

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 21 日現在

機関番号：18001

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26650167

研究課題名(和文)スラウェシ島の湖沼性淡水魚における体色の多様化と類似化に関する研究

研究課題名(英文)Researches on diversification and similization of body coloration among lacustrine freshwater fishes in Sulawesi

研究代表者

山平 寿智(Yamahira, Kazunori)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授

研究者番号：20322589

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：赤道直下のスラウェシ島に分布するメダカ科魚類とサヨリ科魚類の体色を調べたところ、メダカもサヨリも異なる湖に生息する集団間で体側の赤色の面積も体内のカロテノイド量も大きく異なるが、同じ湖に生息するメダカとサヨリはそれらが類似していることがわかった。しかし、メスの眼球で発現している赤色を感受するオプシン遺伝子の発現量は、メダカでは集団間で大きく異なっていたが、サヨリではそうした違いが見られなかった。これらの結果は、メダカとサヨリの赤色の多様化と類似化が、センサリードライブによる収斂進化を反映していないことを示唆している。

研究成果の概要(英文)：We investigated body coloration of medaka and freshwater halfbeaks distributed in Sulawesi, an island right on the equator. Both in medaka and halfbeaks, the area of reddish parts in the side and the amount of internal carotenoids greatly differed among populations, but sympatric pairs of medaka and halfbeaks resembled each other in these characters. However, although the expression level of the long-wavelength (i.e., red) sensitive opsin gene in eye balls greatly differed among the populations in medaka, but such a interpopulation variation was not observed in halfbeaks. These results suggest that the diversification and similization of body coloration between these freshwater fishes do not reflect sensory-driven convergent evolution.

研究分野：進化生態学

キーワード：性淘汰 収斂進化 メダカ スラウェシ サヨリ

1. 研究開始当初の背景

熱帯はなぜ多様なのか？種多様性の緯度勾配を説明する仮説として、近年‘種分化仮説’が注目を集めている (Mittelbach et al. 2007). すなわち、熱帯は種分化速度が速いというのである。しかし、なぜ熱帯では種分化が速いのか、そのコンセンサスは得られていない。

赤道直下のスラウェシ島の湖沼性淡水魚の多くは種分化が速く、湖ごとに異なる姉妹種に分化していることが知られている (Kottelat et al. 1993). また、これら姉妹種は、湖間で体色が質的に大きく異なるという特徴をもつ (Herder et al. 2006). 興味深いのは、同じ湖に生息する種は、分類群を超えて体色が類似していることである。例えば、ポソ湖にいるメダカ、ハゼ、およびサヨリ科のオスはいずれも全身真っ黒であるが、マリリ湖のメダカとハゼとサヨリはいずれも黄色を基調とした体色である (図1)。また、ムナに分布するメダカとサヨリのオスはいずれも鮮やかなメタリックブルーをしている。こうした体色の多様化と平行進化はなぜ生じたのだろうか？



図1 スラウェシ島の湖沼性メダカ、サヨリ、およびハゼ科代表種

一つは、センサーバイアスによる光環境への収斂進化が考えられる。すなわち、各湖の光透過特性を反映して、湖特異的なメスのオスの体色に対する選好性が、複数の分類群に独立に進化したのかもしれない。実際に我々は、青いメダカとサヨリがいる‘青い湖’が、非常に透き通った青い水を湛えていることを確認している (陶 2012). そうした環境は、メスの視覚に分類群を超えた共通の遺伝的变化を引き起こさう。

しかし、‘黒の湖’と‘黄色の湖’の光環境は我々には同じに見えた。これは、収斂進化のシナリオと相容れない。我々は、黒や黄色の体色は、湖に同所的に生息する他種を視覚的に認識するための適応を起点とした、センサーバイアスの共進化によって進化したのではと考えている。例えば、各湖のメダカとサヨリとハゼは、体サイズ次第で互いに捕食者になりうる。そうした環境では各種は互いに他種を認識しやすい視覚を進化させ、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し、さらにそれが他種の視覚を進化させるといった共進化サイクルが生じうる。この場合、湖の光環境とは無関係な体色と視覚が複数の分類群に進化するだろう。

2. 研究の目的

本研究は、スラウェシ島南東部の光環境の異なる4つの湖および河川に生息するメダカ科およびサヨリ科魚類を対象に、(1)各生息地における両科間のオスの体色の相関、ならびに各生息地の光環境とオスの体色との間の相関を調べる。また、(2)メスの眼球で発現している遺伝子の発現量と配列を解析し、色覚の多様化と平行進化の原因遺伝子も探索する。以上の結果をもとに、本島における淡水魚の体色の多様化と類似化が、センサーバイアスによる収斂進化を反映しているかを検討する。

