

令和 2 年 7 月 10 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07573

研究課題名(和文) 陸貝の捕食者適応：野外モニタリング調査とゲノム系統解析によるアプローチ

研究課題名(英文) Field studies and phylogenomic approaches in the land snails' adaptation to predators

研究代表者

小沼 順二 (KONUMA, Junji)

東邦大学・理学部・講師

研究者番号：10613838

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)：伊豆諸島に生息するシモダマイマイには、黒体色と白体色の色彩多型が存在し、本州に生息する集団に比べ、体色の多様性が著しく高い。標識再捕獲法を用いて野外調査を行った結果、黒体色と白体色のシモダマイマイは、中間的な体色の個体よりも生存率が高いことがわかった。この結果は、中間型に不利な自然選択(分断選択)がシモダマイマイに対して生じていることを示唆している。伊豆諸島に分布するシモダマイマイは、本土から島に移入後、外部環境に対して適応進化する過程において、体色が多様化したと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分断選択(中間型に不利な自然選択)は、多様性を創発する重要な機構と考えられ、種内多型や同所的種分化を引き起こすメカニズムとして議論されてきた。多くの理論研究は生態的種分化が生じる条件として分断選択の重要性を指摘する一方で、野外において実際に分断選択が働いている証拠を示した研究は少ない。本研究は、強い分断選択が陸貝の体色に働いている証拠を提供できた点において意義深く、陸貝の多様性創発メカニズムの解明につながる点において、重要な結果といえる。

研究成果の概要(英文)：Dimorphic colour patterns of the snail shell colour were reported in the *Euhadra peliomphala simodae* distributed in the Izu islands. Black and white snails are observed in the Izu islands, whereas they are not seen in the Japanese mainland. We conducted a mark-recapture study and found that the survival rates of black and white snails were higher than those of intermediate coloured snails. This result implies that disruptive selection occurs on shell colour. *Euhadra peliomphala simodae* migrated from the mainland to the Izu islands would have adapted to island environments, and then their colour would have diversified.

研究分野：進化生態学

キーワード：分断選択 捕食・被食 陸貝 標識再捕獲 適応放散

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

環境への適応とともに生殖隔離が生じる現象は、生態的種分化とよばれ適応放散につながる重要な進化過程の一つである。アノールリザードやトゲウオなどの研究で生態的種分化の実証が報告されるが、未だその実証例は非常に少なく、生態的種分化は進化生態学の最重要課題の一つといえる。

陸貝(カタツムリ)の色彩多型も生態的種分化を示す証拠の一つかもしれない。伊豆諸島に生息するシモダマイマイには、黒体色と白体色の色彩多型が存在し、本州に生息する同種ミスジマイマイの集団に比べ、変異が著しく高い。系統解析に基づいた先行研究は、本州から移入した小集団が、伊豆諸島で独立に適応進化した結果、体色が多様化した可能性を指摘している(Hayashi and Chiba 2004)。この体色の多様化は、鳥類などの捕食者に対する適応によって生じたと予想されている。例えば、黒体色は地上のリター上で白体色は樹上の樹皮上で保護色として働くならば、生息場所の分化とともに色彩多型が維持されるだろう。このような生息場所の分化は、分散能力が極めて低い陸貝にとって交配前隔離として機能し、種分化へと発展するかもしれない。

同様の黒白の色彩多型は、小笠原諸島のカタマイマイにもみられる。カタマイマイでは、色彩分化と生息場所の分化が独立した系統内で複数回生じていることから反復適応放散の一例と考えられている(Chiba 1999)。また、ヨーロッパに分布するセピア属の陸貝においても、同様の黒白の色彩多型がみられる。黒白の色彩多型は、陸貝の適応分化を示す一般的な傾向なのかもしれない。

陸貝の捕食者としては、鳥類の他に、日本固有種のマイマイカブリの存在も非常に大きい。マイマイカブリは、日本列島北部から南部まで広く分布するオサムシ科の甲虫で、陸貝を主要な餌資源として利用している(Konuma et al. 2011)。伊豆諸島の中で伊豆諸島大島がマイマイカブリの生息分布域の南限とこれまで考えられていたものの、近年、伊豆諸島新島への移入が確認された。マイマイカブリは、幼虫は陸貝を採餌しなければ成長できず、成虫は陸貝の採餌なしに十分な産卵を行うことができない(Konuma et al. 2013, 2014)。このように陸貝専食のオサムシが移入した新島において、現地の陸貝は大きな捕食圧を受けている可能性が高い。マイマイカブリは、利用する陸貝に適応する過程で採餌行動や形態を進化させており、陸貝もマイマイカブリの捕食圧に対し防御適応する過程で形態を進化させている(Konuma and Chiba 2007, 2013)。このような捕食者-被食間における共進化現象は、進化生態学における最重要課題の一つでもある。

2. 研究の目的

(1)本研究では、伊豆諸島新島のシモダマイマイを材料に野外でモニタリング調査を行い、色彩の有利性を検証した。標識再捕獲法を行い、シモダマイマイの生存率や移動率を計測し、体色に関する適応度を推定した。

