

熱帯林保全ツールとしての性 フェロモン候補化合物の機能 解明

研究課題:熱帯林保全ツールとしての性フェロモン候補化合物の機能解明

目 次

研究の要約	162
第1章 熱帯林保全ツールとしての性フェロモン候補化合物の機能解明	165
1. マホガニーマダラメイガの性フェロモン化合物の機能解明	165
2. チークビーホールボラーの性フェロモン化合物の機能解明	169

研 究 の 要 約

I 研究年次及び予算区分

研究年次:平成 16～17 年(2か年)

予算区分:運営交付金(交付金プロジェクト II)

II 主任研究者

主査:中牟田 潔

副主査:

取りまとめ責任者:中牟田 潔

III 研究場所

森林総合研究所、タイ王室森林局 Phu Toei(プ・トエイ)試験地、Kui Buri(クイ・ブリ)試験地、Me Gar(メ・カー)採種園、Mae Ho Pra(メー・ホ・プラ)試験地、タイ国立公園野生生物植物保全局 Ngao(ンガオ)森林昆虫・微生物研究センター、タイ森林公社 Li(リー)試験地

研究協力機関:国際農林水産業研究センター林業部、タイ王室森林局 森林管理・林産研究所

IV 研究目的

拡大しつつある熱帯荒廃林地を自然資源の持続的利用が可能な土地として修復することは緊急かつ必須の課題であり、既存修復技術の総合化および新技術の開発が求められている。マホガニーとチークは経済的価値が高いため荒廃林地の再生にこれら樹種を植栽したいとの希望が熱帯諸国では非常に強い。しかし、この2樹種には熱帯林の二大害虫といわれるマホガニーマダラメイガ(以下、イブシピラ)とチークビーホールボラーによる激甚被害が存在するため、国によっては政府がマホガニーやチークの植栽を奨励していない場合もある。イブシピラやチークビーホールボラーによる被害の有効な低減技術が開発されれば、いつでもマホガニーやチークを植えたいとの声は熱帯林の昆虫に関する国際的な集まりではつねに話題となるほどである。とくにマホガニーは植栽後6～7年間程度イブシピラの被害を防止することができれば、十分な経済価値をもつ材が得られるため、この期間の防除方法が求められている。なかでもタイ、マレーシア、オーストラリアではそのニーズが非常に高い。

そこで本研究では、荒廃林地の回復など環境保全を経済価値の高いマホガニーやチークの植林により可能とするため、イブシピラとチークビーホールボラーに対して性フェロモン活性を示す候補化合物を野外誘引試験によって探索・同定する。

V 研究方法

雌由来揮発成分をガスクロマトグラフィー触角電位測定装置(GC-EAD)によって分析し、活性ピークを探索・特定する。それら活性ピークの化学構造をガスクロマトグラフィー質量分析装置によって推定する。推定された化学構造を有する化合物を合成し、野外においてトラップを用いた誘引試験を行い、誘引活性を示す化合物を特定する。

VI 研究結果

第1章 熱帯林保全ツールとしての性フェロモン候補化合物の機能解明

1. マホガニーマダラメイガの性フェロモン化合物の機能解明

イブシピラ未交尾雌成虫由来の揮発物質を GC-EAD 分析した結果、GC-EAD 活性を示す6つのピークが存在することが明らかになった。これらの化合物の中で化合物 A、C、D、F について化学構造の推定ができたので、それらの誘引活性を野外試験によって明らかにした。

2004 年の野外誘引試験では、未交尾雌トラップに5匹、化合物 D のトラップに5匹、化合物 A のトラップに2匹の雄成虫が誘殺された。誘殺された個体数は少なかったが、化合物 D に誘引された雄成虫数と未交尾雌成虫に誘引された雄成虫数に差がないことから、少なくとも化合物 D がフェロモン活性を有することはまちがいないと考えられる。2005 年の野外試験ではクイ・ブリ試験地において化合物 F に化合物 D や A よりも強い誘引活性が認められた。

2. チークビーホールボーラーの性フェロモン化合物の機能解明

チークビーホールボーラー未交尾雌成虫由来の揮発物質を GC-EAD 分析した結果、GC-EAD 活性を示す3つのピークが存在することが明らかになった。このうち化合物 P はわれわれのこれまでの研究でフェロモン成分と考えていた化合物と同一であった。また、化合物 T は 2005 年にその化学構造が推定できたので、2006 年の野外試験に供することとした。

