

ノイバラハオレタマバエ *Dasineura* sp. (ハエ目:タマバエ科) による施設栽培バラの加害

誌名	日本応用動物昆虫学会誌
ISSN	00214914
著者	徳田, 誠 湯川, 淳一 井村, 岳男 阿部, 芳久 Harris, K.M.
巻/号	53巻4号
掲載ページ	p. 185-188
発行年月	2009年11月

ノイバラハオレタマバエ *Dasineura* sp. (ハエ目： タマバエ科) による施設栽培バラの加害

徳田 誠^{1,*†}・湯川 淳一²・井村 岳男³
阿部 芳久⁴・Keith M. Harris⁵

¹ 理化学研究所・植物科学研究センター

² 九州大学大学院農学研究院

³ 奈良県農業総合センター

⁴ 九州大学大学院比較社会文化研究院

⁵ Ripley, Surrey, United Kingdom

Occurrence of a *Dasineura* Species (Diptera: Cecidomyiidae) That Induces Leaf-Fold Galls on Cultivated Roses in Japan. Makoto TOKUDA,^{1,*††} Junichi YUKAWA,² Takeo IMURA,³ Yoshihisa ABE⁴ and Keith M. HARRIS⁵ ¹RIKEN Plant Science Center; Yokohama, Kanagawa 230-2245, Japan. ²Faculty of Agriculture, Kyushu University; Fukuoka 812-8581, Japan. ³Nara Prefectural Agricultural Experiment Station; Kashihara, Nara 634-0813, Japan. ⁴Graduate School of Social and Cultural Studies, Kyushu University; Fukuoka 819-0395, Japan. ⁵Ripley; Surrey, United Kingdom. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 53: 185-188 (2009)

Abstract: In June 2005, an unidentified species of *Dasineura* (Diptera: Cecidomyiidae) that induced leaf-fold galls on cultivated roses was found in a greenhouse in Heguri, Nara Prefecture, Japan. Similar *Dasineura* species have been known to occur in Japan on two wild roses, *Rosa multiflora* and *R. rugosa*. In Europe, rose leaf midge, *Dasineura rosae*, induces leaf-fold galls on both cultivated and wild roses. In order to confirm the phylogenetic relationship among *Rosa*-associated *Dasineura* species, we analyzed a partial region of the mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I (676 bp) gene. The nucleotide sequence of the *Dasineura* species collected from cultivated roses in Nara was identical to that of gall midges that induced leaf-fold galls on wild *R. multiflora* in Nara and Kyoto Prefectures, Japan. However, *D. rosae* and *Dasineura* sp., which are associated with *R. rugosa*, were phylogenetically distinct from them. This indicates that the *Dasineura* sp. associated with wild *R. multiflora* has invaded the greenhouse in Nara Prefecture and infested the cultivated roses.

Key words: Cecidomyiidae; *Contarinia*; *Dasineura*; gall midge; leaf-fold gall; *Rosa*

近年、東北地方から九州にかけて、バラハオレタマバエ *Contarinia* sp. (ハエ目：タマバエ科) による施設栽培バラの被害が報告されている (河村・徳田, 2004; 河村ら, 2004; 徳田・湯川, 2004; 徳田, 2005)。本種はおもに土耕栽培施設で発生しており、幼虫がバラ小葉の中肋を中心として、葉表を内側に折り畳んだ形状 (葉折れ状) の虫えい (バラハオレフシ) を形成する。高密度

時には蕾も加害して花弁を變形させることもあり、バラの商品価値を著しく低下させる害虫である。本種と同様の形態的特徴を有する *Contarinia* 属タマバエは、日本土着のバラ科植物からも、海外のバラ属植物からも知られておらず、本種が侵入害虫か土着害虫かは未だ判明していない (徳田・湯川, 2004)。

