

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07538

研究課題名(和文) 沿岸海域・汽水域における生態学的重要種群であるゴカイ類の分類学的混乱の解決

研究課題名(英文) Resolution of taxonomic confusion of nereidid polychaetes, ecologically important species groups in coastal and estuarine waters.

研究代表者

塔筋 弘章 (Tosuji, Hiroaki)

鹿児島大学・理工学域理学系・准教授

研究者番号：60237047

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：各種塩基配列による系統解析を行った。その結果、*Hediste atoka*同胞種群に新たな隠蔽種を、また*Hediste*属に未記載種1種を発見した。*Perinereis nuntia*同胞種群では1種の未記載種に加えて2種の日本新記録種を発見、新たにPCRによる簡便な同定法を開発した。*Neanthes glandicincta*同胞種群では、南九州から東南アジアで5隠蔽種を明らかにした。*Namalycastis hawaiiensis*同胞種群では、南西諸島に*Namalycastis hawaiiensis*と1隠蔽種、マレーシアに*Namalycastis multiseta*と3隠蔽種の生息が判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究によってこれまで未解明であった南西諸島を中心とした南日本のゴカイ科同胞種群の種多様性と各種の正確な地理分布を明らかにすることができた。また、単なる生物相調査にとどまらず、この成果に基づき、新種や新属などの多くの新しいタクサが記載されることが予想される。本研究で調べるゴカイ類は、沿岸生態系において大きなバイオマスを有しており、様々な肉食動物にとっての重要な食料となっている。このような生態学的に重要な動物群の種多様性を明らかにすることは、ゴカイ類の保全のための重要な情報となるばかりでなく、今日の沿岸開発などが生態系におよぼす影響をもっと正確に見極めるためにも大変重要なこととなる。

研究成果の概要(英文)：Phylogenetic analysis using various DNA sequences was performed for each sibling species group. A new cryptic species was found in the *Hediste atoka* sibling species group and one undescribed species in the genus *Hediste*. In the *Perinereis nuntia* sibling species group, two Japanese new records were discovered in addition to one undescribed species, and a simple PCR identification method for these sibling species group was newly developed. In the *Neanthes glandicincta* sibling species group, five cryptic species were found from Southern Kyushu to Southeast Asia. In the *Namalycastis hawaiiensis* sibling species group, *Namalycastis hawaiiensis* and one cryptic species were identified in the Southwest Islands, *Namalycastis multiseta* and three cryptic species were identified in Malaysia.

研究分野：分子遺伝学・細胞生物学

キーワード：分子系統 隠蔽種 ミトコンドリアDNA 種多様性 ゴカイ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

沿岸・汽水域は、陸と海の両生態系の移行帯に位置する場所である。そこは陸からの大量の栄養物質の流入によってきわめて高い生物生産力を有し、魚介類の産卵・生育の場や、渡り鳥の採食場として、また漁業生産を支える場としてもたいへん重要である。またそこでは、潮汐に伴って塩分や温度などの環境が大きく変動する。そのような環境変動に適応した、限られた種が高い生物生産力を維持している。環形動物多毛類は、内湾・河口域に生息する主要な底生生物であり、その摂食活動や底質の攪拌作用によって、汚泥の酸化と好気的なバクテリアの増殖が促進されることにより、有機物の分解が飛躍的に促進されることが知られている。また、渡り鳥やニホンウナギにとっても重要な食物であることがわかっている。しかしながら、その種を正確に判別するための基礎的な研究がたいへん遅れている。したがって、種名の不正確さ、あるいは近似種の混同などが見られる。そのため、日本各地の種相(どこにどんな種がいるのか)すらよくわかっていない。

ゴカイ類は主に顎片、疣足、剛毛など、限られた形態的特徴に基づいて分類されることが多い。しかし、近縁種における形態的特徴の差異に乏しいこと、種内変異や生息環境の違いによる形態の変化が大きいことなどの理由で、同定が困難なものも多く、分類学上の混乱をきたしている事例も多々見受けられる。またゴカイ科では、形態的にきわめてよく似た複数種のグループ(同胞種群)が多く存在することが知られている。私たちは、北半球の温帯域に広く分布する同胞種群、ゴカイ科 *Hediste* 属 5 種について、それらの種を正確に識別・同定するために分子系統学的手法を開発し、日本産の *H. diadroma* が外来種として北米西岸にすでに定着し、北米西岸の在来種である *H. limnicola* の生息を脅かしている現状を示した。これまでに私たちが、南西諸島の沿岸・汽水域で見いだしたゴカイ科の 4 つの同胞種群 (*Hediste atoka*、*Neanthes glandicinca*、*Perinereis nuntia*、*Namalycastis hawaiiensis* 各同胞種群)には、未記載種や日本未記録種、従来属の定義による分類では不都合な種も含まれると予想された。

