

沖縄産及び小笠原産アリモドキゾウムシ *Cylas formicarius* (Coleoptera: Brentidae) の交尾・飛翔能力の比較

日高 直哉¹⁾・菊川 華織・川武恵梨子²⁾・小橋川嘉一・山本 卓司³⁾・武石 浩紀³⁾

那覇植物防疫事務所

Comparison of Mating Ability and Flight Ability of Sweet Potato Weevil *Cylas formicarius* (Coleoptera: Brentidae) between Okinawa Population and Ogasawara Population. Naoya HIDAKA¹⁾, Kaori KIKUKAWA, Eriko KAWATAKE²⁾, Yoshikazu KOBASHIGAWA, Takuji YAMAMOTO³⁾ and Hiroki TAKEISHI³⁾ (Naha Plant Protection Station 2-11-1, Minato-machi, Naha-city, Okinawa, 900-0001 Japan. ¹⁾ Ishigaki Blanch, Naha Plant Protection Station ²⁾ Okinawa Prefectural Agricultural Research Center ³⁾ Narita Sub-station, Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan*. **54**: 55-59 (2019).

Abstract: The sterile insect technique (SIT) is used for eradicating sweet potato weevil *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Brentidae) in Japan. Marking methods are essential to distinguish the treated population from the wild population in applying the SIT; however, the methods currently used have certain shortcomings and alternative methods have been in need of development. Previous research revealed a genetic difference between the two populations in the Ryukyu Islands (Okinawa) and those in the Ogasawara Islands, suggesting the possible use of the population in Ogasawara as sterile insects in the Ryukyu Islands. In this study, the two populations above are compared in mating compatibility and flight ability to see if the Ogasawara population can be used as a sterile insect. There is no significant difference in mounting rates on female weevils (of Okinawa origin) between the two different groups of male weevils of Okinawa and Ogasawara origin. Additionally, in comparative tests using a flight mill, the average flight distance of the Ogasawara population was significantly shorter than the Okinawa population, suggesting a lower flight ability of the Ogasawara population. These results provide further positive implication for the use of the Ogasawara population as a sterile insect, for example, in confirming successful eradication to cease the campaign.

Key words: *Cylas formicarius*, mating compatibility, flight mill, flight ability, sterile insect technique (SIT)

緒 言

アリモドキゾウムシ *Cylas formicarius* (Fabricius) はサツマイモの重要害虫であり、サツマイモ属を中心に30種以上のヒルガオ科植物を加害することが知られている（Sutherland, 1986）。本種はアジア、南北アメリカ、オーストラリアなど世界に広く分布し、日本国内においてもトカラ列島以南の南西諸島及び小笠原諸島に分布している。このため、植物防疫法により国外の本種の発生地域から寄主植物の輸入を禁止しているだけでなく、国内の発生地域から未発生地域への寄主植物の移動も制限し、本種の侵入・まん延を未然に防止している。

国内の既発生地域では、不妊虫放飼法によるアリモドキゾウムシの根絶事業が行われており、沖縄県の久米島では2013年

に根絶が達成された。現在、鹿児島県の喜界島や沖縄県の津堅島などでも同様の根絶事業が行われている。不妊虫放飼法では不妊虫と野生虫を区別するための方法が必要不可欠であり、粉末蛍光色素を付着させる方法や野生虫とは体色の異なる褐色系統の個体を利用する方法が用いられている（栗和田、2013）。しかし、粉末蛍光色素は、脱落やコンタミネーション（トラップ内で不妊虫から野生虫に色素が付着する）といった問題がある（小濱・久場、2008）。また、褐色系統の利用は、同系統が野生虫として分布する八重山諸島等でその意義が失われる（Kawamura et al., 2009）。このため、これらの問題点を補うマーキング法の確立が望まれている。

