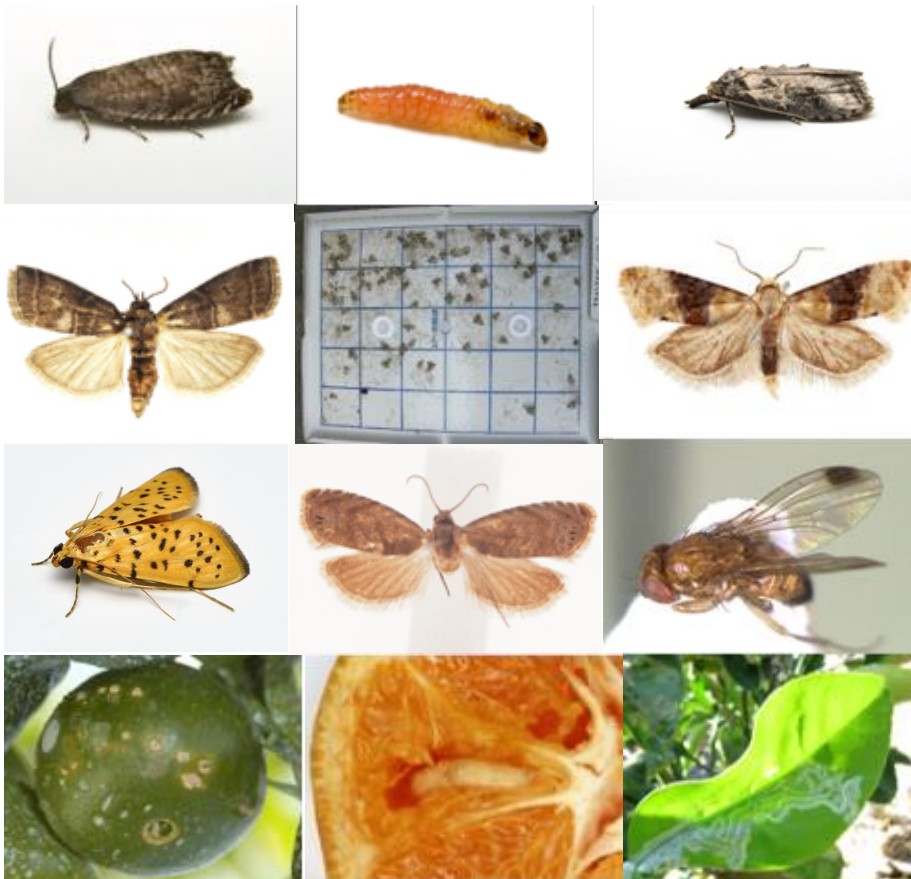


輸出相手国が侵入を警戒する 主要検疫対象病害虫 発生調査手法マニュアル



目次

1. はじめに・免責事項	1
2. 各論	
・ モモシンクイガ <i>Carposina sasakii</i>	3
・ モモノゴマダラノメイガ <i>Conogethes punctiferalis</i>	7
・ ナシヒメシンクイ <i>Grapholita molesta</i>	10
・ ミカンバエ <i>Bactrocera tsuneonis</i>	15
・ ミカンハモグリガ <i>Phyllocnistis citrella</i>	18
・ カンキツかいよう病 <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>	20
・ スモモヒメシンクイ <i>Grapholita dimorpha</i>	22
・ リンゴコシンクイ <i>Grapholita inopinata</i>	24
・ ナシマダラメイガ <i>Acrobasis pirivorella</i>	26
・ ブドウホソハマキ <i>Eupoecilia ambiguella</i>	28
・ オウトウショウジョウバエ <i>Drosophila suzukii</i>	30
3. 参考資料	
・ 輸出検疫対象病害虫の検疫情報の入手方法 (EPPO Global Database)	34
・ DNAバーコーディングによる種同定法	35
・ フェロモン剤および発生予察用資材の入手先	40
4. 参考文献リスト	41

はじめに

わが国の植物検疫においては、輸出に関する規制等の緩和・撤廃に向けた取組を加速化することとし、現在輸出ができない国・品目について輸出拡大を図るため、「農林水産業の輸出力強化戦略」において策定された国・地域別の輸出拡大戦略を踏まえ、重点的に二国間の輸出植物検疫協議を進めることとされています。

この様な状況の中、輸出植物検疫協議で最も時間を要する相手国との「検疫条件の協議」を迅速化するため、相手国に提示できる様々な検疫措置案の作成等を行うことが必要です。そこで、輸出相手国が侵入を警戒する病害虫の発生状況等に関する全国調査を統一的な手法で行うことで国内の発生状況を網羅的に把握し、この結果を踏まえ病害虫の無発生生産地、無発生園地、低密度発生地域の設定及び寄主とならない農作物の判定等を行い、輸出植物検疫協議に必要なデータを取りまとめるため、「平成30年度輸出植物検疫協議の迅速化委託事業」、および「平成31年度国際的検疫処理基準の確立・実証委託事業」が実施されました。

両事業において、輸出相手国が侵入を警戒する検疫有害病害虫の全国発生状況調査が実施された際、調査手順書が作成、配布されました。また、両事業において、調査担当者を対象に、害虫種の分類・同定研修会が開催され、未公表のテキストが作成されました。そこで、これら資料を取りまとめ、全国の公設試験場および防除所等での使用を想定した調査マニュアルを作成することにしました。

本マニュアルは、輸出相手国が侵入を警戒する主要検疫対象病害虫11種それぞれの、標本・生態写真、生物学的情報の概要、調査方法から構成されます。また、モモシクイガ、ナシヒメシクイ（スモモヒメシクイ、リンゴコシクイ）、モモノゴマダラノメイガ、オウトウショウジョウバエについては、近縁・類似種との見分け方を併記しています。さらに、輸出検疫対象病害虫の検疫情報の入手方法、形態による種同定を補助するためのDNAバーコーディングによる分子同定法、フェロモントラップ調査に必要な資材等の入手方法を収載しました。

なお、本マニュアルは「令和2年度我が国の輸出に有利な国際的検疫処理基準の確立、実証委託事業」および「令和3年度我が国の輸出に有利な国際的検疫処理基準の確立、実証委託事業」において、農研機構 植物防疫研究部門、果樹茶業研究部門により編集されたものです。

本マニュアルは、「私的使用」または「引用」など著作権法上認められた場合を除き、無断で転載、複製、放送、販売などの利用をすることはできません。なお、引用する場合は以下の通りに記載をお願いします。

農研機構編（2022）輸出相手国が侵入を警戒する主要検疫対象病害虫発生調査手法マニュアル. 42p.

https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/files/pest_detection_survey_manual.pdf

■免責事項

- ・農研機構は、利用者が本マニュアルに記載された技術を利用したこと、あるいは技術を利用できないことによる結果について、一切責任を負いません。
- ・本マニュアルに掲載した情報は2022年3月末時点のものであり、掲載写真は、所有者から使用許諾を得ています。

2022年3月

■外部からの受付窓口：

農研機構 植物防疫研究部門 研究推進部 研究推進室

029-838-6876

IPP-koho@naro.affrc.go.jp

モモシンクイガ

Carposina sasakii Matsumura

(チョウ目：シンクイガ科) / 開張 14-20mm



展翅標本
(提供：那須義次博士)



成虫



幼虫



成虫



リンゴ被害果 (ヤニ発生)



リンゴ被害果

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：韓国、中国、ロシア (CABI)

国内：北海道、本州、四国、九州、伊豆諸島、対馬、屋久島 (日本産蛾類標準図鑑 IV)

2. 寄主植物：

栽培植物：リンゴ、ナシ、モモ、スモモ、アンズ、ウメ、マルメロ

野生植物：サクラ、ズミ、エゾノコリンゴ、ヒメリンゴ、ボケ、クサボケ、ハマナス、サンザシ、エゾヤマザクラ

3. 発生生態：

① 発生開始及び終了時期：5月上旬～9月下旬

② 発生盛期：7～8月

③ 世代数：年1～2化

・青森県東部と岩手県は1世代と2世代が混在して発生

・盛岡以南の平地部と青森西部は2世代が主体

④ ステージ別発育ゼロ点および有効積算温量：(川嶋、2008；石栗・豊島、2008、青森県での知見)

卵：11.2℃、93.0日度

果実内幼虫：9.6℃、269.6日度

⑤ 越冬形態/越冬場所：老熟幼虫/土中 (土繭内)

