

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2013～2015

課題番号：25304011

研究課題名(和文) 親潮流路にある島嶼生物の側所的進化と適応放散-極東域生物相形成史の解明を目指して

研究課題名(英文) Parapatric evolution and adaptive divergence of Insular fishes along the Oyashio current

研究代表者

宗原 弘幸 (MUNEHARA, Hiroyuki)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号：80212249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：カムチャツカ半島、ウナラスカ、バンクーバー島でスクーバ潜水による標本採集調査を行った。また北大練習船による北極海での採集調査も行った。標本を同定するとともに、分子系統解析および不凍タンパク質の発現状況を調べた。その結果、約50種400個体のカジカ類、ダンゴウオ類、アイナメ類を採集し、大学に保管していた標本と合わせカジカ上科6科47属92種の分子系統解析を行った。沖合から沿岸への独立した進化、東西北太平洋に分断分布する種の別種相当の遺伝的距離、垂直分布制約の回避による大規模系統回遊などの仮説提案ができた。この仮説と不凍タンパク質の解析からカジカ類の寒冷地への侵入過程の一端を解明できた。

研究成果の概要(英文)：Sampling of Cottoids (Cottidae, Rhamphocottidae, Psychrolutidae, Agonidae, Cyclopteryidae, Hexagrammidae) using with SCUBA diving was conducted at Kamchatka Islands, Unalaska and Vancouver, and sampling by trawl net from University training ship also done in the Arctic Ocean. We successfully collected about 50 species from precise species identification after research. We carried out a molecular phylogenetic analysis from 6 families 47 genera 92 species including specimens collected in this study. As results we proposed some hypotheses such as species divergences from offshore to coastal area, disruptive evolution of species distributing in the East Pacific and the West Pacific and large phylogenetic vertical migration by lacking bladder. We also investigated the evolutionary process of invasion to the Arctic Ocean by cottid fishes from genetic analyses of antifreeze proteins.

研究分野：魚類生態学

キーワード：カムチャツカ 北太平洋要素種群 アラスカ カジカ 不凍タンパク質 分子系統 寒冷適応 バンクーバー島

## 1. 研究開始当初の背景

【生物地理】北日本を含む極東沿岸に分布する生物の多くは、日本近海にのみ生息する極東固有種、広く環北太平洋に分布する広域分布種および日本沿岸と北太平洋東部沿岸にのみ分布する不連続分布種のいずれかで、これらを一括して環北太平洋要素種群と呼ぶ。これらの生物の分布は、新生代第四紀に起きた地球規模の気候や海水準変動の攪乱と現在も流れる親潮の影響を強く受ける。そのため、暖流の影響下にある関東以南以西(インド-太平洋要素種群)よりも、日本から遠く離れた北米西海岸やアリューシャン列島の生物群と共通項が多い。北海道・東北地方から極東ロシア、千島列島、カムチャツカ半島、アリューシャン列島、カナダ、北米西海岸までは、連続した島嶼からなっている。そのため、分散範囲が狭く、地形に依存した分布を持つ沿岸性魚類に着目することで、日本における海洋生物相の形成史の一端が解明できる。

【進化生態】種分化研究には多くの論争がある。かつては生息地が分断された時に異所的に起こると考えられていた種分化は、タンガニカ湖のカワスズメ科やバイカル湖のカジカ科魚類の研究などにより、同所的種分化も認識されてきた(Coyne & Orr, 2004 in Speciation など)。しかし、浮遊期があり、集団間で緩やかな交流を持ちやすい多くの海産生物は、側所的種分化(分散期を通じて離れた生息地に漂着した集団が分散元とは異なる淘汰圧を受けて種分化)による適応放散が起こりやすい(Rocha & Bowen 2005 in J Fish Biol)。これまで申請者らは、代表的な環北太平洋要素種群であるカジカ類の系統、生理、生態の適応進化過程の解明を目的に、ロシアやアメリカで調査を行ってきた。その過程で、これらの水域全体が親潮流路に沿って連続的に配置する島嶼群からなり、環北太平洋要素種群が新生代第四紀に側所的進化した舞台であるとする着想を得た。しかし、これらの水域は、極東生物形成史の研究を進める上で要衝であるが、共同研究に支障が伴うロシア極東域やアクセスが困難な高緯度島嶼域であり、標本も研究例も世界的に見て非常に少ない。遺伝子試料としては、これまでに我々が集めた標本数が世界最多と考えられる。我々が様々な分野から研究を進めているカジカ類は、分散能が低く、地域個体群を作りやすく、種数も多く(約 300 種)、多様な生息域に進出しているなど、環北太平洋要素種群研究のモデルとしてふさわしい分類群である。的確な材料選定により、本研究は大きな進展が可能となる。

