

平成 21 年 5 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号： 1 8 5 8 0 0 4 9  
 研究課題名 (和文) 斑点米カメムシ類のイネ加害メカニズムに関わる植物香気物質の解明  
 研究課題名 (英文) Influence of host plant odors on invasion of the rice bugs into paddy fields  
 研究代表者  
 堀 雅敏 (HORI MASATOSHI)  
 東北大学・大学院農学研究科・助教  
 研究者番号：70372307

研究成果の概要：斑点米カメムシはイネが出穂すると周辺のイネ科雑草・牧草地から水田に侵入し、子実を吸汁することにより斑点米を生じさせる。斑点米カメムシの主要種アカヒゲホソミドリカスミカメを用いて水田への侵入メカニズムを解析したところ、彼らは開花しているイネ穂の香気に誘引されることにより、水田へ侵入することが明らかになった。さらに、開花したイネ穂から多く放出される $\beta$ -caryophyllene 等いくつかの物質が誘引の原因物質であることを突き止めた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,000,000	0	2,000,000
2007年度	800,000	240,000	1,040,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	450,000	3,950,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：昆虫、行動学、農林水産物、植物、生理活性

## 1. 研究開始当初の背景

斑点米カメムシ類はイネの子実を吸汁することにより斑点米を生じさせ、甚大な経済的被害を与える。イネ科雑草管理と水田への殺虫剤散布が主な防除対策であるが、被害軽減に限界があり対策に苦慮している。水田で増殖したカメムシを殺虫剤で完全に駆除するのは困難で、また、殺虫剤が与える環境への負荷および食の安全・安心の面からも新たな防除技術および発生予察技術の開発が望まれていた。

斑点米カメムシ類はイネの出穂・開花を契機に周辺のイネ科雑草地やイネ科牧草地か

ら水田内へ侵入することは知られていたが、そのメカニズムは長い間、明らかにされていなかった。そこで、彼らが水田に侵入するのは開花期イネから放出される香気に誘引性があるためではないかと考えた。水田への侵入に関わるイネ香気由来の斑点米カメムシ類の誘引物質が明らかになれば、トラップに利用することにより、彼らの水田への侵入量を事前に的確に捉えることが可能になると考えられた。また、現在の主なモニタリング手段である捕虫網によるすくい取りは労力がかかり精度にもバラツキがあることから、これに代わるモニタリングツールへの利用

が期待された。

## 2. 研究の目的

イネの出穂・開花を契機として斑点米カメムシ類が水田へ侵入するメカニズムを、斑点米カメムシの重要種、アカヒゲホソミドリカスミカメを用いて、開花期イネ香気の誘引性という面から明らかにする。また、開花期のイネ香気に誘引性が認められた場合、香気中に含まれる誘引物質を特定する。以上から、斑点米カメムシの水田への侵入に関わるイネ香気役割を、物質レベルで解明するとともに、アカヒゲホソミドリカスミカメの寄主植物香気を利用した誘引物質を開発することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 植物香気に対するアカヒゲホソミドリカスミカメの嗅覚応答

① オルファクトメーター試験：アカヒゲホソミドリカスミカメの植物香気に対する嗅覚応答は線形通路付きオルファクトメーター (Sakuma and Fukami, 1985; Hori, 1998) を用いて調査した。オルファクトメーター内に流す空気の流量は 1.0 l/min とした。アカヒゲホソミドリカスミカメ成虫 10 頭をオルファクトメーター内に導入し、どちらか一方の匂いを選択させた。幼虫を用いた試験を除き、調査は雌雄別に行った。光による影響を排除するため試験は 25 ± 1°C の暗条件下で行った。試験開始 2 時間後にそれぞれのトラップ内にいる虫数を数え、比較解析した。

② スズメノカタビラ香気に対する嗅覚応答：スズメノカタビラ香気に対する嗅覚応答を次の生育段階および成虫の生理状態ごとにオルファクトメーター試験で調査した。A) 3 齢幼虫、B) 未交尾雌、C) 既交尾 2-3 日齢 (産卵前) 雌、D) 既交尾 6-9 日齢 (産卵) 雌、E) 未交尾雄、F) 既交尾 2-3 日齢雄、G) 既交尾 6-9 日齢雄。オルファクトメーターの処理区にはスズメノカタビラ地上部全草 5 g と蒸留水 1 ml を加えた湿ろ紙 1 枚を、対照区には湿ろ紙 3 枚を入れ、処理区と対照区の香気をカメムシに選択させた。

