



### ■ 所期の目的の遂行状況

フィールドワーク：2022年5月～8月の間、スウェーデンルンド郊外の複数の調査地でマンシュウイトトンボとアオイトトンボを採集した。ルンド大学の修士課程の学生とスウェーデン国外からのインターン学生を含む10人の調査チームを結成し、天候の良い全ての日にサンプリングを行った(図1)。その結果、マンシュウイトトンボ1,359個体(雄777個体、雌582個体、うち728個体が交尾カップル)とアオイトトンボ1,278個体(雄747個体、雌531個体、うち638個体が交尾カップル)を採集した。全ての個体の全体画像をスキャナーで収集し、その後低温に晒して死亡させてから前翅と後翅を切り離した。現在、切り離した翅を低温で保管している。スキャナーで得た全体画像から体サイズの指標となる全長、腹幅、前翅長、後翅長を画像解析で測定した。交尾カップルとして得た雌をアオモンイトトンボの場合は湿らせたコーヒーフィルターに、アオイトトンボの場合はイグサにそれぞれ産卵。雌親の野外における適応度の指標として、アオモンイトトンボはコーヒーフィルターに産み付けられた卵の数を、アオイトトンボはイグサに残った産卵痕(図2)をそれぞれ計測した。



図1：フィールドワークの様子



図2：イグサに残るアオイトトンボの産卵痕

**飼育実験：**野外調査で採集したアオイトトンボの雌319個体から受精卵を得た。試行錯誤の結果アオイトトンボはイグサを好んで産卵することがわかったため、交尾を行った雌にイグサを与えることで効率的に卵を採集することができた(図2)。イグサに産卵された卵を4°Cの暗室で越冬させた。飼育室を温室に手配した。スペースの利用可能状況から研究計画で予定していた実験スケール(100雌親、2,000個体)を拡張することとした(125雌親、2,500個体)。同じ飼育室でミジンコ *Daphnia* と若齢個体を与えるブラインシュリンプ *Artemia* を培養した。2023年4月17日に暗室で越冬させた個体を温室に移動し、孵化した個体を対象に順次飼育実験を開始した。飼育開始時点での飼育施設の状況を図3に示す。

当初、卵塊を半分ずつ別々の容器(図3Aで示しているもの)で孵化させ、兄弟姉妹が同居している状態から飼育をスタートし、ヤゴが成長し共食いの危険が増加する直前に21mlのプラスチックカップでの個別飼育に移行する予定であった。小さな飼育容器では温室における夏季の温度上昇により熱死する危険性が高い。そのため、プラスチックカップを流水が溜まったテーブルに置くことで急激な温度上昇を和らげることとした。この手法で個別飼育を開始した状況を図4に示す。飼育は滞りなく進み、非常に高い生存率(>80%、結果に詳細を示す)を保ったまま多くのヤゴが羽化直前の終齢幼虫まで成長した。実験開始時はブラインシュリンプを1日に2度与え、1週間に1度ミジンコを与える計画であった。しかし、ミジンコのコロニーを継続的に維持することが難しかったこととブラインシュリンプだけで問題なく生育していたことから途中からブラインシュリンプだけを与えて飼育した。

