

機関番号：34304

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570026

研究課題名(和文) ナミテントウにおける鞘翅斑紋遺伝子の地理的勾配の年代変化に対する地球温暖化の影響

研究課題名(英文) Influence of global warming on geographical cline of elytral colour polymorphism in the ladybird beetle, *Harmonia axyrids*

研究代表者

野村 哲郎(NOMURA TETSURO)

京都産業大学・総合生命科学部・教授

研究者番号：50189437

研究成果の概要(和文)：自然選択は、生物の適応的進化を説明する上で中心的な役割を果たしてきた。しかしながら、野外で実際に自然選択が働いたことを示す事例は極めて少ない。本研究では、ナミテントウの鞘翅斑紋多型における地理的勾配ならびにその年代変化を全国規模で調べ、環境変化とくに気候の温暖化との関係について調査した。本州、四国および九州のほとんどの採集地において、過去60年の間に黒化型(二紋型、四紋型、斑型)の遺伝子頻度が上昇し、非黒化型(紅型)の遺伝子頻度が低下していた。遺伝子頻度に見られた変化は、採集地に近接した気象測候所における繁殖季節の気温の上昇と呼応する傾向を示した。これらの結果は、自然選択による小進化の一例になり得るものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Natural selection has played a central importance in the explanation of adaptive evolution in organism. There have been, however, very few field evidences supporting the action of natural selection, compared to many fruitful results in artificial selection of domestic plants and animals. In this study, I investigated the geographical cline and its change over decades in the elytral colour polymorphism of the ladybird beetle, *Harmonia axyrids*, in Japan. In most of the sampling locations in Honsyu, Shikoku and Kyusyu islands, the frequencies of melanic genes increased, while the frequency of non-melanic gene decreased during the last several decades. The observed change in the gene frequencies coincided with the increase in the temperature in the reproductive season at most meteorological stations close to the sampling locations. These results could be a field evidence of micro-evolution by natural selection.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：ナミテントウ、鞘翅斑紋遺伝子、地理的勾配、地球温暖化、年代変化

1. 研究開始当初の背景

地球温暖化が生物種に与える影響は、ナガ

サキアゲハ *Papilio memnon thunbergii* の分布の北上化をはじめとして、昆虫類の分布の

変化について多く報告されている。しかし、地球温暖化が種内の遺伝子構成に変化を与えたことを示す例は報告されていない。本研究は、そのような実例を示すことを目的として企画したものである。

ナミテントウ *Harmonia axyridis* の鞘翅斑紋には、優劣関係が明らかにされている4つの対立遺伝子に支配された4型（二紋型、四紋型、斑型、紅型）がある。4型は肉眼で識別でき、しかも多数の個体が容易に採集できることから、本虫は集団遺伝学の格好の研究材料となってきた。約60年前に駒井らは、日本産ナミテントウ集団に関して全国規模で調査を行った（駒井ら、1956）。彼らの得た結果は、日本列島では北に行くほど紅型が多く、南に行くほど二紋型が多いという明瞭な地理的勾配が存在することを示している。このような地理的勾配は二紋型が高温において適応度が高く、逆に紅型は低温において適応度が高いことによってもたらされたと考えられている。

駒井ら(1956)の調査からすでに60年あまりが経過し、その間、気候条件は大きく変化してきた。とくに近年話題となっている温暖化の傾向は顕著であり、年平均気温で見ると国内の多くの地域で2-3℃の上昇が認められる (<http://www.data.kishou.go.jp/>)。申請者は、このような自然環境の急激な変化が、種内の遺伝子構成に及ぼす影響に興味を持ち、ナミテントウの斑紋型の地理的分布に関する調査を科学研究費（基盤 C：平成17-18年度）の援助を受けて行った。調査によって次のような結果が得られた。(1)採集地の緯度が高くなるにしたがって紅型遺伝子の頻度が増加し、逆に二紋型遺伝子の頻度が減少する傾向が認められ、遺伝子頻度には依然として地理的勾配が維持されている。(2)駒井らによって調査された54地域のうち、北海道の22地域では遺伝子頻度の年代変化に明瞭な傾向は認められない地域が多かったが、本州以南の32地域では28地域で二紋型遺伝子の頻度に増加、29地域で紅型遺伝子の頻度に減少が認められた。(3)地理的に隔離された集団とみなせる佐渡市赤泊で統計的に有意な変化が認められたことから、過去数十年間に全国規模で生じた遺伝子頻度の変化は、個体の移動によるものではなく、温暖化などを含めた環境の変化に適応した小進化である可能性が示唆された。(4)このような遺伝子頻度の変化は、とくに高緯度地域で顕著に認められ、斑紋遺伝子頻度の地理的勾配は駒井らの報告よりも緩やかになっていた。