これまで、小笠原諸島産アリモドキゾウムシ（小笠原個体群）と南西諸島産アリモドキゾウムシ（沖縄個体群）間におい

¹⁾ 那覇植物防疫事務所石垣出張所

²⁾ 沖縄県農業研究センター

³⁾ 横浜植物防疫所成田支所

て、核リボソーム RNA やミトコンドリア DNA に遺伝的な差異が認められ、PCR-RFLP 法を用いて両個体群を識別することが可能であることが知られている (Kawamura et al., 2007; 祐成ら, 2009)。また先行研究によって、破損やカビ等で劣化した虫体でも Ampdirect® (島津製作所) 等の使用により識別が可能であり、マルチプレックス PCR 法を用いればより簡便に識別が可能になった。これは多検体を同時に処理しても識別が可能である。さらに両個体群間で交雑可能であり、また、両個体群の成虫の生存率にも差が認められなかった (菊川ら, 未発表)。これらのことから、南西諸島での同虫の根絶事業において、小笠原個体群を不妊虫として利用できる可能性が示唆された。本マーキング法は、広く普及している PCR の機材を用いることから、設備面での問題も少なく利用しやすいという利点がある。しかしながら、不妊虫放飼法の効果は放飼された不妊雄が雌と交尾する能力によって決まるため (Knipling, 1979)、小笠原個体群を不妊虫として利用するには、沖縄個体群と交尾能力及び分散能力に大きな差がないことを確認する必要がある。そこで本課題では、小笠原個体群が不妊虫として利用可能かを明らかにするため、両個体群の交尾能力及び飛翔能力の比較調査を行った。

材料及び方法

1. 試験虫

農林水産大臣の移動許可 (農林水産省指令 25 那植第 134 号) により那覇植物防疫事務所で累代飼育している東京都小笠原村父島産アリモドキゾウムシ (以下、小笠原個体群とする)、及び沖縄県中頭郡読谷村産アリモドキゾウムシ (以下、沖縄個体群とする) を供試した。試験には、小笠原個体群が累代飼育 4 ~ 6 世代、沖縄個体群が累代飼育 10 ~ 12 世代の個体を用いた。各個体群の成虫を本土産サツマイモ (ベニアズマ) 生塊根に 1 週間産卵させて寄生イモを作成した。寄生イモは湿らせたキムワイプを敷いた密閉容器 (岩崎工業社製「ラストロウエアキーパー B-358」、ふたはメッシュで空気穴を設けたもの) に入れて約 1 ヶ月間保管し、その後メス等を用いて寄生イモを切開して蛹を取り出した。蛹は湿らせた濾紙を敷いたシャーレに回収し、人工気象器 (日本医化器械製作所製「LPH-220SP」) 内にて保管した。1 ~ 2 日おきに羽化した成虫を雌雄に分け、イモ切片を入れた密閉容器で以下の試験に供試するまで飼育した (飼育環境: $27.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$, 14L10D, Light 2:00-16:00)。

2. 交尾能力試験

成虫は羽化して約 7 日後から繁殖活動を始め、雌雄ともに平均寿命の 100 ~ 170 日程度まで繁殖を続ける (Sugimoto et al., 1996; Kuriwada et al., 2011)。このことを踏まえ、試験には小笠原個体群、沖縄個体群ともに羽化後 26 日 ~ 35 日齢の個体を使用した。

試験は Shiromoto et al. (2011) を参考に行った。人工気象器の密閉容器から供試する個体を 1 頭ずつ小型シャーレ (直径 5cm

×高さ 1cm) に移した。これらを $26.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ の交尾観察を行う暗室に移動させ、2 時間照明下で静置し環境に順化させた。本種は夕方に交尾するため (Sakuratani et al., 1994)、交尾観察の開始時 (16:00) に照明を消し、暗所観察用に赤色灯を点灯した後、雌が入ったシャーレに順次雄を移した。その後 2 時間のうちに雄が雌の上に乗った状態が 3 分以上継続した場合をマウントしたものと見なし、マウントしたペア数を記録した。さらに、マウントしたペアについては、マウントが終了した後、雌のみを取り出し、個体毎に別のシャーレに移した。別のシャーレに移した雌は人工気象器内で 1 日飼育し、翌日解剖して受精嚢内に精子があった場合を交尾が成立したものと見なした。

これを小笠原雄×沖縄雌 (110 ペア)、沖縄雄×沖縄雌 (118 ペア) について行い、得られた結果から以下の数式を用いてマウント率及び交尾成立率を算出した。

マウント率 = マウントしたペア数 / 供試ペア数 × 100

交尾成立率 = 精子を確認した雌個体数 / 供試ペア数 × 100

各個体群間のマウント率及び交尾成功率の比較にはカイ二乗検定を用いた。また、補足試験として、小笠原雄×小笠原雌 (90 ペア) についても同様の試験を行い、比較考察に用いた。

