

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：32682  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2012～2014  
課題番号：24780028  
研究課題名(和文) アブラナ科植物とモンシロチョウのヘッドスペース揮発性成分を介した相互作用の解明

研究課題名(英文) Elucidation of interaction both *P. rapae* and Brassicaceae plants by headspace volatile compounds

研究代表者  
池浦 博美 (IKEURA, HIROMI)  
明治大学・公私立大学の部局等・講師

研究者番号：10440158  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、モンシロチョウメス成虫とアブラナ科植物が自然に揮散しているヘッドスペースとの相互作用について解明することを目的とした。アブラナ科植物のキャベツに対する生育期間中のヘッドスペース揮発性成分の経時変化は、生育するにつれ増加したが、メス成虫の選好性は、60日以降大幅に多くなったが、キャベツのヘッドスペース量とメス成虫の飛来数との間に相関は認められなかった。以上より、今回確立したヘッドスペース回収法により回収したキャベツ揮発性成分は、メス成虫を誘引可能であることが判明した。

研究成果の概要(英文)：I focused on the knowledge needed to develop a control method against a destructive insect, *Pieris rapae crucivora*, which is a major pest of the Brassicaceae family that includes many economically important vegetable crops, and elucidation of interaction both *P. rapae* and Brassicaceae plants by headspace volatile compounds. Headspace volatile components in the growth period of cabbage was increased with growing, but the preference of female adults was increased substantially after 60 days after transplanting. Thus, no correlation between the head space amount of cabbage and the flying number of female adults were observed. From these results, it was found that cabbage volatile components that recovered by the newly established headspace recovery method was possible to attract female adults.

研究分野：園芸学

キーワード：モンシロチョウ アブラナ科植物 ヘッドスペース

### 1. 研究開始当初の背景

現在、食の安全や環境問題などから環境保全型・資源循環型農業への関心が高まる中、化学農薬や化学肥料の使用による健康障害と環境汚染が危惧されるようになり、無農薬・有機栽培、減農薬栽培への方向性が強まっている。しかし、これらの農法は病害虫による被害が発生しやすく、特に、キャベツ、ハクサイ、ダイコンなどの主要野菜が多く含まれるアブラナ科植物では、モンシロチョウが大きな被害をもたらす害虫として問題となっている。モンシロチョウメス成虫は、アブラナ科植物を特異的に探索・産卵し、その幼虫が同植物を食害することが知られている。

これまでに、アブラナ科植物の害虫であるモンシロチョウと同じ位置づけとしてのコナガに対する害虫防除に関する研究は多くなされている。コナガは、モンシロチョウと同様アブラナ科植物を特異的に探索・食害し、その防除方法として天敵昆虫の誘引成分を利用した研究がほとんどである。一方、モンシロチョウに関する研究は、メス成虫に対するアブラナ科植物の産卵刺激物質および幼虫に対する摂食刺激物質や天敵昆虫の誘引成分などの研究が多くなされている。また、メス成虫が産卵のためにアブラナ科植物を多くの植物の中からどのように探し出しているのか(探索機構)については殆ど研究例がないものの、申請者のこれまでの研究により、メス成虫は視覚情報を利用して植物一般を探索し、その後嗅覚情報を利用して寄主植物(アブラナ科植物)が有している揮発性成分を認識し、同植物を識別していることを見出した。これは、揮発性成分を介したアブラナ科植物とモンシロチョウとの直接的なコミュニケーションシステムの存在を想定させるものとなり、これを解明することは、化学生態学の領域への発展に大きく貢献するとともに、環境や人体に負荷のかからない病害虫防除法の開発に繋がるものと期待される。

申請者は、これまでに未交尾のモンシロチョウメス成虫は寄主植物探索行動を全くせず、交尾後直ちに産卵のために、寄主植物への探索行動をとることが判明した。次に、透明または黒色のポリエチレンバッグで寄主植物および非寄主植物を被覆して「見える見えない」区とし、さらにバッグの穴の有無によって「匂える 匂えない」区とした組み合わせ実験から、モンシロチョウは目視できるが匂えない区では、キャベツとレタスを区別することが出来ず、嗅覚によって寄主植物を識別していることを明らかにした。また、匂えない区同士の観察では、目視できる区のキャベツとレタスへの飛来数が多く、視覚的に植物を認識していることを明らかにした。また、アブラナ科植物のキャベツを使用した揮発性抽出液の抽出法を変えることによって、選好性が異なることを見出し、しかもそ

