

タマネギバエ・タネバエの誘引剤
に関する基礎的研究

東京大学農学部
石川幸男

博士論文

タマネギバエ・タネバエの誘引剤に関する基礎的研究

	目次	頁
序章		1
第1章	タマネギ植物体から放散されるタマネギバエの産卵誘引・刺激物質	10
第2章	産卵刺激物質に対するタマネギバエ触角のEAG反応	31
第3章	タマネギ磨碎汁のタマネギバエ・タネバエに対する誘引性	50
第4章	腐敗タマネギ磨碎汁中性画分中の誘引物質	59
第5章	標識再捕法による2-フェニルエタノールの誘引力評価	71
第6章	腐敗タマネギ磨碎汁酸性画分中の誘引物質	84
第7章	タマネギバエ・タネバエ誘引剤の放出制御剤の開発	95
第8章	タマネギバエ・タネバエの大量誘殺法による防除の理論的考察	109
付章	供試硫黄化合物の合成法	128
総括		136
謝辞		141
引用文献		142

序章

本研究は、その開始当初、タマネギなど Allium 属植物の重要害虫で、典型的な狭食性昆虫であるタマネギバエ Hylemya antiqua Meigen を対象とし、その寄主選択機構の解明を通じて、本種の新防除法の開発に有用な基礎的知見を得ることを目的として始められたものである。しかし、研究の過程でタマネギバエだけでなく、その近縁種タネバエ H. platura M. に対しても強力な誘引物質を発見するに至った。タネバエは、ダイズ、トウモロコシをはじめ広範な作物の発芽種子を加害する重要害虫である。そこで、それ以後はタマネギバエだけでなく両種に対する誘引剤の開発・実用化へ向けて努力を傾けることとした。

したがって、本論文全8章のうち、第1～第2章は、タマネギバエの寄主選択機構の解明に向けた基礎研究となっており、以後の各章はタマネギバエ・タネバエ両種を対象とした誘引剤に関し、応用的側面をも意識した研究となっている。第8章ではさらに、防除の理論面に入り、本研究で開発された誘引剤を大量誘殺に用いた、両種の防除の可能性をシミュレーション モデルを作成して検討した。

本章では、まず初めにタマネギバエとタネバエの生態を紹介するとともに、以後の章で共通に用いられた材料及び方法をまとめて記述する。その他個々の材料あるいは方法については、各章ごとに記述した。なお、第1章で供試した硫黄化合物の大部分は著者が合成ならびに精製したものであるが、この合成法については付章として別途記述してあるので、参照されたい。

タマネギバエの生態

タマネギバエ Hylemya antiqua Meigen は、その名の示すとおり、タマネギを主な寄主としているが、その他、ネギ、ニラ、ニンニクなどの Allium 属植物を寄生する典型的な狭食性昆虫である。成虫は体長5~7mmで、アジア、ヨーロッパ、北アメリカなど北半球に広く分布、日本ではタマネギの大産地である北海道で農業上問題になっている(富岡, 1977)。北海道では5月中旬頃より、越冬蛹からの第1世代の成虫の羽化が始まる。成虫は数日~14日の産卵前期間を経て産卵を開始する(Theunissen, 1976)。成虫の食餌としては、タンポポなど数種の野生植物の花などが考えられている(Baker and Stewart, 1928 ; 堤, 1983)。野外での成虫の生存日数は明らかではないが、室内ではきわめて長寿であり60日以上生きる個体もまれではない。この間、雌成虫はくりかえし産卵し、1個体当りの産卵数は300卵以上に達する(石川, 1979)。卵はタマネギ幼苗の根際に産まれることが多いが、葉鞘に産まれることもある。卵は数日でふ化し、幼虫は苗の発根部から食入し、苗を萎凋・枯死させる(図0-1)。25℃では約2週間で生長を完了し(室内条件)、成熟幼虫は植物を去って土壤中で蛹化する。蛹は、やはり約2週間で羽化して、7月頃、成虫第2世代を形成する。このようにして、年2~3回の発生をくりかえし、休眠蛹で越冬する。

タネバエの生態

タネバエ Hylemya platura Meigen は、タマネギバエとは対照的に寄主範囲が非常に広く、ダイズ、インゲン、エンドウなどの豆類や、スイカ、キュウリ、マクワウリなどのウリ類、その他、ネギ、タマネギ、トウモロコシ、陸稻など広範な農作物の種子、幼植物を食害する典型的な広食性昆虫である。成虫は体長4~6mmで北半球に広く分布し、日本では全国的に発生がみられる。北海道では、越冬蛹は5月初旬から羽化する。室内での生存日数は、タマネギバエに比べてかなり短かく、せいぜい40日である。産卵前期間はやはり7~14日であると考えられているが、詳しくは分かっていない。産卵は耕起されて湿気のある土中になされることが多い。ふ化幼虫は土中に潜入し、有機質、発芽種子、幼苗などを食害して育つ。本種の寄主選択機構については、化学的なことはほとんど何も分かっていないのが現状である。幼虫の成長はタマネギバエ



図0-1 タマネギバエによる食害をうけて萎凋したタマネギ苗

より速く、約10日で蛹化する。約2週間の蛹期間をへて6月末ころ第2世代成虫が羽化する。発生は3回みられるのが普通である(桑山ら, 1970)。

両害虫ともに幼虫が植物体(稚苗)の地下部を食害し、萎凋、枯死させてしまう重要な農業害虫であり、加害が地下で行なわれることから、線虫(Nematode)などと同じく、土壌害虫として取り扱われている。両種は分類学的にはいずれも、ハナバエ科 Anthomyiidae, タネバエ属 *Hylemya* に属し、形態的にきわめて類似しているため区別がむずかしいほどであるが、両種の寄主選好性が著しく異なることは前述のとおりである。両種のような土壌害虫に対する効果的な殺虫剤の施用は難しく、難防除害虫に数えられている。タネバエに対しては、殺虫剤粉剤の種子粉衣、タマネギバエに対しては、種子粉衣または粒剤の土壌施用による幼虫の防除が理想的であるが、効果が持続しない難点がある。そこで、いきおい殺虫剤の定期的な茎葉散布による成虫の防除にたよらざるを得ないのが現状である。この定期的な防除によって両種ともかなりよくおさえられてきたが、特にタネバエについては最近、突発的な被害があい次いでいる。これは、最近ふたたび有機質肥料がみなおされ、使用されるようになったことも一因と考えられている(阿久津, 私信)。また、両種ともに殺虫剤抵抗性の発達が国内外で報告されていることを考えると、殺虫剤の使用にたよるのにも限界がある(桑山ら, 1970; Carroll et al., 1983)。有機質肥料使用の奨励をするには、タネバエに対する何か新たな対策を講じなければならないであろう。耕種的な被害回避にはあまり多くを期待できないので、全く新しい防除法開発の期待される所以である。

タマネギバエ幼虫の人工飼料育

本研究で使用したタマネギバエは、農林水産省北海道農業試験場で飼育・確立されていたものの分譲を受け、当研究室でさらに累代飼育してきたものである。第1, 第2章で使用した個体については、まだ下記の人工飼料が確立していなかったため、その幼虫はタマネギ鱗茎を用いて、Matsumoto and Thorsteinson (1967)の方法で飼育されたものである。

第1, 第2章以外の室内試験で使用したタマネギバエはすべて, 著者らの開発した人工飼料により飼育した (Ishikawa et al., 1983a)。この人工飼料の組成を表0-1に示した。主成分は市販のモルモット用飼料RC-4[®] (オリエンタル酵母製) であり, タンパク質補充のため脱脂大豆粉末 Prorich[®]を加え, 飼料の保湿性, 硬度などの改善のため大量のバルブ粉末が添加してある。また, この飼料の特徴として幼虫の消化器系病気の防止のため2種の抗生物質を加えてあるが, これらの抗生物質の添加によって初めて, 安定した飼育が可能となった。この処方が開発されるまでは, 人工飼料育ではしばしば幼虫に病気が発生し, 飼育容器内の幼虫が全滅してしまうことがあった。この飼料での飼育成績 (蛹化率) はかなりよく, タマネギ鱗茎で飼育するよりも良かった。

また, 得られる蛹の体重, 大きさもタマネギ鱗茎で飼育したものと差がなかった (表0-2)。本研究では直接使用することはなかったが, タネバエも全く同じ飼料, 飼育法で飼育でき, 良い成績が得られている (表0-3)。

以下に具体的に幼虫飼育法を述べる。

飼料の調製。表0-1中の各成分のうち, 成分1~6と9, 12をアルミニウム製容器 (120×170×55mm) 中にとり, よく攪拌する。蓋をして, 20分間蒸熱した後, 60℃にさめるまで, さらに良く攪拌する。飼料を蒸熱している間に, 塩化コリン, アスコルビン酸と抗生物質を小型バイアル中で水に溶解しておく。飼料が60℃程度にさめたら, この溶液を加え, 均一に混じるように攪拌を続ける。このようにして作成した飼料は冷蔵庫内に保存する。

幼虫の飼育。加熱消毒した細砂600gをプラスチック製丸型容器 (径140mm×80mm) にとり, 50mlの水を加え攪拌して湿らせる。このようにして準備した容器の中央に約20g飼料片を置き, 約500卵を接種し, 乾燥を防ぐため, シャーレを上にかぶせておく。卵は約2日でふ化し, ただちに飼料に食入する。幼虫が飼料を消費するのに合わせて飼料を適宜に追加する。7日目以降はシャーレを取り, 代わりに, 容器にティシューペーパーをかぶせる。約3週間で蛹化はすべて終わるので, 上部の飼料をとりさり, 容器に水を注入すれば, 蛹は浮上するので網杓子に注いで分別する。23℃では約2週間で成虫の羽化が始まるが, 蛹を冷蔵庫に入れて生長を停止させれば, 6カ月以上保存できる。

表0-1 タマネギバエ・タネバエ用人工飼料の組成¹

成分	量	コスト ²
1) ウサギ・モルモット用飼料 ³ (RC-4 [®] , オリエンタル酵母)	8 g	1.68 円
2) 脱脂大豆粉末 ⁴ (プロリッチ [®] , 味の素)	14	7.00
3) セルロース粉末 (パルプブロック [®] , 山陽パルプ)	14	4.90
4) 乾燥酵母 (エビオス [®] , エビオス薬品)	4	3.76
5) ショ糖	4	1.12
6) 寒天粉末 (半井化学)	4	21.60
7) 塩化コリン (和光純薬)	300 mg	3.96
8) アスコルビン酸ナトリウム (武田薬品)	300	1.80
9) メチルパラヒドロキシ安息香酸 (半井化学)	600	2.00
10) クロラムフェニコール ⁵ (クロロマイセチン [®] 筋注用, 三共)	0.6 ml	16.80
11) 硫酸ネオマイシン (シグマ化学)	150 mg	23.40
12) 蒸留水	200 ml	-
合計	250.0 g	88.02

¹ Ishikawa et al. (1983a)² 1981年現在の価格³ GC-4[®] (繁殖用) も使用可⁴ アジプロン[®] (味の素) で代用可⁵ 150mg当量

表0-2 タマネギバエの人工飼料とタマネギ鱗茎による飼育¹

	人工飼料	タマネギ鱗茎 ²
蛹化率 ³	66.4% (56.6-89.2)	53.0% (28.6-65.2)
蛹重 ⁴	12.0 ± 2.1 mg	11.8 ± 1.8 mg
蛹長 ⁴	6.1 ± 0.4 mm	6.2 ± 0.3 mm
蛹幅 ⁴	2.2 ± 0.1 mm	2.2 ± 0.1 mm

¹ Ishikawa et al. (1983a)

² Matsumoto and Thorsteinson (1967) の方法で飼育した。

³ 得られた蛹数/幼虫の接種数, 5反復

⁴ 150蛹の平均値

表0-3 人工飼料によるタネバエの飼育成績¹

反復	蛹化率(%) ²	蛹重(mg) ³	蛹長(mm) ³	蛹幅(mm) ³
1	68.8	6.4 ± 0.7	5.0 ± 0.1	1.8 ± 0.1
2	50.6	5.7 ± 0.8	4.8 ± 0.2	1.8 ± 0.1
3	50.0	6.3 ± 0.8	4.9 ± 0.3	1.8 ± 0.1
4	65.0	6.6 ± 0.6	5.0 ± 0.2	1.8 ± 0.1

¹ Ishikawa et al. (1983a)

² 得られた蛹数/幼虫の接種数

³ 150蛹の平均値

タマネギバエ成虫の飼育法

成虫の飼育および生物検定用の容器としてはすべて、30cmX30cmX30cmの木枠に塩化ビニールの薄板または、ナイロン製の網をはり、前面には布製スリーブをつけたケージを使用した。成虫の餌としては、シヨ糖、イースト抽出物（Yeast extract, Difco Laboratories）を与えた。水は、ティシューペーパーを折りたたみ、水で湿らせ、満水の小型バイアルに挿したのから摂取させた。飼育および生物検定はすべて大型の恒温室内で行ない、温度は22~25℃に調節した。照明はケージの上約10cmから、40w蛍光灯により16時間明期：8時間暗期の光周期を与えた。採卵には、小型プラスチック容器に径2~3mmの砂を入れ、その上にタマネギ鱗茎の切片を置いたものをケージ内に放置した。200~300頭の成虫で、毎日1000卵以上を容易に得ることができる。

実験圃場

すべての野外試験は、農林水産省北海道農業試験場（札幌市豊平区羊ケ丘）内のタマネギ圃場で行なった。当試験場は札幌市内にあるが、900万平方メートルにおよぶ広大な敷地を所有しているので、市街化の影響は比較的小さい。タマネギ畑は敷地内の数カ所にあるが、本研究に用いたのは、図0-2の第9地区内の‘わく試験ほ’の一部で、面積は約20アールである。これとは別に、この圃場の北約100mのところ約10アールのタマネギ畑があり、ここでは標識再捕の実験（第5章）だけを行なった。実験に十分なタマネギバエ・タネバエの野生虫を確保するため、両圃場では殺虫剤の散布を1976年頃より中止している。このため、タマネギのタマネギバエ・タネバエによる被害は多い時で30~40%に達した。しかし、タマネギバエの発生数は年々減少の傾向にあり、野外試験の結果でもタマネギバエの捕獲数はタネバエに比較して、かなり少なくなっている。

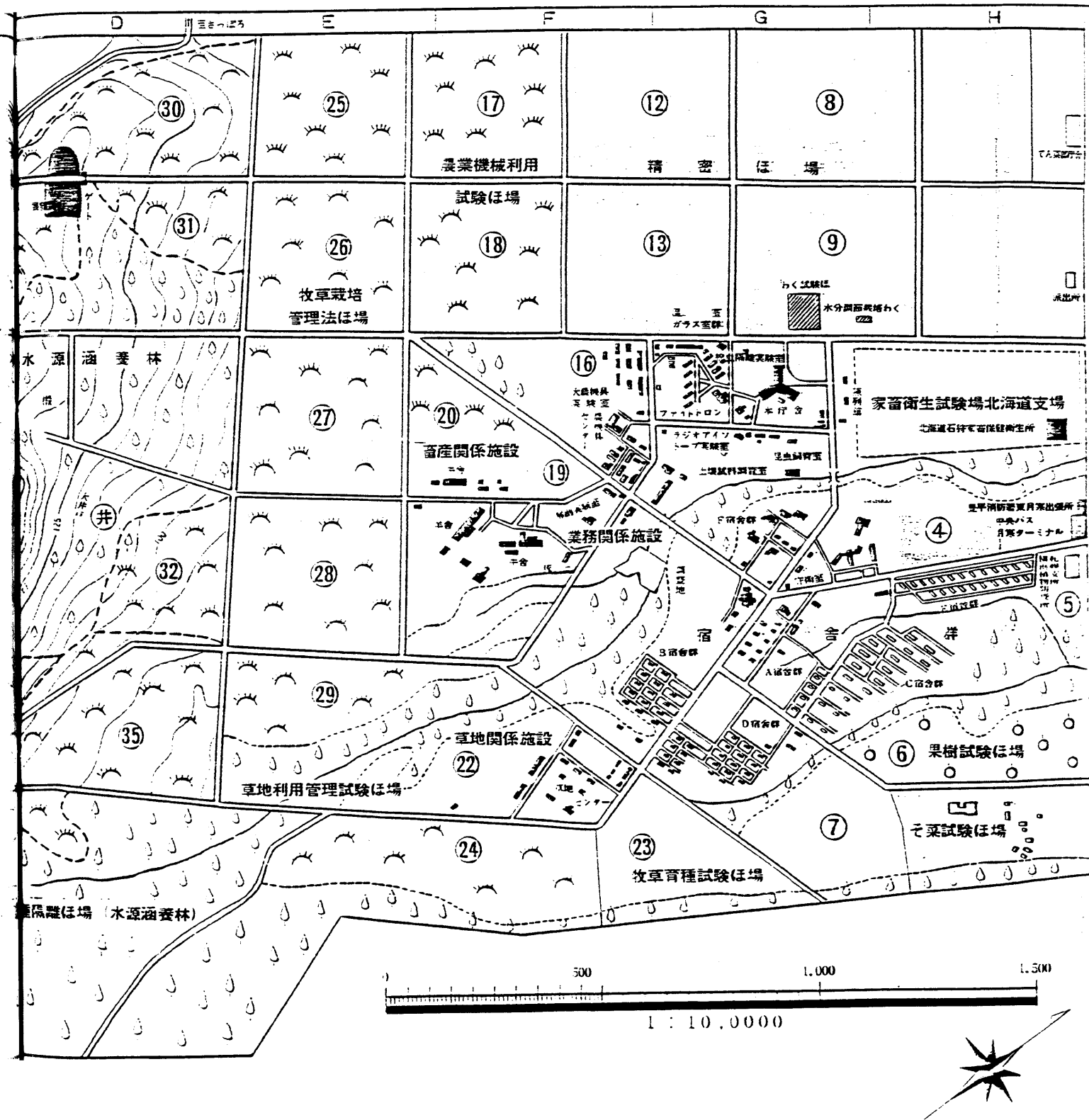


図0-2 農林水産省北海道農業試験場の見取り図（北海道農業試験場要覧より転写）

第9地区の‘わく試験ほ’内のタマネギ圃場で野外誘引試験を行なった。

第1章 タマネギ植物体から放散されるタマネギバエの産卵誘引・刺激物質

緒言

タマネギバエの寄主選択に関する研究において、Matsumoto and Thorsteinson (1968a) は Niegish and Stahl (1956), Carson and Wong (1961) らのタマネギの香気成分に関する化学的研究の知見に基づいて、種々の硫黄化合物、その他を生物検定した結果、propyl mercaptan, dipropyl disulfide が雌成虫を誘引し、その産卵を刺激することを見出した。この報告がタマネギバエの産卵誘引・刺激物質に関する初めてのものである。また、その後、松本(1978)は実際に生育途上のタマネギ苗の匂いがこのバエの産卵を刺激することを明らかにしている。

最近、Pierce et al. (1978) は貯蔵タマネギと収穫直後のタマネギから放散される香気成分の化学的研究を行なった。彼等は、その結果に基づいて合成化合物を生物検定に供し、新たに methyl propyl disulfide, Z, & E propyl propenyl disulfide をタマネギバエの産卵刺激物質に加えた。

タマネギバエ幼虫は、成虫と同じく propyl mercaptan, dipropyl disulfide に誘引されるほか、多くの硫黄化合物によって誘引されることが、Matsumoto and Thorsteinson (1968b) によって示されている。しかし、初令幼虫は脆弱で、その移動力は成虫に比べて非常に劣っており、幼虫が自ら、寄主の発見のために大きな移動をするとは考え難い。したがって、本種の寄主選択においては産卵が最も重要な段階であると考えられ、雌成虫はきわめて正確に寄主を発見・同定し、産卵しなければならない。そのためには、かなり精巧な寄主確認機構が不可欠なものとなってこよう。

以上に鑑み、本章においてはまず、従来、研究されていなかった実際に生育中のタマネギ植物体からの揮発性物質の化学的同定を行なうとともに、比較のために貯蔵タマネギとタマネギ切片からの揮発性物質の同定を行なった。

