

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：13601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23657064

研究課題名(和文)水生生物の遺伝子解析から迫る山岳形成による生物集団の地理的隔離および河川争奪

研究課題名(英文)Genetic isolation and speciation within species by way of mountain formation: Approached utilizing genetic analyses of selected headwater-specific aquatic insects

研究代表者

東城 幸治(TOJO, Koji)

信州大学・理学部・准教授

研究者番号：30377618

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：日本列島では、第四紀以降も激しい地殻変動が生じており、活発な山岳形成が継続している。この列島に棲息する生物たちも大きな影響を受けている。造山活動に伴う集団間の交流の分断や、山塊ごとの遺伝的分化など、世界レベルでも検出が困難な地史的イベントと生物集団の遺伝構造の比較研究に適した地域である。しかし、これらの関係性を詳細に示した研究は少ない。

本研究では、河川源流域に適応して棲息する水生昆虫類に焦点を当て、個体群構造と遺伝構造の比較を行った。結果、山脈による遺伝的分化や、山塊ごとの遺伝的分化などの明確な事例を蓄積させることができた。加えて、ユニークな系統地理学的成果を論文として公表することができた。

研究成果の概要(英文)：In the Japanese Archipelago, intense crustal deformation occurred during the Quaternary period; Mountain formation also continues presently. Creatures inhabiting this Archipelago must have been significantly affected. As such, this is a particularly well suited region for comparative studies of genetic structure with respect to geohistorical events (e.g., isolation of populations associated with orogenic activity). These are often more difficult to detect elsewhere in the world. Although, there are a few studies showing such relationships in detail.

In this study, we focused on several aquatic insect species adapted to inhabit the headwaters, and compared their population structures and their genetic structures. As a result of this, some clear cases have been gathered identifying modes of differentiation by means such as, mountain ranges, or differentiation by massif level. Notably, some of these results have already been published in some international journals.

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：系統進化 遺伝的構造 昆虫 地史 山岳形成 遺伝的多様性 種分化 日本列島

1. 研究開始当初の背景

本邦を代表する北アルプス南部地域(焼岳-槍・穂高連峰)は、その中心に位置する上高地に代表される景観のみならず、形成史においても世界レベルの科学的魅力を内包する。約180-100万年前、槍・穂高連峰の急激・巨大な火山・造山活動により、この東西で、多くの生物種群に地理的隔離が生じたとされる(例:宮入・東城, 2008)。また、信濃川水系の源頭(槍ヶ岳麓)から上高地を貫流する梓川は、約1.3万年前の焼岳の火山活動により、流路を飛騨・高山側(富山湾)から松本側へと変える(結果、信濃川を経由して新潟へと流下することになる)世界的にも大規模な河川争奪があったとされる(Harayama, 2003; 東城, 2008)。これらの地史は、生物の種分化や集団分化の時間スケールからすれば、極めて短期間に生じた大規模な地史的変動と言える。

実際、梓川源流域に生息する水生生物の一種、オビカゲロウの遺伝子型は、現在、水系として繋がりをもつ松本地域の梓川個体群よりも、かつての繋がりである飛騨・高山地域の遺伝子型に近いことが明らかとなりつつある(Miyairi and Tojo, 2007; 宮入・東城, 2008)。これは、河川争奪に関する地質学的研究による知見を、系統進化・集団生物学からも傍証することになる。

穂高連峰の噴火は、当時、全地球規模での温度変化をもたらしたとされ、一方、わずかに1.3万年前に生じた焼岳の火山・造山活動は、高精度での情報取得が可能であることから、これらの地史と生物の進化史を関連づけた学際研究展開の可能性は高く、世界的にもたいへん貴重な事例を提供できると考えている。

2. 研究の目的

以上の背景で述べたように、重要であるにも関わらず、従来、分野関連系が希薄であった地質学と生物学の融合分野「系統地史学(系統進化・地理・地質学)」に関する萌芽的研究課題である。また、本研究課題は欧米では展開が困難である、火山国・日本の地の利を活かしたものである。具体的には、火山による急激な山岳形成と、この影響による生物集団の分化を、地質学・生物学の最新の技術や知見を駆使した学際的課題である。

