

機関番号：24403

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20570024

研究課題名（和文） 生物集団の歴史性が生活史進化に及ぼす影響：系統関係に基づく地理的変異の評価

研究課題名（英文） Effect of history of populations on life history evolution: phylogeographical analysis for geographical variation

研究代表者

石原 道博 (ISHIHARA MICHIIHIRO)

大阪府立大学・理学系研究科・准教授

研究者番号：40315966

研究成果の概要（和文）：昆虫の生活史形質に見られる緯度クラインは、多くが地域ごとに異なる温度条件に局所適応した結果であったが、イタチハギマメゾウムシの体サイズに見られる緯度クラインは寄主の種子サイズに依存した表現型可塑性だけによって生じる貴重な例であった。また、キアゲハを用いた遺伝子解析と飼育実験の結果は、過去に起きた集団の分化と遺伝的浮動が、生活史進化の方向と程度に制約として影響することで、緯度クラインに津軽海峡を挟んでズレを生じさせたことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Latitudinal clines of life history traits were caused by local adaptation for latitudinal different conditions of temperatures in all insect species used in this study except for the bruchid, *Acanthoscelides pallidipennis*, in which the cause was phenotypic plasticity dependent on host seed sizes. In the swallowtail butterfly, *Papilio machaon*, the phylogeographical analysis using mtDNA and common garden experiment suggested that the history of population fragmentations and genetic drifts acted as constraint on the direction and degree of life history evolution. Therefore, this might make a gap in Tsugaru Channel across latitudinal clines.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
年度			
年度			
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：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：地理的変異、遺伝的変異、Nested clade phylogeographical analysis、ハプロタイプネットワーク、系統関係、地史、季節多型、キアゲハ

1. 研究開始当初の背景

生物の生活史形質に見られる地理的変異は、進化の過程を野外研究から解明するのに有効な研究対象である。地理的に異なる生息地では、多くの場合、環境条件が異なるため、

自然選択圧の違いが生じ、生息地ごとに生物の適応進化の仕方が異なってくるはずである。このため、環境に対していかに自然選択がはたらき、生物の性質が進化したか、という過程を解明する目的で、生物の示す形質の地理的変異と環境変異との関係を分析した

研究が多い (Tauber et al., 1986; Foster and Endler, 1999; Ishihara, 1998, 1999; Ishihara and Shimada, 1999)。生活史形質のような量的形質は変異の数値化が容易でこのような解析を行いやすい利点があるが、とくに、緯度や標高などの環境勾配に沿った生活史形質の勾配 (クライン) の発見は、自然選択による進化を示す直接的な証拠と捉えられてきた (Masaki, 1961, 1967; Tauber et al., 1986; Danks, 1987; 石原, 2001)。

しかしながら、一部の地理的変異については、自然選択による進化ではなく、過去のこれらの生物種の地域集団への分岐過程と、これに関連して生じたランダムな遺伝的浮動、という「歴史的・中立的」な背景を反映しているだけである場合も考えられる (Futuyma, 1986, 2005)。また、自然選択が関与している場合であっても、進化はその集団に存在する遺伝的変異の大きさに依存するため、これらの歴史的背景によって生じた遺伝的変異の変化がその後の適応進化に及ぼす影響は大きい。このように生物集団の分化の歴史は、生活史形質に地理的変異が進化するうえで大きな制約となっていることが考えられる。

一方、生物種内の集団間の系統関係についてのこれまでの研究は、系統関係と地理的空間分布や地史的イベントとの関連について扱ったものが多く、集団の分化が適応進化におよぼす影響についてはあまり考慮されてこなかった (Avisé et al., 1987; Park et al., 2006)。

このような理由から、生物種的生活史形質に見られる地理的変異の進化について、集団間の系統関係と自然選択による適応進化の両方の観点から研究することが望まれている。

2. 研究の目的

本研究では、生物の生活史形質に見られる地理的変異の進化に、その生物種の集団の分化過程とこれにともなう遺伝的浮動が、制約としてどの程度の影響を及ぼしているかを明らかにする。そのために、緯度に沿った連続的な変異である緯度クラインに注目し、地理的分布が広い昆虫種を用いて、野外観察・室内飼育実験・遺伝子解析・系統の影響を除去した比較法を組み合わせ、以下の点について明らかにする。

