

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23370005

研究課題名(和文) ショウジョウバエ寄生蜂系における拡散共進化の遺伝的メカニズムと進化動態の解明

研究課題名(英文) Genetic mechanisms and evolutionary dynamics of diffuse coevolution in Drosophila-parasitoid systems

研究代表者

木村 正人 (Kimura, Masahito)

北海道大学・地球環境科学研究科(研究院)・特任教授

研究者番号：30091440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、まず日本および東南アジアのショウジョウバエの寄生蜂相を明らかにした。続いて、これらショウジョウバエ寄生蜂系についての野外調査および室内実験を通じ、1) 宿主の抵抗性においては量的形質ではなく、メンデル遺伝をする場合があること、2) 抵抗性のコストは必ずしも高くない場合があること、3) 多種対多種の系においても、汎用的な抵抗性、寄生力は進化せず、抵抗性、寄生力とも寄生蜂と宿主の個別的な関係の下進化する事、4) 寄生者と宿主の関係は地理的モザイクの様相を示す可能性があることを示した。

研究成果の概要(英文)：This study first reported faunal compositions of Drosophila parasitoids in Japan and Southeast Asia. Through field survey and experimental analysis, the study further revealed that 1) there is at least a case where host resistance shows Mendelian inheritance, 2) there is a case where resistance incurs no cost or only small costs, 3) even in systems with multiple parasitoids and multiple hosts, generic resistance or virulence does not evolve, but resistance and virulence evolve under specific interaction of single parasitoid and single host, 4) it is possible that parasitoid-host systems show geographic mosaic.

研究分野：生態遺伝学

キーワード：ショウジョウバエ 寄生蜂 共進化 軍拡競争 地理的モザイク

1. 研究開始当初の背景

寄生者 宿主間の共進化理論は一般に軍拡競争を基礎に置いている。すなわち、宿主が寄生者に対し抵抗性を進化させれば、寄生者は寄生力を増すように進化し、そうすると宿主はさらに抵抗性を高める・・・というものである。そして、この理論は、1) 宿主の抵抗性、寄生者の寄生力は量的形質であり、2) その亢進はコストを伴う、ことを基礎としている。また、この理論は寄生者と宿主が1種ずつ、つまり1種対1種の場合を主に想定している。しかしながら、自然界に見られる寄生者 宿主の関係の多くは多種対多種である。多種対多種系の共進化、すなわち拡散共進化では、宿主、寄生者とも多種に対応しなければならないため、3) 宿主は、表皮を厚くし寄生者の侵入・産卵を阻止するなど、より汎用的な対応策を進化させ、そしてこうした汎用的対応策は、個別種に対する免疫反応などに比べより大きなコストを伴う、と想定される。もし汎用的対応策が個別種に対する対応策よりコストが小さければ、個別対応策を進化させる意義はない。このような共進化は宿主、寄生者の地域個体群間で起こるものであり、地域が異なれば軍拡競争のフェーズが異なるであろうし、多種対多種系の場合、対応すべき種も異なる可能性があるため、4) その様相は地理的モザイク状況を呈するとされる。このように、寄生者 宿主系の共進化理論においては、上記1) - 4) の仮説の当否が重要であるが、その検証はまだ始まったばかりである。特に、実際の宿主、寄生者が広範な寄生者、宿主に対する汎用的な対応策を進化させることがあるか、また寄生者 宿主系が地理的モザイクを示すかについてはほとんど研究が進んでいない。

2. 研究の目的

本研究では、ショウジョウバエ 寄生蜂系について、上記の仮説1) - 4) を検証することを目的とする。ショウジョウバエ科昆虫は現在約 3400 種が記載され、そのうちの多くは実験室で飼育することが可能であり、上記仮説の検証に最適な分類群の1つである。また、この科の1種であるキイロショウジョウバエはモデル生物であり、ゲノム情報が明らかになっているだけでなく、さまざまな遺伝子操作手法が開発されており、本研究での分子遺伝学的アプローチにおける有用な材料であるだけでなく、情報源でもある。ショウジョウバエの寄生蜂については、これまで主にヨーロッパにおいて研究されてきた。日本においては近年研究が始まったばかりであり、その知見はまだ不十分である。本研究の具体的な目的は以下の通りである。