③ スズメノテッポウ、メヒシバ、オヒシバ香気に対する嗅覚応答：雌雄成虫の 3 種イネ科雑草香気に対する嗅覚応答をオルファクトメーター試験で調査した。成虫は生理状態別ではなくランダムに選供試した。供試植物は穂と茎葉部に分け、部位別に誘引性を調査した。その他の試験方法は上記②に準じた。

④ イネ香気に対する嗅覚応答：雌雄成虫のイネ香気に対する嗅覚応答をオルファクトメーター試験で調査した。イネの生育段階別、部位別に誘引性を調査し、比較した。

試験方法は上記③に準じた。

⑤ イネとイネ科雑草香気間の選好性の変化：イネ香気とイネ科雑草香気に対するアカヒゲホソミドリカスミカメの選好性がイネの生育段階によって変化するか、オルファクトメーター試験により調査した。オルファクトメーターの片側にイネと湿ろ紙 1 枚を、もう片側にイネ科雑草と湿ろ紙を設置し、どちらの側を選択するか調査した。イネは生育段階、部位別に供試し、イネ科雑草は選択させるイネの生育段階時に優占種となっているものを供試した。その他の試験方法は上記③に準じた。

(2) イネ香気成分の分析：イネ香気成分は SPME (100 μm ポリジメチルシロキサン) で抽出し、GC-MS で分析した。ミニナートバルブ付きサンプルバイアルにイネ 5 g を入れ、SPME で 30 分間抽出した。イネ香気は生育段階・部位別に抽出・分析した。GC-MS のリテンションタイムとマススペクトルにより物質を同定した。

(3) イネ香気成分の誘引性評価：イネ香気誘引性はオルファクトメーター試験により調査した。上記(2)で同定された開花期穂香気に含まれる主要成分について、単独、あるいは複数成分の混合物の誘引性を評価した。試験物質はゴムキャップに添加し供試した。ゴムキャップから放出される成分量は開花期のイネ穂から放出される量と同程度になる量とした。ただし、β-caryophyllene については、放出量と誘引効果との関係についても調査した。ゴムキャップへの各物質の添加量と放出量の関係は、各物質を添加したゴムキャップのヘッドスペース成分を SPME で抽出、GC-MS で分析することにより求めた。

## 4. 研究成果

(1) スズメノカタビラ香気に対する嗅覚応答：スズメノカタビラ香気に対するアカヒゲホソミドリカスミカメの嗅覚応答は図 1 に示したとおりである。3 齢幼虫はスズメ

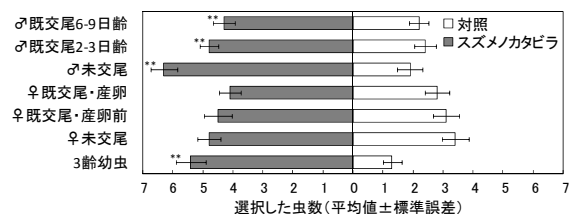


図1 スズメノカタビラ香気に対するアカヒゲホソミドリカスミカメの嗅覚応答  
\*\*：p < 0.01で有意差あり(ウイルクソンの符号付順位検定)

ノカタビラ香気に強く誘引された。雄成虫は生理状態に関わらずスズメノカタビラ香気に有意に誘引された。未交尾雄と既交尾雄を比較すると未交尾のほうが強く誘引さ

れた。雌成虫はいずれの生理状態のものも有意ではないが、誘引される傾向を示した。(2) スズメノテッポウ、メヒシバ、オヒシバ 香気に対する嗅覚応答：スズメノテッポウ 穂の香気は雌雄両成虫を有意に誘引したが、茎葉の香気はどちらも誘引しなかった (図 2)。メヒシバは穂、茎葉とも雌雄両成虫に対して有意な誘引性を示した (図 3)。オヒシバは穂の香気が雌のみを有意に誘引したが、茎葉の香気はどちらも誘引しなかった (図 4)。

