

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25840140

研究課題名(和文) 無脊椎動物を用いた中国地方の生物地理学的重要性の検証

研究課題名(英文) Inspection of the biogeographical importance of the Chugoku district using invertebrates

研究代表者

富川 光 (Tomikawa, Ko)

広島大学・教育学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70452597

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：中国地方には海峡や大地質構造線のような大きな地理的障壁がないにもかかわらず、多くの生物種で遺伝的・形態的な分化が集中して生じている。本研究では、移動分散能力が低く、生物地理学的研究材料として最適であるヨコエビ類、ヒル類、マイマイ類を材料として、分子系統解析・形態解析・飼育実験を行い、中国地方の生物地理学的重要性を検証した。

研究成果の概要(英文)：In the Chugoku district, genetic and morphological divergences of various taxon concentrate despite absence of geographical walls such as the straits or the large tectonic line. This study inspected the biogeographical importance of the Chugoku district based on molecular phylogenetic analyses, morphological analyses, and feeding experiments using amphipods, leeches, and land snails.

研究分野：生物学

キーワード：中国地方 生物地理 無脊椎動物

### 1. 研究開始当初の背景

中国地方には海峡や大地質構造線のような大きな地理的障壁がないにもかかわらず、昆虫類、ザトウムシ類、両生類など多くの生物種で遺伝的・形態的な分化が集中して生じている(曾田 2003, Tsurusaki 2006, 松井 2003 など)。また、近年の分子系統学的研究により、ニホンジカ、ニホンザル、ツキノワグマ、ブナなどでも中国地方の陸地に本土全体を2分割するような遺伝的ギャップが存在することが明らかになってきた(Tamate 2009 など)。花粉分析で過去の分布域の変動が推測できるブナでは、氷期でも黒潮の影響で温暖であった九州南部、四国南部、紀伊半島などに形成されたレフュジア(避難地域)に隔離されている間に遺伝的分化が発達し、その後の温暖化により九州と近畿地方のレフュジア由来の個体群が北上と分布拡大することにより中国地方で遭遇し、現在の分化境界が形成されたと考えられている(Fujii *et al.* 2002)。これらのことから、中国地方は従来考えられていた以上に日本における生物進化の重要地域であるといえる。しかし、動物では広域にわたる詳細な化石記録が残ることはきわめて稀で、過去の気候変動と分布域や集団サイズの変動の関係も不明であるため、中国地方に集中する地理的分化の成立過程や、分化をもたらした進化的要因は明らかにされていない。

中国地方の生物地理学的重要性が十分に評価されていない主因は、この地域における地理的分化の成因が未解明であるためとの考えのもと、申請者は分散能力が低く、氷期において異なる地理的・気候的影響を受けていたことが予想される無脊椎動物3種(シマイシビル、ニッポンヨコエビ、コウダカシロマイマイ)に着目して系統地理学的研究を行ってきた。シマイシビル(分布:日本全国)とコウダカシロマイマイ(分布:中国・四国)は、それぞれ温暖な河川中・下流域および常緑広葉樹林に分布するため、分布は氷期の気候的影響を大きく受けたと考えられる。また、コウダカシロマイマイは基本的に河川を越えて分布を拡げることが不可能であるため、中国地方を南北に流れる河川が東西の集団間の遺伝的交流の障壁として働いていた可能性がある。いっぽう、ニッポンヨコエビ(分布:近畿以西の本州・四国・九州)は冷涼な河川上流に分布するため、氷期には温度以外の気候的要因(たとえば乾燥化など)も影響していたことが予想される。これまでの研究の結果、これら3種は地域集団間の遺伝的分化が大きく、それは過去の分布変動を反映していると考えられることが明らかとなった。また、シマイシビルについてはレフュジアの存在も予想された。しかし、系統解析に用いた遺伝子領域は限られており、予測されるレフュジアの位置も特定できていない。また、形態の地理的分化パターンも明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、上記の3種を対象とし、分子系統学的・比較形態学的解析および交雑実験により、無脊椎動物の系統分岐、形態の地理的分化パターン、系統間の生殖的隔離の強度と中国地方の古地理的・古気候的環境との相関を調べることで、この地域に集中する遺伝的・形態的分化の成立過程と分化をもたらした進化的要因を明らかにすることとした。また、本研究の結果と既知の中国地方における動植物の地理的分化のデータを用いて、中国地方の生物地理学的重要性を検証することも目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 野外調査

