

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22670

研究課題名(和文) トゲカワムシ科動物動物の系統進化学的研究

研究課題名(英文) Phylogeny of Echinoderidae (Phylum Kinorhyncha)

研究代表者

山崎 博史 (Yamasaki, Hiroshi)

九州大学・基幹教育院・助教

研究者番号：80750330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、メイオベントスの形態進化のモデルとして、トゲカワムシ科動物動物を対象とした系統進化学的解析を実施した。既知種全種および未記載種の形態・生態・分子情報を集約および新規取得し、分子データ(18S+28S+COI 78種127個体)を用いて系統解析を実施したところ、トゲカワムシ科動物動物内の主要グループとその系統関係を明らかにする事ができた。各グループは共通の形態形質を有する事が多い一方で、多様な環境への進出はグループ内で独自に起こっている可能性が示唆された。また解析サンプルの中には、複数の未記載種や隠蔽種の存在が示唆されている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顕微鏡サイズの動物でありながら、非常に高い形態的・生態的・種多様性を誇るメイオベントスだが、その進化プロセスについては未解明であった。本研究結果であるトゲカワムシ科動物動物の系統関係や、系統関係から示唆される形態進化プロセスは、本グループおよびメイオベントスの進化・適応・種分化理解の礎となると期待できる。また本研究にて、トゲカワムシ科内に数多くの未記載種・隠蔽種や、未記載種のみからなる系統群の存在が明らかになった。これは、本グループの種多様性が、現在知られているものより遥かに高いことを示している。今後の分類・系統進化学的解析によって、種多様性の実態や進化プロセスの理解が進むことが期待される。

研究成果の概要(英文)：This study conducted a phylogenetic and evolutionary analysis of the family Echinoderidae (Phylum Kinorhyncha) as a model for the morphological evolution of meiobenthos. The morphological, ecological, and molecular information on all available known species as well as those on undescribed species collected before the study, was investigated. The phylogenetic tree of the family was conducted based on the molecular data (18S+28S+COI gene sequences for 127 individuals from 78 species), which allowed to identify major groups and their phylogenetic relationships within the family. While each of the groups shared common morphological traits, it was suggested that the groups may have adapted and expanded into variable environments independently. The presence of several undescribed or cryptic species were also detected in the study.

研究分野：多様性生物学

キーワード：メイオベントス 動物動物 系統進化 種多様性 分類 トゲカワムシ 分子系統樹

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メイオベントス(小型底生動物)は生物多様性の隠れた宝庫である。彼らは体長数十マイクロから数ミリメートルと非常に小さく、水底の砂の隙間に隠れるように暮らしているため、日常生活で人目につく機会は少ない。しかし分類学・生態学的研究から、彼らが世界中の多様な水底環境で暮らしており、非常に高い種多様性を誇ることが示されている。系統的多様性も高く、後生生物 35 動物門中、23 動物門はメイオベントス性種を含む。動物門や科・属によっては、メイオベントス性種のみで構成されるグループもあり、初期系統発生や進化を理解する上で重要な動物群となっている。すなわちメイオベントスは、水底の砂の隙間という環境の中で、多様な動物系統において進化・適応を繰り返し、豊かな生物多様性を創出してきたといえる。

近年、多様性生物学分野において注目されつつあるメイオベントスだが、これまで行われた系統進化学的研究例は少なく、特に種単位での解析例は極わずかである。これは、微小なメイオベントスの採集・観察・種同定に特別な技術や経験を必要とすること、その専門家数も少ないこと、研究基盤となる種多様性情報が十分に整備されていなかったこと、メイオベントスを対象とした分子実験・遺伝子解析技術が近年確立されたばかりであることに起因する。多様なメイオベントスが砂の隙間という環境下で、どのような系統を辿り、どのように新規形質を獲得し、どのように新規環境に適応・進出してきたか、ほとんど明らかになっていない。