1) 日本および東南アジアのショウジョウ

バエの寄生蜂相を明らかにする。

- 2) 野外調査により、各地域の寄生蜂が多種の宿主を利用するか、それとも1種のみ特殊化しているかを明らかにする、
- 3) 実験室における寄生実験により、ショウジョウバエ各種および寄生蜂各種の抵抗性あるいは寄生力が汎用性をもつか、1種に対して特異的であるかを明らかにする。
- 4) 同種のショウジョウバエおよび寄生蜂の地理的系統の抵抗性、寄生力を比較し、地域適応をしているか、つまり地理的モザイクを示すかどうかを明らかにする。
- 5) 抵抗性の異なるショウジョウバエの地理系統を用い、かけ合わせ及び選択実験により、抵抗性の遺伝様式を明らかにするとともに、そのコストを査定する。また、寄生力の異なる寄生蜂地理系統を用い、かけ合わせ実験により寄生力の遺伝様式を明らかにする。
- 6) 上記の選択実験、かけ合わせ実験を通して作成されたショウジョウバエ系統と寄生蜂個体を用い、AFLP および次世代シーケンサーにより抵抗性、寄生力に関わる遺伝子の同定を試みる。

3. 研究の方法

目的1)と2) 札幌、東京、西表島、ボゴール、スカマントリ、チボダスにおいて、季節を通してショウジョウバエとその寄生蜂を採集した。また、仙台、長野、対馬、福江島、長崎、鹿児島、奄美、那覇、台北、高雄、コタキナバルにおいても適宜採集を行った。採集は主にバナナを用いて行った。約 30g のバナナを入れたトラップを林内あるいは人家周辺に5 - 7日間放置した。この間にトラップに誘引されたショウジョウバエがバナナに産卵し、孵化したショウジョウバエ幼虫に寄生蜂が産卵する。回収したバナナは実験室に持ち帰り、プラスチック容器に入れ、バナナ内のショウジョウバエ幼虫を蛹化させた。得られたショウジョウバエ蛹は種を同定し、蛹よりハエあるいは寄生蜂が羽化してくれば採集し、種を同定した。バナナを用いた採集以外に、東京、対馬、福江、鹿児島ではヤマザクラ類の実を採集した。バナナ同様、プラスチック容器で実内のショウジョウバエ幼虫を蛹化させ、その蛹の種を同定し、羽化してくるハエあるいは寄生蜂を採集し、種を同定した。さらに、札幌、東京では、バナナの代わりにキノコ類を用いたトラップ採集も行った。ショウジョウバエについては形態形質により種を同定したが、寄生蜂については、形態形質以外に CO1, ITS1, ITS2 の塩基配列も利用し、種を同定した。

目的3) 主に札幌、東京、西表島、コタ

キナバル, ポゴールより, ショウジョウバエと寄生蜂それぞれについて数種 十数種の飼育系統を採集し, 室内寄生実験を行った. 実験では, 各地より採集された寄生蜂各種が同所的ショウジョウバエ各種に産卵するかどうか, 産卵した場合, 寄生が成功するか(ハチが羽化するか), しないか(ハエが羽化するか)について調べた.

目的4) 上記で採集した寄生蜂各種系統について, 異なる地域より得られたショウジョウバエ各種に産卵するかどうか, 産卵した場合, 寄生が成功するか(ハチが羽化するか), しないか(ハエが羽化するか)について調べた.

目的5) コタキナバルとポゴールより得られたフタクシショウジョウバエ系統は同所起源の *Leptopilina victorae* 系統に対して抵抗を持つ(抵抗性系統)が, 西表島より得られたフタクシショウジョウバエ系統は持たない(非抵抗性系統). そこで, フタクシショウジョウバエの抵抗性系統と非系統性系統のかけ合わせを行い抵抗性の遺伝様式を調べた. さらに, コタキナバル, ポゴール, 西表島起源のフタクシショウジョウバエ系統を混ぜ合わせ, 6世代自由交配下で飼育した後, 抵抗性を選択した. この選択実験により得られた抵抗性系統と非抵抗性系統について, さまざまな生活史形質・適応形質を比較し, 抵抗性に伴うコストを査定した. 上記のように, コタキナバルより得られた *L. victorae* 系統は西表島起源のフタクシショウジョウバエ系統に寄生可能であるが, ポゴールより得られた *L. victorae* 系統は寄生できない. そこで, コタキナバル, ポゴール起源の *L. victorae* 系統をかけ合わせ, その F₂ について, 西表島起源のフタクシショウジョウバエ系統に対する寄生可能性を調べ, その遺伝様式を査定した.