シマイシビルとニッポンヨコエビは、河川の転石や落ち葉の下などから手網を用いて採集する。コウダカシロマイマイは樹上や草上から見つけ取りで採集した。水温や気温、標高などの生息環境データも記録した。形態学的研究・分子系統解析用サンプルは、採集地で99%エタノールで固定・保存した。調査は、北海道から九州まで、各種の分布域を網羅的に調査した。

#### (2) 分子系統解析

野外調査で得られた標本を研究室に持ち帰り、分子系統解析を行った。分子系統解析には先行研究(Tomikawa *et al.* 2007a, b, 2010, 2012 など)で系統解析に用いられているミトコンドリアDNAのCOI・12S・16S rRNA領域、核の18S・28S rRNA領域の塩基配列を用いた。DNAはPCR法で目的の領域を増幅し、ダイレクトシーケンス法により特定の遺伝子の塩基配列を決定した(シーケンサーは大学内の共同利用施設のものを利用)。塩基配列は、ベイズ法、最尤法、最節約法などで解析し、分子系統樹を作成した。また、遺伝的集団構造を解明するため、ハプロタイプ多様度や塩基多様度を算出し、集団階層解析を行った。

#### (3) 形態解析

野外調査で得られた標本を研究室に持ち帰り、形態解析を行った。シマイシビルは実体顕微鏡下で体環構造等を確認した後に解剖し、生殖器等の内部構造を観察した。ニッポンヨコエビは実体顕微鏡下ですべての付属肢を外し、ガムクロラール液でスライドガラス上に封入した後、光学顕微鏡で観察した。コウダカシロマイマイは殻の形状や色彩を観察するとともに、実体顕微鏡下で内部形態(特に生殖にかかわる恋矢)を観察した。これらの形質観察には、適宜、走査型電子顕微鏡を用いて微細形質を確認した。

#### (4) 飼育実験

野外調査で得られた成体を研究室に持ち帰り、飼育実験を行った。繁殖行動として、交配前隔離の有無や程度を明らかにするために主要な地域集団間で交雑実験を行った。

#### 4. 研究成果

ニッポンヨコエビについて、分布域を網羅するサンプリングを行い、ミトコンドリアの COI および核の 28S rRNA 遺伝子の部分領域を用いて分子系統解析を行った結果、ニッポンヨコエビは地域ごとに遺伝的に大きく分化していることが分かり、現在、各個体群間の遺伝的交流はほとんど生じていないことが示唆された(論文)。また、瀬戸内海は系統の分化境界とはなっていないことから、比較的近年まで瀬戸内海をまたいだ個体群間の交流が生じていたことが示唆された。これは、瀬戸内海の形成が約 8000 年前と新しいという地史的な特徴とも整合性がとれる。いっぽう、個体群間の系統関係については十分な解像度で解析することができず、個体群間で大きな遺伝的分化が生じた要因については明らかにできなかった。今後、解析するサンプル数および遺伝子領域を増やしていく必要がある。

図 1

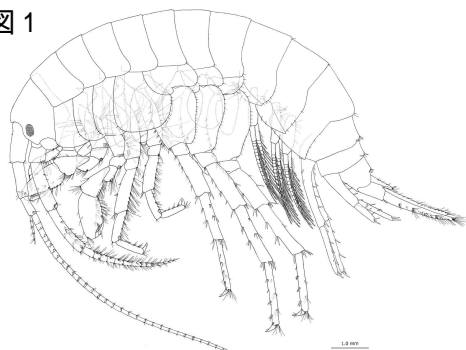


FIGURE 3. *Gammarus mukudai* sp. nov., holotype, male (13.5 mm), NSMT-Cr 22722, Shinjounishifure, Katsumoto, Iki, Nagasaki Prefecture, Japan. Habitus, lateral view.

