

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：82617

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18591

研究課題名(和文)大陸島における時間スケールに沿った生物の分化要因の解明

研究課題名(英文)Elucidation of differentiation factors of organisms along time-scale on the continental island

研究代表者

長太 伸章(Nagata, Nobuaki)

独立行政法人国立科学博物館・標本資料センター・特定研究員

研究者番号：70533264

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)：種分化や種内の多様化にはタイムスケールによって複数の要因が関わっている。本研究では琉球列島で多様化しているセミ類を対象に、大陸島における種の多様化について分子系統解析と形態解析によって研究を行った。その結果、列島内の地域間での分化が非常に大きく、列島形成時の歴史的な要因が大きな分化要因と考えられた。一方で遺伝的境界は多くの生物で指摘されているトカラ/ケラマギャップの他にも存在し、琉球列島の生物相形成史を再考する必要があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Multiple factors are involved in speciation and diversification within species, depending on the timescale. In this study, I used molecular phylogenetic and morphological analyses to investigate the diversification of cicada species in the Ryukyu archipelago where is one of the continental islands. My results indicate that differentiation among regions within the archipelago is extensive and that historical factors linked to the time of archipelago formation are significant factors in this differentiation. On the other hand, the boundaries of genetic differentiation exist besides the Tokara/Kerama gap described in other studies. As a result, it is necessary to reconsider the formation history of the biota of the Ryukyu archipelago.

研究分野：分子系統学

キーワード：地域分化 分子系統 琉球列島

## 1. 研究開始当初の背景

現在の地球上の生物多様性がどのようにして作られ、維持されてきているかは古くから生物学の命題として扱われてきた。その中でも島は海という強力な隔離機構が作用し、さらに大陸よりも環境変異が少ないことから分化に関わる要因が大陸にくらべればシンプルであり、分化のあった時期の特定も行いやすいなどの理由から進化学や生態学の恰好の舞台として古くから注目されてきた。しかし、分化に関わる要因とその効果は時間軸に沿って変化していくため、種分化や種内分化のメカニズムを明らかにするには時間軸を明らかにし、その時期に作用するメカニズムを推定することが必要である。

九州から台湾にかけての琉球列島(図1)は世界的にも生物多様性の高い大陸島の列島の一つとして知られている。琉球列島は生物地理的にはトカラギャップとケラマギャップの生物地理境界で区切られた北琉球、中琉球、南琉球の大きく3つの地域に分かれるとされ、この地域間で多くの分類群で生物相が異なる。また、大陸島である琉球列島は約300万年前以降に大陸の辺縁から切り離され成立したと考えられるが、列島成立後も第四紀の氷期間氷期サイクルにともなう海面変動によって島間をむすぶ陸橋の成立や消失が複数回あったと考えられる。さらにそれぞれの島も隆起、珊瑚礁、火山など起源が様々であるため環境が豊富である。このように琉球列島のセミは時間スケールごとの分化メカニズムの解明に適した研究系であると期待される。

