

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450067

研究課題名(和文)イモゾウムシの配偶行動を介した行動制御機構の解明と雄の性的能力増強への応用

研究課題名(英文) Study of behavioural control mechanism through the male ejaculation in the sweet potato weevil

研究代表者

熊野 了州 (KUMANO, Norikuni)

帯広畜産大学・畜産学部・准教授

研究者番号：90621053

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：サツマイモ害虫イモゾウムシ *Euscepes postfasciatus* の配偶行動を調査し、以下の2点について明らかにした。(1) 通常の二酸化炭素濃度に比べ二酸化炭素濃度の高い環境(10,000 ppm)で、行動活性が高まるとともに、交尾頻度が高くなることが明らかにした。(2) 誘導結合プラズマ質量分析計を用い、オスの精液に含まれる微量元素Rbを、交尾相手であるメスから定量的に検出可能であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, the following two points were clarified in the mating behavior of the West Indian sweet potato weevil *Euscepes postfasciatus*. 1) Both male mating attempt and mating success were higher under high CO₂ concentration in air (10,000 ppm) than that in the constant atmosphere (3,000 ppm). 2) The trace element Rubidium in male ejaculation is able to detect quantitatively in inseminated female body by the inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) analyses.

研究分野：行動生態学, 応用昆虫学

キーワード：配偶行動 不妊虫 共生細菌 微量元素 ICP-MS

1. 研究開始当初の背景

サツマイモは肥料をほとんど必要とせずビタミン A を豊富に含むため、国際連合食糧農業機関 (FAO) により栽培が推奨され、熱帯・亜熱帯の多くの発展途上国で住民の主要なエネルギー源となっている。サツマイモは食害により自ら苦味や臭みの原因物質で強毒性の生理活性物質を生産するが、その原因となる 2 種のゾウムシ (イモゾウムシ *Euscepes postfasciatus*, アリモドキゾウムシ *Cylas formicarius*) の化学的防除は困難で、防除技術の確立が世界的な課題となっている。しかし、分布が主に発展途上国に限られるゾウムシ類の研究はほとんど進んでおらず、基礎生態の解明や防除技術の開発で日本の果たす役割は大きい。

現在日本の南西諸島では、生物が持つ本質的な行動の 1 つである配偶行動を利用する「不妊虫放飼法」によるゾウムシ類の根絶事業が進められている。2 種のゾウムシのうちアリモドキゾウムシは、性フェロモンを用いた強力な密度抑圧と不妊虫放飼法で沖縄県久米島での根絶に成功した。しかし、イモゾウムシは有効な密度抑圧法が確立されておらず、防除を進めるには配偶行動のさらなる理解により不妊虫放飼法のみで十分な防除効果を得られるような交尾・受精能力 (以降、性的能力と呼ぶ) が高い雄を生産することが必要とされており、本種の配偶行動の理解が極めて重要な課題となっている。

2. 研究の目的

雌が複数回交尾を行う多くの動物では雄は自身の父性を高めるため、配偶者の再交尾抑制や寿命を縮める物質を交尾時に精子と共に送り込み交尾後の雌の行動を制御することが知られている。動物の最も本質的な行動の 1 つである配偶行動を防除手段として利用する不妊虫放飼法では、配偶行動の理解や不妊雄による野生雌の強い行動制御により、防除効果の向上が期待できる。本研究ではサツマイモの難防除害虫であるイモゾウムシの不妊虫放飼効果の向上のため、本種の配偶行動の至近要因の解明と性的対立の理解を目指し、以下の 3 つを目標に研究に取り組む。

(1) イモゾウムシの配偶行動発現のための至近要因の解明

イモゾウムシの配偶行動は、雄が雌の背に乗る交尾前マウント、雌雄の体軸が直交し精子を注入する交尾、雄が再び雌の背に移動する交尾後マウントの 3 段階からなることが知られている。一連の配偶行動は、実験室内でも観察されるものの、交尾率は高くはないため、効率的なデータの蓄積が困難な状況にある。本種の配偶行動の発現に関する至近要因の解明は、今後の室内実験における精度の高い研究に直結するだけでなく、配偶者探索を利用した捕集

(トラップ開発)にもその知見は利用できる。イモゾウムシは生涯の大半をイモ内部で生活しており、生息場所の環境条件は、通常の大気とは極めて異なることが予測されるものの、従来の観察で二酸化炭素 (以下 CO_2) 濃度のような環境条件について検討されたことがない。そこで本研究では、通常の大気に比べ、本種の生息場所に近い環境を再現した CO_2 濃度の高い条件下で配偶行動がどう変化するかを明らかにする。

