

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2020

課題番号：16K08103

研究課題名(和文)カイガラムシ類における性フェロモン生産性喪失プロセスの解明

研究課題名(英文)Decay of sex pheromone production in mealybugs with parthenogenesis

研究代表者

田端 純 (Tabata, Jun)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・上級研究員

研究者番号：20391211

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：多くの昆虫の配偶行動には、性フェロモンと呼ばれる化学物質が関与している。特に、カイガラムシ類のメス成虫は植物に固着してほとんど動かずに、種毎に固有の構造のフェロモンを放出してオス成虫を強く誘引することが知られている。一方で、パイナップルコナカイガラムシの一部には、メスだけで繁殖できる単為生殖能力を持つ系統が存在する。この系統のメス成虫は全くフェロモンを生産しないことが明らかとなった。オスを誘引する必要がないため、生理的なコストや生態的なリスクを孕むフェロモンの生産を放棄したものと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微量でも劇的な作用を示す昆虫のフェロモンは、化学生態学の中心的な題材のひとつであり、これまでもガ類やハエ類などで数多くの研究が行われてきた。しかし、カイガラムシ類のフェロモンは比較的複雑な構造であり、カイガラムシ類自体も小さく扱いにくいいため、研究が進んでいなかった。本研究では、パイナップルコナカイガラムシをはじめとするカイガラムシ類のフェロモンの天然物化学や比較生化学の手法を確立し、このグループの昆虫を新しい研究モデルとするための礎を築くことができた。カイガラムシ類には重要な農業害虫も含まれるため、応用昆虫学的にも重要な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Sex pheromones to attract mates are essential for reproduction in coccid insects, because adult females of them generally lose mobility, with no wings and retrogressed legs. Reflecting the importance, pheromone systems of these insects are sophisticated and highly diverged among species. On the other hand, some coccid insects are asexual. For example, both bisexual and asexual lineages coexist in a Japanese population of the pineapple mealybug, *Dysmicoccus brevipes*, and the asexual lineage completely reproduces by parthenogenesis. This study determined the pheromone structure of the bisexual lineage of *D. brevipes* to be (1S,2S)-(1,2-dimethyl-3-methylenecyclopentyl) acetaldehyde and demonstrated that the production of this compound decays in the asexual lineage.

研究分野：化学生態学

キーワード：フェロモン 単為生殖 モノテルペン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 多くの昆虫類の配偶行動には、性フェロモンと呼ばれる化学物質が関与している。ごく微量でも強力な活性を発揮する性フェロモンによる昆虫の雌雄間の情報交信は、最も顕著な生物間相互作用現象のひとつと言える。そのため、ガ類やハエ類を中心にフェロモンの構造や機能に関する研究が盛んに行われてきた。これらの昆虫のフェロモンは、単純な直鎖状の化学構造であることも多く、分析化学・生化学的な解析に比較的適している。

(2) 一方で、環状構造を含む複雑な化学構造のフェロモンを生産する昆虫ではそれほど研究が進んでいない。例えば、コナカイガラムシ類はガ類と同様に強力なフェロモンを発することが知られているが、その化学構造は特殊なテルペンであるため、研究開始当初はわずか10数種でしか解明されていなかった。

(3) 研究代表者らは、コナカイガラムシ類のフェロモンに関する研究を推進する過程で、パイナップルコナカイガラムシ *Dysmicoccus brevipes* のフェロモンが未知の5員環構造を含むアルデヒドであることを見出した。この物質は、最近縁種のパナコナカイガラムシ *Dysmicoccus neobrevipes* のフェロモン ( -ラバズリルアセテート ) とは大きく異なるものであった (Tabata & Ichiki 2015, Tabata & Ohno 2015)。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では、パイナップルコナカイガラムシ (図1) のフェロモンの化学構造および絶対配置を決定するとともに、類似した特殊な5員環骨格を有するフェロモンをコナカイガラムシ類から探索し、系統的な比較を通してフェロモン構造の多様性を解明することを目的とした研究を実施する。



