

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02208

研究課題名(和文) 昆虫における幼生生殖のメカニズムおよび適応的意義の解明

研究課題名(英文) Mechanism and adaptive significance of paedogenesis in insects

研究代表者

徳田 誠 (Tokuda, Makoto)

佐賀大学・農学部・教授

研究者番号：60469848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：日本国内では、海外産の菌糸由来とみられるきのこ栽培施設内では幼生生殖性を示すタマバエは確認されていなかったが、本研究により、国内各地の土着きのこ類から幼生生殖性を示すタマバエを多数発見した。一連の研究から、国内にはMycophila属、Heteropeza属、Leptosyna属など、少なくとも5属が生息していることを報告した。さらに、多くの系統についてエノキタケ菌糸を用いた累代飼育に成功すると共に、一部の系統で発育増殖特性を明らかにした。また、Mycophila属とHeteropeza属のゲノム解析を実施し、RNA-seqにより幼生生殖モードと完全変態モードの際の遺伝子発現を比較した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

幼生生殖とは、幼虫または蛹段階で卵巣が発達し、「母幼虫」または「母蛹」が「子幼虫」を産生するという特殊な繁殖様式であり、昆虫では甲虫目で1種とハエ目タマバエ科の複数種でしか確認されていない。本研究では、これまで国内の自然生態系から未確認であった幼生生殖のタマバエを多数発見し、それらの室内累代飼育系を確立するとともに、ゲノム解析や遺伝子発現解析を実施した。一連の研究により、昆虫における資源利用様式や繁殖様式の進化過程や生物の多様化に関する洞察が得られた。また、幼生生殖タマバエの一部は重要なきのこ害虫であり、その生態の解明は、防除技術の確立にも貢献する研究内容である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we first found various paedogenetic gall midges associated with decayed wood and branches from natural environment of Japan. We clarified that at least five genera of gall midges, belonging to Mycophila, Heteropeza, Leptosyna etc. are distributed in Japan. Furthermore, we established a laboratory rearing technique of many paedogenetic gall midges using Flammulina velutipes mycelia growing on potato dextrose agar(PDA) media and clarified developmental and reproductive traits of some paedogenetic species. In addition, genome analyses of the genera Mycophila and Heteropeza were carried out and gene expression was compared during paedogenetic and holometabolic modes of reproduction by RNA-seq analysis.

研究分野：昆虫科学

キーワード：幼生生殖 タマバエ 菌食性

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

昆虫は陸上生態系で最も適応放散した分類群の1つであり、環境や資源に応じて多様な摂食様式や繁殖様式を進化させてきた。近年の研究から、昆虫の中では、八工目タマバ工科の種数がかつても多いことが示され、さらに未記載種を含めると180万種に達するという驚異的な推計もある。

一般に、ある昆虫の科に含まれる種は特定の食性を持つことが多いが、タマバ工科では、腐食性や菌食性、植食性、肉食性(捕食性、内部寄生性)の種が知られており、食性の幅が例外的に広いという特徴がある。タマバ工科における環境適応や繁殖戦略を明らかにすることは、昆虫の陸上生態系における適応放散を理解する上で非常に重要な鍵となる。

近年の分子系統学的研究から、タマバ工科は1つの共通祖先から派生した単系統群であること、腐食性や菌食性のグループが祖先的、植食性のグループが派生的であること、植食性のグループの中から肉食性の種が分化したことなどが明らかになっている。

現生のタマバ工科では、寄主植物に顕著な構造物である虫えい(虫こぶ)を形成する植食性の種がかつとも目立つ存在であり、記載された種数も多い。虫えい形成性の種に関しては、繁殖戦略や虫えい形成メカニズムに関して様々な研究が展開されてきた。一方、祖先的な種が含まれている腐食性や菌食性の種に関しては、その多くが目立たず、生態的なデータも取りづらいことから、これまでは記載的研究や、一部のキノコ害虫を対象とした応用的研究しか行われていない。

しかし、腐食性や菌食性の種には、極めて興味深い性質も知られている。その1つが、菌食性タマバ工の4属約10種でのみ知られている幼生生殖(Paedogenesis)である。

幼生生殖とは“母幼虫”や“母蛹”(半蛹 hemipupa と呼ばれる)の体内で卵巣が発達し、クローンの“子幼虫”が産生されるという特異な繁殖様式であり、子幼虫は母体内を食い尽くし、最後には母幼虫の頭とお尻を食い破って体外へと飛び出してくる。このサイクルを繰り返すことにより、他の昆虫では考えられないほど急激な増殖が可能であり、わずか2週間で1頭の幼虫が数千頭にまで増加する。