(1) 生活史形質に地理的変異が見られ、これが遺伝的変異を伴うものであるか、またその変異は環境変異と相関があるのか。

(2) 各地域集団はどの程度遺伝的に分化し、どの程度遺伝的変異が維持されている

か。

(3) 集団の系統分岐のパターンと生活史形質の地理的変異のパターンが対応するか。

3. 研究の方法

(1) 野外調査による生活史形質に見られる緯度クラインの検出

地理的分布が広いキアゲハ、イタチハギマメゾウムシ、シャープマメゾウムシ、ヤナギルリハムシ、マダラスズ、ヤマトシロアリなどを研究対象にし、北海道から九州まで異なる緯度ごとに野外調査および採集を行い、体サイズ、フェノロジー、寄主植物嗜好性などの生活史形質、および生息地の環境条件 (気温や湿度および寄主植物のフェノロジー) についての基礎的データを得た。社会性昆虫であるヤマトシロアリにおいては、カスト比 (とくに雌雄兵アリの全個体にしめる割合) も記録した。キアゲハでは、博物館に所蔵されている標本の観察も行った。これらの昆虫の形質に地理的変異、特に緯度クラインが見られるか、またこれらの地理的変異と気温や湿度および寄主植物のフェノロジーなどの環境要因との間に相関関係があるかを統計解析した。

(2) 室内飼育実験による地理的変異の解析

野外調査で検出された生活史形質の地理的変異は必ずしも遺伝的変異を伴う変異であるとは限らない。このために、野外調査で各地から採集した昆虫を共通環境条件下で1~2世代を飼育して、生活史形質や形態形質などデータを得た。地理的変異が遺伝的変異を伴うものであれば、共通環境条件下でも地理的変異が検出されるはずである。また、飼育実験では世代や季節型による生活史形質の違いや寄主植物嗜好性についても注目した。これらの室内飼育実験の結果は野外調査の結果と合わせて、生活史形質の地理的変異と気温や湿度および寄主植物のフェノロジーなどの環境要因との間に相関関係があるかについて統計解析を行い、作用している自然選択圧を評価した。

(3) 遺伝子解析による集団間の系統関係と集団内の遺伝的変異の推定

野外調査により各地域集団から昆虫個体を採集し、フェノール抽出法によりDNAを抽出した。その後、mtDNAのNADH dehydrogenase subunit 5 (ND5) gene (982bp) の配列を決定し、Nested clade phylogeographical analysisによってハプロタイプネットワークを作成した。これにより、集団間の系統関係、遺伝的変異のレベル、集団内の遺伝的変異の大きさを評価し、集団の分岐の歴史と、

過去に生じた遺伝的浮動やボトルネック等も推定した。

遺伝子解析により推定された集団間の系統的分岐、地域集団の示す生活史形質の状態、地域集団の生息域の環境条件、の三者の関連性について解析し、自然選択と歴史的背景のどちらが、地理的変異の進化により大きな影響を及ぼしているかを評価した。

4. 研究成果

(1) 生活史形質に見られる緯度クライ

①キアゲハの場合

体サイズが高緯度ほど小さくなるという緯度クラインが夏型では存在するのに対して、春型では存在しないことが明らかになった。季節型によって緯度クラインの有無が異なるという発見は、国際的にも初めての知見である。

②外来種であるイタチハギマメゾウムシの場合

高緯度ほど体サイズが大きくなるという緯度クラインが見つかった。また、高緯度の個体群ほど種子の大きい寄主植物群落を利用し、種子の小さな寄主植物群落には本種が定着していないことも明らかになった。これまで緯度クラインに寄主植物との相互作用の関与を示した研究はなく、本研究の成果は生態学的にも重要な発見である。

③ヤナギルリハムシの場合

高緯度ほど1年の世代数が少なくなり、特定のヤナギ種への産卵選好性も強くなることが明らかになった。

④他の昆虫種の場合

シャープマメゾウムシとマダラスズでも高緯度ほど世代数が少なくなるという緯度クラインが見つかった。ヤマトシロアリにおいては、カスト比に地理的変異が存在する可能性が示されたが、詳細については現在解析中である。

