

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25年 6月 1日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22405012

研究課題名（和文） 北米東部と東アジアの分断植物相をめぐる共生・寄生系の進化的解析

研究課題名（英文） Evolutionary analysis of insect groups feeding the plant species group with disjunct distribution between East Asia and eastern North America

研究代表者

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：00193524

研究成果の概要（和文）：

植物をめぐる共生系が、植物の進化に伴いどのように進化したのかを知る目的で、北米東部と東アジアに隔離分布している植物種を餌として利用している昆虫群の系統関係を明らかにし、共生形として分化したのか、新たに共生系が成立したのか考察を行った。チョウ目では、多少の例外はあるものの、東アジアと北米で近縁植物種を餌としているものは、互いに姉妹種となった。それに対し、コウチュウ目では近縁な近縁植物種を餌にしているものが、系統的に離れたものであった。

研究成果の概要（英文）：

In order to clarify how the symbiotic systems have been established around the particular plant group, we examined the phylogenetic relationships of the insect groups feeding the plant species group with disjunct distribution between East Asia and eastern North America.

In Lepidoptera, with a few exceptions, the moths feeding on closely related plant species in East Asia and North America was a sister species to each other. On the other hand, in the order Coleoptera, beetles feeding on closely related plant species in East Asia and North America, were mostly not closely related phylogenetically.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
22年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
23年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
24年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物多様性・分類

キーワード：系統地理学、植物地理学、生物間相互作用、DNA バーコード

1. 研究開始当初の背景

植物の生物地理学においては、20世紀初めに Asa Gray により北米東部と東

アジアの植物相の類似が指摘され、ベーリング陸橋が存在した時代に両大陸の周北極地域に分布していた植物群が、気候変化とともに隔離分布し、それぞれ独自の進化を遂げたと考えられている(図2)。このシナリオは DNA などの分子マーカーが使用できるようになって以来、さまざまな植物群で検証され、ユリノキ属、カエデ属などで実証研究がされた。しかし、一方で申請者らにより研究が行われたヒヨドリバナ属などではこのシナリオには合わず、ベーリング海峡成立後の北米からアジアへの移動が推定され (Ito et al.,2000)、単純な気候変動による地理的隔離のみで成立したのではなく、隔離成立後の両地域の生物種の移動もあったことがわかってきた。

我々がこれまでに行った文献調査や現地での予備調査により、両地域の温帯性植物は、多様な生物と共存系を形成していることが示唆されている。特に、植物は植食性昆虫や菌類をはじめとするさまざまな生物群により寄主としての利用が多く見られる。さらに、1 種の植物を、互いに近縁な複数の生物種が利用している場合も観察されていて、複雑な共存系を形成していると推測される。したがって、近縁な植物種が多数隔離分布している北米東部と東アジアの温帯林の生物相は共存系の進化史を解析する上で非常に興味深い対象と言える。本研究では、北米東部と東アジアの温帯地域に隔離分布する類似した植物群集における共存系を対象に、1) それぞれの共存系を構成する主要な生物種群の系統・進化の過程を明らかにした上で、2) 各生物種群の進化における生物間相互作用の影響を解析することによって 3) 多様な生物が織り成す共存系の進化史解明を目指す。その目的で、生物間相互作用ネットワークである共存系の長時間にわたる進化史を明らかにし、その成立過程において生物間相互作用が果たしてきた役割についての解析を試みる。

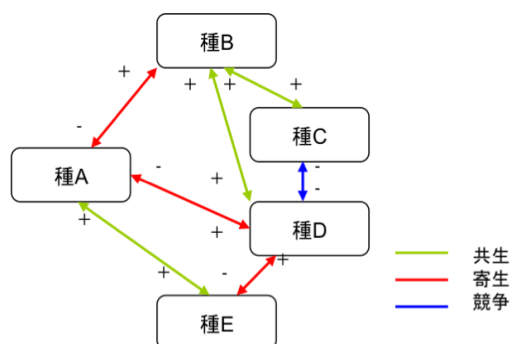


図1. 複数の生物種の仮想的な生物間相互作用。相互作用する2種のそれぞれの適応

度上の利得(+), 損失(-)により、共生(+,+)や寄生(+,-)、競争(-,-)などの関係が生じる。このようなネットワークでは、他種を介した2種間の間接的相互作用も見られるようになる