幼生生殖という性質は、タマバ工科以外では、やはり菌食性の甲虫目チビナガヒラタムシ科の1種でしか知られていない極めて特殊な繁殖様式である。また、研究代表者らは飼育の過程で、一部の種が幼生生殖モードから完全変態モードへと転換することも確認している。完全変態モードに切り替わると、幼体内で卵巣が発達せず、一般的な八工目昆虫と同様に、蛹を経て成虫となる。

多様な適応放散を遂げた昆虫類の中で、極めて増殖効率が高い幼生生殖という繁殖様式が、なぜごく一部の昆虫でのみ進化したのか、という疑問が、本申請課題の核心をなす究極的な学術的「問い」である。なぜ菌食性の一部の種のみがこの性質を持つのか? 幼生生殖モードと完全変態モードの転換は、どのようなメカニズムで生じるのか? モードの転換にはどのような適応的意義があるのか? といった点を解明することは、昆虫類における資源利用様式や繁殖様式の進化を考える上で非常に興味深く、重要な研究課題である。

また、菌食性タマバ工の中には、幼生生殖と完全変態を切り替えるもののほか、幼生生殖を示さず、常に完全変態モードのものなども知られている。このことは、繁殖様式を状況依存的に切り替えることにより適応度が最大化する場合と、常に完全変態モードで繁殖する方が有利な場合とがあることを示唆している。これらのタマバ工はいずれも菌類という共通の資源を利用する種であり、比較研究を実施する上で適しており、幼生生殖性がどのように進化したのか、遺伝子レベルの解析に加えて、適応的意義の観点からも研究を遂行可能な理想的な系であるとと言える。

多様な適応放散を遂げた昆虫類の中で、なぜごく一部の昆虫でのみ極めて増殖効率が高い幼生生殖という繁殖様式が進化したのか、なぜ菌食性の一部の種のみがこの性質を持つのか、幼生生殖モードと完全変態モードの転換は、どのようなメカニズムで生じるのか、モードの転換にはどのような適応的意義があるのか、といった点を解明することは、昆虫類における資源利用様式や繁殖様式の進化を考える上で非常に興味深く、重要な研究課題である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、幼生生殖タマバ工を含む様々な菌食性タマバ工を対象として上述の疑問点を解明した上で、幼生生殖および繁殖モード転換のメカニズムと適応的意義を明らかにすることである。

3. 研究の方法

1) タマバ工の分類学的地位および系統関係

国内のさまざまな環境において菌食性タマバ工を採集し、その中から幼生生殖性を示すものを抽出する。分子遺伝学的解析および形態比較により、得られたタマバ工類の分類学的地位を明ら

かにする。

2) モード転換メカニズムの解明 [2021-2023 年度、主担当：龍田・連携：徳田]

先行研究では、幼生生殖モードから完全変態モードへの切り替えには、菌糸の古さが影響しており (Hodin & Riddiford 2000)、申請者らも同様の現象を予備実験で確認している。

そして、キイロショウジョウバエにおいて蛹化前に発現が上昇する *ecdysone receptor* と *ultraspiracle* という遺伝子が、幼生生殖タマバエでは、1 齢幼虫期に発現が上昇することが判明している (Hodin & Riddiford 2000)。

本研究では、日本産の幼生生殖タマバエを対象として、両モードにおける脱皮・変態関連遺伝子の発現動態を RNA-seq により網羅的に比較し、発現動態が異なる遺伝子群を特定する。遺伝子同定に利用可能である。さらに、RNAi および CRISPR-Cas9 による遺伝子ノックダウン・アウト系統の作出により、決定的な役割を果たす遺伝子を特定する。

3) タマバエの野外生態および潜在的摂食範囲の解明

常緑照葉樹林や落葉広葉樹林における定期調査により、菌食性タマバエが利用している 栄養資源を季節ごとに明らかにする。また、林内における菌類の空間分布とコロニーあたりのバイオマス量を算出し、タマバエが潜在的に利用可能な栄養資源量の季節動態を解明する。一連の結果に基づき、完全変態性の種、モード転換する種、幼生生殖性の種における資源 利用戦略を比較し、幼生生殖やモード転換の適応的意義を解明する。

