

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2006-2008  
 課題番号：18770066  
 研究課題名（和文） コハクカノコ科腹足類における地下環境からの放散とその機構の解明  
 研究課題名（英文） Adaptive radiation and reinvasion of epigeal habitats in neritiliid gastropods  
 研究代表者  
 狩野 泰則（KANO YASUNORI）  
 宮崎大学農学部・助教  
 研究者番号：20381056

## 研究成果の概要：

コハクカノコ科の貝類が、1) 海底の洞窟から、2) 様々な地下水環境を経て、3) 地上の淡水河川へ進出したユニークな分類群であるという仮説のもと、同科貝類の自然史解明と系統解析を行った。その結果、暗所から明所という放散過程が確認された一方、地下水を経た地表進出という単純なモデルは否定された。この放散過程には、幼生期の極めて高い分散能力が大きな役割を果たしている可能性が高い。なお研究成果は3つの国際学術誌に掲載された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,500,000	0	1,500,000
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	300,000	3,900,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学，生物多様性・分類

キーワード：進化，生態学，分類学，解剖学

## 1. 研究開始当初の背景

生物は浅海に起源をもち、その進化の過程で多様な環境へ進出した。申請者はこれまでの研究に基づき、Neritiliidae コハクカノコ科(腹足綱：アマオブネ上目)の貝類が、1) 海底の洞窟から 2) 様々な地下水環境を経て 3)

地上の淡水河川へ進出した分類群であるという仮説を提唱する。地下環境に適応した系統の地表への進出はこれまでいかなる動物においても知られておらず、進化の可逆性に関する極めて興味深い一事例である可能性が高い。

*Neritilia* コハクカノコ属は、世界中の熱帯

から亜熱帯に分布、小河川の淡水域にごく普通にみられる小型巻貝の一群である。本属はかつて同上目のアマオブネ科に分類されていたが、殻体微細構造の解析、解剖学的・組織学的検討、分子系統解析により、海底の洞窟内奥部にのみ生息する *Pisulina* シラタマアマガイ属と共に独立のコハクカノコ科を形成することが明らかとなった。

本科の貝類は、普通の海洋環境ではまったく見つからない。これに対し、海底洞窟と地表河川をつなぐ様々な地下水環境 (anchialine habitat: 水面下で外海とつながる洞窟内の汽水環境や hyporheic habitat: 河川水流下の間隙環境) からは新種が続々と発見されている。驚くべきことに、本科の全ての種は、その生息環境 - 明所あるいは暗所 - に関わらず窪み状のごく単純な眼をもっている。本科を除くアマオブネ上目の種はいずれも角膜とレンズを備える複雑な眼をもつことから、単純な眼は暗闇での退化により獲得されたと考えられる。予察的な分子系統解析の結果 (別紙参照) でも、明所の種は系統樹上の末端に位置しており、暗所から明所という放散の過程が読みとれる。

## 2. 研究の目的

本研究では、(a) 野外調査を継続し、コハクカノコ科の更なる未記載種の採集に努める。比較解剖学的・分類学的検討を進め、形態および生息環境の網羅的把握を行う。第三紀以降の海底洞窟堆積層から得られた化石分類群についても同様に検討し、同科貝類の時空分布を解明する。またこれに並行して (b) DNA 塩基配列の解析を進める。信頼性の高い科内系統樹を構築し、各環境への放散の歴史を解明する。

本科貝類は幼生期に極めて高い分散能を有し、これが上述の特異な放散を可能とした機構である可能性が高い。そこで (c) 個々の種について、初期発生様式を含めた生活環を明らかにする。河川性の種では、流程分布を検討し回遊の有無を把握する。また、貝殻が

付加成長する特性を生かし、成体に残る幼生期の殻と着底後の殻について Sr/Ca 元素比を比較、単一個体における生活史を追う。さらに (d) 各種における地域個体群間の遺伝的差異の把握から、幼生期を中心とした地理的分散について考察する。

## 3. 研究の方法

初年度には、バヌアツにおいてパリ自然史博物館主催の生物多様性調査 (SANTO 2006) に参加し、anchialine habitat, hyporheic habitat 及び地表水における調査および採集を行う。また、ソロモン諸島・奄美大島・沖縄県の各地においても地下・地表水環境を調査、コハクカノコ科貝類を採集する。これまでに hyporheic habitat から記載されている腹足類は世界中でもミズツボ科の数種があるに過ぎないが、申請者はフィリピンおよびサモアでの調査において既に8種のコハクカノコ科未記載種を得ている。そこで、河床の礫を深く掘り起こすなどの方法により、重点的な調査を行う。