この結果に基づき産卵誘引刺激物質の検索を行なうとともに、硫黄化合物の合成によって産卵誘引刺激物質の構造的特性を明らかにした。

材料および方法

タマネギの匂いの捕集

匂いの捕集法としては種々な方法が考えられているが、本研究では Byrne et al. (1975) によって開発された方法で多孔質ポリマービーズ, Porapak Q を吸着剤として用いる方法によった。この方法によれば、ほとんどの種類の揮発性物質を変化させることなしに、高収率で捕集および回収することができる。したがって、タマネギから放散されているきわめて微量の匂い物質の捕集・回収にはこの方法が最適であると考えられた。

以下に、匂いの捕集法を具体的に述べる。

a) 芽出し苗の匂いの捕集は、食用タマネギを出芽させ、葉の長さが30 cm~40 cmに達した苗約1 Kgを直径35 cm高さ50 cmのガラス鐘に入れ、ガラス鐘内の匂いを含む空気を Porapak Q 23 gを充填したガラスカラム(直径3 cm, 長さ40 cm)に通し、小型真空ポンプにより5 l/minの速度で排気した。ガラス鐘内への空気取り入れ口には、活性炭のカラム(直径3 cm, 長さ30 cm)をつけ、清浄な空気がガラス鐘内へ入るようにした。装置の全景を図1-1に示す。苗の場合は、1週間通気し匂いを捕集した。

b) 貯蔵タマネギについては、苗と全く同じ装置を用い、ガラス鐘の中に約15 Kgのタマネギを入れた。捕集時間は1週間とした。

c) タマネギ切片は、前述したガラス鐘のかわりに、円筒型ガラス容器(直径15 cm, 高さ20 cm)を用い、500 gのタマネギ切片を入れて、4時間通気、捕集をした。なお、Porapak Qは使用する前に、再蒸留した n-pentane (b.p. 35°C~36°C)で、連続浸透型抽出器により20時間以上洗浄を行なった。通気して匂いを吸着させた porapak Qからの匂い物質の回収は、洗浄と同じく n-pentane により連続浸透型抽出器を用いて行なった。この n-pentane 抽出物を、まず20 cm分留管を通して n-pentane を留去することにより数 ml にまで濃縮、ついで弱い窒素気流下で n-pentane を蒸発させ0.5 ml にまで濃縮した。この濃縮物5 μl を前処理することなしに直接ガスクロマトグラフに導入し、分析を行なった。

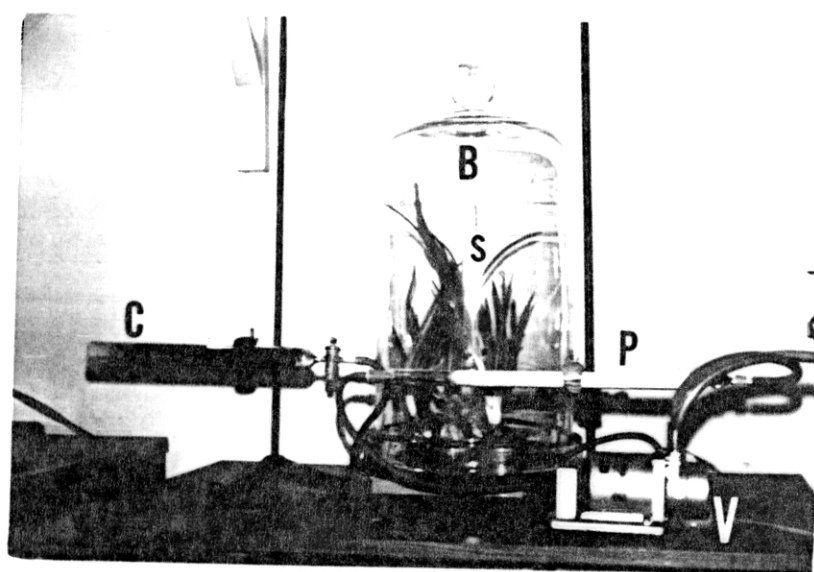


図1-1 タマネギ植物体からの匂い捕集装置

C：活性炭カラム， B：ガラス鐘， S：タマネギの芽出し

P：Porapak[®]-Qカラム， V：真空ポンプ

ガスクロマトグラフィーおよびGC-MS

島津ガスクロマトグラフGC-6Aに、液相としてOV-101を内壁に塗布したガラス細管カラム（内径0.25mm、長さ30m）を装着、キャリアーガス（窒素）流量は60ml/minで、スプリット比は1/30であった。水素炎光型検出器（FPD）を装着し、カラム槽温度は50℃～190℃まで2℃/minで昇温した。マススペクトルは下記の装置および条件で得た。日立ガスクロマトグラフ063に内径3mm、長さ2mのステンレスカラムを装着、充填剤は液相OV-101を5%含浸した60～80メッシュ Celite 545 を用いた。上記ガスクロマトグラフはセパレーターを通じて、日立マススペクトロメーターRMU6に結合した。検出器は全イオンモニターを用い、加速電圧70eV、イオン化室温度170℃の条件でマススペクトルを得た。

物質の同定は、上記で得たマススペクトルを参照・解釈するとともに、合成標品（後述）のガスクロマトグラムにおける保持時間との比較により行なった。

供試物質

n-propyl mercaptan, dimethyl sulfide, di-n-propyl sulfide, dimethyl disulfide, diethyl disulfide, di-n-propyl disulfide, di-n-butyl disulfide, di-n-amyl disulfideは市販製品であり、すべて試薬特級を用いた。

その他の供試物質は、以下に示す方法により合成した。mercaptan類は、それぞれ対応する alkyl(or phenyl)thiomagnesium bromide を酸性加水分解するか、または対応する alkylisothiourea hydrobromideをアルカリ加水分解することによって得た。

Monosulfide類は、対応する mercaptan と alkylbromide を出発物質として Tarbell and Lovett (1956) の方法により合成した。

Disulfide類は、(1) mercaptan をアルカリ性 potassium ferricyanide によって酸化する方法 (Carson and Wong, 1959), (2) Griniard 試薬と sulfonate の反応による方法 (Wijers et al., 1969) の2法によった。

Trisulfide類は、di-n-butyl amine を触媒として、disulfide に sulfurを取り込ませた。また、sulfonate類は、disulfide を酢酸酸性下、

過酸化水素により酸化して得た (Backer and Jong, 1948)。 合成法の詳細は付章を参照されたい。

いくつかの物質は、蒸留によっては95%以上の純度を得ることが不可能であったので、分取ガスクロマトグラフィーによる精製を行なった。 島津ガスクロマトグラフGC-4Bにステンレスカラム(内径3mm,長さ2m),水素炎イオン化検出器,分取用分岐管を装着,充填剤は5%OV-101含浸 Celite 545 を用いた。 カラムからのキャリアーガスは分岐管により1/10を検出器へ,9/10を冷却トラップへ導いた。

以上,蒸留または分取ガスクロマトグラフィーにより,供試物質の純度を95%以上に保った。 ただし,不純物としての di-n-propyl disulfide は0.05%以下となるように注意を払い精製した。

生物検定法

タマネギバエの産卵最盛期間は羽化後15～35日であるので(石川, 1979), この日令のハエを生物検定に供した。雌成虫25頭と雄成虫5頭を生物検定用ケージに入れ, 常に8ケージを用意した。

産卵装置を図1-2に示す。ガラス管(直径1.2cm, 高さ1cm)に供試物質を吸着させるための粒状活性炭(和光化学, 特級)を詰めたものを, 9cmシャーレーの中央に立てる。このガラス管のまわりに, 一定量の水で湿らせたガラスビーズ(直径2～4mm)を一様に敷きつめる。タマネギバエは産卵を刺激されると, このガラスビーズ上で産卵管をのばし, ガラスビーズのすき間に産卵する(図1-2)。

供試物質の量は n-propyl alcohol (25), n-propyl ether (26) の70 μ l を除いてすべて5 μ l とした。供試物質5 μ l は ethyl ether 0.2 ml に溶かし, 活性炭に滴下して吸着させる。対照としては, 同量の ethyl ether を滴下したものを用いた。5分程度放置して ethyl ether を蒸発させてから生物検定に供した。なお, n-propyl alcohol (25) および n-propyl ether (26) は ethyl ether に溶かさずに直接活性炭に吸着させた。試験用産卵装置と対照の産卵装置をケージの中心に対称の位置に, 10cm離して置いた。ケージ内に約22時間放置し産卵させた後, ケージ内からとりだし, 水を入れ静かにかき回すと卵が浮いてくる。

これらをゴース上に注ぎ, 卵を分離してから卵数を数えた。通常は検定用ハエを8ケージ用意しておき, 毎日4ケージずつ交互に生物検定に供した。1種の供試物質について, これらの異なる8ケージで試験した。この操作により, ハエのケージごとの産卵数の偏りの影響を最少にできると考えた。死虫が出た時は, 適宜補充した。

供試物質の活性の評価は, 産卵刺激活性を反映すると考えられる総産卵数と, その物質の誘引性または arrestancy (定着性) を反映すると考えられる試験区と対照区の産卵数の差の両者を考慮することにより行なった。また, 産卵数の差の有意性検定の際には, 卵数の平方根をとってから, t 検定を行なった。

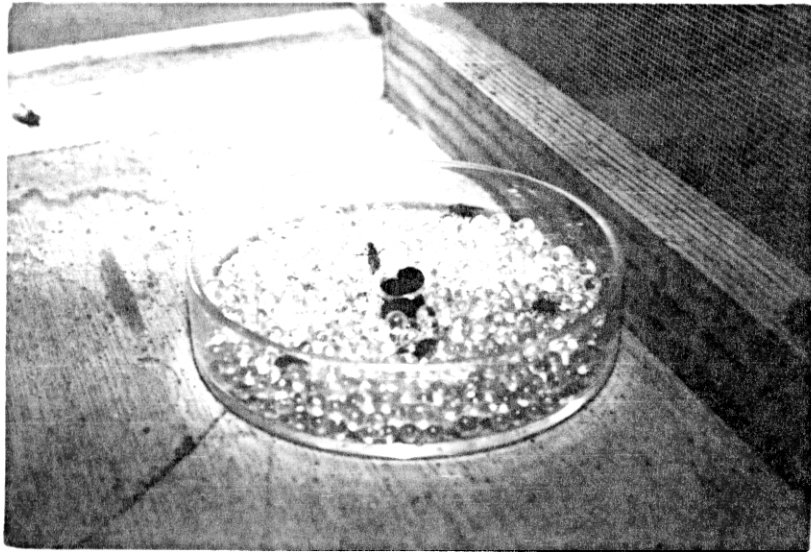


図1-2 生物検定用の産卵容器

中央に供試物質を吸着させた活性炭を短ガラス管につめて置く。 周辺はガラスビーズ。

結果

タマネギから放散される香気物質

貯蔵タマネギ、芽出し苗、タマネギ切片から得た揮発性物質のガスクロマトグラムを図1-3A, 3B, 3C にそれぞれ示した。香気物質として、dimethyl disulfide, methyl n-propyl disulfide, di-n-propyl disulfide, methyl propenyl disulfide, n-propyl propenyl disulfideの5種のdisulfide類, dimethyl trisulfide, methyl n-propyl trisulfide, di-n-propyl trisulfideの3種のtrisulfide類を検出・同定した。

これらのうち、貯蔵タマネギ、芽出し苗、タマネギ切片いずれとも、di-n-propyl disulfideが最も多量に放散されており、これにn-propyl propenyl disulfideが次いでいた。また、上記3種のtrisulfide類については、Boelens et al. (1971)によってタマネギ水蒸気蒸留物中の成分として、検出・同定されていたが、本研究において初めて、タマネギから実際に空气中へ放散される成分として確認された。これらの物質のうち、後2者のmethyl n-propyl trisulfideとdi-n-propyl trisulfideは後に示すように、タマネギバエの産卵誘引刺激物質として重要な働きをしている。

n-Propyl mercaptanはタマネギ磨碎物からの抽出物中(Niegish and Stahl, 1956; Carson and Wong, 1961), ならびに水蒸気蒸留物の成分として検出・同定されており(Brodnitz et al., 1969), タマネギバエの産卵を刺激することも明らかにされている(Matsumoto and Thorsteinson, 1968a)。しかし、本研究においては、この物質をタマネギから実際に放散されている物質として検出することはできなかった。

貯蔵タマネギ、芽出し苗、切片から得た匂いの間に質的な差異はほとんど認められなかったが、量的な差は著しく、タマネギ切片>>芽出し苗>>貯蔵タマネギの順であった。このことは、貯蔵タマネギと芽出し苗の間には生理的な活動量の差が大きいこと、しかし匂いに関するかぎり、質的な生理的活動の差による変化は認められず、切片のそれとも大きく違わないであろうことを示している。

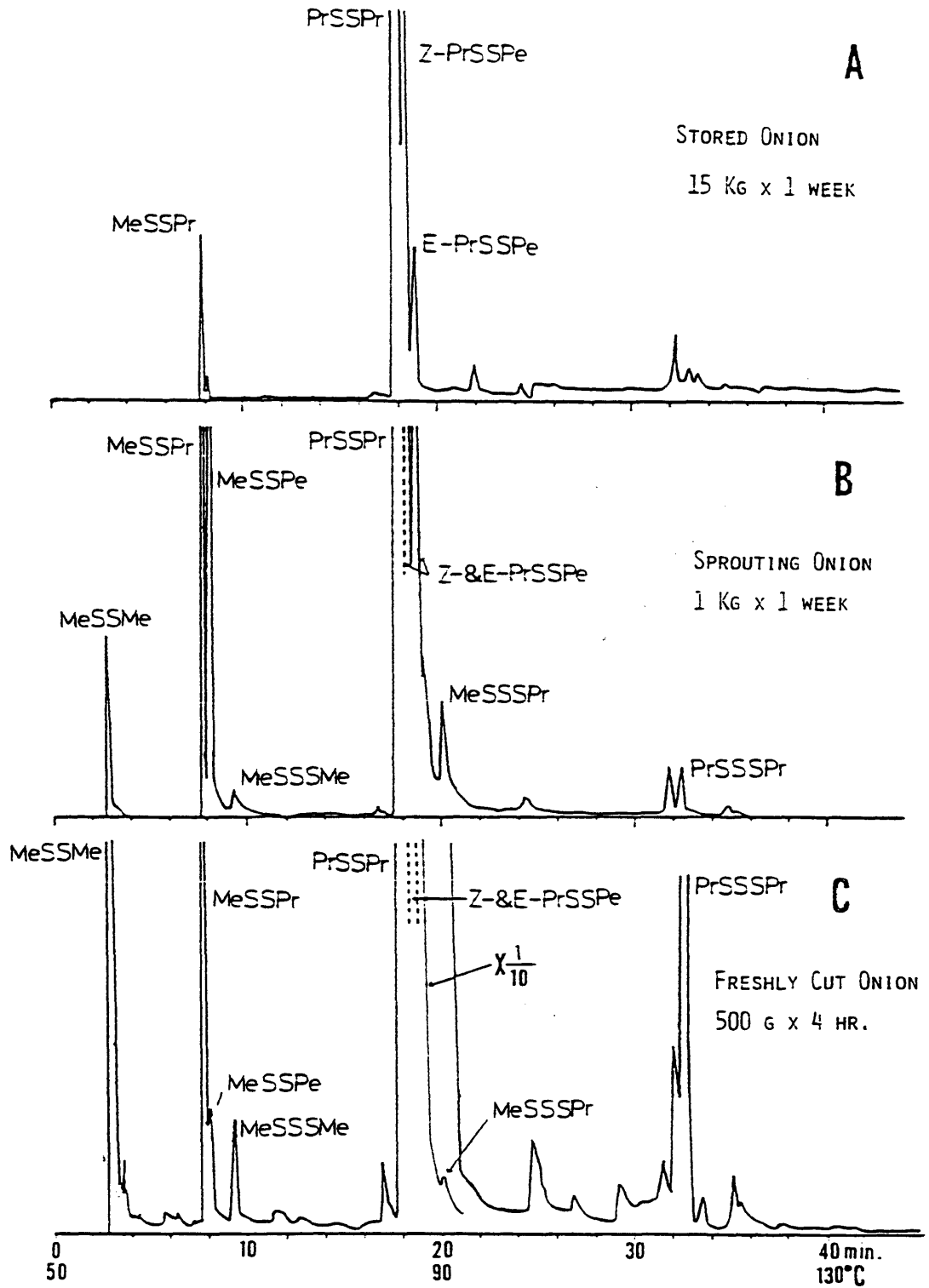


図1-3 貯蔵タマネギ(A), 芽だしたタマネギ(B), タマネギ切片(C)の揮発性成分のガスクロマトグラム。

Me: Methyl, Pr: Propyl, Pe: 1-Propenyl.

タマネギの香気成分の産卵誘引刺激活性

タマネギの香気成分として確認した物質の産卵誘引刺激活性を表1-1に示した。
n-Propyl mercaptan (7), di-n-propyl disulfide (3), methyl n-propyl disulfide (2) の3物質はすでに Matsumoto and Thorsteinson (1968a) および Pierce et al. (1978) によって活性のあることが証明されているが、本研究ではさらに、methyl n-propyl (5) および di-n-propyl trisulfide (6) が活性をもつことが明らかとなった。Dimethyl disulfide (1) および dimethyl trisulfide (4) は産卵を刺激しなかった(表1-1)。
前者については、Matsumoto and Thorsteinson (1968a) も産卵刺激を認めていない。

タマネギの香気成分の中では、methyl n-propyl disulfide (2) および di-n-propyl disulfide (3) の活性が最も高く、産卵刺激性を反映すると考えられる合計産卵数で約330卵、誘引性を反映すると考えられる産卵数の差で170卵であった。ついで di-n-propyl trisulfide (6), n-propyl mercaptan (7), methyl n-propyl trisulfide (5) の順に活性は弱まる傾向が見られた。

Dimethyl disulfide (1) および dimethyl trisulfide (4) が誘引性をもたないばかりでなく、産卵刺激性もないことは、合計産卵数がそれぞれ80卵、30卵と極端に小さいことから明らかである。

タマネギの香気成分として確認した methyl propenyl disulfide と n-propyl n-propenyl disulfide の2種は合成上の難点から本研究では試験することができなかった。しかし、Pierce et al. (1978) によれば、n-propyl Z & E propenyl disulfide は若干の活性を示したが、methyl Z & E propenyl disulfide は全く活性を示さなかった。

表 1-1 タマネギ香気成分のタマネギバエ雌成虫に対する産卵誘引・刺激活性¹

番号	化合物	構造式	平均産卵数 ²		
			処理	対照	差
1	Dimethyl disulfide	CH ₃ SSCH ₃	33.1	57.3	-24.2 ns
2	Methyl n-propyl disulfide	CH ₃ SSC ₃ H ₇	256.0	83.8	172.2 ***
3	Di-n-propyl disulfide	C ₃ H ₇ SSC ₃ H ₇	251.0	81.9	169.1 ***
4	Dimethyl trisulfide	CH ₃ SSSCH ₃	10.6	17.1	-6.5 ns
5	Methyl n-propyl trisulfide	CH ₃ SSSC ₃ H ₇	182.1	104.6	77.5 *
6	Di-n-propyl trisulfide	C ₃ H ₇ SSSC ₃ H ₇	200.0	60.3	139.7 ***
7	n-Propyl mercaptan	C ₃ H ₇ SH	199.9	98.3	101.6 *

¹ Ishikawa et al. (1978) より改変

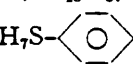
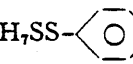
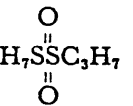
² ns : 有意差無し, * ** *** : それぞれ5%, 1%, 0.1%で有意

タマネギ成分の類縁化合物の産卵誘引刺激活性とプロピルチオ基の必須性

上記の結果から注目されることは、活性を示す物質 (2), (3), (5), (6), (7) にはすべてプロピルチオ基 (C_3H_7S-) が少なくとも1基含まれているのに対し、逆にプロピルチオ基をもたない dimethyl disulfide (1) および dimethyl trisulfide (4) は活性を示さないという現象である。このことから、プロピルチオ基の存在が活性の発現に必須であるという仮説をたてた。この仮説を検証するためにタマネギ成分の類縁化合物を合成し、それらの活性を調べた。また、構造と活性の関係を明らかにするために、その結果を系統的に解析した。