本研究対象となるトゲカワムシ科動物動物は、全種が海産メイオベントス性種で構成されている。極域から熱帯域、浅海から超深海まで、また砂浜など身近な環境から海底洞窟内の砂泥底といった特殊環境まで、世界中の多様な海洋環境から見つかっている。これまで約 150 種が知られるが、種レベルでは「汽水性種」や「浅海の粗砂のみに生息する種」など、限られた環境から報告される事が多い。すなわち本科に属する種は、環境固有性が高く、それぞれ砂の隙間にある多様な生息環境に適応進化してきたといえる。しかし本科内の系統解析は明らかになっておらず、その進化プロセスは不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、動物進化学のミッシングピースとなっている、メイオベントスの形態進化プロセスについて、トゲカワムシ科動物動物を用いて紐解くことである。これを達成するため、(1) トゲカワムシ科動物動物ほぼ全種について、形態・生態情報をまとめ、本科の形態的・生態的多様性を解明する、(2) 系統解析による科内の系統関係の解明する、(3) これらのデータを統合し、トゲカワムシ科内の形態進化プロセスおよび生息環境や分布域拡大のキーとなった形態進化・地史イベントを解明する事を目指した。

3. 研究の方法

研究対象はトゲカワムシ科既知種全種に加えて、報告者が既に日本周辺海域等から採集済みのトゲカワムシ科種(未同定種・未記載種含む)とした。

(1) 形態情報・生態情報の取得・整理

トゲカワムシ科既知種全種(研究期間中に新種記載された種を含む、全 5 属 159 種)の形態・生態情報を、各種の記載論文の精査および光学顕微鏡・走査型電子顕微鏡観察によって取得し、まとめた。また、報告者による採集済みトゲカワムシ科動物動物についても同様に、光学顕微鏡・走査型電子顕微鏡による外部形態観察を行い、形態・生態情報をまとめ、種同定を行った。

(2) 分子実験

報告者が採集した標本の一部を分子実験に用いた。各標本から DNA を抽出し、核 18S rRNA (18S)、28S rRNA (28S)、ITS、ミトコンドリア COI、Cytb 遺伝子の塩基配列決定を試みた。なお核 ITS 遺伝子およびミトコンドリア Cytb 遺伝子は、研究途中で、ヘテロ接合配列を持つ種が多い (ITS)、トゲカワムシ科全種に対応できるプライマー作成が困難である (Cytb)、進化速度が著しく早く、種間での比較が困難である (ITS および Cytb) 事が判明したため、ごく一部の種のみ配列決定に留めた。解析に使用するデータを増やすための代替案として、トゲカワムシ科ミトコンドリア COI 遺伝子ほぼ全長が増幅できるプライマーを新たに設計し、実験を進めた。

(3) 系統解析

(1)(2)で取得したデータに GenBank で公開されている塩基配列情報を加えて、系統解析を実施した。解析には形態データセット(既知種 159 種+未同定種)、分子データセット(18S+28S+COI: 既知種 50 種+未記載種 29 種)、形態+分子データセットを用いた。再節約法(MP)最尤法(ML)・ベイズ法(BI)による系統樹を作成したところ、形態データセットおよび形態+分子データセットは、一部の種間の近縁性を除き、多くの系統関係が多岐となったため、分子データセット系統樹のみを以降の解析に使用した。系統解析ソフト Mesquite を用いて、系統樹上に各種の形態・生態情報を照らし合わせ、トゲカワムシ科の進化について考察した。

4. 研究成果

(1) トゲカワムシ科内の系統関係

分子データセットを用いた系統解析によって得られた系統樹を図1に示す。この解析には、トゲカワムシ科全5属の内、4属 (*Echinoderes*, *Cephalorhyncha*, *Meristoderes*, *Polacanthoderes*) が含まれる。残りの1属 (*Fissuroderes*) は利用可能な分子データが得られなかったため、図1には含まれていない。本研究成果は、トゲカワムシ科動物動物を対象としたこれまでの系統解析では最も種網羅性が高い解析となった。ML・BI いずれの系統樹においても、トゲカワムシ科の単系統性は強く支持された。また、トゲカワムシ科内部においては、*Polacanthoderes* 属が最も初期に分岐し、残りの3属が単系統グループ (BS 98/PP 1.00) を形成する事が示された。また3属を含むグループ内部は、大きく2つのクレードに分かれた。ここでは暫定的にそれぞれクレードα、βとする。

クレードα (BS 69/PP 0.99) には既知種14種 (*Echinoderes* 属11種、*Cephalorhyncha* 属3種) と未記載種4種が含まれた (図2)。またクレードα内部には、BSおよびPP両者で支持される

