

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2005～2008

課題番号：17405007

研究課題名 (和文) 東アジアにおける甲虫類の歴史生物地理

研究課題名 (英文) Historical Biogeography of beetles in East Asia

研究代表者：

曾田貞滋 (SOTA TEIJI)

京都大学大学院理学研究科・教授

研究者番号：00192625

研究成果の概要：

本研究では、日本列島を中心に、東アジアの甲虫類の生物地理学的な歴史を、分子系統地理学の手法を用いて解析した。主な研究対象はオサムシ亜族、ネクイハムシ亜科、ハンミョウ科である。中国各地、ロシア沿海州・サハリン州、韓国、タイ、ネパール、ベトナム、フィリピン、バングラディシュ、インド、カナダマニトバ州・オンタリオ州、アメリカ東部、および日本国内での調査を行い、各系統群の地理的分化の歴史的過程を解明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	2,500,000	0	2,500,000
2006 年度	2,100,000	0	2,100,000
2007 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
総計	8,700,000	1,230,000	9,930,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学，生態・環境

キーワード：系統地理，昆虫，遺伝子，分子系統，アジア，種分化

1. 研究開始当初の背景

東アジアの東縁にある日本列島は、多様な生物相を保持している。その由来は、中期中新世における日本列島誕生以降の大陸からの生物群の移入と、列島内での種分化にある。日本列島の生物相の起源となる大陸とその周辺の生物の系統進化・生態的特性を解明することによって、日本列島の生物多様性の成立過程を理解できると同時に、その生物多様性を保全するために有用な情報を得ることができる。近年、生物の種分化・分布形成過程を解明する上で、DNAの塩基配列情報を用いた分子系統学・系統地理学・集団遺伝学の解析手法が急速に発展してきた。こうした手法を用いることによって、日本列島の生物多様性の成立過程と、遺伝的な多様性の現状を、より正確に理解することができる。

2. 研究の目的

本研究では、歴史生物地理学的研究の対象として好適な甲虫類（オサムシ亜族、ハンミョウ科、ネクイハムシ亜科）を対象にし、中国、ロシア、韓国を含む大陸における野外調査と、得られた標本についての分子系統学的分析を行って次の点を明らかにすることを目的とした。（1）対象分類群について、東アジア地域全体の系統樹を構築し、日本産の直接の姉妹種・姉妹群を特定し、祖先系統の日本への移入時期・経路を明らかにする。（2）大陸の姉妹種・群の地理的分化・種分化・生態分化の様式を解明し、日本の姉妹種・群の分化様式と比較し、大陸と日本の環境特性の違いと関連づける。（3）東アジアにおける各分類群の種多様性の構造を系統進化学的に明らかにし、保全上重要な地域と地理的集団を特定する。

3. 研究の方法

野外調査：各年度において次のような野外調査を実施した。

2005年度：日本列島に現在生息する5種のミズクサハムシ属の系統地理構造を明らかにし、大陸からの移入・国内における分布変遷の歴史を推定するため、韓国南部（5月）、ロシア沿海州（6月）、サハリン南部（7月）、九州から北海道までの国内各地（5～7月）で調査を行なった（曾田）。ナミハンミョウ類（*Sophiodela* 亜属）の起源を解明するため、ネパール、タイ、韓国において同種もしくは関連する種の採集を行なった（堀）。東アジアにおけるオサムシ亜族の種分化を明らかにするため、中国湖北省・陝西省（9月）、ロシア沿海州（6月）・サハリン南部（7月）

における採集を行なった（曾田）。

2006年度：東アジアのミズクサハムシ属の固有種の起源を明らかにするために、北米（カナダ）における本属の調査を行った（5月）。ヨーロッパの固有種については研究協力者に依頼して入手した。ハンミョウ類については、ベトナムおよびフィリピンにおいて採集調査を行った。オサムシ亜族については、中国河南省・江西省における採集調査を行なった（6月）。

2007年度：6月に、中国陝西省・四川省における調査を行ない、オサムシ類、ネクイハムシ類を採集した（曾田）。また、7月には北海道においてネクイハムシ類の調査を行なった（曾田）。また、7月～8月に、バングラディシュにおいてハンミョウ類の調査を行なった（堀・細）。

2008年度：中国貴州省におけるオサムシ亜族、ネクイハムシ亜科の調査を6～7月におこなった（曾田）。ハンミョウ類については、インド北部において9月に調査を行った（堀・細）。

