

令和元年5月24日現在

機関番号：24403
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2015～2018
 課題番号：15K18606
 研究課題名(和文)植物・アリ絶対共生系における寄主転換とそれに伴う多様化に関する進化生態学的研究

 研究課題名(英文)Evolutionary ecology research on diversification via host alteration of plant-ant mutualism

 研究代表者
 上田 昇平 (Shouhei, Ueda)

 大阪府立大学・生命環境科学研究科・助教

 研究者番号：30553028
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、熱帯アジアのアリ植物オオバギ属に依存する共生・寄生者の分子系統解析をおこない、多様性を産み出す要因としての寄主特異性と寄主転換の重要性を検証した。その結果、1)アリの核DNAとmtDNA系統樹が一致しない要因は不完全な系統ソーティングであること、2)植物・アリ・カイガラムシの系統樹の比較から3者が相互に種特異的であること、3)寄主特異性の進化の中でシジミチョウの好蠱性形質は二次的に消失したこと、4)カメムシ、ナナフシ、タマバエそれぞれが起源した年代は異なり、より初期に起源したカメムシとタマバエの寄主特異性はより高いことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

熱帯雨林における生物の多様性は、温帯とくらべて10倍以上高いことが知られている。この多様性を生み出した要因のひとつとして、植物と昆虫の共進化が重要であるとされているが、そのメカニズムを植物と昆虫の関係性から明確に示した研究はない。本研究の意義は、東南アジアに分布するアリ植物オオバギ属をめぐる生物群集というモデル系を用いて、熱帯の多様性を産み出す要因としての寄主特異性と寄主転換の重要性をDNA解析を用いて明らかにすることである。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to demonstrate the importance of host specificity and host alternation as drivers of biodiversity in tropical environments by conducting molecular phylogenetic analyses on the symbiotic and parasitic insects that depend upon Southeast Asian *Macaranga* myrmecophytes. The findings showed that (1) disagreement between nrDNA and mtDNA phylogenies in ants is likely to be due to incomplete lineage sorting; (2) the nrDNA phylogeny of scale insects was congruent with morpho-species assignment, and the interactions among plants, ants and scale insects were reciprocally species-specific; (3) the myrmecophilous traits of the lycaenid butterflies would have relatively recently lost in their evolutionary history; (4) the minimum evolutionary age of bugs, stick insects and gall midges was estimated to be 17.0, 3.5 and 14.0 million years old, respectively; (5) the bugs and gall midges that were associated earlier with *Macaranga* spp. showed higher host specificity.

研究分野：昆虫進化・生態学

キーワード：アリ植物オオバギ属 シリアゲアリ属 ヒラタカタカイガラムシ属 東南アジア熱帯雨林 寄主特異性
 種間ネットワーク 分子系統解析 分岐年代推定

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

熱帯アジアのアリ植物オオバギ属 *Macaranga* の幹内には特殊化したアリ(シリアゲアリ属 *Crematogaster*)とカイガラムシ(ヒラタカタカイガラムシ属 *Coccus*)が共生しており、相互依存関係を結んでいる。オオバギをめぐる生物群集には、共生者だけでなく複数の寄生者(シジミチョウ・ナナフシ・タマバエ・カメムシ)が関与する。本研究で扱うオオバギをめぐる7者系はいずれも寄主植物に生態的・生理的に特殊化しており、共進化を介した相互多様化を示す良いモデル系として世界的に注目を集めている。

植物と植食性昆虫の間には、植物がつくる毒物質とそれを解毒する昆虫の能力に相互適応が生じ、一対一の種特異的な関係が進化することが多い。アリ植物・アリ間にも高い種特異性が成立するが、これは、アリ植物が植食性昆虫からの防衛を共生アリに依存しており、「アリ」を「毒物質」として言い換えることができるからである。オオバギ属は種ごとに主要な外敵が決まっており、その外敵をうまく撃退する能力を持ったアリ種が特定のオオバギ種に共生しているので、一対一の関係が進化したと考えられている。その一方で、共生相手ではないアリ種が特定のオオバギ種に共生する可能性があることがいくつかの先行研究で報告されている。

2. 研究の目的

本研究では、オオバギをめぐる生物群集というモデル系を用いて、熱帯の多様性を産み出す要因としての寄主特異性と寄主転換の重要性を明らかにすることである。そこで、本研究では、アリ植物オオバギ属と相互依存関係を結ぶ共生者・寄生者(アリ・カイガラムシ・シジミチョウ・ナナフシ・タマバエ・カメムシ)の分子系統解析をおこない、種間ネットワークの実態を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) アリ植物オオバギ属に共生するシリアゲアリ類の分子系統解析

