

マメノメイガの繁殖行動と性フェロモン  
に関する研究

足 達 太 郎

# マメノメイガの繁殖行動と性フェロモンに関する研究

足達 太郎

第1章 総論 1

1. はじめに 1

2. 研究の目的と意義 2

第2章 繁殖行動の観察 3

1. 観察の方法 3

2. マメノメイガの生活史 4

3. 交配行動 5

4. 産卵行動 6

第3章 性フェロモンの研究 7

1. フェロモンの抽出と分析 7

2. フェロモンの生物活性 8

3. フェロモンの化学構造 9

4. フェロモンの合成 10

5. フェロモンの効果 11

第4章 フェロモンと繁殖行動の関係 12

1. フェロモンと交配行動 12

2. フェロモンと産卵行動 13

3. フェロモンと求偶行動 14

4. フェロモンと繁殖率 15

第5章 繁殖行動とフェロモンの関係 16

1. フェロモンと繁殖行動の相関性 16

足 達 太 郎

## 目 次

第1章 序 論	1
1. マメノメイガによる損害とその研究	1
2. ガルの繁殖行動の行動学と化学生態学	8
3. 本研究の目的	11
第2章 材料の採集と室内累代飼育	14
1. 採 集	14
2. 室内累代飼育の方法	16
第3章 繁殖行動の解析	22
1. 交尾前期間	23
2. コーリング行動と交尾前産卵	29
3. 交尾行動	39
4. 考 察	44
第4章 雌性フェロモンの同定	54
1. ガーナ系統雌抽出物中の主要成分の同定	54
2. 合成フェロモンによる行動反応	76
3. フェロモン微量成分の探索	80
4. 本郷系統雌性フェロモンの同定	85
5. 考 察	88
第5章 フェロモン活性におよぼす幾何異性体の影響	95
1. 合成品中の不純物の誘引阻害効果	95
2. 合成フェロモンにくわえた幾何異性体の誘引阻害効果	99
3. 雌抽出物にくわえた幾何異性体の誘引阻害効果	100
4. 考 察	103
第6章 繁殖行動におよぼす寄主植物の影響	109
1. コーリングおよび交尾前産卵行動におよぼす寄主植物の影響	110

2. 交尾前産卵の開始におよぼす寄主および非寄主植物の影響…… 113

3. 雌ガにおける植物刺激の感知器官…… 116

4. 考 察…… 119

## 第7章 総合考察…… 124

1. マメノメイガの生物学的特性…… 124

2. 性フェロモンの害虫管理への利用…… 125

3. 繁殖行動システムに関する仮説…… 128

摘 要…… 131

謝 辞…… 136

追 記…… 138

引用文献…… 139



## 図表目次

図 1.1	マメノメイガ成虫	2
図 1.2	ササゲの花を食害する幼虫	2
図 1.3	マメノメイガに関する報文の数の推移	5
図 2.1	交配・産卵用容器と交配の様子	19
図 2.2	接種後 5 日の幼虫	19
図 2.3	接種後 12 日の幼虫	20
図 2.4	蛹化後 2 - 5 日と羽化前日の蛹	20
図 3.1	行動観察用容器と雌ガ	24
図 3.2	各日齢における雌ガの移動行動の経時変化	27
図 3.3	各日齢における雌ガの繁殖関連行動の観察	28
図 3.4	雌ガ個体における産卵数・腹部 末端節の露出・移動行動の経時変化	34 - 35
図 3.5	各日齢における雌ガのコーリング行動の経時変化 (本郷系統)	37
図 3.6	各日齢における雌ガのコーリング行動の経時変化 (ガーナ系統)	38
図 3.7	各日齢における交尾観察数	41
図 3.8	各日齢における交尾時間帯	41
図 3.9	マメノメイガの配偶行動連鎖	52
図 4.1	性フェロモンに対する雄ガの行動反応を指標とした生物検定法	56
図 4.2	雌抽出物に対する雄ガの行動反応の経時変化 (ガーナ系統)	61
図 4.3	ガーナ系統雌抽出物のガスクロマト グラムと EAD で検出された活性ピーク	63
図 4.4	カラムクロマトグラフィーによる既知物質の分離状況	65
図 4.5	ガーナ系統雌抽出物ピーク 3 および E10E12-16:Ald の EI 質量スペクトル	67
図 4.6	ガーナ系統雌抽出物ピーク 3 および E10E12-16:Ald の CI 質量スペクトル	68
図 4.7	CI-MS による直鎖共役ジェン化合物の開裂パターン	71
図 4.8	E10E12-16:Ald 合成品の GC-EAD チャート	75
図 4.9	ガーナ系統雌抽出物および 10,12-16:OH のマスフラグメントグラム	83
図 4.10	本郷系統雌抽出物のガスクロマトグラム	87
図 4.11	本郷系統雌抽出物ピークの EI 質量スペクトル	87
図 5.1	10,12-16:Ald 合成品とそれにふくまれる 不純物および幾何異性体の GC ピーク	97

図 6.1 寄主植物の有無とコーリング行動の経時変化	112
図 6.2 寄主植物の有無と交尾前産卵数の日齢変化	112
表 1.1 マメノメイガに関する報文のうちわけ	5
表 3.1 交尾前産卵数の日齢変化	32
表 4.1 雌抽出物に対する雄ガの行動反応 (ガーナ系統)	61
表 4.2 ガーナ系統雌抽出物のカラムクロマト グラフィー画分の GC による分離状況	63
表 4.3 シリカゲルクロマトグラフィーで分離された雌抽出物 画分に対する雄ガの行動反応 (ガーナ系統)	65
表 4.4 10,12-ヘキサデカジエナールの各幾何異性体ピーク およびガーナ系統雌抽出物ピーク 3 の GC 保持時間	71
表 4.5 雌 1 頭あたりの E10E12-16:Ald の抽出量	74
表 4.6 E10E12-16:Ald 合成品 (未精製) に対する行動反応 (ガーナ系統)	74
表 4.7 精製後の E10E12-16:Ald 合成品に対する行動反応 (ガーナ系統)	79
表 4.8 雌抽出物虫の E10E12-16:OH の存在量	84
表 4.9 E10E12-16:Ald 単独および E10E12-16:OH との混合物に対する行動反応 (ガーナ系統)	84
表 4.10 E10E12-16:Ald との関連が報告されたガ類	94
表 5.1 E10E12-16:Ald 合成品中の不純物をふくむ画分の誘引阻害効果	97
表 5.2 合成性フェロモン E10E12-16:Ald にくわえた幾何異性体の誘引阻害効果	101
表 5.3 雌抽出物にくわえた性フェロモン E10E12-16:Ald 幾何異性体の誘引阻害効果	101
表 6.1 各植物をあたえた場合の雌ガの産卵前期間	115
表 6.2 寄主植物による産卵前期間の短縮に およぼす触角およびふ節切除の影響	118

## 第1章 序 論

### 1. マメノメイガによる損害とその研究

#### 損害の現況

マメノメイガ *Maruca testulalis* (GEYER)<sup>1)</sup> は、鱗翅目 Lepidoptera メイガ科 Pyralidae ノメイガ亜科 Pyraustinae に属する小型のガである (図1.1)。その幼虫はマメ科 Leguminosae 植物を寄主とし、おもに花やさやに食入して内部の花柱や未熟の種子をたべる (図1.2)。このため本種は、マメ科作物の生産に損害をおよぼす農業害虫となっている。

本種は、熱帯から温帯にかけて、世界じゅうの大陸および島嶼部にひろく分布する汎存種である (井上、1982; SINGH et al., 1990 ほか)。そのため本種による作物の損害もまた、世界各地にひろがっている。近年、その損害に関する報告がとくにおおいは、アフリカ、インド、東南アジア、南アメリカの各熱帯地域である。これらの地域ではそれぞれ、現地の主要なマメ科作物であるササゲ *Vigna unguiculata*、キマメ *Cajanus cajan*、リョクトウ *V. radiata*、インゲンマメ *Phaseolus vulgaris* に対する加害がいちじるしい<sup>2)</sup>。



図1.1 マメノメイガ成虫（展翅標本）



図1.2 ササゲの花を食害する幼虫  
(1991年、ガーナ共和国 Fumesua にて)

## 損害の歴史的推移

本種による損害の記録のうち、確認できたかぎりでもっともふるいものは、第1次世界大戦中のスマトラ島においてのものである（DIEZ, 1914）。それによれば、それまでおこなわれていたタバコのプランテーションが、大戦の影響で食用および飼料用のケツルアズキ *Vigna mungo* に大規模に転換された結果、本種の発生とそれによる損害がもたらされたという。

いっぽう熱帯アフリカでは1970年代より、ササゲをはじめとするマメ科作物の生産が拡大されるようになった。本種による損害はそれにもなって重要視されるようになり、近年は国をこえた地域レベルで、食糧増産に脅威をおよぼすもっとも重要な害虫のひとつとして認識されている。

また日本でも、1960年ごろまで、本種は北海道をふくむ全国でアズキなどを加害する畑作害虫として知られていた（桑山、1943；石原、1963）。しかし近年は、南西諸島をのぞくと、特産品のアズキで損害が報告されている丹波地域以外には損害はほとんどみられない（片山・鈴木、1984）。これはおもに、本種が加害するアズキやササゲの作付面積が、1960年代以降、大幅に減少したことに関係があるとおもわれる。

以上にみられるように、本種による損害の歴史的推移は、世界各地におけるマメ科作物生産の盛衰と密接にかかわっている。世界的にみれば、マメ科作物の生産量は増加の一途をたどっており、今後マメ科作物が増産されたり、あたらしく導入される地域では、本種によるあらたな損害の発生に予断をゆるさないといえよう。

## 研究の発展と地域性

前項でのべたとおり、本種による損害がとくに重要視されるようになったのは、熱帯諸国でマメ科作物が増産されるようになった 1970 年代以降である。本種に関する研究報告の数もまた、それと呼応しておおきく増加している（図 1.3）。その内容は圃場における発生・加害の記録や、殺虫剤、天敵、耕種の手法などをもちいた各種の防除法に関する研究がおおきく、生理・生態に関する基礎研究は比較的すくない。また研究形態をみると、圃場・野外における調査がおおきく、室内での実験的研究はすくない（表 1.1）。

研究が実施された機関の所在地をみると、アフリカ各国とインドで全体の 90 % ちかくをしめ、ついで東南アジアやオセアニア、南アメリカなどの熱帯諸国で研究がおこなわれている。これは本種による損害がはげしい地域と一致するものであるが、これらの諸国に共通するのは、ほとんどがいわゆる開発途上国に属するということである。一方、いわゆる先進国では本種に関する研究はほとんどおこなわれていない。こうした状況は、上にのべた研究内容の傾向とふかかかわっているものとおもわれる。

研究機関では、国際昆虫生理生態学センター（ICIPE、ケニア）や国際熱帯農業研究所（IITA、ナイジェリア）をはじめ、国際半乾燥熱帯作物研究所（ICRISAT、インド）や国際熱帯農業センター（CIAT、コロンビア）などの国際研究機関がおおいことが注目される。これは、本種による損害が 1 つの国や地域に限定されるものではなく、きわめて広範にわたるため、国際的な研究協力体制が必要とされていることの証左であろう。



図 1.3

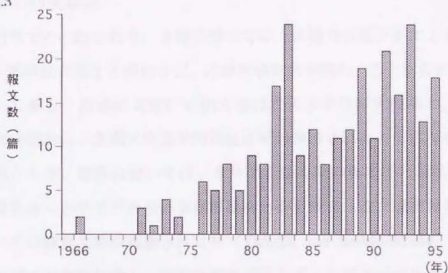


図1.3 マメノメイガに関する報文の数の推移(1966-95年)。 *Review of Applied Entomology*, Series A, vol. 54 (1966)-77(1989), *Review of Agricultural Entomology*, vol.78(1990)-83(1995)より作図。年号は上記抄録誌への収録年。

表1.1 マメノメイガに関する報文のうちわけ (1983-92年) a

国 名	報文数	総 数	種 別	応用的研究										基礎的研究										海外調査	国内調査		
				害記録	防除	発生・伝	一般防除	農林業上防除	コナ	害種別	近世性	生物防除	形態	成虫	飼育法	発生	行動	交配	繁殖	天敵	物理的	化学的	電気				
																							防除			一般防除	農林業上防除
インド	38 (1)	1	7	2	11	2	6	13	0	0	2	0	0	0	1	2	0	1	0	32	4						
タイジャニア	33 (24)	1	3	2	1	3	6	5	1	0	2	1	0	2	1	1	3	0	0	22	4						
ケニア	29 (27)	1	0	0	0	1	0	5	7	0	0	1	1	8	1	1	4	2	3	13	14						
タンザニア	8	0	0	1	8	1	3	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0						
シムバウェ	5	0	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0					
オーストラリア	4	0	3	3	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0					
メキシコ	3	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0					
ボツワナ	3	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0					
ブラジル	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0					
コロンビア	2 (1)	0	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0					
フィジー	2	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0					
モーリシャス	2	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	1					
ニュージーランド	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0					
オーストラリア	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0					
ブルキナファソ	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0					
中 国	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0					
ジャコウネコ	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0					
フランス	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0					
ドイツ	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0					
マレーシア	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0					
フィリピン	1 (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0					
オランダ	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0					
総 計	143 (84)	7	26	14	31	7	22	31	5	2	8	2	9	3	4	12	5	10	2	105	28						

a. *Review of Applied Entomology*, Series A, vol. 71(1983)-77(1989), *Review of Agricultural Entomology*, vol. 78(1990)-83(1995)より作表。

b. 第1著者の所属機関所在地・地域。

c. ( )内はうち国際研究機関・CIAT (コロンビア)、ICPE (ケニア)、ICRISAT (インド)、ITA (タイジャニア)、IRRI (フィリピン)。



## 近年の研究動向

前項でのべたとおり、本種に関しては、圃場での見とりによる発生状況や防除法に関する報告など、応用的研究が初期のころよりおこった。しかし最近、前述の ICIPE や IITA をはじめとする研究機関で、さまざまな側面から、生理・生態学的基礎研究が開始されるようになった。

たとえば、野外においては、ササグの結実期の各ステージにおける、本種をふくむササグ害虫の個体群動態と子実被害、害虫種間競争などについての群集生態が調査されたり (DREYER and BAUMGÄRTNER, 1995)、ササグの品種抵抗性と、開花時期や草型などとの関連が解析されている (JACKAI, 1981; OGHIAKHE et al., 1991; 1992)。

また本種の寄主について、西アフリカのベニンにおいて乾季の野生植物における広範な採集調査がおこなわれた結果、22種の植物が記録され、そのうち17種がマメ科 Leguminosae に属し、さらにそのうちの14種はマメ亜科 Papilionoideae に属するものであった (ATACHI and DJIHOU, 1994)。

一方、野外および室内において実験生理・生態学的な研究をおこなうためには、供試虫の大量累代飼育が不可欠であるが、本種に関しては、はじめササグの花やさやをえさとした累代飼育がおこなわれ (OCHIENG' et al., 1981)、つぎにササグの乾燥種子粉末を素材にした半合成 (人工) 飼料をもちいた飼育方法がこころみられた (JACKAI and RAULSTON, 1988)。しかしこれらの飼育法では、交尾率がひくく十分な数の受精卵がえられないことや、卵が透明でごくちいさいために識別がむづかしいことなどから、大量飼育をおこなうことが困難であった (JACKAI and RAULSTON, 1988; JACKAI and SINGH, 1991)。その後 ICIPE などでは、大規模に労働

力を投入することによって、人工飼料による大量累代飼育の体制を確立している (ONYANGO and OCHIENG<sup>1</sup>, ODERO, 1993)。

本種の繁殖行動に関しては、JACKAI et al. (1990) の報告がある。かれらは野外と室内のケージで雌雄のガの配偶行動を観察し、交尾率の経時変化や、交尾率と交配する雌雄の個体数・性比とのあいだの相関をしらべた。しかし、かれら自身がのべているように、交尾率がひくいことや卵の識別が困難なことから、観察の例数がすくなく、データの再現性について難点がある。このほかに本種の繁殖行動については、ほとんどみるべき成果がない。OKEYO-OWUOR and AGWARO (1982) は、未交尾雌を誘引源としたトラップをササゲ畑にしかけて雄ガの捕獲数を調査しているが、対照試験がおこなわれていないため、性フェロモン存在の証明としてはデータの有効性がひくい。

1) 最近刊行された HEPNER (1995) のリストでは、*Muruca vitrata* を本種の上位同物異名とし、これを有効な学名としてあつかっている。しかし、現時点ではほとんどの総説や原著論文、報告その他の文献で *M. testulalis* が採用されていることや、本種の分類学上の異同を論じることが本論文の主目的ではないことから、混乱をさける意味でも、本論文では *M. testulalis* を採用した。

また、*M. testulalis* (原記載時は *Crociphora testulalis*) の命名者ははじめ HÖBNER とされていたが、かれの死後、仕事をひきついで完成させた GEYER によるものとして、その後変更されたという経緯がある (TAYLOR, 1978)。しかし一部では、前者を採用している例もあって混乱がみられる。本論文では、近年の文献でより一般的に流布しているとおもわれる後者を採用した。

2) 本論文におけるマメ科作物の学名・和名・慣用名は、引用文献中の記述形式にかかわらず、すべてデューク (1986) にしたがった。

## 2. ガ類の繁殖行動の行動学と化学生態学

### ガ類の繁殖行動

一般に動物の繁殖行動とは、動物が個体または個体群の再生産のためにおこなう交尾、産卵、出産、育児などの行動をふくむ。昆虫のガ類においては、このうちの交尾および産卵が繁殖行動の中核をなしているが、とくに交尾については、広範で複雑な生息環境においてかぎられた時間内に完遂するために、一連の特有な行動の連鎖がみられる。すなわち、交尾相手の識別、誘引、相手に対するなだめなどの諸行動である。このような交尾にいたる連鎖行動を、通常一括して配偶行動とよんでいる。そこで本論文でも通例にしたがひ、繁殖行動という用語を、配偶行動と産卵行動との総称としてあつかうことにする。

### ガ類の配偶行動と性フェロモン

配偶行動の際に、両性のあいだで相互の行動に影響をおよぼす化学物質が性フェロモンである。性フェロモンには雌が放出して雄に影響をおよぼす雌性フェロモンと、雄が放出して雌に影響をおよぼす雄性フェロモンとがある。鱗翅目のガ類では、雌性フェロモンはおもに遠距離からの雄の誘引と近距離での配偶行動の解発に作用し、雄性フェロモンは近距離で雌の移動をおさえ交尾器のうけいれを促進するなだめの機能をもつケースがおおい。

ガ類の雌性フェロモンは、1959年にドイツの BUTENANDT et al. がカイコガ *Bombyx mori* の雌性フェロモンの単離および構造決定に成功して以

来、数おおくの種で同定されている。1991年までにガ類で雌性フェロモンが同定された種（亜種をふくむ）は397種にのぼる（ARN et al., 1992）。その化学構造にはさまざまなものがあるが、炭素数12-18の炭化水素、エポキシド、アセタート、アルデヒド、ケトンなどの直鎖の脂肪族化合物が一般的である（TAMAKI, 1985）。一方雄性フェロモンは、アルカロイドや精油など植物由来の成分であることがおおい（BAKER, 1985）。

### ガ類の産卵行動と化学生態学

ガ類の産卵行動については、産卵の場所や対象の選択、すなわち産卵選択が重要である。一般にガ類の幼虫は移動性がちいさいため、生活史を通じてのすみ場所の選択に、成虫の産卵選択が鍵となるとかんがえられるからである。

ガ類の産卵選択行動に関する化学生態学研究としては、植物に存在する誘引成分あるいは産卵刺激成分についての研究が比較的よくおこなわれている。たとえば、アブラナ科 *Cruciferae* 植物に存在する代表的なカラス油であるアリルイソチオシアネートが、コナガ *Plutella maculipennis* (= *P. xylostella*) の産卵を誘起する産卵刺激物質であることがあきらかにされている（GUPTA and THORSTEINSON, 1960）。

一方、産卵行動が同種他個体の放出する化学成分の影響を受ける例として、スジコナマダラメイガ *Ephesia* (= *Anagasta*) *kuehniella* の密度調節フェロモンがしられている。すなわち、同種の幼虫は高密度であると大あご腺から分泌物を放出するが、雌成虫は高濃度の分泌物が存在する場所では産卵が抑制されるため、この分泌物は同種の個体群密度を調節す

るはたらきがあるとかんがえられている (CORBET, 1973)。

### 化学生態学の応用と課題

以上のような、ガ類についてこれまでにえられた化学生態学的知見の一部は、農業生産現場における害虫の管理に応用されている。とくに性フェロモンは、合成殺虫剤にかわる種特異的でごく微量で効果のあるあらたな害虫制御剤として期待されている。性フェロモンの害虫管理への利用形態には、①害虫の大量誘殺、②害虫の交尾阻害、③誘殺調査による発生予察があげられる。このうち①と②は害虫をフェロモンで直接制御するものであり、いずれも一部の作物害虫で実用化されている。③は予察による間接制御であるが、普通作物や園芸作物の害虫管理でひろく普及している。

一方、産卵刺激物質や密度調節フェロモンが直接実用化されている例はまだないが、抵抗性品種を作出する際に産卵抑制成分をふくむ植物形質を導入したり、害虫の密度抑制にフェロモンを利用することは理論的に可能であり、技術的基盤の確立が期待されている。

さて、以上のようなガ類の性フェロモンや行動・密度制御物質の利用が、近年における化学生態学の目ざましい発展を背景としていることはいうまでもない。その発展はおもに、さまざまな化学分析機器や行動解析技術の発達によるところがおおきい。しかしあらたな技術の獲得は、たえずあらたな課題をうむ。現に現在の最先端技術をもってしても解明しえない課題はすくなくない。たとえば性フェロモンの同定において、それが応用的に重要でありながら、いまだに未解明の種が数おおくある。これらの種は、ガの行動学的特性やフェロモンの化学的特性によって、

フェロモンの解析が非常にむづかしいものであるケースがおおい。

また、もうひとつ別の種類の課題がある。たとえば上記の例でいうと、性フェロモンが未同定であるガ類のなかで、重要害虫でありながら、その損害がおおい地域に化学生態学研究の技術的背景がないために、その研究が実施されないケースがある。これは化学生態学の発展が、世界的にみて、一部の先進国にかたよっている現状に起因するものである。したがって、この現状を克服するために、研究者は自分の居住する地域以外に存在する、みずからの研究分野にかかわる課題にも注意をむけるべきであろう。

### 3. 本研究の目的

#### 研究の目的

本研究の目的は、おおきくわけて2つある。ひとつは、マメノメイガの雌性フェロモンの同定である。もうひとつは、本種の繁殖行動システムの解明である。

第1の目的に関して、本種は世界の主要な食糧生産地域である熱帯において、作物生産に脅威をおよぼす重要害虫でありながら、これまで化学生態学的研究がおこなわれることがなかった。そこで本研究は、本種の雌性フェロモンの同定をおこない、さらにそれを総合的管理システムへの利用が可能なかたちにするための基礎的知見をえようとするものである。



第2の目的は、本種の繁殖行動のおもな要素である配偶行動と産卵行動とを、とくに環境との相互のかかわりに注目して解析し、本種がどのような繁殖戦略をとっているかを明らかにしようとするものである。本種の繁殖行動システムが解明されることは、本種のような狭食性で広域に分布し、かつ移動性を内在するタイプの昆虫の繁殖戦略の解明に有効な知見をあたえることになる。

### 本論文の構成

本論文は7つの章からなっている。

第1章は、すでにここまでのべてきた序論であるが、マメノメイガをとりまく社会および研究状況を記述することに、あえておおくをさいた。これは、世界の食糧生産におよぼしているその影響のおおきさの割には、本種の重要性がとくに先進諸国では十分に認識されていないこともあり、ささやかな総説としての役わりを期待したものである。

第2章では、本研究の材料となる本種の採集データを記述し、また、実験・観察に材料を安定して供給するための室内累代飼育の方法についてのべる。

第3章では、本種の繁殖行動について解析をおこなう。ここでは、本種の行動学的な特性を解明するとともに、第4章の性フェロモン同定のために必要な予備的知見の獲得を目的としている。

第4章では、第3章でえられた知見をもとに確立された生物検定法と各種の分析方法とをもちいた本種の雌性フェロモンの同定についてのべる。

第5章では、雌性フェロモン同定の際に示唆されたフェロモン幾何異



性体がフェロモンの活性におよぼす影響について検討する。

第6章では、おもに第3章でしめされた本種の繁殖行動が、寄主植物によってどのような影響をうけるかをしらべた結果を報告する。

第7章は総合考察である。第3章から第6章までにえられた結果を総合し、本章で提起された課題に対し、本研究がどのような解答をあたえるかを考察したい。

## 第2章 材料の採集と室内累代飼育

### 1. 採 集

本研究で室内実験・観察にもちいたマメノメイガは、すべて野外で採集した個体群を室内で累代飼育した後代である。野外個体群の採集は以下にのべる3地点でおこなった。それら採集個体群の後代である実験個体群を、本論文ではその採集地名にちなみ、「ガーナ系統」「本郷系統」「丹波系統」とよぶことにする。

本節では、採集個体群を当研究室にもちかえて飼育および交配をおこない、第2代幼虫をえるところまでの概略を記述する。

#### ガーナ系統

ガーナ共和国 Ashanti 州 Fumesua にある Crops Research Institute 本部構内のササゲ畑において、1993年7月13日の日中（現地時間）、幼虫が採集された。

ササゲのさやとともに容器にいれて梱包された幼虫を空路で輸入した。当研究室到着時点での生存個体数は、蛹12頭および終齢幼虫7頭であった。なお、輸入に際しては、横浜植物防疫所を通じて農林水産大臣の

許可（農林水産省指令5横植第1965号）をえた。

当研究室においては、1個体ずつ容器にいれ、幼虫にはインゲンマメの未熟のさや、フジマメ *Lablab purpureus* の花、または当研究室で乾燥ダイズ粉末より作製した人工飼料をあたえた。室内の温度は  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  に保持し、1日13時間照明とした。羽化したガは、 $20\text{cm} \times 30\text{cm} \times 30\text{cm}$  のケージ内にはなし、えさとして砂糖水をあたえた。最終的に羽化したガの個体数は、雌5頭、雄3頭であった。

羽化後は毎日、暗期間にわたって交尾の有無を観察した。その結果、2組の交尾が観察された。交尾をおえた雌ガをただちに1頭ずつ透明容器に隔離した。2頭の雌ガはいずれも容器の壁面に受精卵を産卵し、第2代の孵化幼虫がえられた。

