

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：13601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26891010

研究課題名(和文) 水棲カメムシ類の遺伝的構造から探るホットスポット日本の生物相形成プロセス

研究課題名(英文) Formative process of the Japanese Fauna viewed from molecular phylogeny of aquatic hemipteran insects

研究代表者

鈴木 智也 (SUZUKI, Tomoya)

信州大学・理学部・アソシエイト研究員

研究者番号：30739503

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：日本列島は生物多様性のホットスポットと呼ばれる地域であり、生物多様性の創出プロセスの解明は極めて重要であると言える。本研究では、希少種を多く含む分類群である水生カメムシ類に焦点を当て、その遺伝的構造を比較することにより日本列島の生物相形成プロセスを追究した。その結果、一般的に考えられているようなユーラシア大陸から日本列島への移動分散の他に、日本列島からユーラシア大陸への移動分散 (Back dispersal) を検出することができた。

研究成果の概要(英文)：The Japanese Archipelago is one of the biodiversity hotspot, and it is very important to study formative process of the Japanese Fauna. In this study, we focused on several aquatic hemipteran insect species, and compared their population structures and their genetic structures. As a result of this, some unique cases have been gathered such as the "Back dispersal".

研究分野：分子系統地理学

キーワード：水生カメムシ類 系統進化 系統地理 Back dispersal

### 1. 研究開始当初の背景

日本列島は4つのプレートがぶつかり合い、第三紀後半から第四紀の激しい地殻変動によって海峡や山岳が形成された島国である。このような環境は世界的にも稀であり、日本列島は世界的な生物多様性ホットスポットとして注目されている。「進化の実験室」とも言われるガラパゴス諸島も数百万年スケールでの進化の議論しか展開できないが、日本列島では数万から数十万年スケールの進化について詳細な議論を展開することが可能である。このような日本列島の特色を活かし、欧米ではなし得ない地の利を活かした研究を展開し得る。また、近縁種間の生態的差異に着目し、遺伝的構造を比較する研究はこれまでほとんど行われておらず、進化生物学的にたいへん興味深いテーマである。このような背景から、私たちはこれまでに日本産水棲カメシ類のコオイムシ類2種を対象とし、系統地理学的研究を行ってきた (Suzuki *et al.*, 2013. *Biol. J. Linn. Soc.*; Suzuki *et al.*, 2014. *Mol. Phylogenet. Evol.*; 図1)。本研究では、これまでのコオイムシ類の研究に加え、ミズカマキリ類・タイコウチ類の解析データを追加することで、サハリン-ロシア沿海州(北方)・朝鮮半島(西方)・台湾-東南アジア(南方)と日本列島の関係性について、より広域的かつ詳細スケールでのデータが得られ、より深い議論を行う。さらに、その希少性から生物多様性の鍵種群とも言われる水棲カメシ類の遺伝子解析結果を通じ、日本列島における生物多様性創出機構を明らかにする。

### 2. 研究の目的

これまでの私たちのコオイムシ類を用いた系統地理学的研究から、水棲カメシ類の遺伝的構造は地史的な影響を強く反映していることが判明している。さらに、移動分散能力の差も、遺伝的構造の違いに大きく影響することが示唆されている (Suzuki *et al.*, 2014. *Mol. Phylogenet. Evol.*; 図1)。そこで本研究では、コオイムシ類での解析に加えて止水棲水生カメシ類における対象種の幅を広げ、ミズカマキリ類・タイコウチ類を対象に加えることで海峡成立や山岳形成史との関連性を明らかにし、止水生昆虫類の生物相形成過程を明らかにすることを目的とする。とくに日本列島における大陸との関連性は極めて興味深く、これまでの私たちの研究から、コオイムシでは日本列島から大陸への移動分散が示唆されている。このような大陸との関連性の追究は欧米ではなし得ない日本ならではの研究であり、新規性・独創性の面から国際的に高く評価されるものと言える。

