メイガ科昆虫の性フェロモンに関する研究

1971

桑 原 保 正

メイガ科昆虫の性フェロモンに関する研究

1971

桑 原 保 正

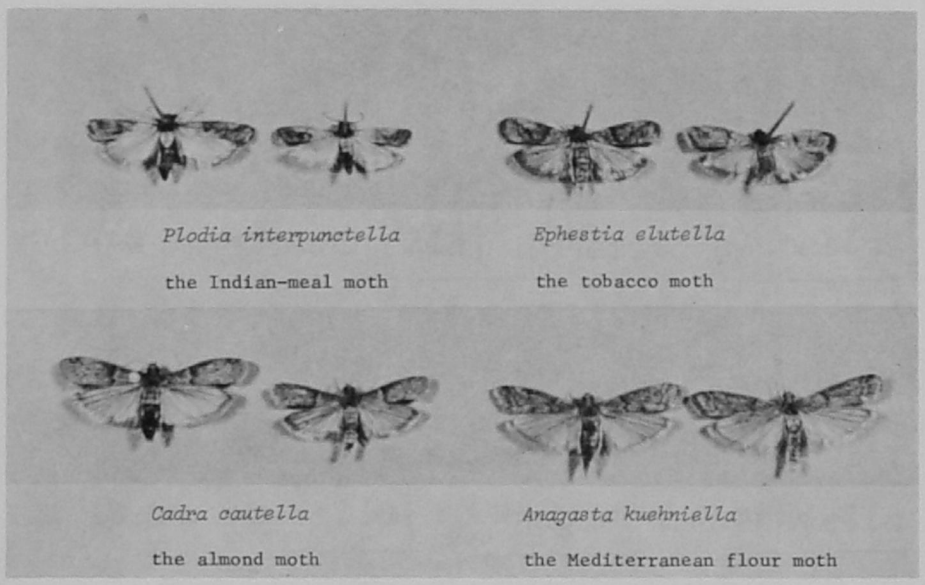


Fig. 1-0-1 Four species of closely related phycitid moths

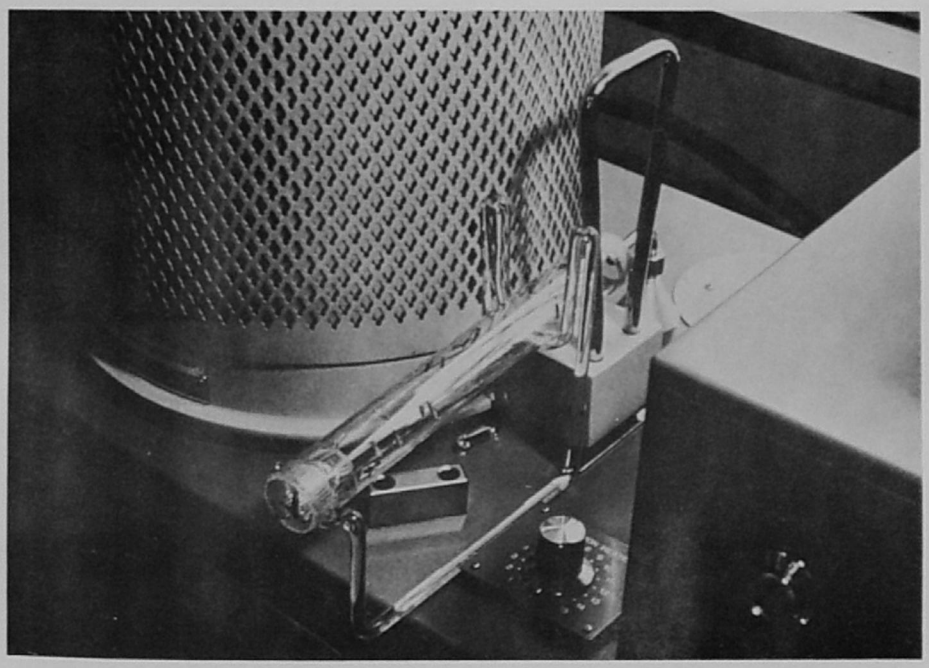


Fig. 2-4-1 The gas-liquid chromatograph equipped with biodetector

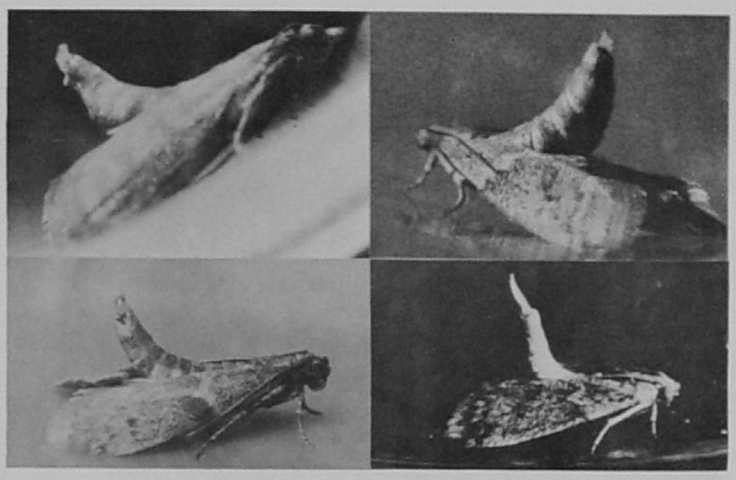


