

クビアカツヤカミキリ (*Aromia bungii*) のフェロモン等を用いた野外誘引試験

所雅彦¹・桐山哲²・深谷緑²・松本剛史¹・滝久智¹・高務淳¹・向井裕美¹・浦野忠久¹・高梨琢磨¹・加賀谷悦子¹・岩田隆太郎²

1 森林総合研究所

2 日本大学生物資源科学部

要旨: サクラ、モモ等に深刻な被害をもたらす侵入害虫クビアカツヤカミキリ (以下クビアカ) の防除に利用できる誘引物質を探索するために、ラセミ体合成フェロモンと協力剤として糖酢液、エタノール、クビアカ防御物質を用いた野外誘引試験を行い、誘引効果を比較した。また、クビアカ成虫触角を用いた GC-EAD 分析により、誘引活性成分を探索した。GC-EAD 分析では、今回の合成フェロモンに対して雌雄両性の触角に応答が認められた。野外試験の結果、合成フェロモンは単独での誘引性は弱く、糖酢液との併用で誘引力が強くなることが分かった。また、エタノールにも共力効果が見られる傾向があった。クビアカの防御物質については、主成分がローズオキシドであり、雌雄触角に応答が認められ何らかの作用性が示唆されたが、野外誘引試験では誘引共力効果は認められなかった。

キーワード: クビアカツヤカミキリ, 侵入害虫, 野外トラップ試験, 集合フェロモン

Results of field attraction trap test using pheromones of a longhorn beetle (*Aromia bungii*)

Masahiko TOKORO¹, Satoshi KIRIYAMA², Midori FUKAYA², Takeshi MATSUMOTO¹, Hisatomo TAKI¹, Jun TAKATSUKA¹, Hiromi MUKAI¹, Tadahisa URANO¹, Takuma TAKANASHI¹, Etsuko KAGAYA¹, Ryûtarô IWATA²

1: Forestry & Forest Products Research Institute

2: Department of Forest Science and Resources, College of Bioresource Sciences, Nihon University

Abstract: *Aromia bungii* is an invasive longhorn beetle that causes severe and widespread damage among various important tree species in Japan, including cherry and peach trees. Field tests were conducted to search for attractants that would lure them into traps. The effects of a racemic synthetic pheromone blend as an attractant—either alone or combined with a sugar-vinegar solution, ethanol, or rose oxide as a synergist—were compared with regard to the number of captured insects. In addition, gas chromatography–electroantennographic detection (GC-EAD) analysis was used to search for active components in the samples of adult beetle antennae. The results of that analysis showed that the synthetic pheromone blend alone was a weak attractant; it induced responses in the antennae of both sexes. When combined with the sugar-vinegar solution or ethanol, the attractant quality of the synthetic pheromone blend increased. Rose oxide was found to be the primary component of the beetles' defensive secretion. It induced a response in both sexes, suggesting that it had some activity; however, the field test showed that rose oxide had no synergistic attractant effect.

Key-word: *Aromia bungii*, invasive species, field trap test, aggregation pheromone

I はじめに

サクラ、モモ等に深刻な被害をもたらす侵入害虫クビアカに関して、防除を目的とした誘引物質の探索がなされており、成虫の揮発性成分が分析されている。近年、クビアカ雄分泌揮発性物質から、クビアカフェロモン主成分が、トランス 2 シス 6,7 エポキシノネナール

((*E*)-2-*cis*-6,7-epoxynonenal : 以下フェロモン) と同定され、中国・安徽省と日本・徳島県での野外誘引試験において合成品に雌雄ともに誘引され、その活性が確認された (1, 6)。また、日本の個体では雌が雄より優位に誘引されたため、性・集合フェロモンであると定義された。また、クビアカ成虫は、糖酢液 (穀物酢・黒糖・白酒混

合物)に誘引されることが報告された(2, 3, 4)。さらに、本種は雌雄成虫が防御行動に伴って強い刺激臭のある成分を分泌噴射することが知られており、これは防御物質であると考えられており、この揮発性成分はローズオキシドをはじめ6種の化合物が確認されている(5)。

本研究では、クビアカの防除に利用できる誘引物質を探索するために、クビアカ成虫触角を用いたガスクロマトグラフ触角電位検出(GC-EAD)分析により活性成分を探索した。また同定された雄揮発性フェロモンのラセミ体合成品の誘引力、及びそれに対する糖酢液、エタノール、防御物質の共力効果を東京都あきる野市及び群馬県館林市で市販のトラップを用いて試験し検討した。

