

3 害虫の飛来侵入や分布拡大を予測する技術とその利用  
2 チャノキイロアザミウマ

### 3.2.1 チャノキイロアザミウマ新系統（C系統）の分布拡大（定着）予測技術

#### 1. はじめに

2008年、高知県のピーマンおよびシシトウにおいてチャノキイロアザミウマによる被害が発生した。国内においては、それまで本種によるトウガラシ属作物への寄生の報告はなく、従来のチャノキイロアザミウマとは別系統の侵入の可能性が示唆された。そこで、遺伝子解析を行った結果、果樹やチャの重要害虫として知られてきた在来の系統とは遺伝的に異質な系統であることが明らかになり、C系統（図-1）と名付けられた（Toda et al., 2014）。一方、在来系統はYT系統と呼んで区別することとした。その後、C系統は沖縄県をはじめとする九州地方、さらには関東地方において



図-1 チャノキイロアザミウマ C 系統雌成虫

も発生が確認されるに至っている（土田、2015）。しかし、野外への定着が確実視されているのは南西諸島以南であり、九州本土以北での定着は施設内に限られていると推測されている。その理由として、本系統が東南アジア周辺を起源とする南方由来系統と考えられることから、YT 系統とは温度反応性が異なり、低温に対する耐性が低い可能性があることが挙げられる。もしそうであれば、地球温暖化の進行に伴い、C 系統の野外定着可能な地域が拡大することが危惧される。野外への定着は分布拡大地域の拡大速度を早めるとともに、栽培施設への侵入の危険性を高めることが予想されるため、野外への定着の可否を推定することは、早期に防除対策を講じる上で重要となるであろう。そこで、本系統の温度反応性に関する各種温度パラメータを調査、解明し、得られた値をもとに野外における C 系統の発生消長を推定するとともに、実際の消長と比較することにより、野外における C 系統の定着を推定する手法を開発し、提案する。

#### 2. チャノキイロアザミウマ新系統（C 系統）の温度反応性

##### 1) 各温度における発育日数

チャノキイロアザミウマ C 系統は、ピーマン果実による飼育が可能である。ピーマン果実または葉を用いて各温度における卵期間および幼虫から成虫までの発育日数を調べ、発育零点と有効積算温度を求めた。25℃での卵期間は約 7 日であり、発育零点と有効積算温度は 10.6℃と 101.0 日度であった。また、25℃での幼虫から成虫までの発育日数は約 10 日であり、発育零点は C 系統が 11.9℃と、YT 系統の 7.7℃（Shibao, 1996）に比べ高く、低温域での増殖に適さないことが示唆された。有効積算温度は C 系統が 117.6 日度であり、YT 系統の 181.8 日度（Shibao, 1996）より短く、世代交代が早いことが示唆された。また、YT 系統が高温障害を起こし、正常な発育が不可能になる 33℃（多々良, 1995）を超える 35℃においても C 系統は正常に発育し、C 系統の高温耐性の高さが示された。

##### 2) 耐寒性と野外越冬の可能性

-5℃において C 系統成虫では 3 日後にはほとんど生存虫が見られなくなったのに対し、幼虫では 3.5 日後でも約 3 割の生存が認められ、一時的な耐寒性は強いと考えられた（表-1）。ただし、野外に置いたイチゴ株上において、2013 年は 2 月下旬、2014 年は 1 月上旬以降寄生が見られなかったこと、また、冬期に野外で適当な寄主植物がないことから野外越冬する可能性は低いと考えられた（図-2）。

表-1 -5℃におけるチャノキイロアザミウマ C 系統成幼虫の生存率

| 温度<br>(°C) | ステージ | 処理日数(日) |   |     |   |     |   |     |   |
|------------|------|---------|---|-----|---|-----|---|-----|---|
|            |      | 0.5     | 1 | 1.5 | 2 | 2.5 | 3 | 3.5 | 4 |
| -5         | 成虫   | ◎       | ◎ | ◎   | ◎ | △   | × | ×   | — |
|            | 幼虫   | ◎       | ◎ | ○   | ○ | ○   | ○ | △   | × |

注) —は未調査、◎は 90%以上、○は 30%以上～90%未満、△は 5%以上～30%未満、×は 5%未満の生存率を示す。

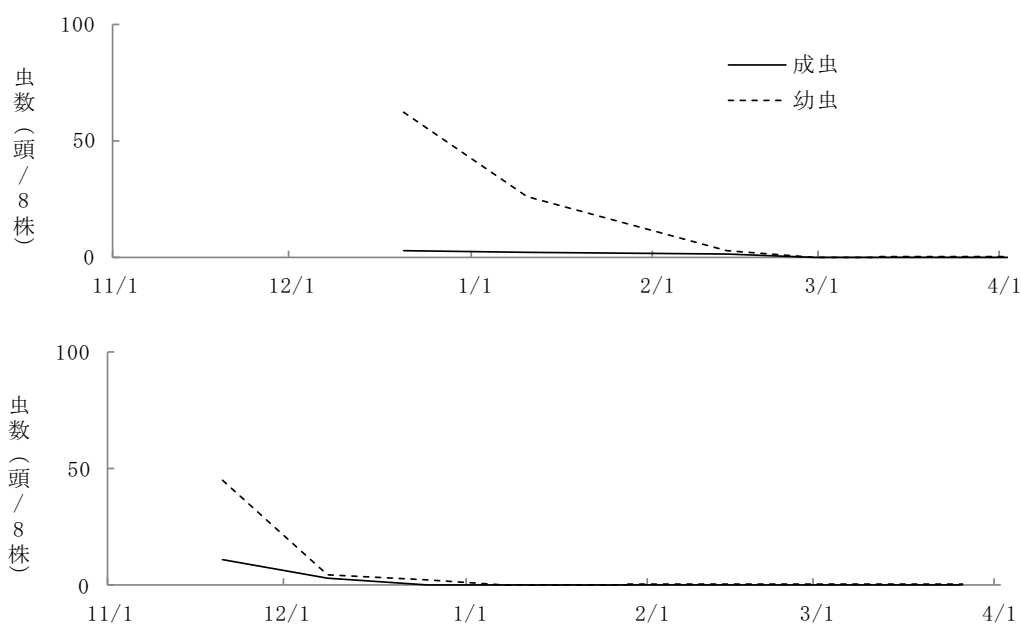


図-2 野外のイチゴ株上におけるチャノキイロアザミウマ C 系統の発生推移

### 3. チャノキアザミウマ C 系統の野外における定着予測技術

チャノキイロアザミウマは黄色に誘引されることから、黄色粘着トラップによる発消長のモニタリングが可能である。そこで、野外に設置した黄色粘着板により C 系統の発消長を把握し、前述の生育に関するパラメータから推定される発消長と比較することにより、その地点における C 系統の定着の有無を推定する方法を考案した。以下に高知県及び沖縄県において実施したモニタリング調査および解析結果を例示しながら解説する。

#### 1) 野外における発消長の調査法

施設内におけるチャノキイロアザミウマ C 系統の発生が確認されている高知県南国市において、C 系統発生施設近傍（地点①）、および近傍に C 系統の越冬が可能な加温栽培施設のない地点（地点②および⑤）にそれぞれ、黄色粘着板（ホリバー®イエロー、アリスタライフサイエンス）を設置した（図-3；地点②の設置状況）。粘着板は 1 週間毎に交換した。一方、野外越冬が可能であると推定される沖縄県名護市においても同様に、近傍に C 系統発生施設のない地点に黄色粘着板を設置し、発消長を調査した。



図-3 黄色粘着板の設置状況（地点②）

## 2) 遺伝子診断技術を利用した系統判別

チャノキイロアザミウマ C 系統及び YT 系統は形態により識別できないことから、遺伝子診断により系統判別を行う。黄色粘着板に捕捉されたチャノキイロアザミウマ成虫は、爪楊枝を用いて粘着板から引きはがし、1 頭ずつ STE バッファーとプロテナーゼ K の混合液を用いて磨砕する。磨砕には先端部を溶かして丸めた 10  $\mu$ l ピペットチップを用いると便利である (土田, 2011)。磨砕液は 60°C で 15 分間加熱して DNA を抽出した後、95°C で 5 分間加熱し、プロテナーゼ K を失活させる。C 系統と YT 系統の識別はリボゾーム DNA の ITS2 領域のマルチプレックス PCR により行う。PCR プライマーには Toda and Komazaki (2002) がアザミウマ類のリボゾーム DNA の ITS2 領域の増幅に用いたプライマーセット (ThripsITSF および ThripsITSR)、および C 系統、YT 系統それぞれに特異的な塩基配列をもとに設計された系統特異的プライマー (SdITSF7 および SdITSF3) の合計 4 種プライマーを用いる (表-2)。PCR 反応液の組成および反応条件は図-4 の通りである。