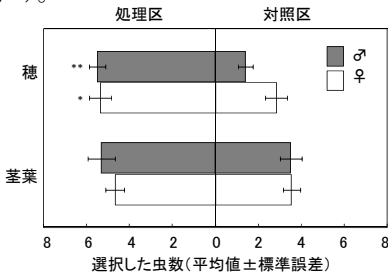


図2 スズメノテッポウ香気に対する嗅覚応答  
\*\*:  $p < 0.01$ で有意差あり(ウィルコクソンの符号付順位検定)

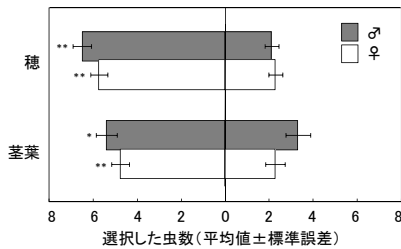


図3 メヒシバ香気に対する嗅覚応答  
\*, \*\*:  $p < 0.05, 0.01$ で有意差あり(ウィルコクソンの符号付順位検定)

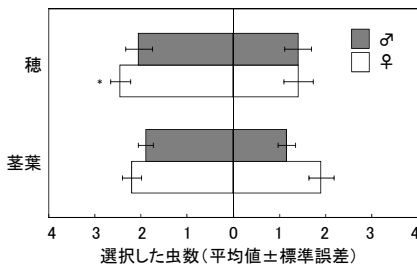


図4 オヒシバ香気に対する嗅覚応答  
\*:  $p < 0.05$ で有意差あり(ウィルコクソンの符号付順位検定)

(3) イネ香気に対する嗅覚応答：イネの生育に伴う誘引性の変化を図 5 に示した。雌は幼穂形成期の地上部全草 (以下、全草) お

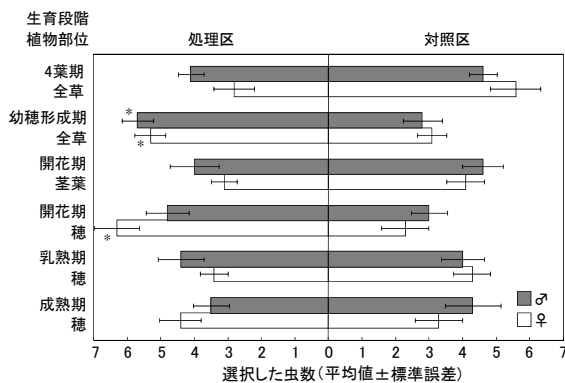


図5 イネの生育段階・部位別の誘引性の違い  
\*\*:  $p < 0.01$ で有意差あり(ウィルコクソンの符号付順位検定)

よび開花期穂の香気に有意に誘引されたが、4葉期の全草、開花期の茎葉、乳熟期および成熟期の穂の香気には誘引されなかった。開花期穂の誘引性は幼穂形成期全草の誘引性よりも高かった。雄は幼穂形成期の全草に有意に誘引されたが、他の生育段階のいずれのイネ部位の香気にも誘引されなかった。

(4) イネの生育に伴うイネとイネ科雑草香気間の選好性の変化：イネ香気とイネ科雑草香気間の選好性は、イネの生育に伴い変化した (図 6)。イネが4葉期の時はイネとスズメノカタビラ間で有意な選好性は認められなかったが、イネ5葉期では、イネ香気よりもスズメノテッポウ香気のほうが有意に選好した。イネ幼穂形成期においても、アカヒゲホソミドリカスミカメはイネ香気よりもイネ科雑草のスズメノカタビラ、スズメノテッポウ香気のほうが好んだ。開花期になるとイネとイネ科雑草香気間の有意な選好性は認められなくなった。開花中期 (穂の全ての花が開花している状態) では有意差は認められなかったものの、イネ科雑草のスズメノカタビラ香気よりもイネ穂香気のほうが好む傾向が認められた。イネが乳熟期～成熟期になると、イネ科雑草のメヒシバやオヒシバ香気とイネ香気との間には誘引性は全く認められなくなった。

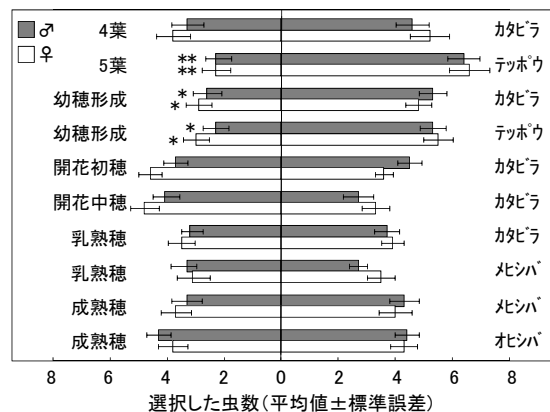


図6 イネとイネ科雑草香気間のイネの生育に伴う選好性の変化  
\*\*:  $p < 0.01$ で有意差あり(ウィルコクソンの符号付順位検定)

