イモキバガ性フェロモンの生物検定法¹

村本 寛樹・早田栄一郎・平野 千里

高知大学農学部農業化学研究室

(1976 年 1 月 19 日受領)

Laboratory Bioassay of the Sex Pheromone of the Female Sweet Potato Leaf Folder, *Brachmia macroscopa* (Lepidoptera: Gelechiidae). Hiroki MURAMOTO, Eiichiro SOUDA and Chisato HIRANO (Pesticide Research Laboratory, Kochi University, Nangoku-shi, Kochi 783) *Jap. J. appl. Ent. Zool.* **20**: 77~80 (1976)

A semi-quantitative laboratory bioassay method was devised for the female sex pheromone of *Brachmia macroscopa*. The bioassay was carried out with male moths, 5 each in a 200-ml Erlenmeyer flask, at 25°C in the light. They were kept under continuous illumination for 3 days after emergence, subsequently in the dark for 6 hr, then again in the light for 30 to 60 min. The number of males rapidly walking or running with wing-fanning within the first 1 min after the introduction of a test sample applied on a square filter paper (1.5×1.5 cm) was used as a measure of response. Mean male response was 70% to the pheromone at the concentration of 0.1 female equivalent and about 50% at the 0.01 female equivalent.

イモキバガ (*Brachmia macroscopa*) は古くからサツマイモの主要害虫として知られている。高知県では 6 月下旬から普通栽培のサツマイモに多数の幼虫が加害し、収量への影響は必ずしも明らかではないが、被害葉の発生はきわめて高率に達する。

本種の雌成虫が性フェロモンを産生、放出し、雄成虫がこれに誘引される事実は、すでに報告した (HIRANO and MURAMOTO, 1976 a)。また性フェロモン放出行動とみられる雌成虫の calling 姿勢、性フェロモンにたいする雄成虫の反応、あるいは交尾行動などの日周リズムについても、とくに羽化後の日令との関係から明らかにした (HIRANO and MURAMOTO, 1976 b)。本文では、性フェロモン活性成分の単離同定のため確立した、室内生物検定法について述べる。

材料および方法

供試虫は気温 25°C、日長 16 時間に調節した飼育室内で、サツマイモ葉を与えて飼育した。蛹化個体は雌雄に分け、とくに記す場合を除いて、25°C 16 時間照明下で羽化させる。

雌成虫からは性フェロモンを抽出した。すなわち 3% 砂糖水を与えて飼育し、羽化後 2 回目、または 3 回目の

暗期 (消灯後 4~6 時間) に腹部末端を切り取り、塩化メチレン中に投入する。冷蔵庫内に保存し、必要に応じて虫体をろ別除去し、無水硫酸ソーダで脱水した後、30°C 減圧下で溶媒を留去する。残渣を *n*-ヘキサンに溶解して、1 ml あたり雌 10 頭に相当する濃度の粗性フェロモン抽出液を得る。

一方雄成虫は性フェロモンの生物検定に供試した。5 頭ずつ 200 ml 容の三角フラスコに入れ、3% 砂糖水を与え、パラフィルムでふたをして、25°C で飼育する。生物検定までの日数や日長条件については後に記す。検定にあたっては、まずフラスコ内の成虫が静止しているのを確かめてから、1.5×1.5 cm の無処理ろ紙片 1 枚を投入する。この処理によって成虫が動き出さなかったフラスコを選び、一定量の被験液をつけ溶媒を揮発させたろ紙片を投入して、反応した虫数を記録した。各処理区について、日を変えて 3 回検定を行なう。1 回に 4 フラスコを供試するので、1 処理区に用いる雄成虫数に合計 60 頭である。一度用いた成虫は廃棄する。

条件の検討

雄成虫の反応行動：野外に生息するイモキバガの雄成虫は、性フェロモンを感知すると明らかに飛しょうによって、フェロモン源に定位する (HIRANO and MURAMOTO, 1976 a)。しかしガラス容器内では、翅の振動は

1 本研究の一部は文部省科学研究費 (昭和 49 年度) による。

認められるが、ほとんど飛翔することなく、活発な歩行によって器壁を上下し、あるいはフェロモン源の周囲をまわる(HIRANO and MURAMOTO, 1976 b)。フェロモン源の周囲をまわる行動は、いわゆる交尾前ダンスと見なされるが、すくなくとも抽出フェロモンに反応する場合には、必ずしもすべての個体が行なうとは限らない。そこで、静止していた雄成虫がろ紙の投入後1分間以内に活発な歩行を開始した場合に、反応したと判定した。なお無処理ろ紙を投入しても、それが直接虫体に接触した場合を除き、まったく反応しなかった。