3. 研究の方法

スラウェシ島南東部の4つの地点 (Asunu, Moramo, Laweau, および Fotuno) から、メダカ科魚類: *Oryzias asinua*, *O. wolasi*, および *O. woworae* を採集した (図2)。これらのメダカは単系統群を形成する近縁種で、鱗の赤さが集団間で異なることが知られている (図2) (Parenti et al. 2013). また、各地点からサヨリ科魚類: *Nomorhamphus* spp. も採集した。*Nomorhamphus* 属のサヨリも鱗に赤味を帯び、4つの地点間で赤味の濃さが異なることが我々の予備調査から明らかとなっている (図2) (Montenegro et al. 未発表)。さらに、分光光度計 (Ocean Optics 製) を用いて、各生息地のトランスミッタンス (各波長の透過度) の測定も行った。

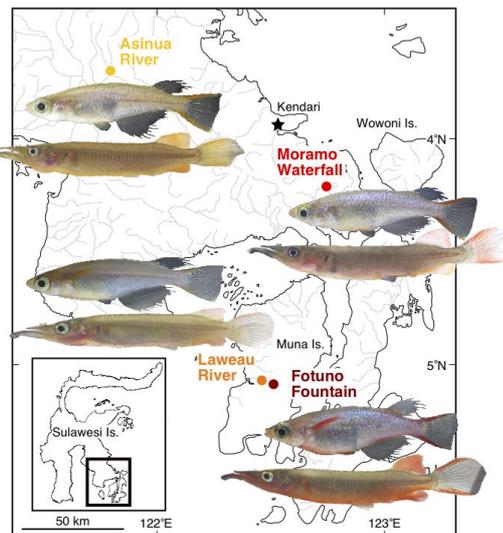


図2 スラウェシ島南東部のメダカ (*Oryzias woworae* 種群) とサヨリ (*Nomorhamphus* 種群)

採集したメダカとサヨリは活かしたまま室内に持ち帰り、デジカメで体側を撮影した。デジカメの画像は、後日パソコンに取り込み、画像解析ソフトを用いて各個体の体側の赤色の面積を測定した。また、MS222で麻酔をかけた後、分光光度計を用いて、胸鱗と尾鱗の赤色のレフレクタンスの測定も行った。さらに、一部の個体は活かしたまま、ないしは冷凍して日本に持ち帰り、カロテノイドを抽出してその総量を定量した。

また、一部の個体は RNA later に保存して日本に持ち帰り、眼球から RNA を抽出した。これを用いて RNA-Seq を行い、日本のメダカの参照配列にマッピングして、メダカとサヨリそれぞれについて、眼球で発現しているオプシン遺伝子の cDNA 配列コンティグを決定した。さらに、得られた配列コンティグを元にプライマーを設計し、q-PCR で各オプシン遺伝子の発現量も定量した。

4. 研究成果

Asinua の生息地は長波長のトランスミッタンスが他の生息地に比べて最も高く、Fotuno が最も低いことがわかった。一方、採集したメダカの体側の赤色の面積は Fotuno が最も大きく、次いで、Moramo, Asinua, Laweau の順になった(図3)。サヨリも赤色の面積は Fotuno が最大で、Asinua が最小になった(図3)。メダカとサヨリとの間の赤色面積の相関は、有意に正となった(図3)。抽出されたカロテノイドの総量も、赤色面積とほぼ同じ傾向を示し、メダカとサヨリとの間で有意な正の相関を示した。一方、分光光度計を用いた赤色のレフレクタンス特性は、メダカもサヨリも集団間で異なるものの、メダカとサヨリとの間に有意な相関は見られなかった。これらの事実は、メダカとサヨリとの赤色の平行進化が、カロテノイドのタイプではなく、色素胞の数の進化を反映していることを示唆している。今後は組織学的観察も必要と考えられた。

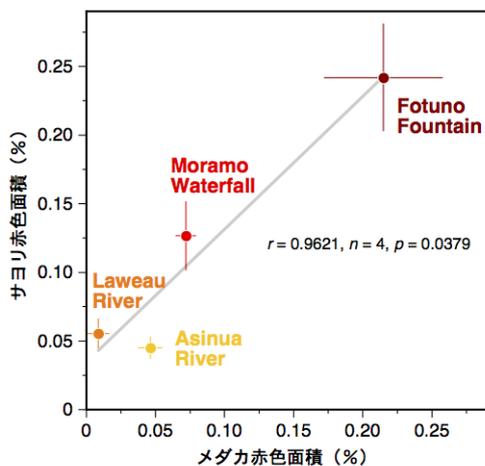


図3 スラウェシ島南東部のメダカとサヨリ4集団の体色の赤色面積の相関

メダカもサヨリも、オプシン遺伝子6つ(LWS, RH1, RH2A, RH2B, SWS1, および SWS2B)の発現を確認できた。赤色を感受するLWS遺伝子の発現は、メダカ集団間で有意に異なることがわかった: オスもメスも、Asinua と Moramo が、Laweau と Fotuno よりも発現が高かった(図4)。この発現量の順序は、体色の赤色の濃さの順序とはパラレルではなかった。一方、サヨリのメスのLWSの発現量は、集団間で有意に異なることがわかった(図4)。また、LWSの発現量に、メダカとサ