## 2. 研究の目的

本研究では、北日本海洋生物相の形成史解明を目的に、環北太平洋沿岸各地から魚類標本を収集し、系統関係を明らかにするとともに、機能遺伝子に着目した適応放散過程を解明する。北日本を含む極東沿岸域の海洋生物相

は、新生代に起きた気候や海水準の変動履歴と現在も流れる親潮の影響を強く受けるため、浮遊生活期を持つ魚類は、千島列島やアリューシャン列島、北米西海岸と類似度が高く、近縁種も多く持つという特徴がある。すなわち、環北太平洋沿岸域は親潮流路に沿って連続した島嶼からなる側所的進化の実験場と見なすことができる。そこで、形態・生態・生殖生理など多様に適応放散を遂げたカジカ類を中心に、生物地理学的解析と分子系統解析を行う。

## 3. 研究の方法

調査期間内に、ロシア領海域および北米海域で潜水と磯採集による浅海調査を実施し、北極海では底引き網で標本採集を行う。調査地は、調査を終えた7箇所を含め、深い海峡や速い海流で過去を通じて隔離されやすい海域から採集した標本をもとに、種間・種内の系統関係や遺伝構造を明らかにする。また国立極地研究所が推進する北極気候変動研究事業(GRENE)に参加し、北大練習船おしよる丸の北極海航海で不凍タンパク質(AFPs)の発現実験を船上で行う。

## 4. 研究成果

### (1) 調査旅程

平成 25 年度は、3 月に 10 日間の予定で宗原弘幸、古屋康則、安房田智司、カメラマンの佐藤長明、学振特別研究院山崎彩の 5 名によりウナラスカ島で潜水調査を行った。ダイビングボートのチャーターとビーチからアクセスしたが、この年は水温が例年と比べ冷たく魚の活動性も低く 20 種 150 個体に留まった。7 月の北大練習船での北極海調査では、山崎彩がトロールでホッキョクツマグロカジカなどを採集でき、船上で不凍タンパク質遺伝子分析用の試料収集ができた。

平成 26 年度は、7 月に 11 日間の予定で、宗原、古屋、と大学院生鈴木将太、三宅翔太、菊池優の計 5 名でカムチャツカ半島に行った。現地でダイビングボートをチャーターし、アカバ湾周辺を調査した。当初は、湾外に出て北千島列島まで行く予定であったが、天候に恵まれず、断念した。15 種 130 個体採集した。

平成 27 年度は、7 月に 2 週間の予定で、バンクーバー島とウナラスカ島で潜水による標本採集調査を行った。前半は、宗原、安房田、古屋、佐藤、大学院生の大友洋平の 5 名で、後半は、古屋、安房田と山崎が入れ替わり 4 名で行った。これらの調査で持ち帰った標本を同定するとともに、分子系統解析および不凍タンパク質の発現状況を調べた。

### (2) カジカ上科の分子系統

カジカ上科 6 科 47 属 92 種から抽出した全 DNA を用い、mtDNA 3 領域および nDNA 核 DNA1 領域合計 4 領域の配列を決定し、最尤法系統樹およびベイズ法を用いて系統樹を作成した。また、解析の結果得られた各クレードの分析には、GenBank から新たに 103 種の COI 領域の配列を引用し、合計 195 種を用い

た。

その結果、得られた樹形は最尤法系統樹およびベイズ法系統樹と有意に異なったが、一貫して7つのクレード(1)~(7)が形成された。本研究で得られた系統樹に各属の生息水深をプロットしたところ、カジカ上科魚類では少なくとも2回、浅海域から沖合へ進出したグループが存在することが分かった。また、極東域に固有なニジカジカグループは、北太平洋東岸に固有なOligocottinaeから分派したと考えられていたが、本研究からは、それぞれが独立して進化した可能性が支持された。カジカ上科魚類は鰾を持たないため、水圧変化による垂直分布の生理的制約が回避されることが知られている。生息水深の自由度の高さが、カジカ上科の大規模な適応放散に関係していると推察された。

