

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23770018

研究課題名(和文) 6者系の共系統地理解析：アリ植物をめぐる生物群集における地理的多様化プロセス

研究課題名(英文) Co-phylogeography in a six-way interaction: geographical co-diversification in an ant-plant community

研究代表者

上田 昇平 (UEDA, Shouhei)

信州大学・理学部・研究員

研究者番号：30553028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：熱帯雨林の高い生物多様性を産み出した要因として、植物・昆虫間の共進化がもっとも重要であるとされる。では、この共進化を介した多様化はいつ頃始まったのであろうか？本研究では、熱帯アジアのアリ植物をめぐる6者系の共進化関係が形成された歴史的過程を分子系統学的手法を用いて推定した。その結果、アリ植物をめぐる生物群集は、約2000万年前に起源した植物・アリ共生が基盤となり、逐次的に他の群集メンバーが参入することで形成されたことが明らかになった。さらに、群集メンバーそれぞれの遺伝的分化は地理的に同調して起こった可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Coevolution between plants and insects is thought to be a major factor leading to species diversity in tropical rainforests. If so, when did this diversifying coevolution occur? Here, we estimated the coevolutionary history of the six-way interaction involving ant-plants in Southeast Asian tropics, using a molecular phylogenetic approach. The phylogenies of the six members showed that the ant-plant association was formed about 20 million years ago, and sequential involvement of the other four members occurred afterward. In addition, it was suggested that the geographical diversification within species in each member occurred synchronously.

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：東南アジア熱帯雨林 アリ植物オオバギ属 共進化 分子系統樹 マイクロサテライト解析 分岐年代推定 寄主特異性 祖先形質復元

1. 研究開始当初の背景

植物と昆虫間の関係はきわめて多様であり、相利共生関係から敵対関係までを含んでいる。この多様化をもたらした進化的な要因はさまざまだが、植物と昆虫間の共進化がもっとも重要であるとされる。適応と対抗適応の繰り返し(共進化)によって関係をもつ生物両者の多様化が相乗的に起こるというシナリオである。では、このような植物と昆虫間の共進化はいつ頃始まったのであろうか? これまで、それを明らかにすることは難しいとされてきた。なぜなら、生物間の関係を写しだした化石的な証拠は稀で、もし化石が出土したとしても、それが起源であると証明することは難しいからである。

しかし、近年めざましい発展を遂げた分子系統解析の技術によって、特定の生物グループが起源した年代を推定できるようになった。自然選択にとって有利でも不利でもない中立なDNA塩基配列の変異は年あたりほぼ一定であり、近縁な2種間の塩基配列の違いは、それらの2種が分岐してからの年数を反映する場合があることが示されたからである。すなわち、種間関係を結ぶ生物群それぞれについて分子系統樹をつくり、その分子系統樹に分子時計を当てはめ、分岐年代の推定をおこなうことによって、種間関係の起源や多様化の時期を系統樹上にプロットすることができるようになったのである。

申請者の研究グループは、アリ植物オオバギ属をめぐるとする6者系を研究材料とし、群集の形成過程(それぞれのメンバーがいつ起源し、種間関係が形成されてきたのか)を明らかにすることを目標とし、研究を進めている。

東南アジア熱帯雨林に分布する29種のオオバギ属は、アリ植物と呼ばれ、中空の幹内を巣場所としてシリアゲアリ類 *Crematogaster* 属 *Decacrema* 亜属に提供しており、その巣内にはカイガラムシ類 *Coccus* 属が共生している。植物は、生息場所だけではなく餌資源もアリに与える。それは、托葉や新葉から分泌される栄養体とカイガラムシが分泌する甘露である。その見返りとして、アリは植物を、植食者やからみついてくる性植物から防衛する。

一方、オオバギをめぐるとする共生系には、寄生者として、葉を摂食するシジミチョウ類、アリの餌である栄養体を盗みとるカメムシ、葉に虫こぶをつくるタマバエなども関与する。これらの共生者・寄生者はオオバギに対し形

態的・行動的に特殊化しており、寄主植物との共進化が指摘されてきた。これらの群集メンバーのうち、オオバギとアリに関しては分子系統樹を比較した専攻研究があり、オオバギ・アリ共生は約2000万年前に起源し、両者は共進化を介して相互に同調して多様化してきたことが明らかになっていた。

これまで申請者は、オオバギに共生するカイガラムシ類の分子系統解析を行い、1)カイガラムシは約800万年前にオオバギ・アリ共生に参入した後乗り型の共生者であること、2)オオバギ・アリ・カイガラムシの3者は鮮新世から更新世にかけて地理的に同調して多様化してきたことをそれぞれ明らかにしてきた。

