

苗場山における山岳溪流棲生物の遺伝構造の研究

信州大学大学院理工学系研究科 関谷知裕

河川源流域に生息する生物種が利用する生息地は規模が小さく、不連続であり、孤立散在する傾向が強い。そのため、遺伝的浮動の影響をより強く受け、地理的な要因による遺伝的分化の傾向はかなり強まるものと予想される。このことから、孤立・散在分布し、かつ移動分散能力の低い種群を対象とした個体群レベルでの遺伝的構造は、地史や系統進化史を大きく反映している可能性が高い。

本研究ではジオパーク内と苗場山周辺地点での山岳溪流棲昆虫やカワネズミ糞の採取を行い、複数地点において採取されたミネトワダカワゲラ *Scopura montana* (昆虫綱 カワゲラ目) とオビカゲロウ *Bleptus fasciatus* (昆虫綱 カゲロウ目) の遺伝子解析を行った。また、雑魚川にて採取されたカワネズミ糞についても全国的な系統との比較のために遺伝子解析を行った。

遺伝子解析の結果、ミネトワダカワゲラは千曲川や中津川といった大きな河川によって遺伝的に分化しているが、苗場山の東西での遺伝的な分化は見られなかった。これはミネトワダカワゲラが源流域に生息し、移動も歩行移動に限られるために大きな河川を渡る分散が稀であるためと考えられる。一方、オビカゲロウはジオパーク内において大きな遺伝的分化はみられなかった。

本研究で扱った2種の遺伝構造の差異の要因としては、分散力の違い（ミネトワダカワゲラは幼虫・成虫ともに無翅で飛行能力が完全に欠いているのに対し、オビカゲロウは成虫が有翅であり、飛行することができる）や生息可能なハビタットの違いといった生態的な要因に加え、集団の進化史といった歴史的な要因も合わさったものと考えられる。

本調査によって、雑魚川においてカワネズミ糞が発見された。カワネズミは生息環境や食物を溪流に依存しているため、環境の悪化には脆弱であるとされる。本調査でカワネズミの生息が確認されたことから、雑魚川は豊かな自然と豊富な餌資源がある環境であると評価できる。また、本調査研究で遺伝子解析されたカワネズミ個体は東日本に分布する系統に位置付けられることが明らかとなった。

苗場山麗ジオパーク学術研究推奨事業 研究成果報告書

苗場山における山岳溪流棲生物の遺伝構造の研究

信州大学大学院 理工学系研究科
関谷 知裕

研究成果報告

サンプリングとその結果

ジオパーク内と苗場山周辺地点でのサンプリングを行った。そのうち山岳溪流棲昆虫やカワネズミ糞が採取された地点を表 1 および図 1 で示す。地形と遺伝構造を比較するために、千曲川南北、中津川東西、苗場山東西の各地域でサンプリングを実施した。また、苗場山周辺の山塊である志賀高原や三国山でのサンプリングも行った。

遺伝子解析

サンプリングの結果、ジオパーク内と比較のために周辺地域の周辺地域で広域的に採取可能であったミネトワダカワゲラ *Scopura montana* (昆虫綱 カワゲラ目) と、ジオパーク内のいくつかの地域で採取可能であったオビカゲロウ *Bleptus fasciatus* (昆虫綱 カゲロウ目) に関して遺伝子解析を行い、苗場地域内および過去の研究で採取された他地域のサンプルとの比較を行った。また、山岳溪流において上位捕食者として知られている、カワネズミ *Chimarrogale platycephala* に関してもその糞サンプルを採取し、糞からの遺伝子解析を行い、全国的な遺伝系統との比較を行った。

ミネトワダカワゲラの調査・解析結果

ミネトワダカワゲラはカワゲラ目、トワダカワゲラ科の水生昆虫であり、東北南部・北関東から中部・近畿地方に分布している (東城, 2015; Tojo et al., 2016)。冷水環境に適応しており、河川の源流域に生息している (東城, 2015; Tojo et al., 2016)。成虫は完全に翅を退化させた無翅型のカワゲラ類である。