(2) イモゾウムシの配偶行動を通じた行動制御物質の定量化手法の確立

イモゾウムシを含め、一般に、オスが配偶相手であるメスの行動を制御するのに、射精物 (精液) が利用される。精液の量や質は、オスの交尾回数や配偶相手のメスのコンディションによって変化することが知られており、精液を利用した行動制御を明らかにするには、オスの精液の定量化が不可欠である。しかし、イモゾウムシは体長約 4 ミリと極めて小さく、その精液の量を交尾前後の体重の変化で計測するのは難しい。そこで本研究では、自然界では極めて微量な元素であるルビジウム (以下 Rb) を、エサを通じオスに人為的に取り込ませ、交配を行なったメスの保有する Rb (オスの精液) の定量化を試みる。メス体内からのオス精液の検出が可能になれば、不妊虫放飼の防除効果を直接的に確認する手段としても応用可能であるため、精度の高い防除を効率的に進めることができる可能性がある。

(3) イモゾウムシの配偶行動における共生細菌の機能解明

甲虫の鞘翅の硬化には昆虫の体内に共生する細菌が関与していることが明らかになっており、イモゾウムシでも体内の細胞内共生細菌 *Nardonella* の働きにより外骨格の硬化が誘導されることが明らかになっている。交尾器は外骨格と同じクチクラ層で構成されるため、ゾウムシ体内の共生細菌の存在が交尾器やトゲの硬さを通じ、父性に影響を与えている可能性がある。しかし、イモゾウムシを含め、共生細菌が配偶行動に与える影響に関する知見はほとんどない。そこで本研究では、イモゾウムシの共生細菌がオスの形態や配偶行動、生殖付属腺物質に及ぼす影響について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) イモゾウムシの配偶行動発現のための至近要因の解明

イモゾウムシの活動性や配偶行動における CO_2 濃度の役割を明らかにするため、室内環境 (約 900 ppm) と高 CO_2 濃度環境 (3,000 or 10,000 ppm) で配偶行動の調査を行なっ

た。実験環境を高 CO₂ 濃度環境に保つため、直径 30mm の交尾を行うための小型のシャーレに未交尾のイモゾウムシの雌雄を入れた後、そのシャーレを高 CO₂ 濃度に調整した密封透明のプラスチック容器 (30x35x25 (cm)) に入れ、直接交尾行動を観察した。観察では、交尾の有無、交尾前マウント、交尾、交尾後マウントの各持続時間の測定を行い、高 CO₂ 濃度環境での交尾行動を室内環境 (コントロール) と比較した。調査はイモゾウムシの配偶行動が最もよく観察される暗期に赤色ライトを用いて行なった。

(2) イモゾウムシの配偶行動を通じた行動制御物質の定量化手法の確立

昆虫のマーキング資材としても利用される微量元素 Rb を人工飼料に添加してオス成虫に取り込ませ (Rb⁺オス: 5,000 or 10,000 ppm), 交尾でメスに移行したオスの精液に含まれる Rb が既交尾メス体内から検出されるか否かを、誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) を利用し調査した。また Rb の毒性の有無を調査するため、交尾率や寿命を Rb⁺オスと Rb オスで比較した。

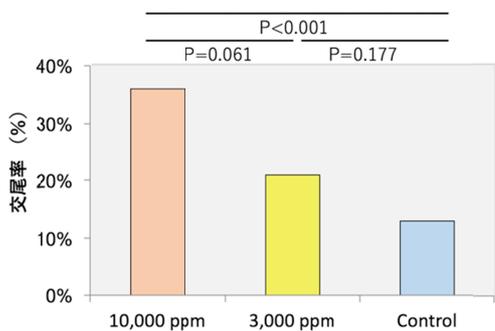
(3) イモゾウムシの配偶行動における共生細菌の機能解明

イモゾウムシの共生細菌は抗生物質 (リファンピシン) 投与による除去法が既に確立されており、イモゾウムシの人工飼料に投与する方法で共生細菌を除去した系統を作出し、通常共生細菌を持つ系統との間で、オスの配偶行動 (交尾時間、交尾成功率) や精液輸送量を比較する。

