

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450071

研究課題名(和文) 配偶行動の解析を基盤とした難防除ノメイガ類性誘引剤の創製とその応用

研究課題名(英文) Invention of sex attractant for Pyraustinae agricultural pest based on analysis of mating behavior

研究代表者

中 秀司(Naka, Hideshi)

鳥取大学・農学部・准教授

研究者番号：00443846

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ノメイガ類は多数の種で性フェロモンが同定されているが、合成性フェロモンに雄が誘引されない事例が多く、フェロモンがほとんど防除に利用されていない。その原因を探り、野外で雄誘引活性がある性誘引剤を創製することを研究目的とした。

日本産ノメイガ約30種について人工飼料による大量飼育法を開発し、加えて16種の生活史を解明した。これらを用いて配偶行動解析、性フェロモン成分の再同定を行ったところ、約半数がHybrid typeと呼ばれる特殊な性フェロモンシステムを持つことを明らかにした。この成果により、甘藷の重要害虫サツマイモノメイガの誘引活性を劇的に向上させた。

研究成果の概要(英文)：Though many reports about female sex pheromone of Pyraustinae species here, synthesized sex pheromone could not attracted the males well in almost cases. So we cannot use these sex pheromones to apply to Pyraustinae pest control. We aimed that to reveal why Pyraustinae males did not attracted to synthesized sex pheromone, and to invent effective sex attractant in this study.

We developed mass rearing method for about 30 Pyraustinae species, and revealed life history of 16 species. Then we performed bioassays and re-identification of sex pheromone comprehensively. We found a half of Pyraustinae species use so-called "Hybrid type" pheromone system. This discover contributed to improve male attractiveness to synthesized sex pheromone of an important pest of sweet potato, *Omphis anastomosalis*.

研究分野：害虫制御学

キーワード：炭化水素型性フェロモン タイプII性フェロモン 野外試験 生物検定 再同定

1. 研究開始当初の背景

ツトガ科ノメイガ亜科(以下「ノメイガ類」)は、本科で最も多くの種(記載された限りで約300属7,000種)を含むグループで(吉安, 2011)、亜熱帯・熱帯が分布の中心である。ノメイガ類には多くの害虫種が含まれ、モモノゴマダラノメイガ(果樹の大部分)、アワノメイガ(トウモロコシ)、コブノメイガ(イネ)、シロオビノメイガ(ハウレンソウ、ビート)など、その加害が国内の農業に大きな被害を与える種も多い。また、ホソオビツチイロノメイガ(ブドウ)など、減農薬に伴い顕在化した害虫種も多数含んでいる。

ノメイガ類の多くは、幼虫が葉を巻く(ハマキムシ)あるいは果樹に潜行する(シンクイムシ)加害様式をとるため、農薬散布による防除が困難である。このような害虫種では、しばしば雌性フェロモンを用いた防除が検討され、合成されたフェロモン製剤による誘引剤あるいは交信攪乱剤が実用化されてきた(小川・ウィツガル, 2005)。ノメイガ類と同様の加害様式を持つ他の分類群(ハマキガ科など)では、既に果樹園・茶園などでフェロモン製剤が広く利用されているため、雌性フェロモンを防除体系に組み入れるべく、多くの種で雌性フェロモンの同定が進められてきた(Ando, 2012)。

にもかかわらず、雌性フェロモンが同定された種ほとんどで、フェロモン製剤は実用化されていない。その主因は、誘引剤として合成されたフェロモン製剤が、野外条件で想定より遙かに少ない雄しか誘引できないことにある。例えば、近年サツマイモの重要害虫であるサツマイモノメイガの雌性フェロモンが同定されたが、同定された成分を再現した合成性フェロモンは、処女雌に遠く及ばない個体数を誘引したのみである(Wakamura et al., 2010)。同様の現象はマメノメイガ(Adati and Tatsuki, 1999)、ハイマダラノメイガ(Sugie et al., 2003)、コブノメイガ(Kawazu et al., 2000)など多くの種で報告されており、フェロモン製剤を実用化する上で大きな障壁となっている。

2. 研究の目的

本研究は、性フェロモンの同定報告が多数あるにもかかわらず、合成性フェロモンに対する雄の誘引活性が低いノメイガ類について、野外で誘引活性が高い性誘引剤を創成し、農業害虫のモニタリング及び防除に応用することを目的とした。

他分類群に比べ、ノメイガ類の性誘引剤が実用化されていないことは、現在主流となっている性フェロモン同定のプロセスでは、ノメイガ類の誘引剤を開発することが困難である事を示唆している。

