

氏 名	ク ル シマ ヒロアキ 久留島 宏明
所 属	理工学研究科 生命科学専攻
学 位 の 種 類	博士（理学）
学 位 記 番 号	理工博 第 229 号
学位授与の日付	平成 29 年 3 月 25 日
課程・論文の別	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	Analyses of multiple cryptic species of the <i>Auplopus carbonarius</i> species-complex (Insecta: Hymenoptera: Pompilidae) ナミヒメクモバチ複合種群に含まれる隠蔽種の解明（英文）
論文審査委員	主査 准教授 江口 克之 委員 教 授 林 文男 委員 准教授 角川 洋子

【論文の内容の要旨】

隠蔽種とは、形態上区別がつかないために 1 種として分類されているが実際には複数の種を含んだ種群のことである (Bickford *et al.* 2007)。従来の分類学では伝統的に形態情報によって種を認識しており、隠蔽種の存在は見逃される場合が多かった。近年では DNA の塩基配列情報を用いた分子系統解析が簡便に行えるようになり、隠蔽種と考えられる遺伝的集団が実際には非常に多く存在することが分かっている。しかし、確認された遺伝的集団が互いに生殖的に隔離された生物学的種 (Mayr 1942)なのか、あるいは単なる遺伝的な多型なのかを確認しなければ、これらの集団が種としての実態を持った隠蔽種であると証明することはできない。特に動物においてはモデル生物などの限られた分類群でしか交尾実験を行うことができないために、多くの研究では生殖的隔離を確認できず、隠蔽種の存在を証明することができていない (Dincă *et al.* 2013)。

ナミヒメクモバチ *Auplopus carbonarius* (Scopoli, 1763) は昆虫綱膜翅目クモバチ科に属し、旧北区温帯域（ヨーロッパ～極東アジア）に広く分布する。メスは泥を使って壺状の育房をつくり、その中に麻酔したクモを運び込んで幼虫の餌とする。それゆえ、竹筒トラップを野外に設置することで大量の生きた未交尾成虫が得られ、交尾実験によって生殖的隔離（交配前隔離）の有無を検証することができる。本種には今までにオスの頭部形態やメスの営巣生態にいくつかの型が知られ、複数の隠蔽種の存在が示唆されていた。まず日本集団において、主にオス頭部の斑紋と大顎の色に 2 型があることが知られ、これらを同種と

するか別種とするかには議論があった (Tsuneki 1990; 羽田 1994)。また、ヨーロッパにおいてもオス頭部に日本集団の場合と同様な 2 型が知られ、一方が他方の変種 *Auplopus carbonarius* var. *ribauti* Priesner, 1960 として記載されていた。さらに、日本集団においては生態的な多型についても記述があり、竹筒などの既存孔（閉鎖空間）に複数の独立した育房を並べる型や、葉の裏や崖下の根などに複数の育房を付着させ、さらにそれらを泥で覆う型など、いくつかの多型が報告されていた (岩田 1975)。

本研究の目的は、本種群に何種の隠蔽種が存在し、またそれらが遺伝的、形態的および生態的にどのように多様化しているのかを解明することである。まず分子系統解析によって、本種に含まれる遺伝的集団の存在を明らかにする。次に交尾実験によって、それらの集団間の生殖的隔離（交配前隔離）の有無を検証する。また、形態形質の解析によって、各遺伝的集団を比較し、形態的分化がどの程度生じているかを解析する。これらの結果を総合し、ナミヒメクモバチとされている集団の中に含まれる隠蔽種の存在を証明する。さらに、各隠蔽種の分布、営巣形態および獲物について調査し、各種が生態的にも分化しているかどうかを明らかにする。

分子系統解析には日本（北海道～沖縄）、韓国、ロシア、スウェーデン、フランスおよびイギリスの計 106 サンプルを用い、核 28S、ミトコンドリア COI、ミトコンドリア D-loop の 3 領域の塩基配列情報に基づいてベイズ法、最尤法、最節約法の 3 種の系統推定を行った。その結果、本種は約 13 の遺伝的集団に分けられた。

