

平成 30 年 5 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04461

研究課題名(和文) コウチュウ目昆虫の寄主認識におけるふ節の役割の解明と害虫防除への応用に関する研究

研究課題名(英文) The role of tarsi in host discrimination of coleopteran insects and its application to pest control

研究代表者

堀 雅敏 (Hori, Masatoshi)

東北大学・農学研究科・准教授

研究者番号：70372307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：ハエ目やチョウ目はふ節で味を認識できることが知られている。一方、コウチュウ目は昆虫で最大の種数を誇るが、ふ節の味覚器官としての役割は未解明であった。そこで、コウチュウ目昆虫のふ節味覚感覚子の存在について調査したところ、ふ節味覚感覚子を有している種はコウチュウ目の一部に限られるが、ハムシ科ではふ節味覚感覚子の存在が共通の特徴であることが形態学的解析により明らかになった。さらに、ハムシ科昆虫はふ節で甘味、苦味物質だけでなく、寄主葉表面物質を受容し、認識できることが電気生理学のおよび行動学的解析により明らかになった。以上から、ハムシ科昆虫はふ節で寄主植物を識別し、選択できることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Tarsal gustation is well known in Diptera and Lepidoptera. However, tarsal gustation in Coleoptera, the largest order of insects, is unclear. Morphological studies showed that the existence of gustatory sensilla on tarsi was limited to leaf beetle (Chrysomelidae) and several species belonging to other taxa. In electrophysiological studies, these sensilla of the leaf beetles showed a spike response to salts, sugars, bitter substances, and leaf surface wax of the host plant. This indicates that the beetles can sense taste substances through their tarsal sensilla. In behavioral studies, the leaf beetles showed behavioral response to sugars, bitter substances, and leaf surface wax by only their tarsi. In addition, the beetles showed a positive response to leaf surface wax of their most suitable host plant by only their tarsi, although they did not show a positive response to other plant waxes. It is considered that the leaf beetles can select the most suitable hosts by their tarsi.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：昆虫 コウチュウ目 寄主選択 ふ節 味覚 感覚子 植物化学物質 ハムシ

1. 研究開始当初の背景

(1) 害虫の加害による作物の商品価値の低下を防ぐには、害虫が作物を試咬する前に害虫を作物から遠ざけることが理想的であるが、嗅覚に作用する忌避物質は揮発性があるため、特に野外においては、放出制御や効果的処理法の問題から実用化が難しい。一方、味物質であれば揮発性が不要ではないため、放出制御の必要はなく、作物上に降り立った段階で味覚に作用し、試咬前に作物から離脱させることができれば、食害には至らず、商品価値の低下を防げる。しかし、試咬を阻害する防除剤の開発には、試咬行動を解発する害虫の味認識機構をまず明らかにする必要があった。

(2) 食葉性コウチュウでは、葉表面物質が試咬を解発する重要な味覚情報として働いているが、試咬行動を解発する味物質をどの味覚器官で認識しているかは、昆虫で最大の種数を誇り、多くの害虫種を含むのにも関わらず、コウチュウ目では未解明であった。

(3) チョウやハエでは、脚の先端節の跗(ふ)節に味覚感覚子があり、この味覚感覚子により味を認識し、摂食や産卵行動が解発されることが知られている。一方、コウチュウ目では跗節味覚感覚子が実際に寄主の味認識に役立ち、行動に結びついているか明らかではなかった。

(4) 動物界で最大の分類群であるコウチュウ目の味認識機構を解明することは、昆虫の寄主選択機構を解明する上できわめて重要であると考えられた。また、試咬前に摂食行動を阻害できれば、作物の商品価値の向上を可能にする新たな作用機作の害虫防除剤の開発につながると考えられた。

2. 研究の目的

(1) 植食性種を中心に、様々な分類群のコウチュウ目昆虫について、跗節味覚感覚子の有無を形態学および電気生理学的調査により、網羅的に明らかにする。

(2) 跗節味覚感覚子の存在が明らかになった分類群について、行動学的調査により、跗節味覚感覚子が寄主植物の味認識に役立っているか明らかにする。

(3) 分類群ごとに、寄主や餌の味認識における跗節の味覚器官としての役割を明らかにし、寄主や餌の味認識機構と各分類群の進化的な位置付け、食性、摂食様式などとの関係を明らかにする。

