

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14603

研究課題名(和文) 擬態遺伝子の季節動態からさぐる擬態多型の維持機構

研究課題名(英文) Seasonal dynamics of mimicry alleles and the mechanisms maintaining mimicry polymorphism

研究代表者

曾田 貞滋 (Sota, Teiji)

京都大学・理学研究科・教授

研究者番号：00192625

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ナガサキアゲハはベイツ型擬態の代表例で、雌は擬態型と非擬態型の二型だが、雄は単型で非擬態型である。この雌限定多型は、捕食圧による負の頻度依存選択等で説明されているが、諸仮説を包括的に実証した例はない。本種の雌二型はdoublesex遺伝子のアリルと対応し、それに基づいて台湾の野外で擬態遺伝子頻度の動態を調査した結果、擬態アリル頻度は20～50%に保たれていた。擬態型と非擬態型の適応度に関連する形質値に違いはなく、多型の維持に負の頻度依存選択の作用が関与することが示唆された。さらに、飼育実験によって擬態遺伝子型による発育成長の違いについて調べたが、擬態のコストを示唆する結果は得られなかった。

研究成果の概要(英文)：Papilio memnon exhibits a female-limited Batesian mimicry polymorphism, an intriguing system for investigating the maintenance of genetic polymorphisms: females display both mimetic and non-mimetic forms, whereas males are uniformly non-mimetic. This polymorphism is thought to be maintained by negative frequency-dependent predation, but no comprehensive investigations have been conducted. We identified two allelic sequences of the putative control gene, doublesex, that directly corresponded with the mimetic and non-mimetic female phenotypes in *P. memnon*. The mimetic allele of doublesex gene persisted at intermediate frequencies at a site in Taiwan, and an equivalent reproductive performance of the two forms over time suggested that negative frequency-dependent selection (NFDS) contributed to the mimicry polymorphism. In a laboratory test for physiological cost of mimetic genotypes, we found no evidence that physiological costs were associated with the mimetic genotypes.

研究分野：進化生態学

キーワード：ベイツ型擬態 超遺伝子 遺伝的多型 多型維持機構 自然選択

1. 研究開始当初の背景

昆虫の擬態は、種を越えた収斂進化の極致を示している。近年、ゲノム解析技術の発展とともに、チョウの擬態において斑紋パターンを制御する遺伝子や多型の制御機構が明らかになってきた。こうした成果を野外での擬態の進化動態の研究に応用すれば、擬態進化の理解を飛躍的に発展させることができる。ナガサキアゲハでは、雌だけに擬態多型がある。翅の模様、尾状突起の有無、腹部の色がセットになっており、この形質セットは擬態型が優性発現をするスーパーゼーンに支配されている (Clark and Sheppard 1971)。

申請者らは、ナガサキアゲハの擬態多型の維持機構に関心をもち、擬態多型がみられる台湾で野外研究を進めてきた。予備的な調査の結果、捕食者の密度、有毒モデルの密度、擬態型頻度、成虫サイズは季節的に変動する傾向があり、擬態の利益とコストのバランスが季節的に変動して、多型状態が季節的に振動しながら維持されているという仮説に辿り着いた。野外での擬態多型動態研究の難点としては、表現型からは遺伝子型が分からないことである。しかし最近、Kunte et al. (2014)、Nishikawa et al. (2015)は、同様の擬態多型をもつ近縁種シロオビアゲハのゲノムを解析し、擬態多型が逆位多型で維持されている *doublesex* 遺伝子領域の変異により支配されていることを明らかにした。ナガサキアゲハの擬態多型も同様の遺伝的基盤を持つ可能性があり、野外での擬態遺伝子の動態を調べられる可能性がでてきた。

2. 研究の目的

本研究では、台湾産ナガサキアゲハについて、*doublesex* 領域のシーケンスにより擬態型・非擬態型を区別する方法を確立し、野外において擬態型遺伝子頻度の季節的・空間的動態を明らかにする。同時に、有毒モデルのベニモンアゲハ、オオベニモンアゲハ、捕食者の鳥類・樹上トカゲ類の個体数変動を調査する。遺伝子頻度の季節的変動の有無、空間的同調性の有無を検証し、型間のトレードオフと捕食圧の季節変動によって擬態多型の維持が説明できるかについて、進化動態モデルを用いて検証する。

