

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06810

研究課題名(和文)半倍数体ハダニにおける生殖隔離の強化

研究課題名(英文)Reinforcement of reproductive isolation in haplodiploid spider mites

研究代表者

佐藤 幸恵 (Sato, Yukie)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：60414629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：これまであまり着目されてこなかった半倍数体における生殖隔離の強化を調べるために、半倍数体であるススキスゴモリハダニ種群近縁2種の接触帯の状況、接触帯での遺伝的集団構造、生殖的隔離状況の調査を行った。これら近縁2種は標高による棲み分けがみられるが、山の中腹で2種の接触帯が形成されていた。野外性比は種間交尾が起きていることを示唆し、室内交配実験でも強い交尾後接合前隔離が見られたものの雑種形成が確認された。しかし、接触帯では雑種は見られず、遺伝子浸透もごくわずかであった。そのため、交尾後接合前隔離に加えて何かしらのメカニズムにより遺伝子浸透が抑制されていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今日ある生物多様性を理解する上で種分化機構の解明は重要な研究課題の一つである。アリやハチといった人間とは異なる遺伝システムをもつ半倍数体は、最も種数の多い分類群といわれる節足動物のおよそ15%を占めるが、半倍数体を対象とした種分化研究は数少ない。半倍数体ハダニ近縁2種における接触帯の状況、接触帯での交雑状況を明らかにした本研究は、半倍数体の種分化研究の推進に大きく寄与するものである。

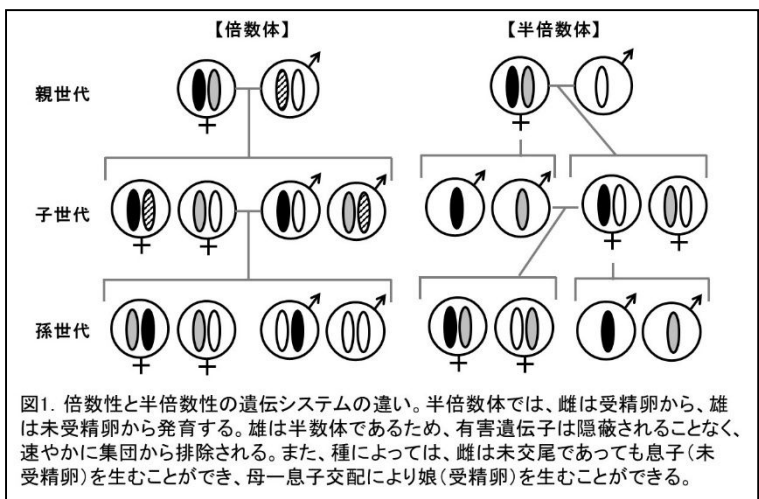
研究成果の概要(英文)：To figure out the reinforcement of reproductive isolation in haplodiploidy, which has received little attention in speciation studies so far, I investigated the contact zone, genetic population structure in the contact zone, and reproductive isolation of two closely related species of *Stigmaeopsis miscanthi* species group. In the area where both species were found, they are distributed in high- and low-lands, respectively. We investigated their distributions at the intermediate altitude and found their contact zone. Sex ratios in their contact zone indicated that interspecific mating was taking place there, and cross experiments confirmed that they hybridize, although there is a strong postmating, prezygotic barrier. However, no hybrids were collected from their contact zone, and genetic introgression was negligible. Therefore, genetic introgression between them was restricted not only by postmating, prezygotic barrier but also by some other mechanisms.