今回の調査地点のうち、st1, st4, st6, st9, st13-16 でミネトワダカワゲラ採取された。本調査で採取されたサンプルと他の遺伝子解析の結果を合わせると図 2 のようになる。その結果、st9 (千曲川北側) と st1 (志賀高原) で採取されたミネトワダカワゲラの個体は他地域の個体からは遺伝的に大きく分化していることが示された。次に、上記のような遺伝的に大きく分化している個体を除き、ハプロタイプネットワーク図を作成した (図 3)。その結果、遺伝的に分化した 3 つのグループから構成されることが明らかとなった。この 3 つのグループは図 2 の樹形においても確認され、それぞれの単系統性が支持されている。3 つのグループのうち、遺伝的に最も離れているミネトワダカワゲラは st16 の三国山で採取されている個体である。残りの 2 つのグループは中津川西側 (st4 や過去の調査で採取された栄村堺地区のミネトワダカワゲラサンプルと津南町結束地区のミネトワダカワゲラサンプル) と中津川東側 (st6, st13-15) で採取されたサンプルである。

すなわち、ミネトワダカワゲラは大きな河川 (千曲川や中津川) を隔てて遺伝的に分化しており、特に千曲川を隔てた遺伝的分化は大きいことが明確に示された。一方、苗場山の東西では遺伝的な分化はみられなかった。これはミネトワダカワゲラが源流域に生息し、

移動も歩行移動に限られるために大きな河川を渡る分散が稀であるためと考えられる。

オビカゲロウの調査・解析結果

オビカゲロウはカゲロウ目、ヒラタカゲロウ科の水生昆虫であり、日本列島（本州・四国の広域と九州北部）と朝鮮半島（韓国）にのみ棲息する東アジアの固有種群である（Bae, 1994; Ishiwata, 2001; Miyairi and Tojo, 2007）。幼生は河川源流域の小滝周辺の飛沫帯・細流や滴り周辺の落ち葉や石礫の裏などの特異的な環境下に生息し、羽化後 1 数日間の亜成虫・成虫期もこのようなハビタットの周辺域で過ごす（Miyairi and Tojo, 2007）。

今回の調査では st2, st4, st10 の地点でオビカゲロウが採取された。本調査で採取されたサンプルと他の遺伝子解析の結果を合わせると図 4 のようになる。他の長野県の地域の個体と同じ系統であり、ジオパーク内において大きな遺伝的分化はみられなかった。

ミネトワダカワゲラとオビカゲロウの遺伝構造の違い

2 種は共に源流域に生息する水生昆虫であるが、ミネトワダカワゲラは千曲川などの大きな河川が障壁となって遺伝的に大きく分化しているのに対し、オビカゲロウでは大きな分化はみられなかった。この要因としては、分散力の違い（ミネトワダカワゲラは幼虫・成虫ともに無翅で飛翔能力が完全に欠いているのに対し、オビカゲロウは成虫が有翅であり、飛翔することができる）や生息可能なハビタットの違いといった生態的な要因に加え、集団の進化史といった歴史的な要因も合わさったものと考えられる。

カワネズミの調査・解析結果

カワネズミ *Chimarrogale platycephala* はトガリネズミ目 *Soricomorpha* トガリネズミ科 *Soricidae* の水生適応した小型哺乳類であり、本州および九州に生息する日本固有種で、四国においては絶滅したと考えられている（阿部, 2003）。主に山地溪流に生息しており、魚類や水生昆虫類を捕食するため、河川生態系における上位捕食者と位置づけられる（市川・中村・吉田, 2004）。

本調査において st17（雑魚川）の地点でカワネズミの糞が発見された。また、st2（天代川）もカワネズミにとって良好なハビタットと思われる環境であったが、糞は見つからなかった。st17 で採取された糞サンプルを遺伝子解析した結果、採取された糞は間違いなくカワネズミのものであることが明らかとなった。カワネズミは生息環境や食物を溪流に依存するため、環境変化には脆弱であるとされ（阿部, 2003）、長野県では準絶滅危惧種としてレッドリストに登載されている。他の地域においても保全対象として位置付けられる。カワネズミが生息可能な環境条件として、多くの餌資源となる水生昆虫や魚類の生息が重要とされる（阿部, 2003, 2011）。天然のイワナ *Salvelinus leucomaenis* が自然繁殖している雑魚川は、今や全国的にも希少な溪流であると評価されており、（志賀高原観光協会 HP）、豊かな自然に豊富な餌資源があるために、カワネズミにとっては極めて良い環境であると思わ