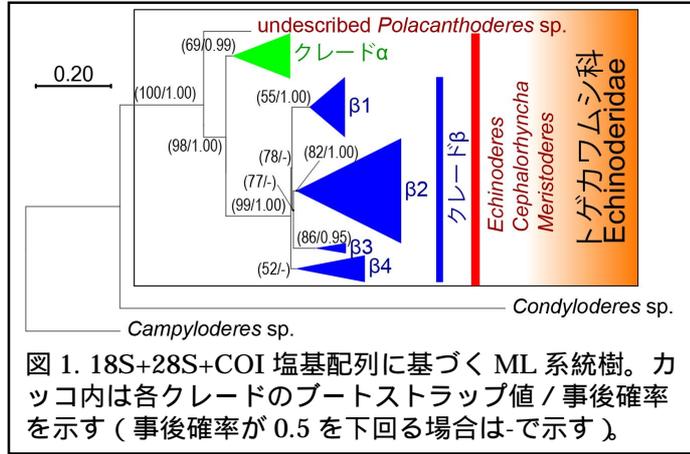


図1. 18S+28S+COI塩基配列に基づくML系統樹。カッコ内は各クレードのブートストラップ値/事後確率を示す (事後確率が0.5を下回る場合は-で示す)

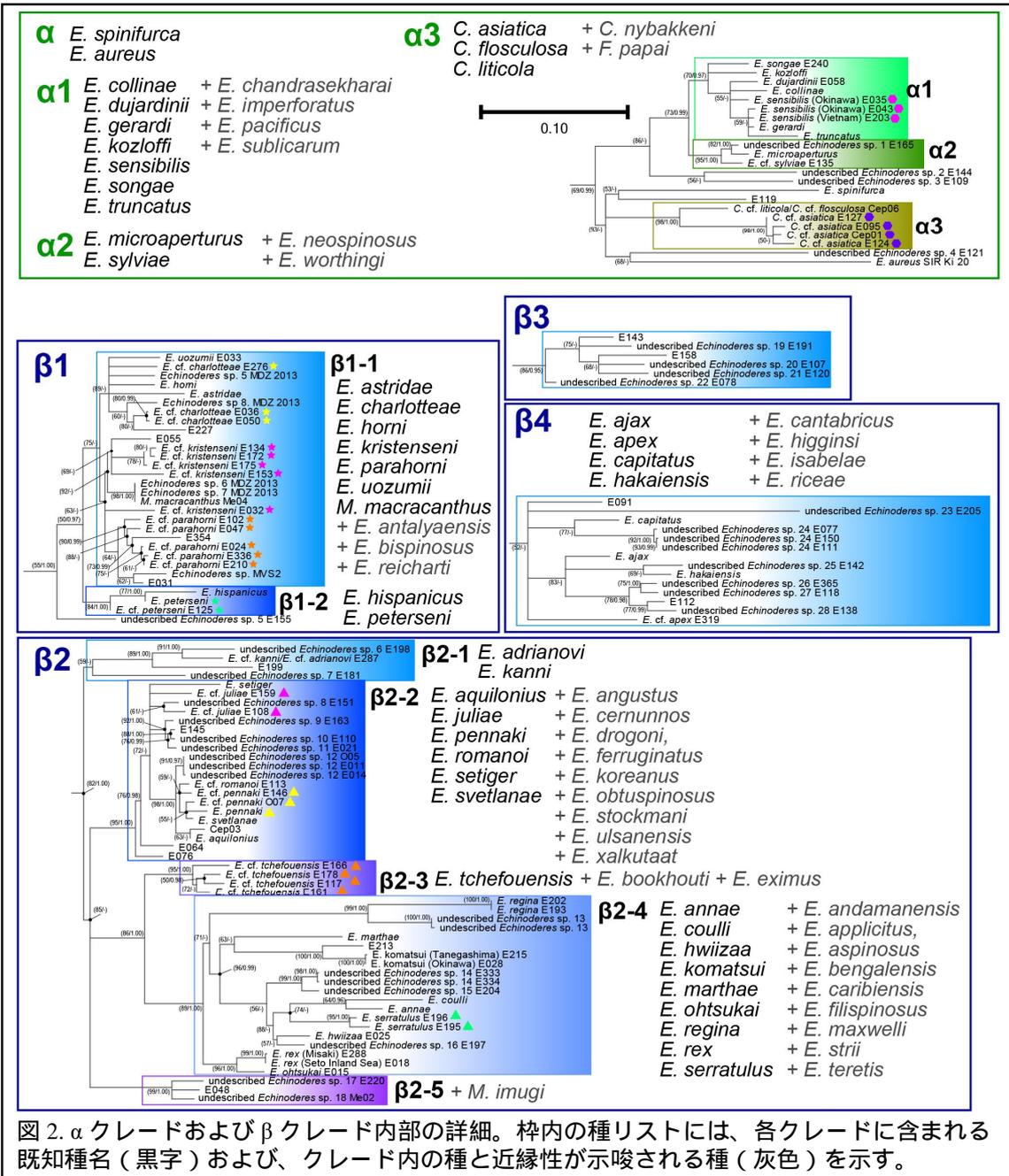


図2. αクレードおよびβクレード内部の詳細。枠内の種リストには、各クレードに含まれる既知種名 (黒字) および、クレード内の種と近縁性が示唆される種 (灰色) を示す。

3つのサブクレードが見られた。この内、クレード $\alpha 1$ は既知の *E. dujardinii* 種群、クレード $\alpha 3$ は *Cephalorhyncha* 属に相当する。また、形態データセットを用いた解析により、分子データの得られていない既知種の内、8種 (*Echinoderes* 属 6種、*Cephalorhyncha* 属 1種、*Fissuroderes* 属 1種) がクレード α に含まれる事が示唆された。

クレード β (BS 99/PP 1.00) には既知種 31種 (*Echinoderes* 属 30種、*Meristoderes* 属 1種) と未記載種 24種が含まれた (図2)。また本クレード内部には、4つのサブクレード ($\beta 1$ – $\beta 4$) が見られた。また各サブクレード内部にも、幾つかの単系統グループが確認できた。この内、クレード $\beta 2$ – $\beta 3$ は *E. cf. tchefouensis* のみを含み、クレード $\beta 2$ – $\beta 3$ は *E. coulli* 種群に相当した。また、形態データセットを用いた解析により、分子データの得られていない既知種の内、28種 (*Echinoderes* 属 27種、*Meristoderes* 属 1種) がクレード β に含まれる事が示唆された。

分子データが得られなかった既知種の内、113種は系統的位置を明らかにすることができなかった。*Polacanthoderes* 属の特異な形態を考慮すると、これら 113種はクレード α または β に含まれると予想される。ただし、本研究では確認されていない系統に属する可能性も排除できない事から、これらの種の分子データを加えた解析が望まれる。