4. 研究成果

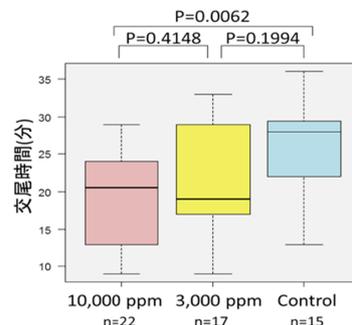
(1) イモゾウムシの配偶行動発現のための至近要因の解明

実験の結果、二酸化炭素濃度が約 900 ppm の室内環境に比べ、高 CO₂ 濃度環境 (3,000 or 10,000 ppm) で活動性・交尾前マウント率・交尾頻度の上昇が観察され、高 CO₂ 濃度環境がイモゾウムシにとって好適であ



CO₂濃度がイモゾウムシの交尾率に与える影響

GLMM, 二項分布, Tukey, 変数効果: 実験実施日



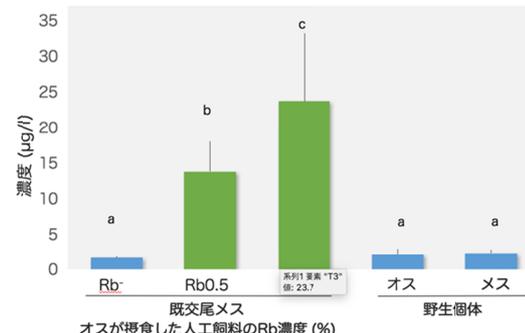
CO₂濃度がイモゾウムシの交尾時間に与える影響

GLMM, ガンマ分布, Tukey, 変数効果: 実験実施日

ることが示唆された。また、高 CO₂ 濃度環境で交尾時間の短縮や輸送精子数の減少が見られたことから、高 CO₂ 濃度環境は、雄の配偶行動を活性化させると同時に、雌の抵抗性を高める可能性があることが示唆された。

(2) イモゾウムシの配偶行動を通じた行動制御物質の定量化手法の確立

実験の結果、Rb⁺オスと交尾したメス、未交尾メス、野生メスと比較して、Rb⁺オスと交尾したメス体内から差異の検出に十分な量の Rb が検出されることが明らかになった。この結果は、イモゾウムシは羽化後に



イモゾウムシから検出された Rb 量

摂取した Rb が精液を通じてメスに移行することを示しており、捕獲されたメスを通じて不妊オスの交尾範囲を明らかにすることで、高精度な個体群密度推定が可能であることが示唆された。

(3) イモゾウムシの配偶行動における共生細菌の機能解明

イモゾウムシの人工飼料に抗生物質を投与する方法で共生細菌の除去を試みたものの、共生細菌除去系統の作出には至らず、共生細菌の機能を解明することはできなかった。この原因として、投与した抗生物質の失活などが予測されるものの、詳細は不明である。

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 1件)

Tsurui K, Ohishi T, Kumano Norikuni,
Teruya K, Toyosato T, Shiromoto K.,
Symptoms shown by late-stage larvae of
the West Indian sweet potato
weevil *Euscepes postfasciatus* (Coleoptera:
Curculionidae) infected
with *Farinocystis* sp. Applied Entomology
and Zoology. 2015, 50(2):245-254, DOI:
10.1007/s13355-015-0329-8

〔学会発表〕(計 5件)

布廣あやめ・熊野了州 二酸化炭素がイ
モゾウムシの配偶行動に与える影響
応用動物昆虫学会北海道支部会
2017/1/28 北海道大学(北海道,札幌)
Norikuni Kumano, Kiyohito Teruya, Kaori
Tsurui, and Tetsuya Toyosato. Sperm
marking using the trace element rubidium
to improve the monitoring of the sterile
sperm usage in the sterile insect technique.
XXV International Congress of
Entomology. 2016/9/28, Florida, USA.
Kaori Tsurui, Tsuyoshi Ohishi, Norikuni
Kumano, Kiyohito Teruya, Tetsuya
Toyosato, Kazuki Tsuji. Sexual conflict
may hinder population growth through
spatial sexual segregation due to counter
harassment behavior. XXV International
Congress of Entomology, 2016/9/28,
Florida, USA.
熊野了州・鶴井香織・照屋清仁・吉岡伸
也, 昆虫の構造色多型を生む遺伝的背
景に関する研究 第35回日本動物行動
学会, 2016/11/12,新潟大学(新潟県,
新潟)
熊野了州・照屋清人・鶴井香織・豊里
哲也, 微量元素を利用したイモゾウム
シの交尾頻度の推定, 第60回応用動
物昆虫学会, 2016/3/28 大阪府立大学
(大阪府,大阪市)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
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

熊野 了州 (KUMANO Norikuni)
帯広畜産大学・環境農学研究部門・准教授
研究者番号: 90621053

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()