

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2017

課題番号：26304010

研究課題名(和文) 新たな生物進化モデルの展開：日本海多様化工場説とその世界的インパクト

研究課題名(英文) A new model of evolution: diversification in the Japan Sea and its world-wide impact

研究代表者

神谷 隆宏 (Kamiya, Takahiro)

金沢大学・自然システム学系・教授

研究者番号：80194976

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：日本海を舞台に、第三紀の後半から第四紀にかけて生じた潮間帯生物(主として貝形虫)の多様化・寒冷適応・北方進出を明らかにした。Paradoxostoma亜科のBoreostoma属の世界中の分布を調査し、本属の祖先種が日本の黒潮域で誕生し、その後日本海で種分化・多様化し、北海道東岸親潮域に適応した種がカナダ西岸、イギリス南岸にまで達したことをDNA解析に基づき明らかにした。DNAの解析結果に基づくと、黒潮域から対馬暖流域、宗谷暖流域を経て親潮域まで到達するのにかなりの地質時間を有したが、一旦親潮域(寒流系)に達すると、相対的に短時間で北半球高緯度域に拡散したことが判明した。

研究成果の概要(英文)：The present study revealed the evolutionary event which showed the intertidal ostracods diversified, got to be cold tolerant, and invaded northwards through the Sea of Japan during late tertiary and Quaternary. The studied taxon was a genus Boreostoma of subfamily Paradoxostomatinae. Their worldwide distribution was examined and the result showed that an ancestral species appeared in Kuroshio area and the species speciated and diversified in the Sea of Japan, then proceeds northwards to reach Oyashio area of eastern Hokkaido. The species reached Oyashio area speciated again to finally distributed high latitudes of northern hemisphere, e.g. western coast of Canada and southern coast of Britain. The DNA analysis clearly showed that it took relatively long for the evolutionary event to reach from Kuroshio to Oyashio areas, but relatively short to spread from Oyashio area to Canada and Britain, which seems interesting to take the geographical distance into consideration.

研究分野：分類・多様性

キーワード：貝形虫 種分化 北方進出 日本海 寒冷適応 多様化

1. 研究開始当初の背景

潮間帯には多様に進化した様々な生物がみられる。それらの生物のひとつに小型甲殻類の貝形虫がある。貝形虫は軟体部と背甲の形質に富み、信頼性の高い分類・系統推定が可能な生物である。また化石記録が豊富で、祖先種の出現や種分化の時期、分布の拡大等を推定しやすいメリットをもつ。これらの特徴を生かし、潮間帯貝形虫の複数の属で多様化に関する調査研究がなされた (Tsukagoshi, 1990, Sato and Kamiya, 2007 など)。

その結果、日本周辺海域では更新世の氷河性海水準変動期に南方の祖先種が日本海南部で種分化し、新たな種 (亜属または属レベルと考えてよい) が縁海に沿って北上し、さらに種分化・北方進出していったと推定された。文献の記載や予察的調査から推察すると、現在派生的な種は遠く北米や北欧にまで分布すると判断される。

いわば日本海が世界的な寒冷適応種 (属) を生み出す場として機能したことになる。この「日本海多様化工場説 (日本海ポンプ効果; Kamiya, 2003)」はその背景に周期的気候変動 (海水準変動) により閉鎖海域が隔離と連結を繰り返すという生殖的隔離・種分化・寒冷適応メカニズムをもつ点で世界的にみてもユニークかつ魅力的な説である。氷期 (低海水準期) に分断された海域で遺伝的隔離が生じ、ここで寒冷適応した個体が生き残り、次の間氷期 (高海水準期) に他海域と再連結し、より北方の寒冷海域に進出していくというシナリオである。しかし軟体動物など他の生物群を研究する古生物学者の一部からは「南方種の日本周辺での多様化・北方進出」が確認できないため、貝形虫の進化シナリオに懐疑的な意見もあった。すなわち、形態の分岐分類学的な解析による系統推定と、現在の地理的分布から判断される進化史に対して、更なる客観的指標が求められていた。

2. 研究の目的

DNA 分析による客観的な系統関係を構築し、従来の進化シナリオの確証を得る。すでに日本周辺海域の潮間帯 (120 地点以上) から採集した試料と新たに北アメリカ西海岸、北欧～イギリスにかけて採取する潮間帯試料を利用し、まず貝形虫 2 属 (*Paradoxostoma* 属、*Xestoleberis* 属) の属内系統関係を形態

