

キク科植物におけるブタクサハムシ摂食刺激物質の分布と寄主選好性との関係

誌名	日本応用動物昆虫学会誌
ISSN	00214914
著者名	田村,泰盛 服部,誠 今野,浩太郎 本田,洋 河野,義明
発行元	日本応用動物昆虫学会
巻/号	48巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 191-199
発行年月	2004年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



キク科植物におけるブタクサハムシ摂食刺激物質の分布と 寄主選好性との関係

田村 泰盛^{1,*}・服部 誠¹・今野 浩太郎¹・本田 洋²・河野 義明²

¹農業生物資源研究所

²筑波大学大学院生命環境科学研究科

Relationship between the Host Plant Preference of the Leaf Beetle *Ophraella communa* LeSage (Coleoptera: Chrysomelidae) and Distribution of Feeding Stimulants in Asteraceous Plants. Yasumori TAMURA,^{1,*} Makoto HATTORI,¹ Kotaro KONNO,¹ Hiroshi HONDA² and Yoshiaki KONO² ¹ National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan. ² Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 48: 191-199 (2004)

Abstract: The leaf beetle *Ophraella communa* is an oligophagous insect that infests several asteraceous plants, especially ragweed *Ambrosia artemisiifolia*, in fields of Japan. The feeding responses of *O. communa* to methanolic extracts of 11 genera and 17 species of asteraceous plants were examined to determine whether feeding preference depended on chemicals in the plants. The methanolic extracts of 8 asteraceous species stimulated feeding in *O. communa*, but the other 9 species showed no activity. Two triterpenoids (α -amyirin acetate and β -amyirin acetate) and two caffeic acid derivatives (chlorogenic acid and 3,5-dicaffeoylquinic acid) are known as feeding stimulants for *O. communa*. The distribution of these compounds was analyzed in 17 asteraceous species. These compounds were found in many species, including nonhost plants of this beetle, however amounts and compositions differed. Even when the methanolic extracts of *A. artemisiifolia* were added to extracts of some species which did not elicit feeding of *O. communa*, the feeding of *O. communa* was not induced by the inactive plants. Feeding deterrents as well as feeding stimulants in the leaves of asteraceous plants appear to determine the feeding preference of *O. communa*.

Key words: Asteraceae; feeding stimulant; *Ophraella communa*; phenylpropanoid; triterpenoid

緒 言

ブタクサハムシ (*Ophraella communa* LeSage) は1996年に日本への侵入が千葉県で確認された北米原産の帰化昆虫である (滝沢ら, 1999)。本種は日本国内ではブタクサ (*Ambrosia artemisiifolia* L. var. *elatio* Desc.) を特に選好して増殖し、急速に分布域を拡大させており (守屋・初宿, 2001)。各地でブタクサを枯死させる様子が観察されている。本種の北米での寄主植物は、ブタクサ (*Am. artemisiifolia* L.)、ブタクサモドキ (*Am. psilostachya* DC.)、オナモミ (*Xanthium strumarium* L.)、フナバシソウ属の *Iva axillaries* Pursh., ヒマワリ属の *Helianthus ciliaris* DC. とラティビダ属の *Ratibida pinnata* (Vent.) Barnh. の5属6種のキク科植物であると報告されている (LeSage, 1986; Futuyma, 1991)。日本国内ではブタクサ以外に、オオブタクサ (*Am. trifida* L.)、オオオナモミ (*X. canadense* Mill.)、イガオナモ

ミ (*X. italicum* Moretti) などを寄主とし (江村, 1999; Yamazaki et al., 2000)、キクイモ (*H. tuberosus* L.) やヒマワリ類 (*Helianthus* spp.) を食害することが報告されている (守屋, 1999; 東京都病害虫防除所, 1999; 神奈川県病害虫防除所, 2000)。ブタクサは花粉症の原因植物であることから、侵入当初は雑草防除の観点から注目されていたが、経済植物であるヒマワリを食害することから、農業に与える影響が危惧されている。植食性昆虫が新天地に侵入後、予想外の植物を加害した例が報告されている。1916年に日本からアメリカに侵入したマメコガネ (*Popillia japonica*) は、日本では食害のない果樹の果実を食害し、大害虫となっている (森本, 1986)。また、アメリカシロヒトリ (*Hyphantria cunea*) は原産地である北アメリカではクワを摂食しないとされていたが、日本に侵入して以降クワを食害するという新たな習性を発現させている (宮下, 1977)。ブタクサハムシは国内に侵入以降、寄主を拡大している可

*Corresponding author

2003年12月11日受領 (Received 11 December 2003)

2004年3月22日登載決定 (Accepted 22 March 2004)

DOI: 10.1303/jjaez.2004.191

能性も指摘されているが (Yamazaki et al., 2000), ブタクサハムシの食草の選択機構や食草範囲を規定する因子について未だ詳しい研究はなされていない。これを明らかにすることは、キク科作物への潜在的な加害能の予測およびブタクサハムシに対する抵抗性品種育成に有用な情報を与えると考えられる。寄主植物に存在する特定の植物2次成分が植食性昆虫に味覚的に作用し、摂食行動が誘起される多くの例が知られており (Bernays and Chapman, 1994), 幾つかのハムシ類でもこのような行動が調べられている。ウリ科植物を摂食する *Diabrotica* 属の幾つかのハムシ類は、ウリ科植物に特徴的に含まれる化合物である cucurbitacin 類に摂食を刺激される (Matsuda, 1988)。ダイコンハムシ *Phaedon cochleariae* はアブラナ科植物に含まれるカラシ油配糖体に摂食を刺激される (Tanton, 1965)。ヤナギ科植物を摂食するヤナギハムシ *Chrysomela vigintipunctata costella* とヤナギリハムシ *Plagioderma versicolora distincta* は、ヤナギ科植物に特徴的に含まれる salicin と populin、寄主植物に含まれるフラボノイドである luteorin-7-O-glucoside に摂食を刺激される (Matsuda and Matsuo, 1985)。また、タデ科植物を摂食するイチゴハムシ *Galerucella vittaticollis* は、タデ科植物中のフラボノイドであるクエルセチン配糖体に摂食を刺激される (太田ら, 1998)。