分子系統・系統地理学的分析：得られた分析用標本から総ゲノムDNAを抽出し、主としてミトコンドリア遺伝子（COI, ND5, 16S）の塩基配列を決定した。また目的に応じて、核遺伝子（28S, PepCK, wingless, EF-1a 他）の塩基配列も決定した。塩基配列データを用いて、分子系統樹を作成し、系統分化、分散・分断過程を解析したほか、分子分散分析、階層的クレード解析、コアレセントシミュレーションによる解析などによって、地理的集団の分化、移動分散・分断過程などに関する詳細な分析を行った。

4. 研究成果

ネクイハムシ亜科については、ミズクサハムシ属の日本列島内での分布成立過程と、全北区における本属の地理的分化過程を分子系統解析によって明らかにした。本属は始新世にヨーロッパと北米+アジアの系統に分化し、その後、北米とアジアの間で繰り返し分岐したことが分かった。また、日本の2種の固有種のオオミズクサハムシ、アキミズクサハムシはそれぞれ別々の起源を持つことが明らかになり、従来の姉妹種説が覆された。日本産のミズクサハムシ属5種については、ミトコンドリアCOI遺伝子塩基配列を用いた系統地理解析を行い、化石記録をカリブレーションに利用して、地理的分化年代を推定した。鮮新世から分布するオオミズクサハムシ、アキミズクサハムシ、中期更新世以降に分布するキヌツヤミズクサハムシ、シラハタ

ミズクサハムシ、北海道のみに分布し、分布年代が比較的新しいヒラシマミズクサハムシはそれぞれ異なる系統地理パターンを持つことを示した。またこの研究で、時間スケールに依存する COI 遺伝子の進化速度を推定した。推定した進化速度は他の昆虫の分化年代の推定に利用され始めている。また、ネクイハムシ類の調査で特筆すべきこととしては、ネクイハムシ亜科のうちほぼ完全に水中生活をするキイロネクイハムシ類について新しい知見が得られたことである。このグループは発見が困難で、また絶滅危惧の個体群も多く、早急の調査が必用とされている。本研究では北米の近縁種の試料を得るとともに、中国の共同研究者とともに中国国内での試料採集を行い、分子系統解析を進めている。

ハンミョウ類の研究では、日本国内でも奄美・沖縄・九州以北の間で著しい分化の見られるナミハンミョウ類 (*Sophiodela* 亜属) について、ミトコンドリア 16S rRNA, 核 28S rRNA 遺伝子の配列に基づく系統解析を行なった。その結果、*Sophiodela* 亜属は従来の説のように *Cicindera* 属には含まれず、色彩パターンが類似し東南アジアおよび南アジアに分布する *Cosmodera* 属および *Calochroa* 属に近い独自の系統であることが明らかになった。また、ナミハンミョウ類の地理的分化について、ミトコンドリア COI 遺伝子による分析を行い、アマミハンミョウが東アジア大陸、沖縄、日本本土と最初に分化した系統であることが明らかになった。

オサムシ亜族に関しては、これまで種間の系統関係が明らかになっていなかったクロナガオサムシ亜属について、ミトコンドリア遺伝子と核遺伝子を比較する研究を行い、核遺伝子で種間関係を明確にするとともに、交雑に起因すると考えられるミトコンドリアの種間移入を推定した。日本固有のオオオサムシ亜属では、ヤマトオサムシ、ミカワオサムシなど個々の種の歴史生物地理的側面を解明するとともに、亜属全体についての系統地理の知見を整理し、論文としてまとめた。この分析で、本亜属の種分化はほとんどが、島嶼隔離によらずに本土(本州、四国、九州)内で起こったもので、周辺島嶼への隔離・分化は歴史が浅いことが明確になった。東アジア大陸部(中国)におけるオサムシ亜族の多様化に関しては、トゲオサムシ属、タイリクオオオサムシ亜属を主とした調査を行い、骨組みとなる分析試料を収集した。しかし、分布域が広大で、種の多様化が著しいため、包括的な分析のためにはさらに野外調査を継続する必要がある。

上記の主研究対象以外にも、本研究では東アジアの昆虫の歴史生物地理を解明する上で重要と考えられる昆虫について、平行して

研究を行った。

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 21 件)

(査読有り 1~20)