また、本研究で対象とする水棲カメシ類であるミズカマキリ類・タイコウチ類は移動分散能力が種レベルで大きく異なる近縁種を含んでいる。このように移動分散能力が異

なる近縁種を網羅的に解析し、遺伝的構造を比較する研究は世界的にも稀であり、今後たいへん注目を集める研究となり得る。

そこで本研究では、日本列島域および朝鮮半島の大陸産個体群も含め、ミズカマキリ・タイコウチ類の分布域における個体群の網羅的な解析を行い、詳細な遺伝的構造を明らかにする。また、得られた遺伝子解析データから、大陸と日本列島の関連性を明らかにする。さらに、これらの遺伝的構造を比較することにより、日本列島における止水生生物相の成立プロセス、および生物多様性創出の進化的背景の理解を深めることを目的とした。

また、これまで展開してきたコオイムシ類における系統地理学的研究をさらに発展させ、より詳細なスケールでの移動分散の方向性を明らかにするため、次世代シーケンサーを用いたマイクロサテライト開発を実施した。

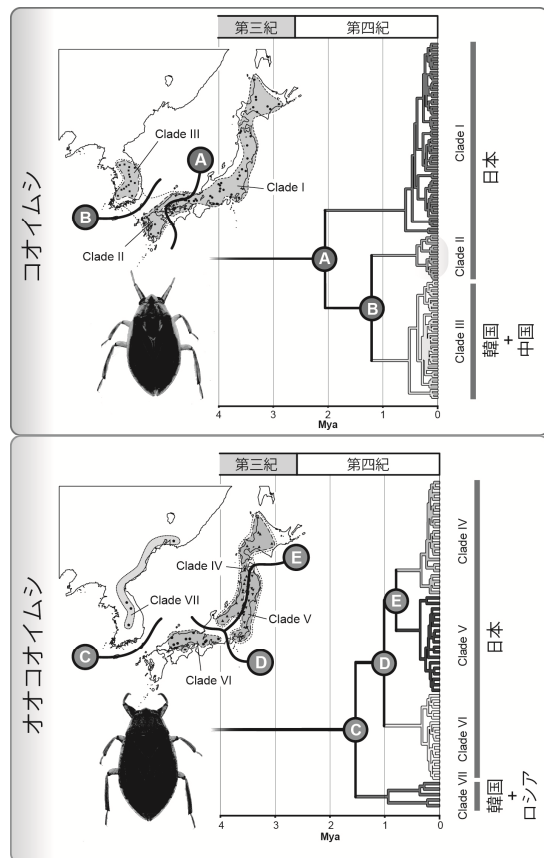


図1. コオイムシとオオコオイムシの遺伝的構造の比較. コオイムシに比べてオオコオイムシは移動分散能力が低く、日本国内でより細かな地域集団に分かれている (Suzuki *et al.*, 2014. *Mol. Phylogenet. Evol.*).

### 3. 研究の方法

東アジアに分布する水棲カメシ類であるミズカマキリ、ヒメミズカマキリ、タイコウチ、ヒメタイコウチを国内外の分布域広域よりサンプルを採集し、ミトコンドリア遺伝子 (COI および 16S rRNA 領域) を解析し、

その遺伝的構造を明らかにした。日本列島および朝鮮半島のサンプルは、これまで展開してきたコオイムシ類の研究でのサンプリングですでに確保してある地域もあり（100% EtOH 固定・冷凍保存）それらのサンプルを使用したほか、新たにサンプルが不足している地域において採集を実施した。また、国内では大陸との関係性を議論する際に重要であると考えられる対馬、九州地方、中国地方のサンプリングを重点的に実施した。遺伝子解析手法は Suzuki *et al.*, 2013. *Biol. J. Linn. Soc.*および Suzuki *et al.*, 2014. *Mol. Phylognet. Evol.* で確立した手法を用いて実施した。遺伝子解析データを元に、分子系統解析ソフト BEAST, MrBayes, RAxML を用いて解析し、種内の遺伝的構造や分散の方向性について議論した。さらに、GIS データを用いたレフュジア地域の検出を行うことにより、世界的な生物多様性のホットスポットである日本列島の止水性水生生物相の成立プロセス、および日本列島における止水域の生物多様性創出の進化的背景について議論を行なった。