(5) イネ香気の変化に伴う変化：イネの香気成分組成はイネの生育に伴い大きく変化することが明らかになった (図 7～10)。幼穂形成期全草および開花期穂からはテルペン類である  $\beta$ -caryophyllene や  $\beta$ -elemene が他の生育段階に比べ特徴的に多く放出されていた。また、幼穂形成期ではこの他に、 $\alpha$ -humulene と  $\alpha$ -farnesene が、開花期穂では  $n$ -tridecene と 3-octanone、methyl benzoate が他の生育段階と比べて、特徴的に多く放出されていた。分析した全生育段階・部位を通じて、geranyl acetone の含有率が高かった。

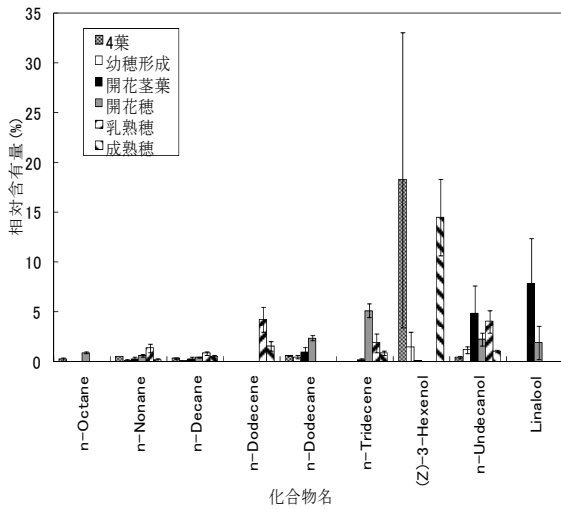


図7 イネ香気中の炭化水素、脂肪族アルコール、テルペンアルコール類の相対含有量

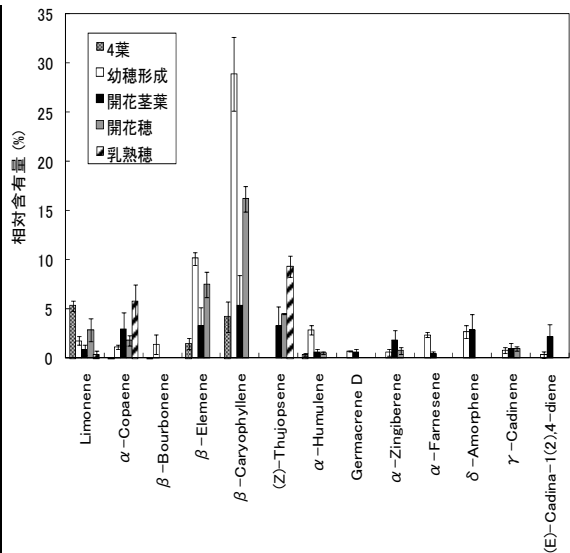


図10 イネ香気中のテルペン類の相対含有量

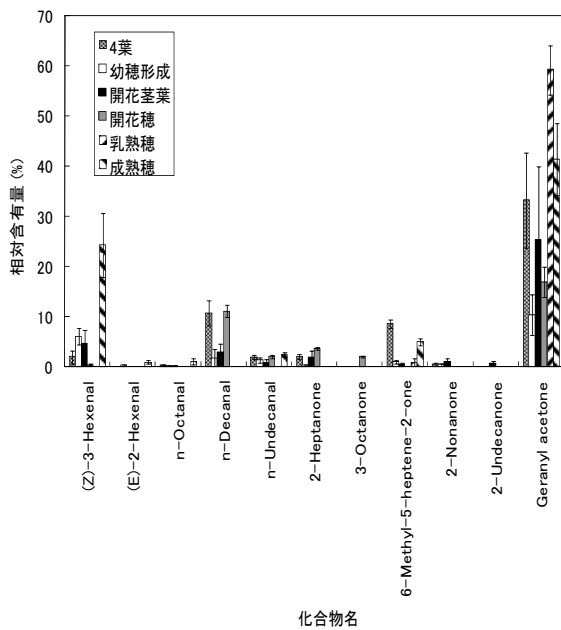


図8 イネ香気中のアルデヒド、ケトン類の相対含有量

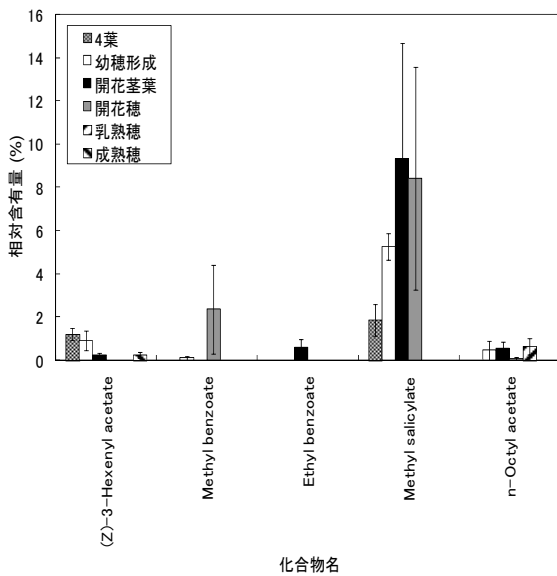


図9 イネ香気中のエステル類の相対含有量

(6) イネ香気成分の誘引性：幼穂形成期全草および開花期穂での放出量が特異的に多いβ-caryophylleneは開花期イネ穂からの放出量と同程度の時に雌に対して有意な誘引性を示した(図11)。この放出量の1/10倍

β-Caryophyllene放出量

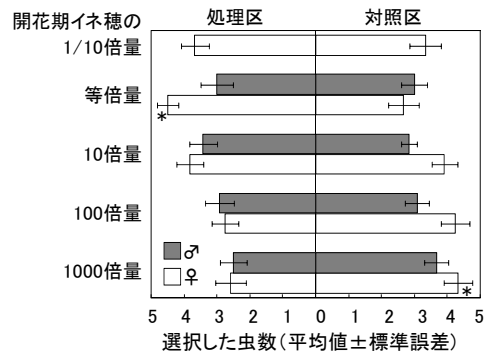


図11 β-Caryophylleneの誘引効果  
\*\*：p < 0.01で有意差あり  
(ウィルコクソンの符号付順位検定)