れる。

本調査で採取されたカワネズミ糞サンプルからの遺伝子解析結果と全国的なカワネズミを対象とした遺伝子解析の結果を合わせると図 5 のようになる。本調査研究で遺伝子解析されたカワネズミ個体は東日本系統に位置付けられることが明らかとなった。

引用文献

- 阿部永 (2003) カワネズミの捕獲, 生息環境および活動. 哺乳類科学, 43 (1) : 51-65.
- 阿部永 (2011) カワネズミ *Chimarrogale platycephala* の胃内容について. 哺乳類科学, 51 (2) : 311-313.
- Bae Y.J., I.B.Yoon, and D.J.Chun. (1994) A catalogue of the Ephemeroptera of Korea. Entomol. Res. Bull. (KED) 20: 31-51.
- 市川 哲生, 中村 寛志, 吉田 利男 (2004) プラスチック・コンテナを用いたカワネズミ *Chimarrogale platycephala* (Temminck) の生息調査法. 環動昆, 15 (3) : 169-177.
- Miyairi, K. and K. Tojo (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.
- 東城幸治 (2015) 遺伝子から解き明かす昆虫の不思議な世界. 大場裕一・大澤省三・昆虫 DNA 研究会 (編集). 悠々館, 東京.
- Tojo, K., K. Sekine, T. Suzuki, R. Saito and M. Takenaka (2016) Chapter 8. The Species and genetic diversities of insects in Japan, with special reference to the aquatic insects. In : Species Diversity of Animal in Japan (Motokawa M. and H. Kajihara eds). Springer, Tokyo.
- 志賀高原観光協会 HP (公式 Web サイト)「志賀高原 雑魚川・魚野川溪流釣り情報」
<http://www.shigakogen.gr.jp/news/fishing.html> (2017/01/23)

