

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H02637

研究課題名(和文) 飛翔多型をもつ甲虫類の全球的分散と種多様化

研究課題名(英文) Global dispersal and diversification in beetles with flight polymorphisms

研究代表者

曾田 貞滋 (Sota, Teiji)

京都大学・理学研究科・教授

研究者番号：00192625

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,950,000円

研究成果の概要(和文)：地表性甲虫類の分散・種多様化過程における飛翔能力退化の役割を解明するために、飛翔多型をもつハンミョウ科、オサムシ亜科、ヒラタシテムシ亜科を対象として分子系統地理解析を行った。各系統群の分化年代はジュラ紀から白亜紀と推定され、いずれもアフリカ、南米、オーストラリアなど Gondwana 起源の陸地には分岐の深い系統が分布し、それらの種多様性は低い傾向があった。飛翔能力の退化は、オサムシ亜科では大部分の系統群、ハンミョウ科では基部系統群の大部分と派生的系統群の一部、ヒラタシテムシ亜科では派生的系統群のみに見られ、ハンミョウ類では少数種の依存固有性、他の2グループでは種多様化と結びついていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全生物種の2割を占める甲虫類がどのように多様化してきたかは進化生物学の主要テーマとなってきた。これまでの主要な仮説は植物食への適応であるが、植物食は多くの昆虫で進化しており、必ずしも甲虫類の多様化を特徴づけるものではない。本研究では、甲虫類に頻繁に見られる飛翔能力の退化が種多様性をもたらしたという仮説をたて、地表性甲虫を対象にして検証を行った。飛翔能力の退化は分散能力の低下をもたらすため、一方向的に種の多様化と結びつくことは予想されない。中生代以降の大陸変遷と甲虫類の系統進化において、飛翔能力の退化が種多様性の増加・減少にもたらした影響を明らかにしたことが本研究の主要な成果である。

研究成果の概要(英文)：To clarify the role of the loss of flight ability in the species diversification process of ground-living beetles in the world, molecular phylogeographic analyses were performed for three groups with flight polymorphisms, Cicindelidae, Carabinae, and Silphinae. These groups were estimated to have diverged in the Jurassic to Cretaceous, and in all of them, basal lineages with deep branching were distributed in the lands of Gondwana origin such as Africa, South America, and Australia, and their species diversity were generally low. Loss of flight ability is observed in most groups of Carabinae, in the basal groups and some of the derived groups in Cicindelidae, and only in the derived groups of Silphinae. The flightlessness was related to low species diversity in the basal lineages of Cicindelidae, whereas it was related to increased species diversity in Carabinae and Silphinae.

研究分野：進化生態学

キーワード：種多様性 全球的分散 甲虫類 飛翔多型 分子系統 分岐年代 適応 種分化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物種の中でも圧倒的な種数を有する甲虫類(昆虫綱鞘翅目)がどのようにして今日の繁栄を築いたのかはまだよく分かっていない。分子系統解析に基づき白亜紀の被子植物の多様化にともなう適応放散が繁栄を導いたという説が提唱されたが(Farrell, 1998 Science), その後のより大規模な解析では, 甲虫類の主要な科の分化は白亜紀以前で, それ以来, 多様なニッチに分化した科が存続していることが示された(Hunt et al. 2007 Science)。甲虫類は古生代二畳紀には登場していたとされるが, 地球上の陸地に広く分散し, 局所適応を遂げて多様化した。申請者らは頻繁に起こる飛翔能力の退化が, 種分化を促進するという仮説を提唱した(Ikeda et al. 2012. Nature Comm.)。大陸間の移動分散と局所適応による異所的分化の過程は, 全球的な種の多様性を決定する上で主要な過程だが, 中生代から新生代の初期に遡るような長期の系統地理の解析は甲虫類ではなされていない。また, 祖先系統の後翅退化が, その後の種分化速度を大きく増大させたかどうかは, 一部の系統群で検証されているだけである(Ikeda et al. 2012)。飛翔能力を持つ種と, 後翅が退化して飛翔しない種の双方を含むオサムシ科オサムシ亜科・ハンミョウ亜科やシテムシ科ヒラタシテムシ亜科は, 南極を除くすべての大陸, そしてニュージーランドなどの孤立した島にまで分布しており, 大陸移動をともなう地球の地史的変遷の間に, 甲虫類の分散と系統進化がどのように起こったかを検証する上で, 重要な材料を提供している。