以後本系統は全研究期間を通じて、更新や外部から個体の追加をうけることなく、1つの系統として維持された。

#### 本郷系統

東京都文京区本郷の東京大学構内において、1993—96年の9月から10月にかけて、夜間、街灯に飛来する成虫を捕虫網で採集した。ただし'96年のみは、同採集地に自生するクズ *Pueraria lobata* から幼虫も採集した。

採集したガは当研究室にもちかえり、次節で詳述する交配・産卵用容器にはなし、えさとして砂糖水をあたえた。容器内にうみつけれられた卵は、そのまま孵化させ、次節でのべる市販の人工飼料をあたえた。

幼虫は容器内でクズの花をあたえて飼育し、その後終齢幼虫をべつの容器にうつしかえ、そこで蛹化および羽化させた。

'94年以降は、その年に採集した個体群はふるいものとまぜることはせず、あらたな系統として累代飼育を開始した。

各年に記録した採集個体数（成虫）は、'93年56頭、'94年67頭、'95年13頭、'96年20頭であった。

### 丹波系統

京都府亀岡市余部町の京都府農業総合研究所構内のアズキ畑において、1993年10月1日の日中、アズキのさやおよび花より幼虫を採集した。

当研究室にもちかえり幼虫数をかぞえたところ、116頭であった。当研究室で作製した人工飼料をあたえて飼育し、最終的に62頭の蛹がえられた。蛹からは雌ガ20頭、雄ガ16頭が羽化した。羽化したガはただちに2個の交配・産卵用容器にわけていれ、交配をおこなった。10日後、容器内につるしておいたろ紙より採卵し、第2代のふ化幼虫をえた。

## 2. 室内累代飼育の方法

累代飼育の方法に関しては、研究開始当初から飼料や飼育法の改良をかさねてきた。ここでは、改良の結果、現在継続中の方法をのべる。本研究でおこなったほとんどの実験・観察に供試された雌雄のガはこの方法で飼育されたものである。

### 飼育室

累代飼育はすべて、気温  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度 70—80% に制御された本種専用の飼育室内でおこなった。室内の空気は送風器により循環させた。照明は1日13時間とし、実験・観察の便のため、昼夜を外界と逆転（点灯 0600—1700）させた。

### 人工飼料

幼虫のえさには、齢期に応じて、市販されている2種類の人工飼料をつかいわけた。すなわち、若齢用としては広食性蚤用人工飼料シルクメイト L3(S)（日本農産工業株式会社製）、壮齢用としては幼虫用飼料インセクタ・LF（同社製）であり、いずれも湿体のソーセージ型飼料（直径 5 cm、長さ 23cm、1本 500g）である。

若齢用飼料は、波刃のチーズ用ナイフをもちいて、あつさ約 5mm の輪ぎりにし、さらに扇形に4等分した。壮齢用飼料は、チーズ用ナイフであつさ約 5mm、縦 5 cm、横 2 cm の長方形に、波刃による溝が横方向にできるようにきった。

### 交配と産卵

径 26.5 cm、高さ 15 cm の円筒型ポリエチレン容器（ビルポット丸型 No. 7、蝶ブラ工業株式会社製）のなかに、当日羽化または羽化後 1—2 日の成虫雌 10 頭、雄 15—20 頭をはなした。容器内には、容量 200ml のプラスチックカップに 5% 砂糖水をいれてペーパータオルをひたしたものの（以下、砂糖水カップ）をおき、また成虫の着地・産卵のために、直径 18.5cm のろ紙を2つおりにしてふたの内側からつるした。

ふたは中央部に径約 20 cm の穴をあけ、ふたと容器のあいだにナイロン紗をはった (図 2.1)。

1 週間後、容器から成虫をとりのぞき、底の中央に若齢用飼料を 3 個おいた。このとき、乾燥をふせぐため、ふたとナイロン紗のあいだにラップフィルムをはさんだ。

とりのぞいた成虫は、同様に用意されたあたらしい容器に、ふるい砂糖水カップとともにうつした。この容器はさらに 1 週間放置して産卵させたあと成虫を廃棄して、おなじく若齢用飼料をおいた。

#### 幼虫飼育

接種 (最初に若齢用飼料をおいた時点) から 4 日後に、若齢用飼料を 3 個、ふるい飼料のまわりに接するようにおいた。接種 7 日後には、壮齢用飼料を 5、6 個同様におき、以後 3、4 日ごとに適宜追加した (図 2.2、2.3)。

ふるいえさは、幼虫が過密や容器内が過湿にならないかぎり腐敗することはなかったが、中央部の若齢用飼料は接種後 10 日ごろ、幼虫がまわりの壮齢用飼料にうつったあとでとりのぞいた。

壮齢用飼料追加後は、ふたのラップフィルムにきりこみをいれるとともに、部分的にフィルムをめくるなどして過湿を防止し、適度な湿度にたもった。

#### 蛹のとりあつかい

接種 10 日後ごろ、幼虫の体色がうすくなり、蛹化のきざしがみえはじめたころ、容器中央部のえさをとりのぞき、そのあとに蛹化用の紙た



図2.1 交配・産卵用容器（左）と交配の様子（右）



図2.2 接種後5日の幼虫





図2.3 接種後12日の幼虫



図2.4 蛹化後2-5日(左)と羽化前日(右)の蛹

ばを2個おいた。この紙たばは、5cm×22cmのペーパータオルを横に8つにつづらおりにしたものを6枚つなげて輪ゴムでたばねたものである。

えさをとりのぞく前に幼虫がえさの下で蛹化するのをふせぐため、底からえさはがしてうらがえし、幼虫の定着を攪乱した。

幼虫が紙たばのなかへ移動し蛹化をはじめたら、紙たばをとりだし、別のプラスチックケースにうつした。5-6日後、紙たばをひらき、蛹を1頭ずつピンセットでとりだした。

蛹は羽化推定日の前日に以下の方法で雌雄を鑑別したあと、雌雄別に脱脂綿をしいたプラスチックシャーレに保持した。すなわち、蛹は羽化前日ないし前々日になると翅の模様が蛹殻をとおしてみえるようになるが、この段階に達した蛹のうち、腹部末端の数節が黒ずんだ色になっているのが雄、黒く色づいていないのが雌である(図2.4)。

#### 成虫のとりあつかい

雌雄をわけた蛹をいれたプラスチックシャーレを、暗期終了後にそれぞれ砂糖水カップをいれた別のステンレス製ケージ(30cm×30cm×30cm)の中においた。蛹はほとんどがつぎの暗期に羽化するが、羽化しなかった蛹はそのつぎの明期にシャーレごととりだし、翌日の羽化用ケージに雌雄をそれぞれうつした。このようにして、毎日未羽化の蛹をあたらしいケージにうつしてゆくことにより、羽化日のそろった未交尾の雌雄のガを確保し、実験用あるいは次代の交配用に供給した。

### 第3章 繁殖行動の解析

第1章でものべたように、マメノメイガの繁殖行動、とくに配偶行動については、しられるところがきわめてすくない。ガ類の行動は、夜行性というその一般的性質のため、野外における研究がむづかしく、室内の制御環境条件下で研究がおこなわれることがおおい。しかし本種においては、そのような制御条件下でも、配偶行動にかなりひろいスペースを必要とするらしいこと、観察に必要な低照度の照明にも過敏に反応すること、雌が雄を誘引する性フェロモンを放出する、いわゆる「コーリング」姿勢を識別することがむづかしいことなど、一般のガ類とくらべて、繁殖行動の研究をおこなうのに不利な条件をそなえていることが、本研究をすすめていく過程であきらかになってきた。

いっぽう本種の成虫期における移動・分散に関しては、繁殖に関連して、生態上重要な問題であるにもかかわらず、いくつか間接的な資料がある以外はほとんどわかっていない。しかし、とくに羽化後のどの段階で移動をおこなうのかという移動のタイミングなどは、長距離移動の問題ともからんで重要である。

そこで本章では、移動やコーリング、交尾、産卵など繁殖に関するさまざまな成虫の行動が、「どのようなタイミングで」「どのようにして」おこなわれるのかを、共通の課題としてあきらかにすることを目的とした。

## 1. 交尾前期間

後述するように、本種において交尾行動は羽化後約5日以降におこなわれることがあきらかになったことから、雌は羽化直後には交尾可能な生理的状态になく、羽化数日後に性成熟に達するものと推測される。

それでは、このような生理的变化が雌ガの体内で進行するあいだ、行動の面ではどのような変化があるのだろうか。また変化があるとすれば、それらの行動およびその変化は、たがいにとのようにかかわりあっているのだろうか。

これらのことをあきらかにするため、羽化から性成熟にいたる交尾前期間の雌ガのさまざまな行動を個体ごとに一定の時間間隔で観察した。

## 材料と方法

## 供試虫および観察条件

羽化直後の本郷系統の雌ガを1頭ずつ透明のプラスチックカップ（内径11 cm、ふかさ6 cm）にいれた。カップにはえさとして10%砂糖水をふくませた脱脂綿（2 cm × 2 cm）をいれ、ふたには直径約5 mmの穴を7個あけた（図3.1）。

観察をおこなった部屋は、気温  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 70 - 80 % に制御し、送風器により空気を循環させた。照明は1日13時間とした。以下、本章における行動の観察・調査はすべてこの部屋でおこなった。

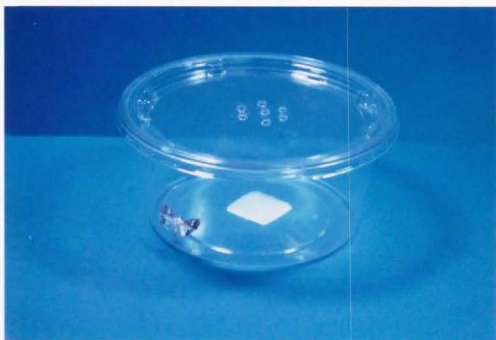


図3.1 行動観察用容器と雌ガ

### 行動観察の方法

毎日の観察は、暗期開始（＝消灯）30分前から暗期終了（＝点灯）1時間後まで、30分おきに、赤色の塩化ビニールシートでおおった懐中電灯で1頭ずつガをてらしておこなった。観察時には、飛翔や歩行などの移動行動の最中であつたり、懐中電灯で光をあてたことにより、移動行動が開始されるケースがあるが、その場合は、ガが静止するまで観察をつづけ、静止後に移動以外のさまざまな行動を観察・記録した。なお懐中電灯の照度は、光源から約30 cmはなれた地点で2.4 - 2.6lxであつた。

観察期間は0日齢（羽化当日）から8日齢までとした。観察にもちいた雌ガの標本数は、日齢によってことなるが、11 - 34頭であつた。

### 移動行動の分類基準

観察される移動行動に関しては、飛翔・はばたき・歩行のいずれかに分類して記録した。ここで飛翔とは、離陸して約5 cm以上の移動距離をとまなう飛行をおこなったものとした。はばたきは、カップ内周の1/4未満の飛行と、歩行しながら、あるいは移動をとまなわないで翅を振動させるものとした。歩行は、翅の振動をとまなわない脚による移動である。また、懐中電灯でてらしてから5秒間、上記いずれの移動行動も開始しないものは静止とした。



## 結 果

### 行動の種類

全観察期間を通じて、さまざまな種類の行動が雌ガにみられた。それらをすべて列挙すると、触角の振動、口吻の伸展、摂食（吸水）、歩行、はばたき、飛翔、腹部の湾曲（腹面側へ）、腹部末端節の露出、（交尾前）産卵の各行動であった。このうち腹部の湾曲（腹まげ）および腹部末端節の露出は、コーリングまたは産卵に関連しているとかんがえられたが、ここで特定することはできなかった。

### 移動行動

各日齢における移動行動の経時変化を図3.2に示した。図にみられるように、観察時間内にかぎってみれば、移動行動はいずれの日齢でも暗期にのみおこなわれた。

移動行動の分類のうち、歩行行動は0日齢からみとめられ、すべての日齢でもっとも高率で観察された。各日齢とも、歩行が観察される頻度は、1-2時間ごとに多少の増減をしめた。1日をとおしての全体的な歩行の頻度は、0日齢ではあきらかにひくく、以後5日齢にかけて増加する傾向がみられた。

はばたきおよび飛翔行動は、0-2日齢ではほとんどみられなかったが、3日齢以上では10%程度の頻度で観察されるようになった。7日齢以上では、さらに活発となり、ときには歩行行動に匹敵する30%程度の頻度をしめた。



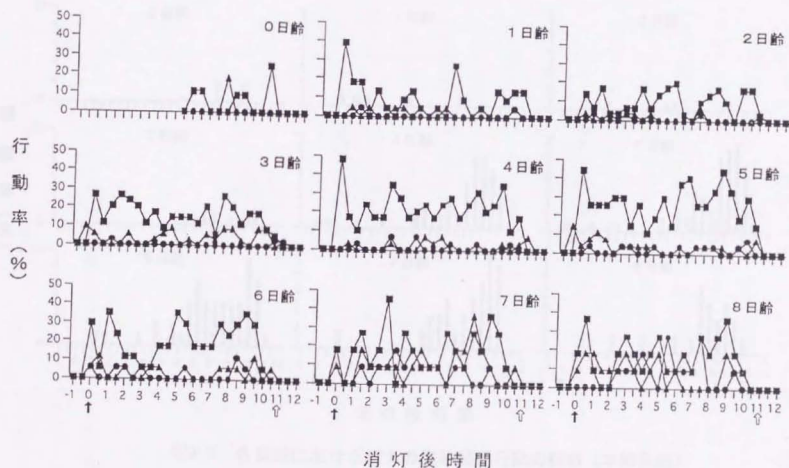


図3.2 各日齢における雌方の移動行動の経時変化(本郷系統)

■ 歩行    ● はばたき    ▲ 取用    ↑ : 消灯時刻    ⬇ : 点灯時刻

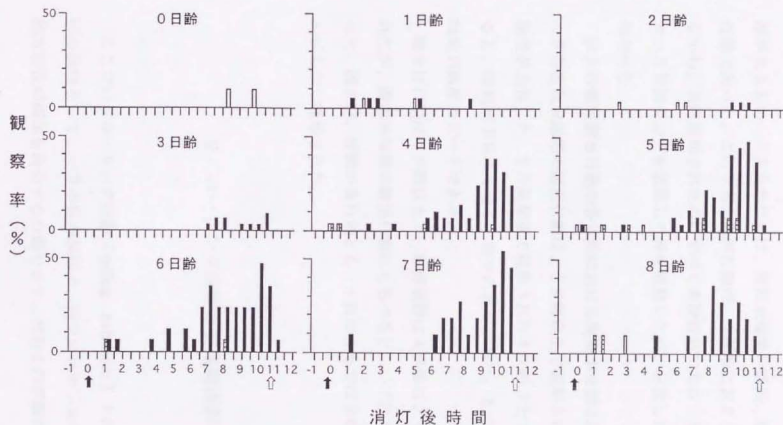
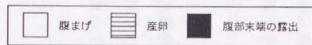


図3.3 各日齢における雌ガの繁殖関連行動の観察 (本郷系統)



↑: 消灯時刻

↑: 点灯時刻

### 繁殖関連行動

先にのべた、観察期間に雌ガがしめした全行動のうち、繁殖に直接関連があるとかんがえられたのは、腹部末端節の露出、腹まげ、産卵の各行動であった。このうちの産卵行動は、交尾前におこなわれたものであるから、当然産卵されたのはすべて未授精卵である。念のため、産卵後4-5日間カップを放置して卵を観察したが、ふ化したものは1個体もなかった。

以上の繁殖関連行動の各日齢における観察率を図3.3にしめした。このうち腹部末端節の露出行動は、1日齢以上で観察され、3日齢以降で頻度が上昇した。また高頻度で観察された4日齢以上で時間的推移を見ると、暗期前半にすくなく、後半におおかった。とくに消灯後9-10時間が頻度のピークであった。

腹まげ行動は0日齢以上で、産卵産卵は4日齢以上でそれぞれ観察されたが、腹部末端節の露出行動にくらべると、いずれも観察率はひくかった。腹まげ、産卵の各行動とも、1日のうちでは全暗期にわたってまんべんなく観察された。

## 2. コーリング行動と交尾前産卵

ここでいうコーリング行動 (calling behaviour) とは、配偶行動の最初の段階として、一方の性の個体が、性フェロモンを分泌・放出して、他方の性の個体を誘引する行動をさす。おおくのガ類の雌では、性成熟

に達すると、1日のうちの一定の時間帯に独特のコーリング姿勢（calling position）をとり、雌性フェロモンを放出して雄ガを誘引する（玉木、1978 ほか）。

前節では、本種の雌ガの繁殖に関連する行動として、腹まげ、腹部末端節の露出、交尾前産卵の各行動が観察されたものの、以下の理由でコーリング姿勢をはっきりと特定することはできなかった。おおくのガ類では、コーリング姿勢には通常、腹部末端の第8・第9節間膜のフェロモン腺の露出が付随する。しかし本種では、腹部末端の露出は最末端の節のみにとどまり、産卵の際の露出と区別することが困難だったのである。

そこで本節では、雌のコーリング行動を産卵行動と識別するため、腹部末端節の露出行動を個体ごとにさらに詳細に観察するとともに、この行動と産卵数の経時的变化や移動行動との関連をしらべた。そして最後に、以上の観察結果からみちびかれる本種のコーリング行動の定義づけにしたがい、同行動がおこなわれるタイミングをあきらかにした。

## 材料と方法

### 各日齢の交尾前産卵数

前節とおなじ雌ガをいれたカップで、毎日暗期終了後に、カップの内壁にうみつけられた卵の数をかぞえた。カップは3日ごとにあたらしいものととりかえた。雌ガは本郷およびガーナ系統のものをもちいて両者間での比較もおこなった。

## 産卵数・腹部末端節・移動行動の経時観察

4頭の雌ガを1個体ずつ、前節にもちいたのと同様の観察容器にいれ、暗期の開始から終了まで30分おきに観察した。

産卵数は、カップの内壁にうみつけられた卵を、1個ずつ外側からフェルトペンで印をつけながらかぞえ、次回の観察時にあたらしく産卵されたものと区別できるようにした。

腹部末端の露出に関しては、露出したまま末端の節を静止させる場合と、末端節の露出と収納を1-数秒間隔で交互にくりかえし、あたかも末端節がのびちみするようにみえる場合とが観察された。そこでこれらを区別し、前者を末端節の「露出」、後者を「伸縮」として記録した。

移動行動については前節と同様の分類基準にしたがって記録した。なお、観察にはガーナ系統の雌ガをもちいた。

## コーリング行動の観察

あとの考察でものべるように、前項の観察結果から、「静止して、腹部末端節を露出したまま固定した姿勢」にあるものを、本種の雌のコーリング姿勢と定義した。この定義をそのまま前節の行動観察の結果に適用し、本郷系統とガーナ系統とをわけてコーリング行動の経時頻度グラフを作図した。

## 結 果

## 交尾前産卵数の日齢変化

結果は表3.1にかかげた。本郷系統の雌ガでは、交尾前産卵は3日齢

表3.1 交尾前産卵数の日齢変化

日 齢	産卵数(個、平均±標準誤差)	
	本郷系統	ガーナ系統
0	0	0
1	0	0
2	<0.1	0
3	0.9±0.3	0
4	8.7±2.4	0.7±0.5
5	14.1±3.2	3.3±1.7
6	11.5±2.6	8.8±3.2
7	17.4±3.7	12.8±4.4
8	20.9±5.6	20.8±6.7



からあきらかにみとめられて、その後は増加をしめし、平均産卵数は8日齢で21個にまで達した。いっぽうガーナ系統では、本郷系統より1日おくれて4日齢で産卵がはじめて確認され、以後増加して8日齢には1頭あたり平均21個をかせげた。

#### 産卵数の経時変化

観察した4頭のうち、全観察期間をとおして3頭の個体に交尾前産卵がみとめられた。雌ガが産卵を開始した日齢は、それぞれ3、4、5日齢であった。毎日の産卵は、暗期にのみおこなわれ、明期には産卵はみられなかった。1日のうち、もっともはやいケースでは、消灯後0.5時間以内に産卵がおこなわれ、もっともおそいケースでは消灯後10.5－11時間の点灯直前に産卵があった。産卵は1日をとおして1－2時間おきにおこなわれることがおおかったが、産卵数がピークとなる時間帯は、日齢や個体によってさまざまであり、共通して産卵がおおくみられる時間帯は特定できなかった。

#### 腹部末端節の露出行動・産卵数・移動行動の相関

1日のうちで、1つの個体に腹部末端節の露出行動と産卵の両方が観察されたケースについて、産卵数、腹部末端の露出行動、移動行動の3項目につき、暗期における経時変化を図3.4にしめた。

まず腹部末端節の露出についてみると、腹部末端節を露出したまま静止させる「露出」は、いずれも暗期後半の消灯後7.5－11時間のあいだで、ほとんどが1.5－2時間のあいだの数回にわたる観察で連続してみられた。

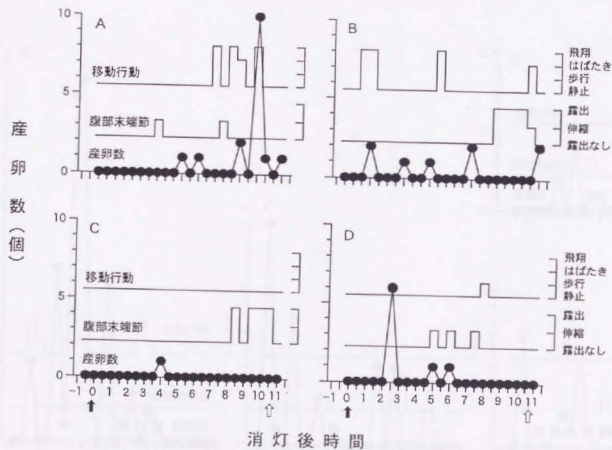


図3.4 雄ガ個体における産卵数・腹部末端節の露出・移動行動の経時変化 (本郷系統)

A: 4日齢, B: 5日齢, C: 6日齢, D: 9日齢, E: 5日齢, F: 7日齢, G: 8日齢, H: 9日齢。

A, B, C, DおよびE, F, G, Hはともに同一個体。↑: 消灯時刻, ↓: 点灯時刻。

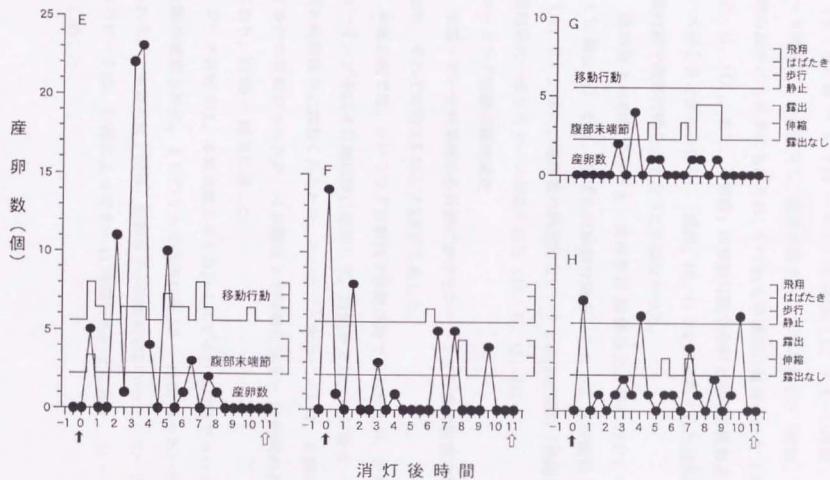


図3.4 (つづき)

(B: 消灯後 — 以下同 — 8.5—10.5時間; C: 9.5—11時間; G: 7—9時間)。これに対し、腹部末端をのびちみさせる「伸縮」は、暗期の前半にも後半にもみられ、いずれも単発的に観察された(A、D、E、G、H)。また、「伸縮」は移動行動や産卵と同時に観察されるケースがときどきあったが、「露出」は、Gで2回観察された以外は、移動行動や産卵行動をとまなうことはなかった。

産卵数との相関でみると、産卵数が10個以上と特におおいケース(10個以上)では、しばしば移動行動をとまなうことが観察された(A、E)。また、産卵数の間欠的なピークと腹部末端の「伸縮」とが時間的に一致するケースがみられた(D、E、G、H)。

#### コーリング行動の経時変化

本郷・ガーナ両系統の各日齢におけるコーリング行動の頻度の経時変化を、それぞれ図3.5および3.6に示した。

本郷系統では、コーリング行動は2日齢以降でみられたが、全体的なコーリング率は4日齢以降に増加した。時間帯では、消灯後6—11時間の暗期後半におおくみられた。コーリング率のピークは、日齢によって多少の変動があったが、4日齢以上では消灯後8—10時間のあいだにあり、約25—40%に達した。

ガーナ系統では、本郷系統より1日おくらせて4日齢以降でコーリング行動が観察された。1日のうちでは消灯後2.5—11時間のあいだにみられたが、本郷系統と同様、暗期後半が比較のおおかった。コーリング率のピークは、日齢によって7—11時間のあいだにあり、17—33%をしめした。

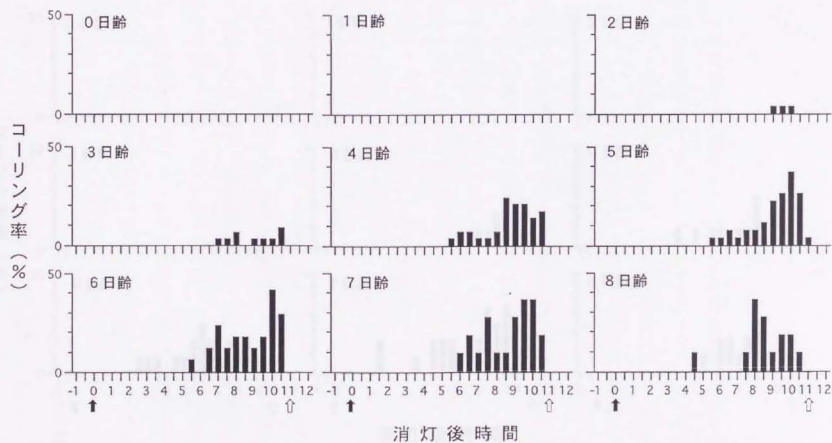


図3.5 各日齢における雌ガのコーリング行動の経時変化 (本郷系統)

