ヒノキカワモグリガ *Epinotia granitalis* Butler (チョウ目: ハマキガ科) 幼虫による被害のスギ *Cryptomeria japonica* D. Don (スギ科) 個体間変異

宮島 淳二・草野 僚一

熊本県林業研究指導所

The Inter-Tree Variation of the Japanese Cedar *Cryptomeria japonica* D. Don (Taxodiaceae) in the Degree of Infestation by the Cypress Bark Moth *Epinotia granitalis* Butler (Lepidoptera: Tortricidae). Junji MIYAJIMA and Ryouichi KUSANO Kumamoto Prefectural Forestry Research Center; 8-222-2, Kurokami, Kumamoto 860-0862, Japan. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 49: 123-127 (2005)

Abstract: In order to establish control measures against the cypress bark moth *Epinotia granitalis* Butler, we surveyed the inter-tree variation of the Japanese cedar *Cryptomeria japonica* D. Don in Kumamoto Prefecture for degree of infestation by examining the spatial distribution pattern of feeding scars made by larvae of the moth. The trees surveyed proved to be mono-clone by DNA analysis with RAPD markers. The spatial distribution pattern of feeding scars indicated that the infestation was not strongly concentrated to certain trees in any year, and remarkable infestation occurred almost evenly among the trees throughout the past 25 years. Thus, inter-tree variation in the degree of infestation by *E. granitalis* was not detected in the mono-clone stand of *C. japonica*. The results suggest that in Kyushu district, where most *C. japonica* plantations consist of mono-clonal trees, we must treat all of the trees in a stand, not only the markedly infested trees, in order to control *E. granitalis*.

Key words: Inter-tree variation; *Epinotia granitalis*; *Cryptomeria japonica*; feeding scars; mono-clone trees

緒 言

ヒノキカワモグリガ *Epinotia granitalis* Butler (チョウ目: ハマキガ科) は、全国各地のスギ *Cryptomeria japonica* D. Don (スギ科) とヒノキ *Chamaecyparis obtusa* Endlicher (ヒノキ科) の人工林で被害をもたらしている (斎藤ら, 1984; 井ノ上ら, 1987; 松枝, 1988; 曲沢, 1995; 宮島, 1996). 本種は年1化で、成虫は5月下旬~7月の間に羽化して、雌は針葉の表面に産卵する。ふ化幼虫は針葉に食入して成長し、2~3齢になると緑軸部や枝基部の樹皮下へ穿入して内樹皮を食害するようになる。その後枝表面での徘徊と穿入・内樹皮食害とを繰り返しながら徐々に細枝から太枝へと移動する。4~5月上旬になると樹幹に移動し、樹皮下に穿入して内樹皮と辺材表面を摂食する。摂食された箇所およびその内側の辺材には黒褐色の変色部 (以下、被害痕) が形成され (橋本・倉永, 1988), 材価を著しく低下させる (山崎・倉永, 1988)。この被害痕は水平 (年輪) 方向にあまり広がらないが、垂直方向に広がり、最長は3.5 cmに達する (佐藤ら, 1994)。

近年、同一樹種内で常に植食性昆虫の加害を受ける個体

と、受けない個体が明確に区別できる事例が報告されている。このような恒常的な個体間差異は、植食性昆虫の出現期の個体変異と寄主フェノロジーの個体変異によるもの (Quiring, 1992, 1994), 産卵雌の寄主内選好性の違いによるもの (Akimoto, 1990), 植物の性の違いによるもの (Boecklen et al., 1990), 寄主植物の持つ抵抗性など物理的・化学的防御の差異によるもの (Fritz et al., 1986, 1987) など、樹種内のさまざまな遺伝的性質の個体変異に基づいている。もし、上記のような個体間差異が認められれば、個体間差異を引き起こした要因を特定することにより、防除対象木を特定して単木対象防除が可能となる。しかし、個体間差異が認められなければ、単木防除は困難であり、林分全体を対象としなければ有効な防除はできない。

