

平成 22 年 6 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18405015
 研究課題名（和文） 海水湖は種形成の揺籃となるか？パラオ諸島における海洋生物の進化プロセス
 研究課題名（英文） Can marine lakes be a cradle of speciation? Evolutionary process of marine organisms in islands of Palau.
 研究代表者
 玉手 英利（TAMATE HIDETOSHI）
 山形大学・理学部・教授
 研究者番号：90163675

研究成果の概要（和文）：海洋生物の種分化と多様性維持の機構を明らかにする目的で、多様な環境条件を有するパラオ海水湖の動物相の調査を行った。カイアシ類の種多様性は、水環境条件と隔離の程度に依存して、部分循環型海水湖と完循環型海水湖で大きく異なっていた。部分循環型海水湖ではイガイ科貝類の形態学的変化を伴う系統分化が観察された。ミトコンドリア遺伝子分析によって海水湖の小形魚類ではボトルネックが生じていることが確認された。

研究成果の概要（英文）：Fauna of aquatic organisms in marine lakes of Palau islands was investigated to study the process of speciation and maintenance of biodiversity in marine organisms. Species assemblages of copepods, bivalves and fish were different between holomictic and meromictic lakes according to the level of isolation and local environment of the lakes. Unique morphological differentiation among the lakes was observed in bivalves. Genetic analysis revealed the past bottlenecking in populations of two fish species.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	3,700,000	0	3,700,000
2007 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2008 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2009 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
総計	12,400,000	2,610,000	15,010,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：生物多様性、種分化、海水湖、カイアシ類、浮遊生物、底生生物、遊泳生物

1. 研究開始当初の背景

種分化には、おもに、異所的、側所的、同所的種分化の3様式があると考えられている。海洋生物の場合には、生息域の地理的分断が生じにくいいため、異所的種分化は長い時間を要するものと考えられてきた。しかし、熱帯域では海洋生物の種多様性が高い海域

があり、比較的短期間に種分化が起こっている可能性が示唆されている。このような、熱帯域における海洋生物の急速な種分化のメカニズムを解明するために、申請者が所属する山形大学理学部生物学科では、平成13年度から平成15年度まで、パラオ海水湖の生物群集を対象とした海外学術調査をおこな

ってきた。

パラオ諸島には、外海からさまざまな程度で隔離された海水湖が約 80 存在し、その多くは人為的攪乱が無い状態で保たれている。これまでの調査で、これらの海水湖では、刺胞動物、魚類、藻類などの海産生物が、外洋産の種と比較して、形態学的、生理学的に顕著に異なっていることが明らかになった。パラオ海水湖の成立年代は約 1 ~ 2 万年前と考えられているので、海水湖では隔離による異所的種分化が短期間で生じていることになる。海水湖が、海面の大きな変化や島嶼の侵食などで外海に再接続すれば、固有進化した海水湖生物は外海に進出する機会を得ることが想定される。

そこで、本研究では、海水湖が海洋生物の異所的種分化をもたらす場となるという「種形成の揺籃」仮説を提起し、この仮説を検証するために、浮遊生物、底生生物、遊泳生物を対象として、種分化または種分化の前段階となる遺伝的分化の状況を形態学的および遺伝学的調査により明らかにすることを目的とした。

2. 研究の目的

(1) 海水湖産生物の種多様性の評価：さまざまな環境条件の海水湖群の生物の種多様性を調査して、それぞれの海水湖における種構成の特徴を明らかにする。

(2) 種および集団の分化過程の解明：海水湖における種分化を促進する要因として、隔離後のボトルネックによる機会的選択と、海水湖環境への適応的な選択の、2つの可能性が考えられる。この問題を明らかにするために海水湖、調査対象種ごとに、分子系統学および集団遺伝学的解析をおこない、集団の履歴を明らかにする。