一方、欧米の栽培バラや、日本国内の土着バラ属植物には、*Dasineura* 属のタマバエが葉折れ状の虫えいを形成することが知られている (Barnes, 1948; 湯川・榊田, 1996; 徳田・湯川, 2004; 徳田, 2005)。*Contarinia* 属と *Dasineura* 属とは、タマバエ亜科内の別上族 (前者はタマバエ上族 Cecidomyiidi, 後者はウロコタマバエ上族 Lasiopteridi) に属しており、多くの形態的差異が認められる (Gagné, 2004; 徳田・湯川, 2004; 徳田, 2005)。例えば、バラハオレタマバエの終齢幼虫は乳白色～黄色であるのに対し、*Dasineura* 属タマバエの幼虫は橙赤色を呈する。また、バラハオレタマバエの老熟幼虫は、手のひらなどにのせてしばらく観察していると、体をくの字型に折り曲げてジャンプする行動を示すが、この行動は *Dasineura* 属タマバエ幼虫では見られない (徳田・湯川, 2004)。

欧米で栽培バラを加害するタマバエには、長年にわたり *Wachtliella rosarum* (Hardy) という学名が用いられてきたが (Barnes, 1948; Gagné, 1989)、現在ではヨーロッパのものは *Dasineura rosae* (Bremi) が有効名とされ、アメリカのものは、*D. rosae* と別種の可能性があるため *Dasineura* sp. として区別されている (Gagné, 2004)。

日本では、*Dasineura* 属の未同定種であるノイバラハオレタマバエとハマナスハオレタマバエにより、野生のバラ属植物であるノイバラ *Rosa multiflora* Thunberg やハマナス *Rosa rugosa* Thunberg (Rosaceae) に、それぞれ葉折れ状の虫えい (ノイバラハオレフシ、ハマナスハオレフシ) が形成される (Fig. 1) (湯川・榊田, 1996; 徳田・湯川, 2004; 徳田, 2005)。

これまで、日本各地のバラ栽培施設から著者らのもとに同定依頼として寄せられたタマバエ害虫は、いずれも *Contarinia* 属タマバエであり、*Dasineura* 属タマバエが含まれていた例は皆無であった。

ところが、著者の一人である井村により、2005年6月に奈良県の養液栽培施設バラから採集された幼虫は、バラハオレタマバエとは異なる特徴をもっていた。ゴールの形状はバラハオレタマバエと酷似しているものの、終齢幼虫の体色は橙赤色であり、ジャンプ行動を示さなかった。さらに、プレパラート標本を作製して微小形態を観察した結果、本種はノイバラハオレタマバエやハマナスハオレタマバエと同様に、*Dasineura* 属の一種と考えられた。

日本応用動物昆虫学会誌 (応動昆) 第53巻 第4号: 185-188 (2009)

<http://odokon.org/>

* E-mail: tokudam@rche.kyushu-u.ac.jp

† 現在 九州大学高等教育開発推進センター

†† Present address: Center for Research and Advancement in Higher Education, Kyushu University, Fukuoka 819-0395, Japan.

2009年6月15日受領 (Received 15 June 2009)

2009年7月6日登載決定 (Accepted 6 July 2009)

DOI: 10.1303/jjaez.2009.185

本研究では、この国内の施設栽培バラから初めて採集された *Dasineura* 属タマバエの由来を明らかにし、本種によるバラ栽培施設への侵入が、成虫の自然飛来によるものか、あるいは、国内外からの苗木などの輸送に伴う人為的なものかを推察するため、および、*D. rosae* とノイバラハオレタマバエ、ハマナスハオレタマバエの分類学的地位や系統関係を確認する目的で、各地で採集した *Dasineura* 属タマバエの分子系統解析を行った。

研究に際し、虫えいの採集にご協力頂いた上地奈美博士（農研機構・果樹研究所）、喜久村智子氏（沖縄県農業研究センター）、國本佳範博士（奈良県農業総合センター）、安田慶次博士（沖縄県病害虫防除技術センター）、および、DNA 解析を補助して下さい小松直子氏（理化学研究所・植物科学研究センター）に感謝申し上げる。本研究の一部は、科研費補助金・若手研究スタートアップ（No. 20880043）、および、若手研究 B（No. 21780052）の助成により遂行された。

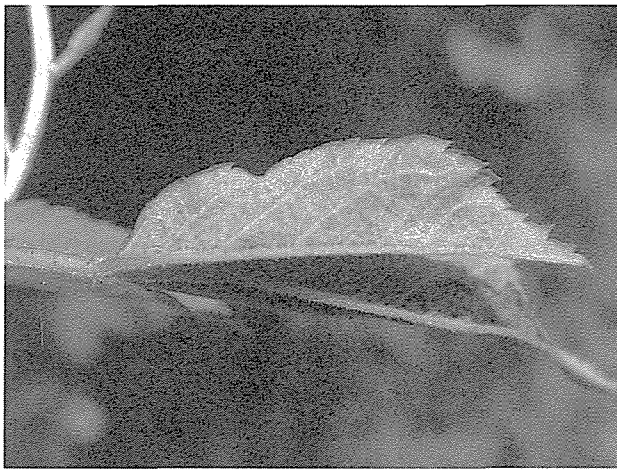


Fig. 1. Leaf-fold galls induced by *Dasineura* sp. on *Rosa multiflora*.

