

コブノメイガの性フェロモン  
と配偶行動に関する研究

河津 圭

コブノメイガの性フェロモン  
と配偶行動に関する研究

河津 圭

コブノメイガの性フェロモンと配偶行動に関する研究

第1章 序論	1
第2章 コブノメイガ雌性フェロモンの同定	3
第1節 アルデヒド成分（必要成分）およびアルコール成分（協力成分）の同定	3
第2節 コブノメイガ雌性フェロモンに存在する未知成分の探索	31
第3章 コブノメイガ性フェロモン「地理的変異」：日本各地と中国杭州における反応性	57
第4章 配偶行動に影響する環境要因	70
第1節 コブノメイガの配偶行動および性フェロモン生産の時間的変化	70
第2節 配偶行動に影響を与える環境要因の解析	90
第5章 総合考察	95
摘要	99
謝辞	103
引用文献	105

## 第1章 序論

コブノメイガ *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera(チョウ目); Pyralidae(メイガ科)) は、アジア、オセアニア、アフリカの熱帯から温帯に広く分布する成虫の体長約 9 mm の小型のガで、幼虫はおもにイネの葉を食害する。かつてはイネなどに散発的に被害を与えるに過ぎないマイナーな害虫であったが、1960 年代後半からこの種による被害が増加し、とりわけインド、タイ、日本などイネを集中的に栽培する地域では近年その被害がとくに増加している (Khan et al., 1988)。日本では、とりわけ西南地域で被害が著しく増加している (上和田ら, 1995; 松田ら, 1995)。

本種は、休眠性を持たないこと、移動性があること、および日本での越冬は南西諸島を除いて確認されていないことから、毎年日本本土にみられる個体は、その年に海外から飛来したものか、その子孫といわれ、もっとも広く受け入れられているのは中国南部より梅雨前線に沿って発生する下層ジェット気流に運ばれて東シナ海を越えて来るとする説である (Wada et al., 1980; 宮原, 1981; 上和田ら, 1994)。

コブノメイガの被害は、殺虫剤を広範囲の水田に散布することで抑制しているが、この様な現状は決して好ましい事態とはいえない。日本においては、移動個体を検出して発生密度を予測し、防除が必要であれば防除適期を推定するための効果的なモニタリングシステムの確立がとくに重要である。コブノメイガは従来よりライトトラップにはあまり飛来しないことが知られている。したがって、すでに多数のガ類で実用化されているように、雌性フェロモンを利用したモニタリングシステムを実施できればその防除にきわめて有効である。また性フェロモン成分が解明できれば、将来、交信攪乱法などを利用した合成性フェロモンによる防除への応用も期待される。

そこでコブノメイガ性フェロモンの構造決定がいくつかのグループによって試みられてきたが、これまでにインド産コブノメイガの性フェロモン成分 (Ganeswara Rao et al., 1993a; Ganeswara Rao et al., 1993b; Ganeswara Rao et al., 1995) とフィリピン産コブノメイガの性フェロモン候補物質として、2 種のモノエンアセテート成分 (Z)-11-ヘキサデセニールアセテート (Z11-16:Ac) と (Z)-13-オクタデセニールアセテート (Z13-18:Ac) が報告されている (Ramachandran et al., 1990)。これらの報告によれば、インド産とフィリピン産の両者の間には性フェロモンに地理的変異が存在すると報告されており、Z13-18:Ac と Z11-16:Ac の比率がインドの個体群では 90:10 であるのに対し、フィリピンの個体群では



2:98 とされる (Ganeswara Rao et al., 1995)。またスリランカと韓国において、生息している個体群を材料とした性フェロモンの分析は行われていないが、野外において Z13-18:Ac によりコブノメイガの雄を捕獲したことも報告されている (Kudagama, 1983; Kang et al., 1985)。このうちスリランカでは雄の捕獲数の季節的変動と幼虫による作物への被害時期との関連が指摘されている。以上のことから、熱帯から温帯にかけて広域に分布している本種は、生息地域により性フェロモン成分の比率が異なった集団に分化している可能性が示された。

一方、予備的に調べられた日本産コブノメイガ性フェロモン腺からは上記の2成分は検出されず、かわって (Z)-13-オクタデセナール (Z13-18:Ald)、(Z)-11-オクタデセナール (Z11-18:Ald)、(Z)-11-オクタデセノール (Z11-18:OH)、(Z)-13-オクタデセノール (Z13-18:OH) の存在が示唆され、インド産ともフィリピン産とも異なったフェロモンシステムをもつ可能性が示唆されていた。

本研究の目的は3つに大別される。すなわち、第一の目的はコブノメイガ雌性フェロモン成分の同定である。予備実験から日本産コブノメイガの性フェロモン成分がインド産、フィリピン産の性フェロモン成分とまったく異なることが示唆されたため、とくに日本産コブノメイガの雌性フェロモン成分の正確な同定を行う必要性が生じた。第二の目的はコブノメイガ性フェロモンに関する地理的変異の探索である。ここではこれまでに報告されたコブノメイガ性フェロモンの地理的変異に基いた3種の性フェロモン剤を用いて日本各地に飛来するコブノメイガ個体群の性フェロモン反応性を調査し、日本国内での性フェロモンの地理的変異に関する基礎的知見を得る。第三の目的は本種の配偶行動に影響する環境要因を調査することである。ここではまず配偶行動の行われるタイミングと照明条件、温度条件の関連を明らかにする。また、本種には移動性が示唆されているが、移動にともなう性成熟の遅延を引き起こす環境要因を調査する。

以上の目的を達することによって、コブノメイガの雌性フェロモンにみられる地理的変異に対して新たな発見を加えるとともに、日本におけるコブノメイガ発生予察ならびに防除に合成性フェロモンを効果的に利用するために有効な知見を与えることができる。

## 第2章 コブノメイガ雌性フェロモンの同定

### 緒言

本節においては、日本産コブノメイガの雌性フェロモン成分の同定について述べる。

これまでに本種のインド産の性フェロモン成分 (Ganeswara Rao et al., 1995) とフィリピン産の性フェロモン候補物質として 2 種のモノエンアセテート成分 (Z)-11-ヘキサデセニールアセテート (Z11-16:Ac) と (Z)-13-オクタデセニールアセテート (Z13-18:Ac) が報告されている (Ravichandran et al., 1990)。これらの報告によればインド産とフィリピン産の間には性フェロモンに地理的変異が存在し、インド産では Z11-16:Ac と Z13-18:Ac が 10:90 の比率を成しているのに対し、フィリピン産では 98:2 の比率で含まれている (Ganeswara Rao et al., 1995)。

一方、予備的に行われた日本産コブノメイガ性フェロモン腺抽出物のガスクロマトグラフ分析およびガスクロマトグラフ質量分析の結果からは上記の 2 成分は検出されず、(Z)-11-オクタデセノール (Z11-18:Ald)、(Z)-13-オクタデセノール (Z13-18:Ald)、(Z)-11-オクタデセノール (Z11-18:OH)、(Z)-13-オクタデセノール (Z13-18:OH) を含む異なったフェロモンシステムの可能性が示唆された (長谷川と本田, 1994; 長谷川ら, 1995)。

そこで本節では、日本産コブノメイガの雌性フェロモン成分の完全な構造決定を試みた。その際には上記の可能性を考慮するとともに他の未知成分についても検討を加えた。

### 第1節 アルデヒド成分 (必要成分) およびアルコール成分 (協力成分) の同定

#### 材料と方法

##### 供試虫

研究に供したコブノメイガは 1985 年に大阪府で野外採集された個体に由来し、住友化学工業 (株) において累代飼育されていたものが分与されたもので、当研究室でさらに 5 年以上にわたって累代飼育したものである。とくに断らない限り本章以降のすべての実験で上記の個体群を供試虫とした。

飼育条件は室温  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 60-70%、光周期 15L:9D であり、人工飼料シルクメイト 2 (S)、日本農産工業株製を使用した。蛹の長帯で形態によって雌雄に分け、その後各々プラスチックスクリーンケージ (30×30×30 cm) に保持した。羽化後、餌として 5% のショ糖溶液を与え、雌雄別々のまま保持して実験に供した (図 2-1)。



図 2-1 コブノメイガの標本

### 合成化合物

合成品のモノエンアルデヒド、モノエンアルコール、モノエンアセテートは信越化学工業株式会社から提供されたものを使用した。

### 性フェロモンの抽出

雌性フェロモンの抽出には3-5日齢の未交尾雌を用いた。雌のガは産卵後4-7時間の間にケージから取り出して、二酸化炭素で麻酔したのち、腹部を圧迫することで露出させた性フェロモン腺を含む末端節を眼科手術用ハサミで切り取った。切斷した末端節を再蒸留したノルマルヘキサン (ca. 1  $\mu$ l/tip) で3分間浸漬し、性フェロモンを抽出した。粗抽出液はスクリーバイアル中に密封して-20°Cで保存した。なお抽出条件の設定については、詳しくは第4章第1節で述べる。

### シリカゲルカラムクロマトグラフィー

バスツールピペットの先端に少量のシリカウールをつめ、ワコゲル C-200 (和光純薬工業株) 200mgを充填したものをカラムとした。溶媒系をヘキサン、5%、15%、50% エーテル/ヘキサンとし各2mlを室温で順次溶出した。

### 精製

供給された合成品は高速液体クロマトグラフィー (High performance liquid chromatography: HPLC) を用いて精製した。HPLCの制御は示差屈折 (RI) 検出器 (Shodex RI se-61) を備えた制御装置 (Hewlett-Packard 製: HP-1050型) により行った。幾何異性体の分離には硝酸銀をコーティングした Nucleosil 100-SA (250 X 4 mm ID, 5  $\mu$ m particle size, GL Science, Tokyo, Japan) を使用した。アルデヒドには不純物として同族体が含まれていたため、Inertsil ODS-2 column (250 X 4 mm ID, 5  $\mu$ m particle size, GL Science, Tokyo, Japan) を使用してこれらを除去した。HPLCに使用した溶媒はメタノールで、流速は0.45 ml/minとした。アセテートには不純物としてアルコールが含まれていたためシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Wakogel C-200, 200 mesh, Wako Pure Chemical Industries Ltd.) で精製した。以上の樹種により後述する条件でGC分析による純度検定を行い、純度99.9%の化合物を得た。なおすべての溶媒は蒸留したものを使用した。

### ガスクロマトグラフィー (GC)

GC分析にはガスクロマトグラフ (島津製作所製: GC-17A型) を使用した。試料の分離には高極性の DB-23



(0.25  $\mu\text{m}$  film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) と無極性 DB-1 (0.25  $\mu\text{m}$  film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) のキャピラリーカラムを用いた。キャリアガスには窒素 (カラム入口圧: 100 kPa) を、検出には水素炎イオン化検出器 (FID) を使用した。試料気化室および検出器の温度は、ともに 250  $^{\circ}\text{C}$  とした。カラム槽は、初期温度を 80  $^{\circ}\text{C}$  として 2 分間保持した後、7  $^{\circ}\text{C}/\text{分}$  で 220  $^{\circ}\text{C}$  まで昇温し、その後 18 分保持した。

#### 触角電図検出器装着ガスクロマトグラフィー (GC-EAD)

GC-EAD は、ガスクロマトグラフのカラムで分離した試料を水素炎イオン化検出器 (FID) と雄蜂の触角電図 (EAG) 反応を利用した触角電図検出器 (EAD) の 2 つの検出器を用いて同時に測定する方法である。この方法の利点は、ガスクロマトグラフ等で分離したそれぞれのフラクションについて EAG 反応を測定する従来の方法と比較して、個々の FID ピークに対応した EAG 反応を同時に測定できることや、フラクションを回収する際の試料の損失が少ないこと、分析にかける時間と労力を省くことが挙げられる (Struble and Am, 1984)。ガスクロマトグラフ (Hewlett-Packard (HP) 社製 5890II 型) に装着したキャピラリーカラム DB-WAX (0.25  $\mu\text{m}$  film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) を、FID の直前でガラス製の Y 字型細管により分離して、一方を FID に接続して他方をガスクロマトグラフカラム槽外に導いた。カラム槽外に導いたガスクロマトグラフの排気を、加温・加湿した空気と混合し、基部から切り取って両端を銀塩化銀電極に接続した雄蜂の触角にあてた。基部側の電極は接地し、先端側の電極は増幅器を介して EAG 反応を記録した。キャリアガスとしてヘリウムを使用しカラム入口圧は 110 kPa とした。カラム槽温度の昇温条件は、初期温度が 50  $^{\circ}\text{C}$  で 1 分間保持、その後 10  $^{\circ}\text{C}/\text{分}$  で 220  $^{\circ}\text{C}$  まで昇温し、20 分保持した。

#### 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 (Shimadzu GC-17A 型) を直結させた質量分析装置 (Shimadzu QP-5050A 型) を用いた。試料の分離には、極性のキャピラリーカラム DB-WAX (0.25  $\mu\text{m}$  film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) を用いた。キャリアガスとしてヘリウムを使用しカラム入口圧は 100 kPa とした。試料気化室および検出器の温度は、共に 250  $^{\circ}\text{C}$  とした。カラム槽温度の昇温条件は、初期温度が 80  $^{\circ}\text{C}$  で 2 分間保持、その後 7  $^{\circ}\text{C}/\text{分}$  で 220  $^{\circ}\text{C}$  まで昇温し、18 分間保持した。イオン化には、電子衝撃 (Electron impact: EI) 法を用い、イオン化電圧は 70 eV とした。

#### DMDS (二硫化メチル) による化学修飾

モノエン化合物の二重結合の位置を決定するために、二重結合部位に DMDS を付加反応させる化学修飾

法を用いた (Buser et al. 1983)。粗抽出物 1000 雌当量をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離した 5% エーテル/ヘキサン、15% エーテル/ヘキサンプラクシオンを濃縮して 50  $\mu$ l のヘキサン溶液にした。この溶液を気密性が高く、蓋がテフロン加工してあるスクリーバイアルに入れた。これに 50  $\mu$ l の DMDS と 10  $\mu$ l のヨウ素エーテル溶液 (60 mg/ml) を加え、一昼夜 40  $^{\circ}$ C に保った。その後、200  $\mu$ l のヘキサンで希釈し、5% のチオ硫酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) 水溶液 50  $\mu$ l を加えて攪拌し、ヨウ素を除去した。ヘキサン層を取り分け、もう一度水層をヘキサンで洗い得られたヘキサン層を上へのヘキサン層に加えた後、無水硫酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) によって脱水した。窒素気流下で約 1  $\mu$ l に濃縮後、直ちに GC-MS で分析した。

#### 室内生物検定

抽出物および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行った。

供試材料は所定濃度のヘキサン溶液とし、1  $\mu$ l を扇型に切った紙 (直径 9 cm の円形紙 [Advantec No. 2] を扇型に 8 等分したもの) の先端にマイクロシリンジでゆっくりと滴下した。溶媒を風乾後、この紙をあらかじめ 3 日齢から 5 日齢までの未交尾の雄ガ 20 頭をはなしてあるケージ (20 cm  $\times$  30 cm  $\times$  30 cm の木枠に黒色の寒冷紗を張ったもの) 内部の天井中央から 6 cm の位置に吊り下げた。ケージは換気設備のある暗室内に置き、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流れるように設置した。生物検定の時間帯は前期開始後 4 時間から 7 時間に行った。なお生物検定の条件設定については、第 4 章第 1 節で詳しく述べる。

行動反応の記録は紙を吊り下げて 30 秒後から 1 分ごとに 5 分後まで行ない、各 1 分間の間の紙に対して雄のガが定位して接触したのべ回数を記録した。

#### 野外誘引試験

野外誘引試験は 1997 年 8 月から 9 月および 1998 年 7 月から 8 月に鹿児島農業試験場内の圃場で行った。試料を処理する担体にはサンケイ化学株式会社より供与された灰色のゴムセプタム (gray halo-butyl isoprene blend elastomer septum) を用いた。合成化合物およびその混合物はすべて 200  $\mu$ l のヘキサンに溶解させゴムセプタムの内部表面に含浸させた。ゴムセプタムは一昼夜ドラフト内に保持して溶媒を揮発させた後、アルミシートでコーティングしたポリエチレンバッグに入れ、窒素を封入後、ヒートシールした。試験地へ郵送する期間をのぞいて、使用直前まで 20  $^{\circ}$ C で保持した。

粘着トラップにはサンケイ化学製の SE トラップを使用した。各処理について 3 反復を実施した。ブロック内のトラップ間の距離は約 10 m とし、ブロック間距離はおよそ 100 m とした。粘着トラップはイネ草冠部と同じ高さに設置した。捕獲されたガの数を計測する際に粘着板を新しいものと交換し、さらにトラップの位

置を一つずつずらした。捕獲数の計測は、基本的に1週間に1度行ったが、ガの発生最盛期には毎日あるいは1日おきに計測した。

## 結果

### 触角電図検出器装着ガスクロマトグラフィー (GC-EAD)

コブノメイガ処女雌の粗抽出物をGC-EAD分析したところ、4本の大きなEAGピークが認められ、それらの保持時間からFIDチャートでの顕著な4本のピークのそれらと一致していた。そこでFIDチャート上の4つのピークをA, B, C, Dと名付け、以下でこれらの同定を試みた(図2-2)。

### ピークA-Dの構造決定

#### カラムクロマトグラフィー

処女雌の粗抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、得られた各フラクションを高極性カラムDB-23を装着したガスクロマトグラフによって分析して分離結果を確認した。5%エーテル/ヘキサンフラクションではピークA(R 21.80分)とB(R 21.91分)が溶出し、15%エーテル/ヘキサンフラクションではピークC(R 23.21分)とD(R 23.36分)が溶出した。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーでは、各フラクションに溶出する成分の極性は、溶出に用いた溶媒の極性によって規定される。ヘキサン100%の溶媒に溶出する成分は極性が低く、溶媒に添加するエーテルの量が増加するに従い、溶出する成分の極性も高くなってゆく。予備実験としてガ類の性フェロモンとして既知の標準物質を用い、同条件でシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離を行ったところ、炭化水素類はほとんどがヘキサンフラクションに、アルデヒド類およびアセート類はおもに5%エーテル/ヘキサンフラクションに、アルコール類はおもに15%エーテル/ヘキサンフラクションに、それぞれ溶出した。コブノメイガの雌性フェロモンが既知の性フェロモン化合物の範囲に属するものと仮定するならば、以上のことからピークAおよびB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、ピークCおよびDは、アルコール類である可能性がそれぞれ示唆された。

#### GC-MSによる分析結果

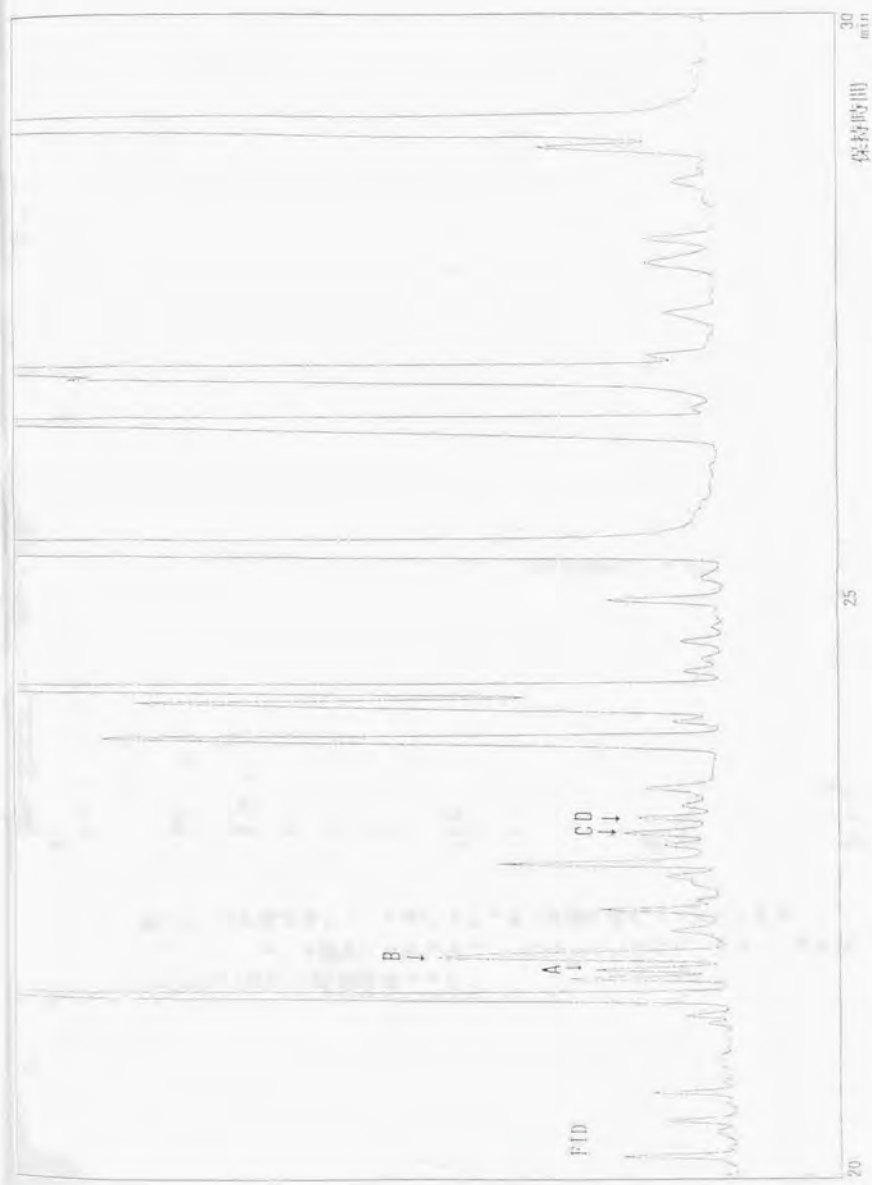


図 2-2 コブノメイガ雌抽出物のガスクロマトグラムとEADで検出された活性ピーク A-D



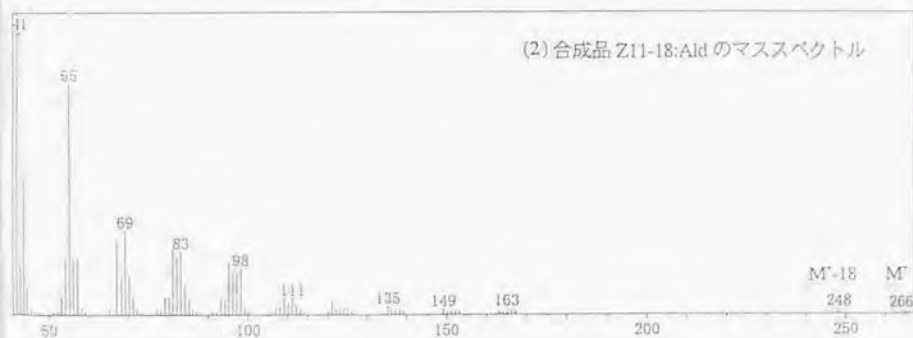
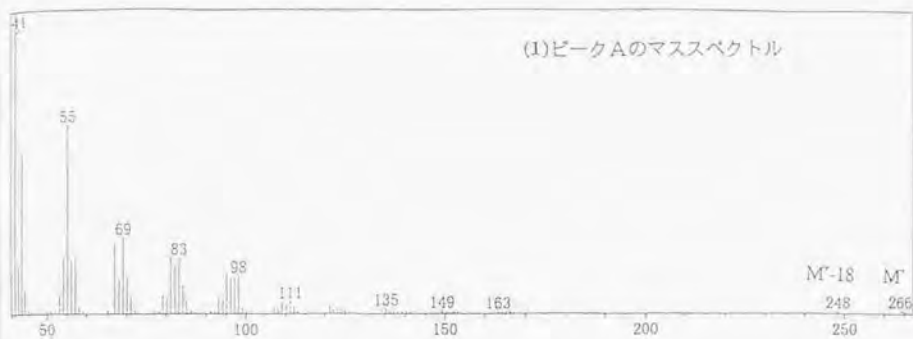


図 2-3 日本産コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、5%エーテル/ヘキサソフラクション中のピーク A (1) および Z11-18:Ald (2) の EI マススペクトル

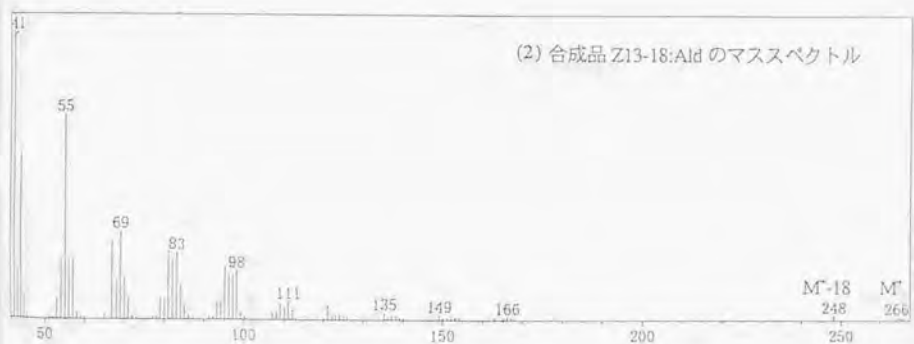
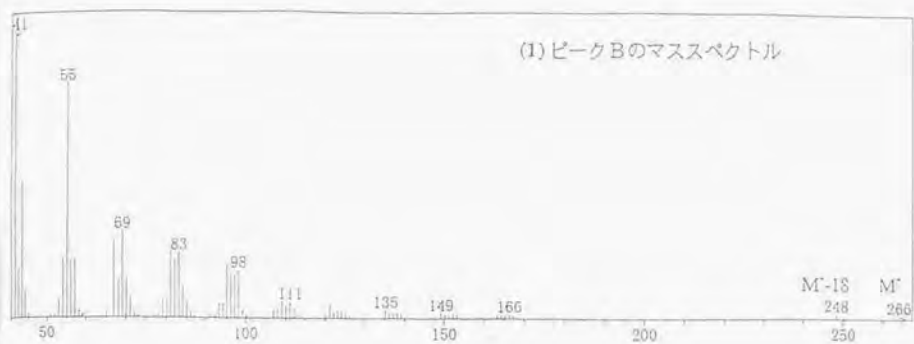


図 2-4 日本産コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、5%エーテル/ヘキサンフラクション中のピーク B (1) および Z13-18:Ald (2) の EI マススペクトル

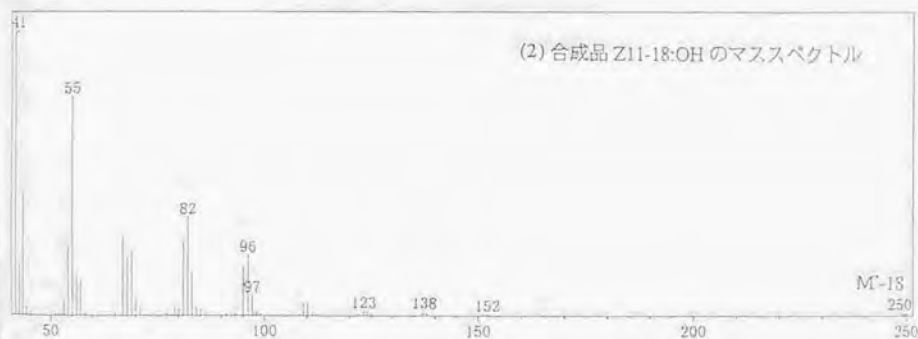
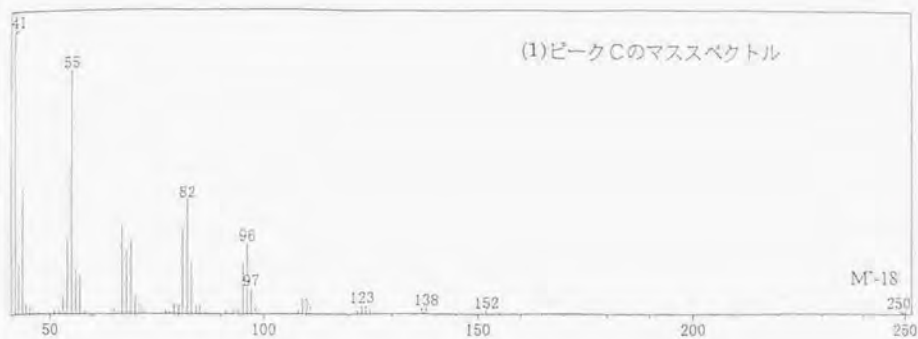


図 2-5 日本産コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、15%エーテル/ヘキサンフラクション中のピーク C (1) および Z11-18:OH (2) の EI マススペクトル

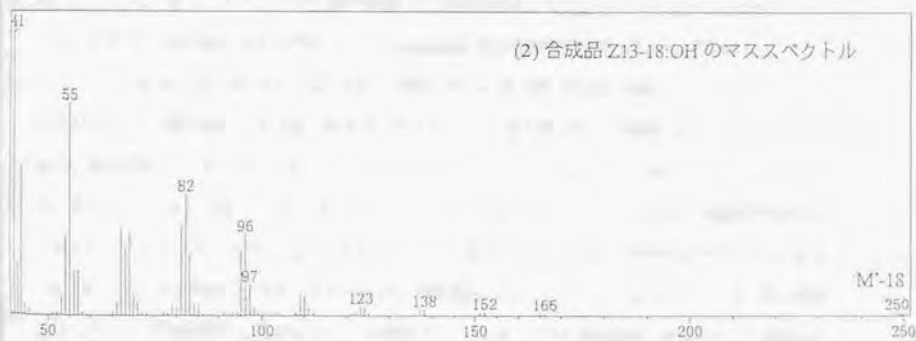
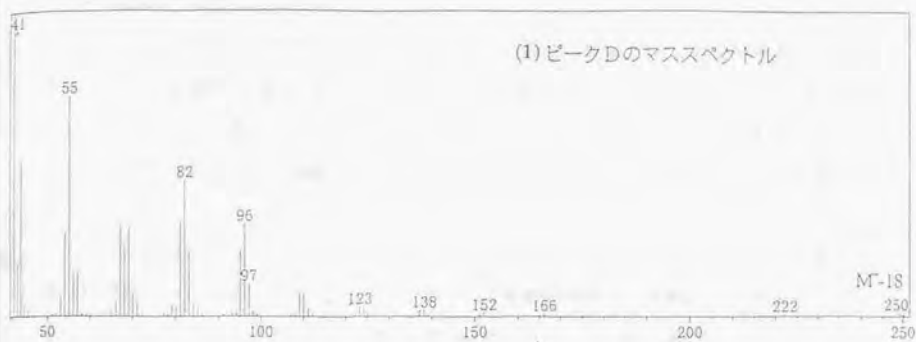


