

平成 23 年 5 月 30 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20370011

研究課題名（和文）高度勾配上の側所的種分化

研究課題名（英文）Parapatric speciation along altitudinal gradients

研究代表者

曾田 貞滋 (SOTA, TEIJI)

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：00192625

研究成果の概要（和文）：

四国固有のシコクオサムシにおいて、異なる高度環境への局所適応に付随した体サイズ分化が、種分化につながるかどうかを検証した。本種では、標高 1000m 付近をより低標高では大型個体、高標高では小型個体の集団が存在する。高標高における体長の減少は、高標高における温度と餌資源（ミミズ）の減少に対応している。集団間の体サイズ差は主に遺伝的に決まっている。体サイズの異なる集団間では、体サイズ差による機械的生殖隔離があり、シコクオサムシは高度適応によって種分化しつつあると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

We aimed to test whether ecological speciation could result from differentiation of body size between populations adapted to different altitudinal conditions, focusing on the body size variation among *Carabus (Ohomopterus) tosanus* populations at different altitudes. Molecular phylogenetic analyses showed that *C. tosanus* was a monophyletic group diverged within Shikoku and that there were only small genetic divergence among populations at different altitudes, despite that body size was clearly smaller at elevations of about 1000 m or higher. Field study indicated that the smaller body sizes at higher altitudes was related to adaptive responses to temperature and food (earthworms) conditions which were limited at higher altitudes. Laboratory experiments showed that the differences in body length between populations from different altitudes were largely determined by genetic differences with a small effect of plastic responses to temperature. The analysis of heritability revealed that the difference between populations was attributable to maternal inheritance (probably due to genes on X chromosome). Mating experiments showed that the body length difference caused a mechanical reproductive isolation, suggesting that the body size differentiation can result in speciation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	5,800,000	1,740,000	7,540,000
2009 年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2010 年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究代表者の専門分野：進化生態学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生態・環境

キーワード：種分化、生殖隔離、側所的分布、体サイズ

1. 研究開始当初の背景

種分化と姉妹種の同所的共存をもたらす機構と過程の解明は、進化生態学の主要な研究課題である。近年、同所的種分化の理論的検証に関連して、環境勾配上での側所的な種分化が注目されている。側所的種分化は、広い範囲に散在する個体群が、局所適応しながら分化する過程であり、異所的・同所的分化両方の要素を含む。局所適応した個体群間の移動分散が制限されているほど異所的種分化と同様な状況が起こるが、移動分散が増加するほど分化は難しくなると予測される。しかし理論的研究では、異なる局所適応を遂げた個体同士が環境勾配上で相互作用を持つことによって、分断選択が起こり、同類交配が確立して種分化に至る場合が予測されている。とくに、環境適応と生殖隔離に関与する主要形質が共通である場合（例えば水中の深度勾配と魚の視物質）、側所的種分化は起こりやすいと予測される。温度や光などの連続的な環境勾配は、どの生物にとっても普遍的なものであり、側所的種分化を解明することは多様性をもたらす種分化過程を理解する上で重要である。しかし、側所的種分化については、具体的な検証例は殆どない。

幅広い緯度・高度範囲に生息する日本列島のオサムシ類（オサムシ科オサムシ亜族）には、種内の地理的変異とともに、近縁種の同所的共存が幅広く見られる系統群も含まれ、環境勾配上での種分化から種の共存に至る過程を研究するのに好適な材料である。オサムシ類では、体サイズの地理的変異が、気候適応を反映した逆ベルクマン則的パターン（温度が低い場所ほど小さくなる）を示すと同時に、種間相互作用を軽減するような種間のサイズ分化がある。とくに多数の種・亜種に分化したオオオサムシ亜属では、体サイズの異なる2～5種が同所的に生息し、種の組合せは地域によって異なっている。この亜属では多様化した交尾器が種間の機械的隔離に関係しているが、同所的種間の体サイズ差が、交尾器の差とは独立に生殖隔離に寄与していることが、ミトコンドリアの種間浸透率を指標にした分析で示されている。種内では逆ベルクマン則が維持されているため、体サイズの種内変異が気候勾配への適応に関係することは推測されるが、体サイズの種間差が進化した要因・過程は明らかでない。同所的種間の体サイズ分化はしばしば資源競争に関連した形質置換で説明されてきたが、資源競争は密度依存的に作用するため常に強力な選択圧とは限らず、オオオサムシ亜属でも主要な進化要因とは考えられない。より可能性の高い仮説は、気候勾配上の局所適応による体サイズ分化と移動分散の繰り返しで、