2. 研究の目的

前述のゴカイ科同胞種群 (*Hediste atoka*、*Neanthes glandicinca*、*Perinereis nuntia*、*Namalycastis hawaiiensis* 各同胞種群)の種相を明らかにすることは、外来種の移入や在来種の国内移入の実態など、内湾・河口域に関わる生物全体の保全につながる重要な基本情報となるであろう。そのために、これら 4 つの同胞種群について、主にミトコンドリア DNA を用いた分子系統解析を形態形質と併用することにより種の判別を行い、隠蔽種を含んだこれらの種相を明らかにしていく必要がある。

本研究では、これら 4 つの同胞種群について、種判別のために有効な分子的手法を開発し、特に研究が進んでいなかった各地の種相を正確に把握することをめざす。そのために、形態形質による分類法に遺伝子解析に基づいた分類法を併用させ、新たな同定基準を確立し、これまでの分類学的混乱を解決する。その結果に基づいて、一部の属の定義の見直しも行う。このように 4 同胞種群各種の分類を再構築させ、正確な地理分布域を明らかにする。

この研究によってこれまで未解明であった南西諸島を中心とした南日本のゴカイ科同胞種群の種多様性と各種の正確な地理分布を明らかにすることができる。それは、浅海・汽水域の生態系機能に大きな役割を果たしているゴカイ類の種多様性保全のための重要な情報となる。

3. 研究の方法

(1) 標本の収集

Hediste atoka 同胞種群は九州から南西諸島各地において標本収集を行った。 *Neanthes glandicineta* 同胞種群に関しては、南九州から南西諸島各地、台湾、マレーシア、シンガポールにおいて標本収集を行った。 *Perinereis nuntia* 同胞種群については東～東南アジア（日本、台湾、中国・広東省、シンガポール、北部オーストラリア）において、個体の収集を行った。 *Namalycastis hawaiiensis* 同胞種群は奄美大島以南の南西諸島各地、マレーシア、北部オーストラリアにおいて標本収集を行った。加えて *Namalycastis hawaiiensis* の原記載地（ハワイ・オアフ島）においても標本収集を行った。各種とも、比較検討のために各地の博物館等から、タイプ標本、もしくはそれに準ずる標本を借り受けた。

(2) DNA の塩基配列と形態形質に基づく分類法の確立

このようにして得られた標本と過去に収集した標本を合わせて、詳細な形態観察、また DNA 解析に基づく分類学的検討を行う。さらに塩基配列の解析によって隠蔽種の存在や個体群間の遺伝的分化を検討した。

ゴカイ類の遺伝子増幅においては生体内に含まれるムコ多糖などの影響でポリメラーゼ反応が阻害されることが多いが、私たちは臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム（CTAB）を使った独自の DNA 抽出法を開発、精製度の高い DNA を抽出することが可能となった。分子系統学的解析には、ミトコンドリア COI、16S リボソーム、核 18S リボソーム遺伝子、核遺伝子内部転写スペーサー（ITS）領域の塩基配列を利用した。

(3) 遺伝子解析に基づく簡便な種同定法の開発

決定した各種塩基配列より種特異的な部分を利用することにより、Amplification refractory mutation system (ARMS)-PCR 法、あるいは RFLP 法による種同定法を開発した。

4. 研究成果

Hediste atoka 同胞種群

Hediste atoka 同胞種群については、日本を中心に世界を網羅した *Hediste* 属全 5 同胞種（*Hediste atoka*、*Hediste diadroma*、*Hediste japonica*、*Hediste limnicola*、*Hediste diversicolor*）について、形態学的解析に加えて、ミトコンドリア COI、16S リボソーム遺伝子の塩基配列を用いた系統解析を行った。これによって *Hediste atoka* に 3 隠蔽種の存在が明らかになっただけでなく、*Hediste* 属に未記載種 1 種を発見した（Tosuji et al. 2019）。この研究では九州西岸から南西諸島に分布する隠蔽種が存在し、その種が近縁の既知種と置き換わりながら分布を広げているという可能性が示された。また、九州西岸と南西諸島を含む東シナ海沿岸が本属の種分化のホットスポットである可能性も示唆された。