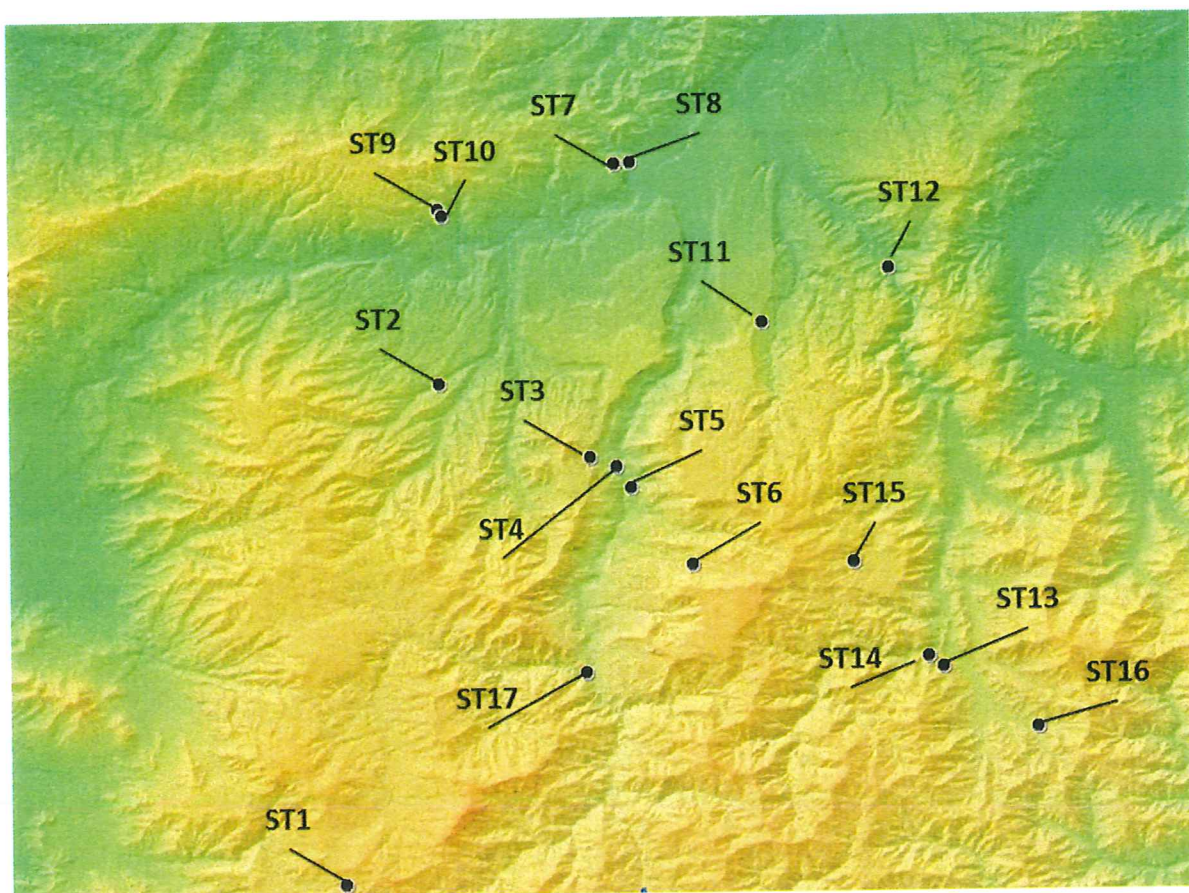


図 1 本研究のサンプリング地点一覧

地点番号	調査日	地名	緯度	経度	標高	採集サンプル種群
st. 1	2016/8/1	長野県山ノ内町平穏	N36° 43' 15.34"	E138° 30' 56.68"	1639	ミネトワダカワゲラ、ヒラタカゲロウ類、フタスジモンカゲロウ
st. 2	2016/8/1	長野県栄村 天代川	N36° 55' 46.29"	E138° 33' 21.94"	572	ヒラタカゲロウ類、フタスジモンカゲロウ、オビカゲロウ
st. 3	2016/8/1	新潟県津南町結東	N36° 53' 54.48"	E138° 37' 12.73"	931	フタスジモンカゲロウ
st. 4	2016/8/1	新潟県津南町結東	N36° 53' 40.31"	E138° 37' 51.12"	677	ミネトワダカワゲラ、フタスジモンカゲロウ、オビカゲロウ
st. 5	2016/8/1	新潟県津南町大赤沢	N36° 53' 07.67"	E138° 38' 13.57"	595	ムカシトンボ
st. 6	2016/8/1	長野県栄村 小赤沢川源流	N36° 51' 11.96"	E138° 39' 44.88"	1310	ミネトワダカワゲラ、ヒラタカゲロウ類
st. 7	2016/8/1	新潟県津南町外丸	N37° 01' 13.64"	E138° 37' 51.72"	388	フタスジモンカゲロウ、サワガニ
st. 8	2016/8/1	新潟県津南町外丸	N37° 01' 16.07"	E138° 38' 16.39"	235	ヒラタカゲロウ類
st. 9	2016/8/3	長野県栄村 北信	N37° 00' 06.87"	E138° 33' 22.10"	693	ミネトワダカワゲラ
st. 10	2016/8/3	長野県栄村 北信	N36° 59' 57.39"	E138° 33' 28.05"	598	オビカゲロウ、ヒラタカゲロウ類、サワガニ
st. 11	2016/8/3	新潟県津南町中深見	N36° 57' 14.56"	E138° 41' 32.82"	707	ムカシトンボ、サワガニ
st. 12	2016/8/3	新潟県十日町市小出奥	N36° 58' 34.23"	E138° 44' 46.69"	411	ヒラタカゲロウ類
st. 13	2016/8/3	新潟県湯沢町三国 赤沢	N36° 48' 35.99"	E138° 46' 03.02"	997	ミネトワダカワゲラ
st. 14	2016/8/3	新潟県湯沢町三国 清津川支沢	N36° 48' 51.25"	E138° 45' 41.29"	906	ミネトワダカワゲラ
st. 15	2016/8/3	新潟県湯沢町三国 湯之沢	N36° 45' 56.31"	E138° 46' 54.42"	1116	ミネトワダカワゲラ
st. 16	2016/8/3	新潟県湯沢町三国 北ノ入沢	N36° 47' 02.89"	E138° 48' 26.16"	1004	ミネトワダカワゲラ、ノギカワゲラ、ヒラタカゲロウ類
st. 17	2016/11/18	長野県栄村 雑魚川	N36° 48' 32.01"	E138° 37' 02.81"	850	カワネズミ

