#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 6 年 6 月 1 0 日現在

機関番号: 11301

研究種目: 挑戦的研究(萌芽)

研究期間: 2020~2023

課題番号: 20K21855

研究課題名(和文)地球温暖化の生物間相互作用への影響-環境DNA解析で植物利用者の変化を解明する

研究課題名(英文)Effects of global warming on species interactions examined using environmental DNA analyses

研究代表者

牧 雅之(MAKI, MASAYUKI)

東北大学・学術資源研究公開センター・教授

研究者番号:60263985

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文):近年憂慮されている地球温暖化は,生物間の相互作用にも強い影響を与えている可能性がある.そこで,植物の利用者と植物の相互作用が,環境変動によりどのような影響を受けているかを解明するための第一歩として,メタバーコーディング技術を利用して,未知の植物利用者を明らかにすることを目指した.また,過去の気候変動が植物とその利用者の相互作用にどのような影響を与えたかを明らかにするために,イヌビワとこの種と共生関係にある複数の昆虫種の比較系統地理学的解析を行った.イヌビワと絶対共生関係にあるイヌビワコバチの分布変遷は,最終氷期前後のイヌビワの分布変遷と対応していることが推測された.

研究成果の学術的意義や社会的意義 近年急速に進行している地球温暖化は、さまざまな様相で地球環境を変化させている.当然のことながら,生物 多様性への影響も大きいと考えられる.特定の種の分布は,温暖化に伴い,極方向へ移動していくと考えられる が,その際の移動スピードは生物種によってかなり異なる可能性がある.そうすると,これまで長期間にわたっ て維持されてきた生物間相互作用にミスマッチが生じる可能性がある.その結果として,生物多様性にますます 重大な影響が生じるかもしれない.本研究では,そのような観点から研究を行った.

研究成果の概要(英文): Global warming could significantly impact interactions between plant species and their users. To begin understanding how environmental changes influence these interactions, we employed metabarcoding techniques to identify unknown plant users. Additionally, we carried out comparative phylogeographic analyses of several insect species involved in symbiotic relationships with figs to ascertain the effects of past climate changes on these interactions. Our findings suggest that the distribution changes of the fig wasp, which is in an absolute symbiotic relationship with figs, mirrored the distribution changes of figs during the last glacial period and in post glacial era.

研究分野: 多樣性植物学

キーワード: 生物間相互作用

#### 1.研究開始当初の背景

近年憂慮されている地球温暖化は,野生生物の生存についても大きな影響を与えると考えられている.これまでの地球の歴史では,気候変動は周期的に起きており,生物は気温の変化に適応することと分布を拡大・縮小することで,生きながらえてきた.しかし近年の急速な温暖化は,生物による対応のスピードを上回っており,生物多様性の減少につながることが指摘されている.

特に本来の分布が温帯域にある生物では、その分布の南端域(南半球では北端域、ここでは両方あわせて「後退域」と呼ぶ)にある集団は大きな影響を受けると考えられる.植物は動物と比較して移動能力に乏しいため、気温の上昇に即応して分布を移動させることが困難である.一方,植物と共生関係にある多くの動物は、気温の上昇に対して、分布を迅速に北上させることが可能である.したがって、地球温暖化は本来、共生関係にある植物と動物の分布にミスマッチを生じさせることによって、生物間相互作用を破綻させ、植物集団の存続を危うくする可能性がある.特にその傾向は、後退域において顕著になると予想される.今後、より進行すると考えられる地球温暖化が植物とその利用者の関係に及ぼす影響を明らかにするために、さまざまな観点からの研究が必要である.

### 2.研究の目的

本研究では,気候変動の中において,温帯生植物の分布変遷と植物の利用者の分布変遷に対応が見られるかを明らかにすることを目標に,以下の2点について,解析を行った.

- (1) 植物の利用者は,多くの場合,さまざまな動物種が含まれているが,それらを網羅的に明らかにすることは容易ではない.比較的観察が容易である動物種以外にも,実態がよく分かっていない利用者が存在する可能性があり,それらと植物との相互作用が見過ごされている可能性がある.そこで,メタバーコーディングの技術を援用することによって,植物の利用者を網羅的に探索する試みを行う.
- (2) 気候の変動は過去にも周期的に起きていて,生物間相互作用はその影響を受けている可能性が高い.特に最終氷期の分布変遷については,DNA 塩基配列の集団間変異を明らかにすることによって解析するという分子系統地理学的研究が多くの生物種で行われている.この研究手法を,植物とその利用者に用いることによって,両者の分布変遷を比較することが可能となる.植物とその利用者の地理的遺伝変異間に,有意な相関が見られるかどうかを気候変動の観点から検証する.

