

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：32687

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07263

研究課題名(和文) 地理的単為生殖昆虫類における両性生殖系統と単為生殖系統の共存メカニズム

研究課題名(英文) Mechanisms of coexistence between bisexual and parthenogenetic strains in geographically parthenogenetic species

研究代表者

関根 一希 (Sekine, Kazuki)

立正大学・地球環境科学部・助教

研究者番号：10779698

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：オオシロカゲロウは河川棲の昆虫類であり、地域によってオス・メスが共存する両性個体群と、メスだけで構成される雌性個体群が認められる地理的単為生殖種である。遺伝子解析により、どちらの生殖系統かを識別することができる。今回、福島県・阿武隈川および埼玉県・荒川の2河川において、両系統が混在することが明らかになった。これらの性比は流程ごとに異なり、阿武隈川では下流に行くほど、単為生殖系統の割合が高くなるが、一方、荒川では逆のパターンで、上流側に向かうほど単為生殖系統の割合が高くなった。加えて、単為生殖系統と両性生殖系統間での羽化時間に違いがあり、系統間での交配が比較的困難であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The polymitarcyid mayfly, Ephoron shigae is distributed widely in Japan, and inhabits the middle and lower reaches of rivers. The wing stage is extremely short, up to two hours. Some populations are bisexual, and others are unisexual, so that E. shigae is a geographically parthenogenetic mayfly.

Individuals in both bisexual and parthenogenetic strains coexisted in the Ara-kawa population. In this study, the emergence time of bisexual and parthenogenetic strains was investigated to examine the reproductive ecology under the environment where both reproductive strains coexist. In the results, it was observed that individuals in the bisexual strains emerged one to two hours after parthenogenetic females did. Parthenogenetic females hardly copulated males in the bisexual strains. The coexistence of bisexual and parthenogenetic strains might lead to shift of emergence time of bisexual strains.

研究分野：進化生物学

キーワード：進化生態 単為生殖 一斉羽化 流程分布

1. 研究開始当初の背景

オオシロカゲロウは、河川棲の水生昆虫類(カゲロウ類)であり、国内広域に棲息するが、地域によってオス・メスが共存する個体群(両性個体群)と、メスだけで構成される個体群(雌性個体群)が混在する「地理的単為生殖」種である。先行研究による分子系統解析において、モザイク分布する雌性個体群の個体は西日本起源の単系統グループ(単為生殖系統)であることが明らかにされた(Sekine et al., 2015)。単為生殖系統は比較的最近に日本各地へと分布を拡大してきた。

また、オスとメスが認められる両性個体群であっても、一部ではメスへの性比の偏りが認められる個体群も認められてきた。単為生殖系統と両性生殖系統間の識別はミトコンドリア DNA (16S rRNA, COI) や核 DNA (ef-1a) の解析により可能であるが、性比の偏りは両性生殖系統と単為生殖系統の個体の混在によって生じることが明らかとなってきた。

2. 研究の目的

両性個体群に単為生殖系統の個体が侵入することで、個体群の性比や繁殖行動にどのような影響が生じるのかを明らかにする。

一般に、両性生殖は単為生殖に比べて、繁殖の数で二倍のコストを負っている。そのため、両性個体群への単為生殖系統の侵入により、急速な単為生殖個体群への変遷が引き起こされることが予想される。

一方で、両性生殖系統オス個体の繁殖干渉が単為生殖系統の両性個体群への侵入を妨げるとする説もある(Dagg 2006; Dame & Petren 2006; Kishi et al. 2009; Kawatsu 2013)。単為生殖系統メス個体の繁殖にオス個体は必要とされないが、交尾行動を強要してくるオス個体の存在は単為生殖系統メス個体にとってコスト(繁殖干渉)と成り得る。そのため、本来、単為生殖系統は爆発的に個体数を増加させるはずだが、両性個体系統オス個体の存在が単為生殖系統の個体数増加を抑えるといった可能性も考えられる。