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無：

幼虫：果実（穿孔）

成虫：果実表面（主にがくあ部）に産卵

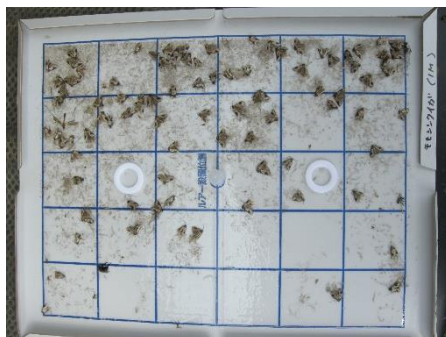
5. 特記事項：

別名として、モモヒメシンクイガとモモノヒメシンクイがある。

II 調査方法：定点フェロモントラップによる誘殺調査



フェロモントラップ設置状況



フェロモントラップ粘着板に
捕捉された成虫



モモシンクイガ拡大写真

（提供：長野県果樹試験場石井伸洋氏）

1. 調査植物：リンゴ、ナシ、モモ、スモモ、アンズ、ウメ

2. 調査期間：発生盛期（7～8月）を基本とする。

3. 調査部位あるいは使用資材：モモシンクイガ用フェロモンルアー（P.40参照）、粘着式トラップ（住化式粘着トラップ、SEトラップ等）

4. 具体的な調査方法：

- ・調査地点は、園地圃場ごとに管理する。
- ・トラップは調査園地内にある寄主植物の横枝へ安全に設置し、トラップの害虫入口が地表からおよそ1.5 mの高さになるように設置する。
- ・トラップを設置する適当な横枝がない場合は支柱を使用する。
- ・他に本種の誘引に影響を与える恐れがあるトラップを設置する場合は、当該調査園地及び周囲の調査園地を避けて設置すること。

5. 類似種との識別

フェロモントラップには、以下のチョウ目も誘殺されることがあり、識別が必要となる。

コブシロシンクイ *Meridarchis excisa* (Walsingham)

ニッポンシロシンクイ *Carposina niponensis* Walsingham

コウスグロシンクイ *Carposina maritima* Ponomarenko

オオモンシロシンクイ *Meridarchis jumboa* Kawabe

チャモンシンクイ *Peragrarchis syncolleta* (Meyrick)

シロモンクロシンクイ *Commatarcha palaeosema* Meyrick

モモシクイガのフェロモントラップに誘殺される種

種名	誘殺時期 (数)	誘殺報告地域	外観での識別	発生時期	分布	文献*	備考
モモシクイガ <i>Carposina sasakii</i>	-	-	開張14-20 mm 前翅は三角紋が目立つ。前翅に沿った鱗片塊が散在。	6-9月	九州以北	1	
ニッポンシロシクイ <i>Carposina niponensis</i>	9月下-11月上 (2)	大分	やや難 開張15mm 前翅の幅が狭く、地色がより白く、前縁に明瞭な黒褐色の三角紋を持たない。交尾器による識別は容易。	9月下-10月中	本州、九州	3	
コウスグロシクイ <i>Carposina maritima</i>	7月下-10月上 (1-7)	岩手、新潟、和歌山、徳島	可 開張10~15 mm モモシクイガよりも小型。前翅の地色が灰色。	8月-10月上	本州、四国	3	
コブシロシクイ <i>Meridarchis excisa</i>	5月下-6月 (7)	北海道	可 開張17~22 mm 前翅前縁に黒褐色の三角紋を持たない。	5月下-8月中	北海道、本州	2 3	文献2の報告では調査中6月に10匹前後誘殺。モモシクイガよりも早い時期に誘殺。
オオモンシロシクイ <i>Meridarchis jumboa</i>	5月下 (3)	北海道	難 開張21~25 mm モモシクイガより大型だが外部特徴が類似。交尾器による識別は容易。	4月下-6月上	北海道、本州 (中部以北)	3	
チャモンシクイ <i>Peragrarchis syncolleta</i>	7月中 (徳島1) 9月下 (大分1)	徳島、大分	難 開張14~22mm 外部特徴が類似。交尾器による識別は容易。	7月中、9月下、南西諸島5月中-10月下	四国、九州、南西諸島	3	
シロモンクロシクイ <i>Commatarcha palaeosema</i>	9月 (長野3) 7月中と10月中下 (徳島、各1)	本州、長野、徳島	可 開張12~16mm モモシクイガよりも小型。前翅の地色が黒褐色で明瞭な白線紋がある。	4-10月	四国、九州、屋久島、奄美大島	3	

* 1 : 梅谷・岡田 (2003) 、 2 : 水越 (2006) 、 3 : 那須ら (2010)

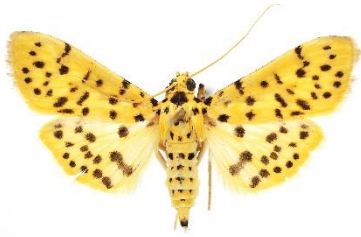
雄成虫の形態に基づく検索

前翅長、前翅の斑紋、雄交尾器等による本グループの識別法は那須・玉嶋・柴尾・吉松・内藤（2010）及び那須（2011）を参照のこと。

モモノゴマダラノメイガ

Conogethes punctiferalis (Guenée)

(チョウ目：ツトガ科) / 開張 23-30mm



成虫標本



成虫



幼虫



ナシ被害果



リンゴ被害果



クリ被害果

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：インド、インドネシア、オーストラリア、韓国、カンボジア、北朝鮮、スリランカ、タイ、台湾、中国、パプアニューギニア、フィリピン、ブルネイ、ベトナム、マレーシア、ミャンマー、ラオス (CABI)

国内：日本全土 (日本産蛾類標準図鑑 IV)

2. 寄主植物：

栽培植物：クリ、モモ、スモモ、リンゴ、ナシ、カキ、ビワ、ウメ、カンキツ、ブドウ、ザクロ、トウモロコシ、ヒマワリ、キク、タマネギ、アヤメなど

※夏まではモモに寄生し、モモの後はクリに寄生する。

野生植物：アカメガシワ、ハマボウ等、上記を含め17科44種以上が知られている。

3. 発生生態：

① 発生開始及び終了時期：5～10月

② 発生盛期：成虫：6月 (越冬世代)、8月 (第1世代)、9月 (第2世代)

③ 世代数：年2～3化

④ ステージ別発育ゼロ点および有効積算温量：真梶・於保 (1970)

卵：11.5℃、72.6日度

蛹：13.2℃、161日度

幼虫～成虫：10.6℃、544.8日度

⑤ 越冬形態及び越冬場所：老熟幼虫 / 樹皮間隙や粗皮下、落葉下 (繭内)

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無：

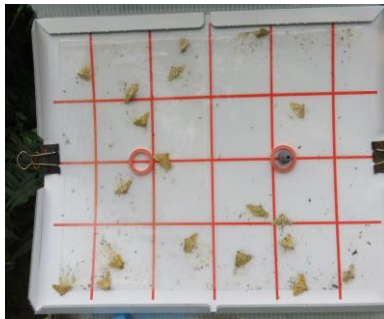
幼虫：果実（穿孔）

成虫：果実表面に産卵

II 調査方法：定点フェロモントラップによる誘殺調査



フェロモントラップ設置状況



フェロモントラップ粘着板に捕捉された成虫



モモノゴマダラノメイガ
拡大写真

1. 調査植物：クリ、モモ、スモモ、リンゴ、ナシ、カキ、ウメ、カンキツ類、ブドウ、キク、タマネギ

2. 調査期間：発生盛期（6～9月）を基本とする。

3. 調査部位あるいは使用資材：モモノゴマダラノメイガ用フェロモンルアー（P.40参照）、粘着式トラップ（住化式粘着トラップ、SEトラップ等）

4. 具体的な調査方法：

- ・調査地点は、園地圃場ごとに管理する。
- ・トラップは調査園地内にある寄主植物の横枝に安全に設置し、トラップの害虫侵入口の高さは、地表からおよそ1.5 mの高さに設置する。
- ・他に本種の誘引に影響を与える恐れがあるトラップを設置する場合は、当該調査園地及び周囲の調査園地を避けて設置すること。

5. 類似種との識別

フェロモントラップには、近縁種のマツノゴマダラノメイガも誘殺されることがあり、識別が必要となる。

マツノゴマダラノメイガ *Conogethes pinicolalis* Inoue & Yamanaka



マツノゴマダラノメイガ成虫

1. 分布：

海外：台湾、朝鮮半島南部、中国、タイ
国内：日本全土（日本産蛾類標準図鑑 IV）

2. 寄主植物：

アカマツ、クロマツ、ゴヨウマツ、トウヒ、ツガ、カラマツ、トドマツ、モミ、ヒマラヤスギなど

3. 生態：

- ① 発生開始及び終了時期：6～9月
- ② 発生盛期：不詳
- ③ 世代数：年2～3化
- ④ ステージ別発育ゼロ点および有効積算温度：不詳
- ⑤ 越冬形態／越冬場所：若齢幼虫／葉を綴った巣の中

モモノゴマダラノメイガとマツノゴマダラノメイガの特徴

	開帳	体色	翅の黒点	その他
モモノゴマダラノメイガ	23-30 mm	淡黄色もしくは橙黄色	鮮明で孤立する傾向	下唇鬚（かしんしゅ）は全体に淡黄色、上縁は黒褐色で、時に下縁も細く黒色に縁取られる
マツノゴマダラノメイガ	23-27 mm	淡黄色もしくは橙黄色で、暗色を帯びることがある	にじむように広がり、互いにつながる傾向	下唇鬚（かしんしゅ）の中節は側面が幅広く黒色 雄の後脚には脛節（けいせつ）末端部と第1ふ節基部に暗色の毛束がある



