



Molecular taxonomic analysis of the genus *Velarifictorus* and *V. micado* species complex, and the speciation mechanism in East Asia

He, Zhuqing

(Degree)

博士 (学術)

(Date of Degree)

2014-03-25

(Date of Publication)

2015-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6029号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006029>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文内容の要旨

氏 名 _____ 何祝清 _____

専攻・講座 _____ 生命機能科学 _____ 農環境生物学 _____

論文題目 (外国語の場合は, その和訳を併記すること。)

Molecular taxonomic analysis of the genus
Velarifictorus and *V. micado* species complex,
and the speciation mechanism in East Asia

Velarifictorus 属とツツレサセコオロギ種群の分子系統解析と

東アジアにおける種分化機構

指導教員 _____ 竹田 真木生 _____

Crickets are widely distributed omnivorous insects, but their morphology is simple. Therefore life cycle and behavioral characteristics have been extensively used for taxonomy. Also recent advent of molecular taxonomy has shown its power in phylogeny. This investigation challenged for classification of taxonomic status and speciation mechanism in *Velarifictorus micado* species complex. The COI gene of *Velarifictorus* species were sequenced, especially in *V. micado* collected from 33 areas in Asia. The phylogenetic tree showed that *V. micado* are recently split species. There were mainly four different haplotype groups in *V. micado*. The common ancestor resides in Indochina peninsula and they are non-diapause species whose eggs hatch without developmental interception. One *V. micado* group is distributed in Taiwan and Japan. Their eggs develop without interception, but nymphs develop slowly under short photoperiod. That indicates that they probably overwinter at nymphal stage and emerge in next year. They can be uni- or bivoltine and even multivoltine according to the locality of origin. Another group colonized North China and Japan. The nymphs develop relatively fast compared with the group mentioned above, and the individuals reared under short photoperiod grow faster than under long photoperiod. This indicates that short photoperiod accelerate development to emerge synchronously before winter comes. Adults lay eggs before winter and their eggs enter diapause to overwinter and hatch in the spring of the next year. Because of these different life cycles, the reproduction should be seasonally isolated in Japan. This allows *V. micado* and its sibling species to coexist.

V. micado is also an introduced species in USA since 1959. Three stocks from Newnan (Georgia), St. Louis (Missouri) and Nashville (Tennessee) were collected and their COI sequences were determined. Although the original stock collected in Mobile Mississippi was named the Japanese burrowing cricket, the results indicate that the Newnan stock was more closely related to Chinese stocks.

(氏名： 何祝清 NO. 2)

The different photoperiodic responses of *V. micado* reflect the different natural selection on different strains. *V. micado* developed two life-cycle in two close areas is a special and rare example of two colonization separated by sea. The different life cycle makes them have nearly no chance for gene flow. In other cases, one strategy should be better than another and it will be dominate in all the strain. *V. ornatus*, *V. aspersus* and *V. flavifrons* have the similar photoperiod responses to *V. micado*, which collected from different areas. Same nature pressure makes *Velarifictorus* spp. develop similar life-cycle. The value of ovipositor/hind femur length illuminated the differences between *V. micado* of different overwinter stage. The *V. micado* overwinter at egg stage has high value of OV/FM, while those overwinter at nymphal stage has low value. All *Velarifictorus* spp. have two wing types, macropterous and brachypterous, except *V. flavifrons*, but they do not have same mechanism. The macropterous percent of *V. aspersus* is constant, which is not affected by different photoperiods. *V. ornatus* individuals are all brachypterous in LD 12:12, which shows an strong environmental effect. When *V. micado* reared under LD 12:12, few individuals developed longwing, while the macropterous percent rapid increased under LD 16:8. But there were huge differences of the percent from different areas, which showed the genetic factors. Macropterous individuals have wider pronotum, which consisted of strong muscle for flying. Dimorphism also exists in forewing length. Macropterous individuals have longer forewing in all species, except male *V. aspersus*. Sexual dimorphism depressed as females have longer hind femur, while males have bigger head.

氏名	何 祝清		
論文 題目	Molecular taxonomic analysis of the genus <i>Velarifictorus</i> and <i>V. micado</i> species complex, and the speciation mechanism in East Asia (<i>Velarifictorus</i> 属とツツレサセコオロギ種群の分子系統解析と東アジアにおける種分化機構)		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教授	竹田 真木生
	副 査	教授	前藤 薫
	副 査	准教授	森 直樹 印
	副 査	准教授	杉浦 真治
	副 査		

