

ゴマダラカミキリにおける化学交信

農業生物資源研究所 ^{やすい ひろえ わかむら さだお}
安居 拓恵・若村 定男

はじめに

ゴマダラカミキリ *Anoplophora malasiaca* (Thomson) (Coleoptera : Cerambycidae) は北海道南部, 本州・四国・九州と周囲の島々, 奄美大島, 沖縄島, 朝鮮半島, 済州島に分布するとされる (横原, 2000, 2007)。寄主範囲が大変広く, カンキツ類, ブルーベリーなどの果樹, ヤナギ, プラタナスやポプラなどの街路樹等の生木に産卵し, 幼虫が内部を食害して樹勢を弱らせ, 枯死させることもある。一方, 近縁種のツヤハダゴマダラカミキリ (*A. glabripennis*) などの *Anoplophora* 属カミキリは, 分布域でないアメリカやヨーロッパにおいて, 侵入警戒種とされ, 侵入事例の報告が絶えない。現在, 被害木から数 km 以内の樹木をすべて伐採してチップにするか焼却するという手荒な手法でしか根絶が図れない状況にある。

樹木穿孔性の幼虫に対して有効な防除手段はなく, また成虫に対しても日本のカンキツ園などでは殺虫剤が散布されているが, 必ずしも高い防除効果が得られているわけではない。また, 成虫は非常に高密度とされる場合でさえ, 平均すると1樹当たり1頭以下というレベルにある。それ以下の低密度でも, 成虫は交尾して産卵する。そこには, 配偶者を探索する巧妙な仕組みがあるに違いない。それを逆手にとれば本種に対する新たな防除手段開発につながるかもしれない。このように考えた私たちは, 本種の配偶行動の解発因について化学的要因を中心に研究を続けてきた。既に本誌において深谷 (2002) がコンタクトフェロモンに関する知見を中心に紹介しているので, 本稿では, それ以後に得られた知見に比重をおいて紹介し, 本種の防除につながる可能性や今後の問題点について述べてみたい。

I コンタクトフェロモン

ゴマダラカミキリの雄は触角か口髭で雌に触れると雌に駆け寄って捕捉し, 雌の背に乗りかかって体軸を合わせ腹部末端を下方に曲げ, 交尾器を結合させるという一

連の交尾行動が引き起こされる。この一連の行動は雌の体表に存在する化学物質によって解発され, ①活性は雌鞘翅抽出物の炭化水素画分と極性画分を混合して供試した場合に発現する, ②炭化水素画分には40種以上の成分が含まれていたが, 活性は有機化学合成した主要8成分で再現できる (図-2左), ③炭化水素画分は雄由来のものに入れ替えても, 雌の極性画分と組み合わせればほぼ同等の活性が得られる, ④雄の極性画分は雌雄の合成炭化水素と混合しても活性は発現しない, といった実験結果が得られている。これらの結果からゴマダラカミキリの配偶者認識には雌の体表に存在する接触刺激性の性フェロモン (コンタクトフェロモン) が重要な役割を演じていて, 性フェロモン活性の鍵は極性画分にあると考えられた (以上, 深谷, 2002)。

そこで, 極性画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィーでさらに分画したところ, 活性発現に必須な酢酸エチル画分と協効効果を示す10%酢酸エチル-ヘキサン画分とに分かれた (図-1)。まず, 10%画分中の活性成分として, 合計5種のケトン成分の化学構造を解明し (図-2右上; Yasui et al., 2003), 阻害効果を示す1種を除く他の4種の合成物質を混合することによりフェロモン活性を再現させることに成功した (図-1)。一方, 酢酸エチル画分からは3種のラクトン成分の化学構造決定に成功し (図-2右下; Yasui et al., 2007 a), 立体構造も

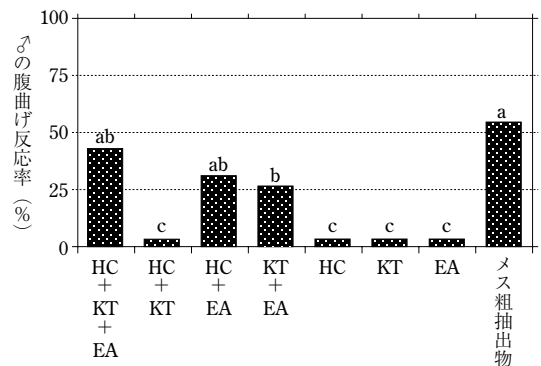


図-1 コンタクトフェロモンのオスに対する活性評価

HC: 炭化水素主要8成分の合成混合物, KT: 合成ケトン4成分混合物, EA: メス抽出物の酢酸エチル画分 (この時点では成分未解明) (Yasui et al., 2003 を一部改変)。