量では、反応は認められなかった。放出量が多くなると逆に忌避傾向を示し、1000倍量では有意な忌避性を示した。雄成虫では、いずれの濃度においても誘引性が認められず、1000倍量では忌避傾向を示した。β-Caryophylleneと同様、幼穂形成期全草および開花期穂での放出量が特異的に多いβ-elementeneは雄成虫に忌避傾向を示した(図12)。β-Elementeneをβ-caryophylleneに添加すると、β-caryophylleneが有していた誘引性は消失した。ゆえに、β-elementeneは誘引に抑制的に働くことが示唆された。開花期穂での放出量が多いβ-caryophyllene、β-elementene、n-decanal、geranyl acetone、methyl benzoateの5成分混合物およびこれ

に methyl salicylate を加えた 6 成分混合物はいずれも誘引性を示さなかったが、さらにこれに *n*-tridecene を加えた 7 成分混合物は雌成虫を有意に誘引し、雄成虫にも誘引傾向を示した。このことから *n*-tridecene は開花期穂の誘引性の一因子であることが明らかになった。この 7 成分混合物から methyl benzoate を取り除いた 6 成分混合物では、7 成分混合物でみられた雌に対する誘引性が消失することから、methyl benzoate は雌の誘引に関与していることが明らかになった。7 成分混合物に (Z)-thujopsene を加えた 8 成分混合物、さらに 2-heptanone を加えた 9 成分混合物、*d*-limonene も加えた 10 成分混合物は、いずれも誘引性を示さなかった。このことから、(Z)-thujopsene は誘引に抑制的に働くことが示された。また、この 10 成分混合物から (Z)-thujopsene を除いた 9 成分混合物でも誘引性は回復しなかったことから、(Z)-thujopsene 以外にも誘引に阻害的に働く物質の存在が示唆された。以上から、開花期のイネ穂香気の本種に対する誘引性には、少なくとも  $\beta$ -caryophyllene、*n*-tridecene、methyl benzoate の 3 成分が関与していることが明らかになった。

