

厚岸湖・別寒辺牛湿原学術研究奨励補助金研究報告

道東産ヒメバチのDNAバーコーディング

～多様性・系統関係の理解にむけて～

大阪市立自然史博物館 松本吏樹郎

## 1. はじめに

近年様々な生物群において DNA の塩基配列のような分子生物学的情報を利用した系統の推定、同定への利用がすすめられている。本研究で対象としたヒメバチ科昆虫は、さまざまな昆虫の捕食寄生者として重要な生態的地位を占めるが、本グループにおいても分子情報は隠蔽種の発見の手がかりになったり、卵や幼虫など、形態的な特徴がはっきりしないステージのサンプルの種の特定を可能し、あるいは推定された系統関係は形態、生活型、寄主利用の進化、あるいは生物地理学的な解析を行う上で重要な基盤となると考えられる。しかし現状では利用できるヒメバチ科の配列情報は少なく、特に日本産の種に関してはほとんど蓄積されていない。そこで外部形態に基づいた記載分類と並行して配列情報の収集が行われはじめたところである。

本研究では特異なヒメバチファウナを持つ（松本 2003, 2004, 厚岸湖・別寒辺牛湿原学術奨励補助金 調査研究報告書）別寒辺牛湿原周辺の道東地域を対象として DNA の抽出に適した新鮮なヒメバチ科のサンプルを収集する目的で調査を行った。広域に分布する種であっても、当該地域における遺伝的特性を明らかにすることは生物の多様性を評価する上で重要な情報となるため、それらも対象に加えた。

## 2. 調査方法

水鳥観察館周辺のヨシ原と林縁部に、調査地点を設定しマレーゼトラップ（図 1, 2）を計 5 基設定した。マレーゼトラップは虫の、壁にぶつかった時に上に向かって移動する性質を利用したトラップで、動力なしに飛翔性・徘徊性昆虫を効率よく捕獲できる。サンプルの回収に



図1 地点 A のマレーゼトラップ



図2 地点Cのマレーゼトラップと調査地の環境

は80%のエタノールを保存液として用いた。トラップの設置は7月3日に行い、7月6日、8月1日、4日に回収を行った。7月3日～7日と7月31日～8月4日の調査地滞在中はハンドネットを使ったスウィープによるサンプリングも併せて行った。

マレーゼトラップの設置場所は以下のとおり。

- A) 43.098636° N, 144.861161° E (図1)
- B) 43.097925° N, 144.861465° E
- C) 43.097293° N, 144.861650° E (図2)
- D), E) 43.105863° N, 144.875055° E (2基)

### 3. 結果と考察

1月末時点で、回収したサンプルのおよそ2/3のソーティング処理が完了しており、マレーゼトラップとスウィーピングで得られたサンプルを併せて約4000個体のヒメバチが得られたと推定された。このうち、特に道東地方に多く見られる種、あるいは同種と考えられるものの形態的に変異が見られる種について、88個体(表1)を選び出し、DNAの抽出・増幅を行った。それらすべてにおいて目的領域の増幅が確認され、また、AK-63 *Pimpla rufipes*のみを除いてすべてのサンプルで配列を決定することができた。表中の種名が確定していないサンプル



