

魚類の通し回遊現象の起源と進化に関する研究

2016

東京大学 大学院農学生命科学研究科 水圏生物学専攻

中村 政裕

指導教員 東京大学 教授

大竹 二雄

Doctor Dissertation 2016

Origin and evolutionary process of diadromous migration in fishes

Masahiro NAKAMURA

Department of Aquatic Bioscience
Graduate School of Agricultural and Life Sciences
The University of Tokyo

Supervisor: Professor Tsuguo OTAKE
The University of Tokyo

目次

第1章 緒論	1
第2章 行動学的起源および進化過程	2
第3章 生理特性の獲得過程	3
第1節 非出生浸透圧環境における広範な水温帯での浸透圧調節能の獲得過程	3
第1項 水温を急変させた場合の生残率に基づく検討	5
1. 材料と方法	5
供試魚	5
出生・非出生浸透圧環境への馴致	5
水温耐性試験	6
解析	7
2. 結果	7
出生・非出生浸透圧環境における生残率	7
標準体長・体重と生残率の関係	10
3. 考察	10
第4章 浸透圧調節能獲得の遺伝基盤	15
第5章 総合考察	16
謝辞	17
引用文献	19
要旨	31
付属資料	34

第1章 緒論

本章は査読付きの国際誌に論文投稿する予定であるため、公表できない。

第 2 章 行動学的起源および進化過程

本章は査読付きの国際誌に論文投稿する予定であるため、公表できない。

第3章 生理特性の獲得過程

通し回遊種は、2つの特徴的な生理学的性質を備える。一つは、季節変化のある緯度帯で1年を通じて経験する広範な水温帯において、非出生浸透圧環境での浸透圧調節が可能な能力である。もう一つは、非出生浸透圧環境への進入に先立ち浸透圧以外の環境因子の変化により非出生浸透圧環境における浸透圧調節能が発達する、予備適応の機構である。これらは通し回遊種に普遍的な性質であるが、その獲得過程についてはほとんど明らかになっていない。そこで本章では、通し回遊種の回遊機構の原型を保持すると考えられる河口偶来種に着目し、多様な分類群に属する種についてこれらの性質が備わるか否かを調べることで生理特性の獲得過程を推定することを目的とした。

第1節 非出生浸透圧環境における広範な水温帯での浸透圧調節能の獲得過程

一般に複数年の寿命をもつ遡河回遊種や降河回遊種は、一旦成長のために非出生浸透圧環境に進入すると、成熟するまでの数年間一貫してそこに留まり産卵まで出生浸透圧環境に戻ることはない。こうした回遊生態は季節変化のある緯度帯に生息する多くの通し回遊種にみられる。この事実は、これらの通し回遊種が季節変化を通じて経験する広範な水温帯において非出生浸透圧環境で体液浸透圧を調節する能力を持つことを示唆する。一方、河口偶来種では多くの種が非出生浸透圧環境への季節的な出入りを行うことが知られる。温帯の河口域に生息する魚類の豊富さや多様性は冬季になると大きく減少し、魚類の群集構成が夏季と冬季でしばしば大きく変化する (Day et al. 1989; Able & Fahay 1998; Ishitobi et al. 2000)。例えば、北アメリカのハドソン川および中部太平洋の河口域に進入する海水産卵性の white hake (*Urophycis tenuis*) や northern kingfish (*Menticirrhus saxatilis*) などの河口偶来種は、越冬のため沖合や南方海域へ回遊することが知られている (Able & Fahay 1998; Able & Fahay 2010)。また、日本に生息する海水産卵性の河口偶来種であるタイ科のクロダイは、島根県・鳥取県中海の汽水域に夏季にのみ出現することが知られており (Yokoo et al. 2010)、他の季節には海洋に留まることが示唆される。一方、ニシン科の gizzard shad (*Dorosoma cepedianum*) やコイ科のウグイなどの淡水産卵性の河口偶来種は、夏季に河口域や沿岸域に進入し、冬になると越冬のため淡水環境に移動することが報告されている (Hildbrand & Schroeder 1928; Sakai 1995; Murdy et al. 1997; Able & Fahay 2010; Katano et al. 2010)。これらの知見は、温帯域に生息する河口偶来種が冬季に出生浸透圧環境に戻る傾向をもつことを示唆する。

こうした魚類の行動には、被食圧や餌料環境の変動など様々な要因が影響すると考えられるが、その中でも水温が重要な要因の一つであることが、これまでの生態・生理学的研究から示唆される。北アメリカのチェサピーク湾の固有種である bay anchovy (*Anchoa mitchilli*) では、冬季の水温低下がより遅い時期におこる南方の河口域に生息する個体群が、より遅

い時期に河口域を去ったり河口域に周年留まったりすることが知られる (Voughlitois et al. 1987). これを根拠に, 河口偶来種の河口域からの退出は水温に影響されるのではないかと Able & Fahay (2010) は主張している.

水温が生息域間の移動パターンに影響することは, わが国におけるウグイの回遊パターンの地理的な差異からも示唆される. 日本列島の北方に位置する北海道の武川, そして新潟県に生息する個体群は, 冬季に沿岸もしくは河口域から淡水域に遡上する越冬回遊を行うことが知られている (Sakai 1995; Katano et al. 2010). 一方, 日本の中央部に位置する三重県の加茂川に生息する個体群は春の産卵期にのみ海域や河口汽水域から淡水域に遡上し, 越冬遡上を行わないことが確認されている (Ishizaki et al. 2009). こうした違いは, 冬季の海面の月間平均水温が 3 地点で大きく異なることに起因する可能性がある (海面水温データは気象庁のウェブサイトを参照: http://www.data.jma.go.jp/kaiyou/data/db/kaikyo/monthly/sst_HQ.html; 2015年5月6日にアクセス). 北海道では冬季の沿岸域の海面水温が 1–2°C まで, 新潟県でも 10°C 程度まで低下する. 一方, 暖流の黒潮の影響を強く受ける三重県では 15–16°C を下回ることがない. このことから, 北方の 2 個体群と南方の個体群の間にみられる回遊パターンの差異は冬季の海面水温の降下に関連することが示唆される. すなわち, ウグイは低温条件では非出生浸透圧環境である海水に順応できず, それ故北方の個体群は冬季に出生浸透圧環境である淡水への越冬回遊を行う可能性が考えられる. 以上の生態学的な知見に加え, ニベ科に属する河口偶来種である Atlantic croker (*Micropogonias undulates*) の低温耐性が出生浸透圧環境に比べて非出生浸透圧環境で低下することが実験環境において確認されている (Lankford & Targett 2001). これらの事実は, 河口偶来種の非出生浸透圧環境における好適な水温帯が出生浸透圧環境に比べて狭いことを示唆する. これが河口偶来種に普遍的な性質であれば, 河口偶来種から通し回遊種への進化過程で, 非出生浸透圧環境における好適な水温帯の拡大があったという進化プロセスが導出される. これまでのところ, これを考察できるような実験的研究は 1 種類の河口偶来種を用いて行われたのみであり, さらに低温条件についてしか検証されていない (Lankford & Targett 2001). したがって, この性質が河口偶来種の中でどれほど一般的なものなのか, そしてこれは高温条件下でも当てはまるのかということは依然として不明である.

本章の第一の目的は, 生態学的な知見が比較的充実しており, 上記の性質が未だ検証されていない分類群に属する河口偶来種であるウグイとクロダイを用いて, 両種の非出生浸透圧環境における好適な水温帯が出生浸透圧環境よりも狭まるか否かを実験的に確認し, 通し回遊の生理学的進化プロセスを検討することである. 両種について, 出生浸透圧環境と非出生浸透圧環境に馴致させた 2 つの実験群で, それぞれの浸透圧条件で水温を急変させる実験と段階的に変化させる実験を行い, 両種の非出生浸透圧環境順応能の水温依存性を総合的に検証した.

第1項 水温を急変させた場合の生残率に基づく検討

1. 材料と方法

供試魚

ウグイは2013年10月に舞鶴湾に流入する榎川の下流淡水域 (35° 29 N; 135° 22 E) において投網を用いて採捕した。採捕した個体は、現場の河川水で満たした20 Lふた付プラスチックバケツに入れ、十分にエアレーションされた状態で、およそ15分かけて京都大学舞鶴水産実験所 (京都府舞鶴市, 35° 29 N; 135° 22 E) まで輸送した。実験に用いたウグイの標準体長は64.6–146.5 mmであった。クロダイは2013年5月に舞鶴水産実験所で孵化し、一貫して自然日長・温度条件下の濾過海水中で飼育された個体を用いた。本実験に用いたクロダイの標準体長は47.9–57.5 mmであった。

出生・非出生浸透圧環境への馴致を開始する前のおよそ10日間、200個体のウグイと80個体のクロダイはそれぞれ淡水と濾過海水で満たされた500 Lの透明なポリカーボネートタンク中で飼育した。このときウグイは2つのタンクを用い約100個体ずつ飼育し、クロダイは全個体を1つのタンクで飼育した。クロダイは濾過海水を4 L/minで掛け流し、ウグイは水道水をチオ硫酸ナトリウムで脱塩素した止水条件で、ともに十分に通気された条件 (600 ml/min) で飼育した。これらのタンクは屋根付の野外環境に設置し、自然日長に晒した。この間、供試魚には1日1回飽食量を給餌した (ウグイ:川魚のえさ, ジェックス株式会社, 日本; クロダイ:おとひめ S2, 日清丸紅飼料株式会社, 日本)。

出生・非出生浸透圧環境への馴致

両種をそれぞれ実験前に2週間以上、出生浸透圧環境 (ウグイにとっての淡水とクロダイにとっての海水) と非出生浸透圧環境 (ウグイにとっての海水とクロダイにとっての淡水) に馴致した (ウグイ:各80個体程度ずつ, クロダイ:各30個体ずつ)。馴致に用いた淡水と海水の塩分はそれぞれ0.1–0.2 ppt と32–34 pptであり、両種につき、それぞれの浸透圧環境で満たされた500 Lの透明のポリカーボネートタンクを用意した。馴致期間中の水温はサーモスタット (日東機材株式会社, 日本) 付のヒーター (東立電機株式会社, 日本) により20°C前後に保った。非出生浸透圧環境への移行は、供試魚の斃死を避けるため以下の手順で段階的に行った。ウグイは、まず淡水から15 pptの希釈海水に移行し、3日後に完全な海水にもう一度移行した (32–34 ppt)。予備実験の結果からクロダイの非出生浸透圧環境に対する耐性はウグイよりも低いと考えられたため、クロダイはより多くの段階を設けて非出生浸透圧環境に移行した。クロダイは、まず完全な海水から10 pptの希釈海水に移行し、ここに1日馴致したのち、タンク内の水の塩分を5 pptに低下させ、さらに1日馴致した。その後、塩分濃度が1 pptに達するまで毎日2 pptずつ2日かけて馴致水槽の塩分を低下させ、1 pptで72時間馴致した後、最終的に淡水 (0.1–0.2 ppt) に移行した。2つの海水タンクは濾過海水を4 L/minで掛け流し、2つの淡水タンクは前述の手順で脱塩素された水道水で満たした。全てのタンクは十分に通気し (600 ml/min)、淡水タンクには投げ込み式フィルタ

