

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04426

研究課題名(和文) 島嶼環境における捕食者・被食者の共進化と個体群動態の相互作用

研究課題名(英文) Interplay between co-evolution and population dynamics in the predator - prey relationship in the island environments

研究代表者

長谷川 雅美 (HASEGAWA, Masami)

東邦大学・理学部・教授

研究者番号：40250162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,900,000円

研究成果の概要(和文)：伊豆諸島において、捕食者と被食者の個体群動態と迅速な共進化の相互作用を解明する研究を行った。シマヘビの色彩が多型的な島では、色彩が単型的な島よりも個体数振動の周期が約10年と長かった。この色彩多型が、被食者の捕食回避による負の頻度依存性選択によって約5年の周期で振動していることを明らかにした。さらに、シマヘビの採餌成功に關与する口器の形状に対する自然選択の方向性と強度が、捕食者と被食者の個体数振動の増加期と減少期に対応して振動しているのかどうかを調べ、ヘビ1個体あたりのトカゲ密度が低いと幅広の個体の適応度が高く、逆にトカゲ密度が高いと頭部幅の狭い個体の適応度が高くなっていた。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that evolution of predator avoidance by prey enhance rapid predator color pattern evolution in the predator snake and prey lizard system in the insular environments. We then showed that rapid evolution of color pattern affected population dynamics of predator and prey, and pervasively fed back to modulate predator gape size. On the island where the snake is monotypic in color pattern, prey-predator populations exhibited the short 5-6 year cycles. Whereas the cycles were extended to 10-15 years on the island where the snakes were color polymorphic, and negative frequency dependent selection through predator avoidance learning by lizard maintained snake color polymorphism. Oscillation of predator-prey density temporally changed strength of selective force acting on snake gape size, and decreased availability of lizard prey favored wider gape and vice versa during the density cycles.

研究分野：進化生態学

キーワード：捕食者 被食者 個体群動態 島嶼

1. 研究開始当初の背景

従来、進化は長い時間スケールで起こる現象だと考えられてきた。しかし、短い時間スケールで起こる迅速な進化が数多く報告されるようになり、従来個体の性質は変化せず一定であると仮定されてきた個体群動態研究においても、迅速な進化の影響を無視できなくなってきた。特に、吉田ら(2003)が、ワムシと藻類の培養実験系において、藻類の捕食抵抗性の進化が捕食者と被食者の個体数振動の周期を長くすることを実証して以来、生態が進化を駆動し、進化が生態的变化を駆動するフィードバックの機構を実証することが進化生態学の最も重要なテーマであると認識されている(Schoener、2011)。そのため、微生物の培養実験系や温室での栽培実験などを通して、迅速な進化と群集動態の相互作用に関する研究が盛んに行われるようになってきているが、自然界で起きている迅速な進化が現在進行形で個体群動態を駆動していることを示す実証研究には、まだ誰も成功していない。

そこで私は、迅速な進化と個体群動態の相互作用に関し、Fussmannら(2007)が提示した4つの基準全てを満たす実証研究を世界に先駆けて行い、進化と生態の相互関係の理解を深めることを目的とした。

基準1：複数の個体群の動態を数世代に亘って記録し、その変化を示しているか

基準2：遺伝子頻度の変化を数世代にわたって記録できているか

基準3：進化的変化と個体群動態の相互作用の因果律を明らかにしているか

基準4：進化がない時の個体群動態を対象として備えた比較研究が行われているか

研究代表者は伊豆諸島と伊豆半島におけるトカゲ類やヘビ類を対象として、形態・行動・生活史特性にみられる種内の地理的変異の把握と、捕食者と被食者の形態的特徴、色彩パターン、個体数の長期(>30年)モニタリングを行ってきたことから、伊豆諸島の生物相はこれらの課題に取り組む絶好のシステムであると判断した。

特に、捕食者の色彩多型が被食者の捕食回避行動を通じた負の頻度依存選択によって進化的に維持されること、さらにそのことが捕食者・被食者集団の個体数振動周期に影響を及ぼしている可能性があることは、捕食者シマヘビの色彩パターンが適応的に進化するプロセスにおいて、被食者オカダトカゲの行動的捕食回避が大きな選択圧となっていることを示唆するものであった。

