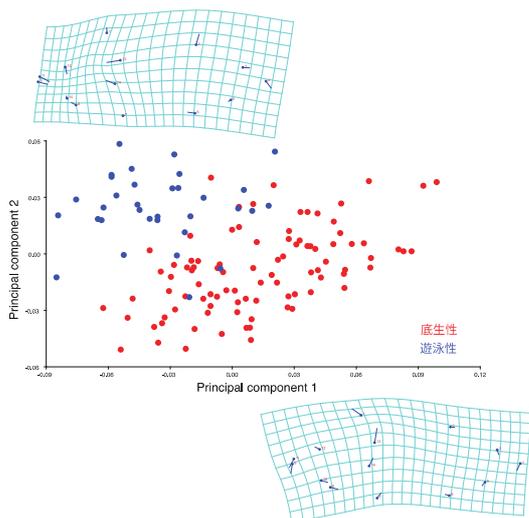
得られた「かたち」の変化を分子系統樹と比較し、どのように「かたち」が進化したのかを考察した。そこから、「かたち」の類似性が系統関係を反映したものなのか(共通の祖先に由来するのか)、あるいは系統とは関係なく独立に進化したものなのか(適応的に進化したものなのか)を明らかにすることが可能となる。また、形態に影響を与える可能

性の高い生態学的データ（生息場所や食性）を様々な文献やデータベース（FishBase: <http://www.fishbase.org/search.php>）から抽出した。「かたち」の進化が系統とは独立に起こったと考えられる場合、生態的なデータと併せて考察し、「かたち」の適応的意義について考察した。最後に、メバル科とカジカ科の「かたち」の進化パターンを比較し、そこに共通・非共通のパターンについての調査を行った。特に生態的・系統的要因が「かたち」に与え得る影響について注目した。

4. 研究成果

(1) メバル科魚類

まず、メバル科魚類においては、生態情報の多く蓄積されている北太平洋の浅海性のメバル属魚類のうち、約 30 種を対象に「かたち」の分析を行った。浅海性の種は西部北太平洋と東部北太平洋に分断して分布しており、分子系統樹からはそれぞれが異なる系統である（=異なる由来を持つ）ことが明らかである。これらの「かたち」を比較したところ、主成分分析の結果では西部北太平洋、東部北太平洋の種はそれぞれが分離するのではなく、それぞれのプロットが大きく重なっていた。一方、同じデータで遊泳性の強い種と底生性の種のプロットを比較すると、それぞれで「かたち」が異なることが明らかとなった。つまり、メバル科魚類においては、系統には関係なく、生態的に似た特徴を持つ種が形態的にも似ているという結果になった（下図）。

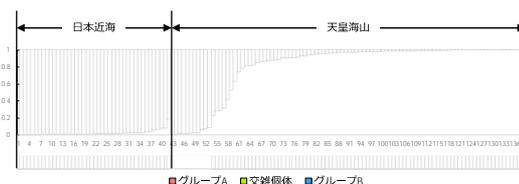


また、どのような部分に形態的変異が集中しているかを見てみると、主成分分析の第 1 軸で体高に、第 2 軸で頭部の形状に変異が多いことが確認された。つまり、遊泳性の強い種では体高が高く、また頭部も小さくなる傾向があるのに対し、底生性の種では体高が低く、頭部が大きくなる傾向があることが明らか

かとなった。これらの特徴は、系統的な関係とは無関係に西部北太平洋、東部北太平洋の種でそれぞれ見られるため、何らかの適応的な意義があると考えられた。一般に捕食の際、待ち伏せ型の戦略をとる魚では、頭部が大きくなる傾向があることが知られている。メバル科魚類においても、そのような捕食戦略を反映しているのかもしれない。

一方、メバル科魚類のユメカサゴ属魚類についても「かたち」の分析を進めた。ユメカサゴ属魚類は、世界中に分布するが、分類学的な混乱が見られることから北太平洋の種に限って分析を進めた。北太平洋のユメカサゴ属魚類には日本近海に分布するユメカサゴ、天皇海山に分布するオキカサゴとニセオキカサゴが知られていたが、本研究のサンプリングの中で、ユメカサゴは日本周辺と天皇海山を含む西-中央太平洋に広く分布していることが明らかとなった。これら 3 種の「かたち」の比較を行ったところ、主成分分析においてユメカサゴとオキカサゴは明瞭に異なり、ニセオキカサゴはその中間的な位置にプロットされるという結果になった。