(4) 寄主や非寄主の葉表面物質を跗節に作用させることにより、植物への定着行動を制御できるか明らかにするとともに、定着を阻害する味物質を用いることで、試咬前に加害

行動を阻止できるか明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 跗節味覚感覚子の存在の網羅的解明

① 走査型電子顕微鏡 (SEM) による跗節味覚感覚子の存在調査および種・食性の分化と味認識機構の関係解明

12上科157種のコウチュウ目昆虫の跗節味覚感覚子をSEMで観察し、先端に1個の孔がある感覚子が存在しているか調査した。ハムシ科に関しては全17亜科すべてについて、少なくとも1種を調査した。食性や分類群と跗節味覚感覚子の分布に関係性があるか明らかにするため、観察した種については跗節味覚感覚子の有無とともに系統樹に配置した。

② 透過型電子顕微鏡 (TEM) による跗節味覚感覚子の形態観察

SEMによる外部形態観察から、ハムシ科昆虫には跗節に味覚感覚子と推定される感覚子が共通して存在していた。また、味覚感覚子と推定された感覚子は、先端孔の周囲のシワの有無から大きく2つの形状に分類できた。そこで、シワのある感覚子をもつハムシのモデルとしてイチゴハムシを、シワのない感覚子のモデルとしてカメノコハムシを用い、跗節上の味覚感覚子と推定される感覚子の内部形態をTEMで観察した。また、比較として、先端孔がなく機械感覚子と推定された感覚子についてもTEMで内部形態を観察した。さらに、SEM観察の結果から、先端孔のある感覚子の存在が確認できなかったオオニジュウヤホシテントウの跗節についても、TEMにより内部形態的に味覚感覚子と推定される感覚子を有していないか調査した。

(2) 跗節味覚感覚子の味物質受容性の解明

① 跗節味覚感覚子の味物質受容の電気生理応答による裏付け調査

羽化後3~8日のイチゴハムシ雌成虫を用い、跗節味覚感覚子の塩類に対する電気生理応答をチップレコーディング法を用いて調査した。塩にはKClおよびNaClを用い、用量-反応関係も調査した。鞘翅、中脚、後脚は切除し、左右いずれかの前脚にある味覚感覚子に味物質を作用させた。KClまたはNaCl水溶液を満たしたガラス電極を前胸腹板と中胸腹板の間に差し込み、これを不関電極とした。また、不関電極と同様に試験溶液を満たしたガラス電極を記録対象の感覚子に被せ、これを記録電極とした。記録時間は3秒とし、記録と記録の間には3分のインターバルを設けた。また、記録開始後0.2~0.7秒の0.5秒間の応答をデータとして用いた。試験物質は低濃度から順に作用させた。

② 各種物質に対する跗節味覚感覚子の受容性調査

羽化後3~8日のイチゴハムシ雌成虫を用い、跗節味覚感覚子の甘味、苦味、植物葉表面物

質に対する電気生理応答をチップレコーディング法を用いて調査した。甘味にはスクロースを、苦味にはブルシンを、植物葉表面物質にはイチゴハムシの寄主植物であるエゾノギシギシの葉表面ワックスを用いた。エゾノギシギシ葉表面ワックスは、葉をヘキサンの30秒間ディッピングして抽出した。また、スクロースおよびブルシンは蒸留水に溶かして水溶液を得たが、葉表面ワックスは1%のTween20水溶液に溶かして供試した。チップレコーディングの方法および記録条件は上記①に準じた。

