

室戸半島における水生生物の系統学的位置づけと地史との関係究明

竹中將起

(信州大学院 総合工学系研究科 山岳地域環境科学専攻、日本学術振興会学術
振興会 特別研究員 DC1)

日本列島は、南北に配置された弓状の島嶼群であり、全世界の陸地面積の 0.3%にも満たないものの、このような矮小な日本列島内には多様な生物相が形成されており、生物多様性のホットスポットと称されている。このような高い種多様性には様々なことがらが複合的に起因していると考えられる。特に、日本列島の形成は複雑であり、1,500 万年前頃に東北日本と西南日本がそれぞれ独立してユーラシア大陸から離裂したとされている。そして、第四紀に入って以降、現在も激しい地殻変動を経験している。活発な地殻変動による地質学的イベントは、生物の多様性や遺伝構造に影響を与える。これらの集団の分断化による集団サイズの変化や分集団内で独自の進化を遂げることは、遺伝的多様性にも大きな影響を与える。日本列島は、生物集団がどのように地殻変動の影響を受け、その結果としての生物多様性の変遷を究明するのに好適な地域であると言える。特に、室戸半島のようなジオパークは、より活発な地殻変動の影響を経験し、日本列島の中でのホットスポット、つまり、ホットスポット内のホットスポット地域であるといえる。室戸半島を含む四国南部は、「襲速紀（そはやき）」型要素と呼ばれ、植物分野で古い系統群が残存するような植物地理学的要素の一つとして独特な地理的分布をもつとして報告されている。そのような中、ガガンボカゲロウ *Dipteromimus tipuliformis* が動物においても「襲速紀（そはやき）」型要素に該当するような独特な地理的分布をもつことが明らかとなった。しかし、先行研究において室戸半島を対象とすることができていなかったため、本研究では室戸半島のガガンボカゲロウの系統学的な位置づけの解明を目的とした。その結果、室戸半島のガガンボカゲロウは特殊な分布を示す「襲速紀（そはやき）」型要素の一部であることが解明できた。さらに、四国（速吸瀬戸）内においても興味深い系統学的な傾向を示し、室戸半島集団の最も類縁関係の近い集団は剣山系集団であることが明らかとなった。また、本研究ではガガンボカゲロウの一群だけでなく、サワガニやノギカワゲラ類などの様々な分類群・生態の水生生物の系統学的位置づけも合わせて考察する。特に、サワガニでは室戸半島やその周辺地域から未記載種・未記録種と思われる遺伝的系統が検出できたなど、室戸半島の水生生物相の系統学的位置づけについて興味深い結果が得られた。

キーワード: 遺伝子解析、遺伝的多様性、隠蔽種、種多様性、水生昆虫

1. はじめに

ユーラシア大陸の東沖に位置する日本列島は、南北に弓状に配置された島嶼群であり、全世界の陸地面積の 0.3%にも満たない。しかしながら、このような矮小な日本列島内には多様な生物相が形成されており、生物多様性のホットスポットと称されている (Tojo et al., 2017a, b)。このような高い種多様性には、様々なことがらが複合的に起因していると考えられる。日本列島は、大部分がユーラシア大陸から離裂した「大陸島」要素で構成される島嶼群である (一部、伊豆諸島や小笠原諸島のような「海洋島」要素も含まれる)。ユーラシア大陸から離裂した (日本列島の形成) プロセスは複雑であり、東北日本と西南日本がそれぞれ独立してユーラシア大陸から離裂したとする「観音開き型離裂説 (“double-door” opening model)」が提唱されている (Otofujii et al., 1985; 図 1)。日本列島の原型となる陸塊は、2,000 万年前頃まではユーラシア大陸の東縁に位置し (図 1A)、中新世中期に海洋プレートの沈み込みにより大陸辺縁の分離が活発化したことで日本海盆が開き、日本海が形成され、島として日本列島が分離した (図 1B-C)。また、大陸から離裂して日本列島の原型が形成されて以降も、東北日本と西南日本の間は深い海峡で隔たれていた (図 1C)。このようにできた地層のエリアは「フォッサマグナ」と呼ばれ、生物相形成や集団構造、そして遺伝構造にも大きな影響をもたらしてきたと考えられている。そして、第四紀に入って以降、現在も激しい地殻変動を経験している。

