

天敵維持効果の高い野生植物とカブリダニ類の発生動態の関係

—岡山県のモモ圃場での調査—

宇都宮大学農学部 ^{その}園 ^だ田 ^{しょう}昌 ^じ司

はじめに

カブリダニはハダニ、アザミウマ、コナジラミ等の微小害虫の保全的生物防除因子として広く認識されている (McMURTRY and CROFT, 1997 ほか)。カブリダニの保全的生物防除因子としての機能を強化する天敵温存植物 (インセクタリープランツ) として、海外のカンキツ圃場では、キク科のカッコウアザミ *Ageratum conyzoides* や *Eupatorium pauciflorum*, イネ科のアフリカヒゲシバ *Chloris gayana* やオニウシノケグサ *Festuca arundinacea* 等が報告されている (SMITH and PAPACEK, 1991; GRAVENA et al., 1993; LIANG and HUANG, 1994; AGUILAR-FENOLLOSA et al., 2011)。一方、我が国の露地果樹圃場において、土着の野生植物種の中からカブリダニの天敵温存植物を選抜し、その効果を検証した例はほとんどない。本稿ではまず、岡山県のモモ圃場に繁茂する野生植物の中から、天敵温存植物の選抜を試みた。

日本では90種のカブリダニが知られている (江原・後藤, 2009)。カブリダニの形態学的な特徴に基づく分類は時として困難を伴う。さらに、大量のカブリダニを同時に解析することはほとんど不可能に近い。以前筆者らは、モモ果そう葉で採集された多数のカブリダニを一度に解析し、種構成を推定する手法を確立した (SONODA et al., 2012; 園田, 2012) (以下従来法と記述)。従来法は5種のカブリダニ (ミヤコカブリダニ *Neoseiulus californicus*, ニセラーゴカブリダニ *Amblyseius eharai*, ケナガカブリダニ *Neoseiulus womersleyi*, ミチノクカブリダニ *Amblyseius tsugawai*, コウズケカブリダニ *Euseius sojaensis*) を解析対象としたものであった。ところが、その後の調査により、筆者らの調査したモモ圃場には5種以外のカブリダニが生息していることが明らかとなっ

た。そこで本稿では、新たに見つかったカブリダニ種も含めて解析できるように従来法の改良 (以下改良法と記述) を行い、モモ果そう葉と下草の野生植物におけるカブリダニの種構成を調べた。そのうえで、ミヤコカブリダニ、ニセラーゴカブリダニ、コウズケカブリダニのみで構成されていることが示されたサンプルを選び、各カブリダニ種の下草からモモ果そう葉への移動について検証した。

本研究は農林水産省委託プロジェクト研究「土着天敵を有効活用した害虫防除システムの開発」(土着天敵プロ) における課題「果樹栽培において土着天敵資源を有効に活用するための植生管理技術の開発」の一部として実施した。

I 調査圃場および調査方法

1 調査圃場

調査圃場の害虫および下草に対する管理体系を以下に示した。防除暦などの詳細については, WARI et al. (2014; 2015) を参照していただきたい。

- 圃場 I: JAS 認定有機栽培圃場, 機械除草 (下草有)
- 圃場 II: 慣行栽培圃場, 機械除草 (下草有)
- 圃場 III: 慣行栽培圃場, 除草剤使用 (下草無)
- 圃場 IV: 特別栽培圃場, 機械除草 (下草有)
- 圃場 V: 慣行栽培圃場, 機械除草 (下草有)
- 圃場 VI: 慣行栽培圃場, 機械除草 (下草有)

2 サンプリング

2012年におけるハダニおよびカブリダニのサンプリングでは、各圃場に調査樹を8樹設定し、1回の調査につき、1樹当たり20枚の果そう葉 (合計160葉) を採取した。ハダニとカブリダニは、圃場ごとにまとめて、ハダニ払落調査器 (大起理化工業) を用いて、99.5%エタノールを充てんしたガラスシャーレに回収した。調査は、4月23日から11月12日まで、基本的に1週間ごとに行った。