プロピルチオ基をもつ類縁化合物の生物活性を表1-2に、そしてプロピルチオ基をもたない類縁化合物の活性を表1-3に示した。これら2表から明らかのように、プロピルチオ基をもつ化合物はすべて活性を示したのに対し、プロピルチオ基を含まない化合物はいずれも活性を示さなかった。これで、プロピルチオ基の存在が活性の発現に必須であることが明らかになったが、物質の構造と活性の関係をさらに明らかにするため、表1-2, 1-3の物質を次に示すいくつかの特徴 a) ~ f) によって分類し、考察してみる。

表1-2 プロピルチオ基を有するタマネギ香氣成分類縁化合物の産卵誘引・刺激活性¹

番号	化合物	構造式	平均産卵数 ²		
			処理	対照	差
Monosulfides					
8	Methyl n-propyl sulfide	CH ₃ SC ₃ H ₇	219.4	68.3	151.1 ***
9	Di-n-propyl sulfide	C ₃ H ₇ SC ₃ H ₇	156.0	49.8	106.2 **
10	n-Propyl n-amyl sulfide	C ₃ H ₇ SC ₅ H ₁₁	179.9	62.9	117.0 ***
11	n-Propyl n-octyl sulfide	C ₃ H ₇ SC ₈ H ₁₇	96.6	39.8	56.8 ***
12	n-Propyl stearyl sulfide	C ₃ H ₇ SC ₁₈ H ₃₇	127.3	83.8	43.5 *
13	n-Propyl phenyl sulfide	C ₃ H ₇ S- 	97.9	17.1	80.8 ***
Disulfides					
14	n-Propyl n-amyl disulfide	C ₃ H ₇ SSC ₅ H ₁₁	208.9	48.5	160.4 ***
15	n-Propyl phenyl disulfide	C ₃ H ₇ SS- 	167.9	59.6	108.3 **
Sulfonate					
16	n-Propyl propane thiosulfonate ³	 C ₃ H ₇ SSC ₃ H ₇	253.4	49.0	204.4 ***

¹ Ishikawa et al. (1978) より改変² 表1-1の脚注参照³ タマネギの切片抽出物中に存在 (Boelens et al., 1971)表1-3 プロピルチオ基を有しないタマネギ香氣成分類縁化合物の産卵誘引・刺激活性¹

番号	化合物	構造式	平均産卵数 ²		
			処理	対照	差
Mercaptans					
17	iso-Propyl mercaptan	(CH ₃) ₂ CHSH	20.1	49.6	-29.5 ns
18	Allyl mercaptan	CH ₂ =CHCH ₂ SH	59.3	46.3	13.0 ns
19	n-Amyl mercaptan	C ₅ H ₁₁ SH	67.5	40.9	26.6 ns
Monosulfides					
20	Dimethylsulfide ³	CH ₃ SCH ₃	40.8	34.5	6.3 ns
21	Methyl allyl sulfide ³	CH ₃ SCH ₂ CH=CH ₂	42.6	57.6	-15.0 ns
Disulfides					
22	Diethyl disulfide	C ₂ H ₅ SSC ₂ H ₅	58.0	41.8	16.2 ns
23	Di-n-butyl disulfide	C ₄ H ₉ SSC ₄ H ₉	27.9	14.5	13.4 ns
24	Di-n-amyl disulfide	C ₅ H ₁₁ SSC ₅ H ₁₁	58.4	72.1	-13.7 ns

¹ Ishikawa et al. (1978) より改変² 表1-1の脚注参照³ タマネギ磨砕汁の水蒸気蒸留物中に存在 (Boelens et al., 1971)

a) アルキル基の種類と活性

Di-n-propyl disulfide は、産卵刺激活性でみると、総産卵数で330、誘引活性を現わすと考えられる産卵数の差で170であり、ともにきわめて高い活性を示した。これに対し、アルキル基の長さを変えただけの dimethyl disulfide (1), di-ethyl disulfide (22), di-n-butyl disulfide (23), di-n-amyl disulfide (24) では、総産卵数で40~130と低く、差においては-24.2~16.2であり誘引しないばかりか、かえって忌避する傾向がみられる物質もあった。このことは、プロピルチオ基の炭素数が1つ増えても、あるいは1つ減っても活性がなくなることを示しており、プロピルチオ基への特異性がきわめて高いことを示している。

しかし、上記の物質(1),(22),(23),(24)はすべて幼虫に対しては誘引性を示すことが明らかにされており(Matsumoto and Thorsteinson, 1968b)、この高い特異性は雌成虫にだけ認められるものである。

b) 分子内の硫黄原子数と活性

Methyl n-propyl sulfide (8), di-n-propyl sulfide (9)等の monosulfide 類は本研究においても、また、Boelens et al. (1971)の水蒸気蒸留による研究においても、タマネギの匂い成分としては検出されていない。しかし、これらの物質は methyl n-propyl disulfide (2), di-n-propyl disulfide (3), di-n-propyl trisulfide (6)などのタマネギの匂い成分として検出されている disulfide 類, trisulfide 類とほぼ同じ程度の活性—すなわち、合計産卵数で290, 210, 差においても150, 106—を示した。これに対し、n-propyl mercaptan (7), di-n-propyl sulfide (9)の硫黄原子を酸素原子で置換した、n-propyl alcohol (25), n-propyl ether (26)は、もとの物質と同じ5 μ lでは活性を示さず、量を70 μ lにして初めて統計的に有意な若干の活性を示した(表1-4)。なお、Matsumoto and Thorsteinson (1968a)も前者の n-propyl alcohol について同様の成績を得ている。しかし、これらの物質の活性はきわめて弱く、合計産卵数においても、産卵数の差においても、最も高い活性を示す硫黄化合物の半分以下であった。

以上の結果から、少なくとも一つの硫黄原子が存在することが強い活性の発現には必要

表1-4 含酸素化合物のタマネギバエ雌成虫に対する産卵誘引・刺激活性

番号	化合物 ¹	構造式	平均産卵数 ¹		
			処理	対照	差
25	Propyl alcohol	C_3H_7OH	67.5	28.0	39.5*
26	Propyl ether	$C_3H_7OC_3H_7$	135.8	55.0	80.8*

¹ 供試薬量：70 μ l

であり、2個の硫黄原子があるときに最も強い活性を与える。硫黄原子数がさらに増えると活性は減る傾向にある。また、硫黄原子を酸素原子で置換すると活性はほとんど失なわれると結論されよう。

c) アルキル基の鎖長と活性

Monosulfide類において、片方のプロピル基を固定し、他方のアルキル基鎖長を methyl (8) の1から stearyl (12) の18まで変化させた化合物を合成し、その活性を生物検定した。Methyl n-propyl sulfide (8), di-n-propyl sulfide (9), n-propyl n-amyl sulfide (10) は合計産卵数で200 ~ 290卵、差において100~150卵と、タマネギの活性成分と同等の強い活性を示した。アルキル基の鎖長をさらに長くしていくと活性は徐々に低くなった。しかし、鎖長が18である n-propyl stearyl sulfide (12)は室温では固体であるにもかかわらず、統計的に有意な活性を持っていた(表1-2)。また、Disulfide類では、鎖長が5の n-propyl amyl disulfide (14)のみ合成し試験したが、このものもタマネギの活性成分と同等の強い活性を示した。

以上の結果から、プロピルチオ基を持っていても、他方のアルキル基が長くなると活性が低下する傾向があると言えよう。そして、この低下はアルキル基が長くなることにより、物質とハエの嗅覚受容器との親和性が低下してしまうからではないかと考えられる。

d) 芳香環の導入の活性に及ぼす影響

c)項で明らかにしたように、プロピルチオ基が存在すれば他方のアルキル基鎖長は活性の有無にはそれ程の影響を及ぼさなかった。そこで、プロピルチオ基はやはり固定し、他方にアルキル基とはかなり異質なベンゼン環を導入し、芳香族の活性に対する影響を調べた。ベンゼン環を持った物質は本研究においても、Brodnitz et al. (1969)の水蒸気蒸留による研究においてもタマネギ香気中に検出されていない。ベンゼン環を導入した n-propyl phenyl sulfide (13), n-propyl phenyl disulfide (15)は共にいわゆる芳香族特有の匂いを示し、タマネギの匂いとはかなり異なったが、タマネギバエに対する産卵誘引刺激活性を若干弱いながらもっていた。この活性の低下も、c)項で述べた原因が働いていると考えられる。

e) プロピル基への二重結合導入の活性に及ぼす影響

タマネギからは、二重結合を含んだ物質が多数検出されており、しかもそれらの匂い成分に占める割合はかなり大きい (Whitaker, 1976)。これらの物質がいわゆる 'タマネギの匂い' 形成に大きい役割を果たしていることが考えられる。そこで、これらの物質群の活性の有無を調べるため、本研究ではアリル基 ($\text{CH}_2 = \text{CHCH}_2 -$) を持つ物質を合成し生物検定に供した。

n-Propyl mercaptan (7) および methyl n-propyl sulfide (8) が強い活性をもつことを既に示したが、これらに二重結合を導入した, allyl mercaptan (18) および methyl allyl sulfide (21) は合計産卵数でそれぞれ 105, 100, 差では 13, -15 と全く活性を示さなかった。タマネギからは、二重結合が 1 の位置にある 1-propenyl 化合物が多数検出されるが、合成に困難な点があり、残念ながら本研究では試験することができなかった。しかし、Pierce et al. (1978) によると methyl Z, & E 1-propenyl disulfide は活性を示さない。

以上のことから、プロピルチオ基に二重結合を導入すると活性は失なわれると結論された。

f) ジプロピル ジスルフィドの酸化が活性に及ぼす影響

Di-n-propyl disulfide を最も酸化した物質である n-propyl propane thiosulfonate (16) は、タマネギ鱗茎の有機溶媒抽出物の中から検出されている (Boelens et al. 1971)。また、この物質は生のタマネギの匂い形成に重要な役割を果たしていると考えられている (Whitaker, 1976)。そこで、この物質も合成し生物検定に供した。プロピルチオ基が 1 つ残っていることから予想されるとおり活性を有していた。この物質の活性は非常に強く、合計産卵数で 302, 差で 204 卵と多く、methyl n-propyl disulfide (2), di-n-propyl disulfide (3) と同程度であった。

考察

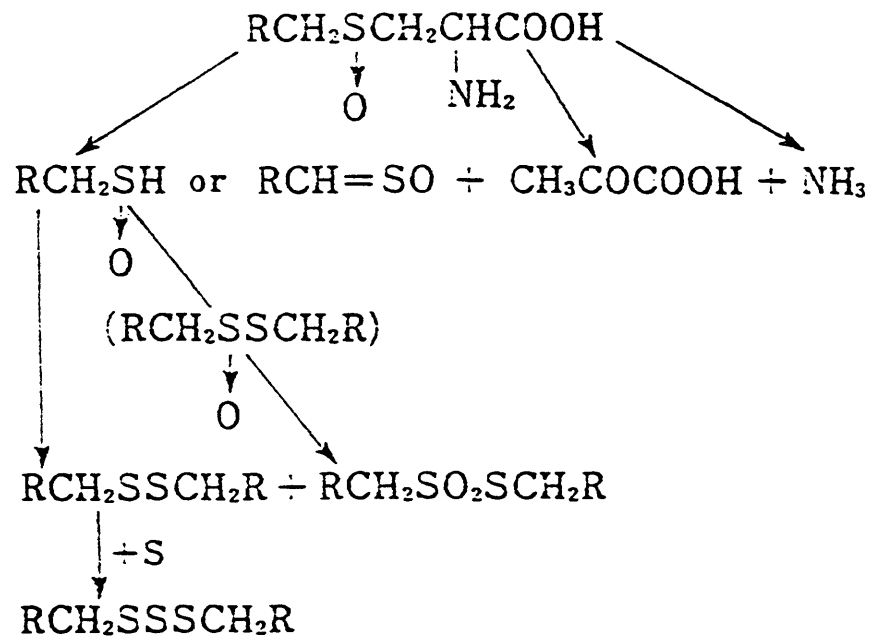
ネギ属 (Allium) 植物の匂いの代謝過程

ネギ属植物に特有な匂いの化学的研究は、現在までにかかなり詳細に解明され、その成果は Whitaker (1976) が詳しくまとめている。匂い物質の直接の前駆体は、数種のアミノ酸 $\text{alk(en)yl-cysteine-S-oxide}$ であり、この物質に酵素アリネース (alliinase) が作用して匂い物質は生産、放散される。植物体内では $\text{alk(en)yl-cysteine-S-oxide}$ 類の約半分はさらにグルタミン酸と結合してジペプチド $\gamma\text{-glutamyl-alk(en)yl-cysteine-S-oxide}$ の形で貯蔵されている。 $\gamma\text{-glutamyl-alk(en)yl-cysteine-S-oxide}$ と $\text{alk(en)yl-cysteine-S-oxide}$ 同の代謝は、 $\gamma\text{-glutamyl peptidase}$ と $\gamma\text{-glutamyl trans-peptidase}$ がつかさどっている。このような複雑な貯蔵形態をとるのは、これら二次物質を低毒化するためであると考えられる。

図1-4には、Boelens et al. (1971) により提唱されたタマネギ (Allium cepa) の匂い物質の代謝過程を示した。タマネギでは前駆体の主成分は $\text{E-(+)-S-(1-propenyl)-L-cysteine-S-oxide}$ であり、アリネースが作用するとまずピルビン酸、アンモニアと涙腺刺激物質である $\text{thiopropenal-S-oxide}$ (この構造となる前に $\text{1-propenyl sulfenic acid}$ の構造をとるとする説もある) が生成されるが、この物質は不安定で即座に脱硫化してカルボニル化合物の生成過程に入るかまたは、やはり不安定な $\text{propyl propanethiosulfinate}$ の生成を経て各種の硫黄化合物 (di-, trisulfide 類) を生ずる過程へと移行すると考えられている。

酵素アリネースは常態では前駆体と切り離されているが、植物体の細胞が傷つけられたり、壊されたりすると活性化される。したがって、タマネギを切るとアリネースが働き、前記の反応がすみやかに起こるため、涙腺が刺激されると同時にタマネギ特有の匂いが感じられるわけである。

植物の種による匂いの相違は、前駆体のアルキル基の種類およびその存在比の違いによるものである。例えば、タマネギでは前述のようにプロペニル基をもつものが主成分であり、その他にメチル基のものとプロピル基のものが若干含まれており、最終的に生成される匂い物質は $\text{dipropyl disulfide}$, $\text{methyl propyl disulfide}$ などを



R=hydrogen or ethyl

図1-4 タマネギにおける各種硫黄化合物の生成過程
(Boelens ら, 1971)

主成分とする一連の mono-, di-, tri-sulfides からなっている。このことは、本章の結果でも確認されたとおりである。

タマネギバエのタマネギに対する適応

このように、タマネギは特別な代謝系をもち、特有の匂いを放散している。しかし、これらの物質は植物自体の栄養・生育などには直接の働きが認められず、いわゆる二次物質に分類される。現在では、二次物質の多くは他の植物に対する他感作用、動物に対する誘引あるいは毒物質としての作用、細菌や糸状菌に対する抗菌作用などをもつものと考えられているが、タマネギなどの Allium 属植物では、この作用の中心は匂いの代謝系の中間生成物 sulfinate 類である。sulfinate 類の生理活性はおもに抗菌性であり、広い範囲の菌に対して多くの sulfinate 類が生育を強く阻害することが知られている (Cavallito et al., 1944; Small et al., 1947)。またこの物質は、例は限られているが、昆虫に対する殺虫性も示されている (Nasseh, 1983)。したがって、生理活性の面からみると、植物の役に立っているのは sulfinate 類であり、dipropyl disulfide などの匂いは、その副産物と考えることもできる。

本章では、タマネギバエはタマネギから放散されている一連のプロピルチオ化合物により誘引され、産卵を刺激されることが明らかにされた。この結果を寄主植物に対する昆虫の適応という面から見てみると、タマネギバエはタマネギが自己の防御のために発達させた二次物質に解毒などの面で適応したばかりではなく、より積極的に、これらの化合物を寄主からの信号刺激 (token stimulus) として利用していることになる。これは、昆虫と植物の共進化 (Coevolution) の一例と考えられ、狭食性昆虫の寄主特異性 (Host specificity) を説明するものの一つである。

摘要

本章では、タマネギバエのタマネギに対する寄主特異性を説明する一要因として、タマネギ植物体から放散されている産卵誘引・刺激物質の化学的解明を行なうとともに、物質の構造と生理活性の関係を調べるため、多くの硫黄化合物を合成して、生物検定に供した。結果の概要を以下に示す。

(1) タマネギ植物体から放散される香気物質を吸着剤 Porapak Q で捕集し、化学分析を行なった結果、8種の硫黄化合物、dimethyl disulfide, methyl n-propyl disulfide, di-n-propyl disulfide, methyl propenyl disulfide, n-propyl propenyl disulfide, dimethyl trisulfide, methyl n-propyl trisulfide, di-n-propyl trisulfide を検出・同定した。これらの内では、di-n-propyl disulfide が最も多量に検出され、これに n-propyl propenyl disulfide が次いでいた。

(2) 上記8種の硫黄化合物のうち、dimethyl trisulfide, methyl n-propyl trisulfide, di-n-propyl trisulfide については、タマネギ植物体から実際に空气中へ放散されていることを初めて確認したものである。

(3) 上記物質のタマネギバエに対する産卵誘引・刺激活性を調査し、プロピルチオ基を有する化合物に生理活性があることを見いだした。

(4) タマネギ香気成分の類縁化合物を系統的に合成し、構造と生理活性の関係について次のことを明らかにした。

- a) 物質が活性を持つためには、プロピルチオ基の存在が必須である。
- b) 分子内の硫黄の数は活性の有無には影響が小さいが、2個の時最も高い活性を示す。硫黄原子を酸素で置換すると、活性はほとんど失われる。
- c) プロピルチオ基が一つ存在すれば、同一分子内の他部分の構造をかなり変化させても活性は失われない。
- d) プロピルチオ基自身に二重結合を導入すると失活する。

以上により、タマネギバエはタマネギ植物体から放散されている、一連のプロピルチオ化合物によって、誘引され、産卵を刺激されると結論した。

第2章 産卵刺激物質に対するタマネギバエ触角のEAG反応

緒言

最近、植物成分に対する感覚器官の反応を触角電図法 (Electroantennogram, EAG) または単一細胞誘導記録法 (Single cell recording) を用いて記録し、昆虫-寄主間の関係の解明に利用しようとする研究が数種の昆虫で試みられている (Guerin and Visser, 1980; Guerin and Städler, 1982)。 EAGは触角上の嗅覚感覚細胞の受容電位の総和であると考えられているので (Boeckh et al., 1965), 寄主の匂い成分に対する高いEAGは、その昆虫の寄主に対する感覚器官レベルでの適応の高さを示す一つの指標と見ることができる。 この研究は鱗翅目昆虫を中心に盛んに行なわれているが、双翅目昆虫での例はきわめて限られている。 例えば、Guerin and Städler (1982) はヒレミア属3種のEAG反応を調べ、それぞれ自己の寄主植物の匂い成分に対する反応が高いことを示しているが、この他はあまり例がない。

タマネギバエの産卵刺激物質については前章で明らかにしたように、タマネギ植物体から放散されている di-n-propyl disulfide, methyl n-propyl disulfide などプロピルチオ基を持つ一連の化合物が産卵刺激活性を有することが分かった。 また、プロピルチオ基を持てば非天然の化合物でも活性を有するものが多いことも示された。

本章の研究の目的は、タマネギバエのこのような産卵行動上でのプロピルチオ化合物に対する高い特異性を、触角上の嗅覚感覚器官の特異性に帰すことができるかどうかを明らかにすることである。 このため、多種の硫黄化合物に対するEAG反応を調べるとともに、数種硫黄化合物の薬量-EAG反応の回帰式の詳細な分析を行ない、産卵刺激物質を特異的に受容する受容器 (プロピルチオ受容器) の存在の有無を検討した。

材料および方法

触角電図 (Electroantennogram, EAG) 測定法

触角電図の測定法の模式図を図2-1に示す。タマネギバエ雌成虫の頭部をカミソリで切断し、切り口が下になるよう固定台の上に置く。固定台は直径5cmのシャーレの中央に、発泡スチロールの直方体(3cm×3cm×1cm)をパラフィンで固定、その上にティシューペーパーをかぶせたもので、シャーレ中には0.1M KCl溶液を入れ、ティシューがKCl溶液で濡れた状態にする。切断されたハエの頭とは切り口を通して電氣的に導通可能となっている。