オサムシ亜科(図1)は5つの主要なグループ(族・亜族)からなり, そのうち4グループは後翅が退化して飛べない種で構成され, 南極を除くすべての大陸に地域ごとに固有の族・亜族が生息する。残るカタピロオサムシ亜族は, 後翅がある種と退化した種の両方を含むが, 世界各地に分布し, 大陸から遠く離れた島嶼にも分布する。カタピロオサムシ亜族だけが飛翔種を含むため, オサムシ亜科では後翅退化と復活が起こった可能性もある。

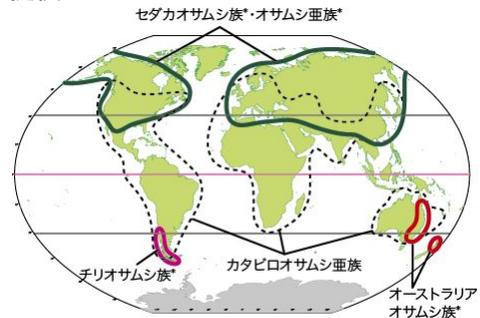


図1. オサムシ亜科の分布(*は全種が飛べない)

ハンミョウ科(図2)は5族2000種以上が全世界に分布する大きなグループである。族・亜族の系統解析(Vogler & Barraclough 1998)によれば, 古く分岐したグループには, アメリカ, アフリカ, オーストラリアに分布し後翅が退化した Omini 族, Manticorini 族, Megacephalini 族(一部有翅), さらに東南アジア, 中南米, マダガスカルに固有属が分布する Collyrini 族(樹上で飛翔しない種も含まれる)が含まれ, 大陸移動によって分断されたものと推定される。大半の種は最も派生的な Cicindelini 族に含まれるが, この族のほとんどの種は飛翔し, 多数の種が汎世界的に分布する。Cicindelini 族の多様化の一因は, インド亜大陸のヒマラヤへの衝突による, ゴンドワナ起源のハンミョウ類の放散である。現在のインドのハンミョウ類は, 大半が旧北区系・熱帯アジア系で, 1 割弱がアフリカ系とされているが(Pearson & Vogler 2001), アフリカとアジアの主要系統を網羅した分子系統解析によって, インド亜大陸とともに移入し放散した系統を解明する必要がある。

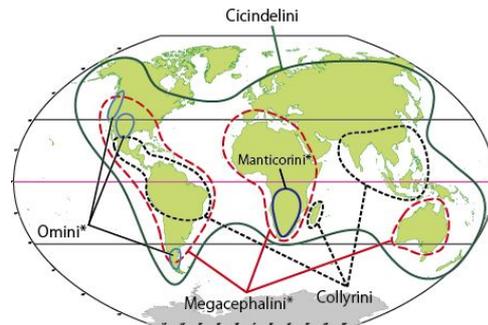


図2. ハンミョウ科の分布(*は大半の種が飛べない系統群)

ヒラタシテムシ亜科(図3)では12属のうち2属で後翅が退化し, 他の属より高い種分化速度を示す(Ikeda et al. 2012)。シテムシ科の亜科はジュラ紀に分化したと推定され(Sikes & Venable 2013), 南米・オーストラリア固有属の分化は, ゴンドワナ分裂以前と考えられる。この亜科では後翅の退化は派生的系統だけで起こっている。しかし, 前述したように, オサムシ亜科やハンミョウ科では, 分岐の古い系統はすべて後翅が退化している一方で, 派生的な有翅のグループが見られる。昆虫の飛翔能力の再獲得があるかどうかは論争的であり(Whitling et al. 2003; Stone & French 2003), オサムシ, ハンミョウ類で後翅の退化・再獲得が繰り返し起こってきた可能性を検証することは非常に重要である。また, ハンミョウ科では飛翔する Cicindelini 族の派生的系統が最も多様化している。このことは, 後翅退化と種分化率の関係が単純ではなく, 他の生活史特性などの進化にも大きく影響される可能性を示唆している。