2. 研究の目的

本研究では、このような調査の結果を踏まえて、以下の調査ならびに集団遺伝学的手法による解析を行う。

(1) 同一地域内での鞘翅斑紋遺伝子の頻度

の年次ならびに季節変動

駒井らの調査結果の集大成である駒井ら(1956)のデータは、ほとんどが単年度に得られたものである。また、申請者の調査によるデータも多くは2006年あるいは2007年に得られたものである。したがって、単年度のデータの比較から、遺伝子構成の変化が過去数十年間に働いた漸進的なものか、あるいは短期間内にも起こりえる一時的な変動によるものであるかを詳細に検討する必要がある。さらに、駒井ら(1956)の報告には、採集季節が記載されていない。したがって、推定される遺伝子構成の年代変化に季節変動が交絡する可能性も評価しておく必要がある。そこで、調査をさらに継続し、同一地域内で複数年および複数の季節に採集を行い年次間および季節間の遺伝子頻度の変動を評価する。さらにその変動の大きさに基づいて駒井ら(1956)の調査結果との比較から年代変化が検知可能であることを実証する。

(2) 鞘翅斑紋遺伝子に働いた淘汰圧の推定
観測された遺伝子頻度の年代変化から、各地域で働いた淘汰圧を推定する。

(3) 鞘翅斑紋遺伝子の地理的勾配の年代変化と鞘翅斑紋多型の適応的意義

ナミテントウの鞘翅斑紋遺伝子に見られる地理的勾配が各地域の気温に適応したものであり、さらに鞘翅斑紋遺伝子の頻度に見られる年代変化が気候の温暖化に適応した小進化であるとする推論をより強固なものとするには、斑紋型に働く自然選択の機構を明らかにする必要がある。そこで、これまでに標本を得た全地域の鞘翅斑紋遺伝子の頻度構成と月別平均気温との間で相関分析を行い、各地域の遺伝子構成が、どの季節の気温と最も強く関連しているのかを調べる。さらに、定期的に野外から得た卵あるいは若齢幼虫を実験室内で羽化させ、斑紋型比率および遺伝子頻度の季節変化を調べることで各斑紋型の適応度の経時変化を推定し、繁殖季節内での気温の変化と適応度(fitness)の関連性について明らかにする。

(4) ナミテントウの同胞種の斑紋型の地理的分布に関する調査

ナミテントウの同胞種クリサキテントウ *Harmonia yedonensis* には、ナミテントウとほぼ同様の斑紋多型が認められる。ナミテントウが北方から日本列島に侵入し南方へと分布を拡大したのに対して、クリサキテントウは南方から侵入し北方へと分布を広げたものと考えられている。

ナミテントウとは別のルートで日本列島に侵入したクリサキテントウにおける斑紋多型の地理的分布は、ナミテントウの斑紋多

型の適応的意義を理解する上で重要な情報となるものと期待される。

3. 研究の方法

(1) 同一地域内での鞘翅斑紋遺伝子の頻度の年次ならびに季節変動

これまでに得られた全データから、複数年にわたって採集を行った産地および同一年内で複数の季節に採集を行った産地を材料として選んだ。2つの集団の遺伝子頻度の差の95%および99%信頼区間を推定し、信頼区間がゼロを含んでいなければ、2つの集団の遺伝子頻度の間に有意な差があるものと判定した。

