昆虫フェロモンの抽出法

桑 原 保 正*

1. はじめに

現在まで約25年間に、昆中だけで約300種について、その性フェロモンの化学構造が解明され、我国でも10数種の農作物害虫の性フェロモン製剤が、発生調査用として市販されている¹⁾。なかでも、鱗翅目昆虫についてはもっともよく研究され、化学分類学的な推定が可能であり、機器分析技術の進歩とともに、100頭前後の供試虫から抽出した材料で、フェロモンの構造決定が可能な時代となっている。フェロモンについては優れた成書があり^{2)~4)}、よく御存知と思うが、一応簡単に説明しよう。フェロモンとは生物個体間で情報として働く化学物質であり、棲息場所や生活様式により、水中、空気中あるいは接触により伝播する。微生物から高等動物まで広く分布し、微生物では性ホルモン、接合フェロモンあるいは接合制御因子などとも呼ばれている⁵⁾。情報伝達には、化学的手段以外にも音や光などの物理的手段があり、話を昆虫だけにかぎっても、すべての種がフェロモンを利用しているわけではない。情報の担う機能により、フェロモンはさらに分類される。雌雄間の配偶行動に係わり、主として雌が分泌し雄を誘引する性フェロモンは、害虫のコントロールを目的によく研究されてきた。そのほか、仲間に危険を知らせる警報フェロモン、集団をつくるように誘引定着させる集合フェロモン、道しるべフェロモンなどがある。特異な行動や生理的機能が同種他個体の分泌物質に起因すれば、それはフェロモンであり、今後も生物学の発展とともに、フェロモンの分布と種類は増える。鱗翅目昆虫の性フェロモンとしては、分子量200~300であり、炭素数12~16の直鎖不飽和高級アルコールの酢酸エステルがもっとも多く、ついでアルデヒド、アルコールの存在が特徴で、多くの場合、混合物として活性を示す。

生物試験法、抽出法を含めて、フェロモンの研究

法についても成書^{6)~10)}があるので参照されたい。

2. フェロモンの動態と分泌場所

警報フェロモンにはよく発達した分泌器官があり、貯蔵嚢を備えているが、その他のフェロモンでは、分泌細胞の局在する組織が分泌腺である。クイーンズランドミバエは例外で、貯蔵嚢をもつ性フェロモン腺が直腸に開口する¹¹⁾。鱗翅目昆虫では、腹部末端の産卵管部分(カイコガでは側胞腺)が性フェロモンの分泌線として知られているが、その他では、腹部末端の背面部分(カツオブシムシ類)¹²⁾、胸部の側面(マツハバチ)、中腸前部の分泌細胞でつくられ糞とともに排出(ワモンゴキブリ)^{13)~14)}、体全体が活性で分泌部位が特定できない(イエバエ、チャバネゴキブリ)とさまざまである。したがって、抽出材料としても虫体のみとは限らず、糞(フラス)などの排せつ物およびそれらで汚れた容器、脱皮殻が使われることもある。

性フェロモン分泌のために、処女雌がコーリング(求愛)行動と称する特殊な姿勢をとる種がある。日周性があり、このとき雌体内のフェロモン量が極大となり、フェロモンに対する雄の感受性も極大となる¹⁵⁾。コーリングの姿勢は、腹部を弓なりに反らせ、末端の分泌腺を周期的に伸縮させる種(カイコガ、スジマダラメイガ)、腹部を下方に曲げ、この部分を床面に擦り付ける種(コカクモンハマキ¹⁶⁾、ワタアカミムシ¹⁷⁾)から、毎日できるだけ高い所に登り、前・中脚4本で半日間逆立ちし続けるユーモラスなカツオブシムシ類(トロゴデルマ属¹⁸⁾、アンズレーナス属¹⁹⁾)などさまざまである。もっとも性フェロモンが同定されていても、コーリング行動が不明の種(ワモンゴキブリ、タバコシバンムシ、ジンサンシバンムシ)もある。