種分化と同所的共存が達成されたという、側所的種分化仮説である。この側所的種分化の可能性は、現在見られる種内の地理的変異を詳細に調べることで検証できる。四国に分布するシコクオサムシ *Carabus (Ohomopterus) tosanus* では、生息高度による体サイズの著しい変異があり、また一部の地域では体サイズの異なる個体（亜種に対応）が混棲している場所があるという。このため、シコクオサムシを2種に分ける研究者もいるが、分子系統解析ではシコクオサムシの遺伝的分化程度は小さく、亜種分化は最近のものであることが分かっている。このようにオオオサムシ亜属では、現在の高度勾配上の体サイズ分化を発端として、種分化が起こりつつある可能性がある。

2. 研究の目的

本研究ではオオオサムシ亜属の1種シコクオサムシの体サイズ変異に注目し、高度勾配上での局所適応が、種分化と同所的共存につながる可能性を検証する。まず、高度勾配上での体サイズの変異パターンを解析し、気温・地形など環境要因との対応を明らかにするとともに、局所的な体サイズが実際に適応的かどうか検証する。またミトコンドリア遺伝子配列、マイクロサテライト解析によって、高度勾配上での集団の遺伝的構造を調べ、集団分化と遺伝子流動の実態を明らかにする。次に体サイズ分化が機械的な生殖隔離をもたらすことと、遺伝的な変異によるものであることを示す。側所的種分化の過程では、遺伝子流動が多少なりともあることが前提であるので、とくに体サイズの変異が大きい集団（地域）において、体サイズの違う個体が周辺の異なる高度の集団との系統的類縁性を持つこと（近接集団間の移動分散）、その集団で種分化につながる同類交配の傾向があることを検証する。

3. 研究の方法

本研究では、高度勾配上の局所適応によって種分化が側所的に生じるか、また種分化が起こるとしたらどのような条件が重要かを明らかにするため、シコクオサムシを対象として、次の4項目の研究を行なう。

(1) 高度勾配上の集団分化

四国各地において、オオオサムシ亜属を採集し、局所集団の形態（体サイズ）、遺伝的構造、集団間の遺伝子流動を分析する。遺伝的構造は、ミトコンドリア遺伝子およびマイクロサテライト解析によって行う。集団間の遺伝的分化、遺伝子流動について、固定指数や移動率の推定による評価を行う。

(2) 局所適応の実証

体サイズ、幼虫期が局所的な温度条件、餌条件に対応していることを野外調査を通して検証する。石鎚山系の標高 1000m から 1700m にかけて、5つの調査地を設定し、年間を通して成虫のサンプリングを行うとともに、温度の測定と餌のミミズの調査を行う。

(3) 形態分化の遺伝的基盤の解明

体サイズの高度変異の体サイズの遺伝性を明らかにするために、標高 1000m～1500m で採集した個体を飼育して採卵し、15℃および 20℃で飼育して、次世代の体サイズを測定する。また、集団間の交配を行って、体サイズの遺伝率を推定する。

(4) 生殖隔離の実証

室内飼育によって得られた成虫を用いて、体サイズの異なる集団間の交配で、交尾（正常な精包形成）における機械的隔離が生じるかどうかを観察し、体サイズ分化と機械的生殖隔離の関係を検証する。

4. 研究成果

(1) 高度勾配上の集団分化

シコクオサムシの地理的集団ごとの体サイズを調査し、集団間の遺伝的関係をミトコンドリア ND5 遺伝子配列のシーケンス解析によって調べた。体長は標高 1000m 付近を境に大きく変化し、高所では小型となっていた。集団間の遺伝的分化は体長の違いや、地理的な亜種の違いとは対応しておらず、体長が異なっても、近接した集団間の分化は小さかった（固定指数が有意にゼロより大きくはなかった）。

(2) 局所適応の実証

2009年に、4月から11月の間、標高 1000m から 1700m の 5 地点で継続的なサンプリング調査を行った。これによって、標高ごとの季節消長が温度による制約を受けていることを確認した。また、幼虫の餌となるミミズの季節消長を調べ、高標高では餌量が少ないことが分かった。これらの結果から、体サイズ、幼虫期が局所的な温度条件、餌条件に対応していることが検証された。また、この調査では、ミミズ類（主にフトミミズ科）の種構成について、DNA バーコーディングを用いた検討を行った。ミミズの種構成は標高によって大きく変化することはなかったが、種の多様性は低標高の方が高かった。

(3) 形態分化の遺伝的基盤の解明

四国各地の異なる標高から得られた集団を、15℃、20℃で飼育し、体長の温度による可塑性を検証した。また石鎚山系の異

なる標高から得られた 2 集団（皿ヶ嶺、伊吹山）を用い、集団間交配を行うことによって体サイズの遺伝率を推定した。その結果、雌親から子への回帰では約 69%であったが、雄親から子への回帰は有意でなかった。集団間の体サイズ差は雌側の因子（すなわち X 染色体上の遺伝子）で決まっている可能性が示唆された。

