

令和 5 年 5 月 22 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06803

研究課題名(和文) 近縁な寄主植物への隠蔽的な局所適応が植食性昆虫の種分化を促す効果の検証

研究課題名(英文) How does the cryptic local adaptation to closely related plants promote the speciation of phytophagous insects?

研究代表者

藤山 直之 (Fujiyama, Naoyuki)

山形大学・理学部・教授

研究者番号：90360958

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)： ヤマトアザミテントウとその寄主植物であるアザミ類を対象として研究を進めた。アザミの種/地域集団に対してテントウ集団が示す選好性と成育能力に関して、様々な程度の局所適応が生じていることが明らかになった。局所適応により発達する生殖的障壁の強度の見積もったところ、生殖隔離の強度は集団間で非対称でありながら全体として0.5程度であった。テントウ集団は隠蔽的な局所適応を介した種分化の途上であると捉えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近縁な寄主植物に対して生じる昆虫の局所適応は、隠蔽的に生じることから、その普遍性や意義に関する理解が大きく遅れている。本研究では、そのような隠蔽的な局所適応がどのように生じているかを詳細に明らかにしたとともに、局所適応がどの程度昆虫集団間の生殖的障壁の発達(=種分化)を促しているかを定量的に評価することができた。

研究成果の概要(英文)： The herbivorous ladybird beetle *Henosepilachna niponica* and its host thistles (*Cirsium* spp.) were investigated as a model. Various degree of local adaptation regarding the host preference for and the developmental ability on different species/populations of thistles was detected. The estimation of strength of respective reproductive barriers resulting from the local adaptation revealed that the reproductive isolation among beetle populations was not symmetric but approximate value was 0.5 on average. Hence, the beetle populations were considered to be under the process of speciation via cryptic local adaptation.

研究分野：進化生態学

キーワード：植食性昆虫 寄主植物 局所適応 生息場所隔離 移入者の生存不能 ヤマトアザミテントウ アザミ類

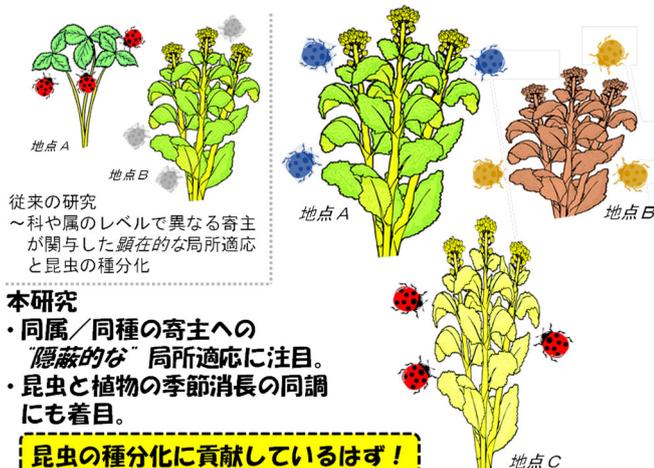
科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

異なる寄主植物への局所適応は、植食性昆虫の多様化を強く促進してきた。従来の研究では、科や属のレベルで異なる植物が関与する“顕在的な”ケースが特に注目されてきたが、局所適応は同属あるいは同種植物の地理的集団など、より近縁な寄主植物群に対しても頻繁かつ“隠蔽的に”生じることが予測される。また、昆虫と寄主植物との季節消長の同調は局所適応の重要な要素だが、その効果の理解は大きく遅れている。

### 2. 研究の目的

本研究では、東北地方に生息するヤマトアザミテントウ (以下、テントウと省略) とその寄主植物であるアザミ属の種および種内地域集団を対象に、「近縁な寄主植物に対して隠蔽的に生じる局所適応が、植食性昆虫の種分化を促進している」という仮説を、昆虫と植物の季節消長の同調も考慮しながら検証することを目的とした (図1)。野外調査と室内実験により局所適応の様相と成因を解明したうえで、網室への放虫実験により局所適応が集団間の生殖隔離障壁として作用することの実証を試みた。



