

令和 5 年 5 月 15 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06788

研究課題名(和文) 古代湖・琵琶湖におけるカワナ類の適応放散のメカニズム

研究課題名(英文) Mechanisms of adaptive radiation in Semisulcospira snails in the ancient Lake Biwa

研究代表者

三浦 収 (Miura, Osamu)

高知大学・教育研究部総合科学系複合領域科学部門・准教授

研究者番号：60610962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：琵琶湖には様々な形態を持つ多数の固有のカワナ類が生息している。しかし、どのような過程を経て琵琶湖のカワナ類が多様化したのかについては、まだ謎に包まれたままである。本研究では、野外調査と分子遺伝学を組み合わせ、琵琶湖のカワナ類の種の妥当性の検討と、多様化のメカニズムの解明を目指した。本研究の研究成果により、琵琶湖のカワナ類の多様性と、種が多様化のメカニズムの一端を明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物はどのようにして多様化してきたのであろうか。長年の疑問にもかかわらず、種多様化のメカニズムはまだ完全には分かっていない。琵琶湖のカワナ類は、その生物多様化の謎を解くための優れた材料となる可能性がある。何故なら、琵琶湖のカワナ類は、比較的新しい時代に多様化しただけでなく、多様化が起こった時期の地質的背景も明らかな世界的にも珍しい生物群であるからである。本研究で得られた成果は、琵琶湖のカワナ類を用いて種多様化のメカニズムを解明するための礎となるという点で高い学術的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：There are many endemic Semisulcospira snail species in Lake Biwa, and these snails' diversification mechanisms remain unclear. Using field observations and genetic analyses, we tested the validity of species taxonomy and aimed to disentangle the mechanisms of species diversification in Semisulcospira in Lake Biwa. Our study partially resolved the diversity and diversification mechanisms of Semisulcospira snails in Lake Biwa.

研究分野：進化生態学

キーワード：適応放散 古代湖 カワナ類

## 1. 研究開始当初の背景

長い歴史を持つ湖「古代湖」では、しばしば驚異的な生物多様化が観察される。例えば、アフリカの大地溝帯に位置する 3 つの古代湖(タンガニーカ湖・馬拉ウィ湖・ヴィクトリア湖)では、その湖の歴史の中で、カウスズメ科の魚類が千種以上にまで多様化したことが知られている。日本の琵琶湖も、長い歴史を持つ古代湖の一つである。琵琶湖には、約 60 にも及ぶ固有種(及び亜種)が生息するが、その中でも卓越した多様性を示すのが、淡水巻貝カワニナ類の仲間である。これまでの化石および DNA を用いた研究により、琵琶湖のカワニナ類は、琵琶湖が現在の大きさに拡大した約 40 万年以降に急速に多様化したことが明らかとなった(Matsuoka 1987; Nishino & Watanabe 2000; Miura et al. 2019)。また、近年の研究によりいくつかの新種も報告され(Sawada & Fuke 2022)、これまで認知されていた以上にカワニナ類が多様化していることが明らかとなっている。そこで本研究では、琵琶湖のカワニナ類の多様性の実態とその適応放散のメカニズムを理解することを目的に、生態学的観察とゲノム DNA 解析とを組み合わせた多角的な研究を行った。

## 2. 研究の目的

琵琶湖のカワニナ類を用いた多様性研究を次のステージに進めるためには、解決しなければいけないいくつかの課題がある。第一の課題は、種の妥当性に関する課題である。これまでのカワニナ類の分類は形態の差異を基準にしたものであった。もちろん、形態情報は種の境界を掴むためには非常に有効な手段である。しかしながら、種内の形態変異が多い場合や、種間の形態的差異が些細な場合には形態情報のみから種の境界を特定するのは困難である。また、近年のゲノム DNA 解析の結果、琵琶湖のカワニナ類の遺伝的な差異は河川性のカワニナ類に比べて非常に小さいことも報告されているため、琵琶湖のカワニナ類の分類の妥当性には分子系統学的視点からも疑問が投げかけられている。したがって、琵琶湖のカワニナ類が本当に種として妥当なのか、そして本当に種の多様化が生じているのかどうかを集団遺伝学的側面からしっかりと検討する必要がある。

