

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440220

研究課題名(和文) 安定同位体分析とIn vitroによる捕食寄生性双翅類の寄主選好性の考察

研究課題名(英文) Study on host preference of parasitoid Diptera with stable isotope analysis and In vitro experiment

研究代表者

舘 卓司 (TACHI, TAKUJI)

九州大学・比較社会文化研究院・准教授

研究者番号：20420599

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：捕食寄生性双翅類の成虫の炭素・窒素安定同位体分析や幼虫のIn vitroにおける室内実験によって、ヤドリバエ科幼虫の寄主に関する情報を質・量的に考察した。野外における成虫の安定同位体分析では、腐食性、寄生性、分解者などの大きな枠組みでの従来考えられている幼虫の食性を示すことが可能となった。しかし、個体差や地理的な変異が見られ、さらに食物連鎖の栄養段階が上がるほどそれは大きくなる傾向が見られた。飼育実験では、植物(人工飼料) 植食者(寄主) 捕食者(寄生者)の生物間相互作用による同位体分別が明らかになり、寄主昆虫の体液を使ってIn vitroでの人工培地の開発にも成功した。

研究成果の概要(英文)：Tachinid flies are endoparasitoid of other insects and arthropods, and their larvae feed on the host body. We study information on hosts of the tachinid larvae with carbon and nitrogen isotope analysis for adults and In vitro experiment for larvae. In the isotope analysis, the data can roughly distinguish parasitoids from the other feeding habits such as saprophagy and organic decomposers. In particular, the saprophagous flies are usually very high in the nitrogen isotope ratio. However, there are individual and geographical variations in these isotope data and these variations grow with high trophic level. In the breeding experiments, isotope fractionation is confirmed to occur in insect metamorphosis and biological interactions. The interactions of this study are between plants (artificial diet)-phytophagous insects (hosts)- predator (parasitoids). Artificial medium with body fluid of host species (*Mythimna separate*) is developed for a tachinid species, *Exorista japonica*.

研究分野：昆虫体系学

キーワード：炭素・窒素安定同位体 食性分析 無菌培地 寄主推定

1. 研究開始当初の背景

(1) 捕食寄生性では、通常幼虫期は寄生生活、成虫は自由生活となり、幼虫と成虫の生活環境を異にする。そのために成虫の情報に比べて、幼虫やその期間に関して不明な点が多い。例えば、寄主と寄生者の関係、幼虫の寄主適応性や寄主内部での行動など寄生メカニズムがよくわかっておらず、捕食寄生性の研究の進展のネックとなっている。

(2) 近年、動物の食性解析に炭素・窒素安定同位体が広く使われ始めている。動物の身体は餌となる生物の炭素・窒素同位体比に比べて、ある決まった値だけ高くなることを利用している。動物の炭素同位体比 (^{13}C) は「食物源の情報」を示し、窒素同位体比 (^{15}N) は餌よりやや高くなり (約 3‰: 同位体分別)、「捕食—被食の関係 (栄養段階)」が推定できる。

(3) 捕食寄生性昆虫は、寄主と寄生者の両者の飼育をおこなわなければならない、多くの問題 (費用や労力など) を含んでいる。一方、クロバエやニクバエ類の腐食性ハエ類では、In vitro による無菌状態での飼育開発が活発に行われている。現在ヤドリバエ類の In vitro による研究例も知られているが、種数も少なく、生存成功率も十分とはいえない状況である。

2. 研究の目的

植食者の寄主植物やその利用範囲に関するデータは、種分化・多様性 (進化学) 研究に重要な役割を果たしている。一方、捕食寄生者では成虫の比較形態学による多様性研究 (記載分類) は行われているものの、種分化に関する研究は明らかに不足している。これは捕食寄生という特殊な生活史をもつため、自由生活を送る成虫からは幼虫の情報 (寄主やその利用範囲) が得られないからである。本研究では、捕食寄生性ヤドリバエの寄主を、成虫による安定同位体分析と In vitro による幼虫の飼育実験を通して推定する。

3. 研究の方法

捕食寄生性双翅類のヤドリバエ科は、すべての種が捕食寄生者であり、様々な昆虫類 (7 目以上) を利用する。このような特徴の本科の種を用いて、食性分析および寄主選好性を調査する。室内実験や野外個体の成虫の同位体分析や In vitro による幼虫の飼育実験からヤドリバエ科の幼虫の食性や選好性を質・量的に解析する。本研究では、以下のテーマに分けて行った。