2005 年に試験した 4 種の合成化合物は、3カ所の試験地のいずれにおいても野外での誘引活性を示さなかった。2006 年の誘引試験では、メー・ホー・プラ試験地で化合物 P と化合物 T の 1:1 混合物を誘引源としたトラップに 1 頭の雄成虫が誘殺された。それぞれを単独に用いた誘引源には誘殺された雄がいなかった。また、化合物 Q, R, S を誘引源にしたトラップにも雄成虫は誘殺されなかった。

VII 今後の問題点

構造が推定できたが研究期間中に誘引活性を調べられなかった化合物について誘引活性を調べる必要がある。また、誘引活性を示した化合物の混合物を用いた誘引試験が必要である。

VII 研究発表

なし

IX 研究担当者

中牟田潔、松本和馬、中島忠一

第1章 熱帯林保全ツールとしての性フェロモン候補化合物の機能解明

1. マホガニーマダラメイガの性フェロモン化合物の機能解明

ア 研究目的

荒廃林地の回復など環境保全を経済価値の高いマホガニーの植林により可能とするため、マホガニーマダラメイガ(以下、イブシピラ)に対して性フェロモン活性を示す候補化合物を野外誘引試験によって探索・同定する。

イブシピラの性フェロモンに関して、最初に西アフリカ産の *H. robusta* の性フェロモンが Bosson & Gallois (1982) によって Z-9, E-12-テトラデカジエニルアセテート(Z9, E12-14: Ac)、Z-9-テトラデセニルアセテート(Z9-14: Ac)、Z-11-ヘキサデセニルアセテート(Z11-16: Ac)の混合物であることが明らかにされた。しかし、彼らはこれら化合物の野外での誘引性を証明していない。また、上記の3化合物はマレーシア・サバ州における野外試験においてもイブシピラに対して誘引性を示さなかった(Nakamuta et al, 2002)。この結果は、アフリカとアジア・オーストラリアは別の種である可能性が高い(Marianne Horak, オーストラリア CSIRO, 私信)ので、使っている性フェロモンの化学構造が異なるためと推察されている。

本研究では、イブシピラの既知性フェロモン化合物の野外試験を行うとともに、ガスクロマトグラフィー・触角電位測定装置(GC-EAD)により、イブシピラに電気生理的反応を引き起こす化合物を探索・特定する。

なお、本研究は、国際農林水産業研究センターとの共同研究であり、国際農林水産業研究センターとタイ王室森林局との覚え書きの下で実施する課題である。また、化合物の化学構造は特許出願前であるため記載しない。

イ 研究方法

室内において人工飼育により得られた雌成虫由来の揮発成分を固相微量抽出(SPME)法により捕集した。得られた試料を直接 GC-EAD 装置によって分析し、雄成虫触角に電気生理反応を引き起こすピークを特定し、さらにそれらピークの化学構造をガスクロマトグラフィー質量分析装置によって推定した。

推定された化学構造を有するイブシピラの性フェロモン候補化合物を複数合成し、それらを誘引源とする野外誘引試験を 2004 年はタイ王国スパン・ブリ県プ・トエイ試験地内の *Toona ciliata* 林にて、2005 年はプ・トエイ試験地とプラチュアップ・キリ・カン県クイ・ブリ試験地の *Toona ciliata* 林にて実施した。2004 年は化合物 A、または化合物 D 各 1mg を誘引源とするトラップをそれぞれ5個ずつ高さ3~4m、最低12m間隔で2004年7月15日に設置し(図1-1)、翌16日と9月末まで2週おきに雄成虫の調査を行った。ポジティブコントロールとして未交尾雌成虫あるいは羽化間近の雌蛹を2頭入れた金網容器を誘引源としたトラップ、ネガティブコントロールとして誘引源のないトラップをそれぞれ5反復ずつ設置した。2005年は化合物A、

D、または F 各 1mg を誘引源とするトラップをそれぞれ 3 個ずつ、プ・トエイ試験地には 6 月 16 日、クイ・ブリ試験地には 6 月 27 日に設置し、9 月末まで 2 週おきに調査した。



図1-1 プ・トエイ試験地における誘引試験の様子。樹上に白く見えるのがフェロモントラップである。

ウ 結果

イブシピラ未交尾雌成虫由来の揮発物質を GC-EAD 分析した結果 (図1-2)、GC-EAD 活性を示す 6 つのピークが存在することが明らかになった。これらの化合物の中で化合物 A、C、D、F について化学構造の推定ができたので、それらの誘引活性を野外試験によって明らかにした。ただし、化合物 C の構造推定は 2005 年のイブシピラ羽化シーズンが終了した後になされたので、研究期間中に野外試験まで行うことはできなかった。