図 2-6 日本産コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、15%エーテル/ヘキサンフラクション中のピーク D (1) および Z13-18:OH (2) の EI マススペクトル



シリカゲルカラムクロマトグラフィーによるフラクションを用いて、ピークA-DのGC-MSによる分析を行った。得られたそれぞれのマススペクトルを、(図 2-3から2-6)に示す。5%エーテル/ヘキサンフラクション中のピークAとBのマススペクトルは、きわめて似たパターンを示した(図 2-3と2-4)。両者のマススペクトルのうち、低質量部には $m/z$ 41がベースイオンピークとして最大強度を示し、以後 $m/z$ 55・ $m/z$ 69・ $m/z$ 83のように14ごとに強い開裂イオンのスペクトルが現れている。一方、高質量部には $m/z$ 248に比較的高質量域に顕著なスペクトルが検出され、つぎに $m/z$ 266のピークが検出された。このピークより高質量域に顕著なピークは検出されなかった。

ピークAとBについて、Eiスペクトルで $m/z$ 266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高い顕著なピークが検出されなかったこと、分子イオンの質量数が偶数であり有機化学的に不可能な値をとっていないことから、分子イオンピーク[M]<sup>+</sup>と推定された。さらに、 $m/z$ 248に比較的高質量域に顕著なスペクトルが検出され、これは $m/z$ 266の分子イオンピーク[M]<sup>+</sup>から水分子が脱離したフラグメントイオンピーク[M-18]<sup>+</sup>であると推定された。またEiマススペクトルで低質量部に見られるイオンが14ごとに強くあらわれていることから、直鎖の炭化水素を骨格とした化合物であることが示唆された。

さらにこれを酢酸エステルであると仮定すると、酢酸エステルに特有な $m/z$ 61のフラグメントイオンピークがみられないこと、および最も高質量部に現れる分子イオンから酢酸分子が脱離して生じるM-60イオンも検出されないことから、アセテート化合物ではないことが示された。ここでピークAとBは炭素数18のモノエンアルデヒド化合物(オクタデセナル: octadecenal)である可能性が高いことが示唆された。

ピークAとBはオクタデセナルであると示唆されたが、その同一性をより確かなものとするため、オクタデセナルの標準物質のGC-MS分析を行いマススペクトルを比較した。その結果は図 2-3と2-4に示すように標準物質として用いたZ11-18:AlidとZ13-18:Alidのマススペクトルは、いずれもピークA、ピークBのマススペクトルとよく一致している。したがってピークAとBはオクタデセナルであると結論づけられた。

15%エーテル/ヘキサンフラクション中のピークCとDのマススペクトルも、きわめて似たパターンを示した(図 2-5と2-6)。両者のマススペクトルのうち、低質量部ではピークAとBに見られたのと全く同じ特徴が見られたが、高質量部では $m/z$ 250のピークが検出され、このピークより高質量域に顕著なピークは検出されなかった。Eiスペクトルで $m/z$ 250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高い顕著なピークが検出されなかったことから、分子イオンピーク[M]<sup>+</sup>である可能性も考えられた。しかし従来の性フェロモンの研究からみて、15%エーテル/ヘキサンフラクションに溶出する化合物はアルコールの可能性が高いことから、もしこれらを与えた成分がアルコールであるとすると、これらは分子イオンピーク[M]<sup>+</sup>から水分子が脱離したフラグメントイオンピーク[M-18]<sup>+</sup>であると推定された。またEiマススペクトルで低質量部に見られるイオンが、 $m/z$ 14ごとに強くあらわれていることから直鎖の炭化水素を骨格とした化合物であるこ

とが示唆される。以上のことからピークCとDは、炭素数18のモノエン第一アルコール化合物(オクタデセノール: octadecen-1-ol)である可能性が高いことが示唆された。

ピークCとDはオクタデセノールであると示唆されたが、その同一性をより確かなものとするため、オクタデセノールの標準物質のGC-MS分析を行いマススペクトルを比較した。その結果図2-5と2-6に示すように標準物質として用いたZ11-18:OHとZ13-18:OHいずれもピークC、ピークDのマススペクトルとよく一致した。したがってピークCとDはオクタデセノールであると結論づけられた。

### 二重結合位置の確認

各フラクションに存在するオクタデセノールおよびオクタデセノールのDMS 付加誘導体をマススペクトル解析することによって、これらの二重結合の位置を明らかにすることを試みた。DMS 化学修飾法は、炭素間二重結合の位置に硫化メチル基  $-SCH_3$  (分子量 47) が2個付加し、その部分がGC-MS分析の際に衝撃電子によって切断されやすくなり、切断された特定のフラグメントがそれぞれ検出されることを利用している。つまり、DMS 処理した試料のマススペクトルのイオンピークは、DMS 付加誘導体である分子イオンのピーク[M]<sup>+</sup>と、上述の特定の2つのフラグメントイオンピークが検出されるので、これら3つから二重結合位置の推定が可能となる(図2-7)。

DMS 処理後の5%エーテル/ヘキサンフラクションをGC-MS分析した後、オクタデセノールに硫化メチル基が2個付加された誘導体の分子イオンピークである  $m/z$  360 を選択し、保持時間による推移をみるマスククロマトグラフィー(MC)を行ったところ、ピーク1とピーク2の2種のオクタデセノール誘導体の存在が示された。ピークAに由来するピーク1(図2-8)のマススペクトルには誘導体の分子イオンピークである  $m/z$  360 と、[A]<sup>+</sup>  $m/z$  145 および [B]<sup>+</sup>  $m/z$  215 の顕著な2つのピークが検出され、したがって11位に二重結合があることが推測された(図2-8)。ピークBに由来するピーク2(図2-8)のマススペクトルには誘導体の分子イオンピークである  $m/z$  360 と、[A]<sup>+</sup>  $m/z$  117 および [B]<sup>+</sup>  $m/z$  243 の顕著な2つのピークが検出され、したがって13位に二重結合があることが推測された(図2-8)。

ピークAとBはそれぞれ11-18:Alidと13-18:Alidであると示唆されたが、その同一性をより確かなものとするため、オクタデセノールの標準物質のZ11-18:AlidとZ13-18:AlidをDMS 処理後、GC-MS分析を行いマススペクトルを比較した。その結果図2-10に示すように標準物質として用いたZ11-18:AlidとZ13-18:Alidいずれもピーク1とピーク2のマススペクトルとよく一致した。したがってピークAとBはそれぞれ11-18:Alidと13-18:Alidであると結論づけられた。

同様にDMS 処理後の15%エーテル/ヘキサンフラクションをGC-MS分析した後、オクタデセノールの誘導体の分子イオンピークである  $m/z$  360 を選択し、MCを行ったところ、ピーク3とピーク4の2種のオク

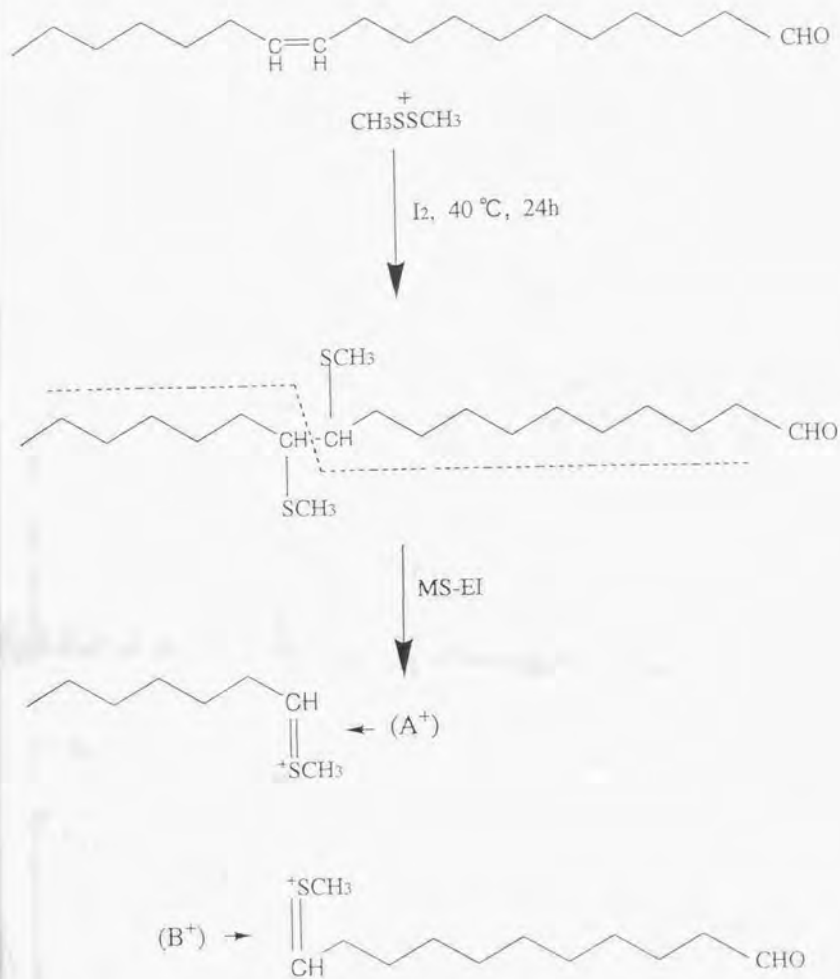


図 2-7 EI-MS による DMS 誘導体の開裂パターン  
 Buser et al., (1983)より改変

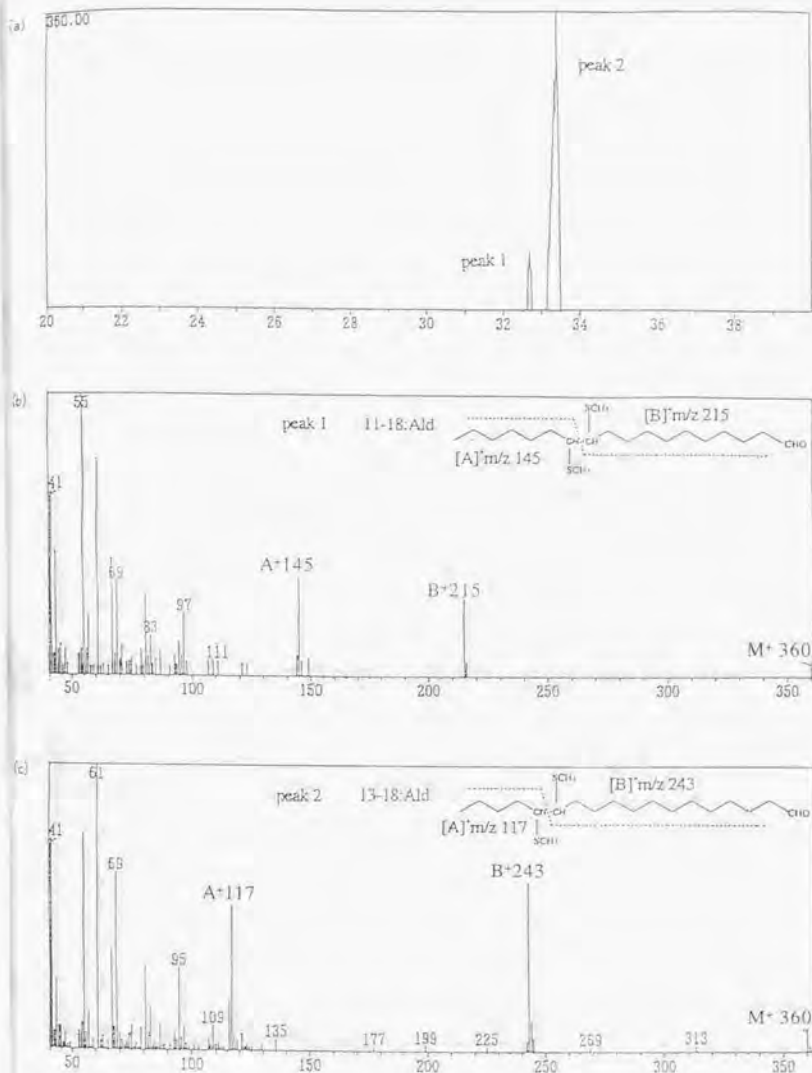


図 2-8 日本産コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、5%エーテル/ヘキサンフラクションをDMDSで処理した後のEIマスペクトル分析

(a)マスクロマトグラフィーが示す2種のオクタデセナールのDMDS誘導体

(b)ピーク1のEIマスペクトル

(c)ピーク2のEIマスペクトル



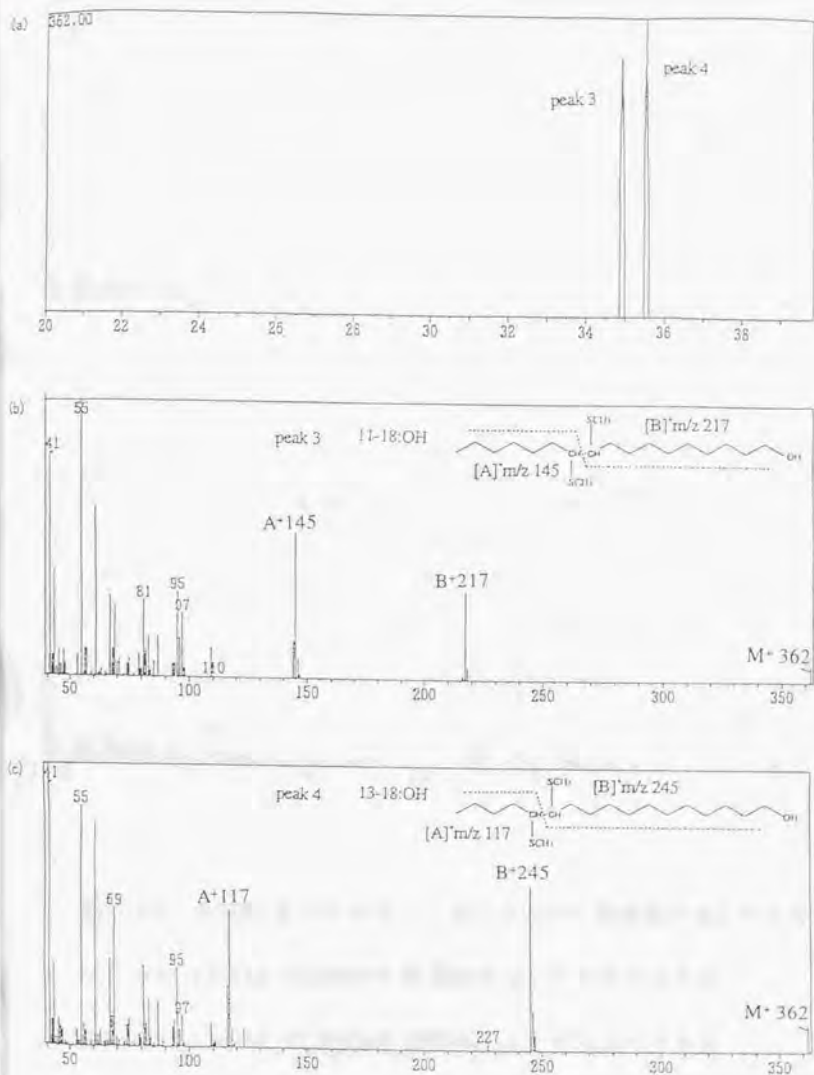


図 2-9 日本産コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、15%エーテル/ヘキサンフラクションを DMDS で処理した後の EI マススペクトル分析

- (a) マスクロマトグラフィーが示す 2 種のオクタデセノールの DMDS 誘導体  
 (b) ピーク 3 の EI マススペクトル  
 (c) ピーク 4 の EI マススペクトル

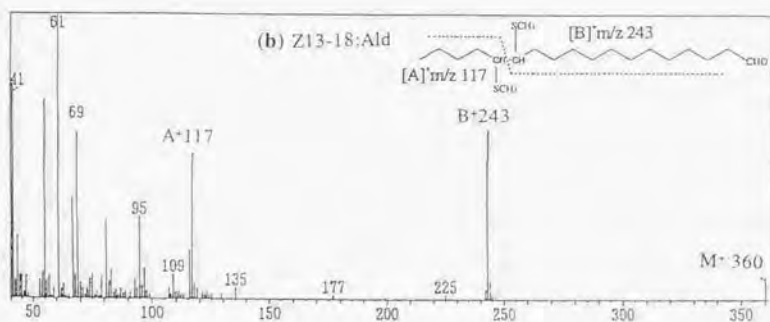
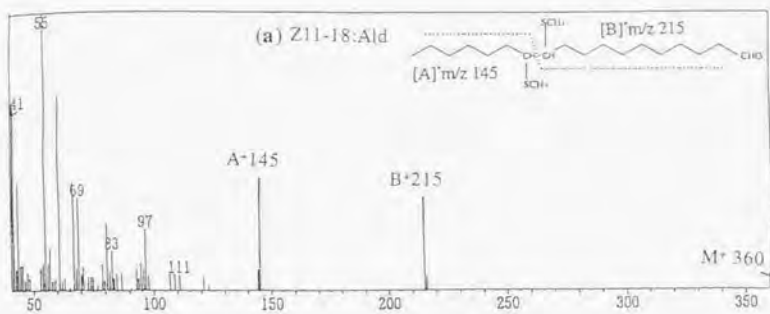


図 2-10 合成品オクタデセナールの DMDS 誘導体の EI マススペクトル分析

(a) Z11-18:Ald の DMDS 誘導体の EI マススペクトル

(b) Z13-18:Ald の DMDS 誘導体の EI マススペクトル

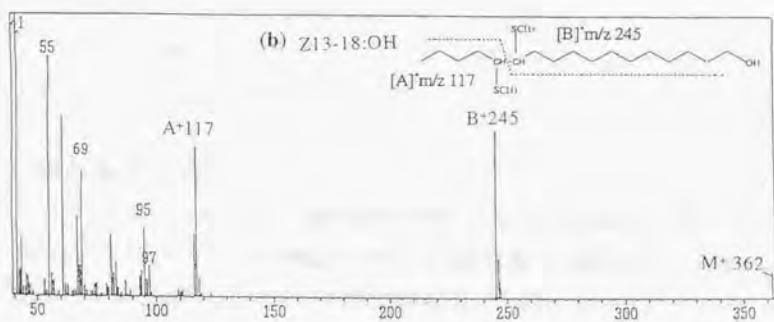
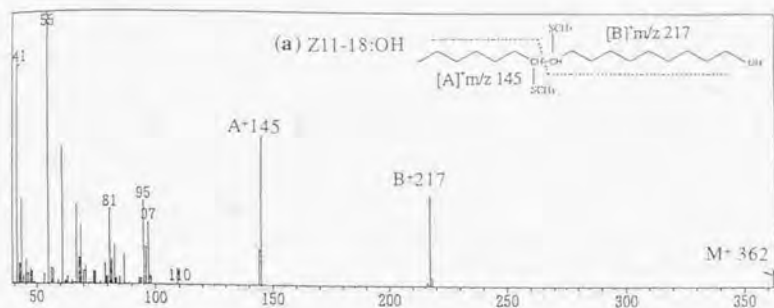


図 2-11 合成品オクタデセノール DMDS 誘導体の EI マススペクトル分析

(a) Z11-18:OH の DMDS 誘導体の EI マススペクトル

(b) Z13-18:OH の DMDS 誘導体の EI マススペクトル

タデセノール誘導体の存在が示された。ピーク C に由来するピーク 3 (図 2-9) のマススペクトルには誘導体の分子イオンピークである  $m/z$  362 と [A]  $m/z$  145 および [B]  $m/z$  217 の顕著な 2 つのピークが検出された。したがって 11 位に二重結合があることが推測された。ピーク D に由来するピーク 4 (図 2-9) のマススペクトルには誘導体の分子イオンピークである  $m/z$  362 と [A]  $m/z$  117 および [B]  $m/z$  245 の顕著な 2 つのピークが検出された。したがって 13 位に二重結合があることが推測された。

ピーク C と D はそれぞれ 11-18:OH と 13-18:OH であると示唆されたが、その同一性をより確かなものとするため、オクタデセノールの標準物質の Z11-18:OH と Z13-18:OH を DMSD 処理後、GC-MS 分析を行いマススペクトルを比較した。その結果 (図 2-11) に示すように標準物質として用いた Z11-18:OH と Z13-18:OH いずれもピーク 3 とピーク 4 のマススペクトルとよく一致した。したがってピーク C と D はそれぞれ 11-18:OH と 13-18:OH であると結論づけられた。

以上の結果からピーク A、B、C、および D は、それぞれ 11-オクタデセナール (11-octadecenal)、13-オクタデセナール (13-octadecenal)、11-オクタデセノール (11-octadecen-1-ol)、および 13-オクタデセノール (13-octadecen-1-ol) であると決定された。

#### 二重結合の幾何異性の決定

ピーク A および B の成分である 11-および 13-オクタデセナールとピーク C および D の成分である 11-および 13-オクタデセノールには、その構造上それぞれトランス体 (E 体) とシス体 (Z 体) の 2 つの異性体が存在する。幾何異性体は互いにその物理的・化学的性質が異なり、その違いは GC のリテンションタイムの差となってあらわれる。ピーク A-D の立体配置を明らかにするため、極性の異なる 2 種類のキャピラリーカラムによる GC 分析を行い、幾何異性の明らかな標準物質と各ピーク A-D との間でリテンションタイムを比較した。

その結果を表 2-1 に示す。ピーク A-D は、高極性カラム、無極性カラムいずれも、すべて相当するシス体合成品とリテンションタイムが一致し、トランス体合成品とは一致をみなかった。

これまでの結果から、顕著な EAG 活性が認められたピーク A、B、C、および D は、それぞれ、(Z)-11-オクタデセナール ((Z)-11-octadecenal : Z11-18:Ald)、(Z)-13-オクタデセナール ((Z)-13-octadecenal : Z13-18:Ald)、(Z)-11-オクタデセノール ((Z)-11-octadecen-1-ol : Z11-18:OH)、(Z)-13-オクタデセノール ((Z)-13-octadecen-1-ol : Z13-18:OH) であると決定された (図 2-12)。

#### ピーク A-D の成分量の定量

構造決定された Z11-18:Ald、Z13-18:Ald、Z11-18:OH、および Z13-18:OH 4 成分の存在比率を GC のピーク面

表2-1 合成品11-18:Ald, 13-18:Ald, 11-18:OH, 13-18:OHの各幾何異性体およびピークA, B, C, Dの2種類のカラムにおけるGCリテンションタイム

ピークあるいは化合物	リテンションタイム (分)	
	高極性カラム (DB-23)	無極性カラム (DB-1)
ピークA	21.80	27.38
Z11-18:Ald	21.85	27.40
E11-18:Ald	21.61	27.40
ピークB	21.91	27.62
Z13-18:Ald	21.91	27.62
E13-18:Ald	21.68	27.59
ピークC	23.21	29.21
Z11-18:OH	23.26	29.22
E11-18:OH	22.94	29.40
ピークD	23.36	29.49
Z13-18:OH	23.33	29.47
E13-18:OH	23.03	29.46





Z11-18:Ald

$C_{18}H_{34}O$   
 Exact Mass: 266.26  
 Mol. Wt.: 266.47  
 C, 81.14; H, 12.86; O, 6.00



Z13-18:Ald

$C_{18}H_{34}O$   
 Exact Mass: 266.26  
 Mol. Wt.: 266.47  
 C, 81.14; H, 12.86; O, 6.00



Z11-18:OH

$C_{18}H_{36}O$   
 Exact Mass: 268.28  
 Mol. Wt.: 268.48  
 C, 80.53; H, 13.51; O, 5.96



Z13-18:OH

$C_{18}H_{36}O$   
 Exact Mass: 268.28  
 Mol. Wt.: 268.48  
 C, 80.53; H, 13.51; O, 5.96

図 2-12 Z11-18:Ald, Z13-18:Ald, Z11-18:OH, Z13-18:OH の構造式

積をもとに内部標準法によって算出すると、11:10024.36であった。また1雌あたりの成分量は、それぞれ0.055、0.5、0.12、および0.18 ngであった。なお上記成分に相当するE体はいずれも検出されなかった。

#### インド産およびフィリピン産のコブノメイガ性フェロモン成分の探索

インド産およびフィリピン産のコブノメイガからはいずれもZ13-18:AcとZ11-16:Acの2成分が性フェロモン成分あるいは性フェロモン様物質として報告されている。日本産コブノメイガも、このアセート2成分を生産している可能性が考えられた。しかし5%エーテル/ヘキサンフラクションのGCによる分析結果からは、Z13-18:AcとZ11-16:Acに相当するピークは認められなかった。したがって存在してもごく微量と考えられるので、GC-MSのCPUに記録されている日本産コブノメイガ抽出物のイオンデータの中から酢酸エステルに特有な $m/z$  61、分子イオンから酢酸分子が脱離して生じる[M-60]、およびそれぞれの分子イオンピーク[M]を用いてMCを行った。MCを行った理由は、GCよりも感度が優れていること、およびリテンションタイムだけをよりどころとするGCとは異なり、成分の構造および官能基の情報を直接的に得ることができるためである。しかしZ13-18:AcとZ11-16:Acの存在を示すピークは検出されなかった。

#### 同定した成分の性フェロモン活性

##### 室内生物検定

同定した4つの成分の性フェロモン活性を確かめるため、まず室内生物検定を実施した。結果を表2-2に示す。もっとも量的に多いZ13-18:Aldは単独でも誘引活性が認められた。一方、Z11-18:Aldだけでは誘引活性は認められなかったが、この成分をZ13-18:Aldに加えるとZ13-18:Aldが単独の場合と比べて誘引活性が有意に上昇した。またZ11-18:OH、Z13-18:OHだけでは活性はないものの、これら2成分をアルデヒド2成分に加えるとアルデヒド2成分に比べて活性が上昇した(表2-2)。

また2雌当量の同定した4成分(Z11-18:Ald、Z13-18:Ald、Z11-18:OH、Z13-18:OH)の量はそれぞれ0.11、0.24、0.36ng)と2雌当量のコブノメイガ処女雌の粗抽出物の誘引活性を比較すると、同定した4成分は粗抽出物の誘引活性には及ばないことが分かった(表2-3)。これにより、性フェロモンは同定した4成分以外の未知成分の存在が示唆された。この詳細については第2節で述べる。

##### 野外誘引試験

野外誘引試験の結果を表2-3に示す。2種のアルデヒドZ11-18:Ald、Z13-18:Aldの混合物は、明らかにコブノメイガの雌に対する誘引性を示した。しかし、室内生物検定では活性のあったZ13-18:Aldだけでは誘引

表2-2 コブノメイガ雌性フェロモン腺粗抽出物から  
同定された成分の室内生物検定

供試試料 <sup>2)</sup>	1分間ごとの雄の総接触数 <sup>1)</sup> (平均±標準偏差)				
	0-1分	1-2分	2-3分	3-4分	4-5分
Z13-18:Ald	4.6±3.0 b	2.8±1.8 ab	1.6±2.6 ab	1.4±1.8 bc	1.2±2.6 bc
アルデヒド2成分 <sup>3)</sup>	7.0±5.2 a	5.4±3.8 a	4.4±4.2 a	3.4±3.8 b	3.8±3.0 bc
4成分 <sup>4)</sup>	8.8±3.6 a	7.2±0.8 a	5.4±1.8 a	5.8±1.2 a	6.0±3.2 a
Z11-18:Ald	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c
アルコール2成分 <sup>5)</sup>	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c
コントロール	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c

<sup>1)</sup>同一時間中で同じ文字をつけた値は、Tukey-Kramer 法により5%水準で有意差なし。  
反復数は10回。

<sup>2)</sup>供試試料の処理量は2雌当量。

<sup>3)</sup>アルデヒド2成分はZ11-18:Ald, Z13-18:Aldを示す。

<sup>4)</sup>4成分はZ11-18:Ald, Z13-18:Ald, Z11-18:OH, Z13-18:OHを示す。

<sup>5)</sup>アルコール2成分はZ11-18:OH, Z13-18:OHを示す。

表2-3 同定した4成分と粗抽出物の室内生物検による比較

供試試料 <sup>2)</sup>	1分間ごとの雄の総接触数 <sup>1)</sup> (平均±標準偏差)				
	0-1分	1-2分	2-3分	3-4分	4-5分
4成分 <sup>3)</sup>	8.8±3.6 b	7.2±0.8 b	5.4±1.8 b	5.8±1.2 b	6.0±3.2 b
粗抽出物	20.1±4.4 a	20.2±4.8 a	16.8±4.6 a	15.4±2.2 a	15.8±5.0 a
ヘキサソ (溶媒)	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c

<sup>1)</sup>同一時間中で同じ文字をつけた値は、Tukey-Kramer 法により5%水準で有意差なし。

<sup>2)</sup>供試試料の処理量は2雌当量。

<sup>3)</sup>4成分は、Z11-18:Ald, Z13-18:Ald, Z11-18:OH, Z13-18:OHを示す。成分量はそれぞれ0.11, 1.0, 24, 0.36 ngである。

表2-4 コブノメイガ雌性フェロモン腺粗抽出物から同定された成分の  
コブノメイガ雄に対する野外での誘引性 (鹿児島)

	成分 ( $\mu\text{g} / \text{septum}$ )			総捕獲数
	Z11-18:Ald	Z13-18:Ald	Z11-18:OH Z13-18:OH	
テスト 1 (8.14-9.5. 1997)				
-	500	-	-	16 a
55	500	-	-	144 b
55	500	120	180	231 b
コントロール				1 a
テスト 2 (7.17-8.13. 1998)				
-	500	-	-	3 c
55	500	-	-	18 cd
55	500	120	180	43 d
コントロール				3 c

