

平成22年 5月24日現在

研究種目：基盤研究（A）  
 研究期間：2006～2009  
 課題番号：18207005  
 研究課題名（和文） 食植性昆虫の種分化：食草変換が生殖隔離におよぼす多面的影響の評価  
 研究課題名（英文） Speciation in phytophagous insects: Assessment of manifold effects of host change on reproductive isolation  
 研究代表者  
 片倉 晴雄（KATAKURA HARUO）  
 北海道大学・大学院理学研究院・教授  
 研究者番号：40113542

研究成果の概要（和文）：マダラテントウ類、ハムシ類を材料として、食草変換が近縁集団間の生殖隔離に及ぼす影響の評価を行い、食草の違いが生息地選択を通してただちに非常に強い生態的隔離を生み出すこと、温帯域においてはそれに加えて食草の季節消長の違いが産卵／休眠スケジュールに影響を与えることを明らかにした。さらに、食草変換の平行進化、急速な食草変換、食草利用能力の可塑性・潜在能力、食草の個体変異の影響などに関して実例を示した。

研究成果の概要（英文）：Effects of host change on the reproductive isolation of phytophagous specialists were studied using phytophagous ladybird beetles and leaf beetles. Host shift has resulted in nearly complete reproductive isolation between two pairs of specialist species/populations by ecological isolation. In addition, in temperate regions, phenological differences between two potential host plants affected oviposition and/or diapause schedules of phytophages. Examples were also given for parallel host shift, rapid host shift, beetle plasticity in ability to utilize various potential host plants, and effects of host quality variation on the host selection of beetles.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	10,300,000	3,090,000	13,390,000
2007年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
2008年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
2009年度	9,600,000	2,880,000	12,480,000
年度			
総計	37,500,000	11,250,000	48,750,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：マダラテントウ類、ハムシ類、生態的種分化、DNA解析、生殖隔離、  
寄種特異性、食草利用、東・東南アジア

## 1. 研究開始当初の背景

食植性昆虫は種数にして全生物の4分の1を占めるといわれている。従ってその種分

化過程を解明することは生物多様性の起源の相当部分を説明することに他ならない。食植性昆虫では食草の変換が強い生殖隔離を

引き起こして種分化を導くとともに、複数種の同所的な共存を可能にすると考えられており、このことと関連して食植性昆虫では同所的種分化が容易に生じるのではないかという可能性が長く議論されてきた。

我々は、これまで日本とインドネシアの食植性テントウ及びハムシ類を材料として、その食性や進化史の詳細について分析を進め、食性の変化が食植性昆虫の種分化と同一地域での複数種の共存に大きな役割を果たしていることを明確に示してきた。同時に、「食草の変換」は単に新しい食草を認知し摂食出来るかという生理的なレベルの解析で理解できるような単純な現象ではなく、微小生息地の選択、産卵や休眠のタイミング、同じ餌資源を争う他種との競合など、食植性昆虫の生活史全般にわたってさまざまなかたちで影響を及ぼす複数の現象の複合体（シンドローム）である事を新しい研究課題として見いだした。また、従来は食性の変換が種分化の発端となり、その後に様々な生殖隔離要因が進化して種分化が完了すると考えられてきたが、むしろ、食草変換が昆虫の生活史の様々な局面に同時進行的に影響をあたえることによってただちに完全な生殖隔離が引き起こされる、すなわち種分化が完了すると考えた方がよい事が分かってきた。

## 2. 研究の目的

上記の先行研究を受け、研究の蓄積のあるマダラテントウ類とハムシ類を材料として、「食草の違い」が食植性昆虫の生活史のどのような局面に影響し、どのような形で生殖隔離に寄与するかを詳細に評価し、食草変換が引き起こすシンドロームの内容とその及ぼす影響を具体的に把握する事が本研究課題の目的である。あわせて、食草変換が昆虫の生活史の様々な局面に同時進行的に影響をあたえることによってただちに完全な生殖隔離をひき起こす（＝種分化が完了する）可能についても検証を試みる。