本研究は、GC-EAD分析・GC/MS分析に依存した性フェロモン同定のプロセスを見直し、野外及び室内で雄成虫が示す配偶行動を観察し解析することで、

- 1) 処女雌、性フェロモン腺抽出物、合成性フェロモン剤に対して示す雄の行動の詳細な解析
- 2) 1の結果からの、GC-EAD非応答性活性物質、または微量成分の探索
- 3) 1の結果からの、トラップの設置条件(位置、形状など)の再検討
- 4) 性フェロモンが未同定である難防除ノメイガ類からの性フェロモン成分同定・配偶行動解析をもつて、難防除ノメイガ類の防除に寄与する誘引剤を創成することを到達目標とした。

3. 研究の方法

国内で農業害虫とされているノメイガ類のうち、1) マメノメイガ、モモノゴマダラノメイガ、コブノメイガ、ハイマダラノメイガ、サツマイモノメイガなど、性フェロモン成分が同定されているにも関わらず、合成性フェロモン剤の雄に対する誘引活性が低いために実用化されていない(コブは誘引剤が市販化されているが活性が低い)もの、2) モンキクロノメイガ、シロオビノメイガなど、重要害虫でありながら性フェロモン成分が同定されていないものを研究対象として、以下の手順で研究を進めた。

[研究1] 大量飼育法の開発

被害圃場からの幼虫採集、ライトトラップ等による母蛾採集などの手段で研究対象を入手し、生葉及び人工飼料による累代飼育を試みた。人工飼料はシリカゲルにて速乾した葉の粉末と汎用人工飼料インセクタ F-II を混合して作成した。

[研究2] 配偶行動解析

研究1で大量飼育した成虫を用いて、室内の大型ケージ及び野外条件にて配偶行動の観察を行った。

性フェロモン成分が未同定の種については、まず処女雌がコーリング行動(性フェロモンを分泌し雄を呼ぶ行動)を起こす時間帯を調査した上で雌雄を交配させ、目視及び複数台のビデオカメラにて、雄が処女雌に対して示す配偶行動をなるべく詳細に記録した。その上で、雄の配偶行動に影響する鍵刺激(性フェロモン、雌の姿など)に関する観察・実験を行った。

大量の処女雌より性フェロモン腺抽出物を得た上で、雄に対し抽出物及び(フェロモンが既同定の種では)合成フェロモン剤のそれぞれを与え、処女雌に対して雄が示す配偶行動連鎖との差異を解析した。多くの蛾で、性フェロモンの薬量が誘引活性に大きな影響を与える(製剤が濃すぎて誘引されない場合が多い)ことから、様々な薬量で雄の応答を観察した。

[研究3] 性フェロモン成分の同定

処女雌より抽出した性フェロモン腺抽出物と、雄の触角を用いて、GC-EAD法とGC/MS分析により性フェロモン成分を同定した。ノ

メイガ類の性フェロモンは、大部分が炭素数 16, 二重結合の位置が 9-12 位までにあるモノエンあるいはジエン化合物であることが知られている。これらの同定を容易にするため、予想される成分候補物質の全ての異性体標品を合成し、それらの GC/MS データを蓄積し、微量な天然性フェロモンの即時同定が可能な環境を構築した。また、狭義ヒゲナガノメイガ亜科の一部の種で報告がある 10,14-16:Ald(サツマイモノメイガ)等例外的な化合物についても、順次合成を進めて同定及び野外検定に用いた。

[研究 4] トラップ設置条件の検討

トラップの設置条件、例えば形状や設置高といった些細な条件が、誘引剤の効力に大きな影響を及ぼす例が知られている。ダイズの害虫ウコンノメイガでは、野外条件において、同定された性フェロモンを基にした誘引剤の効力がごく弱いという問題があったが、トラップを地上すれすれ(後にダイズの背丈 - 20cm 程度でよいと判明)に設置することで、発生予察に必要な誘引活性を確保できることが明らかになった。このような例を参考に、トラップの設置条件が誘引活性に寄与する可能性を検討した。

[研究 5] 分子マーカーによる簡易同定法開発、対象種の再検討

ノメイガ類において、例えばワタノメイガとワタヌキノメイガ、モモノゴマダラノメイガとマツノゴマダラノメイガのように、過去に対象種の取り違えが原因で誘引剤の野外試験に失敗した例が複数報告されている。このような事態を防ぐため、野外試験で誘引された雄の種類を確実に同定できるよう、分子マーカーを用いた簡易的な種の同定法を確立しておく。また、性フェロモンの成分や雄の誘引活性、配偶行動の特性は少なからず系統関係を反映すると考えられるため、対象種全てを含む分子系統樹を構築した。

