

衛生上重要な日本産クロバエ科のDNAバーコーディングデータ

舘, 卓司
九州大学大学院比較社会文化研究院生物多様性講座生物体系学教室

<https://hdl.handle.net/2324/7332312>

出版情報 : Acta dipterologica. 33, pp. -10, 2022-08-31. Societas Dipterologica
バージョン :
権利関係 :





No. 33 31. VIII. 2022

衛生上重要な日本産クロバエ科の DNA バーコーディングデータ

館 卓司

九州大学大学院比較社会文化研究院・生物多様性講座・生物体系学教室
〒 819-0395 福岡県福岡市元岡 744

DNA barcoding data of sanitary important Japanese species of blowflies (Diptera: Calliphoridae)

Takuji TACHI

Biosystematics Laboratory, Faculty of Social & Cultural Studies,
Kyushu University, Fukuoka 819-0395, JAPAN
e-mail: tachi@scs.kyushu-u.ac.jp

Abstract. The barcoding data of the 15 Japanese blowflies are examined for species identification. The 658 base pairs of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene are registered in the DNA Data Bank of Japan (DDBJ). A generated molecular tree suggests that it is useful to identify species of the subfamilies Calliphorinae, Chrysomyinae, and (partially) Luciliinae with the DNA barcoding data. However, as for species identification, four species of Luciliinae (*Lucilia ampullacea*—*L. porphyrina*; *L. caesar*—*L. illustris*) could not be distinguished from each other by their COI data.

Key words: COI, DNA database, molecular phylogeny, sanitary pests, species identification.

緒言

クロバエ科は、双翅目の有弁翅亜節に属する一群である。成虫は花、動物の死体や糞などに集まり、液状物を吸汁する。その際に動物由来の細菌やウイルスなどを媒介するために衛生害虫として扱われている。実際に、オオクロバエ *Calliphora nigribarbis* から鳥インフルエンザウイルスが検出されている（澤邊・小林 2021）。また、ヒロズキンバエ *Lucilia sericata* を含む数種では偶発的に人体

にハエ症を引き起こすことが知られている (末吉 2015). 日本のクロバエ科の分類学的研究は 1960 年代に精力的におこなわれ, 日本動物誌 Fauna Japonica の一冊として 54 種が纏められている (Kano & Shinonaga 1968).

ちょうどその頃, 衛生環境の改善や医薬品の開発もあり, マラリアや日本脳炎など節足動物が媒介する感染症や疾病の重要性は少なくなった. このような機運が高まり, 医学上の優先度が悪性新生物 (癌) と生活習慣病などへシフトする中で, 大学の改組も伴い, これまで衛生動物学の基礎研究をおこなってきた研究室は統廃合によって減少を続けてきた (日本学術会議 2019). しかし, グローバル化や温暖化を始めとした地球規模の環境変化によって, 日本でも病原体をもつ動物の分布拡大やそれとの接触する機会が増え, 様々な節足動物による感染症のリスクが高まっていると言える (日本学術会議 2019). 成田空港等では Dengue ウイルス等のベクターであるネッタイシマカ *Aedes aegypti* が断続的に侵入していることが報告されている (Sukehiro *et al.* 2013). また, 農業従事者の減少や高齢化が関連して, 耕作放棄地の増加が現代社会の問題の一つとして取り上げられる. 農地はある意味野生動物とヒトとのバッファゾーンであり, その崩壊は野生動物がヒトの活動域に入り込んでくる要因となる (岩崎ら 2008). これによって昆虫やダニなどによる野生動物のもつ病原体が媒介されるという間接的な危険に晒される機会も大きくなっている (日本学術会議 2019). これらの新旧の衛生害虫が未知の病原体をもたらす危険性に対して, 今後の対応策を多面的に考える必要がある.

近年, 種の同定に Hebert ら (2003) によって開発された DNA バーコーディングがさかんに用いられている. 動物の DNA バーコーディングでは, ミトコンドリアゲノム上の COI 遺伝子の 658 bp が標準バーコードとなっている (Hebert *et al.* 2003). 現在, 日本 DNA データバンク (DDBJ) などの DNA データベース (以下単にデータベース) には多くの生物種に関する情報が蓄積されており, 種同定の際のリファレンスとして利用されている. 専門に関する経験が浅い研究者でも, 衛生害虫の種を簡便に同定するためには, この技術を使った同定法の利用は最適であろう. 現に, 日本産蚊の種同定のためのデータベースは整備されている (前川ら 2016). しかし, 多様な昆虫類では同定システムの基盤となる登録情報が大幅に不足しているため, DNA バーコーディングを活用するためには早急な情報整備が望まれる. そこで, 本研究では DNA 情報を活かした日本産の衛生動物種の同定システムの構築に向けて, 国内のクロバエ科の DNA バーコード領域の塩基配列データを決定し, 登録する. さらに, すでにデータベースに蓄積されている国内外の多くのデータと比較することによって, 衛生害虫を含むクロバエ科 15 種の種同定の有効性を検証する.