## 3. 研究の方法

「食草の違い」の及ぼす影響を、野外調査、交配・飼育実験、分子マーカーによる解析をとおして詳細に評価し、食草変換が引き起こす隔離要因の内容と個々の要因が生殖隔離に及ぼす影響の相対的な大きさを把握する。特に、昆虫とその食草の季節消長の一致・不一致が食草選択、ひいては生殖隔離の重要な要素となるという可能性に注目し、季節の明瞭な温帯（日本）と季節性の不明瞭な熱帯（インドネシア）に生息する種の食草利用パターンの比較など、いくつかの方法によって解析する。

## 4. 研究成果

### (1) 主要な成果

本研究課題では、当初、次に示す4項目を研究の柱として設定し、以下の成果を得た。

①食草の違いがルイヨウマダラテントウの生活史に及ぼす影響：本州中部地域に生息するハシリドコロ(ナス科草本、早春から初夏にシフトした生活史によって特徴付けられる)とオオバアサガラ(エゴノキ科落葉木本、通年利用可能)を利用するルイヨウマダラテントウの地域集団について詳細な調査を行い、本種が著しく異なる季節消長を示す2種類の食草の生活史に可塑的に対応していることを示唆する結果を得た。すなわち、異なった食草に依存する集団はそれぞれの食草の季節消長によく対応した生活史を送っていた。さらに、同じ雌由来のルイヨウマダラテントウはオオバアサガラ上では長めの幼虫期間を経過して相対的に大型の成虫となり、ハシリドコロ上では短期間で成育を完了し、小型の成虫となった(図1)。食草の季節

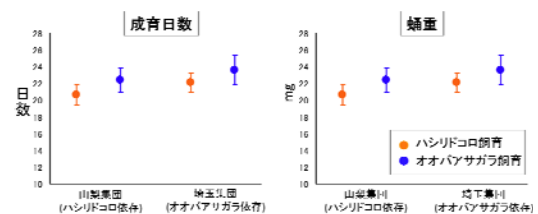


図1. 食草の異なるルイヨウマダラテントウ2集団幼虫の2種食草上での成育状況。いずれの集団も通年利用可能で木本のオオバアサガラ上では成長が遅く大型に、春に偏った生活史をもつ草本のハシリドコロ上では成長が早く小型になる。オオバアサガラ・ハシリドコロ間の違いはすべて有意。(高経他、未発表)

消長に対応したこの可塑的な生活史特性の遺伝的背景はまだ明らかになっていないが、そこに条件付け等の要因が加われば容易に集団間の生殖隔離が生じると予想される。

②食草の生活史の違いがオオニジュウヤホシテントウ種群近縁3種(エゾアザミテントウ、ルイヨウマダラテントウ、ヤマトアザミテントウ)の生殖隔離と同一地域における共存に及ぼす影響：当初は開花時期に大きな違いが見られる2種のアザミ(夏咲きのチシマアザミと秋咲きのミネアザミ)とルイヨウボタンを導入した網室実験により、生活史の違いがテントウの共存にどのような影響を及ぼすかを調査する予定だったが、予期しない食草の状態悪化の為に計画初年度のみで中断を余儀なくされた。しかし、室内飼育実験によってそれにかわる大きな成果が得られた。ヤマトアザミテントウ(以下ヤマトと略)とルイヨウマダラテントウ(ルイヨウ)はそれぞれアザミ類(キク科)とルイヨウボタン(メギ科)(およびその他のいくつかの食草、上記①の事例参照)に特化したスペシャリストであり、エゾアザミテントウ(エゾ)

はアザミとルイヨウボタンを利用しているジェネラリストだが、ヤマトとルイヨウのF1雑種はヤマトの食草であるミネアザミ(秋咲き)では成育が低下するにもかかわらずルイヨウボタンでは正常に成育する事が明らかになった(図2)。一方、先行研究によってヤマトとルイヨウの雑種はエゾの食草であるチシマアザミ(夏咲き)では正常に育つ事が明らかにされている。