材料および方法

奈良県で発見された栽培バラを加害する *Dasineura* 属のタマバエと国内各地で採集されたノイバラハオレタマバエやハマナスハオレタマバエ、および、イギリスで *Rosa canina* L. から採集された *D. rosae* の終齢幼虫を 75% エタノールおよび 99.5% アセトン液浸標本として保存した。標本の採集情報は Table 1 の通りである。これらの標本は、九州大学農学部昆虫学教室に保管される。

エタノール液浸標本からキシレン-バルサム法 (Gagné, 1989) により作製したプレパラート標本を鏡し、胸部形態や腹部末端節の形状により *Dasineura* 属であることを事前に確認した（本属幼虫の形態的特徴に関しては Yukawa, 1971; Gagné, 1989; 徳田・湯川, 2004 を参照）。

アセトン液浸標本から、DNeasy Blood and Tissue Kit（キアゲン）によりゲノム DNA を抽出し、Yukawa et al. (2003) に記載された方法により PCR によるミトコンドリア DNA COI 領域部分塩基配列の増幅、および、増幅産物の精製を行った。PCR に用いたプライマーは、フォワード：LCO1490 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' (Folmer et al., 1994)、および、リバーズ (*D. rosae* 以外)：COIA 5'-CCC GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC-3' (COIA) (Funk et al., 1995)、リバーズ (*D. rosae*)：COIA-Drosae 5'-CCG GGG AGA ATA AGA ATA TAA ACT TC-3' である。*D. rosae* に関しては、COIA プライマーにより増幅がみられなかったため、COIA を変更して新たなプライマーを設計した。

増幅領域の長さは 676 bp であり、うち、5' 末端側から 658 bp は、動物の DNA バーコーディングプロジェクトで用いられている領域に相当する (Hebert et al., 2003)。また、3' 末端側の 439 bp は、タマバエ科における種内変異 (例：Shirota et al., 1999; Kodoi et al., 2003; Uechi et al., 2003; Tokuda et al., 2005) や同属近縁種間変異 (例：Yukawa et al., 2003; Sato and Yukawa, 2004; Tokuda et al., 2004, 2008) の検出に有効に用いられてきた領域である。

系統解析の外群として、過去の研究で用いたランツボミタマバエ *Contarinia maculipennis* Felt (ハエ目：タマバエ科：タマバエ族)

Table 1. Specimens of *Dasineura* gall midges used in molecular phylogenetic analysis

Gall midge	Host plant	Collection site (Collector ^a)	Collection date	No. individuals	DDBJ accession no.
<i>Dasineura rosae</i>	<i>Rosa canina</i>	Sheepleas, Surrey, UK (KMH)	20 Jun. 2005	2	AB505981-505982
<i>Dasineura rosae</i>	<i>Rosa canina</i>	Newlands Corner, Surrey, UK (KMH)	21 Jun. 2005	2	AB505983-505984
<i>Dasineura</i> sp.	<i>Rosa rugosa</i>	Moiwa, Sapporo, Hokkaido, Japan (JY)	25 Sep. 2004	3	AB505985-505987
<i>Dasineura</i> sp.	<i>Rosa multiflora</i>	Tsuchiura, Ibaraki, Honshu, Japan (MT)	16 Jun. 2005	1	AB505988
<i>Dasineura</i> sp.	<i>Rosa multiflora</i>	Joyo, Kyoto, Honshu, Japan (YA)	18 May 2003	3	AB505989-505991
<i>Dasineura</i> sp.	<i>Rosa multiflora</i>	Heguri, Nara, Honshu, Japan (TI & YK)	17 Jun. 2005	3	AB505992-505994
<i>Dasineura</i> sp.	<i>Rosa multiflora</i>	Koshi, Kumamoto, Honshu, Japan (MT)	10 May 2003	3	AB505995-505997
<i>Dasineura</i> sp.	Cultivated rose (cultivar 'Arianna')	Heguri, Nara, Honshu, Japan (TI & YK)	10 Jun. 2005	3	AB505998-506000
Outgroup					
<i>Contarinia maculipennis</i>	<i>Dendrobium phalaenopsis</i>	Ikebaru, Okinawa, Japan (KY)	22 Jun. 2001	1	AB506001