表 1 本調査・研究でのサンプリング地点と採取されたサンプルの一覧

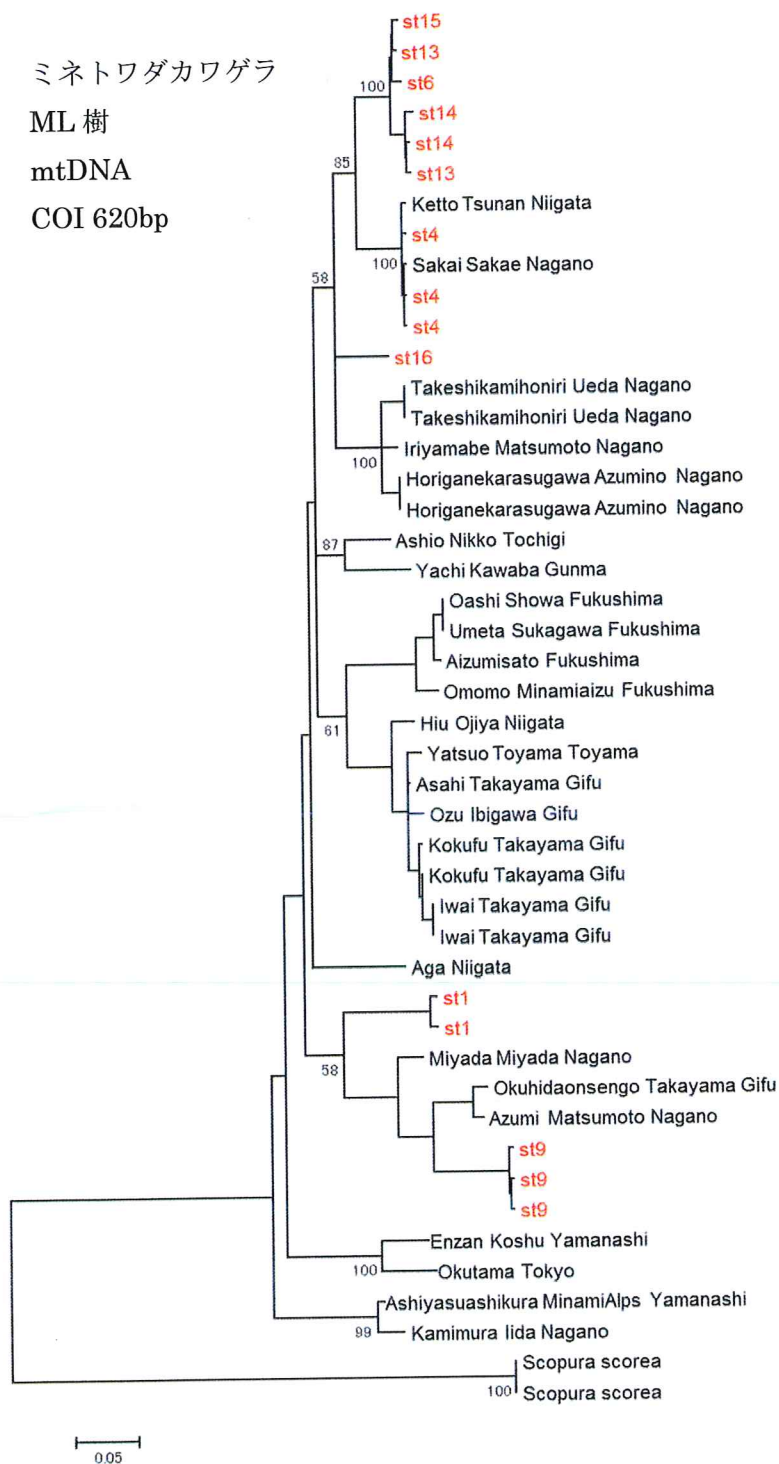


図2 ミトコンドリア DNA COI 領域 620 塩基における塩基配列情報から推定されたミネトワダカワゲラの系統関係。主要ノード部分に付した数値はそれぞれの分岐点よりも末端に位置付けられる枝部分のサンプルが形成する地域集団における単系統性の確からしさを示す統計量（ブートストラップ値）である。