

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K07521

研究課題名(和文) 進化経路が異なる3つの生殖隔離機構が存在する短翅性バッタの集団間の隔離構造の解明

研究課題名(英文) Studies on the isolation structure between populations of the brachypterous grasshopper with three evolutionary different reproductive isolation mechanisms

研究代表者

菅野 良一 (Sugano, Yoshikazu)

北海道大学・農学研究院・農学研究院研究員

研究者番号：00648826

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：サッポロフキバッタの雌の交尾コストを低減すると考えられる行動に交尾拒否と精子排出があるが、それぞれの発達程度は集団によって異なっていた。精子排出は拒否力が弱い集団の雌にのみ進化してきたと考えられてきたが、拒否力が強い集団の雌にも潜在的に備わっている能力である可能性が示唆された。雄は拒否行動を制する交尾活力や輸送する精子量の増加といった、自集団の雌への対抗適応を遂げている事が示唆された。交尾活力が弱い集団の雄には、拒否力が強い集団の雌との交尾がコストになる事も明らかになった。また、新規獲得形質が野外において集団中にどのように浸透・拡散していくか、検証できる可能性を持つ集団を見出す事ができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サッポロフキバッタは北海道に広く分布する種だが、交尾行動において集団によって異なる進化を遂げていた。普通種であっても、遺伝的な交流が制限されれば、その集団が経験してきた歴史を反映した独自の進化を遂げている可能性がある。これまで実験に使用してきた集団の中には開発等で絶滅してしまった集団もあり、その集団独自の行動を再確認する事はできなくなった。普通種における遺伝的多様性保全の重要性が改めて示された。

研究成果の概要(英文)：Females of the brachypterous grasshopper *Podisma sapporensis* have developed different behaviors in each local population to reduce the cost of mating. The females in Toyotaki population developed the sperm ejection, the ones in Rumoi population developed mating rejection behavior. It has been considered that the sperm ejection evolved in the population of the females with weak mating rejection power. However, the results in this study suggested that the females in the population with strong mating rejection power may also have the potential for sperm ejection. The males have achieved counter adaptation to females in their own population were suggested. The males in Toyotaki have increased the amount of sperm transported in response to female sperm ejection, and the ones in Rumoi have developed mating activity to control female mating rejection. It also clarified that mating with the females having stronger rejection behavior than females in their own population was costly for males.

研究分野：進化生態学

キーワード：性的対立 拮抗的共進化 隠蔽的雌選択 生殖隔離 種分化 地理的変異

1. 研究開始当初の背景

集団間の遺伝的な交流が断たれる事で生じる生殖隔離や種分化は、生物が持つ大きな特性であり、そのメカニズムの解明は進化生態学の重要な課題である。生殖隔離機構や種分化への理解を深める為に、島嶼間などの近縁種を比較するなど、物理的に遺伝的な交流が困難な生物が研究材料として用いられてきた。地理的なバリアが少ない場合でも、移動能力が低い生物が研究対象とされる事がある。地続きであっても、移動性の低さから集団間の遺伝的な交流が制限され、分化が進む可能性が高い為である。短翅で移動能力が低いサッポロフキバツタ *Podisma sapporensis* には、色彩、体サイズ、形質などに地理的変異が見られ、集団間で遺伝的にかんりの分化が進んでいると考えられる。本種のいくつかの集団間には、これまでに、交尾前隔離、交尾後接合前隔離、交尾後接合後隔離の進化プロセスの異なる3つの隔離機構が存在する事が明らかになっている。この内、交尾後接合後隔離は、サハリンの集団と国後島の集団を用いた交配実験において、受精卵に細胞レベルの不和合性がある事が報告されたもので、日本国内の集団間ではまだ観察されていない。本種における交尾前隔離は、交尾活性(雄交尾活力/雌交尾拒否力)が集団間で異なる事によって生じる。本種は交尾活性が集団間で大きく異なり、雄の交尾活力が強い集団は雌の交尾拒否力も強く、雄の交尾活力が弱い集団は雌の交尾拒否力も弱い。その為、集団間で配偶者選択実験を行うと、交尾活性が強い集団の雄と弱い集団の雌の間の交尾がほとんどとなり、非対称な交尾前隔離が生じる。しかしながら、交尾拒否力が弱い集団の雌は他集団の雄と交尾は行うものの、交尾後に多くの精子を排出している事が明らかになった。これが本種における交尾後接合前隔離である。これらの異なる2つの隔離機構が機能する事によって、一部の地域集団間は生物学的種に近いレベルまで分化している可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では、サッポロフキバツタにおいて、(1) 隠蔽的雌選択の一般性の検証、(2) 交尾活性の集団差が雄に与える影響の検証、(3) 新規獲得形質が集団中に浸透する可能性の検証を行い、進化経路が異なる3つの生殖隔離が存在する本種の集団間の隔離構造の解明に向け、理解を深める事を目的とする。