Chemical Communication in White-spotted Longicorn Beetle.
By Hiroe YASUI and Sadao WAKAMURA

(キーワード: カミキリムシ, 配偶行動, 誘引物質, コンタクトフェロモン, セスキテルペン, 嗅覚刺激, 視覚刺激)

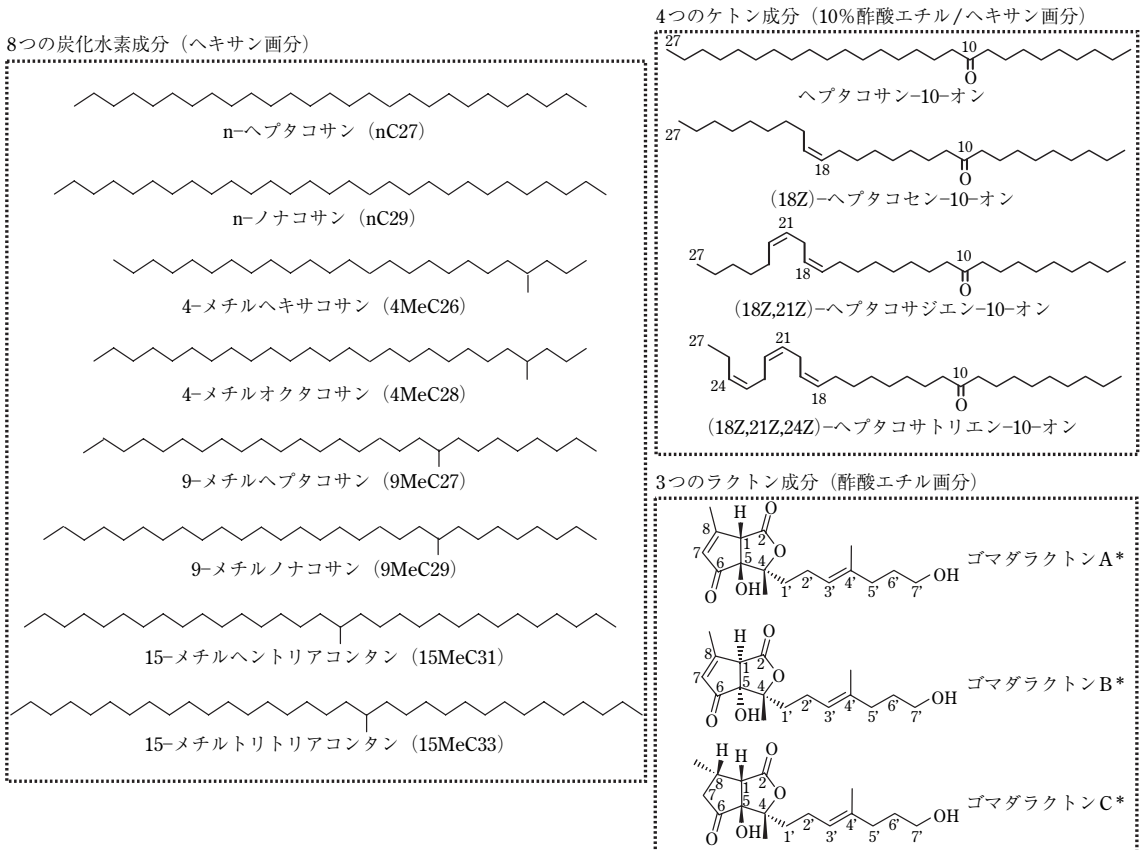


図-2 メスのコンタクトフェロモンの全容

*：活性候補成分.