これらの調査により未知の種が得られた場合、これまでに得られている 10 未記載種とあわせ、殻・歯舌・軟体部などの形態情報を収集、新種として記載する。なお透過電子顕微鏡観察に際して、東京大学海洋研究所の施設を利用する。

また、これらの種について軟体より DNA を抽出、PCR 法によりミトコンドリアの 16S・12S・COI 遺伝子の相同領域約 3000 塩基対を増幅し塩基配列を決定する。解析済みの 14 種の配列と合わせ、バイズ法および最尤法により種間系統樹を構築、各環境への進出について考察する。

興味深いことに、コハクカノコ科の種の多くはその生息環境にかかわらず極めて広い地理的分布をもっている。例えば海底洞窟の *Pisulina adamsiana* や地上河川の淡水域に生息する *Neritilia rubida* は、いずれもインド太平洋熱帯域のアフリカ東岸から仏領ポリネ

シアに至る広大な範囲に分布する。これは、幼生が海流分散することで遺伝的に比較的均一な個体群が広がっている、つまり 1) 成体が海底洞窟や河川に生息する種類でも 2) 幼生は海洋の開けた環境に出、3) 一定の浮遊期間ののち 4) 洞窟や河川に戻り変態するという可能性を示している。個体の生活環においてこのような地下-地上、海洋-陸水間の移動があるとすれば、この特殊な生活環こそがコハクカノコ科における著しい放散を可能にした機構であると考えられる。実際、(a) 陸水の種がすべて沿海部にのみ分布すること、(b) 上記 *N. rubida* の浮遊幼生は、淡水中では孵化後 2 日で死亡するが海水中では無給餌で 1 週間生存すること、(c) 同種の幼若個体は河川の下流にのみ生息すること、更に (d) 淡水の小型貝類としては異例に長い 10 年以上の寿命をもち、長距離の遡上が可能であることが既に明らかになっている。このような、川を下った幼生が海洋で分散し、河口で着底、遡上と共に成長するという生活環は両側回遊と呼ばれ、ハゼ・テナガエビ・イシマキガイなど小河川の動物に多くみられる。驚くべきことに、本科の *N. cavernicola* を含め、島嶼の anchialine habitat に生息する地下動物の多くがやはりこの回遊を行うらしい。本研究では、この生活環をより詳細に把握するため、可能な限り多くのコハクカノコ科の種について幼生の飼育を試みる。塩濃度ならびに明度について様々な段階を用意し各環境下での生残率を比較するほか、着底・変態までの日数を把握することで海流による分散能力を推定する。

これと並行して、広範囲に多産する海底洞窟・河床下・河川明所の計 5 種について分子生物地理学的検討を行う。前記調査ならびにモーリシャス・フィリピン・パラオ・グアム・ポンペイ・ソロモン・サモア・タヒチでの過去の調査で得られた標本を用い、各種 100 個体程度について、研究協力者の助力のもと COI 遺伝子の約 700 塩基対を決定、各種における集団間の遺伝的分化と幼生分散について考察する。

#### 4. 研究成果

(1) バヌアツ共和国・ソロモン諸島・日本国内において野外調査を実施、コハクカノコ科の採集を行った結果、地下水環境から新たに 2 未記載種を得ることができた。これらの種は、貝殻ならびに生殖器の形態で容易に既知種と区別できるが、他の地下水種と類似することから、これらと近縁である可能性が高い。さらに、バヌアツ共和国の河川明所の環境から 2 未記載種を採集したが、うち 1 種は貝殻の形態と著しく異なっており、新属を構成する可能性が高い。

(2) 海底洞窟性のコハクカノコ科 6 種について形態的記載を行い、これらを 4 新属に分類した。さらに、既知種とあわせ各種の地理的分布をとりまとめ、原殻形態から初期発生様式の推定を行った。その結果、海底洞窟のコハクカノコ類は浮遊幼生期の長さにかかわらず広い分布をもち、何らかの方法で海洋島間を移動していることが明らかとなった。本成果をまとめた論文は国際学術雑誌 *Organism Diversity & Evolution* 誌に掲載された。さらに、本論文を契機としてオランダの研究者との共同研究を開始し、海底洞窟性の 2 新種について記載を進めている。

