クワコナカイガラムシの性フェロモン

生物検定法・雄の反応習性

根岸 務・石渡武敏・浅野昌司

大塚製薬昆虫研究所

Sex Pheromone of the Comstock Mealybug, *Pseudococcus comstocki* KUWANA : Bioassay Method, Male Response-habits to the Sex Pheromone. Tsutomu NEGISHI, Taketoshi ISHIWATARI and Shoji ASANO (Laboratories of Agricultural Chemicals Research, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Kawauchi-cho, Tokushima 771-01). *Jap. J. appl. Ent. Zool.* **24** : 1—5 (1980)

By wrapping with double-folded tissue papers the pumpkins in which the comstock mealybug had been present, only the male nymphs crawled into the papers. By this method, the male insects could be isolated from the females. The male adults crawled out from the papers and began to take wing soon after a lamp was lit up. They responded to the sex pheromone and flew to the sticky slide-glass pheromone trap. Male adults mainly landed on a site 10-20 cm apart from the pheromone source and then crawled to the source. The colour of the pheromone trap influenced the number of male catches. The order was as follows : red=dark green=black> green> yellow> white.

緒 言

クワコナカイガラムシ *Pseudococcus comstocki* KUWANA は日光のあまり当らない場所に好んで生活する習性があり、有袋栽培のリンゴやナシでは袋内によく潜入する。そこでは散布される殺虫剤が到達しにくいので、薬剤による防除が徹底しにくくなる。そのため加害は果実に集中してあらわれやすく、果実の生育阻害や、すす病による汚染を併発させ、品質を著しく低下させる。

一般に、害虫による被害の蔓延を防ぐにはその害虫の局所的な発生場所の早期発見が重要である。性フェロモンの利用は害虫の早期発見に効果的であり、すでに数種の害虫の発生調査に応用されている。カイガラムシ類のように初期発生の発見が非常に困難な害虫の発生調査には、フェロモンの利用がとくに有効と思われる。最近、カイガラムシ類の性フェロモンではマルカイガラムシ科 Diaspididae のアカマルカイガラムシ *Aonidiella aurantii* MASKELL (ROELOFS *et al.*, 1977), キマルカイガラムシ *Aonidiella citrina* COQUILLETT (GIESELMANN *et al.*, 1979) の化学構造が明らかにされたが、コナカイガラムシ科 *Pseudococcidae* での性フェロモンの化学構造はまだ明らかにされていない。

筆者らはクワコナカイガラムシの性フェロモンの抽出、単離に必要な雌雄の隔離、性フェロモンの生物検定ならびに雄の性フェロモンへの反応習性等について検討したのでその結果を報告する。

材 料 と 方 法

試験に用いたクワコナカイガラムシは、25°C—28°C, 9時間照明(8時点灯, 17時消灯)の条件下でカボチャの果実を用いて飼育したものである。雄は日長条件を同じにした別の部屋に隔離し、羽化直後の成虫を生物検定に用いた。性フェロモンの抽出にあたっては、未交尾の雌成虫をろ紙を敷いた直径9cmのガラス・シャーレ内に4日間放し(シャーレあたり約1,000頭)、放出されたフェロモンをろ紙に吸着させるようにした。ろ紙は2日毎に新しいものと交換し、フェロモン抽出のためにヘキサン(後にペンタン)に浸漬した。こうして得られた抽出液はろ過、濃縮し、無水硫酸ナトリウムで脱水を行った。生物検定はこの溶液(フェロモン抽出液)を10 μ l 当り 10~20頭の雌に相当するように調整し、これを直径0.8cmのペーパーディスクに含浸させて粘着物質(tack trap)を塗ったスライドガラスあるいはカバーガラス(1.8 $\times$ 1.8cm)の中央部にのせる方法で行な

った。

トラップ板の色の違いによる雄の反応性を調べた試験には、10 cm×10 cm の大きさの 6 種の色紙（白，黄，緑，青緑，赤，黒）を用い、同形のガラス板に貼りつけた。色紙を上にして 300 ml のフラスコの上に載せ、その中央に一定量のフェロモン抽出液を含浸させたペーパーディスクを置いて行なった。1 回の試験には常に 2 種の色紙を 1 組として、互いに 2 cm の間隔をあけて置き捕獲数を比較した。この試験では粘着物質を使用せず、トラップ板上に着地した雄成虫をその都度押しつぶしてその数を調べた。トラップ板の位置は試験の都度交換するようにし、各組少なくとも 4 回反復した。

