ミナミキイロアザミウマの生存に及ぼすトマト葉成分の影響

八隅慶一郎¹⁾・篠原寿文・堀池道郎・平野千里

高知大学農学部

Effect of Tomato Leaf Constituents on Survival of *Thrips palmi* KARNY (Thysanoptera: Thripidae). Keiichiro YASUMI,²⁾ Toshifumi SHINOHARA, Michio HORIKE and Chisato HIRANO (Pesticide Research Laboratory, Kochi University, Nankoku-shi, Kochi 783, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **35**: 311–316 (1991)

Adult females of *Thrips palmi* KARNY survived for a long period on a filter paper disc soaked in 3% aqueous sucrose solution. They also survived for a long period even if the sucrose impregnated disc had methanol extracts of cucumber or eggplant leaves applied onto it. When methanol extract of tomato leaves was applied onto the sucrose impregnated disc, however, all the insects died within a few days. These different responses of *T. palmi* on three plant extracts coincide completely with the previously reported responses on intact leaf discs of respective plants. It is certain that tomato leaf contains an antifeeding or a toxic substance, because the lethal effect of the tomato leaf extract does not cancel out by addition of sucrose, which has a strong phagostimulant activity and a high nutritive value for survival. The lethal activity is concentrated in the *n*-butanol soluble fraction by means of liquid-liquid extraction. Since the partially purified fraction expresses its activity only during exposure, and the insects escape preferentially to feed on the disc containing the fraction, the active substance seems to be an antifeedant rather than a toxic one.

Key words: *Thrips palmi*, tomato leaf, hostplant selection, antifeedant

緒 言

ミナミキイロアザミウマ *Thrips palmi* KARNY は寄主範囲が広く、各種の蔬菜類や花卉を加害するにもかかわらず、トマトを攻撃しない。この特異な寄主選択性の仕組みを理解することは、生物学的に興味があるばかりでなく、耐虫性作物の育成を通じた害虫防除技術開発の見地からも有益であると思われる。

筆者らはさきに、トマト葉上での本種の寿命がキュウリ葉やナス葉に比べて極端に短いことを認め、その原因としてトマト葉が食物として不適当であることを指摘した(八隅ら, 1991)。その後の予備的な実験から、トマト葉が示す食物としての不適性はそのメタノール抽出物にも見られることがわかった。そこでトマト葉、ナス葉、およびキュウリ葉のメタノール抽出物およびその粗画分を調製し、新たに確立した検定法によって本種の生存に及ぼすそれらの影響について検討した。ここにその

結果を報告する。

実験に当たり種々ご便宜を図られた日本植物防疫協会高知試験農場の皆様に厚く御礼申し上げる。

材料および方法

実験に供試したミナミキイロアザミウマは、日本植物防疫協会高知試験農場のハウス栽培ナスから採取した雌成虫である。前報(八隅ら, 1991)と同様、ナス葉を与えて2, 3日間飼育した後、使用した。

植物としてキュウリ(品種: 岡豊)、トマト(品種: 桃太郎)、ナス(品種: 千両2号)を高知大学農学部構内の圃場に慣行栽培し、抽出材料に用いた。

植物葉メタノール抽出物の調製は次の手順でおこなった。新鮮な植物試料100 gを80%メタノール500 mlに浸漬し、3日間室温下暗所に置く。浸出液を40°Cで減圧濃縮し、80%メタノール80 mlを加え、一夜静置する。生じた沈澱を除いた後、80%メタノールを加え、

1) 現在 塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ

2) Present address: Agrochemicals Dept., Aburahi Laboratories, Shionogi & Co., Ltd., Kōka-cho, Shiga 520-34, Japan.