微小電極増幅器のプロープのアースからひいた銀線を上記シャーレ内のKCl溶液に浸して不働電極とし、記録電極には、ガラス毛細管(先端直径約10 μ m)に0.1M KClを充填したものをを用いた。毛細管はマニピュレーターに装着し、マニピュレーターを動かしてハエの触角の先端がこの毛細管と接触するようにした。装置はすべてシールドボックス内に置き、外部からの雑音が入らないようにした。電気信号の増幅は、微小電極増幅器(MEZ8101, 日本光電)、高感度増幅器(AVH-2, 同上)で行ない、オシロスコープ(VC-7, 同上)によって表示した。EAGは、オシロスコープ撮影装置(ERL-60, 同上)を用いてオシロペーパー上に記録し、現像後解析をした。EAGは、2mV/cmの条件で記録した。

匂い刺激の与え方 ダイアフラム式ポンプからの空気1 ℓ /minを活性炭およびシリカゲルの洗浄ビンを通して乾燥、清浄化し、ガラス管を通して上記のように固定したハエの触角へ到達するようにしておく。この空気の流路の中へ、注射器内の匂いを含む空気を合流できるように装置を組み立て、匂い刺激を与えた。

供試物質は、所定の葉量になるように一定のethyl etherで稀釈した溶液を、あらかじめガラス製カートリッジ(径1cm×1.5cm)の内側に巻いた口紙片(1cm×3.5cm)に滴下し、etherを約1分間蒸発させた後、注射器(5m ℓ)の筒内にセットし、注射器内の匂いの濃度が口紙に吸着した物質と平衡に達するように、試験前に3分間以上放置しておいた。注射器のプランジャーは上げておき、刺激を与える時には2m ℓ を一気に押し出した。測定と測定の間には、1分間以上の間隔をおき嗅覚感覚器のなれの影響が小さくなるようにした。また、前の供試物質の匂いが残らないように、

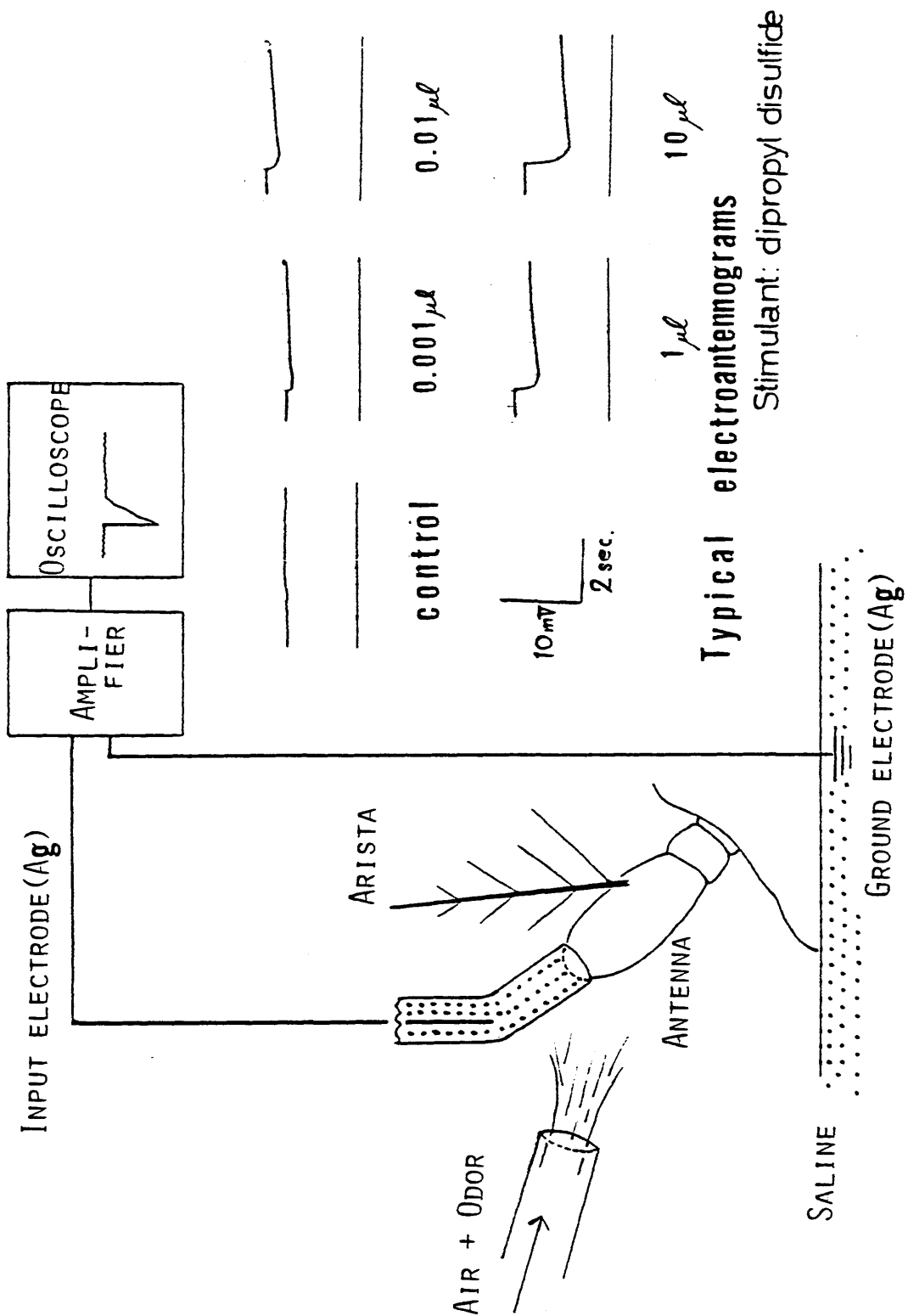


図2-1 タマネギバエの触角電図 (EAG) を得る方法の様式図と典型的な触角電図

触角の周囲の空気は排気ファンで排気した。測定は最低3個体、6回行ない平均をとった。

結果および考察

a) 産卵刺激物質の受容器官の確認

電気生理学的実験から得られるデータと特定の行動上の反応との相関を検討するには、注目している器官がその行動をひき起こす刺激の唯一または主要な受容器官であることを前もって証明しておく必要がある。タマネギバエでは当然その触角が産卵刺激物質の受容器官であると考えられたが、他の器官が受容する可能性も全くなくはない。たとえば、クロバエ Calliphora vicina L. では小腮ヒゲ (maxillary palpus) に肉の匂い成分などの受容器官が存在することが、形態的にも電気生理学的にも証明されている (Van der Staar and Tempelaar, 1976)。このようなことから、触角を切除した雌成虫の産卵刺激 (タマネギ小切片) に対する反応をまず調査した (表2-1)。タマネギバエの触角の走査電子顕微鏡写真を図2-2に示す。触角は3節からなり、第3節だけが良く発達していて、こん棒状を呈している。嗅覚感覚器は毛状をしており、第3節にだけ存在する (Honda et al., 1983)。そこで、低温麻酔した雌成虫の触角第2節から鋭利なピンセットを用いて切除した。

産卵実験は、第1章と同様30×30×30 cmのケージに、タマネギ切片を入れたものと、何も入れない対照の採卵用小型容器を1個ずつ置き、羽化後15～35日の25頭ずつの雌雄成虫を入れ、22時間内の産卵数を調べた。

触角を2本 (一对) とも切除した雌は、総数で19卵しか産卵しなかったが、片側だけを切除した雌と無処理雌は160卵も産卵した。また、対照に対する産卵数をみても、両触角切除虫には7.4卵しか産卵がみられず、これは無処理・片側切除虫の対照に対する産卵数23.2, 34.2卵よりも明らかに少なくなっている。以上の結果は、タマネギバエでは、産卵刺激物質の受容は触角だけにより行なわれることを示している。もちろん、この結果は産卵刺激物質以外の匂いの受容が他の器官によってなされることを否定するものではない。

b) 薬量-EAG反応曲線

まず最初に、産卵刺激物質の一つである dipropyl disulfide (PrSSPr) に対する雌成虫のEAG反応をしらべた (図2-3)。その結果、EAG反応は薬量 10^{-4} ~ $10 \mu\text{l}$ / 口紙片の範囲においては薬量の対数と直線関係にあり、 10^{-2} ~ $10^{-1} \mu\text{l}$

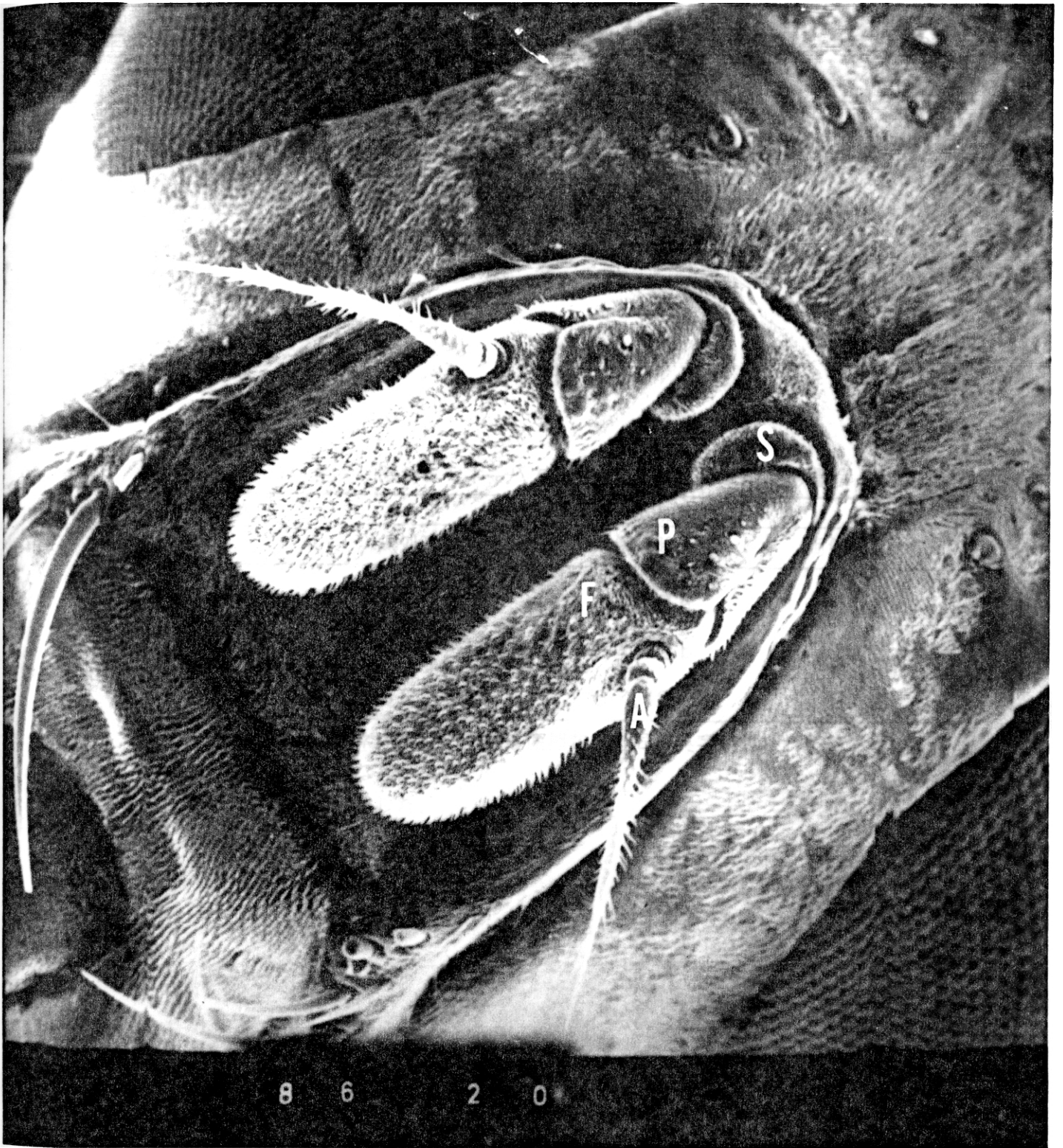


図2-2 タマネギバエの触角とその周辺の走査電子顕微鏡像(石川 原図)

S: 触角第1節 (Scape) P: 第2節 (Pedicel)

F: 第3節 (Funicle) A: ノギ (Arista)

表2-1 触角切除がタマネギバエ雌成虫の産卵におよぼす影響

産卵刺激	平均産卵数 ¹		
	無処理	片側切除 ²	両側切除 ²
タマネギ切片	135.2 a	133.0 a	11.8 a
無（対照）	23.2 b	34.2 b	7.4 a
合計	158.4	167.2	19.2

¹ 同一処理の対照とタマネギ切片に対する産卵数で、同じ英字が付されているもの間には、5%水準で有意な差がない。

² 触角の第2、3節を切除した。

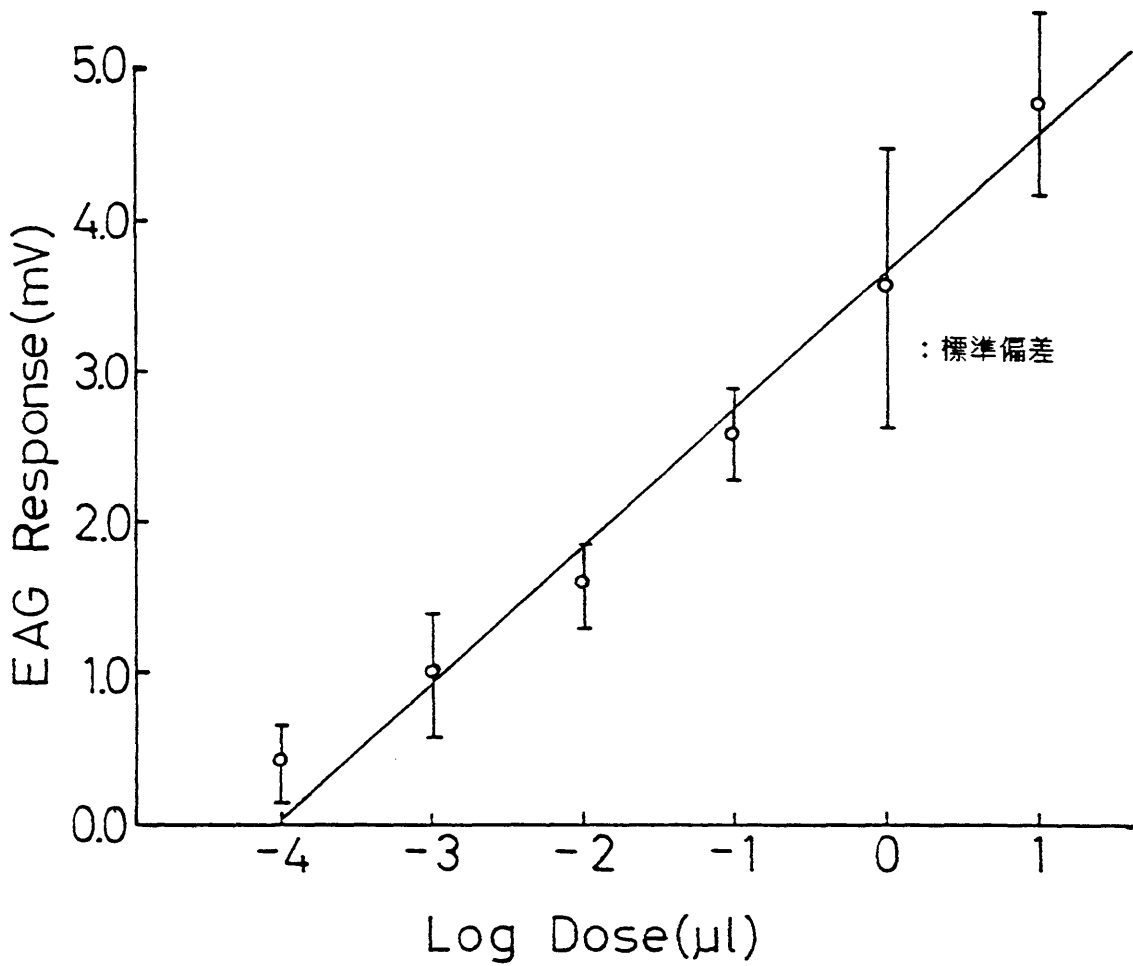


図2-3 供試薬量とEAG反応値の関係

供試物質: dipropyl disulfide 供試虫: 雌成虫

付近で反応のふれ(標準偏差)は最も小さくなった。しかし、高乗量に対する反応のふれはかなり大きくなった。EAG反応の大きさは 10^{-4} μ lの0.4mVから10 μ lの4.8mVまで変化した。なお後述するように、雄成虫も雌とほとんど変わらない反応を示した。

c) 触角上の感覚器の産卵刺激物質に対する特異性

数種の硫黄化合物に対するEAG反応を物質の分子構造中のプロピルチオ基の有無と関連させて調査した(図2-4)。供試乗量については、前節のdipropyl disulfideの乗量-反応曲線の結果を参考に、反応のふれの最も小さい0.1 μ lとした。プロピルチオ化合物は例外なく2mV以上の高い反応をひき起こしている。Propyl amyl sulfide, propyl octyl sulfide, propyl phenyl sulfideの3物質はタマネギの匂いの成分ではないが、これらは産卵刺激活性を有するだけでなく(第1章, Ishikawa et al., 1978), 大きなEAG反応をひき起こした。これとは対照的に、プロピルチオ基をもたず、産卵刺激性のないisopropyl mercaptan, phenyl mercaptanは著しく低いEAG反応しか誘起していない。ところが、phenyl mercaptanにプロピルチオ基を導入してpropyl phenyl sulfideとすると、産卵刺激性をもつようになると同時に高いEAG反応をひき起こすようになる(図2-4)。

しかし、硫黄化合物でプロピルチオ基をもたなくても高いEAG反応を起こす物質もある。例えば、allyl mercaptanはほとんどdipropyl disulfideと同程度のEAG反応を起こしている。また、雄成虫のEAG反応を調べたところ、各供試化合物のいずれも雌との間に顕著な差異は認められなかった。

以上の結果を総合すると、プロピルチオ基を有する化合物は概して高いEAG反応を与えるが、その程度は分子内のプロピルチオ基以外の部分の構造に影響されること、また逆は必ずしも真ではなく、プロピルチオ基をもたず、したがって産卵刺激活性がなくとも高いEAG反応を与える化合物があることが明らかとなった。これは、EAGが触角上の全嗅覚細胞の電位の総合であることから、当然予想されることである。

d) 触角上の感覚器のプロピル基に対する特異性

一連のdialkyl disulfide (methylからamylまで)に対するEAG反応を調べ、感覚器のプロピル基に対する特異性を調査した(図2-5)。供試乗量は