また、これらの遺伝的な関係を明らかにするため、ミトコンドリア DNA の塩基配列を決定し、比較したが、種間で弱い分化しか確認されなかった。そこで、さらに多型感度の高いマイクロサテライトを用いて分析を行ったところ、ニセオキカサゴはオキカサゴとユメカサゴの交雑個体群であることが示唆された（下図：グループ A がユメカサゴ、グループ B がオキカサゴ。各バーが個体を示し、赤と青が遺伝的要素を示す。赤と青も両方の遺伝的要素を併せ持つ個体が交雑個体と考えられる）。



「かたち」の分析では、オキカサゴはユメカサゴに比べると体高が著しく低いという特徴を持つが、ニセオキカサゴは 2 種の中間的な特徴を呈していた。通常、交雑個体は適応度が低く、そのために種としての独自性が保たれていると理解されているが、ユメカサゴ属魚類では、交雑個体の中間的な特徴は特に適応度には関係なく、自然選択に関してもマイナスに働く可能性は低いのではないかと考えられた。これについては現在投稿論文を準備中である。また、天皇海山に分布する魚類では、ほかに近縁種（あるいは個体群）と比べると、体高が低い傾向にある種が複数見られる（クサカリツボダイなど）。これについても、何らかの適応的意義がある可能性が高く、今後考察を深めていきたいと考えている。

(2) カジカ科魚類

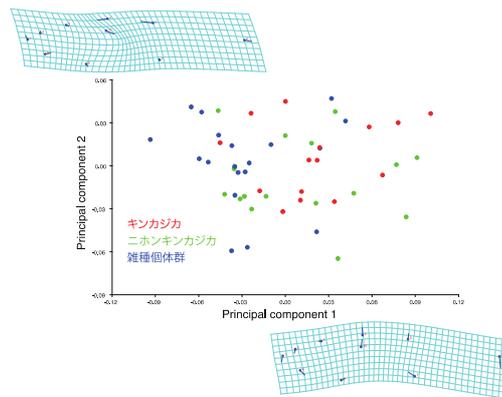
カジカ科魚類においては、コオリカジカ属やホッキョクカジカ属、キンカジカ属、カワリアナハゼ属などを中心に研究を進めた。

コオリカジカ属のコオリカジカやホッキョクカジカ属のニラミカジカは日本海・太平洋・オホーツク海・ベーリング海を中心として北太平洋に広く分布している。これらを対象に形態的分析を進めたところ、コオリカジカ、ニラミカジカいずれにもおいて、日本海の集団がほかの海域の集団よりも体サイズが大きく、また頭部や眼が大きいという傾向が認められた。遺伝的には各海域間には明瞭な差異は認められなかった。これらの種以外に、これまで報告されている北太平洋に広く分布する底生魚類の遺伝的・形態的差異を調べた報告を調査したところ、例えばクサウオ科やダンゴウオ科でも形態的な変異に同じような傾向が見られることが分かった。遺伝的な変異については各海域で明瞭に分化するグループから、ほとんど違いが見られないグループまで様々であり、遺伝的な差異と形態的な分化の程度には明瞭な関係は認められなかった。このことは、日本海の集団に何らかの選択圧がかかり、体サイズや、頭部、眼径に同じような進化パターンが生まれたのではないかと考えられる。

日本海は、狭く浅い海峡で周囲の海とつながる閉鎖的な環境であり、特にコオリカジカやニラミカジカが分布する水深 200m 以深は周囲の海から孤立していることが知られている。この日本海の深海部には日本海固有水と呼ばれる冷水塊があり、周囲の海域とはかなり水温が低いと言う特徴がある。また、過去の氷期-間氷期サイクルにより、日本海の深海部は生物が住みにくい環境になったことが知られている。特に体サイズは、水温との関係性があることが知られており、日本海の底生性魚類で見られるような形態変異は、このような環境を反映したものかもしれないと考えられた。頭部や眼径の変異についても現在論文としてまとめているところである。