近年、生態学的時間スケールにおける迅速な適応進化の研究が進み、適応進化が集団や群集の動態に顕著な影響を与えることが実験集団で実証されている。しかし、野外の生物集団での実証研究はもちろんのこと、共進化の動態が適応形質の分化につながることを立証した研究はまだなかった。伊豆諸島の

システムでは、トカゲの捕食回避行動を通じた負の頻度依存選択によって捕食者の色彩多型が維持され、このことが両者の個体数振動周期に影響を及ぼしている可能性が示唆されたことが、本研究を申請した最も大きな理由と背景である。

2. 研究の目的

本研究は、捕食者と被食者の個体数振動において、個体数の増加期を自然選択の弛緩相、減少期を自然選択の強化相にあると考え、捕食者と被食者の共進化動態を、生態学的時間スケールで実証するとともに、共進化が捕食者と被食者の個体群動態にフィードバックされるメカニズムを、行動特性と形態学的表現形質、そして遺伝子のレベルで解明することを目的とした。具体的には、以下の3課題を解明することを目的に研究を行った。

(1) 捕食者の色彩パターンの振動と多型維持のメカニズム

シマヘビの色彩が多型的な新島個体群では、シマヘビとオカダトカゲの個体数がロトカ・ボルテラ式の振動を示すだけでなく、シマヘビの色彩が単型的な神津島よりも個体数振動の周期が約10年と長く、長期的な個体数振動の中でそれぞれの色彩型の頻度が約5年の周期で振動していた。このメカニズムとして、シマヘビの捕食者による負の頻度依存性捕食、とオカダトカゲがシマヘビの色彩を学習し回避することによる負の頻度依存性捕食回避、の2つの対立仮説を提示し、どちらのメカニズムが色彩型の頻度を振動させる主因なのかを明らかにする。

(2) シマヘビの色彩型を規定する遺伝子の特定

雌親と孵化個体の表現型の対応分析から、ストライプパターンの強弱に関する色彩多型は、1遺伝子座2対立遺伝子の遺伝様式を示し、ストライプ型が優性ホモ、薄いストライプ型がヘテロ、非ストライプ型が劣性ホモであると推定されている。胚と孵化幼体、成体の色素細胞を細胞組織学的に比較し、ストライプの発達度合には胚発生の途上から始まり性成熟と共に発展する黒色素胞の分化、増殖、凝集の強さに関する遺伝子が関与していることが示唆されている。そこで、シマヘビの色彩型に関与する複数の候補遺伝子の塩基配列を決定し、各色彩型に関する中立的進化、安定化選択(神津島におけるストライプ型の維持・強化)そして継時的分断化選択(新島における負の頻度依存性選択)等、自然選択の痕跡の有無、強さ、方向性、時期を統計的に明らかにする。

(3) 生態学的時間スケールでの自然選択が捕食者と被食者の個体群動態にフィードバックされるメカニズムの解明

捕食と捕食回避に寄与すると仮定したいくつかの適応形質に対する自然選択の強度が、捕食者と被食者の個体数振動の増加期と減少期に対応して振動しているのかどうか、

野外の自然集団の標識再捕獲調査によって明らかにする。捕食者の適応形質としては、色彩パターンと捕食成功に關与する口器の形状とサイズ、被食者の適応形質としては、捕食者に襲われた時に自切る尾の青さ、色彩パターンを手がかりとした捕食者の認知と回避学習を取り上げる。さらに、階層ベイス推定法によって、適応形質に対する自然選択の時空間変動を考慮した個体群動態モデルを構築し、生態学的時間スケールにおける迅速な適応進化が個体群動態に及ぼすメカニズムを数値的に明らかにする。

3. 研究の方法

オカダトカゲの捕食回避戦術を選択圧とするシマヘビの進化と、シマヘビの捕食戦術を選択圧とするオカダトカゲの共進化動態に注目し、オカダトカゲとシマヘビの共進化動態が個体群動態を駆動する集団内メカニズムを、適応形質が地理的に分化している4つの島嶼集団での標識・際捕獲調査によって明らかにする。

