

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21705

研究課題名(和文) イチジクコバチにおける寄主植物への適応の遺伝的基盤の解明

研究課題名(英文) Genomic basis of adaptation to host-plants in closely related fig wasp species

研究代表者

和智 伸是 (WACHI, Nakatada)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・ポスドク研究員

研究者番号：40635299

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)：イチジク属植物と絶対共生関係にあるイチジクコバチを対象に、寄主利用を決定づけるゲノム領域の探索を行なった。利用する寄主植物種が異なるイヌビワコバチとその近縁種の比較により、種間で遺伝的分化の特に大きい領域が複数見出された。これらの領域の近傍には、イチジクコバチの寄主利用を決定づけるゲノム領域が位置している可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The genomic region that determines host-utilization of fig wasps (Agaonidae), which have obligate mutualism with fig trees (*Ficus*) were investigated. Multiple genomic regions with particularly high genetic differentiation among species were found by comparisons of the closely related species using different host plants (*Blastophaga nipponica* and *B. taiwanensis*). There is a possibility that these regions or the flanking regions of them are the genomic regions which determine the host-utilization of these fig wasps.

研究分野：分子生態学・集団遺伝学・昆虫分類学

キーワード：昆虫 イチジクコバチ科 イチジク属 生物間相互作用 共生 ゲノム 遺伝的多様性 分子生態学

### 1. 研究開始当初の背景

全生物種の半数以上を占める昆虫は多様化の過程でさまざまな寄主を利用し、その寄主との生物間相互作用によって共進化してきた。そして、それだけでなく捕食寄生者は新たな寄主昆虫への、植食性昆虫は新たな寄主植物への適応（寄主転換）を繰り返してきた。寄主転換が起こるには、それまで利用していた寄主だけでなく新たな寄主を利用できるように寄主適応性を変化させる必要がある。具体的には、雌親の寄主への産卵選好性と幼虫の寄主利用能力が同時に進化しなければ、寄主転換は成功しない。ではなぜ雌親の形質と幼虫の形質という複雑な組み合わせの変化が昆虫の進化の中で繰り返し起こりうるのだろうか。この「なぜ昆虫は寄主転換をおこしやすいのか」という問いに対して明解な答えは得られていない。

### 2. 研究の目的

本研究で材料としたのはイチジクコバチである。イチジクコバチは寄主植物であるイチジク属植物と絶対共生関係にあり、その関係は基本的に一対一である。約750種が知られるイチジク属植物にはそれぞれ特異的に適応したイチジクコバチがあり、イチジクコバチにとって寄主転換は種分化の引き金になっている。絶対的關係にあるにもかかわらず、どうやってイチジクコバチは新たな寄主植物種に適応し、寄主転換を起こしているのだろうか。昆虫における「寄主転換の起こりやすさ」を議論するために、本研究ではまずこのイチジクコバチをモデルに寄主利用能力を決定づけるゲノム領域の特定を目指した。

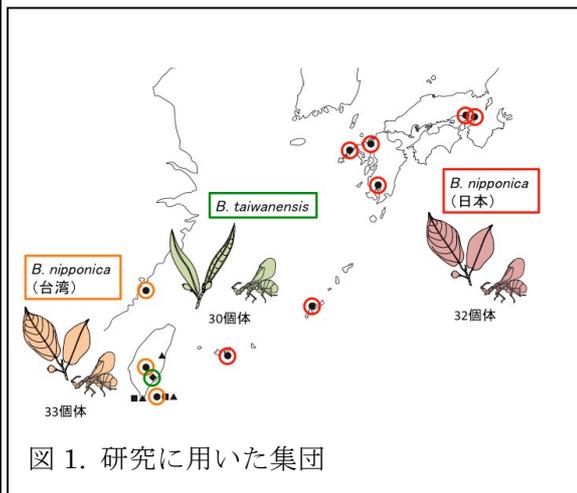
### 3. 研究の方法

(1) 寄主植物が異なるイチジクコバチの種群を探索し、試料を収集する。イチジクコバチにおいて、寄主植物が異なる種群はあまり知られていない。しかし、日本・台湾に分布するイヌビワとその近縁種を利用するイチジクコバチは世界でもまれなその一例である。日本・台湾のイヌビワを利用しているのはイヌビワコバチ

(*Blastophaga nipponica*) で、イヌビワのそれぞれの近縁種を利用するコバチが別種として台湾から記載されている (*B. taiwanensis*, *B. tannoensis*)。しかし、先行研究の結果、地域的分化が見られた一方で同地域の種間では寄主植物種に対応した遺伝的分化は見られなかった。このことから、これらの近縁種間では寄主利用を決定する遺伝子群に違いがあるために寄主植物が異なっているのではないかと考えた。本研究では、これらの種の、イヌビワコバチ (*B. nipponica*) 日本集団 32 個体、台湾集団 33 個体、*B. taiwanensis* 30 個体を用いた。中立な遺伝子座ではほとんど分化のな