モモノゴマダラノメイガ



マツノゴマダラノメイガ



下唇鬚中節の上縁、時には下縁も細く黒色に縁取られる



下唇鬚中節は側面が幅広く黒色



雄の後脚の脛節末端と第1ふ節基部に暗色の毛束はない



雄の後脚の脛節末端と第1ふ節基部に暗色の毛束がある

ナシヒメシンクイ

Grapholita molesta (Busck)

(チョウ目：ハマキガ科) / 開張 11-14mm



展翅標本
(提供：那須義次博士)



成虫



幼虫



ナシ被害果



モモ芯折れ被害



モモ芯折れ被害部幼虫

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：アゼルバイジャン、アメリカ、アルゼンチン、アルメニア、イギリス、イタリア、ウクライナ、ウズベキスタン、ウルグアイ、オーストラリア、オーストリア、カザフスタン、カナダ、韓国、北朝鮮、ギリシャ、キルギス、クロアチア、ジョージア、スイス、スペイン、スロバキア、スロベニア、セルビア、台湾、チェコ、中国、チリ、デンマーク、ドイツ、トルコ、ニュージーランド、ハンガリー、ブラジル、フランス、ブルガリア、ベルギー、ポーランド、ポルトガル、香港、マルタ、南アフリカ、メキシコ、モーリシャス、モルドバ、モロッコ、ラトビア、リトアニア、ルーマニア、ロシア (CABI)

国内：北海道、本州、九州、四国 (日本産蛾類標準図鑑 IV)

2. 寄主植物：

栽培植物：ナシ、モモ、スモモ、リンゴ、ウメ、オウトウ、アンズ、カキ、マルメロ、ビワ

野生植物：サクラ、ズミ、ボケ

3. 発生生態：

- ① 発生開始及び終了時期：3月下旬～11月
- ② 発生盛期：5～9月
- ③ 世代数：年2～3化 (北海道、東北)～6化 (九州)
- ④ ステージ別発育ゼロ点および有効積算温量：田中・矢吹 (1978)
卵～成虫：11.1℃、383.7日度
- ⑤ 越冬形態／越冬場所：老熟幼虫／樹皮下や落葉下 (繭内)

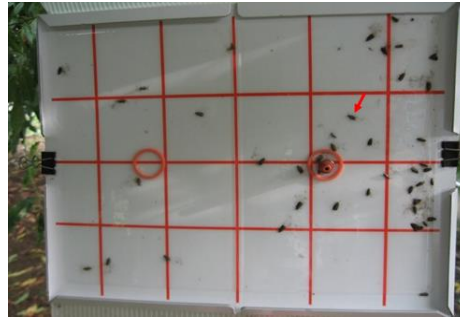
4. 加害部位及び果実への穿孔の有無

- ① 幼虫：果実（穿孔）、モモ・サクラの新梢（穿孔）
- ② 成虫：果実表面、モモ・サクラの新梢や葉裏に産卵

II 調査方法：定点フェロモントラップによる誘殺調査



モモ園でのフェロモントラップ
設置状況



フェロモントラップ粘着板に捕捉
された成虫



ナシヒメシンクイ
拡大写真



園外のサクラでの調査

1. 調査植物：リンゴ、ナシ、モモ、スモモ、アンズ、ウメ、サクラ
2. 調査期間：発生盛期（7～8月）を基本とする。
3. 調査部位あるいは使用資材：ナシヒメシンクイ用フェロモンルアー（P.40参照）、粘着式トラップ（住化式粘着トラップ、SEトラップ等）
4. 具体的な調査方法：
 - ・調査地点は、園地圃場ごとに管理する。
 - ・トラップは調査園地内にある寄主植物の横枝へ安全に設置し、トラップの害虫侵入口が地表からおよそ1.5 mの高さになるように設置する。
 - ・トラップを設置する適当な横枝がない場合は支柱を使用する。
 - ・スモモヒメシンクイトラップなど他に本種の誘引に影響を与える恐れがあるトラップを設置する場合は、当該調査園地及び周囲の調査園地を避けて設置すること。

5. 類似種との識別

フェロモントラップには、以下のチョウ目も誘殺されることがあり、識別が必要となる。

スモモヒメシンクイ *Grapholita dimorpha* Komai
リンゴコシンクイ *Grapholita inopinata* Heinrich
イバラヒメシンクイ *Grapholita tenebrosana* Duponchel
ナナカマドヒメシンクイ *Grapholita andabatana* (Wolff)
シタジロシロモンヒメハマキ *Pammene orientana* Kuznetsov
ネモロウサヒメハマキ *Pammene nemorosa* Kuznetsov
ホソバハイイロハマキ *Cnephasia stephensiana stolidana* (Walker)

ナシヒメシンクイのフェロモントラップに誘殺される類似種の成虫標本 (本マニュアルで扱った11種を除く)



イバラヒメシンクイ
(トラップ捕提成虫)



ナナカマドヒメシンクイ
(トラップ捕提成虫)

(提供：北海道立総合研究機構岩崎暁生氏)



シタジロシロモンヒメハマキ
(提供：那須義次博士)



ネモロウサヒメハマキ
(提供：那須義次博士)



ホソバハイイロハマキ
(提供：那須義次博士)

ナシヒメシンクイのフェロモントラップに誘殺されるチョウ目類似種

種名	誘殺報告地域 (誘殺数)	雄の外観でのナシヒメシンクイとの識別	発生時期	分布	文献*	備考
ナシヒメシンクイ <i>Grapholita molesta</i>	-	開張:11-14mm 前翅は暗褐色、鱗片の先端が灰白色で横条を形成。後翅は褐色で雄は灰白紋を持つ。外縁が曲線状(扇型)。	4月上 -	全国	1,2	
スモモヒメシンクイ <i>G. dimorpha</i>	長野以北	可 開張:11-14mm 後翅形状で識別可。後翅外縁が角張る。	4下- 9月中	北海道、 本州	1,3, 4,5, 6	トラップ付近にスモモ、ブルーベリー、ポケがある所では誘殺数が多くなる ⁵ 。
リンゴコシンクイ <i>G. inopinata</i>	北海道 (2)、 大阪	難 開張:10-12mm 前翅は暗褐色。鱗片の先端は灰白色で横条を形成。後翅は褐色でナシヒメよりやや小型。	6月中 下-	北海道、 本州	2,3 7,8	2003年の誘殺数
イバラヒメシンクイ <i>G. tenebrosana</i>	北海道 (3)	難 開張:14-15mm ナシヒメより一般に大型で後翅の外縁の縁毛は毛状。	6月下	北海道、 本州	3	2003年の誘殺数
ナナカマドヒメシンクイ <i>G. andabatana</i>	北海道 (1)	難 開張:12-15mm	7月下	北海道、 本州	3	2003年の誘殺数
シタジロシロモンヒメハマキ <i>Pammene orientana</i>	北海道 (2)	可 開張:18-19mm 大型で、前翅後縁中央に明瞭な白色紋を持ち、後翅の基半部は白色。	6月-	北海道、 本州	3,8	2003年の誘殺数
ネモロウサヒメハマキ <i>P. nemorosa</i>	北海道 (3) 福島	可 開張:11-16.5mm 前翅は灰褐色で、後翅は灰白色。	4月-	北海道、 本州、 四国	3,8	1985年の誘殺数。 佐々木私信 (福島)
ホソバハイイロハマキ <i>Cnephasia stephensiana stolidana</i>	北海道 (63)	難 開張:17-21mm 全体が灰褐色。前翅には黒褐色の太い3本の帯状紋。中央の帯状紋は長い。	5月-	北海道、 本州、 四国、 九州	1,3, 8	2003年の誘殺数

* 1 : 梅谷・岡田 (2003) 、 2 : 駒井 (1976) 、 3 : 水越 (2006) 、 4 : Murakami et al. (2005) 、 5 : 高梨ら (2009) 、 6 : 吉沢 (2007) 、 7 : 田中ら (2007) 、 8 : 日本産蛾類大図鑑 I (1982)

Ⅲ 成虫の外部形態に基づく簡易識別法

1 トラップに誘引された蛾の観察手順 (那須・吉松、2021を改変)

前翅長5~7mmの黒っぽい蛾が対象で、誘引される個体は普通雄である。既に後翅が見えるもの、前翅が可動するものなら、ピンセットか針で前翅を前方(頭方)に動かして後翅表面を観察する(息を尾方から強く吹きかけると前翅が前に動き、後翅が観察できる場合もある)。

後翅外縁が円く、外縁付近に灰色の斑紋(灰色の鱗粉塊)があれば、ナシヒメシンクイ。斑紋がなければ、スモモヒメシンクイ、リンゴコシンクイあるいはその他対象外の蛾(リンゴコシンクイはやや小さいが、個体変異もあり、大きさだけで判断するのは危険)。斑紋が分かり難い場合、粘着板から虫体を剥がして観察する。