2004 年の野外誘引試験では、未交尾雌トラップに 5 匹、化合物 D のトラップに 5 匹、化合物 A のトラップに 2 匹の雄成虫が誘殺された (表1-1)。誘殺された個体数は少なかったが、化合物 D に誘引された雄成虫数と未交尾雌成虫に誘引された雄成虫数に差がないことから、少なくとも化合物 D がフェロモン活性を有することはまちがいないと考えられる。2005 年の野外試験ではクイ・ブリ試験地において化合物 F に化合物 D や A よりも強い誘引活性が認められた。

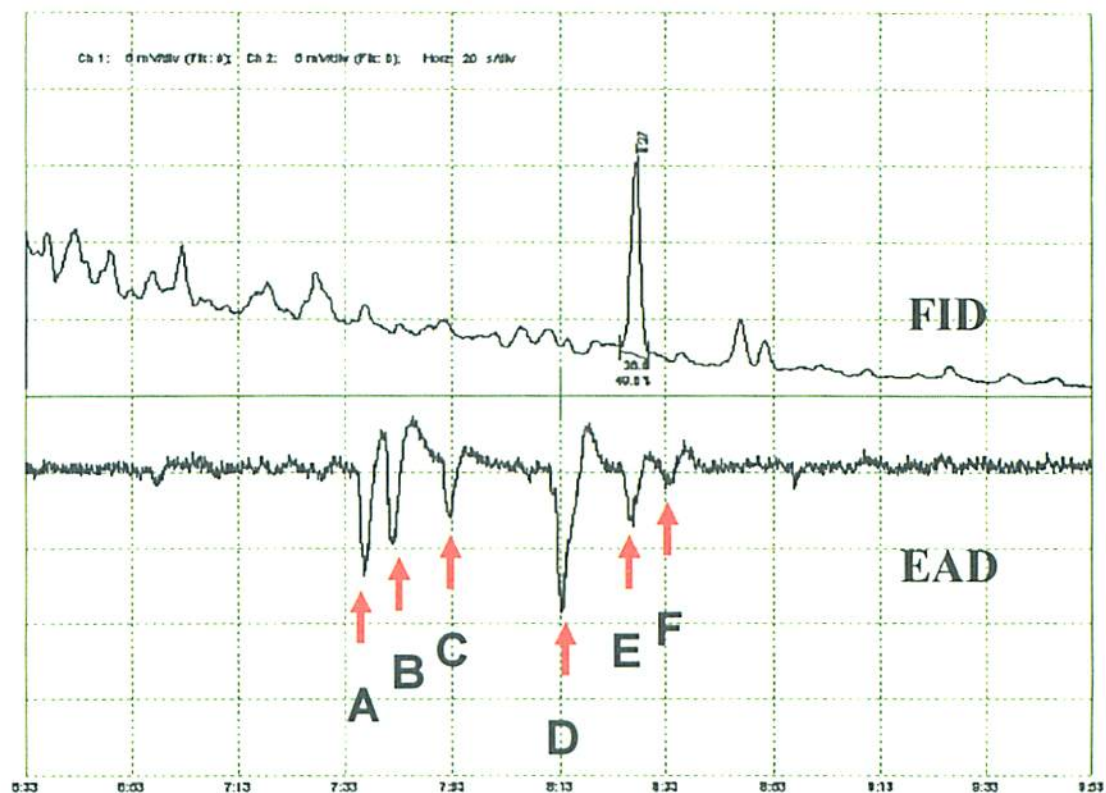


図1-2 イブシピラ雌成虫由来揮発成分のガスクロマトグラム(FID)と雄成虫触角の電気生理応答(EAD)。

表1-1 フェロモン候補化合物のイブシピラに対する誘引活性

誘引源	誘殺された雄成虫数		
	ブ・トエイ(2004)	ブ・トエイ (2005)	クイ・ブリ (2005)
化合物 A	2	0	0
化合物 D	5	2	2
化合物 F	0	1	9
未交尾雌	5	-	-
コントロール	0	0	0