野外調査や飼育実験により、菌食性タマバエ各系統の摂食範囲を解明する。幼生生殖タマバエの栄養摂取源として報告されている腐生性担子菌に加え、報告がない菌根菌や子囊菌も含めた植物病原菌も調査対象とし、タマバエ幼虫にこれらの培養菌糸体を与え、摂食の有無や摂食量、および幼虫の増殖率を比較する。これにより、幼生生殖を示す系統が用いる栄養資源には質的・量的にどのような傾向が強いかを明らかにし、なぜ特定の菌類を利用する種でのみ幼生生殖が進化したのかを考察する。

4. 研究成果

これまで国内では、屋内のきのこ栽培施設でスペイヤークノコタマバエ *Mycophila speyeri* や *Heteropeza pygmaea* が確認されたことはあったが、自然環境から幼生生殖タマバエ発生は発見されていなかった。本研究では、国内各地で腐朽木および腐朽枝を採集して調査した結果、国内の自然環境から初めて幼生生殖タマバエを確認した。幼生生殖タマバエは、広葉樹の白色腐朽菌から得られたが、褐色腐朽菌からは得られなかった。佐賀県内での調査では、比較的標高が高い場所の方が高頻度で確認され、夏季よりも春季に確認される頻度が高かった。幼虫および一部の種の成虫形態学の特徴から、*Miastor*, *Mycophila*, *Heteropeza*, *Heteropezula*, *Leptosyna* の少なくとも 5 属の幼生生殖タマバエが国内に生息していることが明らかになった。

得られたタマバエ幼虫を、ポテトデキストロース (PD) 寒天培地とエノキタケ菌糸を用いて室内飼育する手法を開発し、いずれの属のタマバエも継代飼育が可能になった。この飼育法を用いて、温度が *Mycophila* 属の未記載種 (sp. A) の発育に及ぼす影響を明らかにした。

腐朽木および腐朽枝からの幼虫の採集と並行して、飛翔性昆虫を捕獲するためのマレーズトラップを用いて成虫の捕獲を試みた。その結果、いくつかの属の幼生生殖タマバエの捕獲に成功し、遺伝子解析により、幼虫との対応をつけることができた。本成果に関しては、取りまとめが終わり次第、論文として順次公表予定である。

ゲノム解析支援により、国内産幼生生殖タマバエのうち *Mycophila* 属および *Heteropeza* 属のゲノムを解析した。また、RNA-seq 解析により、幼生生殖モードと完全変態モードにおける発現遺伝子を解析した。これらの結果に関しては、取りまとめが終わったものから順次論文として公表する。