(2) 地理的変異の実態：遺伝的変異と表現型可塑性

①キアゲハの場合

体サイズに見られる日長と温度に対する表現型可塑性の程度に遺伝的な違いに基づく個体群間変異があることが明らかとなった。特に温度に対する可塑性の程度(反応基準)が個体群間で異なること、具体的には高緯度個体群は低緯度個体群よりも低温で速く育ち、体サイズも大きくなるのが、春型と夏型に見られる緯度クラインのパターンの違いをもたらしていることが示唆された。この結果は進化生態学的にも重要な発見で

あり、まだ国内外で発表されていない知見である。

また、同緯度で季節環境が同じと考えられる津軽海峡によって分断された北海道釜谷と青森県大畑の2個体群の間にも反応基準の高さや傾きに違いがみられた。蛹体重では、大畑は距離が近い釜谷よりも京都に、釜谷は大畑よりも稚内に近い形質を示した。

②外来種であるイタチハギマメゾウムシの場合

同一サイズの種子で本種を飼育したところ、体サイズに有意な差が検出されなかった。この結果は、高緯度ほど体サイズが大きくなるという緯度クラインが遺伝的変異に基づくものではなく、単に利用している種子サイズに依存した表現型可塑性であることを意味する。これまでの研究は、緯度クラインは局所適応による遺伝的変異にもとづく結論していたが、本研究の成果はそうでない事例として貴重な発見である。

一方、休眠誘導の光周反応には外来種でありながら、遺伝的変異が示された。この結果は、本種が侵入後に侵入した地域の日長変化に迅速に適応したことを意味し、外来種の定着プロセスを知るうえで重要な知見である。

③他の昆虫種の場合

マダラスズでは、後脚を自切した個体は自切していない個体よりも、発育期間が有意に長くなり、オスは隠れてよく鳴く行動を示した。シャープマメゾウムシでは、完熟乾燥した種子を利用する第2世代の卵は、未熟な種子を利用する第1世代の卵より有意に大きかった。これらは表現型可塑性による変異であるが、地理的変異を示すかどうかは今後の課題である。

(3) 集団間の系統関係と集団内の遺伝的変異

キアゲハでのみ遺伝子解析を行った。日本周辺のキアゲハは、(サハリン)、(北海道)、(本州・九州)、(四国)の4つの集団に分かれた。ハプロタイプネットワークの階層構造と地理的情報から過去のイベントを推定したところ、これらの集団は、(サハリン・北海道)と(本州・四国・九州)の2つの集団に分かれた後に4つの集団に分かれるという津軽海峡と宗谷海峡の形成史に沿っていた。この結果は、日本列島におけるキアゲハの遺伝的構成の違いには海峡の影響が強いことを示すものである。

キアゲハの季節型に見られる緯度クラインも(2)①の結果より、津軽海峡によって不連続になることが示された。これらの結果より、津軽海峡の形成という歴史的な出来事によって、古い時代に本州と北海道の間で遺

伝子流動が分断されてしまった。そのため、津軽海峡を境にして、異なる遺伝的浮動もしくは方向に偏りがある遺伝子流動によって、mtDNA のハプロタイプの構成が異なってしまっただけでなく、生活史形質にもズレが生じたと考えられる。

キアゲハで明らかにされた研究成果は、過去に起きた集団の分化過程とこれにともなう遺伝的浮動が、生活史形質の進化に制約として作用し、進化の方向や程度に影響を及ぼすことを示すものである。そのため、生物種の生活史形質に見られる地理的変異の形成プロセスを明らかにするためには、自然選択による適応進化の観点だけでなく、集団間の系統関係を明らかにし地史との関連にも注目する必要があることを、国内外の研究者に強く訴えることとなるだろう。