同一テスト中で同じ文字をつけた値は、Tukey 法により5%水準で有意差なし。



表2-5 日本ブレンド合成性フェロモン成分の精製が  
日本ブレンドの誘引性に及ぼす影響 (鹿児島 1997年)

ルアーに用いた合成フェロモン	総捕獲数
精製	231 c
未精製	63 b
コントロール	1 a

同じ文字をつけた値は、Tukey 法により5%水準で有意差なし。

活性は認められなかった。このことから野外条件下では、Z11-18:Ald と Z13-18:Ald は誘引活性を發揮するための必須成分であることが示された。

アルコール2成分をアルデヒド2成分に添加した場合の効果は不明瞭な点があるが、アルデヒド2成分より多く捕獲される傾向は認められ、アルコール2成分は、必須成分(アルデヒド2成分)の活性を高める「協効効果」をもつと考えられた(表24)。

#### 合成性フェロモン成分の純度の効果

合成性フェロモンの純度が誘引効果に及ぼす影響をしらべた。精製した4種類の合成品はいずれもシス体ののみが存在し、純度は99.9%であった。未精製の合成品はいずれもシス体の純度は約98%、おもな不純物は相当するトランス体であった。野外試験の結果(表25)から精製した成分の方が明らかに誘引活性が高いことが示され、異性体であるトランス体には、性フェロモンに対する阻害効果をもつ可能性が示された。

#### 考察

GC-EADの分析をもとに、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、GC、GC-MS、およびDMDS化学修飾法により、日本産コブノメイガ雌の性フェロモン腺抽出物中に見出された4種のEAG活性成分は、Z11-18:Ald、Z13-18:Ald、Z11-18:OH、およびZ13-18:OHと同定された。室内生物検定ではZ13-18:Aldだけでも誘引活性が示されたが、しかし野外試験ではZ13-18:Ald単独では有意な誘引活性は認められず、Z13-18:AldとZ11-18:Aldの混合物に顕著な誘引活性が認められた。したがってこれらアルデヒド2成分は性フェロモンの必須成分と考えられる。アルコール2成分は、それら自体には性フェロモン活性認められないが、アルデヒド2成分に付加したときに、顕著ではないが協効作用が示された。これらの結果から、ここで同定した4種の成分は日本産のコブノメイガの雌性フェロモンの構成成分であると結論づけることができる。

ところで同定した4成分は、インド産およびフィリピン産の同種から性フェロモンおよび性フェロモン様物質であるとして報告されているZ13-18:AcとZ11-16:Acとは著しく異なっている。機器分析では、日本産コブノメイガ雌のフェロモン腺抽出物からは、Z13-18:AcとZ11-16:Acのいずれも検出できなかった。詳しくは第2節で述べるが室内および野外における生物検定でも、インド産、フィリピン産で報告された性フェロモン成分には誘引活性がまったく認められなかった。今回性フェロモン同定に用いたコブノメイガは、原記載(Guenée, 1854)との比較および東南アジア諸国を含む様々な場所から捕獲されている多くのサンプルとの形態比較を行った上で、明確に本種と同定されている(Kawazi et al. 印刷中)。以上のことを考慮した上で、の可能性として、各々の個体群間で形態的および誘引活性の差異が認められないが性フェロモンの成分あるいは組成の異なる別種または別亜種としてそれぞれの地域に分布していること、あるいはインド産およびフィリピン産に

ついで種の同定に誤りがあったこと、つまり別種の性フェロモンが同定されたこと、さらにインド産およびフィリピン産は同じコブノメイガであったが性フェロモンの同定に誤りがあったことが挙げられる。この問題を解決してゆく上で、さらなる形態学的比較とともに各個体群間での雌に対する相互の雄の反応性や交配の可能性などが追求されなければならないであろう。

## 第2章第2節 コブノメイガ雌性フェロモンに存在する未知成分の探索

### 緒言

同定した4種の成分は生物検定の結果から、日本産コブノメイガの雌性フェロモンの構成成分であることが明らかになった。しかし室内生物検定においてこれら4成分の混合物を処女雌の粗抽出物と比較すると粗抽出物の誘引活性には及ばないことから、この4成分以外の未知成分の存在が示唆された。そこで本章ではコブノメイガ性フェロモン腺抽出物中に存在する未知成分の同定を試みた。

### 材料と方法

#### 合成化合物

飽和炭化水素のうち、ノナデカン (*n*-C19H40)、エイコサン (*n*-C20H42)、ヘンエイコサン (*n*-C21H44)、ドコサン (*n*-C22H46)、ヘントリアコンタン (*n*-C31H64)、1-オクタデセン (C18H36) は東京化成工業株式会社から購入し、トリコサン (*n*-C23H48)、テトラコサン (*n*-C24H50)、ペンタコサン (*n*-C25H52)、ヘキサコサン (*n*-C26H54)、ヘプタコサン (*n*-C27H56)、オクタコサン (*n*-C28H58)、ノナコサン (*n*-C29H60)、トリアコンタン (*n*-C30H62) については Sigma Chemical Company, Inc. から購入したものを使用した。(Z,Z)-6,9-エイコサジエンおよび(Z,Z,Z)-3,6,9-ドコサトリエンは、東京農工大学農学部・安藤哲教授より恵与されたものを用いた。

#### シリカゲルカラムクロマトグラフィー

方法は、第2章第1節と同様である。

#### 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー

バスツールピペットに少量のシリカゲルをつめ、10%硝酸銀含浸シリカゲル (200 mesh, Aldrich Chemical Company, Inc.) 200mg で充填しカラムとした。溶媒系として0%、0.5%、1%、2%、5%、10%、50%、100% エーテル/ヘキサン各2ml を用い室温で順次溶出した。

#### ガスクロマトグラフィー (GC)

方法は、基本的に第2章第1節と同様であるが、変更した点を以下に述べる。試料の分離には高極性の DB-WAX (0.25  $\mu$ m film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) と無極性 DB-1 (0.25  $\mu$ m film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) のキャピラリーカラムを用いた。試料気化室および検出器の温度は、共に 290 °C とした。カラム槽は、初期温度を 140 °C とし、2 分間保持した後、7 °C / 分で 280 °C まで昇温し、その後 20 分保持した。

#### ガスクロマトグラフィー分取 (GC 分取)

GC を性フェロモンの分離に用いるために、ガスクロマトグラフから気体状で流出する分離された成分を捕集器に導き捕集した。性フェロモンを対象とした GC 分析では、多くの場合検出器として FID が使用されるが、FID による検出は破壊検出であるので、分取の際にはカラム出口に直接捕集器を接続した。ガスクロマトグラフには島津製作所製: GC-17A 型を使用し、カラムには無極性の DB-1 (0.25  $\mu$ m film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) を使用した。捕集器には、内径 2 mm、長さ 30 cm のガラス管を使用し、ガラス管上部にシリカウールを約 1 cm つめ、ガラス管の中央部をドライアイスで冷却した。捕集した試料はヘキサシ 1ml で 3 回、ガラス管の内部を洗い流すことにより回収した。分取前に標準物質の保持時間から分取範囲の設定を行った。

#### 触角電図検出器装着ガスクロマトグラフィー (GC-EAD)

方法は、基本的に第2章第1節と同様であるが、変更した点を以下に述べる。ガスクロマトグラフ Hewlett-Packard (HP) 5898 に装着したキャピラリーカラム DB-1 (0.25  $\mu$ m film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) を使用した。カラム槽は、初期温度を 140 °C とし、2 分間保持した後、7 °C / 分で 280 °C まで昇温し、その後 20 分保持した。

#### ガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS)

方法は、基本的に第2章第1節と同様であるが、変更した点を以下に述べる。試料の分離には無極性のキャピラリーカラム DB-1 (0.25  $\mu$ m film thickness, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) を用いた。試料気化室および検出器の温度は共に 290 °C とした。カラム槽温度の昇温条件は、初期温度が 140 °C で 2 分間保持、その後 7 °C / min で昇温し、280 °C で 20 分保持した。

#### 室内生物検定



抽出物および合成品に対する雄ガの行動反応を測定するため、前節で用いた生物検定法のように、個体1頭ずつを用いて雄ガが性フェロモン源に到達する以前の行動にも注目して新たに設定した生物検定を行った。新たな検定の諸条件は基本的に第1節と同様であるが、改変した点は以下のとおりである。

生物検定は暗期開始後4時間から7時間に行った。3日齢から6日齢までの未交尾の雄ガ1頭をはなしてあるケージ内に、性フェロモン源をつり下げた。行動反応の記録は、性フェロモン源を吊り下げた後から5分間行った。開始より継続して測定値を記録した。

ここで生物検定に用いた指標は、「飛び立ち率」、「定位飛翔率」、「接近率」、「接触率」、「接触回数」、「接触時間」であった。「飛び立ち」は供試虫のうち性フェロモン源を吊り下げた後から5分間の測定時間中に飛び立ったガの数である。「定位飛翔」は測定時間中に供試虫のうち触角を誘引源の方向へ伸ばし、誘引源に向かって定位飛翔を行ったガの数、「接近」は測定時間中に定位飛翔によって性フェロモン源の5 cm以内に接近したガの数である。「接触」は測定時間中に「接近」を示した後、性フェロモン源に接触したガの数である。「接触回数」は「接触」をした供試虫のうちガ1頭あたりの総接触回数である。「接触時間」は「接触」をした供試虫のうちガ1頭あたりの合計接触時間である。

結果においてはとくに断らない限り、第1節で用いたものと同じ生物検定法を用いた。

## 結果

### シリカゲルカラムクロマトグラフィー

分離した各フラクションを既知の性フェロモン4成分に加えて室内生物検定を行ったところ、ヘキサフラクションを加えた場合のみ誘引活性が雌のフェロモン腺の粗抽出物とほぼ同等になった(表2-6)。したがって、未知成分はヘキサフラクションに存在していることが示された。前章でも述べたように、シリカゲルカラムクロマトグラフィーでは各フラクションに溶出する成分の極性は溶出に用いた溶媒の極性によって規定される。一般にヘキサフラクションには炭化水素成分が溶出するとされるが、確認のため一般に市販されている標準物質およびガ類の性フェロモンとして既知の標準物質を用い、分析に用いたものと同条件でシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離を行ったところ、ヘキサフラクションに溶出したのは飽和、モノエン、ジエン、トリエン炭化水素類であった。以上のことから未知成分は炭化水素化合物である可能性が高いことが示された。

表2-6 コブノマイガ雌性フェロモン腺粗抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した各フラクションを既知4成分に加えた効果

供試試料 <sup>2)</sup>	1分間ごとの雄の総接触数 <sup>1)</sup> (平均±標準偏差)				
	0-1分	1-2分	2-3分	3-4分	4-5分
4成分 <sup>3)</sup>	8.8±3.6b	7.2±0.8b	5.4±1.8b	5.8±1.2b	6.0±3.2b
4成分+ヘキサソラクション	23.4±3.8a	19.2±2.8a	19.8±4.6a	18.4±6.2a	15.0±5.0a
4成分+5%エーテル/ヘキサソラクション	11.0±3.4b	9.2±3.6b	7.2±2.8b	6.8±2.8b	6.6±3.2b
4成分+15%エーテル/ヘキサソラクション	9.2±2.2b	9.6±3.6b	6.5±2.2b	7.0±2.8b	6.2±3.6b
4成分+50%エーテル/ヘキサソラクション	10.8±4.2b	9.0±1.2b	7.4±1.8b	7.2±2.6b	5.8±2.4b
粗抽出物	21.6±4.2a	20.5±3.8a	19.0±4.4a	17.2±3.6a	16.2±3.4a
ヘキサソラクションだけ	0.0±0.0c	0.0±0.0c	0.0±0.0c	0.0±0.0c	0.0±0.0c

<sup>1)</sup>同一時間中で同じ文字をつけた値は、Tukey-Kramer法により5%水準で有意差なし。反復数は10回。

<sup>2)</sup>供試試料の処理量は2雌当量。

<sup>3)</sup>4成分は、Z11-18:Alid, Z13-18:Alid, Z11-18:OH, Z13-18:OHを示す。成分量はそれぞれ0.11, 1.0, 24.0, 36.0mgである。

### 硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ヘキサシフラクションに未知成分が存在し、さらに炭化水素化合物である可能性も示唆されたが不飽和度は不明であった。そこで不飽和結合を有する脂肪族化合物を不飽和度によって分離するために硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いた。硝酸銀シリカゲルは、幾何異性体の相違および不飽和結合の数によって非常にすぐれた分離を示す。予備実験としてガ類の性フェロモンとして既知の標準物質を用い、分析に用いたのと同条件で硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離を行ったところ、飽和炭化水素類がヘキサシフラクションに、モノエン炭化水素類は1%エーテル/ヘキサシに、ジエン炭化水素類は5%、10%エーテル/ヘキサシに、トリエン炭化水素類は50%、100%エーテル/ヘキサシに溶出した。硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離して得られた各フラクションを既知の4成分に加えて室内生物検定を行ったところ、飽和炭化水素フラクションを加えたときだけに誘引活性が上昇した(表2-7)。したがって未知成分は飽和炭化水素である可能性が示された。

### 飽和炭化水素フラクション中の成分

#### ガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS)

顕著な13個のFIDピークをリテンションタイムの早い順にI-XIIIと名付け、これらのピークについてEIマスマスペクトルをとりこれらの同定を行った。結果は、(図2-13から2-25)に示す。得られたマスマスペクトルをみると、すべてに共通する傾向がみられた。すなわち1番高位に分子イオンピークがみられ、このほかに単純開裂にもとづく $[C_nH_{2n+1}]^+$ に相当する質量数のイオンが質量数14ごとに最高で $M^+ - 29$ まであらわれた。フラグメントイオンの強度は、基準ピークより質量数が増すに従って順に小さくなり、途中で強い強度を示すフラグメントイオンピークはみられなかった。一般にメチル基などの側鎖を持つ飽和炭化水素は、分岐点で開裂したフラグメントイオンが強く現れるが、いずれのスペクトルについてもそのようなフラグメントイオンはみられなかった。以上の結果からこれらの化合物は炭素数19から31までの直鎖の飽和炭化水素である可能性が示された。つぎに比較のために合成飽和炭化水素ノナデカン( $n-C_{19}H_{40}$ )、エイコサン( $n-C_{20}H_{42}$ )、ヘンエイコサン( $n-C_{21}H_{44}$ )、ドコサン( $n-C_{22}H_{46}$ )、トリコサン( $n-C_{23}H_{48}$ )、テトラコサン( $n-C_{24}H_{50}$ )、ペンタコサン( $n-C_{25}H_{52}$ )、ヘキサコサ

表2-7 コブノメイガ雌性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、ヘキサシクロシオンを  
 硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した各フラクションを既知の4成分に加えた効果

供試試料 <sup>2)</sup>	1分間ごとの雄の総接触数 <sup>1)</sup> (平均±標準偏差)				
	0-1分	1-2分	2-3分	3-4分	4-5分
4成分 <sup>3)</sup>	10.0±2.8b	8.4±3.2b	8.2±1.8b	7.8±2.2b	6.6±1.8b
4成分+飽和炭化水素フラクション	20.1±4.2a	18.4±3.0a	16.2±2.2a	15.4±3.0a	16.2±3.6a
4成分+モノエン炭化水素フラクション	10.4±3.4b	8.8±3.6b	7.1±3.6b	6.2±2.6b	5.4±1.0b
4成分+ジエン炭化水素フラクション	8.8±1.2b	8.4±2.8b	7.8±2.4b	7.0±1.4b	6.8±1.0b
4成分+トリエン炭化水素フラクション	9.0±2.0b	9.2±2.0b	7.0±3.0b	6.6±2.4b	6.2±1.8b
粗抽出物	20.2±2.0a	18.1±4.1a	17.6±3.6a	16.8±3.4a	15.6±3.0a
飽和炭化水素フラクションだけ	0.0±0.0c	0.0±0.0c	0.0±0.0c	0.0±0.0c	0.0±0.0c

<sup>1)</sup>同一時間中で同じ文字をつけた値は、Tukey-Kramer法により5%水準で有意差なし。

<sup>2)</sup>供試試料の処理量は2雌当量。

<sup>3)</sup>4成分は、Z11-18:Alid, Z13-18:Alid, Z11-18:OH, Z13-18:OHを示す。  
 成分量はそれぞれ0.11, 1.0, 24.0, 36.0ngである。



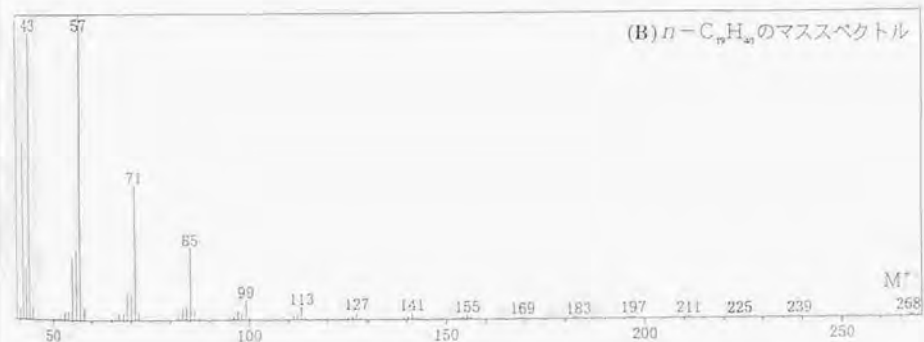
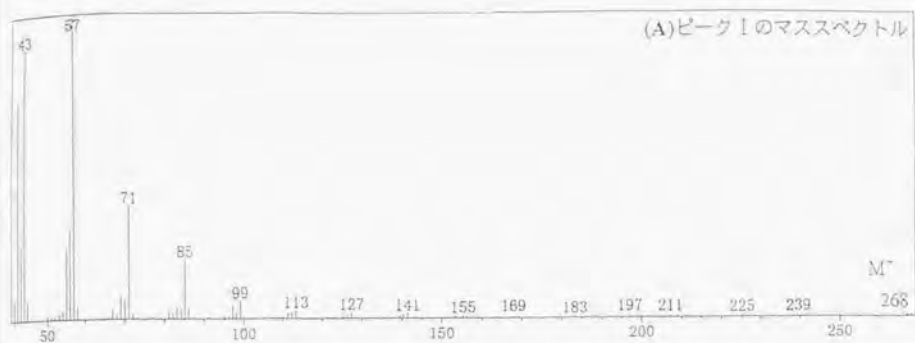


図 2-13 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピーク I (A) および  $n\text{-C}_{19}\text{H}_{40}$  (B) の EI マススペクトル



(A) ピークIIのマススペクトル

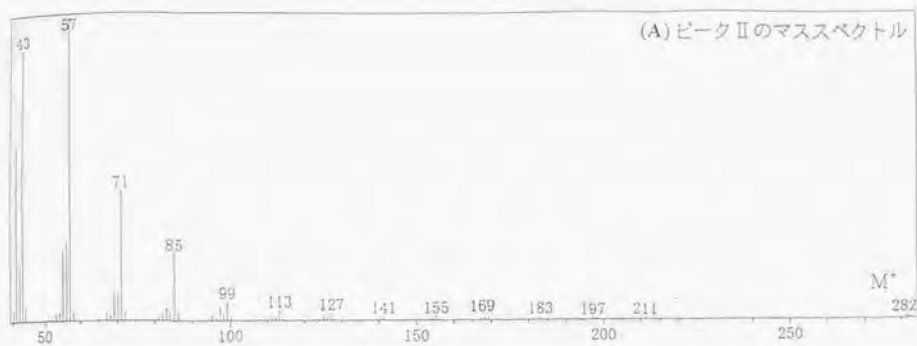
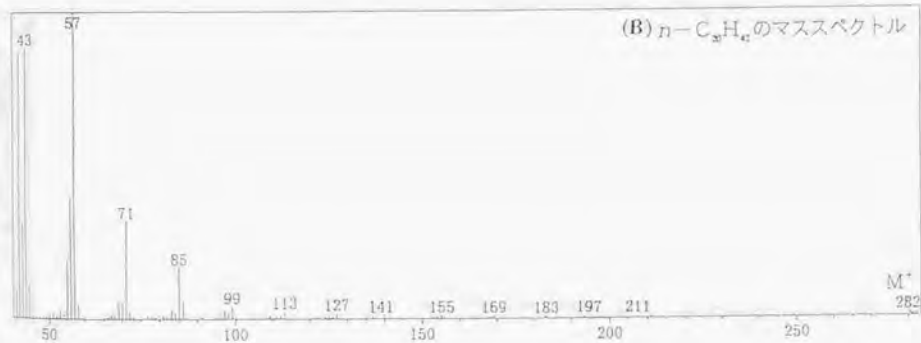
(B)  $n-C_{20}H_{42}$ のマススペクトル

図 2-14 コブノメイガ雄性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、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークII (A) および  $n-C_{20}H_{42}$  (B) のEI マススペクトル

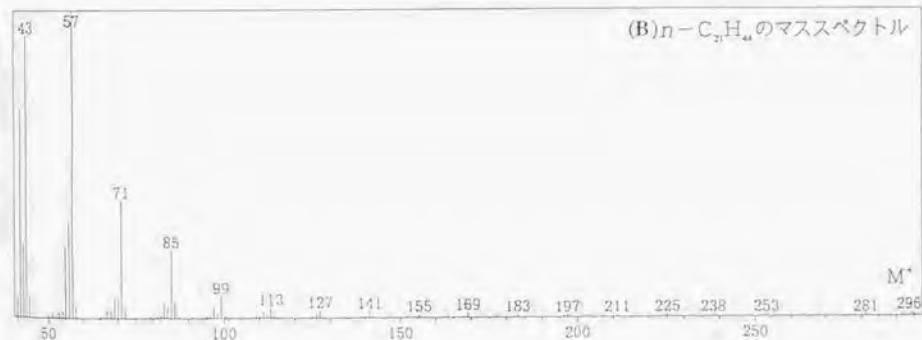
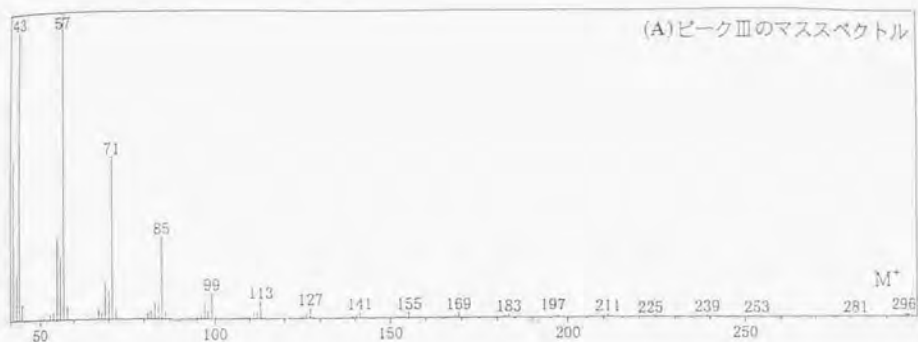


図 2-15 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークⅢ (A) および  $n-C_{21}H_{44}$  (B) の EI マスマスペクトル

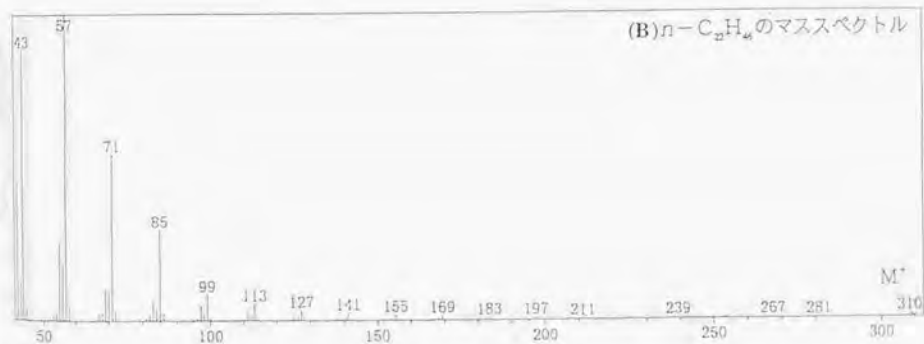
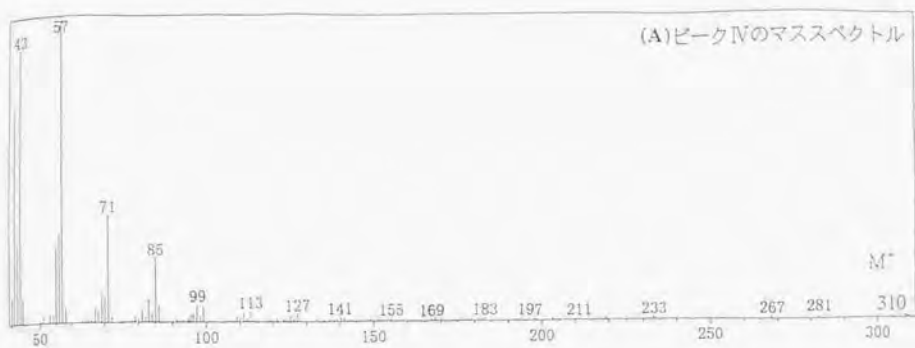


図 2-16 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークIV (A) および  $n-C_{27}H_{56}$  (B) のEI マススペクトル

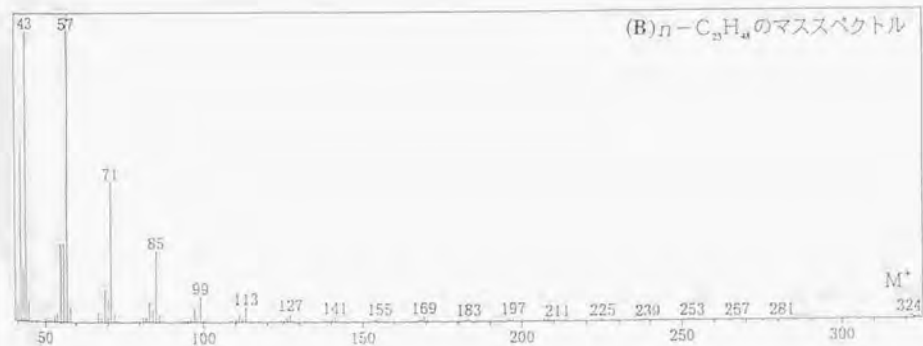
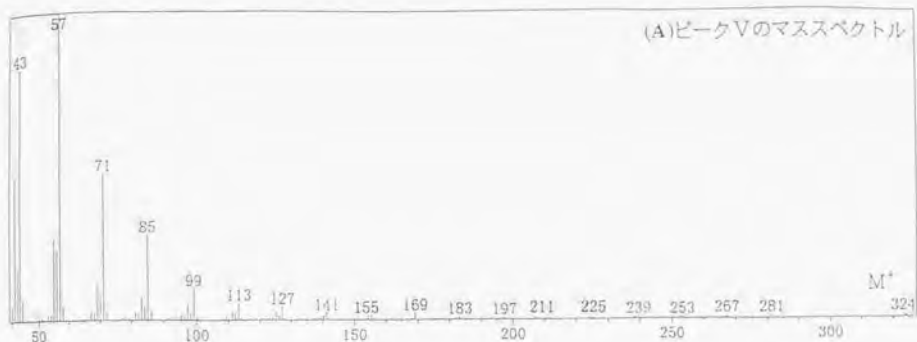


図 2-17 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークV (A) および $n\text{-C}_{23}\text{H}_{48}$  (B) のEIマススペクトル

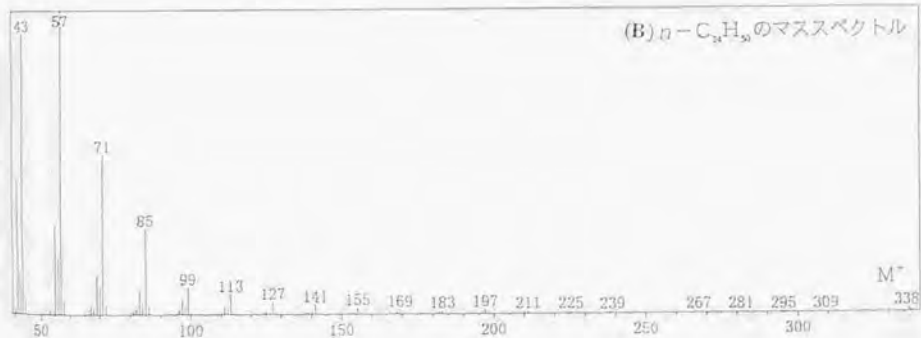
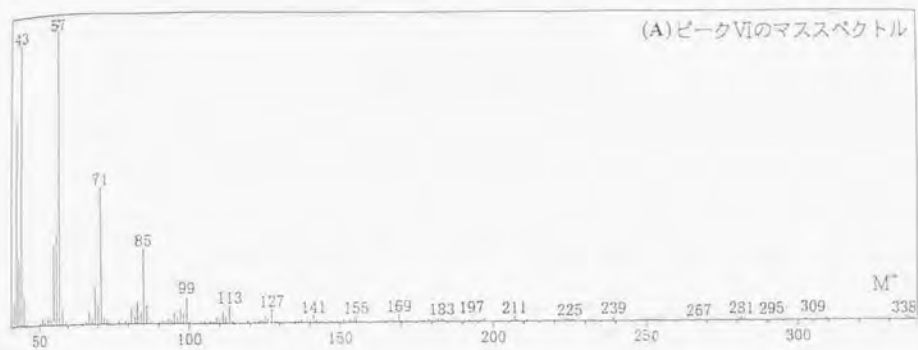


図 2-18 コブノメイガ雄性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサナフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークVI (A) および  $n-C_{24}H_{50}$  (B) のEIマススペクトル



