

調査実績報告書

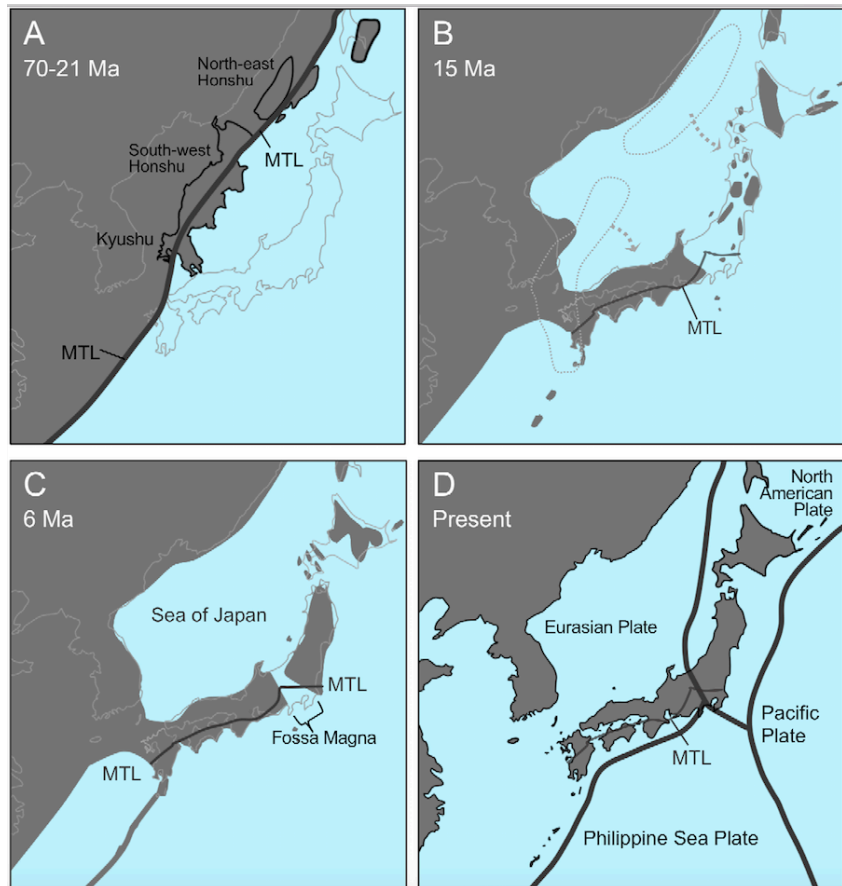
東城 幸治 (信州大学 学術研究院 理学系 教授)

1. はじめに

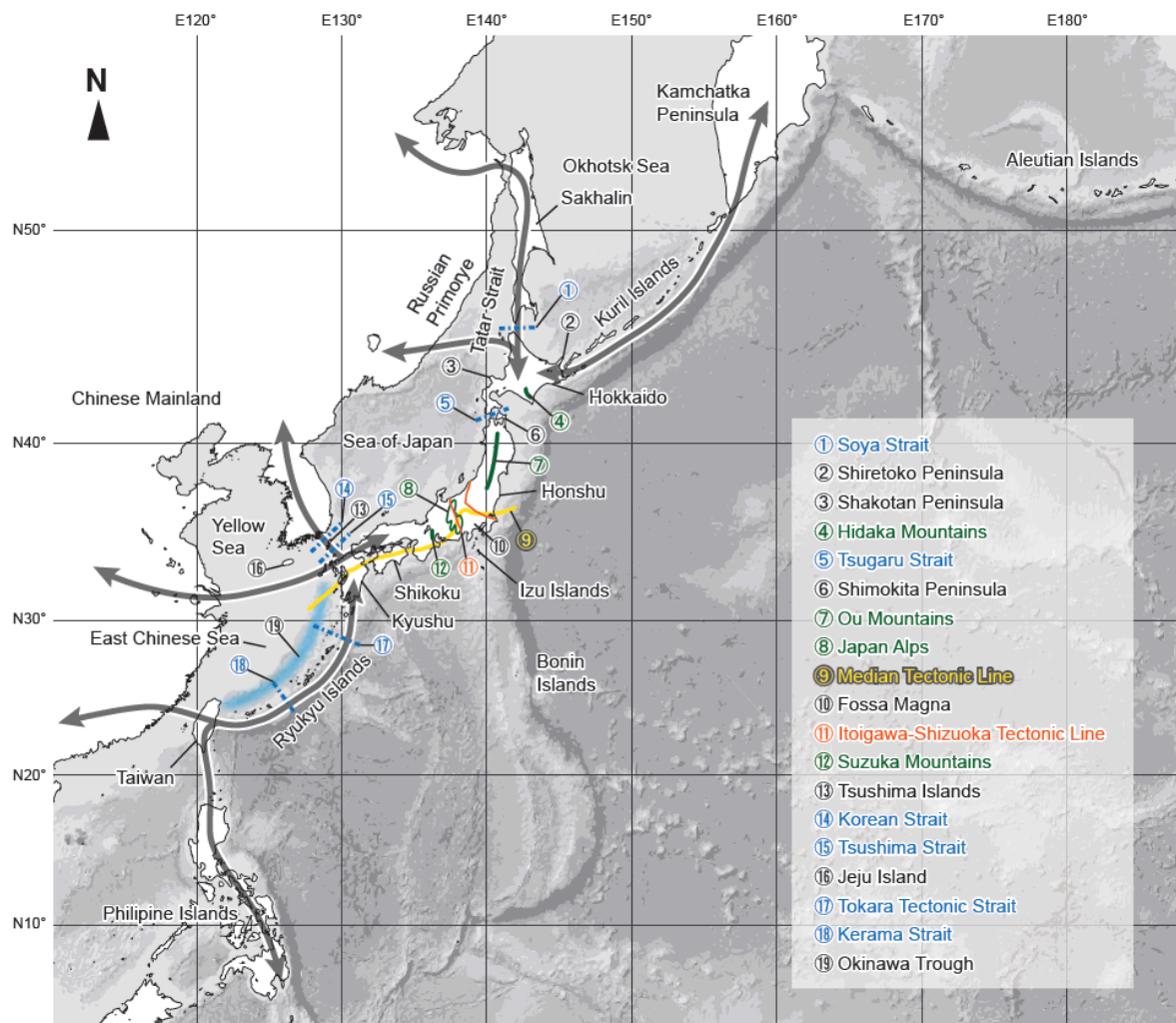
日本列島は、その大部分が「大陸島 Continental Island」要素で構成され（伊豆諸島や小笠原諸島などは大陸とは陸続きになったことのない「海洋（大洋）島」要素）、ユーラシア大陸から離裂するようにして形成されたとされる。この離裂はおよそ2,000万年前から1,500万年前にかけて生じたとされている。また、この離裂は東西日本と南西日本が独立して生じたと考えられており、東北日本は反時計回りの回転運動を伴うように形成され、一方の南西日本は時計回りの回転運動を伴うようにして形成されたとされる（下図; Otofuji et al., 1985; Tojo et al., 2017; 東城ほか, 2019; Takenaka and Tojo, 2019; 図は Takenaka and Tojo, 2019 より。「Ma」は「百万年前」を意味する）。南西日本は比較的大きな陸塊

