

平成 21 年 6 月 15 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2006-2008  
 課題番号：18570099  
 研究課題名 (和文) 深海底に広がるキタクシノハクモヒトデ高密度個体群の  
 系統地理学的研究  
 研究課題名 (英文) Phylogeography of the dense populations of *Ophiura*  
*sarsii* on the upper continental slope  
 研究代表者  
 藤田 敏彦 (FUJITA TOSHIHIKO)  
 国立科学博物館・動物研究部・研究主幹  
 研究者番号： 70222263

## 研究成果の概要：

北日本の深海底に広がるキタクシノハクモヒトデ高密度ベッドの遺伝的構造を調べるために、ミトコンドリア DNA の塩基配列により、系統地理学的な解析を行った。シトクローム *c* 酸化酵素サブユニット 1 (*cox1*) の部分配列 (1285 bp) およびシトクローム *b* (*ctb*) の全長 (1141bp) を太平洋、オホーツク海、日本海から採集した 39 個体について決定した。調査海域を、北海道～北東北沖の太平洋、南東北沖の太平洋、日本海、オホーツク海の 4 海域に分け、それぞれの地域集団として解析を行ったところ、*cox1* には 20 種類のハプロタイプが認められ、そのうち 4 種類のハプロタイプが 2 つの海域に 2 種類のハプロタイプが 3 つの海域に出現した。*ctb* では 26 種類のハプロタイプが認められ、そのうち 3 種類のハプロタイプが 2 つの海域に出現した。*cox1* の塩基多様度はオホーツク海が他の 3 海域よりも低く、*ctb* では北海道～北東北沖の太平洋が他の海域よりも高かった。ペアワイズ *Fst* 値で遺伝的な類似度を比較すると、*cox1* では北海道～北東北沖の太平洋と日本海の間、北海道～北東北沖の太平洋とオホーツク海の間で、*ctb* では北海道～北東北沖の太平洋と他の 3 海域との間で有意差が認められた。これらの結果から、海域間の遺伝的交流が多少ともあるものの、海域による遺伝的構造の差が認められることが示唆された。

キタクシノハクモヒトデの亜種とされているエゾクシノハクモヒトデは、日本海だけでなく東北沖の太平洋にも出現することがわかった。分布水深はやや重なり同所的に出現する場所もあり、また、形態的な差は明瞭であるものの中間形と思われる個体も稀に見つかることから、両種間の系統関係をさらに詳細に調べる必要があることがわかった。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 18 年度	900,000	0	900,000
平成 19 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
平成 20 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	540,000	3,240,000

研究分野：海産無脊椎動物学

科研費の分科・細目：生物多様性・分類

キーワード：棘皮動物、クモヒトデ類、深海、遺伝子交流、地理的分布、高密度ベッド、*cox1*、*ctb*

## 1. 研究開始当初の背景

キタクシノハクモヒトデは砂泥底に生息する表在性のクモヒトデ類（棘皮動物門）で、環北極種として知られており西太平洋では日本近海が分布の南限になっている。Fujita & Ohta (1989)の報告以来、キタクシノハクモヒトデの高密度個体群が知られるようになった。日本近海では、キタクシノハクモヒトデは、特に宮城県以北の太平洋側と北海道から山口県までの日本海において、大陸斜面の最上部にあたる水深約 200-600m の範囲の約 10km 幅の海底を帯状に、1000km を超える長さに渡りほぼ連続的に、1 m<sup>2</sup>あたり 100 個体以上の高密度で広く海底をおおっていることがわかり、これを高密度ベッドと呼んでいる (Fujita & Ohta, 1990)。

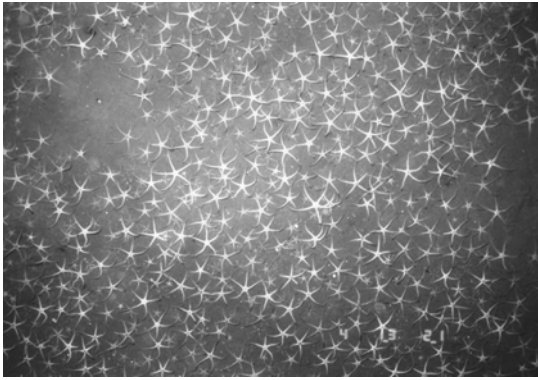


図1. キタクシノハクモヒトデの高密度ベッド。釜石沖の水深約 300m の海底。

このようなキタクシノハクモヒトデの高密度ベッドはどのように形成され、維持されてきたのであろうか。これまで共存種、空間分布、個体群動態、成長、餌、捕食圧、化石など様々な角度から生態学的な観察が行われ (藤田 1988, 1994; Fujita, 1992, 1996, 2003; Fujita and Ohta, 1989, 1990; Fujita et al., 1995a, b; Horikoshi et al., 1990; Stanczyk et al., 1998; Ishida and Fujita, 1999, 2001), 個体群の密度や体長頻度分布などの特徴が地域によって大きく異なることもわかってきた。