両性生殖系統と単為生殖系統が混在する個体群における年ごとの性比変動および各系統が占める割合や羽化様式や交尾行動を調査し、現在の状態が両系統の個体が共存できるような平衡的な状態にあるのか、あるいは繁殖力の差によって単為生殖系統の個体数が単純に増加している最中であり、現在は急激に変化している過渡的な状態にあるのかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 両性生殖系統と単為生殖系統が混在する河川の性比分布

日本や海外(モンゴルや韓国)における河川流程ごとに幼虫を約 100 個体採集し、性比を明らかにした。調査時期は、外部生殖器原基で性別を判別することができ、かつ羽化時

期の前である 7-8 月に実施した。また、オオシロカゲロウの比較対象として両性生殖種である近縁種(アカツキシロカゲロウや *Ephoron nigradorsum*) も研究対象として調査を実施した。採集された個体については、99%エタノール保存し、実験室に持ち帰り、遺伝子解析用の試料とした。

採取された試料については、各調査地点 10-20 個体から全ゲノム DNA を抽出後、PCR、シーケンスした。PCR で COI 遺伝子領域を増幅し、配列を特定することで、東日本型の両性生殖系統か、西日本に起源する単為生殖系統かを判別した。

(2) 羽化時間における両性生殖系統と単為生殖系統間の違い

オオシロカゲロウの羽化時期である 9 月にライトトラップを行ない、羽化個体の採集調査を実施した。一定時間ごとに飛来した羽化個体を 99%エタノール固定し、遺伝子解析用の試料とした。実験室にて、遺伝子解析を行ない、両性生殖系統と単為生殖系統を判別することで、両系統間の羽化時間の違いを明らかにした。

(3) 両性生殖系統・単為生殖系統個体の交尾行動の比較

カゲロウ類では主に交尾後の精子は卵母細胞がある輸卵管へ直接注入されて、卵門(卵殻上にある精子の侵入口)へ入り込んで受精する。(2) 羽化個体調査で得られた試料を対象に、メス成虫を解剖し、卵母細胞を DAPI 染色・蛍光顕微鏡観察した。卵門に入り込む精子の蛍光の有無を調べることで、受精卵か未受精卵かを判別し、その母親個体が交尾後か未交尾かを識別した。

4. 研究成果

(1) 福島県・阿武隈川における幼虫性比

2009 年から福島県・阿武隈川の中島村、郡山市、本宮市および福島市の 4 地点において調査を継続的に実施してきたが、本研究においても 2017 年に性比調査を実施した。その結果、最上流側の中島村においては、2009-2017 年のいずれにおいてもオスが認められ、メスへの偏りは認められなかった。しかし、下流へ向かうほどメスが多くなっていき、最下流部の福島市においては、ほとんどオスが認められなかった。メス個体を対象とした遺伝子解析の結果においては、中島村ではほとんどが東日本系統の両性生殖系統であり、下流へ向かうほど単為生殖系統の割合が高くなった。メスへの偏りが大きい地点ほど、単為生殖系統が多く認められており、単為生殖系統と両性生殖系統との割合が、性比に反映されているものと考えられる。

福島市では 1990 年代はじめまで、オスが認められる両性個体群であることが確認されている(Watanabe et al., 1998)。したがって、わずか 20 年弱でメスばかりの個体群へ

と遷り変ってしまった。阿武隈川では下流側から単為生殖系統のメス個体が侵入し、分布を拡大させてきたと考えられる。しかし、2009年-2017年の期間内では、流程における性比分布傾向に大きな変化は認められていない。

(2) 埼玉県・荒川における幼虫性比

福島県・阿武隈川のような流程ごとに性比が異なる現象は、今回の国内や海外の調査を通してほとんど認められなかった。唯一、埼玉県・荒川においてのみ認められた。埼玉県・荒川では2016年8月に寄居町鉢形、寄居町赤浜、熊谷市、および北本市の4地点において、2017年には寄居町鉢形、寄居町赤浜、熊谷市、北本市、および桶川市の5地点において阿武隈川と同様の性比調査を実施した。その結果、最上流部の寄居町の鉢形と赤浜ではほとんどオスが認められず、下流へ向かうほどオスが早く認められるようになった(下図)。メス個体を対象とした遺伝子解析の結果においては、上流側ではほとんど単為生殖系統であり、下流側へ向かうほど、両性生殖系統の割合が高くなった。荒川流程における性比の偏りおよび単為生殖系統の侵入状況は、阿武隈川と逆のパターンとなっていた。荒川では上流側から単為生殖系統のメス個体が侵入し、分布を拡大させてきたと考えられる。



