

山岳域に生息する *Thrips* 属の未同定種 (アザミウマ目：アザミウマ科) の分布と寄主植物

志賀澄歌 (福島大学大学院・共生システム理工学研究科)・
木目澤友梨恵 (福島大学大学院・共生システム理工学研究科)・
兼子伸吾 (福島大学・共生システム理工学類)・
塘 忠顕 (福島大学・共生システム理工学類)

要 旨

福島県，新潟県，長野県，山梨県の山岳域において，山岳域特異的に生息し，イネ科植物を寄主とする *Thrips* 属の未同定種の分布及び寄主植物の調査を実施した．その結果，新潟県，長野県北部及び南部，山梨県でも本種の分布が確認され，本種が日本の山岳域に広く分布する可能性が高くなった．また，本種はヒメノガリヤス，タカネノガリヤス，ヒゲノガリヤス，クサヨシ，タカネコウボウの5種のイネ科植物を寄主として利用していることが明らかになった．これらの植物は全てイチゴツナギ亜科カラスムギ連に属することから，本種はカラスムギ連の一部を寄主として利用しているものと思われる．さらに，核 DNA の 18SrDNA 領域に基づく分子系統解析の結果は，木目澤ら (2014) によるミトコンドリア DNA の COI 領域に基づく解析結果と同様に，本種は *Thrips* 属に属することを示唆した．

I. はじめに

アザミウマ類は昆虫綱アザミウマ目に属する体長 1~5 mm 程度の微小な昆虫で，翅脈がほとんど発達しない膜状の翅をもっており，翅の周囲には多数の長い縁毛が生じている．口器は左右非対称の吸収型で，この口器を用いて菌類の菌糸や胞子を食べる菌食性の種や小型節足動物を食べる捕食性の種も知られているが，植物組織や植物汁などを吸収する植食性の種が多い (梅谷ら (編)，1988)．植食性の種が寄主として利用する植物には偏りがあり，植食性アザミウマ類の 10%以上がイネ科植物を寄主として利用している (Mound, 2011)．しかしながら，イネ科植物の正確な種同定は植物学者以外には困難なことから，イネ科植物の属や種までを明らかにし，それを寄主とするアザミウマ類との関係を明らかにした研究は Mound (2011) などごく一部に限られる．

筆者らはこれまでに山形県の一部，福島県全域

と長野県中部の山岳域におけるアザミウマ相調査を実施し，これらの山岳域には山岳域特異的に生息し，イネ科植物を寄主とする *Thrips* 属の未同定種が広く分布していることを報告した (塘・志賀, 2013; 志賀ら, 2014)．本種はイネ科植物を寄主として利用しているが (塘, 2011; 塘・志賀, 2013)，山岳域に生育するイネ科植物であればどの種にも生息するとは限らず，イネ科植物の中でも寄主として利用可能な種が限られている可能性がある (志賀, 2013)．また，本種はこれまでに山形県，福島県，長野県の山岳域から記録されているが，福島県と長野県の間地域は未調査であるため，本種の分布は不明である (cf. 志賀ら, 2014)．そこで，本種の寄主植物を解明し，福島県と長野県の間地域における本種の分布を確認することを目的に調査を実施した．

ところで，志賀ら (2014) は本種をアザミウマ亜科の未同定種としたが，木目澤ら (2014) によ

るミトコンドリア DNA の COI 領域に基づく分子系統解析の結果から、本種は *Thrips* 属に属することが妥当であることが示唆された。しかしながら、木目澤ら (2014) はミトコンドリア DNA の COI 領域しか解析していないため、本種の所属をより明確にするためには核 DNA による解析も必要である。

そこで本研究では、核 DNA の 18SrDNA 領域を用いて、本種を含めた数種のアザミウマ類の分子系統解析も行った。

II. 調査地及び方法

1. 調査地

本研究における *Thrips* 属の未同定種の分布及び寄主植物の調査は、福島県、新潟県、長野県、山梨県の 18 の地点のブナ林が見られる山地帯上部より上の山岳域で実施した。国立公園の特別保