九州地方のスギ人工林は、とくに、単一クローンで構成される場合が多いとされている (宮島, 1989)。もし、単一クローンで構成されていれば、上述のような恒常的な個体間差異は生じないと思われる。ヒノキカワモグリガの場合、防除を視野に入れた幼虫の生態的特性や被害に関しては多くの研究がある (例えば、灰塚ら, 1988, 1990; 千原・高宮, 1991; 高宮, 1994) が、上述のような被害の

2004年12月8日受領 (Received 8 December 2004)

2005年5月19日登載決定 (Accepted 19 May 2005)

DOI: 10.1303/jjaez.2005.123

恒常的な個体間差異と林分を構成する立木のクローン構成との関係を調べた報告はない。

そこで、本論文では、まず、被害痕の空間分布様式の年次変動を調査し、被害程度に恒常的な個体間差異があるかどうかを明らかにした。その上で、植栽後伐倒されるまでの25年間に、加害された回数の頻度分布を、ポアソン分布から期待される理論値と比較し、調査木ごとの加害回数にばらつきがあるかを検討した。得られた結果から、ヒノキカワモグリガによって形成される被害程度や被害発生回数について恒常的な個体間差があるかを考察した。さらに、同林分内の立木30本で後藤らの方法（後藤ら、1999）によりDNA分析を行い、林分を構成する立木が単一クローンであるか否かを検討した。

本研究をまとめるにあたり、九州大学の湯川淳一名誉教授と森林総合研究所九州支所の伊藤賢介博士、中村克典博士から多大なるご指導・ご助言をいただいた。また、熊本県林業研究指導所の金坂光祐氏、高田琢也氏、丸山光江氏、中野妙子氏には現地調査および割材作業、被害痕の計数にご協力いただいた。これらの方々には厚くお礼申し上げます。

材料および方法

1. 毎木および割材調査

熊本県阿蘇郡一の宮町坂梨の25年生スギ・ヒノキ混植林分（1975年植栽、面積0.05ha、標高470m、平均傾斜角0度、平均樹高10m、平均胸高直径14cm、立木密度7,000本/ha）を調査木採取地とした。この林分に生育するすべてのスギ299本について、2000年2月10日に胸高直径、樹高を測定した。さらに2000年2月13日に、林分全体からほぼ等間隔で調査木50本を選び（第1図）、地際付近で伐倒して研究室に持ち帰り、地際から梢頭までを厚さ

第1図 調査林分内の調査木50本を含む全立木位置図
▲調査木、△スギ、○ヒノキ、◆DNA分析供試木。

5cmの円盤に輪切りにした。被害痕の最長は3.5cm（佐藤ら、1994）なので、5cmの輪切りにすることにより、被害痕を重複して数える恐れはない。円盤の上側木口面を観察し、本種の被害痕数を記録した。また、すべての被害痕について、外周から被害痕がある春材部の手前までの年輪を数えて、伐採年からさかのぼった被害痕形成年を推定した。なお、品種は針葉の形態や樹幹型からアヤスギと思われる。

2. 被害痕データの補正

円盤上で確認される被害痕の垂直方向の長さは食害直後にはきわめて短い。時間とともに伸び、ほぼ5年で最長になる（佐藤ら、1994）。したがって、本種幼虫によって形成される被害痕は新しいほど発見されにくく、被害痕数は過小評価されるため、今回の伐採から4年前までの被害痕数を、佐藤ら（1994）の年次別被害痕発見率に基づいて補正した。

3. データの解析

上述の方法で得られた被害痕のデータを基に、調査木別に形成年毎の被害痕数を集計して年次別の木当たり被害痕密度とした。

つぎに、被害痕が特定の調査木に集中しているか確認するため、年次別の木当たり被害痕密度（ m ）と平均こみあい度（ m^* ）に基づき、50本の調査木上の被害痕の分布集中度指数（ m^*/m ）（Iwao, 1968）を計算した。なお、集中度指数は、 >1 のとき集中分布、 $=1$ のときランダム分布、 <1 のとき一様分布を意味する。

全調査木について、過去25年間に本種に加害された回数を調べ、その回数がランダムであるかどうか判断するために、加害された回数の頻度分布をポアソン分布から期待される理論値と比較し、 χ^2 乗による有意差検定を行った。

