

称号及び氏名	博士（緑地環境科学）	小林 茂樹
学位授与の日付	平成25年3月31日	
論文名	A study of species diversity of microlepidopteran leafminers in Japan 日本産潜葉性小蛾類の種多様性に関する研究	
論文審査委員	主査	石井 実
	副査	上甫木 昭春
	副査	藤原 宣夫
	副査	広渡 俊哉

論文要旨

幼虫が植物の葉に潜り、内部の組織を食べて生活する潜葉性のガ類はムモンハモグリガ上科とホソガ上科に属する「小蛾類」の種を主体とし、主要な科だけで世界から7000種以上が知られる。幼虫の寄主植物や植物に潜る習性が多様であるため、環境指標として有用とされているにもかかわらず、成虫の開張が4~10 mmと微小な種を含むため、鱗翅目の中でも研究が進んでいない分類群である。日本では、ホソガ上科のホソガ科ホソガ亜科、キンモンホソガ亜科などで分類学的な研究が行われ、400種以上が知られるが、種の分類や生活史の解明度が低いなど、種レベルの研究が不十分な分類群が多数残されている。

そこで本研究は、ムモンハモグリガ上科とホソガ上科に属する4科4亜科10属の潜葉性小蛾類を研究対象とし、第1章では、生物多様性の基礎情報として日本産の学名未決定種の形態の観察と記載および生活史の解明を行い、種名の確定を行った。また、第2章では潜葉性小蛾類の潜孔習性の多様性とその利用可能性について野外調査などにより検討を行った。

第1章 日本産潜葉性小蛾類の分類

本章では、ムモンハモグリガ上科に属するムモンハモグリガ科 Tischeriidae (*Coptotriche* 属) およびホソガ上科に属するヒカリバコガ科 Roeslerstammiidae (*Roeslerstammia* 属)、チビガ科 Bucculatricidae (*Bucculatrix* 属)、ホソガ科 Gracillariidae (ホソガ亜科 Gracillariinae の

カワホソガ属 *Spulerina*, *Psydrocercops* 属, キンモンホソガ亜科 *Lithocolletinae* のニセキンホソガ属 *Cameraria*, オビギンホソガ亜科 *Oecophyllembiinae* の *Corythoestis* 属, *Eumetriochroa* 属, *Metriochroa* 属, コハモグリガ亜科 *Phyllocnistinae* の *Phyllocnistis* 属) を対象として, 野外調査や室内飼育, 標本の調査などにより, 学名未決定種の形態や生活史を観察・記載し, 種名の確定を行った. 野外調査は 2007~2012 年に, 北海道から沖縄県の日本各地で行い, 寄主植物の葉・枝を採集して研究室に持ち帰り, 幼生期の形態・行動を観察し, 成虫になるまで飼育した. また, 2009, 2011 年 3 月に中国湖南省において, 日本産の潜葉性小蛾類の分布や生活史を検討するための補助的な調査を行った. 得られた成虫は, 乾燥標本とした後, 腹部を解剖し, 主に交尾器の特徴を文献やタイプ標本と照らし合わせ, 種の同定を行った. 成虫形態の調査については, 大阪府立大学, 北海道大学などの所蔵標本も用いた. ムモンハモグリガ科, ホソガ科の種では, 走査型電子顕微鏡を用いて蛹形態を精査した. コハモグリガ亜科およびカワホソガ属の一部では, DNA バーコード領域のミトコンドリア DNA の COI 領域の一部 (656~658 bp) の塩基配列を決定し, 形態に加えて分子解析による比較を行った.

その結果, 日本産 4 科 4 亜科 10 属から合計 1 新記録属, 27 既知種, 37 新種, 20 新記録種, 7 同定保留種を含む 91 種の潜葉性小蛾類を認めた. また, 中国からオビギンホソガ亜科を初めて記録し, これまで日本固有属であった *Eumetriochroa* 属を含む 3 属 1 新種, 2 新記録種を認めた. 75 種については若齢幼虫から羽化までを観察し, そのうち 53 種の幼虫期の形態や習性を明らかにし, 40 種の蛹形態を初めて記録した.

