

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：14602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870431

研究課題名(和文)汽水性希少カニ類における遺伝的多様性の経時変化とカストロフィの影響評価

研究課題名(英文) Impact assessment of catastrophe and stability of temporal genetic diversity in rare brackish-water crabs

研究代表者

川根 昌子 (Kawane, Masako)

奈良女子大学・共生科学研究センター・協力研究員

研究者番号：80644856

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)：汽水性希少カニ類の遺伝的多様性の経時変化(10年スケール)と、汽水域において分断化された集団への大洪水の影響を、過去の遺伝的・生態的データが存在する汽水性希少カニ類カワスナガニとタイワンヒライソモドキを用いて検証した。その結果、両種ともに、2011年の台風12号に伴う大洪水を挟む年度間において、紀伊半島内の生息河川数に増減はなく、どの河川でもハプロタイプ頻度や遺伝的分化、遺伝的多様度に変化等がみられなかった。これらのことから、2011年度に発生した大洪水の規模では汽水性生物の地域集団維持にそこまで大きな負の影響は与えず、遺伝的多様性は変わらず維持されていることが示された。

研究成果の概要(英文)：The impact of a massive flooding event on rare brackish-water species was assessed by investigating potential habitat loss and decadal changes in the genetic diversity of two crab species, *Deiratonotus japonicus* and *Ptychognathus ishii*. Results showed that there was no change in the number of rivers within the Kii Peninsula inhabited by both species after the severe flooding caused by Typhoon Talas in 2011. Haplotype frequency and genetic diversity remained stable over the last decade. There was significant genetic differentiation among populations in *D. japonicus* samples of 2013 and 2011, respectively. The results suggested that the severe floods of 2011 had no effect on organisms habiting this brackish-water region.

研究分野：生物系統地理学

キーワード：遺伝子資源保全 遺伝的多様性 大洪水 カストロフィ 年次比較 汽水域

1. 研究開始当初の背景

2012年に改訂された環境省第4次レッドリストにおいて「絶滅危惧類」「準絶滅危惧」となっている海産カニ類は11種存在するが、うち9種は汽水性カニ類である。また、WWFサイエンスレポートにおいて「絶滅寸前」「危険」「希少」に分類されている28種中、24種が汽水性カニ類であり、海産カニ類において、希少種のほとんどが汽水性である。

海産カニ類は浮遊幼生期をもち、生息場所が限定された種であっても、浮遊幼生期に他地域へ分散し、生息場所間で遺伝的交流を行うことによって各地域集団を維持していると考えられる。しかし、これまでのミトコンドリアDNA (mtDNA) を用いた遺伝子解析によって、汽水性希少カニ類では、小スケール(数十～数百Km範囲)において地域集団間の顕著な遺伝的分化が検出された。さらに、申請者のこれまでの研究により、環境省レッドリストで準絶滅危惧種に指定されているカワスナガニにおいて、マイクロサテライト(MS)マーカーを開発し紀伊半島沿岸に存在する近隣集団間の遺伝的分化を解析したところ、近隣集団間でも遺伝的交流はほとんどなく、孤立・分断化していることが明らかとなった。これらの結果は、汽水性希少カニ類の多くは地域集団が孤立・分断化していることを示唆している。西村によれば、中新世から更新世にかけて汽水をたたえた古東シナ海、古日本海が、日本における多くの汽水性生物の発祥の中心である。当時の日本沿岸域は海退により、沿岸の汽水域が現在より連続的に存在していたと思われる。これにより汽水性カニ類各種に適した生息場所が多く存在し、浮遊幼生の他地域への分散は現在より容易であった。しかし、海進による汽水域の縮小に加え、現世では人為的環境変化により、地域集団の連結性が徐々に制限されてきたと考えられる。

よって、汽水性希少カニ類の地域集団が今後も維持されるためには、各地域集団の遺伝的多様性の維持が重要である。遺伝的多様性は大集団ほど維持されやすいが、孤立・分断化した集団は大集団と比べ集団サイズが不安定になりやすいため、数年単位での遺伝的多様性の調査が必要である。しかし、海洋生物では陸上生物に比べ、遺伝的多様性の重要性の認識が遅く、これまでの遺伝的多様性に関する研究は、その種が現在、遺伝的多様性をどの程度残しているかを検証するものがほとんどであり、遺伝的多様性がその後維持されているかを検証した例はない。

