

学位論文題名

エンドウヒゲナガアブラムシの繁殖様式と
集団構造に関する分子生態学的研究

学位論文内容の要旨

植物の師管液を吸って生活するアブラムシ類(昆虫綱、半翅目)は、単為生殖による高い増殖力を持ち、植物病原ウイルスを媒介すること多いため、多くの種が栽培植物の害虫である。一部の種では薬剤抵抗性を発達させ、防除が困難になるケースが発生している。このため、防除には生活史や個体群動態、集団構造の解明が不可欠である。一方、生物学的には、アブラムシ類は特異な繁殖・生活史特性を示し、進化学・集団遺伝学の観点からも数多くの研究が蓄積されてきた。

一般的なアブラムシの生活環は、単為生殖期と有性生殖期が周期的に繰り返される周期的単為生殖である。春に卵から生まれた世代(幹母)から胎生の単為生殖によって増殖する。アブラムシの単為生殖では親と全く同じ遺伝子セットが子に伝えられるアポミクシス型であり、その子孫はクローンと呼ばれる。秋には短日や低温に反応して有性世代(有性生殖を行うオスと卵生メス)が生まれ、それらが交配して耐寒性を有する卵を産む。多くのアブラムシでは、種レベルあるいは集団レベルで有性生殖の二次的な消失が頻繁に見られ、単為生殖のみで増殖を続ける無性生殖集団が存在する。秋に有性生殖を行う集団(有性生殖集団)と完全無性生殖集団との関係については、寄主転換性のアブラムシで盛んに研究が進められてきた。しかし、無性生殖クローンが起源したメカニズムやそれらの出現・消滅の頻度はほとんど解明されていない。

アブラムシにおける無性生殖集団の遺伝的多様性、系統関係、および進化的起源を探る目的で、非寄主転換性のエンドウヒゲナガアブラムシ *Acyrtosiphon pisum* (Harris) を材料として調査を進めた。本種は様々なマメ科植物に寄生し、汎世界的に分布している。本研究では、(1) 遺伝子マーカーを利用して日本における繁殖様式の地理的変異を明らかにし、(2) 有性生殖集団と無性生殖集団の遺伝的多様性を定量化し、さらに(3) 種内系統樹構築を通じて、無性生殖クローンが起源した進化要因を考察した。

本研究では、2002年から2008年にかけて、有性・無性集団の混生地帯と予想される東北地方を中心に、四国から北海道までの18地点で多様な寄主植物上からアブラムシを採集した。本州での主要な寄主植物は越年草のカラスノエンドウであり、北海道ではクサフジとアルファルファである。これらのアブラムシからDNAを抽出し、7つのマイクロサテライト遺伝子の遺伝子型を調べた。非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動法とheteroduplex法によって、配列の違いに基づく高精度な対立遺伝子の同定を行った。合計1010個体のアブラムシから245の異なる遺伝子型

(multilocus genotype) が検出された。北海道の集団と八戸市の集団では多様な遺伝子型が見つかり、年ごとに新たな遺伝子型が出現した。これらの集団では、集団遺伝学的解析によって、有性生殖集団の特徴を持つことが示された。本州では13の遺伝子型が複数年にわたって見つかり、

これらは無性生殖クローンと推定された。八戸市以外の本州の集団では遺伝子型の多様性は低く、これら13の無性生殖クローンのうちのいくつかが集団の大部分を占めており、高い適応度を持つスーパークローンと見なすことができた。その他の個体は稀な遺伝子型で構成されていた。

遺伝子型間の遺伝距離に基づいて近隣結合樹を構築すると、北海道のアルファルファ、八戸市などの東北地方北部のカラスノエンドウ、北海道と東北地方のクサフジから採集された遺伝子型がそれぞれの寄主植物ごとに大きなクラスターを形成した。先の集団遺伝学的解析の結果から、これらは有性生殖集団のクラスター（有性生殖クラスター）であり、それぞれが別個の繁殖集団（ホストレース）を形成していると推定された。一方、1つの無性生殖クローンと少数の稀な遺伝子型から成るクラスター（無性生殖クラスター）が多数形成され、それらのクラスター間は互いに大きな遺伝距離で隔てられていた。