4. 調査林分の立木のDNA分析

RAPDマーカーによる分析法は簡便でかつ信頼性が高い方法であり（Williams et al., 1990）、多くの栽培植物において品種識別に用いられている（Koller et al., 1993; 後藤ら、1997）。とりわけ、九州地方のスギさし木品種の分類については、高田・白石（1996）および後藤ら（1999）が、RAPDマーカーによる分析法を採用して、九州地方や福岡県内のスギ在来品種と精英樹選抜事業によって選抜されたスギ精英樹のクローン分析を行っている。このことから、今回、調査林分内の立木のDNA分析を実施するにあたり、同マーカーによる分析法を採用した。

2004年6月に調査林分内でDNA分析用調査木30本を選抜し（第1図）、調査木の樹冠中程の高さの枝から健全な針葉を2~3g採取した。採取した針葉をシリカゲルで約5日間乾燥させ、約0.8gを乳鉢ですりつぶした後、Plant Genomic DNA Mini（VIOGENE社製）を用いてDNAの抽出および精製を行い、PCRの鋳型DNAとして用いた。

分析に採用したRAPDマーカーは後藤ら（1999）が選抜

した 14 プライマーのうち、熊本県内のスギ在来品種の分類には影響しないと思われる 2 プライマーを除いて、12 プライマーを用いた。また、分析に採用した PCR 条件は後藤ら (1999) の方法のうち、作業の効率化を図るため、針葉から DNA を抽出する方法ならびにその際に使用する DNA 抽出キットのみを変更し、その後の反応液ならびに手順は同法に準じて、以下のように実施した。PCR 反応液 (10.0 μ l) の組成、10 ng 鋳型 DNA、10 $\times$ PCR Buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 10 mM KCl), 0.2 mM 各 dNTP, 0.25 μ M RAPD プライマー, 3.0 mM MgCl₂, 1 ユニット Taq DNA ポリメラーゼ (*AmpliTaq* Stoffel Fragment, Perkin-Elmer 社製) とした。サーマルサイクラーは Takara PCR Thermal Cycler MP (TP 3000) を使用し、まず 94 $^{\circ}$ C で 1 分間変性処理を行った後、変性 (94 $^{\circ}$ C, 10 秒), アニール (36 $^{\circ}$ C, 30 秒), 伸長 (72 $^{\circ}$ C, 1 分) を 45 サイクル繰り返し、最後に 72 $^{\circ}$ C で 7 分間の伸長反応を行った。得られた増幅産物は 2.0% アガロースゲルを用いて電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色を行い、UV トランスイルミネーター上で DNA 多型を検出した。また、RAPD マーカーは、識別や分類を行う際のミスを避けるため 2~5 回の異なる PCR 反応で再現性が得られたものが選抜されている (Mailer et al., 1994)。このことから、本研究では前述の方法で 2 回 PCR を行い、再現性の確認を行った。

結 果

1. 被害痕数とその空間分布様式の年変化

最も古い被害痕は 1975 年に植栽されてから 15 年目の 1990 年に形成されており、その時の調査木当たりの平均被害痕数は 6.2 個であった。1991 年以降平均被害痕数は年々増加して 1992 年にピークとなり、32 個に達した。その後被害痕数は減少し続け、伐採前年の 1999 年には 2.5 個になった (第 2 図)。

調査木当たりの平均被害痕数 (m) と平均こみ合い度 (m^*) から計算した分布集中度指数 (m^*/m) は、初めて被害痕が確認された 1990 年には 2.0 でやや集中分布を示していたが、その後平均被害痕数が増加するのに伴って小さくなり、1994 年に 1.0 (ランダム分布) に近くなった。1995 年以降集中度が大きくなり、1999 年には調査期間中で最も高い 3.8 になった (第 2 図)。

2. 各調査木が 25 年間に加害された回数

植栽されてから伐採されるまでの 25 年間に加害された回数は、どの調査木も 7~10 回で、とくに、9 回と 10 回に集中していた (第 3 図)。これらの回数別の頻度分布をポアソン分布から期待される理論値と比較した結果、両者間で有意な差が認められた ($\chi^2=92.900, p<0.001$)。このことは 25 年間で特定の木がランダムあるいは集中的に加害されたのではなく、どの木もほぼ平均して加害されているこ