(2) 鞘翅斑紋遺伝子に働いた淘汰圧の推定

劣性のホモ接合体(紅型個体)の相対適応度を $1-s$ とし、各産地で観測された遺伝子頻度の年代変化から淘汰係数 s を推定した。

(3) 鞘翅斑紋遺伝子の地理的勾配の年代変化と鞘翅斑紋多型の適応的意義

過去および現在の気象データは、気象庁が公表している過去からの記録(<http://www.data.kishou.go.jp/>)から産地にできるだけ近い測候所の月別平均気温を利用した。過去の月別平均気温については、採集年を含む5年間の記録を平均して用いた。現在の月別平均気温については、2003年から2007年の5年間の記録を平均して用いた。過去および現在のデータ別に、各産地における月別平均気温を特性値として主成分分析を行い、抽出された主成分と斑紋割合および遺伝子頻度の相関係数を求めた。さらに、過去および現在の気温データをプールしたデータに対して主成分分析を施し、各産地の過去から現在の気温の変化を同一の主成分軸上で類別化した。さらに、どの季節の気温が、斑紋型の出現割合あるいは遺伝子頻度の構成に大きく影響を及ぼすのかを調べるために、過去および現在のデータ別に月別平均気温と斑紋型の割合および遺伝子頻度との相関係数を求めた。

春世代成虫の繁殖期(3月下旬から6月中旬)における斑紋型別の適応度の経時的変化の推定するために、これまでに得られたデータに対して集団遺伝学的解析を施した。2008年の3月下旬から6月中旬に京都市内で発見した卵塊を継続的に採集(採卵)し、研究室内で卵塊ごとに飼育して羽化した成虫の斑紋型を記録したデータを材料として用いた。京都市内のデータから京都産業大学周辺(京都産業大学構内、上賀茂神社、賀茂川河川敷御蔭橋周辺)のデータを選び、羽化した成虫を採卵日により、4月採卵、5月採卵および6月採卵集団に分けた。これら3集団を、それぞれの時期に羽化した成虫が形成する夏世

代集団からのランダム抽出標本と見なして、各集団の斑紋型遺伝子の頻度を推定した。また、前年の11月から翌年の3月までに京都産業大学構内で採集した越冬個体集団(1546個体)から推定した遺伝子頻度を春世代(親世代)集団の遺伝子頻度とし、上記の3期の夏世代(子世代)集団の遺伝子頻度と比較した。淘汰係数の経時的変化と採卵地付近の気温変化の関係を調べるために、京都産業大学に近接した京都大学農学部演習林上賀茂演習地で記録されている日平均、日最高および日最低気温を利用した。

(4) ナミテントウの同胞種における斑紋型の地理的分布に関する調査

クリサキテントウの分布地域(本州以南)において採集を行い、各産地における斑紋型の比率を調査した。ナミテントウとクリサキテントウの成虫段階での識別は困難であるため、両種が混在する地域では、両種の識別が可能な発育段階である幼虫あるいは蛹を採集し、実験室内で羽化させ斑紋型を判定した。なお、ナミテントウが分布しない沖縄では成虫の採集を行った。

4. 研究成果

(1) 地域内での鞘翅斑紋遺伝子の頻度の年次ならびに季節変動

同一時期に50個体以上の標本が複数年にわたって得られている16の産地を選び、遺伝子頻度の年次間の差を検定した結果、新潟を除く15の産地では、年次間で遺伝子頻度に有意な変動が認められたいくつかの比較を除けば、斑紋型遺伝子に有意な変動が認められない場合が大半を占めた。とくに5年間にわたって多数の個体が安定して得られている京都では、2004年5月と2008年5月の比較において斑紋型遺伝子に有意な減少、2005年11月と2007年11月の比較において紅型遺伝子に有意な増加が見られた以外は、遺伝子頻度に有意な変化は認められず、調査した5年間にわたって集団が斑紋型遺伝子について安定した遺伝子構成を維持していることがわかった。一方、新潟の集団については、2004年6~7月とそれ以外の年との比較において、二紋型に有意な増加、紅型に有意な減少が認められた。

同一年内で季節間の比較が可能であった7つの産地において、同一年内の季節変動を調べた結果、新潟を除く産地では、いくつかの比較において統計的に有意な増減が認められるが、概して同一年次内での季節変化は小さかった。

駒井(1956)の報告と比較可能な11の産地(帯広、愛別、旭川、札幌、秋田、山形、佐渡市赤泊、日光、諏訪、京都、富田林)について、各年次内でデータをプールして推定