蛾の上に、キシレンか市販のシールはがし液等を垂らして、しばらく待つと、粘着剤が溶け、虫体を粘着板から剥がせる。触角や脚がとれる場合があるが問題ない。識別に大事なものは後翅と腹部なので、これらをうまく剥がす。剥がした虫体をキシレン等に漬けて、粘着剤を除去する。虫体を紙の上に乗せ、乾燥させ、ピンセットか針で、前翅基部をつまんで、前翅を除去し、後翅を観察する。後翅が折りたたまれ、観察しにくい場合が多いので、後翅を70~80%エタノール液か10%水酸化カリウム水溶液にしばらく漬けておくと、後翅が広がって観察し易くなる。広がりにくい場合は、しばらくの間漬けたものを丁寧にピンセット等で後翅を広げる。

2 後翅の形態に基づく検索表 (那須・吉松、2021を改変、一部間違い修正)

1. 後翅外縁がくぼんでいる.....スモモヒメシンクイ
- 1'. 後翅外縁が円い.....2
2. 後翅外縁付近に灰色の斑紋がある.....ナシヒメシンクイ
- 2'. 後翅外縁付近に斑紋がない.....リンゴコシンクイかあるいはその他の蛾
(交尾器の形態を観察する必要がある)



スモモヒメシンクイ：
後翅外縁部がくぼんで
いる。



ナシヒメシンクイ：
後翅外縁部が円く、
灰色の斑紋がある。

3 ナシヒメシンクイと近縁種の雄交尾器での識別点 (那須・吉松、2021を改変)

交尾器を観察するには解剖を行う。トラップから回収した虫体からピンセットか針を用いて腹部を外す。胸部と腹部は背方の一部で連結しているの、腹部を背方にゆっくり折り曲げると、簡単に腹部は外れる。雄交尾器の具体的な解剖方法や形態に基づく検索表については那須・吉松(2021)を参照して欲しい。

ミカンバエ

Bactrocera tsuneonis (Miyake)

(ハエ目：ミバエ科) / 体長 10-11mm



成虫



成虫



産卵中の雌



卵



幼虫と被害果



困蛹 (いよう)

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：中国

国内：大分、宮崎、鹿児島（種子島、屋久島、奄美大島などの離島にも分布）各県の一部地域

2. 寄主植物：

栽培植物：ポンカン、コミカン、温州ミカン、キンカンなど比較的果皮の薄いカンキツ類

野生植物：イチバナ

3. 発生生態：

① 発生開始及び終了時期：成虫発生時期は6月から9月、幼虫は8月から12月

② 発生盛期：夏から初秋（7月～9月）

③ 世代数：年1化

④ 発育ゼロ点及び有効積算温量：不詳

⑤ 越冬形態／越冬場所：蛹／土中

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無：

幼虫：果実（穿孔）

成虫：果実内部に産卵

II 調査方法：落果生果実の切開調査による幼虫寄生調査



寄生により着色が早まった果実
樹を揺ると落果しやすい



落果した果実

1. 調査植物：かんきつ類（温州ミカン）

2. 調査時期：かんきつ類の生果実の生育期間のうち、ミカンバエ幼虫が果実内で成長する10月から11月を基本とする。

3. 調査部位：果実

4. 具体的な調査方法：

1) 被害果の選別

藪や雑木林、防風林に近い樹の果実（日当たりの悪い場所）を中心に、以下のよ
うな果実を探索する。

①周囲の果実と比較して異常に早く着色している果実（写真1）あるいは果実の
産卵痕（写真2）

※被害果は着色が早く、紅は濃く、特に、へた周辺の紅が濃い

②樹を揺らして落下した果実（へた落ちした果実は要注意）（写真3）

③直径3mm程度の幼虫の脱出痕がある果実（写真4）



異常着色果（右）（写真1）
着色が早く、へた周辺の紅が濃い



果実の産卵痕（写真2）



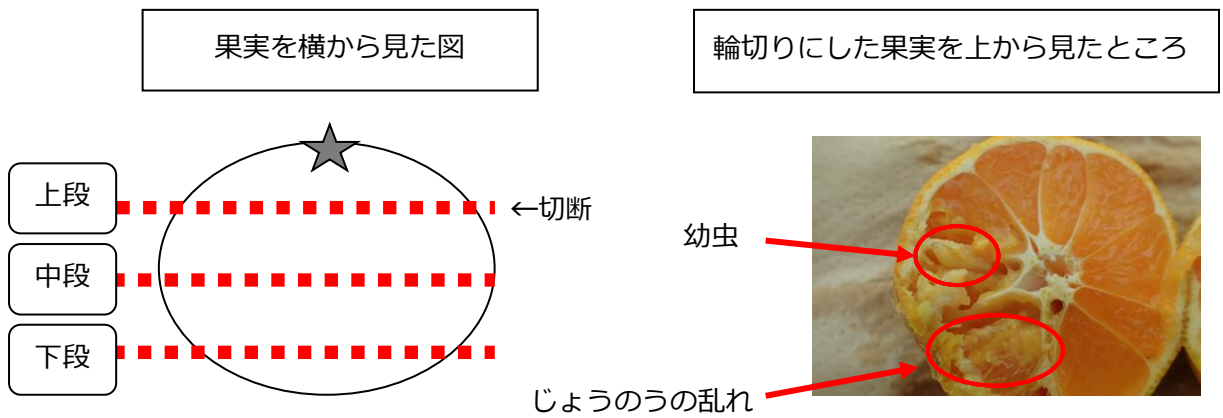
離層が形成され落下した果実（写真3）



幼虫の脱出痕（写真4）

2) 被害果の確認（果実分解調査）

揺すって生じた落果を含めて、落下している果実を調査対象とし、脱出孔の確認及び幼虫が見つかるまで切開調査を行う。異常が認められる果実を横3つに輪切りにし、①幼虫の発生、②じょうのうの乱れと脱出孔が確認される果実を「被害果」とする。



落果が認められない場合は、発生している可能性が低いので、その地点は暫定未発生とする。

ミカンハモグリガ

Phyllocnistis citrella Stainton

(チョウ目：ホソガ科) / 開張 3.8 - 6.0 mm



展翅標本
(提供：那須義次博士)



成虫



幼虫



卵



葉上の被害痕



果皮上の被害痕

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：アルゼンチン、イスラエル、インド、オーストラリア、キューバ、コスタリカ、コルシカ、スペイン、スリランカ、中国、フィリピン、ブラジル、マデイラ、マレーシア、南アフリカ、メキシコ、モーリシャス

国内：本州、四国、九州、小笠原諸島、南西諸島

2. 寄主植物：

栽培植物：カンキツ類全般

野生植物：イチバナ

3. 発生生態：

① 発生開始及び終了時期：4月～11月

② 発生盛期：夏から初秋（7月～9月）

③ 世代数：年10化以上

④ ステージ別発育ゼロ点および有効積算温量：山本（1971）

卵：12.3℃、33.5日度

幼虫：11.6℃、83.3日度

蛹：11.3℃、123.5日度

卵～成虫：12.1℃、238.2日度

⑤ 越冬形態／越冬場所：成虫／土中（土繭）

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無：

幼虫：葉（新葉）、果実（穿孔しない）

成虫：新葉・果実表面に産卵

5. 特記事項

ミカンコハモグリという別名がある。

II 調査方法：新梢の寄生幼虫調査、誘引剤による成虫調査



幼虫寄生葉



フェロモントラップ設置状況



成虫捕獲状況



ミカンハモグリガ食害痕に
発生したかいよう病（p20-21参照）

1. 調査植物：カンキツ類

2. 調査期間：春梢、夏梢及び秋梢の発芽期から伸長停止期を基本とする。

3. 調査部位あるいは使用資材：（トラップ調査）ミカンハモグリガ用フェロモンルアー（P.40参照）、粘着式トラップ（住化式粘着トラップ、SEトラップ等）

4. 具体的な調査方法：

（幼虫寄生調査）

- ・カンキツ類の葉の模様の有無を調査する。

（トラップ調査）

- ・調査地点は、園地圃場ごとに管理する。
- ・トラップは調査園地内にある寄主植物の横枝へ安全に設置し、トラップの害虫入口が地表からおよそ1.5 mの高さになるように設置する。
- ・トラップを設置する適当な横枝がない場合は支柱を使用する。
- ・他に本種の誘引に影響を与える恐れがあるトラップを設置する場合は、当該調査園地及び周囲の調査園地を避けて設置すること。

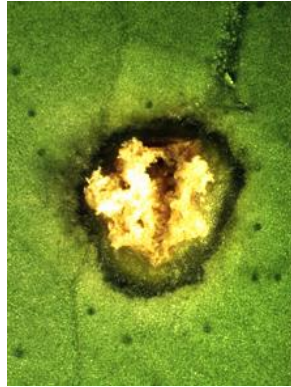
カンキツかいよう病

Xanthomonas citri subsp. *citri*

(キサントモナス目：キサントモナス科)