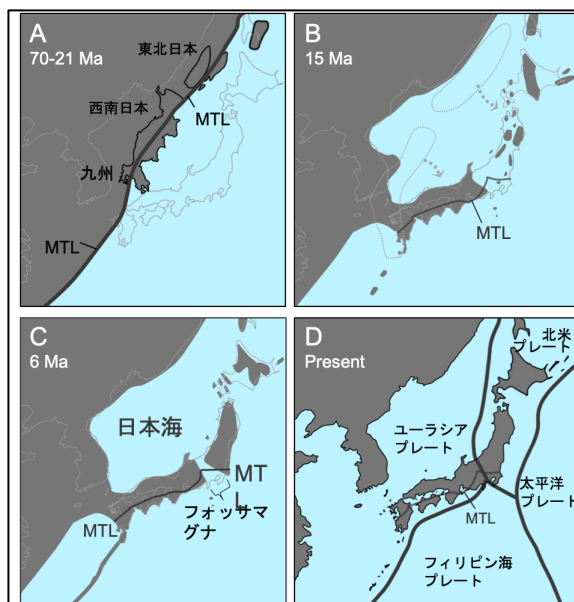
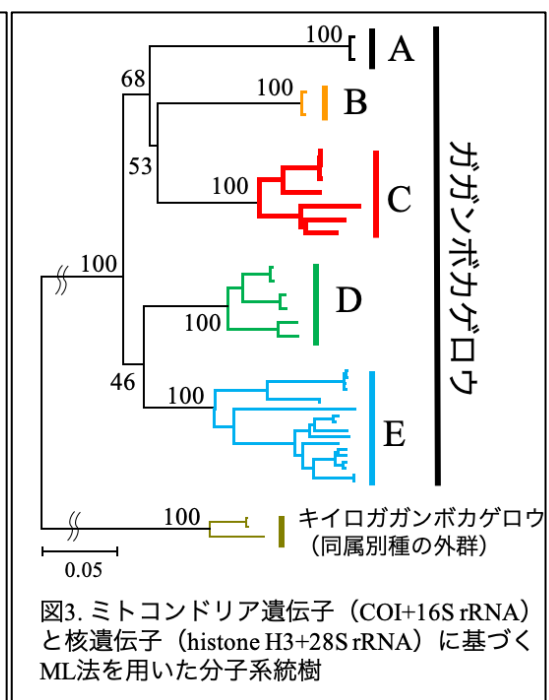


図1. 日本列島形成史「観音開き型離裂説」(Otofujii et al. 1985).
MTL: 中央構造線。灰色: 推定される陸域; 水色: 推定される海域。
図はTakenaka and Tojo (2019)を改編。

活発な地殻変動による地質学的イベントは、生物の多様性や遺伝構造に影響を与える。例えば、山岳形成やそれに伴う河川形成などの物理的な障壁の形成は、生物の分散 (遺伝子流動) を妨げることにより、異所的種分化 (遺伝的な地域差) を駆動する (Cox et al., 2016; Lomolino et al., 2010; Xu et al., 2018)。これらの集団の分断化による集団サイズの変化や分集団内で独自の進化を遂げることは、遺伝的多様性にも大きな影響を与える。日本列島は、生物集団がどのように地殻変動の影響を受け、その結果としての生物多様性の変遷を究明するのに好適な地域であると言える。特に、室戸半島のようにジオパークに指定されている地域は日本列島内でも活発な地殻変動の影響を受け、その結果、世界の生物多様性のホットスポットである日本列島の中でのホットスポット、つまり、ホットスポット内のホットス

ット地域であるといえる。このような観点から私たちは、伊豆半島（世界ジオパーク）、島原半島（世界ジオパーク）、苗場山麓（日本ジオパーク）などの地域を対象に、その地域の特殊性とその地域に生息する生物の遺伝構造について様々な研究を展開してきた。

