

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23405008

研究課題名(和文) マメゾウムシ類の寄主シフトによるジェネラリストの派生的進化：毒物質と乾燥種子利用

研究課題名(英文) Host-plant shift and adaptive generalization of bruchine seed beetles for legume plants: toxins and infection of dry-mature seeds

研究代表者

嶋田 正和 (Shimada, Masakazu)

東京大学・大学院情報学環・教授

研究者番号：40178950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円、(間接経費) 4,440,000円

研究成果の概要(和文)：マメ科植物と種子捕食性昆虫のマメゾウムシ類との系統対応を調べるために、海外調査で採集した試料からDNAを抽出後、分子系統解析を作成し、各種が利用するマメ科植物の持つ毒物質との対応を調べた。また多様に乾燥完熟豆を食害できるヨツモンマメゾウムシの遺伝的分化について、大陸間・大陸内地域間・人為移動の階層的分析を行った。これらの結果から、マメゾウムシ類全体において、毒物質に対する解毒能力と乾燥完熟種子での成育能力の獲得が、利用可能植物を決定する主要な要因であることを解明した。この研究で、広食化への共進化としてマメ科の乾燥完熟種子を利用と毒性物質への対応が重要であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate the coevolution between legume host plants and bruchine seed beetles, we extracted DNA from the seed beetles which were collected in overseas research trips and constructed the phylogenetic trees. Infection of seeds with poisonous chemicals was analyzed in the tree. In addition, genetic diversification of *Callosobruchus maculatus* was elucidated in multi-levels: continents and areas. Based on the results, we revealed the coevolutionary processes of generalization of host plant utilization that they could infect their dry matured seeds with detoxifying the poisonous chemical substance.

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：マメゾウムシ類 マメ科種子 分子系統樹 系統対応 寄主シフト 派生的ジェネラリスト 毒物質  
完熟乾燥種子の利用

1. 研究開始当初の背景

植食性昆虫は極めて多様性が高く、多くの種がごく少数種の植物を利用している。Ehrlich & Raven (1964)は、毒物質を介した植物-昆虫の軍拡競走的共進化が昆虫の特異性を高めたとする「軍拡競争的共進化スペシャリスト化モデル」を提唱した。この過程では植物の新規の毒物質に対する解毒能力の獲得を鍵として、新規植物を利用できるようになった昆虫が新しい適応帯に入ることによって多様化する適応的多様化(adaptive diversification)が起こることが期待される。適応的多様化は生物多様性の成立要因として重要であり、新規適応帯に入ったことで急速な多様化が起こる等が推定される。しかしながら、多くの生物では適応に関わる環境要因が系統群全体で共通ではないため、個々の種分化についての研究と比べ、一つの系統群全体での包括的な研究は困難である。だが、マメゾウムシ類は種子毒耐性が共通因子となって進化するので、マメ科-マメゾウムシ類は最良の系統進化モデルとなり得る。

2. 研究の目的

マメ科植物の毒物質は遊離アミノ酸・アルカロイド・アントラキノンなど多岐にわたる(Doyle 1981)。個々のマメゾウムシ種は広汎な毒物質に対抗する解毒機構を持っていないため、よく似た毒物質をもつ近縁なマメ種群に特化し、軍拡競走によるスペシャリスト化と適応的多様化が進行すると言われてきた(Janzen 1969)。嶋田ら(Kato, Bonet, Fujii and Shimada で投稿準備中)は新大陸産 Acanthoscelideni 亜族マメゾウムシの分子系統樹を作成、各種が利用するマメ科植物の持つ毒物質との対応を調べ、マメ科と毒物質の関連を調べてきた。今回の3年間では、新大陸産マメゾウムシの系統群全体において、毒物質に対する解毒能力の獲得が、利用可能植物を決定する主要要因の一つであることを解明する。

3. 研究の方法

嶋田(代表)、伊藤(連携研究者)、柴尾(連携研究者)、加藤俊英(研究協力者)は、メキシコで海外調査を行い、採集した試料からDNAを抽出し、それをもとに分子系統解析にかけた。その分子系統樹の上で祖先形質復元の統計解析を行った。

津田と徳永は、マメゾウムシ亜科の完熟乾燥した豆を利用するときの行動を解析した。さらに、藤井はマメ科植物の毒性物質を化学分析し、アレロパシーとしての効果を持つ毒性物質をガスクロマト、GC-MS、液クロなどで特定した。