図1 パイナップルコナカイガラムシのメス成虫

(2) また、パイナップルコナカイガラムシには、フェロモンを生産して通常の有性生殖を営む系統と、メスのみで繁殖可能でフェロモンを必要としない単為生殖系統が混在する。そこで、この2系統を材料として、フェロモンの生産性に関する比較を行うことで、「必要なくなった」フェロモンの進化的帰結やそこに至るプロセスの一端を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) パイナップルコナカイガラムシを含むコナカイガラムシ類のメス成虫を実験室下で大量に増殖してガラス容器 (0.2~1.0-L) に入れ、放出される匂いを吸引捕集し、そこからフェロモン活性を有する物質を液体およびガスクロマトグラフィーによって単離する。単離した物質は質量分析 (MS) 法や核磁気共鳴分光 (NMR) 法により構造を解析する。さらに、鏡像体選択的有機合成を通して絶対配置を決定するとともに、オス成虫を用いた行動実験で各鏡像体・異性体のフェロモン活性を評価する。

(2) パイナップルコナカイガラムシの有性生殖系統と単為生殖系統のメス成虫が生産するフェロモン量を個体別に経時的に定量し、その放出動態を明らかにする。また、フェロモンの生産性と連動して発現する遺伝子をスクリーニングし、フェロモン生産性に関与する候補遺伝子を特定する。

### 4. 研究成果

(1) パイナップルコナカイガラムシの有性生殖系統のメス成虫から、合計で2.1mg以上のフェロモン物質を単離した。高分解能MSデータ ( $m/z$  152.1276) やNMRスペクトルから、この物質の構造を(1,2-ジメチル-3-メチレンシクロペンチル)アセトアルデヒドと決定した (Tabata et al. 2017)。この物質には *syn*-ジメチル体と *anti*-ジメチル体が存在するが、野外トラップ実験から *anti*-ジメチル体にフェロモン活性が認められることが分かった。さらに、リパーゼによる鏡像体選択的アシル化反応を用いて(1*S*,2*S*)-体と(1*R*,2*R*)-体を合成し、天然フェロモンが(1*S*,2*S*)-体であることを明らかにした (Mori & Tabata 2017) (図2)。

(2) パイナップルコナカイガラムシのような5員環モノテルペンのフェロモンは *Pseudococcus* 属、*Nipaecoccus* 属、*Delottococcus* 属からも見つかっている(図2)。国内に侵入したコナカイガラムシ類3種(クロテンコナカイガラムシ *Phenacoccus solenopsis*、フタスジコナカイガラムシ *Ferrisia virgata*、キコンコナカイガラムシ(仮称) *Pseudococcus baliteus*)のフェロモンを調査したところ、*Ps. baliteus*のフェロモンに類似した5員環構造が見出された。一方で、高分解能MSデータ( $m/z$  252.17804)やマイクロリアクション(加水分解や接触水素添加)の結果から、この虫のフェロモンはヒドロキシケトンと2-メチルブタン酸のエステルであり、パイナップルコナカイガラムシのフェロモン(アルデヒド)とは官能基が大きく異なることが判明した(Tabata et al. 2020)(図2)。5員環構造のフェロモンは少なくとも4つの異なる属から見つかっているため、このような特殊な骨格を生産する生合成システムが複数の系統で派生したと考えられる。また、クロテンコナカイガラムシとフタスジコナカイガラムシのフェロモンはそれぞれ特徴的な4員環および3員環構造を含むことが分かった(Tabata & Ichiki 2016, 2017)。

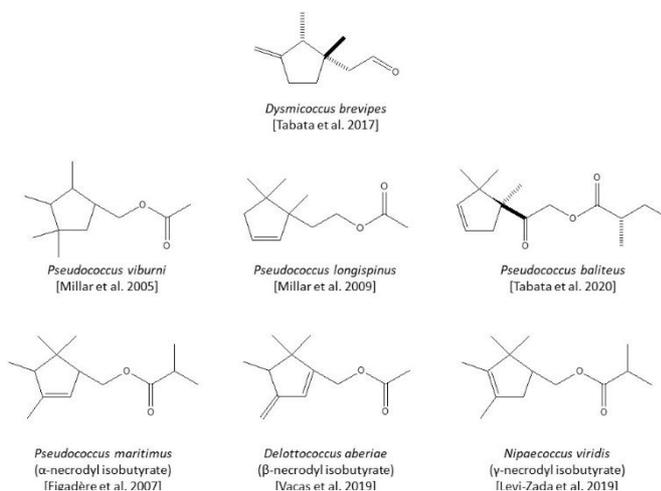
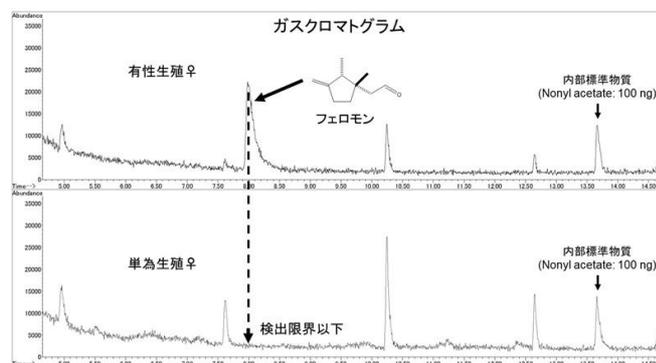