分子系統解析によって明らかとなった 13 の遺伝的集団のうち、生きた未交尾個体が得られた 8 集団の計 840 個体を用いて 1,537 回の交尾実験を行った。実験はシャーレ内に雌雄を 1 個体ずつ入れ、10 分間ビデオカメラによって行動を記録するという方法によって行われた。また、メスは一度しか交尾を行わないため、未交尾個体のみを用いた。交尾実験の結果、まず、ナミヒメクモバチの同集団間での交尾は①オスが腹部を上げ、翅を震わせ、メスの背に乗る（求愛行動）、②オスがメスの腹端に交尾器を挿入して交尾を行う。この時メスはしばらく動かなくなる（静止）、③再び動き出したメスが再度求愛するオスに対して交尾を拒否する、という一連の行動が見られた。各遺伝的集団間の生殖的隔離の有無を検証したところ、日本および韓国に分布するシロハ型、クロハ型、ガケ型、韓国 1 型の 4 集団は自身の集団以外とは交尾せず、他集団との間に明確な交配前隔離が存在することがわかった。この隔離は、オスが自集団のメスに対して他集団のメスと比べて有意に高い割合で求愛することと、メスが自集団以外のオスからの交尾を受け入れないという 2 段階で行われていると推察された。また、クロハ型オスと奄美型メス、沖縄型オスと奄美型メス、韓

国 3 型オスとクロハ型メスという組み合わせでは異型間での交尾が確認された。これらの組み合わせの雌雄を入れ替えた実験では交尾は観察されず、例数は少ないものの、これらの集団間では非対称な交配前隔離が生じている可能性が考えられた。さらに、分子系統解析によって得られた集団間の 28S 領域における遺伝的距離を比較すると、完全な隔離を示す組み合わせは非対称な隔離を示す組み合わせよりも遺伝的距離が大きい傾向がみられた。一方、COI および D-loop 領域ではこのような傾向は見られなかった。

形態形質においては、質的および量的な比較を行った。質的形態比較の結果、形態分類に使われることが多い交尾器には集団間で差異は見られなかったが、オス頭部の斑紋および大顎の色やメス頭部の微毛の長さは集団間で 2 型に分けられた。量的形態比較では、頭部および前翅の 23 形質を計測し、主成分分析と判別分析を行った。主成分分析の結果、各集団は形態的に軽微な分化を示すことがわかった。また、判別分析による解析では、算出された判別式を用いて各集団を高い精度で識別することができた。

生態情報が多く得られたシロハ型、クロハ型、ガケ型の 3 種に対して、分布、営巣方法および獲物（クモ）の種構成の比較を行った。シロハ型とクロハ型は北海道、本州、四国、九州から、ガケ型は本州から採集されている。3 種は複数の地点で同所的に採集され、分布域も大きく重なっていることから、国内の多くの地域で同所的に分布していると考えられた。野外での営巣方法の調査と飼育ケージ内での営巣実験から、シロハ型とクロハ型は竹筒のような既存孔にのみ営巣するのに対して、ガケ型は葉の裏や崖下の根など、より開放的な空間にのみ営巣し、さらに複数の育房を泥で上塗りするという、他集団と全く異なる営巣習性を示すことが分かった。首都大学東京南大沢キャンパス周辺で採集されたシロハ型、クロハ型、ガケ型の育房内の獲物残留物からクモの種類を同定すると、3 種ともが複数の科のクモを狩るジェネラリストであり、また共通の獲物としてデーニツハエトリを狩ることがわかった。

以上の結果から、ナミヒメクモバチは多数の遺伝的集団から成り、そのうち少なくとも 4 種（シロハ型、クロハ型、ガケ型、韓国 1 型）は生殖的に隔離され、形態的にも分化した隠蔽種であることが強く示唆された。また、営巣習性においてはガケ型と他の隠蔽種間に明確な分化が生じていた。一方で、分布域や獲物に関しては隠蔽種間での明確な分化は確認できなかった。

本研究はクモバチ科をはじめとする類似の分類群でも同様の多様化が起きていることを示唆し、それらの解明のモデルケースとなりうる。