遺伝子型グループの系統関係を別の手法から推定するために、マイクロサテライトより進化速度の遅いミトコンドリアのcytochrome c oxidase subunit I 遺伝子（COI）の部分塩基配列を用いた。その結果、無性生殖クローンからは6つのCOIハプロタイプが見つかり、無性生殖クラスター内の稀な遺伝子型の個体もほとんどが無性生殖クローンと同じハプロタイプを持っていた。稀な遺伝子型には、無性生殖クローンの遺伝子型と対立遺伝子1つのみが異なるものと、複数の対立遺伝子が異なるものが含まれていた。前者はマイクロサテライト遺伝子で生じた突然変異によって無性生殖クローンから派生したもので、後者は有性生殖によって生じたものと考えられた。

有性世代の誘導実験をしたところ、有性生殖クラスターに属した北海道と東北地方の飼育系統はいずれも有性世代を産出した。しかし、無性生殖クローンに属する飼育系統は単為生殖メスのみか、それに加えて有性世代の一方のみを産出し、完全にあるいは部分的に有性世代産出能力を失っていることが明らかになった。以上の結果より、冬の気候の厳しさ（積雪や低温）と関連して、北海道から東北地方北部には卵で越冬できる有性生殖集団が分布し、それより南ではほとんどが無性生殖クローンで構成される集団となることが明らかになった。東北地方は混生地帯であり、南方からの無性生殖クローンの移住によって有性と無性のクローンの比率は季節により変動することが示唆された。

13の無性生殖クローンは、互いに遺伝的に大きく異なることから、13クローンそれぞれが独立に起源したと考えられた。有性生殖集団には特定の寄主植物に特殊化したホストレースが見られるものの、いくつかの無性生殖クローンは複数の寄主植物を利用でき、広範に分布した。こうしたスーパークローンは、カラスノエンドウやクサフジの有性生殖集団には見られないCOIハプロタイプやマイクロサテライト対立遺伝子を持っていた。近縁なアブラムシ種間で交雑を強制した実験では、交雑個体は単為生殖で増殖できるものの、有性世代を産出できない例が報告されている。これらの事実から、スーパークローンは、いくつかのホストレース間の交雑によって起源した可能性が考えられた。有性生殖集団と無性生殖集団の遺伝的多様性を比較すると、無性生殖集団の方が対立遺伝子の多様性が有意に高かった。この現象は、1) 無性生殖集団では減数分裂に伴う遺伝的浮動がないこと、2) クローンの寿命が長いために突然変異が蓄積しやすいこと、3) 無性生殖クローンのいくつかは異なるホストレース間の交雑で生じたヘテロ接合的なクローンであることに原因があると考えられる。

本研究では、遺伝子マーカーを用いて、非寄主転換性アブラムシであるエンドウヒゲナガアブラムシの日本における繁殖様式の地理的変異や無性生殖集団の遺伝的多様性を明らかにした。無性生殖集団では、有性生殖集団に比べて、遺伝子型の多様性が著しく低いのに対して、対立遺伝子の多様性は逆に高いことが明らかになった。この知見と推定された系統関係に基づいて、無性生殖クローンは、有性生殖クローン間の交雑をきっかけとして起源したとする仮説を提起した。

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	准教授	吉 澤 和 徳

学 位 論 文 題 名

エンドウヒゲナガアブラムシの繁殖様式と 集団構造に関する分子生態学的研究

本論文は、図16、表15、引用文献109編からなる総頁113頁の和文論文である。参考文献1編が添えられている。

植物の師管液を吸って生活するアブラムシ類（昆虫綱、半翅目）は、単為生殖による高い増殖力を持ち、植物病原ウイルスを媒介すること多いため、多くの種が栽培植物の害虫である。アブラムシ類の防除には生活史や個体群動態、集団構造の解明が不可欠である。害虫化したアブラムシは、ほとんどの場合、有性生殖を失っており、単為生殖的に増殖する。しかし、完全単為生殖性のアブラムシの起源に関しては、ほとんど知見が得られておらず、その究明が待たれていた。