カイコガでは、明期のコーリング時にフェロモン

* Yasumasa KUWAHARA, 筑波大学応用生物化学系 (〒305 茨城県新治郡桜村天王台1-1-1)

が多く、非コーリング時の暗期に減少し、羽化1日後の明期に最大値 ($1.5 \mu\text{g}/\text{雌}$) になる²⁰⁾。スジマダラメイガではコーリングする暗期に多く、休止期の明期に少なく、羽化2日後の暗期に最大値 ($40 \sim 90 \text{ ng}/\text{雌}$) となる²¹⁾。このような自然の日周変化にタイミングを合わせて抽出を行う以外に、積極的にフェロモンを増加させる試みをし、連続照明下で羽化させて交尾を阻止し、抽出前に4時間暗黒下に置いて30~50倍増加させることに成功した例がある²²⁾。

一般的には交尾すれば活性が消失する。蛹のときには尾端の形態から、あるいは成虫羽化しても交尾前期間がある種 (チャバネゴキブリ) ではその間に、雌雄を分けて隔離し、別々に羽化させあるいは飼育して、処女雌としておく必要がある。しかし、野外での採集個体 (既交尾雌) でも活性がある例 (ヒメコガネ²³⁾) もある。カイコガ処女雌では、体重とフェロモン含量との間に正の相関関係、 $\text{ボンピコール含量 (ng)} = 1.93 \times \text{体重 (mg)} - 201$, $r = 0.868$ があった²⁰⁾。したがって性フェロモンの抽出には、処女雌でフェロモン含量の多い大きな個体を用い、コーリング時の含量の多いときに、あるいは含量を多くさせて抽出すれば効率が良い。

3. 直接抽出法

適当な有機溶媒を用いて抽出することであるが、文字通り材料を溶媒に浸漬して抽出する浸漬抽出法と、表面を洗うだけの洗浄法とでも呼べる2方法がある。抽出法にはさらに、十分に浸たる量の溶媒に供試虫全体を浸すか、分泌腺部 (特に鱗翅目で例が多い) のみを集め浸すか、またそれらをあらかじめ磨砕して浸すか、および浸す時間を1~数分間、1昼夜、適当量の材料が確保できるまで、室温あるいは冷暗所に放置するかなどと、方法にバラエティーがある。一定時間後、虫体の残渣をデカントして、減圧または常圧下に濾紙あるいは脱脂綿で濾過して除き、抽出液を得る。磨砕物の場合には、分液処理が都合のよいこともある。カイコガでは体重が1g前後あり、分泌腺部を磨砕し抽出された。溶媒としてベンゼン、石油エーテル、エタノール・エーテル混液などが使われた。分泌腺 (10mg) を切り取るだけで100倍精製したことになる。労力がある場合、鱗翅目昆虫では分泌腺部の抽出が一般的である。スジマダラメイガ (体重10mg) は処女雌虫体全体を塩化メチレンに浸漬し、適当量の材料が確保できるまで冷所に保存し、その後虫体を濾別し抽出液とした²⁴⁾。

ガスクロマトグラフ (glc) 分析で抽出物中のフェロモンを検知 (水素炎検知器) するには、その量が $10 \text{ ng}/1 \sim 10 \mu\text{l}$ 以上の試料として注入できる必要がある。中性脂肪の分析妨害を無視すれば、カイコガ1頭 (フェロモン量 $1 \mu\text{l}$) の尾端抽出物 1 mg を $10 \mu\text{l}$ ~ $100 \mu\text{l}$ に溶解してその $1/10$ 量を分析に供すればピークを認められる²⁵⁾。ジンサンシバンムシ (体重 2.1 mg) は体重のわりにフェロモンが多く ($100 \sim 200 \text{ ng}/\text{雌}$)、1頭分の粗抽出物をそのまま glc 分析するとフェロモンのピークが得られ、羽化後のフェロモン量の変動 ($10 \sim 100 \text{ ng}/\text{雌}$) を観察できた²⁶⁾。