第 2 図 平均食痕数と分布集中度指数 (m^*/m) の経年変化
○ 分布集中度指数 (m^*/m), ● 1 本当たり平均材内食痕数 (m), 縦棒 標準偏差。

第 3 図 加害回数の頻度分布
実線はポアソン分布の理論値。

とを示している。

3. DNA 分析結果

12 プライマーによる 12 バンドは、30 個体すべてで、同一の出現形を示していた (第 1 表)。この結果から 30 個体は同一のクローンであることが分かった。

考 察

ヒノキカワモグリガの効果的な防除手段を考えるため、スギ林分において被害程度に恒常的な個体間差異がみられるかどうかについて検討した。その結果、調査木当たり被害痕数の分布集中度指数は 1.0 から 3.8 まで変化した。スギカミキリ *Semanotus japonicus* Lacordaire (コウチュウ目カミキリムシ科) では、林分内の木当たり当年脱出孔数の分布集中度指数が 5.4~130 の値で変化しており (伊藤, 1999)、今回の結果よりはるかに大きな値が報告されている。通常、分布集中度指数は 1.0 より大きければ集中分布

第1表 供試木30本のバンドパターン

Primer	A04	A14	B01	D02	F19	J19	S07	S19	U06	X02	X04	FB4
bp	800	500	760	510	800	450	550	510	300	360	320	450
バンドの有無	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0

を示すとされるが、実際には10を超えるかなり大きな値をもって(伊藤, 1999)集中分布と判定される。したがって、今回の結果から被害発生全期間を通じて、被害程度は高い集中度は示さなかったと判定した。また、植栽されてから伐採されるまでの25年間に加害された回数を調査・検討したところ、どの調査木でもほぼ平均していることが分かった。このように、特定の立木に被害が集中していないことや食害回数の頻度が集中していないことから、本林分においては被害程度に恒常的な個体間差異が生じていないと考えられる。

DNA解析により、調査木30本が単一のクローンであることが判明したことから、今回調査した林分の立木はすべて単一のクローンである可能性が高く、この調査林分は遺伝的に均質な林分であったと考えられる。したがって、産卵雌の寄主選好性や寄主植物の物理・化学的防御の違いによる個体間差異が小さくなり、特定の立木に被害が集中しなかったものと思われる。また、産卵部位や孵化幼虫の食入部位は開葉したばかりの針葉など特定部位に集中せず、針葉や緑軸など様々な部位に分散すること(山崎・倉永, 1988)や、産卵・食入の時期も6~8月とかなりの幅があること(山崎・倉永, 1988)から、本種の出現期と寄主フェノロジーとの同時性のずれの程度によって、被害の恒常的な個体間差異が発生するとは考えられない。

これらの結果より、林分が単一クローンで構成されている可能性が高い(宮島, 1989)九州のスギ造林地では、単木を対象とするより、林分全体を対象とする防除がより効果的であると考えられる。

摘 要

ヒノキカワモグリガの防除において、単木を対象とする場合と林分全体を対象とする場合のどちらが効果的な手段かを考えるために、スギ林分の個体間で被害程度に恒常的な差異がみられるかどうかについて検討した。その結果、年毎の被害は特定の立木に集中せず、また、植栽から伐採までの25年間に本種の加害回数の頻度はいずれの個体でも9回前後で似通っていた。これらの結果、本林分において被害程度に恒常的な個体間差異が生じていないことがわかった。この理由は同林分の立木のDNA解析の結果から今回調査した林分が単一のクローンで構成されている可能性が高く、そのため、産卵雌の寄主選好性や寄主植物の物

理・化学的防御などにもとづく個体間差異が小さくなり、特定の立木に被害が集中しなかったものと考えられる。さらに、産卵部位や産卵時期および孵化幼虫の食入時期が特定の部位や時期に集中しないことから、本種の出現期とスギのフェノロジーとの同時性のずれの程度によって、被害の恒常的な個体間差異が発生するとは考えられなかった。

今回の調査から、林分が単一クローンで構成されている可能性が高い九州のスギ造林地では、単木を対象とするより、林分全体を対象とする防除がより効果的であると考えられた。