フェロモン源に飛翔・接近する雄の着地位置とその後の行動は、青緑色の円盤（直径 40 cm）を用いて調べた。円盤は 2 枚用意し、それぞれの中心にフェロモン抽出液を含浸させたペーパーディスクを置いた。その 1 枚は 5 分間に飛来してきた雄成虫をその着地点で直ちに押しつぶし、その位置を印した。他の 1 枚では着地した個体をそのまま放置して、その後の移動あるいは飛び立ちを自由にさせておき、5 分後に透明のプラスチック板で覆い、雄を瞬時に押しつぶして、その位置を印した。そして、印をつけた位置からフェロモン源までの距離を測定した。なお、フェロモン抽出液を含浸させたペーパーディスクは、いづれの調査においても 10～30 分ごとに新たに用意したものと交換して、試料の効力低下による影響を少なくした。

結 果 と 考 察

雌雄の隔離方法

一般にフェロモンの抽出・単離には、多数の未交尾雌の確保が必要であるし、フェロモン活性の生物検定にも多数の雄成虫が必要である。クワコナカイガラムシは、カボチャの果実で容易に室内で飼育することができる。雌雄の判別は幼虫期で可能であるが、虫体が小さくかつ柔弱であり、しかも多数の個体がカボチャの表皮のくぼみ等に密集して定着しているため、この状態での雌雄の隔離操作は困難である。また未成熟雌成虫を、カボチャから人為的に別のカボチャに移しても定着する個体が少なく、また採取に多大な労力を要するし、虫体を傷つけやすいので、こうした方法による未成熟雌の隔離も適当ではない。アカマルカイガラムシの場合は、幼若ホルモン活性物質を幼虫に処理して雄の変態を阻止することで、未交尾雌を確保している (ROELOFS *et al.*, 1978)。

クワコナカイガラムシの雄幼虫は蛹化直前になるとカ

第 1 表 カボチャからティッシュペーパーへ移動する幼虫数

性 別	調 査 回 数		
	1	2	3
雄	509	326	276
雌	1	4	0

ボチャの果実表面を活発に移動し、適当な場所で営巣をしてその中で蛹化する。そこで、このような習性を利用して雄を隔離する方法を検討した。ふ化幼虫の出現がみられる卵のうをカボチャの果実に移し、2～3 日後に卵のうを除去することで幼虫発育ステージを斉一化しておく、接種後 9～12 日目に雄幼虫の移動がはじまる。この時期に 2 重にしたティッシュペーパーでカボチャを包んでおくと移動している雄幼虫の多くが 2 重にしたティッシュペーパーの間隙に移動・侵入することがわかった。しかも、雌幼虫がティッシュペーパーへ移動することは極くまれで、移動した個体もペーパー内には侵入しないため除去も容易であった（第 1 表）。また、カボチャの果実上に残って蛹化した雄はコンプレッサーで圧搾空気を吹きつけることにより容易に除去できた。雄幼虫の移動がみられる間は 1～2 日ごとにティッシュペーパーを取り替え、それらをまとめてクリップで止めて別の部屋に移した。ペーパー内に侵入した雄幼虫は数日後に営巣をはじめ、隔離してから 9～11 日後に成虫の出現がみられた。出現した雄成虫はそのまま自由に飛翔させておき、生物検定に用いた。こうして雄成虫の移動習性を利用することにより容易に雌雄を隔離することができた。

雄成虫の光に対する反応性

短日条件下 (9L—15D) で羽化脱出した雄成虫は点灯後まもなく活発に飛翔活動をする。そこで、白色蛍光灯スタンド (15W) を用いて雄成虫の光に対する反応性を調べた。灯下 10 cm のところに粘着物質を塗ったスライドグラスを置き、光に反応して飛来してくる雄を捕獲した。スライドグラスは点灯後 30 分毎に新しいものと交換した。その結果、点灯後最初の 30 分間の捕獲数が最も多く、118 頭の雄が捕獲された（第 2 表）。その後時間の経過に伴いその数は急減した。このような活発な飛び立ち行動は、午前 8 時～10 時の間に点灯すればよく解発されたが、午前 11 時を過ぎると飛翔する個体数は非常に少なくなった。