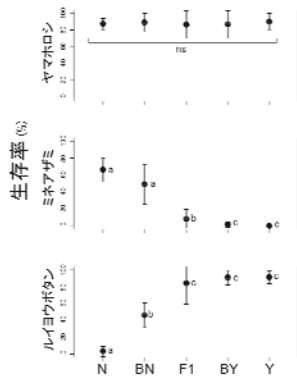


図2. ヤマトアザミテントウ(N)、ルイヨウマダラテントウ(Y)、F1雑種(F1)、および戻し交雑個体(BY, BN)の3種植物上での生存率。F1雑種の生存率はルイヨウボタンでは高いが、ミネアザミで低下する。(Kuwajima et al. 2010, Ent. Exper. Appl. 134: 280-286)

以上の事実は、地域ごとに著しく分化しているアザミの種の違いがテントウのF1雑種の食草選択に大きな影響を及ぼしており、それが雑種の生態的生存力低下(ecological hybrid inviability)として生殖隔離に一定の役割を果たすとともに、2種類の食草上での寄主特異的なテントウの集団のすみ分けの可否を決定している可能性があることを示唆する。つまり、ヤマトとルイヨウがスペシャリストとして共存できるのは、生息地に分布するアザミを雑種個体が利用できないためであり、仮に彼らの生息地にチシマアザミが分布していた場合には両者の交雑が進行し、エゾのようなジェネラリストになった可能性がある。

③アジア熱帯におけるニジュウヤホシテントウの食草利用の多様性：インドネシアでは、本来ナス科植物を加害していたと考えられるニジュウヤホシテントウが、近年緑肥として導入され雑草化したマメ科のムラサキチョウマメドキを利用する方向に寄主範囲を拡大しつつあることが明らかになった。西ジャワにおいては過去十数年の間に食草幅の拡大という小進化が進行し、現在も進行中と思われる(図3)。また、バリ島では、ナス科食からナス科+ムラサキチョウマメドキ食へ進化する様々な中間段階にあると考えられるニジュウヤホシテントウ集団が発見された(図4)。

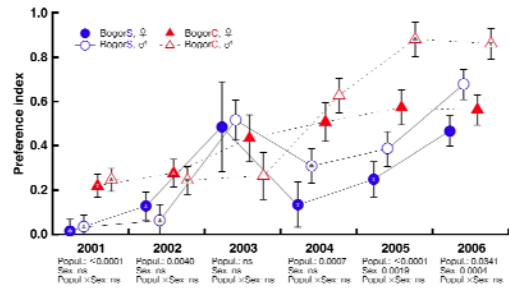


図3. ボゴール近郊におけるニジュウヤホシテントウのムラサキチョウマメドキ選好性の経年変化。短期間に急速に変化し続けており、全体としてチョウマメドキの選好性が徐々に増加している(2001-2006年のデータに基づいて作成)。○(S)はスズメノスピ依存、△(C)はムラサキチョウマメドキ依存の個体を表す。2種類の植物の葉を与えて選択させた結果。Preference index: 0.0の時はナスのみを摂食、1.0の時はマメのみを摂食。(藤山他、未発表)

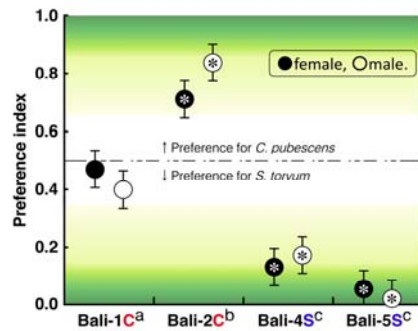


図4. バリ島のニジュウヤホシテントウ4集団のムラサキチョウマメドキ選好性。Cはムラサキチョウマメドキ依存、Sはスズメノスピ依存。Preference indexは採集した成虫にスズメノスピとムラサキチョウマメドキを同時に与えたときの全摂食量に対するムラサキチョウマメドキ摂食量。(藤山他、未発表)