幼生生殖タマバエの寄主範囲や野外において定期的に腐朽木や腐朽枝、落ち葉などを採集し、野外生態および摂食範囲を調査した。また、上述のマレーズトラップにより、成虫の発生消長を調査した。これらの成果の一部は学会大会にて発表した。現在、採集的なデータを取りまとめ中であり、順次論文として公表する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 古川晶啓・澤島拓夫・尾崎一天・Ayman K. Elsayed・湯川淳一・徳田 誠	4. 巻 67
2. 論文標題 国内の自然環境において腐朽木および腐朽枝から見出された幼生生殖タマバエ（ハエ目：タマバエ科）	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 47～52
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1303/jjaez.2023.47	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 古川晶啓・澤島拓夫・徳田 誠	4. 巻 67
2. 論文標題 野外から採集した菌食性幼生生殖タマバエの室内累代飼育，および温度が <i>Mycophila</i> 属の一種の幼生生殖期の発育に及ぼす影響	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 57～61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1303/jjaez.2023.57	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 古川晶啓・三條場千寿・日南 瑤・徳田 誠	4. 巻 102
2. 論文標題 佐賀県初記録のニッポンサシチョウバエ	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Pulex	6. 最初と最後の頁 979～979
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tokuda Makoto, Kawauchi Kota, Matsuda Hiroki, Naito Akinori, So Yoshifumi, Elsayed Ayman Khamis, Kikuchi Takeshi, Kotaka Nobuhiko	4. 巻 25
2. 論文標題 Hundreds of billions of silent outbreaks: A historic outbreak record of the gall midge <i>Schizomyia castanopsisae</i> (Diptera: Cecidomyiidae) on the Izu Islands, Tokyo, Japan, and its potential mechanism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Entomological Science	6. 最初と最後の頁 e12524 (1-14)
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ens.12524	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tokuda Makoto, So Yoshifumi, Kotaka Nobuhiko	4. 巻 58
2. 論文標題 Discovery of the gall midge <i>Schizomyia castanopsisae</i> (Diptera: Cecidomyiidae) inducing inflorescence galls on <i>Castanopsis sieboldii</i> (Fagaceae) from Honshu, Japan and the possibility of its recent range expansion	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Applied Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 315 ~ 322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13355-023-00834-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 古川晶啓・澤島拓夫・尾崎一天・湯川淳一・Ayman K. Elsayed・徳田 誠
2. 発表標題 国内土着キノコ類の菌糸体から確認されたMycophila属幼生生殖タマバエの分類学的地位
3. 学会等名 第5回九州・沖縄昆虫研究会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳田 誠・古川晶啓・澤島拓夫・尾崎一天・Ayman K. Elsayed・湯川淳一
2. 発表標題 国内土着きのこの菌糸体から確認された幼生生殖タマバエ：分類学的地位と生態的特徴
3. 学会等名 第66回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐々木麻衣・古川晶啓・澤島拓夫・尾崎一天・Ayman K. Elsayed・徳田 誠
2. 発表標題 国内の土着きのこの菌糸体から確認されたHeteropeza 属幼生生殖タマバエの同定および生態特性
3. 学会等名 三学会合同佐賀大会2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾崎一天・古川晶啓・澤畠拓夫・湯川淳一・Ayman K. Elsayed・徳田 誠
2. 発表標題 日本産幼生生殖タマバエの幼虫の形態的特徴等を用いたタイプ分け
3. 学会等名 第34回環境動物昆虫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾崎一天・古川晶啓・澤畠拓夫・葛西 弘・湯川淳一・Ayman K. Elsayed・徳田 誠
2. 発表標題 日本産幼生生殖タマバエ幼虫の形態的特徴による分類
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 古川晶啓・尾崎一天・澤畠拓夫・Ayman K. Elsayed・湯川淳一・徳田 誠
2. 発表標題 成虫形態に基づく日本産幼生生殖タマバエ（ハエ目：タマバエ科：Aprionini族，Heteropezini族）の分類学的研究
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢野文士・古川晶啓・日南 遥・尾崎一天・澤畠拓夫・徳田 誠
2. 発表標題 日本で確認された菌食性幼生生殖タマバエの同定および分布
3. 学会等名 三学会合同熊本大会2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 尾崎一天・澤島拓夫・葛西 弘・古川晶啓・矢野文士・徳田 誠
2. 発表標題 日本産幼生生殖タマバエの野外における生態～利用資源の探索～
3. 学会等名 第45回日本土壌動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 日南 瑤・古川晶啓・Ayman K. Elsayed・徳田 誠
2. 発表標題 マレーズトラップによるタマバエ類の捕獲消長：佐賀県の森林と開放地での比較（予報）
3. 学会等名 2022年度九州・沖縄昆虫研究会大会・日本鱗翅学会九州支部合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tokuda, M., Furukawa, A., Sawahata, T., Osaki, K., Elsayed, A. K. and Yukawa, J.
2. 発表標題 Discovery of paedogenetic gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) from decayed wood and branches in natural environments in Japan and their laboratory rearing techniques
3. 学会等名 ICDX (10th International Congress of Dipterology) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢野文士・古川晶啓・Elsayed Ayman・尾崎一天・澤島拓夫・徳田 誠
2. 発表標題 Diversity and distribution of paedogenetic gall midges associated with decayed woods in Japan
3. 学会等名 日本昆虫学会第83回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 尾崎一天・古川晶啓・澤畠拓夫・葛西 弘・矢野文士・徳田 誠
2. 発表標題 幼生生殖タマバエの野外における利用資源
3. 学会等名 日本昆虫学会第84回大会・第67回日本応用動物昆虫学会大会合同大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 矢野文士・古川晶啓・Ayman Elsayed・尾崎一天・澤畠拓夫・徳田 誠
2. 発表標題 幼生生殖タマバエの自然条件下における生態の解明
3. 学会等名 日本昆虫学会第84回大会・第67回日本応用動物昆虫学会大会合同大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 矢野文士・古川晶啓・尾崎一天・澤畠拓夫・徳田 誠
2. 発表標題 幼生生殖タマバエの野外生態:九州北部の照葉樹林における事例研究
3. 学会等名 四学会合同沖縄大会2024
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	龍田 勝輔 (Ryuda Masasuke) (00565690)	佐賀大学・総合分析実験センター・助教 (17201)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	澤畠 拓夫 (Sawahata Takuo) (80709006)	近畿大学・農学部・准教授 (34419)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関