要 旨

概要

種の分化が地理的隔離による突然変異の蓄積の結果起こるといふ異所的なモード以外に、同所的なものも存在するかどうかについては、さまざまな議論があった。古典的なものとしては、北アメリカでサンザシ類を食していた *Rhagoletis* 属のミバエがヨーロッパから持ち込まれたリンゴに寄主転換し、別種を形成した例 (*R.pomonella*) と、季節的な隔離が別種形成にいたったとされた北米のコオロギの例がある。その後、後者の例として引用された *Gryllus pennsylvanicus* と *G.veletis* について、分子的な検討が行われた結果両者には系統的な近縁関係は認められないことが分かった(すなわち収斂進化)。そのため、季節的種分化の可能性は否定された。しかしながら、同じように雑食性で広範な分布をする2種の *Velarifictorus* 属のツツレサセコオロギがアジアには存在し、上記の *Gryllus* 属2種と同様年一化で繁殖時期を異にするが、この問題は未解明のまま残された。上記 *Gryllus* の2種は交雑可能性がないが、*Velarifictorus* 属コオロギのほうは、部分的に交雑可能である。種分化の研究にとって分化した集団はすでに進化的なプロセスが完了しており、歴史的なプロセスを再現することが難しい。しかしながら、*Velarifictorus micado* 種群では分化の歴史が短く、近過去の形質を多く残した状態にあると考えられる。同所的な種の分化が果たして起こるのか、生活史の転換にもかかわらず分かれた集団間に遺伝子交流が維持できるのか、このような問いを確認するためには本属の、この種群の解析は非常に重要な示唆を与えるだろうと期待された。そこで、候補者らは東アジアの *Velarifictorus* 属コオロギを、日本列島を含む海洋弧、インドシナ半島から中国大陆を網羅して採集し、分子系統解析と生活史パターンの解析を行った。また、侵入した北米の個体群も採集した。

第1章は導入とこの研究の目的を述べた。コオロギ類の分類記載は形態の単調のせいもあり虫鳴や生活史の形質に頼ることが多い。生活史形質としては幼虫発育における光周性や卵休眠率の光周期による調節などが重要な情報となる。そこで、コオロギにおける生活史機構の研究についてのこれまで研究成果を紹介した。

第2章では、*Velarifictorus micado* 種群のミトコンドリア CO1 の遺伝子配列を黒龍江省からカンボジアまで東アジアと、導入された北米の個体群3箇所を含む33個体群について標準より長い、COI の殆ど全長をカバーする塩基長を読み、1485 のポジションを比較し Neighbor-Join and BioNJ algorithm によりクラスター解析を行った。*Velarifictorus* 属は約2億年前にアリヅカコオロギやケラなどの仲間から分岐したと考えられる独自のグループを形成し、属内での分岐は約7500万年前から始まり、*V.ornatus* と *V.micado*, *flavifrons*, *aspersus* を含むグループに分かれ、その後、後者から *V.aspersus*, そして、約5000万年前に *V.flavifrons* が分かれたと考えられる。さらに、*V.micado* グループについて詳しい分析を行った。その結果、日本および中国大陆北部を含むグループとインドシナ半島や台湾や南中国、東中国を含むグループに大きく分けることができ、後者はさらにインドシナ・中国南部、

氏 名	何 祝清
日本南部、中国東部の3グループに分かれる。前者は卵休眠型が優勢で、後者は非休眠(インドシナ・中国南部)または幼虫休眠型(中国東部、台湾・日本南部)が優勢であった。朝鮮半島南部の大邱の個体群は、後者に含まれるにもかかわらず、卵休眠をするものと考えられた。したがって、生活史型の分岐は複数回起こったと考えられる。また、北米に入った3個体群のうち東海岸のものは中国の個体群に近く、ミシシッピ岸を北上したと考えられる卵休眠を持つ2つの個体群とは別系統であることが分かった。アメリカへの侵入・定着も少なくとも2回以上起こったと考えられる。この部分は全体のもっとも重要な部分であるが現在投稿準備中である。	
第3章は、生活史の分析である。上記のサンプルから代表的な7個体群を用い、長日と短日下で幼虫発育のパターンを比べた。大阪以外の個体群の幼虫発育のパターンは比較的簡単で、幼虫休眠型では、短日で遅延するが、卵休眠型では短日で発育速度が上がる。大阪はやや複雑なパターンを示し、はじめに羽化してくる集団の半分くらいが幼虫休眠型に近い反応を示すが、残りは逆の傾向を示す。大阪南部には幼虫休眠型が生息し、両型の introgression が起こっている可能性を示している。大阪を除いて、生活史に多型的な要素は見られない。この成果は、ISRN Entomology に掲載された。	

第4章は、*Velarifictorus* 属のコオロギの種間と *V. micado* 種群内の個体群の形態的な特徴を調査し、生活史形質と比較した。各種間の違いと *V.micado* 種群内の違いが明らかにされた。特に、卵休眠する個体群では後腿節長に対して産卵管長が長くなっていて、卵休眠のために比較的安定した地中深くに産卵する傾向が選択されたものと考えられる。詳しいデータは現在分析中である。

このように、*V.micado* 種群は、分子系統的に距離に近いが、生活史は明瞭に分かれ、形態もやや分化している。幼虫休眠型と、卵休眠型の間には自然界では遺伝子交流が抑えられていると考えられるが、明瞭な物理的、行動的な生殖隔離機構は、まだ見つかっていない。このように *V.micado* 種群は現在種分化しつつある状態で存在すると考えられ、種形成の理解に重要な材料となるだろう。分布が重なる地域でより詳細な研究が求められる。

本研究は、*Velarifictorus* 属の系統分類のみならず、*V.micado* 種群の形態、生活史を含むはじめての総合的な考察であり、系統分化と種分化機構の研究における重要な集積であると認める。よって、学位申請者の何祝清は、博士(学術)の学位を得る資格があると認める。