

シロウリガイ (*Calyptogena soyoae*) 種群の 分布と遺伝的構造

小島 茂明*¹ 藤倉 克則*² 橋本 惇*² 太田 秀*¹

ミトコンドリア DNA の解析により、相模湾冷湧水域のシロウリガイ (*Calyptogena soyoae*) 集団が遺伝的に異なる 2 つのタイプ (A タイプ, B タイプ) の個体から形成されることが明らかになっている。B タイプ個体が相模湾でのみ採集されているのに対し, A タイプは、沖縄トラフ伊平屋海嶺や南海トラフ竜洋海底谷にも生息している。相模湾では、両者の殻長・殻高比に有意な差異があるのに対し、沖縄トラフの個体は中間の殻形を示し、両者が同所的に出現する場所で形質置換が生じている可能性が示唆された。核 DNA 上のエロンゲーションファクター 1 α 遺伝子イントロン領域の塩基配列に基づき、各集団の遺伝的構造を解析したところ、2 つのタイプ間には統計的に有意な差異があることが示された。さらに、タイプ A 集団では、相模湾から離れるほど、集団の遺伝的多様性が減少することが示された。今回の結果から、シロウリガイの A タイプと B タイプは生殖的に隔離された姉妹種と考えられる。

キーワード：シロウリガイ種群, ミトコンドリア DNA, 形質置換, イントロン

Distribution and Genetic Structure of *Calyptogena soyoae* Complex

Shigeaki KOJIMA*³ Katsunori FUJIKURA*⁴
Jun HASHIMOTO*⁴ Suguru OHTA*³

An analysis of mitochondrial DNA showed that populations of *Calyptogena soyoae* in the seep areas in Sagami Bay consist of two haplotypes, type A and type B. While the type B has been collected only in Sagami Bay, the type A inhabits not only seep areas in Sagami Bay but also in a seep area of the Ryuyo Submarine Canyon, the Nankai Trough and around hydrothermal vents of the Iheya Ridge, the Okinawa Trough. The significant differentiation of the shell length-shell height relationship between the two types of Sagami Bay was detected. The type A of the Iheya Ridge showed the intermediate shell morphology. The character displacement was suggested for the populations at the sites, where the two types co-exist. The significant differentiation of the genetic structure between populations of the two types was also revealed by analysis of nucleotide sequences of the intron region of the nuclear gene, elongation factor-1 α . For the type A, the genetic diversity of population decreased with distance from Sagami Bay. The present results shows that the two types of *C. soyoae* are distinct sibling species.

* 1 東京大学海洋研究所

* 2 海洋科学技術センター深海研究部

* 3 Ocean Research Institute, University of Tokyo

* 4 Japan Marine Science and Technology Center

1. はじめに

シロウリガイ類は、深海還元環境の生物群集を代表する動物群のひとつであり、生理学、発生学、生化学など多くの研究の対象となっている。わが国沿岸でも、現在までに8種の現生シロウリガイが記載され、さらにいくつかの種が記載されつつある(表1)。シロウリガイ(*Calyptogena soyoae*)は、わが国で発見された最初のシロウリガイ類で、蒼鷹丸のトロールにより相模湾で採集された死殻に基づいて記載された(Okutani, 1957)。その後1984年の「しんかい2000」潜航調査で、初島沖冷湧水域に高密度の集団が発見され(Okutani and Egawa, 1985)、その後同じ相模湾の沖の山堆(橋本ら, 1988)、相模海丘、三浦海丘(橋本, 1996)などでも次々に同様の集団が見つかった。

著者らは、これまでに知られている日本産の現生シロウリガイ類全種を対象に、ミトコンドリアDNAの塩基配列に基づく系統解析を行ったが、その過程で相模湾の初島沖及び沖の山堆のシロウリガイ集団が、遺伝的に異なる2種類のハプロタイプの個体から構成されていることを発見し、それぞれをAタイプ・Bタイプと呼ん

だ(Kojima et al., 1995a, 1995b)。このうちAタイプのみが沖縄トラフ伊平屋海嶺の熱水性生物群集(太田, 1990)でも発見されている。さらに一昨年発見された南海トラフ竜洋海底谷の冷湧水域(芦ら, 1996)でも、新発見のナンカイシロウリガイ(Okutani et al., 1996)とともに、Aタイプ個体のみが生息していることが確認された(小島・芦, 1996)。