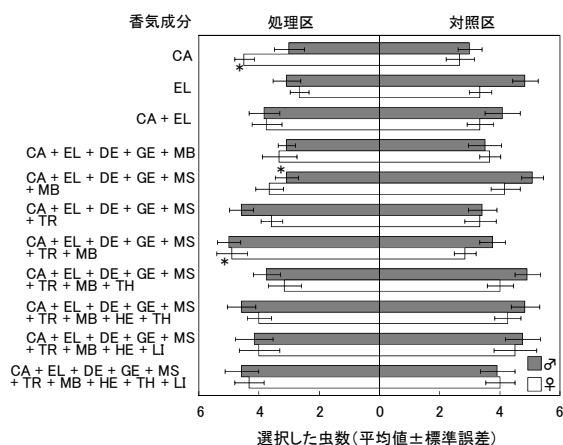


図12 イネ開花期穂主要香気成分混合物の誘引効果  
 CA:  $\beta$ -Caryophyllene; EL:  $\beta$ -Elemene; DE: *n*-Decanal; GE: Geranyl acetone; MB: Methyl benzoate; MS: Methyl salicylate; TR: *n*-Tridecene; TH: (Z)-Thujopsene; HE: 2-Heptanone; LI: *d*-Limonene  
 \*\*:  $p < 0.01$ で有意差あり  
 (ウィルコクソンの符号付順位和検定)

(7) 考察：斑点米カメムシの重要種、アカヒゲホソミドリカスミカメは寄主探索に寄主から放出される香気を情報として利用していることが示唆された。彼らの水田への侵入も、開花期のイネ穂から放出される香気の誘引性により起こることが示された。幼穂形成期のイネも本種に誘引性を示すが、この時期まではイネ科雑草の香気を好むため、出穂期以前は水田内にあまり侵入しないと考えられた。イネが開花するとイネ科雑草よりもイネ香気のほうをやや好むようになるため、イネ科雑草あるいはイネ科牧

草地からの侵入量が急激に増加するものと考えられた。開花期イネ穂の香気は雌には有意な誘引性を示したが、雄には誘引傾向は示すものの、有意な誘引性は示さなかった。雄は雌の性フェロモンに誘引されることが知られていることから、雄は開花期イネ穂香気他に性フェロモンを利用して水田内に侵入していると考えられる。また、開花期穂香気の誘引性には、単独でも誘引性を示した $\beta$ -caryophyllene、添加することで誘引性の増加が認められた *n*-tridecene、methyl benzoate の少なくとも 3 化合物が関与していることが明らかになった。これら 3 化合物は開花期において穂からの放出量が特異的に多くなる物質であることから、イネが開花するとこれらの物質が放出され、それによりアカヒゲホソミドリカスミカメは水田内に侵入してくることが明らかになった。

(8) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクトおよび今後の展望：斑点米は等級検査時に着色粒として扱われ、玄米への混入率が 0.1% を超えると 2 等、0.3% を超えると 3 等、0.7% を超えると等外と、米の等級落ちの大きな原因になっており、甚大な経済的被害を与えている。そのため、国、県の試験場を中心に斑点米カメムシに関する研究が精力的に行われている。斑点米カメムシはイネの出穂を契機に水田内へ侵入することが知られていたが、その要因についてはこれまで解明されていなかった。そのような背景から、水田への侵入メカニズムを解明すること、また、それを利用した新たな防除技術の確立が強く望まれていた。本研究により、斑点米カメムシの水田への侵入が、開花期のイネ穂から放出される香気の誘引性によるものであることが初めて明らかになった。この知見は、斑点米カメムシの効率的な防除対策を組み立てる上で大いに役立つと考える。さらに、本研究では、物質レベルで開花期イネ穂の誘引性を解明することに成功した。発生予察用の誘引トラップへの利用や誘引を利用した新たな防除技術の確立に繋がる成果として期待できる。現在、斑点米カメムシの発生予察は全国の都道府県で行われているが、捕虫網を使ったすくい取りによるモニタリングがいまだに主流である。しかし、この方法は労力を要するだけでなく、調査する人によって精度にバラツキが生じるなどの問題がある。アカヒゲホソミドリカスミカメでは性フェロモントラップが市販され一部で利用されているが、性フェロモンは雄が交尾に利用するものであり、必ずしも水田に侵入しようとしている生理状態のカメムシをモニタリングできるものではない。本研究で発見した開花期のイネ穂香気中に

