

学 位 論 文 題 名

Host race formation in the leaf-mining moth *Acrocercops transecta*: the genetic mechanisms of host race formation and maintenance, and gene flow between the host races

(潜葉性蛾類クルミホソガにおけるホストレース形成：ホストレース分化とその維持の遺伝機構およびホストレース間での遺伝子流入)

学位論文内容の要旨

多くの生物種において、形態的には同種であるものの、異なる環境に適応した品種、エコタイプが見られる。植食性昆虫では、同種内に寄主植物のみが異なるエコタイプ、ホストレースが報告されている。複数のホストレースが同所的に生息している場合も多く見られ、地理的な隔離を伴わずに、異なる寄主植物への適応のみで新たな種が生じるかどうか種分化研究の重要なテーマとなっている。本研究では、鱗翅目ホソガ科に属するクルミホソガ *Acrocercops transecta* を用いて、寄主転換に伴う種分化機構を解明した。

植食性昆虫において寄主転換が生じるには、雌成虫が幼虫の餌植物を認識する能力（産卵選好性）と、幼虫が餌植物を消化する能力（寄主利用能力）の両方に突然変異が起こる必要がある。よって寄主転換に伴う種分化の可能性を検討するには、(1) 雌成虫の産卵選好性と幼虫の寄主利用能力の遺伝的基盤を解明し、(2) ホストレース間の雑種が生じた場合に、どの程度寄主適応力の低下が生じるかを定量化する必要がある。さらに、(3) ホストレース間での遺伝子流入パターンを野外集団を用いて調べることで、寄主の違いがどのように生殖隔離として働くかを理解できる。

寄主適応の遺伝的基盤を解明するには、ホストレースを交雑させて、F2とBackcross世代を作り、各世代における寄主利用能力と産卵選好性の表現型を調べる必要がある。しかし、これまで報告されてきた昆虫類では、ホストレースのほぼ全てが年1化性であり、累代飼育の困難さから、寄主転換とそれに伴う種分化機構の遺伝学的背景はほとんど研究されてこなかった。クルミホソガは1世代が1ヶ月以内に完了し、かつ年多化性である。また、実験室内で容易に累代飼育が可能であり、幼虫の寄主利用能力や雌成虫の産卵選好性も実験室内で定量化できる。よって、クルミホソガは植食性昆虫の種分化機構を調べる上で有用なモデル生物になりうる (2章)。

3章では、クルミホソガのクルミを寄主とする小集団（クルミ集団）と、ネジキを寄主とする小集団（ネジキ集団）の間で、寄主適応力の違いと交配能力の有無、雑種の生存力を調べた。その結果、クルミ集団の雌はクルミのみに、ネジキ集団の雌はネジキのみに産卵選好性を示すことが分かった。クルミ集団の幼虫はネジキを食べると死亡するが、ネジキ集団の幼虫にクルミを与えた場合には、ネジキを与えた場合と同様、正常に生育した。小集団間での交雑は可能であり、雑種の孵化率も正常であったが、F1雑種の幼虫はネジキ上では全個体が死亡した。しかし、クル

ミ上でF1雑種を育てると、交雑の方向にかかわらず、F1雑種は正常に育った。このことから、両集団間には、ゲノム間の不調和に基づく発生上の雑種崩壊は生じていないと考えられた。よってクルミホソガはクルミを寄主とするホストレース（クルミレース）とネジキを寄主とするホストレース（ネジキレース）に分化していることが明らかになった。

4章では、分子系統樹を用いて、クルミホソガ種内での寄主転換の方向性とホストレース間の遺伝的分化の程度を調べた。ミトコンドリアCOIとND5領域を用いて分子系統樹を作成したところ、クルミレースが祖先集団であり、ネジキへの寄主転換が1度だけ生じたことが示唆された。また、日本国内の両レースは、ミトコンドリアDNAでは例外なく区別された。分子系統の結果と3章の結果から、クルミホソガにおける寄主転換の進化プロセスを議論した。クルミレースの幼虫はネジキ上では生存できないため、祖先集団であるクルミレース内にネジキに産卵選好性を示す突然変異が出現しても、この突然変異個体の子孫はネジキ上で生存できず、排除されたと考えられる。よって寄主転換に先立ち、ネジキを食べられる突然変異がクルミレース内で生じていたと推測できる。ネジキ食の突然変異がクルミレース内で維持されるには、ネジキを利用できる個体が同時にクルミも利用可能である必要がある。事実、ネジキレースの幼虫はクルミ上でも育ち、この予測と一致した。したがって寄主転換の進化シナリオとしては、第1にクルミレース内で潜在的なネジキ食が起源し、第2にそうした突然変異個体にネジキを選好する突然変異がさらに生じたと推測できる。