Fig. 5-2-2 Calling poses of female phycitid moths.

Upper left; Indian-meal moth

Upper right; tobacco moth

Lower left; almond moth

Lower right; Mediterranean flour moth

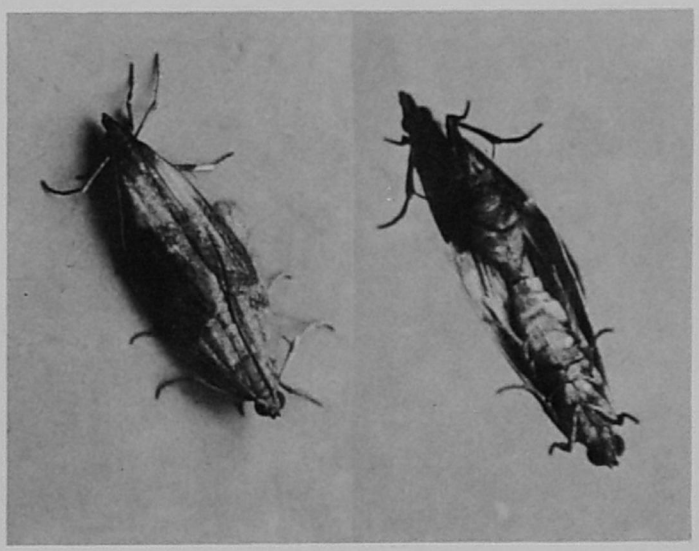


Fig. 5-2-8 Mating between female Indian-meal moth and male almond moth.