(2)また、次世代シーケンサーを用いたゲノム系統解析を行い、シモダマイマイの体色分化過程を推定した。先行研究(Hayashi and Chiba 2004)では、ミトコンドリア DNA による1分子マーカーを用いた系統解析を行ったが、その情報量の少なさから、伊豆諸島に分布するシモダマイマイの系統分岐を推定することができなかった。そこで本申請では、GRAS-Di法を用いた複数分子マーカーによる系統解析を行った。大量 SNP マーカーによるゲノム系統解析を行い、伊豆諸島に分布するシモダマイマイの進化的背景解明を目的とした。

(3)さらに、伊豆諸島に移入したマイマイカブリの分布状況を調べるとともに、採餌実験からマイマイカブリがシモダマイマイに対する捕食圧となり得るかを検証した。

3. 研究の方法

(1)伊豆諸島集団の野外調査

伊豆諸島新島に生息するシモダマイマイを対象に標識再捕獲法を用いた野外調査を行った。初めに、捕獲個体の殻を一定光量下で写真撮影し、獲得した画像データを用いて殻色を定量化したのち、黒色、白色、中間色に分類した。その後、個体の生存率を目的変数、定量化した殻色を説明変数とする二次元多項式モデルを用いて生存率を推定した。多項式モデルにおける殻色の一次の項の係数は方向性選択の指標、殻色の二次の項の係数は分断選択または安定化選択の指標と考えることができた。これらの係数値をベイズ法によって推定するとともに、殻色に対する生存率を、スプライン曲線を用いて推定した。また、標識個体のデータを用いて個体群動態や移動分散能力の推定も行った。

(2)本土集団の野外調査

先行研究は、伊豆諸島に分布するシモダマイマイの祖先種が、関東地方に分布するミスジマイマイであることを示していた(Hayashi and Chiba 2004)。そこで、ミスジマイマイが広く分布する関東地方において野外調査を行い、祖先系統を推定した。

(3)マイマイカブリの野外調査と行動実験

新島本島内でピットフォールトラップを行い、移入したマイマイカブリの分布域の調査を行

った。また、移入したマイマイカブリがシモダマイマイを採餌し得るかを検証するために、先行研究(Konuma and Chiba 2007, 2013)同様のマイマイカブリの採餌実験を行い、採餌成功率やその捕食行動を調べた。

(4) シモダマイマイ集団の系統解析

シモダマイマイにみられる黒体色と白体色の変異の進化過程を推定するために、分子系統解析を行った。黒体色と白体色が共存している地域集団を含む新島島内 10 地点からシモダマイマイ集団の採集を行った。実験室内においてゲノム DNA を抽出したのち、GRAS-Di 法を用いて DNA シーケンスを行った。得られたシーケンスリードを、アンプリコンの有無に基づきジェノタイピングした。獲得したゲノムワイドなジェノタイピング情報に基づき RAXML を用いて各集団間の系統解析を行った。また、獲得したシーケンス情報を、Stacks2 を使ってジェノタイピングし、同様の系統解析を行った。

4. 研究成果

(1) 伊豆諸島集団の野外調査

新島島内のシモダマイマイを、標識再捕獲法を用いて調査した結果、中間色個体の生存率が黒体色個体と白色体個体の生存率に比べ、有意に低いことがわかった。二次元多項式モデルを用いた生存率推定結果では、殻色の二次項の係数が統計的に有意に正の値をもつと推定された。この結果は、殻の色に対して分断選択が生じていることを示唆している。実際、殻色に対するスプライン曲線も、中間色の生存率が低いことを示す下に凸型の曲線パターンを示していることが確認できた。これまで様々な生物種において選択勾配が調べられてきたが(Stinchcombe et al. 2008)、本研究で推定された分断選択の勾配値は、先行研究の分断選択の勾配値より著しく高く、シモダマイマイの殻の色には、高い自然選択が生じていることが示唆された。

また、黒体色個体、白体色個体、中間色個体、それぞれの個体群動態は、季節的に変動していることがわかった。いずれの体色個体も、夏と冬に個体数が著しく減少し、春と秋に個体数は増加しており、それらの個体群変動パターンは同調していた。この結果は、体色の違いが、季節多型ではないことを示唆している。

以上の結果は、英国における進化生物学の査読付き国際誌 *Biological Journal of the Linnean Society* において発表されるとともに(Ito and Konuma 2019)、第 66 回日本生態学会神戸大会での国内発表(伊藤・小沼 2019)、World Congress of Malacology 2019 での国際発表(Ito and Konuma 2019)でも、結果が公表された。