^a JY: Junichi Yukawa; KMH: Keith M. Harris, KY: Keiji Yasuda; MT: Makoto Tokuda, TI: Takeo Imura, YA: Yoshihisa Abe, and YK: Yoshinori Kunimoto.

の抽出 DNA (Uechi et al., 2003) から同様の領域をシーケンスした (Table 1).

BigDye Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) と PCR で用いたプライマーによりシーケンス反応を行い, ABI 3100 sequencer (Applied Biosystems) により塩基配列を決定した. 配列情報は, DDBJ, EMBL, Genbank の各データベースに登録されている (Table 1 のアクセッション番号を参照).

塩基配列情報をもとに, PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2002) により近隣結合樹を作成した. 遺伝的距離は, Kimura's two-parameter distance (Kimura, 1980) により算出した. 各クレードの単系統性はブートストラップ値 (Efron, 1982; Felsenstein, 1985) 1,000 反復により評価した.

結 果

奈良県の施設栽培バラから得られた *Dasineura* 属タマバエの塩基配列は, 同じく奈良県のノイバラ, および, 京都府のノイバラから採集されたノイバラハオレタマバエの配列と完全に一致した.

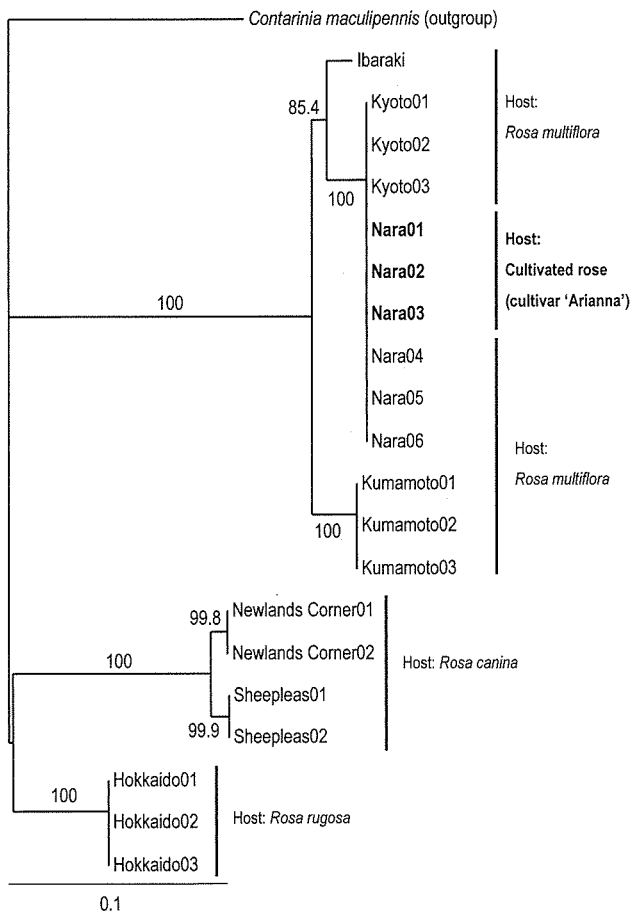


Fig. 2. Neighbor-joining tree for *Rosa*-associated *Dasineura* gall midges based on 676 bp of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene. Bootstrap values are indicated for nodes with >50% support in 1,000 pseudoreplicates. Detailed collection data are shown in Table 1.

茨城県産のノイバラハオレタマバエの塩基配列は, 奈良・京都産と 97.04% 一致, 熊本県産の配列は奈良・京都産と 95.56% 一致した. また, ノイバラおよび栽培バラから得られた *Dasineura* 属タマバエで構成されるクレードの単系統性は, 100% のブートストラップ値で支持された (Fig. 2).