図2 コナカイガラムシ類のフェロモンにみられる5員環モノテルペン

(3) 沖縄本島および石垣島でパイナップルコナカイガラムシを採集したところ、沖縄本島では有性生殖系統と単為生殖系統が同所的に分布しており、有性生殖系統の方が高頻度でみられたが、石垣島では単為生殖系統のみが分布していた。両者は遺伝的に分化しており、ミトコンドリアの *CO1* 領域の塩基置換頻度から Quek et al. (2004) の分子時計によれば約 130 万年前に分岐したものと考えられた(Tabata et al. 2016)。



(4) パイナップルコナカイガラムシの有性生殖系統の未交尾メス成虫は、日齢を経るにつれて急激にフェロモン生産量を増加させることが分かった。しかし、交尾を経験するとすぐにフェロモンを放出しなくなり、再び生産性が活性化することはなかった。一方、単為生殖系統のメス成虫は生涯を通じてフェロモンを全く生産しなかった(図3)。

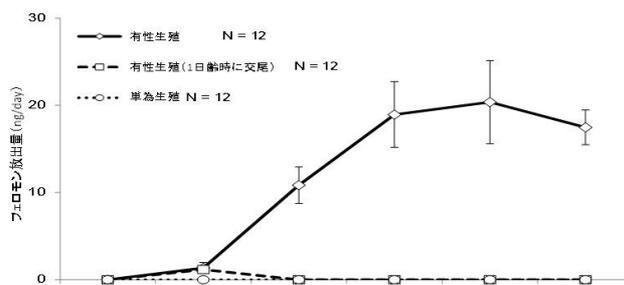


図3 パイナップルコナカイガラムシのフェロモン生産性の変化

(5) また、フェロモンの生産性には明確な日周期があり、実験室内では点灯後数時間でピークに達した後に速やかに減少し、消灯後は全く生産されなかった(図4)。生涯のうち、わずかな期間の一定の時刻に限ってフェロモンが生産されるという事実から、コナカイガラムシ類にとってフェロモン生産は潜在的なコストやリスクを孕むと考えられる(Tabata & Teshiba 2018)。コナカイガラムシ類は、アブラムシ等と同様に、植物を吸汁する昆虫であり、一般に食物から得られる窒素量が乏しいため、フェロモンのような代謝産物を浪費することの生理的な負荷は無視できないだろう。さらに、コナカイガラムシ類のフェロモンはしばしば天敵を誘引することが知られている(Tabata 2020)。自ら動くことができないコナカイガラムシ類のような昆虫のメスにとって、フェロモンはオスを呼び寄せるために欠かすことができないツールであるが、オスなしでも繁殖できる単為生殖能力を獲得した個体にとっては無用の長物でしかない。そのため、パイナップルコナカイガラムシの単為生殖系統では進化的に短期間のうちにフェロモン生産性が

喪失したものと考えられる。

(6) フェロモン生産性の活性化/喪失に関わる遺伝子を探索するために、フェロモン生産のピーク時と停止時の個体からそれぞれ total RNA を抽出し、RNA-seq によりトランスクリプトーム解析を行い、フェロモン生産時に転写量が増加する遺伝子を選定した。これらの候補遺伝子についてリアルタイム PCR 法で発現量を確認し、フェロモン生産時に 4 倍以上の転写量がみられるものについて完全長 cDNA 配列を決定した。また、大腸菌によるタンパク質大量発現系を確立した。得られたタンパク質の機能解析を実施することで、フェロモン生産性の活性化/喪失の生化学的メカニズムの解明につながると考えられる。

