

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月6日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2013

課題番号：22770079

研究課題名（和文） 多様な生息域を持つフグ目及びその近縁群の適応放散過程の解明

研究課題名（英文） Evolution and radiation of tetraodontiform fishes and their relatives

研究代表者

山野上 祐介（YAMANOUE YUSUKE）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・農学特定研究員

研究者番号：90572107

研究成果の概要（和文）：

本研究ではフグ目及びその近縁群についてDNAに基づいた系統解析や分岐年代推定を行い、その多様な生息域の進化過程の推測や分類の整理を行った。その一例として、フグ科魚類の解析により南米、アフリカ、東南アジアに分断して生息する純淡水性のフグ類がそれぞれ独立に淡水域に進出したことを明らかにした研究が挙げられる。また、分類の整理に関しては、マンボウ科の研究ではマンボウの1種だけだと考えられていた日本産マンボウ属に2種を認め、新たな種に「ウシマンボウ」という和名を与えるなどの研究を行った。

研究成果の概要（英文）：

Based on analyses of DNA sequences, evolution and radiation processes of tetraodontiform fishes were estimated, and also confused taxonomy of this group was examined. For example, independent invasions into freshwater by freshwater pufferfishes, which are separately distributed in South America, Africa, and Southeast Asia, due to respective large geological events were revealed. Furthermore, during the study of a long-unsettled taxonomy of ocean sunfishes of the genus *Mola*, a discovered species was newly named “Ushimanbo”, and two species, “Manbo” and this species, were recognized as species of the genus distributed in Japanese water.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4160,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：系統

### 1. 研究開始当初の背景

フグ目魚類は古くから現在に至るまで、解剖学・水産学、毒性学など様々な研究対象として注目されてきた。さらに近年トラフグとミドリフグがモデル生物として提唱され脊

椎動物でヒトに次いで2番目にトラフグの全ゲノム配列が公開されるなど、現在でも進化生物学などで本グループを用いた研究が盛んに行われている。それにもかかわらず、申請者が研究を始めるまで、フグ目の系統関係や分岐年代などの進化史に関する知見は

比較形態や断片的な化石記録に基づくものがほとんどであった。

フグ目について、申請者らがミトコンドリアゲノム全塩基配列という大量データとベイズ法など最新の方法を駆使して解析を行った結果、過去の仮説は多くのものが否定された。例えばフグ目に最も近縁なグループは古くから提唱されてきたニザダイ類ではなく深海性魚類を多く含むアンコウ類とヒシダイ類であった。そしてフグ目は深海に生息するグループ(深海起源)と浅海域、外洋域、淡水域に生息するグループ(浅海起源)の大きく2つに分かれることが分かった。

## 2. 研究の目的

生物の進化史の推定は化石記録に強く依存する傾向があり、連続的な化石記録が望めない多くの水生生物について適応進化についての知見は乏しい。そして申請者の研究によりフグ目及びその近縁群は深海・浅海・淡水といった多様な生息域を持ち、その系統関係が従来系統推定に使われてきた形態形質よりもその生息域と深い関係が見られることが明らかになった。そこで、本グループの系統関係や分岐年代などを分子形質を用いて推定することにより適応放散のパターンを解明することを本研究の目的とした。また、分類はすべての生物学の基礎であり正確な系統関係に基づくべきであるが、上述のように形態形質に基づいた現在の分類体系の枠組みは十分ではなく見直す必要がある。そこで、分子系統解析により得られた正確な系統関係を用いて分類の再検討も行った。

## 3. 研究の方法

フグ目及びその近縁群の中から、本研究にの目的に適したグループを選別し、以下の手順に従って研究を進めた。

(1) 標本採集は自ら行うだけでなく、漁業者、観賞魚業者、水族館関係者に依頼するなどあらゆる手段により可能な限りの標本を集めるよう努めた。

(2) 標本からDNAを抽出し、PCR法により配列を決定した。解析にはミトコンドリアゲノムを主に系統マーカーとして用いたが、有用な核遺伝子についても検討を行った。

(3) 決定したDNA配列を基にして分子系統解析、分岐年代推定、生息域の祖先状態推定などを行った。得られた結果をもとに、進化過程の推定を行った。また、形態形質の観察や検討も行い、得られた系統関係などに基づいて分類の再検討も行った。

