地上高10m のネットトラップによるコナジラミ類 個体数の推移と2001年以降に採集された タバココナジラミのバイオタイプ

鎌田 龍星^{1)*}・口木 文孝²⁾・衛藤 友紀¹⁾・
近藤 知弥²⁾・中村 宏子³⁾・古田 明子⁴⁾・
白石 祥子¹⁾・緒方 和裕¹⁾

(¹⁾佐賀県農業技術防除センター・²⁾佐賀県果樹試験場・³⁾佐賀県三神農業
改良普及センター北部振興担当・⁴⁾佐賀県農業試験研究センター)

Net trap data of whitefly and biotype discrimination of *Bemisia tabaci* collected after 2001 in Saga. Ryusei Kuwata^{1)*}, Fumitaka Kuchiki²⁾, Tomoki Etou¹⁾, Tomoya Kondou²⁾, Hiroko Nakamura³⁾, Akiko Furuta⁴⁾, Shouko Shiraishi¹⁾ and Kazuhiro Ogata¹⁾ (¹⁾Saga Prefectural Agriculture Technological Support Center, Saga, Saga, 840-2205, Japan ²⁾Saga Fruit Tree Experimental Station, Ogi, Saga, 845-0014, Japan ³⁾Saga Sanshin-Hokubu Agricultural Extension Center, Saga, Saga, 842-0301, Japan ⁴⁾Saga Prefectural Agricultural Research Center, Saga, Saga, 840-2205, Japan)

佐賀市川副町の佐賀県農業試験研究センター内に設置した地上高10m のネットトラップで採集したコナジラミ類成虫数を調査した。コナジラミ類は6月から採集され、8~10月に増加し、11月に終息した。2001~2004年にネットトラップで採集されたコナジラミ類および施設トマト圃場で採集したタバココナジラミを対象に、PCR-RFLP法でタバココナジラミのバイオタイプを識別した。その結果、2003年12月以前に採集された個体は全てバイオタイプB、2004年6月1日以降に採集された個体は全てバイオタイプQであった。

Key words : *Lycopersicon esculentum*, PCR-RFLP, TYLCV

緒 言

コナジラミ類は、植物の吸汁加害や排泄物に生じる「すす」による果実や葉の汚染、媒介する植物病原性ウイルスの感染などの被害を与えるため、野菜・花卉類における主要害虫となっている (Brown and Bird, 1992)。特にタバココナジラミ *Bemisia tabaci* (Gennadius) は、トマトに甚大な被害を与えるトマト黄化葉巻ウイルス *Tomato yellow leaf curl virus* の媒介昆虫として問題となっている (本多, 2005)。

現在、施設園芸作物の生産現場では、コナジラミ類の防除対策として施設開口部に防虫ネットを展張する技術が普及している (渡邊, 2006)。しかし、側窓開口部への防虫ネットの展張技術は広く普及しているものの、施

設内温度の上昇を抑えるため、天窓開口部への防虫ネットの展張技術は普及していない。太田・小澤 (1997) は、タバココナジラミバイオタイプB (*B. tabaci* B biotype, 当時はシルバーリーフコナジラミ *B. argentifolii*) が地上5.5m まで分散していることを示し、施設の天窓は通常5.5m より低い位置に設置されていることから、コナジラミ類の侵入防止を徹底するためには、天窓開口部への防虫ネット展張もまた必要であることを述べている。しかし、施設上部を移動しているコナジラミ類に関する報告は少なく、天窓開口部への防虫ネット展張の重要性については十分な評価ができない。

タバココナジラミには、形態での区別は困難だが、遺伝子型や生態的特徴、生化学的特徴が異なるバイオタイプが世界中で40以上存在すると推定されており、分類学上のタバココナジラミは「種複合体」と考えられている (Perring, 2001; Maruthi et al., 2004)。現在、国内に分布するタバココナジラミでは、海外から侵入したバイ

*現在 国立感染症研究所

*Present Address: National Institute of Infectious Disease (NIID), Shinjuku, Tokyo, 162-8640, Japan

オタイプ B とバイオタイプ Q (*B. tabaci* Q biotype) および土着個体群のバイオタイプ JpL (*B. tabaci* JpL biotype) と八重山諸島を中心に分布するバイオタイプ Nauru (*B. tabaci* Nauru biotype) の 4 バイオタイプが確認されている (Ueda and Brown, 2006; 上田, 2007)。バイオタイプ Q の発生は, 2004 年に広島県, 熊本県および鹿児島県で初めて確認された (Ueda and Brown, 2006)。しかし, 2004 年以前のバイオタイプに関する知見は極めて少なく, バイオタイプ Q の侵入時期については不明である。

