

アジア型マイマイガを含む日本産 *Lymantria* 属の 識別法

農林水産省横浜植物防疫所 ^{ありもと}有本 ^{まこと}誠・^{いわずみ}岩泉 ^{れん}連

はじめに

ドクガ科 *Lymantria* 属には、マイマイガなどの多くの森林害虫種が含まれている。現在、世界には 167 種が報告されており (SCHINTLMEISTER, 2004)、日本からは 13 種が記録されている (POGUE and SCHAEFER, 2007; 岸田・真鍋, 2012)。

Lymantria 属の分類については後述するが、日本を含むアジアや極東ロシアにはアジア型マイマイガ (Asian Gypsy Moth: 以下 AGM) が、ヨーロッパや北米にはヨーロッパ型マイマイガ (European Gypsy Moth: 以下 EGM) が分布している (POGUE and SCHAEFER, 2007)。AGM は、EGM とは異なる生態的特徴を持つ。例えば、AGM の幼虫は EGM よりも寄主範囲が広い (BARANCHIKOV, 1989)。また、AGM の卵は EGM の卵と比べて休眠を完結するために必要な低温への曝露の期間がより短い (KEENA, 1996)。さらに、EGM の雌成虫は飛翔できないが (WALLNER et al., 1995; KEENA et al., 2008)、AGM の雌成虫は飛翔可能である (SCHAEFER et al., 1984; BARANCHIKOV, 1989)。加えて、AGM の雌成虫は夜間に照明に誘引されて港湾に飛来し、船舶に卵塊を産卵する (WALLNER et al., 1995)。そのため、米国およびカナダ政府は、船舶を経路とする自国の領域への AGM の侵入を警戒し (MYERS et al., 2000)、AGM 発生国に対し、両国向けに出港する船舶に AGM が付着していないことを証明するよう求めている (NAPPO, 2009)。

日本では、2007 年から、いくつかの港湾において、AGM の発生を抑制するための防除を開始した (横地, 2007)。日本では AGM に指定されている種以外にも、*Lymantria* 属が 9 種記録されている (POGUE and SCHAEFER, 2007; 岸田・真鍋, 2012)。これらの種の寄主範囲や雌成虫の飛翔能力は種によって異なる (POGUE and SCHAEFER, 2007; KEENA et al., 2008; IWAIZUMI and ARAKAWA, 2010)。

したがって、種の生態に応じた的確な防除を行うためには、港湾で発見される種を識別する必要がある。

これまで、*Lymantria* 属の種の識別は、成虫の形態的特徴に基づいて行われてきた (井上, 1958; 1982; SCHINTLMEISTER, 2004; POGUE and SCHAEFER, 2007; 岸田, 2011)。成虫での識別は、主に翅の模様と交尾器の形態に基づき行われる。しかしながら、成虫の翅の鱗粉がはがれている場合や腹部が破損している場合には、識別が困難となる。また、日本に分布する *Lymantria* 属の種は年 1 化であり、野外で最も目にする発育ステージは卵塊である。*Lymantria* 属の卵塊は種間で形態が類似しているため、種の識別が困難である。そのため、遺伝子診断による識別法が存在することが望ましい。

今回、筆者らは AGM 指定種を含む日本産 *Lymantria* 属の形態による識別法 (ARIMOTO and IWAIZUMI, 2014 a) および遺伝子診断による識別法 (ARIMOTO and IWAIZUMI, 2014 b; 2016) について調査を行い、その有用性を明らかにしたので紹介したい。

