

博士（環境科学）甲山哲生

学位論文題名

Evolution of host use in the leaf beetle *Agelasta nigriceps*
(Coleoptera: Chrysomelidae)

（キクビアオハムシ（甲虫目：ハムシ科）における寄主利用の進化）

学位論文内容の要旨

植食性昆虫は、推定種数100万種以上ともいわれ、地球上の生物で最も種多様性が高いグループの1つである。したがって、その進化、特に種分化過程を解明することは、生物多様性の創出メカニズムの理解につながる。植食性昆虫のほとんどは、特定の科や属といった限られた植物種を寄主として利用しているが、その一方で、近縁な昆虫種がそれぞれ全く異なる植物種に特殊化している例もしばしば見られる。寄主植物の変更は昆虫の様々な生態的・生理的側面に影響を及ぼすことから、その種分化における意義についてはこれまでに多くの研究がなされてきた。また、近年の分子系統学的な知見から、植食性昆虫においては、新しい寄主植物の利用能力の獲得（寄主範囲の拡大）と寄主特殊化を繰り返すことで、現在見られるような多様性が生じたと考えられている。このように寄主範囲の拡大は植食性昆虫の進化・多様化において重要なイベントであるが、その過程が野外集団で観察されることは稀である。

甲虫目ハムシ科に属するキクビアオハムシは日本全土に広く分布し、主な寄主植物としてマタタビ科のサルナシを利用する事が知られているが、近年、関東以西においてエゴノキ科のオオバアサガラを利用する集団が発見された。サルナシとオオバアサガラのそれぞれから採集した個体では寄主植物に対する摂食受容性に違いが見られることが示されており、本種においては、現在まさに寄主範囲の拡大が生じていると考えられる。本研究では、キクビアオハムシにおける寄主利用の進化について明らかにすることを目的とし、室内飼育実験、および分子マーカーを用いた集団遺伝学的・系統地理学的解析を行なった。

植食性昆虫の寄主利用に関する種内変異は、その種における寄主利用の進化と集団分化を知る上で重要な手がかりとなる。キクビアオハムシでは、サルナシを寄主とする集団（サルナシ利用集団）は日本全土に広く分布するのに対して、オオバアサガラを寄主とする集団（オオバアサガラ利用集団）は本州の関東以西、四国、および九州北部の限られた地域にのみ分布する。第1章では、本種の寄主利用における種内変異の地理的パターンを明らかにすることを目的とし、日本各地から採集した越冬成虫とその幼虫を用い、成虫については摂食受容性・選好性、幼虫については生育能力を室内飼育実験により調べた。その結果、いずれの集団の成虫・幼虫とともにサルナシの葉をよく摂食し、幼虫も高い生存率を示したのに対し、オオバアサガラに対する反応には大きな種内変異が見られた。サルナシのみが利用されている地点から採集した集団においては、成虫・幼虫ともにオオバアサガラをほとんど摂食しなかった。一方、両集団が同所的に生息する地点では、特にオオバアサガラ利用集団の成虫はオオバアサガラをよく摂食し、幼虫もオオバアサガラ上で生存できたものの、生存率は地理変異が大きかった。また、同所的なサルナシ利用集団とオオバアサガラ利用集団間では、オ

オバアサガラ上で幼虫を飼育した場合、常に後者が高い生存率を示した。以上より、本種においては、サルナシが祖先的な寄主植物であり、オオバアサガラへの寄主範囲の拡大が現在生じているか、あるいは近い過去に生じたと考えられた。