2013年以降は、各圃場に調査樹を5~9樹設定し、1回の調査につき、1樹当たり30枚の果そう葉を採取した。ハダニとカブリダニは、上記手法により調査樹ごとにま

Wild Plants Harboring Large Quantities of Natural Enemies and Their Relation with Phytoseiid Mite Occurrence at Peach Orchards in Okayama Prefecture. By Shoji SONODA

(キーワード: ジェネラリスト捕食者, 植生管理, カブリダニ, 種構成, ハダニ, 天敵温存植物)

とめて回収した。2013年の調査は、5月2日から10月22日まで、基本的に1週間ごとに行った。

野生植物のサンプリングは、除草剤を使用した圃場(圃場Ⅲ)以外の5圃場およびその周辺において行った。各圃場およびその周辺において十分量存在している野生植物を対象に、「11号のビニール袋(20cm×30cm)に入りきる程度」を目安にサンプリングを行った。サンプリングした野生植物は生体重を計測した後、70%エタノールに浸漬し、カブリダニおよびハダニの洗い出しを行い、それぞれの個体数を調べた。これらの作業を2012年4月23日から2012年10月28日まで、基本的に1週間ごとに行った。

サンプリングしたハダニは実体顕微鏡で分類した。カブリダニに関しては、種、性、発育ステージにかかわらず、DNA抽出まで99.5%エタノール中で保存した。

3 モモ果そう葉と下草に生息するカブリダニ種の同定と種特異的塩基配列部位の検出

カブリダニの種構成推定に関する従来法は、上述の5種のカブリダニを解析対象としたものであった。ところ

が、その後の調査により、モモ果そう葉において新たにフツウカブリダニ *Typhlodromus vulgaris* が確認された。また、下草の野生植物ではモモ果そう葉で確認されたフツウカブリダニを含む6種に加えて、オキナワカブリダニ *Scapulaseius okinawanus*、マクワカブリダニ *Neoseiulus makuwa* の生息が確認された。そこで、これら新たに確認されたカブリダニを解析できるように従来法の改良を試みることにした。

調査したモモ圃場での生息が確認された8種の28SリボソームDNAの塩基配列をClustalW (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>)を用いて比較し、それぞれの種ごとに塩基配列が他の7種とは異なる部位(種特異的塩基配列部位)を探索した。種構成推定に必須の作業であるダイレクトシーケンシングにおける利便性(1回の分析ですべての部位を解析できることが望ましい)を考え、492番目、705番目、624番目、652番目、465番目、656番目、475番目、479番目の塩基をそれぞれ、ミヤコカブリダニ、ケナガカブリダニ、ニセラーゴカブリダニ、ミチノクカブリダニ、コウズケカブリダニ、フツウカブリダニ、オ



図-1 カブリダニ8種の28Sリボソーム遺伝子配列
 Ae: ニセラーゴカブリダニ, So: オキナワカブリダニ, Nw: ケナガカブリダニ,
 Nm: マクワカブリダニ, Tv: フツウカブリダニ, Es: コウズケカブリダニ, Nc:
 ミヤコカブリダニ, At: ミチノクカブリダニ. 三角は種特異的塩基配列部位を示す.
 WARI et al. (2014) を改変.

キナワカブリダニ、マクワカブリダニの種特異的塩基配列部位とした (図-1)。

4 カブリダニの種構成推定法 (改良法) の確立

本手法の詳細については、既報の論文 (WARI et al., 2014; 2015) を参照していただきたい。ここでは採集されたサンプルのおおまかな解析手順についてのみを記す。

1) 採集されたカブリダニよりゲノム DNA を抽出し、二つのプライマー (rD43: 5'-gacccgctgaacttaagcat-3' と rD13dp: 5'-cgtgtttcaagcaggggtcaataact-3') を用いて PCR を行う。