### (3)カジカ科魚類の不凍タンパク

海水が凍結する海域に生息する多くの海洋生物は、不凍タンパク質(AFPs)、あるいは不凍糖タンパク(AFGPs)を生産することにより体の凍結を防ぐ。そこで、本科各種の北極海への進出時期、ギスカジカ属の不凍活性とAFP遺伝子構造、温帯種を含む本科数種の不凍活性を調べた。

寒帯から亜寒帯にかけて種間で異なる分布域を持つギスカジカ属数種の不凍活性とmRNA塩基配列を比較した結果、不凍活性は寒帯浅海性種で最も高く、寒帯深海性種で最も低く、亜寒帯浅海性種2種はその中間の値をとり、不凍活性が生息水深および底水温と相関することが示された。各種のアイソフォーム数は寒帯性種で最も少なく、亜寒帯性種で多い傾向があった。これは、不凍活性の高い種では機能するアイソフォームは少数であってもAFP合成能が高く、不凍活性が低い種ではAFP合成能が低いことを示した。活性の低い亜寒帯種のアイソフォームが立体構造を維持するためのイオン結合部位を欠いているためと考えられた。

以上からカジカ科39種の不凍活性は、寒帯では夏季に採集した種でも高い不凍活性を維持し、亜寒帯では冬季でも低活性または無活性の種が存在すること、凍結の可能性が低い生息域の種でも活性を持つ種がいることが分かった。また過去に獲得した遺存形質と考えられるケースもあった。カジカ上科を対象とした分岐年代推定から、カジカ科における北極海への進出は少なくとも3回あったことが分かった。

## 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7件)

Hatano M, Abe T, Wada T, Munehara H. (2015) Ontogenetic metamorphosis and extreme sexual dimorphism in lumpsuckers: Identification of the synonyms *Eumicrotremus asperrimus* (Tanaka, 1912), *Cyclopteropsis bergi* Popov, 1929 and *Cyclopteropsis lindbergi* Soldatov, 1930. J. Fish Biol., 86(3): 1121-1128. DOI: 10.1111/jfb.12627. 査読あり

Yamazaki A, Munehara H. (2015) Identification of larvae of two *Gymnocanthus* (Cottidae) species based on melanophore patterns. Ichthyological research, 62: 240-243. DOI:10.1007/s10228-014-0429-4. 査読あり

Li A, Munehara H. (2015) Complete mitochondrial genome of the antlered sculpin *Enophrys diceraus* (Scorpaeniformes, Cottidae). Mitochondrial DNA, 26(1): 125-126. DOI: 10.3109/19401736.2013.814114. 査読あり

Kimura-Kawaguchi M, Horita M, Abe S, Arai K, Kawata M, & Munehara H. (2014) Identification of hemi-clonal reproduction in three species of *Hexagrammos* marine reef fishes. J. Fish Biol., 85: 189-209. DOI: 10.1111/jfb.12414. 査読あり

Yamazaki A, Markevich A, Munehara H. (2013) Molecular phylogeny and zoogeography of marine sculpins in the *Gymnocanthus* (Teleostei; Cottidae) based on mitochondrial DNA sequences. Marine Biology, 160: 2581-2589. DOI 10.1007/200227-013-2250-4. 査読あり

古屋康則・三橋直哉・安房田智司・伊藤岳・宗原弘幸：カジカ科スイ *Vellitor centropomus* における雌雄の生殖腺組織と体内配偶子会合の確認。魚類学雑誌, 62(2): 121-131 (2015). 査読あり

Natsumeda T, Tsuruta T, Takeshima H, Awata S, Iguchi K, (2014) Variation in morphological characteristics of Japanese fluvial sculpin related to different environmental conditions in a single river system in eastern Japan. Ecology of freshwater fish, 23: 114-120. Doi 10.1111/eff.12045. 査読あり

[学会発表](計14件)

富樫孝司・山崎彩・安房田智司・古屋康則・阿部拓三・鶴岡理・アレックスマルケビッチ・宗原弘幸 カジカ上科魚類6科47属92種から見た本上科の分子系統。日本水産学会, 東京海洋大学(東京都港区)2016年3月27日