一を設置し、4日おきにおよそ1/3の水を交換した。大半のタンクで死亡個体はほとんど観察されなかった。しかしながら、海水に馴致されているウグイのタンクでは、浸透圧ストレスに弱いと考えられる小型個体を中心に、比較的多くの死亡個体がみられた。

水温耐性試験

2013年の11月7日から12月3日にかけて以下の手順に則り実験室内で行った。まず、実験室内に試験水槽の水温を調節するための4つのチラーと2つのヒーターを備えたウォーターバス(幅:1800mm,奥行き:900mm,深さ:400mm)を設置した。ウォーターバス内には6つのアクリル水槽(幅:450mm,奥行き:300mm,深さ:300mm)を設置し、このうち3つは淡水で、残りの3つは完全な海水で満たした。こうすることで、各水温について出生・非出生浸透圧環境についてそれぞれ独立した3実験水槽を設定し、トリPLICATEとして実験を実施した。また、ウォーターバス内の水は2つのポンプを用いて循環させ、バス内の水温が均一になるようにした。両種の出生・非出生浸透圧環境それぞれに順応した実験群について、同一水温での試験は同じウォーターバス内で同時に行った。このとき、不自然な行動をとらず外傷がない個体のみを用いた。供試魚を移行した試験水温は、ウグイが6・10・15・20(馴致水温)・30°Cで、クロダイが10・20(馴致水温)・33°Cである。ウグイに比べてクロダイで検証した水温が少ないのは、クロダイはウグイに比べて少ない個体数しか用意できなかったためである。各試験水槽は十分に通気し、12L-12Dの明暗周期条件下に置いた。実験室内には2つのウォーターバスを設置し、2つの実験を同時に行った。実験水槽は遅くとも実験開始24時間前にはウォーターバス内に設置し、実験開始時には水槽内の水温が試験水温に到達するよう調節した。

実験時には、まず馴致水槽内の水で満たされたアクリル製の容器(幅:280mm,奥行き:170mm,深さ:160mm)中に馴致水槽中の3-5個体の供試魚を移行した。続いて、馴致水槽内の水とともに供試魚を容器ごと実験水槽中に入れた。こうすることで、供試魚の周囲の水温が瞬時に大きく変化しないようにし、瞬間的な水温変化により供試魚がショック死することを防いだ。試験水槽中のバイオマスを種ごとにおよそ統一するために、各水槽中の供試魚の個体数は3-5の間で調節した。各水温処理で用いた合計個体数はウグイで13-15個体、クロダイで11-12個体であった。移行に用いた容器内の水温が試験水温に達するまでの時間は20°Cの処理区で0分、他の試験区では1-3時間であった。容器内の水温は定期的に温度計を用いて測定し、容器内の水温が試験水温に達するとともに供試魚を水槽内に放ち、ただちに移行に用いた容器を試験水槽から取り出した。全ての移行は午前7時ごろに行い、水槽には魚の飛び出しと水の蒸発を防ぐためのふたを取り付けた。48時間にわたって観察を継続し、供試魚の生残状況を12時間ごとに確認した。魚体のいかなる部分にも動きが見られなくなったとき、これを死亡とみなした。死亡個体を発見次第、試験水槽から取り出して標準体長・体重を測定した。供試魚が試験水温に晒されてから24時間後と48時間後に各試験水槽の生残率を計算した。非出生浸透圧環境での試験に用いたウグイは出

生浸透圧環境で試験した個体よりも有意に大きかった (Welch's *t*-test, $p < 0.01$) が、これは海水馴致期間中に多くの小型個体が死亡したことによるものと考えられた。クロダイについては全ての試験水槽間で標準体長に差異は見られなかった (Welch's *t*-test, $p > 0.05$)。

解析

出生・非出生浸透圧環境馴致群間での生残率の比較に先立ち、トリPLICATE間の生残率の差異の有無を検証した。その結果、いずれのトリPLICATE間でも生残率に有意差がみられなかったため (Fisher's exact test, $p > 0.05$)、トリPLICATEのデータをまとめて解析した。非出生浸透圧環境での生残に対する SL・BW の影響は、非出生浸透圧環境で生残した個体と死亡した個体の SL・BW を比べることで検証した。この解析には生残個体と死亡個体がそれぞれ 3 個体以上ずつ必要であったため、この条件を満たす以下のタイムポイントについて解析を行った。ウグイでは、6°C と 30°C については 24 時間後のデータを用いたが (6°C : 5 個体が生残し 10 個体が死亡 ; 30°C : 3 個体が生残し 9 個体が死亡)、10°C では 24 時間の時点で十分な数の死亡個体がいなかったため、48 時間後のデータ (11 個体が生残し 3 個体が死亡) を用いた。クロダイでは、10°C (6 個体が生残し 6 個体が死亡)、33°C (4 個体が生残し 8 個体が死亡) とともに 24 時間後の結果を解析に用いた。出生・非出生浸透圧環境馴致群間の同一試験水温における生残率の差異は Fisher's exact test により検定した。非出生浸透圧環境における生残率と SL・BW の関係性の検定には Welch's *t*-test を用いた。全ての検定の有意水準は 1% に設定した。Welch's *t*-test はエクセル統計 2010 (株式会社社会情報サービス) を、Fisher's exact test には統計解析ソフト R (R Development Core Team, 2014; www.R-project.org) を用いて行った。

2. 結果

出生・非出生浸透圧環境における生残率

ウグイでは 6°C の水温処理区を除く全ての水温処理区で出生・非出生浸透圧環境馴致群間で SL・BW について有意差が検出された (Table 3-1-1, Welch's *t*-test, $p < 0.01$)。これは、水温耐性試験に先立って、完全な海水中に馴致した 14 日間のうちに体サイズの小さい個体が多く死亡したことに起因すると考えられる。一方、クロダイでは出生・非出生浸透圧環境馴致群の間で SL・BW の差異は検出されなかった (Table 3-1-1, Welch's *t*-test, $p > 0.05$)。

ウグイの淡水馴致群は、全ての水温処理区において全個体が 48 時間生残し、海水馴致群においても、20°C と 15°C の水温処理区では全個体が 48 時間生残した (Fig. 3-1-1 b)。しかしながら海水の水温が 10°C まで低下すると、淡水馴致群との間に生残個体数の有意差はなかったものの、48 時間のうちに約 20% の個体が死亡した (Fisher's exact test, $p > 0.05$)。海水馴致群の 6°C と 30°C の水温処理区では 24 時間後に多くの個体が死亡し、同じ水温の淡水馴致群に比べて有意に低い生残率を示した (Fisher's exact test, $p < 0.01$)。30°C での生残率は 48 時間後にはさらに低下し (Fisher's exact test, $p < 0.01$)、6°C では全個体が死亡した (Fig. 3-1-1 a, b)。

Table 3-1-1 Standard length (SL), body weight (BW) and the total number of individual fish used in each experimental temperature (Temp.) treatment for Japanese dace (*Tribolodon hakonensis*) and Japanese black porgy (*Acanthopagrus schlegelli*).

Species	Temp.	Seawater			Freshwater		
		SL	BW	n	SL	BW	n
<i>Tribolodon hakonensis</i>	6° C	116.3±12.4	18.9±6.0	15	104.4±19.5	16.8±8.3	14
	10° C	119.1±8.4*	20.5±4.4*	15	101.6±15.2	14.8±5.4	13
	15° C	123.3±9.2*	23.1±4.7*	14	100.1±19.3	15.2±9.5	15
	20° C	119.9±9.0*	20.4±6.2*	14	88.32±26.1	12.23±7.3	15
	30° C	102.0±17.2*	17.2±6.5*	14	80.3±30.5	11.2±7.4	14
<i>Acanthopagrus schlegelli</i>	10° C	65.1±13.9	7.2±4.4	12	65.7±10.2	10.1±4.2	12
	20° C	66.5±15.0	8.6±5.6	12	67.2±13.4	9.6±5.8	11
	33° C	68.0±16.1	9.3±5.8	11	63.2±8.0	8.4±2.7	12

*SW acclimated individuals were significantly larger (Welch's t-test, $p < 0.01$). SL and BW is expressed with mean ± standard deviation.

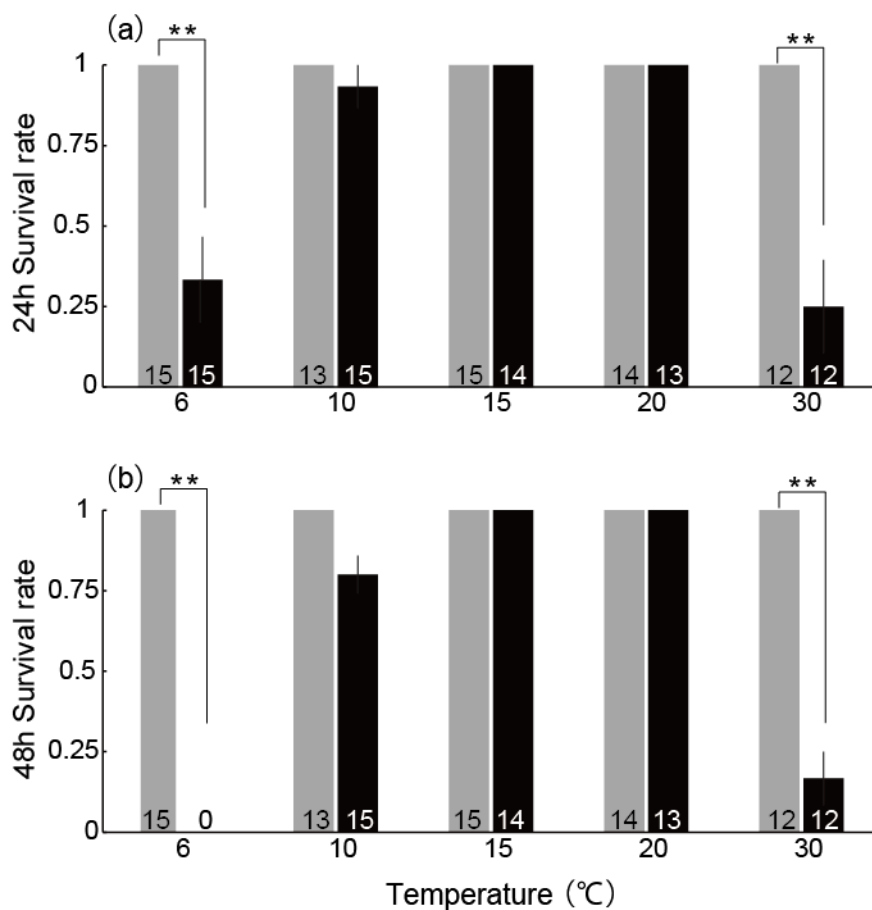


Fig. 3-1-1 Survival rate of Japanese dace (*Tribolodon hakonensis*) acclimated to natal and non-natal osmotic environments. Black and grey bars indicate seawater adapted and freshwater adapted groups, respectively. The upper panels show results after 24 hours and lower panels show the results after 48 hours. Lines above the bars show SE, and numbers in each bar indicate the total number of individuals used in each experiment. Asterisks indicate $p < 0.01$ level of significant differences between the freshwater and seawater adapted treatments for each temperature.