さらに、長野県松本市産コオイムシを材料にして、次世代シーケンサーを用いたマイクロサテライト開発を実施した。

#### 4. 研究成果

##### タイコウチ科昆虫類における系統地理

本研究の研究材料であるタイコウチ科昆虫は河川のワンドや湖池沼などの止水域に生息する水生昆虫である。また、タイコウチ科昆虫には、飛翔能力が高く学校のプールにも頻繁に飛来することが知られているミズカマキリや、飛翔能力を完全に失っているヒメタイコウチのなどがあり、これらの遺伝的構造は種レベルでの飛翔能力の違いを反映し、種間で大きく異なっていることが予想された。そこで本研究では、日本列島広域および韓国産サンプルを用いた分子系統解析を行い、東アジア産タイコウチ科昆虫類における種間の遺伝的構造を比較した。

分子系統解析の結果、ミズカマキリとヒメミズカマキリについては日本産サンプルと韓国産サンプルとの間に大きな遺伝的分化は認められなかった一方で（図 2, 3）タイコウチにおいては対馬・朝鮮半島の集団が派生的な系統群を形成し、日本列島内の集団がより祖先的な系統群を形成する結果となった（図 4）。また、ヒメタイコウチについては朝鮮半島集団と日本列島集団との間で遺伝的に大きく分化していた（図 5）。ヒメタイコウチについては朝鮮半島集団と日本列島集団との間で分岐年代推定を実施し、両集団は 1.72-0.40 Ma. に分化したという結果が得られた。これは 1.55 Ma. の対馬海峡形成（Osozawa *et al.*, 2012）が関与していることが考えられる。さらに、シーケンスで得られたミトコンドリア遺伝子（COI および 16S rRNA 領域）の配列データを用いてペアワイ

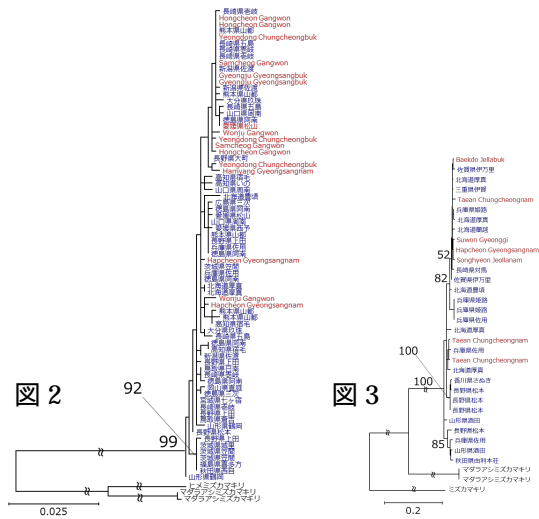


図 2, 3. ミズカマキリ（図 2）およびヒメミズカマキリ（図 3）におけるミトコンドリア遺伝子 [COI( 436 bp) および 16S rRNA( 590 bp) 領域] 配列を基にした分子系統図 (ML 樹). 青字は日本列島産サンプル、赤字は朝鮮半島産サンプルを示す。