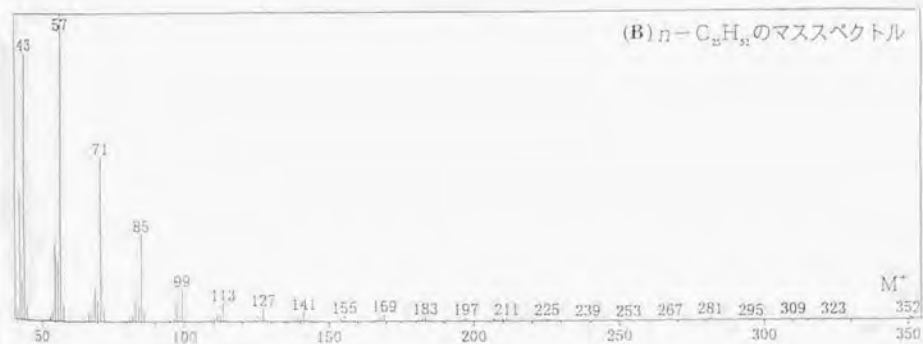
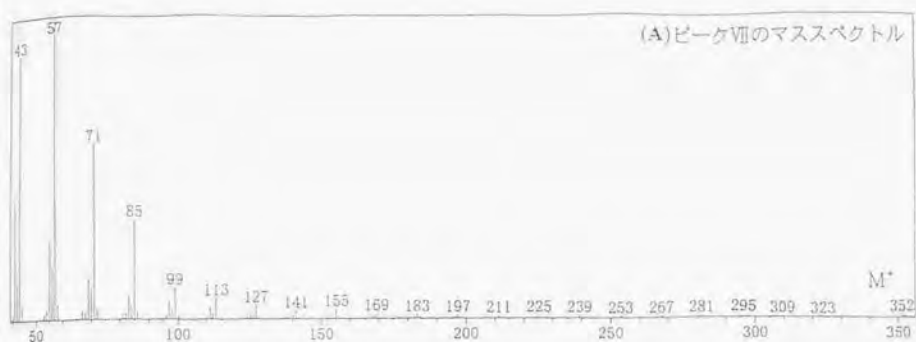


図 2-19 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークVII (A) および  $n-C_{25}H_{52}$  (B) のEIマススペクトル

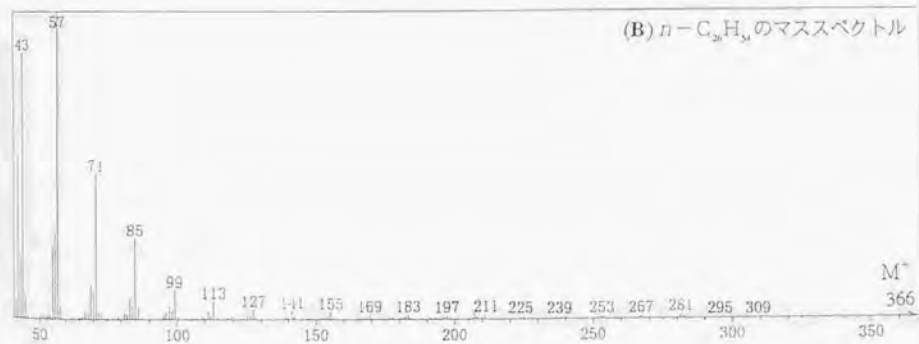
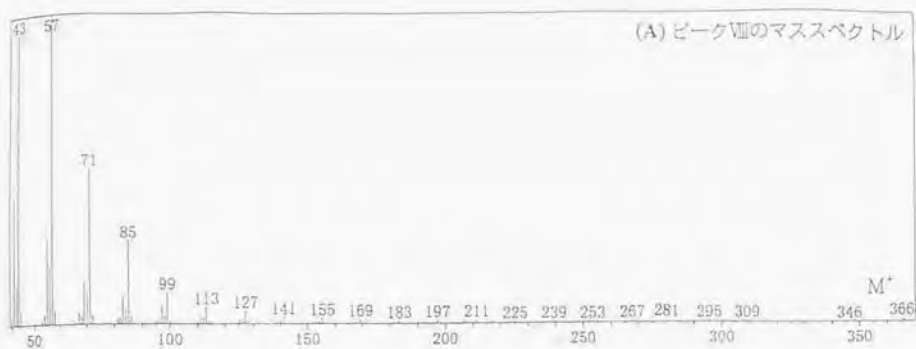


図 2-20 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンプラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークⅧ (A) および  $n\text{-C}_{26}\text{H}_{54}$  (B) の EI マススペクトル

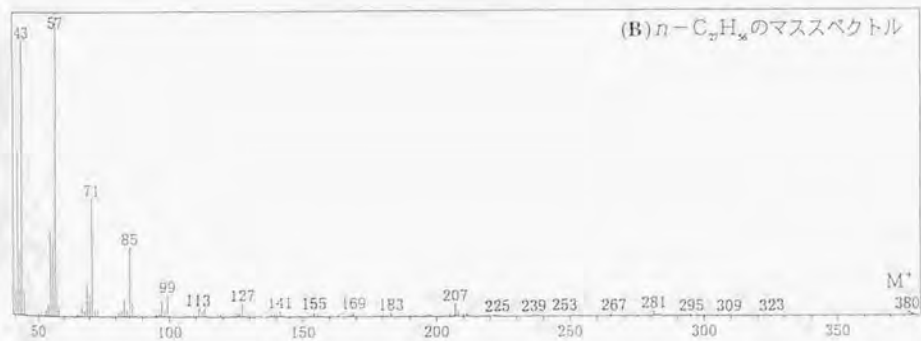
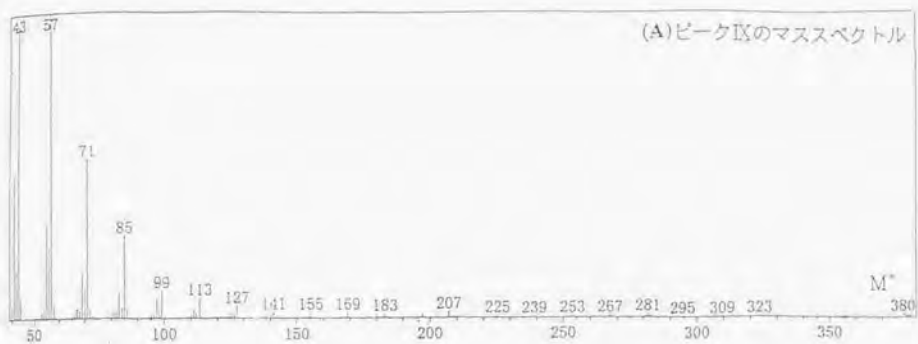


図 2-21 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークIX (A) および  $n\text{-C}_{27}\text{H}_{56}$  (B) のEI マススペクトル

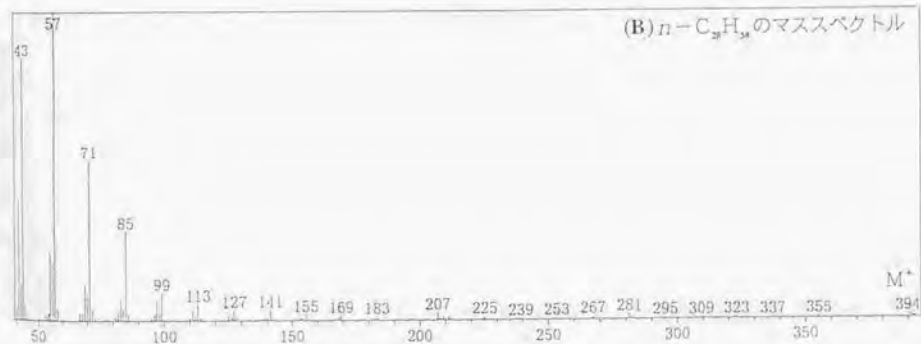
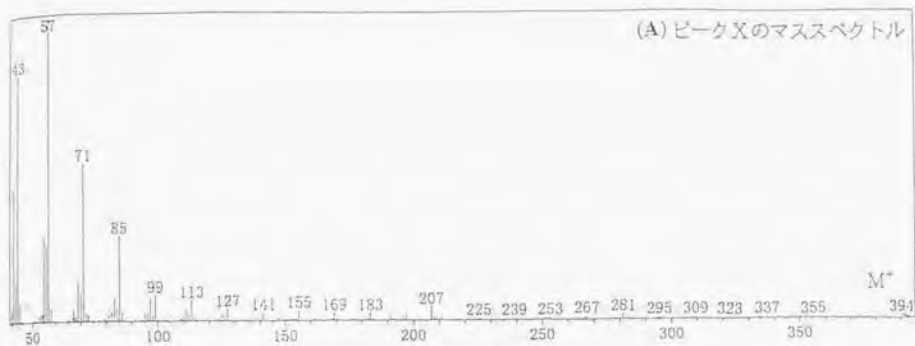


図 2-22 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークX (A) および  $n\text{-C}_{28}\text{H}_{58}$  (B) のEI マススペクトル

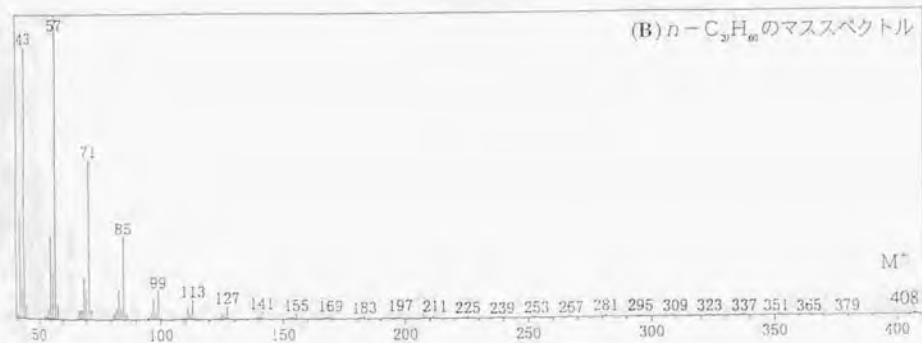
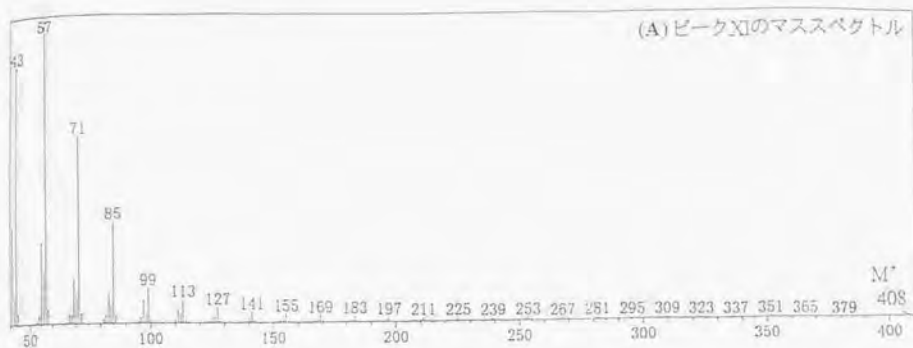


図 2-23 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークXI (A) および  $n-C_{29}H_{60}$  (B) のEI マススペクトル



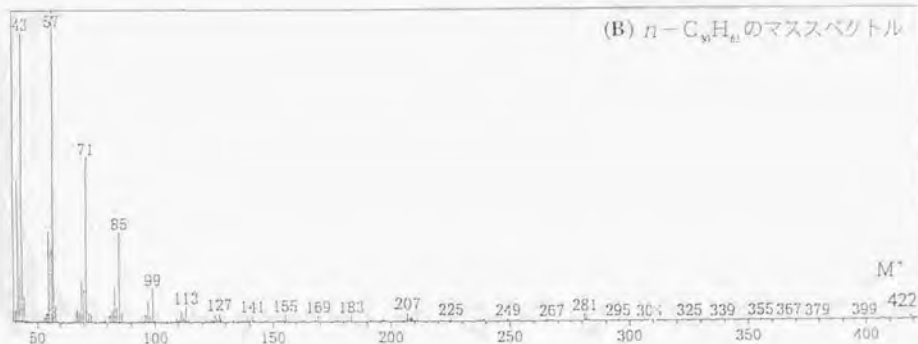
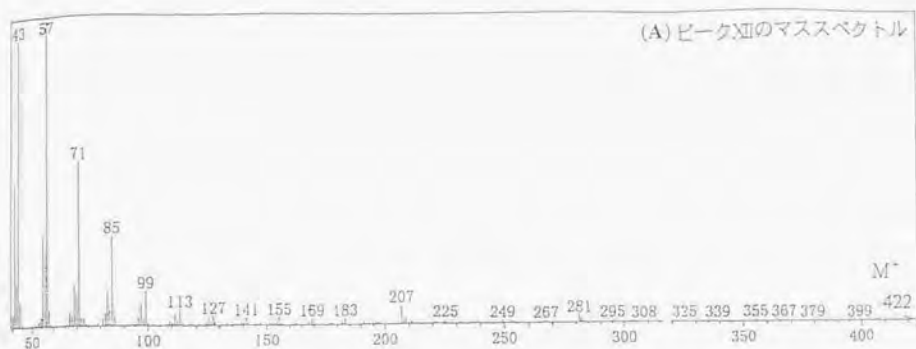


図 2-24 コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピークXII (A) および  $n-C_{30}H_{62}$  (B) の EI マスマスペクトル



図 2-25 コブノメイガ雌性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、ヘキサンフラクションを硝酸銀シリカゲルクロマトグラフィーで精製した飽和炭化水素フラクション中のピーク XIII (A) および  $n-C_{31}H_{64}$  (B) の EI マススペクトル

ン (*n*-C26H54)、ヘプタコサン (*n*-C27H56)、オクタコサン (*n*-C28H58)、ノナコサン (*n*-C29H60)、トリアコンタン (*n*-C30H62)、ヘントリアコンタン (*n*-C31H64) の GC-MS 分析を行い得られたマススペクトル (図 2-13 から 2-25) を飽和炭化水素フラクションについて得られたマススペクトルと順に比較した。これらのマススペクトルのパターンと前記のピーク I-XIII について得られたマススペクトルと対応してみると、それぞれきわめてよく一致した。

#### GC による合成飽和炭化水素とピーク I-XIII のリテンションタイムの比較

ピーク I-XIII と、上記の一連の飽和炭化水素化合物合成品とを極性の異なる 2 種類のキャピラリーカラムによる GC 分析を行ってリテンションタイムの比較を行った (表 2-8)。その結果、ピーク I-XIII は、高極性カラム、無極性カラムいずれにおいても、それぞれ対応する合成飽和炭化水素と一致した。したがって、ピーク I-XIII はそれぞれノナデカン (*n*-C19H40)、エイコサン (*n*-C20H42)、ヘンエイコサン (*n*-C21H44)、ドコサン (*n*-C22H46)、トリコサン (*n*-C23H48)、テトラコサン (*n*-C24H50)、ペンタコサン (*n*-C25H52)、ヘキサコサン (*n*-C26H54)、ヘプタコサン (*n*-C27H56)、オクタコサン (*n*-C28H58)、ノナコサン (*n*-C29H60)、トリアコンタン (*n*-C30H62)、ヘントリアコンタン (*n*-C31H64) であると同定された。これらの化合物の存在比率をガスクロマトグラフ上のピーク面積をもとに内部標準法によって算出し、1 頭の性フェロモン腺あたりの存在量に換算すると、それぞれ 0.054、0.036、0.108、0.207、0.90、0.216、0.531、0.108、0.315、0.054、0.351、0.027、および 0.09 ng であった。

#### ノルマル飽和炭化水素類の室内生物検定

飽和炭化水素フラクションからの炭素数 19 から 31 までのノルマル飽和炭化水素を同定したが、これらを既知の 4 成分にそれぞれ単独に加えても、全成分を定量した結果にもとづいた比率で混合し加えても、活性を高める効果は認められなかった (表 2-9)。

#### 触角電図検出器装着ガスクロマトグラフ (GC-EAD)

コブノメイガ雌雄粗抽出物を精製して得た飽和炭化水素フラクションを GC-EAD 分析したところ、明らかな EAD ピークが 1 個だけ認められた (図 2-26)。しかし、同時に記録した FID チャート上にはこのピークとリテンションタイムが一致するピークは認められなかった。この分析には 50 雌当量を用いたが EAG 活性を持つ物質を FID で検出できなかったため、この物質はきわめて微量しか存在しないことがわかった。しかし同物質はこのフラクション中で

表2-8 ノルマル飽和炭化水素合成品 (C<sub>19</sub> - C<sub>31</sub>) および  
ピーク I-XIII の2種類のカラムにおけるGCリテンションタイムの比較

ピークあるいは化合物	リテンションタイム (分)	
	高極性カラム (DB-Wax)	無極性カラム (DB-1)
ピーク I	17.33	14.37
<i>n</i> -C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	17.32	14.37
ピーク II	18.93	15.52
<i>n</i> -C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	18.92	15.52
ピーク III	20.45	16.95
<i>n</i> -C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	20.44	16.95
ピーク IV	21.91	18.33
<i>n</i> -C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	21.90	18.34
ピーク V	23.31	19.66
<i>n</i> -C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	23.31	19.67
ピーク VI	24.65	20.94
<i>n</i> -C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	24.65	20.95
ピーク VII	26.04	22.19
<i>n</i> -C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	26.04	22.19
ピーク VIII	27.61	23.50
<i>n</i> -C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	27.61	23.50
ピーク IX	29.44	24.92
<i>n</i> -C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	29.44	24.92
ピーク X	31.65	26.54
<i>n</i> -C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	31.65	26.54
ピーク X I	34.38	28.42
<i>n</i> -C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	34.39	28.43
ピーク X II	37.74	30.63
<i>n</i> -C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	37.74	30.63
ピーク X III	42.00	33.28
<i>n</i> -C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>	42.01	33.29

表2-9 同定した飽和炭化水素成分を既知の4成分に加えた効果

供試試料 <sup>2)</sup>	1分間ごとの雄の総接触数 <sup>1)</sup> (平均±標準偏差)				
	0-1分	1-2分	2-3分	3-4分	4-5分
4成分 <sup>3)</sup> + n-C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	8.6±2.8a	7.6±3.0a	6.8±2.6a	5.8±2.9a	5.1±1.8a
4成分 + n-C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> <sup>4)</sup>	10.2±4.4a	8.4±3.0a	6.8±2.4a	6.4±3.0a	5.4±3.2a
4成分 + n-C <sub>11</sub> H <sub>22</sub>	9.4±3.0a	7.2±3.2a	7.6±2.0a	6.6±3.2a	5.8±2.8a
4成分 + n-C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	8.5±2.4a	7.8±2.8a	7.8±2.6a	6.8±2.8a	5.8±2.6a
4成分 + n-C <sub>13</sub> H <sub>26</sub>	8.2±1.6a	6.8±2.8a	6.8±2.0a	4.6±2.2a	4.4±3.4a
4成分 + n-C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	9.2±2.0a	8.4±2.6a	6.2±2.2a	5.6±3.8a	4.8±3.4a
4成分 + n-C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	8.6±1.2a	8.6±1.6a	6.6±3.6a	5.2±1.8a	5.6±3.6a
4成分 + n-C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	9.8±1.4a	9.3±3.6a	8.0±2.0a	7.2±2.4a	6.6±3.6a
4成分 + n-C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	10.0±3.6a	8.4±2.0a	8.6±2.6a	6.6±1.6a	6.8±2.2a
4成分 + n-C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	10.8±5.0a	7.8±3.4a	6.6±3.6a	4.4±3.6a	5.1±3.2a
4成分 + n-C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	9.2±2.8a	8.0±3.8a	7.6±2.2a	5.8±2.8a	5.2±3.6a
4成分 + n-C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	9.4±2.8a	7.5±2.0a	7.2±2.8a	6.6±3.8a	5.4±2.2a
4成分 + n-C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	8.6±2.2a	7.6±3.0a	7.4±5.0a	5.7±1.1a	5.8±3.1a
4成分 + 飽和炭化水素 (C <sub>19</sub> -C <sub>21</sub> ) <sup>4)</sup>	9.4±3.6a	8.0±4.2a	7.8±3.6a	6.0±3.0a	4.8±1.6a
4成分	9.1±1.2a	8.2±3.6a	7.0±2.0a	6.0±1.8a	6.2±1.8a
4成分 + 飽和炭化水素フラクシヨ <sup>5)</sup>	19.2±5.4b	18.6±3.2b	17.6±2.0b	17.6±2.2b	15.0±3.2b

<sup>1)</sup>同一時間中で同じ文字をつけた値は、Tukey-Kramer 法により5%水準で有意差なし。反復数は10回。

<sup>2)</sup>供試試料の処理量はすべて2雌当量。

<sup>3)</sup>4成分は、Z11-18:Alid, Z13-18:Alid, Z11-18:Ofi, Z13-18:Ofiを示す。

<sup>4)</sup>飽和炭化水素 (C<sub>19</sub>-C<sub>21</sub>) は、同定したC<sub>19</sub>-C<sub>21</sub>の合成品を混合したもの。比率は定量化した結果に基づく。

<sup>5)</sup>飽和炭化水素フラクシヨンは、粗抽出物を精製して得たもの。



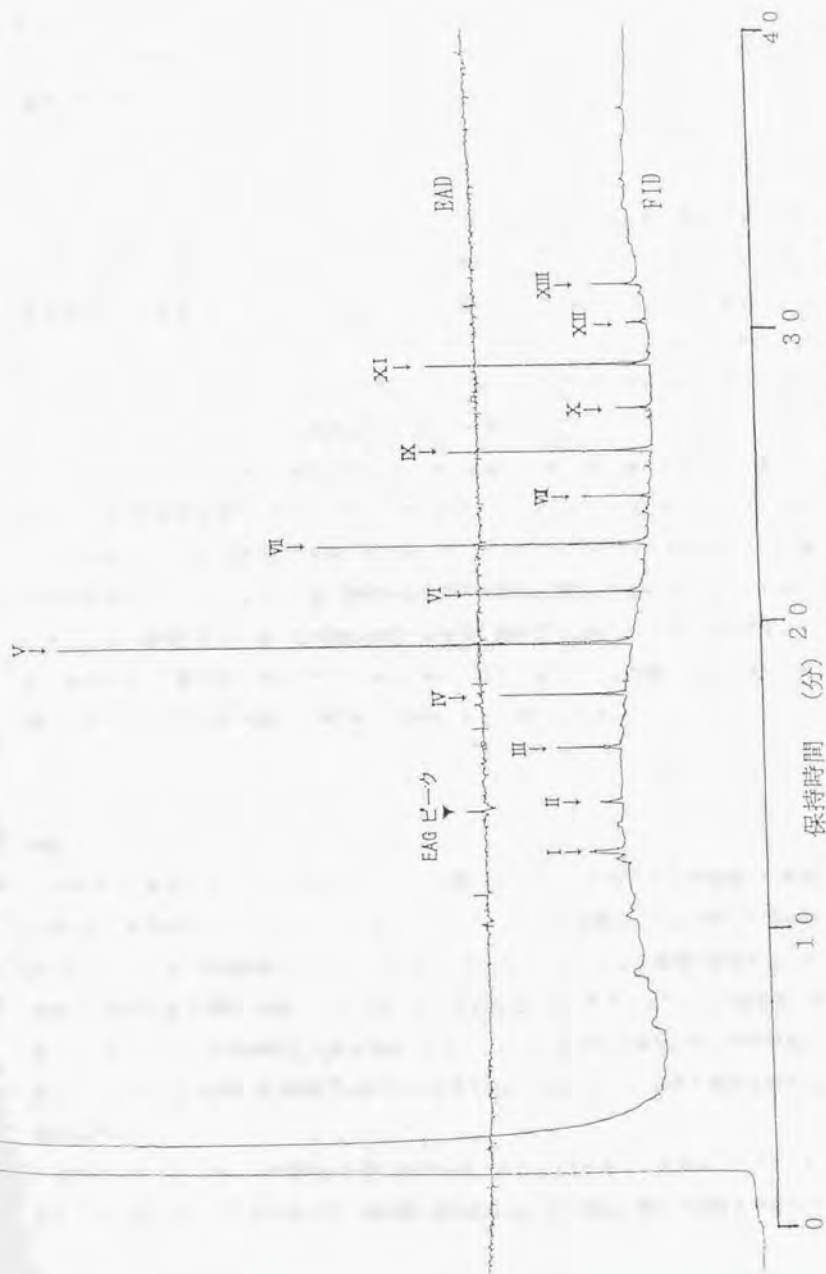


図 2-26 日本産コブノメイガ雌性フェロモン腺抽出物を精製して得た飽和炭化水素フラクションの GC-EAD 分析

EAG 活性を持つ唯一の成分と考えられるため、未知成分の有力な候補物質としてさらに GC-MS で分析を試みたが、構造に関する情報はまったく得られなかった。なお、この成分の保持時間 (15.3 分) にごく接近して *n*-エイコサンの FID ピーク (15.5 分) が認められた。

#### ガスクロマトグラフィー分取 (GC 分取)

GC-EAD 分析で EAG 活性が認められたものの、このピークを与える物質が実際に雄ガに対する誘引活性を上昇させる性質を持つと断定されたわけではない。そこで GC 分取によりその物質を捕集し生物検定によって性フェロモン活性を調べた。カラムから流出する試料を 3 つにわけリテンションタイム 0-14.4 分をフラクション A、リテンションタイム 14.4-15.6 分をフラクション B、リテンションタイム 15.6-40 分をフラクション C としてそれぞれを既知の性フェロモン成分に加えて効果を調べた。結果は、表 2-10 に示す。

ここで用いた生物検定法では前節で用いた方法に比較して誘引源に達するまでの行動にも注目して新たに指標を設定したものである。その結果、フラクション B を 4 成分に加えたときだけに接近以降の行動が明らかに促進されたが、他のフラクションを加えても 4 成分だけの場合と差がなかった。性フェロモン源に接触する直前の段階から作用したことから、この成分はにおいとして機能するが、その作用範囲は性フェロモン源のごく近傍にとどまることが示された。未知成分は、既知の 4 成分に加えた場合に性フェロモン源のごく近距離 (5cm 以内) で作用して性フェロモン活性を高める効果を示す物質であると考えられた。

#### 考察

本節では日本産コブノメイガ雌性フェロモンを構成することが示唆された未知成分の同定を試みた。粗抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製、およびここで得られた活性フラクションの硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製の結果から、未知成分は飽和炭化水素類であることが示された。飽和炭化水素フラクションからの炭素数 19 から 31 までのノルマル飽和炭化水素を同定したが、これらを既知の 4 成分にそれぞれ単独で加えても、全成分を定量した結果にもとづいた比率で混合して加えても、活性を高める効果は認められなかった。

無極性のカラム (DB-1) を使用した GC-EAD 分析によって EAD ピークを検出したが、これに相当する FID ピークは見出されず、GC-MS 分析を試みたが、構造に関する情報を持つマス

表2-10 粗抽出物の飽和炭化水素フラクシヨンのGC分取フラクシヨンを既知4成分に加えた効果  
(本節で新たに設定した生物検定法による)

ヘキサン 4成分 フラクシヨンA <sup>②</sup> フラクシヨンB フラクシヨンC 飽和炭化水素Fr <sup>⑥</sup> + 4成分	雄刃による行動反応					
	飛び立ち率 (%)	定位飛翔率 (%)	接近率 (%)	接触率 (%)	接触回数	接触時間 (秒)
	7	0	0	0	0.0 a	0.0 a
	75	70	28	23	2.67 b	2.12 b
フラクシヨンA <sup>②</sup> + 4成分 <sup>③</sup>	81 ns <sup>④</sup>	77 ns	30 ns	23 ns	2.38 b	2.01 b
フラクシヨンB + 4成分	81 ns	75 ns	64 *	62 *	5.14 c	5.25 c
フラクシヨンC + 4成分	77 ns	72 ns	34 ns	28 ns	2.33 b	2.22 b
飽和炭化水素Fr <sup>⑥</sup> + 4成分	77 ns	70 ns	64 *	60 *	5.20 c	5.33 c

<sup>①</sup> 同じ文字をつけた同一カラム内の値は、TIEKEY-KRAMER法により5%水準で有意差なし。

<sup>②</sup> フラクシヨンA-Cは、粗抽出物を精製して得た飽和炭化水素フラクシヨンをGC分取で捕集したものを示す。  
フラクシヨンA (0-14.4分)、フラクシヨンB (14.4-15.6分)、フラクシヨンC (15.6-40分)に各々分取。

<sup>③</sup> 4成分はZ11-18:Alid, Z13-18:Alid, Z11-18:OH, Z13-18:OHを示す。

<sup>④</sup> nsをつけた値は、MANN-WHITNEYのU検定により、対照との間で5%水準で有意差なし。

<sup>⑤</sup> \*をつけた値は、MANN-WHITNEYのU検定により、対照との間で5%水準で有意差あり。

<sup>⑥</sup> 飽和炭化水素Frは、粗抽出物を精製して得た飽和炭化水素フラクシヨンを示す。

スペクトルは得られなかった。この理由は未知成分がきわめて微量しか存在しなかったためである。GCの検出限界量は約0.05 ngであるので、未知成分は最大で0.05 ng含まれていたと仮定できる。一方でノルマル飽和炭化水素類のGC-MS分析では最低40 ngで構造に関する情報を持つマススペクトルを得ることができた。したがって同定を行うために必要な抽出量を算出すると、今後最低でも40000頭分の抽出物を得ること、およびさらに高感度のGC-MSで分析を可能にする条件の整備が必要である。以上の結果、および無極性カラムを用いたGC-EAD分析におけるEADピークとリテンションタイムがきわめて近いピークが*n*-エイコサンであることから、EAG活性物質はおそらく総炭素数が20で側鎖を有する飽和炭化水素ではないかと推定される。

炭素数19から31までのノルマル飽和炭化水素類は一般に昆虫の体表ワックス成分として知られている。混合物の活性を調べた理由は、アリ類では体表ワックスの炭化水素組成および比率が昆虫の間で同種の認識に使用され、さらに体表炭化水素組成比にコロニー特異性が見いだされるとされる(山岡・秋野, 1999)ことによる。また、*Orgyia leucostigma* (Lepidoptera: Lymantriidae (ドクガ科))では体表ワックス成分のうち炭素数23, 24, 25, 27のノルマル飽和炭化水素が交尾行動の最終段階である雄の腹曲げ行動を引き起こすことが知られているが(Grant et al., 1987)、同定した飽和炭化水素成分が本種の雄ガに同様の行動を誘発することはなかった。現段階では同定したこれらの飽和炭化水素成分が、配偶行動にどのような役割を果たしているのかは不明である。