(3) 種多様性を決定する要因の解明：海水湖の物理化学的条件、陸水学的条件、過去の環境変動等の要因を調査して、種多様性の決定要因を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 調査期間および調査地：パラオ共和国での調査を、平成 18 年 11 月（第 1 次）、平成 19 年 10 月（第 2 次）、平成 20 年 11 月（第 3 次）、平成 21 年 11 月（第 4 次）の 4 回、実施した。調査地点は、ンゲルクタベル島、ンゲルアンゲル島、メケルカル島、ペリリュウ島、コロール島、オンゲール島、ウーロン島などの海水湖約 20 箇所と、ラグーン及び外洋である（調査地の景観を図 1 に、主な調査地点を図 2 に示す）。生物採取を行った海水湖では水サンプルを採取して水質調査を行った。



図 1 パラオ海水湖（一部）の景観

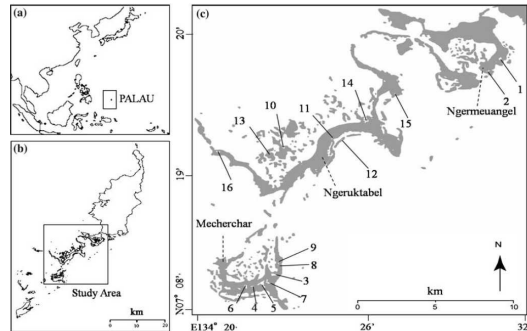


図 2 調査地のマップ：パラオ海水湖、礁湖、外洋の主な調査地点

(2) 標本採集：動物プランクトンは目合 100 ミクロンのプランクトンネットを用い、小形魚類は投網等を用いて、採取した。底生生物のイガイ類は金属ヘラ等を用いて採取した。サンプルはホルマリンまたはエチルアルコールで保存し、研究室に持ち帰った。全ての調査及び生物採集と標本の日本への持ち出しは、パラオ共和国政府の許可を得て行った。(3) 形態分析及び遺伝子分析：動物プランクトンは実体顕微鏡および光学顕微鏡で種を同定した。イガイ科貝類は形態計測を行い、形態的特徴を楕円フーリエ解析と主成分分析で類別化した。魚類は実体顕微鏡下で形態的特徴を記録した。動物プランクトンはミトコンドリア DNA の調節領域と COI（チトクローム C 酸化酵素ユニット I）遺伝子、イガイ科貝類は 18S リボソーム RNA 遺伝子と COI 遺伝子、小形魚類はミトコンドリア DNA の調節領域とチトクローム b 遺伝子の塩基配列をマーカーとして分子系統解析を行った。

4. 研究成果

(1) 動物プランクトンの種多様性

採集した動物プランクトンを目ごとに分類したところ、属・種レベルで 34 の分類群を確認した。そこで、海水湖の動物プランクトン中で卓越していたカイアシ類を選んで、海水湖による種組成の違いを調査した。その

結果、海水湖と礁湖のいずれにおいても、カラヌス目とオイトナ目が主要な構成種であることが明らかになった。オイトナ目については熱帯域の内湾性の種が観察され、未記載種等はみられなかった。しかし、種構成は採集地点によって大きく異なっていた。

海水湖のカイアシ類集団は、種構成に関して二つのタイプが認められ、閉鎖型の海水湖では *Oithona dissimilis* が優占する一方、外海との連絡がある海水湖ではカラヌス目とオイトナ目の数種が観察された。礁湖の種構成は外界との連絡がある海水湖と類似していることから、海水湖では外海との隔離の程度が、種構成に影響を与えているものと考えられる。さらに底質が泥質で汽水性の海水湖一カ所では、キクロプス目が優占する特異的な種構成がみられた。

続いて、多次元尺度法とクラスター解析を用いて、浮遊性カイアシ類の群集構造パターンを比較したところ、生息域に応じて3つのグループに分けられた(図3)。(1)部分循環型海水湖、(2)浅く平坦な湖盆を持つ全層循環型海水湖(タイプA)、(3)深い湖盆をもつ全層循環型海水湖(タイプB)と全ての沿岸域。部分循環型湖では、種多様性が著しく低く、汽水性の2種のみ(*Bestiolina similis* と *O. dissimilis*) が優占していた。