浸漬抽出の例 蛹のときに雌雄を分け、前日に羽化したカイコガ処女雌を用意する。共栓付き三角フラスコ (普通のフラスコでもよいが、蓋からのコンタミに注意する必要がある) に、処女雌の数 (あるいはその $1/10$) に相当する mL 数のヘキサンを入れる (適当量入れておき雌の数まで増量してもよい)。午前11時を中心に、これに雌の腹部末端にある分泌腺を眼科用小型ハサミで切りとって落とし、栓をして冷暗所に1昼夜以上保存する。腹部末端の分泌腺は、処女雌の腹部を尾端に向かって徐々に絞るように摘むと露出し、切り取りやすくなる。この上澄液 1 mL は雌1頭 (または10頭) に相当し、 1 雌当量 (1 FE) または 10 雌当量 (10 FE) と表記する。はばたき興奮 (婚礼ダンス) 活性を指標として生物試験すると、1滴の希釈溶液をガラス棒の先端につけて与えるガラス棒試験で、上記の 1 FE 液を $1 \sim 10$ 万倍希釈した $10^{-4} \sim 10^{-5} \text{ FE}$ 液まで活性を示す。抽出液は別の容器に分泌腺の残渣が入らないように濾過あるいはデカントで移し、残渣を少量のヘキサンで洗って、両液を合わせて減圧下に濃縮し粗抽出物とした。活性な抽出液が必要なときは、抽出状態のまま上澄液を使って問題はない。

問題点とその解決策 カイコガと異なり、種によっては溶媒中の酸性不純物と反応して活性を失う例 (タバコシバンムシ) があり、溶媒を選ぶ必要がある。長時間の浸漬抽出で抽出液の活性の消える (チャバネゴキブリ) 現象があり、活性発現を妨げるマスキング物質が抽出されるためとわかった (精製を進めると、この物質が除かれ活性となる)。コナダニ類では活性は認められたが、警報フェロモンであるシトラールの組成が、抽出時間の経過とともにネラール主体からネラール:ゲラニールの平衡混合物に変化した²⁷⁾。これらの場合、虫体を短時間 (1~数分間) 溶媒に漬け、直ちに濾過することで活性抽

図1 a カイコガ分泌腺洗浄物(2雌分)のガスクロマトグラム b 同浸漬抽出物(1雌分、部分精製後)のガスクロマトグラム。分析条件: PEG-20 M, G-SCOT カラム, 20m, 160℃, 分割比100:1

出液が得られ、解決できる。この方法は抽出時間が短いため、マスキング物質の抽出を押さえ、あるいは酵素などとの接触を制限するとともに、虫体重の約10%存在し、フェロモンの精製に不都合な中性脂肪の抽出を止める。その結果、抽出液は主として体表のワックス成分とフェロモンからなり、フェロモン量の多い材料では精製なしでglc分析が可能で、定量できる。しかし、フェロモンの全量を回収できた保証はない。

洗浄法による抽出例 鱗翅目昆虫のフェロモンは意外にも分泌腺表面に存在し、溶媒で洗い落とすと不純物の少ないフェロモンの抽出液が得られる²⁸⁾。この方法は、無傷でフェロモンを分泌腺表面から回収でき、glc分析すれば、そのとき腺表面に存在したフェロモン成分とワックス成分のプロファイルとなる。