本種の雌性フェロモン未知成分は単独では活性はないものの、既知の性フェロモン4成分に加えると誘引活性が雌の性フェロモン腺の粗抽出物とほぼ同等になることから、協力効果を持つ成分であると考えられる。したがって未知成分の構造が決定できれば、日本におけるコブノメイガの発生予測ならびに交信攪乱法などの防除に合成性フェロモンを効果的に利用できる可能性がある。



### 第3章 コブノメイガ性フェロモン「地理的変異」：日本各地と中国杭州における雄の反応性

#### 緒言

本研究とは別に、2種のモノエンアセテート成分、Z11-16:AcとZ13-18:Acが、インド産とフィリピン産のコブノメイガの性フェロモンないしは性フェロモン候補物質として報告されたが、インドの個体群は、Z13-18:Acが90%以上の比率を示したのに対し（以下インドブレンド）、フィリピン個体群はZ11-16:Acがおよそ98%含まれている（以下フィリピブレンド）(Ganeswara Rao et al.,1995, Ramachandran et al.,1990)。一方、大阪府で採集され、その後研究室で累代飼育されたコブノメイガからは第2章のように、インド産およびフィリピン産のものとはまったく組成の異なる雌性フェロモン成分が同定された（以下日本ブレンド）。以上のようにコブノメイガには、構造自体の差違を含む顕著な性フェロモンの地理的変異が存在することが示唆された。なお、コブノメイガと近縁種で形態的に酷似しているフィリピン産 *Marasmia patnalis* の性フェロモン様物質として上と同じ2種のモノエンアセテート Z11-16:Ac と Z13-18:Ac が報告されているが、その比率は4:96であり、成分の組成と比率がともにインド産コブノメイガの性フェロモンと酷似している (Ramachandran et al.,1990)。コブノメイガと *Marasmia patnalis* は、外部形態による識別が困難であり、同所的に生息している (Khan et al.,1988)。近縁種間で外部形態だけでなく、性フェロモン成分も酷似している可能性が示された。

日本本土に出現するコブノメイガはその年の梅雨期を中心に中国南東部から低気圧にともなう下層ジェット気流に乗って飛来してくるもの、および日本で繁殖したその子孫であると考えられている。将来的に日本で性フェロモンを発生予察として使用する際には、フィリピンブレンドかインドブレンドに反応するコブノメイガ個体群が飛来してくる可能性も考慮する必要がある。このため1997年と1999年の2回、国および県の試験場、大学などの協力を得て、日本の山形、千葉、石川、岐阜、島根、岡山、高知、福岡、長崎、熊本、鹿児島で日本、インド、フィリピブレンドの3種の合成性フェロモン成分を用いて、野外試験を実施し上に述べた可能性を調査した。

さらに日本におけるコブノメイガの越冬可能な地域は南西諸島以南とされることから、この地域では過去にもし飛来源の異なる、例えば中国大陸以外の地理的に近い場所である台湾、フィリピン方面からの個体群が侵入した場合にもその個体群が保存されている可能



性もありうる。したがって異なる性フェロモン反応性を持つ個体が生息している可能性も考えられたので、1998年と1999年の2回、国および県の試験場の協力を得て、奄美大島と石垣島で日本、インド、フィリピンブレンドの3種の合成性フェロモン成分を用いて、野外試験を実施しその可能性を調査した。

そのほかに日本への本種のおもな飛来源とされる中国南東部に位置する杭州において、1998年と1999年、中国水稲研究所の協力によって同様の試験を実施した。

## 材料と方法

### 合成化合物

合成品のモノエンアルデヒド、モノエンアルコール、モノエンアセテートは信越化学工業株式会社から提供された。精製の方法は、第2章の方法と同様である。

### 室内生物検定法

室内生物検定法は、第2章第1節の方法に従った。供試試料の処理量は2雌当量である。各ブレンドの組成・比率は、日本ブレンドがZ11-18:Ald 0.11 ng, Z13-18:Ald 1 ng, Z11-18:OH 0.24 ng, Z13-18:OH 0.36 ng、フィリピンブレンドがZ11-16:Ac 1 ng, Z13-18:Ac 0.02 ng、インドブレンドZ11-16:Ac 0.1 ng, Z13-18:Ac 1 ngであった。

### 野外試験

とくに断らない限り、野外試験は、第2章第1節に記した方法に従った。なお通常使用したトラップはサンケイ化学(株)製SEトラップであるが、1999年の奄美および鹿児島ではコーントラップを使用した。コーントラップの形状は、川崎・杉江(1990)の方法に準じた。各ブレンドの組成・比率は、日本ブレンドがZ11-18:Ald 55  $\mu$ g, Z13-18:Ald 500  $\mu$ g, Z11-18:OH 120  $\mu$ g, Z13-18:OH 180  $\mu$ g、フィリピンブレンドがZ11-16:Ac 500  $\mu$ g, Z13-18:Ac 10  $\mu$ g、インドブレンドZ11-16:Ac 50  $\mu$ g, Z13-18:Ac 500  $\mu$ gであった。

### 試験実施場所と実施期間

- 山形県（山形市・鶴岡市）：1997.7.2-1997.9.28；1999.6.25-1997.9.28  
 千葉県（館山市）：1999.7.7-1999.9.29  
 石川県（金沢市・野々市町・高松町）：1997.7.15-1997.9.30；1999.6.22-1999.10.28  
 岐阜県（岐阜市）：1997.8.21-1997.10.16；1999.7.1-1999.10.16  
 島根県（出雲市）：1997.7.1-1997.9.30  
 岡山県（山陽町）：1997.7.7-1997.9.16；1999.6.16-1999.10.15  
 高知県（南国市）：1997.7.1-1997.9.30  
 福岡県（筑紫野市）：1999.6.23-1999.10.12  
 長崎県（諫早市）：1997.7.11-1997.10.1  
 熊本県（西合志町）：1997.7.25-1997.10.24  
 鹿児島県（鹿児島市）：1997.7.10-1997.8.14；1999.5.14-1999.9.31  
 奄美大島（名瀬市）：1998.4.21-1998.9.4；1999.4.9-1999.10.4  
 石垣島（石垣市）：1998.9.2-1998.12.21；1999.4.9-1999.11.30  
 中国（杭州市）：1998.8.21-1998.9.24；1999.6.21-1999.9.21

### 結果

#### 室内生物検定

表 3-1 に示すように室内生物検定の結果、日本産コブノメイガの雄は日本ブレンドに誘引されたが、インドブレンドとフィリピンブレンドに対して反応を示さず、コントロールとの間に有意差は認められなかった。室内生物検定では、3種のブレンドのうちで日本ブレンドだけに誘引性が示された。

#### 野外誘引試験

岡山（1997,1999）、千葉（1999）、石川（1999）をのぞく日本本土のすべての試験箇所では日本ブレンドだけが、コントロールと比較して有意な捕獲数を示した（図 3-1 と 3-2）。上述の3カ所では日本ブレンドだけでなく3種の性フェロモンともコントロールとの間で捕獲数に有意差がなかった。しかし石川（1999）および岡山（1999）については、有意差はなくても日本ブレンドに多く捕獲されていた。それ以外の地域では、日本産性フェロモ

表3-1 日本産・インド産・フィリピン産・フェロモンブレンドの  
日本産コブノメイガ雄に対する室内での誘引性の比較

供試試料 <sup>2)</sup>	1分間ごとの雄の総接触数 <sup>1)</sup> (平均±標準偏差)				
	0-1分	1-2分	2-3分	3-4分	4-5分
日本ブレンド	10.0±2.0 a	8.8±2.8 a	7.7±2.6 a	8.2±1.4 a	8.6±2.8 a
フィリピンブレンド	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b
インドブレンド	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b
コントロール	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b	0.0±0.0 b

<sup>1)</sup>同一時間中で同じ文字をつけた値は、Tukey-Kramer 法により  
5%水準で有意差なし。反復数は10回。

<sup>2)</sup>供試試料の処理量は2雌当量。

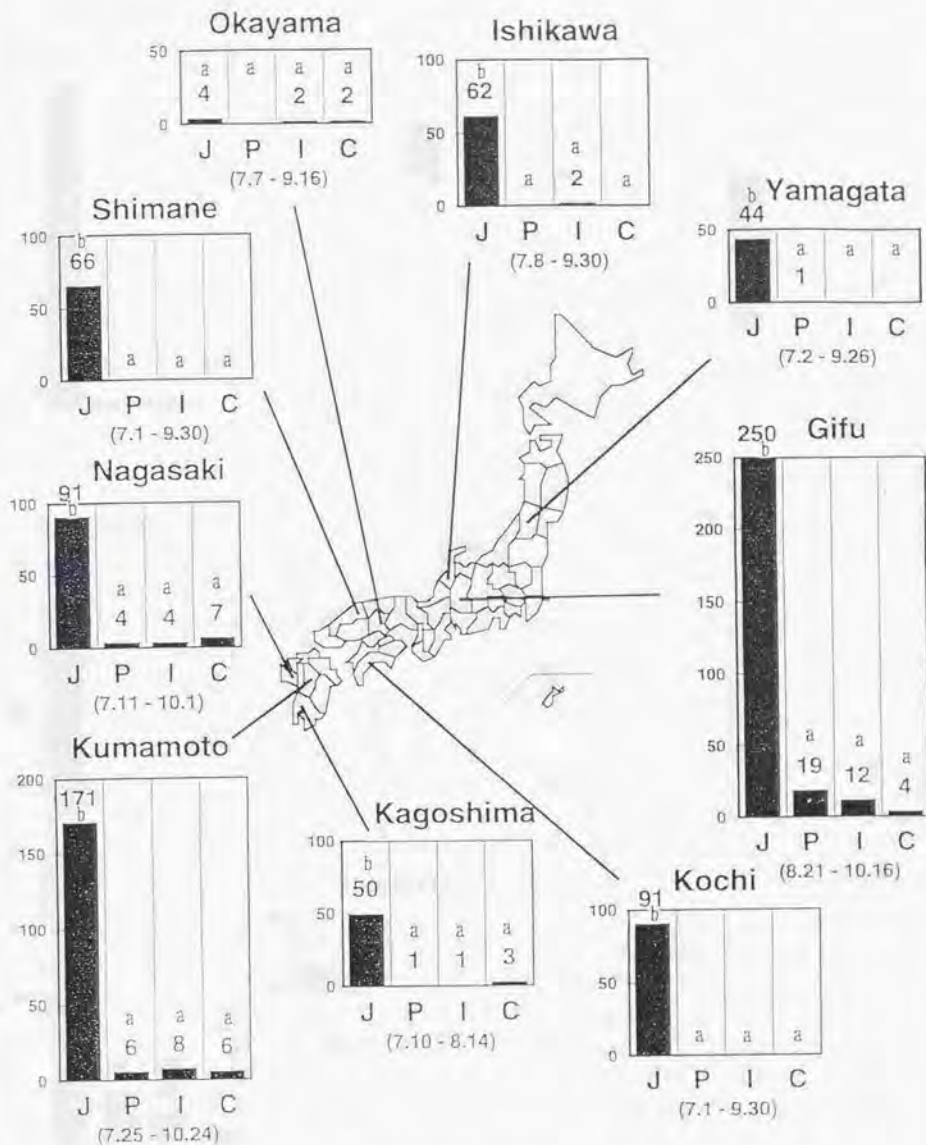


図3-1 1997年の本州、九州、四国各地における日本、フィリピン、インドブレンドに対するコブメイガの捕獲数の比較。  
 Jは日本ブレンド、Pはフィリピンブレンド、Iはインドブレンド、Cはコントロールを示す。  
 同グラフ内で同じ文字をつけた値は、Tukey法により5%水準で有意差なし。縦軸は捕獲数を示す。



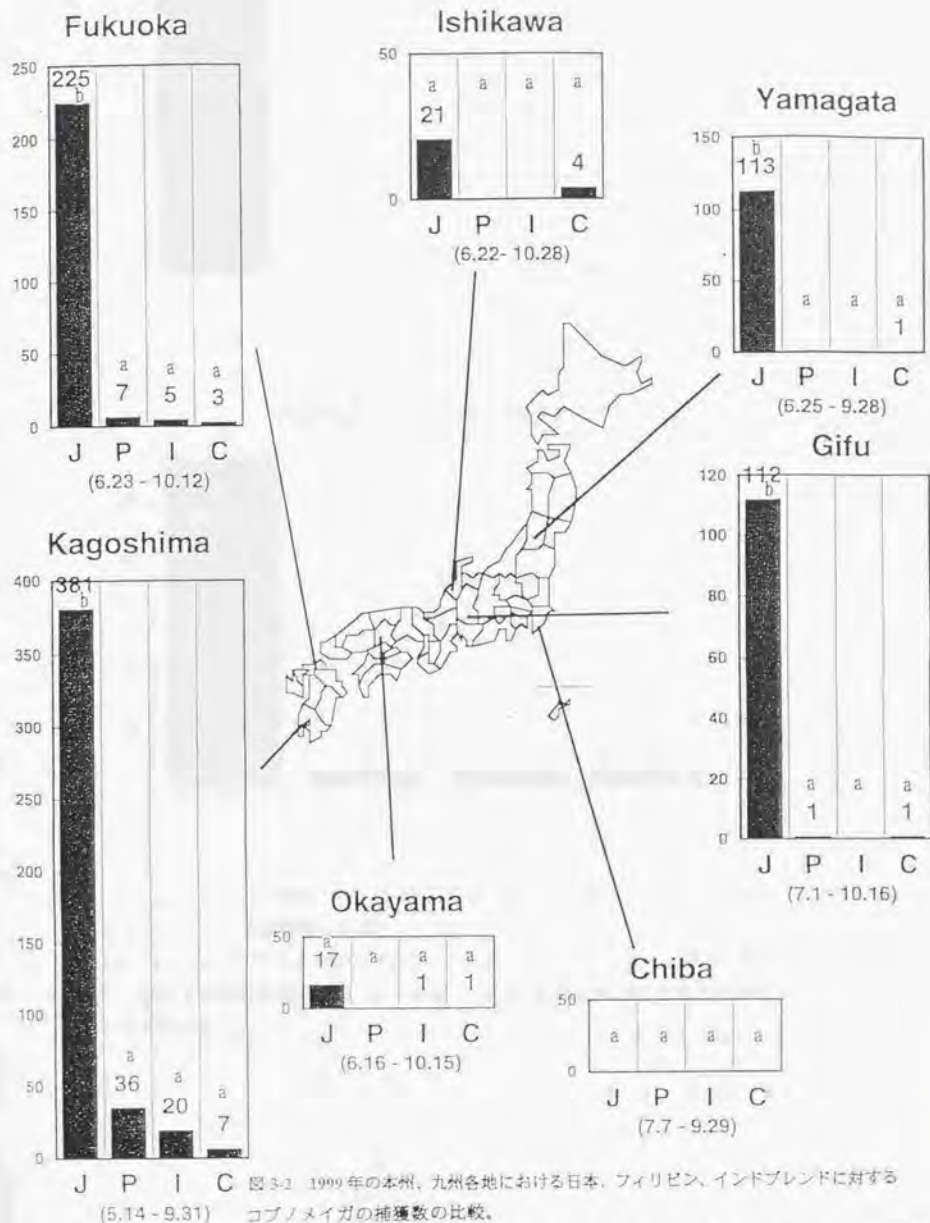
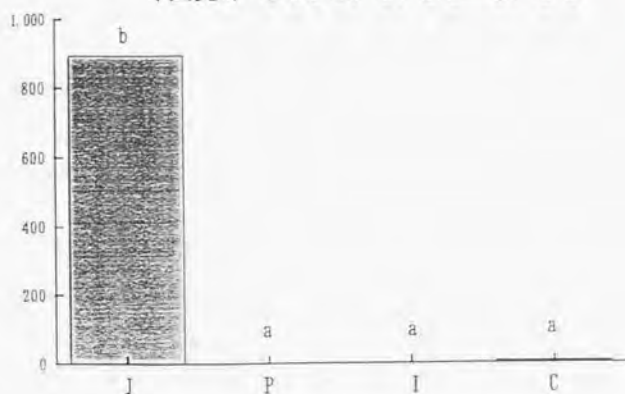


図 3-2 1999 年の本州、九州各地における日本、フィリピン、インドブレンドに対するコブノメイガの捕獲数の比較。

J は日本ブレンド、P はフィリピンブレンド、I はインドブレンド、C はコントロールを示す同グラフ内で同じ文字をつけた値は、Tukey 法により 5% 水準で有意差なし。  
縦軸は捕獲数を示す。





中国杭州 1999. 4. 9-9. 21

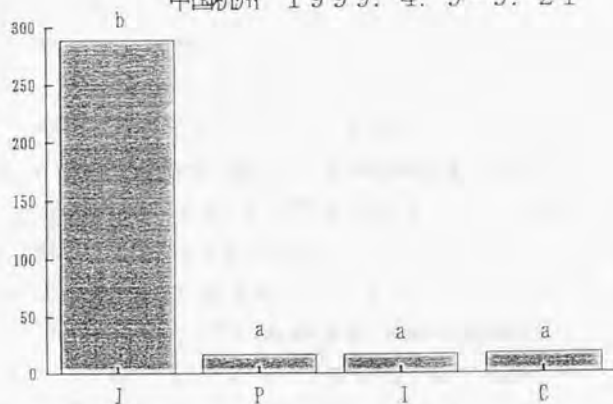


図 3-3 1998、1999 年の中国（杭州市）における日本、フィリピン、インドブレンドに対するコブノメイガの捕獲数の比較。

J は日本ブレンド、P はフィリピンブレンド、I はインドブレンド、C はコントロールを示す。同グラフ内で同じ文字をつけた値は、Tukey 法により 5%水準で有意差なし。縦軸は捕獲数を示す。

ンに捕獲されたコブノメイガの数は、インドブレンドやフィリピンブレンドに捕獲されたガの数に比べて約10倍以上多かった。一方でインドブレンドとフィリピンブレンドはコントロールと比較して捕獲数に有意差は認められなかった。

#### 考察

岡山(1997,1999)、千葉(1999)、石川(1999)の3カ所で各トラップ間の捕獲数に有意差がなかった理由としては、もともとコブノメイガ個体群密度が低かったことが考えられる。それ以外の地域では、日本ブレンドだけに誘引性が示された。これらの結果から日本(南西諸島を除く九州以北)には、フィリピンブレンド、インドブレンドに反応する雄は飛来しないと考えられ、日本に飛来するコブノメイガは日本ブレンドに誘引される個体群が主体であると考えられる。

日本本土のほとんどの試験実施場所で、日本ブレンドにだけコブノメイガの雄が捕獲されたことで、今のところ性フェロモンを利用したモニタリングシステムを実施するには日本ブレンドだけを使用しても問題ないように思われる。

同種内の性フェロモンに地理的変異が存在する例は他の多くの鱗翅目でも明らかになっているが、その多くは成分比率における差異であり(Bailey et al.,1986; Cork et al.,1992; Tóth et al.,1992)、成分の組成が異なる例は、アワヨトウ *Mythimna separata* (高橋ら,1979)と(Pingchou et al.,1987)などで例が知られているが稀である。コブノメイガは熱帯から温帯に広く分布しているが、性フェロモン組成や比率の異なった個体群に分化している可能性が示唆される。第2章でも記したように、これらの個体群が同一種であるのか別種であるのかを明らかにするためには、様々な手法を用いて研究を進める必要があろう。

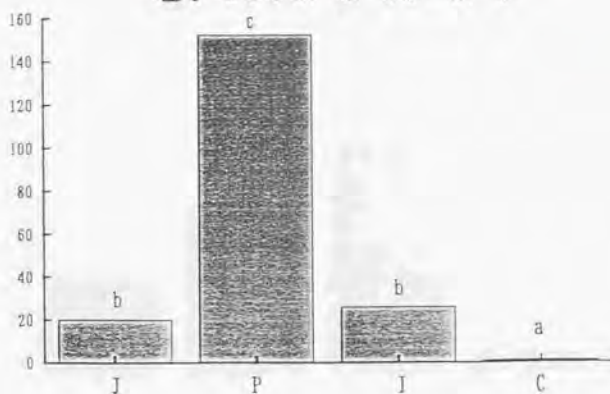
中国杭州市での野外試験でも、1998年、1999年ともに日本ブレンドだけに明らかな誘引性が認められた(図3-3)。これらの試験結果は、日本産コブノメイガの飛来源は中国南東部であるというこれまでの考えを支持するものである。しかし野外試験の実施場所である杭州は、あくまで飛来源と推測される中国南東部の一地域に過ぎないこと、さらに中国南東部もコブノメイガの越冬は認められず、中国南東部に生息するコブノメイガは毎年4月から6月にベトナム北部から飛来する個体群およびその子孫であると推測されることから(Riley et al.,1995)、結論を出すには同様の野外試験を中国国内およびベトナム北部を含めた広範囲な地域で実施することが必要であろう。

フィリピン、インドブレンドに対するハネナガコブノメイガの反応性

奄美大島と石垣島での野外試験では、日本産ブレンドに捕獲された以外に、フィリピンブレンド、インドブレンドにも捕獲が認められ(図 3-4 と 3-5)、とくに奄美大島では1998、1999年ともに日本ブレンドよりも多くの雄が捕獲された。しかしフィリピンブレンド、インドブレンドに捕獲されたガの同定を京都府立大学農学部・吉安裕助教授に依頼したところ、日本産ブレンドに捕獲されたガはコブノメイガであったが、フィリピンブレンドとインドブレンドに捕獲されたガは、コブノメイガと形態的に酷似した近縁種ハネナガコブノメイガ *Cnaphalocrocis pilosa* と同定された(図 3-6)。同種は日本では関東以西に広く分布し、海外では台湾・東南アジア諸国・インドに分布、幼虫はススキを寄主とし、茎の内部に潜入するとされる。日本本土にも分布するとされているのに野外試験でハネナガコブノメイガが捕獲されなかった理由は明らかではないが、第一に本土における野外試験がいずれも農業試験場の圃場内で行われたために、付近に生息していなかったこと、第二にハネナガコブノメイガの個体群間で形態的には差異が認められないが、性フェロモン成分に地理的変異が存在しそれぞれの地域に分布していること、第三に形態的に酷似した別種がそれぞれの地域に存在していること、等の可能性が考えられる。これらの点を確認するには、本研究の本筋からはやや離れるが、ススキの多い山野での野外試験を適切な季節に行うこと、それぞれの地域で寄主植物のススキから虫を採集し正確な種の同定をした上で性フェロモン成分を分析することが必要であろう。

外部形態による区別が困難である *Cnaphalocrocis* 属(従来 *Marasmia* とされていた種も含む)は、同所的に複数の種が生息する場合がある。現在世界の *Cnaphalocrocis* 属の種は10種で、日本には *C. medialis*、*C. exigua* (Butler)イネノハカジノメイガ(イネタテハマキ)、*C. steregona* (Meyrick)ハカジモドキノメイガ、*C. pilosa* (Warren)ハネナガコブノメイガ、*C. poealis* (Boisduval)チビコブノメイガ、*C. suspicalis* (Walker)コブナシノメイガ、以上の6種が生息している。しかし6種のうちコブノメイガを除いて、性フェロモン成分についての報告はなされていない。

南西諸島での野外試験において、フィリピン、インドブレンドに捕獲されたガは、コブノメイガと形態的に酷似した近縁種ハネナガコブノメイガ *Cnaphalocrocis pilosa* であった。インド産コブノメイガとフィリピン産 *Marasmia patnalis* のように、同所的ではないが、近縁種間で外部形態だけでなく、性フェロモン成分も共通している例もある(Ramachandran et al., 1990)。本研究でフィリピン、インドブレンドに反応性を示したハネナ



奄美 1999. 4. 9-10. 4

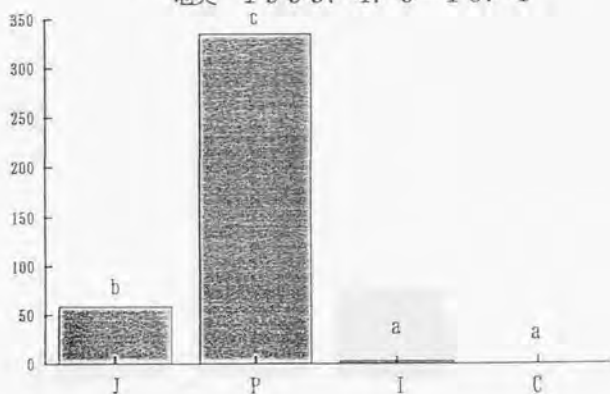
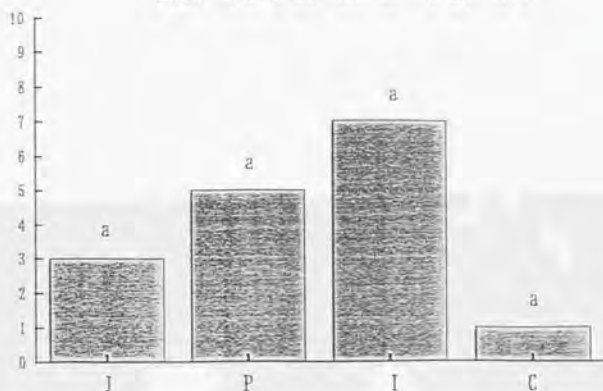


図 3.4 1998, 1999 年の奄美大島における日本、フィリピン、インドブレンドに対するコブノメイガの捕獲数の比較。

J は日本ブレンド、P はフィリピンブレンド、I はインドブレンド、C はコントロールを示す。同グラフ内で同じ文字をつけた値は、Tukey 法により 5%水準で有意差なし。縦軸は捕獲数を示す。





石垣 1999. 4. 9-11. 30

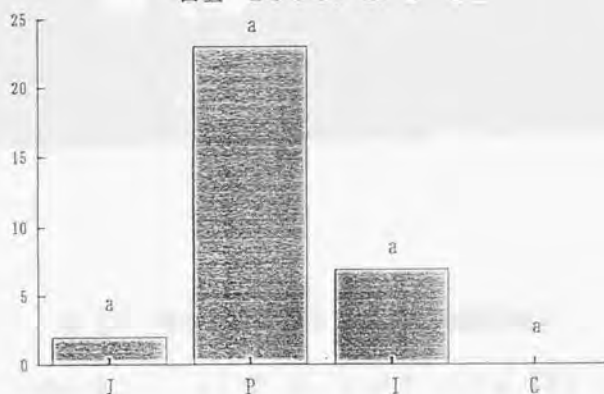


図 3-5 1998、1999 年の石垣島における日本、フィリピン、インドブレンドに対するコブノメイガの捕獲数の比較。

J は日本ブレンド、P はフィリピンブレンド、I はインドブレンド、C はコントロールを示す。同グラフ内で同じ文字をつけた値は、Tukey 法により 5%水準で有意差なし。縦軸は捕獲数を示す。





図 3-6 性フェロモントラップに捕獲された  
ハネナガコブノメイガ (左) とコブノメイガ (右)

ガコブノメイガは、フィリピン産、インド産コブノメイガと近縁種間で外部形態が酷似しているだけでなく、同じ化合物を性フェロモンの共通の構成成分としている可能性がある。性フェロモンの特徴である種特异性は、おもに成分の組成と比率で発揮されるが、インド産コブノメイガとフィリピン産 *Marasmia patialis* の間、あるいは、フィリピン産、インド産コブノメイガとハネナガコブノメイガの間で実際に性フェロモンによる生殖隔離機構が働いているのかどうか、あるいは同一の性フェロモンシステムを持ちながら地理的、時間的に隔離されているのかどうか興味深いところである。

#### 第4章 配偶行動に影響する環境要因

##### 第1節 コブノメイガの配偶行動、および性フェロモン生産の時間的変化

ガ類の多くの種では、雌が性フェロモンを放出して雄を誘引し交尾を行う生殖戦略をとっている。多くのガ類では雌の性フェロモンは、腹部末端にあるフェロモン腺で合成される。コブノメイガでは性的活性が高まるとフェロモン腺を露出し、腹部を上方にそらせる等のコーリング行動をとって性フェロモンを放出する。コーリング行動は、多くのガでは1日のうち一定の時間帯に集中して行われる。

ガ類ではフェロモン放出とコーリング行動が一致することが多く、したがって効率的なフェロモン抽出を行うために、コーリング行動の時間的な変化を調べるのが重要な手順となっている。

コブノメイガの交尾行動については Hou and Chen (1987) の報告があり、交尾時刻の季節的推移について調べたものに、宮原 (1981) の報告がある。しかしコーリングの日齢あるいは時間による変化について報告された例はない。

本章では、日本で採集したコブノメイガの配偶行動に及ぼす環境要因の影響のうち、種々の照明条件で飼育したガのコーリング行動および交尾行動の時間的側面を調査した。

また一般にガでは、雌の性フェロモン生産ならびに雄の雌性フェロモンに対する反応性には成虫の日齢と1日の時刻により大きく変化することが知られている (Bollinger et al., 1976; Castrovillos and Cardé, 1979; Linn et al., 1988)。コーリング行動の時間的変化からおおよそのフェロモン生産の時間帯を推測することができるが、実際にコブノメイガのフェロモン生産はコーリング行動と同調しているのだろうか。またフェロモン生産はどのような時間的変化をしているのだろうか。これらの点を明らかにするために、フェロモン腺中のフェロモン成分含量の時間的変動を調べた。ガ類の性フェロモンは通常複数の成分から構成されており、その構成比が雄の反応に重要な役割を果たしている場合が多いので、性フェロモン成分の構成比についても時間的変動を調べた。