- (1) 佐藤綾・上田哲行・堀道雄 (2005) 打ち上げ海藻を利用する砂浜の小型動物相: ハンミョウとハマトビムシの関係. 日本生態学会誌, 55:21-27.
- (2) Satoh, A. & Hori, M. (2005) Microhabitat segregation in larvae of six species of coastal tiger beetles in Japan. *Ecological Research*, 20:143-149.
- (3) Satoh, A., Ueda, T., Ichion, E. & Hori, M. (2006) Distribution and habitat of three species of riparian tiger beetle in the Tedori River System of Japan. *Environmental Entomology*, 35:320-325
- (4) Satoh, A., Momoshita, H. & Hori, M. (2006) Circadian rhythmic behaviour in the coastal tiger beetles *Callytron inspecularis* in Japan. *Biological Rhythm Research*, 37:147-155.
- (5) Sota, T. & M. Mogi (2006) Origin of pitcher-plant mosquitoes in *Aedes* (*Stegomyia*): a molecular phylogenetic analysis using mitochondrial and nuclear gene sequences. *Journal of Medical Entomology* 43: 795-800.
- (6) Zhang, A. B., K. Kubota, Y. Takami, J. L. Kim, J. K. Kim & T. Sota (2006) Comparative phylogeography of three *Leptocarabus* ground beetle species in South Korea based on mitochondrial COI and nuclear 28SrRNA genes. *Zoological Science* 23: 745-754.
- (7) Hayashi, M. & T. Sota (2006) Collection records of Canadian Donaciinae (Coleoptera: Chrysomelidae) with ecological notes. *Entomological Review of Japan* 61: 131-142.
- (8) Sota, T., Y. B. Cho, J. L. Kim & M. Hayashi (2006) Occurrence of *Plateumaris shirahatai* (Coleoptera: Chrysomelidae) in South Korea. *Entomological Review of Japan* 61: 11-13.
- (9) Sota, T., M. Hayashi & T. Yagi (2007) Geographic variation in body and ovipositor sizes in the leaf beetle *Plateumaris constricticollis* (Coleoptera: Chrysomelidae) associated with climatic and host plant conditions. *European Journal of Entomology* 104: 165-172.
- (10) Sota, T. & M. Hayashi (2007) Comparative historical biogeography of *Plateumaris* leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in Japan: interplay between fossil and molecular data. *Journal of Biogeography* 34: 977-993.
- (11) Nagata, N., K. Kubota & T. Sota (2007)

Phylogeography and introgressive hybridization of the ground beetle *Carabus yamato* in Japan based on mitochondrial gene sequences. *Zoological Science* 24: 465-474.

(12) Nishi, H. & T. Sota (2007) Geographical divergence in the Japanese land snail *Euhadra herklotsi* inferred from molecular phylogeny and genital characters. *Zoological Science* 24: 475-485.

(13) Yamamoto, S. & T. Sota (2007) Phylogeny of the Geometridae and the evolution of winter moths inferred from a simultaneous analysis of mitochondrial and nuclear genes in Japanese species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44:711-723.

(14) Zhang, A. B. & T. Sota (2007) Nuclear gene sequences resolve species phylogeny and mitochondrial introgression in *Leptocarabus* beetles showing trans-species polymorphisms. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 534-546.

(15) Sota, T., S. Shiyake & M. Hayashi (2007) Donaciine beetles collected in Primorsky and Sakhalin, Russia, 2005, with a note on the seasonal occurrence of donaciine beetles in Primorsky. *Entomological Review of Japan* 62: 121-126.

(16) Nagata, N., K. Kubota, K. Yahiro & T. Sota (2007) Mechanical barriers to introgressive hybridization revealed by mitochondrial introgression patterns in *Ohomopterus* ground beetle assemblages. *Molecular Ecology* 16: 4822-4386.

(17) Sota, T., L. Bocak & M. Hayashi (2008) Molecular phylogeny and historical biogeography of the Holarctic wetland leaf beetle of the genus *Plateumaris*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46: 183-192.

(18) Sota, T. & N. Nagata (2008) Diversification in a fluctuating island setting: rapid radiation of *Ohomopterus* ground beetles in the Japanese Islands. *Phil. Trans. Roy. Soc. B.* 363: 3377-3390.

(19) Nagata, N., K. Kubota, Y. Takami & T. Sota (2009) Historical divergence of mechanical isolation agents in the ground beetle *Carabus arrowianus* as revealed by phylogeographic analyses. *Molecular Ecology* 18: 1408-1421.

