

累代飼育昆虫の虫質管理

岡山大学大学院環境学研究所 ^{みや}宮 ^{たけ}竹 ^{たか}貴 ^{ひさ}久

はじめに

累代飼育昆虫の虫質管理、つまり昆虫の品質管理が、工業製品の品質管理と根本的に違うのは、その生産物が進化しつづける生物であるという点だ。進化とは、生物の集団における世代を超えた遺伝子頻度の変化と定義される。野外で暮らしていた昆虫を飼育施設の中で累代飼育すると、施設環境への適応という進化が必ず生じる。この中には飼育者である人間が昆虫を安定して増殖飼育しやすいようにある形質に意図的に選択をかける場合、飼育者の意図しない形質に選択がかかってしまう場合（この中には野外とは異なる環境での同性どうしの争いや異性によるえり好みによる選択も含まれる）、そして飼育の過程で時として生じる維持個体数の減少による遺伝的浮動や近交弱勢といった偶然に生じる遺伝子頻度の変化という三つの進化的なイベントが含まれる。不妊虫放飼法で使用される不妊虫と天敵や花粉媒介等の有用昆虫の虫質管理において重要なことは、農業現場で活躍する生物エージェントとして、まずどのような形質を管理すべきかを認識することである。次にその形質を支配する、あるいはその形質に影響する遺伝的な背景を知り、標的形質を制御する遺伝子頻度の経時的な変化（＝進化）をモニタリングする技術の確立が必要となる。

I 広域害虫管理における虫質管理

6, 7年前ごろから広域害虫管理（Area-wide pest management : AWPM）という言葉をよく耳にするようになった。この用語は、一軒の農家や一出荷団体等の小さな集落レベルで害虫を防除する対処法ではなく、より広い地域を対象にして害虫管理に対処する場合に使われる。例えば県や国、あるいは複数の国々等行政や地域団体が主体となって農産物の指定産地全体の害虫を経済的被害許容水準以下に管理するという害虫防除の取り組みに対して用いられる。しかし、そのような行政による害虫防除の取り組みは、日本でもニカメイガの防除などで昔から地域ぐるみで行われてきたし、AWPMという単語も

ワタミゾウムシの根絶事業が盛んだった1990年代の米国ですでに使用されている。

そもそもAWPMの概念は、ある地域から害虫を根絶させる目的のために生み出された技術である不妊虫放飼法（SIT）（KNIPLING, 1955）を提唱したニップリング博士が1979年に出版した「害虫総合防除の原理」（KNIPLING, 1979）に端を発している（OPENDER et al., 2008）。したがってAWPMは、基本的にはSITと総合的害虫管理（IPM）の考え方を基礎とした焼き直しだと私は認識している。そこに物流のグローバル化がより進んだ現代の植物防疫をどのように考えるかという視点と、これまで以上に広範な組織あるいは政治的な連携の枠組みで害虫防除をどう考えるのかという視点を加えたことが、AWPMをトレンドにのせたポイントになっているのだろう。しかし、このAWPMという言葉を掲げた特集本などが出版されると（e.g., VREYSEN et al., 2007 ; OPENDER et al., 2008）、さも新たな研究分野が出現したような気分になるので不思議である。

環境に優しいAWPMとしては、耕種的防除、物理的な防除やフェロモンの使用、天敵等生物農薬による防除、SIT、加害された農産物の除去等が含まれる。対象害虫の生態や被害許容水準の高低とそのコスト・パフォーマンスに応じて、化学的防除も含めた複数の防除手段の合理的な組合せの試行が世界各地で行われている。AWPMの取り組みのうち、SIT（DYCK et al., 2005）、天敵を生物農薬的に使用する場合、およびポリネーターを用いた花粉媒介昆虫の利用等いくつかの技術においては、生物エージェントとしての昆虫の大量累代飼育が必要とされる。冒頭で述べたように、昆虫を長期間、室内で大量増殖し続けると様々な進化的イベントによってエージェントの形質に遺伝的な劣化が生じる。