我々は、寄主範囲の狭いブタクサハムシが食草を決定する際に重要な役割を果たすと考えられる、摂食行動を引き起こす因子を明らかにする目的で、ブタクサのメタノール抽出物から本種の摂食刺激物質を単離・同定し、トリテルペノイド [α -amyrin acetate (α -AA) もしくは β -amyrin acetate (β -AA)] とカフェー酸誘導体 [chlorogenic acid (CGA) もしくは 3,5-dicaffeoylquinic acid (3,5-diCQA)] の共存により本種が摂食を刺激されることを明らかにした (Tamura et al., 2004)。しかし、これらのトリテルペノイドとカフェー酸誘導体を共に含有するキク科植物はブタクサ以外では報告例がなく、これらの化合物のキク科植物中の分布状況とブタクサハムシの食草範囲の関係は不明である。本研究ではまず、茨城県つくば市および大阪府大阪市で、ブタクサハムシの繁殖が見られた地域に自生していたキク科植物と国内で栽培される幾つかのキク科栽培植物を17種用い、これらの葉のメタノール抽出物に対するブタクサハムシの摂食反応を調べ、野外で観察されているキク科植物の選好性とメタノール抽出物に対する摂食反応に関連性があるかどうか調べた。次に、摂食刺激物質を含有するキク科植物があるかどうか分析を行い、メタノール抽出物に対する本種の摂食反応と、メタノール抽出物中の摂食刺激物質の有無との関係を調べた。さらに、ブタクサハムシの摂食を刺激しない植物種のメタノール抽出物について、ブタクサハムシの摂食阻害因子を含むかどうか検定した。その結果から、ブタクサハムシの食草範囲を規定する要因に

ついて、摂食刺激物質と関連する例と、摂食阻害因子が関与すると考えられる例が見出されたので併せて報告する。

なお本文に先立ち貴重なお助言、ご指導を賜った大阪市立環境科学研究所の山崎一夫博士、農業環境技術研究所の守屋成一博士、農業生物資源研究所の秋野順治博士、平井剛夫博士、渡邊匡彦博士、筑波大学の戒能洋一博士、DeMar Taylor 博士に感謝の意を表する。

材料および方法

1. 供試植物

ブタクサ (*Ambrosia artemisiifolia* L. var. *elatior* Desc.) の種子 (Herbiseed 社) を、園芸培土 (呉羽化学工業) を入れた容器 (300 ml) に播種し、容器毎に2株ずつになるよう調整し、25°C のガラス温室内で育成した。短日によるブタクサの花芽分化を抑えるため、明期が16時間になるように蛍光灯を補助的に点灯させ、播種後40日から70日経過したブタクサを抽出実験とブタクサハムシの飼育に用いた。ヒマワリ (太陽) (*Helianthus annuus* L. “Taiyou”), レタス (カイザーとレッドファイヤー) (*Lactuca sativa* L. “Kaiser” & “Red-fire”) (いずれもタキイ種苗), シュンギク (中葉しゅんぎく) (*Chrysanthemum coronarium* L. “Chuyou”) とゴボウ (*Arctium lappa* L.) (サカタのタネ) は、それぞれ播種後1カ月間栽培し、試験に供した。オオブタクサ、ヨモギ (*Artemisia princeps* Pamp.), コセンダングサ (*Bidens pilosa* L. var. *pilosa*), セイタカアワダチソウ (*Solidago altissima* L.) は茨城県つくば市で7~8月に、アメリカセンダングサ (*B. frondosa* L.), オオアレチノギク (*Erigeron sumatrensis* Retz.), オオオナモミ, イガオナモミ, イヌキクイモ (*Helianthus strumosus* L.), ヒメムカシヨモギ (*Erigeron canadensis* L.), ヒロハハウキギク (*Aster subulatus* var. *Michx. sandwicensis*), クソニンジン (*Artemisia annua* L.) は大阪府大阪市で8月に採取した葉を-80°Cで冷凍保存の後、実験に供した。

2. 供試虫

2000年8月に茨城県つくば市の農業環境技術研究所構内および農業生物資源研究所周辺のブタクサからブタクサハムシ成虫を約100個体採集し、25°C, 16 L-8 D, 湿度70%の恒温室で累代飼育を開始し、室内での長期累代飼育により摂食反応の変化が危惧されることから、2001年8月および2002年8月に農業生物資源研究所構内のブタクサ株上から卵塊を十数個採集し、飼育して得た成虫約200個体を、それまでの累代飼育した成虫約200個体と併せて飼育を継続した。

3. 生物検定

各植物の冷凍葉2gにメタノール50mlを加えて室温で24時間抽出を行った。抽出液をロータリーエバポレータで濃縮乾固し、粗抽出物の0.01g生葉相当量をメタノールに

溶解し、セルロースアセテート製フィルター（厚さ $3.0\ \mu\text{m}$ 、直径 $25\ \text{mm}$ 、アドバンテック東洋）に添加して乾燥させた。対照にはメタノールのみを添加後乾燥させたフィルターを用いた。密封プラスチックシャーレ（直径 $9\ \text{cm}$ 、高さ $1.5\ \text{cm}$ 、志賀昆虫普及社）の底に $1\ \text{ml}$ の蒸留水で湿らせた円形ろ紙（NO. 1、アドバンテック東洋）を敷き、その上にアモルファスポリエチレンテレフタレート製（APET）の円盤（直径 $7\ \text{cm}$ ）を重ねた。円盤の上にサンプルを添加したフィルター2枚と、対照のフィルター2枚を、同じ処理を施したフィルターが対角線上に向かい合う位置に設置し、計4枚のフィルターに蒸留水各 $100\ \mu\text{l}$ を添加して試験に用いた。

あらかじめ24時間絶食させた羽化後4日から14日のブタクサハムシを雌雄別に10個体入れ、24時間後にフィルター上に残された食痕の数を実体顕微鏡下で数えた。直径 $1\ \text{mm}$ を超えない食痕を1個、それを超える食痕は2個分として数えた。食痕数はサンプルを添加した2枚のフィルター上の個数を加算し、対照の2枚に残された食痕数を減算して算出した。ブタクサのメタノール抽出物に対する成虫の食痕数に雌雄差が認められなかったことから、検定には雌雄の両方を用いた。検定は雌雄2反復ずつ併せて4反復行い、4反復の食痕数の平均値を算出した。それぞれのキク科植物メタノール抽出物の摂食刺激活性は、ブタクサ抽出液 $0.01\ \text{g}$ 生葉相当量における食痕数（平均約200個）を100とした場合の相対値で示した。

