

論文内容要旨（和文）

令和3年度入学 大学院博士後期課程

地球共生圏科学専攻 生物学分野

氏 名 中曾根 大輝

印

論文題目 ヤマトアザミテントウ（コウチュウ目：テントウムシ科）が示すアザミ属植物（キク科）への局所適応の実態と生殖的障壁の隠蔽的な発達

局所適応は“自身の生息環境において他集団よりも高い適応度を示す状態”と定義される現象であり、近年の種分化に関する実証的および理論的研究の進展により、これが、生態的種分化の発端的状況にあたるという理解が進んだ。植食性昆虫では、寄主の地理的分布や存在量の地理的不均一性により、地理的集団間で利用する寄主が異なるという寄主利用状況に関する地理的変異が生じる場合が少なくない。この地理的変異は植食性昆虫のそれぞれの地理的集団による自身の寄主への適応を通じて、分岐的な寄主特異性の進化を促す可能性があり、この過程により形成される適応の地理的パターンは、しばしば寄主利用能力における局所適応として検出される。この異所的条件下で生じた局所適応は、昆虫集団の二次的接触時に“移入者の生存不能”として作用する可能性があることに加え、自身の寄主に対する高い選好性の発達に伴う“生息場所隔離”としても、生殖隔離に寄与する可能性がある。よって、異所的条件下における局所適応は、生殖的障壁が隠蔽的に発達する過程であると捉えられる。

植食性昆虫において寄主特異的な局所適応が生じていることを報告した先行研究においては、科や属レベルで異なる遠縁の植物への適応に関するものが多い一方で、同属の植物や同種植物の集団や個体といった近縁な寄主に対する適応に注目したものは相対的に少ない。この事実は、植食性昆虫を対象とした種分化研究において、近縁な寄主への局所適応の影響が過小評価されてきたことを意味している可能性がある。遠縁の寄主間の遺伝的/生態的変異の差の規模は、それぞれの寄主の種内変異よりもはるかに大きいため、異なる寄主を利用する地理的集団では、昆虫の地理的分布域におけるどの集団間の比較においても局所適応の程度は同程度に著しいことが予測される。一方で、近縁な寄主間の遺伝的/生態的変異の規模は、遠縁の寄主間と比較して小さいが、この事実は、比較する寄主の組合せを変えることで、寄主の遺伝的/生態的変異の規模の変動が局所適応の強度に及ぼす影響をより細かいスケールで解明できるという利点となりうる。これは、近縁な寄主に対して局所適応を示す昆虫—植物の系が種分化の発端的状況をより詳細に理解する上で適した対象であることを意味している。

植食性テントウムシの一種であるヤマトアザミテントウ（コウチュウ目：テントウムシ科；以下、ヤマト）は、アザミ属植物（キク科）を寄主とするスペシャリストである。日本におけるアザミ属植物は地理的分布域が種間で明瞭に分かれている場合が多いことから、ヤマトには各生息地において寄主として利用するアザミの種が異なるという地理的変異が生じている。本研究では、東北地方に生息するヤマトとアザミ属植物の系を対象に、近縁な寄主に対する局所適応が普遍的に生じており、これが生殖的障壁として隠蔽的に作用しているという仮説を立て、その検証に取り組んだ。

第2章では、野外調査を通じて東北地方に生息するヤマトの地理的集団がミネアザミ（以下、ミネ）、キタカミアザミ（以下、キタカミ）、ダキバヒメアザミ（以下、ダキバ）、ナンブアザミ（以

下、ナンブ) という4種のアザミをそれぞれ主要な寄主として利用していること、さらに、一部の集団は2種のアザミを併用していることを明らかにした。また、ミネとダキバはキタカミおよびナンブよりも湿地性環境を好む傾向があることが示唆された。

第3章では、第2章で主要な寄主であることが明らかになったアザミ4種をそれぞれ寄主としているヤマト集団を対象に、寄主特異的な局所適応が生じているのかをアザミ利用能力の査定を通して検討した。その結果、ミネ利用集団である青森集団においてKawecki and Ebert (2004) による局所適応の基準のうちの1つ“Local vs. foreign”を強く満たす寄主特異的な局所適応が生じていることが明らかになった。しかし、青森集団を含めた全てのヤマト集団はミネに対して高い選好性を示さなかった。