2. 研究の目的

共生者(オオバギ・アリ・カイガラムシ)に関しては、これまでに熱帯アジア広域の多地点から採集・解析をおこない、地域集団間レベルの詳細な系統樹を比較した。しかし、寄生者(シジミチョウ・カメムシ・タマバエ)の採集地点数は1~3地点に過ぎず、詳細な分子系統樹は未だ得られていない。

本研究の目的は、熱帯アジアの広域から採集された寄生者(シジミチョウ・カメムシ・タマバエ)の分子系統樹を、既存の共生者(オオバギ・アリ・カイガラムシ)の分子系統樹と比較することによって、オオバギをめぐるとする生物群集が形成された歴史的過程を検証することである。さらに、共生者と寄生者の地理的な分布パターンも比較し、遺伝的分化が地理的に同調して起こっているか否かも検証する。得られた成果は、共進化を介した生物多様性の創出プロセスを示す新しいモデルとなることが期待される。

3. 研究の方法

(1) サンプルング

熱帯アジアの9地点においてオオバギ属11種の調査をおこない、オオバギ、アリ、カイガラムシ、シジミチョウ、カメムシ、タマバエのDNA標本を採集した。調査地点を以下に示す: マレー半島の7地点(エンダウロンピン、キャメロン、ゲンティン、フレーザー、タイピン、マラヤ大学構内); ボルネオ島の1地点(ランビル); スマトラ島の1地点(パダン)。

(2) 遺伝子マーカー

それぞれの昆虫類において、種内の遺伝的変異が検出可能な遺伝子マーカーを検索・開発した：アリ，核 DNA のマイクロサテライト部位（5 座位）；カイガラムシ，2 つの核遺伝子領域（EF-1a, WG）；シジミチョウ，3 つのミトコンドリア(mt)DNA 遺伝子領域（COI, ND5, CytB）と 2 つの核遺伝子領域（EF-1a, WG）；カメムシ，1 つの mtDNA 遺伝子領域（COI）と 1 つの核遺伝子領域（28S rDNA）；タマバエ：1 つの mtDNA 遺伝子領域（COI）。

（3）アリのマイクロサテライト解析

先行研究で示されたアリの mtDNA 系統樹は、形態分類と部分的に一致していないという問題点が指摘されていた。母系遺伝する mtDNA は、種間交雑が起きた場合、他種に浸透する（浸透交雑）ため、種の分類を反映しないことがある。そこで、浸透交雑の影響を受けにくい核 DNA のマイクロサテライト（SSR）解析を行い、既存のアリ mtDNA 系統樹と比較した。その上で、アリのオオバギに対する寄主特異性を検証した。

（4）カイガラムシの核 DNA 系統樹

先行研究で示されたカイガラムシの mtDNA 系統樹は、アリと同様に、形態分類と部分的に一致していないことという問題点が指摘されていた。そこで、核 DNA 遺伝子を用いて分子系統樹を作成し、既存のカイガラムシ mtDNA 系統樹と比較した。さらに、カイガラムシのオオバギ・アリに対する寄主特異性を検証した。

（5）シジミチョウの起源年代解析

オオバギ属を食樹とするシジミチョウ類の分子系統樹を作成し、シジミチョウがオオバギをめぐる生物群集に参入した年代、および、シジミチョウ幼虫の好蟻性形質の進化過程を推定した。

（6）カメムシの分子系統解析

これまで不明であったオオバギ属に寄生するカメムシ類の分類学的研究をおこない、カメムシのオオバギ・アリに対する寄主特異性を検証した。さらに、得られた標本からカメムシの分子系統樹を作成し、カメムシがオオバギをめぐる生物群集に参入した年代を推定した。

（7）タマバエの分子系統解析

オオバギ属に特殊化したタマバエ類の予備的な分子系統樹を作成し、タマバエがオオバギをめぐる生物群集に参入した年代を推定した。さらに、タマバエの寄主特異性を検証した。

4. 研究成果

（1）アリのマイクロサテライト解析

核 DNA のマイクロサテライト部位（5 座位）を用いて、オオバギに共生するアリ類の分類をおこなった結果、アリは 6 つの遺伝子型に分かれ、この分類は既存の mtDNA 系統樹と一致することが示された。アリ種間の交雑は約 2 % の頻度で起こっていたが、mtDNA の異種間浸透は起こっておらず、mtDNA 系統樹の信憑性は高いことが示された。さらに、マイクロサテライト解析によって新たに発見された系統内のグループが、特定のオオバギ種に対し高い種特異性を示すことが明らかになった。