本研究により、従来ニッポンヨコエビとされてきた長崎県壱岐および対馬の個体群がニッポンヨコエビとは別種であることが明らかになり、*Gammarus mukudai* Tomikawa et al., 2014 として新種記載した(論文, 図 1)。本種はニッポンヨコエビに似るが、第 2 触角の柄部の刺毛数が少ないことや胸肢の刺毛数が少ないことで明確に区別される。*Gammarus mukudai* は壱岐と対馬に分布するが、それぞれの島の個体群は単系統とはならないことが明らかになった。壱岐と対馬の間の対馬海峡は壱岐と九州との間の壱岐水道と比較して水深が深く、成立年代もずっと古い。それにもかかわらず、壱岐水道が本種とニッポンヨコエビの分布境界となり、いっぽうで対馬海峡は *G. mukudai* の系統の分化境界とはなっていないことは大変興味深い。今後、淡水性ヨコエビの分布拡大過程や種間関係について研究を進めることで、現在壱岐、対馬、九州でみられるこれら 2 種の分布が説明できるかもしれない。

図 2

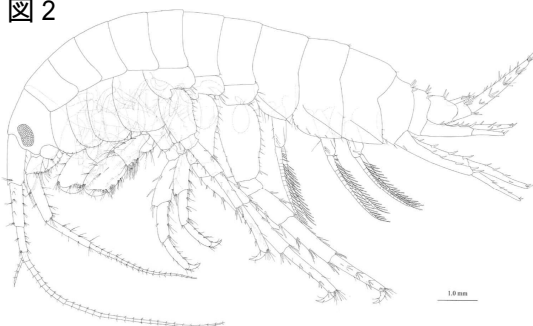


Figure 4. *Jesogammarus (Jesogammarus) ikiensis* sp. n., holotype, male, 13.1 mm, NSMT-Cr 24107, Ishida, Iki, Nagasaki Prefecture, Japan. Habitus, lateral view.

オオエゾヨコエビ属 *Jesogammarus* は日本、韓国、中国の淡水・汽水に分布するヨコエビである。日本では北海道および琵琶湖以東の本州が分布の中心であり、わずかに汽水性の 1 種が四国と九州に分布する。本研究のフィールド調査により、壱岐の淡水域から本属が見つかり、*J. ikiensis* Tomikawa, 2015 として記載・公表した(論文, 図 2)。本種は、腹節背面の刺毛数が少ないこと、第 1, 2 触角柄部の刺毛数が少ないこと、大顎の鬚第 1 節に刺毛を欠くこと、底節鰓の付属片が良く発達することで同属の他種から区別される。ミトコンドリアの COI および 16S rRNA 遺伝子の部分配列に基づく分子系統解析の結果、本種はミカドヨコエビ、オオエゾヨコエビ種群と系統的に近いことが分かったが、系統的位置の詳細については確定することができなかった。

図 3

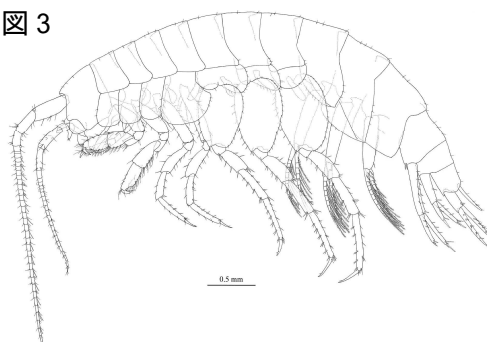


Fig. 3. *Sternomoera morinoi* sp. nov., holotype, male (5.3 mm), LBM 1430005402, well at Gokashō-Kondō, Higashiōmi, Shiga Prefecture, Japan. Habitus, lateral view.