I *Lymantria* 属の分類の再編

POGUE and SCHAEFER (2007) は、北米に侵入した場合に森林への深刻な被害と経済的損失をもたらす可能性がある *Lymantria* 属 31 種および 3 亜種について、分類学的再検討を行った。その中で、彼らは EGM および AGM を定義した。それによれば、EGM はウラル山脈より西のヨーロッパ、北アフリカおよび北米に分布する *Lymantria dispar dispar* (Linnaeus) 1 亜種であるのに対し、AGM は日本を含む温帯アジアに分布する *Lymantria dispar* の 2 亜種および他の 3 種から成る。それらのうち、*Lymantria dispar asiatica* Vnukovskij はロシア東部、中国および韓国に分布する。日本には、*Lymantria dispar japonica* (Motschulsky) (マイマイガ) が北海道西南部、本州、四国および九州に、*Lymantria umbrosa* (Butler) (エゾマイマイ) が北海道の特に東部に、*Lymantria albescens* Hori and Umeno (シロシタマイマイ) が琉球諸島南部に、*Lymantria postalba* Inoue (コシロシタマイマイ) が九州南部、対馬、屋久島および琉球諸島北部に分布する (表-1)。

一方、岸田 (2011) は、日本に分布するこれらの AGM

Identification Methods of Japanese *Lymantria* Species (Lepidoptera: Lymantriidae) Including Asian Gypsy Moths. By Makoto ARIMOTO and Ren IWAIZUMI

(キーワード: *Lymantria* 属, AGM, 同定, 形態的特徴, ミトコンドリア DNA, 核リボソーム DNA)

表-1 POGUE and SCHAEFER (2007) により AGM として定義された *Lymantria* 属の種とそれらの岸田 (2011) による分類との対応表

POGUE and SCHAEFER (2007)		岸田 (2011)	
学名 (和名)	分布	学名 (和名)	分布
<i>L. dispar japonica</i> (Motschulsky) (マイマイガ)	北海道南西部, 本州, 四国, 九州	→ <i>L. dispar japonica</i> (Motschulsky) (マイマイガ)	北海道南部, 本州, 四国, 九州, 対馬
<i>L. umbrosa</i> (Butler) (エゾマイマイ)	北海道の特に東部	→ <i>L. dispar hokkaidoensis</i> Goldschmidt (マイマイガ)	北海道の東部および北部
<i>L. albescens</i> Hori and Umeno (シロシタマイマイ)	琉球諸島南部	→ <i>L. albescens albescens</i> Hori and Umeno (シロシタマイマイ)	奄美大島, 徳之島, 沖永良部島, 沖縄島, 石垣島, 西表島
<i>L. postalba</i> Inoue (コシロシタマイマイ)	紀伊半島南部, 高知県沖ノ島, 男女群島, 九州南部, 対馬, 種子島, 屋久島, 琉球諸島北部	→ <i>L. albescens postalba</i> Inoue (シロシタマイマイ)	紀伊半島南部, 高知県沖ノ島, 五島列島, 男女群島, 九州南部, 種子島, 屋久島
		→ <i>L. albescens tsushimensis</i> Inoue (シロシタマイマイ)	対馬

(ARIMOTO and IWAIZUMI, 2014 b を改変)

に指定されている *Lymantria* 属の種を 2 種 (*L. dispar* および *L. albescens*) に分類した (表-1)。そして, 同文献では *L. dispar* を 2 亜種に分類し, 北海道南部, 本州, 四国および九州の個体群を *L. dispar japonica* とし, 北海道東部および北部の個体群を *Lymantria dispar hokkaidoensis* Goldschmidt とした。さらに, 同文献では *L. albescens* を 3 亜種に分類し, 奄美大島以南の個体群を *Lymantria albescens albescens* Hori and Umeno とし, 九州南部, 種子島および屋久島の個体群を *Lymantria albescens postalba* Inoue とし, 対馬の個体群を *Lymantria albescens tsushimensis* Inoue とした。

以上のように, *Lymantria* 属の近年における分類は, 米国と日本で一部異なっている。POGUE and SCHAEFER (2007) の分類については問題点も指摘されているが, 本稿の基となる論文で行った調査の背景に AGM を対象とした北米による規制があったことから, 以下の解説では POGUE and SCHAEFER (2007) の分類による和名を用いた。