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 Sadakiyo, S. and Ishihara, M. (2011) Rapid seasonal adaptation of an alien bruchid after introduction: geographical variation in life cycle synchronization and critical photoperiod for diapause induction. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 印刷中. 査読有り.
- ② Kitade, O., Hoshi, M., Odaira, S., Asano, A., Shimizu, M., Hayashi, Y. & Lo, N. (2011) Evidence for genetically influenced caste determination in phylogenetically diverse species of the termite genus *Reticulitermes*. *Biology Letters*, 印刷中. 査読有り.
- ③ Matsuoka, N., Miyakawa, M. and Ishihara, M. (2011) Effect of hind-limb autotomy on calling and hiding behavior in the band-legged ground cricket, *Dianemobius nigrofasciatus*. *Journal of Ethology*, 29: 209-213. 査読有り.
- ④ Ishihara, M. and Suzue, N. (2011) Greater impact of host plant species on oviposition of a willow leaf beetle *Plagioderma versicolora* Laicharting (Coleoptera: Chrysomelidae) during the adult stage than in developing larval stage. *Applied Entomology and Zoology*, 46: 125-130. 査読有り.
- ⑤ Inada, K., Kitade, O. & Morino, H. (2011) Paternity analysis in an egg-carrying aquatic insect *Appasus major* (Hemiptera: Belostomatidae)

using microsatellite markers.

Entomological Science, 14: 43-48. 査読有り.

- ⑥ 北出理 (2011) シロアリの腸内共生微生物群集—木質消化を担うバイオリクター. *遺伝*, 1月号: 22-27. 査読無し.
- ⑦ 宮川美紗・八木孝司・石原道博 (2011) 日本列島に分布するキアゲハの遺伝的多様性とその成立背景. *昆虫 DNA 研究会ニュースレター*, 14: 26-29. 査読無し.
- ⑧ Matsuoka, N. and Ishihara, M. (2010) Autotomy-induced life history plasticity in band-legged ground cricket *Dianemobius nigrofasciatus*. *Entomological Science*, 13: 1-7. 査読有り.
- ⑨ Kitade, O., Miyata, Y., Hoshi, M., Hayashi, Y. (2010) Sex ratio and caste composition in field colonies of the termite *Reticulitermes speratus* in Eastern Japan. *Sociobiology*, 55: 379-386. 査読有り.
- ⑩ 八木孝司・藤井恒 (2010) エゾスジグロシロチョウ種群の分子系統. *昆虫と自然*, 45: 27-30. 査読無し.
- ⑪ Bocak, L. and Yagi, T. (2009) Evolution of mimicry patterns in Metriorrhynchs (Coleoptera: Lycidae): the history of dispersal and speciation in Southeast Asia. *Evolution*, 64: 39-52. 査読有り.
- ⑫ Lo, N., Hayashi, Y. and Kitade, O. (2009) Should environmental caste determination be assumed for termites? *American Naturalist*, 173: 848-853. 査読有り.

[学会発表] (計 24 件)

- ① 涌井茜・北出理. シロアリの雑種コロニーにおいて共生原生生物の混合がもたらす群集構造の変化. 第 55 回日本応用動物昆虫学会. 福岡. 2011 年 3 月 27 日.
- ② 諸岡史哉・北出理. ヤマトシロアリにおける有翅虫性比の地理的な変異. 第 58 回日本生態学会大会. 札幌. 2011 年 3 月 11 日.
- ③ 星真大・北出理. ヤエヤマシロアリ野外コロニーの生殖虫組成の違いと、カスト比・性比・遺伝構造. 第 58 回日本生態学会大会. 札幌. 2011 年 3 月 11 日.
- ④ 滋田友恒・諸岡史哉・北出理. ヤマトシロアリ創設メスの母巢の違いがニンフ生産に与える影響. 第 58 回日本生態学会大会. 札幌. 2011 年 3 月 11 日.
- ⑤ 定清奨・石原道博. 種子寄生者と種子サイズ間に生じる相互作用の地理的変異. 第 58 回日本生態学会大会. 札幌. 2011 年 3 月 10 日.