カイコガ処女雌2頭あるいは3頭をエーテル約0.5mlで洗い、洗液を円錐型底面の微量用サンプル管(外径8mm, 長さ5cmの市販品をガラス細工バーナーで加工して、底面を円錐状に引き伸ばす。先端部は洗浄できないため、使い捨てにする)に移し、緩く気流を吹き付けて濃縮する。濃縮物にヘキサン5 μ lを加え全量をglc分析した結果を、図1 aに示した。主ピークはボンビコール(平均720ng/雌)であった。同じ時に分泌腺部(52頭分)をヘキサン30mlで浸漬抽出し、硅胶カラムで部分精製して得たアルコール分画を対照としてglc分析した(図1 b)。ボンビコール量は平均1380ng/雌であった。したがって、分泌腺の洗浄法で50%程度が回収できたことになる。クワゴに含まれるボンビコールについて、同様に分泌腺部の抽出、洗浄、洗浄後の腺部分の再抽出をして

調べると、それぞれ雌1頭あたり300ng, 95ng, 71ngで、分泌腺部分の洗浄による回収率は32%となった。なお、上記のサンプル管にボンビコール10 μ gを入れ、エーテル0.3mlを加えて濃縮し、ヘキサン10 μ lに転溶し、全量をglc分析したところ回収率は81%であり、微量の試料をマイクロシリンジで取扱う場合、円錐型底面のサンプル管を利用すると、ロスが少なく便利である。

4. 吸着捕集法

虫体から放出されたフェロモンを、適当な吸着剤を利用して空気中より捕集するさまざまな工夫がある。飼育容器を適当な期間毎に溶媒で洗う方法(ハマキガの1種 *Choristneura fumiferana*²⁹⁾、マメコガネ³⁰⁾、さらに容器の中に濾紙を折り畳んでいれ、適当な期間毎に濾紙を溶媒で抽出(ノシメマダラメイガ)³¹⁾、その抽出物あるいは濾紙をそのまま水蒸気蒸留し、留出液をエーテル抽出(ワモンゴキブリ)³²⁾して、活性抽出物を得る方法が行われた。さらに密閉容器に虫を入れて通気し、その排気から虫の香りを捕集することもよく行われ、種々の吸着剤が試された。古典的には、ミルク缶にワモンゴキブリの処女雌を入れ、排気をドライアイス・アルコールで冷却し、大量の水と共に凝縮し、それをエーテル抽出する方法³³⁾や、雄蛾(ハチミツガ)の香りを牛脂と豚脂の混合物で吸着し、水蒸気蒸留して回収する方法³⁴⁾、ラノリンを吸着剤とする(ノシメマダラメイガ)³⁵⁾、ガスクロマトグラフ用充填剤を詰めた管で吸着させ、吸着物を加熱して溶出する(モデル実験のみ)³⁶⁾などが行われてきた。また、使いかたが難

しく使用例 (ワタミゾウムシ)³⁷⁾ が少ない活性炭による吸着法が見直されつつある。活性炭 3~5 mg を円錐状にしたガラス管 (内径 3.7 mm) に、2 枚のステンレス製金網 (325 mesh) で挟んでいれ、これに活性炭を通して洗浄した空気 2.5 l/min を流し、C₁₄ および C₁₆ で 1 および 2 不飽和のアルコール、アルデヒド、および酢酸エステル各 0.5 µg をモデル化合物として蒸散させ、吸着させた。活性炭に塩化メチレン 15~20 µl を 6 回滴下して溶出し、glc 分析して回収率を調べた回収率は 57~86% であった³⁸⁾。極少量を使うことがポイントのようである。

現在もっともよく用いられている吸着剤は、ガスクロマトグラフ用のポーラスポリマー・ビーズ (エチルビニルベンゼンやジビニルベンゼンなどの共重合体) である、商品名 Porapak Q (Waters 社)、Chromosorb 105 (Manville 社)、Tenax GC (AKZO Research Lab.) などである。球状の合成樹脂で、熱および溶媒に安定で、吸着物は面倒な加熱処理によらずペンタンなどの溶媒でソックスレーによる連続抽出で、あるいは樹脂を詰めたカラムに適量の溶媒を流すだけの手軽な方法で回収でき、回収を終われば直ちに繰り返し安定して使用できることに特徴がある。同様な特徴から、化学結合型ガスクロマトグラフ用充填剤も使われる可能性がある。