として離裂形成されたものの、東北日本は島嶼的な状況が長く続いたと考えられている。なかでも東西日本と南西日本の境界域に当たる地域は、1,500-500万年前の長きにわたり深い海峡で隔てられており、この時代の海峡部分はラテン語で「深い溝」を意味する「フォッサマグマ Fossa Magna」と称されている。やがて、海底堆積物や火山活動による地殻の隆起により日本列島が陸続きになるが、この地域が日本列島の生物相の大きなギャップとなっていたり (i.e., この地での種分化や亜種分化)、同一種内であっても遺伝分化の境界として数多くの研究事例がある (cf. Tojo et al., 2017)。

このような世界的にも極めてユニークな形成史を有する日本列島のなかにおいて、北海道も特徴的な形成史をもつ。約300万年前までの島嶼化は著しく、道内に生息・生育する動植物はこれらの島嶼化の影響を強く受けていると考えられる。すなわち、北海道の生物相を考える際、第四紀以降（最近260万年）の氷期-間氷期サイクル（気候変動）やそれに伴う海水面の変動は極めて重要な要因となる。北海道-本州間の津軽海峡は深い海峡であるのに対し、北海道-サハリン（樺太）やサハリン-ロシア沿海州や北海道-北方四島の海峡は浅く、生物の分散ルートとしてのユーラシア大陸-サハリン-北海道の陸繋化や、カムチャツカ半島-千島列島-北海道の関係性は極めて重要である。



このような観点から、北海道の東部地域や北部地域は、日本列島の生物相の成立パターンを考える上で極めて重要な地域の一つである（下図; 図は Tojo et al., 2017 より）。しかしながら、特に水生昆



虫類においては北海道内での調査研究は十分には実施されていないのが現状である。今回、厚岸町からの支援をいただくとともに、別寒辺牛湿原内での調査を実施する貴重な機械をいただき、深く感謝申し上げます。本研究では、別寒辺牛湿原を中心とする厚岸町内での水生昆虫相の調査を実施するとともに、生物系統地理の観点から、いくつかの水生昆虫類や魚類などの水生生物を対象とする遺伝構造解析を実施した。一部、遺伝子解析のデータが得られていない種群もあるが、現在までに得られた成果をもとに調査結果として報告する。