ムモンハモグリガ上科ムモンハモグリガ科は, 6 既知種とカバノキ科, ハイノキ科にそれぞれ潜る 2 新種を認め, 8 種が確認された. 本科は, 成虫の形態では識別が困難であったが, 潜孔習性・蛹形態で容易に同定できることを明らかにした.

ホソガ上科については, チビガ科に 3 既知種, 6 新種, 12 新記録種, 2 同定保留種の計 23 種を認めた. これらの種を交尾器の形態から 10 グループに分類し, 幼生期が明らかとなった 15 種を潜孔・幼虫習性に基づき 3 タイプにわけた. また, メス交尾器の受精管が交尾のうの中央に開口することを本科の共有派生形質として新たに加えた.

同上科ヒカリバコガ科の *Roeslerstammia* 属に 1 既知種, ムジヒカリバコガ *R. pronubella* ([Denis & Schiffmuller], 1775) を認め, 初めて日本産本属の幼生期・寄主植物を解明し, アカシデ (カバノキ科) 上の幼虫の習性を明らかにした.

ホソガ科ホソガ亜科の *Psydrocercops* 属に 1 既知種とムクノキ (アサ科), サキシマフヨウ (アオイ科) にそれぞれ潜る 2 同定保留種を認め, 計 3 種が確認された. 2 同定保留種については, 若齢幼虫から羽化までを観察し, 蛹・成虫形態について既知種との比較を行った.

同亜科のカワホソガ属については, 4 既知種, 1 新記録種の計 5 種を認めた. また, 寄主植物について, 従来クヌギ (ブナ科) のみから記録のあったクヌギカワホソガ *Spulerina virgulata* Kumata & Kuroko, 1988 がオニグルミ (クルミ科), アカメガシワ (トウダイグサ科) を, 従来クリ (ブナ科) のみから記録のあったクリカワホソガ *S. castaneae* Kumata & Kuroko,

1988 が広くコナラ属を、それぞれ利用することが、成虫の外部形態および分子系統解析の結果から明らかになった。

同科キンモンホソガ亜科のニセキンホソガ属に、2 既知種、1 新種、1 同定保留種の計 4 種を認め、アワブキ科を寄主とするホソガ科の種を初めて明らかにした。

同科のコハモグリガ亜科については、80 種以上の寄主植物から 5 既知種、24 新種、7 新記録種、2 同定保留種の計 38 種を認めた。外部形態と分子解析の結果、茎に潜るヤナギコハモグリ *Phyllocnistis saligna* (Zeller, 1849) と葉に潜るネコヤナギコハモグリ (新種) *P. gracilistylella* Kobayashi *et al.*, 2011 が別種であることが明らかになった。ヤナギ類を利用する数種のみで確認されていた茎表皮層に潜る潜孔習性をクスノキ科数種、バラ類、クルミ類をそれぞれ寄主とする 2 新種、1 同定保留種で認め、いずれも茎のみを幼虫期を通じて利用する新たな潜孔習性をもつことが観察された。ギランイヌビワを寄主とする新種は、葉身背軸側表皮層から葉柄に潜り、葉身向軸側表皮層でマユを作る特異な習性をもつことを明らかにした。蛹の形態については、本属の種の頭頂突起(コクーンカッター)の形状が、三角型から大型の矢じり型で 2~5 本の角を所有するなど、種ごとに大きく異なることを明らかにした。

同科のオビギンホソガ亜科については、1 新記録属を含む、5 既知種、4 新種の計 9 種を認めた。*Guttigera* 属をこの属が記載されて以降初めて記録し、雌成虫、蛹形態、幼生期、寄主植物を初めて記載した。

分子解析で得られた系統樹と外部形態を精査して支持された種関係は一致し、コハモグリガ亜科、カワホソガ属では、DNA バーコード領域の配列決定が種同定に有用であることを明らかにした。幼生期については、蛹のコクーンカッター、腹部背面突起、尾突起の 3 形質が属と種で特異的であることを明らかにした。コハモグリガ亜科とオビギンホソガ亜科の各属を比較した結果、コハモグリガ亜科は背面突起に一对の角状突起を持つこと、オビギンホソガ亜科は 2-3 対の尾突起を持つことがそれぞれ共有派生形質であることを明らかにした。