アブラムシにおける無性生殖集団の遺伝的多様性、系統関係、および進化的起源を調べる目的で、エンドウヒゲナガアブラムシ *Acyrtosiphon pisum* (Harris) を材料として調査を進めた。本種は様々なマメ科植物に寄生し、汎世界的に分布している。本州における本種の主要な寄主植物は越年草のカラスノエンドウであり、北海道ではクサフジとアルファルファである。これらのアブラムシから DNA を抽出し、7つのマイクロサテライト遺伝子の遺伝子型を調べた。合計 1010 個体のアブラムシから 245 の異なる遺伝子型（multilocus genotype）が検出された。北海道の集団と八戸市の集団では多様な遺伝子型が見つかり、年ごとに新たな遺伝子型が出現した。これらの集団では、集団遺伝学的解析によって、有性生殖集団の特徴を持つことが示された。本州では 13 の遺伝子型が複数年にわたって見つかり、これらは無性生殖クローンと推定された。八戸市以南の本州の集団では遺伝子型の多様性は低く、これら 13 の無性生殖クローンのうちの極少数が集団の大部分を占めており、高い適応度を持つスーパークローンと見なすことができた。

遺伝子型間の遺伝距離に基づいて近隣結合樹を構築すると、北海道のアルファルファ、八戸市などの東北地方北部のカラスノエンドウ、北海道と東北地方のクサフジから採集された遺伝子型がそれぞれの寄主植物ごとに大きなクラスターを形成した。これらは有性生殖集団のクラスターであり、それぞれが別個の繁殖集団（ホストレース）を形成していると推定された。一方、1つの無性生殖クローンと少数の稀な遺伝子型から成るクラスター（無性生殖クラスター）が多数形成され、それらのクラスター間は互いに大きな遺伝距離で隔てられていた。

有性世代の誘導実験をしたところ、有性生殖クラスターに属した北海道と東北地方の飼育系統はいずれも有性世代を産出した。しかし、無性生殖クローンに属する飼育系統は単為生殖メスのみか、それに加えて有性世代の一方のみを産出し、完全にあるいは部分的に有性世代産出能力を失っていることが明らかになった。以上の結果より、冬の気候の厳しさ（積雪や低温）と関連して、北海道から東北地方北部には卵で越冬できる有性生殖集団が分布し、それより南ではほとんどが無性生殖クローンで構成される集団が分布していた。東北地方は混生地帯であり、南方からの無性生殖クロンの移住によって有性と無性のクロンの比率は季節により変動することが示唆された。

13の無性生殖クローンは、互いに遺伝的に大きく異なることから、13クローンそれぞれが独立に起源したと考えられた。いくつかの無性生殖クローンは複数の寄主植物を利用でき、広範に分布した。こうしたスーパークローンは、カラスノエンドウやクサフジの有性生殖集団には見られないCOIハプロタイプやマイクロサテライト対立遺伝子を持っていた。これらの事実から、スーパークローンは、いくつかのホストレース間の交雑によって起源した可能性が考えられた。有性生殖集団と無性生殖集団の遺伝的多様性を比較すると、無性生殖集団の方が対立遺伝子の多様性が有意に高かった。この現象は、1) 無性生殖集団では減数分裂に伴う遺伝的浮動がないこと、2) クローンの寿命が長いために突然変異が蓄積しやすいこと、3) 無性生殖クローンのいくつかは異なるホストレース間の交雑で生じたヘテロ接合的なクローンであることに原因があると考えられる。

本研究では、遺伝子マーカーを用いて、非寄主転換性アブラムシであるエンドウヒゲナガアブラムシの日本における繁殖様式の地理的変異や無性生殖集団の遺伝的多様性を明らかにした。無性生殖集団では、有性生殖集団に比べて、遺伝子型の多様性が著しく低いのに対して、対立遺伝子の多様性は逆に高いことが明らかになった。この知見と推定された系統関係に基づいて、無性生殖クローンは、有性生殖クローン間の交雑をきっかけとして起源したとする仮説を提起した。これらの成果は、関連学会からも高く評価されている。よって、審査員一同は、神戸崇が博士（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。