

令和元年6月14日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04325

研究課題名(和文) 景観遺伝学に基づく草地性昆虫類の生息地ネットワーク評価とその体系的保全研究

研究課題名(英文) Evaluation of habitat network of grassland-dwelling insects by landscape genetics and its application to systematic conservation

研究代表者

宮下 直 (Miyashita, Tadashi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授

研究者番号：50182019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：千葉県北部の二次草地に生息する昆虫類8種を対象に、空間遺伝構造を明らかにし、移動に関わる景観の「抵抗性」を推定した。また、個体数分布パターンから、局所と景観スケールでの環境要因を明らかにした。その結果、クツムシやナキイナゴのような飛翔能力が低い種では、明らかな空間構造が認められた。サーキット理論による解析により、クツムシでは宅地や水田などの景観要素が移動の抵抗性を高めていることがわかった。個体数の分布解析から、各種の局所個体数を定める植生構造を抽出できた。以上から、景観遺伝学と景観生態学を組み合わせることで、保全や復元の優先地の特定と具体的な管理手法の探索が同時にできることが実証された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の最大の成果は、近年生物多様性の保全分野で使用され始めた景観遺伝学的手法の有効性と課題を、実証データをもとに明確化できたことにある。具体的には、推定された景観要素の抵抗性にはかなりの不確実性があり、形成されてからの履歴に注目すべきであること、サーキット地図の作成により、移動の回廊や障壁を地図化でき、地域の景観管理に示唆を与えられること、従来型の個体数解析と組み合わせることで、優先して保全(復元)する場所の特定と保全のための具体的な管理手法の双方が提言できること、種の移動能力と分断化の歴史、対象とする空間スケール次第で遺伝子は使える場合とそうでない場合があること、を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We examined spatial genetic structures of 8 insect species living in seminatural grasslands in northern Chiba-prefecture, and explored landscape resistance influencing dispersal between grassland patches. We also estimated local- and landscape-level environmental factors that determine the abundance of insects. Clear spatial genetic structures were found for Giant katydid (*Mecopoda nipponensis*) and a grasshopper (*Mongolotettix japonicus*), which are known to have low dispersal ability. Application of circuit theory revealed residential areas and paddy fields have high resistance values for dispersal in Giant katydid. Distribution analysis also revealed suitable vegetation structures for local abundance. Thus, combination of landscape genetics with traditional landscape ecology is proven to be useful for identifying priority areas for conservation/restoration, as well as determining local habitat management.

研究分野：生態学

キーワード：景観遺伝学 サークット理論 二次草地 景観生態学 バッタ類

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

COP10 で採択された愛知ターゲットによれば、2020 年までに、生物多様性を保全するための十分な保護区の設定 (目標 11) や、絶滅危惧種の減少の防止と保全状況の改善 (目標 12) が重要な目標として掲げられている。国立公園や世界遺産などの保護区は、原生的な森林や湿地、島嶼などの固有性の高い生態系を保全するうえで効果的であり、この目標を達成するうえで一定の役割を果たすことは疑いない。しかし、我が国の希少種はそうした生態系でカバーしきれない生物種群も数多い。二次草地に生息する生物はその代表格である。二次草地の多くは里山や都市近郊にあり、古来より人間による適度な利用や攪乱を受けて維持されてきた。しかし、近年、宅地化などによる消失や、管理放棄による遷移の進行、外来種の侵入といった複合的な要因により、二次草地は質量ともに劣化しており、緊急な保全対策が望まれている。

昆虫類は植物と並んで草地生態系を代表する生物である。蝶類やバッタ類では、草原性種が数多く全国や地方の絶滅危惧種にリストアップされている。一般に昆虫類は移動性があり、一つの草地で個体群が維持されていることはほとんどない。したがって、その有効な保全策を考えるためには、各草地の面積や質とともに、空間配置を明示的に考慮する必要がある。

こうした課題に対処するうえで有望なのが、2003 年以降に急速に発展している「景観遺伝学」(landscape genetics) である¹⁾。これは、集団遺伝学と景観生態学を統合した新たな分野であり、平たく言うと、遺伝子流動に与える景観構造の影響を定量的に把握するものである。分断景観下で、生息地とマトリクス双方の効果を実示的に組み込んだ予測が可能になれば、変動環境下で、どこを優先的に守るべきか、どの場所を優先的に再生すべきか、という費用対効果の高い体系的な保全計画を提示することができる。