II 虫質管理という概念の確立

虫質管理の概念は、主にSITのための累代飼育昆虫の枠組みで発展してきた。SITでは根絶の対象となる害虫の大量増殖が不可欠である。安定した大量増殖を行う際、重要となる課題に虫質管理が含まれる。虫質管理には二つの側面、すなわち環境要因と遺伝要因がある。前者についてはこれまでも大量増殖を行う際によく検討されてきた（CHAMBERS, 1977）。一方、後者では、ミュー

Quality Control of Long-term Successive Rearing Insects. By
Takahisa MIYATAKE

（キーワード：ウリミバエ、不妊虫放飼法、品質管理、交尾行動、時計遺伝子、体内時計、リズム）

タント系統の利用や対象となる昆虫の生活史や行動形質について遺伝的側面から検討がなされてきた (BOLLER, 1972)。また生物的防除のために増殖された寄生蜂や寄生細菌の品質について寄生行動・生活史や天敵の使用者の側面からの研究をとりまとめた総説や本も出版されている (HOPPER et al., 1993; van LENTEREN, 2003)。

III 不妊虫放飼による根絶事業の概要

人間にとって有害な生物を不妊化して野外に放飼し、ある地域内での根絶あるいはその数を制御するための方法を SIT と言う。SIT は不妊化した同種個体を放飼してその配偶行動を通じて野生虫の増殖効率を低下させるもので、防除したい害虫を大量増殖し、ガンマ線などを照射して不妊化し、野生雌と交尾させる。不妊雄と交尾した雌は、ふ化しない卵を産むため次世代の害虫数は減り、これを何世代も行うと害虫の数は加速度的に減り、ついには根絶に至る (KNIPLING, 1955)。この方法は、野外集団が低密度になればなるほど防除効率が高まるという点で、従来の防除法に見られない特徴がある。単独で使用する場合よりも、殺虫剤を加えた誘引剤による密度抑圧など、他の方法とともに使われる場合のほうが害虫の抑圧や根絶のうえでより有効である。

SIT の成功には、長期間大量増殖した後に不妊化した雄が野生雄と同等に野生雌と交尾できるか否か (これを性的競争力とよぶ) が最も重要な問題である。このほか、対象害虫の生活史や交尾様式、生息密度、性比、移動分散活動等の生態学的な情報も SIT の成功に不可欠である。SIT による害虫根絶の成功例として、これまでに米国フロリダで家畜に寄生するラセンウジバエ、米国からリビアに侵入したラセンウジバエ、日本の南西諸島で果菜類を加害したウリミバエ (KOYAMA et al., 2004) 等が有名である。

IV 不妊虫放飼法と遺伝的虫質管理

昆虫の累代飼育過程で形質を遺伝的に変化させる様々な要因が考えられる。それらを図-1 にまとめた。大量増殖を始めるにあたり、まず基礎となる集団を野外から採集してこなければならない [導入]。その際、基礎集団のサイズが小さいと創始者効果 (founder effect) による形質の変化が問題となる。野外より採集した虫を大量増殖施設で人工的に飼うと、飼育方法に適さない虫たちが排除され、適した個体だけが生き残る。いわゆる選択 (selection) が生じる。この選択は人間が意図的に行う場合と、非意図的に生じてしまう場合がある。この段階で、飼育方法に適応せず極端に少ない数の個体しか生き残らなかった場合には、瓶首効果 (bottleneck effect) による形質の変化が生じるだろう [飼育方法への適応]。こうして大量増殖法に適した安定して累代飼育のできる増殖系統ができあがる [安定した増殖系統]。