(2) トゲカワムシ科における進化

図1および図2で示すクレードの多くは、共通の形態形質を有していた。また各クレードの共通形質は特に、中央背棘や分泌孔のパターンによく現れる事が明らかになった (例えばクレード $\alpha 1$ に属する種は、全種が第4–8体節に非常に短い中央背棘を持つなど) (図3)。

一方で、生態的特徴に関する共通点が見られたクレードはごく一部であった。例えば、*Polacanthoderes* 属グループは南極域のみで生息が確認されている。またクレード $\alpha 1$ は潮間帯性種が大半を占め、クレード $\beta 2$ – $\beta 4$ は汽水性種が大半を占めていた。クレード $\beta 1$ – $\beta 1$ の構成種は、いずれも粗砂環境で見つかる事が多い種であった。これらのクレード内共通の形態形質は、各生息環境への適応に重要な役割を担っている可能性が高く、今後、微細構造解析など形態機能学的な解析等の研究展開が望まれる。一方で、上記以外のクレードには、異なる生息水深帯、底質環境など、様々な生態的特徴を持つ種が含まれていた。すなわち、大半のトゲカワムシ科クレードでは、各クレード内で独自に、多様な生息環境への適応進化が起こったと考えられる。各サブクレード内の系統関係については、本研究では明瞭な結果が得られなかったことから、解析遺伝子を変更・追加したさらなる解析が必要である。

また系統樹に形態形質を照らし合わせたところ、トゲカワムシ科の共有祖先形質は(i) 第4–8体節に中央背棘を有する、(ii) 第5体節に側腹管を有する、(iii) 第6–9体節に側腹棘を有する、(iv) 第8体節にタイプ2分泌孔を有する である事が示唆された。トゲカワムシ科内での進化・多様化と共に、中央背棘の減少 (クレード $\beta 1$ 、 $\beta 2$ – $\beta 2$ 、 $\beta 2$ – $\beta 5$ 、 $\beta 4$) や分泌孔の増加 ($\beta 2$ – $\beta 2$) や肥大 ($\beta 1$ – $\beta 1$) あるいは消失 ($\alpha 3$ 、 $\beta 2$ – $\beta 5$) など派生形質が獲得されていったと考えられる。