エ 考察

イブシピラの性フェロモンに関してこれまで複数の報告がなされているが(Borek et al, 1991; Bosson & Gallois, 1982; Nakamuta et al, 2002)、野外において未交尾雌あるいは合成フェロモンに雄成虫が誘殺された報告例はなかった。今回初めて未交尾雌成虫を誘引源にしたトラップに雄成虫が捕獲された。さらに、未交尾雌由来の揮発成分中の複数の化合物が雄成虫を誘引することが

明らかとなり、今後の研究に大きな展望が開けたと考える。

オ 今後の問題点

誘引性を示す化合物を3種類特定したが、未交尾雌が放出するこれら3化合物の混合比を明らかにし、その混合比による誘引試験を行う必要がある。また、化合物 C は野外試験にて誘引性の有無を確認する必要がある。

カ 要約

イブシピラの性フェロモンを同定すべく、雌由来揮発成分の GC-EAD および野外誘引試験による活性を解明した。3種類の候補化合物の中で化合物 D と化合物 F に未交尾雌と同等の誘引活性が見られた。

キ 引用文献

- Borek, V., Kalinová, B., Valterová, I., Hochmut, R., and Vrkoc, J. (1991) Sex pheromone gland volatiles from *Hypsipyla grandella* females (Lepidoptera, Pyralidae, Phycitinae). Acta. Entomol. Bohemoslov. 88, pp 181-186.
- Bosson, G. A. & Gallois, M. (1982) Analyse de la sécrétion phéromone émise par les femelles vierges de la Mineuse des pousses de l'Acajou: *Hypsipyla robusta* (Moore) (Lepidoptere, Pyralidae, Phycitinae). C.R. Acad. Sc. Paris, 294, pp 819-821.
- Nakamuta, K., Matsumoto, K. & Kotulai J. R. (2002) Field trapping of the mahogany shoot borer, *Hypsipyla robusta* (Lepidoptera: Pyralidae), with synthetic sex pheromones in Sabah, Malaysia. JIRCAS Journal, 10, pp 9-12.

(執筆人名: 中牟田潔、松本和馬)

2. チークビーホールボーラーの性フェロモン化合物の機能解明

ア 研究目的

荒廃林地の回復など環境保全を経済価値の高いチークの植林により可能とするため、チークビーホールボーラー *Xyleutes ceramica* に対して性フェロモン活性を示す候補化合物を野外誘引試験によって探索・同定する。未交尾雌を誘引源にしたトラップに雄成虫が誘殺されることが Eungwijarnpanya et al (1990) によって初めて示され、性フェロモンの存在が示唆された。その後われわれの研究により性フェロモンの主成分が化合物 P とその幾何異性体（化合物 Q, R, S）と推定された (Nakamuta et al, 1995; 2002)。そこで 2005 年の羽化シーズンにこれら 4 種化合物の誘引活性を野外試験にて明らかにした。さらに雌由来揮発成分の GC-EAD 分析により 4 種化合物以外のフェロモン活性成分を探索し、2006 年はこれら活性成分を加えた野外試験を実施した。

イ 研究方法

チーク林にて捕獲した雌成虫由来の揮発成分を SPME 法により捕集した。得られた試料を直接 GC-EAD 装置によって分析し、雄成虫触角に電気生理反応を引き起こすピークを特定した。さらにそれらピークの化学構造をガスクロマトグラフィー質量分析装置によって推定した。

チークビーホールボーラーの野外誘引試験は、表 2-1 に示したように 2005 年は 3 ヶ所、2006 年は 2 ヶ所にて、表に示した期間に行った。

誘引源として、性フェロモン候補化合物 4 種（化合物 P, Q, R, S）の 1mg/100 μ l ヘキサン溶液をゴムセプタムに含浸させたルアーを作製した。SE トラップの粘着板中央にルアーを置き（図 2-1）、このトラップをチーク林内高さ約 5m に設置した（図 2-1）。メ・カー採種園とリー試験地は 5 反復、ンガオ森林昆虫・微生物研究センターは 2 反復の実験区とした。

2006 年の誘引試験では前年に用いた 4 種類（化合物 P, Q, R, S）に加えて、新たに GC-EAD 活性を示すことのわかった化合物 T と化合物 P と T の 1:1 混合物も誘引源として用いた。