安房田智司・佐々木春香・後藤智仁・古屋康則・武島弘彦・山崎彩・宗原弘幸 ホヤヤ

カイメンに卵を預ける魚の産卵場所選択と産卵管の進化. 日本水産学会北海道支部会, 東京農業大学(北海道網走市) 2015年12月18日

山崎彩・中野翼・宗原弘幸 ベーリンク海およびチャクチ海におけるカジカ科魚類の分布と気候変動に対する応答について. 日本水産学会北海道支部会, 東京農業大学(北海道網走市) 2015年12月18日

野原健司・佐久間啓・安房田智司・宗原弘幸・矢部衛・坂井恵一・作田純・岩田陽介・松野大亮・峰岸武弘 日本近海の浅水性魚類の比較系統地理-沿岸性カジカ科魚類を例に. 日本魚類学会, 近畿大学(奈良県奈良市) 2015年9月5日

山崎彩・津田栄・西宮佳彦・宗原弘幸 ギスカジカ属4種の不凍タンパク質アイソフォーム多型と不凍活性. 日本進化学会, 大阪大学(大阪府高槻市) 2015年8月21日~24日

古屋康則・三橋直哉・安房田智司・宗原弘幸 カジカ科スイ *Vellitor centropomus* における体内配偶子会合型の生殖様式の再確認. 日本魚類学会, 生命の星地球博物館(神奈川県小田原市) 2014年11月15日

山崎彩・花田祐一・津田栄・宗原弘幸 北太平洋および北極海に生息するカジカ科魚類の不凍タンパク質活性. 日本魚類学会, 生命の星地球博物館(神奈川県小田原市) 2014年11月15日

河相吉典・古屋康則・安房田智司・宗原弘幸 ニジカジカグループの分子系統と生殖関連形質の多様性. 日本魚類学会, 生命の星地球博物館(神奈川県小田原市) 2014年11月15日

安房田智司・後藤智仁・古屋康則・武島弘彦・山崎彩・宗原弘幸 佐渡島産海産カジカ9種の産卵場所としてのホヤ種・カイメン種選択. 日本魚類学会, 生命の星地球博物館(神奈川県小田原市) 2014年11月15日

大吉徹・宗原弘幸 キマダラヤセカジカの卵巣内精子競争における交尾のタイミングが卵の父性決定に与える影響. 日本水産学会北海道支部会, 函館市国際水産海洋総合研究センター(北海道函館市) 2014年12月19日

百田和幸・大島由貴・宗原弘幸 ヤギウオ *Pallasina barbata* の産卵生態と初期形態変化. 日本水産学会北海道支部会, 函館市国際水産海洋総合研究センター(北海道函館市) 2014年12月19日

山崎彩・アレキサンダーマルケビッチ・宗原弘幸 Molecular phylogeny and zoogeography of marine sculpins in the *Gymnocanthus* (Teleost Cottidae) base on mitochondrial DNA sequences. インド・太平洋国際魚類学会議, 沖縄コンベンションセンター(沖縄県宜野湾市) 2013年6月26日

李昂・宗原弘幸 Phylogenetic analysis and molecular evolution of copulatory

behaviour in two cottid genera. インド・太平洋国際魚類学会議, 沖縄コンベンションセンター(沖縄県宜野湾市) 2013年6月26日

山崎彩・アレキサンダーマルケビッチ・宗原弘幸 生物地理および分岐年代より推定するカジカ科魚類の太平洋から北極海への侵入過程. 日本水産学会, 北海道大学函館キャンパス(北海道函館市) 2014年3月28日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宗原弘幸 (MUNEHARA, Hiroyuki)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号: 80212249

### (2) 研究分担者

矢部衛 (YABE, Mamoru)

北海道大学・水産科学研究科(研究院)・教授

研究者番号: 80174572

古屋康則 (KOYA, Yasunori)

岐阜大学・教育学部・教授

研究者番号: 30273113

安房田智司 (AWATA, Satoshi)

新潟大学・自然科学系・助教

研究者番号: 60569002

阿部拓三 (ABE, Takuzou)

北海道大学・水産学部・助教

研究者番号: 90639270