4. 化学分析

ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC-MS）は、ガスクロマトグラフにGC-17A（島津製作所）、質量分析装置にはGCMS-QP5000（島津製作所）を用い、EIモード、 $70\ \text{eV}$ で測定した。分析にはDB-1HT（ $15\ \text{m} \times 0.25\ \text{mm}$ (ID)、膜厚 $0.1\ \mu\text{m}$ 、J & W Scientific）とDB-35MS（ $30\ \text{m} \times 0.32\ \text{mm}$ (ID)、膜厚 $0.25\ \mu\text{m}$ 、J & W Scientific）の極性の異なる2種類のキャピラリーカラムを用いた。キャリアーガスにはヘリウムを用い、カラムヘッド圧を $20\ \text{kPa}$ に設定した。DB-1HT カラム装着時の昇温条件は 50°C で2分保持した後、 $50 \sim 230^\circ\text{C}$ は $15^\circ\text{C}/\text{min}$ で昇温し、最終温度で3分間保持した。DB-35MS カラムは同条件で最終温度の保持時間を15分とした。

液体クロマトグラフ質量分析装置（LC-MS）は、液体クロマトグラフ（Series 1100, Hewlett-Packard）にフォトダイオードアレイ検出器（Series 1100, HP）とAPI-エレクトロスプレーのスプレーチャンバーを装着した質量分析装置（1100 MSD, HP）を接続して用いた。試料のイオン化には大気圧イオン化方式を用い、分析はフラグメンター電圧を $70\ \text{V}$ に設定して負イオンモードで行った。試料の噴霧と乾燥には N_2 ガスを用い、ネブライザー圧は $25\ \text{psig}$ 、乾燥ガスの流速と温度は $10\ \text{l}/\text{min}$ 、 350°C に設定した。Nova Pak

C_{18} カラム（ $2.1\ \phi \times 150\ \text{mm}$, Waters）をLC-MSシステムに装着し、溶離液の流速は $0.3\ \text{ml}/\text{min}$ で水に対しアセトニトリル濃度を60分後に30%になるように直線的に増加させた（両溶媒は0.5%のギ酸を含有）。

5. 摂食刺激物質の定性・定量分析

キク科植物のメタノール抽出物を水とヘキサンで2相分配した。ヘキサン層は濃縮した後、Silica gel 60 HP-TLC（13748, Merck）を用いてベンゼンを展開溶媒として分離した。 α -AAと β -AAが含まれる R_f 値0.40から0.55の部分の薄層をかき取り、シリンジフィルター（Minisart RC 15、孔径 $0.45\ \mu\text{m}$, Sartorius）を用いてクロロホルムにより抽出後、前述の条件でGC-MS分析に供した。 α -Amyrin（Extrasynthese Co.）と β -amyrin（Extrasynthese Co.）をアセチル化して得た α -AAと β -AAを合成標品として用い、この保持時間と質量スペクトルをもとにキク科植物中の α -AAと β -AAを同定した。また、 α -AAと β -AAの合成標品を用いてトータルイオンクロマトグラムから検量線を作成し、定量分析に使用した。定量分析にはDB-35MSキャピラリーカラムを用い、目的のピークと保持時間が重なる化合物の存在により定量が困難な場合はDB-1HTキャピラリーカラムを用いた。

水層はエタノールを加えて濃縮乾固させ、水/メタノール（1:1（v/v））溶液に溶解し、シリンジフィルター（Millex[®]-LG、孔径 $0.20\ \mu\text{m}$, Millipore）を用いて不溶物を取り除いた後、前述の条件でLC-MS分析に供した。Chlorogenic acid hemihydrate（ナカライテスク）と、あらかじめ機器分析によりブタクサから単離・同定した3,5-diCQA（Tamura et al., 2004）を標準品とし、保持時間と紫外・可視吸収スペクトル、質量スペクトルを比較して同定を行った。CGAと3,5-diCQAの定量には同様のサンプルを用い、 $325\ \text{nm}$ で検出したクロマトグラムのピーク面積から作成した検量線を使用した。

結 果

1. キク科植物メタノール抽出物のブタクサハムシに対する摂食刺激活性

キク科植物メタノール抽出物のブタクサハムシ成虫に対する摂食刺激活性をFig. 1に示した。野外で摂食が観察されているオオブタクサ、オオオナモミ、イガオナモミはいずれもメタノール抽出物の摂食刺激活性が高く、ブタクサに対し約55~80%の活性を示した。食害が報告されているヒマワリのメタノール抽出物は約20%の活性を示した。一方、野外での摂食の報告がないイヌキクイモのメタノール抽出物も、オナモミ類やオオブタクサとほぼ同等の摂食刺激活性を示した他、栽培作物ではゴボウのメタノール抽出物が高い摂食刺激活性を示した。レタスでは品種間で差が見られ、カイザーがブタクサの約10%の摂食刺激活性を示

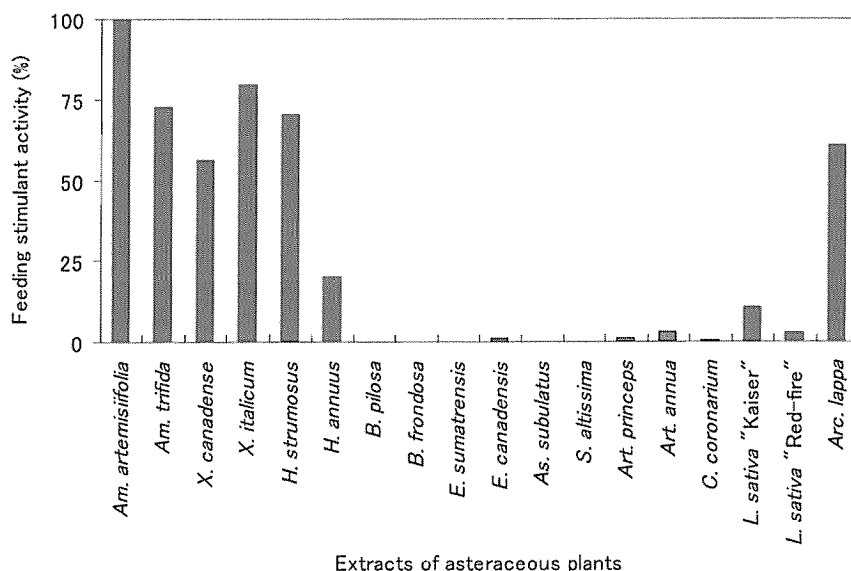


Fig. 1. Feeding stimulant activity of methanolic extracts of various asteraceous plants in *O. communa*.