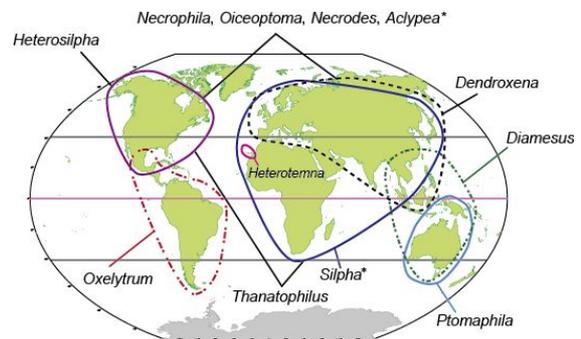


図3. ヒラタシテムシ亜科の分布(*は飛べない属)

2. 研究の目的

本研究では、地球上の大陸にまたがって分布し、系統群全体として飛翔に関する多型を示す地表性の甲虫類（オサムシ亜科，ハンミョウ亜科，ヒラタシテムシ亜科）の DNA 分析用試料を収集し、ゲノムワイドな分子系統解析を行って、各系統群の分散の経路・年代、種分化速度等を推定し、飛翔能力の退化と分散過程・種分化速度の関係についても解明する。海外調査において、とくに、アメリカ大陸，オーストラリア，ヨーロッパ，アフリカ，ニュージーランドなど，アジアから離れた地域の調査を重点的に行う。系統解析結果を基に、(1) 分断された複数の大陸あるいは海洋島に分布するグループの分散年代の推定を行い、(2) 現在飛翔能力のない各大陸・海洋島固有のグループの系統分化におけるパンゲアでの分散と大陸移動による分断の役割を明らかにし、(3) 系統群ごとの飛翔能力（後翅）の有無と、分布範囲，種分化率の関係を解明する。また(4) 退化した後翅（飛翔能力）の再獲得があるかについても検証する。

3. 研究の方法

本計画では、ハンミョウ科，オサムシ亜科，ヒラタシテムシ亜科の3つの甲虫系統群とその外群について、世界各地に分布する族・亜族・属の代表種を採集して RNAlater またはエタノールに固定し、ゲノムワイドな分子系統解析を行う。5年のうちに効率的に必要なサンプルを集めて分析するために、できるだけ最節約的にサンプル収集を行う。

各族，亜族，もしくは属の代表種と外群種について、RNAlater 固定標本から mRNA を抽出し、イルミナ HiSeq でシーケンスする。シーケンスデータをアセンブルし、相同な遺伝子のアミノ酸配列をアライメントして、系統解析用のデータセットを作成する。最尤法による

系統解析を行う。なお RNAlater 固定標本が確保できない種や、多数の種について系統解析を行う場合は、エタノール固定した標本から DNA を抽出し、全ゲノムのショットガンシーケンスを行い、保存的な相同領域，あるいはミトゲノムの全配列を取得し、系統解析を行う。

上記で得られたシーケンスデータ，最尤法系統樹を用い、分岐年代推定を行う。年代推定に関しては、各系統群の化石情報や甲虫全体の分岐年代推定結果を用いて年代校正を行う。本研究で想定する年代スケールは上図 4 に示す通りで、系統群の起源は中生代に遡り、大陸固有の飛翔しないグループの多くは中生代に分化したものと想定される。

系統関係，分岐年代の結果をもとに、後翅の退化がどのように起こったかを推定する。とくにオサムシ亜科の祖先で初期に後翅が退化し、カタピロオサムシ亜科で後翅が再獲得されたのかどうかを詳しく検証する（図 5）。系統樹を基に各系統群の種分化速度を推定し、後翅の有無，生息地域（大陸）によって種分化速度がどのように異なるかを検証する。また生活史（食性）によって、種分化率が異なるかについても検証する。後翅の退化が種分化を促進するという仮説を検証する。

