

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14日現在

機関番号：10101
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21770083
 研究課題名（和文）シカ寄生性シラミ2種をモデル系とした形態進化に関する研究
 研究課題名（英文）Morphological evolution of parasitic lice parasitizing sika deer
 研究代表者
 吉澤 和徳（YOSHIZAWA Kazunori）
 北海道大学・大学院農学研究院・准教授
 研究者番号：10322843

研究成果の概要（和文）：（1）ニホンジカには大陸+台湾，北日本，南日本の3系統が，シカハジラミには台湾+九州南部とそれ以外の2系統が認められた（2）シカーシラミのミトコンドリア間に有意な共種分化関係はない。雄ジカによるシラミの伝播が要因として考えられた（3）寄生者の集団構造解析は，宿主の隠れた集団構造を解明する上でも有用である（4）頭部形態は系統関係を反映し，非機能的構造の変異が最も大きい。シラミの小進化では，中立的変異の蓄積が主要因と考えられた。

研究成果の概要（英文）：(1) Genealogies of sika deer and sika deer lice were estimated using partial sequence of mitochondrial COI gene. Three lineages were identified for sika deer (Continental, Northern and Southern clades) whereas two lineages were identified for deer lice (Continent+southern Kyushu and others); (2) analyses of topological congruence revealed that there is no significant pattern of co-divergence between deer and lice. The present analyses only used the maternally inherited gene marker so that male-deer mediated lice dispersal is considered to be the main source of the incongruence; (3) long distance dispersal of lice apart from their host is quite unlikely. In such case, louse population genetic tree can be good indicators of hidden population structure in their host; (4) using morphometric analyses, microevolutionary changes in deer lice morphology is shown to accumulate along phylogenetic lines. The neutral characters appeared to comprise a larger fraction of the variation compared to those expected to be more functionally significant. This suggests that random drift of more neutral characters plays a major role in the microevolution of morphology of deer lice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：シカジラミ，シカハジラミ，系統地理，共進化，形態進化，種

1. 研究開始当初の背景

「種」は生物の基本的な単位として認められることが多いものの、その一方で種の実体とは何か（また種は実在するのか）、という点においては議論が絶えない。分類学の現場では、種は形態的にまとまった集団として認識、記載される場合がほとんどだが、一方でそのような種を特徴づける形態の、種間での違いや種内での安定性が、どのように生み出され、維持され、またどのような機能的意味を持つのかに関しては、ほとんどの場合明らかではない。

シラミは、宿主体上でその全ての生活環を完了させる特異的な昆虫で、宿主-寄生者の共種分化研究のモデル生物の一つともなっている。特に哺乳類寄生性のシラミでは、宿主-寄生者間に種分化パターンの極めて高い一致が認められている。またシラミは、寄生生活に特化した形態を示すことから、形態進化の研究対象としても優れたモデル生物である。

申請者は、形態進化を研究する上でこのような好条件を備えたシラミ類の中でも、シカ寄生性シラミ2種は、冒頭に示したような理想的条件を備えた希有な系であることを見いだし、研究の着想に至った。

ある時間断面において、種に見られるような形態上のまとまりをもたらす要因として、集団が分化してからの時間の長さ、系統的制約、安定化選択、そして有性生殖による遺伝子流動等が考えられる。しかし、一般にこれらの要因を明確に区別して検出することはきわめて困難である。本研究では、ニホンジカに外部寄生するシラミをモデル系として、形態進化に関係するこれらの要因を個別に検出し、比較・検討を行う。

シラミ類は宿主を離れること無く生活環を完了させるため、宿主体表を棲息環境の全てとしてとらえることができる。そのため、シラミの形態進化に与える環境の要因（自然選択、安定化選択）を容易に評価できる。特にシカハジラミは単為生殖を行う。よって、形態的まとまりをもたらす要因としての両性生殖の役割を除外する事ができる。さらに、シ

カとシラミの分子系統解析も組み合わせることで、集団が分化してからの時間と系統的な制約が、形態的まとまりに与える影響についても検討できる。

2. 研究の目的

(1) 系統解析のための分子マーカーの開発：分子系統解析を行う上で適切なマーカーを選定するために、5集団程度を代表として選び、ミトコンドリア全周の塩基配列を決定する。

(2) 系統解析および共種分化解析：上記解析に基づき選定した COI 遺伝子領域の塩基配列を、日本各地で採集したシカハジラミ、シカジラミそれぞれで決定し、集団間の系統解析を行う。各集団から複数個体を選び、集団内における多型のチェックも行う。シラミ採集の際に同時に得られるシカ毛サンプルを用いて、サンプルを採集したシカの相同領域の塩基配列も決定し、系統解析を行う。

得られた系統樹に基づき、宿主-寄生者間およびシカハジラミ-シカジラミ間の分化パターンの比較を行う。

(3) 形態測定学的解析：幾何学的形態測定の手法を用いて、頭部形態を定量的に解析する。得られた値に基づきクラスター解析を行い、これを系統樹およびシカの形態（体サイズによる亜種分類）と比較する。寄生性と強く関連している形質（頭部の溝）とそうでない形質それぞれに働く進化的要因を明らかにする。

