

令和元年6月6日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00579

研究課題名(和文) 生物農薬放飼による生態系への影響評価

研究課題名(英文) Evaluation of the impact on ecosystem by releasing natural enemy

研究代表者

三浦 一芸 (Miura, Kazuki)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・西日本農業研究センター・グループ長

研究者番号：10355133

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：タイリクヒメハナカメムシ(以下タイリク)は日本でアザミウマの防除に広く販売されている。販売しているタイリクはCI Wolbachiaに感染している。そのため、野外で感染雌の分布が拡大すると考えられる。そこで、分子生物学的手法を用いてWolbachiaの感染の有無やDNA解析をおこない、タイリクの感染系統の非感染系統への影響を検討した。放飼地域には天敵製剤由来と考えられる個体が多く採集される地域が存在した。放飼タイリクのWolbachia感染率は無放飼地域より高かった。しかし、放飼地域のmtDNAおよび核DNAの多様性は無放飼地域と変わらないことより天敵製剤は生態系への影響は低いと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

環境保全型農業を推進する上で「生態系食物連鎖を利用する」生物農薬は重要な防除手段である。しかし、生物農薬の無計画な放飼は生態系の攪乱を起こす可能性を秘めている。これまで環境省・農林水産省のガイドラインは生物農薬を導入する際に必要な事前評価のための判断基準や導入基準について必ずしも明確ではなかった。本研究の成果は、環境省・農林水産省に対して「生物農薬」や「八ナバチを含む有用昆虫」における政策課題に対して、導入生物の生態リスク管理の必要性を提言し、具体的事例および科学的データを蓄積して、環境省・農林水産省に対して対策の実行を促すことができる。

研究成果の概要(英文)：Orius strigicollis (OS) is one of the most useful biological control agents. The OS is commercially available in Japan as a biological control. Commercially OS is infected with CI Wolbachia. CI Wolbachia spread because infected females gain in fitness relative to uninfected females that can successfully reproduce only with uninfected males. If commercially OS is continued to be released, the distribution of infected OS is considered to be expanded in the field. Therefore, molecular biological methods were used to analyze Wolbachia infection and diversity of mtDNA and nDNA, and estimated the influence of commercially OS on native. In the release area, many OS was considered to be originated from commercially OS. The prevalence of Wolbachia infection of released OS was higher than that of native OS. However, commercially OS is considered to have a low impact on the ecosystem because the diversity of DNA of OS in the released area is the same as in the non-released.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：保全生態 生物的防除 共生微生物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、日本の農業では環境負荷低減のために、化学肥料や化学農薬の使用を制限した「環境保全型農業」を目指している。それに伴い本来自然が有する「捕食 - 被食」の関係を利用した生物的防除が必要となってきている。特に、在来昆虫への影響が少ない土着天敵が注目され、アリガタシマアザミウマやハモグリミドリヒメコバチなどが天敵製剤として登録されている。これら南方系の土着天敵は休眠性がないという利点があり、北方で使用しても生態系への影響が少ない。さらに、共生微生物の作用により産雌性単為生殖をおこなうため、大量増殖の際に交配の手順を省けるという利点もある。このように害虫防除技術にとって共生微生物の存在が重要となりつつある。

Wolbachia は有名な共生微生物の 1 つで、昆虫を含む多くの節足動物に感染している (O'Neill et al., 1992)。*Wolbachia* は宿主の細胞質に寄生し、経卵伝播により母から子へ感染する。そのため、宿主個体群内の感染雌頻度を上昇させるために宿主の生殖を操作することが知られている (Werren and O'Neill, 1997)。このような生殖操作現象に代表的なものとして細胞質不和合 (以下 CI) が挙げられる。CI はマラリアを媒介するハマダラカや、果実の重大害虫であるチチュウカイミバエの防除利用が将来的に期待されている (Bourtzis, 2008)。農業分野における *Wolbachia* の利用価値は高く、今後更なる研究が必要である。

