

学位論文題名

日本産ハダニ亜科の系統関係の考察

—特に *celarius* species group について—

学位論文内容の要旨

ハダニ類 (Tetranychidae) は、重要な農林害虫を多く含むために、これまで応用動物学的な面から膨大な研究が蓄積されてきた。1960年代初頭には、単にアカダニと総称され、このグループの構成種・生態も不分明であったが、現在では世界で74属、1189種が分類記載され、またそれらの生態・行動には大きな多様性があることがあきらかにされている。こうした、生態・行動学的な研究の発展によって、それまで1つとされていた種が、多くの種に分割されたり、また、主に形態形質をもとに、いくつかの系統樹も提案されてきた。

しかし、近年の生態・行動研究の発展によって、従来の上位分類群を分ける上で重要な形態形質の機能が次々とあきらかにされ、例えば属を分けるメルクマールの1つである歩行器の形態が、それぞれの種の固有の生態、つまり寄主葉への適応によって収斂するものであることなどが判明してきた。これらの生態・行動に関する新しい知見は、従来の形態形質によって構築されてきたハダニ類の系統関係に重大な疑問を提出するとともに、記載分類におけるカテゴリー（属、族等）が、このグループの進化的歴史性から乖離しているのではないかという疑問を生じさせている。

そこで、本論文においては、ハダニ科 (Tetranychidae) のうち、その主要な亜科であるハダニ亜科 (Tetranychinae) をとりあげ、属および種の系統関係を分子系統学的手法を用いて解析を試みた。

まず、ハダニという0.5mm内外の微小動物からコンスタントにDNAを抽出するという方法の確立を試みた。その結果、1個体からPCR法によって特定領域を増幅するためには、従来のDNA抽出法が、属によってはきわめて困難であり、不安定であることがわかった。また、一部のハダニ類において分析が行われていたmtDNA、COI領域の一部の塩基配列を決定、解析したとしても、その部分の変異は配列間の塩基置換が全てのコドンポジションにおいて飽和しており、ハダニ類の属レベルの系統関係を解析するに足る系統情報を持っていないことが、塩基配列間の突然変異率の推定によるsaturation testによってあきらかになった。このことは、これまで断片的に出されていた同領域を用いた系統解析に信頼をおけないことを示すものであった。

そこで、最近の分子系統学において高次分類群の系統解析に用いられている rDNA の 28S 領域の解析を試みた。日本全国におけるハダニ類の採集調査を繰り返し実施し、わが国に分布するハダニ亜科 11 属 70 種のうち、9 属 39 種を採集し、それらの rDNA28S 領域約 930bp についての塩基配列を決定した。塩基配列の多重整列の結果、得られた 963bp の consensus 配列の saturation test によって、各 OTU 間の分岐後経過時間と塩基置換数の間に比例関係のあることがあきらかになり、28S の PCR 増幅領域の塩基配列が、ハダニ亜科の系統情報を十分に反映することがわかった。

次に、塩基配列の多重整列結果をもとに、近隣結合 (NJ) 法および最節約 (MP) 法によって系統推定を行った。その結果、得られた分岐図は、(*Tetranychus*, *Oligonychus formosanus*), (*Amphitetranynchus*), (*celarius* 種群), (*Aponychus corpuzae*, *Schizotetranychus* の一部), (*Eotetranychus*), (*Panonychus*), (*Oligonychus* の一部), (*Sasanychus*, *Yezonychus*, *Schizotertanychus* の一部) () 内がクレード) となり、各クレード間の関係は、従来の形態形質および mtDNA、COI 領域で提案されていた系統仮説とは大きく異なるものとなった。同時に従来の系統仮説の最大の欠点は、世界的にみても大きな属を形成している *Schizotetranychus* 属が欠落していたことによると判断された。さらに、特筆すべきは、1980 年初頭までは、わが国から 1 種のみが記録され、その後行動・生態の違いをもとに日本で 3 種+2 変種、中国で 2 種、東南アジアから 3 種、またブラジルで 1 種が記載された *celarius* 種群が、それがおかれてきた *Schizotetranychus* 属とは明確に分離して、1 つのクレードを形成すること、また従来はもっとも派生的とされていた *Tetranychus* 属が、ハダニ亜科内でもっとも古く分岐したグループであること、*Eotetranychus* 属と *Schizotetranychus* 属が単系統性を示さないことなど、これまでの定説からは予想もしない新知見が得られ、新しい系統仮説を構築することができた。

さらに、*celarius* 種群内の種の系統関係を分析した結果、寄主植物を異にする種間が近縁であり、寄主植物が同じで巣のサイズを大きく異にする種間の方が、分岐が古いことがあきらかになった。つまり、巣サイズを基準に系統をみると、巣のサイズが大きいグループと小さいグループがそれぞれクレードを形成していた。

また、*celarius* 種群のススキスゴモリハダニ (*Schizotetranychus miscanthi*) の中に 2 つの異なるグループが存在することが、行動や生殖的隔離から報告されていた。そこで、それぞれのグループから各 6 個体群について 28 S および並行研究で発見されたマイクロサテライトの近接領域を分析した。その結果、これらのグループそれぞれに特有の塩基配列のあることが判明し、この 2 つのグループが遺伝的に異なる集団であることを確認した。これらの情報は、今後この種群の分化プロセスを生態・進化等の視点から追求する上で、重要な基礎となるであろう。

