

論文の内容の要旨

論文題目 Analyses of Cospeciation process of fig/fig-wasp pollination mutualistic systems in the Ogasawara Islands.
(小笠原諸島のイチジク属- イチジクコバチ類送粉共生系における共種分化過程の解析)

氏 名 横山 潤

被子植物と昆虫の間には種特異性の高い生態的なつながりをもつものが多い。この事実は、生物同士が互いに適応しながら進化を遂げる共進化の過程が、この2つの生物群の高い種多様性の生成機構として働いてきた可能性を示唆する。実際、植物と昆虫の相互作用系として一般的な、植食性昆虫とその食草、および送粉昆虫と虫媒植物の相互作用系では、共進化によって前者では昆虫の、後者では植物の種分化が生じる可能性が指摘されており、その具体例もあげられている。しかし、高い種多様性を獲得した共進化系における種分化が、具体的にどのような過程をたどったかについてはよく解っていないのが現状である。

イチジク属 *Ficus* は全世界の熱帯を中心に約750種が知られ、50属約1300種が知られるクワ科の中でも最も種多様性が高い。イチジクコバチ類は現在350種以上(約750種の存在が予測される)が知られており、これも植物に寄生するコバチ類の種数としては突出している。イチジク属植物とイチジクコバチ類昆虫がこのような著しい種多様性を獲得した背景には、両者の間の送粉共生系の進化が大きく関係していると考えられる。

イチジク属は、頂部の開口部を除いて完全に閉鎖した花序(花囊)の内面に花を付ける特殊な形態的特徴をもつ。このような花序形態から、一般的な送粉昆虫や風などの媒体による受粉は行えない。それらに代わって、イチジク属植物は花に寄生するイチジクコバチ類による特殊な送粉共生系を発達させている。この送粉共生系は、1種のイチジク属植物に対して、ほとんどの場合1種のイチジクコバチ類のみが送粉を行う著しい種特異性を示し、植物と昆虫の共進化の最も顕著な例とされている。このような著しい多様性は、両者が協調的に種分化を遂げる共種分化によって獲得されてきたと考えられているが、その具体的な過程については全くわかっていなかった。そこで本研究では、小笠原諸島に産するイチジク属植物とイチジクコバチ類昆虫を対象に、具体的な共種分化過程の解析を行った。

小笠原諸島は、本州から約1000km南に位置する典型的な海洋島である。この島々にはこれまで3種のイチジク属植物が知られ、いずれも小笠原諸島の固有種である。これまでの我々の行ってきた系統解析から、これら3種は単一の祖先種から諸島内で分化したものであることが明らかとなっており、種分化の解析を行う系として優れている。このうち、母島に固有のオオヤマイチジク(*Ficus iidaiana*)は4倍体種であることなどから、他の種(2倍体)とは明らかに生殖的に隔離されている。一方、2倍体種であるトキワイヌビワ(*Ficus boninsimae*)とオオトキワイヌビワ(*Ficus nishimurae*)は、典型的な個体は形態的にも生態的にも互いに異なっているが、攪乱された環境にはしばしば中間的な個体が出現することから、それぞれの種の独立性を疑問視する意見もある。こ

れら2種のイチジクコバチ類も、大きさが異なる傾向があるが、変異は連続的で形態的には明瞭に区別できない。そこで本研究では、小笠原諸島固有の2倍体イチジク属植物と、それらに共生するイチジクコバチ類昆虫を材料に、それらの間に働いている生殖的隔離機構と種間・集団間の遺伝的分化の程度明らかにし、小笠原諸島におけるイチジク属-イチジクコバチ類送粉共生系の共種分化が具体的にどのような過程を経て進行しているのかを明らかにすることを目的とした。

小笠原諸島に産する2倍体イチジク属植物のうち、オオトキワイヌビワに分類される個体には、形態的に異なるものが存在する。本研究では、まず2倍体イチジク属植物の外部形態を解析し、これまでの種分類を再検討した。その結果、これまでオオトキワイヌビワに分類されていた父島中央部の集団は、林冠に出るまではほとんど分枝しない特異な形態的特徴を持つことが明らかとなった。植物体の量的形質に基づく多変量解析の結果からも、この集団の個体はトキワイヌビワ、オオトキワイヌビワと異なる形態的特徴を示した。以降、この集団をオオトキワ（東平型）と仮称し、他の2種と区別して解析した。

小笠原諸島固有のイチジク属植物は、これまでの解析ではその単系統性は示されたものの、相互の遺伝的分化の程度が小さく、種間の系統関係については全くわかっていなかった。そこで、近年近縁種間の系統解析にその有用性が示されつつある核遺伝子 *tpi* の塩基配列に基づく系統解析を行った。RT-PCRによって増幅したcDNAの配列を元に独自のプライマーを作成し、イントロンを含む *tpi* 遺伝子の部分配列を決定した。その情報に基づく系統解析の結果、小笠原諸島固有のイチジク属植物の単系統性、および2倍体種の単系統性が示された。しかし2倍体種間の関係については、この領域でも明らかとはならなかった。そこで、この3群がどの程度遺伝的な分化を遂げているのかを、RAPD解析を用いて調べた。その結果、トキワイヌビワ、オオトキワ（東平型）は、それぞれ異なるオオトキワイヌビワの集団から分化を遂げた可能性が示唆された。これは両者が派生的な外部形態的特徴を示すことと一致する。一方、トキワイヌビワ、オオトキワイヌビワともに島間での遺伝的分化は認められなかった。