本稿では, 佐賀県農業試験研究センター内に設置した地上高 10m のネットトラップを使用し, 施設上部に分散するコナジラミ類の成虫数および推移を調査したので報告する。また, 佐賀県農業技術防除センターおよび佐賀県農業試験研究センターでは, ネットトラップ調査および圃場調査で採集したコナジラミ類, タバココナジラミを冷凍あるいは冷蔵保存している。そこで, 2001 年からバイオタイプ Q の侵入が確認された 2004 年までのサンプルについてタバココナジラミのバイオタイプを識別した結果, バイオタイプ Q の侵入時期に関する新たな知見が得られたので, 併せて報告する。

材 料 お よ び 方 法

1. ネットトラップによるコナジラミ類個体数の推移

佐賀市川副町の佐賀県農業試験研究センター内に設置したイネウシカ類採集用ネットトラップ (地上高 10m, 直径 1.5m; 第 1 図) で採集され, 実体顕微鏡下でコナジラミ類 (タバココナジラミまたはオンシツコナジラミ) と判定された個体の数を調査した。調査は, 2001~2002 年と 2004~2006 年の計 5 年間, 4 月から 11 月にかけてほぼ毎日行った。

2. タバココナジラミのバイオタイプ識別

供試虫: 2001~2004 年にネットトラップで採集し, 4℃で冷蔵保存または -30℃で冷凍保存したコナジラミ類成虫の一部を供試した。また, ネットトラップを設置していない時期およびコナジラミ類が採集されなかった時期については, 佐賀市川副町内の施設トマト圃場 (2 圃場) から採集し, -30℃で冷凍保存したタバココナジラミ成虫を供試した。

識別方法: コナジラミ類 1 個体を滅菌した約 1mm² の濾紙小片で潰し, 濾紙小片ごと 200μl チューブに入れた。チューブに 0.2μg のプロテアーゼ K を含む 10μl の DNA 抽出バッファー (10mM Tris-HCl, 1% NonidetP-40) を加え, 65℃で 90 分間, 95℃で 15 分間インキュベートし, これを DNA 抽出溶液とした。DNA 抽出溶液は, PCR

第 1 図 コナジラミ類の採集に使用した
ネットトラップ。

に使用するまで -30℃で保存した。

タバココナジラミのバイオタイプ識別は, 上田 (2006) の方法に準じて PCR-RFLP 法で行った。コナジラミ類の DNA 抽出溶液から, タバココナジラミに特異的なプライマーセット C1-J-2195;5'-TTG ATT TTT TGG TCA TCC AGA AGT -3', L2-N-3014;5'-TCC AAT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A-3' (10pmol/μl) を用いて, ミトコンドリア DNA の COI 領域を PCR で増幅した。PCR は, タカラバイオ社の Takara Taq[®] を用いて, 1 検体あたり 10μl (10×PCR バッファー 1μl, dNTP 溶液 0.8μl, Taq 0.05μl, 各プライマー 0.8μl, 滅菌水 5.55μl, DNA 溶液 1μl) の反応系で行った。PCR の温度処理は, 95℃で 3 分間熱変性させた後, 94℃で 30 秒, 50℃で 30 秒, 72℃で 60 秒のサイクルを 30 回繰り返し, 最後に 72℃で 8 分間加熱して行った。

増幅された DNA 断片は, Fermentas 社の Eco130I (*StyI*) または Eco147I (*StuI*) で制限酵素処理した。滅菌した 200μl チューブに, 反応液を 10μl (10×バッファー 1μl, 制限酵素 0.1μl, PCR 産物 3μl, 滅菌蒸留水 5.9μl) に調節し, 37℃で 3 時間以上処理した。その後, シグマアルドリッチ社のアガロース (1.2%) を用いた電気泳動で DNA 断片を分離し, バンドパターン

第2図 ネットトラップで採集したコナジラミ類（タバココナジラミまたはオンシツコナジラミ）成虫の個体数の推移。

によりタバココナジラミのバイオタイプを識別した。

結果および考察

1. ネットトラップによるコナジラミ類個体数の推移

地上高10mに設置したネットトラップにおけるコナジラミ類採集虫数の推移を第2図に示した。調査した5か年における発生推移の年次間差は小さく、コナジラミ類は6月または7月から採集され始め、8月から10月に増加し、11月に終息した。得られたコナジラミ類の採集虫数の推移は、細田・那波（1980）が報告した、高さ9mにおいたトラップ植物におけるオンシツコナジラミの飛来消長とほぼ一致した。ネットトラップで採集されたコナジラミ類の個体数は、2001年が172頭、2002年が217頭、2004年が64頭、2005年が184頭、2006年が174頭だった。月当たりの採集個体数が顕著だったのは2001年9月と2002年10月で、それぞれ161頭、132頭が採集された。なお、コナジラミ類は4～5月は採集されなかった。

コナジラミ類は、ネットトラップにおいて主に8月から10月に採集され、各年とも6割以上の個体がこの期間中に採集された。コナジラミ類の寄生が問題となる秋冬作の施設トマト、キュウリ、ナスなどは、ネットトラップへの採集虫数が最も多くなる8～10月に定植される。したがって、コナジラミ類がこれら野菜類の定植期に天窓部分から施設内へ侵入する可能性は高く、天窓開口部への防虫ネットの展張は重要と考えられる。