## 4. 研究成果

(1) フグ科魚類は多くのものが浅海域に生息するが、ミドリフグを含む6属30種ほどが南米・アフリカ・東南アジアの汽水・淡水域に分断して分布している。フグ目の中で純淡水域に完全適応しているのはこのグループのみである。また、本科はトラフグとミドリフグの2種のモデル生物を含むことから分類の整理や系統関係の解明は急務である。今回は新たに31種のミトコンドリアゲノム全塩基配列を決定し、その配列に基づいてフグ科の系統関係と適応放散過程の解析を行った。解析の結果、純淡水種は南アメリカ、中央アフリカ、東南アジアの種がそれぞれ単系統群であったが、生息環境の祖先状態の推定結果からフグ類の淡水域への進出は各大陸で独立して起こったことが分かった。分岐年代推定の結果、淡水域に進出した時期は各大陸で異なっており、それぞれの大陸で海水の淡水域への侵入のような淡水域への適応を促す頻度の低い大規模な地質学的イベントが起こった時期と一致した。したがって、フグ類の淡水域へ進出はこれらの地質学的イベントによって促進された可能性が高いと推測した。このことから、フグ科魚類の多くは淡水環境への適応度が高く生活史の一部を淡水で送る種も少なくないが、海での生活を完全に捨てることは容易ではないと推測できる。また、フグ亜科、ミドリフグ属、シッポウフグ属など、いくつかの分類群は単系統群ではなく、これらの分類は今後再検討の必要があることが明らかになった。

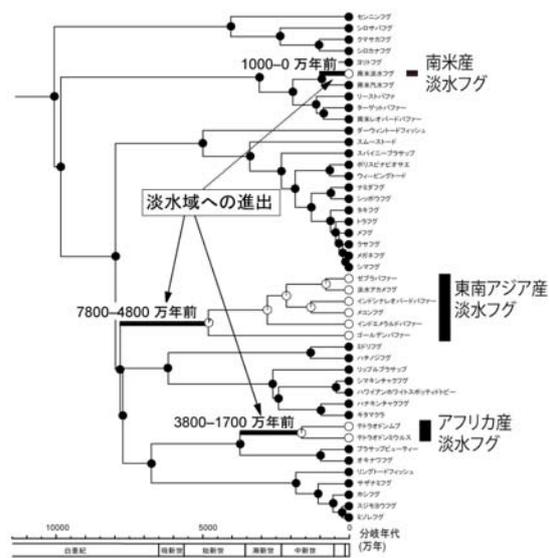


図 1. フグ科魚類の系統関係、分岐年代および生息域の祖先状態についての解析結果 (○: 淡水域, ●: 海)。

(2) フグ目魚類の多くは沿岸域に生息するが、淡水や外洋、深海に進出したグループも含まれる。また、フグ目に最も近縁なグループは申請者の研究により深海性のヒシダイ類もしくはアンコウ類であると推定されたが、タイ類やニザダイ類など沿岸性の魚類を多く含むグループも近縁であることが明らかになっている。本研究ではミトコンドリアゲノム全塩基配列を用いた解析によって明らかになったフグ目及びその近縁群の系統関係に基づき、その祖先の生息環境を求め、進化過程を推測した。その結果、フグ目とその近縁群であるアンコウ類とヒシダイ類の共通祖先は深海性であった可能性があるが、さらにタイ類などのグループを含めた共通祖先は浅海性だったと推測された。このことからフグ目やその近縁群の共通祖先はその進化過程で生息域を深海から浅海性へ何度か変化させた可能性があると考えた。

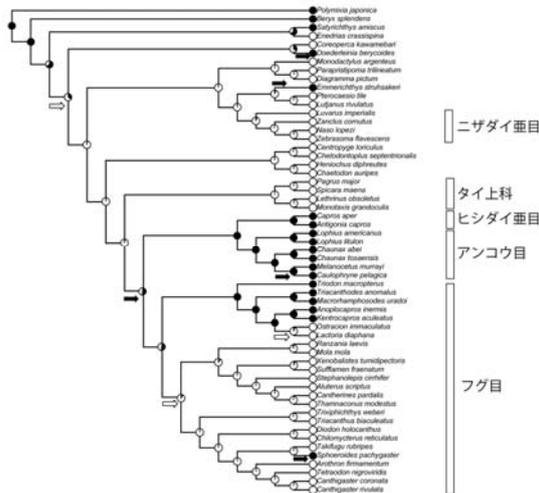


図2. ミトコンドリアゲノム全塩基配列によって推測された、フグ目及びその近縁群の系統関係と生息域の祖先状態。(○:浅海域, ●:深海域, 矢印[白抜き]:浅海方向への生息域の進化, 矢印[黒抜き]:深海方向への生息域の進化)

