

アリモドキゾウムシの色彩多型を用いたマーキング法： 不妊虫放飼法への利用

琉球産経株式会社 ^{しろもと}城本 ^{けいこ}啓子・^{かわむら}川村 ^{きよひさ}清久

沖縄県農業研究センター ^{はら}原 ^{ぐち}口 ^{だい}大

沖縄県病害虫防除技術センター ^{まつ}松 ^{やま}山 ^{たか}隆 ^し志

はじめに

昆虫のマーキングには、色素粉末、ペイント、穿孔、体内や体表部の染色、遺伝子マーカー、放射線同位体等様々な方法が利用され、昆虫個体群の密度推定や移動分散過程の解明では、特に有効な手段の一つである。理想的なマーキング法とは、昆虫の生態や行動に影響を与えることなく持続する一方で、人体には安全で、かつ安価で簡単に取り扱い扱えることが求められる (HAGLER and JACKSON, 2001)。さらに、マーカーが容易に検出できることも重要な基準の一つである (WALTON and CONLONG, 2008)。

不妊虫放飼法 (後述) の適用によって、今までに、ラセンウジバエ *Cochliomyia hominivorax* を筆頭に、ウリミバエ *Bactrocera cucurbitae*、ミカンコミバエ *B. dorsalis* やチチュカイミバエ *Ceratitidis capitata* といった双翅目の昆虫で根絶が達成されてきた (伊藤, 2008)。不妊虫放飼法では、野生虫の密度推定や防除効果判定のため、野外に放飼する不妊虫にあらかじめマーキングを施し、野生虫と区別できるようにする必要がある。

現在、沖縄県ではサツマイモの難防除害虫アリモドキゾウムシ *Cylas formicarius* とイモゾウムシ *Euscepes postfasciatus* に対し、不妊虫放飼法による根絶防除事業を展開している。沖縄県久米島のアリモドキゾウムシに関してはほぼ根絶の状態に達しており (小濱・久場, 2008; 松山私信), 今回の事例は、ミバエ類と比較した場合に、増殖力が低く大量増殖に手間取り、さらには分散能力が低く野外で放飼する際にきめ細かな放飼手順が必要になるなどより多くの技術的困難を伴う甲虫類での世界で初めての成功例となるだろう。しかし、ミバエ類に適用さ

れてきた蛍光色素を用いる従来のマーキング法では、不妊虫と野生虫が正確に識別できないため、根絶の最終確認には利用できないことが明らかになっていた。ゾウムシ類の根絶防除計画を実施するうえで最も解決が急がれる課題の一つとして、野生虫と不妊虫を明確に区別できるマーキング方法の確立が指摘され (MORIYA, 1997), 様々なマーキング法が検討されてきたが、実用には至っていなかった。本稿では、久米島において実施されているアリモドキゾウムシ根絶防除事業のなかで浮かびあがったマーキング法の問題を取りあげる。またそれを解決する手段として、国内ではまれにしか出現しない色彩型のアリモドキゾウムシを視覚マーク系統として確立し、実用化に至った状況について紹介する。

I 不妊虫放飼法

不妊虫放飼法とは、人畜に有害な昆虫を大量に増殖したものを不妊化して野外に放飼し、ある地域内での野生虫の根絶あるいはその数を抑制するための方法で、アメリカ農務省の KNIPLING (1955) が発案した。人工的に対象害虫を飼育・増殖し、大量の害虫を生産する。この害虫に放射性物質コバルト 60 から出るガンマ線を照射することで、オス成虫の生殖細胞の染色体に優性致死突然変異を誘引し、照射されたオスの精子がメス成虫の体内で受精にいたっても、受精卵は正常な胚発生が進まないようにする (不妊化)。こうして作られた不妊虫を野生虫より多数放つと、野生メスの多くが不妊虫のオスと交尾し、野生虫のオスと交尾する機会が減少する。さらに、大量の不妊虫を継続的に繰り返し放ち続けると、野生メスが野生オスと交尾する機会はますます減少し、正常に繁殖できる子孫は指数的に減少し、最終的には根絶に至る方法である。

II 不妊虫放飼法における大量マーキング

不妊虫放飼法では、野生虫に対する不妊虫の比率が大きいほどその効果が高くなるため、効果的に防除をすすめるための放飼虫数を決定するには、対象地域の野生虫

Elytral Color Polymorphism of Sweet potato Weevil, *Cylas formicarius* (Coleoptera : Brentidae) as a Visible Marker for a Sterile Insect Technique in Japan. By Keiko SHIROMOTO, Kiyohisa KAWAMURA, Dai HARAGUCHI and Takashi MATSUYAMA