また、宮城県名取川河口において、*Hediste atoka* や *Hediste diadroma* などゴカイ科多毛類の体内にある炭素と窒素の安定同位体比を測定、流入河川や干潟環境中の比率と比較し、加えてこれらのゴカイが持つセルラーゼ活性を測定した。これにより、これらのゴカイの食性を解明し、陸域起源の炭素を汽水域食物網に取り込む上で重要な機能を果たしていることを明らかにした（Kanaya et al. 2018）。

さらに、鹿児島県思川における *Hediste diadroma* の降河回遊プロセス（胚の降河と上げ潮に

よる幼生の遡上)を検討し、この間に走光性が正から負に劇的に変化することや、浮遊から底生へのライフサイクルの変化に伴う形態の変化を明らかにした (Kan et al. 2020)。

Neanthes glandicincta 同胞種群

Neanthes glandicincta 同胞種群に関しては、南九州から南西諸島各地およびシンガポール、マレーシア、台湾、中国、オーストラリアのサンプルを得た。得られた標本から高純度の DNA を抽出することができ、ミトコンドリア COI、16S リボソーム、核 18S および 28S リボソーム、ヒストン H3 遺伝子などの塩基配列を決定できた。その結果に形態学的解析を加えることにより、5 隠蔽種の存在を明らかにした。シンガポール国立大学との協力により、その中の 1 種は近年新種記載された *Neanthes wilsonchani* であることが判った。

Perinereis nuntia 同胞種群

Perinereis nuntia 同胞種群については南九州から南西諸島各地から台湾、マレーシアでサンプルを得た。これに中国のサンプル、各地の博物館標本を加えて、核 ITS 領域、ミトコンドリア COI、16S リボソーム遺伝子の塩基配列を用いた系統解析を行った。さらに形態学的解析を加えた結果、南西諸島と九州から日本初記録となる南方系の 2 種 (*Perinereis nuntia* と *Perinereis shikueii*) を発見し、それと同時に、*Perinereis shikueii* に近縁な隠蔽種が有明海にのみ分布していることも明らかにした (Tosuji et al. 2019)。さらに DNA を用いたこれらの簡便な同定法を開発した。