II *Lymantria* 属の形態による識別法

AGM に指定されている 4 種に 3 種 [*Lymantria xyliana* Swinhoe (マエグロマイマイ), *Lymantria mathura* Moore (カシワマイマイ) および *Lymantria monacha* (Linnaeus) (ノンネマイマイ)] を加えた日本産 *Lymantria* 属計 7 種について, 雌雄成虫の翅の地色および斑紋, 交尾器の形態的特徴を調査した (ARIMOTO and IWAIZUMI,

2014 a, 口絵①)。なお, 交尾器については, 腹部を 10% KOH 溶液に入れて 60°C で 30 ~ 40 分間加熱した後に, 70% エタノール溶液中で腹部を解剖して交尾器を取り出し, 形態を観察した。

材料に用いた 7 種のうち, 例としてマイマイガの雌雄成虫の全体および交尾器の写真を図-1 に示した。

1 雄成虫の翅の地色および斑紋, 交尾器の形態的特徴による識別

7 種の雄成虫の前翅および後翅の地色および各斑紋を調査した結果, これらの形態的特徴が類似していた北海道産のマイマイガおよびエゾマイマイの間を除き, 種を識別することができた。一方, 7 種の交尾器のバルバやエデアグス等の各部位の形態を調査した結果, 各部位の形態が類似していたマイマイガ, エゾマイマイおよびコシロシタマイマイの 3 種の間を除き, 種を識別することができた。

2 雌成虫の翅の地色および斑紋, 交尾器の形態的特徴による識別

7 種のうち, コシロシタマイマイについては, 雌成虫のサンプルを入手できなかった。そのため, 翅の地色および斑紋については, 井上 (1958) に *L. dispar postalba* として掲載されている雌成虫の画像を調査に用いた。7 種の雌成虫の前翅および後翅の地色および各斑紋を調査した結果, これらの形態的特徴が類似していたマイマイガとエゾマイマイの間, およびシロシタマイマイとコシ