1991年5月21日受領 (Received May 21, 1991)

1991年7月25日登載決定 (Accepted July 25, 1991)

100 ml に定容する。この抽出液 1 ml には植物葉 1 g からの抽出物 (1 g 当量) が含まれる。この濃度の抽出液を被検液として、抽出物の生物活性を評価した。

メタノール抽出物の粗分画化は次の手順でおこなった。新鮮な植物試料 1 kg を 80% メタノール 5 l に浸漬し、3 日間室温下暗所に置く。浸出液を 40°C で減圧濃縮してメタノールを除く。水層 (懸濁液約 300 ml) を分液ロートに移し、等量の石油エーテル、ジエチルエーテル、酢酸エチル、*n*-ブタノール (水飽和) で順次抽出する。各抽出液をそれぞれ水洗した後、減圧下で溶媒を除去し、メタノール 10 ml に溶解する。このメタノール溶液 1 ml には植物葉 100 g 由来の抽出成分 (100 g 当量) が含まれる。以後この溶液をそのまま、あるいはメタノールで適宜希釈して生物活性を調べた。また各溶媒で抽出した後の水層は 500 ml に定容し、2 g 当量/ml 液として生物活性を調べた。

本種の生存に及ぼす被検液の影響は次の検定法で評価した。市販のポリエチレン製カップ (70 ml 容) の底に厚手円形濾紙 (直径 8 mm, 以下ペーパーディスクと呼ぶ) をおき、被検液 0.05 ml を浸み込ませる。放置して溶媒を蒸発させた後、水または 3% ショ糖水溶液 0.05 ml を浸み込ませる。対照として水または 3% ショ糖溶液 0.05 ml を浸み込ませたペーパーディスクをカップ内に置き、それぞれ水対照区、ショ糖対照区とする。各カップに雌成虫 5 頭ずつを放って蓋を閉じ、約 25°C 照明下に置く。24 時間ごとに各カップのペーパーディスクを更新し、同時に雌成虫の生存状態を調べた。各区 10 回あるいは 20 回反復した。

結果および論議

生物検定法の有効性と生存抑制物質の存在

上記生物検定法の有効性を確かめ、あわせてトマトの食物としての不適性が化学的要因によるものであることを確認する目的で、雌成虫の生存に及ぼすキュウリ、ナス、およびトマトのメタノール抽出物の影響を調べた。その結果を、水対照区およびショ糖対照区での生存状態とともに、Fig. 1~3 に掲げる。

まず対照区についてみると、水対照区での半数致死日数は約 3.5 日であり、5 日後までに全個体が死亡した。一方、ショ糖対照区では 1 週間後でも 90% 以上が生存していた (Fig. 1)。これらの結果は前報 (八隅ら, 1991) のそれとよく一致し、ショ糖が本種にたいして摂食刺激活性をもち、また生存のための栄養源としてすぐれていることを示している。

Fig. 1. Survivorship curves for female *Thrips palmi* on filter paper discs containing 3% aqueous sucrose solution (○) or water alone (●). Each point is the mean of 20 replicates.

生物検定法として、植物葉のメタノール抽出物 (0.05 g 当量) を水とともにペーパーディスクに保持させて提示した場合 (以下水添加ペーパーディスク法と呼ぶ) には、どの植物区でも雌成虫の寿命が短く、5~6 日後には全個体が死亡した (Fig. 2)。さきに報告した各植物生葉上での生存状態 (八隅ら, 1991) と比べると、トマトではほぼ一致するが、キュウリとナスではまったく異なる結果である。

これにたいし、各抽出物 (0.05 g 当量) をショ糖水溶液とともにペーパーディスクに浸みこませた場合 (ショ糖液添加ペーパーディスク法) の生存状態は、各区とも生葉の場合 (八隅ら, 1991) と完全に一致した。すなわちキュウリとナスでの生存率はきわめて高く、7 日後でも 80~90% であるのにたいし、トマトでは 7 日後に全個体が死亡した (Fig. 3)。

以上からみて、水添加ペーパーディスク法は本種にたいする植物生葉の食物価を正確に反映していないといえよう。一方、ショ糖液添加ペーパーディスク法では、トマト、キュウリおよびナス生葉のもつ食物としての不適がそのまま再現されており、本研究での生物活性のモニタリング法として適当であると判断される。またこのような評価法が有効であるということは、トマトの食物としての不適性が物理的要因ではなく、化学的要因によるものであることをあらためて示している。

水添加ペーパーディスク法は本研究での生物検定法としては不適当であるが、トマト葉の示す活性について重要な示唆を与えている。キュウリおよびナスの生葉は好適な食物としての必要条件—摂食刺激活性をもち、摂食阻害活性をもたず、栄養的欠陥や有毒成分をもたない—

Fig. 2. Survivorship curves for female *Thrips palmi* on filter paper discs containing water and methanol extracts of cucumber leaves (left), egg plant leaves (center) or tomato leaves (right). Each point is the mean of 20 replicates.