Namalycastis hawaiiensis 同胞種群

Namalycastis hawaiiensis 同胞種群は奄美大島以南の南西諸島各地およびマレーシアおよび米国ハワイ州オアフ島、マウイ島、ハワイ島において標本収集を行った。また、各地の博物館標本を加えて解析を行った。これらについても得られた標本から高純度の DNA を抽出することができ、ミトコンドリア COI、16S リボソーム、核 18S および 28S リボソーム、ヒストン H3 遺伝子などの塩基配列を決定できた。その結果に形態学的解析を加え、南西諸島には *Namalycastis hawaiiensis*、および先島諸島を中心として 1 隠蔽種が生息していること、マレーシアには 3 隠蔽種が生息していることが判明した。マレーシアアレンガヌ大学との協力で、そのうちの 1 種は *Namalycastis multiseta* であることが判った (Ibrahim et al. 2019)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Tosuji Hiroaki, Bastrop Ralf, Gotting Miriam, Park Taeseo, Hong Jae-Sang, Sato Masanori	4. 巻 49
2. 論文標題 Worldwide molecular phylogeny of common estuarine polychaetes of the genus Hediste (Annelida: Nereididae), with special reference to interspecific common haplotypes found in southern Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Marine Biodiversity	6. 最初と最後の頁 1385 ~ 1402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12526-018-0917-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tosuji Hiroaki, Nishinosono Kiho, Hsieh Hwey-Lian, Glasby Christopher J., Sakaguchi Takeru, Sato Masanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Molecular evidence of cryptic species diversity in the Perinereis nuntia species group (Annelida: Nereididae) with first records of P. nuntia and P. shikuei in southern Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plankton and Benthos Research	6. 最初と最後の頁 287 ~ 302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3800/pbr.14.287	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 山中崇希, 佐藤慎一, 松尾匡敏, 佐藤正典, 東幹夫	4. 巻 74
2. 論文標題 諫早湾潮受け堤防閉切り後の有明海全域における水質・底質変化と二枚貝類・ヨコエビ類・多毛類の群集構造変化.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本ベントス学会誌	6. 最初と最後の頁 11 ~ 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sato Masanori	4. 巻 25
2. 論文標題 Two New Species of Compositia (Annelida: Nereididae) from Small Estuaries in the Ryukyu Islands, Southern Japan, with a List of All Species Currently Belonging to Compositia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Species Diversity	6. 最初と最後の頁 11 ~ 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12782/specdiv.25.11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kan Kotaro, Kuroki Yoshifumi, Sato Masanori, Tosuji Hiroaki	4. 巻 15
2. 論文標題 Larval recruitment process in the catadromous life history of Hediste diadroma (Nereididae, Annelida) in an estuary in Kagoshima Bay, Southern Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plankton and Benthos Research	6. 最初と最後の頁 30 ~ 43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3800/pbr.15.30	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 佐藤慎一, 東幹夫, 松尾匡敏, 大高明史, 近藤繁生, 市川敏弘, 佐藤正典	4. 巻 74
2. 論文標題 諫早湾干拓調整池における水質・底質ならびに大型底生動物群集の経年変化.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本ベントス学会誌	6. 最初と最後の頁 115 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ibrahim NF, Ibrahim YS, Sato M	4. 巻 831
2. 論文標題 New record of an estuarine polychaete, Neanthes glandicincta (Annelida, Nereididae) on the eastern coast of Peninsular Malaysia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ZooKeys	6. 最初と最後の頁 81 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3897/zookeys.831.28588	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kanaya Gen, Niiyama Takatoshi, Tanimura Aya, Kimura Taeko, Toyohara H, Tosuji Hiroaki, Sato Masanori	4. 巻 165
2. 論文標題 Spatial and interspecific variation in the food sources of sympatric estuarine nereidid polychaetes: stable isotopic and enzymatic approaches	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Marine Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1007/s00227-018-3361-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Hiroaki Tosuji, Yuya Goryo, Ayane Nakamura, Hwey-Lian Hsieh, Masanori Sato, Keisuke Eto
2. 発表標題 Molecular evidence of two sibling species in "Perinereis shikueii" (Annelida: Nereididae) and their distributions in Taiwan and Japan
3. 学会等名 The 4th Asian Marine Biology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 徳丸直輝・岩松慎一郎・盆子原寛・Zazili Hanafiah・林崇大・工藤祐亮・嶋田真人・佐藤正典
2. 発表標題 大牟田川河口干潟（有明海）における底生動物の18年間の分布変化～特にアリアケカワゴカイ（環形動物門ゴカイ科）の激減について？.
3. 学会等名 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroaki Tosuji, Ralf Bastrop, Miriam Gotting, Taeseo Park, Jae-Sang Hong and Masanori Sato
2. 発表標題 Worldwide molecular phylogeny in Hediste (Annelida: Nereididae) occurring in the North Temperate Zone
3. 学会等名 The 3rd Asian Marine Biology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takeru Sakaguchi, Hiroaki Tosuji, Taeseo Park, Hwey-Lian Hsieh, Christopher Glasby and Masanori Sato
2. 発表標題 Distributions of four species of the Perinereis nuntia species group (Nereididae, Annelida) in Japan, with special reference to the paragnath morphology variable due to the individual growth in P. shikueii
3. 学会等名 The 3rd Asian Marine Biology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kotaro Kan, Nur Fazne Ibrahim, Yusof Shuaib Ibrahim, Hiroaki Tosuji, and Masanori Sato
2. 発表標題 Namalycastis spp. (Nereididae, Annelida) living within the decaying plants in estuaries in Malaysia and southern Japan
3. 学会等名 The 3rd Asian Marine Biology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 鹿児島大学生物多様性研究会 (佐藤正典・鈴木廣志・寺田竜太・藤井琢磨・山本智子) 編	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南方新社	5. 総ページ数 245
3. 書名 奄美群島の水生生物 山から海へ 生き物たちの繋がり	

〔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
研究分担者	佐藤 正典 (Sato Masanori) (80162478)	鹿児島大学・理工学域理学系・教授 (17701)	
研究協力者	謝 蕙蓮 (Hsieh Hwey-Lian)		
研究協力者	イブラヒム ユソフ (Ibrahim Yusof Shuaib)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	グラスビー クリストファー (Glasby Christopher J.)		
研究協力者	菅 孔太郎 (Kan Kotaro)		