

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16209

研究課題名(和文)コオイムシにおける生殖的形質置換とそれに伴う種分化の要因究明

研究課題名(英文)The evolutionary history and an intermediate stage of speciation of a giant water bug

研究代表者

鈴木 智也 (Suzuki, Tomoya)

信州大学・理学部・理学部博士研究員

研究者番号：30739503

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)：種分化の中間段階は、生物多様性の創出過程を理解する上で重要であり、また、興味深い現象が数多く存在する。本研究では、種分化の中間段階にある種の一例として、コオイムシ(カメムシ目、コオイムシ科)を対象に、交配実験とmtDNA、nDNA SSRおよびゲノムワイドなSNPsに基づく系統解析によりその進化史を追究した。その結果、コオイムシは日本列島に分布していた祖先系統が、ユーラシア大陸に分散(逆分散 back-dispersal)したことが示された。さらに、交配実験の結果、コオイムシは系統進化のプロセスと生殖的隔離の程度が一致しないということが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、「生物の種分化・多様化がどのようにして生じるのか?」という生物学の大きな問いを紐解くための重要なピースになると言える。加えて、生物学最大の命題である「種」の定義・概念にも一石を投じる重要な知見である。現在、最も広く受け入れられている「生物学的種概念」は「生殖的な隔離の有無」を基盤としているが、本研究課題では、系統進化のプロセスと生殖的隔離の程度が一致しないという、極めて希少かつ興味深い事象を明らかにした。「種概念」や「種分化」研究における重要な研究成果になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The intermediate stages of speciation are important for understanding the processes involved in the creation of biodiversity, and also comprise a number of interesting phenomena. In this study, I presented an example of a species in an intermediate stage of speciation using the giant water bug *Appasus japonicus* (Heteroptera, Belostomatidae) that was investigated using mating experiments and phylogenetic analyses of the mtDNA, and nDNA SSR and its genome-wide SNPs. The results suggested that their ancestral lineage which being distributed in the Japanese Archipelago subsequently migrated to the Eurasian Continent (i.e., “back-dispersal” occurred). Furthermore, the results of the mating experiments suggested that among *A. japonicus*, even between closely related lineages, pre-mating reproductive isolation has been established by the differentiation of copulatory organ morphologies.

研究分野：進化生物学

キーワード：種分化 コオイムシ 分子系統解析 交配実験 生殖隔離

1. 研究開始当初の背景

生物の種分化・多様化がどのようにして生じるのかは、多くの研究者が取り組む重要な課題である。しかし、その要因を明確に示すことは困難であり、長年の課題として扱われている。本研究では、生物の種分化要因を追究する材料としてコオイムシに着目した。

コオイムシはメスがオスの背に産卵し、オスが卵塊を背負いながら孵化まで世話をを行う水生のカメムシの仲間である (図 1)。研究代表者は 2005 年からコオイムシを対象とした進化・生態学的研究に取り組み、ミトコンドリア DNA の分子系統解析で日本列島には遺伝的に大きく分化した 2 つの系統が分布しており、この 2 つの系統が祖先的なグループを構成すること、大陸の系統が最も派生的な系統であることから、コオイムシが日本列島から大陸へ逆分散していた可能性を示唆した (Suzuki *et al.*, 2014)。また、コオイムシのオスの交尾器形態が日本列島集団と大陸集団では異なることを明らかにしてきた (Suzuki *et al.*, 2013; 図 2)。

2. 研究の目的

上記のような背景から本研究では、交尾器形態の異なる日本列島集団と大陸集団では交配が可能か? という点に着目し、分子系統地理学的データと合わせることで生物の種分化機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 分子系統地理学的研究

これまでの研究から、広島県三原市ではミトコンドリア DNA の解析に基づく 2 系統が混生しており、日本列島内で遺伝的分化が生じた系統間の二次的接触が生じたことが示唆されていた。そこで本研究では、まず日本列島内でのミトコンドリア DNA 系統間の二次的接触の中心地域を確認するため、中国地方のサンプルを新たに追加解析した。さらに、本研究では核 DNA の分子系統解析を実施するに当たり、核 DNA 中に多数存在する一塩基多型 (SNPs) のデータを用いた。SNPs の探索にはいくつかの方法があるが、本研究では GRAS-Di 法を採用した。GRAS-Di 法はトヨタ自動車株式会社が開発した新規解技術で、比較的低コストで大量の SNPs を探索することが可能である。この手法を導入したことで、11,241 箇所 SNPs を探索することに成功し、このデータセットを用いて分子系統解析を実施した。