Table 1. Quantities of α -amyirin acetate (α -AA) and β -amyirin acetate (β -AA) in the leaves of asteraceous plants

Asteraceous species	α -AA (ppm)	β -AA (ppm)	Ratio (α -AA/ β -AA)
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	3.34	4.75	0.7
<i>Ambrosia trifida</i> L.	0.01	0.10	0.1
<i>Xanthium canadense</i> Mill.	20.70	3.22	6.4
<i>Xanthium italicum</i> Moretti	18.88	2.01	9.4
<i>Helianthus strumosus</i> L.	0.79	0.03	26
<i>Helianthus annuus</i> L. "Taiyou"	N.D.	0.01	
<i>Bidens pilosa</i> L. var. <i>pilosa</i>	3.10	0.06	52
<i>Bidens frondosa</i> L.	N.D.	N.D.	
<i>Erigeron sumatrensis</i> Retz.	N.D.	N.D.	
<i>Erigeron canadensis</i> L.	1.61	0.60	2.7
<i>Aster subulatus</i> var. <i>sandwicensis</i>	N.D.	0.01	
<i>Solidago altissima</i> L.	6.27	11.15	0.6
<i>Artemisia princeps</i> Pamp.	76.19	13.37	5.7
<i>Artemisia annua</i> L.	33.19	11.77	2.8
<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	0.12	0.76	0.2
<i>Lactuca sativa</i> L. "Kaiser"	4.29	1.02	4.2
<i>Lactuca sativa</i> L. "Red-fire"	12.66	0.62	20
<i>Arctium lappa</i> L.	9.92	0.66	15

N.D.: Not detected.

したものの、レッドファイヤーでは活性がほとんどなかった。他のキク科植物のメタノール抽出物はほとんど活性を示さなかった。

2. 摂食刺激物質のキク科植物中の分布

キク科植物葉中の α -AA、 β -AA、CGA、3,5-diCQA の含有量を Table 1, 2 に示した。ブタクサハムシの摂食刺激物質としてブタクサから単離されたこれらの化合物は、アメリカセンダングサとオオアレチノギクを除く他のキク科植物の葉にも含まれていた。ヒマワリとヒロハホウキギクでは β -AA のみ検出された (Table 1)。それぞれの化合物の含

有量と組成比は種間で異なっていた。 α -AA と β -AA の含有量は、ブタクサでは β -AA が α -AA より多く、オオブタクサ、セイタカアワダチソウとシュンギクでも同様の傾向が見られた。他の供試したキク科植物では逆に α -AA が β -AA よりも多く含まれていた。 α -AA の含量はオオオナモミ、イガオナモミ、ヨモギ、クソニンジンがブタクサの約 5 倍以上多く含まれ、中でもヨモギが最も多かった。 β -AA はセイタカアワダチソウ、ヨモギ、クソニンジンではブタクサより多かったが、他はブタクサよりも少なかった。Table 2 に示したように CGA と 3,5-diCQA は供試したすべ

Table 2. Quantities of chlorogenic acid (CGA) and 3,5-dicaffeoylquinic acid (3,5-diCQA) in the leaves of asteraceous plants

Asteraceous species	CGA (ppm)	3,5-diCQA (ppm)	Ratio (CGA/3,5-diCQA)
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	9,299	1,404	6.6
<i>Ambrosia trifida</i> L.	36	436	0.082
<i>Xanthium canadense</i> Mill.	10	39	0.26
<i>Xanthium italicum</i> Moretti	11	132	0.083
<i>Helianthus strumosus</i> L.	24	139	0.17
<i>Helianthus annuus</i> L. "Taiyou"	5,632	4,847	1.2
<i>Bidens pilosa</i> L. var. <i>pilosa</i>	39	774	0.050
<i>Bidens frondosa</i> L.	48	1,438	0.033
<i>Erigeron sumatrensis</i> Retz.	11	139	0.079
<i>Erigeron canadensis</i> L.	309	293	1.1
<i>Aster subulatus</i> var. <i>sandwicensis</i>	71	2,730	0.026
<i>Solidago altissima</i> L.	6,385	15,177	0.42
<i>Artemisia princeps</i> Pamp.	92	1,653	0.056
<i>Artemisia annua</i> L.	84	1,597	0.053
<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	11,555	11,240	1.0
<i>Lactuca sativa</i> L. "Kaiser"	1,216	249	4.9
<i>Lactuca sativa</i> L. "Red-fire"	8,880	1,190	7.5
<i>Arctium lappa</i> L.	8,497	2,124	4.0

でのキク科植物に含まれていた、CGAの含有量は、ブタクサ、ヒマワリ、セイタカアワダチソウ、シュンギク、レタス（レッドファイヤー）、ゴボウで多く、含有量には種間で差が大きかった。3,5-diCQAはセイタカアワダチソウとシュンギクで特に多かった。CGAと3,5-diCQAの含有量の比は種間で異なっており、ブタクサではCGAの含有量が3,5-diCQAより多く、レタスとゴボウも同様であった。ヒマワリ、ヒメムカシヨモギ、シュンギクでは両成分の含有比はほぼ同等であったが、他のキク科植物では3,5-diCQAの含有量がCGAより多かった。