④ *Henosepilachna diekei* (申請時には *H. sp. 3* として記述)の食草利用とホストレース間の生殖隔離：ボゴール周辺において、キク科の *Mikania micrantha* とシソ科の *Leucas lavandulifolia* に依存する本種の2品種が食草の違いのみによってほぼ完全に生殖的に隔離されていることが、野外調査、飼育実験、DNA解析によって証明された(図5)。さらに、本種はインドネシア各地においてシソ科

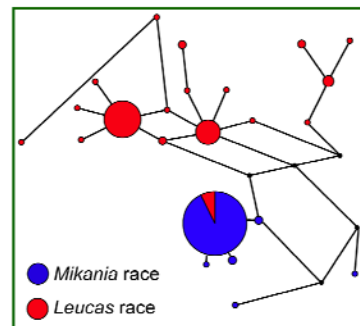


図5. 西ジャワ州ボゴール近郊に同所的に生息する *Henosepilachna diekei* 12集団に由来する240個体から得られた24ハプロタイプのネットワーク(ミトコンドリアND2遺伝子、669bp)。Mikaniaに依存する依存品種(青)とLeucasに依存する品種(赤)はほとんどハプロタイプを共有しておらず、両者間の遺伝子交流が極めて低いレベルに押さえられていることを示している。(松林他、未発表)

やキツネノマゴ科のいくつかの植物を利用していること、*Mikania* からシソ科、あるいはシソ科から *Mikania* への寄主変換が独立に何回か生じたらしいことが分子データを用いた集団解析によって明らかになった。

更に、以下の項目についても調査を行い、成果を得た。

⑤キクピアオハムシの寄主拡大：キクピアオハムシはサルナシ（マタタビ科）を食草として日本各地に広く分布することが知られていたが、近年、申請者らによってオオバアサガラを加害する例が報告された。オオバアサガラから採集された個体は、サルナシとオオバアサガラを摂食し、幼虫もこれらの植物で成育することが出来るが、サルナシから採集された個体はオオバアサガラを摂食しないことから、本種においてもインドネシアのニジュウヤホシテントウ同様、食草の拡大（サルナシ食からサルナシ+オオバアサガラ食へ）が進行している可能性が高い。ミトコンドリア遺伝子の解析により、本種の寄主拡大は複数の地域で独立に生じていることが明らかにされた（図6）。また、本種の食草選好性には、幼虫時代に摂食した植物の影響（preimaginal conditioning）が関与していることも示唆されている。

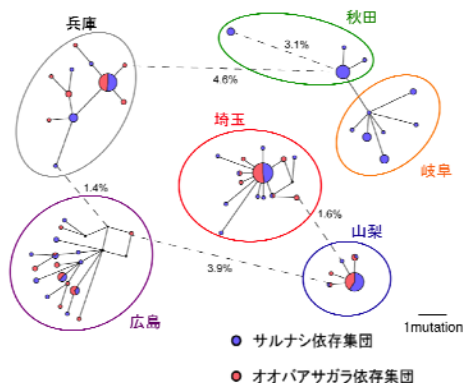


図6. キクピアオハムシの寄主変換は各地で繰り返し生じている。ミトコンドリアCOI遺伝子(767bp)に基づくハプロタイプネットワーク。広島、兵庫、山梨、埼玉にはサルナシに依存する集団とオオバアサガラに依存する集団が分布し、岐阜、秋田にはサルナシに依存する集団のみが分布する。ハプロタイプは地域ごとにまとまり、食草の違いに対応した分化が見られないことに注意。(甲山他、未発表)

⑥複数植物種の利用能力に見られる正の遺伝相関の検出：エゾアザミテントウを用い、寄主植物を利用する能力と、他の植物の利用能力の間に正の相関が見られることを量的遺伝学的手法で示した（図7）。主食草であるチシマアザミとルイヨウボタンの利用能力には正の相関が認められた。一方、野外ではほとんど、あるいは補助的にしか利用されない別のいくつかの植物の利用能力と主食