い種群を用いるため、寄主植物に適応した遺伝子群を効率よく検出できると期待される。

(2) 得られた試料を寄主植物種ごとの群に分け、利用する寄主植物種の違いと有意に相関のあるゲノム領域を検出する。ゲノム規模の相関解析を行うために、改変RAD法により得られたDNA塩基配列情報を用いた。イヌビワコバチ (*Blastophaga nipponica*) とその近縁種 (*B. taiwanensis*, *B. tannoensis*, *B. yeni*) 130 個体について、99,424 の遺伝子座の配列情報がすでに得られており、この情報を用い種間・集団間で有意に頻度の異なる点突然変異をもつ遺伝子座（候補領域）の検出を行うための基礎的な情報の抽出を行った。具体的には、同じ寄主植物を利用するイヌビワコバチ日本集団と台湾集団、同じ地域に分布し異なる寄主植物を利用するイヌビワコバチ台湾集団と *B. taiwanensis* の種間・集団間の比較（図1）を行い、塩基多様度や固定指数 ( $F_{ST}$ ) などの値の推定を行った。



(3) 特定されたゲノム領域が位置するゲノムの周辺領域の配列を決定し、寄主利用に関連する遺伝子群を探索・同定する。寄主利用能力の違いに着目し、同じ地域に分布し異なる寄主植物を利用するイヌビワコバチ (*Blastophaga nipponica*) 台湾集団と *B. taiwanensis* の間で検出された特に分化の大きな領域を候補領域とした。これらの領域の近くに寄主利用を決定づける領域が位置していると考えた。さらに候補領域が位置するゲノム領域をより効率よく特定するために、イヌビワコバチのドラフトゲノム情報の取得を試みた。近縁なイチジクコバチでゲノムが解読されていたが、公開が限定的であるため配列情報を自由に使える状況でなかった。そのため新たに全ゲノム情報の解読を行い、ゲノム上の候補領域の位置を効率よく決定するために工夫をした。そして、得られたドラフトゲノムに対

して、候補領域を用いて相同性検索（BLAST 検索）を行うことで、そのゲノム上の位置の特定を試みた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 寄主植物種の違いと相関のあるゲノム領域の検出

全 99,424 遺伝子座のうち、欠測値 50%未満のもの・多型があり 2 対立遺伝子座のものを選抜した結果、3,322 遺伝子座が見出された。この遺伝子座を用いて、種間・集団間の分化を調べた。その結果、種内の地域間（イヌビワコバチ *B. nipponica* 日本集団と台湾集団）より同地域の異種間（イヌビワコバチ台湾集団と *B. taiwanensis*）のほうで遺伝的分化が小さかった（平均の  $F_{ST}$  はそれぞれ 0.065 と 0.024；図 2）。このことから、これらの種は、寄主利用を決定づける領域は分化している一方で残りのゲノムの大部分は分化が進んでいない種分化の初期段階にある可能性が示唆された。

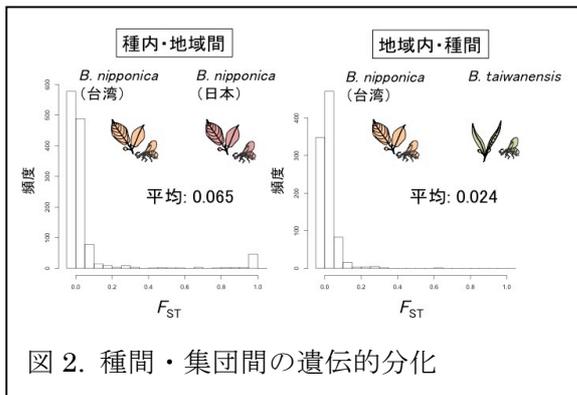


図 2. 種間・集団間の遺伝的分化

(2) 寄主利用に関連する遺伝子群の探索  
見出した 3,322 遺伝子座のうち他の遺伝子座に比べて、特に同地域の異種間（イヌビワコバチ *B. nipponica* 台湾集団と *B. taiwanensis*）で遺伝的分化が有意に大きい領域として 6 領域が見出された。この 6 領域を候補領域とした。イヌビワコバチのドラフトゲノムを新たに構築するために、第二世代シーケンサー（Miseq）を用いた解析により得た配列を用いアセンブルを行なった。得られたドラフトゲノム（N50=14,066, コンティグ数 83,079）に対して、BLAST 検索を行なったところ、候補領域 6 領域のうち 2 領域については、その領域を含むコンティグ（ゲノム上の一連なりの配列）を特定することができた。これらの 2 領域は遺伝子間の領域に位置していた（図 3）。また、近傍に位置している遺伝子は、当初の予想に反して、嗅覚関連の遺伝子群などのように寄主植物の認識に直接関与すると考えられる機能を持つ遺伝子ではなかった。より充実したゲノム情報を用いれば、残りの 4 領域についてもゲノム上の位置の特定がで