Right; ventral view

Left ; dorsal view

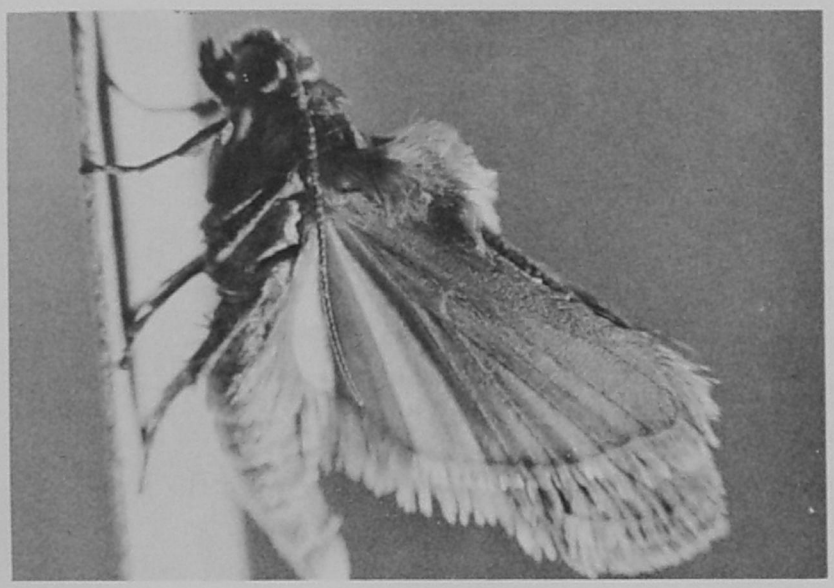


Fig. 5-2-6 Male almond moth expand his wing after emergence. Wing gland locates at the foot of his fore-wing.

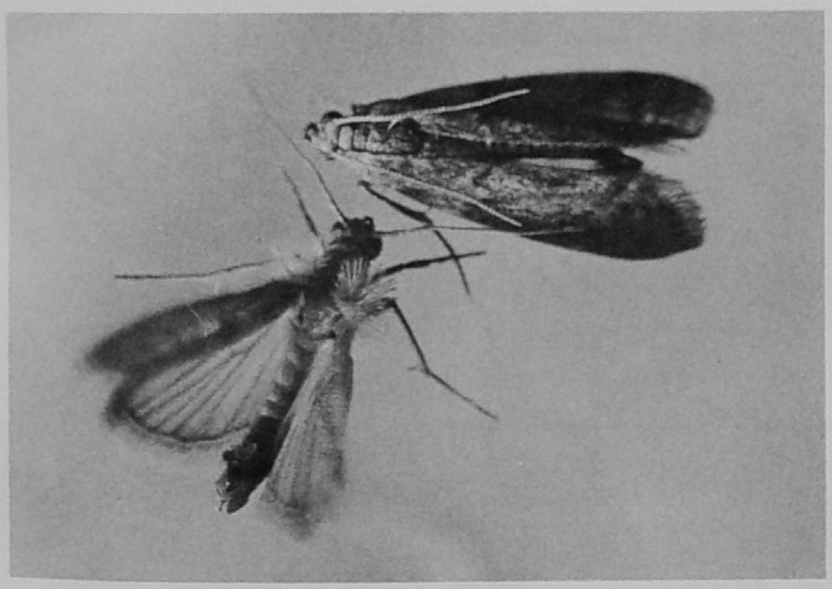


Fig. 5-2-7 Excited male almond moth for mating with female Mediterranean flour moth. See opened wing glands.

目　　次

第 1 章　緒　論 …… 1

第 2 章　性フェロモンの単離および構造決定 …… 3
　第 1 節　生物試験法の確立 …… 3
　第 2 節　雌虫体内での性フェロモン含量の変動 …… 5
　第 3 節　雌蛾の大量生産 …… 10
　第 4 節　化学構造の推定 …… 13
　第 5 節　性フェロモンの単離 …… 19
　第 6 節　性フェロモンの構造決定 …… 24

第 3 章　性フェロモンと幾何異性体の合成および生物活性 …… 29
　第 1 節　性フェロモンおよび幾何異性体の合成 …… 29
　第 2 節　性フェロモンおよび幾何異性体の生物活性 …… 41

第 4 章　*Cis*−9, *trans*−12−tetradecadienol−1 の存在 …… 44
　第 1 節　*Cis*−9, *trans*−12−tetradecadienol−1 の同定 …… 44
　第 2 節　雌虫体内での前駆体アルコール含有量 …… 46

第 5 章　マダラメイガ亜科における性フェロモンと配偶行動 …… 49
　第 1 節　精製フェロモンとフェロモン粗抽出物の誘引性の比較 …… 49
　第 2 節　マダラメイガの配偶行動と性フェロモン …… 56

