

# ミトコンドリアDNAを用いた害虫の移動・分散能力の解明

小林 憲生 [北海道大学大学院理学研究科生物科学専攻／研究生]

## 背景・目的

害虫の分散能力を知ることは、その害虫の防除を効果的に推進するために不可欠である。従来こうした分散能力は、標識・再捕獲などの手法を用いて推進されてきたが、あまり高い精度の推定値は得られなかった。そこで、本研究では、ジャガイモ・ナス・トマトなどのナス科植物の害虫として知られるオオニジュウヤホシテントウ(*Epilachna vigintioctomaculata*)を材料に、ミトコンドリアDNAチトクロームCオキシダーゼサブユニットI遺伝子の一部の塩基配列を決定することにより、本種の分散能力の推定を試みた。

## 内容・方法

オオニジュウヤホシテントウは、アジアの冷涼な地域に広く生息するテントウムシである。本研究では、日本全国を網羅するように北海道7地点(利尻島、礼文島、稚内、音威子府、厚岸、札幌、森)、東北地方2地点(弘前、仙台)、関東地方1地点(大子)、北陸地方2地点(新潟、金沢)、中部地方1地点(岐阜)、中国地方2地点(鳥取、広島)、九州地方1地点(英彦山)計16地点から採集した。また、比較のために韓国1地点(春川)からオオニジュウヤホシテントウを採集し、17地点から各10個体、計170個体に対して、ミトコンドリアDNAチトクロームCオキシダーゼサブユニットI遺伝子を含む領域をPCR法により増幅し、その一部(985bp)の塩基配列をダイレクトシーケンス法によって決定した。

決定した塩基配列情報に基づき、塩基配列型(ハプロタイプ)間の遺伝子系統樹を近隣結合法により作成した。遺伝子系統樹の作成には、software MEGA2を用いた。また、塩基配列情報から集団間遺伝子分化係数を算出し、その値に基づきオオニジュウヤホシテントウの地域間の移動を推定した。

## 結果・成果

170個体から計30ハプロタイプ(遺伝子配列型)が検出された。ハプロタイプに長さの多型は認められなかった。比較した985bp中では、多型的なサイトは43サイトであった。ペアワイズでハプロタイプを比較したところ、ハプロタイプ間の塩基置換数は1~18個であった。

遺伝子系統樹を作成したところ、大きく2つのクラスター(hap-01~hap-05, hap-06~hap-30)が認められ、このクラスターは、韓国から採集された個体と日本から採集された個体

に相当した。更に、日本のクラスターは、2つのサブクラスター(hap-06~hap-17, hap-18~hap-30)に細分された。前者のサブクラスターは本州・九州の個体に相当し、後者のサブクラスターは北海道の個体に相当した。このことから、オオニジュウヤホシテントウが朝鮮海峡・津軽海峡を越えて移動することが不可能で、長期間に渡り移動が制限されてきた可能性を示唆する。オオニジュウヤホシテントウは、大陸・本州・九州が同一の形態型をしており、北海道は本州等と異なる形態をしている。大陸・本州・九州集団間に形態的差異が認められないことから、これまで遺伝的分化(それに伴う移動の有無)を推測することは不可能であったが、同一の形態型の中にも大きな遺伝的分化が存在しており、長期に渡って海峡を越えるような移動が制限されてきたことが明らかにされた。

次に、集団間遺伝子分化係数から集団の分化を検討した。この集団間遺伝子分化係数は、0~1迄の値を取り、値が大きいほど比較した集団間に遺伝的分化が生じていることを示す。一般に、0.2以上の値が認められたときに、比較した地域集団間に分化が存在すると評価される。

実験に用いた17集団間の遺伝子分化係数を算出したところ、その値は0.875で、同様に国内16集団間の遺伝子分化係数でも0.863という非常に高い値を示し、遺伝子系統樹から推測された様な集団間の遺伝的分化が存在する事を指示した。次に、本州の8集団間の遺伝子分化係数を算出したところ、0.838と非常に高い値を示した。このことは、遺伝子系統樹では識別されないものの、地域間に遺伝的分化が生じており、たとえ陸続きであっても地域間の移動が制限されている事を意味する。一方、北海道本島の5集団間の集団間遺伝子分化係数は0.050と他の地域集団間よりも非常に低い値を示し、指標となる0.2を下回った。結果として、北海道本島内では、長い目で見れば移動は頻繁に生じていることが推測される。

## 今後の展望

ミトコンドリアDNAの解析を行うことによって、害虫の移動・分散能力を査定を行った。移動能力は、遺伝子系統樹上で検出される様な長期スケールの査定方法と、遺伝子頻度で検出される様な比較的短期のスケールの査定方法の二重の判断基準で行った。今回の結果では、遺伝子系統樹レベルの遺伝的分化と遺伝子頻度レベルで推定される遺伝的分化の両方を検出している。特に、遺伝子頻度を用いた検出では、遺伝子系統樹レベルでは検出不可能なレベルの移動の制限を検出しており、この方法は様々な害虫に応用可能であると考えられる。