

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：27103

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07543

研究課題名(和文) 同所的に生息する湖沼性淡水魚の体色の類似化と色覚の関連性に関する研究

研究課題名(英文) Association body coloration and color-sensitive opsins between the sympatric but the different taxonomic freshwater fishes

研究代表者

猪股 伸幸 (Inomata, Nobuyuki)

福岡女子大学・国際文理学部・准教授

研究者番号：20301335

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：スラウェシ島のメダカ科とサヨリ科について、それぞれの系統関係を調べた。両科とも黒い体色の種と黄体色の種が姉妹群を形成した。青い体色の種は単系統であるが、黒い体色種と黄体色の姉妹群とは遠縁だった。色覚オプシン遺伝子の発現量も調べたところ、オプシン遺伝子の発現パターンは両科で似ていた。これらの結果は、サヨリとメダカという2つの淡水魚グループが、この島の地史を反映した進化史を共有しており、同じ生息地に隔離されたサヨリとメダカは、それぞれの生息環境下で体色・色覚に關与する共通の淘汰圧にさらされたことによって類似した体色が進化したことを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、体色の類似化および多様化が「分類群を超えて」生じた要因を検討することである。スラウェシ島のメダカ科とサヨリ科それぞれに属する種の分子系統樹を再構築したところ、両科とも体色に関する系統関係は同じであり、この島の地史と一致していた。色覚オプシン遺伝子群の発現パターンは両科で似ていた。本研究の結果は、「分類群を超えた」体色の類似化および多様化が、地史の影響だけではなく、それぞれの生息環境における何らかの共通の淘汰圧の影響によって生じた可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：We reconstructed the molecular phylogenies of the *Oryzias* species and the *Nomorhamphus* species, respectively, in Sulawesi island. The phylogenetic relationship is common between the two genera. The black body species clustered with the yellow body species. This clade clustered together with the blue body species. The expression patterns of opsin genes also similar between the genera. Our results suggest evolutionary history, which reflect a geographical history of the island, is shared between taxa, and that the phenotypic similarities between taxa are driven by the common selective pressure for body coloration and color-sensibility depending on each environmental condition, where the species live.

研究分野：集団遺伝学、分子進化学

キーワード：共進化 体色 視覚 オプシン メダカ サヨリ

1. 研究開始当初の背景

生物間相互作用がもたらす共進化は、時として非常に誇張された形質を生み出す。たとえば、捕食者と被食者の捕食関連形質と被食防御形質の共進化は、軍拡競争になぞらえられるほど極端な形質を進化させる。また、ミューラー型擬態も、複数の被食者に極度に鮮やかな色彩や模様を進化させる。オスの形質とメスの配偶者選択とのランナウェイ共進化によるオスの誇張された二次性徴形質も、性淘汰を通じたオスとメスとの共進化の産物である。このように、捕食-被食関係と性淘汰圧は、共進化による多様性の創出の二大メカニズムと考えられる。

熱帯の湖沼性淡水魚の多くは、オスの鮮やかな体色に特徴がある。このオスの体色は二次性徴形質で、繁殖行動時にとりわけ鮮やかさが増すことから、メスによる配偶者選択によって進化したことが示唆されている。興味深いことに、インドネシア・スラウェシ島の古代湖群