(1) サッポロフキバツタにおける隠蔽的雌選択の一般性の検証

サッポロフキバツタの雌は、成熟し未交尾であっても、交尾の際に激しく抵抗する。稀に交尾拒否力が弱くあまり抵抗せずに交尾を受け入れる雌がいる集団が存在するが、これらの集団の雌は交尾後に他集団の雄の精子を排出している事が明らかになった。しかしながら、精子排出を確認できた集団が少ない事、交尾拒否力が弱い集団でしか精子排出の検証をして来なかった事から、この行動がどの程度本種において行われているのか不明である。そこで、交尾拒否力が中～強程度の集団を新たに実験に用い、サッポロフキバツタにおける精子排出による隠蔽的雌選択の一般性の検証を行う。

(2) 交尾活性の集団差が雄に与える影響

サッポロフキバツタの交尾活性が集団間で大きく異なるのは、最適な交尾を巡って利害が異なる雄と雌の間で性的対立が生じ、雄の交尾活力と雌の交尾拒否力が拮抗的共進化を遂げた結果である現在の平衡状態が集団間で異なっている為、と考えられている。雌にとって多回交尾がコストになる事、激しい拮抗的共進化を遂げてきたと考えられる交尾活力が強い集団の雄との交尾はよりコストとなる事が既に明らかになっている。しかしながら雄側の拮抗的共進化の証拠は確かめられていない。交尾行動において雄側に何らかのコストが検出されれば、これまでの交尾活性の集団差が生じるメカニズムの説明が更に支持される事となる。そこで雄にとっても、激しい拮抗的共進化を遂げてきたと考えられる交尾拒否力が強い集団の雌との交尾がコストになり得るか、その可能性を検証する。

(3) 新規獲得形質の集団への浸透の可能性の検証

「隠蔽的雌選択の一般性の検証」に使用する留萌集団は、頭部から前胸背板の前域までと腹部が黒色で、前胸背板の後域のみが鮮やかな緑色という点で特徴付けられる特異な体色を持つ集団である(図1)。1990年代までは留萌市周辺に分布する色彩変異集団の1つと認識されていたが、本研究の予備調査において、当時の認識よりも広域に分布している可能性が認められた。これまでが未調査であった可能性が最も高いが、仮に黒色型がこの30年で分布を広げていたとすれば、特異な体色という新規獲得形質が集団中に浸透する過程を確認する事ができる貴重な機会となる。そこで、その検証の土台となる最新の**黒色型個体の分布域の調査**を可能な限り行う。また体色型間の交配において、F1にどちらの体色型が出現しやすいかが明らかになれば、黒色型が分布を広げている可能性を検証する手掛かりになり得る。そこで、黒色型と緑色型間で交配実験を行い、次世代にどちらの体色がどの程度の頻度で出現するか、**体色型間の交配で得られたF1の体色の確認**を行う。

