

平成21年 6月 18日現在

研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2006 ~ 2008
 課題番号：18370010
 研究課題名 (和文) アリをめぐる三者絶対相利共生系における地理的共進化過程の解明
 研究課題名 (英文) Evolutionary history of ant-mediated tripartite obligate mutualism
 研究代表者
 市野 隆雄 (ITINO TAKAO)
 信州大学・理学部・教授
 研究者番号：20176291

研究成果の概要：アリ植物オオバギ属は、東南アジアの湿潤熱帯雨林に限定して分布し、幹内に共生するアリおよびカイガラムシと三者絶対相利共生系を構成している。本研究では共生アリおよびカイガラムシそれぞれについて種分化と多様化の歴史を詳細に明らかにし、共進化の地理的側面を解明した。DNA 分子系統解析の結果、両者の多様化がボルネオを中心にここ 1-2 千万年の間に起こったこと、ボルネオ以外の地域では何度も絶滅が起こり、ボルネオからの移入によって種多様性が維持されてきたこと、両者の氷期レフュジアおよび多様性の中心地はボルネオ北部の北西域の山地帯であることなどが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2007 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
総計	12,100,000	3,630,000	15,730,000

研究分野：生物間相互作用の進化

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：種間関係，共生，共進化，熱帯雨林，アリ，植物，カイガラムシ

1. 研究開始当初の背景

東南アジア熱帯雨林のアリ植物、マカランガ属 29 種は、幹内に特殊化した共生アリと共生カイガラムシをすまわせている。この三者共生系は近年、独・日・米の研究者が集中的に研究をすすめて、動植物共生系の共進化に関するモデル生物系として世界の注目を集めている (Heil and McKey 2003; Itino 2005)。我々のグループ (日・米) は、植物・共生アリ・共生カイガラムシの三者がここ約 1000 万年の間、緊密な相利共生関係を保ちながら、

同時的多様化 (co-diversification) によって適応放散してきたことを、三者の分子系統解析から明らかにした (Itino et al. 2003 など)。この研究は、高等生物の三者系において共進化の歴史の再構成に成功した、世界で初めての研究と位置づけることができる。しかしながら、このような同時的多様化 (種分化とそれに続く生態的分化) が、東南アジア全域という地理的な広がりの中でどのように起こったのか、その詳細な歴史生物地理学的解析は未だおこなわれていない。

これまで、アジアの熱帯雨林に生息する生

物についての分子系統地理学的な研究は、アメリカ熱帯のそれにくらべてきわめて少ない状態であった(Gorog et al. 2004). 本研究は、アジア熱帯雨林に生息する生物の歴史生物地理を、分子データを用いてはじめて広域的に、かつ別々のグループの生物(それぞれ10種以上)について同時解析という形で包括的にとらえようとする試みである. 一方、三者共生系の共進化についてはハキリアリと菌類(Mueller et al. 2005)およびイチジクとコバチ類(Weiblen 2004)に関する研究があるが、地理的な共進化解析はおこなわれていない.

2. 研究の目的

本研究では、共生アリと共生カイガラムシそれぞれについて東南アジア全域における分子地理系統樹を作成する. これにより、植物もふくめた三者が共生関係を保ちながら地理的にパラレルな遺伝的分化をおこしてきたのか否かを明らかにし、さらに三者が多様化した歴史地理のプロセスを、アジア熱帯雨林の拡大・縮小の歴史との関連で説明することが本研究の目的である.

3. 研究の方法

(1) サンプルング: 東南アジア各地(ボルネオ島全域、スマトラ、マレー半島)において、アリ、カイガラムシのサンプルングをおこなった. アリについては分布域全域をカバーする32地点からの433サンプル、カイガラムシについては15地点からの253サンプルを得た(ハーバード大・Swee-Peck Quek氏、京都大・市岡孝朗氏および半田千尋氏、東京大・村瀬香氏の協力による).

(2) DNA塩基配列の決定: アリ、カイガラムシのいずれにおいても、ミトコンドリアDNA(mtDNA)のチトクロームオキシダーゼIおよびII(COI, COII)遺伝子の一部をPCR法により増幅し、ダイレクトシーケンスによって塩基配列を決定した.

(3) 系統解析: 最尤法、ベイズ法、および最節約法によってアリおよびカイガラムシの系統樹を作成した. 解析にはPHYML 2.4.4, MrBayes 3.1.2, PAUP 4.0b10, Modeltest 3.7を使用した.

