

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23570017

研究課題名(和文) コスモポリタンを使った種の壁の操作実験

研究課題名(英文) Manipulation of species barrier with cosmopolitan species

研究代表者

徳永 幸彦 (TOQUENAGA, YUKIHIKO)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：90237074

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：Wolbachiaによる強い細胞質不適合(CI)によってもたらされる、寄主マメゾウムシの種分化の可能性について、実験的に検討を行った。Wolbachiaの除去実験や導入実験の結果、Callosobruchus属4種において、種分化へのWolbachiaの関与は検知できなかった。一方、4種の中でWolbachiaに寄生されているC. analisの9系統において、Wolbachiaの除去実験や導入実験を行った結果、CIは、寄主との共進化の歴史が長いほど、弱くなっていた。つまり、C. analisにおいてWolbachiaのもたらすCIの強さは、寄主との共進化の産物であった。

研究成果の概要(英文)：Strong cytoplasmic incompatibility caused by Wolbachia was thought to be a speciation mechanism among bean weevils in genus Callosobruchus. Artificial Wolbachia injection and removal experiments with tetracycline showed that Wolbachia did not play a role of speciation among C. analis, C. maculatus, C. rhodesianus, and C. sabinnotetus. On the other hand, Wolbachia removal and reintroducing experiments among 9 strains of C. analis revealed that the CI level became more benign as the length of coevolution between C. analis and Wolbachia was longer. CI levels induced by Wolbachia were products of coevolution between Wolbachia and its hosts in C. analis.

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：Callosobruchus Wolbachia 生殖隔離 細胞質不適合 速い進化

## 様式 C-19、F-19、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 人間の活動によっておびただしい数の種が絶滅に追いやられている一方で、人間活動によって図らずも新たな種が生まれて来ている。たかだか1万年弱という進化的に短い時間の中で、世界中に分布するコスモポリタンから、寄主と地域に特化したスペシャリストまで、様々な農業害虫が生み出されてきた。コスモポリタンである害虫は、一般に種分化を促進すると考えられる異所的 (allopatric) 環境にあっても、種分化していない。

(2) 急速な進化が起こりうることを示す最も直接的な研究は、室内実験系で人為的に種の壁を操作することである。そのためには、種分化が現時点で起こっておらず、また過去からの種分化の慣性を排除するために、できるだけ進化の歴史の浅い種を材料に使うことが好まれる。世界中に分布する貯穀害虫は、そのためにはもってこいの材料であると考えられる。

(3) *Callosobruchus analis* (アカイロマメゾウムシ) と *C. chinensis* (アズキゾウムシ) は *Wolbachia* に感染している。*C. chinensis* は、同種非感染個体に対して完全な細胞質不和合 (CI) を起こすことが知られているが、*C. analis* 内で見られる CI は不完全である。一方、*C. maculatus* (ヨツモンマメゾウムシ) と *C. rhodesianus* は *Wolbachia* に非感染である。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究は「本来種分化しない *Callosobruchus* 属のコスモポリタン種において、種の壁の操作を試みる」という逆転の発想に根ざしている。申請者は、世界中に分布する貯穀害虫であるヨツモンマメゾウムシ (*C. maculatus*) と、その近縁種である *C. analis*、*C. rhodesianus*、それに *C. chinensis* を用いて、種の壁の操作実験を行う。

(2) *C. analis* において *Wolbachia* を介して進行中の種分化現象の機序を明らかにし、続いて得られた知見を使って、*C. maculatus* と *C. analis*、および *C. chinensis* と *C. rhodesianus* の間の種の壁の破れを形成する。本研究は、進化的に短いタイムスケールでの外来要因による種の壁の形成を明らかにすることにより、その後寄主遺伝子へ「種」が焼き付け

られていくメカニズムの解明につながる種分化研究の最初の一步を踏み出す。

### 3. 研究の方法

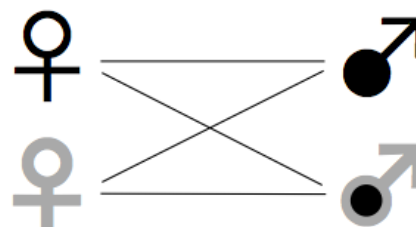


図 1: wCana2 を持たないメスに、wCana2 を持つオスを掛け合わせる。黒はもともと wCana2 を持っていた経歴を、灰色は wCana2 を持っていなかった経歴を示す。

