

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03312

研究課題名(和文) 交尾器形態の差異はどのような種分化段階から現れるのか：小型蛾類を用いたアプローチ

研究課題名(英文) At what stage of speciation do differences emerge in genitalia: an approach using micro moths

研究代表者

大島 一正 (Ohshima, Issei)

京都府立大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：50466455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：普段我々が用いている「種」という単位は、形態差に基づいて定義されている場合がほとんどである。一方、種分化の研究では隔離機構の有無や遺伝的交流の程度が重視されてきた。よって、定義上も実際の分化の程度にも大きな隔りがある分類基準が混在している状況にある。そこで本研究では、交配能力とゲノム分化を指標として、どの程度種分化が進行すれば交尾器形態に別種相当の分化が生じるのかを研究した。その結果、寄主植物への適応などは種分化の初期に生じ、それに引き続いて交配能力の分化が生じることが示唆された。しかしながら、交尾器形態における分化は、これらの分類指標の中では最も遅く生じることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「種」という概念は、我々が日常で生物に関する情報をやりとりをする上でも不可欠なものである。ただし、多くの種は形態的な違いに基づいて定義されてきたが、この「形態差」がみられるという段階がどの程度生物どうしとして分化した状態であるのかは、ほとんど調べられてこなかった。そのため、ごく些細な形態差で区別された種などは、その形態差が本当に種の分化を示しているのかという疑問は、生物の愛好者を含め多くの人が抱く疑問であった。本研究により、昆虫においては、微細であっても質的な形態差は種分化のかなり後半で生じることが示唆され、このような形態差が見られる分類群間には他の生殖隔離も生じていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The unit "species" that we usually use is almost always defined based on morphological differences. In contrast, studies of speciation have focused on the presence or absence of isolating mechanisms and the degree of gene flow. Therefore, there is a mixture of species criteria with large gaps in both the definition and the actual degree of diversification. Therefore, in this study, we used mating ability and genomic differentiation as indices, and investigate at what stage of speciation do differences emerge in genitalia. As a result, it was suggested that adaptation to host plants occurred in the early stage of speciation, followed by differentiation of mating ability. However, differentiation in genital morphology was suggested to occur the latest stage of speciation.

研究分野：進化生物学

キーワード：種分化 昆虫 種分類

1. 研究開始当初の背景

分類学では、形質の不連続性が種分類において重視されており、昆虫の種分類においては、オス交尾器の質的な差異が特に重視されてきた。その一方で種分化の研究では、形態的な不連続性ではなく、遺伝的な交流を妨げる隔離機構の強弱や遺伝子流動の程度から種分化の進行具合を議論してきた。よって、種分化研究で使われているような基準を適用すると、より初期段階の分類基準で種を区別することになり、種として認識される集団は現状よりもはるかに細くなる。では、分類学が基準としてきたような交尾器形態の差異は、どのような分化段階に達した集団間に現れるのだろうか。

交尾器形態の差異に性選択が働き、lock-and-key のようなメカニズムで直接的に隔離機構として働く場合は、種分化を主導する形質として比較的分化の初期段階から現れると考えられるが、遺伝的交流が途絶えていく中での副産物の一つとして形態差が生じる場合は、分化の初期から現れることは少ないであろう。しかし、生態的な差異や交配前隔離、各集団の単系統性、といった他の分類基準と比べた際、交尾器形態の差異がどの程度分化しやすい尺度であるのか、そして各分類基準が蓄積される順序に傾向があるのか、といった点は依然として大部分が未解明である。

この理由の一つは、種分化研究が分化のごく初期にある集団どうしを主な対象としてきたためである。しかし、大部分の既記載種が形態差で定義されている以上、今後の種分化研究では「分化のごく初期段階から、分類学者が別種と判断するような形態差が生じる段階まで」を通して扱うことが必要といえる。

さらに近年、DNA バーコーディングと呼ばれる手法が普及したことにより、動物ではミトコンドリア COI 遺伝子の部分配列が種分類の基準として頻繁に使われている。この手法は、単位時間あたりの処理能力には優れているが、このような単一遺伝子座に基づく分類が従来の形態を用いた分類とどの程度整合性が取れているかについては、まだ十分に理解されていない。この点を解決するには、単に両基準での分類結果を比較するだけでなく、生態的な差異や交配能力といった他の分類基準も交えた上で、両基準の相対的な分化のしやすさを理解する必要がある。

