

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05677

研究課題名（和文）広食性昆虫（ハスモンヨトウ）の味覚受容システムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of taste perception mechanism in polypahgous insect pest, *Spodoptera litura* larva.

研究代表者

龍田 勝輔（Ryuda, Masasuke）

佐賀大学・総合分析実験センター・助教

研究者番号：00565690

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：広食性のハスモンヨトウ幼虫は花卉・蔬菜類の農作物を加害する重要害虫であるにも関わらず、その摂食行動を制御する味覚・嗅覚等の化学情報受容メカニズムは未解明である。

本研究は本種の味覚受容解明を目的としており、摂食行動実験および電気生理実験により基礎的な味覚受容を推定した結果、本種幼虫は他種昆虫とは異なる味覚受容システムを持つことが示唆された。特に、味覚応答が既知である昆虫と比較して水および塩に対する感受性が高いことが明らかとなった。加えて、本種幼虫がもつ味覚感覚子の摂食行動制御に関わる機能を推定し、Maxillary palpによる塩受容が塩による摂食抑制効果に寄与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広食性の植食性昆虫（数種類以上の植物を摂食する昆虫）の味覚は未解明な部分が多い。昆虫が植物に含まれる成分（味物質）をどのように味わうのか、その味情報が食べる行動にどのように結びつくのかを明らかにすることは、昆虫の基本的な感覚機能を知るという基礎的研究であるとともに、味覚を利用した害虫防除の一助といった応用的研究への可能性を持つ。本研究は、特に、他種生物が好む低濃度塩を広食性昆虫であるハスモンヨトウ幼虫が嫌って食べないことを発見しており、塩受容というシンプルな味覚受容を利用した作物加害抑制系の構築を目指している。

研究成果の概要（英文）：Although *Spodoptera litura* larva is an important pest that feeds more than 100 types of agricultural products, the mechanism of receiving chemical information such as taste and smell that regulates feeding behavior has not been elucidated.

The purpose of this study was to elucidate the taste perception of this species. As a result of estimating basic taste recognition by feeding behavior assay and electrophysiological approach, it was suggested that larva has a taste recognition system different from that of other species insects. In particular, larvae were more sensitive to water and salt comparing with other insects that already have a well-known taste perception. In addition, we estimated the function of taste sensilla of larva against controlling the feeding behavior, and suggested that salt perception by Maxillary palp may contributes to the feeding suppression effect of salt.

研究分野：昆虫生理学

キーワード：広食性昆虫 味覚 塩受容 摂食行動

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

昆虫の味受容研究はショウジョウバエ、単・狭食性の鱗翅目昆虫に限定されており、重要害虫の味覚受容解析は乏しい。そこで、代表者は、広食性昆虫(ハスモンヨトウ)を実験材料に選び、これまで摂食実験による本種幼虫の味覚受容解明を進めてきた。昆虫の基本味と考えられる糖、塩、苦味物質への応答を確認したところ、興味深い事に、動物(昆虫)が嗜好する5~100 mMの低濃度塩に対しハスモンヨトウ幼虫が忌避行動を示し、その摂食行動は強く抑制された。

塩の摂取は動物にとって生命活動維持に必須であり、数十 mM以下の塩は美味しく感じるが、高濃度塩に対しては忌避行動を示す。塩濃度による嗜好性の変化は、約100 mMの濃度を境界とし、低濃度塩受容細胞(摂食促進シグナル)と高濃度塩受容細胞(摂食忌避シグナル)によって制御されるが(4,5) 本種幼虫は塩濃度による嗜好性変化の境界濃度が極めて低いこと、もしくは、他種昆虫と異なり、塩受容の境界濃度はなく摂食忌避シグナルのみ(1種類)である可能性が予想された。本種は塩をどのように受容し、忌避行動を引き起こすのか?この問いを解決するには、本種の味覚受容細胞の機能的解析が可能である電気生理学的手法を用い、基礎的味覚受容を解明することが必須である。

### 2. 研究の目的

本研究の基盤的目的は、広食性昆虫(ハスモンヨトウ)の味覚受容(特に塩受容)システムの全容解明である。応用的・発展的目的として、昆虫の味覚受容システムを利用した新規害虫防除法の検証、食性の差異による味覚受容の相違性の解明を行う。

### 3. 研究の方法

#### 3-1 電気生理学的手法によるハスモンヨトウの味覚受容機構の解明

基礎的な味覚受容の解明には、電気生理学的手法による味覚受容器官内部の味細胞の機能解析が必須である。そこで、昆虫の基本味とされる、水・糖・塩・苦味物質の電気生理学的解析を行う。活動電位の電圧および発生パターンを解析し、味覚器官単位での単一化合物への応答細胞数を特定した。

