

博士（地球環境科学） ドウイ アストウテイ

学位論文題名

Molecular phylogeny of parrots inferred from DNA sequences of cytochrome b, ND2, RAG-1 and β -fibrinogen genes

(Cyt-b, ND2, RAG-1, β -fibrinogen の DNA 塩基配列判読による
オウム類の分子系統解析)

学位論文内容の要旨

Phylogenetic relationships of parrots were inferred from DNA sequences of mitochondrial cyt b (907 bp), NADH dehydrogenase subunit 2 (1010 bp), nuclear exon recombination activating gene (639 bp) and seventh intron of β -fibrinogen gene (661-850 bp). A total of 47 species of 28 genera of parrots were analyzed in this study. For each gene, neighbor-joining (NJ) and maximum-parsimony (MP) were performed to construct the phylogenetic trees. Main results were: 1) The bias of base composition was relatively high in ND2 (0.1635) followed by cyt b (0.1615) but lowest in RAG-1 (0.0981); 2) The mean genetic distance was highest in ND2, followed by cyt b, Fibint7 and RAG-1; 3) Transitional substitutions appeared to be saturated over transversions in cyt b and ND 2, but not in RAG-1 and Fib7 genes. In cyt b and ND2, the transitions were saturated at third positions but not at first and second positions of codon. Transversions were not saturated over Kimura's 2-parameter distance even in the two mitochondrial genes; 4). The order of substitution rates was considered to be ND2 \geq cyt b \gg Fibint7 $>$ RAG-1. ND2 and cyt b seemed to evolve approximately six times faster than Fibint7 and RAG-1; 5) ND2 had the largest numbers of variable and informative sites, followed by cyt b, Fibint7 and RAG-1; 6) NJ and MP phylogenetic trees of 27 genera were inferred from cyt b, ND2, RAG-1 and

Fibint7. As a consensus of eight trees, *Nymphycus* belonged to cockatoos, which were monophyletic. Although the monophyly of Loriinae was not supported with high bootstrap values in RAG-1, the substitution rate of this gene seemed too low to analyze the within-subfamily phylogeny, and the present study also supported the monophyly of Loriinae as well as paraphyly of Psittacinae. *Psittaculirostris* probably belong to Loriinae and *Melopsitacus* is phylogenetically close to Loriinae. South-American genera were monophyletic and very close to the sister group consisting of an African genus *Psittacus*; 7) NJ and MP phylogenetic trees of 18 cockatoo species were inferred from cyt b, ND2, RAG-1 and Fibint7. As a consensus of eight trees, each genus was monophyletic, tribe Calyptorhynchini was paraphyletic, *Cacatua leadbeateri* was probably distant from congeneric species and *Nymphycus* was probably a basal clade of cockatoos. The monophyly of tribe Cacatuini was doubtful.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 東 正 剛

副 査 教 授 岩 熊 敏 夫

副 査 助 教 授 鈴 木 仁

副 査 助 教 授 綿 貫 豊 (北海道大学大学院水産
科学院)

学位論文題名

Molecular phylogeny of parrots inferred from DNA sequences of cytochrome b, ND2, RAG-1 and β -fibrinogen genes

(Cyt-b, ND2, RAG-1, β -fibrinogen の DNA 塩基配列判読による
オウム類の分子系統解析)

オウム目 Psittaciformes の鳥類は 3 亜科から成り、Cacatuinae と Loriinae はインドネシアとオーストラリアを含む太平洋域にのみ分布するのに対し、Psittacinae はアジア・太平洋、南米、アフリカの熱帯域に広く分布している。しかし、オウム類はペットとしての価値が高く、世界的な商取引の対象となっているため各地で乱獲され、原産地では絶滅の危機に瀕している種も多いのに対し、輸入している国々では放鳥されて野生化した個体群が増えており、自然分布の崩壊と人為的な遺伝子汚染が急速に進んでいる。インドネシアには 3 亜科全てが分布し、特にイリアンジャヤとその周辺諸島には希少種も多く、生物多様性保全の立場からもインドネシア産オウム類の保全は緊急の課題となっている。申請者は、インドネシア産オウム類の遺伝子資源保全の観点からその系統分類学的な重要性を明らかにするため、インドネシア各地の動物園や動物保護区などから DNA 標本を収集するとともに、南米産やアフリカ産オウム類の DNA 標本も収集し、分子系統解析を試みている。進化速度の比較的速いミトコンドリア遺伝子 2 つ (Cyt b, ND2) と比較的遅い核遺伝子 2 つ (RAG 1, Fibint 7) を用い、各遺伝子について近隣結合 (NJ) 法と最大節約 (MP) 法により系統樹を描いて系統関係を論じている。これほど総合的にオウム類の分子系統解析を行うのは世界的にも初めての試みであり、系統分類学上重要な研究と認め得る。