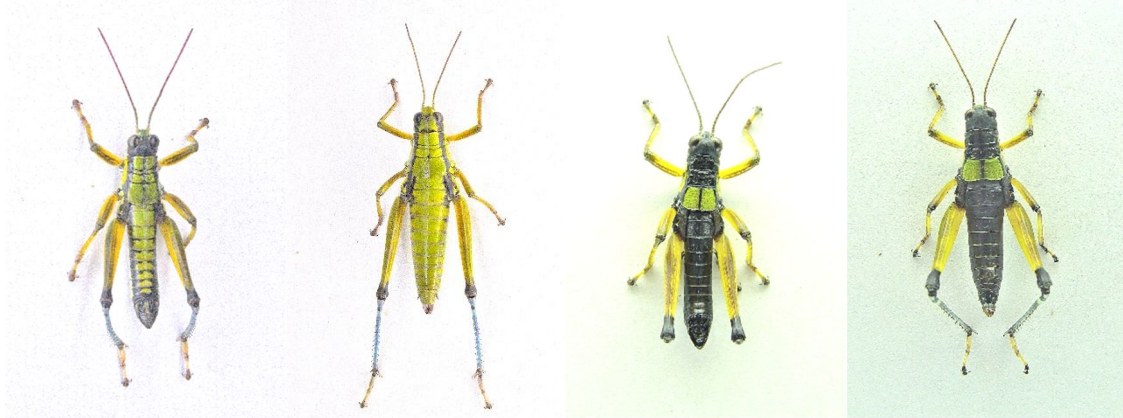


図1 サッポロフキバッタの緑色型と黒色型（左より緑色型雄・雌，黒色型雄・雌）

3. 研究の方法

(1) サッポロフキバッタにおける隠蔽的雌選択の一般性の検証

隠蔽的雌選択を行っていると考えられている交尾活性が弱い札幌市南区の豊滝に生息する集団（豊滝集団）と、新しい集団として交尾活性が中～強程度の留萌市の留萌ダム周辺に生息する集団（留萌集団）との間で交配実験を行った。両集団から幼虫を採集し、16L:8Dの長日条件下、気温22～24度で飼育・羽化させた未交尾成虫を実験に使用した。成熟した雄1匹雌1匹ずつをケージに入れ、集団間、または集団内交配をさせた。交尾に至るまでの時間を記録した後、自然に交尾が終了するまで待ち、交尾終了直後に雌を冷凍し固定した。その後雌を解剖し、精子貯蔵器官である受精嚢内の精子数と、排出された精子と考えられている外部生殖器に付着した精子数を計測した。

(2) 交尾活性の集団差が雄に与える影響

交尾活性が弱い札幌市南区の百松沢川周辺に生息する集団（百松沢集団）と、交尾活性が強い手稲集団の雌を用いた。百松沢 × 百松沢，百松沢 × 手稲に加え、百松沢 単独の3グループを作った。単独雄のグループは最初から雄1頭ずつケージで飼育した。ペアのグループは雄1頭と雌1頭を同じケージで11日間一緒に飼育した後、12日目に雌だけを取り出した。雄の生存日数をコストの指標とし、グループ間で比較した。実験には、野外で幼虫を採集し、16L:8Dの長日条件下、気温22～24度で飼育・羽化させた未交尾成虫を使用した。

(3) 新規獲得形質の集団への浸透の可能性の検証

黒色型個体の分布域の調査

車道や林道沿いのサッポロフキバッタが生息していると考えられる環境において、黒色型を認めた地点から次に緑色型が出現する地点まで、車もしくは徒歩で調査した。黒色型の個体を認めた地点を地図上にプロットし、黒色型が分布すると考えられる最外側を探索した。

体色型間の交配で得られたF1の体色の確認

留萌集団（黒色型）と豊滝集団（緑色型）に、札幌市手稲市の手稲山（標高515m付近）の集団（緑色型）を加え、体色型間で交配・産卵させた。組合せは留萌 × 豊滝，留萌 × 手稲，豊滝 × 留萌，手稲 × 留萌の4組になる。本種は幼虫期、成虫と全く異なる茶色～黒色で最終脱皮するまでF1の体色は分からない。また、本来は実験に用いるペア数や卵塊数を揃え、定量的な判断をするべきだが、本種の越冬卵の最適な保存条件や孵化条件が未だに不明で、これまでも、コントロールとした同集団同士のペアの卵塊や、集団間交配で得られた100個以上の卵塊が1卵も孵化しない年があった。従って組合せ間で孵化率などを比較しても、誤った解釈に至る恐れがある。そこで組合せの数や保存する卵塊数の調整などを厳密に行わず、上記の組合せの1対1のペアを10～15組作り、ペアごとにケージで飼育し、雌が死ぬまで採卵を続けた。得られた卵から翌年に成虫至った個体で、F1の体色を確認・考察する事とした。