目的6) 上記の選択実験により作成された抵抗性・非抵抗性フタクシショウジョウバエ系統を用い, AFLP 手法により抵抗性に関わる遺伝子の同定を試みる. また, かけ合わせ実験により得られた *L. victorae* の F₂ 個体を用い, 次世代シーケンサーにより寄生力に関わる遺伝子の同定を行う.

4. 研究成果

(1) これまでの研究および本研究を通し, 40種のショウジョウバエ寄生蜂, すなわち *Asobara* 9種, *Phenocarpa* 2種, *Aphaereta* 1種, *Tanycarpa* 1種, *Opius* 1種(以上 Braconidae), *Leptopilina* 12種, *Ganaspis* 5種, *Leptolamina* 2種, *Kleidotoma* 1種(以上 Figitidae), *Spalangia* 2種, *Pachycrepoideus* 1種, *Trichomalopsis* 1種(以上 Pteromalidae), *Trichopria* 1種

(Diapriidae), *Tachinaephagous* 1種(Encyrtidae)の分布が確認された. これらのうち Braconidae と Figitidae は幼虫に産卵する koinobiont 寄生蜂である. *Tachinaephagous* についてはまだはっきりしないが, 他は蛹寄生蜂である. これら 40種うち 12種は既知種で, 5種は今回記載したもので, 残りは種同定に至っていないが, 多くは未記載種と思われる. また, *Ganaspis xanthopoda* としたものには, 形態的には区別できないものの宿主利用の違いにより別種と思われるものが少なくとも3種存在する. これら寄生蜂のうち *Pachycrepoideus* の1種と *Trichopria* の1種は汎世界的に分布する. また, *Asobara* 2種と *Leptopilina* 2種はヨーロッパから, またそのうちの2種は北米からも知られており, 全北区あるいは旧北区分布をする. 台湾, インドネシアにおける調査はまだ不十分であるが, 上記40種のうち, 台湾からは4種の分布が, インドネシアからは5種の分布が確認された. インドネシアからはさらに8種の分布が確認された. 寄生率は一般に低緯度(インドネシア)で高く, 高緯度で低かったが, 亜熱帯の西表島では予想外に低かった. 島であることが関係しているのかもしれない. また, 本研究により, 寄生蜂は分類に利用できる形態形質が少なく, 遺伝子情報の利用が種同定の精度を大きく改善することが明らかになった.

(2) 宿主利用では, *Phenocarpa* と *Aphaereta* はキノコで繁殖するショウジョウバエに寄生していたが, 他は主にバナナ等果実で繁殖するショウジョウバエに寄生していた. しかし, 果物以外での調査が少ないので, さらなる調査が必要である. 果実食ショウジョウバエの寄生蜂のうち, *Ganaspis xanthopoda* の1タイプと *Asobara* の1種は新鮮な果実に産卵するオウトウショウジョウバエのみに寄生していたが, 他は, 採集個体数が少なく宿主利用がはっきりしないものを除けば, 複数種に寄生していた. これら複数のショウジョウバエ種を利用する寄生蜂は, その宿主に優占種あるいは準優占種を少なくとも1種含んでいた. 寄生蜂がその個体群を維持するための適応と思われる. その結果, 優占ショウジョウバエ種は多くの寄生蜂種の宿主となっていた. 一方, 希少種を利用することは寄生蜂にとっては必ずしも適応的ではないため, 希少種が寄生蜂に対し抵抗性を進化させても対抗して寄生力を進化させるメリットは小さいと考えられるが, そうした希少種も少なからず寄生されていた. これらの結果は, 抵抗性の進化, それに対抗する寄生力の進化は単純ではないことを示している.