きるのではないかと考えた。そのため、読み取れる一つ一つの配列長が第二世代シーケンサーよりも長いと、より精度の高いアセンブルが行えると予想される第三世代シーケンサー（PacBio）による配列解読を行った。今後第二世代・第三世代シーケンサーの情報を合わせてハイブリッドアセンブルを行なうことで、より充実したドラフトゲノムを構築する予定である。

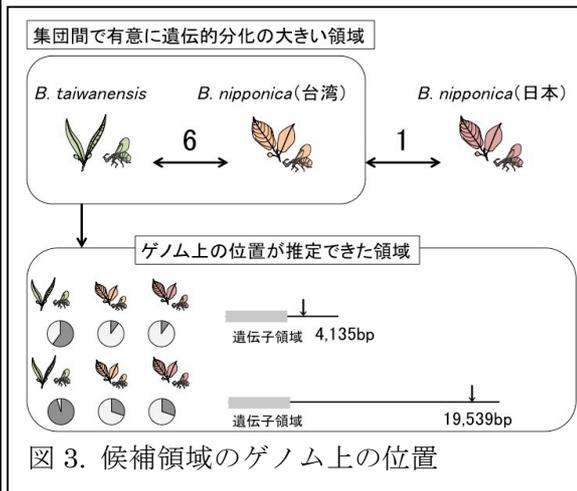


図 3. 候補領域のゲノム上の位置

##### (3) 本研究の意義

昆虫は多種多様な寄主を利用し、新たな寄主利用能力を進化させることによって多様化してきた。しかし、その昆虫において多様化の起源とも言える寄主利用能力に関連する遺伝子群を特定した研究はごく少ない。本研究ではハチのように昆虫の中でも特に多様な形態・生態をもつ生物群について理解し、最終的には生物の多様性の起源とその維持機構を解明しようとした。飼育可能なモデル生物を用いて、特定の形質の遺伝的基盤を明らかにしようとする研究は盛んに行われている。しかし、本研究の材料のイチジクコバチのように、非モデル生物であり飼育が困難な生物を用いて目的の形質に関連した遺伝子群の特定を試みた研究は多いとは言えない。そのため、本研究はその代表的な事例の一つになりうると考えている。さらに、「寄主転換の起こりやすさ」という視点から、昆虫の多様化の背景にある種分化の起こりやすさを議論しようとしていることに特色がある。本研究の期間内では寄主利用に関連する遺伝子群の機能の特徴付けは出来なかった。しかし、イチジクコバチにおける寄主利用が一カ所のゲノム領域によって決定されているのか、それとも複数のゲノム領域によって支配されているのかということについては示唆を得ることができた。解析に用いる集団の選定・遺伝的分化の大きい領域の検出手法・イチジクコバチに特化した遺伝子予測モデルの構築に改善の余地があると考えられる。

## 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 2 件)

- ① Nakatadata Wachi, Kei W. Matsubayashi, Kaoru Maeto (2018)  
Application of next-generation sequencing to the study of non-model insects.  
Entomological Science, 21: 3-11. 査読有  
DOI: 10.1111/ens.12281
- ② Nakatada Wachi, Junko Kusumi, Hsy-Yu Tzeng, Zhi-Hui Su (2016)  
Genome-wide sequence data suggest the possibility of pollinator sharing by host shift in dioecious figs (Moraceae, *Ficus*).  
Molecular Ecology, 25: 5732-5746. 査読有  
DOI: 10.1111/mec.13876

[学会発表] (計 3 件)

- ① 和智仲是・蘇 智慧  
イヌビワコバチとその近縁種の寄主適応の遺伝的基盤の解明, 日本進化学会第18回大会, 2016年8月27日, 東京工業大学(東京都目黒区)
- ② 和智仲是・蘇 智慧  
次世代シーケンス技術を用いた非モデル昆虫の分子生態学的研究 -イチジクコバチを例として-, 日本昆虫学会第76回大会・日本応用動物昆虫学会第60回大会, 2016年3月28日, 大阪府立大学(大阪府堺市)
- ③ 和智仲是・橋口康之・蘇 智慧  
イチジクコバチ科昆虫の網羅的遺伝子発現解析と系統関係の推定, 日本進化学会第17回大会, 2015年8月22日, 中央大学(東京都文京区)

[図書]

なし

[産業財産権]

なし

[その他]

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

和智仲是 (WACHI NAKATADA)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・ポスドク研究員

研究者番号: 40635299