

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21570012

研究課題名（和文）飛ばないアリ共生型アブラムシの翅形成と維持に関する研究

研究課題名（英文）Studies on formation and maintenance of wings in flightless ant-attended aphids

研究代表者 八尾 泉（YAO IZUMI）

北海道大学・大学院農学研究院・研究員

研究者番号：70374204

研究成果の概要（和文）：*Tuberculatus* 属アブラムシにおいて、アリと共生する種は、アリと共生しない種に比べて、翅や飛翔筋の発達が弱かった。またアリ共生種 *T. quercicola* は、アリがいる・いないに応じて、飛翔筋が細くなったり太くなったりする可塑性を持っていた。アリ共生型アブラムシは飛ぶことよりも、体を大型化し、産子数を増加させる方向に進化し、アリと共生しないアブラムシは少数の子供を少しずつ産み、次から次へと飛んでいく方向に進化したと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Wing size and flight muscle of ant-attended *Tuberculatus* aphids exhibited weak development than those of non ant-attended *Tuberculatus* aphids. Moreover, *T. quercicola* exhibited reduced flight muscle development under ant attendance. These results suggested that ant-attended aphids have increased embryo numbers rather than flight in their course of evolution. In contrast, non ant-attended aphids have evolved flight behavior rather than increase in embryo numbers.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2009年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 2010年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 2011年度 | 400,000 | 120,000 | 520,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 2,000,000 | 600,000 | 2,600,000 |

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：アブラムシ・アリ共生・飛翔・翅・飛翔筋・種間比較・*Tuberculatus* 属

1. 研究開始当初の背景

(1) アリと共生する *Tuberculatus* 属アブラムシ内に、翅を持っているにも関わらずほとんど飛ばない種がいることが、先行研究から明らかになった。

(2) アリ共生型の一種 *T. quercicola* と非共生型の一種 *T. paiki* を野外で飼育した結果、

T. quercicola は *T. paiki* に比べ、多数の胚子数を持っていた。

(3) 昆虫類には、同種内に翅二型性を示すものが多く見られ、無翅型は産卵開始時期が早く、産卵数が多い。一方、有翅型は産卵開始時期が遅く、産卵数も少ない。これらは飛翔と産卵数のトレードオフと考えられている。

る。

(4) *Tuberculatus* 属に翅二型性はないが、飛翔と産子数の間には翅二型性昆虫と同様のトレードオフが予想される。

(5) 翅や飛翔筋などは飛翔器官と総称され、その形成や維持にはコストがかかることが知られている。飛ばないアリ共生型アブラムシにとって飛翔器官は大きなコストと考えられ、飛翔器官の発達度合いは非共生型に比べ、弱いことが予想される。またアリ共生型 *T. quercicola* は、アリ共生によって直接的に飛翔器官が負の影響を受けていると考えられる。

2. 研究の目的

(1) アリ共生型 *T. quercicola* と非共生型 *T. paiki* の2種に対して、体サイズ、wing loading (翅面積に対する体サイズ比)、飛翔筋発達度合い、脂質含有量を測定し、比較した。

(2) 日本国内に分布している *Tuberculatus* 属20種 (アリ共生型9種、非共生型11種) のwing loading を測定し、アリ共生との相関を調べた。相関を調べる際に、*Tuberculatus* 属20種の系統関係を考慮した方法を用いた。

(3) アリ共生型 *T. quercicola* は、アリ共生下で直接的に飛翔器官の発達に影響を受けているのか、あるいは全く影響を受けていないのかを調べた。

(4) アブラムシは吸汁性昆虫なので、寄主植物の栄養劣化の影響を受けることが分かっている。アリ共生型 *T. quercicola* の有翅雌と有翅雄における飛翔器官の発達度合いは寄主植物カシワの季節による栄養劣化の影響を受けているどうかを調べた。また、これまで有翅雄に関しては飛翔器官のデータがほとんど無かった。これは発生期間が約1か月間と短い上に、個体数も少ないことが理由として挙げられる。本研究では、有翅雄の翅面積と飛翔筋の発達度合いを同時期の有翅雌と比較した。

3. 研究の方法

(1) *T. quercicola* と *T. paiki* (図1) を野外で飼育した。飼育にはY字型に分かれたカシワの枝を選び、葉を一枚だけ残し、残りは切除した。両種1匹ずつを葉上に導入し、メッシュ袋をかけた。*T. quercicola* の方には、アリが通れるように枝にプラスチックチューブを2本取り付けた。両種ともに4齢幼虫と有翅虫の