**本研究**  
 ・同属/同種の寄主への  
 “隠蔽的な”局所適応に注目。  
 ・昆虫と植物の季節消長の同調  
 にも着目。

**昆虫の種分化に貢献しているはず!**

図1 本研究の概念図

### 3. 研究の方法

#### (1) 室内飼育実験による局所適応の検出

表1に示したテントウ集団を対象として実施した。各集団の雌雄成虫に、いずれか1地点のアザミの葉を与える無選択摂食実験と、いずれか2地点のアザミの葉を同時に与える選択摂食試験を実施し、各テントウ集団の成虫が各アザミに対して示す摂食受容性と摂食選好性を査定した。さらに、各集団の幼虫を各地点のアザミの葉を餌として飼育し、幼虫が各アザミ上で成育する能力を評価した。得られた結果は、Kawecki & Ebert (2004)で提唱されている2つの基準 (“local vs. foreign” および “home vs. away”) に基づいて、局所適応の発達状況という視点から解釈されたとともに、生息場所隔離および“移入者の生存不能”という2つの隔離障壁の強度として評価された。

地点	寄主となっているアザミの種
青森	ミネアザミ
秋田1	ナンブアザミ
秋田2	ダキバヒメアザミ
岩手	カタカミアザミ
山形	ナンブアザミ
福島	ナンブアザミ

#### (2) 野外調査による昆虫集団間の季節消長のずれの評価

青森、岩手、山形、福島のテントウ集団の生息地において、野外調査を定期的実施した。各地点で寄主となっているアザミ10個体程度を対象に、アザミの生育段階とテントウの発生段階を記録した。得られた結果より、地点間でアザミ類およびテントウ集団の季節消長に差異があるかを検討し、これを季節的隔離の強度の指標とした。

#### (3) 網室への放虫実験による生息場所隔離の強度の評価

項目(1)で行った飼育実験において、集団間の食性の差がもっとも顕著であると考えられたテントウの青森集団と福島集団、および、それぞれの寄主であるミネアザミとナンブアザミ (表1) を材料として実施した。実験圃場に立入型の網室 (2×2×2 m) を4基設置し、その内部にミネアザミとナンブアザミを2鉢ずつ配置した。各網室内に、テントウの青森集団と福島集団の雌雄成虫を放虫し、1日あたり2回の頻度で、網室内でのテントウの位置と産卵場所などを記録した。実験は、野外で採集した越冬成虫を用いた場合と、実験室内で羽化させた新成虫を用いた場合の2通りで実施した。各集団の成虫がどれくらいの頻度で自身の寄主上で発見されるかに基づいて、生息場所隔離の強度を定量化した。

#### (4) SSRの分析に基づく昆虫集団間の遺伝的関係の解明

先行研究で得られているテントウの全ゲノム情報に基づいて、SSR (単純反復配列) に基づく遺伝マーカーの開発を試みた。8つの候補遺伝子座を選び、そのうち多型性が高い座位を対象に、テントウ各集団の20~30個体にみられるSSRのパターンに基づいて一連の集団遺伝学的解析を試みる計画であった。集団間の遺伝的関係を解明するほか、集団間の遺伝子流動の規模を評価する計画であった。

#### (5) SNPsの分析に基づくアザミ類の系統関係の解明

各地点でテントウが寄主としているアザミ類の系統関係を、Mig-seq法により明らかにしたSNPs (一塩基多型) パターンの違いに基づいて検討した。なお、解析対象には、主に東北地方に

自生する他のアザミ類（ウゼンアザミ、トガアザミ、ハナマキアザミ、タチアザミ）も加えた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 室内飼育実験による局所適応の検出

程度は様々であったが、アザミの種間および同種地域集団間にわたって、テントウ集団の多くの組み合わせにおいて局所適応が検出された（図2）。もっとも顕著であったのは、青森集団が寄主として

いるミネアザミとそれ以外のアザミに対しての適応であり、全体として、青森集団は他地点のアザミ

類を利用する能力が比較的高かったものの、他のテントウ集団はミネアザミを利用する能力が著しく低い傾向が認められた。つまり、ミネアザミ上では局所適応の local vs. foreign 基準が満たされるケースがほとんどであると同時に、青森集団以外のテントウ集団では、ミネアザミに対して home vs. away 基準が満たされるという、非対称な局所適応が検出された。この結果は、隔離障壁のうち生態的隔離および移入者の生存不能がテントウ集団間に非対称に作用する可能性を強く示唆している。