第 2 の課題は、種多様化のメカニズムに関する課題である。第一の課題が解決して琵琶湖のカワニナ類の種が妥当だと判断された場合、次に問題となるのは多様化の仕組みである。どのようにして琵琶湖のカワニナ類は多様化を遂げたのであろうか。琵琶湖の拡大に伴いカワニナ類が多様化したことを考慮すると、湖の拡大による生息環境の変化がカワニナ類の多様化に影響を与えた可能性が高い。琵琶湖のカワニナ類の多様性研究をさらに推進させるためには、種分化のメカニズムに関する仮説を立て、それを検証するプロセスが不可欠である。

本研究では、上記の 2 つの課題を解決することを目的に、生態学的研究及び遺伝学的研究を行った。

### 3. 研究の方法

第一の課題は、形態情報から別種とされる集団間で遺伝的交流が実際に生じているのかを検討することで解決することができる。別種として認識されている形態種がもしも同種内の形態変異であるならば、種として認識されてきた形態の異なる集団間にも自由な遺伝的交流が見られるはずである。一方で、それらの集団間に交雑がない場合には、集団間に独自の突然変異が蓄積すると共に、共通してみられる遺伝子型の頻度にも確率的な偏りが生じるはずである。したがって、集団間の遺伝的差異を検討すれば、琵琶湖に生息するカワニナ類の種の妥当性および多様性の実態について明らかにすることができる。このような目的を達成するためには、同所的に生息する形態種に着目する必要がある。何故なら、別の場所に生息する形態種においては、例え生殖隔離が成立していなかったとしても物理的に離れていることが原因となり自由な交雑が生じないからである。本研究では、同所的に生息するカワニナ類の形態種を複数組集めて次世代シーケンサーを用いてゲノム DNA 配列情報を収集した。収集した DNA 配列から数千個の一塩基多型 (SNPs) を抽出し、その情報を基に集団遺伝学的解析を行い、対象形態種間の遺伝的交流の有無を検討した。

第二の課題の解決に向けた糸口を得るために、本研究では、琵琶湖の北湖に生息するクロカワニナとトキタマカワニナに注目した。これらの2種は、琵琶湖のカワニナ類の中でも特に最近になって種分化したことが知られている (Miura et al. 2019; Sawada & Fuke 2022)。本研究では、クロカワニナとトキタマカワニナの2種について、(1) 野外観察を通じた2種の野外での分布状況の確認、(2) 安定同位体解析を用いた餌資源の検討、(3) ゲノム DNA 解析を通じた集団間の遺伝的差異の検討、といった3方向からの研究を進めることで、クロカワニナとトキタマカワニナが2種に分かれた要因について考察した。

### 4. 研究成果

琵琶湖内で複数の形態種が同所的に分布している地点を特定し、カワニナ類を採集した。それぞれの地点において、各形態種について約 20 個体分のゲノム DNA 情報を ddRAD 法により収集し、STRUCTURE 解析を行った。STRUCTURE 解析とは、ハーディワインベルグ平衡や連鎖不平衡などの情報を基に、任意交配しているグループを DNA 情報から見出す方法である。解析の結果、同じ場所に生息している琵琶湖のカワニナ類の多くの形態種間において、遺伝的交流がほとんど生じていないことが明らかとなった。代表的な結果として、二本松におけるクロカワニナとトキタマカワニナとの結果を図 1 に示す。

