

学 位 論 文 の 要 旨

論文題目 天敵利用における補助技術の開発研究

広島大学大学院 生物圏科学 研究科
環境循環系制御学 専攻

学生番号 D 146169

氏 名 西森 敬晃

農作物の害虫防除対策として、環境への影響などの問題から化学農薬の利用率は減少し、化学農薬の代わりに天敵を害虫防除に用いる生物的防除が用いられるようになってきた。様々な天敵の利用方法が確立されるとともに生物農薬として登録され、販売および利用されている。このように利用場面の増加した天敵であるが、飼育コスト、野外における天敵の害虫捕食行動の実態、有用天敵の必要性および天敵の識別に関する問題点が指摘されている。これらの問題点を解決することは天敵利用の利便性を高めるためにも急務であるといえる。本研究ではこれらの問題を解決し、総合的病害虫・雑草管理 Integrated Pest Management (IPM) の発展に役立つ補助技術の開発の可能性について考察を図った。

1. 天敵の低コスト化技術の開発

生物的防除に用いられる天敵の飼育コストは高い。例えばタイリクヒメハナカメムシ *Orius strigicollis* (Poppius) の飼育に用いられているスジコナマダラメイガ *Ephesttia kuehniella* (Zeller) の卵は非常に高価である。タイリクヒメハナカメムシは他の天敵と比較して大量にスジコナマダラメイガの卵を消費するため、飼育コストが比較的高い。そこで、海外においてヒメハナカメムシ類 *Orius* spp. の飼育の成功例が報告されているブラインシュリンプ *Artemia* sp. でタイリクヒメハナカメムシが飼育可能か検討した。実験には、無殻もしくは有殻ブラインシュリンプを用いた。両餌をタイリクヒメハナカメムシに供試し、発育期間、生存率および繁殖能力を記録した。記録したデータをスジコナマダラメイガの卵を供試した場合と比較した。無殻ブラインシュリンプでタイリクヒメハナカメムシを飼育することはできなかった。有殻ブラインシュリンプで飼育した場合の発育期間は有意な差があったが、約 1 日の差であった。生存率および繁殖能力にほぼ差はみられなかった。以上から、有殻ブラインシュリンプはスジコナマダラメイガの卵と同等の栄養をタイリクヒメハナカメムシに供給可能な代替餌であることを示した。また、本研究で用いた有殻ブラインシュリンプの価格はスジコナマダラメイガの卵の価格の約 5 分の 1 であり、飼育コストの低減も可能であることが明らかとなった。この代替餌をタイリクヒメハナカメムシの飼育に用いることで飼育コストを大幅に下げることが可能となる。

2. 天敵の評価法の開発

野外で広食性の天敵がどの害虫を捕食しているかは不明である。確認のためには捕食行動を直接観察する必要があるが技術的に困難である。近年、DNA 配列の解析による生物種の識別技術が野外における生物の捕食行動の解析に用いられるようになってきた。本研究では、野外に生息する広食性の天敵であるヒメハナカメムシ類の捕食行動を解析した。捕食行動を解析するためにヒメハナカメムシ類に対して餌メニュー解析を行った。解析にはミナミキイロアザミウマ *Thrips palmi* (Karny) およびワタアブラムシ *Aphis gossypii* (Glover) に特異的なプライマーを用いた。ヒメハナカメムシ類は 8 月から 10 月初めにかけて野外で採集したサンプルを用い

た。まず、ヒメハナカメムシ類の種特異的なプライマーを用いて種を識別した。次に、ミナミキイロアザミウマおよびワタアブラムシに特異的なプライマーを用いてヒメハナカメムシ類の餌メニュー解析を行った。ヒメハナカメムシ類の種識別のための PCR の結果、採集したヒメハナカメムシ類はコヒメハナカメムシ *Orius minutus* (L.), タイリクヒメハナカメムシ, ツヤヒメハナカメムシ *Orius nagaii* (Yasunaga) およびナミヒメハナカメムシ *Orius sauteri* (Poppius) の 4 種であった。これらの種間で採集された個体数は異なっていた。ミナミキイロアザミウマおよびワタアブラムシを捕食した個体数も種ごとに異なっていた。採集日ごとにそれぞれの天敵種が捕食した害虫種も異なっていた。以上の結果から、害虫に特異的なプライマーは天敵の餌メニュー解析に有用であることを示した。また、本技術は野外における天敵の有効な利用法を明らかにする手法として用いることが出来る。