クロダイの海水馴致群は、全個体が全試験区で生残した。一方、淡水馴致群では10°Cと33°Cで24時間後には半数以上が死亡し、同水温の海水馴致群に比べて有意に低い生残率を示した (Fisher's exact test, $p < 0.01$)。48時間後にはこの傾向がより顕著になった (Fisher's exact test, $p < 0.01$) (Fig. 3-1-2 a, b)。

標準体長・体重と生残率の関係

ウグイでは非出生浸透圧環境の全ての水温処理区において生残個体と死亡個体の間にSL・BWにおける差異が認められなかった (Fig. 3-1-3 a, b)。

クロダイでは、10°Cの処理区において生残個体のSL・BWが死亡個体に比べて有意に大きかった (Welch's t -test, $p < 0.01$)。有意差は見られなかったが、33°Cの処理区でも同様の傾向が観察された (Welch's t -test, $p > 0.05$) (Fig3-1-4 a, b)。

3. 考察

本実験の結果、ウグイやクロダイが急激な水温変化に晒された際、非出生浸透圧環境に馴致された実験群の生残率が出生浸透圧環境に馴致された実験群よりも低くなることが明らかになった。ウグイでは、6°Cと30°Cの水温処理区で海水馴致群の生残率が淡水馴致群に比べて有意に低く、クロダイでは、10°Cと33°Cの水温処理区において淡水馴致群の生残率が海水馴致群の生残率に比べて有意に低かった。これらの結果は、両種の非出生浸透圧環境における水温急変時の低・高温耐性が出生浸透圧環境に比べて低下することを示唆する。

ウグイでは、出生・非出生浸透圧環境馴致群の間でサイズ差が検出された。ただし、海水中の低・高温条件下でみられた高い死亡率は、非出生浸透圧環境における低・高温耐性の低下に起因することが以下の理由から考えられる。ウグイの水温耐性試験に用いた非出生浸透圧環境馴致群は出生浸透圧環境馴致群に比べて標準体長が20–30 mmほど大きく、また体重も重かった。このサイズ差は2週間の海水馴致期間中に小さい個体が多く死亡したことに起因すると考えられる。このことは、ウグイでは小型個体の海水順応能が大型個体に比べて低いことを示唆する。この期間を生残して実験に用いた比較的大型の個体では、非出生浸透圧環境における水温耐性に体サイズによる違いがみられなかった。また、淡水馴致群では全個体が全ての水温処理に耐え生残した。これらの結果は、ウグイの体サイズと水温耐性の間に明確な関係がないことを示唆する。したがって、ウグイの出生・非出生浸透圧環境馴致群の間には有意なサイズ差があったものの、海水馴致群で観察された高い死亡率は非出生浸透圧環境において低・高温耐性が低下したことによるものと考えられる。

浸透圧変化に際しての魚類の低温耐性は、一般に細胞・組織レベルにおけるイオンバランスの維持能力に支配される (Maetz & Evans 1972; Toney & Coble 1980; Hochachka 1988)。このことから、低温の非出生浸透圧環境で死亡した個体は浸透圧調節に不調をきたした可能性が考えられる。また、ウミメダカ (*Fundulus heteroclitus*) の海水環境下におけるイオン輸

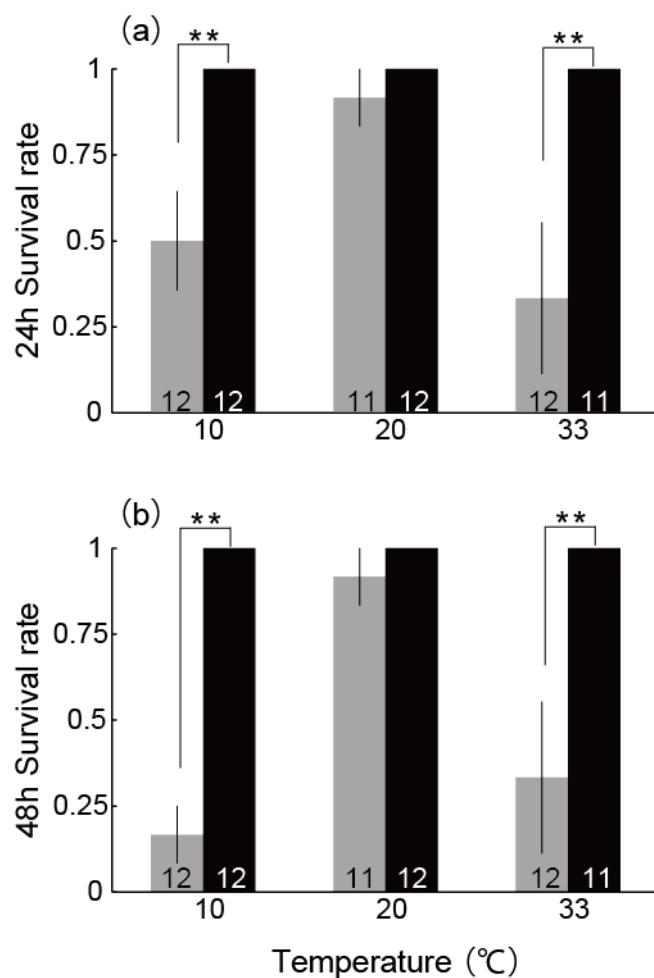


Fig. 3-1-2 Survival rate of Japanese black porgy (*Acanthopagrus schlegelii*) adapted to natal and non-natal osmotic environments. Black and grey bars indicate seawater adapted and freshwater adapted groups, respectively. The upper panels show results after 24 hours and lower panels show the results after 48 hours. Lines above the bars show SE, and numbers in each bar indicate the total number of individuals used in each experiment. Asterisks indicate $p < 0.01$ level of significant differences between the freshwater and seawater adapted treatments for each temperature.

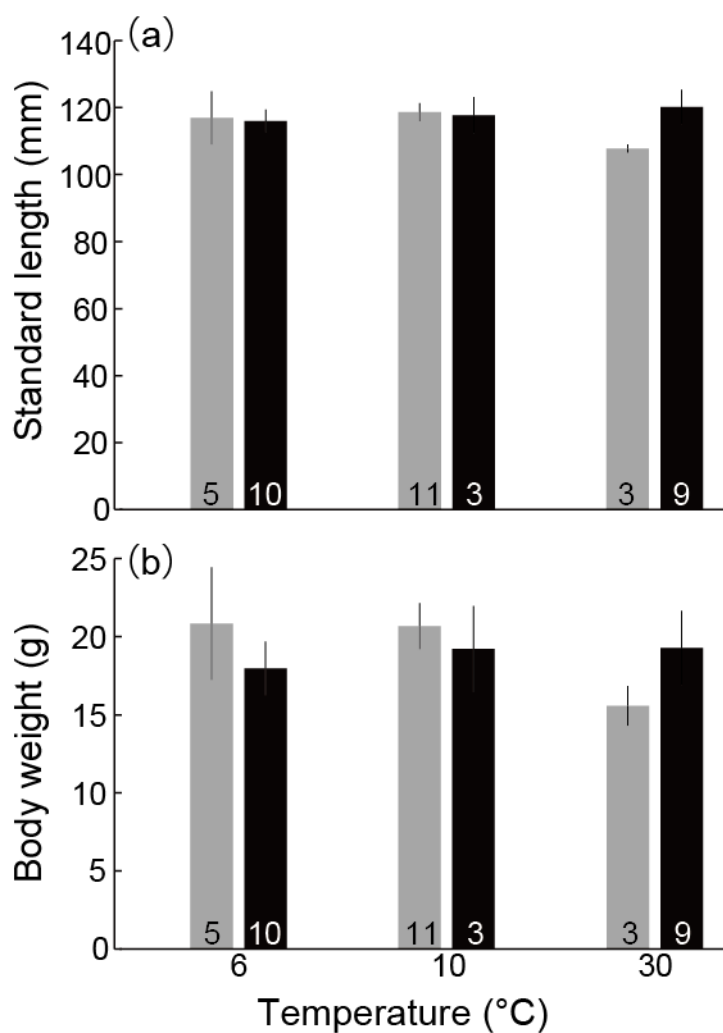


Fig. 3-1-3 Standard length (SL) and body weight (BW) of survived (grey) and dead (black) individuals in non-natal osmotic environments of Japanese dace (*Tribolodon hakonensis*). Lines on the bars show SE and numbers in columns indicate the total number of individuals used for analysis.