含まれる誘引物質は、斑点米カメムシが水田へ侵入する要因となっているもののため、これを用いたモニタリングトラップは水田内に侵入するカメムシのリスクを事前により的確にとらえることができる。本成果は省力的かつ精度の高い発生予察技術の確立に貢献できる可能性が高い。また性フェロモンと本成果の誘引物質を組み合わせることにより高い誘引効果が得られれば、直接的な防除に利用できる捕殺能力の高いトラップの開発に繋がるかもしれない。

以上のように、本研究成果は国内の斑点米防除研究に大きなインパクトを与えるものであるが、同時に、昆虫の寄主探索行動の解明という面で、国際的にもきわめてインパクトの高い成果である。昆虫が寄主探索に寄主の香気を利用していることは多くの種で知られているが、植物の生育に伴い放出される香気が変化し、昆虫への誘引性も変化するという研究例はこれまでにあまりない。また、昆虫の寄主探索における植物香気の役割について、物質レベルで証明できている研究は数少ない。そのようなことから、本研究成果は昆虫の寄主探索における寄主植物香気の役割を詳細に調査したきわめて重要な例になると考えられる。

今後は、開花期のイネ穂の誘引性の原因物質をさらに詳細に調査することにより、より効果的な物質の組み合わせ方を明らかにする。また、野外における実用性試験も行い、実用的なモニタリングトラップへの利用技術の確立に向けた研究を行う。さらに、性フェロモンとの相乗効果についても調査し、誘引力の高いトラップの開発につなげる。これらの研究により、本成果を実際の農業での活用に繋げていく計画である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4件)

- ① Tatsuya Fujii, Masatoshi Hori and Kazuhiro Matsuda, Influence of host plant odours on invasion of the rice leaf bug *Trigonotylus caelestialium* (Heteroptera: Miridae) into paddy fields, *Agricultural and Forest Entomology*, in press, 2009, 査読有
- ② 堀雅敏、寄主植物香気成分を利用した斑点米カメムシ誘引剤の開発、*今月の農業*、53巻、44-49、2009、査読無
- ③ 藤井達也、堀雅敏、松田一寛、アカヒゲホソミドリカスミカメの水田内侵入メカニズム、*バイオコントロール*、12巻、27-31、2008、査読無
- ④ Tokumitsu Niiyama, Tatsuya Fujii,

Masatoshi Hori and Kazuhiro Matsuda, Olfactory response of *Trigonotylus caelestialium* (Het.: Miridae) to rice plant and gramineous weeds, *Journal of Applied Entomology*, 131, 513-517, 2007, 査読有

[学会発表] (計 3件)

- ① 藤井達也、堀雅敏、松田一寛、新山徳光、イネ香気中に含まれるアカヒゲホソミドリカスミカメの誘引物質、第52回日本応用動物昆虫学会大会、2008年3月27日、宇都宮市
- ② Tatsuya Fujii, Masatoshi Hori, Tokumitsu Niiyama, Kazuhiro Matsuda, Influence of host plant odors on invasion of rice leaf bug into paddy fields, 4<sup>th</sup> Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology, 2007 September 14, Tsukuba, Japan
- ③ 藤井達也、堀雅敏、新山徳光、松田一寛、アカヒゲホソミドリカスミカメの水田内侵入に及ぼす寄主植物香気の影響、51回日本応用動物昆虫学会大会、2007年3月29日、東広島市

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

(1) 報道

- ① 増えるカメムシの被害、カメムシとの闘いは新局面に など、共同通信、河北新報など、2008年10~11月
- ② 研究ノート拝見 虫が好むにおい予測、河北新報、2008年6月22日

(2) フェア出展

- ① 東北大学イノベーションフェア 2008 in 仙台、2008年9月30日
- ② アグリビジネス創出フェア 2008、2008年10月29-30日

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀 雅敏 (HORI MASATOSHI)  
東北大学・大学院農学研究科・助教  
研究者番号：70372307

(2) 研究分担者

新山 徳光 (NIIYAMA TOKUMITSU)  
秋田県農林水産技術センター農業試験場・生産環境部・主任研究員  
研究者番号：60390978

(3) 連携研究者