



Title	アブラムシにおける競争と性投資をめぐる進化生態学的研究
Author(s)	李, 楊
Citation	北海道大学. 博士(農学) 甲第13589号
Issue Date	2019-03-25
DOI	10.14943/doctoral.k13589
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/77234
Type	theses (doctoral)
File Information	Li_Yang.pdf



[Instructions for use](#)

アブラムシにおける競争と性投資をめぐる

進化生態学的研究

北海道大学 大学院農学院

共生基盤学専攻 博士後期課程

李 楊

目録

第 1 章 序論	1
第 2 章 寒天培地法	13
はじめに	13
制作方法	13
材料と方法	13
結果	15
考察	17
第 3 章 アブラムシ間の競争実験：エンドウヒゲナガアブラムシは他種と他ク ローンの存在を認識する	22
はじめに	22
材料と方法	22
結果	26
考察	33
第 4 章 エンドウヒゲナガアブラムシにおけるクローンレベルの性表現	68
はじめに	68
材料と方法	69
結果	71
考察	74
第 5 章 エンドウヒゲナガアブラムシにおける異なるホストレース及びそれら の雑種の適応性に関する研究	85
はじめに	85

材料と方法	85
結果	89
考察	92
第6章 ユキムシ(トドノネオオワタムシ)における性比変動とクローンレベル の性投資	113
はじめに	113
材料と方法	113
結果	117
考察	121
第7章 ユキムシ(トドノネオオワタムシ)における地域間交雑の遺伝的影響に 関する研究	135
はじめに	135
材料と方法	136
結果	138
考察	139
第8章 総合考察	147
要旨	154
謝辞	158
引用文献	159

第1章 序論

アブラムシは半翅目(*Hemiptera*) アブラムシ上科 (*Aphidoidea*) に属する昆虫の総称である。アブラムシは、作物、野菜、果樹、花卉及び林木に寄生し、口器で植物の篩管液を吸引して生活する。現在まで、約 5000 種のアブラムシが発見されてきた。

アブラムシの防除は各国において重要な問題となっており、また、世代が短く、採集・飼育しやすいことから、それらに関する研究が数多く存在する。本章では、これまでのアブラムシの飼育、競争、性比及び適応性の研究の進展を紹介し、最後に本論文の目的、主な内容及び研究材料について述べる。

1.1 アブラムシの飼育方法に関する研究の進展

アブラムシの成長・繁殖に関する研究では、数々の飼育方法が用いられてきた。これらの方法は、植物の芽出し苗や人工飼料の使用に分けられる (Mittler & Dadd 1962, 1964; Adams & van Emden 1972; Blackman 1988)。現在の人工飼料を用いる飼育方法では Mittler & Dadd (1962) によって確立されたパラフィルムシステムが使われる。その方法は数々のメリットがあり、例えば、飼料の節約やアブラムシの摂食活動及び産子を観察しやすいことである。Van Emden (1976)は人工飼料でモモアカアブラムシを 20 年間連続で繁殖することに成功した。しかし、人工飼料で飼育したアブラムシは宿主植物で飼育した場合に比べて小さく、発育速度が遅く、また、産子数が少ないことが明らかになった。最もうまく飼育できたアブラムシでも、人工飼料による飼育は天然飼料ほど成長、繁殖によい効果を示さないことが報告されてきた (Mittler & Dadd 1962; Dadd & Mittler 1966; Akey & Beck 1972; Mittler 1988)。さらに、人工飼料調製のためのコストや滅菌の困難などの原因によって、人工飼料の幅広い使用はあまり進まなかった (Vanderzant 1974; Gao *et al.* 2012)。従って、多くの飼育実験は植物の株を育てることを通じて行われてきた。しかし、植物を用いた飼育では、さまざまな欠点が明らかになった。たとえば、アブラムシが逃げやすくなることや葉に隠れるため、正

確な観察がしにくくなることなどである。それ以外では、濡らした脱脂綿で葉柄を包んだり、植物を栄養液に入れたりして、アブラムシを維持する方法も報告されている (Blackman 1988; Xiang *et al.* 2012)。

1965年に Hughes & Woolcock によって leaf-discs method が開発された。この方法では、特製の工具で葉を切り、栄養液上に載せることで葉を維持する。しかし、その方法の欠点もすぐに明らかになった。栄養液の蒸発とともに飼育容器の湿度が増し、そのため、カビが生えやすくなり、また、アブラムシが水に溺れて死ぬ可能性も高まった。

1981年に Milner は、leaf-discs method を改良した新 leaf-discs 法を発明した。その方法は上述の栄養液を沸騰させ、1%の寒天を混ぜ、容器に入れ、凝固させるというものである。工具で葉を切り、培地に貼り、最後に、アブラムシを付けて、容器の上下を逆に設置する。その方法は多くの実験で、短期間アブラムシを維持するために使用された (Lamb & MacKay 1987; Chen *et al.* 2005; Bos *et al.* 2010; Insecticide Resistance Action Committee 2016; Li *et al.* 2016)。Brodeur & Cloutier (1992)によると、葉を脱脂綿上に置く方法と比較すると、その方法で飼育したアザミウマの生存率が高くなることが明らかになった。

1.2 アブラムシの競争に関する研究の進展

自然の中で、いかなる生物も、その分布や個体数は、同一区域に存在する他の生物と、それら生物を取り巻く非生物的環境に影響を受ける。植食性昆虫の活動は、日長、温度及び湿度などの影響を受け、また、自然環境だけでなく、天敵や他の植食性昆虫、宿主植物からの影響も受ける。植食性昆虫間の関係は種間関係と種内関係に分けられ、ある種にとって、他種との種間関係は有利になる場合（相利共生）と不利になる場合がある（捕食、寄生）。

異種間の相互作用は中立・競争・相利共生・偏利共生・寄生・捕食などに分けることができる。ただし、植食性昆虫間の相互作用は、中立・競争・相利共生・偏利共生から成る。競争に関する理論は、Darwin (1859) に遡ることができる。Darwin は、生物の進化の過程において、食物、資源及び空間を

巡る種内競争と種間競争が生じ、特に類似した生態的要求を持つ種間では、競争が激烈になり得ると仮定した。近年の多くの研究は、種間競争が普遍的に存在しており、特に植物の師管液を吸汁する種間では師管液を巡る競争が生じることを報告している(Whitham 1978 ; Moran & Whitham 1990)。

種間競争とは、異種間が生息地や食物などをめぐって争うことである(嶋田ら 2005)。種間競争では、一方の側が有利になり、相手の数を抑制したり消滅させたりすることがある。資源が制限される場合、昆虫個体間の競争が生じるが、競争能力は遺伝性を持ち、進化的に変化する(Kraaijeveld & Godfray 1997; Fellowes *et al.* 1998)。ある研究によると、エンドウヒゲナガアブラムシの競争能力は有翅型の出現率との間に有意な正の相関が見いだせるという(Hazell *et al.* 2005)。しかし、現在までの研究では、有翅型の産出は、競争能力とは直接関係しない環境要因によって引き起こされることが明らかにされている。例えば、密度効果 (Lees 1967)、温度 (Lamb & White 1966)、餌の質 (Mittler & Sutherland 1969)、日長 (山口 1976)、寄生 (Christiansen-Weniger & Hardie 1998)等が有翅型の出現率を左右する。

自然の中で、種は個体群を単位として存在しており、生物個体は集団から離脱して単独で生存することができないがゆえに、個体同士が多少なりとも相互に影響を与える。種内競争による密度依存性は、個体群の増殖率及び体サイズに影響を及ぼすと報告されてきた (Thirakhupt & Araya 1992; Woiwod & Hanski 1992; Zhang *et al.* 2006)。すなわち、多くの植食性昆虫は食物を競合するストレスに晒されるため、通常の場合では、植物の栄養素が豊富なほど、密度依存性はあまり働かない。それに対して、栄養素欠乏の場合には、密度依存性が強く働く。従って、アブラムシにおける個体群動態に影響を与える要因には、環境要因と生物要因 (例えば、天敵、宿主植物の質) だけでなく、種内競争も関係している。

エンドウヒゲナガアブラムシは緑型と赤型である 2 種類に分かれており (Harrington 1945)、細菌から遺伝子水平転移で獲得されたカロテノイド不飽和化酵素遺伝子により体色が決まる。この遺伝子を持つアブラムシは赤型

のカロテノイド色素を合成できるので赤色になるが、この遺伝子を欠いていると緑型になると報告されている(Tsuchida *et al.* 2010)。現在までエンドウヒゲナガアブラムシに関する研究では、数多くは緑型を対象として研究されてきた (Sandström & Pettersson 1994; Sasaki & Ishikawa 1995)。エンドウヒゲナガアブラムシの個体群動態は餌条件と環境条件から影響を受ける (Bommarco & Ekblom 1996)。このうち、日長や温度及び湿度などの要因は、その生存率と発育時間に顕著な影響を与えることが報告されている (大久保利道 2001)。また、エンドウヒゲナガアブラムシにおいて、宿主植物によって、適応性や表現型に大きな差異が生じることがよく見られる (Briggs & Walters 1984; Mopper & Strauss 1998)。日本では、赤型はほとんど存在しないが、中国や欧米の研究では、長い期間にわたって高い頻度で赤型が存在すると報じられている (Caillaud & Losey 2010)。また、中国北西部では赤型の数が年々増加してきたこと (Du *et al.* 2012) や、赤型と緑型との間に寿命と産子数において有意な差があることが明らかになった (Ma & Liu 2014)。

1.3 アブラムシの性比に関する研究の進展

表現型の可塑性とは、生物個体が環境条件に応じてその外部形態を変化させる能力のことである (Price *et al.* 2003)。それは遺伝的な原因により決定され、生物の環境に対する適応機構の一つである。表現型可塑性は、近年、生物の生態と進化におけるホットスポットのテーマとなっている。

アブラムシは生物の中で最も顕著な表現型多型を示す。そのうち、有性生殖と無性生殖の切り替えは、アブラムシの進化および環境への適応において重要な生態学的な意義を持つ (Poupoulidou *et al.* 2006)。アブラムシの表現型可塑性に影響を与える要因には、個体密度、温度、日長などの様々な要因があることが知られている。春から夏の長日条件下で多くの種類のアブラムシは単為生殖で世代を繰り返すため、いくつかの種のアブラムシは農業生産に悪影響を与える。秋になると、低温短日条件下で産性虫が出現し、卵性メスとオスを産出する。卵生メスとオスが交尾した後、受精卵が越冬する。したがって、アブラムシにとって、有性生殖は、気温の低下する冬を乗り切るだけ

でなく、遺伝的多様性を高める手段となる。

エンドウヒゲナガアブラムシ(*Acyrtosiphon pisum*)は、南ヨーロッパから中央アジア、北アフリカ周辺が原産地で、農業の伝播など人間の活動に伴って分布を広げたと推定されており(Peccoud *et al.* 2009)、現在では、ほぼ全世界の温帯域に生息している。エンドウなどマメ科植物を寄主とする害虫である。短日条件と低温により北海道に生息するエンドウヒゲナガアブラムシは有性世代を産みだす。北海道では有性生殖するが、本州では、最北端の地域を除いて無性生殖を行う(Kanbe & Akimoto 2009)。つまり、本州以南以西では、雄を作らず、雌だけで増えていく。このため増殖率が高く、害虫として農作物に被害を与えることもある。

性の進化は進化生物学の中で最も注目され、しかも完全には解決されていない問題の一つである(秋元 2002)。通常の場合、卵生雌は無翅型であり、オスには有翅型と無翅型の2型がある。また、産性虫は「有翅型オスのみを産む」タイプ、「無翅型オスのみを産む」タイプおよび「両方とも産む」タイプという三つのタイプに分かれており、地理的な位置によって産性虫のタイプが異なることが報告されてきた(MacKay 1987; Lees 1990)。

頻度依存選択とは、表現型の適応度が集団中の他の表現型との相対的頻度によって決まることであり、この選択は性比進化の基本的原則である(Charnov 1982; Wrensch & Ebbert 1993; Hardy 2002; West 2009)。ある性別の比率が閾値を超えると、少数の性をより多く生産するクローンが有利となり、多数の性では、急激な比率の低下が生じる。つまり、少数の性を生む親(クローン)の有利性に基づく頻度依存選択により、集団の性比バランスは維持される。

頻度依存選択は1884年にDüsingによって提唱され、1930年にFisherにより明確に定式化された。それ以降、この理論は広く受け入れられてきた(Frank 1990; Seger & Stubblefield 2002)。性比進化のメカニズムを解明するためには、野生集団において頻度依存選択がどのように機能するのかを明らかにする必要がある。現在まで、いくつかの実験個体群において、個体群の

性比が1:1から人為的に歪められた場合でも、頻度依存選択により、次第に1:1に近づくことが観察されてきた(Conover & van Voorhees 1990; Basolo 1994; Carvalho *et al.* 1998; Blows *et al.* 1999)。しかし、野生集団において頻度依存選択が存在するかどうかを確認した研究はまだ少ない。

ただし、一つの例外は蝶において観察されている。ボルバキア感染のため、集団性比がメスに偏るようになった集団において、数年を経て抵抗性遺伝子が拡散し、性比が1:1に回復した事例が知られている (Charlat *et al.* 2007)。従って、野生集団での頻度依存選択を検出するために、性比を攪乱させる生物的因子あるいは環境的因子が必要である。ワタムシ亜科は大型で性比の定量化が容易であるため、しばしば性比の研究に使用されていた (Yamaguchi 1985; Kindlmann & Dixon 1989; Kurosu & Aoki 1991; Foster & Benton 1992; Moran 1993; Foster 2002; Akimoto & Yamaguchi 2004; Akimoto & Murakami 2012; Akimoto *et al.* 2012)。アブラムシの母親は卵細胞からX染色体を排除することにより、その細胞をオスに向かって発生させる。

ユキムシ (*Prociphilus oriens*: 標準和名、トドノネオオワタムシ) は、秋になると有翅型に成長し、腹部に卵生メスとオスの胚をもち、1次寄主のヤチダモに向かって移動する。ヤチダモ上で卵性メスとオスを産子し、卵生メスはオスと交尾後、産卵する。母親は腹部での子供の性比をコントロールできると指摘されてきた(Akimoto *et al.* 2012)。卵性メスとオスではサイズが異なるので、母親の性投資量を解明するためには、子供への投資量は息子・娘の数だけでなく、両性へのエネルギーの配分率で評価すべきである。両性を生むコストが適切に評価されたら、個体と集団の性比だけでなく、個体や集団レベルでの子供への投資量まで明らかにできる(Akimoto *et al.* 2012)。

Yamaguchi (1985) によって、ユキムシの性投資比に関して先駆的な仕事が行われ、その後、Frank (1987) は Constant male hypothesis を提唱した。これは、局所配偶競争 (LMC) が生じる条件下において、母親はオスを一定数作った後、残りの資源全てをメスに投資することを予測する(以下: ♂♀産性虫)。したがって、母親の資源が多いほど、メスの数が増加し、性比がメス

に偏る。しかし、後の研究では、Constant male hypothesis とは違う結果が得られた(Moran, 1993; Akimoto *et al.* 2012)。ユキムシにおいて、メスのみを生んだ母親(以下：全メス産性虫)が存在し、また、性比はメスに大きく偏ったことが明らかになった(Akimoto *et al.* 2012)。この結果を通じて、母親が成長中に獲得した資源量に基づいて、母親は子供の性比をコントロールできるということが明らかにされた。ユキムシにおける性配分が環境によって異なるという現象は、環境性決定システムを持つ動物と同じように、集団の性比は年と地域によってバラつくことが予測される。実際、異なる地域間でユキムシの性比は差が観察されてきた(Akimoto *et al.* 2012)。

1.4 アブラムシの適応性に関する研究の進展

古くから、地理隔離は集団間の生殖隔離を促進すると報告されてきた(Schluter 1996, 1998)。異所性集団はそれぞれの生息地に適応を遂げる過程で、遺伝的不和合性の蓄積を引き起こし、その結果、生殖隔離を生み出す。また、同じ生息地域においても、生息地選択と配偶者選択が協調的に働くことによって、生殖隔離集団が進化すると主張されている(Via *et al.* 2000)。後者の進化プロセスは、生態的種分化(Ecological speciation)と呼ばれている。1990年代から、生息地選択と種分化との関係が注目されてきた(Rice & Hostert 1993; Bush 1994; Schluter 1998)。しかし、アブラムシの生息地選択が種分化にどのような影響を与えるのかを解明した研究は数少ない。

数多くのアブラムシは、一種あるいは近縁の数種の植物に寄生する。そのうち、約10%の種類は1次宿主の栄養状況が悪化するにつれて、宿主転換を行う。非寄生転換性の種は特定の植物上で世代を繰り返す(Eastop 1973)。

アブラムシの宿主特異性の謎を明らかにする前に、行動・化学的な反応や形態観察を通して、アブラムシが宿主と非宿主を識別する方法及び宿主における栄養価の高い部位とそうでない部位を識別する方法を解明しなければならない。アブラムシは安定な植生領域に入ると、嗅覚或いは視覚により宿主を識別できる。異なる環境下における個体群間の形態・生理・行動的な相違に対する研究によると、環境特異性が種間での様々な相違の基礎となり、ま

た、同種でも環境によって適応性や表現型に大きな差異が生じる (Briggs & Walters 1984; Mopper & Strauss 1998)。

長期的な進化の過程では、アブラムシは生活を全面的に宿主植物に依存しているため、寄主植物に適応を遂げる過程で植物から強い選択圧を受けて来た。食植性昆虫には、複数の寄主植物種を利用する種が知られており、寄主植物への適応を通して、発育段階、形態、生理特性においてそれらの間に遺伝的な分化が認められることがある。特定の植物に対して独特の適応を遂げた集団はホストレースと呼ばれる (Akimoto 1990)。アブラムシの繁殖力は宿主植物の種類及び発育時期と密接な関係を持っている。近年、多くの研究者により、生態学の側面からアブラムシの宿主植物に対する適応に関する研究が行われた。

Moran (1981)はキク科に寄生するアブラムシ *Uroleucon caligatum* を用い、コロニーの重量を成長効率の指標として実験を行った。同種の植物個体の間でもコロニーの重量に倍以上の差が現れた。つまり、こうしたアブラムシの成長効率の違いには、宿主植物のフェノロジーにかかわる遺伝的な違いが関与していると推測された。

同一の種でも宿主植物によって生物学的特徴が異なるという研究報告もある。ツルレイシ、ヘチマ及びササゲに寄生するワタアブラムシ (*Aphis gossypii*) における発育速度及び繁殖を調べた結果、ツルレイシにおける適応性をもっとも高いことが明らかになった (Zhou *et al.* 2002)。アブラムシでは、クローンによって、好適な宿主植物が異なる現象は、アブラムシクローンと植物の間に適応性に関して交互作用が存在することを意味する (秋元 2002)。モモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) は、夏の時期、栄養状況の悪化した一次宿主 (モモ) から離れ、栄養状態のいい二次宿主に移動する特性を持っている。しかし、ある宿主植物に寄生するホストレースは、新たな植物に移植された後、生活史形質に変化が起こった例がある。メロンに寄生するワタアブラムシ (*A. gossypii*) をナスに移植した実験では、移植後、寿命が短くなることや、産子数が減少したりするという結果が示された (Saito 1991)。アブラ

ナ、タバコ、白菜から採集した無翅型のモモアカアブラムシ *M. persicae* をモモに移植した場合には、生存率が低くなったと報告されている (Takada & Tamura 1987)。

Agarwala & Das (2007) はワタ (*Gossypium hirsutum*)、ナス (*Solanum melongena*)、サトイモ (*Colocasia esculenta*) 及びトウガラシ (*Capsicum annuum*) からワタアブラムシを収集し、成長パラメーターを実験的に確かめた。その結果、宿主ホストレースによって発育時間や繁殖率などさまざまな指標が異なることがわかった。また、4種類の植物のうち、綿における個体サイズはもっとも大きく、成長効率が最も強いという結果が示唆された。なお、野外では、サトイモにおけるワタアブラムシのほうがナスにおけるそれより脚が長いことが明らかになった (Agarwala & Choudhury 2013)。

ユキヤナギアブラムシ (*Aphis spiraecola*) にはユキヤナギとミカンという2種類のホストレースがある。両者の孵化時間を比較すると、同一温度条件下ではユキヤナギホストレースのほうが、卵の孵化期が早いと報告されてきた (Komazaki 1998)。

同種の異なるクローンを交雑させて生じた雑種の適応性に関する研究がある。高田 (1988) は色彩が異なるモモアカアブラムシのタバコ寄生型 (紅色) と非寄生型 (黄色) を使用し、交雑個体を得た。交雑によって生じた雑種 (紅色) における10日目の生存率を調べた結果、雑種個体のタバコにおける生存率は、いずれも非タバコ型親クローンのそれより高く、タバコ型親クローンのそれより低かった。

しかし、アブラムシが異なる宿主植物に寄生する場合でも遺伝的分化が生じていないことを示す研究もある。Fenton *et al.* (1998) はジャガイモと甜菜から採取したモモアカアブラムシをそれぞれ使用し、rDNA 遺伝子について調査した結果、遺伝的分化が見られなかった。

現在までの研究結果を通じて、近親交配にしる、遺伝的に離れた集団の交雑にしる、集団内外交配に比べて、子孫の適応性に負の影響が生じることが明らかにされてきた (Darwin 1876; Dobzhansky 1936; Wright 1937; Crow

1948, Lynch 1991; Schierup & Christiansen 1996; Merilä & Sheldon 1999; Bierne *et al.* 2002; Edmands & Timmerman 2003; Shpak 2005)。近交弱勢とは、集団の中からランダムに選び出された個体よりも、血縁が近いもの同士が交配（近親交配）することで、ホモ接合体の割合が増加し、平均的に適応度の低い個体が増加していくことを意味する（Charlesworth & Charlesworth 1987, 1999）。特にヘテロ接合体として集団中に保存されていた、有害あるいは弱有害遺伝子など劣性遺伝子が近親交配によって、ホモ接合体化し、適応度の低下が発現することが近交弱勢の原因と報告されている(Mukai *et al.* 1974; Deng *et al.* 1998)。数多くの生物に近交弱勢が確認されてきた（Crnokrak & Roff 1999; Keller & Waller 2002）。

通常の場合、外交配は近親交配と比べると、より高い適応性を持っていると報告されてきた(Lynch & Walsh 1998)。例えば、アコヤガイ(*Pinctada martensii* Dunker)において、外交配で生まれた子孫の殻長と重量は近親交配による子孫よりも大きいと報告された（姜 1985）。なお、Akimoto (2006) は、ユキムシにおいて、生殖腺には、集団間交雑のハイブリッドと自殖個体の間に有意な差が見られなかったが、雑種の方が大きい傾向があると報じた。5章では、異なるエンドウヒゲナガアブラムシのホストレースを使用し、作成した雑種は繁殖能力において、親クローンより優れることを明らかにした。しかし、遺伝的に遠縁な個体間の交配によって生まれる子供が、両親よりも両親の生息する環境に対する適応度が低く(Via *et al.* 2000)、またはより遺伝的に近縁な個体間の交配によって生まれる子供よりも適応度が低い場合もある。この現象は異系交配弱勢(Outbreeding depression)と呼ばれている(Lynch 1991; Edmands 1999)。その原因については、遺伝的要因の相互作用により、遺伝的不和合性を引き起こすことであると認められている(Waser & Price 1994; Trame *et al.* 1995; Byers 1998; Fenster & Galloway 2000; Waser *et al.* 2000; Pelabon *et al.* 2005; Willi & Van Buskirk 2005)。例えば、ヨーロッパのサケマス類においては、移植個体と在来の集団の交雑によって、F1の適応性が低下したことが観察された(Hallerman 2003)。

1.5 本論文の目的と主な内容

以上の背景を踏まえ、アブラムシ類の防除を効率よく進めるためには、生活史の解明は必須である。従って、本論文では日本においても中国においても農業害虫として知られるエンドウヒゲナガアブラムシと宿主転換を行い「冬の風物詩」と呼ばれる林業害虫のユキムシ（トドノネオオワタムシ）を材料として、それらの競争、性比変動及び適応性について論じた。農林業生態系における、典型的なアブラムシの生態学的特徴の研究は、総合的害虫管理システム確立とアブラムシにおける生活史の進化の基礎となる有益な知見をもたらすものと考えられる。

まず、第2章において、新しいアブラムシの飼育方法である「寒天培地法」について紹介した後、その方法の効果を評価した。第3章では、単為生殖の段階においてエンドウヒゲナガアブラムシの種内競争と種間競争の過程及び結果を観察し、エンドウヒゲナガアブラムシの競争能力を左右する要因を検討した。第4章では、低温短日条件下で、エンドウヒゲナガアブラムシにおいて、同所内での異なるホストレースの性比及びクローン間の相互作用を明らかにした。第5章では、異なるエンドウヒゲナガアブラムシのクローンの有性世代を交尾させ、雑種(hybrid)を作成した後、異なるホストレース及びそれらの雑種の適応性を比較した。第6章では、札幌、美唄、岩見沢である3地点14年間にわたるユキムシにおける性比の調査と飼育実験を通じて、クローンレベルの性比を評価した。第7章では、異なる地域から採集したユキムシを用いた地域間交雑の表現型効果を検討し、近隣の地域間でも遺伝的浮動が大きな役割を果たしていることを実証した。第8章ではこれらの諸結果を総合して、エンドウヒゲナガアブラムシとユキムシの生存戦略を議論した。

1.6 研究材料の概要

エンドウヒゲナガアブラムシ(*A. pisum*)は、半翅目のアブラムシ科に属し、南ヨーロッパから中央アジア、北アフリカ周辺が原産地で、農業の伝播など人間の活動に伴って分布を広げたと推定されており、現在では、ほぼ全世界

の温帯域に生息している。エンドウなどマメ科植物を寄主とする害虫である。エンドウヒゲナガアブラムシ(*A. pisum*)は春から夏の長日条件下で単為生殖で世代を繰り返す。秋になると、短日条件と低温により北海道に生息するエンドウヒゲナガアブラムシは有性世代を産みだす。北海道では有性生殖するが、本州では無性生殖を行う(Kanbe & Akimoto, 2009)。つまりオスを作らず、メスだけで増えていく。このため増殖率が高く、害虫として農作物に被害を与える。

ユキムシ(トドノネオオワタムシ)(*P. oriens*)は半翅目のアブラムシ科に属し、北海道・本州、サハリン、朝鮮半島、シベリアに分布している(松下1943)。日本では、北海道、東北地方を中心に、10月-12月頃空中を飛翔する。ユキムシは、寄主転換性のアブラムシであり、一次宿主であるヤチダモと二次宿主であるトドマツで世代を繰り返す(Blackman & Eastop 1994)。ユキムシは夏から秋にかけて、2次寄主であるトドマツの根で増殖する。秋になると有翅型に成長し、腹部に卵生メスとオスの胚をもち、1次寄主のヤチダモに向かって移動する。ヤチダモ上で卵性メスとオスを産子し、卵生メスはオスと交尾後、産卵する。卵は幹上で越冬し、幹母世代が春に越冬卵から孵化する(Lampel 1968, 1969; Yamaguchi 1985)(図6-1)。

第2章 寒天培地法

1 はじめに

寒天培地法は簡便ではあるが、アブラムシでは、その方法の効果を評価する研究が極めて少ないため、本研究では、エンドウヒゲナガアブラムシ及びその宿主植物であるソラマメを使用し、本方法の評価を行った。まず、培地の制作方法を紹介する。

2 制作方法

直径 10cm、高さ 5cm の円筒型のプラスチック容器を飼育に使用した。付属カバーに約 25 個の通気穴を開けた。原液として hyponex (Hyponex Japan, Osaka, Japan) を使用した。その原液は N-P-K = 6-10-5 であり、植物の健全な生育に必要な 15 種類の栄養素を含む。使用する時は、1 リットルの水に 1 ミリリットルの原液を入れ、1000 倍の栄養液を作成した。

調整した栄養液をビーカーに入れ、1%の寒天粉末(Kanto Chemical, Tokyo, Japan)を混ぜ、レンジで沸騰させた。その後、ミキサーで攪拌し、50°Cまで冷却してから、用意した容器に 80ml ずつ移し、室温まで冷却した。室内で生育させたソラマメ株から葉 1 枚を取り、栄養液を葉の上面に塗り、上面を隙間が出来ないように培地に貼った。できるだけ無傷の状態の葉を選択した。もし、葉が平らでない場合は、鋏で整形した後、貼りつける。最後に、アブラムシを付け、容器を逆さにする (図 2-1-A)。

3 材料と方法

3.1 昆虫材料

研究室で維持されてきた、エンドウヒゲナガアブラムシの以下のクローンをを用いた。

2011 年 5 月 6 日に東京農工大学構内 (東京都府中市) のカラスノエンドウから採集したエンドウヒゲナガアブラムシの 1 クローン (三橋亮太氏採

集)。

3.2 宿主植物

本研究で使用したソラマメの芽だしと株は恒温器 (MIR-254; Sanyo Corporation, Mito, Japan, L:D = 16:8, 20°C, 湿度 50-60%) で栽培したものである。株の成長期は 12-15 日であり、使用した葉はそれから採集したものである。

3.3 実験環境

本研究は恒温器 (日長 L:D = 16 : 8 ・ 温度 20°C ・ 湿度 50-60% ・ 光強度 5.8 -7.3 W/m²) で行った。

3.4 実験方法

(1) 寒天培地法がソラマメ葉に対する影響

複数のソラマメ株から頂芽の下にある 36 枚の葉を採取し、鋏で長方形 (L:W=3cmX2cm) に切り揃え、ランダムに 12 枚ずつ三グループに区分した。1 つのグループは対照区として、乾燥させて乾燥重量を分析天秤 (H110; Sartorius Corporation, Tokyo, Japan) で測った。ほかのグループでは、生体重量を測り、画像をコンピューターに取り込み、image J (version 1.50i) で面積を測った (Abràmoff *et al.* 2004)。その後、栄養液を入れた培地と水のみを入れた培地をそれぞれ 2 個ずつ用意し、葉を 6 枚ずつ培地に貼りつけて恒温器で観察した。7 日後、各培地での葉の面積や乾燥重量および生体重量を測定した。

(2) 寒天培地法がエンドウヒゲナガアブラムシ (農工大クローン) に対する影響

一枚の葉を入れた培地に 1 齢 (生後 24 時間内) のエンドウヒゲナガアブラムシ 1 頭を移植し、1 世代目として、恒温器で飼育した。4 日ごとに、新しい葉を培地に付け加えた。こうして 1 世代の成虫に達するまでの発育時間を測定した。アブラムシが成虫になった後、成虫をプレパラートにし、写真を撮り、画像をパソコンに取り込み、ImageJ を用いて後脚の femur と tibia の合計の長さを測った。1 頭の 1 世代目から生まれた 2 世代目 1 齢幼虫を新しい

培地に移植し、さらに飼育を続けた。同じ方法を使用し、2世代目と3世代目の成虫の後脚の femur と tibia を測定した（12回の反復）。

培地での飼育と同時に、ソラマメの芽出し（発芽後3-5日）に1頭の1齢のエンドウヒゲナガアブラムシを移植し、1世代目として、恒温器で飼育した。アブラムシが成虫化し産子した後、後脚の femur と tibia の合計長を測った。1頭の1世代目から産出された1齢幼虫を新たな芽に移植し、2世代目として飼育した。同じ方法を使用して、2世代目と3世代目成虫後足の femur と tibia の合計長を測定した（12回の反復）。

さらに、培地と芽出しに1齢エンドウヒゲナガアブラムシ1頭（農工大クローン）をそれぞれ移植し、芽出しで飼育したアブラムシは8日ごとに新しい芽出しに移植し、産子開始から日々幼虫の数を数えた後、幼虫を取り除き、成虫が死亡するまで観察を続けた。こうしてエンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）の寿命及び産子数を培地と芽出し苗で記録した（各12反復）。

4 結果

4.1 寒天培地法がソラマメ葉に対する影響

観察を通じて、葉の見た目が完璧ほど、長期間正の効果を持つことが分かった。無傷のソラマメの葉を、虫を付けない状態で維持すると（図2-1-B）、15日経っても、健全な状態を保つことが分かった。図2-1-Cにおいて、15日間培地に置いた葉の状態を示した。その後、1匹のエンドウヒゲナガアブラムシの成虫及び複数の幼虫をつけてみると、成虫は産子し、幼虫は脱皮できることが分かった。

Tukey-Kramer testを行った結果、寒天培地法に7日間おいたソラマメ葉の乾燥重量は、栄養液区においても、水区においても、実験前の乾燥重量（0.0147g）よりも有意に増加したことが明らかとなった。7日後、両グループの平均乾燥重量は、それぞれ0.0232と0.0224gであり、2つの間に有意差はなかった（図2-2-A）。したがって、この実験は、ソラマメの葉が培地の

うえで成長し続けることを明らかにした。

栄養液区と水区の両グループの間に、実験前に生体重量には有意差がなかった（図 2-2-B）。7 日後、栄養液区と水区の平均生体重量はそれぞれ 0.163g と 0.143g であった。実験前のデータと比較すると、両区とも有意に増加していた。さらに、栄養液培地区と水のみ培地区の間に有意な差があることが認められた。つまり、寒天培地は、一定時間に葉の鮮度を維持でき、しかも、栄養液培地は栄養液を入れなかった培地より葉の鮮度を保つことに、より高い効果が認められた。

葉面積の場合には、同じサイズに切断した葉を用いたため、両区の初期値では、平均葉面積に有意差がなかった。それぞれは 5.576 cm² と 5.489cm² であった。7 日後、栄養液区で培養した葉の面積は 6.193cm²、水区で培養した葉の面積は 6.124cm² となった。いずれの培地でも初期面積と比較すると、有意に面積が増加した（図 2-2-C）。

4.2 寒天培地法がエンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）に対する影響

2 要因 ANOVA の結果、エンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）の 1 齢から成虫までの発育時間において、両方法及び世代の間に有意差がないことが分かった（飼育方法, DF = 1,66, F = 0.72, P = 0.40; 世代, DF = 2,66, F = 0.72, P = 0.49; 交互作用, DF = 2,66, F = 0.24, P = 0.79)。また、後脚長（tibia と femur の和）にも有意差が認められなかった（方法, DF = 1,66, F = 0.58, P = 0.45; 世代, DF = 2,66, F = 1.02, P = 0.37; 交互作用, DF = 2,66, F = 1.21, P = 0.30)。

寒天培地法とソラマメの芽出しで飼育したエンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）の平均産子数はそれぞれ 74.58 ± 8.9 頭(SD) と 77.83 ± 10.7 頭(SD)であった。両方法の間に有意差は見られなかった（T-test, DF = 22, t = 0.81, P = 0.42）。また、日ごとの死亡・生存においても、両方法の間に有意差が見られなかった（Failure time analysis; 寒天培地法 27.41 ± 1.9 日、芽出し 26.75 ± 2.5 日; Kaplan–Meier method, DF = 1, $\chi^2 = 0.62$, P = 0.43)。

つまり、寒天培地法は農工大クローンに対して、ソラマメ株での飼育と同等の好適な生育環境を提供したと考えられる。

5 考察

上述の実験以外でも寒天培地法の有効性が明らかとなった。1頭の4齢エンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）を培地に移植し、個体数の変動を観察した（12回反復）。その結果、産子開始から15日目、平均個体数は 244.2 ± 18.5 (SD)となった（3章、図2-1-D）。また、この方法では、有性世代を容易に誘導できることが明らかになった。アルファルファに寄生する北海道産のエンドウヒゲナガアブラムシ（08AP2クローン）の3令幼虫（G0）をソラマメの葉を入れた培地に移植し、低温短日条件（L:D=8:16、15°C）で飼育した。G0から生まれた1齢幼虫（G1）を新しい培地に移植し、同じ条件で飼育を続けた。G1から生まれた個体の性別と個体数を観察した結果、各種類の平均個体数はそれぞれ22.7頭（卵生メス）、8頭（オス）、2.1頭（胎生メス）であることが分かった（4章、図2-1-E）。

以下のように、寒天培地法には数々のメリットが認められた。

第一に、培地法で7日間培養した切葉は、乾燥重量と生体重量、および面積のすべてが増加することがわかった。このように、培地法は葉の鮮度を保つだけでなく、成長を可能にすることが認められた。おそらく、こうした葉の生長には、光合成の影響が関わっており、暗い環境では、葉の生長は余り大きくない可能性がある。毒麦（*Lolium temulentum* Linne）において、葉が株から切断された数日間、光合成効率も炭水化物の量も両方とも増加したと報告されている（Housley & Pollock 1985）。なお、アミノ酸、特にアスパラギン量も増えることが明らかになった（Thompson *et al.* 1966; Montllor *et al.* 1990）。しかし、なぜ長時間にわたって培地に貼られた葉がアブラムシに栄養素を供給できるだろうか？また、切葉はアブラムシにどのような影響を与えるのか？という問題はまだ明らかではないので、今後解明すべき課題である。葉が株から切除されたため、師管液供給が停止した（Louis & Shah

2015)。しかし、その一方、宿主植物の昆虫に対する誘導防御作用も低下させられた可能性がある(Klingler *et al.* 2005; Num & Hardie 2012)。また、アブラムシ *Schizaphis graminum* の生存力は、寄主として抵抗性品種の切除葉を与えたほうが生葉に移植させられた場合より高かったと報告されている(Montllor *et al.* 1990)。従って、本研究結果から、植物の師部樹液はアブラムシの成長・繁殖に必ずしも必要なものではないと示唆された。試験のよりよい効果を保証するためには、できるだけ無傷の葉の使用が望ましい。

第二に、寒天培地法の容器及び材料は手に入れやすい、安価なものを用いており、制作も簡便である。寒天培地法は密封性を持つ透明なプラスチック容器及び植物の葉を使っており、実験中に容器を逆さに保ったため、甘露による汚染を防ぐことが出来、最良の摂食環境と餌をアブラムシに提供できた。透明な容器なので、いつでも容器内の様子を観察できる。脱皮皮や甘露はカバーに落ちるので、日々カバーを掃除する必要がある。こうすれば、アブラムシの飼育環境が汚染されず、アブラムシも逃げ出さない。寒天培地法は、さらに数々の問題を解決した。例えば、個体数の正確な把握が可能で、アブラムシの逸脱を防ぐことが可能であった。さらに、栄養成分において生きた植物との間に差があることも解決できた。したがって、寒天培地法を用いると、アブラムシの行動及び個体数の変化がより観察しやすくなると考えられる。

第三として、低温短日条件下で有性世代を誘導することができることが報告されてきたが(Simon *et al.* 1991)、有性世代の誘導を、寒天培地法を用いて実現できる。ソラマメの芽出しでエンドウヒゲナガアブラムシの有性世代を誘導する場合には、数日ごとに、アブラムシを新しい芽出しに移動しなければならない。しかし、寒天培地法を使用すると、誘導開始から終了まで、一つの培地でも十分であることを明らかにした(4章)。本方法は、エンドウヒゲナガアブラムシの飼育以外、ほかのアブラムシとダニの飼育にも用いられてきた(*Aphis gossypii* Glover, Chen *et al.* 2005; *Myzus persicae* (Sulzer), Bos *et al.* 2010; *Megoura crassicauda* Mordvilko; Brodeur &

Cloutier 1992)。今後の研究では、寒天培地法は植物寄生性ダニや葉潜虫及びゴールなどの飼育に有効かどうかを調べる必要があると考えられる。

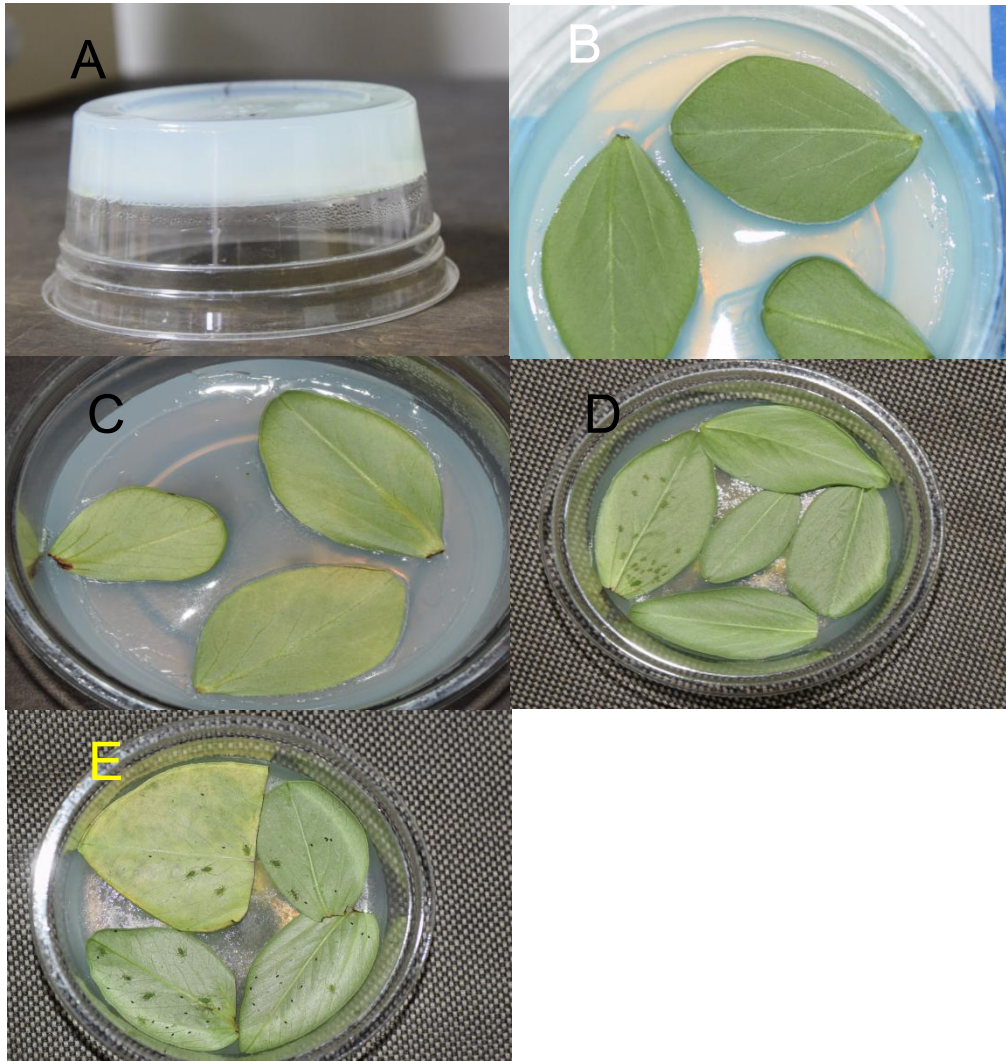


図 2-1-A 完成した培地の側面； 2-1-B ソラマメ葉の初期状態；2-1-C 15 日も培地に置いていた葉の状態；2-1-D 寒天培地法で飼育したエンドウヒゲナガアブラムシ；2-1-E 寒天培地法で誘導した卵生メスとオス、及びそれらに産出された受精卵。

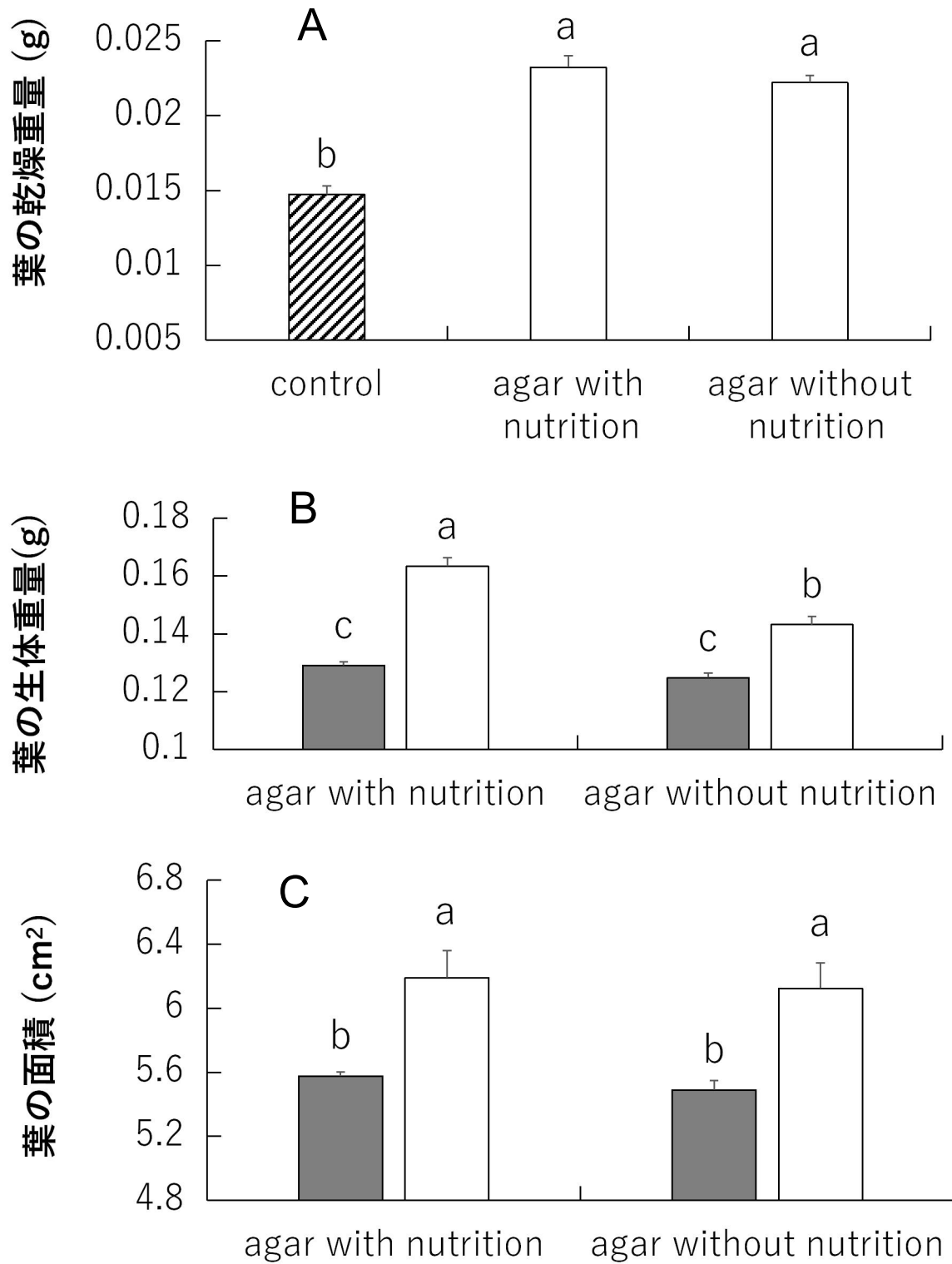


図 2-2 寒天培地法によるソラマメの葉の重量と面積に対する影響。エラーバーは標準誤差を表す。異なる文字は統計的有意差があることを示す。

(■) Day 0 と (□) day 7。

第3章 アブラムシ間の競争実験：エンドウヒゲナガアブラムシは他種と他クローンの存在を認識する

1 はじめに

アブラムシを用いた種内競争、種間競争の研究は数多いが、寄主植物の影響が大きいため、競争の帰結を明確に評価することは容易ではなかった。また、現在までのアブラムシの種間競争に関する研究では、競争開始から終了までの間に、個体数が継時的にどのように変化するかを明らかにした事例は数少ない。したがって、本研究では、エンドウヒゲナガアブラムシとソラマメヒゲナガアブラムシという2種のクローンおよびエンドウヒゲナガアブラムシにおける色彩変異系統を利用して、寒天培地法 (Li & Akimoto 2018) を応用して、競争による各クローンの個体群密度の変化を継時的に解析する。