(2) 交配実験

本研究では、オスの交尾器形態が異なるコオイムシの日本列島集団と大陸集団間で交配が可能か否かについて、交配実験を実施して確認した。研究グループでは約 6 年前から様々な遺伝系統群を継代飼育しており、今回の交配実験に際しては、ミトコンドリア DNA の系統解析において遺伝的に大きく分化していることが明らかとなっていた 3 つの系統 (Clade I, II, III; 図 3) について未交尾のメスを準備した。その上で、3 つの系統の全ての組み合わせで 10 反復の交配実験を実施した。



図 1. コオイムシの成虫 (右は卵塊を背負っているオス)。

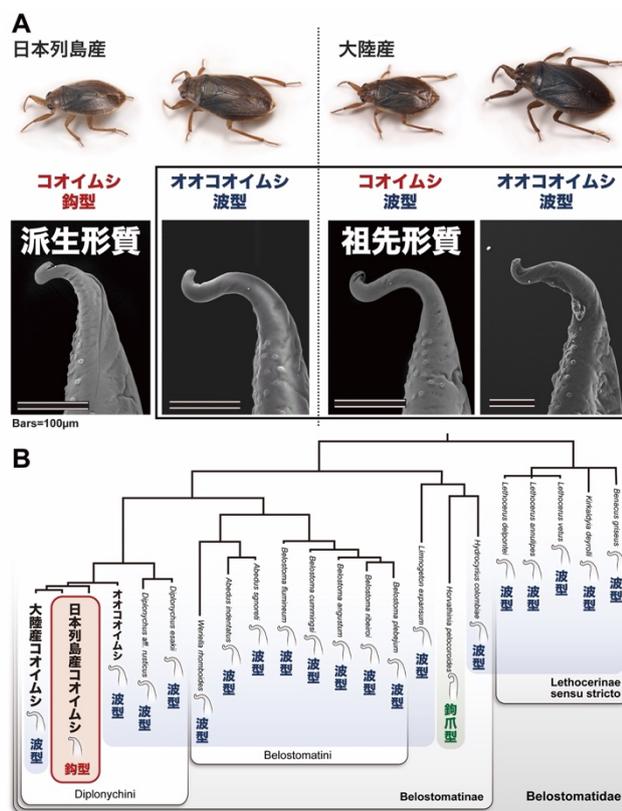


図 2. 日本列島産コオイムシとオオコオイムシ、朝鮮半島 (大陸) 産コオイムシとオオコオイムシの交尾器形態 (A) と、コオイムシ科の系統関係に交尾器形態をマッピングした結果 (B). 日本列島産コオイムシの交尾器形態 (鉤型) は近縁種のオオコオイムシやコオイムシ科の別種と比較して特殊であることから、派生的な形質であると考えられる。

4. 研究成果

ミトコンドリア DNA 系統間の二次的接触の中心地域を確認するため、中国地方のサンプルを新たに解析した結果、山口県柳井市周辺がミトコンドリア DNA 系統の二次的接触の中心地域であることが明らかとなった (図 3)。さらに、核 DNA の SNPs データを用いて解析した結果、大陸系統が西日本の系統 (Clade II) と似た遺伝的要素を共有していることが明らかとなった (図 4)。

また、各ミトコンドリア DNA 系統間の交配実験を実施した結果、大陸産のオスは日本列島産のメスと交尾が可能であるものの、逆の組み合わせ (日本列島産のオスと大陸産のメス) では交尾を試みるものの精子の受け渡しができず (交尾器の形態が異なることが原因)、交配が不可能であることが明らかとなった (図 5)。また、大陸産のオスと日本列島産のメスの組み合わせでは、交尾後の卵の発生・孵化も正常に進むことから、日本列島と大陸の集団間には不完全な生殖隔離機構が成立していることが明らかとなった (図 5)。一方で、日本列島内においてミトコンドリア DNA に基づく解析から遺伝的に大きく分化している 2 系統 (Clade I, II) 間では、何れの組み合わせにおいても正常に交配が可能であることが確認された。