室戸半島を含む四国南部は、「襲速紀（そはやき）」型要素と呼ばれ、九州南部（襲の国）、四国（速吸瀬戸）、近畿南部（紀の国）の地域の頭文字を組み合わせた造語であり、主として植物分野において、中央構造線より南側の地域（九州南部・四国・紀伊：図 1-e）に古い系統群が残存するような植物地理学的要素の一つとして報告されてきた（Murata and Koyama, 1976）。この具体的な植物種としては、トサミズキ *Corylopsis spicata* やサワオトギリ *Hypericum pseudopetiolatum*、シコクカッソソウ *Primula kisoana*、シコクスミレ *Viola shikokiana* などが挙げられる（Murata and Koyama, 1976; Kato, 1985）。そんな中、ガガンボカゲロウ *Dipteromimus tipuliformis* が動物においても「襲速紀（そはやき）」型要素に該当するような独特な地理的分布をもつことが明らかとなった（図 2-3）。動物においても、オオダイガハラサンショウウオ *Hynobius boulengeri* や、オオイタサンショウウオ *Hynobius dunni*、昆虫類でもオサムシ類（シコククロナガオサムシ *Leptocarabus hiurai*）やクロノギカワゲラ *Cryptoperla kawasawai*（Kato et al., 2013）などが「襲速紀」型要素の傾向はもつものの、四国南部固有や紀伊半島固有であることが多く、紀伊半島や九州南部との共通性をもつような事例は希少である。しかし、本研究で扱うガガンボカゲロウにおいては、四国のみならず、紀伊半島や九州も含めた議論ができる点において、極めて重要な事例であると言える（図 2-3）。ガガンボカゲロウは、日本固有科の 1 属 2 種と小さな分類群で構成され、山岳源流に適応する一群であり、中・下流域に適応した種群と比べて集団サイズが小さく、遺伝的浮動



の影響を受けやすいため、集団内での遺伝的固定化を促進する。さらに、源流域は下流域に比べてハビタットが孤立・散在的となりがちであり、とても限定的なパッチ状の集団構造をとる傾向が強いと考えられる（東城, 2005; Miyairi and Tojo, 2007; Tojo, 2010, Kato et al., 2013）。そのため、比較的近隣の集団間においても遺伝子流動が生じ難く、集団間の遺伝的分化が大きくなる（Hughes, 2003, 2007）。また、地理的に遠く離れた集団ほど、より遺伝的に分化する傾向が顕著となる（Tojo, 2010）。そのため地域集団レベルでの遺伝構造を検出しやすく、過去の地形・地史の影響を強く反映した遺伝構造を保持している可能性が高い。そして先行研究の結果、上述するような中央構造線南部が独特の系統であることが明らかとなった（図 2-3; Takenaka and Tojo, 2019）。しかし、先行研究において室戸半島を対象とすることができていなかったため、本研究では室戸半島のガガンボカゲロウの系統学的な位置づけの解明を目的とし、調査・研究を実施した。また、ガガンボカゲロウの一群だけでなく、サワガニやノギカワゲラ類などの様々な分類群や生態の水生生物の系統学的な位置づけも考察することで、より詳細な室戸半島の水生生物の系統学的な位置づけの解明を目指した。

2. 調査方法

室戸半島および、その周辺地域において調査サンプリングを実施した。ネットを用いた定性調査を実施し、16 地点において水生昆虫を採集した（表 1；図 4）。採取された試料は、遺伝子解析用に 99.5%エタノールで固定した。これらの標本を用いて、形態分類や遺伝子解析を実施した。遺伝子解析は、DNA バーコーディング法の対象となるミトコンドリア遺伝子 *COI* 領域を基本とし、必要に応じて他の領域の解析も実施した。解析方法は、当該研究室において実施された公表論文手法に準拠して行った（Takenaka and Tojo, 2019）。

3. 結果・考察

はじめに、室戸半島において調査を実施した。その中から、日本広域の遺伝子解析が済んでいる種群の中で室戸半島の集団を扱えていない種群を選抜し、遺伝子解析を実施した。具体的には、ガガンボカゲロウ *Dipteromimus tipuliformis*

