HOKKAIDO UNIVERSITY

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［全文の要約］
Author(s)	李, 楊
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13589号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74060
Type	doctoral thesis
File Information	Li_Yang_summary.pdf



Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

博 士 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称： 博　士（農学）　　氏名　　李 楊

学 位 論 文 題 名

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

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。現状では、分子生物学レベルでの研究が急速に進展している一方、最も基本となるアブラムシ類の植物上での増殖に関する生態学的研究は停滞した状態にある。一見、十分解明が進んだと考えられている問題でも、新たな技術と新たな視点に基づいて研究の見直しが行われることで、この分野は新たな発展を達成できる。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。

飼育培地の制作方法は以下の通り行った。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、付属カバーには約25個の通気穴を開けた。１リットルの水に１ミリリットルの栄養液（N-P-K＝6-10-5）を入れ、1000倍に希釈し、調整した栄養液をビーカーに入れ、1%の寒天粉末を混ぜ、レンジで沸騰させた。その後、ミキサーで攪拌し、50℃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。葉が平らでない場合は、鋏で整形した後、切葉を貼りつけた。最後に、アブラムシ４齢幼虫を接種し、葉面を清浄に保つため容器を逆さに設置した。本研究は恒温器（日長L:D＝16：8・温度20℃・湿度50-60%・光強度5.8-7.3 W/m2）で行った。

本方法の利点は、毎日の個体数変化を容易に把握できることにある。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およびソラマメ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。本実験では以下の実験区を用意した。

1頭接種区では、1頭の４齢幼虫を１枚のソラマメ葉を入れた培地に接種した。２頭接種区では、２頭の同一クローン４齢幼虫を２枚のソラマメ葉を設置した培地にそれぞれ移した。競争区においては、1頭のあるクローンの４齢幼虫と１頭の他クローン（同種あるいは別種）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、20℃、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。全ての実験区は15日間連続で観察した。

競争区においては、15日間増殖させた場合、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、別種クローンから成る競争区では、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。このことは別種クローンを識別し、別種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、別種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。加えて、別種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。

温度条件を変えて、ソラマメヒゲナガアブラムシとエンドウヒゲナガアブラムシ間の競争実験を試みたところ、競争の帰結は温度に依存して決まることが明らかになった。20℃では、ソラマメヒゲナガアブラムシが10勝６敗であったが、23℃では、ソラマメヒゲナガアブラムシが全勝、一方、18℃では、ソラマメヒゲナガアブラムシが全敗であった。この結果は、種によって増殖のための最適温度が異なっており、最適温度に近い環境では他種を圧倒できることを示唆している。

別種クローン間の競争実験に加え、色彩突然変異クローンを用いて同種内クローン間の競争実験も試みた。これまで、同種間クローンの相互作用に関わる研究は、遺伝的マーカを利用してクローン識別する他なかったが、本研究では、黄色の突然変異系統を利用することによって、色彩によってクローンを識別し、近縁なクローン間の相互作用を定量化した。同種のクローン間競争実験においても、異種の組み合わせと同様に、競争区においては、合計のアブラムシ数はそれぞれの２頭区の個体数を上回り、競争効果が実証された。

多数の他クローンの存在下では、あるクローン個体は産子を停止してしまう観察結果をさらに分析するために、高密度状態のクローン個体の中に別クローンの１個体を移植する実験を行った。この実験の結果、アブラムシは多数のクローン個体の中に移されると、産子を停止してしまうことが改めて確かめられた。一方、多数の同一クローン個体の中に移されても産子の停止は生じなかった。

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血縁性に、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、アルファルファ寄生クローン（08AP2）、シナガワハギ寄生クローン、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℃）中でG0世代として飼育した。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世代）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頭区では、一枚葉を入れた培地に、２頭の各クローン１齢（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齢に達した後、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世代)が成虫に達した後、顕微鏡で(G2)の個体数と性比を観察し、10回の反復を行った。2頭区では、各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齢に達した後、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、10回の反復を行った。同居区では、アルファルファとシナガワハギクローンを選んで同居区を用意した。２頭のアルファルファクローンと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、４齢に達した後、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、10回の反復を行った。これらの実験に加えて、アルファルファ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世代の個体数と性比を記録した。

実験の結果、シナガワハギクローンは創始個体密度の増加とともに、性比を変化させることが明らかとなった。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局所的配偶者競争(LMC)を低減するために、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、アルファルファクローン(08AP2)では、オス比率に変化が生じなかった。この理由はクローン間の近親交配に対する適応性の違いにあると考えられる。08AP2では、常に無翅型を作り出し、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をシナガワハギクローンと同居させた場合、あるいは08AP2を黄色クローンと同居させた場合、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クローンが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明らかとなった。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、同居する別クローンが有性世代に多くを投資する場合には、アルファルファクローン(08AP2)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

と認められた。以上から、アブラムシは、コロニー構成の変化に対応して、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、アカツメクサ寄生レースとアルファルファ寄生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。アルファルファ寄生クローン(08AP2)♂*アカツメクサ寄生クローン♀とアカツメクサ寄生クローン♂*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℃、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、個体別(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。

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。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日目までの総産子数を、雑種グループと親グループの間で統計的に比較した。親クローンの２クローン、子孫クローンの５クローンをそれぞれ変量効果とみなし、総産子数に対してGLMMで分析した。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ところ、子孫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。同様に、体サイズの指標として用いた後脚長においても、子孫交雑クローンは、全体として親クローンのサイズを上回った。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。

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し、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。

札幌(北海道大学札幌キャンパス)、岩見沢（春日町）)、美唄（北海道立総合研究機構林業試験場）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。

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、(集団のメス数×1.85)/（集団のメス数×1.85＋集団のオス数）。さらに、母親あたりの性投資量は、（メス数×1.85＋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。

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ー（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。

分析の結果、産性虫によって、生まれたオスとメスの数が異なった。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(mean = 2.89 ±1.56 (SD)であった。一方、雌数は大きくばらつく(mean = 4.16±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（mean = 57.2±6.0%)であり、岩見沢と美唄の結果は、それぞれmean = 59.5±8.5%とmean = 59.4±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、その割合は次第に増え、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て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。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に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。

前年のメス割合と当年のメス性比年間変化量の間に、有意な負の関連性が認められた(ANCOVA, R2 = 0.55;DF = 1,35, F = 36.65, P < 0.0001)。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。

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。また、栄養状態が良く、多くを子孫に投資できる年には、母親はメスに対してより多くの資源を投資することが明らかになった。年間で比較すると、資源がたくさん得られる年には、性投資比はメスに大きく偏り、資源が限定された年には、性投資比はオスに偏った。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。トドノネオオワタムシは秋に多量の産性虫が現れるため、遺伝的浮動が働く可能性は低そうに思われる。しかし、無性生殖によって少数のクローンが大増殖することがあるため、有効な集団サイズは予想外に小さい可能性がある。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、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。無性生殖生物の場合、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、集団遺伝学的な方法（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が測定されて来たが、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。

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℃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℃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℃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℃，7:00-15:00；6℃，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。

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。

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（ヘテローシス）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。

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、孵化が遅れれば、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、胚発生の間に、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。本研究は、地域集団の保全計画に対しても重要な示唆を与える。

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。