2) PCR 産物のダイレクトシーケンシングをプライマー (rD25: 5'-gggaaagtgaagaactc-3') を用いて行う。

3) 塩基配列のクロマトグラム上の各種特異的塩基配列部位 (図-1) を観察し、二つのピークが存在するかどうかを確認する。二つのピークの存在は、解析に用いたカブリダニの DNA サンプルに当該カブリダニ種が含まれていることを意味する。二つのピークが認められた場合は、各ピークの高さを計測する (実測値)。筆者は Power Point (Microsoft) を用いてピークの高さを計測している。

4) あらかじめ混合比のわかっているカブリダニの DNA サンプルを用いて算出した二次回帰式 (WARI et al., 2014) に実測値を当てはめ、補正を行う (補正值)。種ごとに算出された補正值の合計は必ずしも 100% とはならない。そのためデータとして公表する際には合計が 100% となるように再度補正を加える。目視による実測値が 0 もしくは 1.0 の場合は、二次回帰式にあてはめることなく、0% もしくは 100% として扱う。

注意すべき点は、本手法で推定される種構成は各カブリダニの生物量 (DNA 量) を反映したものであり、個体数を反映したものではないことである。

5 カブリダニからのカタバミハダニ DNA の検出

改良法でミヤコカブリダニ、ニセラーゴカブリダニ、コウズケカブリダニのみで構成されることが示された、モモ果そう葉で採集されたカブリダニの DNA サンプルを用いて、カタバミハダニ *Petrobia harti* のリボソーム遺伝子の ITS (internal transcribed spacer) 配列を増幅した。まず、二つのプライマー (Ph-ITS-5'-1: 5'-gcataaattctgctgggtgac-3' と Ph-ITS-3'-1: 5'-ctgtggcactactcctctg-3') を用いて PCR を行った。この PCR 産物を鋳型として、新たな二つのプライマー (Ph-ITS-5'-2: 5'-taccatccattagtgcggtg-3' と Ph-ITS-3'-2: 5'-caccgctgtaggtgtatct-3') を用いてカタバミハダニ特異的な ITS 断片 (416 bp) を増幅した。

II 天敵温存植物 (ヤイトバナ, カタバミ, イヌタデ) の選抜

調査期間中、のべ 219 種の野生植物においてカブリダニとハダニの個体数調査を行った。調査した野生植物の種数とカブリダニが採集された野生植物の種数を調査月ごとに表-1 に示した。カブリダニが採集された野生植物の種数は 4 月には非常に限られていたが、その後増加し、7 月には調査した野生植物の 83% からカブリダニが採集された (表-1) (WARI et al., 2014)。カブリダニは非常に幅広い植物種において生息あるいは活動していることがうかがえる。

調査した野生植物 (草本) のうち、採集されたカブリダニの個体数が多いものについて、上位 5 種を調査月ごとに示した (表-2) (WARI et al., 2014)。5 月と 6 月に最も多くのカブリダニが採集されたのはオオイヌノフグリ *Veronica persica* であった。ただし、オオイヌノフグリは、ハダニの発生源となる可能性があるため (表-2)、天敵温存植物候補からは外すべきと考えている。7~9 月にかけて最も多くのカブリダニが回収されたのはヤイトバナ (ヘクソカズラ) *Paederia foetida* (口絵, 表-2) であった。10 月はヤイトバナよりもイヌタデ *Persicaria longiseta* (口絵, 表-2) においてより多くのカブリダニが採集された。カタバミ *Oxalis corniculata* (口絵, 表-2) でも 6 月, 7 月, 9 月には多くのカブリダニが採集された。カタバミにおいて多くのカブリダニが採集されたのは、カタバミハダニという餌資源が存在しているからなのかもしれない (表-2)。カブリダニがヤイトバナとイヌタデにおいて多く見られた理由については不明である。

