

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26840135

研究課題名(和文) フィールドにおける群集と進化のフィードバックループの解明

研究課題名(英文) Eco-evolutionary feedback loop in the field: a reciprocal interplay between foraging evolution and ecological community

研究代表者

内海 俊介 (UTSUMI, Shunsuke)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号：10642019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：生物の急速な適応進化と多種からなる群集の種組成が、互いに与え合う影響を野外環境で検証した。ヤナギ成木を囲うメソコズムを構築し、樹冠の昆虫群集とその優占種であるヤナギルリハムシ(ハムシ)を対象に野外操作実験を行った。このハムシの行動には遺伝変異があり(新葉好みのスペシャリスト、葉齢を選好しないジェネラリスト)、メソコズムには、スペシャリストのみ、ジェネラリストのみ、両タイプミックスの3パターンでハムシを導入した。結果、この処理によって昆虫群集の種組成が分岐して形成されていった。さらに、昆虫群集の分岐の仕方によって、ハムシのこの行動が急速に異なる方向へ適応進化をすることが分かった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to examine how complex ecological community and rapid evolution of community members influence each other in the field. I constructed large mesocosms covering mature willow trees, and performed manipulative experiments with insect communities and one of the dominant herbivorous insects, the willow leaf beetle, *Plagiodera versicolora*. In the leaf beetle, a foraging trait has genetic variation (i.e., specialist which exclusively feeds on new leaves and generalist which show non-preference for leaf-age types). I inoculated leaf beetles populations into the mesocosms by the following three ways: specialist only, generalists only, and both types). As a consequence, community structure of diverse insect species differentially developed on a tree crown, according to the beetle treatment. Furthermore, community divergence could feed back to rapid evolution of the foraging trait of the leaf beetle.

研究分野：群集生態学

キーワード：生態 - 進化フィードバック 昆虫群集 昆虫 - 植物相互作用 迅速な進化 ヤナギルリハムシ

1. 研究開始当初の背景

生物群集の構造は、種間相互作用を規定して生物の進化に影響を及ぼす。一方、生物の進化もまた種間相互作用の強さや方向を変更し、生物群集の構造に影響を与える。従来は、生物群集の生態学的動態（種組成や個体数の変化）と構成種の進化的動態（遺伝子頻度の変化）は個別に取り組みられてきたが、両者を結ぶ研究アプローチが必要であると主張する研究者が近年増えている。なぜなら、同種集団内に遺伝的変異が十分存在する場合には、種間相互作用の変化によって自然選択の強さや方向が変更される時に迅速な進化が生じ、生物群集の生態学的な動態と進化的な動態とが短時間（数世代～数百世代）の同じ時間スケールで互いに影響しあうフィードバックループが機能して両者の動態を決定づけると予測されるからである。しかし、実際には生態学的な動態と迅速な進化動態のフィードバックループについての証拠はまだ限られている。特に野外環境における普遍性の検討には全く手がつけられていない。生物群集を特徴づける生物多様性の成立・維持機構を解明するためには、生物群集と迅速な進化のフィードバックループを野外で検証する研究アプローチを確立することが急務である。

関連する先行研究のアプローチには、以下の3つの問題点がある：1. ごく少数種からなる群集、2. 恣意的な遺伝子型の選抜、3. 無性生殖で増殖する生物群。1 のため、多数種から形成される一般的な自然生態系において群集と進化のフィードバックが未解明であり、種数や種組成といった群集の特性との関連性にも焦点が当てられていない。また、2 では、地理的・環境的に大きく隔てられた場所から採取された遺伝子型が実験に用いられることが多く、野外での迅速な進化動態に強く影響

を与える“集団内に存在する遺伝的変異（standing genetic variation）”の大きさが考慮されていない。さらに、3 のように無性生殖する生物を用いた実験では、クローン頻度の操作によって進化応答の有無を操作できるメリットがあるものの、各クローンの個体群動態を観測しているのに過ぎず、有性生殖を経て集団の遺伝子頻度が変化する過程を捉えることができない。

2. 研究の目的

そこで本研究は、以下のアプローチによって、上記の問題点を克服することを考えた。

(1) 野外での知見が蓄積している群集：ヤナギ上の節足動物群集の種組成に依存して、優占種（ヤナギリリハムシ、以下ハムシ）の適応形質（葉齢に対する摂食選好行動）の進化の方向が変わることが野外研究と操作実験によって既に明らかになっている（スペシャリストタイプ：新葉のみ好む、ジェネラリストタイプ：葉齢を選り好みしない）。また、多化性・早い世代回転・低い移動分散率という生活史特性である、地理的に近い集団間においても遺伝分化が進んでいる、などが分かっている。このシステムならば、野外で群集が引き起こす選択圧に対して1～2年で迅速な適応進化が観測できると予測される。