材料および方法

国内で採集されたクロバエ科 51 個すべてを乾燥標本とし, 形態学的特徴に基づいて 15 種に同定した (Kano & Shinonaga 1968). 学名は, Kurahashi (2014) に準拠した. 各標本の脚を 1-3 本を取り外して, 分子系統解析用の実験に用いた (表 1). ここで使われた標本は九州大学大学院比較社会文化研究院 (Biosystematics Laboratory, Kyushu University, BLKU) に保管されている.

DNA 抽出には DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen K. K, Tokyo, Japan) を使用

した。ミトコンドリア COI 遺伝子のバーコード領域 (658 bp) を増幅するために、プライマー LCO1490 と HCO2198 (Simon *et al.* 1994) を用いて PCR をおこなった。反応液は、次のものを含む 25 μ L で調整された：超純水 14.4 μ L, 10x Ex Taq Buffer 2.5 μ L, dNTP Mixture 2 μ L (2.5mM), TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ株式会社) 0.1 μ L, それぞれのプライマー 2.5 μ L (2pmol/ μ L), サンプル 1.0 μ L。増幅反応は、最初に 95 $^{\circ}$ C 60 秒の加熱後、95 $^{\circ}$ C 30 秒 / 45–50 $^{\circ}$ C 45 秒 / 72 $^{\circ}$ C 60 秒を 40 回繰り返す、最後に 72 $^{\circ}$ C 60 秒をおこなった。PCR 産物は染色試薬 (Atlas ClearSight DNA stain, BioAtlas) を含む 1% アガロースゲルで電気泳動をおこない、紫外線照射下で増幅産物を確認した。増幅に成功したサンプルは QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) を用いて精製した後、ABI DNA Analyzer (Applied Biosystems) で塩基配列を決定した。各種の決定された塩基配列は Genetyx-MAC (Genetyx Corporation, Tokyo, Japan) や Seaview (Gouy *et al.* 2010) でアライメントされた。また、国内外のクロバエ科 (外群としてクロバエ科のウリクロバエ亜科の一種 *Caiusa indica* Surcouf を含む) の塩基配列を GenBank より取得し、データセットに加え (表 2), 遺伝的相違を比較した。そのデータセットは jModeltest 2.1.10 (Guindon & Gascuel 2003 ; Darriba *et al.* 2012) で最適モデルを決定した。その結果, GTR+I+G model が選択され, PAUP* 4.0b10 (Swofford 2002) を使って最尤法による系統樹を推定した。系統樹内のクレードの信頼性は, IQ-Tree v.1.6.5 の ultrafast bootstrap 法を用いて算出した (1,000 回反復)。Ultrafast

表 1. 本研究で使用されたクロバエ科 15 種 51 個体の証拠標本のアクセッションナンバー, 採集データおよび性別。分類群の配列は Kurahashi (2014) に準拠した。

種	証拠標本	アクセッション ナンバー	採集データ	性別
Calliphoridae				
Calliphorinae クロバエ亜科				
<i>Aldrichina grahami</i> (Aldrich, 1930) ケブカク ロバエ	AldCa	LC684776	22.vii.2012, Shirabu Pass (1400m), Kitachobara Vil., Fukushima Prefecture	male
	DB4	LC684777	6.vi.2021, Mt. Kusenbu, Tosu City, Saga Prefecture	male
<i>Calliphora nigribarbis</i> Vollenhoven, 1863 オオク ロバエ	TTkuro2	LC684778	18.x.2007, Maruyama Park, Sapporo City, Hokkaido Prefecture	female
	DB27	LC684779	23.vi.2021, Mt. Tomaru, Kamoenai Vill., Hokkaido Prefecture	female
	DB30	LC684780	23.vi.2021, Mt. Tomaru, Kamoenai Vill., Hokkaido Prefecture	male
	TTkuro	LC684781	17.vi.2001, Is. Nokonoshima, Fukuoka City, Fukuoka Prefecture	male
<i>Calliphora subalpina</i> (Ringdahl, 1931) タカネク ロバエ	Casub	LC684782	27.ix.2017, Mt. Asakawa, Azumino City, Nagano Prefecture	male
	DB29	LC684783	23.vi.2021, Mt. Tomaru, Kamoenai Vill., Hokkaido Prefecture	male
<i>Calliphora vicina</i> Robineau-Desvoidy, 1830 ホホアカク ロバエ	Cavi	LC684784	25.viii.2016, Mt. Asakawa, Azumino City, Nagano Prefecture	male
	DB26	LC684785	23.vi.2021, Mt. Tomaru, Kamoenai Vill., Hokkaido Prefecture	male
<i>Triceratopyga calliphoroides</i> Rohdendorf, 1931 フタオク ロバエ	DB10	LC684786	9.v.2009, Maruyama Park, Sapporo City, Hokkaido Prefecture	male
	DB31	LC684787	23.vi.2021, Mt. Tomaru, Kamoenai Vill., Hokkaido Prefecture	male
	Call2_0504	LC684788	4.v.2011, Mt. Aburayama, Fukuoka City, Fukuoka Prefecture	male