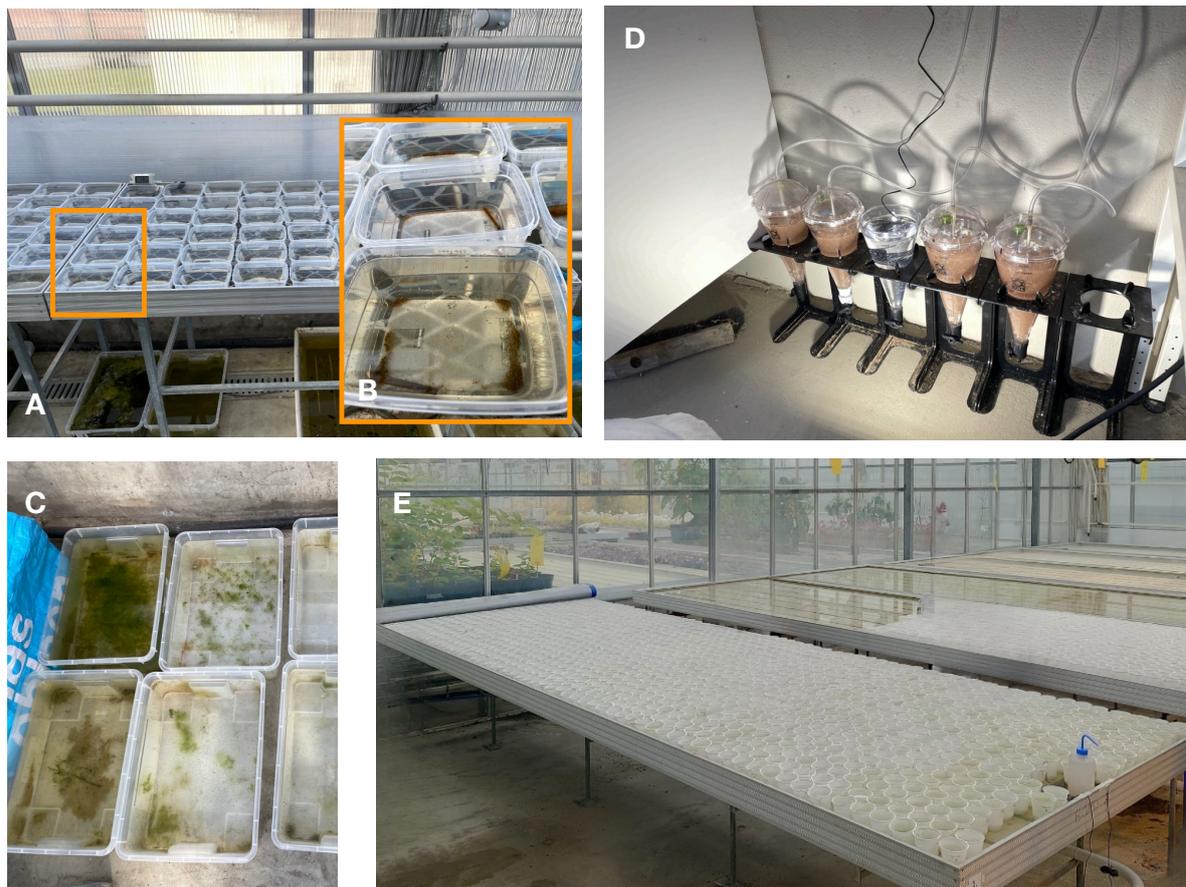
ところが、プラスチックカップによる個別飼育では多くの個体が羽化に失敗して死亡してしまうことが判明した。羽化失敗の原因は判然としないが、羽化に成功した個体と死亡した個体の観察と野外におけるトンボの羽化状況から総合的に推察するに、ヤゴは羽化する際に腹の先が垂直に地面へと向く体勢となれる基質、例えばしなだれたイネ科植物の穂や低木の葉の裏など、を注意深く羽化場所を選定しており、そのような場所がない限り羽化を試みずらしいようである。というのも、驚いたことに羽化に失敗した多くの個体は、水から出られる環境を与えているにもかかわらず水中で溺死していたのだ。数十個体の成虫が無事羽化し、千匹以上のヤゴが羽化を待っている状況で羽化個体と同程度の数が羽化に失敗して死んでいた。この状況から、実験開始時の予定をくつがえし、個別飼育を取りやめ、よ

り自由に羽化場所を選べる大きな飼育容器での共同飼育へと急遽変更することとした。この実験では、同じ環境で飼育したことによる影響を考慮した上で遺伝的な要因をできれば良い。そのため、同じ卵から生まれた兄弟姉妹が2つの異なる環境で飼育されてさえいれば良いのである。個別飼育すれば各個体に対する給餌量のある程度コントロールできるなど、実験結果を解釈する上でいくつかのメリットがあった。しかし、ほぼ半数に及んだ個別飼育による羽化失敗は、この方法がサンプル数を大幅に減らしてしまう深刻なリスクを抱えていることを示唆していた。そのため、全ての個体を大きな飼育容器に移し、残りの期間飼育した。その結果 163 雌親から 1,496 個体の次世代成虫を得た。実験開始当初、2,500 個体を飼育することにより得られる成虫の数は 1,000 個体程度であろうと推定していた。この予想を 50%近く上回る成果を得ることができた。