護地区や特別名勝・特別天然記念物等での採集調査はすべて許可を受けて実施した。本研究における調査地と調査日を図 1 及び表 1 に示した。

2. 調査方法

アザミウマ類の採集は、植物を叩いてその組織上にいる個体を白布 (ビーティングネット) の上に落下させて採集するビーティング法によって行った。ビーティングネットに落下した個体は保存液 (AGA 液, 99%エタノール:蒸留水:グリセリン:氷酢酸=8:5:1:1) または 99%エタノールで湿らせた細筆で拾い、保存液または 99%エタノールを入れたビンに入れて持ち帰った。採集はイネ科植物の種ごとに実施し、採集されたアザミウマ類は採集場所が同じであっても植物の種が異なれば、それぞれを別のビンに保存した。



図 1. 本研究における調査地

本研究における調査地を三角形で示し、その中で *Thrips* 属の未同定種の生息が新たに確認された地点名の後ろに*を付した。

表 1. 本研究における調査地と調査日

調査地	調査日
福島県	
西吾妻山	2014年7月13日・7月22日
一切経山	2013年7月21日
樋沼	2014年9月21日
東吾妻山	2014年8月14日
磐梯吾妻スカイライン	2013年7月8日
鬼面山・箕輪山	2013年7月20日, 2014年6月20日・9月20日
安達太良山	2013年10月9日, 2014年6月26日
磐梯山	2014年7月15日
田代山・帝釈山	2014年7月25日
会津駒ヶ岳	2013年7月25日, 2014年8月19日
新潟県	
妙高山	2014年9月23日
長野県	
白砂山	2014年7月30日
志賀高原	2014年8月29日
根子岳	2014年8月27日
澗沢・岳沢	2014年7月2-3日
美ヶ原	2013年7月26日, 2014年7月31日
木曾駒ヶ岳	2014年9月2日
山梨県	
富士山北麓	2014年9月21日

ビーティングによるアザミウマ類の採集を実施したイネ科植物は主に根掘りを用いて根ごと掘り取り、雑誌等に挟んで持ち帰った。採集したアザミウマ類はカナダ・バルサム封入による永久プレパラート標本とし、生物顕微鏡を用いて同定を行った。99%エタノールに保存したアザミウマ類（DNA 解析用サンプル）は実体顕微鏡下で同定可能な種のみ同定を行った。採取した植物はさく葉標本とし、同定を行った。アザミウマ類と植物の同定が完了した後、各イネ科植物種から *Thrips* 属の未同定種が採集されたか否かを記録した。

3. DNA 解析

DNA 抽出は、アザミウマを入れた PCR チューブに 0.01%SDS, 0.1 g/μL Proteinase K を含む抽出液を 5 μL 添加し、サーマルサイクラーにより

56°C 60 分, 95°C 10 分で反応させ、クチクラ内の組織を溶出することにより行った。核 DNA の 18SrDNA 領域は Whiting (2002) の使用したプライマーを用いて PCR 増幅した (表 2)。PCR 増幅は、KAPA2G Robust HotStart ReadyMix with dye (2X) (KAPABIOSYSTEMS) を用いて、反応液 10 μL 中に鋳型 DNA を 0.8 μL, 各プライマーを 0.5 μM, KAPA2G Robust HotStart ReadyMix with dye (2X) (KAPABIOSYSTEMS) を 5 μL 含むように調整した。PCR 反応は、サーマルサイクラーを用いて行い、温度条件は、初期熱変性 96°C 1 分の後、熱変性 96°C 15 秒、アニーリングは各プライマーの温度に従って行い (表 2)、伸長反応 72°C 1 分を 35 サイクル行った後、最終伸長を 72°C 10 秒とした。反応終了後、1.5%アガロースゲル (Agarose LO3, TaKaRa) を用いて電気泳動を行