キタクシノハクモヒトデはオフィオプルテウス型の浮遊幼生を持つことが知られているが (Yamashita, 1983; Kasyanov et al., 1998), 浮遊幼生がどのような範囲にまで分散し、どのような地理的な単位で個体群が維持されているのかなど、高密度ベッドの形成、維持に根本的に関わっている遺伝的問題に

ついては全く明らかにされていなかった。

キタクシノハクモヒトデ高密度ベッドがどのように形成され維持されているかを明らかにするための最も重要な手がかりの一つは、キタクシノハクモヒトデ高密度ベッドの遺伝的な構造である。深海底に広がる高密度ベッドの遺伝的な特徴を地理的に明らかにすることにより、大きな高密度ベッドが全体としてどのように維持されているのかを知ることができる。

また、日本近海はキタクシノハクモヒトデの分布の南限の末端域にあたるが、形態分類学的にキタクシノハクモヒトデの亜種とされているエゾクシノハクモヒトデがキタクシノハクモヒトデの高密度ベッドと接するように日本海の浅海に分布していることが知られている。分布の末端域における種分化の一例となっている可能性も考えられるが、エゾクシノハクモヒトデの分類学的な扱いや両種間の系統関係については全く研究が行われてこなかった。亜種と考えられているエゾクシノハクモヒトデも取り込むことにより、キタクシノハクモヒトデ高密度ベッドの地理的分布とその形成史に関してさらに深い考察が可能となると考えられる。

## 2. 研究の目的

これらの背景を受け、本研究では、日本周辺におけるキタクシノハクモヒトデ高密度ベッドの各地域個体群間の遺伝的分化、遺伝的交流について明らかにするために、各地域個体群から得たミトコンドリア DNA の塩基配列データを用いて調べることを目的とした。

本課題では、キタクシノハクモヒトデの高密度ベッドが分布していることが知られている北日本の周辺の大陸棚から大陸斜面上部を調査海域として設定し、オホーツク海、日本海、北海道一東北沖の太平洋で採集調査を行った。深海底という開放的な環境において詳細な系統地理的な解析を行うことを目的とし、可能な限り多くの場所から DNA 抽出も可能な標本を得ることとした。

キタクシノハクモヒトデの生物地理学的な研究を行うにあたり、キタクシノハクモヒトデの亜種とされているエゾクシノハクモヒトデも研究対象に加え、これら両種の分布範囲や、形態的な差を明らかにすることも目的とした。

## 3. 研究の方法

キタクシノハクモヒトデの分類学的な再検討および DNA の抽出に適切な標本を得るた

めに、東北地方ならびに北海道の太平洋岸、日本海、オホーツク海において標本の採集を行った。

クモヒトデ類の採集は、水産総合研究センター東北区水産研究所、同日本海区水産研究所、同北海道区水産研究所、同中央水産研究所（若鷹丸、蒼鷹丸、みずほ丸、北光丸、第7開洋丸）、石川県水産総合センター、のどじま臨海公園水族館他の協力を得て行った。採集にはオッタートロール、ビームトロール、ソリネットなどを用いた。新たに採集した標本は、DNA抽出標本用として、各網20個体ほどを個体全体を船上で速やかに99%エチルアルコールにつけ、実験室に持ち帰った後にエチルアルコールを入れ替えて密閉容器中で保存した。

調査海域から採集された、同属の多種を含めて形態学的な観察を実施した。過去に採集された既存の標本も含め、5万個体を超える個体の同定を行った。形態観察には、双眼実体顕微鏡の他、走査型電子顕微鏡を用いた。

クモヒトデ各個体の腕の先端数mm~2cmを切除し、骨片も含め丸ごとすりつぶしDNAの抽出を行った。標的遺伝子としてはミトコンドリアDNA上に存在し、多くの分類群において系統解析等に用いられているシトクロームc酸化酵素サブユニット1(*cox1*)とシトクロームb(*ctb*)を選んだ。抽出した全DNAを鋳型とし、キタクシノハクモヒトデと同属で全ミトコンドリアDNAが配列決定されている*Ophiura luetkeni* (AY184223)の配列を参考にしてプライマーの設計を行った。設計したプライマーを用いてPCRで増幅し、39個体について1285bpからなる*cox1*部分配列および、完全配列1141bpからなる*ctb*の全長を、ダイレクトシーケンシング法により決定した。