II 材料と方法

1. 供試虫

埼玉県草加市及び栃木県佐野市で採集した被害材を茨城県つくば市の森林総合研究所内網室内で保持し、羽化脱出したクビアカ成虫を実験に用いた。これら成虫は、恒温室内の20°C14L10Dの条件下で、はちみつ水を餌に2日以上飼育した後に供試した。

2. 信号化学物質の分離分析法 クビアカ雌雄成虫の揮発性成分の捕集は、300ml ビーカーの上部をアルミホイルで覆い、固相マイクロ抽出法(SPME)にて行った。防御物質捕集の場合は、ピンセットで虫体に刺激を与えた。SPMEはスペルコ社製のSPMEホルダーと、100µm PDMS, 85µm CAR/PDMS, 50/30µm DVB/CAR/PDMSのファイバを用いて行い、GC-EAD分析、GC-MS分析に供した。

3. GC-EAD分析およびGC-MS分析 合成フェロモン及び成虫揮発性成分に対するGC-EAD分析はHP 7890 GC(アジレント社製)装置と、分析カラムDB5-ms 30m×0.32mm×0.25mmを用い、昇温分析:40(1)-10-200-30-310°C(5)、でINJ:250, FID:280, EAD:300°Cの条件で行い、EAD分析はインターフェース:IDAC、および電極ホルダーはSyntech社製を使用し、電極はクビアカの長い触角用に加工した銀電極を用いた。触角は供試雌雄成虫を2~5°C低温下に10分以上静置後、解剖用微小鋏で切り取り、電解質ゲルを介して電極に設置しGC-EAD分析に供試した。

GC-MS分析はHP 6890 GC直結HP5973N MSD装置(アジレント社製)で、分析カラムはDB5-ms(30m×0.25mm×0.25mm:アジレント社製)を用いGC-EAD分析と同じ昇温条件で行った。

4. 野外誘引試験 野外誘引試験はXu *et al.* (2017)(6)の手法に準じて、あきる野市(誘引試験①2017年)と館林市(誘引試験②2018年)で行った。誘引トラップは衝

突板式のサンケイ化学社製”昆虫誘引器”の黒色を用い、合成フェロモンを誘引源にし、糖酢液(2, 3)、エタノール(80% 25-30ml チューブ製剤:サンケイ化学)、ローズオキシド(99%:シグマアルドリッチ)を共力剤とした。合成フェロモン及びローズオキシドは、溶媒として2-プロパノール(99.5%)1mlに混合し、ユニパックC-4に注入し、ディスペンサーとして、衝突版上部にテープで貼付した。共力剤の糖酢液(20ml 黒糖2:白酒1:穀物酢3)は脱脂綿に含浸して、小型の孔開き蓋をしたΦ5cm プラカップに入れ、トラップ所定位置に設置した(2, 3)。

誘引試験①は、対照区(溶媒のみ):C1, フェロモンA(ラセミ体96%)50mg区:P1, フェロモンA100mg区:WP1の3試験区,4反復で6月13日~8月30日まで。

誘引試験②は、対照区(溶媒のみ):C2, フェロモンB(ラセミ体97%:東京化成)50mg区:P2, フェロモンB50mg+エタノール区:PE2, フェロモンB50mg+ローズオキシド50mg区:PR2, フェロモンB50mg+糖酢液20ml区:PS2, フェロモンC(ラセミ体83%)100mg+糖酢液20ml区:WS2の6試験区4反復とし、6月13日~8月2日まで行った。

各トラップのパッケージ部には捕獲虫の腐敗を防ぐため400mlのプロピレングリコール(純正化学)を加えた。各トラップはランタンスタンド(パイルドライバ:スノーピーク社製)を用いて約1.5m高にセットし、1週間ごとに捕獲虫の回収、ディスペンサーの交換と、トラップ位置のローテーションを行った。捕獲したクビアカ成虫数を記録し統計処理を行った。捕獲虫数と処理区との関係は、一般化線形混合モデル(GLMM)を用いて解析した。応答変数は捕獲中数としポアソン分布に従うと仮定し、リンク関数はlogを採用した。説明変数は誘引処理の効果、ランダム項は回収時期とし、各処理区の違いをTukey法による多重比較検定で評価した。有意水準は0.05とした。本解析はR ver 3.3.2(R Development Core Team)を用い、GLMM構築にはパッケージlme4を、多重比較検定にはパッケージmultcompを用いた。