タイプAの全層循環湖の種多様性は比較的低いレベルであった。タイプBの全層循環湖の動物プランクトン種組成は沿岸域群集の影響を受けていることが示された。以上から、浮遊性カイアシ類の種多様性は各海水湖の隔離の程度と局所的な環境条件(底質の状態、湖盆など)によって大きく変化することが示唆された。以上の結果を *Hydrobiologia* 誌で論文発表した(2010年1月)。

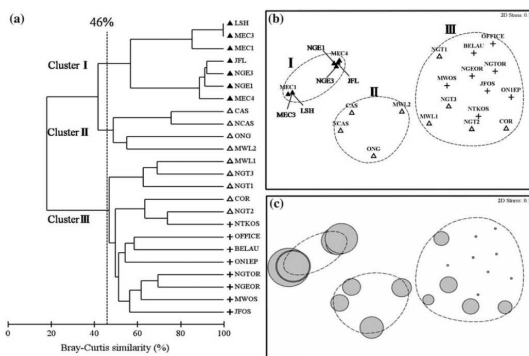


図3 海水湖、礁湖、外洋におけるカイアシ類の種組成の類型化：クラスター分析(左図)および多次元尺度法(右図)で、大きく3種類の種組成パターンがあることが示された(Saitoh et al., *Hydrobiologia* 掲載論文より引用)

(2) カイアシ類の遺伝的分化

分子系統解析を行い、海水湖間および海水湖と外海(礁湖)間の遺伝的分化の程度を定

量化した。遊泳性の異なる2種のカラヌス目カイアシ類 *Bestiolina similis* と *Undinula vulgaris* のCOI 遺伝子を増幅する特異的プライマーを新たに設計し、約710bpsの部分塩基配列を決定した。得られたハプロタイプについて統計的最節約ネットワークを作成した。その結果、*B. similis* ではハプロタイプ多様度が比較的的低く、海水湖集団間で共通のハプロタイプが存在せず、集団間での遺伝子の交流がないことが示された(図4)。一方、*U. vulgaris* ではハプロタイプ多様度が高く、海水湖集団間で共通のハプロタイプがみられた。以上から、*U. vulgaris* は *B. similis* に比べて集団間の分化が低いことが示された。この結果から、海水湖では、移動能力が高く生息環境を選択できる種の遺伝的分化がより速く生じていることが明らかになった。

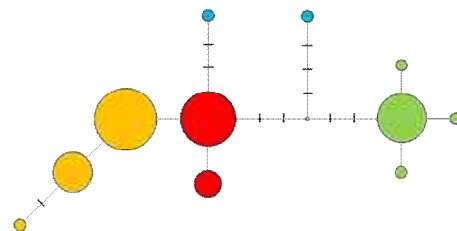


図4 海水湖におけるカイアシ類 *B. similis* の遺伝的分化：ミトコンドリアCOI 遺伝子のハプロタイプの統計的最節約ネットワーク。異なる色は異なる海水湖のサンプルであることを示す。

(3) イガイ科貝類の形態学的・遺伝的分化

海水湖のイガイは、分子系統では大きく二分され、主にパラオ諸島の北部で見られるグループは既知の遺伝子配列では近縁の分類群で該当するものが無いのに対して、南部で見られるグループは *Brachidontes-Hormomya* species complex に属することが示された(図5)。

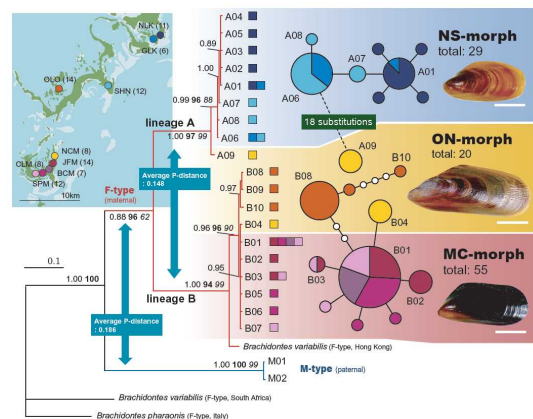


図5 イガイ科貝類の分子系統地理：大きく3タイプに分れることが示された(2010年6月現在、*Zoological Science* に論文投稿中)