一方、キンカジカ属魚類においては、日本海に分布するニホンキンカジカと太平洋に分布するキンカジカの2種について研究を進めてきた。これらの遺伝的・形態的差異について調査を開始したところ、ニホンキンカジカとキンカジカは遺伝的・形態的特徴において、明瞭に識別できるものの、両者の分布が接する津軽海峡付近においては、両者の特徴を併せ持つ個体が多く検出された。交雑の可能性が考えられたため、母系遺伝するミトコンドリア DNA だけでは正確な遺伝的差異を検出できないため、核 DNA (myh6, RYR3, TM04 遺伝子領域) の分析も併用したところ、やはり津軽海峡付近では2種が大規模に交雑していることが明らかとなった。これらを対象にして、「かたち」の分析を行ったところ、主

成分分析のプロットは2種と雑種個体群間で大きく重なっており、キンカジカ、ニホンキンカジカ、および雑種個体群の間には明瞭な形態的差異は認められないという結論となった(下図)。



キンカジカは、ニホンキンカジカよりも深い海域の砂泥底に生息することが知られているが、特にそのような生態的な差異が形態的な違いには現れないということが明らかとなった。これは、ユメカサゴ属のようなメバル科魚類とは対照的な結果となった。

(3) メバル科とカジカ科の比較

メバル科魚類においては「かたち」の差異が何らかの適応の結果である可能性が示唆されるケースが多く認められたが、カジカ科魚類においては、必ずしもそうではないことが示唆された。メバル科もカジカ科も同じように北太平洋を中心に爆発的な種分化を遂げたグループであるが、その進化過程は大きく異なる可能性がある。本研究においては、比較的限られた種しか対象にできなかったが、より多くの種を比較対象にすることで、その原因が明らかになることが期待される。

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)

[雑誌論文](計3件)

Kai Y, Yamanaka T (2017) Tsugaru Strait hybrid zone between two Japanese marine sculpins (genus *Cottiusculus*). Marine Biodiversity (in press) 査読あり

Matsunuma M, Sato M, Kai Y (2017) Redescription of *Atopocottus tribranchius* (Cottidae) from Japan with comments on the generic diagnosis and distribution. Species Diversity (in press) 査読あり

吉川 茜・鈴木寿之・甲斐嘉晃・中坊徹次 (2016) 日本海におけるオキカサゴの分布の再検討. 魚類学雑誌 63: 52-54 査

読あり

(米国大気海洋気象局 研究員)

〔学会発表〕(計 6 件)

吉川茜・武藤望生・中山耕至・奥田武弘・米崎史郎・清田雅史・甲斐嘉晃・中坊徹次(2016)ユメカサゴとオキカサゴの交雑群「ニセオキカサゴ」. 日本魚類学会, 2016年9月25日, 岐阜市, 岐阜大学.

甲斐嘉晃・山中智之(2016)キンカジカとニホンキンカジカにおける交雑頻度の地理的変異. 日本魚類学会, 2016年9月24~25日, 岐阜市, 岐阜大学.

吉川茜・中山耕至・甲斐嘉晃・中坊徹次(2015)北太平洋産ユメカサゴ属魚類の遺伝的集団構造. 日本魚類学会, 2015年9月4~7日, 奈良市, 近畿大学農学部.

甲斐嘉晃・山中智之(2015)津軽海峡付近におけるキンカジカとニホンキンカジカの交雑帯の存在. 日本魚類学会, 2015年9月4~7日, 奈良市, 近畿大学農学部.

吉川茜・中山耕至・甲斐嘉晃・中坊徹次(2014)北太平洋産ユメカサゴ属魚類の形態的特徴と分布. 日本魚類学会, 2014年11月14~17日, 小田原市, 神奈川県立生命の星地球博物館.

Yoshiaki KAI (2014) Fish Collection Building in Kyoto University: Present Status. Symposium on the Collection of Fish Specimen at MABIK. 2014年7月3日, Gunsan, Korea.

〔図書〕(計 件)

なし

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

甲斐嘉晃(KAI, Yoshiaki)

京都大学・フィールド科学教育研究センター・助教

研究者番号: 30379036

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

James W. Orr

ワシントン大学・パーク博物館・連携研究員
(米国大気海洋気象局 研究員)

Duane E. Stevenson

ワシントン大学・パーク博物館・連携研究員

金 眞久(KIM, Jin-Koo)

釜慶大学・海洋生物学部・教授