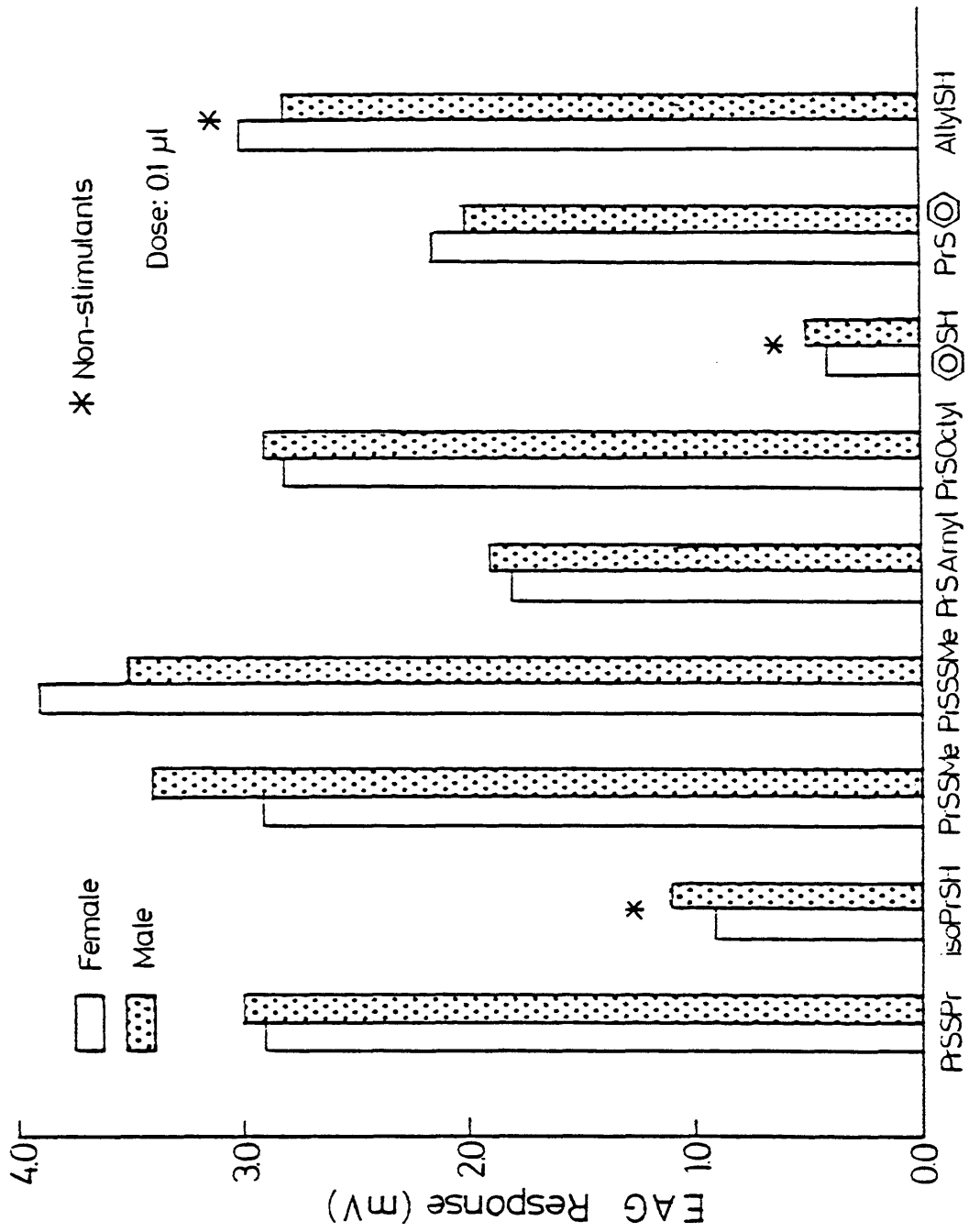


図2-4 各種硫黄化合物に対するタマネギバエ雌雄のEAG反応

0.1 μl である。EAG反応は炭素数3のプロピル基のときに最大であり、3から増減するとEAG反応は急激に減少した。Dimethyl disulfide, diethyl disulfide の蒸気圧は dipropyl disulfide のそれよりも高いので、この実験の結果を揮発性の違いだけで説明することはできないと考えられる。この試験に供した物質の中では PrSSPr だけが強い産卵刺激性を示すので、この結果は行動上のプロピルチオ基に対する特異性を良く反映していると考えられる。また、プロピルチオ基をもつ物質はタマネギの匂い成分の大部分を占めているので、この現象はタマネギバエのタマネギに対する高い適応性を示していると考えられよう。前項において、非産卵刺激物質の中にも高いEAG反応を与えるものがみられたが、これらはプロピルチオ基を高い特異性で受容する受容器（いわゆるスペシャリスト）ではなく、一般の匂いを受容するジェネラリストによって受容された結果とも考えられる。この推論は、最近の本田らの単一感覚細胞からの電気信号記録の解析によっても支持されている（本田、未発表）。

e) 直鎖飽和アルコールに対するEAG反応

硫黄原子と酸素原子は元素の周期表において同じ第六族に属し、その物理化学的性質が比較的類似している。ただし、硫黄原子の大きさは酸素原子の約2倍である。そこで、一連の直鎖飽和アルコールに対するEAG反応を調べ、硫黄原子を酸素原子に変えても鎖長3に対する特異的反応が保持されるか否かをみた。なお、供試薬量は予備試験の結果0.1 μl では ethanol, propanol に対する反応が小さすぎて測定できないため、10倍の1.0 μl とした。結果は図2-6にみるとおり、硫黄化合物とは異なり、EAG反応は鎖長6の hexanol で最大となった。

鎖長6の物質に対する高いEAG反応は多くの昆虫でみられる現象のようである。例えば、ニンジンバエ, Psila rosae は hexanol に対し高い反応を示し（Guerin and Visser, 1980）、ワモンゴキブリ, Periplaneta americana も直鎖・炭素数6のモノオール、モノケトンに対するEAG反応が高いことが知られている（Nishino and Washio, 1976）。Nishino and Washio (1976) はこれら炭素数6の物質に対する反応は、食物の匂いを受容するジェネラリストの反応であると推測している。この示唆が妥当か否かは別として、タマネギバエのEAG反応が酸素化合物と硫黄化合物とでこのように異なっていることは、この2種の化合物が全く別の

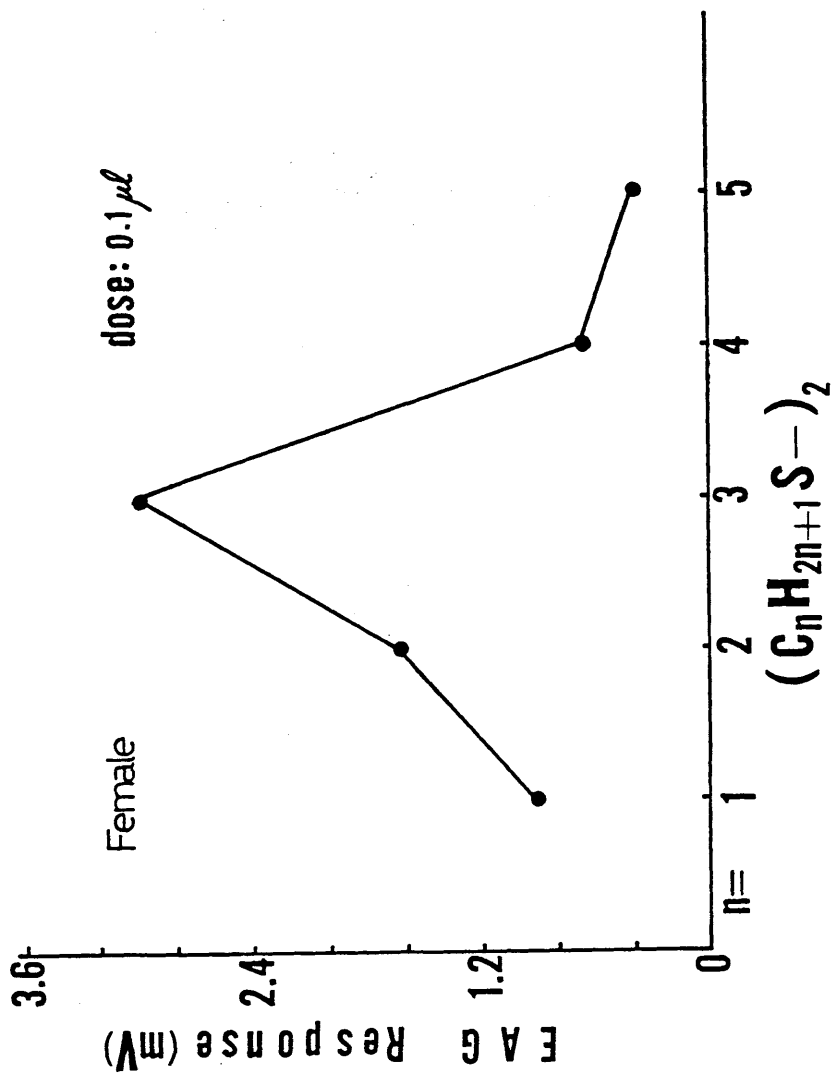


図2-5 Dialkyl disulfide のアルキル鎖長とEAG反応の関係

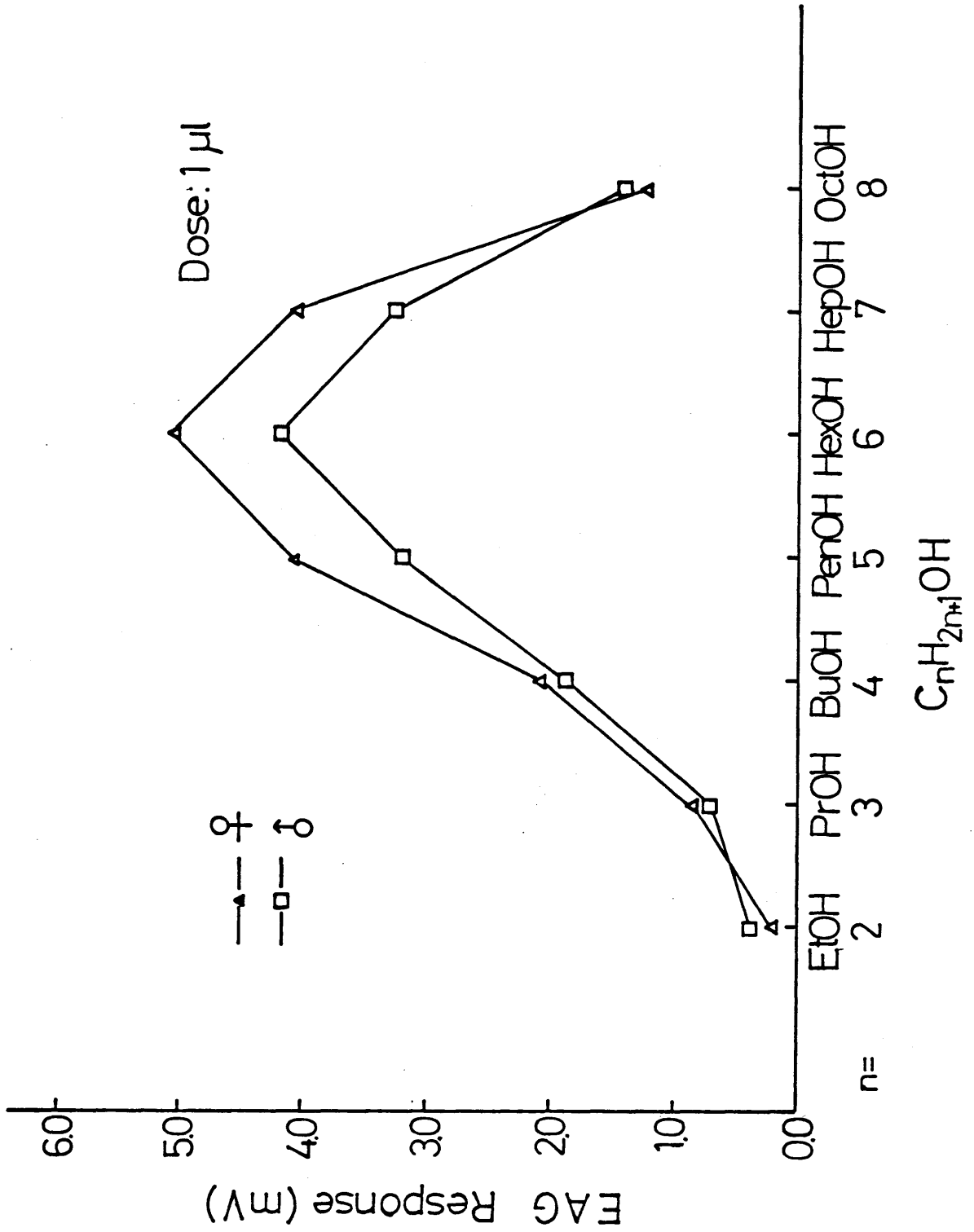


図2-6 n-alkanol のアルキル鎖長とEAG反応の関係

受容体（あるいは受容部位）により受容される可能性を示唆していると考えられる。

f) プロピルチオ化合物のEAG反応と産卵刺激性の相関

EAGは触角上のすべての嗅覚感覚細胞の匂い刺激に対する電位変化の総和であると考えられている。したがって、c)項で明らかとなったように、EAGの高低だけで産卵刺激性の有無を論ずることはできない。しかし、プロピルチオ化合物に限ってみれば、物質のEAG反応の高低と産卵刺激性の間になんらかの相関がみられる可能性は残っていると考えられた。供試薬量がそれぞれ、 $0.1 \mu\text{l}$ / 口紙片、 $5 \mu\text{l}$ / 産卵装置の単一薬量についての比較ではあるが、表2-2に示したように、PrSSPrのEAG反応と産卵数をそれぞれ1としたときの、他の化合物の両比活性の間にはPrSSMeを除外すれば高い相関($r \approx 0.9$)が認められた。例外となったPrSSMeは高いEAGをひき起こすが産卵刺激性は低かった(表2-2, 図2-4)。この例外性の一因として、PrSSMeはプロピルチオ化合物の受容器だけではなく、他種の受容器にも受容され、その受容細胞からの信号が誘引行動に阻害的に働く可能性も考えられる。

g) 産卵刺激物質の受容器に関する仮説

産卵刺激物質に対するこのような行動上でも受容器上でもみられる特異性をさらに詳しく説明するため、産卵刺激物質 (PrSSPr, PrSSAm および PrSPhe) と類縁の非活性物質 (AmSSAm, PheSH) の乗量-EAG反応回帰直線を詳細に分析した (図2-7)。図2-7からも明らかなように、PrSSAmの回帰直線はPrSSPrのそれと大変近い。ところが、PheSHとAmSSAmの回帰直線はPrSSPrのそれからかなり離れている。また、PrSPheの回帰直線はPrSSPrとPheSHの間に位置している (回帰直線 $y = a \log x + b$ の係数 a, b を表2-3に示した)。

これらの現象をより具体的に検討するため、次の仮説を設けた。すなわち、構造と活性の間にプロピルチオ基の必須性という明らかな関係が存在するので、いわゆる「鍵と鍵穴」説に立脚し、物質のプロピルチオ基部分が感覚細胞上の仮想的な「プロピルチオ受容器」に受容されると考えた。また、プロピルチオ化合物の典型としてPrSSPrを選び、プロピルチオ受容器はこの物質に対する親和性が最も高いと仮定する。すると、PrSSPr以外の物質がプロピルチオ受容器に受容されるとき、少なくとも次の2つの場合を考えることができる。

仮説1. 1つの可能性として、ある化合物の全量のうち $n\%$ だけが、PrSSPrと同様にプロピルチオ受容器と結びつくものとし、この物質は他の受容器とは関係を持たないとする、この化合物の回帰式は
$$y = a \log (nx/100) + b$$

すなわち、
$$y = a \log x + b + a (\log n - 2) \quad \text{--- (A)}$$
 となる。

このことは、同じ受容器と結びつく2種の化合物の回帰直線は、たとえ物質と受容器の親和性が異なっても同じ傾きをもつことを示している。

仮説2. 他の可能性として、ある化合物のそれぞれ $n_1\%$ と $n_2\%$ がプロピルチオ受容器 (受容器1) とこれとは独立の受容器2に結合するとすると、回帰式は

$$y = a_1 \log (n_1 x/100) + b_1 + a_2 \log (n_2 x/100) + b_2$$

すなわち、
$$y = (a_1 + a_2) \log x + b_1 + b_2 + a_1 (\log n_1 - 2) + a_2 (\log n_2 - 2) \quad \text{--- (B)}$$
 となる。

したがって、この場合は回帰直線の傾きは、プロピルチオ受容器と受容器2による傾きの和となる。

表2-2 プロピルチオ化合物のEAG反応と産卵刺激性の相関^{1 2}

化合物	EAG反応	産卵刺激性 ³
Dipropyl disulfide (PrSSPr)	1.00	1.00
Propyl methyl disulfide (PrSSMe)	1.06	1.02
Propyl amyl disulfide (PrSSAm)	1.01	0.95
Propyl amyl sulfide (PrSAm)	0.72	0.69
Propyl octyl sulfide (PrSOc)	0.71	0.34
Propyl phenyl sulfide (PrSPhe)	0.60	0.48
Propyl methyl trisulfide (PrSSSMe)	1.17	0.46

¹ Dipropyl disulfide (PrSSPr) の産卵数、EAG反応をそれぞれ1.00とした時の比

² PrSSSMeを除外するとEAG反応と産卵刺激性の間の相関係数は、0.899

³ 第1章 表1-1, 表1-2より計算

表2-3 プロピルチオ化合物の棄量-EAG反応回帰直線の係数

化合物	a	b	r ¹
Dipropyl disulfide (PrSSPr)	0.67	3.57	0.98
Diamyl disulfide (AmSSAm)	0.06	0.70	0.73
Phenyl mercaptan (PheSH)	0.23	1.08	0.80
Propyl amyl disulfide (PrSSAm)	0.85	3.66	0.98
Propyl phenyl sulfide (PrSPhe)	0.59	2.17	0.93

¹ 相関係数

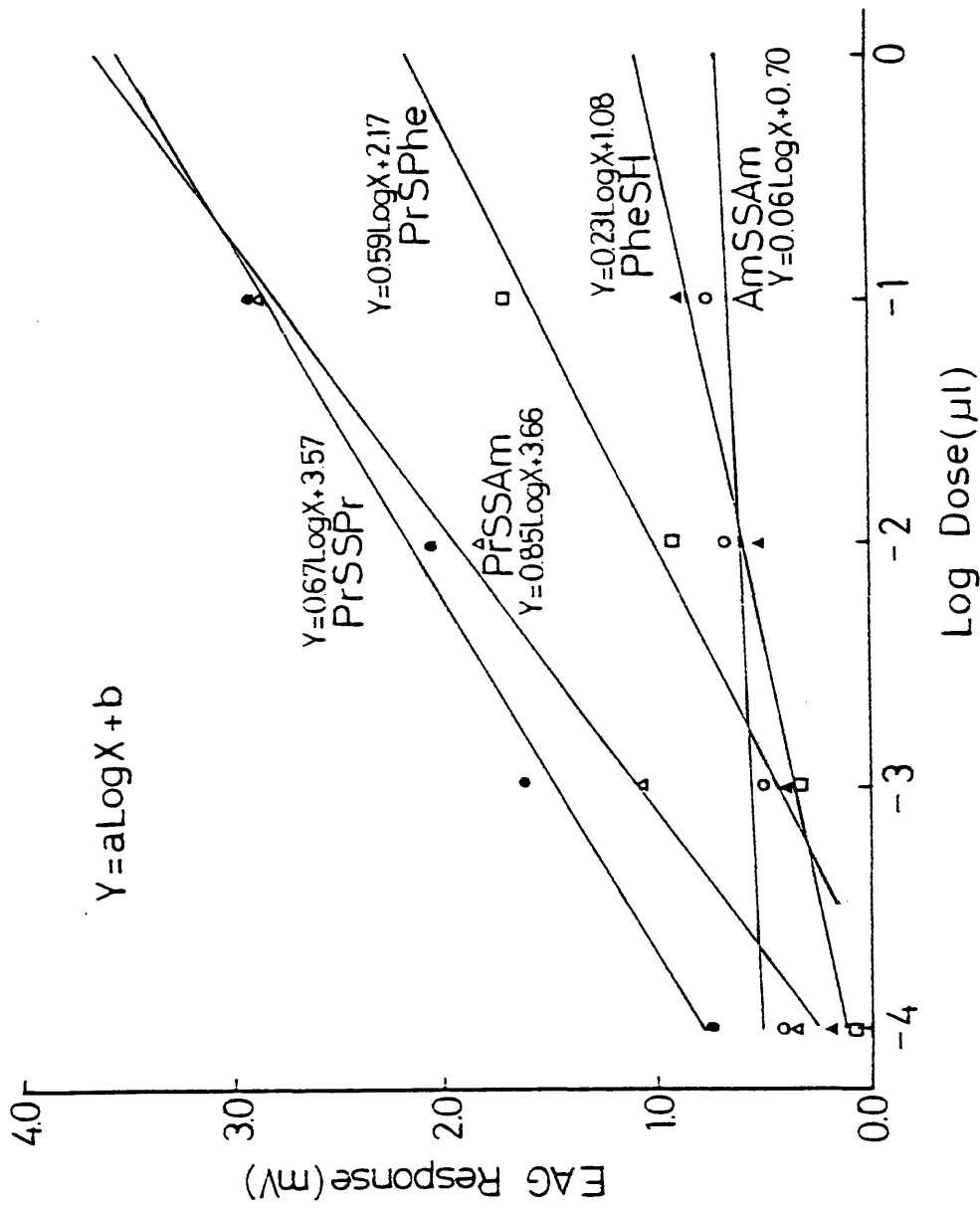


図2-7 数種の硫黄化合物の薬量-EAG反応回帰直線

供試物質のうち PrSSAm と PrSPhe の2化合物は産卵刺激性もあり、回帰直線の傾きも PrSSPr に近いのでおそらくプロピルチオ受容基と結合していることが推察される。これに対し、AmSSAm と PheSHはその傾きが PrSSPr に比較してかなり小さく、プロピルチオ受容器とは結合しないのではないかと考えられる。PrSSAm はプロピルチオ受容器だけではなく、AmSSAm の受容器とも関係があると思われる。なぜなら、AmSSAmの傾き(0.06)と PrSSPr の傾き(0.67)の合計値(0.73)は、PrSSAmの傾き(0.85)により近くなるからである。