形態学的には 3 形態型 (morph) に分かれるが、形態的分化と系統分化は必ずしも一致しておらず、2 か所の完循環型海水湖では対象種の形態が、他の完循環型海水湖と大きく異なるにも関わらず遺伝的分化は少ないことが示された。オンゲル島とメケルカル島で採集された形態型 ON-morph は複数の系統で構成されることから、生息環境に適応して形態変化が生じた可能性が示唆された。形態型間の形態学的差異の有意性は、楕円フリー工解析によって抽出した形態指標の統計解析により確認した。

(4) 小形魚類の種多様性と遺伝的分化

S. orbicularis の調査では、完循環型海水湖 3 地点と外海 3 地点の各集団でミトコンドリア DNA 調節領域部分配列を決定し、集団遺伝学的解析を行った。その結果、海水湖集団では過去 1 万年の間ボトルネックが繰り返して生じており、集団間の遺伝的分化の程度が高いことが示された (図 6)。この結果は Genes and Genetic Systems 誌で論文発表した。

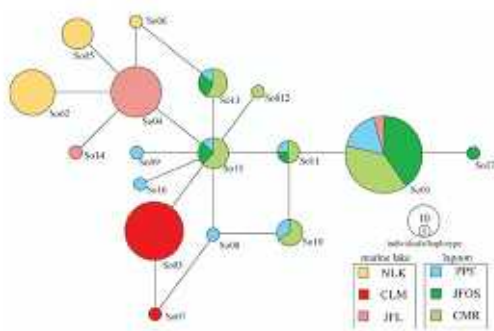


図 6 *S. orbicularis* の調節領域配列に基づく統計的最節約ネットワーク：海水湖では固有のハプロタイプがあ、湖間で gene flow は制限されていることが示された、(Gotoh et al., Genes and Genetic Systems 掲載論文より引用)

海水湖および礁湖で見られるもう 1 種の小形魚類 *Atherinomorus endractus* についてチトクローム b 遺伝子と調節領域の分子系統解析を行ったところ、海水湖と礁湖との間の gene flow は少ないことが示唆された。さらに、海水湖集団は、遺伝的距離が近く star-like なハプロタイプネットワークを示すグループと、より遺伝的距離の離れたハプロタイプからなるグループに 2 分された。この結果から、小形魚類が海水湖に隔離され遺伝的に分化した過程は一樣ではなく、集団サイズや隔離された時期等が現在の集団の遺伝的多様性に影響を及ぼしていることが示された。

(5) 結語

本研究により、パラオ海水湖の浮遊動物、底生動物、遊泳動物のいずれにおいても、外海との交流の程度と水環境条件の違いによって、固有の遺伝的分化や形態学的変化が生じていることが明らかになった。これは、海水湖の閉鎖的環境が、海洋生物の多様性を創出していることを実証する証拠として、海水湖が「種分化の揺籃」であるとの仮説を支持している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Saitoh S, Suzuki H, Hanzawa N, Tamate HB. (2010) Species diversity and community structure of pelagic copepods in the marine lakes of Palau. *Hydrobiologia*, on line advance 査読有
2. Gotoh RO, Sekimoto H, Chiba SN and Hanzawa N. (2009) Peripatric differentiation among adjacent marine lake and lagoon populations of a coastal fish, *Sphaeramia orbicularis* (Apogonidae, Perciformes, Teleostei). *Gene. Genet. Syst.*, 84: 287-295. 査読有
3. Konno S. & Jordan RW. (2008) *Paralia longispina* sp. nov., an extant species from Palau and Haha-jima, western North Pacific. *Proceedings of the 19th International Diatom Symposium*, 55-69. Biopress Ltd, Bristol, U.K. 査読有
4. Kuriiwa K., Hanzawa N, Yoshino T, Kimura S, and Nishida M (2007) Phylogenetic relationships and natural hybridization in rabbitfishes (Teleostei: Siganidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA analyses. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 69-80. 査読有
5. Konno S. & Jordan RW. (2006) Lagoon coccolithophorids from the Republic of Palau, NW Equatorial Pacific. *Journal of Nanoplankton Research* 28(2): 95-110. 査読有

〔学会発表〕(計 26 件)