分岐分類と遺伝子解析 (18SrDNA) により再構築する。この結果に基づき、世界の他地域では見られない熱帯域属の「日本海南部での潜在的寒冷適応種 (例えば *P. pedale*) の誕生」と「それに引き続く縁海での多様化・北上 (*P. spineum*, *P. ussuricum*)」が起こったことを立証する (図 1)。また化石記録を精査し、現生試料から推定した進化プロセスとの整合性を確かめる。化石の出現や分布拡大は海洋酸素同位体ステージレベルで年代決定できることが期待され、数万年スケールで進化モデルとの整合性の議論を試みる。同様な解析を軟体動物 (微小貝類) と海藻に対して試み、進化モデルの普遍性が支持されるか否かを確かめる。

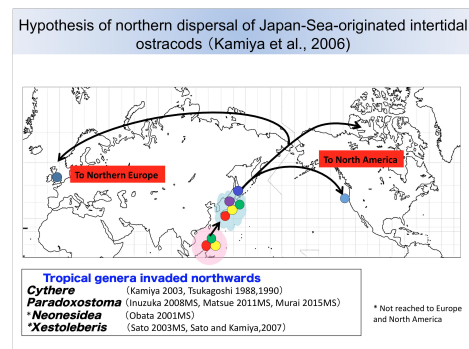


図 1 日本海発祥種の北半球高緯度域拡散仮説

3. 研究の方法

北方に適応・進出したと考えられる潮間帯貝形虫類は 4 属 (*Paradoxostoma* 属、*Neonesidea* 属、*Cythere* 属、*Xestoleberis* 属) ある (鶴見・神谷, 2007, Sato and Kamiya, 2007 など)。このうち、まず予察的な分岐分類に基づき系統が推定されている *Paradoxostoma* 属 (以下 *P* 属) について、鍵となる 10 種前後の種の DNA 解析 (18SrDNA 領域; 約 1800 塩基対) を行った。国内の分析用試料は金沢大学保有のアルコール保存標本に、必要な地域 (新潟、秋田) での標本を加えて行った。

国外の試料は北米西岸 (カナダブリティッシュコロンビア州バンクーバー島～ハイダグアイ島) の潮間帯の合計 9 日間調査、英国 (マーゲイト～ブリストル周辺) の 7 日間調査により、北半球高緯度域の潮間帯の DNA 解析用試料を採集し、まず種の記載学的・形態解析を行った。次に日本産の種の DNA 分析結果と比較し、日本発祥種の北方進出の検証とその時期 (タイミング) を推定した。

4. 研究成果

形態に基づく北半球潮間帯種の北方進出仮説

まず、カナダ、イギリスでの潮間帯試料採集に成功し、Paradoxostoma 属貝形虫（現在は Boreostoma 属として表示）生体標本をそれぞれ3種、1種得た。これらの種の記載学的研究を行った（図2に一例を示す）。なお、本研究によりカナダからB属が産出することが初めて明らかになった。

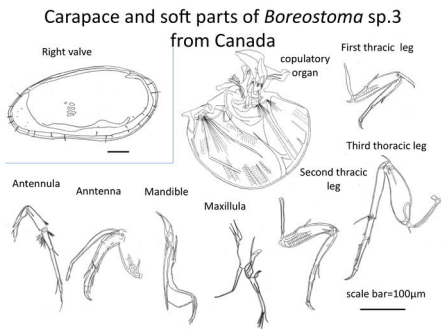


図2 カナダ産 *B. sp. 3* の殻および軟体部の形態

これらの種の形態解析結果に基づいて、分岐分類学的に系統が推定された（図3）。なお、ここで分岐分類に用いた形質は、第二触角第四節外側の剛毛、大顎の底節の剛毛の消失、口器の肺状器官下部の毛の共有派生形質に基づいている。結果は日本海発祥種からカナダ種、イギリス種が派生したことを明瞭に示している。