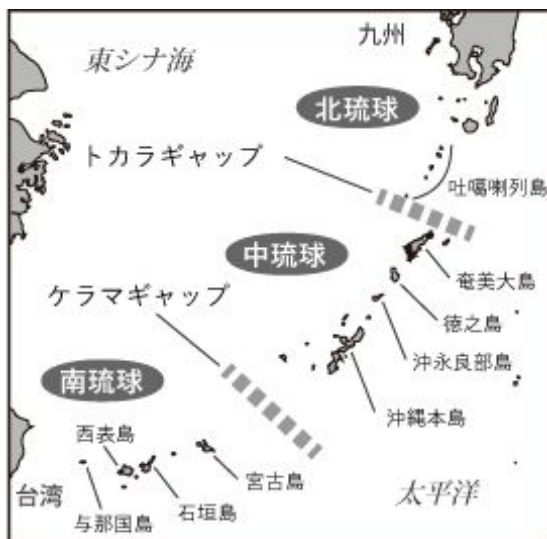


図1 琉球列島と代表的な島嶼

## 2. 研究の目的

本研究では琉球列島のセミを研究対象とする。琉球列島のセミはもっとも多様性の高い分類群の一つで、琉球列島には日本に

生息する種の半数以上にあたる19種のセミが分布しており、複数の固有種や地域多型も見られる。一部の属では北琉球、中琉球、南琉球の3地域ごとに種が異なっているが、多くの属では生物地理境界と一致しない分布をもっている。また、種内の地域間の形態分化は分類に伴って研究が行われているが、遺伝的研究はほとんどすすんでいない。そのため、琉球列島のセミの多様化のメカニズムはまだ不明であり、本研究ではこの多様性をもたらす要因を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

琉球列島には19種のセミが分布しているが(林・税所 2015)、このうち大型種のクマゼミ、中型種のアブラゼミ属2種(アブラゼミ *Graptopsaltria nigrofuscata*、リュウキュウアブラゼミ *G. bimaculata*)、小型から中型種のツクツクボウシ属5種(ツクツクボウシ *Meimuna opalifera*、クロイワツクツク *M. kuroiwa*、オガサワラゼミ *M. boninensis*、オオシマゼミ *M. oshimensis*、イワサキゼミ *M. iwasakii*)、小型種のニイニイゼミ属4種(ニイニイゼミ *Platypleura kaempferi*、クロイワニイニイ *P. kuroiwa*、ミヤコニイニイ *M. miyakona*、ヤエヤマニイニイ *P. yayeyamana*)、小型種のツマグロゼミ *Nipponosemia terminalis* の13種を対象とした。このうちオガサワラゼミは琉球列島ではなく海洋島である小笠原諸島の固有種であり、天然記念物のため当初は研究に含める予定ではなかったが、オガサワラゼミの調査グループに参画することができたため、研究に加えることができた。一方、琉球列島に分布するニイニイゼミ属には石垣島固有種のイシガキニイニイ *P. albivannata* が含まれているが、本種は種の保護法指定種であること、現存個体群が1つしかなく個体数も非常に少ないことから研究対象に含めなかった。研究期間内に複数回の現地調査を行うとともに、研究に協力していただける方から標本の提供を受け、それぞれの種について九州、屋久島、奄美大島、喜界島、徳之島、沖縄島、久米島、宮古島、石垣島、西表島、与那国島、小笠原(父島、母島)の標本を収集した。それぞれの島では複数の集団の標本を収集した。得られた標本は形態分化を評価するために、体長、体幅、翅長について形態計測を行った。また、分子系統解析と分岐年代推定、遺伝的多様性を評価するために、ゲノムDNAを抽出し、ミトコンドリアCOI遺伝子と核の複数の遺伝子の塩基配列を決定した。また、一部の種はMIG-seq法(Suyama & Matsuki 2015)によってゲノムワイドなSNP解析を行った。

## 4. 研究成果

### (1)クマゼミにおける地域分化

クマゼミは関東地方から与那国島まで分布し、確実な分布記録がある範囲では日本固有種である。クマゼミの地域分化としては腹部のワックス部の発達が大きく異なっており、過去にはこれをもとに3亜種に分けられていた。分布域を網羅する75集団約600個体のミトコンドリアDNAの解析では3つのグループが検出された。このうち、関東から鹿児島県の吐噺列島までの本州系と与那国島、西表島、石垣島の八重山系の個体が1つのグループとなり、さらに沖縄本島とその周辺属島のグループと宮古島の個体のグループが検出された。また、この中では多数の個体を解析したにもかかわらず、本州系のグループが遺伝的分化が最も小さく、遺伝的多様性も低かった。一方、これらの分化は核遺伝子では検出されなかった。形態ではワックス部が非常に発達する与那国島のグループ、与那国島の集団に次いでワックス部が発達する西表島と石垣島のグループ、ワックス部が線状であり発達しない関東から吐噺列島までのグループ、ワックス部の発達がほとんど見られない宮古島と沖縄本島のグループの4グループに分かれた。ミトコンドリアの系統での本州系と八重山系が近縁である結果は分布的には奇妙であるが、形態とミトコンドリアの系統を比較すると、ワックス部があるという点で一致する。また従来から奄美大島や徳之島といった奄美地方には分布しないとされていたが、近年は分布していることが知られている。本研究でも奄美大島の個体を解析したが、形態とミトコンドリアの形態は本州系と一致した。