仮説1に基づけば、表2-3と(A)式から何%の PrSPhe 分子がプロピルチオ受容器に受容されるかを粗く推定することもできる。すなわち、PrSSPr のbの値を b_1 とし、PrSPhe のb値を b_2 とすると、

$$b_2 = b_1 + a_1 (\log n - 2) \text{ となるので、}$$

$$\log n = (b_1 - b_2) / a_1 + 2 \text{ となり、 } n \text{ を計算できる。}$$

PrSSPrと PrSPhe の傾き a が違っているので、正確な値は得られないが、 $a_1 = 0.67$ で試算すると、 $n = 0.81$ となる。これは、PrSPhe はその1%以下の分子しかプロピルチオ受容器に受容電位をひき起こせないことを意味している。このようにPrSPheのプロピルチオ受容器に対する親和性が低いのは、フェニル基の存在が異質であり、また分子も大きくなっていることによるのではないかと考えられる。

以上の結論として、非対称形のプロピルチオ化合物はプロピルチオ受容器と結合するが、その親和性はプロピルチオ基の他端にある基の構造によって異なることが強く示唆された。

摘要

本章では、タマネギバエの産卵刺激物質（プロピルチオ化合物）に対する高い特異性が、触角上の嗅覚感覚器の特異性に帰せられるかどうかを、EAG法を用いて検討した。得られた結果は次の通りである。

(1) EAGは、薬量 $10^{-4} \sim 10 \mu\ell$ / 口紙片の範囲で、その対数に対し直線的に増加する。

(2) 産卵刺激性を示すプロピルチオ化合物はすべて、高いEAGを与えたが、逆に、非活性物質の中にも高いEAGを与えるものがあった。

(3) Dialkyl disulfide と n-alcohol について、そのアルキル鎖長とEAGの高さを比較すると、disulfide では3 (dipropyl disulfide), n-alcohol では6 (n-hexanol) のときに最大値が得られた。

(4) プロピルチオ化合物に関しては、その産卵刺激性とEAGの間に高い相関が認められた。しかし、methyl propyl trisulfide は例外であった。

さらに、数種の硫黄化合物の、薬量-EAGの回帰直線を詳細に検討したところ、プロピルチオ基に特異な受容器の存在が示唆された。その結果、dipropyl disulfide (PrSSPr), propyl amyl disulfide (PrSSAm), propyl phenyl sulfide (PrSPhe) は同一のプロピルチオ受容基に受容されるが、類縁の diamyl disulfide (AmSSAm), phenyl mercaptan (PheSH) は、この受容器には受容されない。また、PrSPhe の、この受容器との親和性は PrSSPr の $1/100$ 以下と推定された。PrSPhe の親和性の低さは、異質なフェニル基の存在と関連があると考えられる。

これらの結果から、タマネギバエの産卵行動上でのプロピルチオ基に対する特異性は、少なくともその一部が、触角上の嗅覚感覚器の特異性に帰することができる結論された。

第3章 タマネギ磨砕汁のタマネギバエ・タネバエに対する誘引性

緒言

第1章でも明らかにされたように、タマネギの匂い成分中、di-n-propyl disulfide (以後、PrSSPr と略) や n-propyl methyl disulfide (PrSSMe) などのプロピルチオ基をもつ化合物は、実験室内でタマネギバエを誘引し、その産卵を刺激する (Matsumoto and Thorsteinson, 1968a; Ishikawa et al., 1978; Pierce et al., 1978; Vernon et al., 1978)。また、Matsumoto (1970) はカナダにおける野外試験で PrSSPr が特にタマネギバエ雌成虫を明らかに誘引することを観察している。ところが、北海道立中央農試の雷岡 (1977) は従来からタマネギバエの誘引剤として用いてきたタマネギ磨砕汁の誘引力が PrSSPr よりもはるかに優れることを指摘し、さらには、タマネギ磨砕汁のタマネギバエに対する誘引力は新鮮なものよりも圃場に数日間放置され、腐敗が始まったものの方が強いことを発見した。しかし、その後 PrSSPr の誘引性についての追試はなされず、腐敗磨砕汁についてもその誘引性増加の原因はもちろん、増加の様相も全く解明されることはなかった。

そこで、この腐敗タマネギ磨砕汁の誘引力増加の確認ならびに、この誘引剤と PrSSPr との圃場における誘引力の比較を目的に実験を行なった。

材料および方法

試験は北海道農業試験場内のタマネギ圃場において1980年8月16日から25日に行なわれた。トラップは Matsumoto (1970) が考案した、透明なアクリル製のもの (以後、MTトラップと略) で、円筒 (径15 cm, 高さ15 cm) の上部には蓋が、下部には先端に径8 mmの穴のあいたロートが円筒の内側に向けてはめ込まれている (図3-1)。トラップは三角架台により、その底面が地上約5 cmの高さになるよう設置し、誘引餌などを入れたシャーレをトラップ直下の地上に置く。誘引されたハエは、シャーレの周辺に集まるが、正の走光性により上方に飛び立つ性質があるので、ロートを通してトラップの円筒内に捕獲される。



図3-1 タマネギバエ・タネバエの誘引試験に用いたMTトラップ（ Matsumoto, 1970 ）の外観

誘引試験では、タマネギ畑内に3処理の場合は9個のトラップを3×3ラテン方格に、4処理の場合は16個のトラップを4×4ラテン方格にいずれも10m間隔で配置した。

タマネギ磨砕汁は450gの市販タマネギを2分間家庭用ミキサーで粉碎して得た。この磨砕汁は150gづつシャーレ(径13cm、高さ3cm)に分配した。PrSSPr(1.2mℓ)は25mℓの流動パラフィンで稀釈し径9cmのシャーレに入れ、ハエの溶液中への飛び込みを防止するため、メッシュの粗いナイロン製ゴースの蓋をした。対照のシャーレには25mℓの水を入れたものを用いた。実験は次の2回に分けて行なった。実験1:新鮮なタマネギ磨砕汁、実験期間中圃場に放置したままの磨砕汁、そして水の3種の誘引力を比較した。実験2:上記の3種のほかにPrSSPrを加えてその誘引力比較を行なった。

MTトラップは正午12:00に設置し、2時間ごとに捕獲されたハエの数をかぞえた。

翌朝10:00にスプレー式殺虫剤を用いてハエを殺し、実験室に持ち帰ってから加藤(1951)の検索表に従ってハエを同定した。使用したトラップはその都度、洗剤を用いてよく洗浄し、殺虫剤の残留がないようにした。

結果

タマネギ磨砕汁と PrSSPr の誘引力

実験1, 実験2における合計捕獲虫数を表3-1に示した。捕獲されたハエはほとんどタマネギバエとタネバエの2種だけであった。供試物の中では、放置磨砕汁が最も高い誘引性を示し、その捕獲虫数は新鮮磨砕汁のその1.6倍~2.0倍であった。

Di-n-propyl disulfide (PrSSPr)の捕獲虫数は新鮮磨砕汁に比べても少なかった。すなわち、PrSSPrのタマネギバエ捕獲虫数は新鮮磨砕汁の約2/5, 放置磨砕汁の約1/5であり、タネバエではそれぞれ1/4と1/8であった。タマネギ磨砕汁は、その鮮度にかかわらずハエの雌雄を誘引したが、PrSSPrはどちらの種も雌が圧倒的に多く誘引されている。このことは、PrSSPrが産卵誘引として働いているのに対し、タマネギ磨砕汁は、食餌誘引として働いている可能性を示唆していると思われる。

なお、Matsumoto(1970)は野外でのトラップ実験の結果、PrSSPrへのタマネギバエ捕獲虫の90%以上が成熟卵をもった雌であることを捕獲虫各個体を解剖して確認している。

表3-1 Dipropyl disulfide とタマネギ磨砕汁の、タマネギバエ・タネバエ
に対する誘引力比較

誘引源	誘引・捕獲数 ¹					
	タマネギバエ			タネバエ		
	雌	雄	合計	雌	雄	合計
	実験 I ²					
新鮮タマネギ磨砕汁	34	35	69 b	15	13	28 d
放置タマネギ磨砕汁	52	56	108 b	17	40	57 d
水 (対照)	1	5	6 a	0	1	1 c
	実験 II ³					
新鮮タマネギ磨砕汁	19	16	35 f g	10	35	35 i
放置タマネギ磨砕汁	39	32	71 g	32	36	68 i
PrSSPr ⁴	11	3	14 e f	8	1	9 h
水 (対照)	5	0	5 e	3	0	3 h

¹ 同一実験内の合計値で同じ英字が付されているもの間には、危険率5%水準で有意差がない。

² 試験期間：1980年8月16日～20日、気温：15～25℃ 天気：20日を除いて、すべて雨

³ 試験期間 1980年8月21日～25日、気温：17～28℃ 天気：すべて雨

⁴ Dipropyl disulfide

タマネギ放置磨砕汁の誘引力の経時変化

次に、実験1、実験2の結果について、日ごとのハエの捕獲数を示したのが表3-2である。同表から明らかなように、放置タマネギ磨砕汁の誘引力は時間の経過とともに徐々に増加している。タマネギバエに関しては、2日以上経過した磨砕汁は、新鮮なもの1.5倍から4.3倍のハエの捕獲がみられた。これに対し、タネバエに対する誘引力は、4日ないし5日経過して初めてその増加が認められるようになった。タネバエの捕獲数は5日目において実験1、2ともそれぞれ63.2%、48.5%の捕獲があった。

このようなタネバエとタマネギバエのタマネギ磨砕汁に対する反応の違いは、両種が誘引される化学物質の種類が一部異なっていることを示すと考えらる。5日間で実験が打ち切られたため、5日目最大の誘引力を示すのかどうかはわからない。さらに実験を継続する必要がある。

タマネギバエ・タネバエの活動時刻

表3-3には、12:00から18:00までの2時間ごとの、そして最後は翌朝10:00の捕獲虫数の調査結果を示した。日の出と日の入はそれぞれ、4:50と18:30であったので、昼行性のこの2種のハエの18:00から翌10:00までの活動可能時間は約5.7時間と考え、単位時間当りの捕獲数もこの数値により算出されている。

近縁種のダイコンバエ Hylemya brassicae では室内実験によれば消灯4時間前に活動が最も盛んになるとされているが (Zohren, 1968), 本実験ではタマネギバエ捕獲数の明瞭なピークはみられなかった。しかし、本実験期間中はほとんど雨が降っており、気温も例年に比べ異様に低かったため、この結果が本種の一般的活動を表しているとは限らない。

考察

この実験ならびに、1978、1979年の同じ圃場における予備実験でも、PrSSPrを用いて多数のタマネギバエを捕獲することには成功しなかった (石川, 未発表)。また、日本では、他の研究者も PrSSPr の有効性の確認に失敗している (西沢ら, 1972; 富岡, 1977)。これとは対照的に、カナダでは Matsumoto (1970) が、オランダでは Loosjes (1976) が、アメリカでは Dindonis and Miller

表3-2 タマネギ磨碎汁の放置によるタマネギバエ・タネバエに対する誘引力の上昇¹

誘引源	放置日数	タマネギバエ・タネバエ捕獲数					合計
		0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	
実験 I ²		タマネギバエ					
新鮮タマネギ磨碎汁		7	11	17	17	17	69
放置タマネギ磨碎汁		10	10	25	25	38	108
水 (対照)		1	3	2	0	0	6
比 (放置/新鮮)		1.4	0.9	1.5*	1.5*	2.2*	1.6
		タネバエ					
新鮮タマネギ磨碎汁		5	3	4	10	6	28
放置タマネギ磨碎汁		1	5	3	12	36	57
水 (対照)		1	0	0	0	0	1
比 (放置/新鮮)		0.2	1.7	0.8	1.2	6.0*	2.0
実験 II ³		タマネギバエ					
新鮮タマネギ磨碎汁		13	4	5	4	9	35
放置タマネギ磨碎汁		13	7	11	17	23	71
PrSSPr ⁴		5	2	1	4	2	14
水 (対照)		3	1	1	0	0	5
比 (放置/新鮮)		1.0	1.8	2.2*	4.3*	2.6*	2.0
		タネバエ					
新鮮タマネギ磨碎汁		5	3	8	5	14	35
放置タマネギ磨碎汁		10	3	4	18	33	68
PrSSPr		2	2	2	2	1	9
水 (対照)		1	0	0	2	0	3
比 (放置/新鮮)		2.0	1.0	0.5	3.6*	2.4*	1.9

¹ * が付されている比は、危険率5%水準で1.0と有意差がある

² 試験期間：1980年8月16日～20日、気温：15～25℃ 天気：20日
を除いて、すべて雨

³ 試験期間 1980年8月21日～25日、気温：17～28℃ 天気：すべて雨

⁴ Dipropyl disulfide

表3-3 タマネギバエ・タネバエのトラップへの捕獲時刻¹

時刻	捕獲数の割合(%) ²	
	タマネギバエ	タネバエ
12:00~14:00	17.7(8.9)	17.5(8.8)
14:00~16:00	13.5(6.8)	22.0(11.0)
16:00~18:00	17.7(8.9)	11.3(5.7)
18:00~10:00(翌朝)	52.2(9.2) ³	49.2(8.6) ³

¹ 実験Iと実験IIより得られたデータ。トラップ設置, 12:00。

² 括弧内の数値は単位時間当りの捕獲割合

³ 日の出4:50, 日の入18:30。ハエの活動可能時間を5.7時間として算出
本文参照

(1980a81a)が PrSSPr を用いて多数の野生タマネギバエの捕獲に成功している。このように、PrSSPr に対する野生タマネギバエの反応に日本と諸外国で顕著な差異がみられるのは、タマネギバエの系統が異なっている可能性もあろう。

本実験により、タマネギ磨碎汁、とくに放置磨碎汁が PrSSPr よりも優れた誘引剤であることが確認された。このことは、プロピルチオ化合物以外の誘引物質がタマネギ磨碎汁中にあることを示している。Ikeshoji et al. (1980) は腐敗したタマネギ切片から酢酸エチルを検出し、この物質が PrSSPr と共力作用を示すことを報告している。したがって、本実験で確認された腐敗タマネギ磨碎汁の強力な誘引力の原因の一部は酢酸エチルまたは他の細菌の産物に帰せられるかもしれない。また、単なる空気による自動酸化が活性の増加に関与しているのかもしれない。この腐敗したタマネギ磨碎汁中からの誘引物質の分離・同定については次章以降で検討する。

摘要

本章では、タマネギバエの産卵誘引・刺激物質である di-n-propyl disulfide の圃場における誘引力を、従来から本種の誘引餌として一部で用いられてきた、タマネギ磨碎汁と比較し、磨碎汁の腐敗と誘引力の上昇の関係を調べた。結果は以下の通りである。

- (1) タマネギ磨碎汁のタマネギバエに対する誘引力は Di-n-propyl disulfide (PrSSPr) に比べてはるかに優れていた。PrSSPr には雌成虫が多く捕獲される傾向があったが、タマネギ磨碎汁には雌雄ともに捕獲された。
- (2) タマネギ磨碎汁は、タマネギバエばかりではなく、近縁種のタネバエに対しても強い誘引力を示した。
- (3) 圃場に放置された磨碎汁は、時間が経過すると、その誘引力が増加し、5日間の成績では、1.6~2.0倍のバエが捕獲された。タマネギバエに対する誘引力の増加は、放置2日後からみられたが、タネバエに対する誘引力増加は4~5日後になって初めて明らかとなった。
- (4) この反応性の違いから、タマネギバエとタネバエでは若干選好性が異なり、タネバエはより腐敗の進んだものに強く誘引されると考えられる。したがって、両種の反応する誘引物質は一部が異なっていると推定された。

以上の結果より、少なくとも日本では、di-n-propyl disulfide をそのままの形で、タマネギバエの誘引剤として利用するのは無理であると判断された。むしろ、強い誘引力を示すことが確認された腐敗タマネギ磨碎汁を新たな出発物として、化学分析を進めることが、強力な合成誘引剤の開発には有利であるとの結論に達した。この化学分析の結果については、次章以降で取り扱われる。

緒言

前章で、野外に放置され、腐敗したタマネギ磨砕汁がタマネギバエばかりではなく、タネバエに対しても強い誘引力を示すことが確認された。腐敗タマネギ磨砕汁の両種に対する誘引力はかなり強いので、この物を出発物として化学分析を行えば、両種に強い誘引力を示す化合物が発見される可能性は高いと考えられた。タネバエがタマネギバエに劣らぬ重要な害虫であり、土壌害虫として難防除害虫に数えられていることは、すでに序章で述べた通りである。また、本種は、日本全国に分布するため、その被害は相当にのぼると考えられる。従来、タネバエの発生予防には魚粕、糖蜜などが用いられてきた。

しかし、この種についても、これらの天然誘引剤の誘引成分の化学的研究は進んでおらず、合成誘引物質の開発が期待されている。そこで、以後はタマネギバエ・タネバエ両種を対象に、その合成誘引剤開発に向けて基礎研究を進めることとした。

本章では、腐敗タマネギ磨砕汁の誘引性増加の原因となる物質を解明することを目的とした一連の研究のうち、中性画分中の誘引成分の分析・同定および、誘引物質の圃場における誘引力評価について記述する。

材料及び方法

試料作成。 タマネギ磨砕汁は約500gのタマネギ鱗茎を家庭用ミキサーで粉碎したものである。 この磨砕汁に、冷凍保存してある腐敗磨砕汁の一部を接種し、25℃で8日間培養し、腐敗を進行させた。 蒸留水を相当量加え、2重のガーゼでこして繊維質を除いた。 この液体はさらに口紙を用いて口過し、口液を50℃で減圧水蒸気蒸留した。

留出物はエーテルで抽出した後、定法により酸性、中性、アルカリ性画分に分画した。 これらの画分は必要になるまでフリーザーに保存した。

化学分析。 ガスクロマトグラフ(GC-4B, 島津)を用いて中性画分の分析を行った。 条件は下記の通り。 検出器, FID; カラム, ステンレスカラム(3mm X 3m); 充填剤, 20%PEG20M含浸Celite545(60~80メッシュ); カラム槽温度, 30℃に6分間保持, 以後4℃/minで210℃まで昇温; キャリアーガス, 窒素35ml/min。 マススペクトルを得るにはGC-MS(Hitachi 063 - RMU-6)をGC-4Bに準じた条件で用いた。 イオン化電圧は70eVであった。

室内生物検定法。 プラスチック製円筒容器(径9.5cm, 高さ16cm)を改造して室内生物検定用トラップとした。 容器の側面に黒色の模造紙をまき、4cmの高さに径6mmの穴を15個あけたものである(図4-1)。 供試物質(1μl)は小形のシャーレ(径3cm)中の5mlの蒸留水に溶解した。 このシャーレはトラップの内部に入れ、誘引源とした。 30X60X30cmのケージ内に50頭ずつの羽化後10日~30日のタマネギバエ雌雄を収容したが、実験開始5時間前からは水だけを与え、飢えた状態にした。 生物検定中も水だけを与えた。 供試物質をふくむトラップと対照のトラップ2個を前記のケージ内に午後3時に設置し、翌朝10時に捕獲されたハエの数を調査した。 試験は5回くりかえし、供試物質の誘引性は試験区のトラップに捕獲された虫数の平均値で評価した。