表 1 (続き).

種	証拠標本	アクセシオン ナンバー	採集データ	性別
Luciliinae キンバエ亜科				
<i>Hemipyrellia ligurriens</i> (Wiedemann, 1830) トウキョウキンバエ	DB3	LC684789	2.vi.2021, Kyushu Uni. Ito Campus, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	male
	DB100	LC684790	12.ix.2021, Izumi River, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	male
	DB105	LC684791	18.ix.2021, Raizan River, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	male
	DB107	LC684792	23.ix.2021, Izumi River, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	female
<i>Lucilia ampullacea</i> Villeneuve, 1922 コガネキンバエ	LuCa1	LC684793	27.ix.2017, Mt. Asakawa, Azumino City, Nagano Prefecture	female
	DB1	LC684794	6.vi.2021, Mt. Kusenbu, Tosu City, Saga Prefecture	male
	DB39	LC684795	23.vi.2021, Mt. Tomaru, Kamoenai Vill., Hokkaido Prefecture	male
	DB40	LC684796	17.vii.2017, Mt. Sakurei, Karatsu City, Saga Prefecture	male
	DB69	LC684797	30.v.2021, Sasayama Park, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	female
	DB70	LC684798	22.vii.2012, Shirabu Pass, Fukushima Prefecture	female
	DB74	LC684799	26.vii.2012, Mt. Nekomagadake, Bandai Town, Fukushima Prefecture	female
	DB75	LC684800	21.viii.2017, Mt. Jominesan, Chichibu City, Saitama Prefecture	male
	DB109	LC684801	26.vii.2013, Mt. Chausuyama, Aichi Prefecture	male
	<i>Lucilia bazini</i> Ségué, 1934 ニセミヤマキンバエ	DB62	LC684802	17.vii.2021, Mt. Yuwandake, Yamato Vil., Amami-Ohshima, Kagoshima Prefecture
DB67		LC684803	15.vii.2021, Mt. Yuwandake, Yamato Vil., Amami-Ohshima, Kagoshima Prefecture	female
DB68		LC684804	15.vii.2021, Kado, Tatsugo Town, Amami-Ohshima, Kagoshima Prefecture	female
<i>Lucilia caesar</i> (Linnaeus, 1758) キンバエ	DB41	LC684805	30.vii.2011, Mt. Hachimantai, Kazuno City, Akita Prefecture	male
	DB73	LC684806	23.vi.2021, Mt. Tomaru, Kamoenai Vil, Hokkaido Prefecture	male
<i>Lucilia illustris</i> (Meigen, 1826) ミドリキンバエ	DB90	LC684807	15.viii.2021, Raizan River, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	male
	DB106	LC684808	18.ix.2021, Raizan River, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	male
<i>Lucilia papuensis</i> Macquart, 1843 ミヤマキンバエ	DB2	LC684809	24.vii.2012, Mt. Nekomagadake, Bandai Town, Fukushima Prefecture	male
	DB61	LC684810	15.vii.2021, Kado, Tatsugo Town, Amami-Ohshima, Kagoshima Prefecture	male
	DB66	LC684811	16.vii.2021, Mt. Takachiyama, Setouchi Town, Amami-Ohshima, Kagoshima Prefecture	female
	DB71	LC684812	5.ix.2016, Toya-lake Town, Hokkaido Prefecture	male
	DB72	LC684813	23.viii.2016, Aburazaka Pass, Ono City, Fukui Prefecture	female
	DB108	LC684814	30.viii.2013, Mt. Chausuyama, Aichi Prefecture	female
	DB125	LC684815	5.xi.2021, Benoki, Kunigami Vil., Okinawa Prefecture	male
	DB126	LC684816	4.xi.2021, Yona Exper. Forest, Kunigami Vil., Okinawa Prefecture	female
	DB133	LC684817	5.xi.2021, Benoki, Kunigami Vil., Okinawa Prefecture	female
<i>Lucilia porphyryna</i> (Walker, 1856) スネアカキンバエ	DB64	LC684818	16.vii.2021, Mt. Takachiyama, Setouchi Town, Amami-Ohshima, Kagoshima Prefecture	male
	DB65	LC684819	16.vii.2021, Mt. Takachiyama, Setouchi Town, Amami-Ohshima, Kagoshima Prefecture	female
	DB127	LC684820	4.xi.2021, Yona Exper. Forest, Kunigami Vil., Okinawa Prefecture	female
	DB136	LC684821	5.xi.2021, Benoki, Kunigami Vil., Okinawa Prefecture	female
<i>Lucilia sericata</i> (Meigen, 1826) ヒロズキンバエ	DB76	LC684822	9.viii.2021, Sasayama Park, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	male
	DB97	LC684823	29.viii.2021, Raizan River, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	female

