

学位論文題名

Biogeography, Phylogenetic Relationships, Karyology and Fecundity of
Parthenogenetic and Sexual Forms of the Flightless Weevil *Scepticus*
insularis (Coleoptera: Curculionidae)(クワヒョウタンゾウムシ単為生殖型と両性生殖型の生物地理、
遺伝的關係、染色体、および繁殖生態)

学位論文内容の要旨

両性生殖は生物にあまねく見られるが、多くの生物が無性的な繁殖様式を採用している。単為生殖(雌性生殖細胞のみによる次世代の発生)は、こうした無性生殖の一形態であり、様々な動物群で知られている。両性生殖の進化的意義を理解するために、それと表裏の関係にある単為生殖の研究は欠くことが出来ない。本研究では、同一種内に2-5倍体($2x = 22 - 5x = 55$)の単為生殖型(単為型)と2倍体($2n = 20 + XX/XY$)の両性生殖型(両性型)が知られている日本産ゾウムシ、クワヒョウタンゾウムシ *Scepticus insularis* (Roelofs) (以下、クワヒョウタン)を材料として、その単為生殖について、様々な角度から解析、検討を行った。本論文は、全5部で構成されており、それぞれクワヒョウタンの単為生殖の異なる側面を扱っている。

第1部では、クワヒョウタン単為型と両性型の日本における地理分布と遺伝的關係を扱った。分布調査の結果、本種の単為型は北海道から東北にいたる北日本に広く分布する一方、両性型は北海道と本州の限られた地域に、多くの場合単為型と同所的に生息することが明らかとなった。単為型が広範囲に分布する一方で両性型が狭い範囲に限って見られるという本種の分布は、様々な動物で報告されている「地理的単為生殖」の典型的なパターンと見ることが出来る。ミトコンドリア NADH 脱水素酵素サブユニット 2 (ND2) 遺伝子の一部配列 (633 bp) を用いた遺伝子解析の結果、両性生殖系統と単為生殖系統は高い信頼性 (95% ブートストラップ値) で互いに単系統であり、これは現存する単為生殖系統が単一起源であることを意味する。両性生殖系統と単為生殖系統の分化はおおよそ鮮新世の 410 万年前、それぞれの系統内の遺伝的多様化は更新世後期の 120 万年前以降と推定され、現在の単為型と両性型が示す「地理的単為生殖」は、氷期の狭い分布域から後氷期に 2 つの繁殖型が異なったペースで分布を拡大した結果であろう。他方、核の Internal Transcribed Spacer region 2 (ITS2) の一部配列 (357 bp) を用いた解析においては、両性型と単為型の間に明瞭な遺伝的分化は見られなかった。この ND2 系統樹と ITS2 系統樹の不一致は、核遺伝子の祖先多型もしくは生殖型間の遺伝子流動によってもたらされたと思われる。

第2部と第3部は、細胞学的観察と単為生殖の誘導に関する実験の結果を扱った。第2部では、クワヒョウタン両性型の配偶子(精子、卵)形成と単為型の卵形成の初期ステージを観察した。単為型の卵形成初期において、両性型の第一減数分裂前期で見られる状態に相当する染色体の対合が観察された。ゾウムシ類の単為生殖は apomixis (減数分裂を行わないタイプの単為生殖) とされているが、本種の単為生殖は、数種のゾウムシ類や他の昆虫類で報告がある「減数分裂の一部過程が残る apomixis」を行っている可能性がある。第3部では、先行研究において、産卵直前のメスを低温処理 (0-7°C) すると、単為型で卵の倍数性の変化が観察されるだけでなく、2倍体両性型においても卵の倍数性が変化する可能性が示唆されていたため、同様の低温処理によって、単為型、両性型のメスが産んだ卵の倍数性が変化するかを検証した。単為型が産んだ卵の倍数性は不安定で、多くのメスが低温処理前に2倍体と3倍体の卵を産んだ。また、先行研究で報告されていたように、低温処理後は2倍卵と3倍体卵の割合が有意に変化していた。しかしながら、両性型の倍数性は安定しており、低温処理を行ったメス由来の卵において、倍数性の変化は一切観察されなかった。このことは、低温

環境によって容易に 2 倍体の両性型から倍数性の単為型が生じるとした先行研究の仮説を否定するものである。

第 4 部は単為型と両性型の生活史形質を扱った。生活史には単為型と両性型で大きく異なる点は見られず、両者とも年一化、成虫越冬で春から夏にかけて繁殖を行う事が明らかになった。また、単為型と両性型が同所的に分布する調査地において、同じ食草から両者が発見されたので、2 つの生殖型間には生息地の違いによる隔離が存在しないと思われる。しかし、その一方で、野外調査と実験室での観察から、オスと単為型メスとの間に一定程度の性的隔離があることが示された。この性的隔離の存在は、同一の生息環境における単為型と両性型の共存を説明する 1 つの要因と考えられる。さらに、それぞれの生殖型のメスの繁殖能力を、産卵数と孵化幼虫数を指標として実験室条件下で調べた。孵化の段階で単為型と両性型は 1 メスあたりほぼ同じ数の次世代個体を産出したので、全ての個体がメスである単為型は、半数がメスである両性型より繁殖上およそ 2 倍の利点を持つことになる。なお、本種の両性型において、産卵と寿命の間にトレードオフの関係は見られなかった。また、未交尾両性型メスは交尾両性型メスと同等数の卵を産むにもかかわらず、その寿命は長かった。