(キーワード: 不妊虫放飼法, 大量マーキング法, 色彩多型, 交尾行動, 分散能力)

の密度推定が不可欠である。また、不妊虫放飼の防除効果はトラップに誘引された不妊虫と野生虫の比で評価するため (IWAHASHI, 1977), モニタリング調査が重要となる。そのため、大量に増殖した不妊虫を放飼する前にマーキングを行い、トラップに捕獲された虫が不妊虫であるか野生虫であるかを正確に識別する必要がある。

根絶に成功したウリミバエでは、蛹期に粉末蛍光色素を処理することでマーキングを行った。放飼効果確認のため、誘引トラップに捕獲されたウリミバエをろ紙上に置き、アセトン・エタノール混合液 (4:1) を滴下して虫体の蛍光色素を溶かし出したものに紫外線を当てて蛍光の有無を検出し、不妊虫か野生虫かの判別を行った。ウリミバエは羽化時にのみ体外に露出する前額囊に蛍光色素が取り込まれるため、蛍光色素は脱落しにくく、誘殺された不妊虫のマーク脱落率は1%以下であった。また、同時にトラップへ誘殺された野生虫へ不妊虫の蛍光色素が付着する問題もほぼ生じなかった (福島・田中, 1985; 照屋ら, 1985)。

III アリモドキゾウムシの不妊虫放飼法による防除とその問題点

1 アリモドキゾウムシとは

アリモドキゾウムシは、ヒルガオ科の植物であるサツマイモの重要害虫である (杉本, 1990; 高井・藤本, 2002)。本種は熱帯・亜熱帯地方に広く分布し 50 か国以上で記録され、日本では北緯 30 度以南の南西諸島および小笠原諸島に分布している (International Institute of Entomology, 1993)。本種は植物防疫法により移動規制対象害虫に指定され、発生地域から未発生地域へのサツマイモなどの寄主植物の移動が制限されているため、南西諸島の農業振興を図るうえで大きな障害となっている (瀬戸口, 1999; 大村, 2000)。この問題の解決のため、沖縄県と鹿児島県では不妊虫放飼による本種の根絶防除事業が実施されている (アリモドキゾウムシ研究会, 1992; KUBA et al., 2003; 小濱・久場, 2008; 杉本・瀬戸口, 2008; 山口, 2009)。

2 久米島のアリモドキゾウムシの根絶防除

久米島は沖縄本島那覇市の西、約 100 km に位置する約 6,000 ha の島で、南西諸島のほかの離島に比べると河川が多数あり地形は起伏に富んで複雑である。島の北部と南東部に標高約 300 m の山がありそれを中心に山地森林がある。西部、東部および中央南部にはサトウキビなどの耕作地がまとまっている。サツマイモはほぼ全域で自家用として小規模に栽培されており、島の西部では経済栽培が行われている。アリモドキゾウムシの主要

な野生寄主植物であるノアサガオは島の森林地帯を除きほぼ全域に分布しており、海岸線にはグンバイヒルガオが帯状に分布している。

不妊虫放飼法は野生虫よりも多くの不妊虫を放飼する必要があるが、不妊虫の生産数には限界があるため、不妊虫放飼の前に密度抑圧防除 (オス除去法) を行い、野生虫の数を減らしたほうが効果は大きくなる。アリモドキゾウムシの根絶防除事業では「オス除去法」と「不妊虫放飼法」が併用されている (詳しくは小濱・久場, 2008 参照)。密度抑圧防除はテックス板 (合成フェロモンと殺虫剤を浸み込ませた木材繊維を固めたもの) をヘリコプターと人手で散布することにより行い、アリモドキゾウムシの個体数を減らす。不妊虫放飼地域において、不妊虫誘殺数の推移の把握や野生虫の密度が局所的に高い、いわゆるホットスポットの検出などのために寄主植物調査 (グンバイヒルガオやノアサガオ等) やオス成虫を誘引するフェロモンを用いたトラップ調査が行われている。これらの調査は野生のアリモドキゾウムシの発生・分布状況や季節的な消長を調べるうえでも重要となる。そのため、アリモドキゾウムシの不妊虫放飼でも、ウリミバエと同様の粉末状蛍光色素 (Blaze Orange, DayGlo Color Corp, アメリカ) によるマークと検出方法を用いて、野生虫の密度推定や不妊虫放飼の効果判定を行っている。