表 2. 本研究における分子系統解析に使用したプライマー

Primers	Direction	Sequence (5' → 3')	Annealing Temp.
18S 1.2F	Forward	TGC TTG TCT CAA AGA TTA AGC	49°C
18S THb2.9	Reverse	TAT CTG ATC GCC TTC RAA CCT C	
18S THa0.7	Forward	GCT CGT AGT TGG ATC TGT GY	54°C
18S Thbi	Reverse	GTT AGY AGG YTA GAG TCT CGT TCG	
18S a2.0	Forward	ATG GTT GCA AAG CTG AAA C	50°C
18S 9R	Reverse	GAT CC TTC CGC AGG TTC ACC TAC	

い、増幅を確認した。増幅が確認された PCR 産物は、illustra ExoProstar (GE ヘルスケア) を用いて精製した。精製産物は、ユーロフィンジェノミクス株式会社 (<https://www.operon.jp/>) にシーケンスの解析を依頼した。シーケンスの解析により得られた波形データは Finch TV (<http://www.geospiza.com/finchtv/>) を用いてアセンブルした。

4. 分子系統解析

得られた塩基配列を MAFFT (Kato and Standley, 2013) によりアラインメントした。MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013) を用いて系統樹作成モデルを探索し、系統樹を最尤法 (K2+G) により作成した。ブートストラップテストは 1000 回行った。Buckman *et al.* (2013) の分子系統解析に用いられ

表 3. 分子系統解析に使用したアザミウマ

genera	Accession number	species
<i>Ernothrips</i>		<i>Ernothrips lobatus</i> Bhatti
<i>Microcephalothrips</i>	KC512986	<i>Microcephalothrips abdominalis</i> Crawford
<i>Stenchaetothrips</i>	KC513010	<i>Stenchaetothrips biformis</i> Bagnall
		<i>Stenchaetothrips pleioblasti</i> Masumoto & Okajima
<i>Sphaeropothrips</i>		<i>Sphaeropothrips vittipennis</i> Bagnall
<i>Thrips</i>	KC513017	<i>Thrips australis</i> Bagnall
	KC513018	<i>Thrips imaginis</i> Bagnall
	KC513019	<i>Thrips knoxi</i> Girault
	KC513020	<i>Thrips nigropilosus</i> Uzel
		<i>Thrips palmi</i> Karny
	KC513022	<i>Thrips setipennis</i> (M) Bagnall
	KC513021	<i>Thrips setipennis</i> (F) Bagnall
	KC513023	<i>Thrips simplex</i> Morison
		<i>Thrips tabaci</i> Lindeman
	KC513024	<i>Thrips vulgatissimus</i> Haliday
		<i>Thrips</i> sp.
<i>Tsutomiothrips</i>		<i>Tsutomiothrips ryukyuensis</i> Masumoto