図1 スラウェシ島の湖沼性メダカ、サヨリ科の代表種

では、同じ湖に同所的に生息している種の体色は、分類群を超えて類似する一方で、湖間では体色が大きく異なっていることが知られている。例えば、ボソ湖にいるメダカ科とサヨリ科のオスはいずれも全身真っ黒であるが、マリリ湖では、いずれも黄色を基調とした体色をしている。また、スラウェシ南東部の湖に分布するメダカとサヨリのオスの体色は、いずれも構造色である鮮やかなメタリックブルーを呈する(図1)。こうした体色の類似化と多様化は、一見センサーバイアスによる収斂進化を反映しているように見える。すなわち、各湖の物理的な光環境を反映した湖特異的なメスの色覚によるオスの体色に対する配偶者選好性(性淘汰圧)により、異なる分類群でオスの類似した体色が独立に進化することは理論的にはありうる。しかし、申請者らによる現地調査では、どの湖の湖水も透明度が著しく高いことが確認されている。アフリカンシクリッドの研究では、透明度が高い水域のオスの体色は、青色を呈すること(Terai et al. 2002, Seehausen et al. 2008)を鑑みると、スラウェシ島の古代湖における体色の類似化と多様化が、単なる物理的光透過性の違いのみでは生じないと考えるのが妥当である。

申請者らは、この体色の類似化と多様化は、湖に同所的に生息する他種を視覚的に識別するための適応を起点とした、センサーバイアスによる共進化によって生じたのではないかと考えている。例えば、それぞれの湖に生息するメダカとサヨリは、体サイズ次第で互いに捕食者/被食者になりうる。このような生物間相互作用のもとでは、互いに他種の色彩や形状を識別しやすい視覚が進化し、それがバイアスとなって他種の体色に類似したオスの体色が各種に進化する。そして、それが他種の視覚の発達を促すという共進化サイクルが生じうる。しかし、この共進化メカニズムの検証はなされていない。また、両科それぞれの系統進化とそれに基づく祖先形質の推定もなされておらず、共進化の歴史的側面も明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、スラウェシ島のメダカ科とサヨリ科の間に見られる体色の類似化と多様化を対象に、両科の共進化の歴史の再構築、および両科間/各科内の色覚の類似化と多様化の実体解明を目的とする。そのために、以下の2つの項目について解析を行った。

- (1) スラウェシの古代湖群でのメダカ科、およびサヨリ科魚類の網羅的採集と、両科の分子系統樹の推定・比較
- (2) オプシン遺伝子の発現解析をベースにした、両科間および各科内での色覚の類似性と多様性の検討

3. 研究の方法

(1) 両科魚類の網羅的採集と分子系統樹の推定

スラウェシ島全域から *Nomorhamphus* 属のコモチサヨリを採集し、エタノールに保存した。鱗もしくは筋肉組織から DNA を抽出し、Mokodongan et al. (2005) に従って、*cyt b* の部分配列(684 bp)を決定した。加えて、DDBJ に登録されている本属魚類の *cyt b* 情報を網羅的に収集した。核遺伝子(RAG1、RAG2、および TMO)の情報がある種についてはそれらも収集し、計 3544 bp の配列情報を得た。これらを遺伝子ごとにアライメントし、最尤法で系統推定を行った。外群には DDBJ から収集された *Dermogenys* 属および *Hemirhamphodon* 属の数種を用いた。

(2) オプシンの発現量の科間/科内比較

採集したサヨリ科・メダカ科魚類の眼球組織から total RNA を抽出し、Illumina 社の並列シーケンサーを用いて mRNA の塩基配列を網羅的に決定した(RNA-Seq)。RNA-Seq により得られたリードについて、まず各科それぞれの3種9個体すべてのデータを用いて TRINITY (Grabherr et

al. 2011)による de novo assembly を行い、リファレンス配列となるトランスクリプトームのアセンブリを作成した。次に、bowtie2(Langmead & Salzberg 2012)を用いてリファレンス配列(タンパク質コード領域のみ)に各個体の RNA-Seq リードをマッピングし、RSEM(Li & Dewey 2011)を用いて遺伝子ごとにマップされたリード数をカウントした。また、edgeR(Robinson et al. 2010)を用いて遺伝子ごとにマッピングされたリード数を正規化し、種間・遺伝子間で比較可能な発現量の指標である TPM 値を推定した。発現量の推定には、1 種あたり 3 個体を使用した。視覚関連オプシン遺伝子の発現量を、遺伝子間および種間で比較した。また、RNA-Seq により同定されたサヨリ科およびメダカ科のオプシン遺伝子について、アミノ酸配列を用いた系統樹を作成した。