上に述べたヤイトバナ, イヌタデ, カタバミにおけるカブリダニ密度 (個体数/生体重) は必ずしも調査した野生植物の中で最も高かったわけではない。しかしながら、これらの植物は調査した圃場内ではごく普通に繁茂し、その生物量も多いため、圃場全体としてはより多くのカブリダニを温存し、ハダニ密度抑制因子としての機能を強化している可能性がある。海外のブドウ圃場では、

表-1 調査した野生植物種数およびカブリダニが見つかった野生植物種数

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月
調査した野生植物種数	32	41	35	41	34	40	44
カブリダニが見つかった種数	1	14	28	34	21	32	33
発見効率率 (%)	3.1	34.1	80.0	82.9	61.8	80.0	75.0

表-2 カブリダニが見つかった野生植物種上位10種とハダニ量(4~10月)

調査月	野生植物種	カブリダニ		カンザワハダニ		クワオオハダニ		ミカンハダニ		カタバミハダニ	
		個体数	個体数/ 生体重	個体数	個体数/ 生体重	個体数	個体数/ 生体重	個体数	個体数/ 生体重	個体数	個体数/ 生体重
4月	ホトケノザ	2	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-
5月	オオイヌノフグリ	34	0.08	41	0.10	-	-	-	-	-	-
	セイトカアワダチソウ	15	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-
	ヤイトバナ	8	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-
	タンポポ属	5	0.03	2	0.01	-	-	-	-	-	-
	オニタビラコ	5	0.03	2	0.01	-	-	-	-	-	-
6月	オオイヌノフグリ	218	0.45	24	0.05	1	0.00	-	-	-	-
	カタバミ	92	0.11	1	0.00	8	0.01	-	-	137	0.17
	ヤイトバナ	67	0.33	-	-	-	-	-	-	-	-
	ヒナタイノコヅチ	53	0.25	-	-	-	-	-	-	-	-
	シロツメクサ	30	0.06	1	0.00	3	0.01	-	-	-	-
7月	ヤイトバナ	310	0.59	-	-	-	-	-	-	-	-
	カタバミ	207	0.27	1	0.01	-	-	-	-	-	-
	ツユクサ	124	0.24	-	-	-	-	-	-	-	-
	シロツメクサ	79	0.32	-	-	-	-	-	-	-	-
	ヨウシュヤマゴボウ	56	0.25	9	0.04	-	-	-	-	-	-
	マルバアサガオ	44	1.32	-	-	-	-	-	-	-	-
8月	ヤイトバナ	154	0.67	4	0.02	-	-	-	-	-	-
	タンポポ属	66	0.50	-	-	-	-	-	-	-	-
	オニタビラコ	36	0.96	2	0.05	-	-	-	-	-	-
	アオツヅラフジ	27	0.70	2	0.05	-	-	-	-	-	-
	アメリカイヌホオズキ	26	0.66	-	-	-	-	-	-	-	-
9月	ヤイトバナ	219	0.65	2	0.01	3	0.01	-	-	-	-
	カタバミ	107	0.25	-	-	-	-	-	-	328	0.76
	エノキグサ	79	0.55	-	-	-	-	-	-	-	-
	マルバアメリカアサガオ	77	0.64	-	-	-	-	-	-	-	-
	アメリカイヌホオズキ	68	0.19	-	-	-	-	-	-	-	-
10月	イヌタデ	119	0.37	-	-	-	-	-	-	-	-
	ヤイトバナ	91	0.24	-	-	-	-	-	-	-	-
	アメリカイヌホオズキ	69	0.18	-	-	-	-	-	-	-	-
	オニタビラコ	64	0.45	-	-	-	-	-	-	-	-
	ツユクサ	60	0.12	-	-	-	-	-	-	-	-