↑: 消灯時刻    ⬆: 点灯時刻

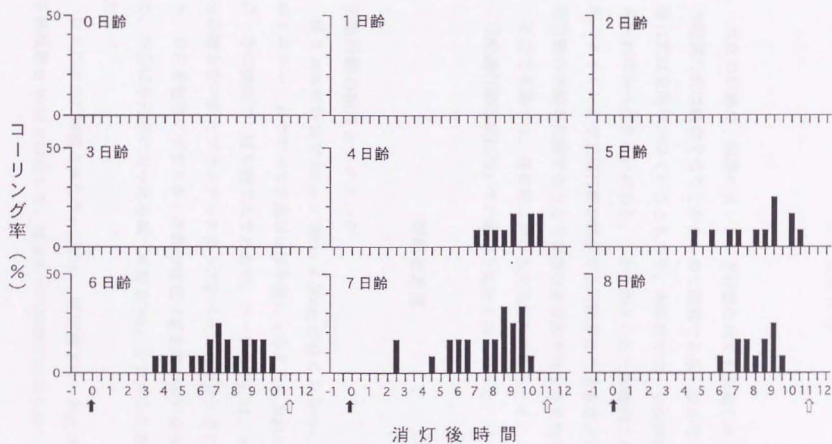


図3.6 各日齢における雌ガのコーリング行動の経時変化 (ガーナ系統)

↑ : 消灯時刻    ↓ : 点灯時刻



### 3. 交尾行動

本章の冒頭や、前節のコーリング行動の項でも指摘したように、本種の配偶行動は観察することがきわめて困難である。なかでもとくに、交尾行動は交尾率がひくいこともあり、本研究では十分な例数のデータをえられなかったきらいがある。しかしかぎられた観察例であっても、交尾のタイミングや交尾行動を構成する行動要素の連鎖などは、本種の繁殖行動の全貌を把握するうえで有用な手がかりになるとおもわれる。

そこで本節では、各日齢における交尾行動の数とタイミングの調査および配偶行動連鎖についての観察と記述をおこなった。

### 材料と方法

#### 交尾行動の頻度とタイミング

径3 mmの針金で30cm×30cm×30cmの枠ぐみをつくり、外側をポリエチレン袋ですべての面がほぼ平面になるようにおおった。袋の口は一方の側面ですぼり輪ゴムでとめた。ケージの中には、えさとして5%砂糖水をいれたプラスチックカップにペーパータオルをひたしたものと、ガの着地用にプラスチック製の造花（茎と葉のみ）をケージ内にたて、さらに半円形におったろ紙（直径22cm）を天井から垂直につるした。

以上のように準備されたケージ内に、暗期終了後、羽化当日のガーナ系統雌雄各10頭をはなした。雌雄のガの前翅にはあらかじめフェルト

ペンをもちいて標識しておき、個体識別ができるようにした。

観察は1日齢から10日齢まで、毎日暗期の開始から終了1時間後まで30分おきにおこない、交尾が観察された場合はその交尾個体を識別した。観察終了後はすべての雌ガを解剖し、交尾囊内の精包の有無をしらべた。

#### 配偶行動の観察

20cm × 30cm × 30cmの木枠に寒冷紗をはったケージに、丹波系統の未交尾のガを雌雄10頭ずつ入れた。ケージ内の天井や壁（寒冷紗および木枠）にとまって静止している雌ガに着目し、雌ガから約10cm以内に雄ガが接近し、交尾を試行した場合に、雌雄のガの行動とその時刻を記録した。観察は3日間にわたっておこない、1日目は消灯後10.5時間より同11.5時間まで、2日目および3日目は、暗期の開始から終了まで、30分ごとに数分間の休憩をはさんで連続観察をおこなった。

### 結 果

#### 各日齢における交尾観察数と時間帯

全観察期間をとおして、全部で6回の交尾が観察された。個体識別の結果、それらはいずれも未交尾の雌雄であることが判明した。

観察終了後にすべての雌ガを解剖して交尾囊をしらべたところ、交尾が観察された6頭の雌からはいずれも精包の存在が確認された。いっぽう交尾が観察されなかった雌にはどれも精包がなかった。

各日齢における交尾行動の数の推移を図3.7に示した。図にみられ

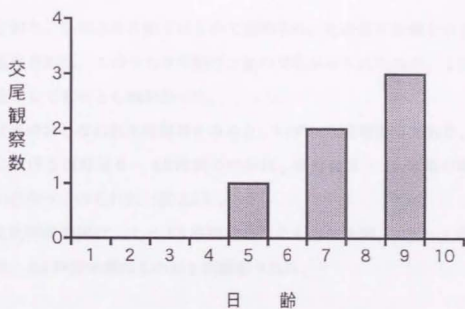


図3.7 各日齢における交尾観察数  
(丹波系統)

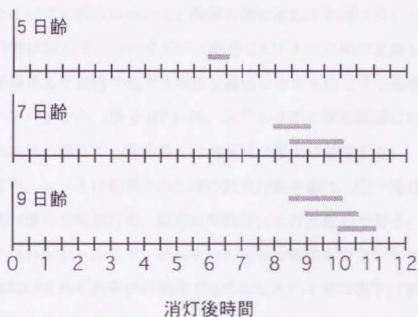


図3.8 各日齢における交尾時間帯  
(丹波系統)

るとおり、交尾は5日齢ではじめて観察され、その後7日齢と9日齢でも観察された。このうち9日齢で3組の交尾がみられたのが、1日の観察数としてもっともおおかった。

交尾のおこなわれた時間帯をみると、いずれも暗期後半であり、5日齢における消灯後6-6.5時間のほかは、消灯後8-11時間の時間帯にかさなってみられた(図3.8)。

交尾継続時間は、1-1.5時間継続したものが3回、0.5-1時間が2回、0.5時間未満のものが1回観察された。

#### 配偶行動の記述

全観察期間を通じて、のべ9頭の雌に対して、雄による20回の交尾の試行が観察され、うち交尾が成功したのは1回のみであった。以下に観察されたすべての試行について、配偶行動の連鎖を記述する。

雌雄の行動に関して、コーリング(略号CA)とは前節で定義したとおり、雌が静止した状態で腹部末端節を露出したまま固定する姿勢をあらわす。ヘアペンシル(略号HP)は、ふだんは雄の腹部腹面に収納されている毛束状の器官で、露出時には毛筆状に毛束が展開する。

なお記述中、a-iは観察された雌の配偶行動連鎖に、①-⑩は観察された一連の雄の交尾試行に、観察の時間順につけた記号である。個体識別はおこなわなかったため、それぞれの記号は個体を特定したものではない。雌雄はそれぞれ早の記号であらわした。4桁の数字は消灯時刻を0時とした時刻である。

#### 観察1日目

a. 1045、壁面でCA中の♀に、腹を腹面側にまげてHPを露出した♂が飛翔して接近するが(①)、すぐにはなれる。1054♂2回飛翔接近の後(②③)、前脚を♀の体に接触させ腹をまげる。1055♂接触すると♀とんでにげる。

b. 1053天井に静止している♀に、3頭の♂が10-20cmまで飛翔接近(④⑤⑥)。♂はHPを露出し、触角を♀にむけてのばし、ときに触角で♀体にふれる。♀は♂にふれられると翅をすこしとじる。1101♂2頭HP露出しながら接近(⑦⑧)。1116♂2頭飛翔して2回接近(⑨⑩⑪⑫)。♂触角でふれるが♀は静止したまま。

#### 観察2日目

c. 0430床面でCA中の♀に♂がHPを露出しながらあるいて接近する(⑬)。0435♂が接近すると(⑭)、♀あるいてにげる。♂がおいかけると、♀とんでにげる。

d. 0510、CA中の♀にHP露出♂が接近(⑮)。

e. 0949天井でCA中の♀に♂が接近し(⑯)、露出したHPを♀頭部の触角のあいだにおしつけるように接触させる。♀はばたいて約10cm移動。♀触角には♂につけられたとみられる鱗片様の小片が付着しており、♀は前脚でしごくようにして触角から小片をおとす。♀CA中断。0955♀CA再開。

f. 1055静止した♀に♂が接近し(⑰)、HPを♀頭部におしつけ

る。早口吻をまっすぐ前方にのばし、触角についた鱗片様小片を前脚でしごきおとしてから飛翔する。ケージ内をランダムにとびまわる。

#### 観察3日目

g. 0400、CA中の♀にHP露出した♂があるいて接近(⑬)。接触すると♀とんでにげる。

h. 0500 壁面でCA中の♀に、HP露出♂があゆみより接触(⑭)。♀はとんでにげる。♂は♀がいた場所にとどまり、触角でケージの壁(寒冷紗)への接触をくりかえす。

i. 0542 天井でCA中の♀に♂が飛翔接近する(⑮)。♂、触角で♀体にふれたあと、♀をとびこえて前方に移動し、HPを♀頭部におしつける。♂、体の向きはそのまま♀の体側をすりぬけ、♀の後部に移動する。♂はそこで体の前後を反転させ、腹部末端を♀の腹部末端にあわせ、交尾が成立する。その直後、♀は口吻をまっすぐ前方にのばす。1-2秒後、口吻をにもとにもどす。

### 4. 考 察

#### 性成熟の時期

一般に鱗翅目昆虫では、雌の卵黄形成は終齢幼虫期ないし蛹期の段階



で完了している場合がおい (CHAPMAN, 1971)。しかし一部のガ類では羽化後に卵黄形成が始まるために、羽化から性成熟までに、数日の期間と食物の摂取を必要とする種があることが知られている。本章の観察から、マメノメイガのコーリングや交尾前産卵などの繁殖行動の開始時期が、羽化後3-4日であることがあきらかになり、本種がそのような羽化から性成熟までにながい期間を要する種であることが示唆された。

雌の性成熟すなわち卵黄形成は、内分泌系により支配されているが、上記のような性成熟のおそい種では、成熟前期間のながさが温度や日長、食物、生息密度などの外部環境からの刺激により影響をうける例が多数報告されている (McNEIL, 1987; McDONALD and COLE, 1991 ほか)。このような現象の生態学的意義は、繁殖に不適な環境条件を回避することにあるとかがえられ、不適な環境からの時間的な回避である休眠や、空間的回避である長距離移動との関連が示唆されている (JOHNSON, 1969)。

本種の性成熟の時期におよぼす外部環境、とくに寄主植物の影響については第6章でふたたびとりあげる。

#### 移動行動

本章において、本種雌ガの移動行動を観察したところ、飛翔・歩行とも2日齢まではあまりみられず、3日齢以上で活発になった (図3.2)。この3日齢というのは、上にのべたコーリングや交尾前産卵などの繁殖行動が開始される時期と一致していた。さらに1日の移動行動と繁殖行動とを詳細に比較すると、移動は産卵にともなっておこなわれる傾向があった (図3.4)。これらのことから、雌ガにおいて3日齢以上でみられる活発な移動行動は、繁殖行動に関連したものであるとかがえられ

た。

長距離移動に関しては、気象条件などさまざまな要因が関与するので、このようなカップ内における観察結果を一概にむすびつけることはできないが、もしも本種に長距離移動性があるとすれば、カップ内で観察された個体の運動性から判断して、3日齢以上で移動がおこなわれる可能性がたかい。しかしながら JOHNSON (1969) は、移動性昆虫においては、個体の移動性と性成熟とは二者択一的であり、一般に移動は、卵黄が形成されていない性的に未成熟な段階でおこなわれ、成熟後に移動がおこなわれることはないと主張しており、マメノメイガが3日齢以上の性成熟後に長距離移動をおこなうとする仮説とは対立する。

マメノメイガの長距離移動性に関しては、間接的な状況証拠がいくつかある。北海道や東北地方では、9月ごろ、本種幼虫の作物への加害や成虫の灯火への飛来がみられるという（斎藤修博士・新山徳光氏、私信）。これらの地域では、本種が越冬をおこなうことは困難であるとかんがえられ、同地域における発生は、南方からの長距離移動によるものと推測される。また、日本海や東シナ海上で本種が捕獲された記録もある（朝比奈・鶴岡、1970; YOSHIMATSU and NAKAMURA, 1992）。

#### 交尾前産卵

本章の実験では、観察のためカップ内に隔離した雌ガが未交尾のまま産卵をおこなう交尾前産卵がみられた。いくつかのガ類では、成熟した雌が一定期間交尾をおこなわないと未受精卵を産卵する現象がみられる。たとえばカイコガでは、雌を羽化後、雄から隔離すると、羽化後3日ごろより未受精卵をうむ。しかしこのような現象はほとんどの場合、成熟

後数日間にわたって交尾がおこなわれない場合にみられるものであって、マメノメイガのように性成熟に達してすぐに産卵を開始する例はほとんど報告がない。

本種における交尾前産卵は、累代飼育のために飼育容器で雄ガと交配する際にもみられ、羽化当日に交配を開始してから3-4日ごろより容器の内壁に未受精卵がうみつけれられるのが観察される。このような現象が野外でもおこっているかどうかはわからないが、もしもおこっていると仮定すれば、その生態的意義は何であろうか。

意義の1つとしてかんがえられることは、卵の排泄である。トコジラミ属 *Cimex* などでは、受精がおこなわれないと、卵母細胞が破壊されて再吸収されることが知られているが、再吸収がおこなわれない種もある (CHAPMAN, 1971)。このような卵の破壊・再吸収に代替するものとして、本種や他のガ類にみられるような未受精卵の排泄がおこなわれるとかんがえられる。

本種において、性成熟後ただちに卵が排泄されるのは、前項でのべた長距離移動と関係があるかもしれない。生産された卵を体内に蓄積することなく排泄すれば、移動に要するエネルギーを節約できる。さきにもべた JOHNSON (1969) の性成熟と移動の二者択一説は、おもに移動と卵形成とについてやすコストのかねあいを土台としたものであった。しかし、目的地に移動してから性成熟までにながい時間をついやすと、交尾相手や寄主植物など繁殖に必要な資源をのがすリスクがふえる。ここで仮定されているような、性成熟後の未受精卵の排泄をともなう移動は、移動につかうコストをおさえるとともに、繁殖成功の確率をたかめる戦略とみることができよう。

このような仮説の妥当性を検証するためには、野外における移動と繁

殖行動のタイミングの観察や、卵形成にかかわる内分泌機構の検討が必要であるが、ここでは可能性の1つとして提示するにとどめる。なお、交尾前産卵におよぼす寄主植物の影響については、第6章で実験的考察をおこなう。

### コーリング行動の識別

ガ類の配偶行動、とくに性フェロモンに関する研究では、フェロモン放出の際のコーリング行動を識別することが重要な手順となっている。これまでに観察されたコーリング行動の様相は、種によってさまざまであった。たとえばチャノコカクモンハマキ *Adoxophyes* sp. では、一定時刻になると、雌がいつせいに後脚をのばし、翅をあげるとともに腹部末端の第8-第9節間膜にあるフェロモン腺を反転露出するコーリング姿勢をとる（玉木、1978）。一方このような明瞭なコーリング姿勢をとらない種もあり、タバコガ *Helicoverpa assulta* のようにコーリング個体の比率に特定のピーク時刻がないものや（KAMIMURA and TATSUKI, 1993）、クワノメイガ *Glyphodes pyloalis* のようにコーリング率がピーク時でも30%以下の種も存在する（薛、1987）。

マメノメイガのコーリング行動は、本章の観察の結果、個体によっては腹部末端節を露出するが、それ以外に特定の姿勢の変化はみとめられず、明瞭なコーリング姿勢をとらないタイプの種であるとかんがえられた。また腹部末端の露出はひろい時間帯にわたってみられ、コーリング率がピークとなる時刻は明確ではなかった。さらに本種には、特有の交尾前産卵行動があり、腹部末端節の露出を産卵行動と区別することが困難であった。そこで本章では、腹部末端節の露出以外に移動行動や産卵

数などを観察し、結果を総合することによってコーリング行動を識別した(図3.4)。

すなわち、腹部末端節の露出には、節を静止させる「露出」と、節のだしいをくりかえす「伸縮」とがみられた。このうち「伸縮」は、移動行動と産卵をともなうことがおおく、かつ単発的に観察された。一方「露出」は、雌ガが静止した状態でみられ、産卵をともなうことはなかった。後述する雌雄の配偶行動連鎖の観察からもあきらかなように、雄ガは静止している雌のみに対して接近し交尾を試行する。これらのことから、本種において、雌が雄を誘引するコーリング姿勢とは、静止して腹部末端節を「露出」している状態であり、末端節の「伸縮」は産卵行動の一部であるとかんがえられた。

そこで静止した雌ガが腹部末端節を露出して固定している状態をコーリングと定義し、この定義にしたがって観察した結果、本郷系統ではコーリング行動は暗期後半におこなわれ、そのピークは消灯後8-10時間のあいだにあることがわかった(図3.5)。ガーナ系統では本郷系統にくらべ、コーリング行動の観察される時間帯およびコーリング率のピークがやや明瞭でなかった(図3.6)。

本郷・ガーナ両系統間で、コーリング率のピークのあらわれかたにちがいがみられた原因はよくわからないが、ガーナ系統のほうが本郷系統よりも累代飼育期間がながいことから、家畜化現象(domestication)の影響によるものかもしれない。

しかし両系統とも、コーリング率はピーク時でも約20-40%とかなりひくいものであった。このことはまた、つぎにのべる交尾数がすくなかったこととも関連があるかもしれない。



### 交尾行動

交尾は雌雄が5日齢の時点ではじめて観察された(図3.7)。この日齢はコーリングおよび交尾前産卵から推測された性成熟(3-4日齢)のあとであり、雌ガにとって生理的に交尾可能な時期とかがえて妥当であろう。本観察では例数がすくなかったこともあり、性成熟以後であればこれよりもわかい日齢で交尾がおこなわれることは十分ありうる。実際、本観察とは別に、ケージや放飼数をさまざまにかえておこなった予備的な観察では、3日齢の雌による交尾が確認されている。

交尾がおこなわれた時間帯は、いずれも暗期後半であり、消灯後8-11時間がおおかった(図3.8)。この時間帯は前述のコーリング時間帯と一致しており、雌のコーリングによって雄が誘引された結果、交尾が成立したとかがえられると同時に、雌性フェロモンの存在がうまく示唆された。

交尾継続時間は、1時間以上1.5時間未満がおおかった。しかし30分未満の交尾でも雌体内から精包が確認されており、授精にはかならずしも長時間を必要としないとかがえられるが、さらに産卵数や受精率との相関についても検討する必要があるだろう。

交尾がみられる頻度に関しては、1-10日齢までの全観察期間を通じて、放飼した雌雄10組のうち6組の交尾が観察された。本実験系における交尾率を他の条件の場合と比較するためには、さらに反復をかさねる必要があるが、交尾率に影響をおよぼす要因としては、ケージのサイズ、密閉性、放飼数、性比などがかがえられるよう。



### 配偶行動の連鎖

ケージ内における配偶行動の観察による記述をもとに、雌雄の配偶行動連鎖を図示した(図3.9)。

これをみると、配偶行動の開始から交尾の成立にいたるまで、基本的な要素的行動の連鎖があることがわかる。すなわち、雌では「静止」、「コーリング」、「コーリング中止」、「交尾」、雄では「接近」、「ヘアペンシル露出」、「触角で雌の体に接触」、「ヘアペンシルで雌の頭に接触」、「交尾」の各要素であり、全体的に雌よりも雄のほうが、おおくの要素で行動連鎖がなりたっている。

それぞれの要素が雌雄間相互におよぼす影響をみると、雄は交尾前の雌に対して接近、触角による体への接触、ヘアペンシルによる頭への接触をおこない、雌はそれらによって、翅をとじる、逃避、コーリングの中止などの反応をしめした。

一方、雌が雄におよぼす影響は、直接観察されたものはなかったが、雄の接近やヘアペンシルの露出を解発する何らかの刺激を発しているものとかがえられ、性フェロモンを放出していると推測された。

なお、雄がヘアペンシルで雌の頭部に接触したあと、雌の触角に鱗片様の小片が付着していることがあり、その場合に雌はコーリングを中止したり口吻を伸展するなどの反応をしめした。この小片は雄のヘアペンシルに由来するものとおもわれ、それらの反応に雄性フェロモンが関与している可能性が示唆される。

各要素が観察された頻度をみれば、交尾が成立または不成立となる条件をある程度示ることができる。本観察では交尾成立の例数がすくなかったため、精密な議論はできないが、コーリング中の雌に雄が触角で接

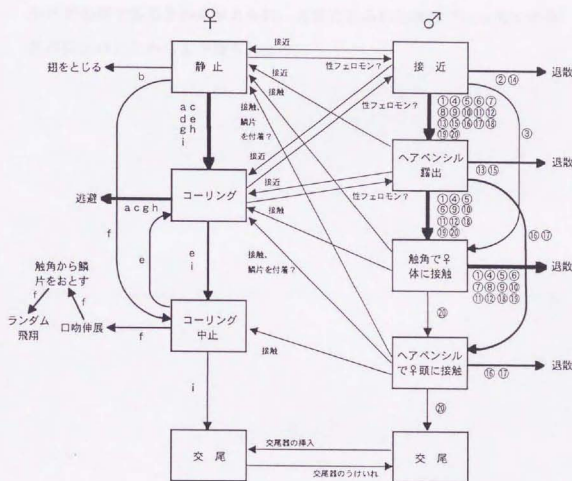


図3.9 マメノメイガの配偶行動連鎖

a-i は雌、①-⑰は雄で観察された配偶行動連鎖で、それぞれ本文中の行動観察の記述における記号および番号に対応している(42ページ参照)。雄の各連鎖において各要素(長方形でかこんだもの)間および外側への矢印のふたさはそれらの要素間で行動連鎖が観察された回数をあらわす。

→ :1回    → :2回    → :3-6回    → :7回以上

触したことによって雌が逃避したことが、交尾不成立のおもな原因となっている。このことから、交尾が成立するためには、コーリング中の雌をなだめて移動行動を阻止するために、雄から雌への何らかのはたらきかけが必要であるとかんがえられ、さきにもふれた雄性フェロモンの存在が以上のことから予測されよう。

## 第4章 雌性フェロモンの同定

他のおおくのガ類と同様、マメノメイガの配偶行動においても、雌の性フェロモンがふかく関与していることが第3章で示唆された。そこで本章では、本種の性フェロモンの同定をこころみる。

なお、性フェロモンの分析は、ガーナおよび本郷の両系統それぞれについておこなったが、各段階での分析方法は両者ともほぼおなじであったので、ここではまずガーナ系統について、経過にそって分析方法と結果をのべ、本郷系統に関してはあとで簡単に経過と結果についてのみふれることにする。

### 1. ガーナ系統雌抽出物中の主要成分の同定

本節ではまず、ガーナ系統雌抽出物のフェロモン活性を、雄ガの行動反応を指標とする生物検定によってしらべ、配偶行動における性フェロモン関与の有無をあきらかにする。そして抽出物に活性があれば、その活性の要因となっている抽出物中の主要成分を探索し、その単離・同定・定量をこころみる。

## 材料と方法

## フェロモンの抽出

雌性フェロモンの抽出には、6-7日齢の成熟した未交尾の雌をもちいた。雌ガは消灯後9-10時間のあいだにケージからとりだして二酸化炭素で麻酔したのち、腹部を指で圧迫することにより反転・露出させたフェロモン腺をふくむ末端の節を、眼科用ハサミできりとった。きりとったフェロモン腺は10-50頭分ずつ小型のコニカルバイアルにとり、1頭分あたり1 $\mu$ lのヘキサンをくわえた。10分後、抽出液をマイクロシリンジで別のコニカルバイアルにうつし、1バイアルあたり数10-数100頭分ずつのストックとし、冷凍庫内(約-20℃)に保存した。

## 性フェロモン活性の生物検定

抽出物とその画分、合成品に対する雄ガの行動反応を測定するため、以下の方法で生物検定をおこなった。

検定に供試する試料を、所定濃度の10 $\mu$ lヘキサン溶液とし、直径9cmの円形ろ紙(Advantec No.2)を扇形に8等分した先端にマイクロシリンジでゆっくりと滴下した。溶媒風乾後このろ紙を、あらかじめ7日齢以上の未交尾の雄ガ10頭をはなしてある、20cm $\times$ 30cm $\times$ 30cmの木枠に黒色の寒冷紗をはったケージ内の天井からつりさげた。ケージは、換気設備のある暗室内で、小型扇風機によって直方体であるケージの長軸方向に風がおきるように設置した(図4.1)。

1回の検定は、ろ紙をつりさげてから15秒後より開始し、5分間継続した。行動の観察には第3章と同様、赤色光の懐中電灯をもちいた。



図4.1 性フェロモンに対する雄ガの行動反応を指標とした生物検定法



検定の際に測定する項目は以下のとおりとした。

- ①接触：開始より1分間ごとのろ紙への接触回数。
- ②定位飛翔：開始より1分ごとの各時点で、触角を誘引源の方向へ伸ばし、腹部末端よりヘアペンシルを露出させながら、誘引源にむかって定位飛翔をおこなっている個体数。
- ③ランダム飛翔：おなじく各時点で②の定位飛翔以外の飛翔をおこなっている個体数。
- ④メーティング・ダンス：ろ紙に触角を接触させ、はばたきながらろ紙の下端から上部までせりあがる、いわゆるメーティング・ダンスの全検定時間を通じた回数。
- ⑤最大瞬間定位：全検定時間を通じて、同時に定位飛翔をおこなう個体の最大数。

このうち①、②、③の各項目は、1分ごとに測定して5分間の経時変化を記録するとともに、5回の測定の合計値も算出した。

#### ガスクロマトグラフィー (GC)

フェロモン主要成分のGC分析には、ガスクロマトグラフ GC-14B (島津製作所製) を使用した。キャピラリーカラムは高極性の DB-WAX および無極性の DB-1 (いずれも内径 0.25mm、長さ 30m、フィルム厚 0.25 $\mu$ m、J&W Scientific 製) をもちいた。キャリアガスとして窒素を使用し、FID により検出した。試料気化室および検出器の温度はともに 250℃とし、カラム槽温度の昇温条件については適宜設定した。クロマトグラムの波形解析はクロマトパック C-R5A (島津製作所製) によっておこない、保持時間およびピーク面積をえた。

主要成分の定量については、あらかじめ標準物質をもちいてピーク面積による検量線を作成し、抽出物のストックごとに、主要成分ピークの面積を計測することによりおこなった。

#### 触角電位検出器装着ガスクロマトグラフ (GC-EAD)

GC-EAD は、GC のカラムで分離した試料を、水素炎イオン化検出器 (FID) と雄ガの触角電位 (EAG) 反応を利用した触角電位検出器 (EAD) の2つの検出器によって同時に測定するものである。

この方法の利点は、従来の、GC などで分離した試料を画分としていったん回収し、それぞれの画分について EAG 反応を測定する方法と比較して、個々の EAG ピークについて直接 EAG 反応を測定できることや、分離・回収時の試料の損失がないこと、分析にかかる時間や手間をはぶけることなどである (STRUBLE and ARN, 1984)。