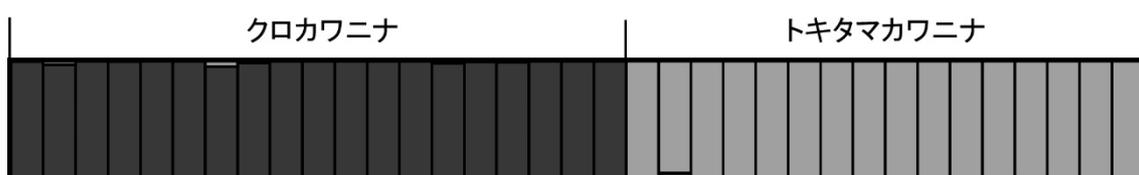


図 1. 二本松におけるクロカワニナとトキタマカワニナを用いた STRUCTURE 解析の結果。

上記の図は 35 本の棒グラフで構成されている。1 本の棒グラフは 1 個体についての情報を表し、棒グラフの色は黒色・灰色で示される 2 つのグループに解析個体が所属する確率を示す。本結果から、クロカワニナのすべての個体は黒色グループ、そしてトキタマカワニナのすべての個体は灰色グループに所属する可能性が高いという結果が得られた。このことは、クロカワニナとトキタマカワニナとは、ほぼ遺伝的交流がないことを示している。ここでは省略するが、他の地点においても基本的には類似した結果が得られた。しかし一部の地点では雑種の可能性がある個体も観察された。これらの個体が本当に雑種個体であるかについては更なる遺伝解析が必要である。いずれの場合においても、解析した個体の大部分については形態情報からの区分と遺伝情報からの区分が見事に一致しており、異なる形態的特徴を持つ集団(形態種)が同種内の形態変異であることを示す遺伝学的な証拠は得られなかった。したがって、解析に用いた琵琶湖のカワニナ類の形態種の間には一部不完全な部分はあるものの生殖隔離が確立しており、生物学的種概念と照らし合わせても、種として妥当であることが示された。琵琶湖のカワニナ類の種の妥当性には疑問を投げかける声もあったが、本研究結果から、琵琶湖のカワニナ類は実際に種分化し、そして複数種に多様化していることが示された。しかし、本研究では、現在報告されている琵琶湖のカワニナ類のすべてを扱ってはいない。また、琵琶湖のカワニナ類の中には、隔離された環境に生息しているため近縁種との分布の重なりが見られず、本研究で用いた方法では種の妥当性の検討が困難な種も存在する。それらの種については今後の更なる検証が必要である。

上記の研究結果から琵琶湖のカワニナ類の多くは遺伝的に非常に近縁であるものの、遺伝的交流がほとんど見られない別種であることが明らかとなった。では、どのようなメカニズムにより、近縁種間での種分化が生じたのだろうか？本研究では、生態的な違いが種分化を駆動する生態的種分化に注目した。まず、近縁種間の生態的な違いを検討するため、第一の課題の検証にも用いたクロカワニナとトキタマカワニナの深度に応じた生息状況の調査を行った。その結果、クロカワニナとトキタマカワニナでは生息深度に違いがあることが観察された(図 2)。