もとより、本研究でえられた分子系統が、形態情報による系統より必ず正確であることを保証するものではない。今後、さらにいくつかの遺伝子領域について同様の解析を行い、その信頼性を増していく必要があるだろう。それでも、本研究で得られた系統仮説は、休眠性、生活型あるいは寄主植物といった生態・行動面で、これまでの系統仮説

よりも、高い整合性をもっており、少なくとも従来の仮説をみなおす必要性を指摘するに十分なものであった。したがって、今後系統仮説に整合する分類体系を考える上においても有効であると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齋 藤 裕
副 査 教 授 諏 訪 正 明
副 査 教 授 伴 戸 久 徳
副 査 助 教 授 綿 貫 豊

学 位 論 文 題 名

日本産ハダニ亜科の系統関係の考察

—特に *celarius* species group について—

本論文は、図表を含め 121 ページからなり、引用文献 118 を含んでいる。他に、参考論文 2 編が添えられている。

ハダニ科 (Tetranychidae) は、重要な農林害虫を多く含み、現在までに世界で 74 属、1189 種が分類記載され、またそれらの生態・行動には大きな多様性があることが明らかにされている。

近年の生態・行動研究の発展によって、従来の上位分類群を分ける上で重要な形態形質の機能が次々と明らかにされ、例えば属を分けるメルクマールの 1 つである歩行器の形態が、それぞれの種の固有の生態、つまり寄主葉への適応によって収斂しうるものであることなどが判明してきた。これらの新しい知見は、従来 of 形態形質によって構築されてきたハダニ類の系統関係に重大な疑問を提出するとともに、記載分類におけるカテゴリー (属等) が、このグループの進化的歴史性から乖離している可能性を示唆している。

そこで、本論文においては、ハダニ科のうち、その主要な亜科であるハダニ亜科 (Tetranychinae) をとりあげ、属および種の系統関係を分子系統学的手法を用いて解析を試みた。

まず、ハダニからコンスタントに DNA を抽出するという方法の開発を試み、1 個体から PCR 法によって特定領域を増幅するために必要な方法を確立した。また、従来ハダニ類において分析が行われていた mtDNA、COI 領域の一部の塩基配列変異は配列間の塩基置換が全てのコドンポジションにおいて飽和しており、ハダニ類の属レベルの系統関係を解析するに足る系統情報を持っていないことを明らかにした。

そこで、最近の分子系統学において高次分類群の系統解析に用いられている rDNA の 28S 領域の解析を試みた。日本全国におけるハダニ類の採集調査を繰り返し実施し、

日本に分布するハダニ亜科 11 属 70 種のうち、9 属 39 種を採集し、それらの rDNA28S 領域約 930bp についての塩基配列を決定した。塩基配列の多重整列の結果、得られた 963bp の consensus 配列の saturation test によって、各 OTU 間の分岐後経過時間と塩基置換数の間に比例関係のあることが明らかになり、28S の PCR 増幅領域の塩基配列が、ハダニ亜科の系統情報を十分に反映することがわかった。

次に、塩基配列の多重整列結果をもとに、近隣結合 (NJ) 法および最節約 (MP) 法によって系統推定を行った。その結果、得られた分岐図は、従来の形態形質および mtDNA、COI 領域で提案されていた系統仮説とはかなり異なるものとなった。同時に従来の系統仮説の最大の欠点は、世界的にみても大きな属を形成している *Schizotetranychus* 属が欠落していたことによると判断された。さらに、本属の *celarius* 種群が、本属とは明確に分離した 1 つのクレードを形成すること、また従来はもっとも派生的とされていた *Tetranychus* 属が、ハダニ亜科内でもっとも古く分岐したグループであること、*Eotetranychus* 属と *Schizotetranychus* 属が単系統性を示さないことなど、これまでの定説とは異なる、新しい系統仮説を構築した。

次に、*celarius* 種群内の種の系統関係を分析した結果、寄主植物を異にする種間が近縁であり、寄主植物が同じで巣のサイズを大きく異にする種間の方が、分岐が古いことが明らかになった。つまり、巣サイズを基準に系統をみると、巣のサイズが大きいグループと小さいグループがそれぞれクレードを形成していた。また、行動や生殖的隔離によって知られていた *celarius* 種群のススキスゴモリハダニ (*Schizotetranychus miscanthi*) の 2 つの異なるグループを、それぞれのグループから各 6 個体群について 28 S および並行研究で発見されたマイクロサテライトの近接領域を分析した。その結果、これらのグループそれぞれに特有の塩基配列のあることが判明し、この 2 つのグループが遺伝的に異なる集団であることを確認した。これら一連の情報は、この種群の分化プロセスを生態・進化等の視点から追求する上で、重要な基礎になるものである。

今後、さらにいくつかの遺伝子領域について同様の解析を行い、その信頼性を増していく必要があるものの、本研究で得られた系統仮説は、休眠性、生活型あるいは寄主植物といった生態・行動面で、これまでの系統仮説よりも、高い整合性をもっており、少なくとも従来の仮説をみなおす必要性を指摘するに十分なものであった。このように、本研究の成果は、基礎、応用の両面から重要なハダニ科の研究に、新しい視点をあたえるものであり、高く評価される。

よって、審査員一同は、坂神たかねが博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。