植食性昆虫では寄主上で交配が行われることが多いため、寄主選好性の違いは同系交配を引き起こすと考えられている。5章では、クルミホソガにおける寄主選好性の違いが同系交配を引き起こすか否かを検証した。本種は暗期から明期への移行の前後1時間に交尾が集中することが分かっているため、この時間内における定着場所の選好性を調べた。その結果、ネジキレースの雌は有意にネジキを定着場所として選んだが、ネジキレースの雄とクルミレースの雌雄では有意な定着場所の選好性は見られなかった。よって、クルミホソガのホストレース間では寄主の違いによる同系交配が生じていないと考えられる。

6章では、寄主利用能力と産卵選好性の遺伝様式を、F2とBackcross世代での両形質の分離比から調べた。両形質ともそれぞれ常染色体上の、1遺伝子座の1対の対立遺伝子により主に支配されていることが示唆された。また、寄主利用能力はクルミ食が、産卵選好性はネジキ選好がそれぞれ完全優性となることが示唆された。以上から、クルミホソガにおけるホストレース間の隔離機構を考察した。ネジキレースを母親としたF1卵はネジキ上に産卵されるが、F1世代がネジキを利用できないため、この方向の遺伝子流入は阻止される。一方、クルミレースを母親としたF1雑種はクルミ上で生育可能である。羽化したF1個体がクルミレースと交雑した場合、F1雌はネジキを選好するため、F1世代の雌個体はクルミレースから移出すると予想できる。F1雄がクルミレースの雌と交雑したとしても、ネジキ選好が優性のため、F2（戻し交配）以降の雑種雌はクルミレース中に遺伝子を残せない。クルミホソガでは、寄主特異性の遺伝様式そのものがレース間の生殖隔離の主要因となっていた。

ホストレース間では、寄主適応に関与するゲノム領域には自然選択によってレース間の分化が維持されるが、他のゲノム領域には遺伝子流入が生じると予想できる。特にネジキレースからクルミレースへは遺伝子流入が生じている可能性がある。7章では、この仮説の検証のため、ミトコンドリアCOI+ND5、Z染色体上のTpi遺伝子を用い、レース間遺伝子流入の程度を両遺伝子領域間で比較した。系統解析、Coalescent理論に基づく分子集団遺伝学的解析によると、Tpiにおいては、ネジキレースからクルミレースへの遺伝子流入仮説が支持されたが、ミトコンドリア遺伝子では遺伝子流入は支持されなかった。この結果は、母性遺伝するゲノム領域では雌の産卵選

好性の違いから遺伝的分化が維持されることを意味する。系統関係の結果と合わせて考えると、派生的な集団より祖先的な集団の方が遺伝子流入の影響を受けやすいことが推測できた。

本研究では、交配実験、室内実験、分子系統樹構築を通じて、クルミホソガでは、一方向性のわずかな程度の遺伝子流動を伴いながらも、寄主間で遺伝的に明瞭に異なる2群が長期間維持されてきたことを明らかにできた。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 秋 元 信 一  
副 査 教 授 齋 藤 裕  
副 査 准教授 長谷川 英 祐  
副 査 助 教 吉 澤 和 徳

## 学 位 論 文 題 名

Host race formation in the leaf-mining moth *Acrocercops transecta*: the genetic mechanisms of host race formation and maintenance, and gene flow between the host races

(潜葉性蛾類クルミホソガにおけるホストレース形成：ホストレース分化とその維持の遺伝機構およびホストレース間での遺伝子流入)