これまで我々の研究グループは、熱帯アジアのアリ植物オオバギ属に共生するシリアゲアリ類のミトコンドリア(mt)DNAを用いた分子系統解析を行い、これらのアリが、働きアリの形態では判別できない17のmtDNA系統に分かれることを明らかにしてきた。しかし、Feldhaarら(2010)は、mtDNA系統と女王の形態タイプが一致しないことから、交雑の影響により、これらのmtDNA系統が種の分類を反映しない可能性を指摘した。そこで、交雑の影響を受けにくい核DNA(9遺伝子、計5000bp)を用いて、熱帯アジアの広域に分布する18種のオオバギ属から採集したアリの分子系統樹を作成し、核DNA系統樹とmtDNA系統樹の一致性を検証した。また、同一の標本を用いて、MIG-seq法を用いてゲノムワイドな一塩基多型(SNPs)を検出し、得られたジェノタイピングの結果とミトコンドリア系統の一致性を検証した。

(2) アリ植物オオバギ属に共生するヒラタカタカイガラムシ類の分子系統解析

アリ植物オオバギ属は中空の幹内を巣場所としてシリアゲアリ属に提供しており、その巣内には栄養共生者であるヒラタカタカイガラムシ属が生息している。本研究では、2つの核遺伝子を用いて、19種のオオバギ属から採集したオオバギ属に共生するカイガラムシ類の分子系統樹を作成し、共生カイガラムシの核DNA系統樹と種の一致性、および、カイガラムシの寄主特異性を検証した。

(3) アリ植物オオバギ属を食樹とするシジミチョウ類の分子系統解析

アリ植物オオバギ属を食樹とするムラサキシジミ属の *amphimuta* グループの5種は、好蟻性のシジミチョウであり、アリを制御する好蟻性器官の発達の程度を種ごとに分化させることで寄主植物および寄主アリとの相互作用を多様化させた。本研究では、mtDNA と核 DNA の5遺伝子を用いて、9種のオオバギ属を食樹とするシジミチョウ類の分子系統樹を作成し、オオバギ属を食樹とするシジミチョウ類における好蟻性形質の進化過程および寄主特異性を検証した。

(4) アリ植物オオバギ属に寄生するカメムシ類、ナナフシ類、タマバエ類の分子系統解析

アリ植物オオバギ属の寄生者として、ヒョウタンカスミカメ属のカメムシ8種、*Orthomeria* 属のナナフシ2種、複数種のタマバエ類(属名不明)が知られている。本研究では、mtDNA と核 DNA の複数遺伝子を用いて、オオバギ属に寄生するカメムシ類、ナナフシ類、タマバエ類の分子系統樹を作成し、それぞれの寄生者がオオバギ類に寄生を開始した年代を推定した上で、寄主特異性を検証した。

4. 研究成果

(1) アリ植物オオバギ属に共生するシリアゲアリ類の分子系統解析

系統レベルの一致性でみた場合、核 DNA と mtDNA の系統樹は一致しており、この結果は、核 DNA 系統間に mtDNA の浸透はない、すなわち交雑は起こっていないことを示す。一方、系統樹の一致性でみた場合、複数の核 DNA 系統を含む単系統群が多系統の関係にある mtDNA 系統によって構成されており、また、核 DNA 姉妹系統間の mtDNA の遺伝的分化の程度は合着シミュレーションを用いた推定値より高いことが示された。この結果は、核 DNA 系統群の分岐が起こる以前、共通祖先が複数の mtDNA 系統を内包しており(祖先多型)、その mtDNA 多型が各核 DNA 系統に引き継がれたことを示す。すなわち、核 DNA と mtDNA 系統の不一致の要因は種間交雑の影響ではなく不完全な系統ソーティングであったことになる。MIG-seq 法を用いた多型解析では、アリは9つのジェノタイプに分かれ、より初期に分化したボルネオ島の系統ではジェノタイプと mtDNA 系統が一致するが、派生的なマレー半島の系統では一致しない傾向が得られた。この結果は、上記の不完全な系統ソーティング仮説を支持する。