いったん、増殖系統ができても、その飼育規模の違いによってそれ以降に生じる形質変化の原因が異なる。すなわち、飼育規模 (厳密には有効集団サイズ N_e) が小さい場合には近親交配やドリフトによる機会的な要因が強く作用し、逆にこれが大きい場合には選択の影響がむしろ重要となる。以上のような影響を受けて形質が遺伝的に変化した大量増殖虫を、我々は SIT や生物的防除に使用する [適用]。

さて、沖縄で SIT のために増殖されたウリミバエについて今述べた要因を検討してみよう。沖縄では大量増殖を始める際に、野外より 19,281 匹のウリミバエの幼虫をいくつもの畑から採集してきた。したがって、創始者効果は働かなかったと考えられる。また増殖の初期に飼育個体数が激減したという報告はない。さらに常に数百万という超大量規模で虫を飼い続けて来た。したがって沖縄のミバエ増殖虫に生じた形質の変化には、少数個

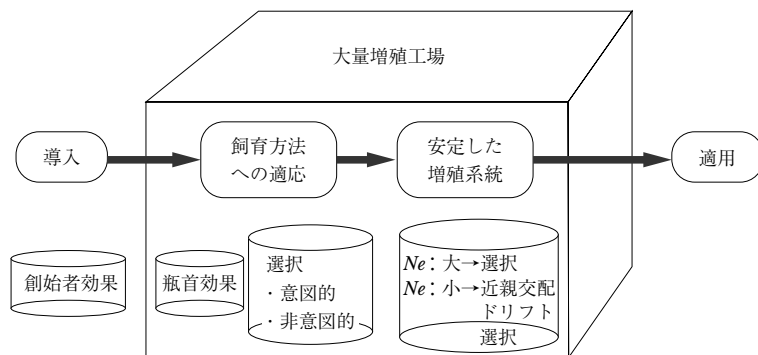


図-1 大量増殖虫の形質変化に影響する量的遺伝学的要因
 N_e : 有効集団サイズ

体で虫を累代飼育する際に問題となる近交弱勢やドリフトによる形質劣化は問題ではなく、人工飼育方法に依存する選択による影響が問題となる。

世界各地において SIT のために大量増殖されたミバエ類では、産卵開始齢や産卵数等の生活史形質や、交尾行動や交尾開始時刻が野生虫と比べて異なることが知られている。そのような形質変化は、諸外国で増殖されたミバエ類で報告されてきたし、沖縄と鹿児島で独立に増殖されたウリミバエでもそれぞれ報告されている (MIYATAKE, 1998)。

V 虫質管理と交尾行動

SIT の成功のためには、不妊雄が野生雌と交尾することが必須である。そのため、世界各国で SIT が試みられているミバエ類では、交尾行動の研究が盛んに行われてきた (ALUJA and NORRBOM, 2000)。しかし、生物の繁殖システムは複雑であり、野生雌の卵の受精をめぐって、不妊雄が野生雄との競争を制して卵の受精阻止に至るまでには、いくつかの行動の段階を経る必要がある (ただし不妊雄の精子は異常があるため、精子を受け取った卵子は卵割途中で死亡する)。図-2 に不妊雄が野生雌の受精を阻止するに至る雌と雄の繁殖行動の段階を図式化した。単に不妊雄が野生雌と交尾すればよいだけではないことがわかっていただけたらと思う。

まず不妊化して野外に放した雄が雌と出会うことが重要である。生物は種類によって異なる配偶システムを持

つ。ミバエ類の多くはレックという、雄が特定の交尾場所に集合し、そこに雌がやってきて交尾が成立するという配偶システムを示す。野外に放たれた不妊雄はまず交尾場所にたどり着かねばならない。交尾場所において雌がどの雄と交尾するかは、雌による雄のえり好みと、不妊雄と野生雄が野生雌をめぐって争う雄間競争の2種類の性選択の力が関係する。累代飼育され不妊化された雄では、雌に好まれる形質が野生雄と異なっていることや、野生雄との交尾競争力が劣っている可能性がある。したがって累代増殖雄の交尾競争能力は虫質管理において最も注意すべき点である。さらに、対象害虫の雌が複数回交尾する場合には、雄間競争は精子競争という形になって交尾後も続く (SIMMONS, 2001)。つまり雌の貯精囊の中で、2匹以上の雄が射精した精子同士が、卵の受精をめぐって競争を行う。また雌が貯精囊の中で特定の雄の精子を選んでいる可能性も指摘されている (EBERHARD, 1996)。