3. 有用天敵の探索とその評価

生物的防除ではいろいろな天敵が利用されているが、利用場面の中には害虫防除能力を十分に発揮できない環境が存在する。例えば、温帯域に生息する天敵は短日条件下において休眠が誘導される。休眠した個体は発育や繁殖活動が見かけ上停止することから、天敵昆虫において短日条件下の休眠誘導が秋から春における導入利用の制限要因となる。本研究では、タイリクヒメハナカメムシの非休眠系統が確立可能か検討した。タイリクヒメハナカメムシは主に短日条件下の施設で害虫防除に利用されている。沖縄県で採集したタイリクヒメハナカメムシ系統を卵から成虫まで 20 °C, 5 つの光周期条件 (L 8: D 16, L 10: D 14, L 12: D 12, L 14: D 10, L 16: D 8) で飼育した。どの条件下でも雌成虫は成熟卵を有していたことから非休眠であることを確認した。また、繁殖能力およびミナミキイロアザミウマに対する機能の反応を本系統の害虫防除効果を評価するために調査した。繁殖能力試験は 26 °C, 16 L: D 8 光周期条件下で、ミナミキイロアザミウマに対する機能の反応は 20 °C, 16 L: D 8 光周期条件下でそれぞれ飼育実験を行った。繁殖能力はこれまでに報告されているタイリクヒメハナカメムシの産卵数とほぼ変わらなかった。機能の反応もこれまでに報告されているヒメハナカメムシ類の機能の反応の数値とほぼ同等であった。このことから本系統は害虫防除における天敵として非常に有用であることを示した。

4. 天敵の識別法の開発

天敵は種もしくは系統ごとに害虫防除効果が異なっている。これらの天敵種もしくは系統間の識別は害虫防除効果を明らかにするためにも重要である。害虫の卵に寄生する卵寄生蜂も多くの種が生物的防除要因として利用されている。卵寄生蜂の種間の識別は体長が微小であるために多くの時間を必要とし、誤同定も懸念されている。この問題を解決するため、DNA 配列を用いて多くの種間を識別可能な多段階 PCR 識別法が注目されている。本研究では日本産アメンボタマゴクロバチの識別に多段階 PCR 識別法が有効か検討した。アメンボ *Gerridae* の卵寄生蜂であるアメンボタマゴクロバチ *Tiphodytes* は識別が比較的容易である。日本産アメンボタマゴクロバチは多くの種もしくは系統が確認されている。このため、日本産アメンボタマゴクロバチは多段階 PCR 識別法の開発に適していた。本識別法のような DNA 配列を用いた識別法の開発のためには種もしくは系統レベルまで識別された標本が必要である。まず、形態観察および DNA 配列の解析による採集した卵寄生蜂の標本の種もしくは系統レベルまでの確認を行った。そして識別した標本の DNA 配列を基に識別法の開発を行った。結果、形態観察および DNA 配列の解析によって採集した日本産アメンボタマゴクロバチを種もしくは系統レベルまで確認することが出来た。そして、アメンボタマゴクロバチ種もしくは系統間の識別は 2 段階の PCR によって可能であった。多段階 PCR 識別法はアメンボタマゴクロバチの種もしくは系統の識別に有用であることを示した。このことから、本手法は体長が微小であるために識別に多くの時間を必要とし、誤同定も懸念されている卵寄生蜂の種間の識別に有用なツールとなり得る。

以上のことから、有殻ブラインシュリンプはスジコナマダラメイガの卵に代わる代替餌としてタイリクヒメハナカメムシの飼育に有用である事を明らかにした。本種の飼育コストが低減可能

であることを示した。害虫に特異的なプライマーは天敵の害虫捕食行動を解析可能であった。この解析法は天敵の評価法の 1 つとして有用であることを示した。タイリクヒメハナカメムシにおける完全な非休眠系統の確立は可能であった。害虫防除能力も従来の天敵の系統と比較して十分な能力を有した系統も確立可能であることを示した。また、多段階 PCR 識別法は日本産アメンボタマゴクロバチ種もしくは系統間を識別可能であった。本手法は体長が微小なために識別が困難な卵寄生蜂種もしくは系統間の識別に有用なツールとなり得ることを示した。したがって、これらの技術は天敵利用における補助技術として有効であると言える。