

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20570084

研究課題名（和文）幼形進化に隠された多様性：サンゴ礁性シラスウオ科魚類の進化パターン分析

研究課題名（英文）Hidden Diversity in Paedomorphosis: Analysis of Evolutionary Pattern of Coral Reef Fish *Schindleria*

研究代表者

昆 健志（KON TAKESHI）

東京大学・大気海洋研究所・特任研究員

研究者番号：10401192

研究成果の概要（和文）：本課題において、ハワイ、パラオ、インドネシア、タイ、および沖縄にて採集を実施し、合計1500個体以上のシラスウオ科魚類を得た。パラオ産の分子系統解析では、5種の分布が確認され、そのうちの4種が新たに見つかった隠蔽種であったことから、本分類群は地域固有性が高い傾向にあると考えられた。また、ミトコンドリアDNA全長塩基配列を用いて系統解析を行った結果、シラスウオ科はクロユリハゼ科やオオメワラスボ科と一つのグループを形成し、タンザクハゼ属に近縁であることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：In the present project, I have obtained more than 1,500 *Schindleria* specimens from Hawaii, Palau, Indonesia, Thailand, and Okinawa. Molecular phylogenetic analysis detected five species in Palauan specimens and revealed four new cryptic species of the five ones. These four species were endemic to Palau, suggesting that the level of endemism is high in *Schindleria*. The resultant phylogenetic trees based on whole mitochondrial DNA sequences strongly supported that all *Schindleria* species are placed as sister group to *Oxymetopon* in Microdesmidae + Ptereleotridae.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：海洋生物学

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：幼形進化・魚類・隠蔽種・多様性・分子系統・サンゴ礁生態系

## 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（海綿から哺乳類まで）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の見積りに大きな影響を与えると予測されている。このような隠蔽種が多く含まれるグループとして、未発達な形態を示す幼形進化的グループがあげられ、実際に、本課題の研究代表者らは幼形進化を示すハゼ亜目シラスウオ科シラスウオ属魚類（以下、シラスウオ類）などで多くの隠蔽種を発見してきている。このような幼形進化的な分類群は、シラ

スウオ類も含めて熱帯・亜熱帯域を中心に数多くのグループが知られていて、特にこの地域における生物多様性を理解する上で無視できない存在であると考えられた。

## 2. 研究の目的

そこで、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するために、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、本魚類の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ることとした。このシラスウオ類の全世界的な多様性とその進化プロセスを明らかにするために、以下のことを明らかにすることを目標とした。

(1) ミトコンドリアDNA (mtDNA) の塩基配列を用いた分子系統学的手法によって隠された多様性 (隠蔽種の存在) を明らかにし、シラスウオ類の種多様性の全体像を把握する。

(2) mtDNAの全塩基配列とベイズ法や最尤法の組み合わせといった信頼の高い手法を用いて、全シラスウオ類を含むハゼ亜目の頑健な系統樹を構築する。

(3) 以上の系統樹における分岐年代を推定し、その分岐パターンを数理的に解析することによって、シラスウオ類の多様化過程を総合的に明らかにする。著しく多様化が起きた時期と地球環境の変遷などとの関連が認められるかどうか注目して研究を進める。

## 3. 研究の方法

(1) 標本採集は、中～西太平洋を中心とした地域 (タヒチ・ハワイ・パラオ・インドネシア・タイ) のサンゴ礁域において、協力者や補助者と共に夜明け前の時間帯を中心に夜間集魚灯と手網を用いて実施した。採集後はその場でソーティングをしてから、直ちに99.5%エタノールにて標本を固定し、冷蔵保管した。

(2) 分子系統解析を以下の通り実施した。  
① 実体顕微鏡下において形態観察 (計測・計数) 後に標本からDNAの抽出を行い、mtDNA上の16S rRNA遺伝子をPCR法によって増幅、部分塩基配列を決定した。得られたデータを、琉球列島産を中心に作成された最新の系統樹に組み込んで再解析し、新しい系統を検出することで隠蔽種を探索した。