第4章ではヤマトが示す寄主選好性の成因の一端を明らかにするべく、同所的に自生するダキバとナンブに焦点をあて、アザミ利用能力の査定およびアザミ併用集団を対象としたコードラート調査を行った。その結果、ダキバ利用集団でのみダキバへの強い選好性が発達していることが明らかになり、生息地内での寄主の密度に依存した寄主選好性の発達が生じていることが強く示唆された。また、コードラート調査より、同種アザミの株間移動が異種アザミ間の移動よりもはるかに高頻度で生じていることが明らかになった。調査区域内でダキバは湿地性環境に、ナンブはやや乾燥した環境に偏在していたため、この株間移動の偏りは同種のアザミの株間の距離が異種のアザミよりも短いことが原因の1つであると考えられた。

第5章では、第3章で検出された異なるアザミ種を利用しているヤマト集団間で生じている寄主特異的な局所適応が東北地方という地理的スケールの中でどのような様相を示すのかを、ヤマト6集団を対象にしたアザミ利用能力の査定を通じて検討した。局所適応の2つの基準(“Local vs. foreign”および“Home vs. away”; Kawecki and Ebert, 2004) に基づいて結果を解釈したところ、ミネ利用集団が示す局所適応は、他のどのアザミを利用するヤマト集団間との比較でも検出される一般性の高いものであること、また、それぞれのヤマト集団はミネ以外のアザミ種に対しても独自の適応度地形を形成していることが明らかになった。

第6章では、前章までで明らかにした寄主特異的な局所適応が、野外において実際に遺伝子流動を制限し、寄主と関連した分化を介してヤマト集団の空間遺伝構造に影響を及ぼしているのかをマイクロサテライトマーカー8座位を用いた集団遺伝解析により検討した。その結果、ヤマトが示す空間遺伝構造は、寄主特異的な局所適応の影響を受けていることが明らかになった。加えて、ミネ利用集団と他のアザミ利用集団の間では非対称的な遺伝子流動が生じていることが強く示唆された。これは寄主特異的な局所適応が“移入者の生存不能”としてヤマト集団間の遺伝子流動を実際に制限していることを示している。

以上より、東北地方に生息するヤマトとアザミ属植物の系では、近縁な寄主に対する局所適応が普遍的に生じており、これが生殖的障壁として隠蔽的に作用しているという仮説は支持された。これまでに行われてきた植食性昆虫における種分化に関する研究は、寄主間で遺伝的/生態的変異の規模が大きいと同時に野外においても変化が顕在的で検出されやすい遠縁の寄主を扱ったものが大部分である。本研究の結果は、近縁な寄主に対する局所適応の普遍性、および、これが植食性昆虫の種分化プロセスにおいて隠蔽的に強い影響を及ぼしている可能性を示している。

論文内容要旨 (英文)

令和3年度入学 大学院博士後期課程

地球共生圏科学専攻 生物学分野

氏 名 中曾根 大輝



論文題目 The status of local adaptation to host plants, *Cirsium* spp. (Asteraceae), by *Henosepilachna niponica* (Coleoptera: Coccinellidae) and the cryptic development of reproductive barriers

Local adaptation is defined as the pattern and/or process by which the local population shows higher fitness in its natal environment than the foreign populations. According to recent advancements in empirical and theoretical studies on speciation, local adaptation can be regarded as the initial stage of ecological speciation. In phytophagous insects, the pattern of host use by local populations often shows variation resulted from the heterogeneity in the geographic distribution and local abundance of hosts. This geographic variation in host use may promote the evolution of divergent host specificity among local populations of phytophagous insects through the adaptation to respective local host(s), and such divergent host specificity is often detected as local adaptation in the host use ability. The host-specific local adaptation can be regarded as the development of “immigrant inviability” under allopatric conditions. In addition, such local adaptation may promote the development of “habitat isolation” associated with the evolution of a high preference for respective natal hosts. Most of the previous studies reporting the host specific local adaptation by phytophagous insects focused on the divergent adaptation to distantly related hosts such as those belonging to different families or genus of plants, while fewer studies dealt with the adaptation to closely related hosts, such as those belonging to the same plant genus or individuals of the same plant species (i.e., genotypes). Because the degree of ecological and/or genetic difference between distantly related hosts is often distinct, the geographic insect populations depending on different hosts are expected to show relatively clear and similar degree of local adaptation across the distribution range of insects. On the other hand, the degree of such difference among closely related hosts is smaller and perhaps less stable than that observed among distantly related hosts. This point can be advantageous for elucidating that how does the degree of variation affect the strength of local adaptation at finer scales (i.e., at the most initial stage of differentiation of insect populations), because the comparison among the hosts with various degree of ecological and/or genetic difference is possible. Therefore, the insect-plant system which might develop the local adaptation to closely related hosts is good arena for more detailed understandings of the initial stage of ecological speciation.