発病初期の水疱状病斑



コルク化した病斑



葉での発病



果実での発病

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：アメリカ（フロリダ、アラバマ、ルイジアナ、テキサス）、アルゼンチン、イラン、インド、エチオピア、サウジアラビア、スリランカ、中国、東南アジア諸国、ネパール、パキスタン、パラグアイ、バングラディシュ、ブラジル、マリなど
国内：本州、四国、九州（カンキツの分布域）

2. 寄主植物：カンキツ類全般

3. 発病部位：葉、緑枝及び果実

4. 病徴：

春葉の病斑は最初円形、淡黄色、水浸状の病斑であるが、のち表面がやや盛り上がり、拡大すると中央部がコルク化して粗造となり、その周囲0.5mm幅が水浸状、さらにその周囲が黄化する。果実の病斑も葉と同様だが、黄化しない（岸、1998）。

5. 発生生態：

① 発生開始及び終了時期：

3月下旬の発芽期から晩秋まで感染する（日中の最高気温が15℃を超えるようになると病斑内で病原細菌が増殖し、感染が始まる）。

② 発生盛期：

春葉では5月上旬から6月中旬まで、果実では5月下旬から9月下旬ごろまで感染発病する。ミカンハモグリガの食害痕は感染・発病場所として好適。台風など強風雨は感染を助長する。

③ 世代数：-

④ 発育ゼロ点：-

⑤ 越冬形態及び越冬場所：病斑内

II 調査方法：葉、緑枝及び果実調査による発病調査



果実に発生したかいよう病
(左：ネーブル、右：レモン)

枝に発生したかいよう病



ミカンハモグリガ食害痕に発生したかいよう病
(左：葉表、右：葉裏)

1. 調査植物：カンキツ属、カラタチ属
2. 調査時期：本病の発病が終了する10月を基本とする。
3. 調査部位：葉、緑枝及び果実
4. 具体的な調査方法：葉、緑枝及び果実の病徴を目視により調査する。

スモモヒメシンクイ

Grapholita dimorpha Komai

(チョウ目：ハマキガ科) / 開張 11-14mm



展翅標本
(提供：那須義次博士)



成虫



卵 (プルーン果実表面)
(提供：長野果樹試石井伸洋氏)



幼虫



蛹



リンゴ被害果



スモモ被害果
(提供：長野県果樹試験場石井伸洋氏)

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：韓国、中国、ロシア
国内：北海道、本州

2. 寄主植物：

栽培作物：スモモ (日本スモモ・プルーン)、リンゴ
野生植物：ボケ

3. 発生生態

- ① 発生開始及び終了時期：成虫は6～7月と8～9月に出現
- ② 発生盛期：5～9月
- ③ 世代数：年3～4化

- ④ ステージ別発育ゼロ点および有効積算温度：村上私信（桐谷, 2012）
 卵：7.9℃、76.2日度
 卵～成虫（雄）：7.6℃、457.7日度
 卵～成虫（雌）：7.4℃、469.3日度
- ④ 越冬形態／越冬場所：不詳

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無

- ① 幼虫：果実（穿孔）
 ② 成虫：果実表面に産卵

5. 特記事項

幼虫は果実に穿入し、果皮に近い部分を食害するため、被害果は果皮に食害痕が見られる。もともとスモモの害虫として知られていたが、2001年頃から長野県でリンゴに被害が見られるようになった。ボケヒメシンクイという別名がある。

II 調査方法：定点フェロモントラップによる誘殺調査



フェロモントラップ粘着板
に捕捉された成虫



スモモヒメシンクイ拡大写真

（提供：長野県果樹試験場石井伸洋氏）

1. 調査植物：リンゴ、スモモ
2. 調査期間：成虫が出現する、6～7月と8～9月を基本とする。
3. 調査部位あるいは使用資材：スモモヒメシンクイ用フェロモンルアー（P.40参照）、粘着式トラップ（住化式粘着トラップ、SEトラップ等）
4. 具体的な調査方法：
 - ・調査地点は、園地圃場ごとに管理する。
 - ・トラップは調査園地内にある寄主植物の横枝へ安全に設置し、トラップの害虫侵入口が地表からおよそ1.5 mの高さになるように設置する。
 - ・トラップを設置する適当な横枝がない場合は支柱を使用する。
 - ・ナシヒメシンクイトラップなど他に本種の誘引に影響を与える恐れがあるトラップを設置する場合は、当該調査園地及び周囲の調査園地を避けて設置すること。

5. 類似種との識別

類似種については、ナシヒメシンクイのマニュアル（P. 13）を参照のこと。後翅の形態の検索表や雄交尾器の検索表を用いることで本種と近似種の識別は可能である。

リンゴコシンクイ

Grapholita inopinata Heinrich

(チョウ目：ハマキガ科) / 開張 10-12mm



展翅標本
(提供：那須義次博士)



雌成虫-1



雌成虫-2



雌成虫-3



老熟幼虫-1



ズミ果実寄生状況

展翅標本以外の写真提供：
植物防疫所

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：韓国、中国、スロベニア、ロシア (CABI)

国内：北海道、本州

2. 寄主植物：

栽培植物：リンゴ、ナシ、サンザシ、マルメロ

野生植物：ズミ、マルバカイドウ、ノイバラ、リンキ

3. 発生生態：

① 発生開始及び終了時期：6～9月

② 発生盛期：6月中旬～8月

③ 世代数：年2化

④ 発育ゼロ点：不詳

⑤ 越冬形態／越冬場所：老熟幼虫／土中（土繭内）、運搬用のかご（繭内）

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無：

幼虫：果実（穿孔）：食入当初は果皮に近い部分を食害するが成長に伴い深部に到達する。食入口の周囲の果皮は丸く褐変し、陥没する。

成虫：葉裏に産卵

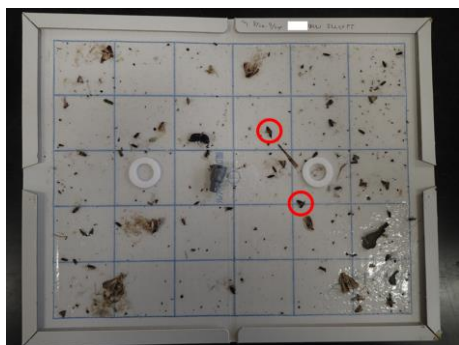
5. 特記事項：

日本では1952年に福島マルバカイドウから初めて発見された。その後、リンゴへ若干の被害を見せたが、それ以降被害の報告はない。国内の系統は大陸の系統と食性が異なると想像される。

※中国東北部及び極東ロシアではリンゴの重要害虫になっている。

別名としてマンシュウリンゴヒメシンクイがある。

II 調査方法：定点フェロモントラップによる誘殺調査



スモモヒメフェロモントラップ粘着板に捕捉された成虫（○印）

（提供：山口県農林総合技術センター東浦祥光氏）



ナシヒメフェロモントラップ粘着板に捕捉されたリンゴコシンクイ拡大写真

（提供：北海道立総合研究機構岩崎暁生氏）

1. 調査植物：リンゴ（スモモ）

2. 調査期間：6月と8月

3. 調査部位あるいは使用資材：ナシヒメシンクイ用またはスモモヒメシンクイ用フェロモントラップ（P.40参照）、粘着式トラップ（住化式粘着トラップ、SEトラップ等）

4. 具体的な調査方法：

- ・調査地点は、園地圃場ごとに管理する。
- ・トラップは調査園地内にある寄主植物の横枝へ安全に設置し、トラップの害虫侵入口が地表からおよそ1.5 mの高さになるように設置する。
- ・トラップを設置する適当な横枝がない場合は支柱を使用する。
- ・他に本種の誘引に影響を与える恐れがあるトラップを設置する場合は、当該調査園地及び周囲の調査園地を避けて設置すること。

5. 類似種との識別

類似種については、ナシヒメシンクイのマニュアル（P. 13）を参照のこと。後翅の形態の検索表や雄交尾器の検索表を用いることで本種と近似種の識別は可能である。

ナシマダラメイガ

Acrobasis pirivorella (Matsumura)

(チョウ目：メイガ科) / 開張 22-25mm



展翅標本



卵



幼虫



幼虫



成虫



ナシ被害果

展翅標本以外の写真提供：長野県農業試験場栗原潤氏

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：韓国、北朝鮮、台湾、中国、ロシア (CABI)

国内：北海道、本州、四国、九州、対馬

2. 寄主植物：

栽培植物：ナシ（日本ナシ、西洋ナシ）、リンゴ、モモ

野生植物：ナシ属、ヨネモモ

3. 発生生態：

① 発生開始及び終了時期：6～9月

② 発生盛期：6～7月、8～9月

③ 世代数：年2化

④ 発育ゼロ点：不詳

⑤ 越冬形態／越冬場所：2 齢幼虫／新芽の中、老熟幼虫／土中（土繭）

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無：

幼虫：越冬世代の幼虫は葉に花芽部分を綴って食害し、さらに幼果にも食入する。夏以降に発生する幼虫は肥大した果実に食入し中心部を食害する。老熟幼虫は果実内で蛹化する。