圃場での誘引性評価。 2-フェニルエタノール, メルカプトエタノール, そしてプロピルプロパンチオスルフォネートの誘引力評価は、北海道農業試験場内のタマネギ畑で1981年8月1日~18日にかけて行なわれた。 トラップは前述(第3章)のMTトラップである。 この試験では、トラップを8m間隔の4X4ラテン方格(4処理4反復)に配置した。

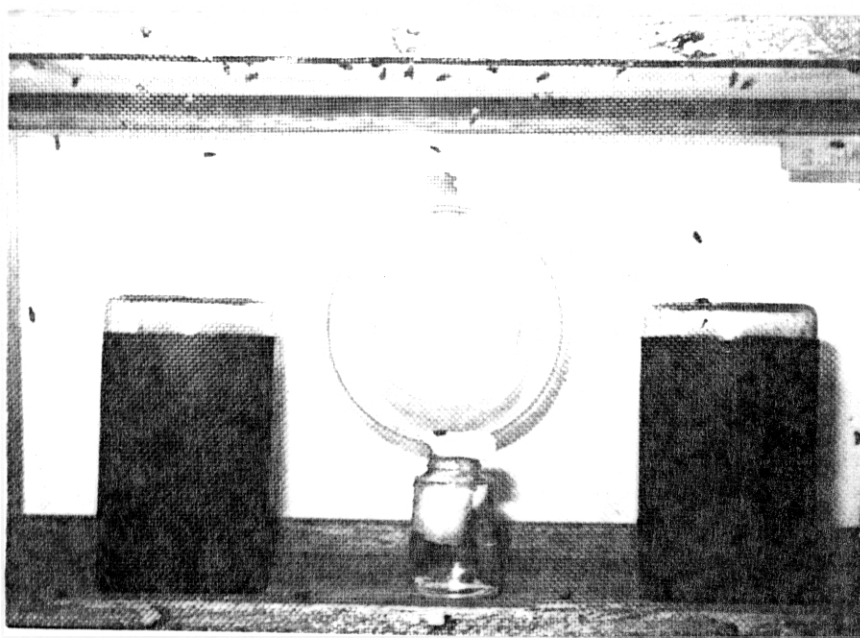


図4-1 室内誘引試験に用いたトラップ

供試物質は径9cmのシャーレ中の50mlの水に溶解した。試験濃度はすべて0.2%である。対照として水ならびに新鮮タマネギ磨砕汁を用い、一度に2種類の供試物質を試験し4反復おこなった。この試験では対照に腐敗タマネギ磨砕汁ではなく、新鮮磨砕汁を用いたのは新鮮なものの方が誘引力が安定していると考えられたからである。

前記(第3章)の結果から、新鮮な磨砕汁は腐敗したものの約1/2の誘引力をもっていることがわかっている。トラップは午後1時に設置し、翌朝10時に捕獲されたハエの種類と性別、数を調査・記録した。

結果

腐敗タマネギ磨砕汁の抽出物の誘引性

腐敗タマネギ磨砕汁中の誘引物質の化学的性質を明らかにするため、実験室内で生物検定を行なった(表4-1)。5反復の平均でみると、腐敗磨砕汁の口液には雌雄それぞれ50頭中、雄14.9頭、雌10.9頭が捕獲されたのに対し、対照のトラップにはわずかに雄1.3頭、雌1.0頭が捕獲されたにすぎない。この結果は、この生物検定法が優れていることを示している。ついで、定法にしたがい誘引物質を抽出・分画し、その誘引性を調べた。腐敗磨砕汁の水蒸気蒸留物はほとんど完全に元の誘引活性を保持していた。したがって、誘引物質は適度な揮発性をもつものと考えられた。さらに、水蒸気蒸留物をエーテルで抽出し酸性、中性、アルカリ性画分に分画し生物検定に供したところ、中性画分は腐敗磨砕汁とほとんど変わらない捕獲数を示した。酸性画分も強い誘引性を示したが、磨砕汁と比較すると若干弱いようである。アルカリ性画分はタマネギバエ雌雄に対して全く誘引性を示さなかった。

中性画分の化学分析

中性画分のガスクロマトグラフを図4-2に示した。エタノール、イソブタノール、エチルアセテート、イソアミルアルコール、2-フェニルエタノールの5化合物が検出されたが、後2者が主成分であった。新鮮タマネギでは豊富であった硫黄化合物は、ごく少量がみいだされたにすぎない。エタノールとエチルアセテートは既に、腐敗しているタマネギ苗から分離されたバクテリア、Klebsiella sp. を接種したタマネギ切片から検出され、またエチルアセテートは単独でタマネギバエ幼虫を誘引するほか、雌

表4-1 腐敗タマネギ磨砕汁とその抽出物のタマネギバエに対する室内誘引力試験¹

誘引剤	処理		対照	
	雌	雄	雌	雄
腐敗タマネギ磨砕汁 ²	10.9*	14.9*	1.0	1.3
上記の水蒸気蒸留物 ²	21.2*	16.8*	2.6	4.8
エーテル抽出物酸性画分 ²	7.4*	10.8*	0.4	0.8
同上中性画分 ²	13.6*	20.2*	0.4	0.8
同上塩基性画分 ²	1.9	2.4	0.8	1.2
2-フェニルエタノール ³	4.2*	4.6*	0.6	0.4
エタノール ³	1.6	1.3	0.9	0.5
イソアミルアルコール ³	1.5	2.8	1.2	3.5
イソブチルアルコール ³	0.8	2.5	0.5	1.3
酢酸エチル ³	0.3	0.6	0.6	0.7
メルカプトエタノール ^{3 4}	11.0*	7.8*	0.6	0.4

¹ 5反復の平均値、対照は蒸留水。雌雄それぞれ50頭/ケージに対して試験した。

² 5ml 当量

³ 1μl / 5ml 蒸留水

⁴ 中性画分中には存在しない

* 危険率5%水準で、それぞれの対照と有意差あり

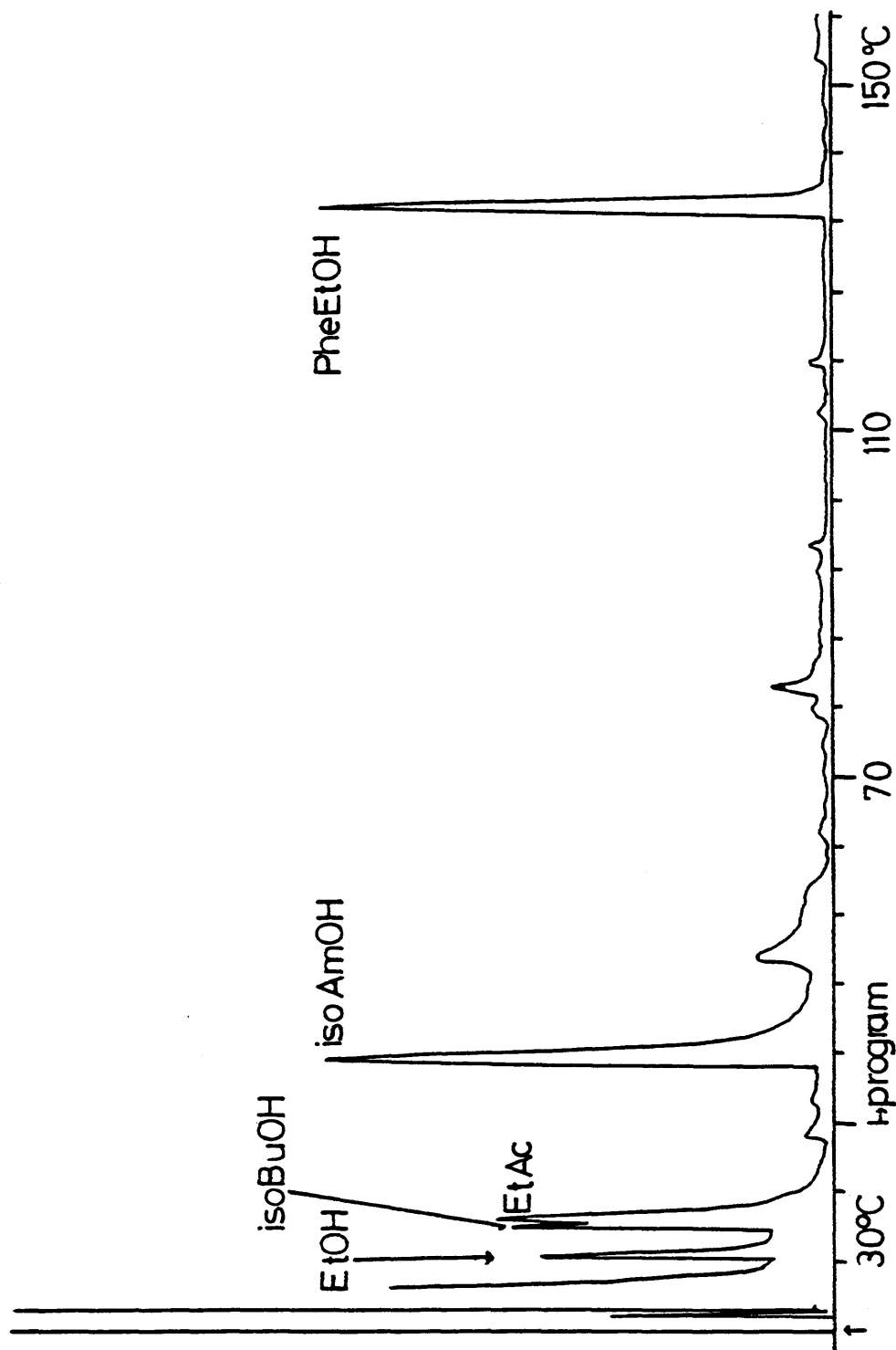


図4-2 腐敗タマネギ磨砕汁抽出物中性画分のガスクロマトグラム

EtOH: Ethanol, isoBuOH: iso-Butanol, EtAc: Ethyl acetate,

isoAm: iso-Amyl alcohol, PheEtOH: 2-Phenyl ethanol .

成虫の産卵刺激物質である dipropyl disulfide と共力作用を示すことが知られている (Ikeshoji et al., 1980)。中性画分から同定された物質のうち 2-フェニルエタノール以外はバクテリアの代謝産物としてきわめて普通のものであった。2-フェニルエタノールが大量に含まれていたことは、その産生菌の種類、その前駆体など興味ある問題が多い。

中性画分中の化合物およびその類縁体の室内試験における生物活性

中性画分中に見出された化合物のタマネギバエに対する誘引活性を表 4-1 に示す。2-フェニルエタノールだけが磨砕汁の 1/2 以下の弱い誘引力を示したが、その他の化合物は全く活性を示さなかった。2-フェニルエタノールだけでは中性画分の強い誘引力を説明できないので、未検出の微量成分が単独で強い誘引力を示すか、または、2-フェニルエタノールと共力作用を示すためであろうと推察された。

メルカプトエタノールは 2-フェニルエタノールに類似の構造をもっているので、この物質の誘引活性も検定したところ 2-フェニルエタノールよりも強い活性が認められた。しかし、後述するようにこの物質は圃場ではその誘引活性は非常に弱かった。

2-フェニルエタノールの圃場における誘引活性

2-フェニルエタノールおよびその類縁体の圃場における誘引力を新鮮タマネギ磨砕汁と比較した (表 4-2)。2-フェニルエタノールは室内での誘引力は弱かったが、圃場での誘引力は非常に強かった。また、タマネギバエだけではなく、タネバエに対する活性も強いことが明らかとなった。タネバエの雄に対する誘引力はきわめて強く、新鮮磨砕汁の 6.3 倍の捕獲数が得られた。タマネギバエに対する誘引力は若干劣るが、それでも新鮮磨砕汁とほぼ同等の捕獲量がえられている。

本実験では、メルカプトエタノールとプロピルプロパンチオスルフォネートの誘引活性も調べた。前者は室内生物検定でタマネギバエに対して強い活性が認められており (表 4-1)、後者も圃場でジプロピルジスルフィドよりも強い誘引力をもつことが知られている (石川, 未発表)。メルカプトエタノールの圃場における誘引力はほとんど認められなかった (表 4-2)。一方、プロピルプロパンチオスルフォネートは新鮮磨砕汁に匹敵する誘引性をタマネギバエ雌雄に対して示し、タネバエに対しても弱い誘引性を示した。

表4-2 2-フェニルエタノール, メルカプトエタノール, プロピル プロパンチオスルフォネートと新鮮タマネギ磨碎汁の誘引力¹

誘引源	反復	総捕獲数			
		タマネギバエ		タネバエ	
		雌	雄	雌	雄
新鮮タマネギ磨碎汁	6	63	75	73	63
2-フェニルエタノール		75	82	208	400
水		13	10	10	15
新鮮タマネギ磨碎汁	2	12	28	17	20
メルカプトエタノール		6	7	6	6
水		0	2	3	2
新鮮タマネギ磨碎汁	3	25	29	15	15
PrSSO ₂ Pr ²		18	21	10	14
水		2	2	1	2

¹ 試験地：北海道農業試験場， 試験期間1981年8月1日～18日

試験期間中のデータを累積して表示した。

² プロピル プロパンチオスルフォネート (propyl propane thiosulfonate)

誘引物質間の共力作用

2-フェニルエタノールとその他の物質間に共力作用が認められるかどうかを知る目的で、様々な物質の組合せで誘引試験を行なった。しかし、どの組合せにも明らかな共力作用は認められなかった(表4-3)。例えば、プロパンプロピルチオスルフォネート(0.2%)を2-フェニルエタノール(0.2%)に添加してもその誘引力はなんら影響を受けていない。他の成分の有無にかかわらず、2-フェニルエタノールを含有する組合せの誘引力が強かった。

最後に2-フェニルエタノールと、タネバエの誘引剤としてしばしば慣用的に用いられている魚粕(30g, 10mℓの水で湿潤)の誘引力比較を行った。試験期が遅かったため、ハエの捕獲数は少ないが2-フェニルエタノールは魚粕よりもかなり高い誘引力を示した(表4-3)。

表4-3 2-フェニルエタノールを含む種々の混合剤と新鮮タマネギ磨碎汁の誘引力¹

誘引源 ²	試験日 ³	タマネギバエ捕獲数		タネバエ捕獲数	
		雌	雄	雌	雄
新鮮タマネギ磨碎汁	5日	19	16	52	65
PheEtOH + HSEtOH		11	20	183	340
PheEtOH + PrSSO ₂ Pr		19	26	153	335
水		7	10	41	56
新鮮タマネギ磨碎汁	8	19	25	19	21
PrSSO ₂ Pr + HSEtOH		24	22	10	15
PrSSO ₂ Pr + HSEtOH + PheEtOH		11	13	40	40
水		1	2	1	5
新鮮タマネギ磨碎汁	9, 17	41	31	24	28
PheEtOH		46	32	85	112
PheEtOH + PrSSO ₂ Pr		22	45	105	115
水		7	7	4	5
新鮮タマネギ磨碎汁	10	7	16	4	5
HSEtOH		6	4	0	2
HSEtOH + PheEtOH		2	6	8	23
水		0	1	0	1
新鮮タマネギ磨碎汁	11	23	21	8	11
PrSSO ₂ Pr		16	19	6	6
PrSSO ₂ Pr + HSEtOH		15	9	6	4
水		2	1	1	1
新鮮タマネギ磨碎汁	15, 16	4	7	13	4
魚粕		4	0	4	10
PheEtOH		9	9	16	60
水		2	0	0	3

¹ 試験地：北海道農業試験場

² PheEtOH：2-フェニルエタノール

HSEtOH：メルカプトエタノール

PrSSO₂Pr：プロピル プロパン チオスルフォネート

³ 1981年8月

考察

2-フェニルエタノールの実験室内と圃場における誘引性の違い。 2-フェニルエタノールは実験室内では弱い誘引性を示しただけであったが、圃場においてはその誘引性は非常に強かった。逆に、メルカプトエタノールは室内では強い誘引性を示したが、圃場では弱かった。この結果の原因は明らかではないが、おそらく使用したトラップの形状の違い、野生虫と飼育虫の生理状態の違い、トラップ周囲の気流の状態の違いなどが関与しているのではないかと考えられる。生理状態の違いについては、室内試験でもハエを長時間空腹状態におくと、2-フェニルエタノールに対する反応性が増加することが観察されている。

生理活性物質としての2-フェニルエタノール。 2-フェニルエタノール(β フェニルアルコール)はバラの匂い成分としてよく知られているが、その生理活性物質としての報告は少ない。数種の夜蛾のヘアーペンシル中に存在することが知られているほか(Birch, 1974)、メイガの一種、*Aphomia gularis*の雄の産出するフェロモンとして同定されている(Kawahara, 1980)。また、米とトウモロコシ中からコクゾウ、*Sitophilus zeamais*への誘引物質として抽出されている(Yamamoto et al., 1976)。2-フェニルエタノールは生理活性物質としては、決して新奇なものではないが、ハエ類に対する誘引性は本研究で初めて明らかにされた。2-フェニルエタノールは雌雄成虫を誘引することができ、誘殺によって害虫を防除しようとするには非常に有利であるが、このことについては後述する。また、雌雄が誘引される生理・生態学的意味は今のところ不明であり、この点についてさらに研究する必要がある。

成分間の共力作用。 本実験内で行なった範囲では、物質間に共力作用は認められなかったが、第6章で明らかにされるように、有機酸の数種は2-フェニルエタノールと顕著な共力作用を示す。

摘要

本章では、腐敗タマネギ磨碎汁中のタマネギバエ・タネバエに対する誘引性成分の化学的研究を進め、中性画分中の誘引物質については、さらに分析・同定を行なった。また、室内試験により発見された誘引物質の圃場での誘引力評価試験を行なった。結果の概要を以下に示す。

(1) 誘引物質の分析・検索のため、新しい室内生物検定法を考案した。

(2) 活性成分は水蒸気蒸留により留出され、酸、中性、塩基性画分に分画すると、酸性ならびに、中性画分中に移行した。とくに、中性画分の活性は強く、腐敗タマネギ磨碎汁と同等の誘引力を保持していた。

(3) 中性画分のGC、GC-MSによる分析の結果、腐敗タマネギの成分として従前から知られていた、エタノール、酢酸エチル、などの他に、イソアミルアルコール、2-フェニルエタノール(以後、PheEtOHと略す)を検出・同定した。

(4) これらの物質の室内試験の結果では、PheEtOHだけが弱い活性を示し、他のものには活性が認められなかった。

(5) PheEtOHの誘引力は弱く、中性画分中にはまだ、同定されていない微量の誘引物質または、共力物質が存在すると考えられる。

(6) 室内試験での結果とは異なり、圃場でのPheEtOH(0.2%水溶液)のタマネギバエに対する誘引力は強く、新鮮なタマネギ磨碎汁とほぼ同等の誘引力を示した。

(7) PheEtOHはタネバエに対しても強い誘引力を示した。すなわち、PheEtOHの0.2%水溶液は、タマネギ磨碎汁の2.8(雌)~6.3(雄)倍の捕獲数を与え、とくに、雄に対する誘引力は特に優れていた。

以上、腐敗タマネギ磨碎汁の強い誘引力を説明する物質の一つとして、2-フェニルエタノールが同定された。

第5章 標識再捕法による2-フェニルエタノールの誘引力評価

緒言

前章(第4章)において、2-フェニルエタノールがタマネギバエ・タネバエに対して強い誘引力を示すことが明らかとなった。この誘引剤は雌雄両性の成虫を誘引するので、フェロモンのような雄だけを誘引する誘引剤と比べて、害虫の防除に利用しようとする場合に非常に有利である。特に幼虫が加害ステージである害虫では、未産卵雌の捕獲は直接に被害の軽減を意味するし、次世代への影響も大きい。しかし、実際の圃場で誘引剤により被害の軽減をはかるには、ハエの圃場における誘引剤への反応(性、日令による違い)、ハエの圃場における分布、トラップの有効範囲など前もって知っておかなければならないことが数多い。ところが、この点に関してはタマネギバエ・タネバエともにほとんど知られていない。そこで本章では1回放飼-多回捕獲方式の標識虫再捕法を用いて、2-フェニルエタノールの誘引力の評価、圃場における2種の分布、タマネギバエの総個体数などを調査した結果をとりまとめた。