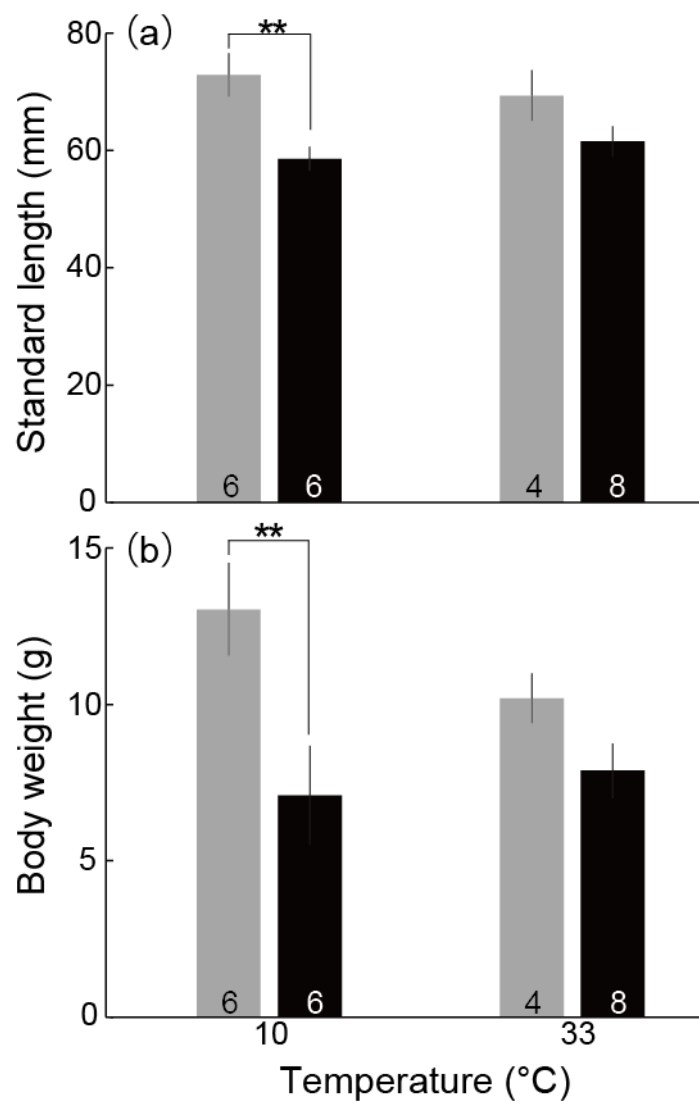


Fig. 3-1-4 Standard length (SL) and body weight (BW) of survived (grey) and dead (black) individuals in non-natal osmotic environments of Japanese black porgy (*Acanthopagrus schlegelii*). Lines on the bars show SE and numbers in columns indicate the total number of individuals used for analysis. Asterisks indicate $p < 0.01$ level of significant differences between dead and survived individuals at the same temperature.

送効率は低温条件で急激に低下することが知られる (Buhariwalla et al. 2012). 本実験での結果はウグイとクロダイの非出生浸透圧環境への順応に重要な働きをするイオン輸送タンパクの機能における至適水温範囲に起因することが十分に考えられる.

クロダイでは非出生浸透圧環境において小型個体の死亡率が高いという結果が得られた. これは, 小型個体の体質量に対する鰓の表面積の比が大型個体に比べて大きくなるというアロメトリー則 (Hurst & Conover 2002) によるものである可能性が考えられる.

本実験の結果, ウグイとクロダイの水温の急変に対する耐性は非出生浸透圧環境では出生浸透圧環境に比べて狭くなることが明らかになった. しかし, 本実験だけでは明確な死亡理由が不明である. また, より段階的な水温変化を与えた場合, 浸透圧調節機構を変化させることで, より広い水温帯で非出生浸透圧環境に順応可能となる可能性も考えられる. これらの点を検討するため, より段階的な水温変化を与え, 血漿浸透圧から各水温・浸透圧条件における浸透圧調節能を見積もり, さらに浸透圧調節機構の動態を推測するために鰓の塩類細胞における主要なイオン輸送体の発現量を測定する実験を行った.

本章の以下の部分は査読付きの国際紙に投稿予定であるため, 公表できない.

第4章 浸透圧調節能獲得の遺伝基盤

本章は査読付きの国際誌に論文投稿する予定であるため、公表できない。

第5章 総合考察

本章は査読付きの国際誌に論文投稿する予定であるため、公表できない。

謝辞

博士課程の2回生から私を研究室に受け入れて下さり、本研究を行う機会を与えていただきとともに、温かいご指導とご鞭撻を賜った、東京大学大学院農学生命科学研究科の大竹二雄教授に深く感謝する。日本大学生物資源科学部の塚本勝巳教授には、東京大学大気海洋研究所において私が大学院修士課程に入学した当初から指導教官として受け入れていただき、これ以上ない魅力的な研究テーマを与えて頂くとともに、一貫して熱心なご指導とご鞭撻を賜った。また、学位論文審査に際しても本質的なご指摘を賜った。心より御礼申し上げます。東京大学農学生命科学研究科の金子豊二教授には、浸透圧調節に関する実験に際して実験設備の使用を快諾していただくに留まらず、研究計画の立案や論文審査に際して多くの有益なご助言とご指摘を賜った。同研究科の山川卓准教授には、トランスクリプトームデータの解析に関するご助言を賜るとともに、学位論文審査に際しても数々の貴重なご指摘を賜った。また、水産資源学研究室での研究生活を送るにあたって温かいご支援を頂いた。京都大学フィールド科学教育研究センターの益田玲爾准教授には、特に行動実験に関してご指導とご鞭撻を賜るとともに、投稿論文や本学位論文執筆に際しても親身に熱心なご指導をいただいた。さらに、学位論文審査でも多くの重要なご指摘を賜った。東京大学大学院農学生命科学研究科附属水産実験所の菊池潔准教授には、トランスクリプトーム解析に際し多大なご助力を頂き、また研究計画の立案や本学位論文の執筆、そして学位論文審査に際しても有意義なご指摘とご助言を賜った。ここに厚く御礼申し上げます。

東京大学大学院農学生命科学研究科の黒木真理助教には、本学位論文や投稿論文の執筆に際して有益なご助言を賜るとともに、トラフグの解剖実験に際してもご助力を賜った。同研究科の渡邊壮一助教には、研究全体にわたりご助言とご助力を頂き、特に生理学分野の実験や本学位論文の執筆に際して大変親身にご指導いただいた。ここに感謝の意を表する。

京都大学フィールド科学教育研究センター舞鶴水産実験所の鈴木啓太助教には、特に生態学的観点から研究に対する有益なご助言を賜り、スズキに関する重要な資料も提供して頂いた。同所の高橋宏司博士(現 長崎大学研究員)には、特に行動実験についてご指導とご鞭撻を賜るとともに、実験魚の採捕を行うに際し多大なご助力とご指導を賜った。同所の澤田英樹博士には実験所での研究生活において数多くのご支援を頂いた。また、金子三四朗氏、酒見幹太氏をはじめとする同所学生諸氏には温かいご協力をいただいた。心より感謝申し上げます。

中国江蘇省の Freshwater Fisheries Research Center におけるメフグの飼育実験に際しては、Xu Pao 教授と Yang Jian 教授に多大なるご協力を頂いた。また同研究所の Jiang Tao 博士には実験に際して多くのご助力を賜ると同時に、右も左もわからない海外での研究生活を全面的に支えていただいた。深く感謝申し上げます。

東京大学大学院農学生命科学研究科附属水産実験所の田角聡志助教には、RNA-seq サン

プルの受託に際しご助力を賜った。同所の細谷将助教にはトランスクリプトームデータの解析に際して有益なご助言を賜るとともに、水産実験所での研究生活を送る上で温かいご支援を賜った。同所の技術専門職員の水野直樹氏と城夕香氏には、供試魚の育成や実験に際してご協力を賜った。同所の技術職員の藤田真志氏には本実験所での実験に多大なご助力を賜ったのみならず、京都大学フィールド科学教育研究センターでの実験に際して泊りがけで実験魚を輸送していただいた。同所の小山喬博士には、トランスクリプトーム解析の全般にわたり、ひとからならぬご助力を賜った。家田梨櫻氏、伊藤洸太郎氏をはじめとする学生諸氏には水産実験所における研究生活の様々な局面において温かいご支援をいただいた。ここに厚く感謝の意を表する。

東京大学大気海洋研究所の青山潤教授と東京医科大学の篠田章講師には、フィールド調査の基礎をご指導賜った。東京大学大気海洋研究所の旧行動生態学研究室の技術職員である大矢真知子氏には温かい励ましと諸事にわたるご尽力をいただいた。同所の Michael J. Miller 博士 (現 日本大学生物資源科学部) には投稿論文の英文校閲に留まらず、内容に関する数々の有益なご指摘を賜った。同所の渡邊俊博士 (現 日本大学生物資源科学部) には研究生活の様々な局面で多大なご尽力を賜るとともに、終始励ましの言葉を掛けていただいた。同所の井上潤博士 (現 沖縄科学技術大学院大学) には公私にわたり大変お世話になり、走ることの素晴らしさを教えていただいた。畑瀬英男博士 (現 東京大学大気海洋研究所)、川上達也博士 (現 東京大学大学院農学生命科学研究科)、飯田碧博士 (現 新潟大学助教)、横内一樹博士 (現 水産総合研究センター)、福田野歩人博士 (現 水産総合研究センター)、須藤竜介博士 (現 水産総合研究センター)、海部健三助教 (現 中央大学法学部)、萩原聖士博士 (現 北海道大学研究員)、安孝珍博士 (現 北海道大学研究員)、真鍋諒太郎博士 (現 愛媛県水産研究センター) には、研究に関する数々の有益なご助言を賜るとともに研究生活に多くのご協力を頂いた心より感謝申し上げる。

東京大学大気海洋研究所沿岸保全学研究室の山根広大博士 (現 岩手県水産技術センター) と天野洋典博士 (現 水産総合研究センター) には、研究遂行に際しひとかたならぬご協力を頂くとともに、研究生活を送る上で温かいご支援をいただいた。深く謝意を表する。

東京大学大学院農学生命科学研究科水産資源学研究室の鈴木享子博士、真鍋明弘氏、朱夢揺氏、夏樹媚氏、八木達紀氏、草野朱音氏、西田圭志氏、若井智哉氏、菅野聡太氏、高本薫氏、橋本拓氏には研究生活において数多くのご支援を頂いた。ここに御礼申し上げます。

早稲田大学の加藤尚志教授には、高校生の頃から進路に迷った際にたびたび核心的なご助言を賜った。東京農工大学の有江力教授には、卒業論文の執筆に際し、大変親身にご指導いただき、研究の楽しさを初めて教えていただいた。国際基督教大学の故・新津晃一名誉教授には、死を目前にしてなお、集中力に触る薬を服用せず研究に没頭するという、研究者を志す者の手本となるような後姿を間近で見せていただいた。これらの先生方に出会わずして、本論文を書き上げることはなかった。ここに謹んで感謝申し上げます。