4. 研究成果

(1) 両科魚類の網羅的採集と分子系統樹の推定

スラウェシ島の *Nomorhamphus* 属のコモチサヨリは単系統群を形成し(図2)、これらは共通の祖先種から島内で多様化してきたと考えられた。黄色い体色を呈する本島中部のマリリ湖群に固有のグループ(*N. megarrhamphus* 種群)は、黒い体色を呈する同じく本島中部のポソ湖に固有のグループ(*N. celebensis* 種群)と姉妹群になることがわかった。一方、青い体色のスラウェシ島南東部に固有のグループ(*N. ebrardtii* 種群)は、これら2種群とは系統的に大きく離れることがわかった。

これら *Nomorhamphus* 属のコモチサヨリにおける黄色、黒色、および青い体色グループの系統関係は、同じく本島内で共通の祖先種から多様化を遂げたと考えられている *Oryzias* 属のメダカについても当てはまる。すなわち、黄色い体色の *O. profundicola* を代表とするマリリ湖種群は、黒い体色の *O.*

nigrimas などのポソ湖種群と単系統的となり、青い体色の *O. woworae* を代表とする南東スラウェシ種群はこれらと系統的に離れた場所に位置することが知られている(Mokodongan et al.

2015)。この事実は、1 コモチサヨリとメダカという2つの淡水魚のグループが、この島の地史を反映して

分散や隔離などの進化史のイベントを共有していること、ならびに2同じ生息地に隔離されたコモチサヨリとメダカは、それぞれの生息環境下で共通の淘汰圧にさらされることで、類似した体色を進化させてきたことを示唆している。

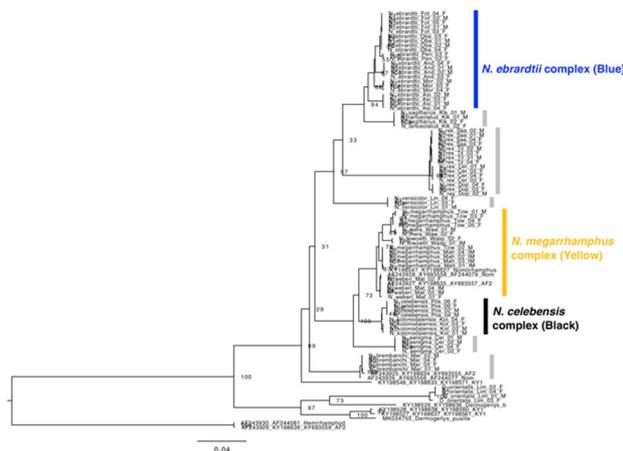


図2 ミトコンドリア(cytb)および核遺伝子(RAG1, RAG2, TMO)の3544 bpの塩基配列情報で推定した最尤系統樹

(2) オプシンの発現量の科間/科内比較

サヨリ科およびメダカ科の魚種で発現している視覚関連オプシンの系統樹を作成したところ(図3)、どちらの魚種でも、緑(2種類)、青、紫、赤の波長を吸収するオプシンをそれぞれ発現していることがわかった。また、1種類のロドプシンも両科で共通に発現していた。視覚関連オプシンについては、どちらかの科で固有に重複・欠失したものは見つからなかった。

次に、サヨリ科およびメダカ科の体色が異なる3種(黒、黄色、青)における視覚関連オプシン6種類の発現量を比較した(図4)。その結果、サヨリ科とメダカ科どちらの科でも、体色が黄色の種において、ロドプシンを除く色覚オプシンの発現量が低い傾向が見られた。特にメダカ科の3種では、体色が黄色の種(*O. profundicola*)ではロドプシン以外の5種のオプシンいずれも他の2種より発現量が低く、その一部は統計的に有意であった。サヨリ科でも黄色の種(*N. cf. ebrardtii*)のオプシンの発現が低い傾向があるが、メ