吸着捕集法の特徴 溶媒抽出法が、サンプリング時点に材料の保持するフェロモン量だけが抽出できるいわば微分的抽出法であるに対して、吸着捕集法では、成虫が生存中の全期間に分泌するフェロモン量を積分的に捕集できること、分泌時のフェロモンの組成に最も近いと考えられること、不安定なフェロモンであるアルデヒドが意外にも酸化されずに抽出できること、抽出物が高沸点化合物を含まずそのまま glc 分析でき、精製が容易なこと、マスキング物質を含まず、溶媒抽出のような酵素作用による変化の可能性がないことなどである。回収率はノシマダラメイガのフェロモン、酢酸 (Z, E)-9, 12-テトラデカジエニルの場合、溶媒抽出で雌 1 頭あたり 1.5 ng であったが²⁴⁾、効率の悪いと思われる濾紙で 3 日間吸着させ、塩化メチレンで洗って溶出して 10.5 ng/雌を得た³¹⁾。計算によると、この蛾は 50 ng/日分泌するという³⁹⁾。ポーラスポリマーの Porapak Q、50-80 メッシュをカラム (20 cm × 2.2 cm) に充填し、1 l/min の気流下でフェロモン類似化合物 (酢酸デシル, 酢酸 (Z)-7-ヘキサデセニル, Sulcatol, Ipsenol, Ipsdienol) の各 0.5 mg を蒸散し、吸着捕集

しペンタンで連続抽出したところ、回収率は 77~89% であった⁴⁰⁾。

抽出法と吸着法の比較 トロゴデルマ属カツオブシムシの 1 種 *T. inclusum* の雌虫体を磨碎し、ベンゼンで溶媒抽出し、性フェロモンとして (-)-14-メチル-(Z)-8-ヘキサデセノールと、それが酸化されてエステルとなった (-)-14-メチル-(Z)-8-ヘキサデセン酸メチルが同定された⁴¹⁾。また同 *T. glabrum* から、虫体のペンタン抽出で同族の (E)-異性体が同定された⁴²⁾。ところが、処女雌虫抽出物が常に活性が高く、その後 Porapak Q カラムによるフェロモンの吸着捕集法で再検討した結果、*T. inclusum* と *T. variable* では (Z)-14-メチル-8-ヘキサデセノールが⁴³⁾、*T. glabrum* では (E)-異性体のアルデヒドが⁴⁴⁾、ヒメアカカツオブシムシ (*T. granarium*) では (Z)-と (E)-異性体の混合物が、それぞれフェロモン本体であった⁴⁵⁾。それぞれのアルデヒドは、*T. inclusum*: 2.00 ng/雌/日、*T. variable*: 35.66 ng/雌/日、*T. glabrum*: 28.3 ng/雌/日、*T. granarium*: 1.47 ng/雌/日分泌されているにもかかわらず、雌虫体の磨碎後、溶媒抽出物には全く検出できない⁴⁵⁾。

(Z)-11-テトラデセノールと酢酸 (Z)-11-テトラデセニルを性フェロモンとするハマキガの 1 種 *Argyrotaenia citrana* の場合、腹部末端の溶媒抽出法では、アルデヒドの酢酸エステルに対する割合は 1/100 であるのに比べて、Porapak Q 捕集物では 1/15 となった⁴⁶⁾。以上のように、溶媒抽出法はアルデヒドのような不安定化合物には不向きであり、吸着捕集法がより適している。