草の間にも正の相関が認められたが、これらの植物の利用能力は主食草より低い。主食草

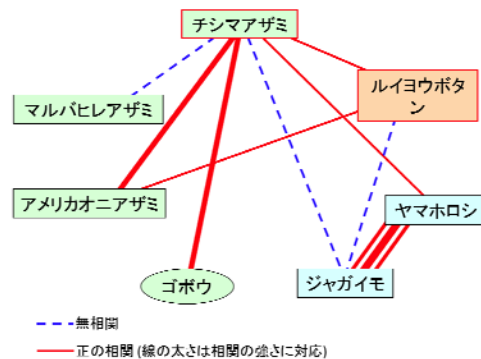


図7. エゾアザミテントウにおける複数の植物利用能力間の遺伝的相関。利用能力は幼虫の発育期間と蛹室によって評価。チシマアザミとルイヨウボタンが本来の食草。他の植物は状況に応じて様々な程度に利用される。アザミ類とゴボウ（キク科の別属）、ルイヨウボタン（メギ科）、ジャガイモとヤマホロシ（ナス科ナス属）。（菊田他、未発表）

への適応に関する表現型とその背景にある遺伝子型は強い淘汰圧にさらされており、その一方、副次的食草の表現型は強い淘汰の対象にはなっていないと考えることが出来るので、主食草へ適応を促す淘汰圧が、主食草と正の相関をしている副次的食草への潜在的な適応を一定レベル以下に制限している可能性がある。しかし、このことは食草間の正の相関が将来の寄主変換の際の候補食草を用意するという意味で、いわば前適応となっている可能性のあることも示唆している。

⑦本来利用しないマルバヒレアザミに依存するヤマトアザミテントウ集団の調査を行い、当該地域のマルバヒレアザミが保持する種内の質的な変異（地理変異）がヤマトアザミテントウによる利用を可能にしている事を明らかにした。

⑧札幌産エゾアザミテントウ成虫の北海道産アザミ 12 種に対する単位時間あたり摂食量とアザミの系統関係との相関を調べたところ、エゾの摂食量はアザミの系統関係とは相関していなかった。次いで、エゾ 3 地域集団と北海道内 11 地点から採取したチシマアザミを用い、テントウの摂食量に及ぼすアザミおよびテントウの集団間変異の影響を査定した。アザミ、テントウのいずれにも集団間変異が存在し、テントウの地域集団は、それぞれの地域で主食草としているチシマアザミの地域集団に適応していることを示す結果を得た。

⑨ *Epilachna alternans* 種群の放散過程：形態比較と分子系統解析により、南アジアから東南アジアにかけて分布する本種群は少なくとも 11 種を含む近縁種群で、特にスマトラ、ジャワにおいて異なった食草を利用する複数の種へと放散していることが明らか



になった(図8)。ウリ科植物を食草とする種は南・東南アジアに広く分布し、異所的な分布をする少なくとも4種を含む。一方、ウリ科以外の植物を加害する種は中国南部の1種を除くとスマトラとジャワに限られるが、7種を含む。本研究課題に関連する事柄として、同じ食草を利用する種は同一地域に共存しない事が挙げられる。同所性の種はすべて異なった植物を利用しており、特に、スマトラ中部の山岳地帯では異なった植物を利用する5種が厳密に同所的に分布している。この事実は、この種群のメンバー程度に近縁な