(1) *C. analis* の 9 つの地域系統を使って、同系統、あるいは異なる系統同士の掛け合わせを行い、CI のパターンを明らかにする。また、今藤が開発した分子マーカーを用いて、*Wolbachia* の有無と種類を特定する。

(2) *C. analis* から tetracycline 処理により *Wolbachia* を除去し、*C. maculatus* の様々な地域系統と掛け合わせを行う。

(3) *C. chinensis* から tetracycline 処理により *Wolbachia* を除去し、*C. rhodesianus* と掛け合わせを行う。

(4) 1重感染している *C. analis* の *Wolbachia* を、*C. maculatus* に強制的に感染させた場合と、*Wolbachia* のソースとなった *C. analis* を tetracycline 処理したもの感染させた場合で、導入率の違いを明らかにし、*Wolbachia* 感染における寄主の「種の壁」が存在するかを確かめる。

(5) 2重感染している *C. analis* の *Wolbachia* を、1重感染している *C. analis* に導入定着させる (人工2重感染)。もとの2重感染のオスと人工2重感染のオスをそれぞれ、2重感染を tetracycline で非感染にしたメスと、1重感染のメスと掛け合わせ、CI の

強さを測定することで、2重感染によってもたらされる *C. analis* の CI が、*Wolbachia* と寄主との共進化の過程で形成されたものかどうかを明らかにする (図 1)。

#### 4. 研究成果

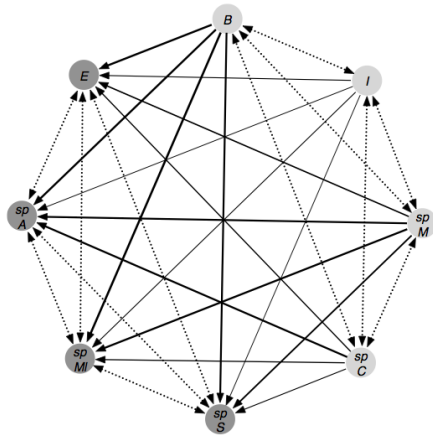


図 2: E: イギリス, B: ビルマ, I: インドネシア, sp: シンガポール. 両方向矢印の点線は和合、片矢印の実線は不和合を表し、線の太さは不和合の強さを表す。

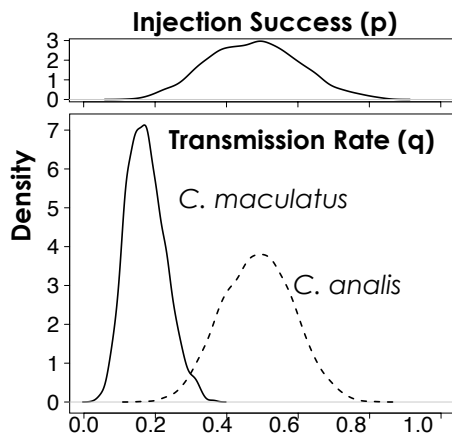


図 3: 階層ベイズで推定した *C. analis* と *C. maculatus* における *Wolbachia* の導入率の違い。移植確率がほぼ半々の状態では、導入確率は *C. analis* の方が高かった。

(1) 9 系統のうち、4 系統は他系統に対して中程度の CI を示した。この 4 系統は 2 種類の *Wolbachia* (wCana1 と wCana2) に感染しており、一方残りの 5 系統は 1 種類の *Wolbachia* (wCana1) に感染してい

た (図 2)。また、同系統同士の間での掛け合わせによる孵化率がほぼ 100% なことから、*Wolbachia* の伝播は完全であると考えられた。

(2) いずれの掛け合わせも、孵化卵は得られなかった。よって、*C. analis* と *C. maculatus* の間の種の壁の構築には、*Wolbachia* は関与していないと考えられる。