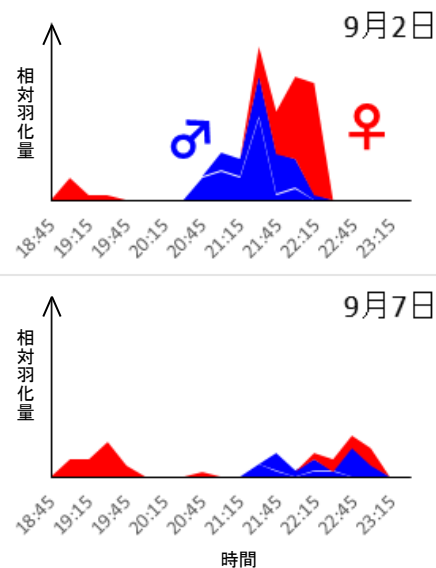
埼玉県・荒川における分布と性比

(3) 両性生殖系統と単為生殖系統の混生地点における羽化時間

2017年9月に寄居町赤浜では2回、熊谷市および桶川市ではそれぞれ4回のライトトラップ調査を実施した。単為生殖系統のメス幼虫ばかりが認められる寄居町赤浜では、主に18:45-20:45までメスの羽化個体ばかりが認められ、それ以降、羽化個体は認められなかった。一方で、両性生殖系統のオスとメスが認められる熊谷市および桶川市では、18:45-20:45までメスの羽化個体が確認されたが、その後、オスの羽化個体が認められ、続けて(21:00以降)メスの羽化個体が認められた(右上図)。

メス羽化個体を対象とした遺伝子解析結果から、早めの時間に羽化する個体は単為生殖系統であり、遅れて羽化するメス個体は両性生殖系統であった。また、両性生殖系統の

メス個体の多くは交尾済みで、受精卵を有しているものがほとんどであったのに対して、単為生殖系統のメス個体は未交尾で、受精卵を有していなかった。



また、両性生殖系統と単為生殖系統が混生する福島県・阿武隈川の本宮市においても、羽化個体調査を実施しており、こちらでは荒川ほど、両系統間での羽化時間帯に違いは認められなかったが、両性生殖系統のメス個体よりも単為生殖系統のメス個体が早い時間に羽化していることが明らかとなった。また、単為生殖系統のメス個体のほとんどが未交尾の状態であった。

岡山県・旭川の両性個体群における先行研究では(Watanabe et al., 1989), まずオスが羽化をし、つづいてメス個体が羽化をはじめ、群飛は2時間程度で終了することが知られる。荒川や阿武隈川のような単為生殖系統個体と両性生殖系統個体の同所的な生息地では、両系統の羽化タイミングにシフトが生じることで、系統間での交配率が低下している。

羽化タイミングのシフトにおいて、単為生殖系統がオスとの交配行動(繁殖干渉)を避けるような形で羽化している可能性も考えられる。しかし、オオシロカゲロウの羽化ステージは1-2時間と非常に短く、極端な一斉羽化となる。このような一斉羽化の生態的意義としては、捕食者を飽食させること(Sweeney and Vannote, 1982)が挙げられる。したがって、早めに羽化をする単為生殖系統は、両性生殖系統より圧倒的に捕食者の標的となりやすい。福島県・阿武隈川では、福島市で単為生殖系統に置き換わった後、劇的な変化は認められず、両系統が共存している。両系統での羽化タイミングのシフトが両系統の共存のメカニズムに大きく関わっているのかもしれない。

両性生殖 vs. 単為生殖に関する議論は、進化生物学において長く議論されてきた課題

である。これまで理論的な研究はされてきたものの、実際に自然界において、両性生殖系統の個体群に単為生殖系統に侵入し、性比および生態的な現象の変化を研究した事例は認められない。本研究は進化生物学上、新たな見解を与える貴重かつインパクトを与える野外研究成果であると言えるだろう。