(4) 特異性検定: アリ mtDNA 系統-カイガラムシ mtDNA 系統-植物種の三者間における特異性をカイ二乗検定によって検定した. カイ二乗検定の信頼性はモンテカルロ・シミュレーションによって検証した.

(5) 分岐年代推定: 様々な節足動物グループにおけるCOI遺伝子の進化速度の頻度分布が約1.5%/100万年に集中していること(Quек et al. 2004)から、この進化速度を

アリとカイガラムシ最尤系統樹に当てはめ、分岐年代の推定を行った. 系統樹長は、解析ソフトウェアTreeEdit 1.0を用いたノンパラメトリック・レイト・スモーシング法(NPRS; Sanderson 1997)により測定した. 分岐年代推定では、高い確率で単系統性が支持され、さらになるべく異なる遺伝的多様性を持つ複数のノードを測定基準点として選択し、その他のノードの年代推定を行った.

(6) 移住-分断解析: カイガラムシの移住-分断の歴史を解析ソフトウェアDIVA 1.1(Ronquist 1997)を用いた移住-分断(DIVA)解析によって検証した.

4. 研究成果

(1) 共生アリの分子地理系統解析: 共生アリの多様性の起源はボルネオ島であり、多くの種が第三紀にスマトラ島を経てマレー半島へと分散したことが、第四紀における氷期のレフュジアはボルネオ島北部の北西域、およびマレー半島とスマトラ島の山岳地帯に存在し(図1)、これに対してマレー半島とスマトラ島の低地に分布するアリ集団は、ボトルネックを経て最近個体数と分布の急激な拡大をおこなった形跡があること、などが明らかになった.

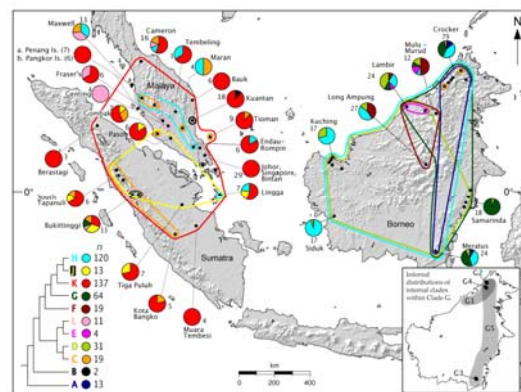


図1 *Decacrema* 亜属アリ各種の分布と系統的位. 円グラフの横にサンプルサイズと地名を示す.

(2) 共生カイガラムシの起源年代と多様化パターン: mtDNA 系統間の分岐年代の推定から、カイガラムシがオオバギーアリ共生系へ進出した起源年代が約800万年前であることを明らかにした. この年代はアリとオオバギ植物の共生が始まった時期(約2000万年前)よりも遅いことから、アリ植物とアリの共進化について従来想定されてきた仮説、すなわち「アリ植物-アリの共生系が起源するにあたって、アリに餌を提供するカイガラムシは必須の存在であり、したがって三者の共生の起源は一致するはずである」が否定される結果となった. しかし、いったん共生カイガラムシが起源して以降は、アリとの間で

の分化・多様化の時期はおおむね一致していることから、両者が密接な関係をたもちながら同時期に多様化してきたことが示された。一方、共生カイガラムシ-共生アリの mtDNA 系統レベルでの特異性は低く、アリ-植物間におけるような緊密な共種分化、地理的な共遺伝分化は検出されなかった(図2)。

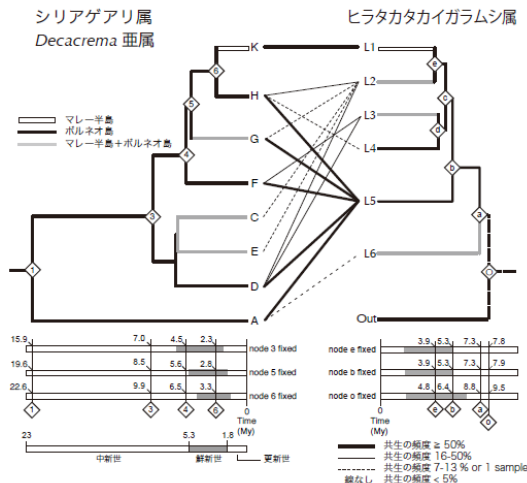


図2 カイガラムシ系統樹とアリ系統樹の比較。

(3) 共生カイガラムシの分子地理系統解析：共生カイガラムシは400万年前以降の鮮新世から更新世にかけてボルネオ島とマレー半島の間をくり返し移住したことが判明した。このようなパターンは、共生アリと共通したものである。さらに、ボルネオ北部の北西域において共生カイガラムシ系統の多様性をもっとも高いという、これも共生アリと共通の結果を得た(図3)。以上のことからボルネオ北部に氷期の避難地(レフュジア)が存在したこと、また間氷期にそこからの分布拡大が複数回起こったことが示された。