② ①の解析によって明らかにされた種をOTUとして他のハゼ亜目魚類と共にmtDNAの全塩基配列情報により系統解析を行った。まず抽出DNAからロングPCRによってmtDNAを2～3つの長い断片として増幅・精製し、それを鋳型に多数の魚類ユニバーサルプライマーを用いたPCRで一気に全mtDNAの塩基配列を決定した。シラスウオ類には遺伝子配置変動を起こしている種も含まれていたため、適宜、種特異的なプライマーを作成し解析に用いた。

(3) 分岐年代推定・多様化パターン解析を、以下に解析した。

① 系統樹の樹形とDNA塩基配列に基づき分岐年代のベイズ推定を行った。

② 上述の (2) ②の系統樹を基にどの内部枝で顕著な多様化率の変化が起こったかを分析した (図1)。

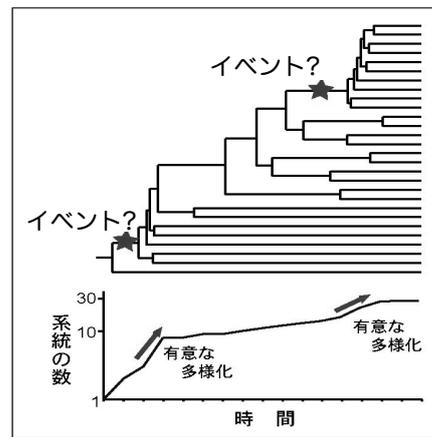
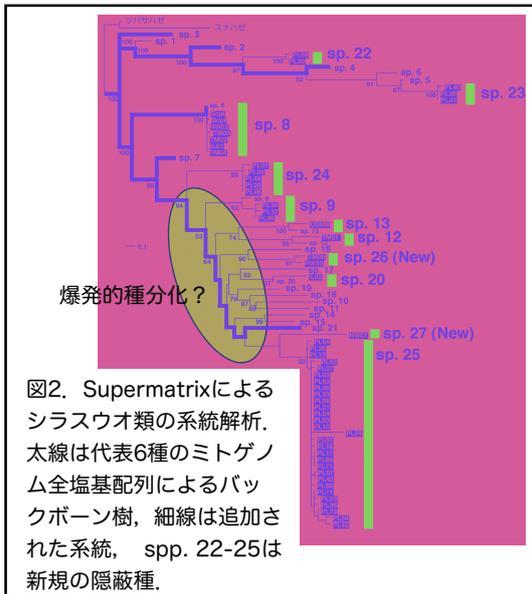


図1. 系統多様化分析の概念図

## 4. 研究成果

(1) 研究期間中に、タヒチのモーレア島、ハワイのハワイ島、パラオのコロール島、インドネシアのレンベとレンボガン島、タイのプーケット、および沖縄県本部にて採集を実施し、合計1500個体以上のシラスウオ類を得ることに成功した。これらのうち、パラオ産の標本について詳細に解析したところ、5種の分布が確認され、そのうちの4種が新たに見つかった隠蔽種であった (図2)。このことからシラスウオ科魚類は地域固有性が高い傾向にあることが明らかになった。この成果をIchthyological Research 誌において論文として公表した。他地域の個体についても解析を進め、さらに隠蔽種を発見しており、太平洋域だけでも、少なくとも30種以上になると予想される。

(2) 上述のようにシラスウオ類は、基本的に地域固有性が高い傾向にあることが明ら



かになったが、例外的に広域に分布する種が1種のみ発見された。琉球列島、小笠原、パラオに分布する計25種のうち、*Schindleria* sp. 8は、沖縄のほかに、遠く離れた中央太平洋のハワイおよびタヒチでも採集された。シラスウオ類は、一生をサンゴ礁池で過ごすと考えられ、1世代も約1ヶ月と短く、沈性付着卵を産むことから、分散能力は低く、(1)の結果のように地域固有性が高いと予測されていた。しかし、*Schindleria* sp. 8のような例外が見つかったことにより、従来の生態的な知見を再検討する必要性が示唆された。