Fig. 3. Survivorship curves for female *Thrips palmi* on filter paper discs containing 3% aqueous sucrose solution and methanol extracts of cucumber leaves (left), egg plant leaves (center) or tomato leaves (right). Each point is the mean of 20 replicates.

を具えており、本種の生存にたいする阻害作用はまったく見られなかった。それにもかかわらず、それらのメタノール抽出物を浸み込ませた水添加ペーパーディスクで死亡率が高いことは、具えていた必要条件が抽出操作によって損なわれたことを示している。具体的には、それまで存在していなかった摂食阻害物質や有毒成分が抽出操作過程であらたに生成したのではなく、存在していた摂食刺激物質あるいは栄養成分が欠落したためと思われる。理由は本種にたいして摂食刺激活性をもち、また生存のための栄養源としてすぐれているショ糖の添加によって、生存率が生葉のレベルまで回復するからである (Fig. 3)。ところがトマト葉の示す食物としての不適性は、Fig. 3 に示すようにショ糖の添加によってわずかに改善されたにすぎなかった。したがってトマトの場合、

摂食刺激物質や栄養成分の欠如が食物としての不適性の主因とは考えられない。本種の生存を積極的に抑制する食物的要因、すなわち摂食阻害物質あるいは有毒成分の存在が強く示唆される。

生存抑制物質の部分的精製

前実験でその存在が強く示されたトマトの生存抑制物質を単離し、その本体を化学的に明らかにする手始めとして、トマト葉のメタノール抽出物を各種溶媒で抽出し、各抽出画分の活性をショ糖液添加ペーパーディスク法で評価した。被検画分のうち、各有機溶媒画分はペーパーディスク当たり 5 g 当量 (100 g 当量/ml 溶液を 0.05 ml) を、また水層は 0.1 g 当量 (2 g 当量/ml 溶液を 0.05 ml) を浸み込ませて雌成虫に投与した。

結果を Fig. 4 に掲げる。石油エーテル、ジエチルエ

Fig. 4. Survivorship curves for female *Thrips palmi* on filter paper discs containing 3% aqueous sucrose solution and fractions from the methanol extract of tomato leaves. Each point is the mean of 10 replicates.

Fig. 5. Survivorship curves for female *Thrips palmi* on filter paper discs containing 3% aqueous sucrose solution and the butanol soluble fraction of the methanol extract of tomato leaves. The amount of the fraction applied on a disc is 0 (○), 0.005 (▲), 0.05 (■), 0.5 (□) or 5 (●) (gram fresh leaf equivalent). Each point is the mean of 10 replicates.

ーテル、酢酸エチル、および水層の各抽出画分は、かなりの高濃度で投与したにもかかわらず、7日間経過してもシヨ糖対照区と同様80%以上の高い生存率を示した。これにたいしブタノール抽出画分では1日後にほとんどの雌成虫が死亡した。

ブタノール画分の生存抑制活性は、投与量との間に高い相関がみられた。すなわち活性は0.5 g当量、0.05 g当量と投与量を減少させるにしたがって弱くなり、

0.005 g当量ではほとんど認められない (Fig. 5)。以上の結果からトマト葉の生存抑制物質がブタノール画分のみ存在することは確実である。

なお同時にキュウリおよびナス生葉のメタノール抽出物を各種溶媒で抽出し、各抽出画分の活性を調べた結果、ブタノール画分を含め、すべての画分に生存抑制活性は認められなかった。

摂食阻害物質が有毒成分か

トマトが本種の食物として不適当である主たる理由が、トマトのメタノール抽出物/ブタノール画分に存在する生存抑制作用をもつ物質によることはほぼ確実となった。この物質が摂食阻害的に作用するのか、あるいは有毒な作用をもつのか、そのいずれであるかを知るため、二つの実験を行った。