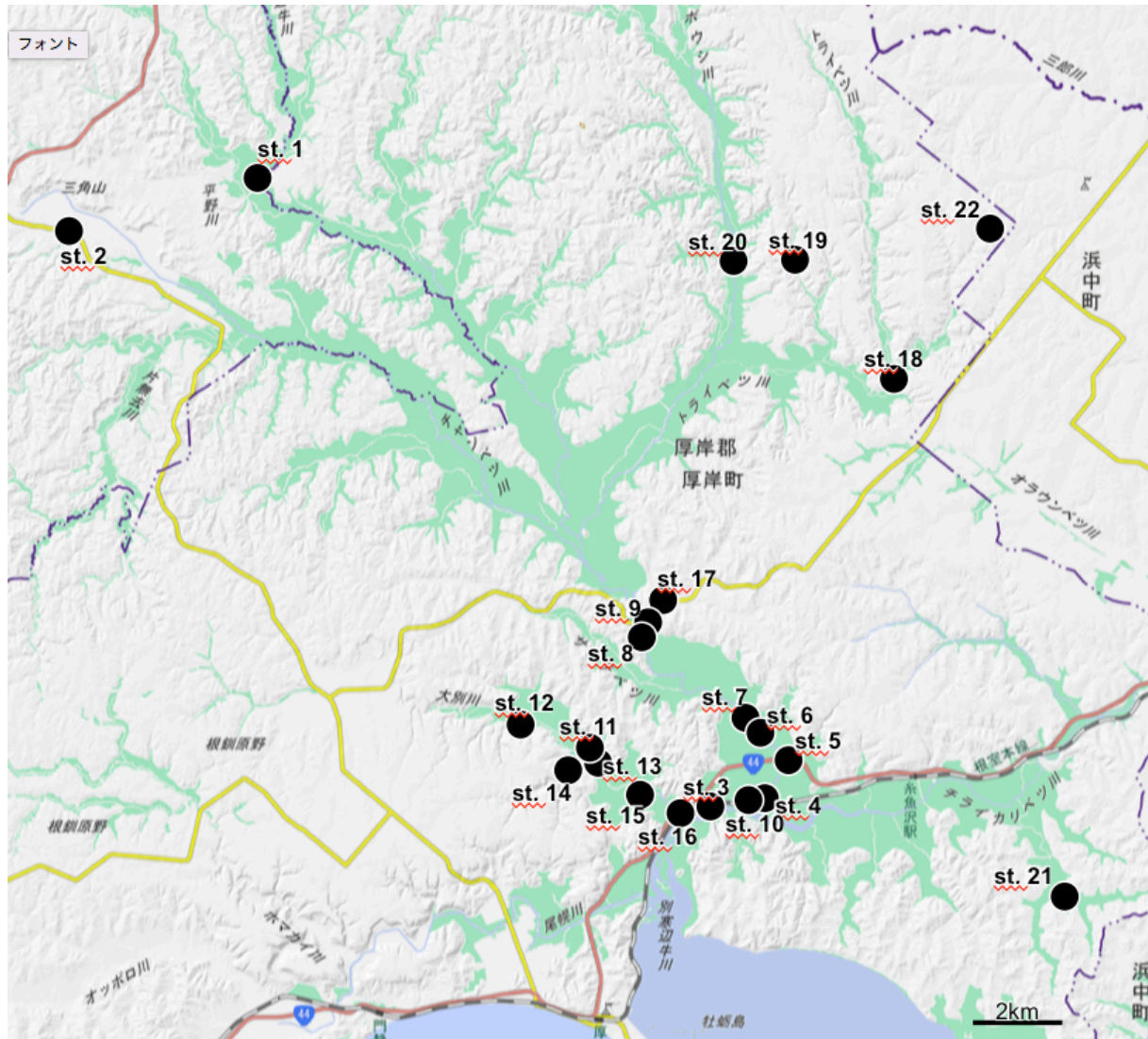
2. 調査方法

2.1. 水生昆虫相調査

2017年8月15日～8月22日に、別寒辺牛湿原を中心とする水生生物相調査を実施した。このうち、8月16日と17日はカヤックを利用した調査を実施した。8月15日、18日、21日、22日は、レンタカーを使用して上流域の別寒辺牛湿原へ流入する河川を対象とした水生生物相調査を実施した。また、8月15日、16日、17日、21日の晩に、それぞれ地点を換えながら、簡易式のライトトラップ調査（6W蛍光灯×4灯）を実施し、水生昆虫類の成虫採取を実施した。いずれも翌朝にトラップを回収した。

8月18日から20日までの3日間は、別寒辺牛湿原の地域集団における遺伝子型が、より広域的な視点において、どのように評価されるのかを議論するため、帯広周辺地域、旭川周辺地域、そして北見周辺地域における水生昆虫類の調査・サンプリングを実施した。札幌周辺ほか、過去の調査においてサンプルを確保していた地域集団に関しても、比較検討の対象とした。

別寒辺牛湿原を中心とする水生生物相の調査実施地点は以下の図の通りである。



2.2. 遺伝子解析による分子系統地理解析

得られた水生生物（淡水魚類と水生昆虫類）の遺伝子解析には、主として淡水魚類ではミトコンドリア遺伝子 *cyt b* 領域を、水生昆虫類ではミトコンドリア遺伝子 COI 領域を対象とした。いずれも種識別などの DNA バーコーディングにおいても汎用される遺伝子領域である。これらの以外の遺伝子領域についても解析を実施してきたが、ここでは種内レベルでの（地域集団レベルでの）遺伝構造が明白に示されたこれらの領域の解析結果を示すこととする。遺伝子解析手法に関しては、採取した標本の一部組織を用いて（淡水魚では鱭の一部など、水生昆虫類では歩脚の基部筋肉の一部から）全ゲノム DNA を抽出し、一般的なプライマーセットを用いて（一部の実験では、研究室内で開発したプライマーを用いて）PCR 法により遺伝子解析の目的とする DNA 断片を増幅させた。この PCR 産物を精

製し、同じプライマーセットを用いたダイレクトシーケンスを行い、目的とする遺伝子領域の塩基配列を解読した。これらのデータセットを用いて、一般的な系統解析法を実施することで系統解析を行った。なお、一連の遺伝子解析手法や系統解析手法に関しては、最近公表した著者らの原著論文を参照いただきたい (Takenaka and Tojo, 2019; Takenaka et al., 2019)。

3. 調査・解析の結果および考察

3.1. 水生昆虫相調査の結果・考察

2017年夏に実施した、別寒辺牛湿原を中心とする水生生物相の調査を下表に示す。一部、専門の分類学者に検討していただいている標本もあるが、基本的には以下の表として示すような結果となった。

種 (タクサ) 名	学名	St.1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
カゲロウ目 Ephemeroptera																								
トビイロカゲロウ科 Leptophlebiidae																								
ウェストントビイロカゲロウ	<i>Paraleptophlebia westoni</i>																							+
モンカゲロウ科 Ephemeridae																								
フタスジモンカゲロウ (♀成虫)	<i>Ephemera japonica</i>																							+
マダラカゲロウ科 Ephemerellidae																								
クシゲマダラカゲロウ	<i>Ephemerella setigera</i>															+								
エラブタマダラカゲロウ	<i>Torleya japonica</i>																							+
マダラカゲロウ科の一種	Ephemerellidae Gen. sp.																							
コカゲロウ科 Baetidae																								
フタバカゲロウ	<i>Cloeon dipterum</i>																							+
コカゲロウ科の種群	Baetis spp.	+				+	+	+	+										+	+		+		
ヒラタカゲロウ科 Heptageniidae																								
エルモンヒラタカゲロウ	<i>Epeorus latifolium</i>																							+
ヒラタカゲロウ属の一種 (♀成虫)	<i>Epeorus</i> sp.																							+
タニガワカゲロウ属の一種	<i>Ecdyonurus</i> sp.1																							+
タニガワカゲロウ属の一種	<i>Ecdyonurus</i> sp.2																							+
タニガワカゲロウ属の一種	<i>Ecdyonurus</i> sp.3					+			+				+	+										+
ヒメヒラタカゲロウ属の一種	<i>Rhithrogena</i> sp.																							+
ヒラタカゲロウ科の一種 (♀成虫)	Heptageniidae sp.																							+
カワゲラ目 Plecoptera																								
アミメカワゲラ科 Perlidae																								
アミメカワゲラ科の一種	Perlidae Gen. sp.																							+
オナシカワゲラ科 Nemouridae																								
オナシカワゲラ属の一種	Nemoura sp.																							+
半翅目 Heteroptera (Hemiptera)																								
タイコウチ科 Nepidae																								
ミズカマキリ	<i>Ranatra chinensis</i>																							+
ヒメミズカマキリ	<i>Ranatra unicolor</i>																							+
マツモムシ	<i>Notonecta triguttata</i>																							+
アメンボ科 Gerridae																								
ナミアメンボ	<i>Aquarius paludum</i>																							+
ババアメンボ	<i>Gerris (Gerris) babai</i>																							+
ヒメアメンボ	<i>Gerris (Gerris) latiabdominis</i>																							+
コセアカアメンボ	<i>Gerris (Macrogeris) gracilicornis</i>																							+
ヒメアメンボ属の一種	<i>Gerris</i> sp.																							+
毛翅 (トビケラ) 目																								
ヒゲナガカワトビケラ科 Stenopsychidae																								
ヒゲナガカワトビケラ	<i>Stenopsyche marmorata</i>																							+
トビケラ科 Phryganeidae																								
ムラサキトビケラ	<i>Eubasilissa regina</i>																							+
カクスイトビケラ科 Brachycentridae																								
カクスイトビケラ属の一種	<i>Brachycentrus</i> sp.																							+
エグリトビケラ科 Limnephilidae																								
エグリトビケラ	<i>Nemotaulius admorsus</i>																							+
ニンギョウトビケラ科 Goeridae																								
ニンギョウトビケラ	<i>Goera japonica</i>																							+
鞘翅 (コウチュウ) 目 Coleoptera																								
ゲンゴロウ科 Dytiscidae																								
オオヒメゲンゴロウ	<i>Rhantus erraticus</i>																							+
ヒメゲンゴロウ	<i>Rhantus suturalis</i>																							+
キバクヒメゲンゴロウ	<i>Ilybius apicalis</i>																							+
クロズマゲンゴロウ	<i>Agabus conspicuus</i>																							+
ゲンゴロウモドキ	<i>Dytiscus dauricus</i>																							+
マゲンゴロウ	<i>Agabus japonicus</i>																							+
ヨツボシクロヒメゲンゴロウ	<i>Ilybius nakanei</i>																							+
ミススマン科 Gyrinidae																								
ミススマン	<i>Gyrinus japonicus</i>																							+