筆者らは、地理的分布を異にする、これら2つのタイプは別種である可能性が高いと考え、殻の形態及び核DNAに基づき、その検証を行った。

2. 材料と方法

相模湾初島沖、沖の山堆、相模海丘及び南海トラフ竜洋海底谷、沖縄トラフ伊平屋海嶺で採集された計76個体のシロウリガイについて、ミトコンドリアDNAの分析(Kojima et al., 1995a, 1995b)によりタイプの判別を行った(表2)。

核遺伝子上のエロンゲーションファクター1 α 遺伝子のイントロン領域の位置を特定した。その領域を増幅するPCR用プライマーを作成し、ダイレクトシーケン

表1 日本周辺で採集された現生シロウリガイ類

Table 1 List of recent species of the genus *Calyptogena* collected around Japan

種名	生息場所(水深)
シロウリガイ <i>C. soyoae</i> Okutani 1957	相模湾(800-1,200 m)
<i>C. sp. 1</i> ^{*1}	相模湾(800-1,450 m)
	南海トラフ竜洋海底谷(1,100 m)
	沖縄トラフ伊平屋海嶺(1,400 m)
ノチールシロウリガイ <i>C. nautili</i> Okutani & Metivier 1986	南海トラフ天竜海底谷(3,800 m)
<i>C. sp. 2</i> ^{*2}	南海トラフ(2,000 m)
ナンカイシロウリガイ <i>C. nankaiensis</i> Okutani, Kojima & Ashi 1996	南海トラフ竜洋海底谷(1,100 m)
	沖縄トラフ伊平屋海丘北部海丘(1,000 m)
エンセイシロウリガイ <i>C. solidissima</i> Okutani, Hashimoto & Fujikura 1992	沖縄トラフ南奄西海凹(700 m)
テンリュウシロウリガイ <i>C. laubieri</i> Okutani & Metivier 1986	南海トラフ天竜海底谷(3,800 m)
<i>C. sp. 3</i> ^{*3}	三陸沖(1,700 m)
ナギナタシロウリガイ <i>C. phaseoliformis</i> Metivier, Okutani & Ohta 1986	日本海溝(5,500-6,000 m)
	千島海溝(5,100-5,800 m)
カイコウシロウリガイ <i>C. kaikoi</i> Okutani & Metivier 1986	南海トラフ天竜海底谷(3,800 m)
スルガシロウリガイ <i>C. fausta</i> Okutani, Fujikura & Hashimoto 1993	駿河湾(1,500 m)
	南海トラフ(2,000 m)

*1 シロウリガイの姉妹種(Kojima et al., 1995b)、Kojima and Ohtaにより記載中

*2 Okutani et al. により記載中。

*3 東京大学海洋研究所淡青丸航海で採集、テンリュウシロウリガイに近縁(小島 1996)

表 2 本研究で使ったサンプル

Table 2 List of samples used in the present study

採集場所	潜水調査船	ダイブ番号	タイプ	個体数
相模湾初島沖	しんかい2000	381	A	13
			B	7
沖の山堆	ドルフィン3K	167	B	2
			A	5
	しんかい2000	382	B	1
			A	6
相模海丘	ドルフィン3K	91	B	1
			B	3
			B	3
南海トラフ竜洋海底谷	しんかい2000	821	A	10
			A	4
	しんかい2000	897	A	1
			A	3
沖縄トラフ伊平屋海嶺	しんかい2000	613	A	20

ス法で、上流部分約 200 塩基対の配列を決定した。

測定が可能な個体について、殻長及び殻高をノギスを用いて測定した。

3. 形態の比較

図 1 に、各集団における殻長・殻高比の分布を図示した。2つのタイプが同所的に生息する相模湾の集団では、両者の間の殻長・殻高比の平均値に有意 ($p < 0.01$) な差がみられ、一般に A タイプ個体の方が細長い傾向があった (小島ら, 1996)。両者間には、殻長・殻高関係に関する回帰直線にも有意な差が検出された (Kojima and Ohta, 印刷中)。南海トラフで採集された A タイプ個体も、相模湾個体と同じ細長い殻形態を示し、両者間の殻長・殻高比の平均値に有意な差は検出されなかった ($0.05 < p$)。