(3) いずれの掛け合わせも、孵化卵は得られなかった。よって、*C. chiennsis* と *C. rhodesianus* の間の種の壁の構築には、*Wolbachia* は関与していないと考えられる。

(4) *Wolbachia* の導入率は、*C. maculatus* よりも tetracycline 処理した *C. analis* の方が高かった (図 3)。*Wolbachia* の水平感染は非常に稀なことから、検出された導入率の違いは、寄主と *Wolbachia* の共進化の中で形造られてきたことが示唆される。

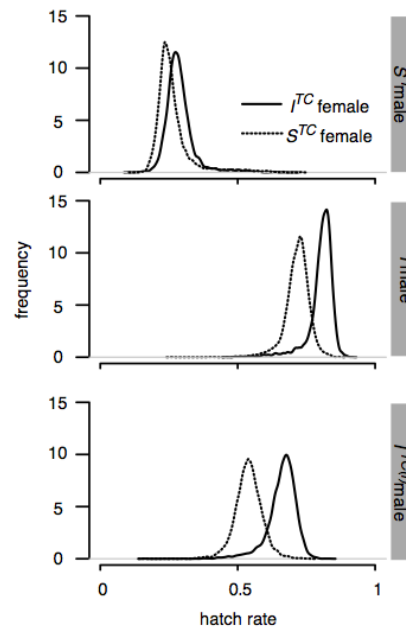


図 4: tetracycline 処理で wCana2 を除去したメスと、wCana2 を元々持つ、あるいは人工的に導入されたオスを掛け合わせた時に見られる、孵化率の変化。

(5) CI の強さは、オスに 2 次的に wCana2 を導入した場合が強く、かつて wCana2 との共生関係があった方が CI の強さは弱くなった (オスの影響)。また、メスもかつて wCana2 を経験した系統の方が、経験

しない場合よりも CI の強さは弱くなった (図 4)。これらのことから、*C. analis* において CI の強さは、*Wolbachia* と寄主との共進化によって形成されており、共進化の歴史が長くなればなるほど、CI の強さは弱くなることが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

- 1) Mashiko, M. and Y. Toquenaga, Increasing variation in population size and species composition ratio in mixed species heron colonies in Japan, *Forktail*, 29, 2013, 71-77. (査読有)
- 2) Katsuki, M. Y. Toquenaga, T. Miyatake, Larval competition causes the difference in male ejaculate expenditure in *Callosobruchus maculatus*, *Population Ecology*, 55, 2013, 493-498. (査読有)

[学会発表](計 6 件)

- 1) 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, 2014 年 3 月 17 日、広島国際会議場
- 2) Numajiri, Y. and Y. Toquenaga, N.I. Kondo, Evolution of reproductive manipulation, 第 61 回日本生態学会, 2014 年 3 月 16 日、広島国際会議場
- 3) 徳永幸彦, 自由集会 : 生態学的分子手法と Bayesian で紐解く *Wolbachia* の世界, 第 61 回日本生態学会, 2014 年 3 月 14 日、広島国際会議場
- 4) Numajiri, Y. and Y. Toquenaga, Taming cytoplasmic incompatibility (CI) in *Wolbachia*-infected *Callosobruchus analis*, 第 60 回日本生態学会, 2013 年 3 月 7 日、静岡県コンベンションアーツセンター
- 5) 沼尻侑子・徳永幸彦, Variation of cytoplasmic incompatibility in *Wolbachia*-infected systems, 第 59 回日本生態学会, 2012 年 3 月 19 日、龍谷大学瀬田キャンパス

- 6) 沼尻侑子, *Wolbachia* 感染系における細胞質不適合の多様性, 第 1 回サイエンスインカレ 2012, 2012 年 2 月 18 日、日本科学未来館

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

徳永 幸彦 (TOQUENAGA, Yukihiro)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号 : 90237074

### (2) 研究分担者

今藤 夏子 (Kondo, Natsuko)

独立行政法人国立環境研究所・生物圏環境研究領域・NIES 特別研究員

研究者番号 : 10414369