3. 飛翔能力試験

本種の分散方法は主に歩行と飛翔の二つであり、本来ならば野外で試験を行い、歩行と飛翔を総合した分散能力をみる必要があるが、小笠原個体群は大臣許可条件により管理場所以外への持ち出しが禁止されているため、実験室内 (室内環境: $27.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$, 14L10D, Light 6:00-20:00) のみで調査を行った。本実験では平林ら (2012) と同一のフライトミル (Fig. 1) を用いて、小笠原個体群と沖縄個体群の飛翔能力の測定、比較を行った。試験は Moriya (1995) 及び Moriya & Hiroyoshi (1998) を参考にした。フライトミルは、ローターの長さ 20 cm (回転半径 10cm)、回転軸は昆虫針 5 号 (志賀昆虫普及社)、平均重量は $0.53 \pm 0.25\text{g}$ で、回転回数は赤外線センサー (キーエンス社製「PS-52T」及び「PS-25」) でカウントした情報を、集計ソフト (ADTEC SYSTEM SCIENCE 社製「Daisy Lab® 7.0 J」) で記録した。

成虫は羽化して約 7 日後に寄生イモから脱出し野外活動を行うことから (Sugimoto et al., 1996)、試験には両個体群ともに羽化後 18 日 ~ 25 日齢の個体を使用した。人工気象器の密閉容器から供試する個体を取り出し、ローターの先端に供試虫の前胸背板辺りを接着剤 (コニシ社製「ボンド G17」) で取り付けた。フライトミルにローターを設置後に、24 時間のローターの回転数を測定・記録した。

これを各個体群、雌雄 40 個体ずつ反復を行い、記録された回転数から飛翔距離を算出、比較した。比較には一般化線形モデル (GLM: Generalized Linear Model) を用いた。

4. 統計解析

統計解析には R version 3.2.3 (R Development Core Team, 2015) を用いた。

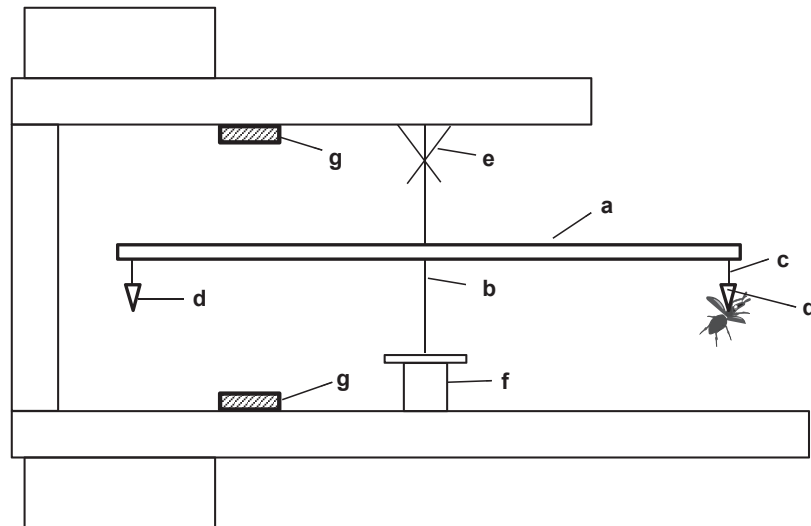


Fig. 1 Structure of the flight mill.

(a) Rotor: balsa wood, 5mm square×20cm length. (b) (e) Metal pins. (c) Extra-fine insect pin (16.5mm in length, 0.16mm in diameter; Shiga Konchu Fukyu). (d) Polyethylene foam or balsa wood. (f) Clincher (φ1.8×3.2cm) (g) LED sensor (PS-52T, Keyence; Photoelectric amplifier, PS-25, Keyence)