2. 研究の目的

普段我々が用いている「種」という単位は、伝統的な分類学により形態差に基づいて定義されている場合がほとんどである。一方、種分化研究では隔離機構の有無や遺伝的交流の程度が重視され、形態差が必ずしも考慮されてきたわけではない。さらに DNA バーコーディングの普及により、定義上も実際の分化の程度にも大きな隔たりがある分類基準が混在している状況にある。そこで本研究では、基準間での矛盾が見られる分類群を対象に、交配能力とゲノム分化を指標として、どの程度種分化が進行すれば交尾器形態に別種相当の分化が生じるのか、そしてバーコーディング領域の分化と比べて進行する順序に傾向があるのかを解明する。

3. 研究の方法

日本国内に分布するホソガ科で、バーコーディングの結果と交尾器形態の差異に矛盾が見られる集団内と集団間での交配実験を行い、配偶行動の互換性と実験後のメス交尾器における精包の有無を調べ、形態差と COI のどちらがより交配能力の互換性と相関があるかを調べた。実施

期間を通じて、新型コロナウイルスの影響で野外調査(他の都道府県や海外)が制限されたため、研究機関である京都府立大学の周辺でも採集できる「フジホソガ種群のフジ上集団とアサ科(ムクノキ, アキニレ, ケヤキ)上集団」を中心に実験を遂行した(一部の実験に関しては、奇跡的に緊急事態宣言が解除されていた2021年の4月上旬に、1度だけ琉球列島だけに分布するフジホソガのサキシマフヨウ上集団とウヅルカンダ上集団も使用した)。フジホソガ種群には、交尾器に質的な形態差は見られないが、バーコーディング領域には明瞭な分化が見られるため、1) オス交尾器の把握器や挿入器に、長さや幾何学的構造に統計的に有意な量的差異が見られるか、2) ゲノムワイドな遺伝マーカーを用いてもこれらの寄主上集団どうしは明瞭に区別されるかも検証した。

4. 研究成果

(1) 交配実験

フジホソガ種群の「フジ上集団」と「アサ科・ニレ科(ムクノキ, アキニレ, ケヤキ)上集団」間で交配実験を行った結果、交尾器には通常分類学者が記載分類時に別種相当と認めるほどの形態差が全く見られない集団間でも、有意に交配率が下がる交雑組み合わせが見られることと、交雑の起こりやすさに交配の方向に関して非対称性が見られることがわかった。「フジ上集団」と「アサ科・ニレ科(ムクノキ, アキニレ, ケヤキ)上集団」間で、交配に対する活性が異なることが判明し、この交配活性も非対称的な交雑の一因になっていることが示唆された。

(2) 配偶行動の互換性

赤外線カメラを用いた暗視野観察システムを構築し、通常では飼育室が暗期で肉眼や通常の明視野カメラでは観察が不能な時間帯に行われる配偶行動を観察する手法を開発した。これにより、配偶行動時のメス個体のコーリング開始時刻やそれに対するオス個体の反応開始時刻といったデータの取得が可能となり、「フジ上集団」と「アサ科・ニレ科(ムクノキ, アキニレ, ケヤキ)上集団」間で配偶行動の開始時刻に有意差があることを突き止めた。さらに、サンプリングに好適な時期に緊急事態宣言がたまたま解除されていた2021年の4月上旬に、1度だけ沖縄県にてフジホソガの採集を行い、同地方だけに分布するサキシマフヨウ上集団とウヅルカンダ上集団を得ることができた。暗視野行動観察システムを用いて解析した結果、フジホソガに含まれる4つの寄主上集団に関して、配偶行動が生じる時間を調べることに成功し、フジホソガ種内で交配時間がどのように変遷してきたのかを、系統解析の結果と合わせて推定することに成功した。