サワヨコエビ属 *Sternomoera* はロシアのモネロン島、北海道から九州の淡水域に分布するヨコエビで、広域分布する回遊性のタキヨコエビ、北海道の内陸に分布するエゾヨコエビ、本州の内陸に分布するヤマトヨコエビ、そしてモネロン島に分布する *S. moneronensis* を擁していた。このうち、モネロン島に分布する *S. moneronensis* Labay, 1997 は原記載が不十分であったため、モネロン島から新たに得られたサンプルに基づいて再記載を行った(論文)。残念ながら標本の状態が悪くなかったため DNA 解析は行えなかった。

琵琶湖付近の井戸や河川伏流水からは地下水性サワヨコエビが見つかり、*S. morinoi* Tomikawa and Ishimaru, 2014 として記載・

公表した(論文, 図3). また, 従来ドウクツヨコエビ属 *Relictomoera* に属していたツシマドウクツヨコエビ *R. tsushimana* (Ueno, 1971) のホロタイプを確認し, 本種をサワヨコエビ属に移した. サワヨコエビ属のうち, *S. moneronensis* と *S. tsushimana* を除く種について, 核の 28S rRNA 部分配列を用いて分子系統解析を行った結果, タキヨコエビに見られる回遊性は独立に複数回進化した可能性が示唆された. また, エゾヨコエビは種内に遺伝的に大きく分化した系統が存在することが明らかになった(論文). 現在, 解析遺伝子にミトコンドリアの COI 部分配列を加え, 解析サンプルも増やして研究を進めているが, これまでのところ, エゾヨコエビは種内に別種レベルにまで遺伝的に分化した 4 系統を含み, これらはそれぞれ地理的にまとまった分布を示すことが明らかになっている(論文投稿中).

シマイシビルについては, ミトコンドリアの COI および 12S rRNA 遺伝子の部分配列を用いて日本各地の個体群を対象に分子系統解析を行った. その結果, シマイシビルは東西の 2 グループに遺伝的に大きく分かれ, その境界は兵庫県東部付近に位置することが明らかになった. 両グループは外部形態・内部形態に差異が認められなかったことから, 別種にまでは分化していないと考えられた.

コウダカシロマイマイについては, 分布域を網羅するようにサンプリングを行い, ミトコンドリアの COI 遺伝子の部分配列を用いて分子系統解析を行った. その結果, 種内に複数の遺伝的分化した系統が認められたが, 系統間の類縁関係については十分な解像度で系統樹を得ることができなかつたため明らかではない. サンプルサイズは十分であったと考えられるため, 今後は解析する遺伝子領域を増やし, 系統間の関係を解明する必要がある.

#### 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 10 件)

Hirabayashi, H., Ohtsuka, S., Urata, M., Tomikawa, K., Tanaka, H. Molecular evidence on evolutionary switching from particle-feeding to sophisticated carnivory in the calanoid copepod family Heterorhabdidae: drastic and rapid changes in functions of homologues. *Journal of Natural History*, in press. 査読有  
DOI: 10.1080/00222933.2016.1155779

Tomikawa, K., Shinoda, S. Redescription of a subterranean amphipod, *Eocrangonyx japonicus* (Crustacea, Amphipoda, Pseudocrangonyctidae) from

Japan. *Crustaceana*, in press. 査読有

Tomikawa, K., Kobayashi, N., Morino, H. Reassessing the taxonomic subdivision of the *Jesogammarus jesoensis* complex (Crustacea: Amphipoda: Anisogammaridae) in northern and central Japan. *Species Diversity*, in press. 査読有

富川光・平嶋健太郎・平井厚志・内山りゅう, 伏流水から採集された三重県初記録のヨコエビ 2 種(節足動物門: 甲殻亜門: 端脚目). 南紀生物, 印刷中. 査読無

Tomikawa, K. A new species of *Jesogammarus* from the Iki Island, Japan (Crustacea, Amphipoda, Anisogammaridae). *Zookeys* 530: 15–36 (2015). 査読有  
DOI: 10.3897/zookeys.530.6063

Tanaka, G., Parker, A. R., Hasegawa, Y., Siveter, D. J., Yamamoto, R., Miyashita, K., Takahashi, Y., Ito, S., Wakamatsu, K., Mukuda, T., Matsuura, M., Tomikawa, K., Furutani, M., Suzuki, K., Maeda, H., Mineralized rods and cones suggest colour vision in a 300 Myr-old fossil fish. *Nature Communications* 6920: 1–6 (2014). 査読有  
DOI: 10.1038/ncomms6920