図-1. 設置トラップ(黒)とフェロモンディスペンサー

III 結果と考察

1. GC-EAD分析, GC-MS分析の結果

野外試験に用いる合成フェロモンに対するクビアカ成虫の触角応答をGC-EAD分析により確認した。フェロモンA, B, C共にクビアカ雌雄成虫いずれの触角に対しても活性応答ピークが主成分に対して明確に認められた。また主成分ピークの直前に異性体と思われる微小なマイナーピークに対しても弱い明確な応答が認められた(図-2)。

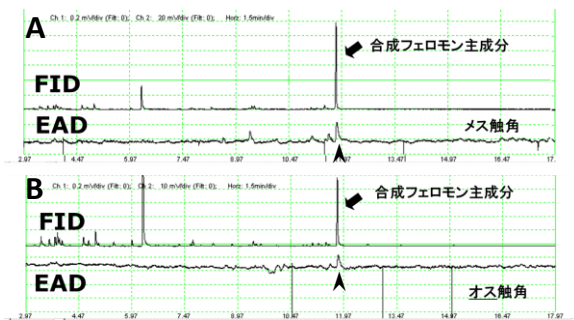


図-2. 合成フェロモンAに対するクビアカツヤカミキリ雌雄成虫の触角を用いたGC-EAD分析の結果
 FID: GC検出器 EAD: 触角応答
 A: 雌触角 B: 雄触角 >: EAD活性ピーク

雌雄成虫の分泌する防御物質揮発性成分に対するGC-MS分析の結果、主成分がローズオキシドとその異性体であることが分かり、GC-EAD分析の結果、雌雄触角に対する応答も確認できた(図-3)。これはWei *et al.* (2013) (5)により中国の個体で報告された集合フェロモン候補成分と同じ主要揮発性成分であったが、むしろ外敵を撃退し不快にする防御物質主成分と考えられ警報フェロモンのように作用する可能性が考えられた。

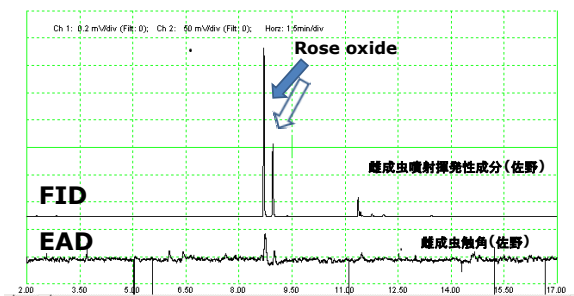


図-3. SPMEにより捕集された雌成虫揮発性成分のクビアカ雌成虫触角に対するGC-EAD分析の結果

2. 野外誘引試験の結果

・野外誘引試験①の結果(図-4)
 合成フェロモンAは対照区に比べて誘引効果が認めら

れた。また、フェロモン50mgよりフェロモン100mgで有意に高い誘引効果が認められ、施用量の高い方が有効であると示唆された。特に雌に誘引効果が強く、性フェロモンの傾向が強いというXu *et al.*(2017) (6)の報告に合致した(図-4)。

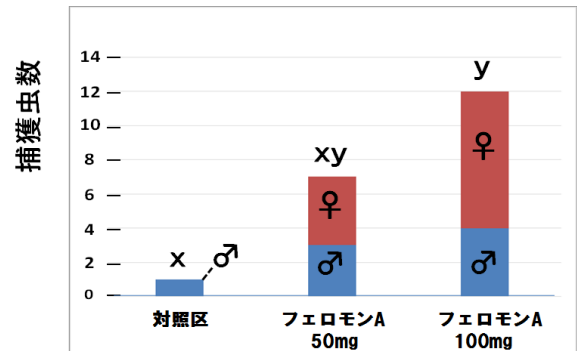


図-4. あきる野市でのクビアカ合成フェロモンA(ラセミ体96%)を用いた野外誘引試験の結果、各試験区4反復の捕獲総数 有意水準 <0.05 異なるアルファベット間には有意差があることを示す

・野外誘引試験②の結果(図-5)

糖酢液等共力剤を用いた誘引試験②の結果、合成フェロモンBおよびCの誘引力は、糖酢液により明らかな相乗効果を発揮することが確認され(PS2,WS2)。先の報告(1, 2)を支持する結果であった。また糖酢液構成要素であるエタノール(PE2)も、フェロモン単独に比べて多くの成虫が捕獲できる傾向が見られ、共力剤として利用できる可能性が示唆された(図-5)。