以上の結果から、コオイムシでは日本列島から大陸への逆分散が生じた後、日本列島内で交尾器に変異が生じ、日本列島内における系統間の交雑によって派生的な交尾器形態が固定されたと考えられる。また、この交尾器形態の変異が引き金となって日本列島と大陸の集団間の不完全な生殖隔離機構が成立しており、コオイムシは現在、新たな種分化の途中段階にあると考えられる (図 6)。

本研究の成果は、「生物の種分化・多様化がどのようにして生じるのか？」という生物学の大きな問いを紐解くための重要なピースになると言える。加えて、生物学最大の命題である「種」の定義・概念にも一石を投じる重要な知見である。現在、最も広く受け入れられている「生物学的種概念」は「生殖的な隔離の有無」を基盤としているが、この研究では、系統進化のプロセスと生殖的隔離の程度が一致しないという、極めて希少かつ興味深い事象を明らかにした。「種概念」や「種分化」研究における重要な研究成果になると考えられる。

<引用文献>

Suzuki T, Kitano T, Tojo K (2014) Contrasting genetic structure of closely related giant water bugs: Phylogeography of *Appasus japonicus* and *Appasus major* (Insecta: Heteroptera, Belostomatidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 72: 7–16.

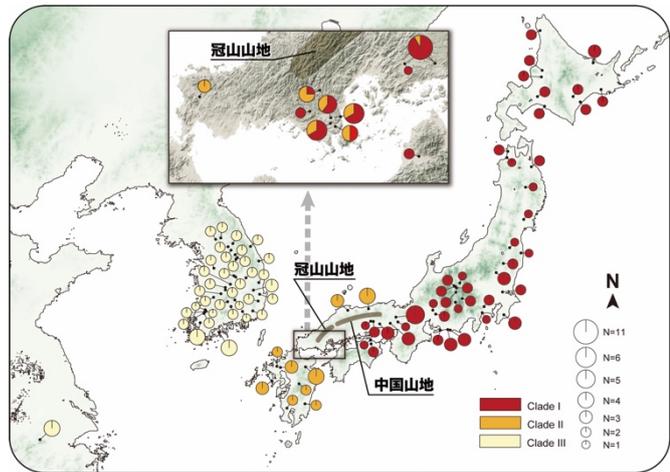


図 3. ミトコンドリア DNA の解析結果. 中国地方で Clade I と Clade II が混生している。

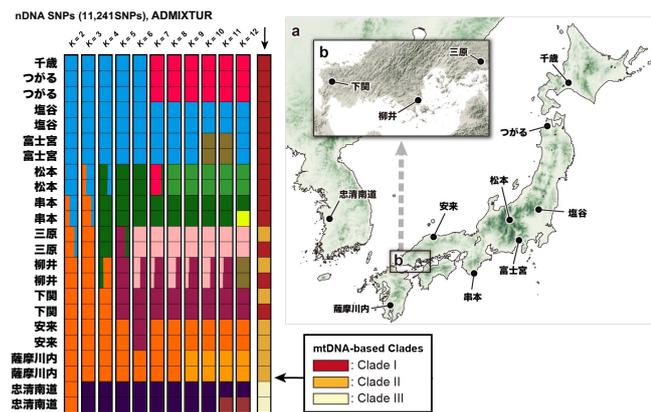


図 4. 核 DNA (SNPs) の解析結果。

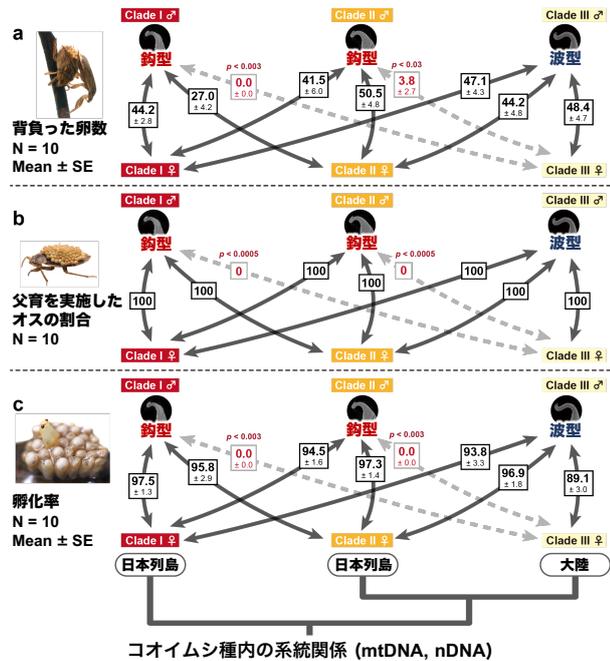


図 5. 各系統間の解析結果。

Suzuki T, Tanizawa T, Sekiné K, Kunimi J, Tojo K (2013) Morphological and genetic relationship of two closely-related giant water bugs: *Appasus japonicus* Vuillefroy and *Appasus major* Esaki (Heteroptera: Belostomatidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 110: 615–643.



図 6. 本研究から明らかになったコオイムシの進化史.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suzuki Tomoya, Hirao Akira S., Takenaka Masaki, Yano Koki, Tojo Koji	4. 巻 95
2. 論文標題 Development of microsatellite markers for a giant water bug, <i>Appasus japonicus</i> , distributed in East Asia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes & Genetic Systems	6. 最初と最後の頁 323 ~ 329
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1266/ggs.20-00033	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 -

1. 著者名 Suzuki Tomoya, Yano Koki, Ohba Shin ya, Kawano Keisuke, Sekin? Kazuki, Bae Yeon Jae, Tojo Koji	4. 巻 30