2. 研究の目的

本研究では、千葉県北部の下総台地に広がる二次草地群に生息する昆虫類を対象に、まず新たな景観遺伝学的手法を用い、景観要素ごとに移動に関わる「抵抗性」(matrix resistance) を、各二次草地の質を考慮したうえで評価する。次に、個体数を制限する局所要因を特定するため、生息地の機能的連結性で補正した局所環境の影響を抽出する。さらに、各二次草地の重要度を、景観全体の遺伝子流動に対する貢献度合いから推定し、優先的な保全・再生地点を抽出する。

3. 研究の方法

(1) 核 DNA の抽出： クツワムシ、バッタ類 6 種 (クルマバッタ、クルマバッタモドキ、ヒナバッタ、ナキイナゴ、ショウリョウバッタ、ショウリョウバッタモドキ)、ジャノメチョウを対象とした。各種につき 13 - 20 地点 (二次草地) 延べ 1500 個体以上を遺伝子解析の対象とした。

採集した昆虫の脚から、DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA について、MIG-seq 法 (Suyama and Matsuki 2015) を用いて、次世代シーケンサーを用いた一塩基多型 (SNP) のゲノムワイドな探索と解析を行った。まず、16 種類の ISSR プライマーを用いて 1 回目の PCR を行った。次に、1 回目の PCR 産物に対し、次世代シーケンサー MiSeq (Illumina) での解析するためのアダプターおよびサンプル識別のためのタグ配列を付加するための 2 回目の PCR を行った。得られた PCR 産物は、全サンプルをプールした後、磁性ビーズ (SPRI Size Select および AMPure XP、いずれも BeckmanCoulter) による断片長のサイズ選択と精製を行った後、BioAnalyzer (Agilent) で濃度を測定してライブラリを調整し、MiSeq Reagent Kit v3 (150 cycles) で解析した。得られた塩基配列について、FASTX-Toolkit と TagDust を用いてアダプター除去などの不要な塩基配列や低クオリティー配列の除去を行い、Stacks で SNP 座の探索を行った。Stacks 解析においては、ustacks で $m = 5$ (depth = 5)、populations で $r = 0.5$ (ある個体群において、その SNP 座を持つ個体の頻度は 50%) とし、popmap は使用しなかった。それ以外のパラメーターは、基本的にデフォルトの設定を用いた。

(2) 景観遺伝解析： 得られた SNP データと土地利用データ (景観構造) をもとに、景観遺伝学解析を行った。大まかな流れは、空間遺伝構造の推定、生息地間の遺伝的距離の算出、サーキット理論を用いた生息地間の抵抗距離 (resistance distance) の推定、統計処理による各景観要素の最適抵抗値推定、である。

遺伝構造の推定には STRUCTURE 解析 (STRUCTURE 2.3.4) 及び主座標分析 (GenAlEx 6.503) を用いた。遺伝的距離には GENEPOP で算出した F_{st} を用いた。また土地利用については、明治中期、1976 年、2014 年の 3 期のデータを取得し、水田、森林、市街地、その他開放地に区分し解析に用いた。サーキット理論を用いて抵抗距離、すなわち異質景観下における生物の移動特性を考慮した生息地間の距離を、生息地間のペアワイズで CIRCUITSCAPE 4.0.5 により算出した。各土地利用に 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 の景観抵抗値を、全通りの組み合わせで割り当て、それぞれの組み合わせで生息地間の抵抗距離を求めた。遺伝的距離と最も相関の高い抵抗距離は、Mantel test で検定した (R Studio 3.5.1, r package ade4 の mantel.randtest 関数使用)。10,000 回の繰り返しにより p 値を算出した。p 値が最も低いものを最上位モデルとして扱い、最上位モデルとの差が 1 未満 ($\log(p) < 1$) となったモデルを競合モデルとした。