3. 研究の方法

日本各地からシカハジラミ、シカジラミの広範なサンプリングを行った。サンプリングにあたっては、各地の自治体や狩猟組合等と連絡を取り、調査、駆除への同行という方法をとった。シラミのサンプリングを含め、本研究の遂行にあたっては、大学院生（当時）水越敦氏の協力を得た。台湾産のサンプルは、アメリカの研究者の協力を得て採集した。

サンプルは99%エタノールに保存し、DNA解析と形態解析に用いた。外骨格を変形・破壊させること無く、ほぼ完全な状態で保ったまま、微小な昆虫からDNAを抽出する方法を開発・確立しており、本研究においては、分子情報と形態情報を完全に一対一で対応させた解析が可能となった。抽出後得られた外骨格は、ユーパラルを用いてスライド標本とし、透過型顕微鏡に設置したデジタルカメラで撮影し、その輪郭を解析した。

本研究では、宿主—寄生者の共種分化解析も行った。ハジラミでは、双翅目シラミバエへの便乗によるホストスイッチが幅広く知られており、これが大規模に生じていた場合、共種分化パターンは見られない。今回の研究系においても、シカにはシカシラミバエが寄生するため、この可能性を考慮する必要があるが、シカシラミバエは、寄生後速やかに翅の切断を行うことから、シカの個体群を横断するような長距離の分散が起こる可能性は極めて低い。しかし、シラミバエによるホストスイッチの可能性が完全には否定できないため、シラミの採集にあたっては、同時に採集されるシラミバエも採集し、便乗の可能性を評価した。

4. 研究成果

(1) ミトコンドリア COI 遺伝子の部分配列を用い、ニホンジカとシカハジラミの種内系統関係を推定した。その結果、シカは大陸、北日本、南日本の3系統に分かれるのに対し、シラミは大陸+九州南部とそれ以外の2系統に分かれる事が分かった。

(2) 両系統樹を比較した結果、シカとシラミの間には有意な共種分化関係は認められなかった。この原因の一つとして、シラミバエによる伝播が考えられるが、便乗するシラミは確認されず、この可能性は低いと考えられた。むしろ両系統の不一致の要因として、ミトコンドリアでは追跡出来ない、雄ジカを介した伝播の可能性が最も高いと考えられた。またシラミの解析からは、日本産のシカが、シカの遺伝子解析から想定されるより近い時代に、大陸産のシカと遺伝子交流があった可

能性が示された。

(3) 宿主—寄生者が密接な関係にある系においては、寄生者の集団構造解析は、遺伝子解析のみでは見いだす事の出来ない宿主の隠れた集団構造を考察する上でも有用であると考えられた。

(4) 頭部形態の形態測定学的解析の結果、頭部の輪郭形態は系統関係を強く反映する事が示された。また最も変異の大きい部分は、ほとんど機能的意味を持たないと考えられる事から、シラミ形態の小進化では、中立的な変異が蓄積されていると考えられた。

(5) シカとシラミのミトコンドリアの塩基置換速度には5倍（補正無し）から7倍（最尤モデルに基づく補正あり）の差がある事が示された。これは過去に示されたシラミと宿主の間に見られるさよりも大きい。その理由として、シカハジラミが単為生殖を行っていることが考えられた。

(6) 本研究課題と関連するテーマ（分子系統、形態進化、シラミ）として、アライメントの方法論の検討、挿入欠損の系統データとしての利用、シラミの分子進化、他の昆虫群の形態進化と相同性の研究、シラミの高次系統解析なども行った。

(7) シカハジラミは北米に移入種として侵入しており、現地のシカに深刻な影響を及ぼしている。本研究は、それらのシラミがどのような経路で北米に侵入したかや、なぜシカハジラミが急速に分布を拡大したかを考察する上での基礎データを提供する。今後 USDA の研究者とこの問題を共同研究として行っていく予定である。

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17件）

ほぼ全ての論文が、北海道大学レポジトリ HUSCAP から入手出来る
<http://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/browse?>