雌が頻繁に再交尾を行う昆虫に対して SIT の効率は低い。上述した一連の過程をすべて含めて、不妊雄が、野生雄と比べ野生雌とどれくらい割合で交尾に至るのかを評価する指標として性的競争力が用いられる。野外における性的競争力の測定 (IWAHASHI et al., 1983) は、不妊雄が効率的に野生雌の受精を阻止できているかを示す最も重要な指標である。不妊雄と交尾したあとの雌の行動にも注意を払う必要がある。昆虫の雄は、交尾の際に、雌の交尾意欲を削ぐ化学物質を送っている場合が多

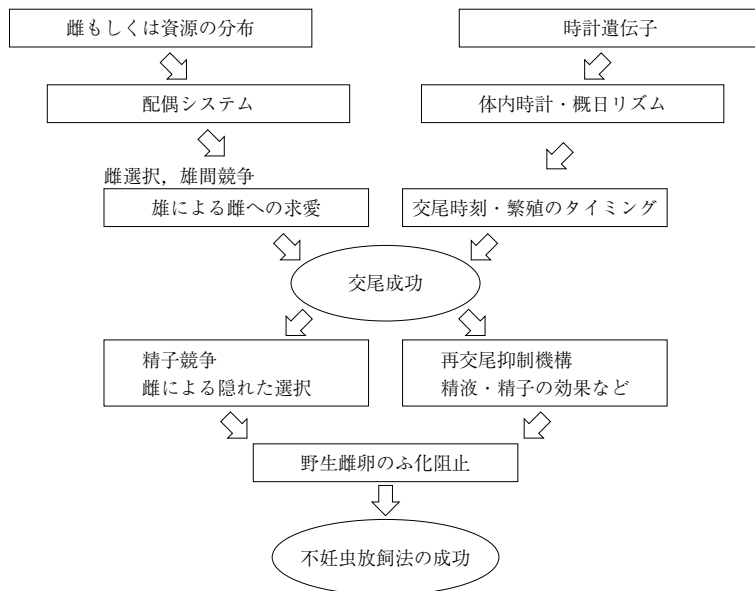


図-2 不妊雄が野生雌の受精を阻止するに至る繁殖行動の連鎖図

い (AVILA et al., 2011)。この雄が発する化学シグナルの強さと、シグナルに反応する雌の能力も、累代飼育の過程で進化的に変化する可能性がある。最近の生物学では、雄間競争の結果が、雄に対するより抵抗的な雌の形質を進化させる結果、雌と雄の軍拡競争を引き起こす性的対立が繁殖様式の進化において重要であることが示されている (ARNQVIST and ROWE, 2005)。またミカンコミバエのメチルオイゲノールのように、雄が経口摂取することで交尾活性を高める作用を持つ化学物質 (SHELLY, 2010) を不妊虫の虫質を高める「薬」として応用することもさらに検討すべきだろう。

VI 虫質管理と防除戦略のトレードオフ

IV章で見たように、沖縄で長期間、累代大量増殖されたウリミバエに生じた形質の変化では、選択が問題となることがわかった。そこで増殖の過程で意図的に選択された①繁殖開始齢と②発育期間についてそれぞれ人為的に分断選択実験が行われた。すなわち、①では毎世代、齢の若い集団 (ヤング系統) と年寄り集団 (オールド系統) から繁殖をさせるという選択、②では早く発育する集団 (ショート系統) とゆっくり発育する集団 (ロング系統) から毎世代繁殖させるという方法で、それぞれ10世代以上選択された (MIYATAKE, 1998)。両方の形質とも選択に対してよく反応した。すなわちヤングは若くして多くの卵を産み、オールドは産卵開始が遅く年をとってからなお卵を産み続ける系統になった。またロ