された年次ごとの遺伝子頻度と駒井（1956）のデータから推定した遺伝子頻度を比較したところ、多くの産地において、とくに二紋型と紅型遺伝子の頻度について駒井（1956）のデータから推定した遺伝子頻度との間で有意差が認められた。また、駒井（1956）のデータから推定された遺伝子頻度と本研究で得られた各年次における遺伝子頻度の推定値との差は、年次間に見られた変動の幅を上回る傾向が見られた。

以上の結果から、新潟の集団のように遺伝子頻度に採集年次間および採集季節間の差のある場合があることには留意は必要であるが、駒井（1956）の記録と今回の調査で得られた記録との比較に基づいて年代変化を検知することは十分に可能であると考えられた。

（2）鞘翅斑紋遺伝子に働いた淘汰圧の推定

図1は、緯度と紅型遺伝子に対する淘汰係数の推定値の関係を示したものである。淘汰係数は、北海道では年2化、本州以南では年3化を仮定して推定してある。この図には、紅型遺伝子に正の年代変化（負の淘汰係数）が見られた産地も合わせて示してある。

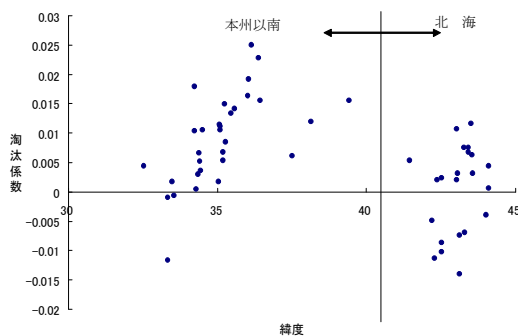


図1 紅型遺伝子に対する淘汰係数の推定値と緯度の関係

この図から、北海道の産地と本州以南の産地では紅型遺伝子に対する淘汰係数と緯度との関係が大きく異なることがわかる。遺伝子頻度の年代変化が自然選択によるものであるとすると、北海道と本州以南では斑紋型遺伝子に対する自然選択は異なる様相で働いていたことが示唆された。さらに、本州以南では緯度が低くなるにしたがって（南下するにしたがって）、淘汰係数の大きさが小さくなる傾向が見られた。このことは、斑紋型遺伝子に対する自然選択は本州以南で一律の圧力をもって働いたのではなく、高緯度地方でより強く働いたことを示している。

（3）鞘翅斑紋遺伝子の地理的勾配の年代変化と鞘翅斑紋多型の適応的意義

緯度の移行とともに漸進的に変化する環

境要因として気温に注目して、ナミテントウの斑紋型に働く自然選択の機構について統計解析に基づく検討を加えた。過去および現在に採集記録がある産地について、採集当時の月別平均気温を調べ、斑紋型の割合および遺伝子頻度との関連性を調べた。まず、気温データに対して主成分分析を実施し、2つの主成分を抽出した。第1主成分は年間を通しての寒暖を示す温暖指数、第2主成分は年間を通しての寒暖差を示す指標であると考えられた。第1-第2主成分平面状での産地の相対的位置の時間的変化についてみると、本州以南ではすべての産地において第1主成分スコアの増加（温暖化）が認められた。北海道沿岸部でも、一部の産地を除いては、第1主成分スコアに増加が認められたのに対して、北海道内陸部では、第1主成分スコアに過去から現在の間でほとんど変化が認められない産地や逆に減少が認められる産地が多くあった。産地を本州以南のものに限定した場合には、過去および現在ともに、第1主成分スコアは黒化型（二紋型、四紋型、斑型）遺伝子の頻度との間に正の相関、紅型遺伝子の頻度との間には負の相関を示した。第2主成分スコアについては、北海道および東北地方では減少する方向への変化が認められる産地が多く、年間を通じての寒暖差が小さくなるような変化があったことが示唆された。これに対して、中部-関東地方以南では逆に第2主成分スコアに増加がみられる産地が多かった。月別平均気温と斑紋割合の相関係数はその絶対値が、本種の繁殖季節である春から初夏に最も高くなる傾向が認められた(図2)。

