

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：87110

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450476

研究課題名(和文) 交信攪乱下における老化がコナカイガラムシ処女メスの繁殖能力と性的魅力に与える影響

研究課題名(英文) Effect of aging under the condition of mating disruption on reproduction ability and sex fascination of unmated Japanese mealybug female.

研究代表者

手柴 真弓 (Teshiba, Mayumi)

福岡県農林業総合試験場・病害虫部・研究員

研究者番号：60502432

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：果樹害虫フジコナカイガラムシのメス成虫は、通常交尾を行う羽化後1～3日齢時に最も多くの次世代を産出する能力を有することが示された。一方で、交信攪乱下で未交尾のまま取り残された場合、最も多くの性フェロモンを放出する28日齢の産卵数はピーク時の約半分であった。未交尾の雌成虫は数か月程度生存し、その約6割が産卵できるが、1雌あたりの産卵数はピーク時の数%であった。

研究成果の概要(英文)：Our recent studies showed that female of Japanese mealybug, the pest of Japanese persimmon, have an ability to lay the largest number of eggs in a few days after emergence when they are usually mating. On the other hand, if they remain unmated under the condition of mating disruption, the number of the eggs in their 28 days after the emergence when they can effuse the largest amount of sex pheromone, lay only half as many eggs as they do at their peak. Unmated females can live for a few months and 60% of them can lay eggs although the number of eggs per female was a few percent of that at their peak.

研究分野：農業害虫に対する防除技術の開発

キーワード：フジコナカイガラムシ 交信攪乱 フェロモン 繁殖能力 老化

1. 研究開始当初の背景

研究対象としたフジコナカイガラムシは、西日本の果樹栽培で特に問題となっている虫である。本種に対する防除は主に薬剤散布であるが、薬剤のかかりにくい場所に生息する等の理由により、防除しきれず問題となっている。そのような中、性フェロモンを利用した交信攪乱法は殺虫剤を補完する新しい防除技術としてその効果が期待されている。

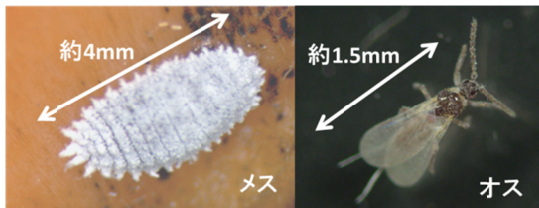


写真1 フジコナカイガラムシ成虫

交信攪乱法は、雌を探す手がかりとして雄が利用している性フェロモンをほ場に充満させることにより、雌雄の交信を阻害する防除技術である。これにより、多くの雌成虫の交尾・産卵を阻害し、次世代密度を抑制することができる。フジコナカイガラムシではまだ実用化されていないが、既に実用化されているガ類では、短命な雌成虫が未交尾のまま死亡する。しかし、コナカイガラムシ類では、未交尾雌は数か月生存し、若い雌成虫と同等以上の性フェロモンを放出し続ける。

フジコナカイガラムシの交信攪乱法は、コナカイガラムシ類の中で最も研究が進んでおり、数年以内に実用化される見込みである。しかし、老化した未交尾雌成虫の産卵能力等の繁殖ポテンシャルや、性フェロモン生産量等の性的魅力の変化については、これまで全く研究されておらず、交信攪乱の効果にどのような影響を与えるか明らかにされていない。そこで、交信攪乱法をより効果的なものにするのに必要不可欠なこれらの項目を明らかにする。

2. 研究の目的

(1) 老化に伴う性的魅力の推移

交信攪乱下で未交尾のまま取り残された雌成虫は次世代の雄成虫発生時期まで生存し、若い雌成虫と同等以上の性フェロモンを放出

できる可能性がある。そこで、日齢の異なる未交尾雌の性フェロモン放出量を計測し、老化に伴う性的魅力の推移を解明する。

(2) 老化に伴う繁殖パフォーマンスの推移

交信攪乱下で未交尾のまま取り残された雌成虫はそのまま生存し、次世代の雄成虫と交尾して繁殖できる可能性がある。交尾時の雌成虫の羽化後日数（以下、日齢）に伴う交尾率、産卵数、次世代個体の生存率および性比等、繁殖に関わるパフォーマンスの推移を解明する。