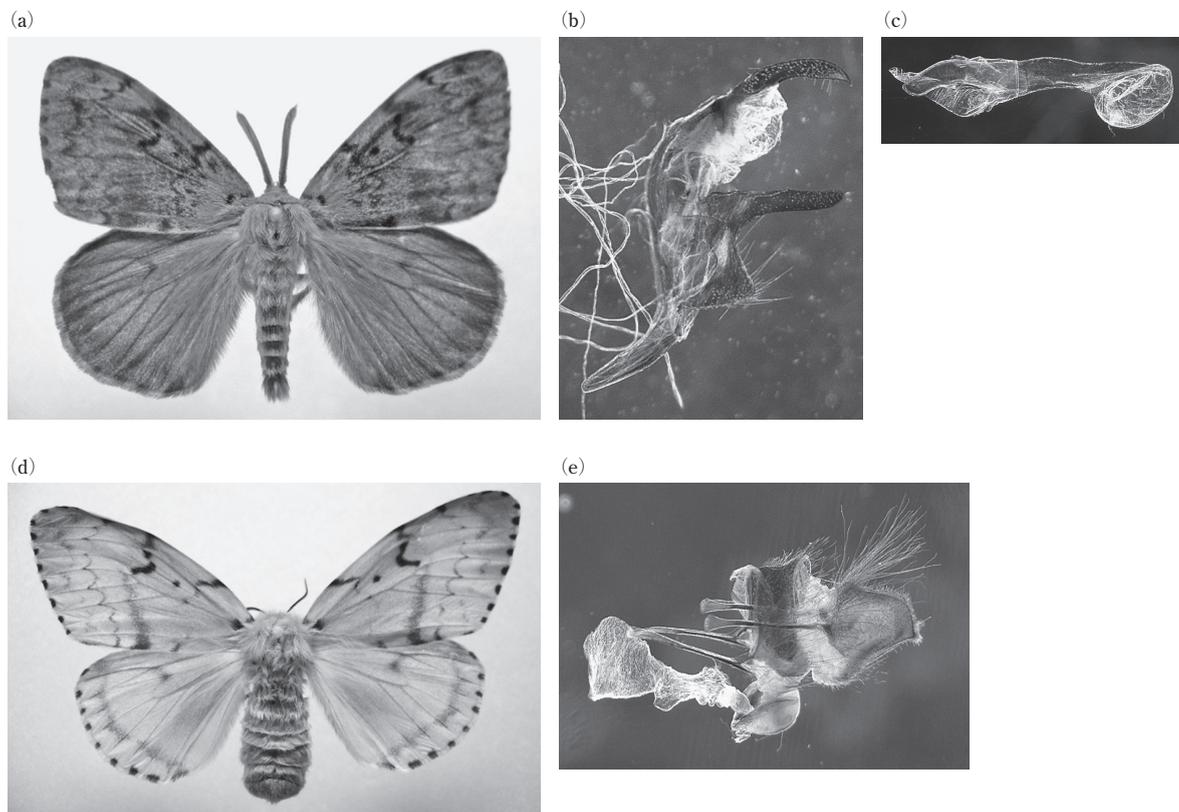


図-1 マイマイガ雄成虫および雌成虫

(a) 雄成虫全体. (b) 雄交尾器側面. (c) 雄交尾器 (エデアグス). (d) 雌成虫全体.
(e) 雌交尾器側面.

(ARIMOTO and IWAIZUMI, 2014 a を改変)

ロシタマイマイの間を除き、種間で識別可能だった。一方、サンプルを入手できなかったコシロシタマイマイを除く6種の雌成虫の交尾器のパピラ・アナリスやドクツス・ブルサエ等の各部位の形態を調査した結果、各部位の形態が類似していたマイマイガ、エゾマイマイおよびシロシタマイマイの間を除き、種間で識別することができた。

以上から、これら7種は、雌雄成虫の翅の地色および斑紋、交尾器の形態的特徴を用いることにより、北海道産のマイマイガおよびエゾマイマイの間を除き、種間で識別できた。

III *Lymantria* 属の遺伝子診断による識別法

AGM 指定4種を含む日本産 *Lymantria* 属について、PCR-RFLP 法による種の識別を試みた。なお、PCR-RFLP 法とは、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) により特定の領域の DNA を増幅し、PCR 増幅産物を制限酵素で切断して得られる断片長の多型 (RFLP) により種を識別

する手法である。今回、*Lymantria* 属の種を識別するために、ミトコンドリア DNA および核リボソーム DNA を用いた。

1 ミトコンドリア DNA を用いた識別法

AGM 指定4種に3種 (マエグロマイマイ、カシワマイマイおよびノンネマイマイ) を加えた計7種の45個体群291個体を材料に用いた (ARIMOTO and IWAIZUMI, 2014 b, 口絵①)。7種の各1個体のミトコンドリア DNA (COI 領域の一部, tRNA leucine, COII 領域, tRNA lysine の一部) をシーケンスし、塩基配列を決定した。得られた塩基配列について、遺伝子解析ソフトを用いて制限酵素の認識部位および制限酵素処理の結果得られる断片長を解析した。その結果、3種類の制限酵素 (*Dra* I, *Alu* I および *Ssp* I) が種の識別に有用であることが判明した (表-2)。実際に *Lymantria* 属7種の45個体群291個体の PCR 産物をこれら3種の制限酵素で処理した結果、すべての個体で種特異的なバンドパターンが検出され、7種を正確に識別できた (図-2)。