(4) 生殖隔離の実証

飼育実験によって得られた各集団の次世代成虫を用い、集団内、集団間のさまざまな体サイズの組み合わせで交配実験を行い、交尾行動におけるマウンティングの成功率、雄交尾器の挿入成功率、精包形成成功率を測定した。集団間交配でも集団内交配と変わらず交尾行動がみられたが、精包形成率は雌雄の体サイズ差が大きくなると低下した。

以上の結果から、シコクオサムシは、高度によって変化する温度・餌環境に対応して、遺伝的な体サイズ分化を示すこと、この遺伝的な変異は、主に性染色体上の遺伝子座の変異によるものであることがわかった。ミトコンドリア遺伝子でみた集団間の遺伝的分化が小さいことから、遺伝的な体サイズ差は比較的短い期間に生じたものと考えられる。集団の平均体サイズは、地形的に急峻な 1000m 付近で大きく変化するが、この体サイズ差は機械的生殖隔離をもたらすことが分かった。したがって、体サイズ分化が側所的な集団間の生殖隔離による種分化につながる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 12 件）

- (1) Konuma, J., N. Nagata & T. Sota (2011) Factors determining the direction of ecological specialization in snail-feeding carabid beetles. *Evolution* 65: 408-418. (査読有)
- (2) 曾田貞滋 (2011) オサムシ学の新展開—生態から進化まで：概説。昆虫と自然 46(3): 2-7. (査読無)
- (3) 高見泰興 (2011) オサムシの交尾器はなぜ多様なのか—性淘汰と遺伝的基盤。昆虫と自然 46(3): 9-13. (査読無)
- (4) 長太伸章 (2011) オサムシ近縁種間の遺伝子流動—ミトコンドリア DNA が示す浸透性交雑。昆虫と自然 46(3): 15-18. (査読無)
- (5) 奥崎穰 (2011) オサムシの分布パターン

を決める鍵-繁殖干渉を避ける体サイズ差.
昆虫と自然 46(3):19-23. (査読無)

- (6) 小沼順二 (2011) マイマイカブリの形はなぜ多様なのか-貝食性オサムシの地理的形態変異の要因. 昆虫と自然 46(3):24-27. (査読無)
- (7) Sasabe, M., Y. Takami & T. Sota (2010) QTL for the species-specific male and female genital morphologies in *Ohomopterus* ground beetles. *Molecular Ecology* 19: 5231-5239. (査読有)
- (8) Okuzaki, Y., I. Tayasu, N. Okuda & T. Sota (2010) Stable isotope analysis indicates trophic differences among forest floor carabids (Coleoptera: Carabidae) in Japan. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 135: 263-270. (査読有)
- (9) Okuzaki, Y., Y., Takami & T. Sota (2010) Resource partitioning or reproductive isolation: the ecological role of body size differences among closely related species in sympatry. *Journal of Animal Ecology* 79: 383-392. (査読有)
- (10) Sota, T. & T. Tanabe (2010) Multiple speciation events in an arthropod with divergent evolution in sexual morphology. *Proceedings of the Royal Society B* 277: 689-696. (査読有)
- (11) Okuzaki, Y., I. Tayasu, N. Okuda & T. Sota (2009) Vertical heterogeneity of a forest floor invertebrate food web as indicated by stable isotope analysis. *Ecological Research* 24:1351-1359. (査読有)
- (12) Nagata, N., K. Kubota, Y. Takami & T. Sota (2009) Historical divergence of mechanical isolation agents in the ground beetle *Carabus arrowianus* as revealed by phylogeographic analyses. *Molecular Ecology* 18: 1408-1421. (査読有)

[学会発表] (計 2 件)

土屋雄三・奥崎穰・高見泰興・曾田貞滋. シコクオサムシにおける体サイズの高度変異に関与する要因. 第 58 回日本生態学会大会. 2011 年 3 月 10 日. 札幌コンベンションセンター.

土屋雄三・曾田貞滋. 四国産オオオサムシ亜属の体サイズ分化による生殖隔離. 第 57 回日本生態学会大会. 2010 年 3 月 17 日. 東京大学.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

曾田 貞滋 (SOTA TEIJI)

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号: 00192625

(研究協力者)

土屋 雄三 京都大学・大学院理学研究科・博士後期課程大学院生

池田 紘士 京都大学・大学院理学研究科・研究員 (現・日本学術振興会特別研究員)

長太 伸章 京都大学・大学院理学研究科・研究員

高見 泰興 神戸大学・大学院人間発達環境学研究科・准教授

奥崎 穰 日本学術振興会特別研究員 (京都大学)