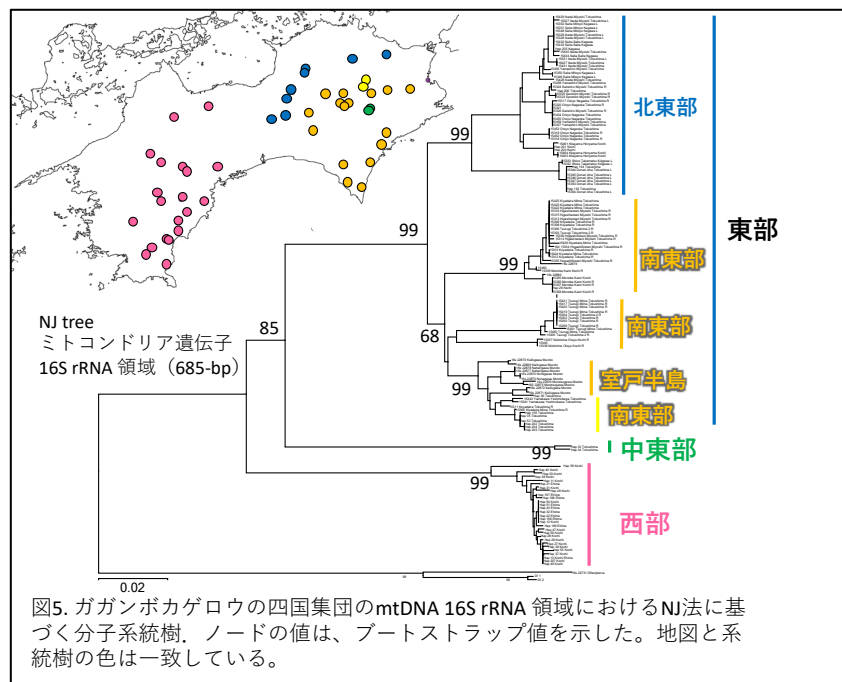


は、海部川・野根川・入木川・佐喜浜川・室津川・東の川・西の川・羽根川・奈半利川・伊尾木川の源流域において採集することができた。サワガニ *Geothelphusa dehaani* は、日本固有科の河川上流部に生息する淡水甲殻類であり、海峡や大きな河川によって集団が分断さ

表1. 室戸半島における調査地点情報、および採集サンプル						
地点	地名	水系	GPS	標高	採集サンプル	
st.1	徳島県海部郡海陽町小川	海部川	N33°41'01.41" E134°20'41.52"	154m	ガガンボカゲロウ、ヒラタカゲロウ類、トビイロカゲロウ類、サワガニ	
st.2	徳島県海部郡海陽町小川	海部川	N33°40'54.27" E134°20'08.60"	88m	<i>Epeorus</i> sp.、ノギカワゲラ類、コバントビケラ	
st.3	徳島県海部郡海陽町相川	海部川	N33°37'27.32" E134°17'52.89"	60m	ガガンボカゲロウ、フタスジモンカゲロウ、サワガニ	
st.4	徳島県海部郡海陽町大里	海部川	N33°36'06.03" E134°21'04.47"	7m	キイロカワカゲロウ	
st.5	高知県安芸郡東洋町	野根川	N33°30'06.08" E134°14'45.06"	32m	オビカゲロウ	
st.6	高知県安芸郡東洋町	野根川	N33°29'59.41" E134°14'28.58"	85m	ガガンボカゲロウ、オビカゲロウ、フタスジモンカゲロウ、サワガニ	
st.7	高知県室戸市佐喜浜町	入木川	N33°26'41.28" E134°13'02.29"	91m	ガガンボカゲロウ、オビカゲロウ、フタスジモンカゲロウ、 <i>Epeorus</i> sp.	
st.8	高知県室戸市佐喜浜町	佐喜浜川	N33°27'37.47" E134°11'45.67"	138m	ガガンボカゲロウ、フタスジモンカゲロウ、トビイロカゲロウ、サワガニ	
st.9	高知県室戸市佐喜浜町	佐喜浜川	N33°24'51.58" E134°11'58.52"	29m	ヒゲナガカワトビケラ、 <i>Epeorus</i> sp.	
st.10	高知県室戸市佐喜浜町	街灯	N33°24'01.56" E134°12'32.40"	13m	ヒゲナガカワトビケラ	
st.11	高知県室戸市室津	室津川	N33°20'49.61" E134°10'57.76"	135m	ガガンボカゲロウ、オビカゲロウ、ノギカワゲラ類、 <i>Epeorus</i> sp.、トビイロカゲロウ、コバントビケラ	
st.12	高知県室戸市室津	室津川	N33°19'00.79" E134°09'48.53"	40m	<i>Epeorus</i> sp.、サワガニ、モクズガニ	
st.13	高知県室戸市吉良川	東の川	N33°21'11.91" E134°07'49.12"	83m	トビイロカゲロウ類、 <i>Epeorus</i> sp.、サワガニ、ヒゲナガカワトビケラ	
st.14	高知県室戸市羽根町	羽根川	N33°24'58.22" E134°06'41.53"	162m	ガガンボカゲロウ、トビイロカゲロウ、フタスジモンカゲロウ、サワガニ	
st.15	高知県安芸郡北川村和田	奈半利川	N33°28'40.63" E134°04'29.47"	93m	ガガンボカゲロウ、フタスジモンカゲロウ、サワガニ	
st.16	高知県安芸市伊尾木	伊尾木川	N33°30'24.44" E133°56'48.38"	21m	ガガンボカゲロウ、サワガニ、ゲジ	