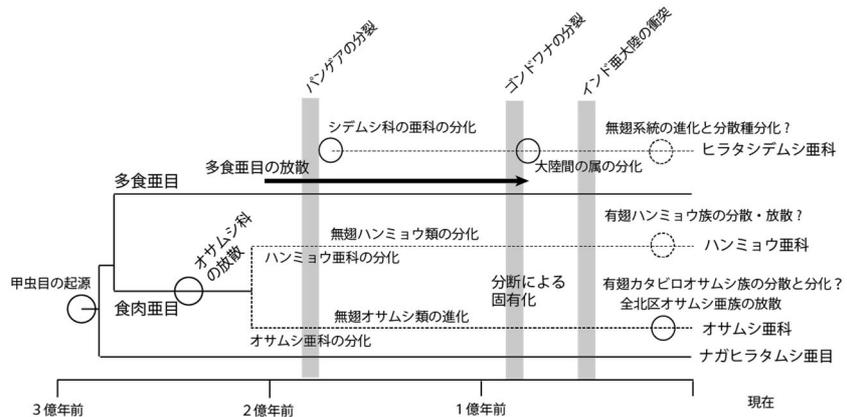


図 4. 本研究で扱う系統群の分岐年代の想定範囲
甲虫目，食肉亜目，多食亜目の分岐年代は Hunt et al. (2007)，ヒラタシテムシ亜科の分岐年代は Sikes & Veneble (2013)，オサムシ亜族の分散年代は Deuve et al. (2012) による。

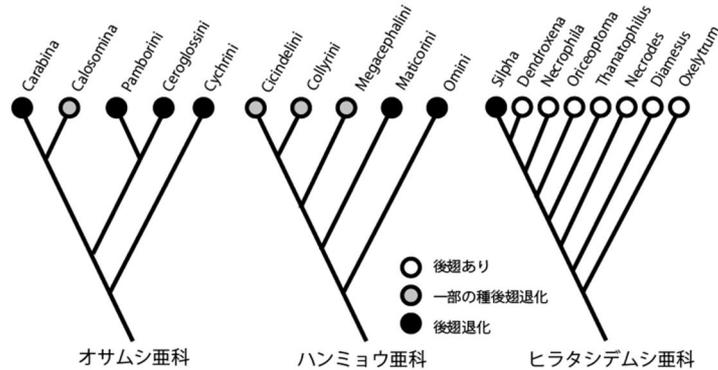


図 5. 各亜科における既知の系統関係（概要）と各グループの後翅の状態。
系統樹は左から，大澤ら (2002)，Vogler & Barraclough (1998)，Ikeda et al. (2012) を参考にした。

4. 研究成果

(1) トランスクリプトームデータに基づく系統解析

ハンミョウ科 52 種, オサムシ亜科 36 種, 水棲食肉亜目 4 種, 陸棲食肉亜目外群 8 種, ヒラタシテムシ亜科 19 種, ハネカクシ上科外群 5 種の mRNA をシーケンスし, 系統樹構築, 分岐年代推定を行った. RNA シークエンスデータを Trinity でアセンブルし, Transdecoder でタンパク質コード配列を抽出, Orthofinder で相同遺伝子の配列を抽出・アライメントして, 系統樹作成を行った. オサムシ亜科, ハンミョウ科を含む, 食肉目の系統解析では, 陸棲食肉亜目の中でのこれらのグループの系統的位置を確認した. オサムシ亜科については, 族, 亜族の分岐関係をこの系統解析で確認し, 次の UCE を用いた系統解析で, 種数の多いオサムシ族の多様化を解析した. ハンミョウ科, ヒラタシテムシ科については, RNA の系統樹でその多様化過程を推定した.

ハンミョウ科は全世界で 2500 種以上に分化している. オサムシ科の亜科としてが, 分子系統解析により, 食肉亜目の中でも最も初期に分化した独立性の高い系統群であることが分かった. アフリカ, アメリカ, オーストラリア大陸には Gondwana 起源と推定される分岐の深い系統群が分布し, いずれも飛翔能力がない夜行性のハンミョウである. 最も種数が多いハンミョウ亜科はほとんどのグループが飛翔能力を保持しており, 北半球を中心に世界各地に分布する. ハンミョウ亜科の多様化は, 昼行性で敏捷に飛び回る行動と, 隠蔽色, 警告色, 目眩しとして機能する多彩な色彩の進化を伴っている. おそらくこうした形質の進化によって, 冷涼な地域や, 地理的障壁によって隔離された場所への進出が促進され, 種が多様化したものと推定される. 今後, 系統樹を用いた種多様化過程の解析を進め, 分散過程を含めた種の多様化過程を解明する.