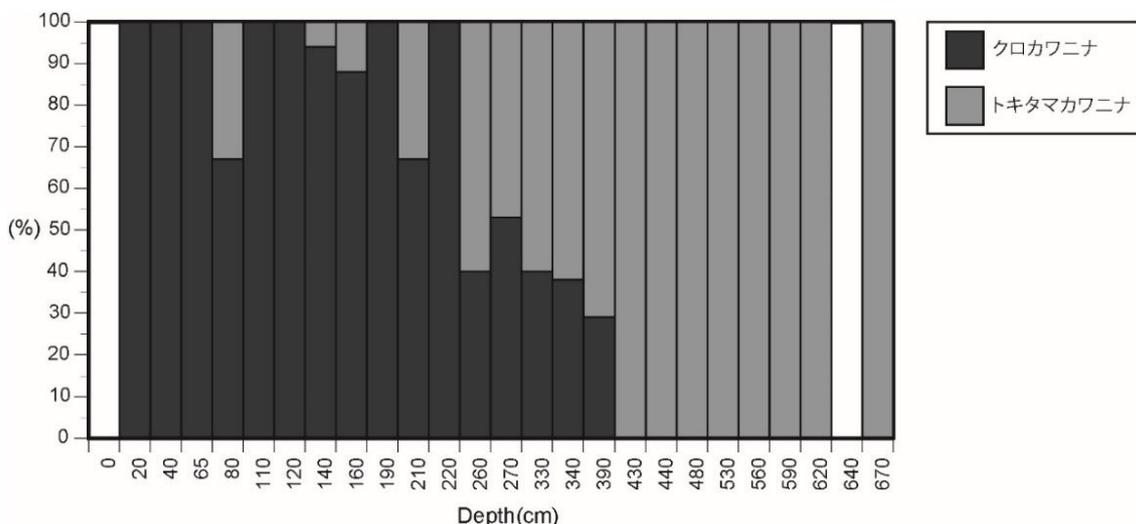


図 2. クロカワニナとトキタマカワニナの二本松調査ラインにおける深度に沿った分布割合。

生態調査の結果、クロカワニナは岸近くの浅い場所に高密度で生息するのに対して、トキタマカワニナは比較的深い場所に分布していることが明らかとなった。さらに、炭素安定同位体を用いて餌資源の解析を行ったところ、これらの2種では安定同位体比に統計的に有意な違いが見られた。このことからクロカワニナとトキタマカワニナとは、餌資源に違いがある可能性が示唆された。しかし、統計的には有意な違いは見られたものの、2種間の違いは小さく、安定同位体比の数値にも重なりが見られた。今後、両種を解剖して消化管中の未消化の藻類を直接的に観察することで、餌資源の違いを異なる角度から検証する必要があると考えられる。本研究の結果から、クロカワニナとトキタマカワニナの2種は、同じ地点に分布しながらも遺伝的交流がなく(図1)、さらに生息深度及び餌といった利用資源に違いがあることが示唆された。近年の研究において、利用資源などの生態的な違いが種分化の原因となることがいくつかの生物で報告されている。琵琶湖のカワニナ類においても、生態的種分化が種多様化のメカニズムの一つになっているのかもしれない。

約40万年前に生じた琵琶湖の拡大により、様々な生息場所が形成された。トキタマカワニナが利用する深度の深い環境も、そのような新しくできた環境の一つであったと考えられる。トキタマカワニナの祖先集団は、他のカワニナ類に利用されていなかった深い環境に進出し、その環境への適応が餌資源の分化及び種の分化へとつながった可能性がある。生態的種分化が琵琶湖のカワニナ類全体の多様化にどれほど貢献したのかを検討するためには、様々な近縁種間での遺伝的差異・生態的差異の更なる検討が必要である。

#### <引用文献>

- Matsuoka, K. (1987). Malacofaunal succession in Pliocene to Pleistocene non-marine sediments in the Omi and Ueno basins, central Japan. *Journal of Earth Sciences, Nagoya University* 35: 23-115.
- Miura, O., M. Urabe, T. Nishimura, K. Nakai and S. Chiba (2019). Recent lake expansion triggered the adaptive radiation of freshwater snails in the ancient Lake Biwa. *Evolution Letters* 3: 43-54.
- Nishino, M. and N. Watanabe (2000). Evolution and endemism in Lake Biwa, with special reference to its gastropod mollusc fauna. *Advances in Ecological Research* 31: 151-180.
- Sawada, N. and Y. Fuke (2022). Diversification in ancient Lake Biwa: integrative taxonomy reveals overlooked species diversity of the Japanese freshwater snail genus *Semisulcospira* (Mollusca: Semisulcospiridae). *Contributions to Zoology* 1(aop): 1-37.
- Sawada, N. and Y. Fuke (2022). Systematic revision of the Japanese freshwater snail *Semisulcospira decipiens* (Mollusca: Semisulcospiridae): implications for diversification in the ancient Lake Biwa. *Invertebrate Systematics* 36: 1139-1177.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Matsuda Yuto, Miura Osamu	4. 巻 88
2. 論文標題 Sexual dimorphism in the East Asian freshwater snail <i>Semisulcospira libertina</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Molluscan Studies	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） 10.1093/mollus/eyac028	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 -
1. 著者名 Sano Isao, Saito Takumi, Ito Shun, Ye Bin, Uechi Takeru, Seo Tomoki, Do Van Tu, Kimura Kazuki, Hirano Takahiro, Yamazaki Daishi, Shirai Akihisa, Kondo Takaki, Miura Osamu, Miyazaki Jun-Ichi, Chiba Satoshi	4. 巻 175
2. 論文標題 Resolving species-level diversity of Beringiana and Sinanodonta mussels (Bivalvia: Unionidae) in the Japanese archipelago using genome-wide data	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Phylogenetics and Evolution	6. 最初と最後の頁 107563 ~ 107563
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ympev.2022.107563	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 -
1. 著者名 Yamazaki Daishi, Ito Shun, Miura Osamu, Sasaki Tetsuro, Chiba Satoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 High-throughput SNPs dataset reveal restricted population connectivity of marine gastropod within the narrow distribution range of peripheral oceanic islands	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-022-05026-z	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 Nakai Shizuko, Itoi Shiro, Kanaya Gen, Itoh Hajime, Miura Osamu	4. 巻 18
2. 論文標題 Species identification of the mud snails <i>Batillaria multiformis</i> and <i>B. attramentaria</i> by PCR-RFLP method?the advantages of two restriction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plankton and Benthos Research	6. 最初と最後の頁 47 ~ 51
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3800/pbr.18.47	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 -