関連化合物の合成により決定された (MORI, 2007)。ゴマダラカミキリにちなみ、ゴマダラクトンA～Cと命名した一群の物質は、いずれも新規な環状構造を有する複雑な構造をもち、化学構造発表前の2002年から関係研究室で合成が試みられてきたが、いまだに成功していない。

ラクトン成分について合成物を用いた活性確認に至っていないとはいえ、ゴマダラカミキリのコンタクトフェロモン成分の全容がほぼ明らかとなった。このフェロモンの特徴として、①炭素数が17個以上の揮発性が低い物質で触角や口髭で直接接触して初めて行動が解発されるコンタクトフェロモンであること^注、②活性発現にはラクトン成分が必須だが、単独では十分な活性が発現しない、すなわち、炭化水素成分とケトン成分の一方または両方と混合する必要があるという厳密性があること、③

^注 これらの物質は不揮発性というわけではない。おそらく、触角や口髭の感覚子は体表ワックスに直接接触することなくフェロモン物質を受容している、と想像される。

炭化水素成分とケトン成分はそれぞれ複数成分の混合により抽出物と同等の活性が発現するが、成分群の中の1つか2つの成分が欠けても活性は顕著に低下することはないという「いい加減さ」も合わせもっていること、が挙げられる。

このようにゴマダラカミキリの接触刺激性の性フェロモンは複数の物質群に属する多数の成分で構成され、上に挙げたような特徴をもつ、ほかに類例を見ないユニークなシステムであることが明らかになった。しかし、そもそも接触性フェロモンの入念な解明研究の事例自体が少ないので、将来他種のコンタクトフェロモンの解明が進めばユニークではなくなるのかもしれない。

II 誘引物質

さて、コンタクトフェロモンの全容解明にはほぼ成功したことになるが、1樹当たり平均1頭以下という低密度のゴマダラカミキリは、触角や口髭で接触可能な距離までどのように到達するのであろうか。多くのカミキリ

ムシ類には樹勢が弱った木に集まる習性が知られている (HANKS, 1999) が、本種にはそのような習性は認められていない (ADACHI, 1990)。雌雄ともに活発に樹間や樹上を歩行移動し、雄には活発な飛翔による樹間移動が認められる (ADACHI, 1990; ADACHI et al., 1992)。闇雲に徘徊するだけで、配偶者に遭遇できるものだろうか。コンタクトフェロモンの解明を続けながら、私たちが抱き続けた疑問であった。

その疑問に答えるためには、成虫に対する微妙な誘引性でも的確に評価できる生物検定法の開発が不可欠であった。その手法は図-3に示すように、ゴマダラカミキリの背地性を利用するものである。すなわち図-3Bに示すように、カラープリンターか鉛筆を使ってかろうじて見えるほどの薄い線で作図した紙を斜め75度に立てかけた検定板に貼り付け、ほぼ中央部に検体 (M) を配置し、左右どちらかの出発点 (S) から成虫を1頭ずつ放して歩行ルート (頭部の位置) を記録するという手法である。検体を置かない場合や、無処理のガラスダミー (直径12 mm, 長さ34 mm)などを置いた場合、図-3B右側に示すように、90~95%の個体が上方に向かってほぼ直線的に歩行した。ところが、雌の新鮮な死体や鞘翅抽出物を塗布したガラスダミーを置くと、図-3B左側に示すように歩行ルートは検体に向かって顕著に、しかも触角が検体に触れる前に曲がるという定位行動が確

かめられた (FUKAYA et al., 2004 a)。この行動を指標とすることによって、誘引物質の行動アッセイが可能になった。

そこで、温州ミカン園で採集したゴマダラカミキリ雌の誘引性について検討した。雌を冷凍して殺し解凍直後の新鮮な死体を検体としたところ、50%以上の雄が歩行定位した。ガラスダミーに雌鞘翅抽出物を塗布した場合にも、同様な定位反応が認められたので、雌鞘翅には雄を誘引する化学因子が含まれていることが確認された (FUKAYA et al., 2004 a)。そこで、528頭分の雌鞘翅をエーテルで抽出し、活性成分の分画と行動アッセイを反復することにより活性物質を精製しGC-MS分析したところ、炭素数15個のセスキテルペン炭化水素類の一群が浮かび上がってきた (YASUI et al., 2007 b)。しかし、雌抽出物から得られた物質の量は、NMR分析などさらに詳細な構造解析に必要な量の1/100以下しかなかった。

ここで、活性成分の解明は暗礁に乗り上げた形になったが、研究チームは試行錯誤を繰り返す中で、様々な知見を集積していた。それを列挙すると、①人工飼料で飼育した雌の誘引性は低下した、②再度ミカン枝で飼育すると誘引性が復活した、③同じ現象は、検体を雄に代えても認められた、④ミカン枝飼育の成虫は上記セスキテルペン類の放出が確認されたが、人工飼料飼育の場合に