- ⑥ 北出理・権田まり子. ヤマトシロアリの攻撃行動における雌雄差. 第58回日本生態学会大会. 札幌. 2011年3月10日.
- ⑦ 嶋田敬介・北出理・前川清人. シロアリ類における繁殖形質の発達と腸内に共生する原生生物の個体数との関係. 第58回日本生態学会大会. 札幌. 2011年3月10日.
- ⑧ 川本さつき・石原道博. シャープマメゾウムシにおける休眠経験の有無に関連した卵サイズ変異. 第58回日本生態学会大会. 札幌. 2011年3月9日.
- ⑨ 北出理. シロアリ腸内共生鞭毛虫の群集構造と多様性. 第43回日本原生動物学会大会公開シンポジウム. 水戸. 2010年11月7日.
- ⑩ 涌井茜・北出理. シロアリの異種交配コロニーにおける長期飼育後の群集構造. 第43回日本原生動物学会大会. 水戸. 2010年11月6日.
- ⑪ 川本さつき・石原道博. シャープマメゾウムシにおける休眠の有無に関連した世代間の卵サイズ変異. 第26回個体群生態学会大会. 横浜. 2010年9月23日.
- ⑫ 定清奨・石原道博. ホストサイズに依存した体サイズの緯度クラインの形成と消失. 第26回個体群生態学会大会. 横浜. 2010年9月22日.
- ⑬ 川本さつき・石原道博. シャープマメゾウムシの世代間に見られる卵サイズ変異. 第57回日本生態学会大会. 東京. 2010年3月18日.
- ⑭ 定清奨・石原道博. 可塑性か、遺伝か? イタチハギマメゾウムシにおける体サイズの緯度クライン. 第57回日本生態学会大会. 東京. 2010年3月17日.
- ⑮ 滋田友恒・北出理. シロアリ生殖虫のワーカー誘導に対する有性・単為生殖で生まれた個体の感受性. 日本生態学会第57回大会. 東京. 2010年3月17日.
- ⑯ 星真大・北出理. ヤエヤマシロアリ野外コロニーの生殖虫とカストと性の構成. 日本生態学会第57回大会. 東京. 2010年3月17日.
- ⑰ 北出理. カースト分化における遺伝的影響と生殖虫の効果. 日本生態学会第57回大会自由集会. 東京. 2010年3月15日.
- ⑱ 定清奨・石原道博. 休眠によるオスへのコストがメスの繁殖形質に与える負の影響. 第25回個体群生態学会大会. 京都. 2009年10月18日.
- ⑲ 北出理・神田紘美. 生殖虫を除去したヤマトシロアリ属初期巣での単為生殖とニンフ生産. 日本昆虫学会第69回大会. 津. 2009年10月11日.
- ⑳ 星真大・北出理. ヤエヤマシロアリ *Reticulitermes yaeyamanus* の野外コロ

ニーにおけるカスト構成と性比. 日本昆虫学会第69回大会. 津. 2009年10月11日.

- ㉑ 川喜多愛・石原道博. キアゲハの春型はなぜ小さい? 休眠のコストが体サイズに及ぼす影響. 第56回日本生態学会大会. 盛岡. 2009年3月19日.
- ㉒ 定清奨・石原道博. 休眠が昆虫の生活史形質に与えるコスト. 第56回日本生態学会大会企画集会「休眠の進化生態学」. 盛岡. 2009年3月18日.
- ㉓ 定清奨・石原道博. イタチハギマメゾウムシの体サイズに見られる変異: 寄主サイズと体サイズの関係. 第56回日本生態学会大会. 盛岡. 2009年3月18日.
- ㉔ 定清奨・石原道博. 休眠のコストと餌の制約が引き起こす生活史形質の世代間・集団間変異. 第24回個体群生態学会大会 進化生態学シンポジウム「生活史形質の種内変異-理論と実証-」. 東京. 2008年10月19日.

〔図書〕(計1件)

- ① 石原道博・大串隆之. 京都大学学術出版会. シリーズ群集生態学2 (大串隆之・近藤倫生・吉田丈人編) 第2章 適応と生物群集をむすぶ間接相互作用 進化生物学からせまる. 2009年. 41-63 を分担執筆.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石原 道博 (ISHIHARA MICHIIHIRO)
大阪府立大学・理学系研究科・准教授
研究者番号: 40315966

(2) 研究分担者

八木 孝司 (YAGI TAKASHI)
大阪府立大学・産学官連携機構・教授
研究者番号: 80182301

北出 理 (KITADE OSAMU)
茨城大学・理学部・准教授
研究者番号: 80302321