3 浮かびあがった問題点

その根絶防除事業の過程で大きな問題が浮かびあがった。アリモドキゾウムシ不妊虫の放飼が開始されると、放飼虫数に同調してトラップに捕獲される野生虫とみなされる無マーク虫の数が増減することから (図-1), マークが脱落した不妊虫が野生虫と誤認定されていると考えられた。脱落率の低かったウリミバエとは異なり、蛍光色素を成虫の体表面にまぶしただけのアリモドキゾウムシではマークが脱落しやすく (林ら, 1997), さらに、トラップに誘引された野生虫に不妊虫から脱落した色素が付着していた (マークの汚染問題: 久場ら, 2000; KUBA et al., 2003)。この方法では不妊虫と野生虫を確実に区別できないため、根絶の最終確認など厳密な評価が必要な場合には、誤認定を回避するために不妊虫の放飼を一時中断し、不妊虫の生存期間より十分長い期間経過した後に評価しなければならない。もし野生虫が残存していた場合、この放飼中断期間に野生虫の繁殖を許し、根絶達成を遅らせるおそれがある。したがって、不妊虫放飼を継続しながらモニタリングを行うためには、マークの脱落や汚染問題のない新たな大量マーキング法の開発が急務である。アリモドキゾウムシは遺伝子型に地理

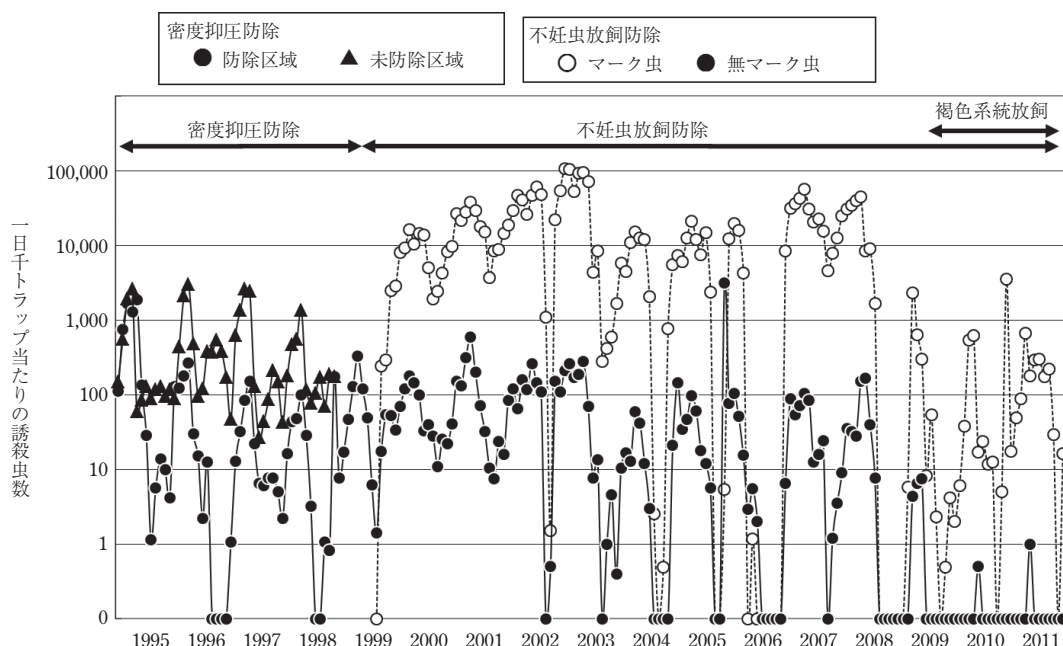


図-1 久米島のフェロモントラップによるアリモドキゾウムシ誘殺虫数の推移
沖縄県病害虫防除技術センター資料より。

的変異が存在することから (KAWAMURA et al., 2002; 川村ら, 2003), この違いを利用する遺伝マーカーの検討やタンパク質マーキングが検討されているが (舞木ら, 2007; 小濱・久場, 2008), 検出のコストやマークの汚染問題があり大量マーキングには不適で実用には至っていない。