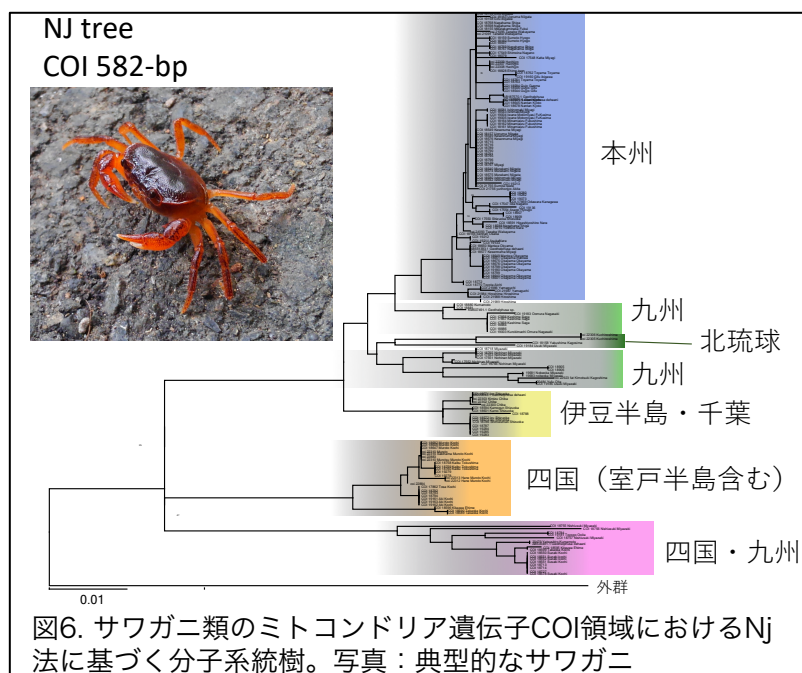
れることが予想される。室戸半島では、海部川・野根川・入木川・佐喜浜川・室津川・東の川・西の川・羽根川・奈半利川・伊尾木川の源流域・上流域から採集することができた。ヒゲナガカワトビケラ *Stenopsyche marmorata* は、河川下流域～上流域に生息するトビケラ類であり、日本列島の河川において最も優占する水生昆虫であり、分散能力は極めて高い。ヒゲナガカワトビケラは、東の川の下流域でのみ採集することができた。最後に、上流域に適応し、本州・四国・九州に生息するノギカワゲラ *Cryptoperla japonica* は、四国地方において採集記録はほとんどなかったが、室戸半島において採集することができた。これらの種群を対象に遺伝子解析を実施し、室戸半島の水生昆虫の系統地理学的な位置付けを調べた。

ガガンボカゲロウの遺伝子解析の結果、室戸半島のガガンボカゲロウは特殊な分布を示す「襲速紀（そはやき）」型要素の一部であることが解明できた。さらに、四国（速吸瀬戸）内においては、東西で遺伝的に大きく分化している（図5）。四国地方において東西で遺伝的に分化する生物はよく知られているため、共通した進化史を辿ったに違いない。また、四国東部においても南北で遺伝的に分化している点は興味深く、この南北の分断障壁が



吉野川である。つまり、吉野川の左岸側と右岸側において遺伝的に分化している。ガガンボカゲロウは、源流域に適応しているため、吉野川のような大河川を超えるような分散は極めて難しいと考えられる（Takenaka and Tojo, 2019）。水生昆虫でありながら、河川によって遺伝的に分化する興味深い事例であると言える。さらに、室戸半島集団の最も類縁関係の近い集団は剣山系集団であることも明らかとなった（図 5）。