第 6 章　ま と め …… 65

文　　献 …… 68

第1章 緒　　論

りん翅目Lepidoptera，メイガ科*Pyralididae*,マダラメイガ亜科*Phycitinae* に属するスジマダラメイガ（almond moth）*Cadra cautella* Walker，ノシマダラメイガ（Indian-meal moth）*Plodia interpunctella* Hübner，スジコナマダラメイガ（Mediterranean flour moth）*Anagasta kühniella* Zeller，チャマダラメイガ（tobacco moth）*Ephestia elutella* Hübner の雌は性フェロモンを分泌発散し[1~7]，しかもその性フェロモンには種特異性がないことは，すでにR. Barth によって指摘されている[8]。これら4種のマダラメイガ亜科昆虫を図1－0－1に示す。これらの蛾を用いて，種特異性に関して追試を行ない，表1－0－1に示すように，同様の結果を得た。なお，対照として

Table 1-0-1 Minimum concentrations required for male response to female pheromones of various moth species

Pheromone extracted from	Species of male moth tested				
	C.cau.	*P.inter.*	*A.kueh.*	*E.elu.*	*P.far**
C.cautella	10^{-3}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-1}	—
P.interpunc.	10^{0}	10^{-2}	10^{-1}	—	—
A.kuehniella	10^{-2}	10^{-1}	10^{-2}	10^{0}	—
E.elutella	—	10^{0}	10^{-1}	10^{-2}	
*P.farinaris**	—	—	—		10^{-2}

Unit ; one female-equivalent per ml

* This species belongs the other subfamily, Pyralidinae

用いたカシノシマメイガ *P. farinaris* はシマメイガ亜科に属し，マダラメイガ亜科の4種とは異なるフェロモンを持つことがわかる。これら4種のマダラメイガ類は世界的に分布し，重要な貯穀害虫として知られている。我国ではノシメマダラメイガとスジマダラメイガが古くから定着し，米・麦の害虫として倉庫や農家の納屋などに共に棲息分布している[9]。また，ノシメマダラメイガは，菓子類を加害する重要な食品害虫でもある。スジコナマダラメイガは，ドイツの製粉工場で害虫として認められ，我国へは戦後に侵入し，各地の製粉・精麦所でその分布が認められるに至った[10.11]。小麦の害虫として知られているチャマダラメイガは，我国では分布が限られており，ただ貯蔵葉たばこの害虫として知られているだけである[12]。したがって，マダラメイガ類4種は，同じ場所で，同じ時期に，同じ物を加害して発生することから，同所種（Sympatric pest）と考えられている[7]。少くとも我国では，チャマダラメイガを除く3種は同所種である。ところが前述のように，それらの雌の分泌発散する性フェロモンには種特異性がない。このことは，どの種の雌も同じ物質を性フェロモンとして分泌することによるのか，あるいはそれぞれの雌は相互に異なった化合物を性フェロモンとして分泌するにもかかわらず，どの種の雄も，それぞれの性フェロモンに同じように感応するのか，いずれかの場合が考えられる。そこで，4種の雌の性フェロモンを単離し，構造決定を行ない，種特異性の生物的，化学的解明を目的として本研究を行なった。

その結果，スジー，ノシメー，スジコナーの3種のマダラメイガから性フェロモンをそれぞれ6.1 mg，0.5 mg，0.8 mg 単離し，その性フェロモンがすべて同一物質 *cis*−9，*trans*−12−tetradecadiemyl acetate であると結論した[13.14]。また，精製性フェロモンに対して，チャマダラメイガ雄が他の3種と同様に強い誘引性を示すことから，チャマダラメイガもやはり同じ化合物を性フェロモンとすると推論した。

性フェロモンの単離の過程で性フェロモンの前駆体と考えられる *cis*−9, *trans*−12−tetradecadienol−1 が雌虫体内に存在することを明らかにした。