光に反応して飛翔活動をした雄成虫は数時間内に全て死亡するし、フラスコ内 (200 ml) に入れ全暗条件下において飛翔活動を抑制した場合でも、80～90% の個体が

第2表 点灯後の時間と雄成虫の捕獲数

0~30	30~60	60~90	90~120 (分)
118	36	17	11

24 時間以内に死亡する (未発表)。このことから、点灯後に飛び立つ成虫はその当日に羽化脱出してきたものと推察される。

生物試験法

フェロモン活性の定量は通常一連の交尾行動のうちの顕著な行動を利用して行なわれる (玉木ら, 1969)。本種の雄が雌の近くに着地してから交尾に到るまでの行動を観察したが、mating dance のようなとくに顕著な反応は示さない。また、対象が本種の雄のような小型の昆虫の場合は、仮にフェロモンに対する解発行動のうちの一つの反応だけを基準に活性を評価しても、観察者の主観によって左右されることも考えられる。アカマルカイガラムシの性フェロモンを単離する際には、ターン・テーブルを利用したオルファクトメーターによって生物検定を行なっている (TASHIRO *et al.*, 1969)。クワコナカイガラムシの雄成虫は第2表に示したように、前述の条件下で点灯するとそれが刺激となって一斉に飛翔活動に移る。そこで、この飛翔している雄の捕獲数を基準にした生物検定の条件を検討した。

雄を隔離した部屋において、2基の蛍光灯 (40W) を点灯し、その直後に粘着スライドガラスを蛍光灯の直下を避けて設置した。そして、本試験では約 50 頭の雌相当のフェロモン抽出液 (50 頭の雌が 4 日間放出したフェロモン) を含浸させたペーパーディスクをスライドガラスの中心に置いた (トラップは高さ 150 cm の台に載せた)。スライドガラスとペーパーディスクは 30 分毎に新しいものと交換し、雄の捕獲虫数を調べた。その結果点灯後最初の 30 分間の捕獲数が最も多く、以後時間の経過とともにその数は減少した (第3表)。とくに点

第3表 点灯後の時間とフェロモントラップでの雄成虫の捕獲数

0~30	30~60	60~90	90~120 (分)
239	146	28	5

第4表 点灯後の明・暗条件と雄成虫の捕獲数

点灯後の時間 (分)	~10	~20	~30	~40	~50	~60	~70	~80
光 条 件	(明)	(明)	(暗)	(明)	(暗)	(明)	(暗)	(明)
フェロモン処理トラップ ^a (A)	21	44	0	17	1	12	1	7
無処理トラップ (B)	4	9	8	5	13	1	14	1
捕 獲 率 $\left(\frac{A}{A+B} \times 100\right)$	84	83	0	77	7	92	7	87

^a 50 雌当量。

灯後 60 分を経過するとその数は激減した。この結果から、雄成虫がフェロモンに対して高い反応を示す時間帯は、飛翔活動のそれとほぼ一致していることになり、本方法による生物検定は点灯後 60 分以内に行なえばよいことが明らかになった。クワコナカイガラムシの交尾活性時間帯については野外観察により午前中の数時間内にあることがすでに明らかにされており (MORENO *et al.*, 1972)、本実験でも室内試験ながら、それと似た結果が得られた。スライドガラスを用いたトラップは非常に簡便であるし、小さな空間にも多数設置できるので、多くの試料を同時に検定できる。また、本方法では捕獲虫数に基づいて活性を判定するのでフェロモン成分の精製・単離の過程においても誘引活性成分を正確に追跡できる利点がある。

性フェロモンに対する雄の反応習性

点灯後に飛び立った雄成虫は、まもなくフェロモンに反応しはじめることが明らかになったので、次にその時間帯での光条件が雄の反応性にどのような影響を与えるかを調べた。まず、10 分間ごとに2基の蛍光灯を点滅させ、その間の雄の捕獲数について調べた。試験はフェロモン抽出液をつけた粘着スライドガラスの他にフェロモンを処理しない粘着板 (28×23 cm) を用いた。この無処理の粘着板は蛍光灯の直下、115 cm の所におき自然落下する雄成虫を捕獲するようにした。コナカイガラムシ類の性フェロモンの活性は短時間で低下する可能性もあることから (ROTUNDO and TREMBLAY, 1976)、本実験でもトラップとフェロモンを処理したペーパーディスクはいづれも 10 分ごとに新しいものと交換した。