外群としては、同属の別種を用いている。本調査・研究で採取されたサンプルを赤色で示す。

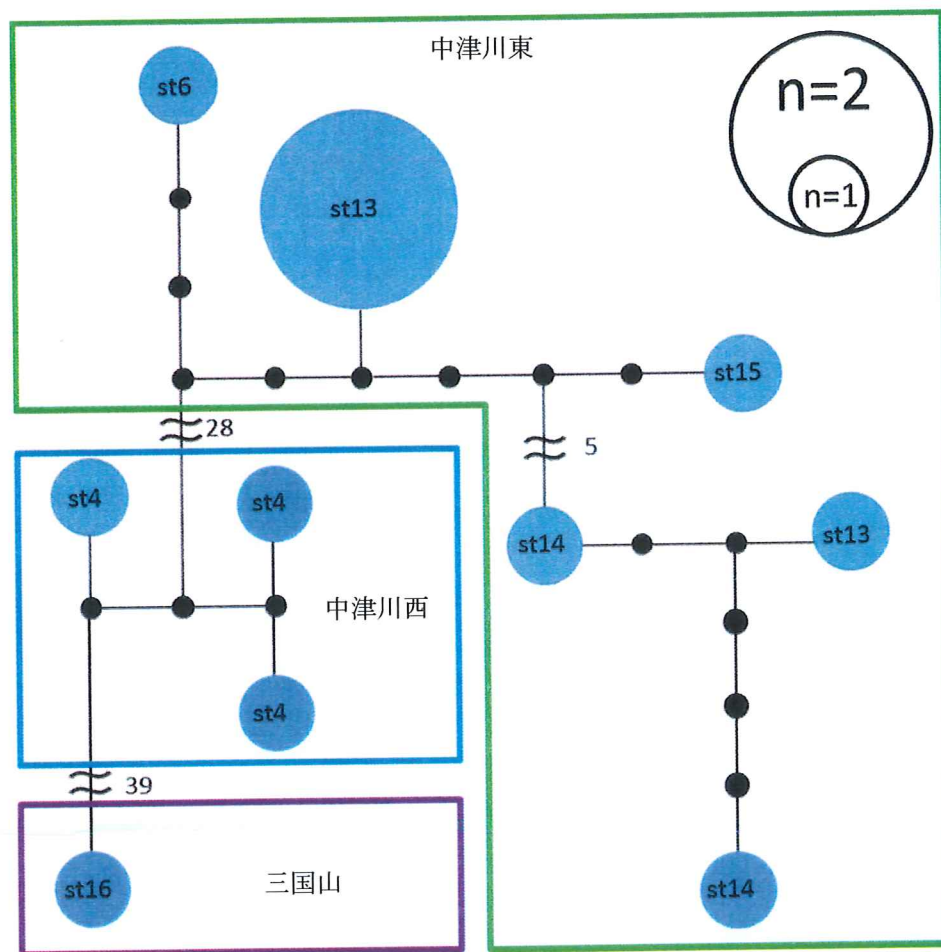


図3 ミトコンドリア DNA COI 領域 620 塩基における塩基配列情報から推定されたミネトワダカワゲラのハプロタイプネットワーク。地点間の黒丸の数が塩基置換数を表す（変異が多いものは黒点を省略し置換数を記す）。3 色に区分した遺伝系統グループから構成されていることが明確に示された。