（2）カイガラムシの分子系統解析

核 DNA の WG 遺伝子と EF-1a 遺伝子を用いて、オオバギに共生するカイガラムシの分子系統樹を作成した。カイガラムシの系統樹は高い確率で支持された 9 つの核 DNA 系統に分かれ、それぞれの系統には単一のカイガラムシ種が対応した。この系統樹を、既存の mtDNA 系統樹と比較した結果、一致しないことが明らかになった。この不一致は、カイガラムシ種間の交雑によって起こった可能性がある。カイガラムシ系統のオオバギ種に対する特異性を検証した結果、カイガラムシのオオバギ・アリに対する特異性は、これまで考えられているよりも高いことが示された。

（3）シジミチョウの分子系統解析

mtDNA 遺伝子の COI 遺伝子、ND5 遺伝子、CytB 遺伝子、および核 DNA の EF-1a 遺伝子、WG 遺伝子を用いてオオバギに寄生するシジミチョウの分子系統樹を作成した。その結果、シジミチョウは約 200 万年前にオオバギをめぐる生物群集に参入したことが明らかになった。さらに、幼虫の背部蜜腺の消失とアリ任意共生への退行的進化は二次的に起こったことが示された。

（4）カメムシの分子系統解析

オオバギに寄生するカメムシ類の分類学的研究をおこなった結果、ヒョウタンカスミカメ属に属する複数の未記載種であることが判明し、計 7 種を新種として記載した。また、それぞれのカメムシ種のオオバギ種に対する寄主特異性は高いことが示された。

mtDNA の COI 遺伝子と核 DNA の 28S rDNA 遺伝子を用いて、カメムシの分子系統樹を作成した。カメムシは、高い確率で支持された 8 つの系統に分かれ、それぞれの系統には単一のカメムシ種が対応した。また、カメムシは約 1700 万年前にオオバギをめぐる生物群集

に参入したことが明らかになった。カメムシは、オオバギ・アリ共生系が起源したとされる約 2000 万年前とほぼ同じか、やや遅れて起源した可能性が高い。

(5) タマバエの分子系統解析

mtDNA の COI 遺伝子を用いて、オオバギ属に寄生するタマバエ類の分子系統樹を作成した。オオバギのタマバエ類は単系統になり、4 つの系統に分化した。それぞれのタマバエ系統のオオバギ種に対する寄主特異性は高いことが示された。また、タマバエは約 1200 万年前にオオバギをめぐる生物群集に参入したことが明らかになった。なお、タマバエの採集個体数は少なく、以上の結果は予備的なものである。

(6) 遺伝的分化の地理的パターンの比較

シジミチョウとカメムシでは、種内で地域間(マレー半島とボルネオ島の間)の遺伝的変異が検出された。このパターンは、アリ・カイガラムシのものとは一致しており、シジミチョウ・カメムシの遺伝的分化は地理的に同調して起こった可能性が示された。

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6件)

Nakatani Y, Komatsu T, Itino T, Shimizu-kaya U, Itoioka T, Hashim R, Ueda S, New *Pilophorus* species associated with myrmecophilous *Macaranga* trees from the Malay Peninsula and Borneo (Heteroptera: Miridae: Phylinae), *Tijdschrift voor Entomologie*, 査読有, 156 2013, pp. 113-126, DOI 10.1163/22119434-0000 2024

Handa C, Ueda S, Tanaka H, Itino T, Itoioka T, How do scale insects settle into the nests of plant-ants on *Macaranga* myrmecophytes? dispersal by wind and selection by plant-ants, *Sociobiology*, 査読有, 59(2), 2012, pp. 435-446 URL: http://www.researchgate.net/publication/232766941_How_Do_Scale_Insects_Settle_into_the_Nests_of_Plant-Ants_on_Macaranga_Myrmecophytes/file/9fcfd50a444edda2b3.pdf
Ueda S, Okubo T, Itoioka T,

Shimizu-kaya U, Yago Y, Inui Y, Itino T, Timing of butterfly parasitization of a plant-ant-scale symbiosis, *Ecological Research*, 査読有, 27(2), 2012, pp. 437-443, DOI 10.1007/s11284-011-0915-3

上田昇平, 小松貴, オオバギをめぐる生物群集の形成過程を探る, *むしむしコラム*, *おーどーこん*(日本応用動物昆虫学会 Web コラム), 査読無, 7 月 9 日掲載, 2012, http://column.odokon.org/2012/0709_120304.php