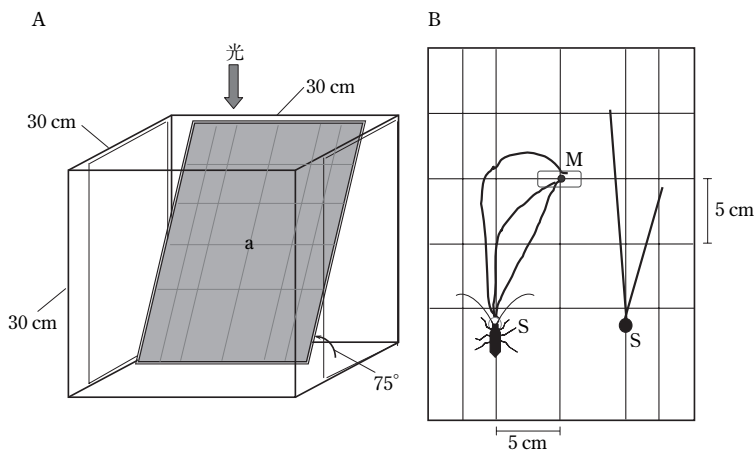


図-3 近距離においてゴマダラカミキリの誘引反応を見る生物検定装置

A: 装置の全体像; 前面が開いた30×30×30 cmの透明アクリルボックスの側面床面に白い紙を張り、上部より照明を当て、アッセイボードを75°の角度で立てかける。B: アッセイボード; 中央にガラスダミーを固定し (M)、左右5 cm離れた位置の下方10 cmのところ (S) からゴマダラカミキリを導入する。Mに何もなければ成虫はまっすぐに登るが、Mのガラスダミーに誘引活性があるとMのほうに進路が曲がり、定位する (FUKAYA et al., 2004 a を一部改変)。

は検出されなかった, ⑤雌抽出物 (a), 温州ミカンの樹皮 (b) と葉 (c) それぞれの抽出物の対応するセスキテルペン画分 (a ~ c) は, 同一の GC-MS 分析結果を与えた, ⑥温州ミカンの葉抽出物から得られたセスキテルペン画分は雌鞘翅由来のものと同等の誘引活性を示した, ⑦活性物質の精製を進めると, 誘引活性が急激に低下したが, この画分にコンタクトフェロモンの合成炭化水素混合物を添加すると活性が復活した, ⑧また, 合成炭化水素混合物は, 全く別系統の物質である真空グリースで代替できたので, 炭化水素混合物は, セスキテルペン類の保持と徐放性の機能を有する (YASUI et al, 2007 a)。以上の知見から, ゴマダラカミキリは自らが誘引性のフェロモンを分泌するのではなく, 寄主植物由来のセスキテルペン類を体表のワックス層に保持して揮発させることにより, 種内の交信に利用しているのではないかという推論を得たのである。

その結果, 誘引物質の抽出材料としてゴマダラカミキリ成虫よりはるかに容易に大量に入手可能な温州ミカン葉を利用できることになり, 誘引活性画分中の主要成分は4種のセスキテルペン (図-4) と同定できた (YASUI et al, 2007 a) が, そのほかに分離できなかった一部の成分が未同定のまま残されている。

さて, 至近距離での定位反応を指標として分離・同定したセスキテルペン類は野外の樹木間というスケールで誘引物質として作用するのであろうか。今回同定した物質はすべて市販されているわけではなく, 未同定の成分もあるので, 温州ミカンの葉からセスキテルペン類を抽出して野外実験に使用した。セスキテルペン類を10mgずつ含浸させたゴムキャップのほかに, 対照としてステンレス製のかごに入れた雌または雄成虫を準備した。2005年6月21日夕方大分県国東半島の温州ミカン園で, あらかじめ樹木を揺すって成虫を除去した温州ミカン樹に, 上記ゴムキャップや成虫かごを取り付けた。翌