雄成虫の反応時間帯：イモキバガの交尾活性は羽化1日後にはきわめて低い、2日目以降から活発となる(HIRANO and MURAMOTO, 1976 b)。また交尾時刻も羽化後の日令によって変化するが、16時間明-8時間暗の光周期下では、暗期の3~7時間にピークとなる(HIRANO and MURAMOTO, 1976 b)。すなわち羽化2日目には暗期の5時間半から7時間、3~4日目には3時間から6時間にそれぞれ活発な交尾行動がみられる。交尾行動は雌のフェロモン放出活性と雄のフェロモン感受活性とが時間的に一致してはじめてみられるものと考えられる。そして同じ明暗光周期にある雌雄の活性は、時間的にほぼ完全に一致することが認められている。したがって、羽化後3日前後の雄成虫が暗期4~5時間になったところで、暗黒状態のまま、性フェロモンの生物検定に供試すれば、高感度の反応を示すことが期待される。

明条件下での反応性：しかし生物検定を明暗サイクルの暗黒下で行なうことは、時間的に制約されるばかりでなく、観察上の効率や正確さからも問題が多い。野外で暗黒下に配偶行動を行なう夜行性昆虫で、本来の反応時間帯を避けて、明条件下で性フェロモンの生物検定を実施する方法として、雄成虫を連続照明下において光周期に対応した交尾行動の日リズムを破壊することが有効である。たとえばヤガ科の *Trichoplusia ni*、ハマキガ科の *Argyrotaenia velutinana*、*Choristoneura fumiferana*、ドクガ科の *Orgyia leucostigma* などでは、羽化後の数日間、連続照明下におかれた雄が明条件下で性フェロモンにたいして高い反応性を示し、これを利用して生物検定が行なわれている(BERGER, 1966; ROELOFS and FENG, 1967; SANDERS 1971; GRANT, 1975)。

一方、コカクモンハマキ *Adoxophyes* spp. では、3日間連続照明下におかれた雄はそのままでは反応を起こさないが、一旦暗黒下に7時間おき、ふたたび明条件に戻すと、非常に高い反応性を示すことが認められ、生物検定法が確立された(玉木ら, 1969)。

第1図 性フェロモンにたいする雄成虫の反応性——照明日数の影響。
羽化後、全明条件に1~3日間おき、6時間暗黒処理した後、ふたたび照明下に戻し、 10^{-1} 雌当量の粗性フェロモンをつけたろ紙片にたいする反応を観察する。

本種の場合、コカクモンハマキと同様、全明条件下におかれた雄は、性フェロモンにたいして全く反応しないが、これを一旦暗黒処理して明条件下に戻すと、高い反応性を示す。すなわち、雄成虫をそれぞれ1日、2日、3日の間、全明条件下においた後、6時間暗黒下におき、ふたたび明条件に戻し、30~60分たって雄が静止安定したところで粗性フェロモン抽出液 $10 \mu\text{l}$ (10^{-1} 雌当量)をつけたろ紙片にたいする反応をしらべた。結果は第1図のようになり、羽化後2~3日間全明条件におかれた雄が高い反応性を示した。

また暗黒処理の長さについては、羽化後3日間、全明条件で飼育した3群の雄成虫を、それぞれ5時間、6時間、7時間暗黒下におき、明条件に戻して反応をしらべたところ、6時間の暗黒処理が適当であった(第2図)。さらに供試雄は、羽化をまたず、蛹期から全明条件におくと、反応性を増すこともわかった。

以上の結果から、蛹化した雄を全明条件下におき、羽

第2図 性フェロモンにたいする雄成虫の反応性——暗黒処理の長さ。
羽化後、全明条件に3日間おき、5~7時間暗黒処理した後、ふたたび照明下に戻し、 10^{-1} 雌当量の粗性フェロモンをつけた浜紙片にたいする反応を観察する。

第3図 性フェロモンにたいする雄成虫の反応性——フェロモン濃度の影響。
羽化後、全明条件に3日間おき、6時間暗黒処理した後、ふたたび照明下に戻し、 10^{-1} ~ 10^{-4} 雌当量の粗性フェロモンをつけた浜紙片にたいする反応を観察する。

化後もひきつづき3日間全明処理したのち、暗黒下に移して6時間おき、ふたたび明条件に戻し、完全に静止するのを待って、30~60分後に生物検定に供試すると、高い反応率が得られると結論できる。

フェロモン濃度と反応率：粗性フェロモン抽出液、10倍希釈液、100倍希釈液、1000倍希釈液の各 $10\mu\text{l}$ をそれぞれ浜紙片につける。各浜紙片あたりのフェロモン量は、それぞれ 10^{-1} 雌当量、 10^{-2} 雌当量、 10^{-3} 雌当量、および 10^{-4} 雌当量である。上記の最適明暗条件に処理された雄の、各ろ紙にたいする反応は第3図のとおりである。