ポーラスポリマー・ビーズの問題点 ポーラスポリマーを吸着剤として使うことは、成虫の羽化が齊一でなくダラダラと長期間に亘る昆虫でも、1 頭から一生分のフェロモンのサンプリングができ、便利で理想的な抽出法と思われるが、成虫が大量の生の餌料を必要とするような場合には、困難なことがある。マダニの 1 種から性フェロモンを吸着捕集するため、兔を寄主として吸血させながら通気したところ、兔の臭いのみが大量に得られ、フェロモンの 2, 6-ジクロロフェノールは全く検出できなかった⁴⁷⁾。もう 1 つの欠点は、樹脂の中に重合しないで残るモノマーがあり、それを除くため、窒素気流中 180℃ で 1 日、さらに 110℃ で 1 日間空焼きする前処理をしているが⁴⁰⁾、ときに微量フェロモンの吸着の際には除き切れないで、glc 分析の時に妨害ピークとなることである。

図2 Porapak Q カラムによる吸着捕集装置

図3 ケナガコナダニより吸着捕集した物質のガスクロマトグラム a~gは炭化水素, (PEG-20 M, 100℃, 75cm)

Porapak Q カラムでの吸着実験例⁴⁸⁾ Porapak Q 吸着の実例を図2, 3に示す。内径4mm, 長さ29cmのガラス管2本を用意し, Porapak Q 1.26g を充填し, ガラス綿で封じ, 両カラムは充分ペンタンで洗っておく(このときは, 加熱処理はしなくてもよかった)。三角フラスコ300ml 容にケナガコナダニ13~3ml を入れ, アスピレーターで緩く引いてできる気流下に1時間おく。その後, カラムを図2のようにシリコン管で接続してセットし, 静かに1時間吸着させた(静置区)。その後, 更に別のカラムと取り替え, 今度は手でゆっくり1時間振りまぜて吸着させる(振とう刺激区)。両方のカラムにはそれぞれペンタン10ml を流して吸着物を溶出し, 溶出物は0.1ml に濃縮後1~10 μ l を glc 分析した(図3)。振とう刺激区では, 警報フェロモンである蟻酸ネリルが6.8~59.2 μ g 得られ, 静置区では0.08~0.36 μ g であり, 両区の比は平均102対1となり, 驚かせると分泌量の増加

することを証明した。性フェロモンの吸着では長期間に亘るので, 適当な間隔(たとえば1週間)毎にペンタンで溶出して回収し, まとめて抽出液とする。

5. よく使われる溶媒と濃縮法

抽出溶媒の条件は, 目的のフェロモンをよく溶解し, 不純物がすくなく, 反応しない, 分解しない, そして沸点が低く, とくに大量に使うときには引火性がないものがよい。しかし現実には, 全部の条件を満足するものはない。

引火性がなく, エーテル, ペンタンに次いで沸点が低い塩化メチレン(ジクロロメタン)(沸点39.8度)が, かつて大量の材料の浸漬抽出に用いられてきた。良い溶媒であるが, いわゆるポリハロメタンで廃棄がむづかしく, 分解すると塩酸が発生し, 酸性下で分解するフェロモンは抽出や精製ができない。タバコシバンムシの性フェロモンは, 塩化メチレンおよ

びクロロホルムで活性を失った。

つぎに例の多い溶媒は、エチルエーテル(沸点34.6度)である。引火性が強く、麻酔性がある。光照射で爆発性の過酸化物をつくりやすく、冷暗所か褐色瓶中で遮光して抽出保存する必要がある。市販の1級や特級試薬には、BHTなどの酸化防止剤がふくまれている。古い溶媒の使用および長期間の浸漬抽出はしないほうがよい。

n-ペンタン(沸点36.1度)、n-ヘキサン(沸点68.7度)は炭化水素で安定であり、抽出物とは反応しないが、引火性があり注意を要する。抽出力は前記の2溶媒より劣るにもかかわらず、よく使われている。とくにPorapak Qカラムからの捕集物の回収には、ほとんどペンタンだけが使われている。