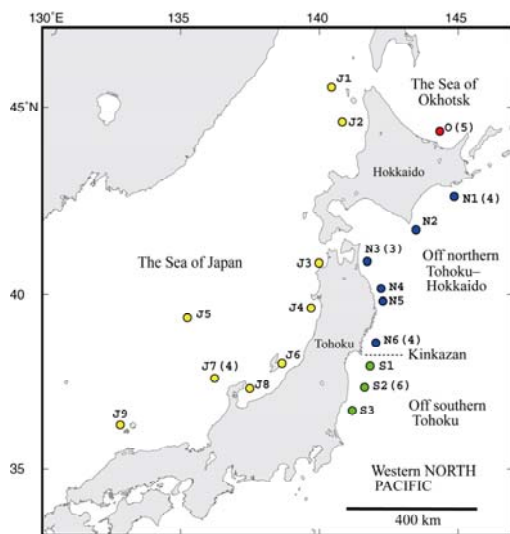


図2. DNA分析に用いたキタクシノハクモヒトデの採集地点と4つの海域(地域集団)。

得られた塩基配列の解析は各遺伝子ごとに行った。観察されたハプロタイプの系統樹を近隣結合法により求めた。集団解析においては、調査海域を妥当と思われる4つの海域に分割した(図2)。太平洋岸では、キタクシノハクモヒトデの高密度ベッドは金華山沖あたりが南限となっており、金華山以南にも分布はしているものの、それほど高い密度にはなっていないことが知られており、太平洋岸も南北二つの海域に分割した。

分割した北海道~北東北沖の太平洋(14個体)、南東北沖の太平洋(8個体)、日本海(12個体)、オホーツク海(5個体)の4つの各海域間で、出現するハプロタイプや遺伝的多様度を比較すると共に、ペアワイズFst値により、集団間の遺伝的な類似性を比較した。

#### 4. 研究成果

得られた39個体からの塩基配列には、*cox1*で35(2.7%)、*ctb*で43(3.8%)のサイトに多型が見られた。

*cox1*には20種類のハプロタイプが認められた(図3)。そのうち12種類のハプロタイプは1個体のみから得られており、最も多くの個体から得られたのはハプロタイプ(18)で、6個体(15%)からであった。4種類のハプロタイプが2つの海域に、2種類のハプロタイプは3つの海域に出現した。

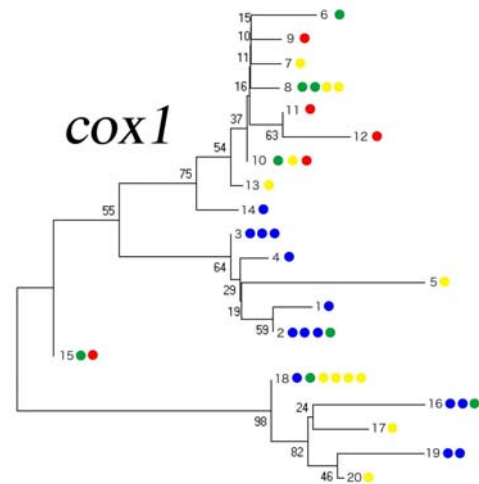


図3. *cox1*の20種類のハプロタイプの系統をしめす近隣結合樹。ハプロタイプの番号と出現した個体が採集された地域を色分けして示す(青:北海道~北東北沖の太平洋, 緑:南東北沖の太平洋), 黄:日本海, 赤:オホーツク海。枝の数値はブートストラップ値を表す。

一方、*ctb*では26種類のハプロタイプが認められた(図4)。そのうち20種類のハプロタイプは1個体のみから得られており、最も

多くの個体から得られたのはハプロタイプ (1, 13, 20) で、4 個体からであった。3 種類のハプロタイプが 2 つの海域に出現したが、3 つの海域に出現するハプロタイプはなかった。