の選好性は抽出物の濃度と明らかな正の相関が認められることを確認した。しかしながら、モンシロチョウメス成虫は、自然条件下において植物が自然に揮散している揮発性成分(以下、「ヘッドスペース」とする)に誘引されていると想定されるが、その揮発性成分の揮散量や組成比とモンシロチョウメス成虫の誘引性強度についての研究は見当たらない。これまで花が放出する揮発性成分と花卉が蓄積している揮発性成分組成は異なることが示されており、植物が内部に含有している揮発性成分がそのままの組成比で揮散しているとは限らない。

### 2. 研究の目的

モンシロチョウメス成虫はアブラナ科植物が揮散しているヘッドスペースを鍵に、同植物を探索していることが予想される。このヘッドスペースから揮発性誘引成分を特定することによって、環境や人体に負荷を与えない生物農薬(誘引トラップ)の開発の糸口になると考えられる。このことから、本研究では、モンシロチョウメス成虫とアブラナ科植物が自然に揮散しているヘッドスペースとの相互作用について解明することを目的とし、以下の3項目について検討した。(1)アブラナ科植物キャベツを用いて、モンシロチョウメス成虫を誘引するヘッドスペースを回収する際の吸着剤の種類、吸着剤量、流量および回収時間を検討する。(2)キャベツを含む5種のアブラナ科植物のヘッドスペースを回収し、さらに回収液をガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)で定量および定性し、モンシロチョウメス成虫選好性強度の品目間差異を検討する。(3)アブラナ科植物キャベツの生育期間中に連続的に放出したヘッドスペース量および組成を経時的にGC-MSを用いて解析し、モンシロチョウメス成虫の選好性強度との相互関係を解析する。

### 3. 研究の方法

(1)アブラナ科植物キャベツ揮発性成分におけるヘッドスペース最適回収法の確立。

回収にはアブラナ科植物キャベツの主要18成分の標品(Pentanol、2-Butanol、2-Methyl-3-buten-2-ol、Dimethyl disulfide、3-Pentanol、1-Penten-3-ol、1、8-Cineole、Methyl thiocyanate、Hexyl acetate、(Z)-3-hexenyl acetate、6-Methyl-5-hepten-2-one、Allyl isothiocyanate、1-Hexanol、1-Octanol、Acetophenone、1-nonanol、Methyl salicylate、Phenylethyl alcohol)を、樹脂はPorapak Q、Heysep Q、Heysep P、Tenax TAを供試した。

ヘッドスペース揮発性成分回収方法は、図1の植物体に替わりにろ紙を置き実施した。すなわち、調製した樹脂をガラスカラムに充填し、カラムには、デシケーター(内径30cm)にアブラナ科18成分標品1.5mlを処理したろ紙を入れ密封しエアポンプで一定量の

空気を送り、樹脂に揮発性成分を吸着させた。なお、におい除去のためエアポンプから送る空気は活性炭に通した。また、回収吸着剤の充填カラムは、中空ガラスカラム（内径2.0×20 cm）とし、最大20 ml まで充填可能である。

吸着したヘッドスペースはジエチルエーテルで溶出させ、窒素ガス気流下で濃縮し、GC-MS で同定および定量した。

（2）アブラナ科植物5種におけるモンシロチョウメス成虫の誘引性およびヘッドスペース誘引成分の特定。

キャベツを含めた主要なアブラナ科野菜、ブロッコリー、ハクサイ、ダンコン、カラシナ5種をポット栽培し、モンシロチョウメス成虫の産卵行動が活発となる時間帯（8時～14時）に収穫適期前の5種が放出する揮発性成分を図1に示す装置で回収した。回収条件は、前項（1）の最適回収法を用いた。なお、5種の植物体への選好性強度は、図2に示す方法通り、レタス+ろ紙を置き実施した。回収液の成分分析は、GC-MS で同定・定量を行い、共通成分および特徴成分を解析した。