ステージになったときにサンプリングした。



(図1) *T. quercicola* (上)と *T. paiki* (下)

①体サイズと翅面積：アブラムシを回転体と見なし、体長と体幅から体積を算出した。翅面積は、実体顕微鏡にデジタルスコープを取り付け、撮影し、画像解析ソフトで測定した。体サイズと翅面積より wing loading (翅面積に対する体サイズ比) を算出し、比較に用いた。

②脂質含有量：有翅虫を56°C3時間インキュベートし、超マイクロ天秤 SE-2(ザルトリウス製)を用いて乾燥重量を測定した。重量測定後に、脂質抽出用の有機溶媒 (クロロホルム/メタノール=2:1(v/v)) 内で虫体をすりつぶした。抽出した脂質はイアトロスキャン (三菱ケミカルメディエンス製) と内部標準試薬を用いて重量を測定した。アブラムシの乾燥重量に対する脂質重量の割合を比較に用いた。

③飛翔筋：アブラムシをエタノールとキシレンで脱水後にパラフィン包埋し、マイクロトームを用いて、頭部から尾部の方向に6-8 μmの厚さで輪切りした切片を作成した。切片はヘマトキシリン-エオシン染色を行い、デジタル撮影後に画像解析ソフトを使用して、胸部面積に対する飛翔筋の割合を算出した。

(2) *Tuberculatus* 属アブラムシ20種それぞれの体サイズと翅面積を計測し、wing loading を算出した。

①wing loading : 計測には、平均40匹/種を使用した。体サイズは回転体として体積を算出し、翅面積は菱形と近似し、翅の長径と短径から面積を算出した。Wing loading は、体積/翅面積として計算した。

②分子系統樹:ミトコンドリアの2領域, COI (940 塩基対) と ND1 (377 塩基対), の計 1317 塩基対をシーケンスし, 近隣結合法, 再節約法, 最尤法, そしてベイズ法の 4 つの樹形探索法で系統樹を構築した。

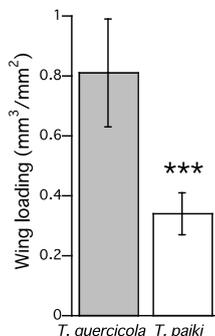
③種間比較: 系統間の影響を除去するために, 独立対比法を使用した。従属変数は wingloading とし, 独立変数はアリ共生の有無 (有を 1, 無を 0 とコーディングした) とした。

(3) (1) と同様の方法で, *T. quercicola* をアリがいる・いないという 2 条件下で飼育した。有翅虫をパラフィン包埋し, (1) -③と同様に飛翔筋の発達度合いを定量化し, 2 条件で比較した。飛翔筋を含む飛翔器官のデータは体長によって補正し, 共分散分析を行った。

(4) *T. quercicola* を野外でメッシュ袋を用いて飼育し, 7-10 月にかけてサンプリングした。9 月中旬からは有翅雄もサンプリングした。有翅雌については, 月ごとの比較を行った。9 月の有翅雌については, 同じ葉からサンプリングされた有翅雄との比較も行った。アブラムシはパラフィン包埋し, 飛翔筋の定量化を行った。また, どの程度有翅雄が飛んでいるのかをトラップを設置して調査した。

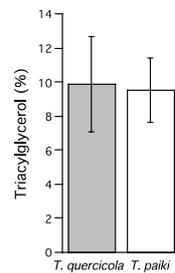
4. 研究成果

(1) ①非共生型 *T. paiki* は, アリ共生型 *T. quercicola* に比べて, 4 齢幼虫から有翅虫へと羽化する際に, 体型がスリムになり, 飛翔に適した体制になっていると考えられた。Wing loading は, *T. quercicola* が大きな値を示し, 物理的に飛びにくい体型になっていた (図 2)。



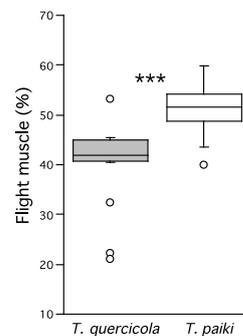
(図 2) *T. quercicola* (灰) と *T. paiki* (白) の wing loading の比較. $n = 16$ ペア, wilcoxon's signed-rank test, *** $P = 0.0005$

②相対的な脂質含有量は, 両種で有意差はなかった (図 3)。



(図 3) *T. quercicola* (灰) と *T. paiki* (白) の相対脂質重量の比較. $n = 22$ ペア, wilcoxon's signed-rank test, *** $P = 0.41$