IV 色彩多型を用いた大量マーキング法の開発

1 アリモドキゾウムシの色彩多型とその選抜

アリモドキゾウムシには、鞘翅に色彩多型が認められており、黒褐色型 (以下褐色型と称する), 黒青色型 (青色型), 黒緑色型 (緑色型) がこれまで報告されている (PIERCE, 1918; 1940) (口絵①)。日本には青色型と緑色型の2色彩型が分布しており、遺伝的に色彩が決定していることが示唆された (KAWAMURA et al., 2005)。一方、八重山諸島の一部にのみ褐色型がごく低頻度 (1% 以下) で分布していることが明らかとなった (KAWAMURA et al., 2009)。そこで、日本ではまれな色彩型である褐色型のアリモドキゾウムシを色彩マーカー系統として大量増殖し、不妊化した後に放飼すれば、従来のマーキング法による脱落などの問題が解決できるのではないかと考え検討した。

まず褐色型を選抜累代飼育し、褐色の色彩が維持でき

るかどうかを試みた。2007年に与那国島で採集された顕著な褐色を示す雌雄成虫間で交配を重ね褐色型の選抜を行った。その結果、褐色型アリモドキゾウムシの系統が確立された (城本ら未発表)。アリモドキゾウムシ3色彩型の遺伝的基盤を調べたところ、色彩型が遺伝的に決まっていること、単純なメンデル遺伝ではないことがわかったが詳細は不明である。なお、褐色型と青色型をかけあわせると次世代虫はすべて緑色型になることから、褐色型系統の維持・増殖の際は南西諸島で普遍的に分布する青色型の混入を防ぐ必要がある (城本ら未発表)。

2 褐色系統の不妊虫としての虫質

不妊虫放飼法では、放飼する不妊虫の性的競争力や、寿命・分散能力・フェロモンへの定位など虫質のモニタリングが必要である (伊藤, 2008)。特に大量増殖の開始に際して、創始者集団は大きな個体群や広い地域からの個体群を利用することが定説とされている。しかし、沖縄県で使用されているアリモドキゾウムシ褐色系統は個体群ではまれな形質を利用しているため、定説とは逆に少数個体への強い選抜が避けられず、寿命や交尾行動といった虫質が変化している可能性がある。強選抜を経験した褐色系統をマーク虫として使えるかどうかを明らかにするため、不妊虫として特に重要となるオスの寿命

や交尾競争といった形質を野生虫と比較した。その結果、褐色系統オスと野生虫オスには寿命や野生虫メスに対しての交尾率等の形質に差が見られず、交尾競争においても褐色系統と野生虫のオスはほぼ同数が野生虫メスに対して交尾試行を行い、交尾成功率についても違いは見られなかった (SHIROMOTO et al., 2011)。このことから、少数個体より選抜をかけてきた褐色系統でも、交尾行動などの虫質には影響を及ぼしていないことが明らかとなった。褐色型、青色型、緑色型のオスによる各色彩型メスの選り好みは認められなかったことから、不妊虫放飼に褐色系統オスを用いた場合でも、メスを選り好むことなく交尾することがわかった。懸念されていた虫質の変化は認められず、褐色系統のマーク虫としての可能性が認められたため、2008年12月より沖縄県では、褐色系統の利用に向け増殖を開始した。

褐色系統の増殖が安定したところで不妊虫を用いて、現在不妊虫放飼で利用されている大量増殖系統の不妊虫 (青色型や緑色型が混在) との分散能力の比較を行ったが、両系統にほとんど差は見られず、褐色系統は不妊虫放飼法に利用可能であることが示された。また、この結果をもとに久米島において褐色系統の不妊虫放飼試験を行ったところ、放飼地点から約5 km離れたトラップで捕獲されていた。これらのことから、褐色系統の分散やフェロモン定位能力には問題がないことが示された (SHIROMOTO et al., 投稿中)。久米島では今まで褐色型のアリモドキゾウムシが捕獲されていないことや (川村ら未発表)、これら一連の研究により、褐色系統がマーク虫として利用可能と認められ、久米島のアリモドキゾウムシ根絶防除事業において実用化されることとなった。

V 久米島での実用化と今後の課題

褐色系統アリモドキゾウムシはマーク虫として2009年6月下旬より久米島の根絶防除事業において利用されている。しかし、前述したように褐色系統への他色彩型の混入を防ぐため、隔離施設であるウリミバエ大量増殖施設の一部を利用して増殖を行っている。そのため飼育スペースに制約があり、週産15万匹 (雌雄こみ) が限界である。久米島では褐色系統を放飼する以前は、週当たり50～300万匹 (雌雄こみ) の不妊虫を放飼してきた。今後、沖縄本島などを対象として根絶防除事業を進めるためには、今の生産数では野生虫に対して不妊虫が圧倒的に足りない。そのため、従来の青色型や緑色型の増殖系統を利用するためにも他のマーキング法を開発しなければならない。現状では、褐色系統を用いたマーキング法は根絶確認の最終段階での利用に限定することがのぞ