(3) COI バーコーディング領域およびゲノムワイドなマーカーを用いた系統解析と集団構造の推定

COI バーコーディング領域を用いて「フジ上集団」と「アサ科・ニレ科上集団」、「サキシマフヨウ上集団」、「ウヅルカンダ上集団」に外群を加えた系統解析を行い、フジホソガにおける寄主転換の進化系列を推定した。さらに、Restriction-site Associated DNA Sequence (RAD-seq)を用いてゲノム全体としての分化の傾向を解析したところ、RAD markers を用いた系統推定でも上記の4寄主上集団は明瞭に区別された。さらに、集団遺伝学的なクラスタリング解析を行ったところ、各個体がそれぞれの寄主上集団として正しく推定されただけでなく、雑種と考えられるようなゲノム構成を示した個体はほとんど検出されなかった。

(4) 量的な形態比較

フジホソガの4つの寄主上集団に関して、硬化部が多く、再現性の高いランドマークを使用できるオス交尾器と前翅の翅脈を用いて、幾何学的な形態比較を行った。その結果、各集団間には何かしらの形態的な差異が検出されたが、その多寡や差異の大小には、系統的な距離との相関はみられなかった。

以上をまとめると、これまで分類学で重要視されてきたような交尾器形質における質的な差異が現れるのは種分化の最終段階であり、その時点では、各生殖隔離も完全ではないにしろかなり発達していると予想される。また、COI バーコーディング領域における分化は、交尾器形質における質的な差異が確立する前に生じることもあると考えられ、中立なゲノム領域にもゲノムワイドな分化が既に生じている可能性が高いと言える。以上から、分類学で重要視されてきたような質的な交尾器形質の差異は、例えそれが些細な形態的な差異であっても、対象としている分類群が種分化の最終段階に至りつつあることを示している可能性があり、重要な種分類形質であると考えられる。

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Li Xuankun, St Laurent Ryan, Earl Chandra, Doorenweerd Camiel, Nieuwerkerken Erik J., Davis Donald R., Johns Chris A., Kawakita Atsushi, Kobayashi Shigeki, Zwick Andreas, Lopez Vaamonde Carlos, Ohshima Issei, Kawahara Akito Y.	4. 巻 38
2. 論文標題 Phylogeny of gracillariid leaf mining moths: evolution of larval behaviour inferred from phylogenomic and Sanger data	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cladistics	6. 最初と最後の頁 277-300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cla.12490	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 該当する

1. 著者名 Katte Tomoko, Shimoda Shota, Kobayashi Takuya, Wada-Katsumata Ayako, Nishida Ritsuo, Ohshima Issei, Ono Hajime	4. 巻 12
2. 論文標題 Oviposition stimulants underlying different preferences between host races in the leaf-mining moth <i>Acrocercops transecta</i> (Lepidoptera: Gracillariidae)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14498
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-18238-0	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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中康湧, 大島一正
2. 発表標題 種分化過程における各分類形質と隔離障壁の蓄積プロセス
3. 学会等名 日本進化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 勝部圭, 田中康湧, 大島一正
2. 発表標題 フジホソガのサキシマフヨウ上集団とイルカンダ上集団間における交配親和性
3. 学会等名 日本昆虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中康湧, 大島一正
2. 発表標題 分類基準間での矛盾からひも解く種分化の時系列
3. 学会等名 日本昆虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 康湧、山本 格、大島 一正
2. 発表標題 Mating compatibilities among populations showing distinct barcode sequences and host associations but without morphological differences
3. 学会等名 日本進化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島一正
2. 発表標題 葉の中をリノベする：ホソガ科リーフマイナーによる植物操作の生態的意義と進化的起源
3. 学会等名 日本生態学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 勝部圭, 大島一正
2. 発表標題 フジホソガの寄主上集団間で非対称な交配が生じる要因に配偶行動の観察から迫る
3. 学会等名 関#11972; 昆虫学研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Carlos Lopez-Vaamonde, Natalia Kirichenko, Issei Ohshima	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 600
3. 書名 Measuring Arthropod Biodiversity	

〔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			
	米国	University of Florida	University of Hawaii	Smithsonian Institution
フランス	CNRS	INRA	University of Tours	