(3) ミトコンドリアDNA全長塩基配列を用いた系統解析を最尤法およびベイズ法によって、シラスウオ科を含むハゼ亜目全体(50種)を対象として進めた。その結果、シラスウオ科はクロユリハゼ科やオオメワラスボ科と一つのグループ(クレード)を形成することが明らかとなった。このことは最尤法の高いブートストラップ確率ならびにベイズ法の高い事後確率によって支持されている。また、両科のうちの特にタンザクハゼ属 *Oxymetopon* と姉妹群を形成することがほぼ確実となった。

(4) 分岐年代推定ならびに多様化パターン解析については、シラスウオ類にミトコンドリアDNAの遺伝子配置変動を示す種が含まれていることや、ハゼ亜目魚類の分子進化速度が種間で大きく異なっていることが解析中に明らかになってきたことから、それら解析の基となる系統樹の構築から慎重に進めている段階である。予備的解析では、シラスウオ類の多くの種が短時間の間に急激に種分化した可能性が考えられた(図2)。今後、頑健な系統樹が完成後に、本格的な解析を改めて進める予定である。

## 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)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Kon, T., T. Yoshino, and M. Nishida. 2011. Cryptic species of the gobioid pedomorphic genus *Schindleria* from Palau, Western Pacific Ocean. *Ichthyological Research*, 58: 62-66. (査読有)

[学会発表] (計7件)

- ① 昆 健志. 極端な幼形進化を示すシラスウオ属魚類の分子系統地理. 日本魚類学会シンポジウム. 三重県文化会館. 2010年9月26日.
- ② 原 政子・昆 健志・仲村茂夫・西田 睦. シラスウオ属 (*Schindleria*) 魚類の卵における付着装置の多様性. 日本魚類学会年会. 三重県文化会館. 2010年9月24日.
- ③ 昆 健志. 極端な幼形進化を示すサンゴ礁性シラスウオ科魚類に隠された多様性. シンポジウム「水生生物の異時性に関する研究 現状の把握と今後の展望」. 東京大学海洋研究所. 2009年11月10日.
- ④ 昆 健志・吉野哲夫・西田 睦. パラオから得られたハゼ亜目シラスウオ属魚類の隠蔽種. 日本魚類学会年会. 東京海洋大学. 2009年10月11日.
- ⑤ 昆 健志, 宮 正樹, Lukas Rüber, 中谷将典, 佐藤 崇, 吉野哲夫, 西田 睦. 隠された多様性を持つ幼形進化的シラスウオ科魚類(ハゼ亜目)の起源と形態的進化の停滞. 日本進化学会大会. 北海道大学. 2009年9月3日.
- ⑥ Takeshi Kon, Masaki Miya, Lukas Rüber, Masanori Nakatani, Takashi P. Satoh, Tetsuo Yoshino, and Mutsumi Nishida. The origin of the pedomorphic fish *Schindleria* (Gobioidae) inferred from whole mitochondrial DNA sequences. 8th Indo Pacific Fish Conference (第8回インド-太平洋魚類国際会議). オーストラリア, エスプラネードホテル・フリーマントル. 2009年6月4日.
- ⑦ 昆 健志・宮 正樹・Lukas Rüber・中谷将典・佐藤 崇・吉野哲夫・西田 睦. 幼形進化的シラスウオ属魚類の起源:ミトコンドリアゲノム全長配列による分子系統解析. 日本魚類学会年会. 愛媛大学. 2008年9月22日.

[その他]

ホームページ等

<http://darwin.aori.u-tokyo.ac.jp/Nishidalab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

昆 健志 (KON TAKESHI )

東京大学・大気海洋研究所・特任研究員

研究者番号：10401192

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：