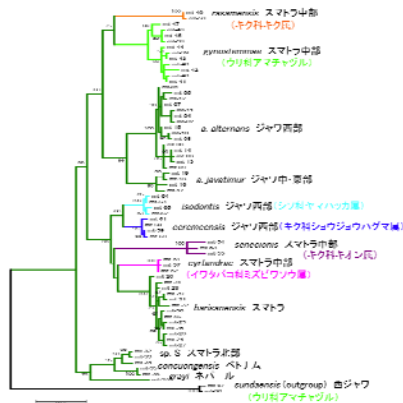


図8. ミトコンドリアDNA (ND2+COI+16S) シークエンスにもとづく *Epilachna alternans* 種群11種(2亜種)の系統関係(最尤法)。食草名のない緑色のブランチはウリ科カボチャ亜科(ニガウリ等一部を除く)植物食。(太田他、未発表)

種間では、食草変換による棲み分けが共存には不可欠なことを示唆する。また、分子時計による推定ではこの種群の放散は第四紀と推定され、氷期、間氷期の気候変動に伴う分布域の変化と植生の変化が放散に関与しているらしい。本種群は寒冷期に陸橋を渡って大陸からスマトラ、ジャワへと徐々に分布を広げ、分化したが、一部のスマトラ産種は、ジャワからスマトラへ再侵入した集団に由来している。さらに、ミトコンドリア及び核DNAの解析によれば、食性の変更後にも同所性集団間にはある程度の遺伝子交流があったらしく、寄主変換を伴う同所性種分化をした可能性が高い最近縁種のペアも2例発見された。

⑩日本産オオヨモギハムシ、ヨモギハムシがいずれも複数の「生物学的種」を含むこと、同じ食草を利用するこれらの複数の「種」が共存不能であることを示し、近縁植食性昆虫の共存における食草変換の役割が大きいことを改めて明確に示した。

## (2) 成果の国内外における位置づけとインパクト

本研究で主目的とした「食草変換が近縁集団間の生殖隔離に及ぼす影響」については、食草の違いが生息地選択を通してただちに

非常に強い生態的隔離を生み出すこと、温帯域においてはそれに加えて食草の季節消長の違いが産卵/休眠スケジュールに影響を与えることを明らかにした。また、食草変換途中の様々な材料を調査対象とすることによって、食草変換が実際にどのように進行するのか、その際に食植性昆虫はどのように反応するのか、といった食草変換プロセスの実態について、多くの具体的事例を示すことに成功した。さらに、食草変換の平行進化、急速な食草変換、食草利用能力の可塑性・潜在能力、食草の個体変異の影響などに関して実例を示した。これらの研究成果は、食植性昆虫の種分化、より一般的には、生態的種分化の関して豊富な資料を提供するものであり、国内的にも国際的にもユニークで価値の高い研究との評価を受けている。個別の事例でも、*H. diekei* とキクピアオハムシで確認された繰り返し生じる同じ植物への食草変換は、それが適応的プロセスであり、自然淘汰によって推進されている証拠として重要である。また、寄主特異性のみによって生殖的に隔離されている *H. diekei* の2品種の発見は、申請者らによって以前に発見されているヤマトアザミテントウとルイヨウマダラテントウの例に次ぐ発見であり、食植性昆虫全体を見渡しても極めて稀な例として注目されている。さらに、ヤマトアザミテントウとルイヨウマダラテントウの間で確認された雑種の生態的生存力低下 (ecological hybrid inviability) は、本ケースを含め、昆虫では世界で数例が報告されているに過ぎない。最後に、インドネシアにおいて現在進行しているニジュウヤホシテントウの寄主拡大の小進化の事例は、工業暗化と肩を並べる貴重な研究成果と自負している。

## (3) 今後の展望

本研究課題があげた食草変換が生殖隔離におよぼす効果については豊富な事例を得ることが出来た。とりわけ、食草変換が直ちにほぼ完璧な生殖隔離を生み出すことを十分に説得力のあるデータによって証明したことが大きな成果だと考えている。また、ルイヨウマダラテントウが、食草の生活史に対応して可塑的に自身の生活史を調整している可能性が示唆された点も重要である。このような例は従来全く知られていない。この事例を含め、本研究課題から明らかになった進化学上興味ある事例は、複数の地域における平行的食草変換、インドネシアで進行中のニジュウヤホシテントウの食草変換(拡大)等、数多く得られている。今後、これらの一つ一つが独立した研究テーマとして発展する可能性がある。また、本研究課題では実施しなかった食草変換に関与する遺伝子の探索も、すぐに取りかからなければならない研究テ