ベンゼンは、使われた例はあるが一般的ではなく、エタノール、アセトン、酢エチは溶解力、不純物、試料との反応など不都合が考えられ、使用には注意が必要である。

炭素数12個程度以上のフェロモン抽出液の濃縮には、ロータリー・エバポレーターを使用してもロスはない(実際には飛沫となって逃げる)が、香りのある炭素数10個以下のフェロモンでは注意が必要である。この場合、小型のウィドマー型蒸留塔(20 cm)などで、常圧で濃縮すると安全にロスなく扱える。

6. おわりに

フェロモンを研究するためには、活性な抽出液を得るか、あるいは適当な部分精製をして活性を回復させることが必要である。部分精製法については、種ごとに試行錯誤で行われており、言及しなかった。大抵の場合には、もっとも簡単な浸漬抽出物で活性を示すが、不幸にも目的の昆虫で抽出物に活性のない場合、抽出方法の検討とともに、近縁関係にある種の抽出精製方法を参照されたい。

文 献

- 1) 玉木佳男：フレグランス ジャーナル, 12, 2-27 (1984)
- 2) 石井象二郎：昆虫の生理活性物質, p196, 南江堂 (1971)
- 3) 湯島 健：昆虫のフェロモン, p166, 東大出版会 (1976)
- 4) 中村和雄, 玉木佳男：性フェロモンと害虫防除, p202, 古近書院 (1983)
- 5) 日本農芸化学会：生物の生活と生理活性物質, p48-67, 朝倉書店 (1983)
- 6) 池川信夫ら編：生理活性物質のバイオアッセイ, p401-429, 講談社 (1984)
- 7) 高橋正三編：昆虫の生理活性検定法, p209, 培風館 (1982)
- 8) 深見順一, 上杉康彦, 石塚 造, 富沢長二郎編：農業実験法, 1, p342-370, ソフトサイエンス社 (1981)
- 9) フェロモン研究会編：フェロモン実験法 (1), p114, 日本植物防疫協会 (1983)
- 10) 日本植物防疫協会編：昆虫フェロモンとその利用一特に開発システムを中心として一, p194, 日本植物防疫協会 (1978)
- 11) Ballas, T. E. & Fletcher, B. S.: J. Chem. Ecol., 5, 795-803 (1979)
- 12) Hammack, L. Burkholder, W. E. & Ma, M.: Ann. Entomol. Soc. Amer., 66, 545-550 (1973)
- 13) Bodenstein, W. G.: Ann. Entomol. Soc. Amer., 63, 336-337 (1970)
- 14) Persoons, C. J., Verwiel, P. E. J., Talman, E. & Ritter, F. J.: J. Chem. Ecol., 5, 221-236 (1979)
- 15) Shapas, T. J. & Burkholder, W. E.: J. Chem. Ecol., 4, 409-423 (1978)
- 16) 玉木佳男, 野口 浩, 湯島 健：防虫科学, 34, 97-101 (1969)
- 17) Colwell, A. E., Shorey, H. H., Baumer, P. & Van Vorhis Key, S. E.: J. Chem. Ecol., 4, 717-721 (1978)
- 18) Hammack, L., Ma, M. & Burkholder, W. E.: J. Insect Physiol., 22, 555-591 (1976)
- 19) Burkholder, W. E., Ma, M., Kuwahara, Y. & Matsumura, F.: Can. Ent., 106, 835-839 (1974)
- 20) Kuwahara, Y., Adachi, S. & Tsuchida, N.: Appl. Ent. Zool., 18, 182-190 (1983)
- 21) 桑原保正：農化, 52, R139-149 (1978)
- 22) Nesbitt, B. F., Beevor, P. S., Cole, R. A., Lester, R. & Poppi, R. G.: J. Insect Physiol., 21, 1091-1096 (1975)
- 23) 玉木佳男：応動昆., 28, 33-35 (1984)
- 24) Kuwahara, Y., Kitamura, C., Takahashi, S., Hara, H., Ishii, S. & Fukami, H.: Science, 171, 801-802 (1971)
- 25) Kuwahara, Y. & My-Yen, L. T.: Appl. Ent.