その方法であるが、ガスクロマトグラフ HP-5898 (Hewlett-Packard 製) に装着したキャピラリーカラム (HP-INNOWAX、内径 0.25mm、長さ 30m、フィルム厚 0.25 $\mu$ m) を、FID の直前でガラス製の Y 字型細管により分岐して、一方を FID に接続し、他方を GC カラム槽外にみちびいた。カラム槽外にみちびいた GC からの排気は、加温・加湿した空気と混合し、基部からきりとって両端を銀-塩化銀電極に接続した雄ガの触角にあてた。基部側の電極は接地し、先端側の電極は増幅器を介して FID からの出力とともに1つの記録計に入力し、FID と EAD の両信号が同期したチャートがえられるようにした。

なお、GC-EAD による分析は、筑波大学農林学系において、本田洋助教授の指導のもとにおこなった。

## カラムクロマトグラフィー

パスツールピペットの先端に少量のシリカウールをつめ、ワコーゲル C-200 (和光純薬工業株式会社製) 200mg で充填してカラムとした。ヘキサン 2ml を注入・流出させたあと、ゲルの上端に約 500 雌当量の抽出物を添加し、ヘキサン、5 % エーテル/ヘキサン、15 % エーテル/ヘキサン、50 % エーテル/ヘキサン各 2ml の溶媒系で順次溶出した。

## ガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS)

GC-MS には、ガスクロマトグラフ質量分析装置 GCMS-QP1000EX (島津製作所製) をもちいた。本装置はガスクロマトグラフ GC-14A (島津製作所製) に四重極型質量分析計を直結し、CPU (32 ビット、MBC-18JH40A、三洋電機株式会社製) 処理によってイオンクロマトグラムおよびマススペクトルをえるものである。カラムはキャピラリーカラム DB-23 (内径 0.25mm、長さ 30m、フィルム厚 0.25 $\mu$ m、J&W Scientific 製) を使用し、キャリアガスにはヘリウムをもちいた。試料気化室温度およびカラム槽の昇温条件は上記 GC 分析と同様にした。

イオン化には、電子衝撃イオン化 (EI) 法および化学イオン化 (CI) 法をもちいた。EI 法では、インターフェイス温度、イオン源温度、イオン化電圧はそれぞれ 270 $^{\circ}$ C、250 $^{\circ}$ C、70eV とした。CI 法では、おなじく 200 $^{\circ}$ C、100 $^{\circ}$ C、200eV とし、反応ガスにはイソブタンを使用した。

## 合成化合物

各機器分析の際に標準物質として、またフェロモン成分と同定された物質の生物検定に、下記の合成化合物をもちいた。

(*E,E*)-10,12-ヘキサデカジエナールは、東京農工大学農学部・安藤哲教授より恵与されたものをそのままもちいた。本品をあらかじめGCで分析したところ、幾何異性体中のEE体の純度は92.0%であった。

同物質の4つの幾何異性体については、信越化学工業株式会社より提供を受けた混合物をもちいた。同様に異性体の混合比をしらべたところ、EE体61.1%、EZ体18.7%、ZE体15.8%、ZZ体4.5%であった。

## 結 果

### 雌抽出物に対する雄ガの行動反応

ガーナ系統の雌フェロモン腺抽出物に対する雄ガの行動反応を検定した。

そのうちの接触回数と定位飛翔およびランダム飛翔個体数の経時変化をしめしたのが図4.2である。10雌当量の処理量では、接触回数は最初の1分間でおおかったが、つぎの1分間ではおよそ半減した。また定位飛翔のランダム飛翔に対する比率が、他の処理量の場合とくらべてたかかった。処理量が1雌当量より減少するにしたがって、各行動反応にも低下がみられた。0.01雌当量と対照のヘキサンでは、ほとんど行動反応がみられなかった。全般的に、接触回数が時間にもなう変化をみせたのに対して、定位飛翔とランダム飛翔はあまり変化しなかった。

各行動反応を5分間の総計値でみると、表4.1のとおり、接触、定位飛翔、メーティング・ダンスに関して、1雌当量以上の処理量で対照区とのあいだに有意な差がみとめられた。またランダム飛翔と最大瞬間定

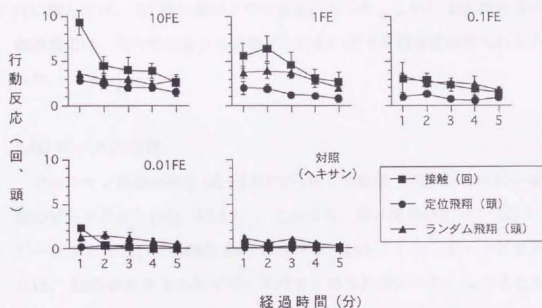


図4.2 雌抽出物に対する雄ガの行動反応の経時変化 (ガーナ系統)

FE: 雌抽出物の処理量 (雌当量)

表4.1 雌抽出物に対する雄ガの行動反応 (ガーナ系統)

処理量 (雌当量)	雄ガによる行動反応 <sup>1)</sup>				
	接 触 (回)	定位飛翔 (頭)	ランダム 飛翔 (頭)	メーティング ・ダンス (回)	最大瞬間 定位 (頭)
10	24.3 ± 4.7a	10.7 ± 1.8a	14.8 ± 1.9a	5.5 ± 1.8ab	5.4 ± 0.4a
1	22.4 ± 4.8a	7.0 ± 1.8abc	16.1 ± 2.7a	5.9 ± 1.8a	4.1 ± 0.6ab
0.1	11.4 ± 2.8ab	4.4 ± 0.5bcd	12.6 ± 0.9ab	2.0 ± 0.7ab	2.4 ± 0.2bc
0.01	2.8 ± 2.1b	1.3 ± 0.7cd	5.3 ± 1.8bc	0.5 ± 0.3ab	1.2 ± 0.4cd
対 照 (ヘキサン)	1.0 ± 0.5b	0.1 ± 0.1d	3.5 ± 0.5b	0a	0.3 ± 0.2d

<sup>1)</sup> 平均 ± 標準誤差。同一項目中でおなじ文字をつけた値は、TUKEY-KRAMER 法により、5%水準で有意差なし。

位に関しては、0.1 雌当量以上で有意差があった。しかし 0.01 雌当量の処理量では、各行動反応とも対照区とのあいだで有意な差はみられなかった。

### EAG ピークの存在

フェロモン腺抽出物を GC-EAD で分析した結果、FID からは大小 16 個のピークがえられた (図 4.3)。このうち、第3番めのピーク (以下、ピーク 3 とする) に明瞭な EAG 活性がみられた。しかしピーク 3 以外には、EAG 活性をあらわすピークはみとめられなかった。このことから、ピーク 3 にふくまれる成分がフェロモン活性を有することが予測された。

### シリカゲルカラムによる抽出物成分の分離状況

フェロモン腺抽出物の、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離状況を、GC により確認した。

GC-EAD の FID により抽出物から検出された 16 個のピークに相当するピークはすべて、シリカゲルカラムからの 4 つの画分のうちのいずれか 1 つのみにあらわれるか、もしくは複数の画分にわたって連続してあらわれた (表 4.2)。

EAG 活性のあったピーク 3 に相当するピークは、おもに 5 % エーテル/ヘキサン画分に溶出したが、一部は 15 % エーテル/ヘキサン画分にも溶出した。



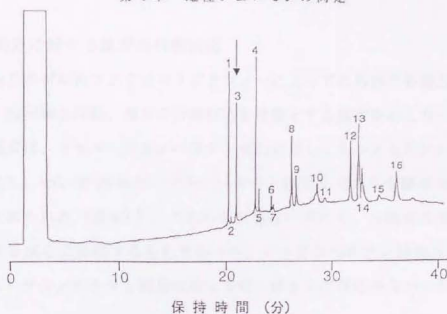


図4.3 ガーナ系統雌抽出物のガスクロマトグラムとEADで検出された活性ピーク

矢印はEAG活性のあったピークをしめす。

表4.2 ガーナ系統雌抽出物のカラムクロマトグラフィー画分のGCによる分離状況

ピーク 番号	保持時間 (分)	抽出量 (ng/♀)			
		粗抽出物	ヘキササン 画分	5%エーテル/ヘキササン 画分	15%エーテル/ヘキササン 画分
1	20.15	2.08	1.19	0.04	-
2	20.40	0.13	0.03	-	-
3	20.89	1.70	-	0.75	0.31
4	22.80	2.35	1.37	0.10	0.03
5	23.07	0.37	0.23	-	-
6	24.24	0.26	-	-	0.07
7	24.38	0.14	0.06	-	-
8	26.33	1.71	1.03	0.33	-
9	26.77	0.76	0.38	0.06	0.05
10	28.76	1.44	0.06	-	-
11	29.38	0.16	0.09	-	-
12	31.95	2.25	1.40	0.04	0.05
13	32.74	2.91	1.82	0.04	0.04
14	33.05	1.48	0.14	0.11	0.17
15	34.62	0.31	-	-	0.05
16	36.27	1.46	-	-	0.04

## 各画分に対する雄ガの行動反応

シリカゲルカラムクロマトグラフィーによってえられた各画分について、抽出物と同様、雄ガの行動反応を指標とする検定をおこなった。

雄ガは、5%エーテル/ヘキサン画分に対してもっともたかい反応をしめし、ついで15%エーテル/ヘキサン画分に対しても顕著な反応がみとめられた(表4.3)。これらの反応はいずれも、分離前の抽出物に対する反応に匹敵するものであった。いっぽうヘキサン画分および50%エーテル/ヘキサン画分に対しては、ほとんど反応がなかった。

## 極性からみたフェロモン成分の推定

GC-EADでEAG反応が検出されたピーク3は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーではおもに5%エーテル/ヘキサン画分に溶出した。同画分は雄ガによる行動反応を指標とする検定ではもっとも活性がたかく、このことから、ピーク3にはフェロモンの主要な成分が存在するとかんがえられた。

ところで、シリカゲルクロマトグラフィーでは、各画分に溶出する成分の極性は、溶出にもちいた溶媒の極性によって規定される。すなわち、ヘキサン100%の溶媒に溶出する成分はもっとも極性がひくく、溶媒に添加するエーテルの量が増加するにしたがって、溶出する成分の極性もたかくなってゆく。実際に、ガ類の性フェロモンとして知られる既知の標準物質をもちい、おなじ条件でクロマトグラフィーをおこなったところ、炭化水素類はほとんどがヘキサン画分に、アルデヒド類およびアセタート類はおもに5%エーテル/ヘキサン画分に、アルコール類はおもに15%エーテル/ヘキサン画分に、それぞれ分離された(図4.4)。

表4.3 シリカゲルクロマトグラフィーで分離された雌抽出物画分に  
対する雄ガの行動反応 (ガーナ系統)

試 料	処理量 (雌当量)	雄ガによる行動反応 <sup>1</sup>				
		接 触 (回)	定位飛翔 (頭)	ランダム 飛翔(頭)	マーティング ・ダンス (回)	最大瞬間 定位 (回)
ヘキサン画分	10	0a	0a	4.3 ± 1.9a	0a	0a
5X-7H/ヘキサン画分	10	31.0 ± 5.9b	12.8 ± 2.3b	9.3 ± 1.1a	10.8 ± 3.5b	4.5 ± 0.6bc
15X-7H/ヘキサン画分	10	18.2 ± 3.5ab	10.8 ± 0.9b	8.0 ± 1.4a	3.2 ± 1.5ab	3.4 ± 0.2b
50X-7H/ヘキサン画分	10	5.5 ± 2.1a	2.5 ± 1.0a	8.3 ± 0.9a	0.5 ± 0.5a	1.3 ± 0.3a
粗抽出物	10	24.3 ± 4.7b	10.7 ± 1.8b	14.8 ± 1.9b	5.5 ± 1.8ab	5.4 ± 0.4c
対 照 (ヘキサン)	—	1.0 ± 0.5a	0.1 ± 0.1a	3.5 ± 0.5a	0a	0.3 ± 0.2a

<sup>1</sup> 平均 ± 標準誤差。同一項目中でおなじ文字をつけた値は、TUKEY-KRAMER 法により、5%水準で有意差なし。

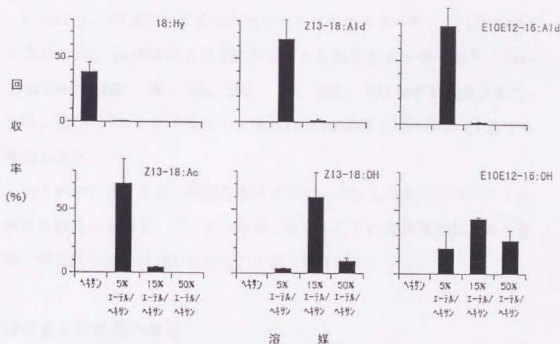


図 4.4 カラムクロマトグラフィーによる既知物質の分離状況。18:Hy…オクタデカン (供試量 0.5ug)、Z13-18:Ald…(Z)-13- オクタデセナル (1ug)、E10E12-16:Ald…(E,E)-10,12- ヘキサデカジエンール (0.5ug)、Z13-18:Ac…(Z)-13- オクタデセニルアセート (0.5ug)、Z13-18:OH…(Z)-13- オクタデセン-1-オール (0.5ug)、E10E12-16:OH…(E,E)-10,12- ヘキサデカジエン-1-オール (0.2ug)。カラム内径: 5.25mm、吸着剤: ワコーゲル C-200 (200g)、溶媒量: 各 2ml。河津圭氏のデータより作図。

以上のことから、ピーク3にふくまれる成分はカルボニル化合物もしくはエステル化合物である可能性が示唆された。

#### GC-MSによる分析結果

GC-EADでEAG反応が検出されたピーク3について、GC-MSによる分析をおこなった。そのEI法によるピーク3のマッススペクトルが図4.5Aである。ピーク3のマッススペクトルのうち低質量部には、 $m/z$ 67、81、96、109の開裂イオンのピークが顕著にみられ、なかでも $m/z$ 67は、スペクトル中で最大強度をしめす基準ピークであった。いっぽう高質量部には、 $m/z$ 236にピークが検出された。同ピークより高質量域には顕著なピークは検出されなかった。

いっぽう、CI法によりえられたピーク3のマッススペクトル(図4.6A)のなかでは、 $m/z$ 183および237がもっとも顕著なピークであり、ついで $m/z$ 184、223、60、86、293、85、219、275などが検出された。また、EIマッススペクトルにみとめられた $m/z$ 236のピークはCI法でも検出された。

以上列挙したように、明瞭な各イオンピークからなるマッススペクトルがえられたことから、ピーク3が単一成分もしくは幾何異性体をふくむ同一構造式をもつ成分からなることが示唆された。

#### 分子量と官能基の推定

EIおよびCIマッススペクトルで $m/z$ 236に検出されたピークは、EIスペクトルで同ピークより質量のたかい顕著なピークが検出されなかったことや、CIマッススペクトルで $m/z$ 237につよいピークが見いだされたこ

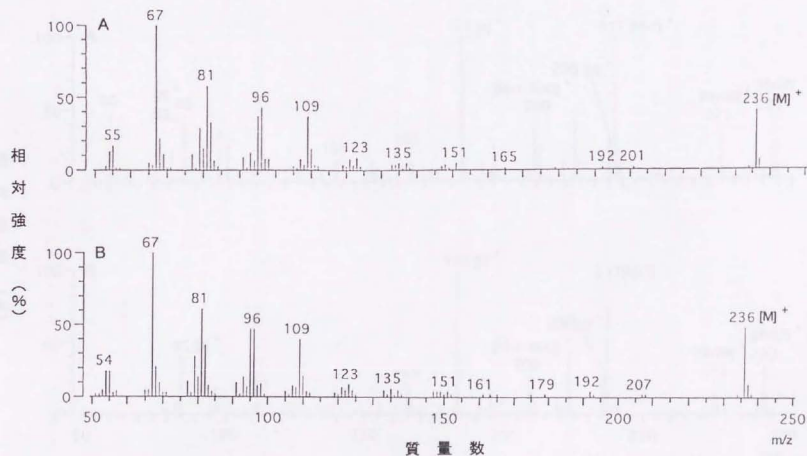


図 4.5 ガーナ系統雌抽出物ピーク 3 (A) および E10E12-16:Ald (B) の EI 質量スペクトル

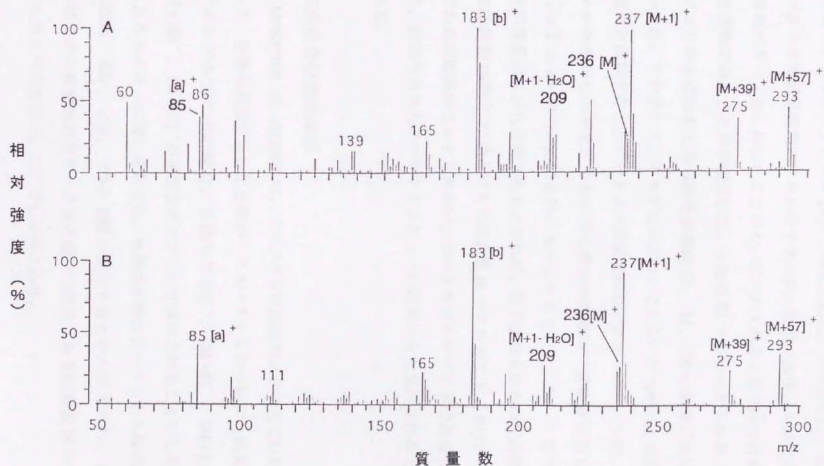


図 4.6 ガーナ系統雌抽出物ピーク 3 (A) および E10E12-16:Ald (B) の Cl 質量スペクトル



とから、分子イオンピーク  $[M]^+$  と推定された。またさらに、EI マススペクトルで低質量部にみられるイオンが、直鎖の共役ジエン化合物に特有のパターンをしめしたことから、ピーク 3 が分子量 236 の直鎖ジエン化合物であることが示唆された。上記の EI マススペクトルを、ガリ類性フェロモンにおおくみられる炭素数 12、14、16 の共役ジエン系アルコール、アセテート、アルデヒドについてしらべた ANDO et al.(1988) の結果と比較すると、ピーク 3 の低質量部のイオン・パターンは、末端のメチル基からかぞえて 2 および 4 番めの位置に二重結合のある化合物 ( $\omega$  2,  $\omega$  4-ジエン) のそれにもっともよく似ていた。ここでピーク 3 が直鎖ジエン化合物であるとすれば、分子量 236 をもつ化合物は、二重結合を 10 位と 12 位とにもつ炭素数 16 のアルデヒド (10,12-16:Ald) である可能性がもっともたかい。ピーク 3 がアルデヒドであることはまた、前述のカラムクロマトグラフィーの結果からも支持されるところである。

#### 二重結合位置の確認

DOOLITTLE et al.(1985) は、イソブタンを反応ガスとする CI-MS によって、各種の共役ジエン化合物のマススペクトルを分析した結果、共役ジエンアルデヒドの場合、共通して  $[M]^+$ 、 $[M+1]^+$ 、 $[M+1-18]^+$ 、 $[M+39]^+$ 、 $[M+57]^+$  が主要なイオンとして検出されることをしめした。これらのイオンには、それぞれ、本種抽出物のピーク 3 から検出された  $m/z$  236、237、219、275、293 が相当するとかんがえられ、EI-MS の結果から推測されたピーク 3 の成分の構造である炭素数 16 のジエンアルデヒドの存在が、ここでも示唆された。

さらに DOOLITTLE et al.(1985) は、共役ジエン化合物の炭素鎖における共役二重結合の位置によって、規則的なパターンのイオン開裂がおきることをあきらかにした。すなわち図 4.7 において、2つの二重結合のうち官能基にちかい方の開裂によって、メチル末端をふくむ炭素鎖に水素原子 3 個が付加して開裂イオン  $[a]^+$  が生じ、反対にメチル末端にちかい二重結合の開裂によって、官能基をふくむ炭素鎖に水素原子 3 個が付加して開裂イオン  $[b]^+$  を生じる。

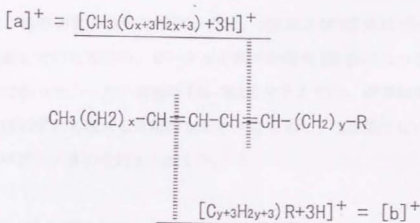
本種抽出物のピーク 3 においては、 $m/z$ 85 および 183 の顕著なピークが、それぞれ開裂イオン  $[a]^+$  および  $[b]^+$  に相当するとかんがえられるので、このことから、ピーク 3 成分の二重結合の位置は、10 および 12 位であると推測された。

### 二重結合立体配置の推定

ここまでにピーク 3 の成分として推測された、10、12 位に二重結合を有する炭素数 16 の直鎖ジエンアルデヒドには、その構造上、4つの幾何異性体が存在する。すなわちそれらは、2つの二重結合部位における立体配置が (E, E)、(E, Z)、(Z, E)、(Z, Z) である各化合物 (EE 体などと表記する) である。

幾何異性体は、たがいにその物理的・化学的性質がことなり、そのちがいは、たとえば GC における保持時間のちがいにあらわれる。そこで、ピーク 3 の立体配置をあきらかにするため、これら 4つの幾何異性体の標準物質をもちいて、極性のことなる 2種類のキャピラリーカラムによる GC 分析をおこない、ピーク 3 とのあいだで保持時間を比較した。

その結果は表 4.4 にしめしたとおりである。無極性の DB-1 カラムを



R = CHO, O<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OCHO, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>3</sub>

[a]<sup>+</sup>, [b]<sup>+</sup>…開裂イオン

開裂部位

図 4.7 CI-MS による直鎖共役ジエン化合物の開裂パターン

DOOLITTLE et al. (1985) より改変。

表 4.4 10, 12-ヘキサデカジエナールの各幾何異性体ピーク  
およびガーナ系統雌抽出物ピーク 3 の GC 保持時間 (分)

ピーク	カラム	
	DB-1	DB-WAX
(Z, E)	19.06	20.37
(E, Z)	19.18	20.57
(Z, Z)	19.35	20.74
(E, E)	19.46	20.89
ピーク 3	19.46	20.89

もちいた場合、標準物質の幾何異性体のうち、EE および ZZ 体はピークがかなり接近していたものの、ピーク 3 の保持時間は EE 体にもっともちかいものであった。一方、高極性 DB-WAX カラムでは、標準物質の幾何異性体はいずれも独立した明瞭なピークをしめし、EE 体のピークの保持時間はピーク 3 のそれと一致した。

#### 標準物質との比較と構造決定

ピーク 3 と GC の保持時間が一致した EE 体標準物質について、さらにピーク 3 との同一性をたしかめるため、同標準物質の GC-MS 分析をおこなった。

その結果、EI マススペクトルにおいては、低質量部の  $m/z$  67、81、96、109 および分子イオンピーク  $m/z$  236 が明瞭に検出された (図 4.5-B)。CI マススペクトルではそれぞれ  $[M]^+$ 、 $[M+1]^+$ 、 $[M+39]^+$ 、 $[M+57]^+$  とみられる  $m/z$  236、237、275、293 と、共役二重結合 (10、12 位) に特異的な  $m/z$  85 および 183 の各イオンピークを検出した (図 4.6-B)。すなわちいずれのスペクトルにおいても、ピーク 3 と EE 体標準物質とのあいだできわめてたかい一致がみられた。

以上、各分析データの検討によって、ピーク 3 の成分の化学構造は、(E, E)-10, 12-ヘキサデカジエナール (以下、E10E12-16:Ald と略記する) であると結論づけられた。

#### ピーク 3 成分の定量

化学構造が E10E12-16:Ald と同定されたピーク 3 成分について、雌性フェロモン腺からの抽出量を測定した。抽出液は各ストックごとに 1

$\mu$ l を GC に注入し、定量された E10E12-16:Ald の値にストックの液量を乗じ、さらにストックの抽出にもちいた雌頭数で除することにより、雌 1 頭あたりの抽出量を算出した。

結果は、抽出物のストックによって抽出量に差がみられた (表 4.5)。おいしいものでは雌 1 頭あたり約 2 ng、すくないもので 0.2ng とばらつきがみられ、平均では 0.9ng であった。

#### ピーク 3 以外のフェロモン成分候補の探索

EAD 分析では、ピーク 3 以外に EAG 活性をしめすピークは検出されなかった。しかし EAG 活性がひくく、かつ含有量がすくないフェロモン成分が存在する可能性がかんがえられる。そこでピーク 3 以外の抽出物ピークについて、同様に EI マススペクトルをとり、フェロモン成分である可能性のある物質の探索をおこなった。しかし、分子イオンピークから検討したかぎりでは、アルデヒド、アセタート、アルコールなど、フェロモン成分の候補となるような成分の存在をしめすスペクトルは見いだされなかった。

さらに、GC-MS の CPU に記録された抽出物のイオンデータのなかから、特定の質量のものをえらんで、保持時間による推移をみるマススクロマトグラフィー (MC) をおこなった。ここではとくに、ガ類性フェロモンに一般的な 10-18 の偶数炭素数の飽和、モノエン、ジエンのアルデヒド、アルコール、アセタートを探索した。アルデヒドおよびアルコールに関してはそれぞれ  $[M]^+$  および  $[M-18]^+$ 、またアセタートに関しては  $[M]^+$  および  $[M-60]^+$  に相当する  $m/z$  値を選択した。しかしその結果は、MC によっても、ピーク 3 以外にはフェロモン成分とみられる

表4.5 雌1頭あたりのE10E12-16:Aldの抽出量

ストック 番号	系統	抽出頭数	抽出量 (ng/♀)
1	ガーナ	264	1.9
2	本郷	59	1.9
3	本郷	55	1.3
4	本郷	30	1.3
5	本郷	89	1.2
6	ガーナ	455	0.9
7	ガーナ	499	0.9
8	本郷	138	0.9
9	ガーナ	113	0.7
10	ガーナ	434	0.4
11	ガーナ	198	0.4
12	本郷	217	0.2
<hr/>			
平均±標準誤差		ガーナ	0.9±0.2
		本郷	1.1±0.2
		ガーナ/本郷	1.0±0.2

表4.6 E10E12-16:Ald合成品(未精製)に対する行動反応(ガーナ系統)