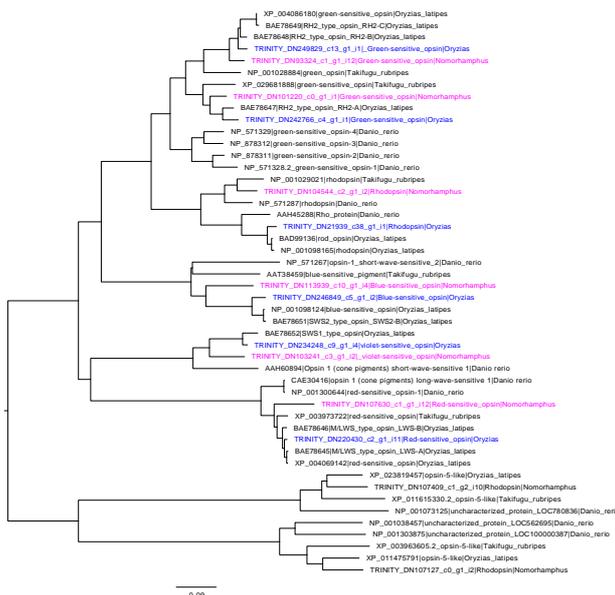


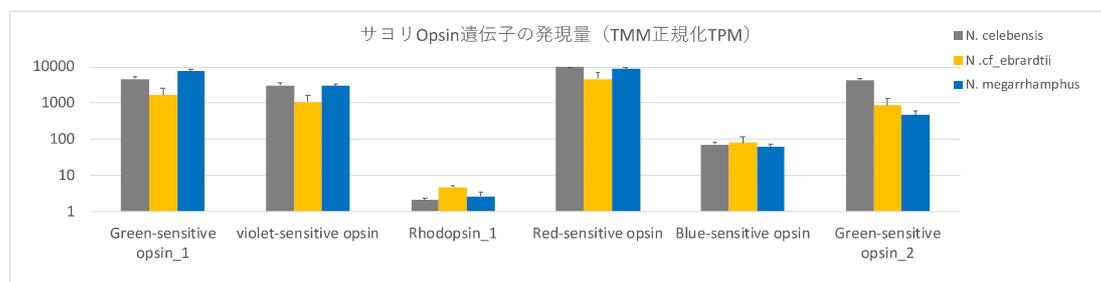
図3. サヨリ科(赤)およびメダカ科(青)のトランスクリプトームに含まれる視覚関連オプシンのアミノ酸配列による系統樹。参考のため、メダカ、トラフグ、ゼブラフィッシュのオプシンを加えて系統樹を作成した

メ

ダカ科ほど明確ではなかった。この結果は、サヨリ科・メダカ科の両種群で、黄色の体色を持つ種が他の体色の種と比較して色覚の感度が低いことを示唆しており、これらの種群において、色覚に対して何らかの共通の選択圧が生じていることを反映しているのかもしれない。

興味深いことに、各科内の種間での発現量の比較では、メダカ科の青オプシンの発現量は体色が青色の種 (*O. woworae*) で有意に他の種より高くなっていった (図 4B)。この結果は、*O. woworae* において、青が同種を識別するシグナルとして機能していること、また青色の認識に対して種間で異なる選択圧が存在することを示唆している。一方、サヨリ科の青オプシンでは、種間に有意な発現量の差は見られなかった (図 4A)。なお図には示していないが、サヨリ科では青色の体色を持つ *N. megarrhamphus* では、松果体での光受容体として知られるパラピノプシン遺伝子の発現量が有意に増加していた。近年の研究から、魚類のパラピノプシンは UV 光に反応する光受容体であることが示されているため (Wada et al. 2018)、サヨリ科の体色の進化には、我々ヒトの色覚では捉えられない波長領域にある「色」の認識が関与しているのかもしれない。オプシン遺伝子の進化については、各色彩のオプシタンパク質における吸収波長を決定するアミノ酸サイトの変異を調べ、種間で比較するなど、さらなる解析を行う必要がある。

A.