図3 回収されたサンプル



図4 サンプルのソーティング

表 1 解析サンプル一覧

No	種名	亜科	No	種名	亜科	No	種名	亜科
AK-01	Schizopyga circulator ♀	Pimplinae	AK-31	Agrothereutes sp. ♀	Cryptinae	AK-61	Iseropus sp. ♀	Pimplinae
AK-02	Schizopyga circulator ♀	Pimplinae	AK-32	Nematopodius flavoguttatus ♀	Cryptinae	AK-62	Scambus sp.2 ♀	Pimplinae
AK-03	Tromatobia variabilis ♀	Pimplinae	AK-33	Itopectis triannulatus ♀	Pimplinae	AK-63	Pimpla rufipes ♂	Pimplinae
AK-04	Pimpla pluto ♂	Pimplinae	AK-34	Gelis sp. ♀	Cryptinae	AK-64	Brachyzapus nikkoensis ♀	Pimplinae
AK-05	Pimpla alboannulata ♂	Pimplinae	AK-35	Schizopyga punctata ♂	Pimplinae	AK-65	Endromopoda sp.3 ♀	Pimplinae
AK-06	Odontocolon sp.2 ♀	Xoridinae	AK-36	Apecthis rufata ♂	Pimplinae	AK-66	Apecthis rapae ♀	Pimplinae
AK-07	Rhyssa persuasoria ♀	Rhysinae	AK-37	Schizopyga frigida ♂	Pimplinae	AK-67	Aravenator kamijoi ♀	Pimplinae
AK-08	Brachyzapus nikkoensis ♀	Pimplinae	AK-38	Pimpla alboannulata ♀	Pimplinae	AK-68	Scambus sp.2 ♀	Pimplinae
AK-09	Ephialtes hokkaidonis ♀	Pimplinae	AK-39	Zaglyptus iwatai ♀	Pimplinae	AK-69	Scambus sp.3 ♀	Pimplinae
AK-10	Endromopoda sp.1 ♀	Pimplinae	AK-40	Endromopoda sp.2 ♀	Pimplinae	AK-70	Scambus sp.2 ♀	Pimplinae
AK-11	Pimpla aquilonia japonica ♂	Pimplinae	AK-41	Perithous townesorum ♂	Pimplinae	AK-71	Scambus sp.3 ♀	Pimplinae
AK-12	Dolichomitus melanomerus macropunctatus ♀	Pimplinae	AK-42	Endromopoda sp.2 ♀	Pimplinae	AK-72	Scambus sp.2 ♀	Pimplinae
AK-13	Rhyssa persuasoria ♂	Rhysinae	AK-43	Scambus sp.1 ♀	Pimplinae	AK-73	Apecthis capulifera ♀	Pimplinae
AK-14	Odontocolon sp.2 ♂	Xoridinae	AK-44	Poemenia sp.2 ♀	Poemeniinae	AK-74	Sinarachna sp.1 ♀	Pimplinae
AK-15	Poemenia sp.1 ♀	Poemeniinae	AK-45	Tromatobia nipponica ♀	Pimplinae	AK-75	Schizopyga pictifrons ♀	Pimplinae
AK-16	Theronia atalantae gestator ♀	Pimplinae	AK-46	Endromopoda sp.3 ♀	Pimplinae	AK-76	Schizopyga circulator ♂	Pimplinae
AK-17	Odontocolon sp.1 ♀	Xoridinae	AK-47	Apecthis capulifera ♀	Pimplinae	AK-77	Zaglyptus iwatai ♂	Pimplinae
AK-18	Odontocolon sp.1 ♀	Xoridinae	AK-48	Schizopyga frigida ♀	Pimplinae	AK-78	Sinarachna sp.2 ♀	Pimplinae
AK-19	Megarhyssa sp. nr. praecellens ♂	Rhysinae	AK-49	Megaetaira sp. ♀	Pimplinae	AK-79	Scambus sp.2 ♀	Pimplinae
AK-20	Acrodactyla quadrisculpta ♀	Pimplinae	AK-50	Pimplaetis crassigenes ♀	Pimplinae	AK-80	Acropimpla sp. ♀	Pimplinae
AK-21	Itopectis alternans epinotiae ♀	Pimplinae	AK-51	Scambus sp.1 ♀	Pimplinae	AK-81	Scambus sp.2 ♀	Pimplinae
AK-22	Aravenator kamijoi ♀	Pimplinae	AK-52	Acrodactyla ? takewakii ♀	Pimplinae	AK-82	Scambus sp.3 ♀	Pimplinae
AK-23	Sinarachna sp.1 ♀	Pimplinae	AK-53	Brachyzapus tenuibdominalis ♀	Pimplinae	AK-83	Diplazon laetorius	Diplazontinae
AK-24	Tromatobia ovivora ♀	Pimplinae	AK-54	Itopectis naranyae ♀	Pimplinae	AK-84	Colpotrochia (Colpotrochia) jozankana	Metopiinae
AK-25	Endromopoda sp.2 ♂	Pimplinae	AK-55	Aravenator kamijoi ♀	Pimplinae	AK-85	Delomerista sp.	Pimplinae
AK-26	Sinarachna sp.1 ♀	Pimplinae	AK-56	Endromopoda sp.2 ♀	Pimplinae	AK-86	Acropimpla persimilis ♀	Pimplinae
AK-27	Zatypota albicoxa ♀	Pimplinae	AK-57	Endromopoda sp.2 ♀	Pimplinae	AK-87	Pimpla aquilonia japonica	Pimplinae
AK-28	Zatypota sp. ♀	Pimplinae	AK-58	Zatypota albicoxa ♂	Pimplinae	AK-88	larva on a theriidid spider (?Chablisea)	Pimplinae
AK-29	Schizopyga punctata	Pimplinae	AK-59	Zatypota sp. ♀	Pimplinae			
AK-30	Zatypota dendrobia ♂	Pimplinae	AK-60	Apecthis rapae ♀	Pimplinae			