また雄成虫の性フェロモンに対する反応性に及ぼす消灯後時間および羽化後日齢の影響を同定された性フェロモンの4成分を用いて調査した。

#### 実験方法

### 供試虫

当研究室で累代飼育したコブノメイガを用いた。飼育条件は第2章第1節の記述に準じた。供試虫は孵化直後から全暗、全明、15L-9D（以後長日条件）、12L-12D（以後短日条件）の4種の照明条件下で飼育を行った。日齢の定義は羽化当日を0日齢とした。

### コーリング行動の観察

0日齢の処女雌を1頭ずつプラスチックカップ（直径11 cm × 高さ10 cm）に入れた。カップ内には、餌として5%砂糖水を含ませた脱脂綿を置いた。

観察は長日条件下および短日条件下では、1日齢から7日齢までの各日齢について暗期開始後1時間ごとに暗期終了時まで赤色灯を点灯して行った。全明条件下および全暗条件下では、1日齢から5日齢までの各日齢について1時間ごとに24時間観察を行った。

各条件とも計30頭につきコーリング行動（静止して普段は腹節内部に折り畳まれている腹部末端節を、斜め上後方に突き出して露出したまま固定する）の有無を観察・記録した。

### 交尾行動の観察

長日条件下および短日条件下では、0-7日齢の未交尾の雌雄各々30頭をプラスチックスクリーンケージ（30×30×30 cm）に保持し、餌として5%のショ糖溶液を与えた。交尾行動は暗期中連続して観察し、交尾行動を示した時刻を記録した。交尾したペアは、ケージから取り出してプラスチックカップ（直径11 cm × 高さ10 cm）に移した。

全明条件下および全暗条件下では、1-5日齢の未交尾の雌雄各々20頭を用い、24時間連続して観察し1時間ごとの交尾数を記録した。交尾したペアは、同様に、ケージから取り出してプラスチックカップに移した。

### フェロモン抽出の時間

フェロモンの抽出および定量は第2章で示した方法に従い、すべて長日条件下で行った。フェロモン腺抽出の時間帯は、日齢の影響を調べる場合1日齢から7日齢までのガを用いて、暗期開始6時間後とした。消灯後時間のフェロモン量の変動を調べる場合には、4日齢のガを用いて、暗期開始の0、2、4、6、8時間後にフェロモン腺抽出を行った。



### 雌の室内生物検定の時間

室内生物検定は第2章第1節で示した方法に従い、すべて長日条件下で行った。室内生物検定の時間帯に関しては、日齢の依存性を調べる場合には1日齢から7日齢までのガを用いて暗期開始6時間後に室内生物検定を行った。消灯後時間の変化を調べる場合には、4日齢のガを用いて暗期開始の0、2、4、6、8時間後およびつぎの点灯直後に室内生物検定を行った。

### 結果

#### コーリング行動の観察

観察の結果、長日条件では(図4.1)、1、2日齢ともに、全暗期中を通してコーリング行動は殆ど見られず、最大で1時間あたり1頭であった。3日齢になると、かなりの雌がコーリング行動を示した。すなわち、暗期開始後3時間からコーリング行動が観察され(6.7%)以後単純にその数は増加し6時間後に最大値(26.7%)に達し、しだいに時間とともに単純に減少し暗期終了時においては13.3%であった。4、6日齢においては、増減の傾向は3日齢の場合とほぼ同様であった。しかし、4日齢になると、暗期開始後6時間までの増加の割合はかなり大きくなり、6時間後においてはコーリング行動を示した比率は最大値83.3%に達した。5日齢になると、コーリング行動を示した雌の比率は同様に暗期開始後6時間で最大になったが、その値は56.7%へと減少した。6日齢になると5時間後と6時間後に最大値60%を示し、平均コーリング時間(各測定した時間におけるコーリング行動を示す雌の数)×(暗期開始からの測定した時間)の時間に関する和を、暗期中コーリング行動を示したのべ頭数で割った数は、3日齢の場合と比較して、減少する傾向が認められた。7日齢になるとコーリング行動を示す雌は暗期開始1時間後から観察された。この場合も最大値(66.7%)は暗期開始後6時間において観察されたが、平均コーリング時間は3-5日齢の場合と比較して、早くなる傾向が認められた。

短日条件では、1日齢では全暗期中コーリング行動を示す雌は観察されなかった。2日齢の場合はコーリング行動を示した雌はごく少数であった(図4.2)。3日齢になると、暗期開始5時間後からコーリング行動が観察されるようになり(3.5%)以後時間とともに増大し8時間後に最大値26.7%を示した。以後時間とともに減少し、暗期終了時においては6.7%



となった。4-7日齢においてはコーリング数の時間変化はほぼ同一の傾向を示した。4、5日齢においては暗期開始5時間後にコーリングを示す雌が観察されはじめ以後その数は増加し、8時間後に最大値を示し（4日齢では76.7%、5日齢では63.3%）、以後時間とともに減少した。6、7日齢の場合には、コーリング行動雌は暗期開始4時間後に観察され、7時間後に最大値が観察された。しかし、最大値は4日齢の76.7%をピークに、日齢とともに減少し、7日齢では60%となった。暗期中にコーリング行動を示すのべ頭数も4日齢において82頭と最大になる。各日齢における平均コーリング時間を図中に示すが、その値は日齢とともに減少し、コーリングを示す時刻が日齢とともに早まる傾向が観察された。3日齢と7日齢の平均コーリング時間の間には、Tukey-Kramer法による検定で有意な差が見られた。数頭の処女雌は、点灯直後の明期もコーリングをし続けた。

全明条件では、コーリングを行う個体は5日齢以降少数見られるものの、その時間的変化は不規則であり（図4-5）、コーリング行動を示した個体は全体の約10%であった。全暗条件でも、コーリングをする個体は4日齢以降に見られたが、全明条件と同じ様に不規則となる傾向が認められた（図4-5）。コーリングをした個体は、全体の約30%であった。

#### 交尾行動の観察

交尾行動は全暗期中連続して観察した。この結果を1時間ごとの交尾数にまとめ、その時間変化を図4-3、4-4に示す。

光周期が長日条件の場合、1日齢においては、交尾行動は観察されなかった。2日齢ではわずかに暗期開始後7時間の区間（実際には7時間後から8時間までの間）で10%のガの交尾が観察されたのみであった（図4-3）。3日齢になるとかなりのガの交尾が観察された。すなわち、3時間後に3.3%の交尾が観察され、以後減少せずに、7時間後には最大値の26.7%に達し、暗期終了時の9時間後では0%となった。4-6日齢においては、交尾数は時間とともに同様な傾向で推移した。すなわち、3時間後に交尾が初めて観察され、6時間後に最大になり以後減少し8時間後には0%となった。7日齢においては暗期開始後2時間で交尾が観察され、6時間後に最大になり8時間後には0となった。7日齢においては暗期開始4、5時間後の交尾数が、3-5日齢の場合と比べ増加していた。同様の傾向が6日齢においても観察された。図中に示されている数字は平均交尾開始時間である。平均交尾開始時間は、日齢とともに早くなる傾向にあり、Tukey-Kramer法により検定を行うと、2、3日齢の平均交尾開始時間と6、7日齢の平均交尾開始時間の間には5%の水準で有意差が存在し、日齢と

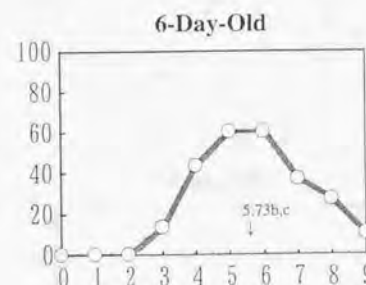
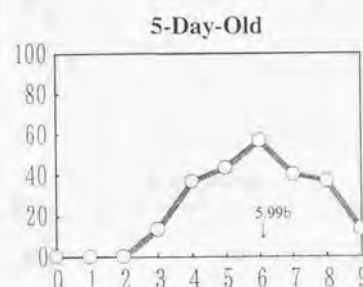
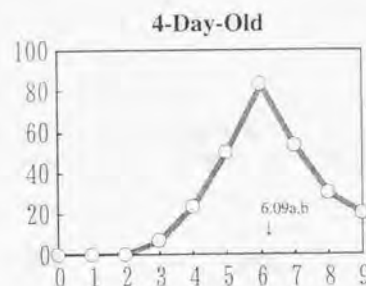
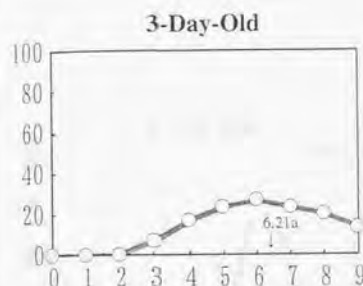
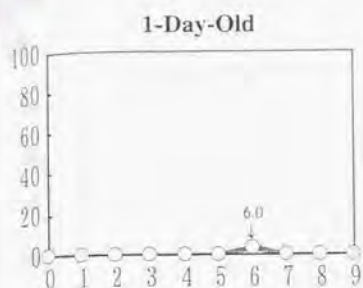


図4-1 長日条件下でのコブノメイガ各日齢のコーリング率の推移

矢印の上の数字はコーリングの平均開始時間を示す。同じ文字をつけた値はTukey-Kramer法により5%水準で有意差なし。縦軸はコーリング率、横軸は暗期開始後の時間を示す。

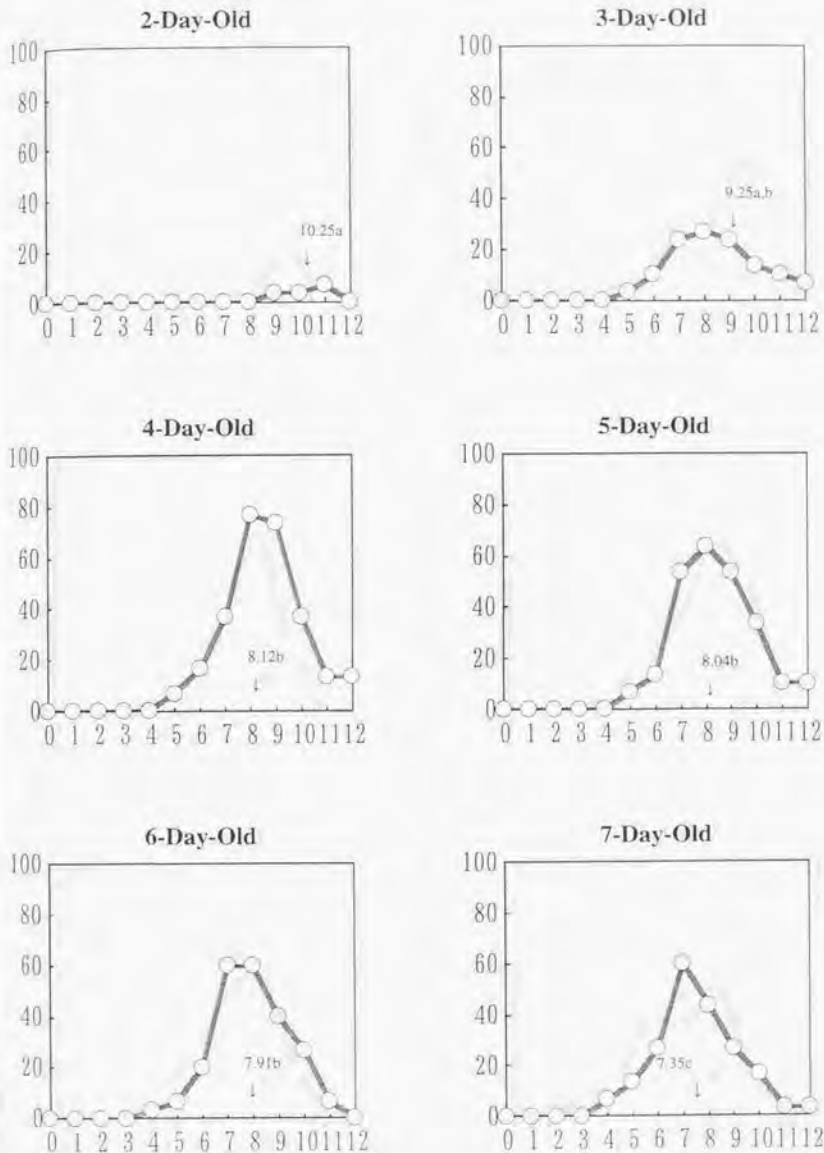


図4-2 短日条件下でのコブノメイガのコーリング率の推移

矢印上の数字はコーリングの平均開始時間を示す。同じ文字をつけた値はTukey-Kramer法により5%水準で有意差なし。縦軸はコーリング率、横軸は暗期開始後の時間を示す。

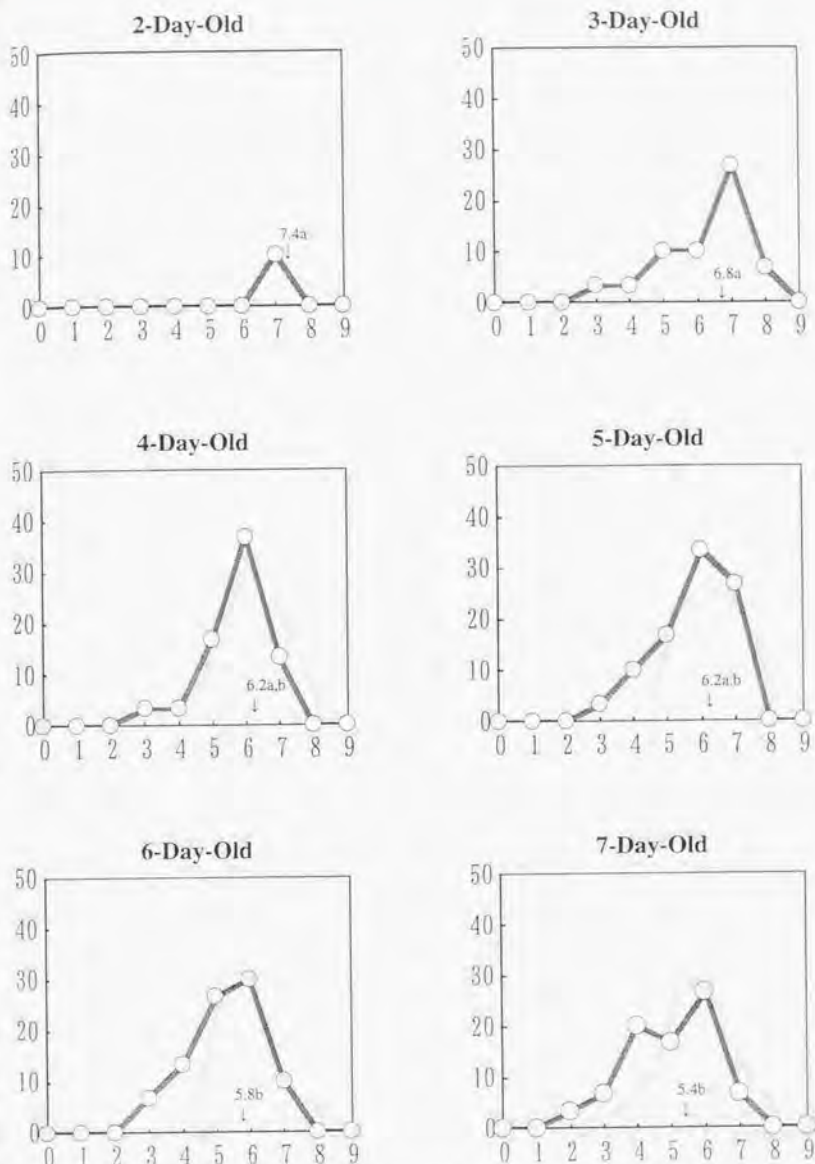


図4-3 長日条件下でのコブノメイガ各日齢の交尾率の推移

矢印上の数字は交尾の平均開始時間を示す。同じ文字をつけた値はTukey-Kramer法により5%水準で有意差なし。縦軸は交尾率、横軸は暗期開始後の時間を示す。



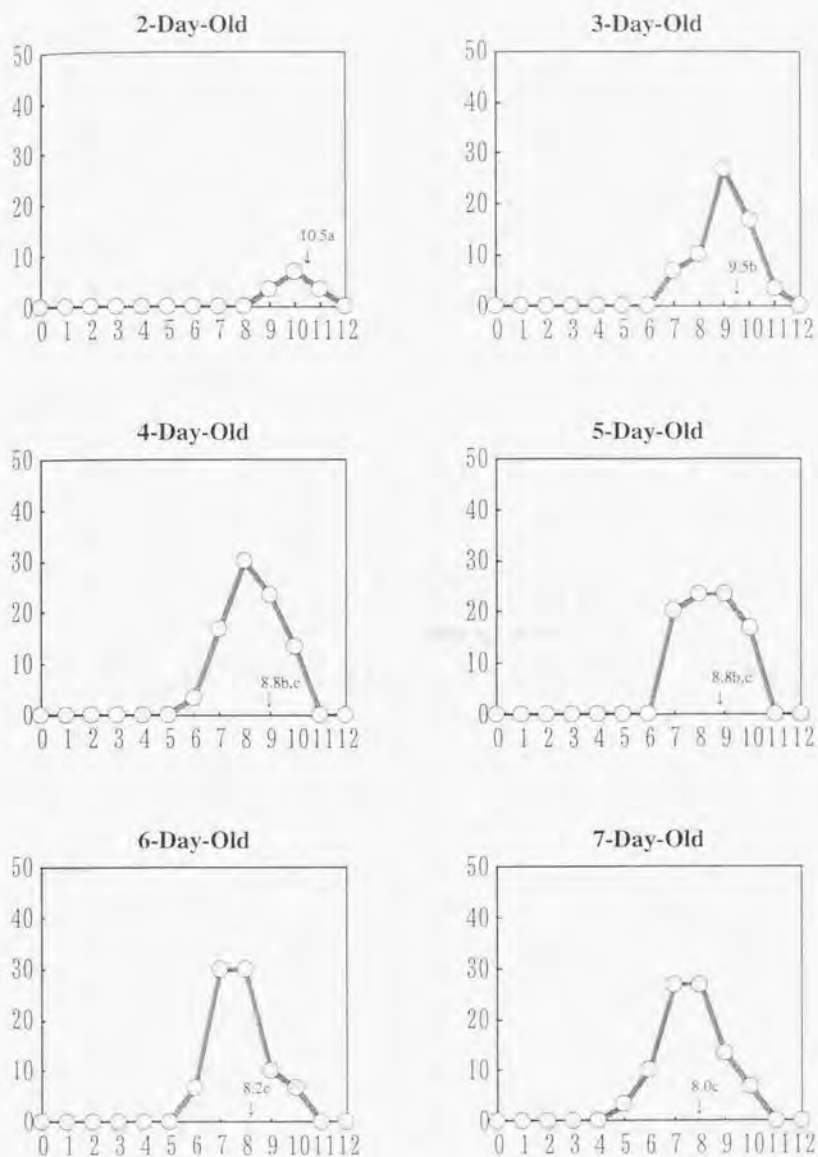


図4-4 短日条件下でのコブノメイガの交尾率の推移

矢印上の数字は交尾の平均開始時間を示す。同じ文字をつけた値はTukey-Kramer法により5%水準で有意差なし。縦軸は交尾率、横軸は暗期開始後の時間を示す。



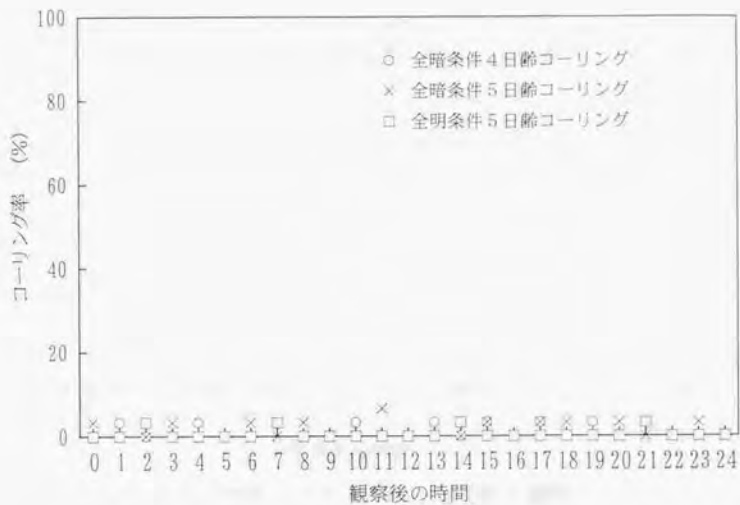


図4-5 全暗、全明条件下でのコブノメイガのコーリング率の推移

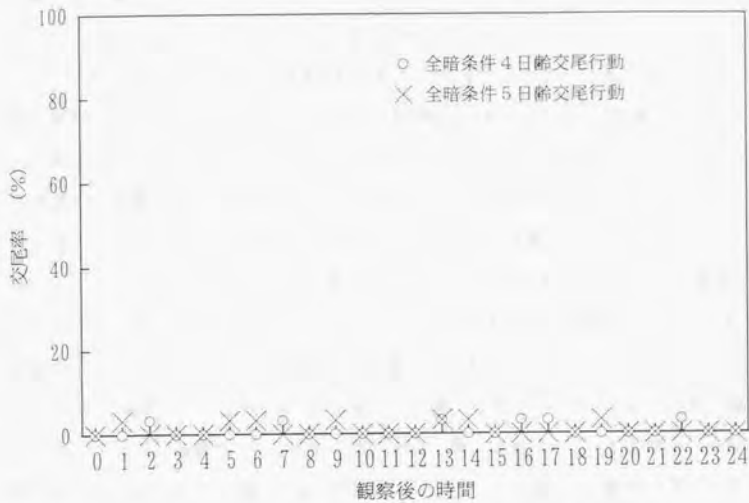


図4-6 全暗条件下でのコブノメイガの交尾率の推移

ともに交尾開始時間が早まることが明らかになった。1時間あたりの交尾数の最大値は4日齢の暗期開始6時間後に観察される11頭(36.7%)であり、交尾行動の盛んな4-7日齢においては、暗期中に全体の7-9割程度が交尾行動を示した。

短日条件の場合、1日齢では交尾行動は観察されなかったが、2日齢以降において交尾行動が観察された(図4-4)。2日齢の場合、暗期後9時間で交尾行動が観察され(3.3%)、9時間後に最大(6.6%)となり、11時間後では3.3%と減少し12時間後には観察されず、全暗期中の交尾頭数は少数であった。3日齢では、7時間後に交尾行動が観察され、9時間後に最大(26.7%)となり以後減少した。4-7日齢では交尾数は時間とともにほぼ同様の推移をしているが、交尾開始時間は日齢により変化した。また各日齢ごとの全交尾数は25-26匹であり、日齢による変化はほとんどなかった。4日齢では6時間後に初めて交尾行動が観察され、以後増加して、8時間後にやや鋭い最大値(30%)を示し、11時間後には0となった。5-7日齢においては、4日齢の場合と比較して最大値は減少するが分布の幅がやや広がっており、連続する2つの時間帯において最大値を示していた。図中に平均交尾時間を示す。Tukey-Kramer法による検定により2日齢、3日齢、7日齢の間では平均交尾開始時間に5%の水準で有意差があり、日齢とともに早くなることが示された。

各日齢における交尾総数を長日条件と短日条件の間で比較すると、両条件の間でほとんど差はなかった。すなわち、2日齢では10%程度、3日齢で60.0%程度であり、4-7日齢では80%程度の交尾率が維持された。しかし、長日条件下での平均交尾時間は、短日条件の場合よりも早くなっていた。

全暗条件では、交尾をするガが4日齢以降認められたが、交尾率は低く全体の約20%であった(図4-6)。全明条件では、交尾をするガがまったく認められなかった。

#### 雌のフェロモン生産に及ぼす日齢の影響

1日齢の雌はいずれの性フェロモン成分もほとんど生産していなかったが、2日齢では生産がみられ、3日齢で急激にフェロモン量が増加し、4日齢で最大となり以後日齢が経るにつれて減少し、7日齢のフェロモン量は2日齢とほぼ同じになった(図4-7)。性フェロモン成分であるZ11-18:Ald、Z13-18:Ald、Z11-18:OH、Z13-18:OHのそれぞれの含量の日齢による変化は、ほぼ同じ傾向を示し、したがって比率もほぼ一定であった(図4-7と4-8)。

#### 雌のフェロモン生産に及ぼす消灯後時間の影響

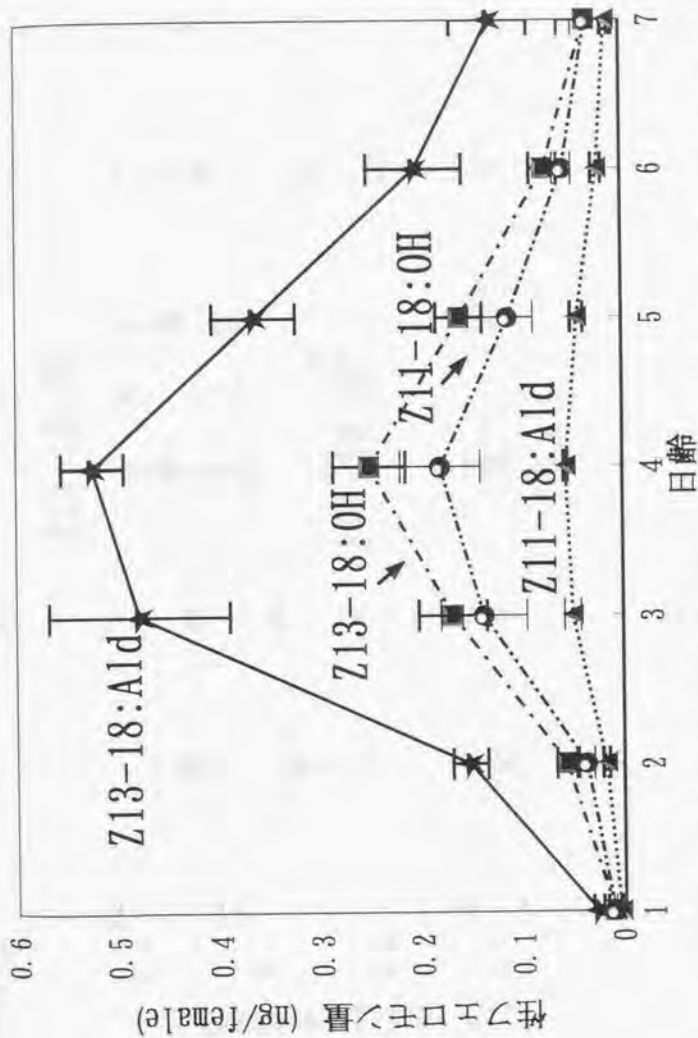


図4-7 雌の性フェロモン生産に及ぼす羽化後日齢の影響  
エラーバーは標準誤差を示す。(n=3)

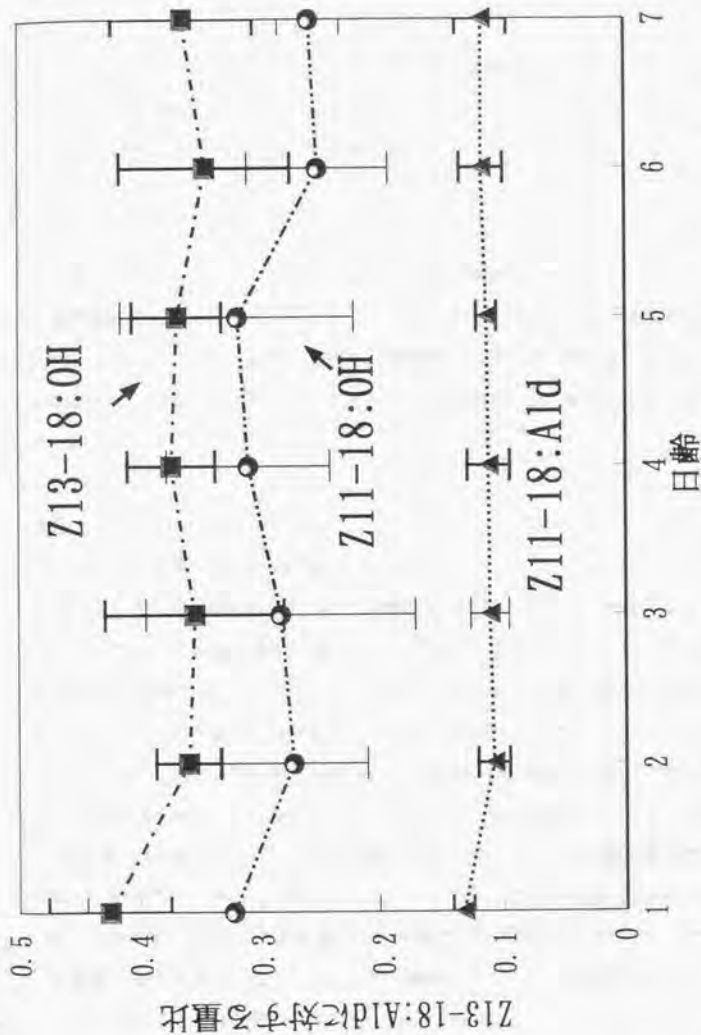


図4-8 Z13-18:Aldに対するその他のフェロモン成分の量比に及ぼす羽化後日齢の影響  
エラーバーは標準誤差を示す。(n=3)



暗期開始時には性フェロモン成分をほとんど生産していなかったが暗期開始2時間後には生産がみられ、以後増加した。暗期開始4時間後と6時間後ではフェロモン量が最大となり、8時間後には若干減少した(図4-9)。それぞれの成分の含量の消灯後時間による変化もほぼ同じ傾向を示し、比率もほぼ一定であった(図4-9と4-10)。

#### 雄の性フェロモンに対する反応性に及ぼす日齢の影響

1日齢の雄は性フェロモンに対して反応しなかったが、2日齢以後、性フェロモンに対して反応性が見られた。反応性は3日齢で最高に達し、以後7日齢まで同様の反応が示された(表4-1)。

#### 雄の性フェロモンに対する反応性に及ぼす消灯後時間の影響

暗期開始時には、ガは性フェロモンに対して反応しなかったが、暗期開始2時間後から性フェロモンに対する反応性が高まり、暗期開始4時間後で最高値に達し、以後暗期開始8時間後まで同様の反応性が示された。また点灯直後には、雄は反応性を全く示さなかった(表4-2)。

