

## フィリピンのココヤシ寄生虫と寄生バチの2種間に生じる遺伝学的相互作用の解明

愛媛大学大学院 学生会員 ○石谷直渡 愛媛大学大学院, De La Salle University 非会員 Serrana, J. M. 愛媛大学大学院, De La Salle University 非会員 Carvajal, T. M. De La Salle University 非会員 Almarinez, B. J. M. De La Salle University 非会員 Barrion, A. T. De La Salle University, 愛媛大学大学院 非会員 Amalin, D. M. 愛媛大学大学院, De La Salle University 正会員 渡辺幸三

### 1. はじめに

フィリピンはココナツの生産量世界第2位の国である。フィリピン国民のおよそ50人に1人となる350万人がココナツ産業に従事しており、フィリピンにとってココナツは重要な農産物



図.1 ココヤシ寄生虫(*Aspidiotus rigidus*)

である。ココヤシ寄生虫(*Aspidiotus rigidus*)(図.1)はココヤシを主な宿主とする1mm程の寄生虫で、ココヤシの葉の裏に寄生し養分を吸収することでココヤシを枯らす。2009年から2014年の間にルソン島のカラバルソン地方及びミンダナオ・バシラン島の一部(図.2)で、210万本以上のココヤシがココヤシ寄生虫に寄生される甚大な被害が生じた。2014年にフィリピン原産の寄生バチ(*Comperiella calauanica*)(図.3)がルソン島で発見されたため、現在ではこの寄生バチによる生物的防除によってルソン島のココヤシ寄生虫の被害は回復している。また、ミンダナオ島のザンボアンガ地方にルソン島の寄生バチを導入することでザンボアンガ地方の被害も回復傾向にある。一方、バシラン島に分布している寄生バチの寄生率は非常に低く、バシラン島の被害は依然として回復していない。そのため、ルソン島産の寄生バチをバシラン島へ導入する計画が検討されている。現在、ルソン島での寄生バチの寄生率は65~92%見られる。また、ザンボアンガ地方では最大48%の寄生率が見られる。一方、バシラン島に分布する寄生バチの寄生率は5%前後にとどまる。

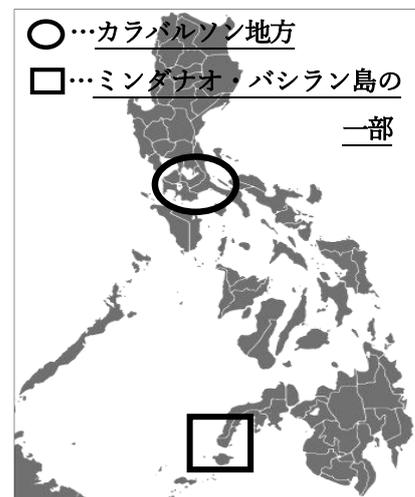


図.2 カラバルソン地方及びミンダナオ・バシラン島



図.3 寄生バチ(*Comperiella calauanica*)

本研究は、寄生バチの寄生率がフィリピン南北間で異なるのは、ココヤシ寄生虫と寄生バチの2種が南北集団間で遺伝的に異なっているためであるという仮説を検証することを目的としている。

### 2. 研究方法

#### 2-1. サンプルング時期・地点・個体数

2014年12月から2016年11月にかけて、ルソン島の5地点、ミンダナオ島の1地点、バシラン島の1地点の計7地点から計339個体のココヤシ寄生虫(*A. rigidus*)を採集した。また、ルソン島の1地点及びバシラン島の1地点から計25個体の寄生バチ(*C. calauanica*)を採集した。

#### 2-2. 遺伝子解析

339個体のココヤシ寄生虫及び25個体の寄生バチはそれぞれホモジナイザーで破碎し、PBSとATL Bufferを混合した緩衝液内で、56°Cで24時間proteinase K処理を行った。その後フェノール・クロロホルムDNA抽出法又はDNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen)を用いDNA抽出を行い、抽出したDNAは-20°Cで保存した。得られたDNA

の濃度は NanoDrop 2000(Thermo)を用いて蛍光測定した。次に、抽出した DNA の全領域からココヤシ寄生虫はミトコンドリア DNA(mtDNA)の Cytochrome Oxidase subunit I (CO I)領域と核 DNA の Elongation Factor 1  $\alpha$  (EF-1  $\alpha$ )領域を、寄生バチは Cytochrome Oxidase subunit I (CO I)領域を選択し、PCR 法により目的領域の増幅をはかった。その後アガロースゲル電気泳動法により DNA 量の増幅を確認し、DNA 量の増幅が確認されたサンプルを塩基配列決定した。次に、

MEGA7 を用い、塩基配列決定を行ったココヤシ寄生虫と寄生バチの遺伝子領域ごとのハプロタイプ間の塩基置換率を算出した。また、上述した塩基配列データと共に、ココヤシ寄生虫と寄生バチそれぞれで、同じ科に属する種、異なる科に属する種の塩基配列データを NCBI から取得し、遺伝子領域ごとの分子系統樹を最尤法を用いて PhyML 3.1 で作成した。