オビカゲロウ

ML 樹

mtDNA

COI 556bp

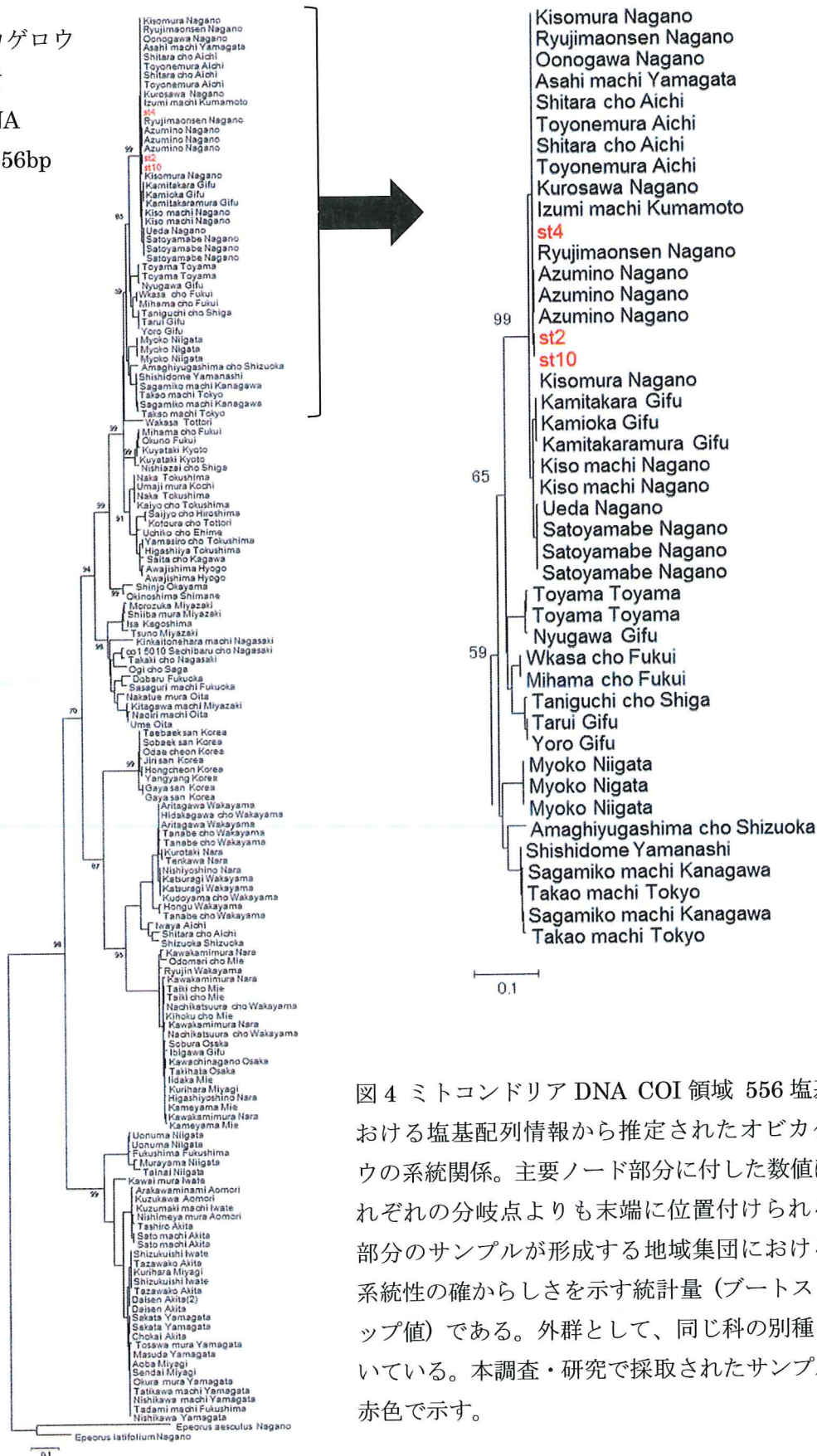


図4 ミトコンドリア DNA COI 領域 556 塩基における塩基配列情報から推定されたオビカゲロウの系統関係。主要ノード部分に付した数値はそれぞれの分岐点よりも末端に位置付けられる枝部分のサンプルが形成する地域集団における単系統性の確からしさを示す統計量（ブートストラップ値）である。外群として、同じ科の別種を用いている。本調査・研究で採取されたサンプルを赤色で示す。

