

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07500

研究課題名(和文) サクラを加害する侵略的外来種カミキリムシの樹木非侵襲的検出手法の確立

研究課題名(英文) Noninvasive method for detecting an invasive longicorn beetle in cherry trees

研究代表者

加賀谷 悦子 (Shoda-Kagaya, Etsuko)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：70353729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：侵略的外来種であるクビアカツヤカミキリのもとの疑われるフラスを7地点で採集し、複数の抽出キットを用いてDNAを抽出した。抽出したDNAを鋳型にユニバーサルプライマーを用いてミトコンドリアDNA CO1領域を増幅した。DNA抽出キットによっては鋳型として不良となることが判明した。適切に抽出すると95%のサンプルで同領域が増幅できた。未被害地のサンプルも解析できクビアカツヤカミキリのものではなくゴマダラカミキリのものであった。本手法を用いることで、侵入が警戒されていた地域で未侵入であるという確認ができた。増幅箇所内部に対象種に特異的なプライマーを設計して、フラスによる他種との識別を可能にした。

研究成果の概要(英文)：Frass suspected to have emitted by invasive beetle *Aromia bungii* from cherry trees were collected from seven locations. DNA was extracted using some molecular experiment kits. Mitochondrial DNA CO1 region was amplified with universal primers. Some kits were failed to extract DNA from frass. With an adequate method, we can successfully amplified 95% samples. Frass from none damaging area were shown to have emitted by other native longicorn beetles. We designed internal primers which are specific to *A. bungii* and the molecular method to identify *A. bungii* invasion using frass from a damaged Rosaceae trees was developed.

研究分野：森林科学

キーワード：クビアカツヤカミキリ 外来生物 DNA PCR

1. 研究開始当初の背景

サクラを加害する外来種クビアカツヤカミキリ *Aromia bungii* (図1) が国内で検出され、その駆除と研究が喫緊の課題となっている。サクラの他、ウメやモモも加害するが、日本での被害本数はサクラが最も多い。生息調査は、早期のクビアカツヤカミキリ被害対策のために必須である。しかし、本種は樹幹内で幼虫が发育する穿孔性害虫のため、その被害発見と確定が遅くなることが多い。被害が疑われる箇所を掘り取るとサクラでは腐朽が進行してしまうことがあり、問題となる。樹幹を傷つせずに早期に被害が確定できる手法開発が求められていた。

近年、DNA バーコーディングの手法が定着してきており、動物ではミトコンドリア DNA を用いた種同定手法の開発が進められている。その手法を応用し、クビアカツヤカミキリの被害を検出する方法を着想した。



図 1 クビアカツヤカミキリの雄成虫

2. 研究の目的

クビアカツヤカミキリの幼虫は木の樹皮に数ミリの穴をあけ、そこからフラス(虫糞と木屑の混合物)を排出する。生きているサクラに穿孔しフラスを排出する他の昆虫にはコスカシバやゴマダラカミキリがあり、目視だけで中にいる種を示すことは難しい。本研究は樹体を傷つけることなく被害を確定するために、加害が疑われる樹木から排出されるフラスを用いて、クビアカツヤカミキリの被害を検出する方法を確立することを目的とする。

はじめに、クビアカツヤカミキリ成虫から DNA を抽出し、固有の遺伝的特徴を特定し、他の種との判別方法を確立する。引き続き、さまざまな条件下でサクラの樹体から排出されるフラスを採集し、遺伝子実験で判定可能なサンプルの採集法及び保存法を明らかにする。

3. 研究の方法

樹幹から排出されるフラスから、1) 昆虫の DNA が回収できたのかを確認する方法、および 2) その昆虫がクビアカツヤカミキリなのかを同定する方法を開発する。はじめに、本種個体から DNA を抽出し、固有の遺伝的特徴を特定する。サクラの樹体から排出されるフラスをさまざまな条件下で採集し、遺伝的に判定可能なサンプルの採集法及び保存法を明らかにする。在来他種との配列の比較から、本種を判別するためのプライマー対を特定する。

4. 研究成果

はじめに、クビアカツヤカミキリ、コスカシバのミトコンドリア DNA CO1 を解析し塩基配列を決定し、ゴマダラカミキリの情報をデータベースから得た。



図 2 フラスの採集方法

クビアカツヤカミキリのもものと疑われるフラスを7地点で採集し(図2)複数の抽出キットを用いて DNA を抽出した。抽出した DNA を鋳型に、ユニバーサルプライマーを用いてミトコンドリア DNA CO1 領域を増幅した。DNA 抽出キットによっては抽出が不良となることが判明した。フラスは地面に長期間堆積したものでは、解析は不良となる。適切に抽出すると 95%のサンプルで同領域が増幅できた。以上で、フラスから本種の DNA を抽出する方法を確立した。

サクラを加害するコスカシバとゴマダラカミキリのフラスも解析可能であった。

未被害地のサンプルも解析でき、ともにクビアカツヤカミキリのもものではなくゴマダラカミキリのものであった。本手法を用いることで、侵入が警戒されていた地域で未侵入であるという確認ができた。増幅箇所内部に対象種に特異的なプライマーを設計して、PCR 条件を最適化し、フラスによる他種との識別を可能にした(図3)。