ングはショートに比べて発育期間が2倍も長くなった。

これらの系統では、直接選択しなかった別の形質も相関して変化していた。ヤングはオールドに比べて初期繁殖力が強く寿命が短くなったが、総産卵量は変わらなかった。これは雌の持てる資源が一定で、それを繁殖と生存に配分した結果と考えられる。このような関係をトレードオフと呼ぶ。このほかにもヤングはオールドに比べて交尾開始時刻が早くなった。一方、ショートとロングでは初期繁殖力や成虫寿命は変わらなかったが、ショートでは交尾開始時刻が早くなっていた。以上述べてきたウリミバエにおける形質間の相関関係を図-3にまとめてみた。注目した形質は、寿命・繁殖開始齢・発育期間・自由進行周期 (=体内時計の周期長)・交尾開始時刻の五つである。このうち大量増殖過程で意図的に選択した形質は、繁殖開始齢と発育期間である。すなわち自然界では極端と考えられる齢の若い雌のみから採卵を続けた結果、大量増殖虫は野生虫に比べて繁殖開始齢が早くなった。

若い時に多く卵を産むことは生存に対するコストとなるために寿命が短くなる。前述したようにこの関係を繁殖と寿命のトレードオフと言うが、このトレードオフが遺伝的基盤を持つために大量増殖虫の寿命が世代を重ねるにつれて短くなったと考えられた。一方、大量増殖の過程で早く発育する個体を意図的に選んで繁殖させたために発育期間が短くなった。繁殖開始齢に選択をかけた場合は発育期間に相関反応が生じたのに対し、発育期間

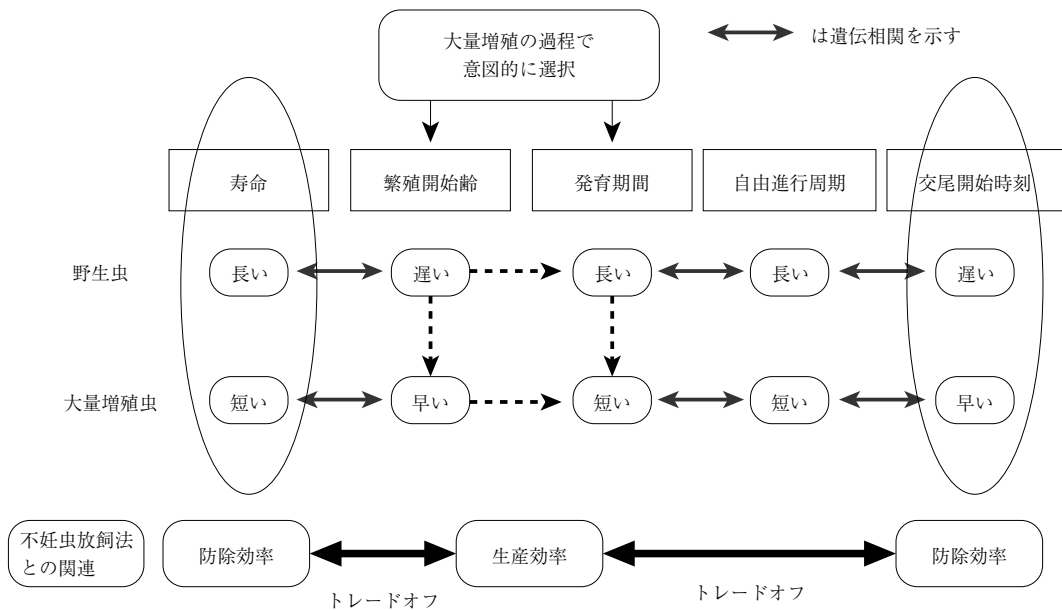


図-3 ウリミバエ増殖虫における形質間の遺伝相関と不妊虫放飼法との関連

に選択をかけた場合には繁殖開始齢に変化が見られなかったことから、繁殖開始齢と発育期間の二つの形質の間には遺伝相関は存在せず、この相関反応は遺伝相関ではなく、飼育者の意図しない選択によって生じたと考えられている。