(1) 双翅類成虫の炭素・窒素同位体分析

(2) ブランコヤドリバエ属 (genus *Exorista*) の食性解析

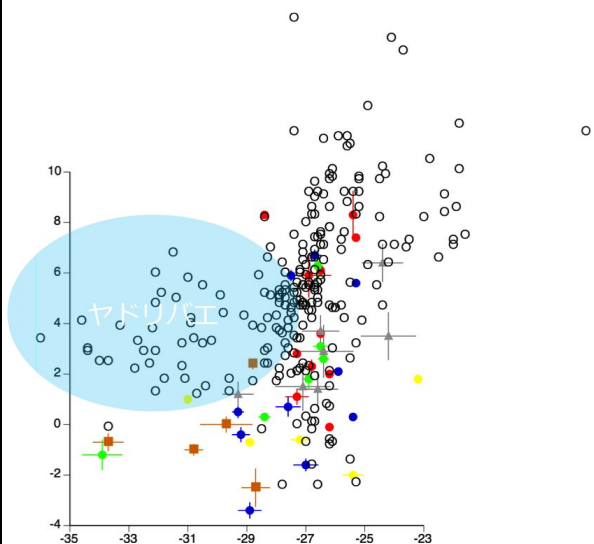
(3) In vitro によるブランコヤドリバエ幼虫の人工飼育系の開発

4. 研究成果

(1) 野外におけるヤドリバエの安定同位体

分析をおこなった。ヤドリバエは幼虫期に様々な昆虫を利用する捕食寄生者であり、近縁なグループには腐食性のニクバエやクロバエが知られている。これらの双翅類や他の昆虫類と比較することによって、ヤドリバエの寄主となるグループの推定基盤や生態系における双翅類の食性分析などが期待できる。これまで共同研究者の兵藤が主要なフィールドとしているマレーシア国ボルネオ島のランビルヒルズ国立公園にて調査をおこなった。調査にはヤドリバエの他に、腐肉トラップや羽化トラップ等を用いて、食性の異なる昆虫類を採集した。その結果、ニクバエやクロバエは非常に高い窒素同位体比を示したのに対して、ヤドリバエ類はこれまで食性分析では得られていない栄養段階を示した。また、食性の知られていない Rhiniidae (*Cosmina* sp.) の種については他の環縫群とはかなり異なる値を示した。

ランビルヒルズ国立公園における
ハエ目 (地上部) の同位体比



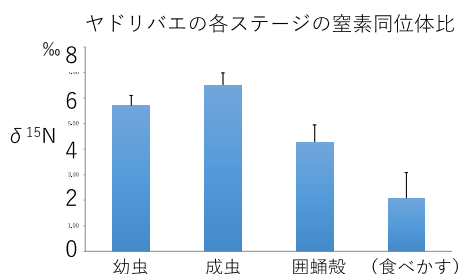
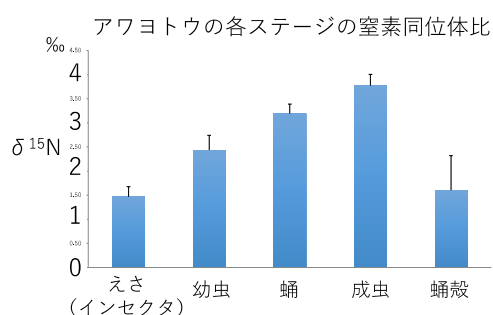
(2) 国内では九州大学構内にて同様の調査をおこなった。ここでは、ブランコヤドリバエ属の数種について食性分析をおこなった。鱗翅類幼虫に寄生するブランコヤドリバエ

Exorista japonica, カマキリ類に寄生するカマキリヤドリバエ *E. bisetosa* とバッタ類寄生者と推定される *E. aureifrons* の食性解析をおこなった。この結果、サンプル数が少ないうえに個体差が大きいけれども、それぞれの食性の特徴を示す傾向が見られた。

(3) C3 植物と C4 植物では、光合成回路が異なることから炭素同位体比にも大きな違いを示すことが知られている。それは、その植食者や寄生者に対しても、同様の違いを生じる。実際に、幼虫がイネ科草本を食害するイネクキエバエや、イネ科草本を食害する鱗翅類幼虫に寄生するヤドリバエ (*Argyrophylax* 属) では、近縁なグループとは明らかに炭素同位体比の違いが見られた。こ