処理量 (ng)	雄ガによる行動反応 <sup>1)</sup>				
	接 触 (回)	定位飛翔 (頭)	ランダム 飛翔(頭)	マーティング ・ダンス(回)	最大瞬間 定位(頭)
10	2.1±0.5a	0.3±0.3a	6.0±0.9a	0a	0.3±0.2a
1	1.8±0.4a	0.4±0.3a	8.5±1.5a	0a	0.4±0.2a
0.1	0.6±0.2a	0.2±0.1a	5.8±1.5a	0a	0.6±0.2a
0.01	0.3±0.3a	0.3±0.3a	3.3±0.9a	0a	0.7±0.3a
ヘキサン	1.0±0.5a	0.1±0.1a	3.5±0.6a	0a	0.3±0.2a

<sup>1)</sup> 平均±標準誤差。同一項目中でおなじ文字をつけた値は、TUKEY-KRAMER法により、5%水準で有意差なし。



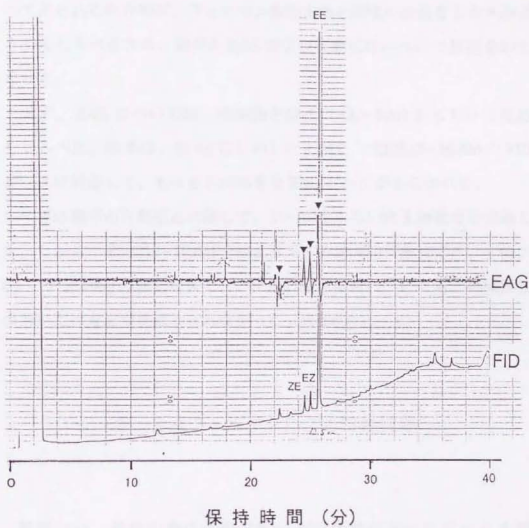


図 4.8 E10E12-16Ald 合成品の GC-EAD チャート

▼ : EAGピーク

ピークは検出されなかった。

#### 合成品のフェロモン活性

ピーク3の成分がE10E12-16:Aldと同定されたので、その合成によってえられた化合物が、フェロモン腺抽出物と同様の活性をしめすかどうかをしらべるため、雄ガのEAGおよび行動反応について検定をおこなった。

まず、EAGについては、抽出物と同様にGC-EADをもちいて反応をしらべた。結果は、図4.8にしめしたとおり、E10E12-16:AldのFIDピークに対応して、もっともおおきなEAGピークがあらわれた。

つぎに雄ガの行動反応に関して、ケージをもちいた生物検定を実施した。しかし、E10E12-16:Ald合成品に対する雄ガの行動反応は、0.01、0.1、1、10ngの各処理量で、いずれの検定項目についても、対照区とのあいだに有意な差はみられなかった(表4.6)。

## 2. 合成フェロモンによる行動反応

前節では、雌抽出物のなかで唯一EAG活性のあったピーク3がE10E12-16:Aldと同定された。同成分の標準物質にはEAG活性がみとめられ、また雌抽出物中にはほかにフェロモン成分の可能性があるとみられるピークが検出されなかったことから、E10E12-16:Aldが本種の性フェロモン主成分とかがえられた。

しかしながら、雄ガの行動による検定では、供試された 0.01 - 10ng の処理量の標準物質に対し、雄ガは明確な行動反応をしめさなかった。その理由としては、①主成分以外にフェロモン活性に必要な未知の微量成分が存在すること、②生物検定に使用した合成化合物中に、活性をおさえる不純物が存在すること、の2つがかんがえられる。そこで本節では、①の微量成分の関与はひとまずおいて、②の不純物関与の可能性について検討する。

前節で、E10E12-16:Ald 合成品を GC-EAD により分析した結果をみると、E10E12-16:Ald 以外にも、いくつかのピークが FID で検出されている（図 4.8）。これらは、溶媒に由来する不純物と合成品にふくまれる不純物とによるピークとかんがえられた。これらの FID ピークのうち、保持時間が E10E12-16:Ald にちかい2つのピークは、ZE および EZ 体の幾何異性不純物とみられ、EAG 反応はこれら両ピークからも検出されている。しかしこれらのピークは雌抽出物からは検出されなかった。

そこでこれらの不純物が、生物検定の際に雄ガの行動に影響をあたえる可能性をできるかぎり排除するため、合成フェロモンを精製したうえで生物検定に供試し、フェロモン活性が生じるかどうかをしらべた。

## 材料と方法

### 合成フェロモンの精製

合成フェロモンの精製は以下のおこなった。信越化学工業株式会社提供の4つの幾何異性体が混合した 10, 12-16:Ald 合成品（異性体

の混合比は前節に示した)に、内部標準としてヘキサデカナール (16:Ald) をくわえた。大口径のキャピラリーカラム (DB-WAX; Megabore、内径 0.53mm、長さ 30m、フィルム厚 1 $\mu$ m、J&W Scientific 製) を装着した GC-14B に合成品を注入し、あらかじめ 16:Ald と EE 体の保持時間およびピークの持続時間を測定した。つぎに合成品 20 $\mu$ g を注入し、16:Ald ピークから予測される EE 体ピークの出現時間帯に、GC から FID をとりはずして、カラムの排出口に外壁をドライアイスで冷却したガラス管 (内径 2 mm、長さ 30 cm) の先端をあて、管内に排気をみちびいた。捕集した試料は、ヘキサンでガラス管の内壁をあらいながすことにより回収した。この方法によって、EE 体ピークの出現時間の測定と、ガラス管捕集の開始および終了時間の設定を正確におこなう、たかい純度の合成品をえることができた。

#### 純度の測定

精製した合成品の純度の測定には、高感度ガスクロマトグラフ GC-17A (島津製作所製) をもちいた。キャピラリーカラムは DB-WAX (内径 0.25mm、長さ 30m、フィルム厚 0.25 $\mu$ m) を使用した。

### 結 果

合成フェロモンを大口径キャピラリーカラムをもちいて精製した結果、精製後の合成品における EE 体の純度は、99.1% 以上であった。

つぎに、精製した合成フェロモンをもちいて、雄ガによる行動検定を

表4.7 精製後の E10E12-16:Ald 合成品に対する行動反応 (ガーナ系統)

処理量 (ng)	雄ガによる行動反応 <sup>1</sup>				
	接 触 (回)	定位飛翔 (頭)	ランダム 飛翔 (頭)	メーティング ・ダンス (回)	最大瞬間 定位 (頭)
10	12.7±0.9a	5.8±0.7a	13.8±0.8a	0.8±0.4a	4.7±0.2a
I	8.7±0.8a	5.9±0.9a	12.3±1.5a	1.3±0.4a	3.3±0.3b
0.1	8.5±2.2a	3.3±0.8ab	7.0±1.2b	1.3±0.6a	2.0±0.4c
0.01	1.2±0.5b	0.3±0.2bc	8.3±1.5b	0a	0.7±0.3d
ヘキサシ	1.0±0.5b	0.1±0.1c	3.5±0.5b	0a	0.3±0.2e

<sup>1</sup> 平均±標準誤差。同一項目中でおなじ文字をつけた値は、TUKEY-KRAMEK 法により、5%水準で有意差なし。

おこなった。結果は表 4.7 のとおり、接触、ランダム飛翔、メーティング・ダンスの各項目で、処理量 0.1ng 以上で対照とのあいだに有意差があり、フェロモン活性がみとめられた。また、ランダム飛翔および最大瞬間定位では、それぞれ 1 および 0.01ng 以上で活性が検出された。

### 3. フェロモン微量成分の探索

フェロモン主成分同定の過程において、雌抽出物を GC-MS による MC 法で分析した結果、主成分以外にはフェロモンの候補となる成分が検出されなかったことはすでにのべた。

しかし昆虫では、ごく微量の成分がフェロモンの活性に関与している例は数おおく知られており、本種においても MC 法の検出限界以下で雌抽出物中に微量成分が存在する可能性は否定できない。とくに抽出物をシリカゲルクロマトグラフィーで分離した際、15%エーテル/ヘキサン画分に雄ガの行動反応をひきおこす活性がみられたことは、主成分のアルデヒドが混入した可能性はあるものの（図 4.4 参照）、アルコール成分が本種性フェロモンの活性に関与している可能性を示唆するものである。

いっぽう昆虫性フェロモンの微量成分は、一般にその主成分と、炭素鎖の長さや官能基の種類、二重結合の数や位置など、何らかの点で共通する物質であるケースがおおい。これは昆虫体内におけるフェロモン生合成の過程で、類縁化合物が連関して合成されることによるものとかん



がえられる。

そこで本節では、アルコール成分として存在する可能性がもつともたかい、E10E12-16:Aldの生合成前駆物質とおもわれ、同成分と炭素数および二重結合の位置をおなじくする10, 12-ヘキサデカン-1-オール(10, 12-16:OH)を、雌抽出物から探索することをこころみた。

### 材料と方法

#### 合成化合物

定性・定量分析時の比較および生物検定に供試する合成品は、信越化学工業株式会社提供の10,12-16:Ald幾何異性体混合物を、水素化リチウムアルミニウムで還元することによりえた。

#### マスフラグメントグラフィー(MF)法

雌抽出物から微量成分を検出するため、MF法をもちいたGC-MS分析をおこなった。MF法は、MC法とおなじく特定のイオンを連続的に検出する方法であるが、測定時にあらかじめ $m/z$ 値を選択して走査を一定の範囲に固定しておくことに特徴がある。検出するイオンがかぎられているため、背景物質による影響が少なく、安定かつたかい感度をえることが可能である。

GC-MSには前述のGCMS-QP1000EXを使用し、各部の設定も同様とした。検出イオンの $m/z$ 値は、炭素数16のジエンアルコールの開裂イオンとして予測される $238[M]^+$ 、 $220[M-18]^+$ 、95、81、67、56、43を選択した。

検出された成分の定量には GC-17A をもちいた。あらかじめ合成品を分析して検量線を作成し、ピーク面積から定量をおこなった。

## 結 果

### E10E12-16:OH の確認

雌抽出物および4種の幾何異性体をふくむ 10, 12-16:OH 合成品について、MF による分析をおこなった結果えられたイオンクロマトグラムを図 4.11 にしめた。

雌抽出物のトータルイオンクロマトグラム (TIC) をみると、4種の合成品異性体のうちの2種と保持時間をおなじくする位置に、2つのピークが検出された。このうち保持時間があとのピークは EE 体ピークと一致していた。さらにこのピークには、 $m/z$ 238、95、81、67、56、43 など合成品とおなじ開裂イオンのセットがふくまれていることがしめされた。いっぽう保持時間が前のピークからは、C16 ジエンアルコールの分子イオンである  $m/z$ 238 のピークは検出されなかった。

EE 体ピークと一致した抽出物中の成分のピークを GC で定量した結果は、表 4.8 にかかげた。試料により、主成分の 3.1—3.9% (重量比) と定量された。

以上のことから、雌抽出物中には (E, E)-10, 12-ヘキサデカン-1-オール (E10E12-16:OH) が、対主成分比 3—4% で存在することがあきらかとなった。

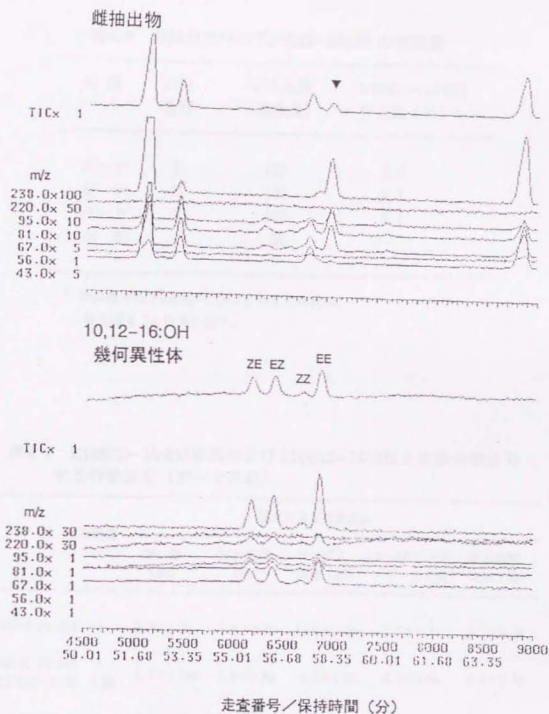


図 4.9 ガーナ系統雌抽出物および 10,12-16:OH  
のマスフラグメントグラム

▼: E10E12-16:OH と保持時間および開裂イオンが一致した抽出物ピーク。

表4.8 雌抽出物中の E10E12-16:OH の存在量

系 統	試料 番号	GC注入量 (雌当量)	E10E12-16:OH 存在比 (%) <sup>1</sup>
ガーナ	1	100	3.9
ガーナ	2	100	3.1
ガーナ	3	100	3.1
本 郷		99	—

<sup>1</sup> 抽出物中の E10E12-16:Ald に対する重量比。

—: 検出限界 (0.01%) 以下。

表4.9 E10E12-16:Ald 単独および E10E12-16:OH との混合物に対する行動反応 (ガーナ系統)

試 料	処理量 (ng)	雄ガによる行動反応 <sup>1</sup>				
		接 触 (回)	定位飛翔 (頭)	ランダム 飛翔 (頭)	メーティング ・ダンス (回)	最大瞬間 定位 (頭)
E10E12-16:Ald	1	8.7±1.8a	5.9±0.9a	12.3±1.5a	1.2±0.4a	3.3±0.3a
E10E12-16:Ald +E10E12-16:OH	1 0.03	5.7±1.2ab	3.8±0.8a	8.6±1.0b	0.4±0.3a	2.4±0.3a
ヘキサシ	—	1.0±0.5b	0.1±0.1b	3.5±0.5c	0a	0.3±0.2b

<sup>1</sup> 平均±標準誤差。同一項目中でおなじ文字をつけた値は、TUKEY-KRAMER 法により、5%水準で有意差なし。

## 主成分と微量成分の混合物に対する行動反応

雌抽出物中に存在することがあきらかになった E10E12-16:OH について、フェロモンとしての活性の有無をしらべるため、合成品をもちいて主成分と混合し、雄ガによる行動反応をしらべた。合成品の混合比は、抽出物中の存在比から 100 : 3 とし、主成分である E10E12-16:Ald 1 ng に E10E12-16:OH 0.03ng を添加し、生物検定に供した。

結果は表 4.9 にかかげたとおり、主成分に E10E12-16:OH を添加しても、主成分を単独で処理したときと比較して、有意な活性の上昇も低下もみとめられなかった。

## 4. 本郷系統雌性フェロモンの同定

## 材料と方法

本郷系統の雌性フェロモンの分析については、各分析機器の設定および供試した合成化合物はガーナ系統の分析とほぼ同様である。

主成分の分析には GC (GC-17A, カラム : DB-WAX) および GC-MS (EI 法) を使用した。微量成分については、サンプル数が十分ではなかったため、GC-MS による分析はおこなわず、対象を 10,12-16:OH のみにしぼって、GC-17A で標準物質と保持時間の一致するものを探索した。

## 結 果

## 抽出物成分の分析

本郷系統の雌抽出物を GC-17A で分析したところ、ガーナ系統とほぼおなじピークをふくむチャートがえられた (図 4.10)。そこでガーナ系統のピーク 3 に相当するピークに関して、GC-MS 分析をおこない、EI マススペクトルを調べた結果、同ピークは炭素数 16 のジエンアルデヒドであることが判明した (図 4.11)。さらに、標準物質との GC 保持時間および EI マススペクトルの比較の結果、いずれも E10E12-16:Ald のものと一致した。以上のことから、本郷系統の雌抽出物中には E10E12-16:Ald が存在することがあきらかとなった。

しかし、ガーナ系統で検出された E10E12-16:OH については、本郷系統でも GC-17A に 99 頭分の雌抽出物を注入して探索したが、検出されなかった (表 4.8)。

## フェロモン活性の検定

雌抽出物中から検出された E10E12-16:Ald に関して、雄ガによる行動反応を検定した。結果は表 4.9 にしめしたとおり、E10E12-16:Ald の処理量 1ng で、対照と比較して有意な活性があった。



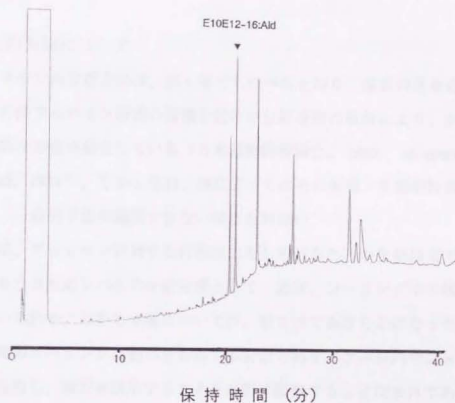


図 4.10 本郷系統雌抽出物のガスクロマトグラム

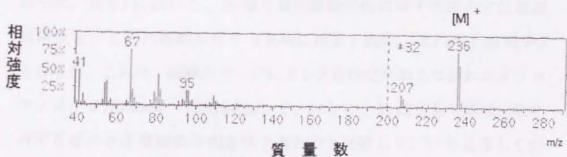


図 4.11 本郷系統雌抽出物ピークのEI質量スペクトル

## 5. 考 察

## 生物検定の方法について

性フェロモンの分析方法は、第1章でものべたとおり、過去のさまざまな昆虫の性フェロモン研究の蓄積と近年の分析技術の革新により、かなり一般的な方法が確立している（日本植物防疫協会、1983; HUMMEL and MILLER, 1984）。しかしなお、種によってはその生理・生態的特異性のため、一般的手法が適用できない場合もおおい。

たとえば、フェロモンに対する行動反応をしらべるための生物検定では、おこりうる反応レベルの比較対照として、通常、コーリング中の雌ガがもちいられる。しかし本種においては、第3章であきらかになったように、雌のコーリング行動がきわめて不安定であり、ケージ内でフェロモンを放出し、雄ガを誘引することを実際に観察することはまれであった。このため、本研究では活性プラスの対照として、適当量の雌抽出物を使用せざるをえなかった。

また雄ガに関しても、雌抽出物に対する反応率はかなりひくいものであった。表4.1において、10雌当量の雌抽出物に対する雄の定位飛翔個体数を、1回の観察あたりの平均に換算すれば、2.1頭（10頭中）となるが、これは、同様のケージによる生物検定がおこなわれたオオワタノメイガ *Notarcha basipunctalis* で、おなじく10雌当量の雌抽出物に対する雄の定位飛翔率が91.3%であるのと比較して、いちじるしくひくい値といえよう（HIMENO and HONDA, 1992）。

本種の雌雄のガの行動が、このように不活発であることの理由はよく

わからないが、あるいはケージや風洞などのかぎられた空間内におかれることが、この点に関して何らかの影響をあたえているかもしれない。

いずれにせよ、本種のこのような性質は、本研究をすすめるにあたり、おおきな障害となった。そしてその打開策として、行動検定に風洞をもちいる一般的な方法をとらず、ケージ内個体群としての行動を指数化して比較する方法を採用することにつながった。

この方法では、行動をいくつかのことなる指標で数値化することにより、より詳細な行動の解析が可能となった。今後、本種のように性フェロモンに対する行動反応率がひくいケースでは、本研究でもちいた方法を採用することは、きわめて有効であるとおもわれる。

#### フェロモン主成分について

本種の雌抽出物中からは、E10E12-16:Ald が検出された。同成分は単独で雄ガの行動を誘起する活性をしめし、本種の性フェロモン主成分であることがはじめてあきらかとなった。

雌1頭あたりの主成分の抽出量は、0.2—1.9ng とかなりすくないものであった(表4.5)。このため、試料を大量にあつめることには困難があり、その分析手法も、かぎられた試料からいかに有用なデータをえるかに留意する必要があった。

フェロモン分析の手法としては、画分の活性を確認しながら分離をくりかえし、最終的に目的とする成分を単離することが一般的であるが、本研究では、上記の理由からそのような手法はとらなかった。また、一般に成分の化学構造の推定に有効な官能基テストも、大量の試料を必要とするため、おこなわなかった。

本研究でおこなったように、抽出物をただちに GC-EAD で分析し、活性のあったピークを GC と GC-MS のデータから推定する方法は、微量のフェロモン成分を同定する際に有効であるとおもわれる。この場合、抽出物のカラムクロマトグラフィーによる分離は、フェロモンの単離とともに、極性などフェロモン成分の性質に関するデータをえるうえでも有効である。

ただしこの方法には、フェロモンが複数成分であって、しかも検出限界以下の微量成分をふくむ場合には、すべての成分をつかまえることが困難となる欠点がある。その場合、抽出物と分離ないし同定された活性成分とのあいだで、活性レベルのちがいをよく見きわめることが重要であろう。

#### 不純物の影響について

雌抽出物中の存在することがあきらかとなった E10E12-16:Ald に関して、はじめに未精製の合成品をもちいて行動検定をおこなった際、雄ガは合成品に対して反応しなかった。ところがその後、合成品を異性体純度 99% 以上にまで精製して再度検定をおこなったところ、たかい行動反応がみとめられた。この変化は、未精製合成品にふくまれていた不純物が、雄ガの誘引を阻害したことによるものとかんがえられる。この不純物の誘引阻害機能については、第5章でさらにくわしく検討する。

ところで、合成品を精製した結果、雄ガの行動反応をえることができたものの、その反応レベルは抽出物に対するものにはおよばなかった(表 4.1、表 4.7)。その理由としては、ごく微量ながらも存在する異性体不純物の影響や、主成分以外に、つぎにのべる何らかのフェロモ

ン微量成分を必要とする可能性などがかんがえられる。しかしこの点については、ここであきらかにすることはできなかった。

#### 微量成分の関与について

ガーナ系統雌抽出物からは、主成分 E10E12-16:Ald の関連物質である微量の E10E12-16:OH が検出された (図 4.11、表 4.8)。この微量成分がフェロモン活性に関与しているか否かをしらべるため、合成品をもちいて主成分と混合し、雄ガの反応を検定した。しかし雄ガの混合物に対する反応と主成分単独に対する反応とのあいだには、有意な差はみとめられなかった (表 4.9)。

しかしなお、同微量成分が、本種雌性フェロモンの活性にかかわっている可能性は否定できないとおもわれる。なぜならば、合成品中の不純物の影響によって微量成分の活性が隠蔽されている場合や、行動検定法の限界によってわずかな活性が検出されなかった可能性がかんがえられるからである。さらには、E10E12-16:OH 以外にも、本研究でもちいられた分析方法で検出できなかった微量のフェロモン成分が存在する可能性ものこされている。

ガ類においては、カイコガやマイマイガ *Lymantria dispar*、イラクサギンウワバ *Trichoplusia ni* など、いくつかの種で単一の性フェロモン成分のみが配偶行動に関与することが知られている。しかし最近の分析技術の進歩により、おおくのガ類が複数のフェロモン成分を有していることがあきらかとなり、単一フェロモン成分しかもたないものは、ガ類になかではごくかぎられた種であるとかんがえられるようになってきた (TAMAKI, 1985 ほか)。本種においても、この点をあきらかにするため

には、より高感度の分析・検定方法を採用することが必要であろう。

### 系統間のフェロモンの類似

本研究では、ガーナおよび本郷の両系統について性フェロモンの分析をおこなった。その結果を比較すると、微量成分に関してやや議論の余地はあるものの、主成分に関しては、両系統とも量的・質的にきわめて類似していた。また生物検定において、両系統の雌抽出物をたがいに別系統の雄ガにあたえたところ、両系統とも別系統の雌抽出物に対して反応をしめた。

地理的に隔離した個体群でフェロモンに変異がみられる例としては、ヨーロッパアワノメイガ *Ostrinia nubilalis* のケースが有名である。同種にはそのフェロモン成分の幾何異性体組成のちがいによって、E型およびZ型とよばれる2つの系統が存在し、両系統でその分布域や化性にちがいがみられる (KLUN, 1975; KOCHANSKY et al., 1975)。

本種においてはこの例とはまったく対照的な結果となった。日本とガーナという地理的にまったく隔絶した個体群でありながら、フェロモン成分が類似しており、たがいに誘引が可能であったことは、逆の意味で興味ぶかい。本種における長距離移動性の問題ともからめて、さらにおおくの地域個体群 (系統) でフェロモンを分析して比較することは、フェロモンの遺伝的変異の問題にあたたな知見をもたらすものとかんがえられる。

### 他種との比較

本種の性フェロモン主成分と同定された E10E12-16:Ald は、他のい



くつかのガ類の性フェロモン成分としても知られている。ARN et al. (1992) による、1991年までに同定されたガ類性フェロモンのリストによれば、3種のガ類（メイガ科1種、ヤガ科 Noctuidae 2種）において、E10E12-16:Ald がフェロモンとして検出され、その生物活性が確認されているほか、5種（ホソマイコガ科 Schreckensteiniidae 1種、スズメガ科 Sphingidae 4種）では、雌抽出物からの同定あるいは雄ガに対する誘引活性が報告されている（表 4.10）。また最近では、本種とおなじノメイガ亜科に属するオオワタノメイガで、同成分がフェロモン主成分の1つとして同定された（HIMENO and HONDA, 1992; HONDA et al., 1994）。

ガ類においては、分類学的に近縁のグループでフェロモン成分に類縁性がある例が知られている。たとえばハマキガ科 Tortricidae では、ハマキガ亜科 Tortricinae のものはほとんどが炭素数 14 で二重結合が 11 位にある化合物をフェロモン成分にもっているが、ヒメハマキガ亜科 Olethreutinae ではほとんどが炭素数 12 の化合物を基本にしている（玉木, 1978）。しかし本種の属するノメイガ亜科やメイガ科で、このような傾向があるかどうかは知られておらず、前述のリストによっても、ノメイガ亜科でとくに炭素数 16 の化合物がおおいという傾向は見いだされない。分類学上のグループ内でフェロモン成分に何らかの傾向を見いだすためには、さらにおおくの種でフェロモンが同定される必要がある。

表4.10 E10E12-16:Aldとの関連が報告されたガ類<sup>1</sup>

種 名	科 名	雌抽出物 からの同定	雄方に対する 活性 <sup>2</sup>	文 献
タテジマホソマイコガ <i>Schreckensteana festaliella</i>	ホソマイコガ科 Schreckensteiniidae	未同定	誘引	PHIESNER (私信)
<i>Deilephila porcellus</i>	スズメガ科 Sphingidae	未同定	誘引	PHIESNER (私信)
イブキスズメ <i>Hyles galii</i>	スズメガ科 Sphingidae	同定	未確認	REED et al. (1987)
マツクロスズメ <i>Hyloicus pinastri</i>	スズメガ科 Sphingidae	未同定	誘引	PHIESNER (私信)
<i>Proserpinus flavofasciata</i>	スズメガ科 Sphingidae	未同定	誘引	REED et al. (1987)
<i>Diaphania hyalinata</i>	メイガ科 Pyralidae	同定	誘引	RAINA et al. (1986)
ミスジアオリンガ <i>Earias insulana</i>	ヤガ科 Noctuidae	同定	誘引	HALL et al. (1980) CORK et al. (1988)
クサオビリンガ <i>Earias vittella</i>	ヤガ科 Noctuidae	同定	誘引	CORK et al. (1985) CORK et al. (1988)