本生物検定法では、反応を起こさせるフェロモン濃度範囲が比較的狭いけれども、フェロモン量 10^{-1} ~ 10^{-3} 雌当量の範囲内での半定量的検定には、充分たえるものと考えられる。

生物検定法

以上の結果から、雄成虫の反応を利用したイモキバガ

性フェロモンの室内生物検定法をつぎのように確立した。

長日条件下で飼育した雄成虫を、羽化直後5頭ずつ200ml容の三角フラスコに入れ、3%砂糖水を与え、 25°C 全照明下に3日間おく。6時間暗黒処理をしたあと、ふたたび全明条件に戻し、雄成虫が鎮静するのを待って30~60分後に、 $1.5 \times 1.5\text{cm}$ のろ紙片を投入する。この処理によって雄が動き出さなかったフラスコを選び、被験液をつけ溶媒を揮発させたろ紙片を投入、1分間以内に興奮し歩行を開始した虫数を記録する。

反応率は 10^{-1} 雌当量で60~70%、 10^{-2} 雌当量で約50%であった。

なお感度を高めるため、全明処理を蛹化直後からはじめる変法も有用である。

引用文献

BERGER, R. S. (1966) Isolation, identification, and synthesis of the sex attractant of the cabbage looper, *Tricho-*

- plusia ni*. Ann. ent. Soc. Am. **59** : 767~771.
- GRANT, G. G. (1975) Extraction and bioassay of female sex pheromone of white-marked tussock moth, *Orgyia leucostigma* (Lepidoptera : Lymantriidae). Can. Ent. **107** : 303~309.
- HIRANO, C. and H. MURAMOTO (1976 a) Evidence for a female sex pheromone in the sweet potato leaf folder, *Brachmia macroscopa* (Lepidoptera : Gelechiidae). Kontyu **44** (印刷中).
- HIRANO, C. and H. MURAMOTO (1976 b) Effect of age on mating activity of the sweet potato leaf folder, *Brachmia macroscopa* (Lepidoptera : Gelechiidae). Appl. Ent. Zool. **11** (投稿中).
- ROELOFS, W. L. and K. C. FENG (1967) Isolation and bioassay of the sex pheromone of the red-banded leaf roller, *Argyrotaenia velutinana* (Lepidoptera : Tortricidae). Ann. ent. Soc. Am. **60** : 1199~1203.
- SANDERS, C. J. (1971) Laboratory bioassay of the sex pheromone of the female eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera : Tortricidae). Can. Ent. **103** : 631~637.
- 玉木佳男・野口 浩・湯嶋 健 (1969) コカクモンハマキにおける交尾活性の人為的制御と性フェロモンの生物学的定量法. 防虫科学 **34** : 107~110.

Applied Entomology and Zoology, Vol. 11, No. 2 の目次

川本文彦・浅山 哲・小林正彦：核多角体病ウイルスの被膜形成とウイルスの増殖経路について.....	59
小倉信夫：アワヨトウ幼虫体色黒化における食道連鎖の役割.....	70
関戸佐知子・寒川一成：稲ウンカ・ヨコバイ類の口針挿入および産卵におよぼすサリチル酸の効果.....	75
酒井常久・寒川一成：各種栄養成分がトビイロウンカの吸汁反応におよぼす効果.....	82
倉田晋司・寒川一成：芳香族アミンの稲ウンカヨコバイ類に対する吸汁阻害作用.....	89
平田雅司・寒川一成：クロルジメホルムの吸収性昆虫に対する摂食阻害作用.....	94
岩橋 統：不妊虫放飼による久高島のウリミバエ防除.....	100
和合治久・伊藤純至：アゲハとキアゲハの雑種の示すいろいろの行動.....	111
広瀬義躬・木本浩之・稗圃克己：アゲハの卵寄生蜂，アゲハタマゴバチ <i>Trichogramma papilionis</i> NAGARKATTI の寄生に及ぼす寄主の集合の影響.....	116
広岡芳年・諏訪内正名：配偶行動時の昆虫性フェロモンの役割 I. 性フェロモンの放出及び拡散の理論的考察.....	126
八木繁実・倉持勝久：ハスモンヨトウの相変異：幼若ホルモンが幼虫期間および精子変態に果す役割.....	133
短 報	
伊藤嘉昭・岩橋 統：ふ化率を用いた不妊雄率の一推定法.....	139
中山 勇・八木繁実・安居院宣昭：In vitro において化学不妊剤がヨトウムシの精子形成に及ぼす影響.....	141