さらに、色彩パターンの集団間分化に關与する候補遺伝子の探索と分子集団遺伝学的解析、自然選択の時空間変動を考慮した個体群動態モデルを構築により生態学的時間スケールにおける適応形質の迅速な進化プロセスとメカニズムを解明し、適応形質が地理的に分化するプロセスの統合的理解につなげた。

(1) 研究対象と調査地

分子系統地理学的解析により、オカダトカゲとシマヘビの適応形質とその島間分化が明らかにされている本土集団から1地点（伊豆半島伊東市）と伊豆諸島集団から4島（伊豆大島、新島、神津島、八丈小島）を対象として選び、野外での標識・再捕獲調査、形態測定、野外での行動実験、室内実験、遺伝的解析を行った。

シマヘビとオカダトカゲの個体数振動は、今のところ新島と神津島で確認されているだけなので、伊豆大島と伊豆半島の集団は、肉食哺乳類が有力な捕食者として存在する個体群、八丈小島は捕食者としてヘビ類を欠く比較対象個体群として扱う。捕食者と被食者が個体数振動を示す神津島と新島では、島内の地域によって振動周期の位相がずれているため、同一年度内であっても、個体群のフェーズが異なる局所個体群を研究対象とすることが可能である。これにより、野外実験の繰り返し数を増やし、実験検証の頑健性を担保した。

(2) 捕食者の色彩パターンの振動と多型維持のメカニズム

長期的な個体数振動の中でそれぞれの色彩型の頻度が約5年の周期で振動していた現象を説明するメカニズムとして、シマヘビの捕食者による負の頻度依存性捕食、とオ

カダトカゲがシマヘビの色彩を学習し回避することによる負の頻度依存性捕食回避、の2つの対立仮説を想定し、どちらのメカニズムが色彩型の頻度を振動させる主因なのかを検証する。

まず、シマヘビ自身への捕食が負の頻度依存性を示すかどうかは、新島島内に複数の調査地を設置し、精度の高い個体群センサスを行って、それぞれの色彩型の個体の再捕獲率が各局所個体群内の色彩パターンの頻度と負の相関を示すかどうか、統計解析によって検証する。

オカダトカゲがシマヘビの色彩を学習し回避することによる負の頻度依存性捕食回避については、まず、オカダトカゲが捕食者の形質を認知し、捕食を回避する行動と学習による可塑性が、捕食者の色彩が多型を呈する個体群ほど発達しているかどうかを、野外での行動実験で確かめる。これには、シマヘビの色彩型を模したモデルを野外に設置し、モデルへの接近、回避行動を記録することで行う。予備的な実験により、神津島ではストライプ型のモデルを回避し、非ストライプ型を回避しなかったが、新島では両方のモデルを回避した。これにより、野外実験のツールとしてシマヘビのモデルの有効性がほぼ確認できたと考えている。そこで、新島島内に複数の調査地を設置し、シマヘビの色彩型の頻度が異なることを確認したうえで、3タイプの色彩型のモデルを提示し、モデルに対する回避頻度が実際のシマヘビの色彩型の頻度と正の相関を示すかどうかを検証する。この実験は、同一の場所で3年間継続し、シマヘビの色彩型頻度とトカゲの回避行動が対応して年変化するかどうかを確かめる。

シマヘビがストライプ型のみ神津島では、シマヘビとオカダトカゲの個体数振動のフェーズごとにトカゲの回避行動が強化、あるいは劣化するかどうかを神津島島内の複数の調査地で3年間実験を繰り返す。これにより、トカゲの捕食回避行動の発達が、シマヘビの捕食成功を低下させることで、個体数振動の周期を短縮するメカニズムとして作用するかどうかの検証を試みた。