(2) アリ植物オオバギ属に共生するヒラタカタカイガラムシ属の分子系統解析

得られた分子系統樹は10系統に分かれ、それぞれの系統は形態に基づく種分類と一致した。分類に関して議論のあった *C. secretus* に関しては、主要な共生カイガラムシ類とは系統的に大きく異なっており、外群よりも遠縁となった。3者間の種間関係を吟味し、どのようなパターンで3者間の共生関係が結ばれているかを検証した結果、植物・アリ・カイガラムシのいずれを主体とした場合も、原則としてひとつの系統(種)が、その他の2者の複数系統と関係を結んでいることが明らかになった。しかし、種間関係の頻度から選好性を検定した場合、ひとつの系統は、その他の2者の1または2系統のみに対して選好性をもつことが判明した。ほとんどの場合、植物・アリ・カイガラムシの3者は相思相愛の関係であり、主体が変わったとしても選好性に矛盾は生まれなかった。アリ植物オオバギ

属は幹表面の構造（幹からワックスを分泌するかしらないか、幹が最初から中空か、共生アリが幹内に穴を掘る必要があるかなど）で複数のグループに分けられ、その植物グループごとに共生するアリ・カイガラムシ系統が異なるというパターンが得られた。また、共同研究者らが、この分子系統樹に基づきアリ植物オオバギ属に共生するカイガラムシ類の分類を見直しを行い、3新種を記載した。

（3）オオバギ属を食樹とするシジミチョウ類の分子系統解析

得られた分子系統樹は5系統に分かれ、それぞれの系統は形態に基づく種分類と一致した。この分子系統樹に基づき好蟻性形質の進化過程を推定した結果、アリ絶対共生と背部蜜腺ありという形質は祖先形質であり、背部蜜腺の消失とアリ任意共生への退行的進化が二次的に起こったことが明らかになった。また、原則としてそれぞれのチョウ種の植物・アリに対する種特異性は高いが、アリ植物ではないオオバギ種を食樹とするチョウ種の寄主アリ特異性は低いことが明らかになった。植物とアリの種間相互作用の多様化に同調して、シジミチョウの好蟻性形質が進化し、種分化が起こったと考えられる。

（4）アリ植物オオバギ属に寄生するカメムシ類、ナナフシ類、タマバエ類の分子系統解析

核DNA・mtDNAの2遺伝子を用いて、カメムシ類の分子系統解析の結果、系統樹は8系統に分かれ、それぞれの系統は形態に基づく種分類と一致した。内群は形態形質により類推されていたのとは異なり、強い単系統性を示した。さらに、内群の起源年代はおよそ1,700万年前と推定され、およそ2,000万年前と推定されているオオバギとアリの共生系起源にわずかに遅れて起源したことが明らかになった。また、カメムシの寄主植物に対する特異性は高いが、寄主アリに対する特異性は高くないことが明らかになった。アリ植物オオバギ属に寄生するカメムシ類は、素早い動きでアリの攻撃をかわしつつ、植物が共生アリの餌として分泌した栄養体を盗み食べているため、植物に対する特殊化が発達したと考えられる。

核DNA・mtDNAの2遺伝子を用いて、ナナフシ類の分子系統解析の結果、系統樹は2系統に分かれ、それぞれの系統は形態に基づく種分類と一致した。ナナフシの起源年代は約350万年前と推定され、およそ2,000万年前と推定されているオオバギとアリの共生系起源に大きく遅れて起源したことが明らかになった。また、ナナフシの寄主特異性を検証した結果、寄主植物・寄主アリ特異性が共に低い種と寄主植物・寄主アリ特異性が共に高い種に分かれることが明らかになった。

核DNA・mtDNAの3遺伝子を用いて、タマバエ類の分子系統解析の結果、タマバエは10クレードに分かれた。それぞれの標本の種名については判明していない。タマバエの起源年代は約1400万年前と推定され、およそ2,000万年前と推定されているオオバギとアリの共生系起源に少し遅れて起源したことが明らかになった。また、初期に分化した系統のタマバエは初期に分化した植物種を利用し、派生的な系統のタマバエは派生的な植物種を利用する傾向が得られた。両者は共進化を介して共に多様化してきたと考えられる。タマバエの寄主特異性を検証した結果、原則としてタマバエ系統の寄主植物・寄主アリに対する特異性は高いことが明らかになった。しかし、稀に特定のオオバギ種に異なるアリ種が共生する場合があります、その場合は、タマバエは本来の寄主とは異なるアリ種と関係を結んでいた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

上田昇平, アリをめぐる生物の種間関係と共進化に関する研究, 環動昆, 2018, 29(4): 159-163 [査読有]

Quek S.-P., Ueda S., Gullan P.J., Kondo T., Hattori M., Itioka T., Murase K., Itino T., Nuclear-DNA-based species delineations in *Coccus* (Hemiptera: Coccidae) scale insects help reveal compartmentalized preferences structured by epicuticular wax in a tripartite symbiosis of ants, plants and scales, *Biological Journal of the Linnean Society*, 2017, 120(4): 818-835 [査読有]