#### 3.研究の方法

(1) メタバーコーディングを利用した植物利用者の網羅的探索

研究対象としては,イヌビワ(クワ科)を用いた.イヌビワが材料として優れている点は,花嚢(果嚢)を形成し,繁殖器官が閉鎖状態にあるために,通常の開放状態にある植物と比べて,本当の利用者ではない,偶発的な訪花者は存在しない点である.イヌビワの花嚢(果嚢)利用者をメタバーコーディングによって探索するために,花嚢(果嚢)そのもの全体をすりつぶすことによって DNA を抽出し,節足動物のミトコンドリア DNA を特異的に増幅するプライマーを用いて,PCR による DNA 増幅を行って,配列をオートシーケンサーで解析した.得られた配列について,データベースに登録されている配列を参照して,動物種の同定を行った.

(2) イヌビワとその利用者に関する比較系統地理学的解析

本解析にあたっては,イヌビワとその利用者のイヌビワシギゾウムシ(ゾウムシ科)およびイヌビワコバチ(イチジクコバチ科)を対象に研究を行った.イヌビワシギゾウムシは,イヌビワの果嚢に産卵し,幼虫は果嚢を食して,成長する.イヌビワの特異的寄生者である.一方,イヌビワコバチは絶対送粉共生者であり,イヌビワはイヌビワコバチが存在しないと繁殖することができない.その点で,イヌビワシギゾウムシとイヌビワの関係よりも,イヌビワコバチとイヌビワの関係の方が密接であると考えられる.

イヌビワの地理的遺伝変異の検出には核マクロサテライト DNA 変異を用い, イヌビワシギゾウムシおよびイヌビワコバチについては, ミトコンドリア DNA の COI 領域の塩基配列変異を決定すること寄って,地理的遺伝変異を検出した.両者の集団間系統が一致するかどうかは,プロクラステス分析を行うことによって検証した.

### 4. 研究成果

#### (1) メタバーコーディングを利用した植物利用者の網羅的探索

節足動物のミトコンドリア DNA を特異的に増幅する複数のプライマーを用いて, PCR による DNA 増幅を試みた.そのうち, 増幅が確認できたプライマーによる増幅断片について, 塩基配列を決定したところ, いくつかの昆虫種の配列が検出された.その一つは, DNA データベースに登録されているイチジクコバチ科の配列と高い相同性を示した.したがって, 増幅された DNA 断片は, イヌビワコバチの配列であると考えられる.イヌビワとイヌビワコバチの密接な関係を考えれば, 当然の結果であるといえる.

それ以外に高い頻度で検出されたのは,オウトウショウジョウバエと 100%の相同性を持つ配列である.オウトウショウジョウバエは,成熟しはじめの果実を利用することが知られており,イヌビワにおいても,熟しはじめの果嚢を利用している可能性高い.短時間の観察では,ショウジョウバエが訪れていることは確認できなかったが,この手法によって,オウトウショウジョウバエがイヌビワの果嚢を利用していることが確認できた.

さらに,コクロヒメテントウと高い相同性を示す配列も得られた.コクロヒメテントウは,アプラムシを捕食しており,直接,イヌビワを利用しているわけではない.今回,イヌビワの果嚢からは検出できなかったが,イヌビワにアプラムシが寄生していて,それを捕食するためにイヌビワを訪れているものと考えられる.

この手法により,短時間の観察では見出すことのできない植物利用者を明らかにすることができることが示唆された.しかしながら,特定の配列が数的に圧倒的に多く検出されることとなった.これは,イヌビワの果嚢を形成するという特性のために,利用者が限られるのか,あるいは実験技術的な問題で,利用者のDNA 配列を網羅的に検出できていないのか,不明である.さらに,本解析では主として節足動物を検出するプライマーを利用したが,イヌビワ属の他の種ではセンチュウが共生することなども知られており,利用者の網羅的検出のためには,さらなる実験的技術の工夫が必要であると考えられる.