1. Arai Y, Lobban CS, Konno S, Sasaki A, Mitani S & Jordan RW. Attached diatoms on turf from Guam. The 29th Autumn Meeting of the Japanese Society of Diatomology, 2009 年 10 月 17 日、山形
2. Konno S, Inoue N, Hernández-Becerril DU & Jordan RW. Recurrent *Chaetoceros* blooms in Palau meromictic marine lakes. The 29th Autumn Meeting of the Japanese Society of Diatomology, 2009 年 10 月 17 日、山形
3. Sasaki A, Lobban CS, Arai Y, Mitani S, Konno S. & Jordan RW. Attached diatoms on

seaweeds from Guam. The 29th Autumn Meeting of the Japanese Society of Diatomology. 2009年10月17日、山形

4. Saitoh S, Suzuki H et al. Population genetic analysis of the calanoid copepods suggests genetic differentiation among geographically isolated populations in marine lakes of Palau. 国際甲殻類学会 2009年9月22日、東京

5. Gotoh RO & Hanzawa N. Primary process of speciation in marine lakes of Palau Island: the case of striped silverside, *Atherinomorus endrachtensis* (Atherinidae, Atheriniformes, Teleostei). Modern Achievements in Population, Evolutionary and Ecological Genetics 2009. 2009年9月10日、Vostok, Russia.

6. 齊藤真一、玉手英利. パラオ諸島沿岸域及び海水湖におけるカイアシ類の生物多様性 第56回日本生態学会大会 2009年2月18日、盛岡

7. Arai Y, Lobban CS & Jordan RW. Marine attached diatoms in turf from Guam. Paleooceanography Meeting, 2009年1月8日 Tokyo, Japan.

8. Arai, Y., Lobban, C.S. & Jordan, R. Marine attached diatoms in turf from Guam. The 28th Autumn Meeting of the Japanese Society of Diatomology, 2008年10月25日 Yamanashi, Japan.

9. Kijima A. and Jordan R. W. Coccolithophorid distribution in Palauan lagoons. The 12th Conference of the International Nannoplankton Association (INA12), 2008年9月6日, Lyon, France.

10. 後藤亮・千葉悟・後藤禎補・半澤直人. パラオ諸島海水湖におけるトウゴロウイワシ科魚類の進化の初期過程. 第10回日本進化学会大会. 2008年8月22日、東京.

11. Saitoh S, Suzuki H, Hanzawa N and Tamate HB. Species diversity of pelagic copepods in the marine lakes of Palau. The 10th International Conference on Copepoda. 2008年7月14日 Pattaya, Thailand.

12. 齊藤真一、玉手英利、鈴木英勝 パラオ諸島の海水湖における浮遊性カイアシ類の生物多様性 日本ベントス・プランクトン学会合同大会 2007年9月23日 横浜.

13. Goto T & Hanzawa N. Genetic divergence of three morph-types of mussels inhabiting marine lakes in Palau Islands. Modern Achievements in Population, Evolutionary and Ecological Genetics 2007年9月10日. Vostok, Russia.

14. Konno S, Inoue N, Genka R & Jordan RW. Analysis of the microbiological component in bottom sediments of a marine lake. 第

10 回マリンバイオテクノロジー学会大会サテライトシンポジウム. 2007年5月25日、山形

15. 齊藤真一、玉手英利. パラオ海水湖および沿岸域における浮遊性カイアシ類の種多様性. 第10回マリンバイオテクノロジー学会大会サテライトシンポジウム、2007年5月25日、山形

16. 半澤直人. 海水湖のクラゲ類における遺伝的多様性と固有進化. 第10回マリンバイオテクノロジー学会大会サテライトシンポジウム. 2007年5月25日、山形.

17. 千葉悟・半澤直人. 2007. 海水湖の魚類における遺伝的多様性と初期分化. 第10回マリンバイオテクノロジー学会大会サテライトシンポジウム 2007年5月25日、山形.

18. 栗岩薫・半澤直人・吉野哲夫・木村清志・西田睦. アイゴ科魚類における自然交雑. 日本魚類学会年会. 2006年10月8日、静岡.