表 1 (続き).

種	証拠標本	アクセッション ナンバー	採集データ	性別
Chrysomyinae オビキンバエ亜科				
<i>Chrysomya megacephala</i> (Fabricius, 1794) オビキンバエ	Chry_Call	LC684825	20.iv.2019, Nakadomari ruins, Onna Vil., Okinawa Prefecture	male
	DB91	LC684826	9.viii.2021, Sasayama Park, Itoshima City, Fukuoka Prefecture	male
<i>Chrysomya pinguis</i> (Walker, 1858) ホホグロオビキンバエ	DB63	LC684824	16.vii.2021, Mt. Takachiyama, Setouchi Town, Amami-Oshima, Kagoshima Prefecture	female

bootstrap 法では、算出された値が 95% 以上であれば、そのクレードの信頼性が高いとされる (Hoang *et al.* 2018).

結果と考察

本研究では、形態学的特徴によって同定されたクロバエ科の 15 種 51 個体のバーコード配列 (ミトコンドリア遺伝子 COI の一部分の 658 bp) を決定し、DDBJ に登録した (表 1, アクセッションナンバー: LC684776–LC684826). 林・篠永 (1979) によれば、タカネクロバエ *Calliphora subalpina* は個体数が少なく、ニセミヤマキンバエ *Lucilia bazini*, およびミヤマキンバエ *L. papuensis* は山地性や森林性であり、ミミズなどの死骸に集まるため、これら 3 種は特に衛生上問題とならない. 一方、それ以外の 12 種は、平地や市街地で動物死体やゴミ溜めなどを発生源とするために媒介者として衛生上重要である. Saigusa *et al.* (2005) は、クロバエ科 6 種とニクバエ科 2 種の COI 配列 (304 bp) を調べており、同定に関して DNA 情報の有用性を論じているが、これらのデータはデータベースには登録されていない. 著者が調べた限りでは (2022 年 2 月 1 日現在), 日本産クロバエ科のバーコード配列はスネアカキンバエ *Lucilia porphyrina* の一種しか登録されておらず (Wells *et al.* 2007), 今回新たに決定した配列データは今後の研究の一助となる.

今回決定した配列データと GenBank に登録されている国内外のデータセットから推定された最尤系統樹を図 1 に示した. 解析された 15 種のうち 11 種は、サンプル数が十分ではない種も認められるが、諸外国の同種と統計的に信頼性の高いクレードを構成し、かつ近縁種から明確に区別されている. また、クロバエ亜科のミヤマクロバエ *Calliphora vomitoria*, オビキンバエ亜科のクロキンバエ *Phormia regina* など衛生害虫として重要な種が含まれていないが、今回解析した種だけを見ても種ごとに信頼性の高いクレードを形成しているため、DNA バーコーディングによる同定は、有効であると考えられる. DNA 情報は発育ステージに拘わらず共通であるため、同定が困難な個体あるいは幼虫や蛹のステージなどにも十分に対応できるだろう. 一方、キンバエ亜科のコガネキンバエ (*Lucilia ampullacea*) — スネアカキンバエ (*L. porphyrina*) とキンバエ (*L. caesar*) — ミドリキンバエ (*L. illustris*) については、各種に対応する明瞭なクレードは形成されず、DNA バーコーディングでは区別できないことが明らかとなった. この結果は、解析された遺伝子領域や、扱われた個体の数や産地に違

表 2. DNA GenBank から取得されたクロバエ科の種およびその国名, アクセションナンバーと参考文献. 分類群の配列は Kurahashi (2014) に準拠した.