本論文では、まず、各遺伝子の塩基組成、置換飽和度、進化速度を分析し、1) 塩基組成のバイアスは 0.098~0.164 といずれの遺伝子も比較的 low、これによる系統関係の歪みは小さいと思われる、2) Cyt b と ND2 では塩基転移 transition は主に亜科間で飽和してい

るものの、塩基転換 transversion には飽和が認められない、3) *RAG 1* と *Fibint 7* ではいずれのタイプの置換も飽和していない、4) 進化速度は、 $ND2 \geq Cyt b \gg Fibint 7 \geq RAG 1$ の順であり、ミトコンドリア遺伝子の進化速度は核遺伝子の約 6 倍、などの結果を得ている。これらの結果を踏まえて分子系統解析を進めているが、主な目的は、1)目や亜科の単系統性の検討、2)*Cacatuinae* 亜科における族間および属間関係、特に、特異的な形態を示す *Nymphicus* 属の系統的位置、3)*Loriinae* 亜科の祖先系統と属間関係、4)南米産オウム類の起源、などの解明である。

まず、3 亜科 28 属 47 種の系統解析（外群：ハイタカ *Accipiter* とカワラバト *Columba*）により、オウム目の単系統性、*Cacatuinae* 亜科と *Loriinae* 亜科の単系統性、*Psittacinae* の側系統性を明らかにしている。いずれの系統樹も *Cacatuinae* がオウム類の多様化の初期に分化したことを示しており、この亜科の形態・生態的特異性が系統的特異性と関連していることを初めて示した。そこで、*Psittacinae* 亜科 *Psittaculirostris* 属を外群として *Cacatuinae* 亜科 6 属 18 種のさらに詳しい系統解析を行い、*Calyptorhynchini* 族の側系統性、*Nymphicus* 属は他の属とは遺伝的にかなり離れた系統であること、*Cacatua* 属の中でも *C. leadbeateri* は他の種とやや離れた種であること、などを明らかにした。*Cacatuinae* 亜科内の系統関係はこれまで全く解明されておらず、本研究により初めて概要が示された。次に、*Psittaculirostris* を外群として *Loriinae* 亜科 7 属 12 種について詳しい系統解析を行い、*Chamosyna* 属と *Glossopsitta* 属が幹系統であること、他の属の中では *Lorius* が最初に分化した可能性が高いこと、などを明らかにしている。*Loriinae* 亜科内の系統関係を明らかにしたのも本研究が初めてである。

最後に、南米産オウム類の起源と分化時期について考察している。これまで、南米産オウム類についてはアフリカ起源説とオーストラリア起源説とがあったが、系統関係の不明瞭な *RAG 1* 遺伝子系統樹以外の 3 遺伝子 6 系統樹はいずれも南米産オウム類が単系統であること、アフリカの *Psittacinae* 亜科 *Psitticini* 族 *Psittacus* が一番近い姉妹系統であることを示している。そこで、最も古いオウム類の化石が約 5,000 万年前の地層から見ついていること、脊椎動物の分子系統解析から鳥類の分化が約 1 億年に始まったと考えられていることなどを基準として、木村の遺伝距離により南米産とアフリカ産オウム類の分化時期を求めたところ、3 遺伝子いずれも鮮新世中期（4,000~4,500 万年前）という推定値を示した。両大陸の哺乳類の分化が 4,300~5,400 万年前と推定されていること、鮮新世中期には両大陸が既に離れているものの、まだ大きな島々を含む島嶼群によって結ばれていた証拠があることなどから、今回の推定値はかなり信頼性が高いと考察している。分子時計による推定値は今後さらに検証されていく必要があるが、今回の研究はオウム類の系統関係と分化時期について重要な結果を提供している。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせて、申請者が博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。