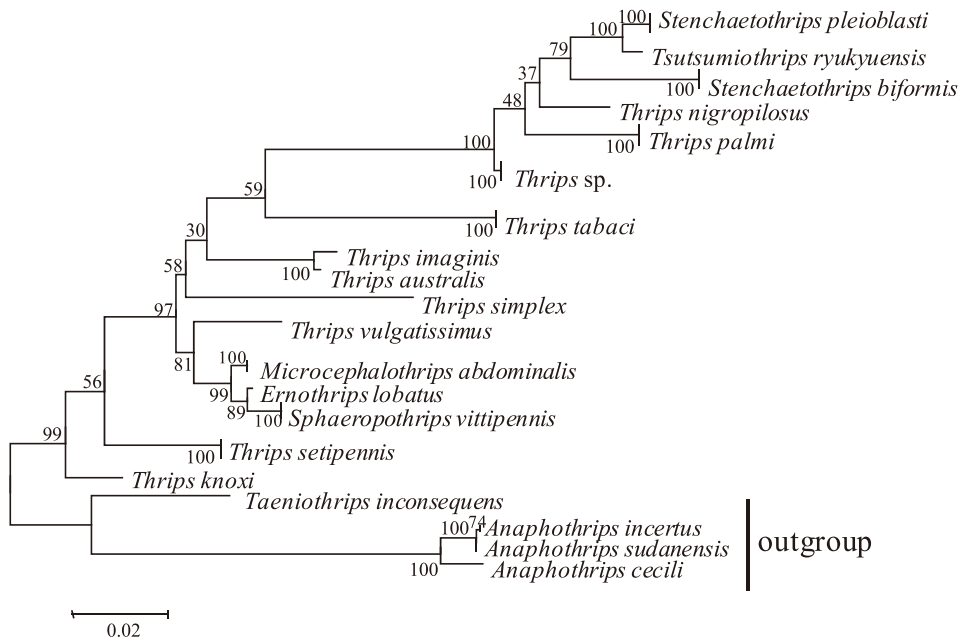


図 2. 核 DNA の 18SrDNA 領域に基づく *Thrips* genus-group の分子系統樹 (最尤法 : K2+G)

た *Thrips* genus-group に属する 3 属 10 種のアザミウマ類の塩基配列をデータバンクより入手し (表 3), 今回の解析で得られた配列と共に系統樹を作成した. Buckman *et al.* (2013) の分子系統解析によって *Thrips* genus-group に近縁であることが示された *Anaphothrips* 属と *Taeniothrips* 属を外群とした.

III. 結果及び考察

1. *Thrips* 属の未同定種の新産地

4 県 18 地点の山岳域で本種の分布域調査を実施した結果, 福島県の樋沼, 新潟県の妙高山, 長野県北部の白砂山, 長野県中部の岳沢, 長野県南部の木曾駒ヶ岳, 山梨県の富士山北麓の 6 地点で本種の生息が新たに確認された (図 1). 新潟県と山梨県の 2 県では本種は初記録である. これにより, 本種の分布域は山形県, 福島県, 新潟県, 山梨県, 長野県の山岳域となり, 志賀ら (2014) が指摘したように本種が日本の山岳域に広く分布する可能性が高くなった.

2. *Thrips* 属の未同定種の寄主植物

本種の寄主植物を明らかにするために調査対象とした (ビーティングを実施した) イネ科植物は 25 種であり (表 4), その中のササ類, タカネコウボウ *Anthoxanthum japonicum* (Maxim.) Hack. ex Matsum., クサヨシ *Phalaris arundinacea* L., タカネノガリヤス *Calamagrostis sachalinensis* Fr. Schm., ヒメノガリヤス *Calamagrostis hakonensis* Franch. et Savat., ヒゲノガリヤス *Calamagrostis longiseta* Hack の 6 種から本種が採集された. ササ類からの採集個体は鬼面山・箕輪山の 1 個体だけであり, 鬼面山・箕輪山でも, 他の調査地からも, この個体以外にササ類からはまったく採集されなかったため, ササ類は本種の寄主植物ではないものと考えた. したがって, タカネコウボウ, クサヨシ, タカネノガリヤス, ヒメノガリヤス, ヒゲノガリヤスの 5 種のイネ科植物が本種の寄主植物と考えられる. これら 5 種のイネ科植物は全てイチゴツナギ亜科カラスムギ連に属することから (長田, 1989), 本種はカラスムギ連の一部を寄主植物として利用している可能性が高い.