別寒辺牛湿原内は、思ったよりも種多様性が高くなく、やや上流側の湿原内へと流入する河川 (特に河床が砂質ではなく砂礫質である河川) などで比較的多様な水生昆虫類が検出された。湿原内は、

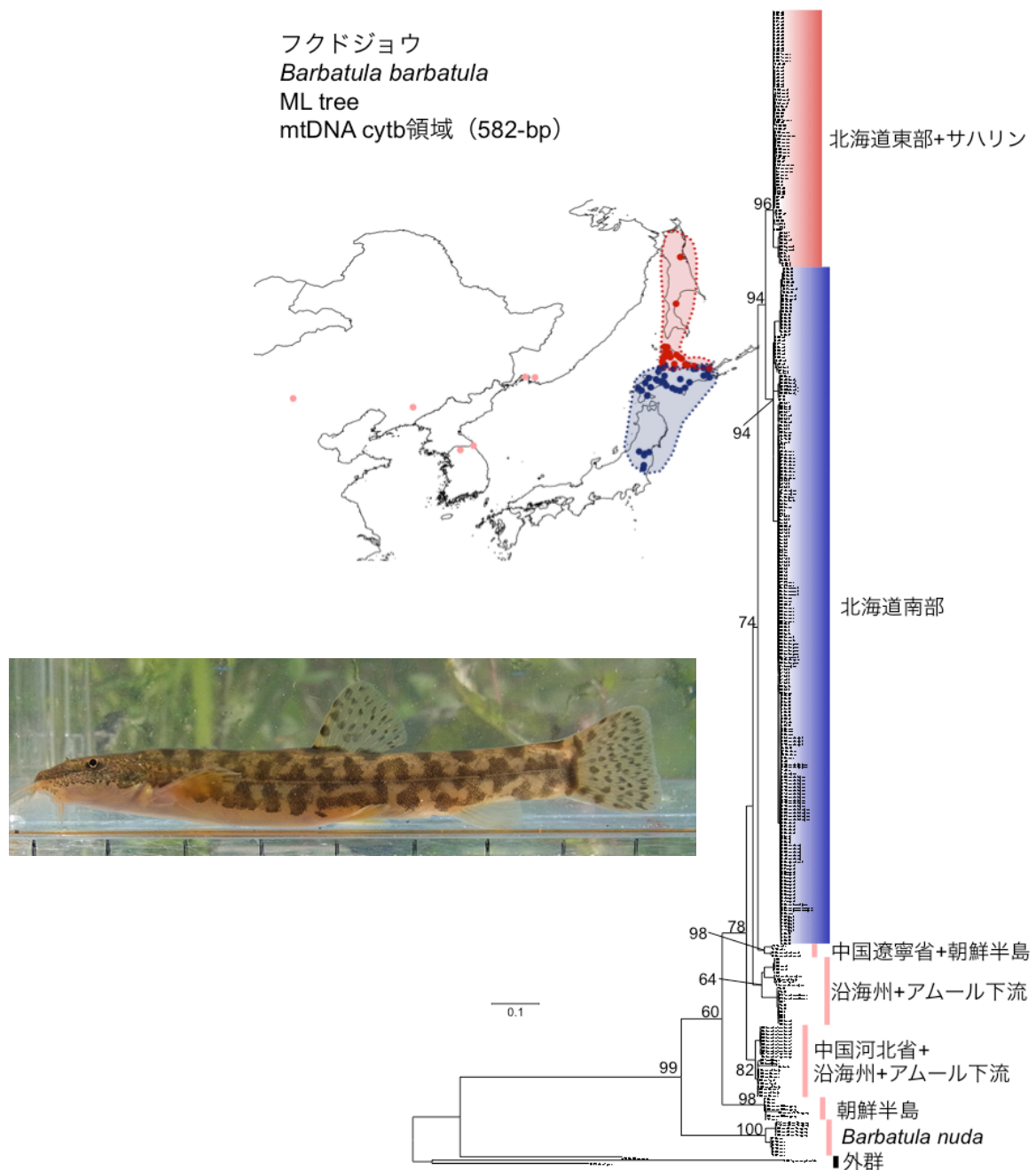
低標高であるために、厚岸湖などを介した塩水の影響もあるものと思われる。

3.2. 水生生物を対象とした遺伝子解析の結果・考察

2017年夏に別寒辺牛湿原や流入河川で採取された水生生物の標本を試料として、遺伝子解析を実施している。ここでは、全国的な遺伝子解析が済んでおり、なおかつ別寒辺牛地域（厚岸地域）の解析結果を付加することのできたフクドジョウ *Barbatula barbatula*（タニノボリ科）の解析結果、フタスジモンカゲロウ *Ephemera japonica*（カゲロウ目 モンカゲロウ科）の解析結果、最後にミズカマキリ *Ranatra chinensis*（半翅目 タイコウチ科）の遺伝子解析結果を順に示す。