一方、*Wolbachia* に感染している天敵を生物的防除に使用すると、野外個体群の遺伝的多様性に影響を与える可能性が指摘されている (Hunter, 1999)。CI は非感染雌と感染雄が交尾した場合に起こる。感染雌の方が非感染雌より繁殖において有利なため、特定の感染個体が宿主個体群内で分布拡大し、宿主のミトコンドリア遺伝子の多様性に影響を与える可能性がある。しかし、この観点から天敵と *Wolbachia* の相互作用を調査した研究はほとんどおこなわれていない。

2. 研究の目的

タイリクヒメハナカメムシ (以下タイリクヒメ) *Orius strigicollis* は日本で天敵製剤化されアザミウマの防除に広く販売されている。販売されている天敵製剤タイリクは CI を引き起こす *Wolbachia* に感染している (Watanabe et al., 2011, 2012)。そのため、野外で感染雌の分布が拡大すると考えられる。そこで、分子生物学的手法を用いて *Wolbachia* の感染の有無や DNA 解析をおこない、タイリクヒメの感染系統の非感染系統への影響を検討した結果を報告する。

3. 研究の方法

(1) 野外採集

本研究の調査に使用する生物農薬は販売されているすべてを対象とする。具体的には住友化学「オリスター-A」、アリスタ「タイリク」およびアグリ総研「リクトップ」を対象におこなう。野外調査する地域は天敵製剤が放飼されている地域と無放飼地域で行った。地域についてはすでに JA や県の指導普及員、農家および天敵製剤会社の放飼履歴を参考に複数地域を選定した。

(2) 分子生物学的手法を利用した定量的調査

生物農薬と野外個体群の遺伝的多様性を調査するため、核遺伝子はマイクロサテライト領域 (Hinomoto et al., 2006) およびミトコンドリア遺伝子は COI 領域 (Simon et al., 2006 など) を解析した。ヒメハナカメムシの同定には Hinomoto et al. (2004) のプライマーを利用した。また、各地域の *Wolbachia* 感染系統を調査した。同定には *Wolbachia* の *wsp* 領域に特異的なプライマーを使用した。

(3) 集団遺伝学的解析

得られた分子データを利用して以下の解析を行った。マイクロサテライトの解析結果をもとに野外集団にどれくらい生物農薬個体が浸透しているかを GeneClass2 を用いてアサインメントテストで解析した。これにより放飼地域でどれくらい市販の生物農薬が侵入しているかが明らかになった。さらに、野外集団の遺伝的構造を検討するために STRUCTURE 2.3.4 で解析した。これにより放飼地域と天敵製剤の遺伝的構造の類似性が明らかになった。さらに遺伝的多様性をハプロタイプネットワーク (TCS 1.21)、*Wolbachia* 感染率の比較 (ロジスティック回帰分析)、遺伝的多様性を Analysis of MOlecular VAriance (AMOVA) 解析 (Arlequin 3.5) で行った。また、放飼地域と無放飼地域のミトコンドリア遺伝子の多様性が中立的であるか検討した。

4. 研究成果

1) アサインメントテスト・遺伝的構造

GeneClass2 により各地域のタイリクヒメハナカメムシの由来を解析した (表 1)。その結果、放飼地域では生物農薬由来の個体と考えられる確率が高い地域が存在した。STRUCTURE での解析の結果、天敵製剤と放飼地域の遺伝的構造は比較的類似していた。

2) ハプロタイプと *Wolbachia* の感染率

調査したタイリクヒメハナカメムシのハプロタイプは比較的少なかった。無放飼地域でも放飼地域でもハプロタイプ 1 と 4 で大半を占めた (表 2・3)。一方、*Wolbachia* の感染率は無放飼地域と放飼地域で有意な差は認められなかった (表 4)。