<sup>1</sup> ARN et al. (1992)より作成。ガ類の和名は井上ら(1982)にもとづいた。<sup>2</sup> 誘引：野外試験または他の方法で雄方に対する活性が確認されたもの。

## 第5章 フェロモン活性におよぼす幾何異性体の影響

前章において、本種の雌性フェロモン主成分が同定されたが、その際、主成分の合成品の純度がそのフェロモン活性、とくに雄ガの誘引に影響することが示唆された。このことは、本種のフェロモンの研究や利用をすすめていくうえで、重要な問題をはらんでいるとかがえられる。

前章で、合成品をかなりたかい純度にまで精製しても、そのフェロモン活性は、雌抽出物におよばなかった。そのため合成フェロモンの活性がひくいことの原因として、未知の微量成分の関与とともに、ごく微量の幾何異性体などの不純物が合成フェロモンの活性を阻害している可能性がかがえられた。

そこで本章では、本種の雌性フェロモンの誘引活性を阻害する要因を特定し、その影響について検討をおこなった。なお本章では、供試虫・抽出物とも、すべてガーナ系統のものをもちいた。

### 1. 合成品中の不純物の誘引阻害効果

前章では、4種の幾何異性体をふくむ 10,12-16:Ald 合成品を GC で分取し、精製した E10E12-16:Ald (異性体純度 99.1%) を行動検定に供

したところ、精製前にはみられなかった雄ガに対する誘引活性があらわれた。このことから、合成品中にふくまれ、精製によって除去された何らかの物質の効果によって、E10E12-16:Aldの誘引活性が阻害されるのではないかとかんがえられた。

そこで、合成品にふくまれる誘引阻害成分をあきらかにするため、GCをもちいて合成品中の幾何異性体その他の不純物成分を分取し、それぞれの画分を合成フェロモンにくわえ、雄ガに対するフェロモンの誘引活性が阻害されるかどうかをしらべた。

### 材料と方法

#### 合成品中の不純物の分離

まず、信越化学工業株式会社提供の4種の幾何異性体が混合した10,12-16:Ald合成品（異性体比：EE体61.1%、EZ体18.7%、ZE体15.8%、ZZ体4.5%）をGCで分析した結果、合成品には幾何異性体およびその他の不純物がふくまれていることが、ガスクロマトグラムのピークによってしめされた（図5.1）。このうちピークc-fはそれぞれZE、EZ、ZZ、EE異性体であり、ピークaおよびbは、10,12-16:Aldの分解物もしくは副生成物その他の不純物とかんがえられた。

つぎにこれらのピークうち、a-eすなわち不純物ピークのGCによる分取をおこなった。分取には、前章の合成品精製の方法に準じ、ガスクロマトグラフGC-14Bおよび大口径キャピラリーカラムDB-WAX; Megaboreをもちいた。

分取した画分は、精製した合成フェロモンE10E12-16:Ald（異性体

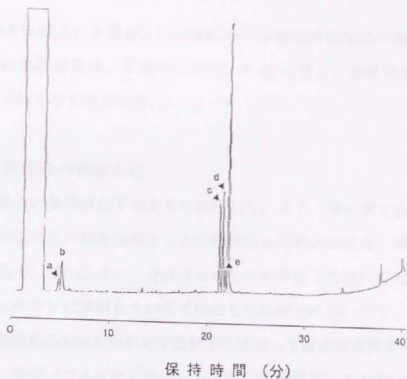


図5.1 10, 12-16:Ald合成品とそれにふくまれる不純物および幾何異性体のGCピーク  
 a, b: 不純物ピーク。c-f: 10, 12-16:Ald幾何異性体ピーク (c: ZE体、d: EZ体、e: ZZ体、f: EE体)。

表5.1 E10E12-16:Ald合成品中の不純物をふくむ画分の誘引阻害効果

画分 <sup>1</sup>	接触回数 (平均±標準誤差)	阻害度 <sup>2</sup> (%)	判定 <sup>3</sup>
A	7.8±2.2	10	—
B	11.7±1.1	-34	—
C	5.6±2.2	36	—
D	2.6±0.8	70	+
E	5.8±2.9	22	—
対照 (合成フェロモン単体)	8.7±1.8		

<sup>1</sup> A-Eはそれぞれ図5.1のピークa-eをふくむ画分。

<sup>2</sup> 阻害度  $I = (1 - C/C_0) \times 100$  (C: 処理の誘引回数、C<sub>0</sub>: 対照の誘引回数)。

<sup>3</sup> + : 処理と対照の平均値のあいだで検定5%水準で有意差あり。— : 同有意差なし。

純度 99.1 % 以上) と混合し、つぎにのべる誘引阻害効果の検定に供した。試料の添加量は、合成フェロモン 1 ng に対し、各画分 0.1ng をそれぞれくわえるものとした。

### 誘引阻害効果の判定方法

誘引活性の阻害は以下のように判定した。まず、第4章でもちいたケージ内における行動を指標とした生物検定と同様の検定を、ガーナ系統の雄ガについておこない、合成フェロモンを単独でろ紙に添加した対照と、フェロモンに試料をくわえて添加した処理とのあいだで、ろ紙への平均接触回数の差の対照に対する比率を算出して誘引阻害度をもとめた。さらに、対照（フェロモン単独）と処理（試料添加）とのあいだで、平均接触回数について t 検定をおこない、処理が対照よりも 1 % 水準で有意にすくない場合は ++、おなじく 5 % 水準で有意にすくない場合は +、5 % 水準で有意差がない場合は - で表示した。

## 結 果

不純物画分をくわえた効果の検定結果を表 5.1 にかかげた。このうちフェロモン幾何異性体のピークである c-e の各ピークは、阻害度が 22 - 70 % と比較的たかかった。とくにピーク d すなわち EZ 体をくわえたものは、主成分単独の場合と比較して顕著な阻害がみられた。

いっぽう、幾何異性体以外のピーク a および b では阻害度は 10 % 以下とひくかった。とくに、ピーク b をくわえた場合には主成分単独よりも接触回数がおおくなり、阻害度は負の値をとった。これら両ピークで



は、処理と対照とのあいだで誘引活性に有意差はみとめられなかった。

これらのことから、合成品にふくまれる不純物ピークのうち、誘引阻害効果があるのは、10,12-16:Aldのフェロモン以外の幾何異性体、すなわちEZ、ZE、ZZ体の各ピークであると推測された。

## 2. 合成フェロモンにくわえた幾何異性体の誘引阻害効果

前節では、10,12-16:Ald合成品中のEZ、ZE、ZZ各幾何異性体が、合成フェロモンE10E12-16:Aldの活性低下に関与していることが示唆された。

本節では、それぞれの誘引阻害効果を、合成フェロモンに添加する量をかえることによって、さらにくわしく比較した。

### 材料と方法

検定に供試した3種の幾何異性体は、前節において合成品より分取し、検定にもちいたものである。あらかじめ高感度GC-17Aによりそれぞれの試料を分析した結果、試料中の異性体純度は、ZE体92.8%、EZ体97.3%、ZZ体81.0%であった。

生物検定の方法は前節と同様とし、幾何異性体の添加量は、合成フェロモン1 ngに対し、0.01、0.1、1 ngとした。

## 結 果

各処理量における、3種の幾何異性体の合成フェロモンの活性におよぼす効果の検定結果を、表5.2に示した。

これによると、異性体の添加量が0.01ngでは、EZ体およびZE体を添加してもフェロモン活性にほとんど変化はなかったが、ZZ体をくわえると雄ガの接触回数は対照よりおおくなり、フェロモン活性はむしろたかまった。異性体の添加量が0.1ngになると、EZ体をくわえたときに活性阻害がみとめられたが、他の異性体をくわえてもあまり変化はなかった。添加量1 ngではすべての異性体で顕著な活性阻害がみられた。

## 3. 雌抽出物にくわえた幾何異性体の誘引阻害効果

前節では、合成フェロモン E10E12-16:Ald に同成分の EZ、ZE、ZZ 各幾何異性体をくわえた場合に、いずれの異性体も合成フェロモンの誘引活性を阻害することがあきらかとなった。しかし添加量が0.1ngの場合には、異性体によって阻害効果のあらわれ方にちがいがみられた。

ところで、前節でおこなった検定法では、異性体の添加量がすくない場合は依然として、合成フェロモンの純度が問題になるとかんがえられる。すなわち、異性体純度を99.1%にまで精製した合成フェロモンをもちいたが、精製後もなお他の異性体がわずかながらふくまれている。とくに生物検定において異性体の添加量が0.01ngの場合には、もとか

表5.2 合成性フェロモン E10E12-16:Ald にくわえた幾何異性体の誘引阻害効果

幾何異性体	処理量 (ng)	接触回数 (平均±標準誤差)	阻害度 <sup>1</sup> (%)	判定 <sup>2</sup>
EZ	1	0.7±0.4	92	++
	0.1	2.6±0.8	70	+
	0.01	6.8±1.8	22	—
ZE	1	1.0±0.3	89	+
	0.1	5.6±2.2	36	—
	0.01	6.0±1.5	31	—
ZZ	1	1.4±0.7	84	+
	0.1	6.8±2.9	22	—
	0.01	10.5±2.6	-21	—
対照		8.7±1.8		

(合成フェロモン単独)

<sup>1</sup> 阻害度  $I = (1 - Cc/Ct) \times 100$  (Ct: 処理の接触回数, Cc: 対照の接触回数)。

<sup>2</sup> ++: 処理と対照の平均値のあいだで検定 1% 水準で有意差あり。+: 同 5% 水準で有意差あり。  
—: 同有意差なし。

表5.3 雌抽出物にくわえた性フェロモン E10E12-16:Ald 幾何異性体の誘引阻害効果

幾何異性体	処理量 (ng)	接触回数 (平均±標準誤差)	阻害度 <sup>1</sup> (%)	判定 <sup>2</sup>
EZ	1	0	100	++
	0.1	4.2±1.2	81	+
	0.01	20.2±4.2	10	—
ZE	1	0.2±0.2	99	++
	0.1	9.8±1.9	56	—
	0.01	22.6±4.0	-1	—
ZZ	1	0.7±0.3	97	++
	0.1	7.8±1.5	65	—
	0.01	33.3±6.8	-49	—
対照	1	22.4±4.7		

(雌抽出物単独)

<sup>1, 2</sup> 表5.2 におなじ。

ら合成品にふくまれている異性体の影響は無視できない。

そこで本節では、このような異性体の影響がない雌抽出物もちいて、各添加量における3種の異性体の阻害効果をしらべた。

### 材料と方法

誘引阻害効果の検定にもちいた雌抽出物は、ガーナ系統の雌から第4章とおなじ方法で抽出をおこなってえたものである。

10,12-16:AldのEZ、ZE、ZZ各幾何異性体のとりあつかいは、すべて前節に準じた。

阻害効果の検定は、前節と同様の方法でおこない、抽出物1雌当量に対し、各異性体を0.01、0.1、1 ngくわえるものとした。

### 結 果

表5.3に、雌抽出物の誘引活性におよぼす各幾何異性体の阻害効果の検定結果をしめた。

これによると、0.01ngの添加量では、いずれの異性体にも阻害効果はなかった。いっぽう、添加量0.1ngではEZ体にも阻害効果がみられ、1 ngではすべての異性体に顕著な阻害効果があった。

この結果を合成フェロモンに幾何異性体をくわえた場合と比較すると、雌抽出物の場合は0.1および1 ngの処理量で阻害度がいくぶん上昇したものの、統計検定により判定した結果はほとんどかわりがなかった。

なお、ZZ体0.01ngを処理した際に、抽出物単独のときよりも雄雌の

接触回数がおおくなり、阻害度は-49%とかなりおおきな絶対値の負の値をしめた。しかし統計検定の結果では、処理と対照の接触回数のあいだには有意差はみとめられなかった。

#### 4. 考 察

##### 未精製合成品の誘引阻害要因

本章では、本種の雌性フェロモン主成分である E10E12-16:Ald の幾何異性体、すなわち EZ、ZE、ZZ 体に、主成分の雄ガに対する誘引活性を阻害する効果があることがあきらかとなった。

3種の異性体のなかでは、EZ 体がもっともひくい処理量で阻害効果をしめた。しかしこの効果の差が、同成分の立体配置構造からくる本質的なものであるかどうかは、より精度のたかい生物検定による確認が必要であらう。

第3章において、E10E12-16:Ald がフェロモン主成分として同定されたが、その未精製合成品（異性体純度 92.0%）に対しては、雄ガはほとんど行動反応をおこさなかった。いっぽう本章の実験では、精製後の E10E12-16:Ald 1 ng に EZ 異性体 0.1 ng をくわえた場合に誘引阻害がみとめられた。これを異性体の相対存在比に換算すると、EZ 体は約 9%であり、このことから、未精製合成品にフェロモン活性がみられなかったのは、同合成品にふくまれる幾何異性体の影響によるものとかんがえられた。

実際、同合成品には、第4章におけるGC分析の結果、EZ異性体が約5%ふくまれていることが確認されており、この推定をうらづけるものである。しかし同合成品にはほかにZE体もふくまれており、阻害効果のあるEZ体の存在比は、本章の実験の場合よりも、相対的にややひくいとみなければならない。これについては、複数の異性体を合成フェロモンに添加して活性にあたえる影響をしらべる実験が必要であり、各異性体による誘引阻害の相乗効果なども予想されるが、本研究では実施しなかった。

#### フェロモン活性におよぼす幾何異性体の影響

第3章では、E10E12-16:Ald合成品を異性体純度99.1%にまで精製して、はじめて雄ガの行動反応が誘起された。しかしそのフェロモン活性は、雌抽出物と比較してなおひくいものであった。この原因が、未精製合成品の場合とおなじく、なおわずかにふくまれる幾何異性体不純物の影響なのかどうかをあきらかにするため、本章では、雌抽出物に各異性体を添加して誘引阻害効果をしらべる実験をおこなった。

第3章のフェロモン成分同定の過程において、雌抽出物からは10,12-16:AldのEE体以外の幾何異性体は検出されなかった。もしも純度99%以上の合成フェロモンの活性に、1%以下の異性体不純物の存在が影響をあたえているとすれば、この雌抽出物に主成分の1%の異性体を添加しても、誘引阻害が生じるはずである。

しかし実験の結果、1雌当量の抽出物に各異性体を0.01ngくわえても、いずれの異性体にも誘引阻害効果はみられないことがわかった(表5.3)。この添加量は第3章の定量結果から、抽出物中のフェロモン主



成分の約1%と見つめることができる。したがってこの結果からは、上述の精製した合成品において、1%以下の異性体不純物がフェロモン活性の低下に関与しているとはいえない。

この結果に関しては、生物検定法および異性体分析の精度が問題となろう。実際、前章で、精製した合成品による生物検定の反復のなかには、雌抽出物に匹敵する活性をしめしたものもあり、そのような場合には、合成品純度と雄ガの反応性の微妙なばらつきが影響をおよぼしているかもしれない。また仮に、1%以下の少量の異性体ではフェロモン活性におよぼす影響がないとすれば、第3章でも指摘した雌抽出物中の未知の微量成分がフェロモン活性に関与している可能性がかんがえられよう。

#### エンドウシンクイの場合

フェロモン成分の幾何異性体とその誘引活性を阻害する例としては、本種のほかにも、エンドウシンクイ *Cydia nigricana* の場合が知られている。同種の性フェロモンは (E,E)-8,10- ドデカジエニルアセタート (E8E10-12:Ac) と同定されているが、同成分の合成品をもちいて野外誘殺試験をおこなうと、フェロモンを処理してから数日後には、雄ガに対する誘引活性が急激に低下することが以前から指摘されていた (GREENWAY and WALL, 1981; WALL et al., 1987)。

そこで実験的に、EE体の純度が99%以上の合成品をゴムキャップに含浸させ、8日間風洞内に放置したあとで、キャップからの抽出物を分析したところ、EZ、ZE、ZZ異性体の比率が総計で4%に増加していた。さらにこれら3種の異性体をそれぞれEE体に対して5%の比率でくわえ、野外試験をおこなったところ、いずれの異性体をくわえた場

合も雄ガに対する誘引活性の低下がみとめられた (WITZGALL et al., 1993)。

### 交信攪乱効果におよぼす影響

上記の例は、本研究でマメノメイガについてあきらかになったのと同様の、合成フェロモンを処理した誘引源への幾何異性体による誘引の阻害に関するものだったが、そのほかにも幾何異性体が関与する現象として、交信攪乱への影響があげられる。

コドリガ *Cydia pomonella* の性フェロモンは (E,E)-8,10- ドデカジエン-1- オール (E8E10-12:OH) の単一成分と同定されており (ROELOFS et al., 1971)、同成分は、同種に対する交信攪乱剤としての効果があることが知られているが (McDONOUGH et al., 1994)、EE 体以外の幾何異性体が 20%以上 EE 体の攪乱剤に混入すると、交信攪乱の効果が上昇した。また、ほぼ EZ 体のみ (純度 94%) からなる成分を攪乱剤にもちいると、その効果は EE 体 (同 99%) よりもたかかった (McDONOUGH et al., 1996)。

またこれとは逆に、トビハマキ *Pandemis heparana* は、(Z)-11- テトラデセニルアセタート (Z11-14:Ac) を性フェロモン主成分としてもつが、同成分を交信攪乱剤に使用すると、製剤に混入している 6.2% の E 異性体が同種に対する交信攪乱効果を阻害した (MINAMISHIMA et al., 1996)。

ガ類の性フェロモンによる交信攪乱では、攪乱剤としてもっとも攪乱効果がたかいのは、かならずしも雌が放出するフェロモンの組成とおなじ混合比の合成品とはかぎらないことが知られている (MINKS and CARDÉ, 1988)。上記のコドリガの例でも、雌性フェロモン成分とこ

となる幾何異性体が、交信攪乱効果をたかめている。交信攪乱に対する阻害や促進など、幾何異性体の効果のありかたは、上記の2例でみられるように、種によってちがいがあがる。

いずれにせよ、本研究でもちいたマメノメイガにおいては、その性フェロモン主成分である E10E12-16:Ald の活性に、EE 体以外の幾何異性体が影響をおよぼすことはあきらかである。将来、本種の個体群管理にフェロモンによる誘殺や交信攪乱法を導入する際には、これらの異性体の影響あるいは効果を検討することは不可欠であろう。

#### 合成フェロモンにおける幾何異性体混入の要因

これまでに、本章の実験結果や他の事例から、合成フェロモンにふくまれる幾何異性体不純物の影響を指摘してきたが、それでは、どのようにして、このような幾何異性体が合成フェロモンに混入するのだろうか。

合成フェロモンへの幾何異性体混入には、2つの要因があげられる。その1つは、合成フェロモンの変質である。幾何異性をもつ物質は、高温や太陽光線、大気中の酸素によって異性化 (isomerization) をおこす。とくに共役二重結合はこれらの影響をつよくうけるため、ある立体配置をもった共役ジエン化合物を長時間上記の条件下に放置しておくと、最終的に、立体配置としてとりうる4種すべての幾何異性体の混合物に変化する (IDESSES and SHANI, 1987)。したがってこのような異性化による変質は、とくに合成フェロモンを野外でのトラップ誘引源や交信攪乱剤として利用する際に問題となる。

もう1つの要因は、フェロモンの合成過程における生成である。二重結合をもつフェロモンの合成には、おもにアルデヒドやケトンからモノ

エン炭化水素を合成する WITTIG 反応がもちいられるが、この反応は一般に立体配置の選択性がひくく、特定の幾何異性体のみを合成することは困難である (ANDO et al., 1985)。そうすると純度のたかい成分をえるためには、合成後に異性体を精製することが必要となるが、これも異性体純度 100 % ちかくにまで精製することはむづかしい。

本研究のマメノメイガのように、1 % 水準で異性体の存在が問題となる場合には、0.1 % 以下にまでその混入をおさえる必要があるが、それはきわめて困難であるとかんがえられる。本種において、個体群管理にフェロモンを利用しようとする際には、幾何異性体の混入に関して何らかの画期的な対策を講じる必要がある。

## 第6章 繁殖行動におよぼす寄主植物の影響

第3章より前章までの各章では、マメノメイガの繁殖行動におよぼす日齢や時刻、雌性フェロモン、幾何異性体などの影響について、いずれも室内の実験的条件下で解析をおこなってきた。しかしそれらの条件下において繁殖行動が再現される頻度は、他のガ類と比較して、総じてひくいものであった。

たとえば第3章では、雌のコーリング行動はピーク時でも20-40%の個体でしか観察されなかったが、モモノゴマダラノメイガ *Dichocrocis punctiferalis* では3日齢以上でピーク時のコーリング率が80%以上に達することが報告されている(昆野ら, 1981)。さらに第4章では、10雌当量の雌抽出物を処理したろ紙に対して定位飛翔をおこなった雄は、平均すると全体の20%程度であった。

しかし、繁殖行動が野外においてもこのような低頻度であるとはかんがえにくく、本種の本来の生息環境には、これらの繁殖行動を促進するような何らかの要因が存在するものと推測される。植物の存在は、本種の野外生息環境におけるそのような要因のなかでも可能性がたかいともわれるものの1つである。なぜなら、食植性昆虫の配偶・産卵行動に対して、さまざまなかたちで植物が影響をおよぼしている例が数おおく知られているからである。

そこで本章では、本種の寄主である数種のマメ科植物およびマメ科以

外の非寄主植物をもちい、雌ガにあたえて繁殖行動におよぼす影響をしらべるとともに、植物による刺激を雌ガが感知する機構についての検討をおこなった。

### 1. コーリングおよび交尾前産卵行動

#### におよぼす寄主植物の影響

第3章の観察でみられたように、本種の雌ガは羽化後3-4日以降にコーリングおよび交尾前産卵行動をおこなう。コーリング行動は特定の時間帯にのみ観察され、コーリング率には日齢や時間にともなった変動がみられる。また、交尾前産卵には日齢にともなう産卵数の増減がみとめられる。

本節では、このようなコーリングおよび交尾前産卵行動の量的・時間的変動に、寄主植物がどのような影響をおよぼすかを室内実験によりしらべた。

#### 材料と方法

##### 供試虫および供試植物

本節以降、本章の実験ではすべてガーナ系統の雌ガを供試虫としてもちいた。

寄主植物にはアズキをもちいた。アズキ葉は圃場または室内ポットで



栽培した植物から本葉をつみとって供試した。

### 実験方法

羽化直後の雌ガを、第3章で使用したのとおなじ透明容器に1頭ずつ入れた。カップ内にはえさとして10%砂糖水をふくませた脱脂綿(2 cm × 2 cm)をおいた。処理のカップにはさらにアズキ葉(3小葉)を1枚入れた。対照のカップには葉をいれなかった。

観察は1日齢から8日齢まで、毎日暗期の開始30分前より終了1時間後までおこない、30分おきに処理と対照とでコーリング行動の有無をしらべた。毎日の観察終了後、それぞれのカップおよびアズキ葉にうつつけられた卵の数をかぞえた。

本節以降、本章の実験はすべて第3章で観察をおこなったのとおなじ部屋でおこない、気温、相対湿度、照明、通風などの条件も同様とした。

## 結 果

### コーリング行動

図6.1に示めたとおり、アズキ葉をあたえた雌ガは3日齢よりコーリング行動を開始した。これはアズキ葉をあたえなかった場合よりも1日はやかかった。

コーリングの時間帯は、もつともはやいケースでは消灯後2時間よりはじまり、点灯直前までつづいた。コーリング率は暗期後半にたかまり、6日齢および8日齢では46-50%に達したが、それ以外の日齢では25-33%が最高であった。アズキ葉をあたえなかった場合と比較する

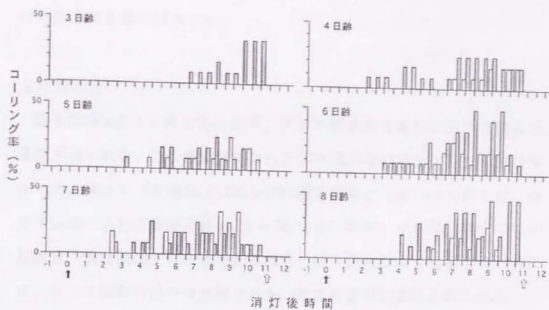


図6.1 寄主植物の有無とコーリング行動の経時変化

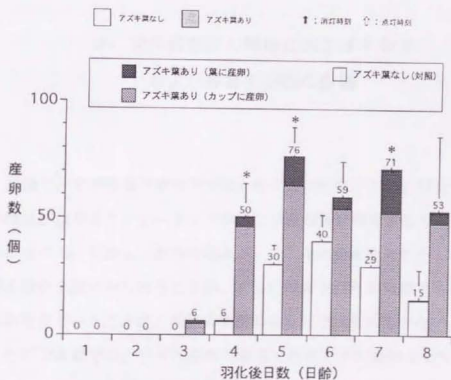


図6.2 寄主植物の有無と交尾前産卵数の日齢変化。図中の数値は雌1頭あたり1日の平均産卵数。縦線は標準誤差をあらわす。\*: 同日齢の対照に比較して検定1%水準で有意差あり。

と、全般的にコーリング時間帯のはじまりがはやくなり、コーリング率はたかくなる傾向があった。

### 交尾前産卵

結果は図6.2に示したとおり、アズキ葉がある場合には3日齢より産卵がみられた。この産卵開始日はアズキ葉がない場合よりも1日はやかった。卵はアズキ葉およびカップ内壁の両方にうみつけられたが、カップに産下される卵が全体の74-92%をしめた。3日齢以降すべての日齢で、産卵数はアズキ葉がある場合のほうが対照よりもおおく、特に4、5、7の各日齢では対照とのあいだに有意な差がみとめられた。

## 2. 交尾前産卵の開始におよぼす寄主 および非寄主植物の影響

前節で、アズキ葉の存在下では、雌ガのコーリングおよび交尾前産卵の開始がはやまり、コーリング率および産卵数が増加することがあきらかになった。しかしこれらの現象が、アズキに特有のものか、それとも寄主植物全般にみられることか、あるいは寄主以外の植物でもみられるのかなどということは、前節の実験からだけでは判断できない。

そこで本節では、アズキ以外の寄主であるマメ科植物としてササゲ、フジマメ、クズを、マメ科以外の非寄主である植物としてトウモロコシ *Zea mays* (イネ科 Gramineae) およびイタドリ *Reynoutria japonica* (タ