研究分野：進化生態学

キーワード：種分化 接触帯 交雑 遺伝子浸透 生殖隔離 生殖隔離の強化

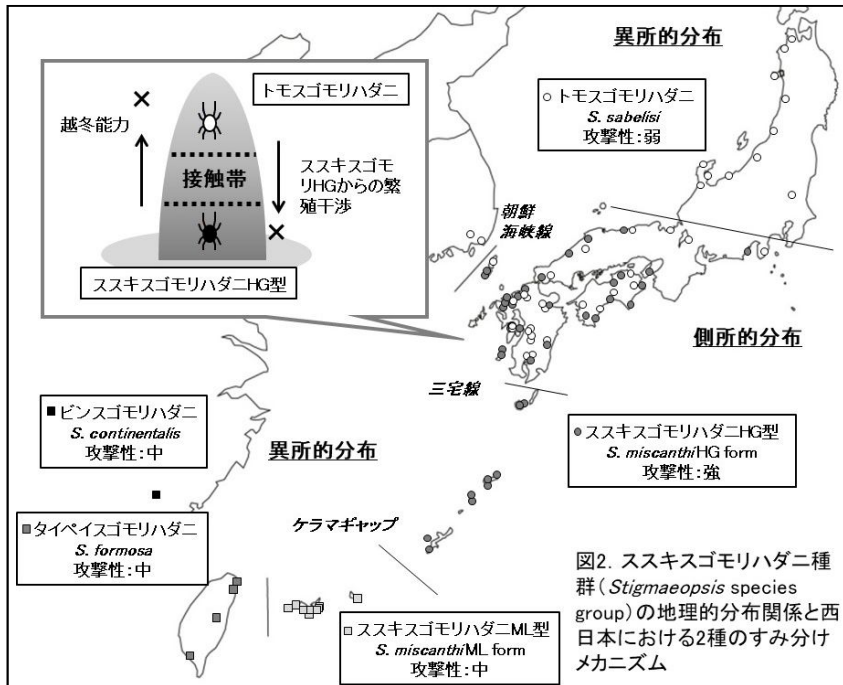
1. 研究開始当初の背景

生殖隔離の発達とは、それまで交雑可能であった生物集団の間で交雑ができなくなることを指し、種分化や生物多様性を理解するうえで、重要な機構と考えられている。生殖隔離の発達機構としては、自然選択や遺伝的浮動などにより、集団間で遺伝的変異が蓄積された結果、生殖隔離が発達するといった副産物的な見方が主流である一方で、不適な雑種形成の妨げにもつながるため、自然選択により強化されることも、古くから提唱されてきた。しかし、生殖隔離の強化については、未だ多くの謎が残されており、特に、それがどれだけ野外の種分化に貢献しているのかについては、今も議論が絶えない。その要因として、近年の研究により、生殖隔離の強化がおりうる条件は以前考えられていたよりはるかに広いことが示された一方で、実証研究では生殖隔離の強化の存在を示すことに努め、理論研究で重要とされる遺伝子流動や雑種の適応度といったパラメータにまで踏み込んだものは少なく、未だ理論と実証の間の溝が埋められていないこと、そして、その普遍性を語るには、実証研究数も分類群数も不十分であることがあげられる。特に、最も種数の多い分類群といわれる節足動物のおよそ 15% が半倍数性の遺伝システムをもつが、半倍数体を対象とした種分化研究は数少ない。半倍数体はその遺伝システム故に（図 1）、倍数体に比べて環境などの変化に対する適応が速く、近交弱勢に強く、雌は性比調節に長け、未交尾でも息子を生むことができるので、雄と交尾をしない、または受け取った精子を使わないといった選択肢をもつ。そのため、性選択、性的対立、性配分、近親交配、血縁選択や社会性において、半倍数体特有の傾向があることが理論研究により示されている（例えば、de la Filia et al. 2015）。これら特徴や傾向が、生殖隔離の強化に与える影響は大きいと考えられ、それ故に、半倍数体における実証研究は、生殖隔離の強化への理解を深める上で必要である。



2. 研究の目的

ススキスゴモリハダニ二種群は、半倍数性の遺伝システムをもち、ススキに寄生し、集団で共同営巣する体長 1mm 未満の植食性節足動物である。本種群は 5 種 2 型からなり、いずれも雄同士が巣をめぐって殺し合いをし、ハーレムをつくる (Saito et al., 2018, 2019)。この雄同士の攻撃性には変異があり、トモスゴモリハダニ（以後、トモスゴモリ）では攻撃性が弱く、ススキスゴモリハダニ HG 型（以後、ススキスゴモリ HG）では強く、ケラマギャップ以南・以西に分布する種では中間的である（図 2）。多くは異所的分布関係にあるが、西日本ではトモスゴモリとススキスゴモリ HG が側所的に分布する (Saito 1995; Saito & Sahara 1999; Sato et al. 2013, 2019; 図 2)。両種の祖先是、ケラマギャップ以南に分布する集団と推定されており、最終氷期に先に生まれたトモスゴモリが日本列島に移入して分布を広げ、その後生まれたススキスゴモリ HG が、分布を広げてトモスゴモリを山の上に追いやった結果、現在西日本でみられる標高によるすみ分けが生まれたと考えられている (Sato et