成虫：芽に産卵

5. 特記事項

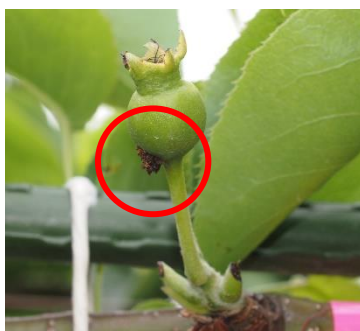
本種の学名は日本産蛾類標準図鑑IVでは*Ectomyelois pyrivorella* (Matsumura) となっているが、農林有害動物・昆虫名鑑 増補改訂版(2006)や海外の多くの文献では標記の様になっているので、こちらを用いた。和名は他にナシオオシンクイ、ナシノシンクイガが使われることもある。

日本ではナシの防除が徹底しているので、平地ではほぼ見られない。山地で見られることがあるがきわめて少ない。

II 調査方法：花そう及び幼果での調査、予察灯による成虫調査、被害芽及び被害果調査



芽への第2世代幼虫の食入



幼果への越冬幼虫の食入

(提供：長野県農業試験場栗原潤氏)

1. 調査植物：ナシ、なければモモまたはリンゴ

2. 調査期間：

- ① 花そう及び幼果での調査：3月上旬～5月
- ② 予察灯による成虫調査：4月～9月（6～7月及び8月に発生が多い）
- ③ 被害芽及び被害果調査：落花後～収穫期

3. 調査部位あるいは使用資材：花そう、芽、幼果、成熟果

4. 具体的な調査方法：

- ① 花そう及び幼果での調査：3～5樹から各樹1～2本の亜主枝を選び、被害花そう、被害果を調査
- ③ 被害芽及び被害果調査：
 - i) 芽の調査：3～5樹から各樹50本の短、中果枝を選び、被害芽（ボケ芽）を調査
 - ii) 果実の調査：3～5樹から各樹任意に100果を選び、被害果を調査。摘果果実、収穫時選果での被害から調査しても良い。

ブドウホソハマキ

Eupoecilia ambiguella (Hübner)

(チョウ目：ハマキガ科) / 開張 9-18mm



展翅標本



成虫 (提供：九州大学
後藤聖士郎氏)



成虫 (提供：九州大学
鈴木信也氏)

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：インド、韓国、中国、モンゴル、ヨーロッパ、ロシア

国内：北海道、本州、佐渡島、淡路島、伊豆諸島、四国、九州、対馬、屋久島、奄美大島、沖縄島

2. 寄主植物：

栽培植物：ブドウ

野生植物：ガマズミ、ノリウツギなど

3. 発生生態：

① 発生開始及び終了時期：4～9月

② 発生盛期：不詳

③ 世代数：年2～3化

④ 発育ゼロ点：不詳

⑤ 越冬形態／越冬場所：蛹／粗皮下

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無：

幼虫：果柄、果粒を食害

成虫：無し

5. 特記事項：

ヨーロッパでは2化目の幼虫はブドウの果実を食べる害虫として知られている。日本ではブドウでの被害は、1975年に大阪府で一度だけデラウエアの被害が報告されて以降はない。

Ⅱ 調査方法：果房の被害調査

- 1. 調査植物：ブドウ**
 - 2. 調査期間：落花後～硬核期**
 - 3. 調査部位あるいは使用資材：花蕾または幼果**
 - 4. 具体的な調査方法：**
 - 1～3 樹より50～200果房を抽出し、被害果穂を調査する。
- ※ 被害写真は駒井ら（2011）を参照

オウトウショウジョウバエ

Drosophila suzukii (Matsumura)

(ハエ目：ショウジョウバエ科) / 体長 3mm



雄成虫 (植物防疫所提供)



雌成虫 (植物防疫所提供)



幼虫



囲蛹 (いよう)



成虫



ブルーベリー被害果

I 生物学的情報の概要

1. 分布：

海外：アイルランド、アメリカ、アルゼンチン、イギリス、イスラエル、イタリア、イラン、インド、ウクライナ、ウルグアイ、オーストラリア、オランダ、カナダ、韓国、ギリシャ、北朝鮮、キプロス、クロアチア、ジョージア、スイス、スウェーデン、スペイン、スロバキア、スロベニア、セルビア、タイ、台湾、チェコ、中国、チリ、ドイツ、トルコ、パキスタン、ハンガリー、バングラデシュ、ブラジル、フランス、ブルガリア、ベルギー、ポーランド、ボスニアヘルツェゴビナ、ポリネシア、ポルトガル、ミャンマー、メキシコ、モロッコ、モンテネグロ、ルーマニア、レユニオン、ロシア (CABI)

国内：北海道、本州、八丈島、小笠原諸島、四国、九州、対馬、徳之島、琉球諸島 (日本昆虫目録第8巻第2部)

2. 寄主植物：

栽培植物：ブルーベリー、ブラックベリー、ラズベリー、モモ、オウトウ、スモモ、アンズ、ブドウ、カキ、イチジク、リンゴ、ナシ

野生植物：キイチゴ、ソメイヨシノ、ナツグミ、クワ、ナワシロイチゴ、イヌザクラ、アメリカヤマゴボウ、ニワウメ

3. 発生生態：

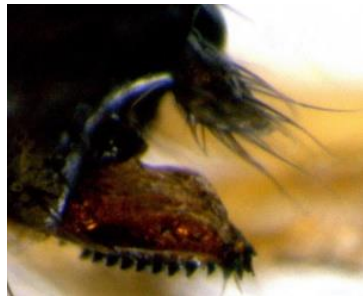
- ① 発生開始及び終了時期：5月～10月(栽培期間)
- ② 発生盛期：6～9月(盛夏を除く)
- ③ 世代数：年10化以上
- ④ ステージ別発育ゼロ点および有効積算温量：(佐々木、1998)
 - 卵+幼虫：9.4℃、96日度
 - 蛹：8.4℃、76日度
 - 卵-成虫：8.8℃、173日度
 - 産卵前期：13.1℃、38日度
- ⑤ 越冬形態／越冬場所：成虫／落葉や石礫の間

4. 加害部位及び果実への穿孔の有無

幼虫：果実(穿孔)

成虫：果実内に産卵

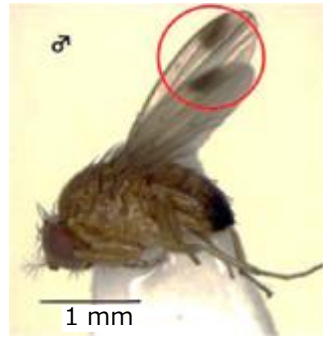
キイロショウジョウバエと異なり、のこぎり状の産卵管により、外見が健全な成熟間際～成熟果に産卵する。



産卵管に30-36本の鋸歯状突起有り

オウトウショウジョウバエ産卵管拡大図

II 調査方法：果実調査または糖蜜トラップ調査



1. 調査植物：ブルーベリー

2. 調査期間：発生盛期の7～9月（盛夏を除く）

3. 具体的な調査方法：

① ブルーベリーの無防除園での果実サンプリング調査（簡便）

- ・ 収穫適期のブルーベリー果実を50果ずつ採取する。
- ・ 採取した果実をプラスチック製丸型容器（直径13cm×高さ10cm）に入れ、25℃、16L8Dの恒温器で保存し、約14日後に羽化したショウジョウバエの種を確認する。

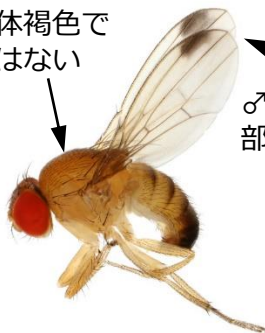
② 糖蜜トラップによる調査

- ・ 500mlのペットボトルの肩部より上を切断したものを逆に取り付ける。混合液（日本酒とハチミツを重量比で5：1に混合した液体50ml程度）を注ぎ入れたものを誘引トラップとして使用し、調査圃場に設置する。
- ・ 1～2週間毎に誘殺された虫を回収し、オウトウショウジョウバエの個体数を計数する。

※糖蜜トラップでは、ニセオウトウショウジョウバエ、キイロショウジョウバエ等多種のショウジョウバエ類が捕獲されるので同定の際は注意が必要である。

オウトウショウジョウバエの特徴

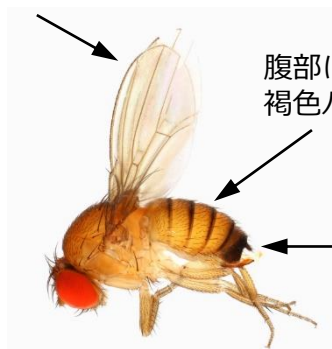
胸部は全体褐色で
縞模様等はない



成虫標本♂

♂の翅端近くの前縁
部に黒斑有り

♀には翅に斑紋が無い



成虫標本♀

腹部には背板後縁に黒
褐色バンド有り

尾端は黒褐色

Ⅲ 同定：近縁種ニセオウトウショウジョウバエ *Drosophila subpulchrella* Takamori and Watabe との識別点

- ニセオウトウショウジョウバエ *Drosophila subpulchrella* Takamori and Watabe
- 英名：未定
- 分布：北海道、本州、八丈島、四国、九州、西表島、中国（日本昆虫目録第8巻第2部）。オウトウショウジョウバエ *D. suzukii* と同所的に生息
- 体長：約 3 mm
- 生態：発生回数等不明
- 寄主植物：ブラックベリー、ナワシロイチゴ、イヌザクラ

