

長野県菅平高原におけるエゾハルゼミ (*Terpnosia nigricosta*) の生活史特性と遺伝構造の評価

湯本 景将 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 石田 健一郎 (筑波大学 生命環境系)

【背景と目的】

森林生態系に対する温暖化影響予測の先行研究の多くは樹木を対象としており、樹木と深い関係にある森林性昆虫に着目した研究はほとんどない。しかし、森林生態系全体の過去から将来までの分布変遷および気候変動への適応を評価するためには、そこに生息する様々な生物種の集団動態を考慮する必要がある。特に、森林生態系の中で重要なニッチを占める森林性昆虫とその宿主(樹木)との関係を把握することは必須であると考えられる。

そこで、本研究では森林性昆虫であり、樹木に強く依存して成長を行うセミの1種であるセミ科ハルゼミ属エゾハルゼミ (*Terpnosia nigricosta*) に着目した。本種は5月中旬から7月末にかけて出現するセミで、日本国内では、北海道から九州にかけての冷温帯(主にブナ帯)に分布し、北海道や東北地方では平地および低山地に、関東以西では標高700~1500mの山地に生息する^①。このように本種は日本の冷温帯に広く分布することから、昆虫サイドから日本の森林の分布変遷および将来の気候変動を評価するために非常に適した種といえる。

近年、遺伝子関連技術の発達により、複数の昆虫の抜け殻からDNAを抽出し、PCR増幅が可能となっている。また、それらは研究上信頼できる遺伝資源となることが実証されており、成虫の採集が困難な昆虫の生活史の解明や時空間スケールでの遺伝的多様性の評価など、さまざまな分子生態学分野への応用が期待されている^{②,③}。しかし、これら抜け殻DNAを用いた先行研究では、コピー数の多い母性遺伝するミトコンドリアDNAのPCRを目的としており、両性遺伝するために集団遺伝学的情報をより多く入手できる核DNAでは方法がまだ確立されていない。そのため、セミの抜け殻からの核DNAを対象とした実験法を確立できれば、非侵襲的なサンプリングによる詳細な遺伝解析が可能となり、セミの生態や生活史に迫ることができると期待される。

本研究では森林生態系の中で重要なニッチを占める森林性昆虫とその宿主(樹木)との関係を把握するための基礎情報を得ることを目的に、エゾハルゼミを対象に、1)生態データ(生活史特性)を収集し、2)抜け殻からDNAを抽出してPCRにより増幅する方法を確立し、3)地域スケールでの遺伝構造を評価した。

【材料と方法】

筑波大学山岳科学センター菅平高原実験所内の異なる2地点内(樹木園および大明神の滝周辺)から、広葉樹・針葉樹の両方を含むおよそ40本の樹木を選び、エゾハルゼミが出現すると考えられる5月中旬から7月末にかけて、これらの樹木についている全抜け殻を一週間に1回のペースで採集した。その際、採集日、採集場所、抜け殻がついていた樹木の個体位置(緯度・経度)・樹種・地上からの高さ・部位(葉・幹・枝)、雌雄を記録した。DNA抽出にはDNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN)を用いて、プロトコルを改変し、抜け殻からの効率的なDNA抽出方法を検討した。また得られた抜け殻DNAからの核DNAマイクロサテライト遺伝子座(神戸ら 未発表)を効率よく増幅する方法についても検討した。これら方法により4~8遺伝子座の遺伝子型を決定し、エゾハルゼミ

の遺伝的多様性や血縁性を調査週ごと、抜け殻のついていた樹木ごとに比較した。さらに他地域からもサンプル採集を行い、菅平地域集団との遺伝構造を評価した。

【結果と考察】

5月9日、15日、21日、28日、6月4日、11日、18日、25日、7月3日に調査を行い、2地点で合計420個の抜け殻を採集した。なお、7月4日以降は調査地では抜け殻は発見できなかった。シーズンを通して、抜け殻がついていた高さは地上数cm~数mとばらつきがあり、またほとんどの抜け殻がついていた部位は幹であったが、葉や枝についている抜け殻もあった。5月下旬~6月上旬が抜け殻数のピークで、セミ類で一般的に知られているように^④、雄が先に出現し、その後、雌が出現するパターンがみられた。シーズンを通した雌雄比は、ほぼ1:1だった。

DNA抽出方法について検討した結果、抜け殻からタンパク質を効率よく溶解させ、DNAを抽出する方法を確立した。また、抜け殻DNAの核DNAマイクロサテライト遺伝子座を増幅するための最適なPCR条件も確立できた。これらより、セミの抜け殻多検体を用いた遺伝解析が可能となった。

エゾハルゼミの集団内の遺伝的多様性を、調査週をそれぞれ1集団として比較すると、シーズン序盤(5月中旬)とシーズン終盤(6月下旬)の遺伝的多様性が低く、シーズン半ばの遺伝的多様性が高い傾向にあることが分かった。これについてはシーズン序盤と終盤に出現するエゾハルゼミの系統は限られ、シーズン半ばに出現する系統は序盤や終盤よりも多様であるためと考えた。しかし、抜け殻がついていた樹木に着目して、同一樹木で発見した抜け殻の個体間の血縁性について調べると、出現日(調査日)は同じだが血縁性のない個体(図1)や出現日(調査日)は異なるが全兄弟と思われる個体が検出されたことから、シーズンを通してさまざまな系統が出現している可能性も示唆された。菅平高原実験所内で採集した抜け殻や成虫の遺伝子型データと他地域で採集した成虫や抜け殻の遺伝子型データを比較したところ、一部集団間で遺伝的分化がみられ、地域間の遺伝子流動の制限も示唆された。今後、これらパターンをより詳細に評価するためには、より多くのマイクロサテライト遺伝子座数の供試や、ゲノムベースでの遺伝情報収集を検討し、さらに分布域を網羅した集団遺伝学的解析が重要である。



図1 5月28日に採集した同一樹木上に隣り合う抜け殻

【引用文献】

- ① 林 正美・税所 康正 (2011) 日本産セミ科図鑑. 成文堂新光社
 ② Bouwer N et al. (2014) J Nat Hist, 48, 937-943.
 ③ Nguyen HQ et al. (2017) Ecol Evol, 7, 8161-8169.