第4表に示した結果からも明らかのように、フェロモン抽出液をつけたスライドガラスによる捕獲は暗条件下ではほとんどみられない。一方、無処理の粘着板での捕獲数は暗条件で多く、この傾向は点灯後の時間が経過するにつれて顕著である。フェロモンに反応してトラップに飛翔・接近途中の個体も、消灯するとそのまま落下しフェロモンの発生源に到達できないようである。

次に雄蛹をプラスチック容器 (20×13×5 cm) に入れ、羽化してきた成虫の歩行活動を利用した試験を行な

第5表 明・暗条件と歩行雄成虫の捕獲数

処 理 区	明 条 件		暗 条 件	
	1	2	1	2
フェロモン処理(A) ^a	41	29	94	141
無 処 理(B)	8	11	2	11
A/B	5.1	2.6	31.3	12.8

^a 50 雌当量.

い、暗条件下でのフェロモンに対する雄の反応性について調べた。粘着物質を塗ったカバーガラス (1.8×1.8 cm) 2個をプラスチック容器内に入れ、その一方にはフェロモンを処理したペーパーディスクを、他方には対照としてヘキサンを処理したペーパーディスクを置いた。そして、雄の反応時間帯に上記のボックスを明および暗条件下に移し、捕獲虫数を調べた。その結果、暗条件下でも雄は歩行しながらフェロモン源へ到達することが明らかになった (第5表)。羽化した雄成虫数が両条件で異っていたので、フェロモン処理トラップ捕獲数の対照区捕獲数に対する割合を求めた。明条件では対照区の 2.6～5.1 倍、暗条件では 12.8～31.3 倍になっている。飛翔による接近と異なり、着地後に雄成虫が歩行してフェロモン源へ到達するには、むしろ暗条件の方がよいことがわかる。また、本方法もフェロモン活性成分を追跡する手段として生物検定に利用できることになる。

本種の雌は粗皮間隙や枝の割れ目などに潜伏したり、果実にかけた袋の中に潜んでいる。雄が雌の潜伏場所に到達して交尾を行なうには、潜伏場所の近くに着地した後の歩行による探索行動が極めて重要である。そこで雄成虫がフェロモン源からどの程度の距離に着地して歩行活動に移るのかを調べた。その結果、雄はフェロモン源から 10～20 cm のところによく着地することがわかった (第6表)。一方、着地した個体をそのまま5分間放置しておいた場合は、多くの個体がフェロモン源から 10 cm 内の距離にあり、雄は着地点から 10～20 cm の距離を歩行しながらフェロモン源に接近したことになる。フェロモン源に接近した雄の着地位置やその後の移動距離はフェロモンの濃度や風速等によって変るものと思われるが、雄成虫が着地後に示す行動様式も十分考慮

第7表 トラップ板の色相と雄成虫の捕獲数^a

試 験	対応させた色	捕 獲 虫 数
1	白 : 黄	10.8 : 21.9
2	黄 : 緑	18.1 : 32.0
3	緑 : 赤	9.8 : 18.5
4	赤 : 青緑	22.3 : 22.8
5	青緑 : 黒	28.2 : 28.7
6	黒 : 赤	17.1 : 19.9
7	白 : 青緑	10.6 : 34.3