(3) 同地域から得られた寄生蜂とショウジョウバエを用い、寄生実験をした結果、ほとんどの寄生蜂種において、寄生可能な種だけでなく、抵抗性を有するショウジョウバエ種にも高頻度で産卵する場合があることが明らかになった。つまり、oviposition-performance linkageは必ずしも強くない。複数のショウジョウバエを用いた詳細な寄生実験により、産卵するか否かの決定には、ショウジョウバエの系統が大きく影響していることが明らかになった。つまり、近縁種は、たとえ抵抗性が異なるうとも、生化学的、生理学的に似ているため、寄生蜂は見分けることができないようである。もっとも、近縁種でも見分けている場合があり、系統的類似性だけで決まっている訳ではない。一方、寄生蜂が寄生できるか否かは、近縁なショウジョウバエ種間でも大きく異なることもあれば、遠縁なショウジョウバエ種でも同様に寄生可能な場合がある。また、幼虫寄生蜂においては、宿主範囲が広い種もいるが、すべてのショウジョウバエに寄生できる訳ではない。これらのことは、抵抗性、寄生力は1種対1種の個別の関係の下で進化し、汎用的な抵抗性・寄生力はないこと、また、系統的制約もないか小さいことを示している。オウトウショウジョウバエに特異的に寄生する *Ganaspis xanthopoda* の1タイプと *Asobara* の1種は例外的であり、これら2種の寄生における適応についてはさらなる研究が必要である。

(4) 同種であるが異なる地域起源のショウジョウバエに寄生させた場合、同地域起源のショウジョウバエに比べ、通常寄生成功率が低下した。つまり、寄生蜂は宿主の地域個体群に適応しており、寄生蜂と宿主であるショウジョウバエの関係は地理的モザイクにあると考えられる。しかしながら、このことについてのデータは十分ではなく、さらに広い地域から得られた寄生蜂、ショウジョウバエを用いた研究が必要である。一方、これまで全く遭遇したことのないショウジョウバエ種に寄生可能な寄生蜂もいれば、出あったことのない寄生蜂種に対して抵抗性をもつショウジョウバエもいた。このことは、抵抗性、寄生力の進化は、単純に当該種の相互作用にだけ基づくのではなく、さまざまな要因が影響していることを示している。こうした寄生蜂、宿主の能力は ecological fitting とよばれ、これらの種が新しい地域に進出するにあたり重要な役割を果たすと考えられている。

(5) フタクシショウジョウバエの抵抗性系統と非抵抗性系統のかけ合わせ実験から、抵

抗性・非抵抗性を決定する遺伝子は1つか、強くリンクした少数の遺伝子であることが明らかになった。このことは、抵抗性系統と非抵抗性系統を混ぜ合わせた系統が抵抗性の選択にすみやかに反応することからも支持される。この混ぜ合わせ系統は、選択をかけなければ、抵抗性は少なくとも10世代にわたりほとんど変化しなかった。また、選択実験により作出された抵抗性系統とコントロールの弱抵抗性系統の間では、成長速度、生存率、寿命、体サイズ、卵生産、幼虫の競争力、乾燥耐性、飢餓耐性、低温・高温耐性に有意な相違は認められなかった。これらのことは、抵抗性のコストはないか、あっても極めて小さいことを示している。さらに、この *L. victoriae* に対する抵抗性系統と非抵抗性系統の間には、他の寄生蜂種に対する抵抗性に違いは認められなかった。つまり、この抵抗性遺伝子は *L. victoriae* に対して特異的であり、汎用性はない。一方、*L. victoriae* の高寄生力系統と低寄生力系統のかけ合わせ実験から、寄生力の違いには独立した3つの遺伝子座が関わっていることが明らかになった。

(6) 選択実験により作出されたフタクシショウジョウバエの抵抗性系統と非抵抗性系統について AFLP 手法を用いて解析を行った結果、非抵抗性系統に特異的な DNA 断片が一つ得られた。現在、この断片についてより詳しい解析を行っている。また、*L. victoriae* の高寄生力系統と低寄生力系統のかけ合わせより得られた *L. victoriae* の F₂ 個体について、次世代シーケンサーを用いて解析を行い、現在その結果をコンピュータで解析中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計13件)

Kimura, M. T., and Novković, B. (2015) Local adaptation and ecological fitting in host use of the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina japonica*.

Ecological Research 30: in press. 査読有

Takigahira, T., Kohyama, T. I., Suwito, A., and Kimura, M. T. (2015) Genetic analyses of resistance against *Leptopilina victoriae* in *Drosophila bipectinata*.