引用文献

- Akimoto, S. (1990) Local adaptation and host race formation of a gall-forming aphid in relation to environmental heterogeneity. *Oecologia* 83: 162–170.
- Boecklen, W. J., P. W. Price and S. Mopper (1990) Sex and drugs and herbivores: sex-based herbivory in arroyo willow (*Salix lasiolepis*). *Ecology* 71: 581–588.
- 千原賢次・高宮立身 (1991) ヒノキカワモグリガによるスギ材内食痕の密度・分布状況について。日林九支研論 44: 151–152. [Chihara, K. and T. Takamiya (1994) Density and distribution of the larval feeding site of *Epinotia granitalis* in trunks of the sugi. *Trans. Kyushu Br. Jpn. For. Soc.* 44: 151–152.]
- Fritz, R. S., W. S. Gaud, C. F. Sacchi and P. W. Price (1987) Variation in herbivore density among host plant and its consequences for community structure. *Oecologia* 72: 577–588.
- Fritz, R. S., C. F. Sacchi and P. W. Price (1986) Competition versus host plant phenotype in species composition: willow sawflies. *Ecology* 67: 1608–1618.
- 後藤 晋・家入龍二・宮原文彦 (1999) 福岡県におけるスギさし木品種と精英樹のRAPD分析。日林誌 81: 187–193. [Goto, S., R. Ieiri and F. Miyahara (1999) RAPD analysis of cutting cultivars and plus tree clones of sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) in Fukuoka Prefecture. *J. Jpn. For. Soc.* 81: 187–193.]
- 後藤 晋・渡辺敦史・池田浩一 (1997) RAPD マーカーによるハゼノキの品種識別。日林誌 79: 229–233. [Goto, S., A. Watanabe and K. Ikeda (1997) Use of RAPD markers for cultivar identification in *Rhus succedanea* L. *J. Jpn. For. Soc.* 79: 229–233.]
- 灰塚敏郎・竹下晴彦・川原義則・庄野章直 (1988) スギ林内におけるヒノキカワモグリガの幼虫行動について。日林九支研 41: 149–150. [Haitsuka, T., H. Takeshita, Y. Kawahara and A. Shono (1988) Seasonal change of the feeding site by the larvae of *Epinotia granitalis* Butler in Sugi stands. *Trans. Kyushu Br. Jpn. For. Soc.* 41: 149–150.]
- 灰塚敏郎・谷口 進・庄野章直・蒲原邦行 (1990) 枝打ちした枝