第 2 章 潜葉性小蛾類の潜孔習性の多様性とその利用可能性

前章で明らかになった潜葉性小蛾類の潜孔習性の多様性について、生物相調査などへの利用可能性を検討するために、潜孔習性のデータベース化、落葉調査法を用いた潜葉性小蛾類の解明を行った。潜孔習性のデータベース化は、野外で採集した潜孔のある葉を直接スキャナで取り込み、画像データとして保存し、寄主植物、潜孔習性などで分類、検索表を作成した。次に、潜葉性小蛾類が潜孔の特徴で種同定が可能なことを利用して、落葉の定量的調査を実施し、調査法の有用性を検討した。調査は 2010 年 11 月から 2011 年 5 月に、奈良・三重両県の里山林など 15 ヶ所と、比較のために大阪府内の都市緑地 2 ヶ所で行った。対象植物はクヌギ、コナラ、ケヤキの 3 樹種とし、各調査地において原則として一樹種につき 500 葉を拾い集め、生活痕(幼虫の潜孔、マユ、食痕、蛹殻などの葉に残された潜葉性小蛾類の生活の痕跡)を集計、可能なレベル(科、属、種)まで生活痕型(タイプ)と

して分類・同定を行った。また、調査法の比較のために、同じ調査地において、2007～2011年に月1～5回の見採りによる生葉上の潜葉性小蛾類の生活痕の調査(生葉調査)を行った。

落葉調査の結果、全調査地から6科30タイプの潜葉性小蛾類の生活痕を確認した。生活痕の数は、キンモンホソガ属の潜孔がもっとも多く、全調査地点のクヌギ・コナラでみられた。この調査で確認された30タイプの生活痕のうち9タイプが潜孔の特徴、蛹の尾突起の形状などから種レベルの同定ができた。チビガ科については、潜孔、脱皮マユなどの生活痕からクヌギチビガ *Bucculatrix tsurubamella* Kobayashi *et al.*, 2010 など4種が本研究による分類学的再検討に基づき種名を確定できた。また、3樹種のうちクヌギ・コナラでは、生活痕のタイプ数も多く、種同定も容易であった。比較として行った生葉調査では27タイプが確認でき、落葉調査との共通タイプ数は25であった。これらのことから、落葉調査法により潜葉性小蛾類の種多様性を明らかにできることが確認された。

以上のように、日本産の潜葉性小蛾類4科4亜科10属に、1新記録属、27既知種、37新種、20新記録種、7同定保留種を含む91種を認め、種多様性と潜孔習性、寄主植物を明らかにした。また、従来の成虫の形態形質に分子解析・蛹の形態形質を組み合わせることで、容易に潜葉性小蛾類の種同定が可能であることを明らかにした。さらに、潜孔習性のデータベース化、落葉調査法などが、潜葉性小蛾類の種多様性調査に活用できることが明らかになった。

審査結果の要旨

幼虫が植物の葉に潜り、内部の組織を食べて生活する潜葉性のガ類は世界から7000種以上、日本からは400種以上が知られる。幼虫の寄主植物や植物に潜る習性が多様であるため、環境指標として有用とされているにもかかわらず、成虫の開張が4～10 mmと微小な種を含むため、鱗翅目昆虫の中でも種の分類や生活史の解明度が低いなど、種レベルの研究が不十分な分類群であった。そこで本研究は、生物多様性の基礎情報を得るために、ムモンハモグリガ上科とホソガ上科に属する4科4亜科10属の潜葉性小蛾類を研究対象とし、日本産の学名未決定種の形態の観察と記載および生活史の解明を行うとともに、種名の確定を行った。また、潜葉性小蛾類の潜孔習性の多様性とその利用の可能性について野外調査などにより検討を行った。

第1章では、ムモンハモグリガ上科に属するムモンハモグリガ科 *Tischeriidae* (1属) およびホソガ上科に属するヒカリバコガ科 *Roeslerstammiidae* (1属)、チビガ科 *Bucculatricidae* (1属)、ホソガ科 *Gracillariidae* (ホソガ亜科 *Gracillariinae* (2属)、キン