精製フェロモンとフェロモン粗抽出物に対する雄蛾の誘引活性を比較検討し，その相違を論じた。

また，同一化合物をその性フェロモンとするこれら4種のマダラメイガ類に関して，配偶行動および習性を検討し，sexual isolation の可能性について論じた。

才２章　性フェロモンの単離および構造決定

性フェロモンを抽出し，その化学構造を決定するためには，フェロモン量を正確に測定できる生物試験法を定め，抽出材料として大量の雄蛾を飼育し，微量含まれているフェロモンを有効に濃縮し，精製しなければならない。そのためには用いる雌虫体内に含まれているフェロモン量を検討しておき，最も含有量の多い時期の雌を材料として選ぶべきである。したがって，まず雌のフェロモン含有量に関して生物学的な研究を行なう必要がある。また，フェロモンの化学構造があらかじめ推定できれば，単離および構造決定の操作に指針を与える基礎となるであろう。

第１節　生物試験法の確立[17)]

性フェロモンの抽出および精製を行なうため，簡便で定量的な生物試験法を確立した。

Butenandt[15.16)]らの方法に準じて，ガラス棒（直径0.5㎝，長さ２０㎝）に一定量のフェロモン希釈液をつけて，後にのべる理由から次のようにして行なった。ガラス製腰高シャーレ（直径１１㎝，深さ７㎝，ポットと略称する）に羽化後３日目の雄蛾を約５０頭入れ，ガラス製のフタをする。フタの中心部には直径３㎝の孔があり，紙を貼って通気するようにしてある。中に入れた雄蛾が静止している状態で，ガラス棒の先端部分約１㎝を供試液に漬け，溶媒を揮散させた後，それを雄蛾のポットの中へ静かに挿入する。フェロモンを感知して，ポット内の蛾５頭以上が３０秒以内に翅を小刻みに激しく振動させ，ガラス棒の方向へ集まるか，まわりを激しく飛びまわることを認めた場合に，結果を＋（プラス）とした。供試フェロモン溶液は常に，低濃度から高濃度へと試験し，プラスと判定できた濃度でやめる。そうすれば同一雄蛾の群を用いて，２０種ほどの試料をくり返し与えて試験しても，大きな誤差は認められない。生物試験は常に２５℃±１℃，６０～８０％RH 条件下で行なう。供試フェロモン溶液の調製は次の２方法によった。生物的な研究の場合には一頭の雌あたり１ｍℓ の塩化メチレンでフェロモンを抽出し，得られる抽出液を n－ヘキサンで順次１０倍希釈し，それぞれ 10^{-1}♀／ｍℓ，10^{-2}♀

／mℓ，…… と表示した。一方抽出物については1mgにつき，n－ヘキサン1mℓを加えて溶解し，以下同様に順次10倍希釈して，それぞれ10^{-1}mg／mℓ，10^{-2}mg／mℓ …… と表示した。

マダラメイガ類の寿命は，その時の密度，湿度および温度によって影響を受けるが，一般に雄では1週間から10日間位である。羽化後の日数が経つにしたがい，雄蛾の性フェロモンに対する感受性が変化することとは当然予想される。[18] 事実図2－1－1に示すように，