(3) 生態学的時間スケールでの自然選択が捕食者と被食者の個体群動態にフィードバックされるメカニズムの解明

捕食と捕食回避に寄与すると仮定したいくつかの適応形質に対する自然選択の強度が、捕食者と被食者の個体数振動の増加期と減少期に対応して振動しているか検証する。この解析と並行し、階層ベイス推定法によって、適応形質に対する自然選択の時空間変動を考慮した個体群動態モデルを構築し、生態学的時間スケールにおける迅速な適応進化のプロセスとメカニズムをシミュレートす

る。そして、適応進化を組み入れたモデルとそうでないモデルの結果を、野外集団の個体群動態と比較検討し、生態学的時間スケールでの自然選択が捕食者と被食者の個体群動態にフィードバックされるメカニズムとプロセスに関する仮説を検証する。

4. 研究成果

本研究は、伊豆諸島、伊豆半島のシマヘビとオカダトカゲの系をモデルとして、捕食者と被食者の個体群動態と迅速な共進化の相互作用を解明する研究を行い、以下の成果を得た。

(1) 捕食者の色彩パタンの振動と多型維持のメカニズム

捕食者認知は、餌生物にとって捕食を回避するために必要不可欠であり、捕食者の特徴を視覚的に正確に捉え、捕食を回避する手段として有効である。本研究では、新島のオカダトカゲと神津島のオカダトカゲ2集団を対象として、シマヘビモデルを用いた野外実験を行い、視覚的な捕食者認知能力に地理的変異が生じているかどうかを明らかにした。

生物が捕食を免れるためには、可能な限り早期に捕食者を発見・認知して適切な回避行動をとる必要がある。爬虫類における捕食者認知の研究は、嗅覚に注目した研究が進んでいるが、視覚的な捕食者認知に関する研究は十分とは言えない。そこで、伊豆諸島に生息するオカダトカゲを対象とし、捕食者であるシマヘビの有無とシマヘビの色彩パターンが異なる複数の島嶼個体群(新島; 多型、神津島; 単型、八丈小島; 非生息)について野外行動実験を行った。具体的には、異なる色彩パターンを塗布したヘビモデル(粘土模型)をオカダトカゲに提示し、各色彩型モデルに慣れるまでの所要時間を警戒度として定量化した。島嶼個体群間で各色彩パタンのモデルに対する警戒度を比較することで、視覚的な捕食者認知機構が地理的に分化しているかどうかを検証した。また、警戒度に影響を及ぼす要因を、GLMMにより探った。野外における行動実験の結果、オカダトカゲの警戒度は、同所的に生息する捕食者の色彩を施したヘビモデルに対して高かった。同所的に生息していない捕食者の色彩を施したモデルに対しての警戒度は低かった。警戒度に影響を与える要因を解析したところ、モデルの色彩型とオカダトカゲの年齢、自切の有無が正に影響していた。これは、提示したモデルの色彩型に関わらず、年をとり、自切をしたオカダトカゲほど、警戒度は高くなるという結果である。以上から、オカダトカゲの視覚的な捕食者認知は、異なる捕食者相に対して適応的に分化していること、攻撃経験を受けた個体ほど捕食者認知能力が高度化されることが明らかとなった。

被食者による視覚的な捕食回避は、捕食者の捕食成功率を低下させるため、被食者に

よる視覚的な捕食回避は、捕食者の色彩パターンに対する強い選択圧となり得る。本研究は、伊豆諸島において、顕著な色彩多型を示すシマヘビとその主な被食者であるオカダトカゲに注目し、シマヘビの各色彩型に対するオカダトカゲの警戒の強さが、より高頻度の色彩型ほど強化されているのかを野外実験によって検証した。実験では、異なる色彩パターンを塗布したシマヘビの粘土モデルをオカダトカゲに提示し、モデルを無視し近寄るまでに要した時間の長さを、各色彩型に対する警戒度として定量化した。次に、実験を行った地点から半径 200 m の範囲内で捕獲・目撃されたシマヘビの色彩型頻度を集計し、各色彩型頻度が高くなるほど、オカダトカゲの警戒度が高くなるかどうかを検証した。その結果、高頻度の色彩型のシマヘビモデルほどオカダトカゲの警戒度が高く、かつシマヘビの色彩型の頻度と肥満度の間には有意な負の相関が認められた。本研究により、伊豆諸島新島のシマヘビに見られる色彩多型は、オカダトカゲの視覚的な捕食者認知が、多数派の色彩型を有するシマヘビの採餌成功率を下げ、捕食者の色彩多型の維持における負の頻度依存選択の役割を果たすことを初めて実証することができた。