3.2.1. フクドジョウの遺伝構造

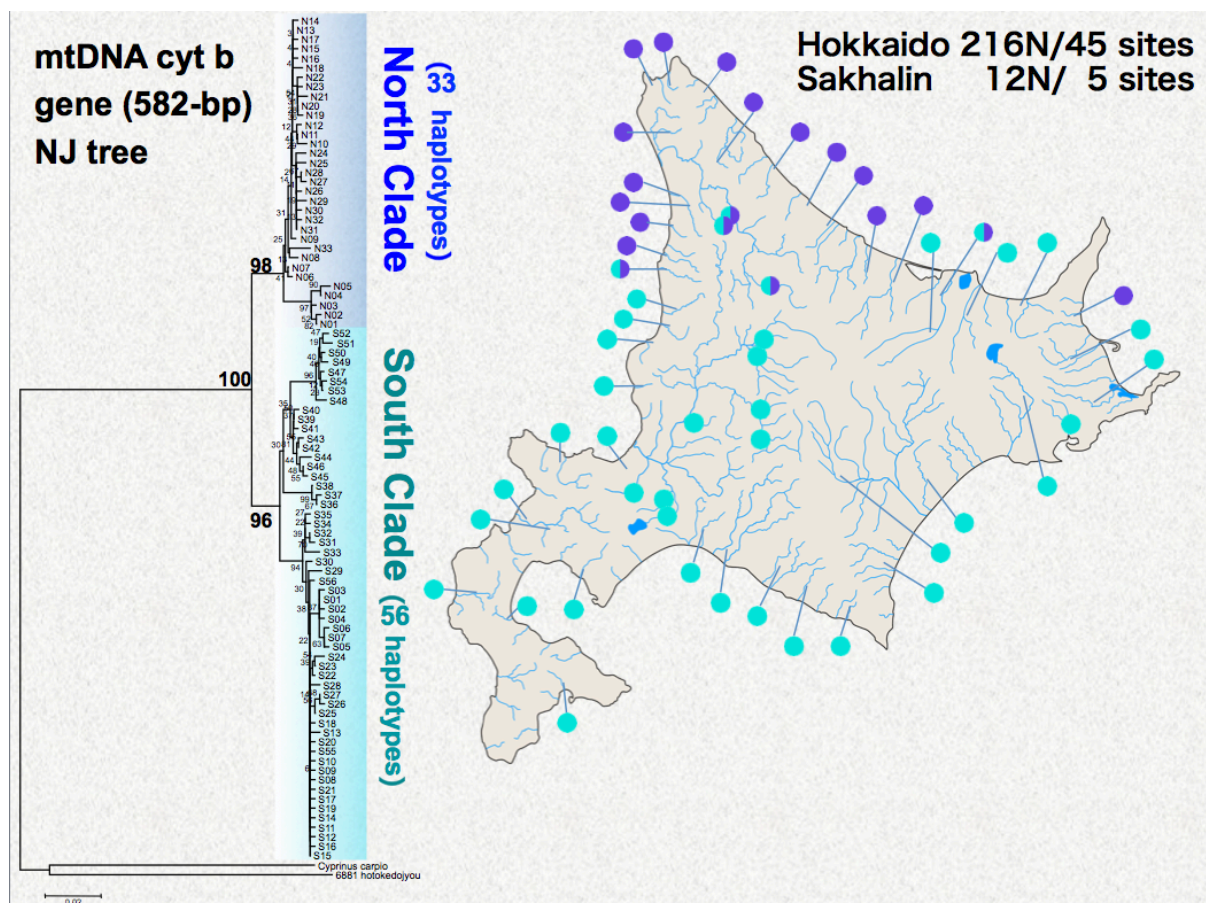
フクドジョウ類はユーラシア大陸に広域的に分布している。日本列島内では北海道内でのみ自然分布している。しかし、1990年代の後半から本州においても散見され始め（東城・細谷, 1998）、近年では東北地方の広域や関東地方からも生息が確認されている。ペットとして流通していることもあり、



飼育個体が野外に放逐される形で人為的分散の可能性が高いと考えられる。遺伝子解析の結果から、本来の生息地ではない地域のフクドジョウ集団を対象とした遺伝子解析を実施したところ、北海道内の石狩川水系（安平川など）に特有の遺伝子配列が得られた。これらの結果から、少なくとも大陸系統の近縁種が日本列島に人為導入されたわけではなく、日本国内の自然分布域から、本来の日生息域へと人為放逐されたことは確実である。

