

<p>研究代表者</p>	<p>所属学系・職名 生命・環境学系・准教授 氏 名 兼子 伸吾</p>
<p>研究課題</p>	<p>生物多様性研究のギャップにおける統合的研究—日韓のカニムシ類における生物地理ならびに系統地理解析 Biogeography and phylogeography of pseudoscorpion in Japan and Korea</p>
<p>成果の概要</p>	<p>【背景】 生物多様性の保全は、今世紀の重要な課題である。この課題を解決するうえで、生物種の分布、分類、系統関係等の解明が必要である。ところが、そうした生物学的な理解は、一部の分類群のみで進んでおり、未だに種分類すら十分でない分類群も存在する。しかしながら、種の記載や分類は、持続的な生態系サービスを維持するうえで、欠かせない要素である (Bickford et al., Trends Ecol. Evol. 2007)。 カニムシ類 (節足動物門：鋏角亜綱：蛛形綱) は、種の分類を含む生物学的な理解が不十分な分類群のひとつである。近年の分子データに基づいたカニムシ類の解析は、形態分類と分子系統の不一致を示している (Murienne et al. Mol. Phylogenet. Evol. 2008; Harrison et al., Invertebr. Syst. 2014; Ohira et al., Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn. 2016)。また、多くの未記載種あるいは隠蔽種が存在し、地下の間隙 (Harrison et al. 2014) や島嶼 (Cosgrove et al., J. Arachnol. 2016) に応じて、詳細な分化を遂げているとされる。しかしながら、これらの種分類や分化に関する研究は、地理的に限定された範囲のみから得られたサンプルに依存している。他の地域や大陸に生息する近縁種を加えた解析は、起源や進化を考えるうえで、重要な課題のひとつである (Harrison et al. 2014; Cosgrove et al. 2016)。また、カニムシ類のように種の分類が不十分な生物種の場合、種の認識に対して重大な誤りが生じる可能性も指摘されている (Vaentini et al., Trends Ecol. Evol. 2009)。</p> <p>【研究の目的】 本研究では、日本と韓国におけるカニムシ類の包括的なサンプリングと形態および分子データに基づいた解析を行う。韓国はアジア地域のなかでもカニムシ相の解明が遅れており、現在までに 18 種が記録されているのみであるが (Harvey 2013; http://www.museum.wa.gov.au/catalogues/pseudoscorpions)、日本との共通種や近縁種が多い (Hong and Kim, Korean J. Entmol. 1993)。従って、日本と韓国のカニムシ類は、各分類群の起源や進化、さらには多様性を考察するうえで生じていたギャップを埋めつつ、系統地理学および系統分類学的研究を行うために、非常に適した材料と言える。 また、本研究は、韓国のカニムシ相解明にも与するため、アジア地域のカニムシ相の形成に関する重要な知見の蓄積となる。</p> <p>【研究の方法】 土壌性カニムシ類の採集調査は、韓国の Changwon National University の Choi Hyeok jae 博士 (Assistant Professor) の協力を得て、2016 年 9 月 30 日から 10 月 1 日にかけて、韓国 6 地点で実施した (図 1)。採集は園芸用ふるいを用いたシフティング法によって行った。得られたサンプルは、1.5 ml PCR チューブに入れ、純エタノールで固定した。</p>

成果の概要

得られたサンプルは福島大学に持ち帰った後、我々が考案した方法 (大平ほか, Acta Arachnol. 2016) によって、各サンプルの付属肢 1 本から DNA を抽出した。抽出した DNA を鋳型に、ミトコンドリア DNA COI 遺伝子の部分配列を対象として PCR 増幅を行い、サイクルシーケンス法によるダイレクトシーケンスを実施した。DNA 抽出のために付属肢 1 本を外した虫体は、純エタノールで保存、液浸標本とした。すべての標本は福島大学で保管している。

日本産近縁種との関係を確認するために、COI 遺伝子の部分配列に基づく分子系統解析を実施した。日本産および韓国産カニムシから得られたすべての COI 配列は、MAFFT ver. 7 (Kato and Standley 2013) によってアライメントを行った。アライメントした配列データを用いて、MEGA 6 (Tamura et al. 2013) を使用して赤池情報量基準 (AIC) に基づいたモデルの選択を行った後、ML 法による系統樹を作成した。系統樹の各ノードの評価は、ブートストラップ法 (1000 回反復) によって行った。

【成果】

韓国 6 地点から、*Allochthonius* 属種群 (オウギツチカニムシ科)、*Microrobisium pygmaeum* (Ellingsen)、*Bisetocreagris* 属種群 (コケカニムシ科)、合計 2 科 3 種群 66 個体の土壌性カニムシ類が得られた (表)。これまでに韓国では *Allochthonius* 属 3 種が記録されているが、本属の診断形質は有効でない可能性があることから (坂寄, 茨城県自然博物館研究報告 2014)、ここでは形態形質に基づく種の同定は避けた。また、*Bisetocreagris* 属種は、本調査によって韓国から初めて記録された。韓国では近縁な *Microcreagris* 属 2 種が記録されているが (Hong and Kim 1993)、それらは *Bisetocreagris* 属に移動となる可能性がある (Ćurčić, Bull. Br. Arachnol. Soc. 1983)。韓国産 *Bisetocreagris* 属および *Microcreagris* 属の所属については、過去の標本を含めた検討が必要であると考えられる。