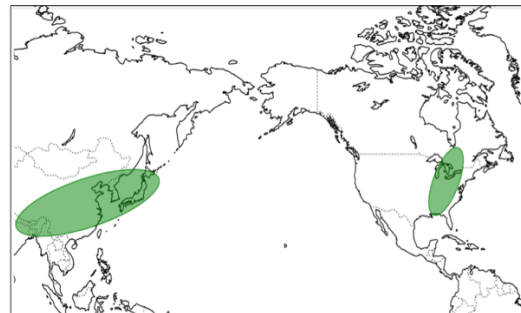


図2. 植物の北米東部と東アジアの隔離分布パターンモード図。20世紀の初めからこの両地域の植物相の類似が指摘されてきた。

2. 研究の目的

植物に関連する生物間の相互作用ネットワークは、陸上生態系における生物多様性の創出と維持に非常に重要な役割を果たしている。また、近年では、他者を介した間接作用ネットワークの重要性も明らかになっている。したがって、ある生物群の進化を理解するためには、対象群だけでなく、その背景にある生物間相互作用ネットワークを考慮した研究を行う必要がある。

生物間相互作用ネットワークは、生物の適応度に直接関与するため、生物種の進化動態に大きな影響を与えると考えられる(ここでは、ある種を中心として捉えた生物間相互作用ネットワークを共存系と呼ぶ)。このような共存系における生物間相互作用に関しては、互いの種がどのような影響を与えあっているかについては、生態学者による解析例がある。しかし、数万年から数千万年におよぶ、生物の種分化を伴う長い進化過程の中で、実際にどのように進化に影響を与えているについてはほとんどわかっていない。そこで本研究では、今日見られる共存系の成り立ちを進化的スケールで捉えるため、植物をめぐる共存系が、植物の進化に伴いどのように進化したのか、その際、共存系の構成要素が他の構成要素の進化に対してどのような影響を与え合ってきたのか、という問いに答えることを目的とする。

3. 研究の方法

現地調査と試料の収集は、米国アパラチア山脈に位置する Coweeta Forest Park と日本の日光と蔵王山で行った。

(1) 試料のサンプリング

各種を餌にしているチョウ目、コウチュウ目、カメムシ目の昆虫の食餌部位、頻度を調査した。また、各種について数個体を標本およびDNA解析用にアルコール液浸標本用に採集した。さらに、追加のサンプルおよび、目的の植物を利用していないチョウ目、コウチュウ目、カメムシ目を灯火採集により収集した。

対象の各植物種については、葉をシリカゲルにて乾燥してDNA解析用試料とした。

(2) 各生物群の解析

各生物種群について、系統関係を解析するため、DNA の抽出を行った。昆虫は QIAGEN スピнкаラムを用い、植物は CTAB 法により DNA 精製を行った。

昆虫のそれぞれの種ではミトコンドリアゲノムの COI 遺伝子 (DNA バーコーディング領域を含む) を PCR 法により増幅し、CEQ8000 (ベックマン・コールター社) を使用して塩基配列を決定した。

被子植物については核 rDNA の ITS (Internal Transcribed Spacer) 領域を増幅し、同様に塩基配列を決定した。

形態で種名同定の困難な昆虫種はこの DNA バーコード配列を用いて、Barcode of Life Database (BOLD, <http://www.boldsystem.org>) の同定システムを使用して種名決定を行った。一部の昆虫は国内外の各専門家に同定依頼を行い、種名を決定した。

(3) 系統解析

種間関係を比較するため、採集した各種についてミトコンドリアゲノムの COI 遺伝子の DNA 塩基配列に基づいた系統樹を作製することにより系統関係を推定した。対象の配列について、ClustalW を用いてアライメントを行い、系統樹作製のデータとした。系統樹作製には近隣接合法、最節約法、最尤法 (PAUP* を使用)、ベイズ法 (Mr. Bayes) を用いて行った。

4. 研究成果

(1) 結果

ブナ科とカエデ属の植物を食料として使用していると推定されるチョウ目、コウチュウ目、カメムシ目の昆虫について、食餌部位、頻度の調査を行なった。採集した昆虫に関しては、各種について数個体を標

本とし、残りの個体は DNA 解析用にアルコール液浸標本用とした。また、東アジアと北米東部に近縁種が隔離分布している植物種については葉をシリカゲルにて乾燥して DNA サンプル作成した。採集した昆虫は米国・スミソニアン博物館にて、北米産の昆虫の種同定のため、標本との比較検討を行った。今回、米国のアパラチア山脈で採集した昆虫はチョウ目約 50 種、コウチュウ目約 50 種、カメムシ目約 10 種であった (種の同定は暫定のものを含む)。

22 年度～24 年度に採取したチョウ目、コウチュウ目、カメムシ目の昆虫について、DNA を抽出し、DNA バーコード領域を含むミトコンドリアゲノムの COI 遺伝子の塩基配列を決定した。また、植物に関しては核リボソームの ITS 領域の塩基配列を決定して、東アジアと北米の種が近縁種であることの確認を行った。