4. 研究成果

(1) サッポロフキバッタにおける隠蔽的雌選択の一般性の検証

集団内交配において、豊滝集団と留萌集団では交尾時間や精子の輸送量が異なっていた。交尾時間は、留萌集団が120～240分に集中しているのに対し（図2b）、豊滝集団では240分を超える事もあり、長いと600分を超えた（図2a）。留萌集団は、どの交尾時間においても、受精嚢内の精子数が生殖器外部に付着していた精子数を上回っていた（図2b）。交尾に至る平均時間は2:25だった。豊滝集団は、360分を超えると生殖器外部に付着する精子数が増え、1つのペアでは受精嚢内の精子数を上回った（図2a）。交尾に至る平均時間は1:20だった。受精嚢内の精

子数と生殖器外部に付着していた精子数を合わせると、1回の交尾で、留萌集団の雄は平均約19000個の精子を、豊滝集団の雄は約2倍の平均約39000個の精子を輸送していた。

集団間交配では、豊滝集団の雌は生殖器外部に付着する精子数よりも、受精嚢内の精子数の方が少ない個体が多く、内5個体では受精嚢内にほとんど精子が見られなかった(図2c)。交尾に至る平均時間は2:26だった。留萌集団の雌でも生殖器外部に付着する精子数よりも受精嚢内の精子数の方が少ない個体が見られた(図2d)。交尾に至る平均時間は2:48だった。留萌集団の雄は集団内交配の時よりも多い平均約26000個の精子を、一方豊滝集団の雄は集団内交配の時の半分以下となる平均約15000個の精子を1回の交尾で輸送していた。