本研究では、世界的にも前例のない高い精度での議論が期待され、かつ、地質学・生物学分野の学際的な接点の中から発する研究課題であるため、十分に独創的であると考えている。山岳形成による生物集団の分断化の現象は、理論的には古くから推察されてきたが、実証的な研究が乏しく、このような意においては、進化生物学・生物多様性分野にもたらす影響は大きいと考える。

3. 研究の方法

本研究では、詳細な地質学的調査のもと、

山岳形成史に関する世界的にも高精度での情報が蓄積され、かつ、火山による大きな河川争奪(流路変更)が生じたことも高精度で解明されている北アルプス地域(特に、上高地、焼岳-槍・穂高連峰)をはじめ、日本列島の形成史や地史と生物系統の関係を検討した。

山岳域に局在分布し、かつ個体レベルでの移動分散力が弱いために集団間での遺伝子流動が起こり難いと考えられる水生昆虫類3種(オビカゲロウ、ガガンボカゲロウ類、シロイロカゲロウ類、トワダカワゲラ類、ノギカワゲラ類、コオイムシ類、カメノコヒメトビケラ類、オンドケトビケラ類、)を対象に、集団間の遺伝的分化の程度を明らかにし、得られた知見をもとに、地史と生物集団レベルでの遺伝的類縁性について、詳細に検討・考察した。

ついて、詳細に検討・考察した。

(1) 研究材料の確保

野外調査により、研究対象の遺伝子解析用試料を、日本列島広域からサンプリングした。また、日本列島の形成との関連性を議論するため、遺伝構造の比較検討における重要地域である朝鮮半島(韓国)やロシア沿海州でのサンプリングも補足的に実施した。サンプリングに際し、国立公園特別保護地域内での調査に関しては、関係省庁や地元自治体からの許認可を受けた上で実施した。

(2) 遺伝子解析

確保したサンプルより、全DNAを抽出し、核遺伝子(Histone H3領域、ITS1+ITS2領域など)、ミトコンドリア遺伝子(16S rRNA領域、COI領域など)を対象に、これらの領域のDNA断片を増幅し、配列決定した。

いずれの種においても、集団内のハプロタイプ変異がどの程度であるかを把握した上で、集団間の変異の程度を比較・考察した。

得られた遺伝情報データを基に、各種ソフトウェアを解析の目的に寄り使用し、対象種群の遺伝構造と地史との関連性を詳細に追究した。

4. 研究成果

いずれの対象種群に関しても、日本列島の形成史やその後の山岳形成や海峡形成など、とくに第四紀の地殻変動や、氷期-間氷期の海面の変動に伴う陸橋形成や分断などのイベントとの関連性が詳細に議論可能であるような結果が得られた。

(1) オビカゲロウにおける分子系統地理学的研究

中部山岳地域を中心に山岳源流域に特化・適応した種で、日本列島と朝鮮半島の固有種である。本種の分布域をほぼ網羅するサンプリングを実施し、遺伝構造を解析した。

日本列島と朝鮮半島の遺伝的分化は対馬海峡の形成と深く関わっていること、日本列島内での遺伝的分化は第四紀の地史、とくに山岳形成史と深くかかわっていることを明らかにした。

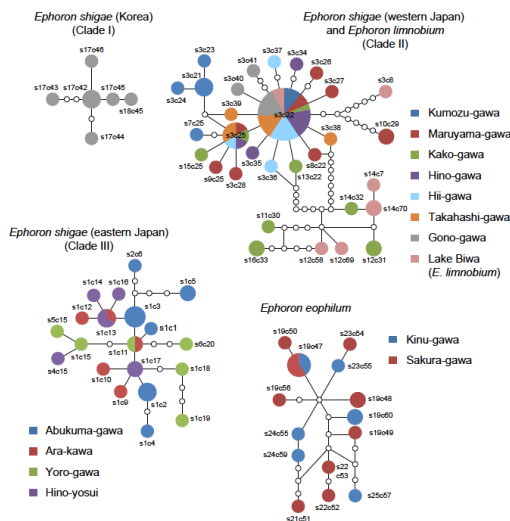
中でも、槍-穂高連峰の急激な隆起や、これに伴う梓川の流路変更(信濃川水系と神通川水系間での河川争奪)に関しては、地質学的知見を傍証する結果を得ることができた。