2 材料と方法

2016年6月から2017年12月にかけて北海道大学農学研究院昆虫体系学実験室で行った。

2.1 昆虫材料

研究室で維持されてきた、エンドウヒゲナガアブラムシの以下のクローンを用いた。

- (1) 2011年5月6日に東京農工大学構内（東京都府中市）のカラスノエンドウから採集したエンドウヒゲナガアブラムシの1クローン（以下農工大クローン）とソラマメヒゲナガアブラムシの1クローン（以下ソラマメヒゲナガ）（三橋亮太氏採集）。
- (2) 2015年10月15日に北大農学部裏手（札幌市北区）より採集したアカツメクサに寄生する北海道産のエンドウヒゲナガアブラムシの1クローン（以下アカツメクサクローン）（秋元信一、李楊採集）
- (3) 2013年に実験室内で孵化させた交雑クローンである交 13028C クローン

(以下緑クローン、神戸崇氏作成) 及びそのクローンから 2017 年 5 月に突然変異により派生した黄色クローン交 13028C-Y (以下黄色クローン、神戸崇氏発見)

(4) 2009 年春に自殖卵から孵化したシナガワハギに寄生する北海道産のエンドウヒゲナガアブラムシの 1 クローン (以下シナガワクローン)(秋元信一氏作成)。

2.2 宿主植物と飼育容器

ソラマメ *Vicia faba* はマメ科の一年草または越年草である(柴田 1989)。本研究では恒温器(MIR-254; Sanyo Corporation, Mito, Japan, L: D=16:8, 20°C, 湿度 50-60%) で栽培したソラマメの芽だしとソラマメ株 (成長期 15-30 日) を使用した。葉はソラマメ株から採集した。飼育には、直径 10cm、高さ 5cm の円筒型のプラスチック容器を使用した。

2.3 実験方法

2.3.1 エンドウヒゲナガアブラムシとソラマメヒゲナガアブラムシの種間競争

(1) 農工大クローン：ソラマメヒゲナガ競争

以下の 3 つの実験区を用意した。

1 頭接種区

1 頭の 4 齢の農工大クローン、あるいは 1 頭の 4 齢ソラマメヒゲナガアブラムシを 1 枚のソラマメ葉を入れた培地にそれぞれ移した。

2 頭接種区

2 頭の 4 齢の農工大クローン、あるいは 2 頭の 4 齢ソラマメヒゲナガアブラムシを 2 枚のソラマメ葉を入れた培地にそれぞれ移した。

競争区

1 頭の農工大クローンの 4 齢幼虫と 1 頭のソラマメヒゲナガアブラムシの 4 齢幼虫を同時に 2 枚のソラマメの葉を入れた培地に移した。

全ての実験区の容器を、18°C、20°C及び 23°C(16L8D、湿度 50-60%)にセットした人工気象器に設置して、日々個体数を記録し、容器蓋を掃除し、三

日ごとに、新しい切葉を付け加えた。20°Cと23°Cでのグループは、15日間連続で観察した。18°Cでのグループは17日間連続で観察した。

(2) アカツメクサクローン：ソラマメヒゲナガ競争

アカツメクサクローンを使用し、1頭区・2頭区・ソラマメヒゲナガアブラムシとの競争区をそれぞれ作成した。20°Cにおいて15日間連続で観察した。

2.3.2 エンドウヒゲナガアブラムシの種内競争

本実験は16L8D、20°C、湿度50-60%の条件下で行った。

(1) 農工大クローン：シナガワハギクローン競争

農工大クローンの角状管は黒色であり（図3-1-A）、一方、シナガワハギクローンのそれは着色していない（図3-1-B）。顕微鏡下で、容易に見分けることができる。このように、農工大クローンとシナガワクローンは、競争実験において識別できるため、1頭の4齢農工大クローンと1頭の4齢シナガワクローンを同時に2枚のソラマメの葉を入れた培地に移植して競争区を作成した。競争区の各容器に関しては10日連続で飼育し、顕微鏡下で各クローンの個体数を数え、記録した。その後、同じ方法を使い、別容器に新たな競争区を作成し、恒温器に設置した。これら容器では各クローンの15日目の個体数を観察した。それに加えて、シナガワクローンの1頭区と2頭区をそれぞれ作成し、上記と同じ条件下で連続観察した。

(2) 緑クローン：黄色クローン競争

1 頭接種区

1頭の4齢緑クローン、あるいは1頭の4齢黄色クローンを1枚のソラマメ葉を入れた培地にそれぞれ接種した。3日ごとに新しい葉を付け加え、毎日個体数を記録し、15日目まで観察を続けた。

2 頭接種区

2頭の4齢緑クローン、あるいは2頭の4齢黄色クローンを2枚のソラマメ葉を入れた培地にそれぞれ接種した。3日ごとに新しい葉を付け加え、毎日個体数を記録し、15日目まで観察を続けた。

競争区

1頭の4齢緑クローンと1頭の4齢黄色クローンの4齢幼虫を2枚のソラマメ葉を入れた培地に同時に移植し、3日ごとに新しい葉を付け加え、毎日個体数を記録し、15日目まで観察を続けた。

(3) 農工大クローン：黄色クローン競争

さらに、黄色クローンと農工大クローンの組み合わせに関しても、上述と同様の方法で行い、各クローンにおける個体数の推移を記録した。

2.3.3 異種の多数個体の存在がエンドウヒゲナガアブラムシの産子に対する影響

本実験は16L8D、20°C、湿度50-60%の条件下で行った。

5頭のソラマメヒゲナガアブラムシあるいは5頭の農工大クローンを2枚のソラマメ葉を入れた培地にそれぞれ移植し、自由に産子させ、個体数が130-150頭になった後、農工大クローンの場合には、5頭の成虫を取り除き、幼虫だけを残した。ソラマメヒゲナガを設置した場合には、そのままとした。その後、4齢の農工大クローン幼虫を一頭ずつその培地に移し、3日間の産子数を記録した。5頭の農工大クローンを先住させた場合には、幼虫の齢期(1齢幼虫のみ)によって後から入れた農工大クローン成虫の産子数が識別可能である。エンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）1頭区での3日目における個体数を基準にして数を比較した。

2.3.4 突然変異派生クローンの存在がエンドウヒゲナガアブラムシの産子に対する影響

本実験は16L8D、20°C、湿度50-60%の条件下で行った。

5頭の黄色クローンあるいは緑クローンを2枚のソラマメ葉を入れた培地に移植し、自由に産子させ、個体数が130-150頭になった後、緑クローンの場合では、5頭の成虫を取り除いた、その後、1頭の4齢の緑クローン（緑）幼虫をその葉の1枚につけ、3日間の産子数を記録した（反復は7回）。

さらに同様に、5頭の緑クローンあるいは黄色クローンを2枚のソラマメ葉を入れた培地に移植し、個体数が130-150頭になった後、黄色クローンの成虫を取り除いた、培地に1頭の4齢の黄色クローン幼虫を移植し、3日間の産

子数を記録した（反復は7回）。

2.3.5 エンドウヒゲナガアブラムシの摂食選択

本実験は0 L24D、20°C、湿度 50-60%の条件下で行った。

2個の寒天培地を用意し、ソラマメの葉(成長期 15日)を3枚ずつ寒天培地に貼り付けた。その後、農工大クローンの1齢幼虫を10頭ずつ容器中の葉に移植して飼育した。2日後、幼虫を取り除いた。摂食を受けた3枚の葉のうち1枚を選び、新たな未接触の葉とともに同時に新たな培地に（図3-1-C）のように貼り付け、葉の間に長方形（3 cm * 1.5 cm）の濾紙を貼り、10頭の1齢幼虫を紙に移した。培地を恒温器に保存し、翌日、各葉についている幼虫の数を記録した（反復は5回である）。

3 結果

競争実験では、競争区における最終日個体数全体の60%を超えるクローンを勝利者と見なした。5割から6割未満の場合は、勝敗は未定と判断した。各組み合わせの勝負は表3-1に示す。

3.1 エンドウヒゲナガアブラムシとソラマメヒゲナガアブラムシの種間競争

3.1.1 農工大クローン：ソラマメヒゲナガ競争

(1) 20°Cの1頭区の結果

1頭区での各種のクローンにおける日あたりの平均個体数を求め、それらの推移を図3-2に示した。農工大クローンとソラマメヒゲナガの両方とも10日-11日目から第3世代が産出されたので、個体数が急激に増加した。Repeated-measure analysisを用いた結果、1頭区の場合には、産子数に関して時間とグループの間の交互作用に有意な違いが認められた（ $F=3.53$, $DF=14,9$, $P=0.031$ ）。ソラマメヒゲナガの方がエンドウヒゲナガアブラムシより有意に増殖率が高いが、両者の差は顕著ではなかった。

(2) 20°Cの2頭区の結果

図3-3に2頭区での各クローンの平均個体数の推移を示す。Repeated-measure analysisを用いると、産子数に関して時間とグループの

間の交互作用は有意にならなかった ($F=1.96$ 、 $DF=14,3$ 、 $P=0.318$)。

(3) 20°Cの競争区の結果

15日後、ソラマメヒゲナガアブラムシはエンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）に10対6で勝利した。エンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）の場合には、1頭区、競争区敗者組、2頭区の1頭あたりの10日目の個体数に有意な差がなかったが、これら全てよりも、10日目の競争区勝者組は有意に数が多いことが分かった（Tukey-Kramer test、表3-2）。

ソラマメヒゲナガアブラムシ（&農工大クローン）の場合では、10日目の個体数には勝者組と敗者組の間に有意な違いが見られなかったが、勝者組は1頭区と2頭区1頭あたりよりも有意に多いことが明らかになった（表3-3）。つまり、エンドウヒゲナガアブラムシの農工大クローンとソラマメヒゲナガが勝つ場合には、初産日である10日目に意識的に多くの子を産んでいることが示された。これは、競争状況下では、自身の成長を早め、産子を早めることを意味している可能性がある。

15日目の各クローンにおける競争区と2頭区1頭あたりでの数を図3-4にしめした。Resampling法を用いて、あるクローンの個体が同じクローンの別個体と同居する場合と、別クローンあるいは別種の別個体と同居した場合の産子数の差を「競争効果」として評価した。競争区の合計数からのランダム抽出した数(Comp)と農工大クローン2頭区1頭あたり(2AP-Nou/2)、あるいはソラマメヒゲナガ2頭区1頭あたり(2Mc/2)からそれぞれ1つずつランダム抽出し合計した値をT-testで比較したところ(Comp vs. 2AP-Nou/2 + 2Mc/2)、競争区の産子数合計は農工大クローン2頭区1頭あたり産子数+ソラマメヒゲナガ1頭あたり産子数より有意に多い結果が得られた($T=46.51$ 、 $DF=837$ 、 $P<0.001$)。つまり、20°Cでは、農工大クローンとソラマメヒゲナガクローンが共存する場合には、同じクローンの2個体が共存する場合に比べて強い正の競争効果が認められた。

(4) 18°Cの競争区の結果

18°Cの条件下では、ソラマメヒゲナガアブラムシの第2世代の多くが有翅

型に成長した。有翅型は発育が遅く、産子数が少なくなることから、農工大クローンが全勝を勝ち取った（図 3-5）。11-12 日目から第三世代が生まれたので、11 日目及び 12 日目に各実験区の個体数について Tukey-Kramer test を行った結果、11 日目においても 12 日目においても、農工大クロンの個体数では三つの実験区の間には有意な差がなかった（表 3-4、5）。また、ソラマメヒゲナガアブラムシの場合には、11 日目と 12 日目において、三つ実験区間の個体数は有意差が認められなかった（表 3-6、7）。つまり、18°C の条件下で、競争が存在しても、農工大クローンとソラマメヒゲナガアブラムシの発育時間に影響を与えないと考えられる。

17 日目に各クローンにおける競争区産子数と 2 頭区 1 頭あたり産子数での数を図 3-6 に示した。Resampling 法で競争区の合計数と農工大クローン 2 頭区 1 頭あたり産子数、ソラマメヒゲナガ 1 頭あたり産子数からそれぞれ 1 つずつ抽出し、T-test で比較したところ、競争区の合計数は農工大クローン 2 頭区 1 頭あたり産子数 + ソラマメヒゲナガ 1 頭あたり産子数より有意に多かった（ $T=53.47$ 、 $DF=630$ 、 $P<0.001$ ）。つまり、18°C において、農工大クローンとソラマメヒゲナガが共存する場合には、強い競争効果が認められた。

(5) 23°C の競争区の結果

23°C の条件下では、エンドウヒゲナガアブラムシ（農工大クローン）の死亡率が大きかったため、ソラマメヒゲナガアブラムシが全勝を勝ち取った（図 3-7）。9 日目から第三世代が生まれたので、各種の 1 頭区・競争区・2 頭区 1 頭あたり産子数を、Tukey-Kramer test を用いて比較した。その結果（表 3-8）、23°C では、農工大クローンにおける 1 頭区産子数は 2 頭区 1 頭あたり産子数と競争区産子数より有意に多く、また、2 頭区 1 頭あたりは競争区よりも有意に多いことが分かった。つまり、密度が高くなると、23°C では、エンドウヒゲナガ農工大クロンの産子が強く抑えられる可能性がある。一方、ソラマメヒゲナガアブラムシにおける 3 つの実験区間には有意な違いが見られなかった（表 3-9）。

15 日目に各クローンにおける競争区と 2 頭区 1 頭あたりでの産子数を図

3-8 に示した。23°Cでは、18°Cと 20°Cと同様に、15 日目の個体数において、Resampling 法で競争区の産子数合計と農工大クローン 2 頭区 1 頭あたり産子数、ソラマメヒゲナガ 1 頭あたり産子数からそれぞれ 1 つずつ抽出し、T-test で比較した。その結果、競争区合計数は農工大クローン 2 頭区 1 頭あたり産子数+ソラマメヒゲナガ 1 頭あたり産子数より有意に多いことが明らかになった ($T=48.52$ 、 $DF=951$ 、 $P<0.001$)。つまり、23°Cにおいても競争の効果はあると認められた。

3.1.2 アカツメクサクローン：ソラマメヒゲナガ競争

(1) 1 頭区の結果

1 頭区でのアカツメクサクローンとソラマメヒゲナガアブラムシの増殖は図 3-9 に示した。Repeated-measure analysis を行った結果、クローンと時間間の交互作用は有意ではなかった ($F=1.218$ 、 $DF=14,7$ 、 $P=0.414$)。すなわち、1 頭区におけるアカツメクサクローンとソラマメヒゲナガ間で増殖率には有意な違いが認められなかった。

(2) 2 頭区の結果

2 頭区でのアカツメクサクローンとソラマメヒゲナガアブラムシの増殖は図 3-10 に示した。Repeated-measure analysis を行ったところ、産子数に対して種と時間間の交互作用は有意にならなかった ($F=3.09$ 、 $DF=14,1$ 、 $P=0.422$)。すなわち、2 頭区におけるアカツメクサクローンとソラマメヒゲナガ間で増殖率は有意な違いがみられなかった。

(3) 競争区の結果

ソラマメヒゲナガはアカツメクサクローンとの間に、増殖率において有意な差が見られなかったが、アカツメクサクローンとの競争では、全敗となった。アカツメクサクローンの場合には、農工大クローンと同様に 10 日-11 日目から第 3 世代が産出されたため、各種の 1 頭区・競争区・2 頭区 1 頭あたりを組み合わせ、10 日目の個体数について Tukey-Kramer test を行った。その結果、競争区と 1 頭区間で 10 日目の産子数は有意な違いが見られなかった (表 3-10)。ソラマメヒゲナガアブラムシ (&アカツメクサクローン) の場

合にも、3つの実験区間に有意な差が認められなかった（表 3-11）。従って、アカツメクサクローンは全勝を勝ち取ったが、発育加速現象は生じていなかった。一方、15日目における各クローンの競争区と2頭区1頭あたりでの産子数を図 3-11 に示した。Resampling 法で競争区の合計数とアカツメクサクローン2頭区1頭あたり、ソラマメヒゲナガ1頭あたりからそれぞれ1つずつ抽出し、T-test で比較したところ、競争区の産子合計数はアカツメクサクローン2頭区1頭あたり産子数+ソラマメヒゲナガ1頭あたり産子数より有意に多いことが明らかになった（ $T=21.32$ 、 $DF=781$ 、 $P<0.001$ ）。すなわち、 20°C にアカツメクサクローンとソラマメヒゲナガが共存する場合は、強い競争効果が認められた。

3.2 エンドウヒゲナガアブラムシの種内競争

3.2.1 農工大クローン：シナガワハギクローン競争

(1) 1頭区の結果

1頭区での農工大クローンとシナガワクローンの増殖を図 3-12 で示した、Repeated-measure analysis を行った結果、産子数に関してクローンと時間の間の交互作用に有意差がみられた（ $F=3.15$ 、 $DF=14,9$ 、 $P=0.045$ ）。つまり、農工大クローンの子孫数よりシナガワハギクローンの子孫数はやや上回った。

(2) 2頭区の結果

2頭区での農工大クローンとシナガワクローンの増殖を図 3-13 で示した。2頭区の場合には、個体数に対する時間とクローン間の交互作用は有意にならなかった（Repeated-measure analysis: $F=2.33$ 、 $DF=14, 2$ 、 $P=0.34$ ）。

(3) 競争区の結果

農工大クローンとシナガワハギクローンの競争では、農工大クローンが全勝となった。10日-11日目から第3世代が産出されたため、各クローンの1頭区・競争区・2頭区1頭あたりを組み合わせ、10日目の個体数を Tukey-Kramer test で検定した（表 3-12, 13）。その結果、どのクローンでも、グループ間で有意な差が見られなかった。つまり、農工大クローンとシ

ナガワクローンが共存する場合、双方の発育時間に影響を与えないと認められる。一方、15日目に各クローンにおける競争区と2頭区1頭あたりでの数を図3-14に示した。Resampling法で競争区の合計産子数と農工大クローン2頭区1頭あたり産子数、シナガワハギクローン1頭あたり産子数からそれぞれ1つずつ抽出し、T-testを使用して比較した。その結果、競争区の合計産子数は農工大クローン2頭区1頭あたり産子数+シナガワハギクローン2頭区1頭あたり産子数より有意に多いことが明らかになった（ $T=12.37$ 、 $DF=902$ 、 $P<0.001$ ）。すなわち、 20°C に農工大クローンとシナガワハギクローンが共存する場合では、強い競争効果が認められた。

3.2.2 農工大クローン：黄色クローン競争

(1) 1頭区の結果

1頭区での平均個体数の推移は図3-15に示した。Repeated-measure analysisの結果によれば、1頭区では、産子数にたいしてクローンと時間の交互作用に有意差が認められなかった（ $F=2.13$ 、 $DF=14,7$ 、 $P=0.16$ ）。

(2) 2頭区の結果

2頭区での平均個体数の推移は図3-16に示した。Repeated-measure analysisを用いた結果、2頭区の場合では、クローンと時間の交互作用は有意になった（ $F=22.76$ 、 $DF=14,4$ 、 $P=0.004$ ）。すなわち、個体群密度が高くなると、黄色クローンの成長が抑えられると考えられる。

(3) 競争区の結果

15日間の競争の結果、10回の繰り返し実験のうち、農工大クローンは6回勝利を収め、黄色クローンは4回の勝利を収めた。

エンドウヒゲナガアブラムシは10日目から第3世代が産出されたため、10日目の個体数についてTukey-Kramer testで検定した。その結果、農工大クローンの場合には、1頭区、競争区勝者組、競争敗者組、2頭区1頭あたりという四つのグループの間に有意な差が見られなかった（表3-14）。つまり、農工大クローンは黄色クローンと共存すると、発育速度を加速させるわけではないと認められる。なお、黄色クローンにおける1頭区と競争区の間でも

有意差は見られなかった（表 3-15）

一方、15 日目に各クローンにおける競争区と 2 頭区 1 頭あたりでの数を図 3-17 に示した。15 日目にける黄色クローン 2 頭区 1 頭あたり産子数と緑クローン 1 頭あたり産子数をまとめ、競争区の合計数と比較すると、競争区の合計産子数は農工大クローン 2 頭区 1 頭あたり産子数 + 黄色クローンクローン 1 頭あたり産子数より有意に多い結果となった（T-test: $T=15.88$ 、 $DF=709$ 、 $P<0.001$ ）。すなわち、20°Cにおいて、黄色クローンと農工大クローンの間には強い競争効果があると認められた。

3.2.3 緑クローン：黄色クローン競争

(1) 単独区の結果

緑クローンと黄色クローンの組み合わせでは、1 頭区（図 3-18）でも 2 頭区（図 3-19）でも、産子数に対してクローンと時間の交互作用には有意な差が見られた（Repeated-measure analysis：1 頭区: $F=5.87$ 、 $DF=14,5$ 、 $P=0.031$ ；2 頭区: $F=12.58$ 、 $DF=14,5$ 、 $P=0.006$ ）。すなわち、緑クローンの増殖率は黄色クローンのそれより有意に高いと考えられる。

(2) 競争区の結果

10 日目 - 11 日目から第三世代が生まれたので、各クローンの 1 頭区・競争区・2 頭区 1 頭あたり 10 日目産子数を組み合わせ、Tukey-Kramer test で検定したところ、緑クローンの場合では、競争区と 1 頭区の間では有意な違いがなかったが、どちらの産子数も 2 頭区 1 頭あたり産子数より有意に多いことが分かった（表 3-16）。黄色クローン（&緑クローン）の結果は緑クローンと同様に、2 頭区 1 頭あたりの数が最も低いことが明らかになった（表 3-17）。

15 日目に各クローンにおける競争区と 2 頭区 1 頭あたりの数を図 3-20 に示した。15 日目の競争区の合計数と 2 頭区 1 頭あたりの数を比較した結果、競争区の合計産子数は緑クローン 2 頭区 1 頭あたり産子数 + 黄色クローン 2 頭区 1 頭あたり産子数より有意に多いことが明らかになった（ $T=74.15$ 、 $DF=945$ 、 $P<0.001$ ）。

3.3 異種の多個体の存在がエンドウヒゲナガアブラムシの産子に対する影響

Tukey-Kramer testを行った結果、成虫産子開始から3日後、対照区（1頭産子区）の結果に比べ、ソラマメヒゲナガアブラムシ高密度区に置かれたエンドウヒゲナガ農工大クローンの母親は、有意に少ない幼虫を産出した。しかし、農工大クローン高密度区に置かれた農工大クローンの母親は、対照区と有意に変わらない数の幼虫を生み出した（表 3-18）。つまり、ソラマメヒゲナガアブラムシの存在は、農工大クローンの産子に負の影響を与え、一方、同一クローン他個体の存在は、産子に有意な影響を与えなかった可能性がある。

3.4 突然変異派生クローンが存在がエンドウヒゲナガアブラムシの産子に対する影響

Tukey-Kramer test で検定した結果を表 3-19 に示した。黄色クローンを緑クローンの高密度区に入れた場合には、3日間の産子数は対照区（1頭産子区）より有意に低く、また、緑クローンを黄色クローンの高密度区につけた場合にも、産子数は顕著に減少することが分かった。つまり、黄色クローンも緑クローンも両方とも多くの他個体が存在する環境では産子を控える傾向が見出された。

3.5 エンドウヒゲナガアブラムシの摂食選択

幼虫を培地につけた後、翌日に各葉についている幼虫数を検定した結果、摂食された葉と新鮮な葉の間に有意差がなかった（T-test: $t = 1.24$ 、 $DF = 8$ 、 $P = 0.24$ ）。つまり、エンドウヒゲナガアブラムシにおいては、先住者がいたソラマメの葉に対して選好性を持たないことがわかった。

4 考察

本研究の結果では、エンドウヒゲナガアブラムシにおいて、クローン間で増殖率は有意な違いが見られた、つまり、クローンによって、繁殖力が大きく異なると考えられる。その結果は Hazell *et al.* (2005)の結論を支持する。*Rhopalosiphum padi* と *Sitobion avenae* の間の種間関係の研究を通じて、両

種の競争が激しく、そして、競争力には差があることが報告されている (Chongrattanameteekul *et al.* 1991)。なお、本研究で、5つのエンドウヒゲナガアブラムシクローンと1つのソラマメヒゲナガアブラムシクローンを使用し、7つの競争組み合わせを作成した。ソラマメヒゲナガアブラムシとの競争実験では、アカツメクサクローンが全勝を勝ち取ったが、農工大クローンは16戦6勝となり、勝敗は均衡していた。Hazell *et al.* (2005) は異なるクローンのエンドウヒゲナガアブラムシをソラマメヒゲナガアブラムシと競争させた場合、エンドウヒゲナガアブラムシはクローンによって、競争能力が異なると報告した。従って、本研究の結果もその結論を支持する。

今回の研究を通じて、20°Cにおいて、農工大クローンにおける競争区（農工大クローン VS ソラマメヒゲナガアブラムシ）の勝者は、9日-10日目からの第2世代の産子を早めることが分かった、それによって、先手を取り、競合種の増殖を押さえ込んでいた。競争区勝者の増殖率は、10日から13日目までは1頭区(同クローン)の増殖率を有意に上回った。この反応は、同一クローン2頭区では観察されず、また、アカツメクサクローンとソラマメヒゲナガアブラムシとの競争実験において、農工大ーソラマメヒゲナガのような産子促進現象は観察されなかった。従って、競争を強制した場合でも、クローンによって、エンドウヒゲナガアブラムシの反応は異なっていた。農工大クローンは勝を取るために、他者を認識して、発育時間の短縮を引き起こしたり、産子を増加したりする可能性があると考えられる。つまり、エンドウヒゲナガアブラムシは、他種の存在を認識し、産子速度を変えていることが明らかとなった。この事実は、アブラムシでは初めての発見である。一方、植物においては、同様の事例が報告されている。オオバコとシロツメクサを一緒に播種した場合に、オオバコの種子間の発芽の同期程度を調べた結果、他種（シロツメクサ）に遭遇した遺伝的に近いオオバコの種子同士は、他種に遭遇していない場合に比べてより同期して発芽することが明らかになった。オオバコの種子の同期発芽は、植物で胚間コミュニケーションの存在を示唆した (Yamawo & Mukai 2017)。つまり、農工大クローンが他種の存在下で

産子を早める(Yamawo & Mukai 2017)結果と類似している。

一方、今回三つの温度条件 (18°C、20°C、23°C) いずれの下でも、エンドウヒゲナガアブラムシとソラマメヒゲナガアブラムシの間に強い競争効果があると認められた。この現象はいまだに報告されていない。今回の実験は室内で行ったので、野外での天敵及び環境要因による影響を受けておらず、従って、野外でどのような結果になるのか、今後解明すべき問題である。農工大クローンはシナガワクローンとの種間の競争において、15日目に、両クローン間で個体数に差が出たが、差はさほど大きくなかった。つまり、農工大クローンとシナガワハギクローンの間には、競争効果があったにもかかわらず、農工大クローンにとっては、種間競争のほうが種内競争よりも激烈であると予想される。黄色クローンとの競争では、農工大クローンは6勝4敗であった。一方、緑クローンは黄色クローンに対して全勝を勝ち取ったことが分かった。赤型エンドウヒゲナガアブラムシはよく見かけるクローンであり、緑型と赤型の両種の競争能力は優劣つけ難いと報告されてきた (Du *et al.* 2012)。一方、実験室内で最近起源した黄色クローンに関する研究は全く行われてこなかった。本研究で用いた黄色クローンは累代飼育中の緑クローンから生まれ、つまり、黄色クローンでも緑クローンでも、元は同じクローンに属する。しかし、本研究を通じて、緑クローンと黄色クローンの間に競争能力にしても繁殖力にしても、有意な差が観察された。なお、黄色クローン vs. 緑クローン競争区には強い競争効果があると判明した、また黄色クローン vs. 緑クローンと農工大クローン vs. 黄色クローンのどちらの組み合わせでも、勝者と敗者間で個体数の差が大きいことが明らかになった。どのようなメカニズムによって、勝者と敗者の間で個体数に大きな差が生じるのであろうかまだはっきりしていない。しかし、多くの他クローン個体 (他種を含め) に取り囲まれた場合に、メスは産子を停止する行動が、こうした勝者と敗者の大きな差を生み出す一因となっていると考えられる。緑クローンでも、黄色クローンでも、大量の黄色クローンあるいは緑クローンが存在する場合には、両方とも産子が抑えられたことを明らかにした。また、緑クローンと

黄色クローンの中に体表炭化水素の成分には相違が見られた (Akimoto, unpublished data)。従って、緑クローンにおいても農工大クローンにおいても、黄色クローンを異種と認識し、黄色クローンとの競争では、緑クローンが繁殖能力を増強したと考えられる。同じ祖先から分化した緑クローンは圧倒的な優位の地位を占めたことから、突然変異タイプである黄色クローンは緑クローンに次第に消滅させられることになるであろう。こうした競争によって、自然のなかで突然変異タイプのエンドウヒゲナガアブラムシが見つかりがたい原因となっている可能性がある。

大発生している植食性昆虫は、宿主への食害を通じて、密度の低い種に負の影響を及ぼす可能性があると報告された (Churchill *et al.* 1964)。観察を通じて、アブラムシでは、全ての競争区において、必ずどちらかの種が他を圧倒するということが明らかとなった。つまり、今回の発見は Churchill *et al.* (1998) の観点を支持する。

エンドウヒゲナガアブラムシの競争能力を決定づける要因はまだはっきりしていない。本研究では、農工大クローンの雌あたりの増殖率はアカツメクサクローンのそれより高かった (Repeated-measure analysis: $F=17.92$ 、 $DF=14,7$ 、 $P=0.004$) が、ソラマメヒゲナガに対する競争能力については、アカツメクサクローンのほうが強力だということが明らかになった (農工大クローン：6勝10敗、アカツメクサクローン：10勝0敗)。

エンドウヒゲナガアブラムシは別種や別クローンが大量に同じ植物上に存在する場合には、産子が抑えられることが分かった。つまり、エンドウヒゲナガアブラムシは競争種の分布や存在量に従って、自身の繁殖に関して適切な判断を下すことができると考えられる。従って、競争種の分布はエンドウヒゲナガアブラムシの繁殖に影響を及ぼす可能性があると考えられる。摂食選択実験では、異なる質の葉の間で (先行者の吸汁葉と未吸汁葉)、エンドウヒゲナガアブラムシの選択差が認められなかった。つまり、競争種の分布はエンドウヒゲナガアブラムシの産子に影響を与えたが、その摂食に対して大きな影響を及ぼさない可能性を示唆する。なお、20°Cでエンドウヒゲナ

ガアブラムシは6勝10敗であったが、23°Cでエンドウヒゲナガアブラムシはソラマメヒゲナガアブラムシに対して全敗した。日本では、暖かい地域でエンドウヒゲナガアブラムシとソラマメヒゲナガアブラムシが共存する場合には、ソラマメヒゲナガアブラムシの数が圧倒的に多いと観察されている(Akimoto, unpublished data)、23°Cでの結論はその現象を支持する。また、18°Cでは、エンドウヒゲナガアブラムシはソラマメヒゲナガアブラムシに対して全勝であった。つまり、エンドウヒゲナガアブラムシの種間競争の帰結には温度依存性があると認められる。この結果が、野外における両種の分布にどのような影響を与えているか、今後明らかにする必要がある。

本研究の結果からみると、エンドウヒゲナガアブラムシは勝利を勝ち取るため、産子を早めたり産子数を増加したりするなど多種多様な戦略を用い、また、それらの戦略は競争クローン及び種によって変化するということが判明した。本研究で使った植物はソラマメであったが、エンドウヒゲナガアブラムシは植物によって適応性に大きな差異が生じる(5章)ため、別の宿主植物ではどんな結果になるのか未定であり、将来の研究で明らかにすべきだと考えられる。なお、エンドウヒゲナガアブラムシにおける敵味方識別のメカニズムも明確ではない。その問題についても今後解明を目指したいと考えている。