ましい。不妊虫放飼法開始前の野生虫密度推定や初期段階における不妊虫放飼の効果判定は従来の粉末蛍光色素の利用や、現在、検討されている脂溶性色素やルビジウムといった体内マーキング法を用いることも視野に入れた研究を進めなければならない。また、極低頻度とはいえ、先島諸島には野生の褐色型アリモドキゾウムシが分布しているため、上述の方法を複数組合せた二重識別方法についても検討が望まれる。

日本において、アリモドキゾウムシの色彩多型が野外で維持される生態的理由はまだ明らかにされていない。交尾行動などの生態には影響は見られなかったが、沖縄県で使用されている褐色系統は少数個体による強い選抜を経験しており、今後、遺伝的浮動によって、例えば病気に弱いなど好ましくない形質が固定してしまうことや、長期累代大量飼育による形質変化が懸念されている。ウリミバエ根絶後も長期間にわたり累代飼育系統を維持しているが、この系統が何らかの原因で潰れたとき、運悪くウリミバエの再侵入が起これば大問題となるだろう。同様にアリモドキゾウムシの根絶後も、再侵入を警戒し累代飼育を維持するとなると、病気の発生などで現褐色系統に何らかの問題が生じた場合、新たに野外から採集し褐色系統を確立することが困難になると懸念される。したがって、褐色型が野外で低頻度である原因や3色彩型の遺伝様式の解明も重要な検討課題である。これを明らかにすることができれば、沖縄諸島や他地域におけるアリモドキゾウムシの根絶防除対策を考えるうえで役立つものと期待される。

おわりに

ミバエ類の根絶成功後、ゾウムシ類においては根絶防除事業進展に向けた技術開発を急ぐ必要があり、ターゲットであるゾウムシ類の生態学的研究に割ける時間は自ずと限られたものになる。しかしながら、本稿で紹介したアリモドキゾウムシの色彩マーキング法は、アリモドキゾウムシの色彩多型の地理的変異を解明するという基礎的な研究成果に由来したもので、根絶を達成するには技術開発研究とこのような基礎的研究とが相補的に連携することが必要不可欠であることを示している。1994年に開始された久米島のアリモドキゾウムシ根絶防除事業は、根絶が確認されれば、世界でも例のない甲虫類に対する広域根絶防除の初の成功例となる。しかしそれで終わりではなく、アリモドキゾウムシ以上に基礎生態に不明な点が残されているイモゾウムシの根絶防除をも進めていかねばならない。そのためにも、現場における防除作業とともに基礎研究をこれからも進める必要がある。

なお、久米島におけるイモゾウムシ等根絶防除事業は、国庫補助を受け、沖縄県(病害虫防除技術センター、農業研究センター、営農支援課)が実施し、琉球産経株式会社、久米島町役場、久米島イモゾウムシ等防除対策協議会、那覇植物防疫事務所、沖縄総合事務局および久米島町の住民の協力を得て進められている。アリモドキゾウムシ褐色系統の確立にあたっては八重山農業改良普及センター(現八重山農林水産振興センター)の協力もいただいた。本稿の執筆にあたり、ご校閲とご助言を賜った沖縄県農業研究センターの小濱継雄氏、琉球産経株式会社 熊野了州氏、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター 栗和田 隆氏に感謝したい。