The phytophagous ladybird beetle *Henosepilachna niponica* Lewis (Coleoptera: Coccinellidae) is a specialist of thistles (*Cirsium* spp.; Asteraceae). The geographic distribution range of respective thistle species in Japan differs from each other. Consequently, *H. niponica* populations in different regions frequently use different thistle species. In this study, I tested the hypotheses that the local adaptation to closely related hosts occur ubiquitously in the *H. niponica* and thistle species system in the Tohoku district, and that this local adaptation is acting cryptically as reproductive barriers.

In Chapter 2, through the field investigations in the Tohoku district, I revealed that *C. alpicola* Nakai (hereafter referred to as “CA”), *C. nipponicum* (Maxim.) Makino (“CN”), *C. amplexifolium* (Nakai) Kitam. (“CAM”), and *C. tonense* Nakai (“CT”) were used as the main hosts by respective *H. niponica* populations in the Tohoku district. It was also revealed that some populations use two thistle species in a single habitat. In addition, CA and CAM tended to prefer more mesic habitats than CN and CT.

In Chapter 3, through the assessment of the ability to use thistle species under laboratory conditions, I examined whether the host-specific local adaptation is occurring in the *H. niponica* populations occurring the four thistle species identified as the main hosts in Chapter 2. The results indicated that the host-specific local adaptation was occurring in the Aomori population depending on CA, satisfying well one of the criteria for local adaptation (i.e., “local vs. foreign”) proposed by Kawecki and Ebert (2004). However, all *H. niponica* populations including the Aomori population did not show a high preference for CA.

In Chapter 4, I focused on CAM and CT that often grow sympatrically in order to clarify some factors shaping the host preference of *H. niponica*, and investigated the ability to use CAM and CT of three *H. niponica* populations mainly occurring on CAM, CT, and both plants, respectively. In addition, a field quadrat survey was conducted for a population occurring on both CAM and CT. The results indicated that high preference for CAM evolved only in the *H. niponica* population mainly occurring on CAM, strongly suggesting that the evolution of host preference depends on the availability of hosts in the habitat. The quadrat survey revealed that the movement by beetles between individuals of the same thistle species was more frequent than that between different thistle species. As CAM within the area studied grew in mesic environments whereas CT in relatively dry environments, the observed bias in beetle movement would be attributed to the shorter distances between intraspecific thistle individuals than the distance between thistle species.

In Chapter 5, based on the two criteria for local adaptation (“local vs. foreign” and “home vs. away”; Kawecki and Ebert, 2004), I examined the geographic aspects of the host-specific local adaptation by *H. niponica* populations occurring on different thistle species detected in Chapter 3 through the investigation of the ability to use thistle species of six *H. niponica* populations. The local adaptation by a *H. niponica* population occurring on CA was detected consistently in comparisons with other *H. niponica* populations occurring on any other thistle species. In addition, it was strongly suggested that each *H. niponica* population forms own adaptive landscape across thistle species other than CA.

In Chapter 6, through the population genetic analyses using eight microsatellite markers, I examined whether the host-specific local adaptation revealed in the previous chapters actually limits gene flow among *H. niponica* populations in the wild and is affecting the spatial genetic structure of *H. niponica* populations concomitant with the host associated differentiation. The results indicated that the spatial genetic structure of *H. niponica* populations is affected by the host-specific local adaptation. In addition, asymmetric gene flows between the *H. niponica* populations depending on CA and on CN/CT were strongly suggested. These results indicated that the host-specific local adaptation would act as “immigrant inviability” in the wild and limits gene flow among *H. niponica* populations.