(2) 大規模野外操作実験：北海道大学雨龍研究林において樹木をまるごと囲う野外実験系を確立することによって、群集動態とハムシの進化動態を追跡するのにふさわしい時間スケールでの実証が野外で可能になる。

(3) 次世代シーケンサーを用いた手法：この技術を取り入れることによって、非モデル生物でゲノムワイドな塩基多型情報を低コストで取得できる。これによって、これまで非モデル生物では不可能だった高精度の集団遺

伝構造の解析や、時系列サンプルの進化動態を SNP マーカーで解析できる可能性がある。

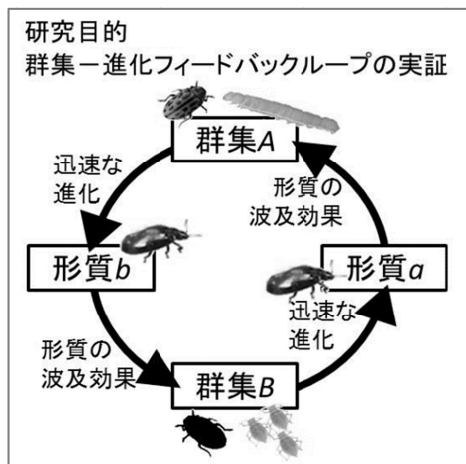


図 1 昆虫群集における群集と進化のフィードバックループの模式図。

これらのアプローチによって、野外環境における迅速な進化動態と群集の生態学的な動態のフィードバックループを実証することが本研究の目的である(図1)。具体的には以下の問いに答える。

一つの連続的な森林内にどのようなハムシの遺伝変異と集団構造があるか？ハムシの摂食選好性に関連してどのような形質に遺伝相関があるか？その遺伝相関は群集進化動態にどのような影響を与えるか？[研究1]

ハムシの迅速な進化が起きる場合と起きない場合で、周りの群集の構造とその動態にどのような影響が生じるか？群集構造に影響が生じた場合、ハムシ集団の遺伝子頻度にどのようにフィードバックするか？このフィードバックループは群集と進化動態に重要な意義を持つか？[研究2]

3. 研究の方法

(1) 研究1. 集団構造と RAD シーケンシング
2014 年の 6~7 月に北大雨龍研究林の内外にある 4 地点からハムシの成虫を採集し、それ

ぞれの全きょうだい full-sib 家系を作成した。家系は合計 43 個作成し、144 個体について表現形質の測定を行った。測定した表現形質は、摂食選好行動、天敵回避行動、体サイズ、最大顎長、後肢長、後翅長である。その後、解剖して雌雄の判定を行った。

また、すぐにカラムによるゲノム DNA 抽出を行った。さらに double-digested RAD シーケンスを行った。制限酵素には *Bgl*II と *Eco*RI-HF を用いた。サンプルのシーケンスには HiSeq2000 を使用し、51bp の RAD タグデータセットを得た。ソフトウェア Stacks と PLINK によってデータのクリーニングとスクリーニングを行った。

(2) 研究 2-1. 大規模野外操作実験

2014 年 6 月に北大雨龍研究林に自生するオノエヤナギ成木を利用したメソコズムを構築した。メソコズムは、単管で枠組みを作った。合計 8 基設置し、それぞれの大きさは約 6×6×6m である。6 月にすでに自然に定着している昆虫群集(ただし、ハムシは不在)の上からメソコズムに 1mm メッシュの防虫ネットをかけた(図2)。そして、その中にハムシの集団を導入した。導入の際には、摂食選好行動の遺伝変異を操作したハムシの集団を以下の 3 タイプ用意した：1. スペシャリストタイプのみ(スペシャリスト処理)、2. ジェネラリストタイプのみ(ジェネラリスト処理)、3. 両タイプを混合(ミックス処理、遺伝的変異が大きく進化が起りやすいと想定)。各メソコズムにこの 3 タイプのいずれかに割り当ててハムシの集団を導入した。メソコズム内における植物の葉形質、樹冠部の昆虫の種数と個体数、ハムシの形質を追跡し、その時間動態を調べた。



図 2 ヤナギ成木を囲うメソコズム

(3) 研究 2-2. 進化へのフィードバック

進化動態を追跡するためには表現形質だけを調べるのではなく遺伝子頻度の時間変化を調べなければならない。しかし、注目する形質について既知の分子情報はなく、適当なマーカーは完全に未知である。そこで、研究 1 で得た形質のデータセットと RAD データセットを用いてゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行うことによって、形質に深く関連する一塩基多型 (SNP) のマーカーを検討した。さらに、適当と考えられる SNP マーカーについては TAIL-PCR 法によって未知の周辺配列を特定し、そのマーカーによるジェノタイピングのためのプライマーとプローブを設計した。