(3) 寄主認識における附節の役割の解明

寄主認識における附節の役割の解明は、half-disk 試験を用いた行動学的試験により行った。直径90mmのろ紙を2等分し、片方の半円ろ紙を処理区、もう一方の半円ろ紙を対照区とした。処理区ろ紙には供試物質と蒸留水(400 μ l)を、対照区ろ紙には蒸留水(400 μ l)のみを染み込ませた。処理区と対照区のろ紙は、1mmの隙間を設けて、裏側からセロテープで貼り合わせた。また、隙間部分を被うために、幅2mmのセロテープをろ紙の表側から隙間部分に貼り付けた。供試物質には、甘味物質としてスクロースを、苦味物質としてブルシンを、植物葉表面物質として寄主および非寄主植物の葉表面ワックスを用いた。植物葉表面ワックスは、各植物葉をヘキサンの30秒間ディッピングして抽出した。ブルシンはメタノールに100mg/ml濃度で、葉表面ワックスはヘキサンの318 μ lを処理区ろ紙に処理し、対照区ろ紙にはそれぞれの溶媒のみ318 μ lを処理した。処理区と対照区のろ紙の貼り合わせは溶媒を風乾した後に行い、貼り合わせた後、蒸留水を添加した。葉表面ワックスはヘキサンの溶媒に溶かす際、葉1cm²当量/mlとなるように調整した。スクロースの試験では、処理区と対照区のろ紙を貼り合わせた後に、0.5Mスクロース溶液400 μ lを処理区に、蒸留水400 μ lを対照区にそれぞれ均等に滴下した。供試虫には羽化後3~8日のイチゴハムシ成虫を雌雄の区別なく用いた。どの味覚器官が試咬前の味認識に重要であるか明らかにするため、口器味覚器官(下唇鬚、小顎鬚)、触角、附節を単独または様々な組み合わせで切除し、処理区ろ紙と対照区ろ紙を選択させた。各器官の切除は、実体顕微鏡下で鋭利なピンセットを用いて、それぞれ1分以内に行った。切除後24時間絶食させたイチゴハムシ成虫20頭を、上記ろ紙を敷いた90mmガラスシャーレの中に入れ、1時間後に処理区および対照区ろ紙上のハムシの個体数をそれぞれ数えた。両試験区にまたがって静止していた個体はデータから除外した。1シャーレを1反復とし、1試験区あたり12反復ずつ行った。

(4) 附節を介した味物質による行動制御の可能性の検証

供試虫にはイチゴハムシ成虫を用いた。イチゴハムシの寄主であるエゾノギシギシ生葉のリーフディスク(直径55mm)の表側に、100mg/mlのブルシンのメタノール溶液を240 μ l滴下し、葉さじで均等に延ばした。ブルシン処理のない区では、同量のメタノールを同様に処理した。メタノールを風乾後、切れ込みを入れた直径125mmのろ紙に処理面を上にして挟み、130mmガラスシャーレに設置した。ろ紙とシャーレとの間には、直径55mmの湿ろ紙(蒸留水:240 μ l)を置いた。附節を切除または未切除のイチゴハムシ成虫1頭をろ紙上に放し、リーフディスクに対する行動を目視で観察した。供試虫は放飼前に72時間絶食させた。観察時には、イチゴハムシの行動を7項目に分類したが、データとしては、脚のみの葉への接触でリーフディスクから離れた個体の割合を取りまとめた。観察は10分が経過した時点または摂食行動が3分以上継続した時点で終了とした。各試験区とも雌雄40反復ずつ、計80反復行った。

4. 研究成果

(1) 附節味覚感覚子の存在の網羅的解明

① 走査型電子顕微鏡(SEM)による附節味覚感覚子の存在調査および種・食性の分化と味認識機構の関係解明

ナガヒラタムシ亜目ではナガヒラタムシ科のナガヒラタムシのみを調査したが、先端に孔のある感覚子の存在は確認できなかった。オサムシ亜目(上科)ではハンミョウ科1亜科(ハンミョウ科)2種、オサムシ科4亜科(アオゴミムシ亜科、ヨツボシゴミムシ亜科、ナガゴミムシ亜科、オサムシ亜科)7種の内、先端に孔のある感覚子の存在が確認されたのはオサムシ亜科のトウホククロオサムシ1種であった。