植食性昆虫における寄主選択行動（摂食・産卵選好性）は、遺伝的要因の他に過去の経験などの環境的要因にも左右される。もし自身が育った寄主植物に選択的に産卵するような性質があれば、新寄主への適応がより迅速に進むと考えられる。キクビアオハムシにおいては実験室内で生存率が低いオオバアサガラを野外で利用している状況が頻繁に見られるが、このような一見非適応的な寄主選択行動は、過去の経験の影響によって生じている可能性が考えられる。第2章では、本種において幼虫期及び羽化後の経験がその後の寄主選択行動に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。野外でそれぞれの寄主植物から採集した幼虫個体を羽化後に餌植物を入れ替えて翌年まで飼育し、越冬後の雌個体の摂食・産卵選好性を調べた。その結果、これらの雌個体は羽化後に飼育に用いた植物の葉をより好んで摂食・産卵した。また、これらの雌個体より得られた孵化幼虫について、幼虫期に餌植物を入れ替えて飼育し、羽化直後の成虫の摂食選好性にどのような影響が出るか調べた。その結果、二選択実験では新成虫は幼虫期の経験に関わらず明確な選好性を示さなかったものの、無選択実験では、幼虫期にオオバアサガラで飼育した個体では、オオバアサガラをよく摂食するという傾向が見られた。さらに、羽化後10日間、餌植物を入れ替えて飼育し、二選択実験を行った結果、成虫の摂食選好性には幼虫期及び羽化後の早い時期の両方の経験の影響がみられ、特に幼虫期と羽化後に同じ餌植物を与え続けた個体は、その植物の葉に対して強い選好性を示した。このような過去の経験に基づく選好性の変化は、本種における寄主範囲の拡大に大きく寄与したと考えられる。

第3章では、キクビアオハムシの寄主範囲の拡大がどのように起こったかを明らかにすることを目的とし、ミトコンドリア遺伝子（COI）および増幅断片長多型（AFLP）という2つの分子マーカーを用いて、集団遺伝学的・系統地理学的解析を行った。COIとAFLPのいずれを用いた解析でも、集団間の遺伝的分化には明確な地理的構造がみられたが、同所的なサルナシ利用集団とオオバアサガラ利用集団間では遺伝的分化は極めて小さいか、ほとんどないという結果が得られた。また、オオバアサガラ利用集団は単系統性を示さないことから、オオバアサガラへの寄主範囲の拡大は、比較的最近に複数の地域集団で独立に生じたと考えられた。また、異なる寄主利用に関連した自然選択がどの程度遺伝的分化に寄与しているかについて調べるために、AFLPマーカーを用いたoutlier解析を行った。AFLP法によって得られた合計477のAFLP lociのそれぞれについて、集団間の分化の指標である F_{ST} を計算し、強い分化を示すoutlier lociの検出を行った。複数の集団間（寄主が同じ、もしくは異なる集団間）の比較から、全体の1.26%の遺伝子座が複数の寄主が異なる集団間で特異的にoutlier lociとして検出された。これらの遺伝子座は寄主利用に関連した選択を受けている可能性があるが、これらのうち全ての寄主の異なる集団間の比較で共通して強い分化が見られるものはなかった。本種においては寄主範囲の拡大（新寄主への適応）が各地で独立に生じたと考えられることから、それぞれの地域集団では異なる変異が選択されたと考えられた。

以上のように、本研究によって、キクビアオハムシにおいて、オオバアサガラへの寄主範囲の拡大が近年に各地で独立に生じ、現在進行中であることが示された。また、この寄主範囲の拡大には過去の経験に基づく選好性の変化が重要な役割を果たしていることが示唆された。今後、本種における寄主範囲の拡大を促す生態的要因について、また新寄主への適応に関連した遺伝的な基盤について明らかにすることにより、植食性昆虫における寄主利用の進化およびその多様化についての理解が進むと考えられる。

学位論文審査の要旨

主査 教授 木村正人
副査 教授 戸田正憲
准教授 鈴木仁
特任教授 片倉晴雄(大学院理学研究院)

学位論文題名

Evolution of host use in the leaf beetle *Agelasa nigriceps* (Coleoptera: Chrysomelidae)

(キクビアオハムシ(甲虫目:ハムシ科)における寄主利用の進化)

食植性昆虫は地球上の生物で最も種多様性が高いグループの1つであり、その多様性は新しい寄主植物の利用能力の獲得(寄主範囲の拡大)と寄主特殊化を繰り返すことで生じたと考えられている。このように寄主範囲の拡大は食植性昆虫の進化・多様化において重要なイベントであるが、その過程が野外の集団で観察されることは稀である。キクビアオハムシ(甲虫目ハムシ科)はそうした稀な例であり、申請者は、本種について、室内飼育実験および分子マークを用いた集団遺伝学的・系統地理学的解析を行ない、その寄主利用の進化・寄主範囲拡大過程について調べた。