図 3-1-A 農工大クローンの胎生メス ; 図 3-1-B シナガワハギクローンの胎生メス; 図 3-1-C 選択実験の装置の仕組み

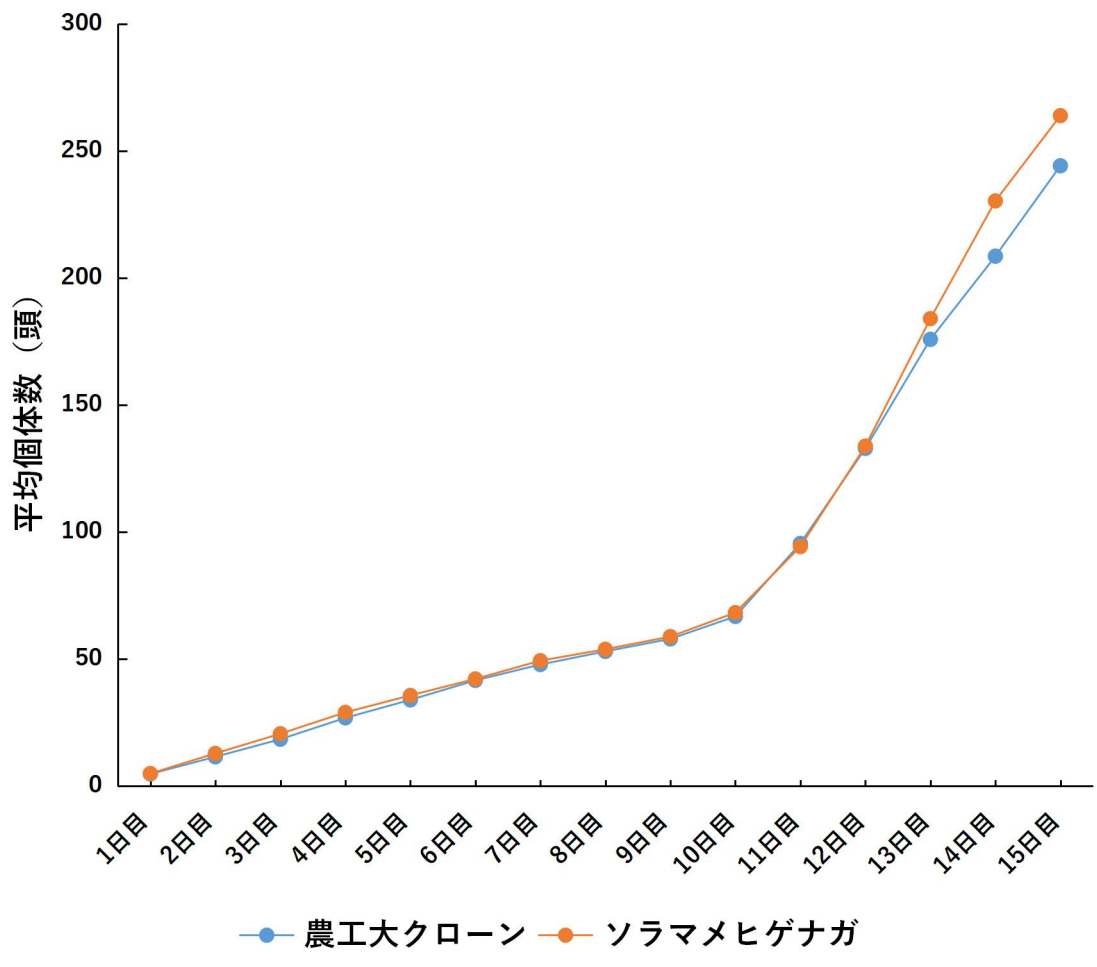


図 3-2 1 頭区での各クローンにおける子孫数の推移

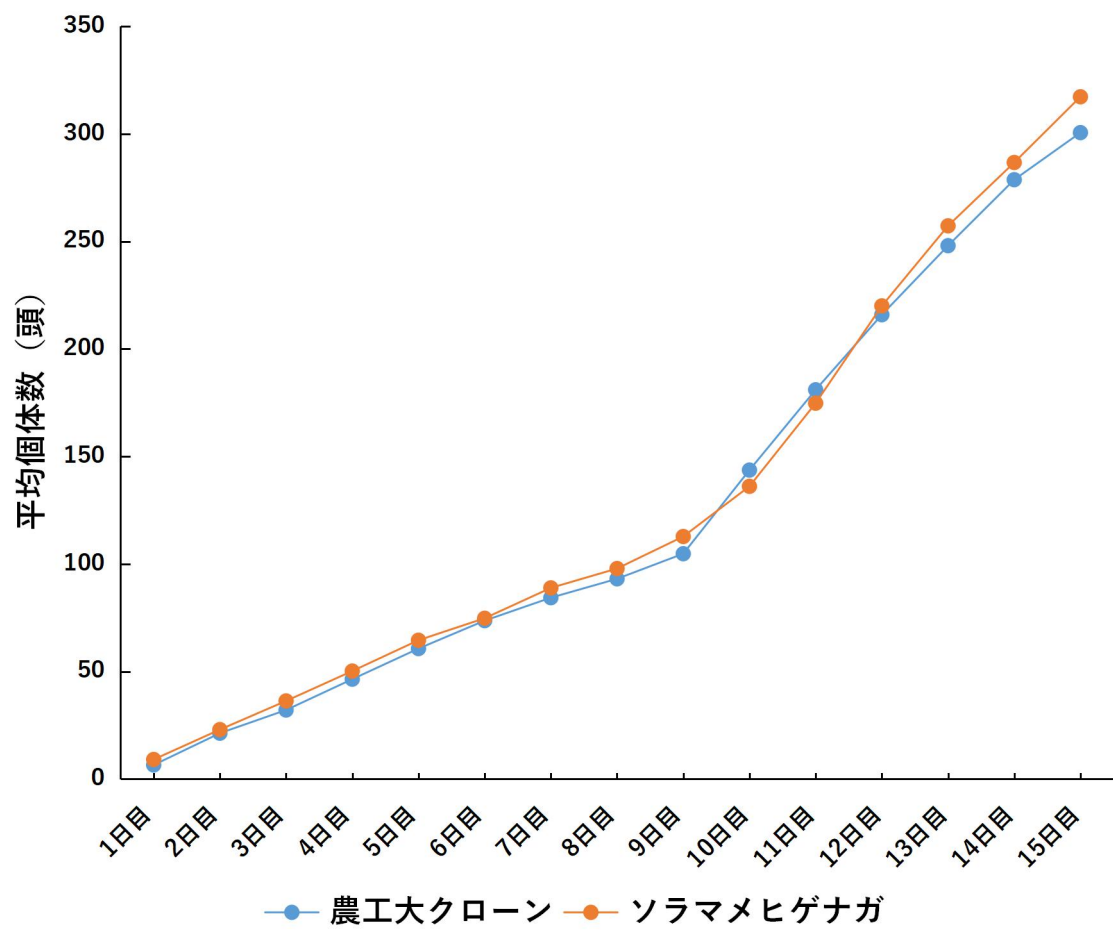


図 3-3 2 頭区での各クローンにおける子孫数の推移

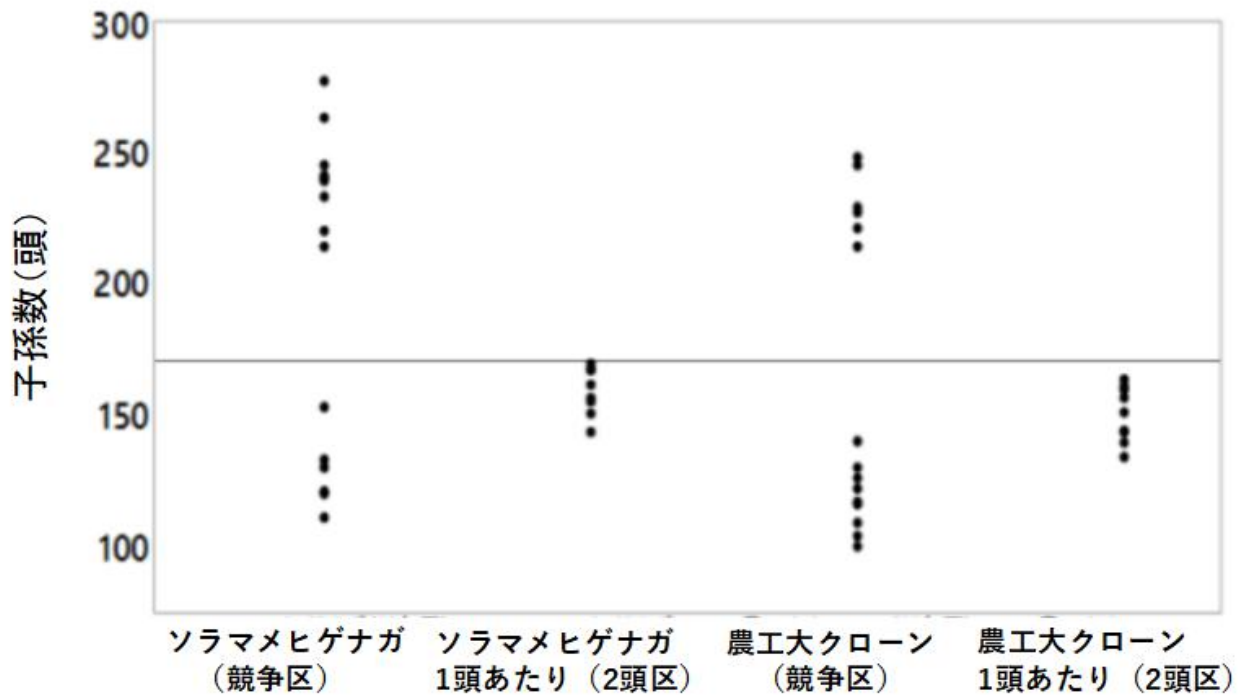


図 3-4 20°Cにおいて 15 日目に各クローンの 2 頭区 1 頭あたりと競争区での子孫数

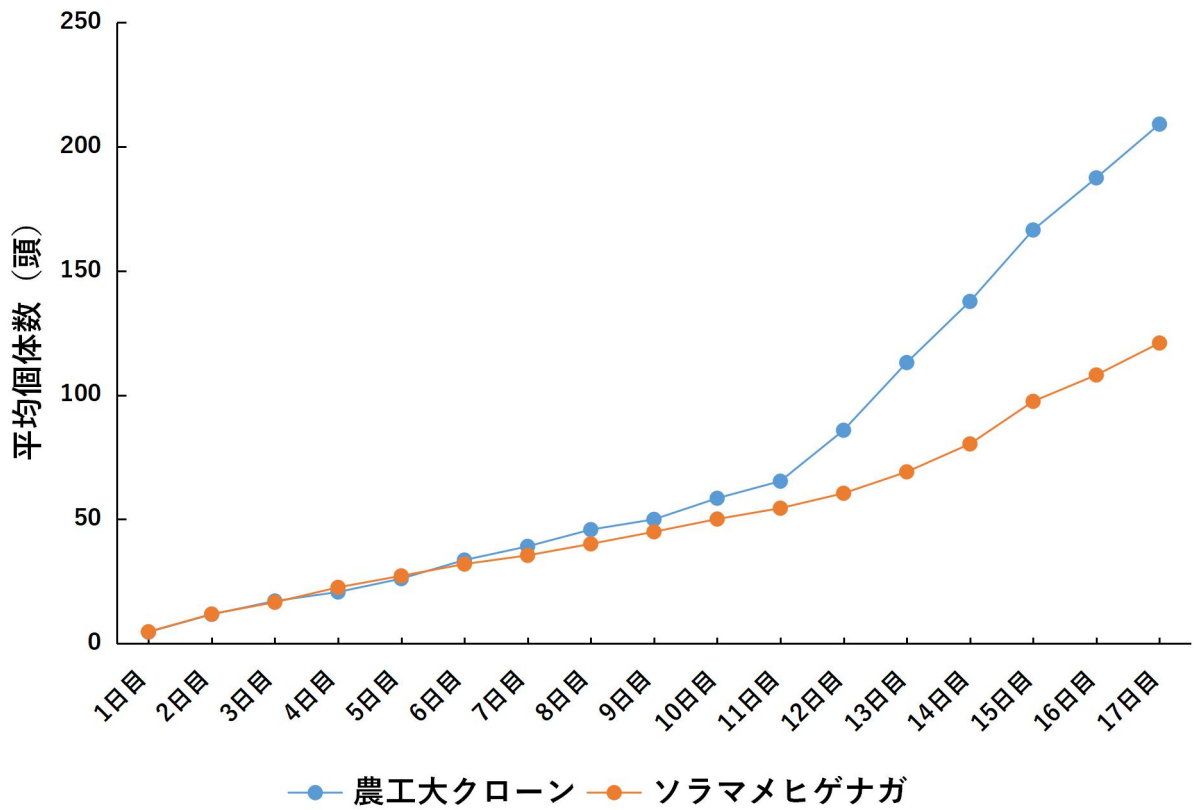


図 3-5 18°Cにおける競争区の増殖

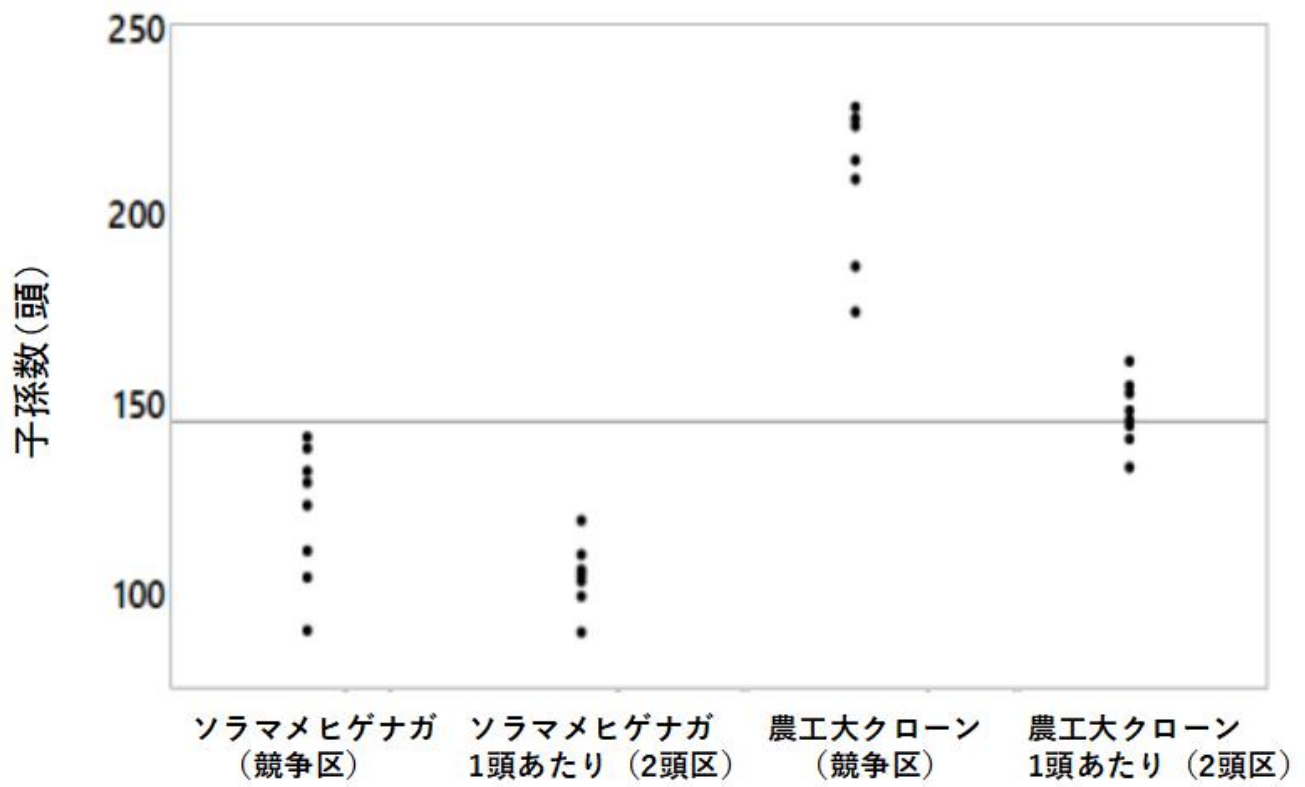


図 3-6 18°Cにおいて 15 日目に各クローンの 2 頭区 1 頭あたりと競争区での
子孫数

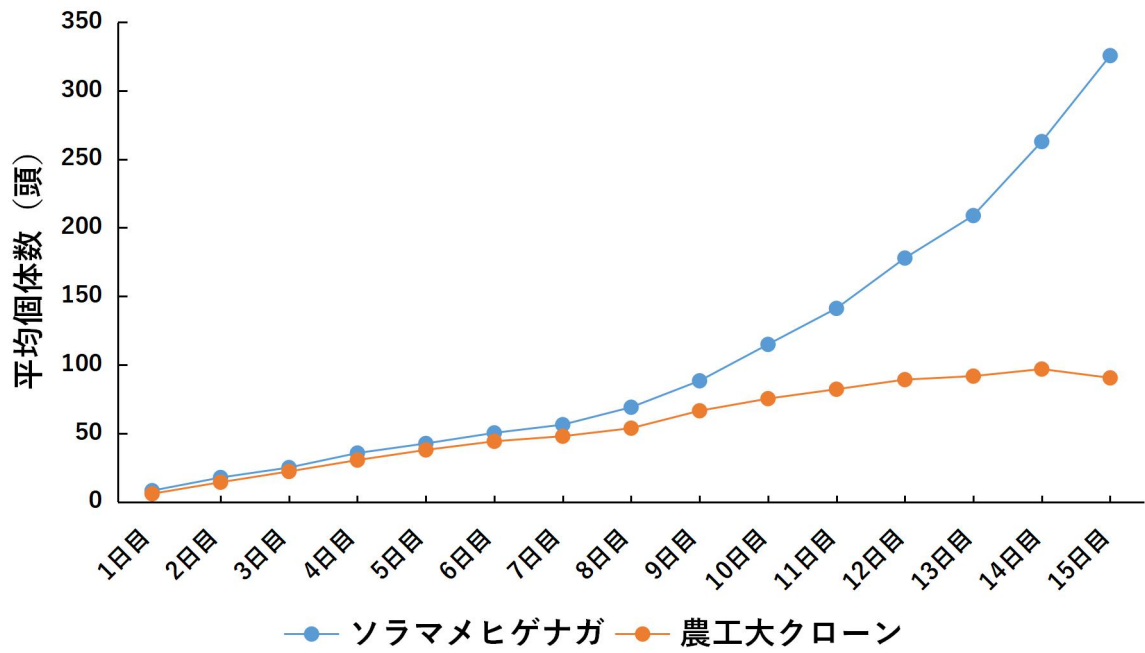


図 3-7 23°Cにおける競争区の増殖

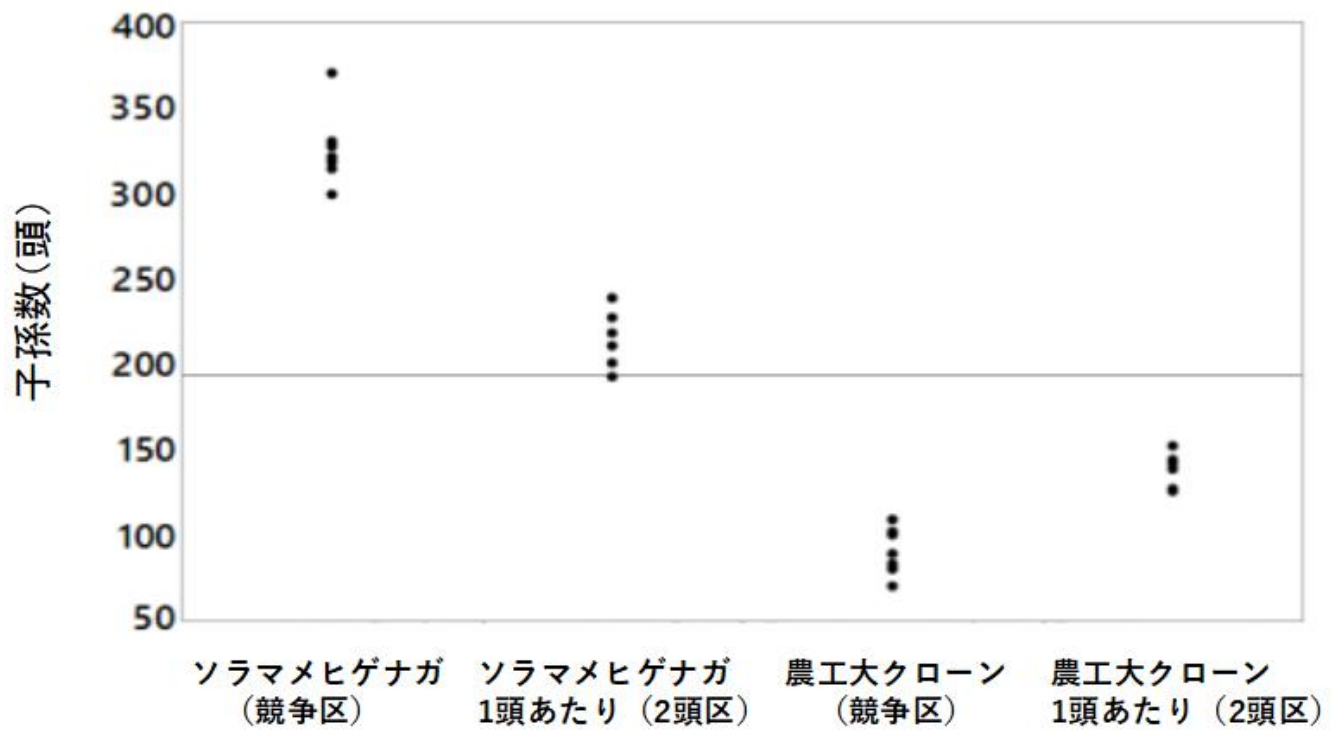


図 3-8 23°Cにおいて 15 日目に各クローンの 2 頭区 1 頭あたりと競争区での
子孫数

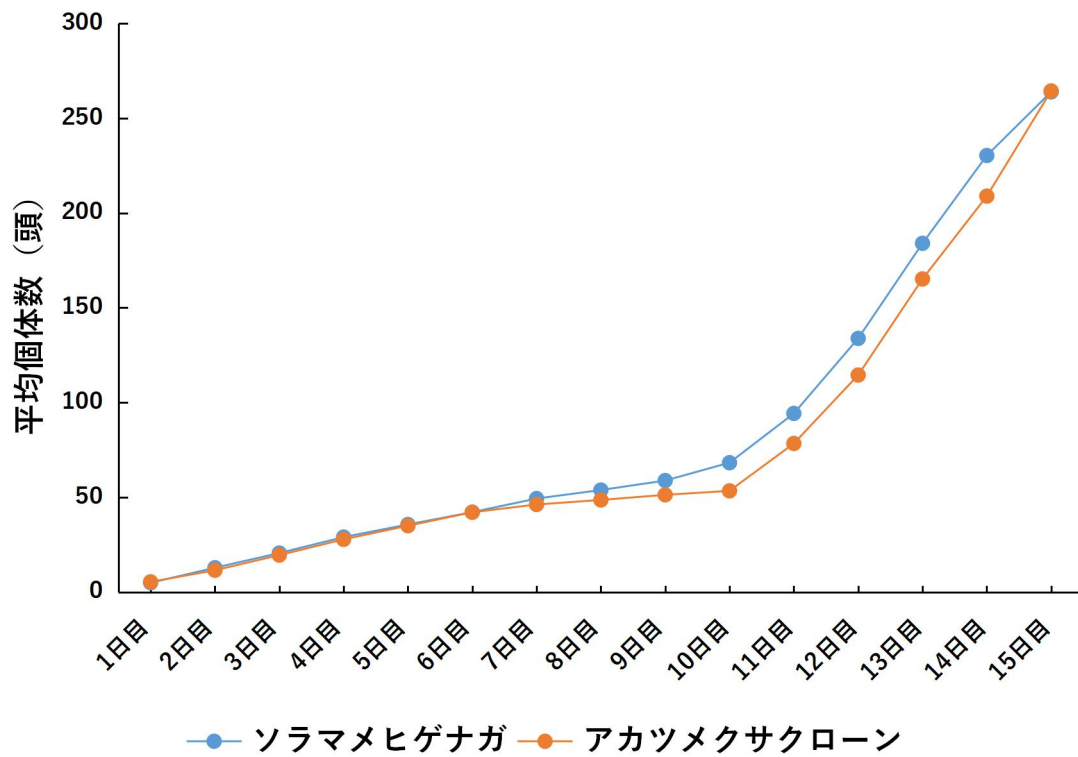


図 3-9 1頭区での各クローンにおける子孫数の推移

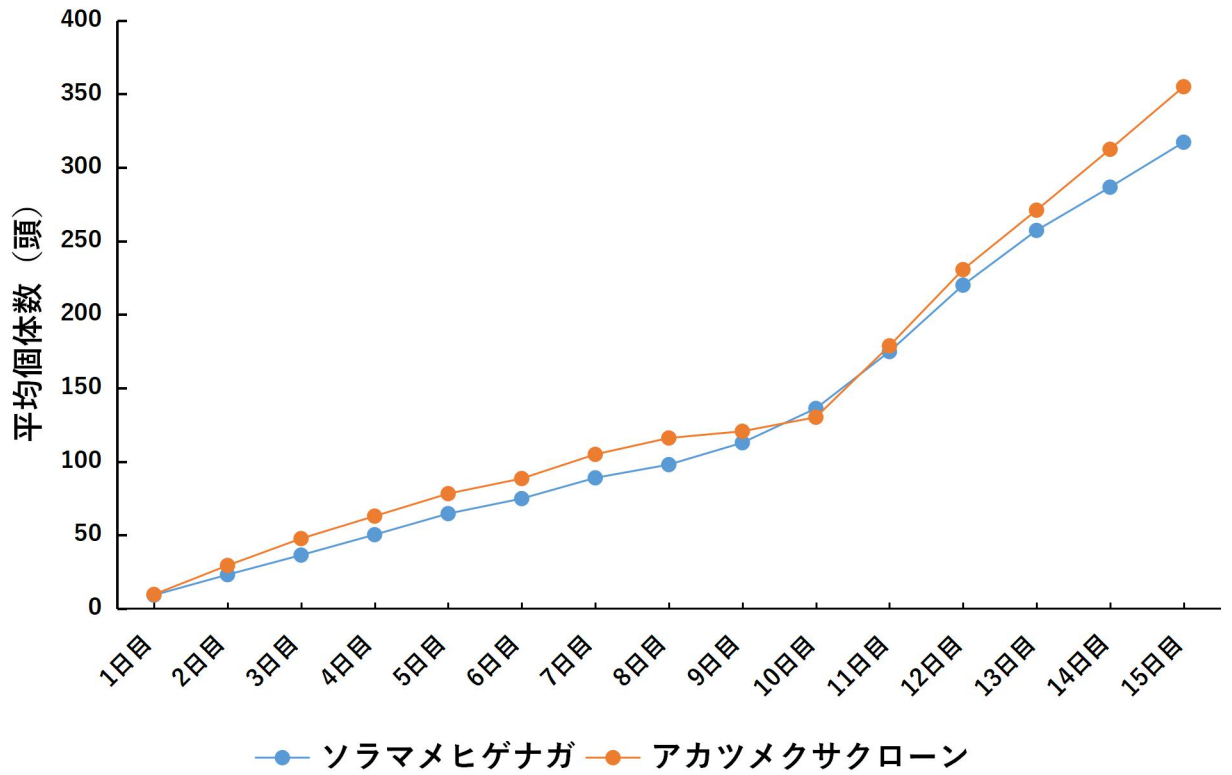


図 3-10 2頭区での各クローンにおける子孫数の推移

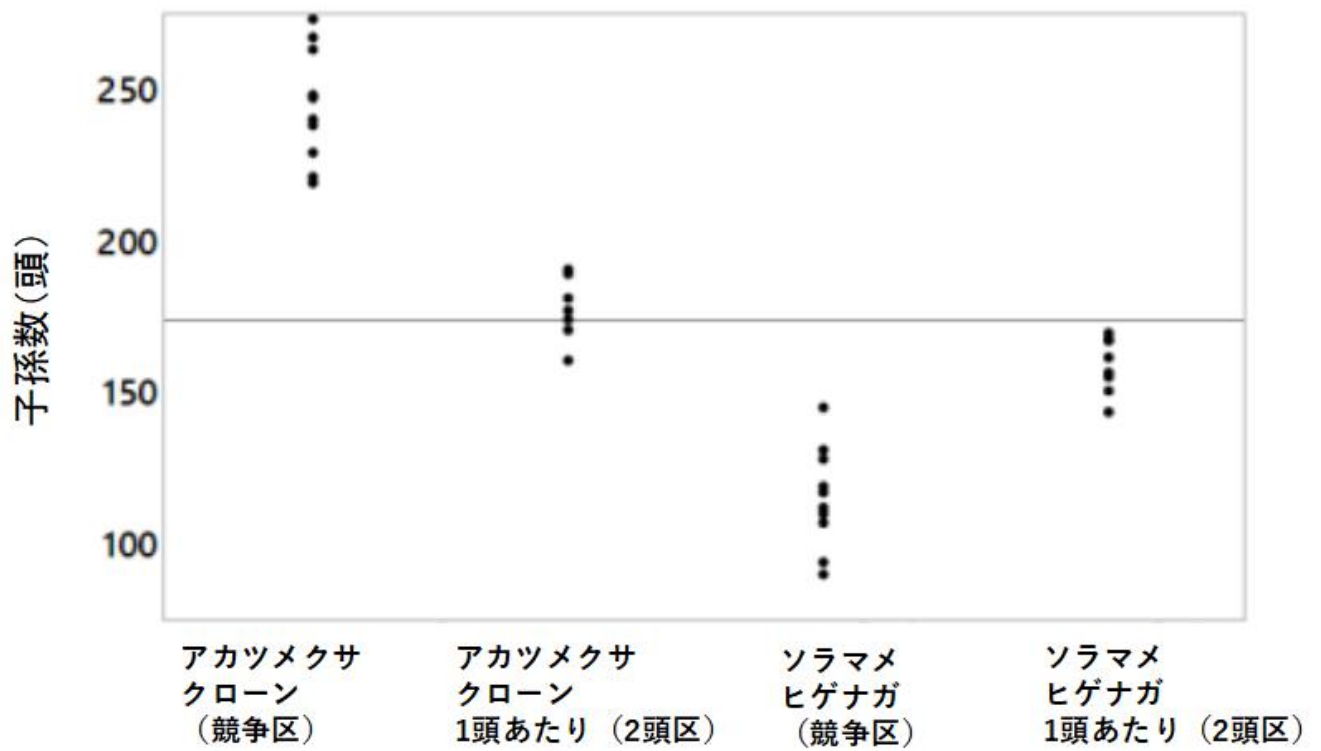


図 3-11 20°Cにおいて 15 日目に各クローンの 2 頭区 1 頭あたりと競争区での子孫数

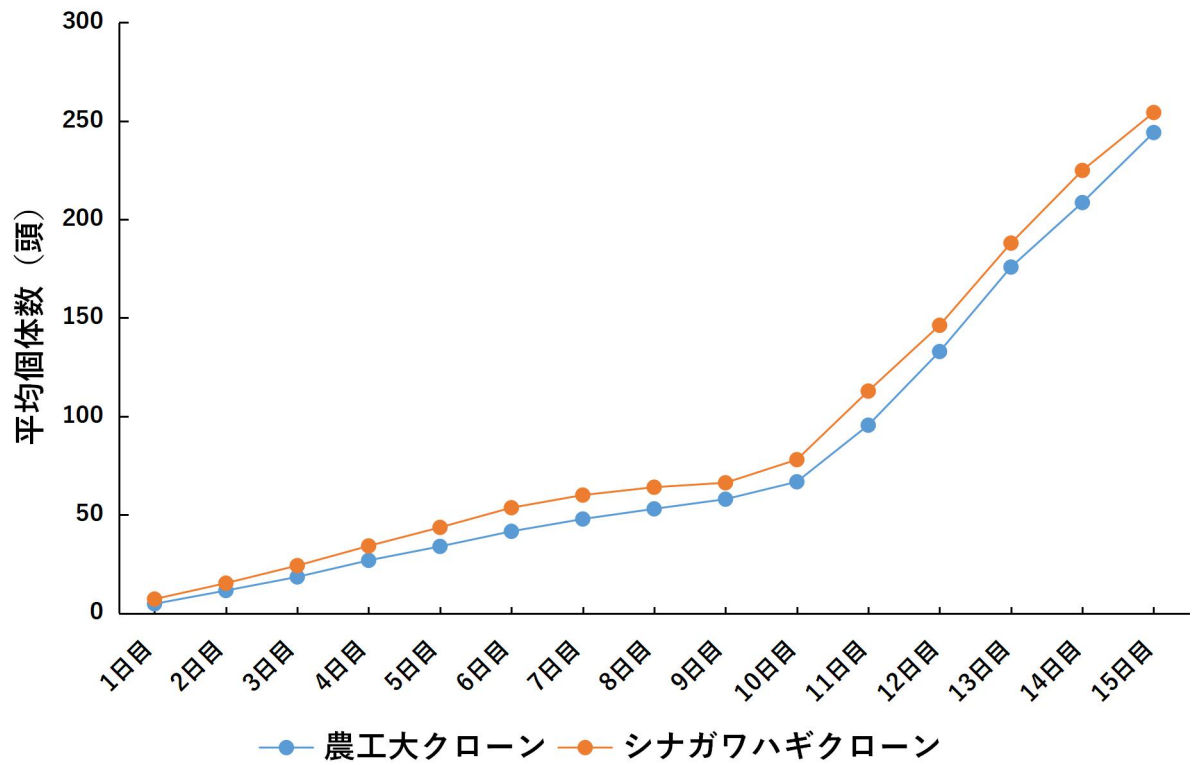


図 3-12 1 頭区での各クローンにおける子孫数の推移

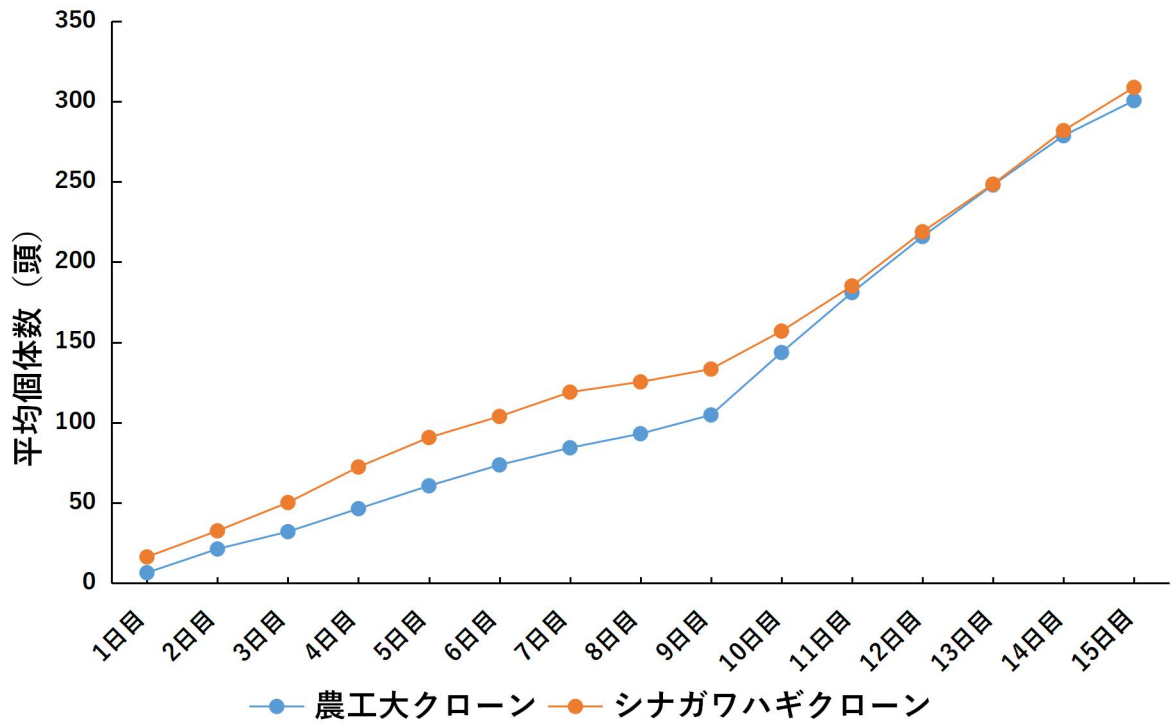


図 3-13 2 頭区での各クローンにおける子孫数の推移

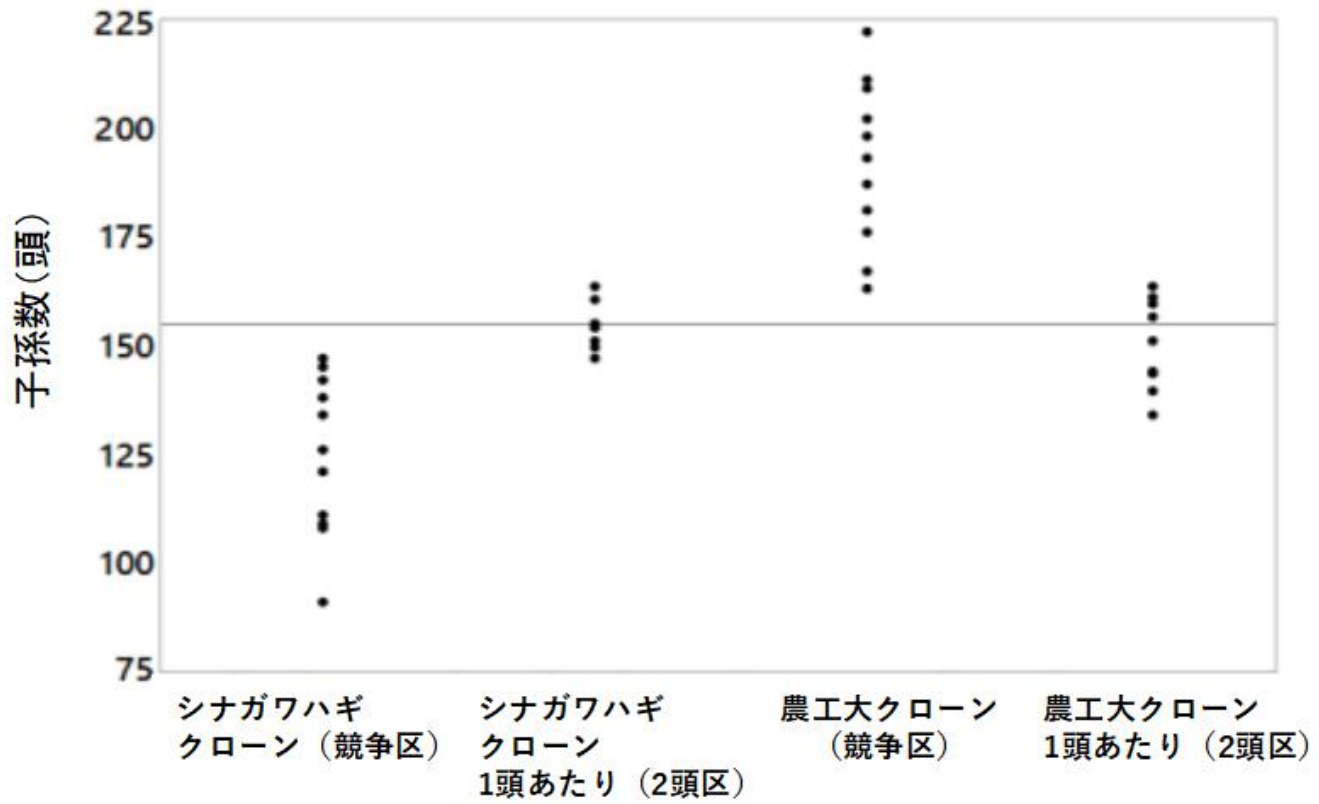


図 3-14 20°Cにおいて 15 日目に各クローンの 2 頭区 1 頭あたりと競争区での子孫数

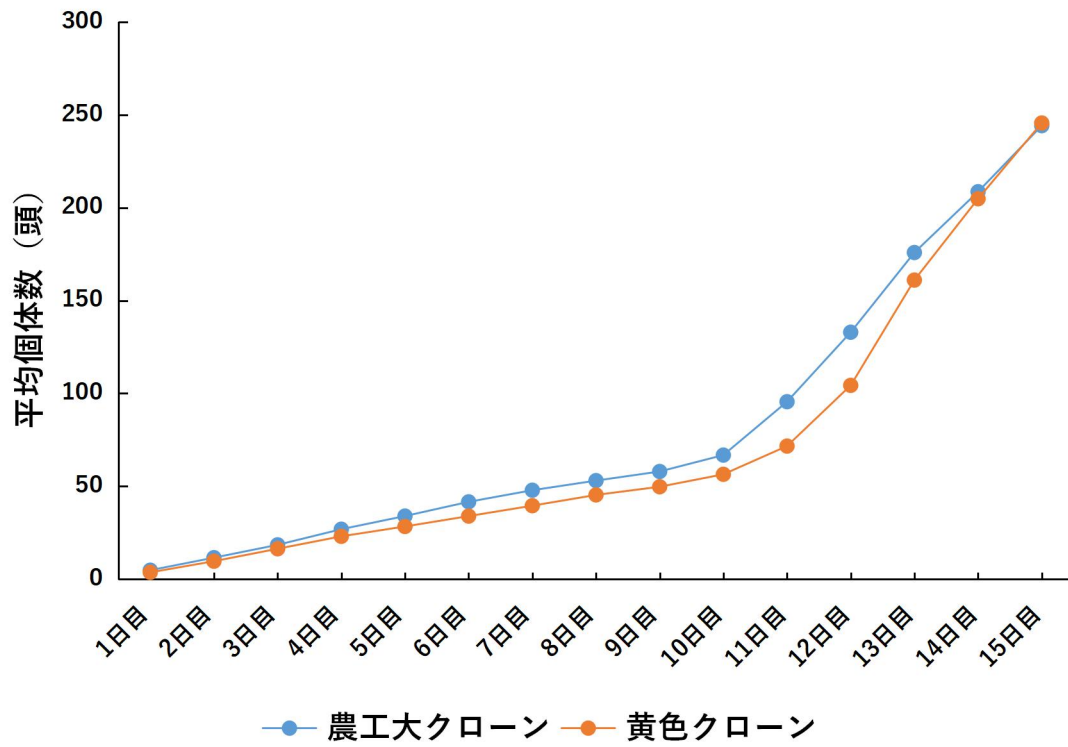


図 3-15 1頭区での各クローンにおける子孫数の推移

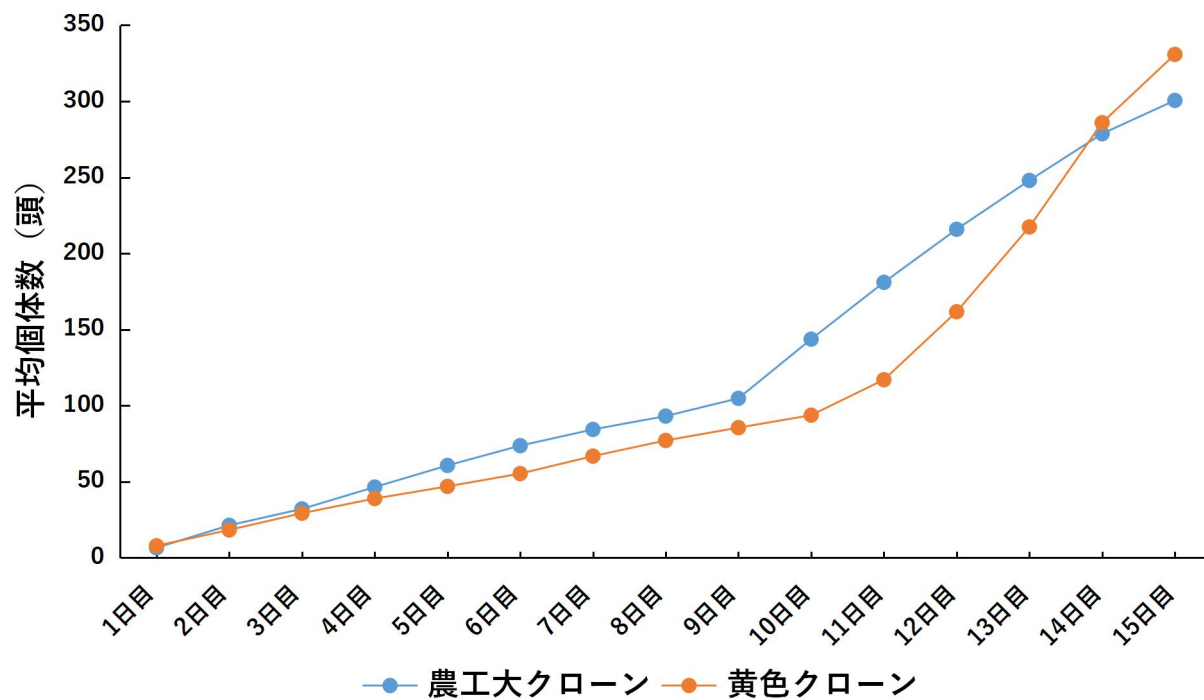


図 3-16 2 頭区での各クローンにおける子孫数の推移

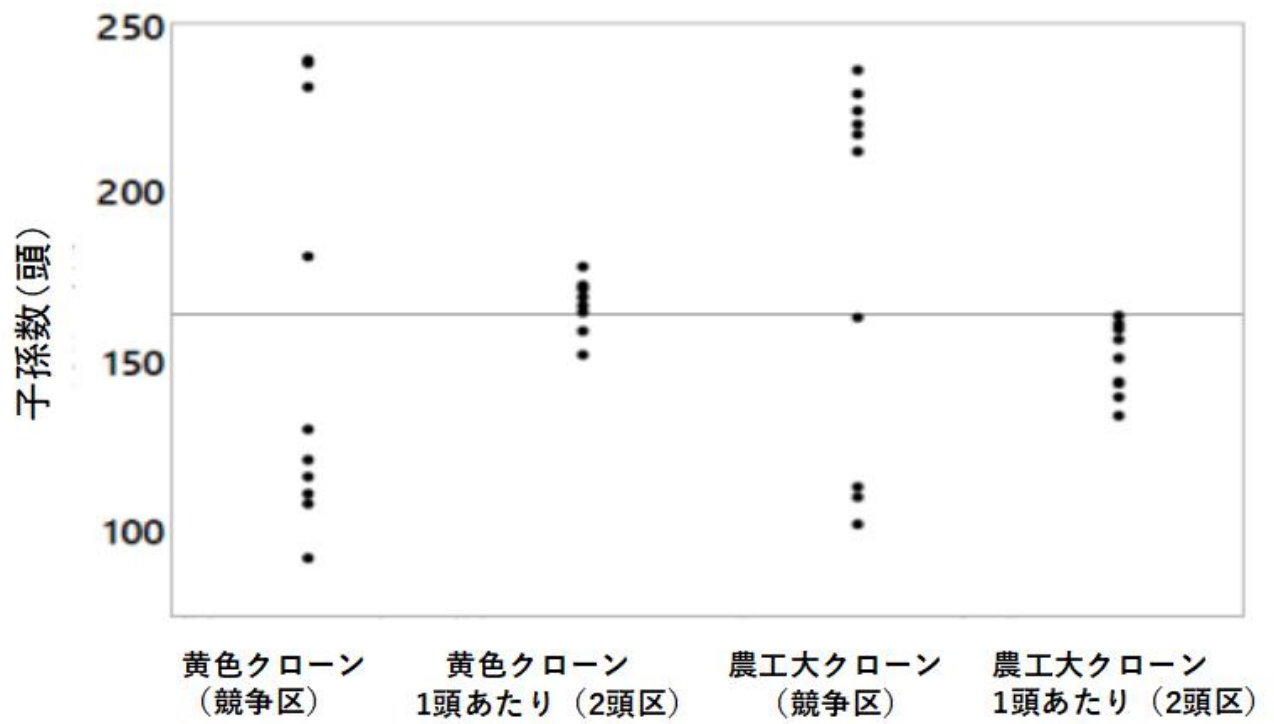


図 3-17 20°Cにおいて15日目に各クローンの2頭区1頭あたりと競争区での子孫数

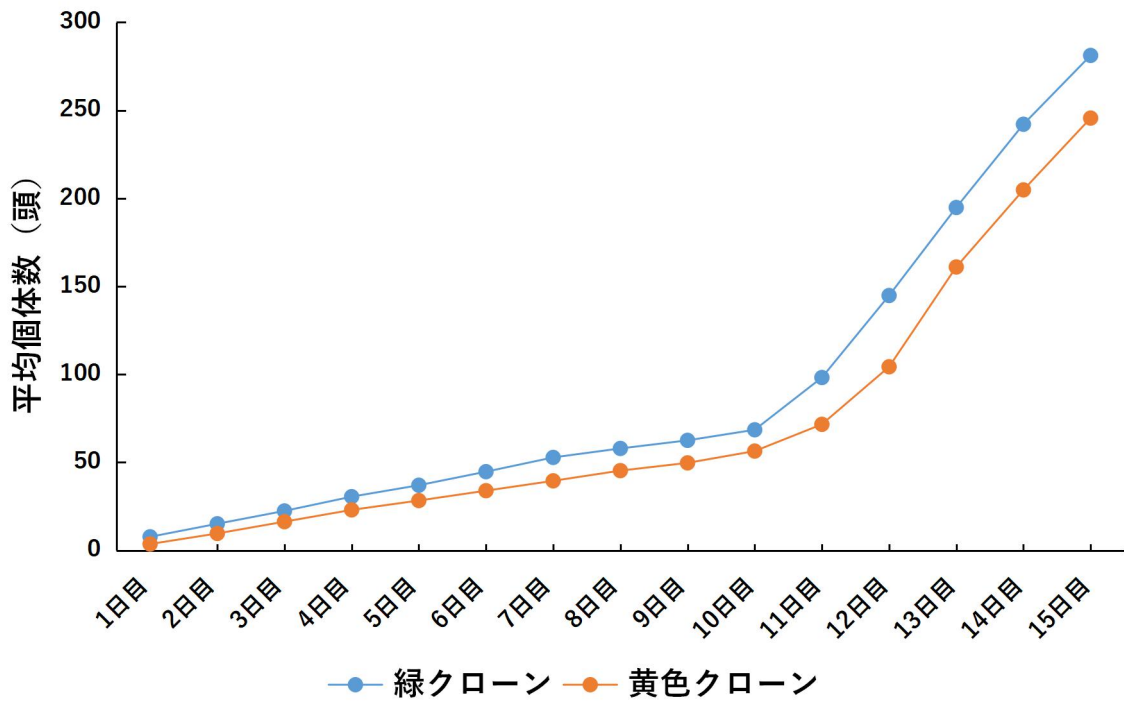


図 3-18 1 頭区での各クローンにおける子孫数の推移

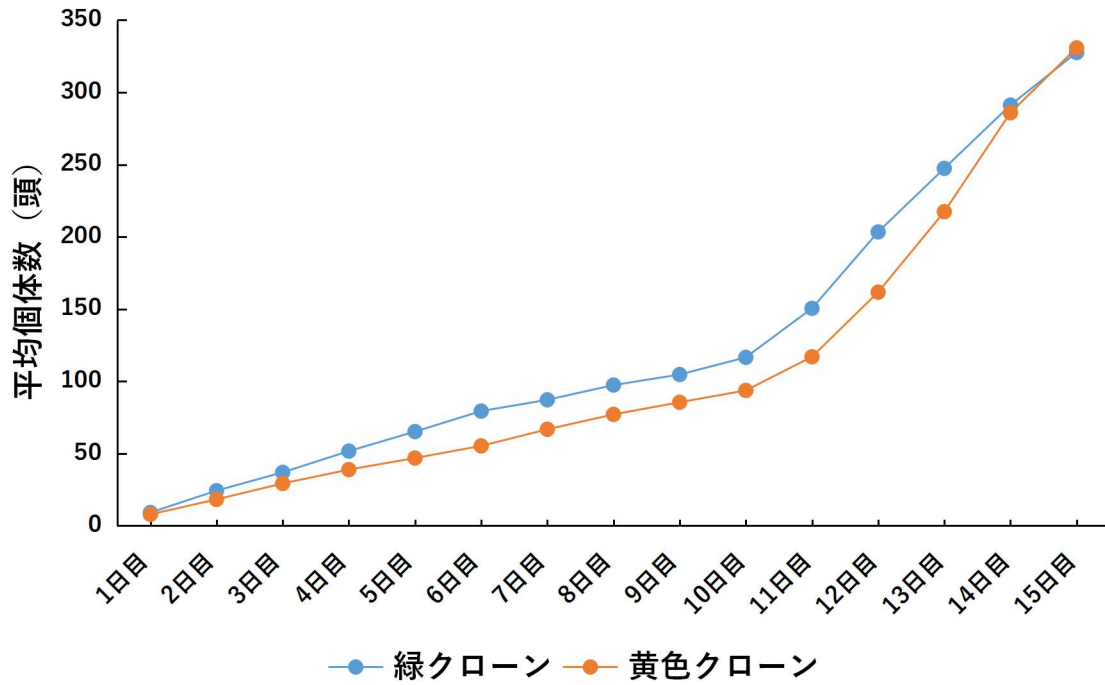


図 3-19 2 頭区での各クローンにおける子孫数の推移

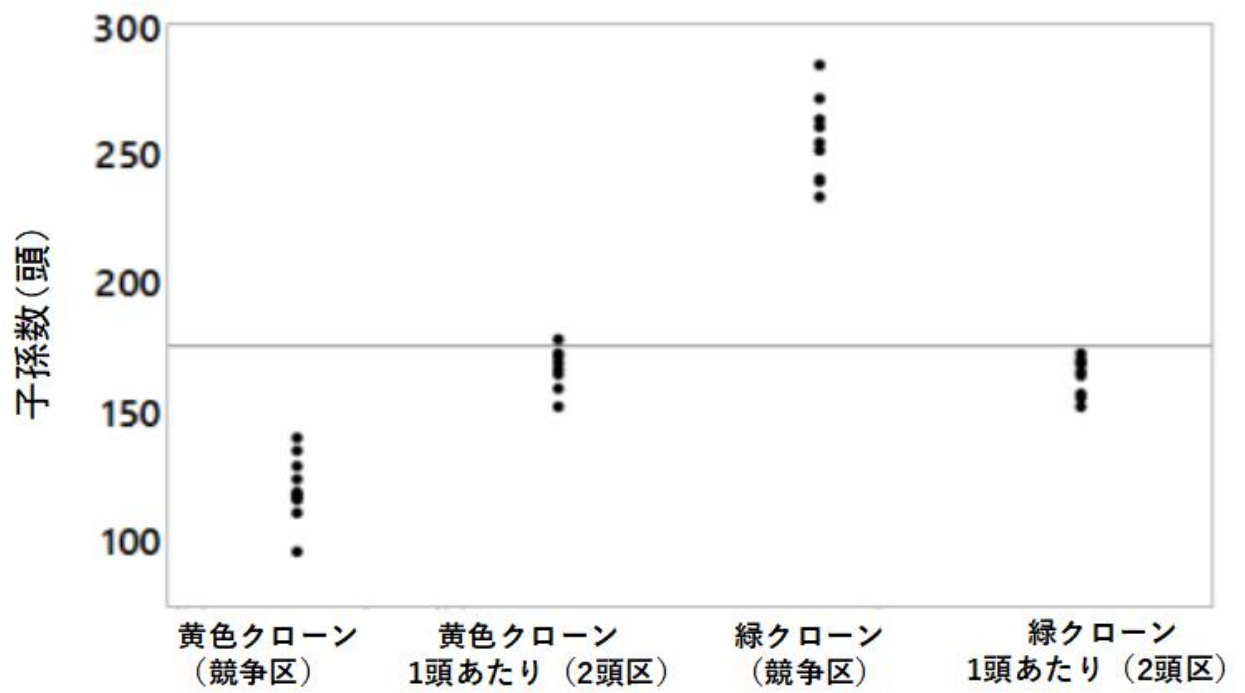


図 3-20 20°Cにおいて 15 日目に各クローンの 2 頭区 1 頭あたりと競争区での子孫数

表 3-1 各組み合わせの競争結果

組み合わせ	戦績 *勝ち：*負け：*未定
農工大クローン VS ソラマメ* (20°C)	6:10:0
農工大クローン* VS ソラマメ (18°C)	8:0:0
農工大クローン VS ソラマメ* (23°C)	0:7:0
アカツメクサクローン* VS ソラマメ	10:0:0
農工大クローン* VS シナガワクローン	7:0:5
農工大クローン* VS 黄色クローン	6:4:0
緑色クローン* VS 黄色クローン	10:0:0

表 3-2 20°Cで 10 日目に農工大クローン 1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
競争区勝者組	98.00 ± 4.568	6	A
2 頭区 1 頭あたり	71.83 ± 4.614	9	B
競争区敗者組	70.60 ± 5.502	10	B
1 頭区	66.75 ± 3.273	12	B

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-3 20°Cで 10 日目にソラマメヒゲナガアブラムシ (&農工大クローン)

1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
競争区勝者組	86.80 ± 3.985	10	A
競争区敗者組	73.00 ± 4.250	6	AB
1 頭区	68.25 ± 3.701	12	B
2 頭区 1 頭あたり	68.06 ± 5.200	9	B

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-4 18°Cで 11 日目に農工大クローンにおける 1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
1 頭区	67.62 ± 2.933	8	A
2 頭区 1 頭あたり	66.19 ± 2.756	8	A
競争区	65.38 ± 5.969	8	A

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-5 18°Cで 12 日目に農工大クローンにおける 1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
1 頭区	92.51 ± 7.169	8	A
競争区	85.88 ± 7.298	8	A
2 頭区 1 頭あたり	79.69 ± 4.069	8	A