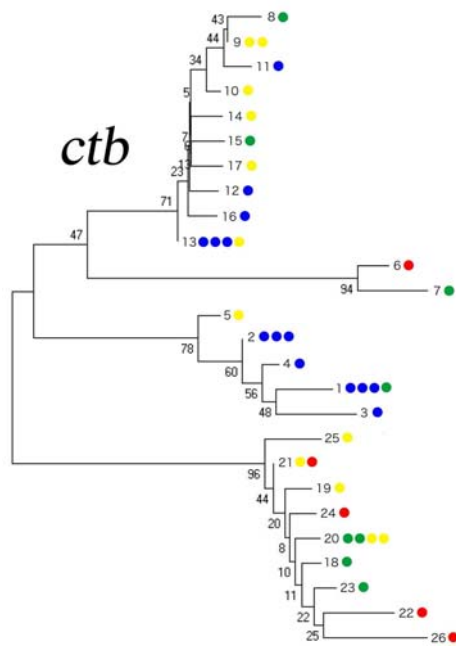


図 4. *ctb* の 26 種類のハプロタイプの系統を示す近隣結合樹。ハプロタイプの番号と出現した個体が採集された地域を色分けして示す (青：北海道から北東北沖の太平洋，緑：南東北沖の太平洋)，黄：日本海，赤：オホーツク海。枝の数値はブートストラップ値を表す。

海域間における塩基多様度を比較すると、*cox1* ではオホーツク海が他の 3 海域よりも低く、*ctb* では南東北沖の太平洋が他の 3 海域よりも高いという結果が得られた (表 1)。

表 1. 各地域個体群における 1 サイト当たりで示した塩基多様度。N は個体数を示す。

	<i>cox1</i>	<i>ctb</i>
北海道～北東北の太平洋岸 (N=14)	0.221 ± 0.123	0.150 ± 0.084
南東北の太平洋岸 (N=8)	0.221 ± 0.131	0.239 ± 0.139
日本海 (N=12)	0.217 ± 0.122	0.178 ± 0.103
オホーツク海 (N=5)	0.108 ± 0.076	0.176 ± 0.116

ペアワイズ *Fst* 値で個体群間の遺伝的な類似性を比較すると、*cox1* では北海道から北東北沖の太平洋と日本海の間、北海道から北東北沖の太平洋とオホーツク海の間で、*ctb* では北海道から北東北沖の太平洋と他の 3 海域

との間で有意差が認められた。この結果から、海域間の遺伝的交流が多少ともあるものの、海域による遺伝的構造の差が認められることが示唆される。

しかし、不十分な数のデータながら、*cox1* と *ctb* とでは異なる結果が得られており、それほど単純な地理的な分化が生じているというように捉えることはできないと考えられる。キタクシノハクモヒトデの高密度ベッドの地理的な遺伝的構造をはっきりさせるために、さらに多くの個体の配列データを蓄積し、また他の遺伝マーカーを加えるなどして詳細な解析を行う必要があると思われる。

表 2. 各地域個体群間のペアワイズ *Fst* 値。\*は  $p < 0.05$  で有意な差があることを示す。

	北海道～北東北の太平洋岸	南東北の太平洋岸	日本海
<i>cox1</i>			
南東北の太平洋岸	0.088	-	-
日本海	0.117*	-0.02	-
オホーツク海	0.300*	0.013	0.196
<i>ctb</i>			
南東北の太平洋岸	0.195*	-	-
日本海	0.218*	-0.039	-
オホーツク海	0.447*	-0.022	0.139

キタクシノハクモヒトデの亜種とされているエゾクシノハクモヒトデは、これまで日本海に分布することが知られていたが、今回の研究で、東北沖の太平洋にも分布していることが明らかとなった。東北沖の太平洋では、キタクシノハクモヒトデは水深 153-816 m、エゾクシノハクモヒトデは水深 65-211 m から確認されており、水深分布はやや重なることがわかった。形態的には、腕櫛などに十分な違いが認められるものの (図 5)、同所的に出現する場所では、両種の間間形と思われる個体も見つかっている。このような中間的な形態の個体がどのように生じているのかについては、今後、分子等による方法も含めた詳細な系統解析の研究が必要であると考えられる。



図 5. キタクシノハクモヒトデ (左) とエゾクシノハクモヒトデ (右)。腕の基部の反口面。矢じりは腕櫛を示す。スケールは 2 mm。

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)

Fujita, T., Iwasaki, U. and Okanishi, M. 2009. Ophiuroids (Echinodermata) of Genus *Ophiura* collected from deep waters off Pacific coast of northern Japan. National Museum of Nature and Science Monographs, 39: 619-653. 査読無し

[学会発表] (計 1 件)

Fujita, T. and Kuramochi, T. 2009. Preliminary analysis on genetic structure of dense populations of *Ophiura sarsii* on the upper slope around northern Japan. 13th International Echinoderm Conference, 5-9 January 2009, Hobart, Australia.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤田 敏彦 (FUJITA TOSHIHIKO)

国立科学博物館・動物研究部・研究主幹

研究者番号：70222263

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

倉持 利明 (KURAMOCHI TOSHIKI)

国立科学博物館・動物研究部・研究主幹