

# 研究成果報告書（第26回学術研究助成）

2019年 4月 2日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団

理事長 野村茂樹 殿

所属機関名 京都大学生態学研究センター

職 名 博士後期課程 4年

氏 名 樋口裕美子

## 1. 研究課題

イヌヤマハッカ変種群の葉形進化における葉を巻く植食性昆虫ムツモンオトシブミの影響

## 2. 共同研究者

東京大学大学院理学系研究科附属植物園 川北篤 教授

## 3. 研究報告

### I. 研究の目的

植物の葉は多様な「かたち」を示すが、葉の厚さや葉面積といった他の葉形質に比べて生態学的に着目されることは少なく、自然界においてどのように機能しているか明らかでない。葉の形の機能はこれまで光合成に関わる非生物的要因から検討されており、菌感染や食害などの生物的要因に対する葉の形による抵抗性はほとんど知られない。その理由の一つに植食者の多くを占め、寄主特異性の高い植食性昆虫において葉の形が作用しにくいと考えられてきたことがある。オトシブミ科甲虫のメスは産卵の際に葉を一枚丸ごと巻き上げ、子供のための「揺籃」と呼ばれる葉巻きを作成する。揺籃作成は着地→踏査→切断→折り畳み→巻き上げといった複雑な加工行動をメスに課す。こうした行動はある程度決まっており、通常の寄主植物とは異なる変則的なかたちの葉は加工しづらく産卵における寄主利用を阻害している可能性がある。申請者のこれまでの研究からオトシブミ科の1種ムツモンオトシブミ（以下ムツモン、図1B）のメス成虫は、寄主植物であるシソ科ヤマハッカ属のなかで例外的に葉が切れ込んだハクサンカメバヒキオコシ（以下ハクサン、図1A）を、同所的に生育する同属別種の切れ込みのないクロバナヒキオコシ（以下クロバナ）と比べて揺籃作成に使わないことが分かった。このハクサンを含むイヌヤマハッカ変種群は種内で著しい葉形の地理的変異を示す（図1C）。本研究では、①切れ込んだ葉の「かたち」はムツモンのメスの揺籃形成に対する抵抗性として働いているのか、②葉の形の異なるイヌヤマハッカ変種群においてムツモンが近縁な変種間の葉形進化にどのように影響してきたのかを検討する。

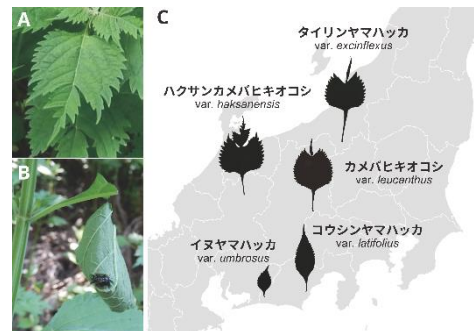


図1. A. ハクサンカメバヒキオコシの葉. B. ムツモンオトシブミのメスが葉を巻き揺籃を作る様子 C. イヌヤマハッカ変種群の葉形と分布

葉巻きを作成する。揺籃作成は着地→踏査→切断→折り畳み→巻き上げといった複雑な加工行動をメスに課す。こうした行動はある程度決まっており、通常の寄主植物とは異なる変則的なかたちの葉は加工しづらく産卵における寄主利用を阻害している可能性がある。申請者のこれまでの研究からオトシブミ科の1種ムツモンオトシブミ（以下ムツモン、図1B）のメス成虫は、寄主植物であるシソ科ヤマハッカ属のなかで例外的に葉が切れ込んだハクサンカメバヒキオコシ（以下ハクサン、図1A）を、同所的に生育する同属別種の切れ込みのないクロバナヒキオコシ（以下クロバナ）と比べて揺籃作成に使わないことが分かった。このハクサンを含むイヌヤマハッカ変種群は種内で著しい葉形の地理的変異を示す（図1C）。本研究では、①切れ込んだ葉の「かたち」はムツモンのメスの揺籃形成に対する抵抗性として働いているのか、②葉の形の異なるイヌヤマハッカ変種群においてムツモンが近縁な変種間の葉形進化にどのように影響してきたのかを検討する。