(2) シマヘビの色彩パターン

脊椎動物の色彩パターン研究では、モデル生物のゼブラフィッシュやマウスを用いた研究が盛んに行われ、色素の生合成経路に関わる酵素遺伝子やシグナル伝達等、色素細胞の移動、分化、増殖に関わる細胞生物学的メカニズムの理解が進んでいる。その一方で、非モデル生物が示す多様な色彩パタンの解明に向けた研究にも注目が集まっている。爬虫類のヘビ類は、非常に多様な色彩パターンを示し多くの研究者の関心を引き寄せるとともに、色素細胞の移動、分化、増殖に関わる因子を組み込んだ理論モデルの構築やシミュレーション研究が行われ、色素細胞の空間配置を規定する因子を特定する細胞学的研究への橋渡しが試みられている。しかし、体色パターンを作り出す色素細胞の同定や空間配置、その形成プロセスに関する実証研究はまだ途上にある。

日本固有種のシマヘビは、黒褐色の明瞭な縞模様を有するヘビであるが、ストライプ型、非ストライプ型、黒化型など多様な色彩変異が存在する。Kuriyama et al (2013)はそれらの色彩変異を細胞組織学的に研究し、ストライプ型の暗い縞模様は明るい地色に対して表皮性黒色素胞が多く、真皮性黒色素胞の層構造が異なること、非ストライプ型はストライプ型に見られる黒色素胞のギャップが見られないこと、黒化型は黄色素胞と虹色素胞を欠くことを明らかにした。本研究は、シマヘビのストライプ模様注目し、縞模様を作り出す表皮性及び真皮性黒色素胞の形成過程を特定するため、胚の発生段階と孵化個体の色素

細胞を、光学顕微鏡、透過型電子顕微鏡を用いて観察した。そして、この観察結果を成熟個体の色素細胞の構成と比較し、色彩パタンの形成に関する色素細胞のメカニズムを考察した。

孵化直後の幼蛇は、ストライプ型と非ストライプ型の2タイプが確認された。この2タイプの幼蛇の皮膚組織を観察し、孵化個体の縞模様は表皮性黒色素胞と黄色素胞の量が多いことによって作り出されていること、表皮性及び真皮性黒色素胞の単位面積当たりの量は、ともに成蛇の方が多いことを明らかにした。すなわち、シマヘビの縞模様は成長に伴って真皮性黒色素胞の量が増加し、層構造が変化する事で明瞭になると考えられた。

孵化直後の個体で地色と縞模様には表皮性黒色素胞の量に差が見られたため、この差は胚発生の段階で形成されたと仮定し、色素細胞の出現パターンに注目して胚の発生過程を観察した。まず、ストライプ型の抱卵雌が産卵した卵から胚を摘出し、16の形質を基に10のステージに分類した。このステージの分類に沿って地色と縞模様の両部位における表皮性黒色素胞の発達過程を観察した結果、表皮性黒色素胞は第7ステージで初めて現れ、地色と縞模様の量的な差は第8ステージで見られることを明らかにした。そして、胚発生の段階でまず表皮性黒色素胞の量に差が生じ、その後は成長に伴って真皮性黒色素胞の層構造に変化が生じるという二段階の過程を経て縞模様が形成される事を明らかにした。

色素細胞の異なるストライプ型、黒化型のシマヘビの皮膚組織から mRNA を抽出し、次世代シーケンサを用いた RNA-seq 解析によって、色彩型固有の遺伝子発現パタンの解析を試みた。ゼブラフィッシュ、マウスなどで指摘されている黒色素胞、黄色素胞、虹色素胞の細胞分化、色素生合成系における酵素の発現を基に候補遺伝子の絞り込みを試みた。