### (2)アブラゼミ属2種の地域分化

この地域のアブラゼミ属は屋久島から北海道、朝鮮半島、中国大陸北部にアブラゼミが、奄美大島、徳之島、沖縄本島、久米島などの中琉球にリュウキュウアブラゼミが分布する。系統解析ではアブラゼミ種内の分化は小さかったがリュウキュウアブラゼミ種内の分化は非常に大きく、奄美地方（奄美大島、徳之島など）と沖縄地方（沖縄本島、久米島など）の個体が明瞭に分けられた。さらにそれぞれの地方内でも遺伝的分化がみられ、遺伝的多様性も高かった。この結果は複数の核遺伝子による系統解析やMIG-seqによるゲノムワイドなSNP解析からも支持された。形態解析においてはアブラゼミの種内では形態変異はほとんど見られなかったが、リュウキュウアブラゼミの奄美地方と沖縄地方の間では形態差がみられ、また鳴き声にも奄美地方と沖縄地方の集団の間で違いが見られた。

### (3)ツクツクボウシ属5種の地域分化

ツクツクボウシ属は大陸島である日本列島や琉球列島だけではなく、海洋島である小笠原諸島にも分布する。このうち小笠原諸島

に分布するオガサワラゼミは琉球列島に分布するクロイワツクツクの移入の可能性も指摘されていた（林・税所 2015）。一方で江戸時代に書かれた書物にセミの記述があることから在来である可能性も指摘されていた（大林 2014）。

ミトコンドリアDNA 2領域に基づく系統解析ではイワサキゼミ、オオシマゼミ、ツクツクボウシはそれぞれ単系統であったが、クロイワツクツクはオガサワラゼミの側系統となった。5種の中では本州から九州にかけて分布するツクツクボウシが種内の遺伝的分化が最も少なく、オオシマゼミとクロイワツクツクでは種内の遺伝的分化が大きかった。この両種では奄美地方と沖縄地方の集団がそれぞれ単系統となった。また、オガサワラゼミは沖縄地方のクロイワツクツクの姉妹群となった（図2）。この結果は複数の各遺伝子に基づく系統解析でも一部の分岐順の不一致を除けば同様であった。また分岐年代推定の結果からはオガサワラゼミの分化は数十万年前であり、沖縄のクロイワツクツクに近縁であるものの近年の移入ではなく小笠原固有の在来種であることが明らかになった。クロイワツクツクはトカラギャップを越えて九州の大隅半島の一部にも分布しているが、トカラギャップを挟んだ集団間の分岐は浅く、またトカラギャップの南北の集団とも固有の系統を持っていることから、この分布は人為移入などではなくトカラギャップ成立後の分布拡大によるものと考えられる。オオシマゼミでは形態にも奄美地方と沖縄地方で種内分化が見られた。また、クロイワツクツクでは奄美地方と沖縄地方で鳴き声のパターンに違いが見られた。これは分子系統の結果と一致し、系統的な分化であると考えられた。