上田昇平, アリ類をめぐる種間関係研究の現状と今後の展望, 昆虫と自然 特集「日本の昆虫研究—現状と今後の展望」, 2017, 52(13): 12-14 [査読無]

上田昇平, アリの生態と調査法, 環境アセスメント動物調査手法, 2017, 27: 7-20 [査読無]

Nakatani Y., Komatsu T., Shimizu-kaya U., Itioka T., Itino T., Hashim R., Ueda S., Asfiya W., Herwina H., Hartini S., Additional species and records of the “horn-backed” *Pilophorus* plant bugs in Southeast Asia (Heteroptera: Miridae: Phylinae), *Tijdschrift voor Entomologie*, 2016, 159(1): 1-8 [査読有]

上田昇平, 植物・アリ絶対共生の寄主転換はなぜおこるのか?, 昆虫と自然, 2015, 50(14), 45-47. [査読無]

〔学会発表〕(計8件)

上田昇平, アリをめぐる生物の種間関係と共進化に関する研究, 第29回日本環境動物昆虫学会(滋賀県立大学, 彦根), 2017.11.18. (受賞講演)

上田昇平, アリの生態と調査法 環境アセスメント動物調査手法 27(大阪府立大学 I-site なんば 大阪), 2017.6.24. (招待講演)

上田昇平, アリに依存する生物たちの進化生物学, 第71回森林生物学スペシャルセミナー(京都大学, 京都), 2017.5.26. (招待講演)

上田昇平, 小松 貴, 乾 陽子, 清水加耶, 市岡孝朗, 篠田瑞生, 市野隆雄, アリ植物をめぐる生物たちのつながりの歴史, 小集会「植物と昆虫の共進化から生物群集の形成過程をさぐる」(企画責任者: 井坂友一, 上田昇平, 水澤 玲子), 第63回日本生態学会大会(仙台国際センター 仙台), 2016.3.21.

Shimizu-kaya U., Inui Y., Ueda S., Itino T., Itioka T., Geographical variation of mutualistic relationships between *Macaranga* myrmecophytes and their ant partners: research plans in Sarawak International Symposium Frontier In Tropical Forest Research: Progress in Joint Projects Between Forest Department Sarawak and Japan Research Consortium for Tropical Forests in Sarawak, September 22, 2015, Kuching, Malaysia. (招待講演)

小松 貴, 上田昇平, 市岡孝朗, 清水加耶, 中谷至伸, Hashim R., 丸山宗利, 市野隆雄, アリ植物に便乗するカスミカメムシ類の系統および起源年代, 日本昆虫学会第75回大会, 小集会「好蟻性小集会」, 九州大学, 福岡, 2015.9.21.

中谷至伸, 小松 貴, 清水加耶, 市岡孝朗, Hashim R., 上田昇平, 市野隆雄, Asfiya

W., Hartini S., Herwina H., 東南アジアのアリ共生植物オオバギに寄生する背中にトゲのあるヒョウタンカスミカメ属の 3 新種を新たに発見(半翅目:カスミカメムシ科), 日本昆虫学会第 75 回大会, 九州大学, 福岡, 2015.9.21.

上田昇平, アリ植物をめぐる多者系を用いた種間関係の歴史解析, 第 58 回日本蟻類研究会, TOTO 東富士研修所, 御殿場市, 2015.8.23.

〔図書〕(計 2 件)

上田昇平, アリをめぐる種間相互作用と外来アリ, In 外来アリのはなし(橋本佳明 編), 朝倉書店, 東京, 印刷中

Shimizu-kaya U., Inui Y., Ueda S., Itino T., Itioka T., Geographical variation of mutualistic relationships between *Macaranga* myrmecophytes and their ant partners: research plans in Sarawak, In: Proceedings of the symposium “Frontier in Tropical Forest Research: Progress in Joint Projects between the Forest Department Sarawak and the Japan Research Consortium for Tropical Forests in Sarawak” (Sakai S., Runi S.P., Paulus M., Itioka T. eds.), Forest Department Sarawak, Sarawak, 2016, pp. 146–153

上田昇平, アリに学ぶ食と住まいの安全—2000 万年の知恵, In アリの社会(坂本洋典, 村上貴弘, 東 正剛 編著), 東海大学出版会, 神奈川, 2015 pp. 158–174

〔その他〕

http://entomol.envi.osakafu-u.ac.jp/staff_ueda/