

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06790

研究課題名(和文) 海浜性ゾウムシにおける複合的な形質置換の実態解明と”波及的隔離強化仮説”の検証

研究課題名(英文) Test of the "cascade reinforcement" and character displacement on multiple characters of seashore flightless weevils

研究代表者

松林 圭 (Matsubayashi, Kei)

九州大学・基幹教育院・助教

研究者番号：60528256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：近縁な2種の海浜性ゾウムシにおいて、生殖形質に関する形質置換があるかどうか、両者の間で交尾器の違いに対応して生殖隔離が強化されているかどうかについて調査した。調査の結果、この2種では分布が重複する北九州から山陰地方の一部にかけてスナムグリヒョウタンゾウムシの骨片が非重複地域のものより大きくなり、トビイロヒョウタンゾウムシの骨片が小さくなるというはっきりした形質置換が確認された。この形質置換は最近になって分布域が重複する箇所でも所的に進化したものと推定される。一方、交尾器の形状と生殖隔離の強度についてははっきりとした傾向が検出されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生殖器における形質置換は近縁な生物間でしばしば観察される現象だが、それがどのような原因でいつどの集団で起きているか、そしてそれが他の隔離要因と一緒に進化しているかどうかについては詳細に調べられてこなかった。今回の研究においては、ゾウムシで起きている生殖的形質置換が異種に対する間違い交尾に起因した繁殖干渉によって生じていること、そしてそれがごく最近に2種のゾウムシが同所的に生息し始めてから生じたということが明らかになった。これは現在進行形で起きている形質置換の好例として、生殖形質以外の生態的形質における形質置換への影響などといった、さらなる発展が期待できるものである。

研究成果の概要(英文)：In the two closely related species of beach weevils, we investigated (1) reproductive character displacement, and (2) whether reproductive isolation is strengthened between the two species corresponding to the difference in reproductive trait. As a results, it is clearly showed that *Scepticus tigrinus* has larger genitalia in sympatric area than those in the allopatric area to the closely related *S. griseus*, whereas *S. griseus* has smaller genitalia in the sympatric area compare to those in allopatric area. This reproductive character displacement is presumed to have recently evolved locally where the distributions overlap. On the other hand, there no clear correlation between the degrees of morphological differences of male genitalia and the strength of reproductive isolation.

研究分野：進化生物学

キーワード：形質置換 波及的隔離強化 種間競争

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

生物は、他種と様々な形で相互に影響を与えあっており、この種間相互作用は時に多様な形質の進化を強く促す原動力となる。複数種の分布が重複する地域において、非重複地域に比べて特定の形質が種間でより顕著に分化する“形質置換”は、種間相互作用が形質の多様化に影響する直接的証拠である (Pfennig and Pfennig 2009. *Q Rev Biol*)。形質置換では資源利用に関わる形質や繁殖に関わる形質など、性質が異なる複数の形質が分化することがある (Schluter 2000. *Am. Nat.*)。形質置換は、基本的には資源競争によって生じるが、種間での不適応な間違い交配（繁殖干渉）を避けるために進化することもある (Schluter 2000. *Ecology of Adaptive Radiation*)。

形質置換では、種間での遭遇ひいては交雑頻度を減らす方向に形質の進化が生じるため、片方の種の地理集団に注目すると、他種と同所的な集団と異所的な集団との間でも、形質分化に応じた生殖隔離が生じることがある。このように種間での形質置換が種内における分化を間接的に引き起こす現象は“波及的隔離強化 (cascade reinforcement)”と呼ばれ、形質置換が見られる系で常に存在しうる (Ortiz-Barrientos et al. 2009. *Ann. NY. Acad. Sci.*)。この仮説は、種間相互作用が波及的に種分化を引き起こす機構として重要である。

スナムグリヒョウタンゾウムシ (*Scepticus tigrinus*; 以後スナと省略) とトビイロヒョウタンゾウムシ (*S. griseus*; 以後トビと省略) は海浜性のゾウムシで、飛翔能力を欠く。スナが日本海と北日本沿岸に、トビが東北以南の太平洋側から南日本沿岸に分布しており、両種は分布域の大半で異所的だが、九州北部から中国地方の日本海側で約 400km に渡って混生している。2 種間の雑種はこの同所的な生息域でも見つかっていない。