3. 摂食刺激物質の組成比と濃度が摂食刺激活性に与える影響

キク科植物中に含まれる摂食刺激物質の組成比の変化がブタクサハムシの摂食刺激活性に与える影響を調べた (Fig. 2)。ブタクサのメタノール抽出物 0.01 g 生葉相当量に、通常含まれる約 100 倍量の合成 α -AA を添加した試験区と約 100 倍量の CGA を添加した試験区を設け、それぞれの摂食刺激活性を調べた。 α -AA を添加することで、 β -AA よりも α -AA 含量が多くなって量比が変わると同時に、これらトリテルペノイド含量とカフェー酸誘導体含量の比も変化する。ブタクサのメタノール抽出物に α -AA の濃度が 100 倍にもなるような量を添加しても活性が変化しないことから、 β -AA と α -AA の量比変化、また、トリテルペノイドとカフェー酸誘導体間の量比変化は、摂食刺激活性を低下させないことが示唆された。しかし、CGA を添加した場合は逆に活性が低下した。CGA は高濃度では摂食阻害を引き起こす可能性があることが示唆された。次に、ブタクサのメタノール抽出物の濃度とブタクサハムシの摂食刺激活

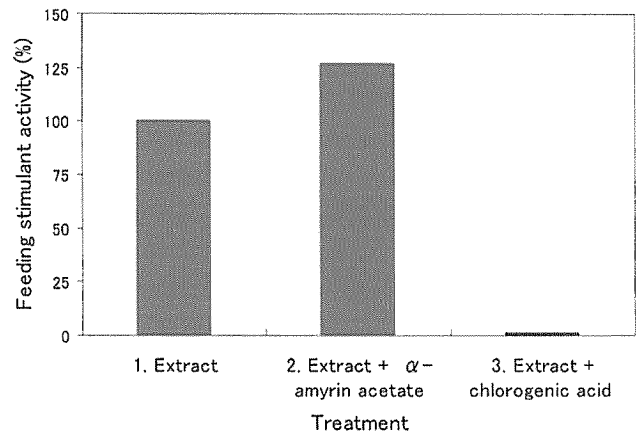


Fig. 2. Feeding responses of *O. communa* to different combinations of feeding stimulants: 1. Methanolic extract of *Am. artemisiifolia* (0.01 g leaf equivalent); 2. Methanolic extract of *Am. artemisiifolia* (0.01 g leaf equivalent) plus 3 μ g synthetic α -amyrin acetate; 3. Methanolic extract of *Am. artemisiifolia* (0.01 g leaf equivalent) plus 9 mg chlorogenic acid.

性の関係を調べた。メタノール抽出物の 0.01 g 生葉相当量の摂食刺激活性に対し、0.001 g 生葉相当量では活性は 56% に、さらに 0.0001 g 生葉相当量では 4% に低下した。

4. 摂食阻害因子が含まれるキク科植物

ブタクサハムシの摂食反応の少ないキク科植物のメタノール抽出物には、誘引物質や摂食刺激物質が不足しているのか、忌避物質や摂食阻害物質が存在するのかを調べるため、いくつかのキク科植物のメタノール抽出物 0.01 g 生葉相当量にブタクサ抽出物 0.01 g 生葉相当量を添加して摂食刺激活性に変化が現れるかどうか調べた (Fig. 3)。ヒマ

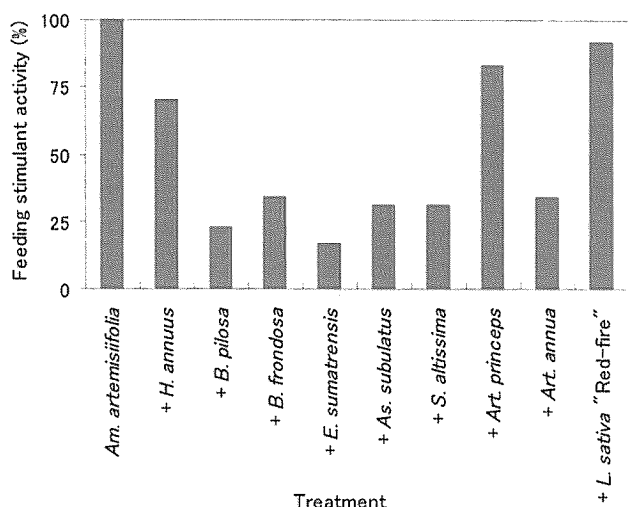


Fig. 3. Feeding stimulant activity of a blend of methanolic extracts of *Am. artemisiifolia* and asteraceous plants in *O. communa*. The methanolic extract (0.01 g leaf equivalent) of each asteraceous plant was combined with the *Am. artemisiifolia* extract (0.01 g leaf equivalent).

ワリではメタノール抽出物単独の活性はブタクサの約 20% であったが (Fig. 1), 0.01 g 生葉相当量のブタクサ抽出物を添加することで活性が約 70% に上昇した。ヨモギとレタス (レッドファイヤー) のメタノール抽出物は単独では活性がなかったが (Fig. 1), ブタクサ抽出物の添加により、ヨモギでは摂食刺激活性がブタクサの約 80%, レタス (レッドファイヤー) では約 90% にまで上昇した。一方、コセンダングサ、アメリカセンダングサ、オオアレチノギク、ヒロハホウキギク、セイタカアワダチソウとクソニンジンではブタクサの抽出物の添加により摂食刺激活性が上昇したものの、ブタクサ抽出物単独で与えた場合に比べて比活性は 30% 前後に抑えられた (Fig. 3)。

考 察

キク科植物のメタノール抽出物に対するブタクサハムシ成虫の摂食刺激活性は供試した 6 連 11 属 17 種の植物種のなかでブタクサが最も高く、野外で摂食が確認される種はメタノール抽出物も摂食刺激活性を示すことがわかった。ブタクサハムシはブタクサを最もよく好んで摂食し、ブタクサの個体数が減少した後は、オナモミ類などに移動してゆくことが野外で観察されている (Yamazaki et al., 2000)。また、山崎らはブタクサとオオブタクサ、オオオナモミの生葉を使用したブタクサハムシの室内での選好試験において、ブタクサが最も選好されることを報告しているが (Yamazaki et al., 2000)、メタノール抽出物に対する摂食刺激活性の値は、ブタクサハムシの生葉の選好性を反映していた。一方、イヌキクイモやゴボウのメタノール抽出物は高い摂食刺激活性を示し、レタスのカイザーもブタクサの約 10%