Genetica, 143: 279-285. 査読有

Kimura, M. T., and Suwito, A. (2015) Altitudinal patterns of abundances and parasitism in frugivorous drosophilids in west Java, Indonesia. Journal of Natural

History, in press. 査読有
Nomano, F. Y., Mitsui, H., and Kimura, M. T. (2015) Capacity of Japanese *Asobara* species (Hymenoptera; Braconidae) to parasitize a fruit pest *Drosophila suzukii* (Diptera; Drosophilidae). *Journal of Applied Entomology*, 139: 105-113. 査読有
Wachi, N., Nomano, F. Y., Mitsui, H., Kasuya, N. and Kimura, M. T. (2015) Taxonomy and evolution of putative thelytokous species of *Leptopilina* (Hymenoptera: Figitidae) from Japan, with description of two new species. *Entomological Science*, 18: 41-54. 査読有
Takigahira, T., Suwito, A., and Kimura, M. T. (2014) Assessment of fitness costs of resistance against the parasitoid *Leptopilina victorae* in *Drosophila bipectinata*. *Ecological Research*, 29: 1033-1041. 査読有
Kimura, M. T., and Suwito, A. (2014) What determines host acceptance and suitability in tropical *Drosophila* parasitoids? *Environmental Entomology*, 43:123-130. 査読有
Murata, Y., Novković, B., Suwito, A., and Kimura, M. T. (2013) Diapause and cold tolerance of Asian species of the parasitoid *Leptopilina* (Hymenoptera: Figitidae). *Physiological Entomology*, 38: 211-218. 査読有
Furihata, S. X., Matsumoto, H., Kimura, M. T., and Hayakawa, Y. (2013) Venom components of *Asobara japonica* impair cellular immune responses of host *Drosophila melanogaster*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 83: 86-100. 査読有
Kasuya, N., Mitsui, Y., Aotsuka, T., and Kimura, M. T. (2013) Diversity and host association of parasitoids attacking mycophagous drosophilids (Diptera: Drosophilidae) in northern and central Japan. *Entomological Science*, 16: 227-234. 査読有
Kasuya, N., Mitsui, H., Ideo, S., Watada, M., and Kimura, M. T. (2013) Ecological, morphological and molecular studies on *Ganaspis* individuals (Hymenoptera: Figitidae) attacking *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Applied Entomology and Zoology*, 48: 87-92. 査読有
Novković, B., Oikawa, A., Murata, Y., Mitsui, H., and Kimura, M. T. (2012) Abundance and host association of

parasitoids attacking frugivorous drosophilids in Iriomote-jima, a subtropical island of Japan. *European Journal of Entomology*, 109: 517-526.

査読有

Kimura, M. T., and Suwito, A. (2012) Diversity and abundance of frugivorous drosophilids and their parasitoids in Bogor, Indonesia. *Journal of Natural History*, 46: 1947-1957. 査読有

[学会発表](計 6件)

野間野史明, 木村正人. Species status of *Ganaspis*: parasitoids attacking drosophilids. 日本生態学会第62回大会, 2015年3月21日, 鹿児島大学, 鹿児島市

滝ヶ平智博, 木村正人. 宿主の違いは寄生蜂の体サイズ・成長速度にどのような影響を及ぼすか? 日本生態学会第61回大会, 2014年3月17日, 広島国際会議場, 広島市

木村正人. ショウジョウバエの寄生蜂の季節適応 日本昆虫学会第73回大会 2013年9月15日, 北海道大学, 札幌市

粕谷菜月, 三井偉由, 木村正人. 農業害虫であるオウトウショウジョウバエに寄生するハチは本当に *Ganaspis xanthopoda* なのか? 寄生蜂の生態と分類学的検討. 日本昆虫学会第73回大会 2013年9月16日, 北海道大学, 札幌市

滝ヶ平智博, 木村正人. ショウジョウバエにおける寄生蜂抵抗性の進化: 抵抗性のコストの査定と抵抗性遺伝子の探索. 日本生態学会第60回大会, 2013年3月7日, 静岡県コンベンションアーツセンター, 静岡市

滝ヶ平智博, 木村正人. 選択実験に基づく寄生蜂抵抗性コストの査定. 日本生態学会第59回大会, 2012年3月20日, 龍谷大学瀬田キャンパス, 大津市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 正人 (KIMURA, Masahito)
北海道大学・大学院地球環境科学研究
院・教授
研究者番号: 30091440