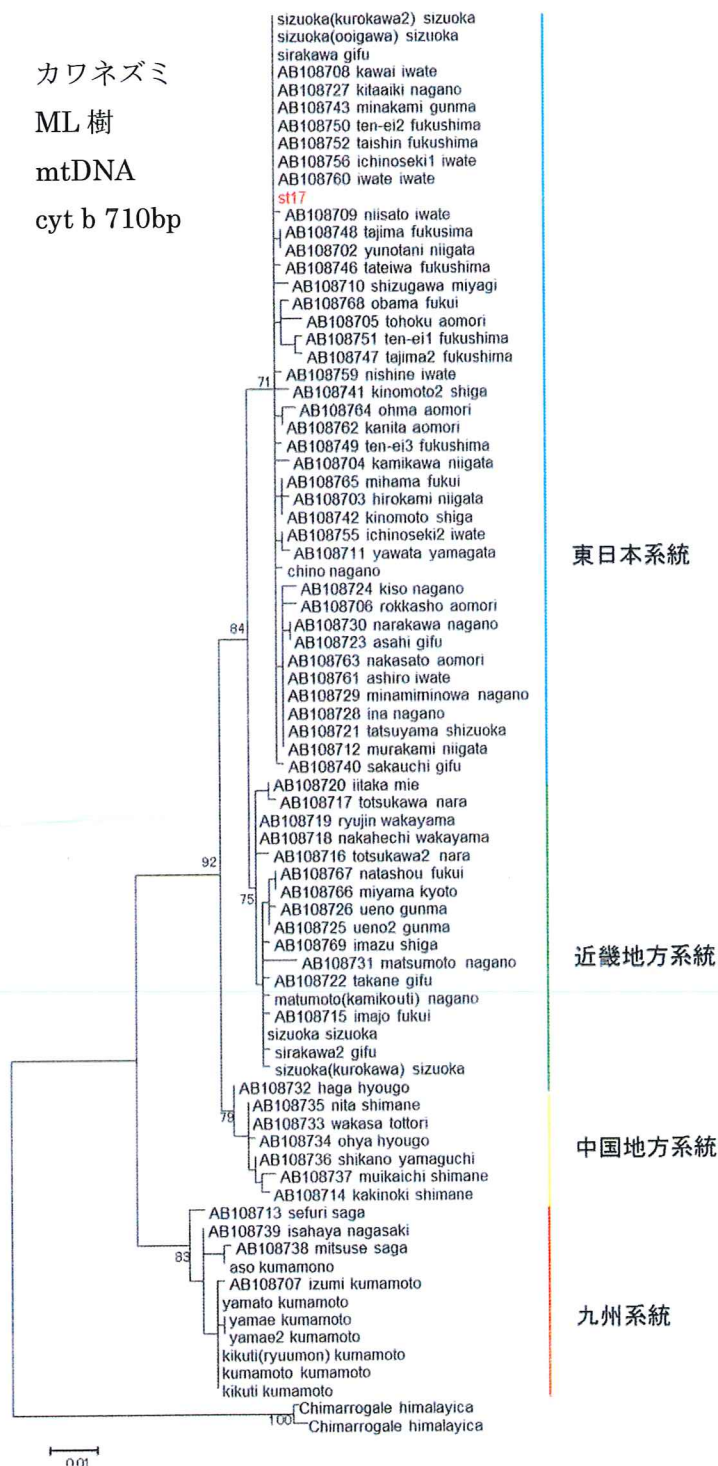


図 5 mtDNA cyt b 領域 710 塩基における塩基配列情報から推定されたカワネズミの系統関係。ノ主要ノード部分に付した数値はそれぞれの分岐点よりも末端に位置付けられる枝部分のサンプルが形成する地域集団における単系統性の確からしさを示す統計量（ブートストラップ値）である。外群として、同属の別種を用いている。本調査・研究で採取されたサンプルを赤色で示す。