2. 論文標題 Genome wide molecular phylogenetic analyses and mating experiments which reveal the evolutionary history and an intermediate stage of speciation of a giant water bug	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Ecology	6. 最初と最後の頁 5179 ~ 5195
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/mec.16120	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木智也
2. 発表標題 SSRマーカーによる親子判定から探るコオイムシの繁殖戦略
3. 学会等名 第68回日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木智也, 谷野宏樹, 東城幸治
2. 発表標題 コオイムシを対象にした GRAS-Di 技術による SNPs 探索と系統解析結果
3. 学会等名 第465回水生昆虫談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木智也, 東城幸治
2. 発表標題 父性解析から見るコオイムシの繁殖戦略 - 「やり逃げ」オスはいるか? -
3. 学会等名 第1回進化学若手の会「あつまれへんないきざま」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木智也, 鈴木信夫, 東城幸治
2. 発表標題 イシノミ目昆虫の分子系統地理 - そのポテンシャルと単為生殖集団の起源 -
3. 学会等名 第31回信州昆虫学会 (信越昆虫研究会 2020年合同大会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木智也, 鈴木信夫, 東城幸治
2. 発表標題 世界初・イシノミ目昆虫における分子系統地理学的研究
3. 学会等名 第459回水生昆虫談話会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木智也・東城幸治
2. 発表標題 SSRマーカーを用いたコオイムシの父性と「やり逃げ」オスの存在検証
3. 学会等名 第79回日本昆虫学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木智也・東城幸治
2. 発表標題 父性解析から探るコオイムシの繁殖戦略 - 「やり逃げ」オスはいるか? -
3. 学会等名 第67回日本生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木智也・谷野宏樹・大庭伸也・川野敬介・関根一希・Bae Yeon Jae・東城幸治
2. 発表標題 ゲノムワイドな系統解析から明らかになったコオイムシの進化史
3. 学会等名 第81回日本昆虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木智也・竹中將起・西川勝・東城幸治
2. 発表標題 日本のオオハサミムシはどこから来たのか?
3. 学会等名 第17回昆虫DNA研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木智也・久原直利・東城幸治
2. 発表標題 ノザキタニガワトビケラ (トビケラ目, カワトビケラ科) における種内系統間の二次的接触による生殖的形質置換の可能性
3. 学会等名 第32回信州昆虫学会
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

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		
韓国	高麗大学	韓国国立生物資源研究所	