(3) 外洋に生息するフグ目マンボウ科について DNA や形態形質により解析を行った。その結果、1種だと考えられていた日本産のマンボウ属について2種を識別し、そのうちの1種に「ウシマンボウ」という新たな和名を与えた。またマンボウ属魚類の成魚は巨大になるため形態による識別が困難であることや、DNA配列の決定には高価な実験設備や試薬などが必要なことから、マルチプレックスPCRによりDNAの断片を増幅させ、増幅断片の長さを調べるだけでこの2種を簡単に識別できるよう、マルチプレックスPCR用のプライマーを開発した。

それ以外にも、フグ目ハリセンボン科ハリセンボン属5種のうち4種について、ミトコンドリア16S rRNA 遺伝子、RAG1 遺伝子を用いて分子系統解析を行った。その結果、従

来の分類に使われた棘鱗の形態形質よりも卵の性質や分布域のほうがより系統類縁関係を反映している可能性が高いことを明らかにした。マンボウ科やハリセンボン科についてはさらに分類の再検討を進めて行く予定である。

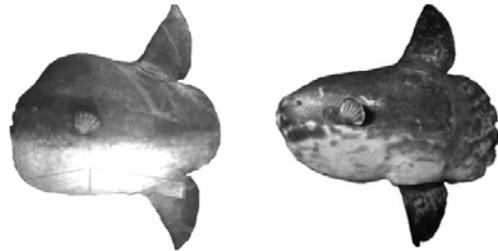


図3. 日本産マンボウ属2種。(左:ウシマンボウ, 全長 約325cm, 右:マンボウ, 全長 約275cm)

(3) スズキ目スズキ亜目スダレダイ科はフグ目に近縁なグループであるが、正確な系統的位置はよくわかっていない。その系統学的な研究の過程において、通常16,000bpほどであるミトコンドリアゲノムが、*Drepane africana* では24,000bpを超える条鰭類最大の大きさを持ち、スダレダイ科の他の2種についても22,000bpを超える非常に大きなサイズであることが分かった。後生動物のミトコンドリアゲノムは遺伝子や調節領域など機能を持つ領域がほとんど隙間なく並んでおり、遺伝子重複が起きた場合にも重複遺伝子や非遺伝子領域など不必要な領域は速やかに排除され、コンパクトなゲノム構造を維持している。しかし、スダレダイ科全3種のミトコンドリアゲノムのサイズが非常に大きいのは、3種でほぼ共通して大規模な配置変動と複数の遺伝子重複、多くの非遺伝子領域が見られたことが原因であった。今後は、正確な系統的位置や分岐年代だけでなく、ミトコンドリアゲノムの遺伝子重複の詳細なメカニズムや重複した遺伝子の発現などについても調べていく予定である。

#### 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)

[雑誌論文] (計5件)

- (1) 山野上祐介・馬淵浩司・澤井悦郎・坂井陽一・橋本博明・西田睦. 2010. マルチプレックスPCR法を用いた日本産マンボウ属2種のミトコンドリアDNAの簡易識別法. 魚類学雑誌 57:27-34.
- (2) Yamanoue, Y., Setiamarga, D.H.E., Matsuura, K. 2010. Pelvic fins in teleosts: structure, function and evolution. Journal of Fish Biology 77: 1173-1208. DOI:10.1111/j.1095-8649.2010.02674.x
- (3) Yamanoue, Y., Miya, M., Doi, H., Mabuchi,