カブトムシ亜目では調査した9上科(ガムシ上科1種、ハネカクシ上科1種、コガネムシ上科18種、タマムシ上科2種、コメツキムシ上科4種、ホタル上科5種、ヒラタムシ上科19種、ハムシ上科79種、ゾウムシ上科18種)の内、先端に孔のある感覚子の存在が確認されたのは、ホタル上科の4種(ジョウカイボン、セボシジョウカイ、ヘイケボタル、ホソベニボタル)、ヒラタムシ上科の2種(キイロカミキリモドキ、アオカミキリモドキ)、ハムシ上科の71種、ゾウムシ上科の8種(ウスモンオトシブミ、ヒメクロオトシブミ、ヒゲナガオトシブミ、エゴツルクビオトシブミ、ハラダチョッキリ、コナライクビチョッキリ、イモゾウムシ、アリモドキゾウムシ)で、附節味覚感覚子と推定される感覚子を有していた種は、一部の分類群に偏っていた(図1)。

ハムシ上科においては、カミキリムシ科とハムシ科について調査したが、カミキリムシ科では調査した7亜科(ノコギリカミキリ亜科、カミキリ亜科、フトカミキリ亜科、ホソカミキリ亜科、クロカミキリ亜科、マルクビカミキリ亜科、ハナカミキリ亜科)33種の内、

② 各種物質に対する跗節味覚感覚子の受容性調査

イチゴハムシの跗節味覚感覚子は、感覚子によって応答に違いはあるものの、甘味物質のスクロース、苦味物質のブルシン、寄主植物のエゾノギンギシ葉表面ワックスに対して濃度依存的な電気生理応答を示した(図7)。これは、コウチュウ目昆虫の跗節の糖受容さらには寄主葉表面ワックス受容を、電気生理応答実験で証明した世界初の成果である。このことから、ハムシ類は跗節の味覚感覚子で植物葉表面ワックスを含む様々な味物質を受容できることが電気生理学的にも証明された。