得られたサンプルのうち 43 標本から、それぞれ 390-674 bp のミトコンドリア DNA COI 遺伝子の部分配列を決定することができた。合計で 12 のハプロタイプが検出され、それぞれのカニムシ種群について各地点に固有の 1-3 のハプロタイプが確認された (表)。COI 遺伝子の部分配列に基づく ML 樹において、*Allochthonius* 属、*M. pygmaeum*、*Bisetocreagris* 属の各単系統性は、高いブートストラップ値によって支持された (図 2、それぞれ 100、98、82%)。しかしながら、*Allochthonius* 属は、韓国産種群がそれぞれ産地を反映したハプロタイプによって構成される 2 つのクレードに分かれ、日本産種が入れ子状の系統関係を示した。また、日本産既知種 *A. tamurai* は単系統群を形成しなかった。韓国産 *M. pygmaeum* は、日本産の内群となった。*Bisetocreagris* 属種群も、それぞれ産地を反映したハプロタイプによって構成される 2 つのクレードに分

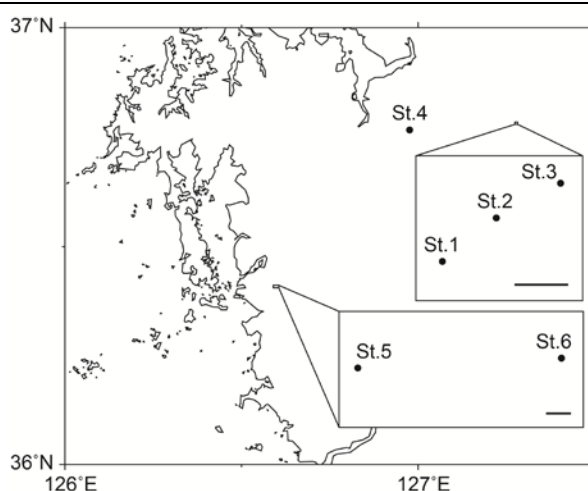


図 1. 調査地点の位置関係. インセットは近接する地点付近を拡大したものであり、スケールは 100 m.

成果の概要

かれた。これらの結果は、韓国および日本のカニムシ類の遺伝的多様性が高いことを示すとともに、多くの未記載種あるいは隠蔽種を含む可能性があることを示唆している。また、日本産 *Allochthonius* 属および *Microbisium* 属種群は、複数の起源を持っていても良い。実際に島嶼のカニムシ類において、各島に生息する系統は、大陸に由来するそれぞれ独立した起源を持つ可能性が指摘されている (Cosgrove et al. 2016)。複雑な起源や系統関係は、形態形質に基づく種分類を困難にしているかもしれない。今後、各系統と形態形質の関係についても、詳細な検討が必要である。

表. 韓国調査(2016年9月30日-10月1日)において採集されたカニムシ類と検出ハプロタイプ

種	採集地点	採集数	解析数	検出ハプロタイプ
オウギツチカニムシ科				
<i>Allochthonius</i> spp.	2	6	5	AlloA(3), AlloB(1)
	3	6	3	AlloD(3)
	4	1	0	-
	5	3	1	AlloE(1)
	6	14	14	AlloF(14)
コケカニムシ科				
<i>Microbisium pygmaeum</i>	1	5	2	MicA(2)
	4	3	2	MicB(2)
	6	24	12	MicC(12)
<i>Bisetocreagris</i> spp.	2	3	3	BisA(1), BisB(1), BisC(1)
	5	1	1	BisD(1)

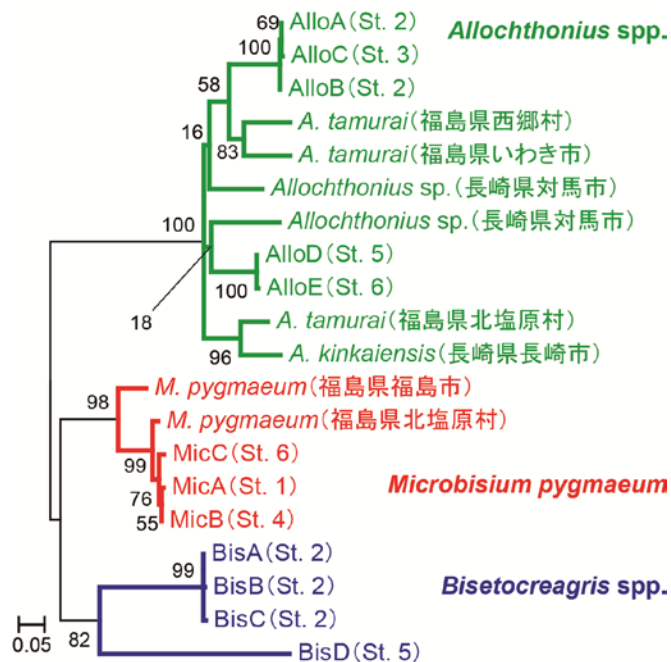


図2. ミトコンドリア DNA COI 遺伝子の部分配列 (427 bp) に基づく ML 樹。OTU は、韓国産は検出ハプロタイプ、日本産は種名で示した。括弧内は調査地点または採集地。各枝に付した数値はブートストラップ値 (%、1000 回反復)。