#### 考察

##### コブノメイガ配偶行動の時間的变化

コブノメイガは日齢が進むにつれ、交尾時間およびコーリング時間が早い時間に移行することがわかった。同じ傾向は他のノメイガ亜科であるクワノメイガ *Glyphodes pyralis* (Seols et al., 1986)、フタヘリクロノメイガ *Diaphania indica* (Kinjo and Arakaki, 1997)、ツトガ亜科のニカメイガ *Chilo suppressalis* (Kanno, 1979)、ヤガ科のタマナヤガ *Agrotis ipsilon* (Swier, 1977)、タバコガ *Helicoverpa assulta* (Kamimura and Tatsuki, 1993)、オオタバコガ *Helicoverpa armigera* (Kou and Chow, 1987)、スズメガ科のタバコスズメ *Manduca sexta* (Itagaki and Conner, 1988) についても報告されている。これらは日齢に関係なく常に1日の決まった時間帯にコーリング行動をとるナシヒメシクイ *Grapholita molesta* (Lacey et al., 1992) とは対照的である。日齢の進んだ処女雌は、早い時間帯にコーリング行動を開始し、一定時間に集中することなくコーリング行動をとることで、雄を誘引する可能性をより高くすることができる(Swier, 1977)。

短日、長日条件下いずれの光周期においても、コーリング行動と交尾行動は、暗期の後

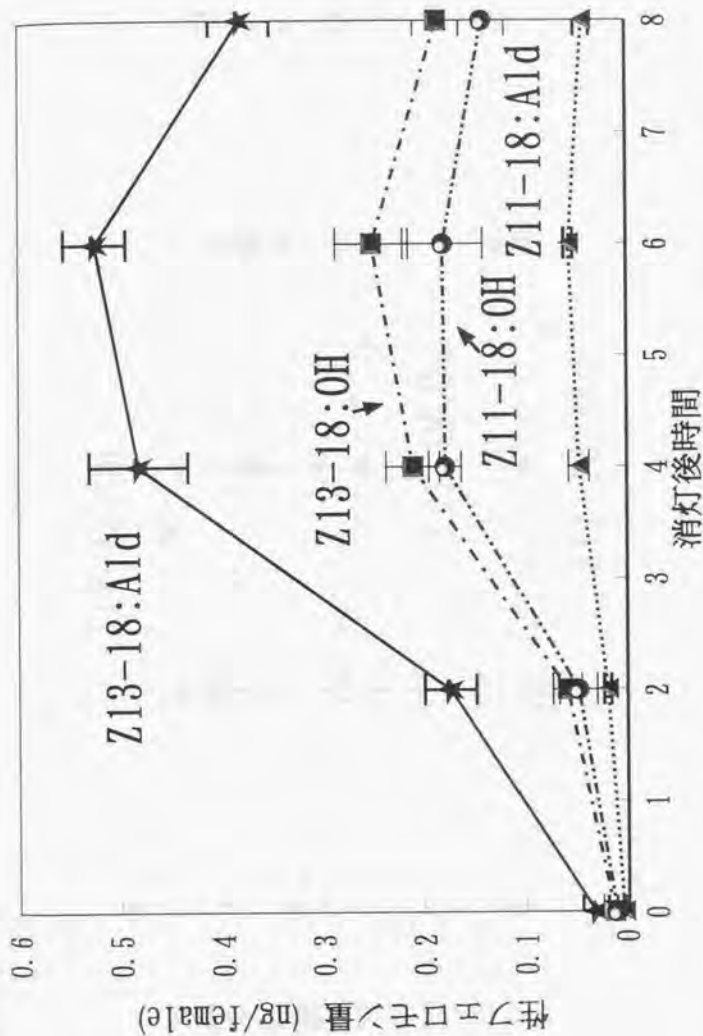


図4-9 雌の性フェロモン生産に及ぼす消灯後時間の影響  
エラーバーは標準誤差を示す。(n=3)

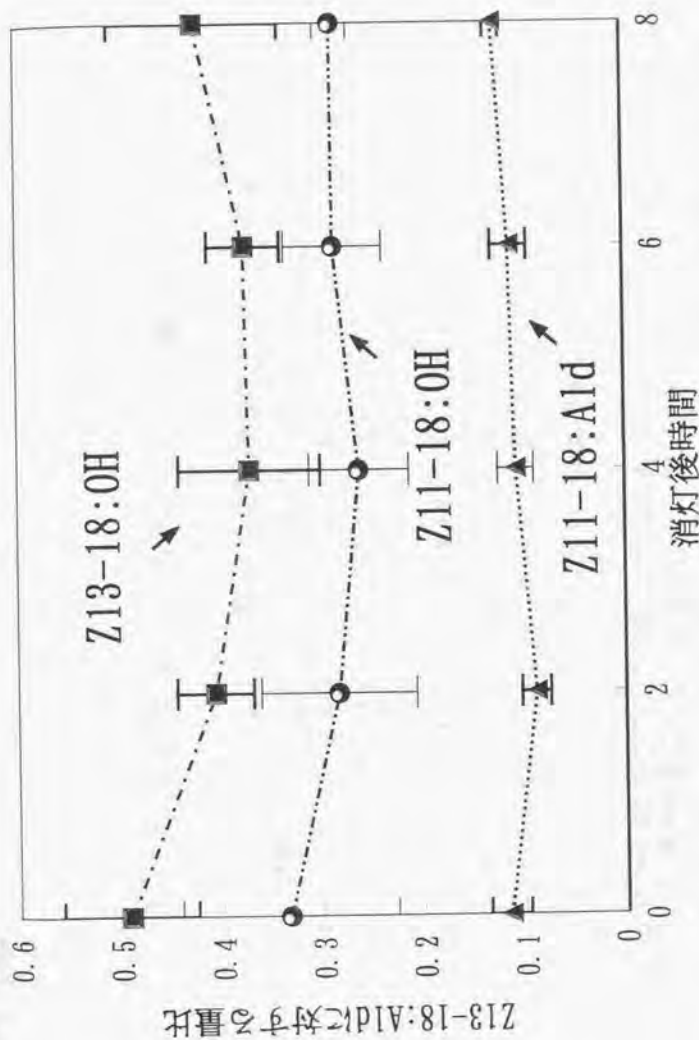


図4-10 Z13-18:Aldに対するフェロモン成分の量比に及ぼす消灯後時間の影響  
エラーバーは標準誤差を示す。(n=3)

表 4-1 雄の性フェロモン反応性に及ぼす日齢の影響

日齢	1分間ごとの雄の総接触数 <sup>1)</sup> (平均±標準偏差)				
	0-1分	1-2分	2-3分	3-4分	4-5分
1	1.0±0.8c	0.2±0.3c	0.3±0.4c	0.2±0.2c	0.2±0.2c
2	4.5±2.2b	3.7±2.0b	2.6±2.4b	2.2±1.4b	2.8±2.4b
3	10.6±2.1a	11.2±2.7a	8.5±3.1a	6.3±2.6a	6.9±1.6a
4	9.9±1.7a	8.5±1.9a	8.6±2.4a	6.4±1.4a	7.7±2.4a
5	10.0±3.3a	7.6±3.3a	6.8±1.7a	7.5±3.4a	5.8±2.8a
6	8.9±1.2a	7.6±3.0a	6.6±1.5a	6.5±3.3a	6.6±4.4a
7	10.6±1.7a	10.5±2.8a	8.1±1.4a	6.3±2.0a	6.2±2.0a

<sup>1)</sup>同一時間中で同じ文字をつけた値は、Tukey-Kramer 法により 5% 水準で有意差なし。反復数は10回。

表 4-2 雄の性フェロモン反応性に及ぼす消灯後時間の影響

暗期開始後時間	1分間ごとの雄の総接触数 <sup>1)</sup> (平均±標準偏差)				
	0-1分	1-2分	2-3分	3-4分	4-5分
0	2.8±2.2 b	2.6±0.8 b	1.6±0.9 b	2.1±1.4 b	0.9±0.8 c
2	5.6±2.4 ab	4.4±1.0 b	3.4±3.1 b	2.8±1.8 b	2.2±1.5 b
4	9.2±3.2 a	7.8±1.1 a	7.5±1.7 a	6.2±2.0 a	6.2±2.8 a
6	9.8±1.7 a	8.4±2.0 a	8.6±2.4 a	6.4±1.3 a	7.6±2.3 a
8	10.2±2.2 a	9.2±3.6 a	7.3±2.8 a	6.8±2.7 a	6.7±3.1 a
9 (点灯直後)	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c

<sup>1)</sup>同一時間中で同じ文字をつけた値は、Tukey-Kramer 法により 5% 水準で有意差なし。反復数は10回。



半に集中した。短日および長日それぞれの光周期条件下でコーリング行動が活発におこなわれた時間帯は、交尾行動が活発におこなわれた時間帯とそれぞれの日齢で非常によく一致していた。

短日条件下でも長日条件下でもコブノメイガはコーリング行動も交尾行動もいずれも3日齢で開始し、3-7日齢で活発に行われた。開始時刻では、コーリング行動も交尾行動も、おもに暗期の後半に入ってから開始されるという点では共通していたが、暗期開始からの時間をみると短日条件よりも長日条件における方が早かった。しかしながら短日、長日条件は、両者ともにコーリング行動および交尾行動の日周性に著しい影響を与えるわけではないと考えられる。

全明、全暗条件下では、コーリング行動および交尾行動はほとんどあられわれず、観察された例には時間的な規則性は認められなかった。以上のことから、明暗周期の存在がコーリング行動および交尾行動の発現を促進することがわかった。

コブノメイガの雌性フェロモン腺中の性フェロモンおよび雄の性フェロモンに対する反応性の経時的变化

ガ類の雄の性フェロモンに対する行動反応は、一般に雌の性フェロモン生産および放出と概ね一致した時間帯に強くなることが知られている。夜行性のガ類では、雄成虫の性フェロモンに対する反応性は、明期に低下し暗期の特定時間帯に高まる日周リズムが見られる (Bartell and Shorey, 1969; Bollinger et al., 1976; Castroville and Cardé, 1979; Linn et al., 1988)。このリズムは遺伝的要因 (概日リズム) と日長、温度などの環境要因の両方によって制御されると考えられている (Bollinger et al., 1976; Castroville and Cardé, 1979; Linn et al., 1988)。

日齢との関係では、一般に羽化直後には反応性が低いが、その後次第に増大し、一定の期間高い反応性を保つことが多い (Bartell and Shorey, 1969; Shorey et al., 1968; Turgeon et al., 1983)。

本節では、15L:9Dの光周期と25℃の条件下で、コブノメイガ雌性フェロモンに対する雄の行動反応に及ぼす消灯後時間および羽化後日齢の影響を調べ、行動反応の時間的变化には1日の時刻と日齢の両方の影響があることが示された。なお雄の反応性の高まる消灯後時間および日齢は、雌のコーリング率の高まる時刻および日齢とほぼ一致している。こ

のことは雌のコーリングの率の高まる消灯後時間、日齢と交尾率が高まる消灯後時間、日齢がほぼ一致していたことの原因であろう。雄と雌の両方で同時に性的活性が高まることで、効率よく交尾することが可能となるためと考えられた。

コブノメイガの雄は明期には性フェロモンに対してまったく反応性を示さなかった。雌のコーリングや交尾行動でも示唆されたように本種の配偶行動は、全体に光によって抑制されることが示唆された。

長日条件下で性フェロモン腺中のフェロモン含量を調べたところ、暗期後半にフェロモン量が増大し、またフェロモン量の増大が起こる日齢も羽化後 3-6 日齢であり、コーリング行動や交尾行動とはほぼ同様の時間的変化を示した。コーリング行動とフェロモン量の時間的変化が同調するガの例として、タバコガ *Helicoverpa assulta* (Kamimura and Tatsuki, 1992; Park et al., 1996)、*Helicoverpa zea* (Raina et al., 1986)、*Heliothis virescens* (Heath et al., 1991)、*Helicoverpa subflexa* (Mabta and Ramaswamy., 1991)、オンヒメシメクイ *Grapholita molesta* (Lacey et al., 1992)、*Pseudaletia unipuncta* (Delisle and Meneil, 1987)、*Spodoptera frugiperda* (Ramaswamy et al., 1988)、マツノマダラメイガ *Dioryctria abietella* (Fatziger, 1973)、ノシメマダラメイガ *Plodia interpunctella* (Coffelt et al., 1978) 等が挙げられる。これらのガでは、フェロモンを生産すると同時に放出していると思われる。

フェロモン腺中のフェロモン成分含量であるが、4 成分、Z11-18:Ald, Z13-18:Ald, Z11-18:OH, Z13-18:OH のすべてがほぼ同じ傾向の時間的変化を示した。すなわち Z13-18:Ald に対する比率の変化をみると、いずれもほぼ一定に保たれていた。複数の性フェロモン成分が 1 日の中で同じ変化をみせる例として、*Heliothis virescens*, *Helicoverpa subflexa* (Heath et al., 1991)、イラクザギンウワバ *Trichoplusia ni* (Hunt et al., 1990)、ジャガイモガ *Phthorimaea operculella* (Ono et al., 1990) 等の場合が挙げられる。また時刻、日齢によらず同じ変化を示す例がオンヒメシメクイ *Grapholita molesta* (Lacey et al., 1992) としてあげられる。一方時間的に成分比率に変動が見られる例がタバコガ *Helicoverpa assulta* で知られている (Kamimura and Tatsuki, 1992; Park et al., 1996)。

## 第4章第2節 配偶行動に影響を与える環境要因の解析

## 緒言

一般に多くの昆虫の種において、長距離移動をする個体は羽化直後には生殖的には未成熟であるとされる (Johnson, 1969)。移動習性が知られている種では羽化してから成熟するまでの期間を調べることで移動の可能性を探り、ひいては移動に費やすことのできる日数を予測することもできよう。

コブノメイガが移動時には生殖的に未成熟であるという根拠の一つは、6-7月に東シナ海上で採集したコブノメイガ雌成虫の精包調査を実施したところ、90%以上の個体は精包を持たない未交尾雌であったという点にある(宮原, 1980)。したがってコブノメイガが移動する際にも非移動個体と比べて性成熟の遅れが起こるものと考えられる。このような遅れはどのような環境条件によって引き起こされるのだろうか。本節では幼虫期から蛹期の環境条件が、成虫期の性成熟の遅延に影響を与えるかどうかを、雌成虫が羽化してからコーリング行動をとるまでの期間を指標として採用し調査した。

環境条件として注目したのは、光周期、温度、生息密度、餌の栄養価である。幼虫期の光周期・温度と性成熟までの時間の関連は、*Pseudaletia unipuncta* (Delisle and Mcnail, 1987; Delisle and Mcnail, 1986; Turgeon and Mcnail, 1983b) など多くの例でみられる。なお本実験では光周期と温度は飛来源とされる中国南東部の飛来時期の気象条件も考慮して設定した。生息密度はウンカ類やワタリバッタ、鱗翅目のハスモンヨトウ *Spodoptera litura* (Tojo et al. 1985; Tojo and Morita, 1985) などに見られるように幼虫期の生育密度条件に支配される相変異や相変異に類似した現象が広くみられることから採用した。また、食草であるイネの生育ステージの進展に伴う餌の質的変化も移動習性と関連する可能性を考え、通常よりも栄養価の低い試料を与えてその影響を調べた。

## 材料と方法

## 飼育条件

飼育の方法は第2章第1節での方法にもとづいた。すなわち飼育条件は、室温 25±1℃、湿度 60-70%、光周期 15L:9D であり、幼虫の餌には人工飼料シルクメイト2 (S)、日本農産工業製 (株) を使用し、飼育密度は孵化幼虫時から蛹化するまで1カップあたり約 40-50 頭とした。本実験では以上の条件を対照区として設定した。

照明、飼育温度、生息密度、餌の栄養価は以下のように変えた。実際の処理条件は表 4-3 に示してある。

照明条件は通常の 15L-9D（以下長日条件）のほかに 12L-12D（以下短日条件）の 2 通りとして、12L-12D を短日処理区とした。

飼育温度は通常の室温  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  および  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  の 2 通りとし、後者の場合を高温処理区とした。

幼虫から蛹までの期間の生息密度は通常の飼育条件である 1 カップあたり約 40-50 頭の場合、1 カップあたり 1 匹ずつの場合、1 カップあたり約 100 頭の場合の 3 通りで変化させ、1 匹ずつの場合を低密度区とし、約 100 頭の場合を高密度区として 3 者の場合を比較した。

餌料の栄養価は、通常の人工飼料の場合、人工飼料とセルロースの割合を 1:1（50%人工飼料）とした場合、1:3（25%人工飼料）で混合した場合の 3 通りで変化させ、50%および 25%人工飼料の場合を低栄養処理区として 3 者の場合を比較した。

各々の条件で飼育した処女雌のコーリング行動の観察は、第 4 章第 1 節に記した方法と同様に行った。

## 結果

結果は表 4-3 にかかげたとおりである。ここで使用した種々の条件のうち、高温を与えた場合にだけ、コーリング前期間の有意な遅れが認められた。

一方、短日、低密度、高密度、低栄養がコーリング前期間に及ぼす影響は認められなかった。

## 考察

一般に生息地の環境が生育に不適當になる場合、多くは季節的なものであって、それゆえ予測しうるものである。温度や光周期のような環境条件は季節的に訪れる生息不利な環境を予測する手がかりとして重要であり、これらによって不利な環境を克服するための生理的、行動的变化が誘導される (Tauber et al. 1984)。誘導されるおもな変化には、生息地に留まって休眠する場合と、より活動に適した場所への季節移動とがある。

実験の結果、コブノメイガでは高温条件がコーリング前期間の延長を引き起こすことがわかった。このことから、本種は幼虫期に高温条件にさらされると羽化後の性成熟が遅れる可能性が示される。これは夏期に移動がおこる原因のひとつとなっていることが考えられる。

一方、本種の幼虫期および蛹期の温度と光周期が羽化後の活動性に及ぼす影響について、シ



表4-3 配偶行動に影響を与える環境要因の解析

区	環境要因			飼育密度	コーリング前期間 (平均日数±標準偏差)
	光周期	温度	人工飼料含量		
対照	長日 (15L:9D)	25°C	100%	標準	3.14±0.89
短日	短日 (12L:12D)	25°C	100%	標準	3.24±0.87 ns <sup>2)</sup>
高温	長日	28°C	100%	標準	4.15±0.83 *1)
高温	短日	28°C	100%	標準	4.10±0.92 *1)
低栄養1	長日	25°C	50%	標準	3.13±0.68 ns
低栄養1	短日	25°C	50%	標準	3.27±0.76 ns
低栄養2	長日	25°C	25%	標準	3.19±0.68 ns
低栄養2	短日	25°C	25%	標準	3.19±0.76 ns
高密度	長日	25°C	100%	高密度	3.10±0.79 ns
高密度	短日	25°C	100%	高密度	3.14±1.02 ns
低密度	長日	25°C	100%	単独	3.29±0.71 ns
低密度	短日	25°C	100%	単独	3.19±0.78 ns

1) \*をつけた値は、MANN-WHITNEYのU検定により、対照との間に5%水準で有意差あり。

2) nsをつけた値は、MANN-WHITNEYのU検定により、対照との間に5%水準で有意差なし。



ヤレ内の成虫の歩行や飛翔を指標として調べた報告があるが(樋口と北村, 1989)、これによると幼虫期・蛹期の温度条件と光周条件の違いは成虫の活動性には差をもたらさず、したがって移動個体の発現を引き起こすものとしては考えにくいとしている。このことは本結論とは異なるが、上記の研究では温度条件が26°Cであることおよび指標が性成熟までの時間ではないので、本研究から導かれた仮説を検証するためには例えば様々な温度条件を含めた環境要因と移動行動および内分泌系の活動との相互関係を生理学的手法を用いて解明する必要がある。

長日・短日の光周期の違いはコーリング前期間に差をもたらさなかった。また高温(28°C)ではいずれの光周期でもコーリング開始の遅延が起こった。温度条件によりコーリング前期間の遅れが引き起こされる例は、*Pseudaletia unipuncta* でみられる。この場合には低温・短日により著しいコーリング前期間の遅れが引き起こされることが報告されている(Delisle and McNeil, 1987; Delisle and McNeil, 1986; Turgeon and McNeil, 1983)。なお光周期の違いによる影響をより詳しくみるには、明暗の周期を1時間刻みで変化させて調査を行う必要がある。

低密度区および高密度区を設定して、通常区と比較して調べた限りでは、3者間の性成熟の期間に有意差はみられなかった。しかし本節で用いた密度条件よりも高密度で飼育した場合、コーリング前期間に影響を与えるかもしれない。

日本に飛来するゴブノメイガの飛来源に含まれる中国南東部浙江省の杭州付近では水稲二期作が広く行われるが、飛来時期とされる6-7月はイネの出穂期と収穫期にあたる。出穂期にはイネの葉の栄養価は低下し幼虫の生育には好適ではない状態であるとされ(Wada et al., 1980)、収穫期の葉も幼虫の成育に好適とはいえないとされる(和田, 1979)。これらのことからイネの生育にともなう葉質の変化が性成熟までの時間に遅延に影響する可能性もあると考え、葉質の変化のうちとくに栄養価の低下に注目し、人工飼料にセルロースを混入し餌の栄養価を落とすことでコーリング行動までの期間を調べたが、いずれの処理においても対照との間に有意な差はみられなかったことから、栄養価の低下は、性成熟の遅延を引き起こす原因にはならないと考えられる。一方、日本においてイネが出穂する9月上旬ごろから水田で採集した雌の交尾率が急速に低下し、しかもこれらの個体は卵巣が未熟で脂肪が豊富であったこと(Wada et al., 1980)、および、これらの個体は翅の損傷がみられず羽化後間もないものと考えられたこと(和田と小林, 1985)などから、秋になりイネの発育ステージが進むにつれ、羽化成虫が交尾・産卵前に水田から移出すると考えられている。しかし、以上の報告からはゴブノメイガが季節的に移動性を示す昆虫であることは確かであると考えられるものの、移動個体の発現にどのような環境要因が関与しているかは不明である。本節で用いたのは、あくまでも栄養価の低下に

注目した方法であり、栄養価の低下以外の要因、例えばイネの生育ステージによって変化するイネの葉の固さなどの物理的な要因に影響される可能性も残されているため、温度、照明条件を制御した上で実際に生育ステージの異なるイネを使った性成熟の遅延の調査が必要となるう。

飛来時期とされる6-7月の中国南東部の環境条件は、温度条件も十分であり、食草となるイネ科植物の不足も考えにくい、つまり生育に不適當な条件下にあるとは必ずしもいえないと思われる。しかしそれにも関わらず日本への飛来がみられる。また日本の水田に飛来、定着したコブノメイガの個体群も増殖・加害後の秋には水田から姿を消してしまうが、その行く先についてはまだ分かっていない。この時期の気流などの気象条件は中国南東部へもどり移動を可能とするとは考えられず、また、移動中とみられる個体も発見されていないので、その多くは低温のため(佐藤と岸野, 1978)あるいは食草のイネを始めとするイネ科植物の不足のため、死滅するものと思われる。日本への移動だけをみる限り、日本に飛来するコブノメイガ個体群は毎年無駄を繰り返しているようにも思えるが、温帯・亜熱帯・熱帯アジアからマダガスカルまで及びコブノメイガの分布域全体を考えると、このような移動習性は種全体としての維持、発展に大きな生態的意味を持っているのかもしれない。

## 第5章 総合考察

### 1. コブノメイガの性フェロモンの生物学的特性

日本産コブノメイガの雌性フェロモンの4成分に関しては、その同定を行うことができた。しかし、微量の未知成分については、従来から用いられている手法だけでは同定を行うことはできなかった。理由として雌抽出物に含まれるフェロモン成分の量がもともと非常に少ないことが挙げられる。このことは本種の雌性フェロモン分析を非常に困難なものにしている。コブノメイガのフェロモン生産量がきわめて少ないことは、本種の生理的特性といえよう。この特性のために、フェロモン成分の分析には、非常に大量の供試虫あるいはきわめて高精度の分析機器および生物検定法が必要となる。未知微量成分を同定するため抽出量を増やしながらか回分析を行った。最終的には1500頭分の抽出物をGC-MSで分析したが、構造に関する情報を持つマススペクトルは得られなかった。50雌当量分のGC分析をしたが、EAG活性を持つ物質をFIDで検出できなかったため、この物質はきわめて微量しか存在しないことがわかった。しかしEADピークとリテンションタイムがきわめて近いピークが $\alpha$ -エイコサンであるところから、微量成分は総炭素数20で側鎖を有する飽和炭化水素であると推定された。第2章第2節で述べたように、同定を行うためには、今後最低でも40000頭分の抽出物を得ることが必要である。現状では月に抽出物を100頭分得るのが限度であり、同定に必要な抽出物を確保するには、大量飼育を可能とする体制を整える必要がある。

コブノメイガの未知成分に限らず、フェロモン生産量の少ない種の性フェロモン成分の分析および同定は、今後も化学生態学の重要課題の一つである。これを可能にするための一つの方向として、新しい分析法の開発が考えられる。例えばEAG反応を示したフラクションを低温に保持したグラファイト基板上に吸着させ、その構造を直接STM、AFMにより調べる方法が考えられる。この方法では必要な分子数はそれほど多くなくてよいので、微量成分を効率よく決定できる可能性があり、将来検討すべき課題である。

### 2. 性フェロモンの害出管理への応用

性フェロモンの防除への利用法の1つとして、性フェロモンを利用した発生調査が

ある。従来コブノメイガの発生調査には、追い出し法やライトトラップが用いられた。しかし追い出し法は労力がかかるうえに誤差の大きいこと、またコブノメイガはライトトラップにはあまり捕獲されないとされるうえ、設置場所が限定されること、形態的に類似したガの識別も困難であるなど、それぞれ欠点が挙げられる。この点、性フェロモントラップは一般に種特異性が高く、誘引されるガのほとんどは雄のコブノメイガであるため、ガの識別も容易で設置もきわめて容易である。

実際に日本ブレンドの性フェロモントラップで調べた限り、十分な数の雄コブノメイガの捕獲が認められ、近縁種も捕獲されなかった。したがって日本におけるコブノメイガの発生調査そして防除に合成性フェロモン剤を利用できる可能性が示された。

本研究の結果により、日本の各地で雄の捕獲がみられたいづれの場所においても日本ブレンドだけに誘引性が認められたことから、日本に飛来するコブノメイガ個体群の性フェロモンタイプは、日本ブレンドに反応する個体群が主体である可能性が高く、したがって性フェロモントラップには、日本ブレンドだけを使用しても問題ないであろう。また今回の調査により日本各地の水田圃場に、日本ブレンドに反応する個体群が広く分布することが明らかになった。

本種の発生調査に合成性フェロモンを使用するためには、未知協力成分の同定、合成性フェロモンの大量合成と精製、適切なトラップの配置など解決すべき点は多々あり、今後詳細な検討が必要である。しかし日本ブレンドを発生調査の一環として使用できる可能性は十分示された。

### 3 性フェロモンの「地理的変異」

#### 日本での性フェロモン反応性の変異の検出

日本産のコブノメイガ雌性フェロモンを同定し、これを「日本ブレンド」としたが、供試虫は1985年に大阪府で採取したコブノメイガ個体に由来するものである。ガ類では同種であってもフェロモン成分が地域により差異の存在しうることが知られており、大阪府以外では個体群の性フェロモン成分がこれと異なっていて、日本ブレンド以外の性フェロモン成分にも反応性を示す可能性も考えられた。例えばフィリピンブレンドやインドブレンドに反応する個体群が日本に飛来して混在していることも考えられる。このため日本国内の数カ所で、3種の性フェロモン誘引剤を用いて性フェロモン反応性を調査した。しかし、雄の捕獲がみられたいづれの地域でも日本ブレンドだけ



に誘引性が認められた。このことから日本に飛来する本種個体群の性フェロモンタイプは単一である可能性が高いと考えられた。また飛来源に含まれるとされる中国杭州でも日本ブレンドだけに雄が捕獲されたことは、日本へのおもな飛来源が中国南東部であるという仮説を支持するものである。しかし上記3種の性フェロモン剤以外に反応性を示す、すなわちこれまでに同定された性フェロモン成分以外の成分を持つ個体群が存在する可能性は残されており、その可能性を追求するためには今後、飛来源とされる中国南東部を含む多くの場所で捕獲した個体群ごとに、性フェロモン成分を分析するとともに、雄の反応性を調べる必要がある。そして上記3種の性フェロモン成分以外のフェロモン成分を持つ個体群の存在が明らかになったときに、その性フェロモン成分の同定をする必要が出てくる。

今回の野外試験において年次によっては、性フェロモントラップにコブノメイガが捕獲されない場所があった。理由として考えられるのは、第一に野外における生育密度が低い場合である。これはライトトラップでの発生調査や実際のイネの被害状況と照会した上で、捕獲数および被害が少なければその可能性が支持される。第二は環境条件によって性成熟に遅延が引き起こされ、配偶行動が行われにくい生理状態におかれる場合である。このような状態では生殖活動に先立って移動が起こる可能性がある。

第4章の実験結果から幼虫期、蛹期の高温条件が羽化後の性成熟に遅延を引き起こし、その間に移動が起きる可能性が示唆されている。今後は気温の推移から、次世代の発生を予測できる可能性がある。

#### コブノメイガの正確な分類

従来に報告に本研究の成果が加わり、熱帯から温帯にかけて広域に分布するコブノメイガは生息地域により性フェロモン成分の組成や成分比が異なる複数の集団に分化していることが明らかになった。ただし、今まで性フェロモンの「地理的変異」としてとらえてきたこのような変異を、種特異的である性フェロモン成分の組成がまったく異なる場合まで種内変異とみるか、あるいは別種とみなすかは今後の検討課題である。そのためには、少なくとも個体群間で雌性フェロモンに対して相互の雄が反応するかどうか、交配が可能であるかどうかなどを調べる必要がある。また分子生物学的手法を用いた系統解析も有効な情報を与えるであろう。