最後に、大学院進学に理解を示し、終始温かく見守ってくれた家族に深く感謝する。

引用文献

- Able KW, Fahay MP (1998) The first year in the life of estuarine fishes in the Middle Atlantic Bight. Rutgers University Press, New Brunswick NJ
- Able KW, Fahay MP (2010) Ecology of estuarine fishes. The Johns Hopkins university press, Maryland
- Ahokas RA, and Sorg, G (1977) The effect of salinity and temperature on intracellular osmoregulation and muscle free amino acids in *Fundulus diaphanus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 56: 101-105
- Allen PJ, Cech Jr JJ, Kültz D (2009) Mechanisms of seawater acclimation in a primitive, anadromous fish, the green sturgeon. Journal of Comparative Physiology B 179: 903-920
- Aoyama J, Nishida M, Tsukamoto K (2001) Molecular phylogeny and evolution of the freshwater eel, genus *Anguilla*. Molecular Phylogenetics and Evolution 20: 450-459
- Aristotle (c. 350 BC) A History of Animals, Book VIII (translated by D'Arcy Wentworth Thompson). Available at http://classics.mit.edu/Aristotle/history_anim.8.viii.html
- Barans CA (1972) Spotted hake, *Urophycis regius*, of the York River and lower Chesapeake Bay. Chesapeake Science 13: 59-62
- Bardonnnet A, Jatteau P (2008) Salinity tolerance in young Allis shad larvae (*Alosa alosa* L.). Ecology of Freshwater Fish 17: 193-197
- Bartholomew GA (1966) A field study of temperature relations in the Galapagos marine iguana. Copeia: 241-250.
- Begon M, Townsend CR, Harper JL (2006) Ecology: from individuals to ecosystems. Malden. MA: Blackwell Publishing. 堀道雄 (監訳) 生態学—個体から生態系へ. 京都大学学術出版会, 京都府
- Bigelow HB, Schroeder WC (1953) Fishes of the Gulf of Maine (Vol. 53). Washington: US Government Printing Office.
- Blaber SJM (1974) Field studies of the diet of *Rhabdosargus holubi* (Steindachner) (Teleostei: Sparidae). Journal of Zoology, London 173: 407-417
- Blaber SJM AND Blaber TG (1980) Factors affecting the distribution of juvenile estuarine and inshore fish. Journal of Fish Biology 17: 143-162
- Brongersma-Sanders M. (1957). Mass mortality in the sea. In Hedgpeth JW (ed.) Treatise on Marine Ecology and Paleoecology. Geological Society of America Memoirs 67: 941-1010
- Buhariwalla HEC, Osmond EM, Barnes KR, Cozzi RRF, Robertson GN, Marshall WS (2012) Control of ion transport by mitochondrion-rich chloride cells of eurythermic teleost fish: Cold shock vs. cold acclimation. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 162: 234-244
- Bujold V, Cunjak RA, Dietrich JP, Courtemanche DA (2004) Drifters versus residents: assessing size

- and age differences in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 61: 273-282
- Chan YF, Marks ME, Jones FC, Villarreal G, Shapiro MD, Brady SD, Southwick AM, Absher DM, Grimwood J, Schmutz J, Myers RM, Petrov D, Jonsson B, Schluter D, Bell MA, Kingsley DM (2010) Adaptive evolution of pelvic reduction in sticklebacks by recurrent deletion of a Pitx1 enhancer. Science 327: 302-305
- Chapman BB, Hulthén K, Brodersen J, Nilsson PA, Skov C, Hansson LA, Brönmark C (2012) Partial migration in fishes: causes and consequences. Journal of Fish Biology 81: 456-478
- Choe KP, Kato A, Hirose S, Plata C, Sindić A, Romero M F, Claiborne JB, Evans DH (2005) NHE3 in an ancestral vertebrate: primary sequence, distribution, localization, and function in gills. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 289: 1520-1534
- Christensen AK, Hiroi J, Schultz ET, McCormick SD (2012) Branchial ionocyte organization and ion-transport protein expression in juvenile alewives acclimated to freshwater or seawater. The Journal of Experimental Biology 215: 642-652
- Clarke WC, Shelbourn JE, Brett JR (1978) Growth and adaptation to sea water in 'underyearling' sockeye (*Oncorhynchus nerka*) and coho (*O. kisutch*) salmon subjected to regimes of constant or changing temperature and day length. Canadian Journal of Zoology 56: 2413- 2421
- Colosimo PF, Hosemann KE, Balabhadra S, Villarreal G, Dickson M, Grimwood J, Schmutz J, Myers RM, Schluter D, Kingsley DM (2005) Widespread parallel evolution in sticklebacks by repeated fixation of ectodysplasin alleles. Science 307: 1928-1933
- Conte FP, Wagner HH (1965) Development of osmotic and ionic regulation in juvenile steelhead trout *Salmo gairdneri*. Comparative Biochemistry and Physiology 14: 603-620
- Cutler CP, Cramb G (2002) Two isoforms of the Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter are expressed in the European eel (*Anguilla anguilla*). Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes 1566: 92-103
- Day JH (1951). The ecology of South African estuaries. Part I: General considerations. Transactions of the Royal Society of South Africa 33: 53-91
- Day JW, Hall CAS, Kemp WM, Yanez-Arancibia A (1989) Estuarine ecology. John Wiley & Sons, New York
- DeFaveri J, Shikano T., Shimada Y, Goto A, Merilä J (2011) Global analysis of genes involved in freshwater adaptation in threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). Evolution 65: 1800-1807
- Dempson JB, Green JM (1985) Life history of anadromous arctic charr, *Salvelinus alpinus*, in the Fraser River, northern Labrador. Canadian Journal of Zoology 63: 315-324
- Dieperink C, Bak BD, Pedersen LF, Pedersen MI, Pedersen S (2002) Predation on Atlantic salmon

- and sea trout during their first days as postsmolts. *Journal of Fish Biology* 61: 848-852
- Dodson JJ, Laroche J, Lecomte F (2009) Contrasting evolutionary pathways of anadromy in euteleostean fishes. In *Challenges for diadromous fishes in a dynamic global environment*. American Fisheries Society Symposium 69: 63-77
- Edwards SL and Marshall WS (2013) Principles and patterns of osmoregulation and euryhalinity in fishes. In McCormick SD, Farrell AP, Brauner CJ (2013) *Euryhaline Fishes*. Academic Press, USA pp 1-44
- Engstedt O, Stenroth P, Larsson P, Ljunggren L, Elfman M (2010) Assessment of natal origin of pike (*Esox lucius*) in the Baltic Sea using Sr: Ca in otoliths. *Environmental Biology of Fishes* 89: 547-555
- Ewing RD, Johnson SL, Pribble HJ, Lichatowich JA (1979) Temperature and photoperiod effects on gill Na⁺, K⁺-ATPase activity in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 36: 1347-1353
- Feutry P, Castelin M, Ovenden JR, Dettai A, Robinet T, Cruaud C, Keith P (2013) Evolution of diadromy in fish: insights from a tropical genus (*Kuhlia species*). *The American Naturalist* 181: 52-63
- Fiess JC, Kunkel-Patterson A, Mathias L, Riley LG, Yancey PH, Hirano T, Grau EG (2007) Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 146: 252-264
- Finstad B, Staurnes M, Reite OB (1988) Effect of low temperature on sea-water tolerance in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture* 72: 319-328
- Friedman M and Blom H (2006) A new actinopterygian from the Famennian of East Greenland and the interrelationships of Devonian ray-finned fishes. *Journal of Paleontology* 80: 1186-1204
- Fuji T, Kasai A, Suzuki KW, Ueno M, Yamashita Y (2010) Freshwater migration and feeding habits of juvenile temperate seabass *Lateolabrax japonicus* in the stratified Yura River estuary, the Sea of Japan. *Fisheries Science* 76: 643-652
- Fuji T, Kasai A, Suzuki KW, Ueno M, Yamashita Y (2011) Migration ecology of juvenile temperate seabass *Lateolabrax japonicus*: a carbon stable-isotope approach. *Journal of Fish Biology* 78: 2010-2025
- Fuji T, Kasai A, Ueno M, Yamashita Y (2014) Growth and migration patterns of juvenile temperate seabass *Lateolabrax japonicus* in the Yura River estuary, Japan-combination of stable isotope ratio and otolith microstructure analyses. *Environmental Biology of Fishes* 97: 1221-1232
- 藤岡康弘 (1991) ビワマス の 形態 ならび に 生理 ・ 生態 に 関 する 研 究. 醒 井 養 鱒 場 研 報 3: 1-

- Fujita S (1962) Studies on life history and aquaculture of Japanese puffer fishes. Report of Nagasaki Prefecture Institute of Fisheries 2: 1-121
- Gallagher ZS, Bystriansky JS, Farrell AP, Brauner CJ (2012) A novel pattern of smoltification in the most anadromous salmonid: pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 70: 349-357
- Grøtan K, Østbye K, Taugbøl A, Vøllestad LA (2012) No short-term effect of salinity on oxygen consumption in threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) from fresh, brackish, and salt water. Canadian Journal of Zoology, 90: 1386-1393
- Gray J (1968) Animal Locomotion. New York: W. W. Norton and Co. Inc.
- Gross MR (1987) Evolution of diadromy in fishes. American Fisheries Society Symposium 1: 14-25
- Halstead LB (1985) The vertebrate invasion of fresh water. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 309: 243-258
- Handeland SO, Järvi T, Fernö A, Stefansson SO (1996) Osmotic stress, antipredatory behaviour, and mortality of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 53: 2673-2680
- Hildebrand SF and Schroeder WC (1928) Fishes of Chesapeake Bay. Bulletin of the United States Bureau of Fisheries 43:1-366
- Hirai N, Tagawa M, Kaneko T, Seikai T, Tanaka M (1999) Distributional changes in branchial chloride cells during freshwater adaptation in Japanese sea bass *Lateolabrax japonicus*. Zoological Science 16: 43-49
- Hiroi J and McCormick SD (2007) Variation in salinity tolerance, gill Na^+/K^+ -ATPase, $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ cotransporter and mitochondria-rich cell distribution in three salmonids *Salvelinus namaycush*, *Salvelinus fontinalis* and *Salmo salar*. Journal of Experimental Biology 210: 1015-1024
- Hirata T, Kaneko T, Ono T, Nakazato T, Furukawa N, Hasegawa S, Wakabayashi S, Shigekawa M, Chang MH, Romero MF, Hirose S (2003) Mechanism of acid adaptation of a fish living in a pH 3.5 lake. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 284: 1199-1212
- Hiroi J, Yasumasu S, McCormick SD, Hwang PP, Kaneko T (2008) Evidence for an apical $\text{Na}-\text{Cl}$ cotransporter involved in ion uptake in a teleost fish. Journal of Experimental Biology, 211: 2584-2599
- Hoar WS (1988) The Physiology of Smolting Salmonids. In Fish Physiology, 11: 275-343 Academic Press. New York
- Hochachka PW (1988) Channels and pumps-determinants of metabolic cold adaptation. Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry & Molecular Biology

90:515–519

Hutchinson GE (1944) Limnological studies in Connecticut. VII. A critical examination of the supposed relation between phytoplankton periodicity and chemical changes in lake waters. *Ecology* 25: 3-26

Hurst TP and Conover DO (2002) Effects of temperature and salinity on survival of young-of-the-year Hudson River striped bass (*Morone saxatilis*): implications for optimal overwintering habitats. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 787-795

Hutchinson GE (1957) Concluding remarks. In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology 22: 415-427. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Huxley J (1942) *Evolution. The Modern Synthesis*