日早朝7時から15分ごとに夕方6時まで3日間連続して交代で見回り, 取り付けた樹上にいる成虫を捕獲調査した。捕獲した成虫は数と雌雄および誘引源からの距離を記録した後, 匂いに直接反応できないと考えられる風上側に10m以上離して再放逐した。このような調査を3日間連続して行ったところ, セスキテルペン類を取り付けた樹と雌雄成虫を取り付けた樹に, 無処理の樹に比べて有意に多くの成虫が見いだされたのである (YASUI et al, 2007 a)。しかし, 成虫が見いだされた位置は誘引源から平均1m程度離れた場所で, 必ずしも誘引源間近とはいえなかった。チョウ目昆虫の性フェロモンのようなピンポイントへの誘引とは異なり, 緩やかな誘引現象であった。興味深いことに, セスキテルペンには, 雄だけでなく若干少ないが雌も誘引された。この結果から, 樹間のような距離においてもセスキテルペン類はゴマダラカミキリ成虫の誘引に関与している可能性, 雌だけでなく雄成虫も同様に同種他個体を誘引するということが明らかになった。

III セスキテルペン類の機能と役割

さて, セスキテルペン類はミカンの樹皮や葉からどのような仕組みでゴマダラカミキリに移行するのだろうか。2つの可能性が考えられた。①後食した樹皮や葉から消化管でいったん吸収され体表に分泌される, ②後食中に樹皮や葉から揮発する物質が体表ワックスに吸着保持される。2006年7月, 研究室に筑波産のゴマダラカミキリが届けられてきた。このエリアで温州ミカンは栽培されていないので, この虫は温州ミカンを摂食した可能性はゼロと考えてよい。早速分析したところ, 体表からセスキテルペン類は全く検出されなかった。そこで, 大きめの容器に温州ミカンの切枝と大分産の雌成虫を入れ, そこに筑波産の個体を金属製の網かごに入れて吊るし, 容器上部に蓋をして24時間放置した。その後再度分析したところ, 筑波産ゴマダラからセスキテルペン類の放出が確認され, 量的にもミカン枝摂食中のゴマダラと同レベルだったのである。筑波産ゴマダラカミキリはミカン切枝に接触も摂食も不可能な状態であった。したがって, 大分産の雌がミカン枝を摂食した際に空气中に揮散した物質が網かご中の個体に吸着されたと考えられた。

なお, セスキテルペン類は無傷の温州ミカン枝からはほとんど放出されない。ゴマダラカミキリにかじらせたり, ナイフなどで傷を付けたりすると, 他の揮発性物質とともに放出される (YASUI et al., 2008)。私たちは, ゴマダラカミキリ由来の誘引物質を探索して, セスキテル

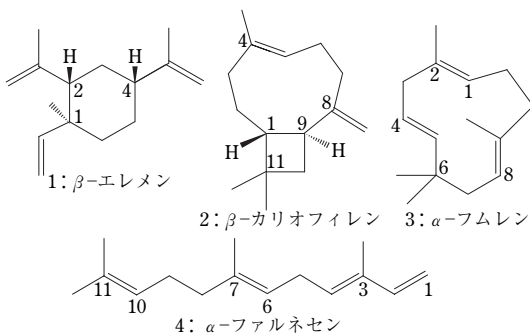


図-4 セスキテルペン類の化学構造

ペン類に行き当たったが、実は、樹皮や葉をかじったとき植物のセスキテルペン類がカミキリ体表に移行し吸着していたということになる。傷枝や成虫から揮発するセスキテルペン類の量は、傷付けや摂食の直後が最も多く、時間経過とともにそれぞれ急激に減少していた。この傾向は、傷枝や成虫の誘引活性が時間とともに急速に失われるという結果によく対応していた。

以上の結果から、セスキテルペン類の役割を考えると、「今ここでお仲間が枝をかじっていますよ」という情報、つまり同種他個体の存在情報を運ぶ役割、すなわち、性フェロモンや集合フェロモ的な役割を果たしていると考えられる (YASUI et al, 2008)。

IV 視覚刺激

ゴマダラカミキリの配偶者探索には視覚による認識も関与している。図-3の歩行定位生物検定の検体として様々な色のガラスダミーに雌鞘翅抽出物を塗布して提示してみたところ、雄の反応率はガラスダミーの色彩によって顕著な違いを見せたのであった (FUKAYA et al., 2004 a, b)。反応率をガラスダミーの色彩の明度に対してプロットしてみたところ、きれいな負の相関関係が認められた。すなわち暗い色ほど反応率が高くなったのである (FUKAYA et al., 2005 b)。雌抽出物を塗布しないと雄は定位しない。したがって、雄は至近距離において、嗅覚刺激 (セスキテルペン類) の存在下で視覚探索していると考えられる。この反応は雌の場合にもオス抽出物の存在下で、ガラスダミーの色が暗くなるほど反応率が高くなったことから、雌にも雄同様の行動反応が存在していることになる (FUKAYA et al., 2005 a)。つまり、ゴマダラカミキリは、雌雄ともにセスキテルペン類を吸着して保持し、徐々に放出して自身が誘引源になる場合もあり、他個体が放出する匂いに誘引され、至近距離では暗い色彩の物体に視覚定位することもあると考えられる。