表 2-1 チークビーホールボーラーの野外試験を行った場所および期間

実施年	場 所	トラップ設置	トラップ回収
2005 年	パヤオ県メ・カー採種園	2005/2/18	2005/3/8
	ランバン県ンガオ森林昆虫・微生物研究センター	2005/2/25	2005/3/8
	ランブーン県リー試験地	2005/2/20	2005/3/6
2006 年	ランバン県ンガオ森林昆虫・微生物研究センター	2006/3/4	2006/3/11
	チェンマイ県メー・ホ・プラ試験地	2006/3/11	2006/3/31

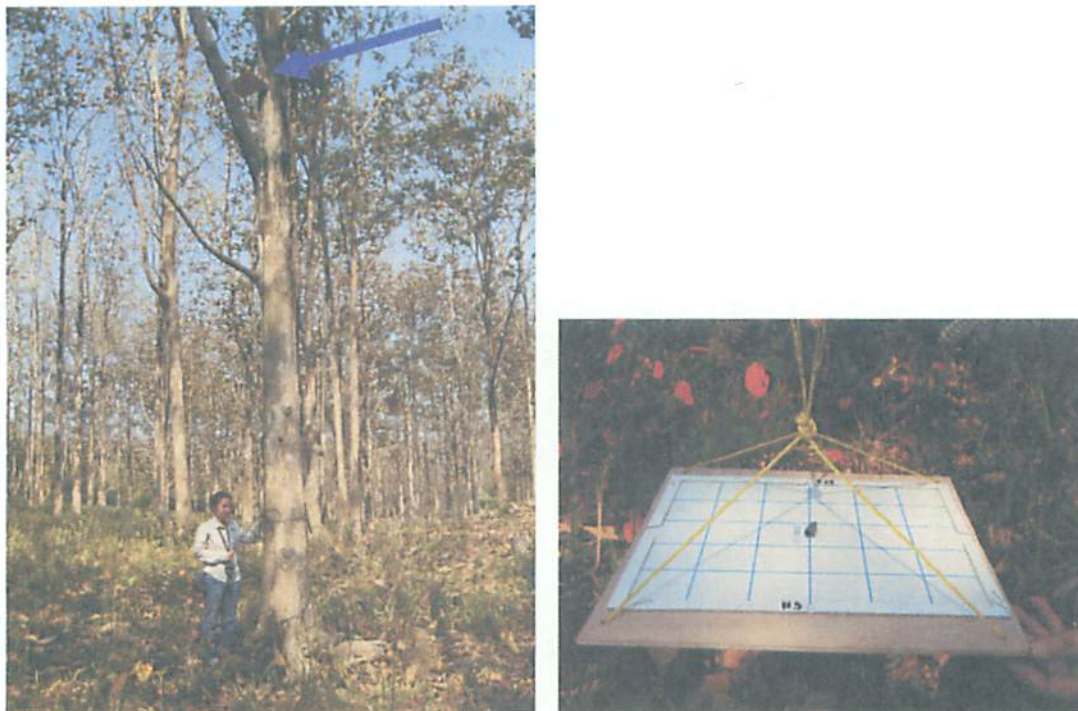


図2-1 メ・カー採種園内のチーク林に設置したトラップ(左、矢印)と粘着板を張り付けて作製したトラップ(右)。

ウ 結果

チークビーホールボーラー未交尾雌成虫由来の揮発物質をGC-EAD分析した結果(図2-2)、GC-EAD活性を示す3つのピークが存在することが明らかになった。このうち化合物Pはわれわれのこれまでの研究でフェロモン成分と考えていた化合物と同一であった。また、化合物Tは2005年にその化学構造が推定できたので、2006年の野外試験に供することとした。化合物Uは研究期間中に構造の推定まで至らなかった。

2005年に試験した4種の合成化合物は、3カ所の試験地のいずれにおいても野外での誘引活性を示さなかった。

2006年の誘引試験では、メー・ホー・プラ試験地で化合物Pと化合物Tの1:1混合物を誘引源としたトラップに1頭の雄成虫が誘殺された。それぞれを単独に用いた誘引源には誘殺された雄がいなかった。また、化合物Q, R, Sを誘引源にしたトラップにも雄成虫は誘殺されなかった。