の活性が見られた。これらの植物では、ブタクサハムシによる食害はまだ報告されていない。イヌキクイモは摂食の報告されているキクイモやヒマワリと同属であるが、ゴボウやレタスはキク科の中でもブタクサの属するオナモミ連 (Ambrosiaceae) からは遠縁の植物として分類されている (Jansen et al., 1990)。摂食行動は嗅覚や味覚を刺激する化学物質にのみ影響されるわけではないが、ゴボウやレタスは国内では重要な栽培作物であるため、今後生葉を用いた成虫の摂食・産卵試験および幼虫の成育試験等で、これらの作物に対する寄主適合性を評価する必要があると思われる。

α -AA と β -AA は多くの植物種で報告されている化合物でありブタクサにも存在するが (Tamura et al., 2004)、供試したブタクサ以外のキク科植物の葉では報告されていなかった。 α -AA と β -AA は種により含有量と組成比が異なるものの、供試した多くのキク科植物に含まれることが明らかとなった。植物中に広く分布しているカフェー酸誘導体のうち、CGA は最もよく知られる化合物の一つであり、3,5-diCQA は CGA ほども多く見つかっていないが、キク科植物の葉で報告されている例は多い (Fujita et al., 1988; Mullin et al., 1991; Chuda et al., 1996; Tomas-Barberan et al., 1997; Fontanel et al., 1998; Zidorn and Stuppner, 2001)。CGA と 3,5-diCQA は、供試したすべてのキク科植物で検出された。ブタクサハムシの摂食行動はトリテルペノイド (α -AA, β -AA) とカフェー酸誘導体 (CGA, 3,5-diCQA) の共存により刺激されるが、ブタクサハムシの寄主植物以外の多くのキク科植物でも、これらの化合物が共存していることが分かった。

ブタクサハムシが一部のキク科植物のメタノール抽出物によって摂食行動を誘起されなかった原因として、これらの植物には摂食刺激物質の組成比や含有量が不適である可能性や、忌避物質や摂食阻害物質が存在する可能性があると考えられる。ブタクサのメタノール抽出物に、 α -AA を生葉の約 100 倍量添加して摂食刺激物質の組成比を変化させたところ、ブタクサハムシの摂食刺激活性は低下しなかった。ブタクサのカフェー酸誘導体の含有量は時期や葉の部位毎に異なっているが (田村ら、未発表)、ブタクサハムシはブタクサのすべての葉を加害する。また、ブタクサハムシはトリテルペノイドとカフェー酸誘導体を共存させてはじめて摂食を刺激されるが、トリテルペノイドに関しては α -AA か β -AA の片方が存在すればよく、またカフェー酸誘導体も CGA か 3,5-diCQA のどちらかが存在すれば摂食を刺激される (Tamura et al., 2004)。ブタクサハムシの摂食にはトリテルペノイドとカフェー酸誘導体が共に一定量含まれることが重要であるが、4 種の摂食刺激物質の組成比は厳密には識別されていない可能性があると考えられる。しかし、CGA はブタクサ葉に高濃度で含まれる化

合物であるが、さらに著しく濃度を上昇させた場合に摂食反応が低下することが分かった。供試植物中の CGA の含有量は、シュンギク以外はブタクサより低く (Table 2)、CGA が高濃度のために摂食刺激活性が低い例は供試植物中には含まれていないと考えられる。

摂食刺激物質は、濃度の低下に伴い摂食刺激活性も低下する。ヒマワリは CGA や 3,5-diCQA などのカフェー酸誘導体含量は多いが (Table 2)、 α -AA と β -AA などのトリテルペノイドの含有量が少なかった (Table 1)。ヒマワリの抽出物にブタクサ抽出物を添加することで摂食刺激活性が上昇したのは、トリテルペノイド等の摂食刺激物質の濃度が高まったことも一因であると考えられる (Fig. 3)。 α -AA と β -AA 含量の更に少ないヒマワリ品種の育成により、ブタクサハムシの食害を低減できる可能性があると考えられる。

一般に植食性昆虫の摂食行動の触発には誘引物質や摂食刺激物質、忌避物質や摂食阻害物質のバランスが重要であることが知られている (Dethier, 1982)。コセンダングサとアメリカセンダングサ、オオアレチノギク、ヒロハホウキギク、セイタカアワダチソウ、クソニンジン等のメタノール抽出物には、ブタクサ抽出物を添加しても摂食行動が抑制されることから、ブタクサハムシの忌避物質や摂食阻害物質が含まれている可能性があると考えられる。一方、レタスのレッドファイヤーとヨモギでは、 α -AA 含量がブタクサよりも多く、カフェー酸誘導体は、ヨモギでは 3,5-diCQA が、レッドファイヤーでは CGA と 3,5-diCQA がブタクサと同程度含まれていたが、メタノール抽出物は摂食刺激活性を示さなかった (Fig. 1, Table 1, 2)。それぞれの抽出物にブタクサ抽出物を添加すると、摂食刺激活性は約 80~90% にまで上昇した (Fig. 3)。両種のメタノール抽出物は、摂食刺激物質を含有しながら単独では摂食刺激活性を示さなかったことから、忌避物質等の摂食行動を抑制する因子が含まれていたと考えられるが、これらの効果が弱く、誘引物質等、4 種の摂食刺激物質以外の摂食行動を推進させる他の因子を有するブタクサ抽出物の添加により活性が上昇した可能性がある。4 種の摂食刺激物質だけではブタクサメタノール抽出物全体の活性を再現するには至らないことから (Tamura et al., 2004)、4 種の摂食刺激物質以外に摂食行動の推進に影響を及ぼしうる他の因子に関し、誘引物質や摂食刺激物質等、更なる調査が必要であると思われる。

コロラドハムシ (*Leptinotarsa decemlineata*) はナス科植物に含まれるステロイドアルカロイドの種類を摂食阻害物質として識別し、寄主植物を選択することが報告されている (Hsiao and Fraenkel, 1968; Buhr et al., 1985; Schreiber, 1985)。カイコ幼虫 (*Bombyx mori*) は桑葉のみを摂食するが、摂食促進に必要なのは桑のみに含まれる特殊な成分で