(3) 昆虫類の分布解析： クツワムシについては、8 - 9 月上旬に約 20 km × 10 km の範囲内の林縁を網羅的に回り、生息地の特定と個体数を調べた。各生息地では局所環境の要因として下層植生の被度を記録した。クツワムシは明るい林を好むことが事前情報から分かっているためである。また、周辺の土地利用 (景観要因) については生息地から半径 50m と 100m の範囲にある

林縁の長さや疎林の面積を、1980年代と2000年代の2時期について算出した。バッタ類については、6月と8~9月の2時期に千葉県柏市、白井市、印西市の半自然草地22ヶ所、造成跡地10ヶ所、放棄農地8ヶ所、畑地の縁16ヶ所、水田の畦15ヶ所に成立する草地的な環境にトランセクトを設定し、バッタのカウント調査と植生調査を行い草丈と出現植物の被度を記録した。また、GISを用いて、調査地点から100m、200m、300mの範囲内で5種類の土地利用タイプ（二次草地、畑地、水田、放棄地、土地造成地）と移動への障壁として市街地の各面積を測定し、景観要因として用いた。統計解析は、クツワムシないしはバッタ類の個体数を目的変数、局所要因と景観要因を説明変数とする一般化線形モデルを用いた。

4. 研究成果

(1) 昆虫類の空間遺伝構造とマトリクスの抵抗性

明瞭な構造が見られたのはクツワムシで、ヒナバッタとナキイナゴで若干見られたが、他の種では明確な構造が検出できなかった。以降の景観遺伝解析は、クツワムシの事例のみを紹介する。本種の解析に用いたSNP座は275座であった。STRUCTURE解析の結果、クツワムシでは東京都葛飾区の水元公園の集団（黄色の円）が、他集団とは異なるクラスターであると推定されたほか、それ以外の集団でも適度な分断化が認められた（図1）。以降の解析は、異質であると考えられるこの集団を、含めた場合と含めない場合とで分けて行った。



図1 STRUCTUREから推測された北総地域におけるクツワムシの空間遺伝構造。色の違いは4種類の遺伝クラスターを示す。円の大きさは個体数を表す。

Mantel 検定の結果、水元公園集団の有無を問わず、全土地利用で抵抗値を1に設定したモデル、すなわち「距離による隔離」モデルは有意にならず、複数の「抵抗による隔離」モデルが有意となった。また水本公園（集団1）の有無にかかわらず、各年代のベストモデルをp値から判断すると、高度経済成長期末期の1976年の景観構造がもっとも空間遺伝構造を説明していることがわかった（表1）。

表1 マンテル検定により選択された各年代の土地利用に対する最適な景観抵抗値。集団1の有無は、水本公園の集団を入れた場合と除いた場合を示している。

	集団1なし			集団1あり		
	明治	1976	2014	明治	1976	2014
Mantel r	0.303	0.416	0.449	0.573	0.535	0.630
p value	0.0312	0.0004	0.0066	0.0029	0.0001	0.0025
抵抗値						
森林	2	2	1	4	2	2
水域	4	4	1	16	4	64
開放地	2	4	16	8	4	4
市街地	128	8	16	128	8	64

また市街地の抵抗性が高く、森林で抵抗性が低くなった。これは、クツワムシの生息適地と概ね一致するものであった。一方、ベストモデルと同程度に説明力が高い競合モデルも多数選択された。水元公園集団を除外した解析では、競合モデルが7個、含めた解析では14個となり、競合モデル間の抵抗値の差も大きくなった。こうした不確実性には、土地改変後の経過時間が影響していると考えられる。一般にFstは世代を重ねるごとに上昇し、隔離が激しい集団ほど上昇が顕著になる。距離以外の要素で隔離の強度を決めるのは生息地間の景観要素（マトリクス）の抵抗性であるため、マトリクスの抵抗性は、時間と共に上昇すると言える。