Iida M, Watanabe S, Yamada Y, Lord C, Keith P, Tsukamoto K. (2010) Survival and behavioral characteristics of amphidromous goby larvae of *Sicyopterus japonicus* (Tanaka, 1909) during their downstream migration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 383, 17-22

Inoue JG, Miya M, Miller MJ, Sado T, Hanel R, Hatooka K, Aoyama J, Minegishi Y, Nishida M, Tsukamoto K (2010) Deep-ocean origin of the freshwater eels. *Biology Letters* 6: 363-366

Imslund AK, Gunnarsson S, Foss A, Stefansson SO (2003) Gill Na⁺, K⁺-ATPase activity, plasma chloride and osmolality in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at different temperatures and salinities. *Aquaculture* 218: 671-683

Inokuchi M, Hiroi J, Watanabe S, Hwang PP, Kaneko T (2009) Morphological and functional classification of ion-absorbing mitochondria-rich cells in the gills of Mozambique tilapia. *Journal of Experimental Biology* 212: 1003-1010

Ishiguro NB, Miya M, Nishida M (2003) Basal euteleostean relationships: a mitogenomic perspective on the phylogenetic reality of the “Protacanthopterygii”. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27: 476-488

Ishitobi Y, Hiratsuka J, Kuwabara H, Yamamuro M (2000) Comparison of fish fauna in three areas of adjacent eutrophic estuarine lagoons with different salinities. *Journal of Marine Systems* 26: 171-181

石崎 大介, 大竹 二雄, 佐藤 達也, 淀 太我, 吉岡 基, 柏木 正章 (2009) 耳石微量元素分析を用いた三重県加茂川におけるウグイの回遊履歴の推定. *日本水産学会誌* 75: 419-424

Jablonski D (1986) Causes and consequences of mass extinctions: a comparative approach. In Eliot DK (1986) *Dynamics of Extinction*: 183-229

Jablonski D (1989) The biology of mass extinction: a palaeontological view. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 325: 357-368

Järvi T (1990) Cumulative acute physiological stress in Atlantic salmon smolts: the effect of osmotic

- imbalance and the presence of predators. *Aquaculture* 89: 337-350
- Katano O, Nakamura T, Abe SI, Baba Y (2010) Population density, growth and migration via the sea to different streams of Japanese dace *Tribolodon hakonensis* in lower reaches of small streams. *Ichthyological Research* 57: 1-9
- Kato A, Maeno Y, Hirose S (2010) Brief migration of the grass puffer, *Takifugu niphobles*, to fresh water from salt water. *Ichthyological Research* 57: 298-304
- Kato A, Muro T, Kimura Y, Li S, Islam Z, Ogoshi M, Doi H, Hirose S (2011) Differential expression of Na⁺-Cl⁻ cotransporter and Na⁺-K⁺-Cl⁻ cotransporter 2 in the distal nephrons of euryhaline and seawater pufferfishes. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 300: 284-297
- Katoh F and Kaneko T (2003) Short-term transformation and long-term replacement of branchial chloride cells in killifish transferred from seawater to freshwater, revealed by morphofunctional observations and a newly established time-differential double fluorescent staining technique. *Journal of Experimental Biology* 206: 4113-4123
- Kerr LA, Secor DH, Piccoli PM (2009) Partial migration of fishes as exemplified by the estuarine-dependent white perch. *Fisheries* 34: 114-123.
- Kerr LA, and Secor DH (2010) Latent effects of early life history on partial migration for an estuarine-dependent fish. *Environmental Biology of Fishes* 89: 479-492
- Kitamura T, Kume M, Takahashi H, and Goto A (2006) Juvenile bimodal length distribution and sea-run migration of the lower modal group in the Pacific Ocean form of three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology* 69: 1245-1250
- 木塚誉貴, 櫻井大輝, 林博之 (2011) カワヨシノボリの成魚の塩分耐性. *南紀生物* 53: 183-184
- Kraus RT and Secor DH (2004) Dynamics of white perch *Morone americana* population contingents in the Patuxent River estuary, Maryland, USA. *Marine Ecology Progress Series* 279: 247-259
- Lack D (1947) Darwin's finches. CUP Archive
- Lankford TE, Targett TE (2001) Low-temperature tolerance of age-0 Atlantic croakers: recruitment implications for US mid-Atlantic estuaries. *Transactions of the American Fisheries Society* 130: 236-249
- Leguen I, Véron V, Sevellec C, Azam D, Sabatié R, Prunet P, Baglinière JL (2007) Development of hypoosmoregulatory ability in allis shad *Alosa alosa*. *Journal of Fish biology* 70: 630-637
- Liem KF (1987) Functional design of the air ventilation apparatus and overland excursions by teleosts. *Fieldiana Zoology* 37: 1-29
- Lindsey CC (1978) Form, function and the locomotory habits in fish. In *Fish Physiology* (ed. W. S. Hoar and D. J. Randall): 1-100. New York: Academic Press
- Loge FJ, Arkoosh MR, Ginn TR, Johnson LL, Collier TK (2005) Impact of environmental stressors

- on the dynamics of disease transmission. *Environmental Science and Technology* 39: 7329-7336
- Lovejoy TE (2006) *Climate change and biodiversity*. The Energy and Resources Institute (TERI).
- Maetz J, Evans DH (1972) Effects of temperature on branchial sodium exchange and extrusion mechanisms in the seawater-adapted flounder *Platichthys flesus*. *L. Journal of Experimental Biology* 56: 565-585
- Maples CG and Archer AW (1989) The potential of Paleozoic nonmarine trace fossils for paleoecological interpretations. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 73: 185-195
- Marshall WS (2011) Mechanosensitive signalling in fish gill and other ion transporting epithelia. *Acta Physiologica* 202: 487-499
- 松井誠一, 福元勝志, 塚原博(1987) 沿岸域に出現するフグ類の生態学的研究 : II. ショウサイフグの年齢と成長. 九州大学農学部学藝雑誌. 41: 105-110
- Mayhew P (2006) *Discovering Evolutionary Ecology: Bringing together Ecology and Evolution*. Oxford University Press. 江副日出男・高倉耕一・巖圭介・石原道博 (訳) (2009) これからの進化生態学—生態学と進化学の融合. 共立出版, 東京
- McCormick SD (1994) Ontogeny and evolution of salinity tolerance in anadromous salmonids: hormones and heterochrony. *Estuaries* 17: 26-33
- McCormick SD (2013) Smolt physiology and endocrinology. In McCormick SD, Farrell AP, Brauner CJ (2013) *Euryhaline Fishes*. Academic Press, USA: 200-237
- McCormick SD and Naiman RJ (1984). Osmoregulation in the brook trout, *Salvelinus fontinalis*—II. Effects of size, age and photoperiod on seawater survival and ionic regulation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 79: 17-28
- McCormick SD and Saunders RL (1987) Preparatory physiological adaptations for marine life of salmonids: osmoregulation, growth, and metabolism. In *American Fisheries Society Symposium* 21: 1-229
- McCormick SD, Sundell K, Björnsson BT, Brown CL, Hiroi J (2003) Influence of salinity on the localization of Na⁺/K⁺-ATPase, Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter (NKCC) and CFTR anion channel in chloride cells of the Hawaiian goby (*Stenogobius hawaiiensis*). *Journal of Experimental Biology* 206: 4575-4583
- McDowall RM, Haro A, Smith KL, Rulifson RA, Moffitt CM, Klauda RJ, Dadswell MJ (2009) Making the best of two worlds: diadromy in the evolution, ecology, and conservation of aquatic organisms. In *Challenges for diadromous fishes in a dynamic global environment*. American Fisheries Society, *Symposium* 69: 1-22
- McInerney JE. (1963) Salinity preference and orientation mechanism in salmon migration Ph.D. thesis University of British Columbia: 1-63

- McPhail JD (1993) Ecology and evolution of sympatric sticklebacks (*Gasterosteus*): origin of the species pairs. *Canadian Journal of Zoology*, 71: 515-523.
- Müller K and Berg E (1982) Spring migration of some anadromous freshwater fish species in the northern Bothnian Sea. *Hydrobiologia* 96: 161-168
- Murdy EO, RS Birdsong, JA Musick (1997) *Fishes of Chesapeake Bay*. Smithsonian Institution Press, Washington DC
- 中村政裕, 鈴木寿之, 河野裕美, 塚本勝巳, 大竹二雄 (2015) 琉球列島西表島浦内川の感潮域が絶滅に瀕する魚類 5 種のナーサリーとして果たす役割. *日本生物地理学会会報* 69: 45-56
- Nakamura M, Masuda R, Tsukamoto K, Otake T (2016) Narrowed temperature adaptability in non-natal osmotic environments of two euryhaline wanderers, dace and black porgy: implications for seasonal habitat changes. *Fisheries Science* 82: 261-268
- Näslund I (1991) Partial migration and the development of seasonal habitat shifts in a landlocked Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) population. *Swedish University of Agricultural Sciences*: 1-100
- Näslund I, Milbrink G, Eriksson LO, Holmgren S (1993) Importance of habitat productivity differences, competition and predation for the migratory behaviour of Arctic charr. *Oikos*: 538-546
- Nilsen TO, Ebbesson LO, Madsen SS, McCormick SD, Andersson E, Björnsson BT, Prunet P, Stefansson SO (2007) Differential expression of gill Na⁺, K⁺-ATPase α - and β -subunits, Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransporter and CFTR anion channel in juvenile anadromous and landlocked Atlantic salmon *Salmo salar*. *Journal of Experimental Biology* 210: 2885-2896
- 西村三郎 (1974) 日本海の成立—生物地理学からのアプローチ. 築地書館 pp.70
- Nordeng H (1983) Solution to the "char problem" based on Arctic char (*Salvelinus alpinus*) in Norway. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40: 1372-1387
- Odling-Smee FJ, Laland KN, Feldman MW (2003) *Niche construction: the neglected process in evolution*. Princeton University Press. 佐倉統・山下篤子・徳永幸彦 (訳) (2007) ニッチ構築—忘れられていた進化過程. 共立出版, 東京
- Olsson IC, Greenberg LA, Bergman E, Wysujack K (2006) Environmentally induced migration: the importance of food. *Ecology Letters* 9: 645-651
- Pelis RM, Zydlewski J, McCormick SD (2001) Gill Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter abundance and location in Atlantic salmon: effects of seawater and smolting. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 280: 1844-1852
- Pelis RM, and McCormick SD (2001) Effects of growth hormone and cortisol on Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter localization and abundance in the gills of Atlantic salmon. *General and Comparative Endocrinology* 124: 134-143