結 果

1. 交尾能力

マウント率及び交尾成立率の結果を Fig. 2 に示した。マウント率は「小笠原雄×沖縄雌」で 24.5% (27/110)、「沖縄雄×沖縄雌」で 37.3% (44/118) となったが、小笠原雄と沖縄雄の間で有意差は認められなかった (Chi-square test, $\chi^2=3.7$, $df=1$, $P=0.0532$)。交尾成立率においても「小笠原雄×沖縄雌」で 20.0% (22/110)、「沖縄雄×沖縄雌」で 14.4% (17/118) となり、個体群間で有意差は認められなかった (Chi-square test, $\chi^2=0.9$, $df=1$, $P=0.3448$)。また各個体群内を比較すると、「小

笠原雄×小笠原雌」のマウント率及び交尾成立率はそれぞれ 50.0% (45/90)、47.8% (43/90) となり、マウント率については「沖縄雄×沖縄雌」との有意差は認められなかった (Chi-square test, $\chi^2=2.9$, $df=1$, $P=0.0902$)。しかしながら、交尾成立率については「小笠原雄×小笠原雌」で有意に高くなった (Chi-square test, $\chi^2=26.1$, $df=1$, $P<0.001$)。そして「小笠原雄×沖縄雌」と「小笠原雄×小笠原雌」の比較では、「小笠原雄×小笠原雌」がマウント率 (Chi-square test, $\chi^2=12.8$, $df=1$, $P<0.001$)、交尾成功率 (Chi-square test, $\chi^2=16.2$, $df=1$, $P<0.001$) ともに有意に高くなった。

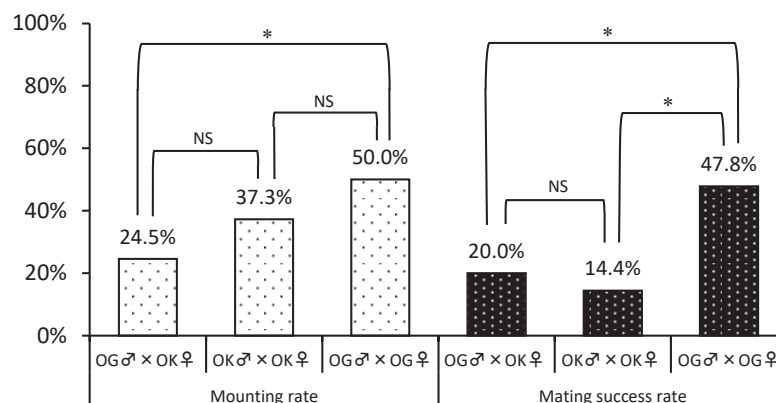


Fig. 2 Mounting rate and Mating success rate of each male and female combination with Ogasawara population (OG) and Okinawa population (OK) of *Cylas formicarius*. Number of test insect pairs; OG♂×OK♀: N=110, OK♂×OK♀: N=118, OG♂×OG♀: N=90.

Mounting rate = Number of Mounting pairs / Number of test pairs

Mating success rate = Number of females which spermatozoon was confirmed / Number of test pairs

*: Significant difference between the groups (Chi-square test, $P<0.001$)

NS: Not significant difference

2. 飛翔能力

ローターの回転数から飛翔距離を算出したところ、Fig. 3に示す結果が得られた。平均飛翔距離は小笠原雄が60.4m、小笠原雌が18.0m、沖縄雄が120.1m、沖縄雌が36.8mとなり、最大飛翔距離は小笠原雄が554.5m、小笠原雌が180.6m、沖縄雄が1054.1m、沖縄雌が450.0mとなった。また、飛翔しない個

体数は小笠原雄が13個体(32.5%)、小笠原雌が20個体(50.0%)、沖縄雄が16個体(40.0%)、沖縄雌が20個体(50.0%)となった。総じて平均飛翔距離、最大飛翔距離ともに、小笠原個体群は沖縄個体群より雌雄ともに短い結果となり、さらに統計解析を行ったところ、雌雄ともに個体群間で飛翔距離について有意差が認められた(GLM, $P<0.001$)。