3) タイリクヒメハナカメムシの遺伝的多様性

放飼地域の個体の mtDNA は無放飼地域より多様性が高かった。一方、nDNA は多様性が低かった。しかし、地域に依存せずに分化の程度は低かった (図 1)。

これらの結果から放飼した個体による既存の生態系への影響は低いと考えられた。しかし、今後どのような影響を示すかは定量的な調査を引き続き行わなければいけない。

表1 アサイメントテスト結果

地域名	n	SUMI由来確率	ARI由来確率	RIKU由来確率	天敵製剤由来確率	
無放飼地域	NKAGA	21	0.095	0.095	0.000	0.190
	NNIJU	16	0.000	0.000	0.000	0.000
	NNISHI	19	0.000	0.053	0.105	0.158
	NNISHTO	16	0.000	0.125	0.063	0.188
	NKASA	16	0.000	0.063	0.000	0.063
放飼地域	NFUKU	13	0.000	0.000	0.000	0.000
	RSAIBU	15	0.067	0.067	0.000	0.133
	RKARA	22	0.045	0.045	0.000	0.091
	RAIR	7	0.143	0.000	0.143	0.286
天敵製剤	RTOKU	36	0.028	0.417	0.000	0.444
	SUMI	17	0.824	0.176	0.000	1.000
	ARI	8	0.125	0.750	0.000	0.875
	RIKU	8	0.000	0.250	0.500	0.750

SUMI (オリスターA) \ ARI (タイリク) \ RIKU (リクトップ)

表2 無放飼地域と放飼地域でのハプロタイプ

Haplotypes	無放飼	n	放飼	n
1	56.67	51	66.67	44
2	5.56	5	0.00	0
3	4.44	4	0.00	0
4	31.11	28	31.82	21
5	2.22	2	0.00	0
6	0.00	0	1.52	1

表3 放飼区と無放飼区でのタイリクヒメハナカメムシ
Analysis of MOlecular VAriance(AMOVA)解析結果 (Arlequin3.5 で解析)

	haplotypes	SSR
F _{SC}	0.298**	0.034**
F _{ST}	0.265**	0.061**
F _{CT}	-0.047	0.028**

表4 地域ごとの *Wolbachia* 感染率の比較

wOri1+2率	尤度比検定	ロジスティック回帰分析
無放飼地域vs放飼地域	0.1246	有意差無
無放飼地域vs天敵製剤	<0.0001	有意差有
放飼地域vs天敵製剤	0.0024	有意差有

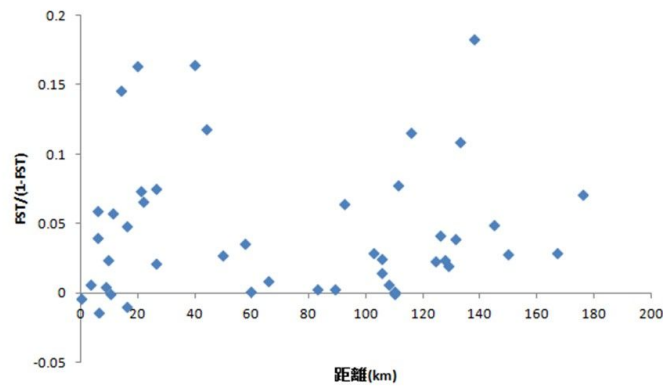


図1 タイリクヒメハナカメムシ集団間の空間距離と遺伝距離の関係

5. 主な発表論文等

[学会発表](計4件)

- 1) 三浦一芸(2018) 生物農薬タイリクヒメハナカメムシの遺伝的構造 2018年度日本昆虫学会名古屋大会
- 2) 三浦一芸(2017) *Wolbachia*感染生物農薬の生態系への影響 日本昆虫学会松山大会
- 3) Miura, K. (2017) *Wolbachia* infection in *Orius strigicollis* Poppius (Heteroptera, Anthocoridae) causes cytoplasmic incompatibility: implications for biological control IEICS, Kyoto
- 4) 三浦一芸(2016) 生物農薬の生態系への影響を考える. 2016年度日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部合同例会

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。