#### 3-2 低濃度塩によるハスモンヨトウの摂食阻害効果の検証

塩による摂食阻害効果の検証には、主に人工餌を用いた摂食実験にて実施した。細胞培養用に販売されている直径10cm深底シャーレおよび内部が4分割された10cmシャーレを使用した。供試昆虫は3齢もしくは6齢(終齢)幼虫とした。3齢幼虫は1試験あたり20頭を使用した。幼虫を20時間絶食させた後、実験シャーレに入れて青色1号で着色した餌を摂食させた。24時間後に幼虫を50%エタノールに入れて虫体を破砕し、遠心分離の後、上清を回収した。回収した上清の吸光度を測定することにより1頭あたりの摂食量を算出した。6齢幼虫の摂食実験では、1辺が2cmの正方形である濾紙上に設置した人工餌を用い、摂食開始から24時間後の人工餌の減少重量を測定することで摂食量を算出した。

### 4. 研究成果

電気生理実験により、本種幼虫が他種昆虫と同じく、水・糖・塩・苦味物質に応答する味受容細胞を持つことが明らかとなった。味細胞のレポーターは他の鱗翅目昆虫と差異はないものの、本種幼虫の味細胞は、塩および水に対して高感度応答を示すことがわかった。また、鱗翅目幼虫口器には、Maxillary palp (MP)、Sensilla styloconica 1(Ss1)、Sensilla styloconica 2(Ss2)といった3種類の味覚感覚子が同存在することが知られており、本種幼虫口器も同様であることを走査型電子顕微鏡観察で確認している。この3種類の感覚子の中で、塩に対する応答はMPが最も鋭敏であり、熱もしくは切除処理によりMP感覚子の機能を欠如させた幼虫は塩含有餌の摂食量が増加した。よって、MPによる塩受容およびその神経シグナルが塩による摂食阻害効果に大きく寄与していることが予想された。

昆虫の摂食行動を抑制する味物質は高濃度塩と苦味物質である。そこで塩と苦味物質を混合させた場合の摂食抑制効果を摂食実験により検証した。キイロショウジョウバエにおける先行研究で用いられている4種の苦味物質を試した結果、いずれも摂食抑制効果が確認できたが、塩と混合させた場合の相乗・相加効果は確認できなかった。本研究の応用的展開を考慮すると摂食抑制効果を示す各化合物は限りなく低濃度であることが望まれるため、引き続き相乗・相加効果を

示す組合せを探索したい。

塩受容をターゲットとした害虫防除の確立には、塩忌避における高感受性が本種の普遍的な表現型であるかを検証する必要がある。そこで、九州・沖縄地域より本種を採集した後、摂食実験を行った結果、野外採集個体においては個体差及び地域差が非常に大きいことが明らかとなった。つまり、本実験にて使用した累代飼育系統と同様に低濃度塩に対して高感受性を示す地域もあれば、全く低濃度塩を忌避しない地域も存在した。さらに、これらの感受性の異なる個体群を用いて電気生理実験を行った結果、低濃度塩受容パターンに差異が確認できたことから、感覚機能レベルでの差異が地域差の要因であると予想された。今後はこれらの塩感受性差異の要因を明らかにするべく分子ターゲットの機能解明に着手できればと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 龍田勝輔・大塚悠河
2. 発表標題 農業害虫の味覚受容解析とその応用展開の可能性
3. 学会等名 第43回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 南川華衣・糸山優・大塚悠河・内田大貴・龍田勝輔
2. 発表標題 塩・苦味物質による広食性昆虫の摂食抑制効果
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 糸山優・南川華衣・大塚悠河・龍田勝輔
2. 発表標題 広食性昆虫ハスモンヨトウの塩に対する高感受性
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 龍田勝輔・臼井茉莉恵
2. 発表標題 熱ストレスによるショウジョウバエの摂食行動の変化
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大塚悠河・内田大貴・龍田勝輔
2. 発表標題 ハスモンヨトウの味覚受容機能の解析
3. 学会等名 第42回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuga Otsuka and Masasuke Ryuda
2. 発表標題 Taste perception in polyphagous insect pest, <i>Spodoptera litura</i>
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会（2018年）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大塚悠河・龍田勝輔
2. 発表標題 ハスモンヨトウの味覚受容機能の探索
3. 学会等名 九州病害虫研究会（第97回研究発表会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 南川華衣・大塚悠河・龍田勝輔
2. 発表標題 塩による広食性農業害虫の摂食抑制効果
3. 学会等名 第55回日本味と匂学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 南川華衣・大塚悠河・糸山優・龍田勝輔
2. 発表標題 電気生理学的手法を用いた広食性農業害虫「ハスモンヨトウ」の味覚機能解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	永野 幸生  (Nagano Yukio)  (00263038)	佐賀大学・総合分析実験センター・准教授    (17201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------