##### (2) 野外調査による昆虫集団間の季節消長のずれの評価

各地点に出現するアザミ類の季節消長パターンには若干の差異が認められたものの、テントウ集団の消長パターンにはほぼ影響していなかった。結果として、テントウの消長パターンに明確な地点間変異は存在せず、集団間には季節的隔離が事実上作用していないことが強く示唆された。

##### (3) 網室への放虫実験による生息場所隔離の強度の評価

項目(1)の室内実験に基づく予測と一致して、網室内では、青森集団の個体は自身の寄主であるミネアザミ上のみならず、福島集団の寄主であるナンブアザミ上でも頻りに観察された。一方で、福島集団の成虫がミネアザミ上で観察される頻度は相対的に低かった。よって、生息場所隔離はテントウ集団が示す局所適応パターンに応じ、非対称に作用しているものと

考えられた。網室実験で観察された自身の寄主上で観察される相対的頻度を生息場所隔離の指標として定量化した。項目(1)で明らかにした幼虫の生存率を移入者の生存不能の定量的な指標とし、さらに、項目(2)で明らかになった季節的隔離が事実上隔離していないという結果を受け、Sobel & Chen (2014)の方法に基づいて、生態的隔離全体の強度を算出した（図3）。その結果、隔離の強度には青森集団と福島集団で著しい非対称性が認められたものの、青森集団と福島集団の隔離の強度は全体として0.5程度であると見積もられた。隔離の強度は、生殖隔離が完全な場合は1という値になることから、テントウ集団は局所適応を介し中庸の生殖隔離を示す、つまり種分化の途上にあることが強く示唆された。

##### (4) SSRの分析に基づく昆虫集団間の遺伝的関係の解明

8つの候補遺伝子座を選び、予備実験によりこれら全ての座位の配列をPCR法で増幅可能であることを確認した。その後、プライマーに蛍光タグを付加したうえで、multiplexでの配列の増幅を試みながら、これらの座位に十分な変異が生じているかの検討を開始したが、不明の要因により配列を増幅することができなかった。配列を増幅できない原因としては、サンプルDNAの質の劣化や、作業工程中の不手際など、いくつかの可能性が考えられたものの、現在までに解決に至っていない。よって、本項目に関しては研究期間中に結果を得ることができなかった。

##### (5) SNPの分析に基づくアザミ類の系統関係の解明

各地のテントウ集団が寄主としているアザミ類については、ミネアザミとその他のアザミ類が系統的に離れており別のクレードを形成すること、ダキバヒメアザミがナンブアザミとキタカミアザミにやや近縁なこと、さらに、支持率は低かったものの、キタカミアザミがナンブアザミのクレードの内部に入ることが示唆された。以上の結果は、項目(1)で明らかになった、多くのテントウ集団が低いミネアザミ利用能力を示すというテントウの食性/適応の差異と矛盾していなかった。

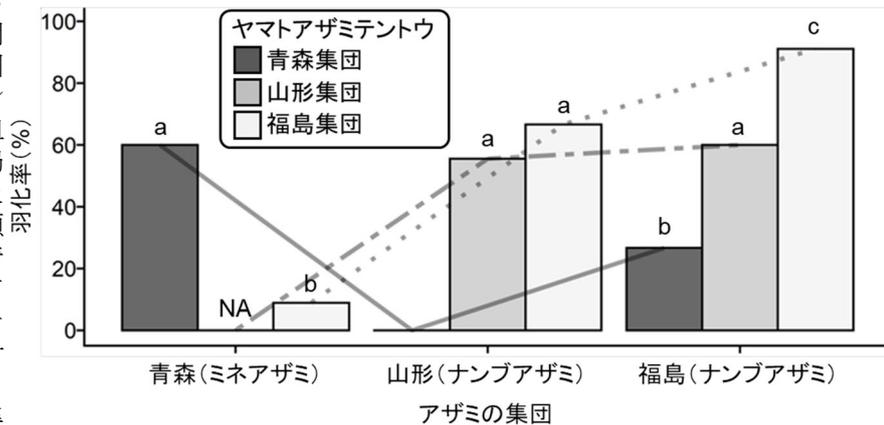


図2 幼虫飼育実験の結果の一部（2020年）



図3 網室実験の結果を中心に算出した生殖隔離の強度  
越：越冬成虫、新：新成虫。

以上の結果を総括すると、本研究では、ヤマトアザミテントウとアザミ類の系において、同属あるいは同種という近縁な寄主植物に対する隠蔽的な局所適応がどのように生じているかを詳細に明らかにすることができた。さらに、そのような局所適応がどの程度昆虫集団間の生殖的障壁の発達（＝種分化）を促しているかを定量的に評価することができた。