**種間データの収集：**トンボ目翅画像のデータベース (<https://digitizingdragonflies.org>) で公開されている全ての画像 (4,086 個体、361 種) を得た。申請時点ですでに得ていた 361 種のデータと合わせ、約 700 種の翅画像を取得した。

**ランダム効果モデルを用いた分散量の推定：**相加遺伝分散共分散行列 (G マトリクス) を推定するために必要なランダム混合モデルについて、ルンド大学に在籍する本手法の専門家である Oystein Opedal 博士と議論を深めた。申請者はこれまでランダム効果モデルを何度か使用してきたが、今回の議論で G マトリクスを正確に推定する際に必要なパラメータ設定方法とモデルの組み方についてより深い理解を得ることができた。

**実験個体のデータ化：**飼育実験を終えた個体とその親世代の翅を解剖し、スキャナーにて高画質の画像データとして保存した。2024 年 6 月 30 日現在、親世代のデータ化を終え、飼育個体のデータ化を約半分終えた。2024 年 9 月までに全てのデータ化を終え、論文執筆を行う。



**図 3：飼育施設：**(A)それぞれのプラスチック容器で1個体から得た卵の半分を飼育する。一腹から生まれた卵を2環境で飼育することでランダム混合モデルを用いて環境と遺伝の効果を統計的に分離することができる。(B)容器に親の個体IDを記載することで家系図を追跡しながら飼育を行う。(C)ミジンコの繁殖を行っている容器。(D)ブラインシュリンプの培養器。飼育温度と塩分濃度を調整し、実験室で24時間後にほぼ100%孵化する条件を見出した。(E)家族単位での飼育後、プラスチックカップを用いた個別飼育を開始した。水を張ったテーブルにカップを設置することで温度の急激な上昇を防いだ。テーブル一つあたりで約1,000個体飼育できる。

## ■ 成果

派遣期間中に8報の論文を学術雑誌に掲載した。このうち2報は申請者が筆頭著者・責任著者の論文であり、残り6報は共著者として発表した。現在1報（申請者が筆頭著者と責任著者を兼任しているもの）が改訂中、1報（申請者が筆頭著者であるもの）が査読中である。

## ■ 国際学会活動への参加状況

**学会発表:** 2023年1月にスウェーデンのウプサラで行われた学会 Evolution in Sweden にて英語での口頭発表を行った。同年8月、那覇で行われた第25回日本進化学会沖縄大会にてシンポジウム「進化の予測はどこまで可能なのか？マルチスケール進化解析からせまる」の招待講演者として日本語で口頭発表を行った。同年9月、スウェーデンのルンドで開催したワークショップ ”International Forum for Computer Vision in Ecology and Evolution”にて英語口頭発表を行った。

**シンポジウム企画:** 2022年8月にチェコのプラハで行われた学会 Annual Congress for European Society for Evolutionary Biology (ESEB)、2023年12年にシンガポールで開催された AsiaEvo、2024年6年にフィンランドのヘルシンキで開催された EuroEvoDevo にてシンポジウムを企画した。

**ワークショップ:** 2023年4月24日~25日にルンド大学生物学部で”Advancing 21<sup>st</sup> Century Evolutionary Biology with Evolvability in the Fossil Record”と題したワークショップを開催した。ワークショップでは遺伝的制約と大進化パターンを探る研究の最前線をリードする研究者15名をスウェーデン国外から集め、セミナーとラウンドテーブルディスカッション形式で本分野における重要な論点について議論を深めた(図4)。この議論に基づき”The Paradox of predictability provides a bridge between micro- and macroevolution”と題したレビュー論文を申請者が筆頭著者となって執筆した。この論文は Journal of Evolutionary Biology 誌で受理された。

2023年9月18日~22日にルンド大学生物学部で”International Forum for Computer Vision in Ecology and Evolution”と題したワークショップを開催した(図5)。

**特集号の編纂:** ESEBでのシンポジウム参加者を中心に ESEB の編集するジャーナル Journal of Evolutionary Biology 誌で特集号を編纂する企画が受理された。2023年9月まで本特集号への投稿を受け付け、合計24報の原稿が投稿された。現在、5報を受理、5報を棄却、14報を審査中である。2024年秋を目処に特集号を出版する予定である。