続いて、サワガニ類は河川上流域に適応する淡水甲殻類であり、一般的に海水環境では生きていけないと言われている。しかし、屋久島・トカラ列島と伊豆半島・房総半島が遺伝的に比較的近縁であることから、海流分散を経験している可能性が高いと考えている。そこで、四国島から太平洋に突出した室戸半島においても海流分散した系統が分布していないかを目的として、調査・研究した。その結果、海流分散したと考えられる系統群は検出しなかった（図 6）。しかし、予想に反して、同種の範疇を超える遺伝的系統群を検出した。これは、明らかにサワガニ *Geothelphusa dehaani* とは異なる遺伝系統群である。四国には本種のみが記録されているが、四国内から異なる 2 系統が検出され、室戸半島からはそのうちの 하나가検出された。これは、隠蔽種の発見と言える。隠蔽種は、本来別種だが外見上区別ができない種であり、遺伝子解析から多く発見されてきている（例、Pereira-da-Conceicao et al., 2012; Vuataz et al., 2013; Rutschmann et al., 2014, 2017; Saito et al., 2018）。また、サワガニの室戸半島集団は安芸市や土佐市から検出される集団と近縁であった。また、安芸市と土佐市から検出された遺伝子型は全く同一のものだったが、室戸半島から検出された遺伝子型は、それらとは遺伝的に分化し、さらに、遺伝的多様性も高かった。今後、解析遺伝子領域を増やすこと、形態形質の精査、繁殖能力の有無を調べることで、室戸半島のサワガニの正体についてより詳細に解き明かしたいと考えている。



ヒゲナガカワトビケラ *Stenopsyche marmorata* とノギカワゲラ *Cryptoperla japonica* については、四国内においても、日本広域においても、どの地域と関係が深いかを検出することはできなかった。これは、この2種の分散力が高く、他の地域と交流が存在している可能性が高い。また、これらの種群は本州・四国・九州の中での地域性は検出されないが、大陸や琉球列島とは大きく遺伝的に分化している。

4. まとめ

本研究のように、遺伝子を調べることによって室戸半島の生物がどこからやってきたのかについての歴史性を解明できる。本研究の成果の一つとして、ガガンボカゲロウは剣山系との関係が深いことが明らかとなった。ガガンボカゲロウは山岳源流域に適応しているため、山塊が連続的につながっている剣山系との交流が最も深いと考えられる。また、サワガニは先行研究の結果から、海流分散の可能性が高く（海水耐性実験においても実証）、そのことが、海岸線沿いの土佐市や安芸市との関係が深いことを意味しているのかもしれない。また、遺伝的な関係が明らかにできなかった種群に関してもより高感度の分子マーカーであるスニップ解析やマイクロサテライト解析（科捜研などで用いられているDNA鑑定技術の一つ）を用いることで、より詳細な生物の歴史性を解明できると考えている。普段見ている生物であるが、分子レベルで生物を調べることで、より詳細な生物の変遷について解明できる。また、生物多様性の保全の観点において遺伝的な多様性の重要性は注目されている。その地域の特殊性を保全するためにも本研究のような遺伝子解析を実施する意義は高い。今後、様々な水生生物を対象に遺伝子解析を進めていく予定である。最後になるが、生物や地域の特殊性を保全していくにあたり、その地域に住む市民の協力は欠かせない。そのため、本研究の研究成果を公表していくことで、市民の理解と意識を高めることは極めて重要である。そのため、市民の理解を深めるためにも、本助成金の報告会として開催されたサイエンスカフェは重要であり、貴重な位置付けであると感じている。

5. 謝辞

本調査・研究を進めるにあたり、信州大学の東城幸治教授にはご指導ならびに議論をしていただくなどたいへんお世話になった。また、室戸半島での調査において吉田正樹氏・富澤亮太氏にはたいへんお世話になった。さらに、遺伝子解析や発表会・報告書にあたり、谷野宏樹氏・田路泰志氏にはたいへんお世話になった。この他にも多くの皆様にご協力をいただきながら研究を実施させていただいた。ここにお礼申し上げる。