れは、今後の食性分析に有用なデータとして利用できる。

(4) 人工飼料によるブランコヤドリバエの炭素・窒素安定同位体分析をおこなった。これは、寄主アワヨトウ *Mythimna separata* と、捕食寄生者ブランコヤドリバエのそれぞれの安定同位体比を示し、植物(人工飼料)-植食者(寄主)-捕食者(寄生者)の生物間相互作用を通して見られる同位体分別を明らかにした。下図に見られるように、両種の幼虫(-蛹)-成虫の各ステージを経ることで $\delta^{15}\text{N}$ は高くなった。寄生者(ブランコヤドリバエ)は寄主(アワヨトウ)の幼虫ステージに寄生し、栄養を摂取して成虫となる。それぞれの窒素同位体比を調べると、その同位体比は、寄生者は寄主よりも約3‰高くなり、従来の同位体分別の推定値と同じであった。



また、寄主と寄生者の窒素同位体の濃縮率は、それぞれ2.30-2.69と3.96-4.01であった。両種とも同じ完全変態群(鱗翅目と双翅目)であるが、その値は大きく異なっている。これは、後者は寄生者であるため限られた資源を有効に活用するために代謝が高くなっているのか、単に生物種として異なっているのかは今後の課題である。

この実験を通して大きな問題となったのは、人工飼料であるインセクタの同位体比である。当初、大量生産され、市販されている人工飼料であるので、同位体比はほぼ一定であると推定していた。しかし、実験を進めていくうちに、この人工飼料にも同位体比の違いがあり(約1‰)、それが植食者、さらには捕食者に影響を与えていることが明らかになった。そのため多くの実験をやり直すこととなり、この研究の進捗に影響を与えた。

(5) 寄生者には単寄生と多寄生が知られており、ブランコヤドリバエは後者である。寄主サイズが大きな個体からは4匹以上も得られることがあり、そのため成虫の体サイズ

には大きなばらつきが生じる。多寄生者による体サイズは安定同位体に影響がないことを確認するために、1-4匹を寄生させた実験区を設定した。反復数が少ないけれども、それぞれの実験区より得られたハエの安定同位体比は、ほぼ同じ傾向が見られた。

(6) In vitroでの安定した飼育系を開発するために、捕食寄生者ブランコヤドリバエと寄主アワヨトウを用いた。まずアワヨトウの蛹を湯煎してすりつぶし、培養液と寒天をいれて無菌培地を作った。その培地にアワヨトウに産卵させたブランコヤドリバエの卵をアルコール滅菌後接種し、人工的に寄主内部の状態を作り出した。通常寄主を用いた場合と同様に成虫まで得ることが可能となった。孵化した幼虫はすぐに培地内に潜り、自身の周りから消化し、時折場所を移動しながら十分に成長すると、安定した場所で蛹化した。その後成虫が羽化した。また、ヨトウ体液の割合を様々に変えて実験をおこない、その割合が少ないほど成長速度が遅くなることがわかった。このように In vitroでもブランコヤドリバエを飼育することが可能になり、寄主体内での幼虫の行動等の可視化に成功した。今後、他の寄主でも寒天培地の作製のために、寄主体液を利用しない方法の開発を考慮する必要があるだろう。

(7) 今回の調査中に、これまで雄のみで記載されていた *Ceromya glaucescens* の雌を発見し、その形態的特徴を報告した。その雌は雄とは異なる腹部の pollinosity や中脚の剛毛配列をもつが、5遺伝子座において種内変異と判断されるほどのわずかな差異しか得られなかったために同一種と判断した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Tachi, T. (2017) Description of the female of *Ceromya glaucescens* Tachi & Shima (Diptera: Tachinidae) and discovery of unusual sexual dimorphism in this species. *Zootaxa* 4237, 583-586. 査読有り.
doi.org/10.11646/zootaxa.4237.3.10.

〔学会発表〕(計 3 件)

館卓司、兵藤不二夫. ヤドリバエの安定同位体分析の基礎的研究. 日本昆虫学会九州支部大会. 2016年11月26日. 九州大学(福岡市)

一木良子、中原雄一、古川誠一、館卓司、田端純、中村達. 寄主昆虫に寄生させずに In vitro でヤドリバエを無菌飼育する方法. 日本昆虫学会. 2015年9月21日. 九州大学(福岡市)

館卓司. セスジハリバエ幼虫の奇妙な寄生行動(双翅目:ヤドリバエ科). 日本昆虫学会. 2015年9月19日. 九州大学(福岡市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

舘 卓司 (TACHI, Takuji)
九州大学・比較社会文化研究院・准教授
研究者番号：20420599

(2) 研究分担者

兵藤 不二夫 (HYODO, Fujio)
岡山大学・異分野融合先端研究コア・准教授
研究者番号：70435535

(3) 連携研究者

中村 達 (NAKAMURA, Satoshi)
独立行政法人国際農林水産業研究センター
生産環境領域・主任研究員
研究者番号：40373229