

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：24302

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26840120

研究課題名(和文) 寄主転換に伴う種分化を促進する隔離障壁の進化機構の解明

研究課題名(英文) Evolution of premating isolation via host shifting

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(系)・助教

研究者番号：50466455

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)：野生生物には、別種とまではいかないまでも、餌や生息場所の違いと言った生態的な特徴が異なる集団が種内に見られることがしばしばあります。では、こうした生態的な違いは最終的には別種へと種を分化させることがあるのでしょうか。

今回の研究は、植物を食べる昆虫の餌を決めている遺伝子と、種の分化を完了させる、例えば交配時に雌雄が互いを交配相手と認識するためのフェロモンのようなシグナルを決めている遺伝子を特定し、こうした遺伝子がどのように分化してきたのかを調べるための足がかりを得るために行いました。

研究成果の概要(英文)：Speciation is a process dividing a single species into more than one species, but this process is often unsuccessful in completion of speciation. Indeed, we can find the intraspecific subpopulations showing different ecological adaptation though they are keeping mating compatibilities between them. These subpopulations are called as ecotypes, and the possibility of speciation via ecotype formation has been discussed over a long period of time. In order to assess the possibility of ecological speciation, we need to compare the evolutionary history of genes responsible for ecological adaptation and for reproductive isolation.

In this project, we attempt to establish a study system that we can discuss the genomic architecture of ecological adaptation and reproductive isolation by using a leaf mining moth *Acrocercops transecta*.

研究分野：進化生物学

キーワード：種分化 寄主転換 交尾前隔離 ヒッチハイク効果

1. 研究開始当初の背景

種分化は多様化の原動力であるが、種分化が常に完了するとは限らず、生態的な特徴のみが異なるエコタイプのような種内集団の形成にとどまる例が頻繁に見られる。こうした種内集団が別種にまで分化するかを解明するには、配偶行動の分化のような、エコタイプの分化後に追加で生じる生殖隔離形質の進化機構を理解する必要がある。

特に、いかにしてエコタイプごとに異なる配偶行動が固定するのかという点が重要となり、エコタイプ分化を促した適応形質の遺伝子座と、追加で生じる生殖隔離形質の遺伝子座間でのゲノム内配置に関する情報が不可欠となっていた。つまり、もしこれら形質の責任遺伝子座が物理的に連鎖していれば、生態的な適応がヒッチハイク効果として他の生殖隔離遺伝子にも分化が生じることになる。しかし、生態的な適応を司る責任ゲノム領域と、交配不和等の生殖隔離に関わるゲノム領域との物理的な位置関係は、ほとんど知られていないのが現状である。

2. 研究の目的

そこで申請者は、植物を餌とする昆虫類（植食性昆虫）を材料に、寄主とする植物を変える「寄主転換」に伴う種分化の機構を遺伝基盤から解明するため、クルミホソガ *Acrocercops transecta* (図1) という小型蛾類を用いた独自の実験系を立ち上げた。

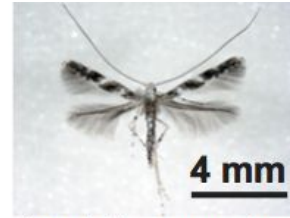
クルミホソガには、クルミ科を寄主とするクルミレースと、ツツジ科のネジキを寄主とするネジキレースという2つのエコタイプが見られる。本種は、1世代が約3週間で年多次性かつ累代飼育が容易なため、植食性昆虫の研究に欠けていた適応形質の遺伝基盤に迫ることができる。

申請者の研究により、連鎖解析と QTL マッピングから、派生的な寄主植物であるネジキへの適応が1本の染色体の推定 180 kb ほどのゲノム領域のみで担われていることが分かりつつある。

さらに、2つのレースが同所的に生息する地域では、メスがネジキレースでオスがクルミレースの場合に交尾が生じにくくなるが、2つのレースが異所的に生息する地域由来の個体を用いた同様の交配では、高率で交尾が行われることを発見した。

ネジキレースがメス親の場合 F1 雑種はネジキ上に産卵されるが、F1 世代の幼虫がネジキを食べられないため、クルミレースと交配したネジキレースのメスの適応度は低下する。よって同所集団での低い交尾率は、非適応的な交配を避けるため、配偶行動に形質置換が生じた結果と考えられる。こうした配偶行動の形質置換は、各同所集団で独立に生じていると考えられ、同じエコタイプ間で共通の交配前隔離が並行的に進化するかを検証す

る上で、適した実験系といえる。



翅を広げても 8mm 程で
累代飼育が容易



オニグルミ *Juglans ailanthifolia*
(クルミ科)



ネジキ *Lyonia ovalifolia*
(ツツジ科)

図1. クルミホソガ (成虫) と寄主植物

そこで本研究では、この同所集団と異所集団での交尾率の差に注目し、交尾率の差に関与するゲノム領域を特定するための実験系の構築と、エコタイプ間で交配実験を行うことで、同じエコタイプ間で共通の交配前隔離が平行的に進化しているかどうかを検証することを目的として行った。

3. 研究の方法

クルミレースと交配しにくいネジキレースの地域集団と、クルミレースと交配しやすいネジキレースの地域集団との交配から、ネジキレース内で F2 世代を作成し、restriction-site associated DNA sequencing (RAD-seq) により連鎖解析と QTL マッピングを行うための実験系を立ち上げる。これにより、将来的には交尾率の差を引き起こしているゲノム領域を推定し、寄主植物への適応を担っているゲノム領域と比較する研究へとつなげる。