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-6 18°Cで11日目にソラマメヒゲナガアブラムシにおける1頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値±SE) (頭)	N	検定結果
1頭区	58.75±2.076	8	A
2頭区 1頭あたり	58.50±1.667	8	A
競争区	54.50±1.389	8	A

同じ文字でつながっていないものは5%水準で有意に異なる

表 3-7 18°Cで12日目にソラマメヒゲナガアブラムシにおける1頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値±SE) (頭)	N	検定結果
2頭区 1頭あたり	64.87±2.063	8	A
1頭区	64.25±1.667	8	A
競争区	60.50±1.793	8	A

同じ文字でつながっていないものは5%水準で有意に異なる

表 3-8 23°Cで9日目に農工大クローンにおける1頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
1 頭区	104.14 ± 6.311	7	A
2 頭区 1 頭あたり	83.92 ± 2.450	6	B
競争区	66.43 ± 3.440	7	C

同じ文字でつながっていないものは5%水準で有意に異なる

表 3-9 23°Cで9日目にソラマメヒゲナガアブラムシにおける1頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
競争区	88.28 ± 4.586	7	A
1 頭区	84.14 ± 4.090	7	A
2 頭区 1 頭あたり	75.83 ± 3.198	6	A

同じ文字でつながっていないものは5%水準で有意に異なる

表 3-10 10 日目にアカツメクサクローン 1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
2 頭区 1 頭あたり	65.07 ± 1.167	7	A
競争区	61.20 ± 2.043	10	AB
1 頭区	55.90 ± 1.425	10	B

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-11 10 日目にソラマメヒゲナガアブラムシ (&アカツメクサクローン)
1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
1 頭区	68.25 ± 3.701	12	A
2 頭区 1 頭あたり	68.06 ± 5.200	9	A
競争区	55.10 ± 5.149	10	A

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-12 10 日目に農工大クローンにおける 1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
2 頭区 1 頭あたり	71.83 ± 4.614	9	A
1 頭区	66.75 ± 3.273	12	A
競争区	65.33 ± 1.367	12	A

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-13 10 日目にシナガワハギクローンにおける 1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
2 頭区 1 頭あたり	78.50 ± 2.002	8	A
1 頭区	78.00 ± 2.293	12	A
競争区	75.66 ± 1.269	12	A

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-14 10 日目に農工大クローンにおける (&黄色クローン) 1 頭あたりの
子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
2 頭区 1 頭あたり	71.83 ± 4.614	9	A
1 頭区	66.75 ± 3.273	12	A
競争区勝者組	62.00 ± 3.141	6	A
競争区敗者組	60.25 ± 3.424	4	A

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-15 10 日目に黄色クローンにおける (&農工大クローン) 1 頭あたりの
子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
競争区勝者組	58.00 ± 2.828	4	A
1 頭区	56.40 ± 2.432	10	A
競争区敗者組	49.67 ± 1.282	6	AB
2 頭区 1 頭あたり	46.85 ± 1.110	10	B

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-16 10 日目に緑クローンにおける 1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
競争区	69.90 ± 2.685	10	A
1 頭区	68.50 ± 2.856	10	A
2 頭区 1 頭あたり	58.30 ± 2.198	10	B

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-17 10 日目に黄色クローン (&緑クローン) における 1 頭あたりの子孫数

グループ	平均個体数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
競争区	57.60 ± 1.752	10	A
1 頭区	56.40 ± 2.432	10	A
2 頭区 1 頭あたり	46.85 ± 1.110	10	B

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-18 ソラマメヒゲナガアブラムシがエンドウヒゲナガアブラムシの繁殖
に対する影響

グループ	3 日間の産子数 (平均値 ± SE) (頭)	N	検定結果
対照区	18.42 ± 0.96	12	A
農工大クローン高密度区	16.17 ± 2.33	6	A
ソラマメヒゲナガ高密度区	11.22 ± 1.16	9	B

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

表 3-19 エンドウヒゲナガアブラムシにおける異なる条件下での産子数の比
較

クローン	3 日間の産子数 (平均値 ± SE) (頭)		
緑クローン	1 頭区 (N=10)	緑クローン 高密度区 (N=7)	黄色クローン 高密度区 (N=7)
		22.40 ± 1.01(A)	19.57 ± 0.92(A) 12.14 ± 0.59(B)
黄色クローン	1 頭区 (N=10)	黄色クローン 高密度区 (N=7)	緑クローン 高密度区 (N=7)
		16.30 ± 0.89(A)	15.57 ± 0.84(A) 7.86 ± 0.34(B)

同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

第4章 エンドウヒゲナガアブラムシにおけるクローンレベルの性表現

1 はじめに

北海道に生息するエンドウヒゲナガアブラムシの生活環は完全生活環でありながら、マメ科の植物に寄生し続け、季節的な寄主転換は行わない。このため、同一の植物で飼育・交配が可能であり、進化生物学では理想的な材料と認められる(Simon *et al.* 2010)。種の性配分を明らかにするためには、資源の配分、移動及び種内の競争に焦点を合わせる研究が必要である (Fisher 1930)。従って、エンドウヒゲナガアブラムシの性比に関する研究はアブラムシの進化のメカニズムの解明に寄与する。現在までのアブラムシの性比に関する研究は、多くの場合異なる地理的集団を対象に調査されてきた (MacKay 1987; Lees 1990)。しかし、クローンレベルの性比及び性比の変動を引き起こす要因に関する研究はまだ少ない現状にある。

クローンが単独で寄主植物に寄生する場合、クローン内のオス同士による配偶者競争を避ける必要性が生じる。このため、クローン単独で植物に寄生する場合には、オスの産出比率を下げ、局所的配偶者競争を低減させる可変的適応が生じる可能性がある。特に無翅オスを産出するクローンでは、移動能力が限定されるために、局所的配偶者競争の影響は極めて大きい。さらに、ある有性クローンが無性生殖タイプのクローンと同居した場合には、有性世代を産出することによって次世代におけるクローン間競争に負けてしまう可能性がある。このため、有性世代の産出を減少させる可変的な行動をとる可能性もある。したがって、クローンが単独で植物体に寄生する場合と異なるクローンと同居する場合では、アブラムシは性比を可変的に変える能力を持つことが想定できる。この作業仮説を実験的に検証することが本研究の目的である。これまで、このような観点から、アブラムシの性比が調べられたことはなかった。従って、同一寄主植物内での異なるホストレースの性比及びクローン間の相互作用を明らかにするため、今回の研究を行った。

2 材料と方法

本研究は 2016 年 12 月から 2017 年 8 月にかけて北海道大学の昆虫体系学実験室で行った。

2.1 昆虫材料

研究室で維持されてきた、エンドウヒゲナガアブラムシの以下のクローンを用いた。

(1) 2015 年 10 月 15 日に北大農学部裏手（札幌市北区）より採集したアカツメクサに寄生する北海道産のエンドウヒゲナガアブラムシの 1 クローン（以下アカツメクサクローン）（秋元信一、李楊採集）。

(2) 2013 年に実験室内で孵化させた、交雑クローンである交 13028C クローン（神戸崇氏作成）から 2017 年 5 月に突然変異により派生した黄色クローン交 13028C-Y（以下黄色クローン）（神戸崇氏発見）。

(3) 2009 年春に自殖卵から孵化したシナガワハギに寄生する北海道産のエンドウヒゲナガアブラムシの 1 クローン（以下シナガワクローン）（秋元信一氏作成）。

(4) 2005 年 10 月 12 日と 2008 年 9 月 30 日に札幌南区豊平河川敷よりそれぞれ採集したアルファルファに寄生する北海道産の 2 つのクローン（APL クローン、08AP2 クローン）（神戸崇氏採集）。

(5) 2005 年 11 月 5 日に北海道大学（札幌市北区）より採集したクサフジに寄生する北海道産のエンドウヒゲナガアブラムシの 1 クローン（以下クサフジ FD）（神戸崇氏採集）。

2.2 宿主植物

本研究では恒温器（16L8D、20°C、湿度 50-60%）で栽培したソラマメ（*Vicia faba*）の芽だしとソラマメ株（成長期 15-30 日）を使用した。葉はソラマメ株から採集したものである。

2.3 実験方法

2.3.1 異なるクローンの性比

恒温器（L:D=16:8、20°C）中で、ソラマメの芽だしで維持してきたクサ

フジ FD・シナガワハギ・アカツメクサ・APL の各クローンから 3 齢幼虫を 3 頭ずつ選び、それぞれ別のソラマメの芽だしに接種し、恒温器（8L16D、15°C）で飼育した。この世代を G0 と呼ぶ。G0 から生まれた 2 頭の 1 令幼虫を無作為に選び、新しい芽だしに移植し、G1 として飼育を続けた。G1 が 4 令になった後、1 頭だけ残し、観察を続けた。産子開始から 3 日ごとに、G1 成虫を新しい芽だしに移植し、死亡するまで飼育を続けた。生まれた幼虫（G2）が成虫に達した後、性別と個体数を記録した。ただし、産子開始から 6 日後、エンドウヒゲナガアブラムシの産子が一時中断されるため、7 日目から 11 目までの産子数を合計した。1 回の実験トライアルで各クローン 3 反復の結果が得られ、こうした実験トライアルを 3 回行い、最終的に各クローンは 9 回の反復を行った。

2.3.2 異なるクローンがエンドウヒゲナガアブラムシの性比に与える影響

本実験は寒天培地法（Li & Akimoto 2018）で行った。実験直径 10cm、高さ 5cm の円筒型のプラスチック容器を飼育に使用した。

08AP2 クローン・シナガワハギクローン・黄色クローンの 3 齢幼虫をそれぞれ 5 頭ずつ二枚の葉を入れた培地に移植し、恒温器（8L16D、15°C）で G0 として飼育した。成虫に達して産子を開始した後、G0 から生まれた 1 令幼虫（G1）をいくつかの実験区に割り当てた。その後、以下の三つのグループを用意した。

1 頭区

一枚葉を入れた培地に、2 頭の 08AP2 クローン 1 齢あるいは 2 頭の黄色クローン 1 齢幼虫(G1)をそれぞれ移植し飼育した。5 日ごとに、新しい葉を付け加えた。4 令に達した後、一番大きな幼虫を残し、飼育を続けた。G1 から生まれた幼虫(G2)が成虫に達した後、顕微鏡で(G2)の個体数と性比を観察した。10 回の反復を行った。

2 頭区

08AP2 クローン・シナガワハギクローン・黄色クローンのそれぞれについて、1 齢幼虫(G1)を 4 頭ずつ一枚の葉を入れた培地に移植し、5 日ごとに、新

しい葉を付け加えた。4令に達した後、2頭の幼虫を残し、成虫まで飼育した。G1から生まれた幼虫(G2)が成虫に達した後、顕微鏡で(G2)の個体数と性比を観察した。10回の反復を行った。

同居区

2頭の08AP2クローンと2頭のシナガワハギクローンの1齢幼虫(G1)を、一枚葉を入れた培地に同時につけて飼育した。5日ごとに、新しい葉を付け加えた。4令に達した後、各クローン1頭ずつ残した。これらのクローンは、角状管の色彩で識別可能である。G1から生まれた幼虫(G2)が成虫に達した後、顕微鏡で各クローンの(G2)の個体数及び性比を観察した。10回の反復を行った。さらに、08AP2クローンと黄色クローンの組み合わせに関して、上と同様な方法で調査し、各グループの(G2)の個体数と性比を記録した。

2.3.3 異なるクローンにおける有性世代の鑑定

08AP2クローンにおいてメスの角状管は黒味がかっており(図4-1A)、シナガワハギクローンのそれは全体に着色がない(図4-1B)。顕微鏡下で、識別可能である。一方、08AP2クローンにおいてオスは無翅型であり(図4-1C)、シナガワハギクローン(図4-1D)は全て有翅型なので、翅の有無を通じて判断できる。

3 結果

3.1 異なるクローンの産子状況

3.1.1 異なるクローンの産子数

各クローンにおける産性虫あたりの産子数は表4-1に示した、アカツメクサ・シナガワハギ・クサフジFD・APLの各クローンの平均産子数の変化を図4-2で示した。どのクローンでも、日当たりの産子数は時間の経過とともに低下した。多変量分散分析の一種 Repeated-measure analysis によれば、どのクローンでも時間とともに産子数が減少するだけでなく、減少傾向にクローン間で差がある(有意な交互作用)ことが明らかになった(表4-2)。

3.1.2 有性世代の個体数

クローン間で個体数の違いが見られた（図 4-3A、図 4-3B、図 4-3C）。Tukey-Kramer test を通じて、オスの平均個体数において、アカツメクローン（24.22 頭）とシナガワハギクローン（25.22 頭）の間に有意差がない一方、それらは APL クローン（4 頭）とクサフジ FD クローン（16 頭）に比べて有意に高く、そのうち、APL クローンのオスの個体数が最も低いことが分かった。

卵生メスの場合には、シナガワハギクローンの平均数が最も多く、29.67 頭となった。アカツメクサクローン（23.67 頭）及び APL クローン（22.78 頭）の間に有意差がなかったが、いずれの数もクサフジ FD クローン（16.22 頭）より有意に多かった。

胎生メスの場合には、四つのクローンとも低いレベルの数を示した。アカツメクサクローン（4.67 頭）、シナガワハギクローン（3 頭）、クサフジ FD クローン（1.89 頭）の平均個体数に有意差が見られず、いずれも APL クローン（9.78 頭）より有意に低いことが分かった。つまり、低温短日条件で、エンドウヒゲナガアブラムシの産子数はクローンによって異なると考えられる。

3.1.3 有性世代の割合

各種類の割合について Holm 法を行い、その結果は図 4-4 で示した。

オスの割合では APL クローンが最も低かった（11.32%）が、胎生メス（25.92%）と卵生メス（62.76%）の割合ではほかのクローンより有意に高いことが分かった。アカツメクローン、シナガワハギクローン、クサフジ FD クローンの間では各種類の割合において有意差が見られなかった。このことはエンドウヒゲナガアブラムシの性比はクローンによって違い、遺伝的な特徴が要因の可能性があると認められる。

3.2 異なるクローンがエンドウヒゲナガアブラムシに与える影響

3.2.1 総産子数に対する影響

各クローンの一頭区と同居区の間で、平均産子数について T - test で検定した（表 4-3）。A) 08AP2 一頭区と 08AP2 がシナガワハギと同居した場合を比較すると、08AP2 の総産子数には有意差が見られなかった。B) シナガワ

ハギ一頭区とシナガワハギが 08AP2 と同居した場合を比較しても、シナガワハギの総産子数には有意差が見られなかった。また、C) 黄色一頭区と黄色が 08AP2 と同居した場合の比較でも、黄色クローンの総産子数には有意差が見られなかった。しかし、08AP2 が黄色クローンと同居した場合の平均産子数（43.3 頭）は、08AP2 一頭区（32.78 頭）の場合よりも有意に多かった。つまり、遺伝子の違うクローンが共存する場合には 08AP2 クローンの産子数に正の影響を与える可能性があると考えられる。

3.2.2 性比に対する影響

Holm 法を用い、同一のクローンにおいて実験処理間で性比の相違を検定した（図 4-5、4-6、4-7）。

シナガワハギクローンでは、2 頭区の平均全産子数は 1 頭区の倍になった。オスの割合において一頭区が最も高く（44.8%）、他個体と共存するとオスの割合が低下した。すなわち、同居区（11.51%）と二頭区（11.94%）ではオスの割合が大きく下がり、それらの間に有意な違いが見られなかった。卵生メスでは、一頭区の割合が最も低くなった（50.63%）。同居区と二頭区の卵生メスの割合はそれぞれ 84.57%と 76.14%であり、それらの間に有意差は見られなかった。胎生メスでは、三つの実験区とも低いレベルの割合を示したので、有意差が認められなかった。

黄色クローンでは、2 頭区の平均全産子数は 1 頭区の倍になった。いずれの実験区でも、卵生メスのみ産出され、他の型は産出されなかったので、有性世代の割合は有意な差が見られなかった。つまり、L:D=8:16、15°C の条件下では、黄色クローンはオスを生み出すことができないと考えられる。

08AP2 クローンでは、2 頭区の平均全産子数は 1 頭区の倍になった。オスの割合には一頭区と二頭区で有意差がなく、それらの区では、同居区よりオスの割合が有意に高かった。卵生メスでは、シナガワとの同居区の割合が最も低く、それ以外の三グループの間に有意な差が見られなかった。胎生メスの割合は、シナガワとの同居区で最も高く、55.31%に達した。二番目に多いのは黄色クローンとの同居区であり、21.41%となった。それら 2 つの区では、

胎生メスの割合が単独区より有意に高かった。胎生メスの割合は、二頭区が最も低く、わずかに 0.61%しかなかった。すなわち、密度あるいは異なるクローンと共存することにより、エンドウヒゲナガアブラムシの性比は、変動した。

4 考察

多くの昆虫とダニにおいては、血縁個体間の競争の強度や有無によって、母親の性配分が進化的な影響を受けることが知られている (Foster & Benton 1992; Kirkendall 1993; Moran 1993; Sabelis *et al.* 2002)。アブラムシの性比は、性染色体によって確率的に決定されるわけではなく、膜翅目昆虫のメスと同様に、産性虫によりコントロールされている。完全生活環のアブラムシにおいては、有性生殖が一年に一回行われ、単為生殖が中断される。オスと卵生メスの産出は減数分裂に拘束されず、産性虫がコントロールできるため、極端な性比の子孫を生み出せる。アブラムシでは、低温短日下で、始原生殖細胞から 1 本の X 染色体を核外に除去した場合、その細胞はオスに向かって発生し、一方、2 本の X 染色体が保持されれば、その細胞は卵生メスに向かって発生することが知られている。Yamaguchi (1985) は、任意交配では 1: 1、局所的配偶競争が生じる条件下ではメスに偏った性比で安定し、最適となると主張した。ユキムシ *Prociphilus oriens* においては、メス性比は年間で大きく変動し、その変動は自己相関しておらず、また、メスの性比と 8 月の降水量および 9 月の環境温度の間に相関性が見られた。また、オスの個体数は遺伝的にクローンごとに決まっている可能性があることが報告されている (Li & Akimoto 2017)。今回の研究では、エンドウヒゲナガアブラムシの性比がクローンによって違うことに加え、産子数も大きく変化することが示された。その結果は Hazell *et al.* (2005) の研究を支持する。クサフジクローン、アカツメクローン及びシナガワハギクローンの三つのクローンの性比はややメスに偏ったが、大きな差がなかった。しかし、08AP2 と APL という二つのアルファルファ由来のクローンのオス性比はそれらよりかなり低いことが分かっ

た。驚いたことに、黄色クローンでは、どの実験区でも卵生メスだけを生んだ。遺伝子突然変異が原因の可能性があると考えられる。

実験結果からみると、エンドウヒゲナガアブラムシの産性虫は、産子を開始した最初数日間は卵生メスだけを産んだ。その後、産子を一時中止し（中止期間1日-2日）、再開すると、胎生メスとオスを生み出した。本研究では、産性虫は死亡するまでの産子数を調査したが、死亡した時にその腹部には大量の性別の判断できない胚が存在していた。したがって、エンドウヒゲナガアブラムシの産子メカニズムに関して、さらなる研究が必要である。

アブラムシの性配分に影響する要因が二つ想定できる。第一に、コロニーの中で、どの程度交尾しているのか？第二に、子供への投資タイミングである（Foster 2002）。無翅オスを生み出す 08AP2 の一頭区と二頭区の間では性比において有意差がなかったが、有翅オスを生み出すシナガワハギの二頭区のオス性比は一頭区より少なかった、つまり、シナガワハギクローンは密度の増加とともに、性比が変化する可能性があると考えられる。シナガワハギクローンは有性個体の密度が高い状況では、クローン関係（血縁度1）にあるオス間のメスをめぐる競争(LMC)を減らすため、オス比率を下げ、メスとしての利益を活かす方向に可変性を発達させていると考えられる。しかし、なぜ 08AP2 でオス比率に変化が生じないのだろうか？08AP2 では常にクローン内交配が日常化しているために、常に LMC を防ぐための最適なレベルで性比が調整されていると考えられる。本研究では、08AP2 がシナガワハギクローンと同居した場合、あるいは 08AP2 が黄色クローンと同居した場合、08AP2 の胎生メスの割合がそれぞれ 55%と 22%と大きく増加した。つまり、08AP2 クローンは異なるクローンと同居する場合には、産性虫が子供への投資を変えることができ、相手によって変化の大きさが異なることがわかる。従って、胎生メスへの投資は、何らかの適応戦略としてアブラムシが採用している可能性がある。胎生メスは、北海道では冬季間に死亡するが、本州南部・西部では寄主植物上で生き残り、春には繁殖に参加できる。したがって、異なるクローンが有性世代に多くを投資する場合には、08AP2 クローンは胎

生個体に投資することで、春先のクローン間競争を生き残る戦略を取っている可能性もある。なお、08AP2 は黄色クローンと同居した場合に、総産子数のほうが一頭区より有意に多かった。この結果は、ソラマメヒゲナガアブラムシ農工大クローンとエンドウヒゲナガアブラムシの競争実験（3章）の結果に類似した。つまり、競争があれば、一部のアブラムシの産子数の増加を促進する可能性もあると認められる。

先行研究 (Akimoto *et al.* 2012)では、雪虫において雌 1 頭を作るのに、雄 1 頭作る場合の 1.85 倍のエネルギーを必要とすることが分かった。しかし、本研究ではエンドウヒゲナガアブラムシの腹部には有性世代だけではなく、胎生メスと生まれていない胚も含まれたため、子供への投資量の定量化が容易ではない。しかし、オス、卵生メス、胎生メスの数を比較した時に、全産子数に対する胎生メス数の割合は、クローン間競争にかけるエネルギー比率を表していると考えられる。胎生メスは、翌年の春にいち早く増殖し、他クローンとの競争に打ち勝つ役割を担うからである。また、産性メスは、胎生メスおよびその子孫とは血縁度が 1 であるのに対し、オスおよび卵生メスの子孫とは血縁度が 1/2 しかないため、産性メスとしては、胎生メスを生むことでより効率よく自分の遺伝子を後の世代に伝えることができる。胎生メスの比率が、他クローンとの同居によって大きく変化したことは、競争相手の存在によって、エンドウヒゲナガアブラムシは有性生殖と無性生殖を可変的に切り替える能力を持つことを示している。この事実は、アブラムシでは初めての発見である。

以上のように、エンドウヒゲナガアブラムシの性比変動を引き起こす原因は 1、クローンごとにオスを生む傾向に違いがあること。2、個体密度の違い、3、他クローンの存在を認識して、自分の遺伝子をより効率よく残すために性比を調節していることが明らかとなった。オス、卵生メス、胎生メスのより詳しい変動要因は今後解明すべきだと考える。

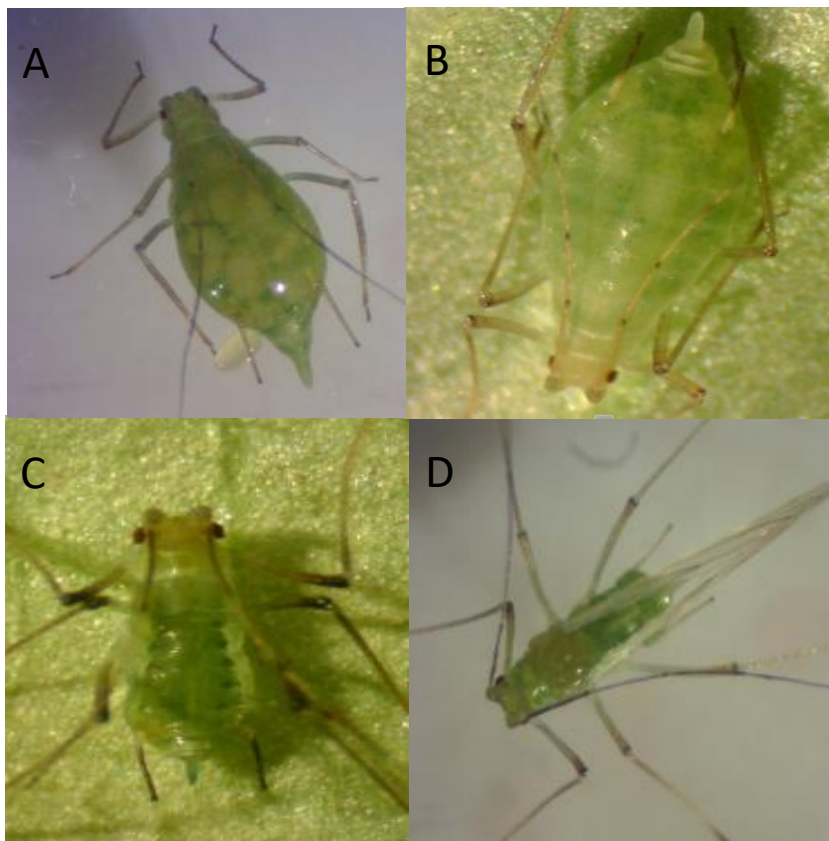


図 4-1 A: シナガワハギクローンの卵生メス、B: 08AP2 クローンの卵生メス、
C: 08AP2 クローンのオス、D: シナガワハギクローンのオス

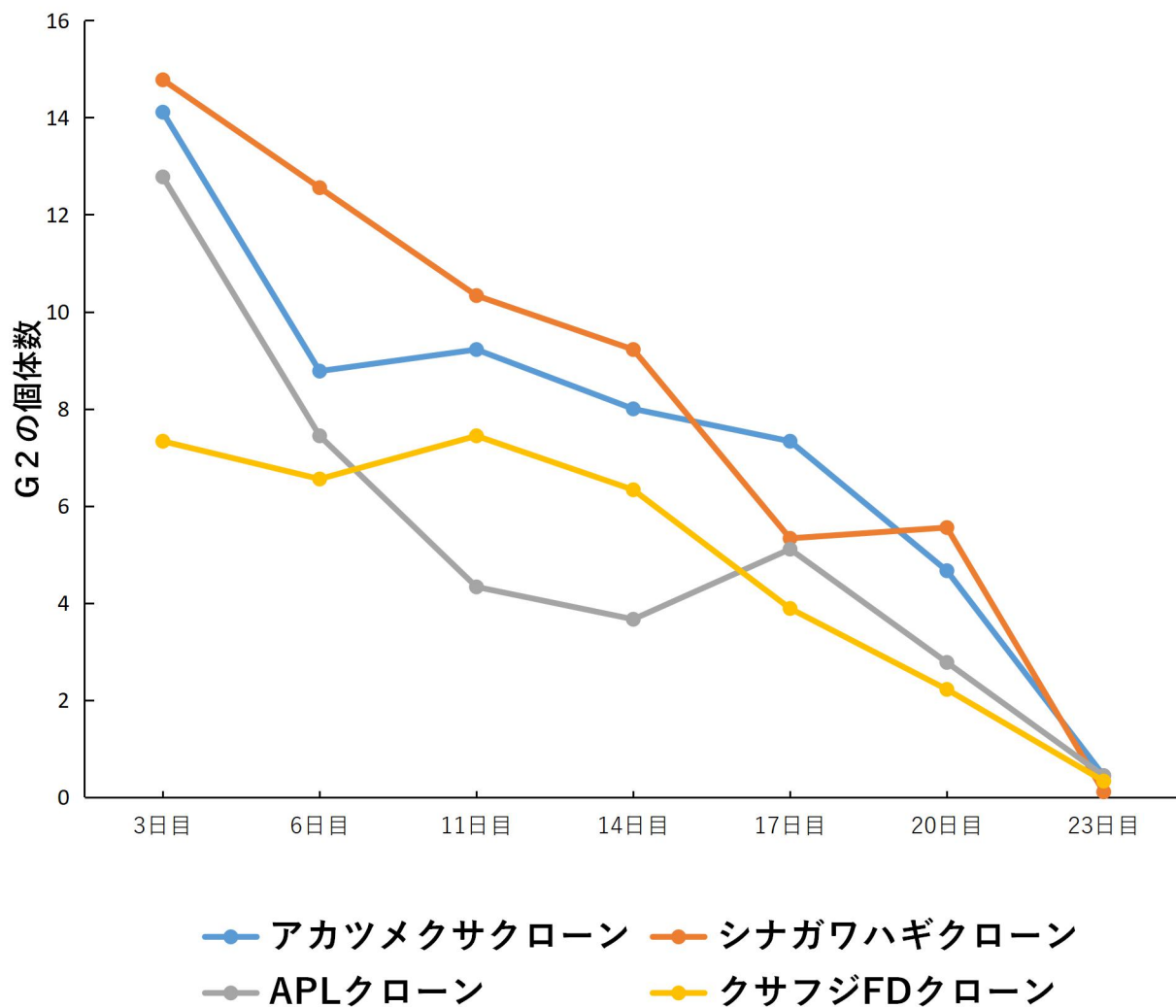


図 4-2 各クローンの産子数 (G2) の推移。産子を開始して3日後を3日目とする。

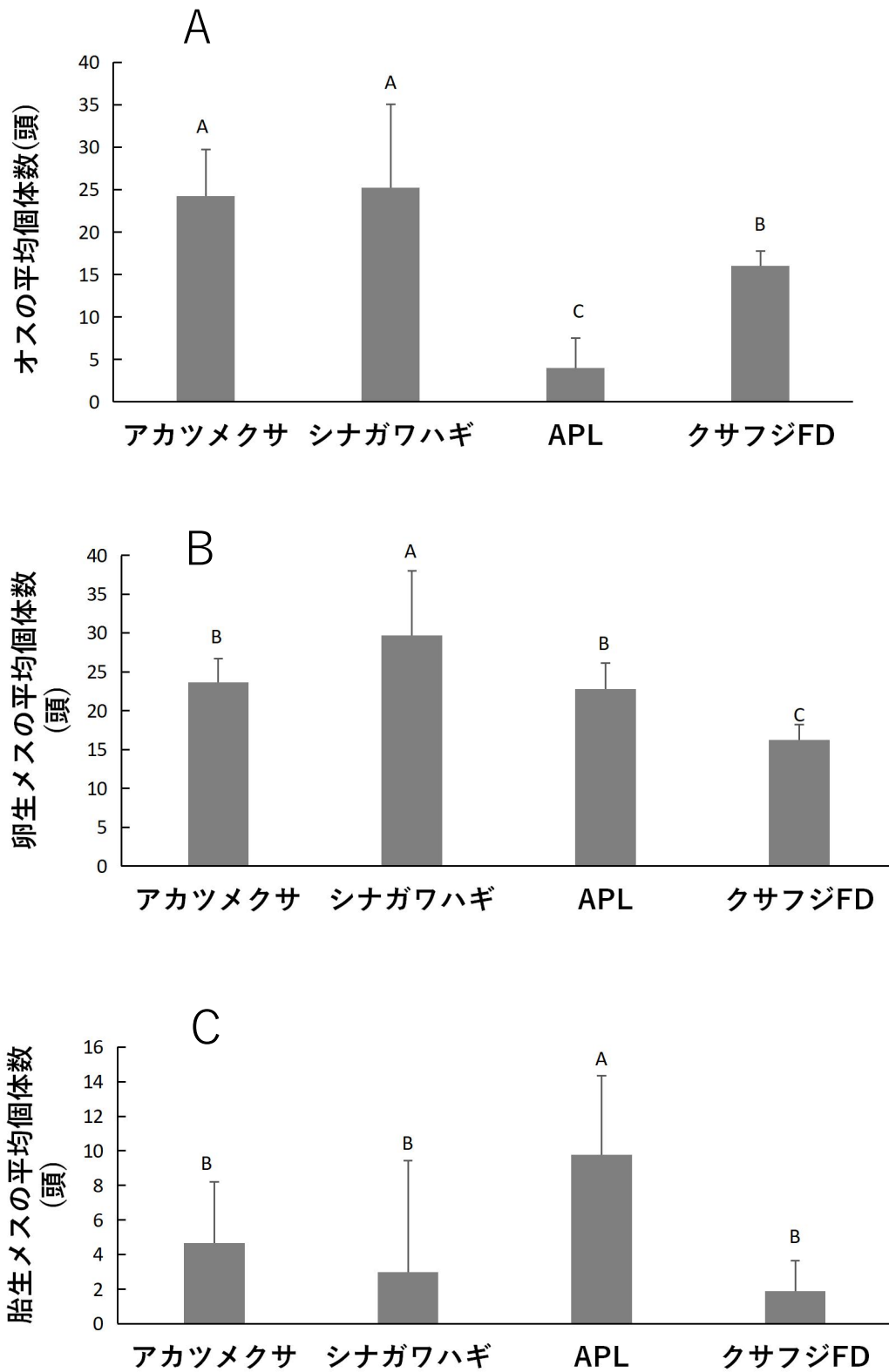


図 4-3 クローン別の個体数を示す、エラーバーは標準誤差を表している。

異なる文字は統計的有意差があることを示す。

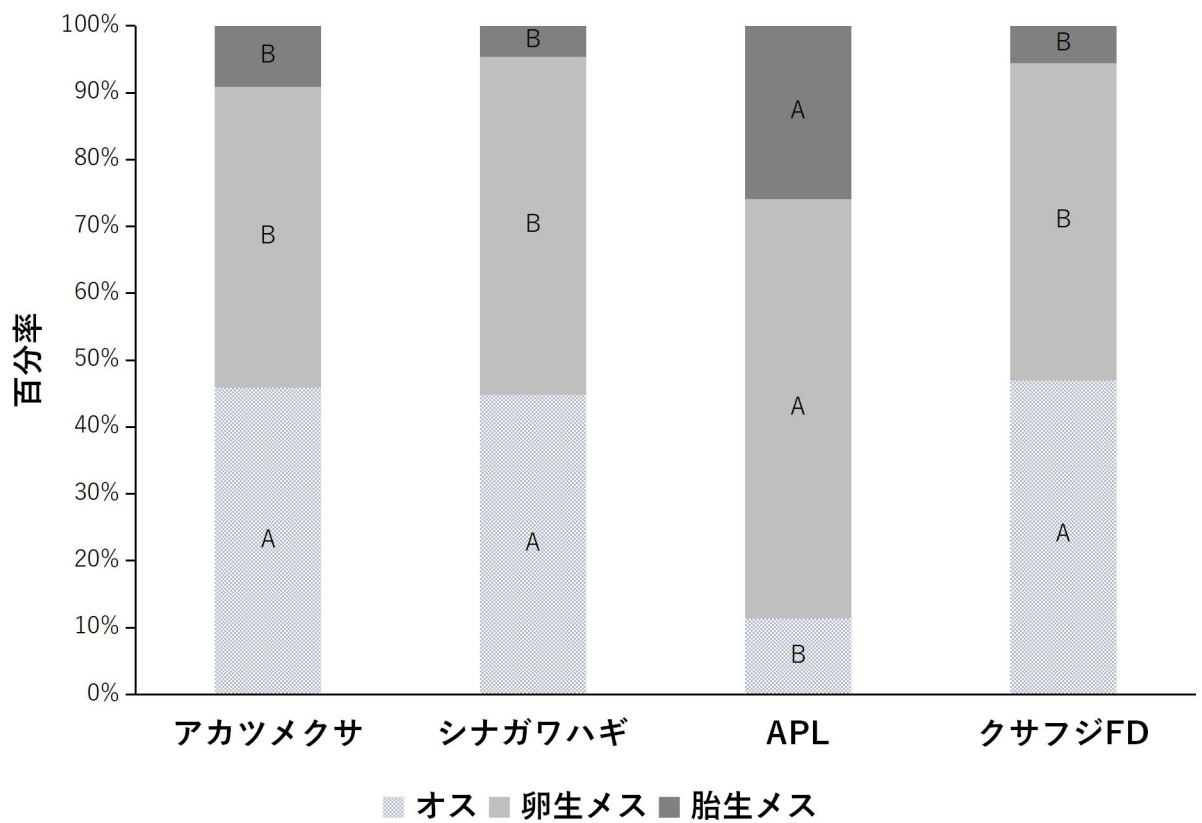


図 4-4 各クローンにおける各性別の割合を示す。異なる文字は各モルフ内で統計的有意差があることを示す。

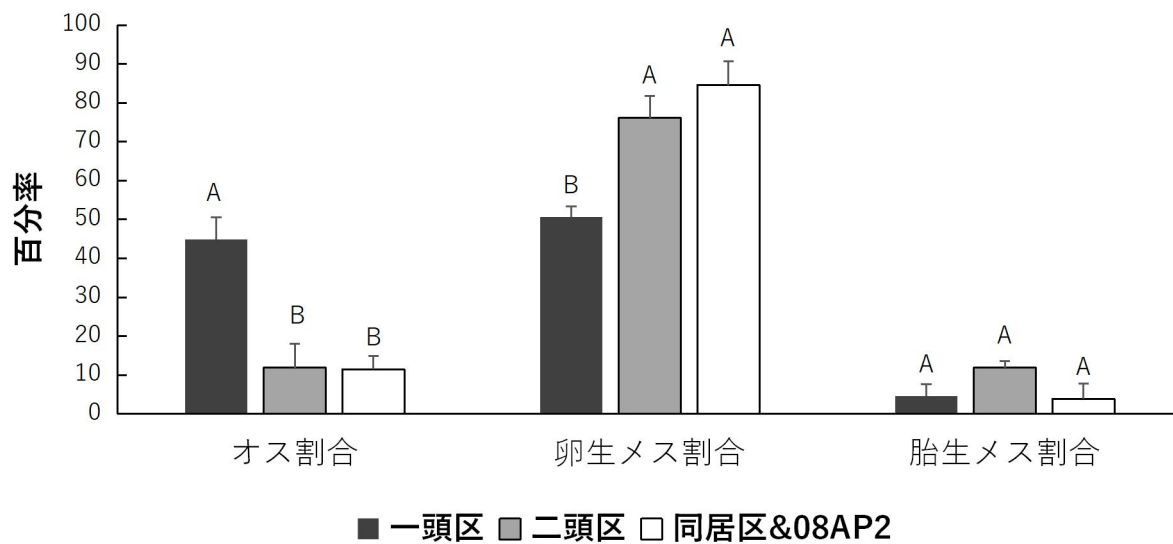


図 4-5 シナガワハギクローンにおける各グループの比較。エラーバーは標準誤差を表している。同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

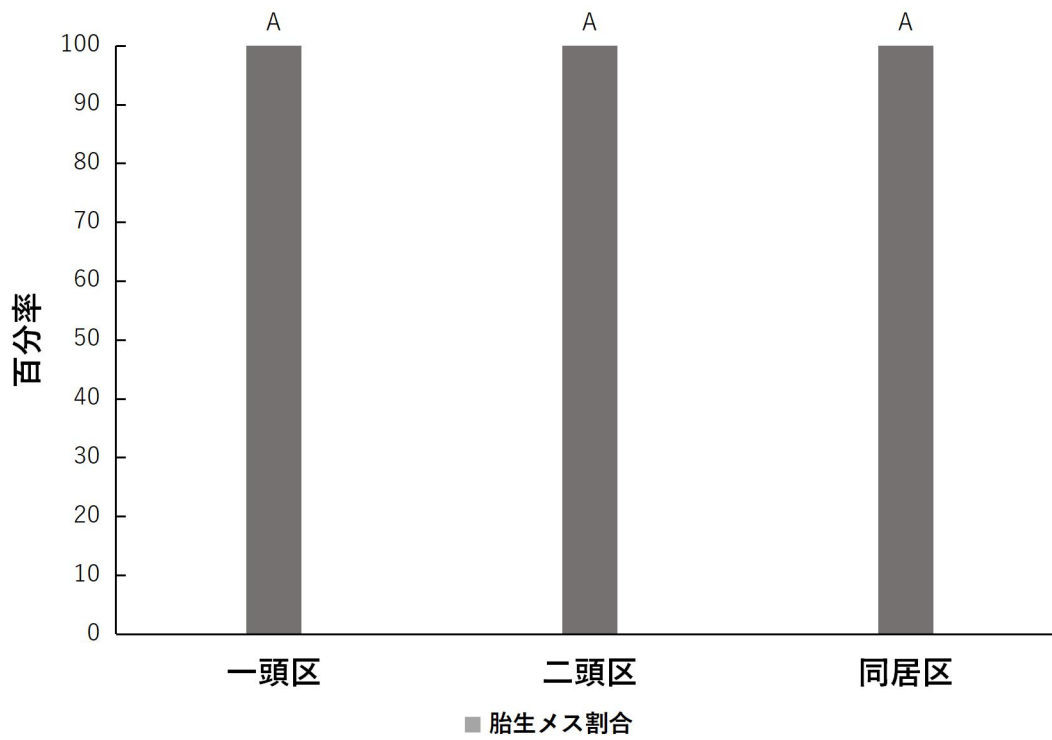


図 4-6 黄色クローンにおける各グループの比較。同じ文字でつながっていないものは 5%水準で有意に異なる

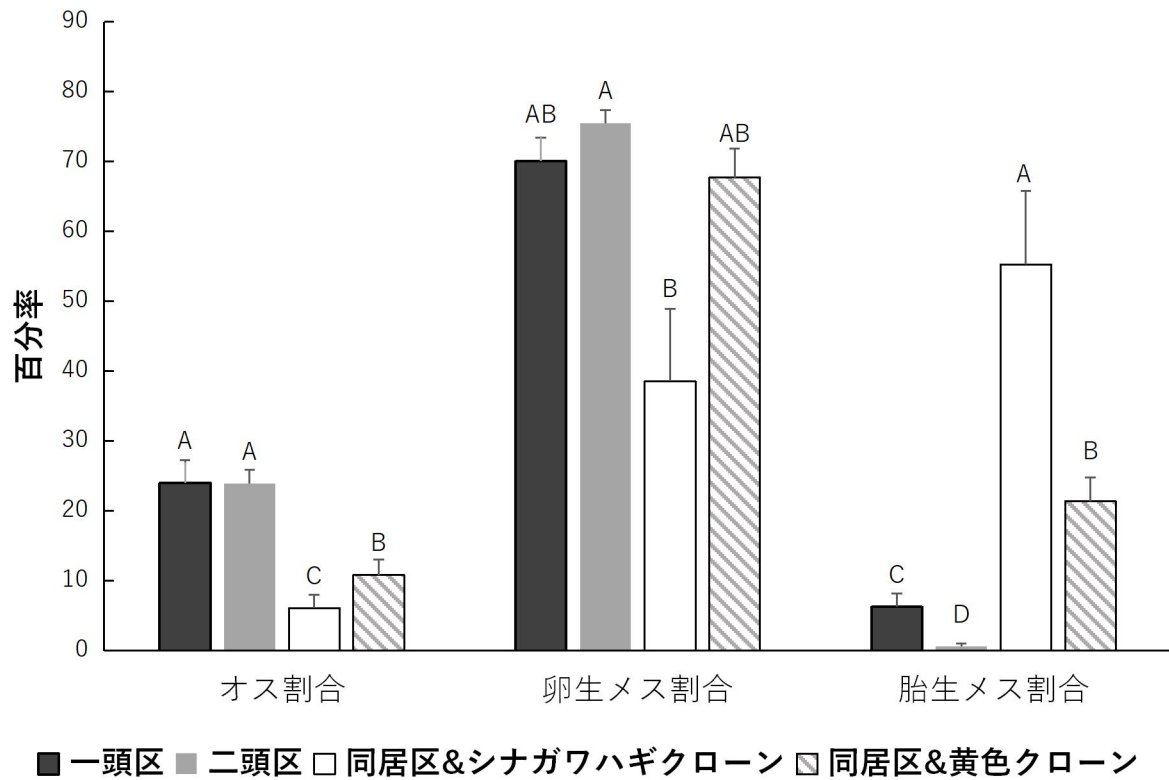


図 4-7 08AP2 クローンにおける各グループの比較。エラーバーは標準誤差を表している。同じ文字でつながっていないものは5%水準で有意に異なる。

表 4-1 各クローンにおける雌あたりの産子数

クローン	N	平均オスの数±SE(頭)	平均卵生メスの数±SE(頭)	平均胎生メスの数±SE(頭)	飼育方法
アカツメクサ	9	24.22±1.84	23.68±1.01	4.67±1.17	芽出し
シナガワハギ	9	25.22±3.29	29.68±2.76	3.00±2.14	芽出し
APL	9	4.00±1.18	22.78±1.11	9.78±1.51	芽出し
08AP2	9	8.00±1.54	22.68±1.17	3.11±0.75	寒天培地法
クサフジ FD	9	16.00±0.60	16.22±0.66	1.89±0.59	芽出し
黄色	10	0	26.60±1.18	0	寒天培地法

表 4-2 Repeated-measure 分析による各クローンの産子数の検定結果

	F	P	DF
時間	284.88	<0.0001	6,27
クローン*時間	9.73	<0.0001	18,77

表 4-3 各組み合わせ間の産子個体数の検定結果

組み合わせ		P	DF
08AP2 1 頭区	08AP2 同居区 (&シナガワハギクローン)	0.19	17
08AP2 1 頭区	08AP2 同居区 (&黄色クローン)	0.001*	17
シナガワハギクローン 1 頭区	シナガワハギクローン同居区	0.49	17
黄色クローン 1 頭区	黄色クローン同居区	0.6	18

*マークがついた場合には、有意差がある。

第5章 エンドウヒゲナガアブラムシにおける異なるホストレース及びそれらの雑種の適応性に関する研究

1 はじめに

現在まで、さまざまなアブラムシの適応性について研究が行われたにもかかわらず、異なるホストレースの適応性とその遺伝的基盤に関しては、まだ未解明の問題が残されている。各宿主植物に対するエンドウヒゲナガアブラムシの各ホストレースの遺伝的適応性を明らかにするために、本章では、第一に、異なる宿主植物から採集した4つのホストレース及び1つの自殖クローン(合計5クローン)を使用し、有性世代を誘導した。8つの交配組み合わせを作成して交尾させ、得られた受精卵の孵化時間と孵化率を定量化した。第二に、アルファルファあるいはアカツメクサ寄生のエンドウヒゲナガアブラムシのオスと卵生メスを掛け合わせて雑種クローン(hybrids)を作り、寒天培地法(Li & Akimoto 2018)を応用し、各ホストレースと雑種の適応性を調べた。7日間の1胎生メスあたりの産子数と成虫の後脚のサイズを宿主植物に対する適応性の基準として評価した。