明治時代初期の土地利用記録を調べると、水元公園と他集団の間には広大な水田と幅の広い河川があったことがわかる。クツワムシはこれらの土地利用を通過できないため、少なくとも明治初期には、恐らくそれ以上前から水元公園集団は分断されていたと予想される。そのため抵抗性推定時に、水元公園集団を含めた場合、時間経過により抵抗性が上昇した箇所と、そうでないところを混在させていたことになり、これが選ばれる抵抗値のばらつきを大きくしたと考えられる。都市近郊は景観が非常に動的で、様々な年代に形成された景観要素が混在しており、これを考慮しないまま景観遺伝解析を行うと、内在する不確実性を高くすると考えられる。

(2) 昆虫類の分布に与える局所と景観要因：クツワムシについては、局所要因として下層植生の被度が強く正に効いていた。また景観要因としては、1980年代と2000年代の2時期にお

ける半径 100 - 200m 以内の疎林面積が正に効いていた。これは、生息地の連結性がクツワムシの局所密度を底上げしていることを示唆している。またこの結果は、景観遺伝解析で明らかになった森林において景観抵抗性が低いことも一致している。

バッタ類については、種ごとに分布パターンに明瞭な違いがみられた(図2)。こうした違いは、局所環境や景観構造に対する応答の違いで説明できた。ショウリョウバッタモドキでは草丈に対して中程度で密度が高まったが、その他の種では草丈と負の相関が認められた。景観要素に関して、応答が見られた空間スケールは対象種および季節によって異なったが、市街地面積には全対象種が負の応答を示した。他の土地利用タイプに関しては、二次草地の面積に正応答をする種や農地に正に応答する種が認められた。以上より、各バッタ科昆虫にとって、餌としての質の高いイネ科草本は異なっており、バッタ科昆虫の局所的な個体数は草丈と良質な餌植物種の被度に影響され、景観内での分布はそれらに加え、市街地による分散制限を介した影響を受ける可能性が示唆された。しかし、メスに移動能力のないナキイナゴを除き、遺伝子には空間構造認められなかったことから、本調査地の空間スケールでは遺伝子流動が広範に行われていることが示唆された。