4. 研究成果

嶋田と加藤グループは、マメゾウムシ類の分子系統樹の上にマッピングした利用植物と毒物質の解析を試みた。その結果、(1) 特定の毒物質を蓄積しているマメを利用するマメゾウムシは系統的に近縁である、(2) 系統が離れていても類似した毒物質を持つ植物は、近縁なマメゾウムシに利用される、という二つの傾向を見出した。

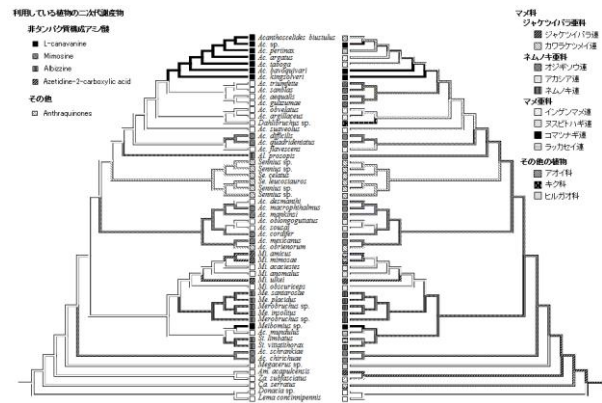


図1 マメゾウムシ類の分子系統樹でマッピングした利用植物(右側)と毒物質(左側)

津田は、生物の遺伝的分化の様相は、地理的隔離、寄主利用、そして外的要因による遺伝子流動によって決まると考えてきた。遺伝的分化を促進するメカニズムの候補としては、限られた移動分散力に起因する地理的隔離による異所的分化、寄主レース形成などによる同所的分化がある。これらに反して、農業害虫では、作物の貿易によって、遺伝的に異なる害虫集団間の人為的移動分散・交雑が促進される。しかし、これら緒要因が遺伝的分化・均一化にどの程度寄与しているかを定量的に調査した研究例は少ない。そこで、マメ科種子の害虫であるヨツモンマメゾウムシの塩基配列変異をミトコンドリア2遺伝子と核1遺伝子について、世界規模で調査・解析した。

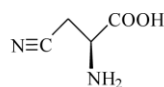
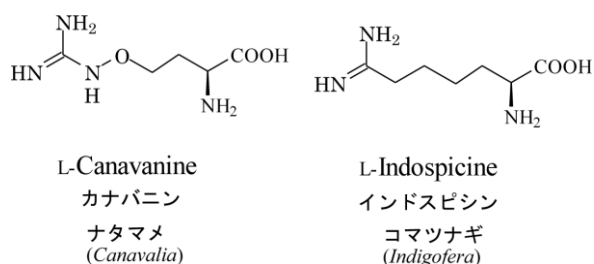
	AMOVA (% variance)				
	Global	Continent controlled		Host plants controlled (W. angustulata)	
	mDNA	nDNA	Afrika	Asia	
Among continents or archipelagos	18.3**	-1.2 <sup>NS</sup>			2.5 <sup>NS</sup>
Among regions	15.4**	12.8***	46.3**	-7.4 <sup>NS</sup>	24.2***
Among populations	66.3**	88.4**	21.3***	45.5**	67.3***
Within populations			32.4**	61.9**	
Among host plants	17.0**	31**	-4.0 <sup>NS</sup>	31.6**	

表1 AMOVAによるヨツモンマメゾウムシの遺伝的多様化の解析

その結果、mtDNAの塩基配列変異は、地域集団間では、アフリカで有意だったがアジアでは有意でなかった。これに対し、異なる寄主

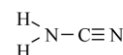
植物を利用する集団間では、アフリカで有意でなくアジアでは有意だった（表1）。大陸間変異は有意だったが、ササゲを利用する集団に限定すると有意ではなかった（表1）。アジア内では頻繁な流通によって地域間で遺伝的均一化が進む一方で、寄主転換時の創始者効果によって分化したと考えられる。