オスの前翅斑紋の形状と翅端からの距離



斑紋は不定形、翅端に近い

オウトウショウジョウバエ♂



斑紋は明瞭な楕円形、翅端から離れる

ニセオウトウショウジョウバエ♂

メスの腹部末端の形質



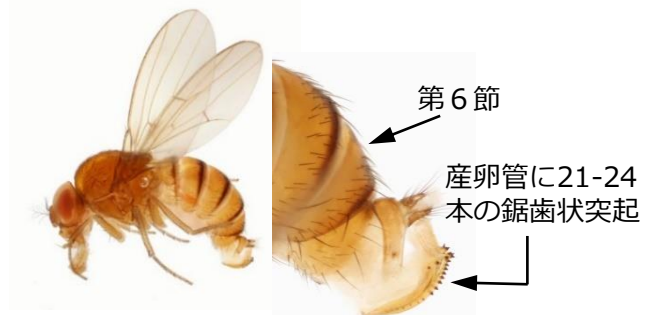
尾端は黒褐色

オウトウショウジョウバエ♀



第6節以降暗褐色

産卵管に30-36本の鋸歯状突起



尾端は褐色、黄褐色

ニセオウトウショウジョウバエ♀

第6節

産卵管に21-24本の鋸歯状突起

輸出検疫対象病害虫の検疫情報の入手方法 (EPPO Global Database)

EPPO Global Databaseとは、欧州・地中海植物防疫機関（European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO)）の事務局によって管理されているデータベースであり、EPPOが作成または収集した全ての有害生物に関する情報を提供している。

EPPO Webサイト（<https://gd.eppo.int/>）に接続し、本マニュアルに示す病害虫の学名を入力して検索すると、各病害虫について、有害動植物として植物検疫上の位置づけが示されている国、地域、機関の情報が得られる。

植物検疫上の位置づけは3通りのカテゴリーに分類されているが、各カテゴリーの意味は以下の通りである。

A1 List : 域内に分布していない有害動植物

A2 List : 域内に局所的に分布する有害動植物

Quarantine pest : これにより危険にさらされている地域の経済に重大な影響を及ぼすおそれのある有害動植物であって、まだその地域に存在しないか、又は存在するが広く分布しておらず、かつ、公的防除が行われているもの。
A1 ListとA2 Listを含む。

DNA バーコーディングによる種同定法

本マニュアルでは、類似種が存在する検疫対象種について、検索表を掲載するなど、形態による種同定法を紹介している。しかし、酷似する種については形態による同定が困難な場合もある。

形態に依らない種同定法としては、遺伝子DNAを用いた分子分類がある。分子分類には様々な技術が利用されるが、本マニュアルではDNAバーコーディングによる種の同定方法を紹介する。

DNAバーコーディングは、塩基配列（4種類の塩基の組み合わせ）をバーコードに見立て、特定の遺伝子の短い領域の塩基配列が生物種ごとに異なることを利用して生物種名を特定する技術である。

昆虫を含む動物では、ミトコンドリアゲノム上のシトクロムオキシダーゼI（COI）遺伝子の約650塩基が標準的なバーコード領域とされている。

DNAバーコーディングには、以下の工程（Ⅰ～Ⅳ）がある。各工程については次ページ以降で詳述する。



※ここでは、精製したPCR産物を分析会社に委託してシーケンスを決定するケースを紹介する。

本マニュアルに掲載の以下の種は、DNAデータベースに塩基配列を登録済みである。

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ・モモシクイガ ・ナシヒメシクイ ・スモモヒメシクイ ・リンゴコシクイ ・モモノゴマダラノメイガ ・ブドウホソハマキ ・ナシマダラメイガ | <p>（類似種）</p> <ul style="list-style-type: none"> ・イバラヒメシクイ ・ナナカマドヒメシクイ ・ネモロウサヒメハマキ ・ホソバハイイロハマキ ・コホソスジハマキ ・マツノゴマダラノメイガ |
|--|--|

I DNAの抽出

PCRに必要な量のDNAの抽出は脚1本からでも可能である。ただし、微小な昆虫では、虫体丸ごと用いる。

DNAの抽出方法には様々な手法があり、使用する手法は特に問わないが、ここでは市販のキットを使用したDNAの精製法(①)および粗抽出法(②)について、抽出手順を説明する。

① DNAの精製法 : DNeasy Blood & Tissue Kit (キアゲン) の場合

1. 1.5mlチューブに虫体サンプルとATL Buffer (キット付属) 180 μ lを入れ、ペッスル等ですりつぶす。
2. Proteinase K (キット付属) 20 μ lを加え、ボルテックスでよく攪拌し、55 $^{\circ}$ Cで加温する。
フレッシュなサンプルであれば、加温時間は1時間程度で十分であるが、乾燥標本など、DNAの損傷が激しいと思われるサンプルは24~48時間の加温が望ましい。
虫体の保存が必要な場合は、抽出効率は落ちるものの、非破壊でも抽出可能。
3. AL Buffer (キット付属) 200 μ lを加え、ボルテックスでよく攪拌し、70 $^{\circ}$ Cで10分間加温する。99.5%エタノールを200 μ l加えてさらにボルテックスで攪拌する。
4. コレクションチューブ (キット付属) にカラム (キット付属) を装着し、抽出液を移し替えて、6,000 x g、室温で、1分間遠心する。
5. コレクションチューブを交換し、Buffer AW1 (キット付属、使用前に99.5%エタノールで希釈) 500 μ lを加え、6,000 x g、室温で、1分間遠心する。
6. コレクションチューブを交換し、Buffer AW2 (キット付属、使用前に99.5%エタノールで希釈) 500 μ lを加え、20,000 x g、室温で、3分間遠心する。
7. カラムを1.5mlチューブ (別途準備) に移し、Buffer AE (キット付属) を50~100 μ lを加えて1分間静置した後、6,000 x g、室温で、1分間遠心する。
8. 分析に使用するまでの間、-20 $^{\circ}$ C以下で保存する。

② DNAの粗抽出法 : Kaneka DNA抽出キット Ver. 2 (カネカ) の場合

1. 1.5mlチューブにサンプルと試薬Aを100 μ l添加し、ペッスル等ですりつぶす。
2. ヒートブロックなどで98 $^{\circ}$ C、8分間インキュベートする。
3. 室温まで放冷し、試薬Bを14 μ l添加し、よく攪拌する。
4. 分析に使用するまでの間、-20 $^{\circ}$ C以下で保存する。

II PCR

1. プライマー配列

標準的なDNAバーコーディング用プライマーを、Hebert et al. (2004)がチョウ目昆虫用に改良した下記プライマーを利用する。

LepF1 : 5'-ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG-3'
LepR1 : 5'-TAAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA-3'

2. PCR反応液組成

PCR酵素 : ExTaq Hot Start version (タカラバイオ) 使用時、反応系20 μ lの場合

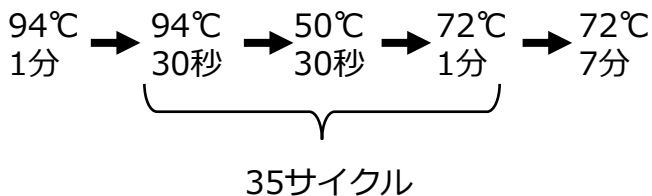
滅菌水	13.8 μ l
10XExTaqバッファー (PCR酵素に付属)	2.0 μ l
dNTPs (PCR酵素に付属)	1.6 μ l
プライマー LepF1 (20pmol/ μ lに調整済み)	1.0 μ l
プライマー LepR1 (20pmol/ μ lに調整済み)	1.0 μ l
ExTaq HS	0.1 μ l
サンプルDNA	0.5 μ l

上記分量にサンプル数を掛け合わせた量を混合し、PCRチューブに分注する。

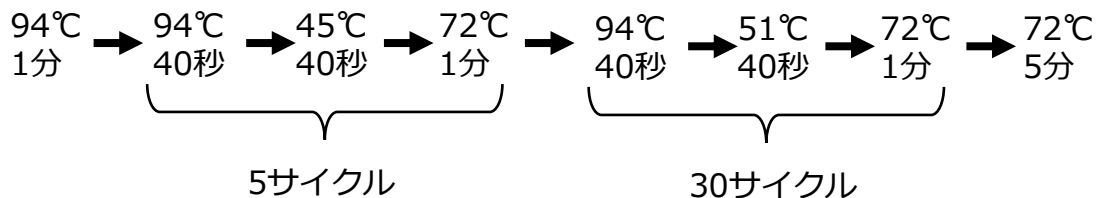
※PCR酵素はExTaq (Hot Start version) 以外も使用可能であるが、その際には酵素に貼付された説明書に従って、プライマー、サンプル以外の組成を調整する必要がある。