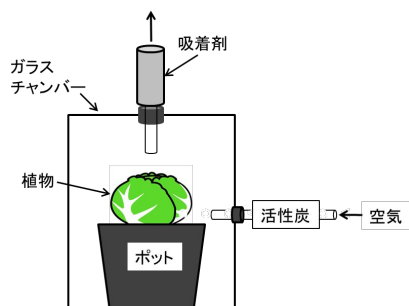


図2 ヘッドスペース(揮発性成分)回収法

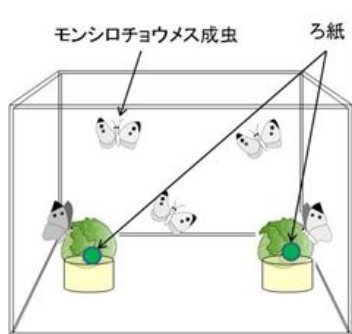


図1 モンシロチョウ生物検定法

ケージ内に選好対象植物としてレタス（通常レタスには選好性は認められない）を両端に設置し、レタスの近辺にヘッドスペース回収液もしくはキャベツ抽出液を塗布したろ紙を設置し、放したモンシロチョウメスのレタスへの飛来数を計測し選好性を評価した。

（3）アブラナ科植物キャベツの生育段階別ヘッドスペースの量的変動および組成とモンシロチョウメス成虫の誘引性強度との相

互関係の解析。

明治大学園場にアブラナ科植物キャベツを収穫期直前まで栽培し、モンシロチョウが飛来する8時～18時までの間で2時間ごとのキャベツヘッドスペースを回収した。回収方法は、図1に示した通り行い、ジエチルエーテルで溶出させ、GC-MS で同定および定量する。同時に、モンシロチョウメス成虫の飛来数および回収液に対する選好性強度を図2に示す方法により測定した。

明治大学園場にアブラナ科植物キャベツを生育し、栽培期間中（定植期～収穫期）、20日毎に、確認したヘッドスペースを放出する時間にキャベツのヘッドスペースを図1に示したように回収し、ジエチルエーテルで揮発性成分を溶出させた後、GC-MS で同定および定量した。同時に、モンシロチョウメス成虫の飛来数および回収液に対する選好性強度を図2の通り測定した。

#### 4. 研究成果

（1）アブラナ科植物キャベツにおけるヘッドスペース最適回収法の確立。

キャベツ含有揮発性標準品18成分における4種の樹脂による回収率は、Porapak Qでは回収率は約1～21%で18成分全て検出された。Heysep Qの回収率約0～14%で17成分、Heysep Pの回収率約0～5%で12成分、Tenax TAの回収率約0～15%で10成分検出された。これらより、樹脂4種の中でPorapak Qの回収率が高い傾向にあり、標準品18成分全てが検出されたのはPorapak Qのみであった。したがって、アブラナ科植物のヘッドスペース回収における樹脂はPorapak Qが最適であると判断された。

樹脂Porapak Qの量の違いにおける標準品18成分の回収率は、樹脂量5 mlで0%、樹脂量10 mlで約18～89%、樹脂量15 mlで約2～7%であり、樹脂量10 mlが最も多く回収可能であった。

標準品18成分における流量の違いにおける回収率は、流量0.5 L/minは0%、流量1 L/minで約6～18%、流量2 L/minで約9～43%となり、流量2 L/minが最も多く回収可能であった。

標準品18成分における回収時間は1、3、6、24および48時間の回収濃度を比較した（図3）。回収時間は、1時間から6時間まではほぼ一定であったものの、24時間以上では6時間の約2倍となり、48時間でもほぼ同レベルであった。一方、回収成分数は、24時間まで時間の経過に伴い増加傾向を示したが、24および48時間ではほぼ同等であった（図4）。

これらの結果より、ヘッドスペースの回収条件は、樹脂Porapak Q、樹脂量10 ml、流量2 L/min、回収時間は24時間が最適であると判断した。

さらに、選好実験に使用したアブラナ科供試植物5種の回収成分総濃度を比較した結果、各植物の揮発性成分回収量は平均1.3 ppmで

あり有意差は認められなかった（図5）。

以上より、ヘッドスペース揮発性成分回収における回収条件は樹脂 Porapak Q、樹脂量 10 ml、流量 2 L/min、回収時間は 24 時間が最適であると判明した。またヘッドスペース揮発性成分回収に用いる植物体は 5 種ともほぼ同濃度で揮発性成分を回収できることが判明した。