- K., Sakai, H., and Nishida, M. 2011. Multiple invasions into freshwater by pufferfishes (Teleostei: Tetraodontidae): a mitogenomic perspective. PLoS ONE, 6: e17410. DOI:10.1371/journal.pone.0017410
- (4) 澤井悦郎・山野上祐介・吉田有貴子・坂井陽一・橋本博明. 2011. 東北・三陸沿岸域におけるマンボウ属 2 種の出現状況と水温の関係. 魚類学雑誌 58:181-187.
- (5) Igarashi, Y., Doi, H., Yamanoue, Y., Kinoshita, S., Ishibashi, T., Ushio, H., Asakawa, S., Nishida, M., Watabe, S. 2013. Molecular phylogenetic relationship of *Tetraodon* pufferfish based on mitochondrial DNA analysis. Fish. Sci. 79:243-250. DOI:10.1007/s12562-013-0598-5
- [学会発表] (計 12 件)
- (1) Yamanoue, Y. Molecular phylogenetic study on tetraodontiform fishes based on mitochondrial genome sequences. Seminar in Biodiversity Research Center, Academia Sinica. Academia Sinica, Taipei. May 2010. (招待講演)
- (2) Yamanoue, Y., Miya, M., Mabuchi, K., Doi, H., Sakai, H., and Nishida, M. Multiple invasions of freshwater by puffers: a mitogenomic perspective on phylogeny of Tetraodontidae (Teleostei: Tetraodontiformes). International Symposium on Biodiversity Science 2010: Genome, Evolution and Environment. Hotel Lubura Ohzan, Nagoya. August 2010.
- (3) 山野上祐介. マンボウ属各種の特徴と生物地理. 2010 年度日本魚類学会年会. シンポジウム「黒潮と日本の魚類相: ベルトコンベヤーか障壁か」. 三重県文化会館, 津. 2010 年 9 月.
- (4) 澤井悦郎・山野上祐介・坂井陽一・橋本博明. 三陸沖に來遊するマンボウ属 2 種の出現パターンの相違と水温の関係. 2010 年度日本魚類学会年会. 三重県文化会館, 津. 2010 年 9 月.
- (5) 山野上祐介. フグ類の進化と系統関係. 水圏生命科学専攻大学院特別講義. 東京大学大学院農学生命科学研究科附属水産実験所, 浜松. 2010 年 9 月. (招待講演)
- (6) Yamanoue, Y., Miya, M., and Nishida, M. Did puffers originate from deep sea? A mitogenomic perspective on phylogeny and evolution of tetraodontiform fishes (pufferfishes and their allies). Trench Connection: International Symposium on the Deepest Environment on Earth. Atmosphere and Ocean Research Institute, University of Tokyo, Kashiwa, November 2010.
- (7) 山野上祐介・宮正樹・松浦啓一・酒井治己・西田睦. ミトコンドリアゲノム全長塩基配列にもとづくフグ目魚類の系統解析: 姉妹群探索から淡水種の起源推定まで. 2011 年度日本魚類学会年会. 弘前大学, 弘前. 2011 年 9 月.
- (8) 土井啓行・山ノ内祐子・石橋敏章・山野上祐介・酒井治己. ハリセンボン科 4 種の卵および仔魚. 2011 年度日本魚類学会年会. 弘前大学, 弘前. 2011 年 9 月.
- (9) Sawai, E., Yamanoue, Y., Sakai, Y., and Hashimoto, H. Discovery of “Ushimanbo” (*Mola* sp. A), the previously unknown sunfish, occurring around Japan coast — Re-examination of the taxonomy of *Mola* sunfishes (Molidae). Proceedings of Marine Science and Technology, 2011 Joint International Symposium between Pukyong National University and Hiroshima University. Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, Higashihiroshima. Oct. 2011.
- (10) 山野上祐介・宮正樹・佐藤行人・長田直樹・馬淵浩司・西田睦. スダレダイ科魚類の巨大なミトコンドリアゲノムにおける大規模な遺伝子配置変動. 日本進化学会 14 回大会. 首都大学東京, 八王子. 2012 年 8 月.
- (11) 澤井悦郎・山野上祐介・張 永州・坂井陽一. 台湾東部海域で確認された運動性のある精子を持つヤリマンボウ. 2012 年度日本魚類学会年会. 水産大学校, 下関. 2012 年 9 月.
- (12) 澤井悦郎・山野上祐介・張 永州・坂井陽一. 花蓮海域 (台湾) に出現するマンボウ属とヤリマンボウ属の分類学的検討. 第 24 回魚類生態研究会. 水産大学校田名臨海実験実習場, 平生, 山口. 2013 年 2 月.
- [図書] (計 1 件)
- (1) 山野上祐介・澤井悦郎. 2012. マンボウ研究最前線—分類と生態, そして生物地理. pp. 165-182. 松浦啓一編, 黒潮の魚たち (叢書・イクチオロギア 2), 東海大学出版会, 秦野.
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
山野上 祐介 (YAMANOUE YUSUKE)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・農学特定研究員  
研究者番号: 90572107
- (2)研究分担者  
なし
- (3)連携研究者  
なし