Tomikawa, K., Soh, H. Y., Kobayashi, N. and Yamaguchi, A., Taxonomic relationship between two *Gammarus* species, *G. nipponensis* and *G. sobaegensis* (Amphipoda: Gammaridae), with description of a new species. *Zootaxa* 3873: 451–476 (2014). 査読有  
DOI: 10.11646/zootaxa.3873.5.1

Tomikawa, K., Kobayashi, N., Kyono, M., Ishimaru, S. and Grygier, M. J., Description of a new species of *Sternomoera* (Crustacea: Amphipoda: Pontogeneiidae) from Japan, with an analysis of the phylogenetic relationships among the Japanese species based on the 28S rRNA gene. *Zoological Science* 31: 475–490 (2014). 査読有  
DOI: 10.2108/zs140026

Tomikawa, K. and Sidorov, D. A., Redescription of *Sternomoera moneronensis* (Crustacea: Amphipoda: Gammaridae) from Moneron Island, the Russian Far East. *Species Diversity*, 19: 35–41 (2014). 査読有

DOI: 10.12782/sd.19.1.035

富川光, 利尻島から初めて得られた淡水および陸生端脚目(節足動物門: 甲殻亜門). *利尻研究* 33: 23-25 (2014). 査読無

[学会発表](計7件)

竹内一郎・富川光・Dhugal Lindsay, 日本海溝から採集したムカシワレカラ科(甲殻綱: 端脚目)の1未記載種について, 日本動物分類学会第51回大会 2015.6.13-14, 広島大学(東広島市)

熊崎優亮・井原庸・富川光, 中国地方におけるヤミサラグモ属(クモ目: サラグモ科)の系統分類的研究, 日本動物分類学会第51回大会, 2015.6.13-14, 広島大学(東広島市)

I. Takeuchi, K. Tomikawa and D. Lindsay, On the unknown species of the Phtisicidae (Amphipoda) from the abyssal depth of Japan Trench, with special reference to its biogeographical significance, The Crustacean Society & International Association of Astacology, 2015.7.19-22, Australian Museum, Sidney (Australia)

富川光, 増野和幸, 松本剛, 足立有理, 鳥越兼治, キュウシュウシロマイマイ4亜種の系統関係について, 2014年第50回日本動物分類学会, 筑波, 国立科学博物館, 2014/6/14-15

富川光, Soh H.Y., 小林憲生・ニッポンヨコエビおよびミナミニッポンヨコエビ(節足動物門: 甲殻亜門: 端脚目)の分類学的再検討, 日本動物分類学会第49回大会, 仙台, 2013.6.8

富川光, 小林憲生, 興野昌樹, Grygier M.J. 滋賀県から見つかったツシマドウクツヨコエビについて(甲殻亜門: 端脚目: アゴナガヨコエビ科), 日本動物学会第84回大会, 岡山, 2013.9.26

富川光・陸生ヨコエビ目研究の現状と展望. 日本土壌動物学会第36回大会(招待講演), 宗像, 2013.5.25

[図書](計4件)

Species Diversity of Animals in Japan (Motokawa, M. and Kajihara, H. eds), Species Diversity and Phylogeny of Freshwater and Terrestrial Gammaridean Amphipods (Crustacea) in Japan, 分担執筆(単著, Tomikawa, K.), Springer, in press.

動物の辞典(末光隆志ほか編), 節足動物門, 分担執筆(単著, 富川光), 朝倉書店, 印刷中.

教師教育講座 15 巻, 中等理科教育(磯崎哲夫編著), 第8章 (pp. 225-253), 分担執筆(竹下俊治, 富川光), 協同出版, pp. 1-384, 2014年

愛媛県の絶滅のおそれのある野生生物 愛媛県レッドデータブック 2014 (愛媛県レッドデータブック改訂委員会編), 甲殻類端脚目(ヨコエビ目) (pp. 240-241, 250), 分担執筆(単著, 富川光), 愛媛県, pp. 1-623, 2014年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富川 光 (KO TOMIKAWA)

広島大学・大学院教育学研究科・准教授

研究者番号: 70452597