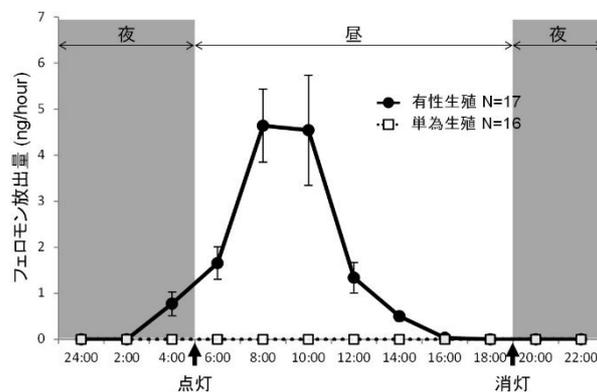


図4 パイナップルコナカイガラムシのフェロモン生産性の日周期

(7) 本研究により、これまでではガ類等を対象に比較的シンプルな化合物で実施されてきたフェロモンシステムの研究を、コナカイガラムシ類に展開し、より複雑で多様な昆虫の性的コミュニケーションの全容を解明するための端緒をつかむことができた。

#### <引用文献>

- Figadère BA, McElfresh JS, Borchardt D, Daane KM, Bentley W, Millar JG. 2007. *trans*-Necrotyl isobutyrate, the sex pheromone of the grape mealybug, *Pseudococcus maritimus*. *Tetrahedron Letters* 48: 8434-8437.
- Levi-Zada A, Steiner S, Fefer D, Kaspi R. 2019 Identification of the sex pheromone of the spherical mealybug *Nipaecoccus viridis*. *Journal of Chemical Ecology* 45: 455-463.
- Millar JG, Midland SL, McElfresh JS, Daane KM. 2005. (2,3,4,4-Tetramethylcyclopentyl)methyl acetate, a sex pheromone from the obscure mealybug: First example of a new structural class of monoterpenes. *Journal of Chemical Ecology* 31: 2999-3005.
- Millar JG, Moreira JA, McElfresh JS, Daane KM, Freund AS. 2009. Sex pheromone of the longtailed mealybug: A new class of monoterpene structure. *Organic Letters* 11: 2683-2685.
- Mori K, Tabata J. 2017. Pheromone synthesis. Part 262: Determination of the absolute configuration of the female sex pheromone [(1*S*,2*S*)-(-)-(1,2-dimethyl-3-methylenecyclopentyl) acetaldehyde] of the pineapple mealybug (*Dysmicoccus brevipes*) by synthesis coupled with X-ray analysis. *Tetrahedron* 73: 6530-6541.
- Tabata J. 2020. Sex pheromones of mealybugs: Implications for evolution and application. In: *Insect Sex Pheromone Research and Beyond* (Ed. Y. Ishikawa), Springer, pp. 35-60.
- Tabata J, Ichiki R. 2015. A new lavandulol-related monoterpene in the sex pheromone of the grey pineapple mealybug, *Dysmicoccus neobrevipes*. *Journal of Chemical Ecology* 41: 194-201.
- Tabata J, Ichiki R. 2016. Sex pheromone of the cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis*, with an unusual cyclobutane structure. *Journal of Chemical Ecology* 42: 1193-1200.
- Tabata J, Ichiki R. 2017. (1*S*,3*R*)-*cis*-Chrysanthemyl tiglate: sex pheromone of the striped mealybug, *Ferrisia virgata*. *Journal of Chemical Ecology* 43: 745-752.
- Tabata J, Teshiba M. 2018. Sexual attractiveness and reproductive performance in ageing females of a coccoid insect. *Biology Letters* 14: 20180262.
- Tabata J, Ohno S. 2015. Enantioselective synthesis of the sex pheromone of the grey pineapple mealybug, *Dysmicoccus neobrevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae), for determination of the absolute configuration. *Applied Entomology and Zoology* 50: 341-346.
- Tabata J, Ichiki R, Tanaka H, Kageyama D. 2016. Sexual versus asexual reproduction:

Distinct outcomes in relative abundance of parthenogenetic mealybugs following recent colonization. PLOS ONE 11: e0156587.