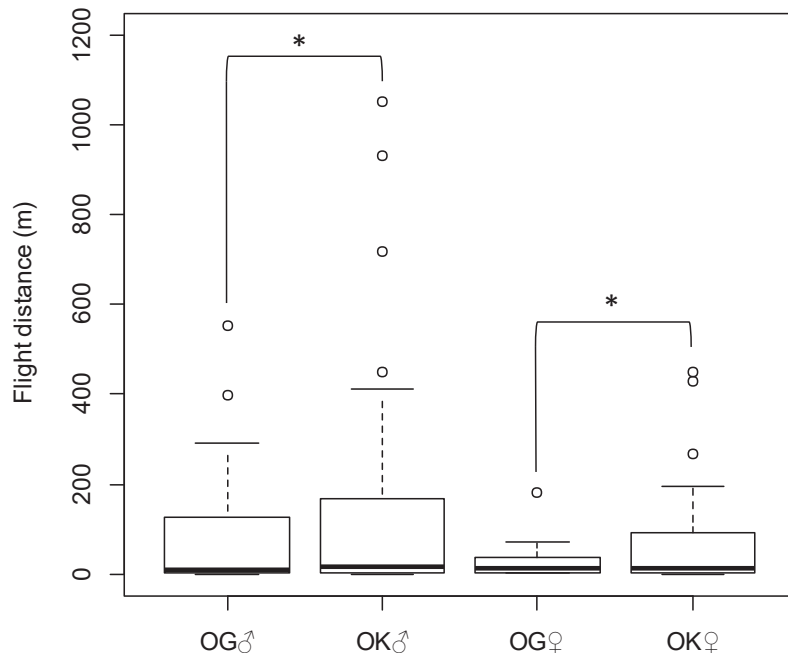


Fig. 3 The box plots of flight distance (m) of Ogasawara population (OG) and Okinawa population (OK) of *Cylas formicarius* measured by the flight mill during 24 hours. Each number of test insect is 40.

*: Significant difference between the groups (GLM, $P<0.001$).

考 察

交尾能力を比較した試験結果から、小笠原雄は沖縄雄と比較して沖縄雌に対するマウント率及び交尾成立率について有意差はなかったことから、小笠原雄と沖縄雄の交尾能力に差はないことがわかった。

一方で「小笠原雄×小笠原雌」の交尾成立率が「沖縄雄×沖縄雌」より有意に高くなった。また「小笠原雄×沖縄雌」よりマウント率及び交尾成功率ともに有意に高くなった。すなわち、沖縄雌とペアになったときに交尾成功率が低くなっていることがわかる。このことから、小笠原雄よりも沖縄雌の交尾拒否がより強いのではないかと考えられる。いずれにしても、小笠原雄と沖縄雄の沖縄雌に対する交尾成立率は同程度であったため、沖縄雌の交尾拒否が強いことによる不妊虫利用への影響はごく少ないものと考ええる。

アリモドキゾウムシの根絶防除において、フェロモンを使用した雄除去法や不妊虫放飼法等により防除が順調に進み、野生虫が局所的に残存している状況や防除効果確認時には、確実な野生虫識別による野生虫の発生場所を把握することが必要であ

る一方、残存する野生雌を考慮すると不妊虫放飼による防除を止めにくい現状がある。小笠原個体群を不妊虫として利用することは、不妊虫と野生虫の識別を遺伝子解析により確実に行うことができる利点を持つため、このような根絶防除終盤の野生虫が局所的に残存している状況下で有効であることが想定される。また、本種の雌は、雄よりも飛翔による分散能力が低いことが報告されている(Moriya, 1995; Moriya and Hiroyoshi, 1998)。飛翔能力が低く発生場所にとどまる傾向のある野生雌が局所的に残存するような状況下では、本試験で確認されたように飛翔能力が低い小笠原雄の方が、目標とする地域における不妊虫の個体密度を高く維持できる可能性がある。

以上のことから、小笠原個体群は沖縄個体群と比較して、飛翔能力が低い等の違いが認められるものの、使用する場所と時期を考慮すれば不妊虫として利用できる可能性が示唆された。

今後の課題としては、歩行における分散能力についても沖縄個体群と大きな差はないか、不妊化のためのガンマ線処理を行った場合においても雄の交尾能力及び飛翔能力に影響を与えないか、また同所的に小笠原雄と沖縄雄がいる場合の沖縄雌の交尾の選り好みについて、実用化の検討の際は確認しておくこ

とが必要である。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、統計解析に協力いただいた帯広畜産大学の熊野了州博士に厚く感謝申し上げる。