PCR の結果得られる増幅産物の電気泳動像を図-5 に示す。YT 系統では約 295 bp (290 ~ 301 bp) (レーン 1 および 2)、C 系統で約 190 bp (188 ~ 191 bp) (レーン 5 および 6) のバンドがそれぞれ 1 本ずつ増幅される。レーン 3 および 4 は、両系統の DNA を混合して PCR を行った場合の増幅産物であり、両系統のバンドが同時に出現している。これは、両者が交雑可能であり、交雑個体が存在するとすれば出現するであろうバンドパターンをあらかじめ検証したものである (ただし、本種は産雄単為生殖を行うため、雌個体のみにおいて検出可能)。

表-2 マルチプレックス PCR に使用するプライマーセット

| 塩基配列 (5'-3') |                           |                                   |
|--------------|---------------------------|-----------------------------------|
| ThripsITSF   | TGTGAACTGCAGGACACATGA     | 共通プライマー (Toda and Komazaki, 2002) |
| ThripsITSR   | GGTAATCTCACCTGAACTGAGGTC  | 共通プライマー (Toda and Komazaki, 2002) |
| SdITSF7      | CGGAAAGCTAACCGAGTGGGTTTAA | YT 系統特異的プライマー (Toda et al., 2014) |
| SdITSF3      | ATTCGATAAACGCGGCCGCGGA    | C 系統特異的プライマー (Toda et al., 2014)  |

| 反応液組成             |             | 反応条件 |     |            |
|-------------------|-------------|------|-----|------------|
| Taq 添付緩衝液         | 2 $\mu$ l   | 94°C | 9分  | } 35 cycle |
| MgCl <sub>2</sub> | 2 $\mu$ l   | ↓    |     |            |
| dNTPs             | 2.5 $\mu$ l | 94°C | 15秒 |            |
| 各プライマー (4種類)      | 各 10 pmol   | 56°C | 15秒 |            |
| テンプレート DNA        | 0.5 $\mu$ l | 72°C | 30秒 |            |
| Taq ポリメラーゼ *      | 0.1 $\mu$ l | ↓    |     |            |
| dH <sub>2</sub> O | 8.9 $\mu$ l | 72°C | 7分  |            |
| 20 $\mu$ l        |             |      |     |            |

\* AmpliTaq Gold (アプライドバイオシステムズ) 推奨

図-4 マルチプレックス PCR の PCR 条件

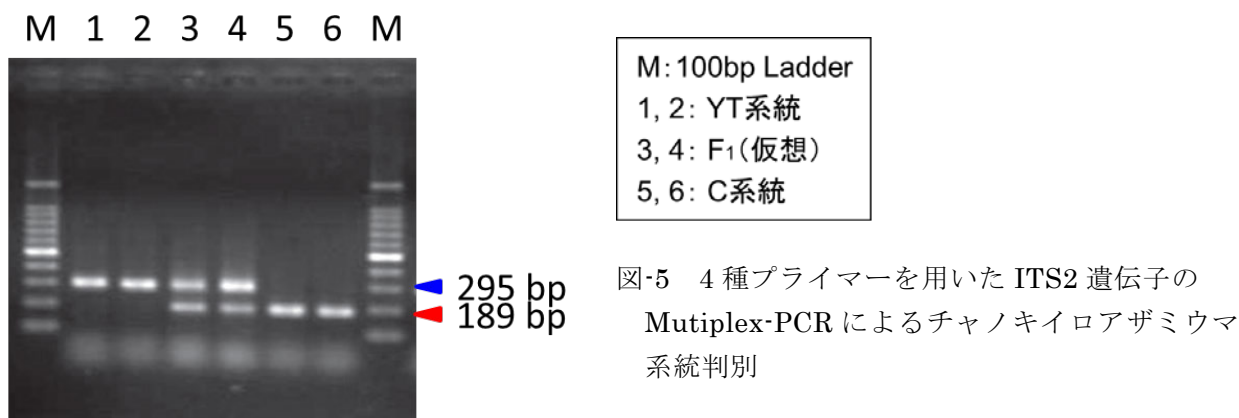


図-5 4種プライマーを用いた ITS2 遺伝子の Mutiplex-PCR によるチャノキイロアザミウマ 系統判別

3) チャノキイロアザミウマ 2 系統の発生消長の推定値との照合

チャノキイロアザミウマの発生消長（各世代の成虫飛来ピーク時期）の予測は、（一社）日本植物防疫協会の病害虫発生予測データベース（JPP-NET）の有効積算温度シミュレーションを用いて行う。

高知県および沖縄県での事例では、アメダス地点における気温の特別値として、高知県南国市後免および沖縄県名護市の両地点のデータを用いた。Masui (2008)は、チャノキイロアザミウマ越冬世代成虫のカンキツ園への飛来は1月1日を起点とする発育零点（9.7℃）以上の有効積算温度が 70.67 日度に達したときにピークとなり、以後 314.92 日度経過するごとに次世代成虫飛来ピークが認められるとした。

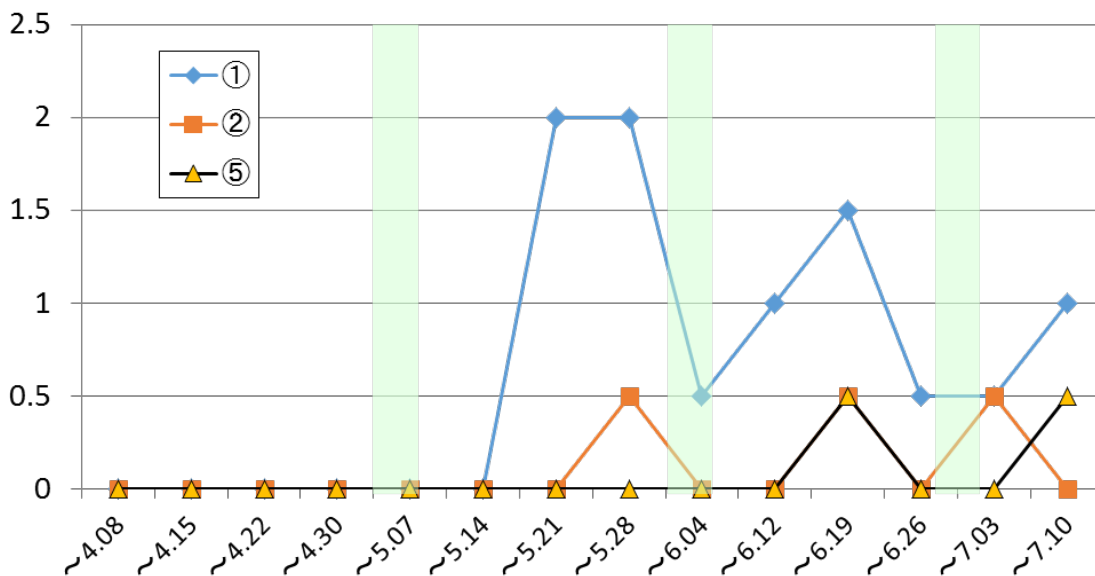


図-6 高知県南国市におけるチャノキイロアザミウマ C 系統の発生消長の予測値及び実測値

これらのパラメータは YT 系統について調査して得られたものと考えられ、YT 系統の発生消長のシミュレーションに用いるべきものと考えられる。一方、C 系統の卵から成虫までの発育零点は 12.4℃、有効積算温度は 200.0 日度という知見が得られているが、1月1日を起算日とした場合の越冬世代成虫の飛来ピークを予測する知見がないなど、有効積算温度シミュレーションを実行するために必要なパラメータが一部定まっていない。そこで、沖縄県名護市における C 系統の各世代の発生消長ピークに合致するように値を補正し、シミュレーションを実行した。また、多々良ら (1995) の知見に基づき、YT 系統では発育上限温度を 33℃に設定する。一方、C 系統では高温域の温度反応性試験の結果に基づけば、野外の最高気温では発育に異常を来すことがないと考えられるため、上限温度は設定しないこととする。トラップ調査の結果、高知県農技センター内の C 系統発生施設近傍に設置したトラップ (①) では 5 月中