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 7 件)

- ① K. Sekiné, B. Bayartogtokh and Y. J. Bae, Post-glacial distribution of a Mongolian mayfly inferred from population genetic analysis, *Freshwater Biology*, 査読有, 62, 2017, 102-110
DOI: 10.1111/fwb.12853
- ② R. Saito, J. I. Jo, K. Sekiné, Y. J. Bae and K. Tojo, Phylogenetic analyses of the isonychiid mayflies (Ephemeroptera: Isonychiidae) in the northeast palearctic region, *Entomological Research*, 査読有, 46, 2016, 246-259
DOI: 10.1111/1748-5967.12168
- ③ K. Tojo, M. Takenaka, S. Togashi and K. Sekiné, A polymitarcyid mayfly, *Ephoron shigae* recorded in the Chikuma-Shinano river system in Niigata Prefecture, and its genetic structure, *New Entomologist*, 査読有, 66, 2017, 1-7
- ④ K. Tojo, K. Sekiné, M. Takenaka, Y. Isaka, S. Komaki, T. Suzuki and S. D. Schoville, Species diversity of insects in Japan: Their origins and diversification processes, *Entomological Science*, 査読有, 20, 2017, 357-381
- ⑤ 関根一希, 古澤軌, 畠山正統, 半-倍数性の膜翅目昆虫カブラハバチの精子形成における *boule* 遺伝子および *cdc25* 遺伝子の機能, *昆虫 DNA ニュースレター*, 査読無, 25, 2016, 22-24
- ⑥ 関根一希, 小林建介, 東城幸治, 止水城・霞ヶ浦におけるアカツキシロカゲロウの記録, *New Entomologist*, 査読有, 66, 2017, 80-82
- ⑦ 西條正典, 須藤勝子, 新田耕也, 船木實, 大槻多恵子, 小白幸記, 関根一希, 東城幸治, アカツキシロカゲロウの東北地方初記録: オオシロカゲロウと混生する北上川集団, *New Entomologist*, 査読有, 66, 2017, 83-85

[学会発表] (計 7 件)

- ① K. Sekiné, B. Bayartogtokh and Y. J. Bae, モンゴルに分布するシロイロカゲロウ *Ephoron nigridorsum* の遺伝的構造, 日本陸水学会第 81 回大会, 2016
- ② 関根一希・東城幸治・Y. J. Bae, シロイロカゲロウ種群の分子系統解析と大顎牙の進化, 第 40 回水生昆虫研究会, 2016
- ③ M. Hatakeyama and K. Sekine, Function of the Deleted Azoospermia (DAZ) family gene in spermatogenesis in haploid male of the sawfly, International Congress of Entomology 2016
- ④ 関根一希, 信州・千曲川において豊年蟲として親しまれてきたオオシロカゲロウの生態-河川生態学術研究会・千曲川グループでの研究を通して-, 信州昆虫学会・信州大学自然科学館平成 29 年度公開シンポジウム, 2017
- ⑤ 関根一希, 東城幸治, 地理的単為生殖昆虫オオシロカゲロウの両性生殖系統と単為生殖系統の流程分布, 日本陸水学会第 82 回大会, 2017
- ⑥ 関根一希, 山岳域による河川棲水生昆虫類の遺伝的分化・分子系統地理学的研究, 信州フィールド科学賞・授賞式(記念講演), 2017
- ⑦ 関根一希, 東城幸治, 同一河川に生息するオオシロカゲロウの両性生殖系統と単為生殖系統との異なる羽化時間, 第 41 回水生昆虫研究会, 2017

[図書] (計 1 件)

- ① K. Tojo, K. Sekiné, T. Suzuki, R. Saito and M. Takenaka, Springer, Chapter 8. The Species Diversity and Genetic Diversity of Insect Fauna of the Japanese Archipelago (Motokawa, M. and Kajihara, H. eds "Species Diversity of Animal in Japan"), 2016, 18

[その他]

ホームページ等

<http://www.kgpro-ac.com/riuhp/KgApp?kyoinId=yamboyygbggy>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関根 一希 (SEKINE, Kazuki)

立正大学・地球環境科学部・助教

研究者番号: 10779698