最後に、第 5 部でクワヒョウタンを含むサビヒョウタンゾウムシ属 *Scepticus* 4 種の系統関係を明らかにし、同時にクワヒョウタンの単為型が本種両性型と近縁種の交雑に由来する可能性を検証するために遺伝子解析を行った。核の 28S リボソーム RNA の一部配列 (744 bp) を用いた遺伝子解析の結果、クワヒョウタンは単系統となり、同属 3 種と姉妹群を形成した。この結果は、クワヒョウタンの単為型が同属種との交雑に由来するものではないことを強く示唆する。

学位論文審査の要旨

主 査 特任教授 片 倉 晴 雄
副 査 教 授 柄 内 新
副 査 教 授 秋 元 信 一
(農学院)
副 査 准教授 増 田 隆 一

学 位 論 文 題 名

Biogeography, Phylogenetic Relationships, Karyology and Fecundity of Parthenogenetic and Sexual Forms of the Flightless Weevil *Scepticus insularis* (Coleoptera: Curculionidae)

(クワヒョウタンゾウムシ単為生殖型と両性生殖型の生物地理、
遺伝的關係、染色体、および繁殖生態)

博士学位論文審査等の結果について (報告)

本研究は、同一種内に単為生殖を行う個体 (以下、単為型) と両性生殖を行う個体 (両性型) を持つクワヒョウタンゾウムシ *Scepticus insularis* (Roelofs) を材料として、その単為生殖について様々な角度から検討を加えたものである。その中心となっているのは、広範な分布調査に基づく「単為型と両性型の地理的分布の詳細」と分子データに基づいて明らかにした「単為型と両性型の系統関係」の記載、およびそれらの結果に基づく本種の進化史の推定である。論文ではさらに、単為生殖過程の細胞学的解析、核型分析、実態が明らかでなかった「低温処理による有性型からの単為型の誘導」仮説および「低温処理による単為型における倍数性の誘導」仮説の検証、単為・両性型の生活史と繁殖力の比較研究、単為型の交雑説起源仮説の検討を行い、クワヒョウタンゾウムシの単為生殖に関する基礎的情報を収集した。

論文は全5部からなり、地理的分布、遺伝的集団構造、および両性型と単為型の系統解析を扱った第1部では、本種が北海道全域および本州の北半分に広く分布すること、その分布は他の生物種において「地理的単為生殖」として知られるパターンを示し、単為型が広く分布するのに対して、両性型は狭い限られた地域に隔離されていること、現在みられる単為型は進化的にみると単一起源であり、祖先的な単為生殖系統は120万年から410万年前に生じていることを明らかにした。第2部では、卵形成の初期ステージを観察し、本種の単為生殖が「減数分裂の一部過程を残した“体細胞分裂類似の単為生殖”」を行っている可能性を指摘した。第3部では先行研究によって示唆されていた低温処理による核型および両性生殖から単為生殖への変換という問題を実験的に検証し、単為型の倍数性は容易に変化するが、両性型の核型は処理に関わらず一定である、という明瞭な結果を得た。この結果は、低温処理による両性型からの単為型の誘導はおそらく生じていないことを意味する。第4部では札幌近郊の単為型・両性型混棲集団と単為型単独集団を定期的に調査し、両繁殖型が年一回繁殖、成虫対越冬という基本的に同じ生活史を持つこと、混棲地においては両繁殖型の間にある程度の性的隔離があること等の成果を得た。また、飼育条件下では、孵化幼虫の数を基準にとると繁殖型が両性型の約2倍の増殖力を持つことを明らかにした。最後の第5部では、クワヒョウタンゾウムシとこれと同属の3種間の系統関係を核DNA遺伝子の一種を用いて解析を行い、クワヒョウタンゾウムシの単為型が近縁種間の交雑に由来する可能性はほとんどないことを示した。

以上の成果は、従来細胞学的な手法によってのみ知られていたクワヒョウタンゾウムシの単為生殖について大幅な知見の増加をもたらし、これまでゾウムシの単為生殖研究で世界をリードしていたヨーロッパにおける研究に匹敵する成果を得ると同時に、将来の研究のための強固な基礎と将来発展が見込める様々な研究テーマを提供した。さらに、本研究ではクワヒョウタンゾウムシの採集・飼育に関するノウハウを確立し、様々な飼育実験で成果を上げることによって本種が単為生殖研究のモデル生物とし優れた資質を備えている

ことを示した点も高く評価される。

よって著者は、北海道大学（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。