ヒラタシテムシ亜科に関しては全属のサンプルを採集し, ハネカクシ類, モンシテムシ亜科を外群として系統解析を行った. ヒラタシテムシ類は, 白亜紀に分化したが, 分岐の深い系統群は南米, オーストラリアに分布し, これらは Gondwana 起源と推定される. カナリア諸島のテネリフェ島に生息する *Heterotemna* 属, 全北区の *Aclypea* 属(いずれも飛翔しない)が *Silpha* 属と近縁であることが判明し, 飛翔能力の退化が *Silpha* 属を含む派生的な系統で起こったことが明らかになった. 飛翔能力の退化した系統群では種分化速度が増加している. ヒラタシテムシ亜科の多くのグループは腐肉食で, そのために飛翔能力が不可欠であると考えられるが, 飛翔能力が退化したグループは, ミミズ食や植食性であることが知られている. このように, 食性の転換が定着性を促進し, 飛翔能力の退化を促進して種の多様化をもたらしたと考えられる.

(2) オサムシ亜科の分子系統解析

オサムシ亜科の中で際立って種数が多いオサムシ亜族を主として, Ultra Conserved Element (UCE) をターゲットとした分子系統解析を行った. 外群にはムカシゴミムシの 1 種 *Trachypachus selvini* を用いた. 合計 133 種のデータで系統解析用のシーケンスマトリクスを作成した. UCE の系統樹では, 亜科内の族, 亜族の関係は mRNA 系統樹, ミトゲノム系統樹と一致し, さらにオサムシ亜族(属), カタピロオサムシ亜族(属)内の亜属間関係が解明された. オサムシ族の分化は中新世以降に起こったと推定されるが, その初期にオサムシ亜族はユーラシア, カタピロオサムシ亜族は北米で分化したと考えられる. 全ての系統群で後翅が退化したオサムシ亜族はユーラシアにおいて約 1000 種に分化しているのに対し, 大部分の系統群で飛翔能力を維持しているカタピロオサムシ亜族は, 全世界に分布し, 広域分布をする種を多く含み, 種数はオサムシ亜族の 7 分の 1 程度に過ぎない. オサムシ族の 2 亜族の対比的な多様化パターンの違いは飛翔能力の退化・維持の違いに関係しており, 定着型と放浪型の違いが, 種分化の起こりやすさの多少と関わっている. カタピロオサムシ亜族は, 鱗翅目幼虫を餌とする草原性, 森林性の生活史を持つが, オサムシ亜族は昆虫幼虫食の他にミミズ食, カタツムリ食にも専門化し, 季節的生活史においても分化が見られる. これによってニッチ分化が進んでいる. また, 定着的個体群での性選択の激化等により, 繁殖形質の多様化による異所的種分化の促進や, 異所的に分化した個体群の二次的接触の際の強化による種分化が起こり, 種の多様化が促進された. さらにオサムシ亜族の多様化の背景にはその起源地であるユーラシアの面積が広く生息地多様性が高いことが大きく影響していると考えられる.

(3) セントヘレナ島固有オサムシ族の起源

オサムシ族の 1 種で南大西洋のセントヘレナ島から知られている *Aplothorax burchelli* は, カタピロオサムシ亜族に属すると考えられてきたが, その系統的位置については異論もあった. この種は絶滅した可能性があるが, 本研究では 52 年前に採集された乾燥標本から DNA を抽出し, ミトゲノムを解読することによってその系統的位置を推定した(Sota *et al.* accepted in *Biol. J. Linn. Soc.*). ミトゲノムのシーケンスデータは, オサムシ亜科の全族・亜族の代表種と外群のムカシゴ