4. 研究成果

(1) 大量飼育法の開発

乾燥葉粉末とインセクタ F-II で作成した人工飼料により、ヒメトガリノメイガなど 23 種の飼育に成功した。また、チューブ状で市販されている汎用人工飼料インセクタで、多食性の *Ostrinia* 属各種及びクロミヤクノメイガ、クロモンキノメイガ、腐食食のミツテンノメイガ、シロテンキノメイガ、クロフキノメイガ、コガタシロモンノメイガ、*Bradina* 属各種、ヒルガオ科食のカクモンミスジノメイガ、野外の食草が不明なハナダカノメイガの飼育に成功した。これらの大部分で 3 世代以上の累代飼育に成功している。一方、ブドウ食のモンキクロノメイガ、ホソオビツチイロノメイガの 2 種は人工飼料では飼育できなかった。

加えて、この過程でクロヘリキノメイガ、シロモンノメイガなど 16 種について、これまで未知であった幼生期を明らかにした。

(2) サツマイモノメイガの性フェロモン成分再同定

本種は野外条件で既知の性フェロモンに雄がほとんど誘引されない。行動観察、GC-EAD 法、GC/MS 分析により性フェロモン成分の再同定を行ったところ、既知成分に加え、炭化水素型(タイプ II)性フェロモンである Z3,Z6,Z9-23:H が同定され、この成分の添加により野外で多数の雄を誘引することができた。タイプ II 性フェロモンはヤガ上科の一部とシャクガ上科の蛾のみから知られていたが、近年メイガ上科の一部で、蛾類の性フェロモンとして一般的な脂肪酸型(タイプ I)性フェロモンと混合して利用する(Hybrid type)ことが報告された。

(3) ヘリグロキイロノメイガの性フェロモン成分同定

沖縄以南の海岸に生息するヘリグロキイロノメイガの性フェロモンを分析し、新規化合物 Z13-16:OAc を同定した。この物質は単独で野外にて多数の雄を誘引した。この物質の生合成経路は既知の蛾類性フェロモン生合成経路の組み合わせで合理的に説明することができず、本研究により蛾類性フェロモンの新たな生合成経路及び未知の生合成酵素の発見が期待できる。

(4) カクモンノメイガの性フェロモン成分同定

予備的な生物検定及び GC/MS 分析で、本種は Hybrid type の性フェロモンを持つと考えられた。性フェロモン抽出物の詳細な分析により、本種はカイコガ上科の蛾が性フェロモンによく利用するボンピカール(E10,Z12-16:Ald)及びボンピキールアセテート(同 OAc)と共に Z3,Z6,Z9-23:H を性フェロモンとして利用し、3 成分のうち Z3,Z6,Z9-23:H が主成分であることを明らかにした。

(5) コブノメイガの性フェロモン成分再検討

生物検定及び GC-EAD 分析により、コブノメイガは既知の性フェロモン成分以外に少なくとも 1 つ以上の活性物質を性フェロモンとして持つこと、その物質がタイプ II である可能性が高いことを示したが、累代飼育に問題が生じたため、その物質の同定には至っていない。

(6) 網羅的生物検定

(1)で累代飼育に成功した種について、配偶行動を起こす時間帯を観察した後に雌から性フェロモンを抽出し、粗抽出物をフロリシルカラムクロマトグラフィーにてタイプ I とタイプ II に分画した。得られたそれぞれの画分を雄に与えて行動活性を観察したところ、対象種の約半数はタイプ I のみを性フェロモンとしているのに対し、半数はタイプ I とタイプ II の両者混合物を性フェロモンとすることを明らかにした。この結果は、過去に性フェロモン成分が報告されたノメイガのうち、合成性フェロモンの誘引活性が弱か

った種、すなわち農業の現場でフェロモン製剤が実用化できていない種の多くでタイプ II の存在を見落としていた可能性を示しており、タイプ II に着目して性フェロモンを再同定することで、ノメイガの多くで性フェロモンを防除に実用化できる道筋を開いたといえる。

(7) 分子系統樹の構築

ミトコンドリア COI 領域のうちバーコード領域(658bp)を解読し分子系統樹を構築したが、変異が飽和しており、属間の系統関係を高精度に描くことはできなかった。しかし、ノメイガ亜科においてバーコード領域は種の簡易同定に有効であることが強く示唆された。また、マエキノメイガ集団が複数の隠蔽種からなる可能性、マエベニノメイガが別種のシノニムである可能性とともに、腐食食や単子葉植物食の分類群が、それぞれノメイガ亜科の中で独立に複数回進化したことを明らかにした。

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 3 件)