Tabata J, Ichiki R, Moromizato C, Mori K. 2017. Sex pheromone of a coccoid insect with sexual and asexual lineages: fate of an ancestrally essential sexual signal in parthenogenetic females. Journal of the Royal Society Interface 14: 20170027.

Tabata J, Kamo T, Watanabe T, Kinsho T. 2020. Sex pheromone of the aerial root mealybug, *Pseudococcus baliteus*: a unique monoterpenoid containing an -hydroxyketone moiety. Tetrahedron Letters 61: 151802.

Quek SP, Davies SJ, Itino T, Pierce NE. 2004. Codiversification in an ant-plant mutualism: stem texture and the evolution of host use in *Crematogaster* (Formicidae: Myrmicinae) inhabitants of *Macaranga* (Euphorbiaceae). Evolution. 58: 554-570.

Vacas S, Navarro I, Marzo J, Navarro-Llopis V, Primo J. 2019 Sex pheromone of the invasive mealybug citrus pest, *Delottococcus aberiae* (Hemiptera: Pseudococcidae). A new monoterpenoid with a necrodane skeleton. Journal of Agriculture and Food Chemistry 67: 9441-9449.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tabata Jun、Kamo Tsunashi、Watanabe Tomohiro、Kinsho Takeshi	4. 巻 61
2. 論文標題 Sex pheromone of the aerial root mealybug, <i>Pseudococcus baliteus</i> : A unique monoterpene containing an $\alpha$ -hydroxyketone moiety	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 151802 ~ 151802
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tetlet.2020.151802	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 田端 純	4. 巻 57
2. 論文標題 植物保護における昆虫フェロモン利用のこれまでとこれから	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 697 - 705
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tabata Jun、Teshiba Mayumi	4. 巻 14
2. 論文標題 Sexual attractiveness and reproductive performance in ageing females of a coccoid insect	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biology Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rsbl.2018.0262	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mori Kenji、Tabata Jun	4. 巻 73
2. 論文標題 Pheromone synthesis. Part 262: Determination of the absolute configuration of the female sex pheromone [(1S,2S)-(-)-(1,2-dimethyl-3-methylenecyclopentyl) acetaldehyde] of the pineapple mealybug ( <i>Dysmicoccus brevipes</i> ) by synthesis coupled with X-ray analysis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 6530 ~ 6541
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tet.2017.09.046	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 田端 純、安居 拓恵、辻井 直、安田 哲也	4. 巻 61
2. 論文標題 交信攪乱法 - チョウ目以外の害虫における進展と展望 -	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本応用動物昆虫学会誌	6. 最初と最後の頁 63~71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1303/jjaez.2017.63	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tabata Jun、Ichiki Ryoko T.	4. 巻 43
2. 論文標題 (1S,3R)-cis-Chrysanthemyl Tiglate: Sex Pheromone of the Striped Mealybug, <i>Ferrisia virgata</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Ecology	6. 最初と最後の頁 745~752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10886-017-0879-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tabata J, Ichiki RT, Tanaka H, Kageyama D	4. 巻 11(6)
2. 論文標題 Sexual versus Asexual Reproduction: Distinct Outcomes in Relative Abundance of Parthenogenetic Mealybugs following Recent Colonization	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0156587	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tabata J, Ichiki RT, Moromizato C, Mori K	4. 巻 14
2. 論文標題 Sex pheromone of a coccoid insect with sexual and asexual lineages: fate of an ancestrally essential sexual signal in parthenogenetic females	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of the Royal Society Interface	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsif.2017.0027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tabata J, Ichiki RT	4. 巻 42(11)
2. 論文標題 Sex pheromone of the cotton mealybug, <i>Phenacoccus solenopsis</i> , with an unusual cyclobutane structure	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Ecology	6. 最初と最後の頁 1193-1200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10886-016-0783-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田端 純・手柴真弓
2. 発表標題 老化に伴う性的魅力と繁殖能力の変化：コナカイガラムシの事例から
3. 学会等名 日本昆虫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田端 純
2. 発表標題 単為生殖化に伴いフェロモンを出すのをやめたカイガラムシ
3. 学会等名 日本進化学会第18回大会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Jun Tabata (editor, author)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 CRC Press	5. 総ページ数 297
3. 書名 Chemical Ecology of Insects: Applications and Associations with Plants and Microbes	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------