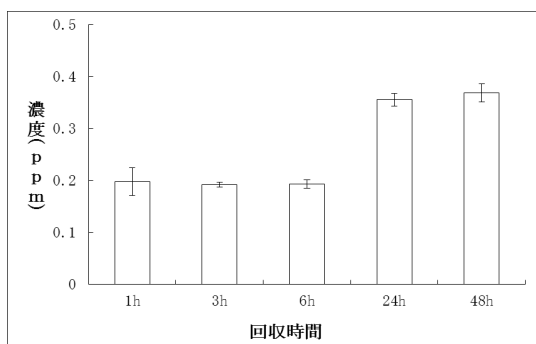


図3. 標準品 18 成分における回収時間の揮発性成分濃度比較

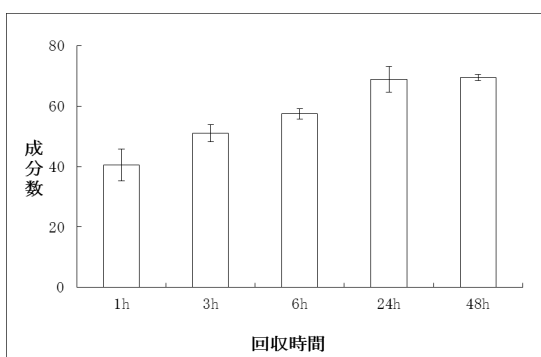


図4. 標準品 18 成分における回収時間の揮発性成分数

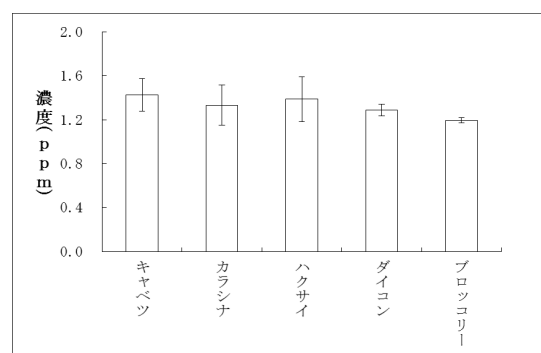


図5. アブラナ科植物 5 種のヘッドスペース揮発性成分回収量

(2) アブラナ科植物 5 種におけるモンシロチョウメス成虫の誘引性およびヘッドスペース誘引成分の特定。  
アブラナ科供試植物 5 種ヘッドスペース回収液に対するモンシロチョウメス成虫の選好性を図 6 に示した。

モンシロチョウメス成虫は非寄主植物であるレタスの抽出液に比べ、アブラナ科供試植物 5 種のヘッドスペース抽出液のほうが 60%と有意に選好した。

これより、ヘッドスペース揮発性成分回収液にはモンシロチョウメス成虫誘引成分が含まれていることが示唆された。

アブラナ科供試植物 5 種が有する揮発性成分は全成分で 133 成分確認された。各植物の揮発性成分は、キャベツ 65 成分、カラシナ 43 成分、ハクサイ 51 成分、ダイコン 52 成分、およびブロッコリー 56 成分が検出された。そのうち、アブラナ科供試植物 5 種に共通して検出されたのは 11 成分で、またアブラナ科供試植物 5 種の特有揮発性成分はキャベツ 19 成分、カラシナ 9 成分、ハクサイ 6 成分、ダイコン 18 成分およびブロッコリー 11 成分であった。その他の成分は 2 種、3 種または 4 種間で共通する成分であった。したがって、アブラナ科植物 5 種に共通に含有している 11 揮発性成分がモンシロチョウメス成虫を誘引するために必要な成分であると推察された。

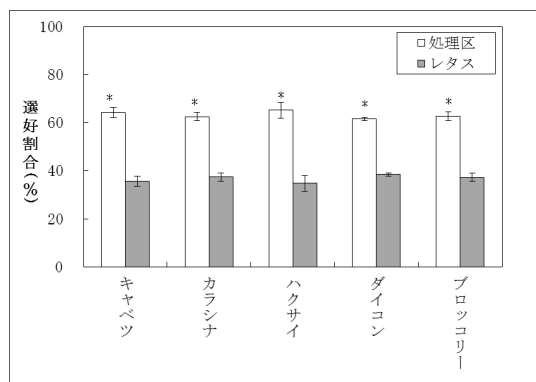


図6. アブラナ科供試植物 5 種ヘッドスペース回収液に対するモンシロチョウメス成虫の選好性

(3) アブラナ科植物キャベツの生育段階別ヘッドスペースの量的変動および組成とモンシロチョウメス成虫の誘引性強度との相互関係の解析。

キャベツ本葉 4~5 枚程度の株の 1 日のヘッドスペース揮発性成分放出量は、8 時で最大となり、時間の経過とともに減少し、回収終了時間の 18 時で最少となり、以降のヘッドスペース揮発性成分回収時間は 8 時とした（図 7）。