これらの種では、オス交尾器内袋骨片（以後、交尾器骨片）の形状の差異が同所的な地域でより顕著であり、形質置換が生じていると考えられている (Nakamura 1996. 九州大学農学部 修士論文)。予備的な交配実験では、同所的な種間で同系交配があるものの、10-20% の頻度で種間交尾が起きることがわかっている (松林 未発表)。

生殖器における形質置換は近縁な生物間でしばしば観察される現象だが、それがどのような原因でいつどの集団で起きているか、そしてそれが他の隔離要因と一緒に進化しうるかどうかについては詳細に調べられてこなかった。これまでの予備情報から、スナとトビの間には、交尾器形態における形質置換と主に交尾選択による生殖隔離という複数の形質置換が複合的に、資源競争によらず生じている可能性がある。一方で、このような同所的な種間での分化が、それぞれの種内の地域集団間で実際に生殖隔離を生じさせているかについては、まったく検証されていない。

2. 研究の目的

本研究では、上記の海浜性ゾウムシで生じている複合的な形質置換の様相、およびその生態的要因と進化的背景を調査し、そこで予想される“波及的隔離強化”を検証すること

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

を目的とする。形質置換は現在まさに進行中の局所的な形質進化であり、その生態的・遺伝的機構や多様化へ及ぼす効果を調べる格好の材料であるが、利用する資源量の推定や実験操作が困難な野生生物での事例が大半であるため、パターンに記載のみに留まることが多い (Germain et al. 2017. Trends Ecol Evol)。本研究で対象とするゾウムシは野外と飼育条件下の両面で非常に扱いやすいため、複数の形質にみられる形質置換の生態的要因を直接実験的に検証できる点でユニークである。

3. 研究の方法

具体的な研究計画として、計4年間で以下の4つの実験を行った。

【実験①】雌雄交尾器およびその他の形態形質における地理変異の調査（形質置換の検証）
初めの2年間に渡って、日本全土の約30地点でスナとトビそれぞれの地理的な分布を調査したうえで成虫を採集した。過去に得られている標本とともに、雌雄交尾器の形態、体サイズ、体色など複数の形態形質を測定した。オス交尾器骨片の計測には Geometric Morphometrics を用いたうえで、主成分分析 (PCA) および多変量分散分析 (MANOVA) を用いて、どの形質に形質置換が顕れているかを検証した。特に2種が同所的な地域とそれ以外の境界領域を詳細に調査することで、これまで不明だった形質変化の様相やラインの地理的状況を明らかにした。

【実験②】交尾前・後に作用する生殖隔離要因の査定（“波及的隔離強化”の検証）

2年目に、両種が同所的な九州北部から2地点、それぞれが異所的な九州南部と四国から各2地点ずつの集団を採集して実験系統を作成した。(1) 同所的な種間、(2) 異所的な種間、(3) 異所的な種内集団間、(4) それ以外、という集団間ペアワイズで無選択の交配実験を行う。交尾時間、交尾後の精子移送量、交尾後の卵の孵化率を比較することで、種間および種内集団間で進化している交尾前・後の生殖隔離の強さを定量化し、地理的状況と併せて隔離強化を検証する。さらに、種間と種内で順番を入れ替えて連続して交尾させることで、種間交尾が孵化率と産卵数に与える繁殖干渉の影響を評価した。

オスの交尾器骨片は陰内に挿入される先端部分であるが、その形態の差異が異種間・種内集団間交尾に及ぼす具体的影響は不明である。実験系統を使って種間・種内で交尾させ、時間経過に応じた精子輸送の量を測定するとともに、交尾中に液体窒素で凍らせたペアの交尾器を染色して観察することで、交尾器骨片の機能的役割を推定した。

【実験③】ゲノムワイドな SNPs を利用した分子集団遺伝学的解析

当初は2種それぞれで、分布が重複する地域とその周辺の非重複地域の種内地理集団を主な対象とし、実験①の標本を用いた RAD-seq による SNPs での分子集団遺伝学的解析を行