3. PCR条件

その① (Hebert et al, 2004)



その② (Hajibabaei et al, 2006)



※ 通常は**その①**で増幅可能であるが、増幅しにくい場合はアニーリング温度 (50°C) を2~5°C下げるか、あるいは**その②**を使用

Ⅲ シーケンス

1. PCRで目的の領域が増幅されているかを確認するため、アガロースゲルを用いた電気泳動を行う。アガロース濃度は1~2%程度とし、PCR産物5 μ l程度をLoading Dyeとともに泳動する。

2. 増幅の確認されたPCR産物を精製する。様々な方法があり、方法は問わないが、ここではカラムを用いた精製キットによる方法について説明する。

◆ NucleoSpin Gel and PCR Clean-up Kit (タカラバイオ)

1. PCR産物の2倍量のBuffer NTIを加える。
2. スピнкаラムを2mLチューブ（キット付属）に装着し、1のサンプルを入れて、11,000 x gで30秒間遠心する。ろ液を捨てて、チューブを再びセット（再利用）する。
3. Buffer NT3を700 μ L加え、11,000 x gで30秒間遠心する。ろ液を捨てて、チューブをセットする。
4. 3を繰り返す。
5. スピнкаラムのメンブレンを乾燥させるため、11,000 x gで1分間遠心した後、フタを開けて、5分間置く。
6. 1.5mlチューブ（別途準備）にスピнкаラムをセットし、Buffer NEを30 μ L加え、室温で1分間置く。11,000 x gで1分間遠心する。遠心を2回繰り返す。

3. 分光光度計等により、サンプル濃度を測定する（推奨）。

4. 分析会社が指定する量のサンプルおよびプライマーに滅菌水を追加したチューブを分析会社に送付する。

※シーケンス解析の外注は、DNA精製まで、PCR産物精製まで、シーケンス反応終了までなど、サンプルをどの段階まで調整するかにより、価格が異なる。

例えば、PCR産物精製の段階（上記）まで調整できれば、1検体（片側シーケンス）当たり600円程度、サンプル送付後2~3日程度で分析結果が得られる。

IV 種同定

BLAST検索

DDBJ (DNA Data Bank of Japan) Webサイトの BLAST (<http://ddbj.nig.ac.jp/>) を用いて、DNAデータベース (DDBJ/EMBL-Bank (EBI)/GenBank (NCBI)) に登録された DNA 塩基配列と相同性検索を行う。

工程Ⅲで得られた塩基配列を、BLAST検索画面のQuery欄内にコピー&ペーストし、データを送信する (Send to BLAST)。結果はウェブ上、E-mailのいずれかで受取可能である。

※シーケンス解析委託先のサービスで種同定 (BLAST検索) まで実施してもらえることもある。

BOLDシステム

BOLDシステムWebサイトの“IDENTIFICATION ENGINE”

(https://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine) を用いて、相同性検索を行う。

工程Ⅲで得られた塩基配列を、所定の欄内にコピー&ペーストし、“Species Level Barcode Records”または“All Barcode Records on BOLD”カテゴリにチェックを入れてデータを送信する (SUBMIT)。

RESULT画面の“Tree”機能を利用すれば、送信したサンプルデータを含む系統樹を表示させることもできる。

フェロモン剤および発生予察用資材の入手先

- ◆発生予察用資材（日本植物防疫協会）

<https://jppaonlinestore.raku-uru.jp/item-list?categoryId=62929>



- ◆モモシクイガ用フェロモン剤（日本植物防疫協会）

<https://jppaonlinestore.raku-uru.jp/item-detail/972068>



- ◆ナシヒメシクイ用フェロモン剤（日本植物防疫協会）

<https://jppaonlinestore.raku-uru.jp/item-detail/972029>



- ◆スモヒメシクイ用フェロモン剤（日本植物防疫協会）

<https://jppaonlinestore.raku-uru.jp/item-detail/972014>



- ◆モモノゴマダラノメイガ用フェロモン剤（日本植物防疫協会）

<https://jppaonlinestore.raku-uru.jp/item-detail/972046>



- ◆ミカンハモグリガ用フェロモン剤（富士フレイバー(株)）

<https://www.fjf.co.jp/jp/ecomone/product/fieldcatch.html>



フェロモン剤と発生予察用資材の価格は種類によって多少異なるが、上に示した資材を利用して、毎月1回粘着板およびフェロモン剤を交換した場合、1つのトラップ（トラップ本体、粘着板、フェロモン剤）にかかる経費は1カ月で約2,000円である（2022年3月時点）

参考文献

- CABI (2022) Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc. (2022年3月8日アクセス確認).
- Hajibabaei M, Janzen DH, Burns JM, Hallwachs W, Hebert PDN (2006) DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. PNAS 103: 968-971.
- Hebert PDN, Penton EH, Burns JM, Janzen DH, Hallwachs W (2004) Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. PNAS 101: 14812-14817.
- 井上 寛・杉 繁郎・黒子 浩・森内 茂・川辺湛共 (1982) 日本産蛾類大図鑑 I、講談社、東京. 966 pp.
- 石栗陽一・豊島真吾 (2008) リンゴ果実内におけるモモシンクイガ幼虫の生存と発育に及ぼす果実切り離しの影響. 植物防疫 62: 309-312.
- 川嶋浩二 (2008) モモシンクイガの生態に関する基礎研究. 青森県農林総研りんご試研報 35: 1-51.
- 桐谷圭治 (2012) 日本産昆虫、ダニの発育零点と有効積算温度定数: 第2版. 農環研報 31: 1-74.
- 岸 國平／編(1998) 日本植物病害大辞典. 全農教. 東京. 1276 pp
- 駒井古実 (1976) モモ, リンゴ, ナシの果実に食入するシンクイムシ類の見分け方. 植物防疫 30: 245-252.
- 駒井古実・吉安裕・那須義次-斉藤寿久編 (2011) 日本の鱗翅類-系統と多様性. 東海大学出版会、神奈川県. 1305pp.
- 水越 亨 (2006) 北海道におけるリンゴ鱗翅目害虫用合成性フェロモントラップに誘殺される対象外害虫. 応動昆 50: 231-239.
- Murakami Y, Sugie H, Fukumoto T, Mochizuki F (2005) Sex pheromone of *Grapholita dimorpha* Komai (Lepidoptera: Tortricidae), and its utilization for monitoring. Appl Entomol Zool 40: 521-527.
- 那須義次 (2011) モモシンクイガのフェロモントラップに誘引されるシンクイガ類. 植物防疫 75: 159-162.

- 那須義次・広渡俊哉・岸田泰則編（2013）日本産蛾類標準図鑑IV.（株）学研教育出版. 東京. 552 pp.
- 那須義次・玉嶋勝範・柴尾 学・吉松慎一・内藤尚之（2010）ニッポンシロシクイ（新称）の再発見とモモシクイガの合成性フェロモントラップに誘引されるシクイガ類（鱗翅類：シクイガ科）. 応動昆 54: 115-126.
- 那須義次・吉松慎一（2021）フェロモントラップに誘引されたナシヒメシクイとその近縁種の見分け方. 植物防疫 75: 159-162.
- 日本応用動物昆虫学会（2006）農林有害動物・昆虫名鑑（増補改訂版）. 日本応用動物昆虫学会, 東京. 387 pp.
- 佐々木正剛（1998）オウトウショウジョウバエによるオウトウの被害とその生活環. 植物防疫 52: 328-332.
- 真梶徳純（1967）ナシオオシクイガの発生経過と加害習性. 園芸試験場報告 6: 133-201.
- 真梶徳純・於保信彦（1970）モモノゴマダラノメイガに関する研究 4. 果樹型と針葉樹型の発育期間と産卵前期間. 園芸試験場報告B 9: 49-74.
- 高梨祐明・土師岳・足立嘉彦・新井朋徳・井原史雄・望月文昭（2009）岩手県中部におけるスモモヒメシクイの発生消長と寄主植物. 北日本病虫研報 60: 253-258.
- 田中福三郎・矢吹 正（1978）性フェロモントラップによるナシヒメシクイの発生時期の予察. 応動昆 22: 162-168.
- 田中道典・阿部清文・齊藤 薫・佐藤肅也・久高 充・開米啓三・岡崎一博（2007）青森、福島及び宮城県の一部地域におけるリンゴコシクイ *Grapholita inopinata* (HEINRICH) の発生調査. 植防研報 41: 25-30.
- 戸田正憲（2014）ショウジョウバエ科. 日本昆虫目録第8巻第2部. 日本昆虫学会. 福岡. 693-728.
- 山本栄一（1971）ミカンハモグリガの生態と防除に関する研究 第3報 発育速度について. 九病虫研会報 17: 64-65.
- 梅谷献二・岡田利承(編)（2003）日本農業害虫大事典. 全国農村教育協会、東京. 1203 pp.
- 吉沢栄治（2007）スモモヒメシクイ. 農業総覧 病害虫診断防除編 5 追録37号、農山漁村文化協会、東京. 34: 10~14