また、東北地方には隠蔽種が存在していることも明らかとした。

(2) シロイロカゲロウ類における分子系統地理学的研究

日本列島と朝鮮半島に棲息するオオシロカゲロウと日本列島固有種であるピワコシロカゲロウ、アカツキシロカゲロウの系統進化史、遺伝的分化の地史的因果関係について考察した(下図)。

対馬海峡の形成に因る日本列島集団と朝鮮半島集団の遺伝的分化や、中部山岳域形成に因る東日本-西日本間の遺伝的分化を明らかにした(下図)。



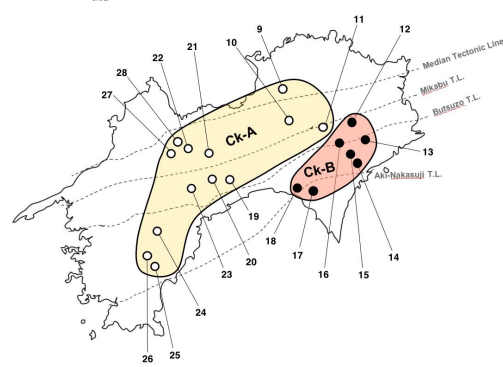
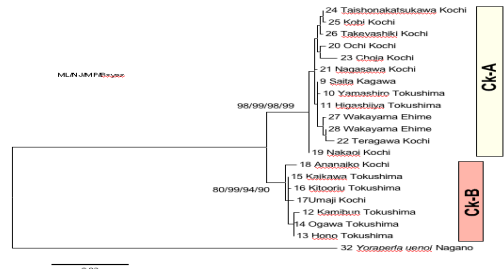
本種に関しては、単為生殖系統が日本列島広域的にみられるが、これは、比較的最近の遺伝的分化であり、西日本において起源したことを明らかにした。また、日本列島固有2種の系統進化的位置づけも明らかにし、系統分類学的な再整理も実施した。

以上の成果を、Biol. J. Linn. Soc. 誌上に公表した。

(3) ノギカワゲラ類の分子系統地理学的研究

東アジア地域広域を対象としたノギカワゲラ類の遺伝子解析から、中央構造線以南に極めて古い系統の種群が残存していることを明らかにした。植物では「そはやき(襲速紀)型要素」として、九州南部・四国南部・紀伊半島南部のフロラの特異性がしばしば議論されてきたが、おそらく同様の地史的影響を受けた結果であるとし、本種群にも「そはやき型要素」が遺伝構造に反映しているこ

C. kawasawai (mtDNA COI + 16S rRNA + nDNA Histone 3)



とを議論した(上図)。

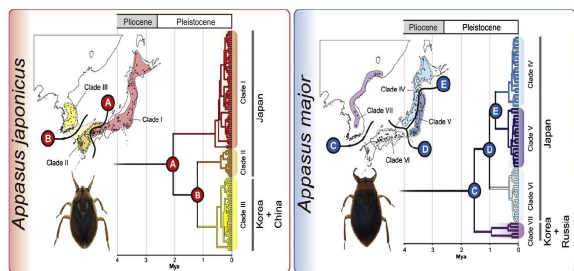
以上の成果を、Limnology 誌上に公表した。

(4) コオイムシ類の分子系統地理学的研究

日本列島には主に2種のコオイムシ類が棲息し、これらは東アジア広域的に分布する。これらの2種に関しては、分類学的問題点も指摘されており、本研究では、形態形質も含めた検討を実施した。

結果、種レベルでの分化は明白であることに加え、それぞれの種が強く影響を受けた地史的イベントに相違が認められることも明らかとなった(下図)。

コオイムシでは対馬海峡の形成や中国山地形成による遺伝的分化が顕著に認められた。また、オオコオイムシでは、奥羽山脈による太平洋側-日本海側の遺伝的分化が大きくかつ明瞭であること、同様に中部山岳域における山岳形成の影響を強く受けたと考えられる遺伝構造が認められた(下図)。



以上の成果を、Biol. J. Linn. Soc. 誌、および Mol. Phylogent. Evol. 誌上に公表した。

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)

〔雑誌論文〕(計19件)

Suzuki T, Kitano T and Tojo K,

Contrasting genetic structure closely related giant water bugs: Phylogeography of *Appasus japonicus* and *Appasus major* (Insecta: Heteroptera, Belostomatidae). Mol. Phylogenet. Evol., 72 巻, 7-16, 2014, 査読有, doi:rg/10.1016/j.ympev.2013.12.008