(3) 共生微生物保持量の推移

未交尾雌の老化に伴う繁殖能力や性的魅力の推移は、体内共生微生物に影響されている可能性がある。そこで、日齢の異なる未交尾雌体内の共生微生物保持量をリアルタイムPCRで計量し、さらに蛍光プローブで染色して直接観察する方法を開発する。

3. 研究の方法

(1) 老化に伴う性的魅力の推移

フジコナカイガラムシのメス成虫（未交尾）を個別に管理し、それぞれの個体から放出されるフェロモンを吸引し、吸着剤（Hayesep Q）を用いて捕集した。これをヘキサンで抽出し、ガスクロマトグラフィーによって分析した。また、このフェロモンを含む粗抽出物に対するオス成虫の誘引性を野外トラップ実験により評価した。

(2) 老化に伴う繁殖パフォーマンスの推移

試験には福岡県内のカキ園から採集後、カボチャ果実を餌として 16L8D23 の実験室内で累代飼育したフジコナカイガラムシを用いた。

ふ化率調査：羽化直後の雌成虫を、餌としてソラマメ催芽種子と保湿材として水を含ませた脱脂綿（1cm×1cm）とともにプラスチックシャーレ（直径 5.5cm、高さ 1.5cm）に収容した。羽化当日または 14L10D23.5 で一定期間（2、3、10日、14日後から7日間隔で77日後までおよび87日後）飼育した後、雄成虫をシャーレ内に5頭ずつ放飼して交尾させた。産下卵をビニル袋（5cm×7cm）に収容して 14L10D23.5 下におき、約2か月後に袋

内のふ化幼虫と未ふ化卵の数を調べた。
 定着数調査： と同様に羽化直後の雌成虫をプラスチックシャーレ内で個体飼育し、羽化3、7、28、70日後に雄成虫を5頭ずつ放飼して交尾させた。産下卵をカボチャ果実上に接種し、プラスチック容器（直径17cm、高さ13cm）に収容して14L10D23.5 下においた。幼虫のふ化を確認した後、16L8D23 下に移して飼育し、産下から6~7週後にプラスチック容器内の3齢幼虫以上のフジコナカイガラムシを性別に数えた。
 各試験の供試虫数は以下のとおり。

交尾時の羽化後日数															
0	2	3	7	10	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	87
28	19	24	23	22	22	20	21	21	23	15	14	10	3	1	5
-	-	31	29	-	-	-	35	-	-	-	-	-	15	-	-

表中の数字は供試虫数、-は未実施

(3) 共生微生物保持量の推移

フジコナカイガラムシのメス成虫(未交尾)を個別に管理し、日齢に伴う一次共生細菌および二次共生細菌の保有量の変化を定量PCR法で測定した。フジコナカイガラムシの *EF1* 遺伝子に対する細菌の *GroE* 遺伝子の相対コピー数を保有量とした。また、一次共生細菌および二次共生細菌の 16SrRNA 遺伝子を標的とした蛍光プローブを用いた Whole-mount FISH 法によって、共生細菌の密度の変化を視覚化して比較した。

4. 研究成果

(1) 老化に伴う性的魅力の推移

フジコナカイガラムシのメス成虫は、交尾を経験するとフェロモンを全く生産しなくなった。一方、未交尾メス成虫が放出するフェロモンの量は、28日齢までは上昇しつづけ、その後減少したものの、70日齢でも十分量のフェロモンを生産することが明らかとなった。フェロモンの放出量は、1~3日齢の個体に比べて14日齢では約30倍、28日齢では約60倍、70日齢では約10倍であった。各齢のメス成虫に対するオスの反応性は、放出しているフェロモンの量に明確に相関していた。すなわち、通常交尾が行われる日齢である1~3