孤立・分断化した地域集団において、集団サイズが小さくなると、近親交配の程度がより高まり、人口学的に不安定となり、さらなる集団サイズの減少および近親交配の進行が起きる。集団サイズの減少、遺伝的多様性の消失、および近親交配の間の正のフィードバックは絶滅の渦と呼ばれる(図1)。汽水性生物にとって、台風や大雨による洪水はしば

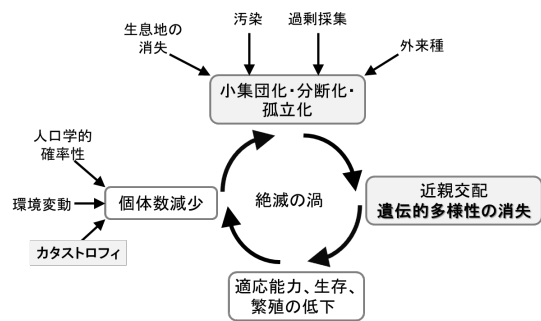


図1 絶滅の渦

しばカタストロフィとして捉えられ、個体数の減少や絶滅の要因とされていた。しかし、一度の大洪水が汽水性生物の個体数や遺伝的多様性、遺伝子流にどのような影響を与えるかを検証した例はない。

2. 研究の目的

本研究では、多様な景観を湛え、汽水性希少カニ類が多く生息する紀伊半島をフィールドとし、大洪水の影響を考慮に入れながら、汽水性希少カニ類の遺伝的多様性や遺伝子流の経時変化を検証することを目的とする。対象種としては、より洪水等の影響を受けやすい汽水域上端に生息し、過去の遺伝的・生態的データが存在するカワスナガニ

とタイワンヒライソモドキを選定した。また、両種はこれまでの研究により、地域集団間の分断の程度が異なることがわかっている。これら2種の結果を比較することにより、分断の程度によって遺伝的多様性の変化や大洪水の影響に差がみられるかを考察できるだろう。

3. 研究の方法

(1) 生息地の把握と試料採集

紀伊半島の河川を回り、生息地を発見、採集する。採集した個体はその場で体サイズ、性別、繁殖状態など各種測定を行い、DNA抽出用に歩脚のみ数本持ち帰る。

(2) 遺伝的多様性・集団構造の検出

過去の実験と同じmtDNA COI領域を用い、同じ手法で遺伝的多様性の算出、遺伝的集団構造解析を行う。新たに得られたデータと過去データを比較する。

(3) 優良MSマーカーの開発と選定

次世代シーケンサーを用いて、対象種の塩基配列を大量に入手する。配列をもとに、優良マーカーと成り得るところにプライマーを設計する。

(4) 遺伝子流

開発した優良MSマーカーを用い、微小スケール内の地域集団間の遺伝的交流の有無を検出する。2011年の大洪水前のサンプル、大洪水後のサンプルとともに解析する。

これらの結果をもとに、汽水性希少カニ類において、分断化された地域集団で遺伝的多

様性が維持されているか、また、大洪水はこれらの地域集団にどのような影響を及ぼすのかを明らかにする。

4. 研究成果

(1) 生息地の把握と試料採集

カワスナガニ、タイワンヒライソモドキの生息地を確認・採集するため、2013年6、7月に紀伊半島沿岸域の河川を順に回った。その結果、カワスナガニは9地点（和歌山県南部川、富田川、日置川、有田川、古座川、津荷川、太田川、三重県古川）で生息が確認された。申請者による2001・2002・2006年の調査と、奈良女子大学共生科学研究センターのプロジェクト調査の一部として2011年に行われた調査では、併せて9地点（和歌山県南部川、富田川、日置川、周参見川、古座川、津荷川、田原川、太田川、三重県古川）で生息が確認されており、2011年の紀伊半島における大洪水後に生息地が増減したということはない。