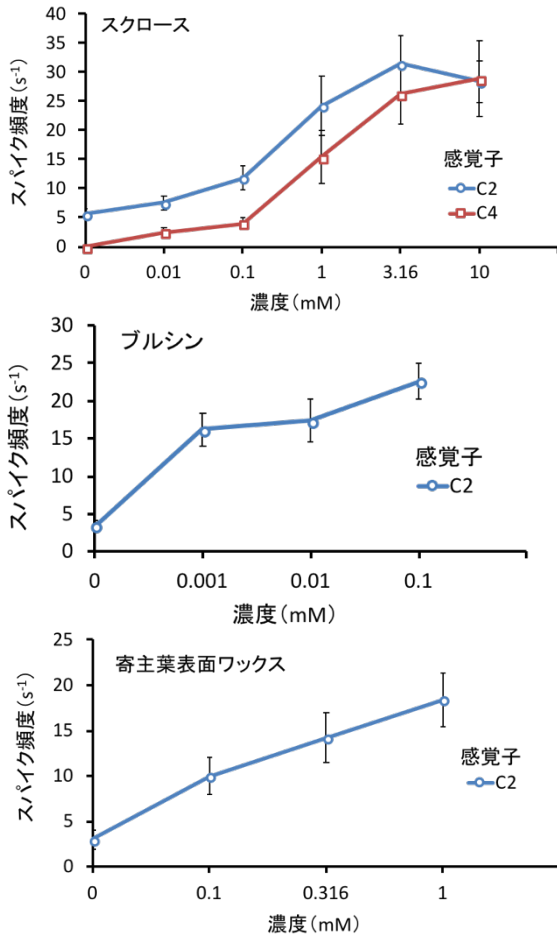


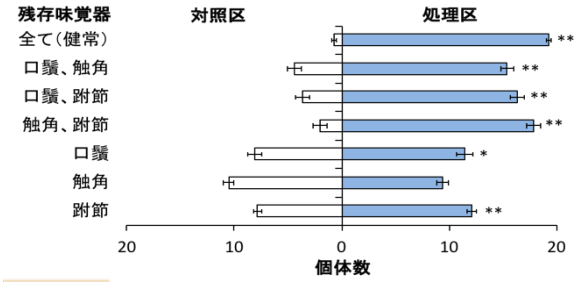
図7. 各種味物質に対する電気生理応答の用量反応曲線

(3) 寄主認識における跗節の役割の解明

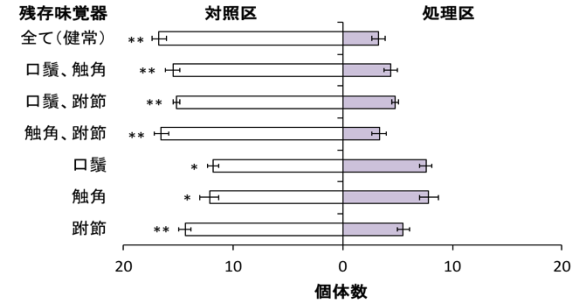
イチゴハムシは跗節のみで、スクロース、ブルシン、エゾノギンギシ葉表面ワックスを認識できることが行動学的に明らかにされた(図8)。触角のみではブルシンは認識できるものの、スクロースや葉表面ワックスは認識できなかった。口鬚のみではスクロースとブルシンは認識できるものの、葉表面ワックスは認識できなかった。また、いずれの物質に対しても、跗節のみの個体は、触角や口鬚のみの個体に比べて認識能力が高かった。以上のことから、物質の初期段階の味認識には跗節が最も重要な役割をしていることが明らかになった。また、エゾノギンギシ葉表面ワックスを跗節のみで認識できたことから、

イチゴハムシは寄主植物に脚の先端で触れただけで、寄主の味を認識できることが示唆された。

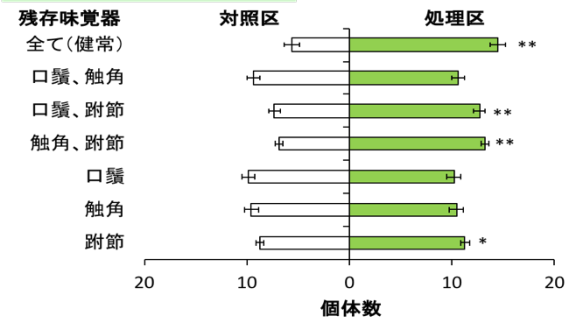
スクロース



ブルシン

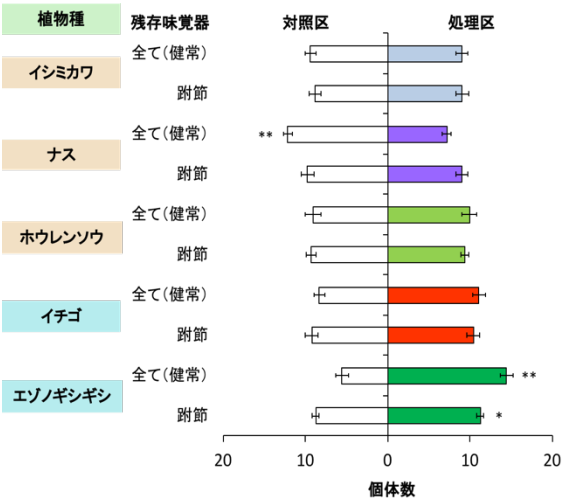


エゾノギンギシ葉表面ワックス



**, *: $p < 0.01, 0.05$ で処理区と対照区間に有意差あり (Wilcoxon の符号付順位和検定)

図8. 各味覚器官を切除したイチゴハムシの各種味物質に対する行動応答



**, *: $p < 0.01, 0.05$ で処理区と対照区間に有意差あり (Wilcoxon の符号付順位和検定)

図9. 寄主および非寄主植物葉表面ワックスの跗節による識別

跗節のみの個体はエゾノギシギシ葉表面ワックスを認識して選択したが、非寄主のイシミカワ、ナス、ホウレンソウの葉表面ワックスには選択性を示さなかった(図9)。また、寄主のイチゴに対しても選択性を示さなかった。エゾノギシギシはイチゴよりも好適な寄主のため、好適性の違いが跗節による味認識の違いに関与していると考えられる。

以上の結果から、ハムシ類は植物に到達後、跗節で植物体に触れることにより、好適な寄主であるか否かを認識できることが明らかになり、跗節が寄主選択における味認識に重要な役割をしていることが明らかになった。