2 材料と方法

本実験は2017年6月から2018年6月にかけて北海道大学の昆虫体系学実験室で行った。

2.1 昆虫材料

研究室で維持されてきた、エンドウヒゲナガアブラムシの以下のクローンをを用いた。

(1) 2005年10月12日と2008年9月30日に札幌南区豊平河川敷よりそれぞれ採集したアルファルファに寄生する北海道産の2つのエンドウヒゲナガアブラムシのクローン(APLクローンと08AP2クローン)(神戸崇氏採集)。

(2) 2005年11月7日に北海道大学より採集したクサフジに寄生する北海道産のエンドウヒゲナガアブラムシの1クローン(以下クサフジEクローン)(秋元

信一氏採集)及びクサフジ E 自殖クローン(堀尾知生氏作成)。

(3) 2015年10月15日に北大農学部裏手(札幌市北区)より採集したアカツメクサに寄生する北海道産のエンドウヒゲナガアブラムシの1クローン(以下アカツメクサクローン)(秋元信一、李楊採集)。

2.2 宿主植物

ソラマメ *Vicia faba* はマメ科ソラマメ属の一年草または越年草である(柴田1989)。本研究で使用したソラマメの芽だしとソラマメ株(成長期15-30日)は恒温器(16L8D、20°C、湿度50-60%)で栽培したものである(図5-1-A)。葉はソラマメ株から採集した。

アルファルファ *Medicago sativa* は、マメ科ウマゴヤシ属の多年草。本研究では恒温器(16L8D、20°C、湿度50-60%)で栽培したアルファルファ株(成長期35-60日)を使用した(図5-1-B)。葉はアルファルファ株から採集した。

アカツメクサ *Trifolium pratense* は、マメ科シャジクソウ属の多年草。本研究で使用したのは北海道大学農学院圃場に自生していた株から葉を採取した(図5-1-C)。

2.3 有性世代の誘導と雑種の作出

有性世代の誘導は寒天培地法(Li & Akimoto 2018)で行った。

恒温器(MIR-254; Sanyo Corporation, Mito, Japan)において、16L8D、20°C、湿度50-60%条件下で、ソラマメの芽だしで維持してきたクサフジ E クローン、クサフジ E の自殖クローン、アカツメクローン、アルファルファ APL クローン、アルファルファ 08AP2 クローンの各1クローンから3令幼虫を3頭ずつ選び、それぞれ一枚のソラマメの葉を入れた培地に接種し、恒温器(L:D=8:16、15°C、湿度50-60%)でG0として飼育した。5日ごとに新しい葉を付け加えた。G0から生まれた2匹の1令幼虫を無作為に選び、新しい培地に移植し、G1として飼育を続けた。G1が4令になった後、1頭だけを残し、死亡するまで産子させた。G1から生まれた卵生メスとオスから無作為に選び、8つの寄主レース間の組み合わせを作成した(表5-1)。各組み合わせをそれぞれ三枚のソラマメの葉を入れた培地に移植し、恒温器(16L8D、15°C、

湿度 50-60%)で交尾を促した。観察を通じて、各ペアにおける平均交尾時間は10分以内であった。このうち、APL クローンオスとクサフジ E メスの組み合わせでは受精卵が得られなかった。卵生メスから生まれた受精卵が黒化(図 5-2: 受精卵しか黒くならない、非受精卵の色は変化しないことで識別可能)してから15日経過した後、受精卵を収集し、ランダムに3つのグループに分け、それぞれ長方形(長さ*幅*高=6cm*3.5cm*1cm)のケースに入れた(図 5-3)。その後、恒温器中で、3°Cで維持した。3か月後、恒温器から受精卵を取り出し、(19°C, 8 h: 7:00-15:00; 6°C, 16h: 15:00-7:00、湿度 50-60%)の条件下で孵化を誘導した。以下の交配(08AP2♂*アカツメクサ♀、クサフジ E の自殖、クサフジ E 自殖クローンの自殖、クサフジ E♂*アカツメクサ♀、クサフジ E♂*APL♀、08AP2♂*APL♀)からの卵の誘導開始時間は2017年10月15日であり、アカツメクサ♂*08AP2♀からの卵の誘導開始時間は2017年11月30日であった。

2.4 異なる雑種の孵化率と孵化時間

3ヶ月間の3°Cでの保存後、恒温器から取り出した受精卵を変温条件下(19°C, 7:00-15:00; 6°C, 15:00-7:00、湿度 50-60%)の恒温器に移動した日の翌日を1日目とし、孵化終了まで観察を続けた。各交配組み合わせの孵化時間と孵化率を記録した。

2.5 産子数とサイズの観察

08AP2 クローンとアカツメクサクローンで両方向の雑種を作成したので、それらの雑種を材料として本実験を行った。08AP2♂*アカツメクサ♀とアカツメクサ♂*08AP2♀の受精卵から孵化した雑種幹母幼虫(図 5-4)を5頭ずつソラマメの芽出しに移植し、恒温器(16L8D、20°C、湿度 50-60%)で飼育した。成虫になった後、08AP2♂*アカツメクサ♀とアカツメクサ♂*08AP2♀の各組み合わせのそれぞれから、早期に成虫に達したクローンを3つずつ無作為に選び、それぞれ別のソラマメの芽出しに移植し、個別別(F1 クローン別)に累代飼育した。しかし、そのうち、08AP2♂*アカツメクサの一つのクローンが死亡したので、親クローンを含め、合計7つのクローンで実験を行

った。

2.5.1 ソラマメ葉での産子数と成虫のサイズ

以上の7クローンそれぞれから4令無翅幼虫を無作為に4頭ずつ選び、それぞれ2枚のソラマメの葉を入れた培地に移植し、1世代目として恒温器(16L8D、20°C、湿度50-60%)で飼育した：すなわち、アカツメクサ(親)、08AP2(親)、08AP2♂*アカツメクサ-A、08AP2♂*アカツメクサ-B、アカツメクサ♂*08AP2♀-A、アカツメクサ♂*08AP2♀-B、アカツメクサ♂*08AP2♀-Cを実験に用いた。1世代目から生まれた30頭の1令幼虫を無作為に選び、新しい培地に移植し、2世代目として飼育を続けた。4令になった後、無作為に12頭の幼虫を選び、1頭ずつ1枚のソラマメの葉を入れた培地に移植し、2日ごとに新しい葉を付け加えた、産子開始1日目から2日毎に産子数を記録し、7日間の産子数を観察した。さらに、成虫を回収して解剖した、画像をパソコンに取り込み、ImageJ(V 1.51)で後足のfemurとtibiaを測定した。

2.5.2 アルファルファとアカツメクサ葉での産子数と成虫のサイズ

アカツメクサ、08AP2、08AP2♂*アカツメクサ♀区のA、B、アカツメクサ♂*08AP2♀区のA、B、Cの各クローンの維持ストックから4令幼虫を無作為に4頭ずつ選び、それぞれ6枚のアルファルファの葉を入れた培地に移植し、1世代目として飼育した。1世代目から生まれた1令幼虫を数個体ずつ選び、新しい培地に移植し、2世代目として飼育を続けた。こうして宿主植物を変えずに連続して繁殖をした。これは、ソラマメで飼育してきたことの世代越え効果(transgenerational effects)を消去するためである。3世代目から生まれた幼虫(4世代目)が4令に達した後、3枚のアルファルファの葉を入れた培地に1頭ずつ移植し、2日ごとに新しい葉を付け加えた、産子開始から2日毎に産子数を記録し、7日間の産子数を観察した(反復は12回であった)。その後、収集した成虫を解剖し、プレパラートにし、画像をパソコンに取り込み、ImageJで後足のfemurとtibiaを測定した。

上述の方法と同じようにアカツメクサの葉での産子数と成虫のサイズを調

査した。

3 結果

3.1 孵化率と孵化時間の検定

総受精卵数と総孵化数は表 5-1 に示した。クサフジ E♂*APL♀では受精卵が得られた (72 個) が、その逆の組合せでは受精卵は得られなかった、また、08AP2♂×APL♀では受精卵が生まれたが、それらは孵化しなかった。クサフジ E の自殖卵とクサフジ E 自殖クローンの自殖卵の孵化率は 70%以上だったので、すべてのデータは逆正弦変換し分析に用いた。その後、Tukey-Kramer test を行った結果を表 5-2 に示した。受精卵の孵化率には組み合わせごとにばらつきが見られた。クサフジ E の自殖、クサフジ E 自殖クローンの自殖、クサフジ♂×アカツメクサ♀の三つの組み合わせの間に有意差が見られず、また、アカツメクサ♂×08AP2♀と 08AP2♂×アカツメクサ♀の孵化率に有意差は検出されなかった。しかし、クサフジ E 自殖卵とクサフジ E 自殖クローンの自殖卵は、アカツメクサ♂×08AP2♀と 08AP2♂×アカツメクサ♀由来の卵よりも有意に孵化率が高く、かつ、いずれもクサフジ E♂×APL♀の孵化率より有意に高いことが分かった。

一方、各交配組み合わせの孵化時間にも大きな違いが見られた(表 5-3)。自殖の組み合わせ(クサフジ E 自殖卵とクサフジ E 自殖の自殖卵)の孵化に要する時間をもっとも長く、それぞれ 20 日と 19.66 日であり、それらの間に有意差が見られなかった。また、クサフジ E♂*APL♀由来卵とクサフジ E♂×アカツメクサ♀由来卵は、アカツメクサ♂×08AP2♀由来卵(9 日)と 08AP2♂×アカツメクサ♀由来卵(9 日)よりも有意に長かった。しかし、アカツメクサ♂×08AP2♀由来卵と 08AP2♂×アカツメクサ♀由来卵間に孵化時間では有意差が見られなかった。

クサフジ E♂*APL♀由来卵の孵化率は 16.7%であり、また、受精卵から孵化した 12 頭の幹母は幼虫期に全て死亡した。残りの各組み合わせにおける孵化率と孵化時間の相関性を調べると有意な正の相関性(相関係数 $r=0.85$ 、

P<0.001)が現れた(図 5-5)。

3.2 各宿主植物で飼育する成虫の適応性

本研究では、成虫の7日間の産子数とサイズを適応性の指標として実験を行った。各宿主植物において異なるクローンの平均個体数の推移を図(5-6A, B, C)で示した。Repeated-measures analysis を行った結果、いずれの宿主植物でも、7日間の個体数に関して時間とクローン間の交互作用において有意差がみられた(アカツメクサ: DF=18,221, F=2.84, P<0.001、ソラマメ: DF=18,221, F=2.4, P<0.001、アルファルファ: DF=18,221, F=0.74, P<0.001)。2要因 ANOVA を用いた結果によると、7日間の胎生メスあたりの産子数において、クローン、宿主植物、およびそれらの交互作用に有意性が確認された(宿主植物:DF = 2,231, F = 1524.77, P<0.001; クローン, DF =6,231, F = 26.37, P<0.001; 交互作用, DF = 12,231, F = 17.18, P<0.001)。各寄主植物上での、異なるクローンの7日間の産子数について Tukey-Kramer test を行った結果を図(5-7、5-8、5-9)に示した。

アカツメクサに移植した場合には、08AP2♂*アカツメクサ-B♀(47.5頭)と08AP2♂*アカツメクサ♀-A(46.17頭)の産子数はそれぞれ1位、2位になり、両者の間に有意差がなかった。また、アカツメクサ♂*08AP2-A(41.25頭)・アカツメクサ♂*08AP2♀-B(41頭)・アカツメクサクローン(38.25頭)間でも有意差が見られなかった。それらのいずれも、アカツメクサ♂*08AP2♀-C(35.08頭)と08AP2クローン(31.75頭)より有意に多いことが明らかになった。

ソラマメに移植した場合には、どのクローンでも産子数が最も多くなった。08AP2♂*アカツメクサ-A♀(59.5頭)とアカツメクサ♂*08AP2♀-B(61.91頭)が上位になったが、親クローンのアカツメクサクローンと08AP2クローンの数は相対的に低いレベルを示し、それぞれ48頭と49.58頭であった。それらの間に有意差は見られなかった。また、アカツメクサクローンの産子数は08AP2♂*アカツメクサ♀-Bとアカツメクサ♂*08AP2♀-Aよりも有意に低いことがわかった。

アルファルファに移植した場合には、どのクローンも産子数は全般に低下した。08AP2 クローン(26.33 頭)は 2 番目になったが、アカツメクサクローン(25.67 頭)と比較しても、有意差が見られなかった。08AP2♂*アカツメクサ♀-A(21.67 頭)が最も有意に小さくなった。

3.3 各宿主植物における成虫のサイズ

2 要因 ANOVA を行った結果によれば、成虫のサイズにおいて、クローン及び宿主植物の間に有意な違いがみられた(宿主植物: $DF = 2,399$, $F = 402.41$, $P < 0.001$; クローン: $DF = 6,399$, $F = 38.73$, $P < 0.001$; 交互作用: $DF = 12,399$, $F = 9.28$, $P < 0.001$)。異なるクローンの体サイズについて Tukey-Kramer test を用いた、その結果は以下のようにまとめられる。

アカツメクサに移植した場合には(表 5-4)、08AP2♂*アカツメクサ♀-B が最も大きく、4.43 mm になった。アカツメクサ♂*08AP2-A(4.32mm)・アカツメクサクローン(4.19 mm)・08AP2♂*アカツメクサ♀-A(4.18 mm)がそれに続いた、その三者間で有意な差が見られなかった。08AP2 クローン(4.00 mm)が最も小さいことが明らかになった。

ソラマメに移植した場合には(表 5-5)、総じて雑種のほうが両親よりも大型になり、そのうち、アカツメクサ♂*08AP2♀-A(4.60 mm)と 08AP2♂*アカツメクサ♀-B(4.50 mm)はアカツメクサクローン(4.20 mm)と 08AP2 クローン(4.24 mm)より有意に大きかった。しかし、両親間では有意な違いが認められなかった。

アルファルファに移植した場合には(表 5-6)、雑種クローンと 08AP2 クローンの間に有意な差が見られず、それらは、どちらもアカツメクサクローンよりも有意に大きいことが分かった。

3.4 雑種強勢の判断

5 つの雑種クローンと 2 つの親クローンがソラマメ・アルファルファ・アカツメクサの 3 種類の植物で生み出した 7 日目の産子数をそれぞれ合併し、雑種グループと親グループとして扱った。その後、産子数に対して GLMM で分析した。lme4 パッケージに含まれる glmer 関数を用い、親クローンの 2 ク

ローン、子孫クローンの5クローンを変量効果とみなした。7日目の産子数が、寄主植物(3種)、親/子孫の違いによってどの程度説明可能かを分析した。分析の結果、雑種グループと親グループの間に有意差が認められた($P < 0.0001$)。つまり、親の2クローンに対して子孫雑種の5クローンの産子数は、本試験で使用した3種類の寄主植物に対して雑種強勢を示したことが確認できた。

3.5 産子数とサイズの関係

相関分析を用いた結果によれば、どの宿主植物でも、成虫のサイズと胎生メスあたりの産子数の間に有意な相関性が見られなかった(アカツメクサ: $P=0.074$ 、ソラマメ: $P=0.693$ 、アルファルファ: $P=0.874$)。つまり、エンドウヒゲナガアブラムシにおいて成虫のサイズと繁殖力は関係しないと考えられる。

4 考察

遺伝子流動とはある集団から別の集団への遺伝子の移動のことである。遺伝子流動の媒介には生物個体や花粉、種子など様々な様式があることが知られている(Slatkin 1987)。異所的種分化の理論によると、個体群間の遺伝子流動が地理隔離により制限された結果、自然選択、突然変異及び環境など様々な要因によってそれぞれの局所的環境に適応する集団が形成される。地理的に隔離された集団は地理的品種と呼ばれることもある。時間の経過に伴い、異なる地理的品種における各自の遺伝的特徴が変化し、そこから生殖隔離が生じたと報告されてきた(Via *et al.* 2000)。

エンドウヒゲナガアブラムシのホストレースは高い宿主特異性をもち、それによって、生殖隔離が生じる可能性がある (Via 1999; Peccoud *et al.* 2009)。本研究では、異なる場所から採集した4つのホストレース及び1つの自殖クローン(合計5つ)を使用して8つの交配組み合わせを作成し、交配実験を行った。その結果、クサフジ E♀ × APL♂では受精卵は採れず、08AP2♂ × APL♀では受精卵がとれたが、孵化出来なかった。また、クサフジ E♂ ×

APL♀の組み合わせでは、孵化した幹母が全部死亡した。クサフジEクローンにしても、APLクローンにしても交配実験まで14年間近く無性生殖で維持されてきたため、様々な有害遺伝子が蓄積し、このためオスあるいは卵生メスの質が低下し、受精卵の発生がうまく進まなかった可能性がある。つまり、同一条件下でもすべての交配組み合わせでは受精卵が得られるわけではないことが明らかになった。

隔離障壁は受精の時期の前後により3種類に分かれており、それぞれは交配前障壁、交配後接合前障壁及び交配後接合後障壁と呼ばれる。野外における遺伝子流動の停止は、交配前障壁あるいは交配後接合前障壁により、親の配偶子の適切な移送や受精の失敗が生じたためと報告されてきた (Futuyma 2005)。すなわち、潜在的な交配相手は、物理的に遺伝子流動を抑制したり、阻止したりすることによって生殖隔離を生み出す可能性がある (Smadja & Butlin 2011)。従って、本研究での一部ホストレースには遺伝的变化により隔離障壁が生じている可能性があると考えられる。

エゾヨスジワタムシにおいて、異なるホストレースはそれぞれの宿主植物の特徴に適応するため、遺伝的に分化を遂げている (Akimoto 1990)。ニレイガフシアブラムシにおいては、同じ温度条件下で孵化させても、宿主植物によって卵の孵化時期が有意に異なった。また、各寄主個体での孵化日はその個体の芽吹き時間と有意な相関性が見られた (Komatsu & Akimoto 1995)。

観察を通じて、北海道大学農学院の圃場にあるクサフジの芽吹きは同所でのアカツメクサとアルファルファより遅いことが分かった。本研究では、各組み合わせの受精卵が3°Cの低温条件下で3か月越冬させた後、クサフジE自殖卵と自殖クローンの自殖卵の孵化時間がもっとも長かったことが分かった。しかし、APLクローン自殖1世代目の孵化時間は短く、約1週間である (Matsuda *et al.* 2017)。クサフジE自殖クローンに比べ、クサフジE♂*アカツメクサ♀とクサフジE♂*APL♀の孵化日はそれぞれ4日・6日早くなった。しかし、クサフジE♂*APL♀における孵化率が非常に低かった。今回の組み合わせの中で、アカツメクサ♂×08AP2♀と08AP2♂×アカツメクサ♀の

孵化時間が最も短く、わずか9日であった。クサフジ E♂ * APL ♀ とクサフジ E♂ * アカツメクサ ♀ はアルファルファクローン及びアカツメクサクローンのメスをそれぞれ使用し、クサフジ E クローンのオスと交雑させた。また、それらの孵化時間はクサフジ E クローン自殖集団よりも短かった。このことは、アルファルファ集団とアカツメクサ集団の早い孵化を支配している遺伝子が交雑卵の孵化時期に影響していることを示唆している。なお、アルファルファとアカツメクサの芽吹き時間は早く、それらに寄生するエンドウヒゲナガアブラムシの有性世代を親として作成した雑種における孵化時間も早いことが明らかになった。したがって、本研究の結果は Komatsu & Akimoto (1995) の観点を支持し、また、エンドウヒゲナガアブラムシにおける卵の孵化時間は遺伝的に決定されているとする仮説を支持した。本研究では、交雑卵の孵化時間は自殖よりも早かったが、孵化率においてすべての交雑卵のほうが自殖より低い結果となった。その原因は、種分化の過程では、寄主植物への適応の分化により、ホストレース間の交配が遺伝子の部分的な不和合を引き起こした可能性が考えられる。

一方、接合後障壁とは、交配後に、接合子が形成されるにもかかわらず、その雑種の適応性が低いため、生存の不能や発生上の異常など問題をひきおこすことである。本研究で明らかとなった、受精成功した雑種の孵化率が自殖のそれより低い原因の一つとして、接合後障壁の影響があると考えられる。つまり、遺伝子流動は良い影響を与えるだけでなく、悪い影響が出る可能性もありうる。Butlin (1987) は遺伝子流動のため、雑種の生存力が失われたり、繁殖できなくなったりする可能性を指摘してきた。

エンドウヒゲナガアブラムシのホストレースは宿主特異性が高いので、ある宿主植物に寄生するレースは別の宿主に偶然移動すると、負の影響が生じる (Via *et al.* 2000)。本研究では、親クローンの幼虫を相手の宿主植物に移植すると、サイズは両クローン間で有意差が見られた。また、アカツメクサクでの産子数において、アカツメクサククローンは 08AP2 クローンの産子数よりも有意に多かった。従って、その結果は Via *et al.* (2000) の観点を支持する。

Via *et al.* (2000)の実験結果によると、アカツメクサクローンとアルファルファクローンの雑種の産子数は両親クローンの中間に来ることを示したが、本研究の結果はVia *et al.* (2000)と部分的に異なった。アルファルファに移植された場合に、アルファルファレースである 08AP2 クローンの産子数は子孫クローンの産子数より多いか、あるいは同等であったが、アカツメクサにおいては、いくつかの雑種クローンは産子数でアカツメクサクローンを上回った。なお、非宿主植物であるソラマメでは、2つの雑種クローンの産子数は両親よりも有意に多いことがわかった。ソラマメとアルファルファでは、産子数において親クローン間に有意な違いが見られなかった。しかし、アカツメクサではアカツメクサクローンは 08AP2 クローンよりも有意に産子数が多かった。つまり、雑種クローンは本研究での宿主植物では、統計的にも、強い優位性が現れた。

本研究では、どのクローンにとっても、ソラマメの栄養条件が全体的に高く、アルファルファの栄養条件が最も良くなかった。栄養条件の悪い条件下では、クローン間に繁殖力の差があまり生じなかったが、栄養の良い条件下では、雑種クローンの優位性が際立った。Via *et al.* (2000)の結果と本研究の結果が異なるのは、本研究では切葉を全てに用いた点である。これによって、摂食に対する植物の抵抗性物質の送り込みが阻止された可能性があり、これによって、親クローンは本来の寄主上で最も高い適応度を達成できなかった可能性がある。したがって、生きた植物を用いて、今後繁殖力のクローン間の差を野外で調べる必要がある。

先行研究によると、アブラムシは特定の宿主植物に 10 世代連続で飼育すると、その植物に適応できるようになるという(Shaposhnikov 1965)。本研究で使用したアカツメクサクローンと 08AP2 クローンは、交配実験をする前に長期間ソラマメの芽出しで維持していた。したがって、ソラマメでは産子数にもサイズにも有意な差がない原因はそのことによる可能性があると思定された。

ホストレースの本来の宿主植物上では、成虫サイズがアカツメ系統とアル

ファルファ系統との間で有意な違いがみられたが、ソラマメでは、そのような有意差が見られなかった。一方、ソラマメでは、3つの子孫クローンは両親より有意に大きく、一方、ホストレースの本来の宿主植物では、ほとんどの雑種とホストレースの間に有意差が見られなかった。つまり、エンドウヒゲナガアブラムシにおいて雑種の適応性は非宿主植物で両親より優れるだけでなく、ホストレースの宿主植物でも両親と比較しても少しも見劣りがしないということが明らかになった。

以上の結果から、ホストレース間交雑は雑種強勢をもたらした可能性があり、また、正逆交雑の方向性にかかわらず、生まれたクローンは強い適応性を備えると認められた。雑種強勢とは、動植物では、同一種内あるいは異種間のある特定の両親間の交尾により生まれた雑種第一代(F1)が両親よりも大きさや病気・環境に対する抵抗性あるいは生産性などの点で優秀な形質を示すという現象である(Crow 1998)。

蚕において、雑種 F1 よりも両親のほうが膿病蚕と多角体病蚕の発生比率が高いことが報道されてきた(福原 & 有賀 1959)。また、ショウジョウバエでは、親と比較すると、雑種の産卵数が増加したり、発育速度が早くなったりする現象が観察されてきた (McDaniel & Grimwood 1971)。一方、トゲウオの異所的集団の交雑から生まれた雑種では、室内で抜群の適応性を示したが、親の野外生息地に移植すると、両親よりも成長率が遅くなった(Hatfield & Schluter 1999)。本研究は安定した室内で行ったので、野外ではどのような結果が得られるか明確ではない。野外条件下での適応性に関しても、今後解明を目指したいと考えている。

本研究の結果を通じて、同じクローンでも異なる宿主植物上での産子数とサイズに有意な差が確認された。宿主植物によって栄養素と防御物質が異なることが原因と考えられる。そのメカニズムについて更に研究する必要がある。なお、エンドウヒゲナガアブラムシでは成虫の産子数とサイズの間に有意な相関が見られないことが明らかになった。つまり、エンドウヒゲナガアブラムシにおいて、雑種に備わっている雑種強勢は、多種多様な形で表現し、

また、それらの形が特定の個体に集中するとは限らないと認められる。その原因についても今後解明していきたい。本章では、エンドウヒゲナガアブラムシにおける雑種の適応性の評価を行ったが、別のアブラムシの雑種はどんな状態になるだろうか？その問題を解明するため、トドノネオオワタムシを用いて、交雑実験を行った研究結果については、7章で明らかにする。



エンドウヒゲナガアブラムシの宿主植物

図 5-1-A ソラマメ；図 5-1-B アルファルファ；図 5-1-C アカツメクサ

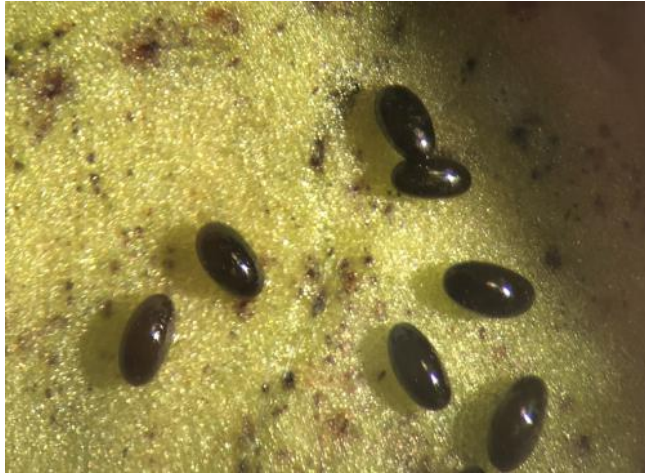


図 5-2 エンドウヒゲナガアブラムシの黒化した受精卵



図 5-3 受精卵保存用ケース



図 5-4 受精卵から孵化した幹母

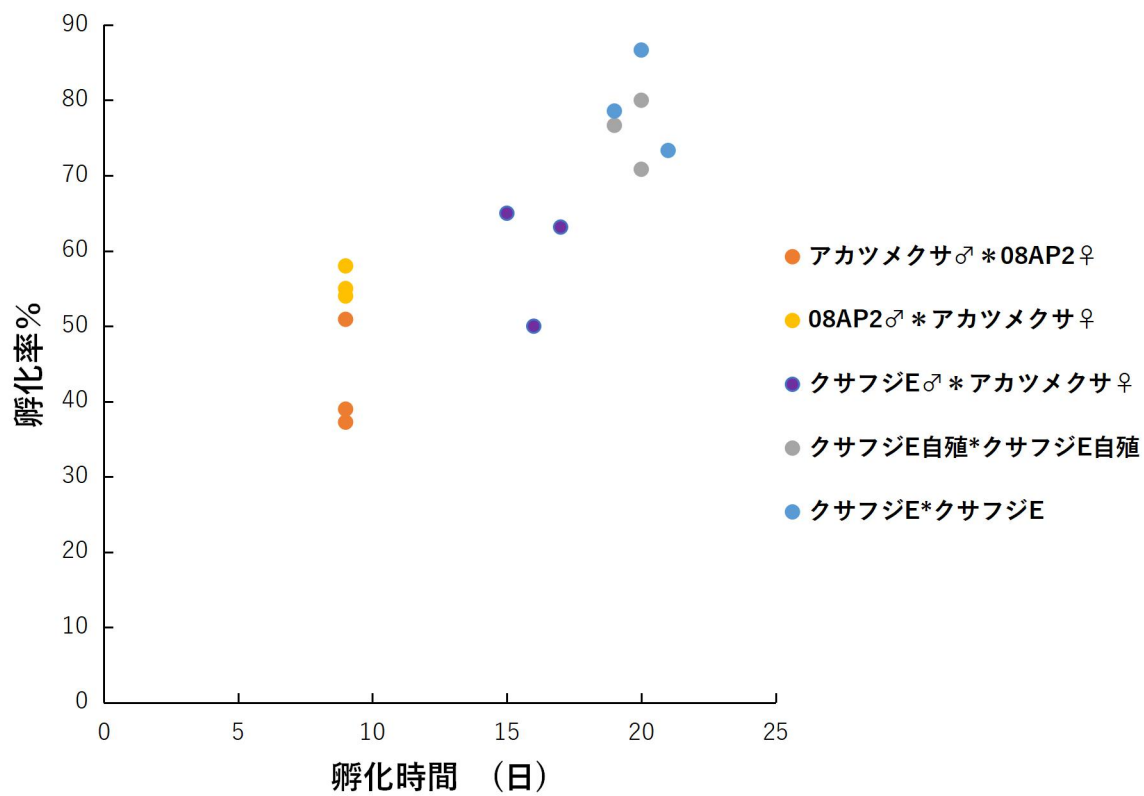


図 5-5 エンドウヒゲナガアブラムシにおける孵化時間と孵化率の関係

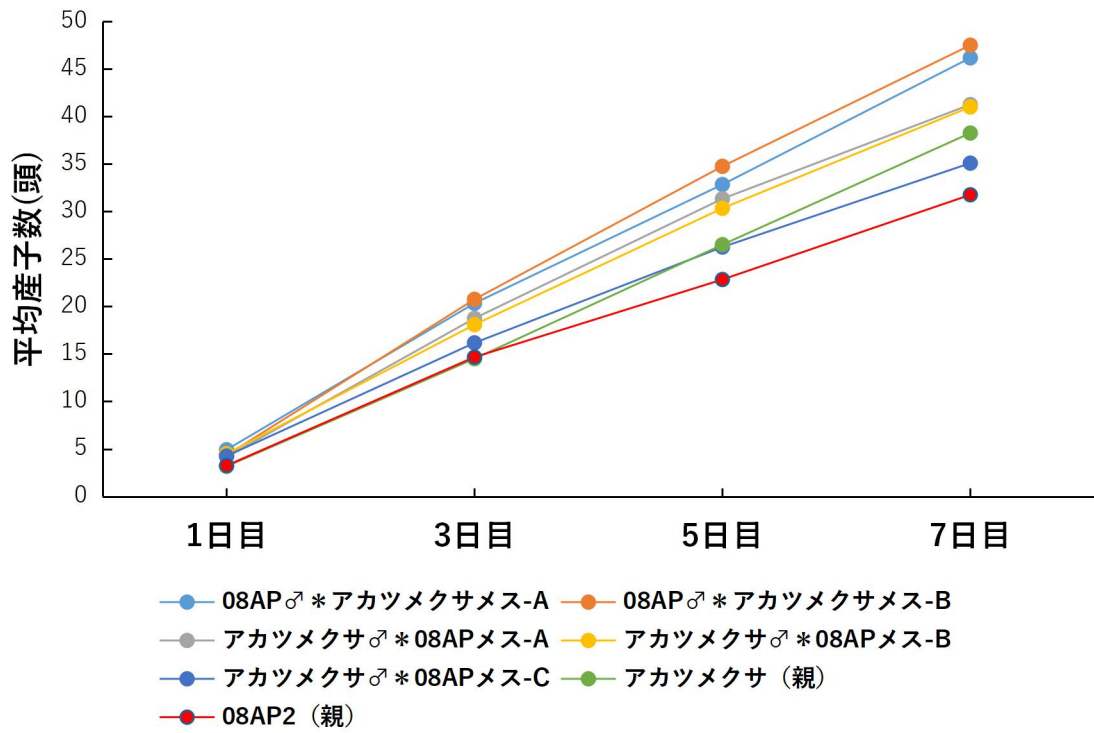


図5-6-A アカツメクサにおいて各クローンの産子数の推移。産子開始日を1日目とする

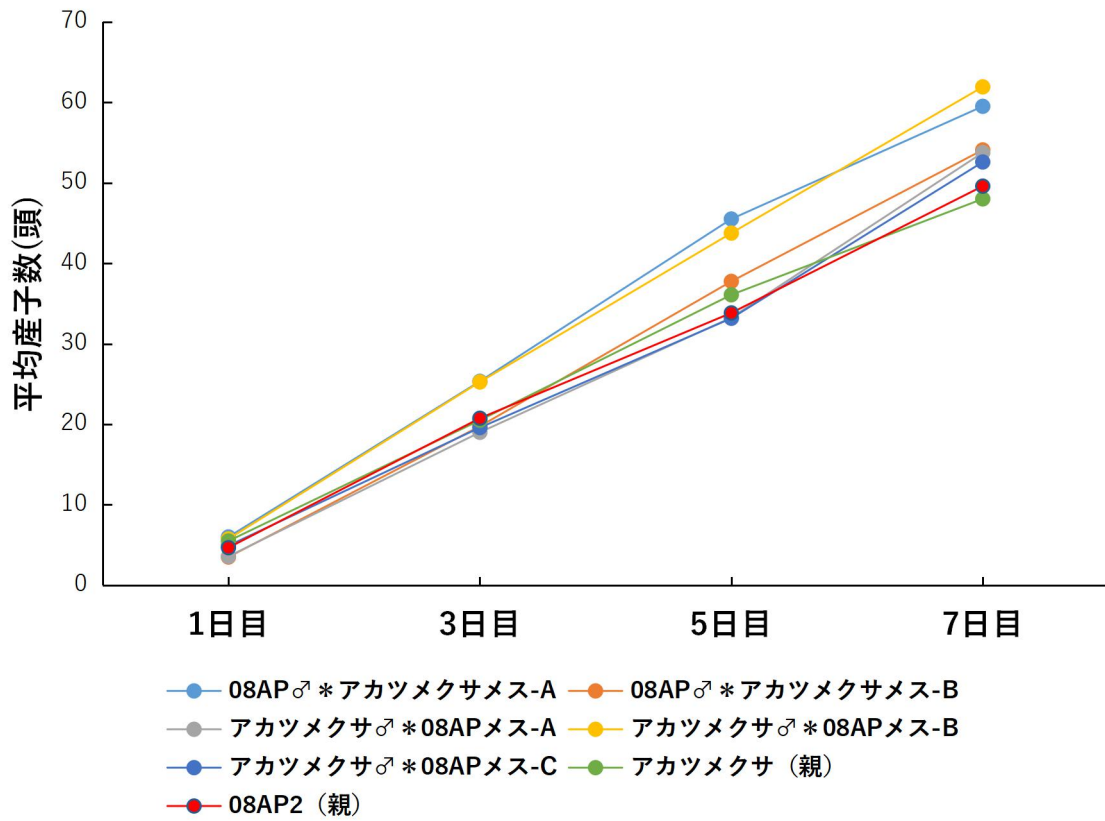


図 5-6-B ソラマメにおいて各クローンの産子数の推移。産子開始日を 1 日目とする

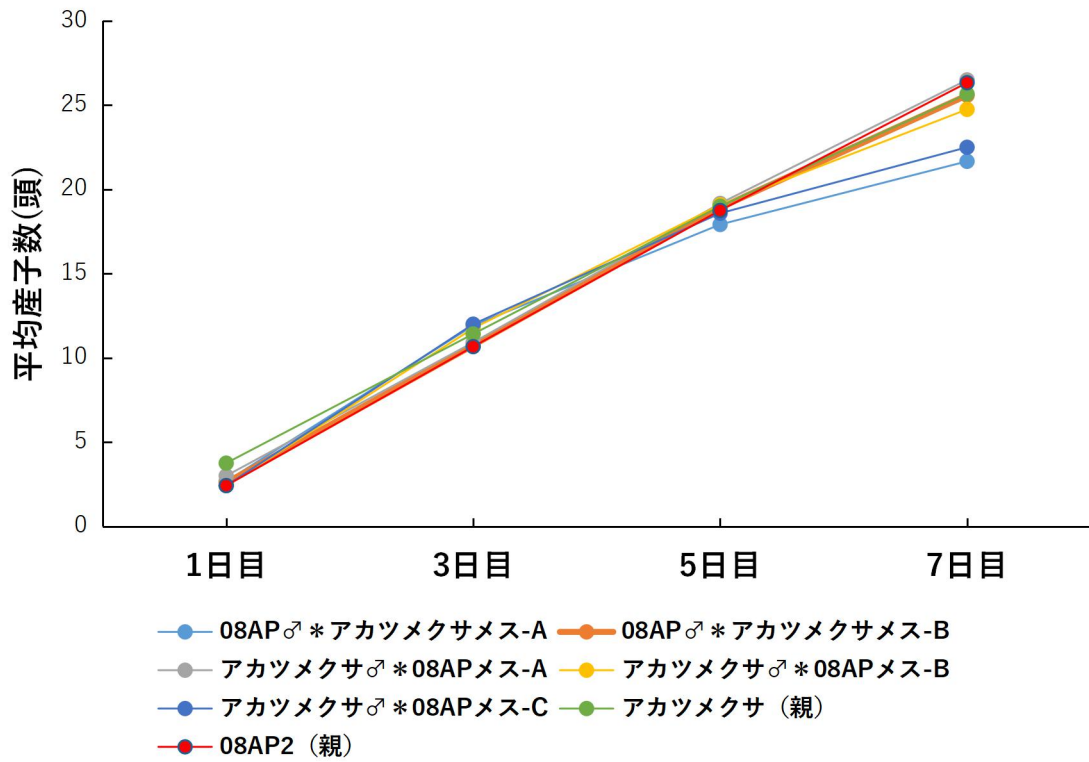


図 5-6-C アルファルファにおいて各クローンの産子数の推移。産子開始日を1日目とする

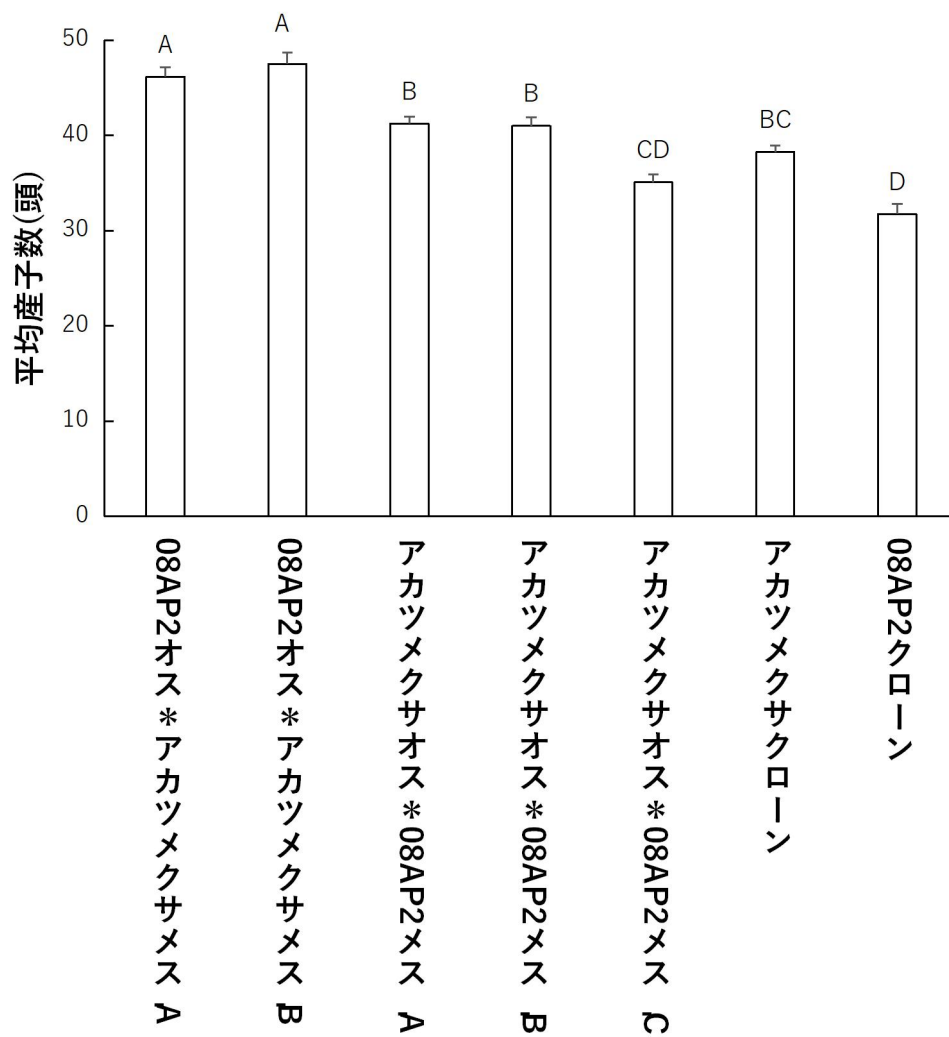


図 5-7 アカツメクサにおける産子数の検定結果。エラーバーは標準誤差を表している。異なる文字は統計的有意差があることを示す

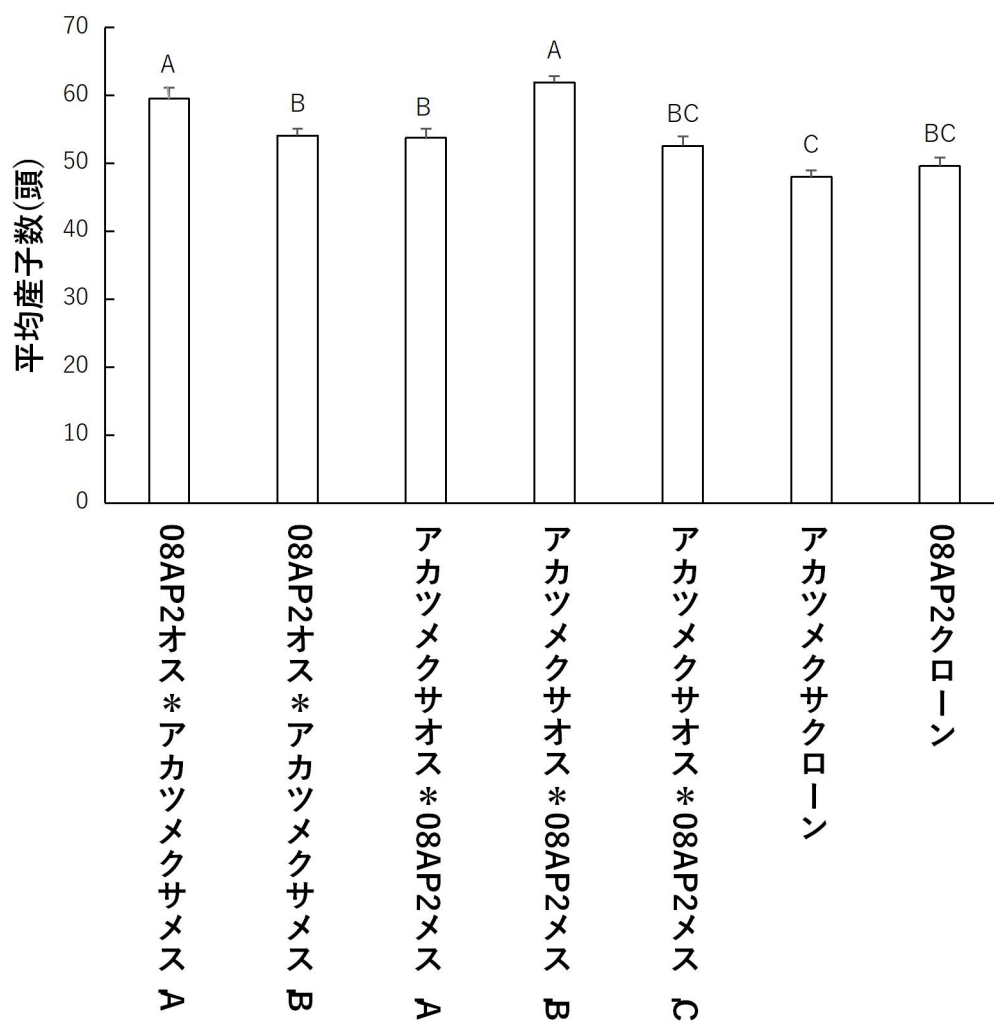


図 5-8 ソラマメにおける産子数の検定結果。エラーバーは標準誤差を表している。異なる文字は統計的有意差があることを示す

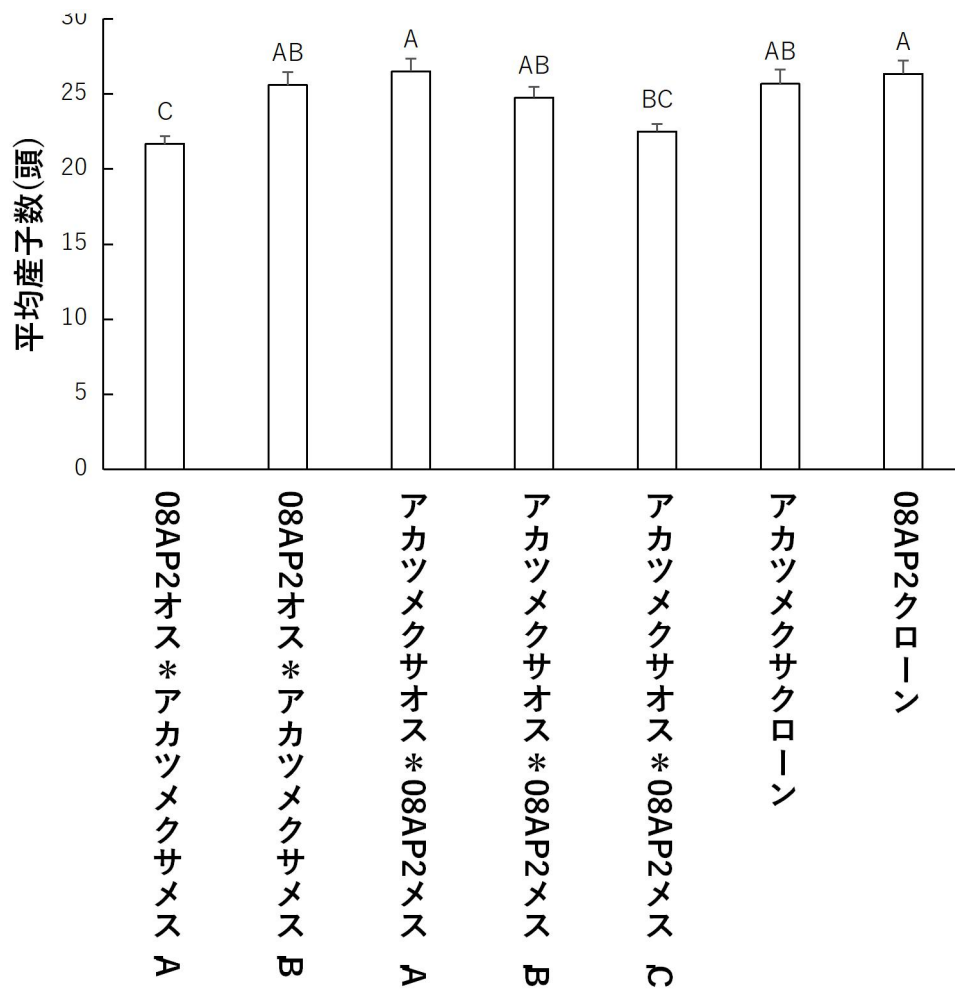


図 5-9 アルファルフにおける産子数の検定結果。エラーバーは標準誤差を表している。異なる文字は統計的有意差があることを示す

表 5-1 各組み合わせの孵化状況

組み合わせ	オス数	メス数	交配反復数	総受精卵数	総孵化数 (孵化率%)
08AP2♂ * アカツメクサ♀	3	10	2	160	89 (55.6)
アカツメクサ♂ * 08AP2♀	3	10	2	165	70 (42.4)
クサフジ E * クサフジ E	3	10	1	108	81 (75.0)
クサフジ E 自殖 * クサフジ E 自殖	3	8	1	88	70 (79.5)
クサフジ E♂ * アカツメクサ♀	3	10	1	59	35 (59.3)
クサフジ E♂ * APL♀	3	10	1	72	12 (16.7)
08AP2♂ * APL♀	3	10	2	38	0 (0)
APL♂ * クサフジ E♀	3	10	1	0	0 (0)