2. タバココナジラミのバイオタイプ識別

2001～2004年に佐賀市川副町のネットトラップおよび施設トマト圃場で採集されたタバココナジラミのバイオタイプを識別した結果、2003年12月以前に採集した131頭は全てバイオタイプBであった（第1表）。バイオタイプQは、2004年6月1日に施設トマト圃場から採集した個体で初めて確認され、確認後の2004年6、7、8、10月に採集された53個体は全てバイオタイプ

第1表 タバココナジラミのバイオタイプ識別

採集日	採集場所 ^{a)}	供試虫数	バイオタイプ	
			B	Q
2001年9月 ^{b)}	ネットトラップ	5	5	0
2002年4月24日	施設トマト圃場	1	1	0
7月27日	〃	1	1	0
9月 ^{b)}	ネットトラップ	25	25	0
10月 ^{b)}	〃	26	26	0
11月 ^{b)}	〃	2	2	0
2003年1月20日	施設トマト圃場	10	10	0
2月20日	〃	5	5	0
11月19日	ネットトラップ	6	6	0
12月 ^{b)}	施設トマト圃場	50	50	0
2004年6月1日	施設トマト圃場	20 ^{c)}	0	20 ^{c)}
7月 ^{b)}	ネットトラップ	13	0	13
8月 ^{b)}	〃	14	0	14
10月 ^{b)}	〃	6	0	6

a) 採集場所はいずれも佐賀市川副町。b) 複数日の合計を示す。
c) 2圃場の合計を示す。

Qであった。

バイオタイプQを国内で確認した最も古い知見は、2004年秋季である (Ueda and Brown, 2006; 上田重文氏, 私信)。本調査により、バイオタイプQの国内初確認の記録は2004年6月1日に改められ、バイオタイプQの侵入が2004年6月より前であったことが明らかになった。また、佐賀市川副町で2003年12月以前に採集された個体は全てバイオタイプB、2004年6月1日以降に採集された個体は全てバイオタイプQであった。この結果は、佐賀市川副町において、優占するタバココナジラミのバイオタイプが、短期間でバイオタイプBからバイオタイプQへ変化したことを示している。タバココナジラミに対して使用されている防除薬剤の多くは、バイオタイプBに対して高い殺虫効果を示すが、バイオタイプQに対する効果は低い (樋口, 2006; 松浦, 2006; 小林, 2007; 徳丸, 2007)。バイオタイプQが短期間で優占するようになった原因の一つとして、作物栽培圃場における薬剤防除が考えられる。

引用文献

- Brown, J. K. and J. Bird (1992) Whitefly-transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin: past and present. *Plant Dis.* 76 : 220-225.
- 樋口聡志 (2006) 熊本県におけるタバココナジラミバイオタイプQの発生状況と薬剤の殺虫効果. 今月の農業50 : 84-88.
- 本多健一郎 (2005) トマト黄化葉巻病と媒介コナジラミをめぐる最近の研究情勢. 植物防疫59 : 1-6.
- 細田昭男・那波邦彦 (1980) オンシツコナジラミの生態と防除に関する研究. 広島県立農業試験場報告42 : 23-34.
- 小林政信 (2007) コナジラミ類の薬剤感受性の特性. 植物防疫61 : 21-26.
- Maruthi, M. N., J. Colvin, R. M. Thwaites, G. K. Banks, G. Gibson, and S. E. Seal (2004) Reproductive incompatibility and cytochrome oxidase I gene sequence variability amongst host-adapted and geographically separate *Bemisia tabaci* populations (Hemiptera : Aleyrodidae). *Syst. Entomol.* 29 : 560-568.
- 松浦 明 (2006) 宮崎県におけるタバココナジラミバイオタイプQの発生状況と薬剤の殺虫効果. 今月の農業50 : 57-61.
- 太田光昭・小澤朗人 (1997) 野外におけるシルバーリーフコナジラミの垂直方向への分散. 関東病虫研報44 : 229-230.
- Perring, T. M. (2001) The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot.* 20 : 725-737.
- 徳丸 晋 (2007) タバココナジラミバイオタイプQの薬剤感受性. 農業ガイド113 : 13-15.
- Ueda, S. and J. K. Brown (2006) First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Japan by mitochondrial cytochrome oxidase I sequence analysis. *Phytoparasitica* 34 : 405-411.
- 上田重文 (2006) タバココナジラミバイオタイプQの簡易識別法. 九病虫研会報52 : 44-48.
- 上田重文 (2007) タバココナジラミバイオタイプQの簡易識別法－日本のバイオタイプ研究の幕開けとその背景－. 植物防疫61 : 6-12.
- 渡邊丈夫 (2006) シルバーリーフコナジラミ対策の防虫ネット比較試験. 今月の農業50 : 18-21.

(2008年4月25日受領; 9月16日受理)