一マである。本研究課題を引き継ぐこうした新しい研究課題の展開により、食植性昆虫の適応的種分化に関する国際的議論のリーダーシップを取ることが出来ると思われる。

#### 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 13 件)

- ① Kitamura, N., N. Fujiyama, H. Katakura and T. Aotsuka (2010) Reproductive isolation between two karyotypes in natural populations of the leaf beetle *Chrysolina aurichalcea*. *Journal of Heredity* 101: 317-324. 査読有.
- ② Kuwajima, M., N. Kobayashi, T. Katoh and H. Katakura (2010) Detection of ecological hybrid inviability in a pair of sympatric phytophagous ladybird beetles (*Henosepilachna* spp.). *Entomol. Exper. Appl.*, 134: 280-286. 査読有.
- ③ Matsubayashi, K. W. and H. Katakura (2009) Contribution of multiple isolating barriers to reproductive isolation between a pair of phytophagous ladybird beetles. *Evolution*, 63: 2563-2580. 査読有.
- ④ Kobayashi, N., Y. Ohta, T. Katoh, S. Kahono, S. Hartini and H. Katakura (2009) Molecular phylogenetic analysis of three groups of Asian epilachnine ladybird beetles recognized by the female internal reproductive organs and modes of sperm transfer. *J. Nat. History*, 43: 1637-1649. 査読有.
- ⑤ Saitoh, S., S. Miyai and H. Katakura (2008) Geographic variation and diversification in the flightless leaf beetles of the *Chrysolina angusticollis* species complex (Chrysomelidae, Coleoptera) in northern Japan. *Biol. J. Linnean Soc.*, 93: 557-578. 査読有.
- ⑥ Fujiyama, N., C. Torii, M. Akabane and H. Katakura (2008) Oviposition site selection by herbivorous beetles: a comparison of two thistle feeders, *Cassida rubiginosa* and *Henosepilachna*

*niponica*. *Entomol. Exper. Appl.*, 128: 41-48. 査読有.

- ⑦ Matsubayashi, K. W. and H. Katakura (2007) Unilateral mate choice causes bilateral behavioral isolation between two closely related phytophagous ladybird beetles (Coleoptera: Coccinellidae: Epilachninae). *Ethology*, 113: 686-691. 査読有.

[学会発表] (計 42 件)

- ① Matsubayashi, K. W., and H. Katakura (2009) Divergent host plant adaptation and the origin of species. 第 11 回日本進化学会大会. 札幌. 9 月 4 日.
- ② 松林圭, S. Kahono, 片倉晴雄 (2009) 好き嫌いによる種分化は何度も生じた - 極端な食草変更が導く適応放散 -. 第 56 回日本生態学会大会. 盛岡. 3 月 19 日. (進化部門最優秀賞)
- ③ 菊田尚吾, 藤山直之, 片倉晴雄 (2009) 異なる食草を利用する能力間の正の遺伝相関が食草範囲に与える影響: 現食草への適応は新食草への前適応をもたらすか. 第 56 回日本生態学会大会. 盛岡. 3 月 19 日.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

片倉 晴雄 (KATAKURA HARUO)  
北海道大学・大学院理学研究院・教授  
研究者番号: 40113542

##### (2) 研究分担者

青塚 正志 (AOTSUKA TADASHI)  
首都大学東京・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号: 40106604

中野 進 (NAKANO SUSUMU)  
広島修道大学・人間環境学部・教授  
研究者番号: 70237337

藤山 直之 (FUJIYAMA NAUYUKI)  
北海道教育大学・教育学部・准教授  
研究者番号: 90360958

加藤 徹 (KATOH TORU)  
北海道大学・大学院理学研究院・助教  
研究者番号: 80374198