表 5-2 Tukey-Kramer test による各交配組み合わせの孵化率の検定

組み合わせ	逆正弦の平均値	容器数	多重検定の結果
クサフジ E 自殖 1 世代目	63.30	3	A
クサフジ E 自殖 2 世代目	60.62	3	A
クサフジ♂ * アカツメクサ♀	50.51	3	AB
アカツメクサ♂ * 08AP2♀	40.59	3	B
08AP2♂ * アカツメクサ♀	48.25	3	B
クサフジ♂ * APL♀	24.80	3	C

採集した受精卵を 3 つのグループに分け、それぞれ長方形のケースに入れた。

分析は各ケースでの卵の孵化率を逆正弦変換された値を用いている、異なる

文字は統計的有意差があることを示す。

表 5-3 Tukey-Kramer test による各交配組み合わせの孵化時間の検定。孵化時間は孵化を誘導開始から孵化終了までの時間

組み合わせ	平均孵化時間（日）	容器数	多重検定の結果
クサフジー E 自殖 1 世代目	20.0	3	A
クサフジー E 自殖 2 世代目	19.7	3	A
クサフジ♂ * アカツメクサ♀	16.0	3	B
クサフジ♂ * APL♀	14.0	3	B
アカツメクサ♂ * 08AP2♀	9.0	3	C
08AP2♂ * アカツメクサ♀	9.0	3	C

採集した受精卵を 3 つのグループにわけ、それぞれ長方形のケースに入れた。分析は各ケースでの卵の孵化時間を使用している。異なる文字は統計的有意差があることを示す。

表 5-4 アカツメクサクにおいて Tukey-Kramer test による各クローンの後足のサイズの検定結果

クローン	後足のサイズ (mm) \pm SE	N	多重検定の結果
08AP2♂ * アカツメクサ♀-B	4.43 \pm 0.028	20	A
アカツメクサ♂ * 08AP2♀-A	4.32 \pm 0.037	20	AB
アカツメクサ (親)	4.19 \pm 0.036	20	BC
08AP2♂ * アカツメクサ♀-A	4.18 \pm 0.029	20	BC
アカツメクサ♂ * 08AP2♀-C	4.08 \pm 0.031	20	CD
アカツメクサ♂ * 08AP2♀-B	4.02 \pm 0.053	20	D
08AP2 (親)	4.00 \pm 0.032	20	D

異なる文字は統計的有意差があることを示す

表 5-5 ソラマメにおいて Tukey-Kramer test による各クローンの後足のサイズ
の検定結果

クローン	後足のサイズ (mm) \pm SE	N	多重検定の結果
アカツメクサ♂ * 08AP2♀ -A	4.60 \pm 0.194	20	A
08AP2♂ * アカツメクサ♀ -B	4.50 \pm 0.043	20	AB
08AP2♂ * アカツメクサ♀ -A	4.37 \pm 0.034	20	BC
アカツメクサ♂ * 08AP2♀ -B	4.24 \pm 0.041	20	CD
08AP2 (親)	4.23 \pm 0.022	20	CD
アカツメクサ (親)	4.20 \pm 0.037	20	D
アカツメクサ♂ * 08AP2♀ -C	4.10 \pm 0.019	20	D

異なる文字は統計的有意差があることを示す

表 5-6 アルファルフにおいて Tukey-Kramer test による各クローンの後足のサイズの検定結果

クローン	後足のサイズ (mm) ±SE	N	多重検定の結果
08AP2♂ * アカツメクサ♀ -A	3.93 ± 0.049	20	A
アカツメクサ♂ * 08AP2♀ -A	3.89 ± 0.040	20	A
08AP2 (親)	3.85 ± 0.025	20	AB
08AP2♂ * アカツメクサ♀ -B	3.82 ± 0.055	20	AB
アカツメクサ♂ * 08AP2♀ -B	3.79 ± 0.036	20	AB
アカツメクサ♂ * 08AP2♀ -C	3.68 ± 0.033	20	B
アカツメクサ (親)	3.50 ± 0.044	20	C

異なる文字は統計的有意差があることを示す

第6章 ユキムシ(トドノネオオワタムシ)における性比変動とクローンレベルの性投資

1 はじめに

秋になると、ユキムシの産性虫は二次宿主であるトドマツの根で羽化し、穏やかな日に地上に出現する(図 6-1)。産性虫の成長状況は夏から秋にかけての宿主植物の栄養とコロニー内の密度に影響を受ける。仮に気候要因が宿主植物の成長に影響を与えるとすれば、良好な気候は宿主植物を健やかに成長させることができると考えられる。このような要因で、ユキムシにとっての年ごとの資源量の変動し続けるのであれば、それに応じて雪虫が性比を変動させる可能性がある。本研究では、資源量の変動とそれに応じた性投資戦略をユキムシを用いて検証する。

4章で、エンドウヒゲナガアブラムシにおけるクローンレベルの性比に関する研究を行った。本章では、以下の3点を調査した:1、ユキムシにおける性選択と性比の遺伝的基礎を明らかにするために、札幌、美唄、岩見沢である3地点14年間にわたる性比を調査した。2、異なるオス・メス比率条件下での卵生メスにおける産卵成功率を調査した。3、クローンレベルの性比を評価した。

2 材料と方法

2.1 ユキムシのサンプリング

ユキムシは夏から秋にかけて、2次寄主であるトドマツの根で世代を繰り返す。秋になると有翅型に成長する。有翅型は腹部に卵性メスとオスの胚をもち、1次寄主のヤチダモに向かって移動し、ヤチダモ上で卵性メスとオスを産子する。穏やかな日に1次寄主であるヤチダモの付近で群飛するので、飛翔中のユキムシを網で採集し、解剖することで、ユキムシが何頭オスとメスを生むのかがわかり、子孫への性投資量が把握できる。オス・メスの胚は図 6-1 に示した。

本章は札幌(北海道大学札幌キャンパス)(43° 4' 12" N, 141° 20' 22" E)、岩見沢(春日町)(43° 11' 30" N, 141° 46' 48" E)、美唄(北海道立総合研究機構林業試験場)(43° 17' 3" N, 141° 51' 11" E)の3地点において2002年から2015年まで連続で捕虫したユキムシの産性虫を解剖して、集団の性比を比較した。札幌から岩見沢、美唄までの距離は、それぞれ38.3kmと47.6kmであり、岩見沢と美唄は13kmほど離れる。なお、1994年から2000年にかけて札幌で採取したユキムシ、2000年と2001年に岩見沢で採取したユキムシ及び1981年から2000年にかけて美唄で採取したユキムシのデータを加え、分析した。本章で使用したユキムシは指導教員の秋元信一氏が採集したサンプルである。

先行研究(Akimoto *et al.* 2012)を参照し、採集日間で性比は有意な違いが見られなかったということが分かった。各地点において年別の平均採集数は 167 ± 67.8 頭であった。

2.2 性比、性投資比、性投資量

集団性比は、集団中のメスの比率で表した(集団のメス数/(集団のメス数+集団のオス数))。一方、集団の性投資比はメスの生産コストがオスの生産コストの1.85倍である(Akimoto *et al.* 2012)ことから、以下のように表すことができる、 $(\text{集団のメス数} \times 1.85) / (\text{集団のメス数} \times 1.85 + \text{集団のオス数})$ 。さらに、母親あたりの性投資量は、 $(\text{メス数} \times 1.85 + \text{オス数})$ で表した。性比、性投資比、性投資量は、3地域の各年に計測され、性比は飼育されたクローンに関しても測定した。

2.3 異なる性比条件下での雌の産子成功率

産性虫の収集：岩見沢春日町において、2016年10月中旬、ガーゼをヤチダモの幹周辺に巻きつけ、そこに有翅型を誘導した。ガーゼ上のユキムシの産性虫を収集し、実験室に持って来た後、恒温器(16°C)で飼育した。生まれた有性世代は4回の脱皮を終わった後、性的に熟した。その後、後述の比率に基づいて、有性世代の個体をケースに入れ、16°Cの恒温器で飼育し、産卵数を記録し、雌が死亡するまで観察を続けた。実験終了まで毎日スポット

で濾紙に一滴水を垂らした。

実験ケース：底面が一辺 3.4 cmの正方形、高さが 1.3 cmのプラスチックケースを実験に使用し、その底に濾紙を 2 枚重ねて敷いた。

各組み合わせの性比：まず、ユキムシの有性メスとオスを用いて、以下の 8 つの組み合わせを作成した。①(12♂×2♀)52 回反復、②(12♂×4♀)25 回反復、③(12♂×6♀)8 回反復、④(12♂×12♀)25 回反復、⑤(4♂×12♀)25 回反復、⑥(1♂×12♀)25 回反復、⑦(1♂×43♀)14 回反復、⑧(1♂×50♀)14 回反復。

2.4 クローンレベルの性比

異なるクローンの性比を明らかにするために、6 月中旬から 10 月中旬まで飼育し、ユキムシ有翅型を集めた。本実験は以下の方法で行った。

ヤチダモの枝を 50cm ほどの長さに切り、750ml のボトルに入れた後、岩見沢で採集した 1 齢幹母を 1 頭ずつ枝に移植し、創始メスとして飼育した。創始メスから生まれた幼虫を新たな枝につけ、飼育を続けた。次世代が有翅成虫に達した後、濾紙を敷いたプラスチックケースに移植した。第三世代が生まれてから、幼虫をトドマツの根（株高 60 cm）につけ、クローン別に飼育を続けた。2008 年、2009 年及び 2011 年それぞれは 2、12、12 株のトドマツで行った。

6 月中旬から 10 月中旬まで、ユキムシはトドマツの根でアリとの共生関係をもつため、アリも一緒に飼育した。なお、アリの数を維持するため、毎日蜂蜜水を茎の基部に垂らした。

ただし、2011 年に、宿主植物がユキムシの性比に対する影響を明らかにするために、同一のクローンをそれぞれ二つの株に移植し、飼育した。別クローンの乱入を防ぐため、防虫網を設置した。産性虫が出現したら、クローン別に収集し、80%のアルコールに入れて保存した。本実験は合計 16 クローンの飼育に成功した。各クローンから 50–68 頭の個体ずつ選び、解剖した。各産性虫の性比を調査した後、胚と翅をプレパラートにした。その後、60°Cで 3 時間乾燥してから、ImageJ (version 1.50i) で翅の長さや胚の面積を測定

し、母親の投資量と性比との関係を評価した。

2.5 統計

長期間の性比変動データを用いて、メス性比の年間の変動が特定値に回帰する傾向があるかどうか（すなわち定常状態を示すかどうか）をテストするために、R に含まれる Augmented Dickey-Fuller function を用いて、unit root test を行なった。もし定常性がこのテストによって否定された場合には（したがって、変動はランダムウォーク過程に従う）、データは時間依存サンプルから成り立ち、このため時間とともに見かけ上の傾向を作り出す可能性がある。この結果は、相関分析や回帰分析の前提に反することになる。そこで、異なる時系列データ間の比較を行う場合には、2つの時系列データ間で相関を取る前に、隣り合う年次間のデータの差を計算し、こうした差に基づいて相関を計算した。

次に、メス比率、全メス産出産性虫率、母親あたりの投資量の年次変動が、環境の変量と相関しているか否かについて、stepwise 多変量解析を用いて分析した。このモデルには、調査地（3箇所）、成長期の6つの気象パラメータ（7月、8月、9月の総降水量と平均気温）が説明変数として採用された。説明変数は、BIC (Bayesian information criterion)を用いて一段一段選択した。美唄、岩見沢、札幌の気象データは気象庁のデータ (<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>)から取得した。

こうした分析に加えて、ある年のメス比率が、翌年のメス比率にどの程度影響を与えたかを ANCOVA によって分析した。このモデルでは、ある年のメス比率が前年から変化した差を反応変数にとり、前年のメス比率、調査値、調査値とメス比率の交互作用を説明変数に採用した。

交尾実験では、産卵に成功したメスの失敗したメスに対する割合が logistic regression を用いて分析された。この分析のモデルでは、交尾容器に設定したメスの比率とその二乗値が説明変数として用いられた。R における glm 機能(R core Team 2015)を用いた。

飼育実験では、全メス産出産性虫の出現に影響を与える要因が logistic

regression を用いてテストされた。モデルでは、クローンと母親の翅長を説明変数とし、その母親の子がオスを含むか、あるいは全メスであるのかを分析した。さらに母親が作り出した娘数に及ぼす要因を ANCOVA 分析によってテストした。この分析では、クローン、母の翅長、それらの交互作用を説明変数として用いた。

16 設定したコロニー間で、母親あたりの性比が異なるのかどうかを明らかにするために、R の glm 機能を用いて分析した。

3 結果

3.1 時系列分析

表 6-1 では、美唄における 1981 年から 2015 年にかけての産性虫のオス・メス生み分けを示した。産性虫によって、生まれたオスとメスの数が異なる。オス数は 0 から 4 までの 5 つのタイプが見られ、平均個体数は ($\text{mean} = 2.89 \pm 1.56$ (SD))。一方、雌数は大きくばらつく ($\text{mean} = 4.16 \pm 2.57$) (表 6-1) ことが分かった。産性虫の中で、4♂を生む産性虫は約 60% を占め、一方、17% は♀のみを生んだ (全メス産出産性虫)。相関分析を行ったところ、オスの数とメスの数の間に負の相関性がみられた (Spearman's $r = -0.865$, $n = 20$, $P < 0.0001$)。札幌、岩見沢及び美唄である 3 地点におけるメス性比と全メス産出産性虫の変動を図 6-2 に示した。札幌におけるメスの平均割合は ($\text{mean} = 57.2 \pm 6.0\%$) であり、岩見沢と美唄の結果は、それぞれ ($\text{mean} = 59.5 \pm 8.5\%$) と ($\text{mean} = 59.4 \pm 11.0\%$ (SD)) であった。

美唄において 1981 (データ非表示) と 1993 年の調査結果からみると、両者ともメスだけを生んだ母親の割合は 3% 弱ということが明らかになった。しかし、2002 年以降、その割合はだんだん増え、2009 年にピークの 52.3% となった。Akimoto *et al.* (2012) より、メスの生産コストは、オスのそれに比べて 1.85 倍である。生産コストを考慮すると、数の性比と性投資比の両方を求めることができる。いずれの地点でも、性投資比の平均値はメスに偏った (美唄 72.5% ; 札幌 71.3% : 岩見沢 73.1%) 。

Augmented Dickey-Fuller (ADF) 検定を行ったところ、札幌 (Dickey-Fuller=-4.07, P=0.021) 以外の2地点における雌性比の時系列はランダム・ウォークを示すことが明らかとなった (岩見沢, Dickey-Fuller=-1.96, P = 0.587; 美唄 Dickey-Fuller =-1.70, P = 0.687)。つまり、より強い要因が札幌集団に影響を及ぼし、性比を制御していると考えられる。

3地点の中で2地点間 (札幌-岩見沢、岩見沢-美唄、札幌-美唄) の三つの組み合わせにおいて、性比の相互相関を調べた結果、岩見沢-美唄 ($n = 13, r = 0.620, P = 0.0239$) と札幌-美唄のデータ ($n = 13, r = 0.561, P = 0.0462$) は有意な正の相互相関が見られた。これは性比の変動が同期していることを意味する。一方、札幌-岩見沢では相互相関が見られなかった ($n = 13, r = 0.166, P = 0.587$)。

各地点におけるデータを差分データに変えて、札幌-岩見沢、札幌-美唄、岩見沢-美唄の3つの組み合わせにおいて、全メス産出産性虫割合の相互相関を調べた結果、すべての組み合わせにおいて正の相関が存在した (札幌-岩見沢, $n = 13, r = 0.641, P = 0.0182$; 札幌-美唄, $n = 13, r = 0.675, P = 0.0114$; 岩見沢-美唄, $n = 13, r = 0.784, P = 0.0015$)。つまり、3地点における全メス産出産性虫の割合の年間変動には正の同期がみられた。

各地点におけるメス性比と全メス産出産性虫の割合を組み合わせで相互相関を調べると、3地点全ての組み合わせにおいて正の相関が現れた。それぞれの相関係数は札幌が $n = 13, r = 0.850, P = 0.0002$ 、岩見沢が $n = 15, r = 0.879, P < 0.0001$ 、美唄が $n = 13, r = 0.947, P < 0.0001$ であった (図 6-2)。つまり、全メス産出産性虫の比率が増えると、集団全体でメス性比が増加したことが分かる。

同じように、各地点におけるメス性比と母親の投資量の相互相関を調べると、いずれの地点でもメス性比と母親の投資量の間有意な正の相互相関が見られた (札幌, $n = 13, r = 0.917, P < 0.0001$; 岩見沢, $n = 15, r = 0.854, P < 0.0001$; 美唄, $n = 13, r = 0.787, P < 0.0014$)。

Stepwise 多変量解析を用いて、ユキムシの生育期の気候因子がメス性比・

全メス産出産性虫の割合・母親の投資量にどのような影響を及ぼすかを調べた。これら3つの目的変数全てに対して、8月の降水量の多さ及び9月の高い平均温度は負の影響をもたらした。また、8月の高温は、母親の平均投資量を増加させる方向に作用した（表6-2）。

前年のメス割合と当年のメス性比年間変化量の間には、有意な負の関連性が認められた（ANCOVA, $R^2 = 0.55$; $DF = 1,35$, $F = 36.65$, $P < 0.0001$; 図6-3）。すなわち、前年のメス比率が高い値だと、翌年のメス比率は低下した。逆にメス比率が低い値だと、翌年のメス比率は増加した。閾値となるのは、約60%であった。この結果は、ある年のメス比率には、前年のメス比率が影響していることを意味し、頻度依存選択が存在することを示唆した。一方、地点の違いも地点とメス性比の交互作用も、翌年のメス性比に影響しなかった（地点, $DF = 2,35$, $F = 1.13$, $P = 0.334$; 交互作用, $DF = 2,35$, $F = 1.52$, $P = 0.232$ ）。

前の分析結果によれば、気候因子がメス性比に有意な影響を及ぼすことが分かった。従って、8月の降水量と9月の温度を統計モデル（表6-3）に含めて分析した結果、メス性比の前年からの増減は、その年の8月の降水量に負の影響を受け、また前年のメス性比にも負の影響を受けることが明らかになった。すなわち、メス性比の増減には、頻度依存選択と環境要因の双方が関係していた。

3.2 異なる性比条件下での雌の産卵成功率

メスの産卵成功率は単峰性の分布を示した（図6-4）。産卵成功率は、メス比およびメス比の自乗を含むモデルで回帰でき（ $z = -9.61$, $P < 0.0001$ ）、メス過剰状態でも過少状態でも産卵成功率が下がることが確認できた。メス：オス比が3：1に達したとき、産卵率がピークとなった。メス比が3：1以下の場合には、メスの増加につれて、産卵成功率も増えた（ $z = 8.15$, $P < 0.0001$ ）。一方、メス性比が3：1を超えて、オスあたりのメス数が40頭以上になると、オスの平均交尾数は18頭であることから、オス不足に陥り、産卵機会を逃すことが明らかとなった。なお、オス数がメス数より多い場合では、

オスから繰り返しマウントを試みられたため、雌が脱皮あるいは産卵の時に死亡し、この干渉がメスの産卵率を低下させることが観察された。

3.3 クローンレベルの性比

2008年から2011年にかけて、15つのクローンを飼育し、産性虫を収集した。産性虫のサイズ、母親の投資量およびメス性比にたいして評価した結果、クローン間でばらつきが見られた。Ly5クローン以外のクローンでは、生産した産性虫の中に、全メス産出産性虫が見られた(図6-5)。

2008年と2009年には、多くのクローンにおいて、全メス産出産性虫が大きな割合を占め、最大割合は79%に達した。また、全メス産出産性虫とメス割合との間に有意な正の相関が認められた ($r = 0.882, n = 15, P < 0.0001$)。2011年には、6クローン中4クローンが高い割合で4♂産性虫を産出した。その変動は岩見沢の野外データに類似している(図6-5)。

Logistic regression を行った結果、ある産成虫が全メスの子孫を持つかどうかは、クローン間で有意な違いが見られたが($DF = 14, X^2 = 233.9, P < 0.0001$)、翅の長さとは関連を持たなかった($DF = 1, X^2 = 0.60, P = 0.437$)。クローンを単位にとり、クローンの平均翅長と子供への平均投資量の関係を調べると、平均翅長の増加につれて、母親あたりの平均投資量も増加したことが分かった($r = 0.864, n = 15, P < 0.0001$) (表6-4)。これは、クローンごとの平均産性虫サイズの大小によって、平均投資量が決まることを意味している。ANCOVAによれば、母親ごとの平均メス数はクローン間で有意な差が見られた ($DF = 14, 752, F = 21.9, P < 0.0001$)。なお、母親ごとの平均メス数と母親の平均投資量との間に正の相関が見られた ($r = 0.630, n = 15, P < 0.0001$)。つまり、コロニーの平均投資量の増加につれて、母親あたりのメス数も増加した。このことは、コロニーの栄養がよくなるとメスの数が増加することを示している。一方、ANCOVAによれば、母親ごとのオス数はクローン間で有意な差があり ($DF = 14, 752, F = 26.0, P < 0.0001$)、オス数は翅長の影響を受けなかった($DF = 1, 752, F = 0.65, P = 0.420$)。つまり、オス数は平均投資量とは関連していないと判断できる。

16 クローンにおけるメス性比に関して分析すると、クローン間で有意な差が認められた。しかし、LY5 と LY6 は有意な差が見られず、このことは両コロニーが同じクローン由来であることと矛盾しない。

4 考察

従来の研究では、任意交配では 1:1 の性投資比が進化し、一方、局所的配偶競争が生じる条件下ではメスに偏った性比で安定し、最適となることが示されてきた(Yamaguchi 1985)。しかし、性比が年とともに変動しうるかどうかの研究やその要因を解明した研究はほとんど例が見られない。本研究では、長期にわたる性比変動を調査した結果、メス性比は年によって大きく変動することを明らかにした。注目すべきなのは、北海道の三地点において、前年度の性比は翌年度のそれに影響を及ぼすことが分かった点である。ある年のメス性比が 60% より高くまたは低くなると、翌年のメス性比は減少あるいは増加する傾向が認められた。つまり、少数の性を生む親（クローン）の有利性に基づく頻度依存選択がユキムシの性比に影響を与えることが実証された。野生集団の性比に関して、頻度依存選択の存在を確認した研究は初めての事例である。分析を通じて、母親の投資量は年によって大きく変動し、母親の投資量と翅長との間に有意な正の相関が見出された。また、投資量の高い年にはメス性比が高くなる傾向も明らかにされた。つまり、宿主植物の栄養状況が母親の性投資に影響を及ぼし、また、成長中に獲得する資源量に基づいて、母親は子供の性比を調整できることが明確に示された。

本研究の分析を通じて、3 地点におけるメス性比と全メス産出産性虫の割合が同期して変動しているということが分かった。つまり、3 地点を含む大域的な要因によってそれらの変動が引き起こされると考えられる。大域的な要因としては、気候要因を想定できる。北海道では、8 月に台風等による降水量が多いほど、宿主植物の根でのユキムシの摂食活動は妨げられる可能性が考えられる。それゆえに、それ以降に成長する世代の母親にも悪影響がもたらされると推測される。なお、9 月の高温は、寒冷気候に適応するトドマ

ツに負の影響を与える可能性がある。それに対して、8月に晴天が多くなると、宿主植物の成長が促されるため、母親の栄養摂取量が増し、子孫への投資量が増加しうる。アブラムシにおいて、ある世代の個体が環境によるインパクトを受けると、その影響が子孫の表現型に影響を及ぼすと報告されている (Mondor *et al.* 2004; Podjasek *et al.* 2005; Keiser & Mondor 2013; Tegelaar *et al.* 2013)。したがって、気候要因は継代効果を通じて、ユキムシの性比に影響をもたらす可能性が高い。

頻度依存選択はメス性比を制御し、集団性比の安定化を維持できる。頻度依存選択が継続的に働けば、変動が減衰し、性比は一定値に安定すると予測される。しかし、メス性比の変動が時間とともに減衰する証拠は見出せなかった、本研究の結果を通じて、ユキムシの性比は頻度依存選択だけでなく、気候要因によっても変動が駆動されることが明らかとなった。したがって、たとえ頻度依存選択が働くにもかかわらず、環境からの影響を受けて、ユキムシの性比は振動を続けると予想される。

ユキムシの交配実験を行った結果によると、オスは数が少ない時、高い交尾能力を示し、最大 35 頭のメスと交尾を行ったことが明らかになった。このような高交配能力は高いメス性比に適応するためであると推測される。野外では、オスの性比は平均およそ 40% であり、同性間競争はあまり激しくないと認められる。しかし、観察を通じて、オスの割合が 50% を超えると、オスによる頻繁な求愛行動により、メスの脱皮あるいは産卵が妨げられるため、メスの産卵成功率は低下する。一方、高いメスの割合 (約 75%) を有する集団では、メスは安全に産卵できると推測される。

環境要因はアブラムシの性比変動を引き起こすと報告されてきた (Yamaguchi 1985; Foster & Benton 1992; Moran 1993; Miller & Aviles 2000; Wool & Sulami 2001; Foster 2002; Dagg & Vidal 2004; Akimoto & Murakami 2012; Akimoto *et al.* 2012)。ただし、それらの研究はほとんど LMC に基づいて説明されてきた。本研究では、3 地点における平均メス投資比が 71% - 73% であり、従って、LMC 仮説によれば、各集団では血縁オス間の強い競争

が起きたと予測できるかもしれない。しかし、Akimoto *et al.* (2012)はアブラムシの性配分に影響を与える要因には、LMCは唯一の原因かどうか確定できないと考えた。なぜならば、アブラムシの生活史には無性生殖世代が含まれるからである。

ユキムシにおけるオス個体は秋にしか現れない、卵生メスはそれと交尾した後、受精卵が越冬する。受精卵から孵化した幼虫は無性生殖の出発点となり、幹母と呼ばれる。卵生メスは出生から死亡まで餌を取らないので、幹母のサイズは卵生メスのもつ資源量によって決まる(Heie 1980; 図 6-1)。したがって、卵生メスへの投資は幹母への投資に等しい。アブラムシにおいて、幹母及びその子孫は限られた資源をめぐり、別のクローンとの競争を行う。幹母世代の競争を考慮すれば、有性世代において、オスよりもメスへより多く投資するほうが産性虫にとってより多くの遺伝的利益を得られる。

幹母間の競争には、他の動物同様、干渉型競争と消費型競争の2つがある。ユキムシを含む多くのアブラムシは闘争能力を示さない。しかし、メスにより多く投資すれば、血縁幹母の数が増加し、非血縁者との競合の際に有利となる。仮に、より多くの血縁幹母が多くの新葉を占めることができれば、産性虫の遺伝子は高い率で集団中に拡散すると考えられる。

なお、ユキムシの産性虫はメスへの投資量が大きいほど、幹母の繁殖力も高くなる。その原因は卵サイズと孵化幼虫の生殖腺間との間の相対成長係数は1以上(1.5)の値をとるためである(Akimoto 2006)。

哺乳類では、母親の栄養状態が良いほど、母親は子孫におけるオス性比を高めるとする仮説が主張されてきた(Trivers & Willard 1973)。母親の単位投資量あたりの息子と娘の適応度の見返りに差がある場合には、母親はより高い見返りを生み出す性に自分の資源を投資するだろう、とこの説は予測する。一部のアブラムシにおいては、局所的配偶競争が起こる可能性が低いと考えられる環境に生活していても、メスに性比が偏る例が知られており、この事例に関しては Trivers-Willard 仮説が当てはまる可能性がある(Ward & Wellings 1994; Miller & Aviles 2000)。アブラムシに関しては、幹母間の競争、

局地的配偶競争および局所的資源競争(Dagg & Vidal 2004)の3つの競争とも性比に影響を及ぼす可能性がある。宿主転換を行うアブラムシ種では、大量の産性虫が一次宿主に結集するので、一般にはクローン間競争がクローン内競争より激しい。しかし、時として産性虫の密度が低く、また、有性世代個体の移動範囲が限られる場合には、局地的配偶競争と局所的資源競争が重要な役割を果たす。局所的配偶競争は、メスに偏った性投資比を進化させ、一方、局所的資源競争はオスに偏った性投資比を進化させる。したがって、移動性がオス・メス共に限定された種においては、それらの影響は相殺される可能性がある (West 2009; Akimoto & Murakami 2012)。LMC 及びその修正版による数理モデルでは、母親におけるサイズの増加につれて、一定数のあるいはより多くのオスを生むと予測されている。しかし、いずれの理論も、全メス産出産性虫の出現を説明できていない。アブラムシにおいて、最良の性配分が実現するように選択が働いてきたと考えられる (Moran 1993; Akimoto & Murakami 2012)。飼育実験の結果を通じて4オス産性虫、♀のみ産性虫という2つのタイプが大きな割合を占め、また、クローンによって、性比が異なることが明らかになった。他のアブラムシ研究でも、クローン間で性比に差が存在すると報告されてきた (*Adelgidae*, Steffan 1970; *Masonaphis maxima*, Gilbert & Raworth 1998; *Rhopalosiphum padi*, Rispe *et al.* 1999; *Tamalia coweni*, Miller & Aviles 2000; Sano & Ozaki 2011 ; 4章)。 *Kaltenbachiella japonica* においては、大多数のクローンでは、その産性虫がそろって雌雄産出タイプである。ところが、1クローンでのみ、その全産性虫が、全メス産出タイプであることを見出した。したがって、ユキムシにおいても全メス産出産性虫は、初めごく低い頻度で雌雄産出産性虫の集団中に生じ、やがて頻度を高めてきたと推測できる。

本研究では、性比変動の分析を行った結果、良い栄養条件の下では、母親の投資量の増加と♀のみ産性虫の増加の両方が引き起こされることが明らかになった。つまり、気候条件の良い年では、ユキムシにおけるメス性比は増加すると示唆される。しかし、同じクローンにおいて、産性虫のサイズが同

じでも、全メス産出タイプと雌雄産出タイプとに別れる。その生理的メカニズムははっきりしていない。産性虫のサイズに閾値が存在し、それに応じて全メス産出タイプになるか、あるいは雌雄産出タイプになるかが決まるわけではない。栄養資源の増加につれて、メス性比も増加することはユキムシにおける重要な競争戦略の一つだと考えられる。(1) 年間比較では、母親の投資量が高まる年に、全メス産出産性虫の比率が高まり、(2) 個別の母親は、投資量が高まるほど性比をメスに偏らせる、ことからメス性比は栄養の質が良い環境では、急速に高まると予想できる。

実験結果を通じて、平均投資量はオス数に関係がなく、クローン間でオスの数には相当な違いがあるということが明らかになった。また、同一のクローン(LY5 と LY6)を二つの寄主植物でそれぞれ飼育した後、性比には有意な違いが見られなかった。従って、遺伝要因と環境要因を分離する実験は行われなかったが、クローンごとにオスを生む傾向に違いがあり、オスの産出が遺伝的に(クローンごとに)決まっている可能性があると考えられる。つまり、頻度依存選択はオスの数を決める遺伝因子に影響を及ぼすものと推測される。

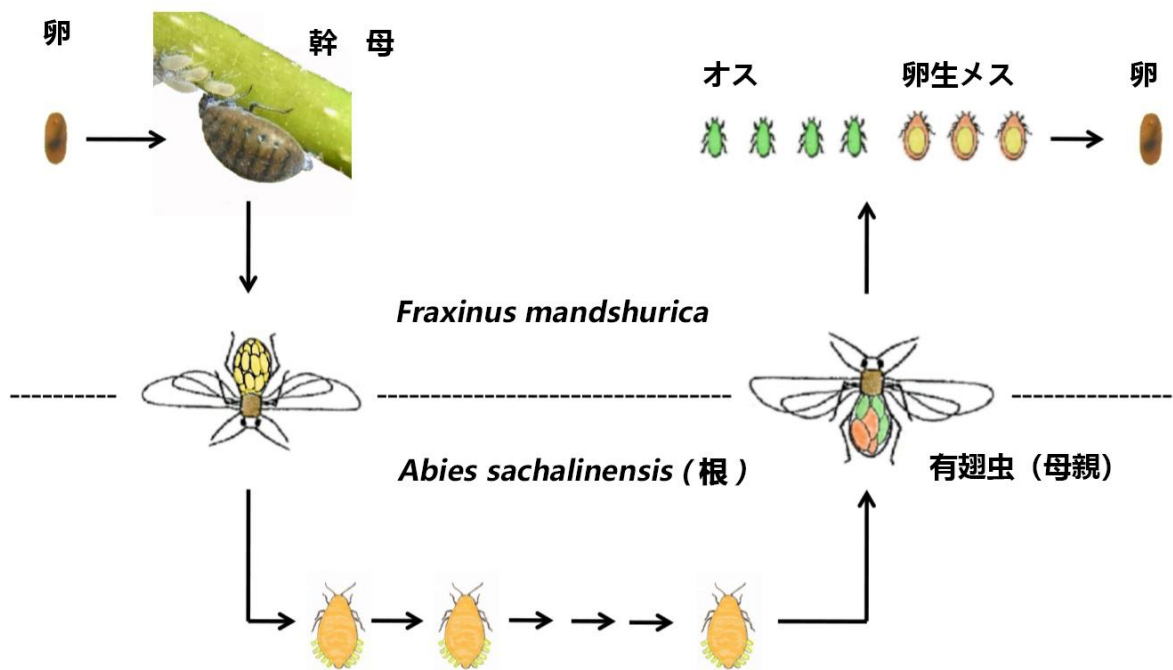


図 6-1 ユキムシの生活史。ユキムシはヤチダモ (*Fraxinus manshurica*) とトドマツ (*Abies sachalinensis*) の間を宿主転換する。秋になると、有翅型 (母親) に成長し、腹部に卵性メスとオスの胚をもち、1次寄主のヤチダモに向かって移動し、ヤチダモ幹上で卵生メス (オレンジ色) とオス (緑色) を産子する。卵生メスとオスは交尾してから、受精卵 (黄色) が越冬し、幹母は春に孵化する。

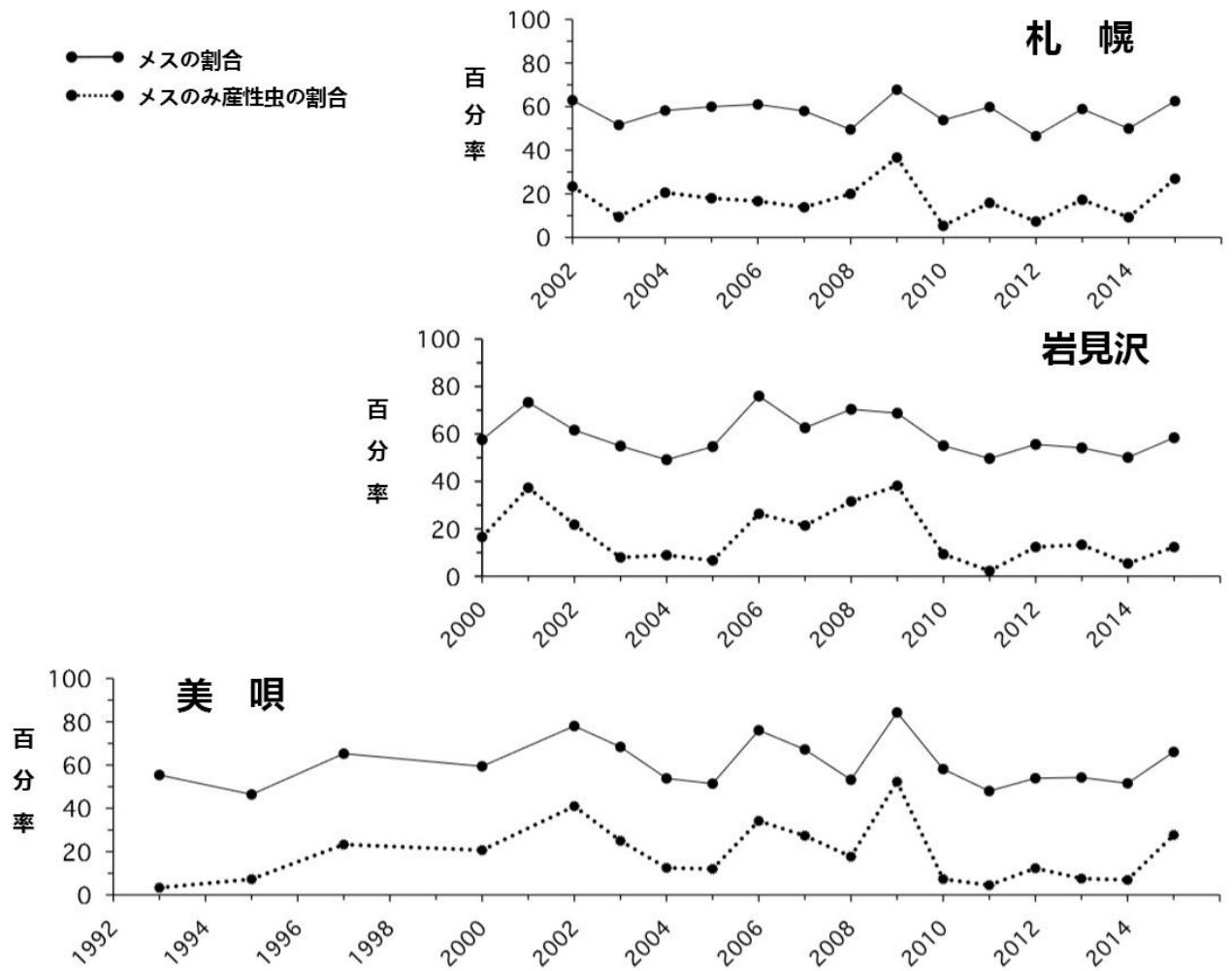


図6-2 3地点におけるメス性比及び全メス産性虫の年別変動。全データのうち、2002-2015年にかけてのデータで分析を行った。

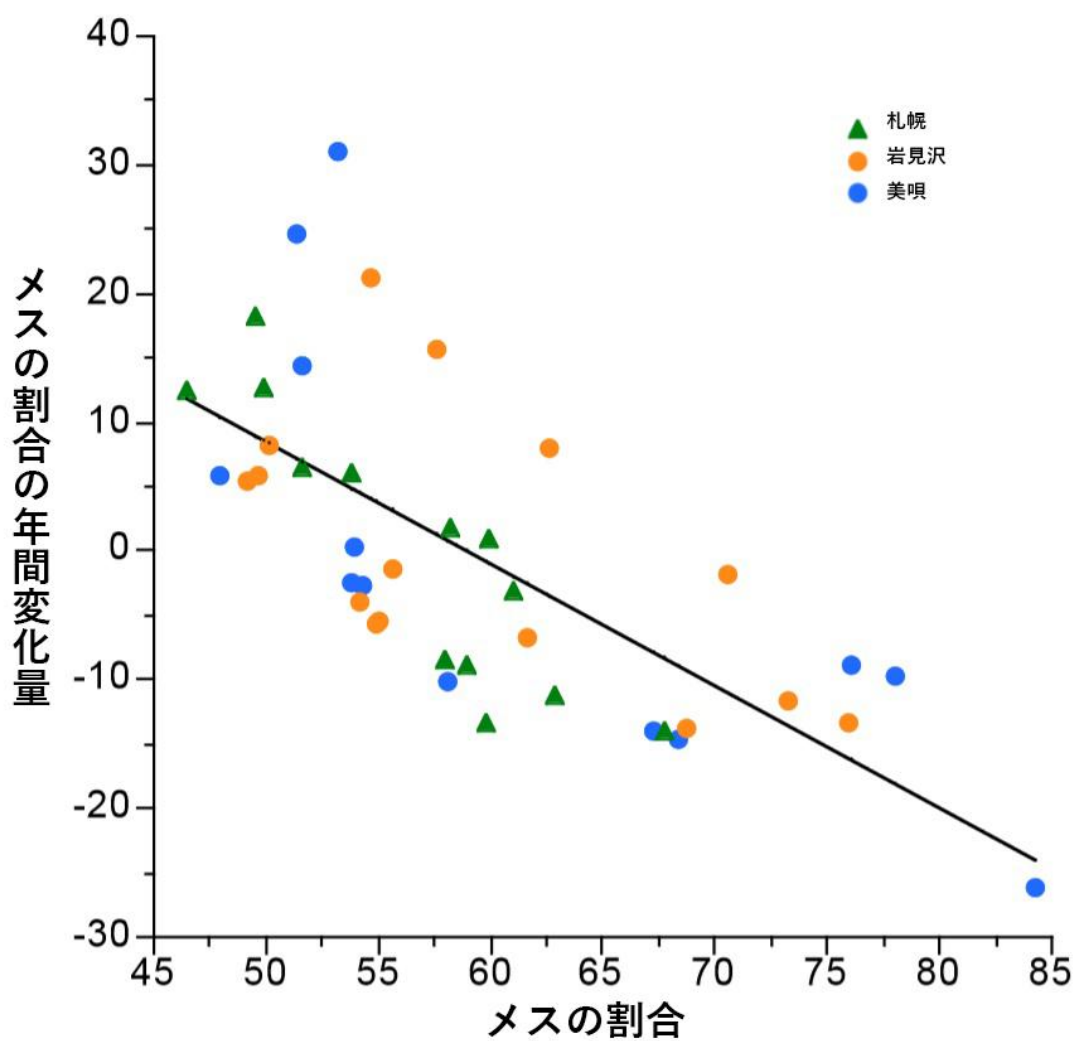


図6-3 三地点における当年度のメス性比（X軸）と翌年度におけるメス性比増減（Y軸）の関係。回帰式は $y = 55.90 + 0.948x$ 。

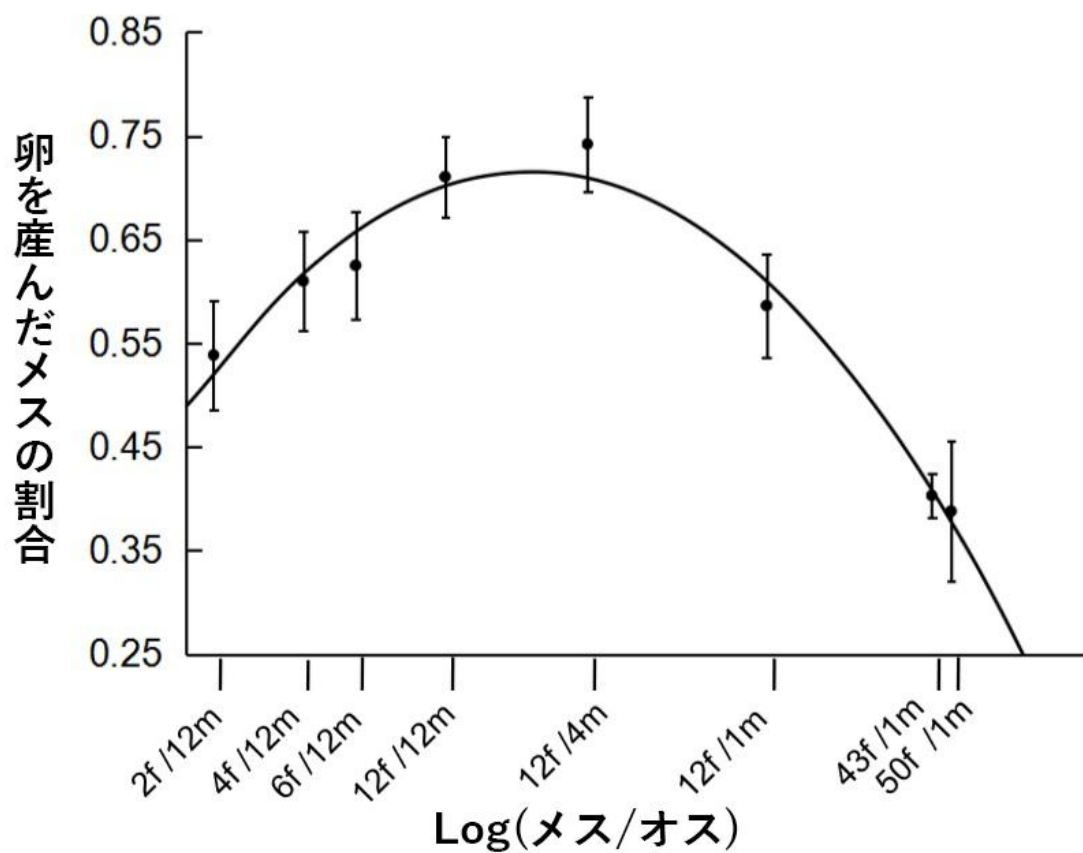


図 6-4 容器内卵生メスの割合と産卵成功率の関係。横軸は \log (メス数/オス数) を示し、縦軸は産卵成功率 \pm SE を示した。それらの関係を表す回帰方程式は $y = 8.33x - 7.71x^2 - 1.11$ 。