ミムシ *Trachypachus selvini* を含む 27 種から取得し, 13 個のタンパクコード遺伝子の配列を系統解析に用いた. また, カタピロオサムシ亜族内でのこの種より詳しい系統的位の推定のために, 全 19 亜属中 17 亜属を含めた ND5 遺伝子のシーケンスデータを解析した. その結果, この種はカタピロオサムシ族に含まれ, アフリカに分布する *Ctenosta* 亜属に近縁であることが分かった (図 6). この結果は, Jeannel (1940) が形態から推定した系統的位と一致する. なお, ミトゲノム, ND5 遺伝子のいずれの解析でも, 最も近い種は, アフリカに生息する *Calosoma* (*Ctenosta*) *senegalense* であった. *Ctenosta* 亜属の種は全て飛翔能力を維持しているため, *Aplothorax burchelli* の祖先も飛翔性があり, セントヘレナ島に移入後に飛翔能力の退化が起こったと推定される. この種は, 飛翔による新規生息場所への分散・定着, 飛翔能力退化をとともなう種分化の例である.

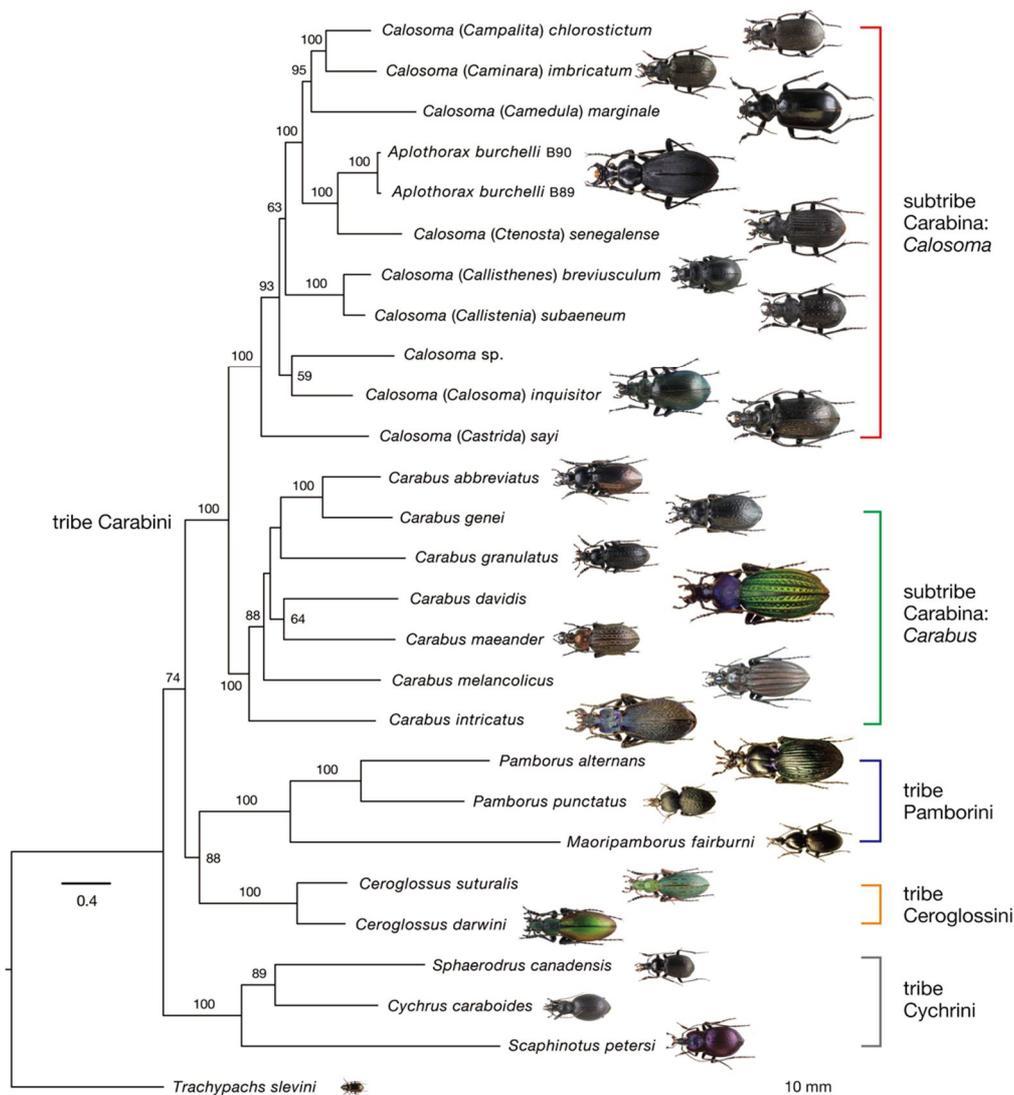


図 6. ミトコンドリア 13 タンパク遺伝子のシーケンスに基づくオサムシ亜科の系統樹.