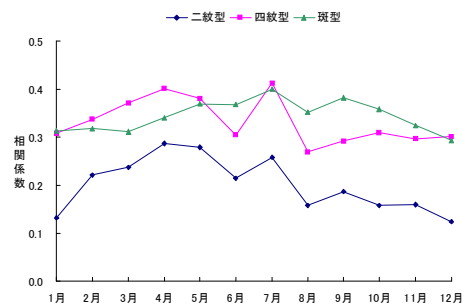


図2 現在の月別平均気温と斑紋型の割合の相関係数(本州以南の産地)

このことから、各産地での斑紋割合を決める要因としては、繁殖季節の温度が重要であると考えられた。すなわち、ナミテントウの斑紋多型が温度に対する適応とするなら、斑紋型間の適応度のちがいによって生じる自然選択は、越冬中の生存力を通して働く（生存性選択）のではなく、春から夏の繁殖力を通して働く（繁殖性選択）ものと考えられた。

表1に、春世代集団の繁殖期間中に紅型に働いた淘汰係数を、京都産業大学周辺および

京都市内のデータから推定した結果を示した。京都産業大学周辺の春世代集団では、4月における淘汰係数が最大値(0.311)を示した。この値は、繁殖期の初期においては、紅型個体は黒化型個体の約70%の繁殖活性しか持たないことを示している。その後、繁殖期が進むとともに淘汰係数は低下し、繁殖期末期(6月)には淘汰係数はほぼゼロになった。京都市内のデータから推定された淘汰係数にも同様の経時的変化が認められた。

表1 春世代集団の繁殖期間中の紅型に対する淘汰係数の推定値

京都産業大学周辺		京都市内	
採卵月	淘汰係数	採卵日	淘汰係数 ¹⁾
4月	0.311	4月前半	0.580
		4月後半	0.330
5月	0.126	5月前半	0.093
		5月後半	-0.081
6月	0.011	6月前半	-0.060

1) 春世代集団の遺伝子頻度は、

京都産業大学周辺の越冬集団における推定値を用いた。

2008年における春世代成虫の繁殖開始は3月下旬であったが、京都大学農学部演習林上賀茂試験地の記録によれば、当時の日平均気温は10℃前後であった。また、この時期には紅型個体の相対適応度は60-70%程度であったと考えられる。その後、気温が上昇するにしたがい、紅型個体の相対適応度も上昇し、日平均気温が20℃前後に達した5月下旬から6月には黒化型個体とほぼ等しい相対適応度($s=0$)あるいは黒化型個体をわずかに上回る相対適応度($s<0$)を持つに至ったと考えられる。日平均気温が25℃前後、日最高気温が30℃を超える7月上旬には、ほとんどの成虫は夏眠に入り、斑紋型にかかわらずほとんどの個体は繁殖活動を休止したものである。

筆者のこれまでの観察記録から、寒冷地域では盛夏が本種にとって重要な繁殖季節であることは疑いない。これに対して、京都市などの温暖地域では7月に入ると活動中の成虫をほとんど目撃できなくなる。このように、寒冷地域と温暖地域の間で最も著しい生活形態の違いは夏眠の有無である。

相関分析の結果から、ナミテントウにおける斑紋型間の適応度のちがいは本種の繁殖季節に最も顕著に現れることが明らかになった。寒冷地域では、低温期に当たる繁殖活動の開始期および終期においては熱吸収効率の高い二紋および四紋型が有利であるが、これらの斑紋型は繁殖期の大半を占める盛夏には加熱状態になることから逆に紅型の適応度が相対的に高くなると考えられる。夏眠しない地域あるいは夏眠期間が短い地域では、相対的に紅型の適応度が高い期間のほうが、二紋および四紋型の適応度が高い期間よりも長いものと推測される。一方、温暖地域では盛夏は加熱状態に陥りにくい紅型に

とっても気温が高すぎ、本種は斑紋型に関わらずすべての個体が夏眠に入り、繁殖活動を停止する。また、温暖地域において、この時期は幼虫の餌となるアブラムシの発生量が極端に少なく、斑紋型にかかわらず繁殖には不適である。このため、紅型が有利な期間が二紋および四紋型よりも相対的に短くなると考えられる。