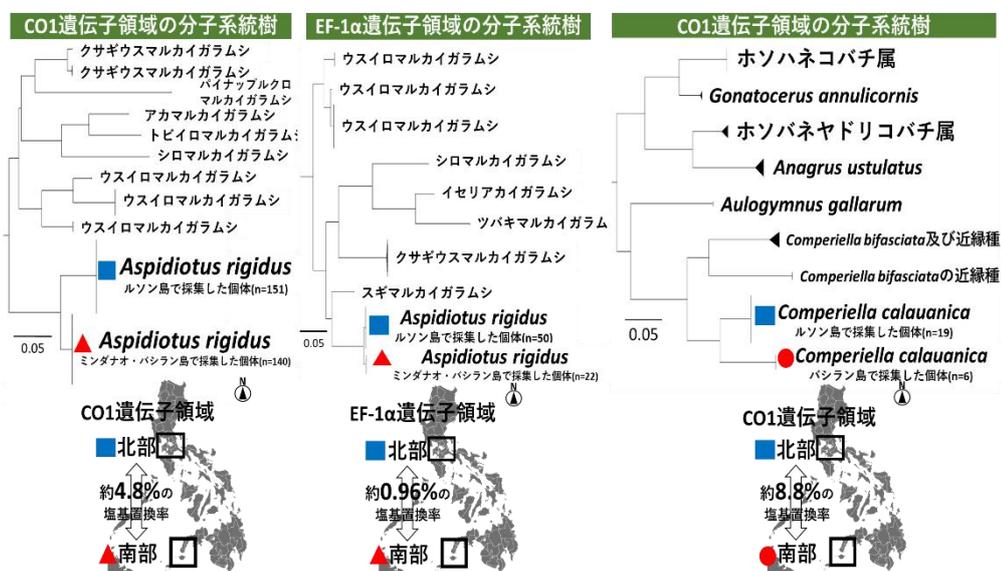


図.4 ココヤシ寄生虫と寄生バチの分子系統樹と塩基置換率

### 3. 結果

ココヤシ寄生虫の CO1 遺伝子領域では 291 個体が塩基配列決定された。2つのハプロタイプが得られ、北部と南部で系統的に分かれていた。ハプロタイプ間の塩基置換率は約 4.8%であった。

ココヤシ寄生虫の EF-1  $\alpha$  遺伝子領域では 72 個体が塩基配列決定された。北部で1つと南部で2つハプロタイプが得られ、北部と南部で系統的に分かれていた。ハプロタイプ間の平均塩基置換率は約 0.96%であった。

寄生バチの CO1 遺伝子領域では 25 個体が塩基配列決定された。2つのハプロタイプが得られ、北部と南部で系統的に分かれていた。ハプロタイプ間の塩基置換率は約 8.8%であった。(図.4)

### 4. 考察

寄生バチの CO1 遺伝子領域の南北間に生じた 8.8%の塩基置換率と南北間で生じた寄生率の差から、寄生バチの南部の集団が別種、もしくは隠蔽種である可能性が考えられる。また、ココヤシ寄生虫は CO1 遺伝子領域、EF-1  $\alpha$  遺伝子領域でそれぞれ南北間に 4.8%、0.96%の塩基置換率が生じていたが、寄生バチのルソン島集団はココヤシ寄生虫の塩基置換率の差に関係なく南北共に高い寄生率を示した。これは寄生バチのルソン島集団のビルレンス(毒性)が高いためであると考えられる。さらに、寄生バチの南部集団の寄生率が5%前後と低いことから、フィリピンの南部には寄生バチの宿主が *A. rigidus* 以外にも生息していることが示唆される。他に宿主が生息するため *A. rigidus* が寄生バチに対する抵抗性を得ても、寄生バチがそれに対する抵抗機構を進化させなかったため南部集団の寄生率が低い値を示したと推察される。

### 5. おわりに

ココヤシ寄生虫と寄生バチ共に北集団と南集団で系統的に分かれ、南北集団間に遺伝的な特異性が見られた。この結果から、天敵種を活用した生物学的害虫防除を効率的に実施するためには、ココヤシ寄生虫と寄生バチのそれぞれの種内の集団遺伝構造を理解しておく必要性が示唆された。

### 6. 参考文献

1. De La Salle University, Biological Control Research Unit (BCRU) 2018, Management Strategies on the control of coconut scale insect (CSI), *Aspidiotus rigidus*, at PCA-Zamboanga Research Center and Zamboanga City, May 2018.
2. Watson, G. W., C. B. Adalla, B. M. Shepard, and G. R. Carner. 2014. *Aspidiotus rigidus* Reyne (Hemiptera: Diaspididae): a devastating pest of coconut in the Philippines. *Agricultural and Forest Entomology*(2015), 17, 1-8.