上田昇平, 小松貴, 共生生物図鑑 アリ植物オオバギ, *milsil*, 査読無, 4(6), 2011, p. 25

上田昇平, DNA 塩基配列の決定法, *山岳を科学する 2011-その最前線-*, 査読無, 2011, p. 19

[学会発表](計9件)

上田昇平, 清水加耶, 大久保忠浩, 市岡孝朗, 乾陽子, 矢後勝也, 小松貴, 市野隆雄, オオバギ属を食樹とするムラサキシジミ類における好蟻性形質の進化, 日本昆虫学会第74回大会, 広島大学, 東広島, 2014年9月(発表予定)

上田昇平, 清水加耶, 大久保忠浩, 市岡孝朗, 乾陽子, 矢後勝也, 市野隆雄, オオバギ属(トウダイグサ科)を食樹とするシジミチョウ類における好蟻性形質の系統進化, 第61回日本生態学会大会, 2014年3月15日, 広島国際会議場, 広島

中谷至伸, 小松貴, 市野隆雄, 清水加耶, 市岡孝朗, Rosli Hashim, 上田昇平, マレーシアのアリ植物から発見された背中に突起のあるヒョウタンカスミカメ7種(半翅目:カスミカメムシ科), 日本昆虫学会第73回大会, 2013年9月16日, 北海道大学, 札幌

上田昇平, 長野祐介, 小松貴, 片岡陽介, 市岡孝朗, 清水加耶, 乾陽子, 市野隆雄, アリ植物オオバギ属に共生するシリアゲアリ属のマイクロサテライト解析, 日本昆虫学会第73回大会, 2013年9月14日, 北海道大学, 札幌

上田昇平, 長野祐介, 小松貴, 片岡陽介, 市岡孝朗, 清水加耶, 乾陽子, 市野隆雄, アリ植物オオバギ属に共生するシリア

ゲアリ属のSSRジェノタイピング,第8回好蟻性生物勉強会 2013年8月25日,ウッドビレッジ伊奈ヶ湖,南アルプス
小松貴,上田昇平,市野隆雄,東南アジア産アリ植物上に見られる寄生昆虫相の地域差,第57回応用動物昆虫学会大会,2013年3月28日,日本大学,藤沢
小松貴,上田昇平,片岡陽介,市野隆雄,清水加耶,市岡孝朗,乾陽子,東南アジア産アリ植物に見られる共生系およびアリの系統学的再検討,第56回日本応用動物昆虫学会大会 2012年3月28日,近畿大学,奈良

Komatsu T, Hashim H, Ueda S, Itino T, Food habit of plant bugs (Hemiptera; Miridae) parasitizing on myrmecophytic *Macaranga* trees in Southeast Asia, 8th International Conference on Ants: ANeT Meeting Oct 18th 2011, Prince of Songkla University, Thailand

小松貴,上田昇平,Rosli Hashim,市野隆雄,アリ植物オオバギ属 *Macaranga* 上に生息するカスミカメムシ科一種の採餌生態,日本昆虫学会第71回大会,2011年9月18日,信州大学,松本

〔図書〕(計1件)

上田昇平,東海大学出版会,アリ植物オオバギ属をめぐる生物間相互作用の形成過程を探る(仮題),In:アリの生物学(東正剛 監修,村上貴弘,坂本洋典編),採録決定済(印刷中)

〔その他〕

アウトリーチ活動

常設展示:植物が支える豊かな世界「アリ植物オオバギ属と共生昆虫の相互作用」『国立科学博物館・筑波実験植物園 研修展示館』(2013年5月~)

信州大学山岳科学総合研究所,市立大町山岳博物館 連携企画展「山岳を科学する 2011-その最前線-」オープニング ミュージアムトーク(2011年4月23日)

事典への掲載

アリ植物オオバギ属をめぐる共生系の起源年代推定の研究内容が『進化学事典(共立出版)「植物と昆虫の共進化」』に

掲載(2012年4月)

新聞への掲載

「The plant bug, tree and ant」,Borneo Post online 誌に掲載(2014年1月12日)

「信大研究員 新種カメムシ発見」,信濃毎日新聞第47151号に掲載(2013年9月6日)

ホームページでの研究内容の紹介

http://science.shinshu-u.ac.jp/~bios/Shouhei_Ueda/Shouhei_Ueda.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

上田 昇平 (UEDA, Shouhei)
信州大学・理学部・研究員

研究者番号:30553028