

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570031

研究課題名(和文) 島嶼環境における生物群集の成立機序と適応進化のゲノミクス

研究課題名(英文) Community assembly and adaptive evolution of prey and predator in insular environment

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) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：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-被食者関係の成立機序を分子系統地理学的手法を用いて推定し、捕食者と被食者の適応進化に関して、以下の研究成果を得た。

オカダトカゲは、日本本土の集団から約500万年前に分岐したが、現在の島々に拡散し、各島嶼集団が分化したのは新しく、約30万年前意向であると推定された。一方、シマヘビは、東日本の系統と西日本の系統からそれぞれ独立に、約30万年前に伊豆諸島に分布するようになったと推定された。シマヘビが捕食者として定着した島では、オカダトカゲの生活史、色彩に捕食回避に資する適応的な形質が発達したことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We obtained historical evidence for the roles of predator colonization order in shaping life history and color pattern evolution by oceanic island lizard. We applied time-calibrated phylogeographical analysis to the prey lizard, *Plestiodon okadae*, the predator snake, *Elaphe quadrivirgata* of the Japanese Izu Islands to determine if prey evolved adaptive phenotypes in association with colonization order of predators. *Plestiodon* lizards diverged from the mainland counterpart in ca. 5 Ma were K-selected on the islands without snake and mammal colonization. In contrast, lizards on the islands colonized only by snake around 0.3 Ma evolved vivid blue tail with higher reflection of ultra-violet as anti-snake tail autotomy tactic. Our results are consistent with the hypothesis that colonization sequence of predator is important in generating replicated community structure and shaping selective landscape for traits central to the adaptive divergence of prey life history and coloration.

研究分野：生態学

キーワード：島嶼生態学 生物地理 適応進化 爬虫類

1. 研究開始当初の背景

近年、生態学的時間スケールにおける種の迅速な適応進化の実証が進むとともに、適応進化が集団や群集の動態にも顕著な影響を与えることが明らかにされつつある。

われわれ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。

2. 研究の目的

本研究は、捕食者の色彩パターンの適応進化に関わる生態学的情報が十分に得られている伊豆諸島、伊豆半島のシマヘビとトカゲ類を主な対象として、ゲノム及び候補遺伝子の分子遺伝学的解析を行い、島嶼環境における捕食者・被食者関係の成立機序を詳細に再現するとともに、捕食者の色彩パターンを進化させた自然選択の強さと時期を推定し、ゲノムレベルと行動・生態レベルでの適応進化を実証することとした。

3. 研究の方法

1. 捕食者-被食者系の成立機序とその年代推定

伊豆諸島を中心とするシマヘビ集団の分子系統地理はミトコンドリア遺伝子を用いた研究としてすでに公表済みで、オカダトカゲの系統地理学的解析は現在進行中である。新たに伊豆半島のカエル類の解析を行い、カエル類が伊豆半島に住み始めた時期を推定する。それによって、シマヘビの各島嶼集団が本土のカエル食からトカゲ食へ、島嶼のトカゲ食から半島集団のカエル食へと推移した年代を推定する。

2. 捕食者の色彩認知、回避行動の解析

シマヘビの色彩が負の頻度依存性選択によるものかどうかを、飼育下での行動実験によって明らかにする。トカゲ類は主に視覚により捕食者を認知するので、シマヘビの色彩が多型を示す場合、近い過去での捕食回避経験に基づき、集団内でより高頻度の色彩型への警戒を強化していると予想される。また、シマヘビのいないオカダトカゲ集団では、捕食者に対する警戒は色彩には左右されないだろう。黒化型のシマヘビは、日向にいるト

カゲを日陰に潜んで急襲するような捕食行動をとる場合に有利であると仮定し、日向のトカゲが日陰に潜む全身黒いヘビをどう認知しているかを実験的に解明する。

3. シマヘビの色彩パターンの地理的変異、色素細胞の構成、遺伝様式

爬虫類の色彩パターンは、表皮層の黒色素胞、真皮層の黒色素胞、黄色素胞、虹色素胞の構成と配列によって決定される。ストライプ型、非ストライプ型、黒化型のシマヘビの色素胞を組織学的手法で検討したところ、黒化型は真皮層の黄色素胞と虹色素胞が欠如する遺伝的変異個体であること、ストライプ型と非ストライプ型は、黒色素胞の量と配置の仕方の違いによることが分かった(栗山他、未発表)。そこで、黒化型を色素細胞の分化に関わる遺伝子機能の喪失による劣性遺伝、ストライプ型と非ストライプ型は黒色素胞の発現量調節に関わる遺伝子機能の多少による不完全優性遺伝であるとの仮説を立て、各色彩パターンを示す雌個体が産んだ卵から孵化した子ヘビの色彩パターンを決定し、各色彩型の出現様式と頻度から、仮定した遺伝様式の可否を判定する。