2013年の調査において、タイワンヒライソモドキは7地点（和歌山県南部川、富田川、日置川、有田川、津荷川、太田川、三重県古川）で生息が確認された。申請者による2002-2004年の調査と、共生科学研究センターで行われたプロジェクトでの調査では併せて7地点（和歌山県南部川、芳養川、富田川、日置川、有田川、鬮野川、田原川）で生息が確認されており、タイワンヒライソモドキもカワスナガニ同様、2011年の大洪水後に生息地が増減したということはない。

(2) 遺伝的多様性・集団構造の検出

2013年に9地点から得られたカワスナガニ中、8地点のサンプル解析を行った。また、2011年に奈良女子大学共生科学研究センターが行ったプロジェクト研究の一部として採集された4地点分のサンプルも同様に解析した。mtDNA COI領域の部分塩基配列を決定した結果、見出されたハプロタイプは67であった。年度間でハプロタイプ頻度に差はみられなかった（図2）。これを元に地域集団間

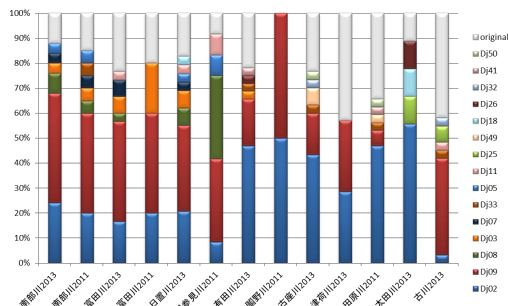


図2 カワスナガニの地点・年度集団におけるハプロタイプ頻度。

の遺伝的分化を見たところ、2013年のサンプルにおいて、紀伊半島南西部と東部の地点間、東部と北部の地点間に有意な遺伝的分化が検出された。2011年の大洪水前に採集されたサンプルを用いた解析でも同様の結果であ

った。同地点の年度集団間に遺伝的分化はみられなかった。また、遺伝的多様性の指標において、ハプロタイプ多様度、塩基多様度ともに、2013年の結果を過去のデータ（2011年、2006年、2001・2002年）と比較した結果、どの地点においても遺伝的多様性が顕著に減少しているということはない。

タイワンヒライソモドキにおいて、2013年に採集された7地点のタイワンヒライソモドキと、2011年に奈良女子大学共生科学研究センターが行ったプロジェクト研究の一部として採集された5地点分のサンプルを解析した結果、見出されたハプロタイプは33であった。年度間でハプロタイプ頻度に差はみられなかった（図3）。2013年、2011年のサン

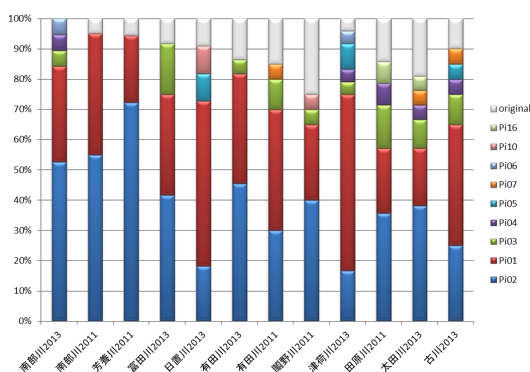


図3 タイワンヒライソモドキにおける地点・年度集団のハプロタイプ頻度。

プルとともに、地域集団間に遺伝的分化はみられなかった。また、年度集団間でも遺伝的分化は検出されなかった。遺伝的多様性の指標として、2013年のハプロタイプ多様度、塩基多様度を過去のデータ（2011年、2002-2004年）と比較した結果、遺伝的多様度が顕著に減少しているということはない。

(3) 優良MSマーカーの開発と選定

カワスナガニ、タイワンヒライソモドキのDNAを次世代シーケンサーにより解析し、多くの塩基配列を得た。これを元に、カワスナガニ用MSマーカーを25プライマーペア、タイワンヒライソモドキ用MSマーカーを22プライマーペア作成し、それぞれ適切なPCR条件を決定しMS領域の増幅を試みた。その結果、カワスナガニでは13プライマーペアで増幅が確認されたため、その中から10ペアを選出し蛍光プライマーを作成した。これらを用いて、数地点のカワスナガニサンプルを解析したところ、単一のアリルしか検出されず、集団解析に足るものではないことが示された。