ゼニアオイ属 *Malva* (アオイ科), ダイコン属 *Raphanus* (アブラナ科), ヒユ属 *Amaranthus* (ヒユ科), ツユクサ属 *Commelina* (ツユクサ科), イズハハコ属 *Conyza* (キク科), メヒシバ属 *Digitaria* (イネ科), オヒシバ属 *Eleusine* (イネ科), サツマイモ属 *Ipomoea* (ヒルガオ科), ノゲシ属 *Sonchus* (キク科) の植物において (De Villiers and Pringle, 2007; 2011), リンゴ圃場ではシャジクソウ属 *Trifolium* (マメ科), タンポポ属 *Taraxacum* (キク科), アキノキリンソウ属 *Solidago* (キク科) の植物においてカブリダニが見ついている (Bugg and Waddington, 1994; Coli et al., 1994)。本研究でもセイトカアワダチ

ソウや外来タンポポにおいてカブリダニが見られた (表-2)。しかしながら、これらの植物のモモ圃場における分布はパッチ状であり、生物量もそれほど大きくない (各野生植物の相対量は、周辺地域の植物相、圃場の環境条件、草刈り頻度や刈り取り高等の管理方法の影響を受け、セイトカアワダチソウなど農作業の妨げとなる大型草本の繁茂は抑えられている)。そのため、カブリダニの天敵温存植物としての重要度は相対的に低いと考えられる。また、セイトカアワダチソウ、外来タンポポはともに、環境省の定める要注外来生物であるため、天敵温存植物候補から外すことが望ましいと考えている。

III 改良法を用いたモモ果そう葉と下草におけるカブリダニの種構成の推定

改良法によって推定されたモモ果そう葉におけるカブリダニの種構成を図-2に示した。一般に、下草のない慣行栽培圃場（圃場III）ではミヤコカブリダニが優占種であった。その他の慣行栽培圃場（圃場II, 圃場V,

圃場VI; いずれも下草有）では、ミヤコカブリダニよりもニセラーゴカブリダニが優占していた。特別栽培圃場（圃場IV, 下草有）ではさらにニセラーゴカブリダニの割合が高くなった。有機栽培圃場（圃場I, 下草有）ではコズケカブリダニが優占種であった。この傾向は、圃場レベル（2012年）でも個々の樹レベル（2013年以降）でも同様であった。同様に圃場I, 圃場II, 圃