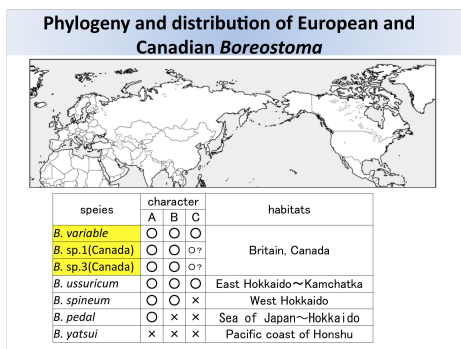


図3 形態解析から推定した *P*属系統関係

DNA 分析に基づく北半球潮間帯種の北方進出の検証

18SrNA の 1600 塩基対に基づき（図4）、日本産4種、カナダ産1種、イギリス産1種の計6種の系統関係が推定された（図5）。ここでは外群として他の Paradoxostoma 亜科貝形虫 (*P. setoense*, *P. oblongum*, *Bru.*

Brunneum, *X. sp.*)を用いた。得られた遺伝子の配列解析は金沢大学学際化学実験センター遺伝子研究施設に依頼した。系統樹作成に当たっては、MEGA6 を使用した。

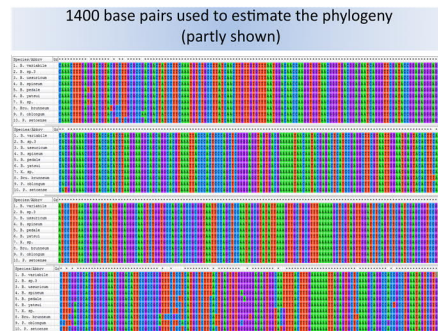


図4 18SrNA の解析結果の一部

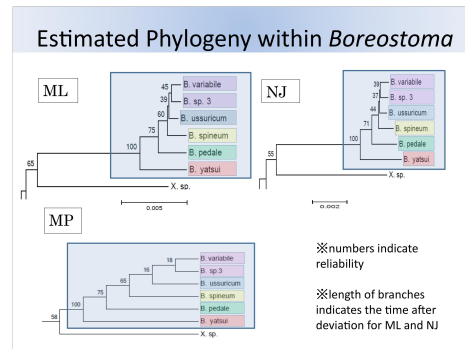


図5 DNAに基づく *P*属6種の系統関係

推定された系統関係の信頼度はそれほど高くないものの、3種の異なる解析法（ML, NJ, MP）が全て一致した関係を示したことから、*Boreostoma* 属は黒潮種 (*B. yatsui*) を祖先的な種とし、対馬暖流種、宗谷暖流種、親潮種、イギリス種とカナダ種が順に派生しながら分布を北に拡大していったことが検証された。また、日本北方種2種 (*B. spineum*, *B. ussuricum*) とイギリス種、カナダ種の分化が極めて短期間に生じたことが示された（図6）。

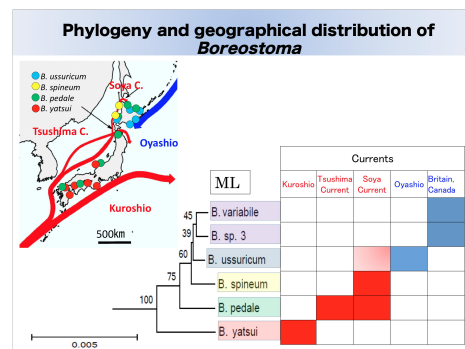


図6 日本周辺の海流系と *B*属の系統・多様化

すなわち、興味深いことに冷温帯／寒帯に一種のバリアが存在し、本来熱帯・亜熱帯に分布の中心を持つ生物が北方に進出する際に、これが大きな障壁となる。ところが、このバリアを通過できる寒冷適応種が一旦形成されると、この種が爆発的に多様化し、地質学的に短時間に北半球高緯度域にあつという間に分布を拡散する。古生物においては、カンブリア紀の進化の大爆発をはじめとし、生物が新しい環境に適応し始めた時、または新しい生活能力を獲得した時（六放サンゴにおける共生藻類の獲得など）に爆発的多様化がおきることが知られている。本研究で明らかになった「熱帯・亜熱帯潮間帯生物の北方高緯度域への爆発的進出」も、スケールは小さいものの同様な「生物の多様化・分散」の本質を示すと考えられる。

これらの結果は、化石記録から推定された *Cythere* 属北方種が更新世に多様化し北方進出したとの推定 (Tsukagoshi, 1990) とも整合的で、第四紀の日本海が潮間帯生物の多様化・寒冷適応をもたらす進化の場であったことが証明されたといえる。

なお、*Xestoleberis* 属についても同様な DNA の解析による進化のシナリオの検証を試みたが、試料の保存状態が悪かったせいか、十分な結果が得られなかった。また、他の分類群の検討による本進化イベントの普遍性の検討も、今後の課題として残された。

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)

Smith, R. J., Zhai, D., Savatnalinton, S., Kamiya, T. & Yu, N. (2018). A review of rice field ostracods (Crustacea) with a checklist of species. *Journal of Limnology*, 77, 1–16.