表-2 *Lymantria* 属のミトコンドリア DNA の PCR 産物, 断片長 (bp) およびバンドパターン

種名	PCR 産物 ^{a)}	<i>Dra</i> I		<i>Alu</i> I		<i>Ssp</i> I	
		バンドパターン	断片長	バンドパターン	断片長	バンドパターン	断片長
マイマイガ	817	A	749, 68	A	495, 214, 108	A	432, 368, 17
エゾマイマイ	817	B	423, 326, 68	A	495, 214, 108	A	432, 368, 17
シロシタマイマイ	817	C	375, 374, 68	B	393, 316, 108	B	449, 368
コシロシタマイマイ	817	C	375, 374, 68	B	393, 316, 108	C	817
マエグロマイマイ	817	D	374, 326, 68, 49	C	709, 108	A	432, 368, 17
カシワマイマイ	817	E	593, 156, 68	D	505, 312	D	588, 229
ノンネマイマイ	818	A	750, 68	D	505, 313	E	368, 242, 208

^{a)} PCR 産物はフォワードおよびリバースプライマーを含む。

(ARIMOTO and IWAIZUMI, 2014 b を改変)

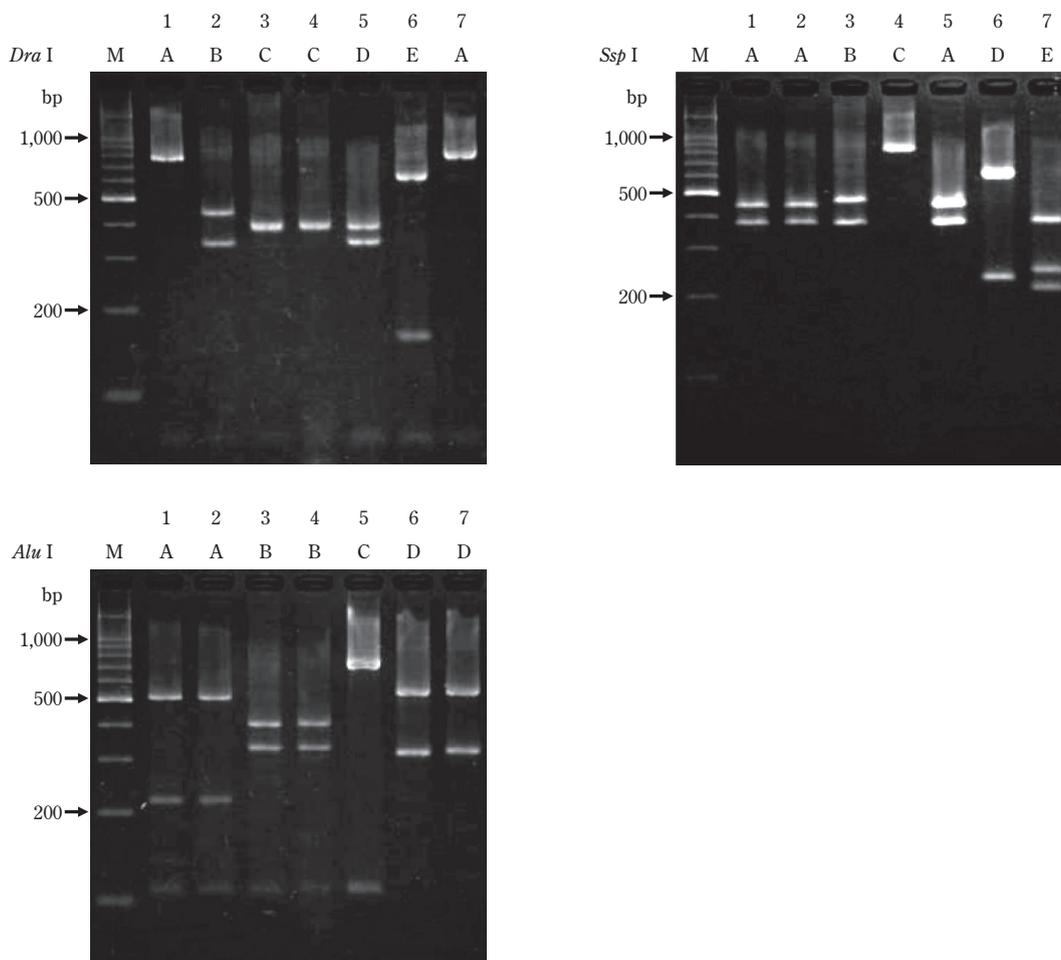


図-2 *Lymantria* 属のミトコンドリア DNA の PCR-RFLP バンドパターン

1: マイマイガ; 2: エゾマイマイ; 3: シロシタマイマイ; 4: コシロシタマイマイ; 5: マエグロマイマイ;
6: カシワマイマイ; 7: ノンネマイマイ. M: 100-bp ラダー DNA サイズマーカー. A-E は表-2 で定義した
バンドパターンを参照 (ARIMOTO and IWAIZUMI, 2014 b を改変).

2 核リボソーム DNA を用いた識別法

AGM 指定 4 種に 4 種 [マエグロマイマイ, カシワマイマイ, ノンネマイマイおよび *Lymantria lucescens* (Butler) (オオヤママイマイ)] を加えた 8 種の 54 個体群 330 個体を用いた (ARIMOTO and IWAIZUMI, 2016, 口絵①)。8 種の各 1 個体について, 核リボソーム DNA の ITS2 領域をシーケンスし, 塩基配列を決定した。得られた塩基配列について, 遺伝子解析ソフトを用いて制限酵素の認識部位および制限酵素処理の結果得られる断