亜科	種	国名	アクセション ナンバー	参考文献	
Calliphorinae	<i>Aldrichina grahami</i> (Aldrich, 1930)	China	JN604564	unpublished	
		USA	KX422286	Monum <i>et al.</i> 2017	
	<i>Calliphora nigribarbis</i> Vollenhoven, 1863	South Korea	MW085105	unpublished	
		China	NC_053679	unpublished	
	<i>Calliphora subalpina</i> (Ringdahl, 1931)	Finland	MZ623961	Roslin <i>et al.</i> 2022	
	<i>Calliphora vicina</i> Robineau-Desvoidy, 1830	Finland	MZ608953	Roslin <i>et al.</i> 2022	
		China	MW566092	unpublished	
	<i>Triceratopyga calliphoroides</i> Rohdendorf, 1931	Germany	LC684827	in this study	
		China	MN131048	unpublished	
	Luciliinae	<i>Hemipyrellia ligurriens</i> (Wiedemann, 1830)	South Korea	EU880179	Park <i>et al.</i> 2009b
Tailand			KR921676	unpublished	
Malaysia			LC549069	Tachi <i>et al.</i> 2020	
Malaysia			LC549077	Tachi <i>et al.</i> 2020	
<i>Lucilia ampullacea</i> Villeneuve, 1922		South Korea	EU880206	Park <i>et al.</i> 2009a	
		Finland	MZ608941	Roslin <i>et al.</i> 2022	
		France	MW077748	unpublished	
		China	KY031824	unpublished	
		Germany	KF225234	GilArriortua <i>et al.</i> 2014	
		Spain	KJ394753	unpublished	
		UK	DQ453487	Wells <i>et al.</i> 2007	
		South Korea	EU925394	Park <i>et al.</i> 2009a	
		<i>Lucilia bazini</i> Séguy, 1934	Taiwan	AY346450	Chen <i>et al.</i> 2004
			China	KY031851	unpublished
China			KY031849	unpublished	
China			KY031848	unpublished	
China			KM497292	unpublished	
<i>Lucilia caesar</i> (Linnaeus, 1758)			China	KY001865	Meng <i>et al.</i> 2017
		China	KY001866	Meng <i>et al.</i> 2017	
		China	KY001867	Meng <i>et al.</i> 2017	
	South Korea	EU880195	Park <i>et al.</i> 2009a		
	South Korea	EU880196	Park <i>et al.</i> 2009a		
	UK	AJ417703	Stevens <i>et al.</i> 2002		
	UK	DQ453488	Wells <i>et al.</i> 2007		
	Germany	LC684828-LC684832	in this study		
	India	KX893350	Bharti & Singh 2017		
	<i>Lucilia illustris</i> (Meigen, 1826)	China	KY001860	Meng <i>et al.</i> 2017	
China		KY001861	Meng <i>et al.</i> 2017		
China		KY001862	Meng <i>et al.</i> 2017		
South Korea		EU880197	Park <i>et al.</i> 2009a		
South Korea		EU880198	Park <i>et al.</i> 2009a		
South Korea		EU880199	Park <i>et al.</i> 2009a		

表 2 (続き).

亜科	種	国名	アクセッション ナンバー	参考文献
	<i>Lucilia papuensis</i> Macquart, 1843	China	NC_053672	unpublished
		Thailand	KT895003	Zajac <i>et al.</i> 2016
		Thailand	KT895004	Zajac <i>et al.</i> 2016
		Thailand	KT895005	Zajac <i>et al.</i> 2016
		Malaysia	LC549091	Tachi <i>et al.</i> 2020
		Malaysia	LC549100	Tachi <i>et al.</i> 2020
	<i>Lucilia porphyrina</i> (Walker, 1856)	China	KY001868	Meng <i>et al.</i> 2017
		China	KY001869	Meng <i>et al.</i> 2017
		Japan	AY074900	Wells <i>et al.</i> 2007
		Taiwan	AY097336	Chen <i>et al.</i> 2004
		India	KX893336	Bharti & Singh 2017
		India	KX893337	Bharti & Singh 2017
		India	KX893338	Bharti & Singh 2017
		Australia	JX913758	Nelson <i>et al.</i> 2012
	<i>Lucilia sericata</i> (Meigen, 1826)	China	KY001890	Meng <i>et al.</i> 2017
		South Korea	EU880208	Park <i>et al.</i> 2009a
		Australia	JX913756	Nelson <i>et al.</i> 2012
Phumosiinae	<i>Caiusa indica</i> Surcouf, 1914	Malaysia	LC549089	Tachi <i>et al.</i> 2020
Chrysomyinae	<i>Chrysomya megacephala</i> (Fabricius, 1794)	Taiwan	AY092761	Chen <i>et al.</i> 2004
		China	KY001900	Meng <i>et al.</i> 2017
		Malaysia	LC549067	Tachi <i>et al.</i> 2020
	<i>Chrysomya pinguis</i> (Walker, 1858)	Taiwan	AY092759	Chen <i>et al.</i> 2004
		China	KY001820	Meng <i>et al.</i> 2017
		India	KX893350	Bharti & Singh 2017