3. 研究の方法

ナガサキアゲハの擬態多型の遺伝子型をゲノム DNA のシーケンスから明らかにする方法を確立し、擬態多型が存在する台湾において、擬態遺伝子型・擬態遺伝子型頻度の季節的動態を数年間にわたり調査する。同時に、有毒モデル、捕食者のアバンダンスについても調査する。擬態遺伝子のダイナミクスを、擬態多型による捕食回避、配偶者選択、擬態多型間の季節適応に関する生理的特性の差

などの要因を組み込んだモデルで解析し、擬態多型の進化動態に関わる要因とメカニズムを推定する。さらに、擬態の生理的コスト (Ohsaki 2005) を検証するために、雌の二型に関わる遺伝子型の違いが幼虫期の発育成長に影響するかどうかを飼育実験により調査する。

4. 研究成果

(1) 擬態多型を制御する遺伝子：ナガサキアゲハ雌の二型がシロオビアゲハと同じく *doublesex* のアリルによって制御されているという仮説のもとに、トランスクリプトームシーケンスから *doublesex* 遺伝子領域の配列を抽出するとともに、ゲノム DNA から *doublesex* 領域を PCR 増幅し、ダイレクトシーケンスした。その結果、ナガサキアゲハにおいても、雌の二型に対応するアリルが存在することが分かった (図 1)。しかしアリルの塩基配列はシロオビアゲハとは異なっており、それぞれの種で *doublesex* の二型が独立に生じたことが示唆された (図 2)。なお、ゲノム DNA から定量 PCR によって *doublesex* 遺伝子型を判別する方法を開発した。この方法を用いて、沖縄と台湾各地で *doublesex* のアリル頻度の推定を行った (表 1)。その結果、沖縄では非擬態型アリル *h* のみが存在するが、台湾では擬態型 *H* と非擬態型が多型として存在し、*H* アリルの頻度は 30~50% であることが分かった。

(2) 野外における擬態アリル頻度の動態 (図 3)：台湾花蓮市において、ナガサキアゲハと擬態のモデル種の出現消長を 4 年間にわたって調査した。ナガサキアゲハは季節を通して数多く見られたが、モデル種は春先を除くと密度が低かった。擬態型アリルの頻度は 20%~50% の範囲で変動していた。野外採集雌のサイズ、翅のピークマーク率 (鳥による捕食の指標)、精包保有数 (交尾回数の指標) は、二型の間で差がなかった。また、野外において、雄による雌二型 (標本) の選択実験を行ったが、選択に偏りはなかった。これらの結果から、雌の二型 (擬態型、非擬態型) の適応度は均衡した状態にあると推定された。多型を維持する機構としては、状況から負の頻度依存選択が想定された。

(3) 擬態多型遺伝子型と幼虫期の発育成長：*doublesex* 遺伝子型がヘテロ接合である雌雄を交配し、得られた卵を羽化成虫まで飼育し、その後遺伝子型を決定した。羽化した成虫の遺伝子型頻度は、期待される頻度 (1:2:1) からずれておらず、生存率が遺伝子型間で差がないと推定された。また、幼虫期の成長速度や羽化成虫のサイズには遺伝子型による差は見いだせなかった。この結果から少なくとも羽化成虫までの段階では、擬態の生理的コストに相当するような、

doublesex 遺伝子型の効果は存在しないと結論した。

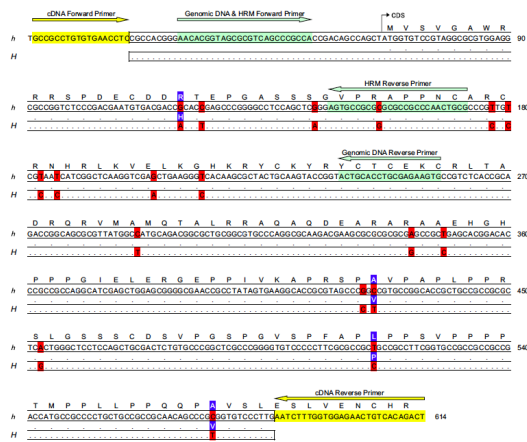


図1. ナガサキアゲハ *doublesex* 遺伝子の擬態型 *H*, 非擬態型 *h* アリルの cDNA シーケンスとアミノ酸シーケンス. SNP は赤で, アミノ酸の置換は青で示されている.