- Zool., 14, 114-117 (1979)
- 26) Kuwahara, Y., Fukami, H., Ishii, S., Matsumura, F. & Burkholder, W. E.: J. Chem. Ecol., 1, 413-422 (1975)
 - 27) Kuwahara, Y., Suzuki, H., Matsuoto, K. & Wada, Y.: Appl. Ent. Zool., 8, 30-39 (1983)
 - 28) Sower, L. L., Coffelt, J. A. & Vick, K. W., J. Econ. Entomol., 66, 1220-1222 (1973)
 - 29) Sanders, C. J.: Science, 171, 911-913 (1971)
 - 30) Tumlinson, J. H., Glein, M. G., Doolittle, R. E., Ladd, T. L. & Proveaux, A. T., Science, 197, 789-792 (1977)
 - 31) Brady, U. E., Tumlinson, T. H., Brownlee, R. G. & Silverstein, R. M.: Science, 171, 802-804 (1971)
 - 32) Wharton, D. R. A., Black, E. D., Merritt Jr., Wharton, M. L., Bazinet, M. & Walsh, J. T.: Science, 137, 1062-1063 (1962)
 - 33) Yamamoto, R. T.: J. Econ. Entomol., 56, 119-120 (1963)
 - 34) Röller, H., Biemann, K., Bjerke, J. S., Norgard, D. W. & McShan, W. H.: Acta. Ent. Behemoslw, 65, 208-211 (1968)
 - 35) Brady, U. E. & Smithwick, E. B.: Ann. Entomol. Soc. Amer., 61, 1260-1265 (1968)
 - 36) Silverstein, R. M. & Rodin, J. O.: J. Econ. Entomol., 59, 1152-1154 (1966)
 - 37) Keller, J. C., Mitchell, E. B., McKibben, G. & Davick, T. B.: J. Econ. Entomol., 57, 609-610 (1964)
 - 38) Tumlinson, J. H., Teal, P. E. A. & Heath, R. R.: Proceeding of the First Japan/USA Symposium on Integrated Pest Management, p19-31, Tsukuba, 1981, 農水省
 - 39) Sower, L. L. & Fish, J. C.: Environ. Ent., 4, 168-169 (1975)
 - 40) Byrne, K. J., Gore, W. E., Pearce, G. T. & Silverstein, R. M.: J. Chem. Ecol., 1, 1-7 (1975)
 - 41) Rodin, J. O., Silverstein, R. M., Burkholder, W. E. & Gorman, J. E.: Science, 165, 904-906 (1969)
 - 42) Yager, R. G., Silverstein, R. M. & Burkholder, W. E.: J. Chem. Ecol., 1, 323-334 (1975)
 - 43) Cross, J. H., Byler, R. C., Cassidy Jr., R. F., Silverstein, R. M., Greenblatt, R. E., Burkholder, W. E., Levinson, A. R. & Levinson, H. Z.: J. Chem. Ecol., 2, 457-468 (1976)
 - 44) Greenblatt, R. E., Burkholder, W. E., Cross, J. H., Byler, R. C. & Silverstein, R. M.: J. Chem. Ecol., 2, 285-297 (1976)
 - 45) Greenblatt, R. E., Burkholder, W. E., Cross, J. H., Cassidy Jr., R. F., Silverstein, R. M., Levinson, A. R. & Levinson, H. Z.: J. Chem. Ecol., 3, 337-347 (1977)
 - 46) Hill, A. S., Carde, R. T., Kido, H. & Roelofs, W. L.: J. Chem. Ecol., 1, 215-224 (1975)
 - 47) Sonenshine, D. E., Silverstein, R. M., Layton, E. C. & Homsher, P. J.: J. Med. Entomol., 11, 307-315 (1974)
 - 48) Kuwahara, Y., Fukami, H., Ishii, Matsumoto, K. & Wada, Y.: Jap. J. Sanit. Zool., 30, 309-314 (1979)