### II. 研究の方法

- ① メスの揺籃形成に対する嗜好性の違いが葉の「かたち」によるものかを明らかにするため、同一株から採集したクロバナ2茎に対し、片方にハサミでハクサンをまねて葉に切れ込みを入れる処理、もう片方に切れ込みを入れずに葉のふちを同様の長さ切る「切れ込みのない」処理を施し、室内の透明なアクリル製ケージ内で野外採集したムツモン成虫のペアに同時に供試し、3日後に摂食行動の有無、揺籃形成行動である葉の基部を切断する行動の有無、また巻き上げ行動の有無（揺籃の有無）を記録する選択実験を行った（図2A, B）。

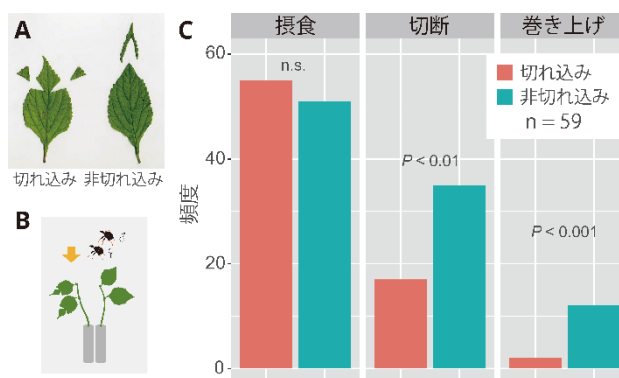


図2. A. 切れ込みのある処理（左、赤色）とない処理（右、青色）をしたクロバナヒキオコシの葉. B. 選択実験の概要. C. 選択実験の結果. 左から摂食、切断、巻き上げの頻度を示す.

- ② 葉形の異なるイヌヤマハッカ変種群におけるメスの揺籃形成の嗜好性を調べるため、切れ込みのある変種ハクサンと切れ込みのない変種コウシンヤマハッカ（以下コウシン）を各種2集団から採集し、①と同様の選択実験を行った。また、ハクサンほどではないがやや葉が切れ込むタイリンヤマハッカ（以下タイリン）におけるムツモンのメス成虫の揺籃形成行動を室内でビデオ撮影により観察した。さらに、コウシンの葉は切れ込んでいない代わりに他の葉形質によりムツモンから防衛しているのかを調べるため、ムツモンの卵をコウシンとハクサンの葉で人為的に巻き直して羽化率や羽化成虫のパフォーマンス（乾重・エリトラ長）を比較した。また、これら2変種の葉形以外の防衛形質（トリコーム量、総フェノール量、葉面積あたりの葉重(LMA)、葉厚)を比較した。

### III. 研究結果

- ① どちらの処理をした葉でも、成虫は同様に摂食したが、切れ込みのない処理をした茎に比べて切れ込み処理をした茎では有意に揺籃形成行動回数が低下した（図2C）。
- ② ハクサンとコウシンの選択実験では、成虫はどちらの葉も摂食したが、メスは切れ込みのないコウシンにおいて、切れ込みのあるハクサンよりも有意に多く揺籃形成行動を行った（図3A）。少し切れ込みのあるタイリンでもメスは揺籃形成行動を行うことができた（ $n=2/7$ 、巻き上げ）。ハクサンとコウシンのどちらの葉で巻きなおしても、幼虫は同様に羽化したが、羽化成虫の乾重はコウシンで巻き直した場合に有意に低くなった（図3B）。また、両種のトライコーム量、総フェノール量、LMAに違いは見られなかったが、葉厚はハクサンにおいて有意に低かった。

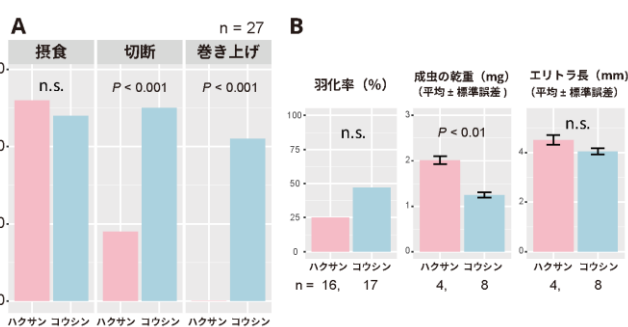


図3. A. ハクサン（ピンク色）とコウシン（水色）の選択実験の結果. 左から摂食、切断、巻き上げの行動数の頻度を示す. B. 両種の葉で巻きなおしたときの幼虫の羽化率、羽化成虫の乾重およびエリトラ長の結果.