い、地理的集団間の遺伝的分化の程度と歴史的な遺伝子流動を明らかにするとともに、系統解析と分岐年代推定によって形質置換が生じた時間スケールを明らかにする計画だったが、予算の都合によりミトコンドリア COI 遺伝子のシーケンスによる集団遺伝解析に切り替えた。今回の調査で得た標本を、過去の採集標本と併せて2年目から継続的に解析した。

【実験④】 両種の微小分布の違いと環境要因の比較

初年度から継続的に、2種が同所的に生息する地域（8地点）と、異所的な地域（それぞれ6地点）において、海岸から内陸への直線上で10mおきに半径4mの範囲内でコドラートを設置して両種の個体数を調査し、微小分布の状況を調査する。それぞれのコドラートにおける植生、砂の粒度、地表の背景色を測定し、環境比較を行う。

4. 研究成果

近縁な2種の海浜性ゾウムシにおいて、西日本における分布の重複状況とそこでのオス交尾器内袋骨片の形状、系統関係を調べたうえで、両者の間で交尾選択が強化されているかどうかについて調査した。その結果、この2種では分布が重複する北九州から山陰地方の一部にかけてスナムグリヒョウタンの骨片が非重複地域のも

のより大きくなり、トビイロヒョウタンの骨片が小さくなるという交尾器の形質置換が確認された（図1、図2）。

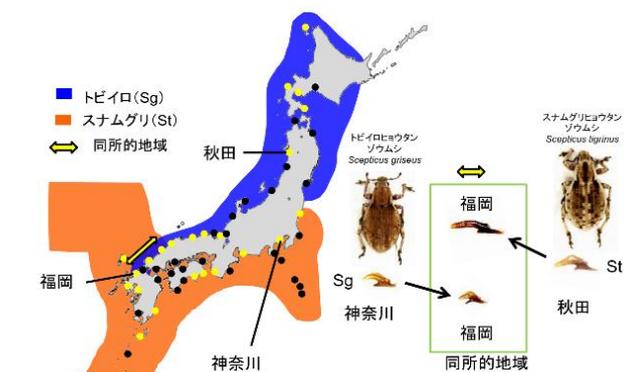


図1. 今回新たに解析に加えた採集地点（黄色）と標本が得られている地点（黒）. 同所的な地域と異所的な地域でオス交尾器内袋骨片に形質置換が認められる.

この形質置換は系統的にまとまるそれぞれのクラスター内においても認められたことから、最近になって分布域が重複する箇所で進化したものと推定される。メス交尾器でオスの交尾器内袋骨片に対応する箇所についても同様の形質置換が疑われる結果が得られているが、ゾウムシのオス交尾器の内袋がメスの交尾器内でどのように配置するかについてまだ完全に特定されておらず、今後の調査で明らかにするべき事項となっている。

本種ゾウムシは飛べないため砂浜ごとに遺伝的分化が大きくなっており、遺伝子流動も制限されていた。骨片の形態的变化はかなり急激に起きていて、近縁種と非同所的な集団にも一部広がっていた。これは隣接する近縁種と同所的な集団からの遺伝子流動によるものではなく、過去にその地域にも近縁種が同所的に生息していた跡ではないかと疑われる。

種内および種間の集団を用いた交尾選択実験では、同所的な集団よりも異所的な集団ほど交尾が起きやすい傾向があったが、それ以上に種間での交尾選択が強く働いていたためにその効果をはっきりと査定することができなかった。交尾器の形状差が交尾選択や交尾時間、交尾の成功率に関与しているかどうかの調査では、形状差が大きいほど交尾時間が長くなる傾向が見られた。このゾウムシはマウント時間が集団内でも平均 4-8 時間と長く、オスはメスにマウントしている間は餌をとれないために、長い交尾時間は明らかなコストとなる。このため、交尾しても子供ができない種間交尾の過大なコスト