al., 2019; 図 2)。これら 2 種間の生殖隔離は不完全である一方で (Sato et al. 2000a, 2000b, 2015, 2018) 山の中腹では分布は広く重なっており、お互い交雑を避けるような形質が進化すると期待される。しかし、山の中腹における接触帯は、雲仙普賢岳 (長崎県) でのみ報告されており (Sato et al. 2008)、他の山でも同様に中腹にて接触帯が形成されているのかはわかっていない。雲仙普賢岳はトモスゴモリの分布南限に近く、ススキスゴモリ HG が優勢な地域である。接触帯が側所的分布エリアで至るところに形成されているか否かを知るためには、接触帯がススキスゴモリ HG の北限に近く、トモスゴモリが優勢な地域においても同様に接触帯が形成されているかを調べる必要がある。そこで本研究では、ススキスゴモリ HG の北限に近く、トモスゴモリが優勢な地域である天城山 (静岡県) にて、これら近縁 2 種の接触帯の状況、接触帯での遺伝的集団構造の解析、天城山個体群における生殖隔離状況の調査を行った。

3. 研究の方法

[近縁 2 種の接触帯の状況]

ハダニの採集

静岡県天城山にて、標高 20~680m にかけて、標高約 50m 毎にススキスゴモリハダニ 2 種群を採集した。この地域は、ススキスゴモリ HG の北限であり、主にトモスゴモリが生息している。ススキスゴモリ HG コロニーを確実に採集するために、天城山周辺の標高 20m の地域でもハダニ採集を行った。採集したハダニを実験室に持ち込み、実体顕微鏡下で巣、雄、雌、未成熟虫数を記録した。採集した雄はスライド標本にし、形態による種の同定に使用した。採集した雌は、遺伝子解析に使用した。採集した未成熟虫は、寄主植物であるススキ葉片を用い、一定条件下で飼育を行った。ハダニは半倍数体であり、雄の遺伝子は母親からしか受け継がないため、未成熟虫から発育した雄から雌の種を推定することができる。そこで、採集後数日以内に未成熟虫から発生した雄を雌の種同定に用いた。また、確立した飼育個体群は交配実験に使用した。

種同定

これら 2 種間の雄形態の違いを報告した先行研究 (Sato et al. 2000a, 2013, 2015, 2019) と同様の方法で、雄のスライド標本を作成し、顕微鏡写真と画像処理ソフトウェア)を用いて、第 1 脚と第 3 脚の長さ、体長、体幅を測定した。雲仙普賢岳で行われた先行研究では (Sato et al. 2008) 標高 100~400m にダニとの接触帯が確認されている。そこで、標高 100m 以下と 500m 以上の地点から採集されたハダニは、それぞれススキスゴモリ HG とトモスゴモリであると仮定し、該当地点から採集した、または発育した雄の形態計測値を使って、種を判別する関数を作成した。その判別関数を用いて、標高 100~500m の地点から採集した雄および未成熟虫から発育した雄の種同定を行った。

[接触帯での遺伝的集団構造解析]

[近縁 2 種の接触帯の状況] の研究結果に基づき、標高 100~500m (接触帯) の 11 地点、標高 100m 以下の 2 地点 (ススキスゴモリ HG)、標高 500m 以上の 2 地点 (トモスゴモリ) から採集された雌 288 匹を遺伝子解析に使用した。雌ダニ 1 匹から DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いたゲノムワイドな塩基配列多型検出法、multiplexed ISSR genotyping by sequencing (MIG-seq) により、Single Nucleotide Polymorphism (SNP) を検出した (Suyama et al. 2022)。検出した SNP をフィルタリングし、最尤系統樹作成と STRUCTURE 解析により、雑種の有無と遺伝子浸透状況を確認した。

[生殖的隔離状況]