旬以降から、近傍に発生施設のない地点(②および⑤)では5月下旬以降にC系統が捕捉され始めた(図-6)。沖縄県名護市におけるC系統の発生時期がピーク予測日に一致するように補正した設定条件をもとに、高知県南国市後免のアメダスデータにより推定された発生消長パターンと、高知県南国市の3地点での消長の実測値を比較した。この結果が一致すれば、C系統の野外への定着が予想されるわけであるが、両地点共に推定されるピーク日(緑色の帯で表示)とは一致しなかった。したがって、トラップに捕捉されたC系統個体は、野外定着個体群ではなく、地点①の施設を含む、施設内越冬・増殖個体群が分散していると推測された。

#### 4. 野外におけるC系統定着予測技術の利用方法および留意点

野外におけるトラップ調査には各種黄色粘着板が使用可能であるが、粘着性が高い素材の場合、キシレン等有機溶媒の剥離剤を用いて捕捉個体を回収する必要がある。ただし、ホリバー®イエロー(アリストライフサイエンス)では、虫体の回収に剥離剤を必要としない。粘着板から剥離したサンプルには粘着物質が付着しているが、DNA抽出に支障はなく、洗浄除去する必要はない。また、トラップにはチャノキイロアザミウマと形態的に類似したアザミウマが複数種捕捉される可能性があり、その中から本種を選別することにはある程度の知識と経験を要する。しかし、ITS2領域のマルチプレックスPCRにおいては、チャノキイロアザミウマ以外のアザミウマ種でYT系統あるいはC系統特異的バンドが検出されることはなく(Toda et al., 2014)、遺伝子診断により確実に選別することができるため、形態による厳密な選別は必要としない。

#### 5. 技術の実用化に向けた課題等

チャノキイロアザミウマC系統の野外定着を予測するための技術として、C系統定着地域による発生消長データを活用したが、その信頼性を高めるためにはさらなるデータの蓄積と検証が必要である。

また、イチゴ苗を用いた越冬試験の結果、高知県南国市ではC系統の野外越冬の可能性は低いと推測したが、室内試験では氷点下温度下でも一定期間生存できたことから、野外越冬の可能性を完全に否定することはできなかった。したがって、イチゴ以外の植物を用いた試験を行うなど、野外越冬の可否についてさらに検討するとともに、他の地域でも同様の試験を実施する必要があると考えられる。

#### 参考文献

- 1) Masui, S (2008): Appl. Entomol. Zool. 43: 511~517.
- 2) Shibao, M (1996): Appl. Entomol. Zool. 31: 81~86.
- 3) 多々良明夫 (1995): 静岡県柑橘試験場特別報告. 7: 98pp.
- 4) 土田聡 (2011): 植物防疫特別増刊号 14: 21~25.
- 5) 土田聡 (2015): 植物防疫 69: 28~32.
- 6) Toda, S. and S. Komazaki (2002): Bull. Entomol. Res. 92: 359~363.
- 7) Toda, S. et al. (2014): Appl. Entomol. Zool. 49: 231~239.

(土田聡・三代浩二・中野亮・井原史雄: 果樹研究所、垣内加奈子・下元満喜・中石一英<sup>1</sup>・中平知芳: 高知県農業技術センター、<sup>1</sup>現 高知県環境農業推進課)

### 3.2.2 チャノキイロアザミウマ新系統（C系統）の簡易検出技術と定着要因の解明

#### 1. はじめに

チャノキイロアザミウマ C 系統はトウガラシ属作物に強い寄生性を示す外来系統である。本系統は現在までに、初発地である高知県をはじめとする、四国、九州、および関東地方の 11 県において発生が確認されているが（土田, 2015）、さらなる分布の拡大が懸念されている。本系統の識別法として、マルチプレックス PCR 法による方法を開発したが（Toda et al., 2014）、特殊な機器を必要とせず、農業の現場で使用しうる、より簡便な診断技術の開発も必要であると考えられた。そこで、より簡易な診断が可能であるとして、近年数多くの病害虫で種判別等に利用されている、Loop mediated isothermal amplification (LAMP) 法を用いた C 系統の遺伝子診断法の開発を目指すこととした。LAMP 法は栄研化学（株）が開発した遺伝子増幅法であり、対象とする種の標的遺伝子の 6 つの領域に対して設計された 4 または 6 種類のプライマーを用い、1 ステップの温度反応（65℃付近）のみで遺伝子を増幅する（Notomi et al., 2000）。電気泳動による確認を必要とせず、陽性であれば溶液が白濁（蛍光・目視検出試薬を加えると蛍光発色）し、目視により種が判別できるため、短時間での診断が可能となる。

さらに、本系統の分布拡大には、被害を発生させる農作物に加え、施設周辺の寄主植物の存在が大きく影響すると予想される。チャノキイロアザミウマは木本性植物を中心に、200 種以上の植物に寄生することが報告されている（土田, 2015）。しかし、近年我が国に侵入したと考えられる C 系統の寄主範囲（寄主選好性）に関しては、トウガラシ属植物に強い寄生性を示すことを除き明らかではない。そこで、C 系統既発地域において寄主植物調査を行うことにより、分布拡大のリスク要因となりうる植物のリスト化を試みた。

#### 2. LAMP 法による遺伝子診断法の開発

ミトコンドリア DNA のチトクロームオキシダーゼサブユニット I (COI) 遺伝子の解析により、我が国で既発生のチャノキイロアザミウマ C 系統には 8 種類のハプロタイプが検出されている（Toda et al. 2014）。そこで、それら全てを検出しうる 4 種類から成る LAMP プライマーセットを設計した（表-1）（土田ら, 2015）。

表-1 LAMP 法に使用するプライマーセット

|        | 塩基配列 (5'-3')                                  |
|--------|---|
| SdCF3  | TTTTGATCTGGTATACTTGGATT                       |
| SdCB3  | AATTGAAGGTGGTAAAAGTCAA                        |
| SdCFIP | CGTGAGCTGTAACAACAGAGTTATATTCGACTTAATCTCCGTGT  |
| SdCBIP | TGGAGGGTTTGGAAATTGATTGGCGAGGAAATGCTATATCAGGTG |

LAMP 反応にはこれらプライマーを栄研化学（株）の Loopamp®DNA 増幅試薬キットとともに使用する。また、蛍光発色による目視判定を行うためには、Loopamp®蛍光・目視検出試薬（栄研化学）が別途必要となる。

LAMP 反応に使用する鋳型 DNA は 100mM Tris-HCl バッファー (pH 8.0) 中で虫体を磨砕し、99.9℃で 10 分間加熱したものを使用する。LAMP 反応は、キットのマニュアルに従って調整した試薬と抽出し

た DNA を混合し、63°Cで 60~90 分間保温することにより行う。これにより、ほぼ全てのサンプルでは 60 分の反応で十分であるが、一部に反応に時間を要する場合があったことから、90 分間の保温を推奨する。保温を終えた検体は 80°Cで 5 分間の加熱により反応を止めることができるが、この工程は必須ではない。図-1 は陽性または陰性反応を示した検体の写真である。陽性反応を示した検体（C 系統）は蛍光色の緑色を発色しているが、陰性の検体（YT 系統）では反応開始前の淡いオレンジ色のままである。なお、チャノキイロアザミウマと同所的に発生する可能性があり、とりわけ形態による識別が困難な幼虫ステージにおいて誤ってサンプリングする可能性のある他種アザミウマ（ミカンキイロアザミウマ、ヒラズハナアザミウマ、ハナアザミウマ、ネギアザミウマおよびミナミキイロアザミウマ）について、本法ではいずれも陰性反応を示すことを確認している（土田ら, 2015）。

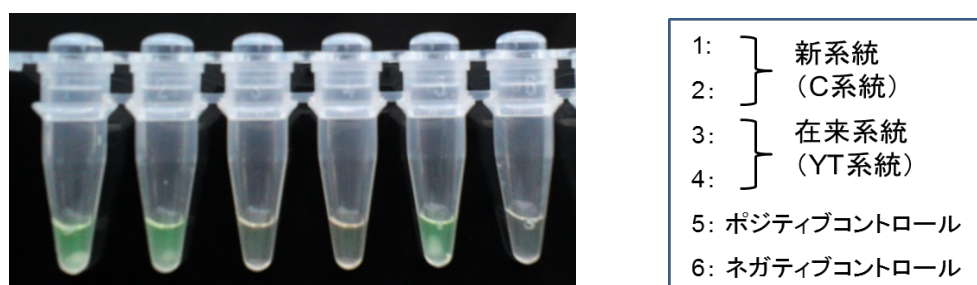


図-1 LAMP 法により増幅された DNA の蛍光発色反応の検出

C 系統および YT 系統から抽出した DNA を、段階を変えて混合し、63°Cで 90 分間の LAMP 反応を行うことにより、DNA 量比が C 系統 : YT 系統 = 1 : 99 (C 系統が 100 頭中 1 頭含まれる計算) でも目視で陽性反応を確認している。C 系統が分布を拡大し、その発生が確認されるようになる当初は、在来のチャノキイロアザミウマ YT 系統が優占する個体群において、C 系統の個体数はごくわずかであることも想定される。したがって、寄主植物から採集した多数のサンプルからまとめて抽出した DNA を解析することにより、わずかに含まれる C 系統の存在を高感度で検出できるという点においても LAMP 法は有用であることが示された。