残念ながら、採取した皮膚色素から抽出した mRNA の発現パターンは、脱皮サイクルの影響を受けるらしく、色素型間で安定かつ一定の発現パターンを検出することが出来なかった。そこで、発現量の多かった酵素、構造タンパクのデータを活かして、候補遺伝子の cDNA 配列を可能な限り明らかにして、色素型間、集団間で意味のある差異が無いか、検索中である。

(3)生態学的時間スケールでの自然選択が捕食者と被食者の個体群動態にフィードバックされるメカニズム

シマヘビの採餌成功に関する口器の形状に対する自然選択の方向性と強度が、捕食者と被食者の個体数振動の増加期と減少期に対応して振動しているのかどうかを調べた。その結果、頭部の相対的な幅が適応度に影響すること、ヘビ1個体あたりのトカゲ密

度が低いと幅広の個体の適応度が高く、逆にトカゲ密度が高いと頭部幅の狭い個体の適応度が高くなることを明らかにした。以上の結果を基に、迅速な共進化と個体群動態の相互作用が適応形質の地理的分化とその維持に果たす役割と進化過程を考察した。

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)

[雑誌論文](計6件)

Murakami A, Hasegawa M, Kuriyama T (2017) Developmental mechanisms of longitudinal stripes in the Japanese four-lined snake. *Journal of Morphology* 査読有 DOI: 10.1002/jmor.20750

Kuriyama T. and M.Hasegawa (2017) Embryonic developmental process governing the conspicuousness of body stripes and blue tail coloration in the lizard *Plestiodon latiscutatus*. *EVOLUTION & DEVELOPMENT* 査読有 19:1, 29-39 (2017) DOI: 10.1111/ede.12214

Kuriyama T, J. Esashi, M.Hasegawa (2016) Light reflection from crystal platelets in iridophores determines green or brown skin coloration in *Takydromus* lizards. *Zoology*, 査読有 April 2017, :83-90

Kuriyama T, Morimoto G, Miyaji K, Hasegawa M (2016) Cellular basis of anti-predator adaptation in a lizard with autotomizable blue tail against specific predators with different colour vision. *Journal of Zoology* 査読有 300:89-98 doi: 10.1111/jzo.12361

Kuriyama T, Okamoto T, Miyaji K, Hasegawa M (2016) Iridophore- and xanthophore-deficient melanistic color variant of the lizard *Plestiodon latiscutatus*. *Herpetologica* 査読有 72:189-195 doi:10.1655/HERPETOLOGICA-D-15-00022)

Murakami A, Hasegawa M, Kuriyama T (2016) Pigment cell mechanism of post-embryonic stripe-pattern formation in the Japanese four-lined

snake. *Journal of Morphology* 査読
有 277:196-203 doi:
10.1002/jmor.20489)

〔学会発表〕(計4件)

鈴木翔・長谷川雅美(2016)オカダトカ
ゲの視覚的捕食者回避によるシマヘビ
の色彩型への負の頻度依存性選択。日
本爬虫両棲類学会 第55回沖縄大会
2016.11.26-27

Hasegawa Masami (2016) Predator
Colour Pattern Polymorphism
influence Length and Magnitude
of Snake-Lizard Density Cycle on
the Izu Islands. *Island Biology*
2016, July 17-20, Azores, Portugal

鈴木翔・長谷川雅美(2015)オカダトカ
ゲの視覚的捕食者認知 日本爬虫両棲
類学会 第54回船橋大会、東邦大学
2015.12.5-6

村上新・長谷川雅美・栗山武夫(2015)シ
マヘビの胚発生-発生段階の分類と縞模
様形成の観察- 日本爬虫両棲類学会
第54回船橋大会、東邦大学
2015.12.5-6

〔その他〕

ホームページ等

<https://scholar.google.com/citations?user=XH0f7KwAAAAJ>

6. 研究組織

(1)研究代表者

長谷川雅美 (HASEGAWA, Masami)
東邦大学理学部・教授
研究者番号: 40250162

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

栗山武夫 (KURIYAMA, Takeo)
Matthew BRANDLEY