B.

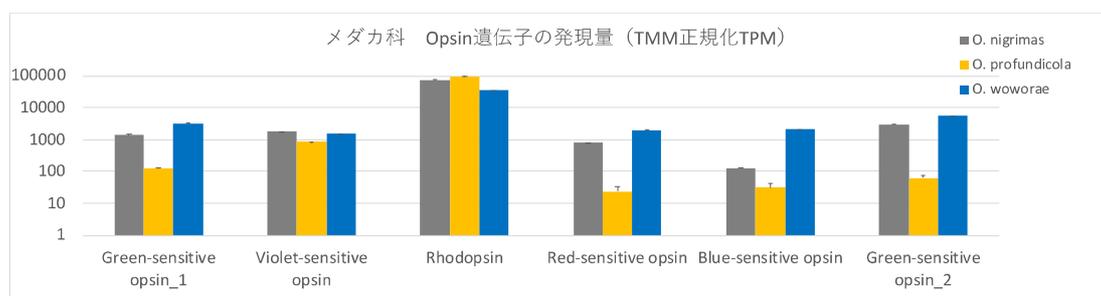


図 4. サヨリ科およびメダカ科 3 種における、視覚関連オプシン遺伝子の発現量比較 (A: サヨリ科, B: メダカ科)

< 引用文献 >

- Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M, Levin JZ, Thompson DA, Amit I, Adiconis X, Fan L, Raychowdhury R, Zeng Q, Chen Z, Mauceli E, Hacohen N, Gnirke A, Rhind N, di Palma F, Birren BW, Nusbaum C, Lindblad-Toh K, Friedman N, Regev A. (2011) Full-length transcriptome assembly from RNA-seq data without a reference genome. *Nat Biotechnol.* 29(7):644-52.
- Langmead B, Salzberg S. (2012) Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods* 9:357-359.
- Li B & Dewey CN (2011) RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics* 12:323.
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK (2010) edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*, 26:139-140.
- Seehansen O, Terai Y, Magalhaes IS, Carleton KL, Mrosso HD, Miyagi R, van der Sluijs I, Schneider MV, Maan ME, Tachida H, Imai H, Okada N. (2008) Speciation through sensory drive in cichlid fish. *Nature* 455: 620-626.
- Terai Y, Mayer WE, Klein J, Tichy H, Okada N. (2002) The effect of selection on a long wavelength-sensitive (LWS) opsin gene of Lake Victoria cichlid fishes. *PNAS* 99: 15501-15506.
- Wada S, Shen B, Kawano-Yamashita E, Nagata T, Hibi M, Tamotsu S, Koyanagi M, and Terakita A. (2018) Color opponency with a single kind of bistable opsin in the zebrafish pineal organ. *PNAS* 115: 11310-11315.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Montenegro J, Mochida K, Matsui K, Mokodongan DF, Sumarto BA, Lawelle SA, Nofrianto AB, Hadiaty RK, Masengi KWA, Yong L, Inomata N, Irie T, Hashiguchi Y, Terai Y, Kitano J, Yamahira, K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Convergent evolution of body color between sympatric freshwater fishes via different visual sensory evolution.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 6389-6398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1002/ece3.5211	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Montenegro et al.
2. 発表標題 Parallel evolution of body coloration between sympatric freshwater fishes with non-parallel evolution of visual sense
3. 学会等名 Society for Coastal Ecosystems Studies-Asia Pacific (SCESAP) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔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	山平 寿智 (Yamahira Kazunori) (20322589)	琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授 (18001)	
研究協力者	橋口 康之 (Hashiguchi Yasuyuki)		