### 3. チャノキアザミウマ C 系統の寄主植物

これまでの国内外における採集調査の結果、および既報の文献情報を基に、C 系統の野外での増殖源となりうる寄主植物をリスト化した。文献調査には、Masumoto and Okajima (2007)、村岡 (1985)、日本応用動物昆虫学会 (2006) および大久保 (1990) を用いた。野外調査は、鹿児島県 (2012 年)、宮崎県 (2013、2014 年)、福岡県 (2013 年)、高知県 (2012~2014 年)、愛媛県 (2013 年)、栃木県 (2013、2014)、千葉県 (2013 年) の各 C 系統発生地において行った。また、本プロジェクトに先駆けて行った沖縄県をはじめとする国内外における調査結果も含めて報告する。野外において採集されたチャノキイロアザミウマの成幼虫は、同時に YT 系統の判別を行うために、5-2 の項に示したマルチプレックス PCR による判別法を用い、個体単位で系統を判別した。その結果、チャノキイロアザミウマ C 系統は表-2 に示す 31 科 50 種の植物において寄生が確認された。さらに、それらのうちの 22 科 33 種において、C 系統幼虫の寄生を確認している。幼虫の寄生の確認は、これらの植物上で C 系統が増殖していることを意味しており、野外における分布拡大および定着のリスク要因となると推定された。これらの植物にはマンゴー、シシトウ、トルコギキョウなどの栽培作物の他に、サクラ、イスノキなどの木本植物、シロザ、イヌビユ、アメリカセンダングサ、エノキグサ、ヘクソカズラなどの草本植物が含まれていた。これらの調査結果ならびに既報の文献調査結果を総合すると、チャノキイロアザミウマの寄主範囲は 96 科 358 種に及ぶことが明らかになった (詳細は省略)。また、本研究により明らかになった C 系統の寄主植物のうち、29 種は既報の文献に記載がなかった (表-2)。本種は木本性の植物を選好すると考えられてきたため、



C 系統の寄主範囲には草本性植物が多く含まれるのが特徴的であるといえる。このことは、C 系統発生施設内および施設周辺の植生の管理には細心の注意が必要であることも示唆している。

表-2 チャノキイロアザミウマ C 系統の寄生が確認された植物

| 科名       | 種名*   |
|----------|---|
| アオイ科     | <u>オオハマボウ</u>   |
| アカザ科     | <b>シロザ</b>  |
| アカネ科     | <b>ヘクソカズラ</b>   |
| ウコギ科     | <b>ヤドリフカノキ</b>  |
| ウリ科      | <b>キュウリ</b> 、 <u>ニガウリ</u>   |
| ウルシ科     | <b>マンゴー</b>   |
| カタバミ科    | <b>スターフルーツ</b>  |
| キク科      | <b>アメリカセンダングサ</b> 、 <b>セイタカアワダチソウ</b> 、 <b>ノボロギク</b> 、 <b>ハキダメギク</b>                        |
| キントラノオ科  | <u>アセロラ</u>   |
| クマツヅラ科   | <b>イワダレソウ</b>   |
| サボテン科    | <b>ドラゴンフルーツ</b>   |
| ジャケツイバラ科 | <u>ホウオウボク</u>   |
| ツツジ科     | <b>ブルーベリー</b>   |
| ツバキ科     | <b>チャ</b>   |
| ツユクサ科    | ツユクサ  |
| トウダイグサ科  | <u>キダチヨミカンソウ</u> 、 <b>ナガエコミカンソウ</b> 、 <b>エノキグサ</b> 、 <u>オオニシキシソウ</u>                        |
| トケイソウ科   | <u>パッションフルーツ</u>  |
| ナス科      | <b>シトウ</b> 、 <b>ピーマン</b> 、 <b>トウガラシ</b> 、 <b>ナス</b> 、 <u>センナリホオズキ</u>                       |
| ネムノキ科    | <b>ギンネム</b>   |
| ハス科      | <b>ハス</b>   |
| バラ科      | <b>モモ</b> 、 <b>サクラ</b> 、 <b>イチゴ</b>   |
| ヒユ科      | <b>イヌビユ</b>   |
| ブドウ科     | <b>ブドウ</b> 、 <b>ノブドウ</b>  |
| フトモモ科    | <b>オオフトモモ</b> 、 <u>グアバ</u>  |
| マメ科      | <b>ラッカセイ</b> 、 <b>クサネム</b> 、 <b>エビスグサ</b> 、 <u>デイゴ</u> 、 <u>オオベニゴウカン</u>                    |
| マンサク科    | <b>イスノキ</b>   |
| ミカン科     | <b>カンキツ</b> ( <u>ウンシュウミカン</u> 、 <b>ブンタン</b> 、 <b>コブミカン</b> 、 <u>シークワーサー</u> 、 <u>タンカン</u> ) |
| ムクロジ科    | <u>レイシ</u>  |
| モクセイ科    | <u>ジャスミン</u> (sp.)  |
| ユウガオ科    | <u>ホシアサガオ</u>   |
| リンドウ科    | <b>トルコギキョウ</b>  |

\*

太字は C 系統幼虫の寄生が確認された植物

下線を引いた植物は、チャノキイロアザミウマの寄主として国内では過去に記載のないものを示す

#### 4. 技術の利用上の留意点および課題

LAMP 陽性反応は Loopamp® 蛍光・目視検出試薬を添加しなくても、反応液が白濁するか否かにより識別可能であるものの、より正確な判断を下すためには蛍光試薬を加えるのが望ましい。また、LAMP 法による検定を行う際の注意事項として、反応後のチューブの蓋の開封は避けることがマニュアルに示されている。これは増幅産物の周囲への飛散による汚染を回避するためである。また、LAMP 法による検定には、1 検体あたり 1,000 円以上のコストがかかるため、個体単位で多数の検体を解析する場合は、5-2 で前述のマルチプレックス PCR による診断を行う方が経済的である。したがって、2 つの診断法は用途に応じて使い分けることを推奨する。

チャノキイロアザミウマの寄主植物は前述の通り、96 科 358 種に及ぶ可能性がある。これらの記録の大半については系統判別がなされた訳ではないが、C 系統侵入前の記録と考えられることから、YT 系統の寄主植物であると推定される。C 系統の寄主植物調査は既発生地が発生施設周辺を中心に行われたに過ぎず、明らかとなった寄主範囲は全体のごく一部に過ぎないと考えられる。したがって、C 系統の増殖源を明らかにし、防除に役立てるためには、寄主植物調査は今後も継続して行っていく必要があると考えられる。

#### 参考文献

- 1) Masumoto, M. and S. Okajima (2007) Zootaxa 1552: 1~33.
- 2) 村岡実 (2007): 佐賀果試研報 10: 91~102.
- 3) Notomi, T. et al. (2000) Nucleic Acids Res. 28: e63 doi: 10.1093/nar/28.12.e63.
- 4) 日本応用動物昆虫学会 編 (2006): 農林有害動物・昆虫名鑑 増補改訂版, 日本植物防疫協会, 東京, 387 pp.
- 5) 大久保宣雄 (1995): 長崎果樹試研報 2: 1~15.
- 6) Toda, S. et al. (2014): Appl. Entomol. Zool. 49: 231~239.
- 7) 土`田聡 (2015): 植物防疫 69: 28~32.
- 8) 土`田聡ら (2015): 応動昆 59: (印刷中) .