^a 試験はそれぞれ異なった日に行ない、対象雄数も不定。捕獲虫数はいずれも8反復の平均値である。50雌当量の粗性フェロモンを処理。

に入れて捕獲効率の高いトラップを工夫する 必要が ある。

トラップ板の色相と雄の反応性

本種の雄がフェロモン源に飛翔・接近して着地するまでは視覚的な刺激が重要な役割を果たしていることが第4表に示した結果からも示唆された。そこで、フェロモントラップの色相とそれに対する雄成虫の反応性の関係の色相間の比較試験で調べた。その結果は第7表に示す様に白と黄の場合は黄、黄と緑では緑、緑と赤では赤のトラップ板にそれぞれ前者の約2倍の雄が捕獲されることがわかった。さらに同様な方法で調べた結果、赤、青緑、黒は白、黄、緑より誘引性がすぐれていた。前3者間では捕獲虫数にほとんど差が認められなかった。誘引効果のすぐれている青緑と効果の最も劣る白の対応試験では前者が後者の3倍以上の雄を捕獲した。本実験の結果をみると、雄にとって絶対的に好ましい色相が存在しているのではなく、着地の際には常に相対的に好ましい色 (明度の低いものと思われる) を選択しているようである。このように、トラップ板の色によって捕獲数が異なるのは飛翔接近してきた個体の着地頻度が色によって異なるためと思われる。観察したところでは、赤、青緑、黒に対しては接近後の着地がスムーズに行なわれるが、白、黄、緑の色相板に対しては接近してから着地するまでに時間がかかる。そして、後者に対しては着地をやめて飛び去ってしまう個体も多い。黄色のトラップ板はアブラムシやウンカの捕獲に適しており、またコスカシバのフェロモントラップも黄色が有効である (柳沼ら、

第6表 フェロモン源に対する雄成虫の着地と歩行^a

	フェロモン源からの距離 (cm)									
	～2	～4	～6	～8	～10	～12	～14	～16	～18	～20
着地直後の雄数	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	8.0	10.5	11.5	11.0	12.0
着地5分後の雄数	22.0	14.0	11.5	11.0	6.5	8.0	5.0	5.5	5.0	5.0

^a 2反復の平均値。250 雌当量の粗性フェロモンを処理。

1977)。しかし、クワコナカイガラムシでは、黄色に対する雄の反応性はかなり劣っており、興味深い。フェロモン源に接近した本種の雄がトラップ板に着地する場合、トラップの色相が重要な役割を果たしていることは明らかであり、本種を対象にしたトラップを検討する場合にもこの点に十分配慮する必要がある。

稿を終るにあたり、飼育、調査に協力を願った当研究所の山室美知子女士に謝意を表する。

摘 要

1. クワコナカイガラムシを寄生させたカボチャをティッシュペーパーに包んでおくと、雄幼虫だけがペーパーの間隙に移動・侵入した。
2. 羽化した雄成虫は点灯すると(9L-15D)まもなく飛翔活動に移り、フェロモンに感応・誘引された。
3. 雄成虫は誘引源から10~20 cmのところによく着地し、歩行しながらフェロモン源まで接近した。
4. フェロモントラップの色相と、それに対する雄成虫の反応性を調べたところ、色相によって捕獲数が異なり、その順序は、赤=青緑=黒>緑>黄>白であった。

引 用 文 献

- GIESELMANN, M. J., D. S. MORENO, J. FARGERLAND, H. TASHIRO and W. L. ROELOFS (1979) Identification of the sex pheromone of the yellow scale. *J. Chem. Ecol.* **9**: 27-33.
- MORENO, D. S., D. K. REED, J. G. SHAW and I. M. NEWELL (1972) Sex lure survey trap for comstock mealybug. *Citrograph* **58**: 43-44.
- ROELOFS, W. L., M. J. GIESELMANN, A. M. CARDÉ, H. TASHIRO, D. S. MORENO, C. A. HENRICK and R. J. ANDERSON (1977) Sex pheromone of the California red scale, *Aonidiella aurantii*. *Nature* **267**: 698-699.
- ROELOFS, W. L., M. J. GIESELMANN, A. M. CARDÉ, H. TASHIRO, D. S. MORENO, C. A. HENRICK and R. J. ANDERSON (1978) Identification of the California red scale sex pheromone. *J. Chem. Ecol.* **4**: 211-224.
- ROTUNDO, G. and E. TREMBLAY (1976) Simple extraction and bioassay of the female sex pheromone of the citrus mealybug, *Planococcus citri*. *Ann. appl. Biol.* **82**: 165-167.
- 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.
- TASHIRO, H., D. L. CHAMBERS, D. S. MORENO and J. BEAVERS (1969) Reproduction in the California red scale, *Aonidiella aurantii*. III. Development of an olfactometer for bioassay of the female sex pheromone. *Ann. ent. Soc. Am.* **62**: 935-940.
- 柳沼 薫・熊倉正昭・玉木佳男・湯嶋 健 (1977) コスカシバの性誘引カラートラップによる誘殺. *応動昆講要*.