いがあるものの、他の研究で示された結果とも一致している (Wells *et al.* 2007; Park *et al.* 2009a; Williams *et al.* 2016; Monum *et al.* 2017). 特に、キンバエとミドリキンバエは、他のミトコンドリア遺伝子 (COII や 16S rRNA) や核遺伝子 (ITS2 や 28S rRNA) を調べた研究でも、明瞭な遺伝的な分化が認められておらず、互いに近縁であると考えられている (Sonet *et al.* 2012). おそらく、コガネキンバエとスネアカキンバエについても同様の遺伝子解析で明瞭な分化は認められないと予想される. このように、少なくとも上記 4 種は DNA バーコーディングによる区別ができないため、その利用には注意する必要がある. Schoofs *et al.* (2018) のキンバエとミドリキンバエの 2 種のミトコンドリアゲノムを調べた研究によると、ND5 と ND6 は両種を区別できることが示されている. しかし、少数のサンプルに加え、それぞれの遺伝的変異 (1.71% と 1.68%) は、COI (1.56%) と大差ない. 今後、サンプル数や未解析種の追加による包括的な解析とともに、上記のキンバエ亜科 4 種の遺伝子データによる正確な同定のための核遺伝子マーカーの探索もおこなう必要があるだろう.

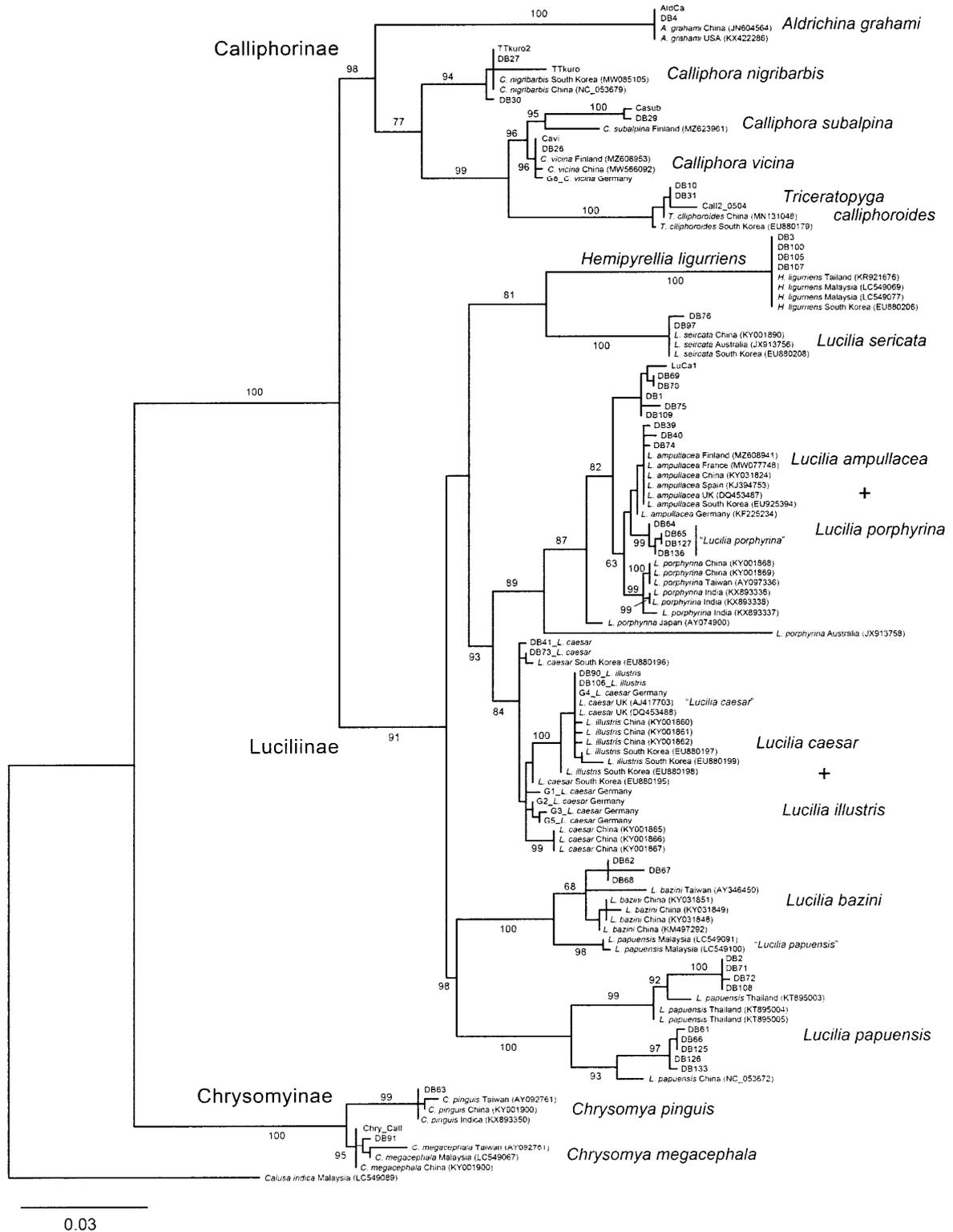


図1. COIによって推定されたクロバエ科15種の最尤系統樹. 枝上の数字はultrafast bootstrap値を示す.

謝辞

本論文において倉橋弘氏（東京都）に多くの助言をいただいた，ここで厚くお礼申し上げます．また，二人の査読者にも本論文の内容に関して貴重なご意見をいただき感謝する．

引用文献

- Bharti M and Singh B (2017) DNA-based identification of forensically important blowflies (Diptera: Calliphoridae) from India. *Journal of Medical Entomology* **54**, 1151–1156. DOI: 10.1093/jme/tjx084.
- Chen WY, Hung TH, and Shiao SF (2004) Molecular Identification of Forensically Important Blow Fly Species (Diptera: Calliphoridae) in Taiwan. *Journal of Medical Entomology* **41**, 47–57.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, and Posada D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**, 772.
- GilArriortua M, Saloña Bordas MI, Köhnemann S, Pfeiffer H, and de Pancorbo MM (2014) Molecular differentiation of Central European blowfly species (Diptera, Calliphoridae) using mitochondrial and nuclear genetic markers. *Forensic Science International* **242**, 274–282.
- Gouy M, Guindon S, and Gascuel O (2010) SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution* **27**, 221–224.
- Guindon S and Gascuel O (2003) A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood”. *Systematic Biology* **52**, 696–704.
- 林晃史・篠永哲 (1979) ハエ – 生態と防除 –. 文永堂, 東京.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL and de Waard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society London B* **270**, 313–321.
- Hoang DT, Chernomor O, von Haeseler A, Minh BQ, and Vinh LS (2018) UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution* **35**, 518–522.