また、ゴマダラカミキリは体サイズの変異が大きいので、体サイズと反応性の関係について検討した。雌の最大クラス、平均的、最少クラスに相当するサイズの黒ガラスダミーに雌抽出物を塗布したところ、雄はサイズが大きいものに対して高い反応率を示した (FUKAYA et al., 2005 b)。同様に、雌も体が大きな配偶者を好む傾向が認められ、小さい雄に対しては高い頻度で拒否反応を示した (FUKAYA et al., 2004 b)。このような反応は、触角などによる接触以前に起こるので、配偶者の体サイズも視覚によって認識していると考えられる。

ところで、小さいオスはコンタクトフェロモンに対する感受性が高い。小さい雄は、雌に交尾を拒否されやす

いという不利を、高いフェロモン感受性で補っていると考えられる (FUKAYA et al., 2004 b)。

V 配偶者探索シナリオと新たな疑問点

以上に述べた知見や推定をもとに、野外における配偶者探索行動のシナリオを描いてみたい。樹木内で羽化した成虫は樹皮に穴を開けて脱出し、やがて後食を始めると、寄主のミカン枝のかじり跡からセスキテルペン類が放出される。後食の時間や量は雌のほうが圧倒的に多い。したがって、セスキテルペンは匂い源に雌がいる可能性が高いという情報と同時に寄主植物の存在を伝えている。雄はセスキテルペンの匂い源付近を探索すれば、雌に行き当たる確率が高いだろう。しかしかじり跡に雌がいるとは限らない。その場合、匂い源付近の黒っぽい物体を視覚的に探索するほうが確実だろう。その物体が雌だったら、そして拒否されなければ、駆け寄り、捕捉し、交尾することができる。コンタクトフェロモンは交尾相手の認識を確実にしてくれる。もしめぐり合った相手が雄だったら、運が悪かったなあと、別の匂い源を求めて立ち去ればよい。いや立ち去る前に腹ごしらえするのもよいだろう。成虫期間は長く、しかも十分な飛翔能力や歩行能力があるのだから。

一方、雌にとってセスキテルペンは、雌と良好な餌の存在情報を提供しているのではなかろうか。雌にとって良好な餌は卵巣を発達させる栄養を摂取できることを意味する。しかし、このアイデアには難点がある。もしそれが正しいなら、雌主導の交尾集団が形成されることになるが、そのような現象は認められていない。となると、もしかしたら雌も、雄がいるかもしれないと、セスキテルペンの匂い源に近づいて、相手が自分に気づかなかつたら、こっちから近づいていき、大きな雄だったら大歓迎、小さな雄ならちょっと一瞥して立ち去りましょう、でもおいしい餌の場所だから、ちょっとここで食事しましょうか、くらいのシナリオになるのかもしれない。

さて、このシナリオは温州ミカンを寄主とするゴマダラカミキリの配偶者探索をうまく説明していると思うが、しかし、同時に次なる問題が提示されていることに気付かされる。ゴマダラカミキリの寄主植物は冒頭で紹介したように大変多く、他の寄主においても温州ミカンの場合と同様にセスキテルペン類を種内交信に利用しているとはとても考えられない。2008年夏、ヤナギを寄主としているゴマダラカミキリ成虫150頭あまりを確保できたので、温州ミカンの場合との比較実験を実施した。その結果、温州ミカンの場合と同じシナリオでは全く解釈できない結果がたくさん得られている。ゴマダラ