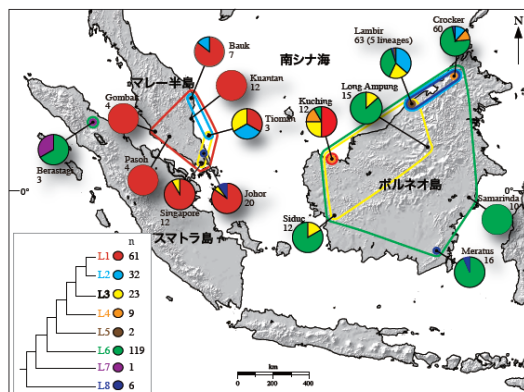


図3 カイガラムシ各系統の分布と系統的位置。円グラフの横にサンプルサイズと地名を示す。

(4) 研究成果の国内外における位置づけとインパクト：本研究で対象とした生物は

湿潤熱帯雨林に固有であるため、アジアの湿潤熱帯雨林の歴史そのものについて、本研究は一つのモデルを提示したと位置づけることができる。今後、この分野(アジアの歴史生物地理)の研究の活性化に寄与することが期待される。

本研究の系統地理解析から、ボルネオ島北部の北西域がアリおよびカイガラムシの多様性のもっとも高い地域であることが明らかになった。アリとカイガラムシで共通に観察されたこのような系統の多様性パターンは、この地域が更新世の氷期レフュジアであったことを強く示唆している。これまででも、ボルネオ島北部の北西域は、湿潤熱帯に分布する多くの植物分類群における多様性の中心地と考えられてきており(Ashton 1972)、また、霊長類における氷期レフュジアであるともされていた(Brandon-Jones 1996)。本研究の結果は、このような既知の種多様性の地理的分布を、遺伝的多様性の面からさらに強固に検証したといえる。

熱帯雨林が急激に減少している現在、湿潤熱帯雨林にしか生息できない生物群についての本研究の結果は、今後の当該地域の保全戦略を決定する上で貴重な指針を提供すると思われる。

(5) 今後の展望：本研究によって、三者共生系の地理的な多様化のパターンが明らかになった。これをふまえ、多様化(種分化)が起こったプロセス解明に今後取り組む必要がある。具体的には、今回多様性のホットスポットであることが明らかになったボルネオ北部の北西域に調査地域を絞り込み、より高精度な地理的サンプリングをおこなうことによって「共生アリの多様化(種分化)は、植物に対する寄主転換を契機として異所的に進んできた」という仮説を検証する予定である。

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、査読あり](計 3件)

- ① Ueda, S., Quek, S.-P., Itioka, T., Murase, K. and Itino, T. (in press) Phylogeography of the *Coccus* scale insects inhabiting myrmecophytic *Macaranga* plants in Southeast Asia. Population Ecology
- ② Ueda, S., Quek, S.-P., Itioka, T., Inamori, K., Sato, Y., Murase, K. and Itino, T. (2008) An ancient tripartite symbiosis of plants, ants and scale insects. Proceedings of the Royal Society B 275: 2319-2326.
- ③ Quek, S.-P., S. J. Davies, P. S. Ashton, T. Itino and N. E. Pierce (2007) The

geography of diversification in mutualistic ants: a gene's-eye view into the Neogene history of Sundaland rain forests. *Molecular Ecology* **16**: 2045-2062.

〔学会発表〕(計 11 件)