表 4. 本研究において *Thrips* 属の未同定種の採集を実施したイネ科植物とその結果

種名	学名	属名	採集結果
ササ類	-	-	○
アオウシノケグサ	<i>Festuca ovina</i> L. var. <i>coreana</i> (St. Yves) St. Yves	ウシノケグサ属	×
オオウシノケグサ	<i>Festuca rubra</i> L.	ウシノケグサ属	×
ナガハグサ	<i>Poa pratensis</i> L.	イチゴツナギ属	×
カモガヤ	<i>Dactylis glomerata</i> L.	カモガヤ属	×
ミヤマドジョウツナギ	<i>Glyceria alnasteretum</i> Komar.	ドジョウツナギ属	×
コメススキ	<i>Deschampsia flexuosa</i> (L.)	コメススキ属	×
タカネコウボウ	<i>Anthoxanthum japonicum</i> (Maxim.) Hack. ex Matsum.	ハルガヤ属	○
クサヨシ	<i>Phalaris arundinacea</i> L.	クサヨシ属	○
コヌカグサ	<i>Agrostis gigantea</i> Roth	ヌカボ属	×
バケヌカボ	<i>Agrostis dimorpholemma</i> Ohwi	ヌカボ属	×
ヤマヌカボ	<i>Agrostis clavata</i> Trin.	ヌカボ属	×
ヤマアワ	<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	ノガリヤス属	×
イワノガリヤス	<i>Calamagrostis langsdorffii</i> (Link) Trin.	ノガリヤス属	×
アオイワノガリヤス	<i>Calamagrostis langsdorffii</i> (Link) Trin. var. <i>punctulata</i> Ohwi	ノガリヤス属	×
タカネノガリヤス	<i>Calamagrostis sachalinensis</i> Fr. Schm.	ノガリヤス属	○
ヒメノガリヤス	<i>Calamagrostis hakonensis</i> Franch. et Savat.	ノガリヤス属	○
ヒゲノガリヤス	<i>Calamagrostis longiseta</i> Hack.	ノガリヤス属	○
オオヒゲガリヤス	<i>Calamagrostis longiseta</i> Hack. var. <i>longe-aristata</i> (Takeda) Ohwi	ノガリヤス属	×
ノガリヤス	<i>Calamagrostis brachytricha</i> Steud.	ノガリヤス属	×
オオアワガエリ	<i>Phleum pratense</i> L.	アワガエリ属	×
ヤマカモジグサ	<i>Brachypodium sylvaticum</i> (Huds.) Beauv.	ヤマカモジグサ属	×
ヌマガヤ	<i>Molinia japonica</i> Hack.	ヌマガヤ属	×
トダシバ	<i>Arundinella hirta</i> (Thunb.) C. Tanaka var. <i>ciliata</i> (Thunb.) Koidz.	トダシバ属	×
カリヤスモドキ	<i>Miscanthus oligostachyus</i> Stapf	ススキ属	×

3. 分子系統解析

核 DNA の 18SrDNA 領域の塩基配列を用いて、最尤法 (K2+G) により系統樹を作成した結果、*Thrips* 属の単系統性は支持されなかったが、本種は *Thrips* 属を含むクレードと姉妹群を形成し、また、*Thrips tabaci* の姉妹群となるクレードに含まれることが明らかとなった (図 2)。このように本種は核 DNA の 18SrDNA 領域による解析からも木目澤ら (2014) による COI 領域の結果と同様に、*Thrips* 属の種と最も近縁であることが示唆された (図 2)。

Thrips genus-group に属する *Thrips* 属以外の 5 属はいずれも *Thrips* 属の内群となったため、独立属としての妥当性は支持されない結果となった。これら *Thrips* 属以外の 5 属には 2 つの系統があることが示唆されたが、本種はどちらの系統にも含まれなかった (図 2)。以上のことから、本種の所属を *Thrips* 属とすることは妥当であると思われる。

謝辞

本研究における調査で採取したイネ科植物の同定をして頂いた福島大学共生システム理工学類客員研究員の菅野修三さんに厚く感謝申し上げます。本研究の磐梯朝日国立公園特別保護地区における調査及び調査許可 (環東地国許第 1306191 号、環東地国許第 1306192 号、環東地国許第 1306193 号、環東地国許第 1407084 号、環東地国許第 1407085 号、環東地国許第 1407113 号) の取得に際してご協力頂いた環境省東北地方環境事務所、羽黒自然保護官事務所、裏磐梯自然保護官事務所の皆様、尾瀬国立公園特別保護地区における調査および調査許可 (環関檜自許第 1306061 号) の取得に際してご協力頂いた環境省関東地方環境事務所、檜枝岐自然保護官事務所の皆様、田代山山頂の社有地における調査許可 (25 環共第 838 号) を与えて下さった三井物産フォレスト株式会社の皆様、中部山岳国立公園特別保護