申請者は、まずキクビアオハムシの寄主利用における種内変異の地理的パターンについて調べた。キクビアオハムシでは、サルナシを寄主とする集団(サルナシ利用集団)は日本全土に広く分布するのに対して、オオバアサガラを寄主とする集団(オオバアサガラ利用集団)は本州の関東以西、四国、および九州北部の限られた地域にのみ分布する。申請者は、日本各地から越冬成虫を採集し、その摂食受容性・選好性について、またその幼虫について、生育能力を調べた。その結果、いずれの集団の成虫・幼虫もともにサルナシの葉をよく摂食し、幼虫も高い生存率を示したのに対し、オオバアサガラに対する反応には大きな種内変異が見られることを明らかにした。すなわち、サルナシのみが利用されている地点から採集した集団においては成虫・幼虫とともにオオバアサガラをほとんど摂食せず、一方両集団が同所的に生息する地点では、特にオオバアサガラ利用集団の成虫はオオバアサガラをよく摂食し、幼虫もオオバアサガラ上で生存できたものの、生存率は地理変異が大きかった。また、同所的なサルナシ利用集団とオオバアサガラ利用集団間では、オオバアサガラ上で幼虫を飼育した場合、常に後者が高い生存率を示すことを観察した。以上より、申請

者は、本種においては、サルナシが祖先的な寄主植物であり、オオバアサガラへの寄主範囲の拡大が現在生じているか、あるいは近い過去に生じたと推定した。

食植性昆虫における寄主選択行動は、遺伝的要因の他に過去の経験などの環境的要因にも左右される。もし自身が育った寄主植物に選択的に産卵するような性質があれば、新寄主への適応がより迅速に進むと考えられる。そこで、申請者は、幼虫期及び羽化後の経験が本種のその後の寄主選択行動に影響するか否かについて、それぞれの寄主植物から採集した幼虫個体を羽化後に餌植物を入れ替えて翌年まで飼育し、越冬後の雌個体の摂食・産卵選好性を見るにより調べた。その結果、これらの雌個体は羽化後に飼育に用いた植物の葉をより好んで摂食・産卵することが明らかになった。また、これらの雌個体より得られた孵化幼虫について、幼虫期・成虫初期に餌植物を入れ替えて飼育し、その後の摂食選好性を調べ、少なくとも無選択実験では、幼虫期にオオバアサガラで飼育した個体では、オオバアサガラをよく摂食すること、さらに、羽化後の早い時期の経験も寄主選択に影響することを見出した。以上のことから、申請者は、過去の経験に基づく選好性の変化は、本種における寄主範囲の拡大に大きく寄与したと推定した。

続いて、申請者はキクビアオハムシの寄主範囲の拡大がどのように起こったかを明らかにすることを目的とし、ミトコンドリア遺伝子（COI）および増幅断片長多型（AFLP）の2つの分子マーカーを用いて、集団遺伝学的・系統地理的解析を行った。その結果、COIとAFLPのいずれを用いた解析でも、集団間の遺伝的分化には明確な地理的構造がみられたが、同所的なサルナシ利用集団とオオバアサガラ利用集団間では遺伝的分化は極めて小さいか、ほとんどないという結果を得た。また、オオバアサガラ利用集団は単系統性を示さないことから、オオバアサガラへの寄主範囲の拡大は、比較的最近に複数の地域集団で独立に生じた可能性があることを示した。また、AFLPマーカーを用いたoutlier解析により、全体のうち1.26%の遺伝子座が複数の寄主が異なる集団間で特異的にoutlier lociとして検出されたことから、これらの遺伝子座は寄主利用に関連した選択を受けている可能性を指摘した。

このように申請者は、本種の寄主範囲拡大過程を明らかにしており、今後、寄主範囲の拡大を促す生態的要因について、また新寄主への適応に関連した遺伝的な基盤について明らかにすることにより、食植性昆虫における寄主利用の進化およびその多様化についての理解が大きく進むと考えられる。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。