(土`田聡・三代浩二・中野亮・井原史雄: 果樹研究所、垣内加奈子・下元満喜・中石一英<sup>1</sup>・中平知芳: 高知県農業技術センター、<sup>1</sup>現 高知県環境農業推進課)

3 害虫の飛来侵入や分布拡大を予測する技術とその利用  
3 ミナミアオカメムシ

### 3.3.1 温度分布データに基づくミナミアオカメムシの分布域変動予測技術

#### 1. はじめに

ミナミアオカメムシ *Nezara viridula* は、世界各地の亜熱帯～温帯に分布し、水稻、ダイズをはじめとする多くの農作物を加害する害虫である。本種の日本国内での分布は 1960 年代には九州南部、四国南部、紀伊半島南部に限られていたが、2000 年以降分布を急速に拡大させて、九州北部、近畿、東海地域、関東地域でも分布が確認されるようになった（下司・藤崎, 2013; 水谷, 2013）。三重県では 1980 年代には県南部でのみ分布が確認されていたが、2007 年には県中部でも分布が確認され、2009 年以降には、県北部や内陸部でも確認された（鈴木ら, 2011）。

本種の分布は、冬期の気温によって制限されており（Musolin, 2007）、一年間のうちの最寒月（多くの場合 1 月）の平均気温が 5.0°C の等温線が本種の分布北限と一致する（桐谷・法橋, 1970）とされている。近年、地球温暖化による冬期の気温が上昇傾向であることが本種の分布拡大を引き起こしていると考えられており（湯川・桐谷, 2007）、今後、更に分布拡大することが懸念されている。

そこで、今後のミナミアオカメムシの分布域変動を予測するために、冬期の気温分布に基づくミナミアオカメムシの越冬世代の分布域の予測（越冬可能地域予測）技術の開発を行った。



図1 ミナミアオカメムシ成虫（左）、幼虫（中央）、卵塊（右）

#### 2. ミナミアオカメムシの発生世代に応じた分布域の把握

ミナミアオカメムシは多くの植物を餌植物あるいは繁殖場所として利用する。三重県内のようにコムギ、早期水稻、ダイズの 2 年 3 作の輪作体系が広域に行われている地域では、これらの土地利用型作物を利用してミナミアオカメムシの分布域を把握することができる（表 1）。

ミナミアオカメムシの越冬世代はコムギを餌植物として利用するため、5 月中旬～6 月上旬にかけてコムギを対象に分布調査を行うことで越冬世代の分布を把握できる。コムギでは第 1 世代の幼虫が確認されることもあるが、成虫に発育するまでにコムギの収穫が行われるため第 1 世代の分布調査には利用できない。

早期水稻では、出穂期前後に第 1 世代が飛来し、登熟期以降に第 2 世代が繁殖する。8 月中旬～9 月上旬に水田内のミナミアオカメムシ成幼虫を対象に調査を行うことで第 2 世代の分布を把握することができる。また、ダイズは越冬前の第 3 世代が餌植物、繁殖場所として利用するため、10 月上中旬に成幼

虫を対象に調査を行うことで第3世代の分布を把握することができる。

コムギ、ダイズの栽培面積が少ない場合は、他のモニタリング用植物を利用する必要がある。例えば、越冬世代では、開花後に子実をつけたナタネなどのアブラナ科植物、第3世代では晩生の水稻、水稻収穫後の再生稲などを調査することでも分布を把握できる。

表1. コムギー早期水稻ーダイズの2年3作体系地域におけるミナミアオカメムシ分布調査方法

| 調査対象作物 | 栽培時期                | 調査時期                   | 調査方法   |
|--------|---------------------|------------------------|--|
| コムギ    | 播種:11月下旬<br>収穫:6月中旬 | 糊熟期～黄熟期<br>(5月中旬～6月上旬) | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 畦畔を歩きながらほ場内を観察しコムギに生息する成虫を確認する。</li> <li>✓ 1調査地点あたり600m以上移動する(30a区画の水田であれば4～5ほ場程度)。</li> </ul>  |
| 早期水稻   | 移植:4月下旬<br>収穫:9月上旬  | 登熟期～成熟期<br>(8月中旬～9月上旬) | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 畦畔を歩きながらほ場内を観察し水稻に生息する成幼虫を確認する。</li> <li>✓ 畦畔際の株(10株/1カ所×4カ所)についてビーティング調査も併用して成幼虫の生息を確認する。</li> <li>✓ 1調査地点あたり600m以上移動して調査する(30a区画の水田であれば4～5ほ場程度)。</li> </ul> |
| ダイズ    | 播種:7月上旬<br>収穫:11月中旬 | 成熟始期<br>(10月上旬)        | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 1調査地点あたり4ほ場、25株/ほ場の株を対象に見取り調査を行い、成幼虫の生息を確認する。</li> </ul>  |

三重県における、2012年から2014年にかけてのミナミアオカメムシ越冬世代と第3世代の分布調査事例を図2に示した。越冬世代はコムギを対象に、第3世代はダイズを対象に調査を行った。ミナミアオカメムシの分布地点率は、越冬世代よりも第3世代で高くなる傾向が認められ、越冬世代の分布地点率は年々高くなる傾向が認められた。しかし、伊賀地域では、第3世代の分布が一時的に確認されることはあっても、越冬世代の分布は確認されなかった。このことから、内陸の伊賀地域はミナミアオカメムシの分布が定着していないと考えられた。伊賀地域で越冬できていない要因については、冬期の気温が低い地域であることと、盆地であるため地理的障壁により、平野部からのミナミアオカメムシの侵入が妨げられていることが考えられる。このように、本種の分布が定着した地域を明らかにするには、複数年の調査とともに、越冬世代の分布を把握することが重要と考えられる。

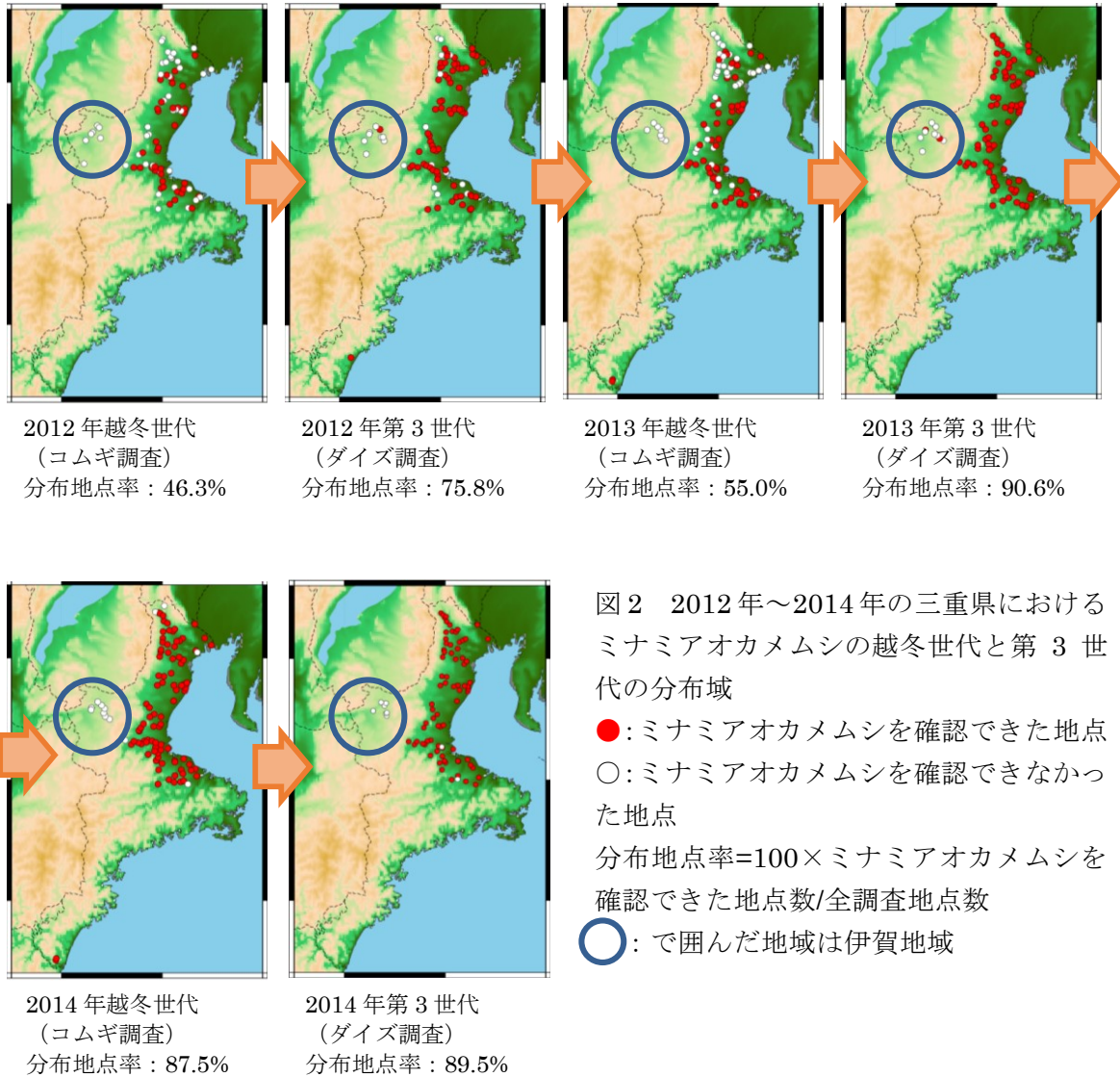


図2 2012年～2014年の三重県におけるミナミアオカメムシの越冬世代と第3世代の分布域

●: ミナミアオカメムシを確認できた地点  
○: ミナミアオカメムシを確認できなかった地点  
分布地点率 =  $100 \times \frac{\text{ミナミアオカメムシを確認できた地点数}}{\text{全調査地点数}}$   
○: で囲んだ地域は伊賀地域