片長を解析した。その結果, 1 種類の制限酵素 (*Mnl* I) が種の識別に有用であることが明らかとなった (表-3)。実際に 8 種の 54 個体群 330 個体の PCR 産物を *Mnl* I で処理した結果, シロシタマイマイの 17 個体中 8 個体において種内変異のバンドパターンが検出されたものの, それ以外の各個体は想定通りのバンドパターンを示し, 2 組の種間 (マイマイガとエゾマイマイ, およびシロシタマイマイとコシロシタマイマイ) を除き, 種の識別が可能だった (図-3)。なお, シロシタマイマイで検出された種内変異のバンドパターンは他種のバンドパターンとは異なるため, 種の識別に影響を及ぼすものではなかった。

以上の結果から, 形態による種の識別が困難な場合, 遺伝子診断法が種の識別に有用であることが明らかとなった。

おわりに

近年, 米国やカナダに加えて, チリやニュージーランドも船舶を経路とした AGM の侵入を警戒している (MPI, 2013; SAG, 2015)。港湾において *Lymantria* 属の成虫が発見された場合, AGM 指定種であるか否かの識別に, 本稿で紹介した形態的特徴による識別法が参考になれば幸いである。一方, *Lymantria* 属の卵塊が発見された際には, 遺伝子診断法が識別の一助になるものと考えている。また, 港湾に限らず, 森林, 農生態系, 都市近郊において *Lymantria* 属が発見された際の識別におい

表-3 *Lymantria* 属の核リボソーム DNA (ITS2 領域) の PCR 産物, 断片長 (bp) およびバンドパターン

種名	PCR 産物 ^{a)}	<i>Mnl</i> I	
		バンドパターン	断片長
マイマイガ	560	A	388, 118, 54
エゾマイマイ	560	A	388, 118, 54
シロシタマイマイ	559	B	387, 92, 54, 26
コシロシタマイマイ	559	B	387, 92, 54, 26
マエグロマイマイ	570	C	265, 251, 54
カシワマイマイ	529	D	395, 80, 54
ノンネマイマイ	527	E	213, 132, 70, 58, 54
オオヤママイマイ	577	F	261, 132, 125, 54, 3, 2

^{a)} PCR 産物はフォワードおよびリバースプライマーを含む。
(ARIMOTO and IWAIZUMI, 2016 を改変)