デ科 Polygonaceae) をそれぞれ雌ガにあたえ、羽化から産卵開始までの産卵前期間の日数を比較した。なお、供試したマメ科植物ではいずれも本種幼虫が摂食および生育できること、マメ科以外の植物では幼虫が生育できないことを、あらかじめ飼育により確認した。したがって両者はそれぞれ本種の寄主および非寄主植物とかがえられた。

### 材料と方法

#### 供試植物

本節の実験でもちいた植物は以下のようにしてえた。アズキおよびササゲは、圃場および室内ポット（冬期間）に播種して栽培し、本葉展開後の植物をもちいた。フジマメおよびトウモロコシは圃場で栽培し、開花後の植物をもちいた。クズおよびイタドリは、東京都文京区弥生の東京大学農学部構内に自生する開花期以降のものを採集してもちいた。

#### 実験方法

前節と同様に羽化直後の雌ガをいれた観察用容器に、上記の供試植物葉をいれた。アズキ、フジマメ、ササゲは3小葉からなる本葉を1枚、イタドリは本葉を1枚いれた。トウモロコシは葉身の中央付近を約10cmの長さにきりとったものを1枚あたえた。またフジマメでは葉のほかにも総状花を1ふさあたえる実験もおこなった。

実験開始後は毎日暗期終了後に産卵の有無を確認した。産卵開始日はカップ内壁にはじめて産卵のあった日とし、羽化から産卵開始日までの日数（羽化当日＝0日）を産卵前期間とした。前節ではアズキ葉をあた

表6.1 各植物をあたえた場合の雌ガの産卵前期間

植 物	寄主/非寄主	供試数	産卵前期間 <sup>1</sup> (日)
対照 (植物なし)	—	27	4.0(3-7)
アズキ	寄主	25	3.0(2-6)**
フジマメ	寄主	8	3.0(2-4)**
クズ (葉)	寄主	9	3.0(2-4)**
クズ (花)	寄主	7	3.0(2-4)*
ササゲ	寄主	9	4.0(3-5)ns
トウモロコシ	非寄主	9	4.0(4-10)ns
イタドリ	非寄主	10	4.5(3-6)ns

<sup>1</sup> 中央値 (範囲)。\*\* : MANN-WHITNEY の U 検定により、対照とのあいだに 1 % 水準で有意差あり。\* : 同 5 % 水準で有意差あり。ns : 同 5 % 水準で有意差なし。

えた場合、卵はほとんどがカップ内壁に産下されることが観察され、実際本節の実験でも、産卵を開始した日には植物葉への産下がほとんどみられなかったことから、カップ内壁への産卵をもって産卵開始とみなすことは妥当とおもわれた。

## 結 果

結果は表 6.1 にかかげたとおりである。植物をあたえなかった場合は、雌ガが交尾前産卵を開始したのは4日齢であった。これに対し寄主植物であるアズキ、フジマメ、クズ（葉・花）をあたえた場合はいずれも3日齢で産卵を開始し、対照とのあいだで産卵前期間に有意な差がみとめられた。

一方、寄主植物であるササゲおよび非寄主植物のトウモロコシ、イタドリをあたえたものは、産卵前期間が4—4.5日であり、対照とのあいだに有意差はみとめられなかった。

### 3. 雌ガにおける植物刺激の感知器官

前節までの観察および実験で、ある種の寄主植物を雌ガにあたえると、コーリングや交尾前産卵が促進されたり、羽化から産卵開始までの産卵前期間が短縮されることがあきらかになった。このような現象は、それらの寄主植物が雌ガに何らかのかたちで刺激をあたえたことによる反応



であるとかんがえられる。

このような植物のあたえる刺激が何であるかを特定するのは容易ではないが、その刺激を感知する雌ガの感覚器を特定することにより、ある程度の推測ができる。すなわち、考察でもくわしくふれるが、雌ガはおもに、触角におおく分布する嗅覚器でにおい刺激を、脚のふ節に集中する接触化学感覚器で接触化学的刺激を感知しているとかんがえられる。ここでにおい刺激とは、植物から放出される比較的低濃度のにおい分子による刺激のことであり、接触化学刺激とは、植物の表面に存在する固体および液体または高濃度の気体による刺激である。したがって、もしいずれかの感覚器の機能を何らかの方法で阻止できれば、それによる雌ガの反応の変化によって、刺激を感知する器官を特定でき、さらに刺激の種類が推定できるとかんがえられる。

そこで本節では、雌ガの触角およびふ節を外科的に除去し、それぞれを除去した場合に寄主植物による産卵前期間の短縮がどのように変化するかをしらべた。

### 材料と方法

暗期終了後、その日羽化した雌ガを二酸化炭素で麻酔し、眼科用ハサミをもちいて、実体顕微鏡下で触角またはふ節のいずれかを切除した。このうち触角は基部を5—10節ほどのこしてきつた。ふ節はすべての脚で、5節のうち先端の2節を除去した。

触角またはふ節の切除処理をおこなった雌ガ、および切除をおこなわない無処理の雌ガを、前節までと同様の観察用カップに1頭ずつ入れた。

表6.2 寄主植物による産卵前期間の短縮におよぼす  
触角およびふ節切除の影響

処 理	アズキ葉の有無	供試数	産卵前期間 <sup>1</sup> (日)
無処理	無(対照)	8	4.0(4-5)
	有	8	3.0(3-4)*
触角切除	無(対照)	8	4.5(3-6)
	有	7	3.0(3-4)*
ふ節切除	無(対照)	6	4.0(3-5)
	有	8	4.0(3-6)ns

<sup>1</sup> 中央値(範囲)。\*: MANN-WHITNEY の U 検定により、同一処理内の対照とのあいだに 5% 水準で有意差あり。ns: 同 5% 水準で有意差なし。

さらに2種の処理および無処理の雌ガには、それぞれアズキ葉をあたえる場合とあたえない場合の両実験区をもうけた。

産卵の確認は羽化翌日より毎日暗期終了後におこない、各処理のそれぞれの実験区について、前節と同様、産卵前期間の日数をしらべた。

## 結 果

実験の結果は表6.2にかかげた。すべての処理を通じて、アズキ葉をあたえない場合の雌ガの産卵前期間は4—4.5日であった。触角やふ節の切除をおこなわない無処理の雌ガでは、アズキ葉をあたえると産卵前期間があきらかに1日短縮することは、前節までにしめたのと同様である。一方、雌ガの触角を切除すると、無処理の場合と同様にアズキ葉による産卵前期間の短縮がおこった。しかし、ふ節を切除したものでは、アズキ葉をあたえても産卵前期間の短縮はおこらなかった。

## 4. 考 察

### 寄主植物による繁殖行動の促進

本章では、野外の生息環境において、寄主植物からの何らかの刺激によりマメノメイガの繁殖行動が促進されるとの仮説にもとづき、はじめに室内で雌ガに本種の寄主植物であるアズキの葉をあたえ、コーリング行動と交尾前産卵行動がどのように変化するかをしらべた。

その結果、アズキ葉をあたえると、あたえない場合にくらべ、雌ガのコーリングと交尾前産卵の開始が1日はやまり、コーリング率と産卵数が増加することがわかった(図 6.1、6.2)。つぎに、このような現象がアズキ以外の寄主植物および非寄主植物でもおこりうるかをしらべたところ、供試した3種の寄主植物のうち、2種の植物の花や葉によっても産卵前期間の短縮がおこった。これに対し2種の非寄主植物では産卵前期間の短縮はおこらず、このことから、この現象は本種の寄主であるいくつかの種の植物によっておこる特異的現象であると推測された(表 6.1)。

本章では、雌雄の配偶行動におよぼす植物の影響については直接的な実験をおこなわなかった。しかし上記のコーリングおよび交尾前産卵行動が、その後の配偶行動、さらには交尾の成立にふかく関与していることは、第3章の観察や実験によって証明されており、すくなくとも実験的には、寄主植物の存在が本種の繁殖行動を促進するといつてさしつかえないであろう。

寄主植物の存在がガ類の繁殖行動を促進する本種と類似の例としては、ミスジアオリンガ *Earias insulana* の場合があげられる(TAMHANKAR, 1995)。同種はアオイ科 *Malvaceae* 植物を寄主とするが、容器内にはなした雌雄のガにアオイ科のオクラ *Abelmoschus esculentus* のさやをあたえたところ、さやをあたえない場合と比較して、羽化から交尾までの期間がみじかくなり、雌の交尾率、精包数、産卵数、受精卵率がそれぞれ増加した。

## 寄主植物の繁殖行動刺激因子

寄主植物をあたえることによって、雌ガの繁殖行動の促進が実験的にひきおこされることは、前項でのべたとおりである。この現象はひろい意味では、寄主植物の刺激による雌ガの行動反応の誘起である。それでは、雌ガのこのような反応を誘起した寄主植物側の刺激因子はいったい何であろうか。

雌ガに刺激をあたえる因子としては、さまざまな可能性があるが、おきくわけると物理的因子と化学的因子の2つがかんがえられる。このうち物理的因子には、植物の色や形など雌ガの視覚により識別される視覚的刺激と、かたさや表面の微細構造など触覚により識別される機械的刺激とがふくまれる。また化学的因子は、固体や液体、高濃度の気体物質などのように味覚として感知される接触化学刺激と、低濃度の気体分子が嗅覚として感知されるにおい刺激とにわけられる。

昆虫は、これらの刺激を各種の感覚器によって感知する。視覚的刺激はおもに複眼で、機械的刺激は体表や関節に分布する接触感覚毛や自己感應器で、接触化学刺激は口器周辺および脚ふ節に集中する味覚器で、におい刺激は触角に集中する嗅覚器で、それぞれ感知される（池庄司、1986）。

本章の実験では、触角を除去しても、除去しない場合と同様に寄主植物による産卵前期間の短縮がおきたが、ふ節を除去した場合にはこの短縮が生じなかった。これは触角の除去をおこなっても雌ガは植物の刺激を感知できたが、ふ節の除去をおこなうと感知できなくなることを意味しており、雌ガにおける植物からの刺激の感知器官がふ節に存在することを示唆している。前述のとおり、ふ節には味覚器がおおく存在するこ

とから、その刺激は接触化学刺激である可能性がたかいたかんがえられる。

本種の繁殖行動に対する植物の刺激が接触化学刺激であると予測されたことから、その刺激因子は植物の表面に存在する不揮発性の物質であることが推測される。そのような物質としては、植物表面ワックスやリーチング物質などがかんがえられるが、本章の結果からだけでは推測の域をでない。

また、雌ガによる植物感知の器官を味覚器だけであるとするのは、あきらかに早計であろう。ふ節には味覚器のほかに接触感覚毛や自己応答器などの感覚器も分布しているとかんがえられ、繁殖行動の促進が機械的刺激によるものである可能性も否定できない。この場合は植物体表面のかたさやきめ、毛茸（腺毛、glandular trichome）の密度などが刺激因子となっている可能性がある。

前述のミスジアオリングの例では、雌雄のガをはなした容器に寄主植物であるオクラのにおいだけをながすよりも、さやをあたえてガに接触させたほうが、各行動が顕著に促進されたという（TAMHANKAR, 1995）。また、植物表面ワックスが昆虫の摂食および産卵行動におよぼす影響については、ハムシ科 Chrysomelidae に関する報告がある（足達、1992；ADATI and MATSUDA, 1993）

### 寄主植物と性成熟の関連

一般に、昆虫の配偶行動に関与する性フェロモンや産卵行動を刺激する産卵刺激物質などのいわゆる行動制御物質は、特定の感覚器で受容されるとただちに特定の行動が解発される。しかし本章で考察されている



本種の繁殖行動に対する寄主植物の刺激は、コーリングや産卵などの行動をただちに解発するものではなく、雌ガが植物と接することにより、繁殖行動をおこなうための羽化後の生理的基盤形成の過程を促進するもののようである。

その間接的証拠としては、本章の実験で、雌ガは寄主植物葉に接することはあっても、葉表面に産卵することは少なく、産卵はおもにカブ内壁になされることが観察された。このことは雌ガの産卵行動が、産卵刺激物質による行動解発的な刺激によっておこなわれたものではないことを示唆している。

前項では、繁殖行動におよぼす寄主植物の影響を、植物からの刺激による昆虫の行動反応という入力と出力の観点から考察したが、刺激と反応とのあいだの生理的機構については、一般の行動制御物質の作用機構と同様、いわば暗箱の中身としてとりあつかわなかった。しかしその刺激が、繁殖行動をおこなうための生理的变化を促進する機能をもつものであるとすれば、その生理的機構は以下のように考察できよう。

すなわち、繁殖行動をおこなうための生理的基盤は内分泌系によって制御されており、内分泌系のはたらきは外界からの各種の刺激によって影響をうける。本種の雌ガは羽化後、寄主植物と接触することによって刺激をうけ、その刺激が内分泌系のはたらきを促進して性成熟をはやめ、その結果コーリングや産卵などの行動の開始がはやまったり、活性頻度がたかまるなどの現象を誘起する。

以上のような仮説を検証するためには、繁殖行動と内分泌系との相関を行動生理学的に追求してゆく必要があろう。

## 第7章 総合考察

### 1. マメノメイガの生物学的特性

マメノメイガの繁殖行動に関して本研究をすすめてゆくにあたっては、さまざまな研究手法上の困難に直面した。とくに雌性フェロモンの同定については、おおくのガ類ですでに確立された手法があるにもかかわらず、そのような一般的手法では、本種の性フェロモンは同定しえなかった。

その原因のひとつは、材料であるマメノメイガの生物学的特性にあるとかがえられる。そのうち行動学的特性については、第3章および第4章で指摘したように、雌ガのコーリング率および雄ガのフェロモンに対する反応率の双方が、他のガ類と比較してひくかったことがあげられる。このことは、第1章で紹介した ICIPE などでも本種の交尾率がひくいために大量累代飼育が困難であったという報告とも符合している。本研究では、あらかじめ本種のこのような行動学的特性を把握したうえで（第3章）、有効な生物検定法を確立することにより雌性フェロモンの同定が可能となった（第4章）。したがって性フェロモンの同定が困難とされている他のガ類でも、本研究のように繁殖行動を詳細に解析す

ることはきわめて有効であるとおもわれる。

本種のもうひとつの生物学的特性として、雌抽出物にふくまれるフェロモン成分の量が非常にすくないことがあげられ、そのことは本種の雌性フェロモンの分析を困難なものにしている。本研究で本種の雌性フェロモンの主成分と同定された E10E10-16:Ald は、1 雌当量の抽出物から平均 1ng しか検出されなかった。これは雌 1 頭あたりのタバコガのフェロモン主成分 (Z)-9-ヘキサデセナール) 量の平均 135.7ng (KAMIMURA and TATSUKI, 1993) や、おなじくモノゴマダラノメイガ (主成分 (E)-10-ヘキサデセナール) の約 11ng (KONNO et al., 1982) など、他のガ類とくらべるとあきらかにすくない。

このようなガ類におけるフェロモン抽出量の種間変異は、各種の雌ガにおけるフェロモン生産量のちがいによるとおもわれ、マメノメイガのフェロモン生産量がすくないことは、本種の生理的特性といえる。この特性のために、フェロモン成分の分析は、大量の供試虫あるいは高精度の分析機器および生物検定法が必要となる。フェロモン生産量がすくない種のフェロモン成分の分析・同定は、今後も化学生態学の重要課題のひとつとなろう。

## 2. 性フェロモンの害虫管理への利用

第4章では、本種の雌性フェロモン主成分として同定された E10E12-16:Ald の合成化合物のフェロモン活性が、雌抽出物よりもひく

いことがしめされた。その原因を追求するため、第5章では合成品にふくまれる不純物を分析した結果、そのうちフェロモン主成分の3種の幾何異性体にフェロモン活性を阻害する効果があることが判明した。

このことは、合成フェロモンの本種の害虫管理への利用をはかる際に、非常に重要な意味をもっている。第4章の考察で詳述したように、本種のフェロモン主成分のような共役ジエン化合物の合成品は、合成途中や合成後に生じる異性化や酸化、重合など各種の変性によって、幾何異性体やその他の誘導体が混入しやすく、一般に数%から数10%程度の不純物の混入はさけられない。フェロモン主成分の誘導体や幾何異性体が誘引剤の活性を阻害する例は、第4章の考察であげた以外にも数おおくしられている (ROELOFS and CARDÉ, 1977)。これらの例をみると、誘導体や幾何異性体の混入がフェロモンの誘引活性を阻害する場合、その混入割合の閾値は種によってさまざまである。

したがって本種の場合、合成フェロモンに幾何異性体が混入しやすいこと、その幾何異性体の誘引活性阻害の閾値が10%程度と比較的のひくいことから、フェロモン成分の合成品を直接、誘引による害虫管理に利用することは困難であるとおもわれる。しかしながら、合成品での誘引によらない方法であれば、本種の化学生態を害虫管理に応用できる可能性はあり、その方法はすくなくとも2つある。

その1つは、誘引活性のあるフェロモン成分の類縁体を利用する方法である。これはギ酸エステル (フォルメート) や金属錯体 (プロフェロモン) など、フェロモン成分と構造上類縁性がある生物活性を維持し、かつ酸化や重合、異性化などの変性に対して安定な物質を、誘引剤として利用するものである。

このうちプロフェロモンは、共役ジエンの幾何異性体混合物と鉄イオンとの錯体を、適当な担体に処理して放置すると、酸化による開裂がEE異性体でのみ進行し、同異性体だけが大気中に放出される現象を利用するものである。これは実際に、コドリリング（フェロモン主成分(E,E)-8,10-ドデカジエン-1-オール）やエンドウシンクイ（同(E,E)-8,10-ドデカジエニルアセタート）に対して野外での誘引性が確認されている（STREINZ et al., 1993）。マメノメイガのフェロモン主成分も共役ジエンのEE異性体であることから、プロフェロモンによって雄ガを誘引できる可能性がある。その場合は、合成フェロモンを高純度まで精製する必要がないので、害虫管理への利用に道がひらけるものとおもわれる。

本種の化学生態学的害虫管理のもうひとつの可能性は、交信攪乱法の適用である。同法は合成フェロモンを大量に害虫の生息場所に放出させ、雌雄間の性フェロモンによる交信を攪乱して配偶行動を妨害し、次世代の発生量を減少させるもので、すでにいくつかの普通作物を加害するガ類に対して実用化されている。本種に対しては、これまで同法による害虫管理がこころみられたことはなく、その効果に関する基礎的研究もなされていない。しかし本種の配偶行動には、第3章から第5章まででしめされたように、外部からの刺激に対して行動抑制的な反応をしめす傾向があり、本法を適用した場合に配偶行動が阻害される可能性はたかいたかんがえられる。

これまで、さまざまな害虫に対する本法の適否は、試行錯誤によって経験的に判断されるのみであった。しかし最近では、神経生理学および行動生理学的な側面から攪乱機構の解明がすすめられており、これらの情報がその適否の合理的判断の基礎となることが期待されるようになった。

た(南島ら、1996; MINAMISHIMA et al., 1996; WITZGALL et al., 1996)。本種においても、配偶行動阻害に関する生理学的機構の研究は、交信攪乱法の実用化にむけて有用な情報をもたらすであろう。

### 3. 繁殖行動システムに関する仮説

第3章で本種の雌ガでは、寄主植物が存在しない場合、繁殖行動および移動行動がともに羽化後3-4日まではほとんどみられず、その後活発になることがしめされた。そしてこのことから、本種は野外において3-4日齢で性成熟に達すると同時に、移動能力を獲得して長距離移動をおこなうとの推測をのべた。この推測がJOHNSON(1969)の卵形成と移動性との二者択一説と矛盾することに対しては、本種が性成熟に達するとすぐに交尾前産卵によって未受精卵が排泄される現象を指摘し、移動によるコストの軽減をはかっている可能性を示唆しておいた。

この卵形成と移動性との二者択一性は、ながいあいだ昆虫における分散と繁殖に関する基本的原理とみなされてきたが、最近、このような原理とはことなる、移動性と繁殖能力とが同時に発達する例が翅型多型を有する種であいついで報告されている。たとえばナガカメムシの1種 *Oncopeltus fasciatus* では、飛翔能力と産卵数とのあいだに正の遺伝的相関が見いだされた(HEGMANN and DINGLE, 1982)。またバツタの1種 *Melanoplus sanguinipes* において、十分に飛翔させた雌成虫は、飛翔させなかった雌成虫にくらべて、産卵開始が有意にはやまり、産卵数が増大



した。同種の雌成虫は、移動中には優先的に炭水化物をもちい、脂肪をできるだけ節約することによって、飛翔の繁殖行動におよぼす影響を抑制しているものとかがえられている (RANKIN and BURCHSTED, 1992)。後者の例は、移動コストを回避するための生理学的適応として、マメノメイガについての上記の仮説とも合致するようにおもわれる。

一方、昆虫の移動性におよぼす環境要因の影響に関しては、はやくから移動性と生息場所の永続性とのあいだに負の相関があることが指摘されており (SOUTHWOOD, 1962)、さまざまな実例が報告されている。しかし最近 DIXON et al. (1993) は、アブラムシ類の飛翔性が生息場所の永続性とはむしろ正の相関をしめすことから、昆虫が、生息場所の永続性よりは生息場所の豊富さと不連続性の程度によって、ことなる移住戦略をとっていることを示唆した<sup>1)</sup>。

第6章では、マメノメイガの雌は寄主植物が存在すると交尾前産卵の開始がはやまり、かつ繁殖行動が促進されることがあきらかにされた。しかし本研究では、寄主植物の移動性に対するかかわりはしらべなかったので、本種が植物とのかかわりに関してどのようなタイプの移動戦略をとっているかを、上記のような観点から考察することはできない。とはいえ、本種が長距離移動性を内在していることは、第3章の考察でしめしたようないくつかの間接的証拠から、その可能性がたかいとおもわれる。そこで本種が長距離移動をおこなうと仮定して、その繁殖システムに関してつぎのような仮説を提起してみたい。

すなわちマメノメイガの雌は、羽化した時点で周囲の生息環境に寄主であるマメ科植物が豊富であれば、性成熟が促進され、繁殖行動を活発におこなうと同時に、移動性が発揮されて寄主植物が繁茂している範囲で産卵の分布をひろげてゆく。一方、羽化したときに周囲に寄主植物が

ない場合は、繁殖行動の開始が遅延するが、3-4日齢になると長距離移動をおこなう。そして寄主を発見し、そこに到達すると、ただちに繁殖行動を開始してあたらしい生息場所への定着化をはかられる。

このような繁殖行動システムのモデルは、繁殖行動が環境に対してきわめて可塑的であることをしめしており、寄主植物の存在が空間的・時間的に不連続である熱帯や、冬期間の生存が不可能な高緯度温帯などにも分布をひろげている本種の生態を、よく説明しているものとおもわれる。

このような仮説を検証するためには、野外における実地調査や、本研究では実施しなかった雄ガについても植物の影響や移動性について詳細な解析が必要なことはもちろんであるが、本種のような狭食性でかつ長距離移動性を内在している他の昆虫種の事例をしらべてみることもきわめて興味ぶかい。

- 1) 昆虫の分散多型性の進化と繁殖・移動戦略に関する理論については、藤崎 (1994) の総説を参考にした。

## 摘 要

マメノメイガ *Maruca testulalis* (GAYER) は、おもに熱帯地域においてマメ科作物を加害する重要害虫であるが、本種の生態、とくに繁殖行動に関しては、害虫管理上重要でありながらほとんどわかっていない。そこで本種の繁殖行動について、行動学的ならびに化学生態学的手法をもちい、室内における実験的研究をおこなった。

### 1. 繁殖行動の解析

羽化直後の雌ガを1頭ずつ透明容器にいれ、羽化当日(0日齢)から暗期(1日11時間)の行動を30分間隔で観察した。雌ガは照明用のよわい赤色光にも敏感に反応するため、各種の行動を明確に識別することは困難であったが、繁殖行動の一部とみなされる、移動、腹部末端節の露出、交尾前産卵の各行動は3-4日齢以降で活発になることが観察された。

腹部末端節の露出は、節を露出したまま固定する場合と、節をだしいれする場合とが観察され、それらの経時変化と他の行動との比較から、前者は性フェロモンを放出して雄を誘引するコーリング行動、後者は産卵行動の一部であることが判明した。コーリング行動を経時的にしらべたところ、コーリングは暗期後半にのみ見られ、コーリング個体の比率は消灯後9-10時間にピークに達した。しかしピーク時のコーリング比率は、もっともたかい日齢でも30-40%と他種にくらべてひくいものであった。

いっぽうケージ内での交尾行動を観察したところ、交尾は5日齢以上、消灯後8-11時間の時間帯でもにも観察され、雄ガはコーリングをおこなっている雌ガに誘引され、特定のパターンの配偶行動連鎖をへて交尾を達成することがわかったが、交尾達成率はひくかった。

以上の観察から、3-4日齢以上の雌ガは、暗期後半に性フェロモンの放出によって雄ガを誘引するものと推測された。これによって、雌性フェロモン同定に必要な雌ガからのフェロモン抽出が可能な時間帯、および生物検定にもちいる雄ガの性フェロモンに対する行動反応指標を確定でき、実際に雌抽出物に雄ガを誘引する活性がみとめられた。

## 2. 雌性フェロモンの同定

未交尾の雌ガのフェロモン腺抽出物を触角電位検出器装着ガスクロマトグラフで分析したところ、雄ガに触角電位(EAG)反応をひきおこす成分ピークが1個検出された。この抽出物をシリカゲルクロマトグラフで分離すると、EAG活性のあったピークは5%エーテル/ヘキサン画分に溶出した。生物検定によりこの画分の誘引活性を雌抽出物と比較したところ、雄ガの反応率は30%程度とひくかったものの、同画分は雌抽出物とほぼおなじ活性をしめした。

つぎにEAG活性のあったピークのガスクロマトグラフ質量分析(GC-MS)をおこなった。電子衝撃イオン化(EI)法による質量スペクトルからは、共役ジエン化合物の存在をしめす顕著な開裂イオンピークと、 $m/z236$ の分子イオンピークとが検出され、このピークは炭素数16のジエンアルデヒド(ヘキサデカジエナル)の単一成分によるものと推定された。化学イオン化(CI)法による質量スペクトルから

は、二重結合部位での開裂をしめす  $m/z$ 85 および 183 のつよいイオンピークが検出され、この化合物が 10 および 12 位に二重結合をもつと推測された。そこで 10,12-ヘキサデカジエナールの 4 種の幾何異性体合成品と雌抽出物を、極性のことなる 2 種類のカラムをもちいてガスクロマトグラフィー (GC) で分析し、保持時間を比較したところ、いずれのカラムでも活性ピークの保持時間は、二重結合の立体配置が (E, E) である幾何異性体 (EE 体) のものと一致した。