(3) 過去コハクカノコと呼ばれていた貝類について、インド・西太平洋のほぼ全域から収集した約 250 個体を対象にミトコンドリアの COI 遺伝子および核 ITS 領域の塩基配列を決定、集団間の遺伝的分化と幼生分散について検討した。その結果、本系統には多数の隠蔽種が含まれ、これらの種がしばしば同所的分布を示すことが明らかになった。各種においては、10000km 以上離れた地域間でほぼ同一の塩基配列を持つ例が確認され、幼生期に極めて高い分散能力を持つことがわかった。本成果については平成 19 年度日本貝類学会大会において発表を行った。

(4) ソロモン諸島での調査により、アマオブネ上目貝類が他個体の背中に乗って河川を長距離遡上する「ヒッチハイク」行動を行っ

ているのを発見し、*Biology Letters* 誌に論文を掲載した。これは、コハクカノコ科貝類における環境間の特異な放散を可能とした要因のひとつである可能性がある。この他、バヌアツ諸島に生息するコハクカノコ科等のアマオブネ上類貝類について、本研究での成果を元に分類・生態・生活環をとりまとめ、パリ自然史博物館刊行の書籍 *The Natural History of Santo* の分担著者として原稿を寄稿した。時間的制約から Sr/Ca 元素比の比較を行うことはできなかったが、今後の課題として試料を蓄積中である。

(5) コハクカノコ科の 25 種について、ミトコンドリア及び核の 4 遺伝子を用いた分子系統解析を行った。その結果、明所の種は系統樹上の末端に位置しており、暗所から明所という放散の過程が確認された。一方で、フィリピンの河川伏流水中から得られた笠型の未記載属が、海底洞窟のシラタマアマガイ類と共に最も祖先的なグループとして単系統群を形成した。このことは、海から地下水を経て地上河川へ、という単純なモデルが必ずしも妥当でないことを示唆する。より詳細な進化史の把握のため、系統樹への更なる種の追加が必要であると考えられる。

本研究期間の終了直前に、米国の共同研究者より、ハワイ島に生息する種の生体採集情報が伝えられた。同種は Kano & Kase (2008) において貝殻のみに基づいて記載した *Laddia lamellata* で、海底洞窟の種であるが河川のコハクカノコ属にやや近似する形態的特徴をもっている。本種の生体を得て分子系統解析に加えるため、2009 年 6 月に同地を訪れる予定であり、採集許可申請手続きはほぼ完了している。

## 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 3 件)

Kano, Y. 2009. Hitchhiking behaviour in the

obligatory upstream migration of amphidromous snails. *Biology Letters*, 5, in the press. 査読有

Kano, Y.\* & T. Kase. 2008. Diversity and distributions of the submarine-cave Neritiliidae in the Indo-Pacific (Gastropoda: Neritimorpha). *Organisms Diversity & Evolution*, 8: 22–43. 査読有

Kano, Y. 2006. Usefulness of the opercular nucleus for inferring early development in neritimorph gastropods. *Journal of Morphology*, 267: 1120–1136. 査読有

[学会発表] (計 5 件)

福森啓晶・狩野泰則. 2009. バヌアツ・ソロモン諸島に出現する河川性アマオブネ類の分類と生物地理. 日本貝類学会平成 21 年度大会, 大阪市立自然史博物館.

狩野泰則. 2008. ヒッチハイクで遡る: 両側回遊性巻貝にみられる他種個体への選択的付着行動. 2008 年日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 熊本県立大学.

佐藤裕則・狩野泰則. 2008. 海を渡るか? オカイシマキ: 半陸棲巻貝の発生様式と地理的分散. 2008 年日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 熊本県立大学.

佐藤裕則・狩野泰則. 2008. 半陸棲巻貝オカイシマキにおける両側回遊と地理的分散. 日本貝類学会平成 20 年度大会, 東京家政学院大学.

佐藤裕則・狩野泰則. 2007. インド太平洋における両側回遊性貝類コハクカノコの分子生物地理. 日本貝類学会日本貝類学会平成 19 年度大会, 豊橋市自然史博物館.

[図書] (計 2 件)

Kano, Y. 2009. Rivers and other freshwater habitats: Freshwater nerites. *In: The Natural History of Santo* (P. Bouchet, ed.). Muséum

national d'Histoire Naturelle, Paris. In the press.

狩野泰則. 2009. アンキアライン洞窟固有動物：地下汽水湖における進化. 海洋生命系のダイナミクス・シリーズ（共著, 東京大学海洋研究所編）. 東海大学出版会. 印刷中.

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

狩野 泰則 (KANO YASUNORI)

宮崎大学農学部・助教

研究者番号：20381056

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：