(4) 跗節を介した味物質による行動制御の可能性の検証

跗節切除個体はブルシン処理した寄主植物葉に触れても葉から離れなかったが、健常個体の約30%は脚で処理葉に触れただけで葉から離れた(図10)。以上から、跗節に定着を阻害する物質を作用させることで、試咬前に加害行動を阻止できる可能性が示された。

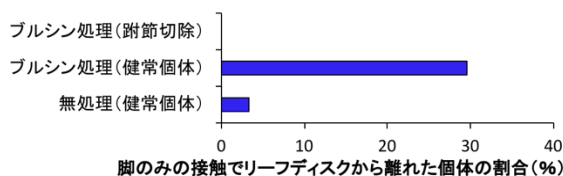


図10. ブルシン処理をした寄主植物葉に対する跗節による味認識応答

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計9件)

- ① 与謝野舜・轡田康彦・増田秀平・松田一寛・堀雅敏, ハムシは脚で葉表面の味を認識する-形態・電気生理応答・行動解析から終に明らかに!-, 第62回日本応用動物昆虫学会大会, 2018年3月25-27日, 鹿児島市, ポスター賞受賞
- ② Yosano, S., Kutsuwada, Y., Akatsu, M., Masuta, S., Kakazu, R., Masuoka, N., Matsuda, K. and Hori, M., The importance of Chrysomelidae tarsal gustation in host selection, 2017 ISCE/APACE, 2017年8月23-27日, Kyoto (Japan)
- ③ 与謝野舜・赤津美波・轡田康彦・増田秀平・嘉数怜・増岡直史・松田一寛・堀雅敏, ハムシ科の跗節味認識に関する形態学、電気生理学、行動学的解析, 日本昆虫学会東北支部第64回大会, 2017年8月5-6日, 仙台市
- ④ Yosano, S., Kutsuwada, Y., Akatsu, M., Masuta, S., Kakazu, R., Masuoka, N., Matsuda, K. and Hori, M., Taste recognition by tarsi is important in

host selection of leaf beetle (Chrysomelidae), New Horizons in Food Science via Agricultural Immunology-Frontiers in Agricultural Immunology, 2017年7月21-24日, Sendai (Japan)

- ⑤ 与謝野舜・轡田康彦・増田秀平・嘉数怜・増岡直史・赤津美波・松田一寛・堀雅敏, コウチュウ目ハムシ科の跗節味覚感覚器の形態と寄主選択における役割, 第61回日本応用動物昆虫学会大会, 2017年3月27-29日, 東京都
- ⑥ Yosano, S., Akatsu, M., Kutsuwada, Y., Masuta, S., Kakazu, R., Masuoka, N., Matsuda, K. and Hori, M., The discrimination between host plants and nonhost plants by tarsi in Chrysomelidae, XXV International Congress of Entomology, 2016年9月25-30日, Orlando (USA)
- ⑦ Yosano, S., Akatsu, M., Kutsuwada, Y., Masuta, S., Kakazu, R., Masuoka, N., Matsuda, K. and Hori, M., The discrimination of host plants by tarsi in Chrysomelidae, 日本昆虫学会第76回大会・第60回日本応用動物昆虫学会大会合同大会, 2016年3月26-29日, 堺市
- ⑧ Yosano, S., Akatsu, M., Kutsuwada, Y., Masuta, S., Kakazu, R., Masuoka, N., Matsuda, K. and Hori, M., The role of tarsi in host selection by Chrysomelidae, The 8th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology (APACE), 2015年9月23-26日, Anaheim (USA)
- ⑨ 与謝野舜・赤津美波・轡田康彦・増田秀平・嘉数怜・増岡直史・松田一寛・堀雅敏, ハムシ科昆虫の寄主選択における跗節の重要性, 日本昆虫学会東北支部第62回大会, 2015年7月25-26日, 猪苗代町

[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]

ホームページ等 特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀 雅敏 (HORI, Masatoshi)
 東北大学・大学院農学研究科・准教授
 研究者番号: 70372307