(2) 本土集団の野外調査

新島に分布するシモダマイマイの祖先集団の調査を目的に、関東地方での野外調査を行った。多数のミスジマイマイの採集に成功する一方、同属ヒダリマキマイマイの白子個体(アルビノ)の採集に成功した。陸貝のアルビノは非常に珍しく、顕微鏡下にて皮膚組織を詳細に調べた結果、軟体部が白皮症を示す一方で、頭部の頭瘤のみが黄色を帯びていることがわかった。先行研究において、ヒダリマキマイマイの成貝頭瘤から、テストステロン等が分泌されていることがわかっており(Takeda and Tsuroka 1979)、頭瘤の黄色は、この性ホルモンが関与している可能性が考えられた。シモダマイマイやミスジマイマイでは、陸貝殻色だけでなく軟体部の体色多様性が指摘されている(Hayashi and Chiba 2004)。軟体部の体色は、殻色の濃淡に影響を与えることも知られており、白子個体の軟体部はマイマイ属の殻体色の適応進化を議論する上で重要と考えられた。以上の結果は、米国における軟体動物の査読付き国際誌 *American Malacological Bulletin* における発表が準備されている(Yamagishi et al. in press)。

(3) マイマイカブリの捕食圧の検証

ピットフォールトラップ法により、マイマイカブリの生息分布域を調査した。本調査の結果、新島島内北部の広い範囲において、マイマイカブリの移入と分布域拡大が確認された。また、移入したマイマイカブリのシモダマイマイに対する採餌成功率を調べた結果、高い確率で採餌に成功することがわかった。以上から、移入したマイマイカブリは、シモダマイマイに対する高い捕食圧になっていることが予想される。先行研究(Konuma and Chiba 2007, 2013)は、狭頭型のマイマイカブリが、マイマイ属等の大型陸貝に対して、頭部を殻口に挿入し、直接的に陸貝軟体部を攻撃する採餌行動をとることを示している。新島のマイマイカブリは、西日本に生息するホンマイマイカブリに似た狭頭型形態をしており、採餌行動においても、頭を突っ込む行動を行うことがわかった。本研究課題開始より前から、新島におけるマイマイカブリと陸貝の調査を進めてきたが、今後も同様のモニタリング調査を継続していく予定であり、今回獲得したデータは、新島でのマイマイカブリと陸貝の共進化過程の研究する上で重要な比較データとなることが期待される。

(4) 分子系統解析

新島で捕獲したシモダマイマイの黒個体と白個体を用いて、次世代シーケンサー HiSeq2500 を用いてシーケンスした結果、合計 143 万リード、14Gbp のシーケンスデータを獲得した。獲得したリードの塩基のクオリティーはいずれも高く、その大部分を用いて、ジェノタイピングを行

った結果、約 17,000 のアンプリコンマーカ―を獲得することができた。このアンプリコンマーカ―を用いて系統解析を行った結果、島内に近接して分布する集団が高い bootstrap 値の分岐で支持される系統樹を作製することができた。

上記した分断選択研究の結果、伊豆諸島のシモダマイマイには中間型に対する強い選択圧が生じていると予想されるが、そのような結果を説明する代替的な可能性として、白体色集団と黒体色集団間の接合後隔離が考え得る。すなわち、多型と考えられてきたシモダマイマイの白体色個体と黒体色個体間には、既に hybrid weakness や hybrid breakdown 等の接合後隔離が生じており、中間色個体の生存率の低さは環境要因とは独立に生じている可能性が考えられた。しかし、実験室内でのシモダマイマイ黒個体と白個体のかけ合わせでは、F1 雑種の作出に成功しており、十分な接合後隔離が存在しているとはいえず、野外での生存率を下げる要因になっているとは断言できない(Ito and Konuma 2019)。仮に、黒個体集団と白個体集団間に接合後隔離が十分存在するのであれば、分子系統は、両集団が別クレードに分かれる結果が得られると予想される。また、黒個体と白個体の歴史的背景を考える上で、本土側のミスジマイマイ集団との比較も重要となるだろう。今後は、以上の仮説検証を行うことを目的に、黒個体集団と白個体集団に関する分子系統の詳細を解析し、体色分化の歴史的背景解明を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ito Shun, Konuma Junji	4. 巻 129
2. 論文標題 Disruptive selection of shell colour in land snails: a mark-recapture study of <i>Euhadra peliomphala simodae</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological Journal of the Linnean Society	6. 最初と最後の頁 323 ~ 333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolinnean/blz168	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamagishi Masaaki, Ito Shun, Konuma Junji	4. 巻 38
2. 論文標題 Record of an albino land snail <i>Euhadra quaesita</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Malacological Bulletin	6. 最初と最後の頁 1 ~ 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 伊藤 舜, 小沼 順二
2. 発表標題 陸産貝類において中間型を示す殻の色は生存に不利となるのか-標識再捕獲による検証
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shun Ito, Junji Konuma
2. 発表標題 Disruptive selection on shell colour in Japanese land snails: a mark-recapture study of <i>Euhadra peliomphala simodae</i>
3. 学会等名 World Congress of Malacology (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔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	伊藤 舜 (ITO Shun)		
研究協力者	山岸 雅晃 (YAMAGISHI Masaaki)		