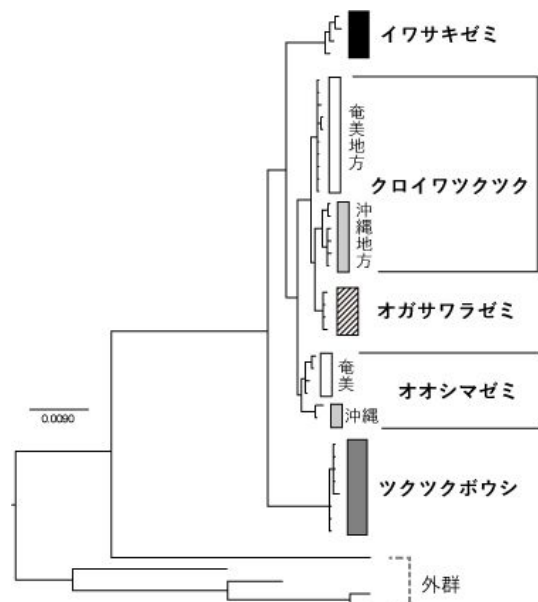


図2 核遺伝子4領域の塩基配列に基づくツクツクボウシ属の系統関係

#### (4) ニイニゼミ属 4 種の地域分化

琉球列島に分布するニイニゼミ属はニイニゼミを除く種はすべて琉球列島固有である。ミトコンドリア DNA の結果からはニイニゼミを除くそれぞれ種は単系統であった。一方でニイニゼミは本州系、奄美地方、沖縄地方がそれぞれ単系統であったが、沖縄地方のニイニゼミがクロイワニイニと姉妹群であるなど、分類との間に一致が見られなかった。これらの結果は研究期間中に公表された先行研究 (Osozawa et al. 2017) でも同様であった。本研究では海外産のニイニゼミや別種、奄美大島や徳之島などの奄美地方のクロイワニイニを収集できず、解析することができなかったが、この先行研究では奄美地方のクロイワニイニだけでなく中国や台湾の個体も含められており、本研究で見られたニイニゼミの多系統性をより明確に示している。

#### (5) ツマグロゼミにおける地域分化

ツマグロゼミは中国大陸から台湾、そして与那国島から宮古島まで分布しており、ケラマギャップが分布境界となっている小型の種である。台湾、与那国島、石垣島、西表島、宮古島の個体を用いて分子系統解析を行ったところ、与那国島、石垣島、西表島からなる八重山地方の 3 島と宮古島は系統が大きく離れていた。これはミトコンドリア遺伝子、核遺伝子ともに同じ結果であった。一方で同じクサゼミ亜科に属するイワサキクサゼミではミトコンドリア DNA の系統解析では八重山地方と宮古島の間には特段大きな遺伝的分化は認められなかった。宮古島のツマグロゼミは八重山地方のツマグロゼミとは起源が異なっていることが示された。

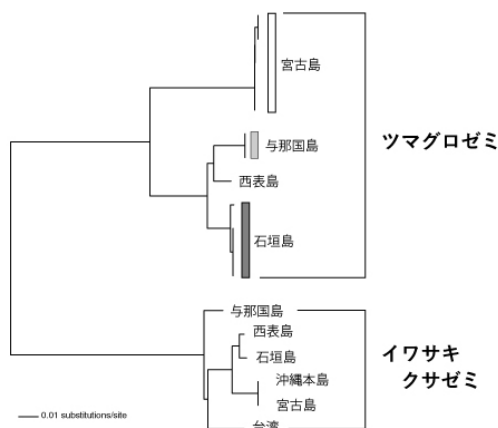


図 3 ミトコンドリア COI 遺伝子の塩基配列に基づくツマグロゼミとイワサキクサゼミの系統関係

#### (6) 結論と今後の展望

以上のように、琉球列島のセミはいずれの種においても、地理的分断が非常に大きく作用していることが明らかになった。種内で見られた形態差も多くの種では系統で説明でき、気温などの環境勾配による形態の違いで