#### (2) イヌビワとその利用者に関する比較系統地理学的解析

マイクロサテライト DNA の対立遺伝子頻度に基づく集団遺伝学的解析の結果,イヌビワは,近畿地方周辺を境界に東西に分かれる集団遺伝構造を示した.イヌビワシギゾウムシのミトコンドリア DNA 変異に基づく集団遺伝構造は,イヌビワよりも複雑であったが,イヌビワ同様に近畿以東の集団はまとまりが見られた.イヌビワシギゾウムシついて,ミスマッチ解析を行ったところ,急速な分布拡大が起きていた可能性が示唆された.また,プロクラステス解析を行ったところ,2種の集団の系統関係は大まかに一致し,イヌビワシギゾウムシの分布変遷にイヌビワの分布が大きく影響していたと考えられた.

イヌビワコバチにおいては,ミトコンドリア DNA の塩基配列変異に基づく集団遺伝学的解析の結果,イヌビワシギゾウムシよりも東西での遺伝的分化が明瞭であって,イヌビワの集団遺伝構造とイヌビワコバチの集団遺伝構造はよく一致した.プロクラステス解析の結果も,イヌビワの集団系統とイヌビワコバチの集団系統はよく一致し,イヌビワの分布変遷とイヌビワコバチの分布変遷は同調的であったことが示唆された.

イヌビワとその利用者である 2 つの昆虫種,イヌビワシギゾウムシとイヌビワコバチの集団構造が大まかに対応していることは,植物とその利用者が気候変動の中で協調して分布を拡大・縮小させていることを示唆している.現在,これらの種の遺伝的構造が東西で分断されているのは,現在よりも日本列島が寒冷環境にあった最終氷期に,イヌビワが東西に分断されて残存し,その際に利用者も東西に分断されて残った可能性がある.その後の気候温暖化でイヌビワは分布を拡大することとなり,それに対応して,イヌビワの利用者も分布拡大をしたものと考えられる.

### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件(うち査読付論文 3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 Uemura Ryudo、Asakawa Akira、Fujii Shinji、Matsuo Ayumi、Suyama Yoshihisa、Maki Masayuki	4.巻 2022
2 . 論文標題 Can Rumex madaio (Polygonaceae) be threatened by natural hybridization with an invasive species	5.発行年 2022年
in Japan 3.雑誌名 Nordic Journal of Botany	6.最初と最後の頁 e03543
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1111/njb.03543	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 Kimura Takuma、Yamada Takayuki、Sakaguchi Shota、Ito Motomi、Maki Masayuki	4.巻   49 
2.論文標題 Multiple colonizations and genetic differentiation in goldenrod populations on recently formed nearshore islands	5 . 発行年 2022年
3.雑誌名 Journal of Biogeography	6.最初と最後の頁 836~852
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jbi.14342	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 Hoson Taishi、Ito Takuro、Maki Masayuki	<b>4</b> .巻
2.論文標題 The complete chloroplast genome sequence of Anaphalis margaritacea var. yedoensis (Asteraceae) and phylogenetic relationships within Gnaphalieae	5.発行年 2022年
3.雑誌名 Mitochondrial DNA Part B	6.最初と最後の頁 563~565
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	査読の有無
10.1080/23802359.2022.2048213	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	-
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  「学会発表〕 計2件(うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)	-
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	-

## 2 . 発表標題

イヌビワとその単食性昆虫イヌビワシギゾウムシの比較系統地理学的解析

# 3.学会等名

日本植物分類学会第21回大会

# 4.発表年

2021年

	1 . 発表者名 池田有希菜・伊東拓朗・藤井伸二・牧雅之
	2 . 発表標題
	イヌビワ・イヌビワコバチ・イヌビワオナガコバチ共生系における比較系統地理学的解析
	3.学会等名
	日本植物分類学会第23回大会
-	4.発表年
	2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6.研究組織

. 0	. 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
	藤井 伸二	人間環境大学・人間環境学部・准教授	
研究分担者			
	(40228945)	(33936)	
	森長 真一	日本大学・生物資源科学部・助教	
研究分担者			
	(80568262)	(32665)	

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
---------	---------