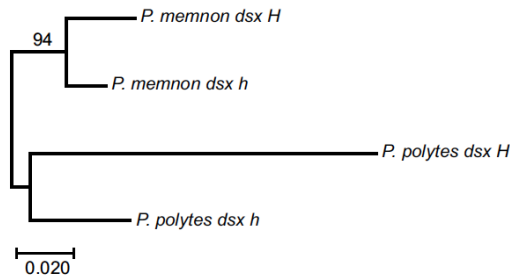


図2. ナガサキアゲハとシロオビアゲハの *doublesex* 遺伝子の擬態型 *H*, 非擬態型 *h* アリルの系統関係. 最尤法による系統樹を示す.

表1. 沖縄・台湾で野外採集されたナガサキアゲハ成虫の *doublesex* 遺伝子座におけるアリル頻度.

Locality	Male					Female				
	<i>n</i>	<i>HH</i>	<i>Hh</i>	<i>hh</i>	<i>H</i> freq.	<i>n</i> (<i>n_m</i> , <i>n_f</i>) [†]	<i>HH</i>	<i>Hh</i>	<i>hh</i>	<i>H</i> freq.
Okinawa										
Yona	25	0	0	25	0.00	1 (0, 1)	0	0	1	0.00
Uruma	3	0	0	3	0.00	1 (0, 1)	0	0	1	0.00
Naha	2	0	0	2	0.00	0	—	—	—	—
Taiwan										
Hsinchu	11	3	5	3	0.50	2 (2, 0)	0	2	0	0.50
Miaoли	8	1	6	1	0.50	1 (0, 1)	0	0	1	0.00
Yilan	11	3	4	4	0.45	1 (1, 0)	0	1	0	0.50
Taichung	4	2	0	2	0.50	1 (1, 0)	0	1	0	0.50
Jian, Hualien	6	0	5	1	0.42	6 (4, 2)	0	4	2	0.33
Ruisui, Hualien [‡]	11	1 (2)	5 (4)	5 (5)	0.36	1 (1, 0)	1	0	0	1.00
Jiayi	10	4	3	3	0.55	5 (3, 2)	1	2	2	0.40
Gaoxiong	9	1	5	3	0.39	1 (0, 1)	0	0	1	0.00
Pingtung	9	1	6	2	0.44	5 (3, 2)	0	3	2	0.30

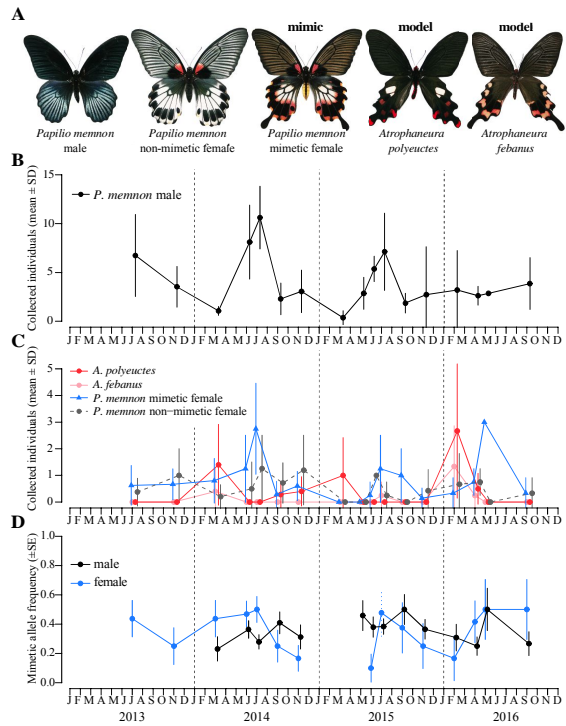


図2. (A)左からナガサキアゲハ雄, 同非擬態型雌, 同擬態型雌, オオベニモンアゲハ(モデル), タイワンジャコウアゲハ(モデル). (B)ナガサキアゲハ雄の個体数消長. (C)捕獲個体数の消長. オオベニモンアゲハ, タイワンジャコウアゲハ, ナガサキアゲハ擬態型雌, 同非擬態型雌. (D)ナガサキアゲハ擬態型アリルの頻度消長. 雌雄別.