1. Honda H, Yamasaki R, Sumiuchi Y, Uehara T, Matsuyama S, Ando T, Naka H (2015) Hybrid sex pheromones of the hibiscus flower-bud borer, *Rehimena surusalis*. *Journal of Chemical Ecology* 41(11): 1043-1049. DOI: 10.1007/s10886-015-0638-y. 査読有
2. Yan Q, Kuriyama K, Nishikawa K, Tominaga S, Tatsuta H, Ando T, Naka H (2015) (Z)-13-Hexadecenyl acetate: a novel moth sex pheromone component from *Herpetogramma submarginale* (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Chemical Ecology* 41(5): 441-445. DOI: 10.1007/s10886-015-0576-8. 査読有
3. Yan Q, Vang LV, Khanh CNQ, Naka H, Ando T (2014) Reexamination of the female sex pheromone of the sweet potato vine borer moth: identification and field evaluation of a tricosatriene. *Journal of Chemical Ecology* 40(6): 590-598. DOI: 10.1007/s10886-014-0446-9. 査読有

[学会発表](計 10 件)

1. 小濱彩里, 窪田蒼起, 藤井 毅, 中野 亮, 中 秀司. 日本産ノメイガ類の分子系統解析. 日本鱗翅学会第 62 回大会、とりぎん文化会館(鳥取市)、2015 年 10 月 31 日
2. 龍 美沙紀, 小濱彩里, Qi Yan, Le Van Vang, 安藤 哲, 中 秀司. 日本産ノメイガ類性フェロモンの網羅的生物検定. 日本鱗翅学会第 62 回大会、とりぎん文化会館(鳥取市)、2015 年 10 月 31 日

3. 山西涼香, 河津 圭, 田付貞洋, 安藤 哲, 中 秀司. コブノメイガ *Cnaphalocrocis medinalis* のフェロモンルアーの改良. 平成 26 年度日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部合同例会、出雲市市民会館(出雲市)、2014 年 10 月 24 日
4. 藤野あぐり, Qi Yan, 安藤 哲, 中 秀司. シロオビノメイガの配偶行動と性フェロモン成分の解明. 平成 26 年度日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部合同例会、出雲市市民会館(出雲市)、2014 年 10 月 24 日
5. 中 秀司, Qi Yan, 窪田蒼起, 山西涼香, 藤井 毅, 安藤 哲. ノメイガはじめました ~生活史・性フェロモン・系統. 平成 26 年度日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部合同例会、出雲市市民会館(出雲市)、2014 年 10 月 24 日
6. 西川佳祐, Qi Yan, 中 秀司, 立田晴記, 安藤 哲. ミナミウコンノメイガ *Pleuroptya sabinusalis* (Walker, 1859) における性フェロモンの同定と誘引活性. 第 58 回日本応用動物昆虫学会大会、高知大学朝倉キャンパス(高知市)、2014 年 3 月 28 日
7. 山崎緑平, 本田 洋, 松山 茂, 安藤 哲. カクモンノメイガの性フェロモンの同定とトリエン成分の動態. 第 58 回日本応用動物昆虫学会大会、高知大学朝倉キャンパス(高知市)、2014 年 3 月 27 日
8. 中 秀司, Qi Yan, 西川佳祐, 立田晴記, 富永 智, 安藤 哲. ヘリグロキイロノメイガの性フェロモン. 第 58 回日本応用動物昆虫学会大会、高知大学朝倉キャンパス(高知市)、2014 年 3 月 27 日
9. 藤野あぐり, Qi Yan, 安藤 哲, 中 秀司. シロオビノメイガの配偶行動と性フェロモン. 平成 25 年度日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部合同例会、山口大学(山口市)、2013 年 10 月 11 日
10. Qi Yan, Aguri Fujino, Hideshi Naka, Tetsu Ando. Identification of the sex pheromone secreted by *Palpita nigropunctalis* (Lepidoptera: Crambidae). *International Chemical Ecology Conference 2013*. Melbourne, Australia. 2013 年 8 月 20 日

[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]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中 秀司 (NAKA Hideshi)
鳥取大学・農学部・准教授
研究者番号：00443846

(2)研究分担者

安藤 哲 (ANDO Tetsu)
東京農工大学・(連合)農学研究科(研究
院)・名誉教授
研究者番号：50151204

本田 洋 (HONDA Hiroshi)
筑波大学・生命環境系・名誉教授
研究者番号：90126160

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

立田 晴紀 (TATSUTA Haruki)
松山 茂 (MATSUYAMA Shigeru)
Qi Yan
Le Van Vang
河津 圭 (KAWAZU Kei)
田付貞洋 (TATSUKI Sadahiro)
藤井 毅 (FUJII Takeshi)
富永 智 (TOMINAGA Satoru)