藤井グループはマメ科のアレロケミカル（他感作用の毒物質）を分析した。広義のマメ科はイネ科、キク科と並んで、最も分化した植物群であるとされ、12000種～20000種もあるとされる大きな科である。その特徴のひとつとして、二次代謝物質として、栄養にならない特殊なアミノ酸とその誘導体が存在することが知られている。その多くが、タンパク態アミノ酸の構造の一部が変化した類似物質であり、タンパク態アミノ酸の正常な代謝をかく乱することによって、毒物として作用すると考えられている。たとえば、ナタマメに含まれるカナバニンやコマツナギに含まれるインドスピシン、ガラスマメに含まれるホモアルギニンはアルギニンの類縁体であり、アルギニンと拮抗して tRNA と結合し、DNA 合成を阻害するとされる。ソラマメやスイートピーには、アラニンの類縁体であるβ-シアノアラニンが存在する。シアノアラニンは動物に対する神経毒で、視覚異常、けいれん、硬直を起こすとされている。ムクナやソラマメに含まれるドーパやオジギソウ、ギンネムに含まれるミモシンはチロシンの類縁物質である。なお、ソラマメを大量に食べたときに起こるソラマメ中毒の原因物質は、バイシン(Vicine)という糖アルカロイドであり、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼに異常のある地中海沿岸の男性に発症するとされている。また、ジエンコールマメに含まれるジエンコール酸はシスチンの、アカシアやアルビジアに含まれるアルビジンはグルタミンの類縁体である。また、マメ科緑肥作物で雑草抑制能の強いムクナ（ハッシュョウマメ）のアレロケミカルとしてL-ドーパを報告した。ムクナは南米で緑肥として普及し、最近では中部アフリカにも広がっている。同グループでは、現場で強い雑草抑制効果を示し、それ自身も病害虫に抵抗性が強いマメ科の緑肥作物ヘアリーベッチに含まれるアレロケミカルとして、シアナミド(Cyanamide) (図2) を同定した。



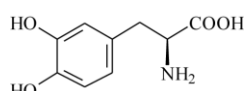
**L-β-Cyanoalanine**  
β-シアノアラニン

ガラスマメ属、ソラマメ属  
(*Vicia, Lathyrus*)



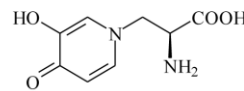
**Cyanamide**  
シアナミド

ヘアリーベッチ  
(*Vicia villosa*)  
ハリエンジュ  
(*Robinia pseudoacacia*)



**L-DOPA**  
L-ドーパ

ムクナ  
(*Mucuna*)



**L-Mimosine**  
L-ミモシン

ギンネム (*Leucaena*)  
オジギソウ (*Mimosa*)

図2 マメ科植物に見られるさまざまな遊離アミノ酸の毒物質

## 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15件)

- ① Okuda K., Nishikawa K., Fukuda H., Fujii Y., Shindo M. (2014) *cis*-Cinnamic acid selective suppressors distinct from auxin inhibitors, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 62:600-607 査読有  
DOI:<http://dx.doi.org/10.1248/cpb.c14-00169>
- ② N. Wasano, M. Sugano, K. Nishikawa, K. Okuda, M. Shindo, S.-Y. Park, S. Hiradate, T. Kamo, Y. Fujii (2014) Transcriptomic evaluation of the enhanced plant growth-inhibitory activity caused by derivatization of *cis*-cinnamic acid, *Journal of Plant Research*, 39:85-90 査読有  
DOI:<http://dx.doi.org/10.1584/jpestics.D13-090>
- ③ Saeki Y., Tuda M., Crowley PH. (2014) Allocation trade-offs and life histories: a conceptual and graphical framework, *Oikos*, in press 査読有  
DOI:10.1111/oik.00956.
- ④ Tuda M., Wu L.-H., Yamada N., Wang C.-P., Wu W.-J., Buranapanichpan S., Kagoshima K., Chen Z.-Q., Teramoto KK., Kumashiro BR., Heu R. (2014) Host shift capability of a specialist seed predator of an invasive plant: roles of competition, population genetics and plant chemistry, *Biological Invasions*,