(3) トゲカワムシ科の種多様性

LM および SEM 観察を通じて、未同定種の中に「既知種とは形態形質が明瞭に異なる未記載種」29種が含まれる事が明らかになった (例: 3G, K, L)。また分子系統解析によって、これらの未記載種が遺伝的にも既知種と大きく分化している事が明らかになった。また、中には既知種を全く含まないクレード (クレード $\beta 3$) に属する未記載種も存在する事から、トゲカワムシ科動物にはまだまだ未知の系統が多く含まれる事が予想される。観察の結果、未記載種である事が判明した種の内、*Polacanthoderes* 属未記載種 1種および *Echinoderes* 属未記載種 5種はさらに詳細な観察を行い、新種記載としての準備を進めている。また、それ以外の未記載種についても、順次、詳細な観察を進め、新種として記載を行っていく。

また形態的には同一種と考えられるものの、大きな遺伝的分化が確認された種や、多系統性を示す種も確認された (図2、色付きの六角形、星、三角形。各色・形は形態的同一種を示す)。複数の隠蔽種の存在が示唆される結果が得られた事から、これまで注目されていなかった分類形質も含めた、分類学的再検討を実施する必要がある。

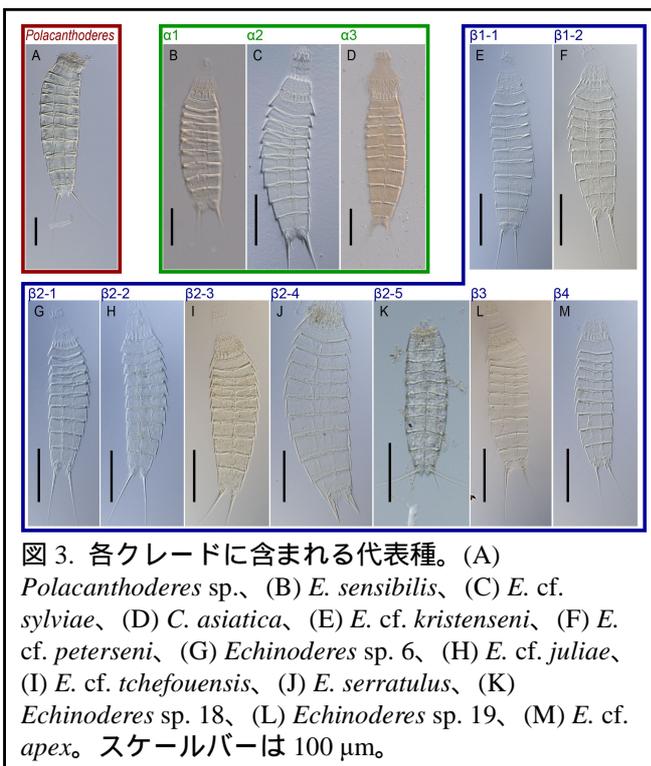


図3. 各クレードに含まれる代表種。(A) *Polacanthoderes* sp., (B) *E. sensibilis*, (C) *E. cf. sylviae*, (D) *C. asiatica*, (E) *E. cf. kristenseni*, (F) *E. cf. peterseni*, (G) *Echinoderes* sp. 6, (H) *E. cf. juliae*, (I) *E. cf. tchefouensis*, (J) *E. serratus*, (K) *Echinoderes* sp. 18, (L) *Echinoderes* sp. 19, (M) *E. cf. apex*. スケールバーは 100 μm 。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山崎博史
2. 発表標題 トゲカワムシ科動物動物の系統解析
3. 学会等名 日本動物学会第92回オンライン米子大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎博史、藤本心太、田中隼人、嶋田大輔、辻本恵
2. 発表標題 ナンキョクトゲカワ属 <i>Polacanthoderes</i> (Kinorhyncha: Echinoderidae) のタイプ種 <i>P. martinezi</i> の再観察結果と未記録種の報告、および本属の系統的位罫について
3. 学会等名 日本動物分類学会第57回東京大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------