4. 候補遺伝子と核ゲノムの分子集団遺伝学的解析による自然選択の検出

魚類や両生類、鳥類などで色素細胞の分化に関わる遺伝子群から有望な候補遺伝子を検索し、シマヘビの各色彩型の変異に対応する遺伝子を絞り込む。シマヘビの核遺伝子については、約100個のESTマーカーがすでに開発されているので、それをアンカーとするゲノム解析を行い、分子集団遺伝学的手法を用いて、自然選択によって適応的進化を遂げた遺伝子領域を検索する。有望な候補遺伝子を絞り込んだのち、自然選択の痕跡の有無、強さ、方向性、時期を各遺伝子領域について、統計的に検出する。

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・被食者関係の成立機序を分子系統地理学的手法を用いて推定し、捕食者と被食者の適応進化に関して、以下の研究成果を得た。

1. 捕食者-被食者系の成立年代推定

オカダトカゲは、日本本土の集団から約500万年前に分岐したが、現在の島々に拡散し、各島嶼集団が分化したのは新しく、約30万年前以降であると推定された。一方、シマヘビは、東日本の系統と西日本の系統からそれぞれ独立に、約30万年前に伊豆諸島に分布するようになったと推定された。シマヘビが捕食者として定着した島では、オカダトカゲの生活史、色彩に捕食回避に資する適応的な形質が発達したことが明らかになった。

2. 捕食者の色彩認知、回避行動の解析

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。

野外実験は2014年8月19日～22日に新島で、同年9月22日、23日に神津島で行った。実験で用いるシマヘビモデルは、塑像用の粘土で長さ1m、直径2cmのヘビの形に成形し、2パターン(Stripe型、Non-Stripe型)の模様を用意した。また、ヘビの形を認識しているかどうかをモデルと対比させるコントロール実験の必要性から、長さ1m程の枝を用意した。実験は晴れの日、7時から17時まで行った。特にオカダトカゲの個体数が多かった1区画(幅1m)にシマヘビモデル、または枝を置き、置いた前と置いた後、そして置いてから10分程度経過した後のオカダトカゲの個体数の変化を記録した。シマヘビモデルを置いた後は1時間おきにモデルを置く場所を変えて新島で30センサス、神津島で15センサス分の実験を行い、個体数の記録をとった。

新島のオカダトカゲは、Stripeの色彩を施したモデルを置いた区画には、設置前は44回出現したが0回になり、枝に関しては近づいた個体や、逃げた個体がいた。また、Non-Stripeの色彩を施したモデルには区画に入った46回出現した内、1回のみ接近した個体がいた。神津島のオカダトカゲは、Stripeの模様を施したモデルは全て避けるが(17回中0回)、Non-Stripeの模様を施したモデルは避けず、33回中14回まで至近距離に近づいた。また、枝に関しては新島同様、出現したりしなかったりした。新島と神津島のトカゲのモデルに対する認知能力を比較すると、Stripeモデルは新島、神津島共にモデルを置いた区画には出現しなかったことから、有意差は無かった。一方で、Non-Stripeモデルでは新島と神津島間で有意差があった。

新島と神津島で行った実験で、両島間で回避反応を示す色彩型が異なった(2島間で有意差が見られた)ことから、オカダトカゲの視覚的な捕食者認知能力には地理的変異が生じていると考えられる。新島では3種類の色彩型を認知し、一方で神津島ではStripeモデルのみに対して回避反応を示したため、同所的に生息する捕食者の特徴を視覚的要因によって認知している、すなわち、優占するな捕食者の特徴をより確実に認知できると示唆でき、個体群動態の変動を捉えることができると考えられた。

3. 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彩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与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。

4. 候補遺伝子と核ゲノムの分子集団遺伝学的解析による自然選択の検出

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ーンの解析を試みた。

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。

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 3 件)

Brandley MC, T Kuriyama, and M Hasegawa. (2014) Snake and Bird Predation Drive the Repeated Convergent Evolution of Correlated Life History Traits and Phenotype in the Izu Island Scincid Lizard (*Plestiodon latiscutatus*) PLoS one 9 (3), e9223

査読有

Murakami, A. M. Hasegawa, and T.Kuriyama (2014) Identification of Juvenile Color Morphs for Evaluating Heredity Model of Stripe/Non-stripe Pattern Polymorphism in Japanese four-lined snake *Elaphe quadrigata*. Current Herpetology 33(1):68-74

査読有

Kuriyama, T., Misawa, H., Miyaji, K., Sugimoto, M. & Hasegawa, M. (2013). Pigment cell mechanisms underlying dorsal color-pattern polymorphism in the Japanese four-lined snake. J. Morphol. 274, 1353-1364. **査読有**

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

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

森 哲 (MORI, Akira)
京都大学・理学(系)研究科(研究院)・
准教授
研究者番号 : 80271005