- 16:303-313 査読有  
DOI:10.1007/s10530-013-0519-7
- ⑤ M. I. Shinwari and Y. Fujii (2013) Allelopathic activity of medicinal plants and weeds from Pakistan, *Allelopathy Journal*, 32:223-232 査読有  
<http://connection.ebscohost.com/c/articles/90473155/allelopathic-activity-medicinal-plants-weeds-from-pakistan>
- ⑥ Yanagi S., Saeki Y., Tuda M. (2013) Adaptive egg size plasticity for larval competition and its limits in the seed beetle *Callosobruchus chinensis*, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 148:182-187 査読有  
DOI:10.1111/eea.12088
- ⑦ Katsuki M., Y. Toquenaga, and T. Miyatake (2013) Larval competition causes the difference in male ejaculate expenditure in *Callosobruchus maculatus*, *Population Ecology*, 55:493-498 査読有  
DOI:10.1007/s10144-013-0380-7
- ⑧ T. Takemura, E. Sakuno, T. Kamo, S. Hiradate, and Y. Fujii (2013) Screening of the growth-inhibitory effects of 168 plant species against lettuce seedlings, *American Journal of Plant Sciences*, 4:1095-1104 査読有  
DOI:10.4236/ajps.2013.45136
- ⑨ T. Takemura, T. Kamo, E. Sakuno, S. Hiradate, and Yo. Fujii (2013) Identification of coumarin as the predominant allelochemical in *Gliricidia sepium*, a leguminous tree of seasonally dry forests, *Journal of Tropical Forest Science*, 25:268-272 査読有  
<http://www.myjournal.my/public/article-view.php?id=72790>
- ⑩ Yahara T. et al. (Tuda M.:29 名中 17 番目, Shimada M.:29 名中 18 番目) (2013) Global legume diversity assessment: concepts, key indicators, and strategies, *TAXON*, 62:249-266 査読有  
<http://ctfs.arnarb.harvard.edu/Public/pdfs/Global%20legume%20diversity%20assessment%20Concepts,%20key%20indicators,.pdf>
- ⑪ Yanagi S, Tuda M. (2012) Female size constrains egg size via the influence of reproductive organ size and resource storage in the seed beetle *Callosobruchus chinensis*, *Journal of Insect Physiology*, 58:1432-1437 査読有  
DOI:10.1016/j.jinsphys.2012.08.007
- ⑫ T. Kamo, T. Takemura, N. Wasano, Y. Fujii, and S. Hiradate. (2012) Quantification of cyanamide in young seedlings of *Vicia* species, *Lens culinaris*, and *Robinia pseudo-acacia* by gas chromatography-mass spectrometry, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 76:1416-1418 査読有  
DOI:10.1271/bbb.120262
- ⑬ Kondo N. I., Tuda M., Toquenaga Y., Lan Y. -C., Buranapanichpan S., Horng S. -B., Shimada M., Fukatsu T. (2011) *Wolbachia* infections in world populations of bean beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) infesting cultivated and wild legumes, *Zoological Science*, 28:501-508 査読有  
DOI:10.2108/zsj.28.501
- ⑭ Tuda M. (2011) Evolutionary diversification of bruchine beetles: climate-dependent traits and development associated with pest status, *Bulletin of Entomological Research*, 101:415-422 査読有  
DOI:10.1017/S0007485310000660
- ⑮ Vamosi S.M., den Hollander M.D., Tuda M. (2011) Egg dispersion is more important than competition type for herbivores attacked by a parasitoid, *Population Ecology*, 53:319-326 査読有  
DOI:10.1007/s10144-010-0248-z
- [学会発表] (計 15 件)
- ① 和佐野直也, 山口智広, 水谷哲也, 大松勉, 片山幸枝, 藤井義晴. 次世代シーケンサーを用いたヘアリーベッチ若葉で発現する遺伝子群の網羅的解析, 日本雑草学会第53回講演会, 2014年3月30日, 法政大学
- ② 津田みどり, 鹿児嶋久美子, 徳永幸彦, Arnqvist, Goran. 貯蔵マメ害虫の大陸間・地域間遺伝的分化パターンから推定する地理的隔離・寄主植物利用・人為的要因の効果, 第58回日本応用動物昆虫学会大会, 2014年3月27日, 高知大学
- ③ 津田みどり, 鹿児嶋久美子, 徳永幸彦, Arnqvist, Goran. 貯蔵マメ害虫の大陸間・地域間遺伝的分化パターンから推定する地理的隔離・寄主植物利用・人為的要因の効果, 第58回日本応用動物昆虫学会大会, 2014年3月27日, 高知大学
- ④ Uchiumi Y., Y. Toquenaga, Y. Numajiri and N. I. Kondo. Host species barrier against *Wolbachia* infection, 第61回日本生態学会大会, 2014年3月17日, 広島国際会議場
- ⑤ Numajiri Y., Y. Toquenaga, N. I. Kondo.

