

[成果情報名] 捕食性節足動物からのオオタバコガ DNA の検出法の開発と捕食性天敵の探索

[要約] オオタバコガ特異的プライマーは、オオタバコガ DNA のみを増幅し、捕食性節足動物の中腸内容物からの検出に有効である。夏秋トマトほ場ではクモ類が、夏秋ナスほ場ではヒメハナカメムシ類がオオタバコガを捕食している。

[キーワード] オオタバコガ特異的プライマー、中腸内容物、クモ類、ヒメハナカメムシ類

[担当] 大和野菜研究センター、遺伝資源保存ユニット

[代表連絡先] 電話 0745-82-2340

[研究所名] 奈良県農業研究開発センター

[分類] 研究成果情報

[背景・ねらい]

近年、土着天敵を保護することで害虫による被害を抑制する技術が開発されている。オオタバコガは野菜類の重要害虫だが、その捕食者は十分に明らかにされていない。これまで、実験室内において数種の捕食性節足動物がオオタバコガを捕食することが報告されているが、生産ほ場での捕食を確認した報告はない。生産ほ場における害虫の捕食者の特定は、従来観察以外に確実な方法がなかったが、近年対象害虫の特異的プライマーを用いて捕食性節足動物の中腸内容物を解析する方法が開発されている。

そこで、土着天敵保護利用によるオオタバコガ防除技術の開発に向けて、まずオオタバコガ特異的プライマーを開発し、その有効性を確認する。さらに、生産ほ場の捕食性節足動物を対象にオオタバコガの土着天敵を探索する。

[成果の内容・特徴]

1. 開発したプライマーは、種特異性が高い ITS1 領域に作成した ArmiF と HelicoR で、断片の大きさは 118bp である。PCR 反応は、Go Taq DNA polymerase (Promega) を用いた場合、94℃ 3 分間の熱変性後、94℃ 1 分間、65℃ 1 分間、72℃ 1 分間を 35 サイクル行い、最後に 72℃ 10 分間とする。

ArmiF 5'-CGTAAACAATAATCCACACACC-3'

HelicoR 5'-GACGCGAGAACACATAACGA-3'

2. 本プライマーを用いることで、節足動物の中腸内容物から抽出した DNA を用いて、捕食したオオタバコガの DNA を検出できる。また、本法は 3 種のアザミウマ目、4 種のカメムシ目、近縁種であるタバコガを含む 7 種のチョウ目、8 種のコウチュウ目、2 種 5 科のクモ目の DNA を増幅しない (表 1)。

3. オオタバコガ 1 齢幼虫 1 個体をタイリクヒメハナカメムシに給餌した場合、給餌 8 時間後まではすべての個体から、12 時間後までは 33% の個体から、20 時間後までは 17% の個体からオオタバコガの DNA を検出できる。しかし、24 時間後では検出できない (データ省略)。

4. 夏秋トマトほ場で採集したクモ目 9 頭のうち 7 頭から (図 1)、夏秋ナスほ場で採集したヒメハナカメムシ類 183 頭のうち 2 頭からオオタバコガの DNA が検出されている (表 2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 生産ほ場におけるオオタバコガの土着天敵の探索に活用できる。

2. 捕食性節足動物を採集した場合は、ただちに 99.5% エタノールに浸漬する。

3. DNA の抽出は、Mag Extractor Plant Genome Kit (TOYOBO) で行い、100 μL の TE (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1 mM EDTA) buffer に溶解することで良好な結果が得られる。

[具体的データ]

表1 オオタバコガ特異的プライマーが増幅しなかった節足動物

目	種または科	和名
アザミウマ	<i>Frankliniella occidentalis</i>	ミカンキイロアザミウマ
	<i>Frankliniella intonsa</i>	ヒラズハナアザミウマ
	<i>Thrips hawaiiensis</i>	ハナアザミウマ
カメムシ	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	オンシツコナジラミ
	<i>Bemisia tabaci</i>	タバココナジラミ
	<i>Aethus nigrinus</i>	マルツカメムシ
	<i>Orius strigicollis</i>	タイリクヒメハナカメムシ
チヨウ	<i>Helicoverpa assulta</i>	タバコガ
	<i>Mythimna turca</i>	フタオビキヨトウ
	<i>Mamestra brassicae</i>	ヨトウガ
	<i>Spoladea recurvalis</i>	シロオビノメイガ
	<i>Pleuroptya ruralis</i>	ウコンノメイガ
	<i>Endotricha inouei</i>	イノウエトガリメイガ
コウチュウ	<i>Hypena strigatus</i>	ナミテンアツバ
	<i>Anoplogenus cyanescens</i>	キベリゴモクムシ
	<i>Philonthus wusthoffi</i>	ヒメホソコガシラハネカクシ
	<i>Adoretus tenuimaculatus</i>	コイチャコガネ
	<i>Harpalus sinicus</i>	ウスアカクログモクムシ
	<i>Carabus yaconinus</i>	ヤコンオサムシ
	<i>Scymnus posticalis</i>	クロヒメテントウ
クモ	<i>Chlaenius micans</i>	オオアトボシアオゴミムシ
	<i>Atomaria punctatissima</i>	ナガマルキスイ
	Salticidae	ハエトリグモ科
	Gnaphosidae	ワシグモ科
	Lycosidae	コモリグモ科
	Linyphiidae	サラグモ科
	<i>Pardosa yaginumai</i>	キシベコモリグモ
	Tetragnathidae	アシナガグモ科
	<i>Nephila clavata</i>	ジョロウグモ

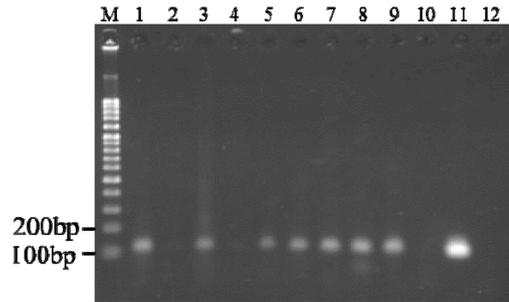


図1 トマト栽培ほ場で採集したクモ目の中腸内容物の解析

Lane 1:ワシグモ科、Lane 2:サラグモ科、Lane 3:ワシグモ科、Lane 4:アシナガグモ科、Lane 5:サラグモ科、Lane 6:エビグモ科、Lane 7:コガネグモ科、Lane 8:コガネグモ科、Lane 9:コモリグモ科、Lane 10:タバコガ、Lane 11:オオタバコガ、Lane 12:DNAなし。

※供試虫は、2014年6～10月に奈良県宇陀市および宇陀郡内において採集した。

表2 夏秋ナスほ場で採集したヒメハナカメムシ類の中腸内容物の解析

採集場所	採集 個体数	オオタバコガDNA 増幅個体数
奈良市	10	0
大和郡山市	3	0
天理市	35	1
香芝市	14	1
葛城市	46	0
五條市	61	0
田原本町	12	0
斑鳩町	2	0
計	183	2

(神川諭)

[その他]

研究課題名：気候変動に対応した循環型食料生産等の確立のための技術開発

予算区分：農林水産省委託プロジェクト研究

研究期間：2011～2015年度

研究担当者：神川諭、日本典秀（中央農研）、竹中勲

発表論文等：Kamikawa S. et al. (2016) Appl. Entomol. Zool. 51(3):501-504