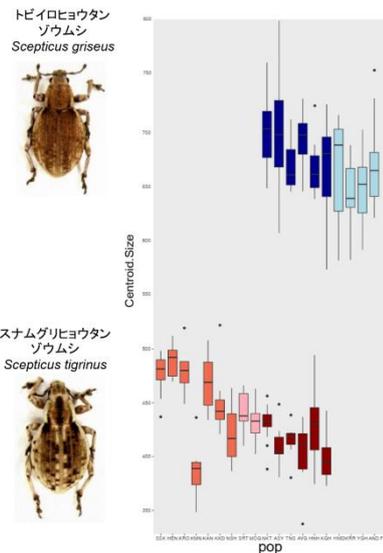


図2. 両種が同所的なクラスター内の集団間で内袋骨片の形状を集団ごとに比較した結果 (サイズ).

トを避けるために種間での交尾選択が進化したものと推測される。以上の結果から、間違い交尾に起因する繁殖干渉を避けるために種間および同所的な集団間で交尾選択が進化した可能性が高いが、その一方で波及的隔離強化については完全な検証に至らなかった。傾向は得られているので、飼育の規模を増やして再度試みることを計画している。

両種の微小分布の調査によって、同所的な地域ではスナムグリは海岸側に、トビイロは陸側に多く生息している傾向があった。一方で、異所的な地域ではどちらも海岸側を好んで生息しているため、同所的な地域では上記の繁殖干渉によってトビイロが陸側に追いやられている状況が明らかになっ

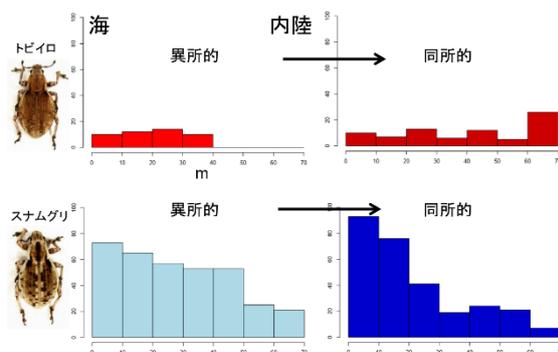


図3. 両種の微小生息地の比較. ヒストグラムは個体数を示し、左が海側で右が山側の分布になっている。

た (図3)。両者の生態にはそこまで大きな違いがあるように見えず、どちらかが競争に強いという傾向もないため、微小分布が異なっている理由は不明である。これが生態的形質置換なのか、単純に相手側を避けただけの行動なのかについての判断は、生態的形質に分化があるかどうか依存するが、その点については現在調査を継続中である。

交尾器の変異に加えて、これらのゾウムシでは海浜の砂色に類似した鞘翅の色彩多型が認められた。これは特に砂色が白または黒に偏った砂浜において顕著であり、鳥への捕食を回避するための隠ぺい擬態となっている。この色彩の進化については今後より発展的な形でプロジェクトを展開する計画である。