- Pulliam HR (2000) On the relationship between niche and distribution. *Ecology Letters* 3: 349-361
- Pough FH, Janis CM, Heiser JB (2009) *Vertebrate life* 8th edition. Pearson/Prentice Hall.
- Prosser CL, Mackay W, Kato K (1970) Osmotic and ionic concentrations in some Alaskan fish and goldfish from different temperatures. *Physiological Zoology* 43:81-89.
- Quinn TP, Bond M, Slater S (2014) Use of stable isotopes and otolith micro-chemistry to evaluate migration in male chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, from an Alaskan river. *Northwest Science* 88: 360-366
- Radtke R, Svenning M, Malone D, Klements A, Ruzicka J, Fey D (1996) Migrations in an extreme northern population of Arctic charr *Salvelinus alpinus*: insights from otolith microchemistry. *Marine Ecology Progress Series* 136: 13-23
- Reis-Santos P, McCormick SD, Wilson JM (2008) Ionoregulatory changes during metamorphosis and salinity exposure of juvenile sea lamprey (*Petromyzon marinus* L.). *Journal of Experimental Biology* 211: 978-988
- Richards JE and Beamish FWH (1981) Initiation of feeding and salinity tolerance in the Pacific lamprey *Lampetra tridentata*. *Marine Biology* 63: 73-77
- Rohtla M, Svirgsden R, Taal I, Saks L, Eschbaum R, Vetemaa M. (2015) Life-history characteristics of ide *Leuciscus idus* in the Eastern Baltic Sea. *Fisheries Management and Ecology* 22: 239-248
- Rounsefell GA (1958) *Anadromy in North American Salmonidae*. US Government Printing Office.
- Sakai H (1995) Life-histories and genetic divergence in three species of *Tribolodon* (Cyprinidae). *Memoirs of the Graduate School of Fisheries Sciences Hokkaido University* 42:1-98
- Sakai H, Goto A, Jeon SR (2002) Speciation and dispersal of *Tribolodon* species (Pisces, Cyprinidae) around the Sea of Japan. *Zoological Science* 19: 1291-1303
- 佐藤行人・西田睦 (2009) 全ゲノム重複と魚類の進化. *魚類学雑誌* 56: 89-109
- Saunders RL, Muise BC, Henderson EB (1975) Mortality of salmonids cultured at low temperature in sea water. *Aquaculture* 5: 243-252
- Saunders RL and Henderson EB (1978) Changes in gill ATPase activity and smolt status of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35: 1542-1546.
- Snieszko SF (1960) Microhematocrit as a tool in fishery research and management. U.S. Department of Interior, Fish and Wildlife Service 341: 1-15
- Schluter D (2000). The ecological theory of adaptive radiation. In *The ecology of adaptive radiation*. Oxford University Press. (訳) 森誠一・北野潤 (2012) 適応放散の生態学説. In *適応放散の生態学*. pp89-115 京都大学学術出版会, 京都
- Schultze HP, Cloutier R, Pfeil VDF (1996) Comparison of the Escuminac Formation ictiofauna with other late Givetian / early Frasnian ichthyofaunas. In *Devonian fishes and plants of Miguasha, Quebec, Canada*: 348-368

- Schultz ET and McCormick SD (2013) Euryhalinity in an evolutionary context. In McCormick SD, Farrell AP, Brauner CJ (2013) Euryhaline Fishes. Academic Press, USA :477-533
- Secor DH (2015) Propagating Propensities: Partial Migration. In Secor DH (2015) Migration ecology of Marine Fishes. Johns Hopkins University Press, Baltimore USA: 170-206
- Sepkoski Jr JJ (1996) Competition in macroevolution: the double wedge revisited. In Evolutionary Paleobiology. University of Chicago Press, Chicago: 211-255
- Shapiro MD, Marks ME, Peichel CL, Blackman BK, Nereng KS, Jónsson B, Schluter D, Kingsley D M (2004). Genetic and developmental basis of evolutionary pelvic reduction in threespine sticklebacks. Nature 428: 717-723
- Shimada Y, Shikano T, Merilä J (2011) A high incidence of selection on physiologically important genes in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. Molecular Biology and Evolution, 28: 181-193
- Simpson GG (1953) The major features of evolution. Columbia University Press, New York
- Soberón J (2007) Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. Ecology Letters 10: 1115-1123
- Sponder DL and Lauder GV (1981) Terrestrial feeding in the mudskipper *Periophthalmus* (Pisces: Teleostei): a cineradiographic analysis. Journal of Zoology 193: 517-530
- 鈴木敬二 (1984) Ayuの歴史と分布. In Ayu-生態と釣法 (編) 世界文化屋社, 東京都 : 30-33
- Svendsen JI, Alexanderson H, Astakhov VI, Demidov I, Dowdeswell JA, Funder S, Gataullin V, Henriksen M, Hjort C, Houmark-Nielsen M, Hubberten HW (2004) Late Quaternary ice sheet history of northern Eurasia. Quaternary Science Reviews 23: 1229-1271
- Tabata K and Azuma M (1986) Survival of three types of Ayu fish *Plecoglossus altivelis* fry in seawater rearing. Bulletin of the Hyogo Prefectural Fisheries Experimental Station 24: 29-34
- Talwar PK and Jhingran AG (1991) Inland fishes of India and adjacent countries. Vol. 2. Oxford & IBH Publ. Co., New Delhi: 1059-1060
- Tang CH, Hwang LY, Shen ID, Chiu YH, Lee TH (2011) Immunolocalization of chloride transporters to gill epithelia of euryhaline teleosts with opposite salinity-induced Na⁺/K⁺-ATPase responses. Fish Physiology and Biochemistry 37: 709-724
- Tipsmark CK, Madsen SS, Seidelin M, Christensen AS, Cutler CP, Cramb G (2002) Dynamics of Na⁺,K⁺,2Cl⁻ cotransporter and Na⁺,K⁺-ATPase expression in the branchial epithelium of brown trout (*Salmo trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). Journal of Experimental Zoology 293: 106-118
- Toneys ML and Coble DW (1980) Mortality, hematocrit, osmolality, electrolyte regulation, and fat depletion of young-of-the-year freshwater fishes under simulated winter conditions. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 37: 225-232

- 塚本勝巳 (1994) 通し回遊の起源と回遊メカニズム. In 後藤晃, 塚本勝巳, 前川光司 (編) 川と海を回遊する淡水魚—生活史と進化. 東海大学出版会, 東京: 2-17
- Tsukamoto K, Miller MJ, Kotake A, Aoyama J, Uchida K (2009) The origin of diadromous fish migration: the random escapement hypothesis. *Challenges for diadromous fishes in a dynamic global environment* 69: 45-61
- 塚本勝巳 (2010) 回遊. In 塚本勝巳 (編) 魚類生態学の基礎. 恒星社厚生閣. 東京: 57-72
- Umminger BL (1969) Physiological studies on supercooled killifish (*Fundulus heteroclitus*) I. Serum inorganic constituents in relation to osmotic and ionic regulation at subzero temperatures. *Journal of Experimental Zoology* 172: 283-302
- Umminger BL (1971) Patterns of osmoregulation in freshwater fishes at temperatures near freezing. *Physiological Zoology* 44: 20-27.
- Virtanen E and Oikari A (1984) Effects of low acclimation temperature on salinity adaptation in the presmolt salmon, *Salmo salar* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 78: 387-392
- Vouglitois JJ, Able KW, Kurtz RJ, Tighe KA (1987) Life history and population dynamics of the bay anchovy in New Jersey. *Transactions of the American Fisheries Society* 116: 141-153
- Wang YF, Tseng YC, Yan JJ, Hiroi J, Hwang PP (2009) Role of SLC12A10. 2, a Na-Cl cotransporter-like protein, in a Cl uptake mechanism in zebrafish (*Danio rerio*). *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 296: 1650-1660
- Waples RS, Pess GR, Beechie T (2008) Evolutionary history of Pacific salmon in dynamic environments. *Evolutionary Applications* 1: 189-206
- Watanabe S, Niida M, Maruyama T, Kaneko T (2008) Na⁺/H⁺ exchanger isoform 3 expressed in apical membrane of gill mitochondrion-rich cells in Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Fisheries Science* 74: 813-821
- Wilson JM, Antunes JC, Bouça PD, Coimbra J (2004) Osmoregulatory plasticity of the glass eel of *Anguilla anguilla*: freshwater entry and changes in branchial ion-transport protein expression. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61 432-442
- Wilson JM, Leitão A, Gonçalves AF, Ferreira C, Reis-Santos P, Fonseca AV, Silva JM, Antunes JC, Pereira-Wilson C, Coimbra J. (2007) Modulation of branchial ion transport protein expression by salinity in glass eels (*Anguilla anguilla* L.). *Marine Biology* 151: 1633-1645
- Wilson AB, Teugels GG, Meyer A (2008) Marine incursion: the freshwater herring of Lake Tanganyika are the product of a marine invasion into West Africa. *PLoS ONE* 3: 1-12
- Wu HL, Jin XB, Ni Y (1978) Toxic and Pharmacological Fish in China Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers
- Xu C (1990) Takifugu obscurus (Abe). *The Fishes of Shanghai Area* (Edited by: East China Sea

- Fisheries Institute, Chinese Academy of Fisheries Science). Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers: 377-378
- 山内清男 (1964) 日本先史時代概説. In 山内清男 (編) 縄紋式土器. 日本原始美術第 1 巻 講談社, 東京
- 山野上裕介 (2015) フグ目魚類の多様性と系統, そして分類. タクサ 日本動物分類学会誌 39: 1-16
- Yamanoue Y, Miya M, Matsuura K, Miyazawa S, Tsukamoto N, Doi H, Takahashi H, Mabuchi K, Nishida M, Sakai H (2009) Explosive speciation of *Takifugu*: another use of fugu as a model system for evolutionary biology. *Molecular Biology and Evolution* 26: 623-629
- Yan M, Li Z, Xiong B, Zhu J (2004) Effects of salinity on food intake, growth, and survival of pufferfish (*Fugu obscurus*). *Journal of Applied Ichthyology* 20:146-149
- Yang Z, Chen YF (2004) Induced ovulation in obscure puffer *Takifugu obscurus* by injections of LHRH-a. *Aquaculture International* 12: 215-223
- 柳島静江, 森主一 (1957) 魚類の適応変異に関する研究 I. メダカ(*Oryzias latipes* T. & S.) の塩水適応について, 第 3 報実験的研究, 動物学雑誌 66: 359-366
- Yatsuya M, Ueno M, Yamashita Y (2012) Occurrence and distribution of freshwater shrimp in the Isazu and Yura Rivers, Kyoto, western Japan. *Plankton and Benthos Research* 7: 175-187
- Yokoo T, Mito T, Iwasaki T, Sasaki T, Michine T, Aranishi F (2010) Spatial and temporal variation of fish assemblages surveyed by set-nets in Nakaumi Lagoon. *Japanese Journal of Limnology* 71: 11-18
- Zaugg WS and McLain LR (1970) Adenosine triphosphatase activity in gills of salmonids: seasonal variation and salt water influence in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 35: 587-596
- Zaugg WS and Wagner HH (1973) Gill ATPase activity related to Parr-smolt transformation and migration in steelhead trout (*Sulmo gairdneri*): influence of photoperiod and temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 45: 955-965
- Zydlewski J, and McCormick SD (1997). The loss of hyperosmoregulatory ability in migrating juvenile American shad, *Alosa sapidissima*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54: 2377-2387