鈴木智也・谷澤崇・東城幸治, 東アジア産コオイムシ類における進化生物学的研究, 昆虫と自然, 49 巻, 9-14, 2014, 査読無

Takenaka M, Shibata S, Suzuki T and Tojo K, Distribution record of *Anisocentropus* caddisfly (Trichoptera: Calamoceratidae) in the Tsushima Islands. New Entomol., 62 巻, 45-49, 2014, 査読有

Sekine K and Tojo K, Phylogeography of the East Asian polymitarcyid mayfly genus *Ephoron* (Ephemeroptera: Polymitarcyidae): A new attempt at phylogenetic analysis utilizing the nuclear DNA PEPCK gene. Biol. Int. Wat. Suppl. 2 巻, 115-123, 2013, 査読有

Sekine K, Hayashi F and Tojo K, Phylogeography of the East Asian polymitarcyid mayfly genus *Ephoron* (Ephemeroptera: Polymitarcyidae): A comparative analysis of molecular and ecological characteristics. Biol. J. Linn. Soc., 109 巻, 181-202, 2013, 査読有, doi: 10.1111/bij.12033

Suzuki T, Tanizawa T, Sekine K, Kunimi J and Tojo K, Morphological and genetic relationship of two closely-related giant water bugs: *Appasus japonicus* Vuillefroy and *Appasus major* Esaki (Heteroptera: Belostomatidae). Biol. J. Linn. Soc., 110 巻, 615-643, 2013, 査読有, doi: 10.1111/bij.12149

Kato Y, Morii Y and Tojo K, Molecular phylogeographic analysis of East Asian cryptoperlan stoneflies (Insecta: Plecoptera, Perloperlidae). Limnology, 14 巻, 179-194, 2013, 査読有 doi: 10.1007/s10201-012-0395-3

Kato Y and Tojo K, Molecular phylogeographic analysis of cryptoperlan stoneflies, with special reference to the genetic differentiation within the species *Cryptoperla kawasawai* (Insecta: Plecoptera, Perloperlidae). Biol. Int. Wat. Suppl. 2 巻, 49-58, 2013, 査読有

関根一希・末吉正尚・東城幸治, 千曲川における大量発生昆虫オオシロカゲロウの流程分布. 陸水学雑誌, 74 巻, 73-84, 2013, 査読有

Sekine K and Tojo K, The origin and distribution expansion of unisexual

populations in the geographically parthenogenetic mayfly, *Ephoron shigae* (Insecta: Ephemeroptera: Polymitarcyidae). Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn. 47 巻, 33-35, 2012, 査読有

Tojo K and Miyairi K, 'Origin of insect wings' -An embryological approach of the mayfly *Bleptus fasciatus* Eaton (Ephemeroptera, Heptageniidae). Entomol. Res. Bull., 26 巻, 65-67, 2012, 査読有

Sekine K and Tojo K, Origin of parthenogenesis in the geographically parthenogenetic mayfly *Ephoron shigae* (Ephemeroptera: Polymitarcyidae) -Potential for parthenogenesis of females in a bisexual population. Entomol. Res. Bull., 26 巻, 25-28, 2012, 査読有

東城幸治, 水生昆虫学における遺伝子解析手法の貢献と未来像, 水環境学会誌, 35 巻, 114-117, 2012, 依頼執筆, 査読有

東城幸治・扇谷正樹・関根一希, 「標高傾度」と「系統進化」: 水生昆虫の流程分布と遺伝的構造. 昆虫と自然, 47 巻, 35-39, 2012, 査読無

斎藤梨絵・東城幸治, チラカゲロウにおける分子系統地理学的研究 (カゲロウ目, チラカゲロウ科). New Entomol., 61 巻, 37-50, 2012 年, 査読有

Sekine K and Tojo K, Potential for parthenogenesis of virgin females in the mayfly *Ephoron eophilum* (Insecta: Ephemeroptera, Polymitarcyidae), Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn, 46 巻, 15-16, 2011, 査読有

Ogitani M, Sekine K and Tojo K, Habitat segregation and genetic relationship of two heptageniid mayflies, *Epeorus latifolium* and *Epeorus l-nigrus*, in the Shinano-gawa River basin, Limnology, 12 巻, 117-125, 2011, 査読有, doi: 10.1007/s10201-010-0328-y