〈引用文献〉

- ① Kawecki TJ, Ebert D (2004) Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* **7**: 1225-1241.
- ② Sobel JM, Chen GF (2014) Unification of methods for estimating the strength of reproductive isolation. *Evolution* **68**: 1511-1522.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 藤山直之	4. 巻 77(1)
2. 論文標題 エゾアザミテントウによるコバナアザミへの局所適応	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 生物の科学 遺伝	6. 最初と最後の頁 33-39
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 無
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 Fujiyama Naoyuki, Kawasaki Jun ichi, Katakura Haruo	4. 巻 170
2. 論文標題 Cryptic local adaptation of the herbivorous ladybird beetle <i>Henosepilachna pustulosa</i> in the ability to use the thistle <i>Cirsium boreale</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Entomologia Experimentalis et Applicata	6. 最初と最後の頁 23-31
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/eea.13111	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 Naoyuki Fujiyama, Sih Kahono	4. 巻 23
2. 論文標題 A solanum beetle on a fabaceous weed: a consequence of the disappearance of an alien host plant from a habitat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Entomology (New Series)	6. 最初と最後の頁 54-58
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.20848/kontyu.23.2_54	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 藤山直之	4. 巻 54(13)
2. 論文標題 ニジュウヤホシテントウの寄主幅拡大	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 17-20
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 無
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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Naoyuki Fujiyama, Daiki Nakasone, Kei Matsubayashi, Jun Yokoyama
2. 発表標題 Local adaptation of <i>Henosepilachna niponica</i> (Coleoptera: Coccinellidae) to its host plants <i>Cirsium</i> spp. as allopatric development of ecological isolation - I. Larval development
3. 学会等名 Virtual Evolution 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Daiki Nakasone, Naoyuki Fujiyama, Kei Matsubayashi, Jun Yokoyama
2. 発表標題 Local adaptation of <i>Henosepilachna niponica</i> (Coleoptera: Coccinellidae) to its host plants <i>Cirsium</i> spp. as allopatric development of ecological isolation - II. Adult preference
3. 学会等名 Virtual Evolution 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中曽根大輝, 松林圭, 藤山直之
2. 発表標題 植食性テントウにおける寄主植物への局所適応は地点間の距離とは独立に生じている？
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中曽根大輝, 松林圭, 藤山直之
2. 発表標題 ヤマトアザミテントウにおける寄主植物への局所適応は“移入者の生存不能”として働き得るか？
3. 学会等名 日本生態学会東北地区会第65回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中曽根大輝, 松林圭, 藤山直之
2. 発表標題 ヤマトアザミテントウにおける局所適応に寄主の季節消長は関与しているのか?
3. 学会等名 第68回日本生態学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中曽根大輝, 松林圭, 藤山直之
2. 発表標題 東北地方のヤマトアザミテントウが寄主への適応において示す局所適応の様相
3. 学会等名 東北昆虫学会第2回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤山直之
2. 発表標題 アザミテントウで生じている寄主植物への隠蔽的な局所適応
3. 学会等名 日本昆虫学会第79回大会, 小集会「DNAから紐解く昆虫の不思議な世界 - 多様性の進化 - 」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中曽根大輝, 松林圭, 藤山直之
2. 発表標題 東北地方のヤマトアザミテントウによる別種・同種のアザミ集団への非対称な局所適応
3. 学会等名 第67回日本生態学会大会
4. 発表年 2020年

〔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	松林 圭  (Matsubayashi Kei)  (60528256)	九州大学・基幹教育院・助教   (17102)	
研究 分担者	横山 潤  (Yokoyama Jun)  (80272011)	山形大学・理学部・教授   (11501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------