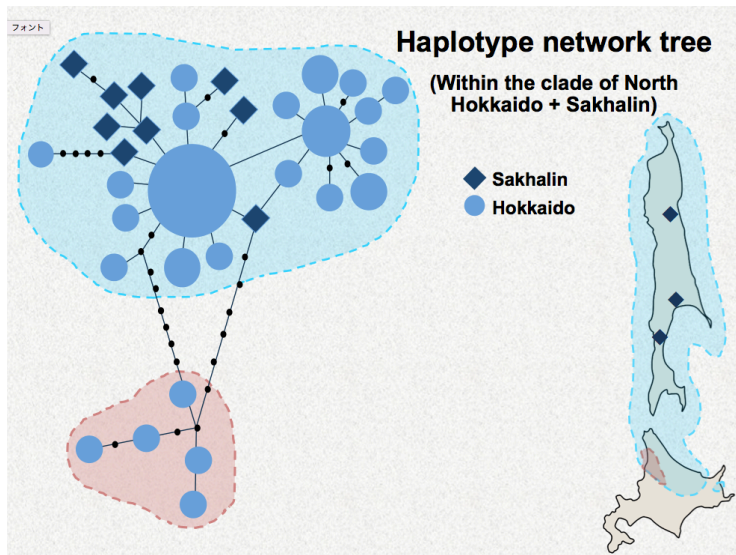
前ページの系統樹に示した赤と青の二大系統は、道北地域（赤クレード）と道南地域（青クレード）に大きく区分された（系統樹における配色と、地図上のプロットの配色が対応している）。このうち、道北地域で構成される赤クレードには、サハリンの地域集団も含まれる。また、これらの北海道+サハリンクレード（北海道の北クレード）は、北海道内に遺伝的多様性の中心があり、サハリンのフクドジョウから検出されている遺伝子型（ハプロタイプ）は北海道内の中核から派生したものと考えられ、氷期などのフクドジョウの分布域縮小時のレフュジアは道内にあったものと推察される。道内にのこった集団からサハリンへと再分散が生じたのではないかと考えられる。以下に、北海道内のフクドジョウ集団を網羅的に対象とした解析結果、このうちの北部クレードと南部クレードそれぞれに分割したうえで、北部クレード内の地理的遺伝構造や南部クレード内の地理的遺伝構造を順に図示する。

まずは、北海道全域を対象としたフクドジョウの系統関係とその地理的分布パターンを下図に示す。別寒辺牛湿原に流入する河川において採集されたフクドジョウは南部クレード（緑クレード）を構成することが明らかとなった。



次に、この図内の北部クレード（青クレード）を構成したサンプルだけを対象に、ハプロタイプ間

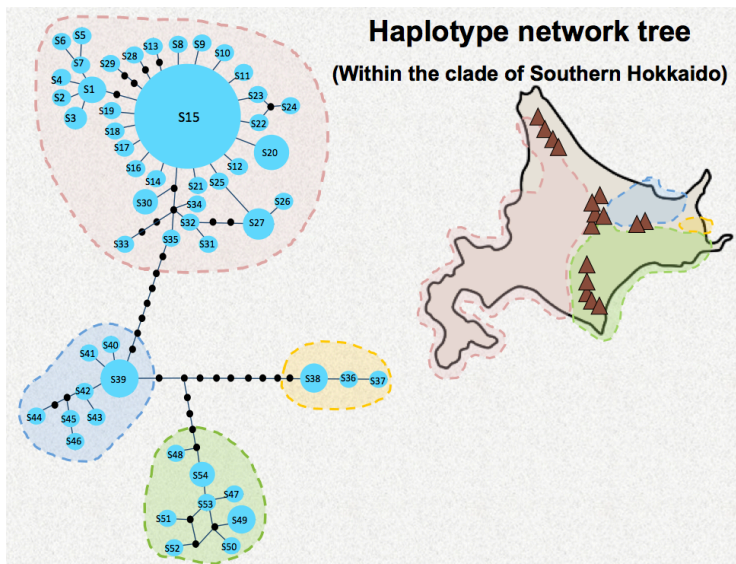
のネットワーク図と北部クレード内におけるサブクレードの地理的分布パターンを示す（次頁）。



左の図が示すように、フクドジョウの北部クレードは二つのサブクレードから構成され、赤く囲んだ遺伝子型（ハプロタイプ）は天塩山地の西側地域からのみ検出された。残る大部分の遺伝子型（ハプロタイプ）はこれらの天塩山地の西部地域も含むように道北・道東とサハリンに分布しており、中核をなす最も優占的な遺伝子型は北海道内からのみ検出された。これらのことから、北海道のフクドジョウは大陸からサハリン経由で日本列島に移入したことは確か

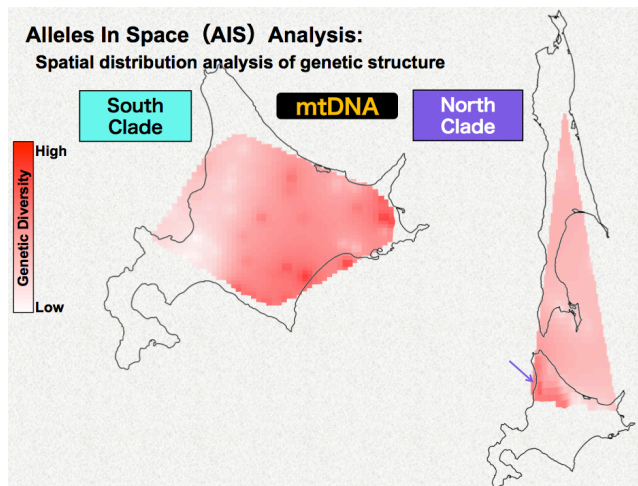
であるものの、その後、「北海道→サハリン」という逆方向の分散（Back Dispersal）が生じたことが強く示唆される結果となった。

次に、北海道の南部クレード内の地理的遺伝構造を下図に示す。こちらは4つのサブクレードから



構成されており、地理的にも明白な境界が検出された。主には山脈の稜線域による（すなわち分水嶺による）遺伝系統の分化であると考えられ、極めて妥当性の高い結果と言える。別寒辺牛湿原に流入する河川のフクドジョウからは、これらのうちの緑色で囲んだ遺伝子型が検出された。興味深いことに、厚岸地域からは比較的近い地域にある中標津地域からは、独立した黄色の囲みで区分したサブクレードが検出された。

これらの南北の二大クレードに区分したうえで、それぞれの遺伝系統群において、どの地域に遺伝的多様性の高いホットスポットが位置付けられるのか、AIS 解析を試みた結果を以下に示す。地理的に細かく細分化（メッシュ化）を行い、「それぞれのメッシュ内にどれだけ遺伝的に大きく分化した遺伝子型が配置されるか」を尺度に赤の濃淡で示した図である。より濃い地域ほど、遺伝的に分化した多様な遺伝子型を一定区域内に内包することを意味しており、言い換えれば遺伝的多様性のホットスポットを可視化した図とも言える。北部クレードにおいては、天塩山地の西側地域が、南部クレードにおいてはより南方域の遺伝的多様