第1の実験では、まず0.5 g当量 (10 g当量/ml $\times$ 0.05 ml) のブタノール画分を浸み込ませたシヨ糖液添加ペーパーディスクを雌成虫に与え、1日間あるいは2日間飼育した後、ブタノール画分を含まないシヨ糖液添加ペーパーディスクを与えて飼育を続け、生存状態を記録した。結果をFig. 6に示す。ブタノール画分/シヨ糖液添加ペーパーディスク上では1日後から死亡虫が現れ、4日後にはほとんどの個体が死亡した。しかし雌成虫を途中からブタノール画分を含まないシヨ糖液添加ペーパーディスクに移すと、その後はほとんど死亡することなく経過した。すなわちブタノール画分の生存抑制作用は

Fig. 6. Survivorship curves for female *Thrips palmi* on filter paper discs containing 3% aqueous sucrose solution alone (○) after feeding 1 or 2 days on discs containing both the sucrose solution and the butanol soluble fraction (●). Each point is the mean of 10 replicates.

Fig. 7. Survivorship curves for female *Thrips palmi* on a filter paper disc containing 3% aqueous sucrose solution alone (○), a disc with both the sucrose solution and the butanol soluble fraction (●), or a disc with sucrose solution alone and a second disc with both the sucrose solution and the butanol soluble fraction (△). Each point is the mean of 10 replicates.

接触している間だけに発揮される、ごく一時的なものであることがわかる。有毒成分による死亡であるよりも、摂食行動が阻害されたための餓死（水分不足も含めた）である可能性が高い。

第2の実験では、ブタノール画分/ショ糖液添加ペーパーディスクのみを与えた場合の生存状態と、ブタノール画分/ショ糖液添加ペーパーディスクとともにブタノール画分を含まないショ糖液添加ペーパーディスクを与えた場合の生存状態を比較した。結果を Fig. 7 に示す。

生存抑制活性をもつブタノール画分/ショ糖液添加ペーパーディスクの他にブタノール画分を含まないショ糖液添加ペーパーディスクと一緒に与えると、死亡する個体はまったく現れなかった。もしブタノール画分の活性成分が摂食阻害物質でなく有毒成分であれば、2枚のペーパーディスクは1/2の確率で摂食され、死亡する個体が出現するはずである。この結果もブタノール画分の活性成分が有毒成分ではなく、摂食行動を阻害する化合物であることを示唆している。

総合考察

トマト葉のメタノール抽出物を投与された雌成虫の生存状態は、抽出物単独（水添加ペーパーディスク法）ではもちろん、ショ糖を添加してもきわめて低かった（Fig. 2, 3）。ショ糖の添加によって摂食刺激活性と栄養価値が付与されたはずであるにもかかわらず、生存率が向上しなかったことから、トマト葉抽出物の食物としての不適性は、摂食阻害物質または有毒成分の存在に起因していると考えられる。

もちろん厳密に考えれば、トマト葉の食物としての不適性の機構として、摂食阻害物質または有毒成分の存在の外に、摂食刺激物質の欠如や栄養的欠陥を併せもっている可能性を完全に否定することはできない。しかし、雌成虫の生存状態がトマト生葉、水添加トマト葉抽出物、およびショ糖液添加トマト葉抽出物の間で大きい差がないことから、たとえ摂食刺激物質または栄養成分に関連した欠陥があったとしても、食物としての不適性の原因として考慮する必要はほとんどないと考えられる。

トマト茎葉に含まれる化合物が昆虫の生育に影響を与える例は、これまでにいくつか知られている。たとえばα-トマチン、ルチン、クロロゲン酸あるいはグルカリン酸のカフェイン酸エステルはタバコガ (*Heliothis zea*) 幼虫の生育を阻害する (ELLIGER et al., 1981a, b)。また野生種トマト (*Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*) 茎葉の腺毛から分泌される2-トリデカノンはスズメガ (*Manduca sexta*)、ヨトウガ (*Spodoptera exigua*)、あるいはキバガ (*Keiferia lycopersicella*) の幼虫にたいして有毒作用をもつ (KENNEDY and YAMAMOTO, 1979; LIN et al., 1987; WILLIAMS et al., 1980)。