(20) Ikeda, H., K. Kubota, Y-B. Cho, H. Liang & T. Sota. Different phylogeographic patterns in two Japanese *Silpha* species (Coleoptera: Silphidae) affected by climatic gradients and topography. *Biological Journal of the Linnean Society* (in press)

(査読無し)

(21) 林成多・曾田貞滋 (2007) カナダ産キイロネクイハムシ類 *Neohaemonia* の生態〜キイロネクイハムシを探すヒント〜. 月刊む

し 434:16-19.

[学会発表] (計 8 件)

- (1) 長太伸章・久保田耕平・曾田貞滋 Nested Clade Analysis に基づくミカワオサムシの系統地理と形態進化過程の推定 (日本進化学会第 6 回大会. 2004.8 東京)
- (2) 長太伸章・久保田耕平・曾田貞滋 ミトコンドリア DNA に基づくヤマトオサムシの分子系統地理: 地理的分化と浸透交雑の推定 (日本進化学会第 7 回大会. 2005.8 仙台)
- (3) 曾田貞滋 分子系統・化石記録によるネクイハムシ類の歴史生物地理 (日本動物分類学会シンポジウム「生物多様性ホットスポットとしての中国山地: 動物の地理的分化・種分化・交雑帯」2006.9 松江)
- (4) 長太伸章・久保田耕平・八尋克郎・曾田貞滋 オオオサムシ亜属のサイズ分化と機械的生殖隔離 (日本進化学会第 9 回シンポジウム「適応分化と生殖隔離」2007.8 京都)
- (5) 山本哲史・曾田貞滋 日本産フユシヤク類の系統地理 (日本生態学会第 55 回大会 2008.3 福岡市)
- (6) 長太伸章・久保田耕平・高見泰興・曾田貞滋 ミカワオサムシにおける系統地理と交尾器形態の分化 (日本生態学会第 55 回大会 2008.3 福岡市)
- (7) Yamamoto S. & Sota T. Molecular phylogeny of Geometridae and the evolution of winter moths (2008.6. 5th Forum Herbulot, Munich, Germany)
- (8) 長太伸章・久保田耕平・八尋克郎・曾田貞滋 近畿地方に分布するオオオサムシ亜属 4 種の種分化と遺伝子浸透 (日本生態学会第 56 回大会. 2009.3 盛岡)

[図書] (計 1 件)

- (1) 曾田貞滋 (2007) 分子系統で紐解くオサムシの自然史. Pp. 71-106. 片倉晴雄・馬渡峻輔編. 動物の多様性. シリーズ 21 世紀の動物科学 2. 培風館. (分担執筆)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

曾田貞滋 (SOTA TEIJI)
 京都大学大学院理学研究科・教授
 研究者番号: 00192625

(2)研究分担者

堀 道雄 (HORI MICHIO)
京都大学大学院理学研究科・教授
研究者番号：40112552

(3)連携研究者

登録なし

(共同研究者)

Liang, Hongbin 中国科学院動物学研究所・副
研究員)

Zhang, Aibing 日本学術振興会外国人特別研
究員 (現・北京師範大学)・教授

Kim, Jung-Lark Uiduk University, Gyeongju,
Korea

Kim, Jung-Kuk Kangwon National University,
Chunchon, Korea

Cho, Young-Bok Hannam University, Daejeon,
Korea

林 成多 ホシザキグリーン財団野生生物
研究所・研究員

長太伸章 京都大学大学院理学研究科・研究
員

辻かおる 京都大学大学院理学研究科・修士
課程 (現在・博士後期課程)

茂木幹義 元佐賀医科大学医学部

初宿成彦 大阪市立自然史博物館・学芸員

久保田耕平

東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授

八木 剛 兵庫県立人と自然の博物館・学芸
員

高見泰興 神戸大学大学院人間発達環境学
研究科・准教授

八尋克郎 滋賀県立琵琶湖博物館・学芸員

Bocak, Ladislav Palacky University, Olomouc,
Czech Republic

山本哲史 京都大学大学院理学研究科・博士
後期課程 (現在・日本学術振興会特別研究
員)

西 浩孝 京都大学大学院理学研究科・博士
後期課程 (現在・豊橋市立自然史博物館・
学芸員)

佐藤 綾 琉球大学理学部・助教

細 将貴 日本学術振興会特別研究員