

令和元年6月22日現在

機関番号：84402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07500

研究課題名(和文)分布域が北上したダンダラテントウの遺伝的集団構造の解明

研究課題名(英文) Genetic population structure in *Cheilomenes sexmaculata* during northward expansion

研究代表者

河上 康子 (Kawakami, Yasuko)

大阪市立自然史博物館・学芸課・外来研究員

研究者番号：70748871

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)：ダンダラテントウは赤道地方から中緯度地域に広く分布し、1910年-1990年にかけて、気候の温暖化に伴い九州地方から関東・北陸地方へ分布を拡大した。本種は鞘翅の斑紋型に黒色から赤色の多型があり、分布北限に近い高緯度ほど黒い型が多く、低緯度ほど赤い型が多いクラインを示す。本研究では本種の21地域232個体のミトコンドリアCOI領域620bpを解読し、分布北限地域では遺伝的多様度がやや減少していること、遺伝的集団構造は2つの系統があることを解明した。ふたつの系統のうち片方は古くから分布している琉球以南で割合が高く、もう片方の系統は分布北上後の本州での割合が高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究であつかったダンダラテントウは、近年の過去100年に分布を北上させて定着したことが明らかである。ゆえに、ごく部分的な遺伝子解析ではあるが、本種が新たな地域で分布を定着させたのちの、遺伝的集団構造が、古くから分布していた地域とどのように異なるかを連続した地域でリアルタイムに検証できたという点において意義がある。過去100年の気候温暖化により分布を北上させたと思われる本種の遺伝構造と集団動態を検証することは、今後の気候温暖化にともないあらたに侵入してくる可能性を持つ南方系生物の、侵入後の集団動態を予測するためのデータとして重要であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The ladybird beetle *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius) is widely distributed throughout the intermediate latitudinal and equatorial regions. It exhibits elytral colour polymorphism with a geographical cline showing increased prevalence of melanic types with increasing latitude. During 1910-1990, this species has expanded towards higher latitudes in Japan because of climatic warming. We performed molecular phylogenetic analysis of 232 individuals in 21 stations of mitochondrial COI DNA fragments (620 bp). As a result, genetic diversity decreased among distribution northern limit area and populations contained two haplotypic groups. One of them has higher ratio among the south area than Ryukyu. The other haplotypic group are more frequency among Honshu in Japan where this species distributed newly.

研究分野：昆虫生態学

キーワード：遺伝的集団構造 テントウムシ科 分布北上

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

近年、気候温暖化の影響により、気温の上昇とともに多くの昆虫類が分布北限を北上させている(例えば、Hickling *et al.*, 2005, *Global Change Biology*)。そのような種の分布北限における遺伝的集団構造の解明は、その種の分布拡大にともなう適応的、進化的プロセスの解明に重要であるが、実証研究の例はまだ少ない(Pauls *et al.*, 2013, *Molecular Ecology*)。これまでの海外での研究例から、分布の最前線における創始者効果が大きければ、北限の個体群内の遺伝的多様度は減少し、いっぽう個体群間の遺伝的分化は増大すると予想される(例えば、Excoffier *et al.*, 2009, *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*)。遺伝的多様度の減少は、新しい環境条件への適応を妨げる可能性がある(例えば、Bridle and Vines, 2007, *Trends in Ecology & Evolution*)。しかし、多くの個体数が複数回北上するような高い導入圧をしめす場合には、北限の個体群の遺伝的集団構造は異なり、遺伝的多様度は減少しないことが予想される。

## 2. 研究の目的

### (1) ダングラテントウの分布北上プロセスと遺伝的集団構造

本研究課題であつかったダングラテントウは、赤道地方から中緯度地域に広く分布し、1910年代初頭から1990年にかけて、気候の温暖化にともない日本の九州地方から関東・北陸地方へ分布を拡大した(Kawakami *et al.*, 2014, *Applied Entomology and Zoology*)。しかし、本種の分布北限をふくむ地域集団の遺伝的集団構造は不明である。そこで、本研究課題では本種の遺伝子解析を行い、分布拡大のプロセスを検討することを目的とした。