今後、各地域でコブノメイガの性フェロモンを利用する際には、対象となる地域で



採集した寄主植物の明らかな個体について種の正確な形態的同一性をした上で、その地域に生息する寄主植物の明らかな虫を材料として性フェロモン成分を同一化し、その結果に基づいた性フェロモン剤を利用すべきである。

#### 4 コブノメイガの移動性の発現に与える環境要因の影響

配偶行動を可能にする性成熟が遅延する要因を調査した。成熟の遅れは、移動と関連してあらわれる場合が多いことが知られており、したがってこの要因を調べることは、移動を引き起こす原因を推定することにもつながる。

光周期、温度、生息密度、餌の栄養価の影響を調べたところ、高温条件で飼育した場合に性成熟期間が遅延が認められた。高温条件以外の要因も今回の調査した範囲外の値をとる場合には移動に影響する可能性があり、この点も考慮した広範な調査も将来は必要である。移動にしたがった生理状態の変化も調べる必要がある。高温条件が移動に主要な影響を引き起こすことが確認できれば、日本への飛来に関して次の仮説が考えられるであろう。すなわち中国南東部などの飛来源となる地域に生息するコブノメイガは孵化以降の幼虫期および蛹期に高温にさらされると性成熟の遅延が起こる。それとともに移動習性を引き起こす生理状態となり、中国南部より梅雨前線に沿って発生する下層ジェット気流に乗って、東シナ海を越えて日本に飛来し、新しい生息場所への定着化が計られるということである。

もし、温度条件を含めた移動を引き起こす環境要因を確定できれば、中国南東部における日本ブレードを用いた発生調査による発生時期および発生量の把握と、環境要因の変化の監視により、コブノメイガの移動の可能性あるいは日本への飛来数の予測および実際に害を及ぼす次世代のガの発生予測が可能となり、その対策を講じることができるとも考えられる。日本への飛来源とされる中国大陸での実態を含めてコブノメイガ個体群の全体像の把握は、国際協力を含めた進展が期待される。

## 摘要

コブノメイガ *Cnaphalocrocis medinalis* は、アジア・オセアニア・アフリカの熱帯から温帯に広く分布する重要なイネの害虫である。本種の雌性フェロモンとしてはこれまでインド産とフィリピン産の個体をもとに2種のモノエンアセテート成分、(Z)-11-ヘキサデセニールアセテート (Z11-16:Ac)と (Z)-13-オクタデセニールアセテート (Z13-18:Ac)が報告されている。インド産とフィリピン産の両者の間には性フェロモンに地理的変異が存在し、インド産では Z13-18:Ac と Z11-16:Ac の比率が 90:10 (以後インドブレンド) であるのに対し、フィリピン産では 2:98 (以後フィリピンブレンド) と報告されている。一方、日本産コブノメイガの性フェロモンについては予備的解析の結果、上記の2成分は検出されず、それに代わり (Z)-13-オクタデセニールをおもな成分とする異なった性フェロモンシステムを持つ可能性が示唆された。本研究では日本産コブノメイガの雌性フェロモンの同定を行い、性フェロモンが関与する配偶行動とそれに及ぼす環境の影響を調査した。

## 1 雌性フェロモンの同定

未交尾雌ガの性フェロモン腺抽出物を触角電図検出器装着ガスクロマトグラフィー (GC-EAD) で分析すると、雄ガに触角電位反応 (EAG反応) を引き起こすおもなピークに対応する4個のFIDピーク (以下ピークA, B, C, D) が検出された。抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離すると、5%エーテル/ヘキサン画分にピークA, Bが、15%エーテル/ヘキサン画分にピークC, Dが溶出した。ガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS) の結果、ピークA, Bは同一のマススペクトルを与え、これらは  $m/z$  266 の分子イオンピーク ( $M^+$ ) と  $M+18$  のイオンピークを含むこと、および他の開裂イオンのパターンから、ピークA, Bは炭素数18のモノエンアルデヒド (オクタデセナル) であると推定された。一方、ピークC, Dも上とは別の同一のマススペクトルを与え、 $m/z$  250の開裂イオンピークの存在および開裂イオンパターンから、ピークC, Dは炭素数18のモノエンアルコール (オクタデセノール) であると推定された。つぎにオクタデセナルおよびオクタデセノールの二重結合の位置を明らかにするために、DMDS付加誘導体のマススペクトル解析を行った。その結果ピークAは)

1 位に、ピーク B は 13 位に、ピーク C は 11 位に、ピーク D は 13 位にそれぞれ二重結合を持つことが推測された。そこで雌抽出物と合成品とを極性の異なる 2 種類のカラムを用いてガスクロマトグラフィー分析を行い、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シス体である合成品ピークと一致した。以上の結果からピーク A、B、C、D はそれぞれ (Z)-11-オクタデセナール (Z11-18:Ald)、(Z)-13-オクタデセナール (Z13-18:Ald)、(Z)-11-オクタデセノール (Z11-18:OH)、(Z)-13-オクタデセノール (Z13-18:OH) と同定され、これらの存在比率は 11:100:24:36 であった。合成品を用いて以上 4 成分の性フェロモン活性を室内および野外における生物検定により調べた。室内生物検定では Z13-18:Ald だけで弱い誘引活性が示されたが、野外生物検定では Z13-18:Ald 単独では誘引活性は認められず、Z13-18:Ald と Z11-18:Ald の混合物に顕著な誘引活性が認められた。以上からアルデヒド 2 成分は性フェロモンの必須成分と考えられた。アルコール 2 成分自体には性フェロモン活性は認められなかったが、これらをアルデヒド 2 成分に付加したところ、性フェロモン活性の増強が認められたことから、アルコール 2 成分は協力成分と考えられた。これらの結果から、同定された 4 種の成分は日本産コブノメイガの雌性フェロモンの構成成分であり、性フェロモンはこれらの成分が上記比率で混合されたもの（以後、日本ブレンド）であることが結論できた。

室内生物検定によって、同定された 4 成分と未交尾雌性フェロモン腺の粗抽出物活性を比較したところ、4 成分の方が活性が低かったことから、協力作用を持つ未知成分の存在が示唆された。雌の粗抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、得られた各画分を 4 成分に加えて生物検定を行ったところ、ヘキサン画分を加えた場合にだけ粗抽出物と同等の高い活性がみられた。そこでヘキサン画分を硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、飽和炭化水素類、モノエン炭化水素類、ジエン炭化水素類、トリエン炭化水素類をそれぞれ含む 4 つの画分を得た。各々を 4 成分に加えて室内生物検定を試みたところ、飽和炭化水素類を含む画分にだけ活性を上昇させる作用が認められた。飽和炭化水素類を含む画分を GC-EAD で分析すると EAG 反応を引き起こす明瞭なピークが 1 個検出されたが、このピークに相当する FID 上のピークは認められず、この成分はきわめて微量な成分であると考えられ、GC-MS で分析を試みたが構造に関する情報を持



つマススペクトルは検出されなかった。一方、粗抽出物から得た飽和炭化水素類を含む画分をGC-MS, GCで分析し、炭素数19から31までのすべてのn-アルカンの存在を確認したが、室内生物検定の結果これらの物質には活性を高める効果はみられなかった。しかしGC-EAD分析の際、未知成分の保持時間はn-エイコサンのそれにきわめて近かったことから、未知成分は総炭素数20で側鎖を持つ飽和炭化水素ではないかと推定された。

## 2 性フェロモンの地理的変異

日本産コブノメイガ雌からはインド産、フィリピン産コブノメイガで報告されたアセテート2成分は検出されず、また室内生物検定によっても日本産コブノメイガの雌はインドブレンド、フィリピンブレンドいずれに対しても反応性を示さなかった。1997-99年までに東北から南西諸島までの日本の各地、および中国杭州で、日本ブレンド、インドブレンド、フィリピンブレンドの野外における誘引性を調査したところ、雄の捕獲がみられたいずれの場所においても日本ブレンドだけに誘引性が認められた。これらの結果から日本にはインドブレンドおよびフィリピンブレンドに反応する雄は飛来しないと考えられ、日本に飛来する本種個体群の性フェロモンのタイプは単一である可能性が高い。本研究の結果により、コブノメイガの性フェロモンにみられる地理的変異は例外的に大きなものであることが明らかになったが、各変異集団が同一種なのか別種であるのかは今後の重要課題である。また、飛来源に含まれる中国杭州でも日本ブレンドだけに雄が捕獲されたことは、日本へのおもな飛来源が中国南東部であるとする仮説を支持するものである。なお1998-99年には、南西諸島においてフィリピンブレンドとインドブレンドに多数の雄が捕獲されたが、精査の結果これらはコブノメイガに形態が酷似する同属の近縁種、ハネナガコブノメイガ *C. pilosa* であることがわかった。

## 3 配偶行動に影響する環境要因

孵化直後から種々の照明条件、すなわち全暗、全明、長日、短日条件下で飼育したガのコーリング行動および交尾行動の時間的変化を観察した。全明、全暗条件下ではこれらの行動はほとんどあられせず、観察された例には時間的な規則性は認められなかった。一方、明暗周期下では、コーリング行動および交尾行動が活発に行

われ、またこれらには明瞭な時間的規則性が認められた。すなわち短日、長日条件ともコーリング行動および交尾行動とも暗期後半に集中した。またこれらの行動が最も活発に行われる日齢は羽化後3-7日齢であった。以上の事から、明暗周期の存在がコーリング行動および交尾行動の発現を促進するが、日長の差はあまり影響しないことがわかった。なお長日条件下で性フェロモン腺中のフェロモン含量、および雄ガの性フェロモンに対する反応性を調べたが、これらもコーリング行動や交尾行動とほぼ同様の時間的変化を示した。

コブノメイガは休眠性を持たず、南西諸島の一部を除き日本では越冬は不可能とされていることから、日本では毎年海外から飛来するとする説が広く受け入れられている。したがって移動性があることが示唆されているが、移動性の発現に影響する環境条件についてはよくわかっていない。そこで配偶行動を可能にする性成熟が移動にともなって遅れる要因を調べた。光周期、温度、生息密度、餌の栄養価の影響を調べたところ、高温条件で飼育した場合に、性成熟期間に遅延が認められた。この結果からコブノメイガは幼虫期/蛹期の高温にさらされると羽化後の性成熟期間に遅延を起こし、その間に移動が起こる可能性が示唆された。

以上要するに、本研究では日本産コブノメイガの雌性フェロモン成分4種を同定し、これらの混合物が本種の発生調査に有効に利用できることを示した。また、これらの成分の他に特異な協力作用をもつ微量成分の存在を突き止めた。同定した成分はインド産とも、フィリピン産とも異なっており、広域に分布する本種は生息地域により性フェロモン成分の比率や組成を異にする複数の集団に分かれている可能性が示された。配偶行動に及ぼす環境要因の影響を調査した。とくに照明条件が行動の時間的規則性を強く支配すること、幼虫期からの高温によりコーリング行動に遅れを生じることなど重要な事実を明らかにした。



## 謝 辞

本論文は、1995年4月より約5年間に渡って、東京大学大学院農学生命科学研究科 生産・環境生物学専攻 応用昆虫学研究室の田付真洋氏のご指導により行ったものです。この間、先生からは終始にわたり懇切で有益なご指導と温かい励ましを賜りました。深く感謝しております。

東京大学大学院農学生命科学研究科 応用昆虫学研究室の石川幸男氏からも、あたたかい励ましとご助言をいただきました。機器分析については、石川先生のご指導に負うところが多く、深く感謝しております。

壱崎杉彦助手をはじめ応用昆虫学研究室の皆様方にも公私にわたり、色々とお世話になり、ありがとうございました。

蚕糸・昆虫農業技術研究所の若村 定男氏および筑波大学農林学系の本田洋氏にはGC-EADによる分析で、ご指導及びご便宜をおはかりいただき感謝いたしております。

農業環境技術研究所の杉江 元氏には性フェロモンの精製のご指導をいただき感謝いたしております。

京都府立大学農学部 of 吉安 裕氏にはガの同定で、大変お世話になり感謝いたしております。

東京農工大学農学部の安藤 哲氏には、炭化水素の合成品を供与していただき感謝しております。

本研究における野外試験は、中国水稻研究所の張 志涛氏、国際農林水産業研究センター沖縄支所の河野 勝行氏、高橋 敬一氏、鹿児島農業試験場大島支場の瀬戸口 脩氏、大隅支場の上和田 秀美氏、本場の上室 剛氏、長崎県総合農林試験場の寺本 健氏、九州農業試験場の鈴木 芳人氏、足達 太郎氏、福岡県農業総合試験場の中村 利宣氏、島根県農業試験場の西村 恒一氏、岡山県農業試験場の近藤 章氏、田中 福三郎氏、千嶋 健司氏、高知県農業技術センターの高井 幹夫氏、岐阜県農業総合研究センターの平 正博氏、下畑次夫氏、松尾氏、石川県農業総合研究センターの松浦 博一氏、藪 哲夫氏、安達 直人氏、千葉県病害虫防除所の安田 清作氏、山形県農業試験場庄内支場の上野 清氏、以上の方々のほか大勢の皆様のご協力に負うところが多く、皆様に厚くお礼を申し上げます。

サンケイ化学工業株式会社からはトラップとゴムセブタムを供与していただきました。永田 健二氏、竹村 薫氏には感謝しております。

信越化学工業株式会社からは合成性フェロモンを供与していただきました。  
福本 毅彦氏、望月 文昭氏には感謝しております。

本研究の一部は農林水産省平成11年度プロジェクト研究「環境負荷低減のための病害虫群高度管理技術の開発」から援助を受け、関係者の皆様に厚くお礼を申し上げます。

## 引用文献

- Bailey, J.B., L.M. McDonough and M.P. Hoffmann (1986) Western avocado leafroller, *Amorbia cuneana*, (Walsingham), (Lepidoptera: Tortricidae). Discovery of populations utilizing different ratios of sex pheromone components. *Journal of Chemical Ecology* 12: 1239-1245.
- Bartell, R.J. and H.H. Shorey (1969) A quantitative bioassay for the sex pheromone of *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera) and factors limiting male responsiveness. *Journal of Insect Physiology* 15: 33-40.
- Bollinger, J.F., H.H. Shorey and L.K. Gaston (1976) Effect of several temperature regimes on the development and timing of responsiveness of males of *Trichoplusia ni* to the female sex pheromone. *Environmental Entomology* 6: 311-314.
- Buser, H., H. Am, P. Guerlin and S. Rauscher (1983) Determination of double bond position in mono-unsaturated acetates by mass spectrometry of dimethyl disulfide adducts. *American Chemical Society* 55: 818-822.
- Castrovilho, P.J. and R.T. Cardé (1979) Environmental regulation of female calling and male pheromone response periodicities in the codling moth (*Laspeyresia pomonella*). *Journal of Insect Physiology* 25: 659-667.
- Coffit, J.A., L.L. Sower and K.W. Vick (1978) Quantitative analysis of identified compounds in pheromone gland rinses of *Plodia interpunctella* and *Ephestia cautella* at different times of day. *Environmental Entomology* 7: 502-505.
- Cork, A., K.S. Boo, E. Dunkelblum, D.R. Hall, K. Jee-Rajunga, M. Kehar, E. Kong-Jie, K.C. Park, P. Tegpidagam and Liu Xun (1992) Female sex pheromone of oriental tobacco budworm, *Helicoverpa assulta* (Guenée), (Lepidoptera: Noctuidae): Identification and field testing. *Journal of Chemical Ecology* 18:403-418.
- Delisle, J. and J.N. McNeil (1986) The effect of photoperiod on the calling behavior of virgin females of the true armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Physiology* 32:199-206.
- Delisle, J. and J.N. McNeil (1987) The combined effect of photoperiod and temperature on the calling behavior of the true armyworm, *Pseudaletia unipuncta*. *Physiological Entomology* 12:157-164.
- Fatzinger, C.W. (1973) Circadian rhythmicity of sex pheromone release by *Dioryctria abietella* (Lepidoptera: Pynalidae: (Phyetainae)) and the effect of a diel light cycle on its precopulatory behavior. *Annals of Entomological Society of America* 66: 1147-1153.
- Ganeswar Rao, A., K. Krishniah, D.R. Hall, A. Cork and D.D.R. Reddy (1993a) Field evaluation of sex pheromone:

components of rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis*. Indian Journal of Plant Protection 21:228-229.

Ganeswara Rao, A., K. Krishnaiah, D.R. Hall, A. Cork and D.D.R. Reddy (1993b) Evaluation of sex pheromone components of rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis*. Current Science 65:355-356.

Ganeswara Rao, A., D.D.R. Reddy, K. Krishnaiah, P.S. Beevor, A. Cork and D.R. Hall (1995) Identification and field optimisation of the female sex pheromone of the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* in India. Entomologia Experimentalis et Applicata 74: 195-200.

Grant G.G., D. Frech, L. Macdonald, K.N. Slessor and G.G.S. King (1987) Copulation releaser pheromone in body scales of female whitemarked tussock moth, *Oryza leucostigma* (Lepidoptera: Lymantriidae): Identification and behavioral role. Journal of Chemical Ecology 13: 345-356.

Guenée, M.A. (1854) Histoire Naturelle des Insectes. Lépidoptères, 8. Deltoides et Pyralites. Librairie encyclopédique de Roret, Paris.

長谷川 淳一・本田 洋 (1994) 「コブノメイガ, *Cnaphalocrocis medinalis* G.の性フェロモン (1) 第一成分 Z-1,3-オクタデセナールの同定」『第38回日本応用動物昆虫学会大会講演要旨』 pp. 6

長谷川 淳一・本田 洋・若村 定男・田付 真幸 (1995) 「コブノメイガ, *Cnaphalocrocis medinalis* の性フェロモン (2)」『第39回日本応用動物昆虫学会大会講演要旨』 pp. 75

Heath, R.R., J.R. McLaughlin, F. Proshold and P.E.A. Teal (1991) Periodicity of female sex pheromone titer and release in *Heliothis subflexa* and *H. virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). Annals of Entomological Society of America 84: 182-189.

樋口 博也・北村 寛彬 (1989) 「コブノメイガの活動性に及ぼす飼育条件の影響」『日本応用動物昆虫学会誌』 33: 146-148.

Hou, R.F. and S. Chen (1988) Mating behavior of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). Applied Entomology and Zoology 23: 355-357.

Hunt, R.E. and K.F. Haynes (1990) Periodicity in the quantity and blend ratios of pheromone components in glands and volatile emissions of mutant and normal cabbage looper moths, *Trichoplusia ni*. Journal of Insect Physiology 36: 769-774.

Itagaki, H. and W.E. Conner (1988) Calling behavior of *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) with notes on the morphology of the female sex pheromone gland. Annals of Entomological Society of America 81: 798-807.



- Johnston, C.G. (1969) A functional system of adaptive dispersal by flight. Annual Review of Entomology 11:233-260.
- Karimura, M. and S. Tatsuki (1993) Diel rhythms of calling behavior and pheromone production of oriental tobacco budworm moth, *Helicoverpa assuda* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Chemical Ecology 19: 2953-2963.
- 上和田 秀美・田中 章・春口 剛 (1994) 「鹿児島県における1993年のコブノメイガが大量飛来について」『九州病害虫研究会報』 40: 98-101.
- 上和田 秀美・松田 浩・春口 剛 (1995) 「鹿児島県におけるコブノメイガの発生と被害 第2報 高温条件を考慮した成虫発生時期の予測」『九州病害虫研究会報』 41: 65-68.
- Kang, S.K., B.H. Moon, J.O. Lee and H.G. Goh (1985) A convergent synthesis of (Z)-13-octadecen-1-yl-acetate, the pheromone mimic of the rice leaf folder moth and its biological activity test. Bulletin of Korean Chemical Society 6:228-230.
- Kanno, H. (1979) Effects of age on calling behavior of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). Bulletin of Entomological Research 69: 331-335.
- 川崎 健次郎・杉江 元 (1990) 『日本応用動物昆虫学会誌』 34: 317-319.
- Kawazu K., J. Hasegawa, H. Honda, Y. Ishikawa, S. Wakamura, H. Sugie, H. Kamiwada, Y. Yoshiyasu and S. Tatsuki, (2000) Geographical variation in female sex pheromones of the rice leaf folder moth, *Cnaphalocxys medinalis*. Identification of pheromone components in Japan. Entomologia Experimentalis et Applicata (in press).
- Khan, Z.R., A.T. Barrion, J.A. Litsinger, N.P. Castilla and R.C. Joshi (1988) Mini review. A bibliography of rice leaf folders (Lepidoptera: Pyralidae). Insect Science and its Application 9: 129-174.
- Kinjo, K. and N. Arakaki (1997) Mating behavior of the cotton caterpillar, *Ditapharia indica* (Saunders) (Lepidoptera: Pyralidae). Applied Entomology and Zoology 32: 641-644.
- Konno, Y., H. Honda and Y. Matsumoto (1980) Observation on the mating behavior and bioassay for the sex pheromone of the yellow peach moth, *Dichocrocis pasciferalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). Applied Entomology and Zoology 15: 321-327.
- Kou, R. and Y.S. Chow (1987) Calling behavior of the cotton bollworm, *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Annals of Entomological Society of America 80: 490-493.



Kudagamage, C. (1983) Leafroller population monitoring using a sex pheromone. *International Rice Research Newsletter* 8: 11.

Lacey, M.J. and C.J. Sanders (1992) Chemical composition of sex pheromone of oriental fruit moth and rates of release by individual female moths. *Journal of Chemical Ecology* 18: 1421-1435.

Linn, Jr. C.E., M.G. Campbell and W.L. Roelofs (1988) Temperature modulation of behavioral thresholds controlling male moth sex pheromone response specificity. *Physiological Entomology* 13: 59-67.

Mbata, G.N. and S.B. Raraswamy (1991) Relationship between pheromone titer and mating in *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Applied Entomology* 111: 237-242.

松田 浩・上和田 秀美・瀬戸口 脩 (1995) 「鹿児島県におけるコブノメイガの発生と被害 第1報 1994年の第1世代幼虫による被害」『九州病害虫研究会報』41: 63-64.

宮原 義雄 (1980) 「東シナ海で採集されたコブノメイガの交尾率」『北日本病虫研報』31: 107-109.

宮原 義雄 (1981) 「コブノメイガの交尾、特に低温の影響」『日本応用動物昆虫学会誌』25: 119-121.

Ono, T., R.E. Charlton and R.T. Cardé (1990) Variability in pheromone composition and periodicity of pheromone titer in potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Chemical Ecology* 16: 531-542.

Park, K.C., A. Cork and K. S. Boo (1996) Intrapopulation changes in sex pheromone composition during scotophase in Oriental tobacco budworm, *Helicoverpa assulta* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Chemical Ecology* 22: 1201-1210.

Pingchou, Z., K. Fanlei and Y. Youngqing (1987) Sex pheromone of oriental armyworm *Mythimna separata* Walker. *Journal of Chemical Ecology* 13: 977-981.

Raina, A.K., J.A. Klun and E.A. Stadelbacher (1986) Diel periodicity and effect of age and mating on female sex pheromone titer in *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of Entomological Society of America* 79: 128-131.

Ramachandran, R., P. Caballero and Z.R. Khan (1990) Pheromone components of rice leafrollers (L.F.) *Cnaphalocymis medinalis* and *Marasmia patnalis*. *International Rice Research Newsletter* 15: 25-26.

- Ramaswamy, S.B., P.W.K. Ma and H.N. Pire (1988) Calling rhythm and pheromone tiers in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) from Mississippi and Honduras. *Journal of Applied Entomology* 106: 90-96.
- Riley, J.R., D.R. Reynolds, A.D. Smith, A.S. Edwards, X.X. Zhang, X.N. Cheng, H.K. Wang, J.Y. Cheng and B.P. Zhai (1995) Observation of the migration of the rice leaf roller *Chaphalocnecis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and other moths in eastern China. *Bulletin of Entomological Research* 85: 397-414.
- 佐藤 テイ・岸野 賢一 (1978) 「コブノメイガの発生に関する生態学的研究」『東北農試研報』58: 47-80.
- Seol, K.Y., H. Honda and Y. Matsumoto (1986) Mating behavior and the sex pheromone of the lesser mulberry pyralid moth, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Applied Entomology and Zoology* 21: 228-235.
- Shorey, H.H., K.L. Morin and L.K. Gaston (1968) Sex pheromones of noctuid moths. Timing of development of pheromone responsiveness and other indicators of reproductive age in males of eight species. *Annals of Entomological Society of America* 61: 857-861.
- Struble, D.L. and H. Am (1984) Combined gas chromatography and electroantennogram recording of insect olfactory response. In: H. E. Hummel and T. A. Miller (eds.), *Techniques in Pheromone Research*. Springer-Verlag, New York: pp.161-178.
- Swier, S.R., R.W. Rings and G.J. Musick (1977) Age-related calling behavior of the black cutworm, *Agrotis ipsilon*. *Annals of Entomological Society of America* 70: 919-924.
- 高橋 正三・瓦谷 光男・佐藤 安夫・坂井 道彦 (1979) 「アワヨトウおよびクサンロヨトウの性フェロモン」『日本応用動物昆虫学会誌』23: 78-81.
- Tatsuki, S., S. Atsuzawa, K. Uchiyumi, M. Kunham and J. Fukami (1975) Sex pheromone of the rice stem borer moth, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) 「Laboratory mating behavior. *Botyu-Kagaku* 40: 143-150
- Tauber, M.J., C.A. Tauber and S. Masaki (1984) Adaptations to hazardous seasonal conditions: dormancy, migration and polyphernism. *Ecological Entomology*. (ed. by C.B. Huffaker and R.L. Rabb), 149-183. John Wiley and Sons, New York.
- Tojo, S., M. Morita, N. Agui and K. Hinurui (1985) Hormonal regulation of phase polymorphism and storage-protein fluctuation in the common cutworm, *Spodoptera litura*. *Journal of Insect Physiology* 31: 283-292.
- Tojo, S. and M. Morita (1985) Relationship between starvation and supernumerary ecdysis and recognition of the

penultimate-larval instar in the common cutworm, *Spodoptera litura*. *Journal of Insect Physiology* 31: 307-314.

Tóth, M., C. Löfstedt, B.W. Blair, T. Cabello, A.I. Farag, B.S. Hansson, B.G. Kovalev, S. Maini, E.A. Nesterov, I. Pajor, A.P. Sazonov, I.V. Sharnshev, M. Subchev and G. Szocs (1992) Attraction of male turnip moths *Agroris segetum* (Lepidoptera: Noctuidae) to sex pheromone components and their mixtures at 11 sites in Europe, Asia and Africa. *Journal of Chemical Ecology* 18:1337-1347.

Turgeon, J.J., J.N. McNeil and W.L. Roelofs (1983a) Responsiveness of *Pseudaletia unipuncta* males to the female sex pheromone. *Physiological Entomology* 8: 339-344.

Turgeon, J.J. and J.N. McNeil (1983b) Modification in the calling behavior of *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) induced by temperature conditions during pupal and adult development. *Canadian Entomologist* 115:1015-1022.

山岡 亮平・秋野 順治 (1999) 「アリ類の体表炭化水素の生物学的意義」 日高 敏隆・松本 義明・本田 計一・本田 洋・田付 真洋『環境昆虫学 行動・生理・化学生態』東京: 東京大学出版会 pp.479-491.

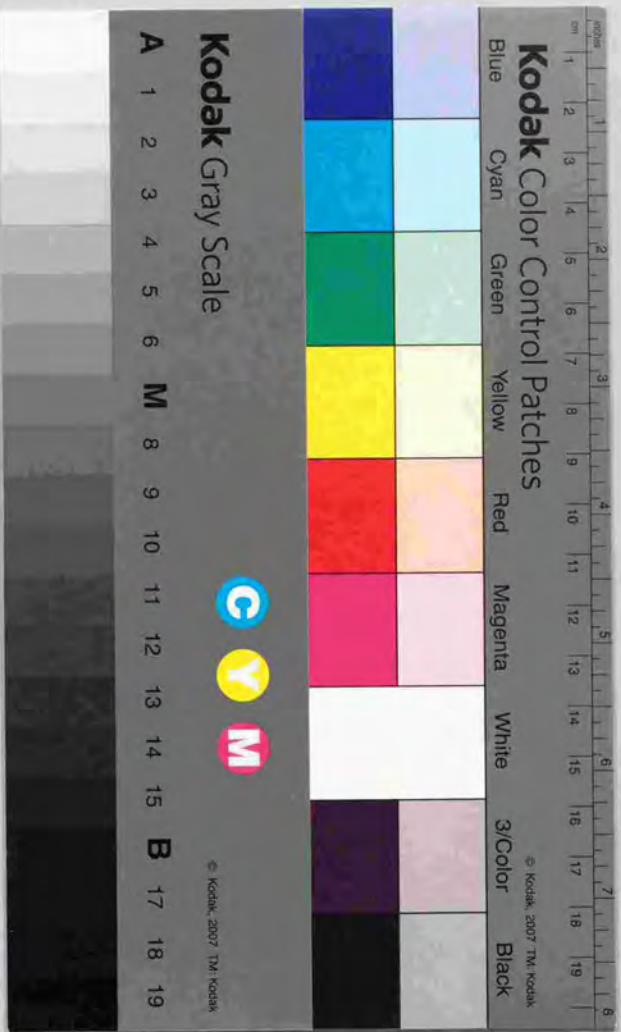
和田 節 (1979) 「コブノメイガ幼虫の令数に及ぼす飼育温度と稲の葉質の影響」『日本応用動物昆虫学会誌』23: 178-182.

Wada, T., M. Kobayashi and M. Shimazu (1980) Seasonal changes of the proportions of mated females in the field population of the rice leaf roller, *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). *Applied Entomology and Zoology* 15: 81-89.

和田 節・小林 正弘 (1985) 「コブノメイガ成虫の繁殖相変の季節的変動」『日本応用動物昆虫学会誌』29: 41-44.







# Kodak Color Control Patches

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black

# Kodak Gray Scale

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



© Kodak, 2007 TM Kodak