(sp.1, 2等) は未記録、未記載の種である。得られた配列情報の詳細は順次公開する予定である。

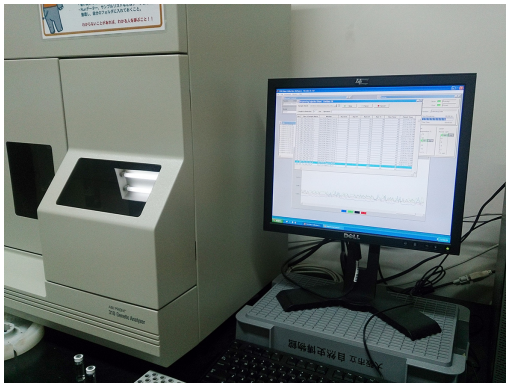


図 5 シークエンシングの様子

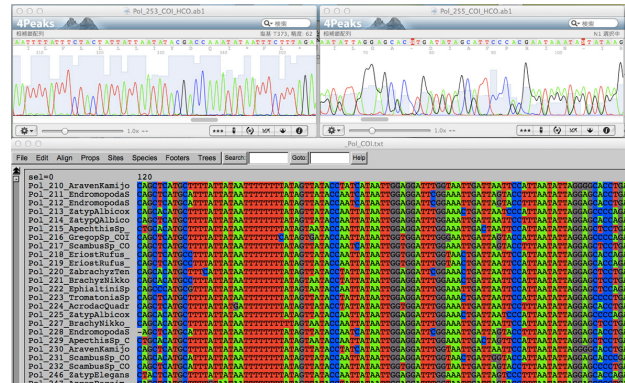


図 6 得られた配列データ

予備的な系統解析の結果の一部を図 7 に示す。解析と形態の観察の結果、*Zatypota* 属の 1 種が未記載種であることが明らかとなった。本属は比較的最近になって分類学的再検討が行われ、日本産として 9 種が追加で記載された (Matsumoto, 2010) が、依然として未知の種が見出されることから、グループ全体でみると種数は

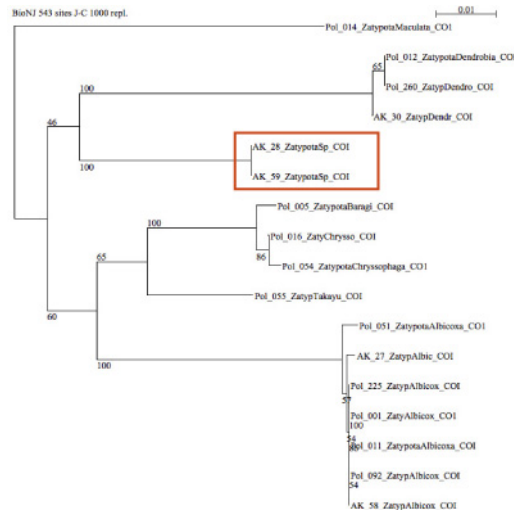


図 7 *Zatypota* 属の系統解析 (COI 領域を用いた予備解析、NJ 法)

まだかなり増加する可能性があるといえる。

また野外調査においてカニミジングモと考えられるクモの体表からクモヒメバチの卵と幼虫が見出された(図8)。寄主のクモが飼育中に衰弱したため飼育が不可能となったため配列を読み(AK-88)、解析に加えたところ、*Chablisea* 属の1種とほぼ同一の配列を示した。これは寄主が未知であった*Chablisea* 属の寄主記録となるものである。



図8 カニミジングモの腹部に付着している*Chablisea* 属のヒメバチの卵

乾燥標本や、劣化した薄いエタノール中で保存されたサンプルでは、しばしばDNAの抽出・増幅が困難な場合があるが、今回使用したサンプルでは問題は見られなかった。北海道東部では夏季に1ヶ月程度屋外に置かれたサンプルでもほぼ問題なく解析に使用できることが確認された。ただし、回収後の洗浄、低温保存はサンプルを良い状態に保つためには必須と考えられる。

以上のように当初の目標としていた約80個体の配列解読を行うことが出来た。未ソーティングのサンプルの中にはまだ解析が行われていない種が多数含まれている。これらを利用することによって更に多くの種の配列データを得ることができると考えられる。

#### 4. 謝辞

調査に際して様々なお世話を頂いた厚岸水鳥観察館の渋谷辰夫氏にお礼申し上げます。

#### 引用文献

Matsumoto, R. & Takasuka K. 2010

A revision of the genus *Zatypota* Förster of Japan, with descriptions of nine new species and notes on their hosts (Hymenoptera: Ichneumonidae: Pimplinae). *Zootaxa*, 2522: 1–43 (30 Jun. 2010).