- 岩崎亘典・栗田英治・嶺田拓也 (2008) 農村と都市・山地との境界領域で生じる軋轢と自然再生. *農村計画学会誌* **27**, 32–37.
- Kano R and Shinonaga S (1968) *Fauna Japonica. Calliphoridae (Insecta: Diptera)*. Biogeographical Society of Japan, National Science Museum, Tokyo, 181 pp. [+23 plates]
- Kurahashi H (2014) Family Calliphoridae. In: Nakamura T, Saigusa T, and Suwa M. (eds.). *Catalogue of the Insects of Japan. Volume 8, Diptera, Part 2, Brachycera, Cyclorrhapha*, pp. 807–816. Entomological Society of Japan, Fukuoka.
- 前川芳秀・小川浩平・駒形修・津田良夫・沢辺京子 (2016) 日本産蚊の分子生物学的種同定のための DNA バーコードの整備. *衛生動物* **67**, 183–198. DOI: 10.7601/mez.67.183.
- Meng F, Ren L, Wang Z *et al.* (2017) Identification of forensically important blow flies (Diptera: Calliphoridae) in China based on COI. *Journal of Medical Entomology* **54**, 1193–1200.
- Monum T, Sukontason KL, Sribanditmongkol P *et al.* (2017) Forensically important blow flies *Chrysomya pinguis*, *C. villeneuvei*, and *Lucilia porphyrina* (Diptera: Calliphoridae) in a case of human remains in Thailand. *Korean Journal Parasitology* **55**, 71–76.
- Nelson LA, Christine L, Lambkin CL *et al.* (2012) Beyond barcoding: A mitochondrial genomics approach to molecular phylogenetics and diagnostics of blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Gene* **511**, 131–142.
- 日本学術会議 (2019) 提言「衛生害虫による被害の抑制をめざす衛生動物学の教育研究の強化」1–25.
- Park SH, Zhang Y, Piao H *et al.* (2009a) Use of cytochrome c oxidase subunit I (COI) nucleotide sequences for identification of the Korean Luciliinae fly species (Diptera: Calliphoridae) in forensic investigations. *Journal of Korean Medical Science* **24**, 1058–1063. DOI: 10.3346/jkms.2009.24.6.1058.
- Park SH, Zhang Y, Piao H *et al.* (2009b) Sequences of the cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene are suitable for species identification of Korean Calliphorinae flies of forensic implication (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Forensic Science* **54**, 1131–1134. DOI: 10.1111/j.1556-4029.2009.01126.x.
- Roslin T, Somervuo P, Pentinsaari M *et al.* (2022) A molecular-based identification resource for the arthropods of Finland. *Molecular Ecology Resources* **22**, 803–822. DOI: 10.1111/1755-