(4) 分散と種多様化に関する関連研究

上記の研究と平行して, 昆虫の分散と多様化に関する研究を行った.

1. 菌食性ツツキノコムシ類の空間的集団遺伝構造と種多様性に関する研究. 大学院生小林卓也氏との共同研究行.
2. 日本の山岳地域におけるヌレチゴミムシ属の系統解析. 出嶋利明氏との共同研究. ヌレチゴミムシ属は山地に生息し, 後翅が退化しており, 顕著な地理的分化を示す.
3. ナミハンミョウ属 *Sophiodela* を中心とするハンミョウ亜科の系統解析. 辻かおる氏, 堀道雄氏らとの共同研究.
4. 海岸性トウゴウヤブカの系統地理解析. アジアの亜寒帯から熱帯まで広く分布し, 北米西海岸にも生息する海岸性のトウゴウヤブカの系統地理. 人為的移入の可能性の検討. 茂木幹義氏, Peter Belton 氏らとの共同研究.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kobayashi, T. and Sota, T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Contrasting effects of habitat discontinuity on three closely related fungivorous beetle species with diverging host use patterns and dispersal ability	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 2475-2486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ece3.4862	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi, T. and Sota, T.	4. 巻 44
2. 論文標題 Divergent host use among cryptic species in the fungivorous ciid beetle <i>Octotemnus laminifrons</i> (Motschulsky, 1860), with descriptions of three new species from Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Systematic Entomology	6. 最初と最後の頁 179-191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/syen.12321	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Dejima, T. and Sota, T.	4. 巻 20
2. 論文標題 Molecular phylogeny of the genus <i>Apatrobus</i> (Coleoptera; Carabidae: Patrobininae) in western Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Entomological Science	6. 最初と最後の頁 462-469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ens.12276	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi, T. and Sota, T.	4. 巻 7
2. 論文標題 Distance decay of similarity in fungivorous insect communities: assessing dispersal limitation using genetic data	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Ecosphere	6. 最初と最後の頁 e01358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ecs2.1358	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsuji, K., M. Hori, M.H. Phyu, H. Liang, Sota, T.	4. 巻 95
2. 論文標題 Colorful patterns indicate common ancestry in diverged tiger beetle taxa: molecular phylogeny, biogeography, and evolution of elytral coloration of the genus Cicindela subgenus Sophiodela and its allies.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Molecular Phylogenetics and Evolution	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ympev.2015.11.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sota, T., P. Belton, M. Tseng, H.-S. Yong, Mogi, M.	4. 巻 10
2. 論文標題 Phylogeography of the coastal mosquito Aedes togoi across climatic zones: testing an anthropogenic dispersal hypothesis.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0131230.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0131230A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsuji, K., Sota, T., Hori, M.	4. 巻 9
2. 論文標題 Divergence process of Sophiodela tiger beetles (Coleoptera, Cicindelidae) in Japan inferred from molecular phylogeny.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Elytra, Tokyo, New Series	6. 最初と最後の頁 253-261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sota, T., Hori, M., Scholtz, C., Karagyan, G., Liang, H., Ikeda, H., Y. Takami	4. 巻 -
2. 論文標題 The origin of the giant ground beetle Aplothorax burchelli on St Helena Island	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biological Journal of the Linnean Society	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) -	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	池田 紘士 (Ikeda Hiroshi) (00508880)	弘前大学・農学生命科学部・准教授 (11101)	
研究 分担者	高見 泰興 (Takami Yasuoki) (60432358)	神戸大学・人間発達環境学研究科・准教授 (14501)	
連携 研究者	堀 道雄 (Hori Michio) (40112552)	京都大学・理学研究科・名誉教授 (14301)	