さてウリミバエは一日のうち交尾する時刻が決まっています、夕刻にだけ交尾する。SITは不妊化して放飼した雄を野生雌と交尾させることで虫を根絶させる方法なので、不妊虫の交尾開始時刻の変化は防除効率を著しく低下させる。ウリミバエの集団間では、交尾開始平均時刻の差が60分を超えると有意な交配前隔離の生じることがわかっているため、増殖虫における交尾開始時刻の大幅な変化はSITにとって致命的である。沖縄のウリミバエ増殖虫と野生虫の交尾開始時刻の差が40分であったことは、幸いだったのかも知れない。さてもう一度、図-3を見ていただきたい。早く大量にウリミバエを作るという生産効率を優先した結果、遺伝相関によって寿命が短くなり、また交尾開始時刻が早くなったことがわかる。増殖虫の短命化と交尾時刻の変化は、共に防除効率の低下を招く。すなわち生産効率と防除効率はトレードオフの関係にあるとすることができる。

VII 虫質管理と交尾時刻

多くの昆虫では、一日のうちで交尾を行う時間帯が決まっている。ミカンコミバエやウリミバエでは交尾は薄暮時に生じる。野外で限られた時間帯に交尾が生じるのは、おそらく捕食者を回避するためと、雌と雄の活動時刻が同調しないと交尾が成り立たないという二つの理由から説明できる。もし放飼した不妊雄と野生雌の交尾活性の時刻が異なれば、交尾場所に集まる時間帯にも違いが生じ、交尾自体が成立しない(図-2に示した右上の連鎖がこれに相当する)。そのためSITの対象害虫の交尾時刻を決めるメカニズムの研究は重要である。

ウリミバエの大量累代飼育の過程では、増殖虫の交尾時刻に遺伝的な変化が生じた。これには二つの要因が関与している。一つは飼育施設の成虫飼育箱内には捕食者がいないため、交尾時刻に対する自然選択が働かないことである。もう一つは狭い飼育箱内に高密度で飼育されたハエではより早い時刻に強制的に交尾を成功させる雄に有利な選択の力が働くであろう。これらの理由によって、大量増殖虫では、交尾活性時刻の変異が大きくなったと考えられている。実際に、ウリミバエでは増殖された虫が沖縄島に生息していた虫よりも早い時刻に交尾を開始するという報告や、逆に台湾で採集したウリミバエが、沖縄で採集し累代増殖を続けてきたウリミバエより

も早い時刻に交尾を開始するという報告等、ウリミバエの集団間で交尾を行う時刻の変異が大きい。

交尾や睡眠といった生物の行動が一日のうちのいつ生じるのかは、体内時計に制御される。体内時計は時計遺伝子による遺伝的な制御を受ける。動物の体内リズムは、*period* 遺伝子が関与するネガティブ・フィードバックループを操る時計遺伝子群に支配されると考えられており、マウスやキイロショウジョウバエをモデルとして、その分子メカニズムが詳細に研究されている。前述したようにウリミバエの累代飼育虫は野生虫に比べ、一日のうち交尾を開始する時刻が早くなったため、交尾時刻を支配する時計遺伝子の研究が行われた。特に発育期間に人為選択をかけた結果、発育期間の長くなった系統と短くなった系統では、交尾を開始する時刻が5時間も異なった。発育期間は複数の遺伝子に支配される形質であるが、その遺伝子群のうち1個の遺伝子が体内時計を司る遺伝子であったと考えられている。この対立遺伝子の頻度が発育を早くする方向にシフトしたため、大量増殖虫の概日周期の長さ(自由進行周期)が野生虫に比べて短くなったと解釈される。そしてこの時計遺伝子の多面発現効果によって増殖虫では野生虫に比べて交尾開始時刻が早くなったと考えられる。