クビアカツヤカミキリ被害検出方法の概略

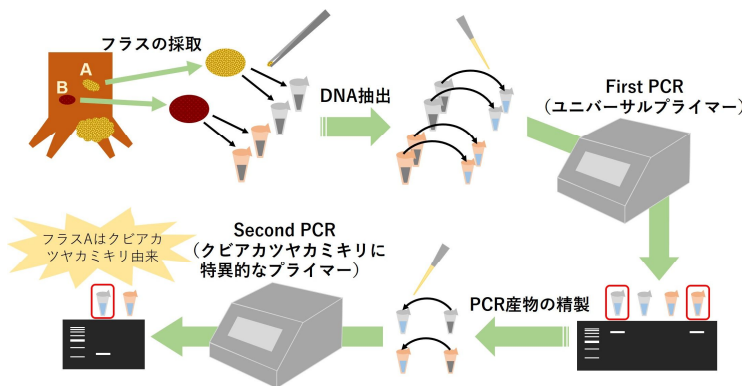


図 3 サクラ非侵襲的なクビアカツヤカミキリ *Aromia bungii* の検出法
被害が疑われる木からフラスを採集し、キットを用いて DNA を抽出する。抽出物からユニバーサルプライマーを用いて初回の PCR を行い、昆虫由来の DNA の抽出に成功したのかを確認する。その産物を精製し、2 回目の PCR でそのフラスがクビアカツヤカミキリのものかを判定する。

また、研究の最後にそれらの被害判定手法を活用して、被害情報が関係者間で共有できるよう GIS システムを試作し、本研究の成果とした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

浦野忠久、加賀谷悦子 人工飼料を用いたクビアカツヤカミキリ室内飼育幼虫の発育、関東森林研究、査読有、Vol. 69、2018、ページ未定

加賀谷悦子 サクラ・ウメ・モモ等バラ科樹木を加害するクビアカツヤカミキリ *Aromia bungii* の侵入とその防除法、樹木医学研究、査読有、Vol.22、2018、pp.68-72

浦野忠久、加賀谷悦子 クビアカツヤカミキリ *Aromia bungii* (コウチュウ目:カミキリムシ科) 飼育個体の寿命と生涯産卵数、関東森林研究、査読有、Vol. 68 (1)、2017、pp.25-28

加賀谷悦子、上田明良、升屋勇人、神崎菜摘 アメリカマツノキクイムシ(甲虫目:キクイムシ科)の生態と随伴生物:日本への侵入リスクの考察のために、日本応用動物昆虫学会誌、査読有、Vol.60、2016、pp.77-86

桐山哲、岩田隆太郎、加賀谷悦子 群馬県館林市・東京都福生市で発生が確認されたサクラ・ウメ等を加害する外来種クビアカツヤカミキリ、植物防疫、査読有、Vol.69(12)、pp.31-33

〔学会発表〕(計 10 件)

加賀谷悦子、浦野忠久 クビアカツヤカミキリの侵入と被害の拡散、第 62 回日本応用動物昆虫学会大会、2018 年

加賀谷悦子 樹液流出が著しいサクラ樹幹内におけるクビアカツヤカミキリ幼虫の生存、第 129 回日本森林学会大会、2018 年

松本剛史、所雅彦、加賀谷悦子 クビアカツヤカミキリの合成フェロモントラップで捕獲された昆虫類の組成、第 62 回日本応用動物昆虫学会大会、2018 年

加賀谷悦子 クビアカツヤカミキリが日本にきた:5年間で起こったこと、第 62 回日本応用動物昆虫学会大会森林昆虫談話会、2018 年

加賀谷悦子 ついた島は宝の山 - サクラ・ウメ・モモを加害するクビアカツヤカミキリの被害と対策、第 4 回生きものフォーラム 増加する外来の虫たち! ~現状と対策を考える~、2018 年

加賀谷悦子 侵入害虫クビアカツヤカミキリの被害状況と防除対策、第 32 回報農会シンポジウム 植物保護ハイビジョン-、2017 年

桐山哲、加納正行、岩田隆太郎、加賀谷悦子 侵入発見から 5 年経過した埼玉県草加市・八潮市の外来種クビアカツヤカミキリに対する防除活動と現状、第 68 回日本昆虫学会大会、2017 年

所雅彦、松本剛史、高梨琢磨、滝久智、浦野忠久、加賀谷悦子 東京都あきる野市におけるサクラ等の外来害虫 クビアカツヤカミキリ (*Aromia bungii*) のフェロモンを用いた誘引試験の結果、第 7 回関東森林学会大会、2017 年

桐山哲、所雅彦、深谷緑、中山雄飛、滝久智、加賀谷悦子、岩田隆太郎 外来種クビアカツヤカミキリ成虫に対する揮発性雄性・集合フェロモンと糖酢液を併用した複合誘引物の誘引性の検証、第 29 回日本環境動物昆虫学会年次大会、2017 年

衣浦晴生、山本優一、城塚可奈子、所雅彦、加賀谷悦子 サクラ等の外来害虫クビアカ

ツヤカミキリの成虫ルアートラップによる
誘引試験、樹木医学会第22回大会、2017年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加賀谷 悦子 (Etsuko Shoda-Kagaya)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・

森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：70353729

(2) 研究協力者

田村 繁明 (Shigeaki Tamura)