要旨

本研究は「通し回遊はいかにして始まり、どのように進化してきたのか」という命題を、生態学・行動学・生理学・ゲノム科学の様々な観点から包括的に検討したものである。通し回遊は回遊環が複数の浸透圧環境に跨る点で他の回遊と区別されるため、非出生浸透圧環境の活用がその本質といえる。本研究では個体もしくは種の系統と浸透圧環境の関係に着目し、まず、(1) 通し回遊の起源において重要な行動要素となったであろう非出生浸透圧環境への進入行動の解発機構を、遼河回遊のあらゆる進化段階に属する種を含むトラフグ属魚類を用いて検討した。次に、(2) 通し回遊種が普遍的に備える生理特性の獲得過程を通し回遊種の回遊機構の原型を示すと考えられる河口偶来種のウグイ (*Tribolodon hakonensis*)・クロダイ (*Acanthopagrus schlegelii*)・スズキ (*Lateolabrax japonicus*) を用いて検討した。さらに、(3) 通し回遊の進化の遺伝基盤を検討するのに適したトラフグ属魚類に再び着目して、新規の浸透圧環境への順応機構獲得の遺伝基盤をトランスクリプトーム解析により調べた。最後に、各アプローチにより得られた結果を統合して通し回遊の起源と進化過程のシナリオを提示した。

1. 行動学的起源および進化過程

通し回遊の行動学的起源と進化過程を検討するために、通し回遊の進化に重要な行動要素と考えられる非出生浸透圧環境進入行動の解発機構を、トラフグ属の海産単一ハロハビタット種であるショウサイフグ (*Takifugu snyderi*)、海産河口偶来種であるトラフグ (*T. rubripes*) とクサフグ (*T. niphobles*) の3種について空腹度に着目して検討した。各種を個体ごとに海水中で7-14日間飽食飼育した後、同一の期間絶食条件で海水飼育した。飽食・絶食飼育開始から1, 3, 7, 14日後に低張環境(非出生浸透圧環境)への進入率を調べ、同一の日数が経過した時点における両条件下での値を比較した。その結果、全種とも全ての時点で空腹度とは関係なく高い低張環境進入率を示した。これより、トラフグ属の低張環境進入行動の解発に空腹度は影響しないものと考えられた。また、狭塩性海産種のショウサイフグの中には低張環境に積極的に進入する個体が存在することが明らかになった。

2. 生理特性の獲得過程

通し回遊種が普遍的に備える広範な水温帯における非出生浸透圧環境順応能と, preparatory adaptation (以下, 予備適応) の獲得過程を推定するために, 河口偶来種におけるこれらの性質の有無を調べた。まず, 河口偶来種の非出生浸透圧環境順応能の水温依存性を検討するため, 淡水産河口偶来種であるウグイと海産河口偶来種であるクロダイについて, 低張・海水環境にそれぞれに馴致した実験群を用い, 馴致した浸透圧条件で, (1) 水温を急激に変化させた場合の生残率, (2) 水温を段階的に変化させた場合の生残率と血漿浸透圧を調べた。水温を急変させた場合, 両種とも非出生浸透圧環境においてのみ, 低温・高温の両条件下で生残率が大きく低下した。水温を段階的に変化させた場合, 両種とも高温の非出生浸透圧環境で血漿浸透圧が環境水の浸透圧

に近づき、浸透圧調節能が低下することが示唆された。一方、低温条件下では顕著な血漿浸透圧の変化は認められなかった。以上より、ウグイとクロダイが非出生浸透圧環境において順応可能な水温帯は水温急変時には低温・高温の両方向で縮小するのに対し、水温を段階的に変化させた際には高温方向でのみ狭まることが示された。

ウグイ、クロダイに加えて海産河口偶来種であるスズキの稚魚を用い、河口偶来種における予備適応の有無を、鰓における輸送体遺伝子の発現量と非出生浸透圧環境に対する選好性の関係性に着目して検討した。まず、3種における淡水・海水順応機構の発達指標を選定するために各種イオン輸送体遺伝子の発現変動を調べたところ、スズキとクロダイでは CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) と NKCC1 (sodium-potassium-chloride cotransporter-1) が、ウグイでは CFTR と NKCC1a (sodium-potassium-chloride cotransporter-1a) が、それぞれ海水マーカーとして有用であることが分かった。また、スズキでは NCC (sodium-chloride cotransporter) と NHE3 (sodium-hydrogen exchanger-3) が、クロダイでは NHE3 が、それぞれ淡水マーカーとして使えることが明らかになった。

次に、非出生浸透圧環境に対する選好性の指標となる非出生浸透圧環境選好指数を行動実験により算出した各個体の、鰓における環境順応マーカー遺伝子の発現量を測定し、両者の関係を調べたところ、3種全てにおいて相関関係は認められなかった。このことから、今回の実験に用いた3種の河口偶来種では、非出生浸透圧環境への選好性に浸透圧順応機構の発達は関係しないことが明らかになり、非出生浸透圧環境への進入行動には予備適応は伴わないことが示された。

本章の結果から、系統的に離れていて、かつ出生浸透圧環境の異なる複数の河口偶来種に共通して、水温変動により非出生浸透圧環境への順応能が変化すること、ならびに予備適応を伴わないで環境選好性が発現することが示された。このことから、河口偶来種では普遍的に非出生浸透圧環境へのこうした応答を示す可能性が考えられる。以上のことから、これらの生理特性は河口偶来種から通し回遊種への進化過程において共通して獲得されてきたものと推察された。

3. 浸透圧調節能獲得の遺伝基盤

トラフグ属魚類における低張環境順応能獲得の遺伝基盤を知るために、低張環境に対する生態学的依存度が異なる、海産単一ハロハビタット種のショウサイフグ、海産河口偶来種であるトラフグとクサフグ、および遡河回遊種であるメフグ (*T. obscurus*) とメガネフグ (*T. ocellatus*) の5種における低張環境順応能の遺伝基盤を比較した。これに先立ち、低張環境への順応能を各種の血漿浸透圧を調べることで見積もったところ、低張環境順応能がショウサイフグ<クサフグ<トラフグ<メフグ=メガネフグの関係にあること、および海産単一ハロハビタット種のショウサイフグにおいても低張環境に対して一定の耐性を示すことが分かった。続いて、高張環境 (塩分 30 ppt) と低張環境 (メフグ・メガネフグ:塩分 0.1-0.2 ppt, トラフグ・クサフグ:塩分 1.0 ppt, ショウサイフグ:塩分 3.0 ppt) それぞれに馴致した個体の鰓と腸における遺伝子発現を RNA-seq 法により測定し、19,388 遺伝子について高張環境馴致時に対する低張環境馴致時の発現量比を求めた。このうち、

発現量が 1/2 以下に低下、もしくは 2 倍以上に上昇した遺伝子を発現変動遺伝子 (DEG) と定義し、5 種についてベン図解析を行った。

RNA-seq 法の解析に先立ち、鰓で 4 個 (CFTR・CISH; Cytokine-inducible SH2-containing protein・NHE3・Pdlim2; PDZ and LIM domain protein 2), 腸で 3 個 (CISH・NCC・NKCC2; sodium-potassium-chloride cotransporter-2) の遺伝子についてそれぞれ定量リアルタイム PCR 法により発現量を測定し、RNA-seq 法により得られた結果の定量精度を評価した。その結果、ほぼ全ての遺伝子について RNA-seq 法の結果と同様の傾向が認められた。このことから、RNA-seq 法の結果を基に全体の傾向を議論して概ね間違いはないと考えられた。

RNA-seq 法の結果について 5 種の DEG のベン図解析を行ったところ、ショウサイフグでのみ低張環境に応答して発現変動を示さない遺伝子が鰓で 4 個、腸で 3 個認められ、本種の鰓でのみ発現が低下しない遺伝子の中には海水への順応に重要な CFTR が含まれることが分かった。このことから、本種では低張環境への順応に際して浸透圧調節関連遺伝子の発現が適切に調節されていないことが示唆された。また、メフグとメガネフグでのみ発現上昇がみられた遺伝子が鰓と腸でそれぞれ 8 個ずつ、発現低下がみられた遺伝子が鰓で 14 個、腸で 7 個あり、これらの遺伝子が低張環境への順応機構獲得に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。中でも、両種の腸において定量リアルタイム PCR 法でも大幅な発現上昇が認められた NCC は、淡水に順応した通し回遊種のニホンウナギの腸で高発現を示すことから、淡水への順応に重要な遺伝子であることが知られている。したがって、NCC はトラフグ属魚類の低張環境順応能力の能力差を規定するものであると考えられた。

以上の結果より、トラフグ属魚類の単一ハロビタット種であるショウサイフグは、一定程度の低張環境耐性を有するものの、いくつかの重要な遺伝子を適切に発現できないために低張環境に対する順応能力が低いこと、一方、低張環境における浸透圧調節機構がより発達したトラフグやクサフグなどの河口偶来種では、適切な発現調節が行われていることが明らかになった。また、極限的な低張環境である淡水にまで順応可能な通し回遊種のメフグとメガネフグにおいては、新たに NCC などの輸送体遺伝子の発現調節システムを獲得していることが推察され、トラフグ属魚類の低張環境順応能力獲得の遺伝基盤の一端が明らかになった。

以上本研究から、非出生浸透圧環境に対する一定の耐性と選好性を示す単一ハロビタット種から、より高度な浸透圧調節機構を保持する河口偶来種が進化し、さらにはイオン輸送に関わる重要遺伝子の発現調節システムと非出生浸透圧環境における広範な水温帯での浸透圧調節能、ならびに予備適応の機構を備えた通し回遊種が誕生するという通し回遊の進化シナリオが考えられた。本研究で得られた知見は、通し回遊現象の理解の深化のみならず、地球温暖化に対する河口偶来種の資源の応答とその保全策の立案や、養殖魚の遺伝育種において役立つものと期待される。

付属資料

付属資料のデータは査読付きの国際誌に論文投稿する予定であるため、公表できない。