メソコズムから定期的にハムシのサンプリングを行い、上記のプライマーとプローブを用いて、リアルタイム PCR を行いジェノタイピングを行った。それによって摂食選好行動に関連すると推定される遺伝子の頻度について時間変化を調べた。これを 3 つのタイプのハムシ集団の処理間で比較することにより、野外集団に存在する遺伝変異 standing genetic variation に即しつつ、迅速な進化の実験的な評価が可能である。

4 . 研究成果

(1) 集団構造と RAD シーケンシング

RAD シーケンスによって得られた 736 個の SNP を用いて集団構造の解析を行った。その結果、非常に小さな空間スケールのサブ集団間で有意な遺伝的分化が検出された ($F_{ST} = 0.036$, $P < 0.001$)。主座標分析によってもその傾向が顕著に示された (図 3)。例えば、図 3 の Pop3 と Pop4 は直線距離で 3km しか離れていないにもかかわらず遺伝変異の構造は著しく異なっていることが分かった。この 2 集団は、樹林帯を挟んで隣接する 2 つの河川に沿ったヤナギ林に生息するハムシ集団である。

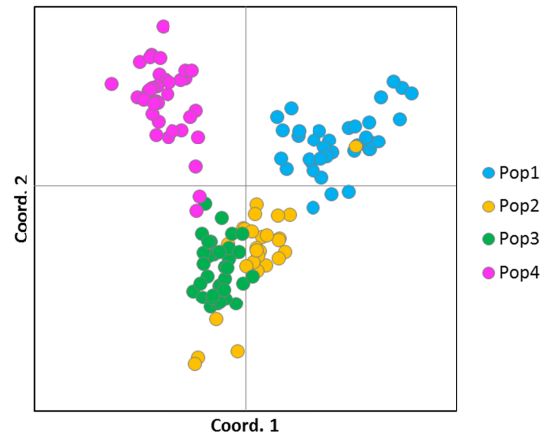


図 3 SNP マーカーによるハムシ集団の主座標分析の結果

これらの集団間で形質も異なっていた。体サイズは集団間で異なっていなかったが、摂食選好行動、天敵回避行動、顎最大長、後肢長、後翅長が有意に異なっていた。さらに、行動形質間、形態形質間ではそれぞれ有意な正の遺伝相関が検出された。したがって、2 つの行動形質と 3 つの形態形質はその進化において遺伝基盤を通して影響を与え合うことが示唆された。その一方で、行動と形態の間では遺伝相関がどの組み合わせでもみられなかった。

(2) ハムシ遺伝構造が群集動態に及ぼす影響

メソコズム実験の結果、導入したハムシ集団についての処理によって、樹冠全体の昆虫群集の構造の時間変化のパターンが有意に変化することが分かった(PERMANOVA, 処理×時間の交互作用, $P < 0.001$)。それは時間を追うごとに処理間での群集構造の違いが増大していき、群集全体の動態がハムシの摂食選好行動における遺伝変異(スペシャリスト処理、ジェネラリスト処理、ミックス処理)によって変わってしまうことが明らかになった。また、ミックス処理の群集はちょうど他の処理の中間を動いていた(図4)さらにこのとき、スペシャリスト処理で群集の種数がもっとも少なくなり、ジェネラリスト処理で種数がもっとも高くなった。

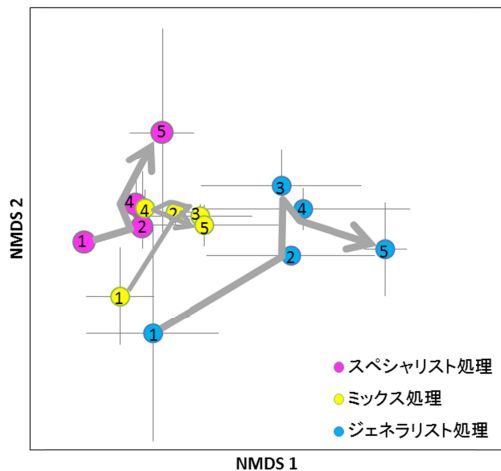


図4 昆虫群集動態の非多次元尺度法による図示。各点は処理ごとの座標平均で点の距離が離れるほど群集組成の違いを意味する。番号と矢印は時間変化を示す。

(3) ハムシの進化へのフィードバック

GWASによって、ハムシの摂食選好行動と関連することが示唆されるマーカーが検出された(図5)。もっとも関連度の高かった一つのマーカーについて、ジェノタイプングのためのプライマーとプローブを開発した。