性比解析

先述の通り、ハダニは半倍数体であり、受精卵から雌が、未受精卵から雄が発育する。本種はもともと雌に強く偏った性比を示すが (男性比: 0.10 - 0.20) (Sato & Saito 2007)、これら 2 種間で働く生殖隔離は交尾後接合前隔離が最も強いいため、種間交尾が起こったコロニーでは過剰の未受精卵が作られ、性比が比較的雄に偏る (Sato et al. 2000a, 2000b, 2008, 2015)。そこで、雄の形態を用いた種同定の結果から、ダニのコロニーを 3 つのタイプ (ススキスゴモリ HG のみ、トモスゴモリのみ、両種) に分類し、各地点の雄比をタイプ間で比較した。性比の解析には、各地点から採集した際の雄数と雌数の記録を用いた。

交配実験

これら 2 種を対象としたこれまでの交配実験では、主に九州、四国、琉球列島に分布する個体群が使用されており、天城山やその周辺の個体群は使用されてこなかった。天城山個体群においても先行研究同様に生殖隔離が不完全であるのか確認する必要がある。そこで、先行研究と同様の方法により (Sato et al. 2000a, 2018) 天城山から採集されたススキスゴモリ HG とトモスゴモリ間で交配実験を行った。

4. 研究成果

標高 20 ~ 680m にかけて 20 地点からススキスゴモリハダニ二種群を採集した。正答率 100% の判別関数を使った形態による種同定の結果、天城山においても標高 100 ~ 400m という広範囲で 2 種の分布は重なっていた。また、8 地点において両種の分布が確認された。ススキスゴモリ HG が優勢な地域で行われた先行研究に続いて、トモスゴモリが優勢な地域で行われた本研究においても広範囲で接触帯がみられたことから、側所的分布エリアでは至るところで接触帯が形成されていると示唆された。また、両種が確認された地点では、片方の種のみ確認された地点に比べて雄比(半倍数体における交尾後接合前隔離の指標)が有意に高かった。そのため、接触帯では種間交尾がおこなわれていることが示唆された。室内での交配実験において、強い交尾後接合前隔離が見られたものの、2 種間の生殖隔離は不完全であり、わずかではあるが雑種が形成された。そして、野外調査では第 3 脚の節が少ない奇形の雄個体が確認されており、接触帯では交雑が起こっていると期待された。しかし、遺伝的集団構造解析では 161 もの SNP が検出され、そのうち 50% 以上の SNP が検出された 237 個体を対象に、最尤系統樹作成と STRUCTURE 解析を行ったものの、雑種と思われる個体は全く確認されなかった。STRUCTURE 解析の結果、トモスゴモリハダニでありながらもごくわずかにススキスゴモリ HG の要素をもっている個体はみられたものの、237 個体中 1 個体と、ごくわずかであった。そのため、接触帯では、交尾後接合前隔離に加えて何らかのメカニズムにより遺伝子浸透は著しく抑制されていると考えられた。

< 引用文献 >

de la Filia et al. (2015) *Current Opinion in Insect Science* 9: 36-43; Saito (1995) *Evolution* 49: 413-417; Saito & Sahara (1999) *Behavioral Ecology and Sociobiology* 46: 25-29; Saito et al. (2018) *Acarologia* 58: 414-429; Saito et al. (2019) *Systematic and Applied Acarology* 24: 675-682; Sato & Saito (2007) *Ecological Entomology* 32: 597-602; Sato et al. (2000a) *Applied Entomology and Zoology* 35: 605-610; Sato et al. (2000b) *Applied Entomology and Zoology* 35: 611-618; Sato et al. (2008) *Experimental and Applied Acarology* 44: 265-276; Sato et al. (2013) *Ecology and Evolution* 3: 2661-2669; Sato et al. (2015) *Experimental and Applied Acarology* 65: 277-291; Sato et al. (2018) *Journal of Evolutionary Biology* 31: 866-881; Sato et al. (2019) *Ecology and Evolution* 9: 1590-1602; Suyama et al. (2022) *Ecological Research* 37: 171-181