地区、特別名勝・特別天然記念物である上高地、国有林における調査および調査許可 (環中地長許第 100406003, 21 受庁財第 4 号の 1118, 中信管第 52-14 号, 中信管第 154 号) の取得に際してご協力頂いた環境省長野自然環境事務所、上高地自然保護官事務所の皆様、文化庁の皆様、林野庁の皆様、長野県中央アルプス県立自然公園特別地域、保安林における調査および調査許可 (長野県上伊那地方事務所指令 26 上伊地環第 9-14 号, 26 南信管第 505 号, 長野県上伊那地方事務所指令 26 上伊地林第 35-11 号) の取得に際してご協力頂いた長野県上伊那地方事務所環境課、長野県上伊那地方事務所林務課、林野庁中部森林管理局南信森林管理署の皆様にご感謝申し上げます。また、上高地での採集許可の取得及び現地での採集調査にご協力頂いた信州大学学術研究院理学系生物科学領域の東城幸治先生、信州大学先鋭領域融合研究群山岳科学研究所の鈴木智也さん、系統樹作成において有益なご助言を頂いた高麗大学 BK21 Plus Eco-Leader Education Center の関根一希さん、*Thrips* 属の未同定種の富士山北麓における採集地点に関する情報をご提供頂いた農林水産省横浜植物防疫所の安岡拓郎さん、さく葉標本の作製に際してご協力頂いた福島大学共生システム理工学類黒沢研究室の皆様、現地での採集調査にご協力頂いた本研究室大学院博士前期課程 2 年生の増淵翔太さんにも感謝申し上げます。

引用文献

- Buckman, R. S., Mound, L. A. and Whiting M. (2013) Phylogeny of *Thrips* (Insecta: Thysanoptera) based on five molecular loci, *Systematic Entomology*, 38, 123-133.
- Kato, K. and Standley D. M. (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7 improvements in performance and usability, *Molecular Biology and Evolution*, 30 (4), 772-780.
- 木目澤友梨恵・兼子伸吾・塘 忠顕 (2014) 山岳

- 域に生息する属不明アザミウマ（アザミウマ科：アザミウマ亜科）の所属と遺伝的多様性，共生のシステム，14, 137-144.
- Mound, L. A. (2011) Grass-dependent Thysanoptera of the family Thripidae from Australia, *Zootaxa*, 3064, 1-40.
- 長田武正（1989）日本イネ科植物図譜，777p，平凡社.
- 志賀澄歌（2013）福島県内の山岳域におけるイネ科植物から記録されたアザミウマ類（昆虫綱：アザミウマ目），福島大学共生システム理工学類環境システムマネジメント専攻平成24年度卒業論文.
- 志賀澄歌・東城幸治・鈴木智也・塘 忠顕（2014）山岳域に生息するアザミウマ類（昆虫綱：アザミウマ目）～福島県，山形県，長野県における山岳性アザミウマ相の比較～，共生のシステム，14, 128-136.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, version 6.0, *Molecular biology and evolution*, 30 (12), 2725-2729.
- 塘 忠顕（2011）磐梯朝日国立公園特別保護地区のアザミウマ相（予報），*福島生物*, (54), 41-46.
- 塘 忠顕・志賀澄歌（2013）福島県の山岳域におけるアザミウマ相（昆虫綱：アザミウマ目），共生のシステム，13, 116-128.
- 梅谷献二・工藤 巖・宮崎昌久（編）（1988）農作物のアザミウマ 分類から防除まで，422p，全国農村教育協会.
- Whiting, M. F. (2002) Mecoptera is paraphyletic: multiple genes and phylogeny of Mecoptera and Siphonaptera, *Zoologica Scripta*, 3 (1), 93-104.