

喜界島産ゴマダラカミキリ類核DNAにみられた遺伝子汚染

坂巻祥孝・三宅正隆・津田勝男

Detection of Genetic Contamination of Nuclear DNA of Citrus Long Horned Beetles in Kikaijima Iss.

SAKAMAKI Yositaka, MIYAKE Masataka and TSUDA Katsuo

鹿児島大学農学部

Faculty of Agriculture, Kagoshima University

要旨

喜界島に分布するゴマダラカミキリのミトコンドリア DNA には、オオシマゴマダラカミキリ *A. oshimana oshimana* のハプロタイプと九州本土に分布するホンゴマダラカミキリ *A. malasiaca* のハプロタイプが認められることが先行研究で知られていたが、その核遺伝子を調査したところ、リボゾーム RNA 遺伝子のスベーカー領域でオオシマゴマダラおよびホンゴマダラ両種の混合塩基配列が検出され、同島のゴマダラカミキリ遺伝子にはホンゴマダラカミキリの遺伝子が浸透しているものと推定された。

はじめに

坂巻ら (2016) MURAJI, et al. (2011)は、喜界島および徳之島に分布する徳之島産のトクノシマゴマダラカミキリ *Anoplophora oshimana tokunoshimana* および喜界島産のオオシマゴマダラカミキリ *A. o. oshimana* のミトコンドリア DNA の COI 領域の一部塩基配列を決定して、2 ハプロタイプを見出し、一方は "オオシマゴマダラ" タイプ、他方は "ホンゴマダラ" タイプと結論した。本研究では喜界島産の "オオシマゴマダラ" ハプロタイプ 10 個体を含むゴマダラカミキリ類の核 DNA の配列決定をして、これら 2 ハプロタイプを持つカミキリはそれぞれ独立なのか、交雑の末の遺伝子浸透なのかを確認することを本研究の目的とした。

材料および方法

核 DNA のリボゾーム RNA 領域の 5.8SrDNA(132bp)と 28SrDNA の一部 (61bp) およびそれらに挟まれた Internal transcribed spacer2(ITS2: 391-398bp)領域をターゲットとした。

与那国産のヨナグニゴマダラカミキリ 1 頭、石垣産のタイワンゴマダラカミキリ 1 頭、

奄美大島産のオオシマゴマダラ 3 頭、喜界島産中間型 10 頭、徳之島産中間型 2 頭、本土（鹿児島市）産ホンゴマダラ 4 頭を分析した。

PCR 反応には, Takala LATAq ポリメラーゼを使用し, 50 μ l 系で PCR を行った. primer は, F primer (MITS2F 5'-GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC-3') R primer (MITS2R 3'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-5') を用いた (Gomez-zurita et al., 2003) . PCR①の条件は, 熱変性; 94°C, 30 秒間 アニーリング; 50°C, 30 秒間 エクステンション; 64°C, 2 分間のサイクルを 40 サイクルに設定した. 得られた PCR 産物は, BigDye X Terminator で処理した後, ABI PRISM 3500 \times 1 Genetic Analyzer (Life Technologies) で配列決定をしてアラインメントして比較した。

結果と考察

得られた約 590bp の塩基配列の ITS2 領域約 400bp に 3-4bp のギャップが 5 か所認められた。これらのうち、1 か所目 (171 番目) と 5 か所目 (450 番目) は、本土産 4 個体と喜界島産 10 個体で 3bp のギャップとして共有されていたが、他のサンプルには認められなかった。ギャップ 2 か所目 (249 番目) には本土産 2 頭と喜界島産中間型ゴマダラカミキリ 1 頭はギャップとならず ATA という共通の 3 塩基が挿入されていた。ギャップ 3 か所目 (308 番目) でも本土産 1 個体と、喜界島産中間型ゴマダラカミキリ 1 個体でギャップとならず CGTA という 4 塩基が挿入されていた。ギャップ 4 か所目 (351bp) : 奄美大島産オオシマゴマダラカミキリの 3 個体だけの特異塩基 4bp 分がギャップとなった。

これらのことから喜界島産オオシマゴマダラカミキリの核 DNA の ITS2 領域には本土産の一部の個体が持っている ITS 2 領域の 3 塩基あるいは 4 塩基が挿入されている個体がいることが分かった。

これらの本土産ゴマダラカミキリの塩基配列が挿入されている ITS 2 領域のダイレクトシーケンスで喜界島産の個体の配列塩基が混合塩基となった部分についてみると混合塩基「S(C と G が同程度のピーク)」になった塩基では、本土産ゴマダラカミキリは C で、ヨナグニ・ダイワン・オオシ・トクノシマでは G を持つか、あるいはその逆であった。同様に混合塩基「Y(T と C が同程度のピーク)」が認められた塩基では、本土産は C で、ヨナグニ・ダイワン・オオシマ・トクノシマでは T であった。それ以外にも混合配列となった塩基も多く認められたが、その多くが本土産のホンゴマダラが同領域で混合配列を持っており、オオシマゴマダラではその多くは、塩基配列は一意に決定された。

これらのオオシマゴマダラとホンゴマダラの両者のピークを示す「混合塩基」が喜界島産中間型ゴマダラカミキリの ITS 領域で多数認められたことから、喜界島産のゴマダラカミキリにはホンゴマダラの遺伝子が浸透しているものと推定された。

引用文献

- MURAJI, M., WAKAMURA, S., YASUI, H., ARAKAKI, N., SADOYAMA, Y., OHNO, S., and MATSUHIRA, K. 2011. Genetic variation of the white-spotted longicorn beetle *Anoplophora* spp. (Coleoptera: Cerambycidae) in Japan detected by mitochondrial DNA sequence. *Applied Entomology and Zoology*. 46: 363-373.
- 坂巻祥孝・三宅正隆・クアシ N'G. ルシエン・津田勝男 (2016) 徳之島産および喜界島産ゴマダラカミキリ類における遺伝子汚染. 南太平洋海域調査研究報告書 57 : 41-43.