③相対的な飛翔筋発達度合いは, 非共生型の *T. paiki* の方が大きかった (図 4)。

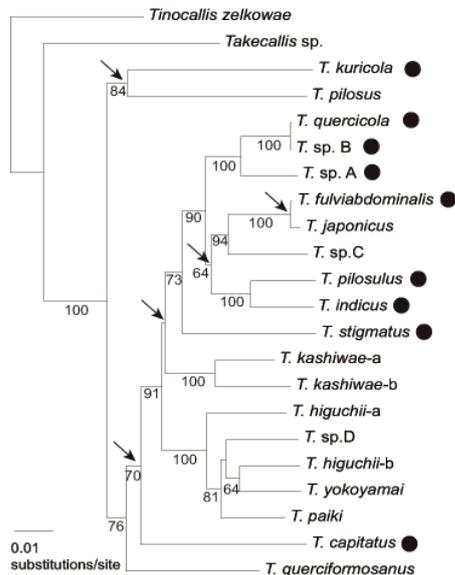


(図 4) *T. quercicola* (灰) と *T. paiki* (白) の飛翔筋の発達度合いの比較. $n = 16$ ペア, wilcoxon's signed-rank test, *** $P = 0.0005$

以上の結果をまとめると, アリ共生型 *T. quercicola* は, 胚子数増加のために体が大型化し, wing loading が大きくなった結果, ほとんど飛ばないように進化してきたと考えられる。一方, *T. paiki* は, 一腹の胚子数が少ないことから, wing loading が小さかった。*T. paiki* は, 少数の子供を産子し, 次から次へと飛んでいく方向に進化してきたと考えられる。

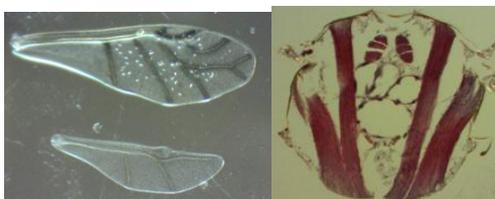
(2) 4 つの分子系統樹のうち, 近隣結合法, 再節約法, そして最尤法に基づいた系統樹は, *Tuberculatus* 属アブラムシの進化過程で, アリ共生の獲得や損失が少なくとも 5 回独立に進化したことを示した (図 5)。独立対比法の結果, wing loading はアリ共生と有意に相関があることが明らかになった。ベイズ法は多分岐となり, その後の独立対比法は使用

できなかった。この結果より、アリと共生する *Tuberculatus* 属アブラムシは、体サイズに比して翅が小さいことがより強固に支持され、物理的に飛びにくい体型であるということが示唆された。

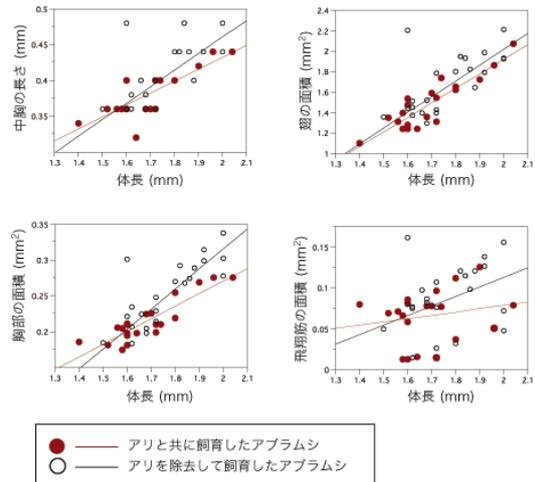


(図5) *Tuberculatus* 属20種の分子系統樹。近隣結合法による系統樹のみを示す。黒丸はアリと共生している種を表す。矢印はアリ共生を獲得または喪失した分岐点を示す。枝下の数値はブートストラップ値を示す。

(3) アリ共生下で飼育したアブラムシの翅面積(図6)、中胸および飛翔筋(図6)の発達度合いは、アリ除去下のそれらに比べ、有意に小さかった(図7)。これらの結果は、*T. quercicola* はアリがいると、飛翔器官への栄養投資を割いていることを意味している。アリによって牧畜化されている *T. quercicola* にとって、飛ぶための飛翔器官から栄養を割くことは適応的であると考えられる。