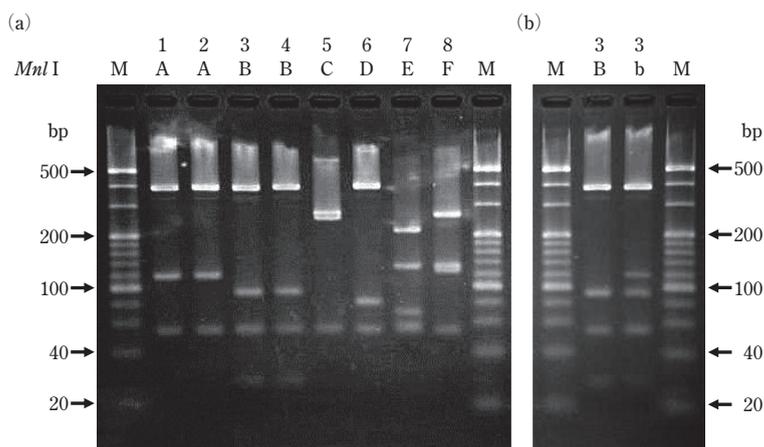


図-3 *Lymantria* 属の核リボソーム DNA (ITS2 領域) の PCR-RFLP バンドパターン (a) 8 種の通常のパターン。 (b) シロシタマイマイの種内変異。断片長は次のように推定された: *b* 387, 118, 92, 54, 26 (bp)。1: マイマイガ; 2: エゾマイマイ; 3: シロシタマイマイ; 4: コシロシタマイマイ; 5: マエグロマイマイ; 6: カシワマイマイ; 7: ノンネマイマイ; 8: オオヤママイマイ。M: 100-bp ラダー DNA サイズマーカー。A-F は表-3 で定義したバンドパターンを参照 (ARIMOTO and IWAIZUMI, 2016 を改変)。

ても、本稿で紹介した識別法が有用であると思われる。

本稿で紹介した調査を行うにあたり、有益な助言をいただいた元東京薬科大学教授の東浦康友博士および農業環境変動研究センターの吉松慎一博士、岩手県盛岡市で採集されたカシワマイマイの標本をご提供いただいた元森林総合研究所東北支所の松本一馬博士に心より感謝申し上げます。また、*Lymantria* 属の標本を採集していただいた各植物防疫所の植物防疫官の皆様、この場を借りて御礼申し上げます。

引 用 文 献

- 1) ARIMOTO, M. and R. IWAIZUMI (2014 a): Res. Bull. Pl. Prot. Japan. **50**: 89 ~ 110.
- 2) ————— (2014 b): Appl. Entomol. Zool. **49**: 159 ~ 169.
- 3) ————— (2016): ibid. **51**: 63 ~ 70.
- 4) BARANCHIKOV, Y. N. (1989): Proceedings, Lymantriidae: a comparison of features of new and old world tussock moths. United States Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station, Broomall, Pennsylvania, p.319 ~ 338.
- 5) 井上 寛 (1958): 原色日本蛾類図鑑 (下), 保育社, 大阪, p.21 ~ 34, pls.72-77.
- 6) ————— (1982): 日本産蛾類大図鑑 第1巻: 解説編, 講談社, 東京, p.628 ~ 638.
- 7) IWAIZUMI, R. and K. ARAKAWA (2010): Res. Bull. Pl. Prot. Japan. **46**: 9 ~ 15.
- 8) KEENA, M. A. (1996): Ann. Entomol. Soc. Am. **89**: 564 ~ 572.
- 9) ————— et al. (2008): Environ. Entomol. **37**: 636 ~ 649.
- 10) 岸田泰則 (2011): 日本産蛾類標準図鑑 2, 学研教育出版, 東京, p.139 ~ 147.
- 11) —————・真鍋泰彦 (2012): 蛾類通信 **265**: 369.
- 12) Ministry for Primary Industries (MPI) (2013): Requirements for Vessels Arriving in New Zealand. Ministry for Primary Industries Biosecurity and Environment Group Standards Branch, Wellington, 16 pp.
- 13) MYERS, J. H. et al. (2000): Trends. Ecol. Evol. **15**: 316 ~ 320.
- 14) North American Plant Protection Organization (NAPPO) (2009): NAPPO regional standards for phytosanitary measures (RSPM) No.33, Guidelines for regulating the movement of ships and cargo from areas infested with the Asian gypsy moth. The Secretariat of the North American Plant Protection Organization, Ottawa, Ontario, 11 pp.
- 15) POGUE, M. G. and P. W. SCHAEFER (2007): A review of selected species of *Lymantria* Hübner [1819] including three new species (Lepidoptera: Noctuidae: Lymantriinae) from subtropical and temperate regions of Asia, some potentially invasive to North America. United States Department of Agriculture Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team, Morgantown, West Virginia, 223 pp.
- 16) Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) (2015): Establece requisitos fitosanitarios para el ingreso de naves provenientes de áreas con presencia de Polilla Gitana Raza Asiática (PGRA) *Lymantria dispar asiática* Vnukovskij y *Lymantria dispar japónica* (Motschulsky) (Lepidoptera, Lymantriidae). Ministerio de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero, Dirección Nacional, Chile. <http://normativa.sag.gob.cl/Publico/Normas/DetalleNorma.aspx?id=1053556> (2016年10月4日アクセス確認)
- 17) SCHAEFER, P. W. et al. (1984): Environ. Entomol. **13**: 1535 ~ 1541.
- 18) SCHINTLMEISTER, A. (2004): Quadriana **7**: 1 ~ 248.
- 19) WALLNER, W. E. et al. (1995): J. Econ. Entomol. **88**: 337 ~ 342.
- 20) 横地 洋 (2007): 植物防疫 **61**: 451 ~ 456.