< 謝辞 >

本研究成果発表の一部において、筑波大学山岳科学センター機能強化プロジェクト研究支援をいただいた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yukie Sato, Martijn Egas, Peter Schausberger	4. 巻 22
2. 論文標題 Spider mite mothers control their sneaker sons' reproductive behavior depending on operational sex ratio	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Zoosymposia	6. 最初と最後の頁 124 ~ 124
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 該当する
1. 著者名 Kobayashi Hisaho, Sato Yukie, Egas Martijn	4. 巻 86
2. 論文標題 Males mate with females even after sperm depletion in the two-spotted spider mite	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Experimental and Applied Acarology	6. 最初と最後の頁 465 ~ 477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10493-022-00706-x	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 該当する
1. 著者名 Sato Yukie, Fujiwara Satoshi, Egas Martijn, Matsuda Tomoko, Gotoh Tetsuo	4. 巻 21
2. 論文標題 Patterns of reproductive isolation in a haplodiploid mite, <i>Amphitetranynchus viennensis</i> : prezygotic isolation, hybrid inviability and hybrid sterility	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12862-021-01896-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Schausberger Peter, Yano Shuichi, Sato Yukie	4. 巻 9
2. 論文標題 Cooperative Behaviors in Group-Living Spider Mites	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 745036
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fevo.2021.745036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayashi Hisaho, Sato Yukie, Egas Martijn	4. 巻 86
2. 論文標題 Males mate with females even after sperm depletion in the two-spotted spider mite	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Experimental and Applied Acarology	6. 最初と最後の頁 465 ~ 477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10493-022-00706-x	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 該当する

1. 著者名 Sato Yukie, Alba Juan M.	4. 巻 81
2. 論文標題 Reproductive interference and sensitivity to female pheromones in males and females of two herbivorous mite species	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental and Applied Acarology	6. 最初と最後の頁 59 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10493-020-00492-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Yukie Sato, Martijn Egas, Peter Schausberger
2. 発表標題 Spider mite mothers control their sneaker sons' reproductive behavior depending on operational sex ratio
3. 学会等名 XVI International Congress of Acarology 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Aina Yokoi, Sayuka Nagase, Taito Sano, Yukie Sato
2. 発表標題 Spider mite males can replenish sperm for a short period even after depletion
3. 学会等名 第70回 日本生態学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐野泰斗, Tanvi Ukshal GURJAR, 佐藤 幸恵
2. 発表標題 ハダニにおける雄の代替繁殖戦略と捕食リスク～スニーカーは捕食されやすいのか？
3. 学会等名 第70回 日本生態学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 谷田部龍, 佐野泰斗, 佐藤 幸恵
2. 発表標題 社会性ハダニにおける致死的雄間闘争の激しさと対捕食者反撃能力との関係
3. 学会等名 第70回 日本生態学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 湖中翔大・松本尚樹・廣田峻・陶山佳久・津村義彦・佐藤幸恵
2. 発表標題 山がもたらす接触帯：ハダニ近縁2種の二次的接触帯と交雑状況
3. 学会等名 第7回山岳科学学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 湖中翔大・松本尚樹・廣田峻・陶山佳久・津村義彦・佐藤幸恵
2. 発表標題 二次的接触帯で近縁ハダニ2種は交雑しているのか？
3. 学会等名 第69回日本生態学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kobayashi Hisaho, Sato Yukie
2. 発表標題 Spider mite males mate with females even after sperm depletion
3. 学会等名 Ecology Across Borders 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤 幸恵
2. 発表標題 ナミハダニの兄弟間で繁殖戦略は異なるのか？
3. 学会等名 日本生態学会第69回全国大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 湖中翔大; 松本尚樹; 佐藤 幸恵
2. 発表標題 ススキゴモリハダニ種群の接触帯と雑種形成について
3. 学会等名 第68回日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 湖中翔大; 松本尚樹; 佐藤 幸恵
2. 発表標題 ススキゴモリハダニの交雑帯
3. 学会等名 第39回日本動物行動学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 幸恵; 藤原聡; Egas Martijn; 松田朋子; 後藤哲雄
2. 発表標題 オウトウハダニにおける生殖隔離と遺伝距離
3. 学会等名 第68回日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林永歩; 佐藤 幸恵
2. 発表標題 ナミハダニ雄は何匹の雌と交尾できるのか?
3. 学会等名 第68回日本生態学会
4. 発表年 2021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

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		
オランダ	University of Amsterdam		