以上の推論に基づくと、日本産ナミテントウ集団に認められる寒冷地域(高緯度地域)で紅型遺伝子の頻度が高く、温暖地域(低緯度地域)で二紋および四紋型遺伝子の頻度が高い地理的勾配の形成過程に対して説明ができる。駒井(1963)は、ナミテントウの朝鮮半島における斑紋比率の構成が、九州地方の構成と著しく異なることから、日本列島への本種の侵入と分布の拡大は、北海道を介しての一方のみであり、列島を南下するにしたがって、環境条件への適応として斑紋比率に地理的勾配を生じたものと考えている。筆者の推論から、本種の分布が列島を南下する際に、原産地であるシベリアでは持っていなかった夏眠という生活形態を獲得し、これに伴って斑紋型間に適応度の差が生じたことが斑紋比率に地理的勾配を生じる原因となったものと考えられる。

また、本研究では地理的勾配に年代変化を生じた自然選択は、高緯度地方でより強い圧力で働いたことを示した。温暖地方(低緯度地方)では、半世紀前にすでに夏眠の性質を獲得しており、気候の温暖化は本種の生活史に大きな変化を与えなかったと思われるのに対して、寒冷地域(高緯度地方)では気候の温暖化にともない新たに夏眠の性質を獲得したことが斑紋型間の適応度の差に大きな変化を生じたと考えれば、自然選択の圧力が高緯度地方で大きかったことに対しても合理的な説明を与えることができる。

以上の推論をより強固なものとするためには、今後、本種の斑紋型の寒冷および温暖地域における季節変動と生活史を詳細に調査するとともに、斑紋型ごとの繁殖活性に関する記録を年間を通して継時的に収集し、寒冷地域と温暖地域の間で比較する必要がある。

(4) ナミテントウの同胞種の斑紋型の地理的分布に関する調査

クリサキテントウの斑紋比率の地理的分布に関する調査結果は、図3に示すとおりである。分布の南限の沖縄では紅型の頻度が高く、ナミテントウとは逆の結果が得られた。本州、九州ではナミテントウに見られたような明瞭な地理的勾配は認められなかった。

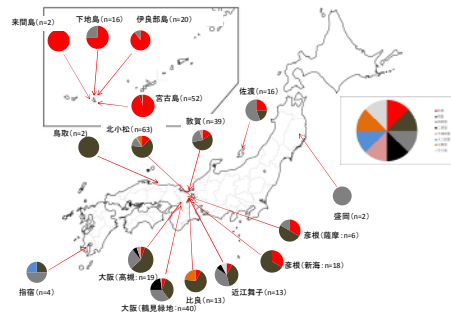


図3 クリサキテントウの斑紋型の地理的分布

クリサキテントウは、野外ではマツに発生するアブラムシのみを捕食する。このため生息地はパッチ状に分断される傾向がある。このような集団構造においては、遺伝的浮動の影響により生息地ごとに遺伝子構成が大きく異なることが予想される。クリサキテントウに見られた斑紋比率の地理的分布は、このような集団構造上の特徴を反映したものである可能性がある。今後、調査地域ならびにサンプル数をさらに増やして検討するとともに、マイクロサテライトなどの分子マーカーを用いた解析を行う必要があるものと考えられる。

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)

[学会発表] (計2件)

- ①土山 悠、高橋純一、野村哲郎、ナミテントウとクリサキテントウの集団遺伝構造解析、日本昆虫学会近畿支部 2010 年度大会、2010 年 12 月 13 日、兵庫県立人と自然の博物館
- ②土山 悠、高橋純一、野村哲郎、マイクロサテライトを用いたクリサキテントウの集団構造解析に関する研究、日本動物行動学会第 29 回大会、2010 年 11 月 20 日、沖縄県男女共同参画センター

[図書] (計1件)

- ①向井文雄編著、化学同人、生物統計学、2011 年、204

[その他]

- ①中日新聞、2011 年 4 月 24 日、「なるほどランド：テントウムシ赤より黒!？」
- ②野村哲郎、「ナミテントウの斑紋と温暖化—4 つの型の各地での比率とその年代変化—」群馬県立自然史博物館、第 35 回企画展「むし虫ウォッチング」p. 32-35 収録

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野村 哲郎 (NOMURA TETSURO)

京都産業大学・総合生命科学部・教授

研究者番号：50189437

(2) 研究分担者

祝前 博明 (IWASAKI HIROAKI)

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：00109042