In conclusion, the hypotheses that the local adaptation to closely related hosts occur ubiquitously in the *H. niponica* and thistle species system in the Tohoku district, and that such local adaptation is acting as reproductive barriers, are supported. The present study revealed the ubiquitousness of the local adaptation to closely related hosts and the possibility that such local adaptation would have a concealed but substantial influence on the speciation process in phytophagous insects.

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

令和6年8月2日

理工学研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主査 藤 山 直 之

副査 横 山 潤

副査 本 山 功

副査 松 林 圭



学位論文の審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

論 文 申 請 者	専攻・分野	地球共生圏科学専攻・生物学分野	氏名	中曾根 大輝
論 文 題 目	ヤマトアザミテントウ（コウチュウ目：テントウムシ科）が示す アザミ属植物（キク科）への局所適応の実態と生殖的障壁の隠蔽的な発達			
学位論文審査結果	合格	論 文 審 査 年 月 日	令和6年7月22日～ 令和6年8月1日	
論 文 公 聴 会	令和6年8月1日	場 所	理学部先端科学実験棟 S401	
最 終 試 験 結 果	合格	最 終 試 験 年 月 日	令和6年8月1日	

学位論文の審査結果の要旨（1,000字程度）

局所適応は、“自身の生息環境において他集団よりも高い適応度を示す状態”と定義される現象であり、近年は生態的種分化の発端的状況にあたりと理解されている。植食性昆虫による寄主への局所適応を扱った研究の大部分は異なる科など分類学的にかけ離れた植物を対象としたものであるが、本研究は、ヤマトアザミテントウによるアザミ属の異種あるいは同種集団という近縁な植物群への局所適応の実態を解明し、昆虫集団間における生殖隔離の発達（種分化）という視点からその解釈を試みたものである。

第1章では本研究の背景と目的が述べられている。これまでの知見に基づいて、ヤマトアザミテントウとアザミ属植物の系において、①近縁な寄主植物に対する局所適応が普遍的に生じており、②そのような局所適応は隠蔽的に生殖隔離の発達を促している、という仮説を立てた。第2章では、ヤマトアザミテントウの様々な地理的集団が寄主としているアザミの種を野外調査を通じて明らかにした。第3章では、別種のアザミに対して局所適応が生じていることを室内実験により明らかにした。第4章では、主に野外調査の結果に基づき、ヤマトアザミテントウの地理的集団の寄主選好性が各生息地におけるアザミ類の出現頻度に影響されて形成されている可能性を指摘した。第5章では、アザミ類への局所適応が示す地理的パターンを検討し、ヤマトアザミテントウのそれぞれの集団が複数のアザミ種／集団に対して独自の適応度地形を形成していることを明らかにした。第6章では、局所適応が実際にヤマトアザミテントウ集団間の遺伝子流動を制限していることを、マイクロサテライトマーカーを用いた分子集団遺伝学的解析を通じて明らかにした。第7章は総合考察であり、一連の結果より2つの仮説が支持されたと結論付けた上で、今後の展望が述べられている。

本研究で得られた成果の一部は国際誌に掲載済みであり、学位論文の審査基準を満たしている。本研究で実証された植食性昆虫による近縁な寄主植物への局所適応の普遍性、およびその種分化という視点からの解釈は、学術的な新規性と独自性を備えており、植食性昆虫類の多様性の創出メカニズムの全容解明のための非常に重要な知見である。論文は論理的に書かれており、仮説の実証に成功しており、構成や体裁も整っていることから、博士学位論文として十分な価値があるという理由から合格と判定した。なお、本論文は、研究倫理又は利益相反等に係る学内規則に基づく手続きは必要ありません。

最終試験の結果の要旨

最終試験は、公聴会での発表（30分）後に、論文内容を中心とした30分の口頭による質疑応答により実施した。全ての質問に対して的確に答えており、当該分野の専門知識、技能、および考察力を十分に有していると判断された。加えて、研究の今後の展望についての具体的な意見も有していた。以上より、課程博士として十分な資質を有していると認められたことから、最終試験を合格と判断した。