阿部剛史, 江口暁彦, 松浦裕志, 南田悠, 鈴木稔, 野別貴博, 酒巻一修. (2018). 浅海域生物相調査 II. 海藻相. 平成 29(2017)年度知床半島における浅海域生物相調査及び貝類定量調査報告書, 62–72.

Smith, R. J., Kamiya, T., Choi, Y-G., Lee, J. & Chang, C. Y. (2017). A new species of *Cavernocypris* Hartmann, 1964 (Crustacea: Ostracoda) from caves in South Korea. *Zootaxa*, 4268, 360–376.

Ohtaka, A., Gelder, S. R. & Smith, R. J. (2017). Long-anticipated new records of an

ectosymbiotic branchiobdellidan and an ostracod on the North American red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) from an urban stream in Tokyo, Japan. *Plankton and Benthos Research*, 12, 123–128.

Zhai, D., Smith, R. J., Peng, P., Yu, N., Ma, S. & Li, X. (2017). Cluster analyses of Ostracoda based on dimensions of body structures: implications for taxonomic classification. *Crustaceana*, 90, 471–502.

山田敏弘・手塚翔太・神谷隆宏・柳沢幸夫 (2017). 金沢市南部に分布する中新統“犀川層”の層序学的再検討 地質調査研究報告, 68 (5), 183–221

Yamada, M. and Yamada, T. (2017). Ovuliferous scale anatomies of species of *Pinus* and their value for classification above the species level. *Botanical Journal of the Linnean Society* 183: 633–643.

Kuribayashi, T., Abe, T. & Montani, S. (2017). Historical $\delta^{15}\text{N}$ records of *Saccharina* specimens from oligotrophic waters of Japan Sea (Hokkaido). *PLoS ONE* 12(7): e0180760.

Chand, P. and T. Kamiya (2016). Seven new species of the genus *Xestoleberis* (Crustacea: Ostracoda: Cypridoidea) from the Fiji Archipelago. *Zootaxa*, 4208 (4), 325–348.

Chand, P. and T. Kamiya (2016). A new species of the genus *Paracypria* (Crustacea: Ostracoda: Cypridoidea) from the Fiji Islands. *Zootaxa*, 4158 (3), 433–442.

Smith, R. J., Matzke-Karasz, R. & Kamiya, T. (2016). Sperm length variations in five species of cypridoidean non-marine ostracods (Crustacea). *Cell and Tissue Research*, 366, 483–497. DOI 10.1007/s00441-016-2459-x.

Matzke-Karasz, R., Smith, R. J., & Heß, M. (2016). Removal of extracellular coat from giant sperm in female receptacle induces sperm motility in *Mytilocypris mytiloides* (Cyprididae, Ostracoda, Crustacea). *Cell and Tissue Research*, 368, 171–186. DOI 10.1007/s00441-016-2507-6.

Smith, R. J., Matzke-Karasz, R., Kamiya, T. & De Deckker, P. (2016). Sperm lengths of non-marine cypridoidean ostracods (Crustacea). *Acta Zoologica*, 97, 1–17.

Yotsukura, N., Maeda, T., Abe, T., Nakaoka, M. & Kawai, T. (2016). Genetic differences among varieties of *Saccharina japonica* in northern Japan as determined by AFLP and SSR analyses. *Journal of Applied Phycology* **26**: 3043–3055.

Ohsawa, T.A. Yabe, A., Yamada, T., Uemura, K., Terada, K., Leppe, M., Hinojosa, L.F., Nishida, H. (2016). Araucarian leaves and cone scales from the Loreto Formation of Río de Las Minas, Magellan Region, Chile. *Botany* 94: 805–815.