### (2) ダングラテントウの斑紋多型と遺伝的集団構造

また本種は、鞘翅の斑紋型に黒色と赤色の多型があり、その割合に地理的な変異がある。すなわち、分布北限に近い高緯度ほど黒い斑紋型が多く、低緯度ほど赤い斑紋型が多い明瞭なクラインを示す(Kawakami *et al.*, 2013, *Entomological Science*)。さらに、本種は分布拡大の期間中、体サイズが小さく黒い斑紋型の割合が増加していることがわかった(Kawakami *et al.*, 2015, *European Journal of Entomology*)。このように申請者らによる研究から、本種は分布北上した過程において形質変化をとめない、黒く小さい個体が有利であったことが推測された。本種の地域集団における遺伝的集団構造を解明することにより、これらの形質変化が遺伝的集団間分化をとまっていたかどうかを検証することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 遺伝子解析に用いるダングラテントウの収集

本研究課題では本種が分布の拡大をはじめた1940年から分布拡大を停滞した1991年まで(Kawakami *et al.*, 2014, *Applied Entomology and Zoology*)の、すべての分布地域から可能な限り網羅的に、34地点(沖縄県から千葉県まで)でサンプルを収集した。採集は春世代の成虫が出現する5月下旬から6月中旬もしくは秋世代の出現する9月下旬から10月中旬に行った。収集したサンプルは地域ごとに、解析実験を行うまで無水エタノールでサンプル瓶に入れ低温で保存した。体液の浸出によるエタノール濃度の低下を防ぐために、適宜新しい無水エタノールと置換を行った。

### (2) ミトコンドリア DNA の COI 領域を用いた、ハプロタイプ分析

#### DNA の抽出と PCR 法による DNA 領域の増幅

無水エタノール中に保存されたサンプルから、後脚腿節の筋肉を用い DNA を抽出した。得ら

れた抽出物を鋳型として ,ミトコンドリア COI 領域に特異的なプライマーと ,酵素を用いて PCR 反応をおこない , DNA を増幅させた . 反応終了後 , 反応液の一部で電気泳動をおこない , DNA の増幅を確認した .

#### DNA 塩基配列の決定と解析

DNA の増幅を確認した後 , 全反応液の DNA を精製した . これを反応の鋳型としたシーケン ス反応を外注した . 得られた 627 塩基対の塩基配列はコンピューターソフトを用いて , 統計量 の解析を行った .

#### 4 . 研究成果

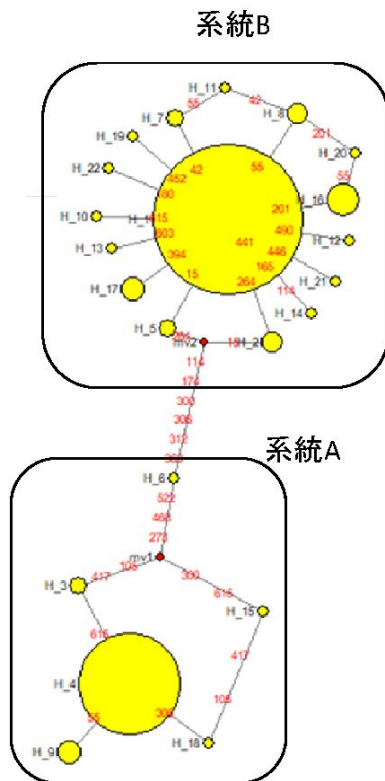
##### (1) ダンダラテントウ分布拡大前後の遺伝的集団構造

34 地点からミトコンドリア COI 領域 627 塩基対のハプロタイプが , 22 個得られた . 地点別で の遺伝的多様度に傾向はみられなかった . しかし , 緯度別に遺伝的多様度を比較すると , 低緯 度よりも高緯度のほうが , 低かった ( 22-26°N : 塩基多様度 0.0117 , ハプロタイプ多様度 0.608 , 34-37°N : 塩基多様度 0.0058 , ハプロタイプ多様度 0.413 ) . すなわち , 本種は過去 100 年の分 布北上にあたり , 遺伝的多様度を減少させたことがわかった . その理由は ,

- ・より高緯度への進出にともなう適応
- ・遺伝的浮動

が考えられる .