図-3でも二つの生活史形質に対する選択に共通して見られた相関反応として交尾開始時刻がある。なぜ交尾を開始する時刻が変化したのだろうか? 答えはミバエの体内時計を支配する時計遺伝子にあった。アクトグラフと呼ばれる活動性を調べる装置を用いてミバエの体内時計リズムの解析をしたところ、ロングとオールドはショートとヤングに比べそれぞれ体内時計の周期が長いことがわかった。普通、生物の体内時計の長さは24時間前後であるが、ショートとヤングでは22時間程度、逆にオールドでは27時間程度、ロングでは実に30時間を越えていた。この体内時計の長さの違いが、交尾時刻の違いを生じさせたのだと考えられる。さらにショートとロングの交配実験の結果、ウリミバエでは発育期間と体内時計の長さの両方を支配している主遺伝子の存在が確かめられた(Shimizu et al., 1997)。これらの系統の時計遺伝子のアミノ酸配列を比較することで、交尾時刻に影響を及ぼす遺伝子の探索が行われた。その結果、系統間では、*period* (*per*) 遺伝子のアミノ酸配列に違いはなかったが(Matsumoto et al., 2008)、光入力に関与して体内時計の長短を調節するとされる *cryptochrome* (*cry*) 遺伝子にアミノ酸置換が見られた(Fuchikawa et al., 2010)。さらに交尾時刻の異なる七つのウリミバエの集団を調べたところ、置換の見られた *cry* 遺伝子のアミノ酸サイトの

集団内遺伝子置換率と平均交尾開始時刻の間に有意な相関が見られたことから、*cry* 遺伝子がウリミバエの交尾開始時刻に関与する可能性が示唆された (FUCHIKAWA et al., 2010)。

台湾で採集したウリミバエは、一日のうちの早い時刻に交尾を開始する。この台湾産のウリミバエは、早い時刻に交尾を開始するショート系統と *cry* 遺伝子の当該アミノ酸置換率が類似した。このことは、*cry* 遺伝子の塩基配列を調べることで台湾産のウリミバエと沖縄で採集して累代増殖した系統を区別する技術が確立できたことを示している。SIT は不妊雄と野生雌の交尾を介して対象害虫を根絶させる方法である。交尾開始時刻は体内時計に支配されると考えられる。そのため、これまでの虫質管理では注目されて来なかった累代飼育昆虫の体内時計を新たな虫質として評価する必要があることがわかった (MIYATAKE, 2011)。

おわりに

昆虫の大量増殖では人工飼育によって選択がかかると予測される形質、すなわち生産効率にかかわる形質と、増殖虫の利用効率にかかわる形質との遺伝相関を調べ、形質間のトレードオフを考慮する必要があることが示唆された。その際、どの形質にどれだけ遺伝変異が残されているのか？どの形質間に遺伝相関が存在するのか？を調べておくことが大事となる。これらを調べるためには量的遺伝学の知識が必要である。考慮すべき形質は、大量増殖の目的によって異なる。つまり SIT、天敵、有用昆虫と目的の異なる累代飼育では、エージェントとして問題となる管理すべき虫質は当然異なる。交尾を介して対象害虫を根絶・防除する SIT では、上述のとおり交尾行動と交尾時刻を支配する諸形質が重要である。一方、天敵昆虫では、放飼した天敵の移動分散能力・餌探索能力・捕食効率に影響する形質の管理が重要であろう。