北海道のハマナスから得られたタマバエの配列は, 本州~九州の栽培バラやノイバラから得られたタマバエのものとは大きく異なっており, 81.65–82.24% しか一致しなかった. イギリスの *R. canina* から得られた *D. rosae* も, 本州~九州産とは 77.66–77.95% しか一致しなかった.

考 察

奈良県の栽培バラから得られた *Dasineura* 属タマバエの塩基配列は, 奈良県および京都府のノイバラハオレタマバエと完全に一致したため, 本種が施設内に侵入し, 栽培バラを加害したものと考えられた.

本州~九州のノイバラハオレタマバエの単系統性, 北海道のハマナスハオレタマバエの単系統性, および, イギリス産の *D. rosae* の単系統性は, 系統解析の結果強く支持されたため, それぞれが独立種と判断できる (Fig. 2). ノイバラハオレタマバエやハマナスハオレタマバエは, これまでに成虫標本が得られておらず, 現時点では詳細な形態比較による種レベルでの分類学的地位の確定は困難である.

ノイバラハオレタマバエの幼虫は, 終齢まで植物体上の虫えい内に生息し, 老熟後は地上に落下し土中で蛹化するため, 移動性がきわめて乏しい. したがって, 野外からバラ栽培施設へのタマバエの侵入経路としては, 植物体やそれに付随する土などの人為的な持ち込みによる幼虫や蛹の侵入と, 成虫の自然飛来による侵入の可能性の 2 つが考えられる.

今回の奈良県における事例の場合, 筆者の一人井村の観察により, 被害が発生したバラ栽培施設のごく近傍にノイバラ群落およびノイバラハオレタマバエによる虫えいが確認されている. また, 本施設は養液栽培を実施しており, 栽培者による外部からの土やノイバラの持ち込みは認められなかったことから, 近傍のノイバラ群落からタマバエの成虫が直接飛来した可能性が高いと考えられる.

本研究においては, ノイバラハオレタマバエが栽培バラで世代を全うできるか否かの詳細な検討は行わなかったが, 少なくとも栽培バラ上で終齢幼虫まで発育可能であることが採集により確認された. 虫えい形成性のタマバエ類は, 虫えい内で幼虫期にのみ栄養を摂取し, 老熟後に虫えいから脱出した幼虫や, 羽化後の成虫は摂食しないことが知られている (Yukawa and Rohfritsch, 2005). したがって, ノイバラ同様, 栽培バラも寄主として利用可能であることが示唆される. 本種による栽培バラの被害を防ぐためには, バラ栽培施設の周辺環境におけるノイバラの適切な管理が必要であろう.

過去の研究では, 虫えい形成性タマバエの本州~九州におけるミトコンドリア DNA COI 領域の種内変異は 1% 前後かそれ以下のことが多かった (例えば Yukawa et al., 2003; Sato and Yukawa, 2004;

Tokuda et al., 2004). それに対して, 本研究では, ノイバラハオレタマバエの地域個体群間で3-4%の変異が確認された. このことから, ノイバラハオレタマバエは, 比較的古くから日本列島に生息しており, かつ, 地域間での遺伝的交流に乏しいことが示唆される.

Dasineura 属は約450種が記載されているタマバエ科の中でもっとも大きな属であり, 汎世界的に分布している (Gagné, 2004). 本属は, *Dasineurini* 族のうち, 形態的に顕著な特徴を持つものを除いた種が含まれている 'catch-all' な属 (= 雑多な種が含まれている属) であり, 多系統群と考えられている (Gagné, 1989, 2004). また, 日本国内でも様々な植物を寄主とする種が知られている (湯川・榎田, 1996; Yukawa et al., 2005).

今回の解析では, バラ属を寄主とする *Dasineura* 属における各種間の塩基配列はそれぞれ約20%異なっていたことから, これらのタマバエは, 同属植物を寄主として酷似した形状の虫えいを形成するものの, 互いの近縁性は低く, 属内において姉妹種とはならない可能性が高い.

Dasineurini 族内において, バラ属を寄主とする各種が系統的にどこに位置しているのかは非常に興味深い, これを明らかにするためには, 世界各地の様々な植物を寄主とする多数の種を含め, かつ, COI 領域よりも進化速度の遅い領域を用いた系統解析が必要となる. アメリカ大陸でバラ属を寄主とする *Dasineura* 属と今回解析したタマバエとの関連性も含め, これらの解析は将来の課題としたい.