次に、キャベツ栽培中の定植後 20 日間隔でヘッドスペース揮発性成分放出量は、日数の経過とともに増加し、定植後 40 日以降は有意差が認められなかったものの、1 株当たりのヘッドスペース揮発性成分放出量は増加傾向を示した（図 8）。

一方で、モンシロチョウメス成虫の 1 日の 2 時間間隔の飛来数は、8 時から飛来し始め 12 時で最大となり、これ以降減少し、18 時

には全く飛来しなかった(図9)。

また、キャベツ栽培における定植後20日間隔のモンシロチョウメス成虫の飛来数は、定植時で36回、20日で40回、40日で41回と40日目まではほぼ一定であったに対し、60日で58回および収穫時で61回と40日目と比較して有意に増加したものの、60日目以降もほぼ一定となった(図10)。

以上より、キャベツヘッドスペース揮発性成分量とモンシロチョウメス成虫の飛来数には高い相関は認められず、キャベツを認識するためにはある一定のヘッドスペース揮発性成分量があれば十分であることが示唆された。

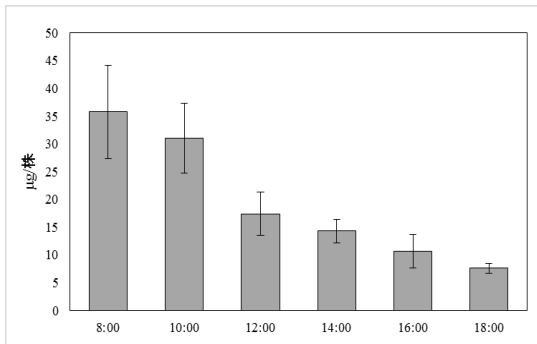


図7. キャベツ幼苗期の1日のヘッドスペース揮発性成分放出量

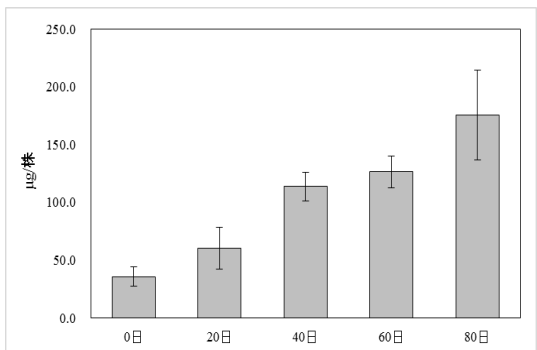


図8. キャベツ定植後日数による午前8時のヘッドスペース揮発性成分放出量

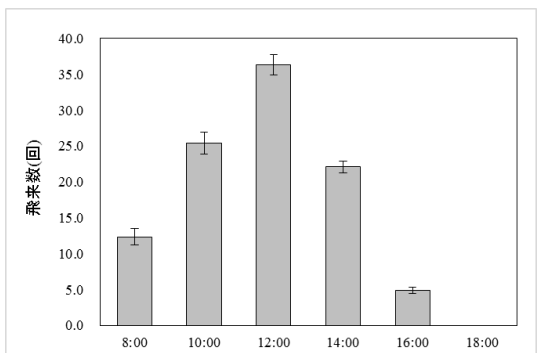


図9. キャベツ幼苗期の1日のヘッドスペース揮発性抽出物に対するモンシロチョウメス成虫の飛来数

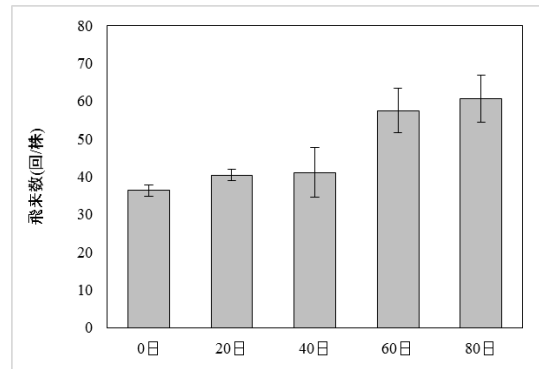


図10. キャベツ定植後日数による午前8時のヘッドスペース揮発性抽出物によるモンシロチョウメス成虫の飛来数

#### 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 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

池浦 博美 (IKEURA HIROMI)

明治大学・研究・知財戦略機構・特任講師

研究者番号：10440158