19. 我妻有実・鈴木明日香・奥泉和也・半澤直人. 海洋生物の進化プロセス パラオ諸島海水湖のミズクラゲ類の進化. 日本動物学会第77回大会. 2006年9月22日、松江.

20. 後藤禎補・半澤直人. パラオ諸島の海水湖群に生息するイガイ科貝類3型の形態的・遺伝的分化. 日本動物学会第77回大会. 2006年9月22日、松江.

21. 渡辺葉平・千葉悟・半澤直人. 海洋生物の進化プロセス・パラオ諸島海水湖のカシミハゼの進化. 日本動物学会第77回大会. 2006年9月22日、松江.

22. 後藤亮・千葉悟・半澤直人. 海洋生物の進化プロセス パラオ諸島海水湖のヤクシマイワシ属魚類の進化. 日本動物学会第77回大会, 2006年9月22日、松江.

23. Inoue N, Konno S, Oguchi K. & Jordan R.W. Diatom assemblages from Palauan marine lakes and lagoons. The 19th International Diatom Symposium, 2006年8月28日、Listvyanka, Russia.

24. 田口恵・三浦久美子・奥泉和也・半澤直人・中内祐二. パラオ諸島海水湖産および日本産ミズクラゲの体構成タンパク質種の比較検討. 日本動物学会東北支部大会. 2006年8月5日、山形.

25. 後藤禎補・半澤直人. 遺伝子マーカーに基づくパラオ海水湖産イガイ科貝類の系統的位置と種分化の解析. マリンバイオテクノロジー学会第9回大会. 2006年5月27日、東京.

26. 後藤亮・関本英克・渡辺葉平・千葉悟・半澤直人. パラオ諸島の海水湖に生息する魚類3種の進化的特異性と保全. マリンバイオテクノロジー学会第9回大会. 2006年5月27日、東京.

〔図書〕(計2件)

1. Lobban CS & Jordan RW. (in press). Diatoms on coral reefs and in tropical marine lakes. In: The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences (2nd Edition) (eds. Smol, J.P. & Stoermer, E.F.). Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
2. 工藤創・渡辺葉平・我妻有実・半澤直人・原慶明・西田睦編.(2009). 海水湖(閉鎖海洋系)における海洋生命系の固有進化. 海洋生命系のダイナミクスシリーズ. 第1巻. 海洋の生命史. 第16章. 東海大出版会. 東京.

〔その他〕

研究に関する社会的広報活動

(1)理学部公開講座「ノーベル賞の科学「遺伝子でさぐるクラゲの進化戦略」講演.2009年6月20日 山形大学(山形市).

国際活動

(1)報告書「Research activities in Palau 2008」パラオ共和国政府へ提出-生物保全のための基礎データ提供.2008年11月10日
その他

(1)鶴岡市立加茂水族館におけるパラオ産クラゲ類の展示協力. 1.サイエンス・カフェ in やまがた 「クラゲの不思議 癒し系だけど毒針と分身の術でたくましく生きる!」2008年11月29日、山形県立博物館(山形市)

2. 朝日新聞記事「水玉クラゲは飼育の証し?」2007年11月17日

3. 学術振興会平成18年度ひらめきときめきサイエンス「ゲームで体験、実験で理解する、生き物の進化の不思議 2006」2006年10月29日、山形大学(山形市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

玉手 英利(TAMATE HIDETOSHI)

山形大学・理学部・教授

研究者番号:90163675

(2)研究分担者

半澤 直人(HANZAWA NAOTO)

山形大学・理学部・教授

研究者番号:40292411

原 慶明(HARA YOSHIAKI)

山形大学・理学部・教授

研究者番号:60111358

(H18~19 H20:連携研究者)

リチャード ダブリュージェイ(RICHARD WJ)

山形大学・理学部・准教授

研究者番号:90260455

岩田 尚能(IWATA NAOYOSHI)

山形大学・理学部・講師

研究者番号:70302289

(H18~19 H20:連携研究者)

鈴木 英勝(SUZUKI HIDEKATSU)

石巻専修大学・理工学部・助教

研究者番号:80306068

(3)連携研究者

なし