Suzuki, M., Segawa, T., Mori, H., Akiyoshi, A., Otsuki, R., Kurihara, A., Sakayama, H., Kitayama, T., Abe, T., Kogame, K., Kawai, H. & Nozaki H. (2016). Next-Generation Sequencing of an 88-Year-Old Specimen of the Poorly Known Species *Liagora japonica* (Nemaliales, Rhodophyta) Supports the Recognition of *Otohimella* gen. nov. *PLoS ONE* 11(7): e0158944.

Smith, R. J. & Kamiya, T. (2015). Four new species of the subfamily Candoninae (Crustacea, Ostracoda) from freshwater habitats in Japan. *European Journal of Taxonomy*, 136, 1–34.

Yaegashi, K., Yamagishi, Y., Uwai, S., Abe, T., Santiañez, W.J.E. & Kogame, K. (2015). Two species of the genus *Acinetospora* (Ectocarpales, Phaeophyceae) from Japan: *A. filamentosa* comb. nov. and *A. asiatica* sp. nov. *Botanica Marina* 58(5): 331-343.

〔学会発表〕 (抜粋)

Kamiya, T., Nishida, S. and Smith, R. J., Sperm metamorphosis and fertilization in cytheroidean ostracods—an example of *Xestoleberis hanaii*. 18th International Symposium on Ostracoda (ISO-18), University of California Santa Barbara, Aug 29, 2017.

Smith, R. J., Matzke-Karasz, R. and Kamiya, T. Sexual reproduction and sperm variation in cytheroidean non-marine ostracods. 18th International Symposium on Ostracoda (ISO-18), University of California Santa Barbara, Aug 29, 2017.

神谷隆宏・西田翔・スミスロビン, 海生貝形虫の精子形態の多様性と受精過程での精子変形. 日本古生物学会 2017 年年会 (北九州市立自然史・歴史博物館), 2017 年 6 月 10 日.

Chand, P., Kamiya, T., Jenkins, R., Two new species from the family Pontocyprididae (Ostracoda) from turtle bones in Tsukumo Bay, Noto Peninsula. 日本古生物学会 2017 年年会 (北九州市立自然史・歴史博物館), 2017 年 6 月 11 日.

Kamiya, T., Masuda, S., Yamada, T., Nagata, D., Murai, R., Arai, Y., Matsue, A., Sakai, T., Jenkins, R. and Smith R.J., Quaternary explosive evolution of intertidal ostracods in the northern hemisphere. 2nd Meeting of Asian Ostracodologists (2nd Asian Ostracodologists' Meeting) Yunnan University, China, June 28, 2016.

Kamiya, T., Nishida, S., Matsue, A., and Smith R.J., Sperm metamorphosis and fertilization in the marine ostracod *Xestoleberis hanaii*. 2nd Meeting of Asian Ostracodologists (2nd Asian Ostracodologists' Meeting) Yunnan University, China, June 29, 2016.

Smith, R. J., Matzke-Karasz, R. and Kamiya, T. Reproduction in the superfamily Cyprioidea-What do giant sperms tell us? 2nd Meeting of Asian Ostracodologists (2nd Asian Ostracodologists' Meeting) Yunnan University, China, June 28, 2016.

神谷隆宏・スミスロビン, 日本の淡水棲貝形虫の特徴と起源. 日本古生物学会第 164 回例会, 豊橋市自然史博物館, 2015 年 1 月 30 日 (招待講演).

〔図書〕 (計 0 件)

6. 研究組織
(1) 研究代表者

神谷 隆宏 (KAMIYA, Takahiro)
金沢大学自然システム学系教授
研究者番号：80194976

(2) 研究分担者

○ジェンキンス ロバート (JENKINS Robert)
金沢大学自然システム学系助教
研究者番号：10451824

○山田 敏弘 (YAMADA, Toshihiro)
金沢大学自然システム学系准教授
研究者番号：70392537

○阿部 剛史 (ABE Tsuyoshi)
北海道大学総合博物館講師
研究者番号：00301929

○スミス ロビン (SMITH Robin)
滋賀県立琵琶湖博物館専門学芸員
研究者番号：70416204

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

○チャンド プレナ (Chand Prerna)
金沢大学自然システム学系博士研究員

(5) 海外研究協力者

○Horne David
イギリス Queen Mary Univeristy 教授