### IV. 考察

葉の「かたち」のみを変えて行った選択実験において、切れ込んだ葉でメスの揺籃形成における嗜好性が低下したことは、ハクサンの切れこんだ葉形がムツモンの産卵加工に対する抵抗性として働いている可能性を示唆する。ムツモンはイヌヤマハッカ変種群の分布域全体

に生育するため、もしムツモンの選択圧により葉形が進化したのであれば、形と他の防衛に関わる葉形質に変種間でトレードオフがあり、切れ込んでいないコウシンは切れ込み以外の葉形質により防衛しており、そのためハクサンと同程度の嗜好性をもつと予測した。しかし、ムツモンのメスの嗜好性は、ハクサンよりもコウシンにおいて高く、コウシンはメスの揺籃形成に対してハクサンほどの抵抗性をもっていないと考えられた。メスに好まれないハクサンでもコウシンと同様かそれ以上に子供は成育したことから、ハクサンは葉形によって揺籃形成を劇的に阻害している可能性が高い。一方で、タイリンではメスは揺籃形成を行えたことから、ハクサンほどの切れ込みがないと揺籃形成は妨げられないのかもしれない。まき直し実験では、幼虫はコウシンでもハクサンでも同様に羽化するが、そのパフォーマンスはコウシンで低く、またコウシンは葉が厚かった。このことからコウシンは幼虫にとってハクサンよりも栄養性は優れておらず、次世代の適応度低下による個体数減少を介して間接的に生育域のムツモンの個体数を制限しているかもしれない。

## V. 成果発表

### <学会発表>

#### ・ポスター発表

- 樋口裕美子・川北篤「寄主植物の葉の切れ込みはムツモンオトシブミの揺籃形成を阻害するか？」 2018年12月1日-2日 日本甲虫学会2018宇都宮大会
- Yumiko Higuchi and Atsushi Kawakita “Does leaf lobation on a host plant inhibit cradle formation of a leaf-rolling weevil?” 2019年2月21日－22日 マクロ生物学百花繚乱2018～アジアの生物多様性～ Symposium of Integrative Biology: Biodiversity in Asia

#### ・口頭発表

- 樋口裕美子「葉のかたちと植食者：葉の切れ込みはオトシブミの揺籃づくりを妨げるか？」 2019年3月15日－19日 第66回日本生態学会 神戸 自由集会「植物のかたちと機能—実証的アプローチ—」企画および講演

### <論文等>

- Yumiko Higuchi and Atsushi Kawakita (2019) Leaf shape deters plant processing by an herbivorous weevil. (投稿中・投稿先：*Current Biology*)

## VI. 今後の課題

本研究では切れ込んだ「かたち」とその他の防衛に関わる葉形質に近縁なイヌヤマハッカ変種間でトレードオフがあると予測したが、それを示唆する結果は得られなかった。そのため、なぜ北陸地方に生育するハクサンでのみ切れ込みによる抵抗性がみられるのか現時点ではわからない。切れ込みは他の環境要因に対して進化し、ムツモンに対して副次的に働いているのかもしれない。ヤマハッカ属全体の分布域を見ると、北陸地方はヤマハッカ属の複数種が重複して分布しており、ヤマハッカ属全体のバイオマスが高い可能性がある。ムツモンは変種の分布する全地域に生育するが、その存在量はヤマハッカ属のバイオマスの高い北陸地方で特に高く、選択圧になりやすいのかもしれない。また、幼虫のパフォーマンスが低下したことから、コウシンは子供の適応度低下による次世代以降の個体数減少を介して間接的に生育域のムツモンの量を制御している可能性もある。今回、タイリンのような弱い切れ込みはムツモンの揺籃形成を妨げないことが示唆されたが、こうした弱い切れ込みを持つ変種がイヌヤマハッカ変種群では最も広い分布域をもつ。ハクサンやコウシンの葉の形はこうした弱い切れ込みを祖先とし派生的にオトシブミの選択圧の程度に応じて進化してきたかもしれず、今後は上述の仮説を検証するような実験をより詳細に行っていく必要がある。