### 3. ミナミアオカメムシの越冬可能地域予測モデル

ミナミアオカメムシが、一時的な分布ではなく越冬でき定着可能かどうかを予測する「越冬可能地域予測モデル」を開発した。

ミナミアオカメムシの越冬可能地域予測モデルには、12月1日～2月28日までの2.5℃未満の日数と前年10月のダイズにおけるミナミアオカメムシ第3世代発生量（ダイズ25株あたりの成幼虫数、病虫害防除所調査の県平均値）の2変数を用いた交互作用のあるロジスティック回帰モデルを予測モデルとして選択した。この予測モデルは（独）農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センターが開発した「メッシュ農業気象データシステム」の利用を前提に作成されており、予測値である「越冬可能確率」を1kmメッシュごとに算出することができる。また、予測図作成プログラムを利用することにより、都道府県毎あるいは広域の予測図を作成することができる（図3）。

この予測モデルによる越冬可能確率0.5以上を越冬可能、0.5未満を越冬困難とした場合の予測値の正答率は、概ね70%（三重県における2015年のミナミアオカメムシ越冬世代分布データで検証）であった。

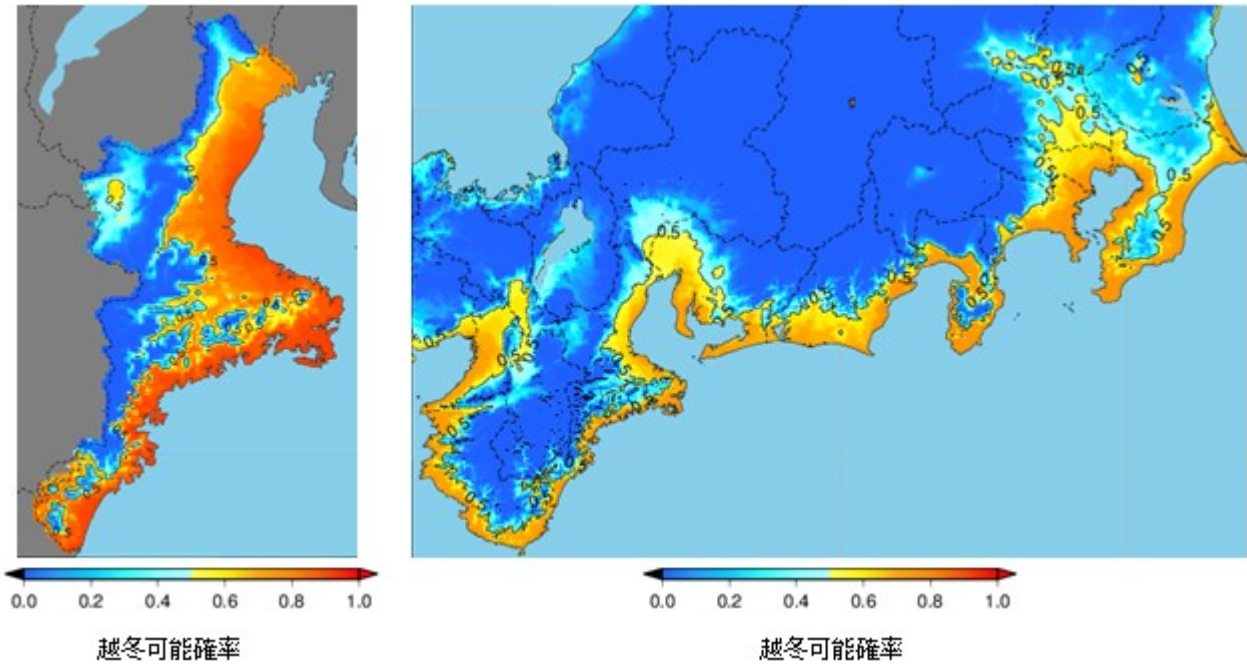


図3 ミナミアオカメムシ越冬可能地域予測モデルによる予測図の例  
 (左) 三重県における越冬可能地域予測 (2015年)  
 (右) 広域の越冬可能地域予測 (2015年) 発生量を0.01頭/25株に設定した場合の予測図  
 越冬可能地域：図内の黄～オレンジ色に着色された地域  
 越冬困難地域：図中の水色～青色に着色された地域

#### 4. 技術の利用上の留意点

- (1) 越冬可能地域予測モデルはミナミアオカメムシが未侵入の地域でも、越冬可能な条件が満たされれば、越冬可能確率が高く予測される。一方、前年の発生量が県平均値と比べ大きく異なる地域では予測が大きく外れる可能性がある。
- (2) 越冬可能地域予測モデルを利用するには (独) 農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センターが開発したメッシュ農業気象データシステムの利用者登録が必要である。メッシュ農業気象データシステムについては [http://adpmit.dc.affrc.go.jp/technical/files/rel67\\_1.pdf](http://adpmit.dc.affrc.go.jp/technical/files/rel67_1.pdf) を、また、利用申請については、[http://adpmit.dc.affrc.go.jp/technical/files/rel67\\_2.pdf](http://adpmit.dc.affrc.go.jp/technical/files/rel67_2.pdf) を参照する。
- (3) ダイズの栽培面積が少ないなどの理由で、前年10月の第3世代の発生量をダイズで把握できない場合は、晩生の水稻等の別のモニタリング植物を利用して調査を行う必要がある。

#### 5. 技術の (実用化に向けた) 課題等

開発した予測モデルは、三重県における分布調査をもとに作成したため、三重県以外の地域への適合性についての評価を行う必要があり、評価結果に基づく予測モデルの改善が必要となる可能性がある。

参考文献

- 1) 下司純也・藤崎憲治(2013):応動昆 57: 151～157.
- 2) 桐谷圭治・法橋信彦(1970): ミナミアオカメムシ個体群の生態学的研究, 指定試験(病虫害)9, 農林水産技術会議事務局, 東京, 260pp.
- 3) 水谷信夫(2013): 植物防疫 67: 595～601.
- 4) Musolin, D (2010): Global Change Biology 13: 1565～1585.
- 5) 鈴木 賢ら(2011): 関西病虫研報 53: 133～134.

(西野 実, 大仲桂太: 三重県農業研究所)



### 3.3.2 ミナミアオカメムシのモニタリング用寄主植物

#### 1. はじめに

ミナミアオカメムシは2000年以降分布が拡大し（水谷，2013）、東海地域ではダイズおよび水稲で被害が発生している（小出ら，2010；鈴木ら，2011など）。ミナミアオカメムシの寄主植物は多岐にわたり、32科145種を加害するとされている（桐谷・法橋，1970）が、これら寄主植物をリスト化したものはない。そこで、ミナミアオカメムシによる加害の記録がある植物および、繁殖場所または越冬場所として記録がある植物についてリストを作成した。また、寄主植物の中には、本種による加害がほとんど認められないため、本種の分布状況を調査するためには適していない植物も含まれる。そのため、寄主植物を利用してミナミアオカメムシの分布調査を行うには、分布調査に適した植物を選定し調査方法および調査時期を設定しておく必要がある。そこで本章では、これまでミナミアオカメムシの寄主植物として記録がある植物および我々が発生を確認した植物から、分布のモニタリングに適していると考えられる植物（以下、モニタリング用植物）を選定し、その調査方法について記載する。

#### 2. 国内および海外でミナミアオカメムシの発生が確認されている植物

本研究では、ミナミアオカメムシの分布のモニタリングに適した植物を把握するため、2011年～2014年に三重県農業研究所内でモニタリング用植物の候補を栽培し、各植物上でのミナミアオカメムシの発生消長を調査した。我々の調査でミナミアオカメムシの成幼虫が確認された植物と、これまでミナミアオカメムシの発生が確認されている植物を表1に示した。