性が高く、リフュジアとして機能したであろうことが推察される。

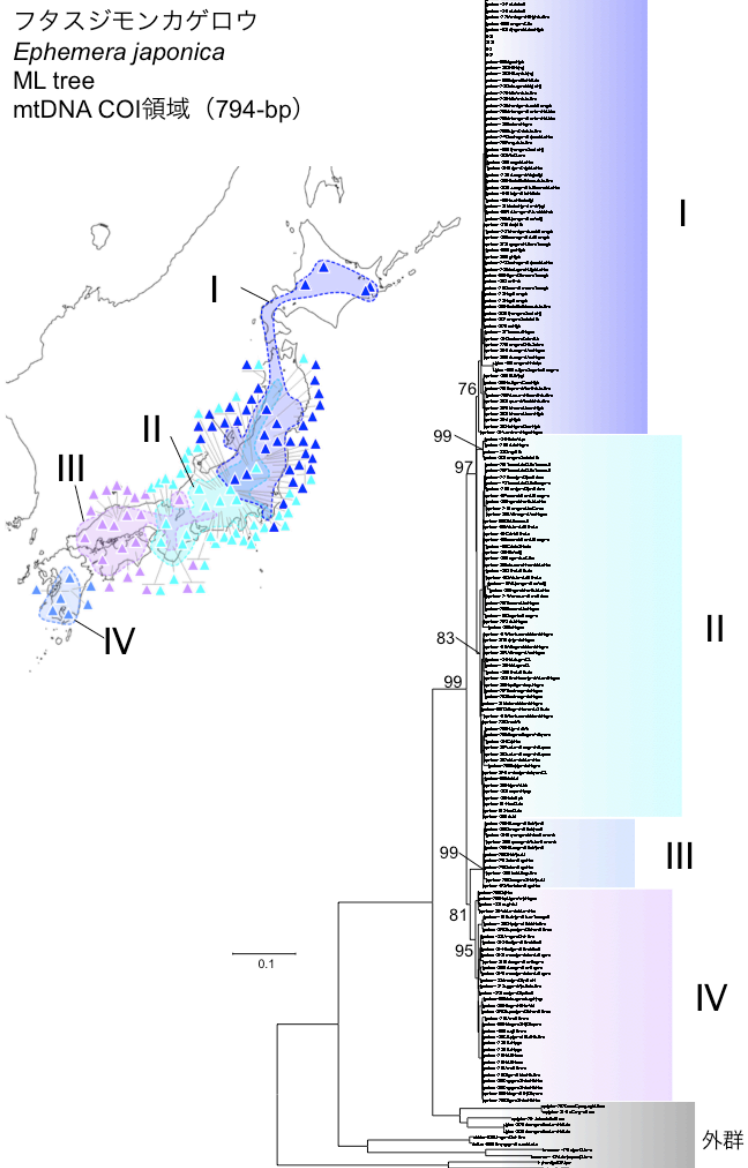
3.2.2. フタスジモンカゲロウの遺伝構造

フタスジモンカゲロウは日本列島の固有種であるが、北海道・本州・四国・九州の広域に加え、佐渡島などの離島にも生息している。河川の源流・上流域の冷細流に適応しており、フタスジモンカゲロウ（源・上流域）～モンカゲロウ *Ephemera strigata*（上・中流域）～トウヨウモンカゲロウ *Ephemera orientalis*（上・中流域）といった標高に沿った流程分布をすることもよく知られている。しかしながら、低地でも冷水環境が多数みられる北海道内においては、フタスジモンカゲロウが低標高帯にも生息しており、別寒辺牛湿原に流入する河川においても、わずかに1地点（St.19）においてのみ生息が確認された。

日本列島内では大きく4つの遺伝系統群から構成され、北海道と本州東北部（クレードI）は同一の遺伝系統群を構成した。東北地方ではクレードIIも広く重複して分布しているが、北海道内からはクレードIのみが検出される結果となった。

別寒辺牛（厚岸）地域のフタスジモンカゲロウはクレードIを構成する妥当な結果が得られた。クレードI内の遺伝構造の地域性を議論する上では、マイクロサテライトマーカーなどのより鋭敏な分子マーカーを開発する必要があるが、ミトコンドリア遺伝子マーカー（COI領域）の解析においてもいくつかの興味深い結果が得られている。