< 引用文献 >

Clark, C.A. and Sheppard, P. M. (1971) Further studies on the genetics of the mimetic butterfly *Papilio memnon* L. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 263, 35-70.
 Kunte, K. et al. (2014) *doublesex* is a mimicry supergene. *Nature* 507, 229-232.
 Nishikawa, H. et al. (2015) A genetic mechanism for female-limited Batesian mimicry in *Papilio* butterfly. *Nat. Genet.* 47, 405-409.
 Ohsaki, N. (2005) A common mechanism explaining the evolution of female-limited and both-sex Batesian mimicry in butterflies. *J. Anim. Ecol.* 74, 728-734.

5. 主な発表論文等
〔雑誌論文〕(計5件)

Komata, S., CP. Lin, T. Iijima, H. Fujiwara & T. Sota (2016) Identification of *doublesex* alleles associated with female-limited Batesian mimicry polymorphism in *Papilio memnon*. *Scientific Reports* 6, 34782. doi:10.1038/srep34782

Komata, S., CP. Lin & T. Sota (2017) Temporal

dynamics of the mimetic allele frequency at the *doublesex* locus, which controls polymorphic Batesian mimicry in *Papilio memnon* butterflies. *Scientific Reports* 7: 12926
doi:10.1038/s41598-017-13419-8

Komata, S., CP. Lin & T. Sota (2018) Do juvenile developmental and adult body characteristics differ among genotypes at the doublesex locus that controls female-limited Batesian mimicry polymorphism in *Papilio memnon*? a test for the “cost of mimicry” hypothesis. *Journal of Insect Physiology* 107:1-6. doi: 10.1016/j.jinsphys.2018.02.001.

Iijima, T., R. Kajitani, S. Komata, C.-P. Lin, T. Sota, T. Itoh & H. Fujiwara (2018) Parallel evolution of Batesian mimicry supergene in two *Papilio* butterflies, *P. polytes* and *P. memnon*. *Science Advances* 4: eaao5416.

Komata, S. & T. Sota (2017) Seasonal polyphenism in body size and juvenile development of the swallowtail butterfly *Papilio xuthus* (Lepidoptera: Papilionidae). *European Journal of Entomology* 114: 365-371. doi: 10.14411/eje.2017.046

〔学会発表〕(計4件)

(1) 古俣慎也・曾田貞滋：ナミアゲハの季節多形が生じる要因(ポスター発表)。第60回日本生態学会大会 2013年3月5日~9日 静岡市 グランシップ(静岡県コンベンションアーツセンター)。

(2) 古俣慎也・林仲平・曾田貞滋：ナガサキアゲハにおける擬態型と非擬態型の生活史形質の比較(ポスター発表)。第61回日本生態学会大会 2014年3月14日~18日 広島市 広島国際会議場。

(3) 古俣慎也・Chung-Ping Lin・曾田貞滋：ナガサキアゲハにおける擬態遺伝子の頻度動態推定。第31回個体群生態学会大会 2015年10月10日~12日 彦根市 滋賀県立大学。

(4) Shinya, K., Lin, C.-P., Sota, T. Negative frequency-dependent selection on the doublesex locus that controls Batesian mimicry polymorphism in the butterfly *Papilio Memnon*. Symposium: Ecology and evolution of Batesian mimicry polymorphism. 日本進化学会第19回大会 2017年8月24~26日京都市 京都大学。

6. 研究組織
(1)研究代表者

曾田貞滋 (SOTA, Teiji)
京都大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：00192625

(2)研究分担者：なし

(3)連携研究者：なし

(4)研究協力者
古俣 慎也 (KOMATA, Shinya) 京都大学大学院理学研究科・博士後期課程

Lin, Chung-Ping 台湾師範大学教授

藤原晴彦 (FUJIWARA, Haruhiko) 東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授

飯島拓郎 (IIJIMA, Takuro) 東京大学大学院新領域創成科学研究科・博士後期課程