**ジャーナル編集委員への任命:** 2023年2月より、Journal of Evolutionary Biology の編集委員 (Associated Editor) に任命された。これまでに15件の原稿を編集した。

## ■ その他の活動

**博士課程学生の指導に関する講義への参加:** 2022年9月~12月にルンド

大学で行われた講義”PhD supervision course”に参加した。グループワークと講義により、博士課程の学生を指導する際に必要な知識や技術について学んだ。これから指導者の立場となる同世代の研究者たちとの議論から、次世代の育成について考える上での様々な課題と観点について理解を深めた。2023年3

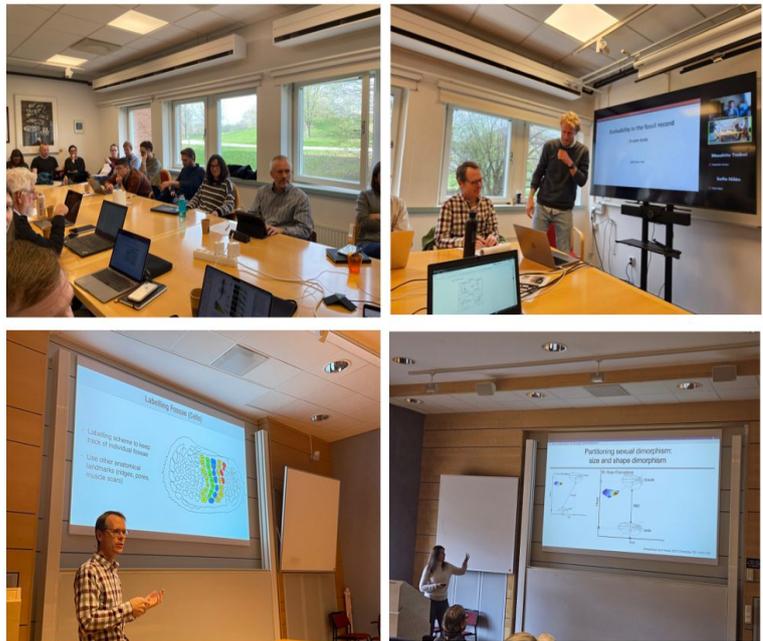


図4: 進化能ワークショップの様子



図5: コンピュータービジョンワークショップの様子

月 18 日～22 日、ルンド大学で行われた”Beyond supervision course”に参加した。スウェーデンにおいて大学の教員となるために必要な資格である Docent を取得するために必要なこのコースでは、一般的な教育コースではあまり触れることのない科学者の使命、科学の歴史、そして社会における科学の役割について議論した。これらのコース修了をもって Docent に応募する資格を得たため、2024 年夏までに応募する予定である。

**学部活動**：2022 年 10 月からルンド大学生物学部で有志が行っているサービス「Statistical Service (統計相談所)」にアドバイザーとして参加し始めた。月に 1～2 回に頻度で統計に関して疑問のある学部内の研究者に対して解決に向けたアドバイスをしている。また、2023 年 4 月 6 日に学部の博士課程学生 Robin Pranter 氏の間セミナーの論敵 (opponent) を務めた。

**教育**：2023 年 3 月にルンド大学で行われた講義”Phylogenetic Comparative Method in R”に統計ソフト R を使った解析のチューターとして参加した。2023 年 4 月には、修士課程学生を対象とした”Evolutionary Biology: Methods and Practices”と題したリレー講義にて、量的遺伝学の一コマを担当した。また、2022 年のフィールド調査にインターンとして参加したインド科学教育研究大学 (IISER) の学生 Ashmeet Singh 氏の修士論文の副指導教官として研究及び論文執筆の指導を行った。

**就職活動**：提案書にて、本研究の最終目標はこの計画を土台に自分の研究スタイルを築き、大学等研究機関でテニュアトラックポジションの獲得を目指すことであると明記した。採用期間中に国内外の公募に 35 件応募し、うち 4 件で面接審査まで選考に残った。残念ながら採用には至らなかったが、面接審査の経験値を大幅に増やすことができた。

**スタートアップグラントへの申請**：自らの研究室をスタートさせることを目的とした研究グラント (スタートアップグラント) に 5 件申請した。そのうち 1 件に採択され、2024 年 4 月 1 日からルンド大学で自分の研究室を立ち上げた。