カミキリは多数の寄主植物ごとに異なる認識システムを準備しているのだろうか。新たな難題が提起されている。

VI ゴマダラカミキリの防除に向けての問題点

ゴマダラカミキリの誘引物質セスキテルペン類は、チョウ目昆虫の性誘引フェロモンとは異なり、強力な誘引性を示すわけでもピンポイントに誘引するわけでもない。雄成虫はセスキテルペンを含ませたゴムキャップから平均 1 m も離れて着地する。このように緩やかな誘引作用をもつ物質を害虫の防除素材として利用した事例はこれまでになく、今後新たな視点に立った利用法の開発が必要である。例えば、セスキテルペン類で誘引しておいて、昆虫糸状菌ボーベリアとコンタクトフェロモンを含ませたシートに触れさせる機会を増やすとか、視覚目標を利用するといったことが考えられる。このようなアイデアを検討するためには、コンタクトフェロモンの経済的な合成法の開発やセスキテルペン類の確保が不可欠といえる。

おわりに

日本に分布するゴマダラカミキリ *A. malasiaca* は過去にも分類上の混乱が見受けられる。本種は中国南部を中心に分布する *A. chinensis* とは別種とされている（榎原，2000，2007）一方で、本種を *A. chinensis* のシノニムとして扱う見解が出版された（LINGAFELTER and HOEBEKE, 2002）。*A. chinensis* はヨーロッパに侵入し、根絶に躍起になっているようである（EPPO, 2007）。2008年1月にも、*A. chinensis* が苗木に寄生した状態で中国からオランダを経由して英国に持ち込まれたとされ問題となっている（DEFRA, 2008；日本農業新聞 2008.8.31付）。ゴマダラカミキリが *A. chinensis* という扱いになると、日本との貿易問題に発展する可能性もないとはい

えない。

いずれにせよ、ゴマダラカミキリ類は重要害虫であり、防除法が切望されている種であることには変わりがない。ゴマダラカミキリの化学交信を解き明かすことによって、ゴマダラカミキリの生活への理解を深め、新たな防除法開発に結び付けたいものである。

謝辞 本研究の推進に当たり、多大なご協力をいただいた大分県農林水産研究センター果樹研究所の山崎礼一氏はじめ多くの方々に厚く感謝いたします。本稿で紹介した研究は、筆者らの当時の研究室メンバー、深谷 緑、秋野順治、安田哲也の各氏および食品総合研究所の小野裕嗣氏との共同研究によりなされたものである。また、本研究の一部は農林水産技術会議プロジェクト研究「生物機能を活用した環境負荷低減技術の開発」の一環としてなされたものである。

引用文献

- 1) ADACHI, I. (1990) : Res. Popul. Ecol. **32** : 15 ~ 32.
- 2) ——— et al. (1992) : Bull. Fruit Tree Res. Sta. **23** : 179 ~ 191.
- 3) DEFRA, U. K. (2008) : <http://www.defra.gov.uk/plant/citruslonghorn.htm>
- 4) EPPO (2007) : http://www.eppo.org/QUARANTINE/anoplophora_chinensis/chinensis_IT_2007.htm
- 5) 深谷 緑 (2002) : 植物防疫 **56** : 181 ~ 184.
- 6) FUKAYA, M. et al. (2004 a) : Entomol. Exp. Appl. **111** : 111 ~ 115.
- 7) ——— et al. (2004 b) : Appl. Entomol. Zool. **39** : 731 ~ 737.
- 8) ——— et al. (2005 a) : ibid. **40** : 63 ~ 68.
- 9) ——— et al. (2005 b) : ibid. **40** : 513 ~ 519.
- 10) HANKS, L. M. (1999) : Annu. Rev. Entomol. **44** : 483 ~ 505.
- 11) LINGAFELTER, S. W. and E. R. HOEBEKE (2002) : Revision of *Anoplophora* (Coleoptera : Cerambycidae). Entomological Society of Washington, Washington, DC. 236 pp.
- 12) MORI, K. (2007) : Tetrahedron Lett. **48** : 5609 ~ 5611.
- 13) 榎原 寛 (2000) : 森林防疫 **49** : 180 ~ 194.
- 14) ——— (2007) : 日本産カミキリムシ, 東海大学出版会, 秦野, p. 576 ~ 605.
- 15) YASUI, H. et al. (2003) : Entomol. Exp. Appl. **107** : 167 ~ 176.
- 16) ——— et al. (2007 a) : Tetrahedron Lett. **48** : 2395 ~ 2400.
- 17) ——— et al. (2007 b) : Appl. Entomol. Zool. **42** : 255 ~ 268.
- 18) ——— et al. (2008) : Chemoecology, in press.