Nagakubo A, Sekine K, Tanaka Y, Kuranishi RB, Kanada S and Tojo K, Rapid expansion of the distributional range and the population genetic structure of the freshwater amphipod *Crangonyx floridanus* in Japan, Limnology, 12 巻, 75-82, 2011, 査読有, doi: 10.1007/s10201-010-0323-3

Suzuki T, Suzuki N and Tojo K, Report of the rediscovery of a machilid bristletail *Pedetontus diversicornis* subsequent to its first recorded observation in 1925; With special reference to the newly found population's apparent parthenogenetic status (Archaeognatha; Machilidae). New

Entomol., 60 卷, 6-11, 2011, 査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

Sekine K and Tojo K, The origin and expansion of unisexual populations for the geographically parthenogenetic mayfly *Ephoron shigae* (Ephemeroptera: Polymitarcyidae), The 1st Symposium of Benthological Society of Asia, 2012.6.11-14, Matsumoto

Saito R and Tojo K, Genetic structures of the isonychiid mayfly *Isonychia japonica* (Ephemeroptera, isonychiidae), The 1st Symposium of Benthological Society of Asia, 2012.6.11-14, Matsumoto

Suzuki T and Tojo K, Phylogeography of two Japanese giant water bugs, *Appasus japonicus* and *Appasus major* (Heteroptera: Belostomatidae), The 1st Symposium of Benthological Society of Asia, 2012.6.11-14, Matsumoto

Kato Y and Tojo K, Molecular phylogenetic relationships of East Asian *Yoraperla* stoneflies (Plecoptera, Peltoperlidae), International Joint Meeting of 13th International Conference on Ephemeroptera & 17th International Symposium on Plecoptera, 2012.6.3-9, Wakayama

Kato Y and Tojo K, Molecular phylogenetic relationships of East Asian *Cryptoperla* stoneflies (Plecoptera, Peltoperlidae), International Joint Meeting of 13th International Conference on Ephemeroptera & 17th International Symposium on Plecoptera, 2012.6.3-9, Wakayama

Takenaka M and Tojo K, Genetic structure of dipteromimid mayflies endemic to Japan (Ephemeroptera, Dipteromimidae), International Joint Meeting of 13th International Conference on Ephemeroptera & 17th International Symposium on Plecoptera, 2012.6.3-9, Wakayama

Morii Y, Yoshii M, Kishimoto T and Tojo K, The parapatric distribution pattern derived from reproductive interference between two closely related scopurid stoneflies (Plecoptera, Scopuridae), International Joint Meeting of 13th International Conference on Ephemeroptera & 17th International Symposium on Plecoptera, 2012.6.3-9, Wakayama

Morii Y, Yoshii M, Kishimoto T and Tojo K, Differences of the eclosion pattern between closely related scopurid

stoneflies (Plecoptera, Scopuridae), International Joint Meeting of 13th International Conference on Ephemeroptera & 17th International Symposium on Plecoptera, 2012.6.3-9, Wakayama

〔図書〕(計 3 件)

東城幸治, 細流の生態系 4.5.1. ガガンボカゲロウ・トワダカワゲラ, 小倉紀雄・竹村公太郎・谷田一三・松田芳夫(編)「水辺と人の環境学 上」, 80-83 頁(総 143 頁), 2014, 朝倉書店, 東京

東城幸治, 岩波書店, 生物学辞典(分担執筆: 昆虫類に関する用語の解説を担当; 総 2171 頁), 2013

東城幸治・扇谷正樹・関根一希, 標高傾度と系統進化: 山岳溪流にすむ水生昆虫の標高傾度に沿った流程分布と遺伝的構造. 中村寛志・信州大学山岳科学総合研究所中部山岳地域環境変動研究機構(編)「山に登った虫たち: 山岳昆虫の多様性と保全」, 24-55 頁(総 121 頁), 2012, オフィスエム, 長野

〔その他〕

ホームページ等

信州大学学術情報オンラインシステム SOAR
<http://soar-rd.shinshu-u.ac.jp/profile/ja.0Ccebhlh.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東城 幸治 (TOJO, Koji)
信州大学・理学部・准教授
研究者番号: 30377618