次に、クルミレースとの交尾率の低下が生じているネジキレース集団を、地理的に離れた複数地域から採集し、これらネジキレースの地域集団間で交配実験を行う。そして、ネジキへの適応が同じような交配前隔離を平行的に生じさせる、つまりネジキレース内では常に高い交尾率が維持されるかどうかを検証する。

4. 研究成果

クルマホソガの成虫は翅を広げても 1 cm に満たない大きさであり、成虫 1 個体から抽出できるゲノム DNA 量が少なく、次世代シーケンサーを用いた解析を適用する上でのネックとなっていた。特に、ライブラリーの調整時に比較的口スが多くなる RAD-seq では、成虫 1 個体から抽出したゲノム DNA では十分なライブラリーを作成することができなかった。そこで、抽出したゲノム DNA でライブラリーを調整する前に全ゲノム増幅をかけ、それからライブラリーを調整するという手順を踏むことで、小型昆虫のサンプルからでも RAD-seq のライブラリーが作成できる見通しを得つつある。

また、クルマホソガと交配しにくくなるネジキレースどうしの交配実験では、採集した地域に関わりなくネジキレースどうしでは高率で交配することがわかった。

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 1 件)

Kawahara A, Plotkin D, Ohshima I, Lopez-Vaamonde C, Houlihan P, Breinholt J, Kawakita A, Xiao L, Regier J, Davis D, Kumata T, Sohn J-C, De Prins J, Mitter C (in press) A molecular phylogeny and revised higher-level classification for the leaf-mining moth family Gracillariidae and its implications for larval host use evolution. *Systematic Entomology*. 査読有

[学会発表](計 8 件)

Ohshima I (2016) The process and mechanism of host shifting between distantly related host plant families in *Acrocercops transecta*. 2nd International Symposium on Gracillariidae. 27th April, Hawaii, USA. (invited speaker)

Kobayashi M, Ohshima I (2016) Genetics of performance and preference in *Acrocercops transecta*. The Joint Annual Meeting of the Entomological Society of Japan and the Japanese Society of Applied Entomology and Zoology. L406. 29th March, Osaka, Japan. (Oral, **selected for Best English Presentation Award**)

大島一正. ニッチ分化は種分化につながるか? : 植食性昆虫の寄主転換を例に. 日本昆虫学会第76回大会・第60回大会日本

応用動物昆虫学会合同大会. W022. 大阪. 2016年3月27日. (口頭発表)

大島一正. 絵かき虫で遺伝学: 寄主転換と種分化の謎に迫る. 日本昆虫学会近畿支部2015年度大会. 大阪. 2016年1月10日. (口頭発表, 招待講演)

小林正幸, 大島一正. 植食性昆虫の寄主適応を例とした複合形質の遺伝基盤: クルミホソガの実験系を用いて. 日本昆虫学会近畿支部2015年度大会. 8. 大阪. 2016年1月10日. (口頭発表, **若手発表賞受賞**)

Ohshima I (2015) From Juglandaceae to Ericaceae: the genetic background of host shifting between distantly related host plants in a leaf-mining moth *Acrocercops transecta* (Lepidoptera: Gracillariidae). Insects, pathogens, and plant reprogramming: from effector molecules to ecology. 7th, October. Tours, France. (invited speaker)

大島一正. ホストレースを用いた植食性昆虫の進化遺伝学的研究. 2015年度若手奨励賞受賞講演. 日本昆虫学会第75回大会. 2015年9月19日. (口頭発表, 招待講演)

Ohshima I (2015) How many genomic changes are required for adaptation to a novel host plant: forward genetic and whole genome sequencing approaches. S02-2. The 62nd Ecological Society of Japan Annual Meeting. 19th, March. Kagoshima, Japan. (invited speaker)

[図書](計 3 件)

大島一正 (2016) 小蛾類成虫の飼育と交配. 那須 義次・広渡 俊哉・吉安裕 (編). **鱗翅類学入門**: 63-67. 東海大学出版会, 神奈川. 分担執筆.

大島一正 (2016) 核酸情報の取得を目的とした殺虫法, 標本作成法と飼育法. 那須 義次・広渡 俊哉・吉安裕 (編). **鱗翅類学入門**: 195-199. 東海大学出版会, 神奈川. 分担執筆.

大島一正 (2016) 核酸情報を用いた解析法. 那須 義次・広渡 俊哉・吉安裕 (編). **鱗翅類学入門**: 200-226. 東海大学出版会, 神奈川. 分担執筆.

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

http://eureka.kpu.ac.jp/~issei/Ohshima_Lab_Japanese/homu.html

アウトリーチ活動

一般向けの雑誌への連載

公益財団法人・森林文化協会が発行する月刊誌『グリーンパワー』に、リーフマイナーに関する連載を2014年1月から12月まで、毎月1回、計12回連載した。この連載中で、クルマホソガを用いた種分化研究についても紹介した。

一般向けの講演

「エカキムシ（絵描き虫）の絵かき」というタイトルにて、NPO法人シニア自然大学の地球環境「自然学」講座にて講演を行い、クルマホソガを用いた種分化研究についても紹介した。大阪市此花会館。2014年7月12日。

6. 研究組織

(1)研究代表者

大島 一正 (OHSHIMA, Issei)
京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・助教
研究者番号：50466455

(2)研究協力者

小林 正幸 (KOBAYASHI, Masayuki)
京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・博士前期課程