新しく登録された農薬 (28.10.1 ~ 10.31)

掲載は、**種類名**、登録番号:**商品名** (製造者又は輸入者) 登録年月日、有効成分: 含有量, **対象作物**: 対象病害虫: 使用時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、**適用作物**, **適用雑草**等を記載。

〔殺虫剤〕

● 燐酸第二鉄粒剤

23838: スクミンブルー (プロケマ ゲーエムバーハー) 16/10/19

燐酸第二鉄: 3.0%

稲: スクミリンゴガイ: 発生時

● シアントラニリプロール水和剤

23841: バズ顆粒水和剤 (クミアイ化学工業) 16/10/19

シアントラニリプロール: 37.5%

稲 (箱育苗): フタオビコヤガ, イネドロオイムシ, イネミズゾウムシ: 播種時 (覆土前) ~ 移植当日

稲 (箱育苗): イネドロオイムシ, イネミズゾウムシ: 播種時 (覆土前)

〔殺虫・殺菌剤〕

● ジノテフラン・トルプロカルブ粒剤

23833: ハイパーキック箱粒剤 (三井化学アグロ) 16/10/19

23834: ゴウケツバスター箱粒剤 (北興化学工業) 16/10/19

ジノテフラン: 12.0%

トルプロカルブ: 9.0%

稲 (箱育苗): カメムシ類: 移植当日

稲 (箱育苗): ウンカ類, ツマグロヨコバイ, イネドロオイムシ, イネミズゾウムシ, いもち病: 移植3日前~移植当日

● ベルメトリン・テトラコナゾール液剤

23839: 住友化学ガーデンガード AL (住友化学) 16/10/19

ベルメトリン: 0.010%

テトラコナゾール: 0.0050%

トマト: 葉かび病, アブラムシ類: 収穫前日まで

キュウリ, いちご: うどんこ病, アブラムシ類: 収穫前日まで

ばら: うどんこ病, 黒星病, アブラムシ類, チュウレンジハバチ: 発生初期

花き類: 観葉植物 (ばら, はばたんを除く): アブラムシ類: 発生初期

つつじ類: ツツジゲンバイ: 発生初期

ハボタン: アオムシ, アブラムシ類: 発生初期

つばき類: チャドクガ: 発生初期

(29 ページに続く)