0998.13510.

Saigusa K, Takamiya M, and Aoki Y (2005) Species identification of the forensically important flies in Iwate prefecture, Japan based on mitochondrial cytochrome oxidase gene subunit I (COI) sequences. *Legal Medicine* **7**, 175–178.

澤邊京子・小林睦生 (2021) ハエ類で最も注目すべきはオオクロバエによるウイルス伝播 (ハエ伝播説を追う 高病原性鳥インフルエンザとクロバエ類の関わり). *鶏の研究* **96**, 39–42.

Schoofs KR, Ahmadzai UK, and Goodwin W (2018) Analysis of the complete mitochondrial genomes of two forensically important blowfly species: *Lucilia caesar* and *Lucilia illustris*. *Mitochondrial DNA Part B* **3**, 1114–1116. DOI: 10.1080/23802359.2018.1457991.

Simon C, Frati F, Beckenbach A *et al.* (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annual Review of Entomology* **87**, 651–701.

Sonet G, Jordaens K, Braet Y, and Desmyter S (2012) Why is the molecular identification of the forensically important blowfly species *Lucilia caesar* and *L. illustris* (Family Calliphoridae) so problematic? *Forensic Science International* **223**, 153–159. DOI: 10.1016/j.forsciint.2012.08.020.

Stevens JR, Wall R, and Wells JD (2002) Paraphyly in Hawaiian hybrid blowfly populations and the evolutionary history of anthropophilic species. *Insect Molecular Biology* **11**, 141–148. DOI: 10.1046/j.1365-2583.2002.00318.x.

末吉昌宏 (2015) 日本で発症した人体ハエ症の再検討. *衛生動物* **66**, 91–120. DOI: 10.7601/mez.66.91.

Sukehiro N, Kida N, Umezaki M *et al.* (2013) First report on invasion of yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*, at Narita International Airport, Japan in August 2012. *Japanese Journal of Infectious Diseases* **66**, 189–194. DOI.org/10.7883/yoken.66.189.

Swofford DL (2002) PAUP*: *Phylogenetic analysis using parsimony and other methods, version 4b10*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Tachi T, Hyodo F, Kurahashi H, and Itioka T (2020) A preliminary list of blow, flesh and rhiniid flies (Insecta: Diptera) in Lambir Hills National Park, Sarawak, East Malaysia. *Bulletin of the Graduate School of Integrated Sciences for Global Society, Kyushu University* **27**, 1–13.

Wells JD, Wall R, and Stevens JR (2007) Phylogenetic analysis of forensically important *Lucilia* flies based on cytochrome oxidase I sequence: a cautionary tale for forensic species determination. *International Journal of Legal Medicine* **121**, 229–233.

Williams KA, Lamb J, and Villet MH (2016) Phylogenetic radiation of the greenbottle flies (Diptera, Calliphoridae, Luciliinae). *Zookeys* **568**, 59–86.

Zajac BK, Sontigun N, Wannasan A *et al.* (2016) Application of DNA barcoding for identifying forensically relevant Diptera from northern Thailand. *Parasitology Research* **115**, 2307–2320. DOI: 10.1007/s00436-016-4977-6.