1. 著者名 高木 響、上野 和真、三浦 収	4. 巻 15
2. 論文標題 浦戸湾における環境勾配に沿った底生生物群集の空間構造	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 黒潮圏科学	6. 最初と最後の頁 30 ~ 39
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 黒葛原 伶人、高木 響、松田 佑人、金谷 弦、三浦 収	4. 巻 16
2. 論文標題 浦ノ内湾の干潟の生物多様性の現状と保全	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 黒潮圏科学	6. 最初と最後の頁 51 ~ 59
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 高橋啓一・里口保文・林竜馬・山川千代美・大槻達郎・三浦収・田畑諒一・渡辺勝敏・佐藤健介	4. 巻 特別号 第5号
2. 論文標題 琵琶湖とその生物相の形成に関連した研究史ならびにその文献資料について	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 化石研究会誌	6. 最初と最後の頁 1-58
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miura Osamu, Urabe Misako, Mori Hideaki, Chiba Satoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Ancient drainage networks mediated a large scale genetic introgression in the East Asian freshwater snails	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 8186 ~ 8196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ece3.6523	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 Yamazaki Daishi, Miura Osamu, Uchida Shota, Ikeda Minoru, Chiba Satoshi	4. 巻 657
2. 論文標題 Comparative seascape genetics of co-distributed intertidal snails <i>Monodonta</i> spp. in the Japanese and Ryukyu archipelagoes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Marine Ecology Progress Series	6. 最初と最後の頁 135 ~ 146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3354/meps13553	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3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 高木 響、上野 和真、森田 浩平、金谷 弦、三浦 収
2. 発表標題 琵琶湖固有種ヤマトカワニナの遺伝的分化と近縁種間でのニッチ分化のメカニズム
3. 学会等名 2022年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀧澤 柊、三浦 収
2. 発表標題 カワニナを宿主とする二生吸虫の寄生率と種構成の解明
3. 学会等名 2022年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上野和真・高木響・浦部美佐子・中井克樹・三浦収
2. 発表標題 琵琶湖産カワニナ種間の 遺伝的交流の実態
3. 学会等名 2021年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 西野 麻知子 (編著) (三浦 2-4担当)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 サンライズ出版	5. 総ページ数 360
3. 書名 琵琶湖の生物はいつ、どこからきたのか?	

〔産業財産権〕

〔その他〕

高知大学三浦研究室 <a href="http://www.cc.kochi-u.ac.jp/~miurao/index.html">http://www.cc.kochi-u.ac.jp/~miurao/index.html</a>
--

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
---------	---------