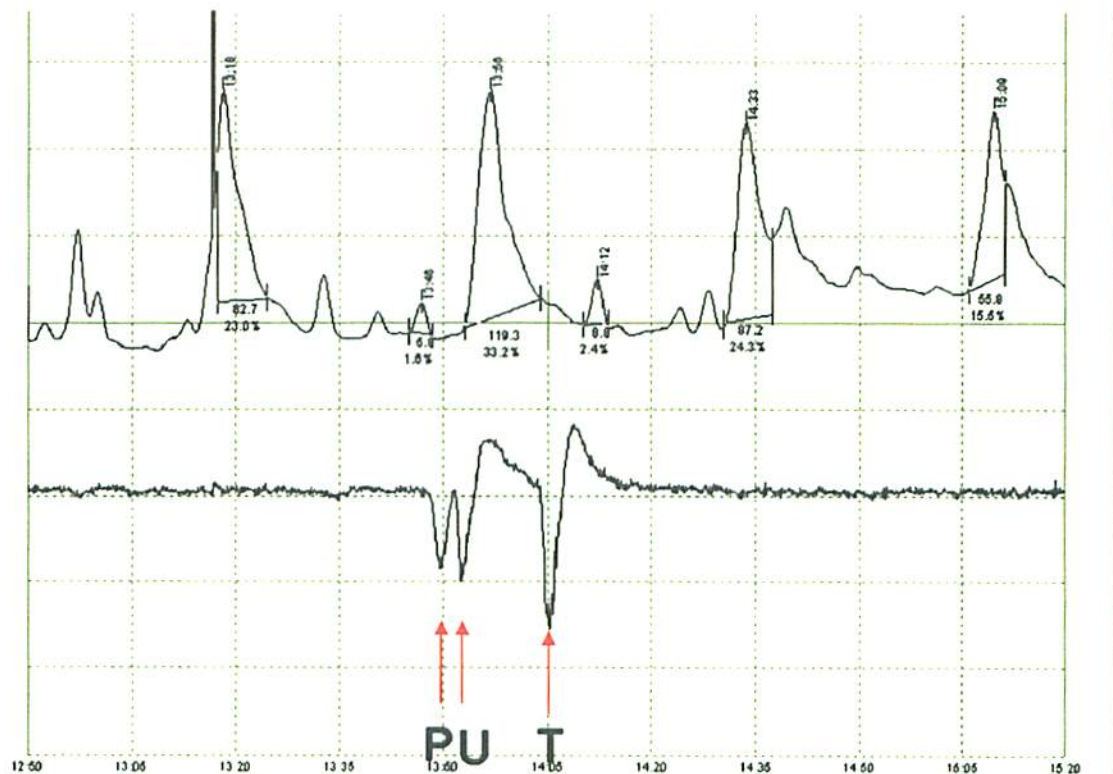


図2-2 チークビーホールボーラー雌成虫由来揮発物質のガスクロマトグラム(FID)と雄成虫触角の電気生理応答(EAD)

エ 考察

化合物PとTの1:1混合物に誘引活性が認められたが、誘殺数がわずか1頭なので再度誘引試験を行ってその誘引活性を確認する必要がある。また、GC-EAD 活性を示したピークUについて化学構造を推定する必要がある。

オ 今後の問題点

誘引性を示した化合物PとTに関して再度誘引試験を行って誘引性を確認するとともに、化合物Tの異性体についても誘引性を解明する必要がある。

カ 要約

チークビーホールボーラーの性フェロモンを同定すべく、雌由来揮発成分のGC-EADおよび野外誘引試験による活性を解明した。5種類の候補化合物のなかで化合物Pと化合物Tの1:1混合物のトラップに雄1頭が誘殺された。

キ 引用文献

Kiyoshi Nakamuta, Tadakazu Nakashima, Toshiya Ikeda, Supachote Eungwijarnpanya & Chaweewam Hutacharern (1995) Mating behavior and the female sex pheromone in the teak beehole borer, *Xyleutes ceramicus*. Proceedings of Joint IUFRO Conference on "Behavior, Population Dynamics, and Control of Forest Insects"

Kiyoshi Nakamuta, Tadakazu Nakashima, Tohiya Ikeda, Supachote Eungwijarnpanya, SumridYincharoen and Chaweewan Hutacharern (2002) Sex pheromone of the teak beehole borer, *Xyleutes ceracmicus*. In "Pest Management in Tropical Forest Plantations", FORSPA Publication No. 30: 93-98.

Supachote Eungwijarnpanya, Kiyoshi Nakamuta, Chaweewam Hutacharern & Toshiya Ikeda (1990) Bionomics of the teak beehole borer, *Xyleutes ceramicus*, in northern Thailand: Mating behavior. Thai J. Forestry 9:196-202.

(執筆者名: 中牟田潔、中島忠一)