- Evolution of Reproductive Manipulation, 第 61 回日本生態学会大会, 2014 年 3 月 16 日, 広島国際会議場
- ⑥ 徳永幸彦 (オーガナイザー). 生態学者的分子手法と Bayesian で紐解く Wolbachia の世界, 第 61 回日本生態学会大会, 2014 年 3 月 14 日, 広島国際会議場
- ⑦ Than Lin Aung, 柳真一, Husein, Deena, 鹿兒嶋久美子, 津田みどり, 高 CO2 濃度下での寄主-寄生蜂系個体群動態と進化的変化, 第 61 回日本生態学会大会, 2014 年 3 月 14 日, 広島国際会議場
- ⑧ 津田みどり, 中平賢吾, 柳真一, 佐伯順子, 鹿兒嶋久美子. 触角節数の集団内多型の進化的維持機構: マメゾウムシの場合, 第 57 回日本応用動物昆虫学会大会, 2013 年 3 月 29 日, 日本大学
- ⑨ 鹿兒嶋久美子, 津田みどり, 山田直隆, Wu L-H, Wang C-P, Wu J-W, Chen Z-Q, Teramoto K., Kumashiro B., Buranapanichpan S. 雑草防除資材の亜科を超えた寄主植物シフト: ギンネムマメゾウムシの場合, 第 57 回日本応用動物昆虫学会大会, 2013 年 3 月 29 日, 日本大学
- ⑩ Y. Numajiri and Y. Toquenaga. Taming cytoplasmic incompatibility (CI) in Wolbachia-infected *Callosobruchus analis*, 第 60 回日本生態学会大会, 2013 年 3 月 6 日, 静岡県コンベンションセンター
- ⑪ 藤井義晴. アレロパシーを利用した有機農業、とくにヘアリーベッチとハッシュウマメの今後の利用について, 第 13 回日本有機農業学会大会, 2012 年 12 月 8 日, 東京農工大学
- ⑫ Tuda M., Nakahira K., Yanagi S., Kagoshima K., Sakurai G. Polymorphic number of antennal segments in a beetle population: sexually different response to artificial selection, First Joint Congress on Evolutionary Biology, 2012 年 7 月 7 日, The Ottawa Convention Centre
- ⑬ Shimada M., Ishii Y., Sasakawa K., Nakayama S. Parasitic wasp learning promotes coexistence with hosts' generation cycles in host-parasitoid system: Neural model analysis, 24<sup>th</sup> International Congress of Entomology, 2012 年 8 月 23 日, The EXCO-Daegu
- ⑭ 津田みどり, 鹿兒嶋久美子, 柳真一. 温度適応の地理集団間差異: アズキゾウムシを例として, 日本応用動物昆虫学会大会, 2012 年 3 月 28 日, 近畿大学
- ⑮ Shimada M., Tuda M., Kato T. Phylogeny and community ecology of legume-bruchine beetle system, International workshop on global

legume diversity assessments (招待講演), 2011 年 8 月 21 日, 九州大学

[図書] (計 1 件)

- ① 星野仏方 (編集), 縄田浩志, 藤井義晴, アブドゥルジャッバー・T・バービクル, 他. 臨川書店, 外来植物メスキート (アラブのなりわい生態系 4), 2013, 27-43

[その他]

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/shimada-1ab/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

嶋田 正和 (SHIMADA MASAKAZU)  
東京大学・大学院情報学環・教授  
研究者番号: 40178950

### (2) 研究分担者

藤井 義晴 (FUJII YOSHIHARU)  
東京農工大学・(連合) 農学研究科 (研究院)・教授  
研究者番号: 10354101

徳永 幸彦 (TOQUENAGA YUKIHIKO)  
筑波大学・生命環境科学研究科 (系)・准教授  
研究者番号: 90237074

津田 みどり (MIDORI TSUDA)  
九州大学・(連合) 農学研究科 (研究院)・准教授  
研究者番号: 20294910

### (3) 連携研究者

伊藤 元己 (ITO MOTOMI)  
東京大学・大学院総合文化研究科・教授  
研究者番号: 00193525

柴尾 晴信 (SHIBAO HARUNOBU)  
東京大学・大学院総合文化研究科・特任研究員  
研究者番号: 90401207

笹川 幸治 (SASAKAWA KOUJI)  
東京大学・大学院総合文化研究科・特任研究員  
研究者番号: 30647962

### (4) 研究協力者

加藤 俊英 (KATO TOSHIHIDE)  
東京大学・大学院総合文化研究科・特任助教  
研究者番号: 90727950