6. 引用文献

- Cox, C.B., Moore, P.D., Ladle, R., 2016, Biogeography: an ecological and evolutionary approach. John Wiley & Sons, UK.
- Kato, T., 1985. Taxonomical studies on the *Hypericum pseudopetiolum* complex I. Geographical differentiation in the Japan Archipelago. Journal Plant Reserch, **98**, 359–370.
- Kato, Y., Morii, Y., Tojo, K., 2013. Molecular phylogeographic analysis of East Asian cryptoperlan stoneflies (Insecta: Plecoptera, Peltoperlidae). Limnology, **14**, 179–194.
- Lomolino, M.V., Riddle, B.R., Whittaker, R.J., Brown, J.H., 2010. Biogeography, 4th edition. Sinauer Associates Inc, UK.
- Miyairi, K., Tojo, K., 2007. Biology of the mayfly *Bleptus fasciatus* Eaton (Insecta: Ephemeroptera, Heptageniidae), with special reference to the distribution, habitat environment, life cycle, and nuptial behavior. Limnology. **8**, 85–93.
- Murata, G., Koyama, H., 1976. On the “Sohayaki element” defined by Dr. G. Koidzumi. Memoirs of the National Science Museum, **9**, 111–121.
- Otofujii, Y., Matsuda, T., Nohda, S., 1985. Opening mode of the Japan Sea inferred from the palaeomagnetism of the Japan Arc. Nature, **317**, 603–604.
- Pereira-da-Conceicao, L.L., Price, B.W., Barber-James, H.M., Barker, N.P., de Moor, F.C., Villet, M.H., 2012. Cryptic variation in an ecological indicator organism: mitochondrial and nuclear DNA sequence data confirm distinct lineages of *Baetis harrisoni* Barnard (Ephemeroptera: Baetidae) in southern Africa. BMC Evolutionary Biology, **12**, 26.
- Rutschmann, S., Gattolliat, J.L., Hughes, S.J., Báez, M., Sartori, M., Monaghan, M.T., 2014. Evolution and island endemism of morphologically cryptic *Baetis* and *Cloeon* species (Ephemeroptera, Baetidae) on the Canary Islands and Madeira. Freshwater Biology, **59**, 2516–2527.
- Rutschmann, S., Detering, H., Simon, S., Funk, D.H., Gattolliat, J.L., Hughes, S.J., Raposeiro, P.M., DeSalle, R., Sartori, M., Monaghan, M.T., 2017. Colonization and diversification of aquatic insects on three Macaronesian archipelagos using 59 nuclear loci derived from a draft genome. Molecular Phylogenetics and Evolution, **107**, 27–38.
- Saito, R., Kato, S., Kuranishi, R.B., Nozaki, T., Fujino, T., Tojo, K., 2018. Phylogeographic analyses of the Stenopsyche caddisflies (Trichoptera: Stenopsychidae) of the Asian Region. Freshwater Science **37**, 000–000.
- Takenaka, M., Tojo, K., (2019) The ancient origin and large genetic differentiation across the geo-tectonic faults of a dipteromimid mayfly family endemic to the Japanese Islands. Biological Journal of the Linnean Society, **126**, 555–573.
- Tojo K (2005) Genetic diversity in a headwater-specific aquatic insect *Dipteromimus tipuliformis*

McLachlan (Ephemeroptera, Dipteromimidae), based on the mitochondrial 16S rRNA gene sequences. Ecology and Civil Engineering Society **7**, 119–127.

Tojo K (2010) The current distribution of aquatic insects in habiting river systems, with respect to their population and genetic structure. In Harris EL, Davies NE (eds) *Insect habitats: characteristics, diversity and management*, pp157-161, Nova Science, New York.

Tojo, K., Sekiné, K., Suzuki, T., Saito, R., Takenaka, M., 2017a. The species and genetic diversities of insects in Japan, with special reference to the aquatic insects. In: Motokawa, M., Kajihara, H. (eds) *Species diversity of animal in Japan*, pp229–247, Springer, Berlin.

Tojo, K., Sekiné, K., Takenaka, M., Isaka, Y., Komaki, S., Suzuki, T., Schoville, S.D., 2017b. Species diversity of insects in Japan: Their origins and diversification processes. Entomological Science, **20**, 357–381.

Vuataz, L., Sartori, M., Gattolliat, J.L., Monaghan, M.T., 2013. Endemism and diversification in freshwater insects of Madagascar revealed by coalescent and phylogenetic analysis of museum and field collections. Molecular Phylogenetics and Evolution, **66**, 979–991.

Xu, X., Kuntner, M., Liu, F., Chen, J., Li, D., 2018. Formation of rivers and mountains drives diversification of primitively segmented spiders in continental East Asia. Journal of Biogeography, **45**, 2080–2091.