これに対し、沖縄トラフ集団の個体の殻長・殻高比は、相模湾の両タイプの値の中間値をとり、いずれの間にも平均値に有意な差 (相模湾の A タイプに対して $p < 0.01$, B タイプに対して $0.01 < p < 0.05$) があったが、その形態は、むしろ B タイプに近かった。

相模湾での両タイプの形態差は、近縁種が同所的に出現する場合、単独集団に比べ種間の差異が大きくなる形質置換の現象であるかもしれない。その場合、殻の形態をお互いに相手と異なる形に変化させることで、冷湧水域の限定された空間をより有効に利用できるといった、適応上の意義があるものと考えられる。南海トラフ竜洋海底谷でも、B タイプ個体はいないものの、同一パッチ内でナンカイシロウリガイと共存しており、ここでも相

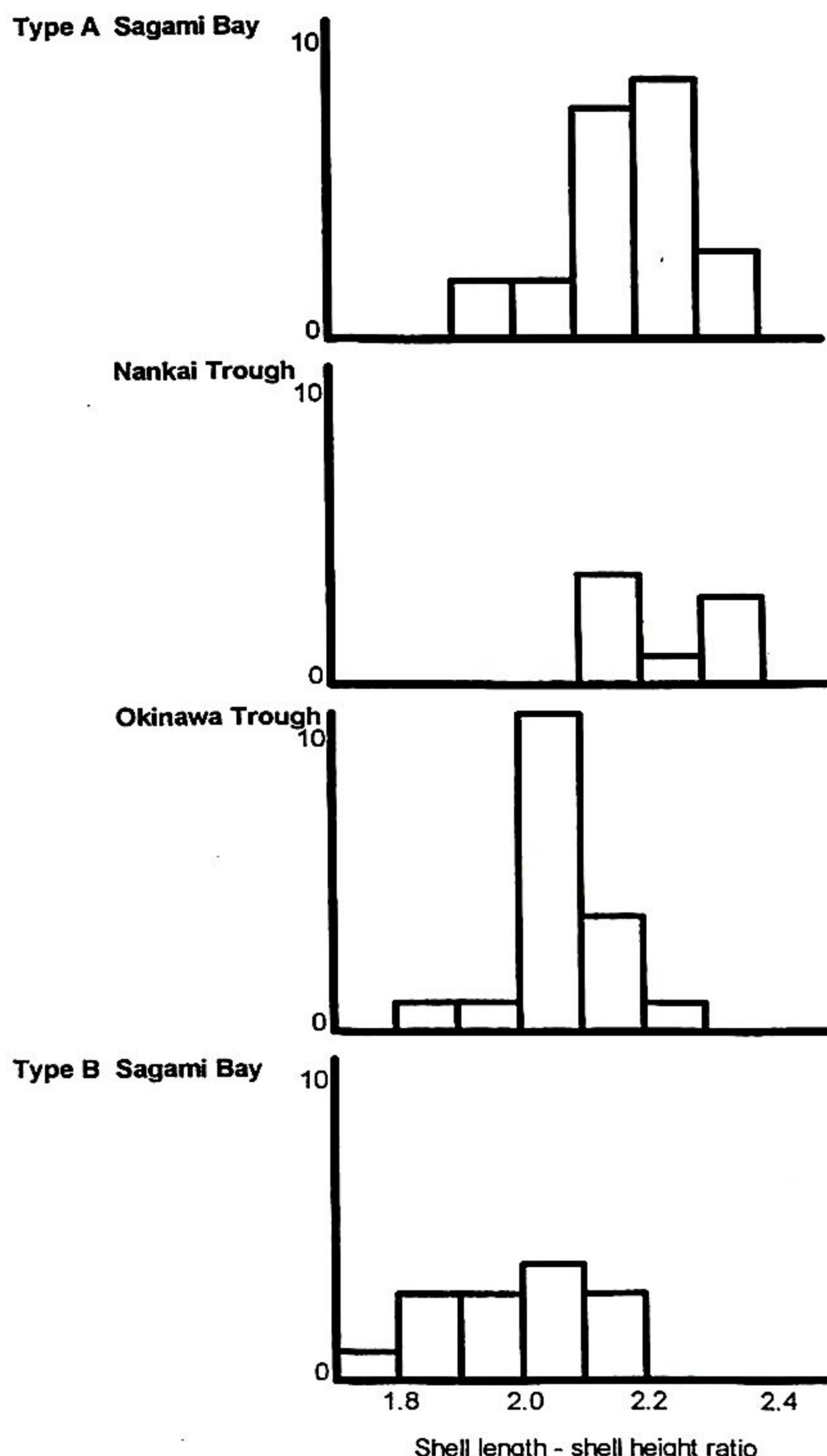


図 1 シロウリガイ種群の各集団における殻長・殻高比の分布

Fig. 1 Distribution of shell length-shell height ratio among populations of *Calyptogena soyoae* complex

模湾と同様に形態置換が生じているのかもしれない。これに対し、伊平屋海嶺では、シロウリガイ A タイプ以外の種の生息は知られていない。

相模湾のシロウリガイパッチの内部での、両者の詳細な分布の把握や水槽内での行動観察などを通じて、両者の形態差の適応的意義に関する知見が得られるものと期待される。また、最近発見された沖縄トラフ伊平屋海丘北部海丘のナンカイシロウリガイ集団 (未発表データ) との比較研究も有意義であろう。

4. 核 DNA の比較

塩基配列を決定したイントロン領域のうち、6 ヶ所で塩基の変異が生じていた。変異サイトの塩基組成を表3にまとめた。両タイプが同所的に生息する相模湾集団では、AタイプBタイプともに、3種類の遺伝子型の個体で構成されているのに対し、Aタイプ個体のみが生息する南海トラフや沖縄トラフの集団では、第2サイトを除き、ほとんどの個体が同じ遺伝子型を共有しており、遺伝的多様性が相模湾集団に比べ低い。特に沖縄トラフの集団では全ての個体が、変異のあった6サイトのうち5サイトについて単一の塩基に固定されてい