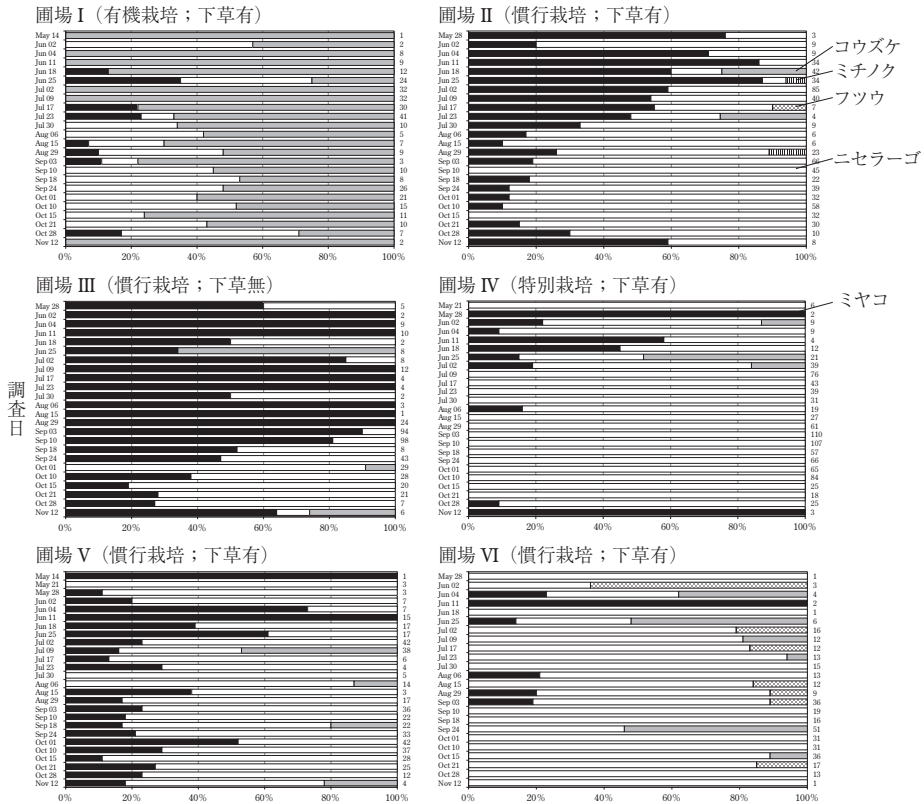


図-2 モモ果そう葉におけるカブリダニの種構成 (2012年)
 グラフの右側の数値は解析したカブリダニ数を示す。WARI et al. (2014) を改変。

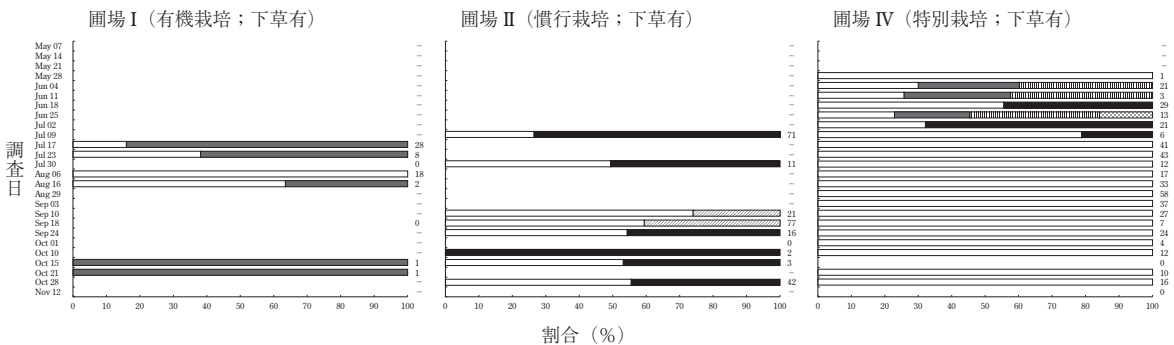


図-3 ヤイトバナにおけるカブリダニの種構成
 グラフの右側の数値は解析したカブリダニ数を示す。WARI et al. (2014) を改変。

場Ⅳの下草(オオイヌノフグリ, カタバミ, ヤイトバナ, イヌタデ)において採集されたカブリダニの種構成も調べた。その結果, 下草とモモ果そう葉におけるカブリダニの種構成は類似していることが示された(ヤイトバナの結果を図-3に示す)。それでは, 下草に生息するカブリダニはモモ果そう葉へ移動するのであろうか? この点は, 下草の有効利用によるカブリダニのハダニ密度抑制機能の強化を考えるうえで重要である。

Ⅳ カブリダニの下草からモモ果そう葉への移動

韓国のカンキツ圃場ではミヤコカブリダニは下草で越冬する(KAWASHIMA and JUNG, 2010)。一方, ニセラーゴカブリダニは同国のカキ圃場では樹上で越冬するという(KAWASHIMA, 未発表)。コウズケカブリダニの越冬場所については不明であるが, 同属の *Euseius finlandicus* はギリシャのモモ圃場では樹上で越冬する(BROUFAS et al., 2002)。モモ果そう葉で発生するミヤコカブリダニの供給源は主に下草であると推測されるが, 他の2種が下草から供給されるのかどうかは不明である。