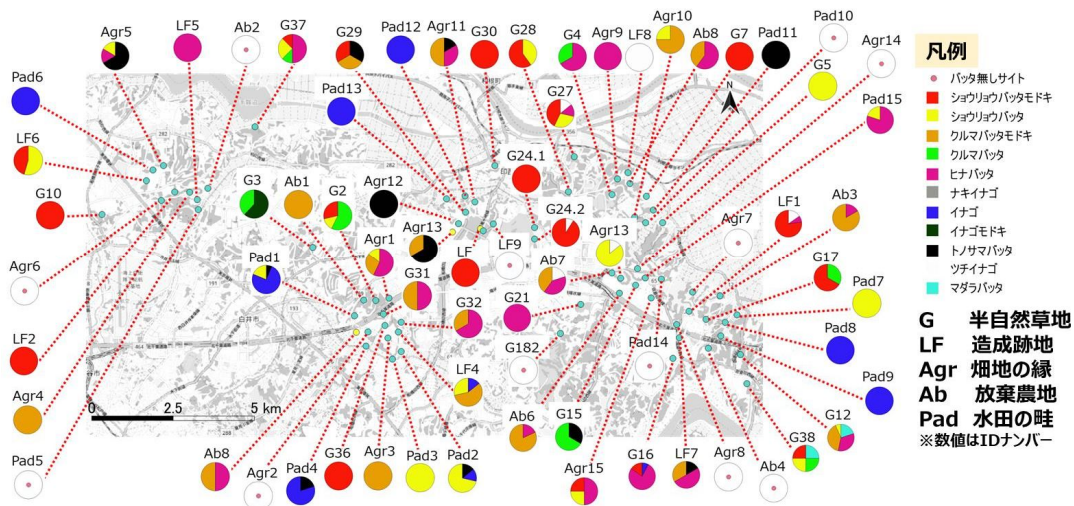


図2 バッタ類の個体数の空間分布と土地利用の関係

(3)まとめ：本研究から、都市近郊の二次草地とその周辺に生息する昆虫類の個体群は、遺伝子流動の観点からは、必ずしも強い分断化の影響を受けているわけではないことがわかった。しかし、クツワムシやナキイナゴのような飛翔能力が低い種では、明らかな空間構造が認められた。またサーキット理論を用いた解析により、クツワムシでは、宅地や水田などの生息地ではない景観要素が移動の抵抗性を高めていることが定量的に示された。しかし、個々の景観要素の抵抗性の推定値にはかなりの不確実性があり、これは形成されてからの期間(履歴)が異なる景観要素が混在していることの反映と思われる。だが、こうして得られた抵抗値を注意深く用いれば、サーキット地図の作成により、移動の回廊や障壁を地図化でき、地域の景観管理に示唆を与えることができる。また個体数の分布解析から、クツワムシやバッタ類の局所個体数を決める植生情報を抽出できた。このように、景観遺伝学と従来型の景観生態学を組み合わせることで、優先して保全(復元)する場所の特定と保全のための具体的な管理手法の双方が提言できることが実証された。一方で、バッタ類の少なからずの種では、個体数の解析からは生息地の連結性の重要性が示唆されたが、遺伝子流動では明瞭な空間構造は検出できず、景観連結性の評価ができなかった。これは生物の移動性に対して景観の分断化の歴史の浅いことが原因と思われる。近年次世代シーケンサーの普及により、生態学的時間スケールでのメタ個体群構造の検出においても遺伝子解析がツールとして期待されている。しかし、種の移動能力と分断化の歴史、対象とする空間スケール次第で遺伝子は使える場合とそうでない場合がある。今後、様々な分類群や時間空間スケールを対象とした研究を積み重ねることで、景観遺伝学が使える場合と使えない場合を事前に予測できるようにすることが重要であろう。

<引用文献>

Suyama and Matsuki (2015) MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. Scientific Reports, 5: 16963

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計0件)

〔学会発表〕(計8件)

中島一豪, 長谷川雅美, 宮下 直 (2019) メタ個体群と景観生態学の狭間: 「分断」景観下で示すバッタ類の多様な分布から. 日本生態学会第66回全国大会
今藤夏子, 今井達也, 清川紘樹, 中島一豪, 谷川明男, 井上泰江, 中嶋信美, 長谷川雅美, 宮下直 (2018) 昆虫における MIG-seq 活用例: 景観スケールから地理的スケールまで. 日本生態学会第65回全国大会
今井達也, 清川紘樹, 今藤夏子, 中嶋信美, 長谷川雅美, 宮下 直 (2018) 景観遺伝学的手法によるクツワムシの生息地分断化影響評価. 昆虫 DNA 研究会第15回研究集会
中島一豪, 都築洋一, 長谷川雅美, 宮下 直 (2018) マトリクスの機能を考慮した二次草地に生息するバッタの群集構造. 日本生態学会第65回全国大会
今井達也, 清川紘樹, 今藤夏子, 中嶋信美, 長谷川雅美, 宮下 直 (2017) 都市近郊における低移動性昆虫クツワムシの集団遺伝構造. 日本生態学会第64回全国大会
中島一豪, 宮下 直, 長谷川雅美, 下野綾子 (2016) 分断景観下における草地性バッタ群集の個体群密度の規定要因. 日本生態学会第63回全国大会
清川 紘樹, 宮下 直 (2016) 明るい林や林縁の広がりが規定するクツワムシの分布: 都市近郊と山間部における分布変遷の違い. 日本生態学会第63回全国大会
坂入一瑛, 長谷川雅美 (2016) 過去の環境要因が北総地域のジャノメチョウのメタ個体群動態に与える影響. 日本生態学会第63回全国大会

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 今藤夏子

ローマ字氏名: Kondo, Natsuko

所属研究機関名: 独立行政法人国立環境研究所

部局名: 生物・生態系環境研究センター

職名: 主任研究員

研究者番号(8桁): 10414369

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 長谷川雅美

ローマ字氏名: Hasegawa, Masami

所属研究機関名: 東邦大学

部局名: 理学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 40250162

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 中島一豪

ローマ字氏名: Nakajima, Kazuhide

研究協力者氏名: 今井達也

ローマ字氏名: Tatsuya, Imai

研究協力者氏名: 清川紘樹

ローマ字氏名: Kikoyawa, Hiroki

研究協力者氏名: 坂入一瑛

ローマ字氏名: Sakairi, Kazusa

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。