

学 位 論 文 要 旨

DNA 塩基配列に基づくハダニ類の種の識別と系統関係の推定 Species identification and phylogenetic relationships of the family Tetranychidae (Acari) based on DNA sequences

生物生産科学専攻 生物制御科学大講座

松田 朋子

ハダニ科 Tetranychidae の種はすべて食植性であり, *Tetranychus* 属のナミハダニやカンザワハダニ, *Panonychus* 属のミカンハダニやリンゴハダニ, *Oligonychus* 属のマンゴーツメハダニなど, 農業上重要な害虫種を多く含んでいる。ハダニの効率的な防除や適切な植物検疫を行うには, 正確かつ迅速な種の同定が不可欠である。しかし, ハダニの体サイズは 0.3~0.8 mm と小さいため, プレパラート標本によって種を正確に同定するには, 相当な熟練を要する。そのため DNA 塩基配列を用いた種の識別が試みられているが, 従来の研究ではごく一部の害虫種を扱っているに過ぎない。一方, ハダニ類の DNA 塩基配列に基づく系統解析には, ミトコンドリア DNA (mtDNA) の cytochrome *c* oxidase subunit I (COI) と核 rRNA の internal transcribed spacer 2 (ITS2) が用いられてきたが, これらの領域による系統樹の分岐を支持するブートストラップ値は低く, 統計的に支持される分岐はないに等しかった。そこで本研究では, ハダニの種の識別に有効な DNA データベースを構築し, 簡易的な識別法を確立すること, および精度の高いハダニ科の分子系統関係を推定して, 形態による分類や系統仮説と比較・検討することを目的とした。

第 2 章では, 核 rRNA の ITS2 領域と mtDNA の COI 領域の塩基配列を用いて, 日本産 *Tetranychus* 属ハダニ全 13 種を検討した。その結果, ITS2 領域では供試した日本産 *Tetranychus* 属ハダニ 13 種中 10 種, COI 領域では全 13 種を識別することができた。さらに, カンザワハダニとニセカンザワハダニには, 形態では区別できないが, 遺伝的に分化している隠蔽種が存在する可能性が示唆された。したがって, COI 領域は日本産 *Tetranychus* 属の種の識別だけでなく, 隠蔽種の検出にも有効な遺伝子領域であることが分かった。

第 3 章では, 核 rRNA の ITS2 領域, 28S 領域, および mtDNA の COI 領域の塩基配列

を用いて、*Oligonychus* 属ハダニ 17 種を検討するとともに、本属の分子系統関係と形態学的形質（挿入器の曲がる方向）および宿主植物との関連性を考察した。その結果、日本産 *Oligonychus* 属ハダニ 18 種のうち、供試できなかったウルマツメハダニを除いた 17 種は、いずれの領域でも識別できた。さらに、*Oligonychus* 属ハダニは、系統樹で挿入器の曲がる方向と一致する 2 つのクレードに分岐することを明らかにした。挿入器が背側に曲がる種のうち、イネ科植物に寄生する 3 種は、広食性のシュレイツメハダニとは明確に分岐した。

第 4 章では、rRNA の 18S 領域と 28S 領域を用いて、ハダニ科 2 亜科 4 族 15 属 88 種の系統関係を推定した。本研究では、先行研究で推定されている ITS2 領域や COI 領域による系統樹よりも分岐の信頼度が高い系統樹を推定することができた。その結果、供試した 15 属中 4 属が単系統にならなかつたことから、形態の類似性によって分類されている属が、分子系統樹では必ずしも単系統にならないことが分かった。つまり、*Oligonychus* 属は挿入器の曲がる方向と一致する 2 つのクレードに明確に分岐して、挿入器が背側に曲がる種は *Tetranychus* 属と同じクレードに所属した。残る *Schizotetranychus* 属と *Eotetranychus* 属は、それぞれ多系統群を形成した。しかし、事後確率とブートストラップ値が低い分岐があつたため、属間の系統関係を明確に示すことができなかった。

第 5 章では、より精度の高い系統関係を推定して、第 4 章では解決できなかったハダニ科の属間関係を明らかにすることを目的とした。ハダニ科 2 亜科 4 族 14 属 52 種について高速シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行い、得られた核タンパク質コード遺伝子 183 個に基づいて分子系統関係を推定した。核タンパク質コード遺伝子による系統樹は、核 rRNA による系統樹と矛盾せず、かつほぼすべての分岐が高いブートストラップ値で支持されたことから、ハダニ科の属間関係を明確に示すことができた。

第 2 章～第 5 章の結果を踏まえて、総合考察では、「日本産ナミハダニ亜科の分子系統関係と形態による分類および系統仮説の比較」について考察した。本研究では、日本産ナミハダニ亜科の形態による系統仮説が分子系統関係と一致せず、現在ハダニの属への分類に用いられている爪間体などの形態形質が系統を反映していない非相同な形質であることを示した。つまり、本研究で推定したいずれの分子系統樹（mtDNA、核 rRNA、および核タンパク質コード遺伝子）においても *Oligonychus* 属は明確に 2 つのクレードに分岐した。さらに、核 rRNA の 18S 領域および 28S 領域と核タンパク質コード遺伝子による系統樹では、*Oligonychus* 属に加えて、*Schizotetranychus* 属、*Eotetranychus* 属、および *Tetranychus* 属が単系統にならなかつた。このように、科レベルの分子系統解析において形態に基づいて設定された属が単系統にならないことは、ハダニ以外の節足動物でも知られており、分子系統解析結果に依拠した分類体系が再構築された例もある。したがって、ナミハダニ亜科の系統上の近縁性を反映した分類体系を構築するためには、分類形質の再検討が必要であろう。