表3 シロウリガイ種群各集団の遺伝子型組成
Table 3 Genotype composition of populations of *Calyptogena soyoae* complex

サイト	遺伝子型	Aタイプ			Bタイプ
		相模湾	南海トラフ	沖縄トラフ	相模湾
1	CC	17	16	19	4
	CG	3	1	0	6
	GG	1	0	0	4
2	CC	7	9	3	3
	CA	9	4	7	2
	AA	5	4	9	9
3	AA	17	15	19	4
	AC	3	1	0	6
	CC	1	1	0	6
4	AA	17	16	19	4
	AG	3	1	0	6
	GG	1	0	0	4
5	GG	17	16	19	5
	GT	3	1	0	5
	TT	1	0	0	4
6	CC	17	16	19	5
	CA	3	1	0	4
	AA	1	0	0	5

表4 各変異サイトにおける、シロウリガイ種群集団間の塩基組成の差の検定結果 (p 値)
Table 4 Differentiation of nucleotide sequence between populations of *Calyptogena soyoae* complex (t-test)

サイト	1	2	3	4	5	6
相模湾タイプ間	0.0004	0.0307	<0.0001	0.0004	0.0012	0.0004
Aタイプ集団間						
相模湾-南海トラフ	0.1496	0.3804	0.6634	0.1496	0.1496	0.1496
相模湾-沖縄トラフ	0.0280	0.0650	0.0280	0.0280	0.0280	0.0280
南海トラフ-沖縄トラフ	0.2871	0.0097	0.0614	0.2871	0.2871	0.2871

る。

各サイトについて、Aタイプ個体とBタイプ個体の間で、塩基組成の差異の有意性を検定 (t 検定) したところ、6 サイトの塩基のうち5 サイトで1 %レベル、残る1 サイトでも5 %レベルで有意な差異が検出された (表4)。さらに、Aタイプの集団間でも、最も離れた相模湾-沖縄トラフ間について5 サイトで、5 %レベルの有意な差が検出された。