また、タイワンヒライソモドキでは全22プライマーペア中4ペアで蛍光プライマーを作成したが、こちらも多型性はなかった。

(4) 遺伝子流

(3)において、カワスナガニとタイワンヒライソモドキのMSマーカー開発に成功していないため解析できず、今後の課題である。

カワスナガニ、タイワンヒライソモドキともに、2011年の台風12号に伴い紀伊半島で起きた大洪水を挟む年度間において、生息地としての河川数に変化はなく、どの生息河川でもハプロタイプ頻度や遺伝的分化、遺伝的多様度に変化等がみられなかったことから、2011年に発生した大洪水の規模では、汽水性生物集団の長期的維持にそこまで大きな負の影響は与えず、汽水性生物にとってカタストロフィにはなっていないことが示された。

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10件)

川根昌子, 和田恵次 (2015) 汽水性希少カニ類タイワンヒライソモドキ *Ptychognathus ishii* Sakai, 1939 (モクズガニ科) の日本沿岸域における遺伝的集団構造. 日本ベントス学会誌 70: 13-20. 査読あり

Yuhara T, Kawane M and Furota T (2014) Genetic population structure of local populations of the endangered saltmarsh sesarimid crab *Clistocoeloma sinense* in Japan. PLoS ONE 9: 1-9. 査読あり
doi:10.1371/journal.pone.0084720

Kamimura Y, Kawane M, Hamaguchi M and Shoji J (2014) Age and growth of three rockfish species, *Sebastes inermis*, *S. vetricosus* and *S. cheni*, in the central Seto Inland Sea, Japan. Ichthyological Research 61: 108-114. 査読あり
doi: 10.1007/s10228-013-0381-8

西栄二郎, 梶原直人, 川根昌子, 浜口昌巳 (2013) 瀬戸内海周防灘中津干潟に産する多毛類. 南紀生物 55: 67-69. 査読あり

Hamaguchi M, Shimabukuro H, Kawane M and Hamaguchi T (2013) A new record of the Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* in the Seto Inland Sea, Japan. Marine Biodiversity Records 6: 1-6. 査読あり
doi:10.1017/S1755267212001297

Kawane M, Wada K, Umemoto A and Miura T (2012) Genetic population structure and life history characteristics of the rare brackish-water crab *Deiratonotus kaoriae* Miura, Kawane and Wada, 2007 (Brachyura, Camptandriidae) in western Japan. Journal of Crustacean Biology 32: 119-125. 査読あり
doi: 10.1163/193724011X615398

Kawamoto M, Wada K, Kawane M and Kamada M (2012) Population subdivision of the

brackish-water crab *Deiratonotus cristatus* on the Japanese coast. Zoological Science 29: 21-29. 査読あり
doi: 10.2108/zsj.29.21.

Yusa Y, Yoshikawa M, Kitaura J, Kawane M, Ozaki Y, Yamato S and Høeg JT (2012) Adaptive evolution of sexual systems in pedunculate barnacles. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 279: 959-966. 査読あり
doi: 10.1098/rspb.2011.1554

Shimabukuro H, Kawane M and Hamaguchi M (2012) New record of *Sargassum denticarpum* Ajisaka (Fucales, Phaeophyceae) from Iriomote Island (Ryukyu Archipelago, Japan). Botanica Marina 55: 209-215. 査読あり
doi: 10.1515/bot-2012-0107

島袋寛盛, 堀正和, 吉満敏, 徳永成光, 猪狩忠光, 佐々木謙介, 仲岡雅裕, 川根昌子, 吉田吾郎, 浜口昌巳 (2012) 鹿児島湾に生育する一年生アマモ局所個体群間の遺伝的分化. Nippon Suisan Gakkaishi 78: 204-211. 査読あり
doi: 10.2331/suisan.78.204

[学会発表](計1件)

川根昌子, 山田誠, 渡邊三津子, 浜崎健児, 遊佐陽一, 和田恵次. スジエビ2型間のmtDNA COI領域における遺伝的差異と紀伊半島河川群における分布状況. 日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会. 東北大学. 2013年9月28日.

6. 研究組織

(1)研究代表者

川根昌子 (KAWANE, Masako)
奈良女子大学・共生科学研究センター・協力研究員
研究者番号: 80644856