- におけるヒノキカワモグリガの幼虫行動について. 日林九支研論 43: 139–140. [Haitsuka, T., S. Taniguchi, A. Shono and K. Kamahara (1990) Seasonal change of the feeded site by the larvae of *Epinotia granitalis* Butler on the pruned branches in sugi stands. *Trans. Kyushu Br. Jpn. For. Soc.* 43: 139–140.]
- 橋本平一・倉永善太郎 (1988) ヒノキカワモグリガによるスギ樹幹被害痕部の解剖観察. 日林九支研論 41: 147–148. [Hashimoto, H. and Z. Kuranaga (1988) Anatomical observation of tissues associated with the galleries of *Epinotia granitalis* Butler on the trunk of *Cryptomeria japonica*. *Trans. Kyushu Br. Jpn. For. Soc.* 41: 147–148.]
- 井ノ上二郎・福島 勉・周藤靖雄・金森弘樹 (1987) スギ品種別にみたスギカミキリとヒノキカワモグリガの被害. 島根林技研報 38: 33–40. [Inoue, J., T. Fukushima, Y. Suto and H. Kanamori (1987) Comparative studies on damages from *Semanotus japonicus* and *Epinotia granitalis* among Sugi (*Cryptomeria japonica*) natural varieties. *Bull. Shimane Pref. For. Res. Ctr.* 38: 33–40.]
- 伊藤賢介 (1999) スギカミキリ大発生個体群の特性およびスギ樹体内における生存過程に関する研究. 名大森研 18: 29–82. [Ito, K. (1999) Studies on characteristics of population outbreaks of the cryptomeria bark borer, *Semanotus japonicus* Lacordaire (Coleoptera: Cerambycidae) and its survivorship within host trees. *Nagoya Univ. For. Sci.* 18: 29–82.]
- Iwao, S. (1968) A new regression method for analyzing the aggregation pattern in animal populations. *Res. Popul. Ecol.* 10: 1–20.
- Koller, B., A. Lehmann, J. M. McDermott and C. Gessler (1993) Identification of apple cultivars using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 85: 901–904.
- 曲沢 修 (1995) ヒノキカワモグリガの生態と被害実態. 群馬林試研報 3: 1–28. [Magarisawa, O. (1995) Damage and ecology of *Epinotia granitalis* Butler. *Bull. Gunma Pref. For. Res. Ins.* 3: 1–28.]
- Mailer, R. J., R. Scarth and B. Fristensky (1994) Description among cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.) using DNA polymorphisms amplified from arbitrary primers. *Theor. Appl. Genet.* 87: 697–704.
- 松枝 章 (1988) 石川県におけるヒノキカワモグリガの被害 (I). 日林中支論 44: 237–239. [Matsueda, A. (1988) Damage by *Epinotia granitalis* Butler in Ishikawa Prefecture (I). *Trans. Chubu Br. Jpn. For. Soc.* 44: 237–239.]
- 宮島 寛 (1989) 九州のスギとヒノキ. 九州大学出版会, 福岡. 275 pp. [Miyajima, H. (1989) *The Cryptomeria japonica and Chamaecyparis obtusa in Kyusyu*. Kyusyu University Press, Fukuoka. 275 pp.]
- 宮島淳二 (1996) ヒノキカワモグリガ防除法の研究. 森林防疫 45: 43–48. [Miyajima, J. (1996) Study on control of *Epinotia granitalis* Butler. *Forest Pests* 45: 43–48.]
- Quiring, D. T. (1992) Rapid change in suitability of white spruce for a specialist herbivore, *Zeiraphera Canadensis*, as function of leaf age. *Can. J. Zool.* 70: 2132–2138.
- Quiring, D. T. (1994) Influence of inter-tree variation in time of budburst of white spruce on herbivory and the behaviour and survivorship of *Zeiraphera Canadensis*. *Ecol. Entomol.* 19: 17–25.
- 斎藤勝男・滝田利満・在原登志男 (1984) スギ・ヒノキ穿孔性害虫被害防除技術に関する研究. 福島林試研報 16: 51–62. [Saito, K., T. Takita and T. Arihara (1984) Study on control of borer of sugi (*Cryptomeria japonica*) and hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *Bull. Fukushima Pref. For. Res. Ins.* 16: 51–62.]
- 佐藤重穂・谷口 明・末吉正秋 (1994) ヒノキカワモグリガの食痕の大きさの経時的な変化. 日林九支研論 47: 163–164. [Sato, S., A. Taniguchi and M. Sueyoshi (1994) Temporal change of the size of stain in sapwood caused by *Epinotia granitalis* Butler. *Trans. Kyushu Br. Jpn. For. Soc.* 47: 163–164.]
- 高宮立身 (1994) 枝条採取によるヒノキカワモグリガの防除効果判定について. 日林九支研論 47: 161–162. [Takamiya, T. (1994) Estimation of control effect of *Epinotia granitalis* Butler by method of cutting branches. *Trans. Kyushu Br. Jpn. For. Soc.* 47: 161–162.]
- 高田克彦・白石 進 (1996) RAPD マーカーを用いた九州地方のスギさし木品種の分類. 九大演報 75: 1–14. [Takata, K. and S. Shiraisi (1996) Discrimination of Japanese Red Cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) cutting cultivars in Kyushu Region with RAPD markers. *Bull. Kyushu Univ. For.* 75: 1–14.]
- Williams, J. G. K., A. R. Kuberik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18: 6531–6535.
- 山崎三郎・倉永善太郎 (1988) ヒノキカワモグリガの生態と防除. 林業科学技術振興所, 東京. 68 pp. [Yamasaki, S. and Z. Kuranaga (1988) *The Ecology and Control of the Cypress Bark Moth*. Forest Development Technological Institute, Tokyo. 68 pp.]