- ① 上田昇平・Quek, S.-P.・市岡孝朗・村瀬香・市野隆雄 (2009) アリ植物オオバギ属に共生するカイガラムシ類の分子系統解析. 小集会「アリに関わる生物の種間相互作用ー共生・寄生の謎に迫る」, 第 53 回日本応用動物昆虫学会大会 2009 年 3 月 29 日 北海道大学. (招待講演)
- ② 上田昇平・Quek, S.-P.・市岡孝朗・村瀬香・Kondo, T.・Gullan, P. J.・市野隆雄 (2008) アリ植物ーアリーカイガラムシ 3 者共生系の共多様化. 第 10 回日本進化学会大会 2008 年 8 月 23 日 東京大学.
- ③ 上田昇平・Quek, S.-P.・市岡孝朗・村瀬香・Kondo, T.・Gullan, P. J.・市野隆雄 (2008) アリ植物オオバギ属に共生するカイガラムシ類が多様化した歴史地理のプロセス. 日本生態学会第 55 回大会 2008 年 3 月 17 日 福岡国際会議場.
- ④ 上田昇平・Quek, S.-P.・市岡孝朗・村瀬香・Kondo, T.・Gullan, P. J.・市野隆雄 (2007) アリ植物オオバギ属に共生するカイガラムシ類の分子地理系統解析. 日本昆虫学会第 67 回大会 2007 年 9 月 16 日 神戸大学.
- ⑤ 上田昇平・Quek, S.-P.・市岡孝朗・村瀬香・Kondo, T.・Gullan, P. J.・市野隆雄 (2007) 植物ーアリーカイガラムシ 3 者共進化系の分子系統解析. 昆虫 DNA 研究会第 4 回研究集会 2007 年 5 月 3 日 信州大学. (招待講演)
- ⑥ 上田昇平・Quek, S.-P.・市岡孝朗・村瀬香・Kondo, T.・Gullan, P. J.・市野隆雄 (2007) マカランガーアリーカイガラムシ 3 者間共進化の歴史. 日本生態学会第 54 回大会 2007 年 3 月 22 日 愛媛大学.
- ⑦ Ueda, S., Quek, S.-P., Itioka, T., Murase, K., Kondo, T., Gullan, P. J. and Itino, T. (2006) Molecular phylogenetic analyses of an ant-plant-coccid symbiosis in Southeast Asian tropics. *Proceedings of Shinshu University International Symposium 2006 "Mountainous environment -past, present and future"* November 22, 2006 Shinshu University.
- ⑧ 上田昇平・Quek, S.-P.・村瀬香・市岡孝朗・Kondo, T.・Gullan, P. J.・市野隆雄 (2006) 東南アジア熱帯雨林にお

ける植物ーアリーカイガラムシ 3 者共生系の分子系統解析. 第 38 回種生物学シンポジウム 2006 年 12 月 2 日 奥琵琶湖マキノパークホテル&セミナーハウス. (招待講演)

- ⑨ 上田昇平, S.-P. Quek, 村瀬香, 市岡孝朗, T. Kondo, P. Gullan, 市野隆雄 (2006) アリ植物マカランガ属に共生するカイガラムシ類の共進化解析. 第 8 回日本進化学会東京大会 2006 年 8 月 30 日 国立オリンピック記念青少年総合センター.
- ⑩ 市野隆雄・上田昇平・S.-P. Quek・市岡孝朗 (2006) 東南アジアのアリ植物ーアリーカイガラムシ 3 者相互作用系における種多様化の歴史. 第 5 回 種子散布研究会「動植物の生物間相互作用研究の将来展望ー花粉媒介と種子散布をつなぐ」 2006 年 3 月 24 日 コープシティ花園ガレソンホール. (招待講演)
- ⑪ 上田昇平・S.-P. Quek・市岡孝朗・P. Gullan・市野隆雄 (2006) アリ植物マカランガに共生するカイガラムシ類の分子地理系統解析. Pp. 281. 日本生態学会第 53 回大会 2006 年 3 月 26 日 朱鷺メッセ.

〔図書〕(計 3 件)

- ① 市野隆雄 (2009) 生物群集の進化ー系統学的アプローチ. In: シリーズ群集生態学 第 2 巻「進化生物学からせまる」(大串隆之・近藤倫生・吉田丈人 編), 京都大学学術出版会, 京都.
- ② 市野隆雄 (2009) 植物の防御, 防御物質, アリ植物, 内生菌. In: 植物の事典 (岩槻邦男ら 編), pp. 136-140, 朝倉書店, 東京.
- ③ 市野隆雄・Swee-Peck Quek・上田昇平 (2008) アリ植物とアリー共多様化の歴史を探る. In: 共進化の生態学ー生物間相互作用が織りなす多様性 (種生物学研究第 31 号) (種生物学会編), pp. 119-150, 文一総合出版, 東京.

〔その他〕

ホームページアドレス
<http://science.shinshu-u.ac.jp/~bios/Evo/itino/itinotakao.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

市野 隆雄 (ITINO TAKAO)
信州大学・理学部・教授
研究者番号: 20176291

- (2) 研究分担者
なし
- (3) 連携研究者
なし