モンホソガ亜科 *Lithocolletinae* (1 属), オビギンホソガ亜科 *Oecophyllembiinae* (3 属), コハモグリガ亜科 *Phyllocnistinae* (1 属) を対象として, 野外調査や室内飼育, 標本の調査などにより, 学名未決定種の形態や生活史を観察・記載し, 種名の確定を行った. 野外調査は日本各地で行い, 寄主植物の葉・枝を採集して研究室に持ち帰り, 幼生期の形態・行動を観察し, 成虫になるまで飼育した. 得られた成虫は, 乾燥標本とした後, 腹部を解剖し, 主に交尾器の特徴を文献やタイプ標本と照らし合わせ, 種の同定を行った. ムモンハモグリガ科, ホソガ科の種では, 走査型電子顕微鏡を用いて蛹形態を精査した. コハモグリガ亜科およびカワホソガ属の一部では, DNA バーコード領域のミトコンドリア DNA の COI 領域の一部 (656~658 bp) の塩基配列を決定し, 形態に加えて分子解析による比較を行った.

その結果, 日本産潜葉性小蛾類 4 科 4 亜科 10 属から合計 1 新記録属, 27 既知種, 37 新種, 20 新記録種, 7 同定保留種を含む 91 種を認めた. そのうち 75 種については, 若齢幼虫から羽化までを観察し, 53 種の幼虫期の形態や習性を明らかにするとともに, 40 種の蛹形態を初めて記録した. ヒカリバコガ科の *Roeslerstammia* 属では, 日本における幼生期・寄主植物を解明し, 幼虫の習性を明らかにした. ホソガ科ホソガ亜科のカワホソガ属については, 従来クヌギ (ブナ科) のみから記録のあったクヌギカワホソガ *Spulerina virgulata* Kumata & Kuroko, 1988 がオニグルミ (クルミ科), アカメガシワ (トウダイグサ科) を利用することを明らかにした. また同科のコハモグリガ亜科については, 80 種以上の寄主植物から 24 新種を含む計 38 種を認め, 茎のみを利用するものや葉の複数の部位を利用する新たな潜孔習性を明らかにした. 同科のオビギンホソガ亜科については, *Guttigera* 属を日本から新記録し, この属が記載されて以降初めて記録し, 雌成虫, 蛹形態, 幼生期, 寄主植物を初めて記載した. 分子解析で得られた系統樹と外部形態を精査して支持された種関係は一致し, コハモグリガ亜科, カワホソガ属では, DNA バーコード領域の配列決定が種同定に有用であることを明らかにした. 幼生期については, コハモグリガ亜科とオビギンホソガ亜科で蛹のコクーンカッター, 腹部背面突起, 尾突起の 3 形質が属と種で特異的であることを明らかにした.

第 2 章では, 潜葉性小蛾類の潜孔習性の多様性について, 生物相調査などへの利用可能性を検討するために, 潜孔習性のデータベース化, 寄主植物, 潜孔習性などで分類, 検索表を作成し, 落葉調査法を用いた潜葉性小蛾類相の解明を行った. 里山林や都市緑地などで落葉の定量的調査を実施した結果, 全調査地から 6 科 30 タイプの潜葉性小蛾類の生活痕を確認し, 9 タイプが潜孔の特徴, 蛹の尾突起の形状などから種レベルの同定ができた. 従来の生葉調査などと比較した結果, 落葉調査法により潜葉性小蛾類の種多様性を明らかにできることが確認された.

以上のように, 本研究の成果として, 日本産の潜葉性小蛾類 4 科 4 亜科 10 属に, 1 新記録属, 27 既知種, 37 新種, 20 新記録種, 7 同定保留種を含む 91 種を認め, 種多様性と潜孔習性, 寄主植物を明らかにした. また, 従来の成虫の形態形質に分子解析・蛹

の形態形質を組み合わせることで、容易に潜葉性小蛾類の種同定が可能であることを明らかにした。さらに、潜孔習性のデータベース化、落葉調査法などが、潜葉性小蛾類の種多様性調査に活用できることを確認した。これらの成果は、昆虫分類学にとどまらず、生物多様性研究分野に貢献するところが大きい。よって最終試験の結果とあわせて、博士（緑地環境科学）の学位を授与することを適当と認める。