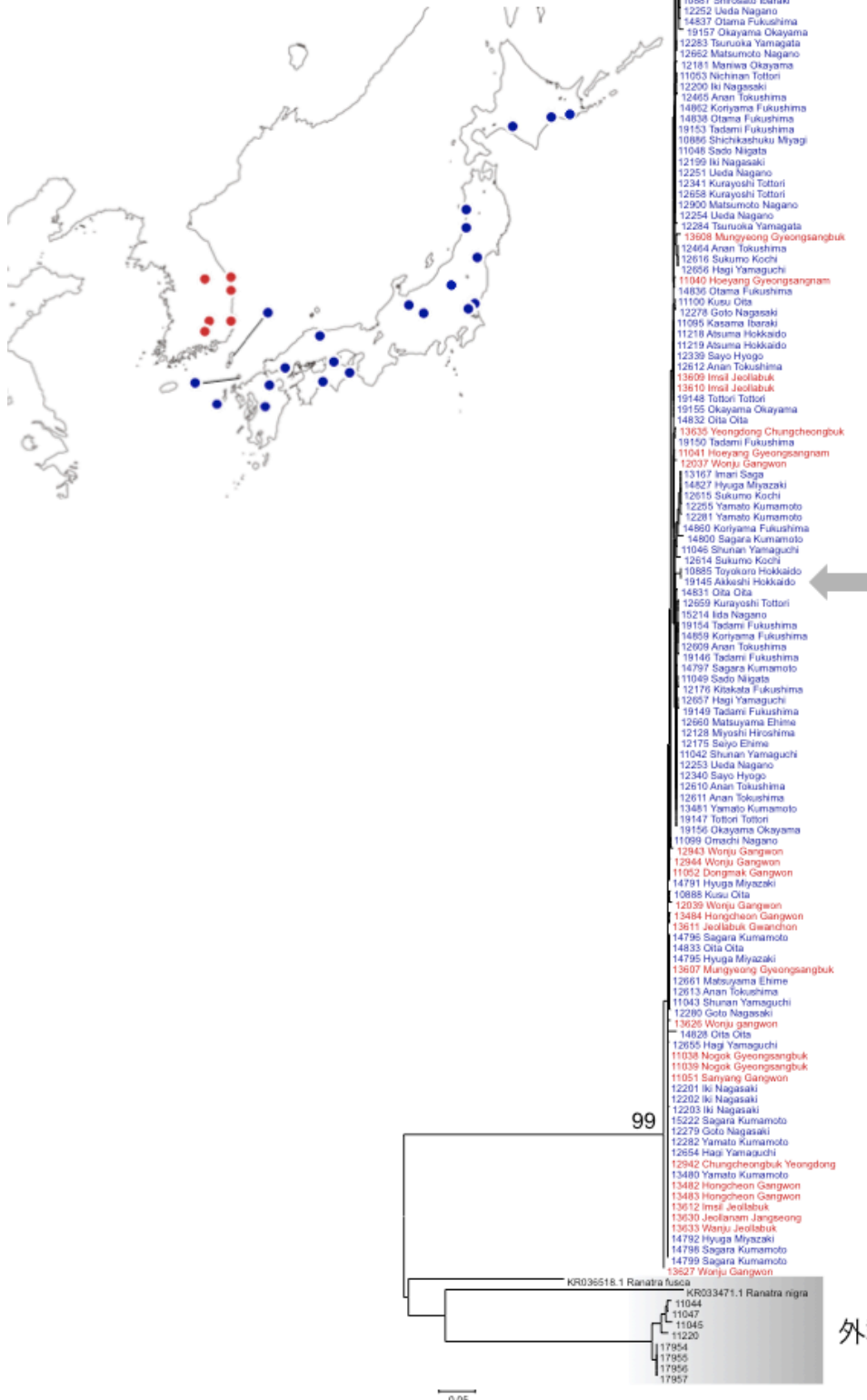
九州の地域集団は、本州や四国の集団からは遺伝分化しているものの、北海道は本州の東北地域と共に一つのクレードを構成している。遠く深い海峡であるはずの津軽海峡よりも近く浅い海峡である関門海峡の方が遺伝分化の障壁となっていることはとても興味深い。本種が冷温・細流に適応し、北海道では低標高帯にも生息可能である一方で、中国・四国や九州では比較的高い標高帯に生息するために、海峡そのものだけでなく平野部も分散の障壁として機能することを示唆していると考えられる。



3.2.3. ミズカマキリの遺伝構造

ミズカマキリの遺伝構造と地理的分布パターンを以下の図に示す。本種は、日本列島広域に生息するほか、朝鮮半島にも生息している。

ミズカマキリ
Ranatra chinensis
ML tree
mtDNA COI領域 (579-bp)



日本列島が大陸から離裂したのが2,000-1,500万年前であり (Otofujii et al., 1985), 最終的に対馬海峡が成立したのが155万年前であるとされている (Osozawa et al., 2012)。これらの地史からは、日本列島-朝鮮半島の地域集団レベルでの遺伝的分化が検出されるものと期待されたが、結果は日本海 (対馬海峡) が全く障壁として機能していないことを明白に示すものであった。日本列島と朝鮮半島のミズカマキリが入れ子状態となるような系統樹が得られた。ミズカマキリは、しばしば学校の水泳用プールなどにも入り込むような飛翔力の強い種であるため、そのような分散力の強さを示す遺伝構造は妥当な結果と言える。別寒辺牛湿原内 (St.13) で1個体だけ採集されたミズカマキリは、前頁に矢印で示したところに位置づけられた。十勝地域で採集されたミズカマキリと同一のハプロタイプが検出されている。

4. おわりに

別寒辺牛湿原やその流入河川からは、さらに多くの遺伝子解析用の標本を採集できているので、今後も継続しながら遺伝子解析を展開すると共に、機会があれば追加調査・サンプリングを実施しながら、フクドジョウ、フタスジモンカゲロウ、ミズカマキリにおいて実施したような日本列島広域を対象とした (場合によっては大陸も含めた) 生物系統地理学的な研究のなかに、厚岸・別寒辺牛湿原の水生生物の解析データを盛り込むような形式での検討を継続して行きたい。

本調査研究の実施に際しては、厚岸水鳥観察館 (厚岸町環境政策課) の職員の皆様には様々な助言と共に調査の便宜を図っていただきました。とくに厚岸水鳥観察館の澁谷辰生氏には、調査計画の段階から成果報告に至るまで、大変お世話になりました。この場をかりてお礼申し上げます。

5. 引用文献

- Osozawa, S., Shinjo, R., Armid, A., Watanabe, Y., Horiguchi, T., Wakabayashi, J. (2012) Palaeogeographic reconstruction of the 1.55 Ma synchronous isolation of the Ryukyu Islands, Japan, and Taiwan and inflow of the Kuroshio warm current. *International Geology Review* 54: 1369-1388.
- 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.
- 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* (in press).
- Takenaka, M., Sekine, K., Tojo, K. (2019) The first establishment of “hand-pairing” cross-breeding method for the most ancestral wing acquired insect group. *Zoological Science* (in press).
- 東城幸治・細谷和海 (1998) 福島市摺上川で採集されたフクドジョウ *Noemacheilus barbatulus toni* (Dybowsky). *福島生物* 41: 33-36.
- Tojo, K., Sekine, K., Takenaka, M., Isaka, Y., Komaki, S., Suzuki, T., Schoville, S. D. (2017) Species diversity of insects in Japan: Their origins and diversification processes. *Entomological Science* 20: 357-381.
- 東城幸治・竹中將起・谷野宏樹 (2019) 地史の影響を強く反映する水生昆虫類の生物系統地理. *生物科学* (印刷中).