5. ま と め

今回、形態及び核 DNA 解析から得られた結果は、相模湾に同所的に出現するシロウリガイ (*C. soyoae*) の2つのタイプが、生殖的に隔離された姉妹種であるとする考えを支持するものである。シロウリガイ (*C. soyoae*) の模式標本はその形態から典型的なBタイプであるので、現在、Aタイプを新種として記載中である (Kojima and Ohta, 印刷中)。両タイプの間のミトコンドリア DNA の違いは、タンパク質遺伝子 (CO I, CO III) で約5 %である (Kojima *et al.*, 1995b)。これらの遺伝子の分子進化速度として、様々な動物群で報告されている、100 万年あたり2 %前後の値が、シロウリガイ類にも適用できると仮定すると、両者が分岐したのは、約250 万年前と推定される。この時期の相模-駿河トラフでは、伊豆半島の衝突などによる大規模な環境変動があったと考えられている。この時、両タイプの共通祖先種の集団が小集団に分かれ、お互いに地理的隔離されることにより種分化が起こったのかもしれない。

次に、Aタイプの種内変異に注目すると、沖縄トラフ集団と相模湾や南海トラフの集団との間に殻形態や核遺伝子に有意な差異が検出されている。上述したように、殻の形態については、別種のシロウリガイが同所的

に出現することによる環境変異である可能性が高いが、今回解析した核遺伝子は、自然選択に対し中立と考えられているイントロン領域なので、集団間の違いは環境の違いによるものではない。ミトコンドリア DNA の解析からも沖縄トラフ集団では、他の 2 集団に対して、CO I 領域の 1 塩基が完全に置換していることが示されており (Kojima *et al.*, 1995b), 現在では、相模湾や南海トラフの集団との間に遺伝的交流がないと考えられる。沖縄トラフの個体は相模湾や南海トラフの個体とは亜種レベルで異なると考えるのが、現状では妥当であろう。

今回得られた結果 (表 3) を見ると、A タイプ集団の遺伝的多様性は、B タイプと共存する相模湾で最も高く、南海トラフ、沖縄トラフの順に低くなっていく。このパターンの原因として、2 つの可能性が考えられる。その第 1 は、近縁な 2 種が共存している相模湾では、ある程度の種間交雑による雑種が形成されているというものである。南海トラフでは大部分の個体が純粋な A タイプ個体であるが、相模湾より低頻度 (17 個体中 1 個体) で雑種の可能性がある個体が得られている。この個体が本当に B タイプとの雑種であるとすれば、相模湾から移入した個体か、その子孫と考えられる。これまでに採集されていないが、南海トラフにも B タイプ個体が生息しているか、過去にいた可能性も否定できない。これに対し、空間的に遠く隔たった沖縄トラフでは、変異のあった 6 つのサイトのうち 5 つについて、全ての個体の遺伝子型が同一で、A タイプのオリジナルな遺伝的性質が純粋な形で維持されていることになる。

第 2 のシナリオは、もともと A タイプ集団は、遺伝的に多様であったが、新しい生息場所への定着に偶然成功した少数の個体から現在の集団が誕生したため、創始者効果 (founder effect) により、母集団で頻度が低かった遺伝子が集団から失われたというものである。この場合、相模湾集団が、この種が誕生した当時の遺伝的性質を最もよく保存しており、相模湾から南海トラフ、さらに沖縄トラフへと分布を広げる過程で、遺伝的多様性が減少していったことになる。シロウリガイ類は幼生分散能力が低く、長距離の分散が稀であると考えられるので、新たな生息地への移入時に創始者効果が生じやすい。また沖縄トラフの熱水活動が比較的最近 (2 万年前以降) 始まった (Lu *et al.*, 1981; Kimura, 1985) のに比べ、相模トラフや南海トラフの沈み込みは、はるかに長期間続いている点、多くのシロウリガイ化石が関東地方の過去 1,000 万年以上にわたる地層から、連続的に産

出する (蟹江, 1996) 点もこの仮説に有利である。さらに、日本周辺に生息するシロウリガイ類で例外的に広範囲に分布するシロウリガイ A タイプとナンカイシロウリガイの分布が、前者は相模湾・南海トラフ・沖縄トラフであるのに対し、後者は南海トラフと沖縄トラフのみで、相模湾には生息していないのも、幼生の分散方向が、「北から南へ」と考えると理解しやすい。