摘 要

沖縄個体群の雄又は小笠原個体群の雄を沖縄個体群の雌と同居させ（沖縄雄×沖縄雌、小笠原雄×沖縄雌）、両個体群の雄の交尾行動（マウント率及び交尾成立率）を比較したところ、小笠原雄が沖縄雄よりもマウント率がやや低かったものの、個体群間で統計的な有意差は認められなかった。また、フライトミルを用いて小笠原個体群と沖縄個体群の飛翔能力の比較を行ったところ、雄雌ともに小笠原個体群の飛翔距離が有意に短かった。このことから小笠原個体群は、沖縄個体群と比較して飛翔能力が低い可能性が示唆された。以上のことから、小笠原個体群は飛翔能力が低い等の違いが認められるものの、局所的に野生虫が残存しているような状況下では不妊虫として利用できる可能性が示唆された。

引用文献

- 平林千鶴・小森一也・城間良昭・岡本昌洋・濱上昭人 (2012) ナスミバエとミカンコミバエの飛翔能力の比較. 植防研報 48: 19-26.
- Kawamura, K., T. Sugimoto, K. Kakutani, Y. Matsuda and H. Toyoda (2007) Genetic variation of sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Brentidae), in main infested areas in the world based upon the internal transcribed spacer-1 (ITS-1) region. *Appl. Entomol. Zool.* **42**(1): 89-96.
- Kawamura, K., S. Ohno, D. Haraguchi, S. Kawashima and T. Kohama (2009) Geographic variation of elytral color in the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Brentidae), in Japan. *Appl. Entomol. Zool.* **44**(4): 505-513.
- Knipling, E. F. (1979) The basic principles of insect population suppression and management. U. S. Department of Agriculture, Washington, DC.

- 小濱継雄・久場洋之 (2008) 性フェロモンと不妊虫放飼によるアリモドキゾウムシの根絶. 不妊虫放飼法 侵入害虫根絶の技術 (伊藤嘉昭 編) 海游舎 東京 日本: 277-316.
- Kuriwada, T., N. Kumano, Kumano, K. Shiromoto and D. Haraguchi (2011) Age-dependent investment in death-feigning behavior in the sweetpotato weevil *Cylas formicarius*. *Physiol. Entomol.* **36**(2): 149-154.
- 栗和田隆 (2013) サツマイモの特殊害虫アリモドキゾウムシの根絶に関する最近の研究展開. 日本応用動物昆虫学会誌 **57**(1): 1-10.
- Moriya, S. (1995) A preliminary study on the flight ability of the sweetpotato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Apionidae) using a flight mill. *Appl. Entomol. Zool.* **30**(1): 244-246.
- Moriya, S. and S. Hiroyoshi, (1998) Flight and locomotion activity of the sweetpotato weevil (Coleoptera: Brentidae) in relation to adult age, mating status, and starvation. *J. Econ. Entomol.* **91**(2): 439-443.
- Sakuratani, Y., T. Sugimoto, O. Setokuchi, T. Kamikado, K. Kiritani and T. Okada (1994) Diurnal changes in micro-habitat usage and behavior of *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae) adults. *Appl. Entomol. Zool.* **29**(3): 307-315.
- Shiromoto, K., N. Kumano, T. Kuriwada and D. Haraguchi (2011) Is elytral color polymorphism in sweetpotato weevil (Coleoptera: Brentidae) a visible marker for sterile insect technique? : Comparison of male mating behavior. *J. Econ. Entomol.* **104**(2): 420-424.
- Sugimoto, T., Y. Sakuratani, H. Fukui, K. Kiritani and T. Okada (1996) Estimating the reproductive properties of the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae). *Appl. Entomol. Zool.* **31**(3): 357-367.
- 祐成忍・宮崎勲・山本卓司・箕浦和重 (2009) PCR-RFLP によるアリモドキゾウムシ *Cylas formicarius* (Coleoptera: Brentidae) のミトコンドリア DNA における遺伝的変異. 植防研報 **45**: 53-58.
- Sutherland, J. A. (1986) A review of the biology and control of the sweet potato weevil *Cylas formicarius* (Fab.) *Tropical Pest Management* **32**(4): 304-315.