材料および方法

実験圃場 この試験は農水省北海道農業試験場内のタマネギ畑(25×40m)とその周辺において1982年8月4~18日に行なわれた。タマネギ畑の北・南・東側には図5-1のようにトウモロコシ、ジャガイモ、ルーサン、ニンジン、ダイズなど多種の作物が作付けされていて、作物の種類の間ではかなり変化に富んだ環境となっている。これに対し、タマネギ畑の西側には大規模なエンバクの畑が広がっていて、均一な環境を形成している。このタマネギ畑の南方約100mにはより広いタマネギ畑があって、ここでは本実験と並行して2-フェニルエタノールと有機酸の共力作用についての試験が行なわれ(第6章)、25個のトラップが設置されている。

トラップの配置 16個のMTトラップをタマネギ畑とその周辺に図5-1のように設置した。各トラップと畑の中央(放飼点、図5-1のX)との距離は12~73mである。誘引剤としては2-フェニルエタノールの0.2%水溶液を用いた。誘引剤は9cmシャーレに入れ、ゴースで蓋をし、MTトラップの下に置いた。誘引剤は毎日

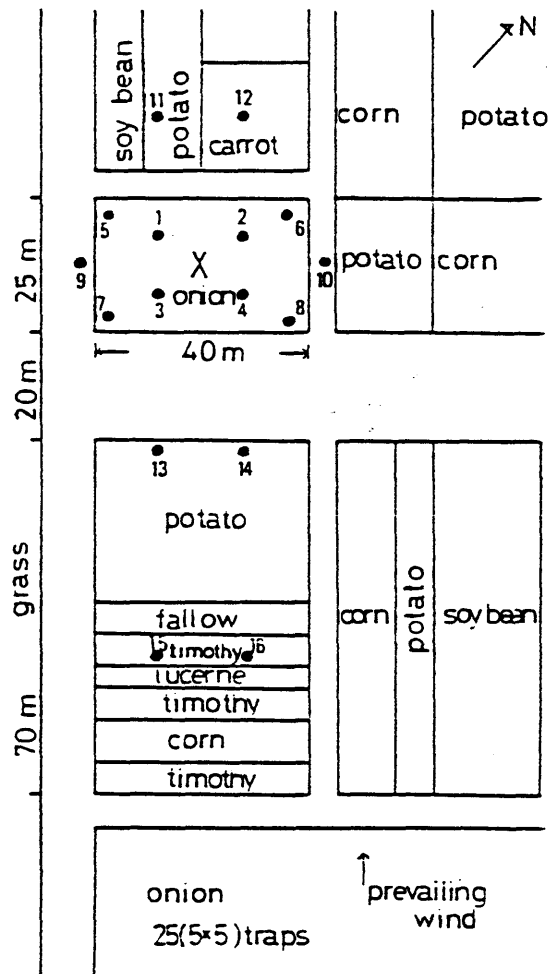


図5-1 標識再捕試験を行なったタマネギ圃場とその周辺の作付図

黒丸はトラップの位置を示す(肩の数字はトラップ番号)。Xは標識虫の放飼点

補充した。

標識再捕法。 放飼に用いたタマネギバエは約10世代にわたり人工飼料育されたものである。 冷蔵保存(5℃)してあった蛹を60×60×60cmのケージに入れ、室温に放置した。 羽化したハエは雌雄を分別することなく、餌として水、ショ糖、乾燥酵母を与えて飼育した。 5～6日令タマネギバエを冷却麻醉し、ハエの羽の両端に青か赤のマジックインキですばやく標識をつけた。 標識をつけた2日後の1982年8月25日午後4:30に放飼したが、この際明らかに弱っていた個体は除外した。 最終的な放飼数は雌413頭、雄295頭であった。 放飼後は毎日午前10時にトラップに捕獲されたハエをスプレー式殺虫剤で殺し、種・性別に分けた。 タマネギバエについてはさらに標識虫(放飼虫)と非標識虫(野生虫)とに分けてから数を記録した。

再捕データの解析 個体群パラメーターの推定は、修正浜田のZi法によった(Hamada, 1976; 田中ら, 1978)。 この方法は、(a)1回放飼-多回捕獲方式のデータの解析法としては今まで知られている方法の中で最も妥当な推定値を与える、また、(b)この方法は野外個体群が移入・移出・死亡・捕獲などにより一定の値Vで増減している状況でも適用できる、という利点を持っている(田中ら, 1978)。 捕獲データは雌雄別々に得ることができるので、雌、雄そして雌雄合計のそれぞれについて別個に推定値を求めることとした。

結果および考察

a) 圃場におけるタマネギバエとタネバエの分布

実験期間中のタマネギバエとタネバエ野生虫の名トラップ別の捕獲数を表5-1に示した。捕獲虫数とトラップの位置との関係は両種とも非常に似ていた。また、性による分布の違いもないようであり、それぞれの間の相関係数は0.75以上であった(表5-2)。さらに、マーク虫と野生虫とのトラップ位置に関する相関も高かった。

以下に分布の一般的傾向を述べる。およそ40%以上のハエが中央の4個のトラップにより捕獲され(トラップ番号1~4)、62%以上がタマネギ畑内で捕獲されている。

畑の外側のトラップでは南側のトラップ(13, 14)の捕獲数が北側(11, 12)のトラップよりも多かった。タマネギバエの誘引トラップへの接近には走風性(anemotaxis)が重要な働きをしていることが知られているので(Dindonis and Miller, 1980b), このような結果は実験期間中を通じて南東または南南東が優勢であったことにより説明できるかもしれない。この実験結果は、タマネギバエ・タネバエ両種の誘引剤、2-フェニルエタノールに対する反応が似ているか、あるいは、両種の圃場内での分布が類似していることを示唆していると考えられよう。捕獲された雌雄成虫数はこの実験ではほぼ同数であり、前回の結果「雄が雌の約1.5倍」とは異なっている(第4章, Ishikawa et al., 1983b)。少なくともタマネギバエに関しては、この現象は性比の偏りによって説明できる。すなわち、2-フェニルエタノールの誘引力は雄に対する方が雌の約1.5倍高いのであるが、後述もするように実験期間中のタマネギバエ野生虫の性比が雄:雌=1:1.5であったため、両方の効果が相殺されて、見かけ上捕獲虫数の性比が1:1になったものと推察された。

b) 放飼虫の分散

放飼したタマネギバエの分散の様子を図5-2に示した。図5-2では放飼点から距離dにあるトラップの捕獲虫数は次式で表わされる指数 Y_d に変換し、 Y_{d+1} の対数を縦軸にとってある。 $Y_d = m_d \cdot 10^3 / (M_0 \cdot T_d)$ ここで、 m_d , M_0 , T_d はそれぞれ、距離dにあるトラップ(複数)に再捕獲された放飼虫の合計数、放飼虫数、距離dにあるトラップの個数である(Nakamori and Soemori, 1981)。放飼された個体は非常に徐々に分散し、日が経過するにつれて放飼点に近いトラップの捕獲数

表5-1 タマネギバエ・タネバエの各トラップ別捕獲数¹

トラップ 番号	タマネギバエ野生虫		タネバエ野生虫		タマネギバエ標識虫	
	雌(%)	雄(%)	雌(%)	雄(%)	雌	雄
タマネギ圃場内						
1	47(12.2)	27(8.5)	143(16.3)	121(12.8)	5	1
2	55(14.3)	33(10.4)	90(10.4)	98(10.4)	4	6
3	43(11.2)	39(12.3)	105(11.9)	111(11.8)	2	3
4	46(11.9)	27(8.5)	84(9.6)	93(9.9)	4	4
5	26(6.8)	17(5.4)	76(8.6)	73(7.7)	4	2
6	20(5.2)	7(2.2)	41(4.7)	40(4.2)	0	0
7	23(6.0)	23(7.3)	49(5.6)	51(5.4)	1	0
8	20(5.2)	24(7.6)	52(5.9)	52(5.5)	2	1
タマネギ圃場外						
9	5(1.3)	8(2.5)	23(2.6)	42(4.5)	0	1
10	14(3.6)	17(5.4)	20(2.3)	40(4.2)	1	1
11	6(1.6)	10(3.2)	35(4.0)	53(5.6)	0	0
12	6(1.6)	10(3.2)	21(2.4)	26(2.8)	0	0
13	36(9.4)	36(11.4)	71(8.1)	57(6.0)	2	6
14	26(6.8)	28(8.8)	43(4.9)	49(5.2)	2	1
15	5(1.3)	6(1.9)	14(1.6)	17(1.8)	0	0
16	7(1.8)	5(1.6)	12(1.3)	20(2.1)	0	0
合計	385(100)	317(100)	879(100)	943(100)	27	26

¹ 試験期間1982年8月4日~15日 (Ishikawa et al., 1984)

表5-2 タマネギバエ・タネバエ雌雄の捕獲位置に関する相関関係¹

		タマネギバエ		タネバエ	
		雌	雄	雌	雄
タマネギバエ	雌	-	0.86	0.90	0.90
同上	雄	0.86	-	0.75	0.75
タネバエ	雌	0.90	0.75	-	0.96
同上	雄	0.90	0.75	0.96	-

¹ 表5-1のデータを解析した。

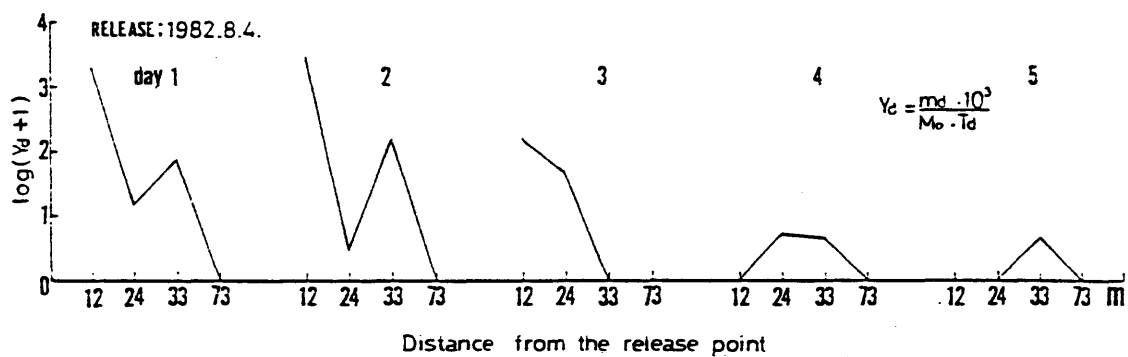


図5-2 放飼標識虫の分散の様相。 Y_dは放飼点からの距離 dにあるトラップの捕獲虫数から計算された、捕獲虫の多さを示す指数(本文参照)。

が減少していく様子がうかがえる。しかし、この実験では放飼1日後には放飼虫の再捕獲が全くみられなくなってしまった。これには放飼虫の死亡によるものと、実験区域からの飛び出しの両要因が関与していると思われる。放飼から再捕獲されたトラップまでの距離の平均は19.3mと推定された。この低い値は、必ずしもタマネギバエの飛翔能力が低いことを意味せず、ランダム飛翔が一般に考えられているよりも限定されており、タマネギバエがタマネギ畑の近辺にとどまる傾向があることを示唆していると考えられる。このため、タマネギ畑近辺のトラップの有効範囲に偶然に入った個体が誘引・捕獲され、見かけ上平均飛距離が低くなった可能性がある。Vernon and Borden (1983)も、やはり標識虫を用いた実験により、タマネギ畑に放飼されたタマネギバエの移動・分散の傾向が弱いことを認めている。また、タマネギバエの近縁種ダイコンバエ、Hylemya brassicaeの分散を研究したHawks (1972)は、6~8日令の成虫の1日当たり平均飛距離は8~20mであり、寄主植物の畑の上にあるときはハエの移動速度が低下すると報告している。その後、Finch and Skinner (1975)は、より若令のダイコンバエ成虫(3~6日令)は1日に100m以上移動することを示し、ハエの日令によって活発に移動する時期と、移動が少ない時期の2相に分けられると結論している。本研究では、7~8日令のハエが用いられたので、分散距離が小さく評価されたのかもしれない。いずれにしても、放飼虫の日令を考慮した試験を再度行なう必要がある。

c) 個体群パラメーターの推定

浜田の Z_i 指数は $Z_i = m_i \cdot 10^4 / (M_0 \cdot u_i)$ --- (式1)

により定義されている。ここで、 m_i 、 M_0 、 u_i は、それぞれ第*i*日に再捕獲されたマーク虫数、放飼虫数、第*i*日に捕獲された野生虫数である。図5-3には放飼後日数*i*と $\log Z_i$ との回帰を示した。第1日の雌のデータを除外すると、両者間の相関はかなり高かった(0.8以上)。この異常値の原因は不明である。今ここで、放飼虫の生存率(S)、野生虫個体群の1日当たり増減率(V)、1日当たり再捕獲率(R 、野生虫、放飼虫に共通)を一定と仮定すると、式1は

$$\log Z_i = i \log \{ S(1-R) / V \} + \log \{ 10^4 / U_0 (1-R) \}$$

と変形できる。ここで、 U_0 は放飼日(第0日)における野生虫の総個体数である。

したがって、回帰直線の傾きと切片はそれぞれ $\log \{ S(1-R) / V \}$ と

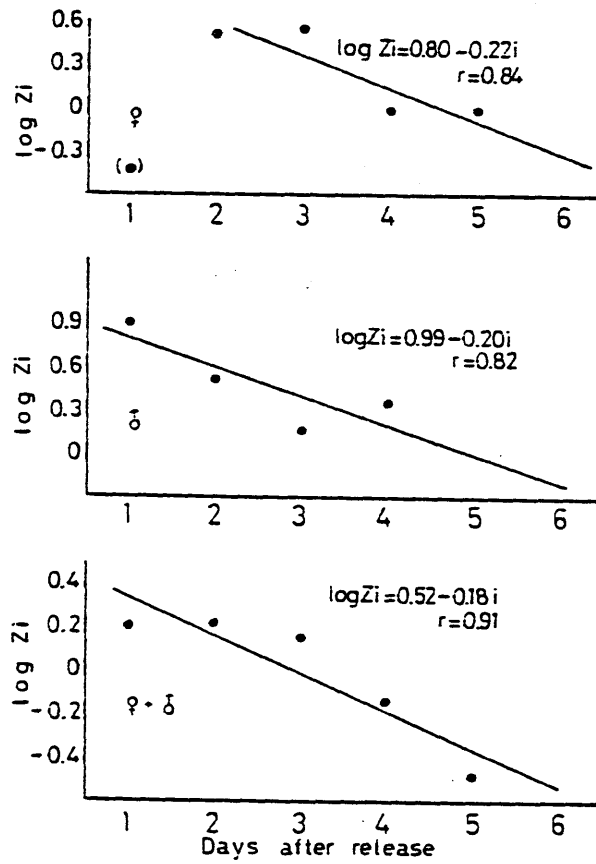


図5-3 浜田の Z_{i-1} 指数と放飼後日数 i の回帰。 Z_{i-1} 指数は第 i 日に捕獲された標識虫数から算出した (浜田, 1976)。

$\log \{10^4 / U_0 (1-R)\}$ となっている。 個体群パラメーターを求める手順としては、まず、 V , u_0 を u_i と i の間の回帰直線の傾きと Y 切片から求める。 ついで、他のパラメーターは上述の式と関係式 $R = u_0 / U_0$ より求まる (詳細は田中ら, 1978 参照)。 表5-2にこのようにして求められたタマネギバエ個体群パラメーターを示した。 トラップの有効範囲内の雄, 雌, 雌雄合計の推定値を別々に求めると、それぞれ1160, 1720, 3260頭となった。 したがって、性比は約1.5である。

一般に雄は雌よりも早く発生し、死亡するので、雌の比率が高かったことは、タマネギバエの一代が終末期にあったことを示していると考えられる。 放飼時点における個体群の減少率は約0.72と推定されたが、この値は別に設けられた発生予察トラップによる個体群変動の傾向と良く一致していた (堤, 三井, 1982)。 放飼虫の再捕率は雄10.4%, 雌7.0%と推定された。

考察

2-フェニルエタノールを誘引剤としたトラップはタマネギ畑の周辺部よりも内部でタマネギバエを多数捕獲できた (表5-1)。 この結果は寄主の匂い成分を誘引源としたトラップの結果とは対照的である。 Loosjes (1976) は dipropyl disulfide を誘引剤として用いたタマネギバエの実験において、また、 Dapsis and Ferro (1983) はアリルイソチオシアネートを用いたダイコンバエ, Hylemya brassicae の誘引試験で、畑内のトラップより畑の周辺に設置したトラップの捕獲虫数が多いことを報告している。 この原因としては、寄主の匂いと、トラップの誘引源との間で競合が起こるためと推論されている。 2-フェニルエタノールは腐敗タマネギ磨砕汁から抽出されているので、寄主としての誘引ではなく、食餌誘引物質として働いている可能性もあろう。

タマネギバエ・タネバエの野外における行動についてはほとんど明らかにされていない。 特に配偶行動と探餌行動についての知識は、効果的な防除を行なうためにも必要である。 タマネギ畑内のトラップの捕獲数が外側よりも多かったが、これは以下の理由から2種のバエの生息場所選択を忠実に反映しているものと思われた。 標識虫も野生虫もトラップされる場所の傾向がほとんど同じであるが、もし野生虫が他作物の畑からトラップへ飛来したとするとタマネギ畑周辺の捕獲がもっと多くなっているはずであり、したがって捕獲

表5-3 タマネギバエの各種個体群パラメーターの推定値¹

	M_0	M_c	$U_0(1-R)$	u_0	U_0	V	R	S
雌	413	27	1,600	120	1,720	0.66	0.070	0.42
雄	295	26	1,040	120	1,160	0.68	0.104	0.48
雌雄	708	53	3,020	240	3,260	0.72	0.074	0.52

¹ M_0 : 放飼標識虫数, M_c : 再捕された標識虫数, u_0 : 放飼日に推定される野生虫の捕獲数, U_0 : 放飼日における野生虫数の推定値
 V : 個体群の増減率, R : 推定捕獲率, S : 推定日生存率

されたタマネギバエは試験開始前から畑内に存在していた可能性が高いことを示している。タマネギ畑は配偶の場所としてハエが集まっている可能性がある。逆に、タマネギ畑中には食餌となるものがほとんどないので、タマネギ畑の外へ探餌に行く必要がある。特に雌成虫は蜜やタンパク源がないとその卵巣を発育させることができない (Theunissen, 1973)。この点、タマネギバエの食餌源としては、実験室内での飼育結果からみて数種の野草の花が考えられている。例えば、オカトラノオ, Lysimachia sp.; タンポポ, Taraxacum officinale; アカツメクサ, Trifolium pratense; オオハナウド, Heracleum lanatum; オオアワダチソウ, Solidago altissima; ナズナ, Capsella bursa-pastoris; ライラック, Syringa vulgaris などが挙げられる (堤, 1983)。

本章の結論として、2-フェニルエタノールはタマネギバエ・タネバエに対して強い誘引力を有しており、両種の発生予察などには十分利用可能であると考えられた。また、本誘引剤の誘引力では成虫大量誘殺法による防除に利用するには、なお不十分であると考えられた。しかし、次章で明らかにされるように、2-フェニルエタノールにn-吉草酸を添加すると、その共力作用により誘引力は約4倍に上昇するので、本誘引剤利用による防除の可能性も残されていると思われた (第8章)。

摘要

本章では、2-フェニルエタノールのタマネギバエ・タネバエに対する誘引力の評価と、タマネギバエの個体群パラメータ推定のため、標識再捕試験を行なった。結果の概要は以下の通りである。

- (1) タマネギバエ・タネバエの両種、両性が2-フェニルエタノールに誘引された。
- (2) タマネギバエ・タネバエともに、その分布はタマネギ畑に集中する傾向がみられた。
- (3) 放飼した標識虫の分散は非常にゆるやかであった。また、放飼点から捕獲点までの平均距離は19.3mであった。
- (4) タマネギバエについては、以下の情報が得られた。 個体数： 雄1160頭、雌1720頭、 捕獲率： 雄10.4%、雌7.0%、 日生存率： 雄0.48、雌0.42。

以上の結果から、2-フェニルエタノールを誘引剤として用いれば、雄の約10%、雌の約7%を捕獲することができると推定された。この値では大量捕獲による両種の防除は困難であると考えられる。しかし、次章で明らかにされるように、*n*-吉草酸を添加すれば、本誘引剤の誘引力は約4倍に増加するので、防除の可能性は飛躍的に高まることが予想される(第8章)。