上で述べた通り, カブリダニの温存植物として選抜されたカタバミには多数のカタバミハダニが寄生していた。カタバミハダニは世界中に分布するが, 通常カタバミ属 *Oxalis* の植物のみに寄生する。筆者の経験上, モモ果そう葉からカタバミハダニが回収されたことはない。そのため, モモ果そう葉で採集されたカブリダニからカタバミハダニのDNAが検出されれば, カブリダニの下草からモモ果そう葉への移動を証明できると考えた。改良法でミヤコカブリダニ, ニセラーゴカブリダニ, コウズケカブリダニのみで構成されることが示された, モモ果そう葉で採集されたカブリダニのDNAサンプルを用いて, カタバミハダニのリボソーム遺伝子のITS配列を増幅した。その結果, ミヤコカブリダニ(14サンプル中2サンプルで検出), ニセラーゴカブリダニ(78サンプル中3サンプルで検出), コウズケカブリダニ(17サンプル中2サンプルで検出)のいずれの種からもカタバミハダニのITS配列が増幅された(WARI et al., 2015)。以上の結果より, カブリダニは下草からモモ果そう葉へ移動していることが証明された。

おわりに

選抜された天敵温存植物候補の中で, ヤイトバナからは最も長い期間にわたって多くのカブリダニが採集された(表-2)。ヤイトバナのハダニ管理における有用性を調べるために, 2014年, 同じ圃場(圃場Ⅴ)内において, 幹の周辺にヤイトバナのみが排他的に存在しているモモの樹と野生植物が存在しないモモの樹(対照区)を見つけ出し, 果そう葉におけるハダニ密度を比較した。その結果, ヤイトバナが排他的に存在しているモモの樹のハダニ密度は対照区に比べて低い傾向が認められた(別途公開予定)。また, ヤイトバナではほとんどハダニは見られなかった(表-2)。しかし一方で, ヤイトバナのハダニ密度抑制効果はモモの樹の樹齢, 他の野生植物の存在等の影響を受けることも明らかになりつつある。今後, ヤイトバナの有効利用を通じたカブリダニのハダニ密度抑制効果が期待できる要件(例えば樹齢, ヤイトバナの優占度等)を明らかにすることが実用化に向けて必要である。また, ヤイトバナはモモの樹幹に絡みつき, 一般的には農作業の邪魔になる雑草として認識されていることから, 潜在的なハダニ密度抑制効果を減じることなく, ヤイトバナを管理する技術の確立も課題である。

引用文献

- 1) AGUILAR-FENOLLOSA, E. et al. (2011): Biol. Cont. 59: 171 ~ 179.
- 2) BROUFAS, G. D. et al. (2002): Exp. Appl. Acarol. 26: 1 ~ 12.
- 3) BUGG, R. L. and C. WADDINGTON (1994): Agric. Ecosyst. Environ. 50: 11 ~ 28.
- 4) COLI, W. M. et al. (1994): ibid. 50: 49 ~ 60.
- 5) DE VILLIERS, M. and K. L. PRINGLE (2007): Afr. Entomol. 15: 241 ~ 260.
- 6) ———— (2011): Exp. Appl. Acarol. 53: 121 ~ 137.
- 7) 江原昭三・後藤哲雄(2009): 原色植物ダニ検索図鑑, 全国農村教育協会, 東京, 349 pp.
- 8) GRAVENA, S. et al. (1993): Bull. IOBC-SROP 16: 104 ~ 114.
- 9) KAWASHIMA, M. and C. JUNG (2010): Appl. Entomol. Zool. 45: 191 ~ 199.
- 10) LIANG, W. and M. HUANG (1994): Agric. Ecosyst. Environ. 50: 29 ~ 37.
- 11) McMURTRY, J. A. and B. A. CROFT (1997): Annu. Rev. Entomol. 42: 291 ~ 321.
- 12) SMITH, D. and D. F. PAPACEK (1991): Exp. Appl. Acarol. 12: 195 ~ 217.
- 13) SONODA, S. et al. (2012): ibid. 56: 9 ~ 22.
- 14) 園田昌司(2012): 植物防疫 66: 337 ~ 341.
- 15) WARI, D. et al. (2014): Exp. Appl. Acarol. 63: 313 ~ 332.
- 16) ———— et al. (2015): Biol. Cont. 80: 143 ~ 155.