引用文献

- アリモドキゾウムシ研究会 (1992): アリモドキゾウムシの根絶に向けて、鹿児島県農業試験場大島支場、鹿児島、216 pp.
- 福島 満・田中 章 (1985): ミバエの根絶—理論と実際—、農林水産航空協会、東京、p. 317 ~ 342.
- 林 義則ら (1997): 植防研報 33: 65 ~ 70.
- HAGLER, J. R. and C. G. JACKSON (2001): Annu. Rev. Entomol. 46: 511 ~ 543.
- International Institute of Entomology (1993): Distribution Map of Pests: *Cylas formicarius* (Fabricius). Series A, Map No.278, International Institute of Entomology, London.
- 伊藤嘉昭 (2008): 不妊虫放飼法・侵入害虫根絶の技術、海遊舎、東京、p. 1 ~ 17.
- IWAHASHI, O. (1977): Rresearches on Population Ecology 19: 87 ~ 98.
- KAWAMURA, K. et al. (2002): Appl. Entomol. Zool. 37: 645 ~ 648.
- 川村清久ら (2003): 近畿大学農学部紀要 36: 13 ~ 20.
- KAWAMURA, K. et al. (2005): Mem. Fac. Agr. Kinki Univ. 38: 1 ~ 7.
- et al. (2009): Appl. Entomol. Zool. 44: 505 ~ 513.
- 川村清久ら (2009): 応動昆 53: 60 ~ 63.
- KNIPLING, E. F. (1995): J. Econ. Entomol. 48: 459 ~ 462.
- 小濱継雄・久場洋之 (2008): 不妊虫放飼法: 侵入害虫根絶の技術、海遊舎、東京、p. 277 ~ 316.
- 久場洋之ら (2000): 植物防疫 54: 483 ~ 486.
- KUBA, H. et al. (2003): Proceedings of the NIAES-FFTC Joint International Seminar on Biological Invasions, NIAES and FFTC, Tsukuba, Japan. p. 273 ~ 287.
- MORIYA, S. (1997): Bull. Okinawa Agric. Exp. Sta. 18: 19 ~ 27.
- 舞木紀玲ら (2007): 九病虫 53: 50 ~ 55.
- 大村克己 (2000): 植物防疫 54: 443.
- PIERCE, W. D. (1918): Journal of Agricultural Research 12: 601 ~ 611.
- (1940): Bulletin of the Southern California Academy of Sciences 39: 205 ~ 228.
- 瀬戸口 脩 (1990): 植物防疫 44: 111 ~ 114.
- SHIROMOTO, K. et al. (2011): J. Econ. Entomol. 104: 420 ~ 424.
- 杉本 毅 (1990): 植物防疫 44: 107 ~ 110.
- ・瀬戸口 脩 (2008): 不妊虫放飼法・侵入害虫根絶の技術、海遊舎、東京、p. 241 ~ 276.
- 高井幹夫・藤本健二 (2002): 外来種ハンドブック、地人書館、東京、133 pp.
- 照屋 匡ら (1985): 沖縄農業 20: 31 ~ 37.
- WALTON, A. J. and D. E. CONLONG (2008): Proceedings of the South African Sugar Technologists Association 81: 298 ~ 309.
- 山口卓宏 (2009): 鹿児島農総セ研報(耕種) 3: 73 ~ 146.

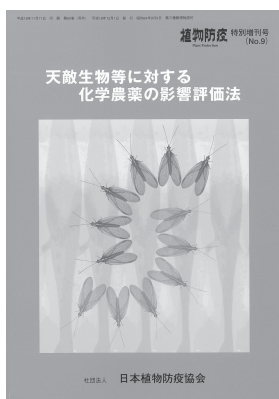
好評発売中

天敵生物等に対する化学農薬の影響評価法

植物防疫特別増刊号 No.9

社団法人 日本植物防疫協会 編 B5判 158ページ 口絵カラー

価格 5,040円(本体4,800円+税) 送料80円(メール便)



天敵昆虫、天敵微生物、訪花昆虫、蚕などに対する化学農薬の影響を評価するための実験手法を、国内の第一人者が詳しく解説しました。IPM実践のため、生物農薬や土着天敵そして訪花昆虫と、化学農薬を上手に組み合わせるための裏付けとなるデータ取得に必携です。

■掲載生物種

タマゴバチ類、オンシツツヤコバチ、マメハモグリバエの寄生蜂、アブラバチ類、土着のアブラバチ、クサカゲロウ類、テントウムシ、ヒメハナカメムシ類、クモ・メクラガメ等、イトトンボオオメカメムシ、ハネカクシ、チリカブリダニ、ケナガカブリダニ類、ククメリスカブリダニ、コハリダニ、昆虫病原性線虫(スタイナーネマ)、線虫寄生性細菌(パスツリア)、糸状菌製剤ミツバチ、マルハナバチ、カイコ

お問い合わせとご注文は

一般社団法人 日本植物防疫協会 支援事業部

〒114-0015 東京都北区中里2-28-10

郵便振替口座 00110-7-177867

TEL 03-5980-2183 FAX 03-5980-6753

ホームページ <http://www.jpfa.or.jp/>

メール: order@jpfa.or.jp