以上の結果は 2022 年の生態学会で発表しており、現在複数本の論文を準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamamoto, M., S. Tachikake, N. Imai & H. Kojima	4. 巻 11
2. 論文標題 Additional record of <i>Parendymia pillages</i> Kirsch (Coleoptera, Curculionidae), a potential pest of mangroves from Iriomote-jima Island, the Ryukyus, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Elytra, n. ser.	6. 最初と最後の頁 379-384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 上野、松林	4. 巻 43
2. 論文標題 海浜性昆虫の“浮遊分散”仮説を検証する	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 海洋と生物	6. 最初と最後の頁 46-52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Hiroaki Kojima, Sae Furuhashi, Hiraku Yoshitake and Futoshi Miyamoto	4. 巻 10
2. 論文標題 Weevils (Coleoptera, Curculionoidea) Associated with Ferns in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Elytra, new series	6. 最初と最後の頁 5-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Hiroaki Kojima, Yusuke Fujisawa	4. 巻 2
2. 論文標題 First record of <i>Allaeotes niger</i> He, Zhang and Pelsue (Coleoptera, Dryophthoridae, Stromboscerinae) from Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nodai Entomology	6. 最初と最後の頁 10-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Hiroaki Kojima, Takeshi Yoro	4. 巻 4732
2. 論文標題 A new species of <i>Amystax</i> Roelofs, 1873 endemic to the mountainous area of the Yakushima World Natural Heritage site, Kyushu, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Zootaxa	6. 最初と最後の頁 495-500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ueno H., Kitagawa L., Matsubayashi, K. W	4. 巻 -
2. 論文標題 Unexpectedly long survivorships on the sea water of multiple coastal beetles indicate the possibility of 'floating dispersal' for trans-oceanic migration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Entomological Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ens.12424.	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 松林 圭	4. 巻 69
2. 論文標題 種のちがいを量る	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 171-182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 山口 諒, 松林 圭	4. 巻 69
2. 論文標題 種の境界: 進化学と生態学、分子遺伝学から種分化に迫る - 序論と趣旨説明 -	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 145-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Kojima H., Yoro T	4. 巻 4732
2. 論文標題 A new species of <i>Amystax</i> Roelofs, 1873 endemic to the mountainous area of the Yakushima World Natural Heritage site, Kyushu, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Zootaxa	6. 最初と最後の頁 495 ~ 500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11646/zootaxa.4732.3.12	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 Kojima H., Kaneko N., Shimamoto S	4. 巻 1
2. 論文標題 Record of four dryophthorid weevils (Coleoptera, Curculionoidea) new to the fauna of Satsuma-Kuroshima Island, the Osumi Islands, Kyushu, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nodai Entomology	6. 最初と最後の頁 9-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kojima H., Yoro T	4. 巻 1
2. 論文標題 Confirmation of the presence of <i>Anosimus decoratus</i> Roelofs (Coleoptera, Curculionidae, Entiminae) on Yakushima Island, Kyushu, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nodai Entomology	6. 最初と最後の頁 6-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kojima H., Suzuki K., Yoro T	4. 巻 1
2. 論文標題 Reconfirmation of presence of three pest weevils (Coleoptera, Dryophthoridae) on Banana on Yakushima Island, Kyushu, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nodai Entomology	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kojima H., Saeki T., Yoro T	4. 巻 1
2. 論文標題 Four weevils of the subtribe Ochyromerina (Coleoptera, Curculionidae, Curculioninae, Tychiini) new to the fauna of Yakushima Island, Kyushu, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nodai Entomology	6. 最初と最後の頁 3-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kojima H., Yoro T	4. 巻 1
2. 論文標題 A new plant host record for adult of Euphyllobiomorphus kurosawai Morimoto (Coleoptera, Curculionidae, Entiminae), endemic to Yakushima Island, Kyushu, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nodai Entomology	6. 最初と最後の頁 1-2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kojima H., Nagano H	4. 巻 9
2. 論文標題 Biological notes on threatened celeuthetine weevil, Torishimazo lineatus (Coleoptera, Curculionidae), endemic to the Ogasawara Islands, Tokyo, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Elytra	6. 最初と最後の頁 391-394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kojima H., Nagano H	4. 巻 9
2. 論文標題 Biological notes on celeuthetine weevils of the genus Ogasawarazo, subgenus Ogasawarazo (Coleoptera, Curculionidae, Entiminae) endemic to the Ogasawara Islands, Tokyo, Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Elytra	6. 最初と最後の頁 385-390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松林圭、上野弘人
2. 発表標題 ハマヒョウタンゴミムシダマシは逆立ちして海を渡るのか？
3. 学会等名 第81回日本昆虫学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松林圭
2. 発表標題 砂浜で闘うゾウムシ ～種間相互作用と環境への適応が促す多様化～
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上野弘人、北川耕咲、東悠斗、荒谷邦雄、松林圭
2. 発表標題 甲虫における「海流分散」の可能性 ～海水耐性と遺伝的分化の関係から見てきたこと～
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松林 圭
2. 発表標題 変異、それとも形質置換？海浜性ゾウムシの交尾器に見る種間相互作用
3. 学会等名 日本生態学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松林 圭
2. 発表標題 やっかいなお隣さんが多様性を生み出す？
3. 学会等名 日本生態学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 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
研究分担者	小島 弘昭 (Kojima Hiroaki) (80332849)	東京農業大学・農学部・教授 (32658)	

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