本種は 30 種以上のアブラムシ類やキジラミ類を捕食するジェネラリストの普通種であるた め , 分布拡大にともない個体群の個体数減少が原因となる遺伝的浮動があったことは考えにく い . 現在のところ , 高緯度への適応にともなう選択圧が , 遺伝的多様度の減少をひきおこした 可能性が予想される .



##### (2) ハプロタイプ間の関係

得られた 22 個のハプロタイプ間の関係をみるために , ハプロタイ プネットワーク図を作成した ( 図 1 ) . その結果 , ハプロタイプには 2 つの系統がみられた . それぞれ , 系統 A では Hap 4 を , 系統 B では Hap 1 を中心とする星形のネットワーク図となり , 本種は過去に急速 に分布を拡大したことが予想された . ふたつの系統の中心となる Hap 4 と Hap 1 について , 緯度別 ( 22-26°N , 26-30°N , 30-34°N , 34-37°N ) の割合をみると , Hap 4 では 22-26°N ( 59.7 % ) が , Hap 1 では 34-37°N ( 65.1 % ) の割合が高かった . すなわち系統 A は , 本種が古くから分 布している琉球以南で割合が高く , 系統 B は分布北上後の本州での 割合が高かった . 本種は分布北上にともない遺伝的多様度が減少す る選択をうけたと考えられるが , その過程で系統 B の割合が高くな っていくことが推測される .

図 1. ダンダラテントウのミトコンドリア COI 領域 627bp のハプロタイプネットワーク図 .

### (3)斑紋多型と遺伝的集団構造

本種は赤道付近から日本の本州中部まで広く分布している．その分布域のなかで鞘翅の地色が赤い斑紋型がほとんどの分布域を占め，地色が黒い斑紋型は九州以北の一部地域に出現するのみである．黒い斑紋型と赤い斑紋型別に，ハプロタイプの系統 A と系統 B の割合をみると，南方に出現する赤い斑紋型では系統 A が高く，黒い斑紋型では系統 B が多かった．おそらく，黒い型の斑紋タイプは，高緯度に分布を北上させることに有利である選択圧をうけて頻度が高くなったことが予想される．これにともない，遺伝的多様度はさがっており，ミトコンドリア COI 領域のハプロタイプは，系統 B の割合が高くなっていることがわかった．

以上の成果は現在，原著論文投稿準備と，学会発表の準備をすすめている．本研究課題では，過去 100 年の気候温暖化により分布を北上させ，近年に定着したとおもわれるダンダラテントウの遺伝的集団構造を，ミトコンドリア COI 領域の一部の情報ではあるが，検証した．これらの成果は，今後の気候温暖化にともないあらたに侵入してくる可能性を持つ南方系昆虫の，侵入後の集団動態を予測するためのデータとして稀少であり，重要であると考えられる．

今後は，ミトコンドリア領域にくわえて，核遺伝子 (CAD 領域など) の解析をおこないたい．ミトコンドリアは母系遺伝であるため，核遺伝子を解析することで遺伝子浸透の有無が検討できる．すなわち核遺伝子領域でもミトコンドリア COI と同様にふたつの系統が存在すれば，過去に両系統はほとんど交雑をせず，またひとつの系統を示すならば頻繁に交雑してきたことが推察できる．さらに，核遺伝子領域でも高緯度で遺伝的多様度の減少がみられるならば，やはり分布北上にともない適応による多様度の減少が要因となるボトルネックがかかったことが推測される．これらを統合して考察し，気候温暖化という近年の環境変動に大きく影響をうけて分布を拡大した本種の，遺伝的集団構造形成史と集団動態をさらに詳しく解明したい．

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

河上 康子 (KAWAKAMI, Yasuko)  
地方独立行政法人大阪市博物館機構  
大阪市立自然史博物館 外来研究員  
研究者番号：70748871

### ・研究協力者

山崎 一夫 (YAMAZAKI, Kazuo)  
大阪健康安全基盤研究所  
大橋 和典 (OHASHI, Kazunori)  
住友化学株式会社  
健康・農業関連事業研究所  
中浜 直之 (NAKAHAMA, Naoyuki)  
兵庫県立大学・兵庫県立人と自然の博物館