各昆虫群において、採集したサンプルの中で、ブナ科とカエデ属の植物を利用している昆虫とその近縁と思われる種を用い、COI 遺伝子の塩基配列に基づいて系統解析を行い、系統樹を得た。使用した種数はチョウ目は 8 種、コウチュウ目は 7 種であった。カメムシ目に関しては対象の種数が少なく系統解析は行わなかった。

それぞれの昆虫群において、4 種 (最節約法、最尤法、ベイズ法) を用いて得られた各系統樹のトポロジーはほぼ一致した。その結果では、チョウ目では、多少の例外はあるものの、東アジアと北米で近縁植物種を餌としているものは、互いに姉妹種となった。それに対し、コウチュウ目では近縁な近縁植物種を餌にしているものが、系統的に離れたものであった。

(2) 考察

本研究で得られた北米東部と東アジアで隔離分布している近縁植物群を利用している植食性昆虫の系統関係は、チョウ目とコウチュウ目では対照的であった。すなわち、チョウ目では、多少の例外はあるものの、東アジアと北米で近縁植物種を餌としているものは、互いに姉妹種となった。それに対し、コウチュウ目では近縁な近縁植物種を餌にしているものが、系統的に離れたものであった。

本研究で見られたような、昆虫の目により、近縁種における植食者の系統が近い群とあまり近縁でない種であるというパターンは、南半球のナンキョクブナ属におけるチョウ目、コウチュウ目の植

食性でも観察されているものである。この2つの昆虫群で異なる系統パターンが生じている理由は本研究では明らかになっていないが、それぞれの移動能力と関係がある可能性がある。今後、対象種を絞ってこのような系統パターンが生ずる理由を明らかにする必要がある。

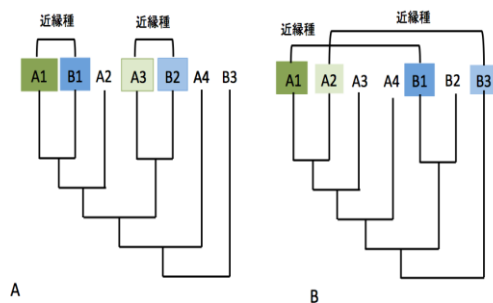


図3. 寄主植物と植食性昆虫の系統関係の模式図。A. 寄主植物と共に隔離分布が成立した場合。B. 寄主植物が隔離分布したのちに植食性昆虫が寄生した場合。本研究では、チョウ目についてはAの、コウチュウ目ではBのパターンが見られた。

(3) 引用文献

Ito, M., Watanabe, K., Kita, Y., Kawahara, T., Crawford, D.J. and Yahara, T. 2000. Phylogeny and Phytogeography of *Eupatorium* (Eupatorieae, Asteraceae): Insights from Sequence Data of the nrDNA ITS Regions and cpDNA RFLP. *J. Plant Res.* 133: 79-89.

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5件)

Sakamoto, R.L., Ito M, Kawakubo, N. 2012. Contribution of pollinators to seed production as revealed by differential pollinator exclusion in *Clerodendrum trichotomum* (Lamiaceae). *PLoS ONE* 7(3). e33803. 2012.

Sakamoto, R.L., Morinaga S., Ito M, Kawakubo, N. 2012. Fine-scale flower-visiting behavior revealed by using a high-speed camera. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 66(5): 1-6.

Sutou, M., Kato, T. and Ito, M. 2012. Recent discoveries of armyworms in Japan and their species identification using DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources* 11: 992-1001.

Jinbo, U., Kato, T. and Ito, M. 2011. Current

progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Science* 14(2): 107-124

Nitta, J., Ebihara, A., Ito, M. 2011. Reticulate evolution in the *Crepidomanes minutum* species complex (Hymenophyllaceae). *Amer. J. Bot.* 98: 1782-1800.

[図書] (計1件)

Kato, T., Jinbo, U., Ito, M. 2012. DNA Barcoding: A Novel Tool for Observation of Biodiversity. Nakano, S. et al. (eds.), *The Biodiversity Observation Network in the Asia-Pacific Region: Toward Further Development of Monitoring*, pp. 259-266.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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：00193524

(2) 研究分担者

森長 真一 (MORINAGA SHINNICHI)
東京大学・大学院総合文化研究科・助教
研究者番号：80568262

神保 宇嗣 (JINBO UTSUGI)
独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・研究員
研究者番号：10568281

吉武 啓 (YOSHITAKE HIRAKU)
独立行政法人農業環境技術研究所・インベントリーセンター・主任研究員
研究者番号：50517662

石川 忠 (ISHIKAWA TADASHI)
東京大学・大学院総合文化研究科・特任研究員
研究者番号：60434007