はないことが示唆された。また日本列島内と琉球列島内では遺伝的分化や遺伝的多様性に違いが見られ、琉球列島の方が種内の遺伝的分化が大きくや遺伝的多様性も高い種が多かった。これまでの琉球列島の生物を対象にした研究では、トカラギャップとケラマギャップによる分断が大きく北琉球・中琉球・南琉球の 3 地域に分かれる例が多いとされてきた。今回の研究では、琉球列島のセミは分布境界がトカラ・ケラマギャップに一致する種は多く、ギャップを超えて分布している種についてもそれぞれのギャップが遺伝的分化の境界と一致していた。一方で、ギャップで区切られたそれぞれの地域内でも中琉球の奄美地方と沖縄地方、南琉球の宮古島地方と八重山地方での大きな分化が複数種で見られた。これらはそれぞれのギャップに匹敵する地史的な分断がそれぞれの地域にもあったことを示唆している。近年、特に両生類や爬虫類で分子系統の研究が進み、宮古島の遺伝的な独自性や、沖縄地方と奄美地方の分化について報告されている (Kaito & Toda 2016 など)。これらを合わせると奄美地方と沖縄地方、宮古島地方と八重山地方が比較的古くから分断していたことが考えられ、他の分類群においてもさらなる研究が必要であると考えられる。

また、サンガー法によって得られた核遺伝子の塩基配列による系統解析ではミトコンドリア DNA では検出することのできた分化が見られない種もあった。しかし、一部の種で実施した MIG-seq 法では種内の遺伝的分化をミトコンドリア DNA と同様のレベルで検出することが可能であった。MIG-seq 法は RAD-seq 法よりも必要 DNA 量が少ないなどのメリットがあり、セミの種内分化や近縁種間の系統解析にじゅうぶん有効であると考えられる。

琉球列島はユーラシア大陸からの分離、その後の隆起と沈降、さらに氷期間氷期サイクルにおける海水面変動の影響によって非常に複雑な地史をもっており、その成立過程は地学分野においても一致した見解が得られていない。本研究を含む、琉球列島の生物の網羅的な系統解析はそれぞれの種の分化過程を明らかにするだけではなく、世界遺産の候補地でもある琉球列島の地史的な成立過程や生物相の成立過程の解明に大きく寄与するため、いっそうの研究が必要だろう。

#### < 引用文献 >

林正美・税所康正 (2015) 改訂版日本産セミ科図鑑。誠文堂新光社。

Kaito T. and Toda M. (2016) The biogeographical history of Asian keelback snakes of the genus *Hebius* (Squamata: Colubridae: Natricinae) in the Ryukyu Archipelago, Japan. *Biological Journal of Linnean Society*, 118, 187-199.

大林隆司 (2014) 小笠原諸島における最初のセミの記録はいつか? Cicada、21、45-49 .

Osozawa S., Shiyake S., Fukuda H. and Wakabayashi J. (2017) Quaternary vicariance of *Platypleura* (Hemiptera: Cicadidae) in Japan, Ryukyu, and Taiwan islands. Biological Journal of Linnean Society, 121, 185-199.

Suyama Y. and Matsuki Y. (2015) MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using next-generation sequencing platform. Scientific Reports, 5, 16963.

## 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 1 件)

長太伸章、岡徹 (2016) ミトコンドリア DNA に基づく先島諸島におけるツマグロゼミの系統関係、Cicada、23、9-11(査読なし)

[学会発表](計 4 件)

長太伸章、大林隆司、戸田守、曾田貞滋 (2017) 太平洋北西部地域の島嶼における *Meimuna* 属の分化. 日本進化学会第 19 回大会. 2017 年 8 月 24 日(京都府京都市)

長太伸章 (2017) セミの系統地理から見る琉球列島の隠れた分化. 第 64 回日本生態学会生態学ライトニングトーク. 2017 年 3 月 15 日. 早稲田大学(東京都新宿区)

長太伸章 (2016) DNA から見たオガサワラゼミ. 小笠原村ビジターセンター講演会「オガサワラゼミの"ナゾ"はどこまでとけたか?」. 2016 年 10 月 14 日. 小笠原村ビジターセンター(東京都小笠原村)

長太伸章、大林隆司、林正美 (2016) オガサワラゼミの系統的位置と遺伝的多様性. 第 63 回日本生態学会. 2016 年 3 月 21 日(宮城県仙台市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

長太 伸章(NAGATA, Nobuaki)  
国立科学博物館・標本資料センター  
研究者番号:70533264

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者