表1. 三重県内および日本国内外でミナミアオカメムシの発生が認められた植物

| 科名      | 植物名        | 三重県 <sup>1)</sup> | 日本国内 <sup>2)</sup> | 海外 <sup>3)</sup> |
|---------|------------|-------------------|--------------------|------------------|
| アオイ科    | オクラ        | ○                 | ○                  | ○                |
|         | ギンセンカ      |                   |                    | ○                |
|         | ワタ         |                   | ○                  | ○                |
| アカザ科    | フダンソウ      |                   |                    | ○                |
|         | アカザ        |                   |                    | ○                |
|         | テンサイ       |                   |                    | ○                |
| アブラナ科   | ナタネ        | ○                 | ○                  |                  |
|         | キャベツ       | ○                 |                    |                  |
|         | セイヨウカラシナ   |                   |                    | ○                |
|         | セイヨウノダイコン  |                   |                    | ○                |
|         | ダイコン       | ○                 | ○                  |                  |
|         | ハクサイ       | ○                 | ○                  |                  |
| イネ科     | ミヤガラシ      |                   |                    | ○                |
|         | 水稲         | ○                 | ○                  |                  |
|         | コムギ        | ○                 | ○                  | ○                |
|         | トウモロコシ     |                   | ○                  | ○                |
|         | イタリアンライグラス | ○                 | ○                  |                  |
|         | アワ         |                   | ○                  |                  |
|         | チガヤ        |                   | ○                  |                  |
|         | エンバク       |                   | ○                  |                  |
|         | ソルガム       | ○                 |                    | ○                |
|         | ウリ科        | キュウリ              |                    | ○                |
|         | ニガウリ       |                   | ○                  |                  |
| オオバコ科   | オオバコ属      |                   |                    | ○                |
| カキノキ科   | カキ         |                   | ○                  |                  |
|         | キク         |                   | ○                  |                  |
| キク科     | ヒマワリ       |                   |                    | ○                |
|         | レタス        | ○                 |                    |                  |
| クワ科     | イチジク       |                   | ○                  |                  |
| ゴマ科     | ゴマ         | ○                 | ○                  |                  |
| セリ科     | ミツバ        |                   |                    | ○                |
|         | そば         | ○                 |                    |                  |
| タデ科     | スイバ        |                   |                    | ○                |
|         | タデ         | ○                 |                    |                  |
| トウダイグサ科 | トウゴマ       |                   |                    | ○                |
| ナス科     | トマト        | ○                 | ○                  |                  |
|         | ジャガイモ      | ○                 | ○                  | ○                |
|         | ナス         |                   |                    |                  |
|         | ピーマン       |                   | ○                  |                  |
|         | トウガラシ      |                   |                    |                  |
|         | イヌホオズキ     | ○                 |                    |                  |
|         | キダチタバコ     |                   |                    | ○                |
|         | タバコ        |                   | ○                  |                  |
|         | チョウセンアサガオ  | ○                 |                    | ○                |

| 科名                     | 植物名     | 三重県 <sup>1)</sup> | 日本国内 <sup>2)</sup> | 海外 <sup>3)</sup> |   |
|------------------------|---------|-------------------|--------------------|------------------|---|
| バラ科                    | イチゴ     | ○                 |                    |                  |   |
|                        | ナシ      |                   | ○                  |                  |   |
|                        | モモ      |                   | ○                  |                  |   |
| ヒガンバナ科                 | ネギ      |                   | ○                  |                  |   |
| ヒノキ科 <sup>4)</sup>     | カイヅカイブキ | ○                 |                    |                  |   |
|                        | コノテガシワ  | ○                 |                    |                  |   |
| ヒユ科                    | イヌビユ    | ○                 |                    |                  |   |
|                        | アマランサス  |                   |                    | ○                |   |
| フウチョウソウ科               | クレオメ    | ○                 | ○                  |                  |   |
|                        | フリ      |                   | ○                  |                  |   |
| フナ科                    | ダイズ     | ○                 | ○                  | ○                |   |
|                        | インゲン    |                   | ○                  | ○                |   |
|                        | エダマメ    | ○                 |                    |                  |   |
|                        | エンドウ    | ○                 |                    |                  |   |
|                        | アズキ     | ○                 |                    |                  |   |
|                        | ササゲ     | ○                 |                    |                  |   |
|                        | ラッカセイ   |                   |                    | ○                |   |
|                        | ソラマメ    |                   | ○                  |                  |   |
|                        | マメ科     | スイートピー            |                    |                  | ○ |
|                        |         | ツルマメ              | ○                  | ○                |   |
| クサネム                   |         | ○                 | ○                  |                  |   |
| コシナガワハギ                |         |                   |                    | ○                |   |
| シロツメグサ                 |         | ○                 | ○                  | ○                |   |
| シロバナシナガワハギ             |         |                   |                    | ○                |   |
| ナンバンアカアズキ              |         |                   |                    | ○                |   |
| ムラサキウマゴヤシ              |         |                   |                    | ○                |   |
| リョクトウ                  |         |                   |                    | ○                |   |
| ミカン科                   |         | カンキツ類             |                    | ○                |   |
| リュウゼツラン科 <sup>4)</sup> | キミガヨラン  | ○                 |                    |                  |   |

### 3. モニタリング用植物の調査時期と調査方法

ミナミアオカメムシの発生が確認されている植物のうち、栽培面積が大きい、または栽培ほ場が多いことから、分布調査に適していること、ミナミアオカメムシの繁殖が可能なこと、調査が容易なことなどから、県内広域で栽培される土地利用型作物（コムギ、水稻、ダイズ）と、3つの植物（オクラ、アブラナ科子実、ゴマ）をモニタリング用植物として選定した。各モニタリング用植物について調査時期、調査方法を表2に示した。

コムギでは糊熟期～黄熟期となる5月中旬～6月上旬に越冬世代が観察される。畦畔を歩きながら、コムギの穂に生息する成虫を調査する。第1世代幼虫が発生することがあるが、発生しても成虫まで発育する前に収穫されるため、コムギは第1世代成虫のモニタリングには不適當である。

早期水稻では登熟期以降に第2世代成幼虫が観察される。コムギと同様に、畦畔を歩きながら穂を中心に成幼虫を見取りおよび払い落としとして調査が可能である。

ダイズでは第3世代の成幼虫が観察される。ほ場内の株を見取り、あるいは払落しで株に生息する成幼虫を調査できる。ダイズが栽培されていない地域では、晩生の水稻等でも第3世代の調査は可能である。

アブラナ科植物は子実にはミナミアオカメムシの越冬世代が飛来し、第1世代が繁殖するためモニタリングに利用できる。ナタネ、ダイコンなどを前年10月から栽培し、開花後の子実には飛来する成虫を観察する。子実だけでなく茎や葉も吸汁するが、花茎部を主に観察することで容易に調査可能である。アブラナ科子実では第1世代の繁殖も確認することができる。

ゴマでは着莢期以降に成幼虫が観察される。5月下旬播種のゴマでは、9月上旬に収穫時期を迎えるため、主に第2世代が観察される。収穫時期が9月下旬となる作型では第3世代成幼虫も観察できる。

オクラでは5月上旬播種の作型で6月下旬には着莢するが、ミナミアオカメムシの発生が多く認められるのは8月下旬以降で、第2世代～第3世代が観察できる。稀に7月に第1世代が観察されることがあるが、年次変動が大きいため実用的ではない。ゴマ、オクラでは葉裏、茎など、植物体全体に生息しているが、着莢部を主に観察することで容易に成幼虫を調査することができる。

表2. ミナミアオカメムシのモニタリング用植物の調査方法と確認される世代

| 調査対象世代  | モニタリング用植物 | 調査時期                   | 調査方法  |
|---------|-----------|------------------------|---|
| 越冬世代    | コムギ       | 糊熟期～黄熟期<br>(5月中旬～6月上旬) | 畦畔を600m以上歩きながらコムギに生息する成虫を観察する。                  |
| 第2世代    | 早期水稻      | 登熟期～成熟期<br>(8月中旬～9月上旬) | 畦畔を600m以上歩きながら水稻に生息する成幼虫を観察する。10株×4カ所の払落し調査も行う。 |
| 第3世代    | ダイズ       | 成熟期<br>(10月上旬中旬)       | ほ場内の株を見取り、もしくは払落し法で調査する。1地点あたり100株調査する。         |
| 越冬～第1世代 | アブラナ科     | 開花期以降<br>(4月上旬～6月下旬)   | 花茎部を中心に見取り法で調査する。                               |
| 第2～第3世代 | ゴマ        | 着莢期以降<br>(6月中旬～9月下旬)   | 莢を中心に株全体を見取り法で調査する。                             |
| 第2～第3世代 | オクラ       | 収穫期<br>(6月中旬～11月上旬)    | 莢を中心に株全体を見取り法で調査する。                             |