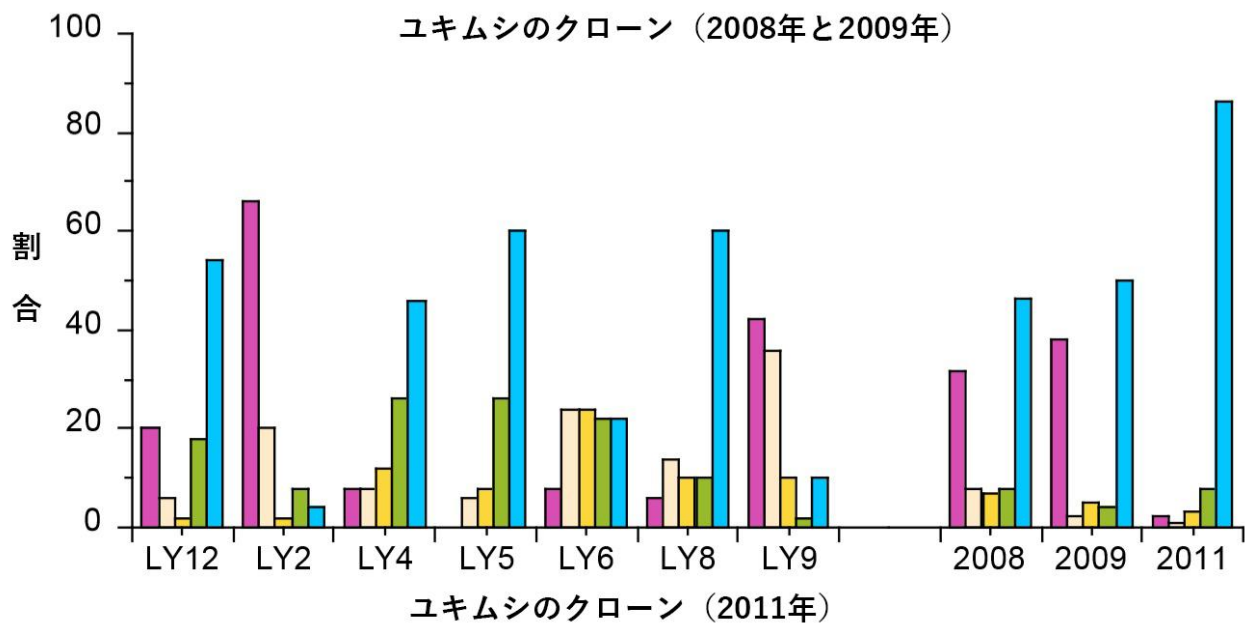
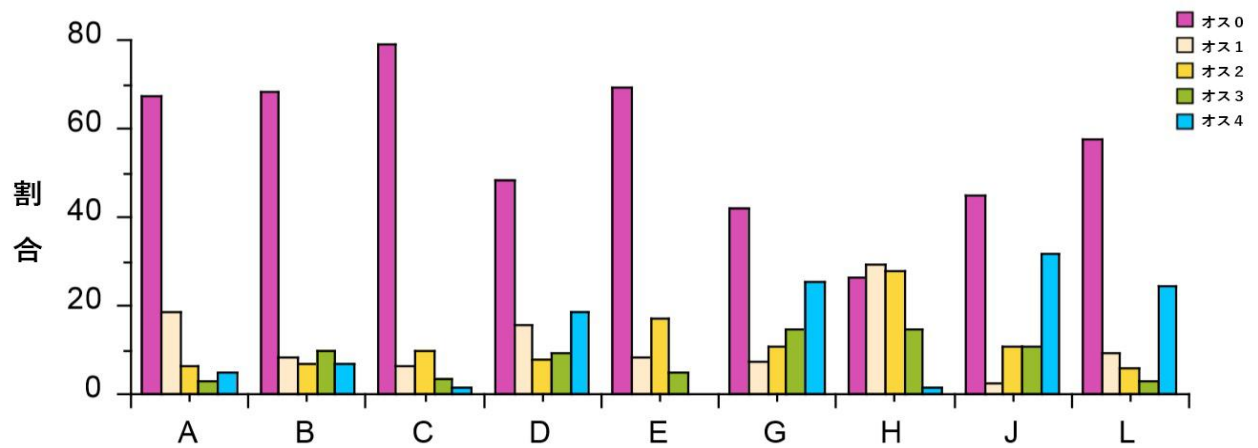


図 6-5 2008 年・2010 年・2011 年の 3 年において岩見沢の各クローンにおける異なるタイプの産性虫の割合

表 6-1 1981-2015 年にかけての美唄集団における産性虫のオス・メス生み分け、産性虫の実数を示す。

		卵生メスの数												
オスの数	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11≦	%	
0	0	1	17	30	62	34	81	65	149	38	42	15	17.2	
1	0	10	20	18	36	23	27	12	20	2	1	0	5.4	
2	11	14	30	25	60	24	28	14	17	3	2	0	7.4	
3	24	25	55	50	79	30	34	19	18	4	1	3	11.0	
4	172	166	356	263	442	119	161	56	64	6	7	17	59.0	

表 6-2 メス性比・全メス生産産性虫の割合・母親の投資量に対する気候要因の影響。“-”は Stepwise 後退法に採用されなかった変数。* は偏回帰係数

種 類	メスの割合			全メス生産産性虫率			母親投資量		
	Coeff.*	F	P	Coeff.*	F	P	Coeff.*	F	P
地点 (札幌 V S 他)	-	-	-	-	-	-	-0.4048	3.85	0.0555
地点 (岩見沢 V S 美唄)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7月の降水量	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8月の降水量	-0.0456	15.95	0.0002	-0.0671	21.32	< 0.0001	-0.0055	6.94	0.0113
9月の降水量	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7月の温度	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8月の温度	-	-	-	-	-	-	0.5039	9.14	0.0040
9月の温度	-2.1405	8.73	0.0048	-2.287	6.16	0.0165	-0.6838	15.55	0.0003

表 6-3 メス性比の前年からの増減に対する共分散分析の結果（翌年度のメスの割合－当年度のメス割合）。

説明変数	DF	係数	F	P
地点	2	-	0.626	0.5409
前年のメス比	1	-1.004	62.17	<0.0001
8月の降水量	1	-0.075	14.47	0.0002
9月の温度	1	-1.751	3.56	0.0675

表 6-4 トドマツから採集したユキムシのクローン別における産性虫の数・オスメスの平均個体数・メスの割合・産性虫の平均翅長。異なる文字は統計的有意差を示す。LY5 と LY6 以外のクローンは異なるクローン。

クローン	年	産性虫 の数	産性虫あたり の平均オス数	産性虫あたり の平均メス数	メスの 割合	平均翅長 (mm) ±SD
J	2008	86	1.84	1.84	50.00b	3.29 ± 0.271
L	2008	194	1.27	1.48	53.85bc	2.95 ± 0.185
A	2008	459	0.59	2.59	81.37ef	3.37 ± 0.318
B	2009	90	0.78	2.27	74.32def	3.24 ± 0.213
C	2009	1628	0.42	2.61	86.17f	3.24 ± 0.229
D	2009	215	1.34	2.33	63.40bcd	3.26 ± 0.318
E	2009	564	0.58	2.25	79.64ef	3.05 ± 0.251
G	2009	131	1.76	4.27	70.78cde	3.58 ± 0.178
H	2009	1021	1.36	3.39	71.38cde	3.45 ± 0.220
LY2	2011	692	0.64	2.82	81.50ef	3.29 ± 0.234
LY4	2011	758	2.94	0.68	18.78a	3.26 ± 0.162
LY5	2011	705	3.40	0.72	17.48a	3.19 ± 0.303
LY6	2011	345	2.26	0.44	16.30a	3.02 ± 0.243
LY8	2011	1128	3.04	0.82	21.24a	3.37 ± 0.255
LY9	2011	1142	1.02	1.04	50.49b	3.01 ± 0.233
LY12	2011	187	2.80	3.00	51.72b	3.59 ± 0.229

第7章 ユキムシ(トドノネオオワタムシ)における地域間交雑の遺伝的影響に関する研究

1 はじめに

5章では、エンドウヒゲナガアブラムシを用いて、交雑によって子孫の適応性にどのような影響が生じるのかを解明した。生物の地域集団がどの程度の遺伝的多様性を示すかは、その集団の絶滅のしやすさに影響する。遺伝的浮動とは、個体の生存や繁殖に有利であるか不利であるかにかかわらず、ある遺伝子の頻度が集団内で確率的に増加または現象する現象で、より小さな集団ほどこの効果が強く働く(Masel 2011)。生物集団は、他の集団から遺伝子流動を受けなければ、遺伝的浮動によって遺伝的多様性を失っていく。遺伝的多様性の減少の速度は、その集団の集団サイズによって決まる。遺伝的浮動が働く複数の集団間では、遺伝的浮動によって集団間の遺伝構成が時間とともに変化することが予測される。この結果、同じ遺伝子座を考えても、集団間で異なる対立遺伝子が固定する場合が起こりうる。もし、長期間の遺伝的浮動によって駆動された遺伝的分化が集団間で起こったならば、集団間の交配が行われた場合、交雑個体には、ヘテロ接合体の頻度が急増することが予測される。

本研究では、ワタムシ亜科のユキムシ(トドノネオオワタムシ)を用いて、近接した2集団(岩見沢集団と美唄集団)をランダムに選び、交雑実験を行った。岩見沢と美唄は直線距離で13kmほどの位置にあり、連続して1次、2次寄主植物が生育するために、遺伝子流動は確保されており、集団の生殖的隔離が生じる可能性はほぼ考えられない。しかし、岩見沢でも美唄でも、集団中で遺伝的浮動が働いていたとすれば、血縁個体の交配から近交弱勢が生じ、遺伝的多様性の低下と遺伝的劣化が生じてきた可能性が考えられる。ユキムシは大量に出現し、十分な移動能力を示すように思われるため、本種が遺伝的浮動の悪影響を受けていると想定することは難しい。しかしながら、アブラムシは無性生殖によって春から秋にかけて増殖するため、クロ

ーン間競争によって、増殖力の高い特定の少数のクローンだけが生き残り、繁殖集団を形成すると仮定できる。このような場合、出現個体数は多くても、実質的な有効集団サイズは極めて小さい可能性も考えられる。こうした仮説が正しければ、ユキムシの集団は、見かけ上の数の多さにも関わらず、遺伝的浮動を受けやすい可能性もある。

これまで、集団遺伝学的方法（例えばF統計量）を用いてある集団が近親交配的であるかどうか測定されて来たが、集団中で遺伝的浮動が実際に生じ、その結果、適応度にマイナスの影響が生じていることを実証するには、集団間の掛け合わせ実験が必須である。交雑個体の適応度成分を集団内交配個体のそれと比較し、雑種強勢現象が確認できれば、初めて遺伝的浮動の表現型効果を実証できる(Keller *et al.* 2002)。この結果は、将来、集団間の交雑が遺伝的多様性を生み出す手段として有効であるか否かを示すためにも、用いることができる。

2 材料と方法

2015年10月17日に美唄市光珠内と岩見沢市春日町において、それぞれ数本のヤチダモの幹に紙ガーゼを巻きつけた。この日、午後から雪虫産性虫の大量の飛来が観察され、産性虫はヤチダモに飛来後、次々に紙ガーゼに集合した。10月19日朝、美唄のヤチダモより紙ガーゼを回収し、北海道大学の実験室に運んだ。紙ガーゼには多数の有性世代（オスと卵生メス）が生み出されており、即座にオスと卵生メスを分離し、小型角形ケース（34mm*34mm*13m）に性ごとに保存した。この時点ではオス、卵生メス共に性的成熟に達しておらず、交尾は見られなかった。オスと卵生メスは交配実験の実施まで5°Cで保存した。10月20日に、岩見沢市のヤチダモから紙ガーゼを回収し、北海道大学の実験室に運び、紙ガーゼからオスと卵生メスを同様に分離した。

10月20日より23日まで、美唄♂×岩見沢♀、美唄♂×美唄♀、岩見沢♂×岩見沢♀、岩見沢♂×美唄♀の掛け合わせ実験を進めた。容器あたりのオ

スと卵生メスの数をそれぞれ4頭と10頭として、4つの交配組み合わせを作成した。交尾・産卵実験には、小型角形ケース（34mm*34mm*13m）を用い、その内部には3枚の濾紙を敷き、さらにその上に、1枚の紙ガーゼを敷き、上から水を3滴滴下した。16°Cの恒温器中で、雌が死亡するまで観察を続けた。実験終了まで毎日スポイトで濾紙に一滴水を垂らした。ケース内でオスが死亡した場合には同じ集団のオスを補充した。10月29日に初めて産卵が観察された。産まれた卵は8個ずつ新たな小型角形ケースに入れ、卵の傍に番号を書いた。その後、4°Cの気象器に置き、さらに12月10日に恒温器から卵を取り出し、北海道大学農学院の中庭で容器ごと雪に埋め、春まで越冬させた。雪は溶けることなく、容器全体は春まで雪に覆われていた。2016年4月1日に卵を雪から掘り出し、すべての卵の画像を識別番号と共にコンピューターに保存したのち、恒温器中の変温条件下に置き（19°C, 7:00-15:00; 6°C, 15:00-7:00、湿度 50-60%）孵化を促した。美唄♂×岩見沢♀の組み合わせは287卵、美唄♂×美唄♀は285卵、岩見沢♂×岩見沢♀は305卵、岩見沢♂×美唄♀は357卵に関して、孵卵開始から毎日チェックし、孵化日を記録した。

卵の画像を用いて、ImageJを用いて卵サイズを測定した。4つの交配組み合わせのそれぞれから1齢幼虫を100頭ずつ無作為に選び、アセトカルミンを入れたチューブに入れ、染色した。3日後、顕微鏡で解剖し、マウント標本を作成し、画像を保管して、ImageJで生殖腺の面積、触角3、4節目、口器及び前、中、後足のfemur, tibia、tarsusの長さを1頭ずつ測った。生殖腺の測定では、ユキムシの腹部に昆虫針で孔を開け、丁寧に腹部での内容物を全部取り出した（図7-1）。内容物の合計面積を生殖腺の面積と見なした。生殖腺と卵の面積の単位はmm²であり、それ以外の部分の単位はmmである。

比較は、各集団内の交配の子孫とその集団のメスと他集団の掛け合わせの子孫との間で行われた。こうすることによって、母性効果の影響を受けずに比較可能である。

3 結果

3.1 地域間交雑が孵化時期に対する影響

雪虫の卵は無作為にケースに入れたので、ケースは変量効果と見なし、分析は混合モデルを用いた。集団間交雑の2グループ、すなわち岩見沢♂×美唄♀と美唄♂×岩見沢♀の間には、孵化時期に有意差が存在しなかった(固定効果、 $F_{1,51.1} = 0.669$, $P = 0.417$)。このため、交雑2グループを合併し、交雑グループとして扱った。1. 交雑グループ、2. 岩見沢の内部交配グループ、および3. 美唄の内部交配グループとの間で孵化時期を比較したところ、3群間で孵化時期に有意な違いが見出された(固定効果、 $F_{2,144.9} = 4.19$, $P = 0.017$)。Nested Anova で検定した結果(表 7-1)、美唄内部と岩見沢内部の間には孵化時間に有意差が認められ($F_{1,89.8} = 5.70$, $P = 0.019$)、平均的には美唄集団の方がやや遅れて孵化することがわかった。また、交雑グループと美唄内部グループとの組み合わせでは、有意差が認められた(固定効果、 $F_{1,97.3} = 6.30$, $P = 0.0137$)。すなわち交雑によって、孵化は平均的に有意に早くなった。一方、交雑グループと岩見沢内部グループとの組み合わせでは、有意差が認められなかった(固定効果、 $F_{1,112.9} = 0.0635$, $P = 0.802$)。集団間交雑は、孵化がやや遅れていた美唄集団により大きな影響を与えたと結論できる。

3.2 地域間交雑が形態に対する影響

卵から孵化した孵化幼虫をプレパラート標本とし、12部位のサイズを対象として、主成分分析を行い、第1主成分を抽出した。第1主成分に対する12形質それぞれの係数(ベクトル)は、全て正の値0.263から0.310をとったため、第1主成分は全体的な体サイズを表すと判断された。1齢幼虫の体各部分のサイズは、卵サイズが大きい小さいかによって影響を受ける。このため、体サイズは、卵サイズを共変量にとって調整し、残差として表示された。第1主成分に対して、卵サイズを共変量にとって共分散分析を行ったところ、卵サイズとグループの交互作用には有意差は見られなかったが($DF = 3$, $F = 0.29$, $P = 0.83$) (図 7-2)、グループ間で有意差が見られた($DF = 3$, F

=147.50, $P < 0.001$)。つまり、卵サイズに対する第1主成分の回帰直線の傾きにはグループ間で有意差はないものの、第1主成分のy切片にグループ間で有意差があることが示された。その後、美唄内部 対 岩見沢♂×美唄♀、岩見沢内部 対 美唄♂×岩見沢♀の2つのペアに対して、Tukey-Kramer testで比較すると、美唄内部の子孫は、岩見沢♂×美唄♀の子孫より卵サイズに対して体サイズが相対的に有意に大きいことがわかった。同様に、岩見沢内部の子孫は、美唄♂×岩見沢♀の子孫よりも相対的体サイズが有意に大きかった(図7-4)。すなわち、交雑集団の方が、全体的な体サイズが小さくなっていた。

さらに、生殖腺量について、主成分1と同様、卵サイズを共変量にとって、共分散分析で分析した結果、卵サイズとグループの交互作用には有意差は見られなかったが($DF = 3, F = 1.03, P = 0.38$) (図7-3)、グループ間で有意な差がみられた($DF = 3, F = 40.97, P < 0.001$)。美唄内部 対 岩見沢♂×美唄♀の間で生殖腺量を比較すると、美唄内部の子孫より岩見沢♂×美唄♀の子孫の方が生殖腺サイズが卵サイズに対して有意に大きかった。また、同様に岩見沢内部 対 美唄♂×岩見沢♀の間で比較すると、岩見沢内部の子孫よりも美唄♂×岩見沢♀の子孫の方が生殖腺サイズが相対的に有意に大きかった(図7-5)。さらに、2つの集団内交配の結果を合併し、集団間交配の2群を合併した結果と比較すると、集団間交配区の生殖腺サイズの方が、集団内交配区のそれよりも有意に増加した(卵サイズ、 $F_{1,385} = 43.4, P < 0.0001$, 集団内/集団間、 $F_{1,385} = 69.2, P < 0.0001$)。すなわち、交雑集団の個体は、集団内交配個体より生殖腺が有意に増えたと認められた。

4 考察

隔離された複数の小集団において、遺伝的浮動が長期間に渡って働くと、ランダムに生じる有害突然変異が集団ごとに固定する可能性がある。こうした小集団においては、集団内で外交配、内交配を試みても、集団内で血縁度が高まっていることから、近交弱勢は集団内交配を通じて確認しにくい可能

性がある。しかしながら、小集団間で交配が行われれば、その子孫は、集団内交配の子孫に比べて有意に適応度が高まる確率が高い。集団内に異なるランダムな有害遺伝子が固定していれば、それらは集団間交配の結果、ヘテロ接合体となり、有害効果がマスクされる結果、適応度成分の増加を引き起こすためである。この現象が雑種強勢（ヘテロシス）である。集団間交配によって適応度増加が生じたことは、小集団内において血縁者間交配

（consanguineous mating）が生じてきたことを示唆する。血縁者間交配と遺伝的浮動に伴う遺伝的荷重（genetic load）が生じている可能性は、集団間交配によってのみ明らかにできる（Charlesworth & Charlesworth 1987; Keller *et al.* 2002）。

本章の研究の結果、トドノネオオワタムシの卵孵化形質、形態形質、および生殖腺サイズでは、集団間交雑によって集団内交配の場合と比べて平均値が変化することが確認された。このことは、各集団内で、血縁者間交配と遺伝的浮動が生じてきたことを示唆する。

5章では、エンドウヒゲナガアブラムシにおいて、卵の孵化時間と宿主植物の芽吹き時期の間に関連性があることが明らかになった。卵からより早く幹母が孵化すれば、新芽のより良い位置を確保でき、ゴール形成を速やかに進めることができるのに対して、孵化が遅ければ、他の幹母との場所競争に不利となる。また、近親交配から生まれた子孫では、外交配の子孫より卵孵化が遅れることが明らかとなった（Akimoto 2006）。このような点から、卵孵化時期は、幹母の適応度形質と考えることができる。

本章の結果を通じて、孵化時期においては、差はあまり大きくなかったが、美唄内部交配の子孫と岩見沢内部交配の子孫の間に有意差が見られた。両方向の集団間交配の子孫の間には有意な差が見られなかったために、両者を合併して扱ったところ（集団間交配区）、集団間交配区と美唄内部区との間に、孵化時期に関して有意な差が確認され、集団交配区の孵化が早まった。一方、集団交配区と岩見沢区との間には、有意差が見出せなかった。交雑の影響は、両集団内交配の平均値よりもより早い孵化を美唄集団に引き起こしていた。

この結果は、岩見沢集団より、美唄集団の方が近親交配の影響をより強く受けてきた可能性を示唆している。すなわち、交雑によって、血縁者間交配の程度のより高い集団のマイナス面が改善された可能性が考えられる。

交配実験の結果からみると、集団間の掛け合わせから生じた個体は、体のサイズは小さくなったものの、生殖腺のサイズは、同じ集団内での交配からの幼虫より、有意に大きくなった。つまり、交雑させると、雪虫における体サイズが減少し、逆に胚子量が増加するということが明らかになった。生殖腺量の変化は、適応形質であるために、明らかにヘテロシス効果が生じたことを意味する。

形質間でのトレードオフにより、生物における進化の方向が制約される (Roff 1992; Stearns 1992; Charnov 1993; Futuyma 1998)。自然選択により、各形質は狭い範囲に変動を抑えられており、胚発生の中に、限られた資源をいくつかの部分に割り当てるため、形態形質あるいは内部器官のサイズの間に潜在的なトレードオフがあると予想される (Waddington 1960; Møller & Swaddle 1997; Gibson & Wagner 2000; Debat & David 2001; Hoffmann & Woods 2001)。アブラムシでは、卵の資源は一定であり、卵の資源を幼虫の体各部の成長に利用するか、あるいは、次世代を作る生殖腺に資源を投資するかに関してトレードオフが存在する (Akimoto 2006)。岩見沢、美唄それぞれの集団では、血縁者間交配が進んでおり、それによって、適応度の劣るホモ接合体が必然的に出現し、適応度の低下をもたらしたと考えられる。また、血縁者間交配により、適応度に強く関連する形質値が低くなるが、それにあまり関連しない形質には影響があまり生じないと報告されてきた (Mather 1973; Falconer 1989; Lynch & Walsh 1998; DeRose & Roff 1999)。

雪虫のように大量に発生する昆虫においても、集団ごとに若干の近親交配が生じており、それが繁殖に悪影響を与えていたと考えられる。交雑により、生殖腺量が増加したため、より多くの子孫を産出でき、集団間の掛け合わせは良い結果をもたらしたと認められる。集団間交配の結果、生殖腺サイズは、2集団の生殖腺サイズの平均値をはるかに超えて増加した。つまり、集団間

の掛け合わせから生じた個体には雑種強勢の効果がはっきりと確認できた。ワタムシ亜科アブラムシの *Pemphigus bursarius* に関して、Miller *et al.* (2003) は 14 キロほど 1 次寄主の集団が離れると、マイクロサテライト遺伝子座の対立遺伝子頻度が顕著に変化することを示した。この結果は、本研究の結果と一致する。岩見沢集団と美唄集団では 13 キロほど離れており、両集団は距離的に隔離されており、遺伝的浮動が別個に働いていると解釈できる。6 章のとおり、集団の性比がメスに偏ることはユキムシにおける重要な競争戦略の一つであり、幹母の生殖腺量が大きいほど、増殖率がより増強される。エンドウヒゲナガアブラムシにおける雑種強勢は脚長の増加や産子数の増加などの形で発現されたが (5 章)、ユキムシにおいては、体サイズを代表する第 1 主成分では、集団内交配由来個体と比べ集団間交配由来個体は小さかった。それに対して、生殖腺は集団内交配由来個体よりも大きくなることが明らかになった。

本研究の結果によると、孵化日、体サイズ第 1 成分、生殖腺量のいずれでも、美唄内交配の子孫と美唄♀*岩見沢♂交配の子孫との差は、岩見沢内交配の子孫と岩見沢♀*美唄♂交配の子孫との差より大きくなることが明らかになった。この結果は、美唄集団の方が血縁者間交配の程度がより大きく、近交弱勢による適応度低下を被ってきたことを示唆する。雪虫の集団はどの地域においても北海道では多量の産生虫が出現し、数の点では遺伝的浮動が働いているとは予想できないものの、こうした生物においても遺伝的浮動が働きうることを本研究は明確に示すことができた。この結果は、生物の保全を考える際にも重要となるであろう。

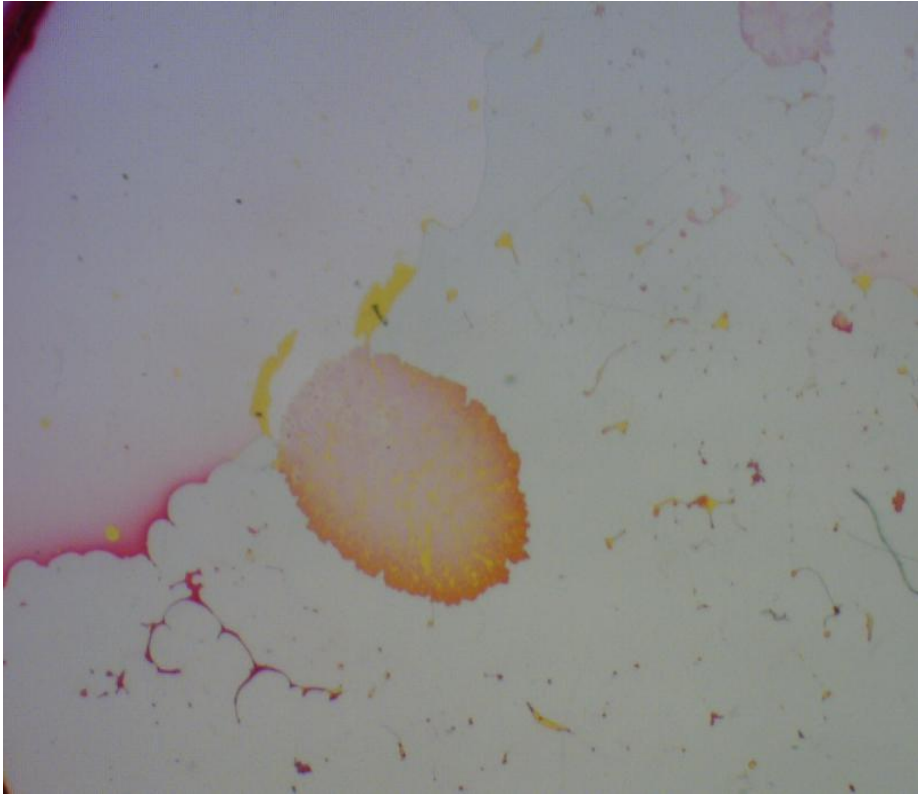


図 7-1 取り出したユキムシの生殖腺（オレンジ色部分）

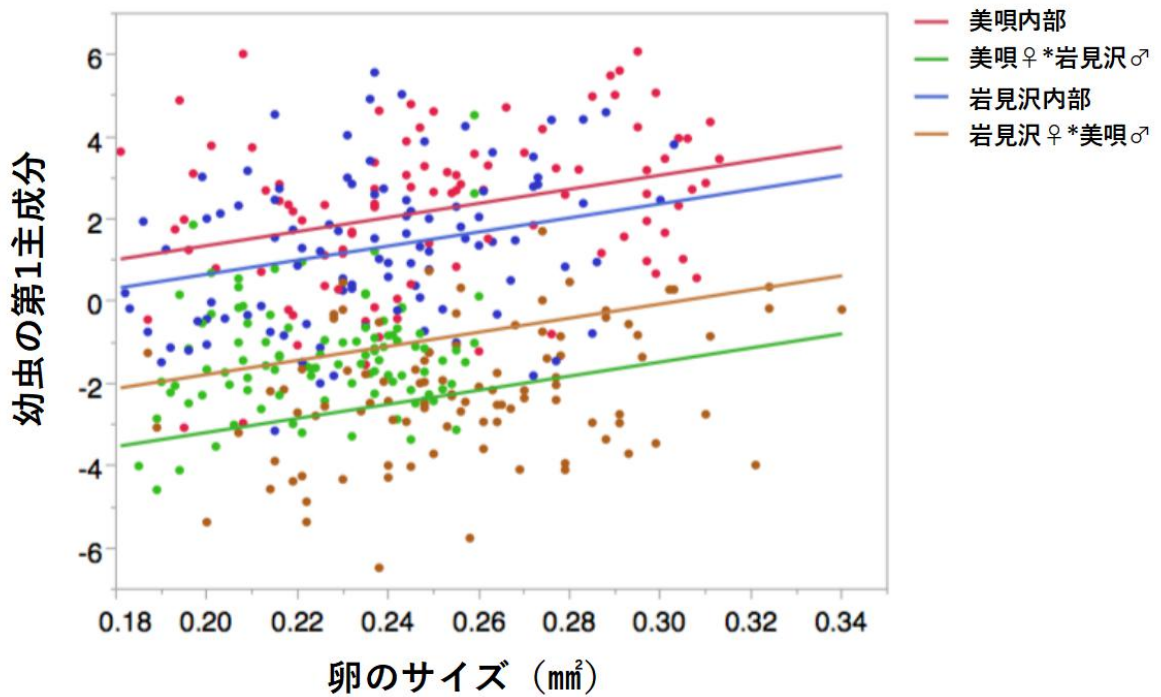


図 7-2 各グループにおける卵のサイズと幼虫の第 1 主成分の関係

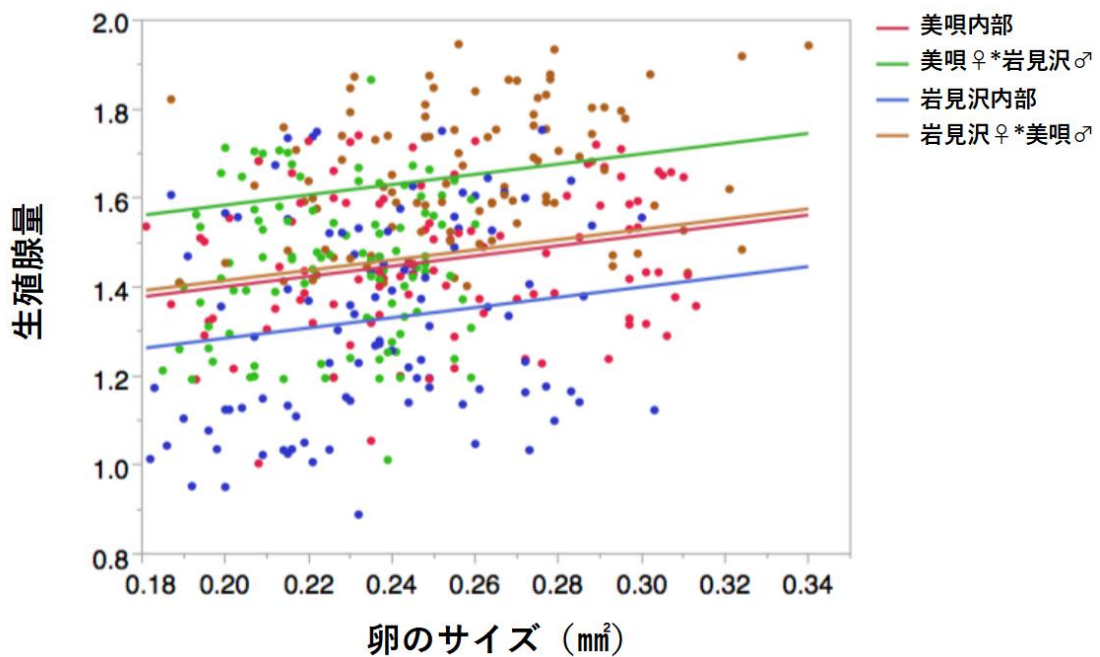


図 7-3 各グループにおける卵のサイズと生殖腺量の関係

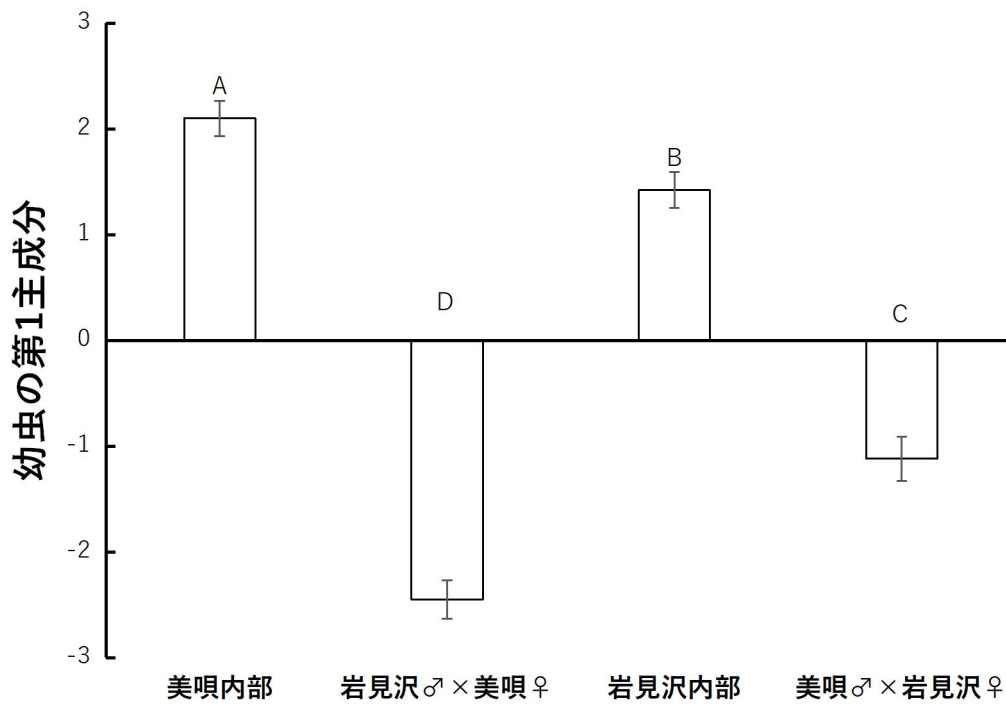


図 7-4 各グループにおける第 1 主成分（最小 2 乗平均値 ± SE）の比較。同じ文字で接続されていない水準には有意差があること

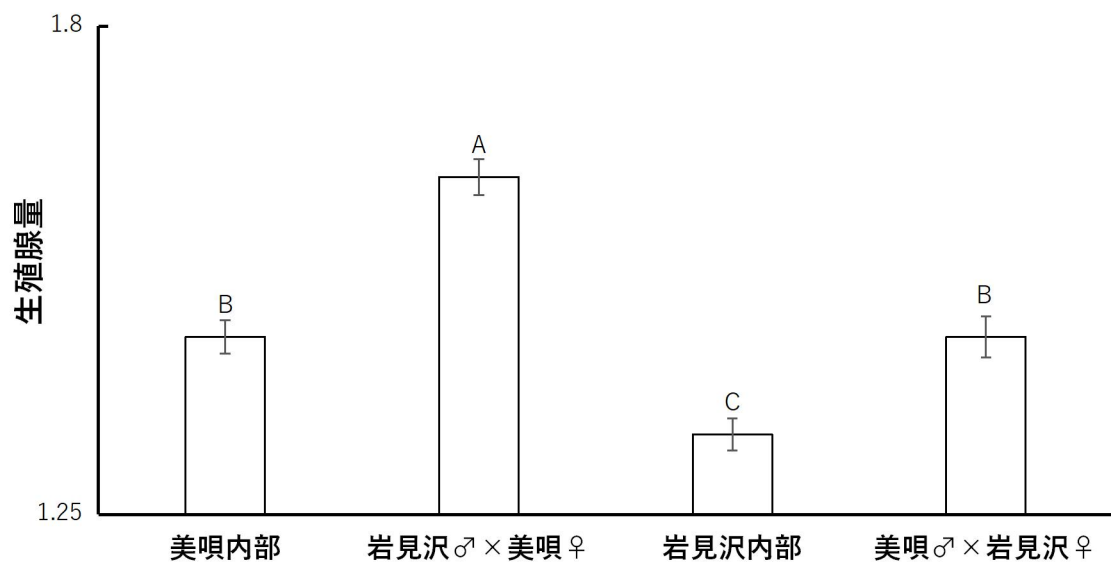


図 7-5 各グループにおける生殖腺量（最小 2 乗平均値 ± SE）の比較。同じ文字で接続されていない水準には有意差があること

表 7-1 各グループにおける孵化時期の比較

グループ (最小二乗均値±SE)	グループ (最小二乗均値±SE)	P
美唄内部 (25.86±0.101)	岩見沢内部 (25.53±0.099)	0.019*
美唄内部 (25.86±0.101)	交雑グループ (25.52±0.110)	0.0137*
岩見沢内部 (25.53±0.099)	交雑グループ (25.52±0.110)	0.802

*マークは、有意差があることを示す。

第8章 総合考察

自然の中で、昆虫の成長と繁殖は、周囲の環境から影響されるだけでなく、一定の区域に存在する別の生物との相互作用からも重大な影響を受ける(Qin & Wang 2001)。従って、種間競争と種内競争に関する研究は多くの研究者の関心を集めてきた(Larson & Whitham 1997; Hazell *et al.* 2005)。競争的環境の中で、自分自身と子孫の成長と繁殖を維持するため、アブラムシを含め昆虫たちは、様々な形質に関して、繁殖成功を高める方向に選択を受けてきた(Ehrlich & Raven 1964; Wiebes 1979)。

温帯地域では、多くのアブラムシは晩春から初秋にかけての長日条件下で単為生殖によって世代を繰り返す、また、神話的ともいえる強い繁殖力を持っているため、生物進化研究において理想的な材料となる(Simon *et al.* 2010)。現在までのアブラムシに関する研究の多くは、植物の株上での飼育に基づいて行なわれて来たが(Whitham 1979; Pilson 1992; Ferrari *et al.* 2008 Li & Akimoto 2018)、アブラムシのサイズが小型のため、個体数の定量化には困難があった。第2章では、1981年にMilnerによって発明された寒天培地法の効果を評価した結果、その方法は一定時間にソラマメ葉の鮮度を維持できるだけでなく、エンドウヒゲナガアブラムシの成虫のサイズと繁殖力に負の影響を与えないことが分かった。従って、この方法を用いることで、アブラムシ個体数の正確な把握が可能となり、アブラムシの個体群の変化を経時データとして表すことができた。しかし、寒天培地法はアブラムシの生理生化学性状にどんな影響をあたえるのか、はっきりしていない点が残るので、今後葉の生理的变化を含めて、さらに研究されていくべき技術だと考えられる。

植食性昆虫は、宿主への食害を通じて、競合種に負の影響を与える証拠が示されている(Koricheva *et al.* 1998)。寒天培地法でエンドウヒゲナガアブラムシの種間競争と種内競争のそれぞれについて研究を行った。その結果、クローンによって、増殖力と競争能力が大きく異なるということが明らかに

なり、また、種間競争にしろ、種内競争にしろ、競争はきわめて激しいという結果を得た。農工大クローンとソラマメヒゲナガアブラムシとの競争では、20°Cの条件下で農工大クローンは16回の反復のうち6回の勝利を勝ち取った。また、農工大クローンが勝利を得た場合、次世代の産子を早めることが起こったが、同様な現象はアカツメクサクローンでは生起しなかった。競争状況での産子の促進現象はアブラムシでは初めての発見となった。これを生み出すメカニズムは今後追求されねばならない問題である。なお、18°Cで農工大クローンは全勝したが、23°Cで全敗という結果となった。すなわち、エンドウヒゲナガアブラムシの種間競争の帰結には温度依存性の可能性があると考えられる。この結果は、両種の野外での分布と密度の観察結果と合致している。エンドウヒゲナガアブラムシは、北へ行くにつれてカラスノエンドウ上で豊富に見つかるものの、温暖な地域ではほとんど見つからない。九州・沖縄では、カラスノエンドウ上にソラマメヒゲナガアブラムシが多産するが、エンドウヒゲナガアブラムシは極めて稀である。

一方、競合種が大量に存在する場合には、エンドウヒゲナガアブラムシの産子が抑えられることが判明した。すなわち、競争種の分布はエンドウヒゲナガアブラムシの繁殖活動に影響をあたえている。自然の中で、エンドウヒゲナガアブラムシは緑型と赤型の2種類に分かれる(Caillaud & Losey 2010; Du *et al.* 2012)。黄色型のエンドウヒゲナガアブラムシはほとんど見られないが、緑クローンから派生した黄色クローンについて研究を行ったところ、農工大クローンにしても、緑クローンにしても、黄色クローンと共存すれば、強烈な競争が起こることを明らかにした。ソラマメヒゲナガアブラムシに対する競争能力において、黄色クローンと農工大クローンの両クローンは優劣をつけ難いが、緑クローンに比べ、黄色クローンのほうが競争に弱いことが分かった。すなわち、黄色クローンと緑クローンは同一の先祖から生まれたものの、緑クローンは黄色クローンを競争者と認識し、そのうえ、黄色クローンは緑クローンより繁殖能力が低いことから、緑クローンと黄色クローンが共棲する場合、黄色クローンは緑クローンに次第に駆逐されると考えられ

る。突然変異個体の出現と、それが排除される過程は、数多く起こっているはずだが、一般にはクローン識別が不可能なため、突然変異体の排除はなかなか観察されてこなかった。しかし、今回、きわめて稀なケースとして、この過程が観察できた。とりわけ、色彩多型のアブラムシを用いることで、クローン間競争がどのように生じるのか、その詳しいメカニズムを明らかにすることができた。

アブラムシの2クローンが同じ植物上で同時に増殖していく場合に、その2クローンは、どこまでも産子し続けるのではないことが明らかになった。一方のクローンの個体が他方のクローン個体に周囲を取り囲まれると、産子を減らし始める。ある程度の決着がついた段階で、周りを取り囲まれた側は、産子を中断し、環境の回復を図るものと思われる。アブラムシの増速率は高いために、周りを他クローン個体に取り囲まれた場合、産子しても、その子が劣悪な環境で育たざるを得ない状況にしばしば追い込まれる。アブラムシは、そうした場合、一旦産子を中止して、新たな葉に逃れるなどの方法をとって子孫の温存を図る戦略をとっていることが明らかになった。このため、アブラムシ2クローン間の競争は、競争の早い時期に一方が増殖を諦めるという形をとる。こうした戦略については、これまで全く報告されたことがなく、全くオリジナルな発見となった。アブラムシの無性生殖世代は常に競争にさらされているために、競争に対する適応も発達させていることが明らかとなった。

単為生殖の段階において、エンドウヒゲナガアブラムシの競争への適応について研究を行った後、秋の短日低温条件を模擬し、エンドウヒゲナガアブラムシにおける有性生殖段階での生存戦略について研究した。その結果、クローンによって、同じ環境条件下でも性比が異なることが明らかになった。さらに、接種するアブラムシ数を変えて、3つの処理を行った。すなわち、1頭区、同一クローン2頭区、別クローン同居区である。別クローン同居区では、色彩が異なる2つのクローンを用い、08AP2クローン+シナガワハギクローン、および08AP2クローン+黄色クローンを組み合わせた。シナガワ