ヨリとの間で有意な相関も見られなかった。これらの結果は、体色の赤色の集団間変異が、オプシン遺伝子の発現量の収斂進化を反映しているというシナリオと相容れない。また、LWS以外のオプシンも、一部発現量に集団間で有意な差が見られたが、いずれも赤色の集団間変異のパターンと一致するものはなかった。今後は、RNA-Seq で得られた各オプシンの配列コンティグをもとにアミノ酸配列の比較も行う予定である。

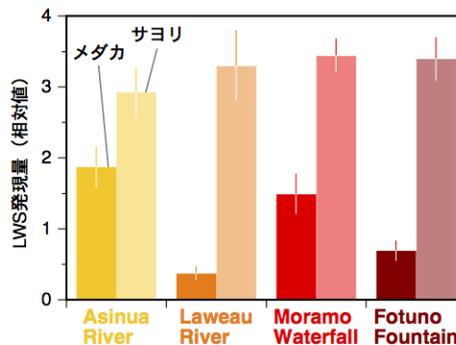


図4 スラウェシ島南東部のメダカとサヨリ4集団のLWS遺伝子の発現量(左メダカ、右サヨリ)

<引用文献>

Mittelbach et al. (2007) *Ecol Lett* 10:315-331; Kottelat et al. 1993 *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*; Herder et al. (2006) *Proc R Soc B* 273:2209-2217; 陶 (2012) *アクアライフ* 2012-7:84-87; Parenti et al. (2013) *Copeia* 2013:403-414

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24件)

Sasaki T, Yamahira K (2016) Variation in male courtship activeness between latitudinal populations of Northern medaka. *Ichthyological Research* 63:302-306 (査読有)

Yoshida K, Miyagi R, Mori S, Takahashi A, Makino T, Toyoda A, Fujiyama A, Kitano J (2016) Whole-genome sequencing reveals small genomic regions of introgression in an introduced crater lake population of threespine stickleback. *Ecology and Evolution* 6:2190-2204 (査読有)

Mokodongan DF, Yamahira K (2015) Origin and intra-island diversification of Sulawesi endemic Adrianichthyidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 93:150-160 (査読有)

Mokodongan DF, Yamahira K (2015) Mitochondrial and nuclear phylogenetic trees and divergence time estimations of Sulawesi endemic Adrianichthyidae.

Data in Brief 6:281-284 (査読有)
Kawajiri M, Uchida K, Chiba H, Moriyama S, Yamahira K (2015) Variation in the ontogeny of sex steroid levels between latitudinal populations of the medaka. *Zoological Letters* 1:31 (査読有)
Fujimoto S, Miyake T, Yamahira K (2015) Latitudinal variation in male competitiveness and female choosiness in a fish: are sexual selection pressures stronger at lower latitudes? *Evolutionary Biology* 42:75-87 (査読有)
Inomata N, Hironama K, Sawada K, Kuriwada T, Yamahira K (2015) Discrepancy in the degree of population differentiation between color-morph frequencies and neutral genetic loci in the damselfly *Ischnura senegalensis* in Okinawa Island, Japan. *Genetica* 143:271-277 (査読有)
Kawajiri M, Fujimoto S, Yoshida K, Yamahira K, Kitano J (2015) Genetic architecture of the variation in male-specific ossified processes on the anal fins of Japanese medaka. *G3-Genes Genom Genet* 5:2875-2884 (査読有)
White MA, Kitano J, Peichel CL (2015) Purifying selection maintains dosage-sensitive genes during degeneration of the threespine stickleback Y chromosome. *Molecular Biology and Evolution* 32:1981-1995 (査読有)
Pennell MW, Kirkpatrick M, Otto SP, Vamosi J, Peichel CL, Valenzuela N, Kitano J (2015) Y fuse? patterns of sex chromosome fusions in fishes and reptiles. *PLoS Genetics* 11:e100523 (査読有)
Ng WL, Onishi Y, Inomata N, Teshima KM, Chan HT, Baba S, Changtragoon S, Siregar IZ, Szmidt AE (2015) Closely related and sympatric but not all the same: genetic variation of Indo-West Pacific *Rhizophora* mangroves across the Malay Peninsula. *Conservation Genetics* 16:137-150 (査読有)
Mokodongan DF, Tanaka R, Yamahira K (2014) A new ricefish of the genus *Oryzias* (Belontiiformes, Adrianichthyidae) from Lake Tiu, Central Sulawesi, Indonesia. *Copeia* 2014:561-567 (査読有)
Fujimoto S, Kawajiri M, Kitano J, Yamahira K (2014) Female mate preference for longer fins in medaka. *Zoological Science* 31:703-708 (査読有)
Kawajiri M, Yoshida K, Fujimoto S, Mokodongan D, Ravinet M, Kirkpatrick M, Yamahira K, Kitano J (2014) Ontogenetic