ミナミキイロアザミウマの生存を抑制する活性成分は、本実験の結果トマト葉メタノール抽出物からブタノールで抽出されることがわかった。さらに活性成分/ショ糖を含むペーパーディスク上で生き残った雌成虫を活性成分を含まないショ糖ペーパーディスクに移して飼育を継続した実験や、活性成分/ショ糖とショ糖を別々の

ペーパーディスクに浸み込ませて同時に提示する実験の結果から、活性成分は有毒物質ではなく、摂食阻害作用をもつ物質であることが強く示唆された。

河合 (1986) は、本種幼虫がトマト葉上ではまったく発育できず、成虫の寿命が短く、産卵もおこなわれないことを示したが、産卵性以外の反応はここに報告した摂食阻害物質の存在によってよく説明できる。

本実験で確立したシヨ糖液添加ペーパーディスク法は、本種に対する植物葉抽出物の食物的価値を評価するための優れた検定法である。すなわち各種植物葉のメタノール抽出物とシヨ糖水溶液とをペーパーディスクに保持させて提示した場合、雌成虫の生存反応は各植物生葉にたいする反応を忠実に再現していた。またトマト葉の食物的不適性が物理的要因によるものではなく、化学的要因によるものであることもこの検定法の適用によって示された。今後予定されているトマト葉の活性成分の追求にあたって、本ペーパーディスク法は生物検定法として有効であろう。

摘 要

ミナミキイロアザミウマ雌成虫はシヨ糖水溶液を浸み込ませた濾紙ディスク上で長期間生存できる。このディスクをキュウリあるいはナス葉のメタノール抽出物で処理しても、雌成虫は長期間生存できた。しかし同じディスクをトマト葉のメタノール抽出物で処理してあたえようと、雌成虫はすべて数日中に死亡した。このことから、トマト葉には成虫の生存を抑制する化学成分、すなわち摂食阻害物質あるいは有毒成分が存在するものと考えられた。この活性成分はトマト葉のメタノール抽出物を水に分散させ、メタノールで抽出する操作で部分的に精製

できた。部分的に精製した活性成分の生存抑制作用は、提示している間のみ認められる一時的なものであること、およびシヨ糖と活性成分とを別々の濾紙ディスクに処理して提示すると活性が認められないことから、有毒成分ではなく摂食阻害物質であると考えられる。

引用文献

- ELLIGER, C.A., Y. WONG, B.G. CHAN and A.C. WAISS, Jr. (1981a) Growth inhibitors in tomato (*Lycopersicon*) to tomato fruitworm (*Heliothis zea*). J. Chem. Ecol. 7: 753—758.
- ELLIGER, C.A., R.E. LUNDIN and W.F. HADDON (1981b) Caffeyl esters of glucaric acid in *Lycopersicon esculentum* leaves. Phytochemistry 20: 1133—1134.
- 河合 章 (1986) ミナミキイロアザミウマ個体群の生態学的研究. X. 異なる作物上での増殖の比較. 応動昆 30: 7—11.
- KENNEDY, G.G. and R.T. YAMAMOTO (1979) A toxic factor causing resistance in a wild tomato to the tobacco hornworm and some other insects. Entomol. Exp. Appl. 26: 121—126.
- LIN, S.Y.H., J.T. TRUMBLE and J. KUMAMOTO (1987) Activity of volatile compounds in glandular trichomes of *Lycopersicon* species against two insect herbivores. J. Chem. Ecol. 13: 837—850.
- WILLIAMS, W.G., G.G. KENNEDY, R.T. YAMAMOTO, J.D. THACKER and J. BORDNER (1980) 2-Tridecanone: A naturally occurring insecticide from the wild tomato *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. Science 207: 888—889.
- 八隅慶一郎・少前保博・堀池道郎・平野千里 (1991) 数種植物葉上でのミナミキイロアザミウマの生存. 四国植物防疫研究 26 (印刷中).