EE 体合成品の GC-MS の結果、その EI および CI 質量スペクトルは、それぞれ活性ピークのスペクトルときわめてたかい一致をしめた。そこで、精製した EE 体合成品をもちいて生物検定をおこなったところ、あきらかな誘引活性がみとめられた。以上の結果から、本種の雌性フェロモンの主成分は (E,E)-10,12-ヘキサデカジエナール (E10E12-16:Ald) と同定され、抽出物 1 雌当量 (FE) あたりの含有量は約 1ng と定量された。さらに GC-MS のマスフラグメントグラフィー法によって、ごく微量の (E,E)-10,12-ヘキサデカジエン-1-オールがガーナ系統の雌抽出物から検出され、性フェロモンの微量成分である可能性がかんがえられたが、生物検定ではフェロモン微量成分としての活性は確認できなかった。

### 3. フェロモン活性におよぼす幾何異性体の影響

前項で、フェロモン主成分と同定された E10E12-16:Ald の合成品は、精製をおこなわないと雄ガに対する誘引活性があらわれなかった。このことは、未精製の合成品にふくまれる何らかの不純物が、フェロモン活性を阻害していることをしめしている。

そこで合成品中のフェロモン活性を阻害する成分をあきらかにするため、異性体純度のひくい(61%) E10E12-16:Ald 合成品にふくまれる異性体およびその他の不純物を、GC をもちいて分取した。それぞれの画分は純度 99 % 以上まで精製した E10E12-16:Ald 合成品に添加し、フェロモン活性が低下するかどうかを生物検定によってしらべた。するとフェロモン活性の阻害は E10E12-16:Ald の幾何異性体をふくむ画分を添加したときだけにみられた。

そこでつぎに、3 種の幾何異性体をそれぞれ E10E12-16:Ald 合成品 1ng に添加し、同様にフェロモン活性の阻害効果を検定した。その結果、異性体の添加量 0.1ng では EZ 体をくわえたときだけに活性阻害がみられ、添加量 1ng では 3 種すべての異性体で活性阻害がみとめられた。以上と同様のフェロモン活性阻害効果は、異性体を雌抽出物 1FE に添加した場合にもみられた。

以上のことから、本種の性フェロモン主成分 E10E12-16:Ald の幾何異性体はいずれもフェロモン活性を阻害し、そのうち EZ 体の阻害効果がもっともたかいことがあきらかになった。

#### 4. 繁殖行動におよぼす寄主植物の影響

繁殖行動の観察される頻度や性フェロモンへの反応率が、総じて他種の場合よりもひくかったことから、本種の生息環境には繁殖行動を促進する何らかの要因が存在していることが推測された。そのような要因の中で可能性のたかいとおもわれた寄主植物の存在について検討した。

雌ガを 1 頭ずつ透明容器にいれ、寄主植物(アズキ)葉をあたえた場合とあたえない場合とで、繁殖行動がどのように変化するかをしらべた。



その結果、寄主植物葉をあたえた場合では、あたえない場合よりも、コーリング行動および交尾前産卵の開始日があきらかに1日はやく、羽化後3日からみられるようになることがわかった。また寄主植物葉をあたえたと、コーリング率がたかまり、産卵数もよりおおくなる傾向がしめされた。一方、寄主以外の植物をあたえてもこのような変化はみられなかった。

つぎに雌ガが寄主植物の存在をどのように感知しているのかをしらべるため、雌ガの触角およびふ節を切除して、寄主植物葉の有無による羽化から産卵開始までの期間（産卵前期間）の変化を検定した。その結果、寄主植物葉をあたえたことによる産卵前期間の短縮は触角を切除しても影響されなかったが、ふ節を切除したものでは産卵前期間の短縮が生じなかった。このことから雌ガは、寄主植物の有無をふ節に存在する感覚器官によって感知しているとかんがえられた。

以上の結果から、本種の繁殖行動において寄主植物は、葉表面に存在する接触化学的もしくは機械的刺激によって、コーリングや産卵の開始をはやめたり、コーリング率や産卵数をたかめるなど、繁殖行動を促進する効果のあることが示唆された。

## 謝 辞

本研究は、1993年4月より約4年間にわたって、東京大学大学院農学生命科学研究科害虫学研究室の田付貞洋教授のご指導によりおこなったものである。この間、教授からは終始かわらぬ親切なご指導とあたたかいお言葉をいただいた。また本論文をまとめるにあたっては、多忙のさなか校閲の労をとっていただいた。まずはじめに田付教授にあつく感謝をささげたい。

東京大学大学院農学生命科学研究科害虫学研究室の石川幸男助教授には、研究を遂行してゆく際にぶつかるのさまざまな問題について日常的に相談にのっていただいた。また、本研究でおこなった各種の機器分析については、石川助教授のご指導に負うところがおおきい。

ガーナ共和国作物研究所 Crops Research Institute の M. OWUSU-AKYAW 博士には、ガーナにおけるマメノメイガ採集の便宜をはかっていただいた。博士はまた、わたしが同研究所に勤務していたころの上司であり、マメノメイガの研究をはじめるきっかけは、かれによってあたえられたものである。

筑波大学農林学系の本田洋助教授には GC-EAD による分析を、東京農工大学農学部 of 安藤哲教授には GC-MS 分析を、それぞれご指導いただくとともに、本研究の進展にかかわる貴重な示唆をあたえていただいた。安藤教授はまた、合成化合物をご恵与してくださった。

一方、東京大学害虫学研究室で田付教授が主宰するフェロモン研究グループのメンバーである院生・学生諸氏との討論は、本研究の展開に非

常に有益であった。

このほか、元青年海外協力隊員の杉井映子氏には、ガーナでの昆虫採集をこころよくひきうけていただいた。京都府立農業総合研究所の片山順氏には、丹波における採集でお世話になったほか、当地でのアズキの損害の状況についてご教示いただいた。また信越化学工業株式会社の望月文昭博士は、合成化合物を分与してくださった。

本研究は、これらたくさんの方がたの力ぞえがあつてはじめてできあがつた。ここにしるしてあつく感謝する次第である。

## 追 記

本論文は1996年12月20日、東京大学大学院農学生命科学研究科博士論文として提出された。

## 引用文献

- 足達太郎 (1992) 「ハムシ類の摂食・産卵におよぼす植物表面ワックスの影響」 東北大学大学院農学研究科修士論文 54p.
- ADATI, T. and K. MATSUDA (1993) Feeding stimulants for various leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in the leaf surface wax of their host plants. *Applied Entomology and Zoology* 28: 319-324.
- ANDO, T., Y. OGURA and M. UCHIYAMA (1988) Mass spectra of Lepidopterous sex pheromones with a conjugated diene system. *Agricultural and Biological Chemistry* 52: 1415-1423.
- ANDO, T., Y. KUROTSU, M. KAIYA, and M. UCHIYAMA (1985) Systematic syntheses and characterization of dodecadiene-1-ols with conjugated double bond, lepidopterous sex pheromones. *Agricultural and Biological Chemistry* 49: 141-148.
- ARN, H., M. TÓTH and E. PRIESNER (1992) *List of Sex Pheromones of Lepidoptera and Related Attractants* (2nd edition). Montfavet, France: Organisation Internationale de Lutte Biologique Section Régionale Ouest Paléarctique, 179p.
- 朝比奈正二郎・鶴岡保明 (1970) 「南方定点観測船に飛来した昆虫類 第3報」『昆蟲』37: 290-304.
- ATACHI, P. and Z.C. DJHOU (1994) Inventaire des plantes-hôtes de *Maruca testudalis* (GEYER) (Lepidoptera: Pyralidae) en République du Bénin. *Annales de la Société Entomologique de France* 30: 169-174.
- BAKER, T.C. (1985) Chemical control of behavior. G.A. KERKUT and L.I. GILBERT (eds.) *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, Vol. 9, Behaviour. Oxford, England: Pergamon Press, pp. 621-672.
- BUTENANDT, A., R. BECKMAN, D. STAMM and E. HECKER (1959) Über den Sexuallockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. *Zeitschrift für Naturforschung* B14: 283-284.
- CAB INTERNATIONAL INSTITUTE OF ENTOMOLOGY (1996) *Review of Agricultural Entomology* 84: 233.
- CHAPMAN, R.F. (1971) *The Insects: Structure and Function* (2nd edition). London: The English Universities Press Ltd., 819p.
- CORBET, S.A. (1973) Oviposition pheromone in larval mandibular glands of *Ephesia kuehniella*. *Nature* 243: 537-538.
- CORK, A., P.S. BEEVOR, D.R. HALL, B.F. NESBITT and D.G. CAMPION (1985) A sex attractant for the spotted bollworm, *Earias vittella*. *Tropical Pest Management* 31: 158.
- CORK, A., D.J. CHAMBERLAIN, P.S. BEEVOR, D.R. HALL, B.F. NESBITT, D.G. CAMPION and M.R. ATTQUE (1988) Components of female sex pheromone of spotted bollworm, *Earias*

- vittella F. (Lepidoptera: Noctuidae): identification and field evaluation in Pakistan. *Journal of Chemical Ecology* 14: 929-945.
- DIEZ, P.A. (1914) Het katjang-vlindertje (het vermeende toa-toh-motje). *Mededeelingen van het Deli Proefstation te Medan* 8: 273-276.
- DIXON, A.F.G., S. HORTH and P. KINDLMANN (1993) Migration in insects: cost and strategies. *Journal of Animal Ecology* 62: 182-190.
- DOOLITTLE, R.E., J.H. TUMLINSON and A. PROVEAUX (1985) Determination of double bond position in conjugated dienes by chemical ionization mass spectrometry with isobutane. *Analytical Chemistry* 57: 1625-1630.
- DREYER, H. and J. BAUMGÄRTNER (1995) The influence of post-flowering pests on cowpea seed yield with particular reference to damage by Heteroptera in southern Benin. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 53: 137-149.
- デューク、ジェームズ・A (1986) 星合和夫 (訳) 『世界有用マメ科植物ハンドブック』 東京: 財団法人雑豆輸入基金協会 589p.
- 藤崎憲治 (1994) 「昆虫における分散多型性の進化: ROFF の理論の検証」 『日本応用動物昆虫学会誌』 38: 231-244.
- GREENWAY, A.R. and C. WALL (1981) Attractant lures for males of the pea moth, *Cydia nigricana* (F.) containing (E)-10-dodecen-1-yl acetate and (E,E)-8,10-dodecadien-1-yl acetate. *Journal of Chemical Ecology* 7: 563-574.
- GUPTA, P.D. and A.J. THORSTEINSON (1960) Food plant relationships of the diamond-back moth (*Plutella maculipennis* (CURT.)). II. Sensory regulation of the adult female. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 3: 305-314.
- HALL, D.R., P.S. BEEVOR, R. LESTER and B.F. NESBITT (1980) (E,E)-10,12-hexadecadienal: a component of the female sex pheromone of the spiny bollworm, *Earias insulana* (BOSD.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Experientia* 36: 152-153.
- HEGMANN, J.P. and H. DINGLE (1982) Phenotypic and genetic covariance structure in milkweed bug life history traits. H. DINGLE and J.P. HEGMANN (eds.) *Evolution and Genetics of Life Histories*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 177-184. (藤崎 (1994) より引用)
- HEPPNER, J.P.(ed.) (1995) *Atlas of Neotropical Lepidoptera. Checklist: Part 2. Hyblaeoidea - Pyraloidea - Tortricoidae*. Gainesville, USA: Scientific Publishers, Inc., 243p. (CAB INTERNATIONAL INSTITUTE OF ENTOMOLOGY (1996) より引用)
- HIMENO, K. and H. HONDA (1992) (E,Z)- and (E,E)-10,12-hexadecadienals, major components of female sex pheromone of the cotton leaf-roller, *Notarcha derogata* (FABRICIUS) (Lepidoptera: Pyralidae). *Applied Entomology and Zoology* 27: 505-515.
- HONDA, H., K. HIMENO and Y. YOSHIYASU (1994) Chemotaxonomy of the cotton leaf-roller (Lepidoptera: Pyralidae) in Japan with special reference to differences in sex pheromones. *Applied Entomology and Zoology* 29: 323-330.

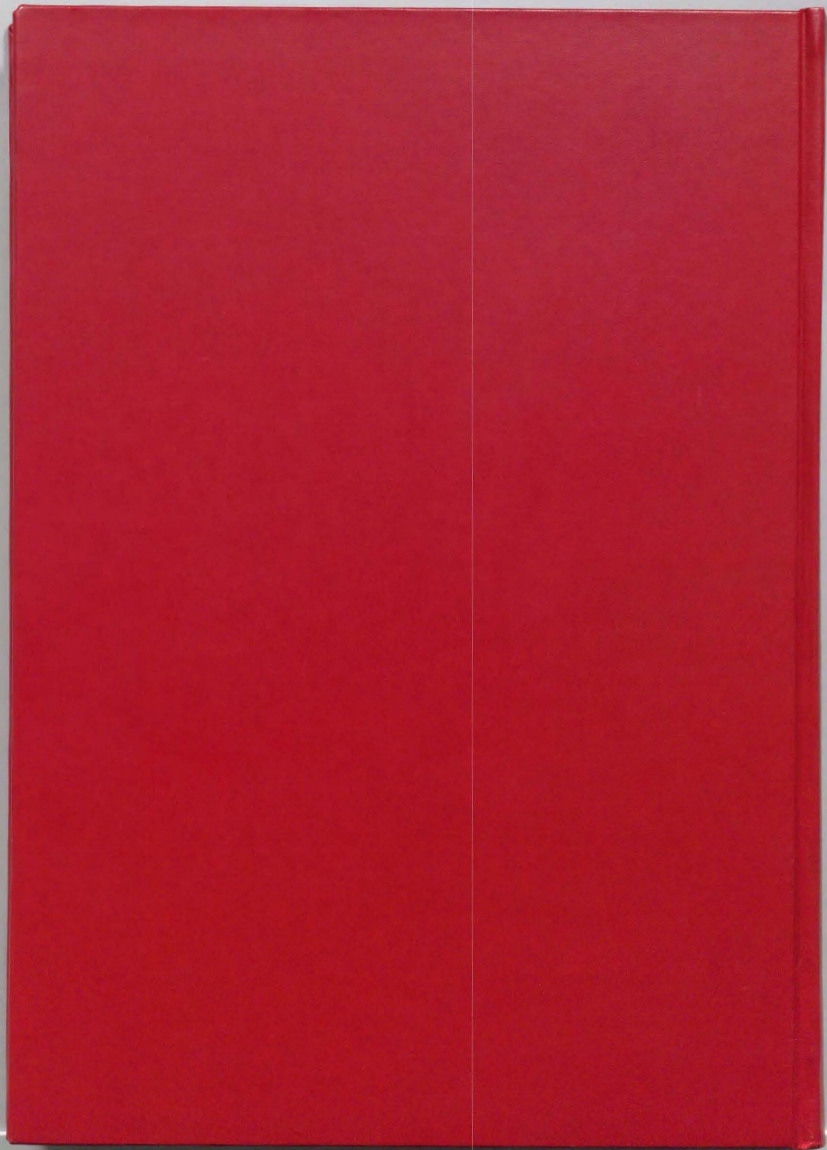


- HUMMEL, H.E. and T.A. MILLER (eds.) (1984) *Techniques in Pheromone Research*. New York: Springer-Verlag, 464p.
- IDES, R. and A. SHANI (1987) Chemical protection of pheromones containing internal conjugated diene system, from chemical degradation. H. ARN (ed.) *Mating Disruption: Behaviour of Moths on Molecules*. Bulletin IOBC-WPRS. Paris: International Organization of Biological Control, pp. 66-67. (STREINZ et al. (1993) より引用)
- 池田司敏明 (1986) 「情報交換」 池田司敏明・山下興亜・櫻井宏紀・山本大輔・正野俊夫『昆虫生理・生化学』 東京: 朝倉書店 pp. 123-162.
- 井上 寛 (1982) 「メイガ科」 井上 寛・杉 繁郎・黒子 浩・森内 茂・川辺 湛『日本産蛾類大図鑑』 第1巻: 解説編 東京: 講談社 pp. 307-404.
- 井上 寛・杉 繁郎・黒子 浩・森内 茂・川辺 湛 (1982) 『日本産蛾類大図鑑』 第1巻: 解説編 東京: 講談社 966p.
- 石原 保 (1963) 『農業昆虫大要』 東京: 養賢堂 299p.
- JACKAI, L.E.N. (1981) Relationship between cowpea crop phenology and field infestation by the legume pod borer, *Maruca testulalis*. *Annals of Entomological Society of America* 74: 402-408.
- JACKAI, L.E.N. and J.R. RAULSTON (1988) Rearing the legume pod borer, *Maruca testulalis* GEYER (Lepidoptera: Pyralidae) on artificial diet. *Tropical Pest Management* 34: 168-172.
- JACKAI, L.E.N. and S.R. SINGH (1991) Research on the legume pod borer, *Maruca testulalis*. *IITA Research* 1 (2): 1-7.
- JACKAI, L.E.N., R.S. OCHIENG and J.R. RAULSTON (1990) Mating and oviposition behaviour in the legume pod borer, *Maruca testulalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 56: 179-186.
- JOHNSON, C.G. (1969) *Migration and Dispersal of Insects by Flight*. London: Methuen, 763p. (RANKIN et al. (1986) より引用)
- KAMIMURA, M. and S. TATSUKI (1993) Diel rhythms of calling behavior and pheromone production of oriental tobacco budworm moth, *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Chemical Ecology* 19: 2953-2963.
- 片山 順・鈴木 勲 (1984) 「アズキ子実害虫の発生消長と被害」『京都府立農業研究所研究報告』 12: 27-34.
- KLUN, J.A. (1975) Insect sex pheromones: intraspecific pheromonal variability of *Ostrinia nubilalis* in North America and Europe. *Environmental Entomology* 4: 891-894.
- KOCHANSKY, J., R.T. CARDE, J. LIEBHERR and W.L. ROELOFS (1975) Sex pheromone of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae), in New York. *Journal of Chemical Ecology* 1: 225-231.
- 昆野安彦・本田 洋・松本義明 (1981) 「モノゴマダラノメイガ2系間の生殖隔離」『日本応用動物昆虫学会誌』 25: 253-258.

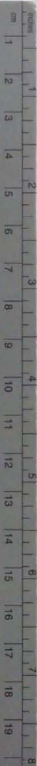
- KONNO, Y., K. ARAI, K. SEKIGUCHI and Y. MATSUMOTO (1982) (E)-10-Hexadecenal, a sex pheromone component of the yellow peach moth, *Dichocrocis punctiferalis* GUENÉE (Lepidoptera: Pyralidae). *Applied Entomology and Zoology* 17: 207-217.
- 桑山 覺 (1943)『北方の農作物害虫』 東京・札幌: 北方文化出版社 158p.
- MCDONALD, G. and P.G. COLE (1991) Factors influencing oocyte development in *Mythimna convecta* (Lepidoptera: Noctuidae) and their possible impact on migration in eastern Australia. *Bulletin of Entomological Research* 81: 175-184.
- MCDONOUGH, L.M., P.S. CHAPMAN, T.J. WEISSLING and C.L. SMITHIESLER (1996) Efficacy of nonpheromone communication disruptants of codling moth (*Cydia pomonella*): Effect of pheromone isomers and of distance between calling females and dispensers. *Journal of Chemical Ecology* 22: 415-423.
- MCDONOUGH, L.M., H.G. DAVIS, P.S. CHAPMAN and C.L. SMITHIESLER (1994) Codling moth (*Cydia pomonella*): Disruptants of sex pheromonal communication. *Journal of Chemical Ecology* 20: 171-181.
- MCNEIL, J.N. (1987) The true armyworm, *Pseudaletia unipuncta*: a victim of the pied piper or a seasonal migrant? *Insect Science and its Application* 8: 591-597.
- 南島 誠・杉江 元・望月文昭・野口 浩 (1996)「室内試験におけるトビハマキに対する(Z)-11-テトラデセニルアセタートの交信攪乱効果」『日本応用動物昆虫学会誌』 40: 162-164.
- MINAMISHIMA, M., H. SUGIE, F. MOCHIZUKI and H. NOGUCHI (1996) An inhibitor of the mating disruption effect of (Z)-11-tetradecenyl acetate on *Pandemis heparana* (Tortricidae: Tortricinae). *Applied Entomology and Zoology* 31: 475-480.
- MINKS, A.K. and R.T. CARDÉ (1988) Disruption of pheromone communication in moths: Is natural blend really most efficacious? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 49: 25-36.
- 日本植物防疫協会(フェロモン研究会)(編)(1983)『フェロモン実驗法』 第1巻 東京: 社団法人日本植物防疫協会 フェロモン研究会 114p.
- OCHIENG' R.S., J.B. OKEYO-OWUOR and Z.T. DABROWSKI (1981) Studies on the legume pod borer, *Maruca testulalis* (GEYER): II. Mass-rearing on natural food. *Insect Science and its Application* 1: 269-272.
- OGHIAGHE, S., L.E.N. JACKAI and W.A. MAKANJUOLA (1991) Cowpea plant architecture in relation to infestation and damage by the legume pod borer, *Maruca testulalis* GEYER (Lepidoptera: Pyralidae): 1. Effect of canopy structure and pod position. *Insect Science and its Application* 12: 193-199.
- OGHIAGHE, S., L.E.N. JACKAI and W.A. MAKANJUOLA (1992) Cowpea plant architecture in relation to infestation and damage by the legume pod borer, *Maruca testulalis* GEYER (Lepidoptera: Pyralidae): 2. Effect of pod angle. *Insect Science and its Application* 13: 339-344.

- OKEYO-OWUOR, J.B. and P.O. AGWARO (1982) Studies on the legume pod-borer *Maruca testulalis* GEYER: III. The use of a pheromone trap in population studies. *Insect Science and its Application* 3: 233-235.
- ONYANGO, F.O. and J.P.R. OCHIENG-ODERO (1993) Laboratory rearing of the legume pod borer, *Maruca testulalis* GEYER (Lepidoptera: Pyralidae) on a semi-synthetic diet. *Insect Science and its Application* 14: 719-722.
- RAINA, A.K., J.A. KLUN, M. SCHWARZ, A. DAY, B.A. LEONHARDT and L.W. DOUGLASS (1986) Female sex pheromone of the melonworm, *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae), and analysis of male responses to pheromone in a flight tunnel. *Journal of Chemical Ecology* 12: 229-237.
- RANKIN, M.A. and J.C.A. BURCHSTED (1992) The cost of migration in insects. *Annual Review of Entomology* 37: 533-559.
- REED, D.W., E.W. UNDERHILL and E.M. GIBLIN (1987) Attraction of sphingid moths (Lepidoptera: Sphingidae) to 10,12-hexadecadienyl aldehydes and acetates: evidence of pheromone components. *Journal of Chemical Ecology* 13: 931-942.
- ROELOFS, W.L. and R.T. CARDE (1977) Responses of Lepidoptera to synthetic sex pheromone chemicals and their analogues. *Annual Review of Entomology* 22: 377-405.
- ROELOFS, W., A. COMEAU, A. HILL and G. MILCEVIC (1971) Sex attractant of the codling moth: Characterization with electroantennogram technique. *Science* 174: 297-299.
- 薛光烈 (1987) 「クワノメイガの性フェロモンに関する研究」 東京大学農学部学位論文 150p.
- SINGH, S.R., L.E.N. JACKAI, J.H.R. DOS SANTOS and C.B. ADALIA (1990) Insect pests of cowpea. S.R. SINGH (ed.) *Insect Pests of Tropical Food Legumes*. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd., pp.43-89.
- SOUTHWOOD, T.R.E. (1962) Migration of terrestrial arthropods in relation to habitat. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 37: 171-214. (藤崎 (1994) より引用)
- STREINZ, L., A. HORÁK, J. VEKOC and I. HRDÝ (1993) Propheromones derived from codlemone. *Journal of Chemical Ecology* 19: 1-9.
- STRUBLE, D.L. and H. ARN (1984) Combined gas chromatography and electroantennogram recording of insect olfactory responses. H.E. HUMMEL and T.A. MILLER (eds.) *Techniques in Pheromone Research*. New York: Springer-Verlag, pp.161-178.
- 玉木佳男 (1978) 「フェロモン」 石井象二郎・平野千里・玉木佳男・高橋正三『昆虫行動の化学』(行動からみた昆虫1) 東京: 培風館 pp. 79-180.
- TAMAKI, Y. (1985) Sex pheromones. G.A. KERRUT and L.I. GILBERT (eds.) *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Vol. 9, Behaviour. Oxford: Pergamon Press Ltd., pp. 145-191.
- TAMHANKAR, A.J. (1995) Host influence on mating behavior and spermatophore reception

- correlated with reproductive output and longevity of female *Earias insulana* (BOISDUVAL) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Behavior* 8: 499-511.
- TAYLOR, T.A. (1978) *Maruca testudalis*: An important pest of tropical grain legumes. S.R. SINGH, H.F. VAN EMDEN and T.A. TAYLOR (eds.) *Pest of Grain Legumes: Ecology and Control*. London: Academic Press Inc., pp. 193-200.
- WALL, C., R. BOURNOVILLE, A.R. GREENWAY and J. EINHORN (1987) Efficacy and stability of sex-attractant lures for *Cydia nigricana* (F.) and *Cydia medicaginis* (KUZN.). *Crop Protection* 6: 7-12.
- WITZGALL, P., M. BENGTSSON, C.R. UNELIUS and J. LÖFQVIST (1993) Attraction of pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae) to female sex pheromone (*E,E*)-8,10-dodecadien-1-yl acetate, is inhibited by geometric isomers *E,Z*, *Z,E*, and *Z,Z*. *Journal of Chemical Ecology* 19: 1917-1928.
- WITZGALL, P., M. BENGTSSON, G. KARG, A.-C. BÄCKMAN, L. STREINZ, P.A. KIRSCH, Z. BLUM and J. LÖFQVIST (1996) Behavioral observations and measurements of aerial pheromone in a mating disruption trial against pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Chemical Ecology* 22: 191-206.
- YOSHIMATSU, S. and S. NAKAMURA (1992) Lepidoptera captured on the East China Sea in 1991. *Japanese Journal of Entomology* 60: 667-668.







# Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM Kodak

Blue      Cyan      Green      Yellow      Red      Magenta      White      3/Color      Black



## Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM Kodak

A      1      2      3      4      5      6      M      8      9      10      11      12      13      14      15      B      17      18      19