引用文献

- Barnes, H. F. (1948) *Gall Midges of Economic Importance, III. Ornamental Plants and Shrubs*. Crosby Lockwood & Son, London. 165 pp.
- Efron, B. (1982) *The Jackknife, the Bootstrap, and Other Resampling Plans*. Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia. 92 pp.
- Felsenstein, J. (1985) *Evolution* 39: 783-791.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoew, R. Lutz and R. Vrijenhoek (1994) *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3: 294-299.
- Funk, D. J., D. J. Futuyama, G. Orti and A. Meyer (1995) *Mol. Biol. Evol.* 12: 627-640.
- Gagné, R. J. (1989) *The Plant-feeding Gall Midges of North America*. Cornell University Press, Ithaca. 356 pp.
- Gagné, R. J. (2004) *Mem. Entomol. Soc. Wash.* 25: 1-408.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball and J. R. DeWaard (2003) *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 270: 313-321.
- 河村俊和・徳田 誠 (2004) 農業総覧 花卉病害虫診断防除編第7巻 花木・庭木・緑化樹 (追録3号). 農山漁村文化協会, 東京, 口絵28: 12-13; 本文150: 46-48. [Kawamura, T. and M. Tokuda (2004) *Comprehensive Agronomy: Flower Pest Diagnosis and Management. Vol. 7. Flowering Trees, Garden Trees, and Afforestation Trees* (Supplemental Issue no. 3). Rural Culture Association, Tokyo, Frontispiece 28: 12-13; Text 150: 46-48.]
- 河村俊和・和泉勝憲・岩本哲弥 (2004) 植物防疫 58: 394-396. [Kawamura, T., K. Izumi and T. Iwamoto (2004) *Plant Prot.* 58: 394-396.]
- Kimura, M. (1980) *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
- Kodoi, F., H.-S. Lee, N. Uechi and J. Yukawa (2003) *Esakia* (43): 35-41.
- Sato, S. and J. Yukawa (2004) *Esakia* (44): 13-26.
- Shirota, Y., K. Iituka, J. Asano, J. Abe and J. Yukawa (1999) *Entomol. Sci.* 2: 209-215.
- Swofford, D. L. (2002) *PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods), Version 4*. Sinauer Associates, Sunderland.
- 徳田 誠 (2005) 今月の農業 49(12): 37-39. [Tokuda, M. (2005) *Jpn. Agric. Tech.* 49(12): 37-39.]
- 徳田 誠・湯川淳一 (2004) 九病虫研会報 50: 77-81. [Tokuda, M. and J. Yukawa (2004) *Kyushu Pl. Prot. Res.* 50: 77-81.]
- Tokuda, M., K. Tabuchi, J. Yukawa and H. Amano (2004) *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97: 957-970.
- Tokuda, M., K. M. Harris and J. Yukawa (2005) *Entomol. Sci.* 8: 419-427.
- Tokuda, M., M.-M. Yang and J. Yukawa (2008) *Zool. Sci.* 25: 533-545.
- Uechi, N., M. Tokuda, J. Yukawa, F. Kawamura, K. K. Teramoto and K. M. Harris (2003) *Bull. Entomol. Res.* 93: 545-551.
- Yukawa, J. (1971) *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.* 8: 1-203.
- 湯川淳一・榎田 長 (1996) 日本原色虫えい図鑑. 全国農村教育協会, 東京. 826 pp. [Yukawa, J. and H. Masuda (1996) *Insect and Mite Galls of Japan in Colors*. Zenkoku Nôson Kyôiku Kyôkai, Tokyo. 826 pp.]
- Yukawa, J. and O. Rohfritsch (2005) In *Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods* (A. Raman, C. W. Schaefer and T. M. Withers, eds.). Science Publishers, Inc., Enfield, pp. 273-304.
- Yukawa, J., N. Uechi, M. Horikiri and M. Tuda (2003) *Bull. Entomol. Res.* 93: 73-86.
- Yukawa, J., N. Uechi, M. Tokuda and S. Sato (2005) *Basic Appl. Ecol.* 5: 453-461.