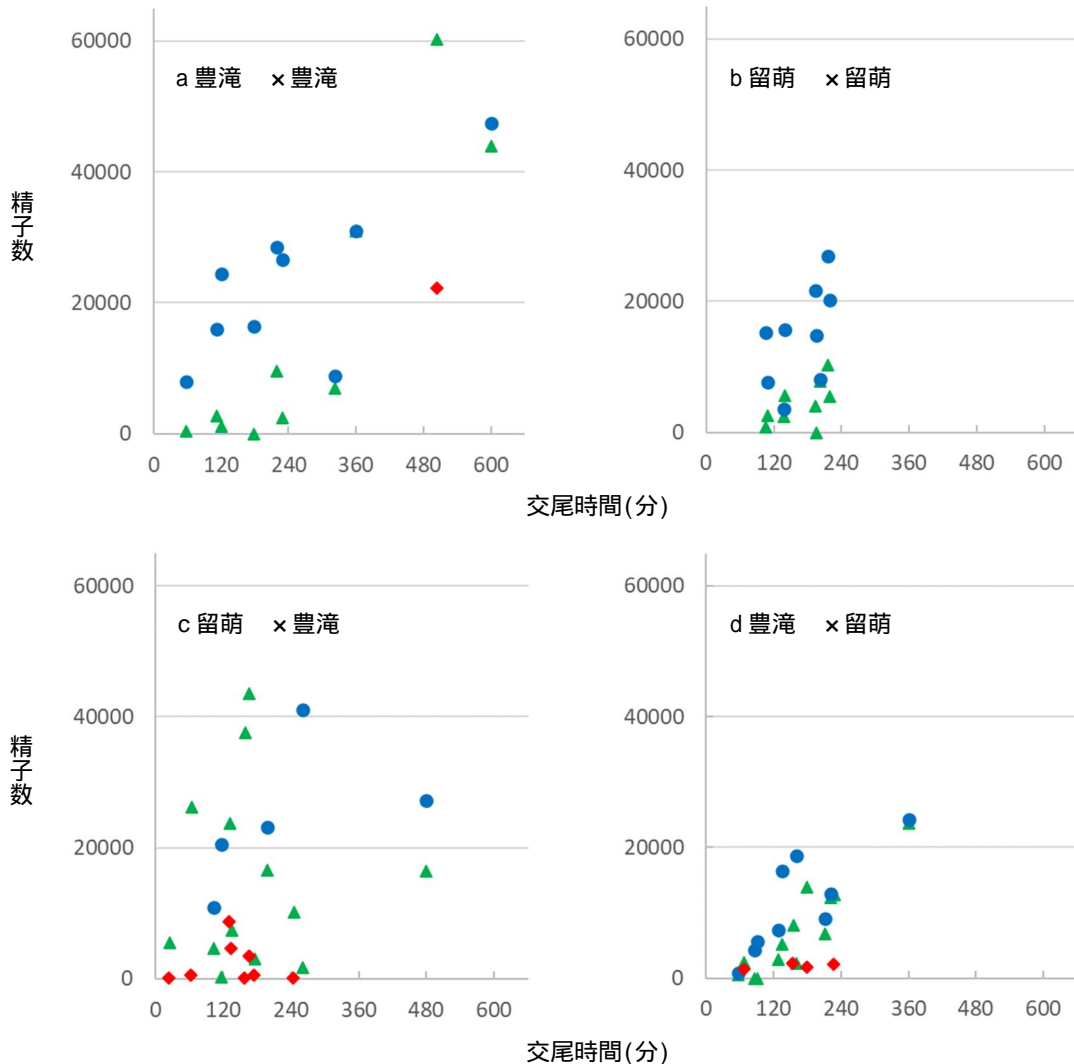


図2 交尾時間と精子数の関係。同じ交尾時間上にあるマークは、同一個体から採取された。△は生殖器外部に付着していた精子数、○は受精嚢内の精子数を示す(○は生殖器外部に付着していた精子数よりも受精嚢内の精子数の方が少なかった場合)。

留萌集団の特徴: 集団内交配で交尾が240分以内に終了するのは、雌が短時間に交尾が終了するように交尾拒否行動を進化させてきた為と考えられる。一方で、集団間交配時に他集団の雄の精子が受精嚢内に少ない事から、精子排出による隠蔽的雌選択は、本種に潜在的に備わっている能力である可能性が示唆された。雄の交尾に至る時間が、自集団では平均2:25、他集団でも平均2:26とほぼ差がない事、集団内交配で常に生殖器外部よりも受精嚢内の精子数が上回っていた事から、留萌集団の雄は、雌の交尾拒否行動を制し、短い時間内に確実に精子を輸送できるような対抗適応をしてきたと考えられる。集団間交配時に雄がより多くの精子を輸送しているのは、受精嚢に精子を送り込めていない事を認識している可能性があるが、その根拠は不明である。

豊滝集団の特徴: 集団内交配で交尾時間が長く、交尾前や交尾中の抵抗行動も少なかった事から、雌の交尾拒否行動はあまり進化して来なかったと考えられる。一方で、集団内交配で360分付近から受精嚢内と生殖器外部に付着した精子の数が同程度になったり、逆転したりする事(図2a)、集団間交配時に受精嚢内に他集団の精子をほとんど受け取っていない雌がいる事は、精子排出による隠蔽的雌選択を進化させてきた事が示唆される。雄の交尾に至る時間が、自集団では平均1:20に対し、他集団では2:48分と倍以上かかっている事は、雄は交尾拒否行動を制する行動をあまり進化させて来なかったと考えられる一方で、時間をかけ大量の精子を輸送する事は、自集団の雌の精子排出への対抗適応と考えられる。集団間交配時に雄が輸送した精子量が少な

いのは、雌側の抵抗によって早期に交尾を打ち切られてしまった為と考えられる。

(2) 交尾活性の集団差が雄に与える影響

交尾拒否力が強い手稲集団の雌と組み合わせた交尾活力が弱い百松沢集団の雄は、自集団の雌と組み合わせた雄に比べ、コストの指標とした生存日数が有意に減少した(図3)。

この結果は、交尾活性が弱い集団の雄が、激しい交尾拒否力を持つ雌に対抗する能力を進化させて来なかった為と考えられる。交尾活力の集団差は、交尾を巡る雄雌間の拮抗的共進化の結果である現在の平衡状態が集団間で異なる為、というこれまでの考えを雄側からも支持する事ができた。