本論文は、図12、表6、引用文献154編からなる総頁86頁の英文論文である。参考論文4編が添えられている。

植食性昆虫では、同種内に寄主植物のみが異なるエコタイプ、ホストレースが報告されている。複数のホストレースが同所的に生息している場合も多く見られ、地理的な隔離を伴わずに、異なる寄主植物への適応のみで新たな種が生じるかどうかは種分化研究の重要なテーマとなっている。植食性昆虫において寄主転換が生じるには、雌成虫が幼虫の餌植物を認識する能力（産卵選好性）と、幼虫が餌植物を消化する能力（寄主利用能力）の両方に突然変異が起こる必要がある。よって、寄主転換に伴う種分化を実証するには、これら2形質の遺伝基盤を調べ、1)寄主転換の際にこれら2つの能力がいかにして同調するか、2)これら2形質の遺伝的分化がどのように生殖隔離を引き起こすか、を解明する必要がある。本研究では、鱗翅目ホソガ科に属するクルミホソガ *Acrocercops transecta* を用いて、ホストレースの分化機構とホストレース間での生殖隔離機構を解明した。

クルミホソガのクルミを寄主とする小集団（クルミ集団）と、ネジキを寄主とする小集団（ネジキ集団）の間で、寄主適応力の違いと交配能力の有無、雑種の生存力を調べた。その結果、クルミ集団の雌はクルミのみに、ネジキ集団の雌はネジキのみに産卵選好性を示すことが分かった。クルミ集団の幼虫はネジキを食べると死亡するが、ネジキ集団の幼虫にクルミを与えた場合には、ネジキを与えた場合と同様、正常に生育した。小集団間での交雑は可能であり、雑種の孵化率も正常であったが、F1雑種の幼虫はネジキ上では全個体が死亡した。しかし、クルミ上でF1雑種を育てると、交雑の方向にかかわらず、F1雑種は正常に育った。このことから、両集団間には、ゲノム間の不調和に基づく発生上の雑種崩壊は生じていないと考えられた。よってクルミホソガはクルミを寄主とするホストレース（クルミレース）とネジキを寄主とするホストレース（ネジキレース）に分化していることが明らかになった。

分子系統樹を用いて、クルミホソガ種内での寄主転換の方向性とホストレース間の遺

伝的分化の程度を調べた。ミトコンドリアCOIとND5領域を用いて分子系統樹を作成したところ、クルミレースが祖先集団であり、ネジキへの寄主転換が1度だけ生じたことが示唆された。また、日本国内の両レースは、ミトコンドリアDNAでは例外なく区別された。寄主適応力の結果と合わせて、クルミホソガにおける寄主転換の進化プロセスを議論した。クルミレースの幼虫はネジキ上では生存できないため、祖先集団であるクルミレース内にネジキに産卵選好性を示す突然変異が出現しても、この突然変異個体の子孫はネジキ上で生存できず、排除されたと考えられる。よって寄主転換に先立ち、ネジキを食べられる突然変異がクルミレース内で生じていたと推測できる。ネジキ食の突然変異がクルミレース内で維持されるには、ネジキを利用できる個体が同時にクルミも利用可能である必要がある。事実、ネジキレースの幼虫はクルミ上でも育ち、この予測と一致した。

寄主利用能力と産卵選好性の遺伝様式を、F2とBackcross世代での両形質の分離比から調べた。両形質ともそれぞれ常染色体上の、1遺伝子座の1対の対立遺伝子により主に支配されていることが示唆された。また、寄主利用能力はクルミ食が、産卵選好性はネジキ選好がそれぞれ完全優性となることが示唆された。以上から、クルミホソガにおけるホストレース間の隔離機構を考察した。ネジキレースを母親としたF1卵はネジキ上に産卵されるが、F1世代がネジキを利用できないため、この方向の遺伝子流入は阻止される。一方、クルミレースを母親としたF1雑種はクルミ上で生育可能である。羽化したF1個体がクルミレースと交雑した場合、F1雌はネジキを選好するため、F1世代の雌個体はクルミレースから移出すると予想できる。F1雄がクルミレースの雌と交雑したとしても、ネジキ選好が優性のため、Backcross世代以降の雑種雌はクルミレース中に遺伝子を残せない。クルミホソガでは、寄主特異性の遺伝様式そのものがレース間の生殖隔離の主要因となっていた。

本研究では、交配実験、室内実験、分子系統樹構築を通じて、クルミホソガでは、両ホストレース間では交雑が可能であるにもかかわらず、寄主間で遺伝的に明瞭に異なる2群が長期間維持されてきたことを明らかにできた。この成果は、関連学会等においても高く評価されており、海外にも例のない重厚な研究である。よって、審査員一同は、大島一正が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。