はない。植物にありふれた成分が多く、食物選択は摂食阻害物質の質と量とに規定されると考えられている (平野, 1971)。ブタクサハムシの摂食刺激物質もブタクサだけでなく多くのキク科植物に含まれており、摂食行動を抑制する成分を含むと思われる幾つかの種が存在したことから、ブタクサハムシの寄主植物と近縁植物との食物選択にも特定の摂食刺激物質の含有量だけでなく、忌避物質や摂食阻害物質が重要である可能性がある。ブタクサハムシが摂食しないキク科植物中の忌避物質や摂食阻害物質の化学構造はまだ分かっておらず、これらを明らかにすることは今後の検討課題である。

キク科は 1,535 属、約 23,000 種からなる被子植物の中でも最大の科である (伊藤, 2000)。しかしながら、キク科を摂食する植食性昆虫の摂食刺激物質は、ヨモギハムシ (*Chrysolina aurichalcea*) における寄主由来の長鎖アルコール類 (Adati and Matsuda, 1993) や、*Artemisia ludoviciana* のスペシャリストであるバッタ (*Hypochlora alba*) のモノテルペン類の報告例 (Blust and Hopkins, 1987) はあるもののまだ研究例は少ない。キク科を寄主とする *Ophraella* 属は、北アメリカではブタクサハムシを含めて 14 種が存在するが、キク科の中でもそれぞれ主とする寄主植物および寄主範囲が異なることが知られている (LeSage, 1986; Futuyama, 1991)。他の *Ophraella* 属のハムシが、ブタクサハムシと同じく α -AA と β -AA、CGA、3,5-diCQA に摂食を刺激されるかどうか、また、摂食阻害物質として認識する化合物に差異があるかを解明することで、キク科植物とそれを寄主とする植食性昆虫の共進化に関する新たな知見が得られるものと期待される。

摘 要

ブタクサハムシの寄主植物を含むキク科 6 連 11 属 17 種の植物のメタノール抽出物に対する、ブタクサハムシの摂食反応を調べた。メタノール抽出物を添加したろ紙上に残されたブタクサハムシの摂食痕数により摂食刺激活性を評価した。ブタクサの抽出物の摂食刺激活性が最も高く、野外で食害が報告されているオオブタクサ、オオオナモミ、イガオナモミはブタクサの約 55~80% の高い活性を示した。他、ヒマワリもブタクサの約 20% の活性を示した。また、野外で摂食が確認されていない種でもイヌキクイモとゴボウの抽出物が高い摂食刺激活性を示し、レタスのカイザー品種でもブタクサの約 10% の活性が認められた。その他の 9 種のキク科植物のメタノール抽出物は活性を示さなかった。ブタクサハムシの摂食刺激物質である 2 種のトリテルペノイド (α -amyrin acetate と β -amyrin acetate) と 2 種のカフェー酸誘導体 (chlorogenic acid と 3,5-dicaffeoylquinic acid) を上記植物について分析したところ、これらの物質は濃度や組成比が異なるものの、多くのキク科植物にも含まれて

いた。ブタクサのメタノール抽出物に、各種キク科植物のメタノール抽出物を添加したところ、幾つかの種でブタクサハムシの摂食が抑制された。ブタクサハムシの食草の選択は、摂食刺激物質の存在だけでなく、摂食行動を抑制する因子の影響も受けると考えられる。