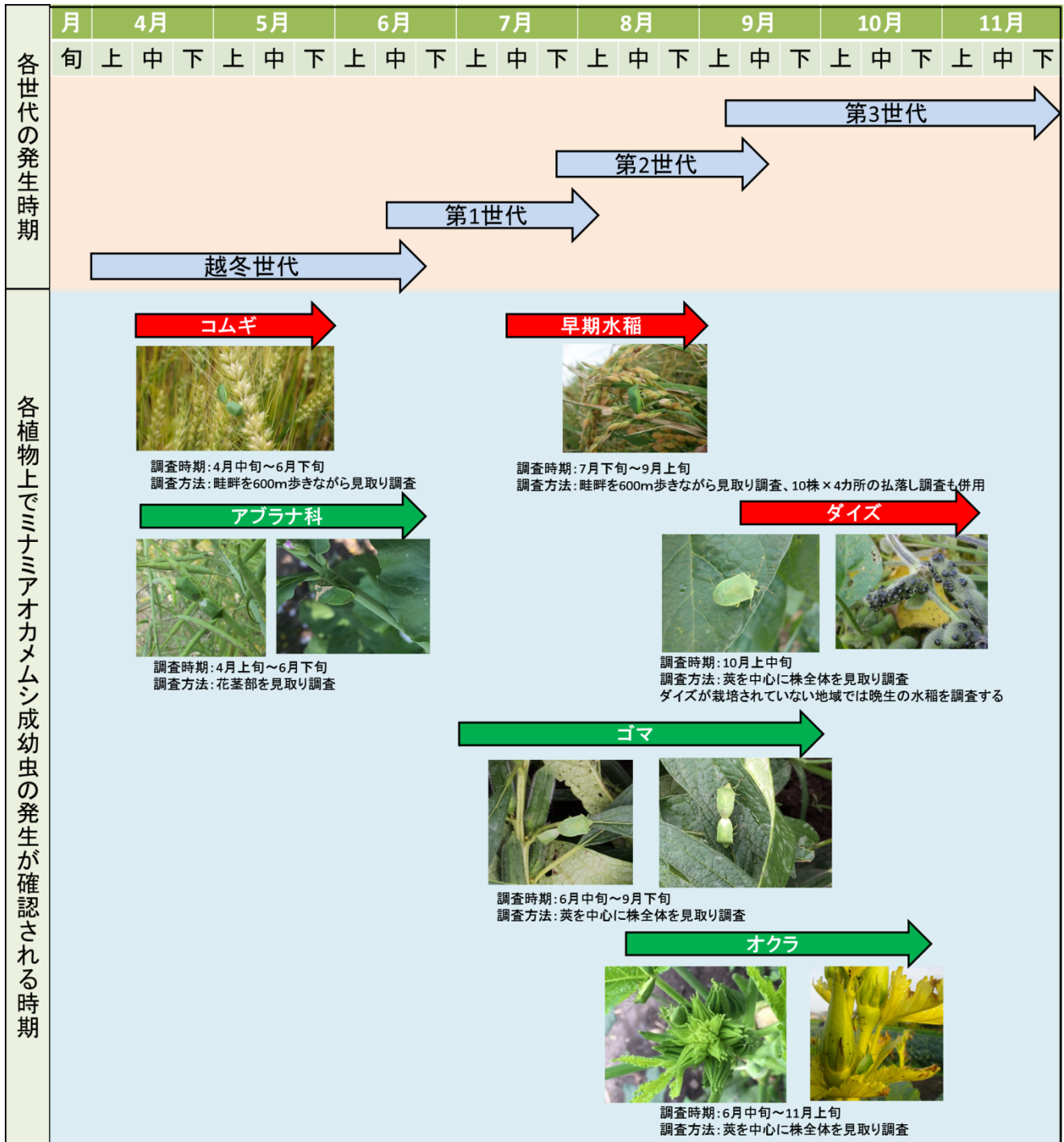


図1. モニタリング用植物の調査時期とミナミアオカメムシの各世代の発生時期

- ⇨ : 有効積算温度と植物上での発生消長から推定したミナミアオカメムシ各世代の発生時期
- ➡ (Red) : 土地利用型作物で成幼虫の発生が確認される時期
- ➡ (Green) : 土地利用型作物以外のモニタリング用植物で成幼虫の発生が確認される時期

#### 4. モニタリング用植物を利用したミナミアオカメムシの発生活長の調査事例

2014年に三重県農業研究所内で栽培したモニタリング用植物上でのミナミアオカメムシの成幼虫の発生活長の調査事例を図2に示した。

4月にコムギ、ナタネの花茎部で越冬世代成虫の発生が認められ、ナタネでは6月に第1世代の繁殖も確認された。その後、ゴマとオクラで7月に第1世代成虫の飛来が確認され、8月上旬には第2世代の繁殖も確認された。ダイズでは第2世代成虫とダイズで繁殖した第3世代成幼虫が確認された。

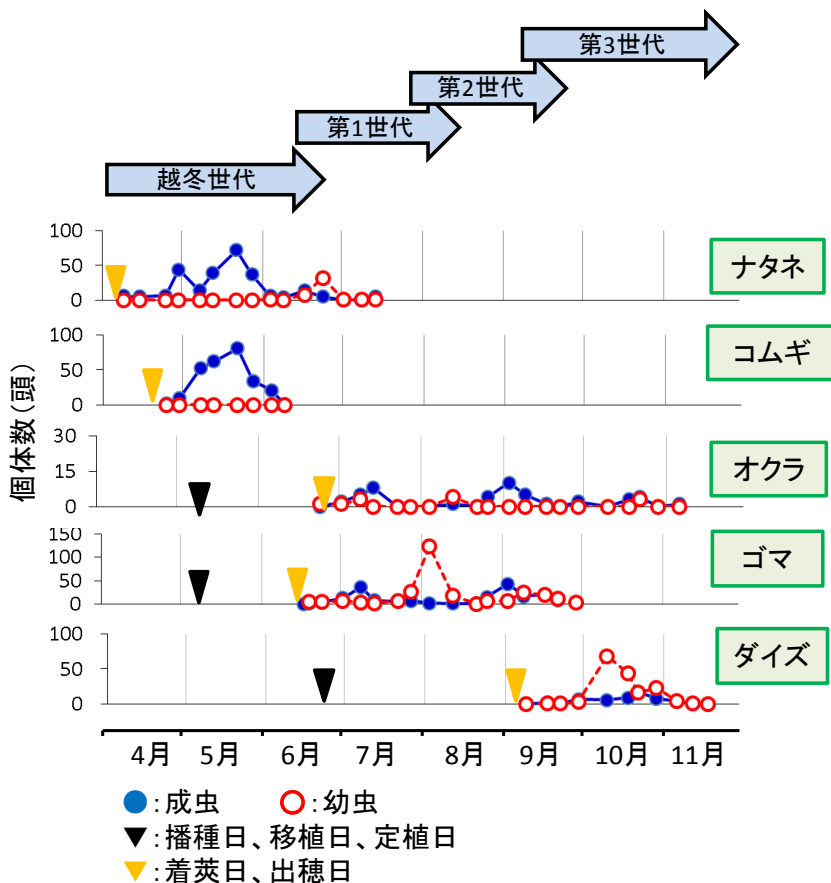


図2. モニタリング用植物上でのミナミアオカメムシの発生活長 (2014年、三重県農業研究所調査)

#### 5. 技術の利用上の留意点

三重県ではコムギ、早期水稻、ダイズの2年3作の輪作体系を行っている地域が多い。図1、表2に挙げたモニタリング用植物とその調査方法は、このような地域での調査結果をもとに選抜し、作成したものである。作付け体系が異なる地域では、モニタリング植物や調査方法が異なる可能性がある。

#### 参考文献

- 1) 桐谷圭治・法橋信彦 (1970) : ミナミアオカメムシ個体群の生態学的研究, 指定試験 (病虫害) 9, 農林水産技術会議事務局, 東京, 260pp.
- 2) 小出哲哉ら (2010) : 関西病虫研報 52: 163~165.
- 3) Velasco, L.R.I. et al. (1995) : J. Aust. entomol. soc 34: 193~203.
- 4) 水谷信夫 (2013) : 植物防疫 67: 595~601.
- 5) 芝田英明ら (2009) : 四国植防 44 : 13~22
- 6) 鈴木 賢ら (2011) : 関西病虫研報 53: 133~134.
- 7) 友国雅章ら (1993) : 日本原色カメムシ図鑑 全国農村教育協会.
- 8) 梅谷献二・岡田利承 : 「日本農業害虫大事典」 全国農村教育協会.  
(大仲 桂太・西野 実:三重県農業研究所)