ハギクローンでは、1頭区のオス比が最も高く、2頭区と別クローン同居区のオス比が有意に低くなった。08AP2クローンでは、1頭区と2頭区の間には性比に変化はなかった。しかし、08AP2クローンをシナガワハギクローン、あるいは黄色クローンと同居させた場合、08AP2クローンの胎生メスの割合がそれぞれ55%と21%となり、1頭区と2頭区での胎生メスの割合より有意に高かった。産性メスは、胎生メスおよびその子孫との血縁度が1であるのに対し、オスおよび卵生メスの子孫とは血縁度が1/2しかないため、産性メスとしては、有性個体を産むよりも胎生メスを産出することで効率よく自分の遺伝子を後の世代に伝えることができる。また、08AP2クローンが黄色クローンと同居した場合の総産子数は、1頭区の総産子数より有意に多かった。したがって、エンドウヒゲナガアブラムシでは、クローンごとにオスを生む傾向に違いが見られ、また他クローンと同居させると、他クローンを識別し、性比と産子数を変化させることが明らかになった。この事実は、アブラムシでは初めての発見である。

九州は北海道よりも暖かい地域で、寄主植物のカラスノエンドウは冬季間も地上部が枯れずに存続する。九州においては、冬期間にエンドウヒゲナガアブラムシの胎生メスが宿主植物上で生き残り、春になると、宿主植物上ですぐに増殖を開始する。このため、卵越冬を行うタイプに対して、幼虫越冬タイプは初期の増殖で優位を占めることができる。すなわち、異なるホストレースがすでに分化していたため、異なる条件下で多種多様な戦略を使用できると考えられる。それらの戦略のメカニズムは今後解明すべきだと認められる。なお、黄色クローンが低温短日条件下で卵生メスだけを生んだことが明らかになった、すなわち、自然の中で、黄色クローンは自発的に交尾できないことは、黄色型のエンドウヒゲナガアブラムシが観察しがたいもう1つの原因となっていると考えられる。

札幌、美唄、岩見沢である3地点で14年間にわたるドノネオオワタムシの性比を調査した結果、性比においては、3地点ともメス性比はランダムに変動して自己相関しておらず、また、メスの性比は8月の降水量および9月の

環境温度と有意な相関を示すことが明らかとなった。すなわち、ドノネオオワタムシは当年度の環境の状況に合わせて、その時で最適な性比を決めると考えられる。近年の調査結果からみると、ドノネオオワタムシにおける性比は大きくメスに偏ることが明らかになった (Akimoto *et al.* 2012)。交尾実験を通じて、オスの数が少ない場合でも、オスは 10 頭以上のメスと交尾する能力を持ち、メスの繁殖力には全く問題が出ないことが分かった。また、オスは比率が少なくなると、オス同士の配偶者をめぐる競争 (LMC) を減少できると考えられる。即ち、産性虫はメスに多く投資すれば、メスのみの孫世代において、血縁幹母の数が増加し、非血縁幹母との競合の際に有利性を示しうる。仮に、より多くの血縁幹母が多くの新葉を占めることができれば、産性虫の遺伝子は高い率で集団中に拡散すると考えられる。したがって、オスとメスが常に出現する両性生殖を行う生物と、周期的単為生殖を行う生物の性投資戦略は異なることを本研究は示唆した。飼育実験の結果によれば、ドノネオオワタムシはエンドウヒゲナガアブラムシと同様に、性比はクローンによって相当に異なった。ただし、同一のクローン (LY5 と LY6) を二つのトマツでそれぞれ飼育した結果、性比において有意な差が認められなかった。また、栄養条件が良ければ、産性虫の平均投資量の増加が引き起こされ、さらにメス性比が増加することが分かった。それに対して、産性虫における平均投資量とオス数の間に関係が見られず、クローン間で子孫内のオスの数には相当な違いがあることを明らかにした。このことは、オスの産出が遺伝的に (クローンごとに) 決まっている可能性を示唆する。すなわち、頻度依存選択はオスの数を決める遺伝因子に影響を及ぼすものと推測される。

第 3 章、4 章及び 6 章の結果を通じて、エンドウヒゲナガアブラムシにしても、ドノネオオワタムシにしても、あの手この手を用い、自分の血縁子孫を増やそうとすると考えられる。しかし、自然の中で、交雑は回避できない。第 5 章では、エンドウヒゲナガアブラムシにおける異なるクローンの有性個体を交尾させ、生まれた子孫の適応性について調査した。多くの研究によると、交雑させた子孫の適応性は自殖子孫のそれより強かったと報告されてい

る(Wei *et al.* 2003; Huang 2013)。本研究の結果からみると、生き延びた雑種個体の適応性は両親より優れたが、雑種幹母の孵化率は自殖幹母ほど高くないことが明らかになった。すなわち、自殖集団は平均適応度が低いにもかかわらず、高い孵化率で優れた個体が生み出される確率を高め、適応性が低い欠点を補う可能性があるのではないかと考えられる。本研究では、受精にまで成功した雑種個体において、孵化率が低い原因の一つとして、接合後障壁の影響があると認められる。将来、近隣に分布する異なるホストレースを使用し、検証する必要があると考えられる。なお、今回作り出した雑種個体の適応性は非宿主のソラマメで両親より優れるだけでなく、ホストレースの宿主植物でも両親と少しも見劣りがしないことが明らかになった。また、成虫の産子数とサイズの間に関係がなく、すなわち、エンドウヒゲナガアブラムシの交雑個体に備わっている雑種強勢は、多種多様な形で表現し、また、それらの形が特定のクローンに集中するとは限らないと考えられる。

第7章では、美唄と岩見沢から採集したドノネオオワタムシから生まれた有性個体を交尾させ、4つの組み合わせを作成した。それぞれは、美唄♂×岩見沢♀、美唄♂×美唄♀、岩見沢♂×岩見沢♀、岩見沢♂×美唄♀であった。両集団とも同一の宿主植物のヤチダモ幹から採集したものの、孵化時間のデータによれば、美唄内部と岩見沢内部の間に孵化時間は有意差が認められた。一方、集団間の掛け合わせから生じた個体は、体のサイズは小さくなったにもかかわらず、生殖腺のサイズは、同じ集団内での交配からの幼虫より、有意に大きくなったことが明らかになった。*Pemphigus bursarius* において、14kmくらい離れた1次寄主集団は、マイクロサテライト対立遺伝子頻度から見て遺伝的に分化していたと報告されている (Miller *et al.* 2003)。この程度の距離でも、選択的に中立なマイクロサテライト遺伝子は、遺伝的浮動によって分化を遂げ得ることが示唆されている。岩見沢と美唄は直線距離で13kmほど離れているので、両集団間の中で遺伝子流動は距離によって阻止され、それぞれの集団は分集団として見做すことができる。従って、掛け合わせが、集団内交配と異なる表現型をもたらしたのは、集団がすでに遺伝

的浮動によって遺伝的に分化していた証拠と考えられる。ドノネオオワタムシにおいては、体サイズを代表する第1主成分では、集団内交配由来個体と比べ集団間交配由来個体は小さかった。その結果はエンドウヒゲナガアブラムシと異なっており、そのメカニズムについては、まだはっきりしていない。

働きアリは交尾しないことは周知の事実であり、そのメカニズムはまだはっきりしていない。働きアリは、同一の女王からの卵から生まれるので、血縁度の点では近い姉妹ということになる。もし働きアリが交尾したら、子供との血縁度は0.5になるが、姉妹に対して血縁度は0.75である。すなわち、働きアリは自分が交尾して産卵するよりも妹を育て、より高い血縁度で遺伝子を残していくことができる。本研究では、エンドウヒゲナガアブラムシとドノネオオワタムシを使用し、競争戦略という点に主眼をおいてアブラムシの進化を探ることを主な目的とした。多くの場合では、植物上でのアブラムシの競争戦略を研究することは困難だが、本研究では、飼育方法を改善し、このような困難を克服した。種間競争、種内競争、集団の交雑など様々な研究を通じて、エンドウヒゲナガアブラムシにしる、ドノネオオワタムシにしる、様々な原因により、異なる集団は遺伝的な分化が起き、また、遺伝的分化の程度こそ異なるが、アリと同様に、より多くの高血縁度の血縁子孫を産出できる方向に向かって進化し続けるのではないかと思われる。今回の研究は、従来の生態学において、使われてこなかった方法を用いることにより、アブラムシの進化に対する理解を深めることができた。

要旨

アブラムシ類は、作物類の重要害虫となるだけでなく、無性生殖と有性生殖の切替え、表現型多型と季節的寄主転換という生物学的に極めて特異な性質を有する。このため、今後有効な防除手段を開発するためには、アブラムシ類の基礎的生活史、生態、集団の遺伝的特性について詳細な知見の集積が必要となる。本研究では、新たな飼育技術と新たに見出した色彩突然変異系統を利用することによって、アブラムシ類の競争と性投資に関して、新規の知見を得ることができた。本論文は、序章（1章）と総合考察（8章）を含む全8章からなり、以下に要点をまとめる。

2章では、室内飼育方法の改良を試みた。「切葉—寒天培地法」を採用し、エンドウヒゲナガアブラムシの産子数に関して、従来の芽出し飼育法との比較を行なった。その結果、芽出し飼育法に比べて、切葉—寒天培地法での成虫の成長率と産子数には有意差がなく、十分使用できる方法であることが確認できた。本方法の利点は、個体数の厳密な把握を容易にできることにある。また、有性世代の誘導に関しても、従来法よりも簡便性が増した。従って、以降の実験では飼育法として切葉—寒天培地法を採用した。

3章では、アブラムシコロニー内におけるクローン間競争の実態を、エンドウヒゲナガアブラムシを用いて明らかにした。アブラムシは一般にコロニー内に複数のクローンを含んでいるが、クローン間の相互作用の実態に関しては、継時的、定量的な研究が行われてこなかった。同一の葉に、異なるクローンから1個体、計2個体を移植し（競争区）、15日間増殖させると、同一のクローン2頭を移植する場合（2頭区）に比べて、競争効果が明確に表れた。すなわち、異なるクローンの競争区では、2頭区に比べて、合計個体数が2頭区のそれを有意に上回った。このことは他クローンを識別し、他クローンに同一の葉上で出会った際に、繁殖率を高めたことを示している。アブラムシの増殖においては、「密度依存効果」の存在が報告されてきた。しかしながら、本実験の結果、密度依存効果が強く生じるのは同一クローンか

らなるコロニーの場合で、他クローンが混じるコロニーでは、競争が重視され、密度依存効果は生じにくいことが明らかになった。この重大な発見は、色彩突然変異クローンとそれを生み出した母クローンを競争に用いたことから得られたものである。加えて、2クローンの競争区においては、全ての実験区において、一方のクローンが他方のクローンを個体数において圧倒的に差をつけることが観察された。実験から、メス個体は他のクローンの個体に取り囲まれると、産子を一時的に停止するために、最終的に圧倒的な差が現れることが明らかになった。

4章では、メスの産出性比に同一クローンや他クローンの他個体の存在がどのように影響するかを、エンドウヒゲナガアブラムシを用いて評価した。アブラムシは低温短日下でオスと卵生メスを産出するが、そのメスが属する集団の特性に、性比がどのように影響を受けるかは全く解明されてこなかった。本研究では、メス1頭のみ1頭区、同一クローンのメス2頭からなる2頭区、異なるクローンのメス2頭からなる共存区を準備し、低温短日下においてオスとメスの産出数を定量化した。同居区では、色彩によって識別可能な2クローンを用いた。アルファルファクローンでは、1頭区と2頭区の間で性比に変化はなかったが、他クローンと同居させた場合、オス比率を減らし、胎生メスを有意により多く産出した。すなわち、他クローンと共存する場合に、有性生殖よりも無性生殖により多くを投資することが明らかになった。この変化は、有性生殖のメリットよりも、春期のクローン間競争を有利に進めるための適応である可能性が考えられた。以上から、アブラムシは、コロニー構成の変化に対応性して、性比を調節する能力を有することを実証できた。

5章では、エンドウヒゲナガアブラムシを用いて、寄主レース間の交雑が寄主植物への適応にどのような影響を与えるのかを検証した。本種はマメ科植物に寄生し、遺伝的に分化を遂げたいくつかの寄主レースから成り立つ。交雑によって、植物に対する適応性がどのように変化するかについて、従来の研究からは明確な結論が得られてこなかった。本研究において、アカツメ

クサレースとアルファルファレースのクローンを掛け合わせ、複数の交雑クローンを得た。親クローンの寄主植物およびソラマメの葉で飼育を行ったところ、交雑個体は、親クローンに比べて、全般的にどの植物上でも有意に高い適応性を示すことがわかった。これらの結果は、交雑クローンが生じれば、複数の植物に対する寄生能力を獲得し、新たな害虫となりうる可能性を示唆するものである。

6章では、トドノネオオワタムシを用いて、集団の性投資比がどのように維持されるのかを3集団、連続14年間に採集された標本に基づいて分析した。それによると、どの集団でも投資比はメスに大きく偏り、平均71%-73%であった。統計モデルによる分析を行ったところ、ある年の集団の投資比は、その年の気候要因と頻度依存選択の2つによって規定されることが明らかになった。8月の降水量が多いほど、また9月の平均気温が高いほどその年のメス性比は減少した。一方、前年のメス性比が高いほど翌年のメス性比は減少し、逆に前年のメス性比が低ければ、翌年のメス性比は増加した。このように、本研究では、野外生物の性比が頻度依存選択と環境要因の2つによって調整されることを世界に先駆けて実証した。加えて、周期的単為生殖種において、性投資比がメスに偏る要因を、無性生殖世代のクローン間競争に求める仮説を提唱した。

7章では、トドノネオオワタムシを用いて、近接した集団間で、遺伝的浮動がどの程度集団間の遺伝的差異を作り出しているかを、集団間交雑を通じて分析した。各集団で血縁者間交配が進むことで、集団間で異なる遺伝子座に特定の対立遺伝子が固定しうる。こうした遺伝的浮動が進行すれば、集団は遺伝的多様性を失い、近交弱勢の影響を受け、結果的に集団間で遺伝的分化が進行する。この予測を実証する唯一の方法が集団間交雑である。集団間交雑を行うことで、交雑個体の適応度成分が集団内交配由来の個体のそれよりも平均的に増加すれば（雑種強勢）、各集団内で遺伝的浮動が作用していたことが実証できる。本研究では13km離れた岩見沢と美唄の地域集団を掛け合わせ、正逆両方向の受精卵を得た。こうした交雑由来子孫と集団内

交配由来の子孫を比較し、孵化時期、形態、生殖腺量のデータを分析した。その結果、交雑由来子孫では、雑種強勢が確認された。交雑個体では、生殖腺量が有意に増加し、一方、1 齢体サイズは全体的に有意に減少した。この結果から、本種の各地域集団は、遺伝的浮動により適応度的に負の影響を被っていることが実証できた。

以上のように、本研究はアブラムシ類の生態と進化に対して多くの新規の現象を見出し、害虫防除や個体群保全へも寄与できる生物学的基礎を解明した。

謝辞

本博士論文は指導教員である北海道大学大学院農学研究院昆虫体系学研究室の秋元信一教授のもとで、博士後期課程に在籍中の研究を行った成果をまとめたものである。本研究を遂行する当たり、多くの方にご助力いただいた。まず、北海道大学3年半で、研究テーマの選択、研究の遂行及び論文作成において、秋元信一教授は始終一貫してご指導くださり、ご教示を賜った、秋元信一教授の研究に対する謹厳実直な態度から大変学ばせていただき、秋元信一教授のご指導は今後の努力の原動力になるものである、この場をお借りして秋元信一教授に心より深謝と敬意の意を申し上げる。

次ぎ、文部科学省奨学金を提供してくださった日本政府に心より深謝申し上げます。

また、学位論文審査の労をお執りくださった北海道大学大学院農学研究院昆虫体系学研究室の大原昌宏教授と吉澤和徳准教授には大変貴重なご助言をいただき、記して感謝申し上げます。なお、北海道大学大学院農学研究院生物環境情報研究室の王秀峰准教授には有益なご指導をいただき、厚く御礼申し上げます。

さらに、北海道大学農学部昆虫体系学研究室の八尾泉博士、菅野良一博士、神戸崇博士、及び学生の皆さんには様々な情報をご提供いただき、深く感謝したい。

最後に、生活に精神的に支えてくれた中国の両親に深く感謝する。

将来、恩返しとして、日中友好のためにより多くの力を捧げたいと思っている。

引用文献

- Abràmoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ (2004) Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11, 36–42.
- Adams JB, van Emden HF (1972) The biological properties of aphids and their host plant relationships. In: van Emden HF (eds) *Aphid Technology*, pp 47–104. Academic Press, London, New York.
- Agarwala BK, Das K (2007) Host plant-based morphological, ecological and esterase variations in *Aphis gossypii* Glover populations (Homoptera: Aphididae). *Entomon-trivandrum* 32, 89-95.
- Agarwala BK, Choudhury PR (2013) Host races of the cotton aphid, *Aphis gossypii*, in asexual populations from wild plants of taro and brinjal. *Journal of Insect Science* 13, 34.
- Akey DH, Beck SD (1972) Nutrition of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*: requirements for trace metals, sulphur, and cholesterol. *Journal of Insect Physiology* 18, 1901–1914.
- Akimoto S (1990) Local adaptation & host race formation of a gall-forming aphid in relation to environmental heterogeneity. *Oecologia* 83, 162-170.
- 秋元 信一 (2002) 植物に対する適応. アブラムシの生物学 (石川 統 編著) : 97-118, 東京大学出版社, 東京.
- 秋元 信一 (2002) 性表現. アブラムシの生物学 (石川 統 編著) : 233-250, 東京大学出版社, 東京.
- Akimoto S (2006) Inbreeding depression, increased phenotypic variance, and a trade-off between gonads and appendages in selfed progeny of the aphid *Prociphilus oriens*. *Evolution* 60, 77- 86.
- Akimoto S, Murakami T(2012) Condition-dependent sex allocation by clones of a galling aphid. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 66, 1475

–1484.

Akimoto S, Mitsuhashi R, Yoshino T (2012) Female-biased sex allocation in wild populations of the eriosomatine aphid *Prociphilus oriens*: local mate competition or transgenerational effects of maternal investment? *Population Ecology* 54, 411–419.

Akimoto S & Yamaguchi Y (2004) Evolution of sex allocation in the genus *Tetraneura* (Aphididae: Pemphiginae). In: Simon JC, Dedryver CA, Rispe C. & Hulle M(eds), *Aphids in a New Millennium*. Proceedings of the VIth International Symposium on Aphids, pp 201 – 206. INRA Editions, Versailles.

Basolo AL (1994) The dynamics of Fisherian sex ratio evolution: theoretical and experimental investigations. *The American Naturalist* 144, 473–490.

Bierne N, Lenormand T, Bonhomme F & David P (2002) Deleterious mutations in a hybrid zone: Can mutational load decrease the barrier to gene flow? *Genetics Research* 80, 197–204.

Blackman RL, Eastop VF (1994) *Aphids on the world's trees: an identification and information guide*. CAB International, Wallingford.

Blackman RL (1988) Rearing and handling aphids. In: Minks AK, Harrewijn P (eds) *Aphids, their Biology, Natural Enemies and Control*, Volume B, pp 59–68. Elsevier, Amsterdam.

Blows MW, Berrigan D & Gilchrist GW (1999) Rapid evolution toward equal sex ratios in a system with heterogamety. *Evolutionary Ecology Research* 1, 277–283.

Bos JIB, Prince D, Pitino M, Maffei ME, Win J, Hogenhout SA (2010) A functional genomics approach identifies candidate effectors from the aphid species *Myzus persicae* (green peach aphid). *PLoS Genetics* 6, Article ID e1001216. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001216>

- Bommarco R, Ekbom B (1996) Variation in pea aphid population development in three different habitats. *Ecological Entomology* 21, 235-240.
- Briggs D, Walters SM (1984) *Plant variation & evolution*. Cambridge University, Press, New York.
- Brodeur J, Cloutier C (1992) A modified leaf disk method for rearing predaceous mites (Acarina: Phytoseiidae). *Phytoprotection* 73, 69–72.
- Bush GL (1994) Sympatric speciation in animals- new wine in old bottles. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 285–288.
- Butlin R (1987) A new approach to sympatric speciation. *Trends in ecology & evolution* 2, 310-311.
- Byers DL (1998) Effect of cross proximity on progeny fitness in a rare and a common species of *Eupatorium* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 85, 644–653.
- Carvalho AB, Sampaio MC, Varandas FR & Klackzo LB (1998) An experimental demonstration of Fisher's principle: evolution of sexual proportions by natural selection. *Genetics* 148, 719–731.
- Caillaud MC, Losey JE (2010) Genetics of color polymorphism in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Science* 10, 1–13.
- Charlat S, Hornett EA, Fullard JH, Davies N, Roderick GK, Wedell N, Hurst GDD (2007) Extraordinary flux in sex ratio. *Science* 317, 214.
- Charnov EL (1982) *The Theory of Sex Allocation*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Chongrattanameteekul W, Foster JE, Shukle RH, Araya JE (1991) Feeding behavior of *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Sitobion avenae* (F.) (Horn., Aphididae) on wheat as affected by conspecific and interspecific interactions. *Journal of Applied Entomology* 111, 361-364.
- Charlesworth D & Charlesworth B (1987) Inbreeding depression and its

- evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 18, 237–268.
- Charlesworth B & Charlesworth D (1999) The genetic basis of inbreeding depression. *Genetics Research* 74, 329–340.
- Charnov EL (1993) *Life history invariants*. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.
- Chen FJ, Wu G, Ce F (2005) Impacts of elevated CO₂ on the growth, development and reproduction of cotton aphid *Aphis gossypii* (Glover). *Acta Ecologica Sinica* 25, 2601–2606.
- Christiansen-Weniger P, Hardie J (1998) Wing development in parasitized male and female *Sitobion fragariae*. *Physiological Entomology* 23, 208-213.
- Churchill GB, John HH, Duncan DP & Hodson AC (1964) Long-Term Effects of Defoliation of Aspen by the Forest Tent Caterpillar. *Ecology* 45, 630-633.
- Conover DO, van Voorhees DA (1990) Evolution of a balanced sex ratio by frequency dependent selection in a fish. *Science* 250, 1556-1558.
- Crnokrak P & Roff DA (1999) Inbreeding depression in the wild. *Heredity* 83, 260–270.
- Crow JF (1948) Alternative hypotheses of hybrid vigor. *Genetics* 33, 477–487.
- Crow JF (1998) 90 years ago: the beginning of hybrid maize. *Genetics Society of America* 148, 923-928.
- Darwin C (1859) *The origin of species*. New York: Random House.
- Darwin C (1876) *The Effects of Cross and Self Fertilisation in the Vegetable Kingdom*. John Murray, London.
- Dadd RH, Mittler TE (1966) Permanent culture of an aphid on a totally synthetic diet. *Experientia* 22, 832–833.
- Dagg JL, Vidal S (2004) Sex ratio adjustment and maternal condition in two

- aphid species. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 55: 231–235.
- Debat V, David P (2001) Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends in Ecology & Evolution* 16, 555–561.
- Deng HW, Fu YX, Lynch M (1998) Inferring the major genomic mode of dominance and overdominance. *Genetica* 102/ 103, 559–567.
- DeRose MA, Roff DA (1999) A comparison of inbreeding depression in life-history and morphological traits in animals. *Evolution* 53, 1288–1292.
- Dobzhansky T (1936) Studies on hybrid sterility. II. Localization of sterility factors in *Drosophila pseudoobscura* hybrids. *Genetics* 21, 113–135.
- Du JL, Wu DG, Zhang TW (2012) Effects of UV-B radiation on biological characteristics of different color pea aphid morphs (*Acyrtosiphon pisum*). *Chinese Journal of EcoAgriculture* 20, 1626–1630.
- Düsing C (1884) Die Regulierung des Geschlechtsverhältnisses bei der Vermehrung der Menschen, Tiere und Pflanzen. *Jenaische Z. Naturwiss* 17, 593–940.
- Eastop VF (1973) Biotypes of aphids. *Bull. Entomological Society of New Zealand* 2,40-51.
- Ehrlich PR, Raven PH (1964) Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18, 586-608.
- Edmands S (1999) Heterosis and outbreeding depression in interpopulation crosses spanning a wide range of divergence. *Evolution* 53, 1757–1768.
- Edmands S, Timmerman CC (2003) Modeling factors affecting the severity of outbreeding depression. *Conservation Biology* 17, 883–892.
- Falconer DS (1989) Introduction to quantitative genetics. 3d (eds) Longman Scientific and Technical, Essex, U.K.
- Fellowes MDE, Kraaijeveld AR, Godfray HCJ (1998) Trade-off associated with selection for increased ability to resist parasitoid attack in

- Drosophila melanogaster*. Proceedings of The Royal Society B 256, 1553-1558.
- Fenton B, Malloch G, Germa F (1998) A study of variation in rDNA ITS regions shows that two haplotypes coexist within a single aphid genome. *Genome* 41, 337-345.
- Fenster CB, Galloway LF (2000) Population differentiation in an annual legume: genetic architecture. *Evolution* 54, 1157-1172.
- Ferrari J, Via S, Godfray HCJ (2008) Population differentiation and genetic variation in performance on eight hosts in the pea aphid complex. *Evolution* 62, 2508-2524.
- Fisher RA (1930) *The Genetic Theory of Natural Selection*. Clarendon Press, Oxford.
- Foster WA (2002) Aphid sex ratios. In: Hardy ICW (eds) *concepts and research methods*, pp 254-263. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K
- Foster WA, Benton TG (1992) Sex ratio, local mate competition and mating behaviour in the aphid *Pemphigus spyrothecae*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30, 297-307.
- Futuyma DJ (1998) *Evolutionary biology*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Futuyma DJ (2005) *Evolution*, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- 福原 敏彦, 有賀 久雄 (1959) 温度処理による家蚕多角体病の誘発現象. *日本蚕糸学雑誌* 28, 235-241.
- Frank SA (1987) Variable sex ratio among colonies of ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 20, 195-201.
- Frank SA (1990) Sex allocation theory for birds and mammals. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 21, 13-55.
- Gao WX, Wang MQ, Chen HY (2012) Progress in research and application

- of aphids' artificial diet. *Chinese Journal of Biological Control* 28, 121–127.
- Gilbert N, Raworth DA (1998) Polymorphic fundatrices in thimbleberry aphid–ecology and maintenance. *Researches on Population Ecology* 40, 243–247.
- Gibson G, Wagner G (2000) Canalization in evolutionary genetics: a stabilizing theory? *Bioessays* 22, 372–380.
- Hallerman EM (2003) *Population genetics: principles and applications for fisheries scientists*, pp 458. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Hardy ICW (2002) *Sex Ratios: Concepts and Research Methods*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Harrington CD (1945) Biological races of the pea aphid. *Journal of Economic Entomology* 38, 12–22.
- Hatfield T, Schluter D (1999) Ecological speciation in sticklebacks: environment - dependent hybrid fitness. *Evolution* 53, 866–873.
- Hazell SP, Gwynn DM, Ceccarelli S, Fellowes MDE (2005) Competition and dispersal in the pea aphid: clonal variation and correlations across traits. *Ecological Entomology* 30, 293–298.
- Heie OE (1980) *The Aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Denmark I: General Part, the Families Mindaridae, Hormaphididae, Thelaxidae, Anoeciidae, and Pemphigidae*. Scandinavian Science Press, Klampenborg.
- Housley TL, Pollock CJ (1985) Photosynthesis and carbohydrate metabolism in detached leaves of *Lolium temulentum*. *New Phytologist* 99, 499–507.
- Huang YF (2013) Hybrid Study of Mutton Breed and Small-tail Han Sheep. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine* 32, 12–16.

- Hughes RD, Woolcock LT (1965) A modification of Johnson's method of rearing aphids, for ecological studies. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 8, 728-736.
- Hoffmann AA, Woods R (2001) Trait variability and stress: canalization, developmental stability and the need for a broad approach. *Ecology Letters* 4, 97–101.
- Insecticide Resistance Action Committee (2016) Test Method, Pea Aphid [updated December 2016; cited 14 Dec 2017]. Available from URL: <http://www.irac-online.org/methods/aphids-adultnymphs/>
- 姜 卫国, 魏 贻尧 (1985) 合浦珠母贝近亲交配子代生活力的观察. *遗传* 7, 19-21(中国語).
- Kanbe T, Akimoto S (2009) Allelic and genotypic diversity in long-term asexual populations of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* in comparison with sexual populations. *Molecular Ecology* 18, 801–816.
- Keiser CN, Mondor EB (2013) Transgenerational behavioral plasticity in a parthenogenetic insect in response to increased predation risk. *Journal of Insect Behavior* 26, 603–613.
- Keller LF, Waller DM (2002) Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 230–241.
- Kirkendall LR (1993) Ecology and evolution of biased sex ratios in bark and ambrosia beetles. In: Wrensch DL, Ebbert MA (eds) *Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites*, pp 235–345. Chapman and Hall, New York,
- Kindlmann P, Dixon AFG (1989) Developmental constraints in the evolution of reproductive strategies: telescoping of generations in parthenogenetic aphids. *Functional Ecology* 3, 531–537.
- Klingler J, Creasy R, Gao LL, Nair RM, Calix AS, Jacob HS, Edwards QR, SinghKB (2005) Aphid Resistance in *Medicago truncatula* Involves

- Antixenosis and Phloem-Specific, Inducible Antibiosis, and Maps to a Single Locus Flanked by NBS-LRR Resistance Gene Analogs. *Plant Physiology* 137, 1445–1455.
- Komatsu T, Akimoto S (1995) Genetic differentiation as a result of adaptation to the phenologies of individual host trees in the galling aphid *Kaltenbachella japonica*. *Ecological Entomology* 20,33-42.
- Komazaki S (1998) Difference of egg diapause in two host races of the spirea aphid, *Aphis spiraecola*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89, 201-205.
- Kraaijeveld AR, Godfray HCJ (1997) Trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in *Drosophila melanogaster*. *Nature* 389, 278–280.
- Kurosu U, Aoki S (1991) Why are aphid galls so rare? *Evolutionary Theory* 10, 85-99.
- Lampel G (1968–1969) Untersuchungen zur Morphenfolge von *Pemphigus spirothecae* Pass 1860 (Homoptera, Aphidoidea). *Bull Naturforsch Gesellschaft Freiburg* 58, 56–72.
- Lamb KP, White D (1966) Effect of temperature, starvation and crowding on production of alate young by the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 9, 179-184.
- Lamb RJ, MacKay PA (1987) *Acyrtosiphon kondoi* influences alata production by the pea aphid, *A. pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 45, 195–198.
- Larson KC, Whitham TG (1997) Competition between gall aphids and natural plant sinks: plant architecture affects resistance to galling. *Oecologia* 109, 575–582.
- Lees AD (1967) The production of the apterous and alate forms in the aphid *Megoura viciae* Buckton, with special reference to the role of crowding.

- Journal of Insect Physiology 3, 207-277.
- Lees AD (1990) Dual photoperiodic timers controlling sex and female morph determination in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. Journal of Insect Physiology 36, 585–591.
- Li WW, An GC, Guo SX, Zhao YM, Zhou CG, Li JQ, Yin C (2016) Ecological characteristics of *Shivaphis pteroceltis* (Hemiptera: Aphididae), a new pest on *Pteroceltis tatarinowii*. Scientia Silvae Sinicae 52, 120–125.
- Li Y & Akimoto S (2017) Frequency-dependent selection acting on the widely fluctuating sex ratio of the aphid *Prociphilus oriens*. Journal of evolutionary biology 30, 1347-1360.
- Li Y & Akimoto S (2018) Evaluation of an aphid-rearing method using excised leaves and agar medium. Entomological Science 21, 210-215.
- Louis J, Shah J (2015) Plant defence against aphids: the PAD4 signalling nexus. Journal of Experimental Botany 66, 449–454.
- Lynch M (1991) The genetic interpretation of inbreeding depression and outbreeding depression. Evolution 45, 622–629.
- Lynch M & Walsh B (1998) Genetics and Analysis of Quantitative Traits. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- MacKay PA (1987) Production of sexual and asexual morphs and changes in reproductive sequence associated with photoperiod in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris). Canadian Journal of Zoology 65, 2602–2606.
- Mather K (1973) Genetic structure of populations. Chapman and Hall, London.
- Ma YL, Liu CZ (2014) Effect of photoperiod on growth and development of two color morphs of pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). Chinese Journal of Eco-Agriculture 22, 1467-1483.
- Masel J (2011) Genetic drift. Current Biology 21, 837-838.

- Matsuda N, Kanbe T, Akimoto S, Numata H (2017) Transgenerational seasonal timer for suppression of sexual morph production in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology* 101, 1-6.
- 松下 眞幸 (1943) 森林害蟲学. 410, 富山房, 東京.
- McDaniel RG, Grimwood BG (1971) Hybrid vigor in *Drosophila*: respiration and mitochondrial energy conservation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 38, 309-314.
- Merilä J, Sheldon BC (1999) Genetic architecture of fitness and nonfitness traits: empirical patterns and development of ideas. *Heredity* 83, 103–109.
- Miller DG III & Aviles L (2000) Sex ratio and brood size in a monophagous outcrossing gall aphid, *Tamalia coweni* (Homoptera: Aphididae). *Evolutionary Ecology Research* 2, 745–759.
- Miller NJ, Birley AJ, Overall ADJ & Tatchell GM (2003) Population genetic structure of the lettuce root aphid, *Pemphigus bursarius* (L.), in relation to geographic distance, gene flow and host plant usage. *Heredity* 91, 217–223.
- Miller NJ, Birley AJ, Overall ADJ & Tatchell GM (2003) Population genetic structure of the lettuce root aphid, *Pemphigus bursarius* (L.), in relation to geographic distance, gene flow and host plant usage. *Heredity* 91, 217-223.
- Milner RJ (1981) A modified leaf disc method for rearing aphids. *Australian Invertebrate Pathology Newsletter* 2, 45–46.
- Mittler TE, Dadd RH (1962) Artificial feeding and rearing of the aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), on a completely defined synthetic diet. *Nature* 195, 404.
- Mittler TE, Dadd RH (1964) An improved method for feeding aphids on artificial diets. *Annals of the Entomological Society of America* 57, 139–

140.

- Mittler TE, Sutherland ORW (1969) Dietary influences on *aphid polymorphism*. *Entomologia experimentalis et Applicata* 12, 703-713.
- Mittler TE (1988) Applications of artificial feeding techniques for aphids. In: Minks AK, Harrewijn P (eds) *Aphids, their Biology, Natural Enemies and Control*, Volume B, pp 59-68. Elsevier, Amsterdam.
- Montllor CB, Campbell BC, Mittler TE (1990) Responses of *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae) to leaf excision in resistant and susceptible sorghum. *Annals of Applied Biology* 116, 189-198.
- Mondor EB, Tremblay MN, Lindroth RL (2004) Transgenerational phenotypic plasticity under future atmospheric conditions. *Ecology Letters* 7, 941-946.
- Mopper S, Strauss SY (1998) Local genetic structure in natural insect populations: effects of host plant & life history. Chapman & Hall, New York.
- Moran N (1981) Intraspecific variability in herbivore performance and host quality: a field study of *Uroleucon caligatum* (Homoptera: Aphididae) and its *Solidago* hosts. *Ecological Entomology* 6, 301-306.
- Moran NA (1993) Evolution of sex ratio variation in aphids. In: Wrensch DL, Ebbert MA (eds) *Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites*, pp 346-368. Chapman and Hall, New York.
- Moran NA, Whitham TG (1990) Interspecific competition between root-feeding and leaf-galling aphids mediated by host-plant resistance. *Ecology* 71, 1050-1058.
- Mukai T, Watanabe TK & Yamaguchi O (1974) Genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. 12. Linkage disequilibrium in a large local population. *Genetics* 77, 771-793.
- Num KJ, Hardie J (2012) Reproduction and probing behaviour of the

- birdcherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* on detached leaves and leaves on intact seedlings of the winter host, bird cherry *Prunus padus*. *Physiological Entomology* 37, 196–200.
- Møller AP, Swaddle JP (1997) Asymmetry, developmental stability, and evolution. Oxford series in ecology and evolution. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.
- 大久保 利道 (2001) 高温によるジャガイモヒゲナガアブラムシの産子抑制 — 平成 12 年の東北における多発についての考察. *北日本病虫研報* 52, 168-171.
- Peccouda J, Olliviera A, Plantegenestb M, Simona JC (2009) A continuum of genetic divergence from sympatric host races to species in the pea aphid complex. *National Acad Sciences* 106, 7495-7500.
- Pelabon C, Carlson ML, Hansen TF, Armbruster WS (2005) Effects of crossing distance on offspring fitness and developmental stability in *Dalechampia scandens* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany* 92, 842–851.
- Pilson D (1992) Relative resistance of goldenrod to aphid attack: changes through the growing season. *Evolution* 46, 1230-1236.
- Podjasek JO, Bosnjak LM, Brooker DJ & Mondor EB (2005) Alarm pheromone induces a transgenerational wing polyphenism in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Canadian Journal of Zoology* 83, 1138–1141.
- Poupoulidou D, Margaritopoulos JT, Kephalogianni TE (2006) Effect of temperature and photoperiod on the life cycle in lineages of *Myzus persicae nicotianae* and *Myzus persicae* s. str. (Hemiptera: Aphididae). *European Journal of Entomology* 103, 337–346.
- Price TD, Qvarnström A, Irwin DE (2003) The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society B*:

- Biological Sciences 270, 1433–1440.
- Qin JD, Wang CZ (2001) The relation of interaction between insects and plants to evolution. *ACTA Entomologica sinica* 44, 360–365.
- R Core Team (2015) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. See <http://www.R-project.org/>.
- Rice, W.R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223–225.
- Rispe C, Bonhomme J & Simon JC (1999) Extreme lifecycle and sex ratio variation among sexually produced clones of the aphid *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae). *Oikos* 86, 254–264.
- Rice WR, Hostert (1993) Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years? *Evolution* 47, 1637–1653.
- Roff DA (1992) The evolution of life histories. Chapman and Hall, New York.
- Sabelis MW, Nagelkerke CJ, Breeuwer JAJ (2002) Sexratio control in arrhenotokous and pseudo-arrhenotokous mites. In: Hardy ICW(eds) Sex ratios: concepts and research methods, pp 235–253. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K.
- Sandström J, Pettersson J (1994) Amino acid composition of phloem sap and the relation to intraspecific variation in pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) performance. *Journal of Insect Physiology* 40, 947–955.
- Sano M, Ozaki K (2011) Variation and evolution of the complex life cycle in Adelgidae (Homiptera). *Entomological Science* 15, 13–22.
- Saito T (1991) Insecticide resistance of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). V. Relationship between host preference and organophosphorus resistance. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 35, 145–152.
- Sasaki T, Ishikawa H (1995) Production of essential amino acids from glutamate by mycetocyte symbionts of the pea aphid, *Acyrtosiphon*

- pisum*. Journal of Insect Physiology 41, 41-46.
- Schierup MH, Christiansen FB (1996) Inbreeding depression and outbreeding depression in plants. Heredity 77, 461-468.
- Schluter D (1996) Ecological speciation in post-glacial fishes. Philosophical Transactions: Biological Sciences 351,807-814.
- Schluter D (1998) Ecological causes of speciation. In: Howard DJ & Berlocher SH (eds). Endless forms: species & speciation, pp 114-129. Oxford Univ. Press, New York.
- Seger J, Stubblefield JW (2002) Models of sex ratio evolution. In: Hardy ICW (eds). Sex Ratios: Concepts and Research Methods, pp 2-25. Cambridge University Press, Cambridge.
- Shaposhnikov GK (1965) Morphological divergence and convergence in an experiment with aphids (Homoptera, Aphidinea). Entomological Review 44, 1-12.
- 嶋田 正和, 山村 則男, 粕谷 英一, 伊藤 嘉昭 (2005) 動物生態学 新版. 海游舎, 東京.
- Shpak M (2005) The role of deleterious mutations in allopatric speciation. Evolution 59, 1389-1399.
- Simon JC, Blackman RL, Le Gallic JF (1991) Local variability in the life cycle of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) in western France. Bulletin of Entomological Research 81, 315-322.
- Simon JC, Stoeckel S, Tagu D (2010) Evolutionary and functional insights into reproductive strategies of aphids. Comptes Rendus Biologies 333, 488-496 .
- 柴田 桂太 (1989) (編著) 資源植物事典. 北陸館. 東京.
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science 236, 787-792.

- Smadja CM, Butlin RK (2011) A framework for comparing processes of speciation in the presence of gene flow. *Molecular Ecology* 20, 5123-5140.
- Steffan AW (1970) Die eidonomischen und zytologischen Grundlagen bei der Entstehung anholozyklisch-parthenogenetischer Adelgidae-Species (Homoptera: Aphidina). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 65, 444-452.
- Stearns SC (1992) *The evolution of life histories*. Oxford Univ. Press, New York.
- 高田 肇 (1988) モモアカアブラムシの"タバコ型"と"非タバコ型"間交雑. *日本応用動物昆虫会誌* 32, 60-62.
- Takada H, Tamura M (1987) Occurrence of tobacco-specific forms of *Myzus persicae* (Homoptera, Aphididae). *CAB Direct* 55, 573-586
- Tegelaar K, Glinwood R, Pettersson J, Leimar O (2013) Transgenerational effects and the cost of ant tending in aphids. *Oecologia* 173, 779-790.
- Thirakhupt V, Araya JE (1992) Interaction between bird cherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi*) and English grain aphid (*Macrosiphum avenae*) (Homoptera:Aphididae) on 'Abe'wheat. *Journal of Plant Diseases and Protection* 99, 201-208.
- Thompson JF, Stewart CR, Morris CJ (1966) Changes in amino acid content of excised leaves during incubation I. The effect of water content of leaves and atmospheric oxygen level. *Plant Physiology* 41, 1578-1584.
- Trame AM, Coddington AJ, Paige KN (1995) Field and genetic-studies testing optimal outcrossing in *Agave schottii*, a long-lived clonal plant. *Oecologia* 104, 93-100.
- Trivers RL, Willard DE (1973) Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* 179, 90-92.
- Tsuchida T, Koga R, Horikawa M, Tsunoda T, Maoka T, Matsumoto S,

- Simon JC, Fukatsu T (2010) Symbiotic bacterium modifies aphid body color. *Science* 330, 1102-1104.
- van Emden HF, Bashford MA (1976) The effect of leaf excision on the performance of *Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae* in relation to the nutrient treatment of the plants. *Physiological Entomology* 1, 67–71.
- Vanderzant ES (1974) Development, significance, and application of artificial diets for insects. *Annual Review of Entomology* 19, 139–160.
- Via S (1999) Reproductive isolation between sympatric races of pea aphids. I. Gene flow restriction and habitat choice. *Evolution* 53, 1446-1457.
- Via S, Bouck AC, Skillman S (2000) Reproductive isolation between divergent races of pea aphids on two hosts. II. Selection against migrants and hybrids in the parental environments. *Evolution* 54, 1626-1637.
- Waddington CH (1960) Experiments on canalizing selection. *Genetics Research* 1, 140–150.
- Ward SA, Wellings PW (1994) Deadlines and delays as factors in aphid sex allocation. *European Journal of Entomology* 91, 29–36.
- Waser NM, Price MV (1994) Crossing-distance effects in *Delphinium nelsonii*, outbreeding and inbreeding depression in progeny fitness. *Evolution* 48, 842–852.
- Waser NM, Price MV, Shaw RG (2000) Outbreeding depression varies among cohorts of *Ipomopsis aggregata* planted in nature. *Evolution* 54, 485–491.
- Wei XH, Tang SX, Jiang YZ, Yu HY, Qiu ZE, Yan QC (2003) Genetic diversity of allozyme associated with morphological traits in Chinese Improved Rice Varieties. *Chinese Journal of Rice Science* 17, 123-128.
- West S (2009) Sex Allocation. *Monographs in Population Biology*, 44.

- Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Whitham TG (1978) Habitat Selection by *Pemphigus* Aphids in Response to Response Limitation and Competition. *Ecology* 59, 1164-1176.
- Whitham TG(1979) Territorial behaviour of *Pemphigus* gall aphids. *Nature* 279, 324-325.
- Wiebes JT (1979) Co-evolution of figs and their insect pollinators. *Annual review of ecology and systematics* 10, 1-12.
- Willi Y, Van Buskirk J (2005) Genomic compatibility occurs over a wide range of parental genetic similarity in an outcrossing plant. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272, 1333–1338.
- Woiwod IP, Hanski I (1992) Patterns of Density Dependence in Moths and Aphids. *Journal of Animal Ecology* 61, 619-629.
- Wool D, Sulami Z (2001) Induction of alate sexuparae in root-cage colonies, and female-biased sex ratios in the galling aphid, *Aploneura lentisci*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 101, 299–303.
- Wright S (1937) The distribution of gene frequencies in populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 23, 307–320.
- Wrensch DL, Ebbert MA (1993) Evolution and Diversity of Sex Ratio in Insects and Mites. Chapman and Hall, New York, NY.
- Xiang YY, JP W, Yin PF, Wang MY (2012) Research on alcohol extract from 10 plants to bioactivity of honeysuckle aphid. *Sichuan Journal of Zoology* 31, 406–410.
- 山口 博昭 (1976) トドマツオオアブラの個体群動態と多型の出現機構. *林試研報* 283, 1-102.
- Yamaguchi Y (1985) Sex ratios of an aphid subject to local mate competition with variable maternal condition. *Nature* 318, 460–462.
- Yamawo A, Mukai H (2017) Seeds integrate biological information about

conspecific and allospecific neighbours. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 284, 1-5.

Zhang C, Huang ZL, Li J, Shi JH, Li L (2006) Quantitative relationships of intra and interspecific competition in *Cryptocarya concinna*. Chinese Journal of Applied Ecology 17, 22-26.

Zhou Q, Liang G, Cen Y (2002) The influence of temperature & host plants on the experimental population of *Aphis gossypii* glover. Journal of South China Agricultural 23, 31-34.