日齢の個体よりも、7~70日齢の個体の方がより多くのオス成虫を誘引した。

(2) 老化に伴う繁殖パフォーマンスの推移

羽化当日から羽化56日後までに交尾させた雌は70%以上が産卵した。羽化49日以降に交尾させた雌の産卵率は日齢の経過に従ってわずかに低下傾向が見られたものの、羽化87日後に交尾させた雌も6割以上が産卵した(図1上)。一方、1雌あたり産卵数と次世代ふ化幼虫数は類似した傾向を示した。すなわち、羽化3日後の交尾で最も高い値(いずれも800以上)を示し、その後は急激に減少して、羽化後28日以降に交尾させた場合はピーク時の半分以下となった(図1下、一部データ略)。産下卵のふ化率は、産卵雌率と同様に羽化70日後までに交尾をすれば6割以上と高く、羽化87日後に交尾させた場合でもほぼ4割の産下卵がふ化した。産下卵から孵化した幼虫は、母親の交尾時の日齢に関わらず高い確率で定着した。一方、次世代雌率は交尾時の雌成虫の日齢が増加するにしたがって低下した(データ略)。

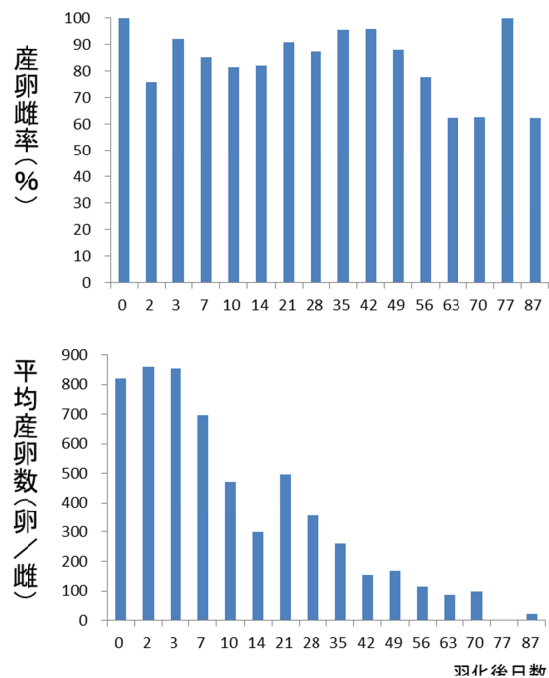


図1 交尾時の雌成虫の日齢が繁殖能力に及ぼす影響

(3) 共生微生物保持量の推移

フジコナカイガラムシのメス成虫が保有する共生細菌の量は、一次共生細菌・二次共生細菌ともに日齢の推移に応じて減少した。すなわち、定量 PCR 法による比較で、3 日齢の個体に対し、70 日齢の個体では、一次共生細菌は約 55%に、二次共生細菌は約 25%に減少した。この傾向は Whole-mount FISH 法による観察でも確認された (図 2)。

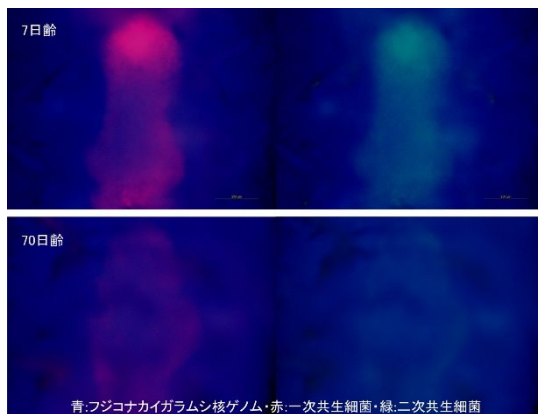


図 2 Whole-mount FISH によるフジコナカイガラムシ (7 および 70 日齢) のバクテリオームの観察結果

以上のことから、フジコナカイガラムシメス成虫は、通常交尾を行う羽化後 1 ~ 3 日齢時に最も多くの次世代を産出する能力を有することが示された。一方で、交信攪乱下で未交尾のまま取り残された場合、最も多くの性フェロモンを放出する 28 日齢の産卵数はピーク時の約半分であった。未交尾の雌成虫は数か月程度生存し、その約 6 割が産卵できるが、1 雌あたりの産卵数はピーク時の数%であった。日齢の推移に伴い体内共生微生物量が低下したことから、次世代産出能力には体内の共生微生物保持量が影響している可能性が示唆された。今後、詳細に検証する必要がある。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

手柴真弓 (TESHIBA Mayumi)

福岡県農林業総合試験場・病害虫部・研究員

研究者番号: 60502432

(2) 研究分担者

田端 純 (TABATA Jun)

農研機構 中央農業研究センター・情報化学物質グループ

研究者番号: 20391211