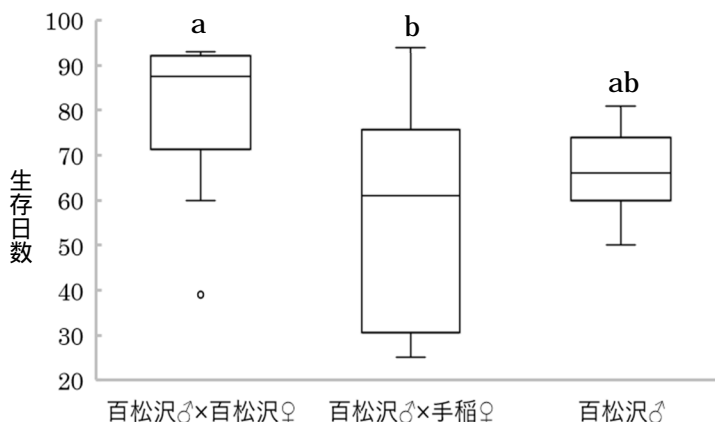


図3 百松沢集団雄の生存日数の比較.異なるアルファベット間に有意差あり。

(3) 新規獲得形質の集団への浸透の可能性の検証

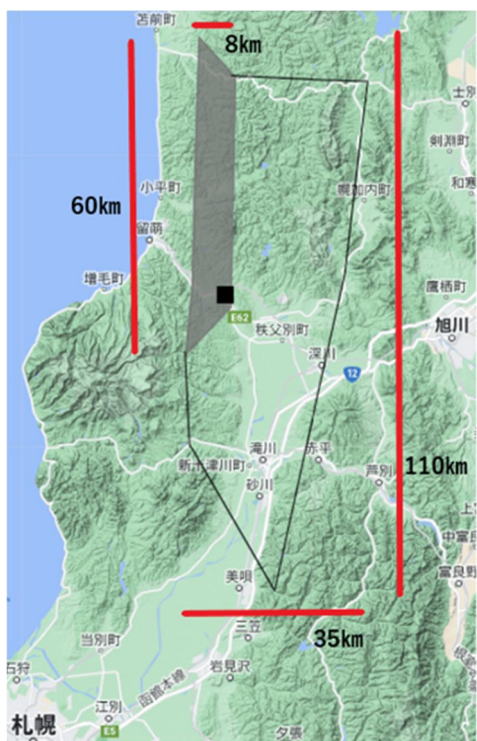


図4 黒色型の分布域.黒い四角はこれまで黒色型が分布していると考えられてた位置.灰色部分は黒色型個体のみを確認した範囲.黒線内は緑色型の個体が出現するなど,不連続でパッチ状ではあるが,黒色型を確認できた範囲.(地図はグーグルマップより引用)

黒色型個体の分布域の調査

本研究及びその後も継続して行った別の調査の結果を加えると、これまでの認識と異なり、図4の灰色部分、東西に約8キロ、南北に約60キロの広範囲に黒色型のみが分布している事が明らかになった。その東側の黒い線で囲われた東西約35キロ、南北約110キロに渡る範囲には、黒色型の生息地と生息地の間に緑色型の生息地が出現するなど、不連続でパッチ状ではあるが、黒色型の個体が分布している事が明らかになった。

体色型間の交配で得られたF1の体色の確認

緑色型と黒色型間の交配となる手稲×留萌からは3頭、2頭、豊滝×留萌からは13頭、8頭の成虫が得られた。黒色型と緑色型間の交配となる留萌×手稲からは7頭、9頭の成虫が得られた。留萌×豊滝の卵からは幼虫が孵化しなかった。F1の体色は雄と雌で大きな違いが見られ、雄は組合せに関係なく23頭全てが黒色型ベースと考えられる体色になった。一方雌は、手稲×留萌の1頭のみが黒色型ベースと考えられる体色になった以外、残りの18頭は緑色型ベースの体色となった。

図4の黒線で囲われた範囲には、黒色型の雄の周辺に緑色型の雌を確認した事が多かった。一方で、緑色型の雄を認めた周辺で黒色型の雌を確認した事はほとんどなかった。今回異なる体色型間の交配で得られたF1の体色が、雄は全て黒色型ベース、雌はほぼ全てが緑色型ベースだった事は、調査中に抱いた違和感を払拭し得る結果となった。黒色型の個体は留萌市周辺にのみ生息するという約30年前の認識は未調査だったからではなく、その後黒色型が分布を拡大した可能性が高いと考えられる。今後、北海道各地の博物館の標本調査や文献

調査などで、今回の黒色型の分布域の中に過去に緑色型が分布していた事が判明すれば、野生生物において、1つの集団が獲得した新規の形質が集団中にどのように浸透・拡散していったかを推測できる貴重な機会になる。移動能力が低いサッポロフキバツが、どのように遺伝的な交流を行い、どういった障壁がその交流を妨げてきたのかが明らかになれば、種分化研究に重要な知見を加える事ができる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	鈴木 香織 (Suzuki Kaori) (40595732)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関