引用文献

- Adati, T. and K. Matsuda (1993) Feeding stimulants for various leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in the leaf surface wax of their host plants. *Appl. Entomol. Zool.* 28: 319–324.
- Bernays, E. A. and R. F. Chapman (1994) *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects*. Chapman & Hall, New York. 312 pp.
- Blust, M. H. and T. L. Hopkins (1987) Gustatory responses of a specialist and a generalist grasshopper to terpenoids of *Artemisia ludoviciana*. *Entomol. Exp. Appl.* 45: 37–46.
- Buhr, H., R. Toball and K. Schreiber (1985) Die Wirkung von einigen pflanzlichen Sonderstoffen, insbesondere von alkaloiden, auf die Entwicklung der Larven des Kartoffelkäfers (*Leptinotarsa decemlineata* Say). *Entomol. Exp. Appl.* 1: 209–224.
- Chuda, Y., H. Ono, M. Ohnishi-Kameyama, T. Nagata and T. Tsushida (1996) Structural identification of two antioxidant quinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *J. Agric. Food Chem.* 44: 2037–2039.
- Dethier, V. G. (1982) Mechanism of host-plant recognition. *Entomol. Exp. Appl.* 31: 49–56.
- 江村 薫 (1999) 有害帰化雑草を食害するブタクサハムシについて. *植物防疫* 53: 138–141. [Emura, K. (1999) The ragweed beetle *Ophraella communa* LeSage (Coleoptera: Chrysomelidae) which injures harmful exotic plants. *Plant Protect.* 53: 138–141.]
- Fontanel, D., C. Galtier, C. Viel and A. Gueiffier (1998) Caffeoyl quinic and tartaric acids and flavonoids from *Lapsana communis* L. subsp. *communis* (Asteraceae). *Z. Naturforsch.* 53c: 1090–1092.
- Fujita, Y., I. Uehara, Y. Morimoto, M. Nakashima, T. Hatano and T. Okuda (1988) Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids II: Inhibition mechanism of caffeetannins isolated from leaves of *Artemisia* species on lipoxygenase dependent lipid peroxidation. *Yakugaku Zasshi* 108: 129–135.
- Futuyama, D. J. (1991) A new species of *Ophraella* Wilcox (Coleoptera: Chrysomelidae) from the southeastern United States. *J. N. Y. Entomol. Soc.* 99: 643–653.
- 平野千里 (1971) 昆虫と寄主植物. 共立出版, 東京. 202 pp. [Hirano, T. (1971) *Host Selection in Phytophagous Insects*. Kyoritsu Shuppan Ltd., Tokyo. 202 pp.]
- Hsiao, T. H. and G. Fraenkel (1968) Isolation of phagostimulative substances from the host plant of the Colorado potato beetle. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 61: 476–484.
- 伊藤元己 (2000) キク科の系統. *プラント* 72: 4–7. [Itou, M. (2000) Genealogical relationships of Asteraceae. *Planta* 72: 4–7.]
- Jansen, R. K., K. E. Holsinger, H. J. Michaels and J. D. Palmer (1990) Phylogenetic analysis of chloroplast DNA restriction site data at higher taxonomic levels: an example from the Asteraceae. *Evolution* 44: 2089–2105.
- 神奈川県病害虫防除所 (2000) 平成 12 年度病害虫発生予察特殊報 (第 1 号). 神奈川県. 2 pp. [Kanagawa Plant Protection Office (2000) *Special Report on Forecast of Pest Occurrence*. No. 1. Kanagawa Pref. 2 pp.]
- LeSage, L. (1986) A taxonomic monograph of the Nearctic galerucine genus *Ophraella* Wilcox (Coleoptera: Chrysomelidae). *Mem. Entomol. Soc. Can.* 133: 1–75.
- Matsuda, K. (1988) Feeding stimulants of leaf beetles. In *Biology of Chrysomelidae* (P. Jolivet, E. Petitpierre and T. H. Hsiao eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 41–56.
- Matsuda, K. and H. Matsuo (1985) A flavonoid luteolin 7 glucoside, as well as salicin and populin, stimulating the feeding of leaf beetles attacking Salicaceous plants. *Appl. Entomol. Zool.* 20: 305–313.
- 宮下和喜 (1977) 帰化動物の生態学. 講談社, 東京. 216 pp. [Miyashita, K. (1977) *The Ecology of Denizens*. Kodansha Ltd., Tokyo. 216 pp.]
- 森本 桂 (1986) 農林害虫. 原色日本昆虫図鑑 I (森本 桂・林長閑 編). 保育社, 東京. pp. 234–237. [Morimoto, K. (1986) Insect pests of agriculture and forestry. In *The Coleopteran of Japan in Color*. vol. 1 (K. Morimoto and N. Hayashi eds.). Hoikusha Ltd., Tokyo, pp. 234–237.]
- 守屋成一 (1999) ブタクサハムシの累代飼育. 関東東山病虫研報 46: 115–117. [Moriya, S. (1999) Successive rearing of ragweed beetle, *Ophraella communa* LeSage (Coleoptera: Chrysomelidae) in Japan. *Ann. Rep. Kanto-Tosan Plant Prot. Soc.* 46: 115–117.]
- 守屋成一・初宿成彦 (2001) 外来昆虫ブタクサハムシ (コウチュウ目: ハムシ科) の日本国内における分布拡大状況. 昆虫 (ニューシリーズ). 4: 99–102. [Moriya, S. and S. Shiyake (2001) Spreading the distribution of an exotic ragweed beetle, *Ophraella communa* LeSage (Coleoptera: Chrysomelidae), in Japan. *Jpn. J. Entomol. (N.S.)* 4: 99–102.]
- Mullin, C. A., A. A. Alfatafta, J. L. Harman, S. L. Everett and A. A. Serino (1991) Feeding and toxic effects of floral sesquiterpene lactones, diterpenes, and phenolics from sunflower (*Helianthus annuus* L.) on western corn rootworm. *J. Agric. Food Chem.* 39: 2293–2299.
- 太田 泉・松田一寛・松本義明 (1998) タデ科植物に含まれる Quercetin 配糖体のイチゴハムシの摂食行動に及ぼす影響. 応動昆 42: 45–49. [Ohta, I., K. Matsuda and Y. Matsumoto (1998) Feeding stimulation of strawberry leaf beetle, *Galerucella vittaticollis* Baly (Coleoptera: Chrysomelidae) by quercetin glycosides in Polygonaceous plants. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 42: 45–49.]
- Schreiber, K. (1958) Über einige Inhaltsstoffe der Solanaceen und ihre Bedeutung für die Kartoffelkäferresistenz. *Entomol. Exp. Appl.* 1: 28–37.
- 滝沢春雄・斉藤明子・佐藤光一・平野幸彦・大野正男 (1999) 侵入昆虫ブタクサハムシ: 関東地方での分布拡大と生活史. 月刊むし 338: 26–31. [Takizawa, H., A. Saito, K. Sato, Y. Hirano and M. Ohno (1999) Invading insect, *Ophraella communa* LeSage, 1986: Range extension and life history in Kanto district, Japan. *Monthly J. Entomol.* 338: 26–31.]
- Tamura, Y., M. Hattori, K. Konno, Y. Kono, H. Honda, H. Ono and M. Yoshida (2004) Triterpenoid and caffeic acid derivatives in the leaves of ragweed, *Ambrosia artemisiifolia* L. (Asterales: Asteraceae), as feeding stimulants of *Ophraella communa* LeSage (Coleoptera: Chrysomelidae). *Chemoecology* 14: 113–118.

- Tanton, M. T. (1965) Agar and chemostimulant concentrations and their effect on intake of synthetic food by larvae of the mustard beetle, *Phaedon cochleariate* FAB. *Entomol. Exp. Appl.* 8: 74–82.
- 東京都病害虫防除所 (1999) 平成 10 年度病害虫発生予察特殊報 第 3 号. 東京都. 2 pp. [Tokyo Metropolitan Plant Protection Office (1999) *Special Reports on Forecast of Pest Occurrence*, No.3, Metropolis of Tokyo. 2 pp.]
- Tomas-Barberan, F. A., J. Loaiza-Velarde, A. Bonfanti and M. E. Saltveit (1997) Early wound- and ethylene-induced changes in phenylpropanoid metabolism in harvested lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122: 399–404.
- Yamazaki, K., C. Imai and Y. Natuhara (2000) Rapid population growth and food-plant exploitation pattern in an exotic leaf beetle, *Ophraella communa* LeSage (Coleoptera: Chrysomelidae), in western Japan. *Appl. Entomol. Zool.* 35: 215–223.
- Zidorn, C. and H. Stuppner (2001) Chemosystematics of taxa from the *Leontodon* section *Oporinia*. *Biochem. Syst. Ecol.* 29: 827–837.
-