(図6) *T. quercicola* の翅(左)と飛翔筋(右)。赤紫色に染色されている部分が飛翔筋を示す。



(図7) アリ共生・アリ除去して飼育したアブラムシの飛翔器官の比較。

(4) 季節進行とともに、有翅雌の翅面積には有意差はなかったが、飛翔筋には有意差が見いだされた。特に9月の飛翔筋発達度合いは著しく低く、寄主植物の栄養劣化の影響を受けていることが支持された。また有翅雄と有翅雌の比較では、有翅雄の飛翔筋は、有翅雌のそれに比べ、有意に発達していた。またトラップ調査の結果、捕獲された有翅雄はゼロだった。これらの結果より、有翅雄は潜在的には飛翔可能だが、実際にはほとんど飛んでいないことが明らかになった。有翅雄は同じ木の産卵雌虫と優先的に同系内交配をしている可能性が考えられる。

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8件)

① Yao I (2012) Seasonal changes in the flight apparatus of winged females and sexual males of the aphid *Tuberculatus quercicola* (Hemiptera: Aphididae). *Applied Entomology and Zoology* 47, 143-148, DOI: 10.1007/s13355-012-0101-2, 査読有り

② Yao I (in press) Ant attendance reduces flight muscle and wing size in the aphid *Tuberculatus quercicola*. *Biology Letters*, DOI: 10.1098/rsbl.2012.0014, 査読有り

③ Hasegawa E, Yao I, Futami K, Yagi N, Kobayashi K, and Kudo S (2012) Isolation of microsatellite loci from the millipede, *Brachycybe*

nodulosa Verhoeff. **Conservation Genetics Resources** 4, 89-91, DOI: 10.1007/s12686-011-9481-9, 査読有り

④ 八尾泉 (2011) アブラムシはアリにボディーガード代を払っている -アリ随伴のコストとその生理的要因-. **Rostria** 53, 27-43, 査読無し

⑤ Yao I and Katagiri C (2011) Comparing wing loading, flight muscle, and lipid content in ant-attended and non-attended *Tuberculatus* aphid species. **Physiological Entomology** 36, 327-334. DOI: 10.1111/j.1365-3032.2011.00801.x, 査読有り

⑥ Matsumura Y and Yao I (2011) Isolation of nine polymorphic microsatellite loci in the leaf beetle, *Lema (Lema) coronata* (Coleoptera: Chrysomelidae: Criocerinae). **European Journal of Entomology** 108, 697-699, http://www.eje.cz/pdfarticles/1669/eje_108_4_697_Matsumura.pdf, 査読有り

⑦ Yao I (2011) Phylogenetic comparative methods reveal higher wing loading in ant-attended *Tuberculatus* aphids (Hemiptera: Aphididae). **The Canadian Entomologist** 143, 35-43, <http://pubs.esc-sec.ca/doi/abs/10.4039/n10-050>, 査読有り

⑧ Yao I (2010) Contrasting patterns of genetic structure and dispersal ability in ant-attended and non-attended *Tuberculatus* aphids. **Biology Letters** 6, 282-286, DOI: 10.1098/rsbl.2009.0781, 査読有り

[学会発表] (計 6 件)

① 八尾泉 (2012) 「カシワホシブチアブラムシの有翅雌と有翅雄における飛翔器官の季節変化」, 2011 年度日本応用動物昆虫学会・日本昆虫学会共催支部大会 (2012. 1/19 北海道大学総合博物館)

② 八尾泉・片桐千仞 (2011) 「低移動性を示すアリ共生型アブラムシの脂質分析と飛翔筋について」, 第 55 回 日本応用動物昆虫学会 (2011. 3/28 九州大学箱崎キャンパス)

③ 八尾泉 (2011) 「系統比較法から明らかになったアリ共生型アブラムシの増大した wing loading」, 第 58 回 日本生態学会 (2011. 3/9 札幌コンベンションセンター)

④ 八尾泉・片桐千仞 (2011) 「飛ばないアリ共

生型アブラムシの飛翔器官に選択はかかっているか?」, 2010 年度日本応用動物昆虫学会・日本昆虫学会共催支部大会 (2011. 1/19 北海道大学総合博物館)

⑤ 八尾泉 (2010) 「系統関係を考慮した *Tuberculatus* 属内アリ共生型アブラムシの翅面積/体サイズ」, 第 54 回日本応用動物昆虫学会 (2010. 3/28 千葉大学西千葉キャンパス)

⑥ 八尾泉 (2010) 「アリ共生型アブラムシの分集団はメタ個体群になっている」, 第 57 回日本生態学会 (2010. 3/16 東京大学)

[その他]

ホームページ

<http://insect3.agr.hokudai.ac.jp/%7EYao/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八尾 泉 (YAO IZUMI)

北海道大学・大学院農学研究院・研究員

研究者番号：70374204