天敵の累代飼育では、飼育を始める際の母集団サイズや飼育する虫の数が少ないことも多いだろう。飼育個体数が少ない場合には近親交配やドリフトによる形質の劣化に注意を払う必要がある。もし近交弱勢のために形質が劣化したと考えられる場合には、複数の近交系を交雑させ雑種強勢の力を借りて劣化した形質の改善を図る手法が有効である。また花粉媒介昆虫などの有用昆虫の飼

育においては、花への定着行動、および受粉プロセスに関連する形質の管理が重要になると思われる。さらに、そのような形質が生活史形質などの他の形質と遺伝相関を示し、他形質に選択が働いた結果、エージェントとしてより大事な形質が遺伝的に変化してしまうこともあるだろう。

したがって、エージェントにとって大切な形質と遺伝的に相関のある形質を探索しておくことは大事である。そして形質間の遺伝相関の強さを評価しておくことも重要である。遺伝相関が強い場合には、特に注意が必要である。環境にやさしい農業がますます必要となる今後、昆虫を大量に増殖して利用する機会は増えるだろう。本稿で述べた虫質の遺伝的管理についても、今後、可能な限り注意を払い、さらに累代飼育昆虫に生じる進化の研究事例を蓄積する必要があるだろう。

引用文献

- 1) ALIJA, M. and A. L. NORRBOOM (2000) : Fruit Flies (Tephritidae) : Phylogeny and Evolution of Behavior. CRC Press, Boca Raton.
- 2) ARNQVIST, G. and L. ROWE (2005) : Sexual Conflict, Princeton University Press, Princeton.
- 3) AVILA, F. W. et al. (2011) : Ann Rev Entomol 56 : 21 ~ 40.
- 4) BOLLER, E. F. (1972) : Entomophaga 17 : 9 ~ 25.
- 5) CHAMBERS, D. L. (1977) : Annu Rev Entomol 22 : 289 ~ 308.
- 6) DYCK, V. A. et al. (2005) : Sterile Insect Technique : Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Springer, Dordrecht.
- 7) EBERHARD, W. G. (1996) : Female Control : Sexual Selection by Cryptic Female Choice. Princeton University Press, Princeton.
- 8) FUCHIKAWA, T. et al. (2010) : Heredity 104 : 387 ~ 392.
- 9) HOPPER, K. R. et al. (1993) : Annu Rev Entomol 38 : 27 ~ 51.
- 10) IWAHASHI, O. et al. (1983) : Ecol Entomol 8 : 43 ~ 48.
- 11) KNIPLING, E. F. (1955) : J Econ Entomol 48 : 459 ~ 462.
- 12) ——— (1979) : The principles of insect population suppression and management. USDA, Washington DC.
- 13) KOYAMA, J. et al. (2004) : Annu Rev Entomol 49 : 331 ~ 349.
- 14) MATSUMOTO, A. et al. (2008) : Ann Entomol Soc Am 101 : 1121 ~ 1130.
- 15) MIYATAKE, T. (1998) : Res Popul Ecol 40 : 301 ~ 310.
- 16) ——— (2011) : Appl Entomol Zool 46 : 3 ~ 14.
- 17) OPENDER, K. et al. (2008) : Areawide pest management : theory and implementation. CAB International, Oxford.
- 18) SHELLY, T. E. (2010) : Appl Entomol Zool 45 : 349 ~ 361.
- 19) SHIMIZU, T. et al. (1997) : Heredity 79 : 600 ~ 605.
- 20) SIMMONS, L. W. (2001) : Sperm Competition and its Evolutionary Consequences in the Insects. Princeton University Press, Princeton.
- 21) van LENTEREN, J. C. (2003) : Quality Control and Production of Biological Control Agents : Theory and Testing Procedures. CABI Publishing, Oxon.
- 22) VREYSEN, M. J. B. et al. (2007) : Area-wide control of insect pests : from research to field implementation. Springer, Dordrecht.