上記の 2 つのシナリオのうち、いずれが正しいのかを検証する方法として、異なる染色体上に位置する核遺伝子について、今回の解析と同様の研究を行い、染色体が異なっても、挙動が一致するかどうかを調べることが考えられる。また、これまでほとんど行われていない軟体部の形態などを精査することにより、2 種間の形態的差異をさらに検出し、雑種の可能性のある個体がいかなる形態上の特徴を有するかを調べることも有効であろう。

謝 辞

今回、発表の機会を与えてくれた、海洋科学技術センター深海研究部の方々に感謝する。東京大学理学部芦寿一郎博士及び海洋科学技術センター服部陸男博士には、サンプルを提供していただいた。また、研究の遂行にあたり、日本大学奥谷喬司教授から貴重な助言をいただいた。サンプルの採集における「しんかい 2000」、「ドルフィン 3K」運航チーム及び「なつしま」乗組員の方々の協力に感謝する。本研究の一部は文部省科学研究費により行われた。

引用文献

- 芦寿一郎・瀬川爾朗・ザビエル ルピシヨ・シーグリード ラルマン・小林和男・服部陸男・ステファン マゾッティ・青池 寛 (1996): 東海沖竜洋海底谷における冷湧水の分布: 1995 年度 KAIKO-TOKAI 計画「しんかい 2000」潜航調査. JAMSTEC 深海研究, 12, 159-165.
- 橋本 惇 (1996): 深海底の化学合成生物群集. 科学, 66, 507-514.
- 橋本 惇・松沢誠二・堀田 宏 (1988): 相模湾沖の山堆における深海生物群集の探索. 海洋科学技術センター試験研究報告, 4, 177-189.
- 蟹江康光 (1996): 中新統葉山層の化学合成動物群集の生息環境と三浦・房総地域新生界の群集. 化石, 60, 53-58.
- Kimura, M. (1985): Back-arc rifting on the Okinawa

- Trough. Mar. Petrol. Geol. 2, 222-240.
- 小島茂明 (1996) : 日本周辺のシロウリガイ. 科学, 66, 467-469.
- 小島茂明・芦寿一郎 (1996) : 南海トラフ竜洋海底谷で発見された2種のシロウリガイ類. JAMSTEC 深海研究, 12, 155-157.
- 小島茂明・橋本 惇・太田 秀 (1995) : 日本周辺におけるシロウリガイ類およびハオリムシ類の分布と系統. JAMSTEC 深海研究, 11, 243-248.
- Kojima, S., T. Kobayashi, J. Hashimoto and S. Ohta (1995a) : RFLP analysis of a mitochondrial gene, cytochrome oxidase I (CO I) of three species of the genus *Calyptogena* around Japan. Jour. Oceanogr., 51, 257-259.
- 小島茂明・太田 秀・橋本 惇 (1996) : 相模トラフ・南海トラフにおけるシロウリガイとハオリムシの分布と系統. 化石, 60, 23-25.
- Kojima, S., R. Segawa, T. Kobayashi, T. Hashimoto, K. Fujikura, J. Hashimoto and S. Ohta (1995b) : Phylogenetic relationships among species of *Calyptogena* (Bivalvia : Vesicomidae) collected around Japan revealed by nucleotide sequences of mitochondrial genes. Mar. Biol., 122, 401-407.
- Lu, R. S., J. J. Pan and T. C. Lee (1981) : Heat flow in the southern Okinawa Trough. Earth Planet. Sci. Lett. 55, 299-310.
- 太田 秀 (1990) : 沖縄海盆伊平屋海凹の熱水性生物群集. 海洋科学技術センター試験研究報告, 6, 145-156.
- Okutani, T. (1957) : Two new species of bivalves from the deep water in Sagami Bay collected by the R. V. *Soyo-Maru*. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., 17, 27-30.
- Okutani, T. and K. Egawa (1985) : The first undersea observation on living habit and thanatocoenoses of *Calyptogena soyoae* in bathyal depth of Sagami Bay. Venus (Jap. Jour. Malac.), 44, 285-289.
- Okutani, T., S. Kojima and J. Ashi (1996) : An unusual vesicomyid bivalve, *Calyptogena nankaiensis* n. sp. from bathyal depth off Honshu, Japan. Venus (Jap. Jour. Malac.), 55, 257-263.

(原稿受理 : 1997 年 7 月 1 日)