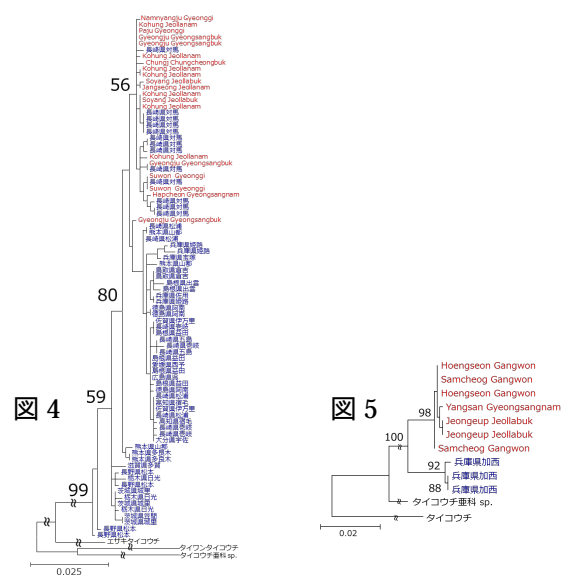


図 4, 5. タイコウチ（図 4）およびヒメタイコウチ（図 5）におけるミトコンドリア遺伝子 [COI( 436 bp) および 16S rRNA( 590 bp) 領域] 配列を基にした分子系統図 (ML 樹). 青字は日本列島産サンプル、赤字は朝鮮半島産サンプルを示す。

ズ空間遺伝図を作成し、4 種の移動分散力を比較したところ、分散力はヒメミズカマキリ > ミズカマキリ > タイコウチ > ヒメタイコウチというようにヒメミズカマキリが最も分散力が高く、ヒメタイコウチが最も低いという結果が得られた（図 6-9）。このように、種間で遺伝的構造は大きく異なり、たいへん興味深い結果が得られている。

さらに、各種内の遺伝的構造に注目してみると、ミズカマキリ、ヒメミズカマキリおよびタイコウチの 3 種で日本列島産個体が祖先

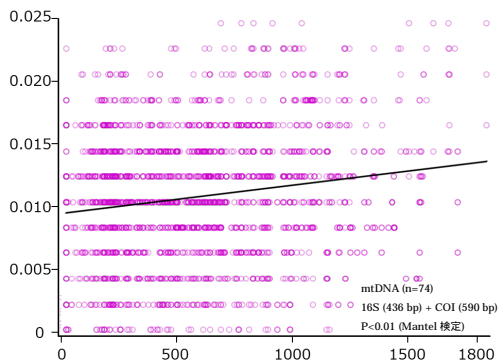


図 6. ミズカマキリにおけるペアワイス空間遺伝図.

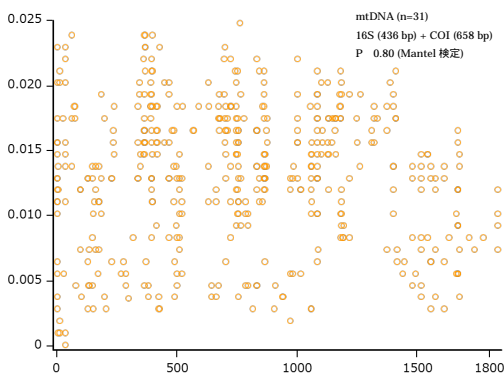


図 7. ヒメミズカマキリにおけるペアワイス空間遺伝図.

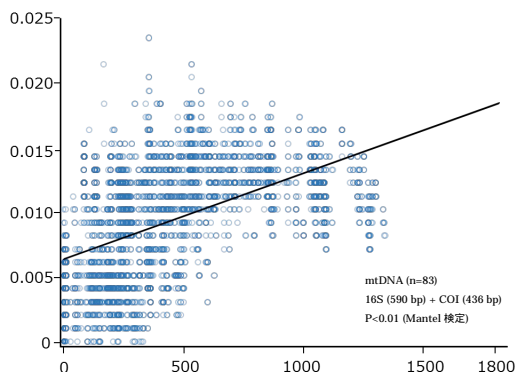


図 8. タイコウチにおけるペアワイス空間遺伝図.