イチジクコバチ類は、花囊内に侵入する際に翅や触覚など移動や探索に用いる重要な器官を失ってしまうことが多いので、花囊内に侵入する前に自分の正しい相互作用の相手を認識する必要がある。このための機構として、先に述べた揮発性化学成分組成による認識が発達してきたと考えられる。したがってイチジク属-イチジクコバチ類送粉共生系における最も有効な生殖的隔離機構は、揮発性化学成分に基づく認識機構の変化によるものであると考えられる。そこでまず、それぞれの種から採取したイチジクコバチ類がどの程度正確に自分の相互作用の相手を認識しているのかを、野外での導入実験と、本研究で開発したバイオアッセイ法を用いて検討した。その結果、いずれの場合もオオトキワイヌビワ、オオトキワ（東平型）から採取したイチジクコバチ類は有意に本来の共生相手の植物を選好したが、トキワイヌビワから採取したイチジクコバチ類はいずれの種にも選好性を示さなかった。2倍体種の雌性期の花囊から採取した揮発性化学成分をガスクロマトグラフィーで分析したところ、それぞれの種に含まれる揮発性化学成分の種類や量比に差があることが明らかになった。採取した化学成分にも同様の選好性を示すため、トキワイヌビワ以外の2種のイチジクコバチ類は、この揮発性化学成分の差異を認識して自分の相互作用の相手を選択していると考えられる。

揮発性化学成分による生殖的隔離機構は、小笠原固有の2倍体イチジク属植物では限定的にしか作用していないことが明らかになったが、それでは野外である程度形態的に区別可能なイチジク属植物の集団が維持されている背景には、その他の隔離機構が存在するのであろうか。そこでさらに本研究では、野外集団での両種のイチジクコバチ類の移動を具体的に追跡することを試みた。イチジクコバチ類は雌のみが送粉に関与するため、母性遺伝をするマーカーであるミトコンドリアDNAに多型が見られれば、集団間でのイチジクコバチ類の移動を追跡できる。そこで、父島では1992年から1996年の5年間、母島では1994年を除く4年間に採取した各集団のイチジクコバチ類について、ミトコンドリアDNA上の *coxI-coxII* の遺伝子間領域の塩基配列を決定した。その結果、父島、母島ともにトキワイヌビワ、オオトキワイヌビワ、オオトキワ（東平型）のイチジクコバチ類には

塩基配列上に固有の変異が認められた。さらに、1例を除き、異なる種に固有の配列が得られた例はなかった。このことは、揮発性化学成分による生殖的隔離は不十分だが、実際には両者の間でのイチジクコバチ類の移動は起こっていないことを示している。ただし母島では、1集団よりトキワイヌビワとオオトキワイヌビワの両方のイチジクコバチ類の配列が得られた。このことから、稀にイチジクコバチ類が種間で移動することで、中間的な形態のイチジク属植物が生じる可能性が示唆された。

本研究で明らかになった小笠原産2倍体イチジク属植物とイチジクコバチ類昆虫の遺伝的分化の解析結果を比較すると、後者では島間の遺伝的分化も見られることから、より分化が進行していることが示唆された。したがって小笠原諸島のイチジク属-イチジクコバチ類送粉共生系の共種分化過程では、集団間の遺伝的分化の程度が植物と昆虫で異なっており、昆虫の遺伝的分化が先行している状態にあることが明らかとなった。

トキワイヌビワとオオトキワイヌビワのイチジクコバチ類の成虫は、飛散距離が通常は非常に短いことがマーキング調査から示された。したがって、異なる環境に生育し個体群が離れている場合、イチジクコバチ類の移動能力が距離的な生殖的隔離の効果を生み出す可能性が高い。また小笠原諸島のイチジク属植物は、2月末から12月にかけて各個体が連続して新しい花嚢を生産し、それらが順次成熟するという開花パターンをもつので、個体群内に常にイチジクコバチ類が発生し、そのときには常にイチジクコバチ類が産卵できる花嚢が存在している状態にある。したがって、ある個体群内でイチジクコバチ類の利用できる花嚢は、常にその個体群内で発生したイチジクコバチ類に利用しつくされてしまい、外部から新しいイチジクコバチ類の個体が侵入できる余地はほとんどないものと考えられる。本研究のミトコンドリアDNA多型の解析結果は、実際には両者の間での遺伝的交流はほとんどないことを示しており、開花様式から予測されるイチジクコバチ類の移動パターンとよく一致する。

これらのことを総合すると、小笠原諸島におけるイチジク属植物の種分化の第一のステップは、異なる環境に生育するイチジク属植物の個体群の成立であろうと考えられる。連続して花嚢を生産し続ける開花パターンとイチジクコバチ類の飛散能力から、集団間の遺伝子交流がほとんど起こらない中で、イチジクコバチ類の認識機構として働いている揮発性物質が集団間で異なる成分構成に固定し、同時に現在の生育環境に適応した外部形態的特徴を進化させた状態が現在の状況であると考えられる。この後、トキワイヌビワのイチジクコバチ類がトキワイヌビワを確実に選好するように進化すると、3群は完全に別種へと分化すると考えられる。