stage-specific quantitative trait loci contribute to divergence in developmental trajectories of sexually dimorphic fins between medaka populations. *Molecular Ecology* 23:5258-5275 (査読有)
Yoshida K, Makino T, Yamaguchi K, Shigenobu S, Hasebe M, Kawata M, Kume M, Mori S, Peichel CL, Toyoda A, Fujiyama A, Kitano J (2014) Sex chromosome turnover contributes to genomic divergence between incipient stickleback species. *PLoS Genetics* 10:e1004223 (査読有)
Bachtrog D, Mank JE, Peichel CL, Kirkpatrick M, Otto SP, Ashman TL, Hahn MW, Kitano J, Mayrose I, Ming R, Perrin N, Ross L, Valenzuela N, Vamosi JC (2014) Sex determination: Why so many ways of doing it? *PLoS Biology* 12:e1001899 (査読有)
Kusakabe M, Ishikawa A, Kitano J (2014) Relaxin-related gene expression differs between anadromous and stream-resident stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) following seawater transfer. *General and Comparative Endocrinology* 205:197-206 (査読有)
Shirai K, Inomata N, Mizoiri S, Aibara M, Terai Y, Okada N, Tachida H (2014) High prevalence of non-synonymous substitutions in mtDNA of cichlid fishes from Lake Victoria. *Gene* 552:239-245 (査読有)
Wang B, Khalili Mahani M, Ng WL, Kusumi J, Phi HH, Inomata N, Wang X, Szmidt AE (2014) Extremely low nucleotide polymorphism in *Pinus krempfii* Lecomte, a unique flat needle pine endemic to Vietnam. *Ecology and Evolution* 4:2228-2238 (査読有)
Yoshida T, Tamekuni M, Yahara T, Inomata N, Tachida H (2014) Demographic history of a common pioneer tree, *Zanthoxylum ailanthoides*, reconstructed using isolation-with-migration model. *Tree Genetics & Genomes* 10:1213-1222 (査読有)

その他査読付き原著論文 4 件

[学会発表](計 9 件)

藤本真悟・持田浩治・杉内信哉・松井久実・北野潤・Mokodongan DF・石川麻乃・Hadiaty RK・Masengi AKW・山平寿智・メダカ属魚類における体色の多様化をもたらす生理生態メカニズム(1) . 第 63 回日本生態学会大会, 2016 年 3 月 21 日, 仙台

市国際センター
持田浩治・杉内信哉・松井久実・北野潤・
藤本真悟・Mokodongan DF・石川麻乃・
Mandagi IF・Masengi AKW・Hadiaty RK・
山平寿智 .メダカ属魚類における体色の多
様化をもたらす生理生態メカニズム(II).
第 63 回日本生態学会大会 2016 年 3 月 21
日, 仙台市国際センター
Mokodongan DF, Yamahira K. Origin and
intra-island diversification of
Sulawesi endemic Adrianichthyidae. 第
48 回日本魚類学会年会 2015 年 9 月 6 日,
近畿大学奈良キャンパス
藤本真悟・山平寿智 . 高緯度における繁
殖の季節的集中がもたらす実効性比の偏
りの消失 . 第 59 回日本生態学会九州地区
会, 2014 年 5 月 24 日, 琉球大学

その他学会発表 5 件

〔図書〕(計 3 件)

山平寿智 (2015) インドネシア・スラウ
ェシ島から発見されたティウメダカ
(*Oryzias soerotoi*) の形態的特徴と系統
的位置について . 月刊アクアライフ
2015-2:44-45
山平寿智 (2015) チモール島のチモール
メダカについて . 月刊アクアライフ
2015-8:49
山平寿智 (2014) メダカの配偶者選好性
の集団間変について . 月刊アクアライフ
2014-5:42-43

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

山平 寿智 (YAMAHIRA, Kazunori)
琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授
研究者番号 : 20322589

(2) 研究分担者

北野 潤 (KITANO, Jun)
国立遺伝学研究所・集団遺伝研究系・教授
研究者番号 : 80346105

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