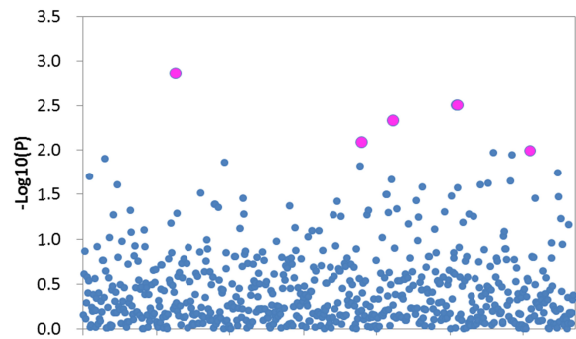


図5 摂食選好行動とSNPについてのQCチェック後のGWASの結果。各SNPが横並びで縦軸が形質との関連についてのP値。ピンクはlocal FDR補正後に $P < 0.2$ のSNPで形質との関連が示唆される。

このマーカーによってメソコズム内のハムシの遺伝子頻度の時間変化を追跡した(図6)。その結果、処理ごとに時間変化パターンが有意に異なることが分かった。スペシャリスト処理では無節操な方向に進化、ジェネラリスト処理では進化無し、ミックス処理ではスペシャリストの方向に進化した。

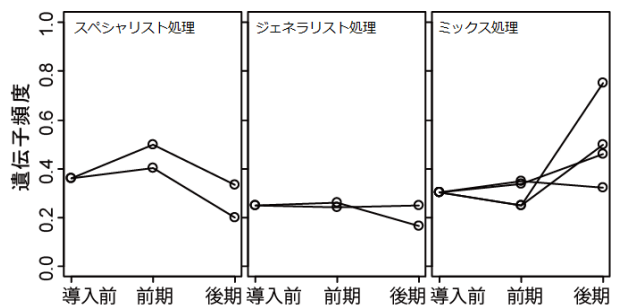


図6 ハムシの遺伝子頻度の時間変化

この結果は、表現形質とも対応していた。よって、はじめにハムシ集団の遺伝構造によって昆虫群集の組成が分岐的に変化し、次にそれがハムシの形質の進化にフィードバックしたことで、群集の分岐のパターンに応じて進化の方向が変化したことを示唆する。また、ジェネラリスト処理ではこの遺伝子の集団内変

異量が小さく、進化をすることができなかつたと考えられる。以上より、形質の進化と昆虫群集の生態的特徴の間に強い相互作用が短い時間スケールで生じており、それが野外における多様な生物種から構成させる群集の動態を特徴づけていることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

内海俊介 「Feeding evolution of a herbivore influences an arthropod community through plants: implications for plant-mediated eco-evolutionary feedback loop」査読有、Journal of Ecology 誌、103 巻、2015 年、829-839 頁、DOI: 10.1111/1365-2745.12419

[学会発表] (計 8 件)

小野寺裕乃・内海俊介 他「How insects act adaptively in a tree canopy?」日本生態学会、2016 年 3 月 24 日、仙台国際センター(宮城県仙台市)

内海俊介 「群集から進化へのフィードバックを明示する」公募研究集会「進化と生態の階層間相互作用ダイナミクス:生態学のリストラ 2」、2015 年 12 月 20 日、京都大学(滋賀県大津市)

小野寺裕乃・内海俊介 他「Genome-wide SNP analysis reveals local evolution of feeding preference in the leaf beetle」個体群生態学会、2015 年 10 月 11 日、滋賀県立大学(滋賀県彦根市)

内海俊介 「植物の防衛理論から植食者群集の生態 - 進化動態を紐解く」日本生態学会、2015 年 3 月 21 日、鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)

小野寺裕乃・内海俊介 他「The impact of

genetic variation in adaptive traits on population dynamics of a leaf beetle : an experimental test in a tree canopy」日本生態学会、2015 年 3 月 19 日、鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)

内海俊介 「野外における群集動態と進化の結びつきを解き明かす」公募研究集会「進化と生態の階層間相互作用ダイナミクス:生態学のリストラ」、2014 年 12 月 14 日、京都大学(滋賀県大津市)

小野寺裕乃・内海俊介 「ハムシの餌選好性はどの形質と遺伝的に相関するか」個体群生態学会、2014 年 10 月 11 日、筑波大学(茨城県つくば市)

内海俊介 「Temporal chain reactions of indirect interactions initiated by intraspecific variation in an early-season herbivore」個体群生態学会、2014 年 10 月 11 日、筑波大学(茨城県つくば市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内海 俊介 (UTSUMI, Shunsuke)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号 : 1 0 6 4 2 0 1 9

(2) 研究協力者

小野寺 裕乃 (ONODERA, Hirono)

八杉 公基 (YASUGI, Masaki)

永野 惇 (NAGANO, Atsushi)

工藤 洋 (KUDOH, Hiroshi)