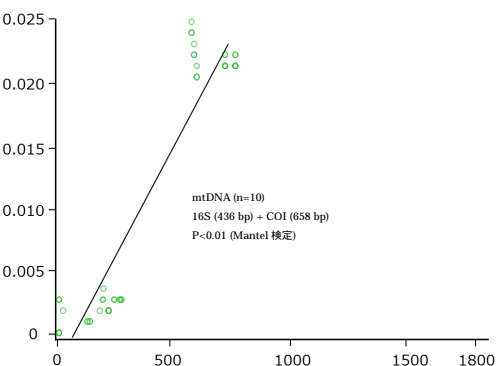


図 9. ヒメタイコウチにおけるペアワイス空間遺伝図.

的な系統となり、朝鮮半島産個体がより派生的な系統となる傾向が見られた。この結果から日本産タイコウチ科昆虫の一部は日本列島から大陸への分散 (back dispersal) が生じている可能性が示唆された。このような back dispersal は、これまで私たちが取り組んできたコオイムシ類の研究でも示唆されているものの (Suzuki *et al.*, 2014, Mol. Phylogenet. Evol.) その他には例のない極めて興味深い結果であると言える。現在までに止水棲水生カメムシ類の 4 種 (コオイムシ・ミズカマキリ・ヒメミズカマキリ・タイコウチ) でこのような back dispersal を示唆する結果が得られていることから、河川のワンドやタマリ、湖池沼に生息する水生カメムシ類、さらには水生昆虫類にも共有される遺伝的構造パターンである可能性がある。このような遺伝的構造は古日本列島の環境によるものであることが考えられる。現在の日本列島は大陸の縁にあたる部分が分離して形成されており、古日本列島の環境は現在の大陸の海岸域のように、湿地の多い環境であったことが予想される。そのような湿地の多い環境は止水生昆虫類にとって絶好の生息環境であり、多様な止水生昆虫類が日本列島形成時に大陸から分離した地域に乗って日本列島に閉じ込められ、その後、一部の系統が大陸に移動分散したのかもしれない。このような日本列島から大陸への移動分散を示した研究事例は他に例がなく、今後の日本列島における生物相形成機構解明において極めて重要な知見となるものと考えている。

#### コオイムシ類におけるマイクロサテライトマーカーの開発

長野県松本市産コオイムシを材料にして、次世代シーケンサーを用いたマイクロサテライトマーカーを作成した。作成したマイクロサテライトマーカーは 14 座で、日本列島産および朝鮮半島産のコオイムシ、オオコオイムシで解析可能であることを確認済みである。今後、開発したマイクロサテライトマーカーを用いて、これまで展開してきたミトコンドリア遺伝子での分子系統解析よりもさらに詳細なスケールでの移動分散について明らかにしていく予定である。

#### 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)

〔学会発表〕(計 4 件)

日本昆虫学会第(76 回大会)大阪府立大学ポスター発表

2016 年 3 月 28 日発表

鈴木智也・谷野宏樹・東城幸治

コオイムシにおける種内系統群レベルでの遺伝構造: とくに 2 系統群が混成する中国地方について

日本昆虫学会第 75 回大会（九州大学）口頭発表

2015 年 9 月 19 日発表

谷野宏樹・鈴木智也・東城幸治

東アジア産タイコウチ科昆虫類における分子系統地理学的研究

第 38 回水生昆虫研究会（栃木県塩谷町）

口頭発表

2014 年 11 月 24 日発表

谷野宏樹・鈴木智也・東城幸治

タイコウチ科昆虫類の分子系統地理学的研究

日本昆虫学会第 74 回大会（広島大学）口頭発表

2014 年 9 月 16 日発表

谷野宏樹・三原龍太郎・鈴木智也・東城幸治

東アジア産タイコウチ科昆虫における系統地理学的解析

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 智也 (SUZUKI, Tomoya)

信州大学・理学部・アソシエイト研究員

研究者番号： 30739503