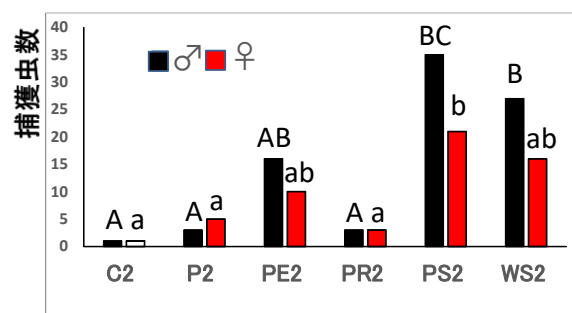


図-5. 館林市におけるクビアカ合成フェロモンと糖酢液等に対する野外トラップ試験の結果

C2: 対照区, P2: フェロモンB 50mg区, PE2: フェロモンB 50mg+エタノール区, PR2: フェロモンB 50mg+ローズオキシド区, PS2: フェロモンB 50mg+糖酢液区, WS2: フェロモンC 100mg+糖酢液区
 各試験区4反復の捕獲総数 有意水準 <0.05
 雌雄別に異なるアルファベット間には有意差あり

糖酢液トラップで捕獲された雌の保有卵数から、一定の産卵を終えた個体が誘引されている可能性が示唆されている(2, 3)。これは成虫が増卵、寿命延長を目的として樹液を後食するためと考えられる。合成フェロモンは成虫活動期の前半に効果的で、集合・性フェロモンの効果は雌に少し偏る捕獲で、交尾経験が誘引効果に影響する可能性も示唆されており、糖酢液との併用で誘引効果を補完している可能性が考えられる。

防御物質と考えられ、雌雄成虫分泌物主成分であるローズオキシドの野外誘引試験の結果は、誘引共力効果は全く認められず、むしろ忌避的に作用する可能性が示された(図-5)。

本研究により、合成フェロモンと糖酢液の組み合わせがクビアカの誘引物質として有効であることが明らかになった。

謝辞：・供試虫の採集及び誘引試験において、東京都あきる野市役所、あきる野総合運動公園、館林市役所、及び東武トレジャーガーデンの関係者の方々に協力していただきました。

・合成フェロモン A はジョセリン・ミラー博士（カリフォルニア大学）から提供していただきました。

・元日本大学生物資源科学研究科の中山雄飛研究員に野外試験等に関するご協力を賜りました。

・本研究は森林総合研究所の交付金プロジェクト I、【サクラ等の外来害虫クビアカツヤカミキリの根絶法の開発】の成果の一部です。

・本研究は農研機構生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の支援を受けて行いました。

引用文献

- (1) 深谷緑, 桐山哲, 安居拓恵, 辻井直, 中野昭雄, 渡邊崇人, 所雅彦, Millar, Jocelyn G., 第 29 回日本環境動物昆虫学会年次大会要旨集, B-9: 55 (2017)
- (2) 桐山哲, 所雅彦, 深谷緑, 中山雄飛, 滝久智, 加賀谷悦子, 岩田隆太郎, 第 29 回日本環境動物昆虫学会年次大会要旨集, B-9: 56 (2017)
- (3) 中山雄飛, 桐山哲, 深谷緑, 岩田隆太郎, 所雅彦 第 7 回関東森林学会大会講演要旨集: 50, 24 (2017)
- (4) Wang, J.-t., Sun, L.-w., Sun, L.-y., Liu, T.-z., Zhang, L.-y.,: Research on the occurrence character and control measure of *Aromia bungii*. 河北農業科学 (Journal of Hebei Agricultural Sciences), 11(2): 41-43, 79. (2007)
- (5) Wei, J.-R, Liu, X.-B., Niu, Y.-L., Wang, J.-J.,

Identification of volatiles released from the living adult *Aromia bungii* Faldermann. 中国森林病虫 (Forest Pest and Disease), 32(5): 8-10.(2013)

(6) Xu, Tian., Yasui, Hiroe., Teale, Stephen A., Fujiwara-Tsujii, Nao., Wickham, Jacob D., Fukaya, Midori., Hansen, Laura., Kiriya, Satoshi, Hao, Dejun., Nakano, Akio., Zhang, Longwa., Watanabe, Takahito., Tokoro, Masahiko, Millar, Jocelyn G., Identification of a male-produced sex-aggregation pheromone for a highly invasive cerambycid beetle, *Aromia bungii*. Scientific Reports 7, Article number: 7330 (2017)