type=author&authority=1000010322843

- (1) **Yoshizawa, K.** 2012. The treehopper's helmet is not homologous with wings (Hemiptera: Membracidae). *Systematic Entomology* 37: 2-6.
【査読あり】
- (2) Matsumura, Y. & **Yoshizawa, K.** 2012. Homology of the internal sac components in the leaf beetle subfamily Criocerinae and evolutionary novelties related to the extremely elongated flagellum. *Journal of Morphology* 273: 507-518.
【査読あり】
- (3) **Yoshizawa, K.**, Bess, E., Johnson, K. P. 2011. Kaindipsocinae are a sister taxon of the rest of Psocidae (Insecta: Psocodea: 'Psocoptera'). *Invertebrate Systematics* 25: 81-90.
【査読あり】
- (4) **Yoshizawa, K.** 2011. Monophyletic Polyneoptera recovered by wing base structure. *Systematic Entomology* 36: 377-394. (巻頭論文)
【査読あり】
- (5) Cameron, S. L., **Yoshizawa, K.**, Mizukoshi, A., Whiting, M. F. & Johnson, K. P. 2011. Mitochondrial genome deletions and minicircles are common in lice (Insecta: Phthiraptera). *BMC Genomics* 12: 394.
【査読あり】
- (6) Ohshima, I. & **Yoshizawa, K.** 2011. The utility of indels in population genetics: the Tpi intron for host race genealogy of *Acrocercops transecta* (Insecta: Lepidoptera). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 469-476.
【査読あり】
- (7) Sekimoto, S. & **Yoshizawa, K.** 2011. Revision of the genus *Osmylus* (Neuroptera: Osmylidae: Osmylinae) of Japan. *Insecta matsumurana, new series* 67: 1-22.
【査読あり】
- (8) Smith, V. S., Ford, T., Johnson, K. P., Johnson, P., **Yoshizawa, K.** & Light, J. 2011. Multiple lineages of lice pass through the K-Pg boundary. *Biology Letters* 7: 782-785.
【査読あり】
- (9) 吉澤和徳 (2011) [総説] 直接最適化法 direct optimization の問題点、タクサ (日本動物分類学会会報) 30: 17-29.
【査読あり】
- (10) **Yoshizawa, K.** 2010. Systematic revision of the Japanese species of the subfamily Amphigerontinae (Psocodea: 'Psocoptera': Psocidae). *Insecta Matsumurana new series* 66: 11-36.
【査読あり】
- (11) **Yoshizawa, K.** & Lienhard, C. 2010. In search of the sister group of the true lice: A systematic review of Liposcelididae and their relatives, with an updated checklist of the family (Insecta; Psocodea). *Arthropos Systematics and Phylogeny* 68: 181-195.
【査読あり】
- (12) **Yoshizawa, K.** & Johnson, K. P. 2010. How stable is the "Polyphyly of Lice" hypothesis?: A comparison of phylogenetic signal in multiple genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 939-951.
【査読あり】
- (13) **Yoshizawa, K.** 2010. Direct optimization overly optimizes data. *Systematic Entomology* 35: 199-206.
【査読あり】
- (14) **Yoshizawa, K.** & Garcia Aldrete, A. N. 2010. Description of a new species of the *Trichadenotecnum roesleri* species group from Brazil (Insecta: Psocodea: 'Psocoptera': Psocidae) and its phylogenetic implications. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 45: 61-66.
【査読あり】
- (15) Ohshima, I. & **Yoshizawa, K.** 2010. Differential introgression causes genealogical discordance in host races of *Acrocercops transecta* (Insecta: Lepidoptera). *Molecular Ecology* 19: 2106-2119.
【査読あり】
- (16) Matsumura, Y. & **Yoshizawa, K.** 2010. Insertion and withdrawal of extremely elongated genitalia: A simple mechanism with a highly modified morphology in the leaf beetle. *Biological Journal of the Linnean Society* 99: 512-520.
【査読あり】
- (17) **Yoshizawa, K.** 2009. Description of *Kimunpsocus takumai* n. gen. & n. sp. from Hokkaido, Japan (Psocodea: 'Psocoptera': Psocidae: Ptyctini). *Insecta matsumurana, new series* 65: 149-155.
【査読あり】

〔学会発表〕 (計 5 件)

- (1) **Yoshizawa, K.**, Johnson, K. P. (2011) Phylogeny of Psocomorpha: congruence and incongruence between morphology and molecular data (5th Dresden Meeting on Insect Phylogeny, Germany)
【招待講演】
- (2) 吉澤和徳 (2011) 「ツノゼミ ありえない誤り」 & 「翅基構造の比較／機能形態学」 (日本昆虫学会第71回大会, 信州大学: シンポジウム 「形態学とは何か」)
【招待講演】
- (3) **Yoshizawa, K.**, Lienhard, C. (2009) Are booklice true lice? Phylogeny of Liposcelididae and their allies (Psocodea) (4th Dresden Meeting on Insect Phylogeny, Germany)
【招待講演】
- (4) 吉澤和徳, 水越敦 (2009) シカハジラミのミトコンドリアゲノムに見られる特異性-特に微小環について- (日本進化学会第11回大会, 北海道大学: ワークショップ 「分類学者の抱えているおもしろネタを進化学者に提供する」)
【招待講演】
- (5) **Yoshizawa, K.** & Johnson, K. P. (2010) How stable is the "Polyphyly of Lice" hypothesis?: A multigene phylogeny of lice and their relatives (Insecta: Psocodea). (4th International Conference on Phthiraptera, Urgup, Turkey)
【一般講演】

〔図書〕 (計1件)

大島一正・吉澤和徳 (2012) 古い昆虫標本からの DNA 抽出と抽出産物の PCR 増幅. 種生物学研究35号 種間関係の生物学—共生・寄生・捕食の新しい姿, p. 303-311, 文一総合出版, 東京.
【査読あり】

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
吉澤 和徳 (YOSHIZAWA, Kazunori)
北海道大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: 10322843