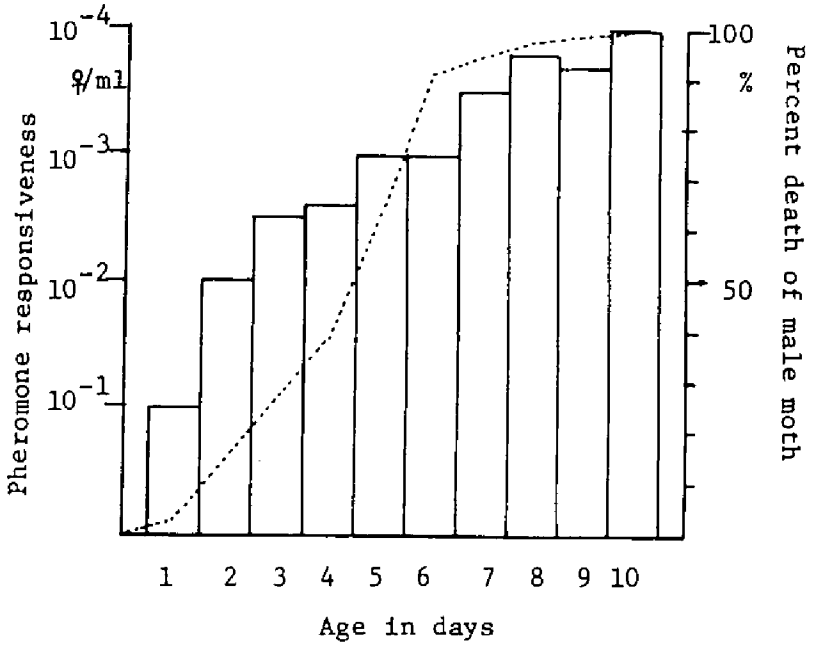


Fig. 2-1-1 The change in the pheromone responsiveness of male moth with their age after emergence. Accumulated percent death of male moths is shown by dotted line. (The almond moth)

羽化後日数が経つにつれてスジマダラメイガの雄のフェロモン感受性は高くなる。羽化後7日目と1日目を比較すると，7日目の雄では約1000倍感受性が高くなることがわかる。スジコナマダラメイガおよびノシメマダラメイガについても同様のことが観察される。一方，点線で示すように，日数の経過と共に死亡率も増大する。したがって，性フェロモンの生物試験に用いる雄蛾は，死亡率が低く，しかもフェロモン感受性がかなり高い時点，

すなわち，羽化後３日目のものを選ぶことにした。

また，雄のフェロモン感受性は日周的に変化することが知られている。[19,20] このことが生物試験の再現性を低下させることは当然予想される。マダラメイガ類の場合には，用いる雄蛾を常に暗黒下に保持し，試験を行なう時のみ明所へ持ち出すことにより，感受性の変動が避けられ，試験を行なう時刻に注意を払う必要はないと考えられた。

雄のフェロモン感受性がその時の温度により影響を受けることは表２－１－１の結果から明らかである。温度が高くなると感受性が高くなり，フェロモンを供与してから反応を起すまでの時間が短くなる。したがって，性フェロモンの生物試験を一定の温度で行なうことが望ましい。

Table 2-1-1 Effect of temperature on responsiveness of male moths to the sex pheromone (The almond moth)

Room temp.	Responsiveness*
15°C	10^{-3}mg/ml (37-45 sec.)
20°C	10^{-3}mg/ml (25 sec.)
25°C	10^{-3}mg/ml (20 sec.)
30°C	10^{-4}mg/ml (15 sec.)

* The numbers in parenthesis indicate the time required for the initial excitement of male moths tested.

第２節　雌虫体内での性フェロモン含量の変動[17]

性フェロモンを単離するためには，大量の蛾を飼育して，その中から雌を集める方法を確立することとあわせて，雌の羽化前後における性フェロモンの消長を的確に知り，その抽出に関して最も能率のよい方法の確立の基礎となる生物学的な研究が必要である。ここではスジマダラメイガおよびノシメマダラメイガの雌の性フェロモン含有量について，主として，羽化の前後および交尾後の経時変化を検討した結果について述べる。

スジマダラメイガ雌の発育過程につれて性フェロモンの含有量がどのように変化するか

を追求した。幼虫期は問題の対象となり得ないのは当然とみられ，蛹期，成虫期，および交尾後における変化をみた。

まず，幼虫が蛹になって羽化するまでには３０℃で約７日を要することが知られている。[21] 蛹の初期は淡褐色で，時間の経過につれて褐色となり，羽化４８時間ほど前に複眼部が黒色を呈するに至る。この期間を便宜上，褐色蛹(brown pupa と呼ぶこととする。ついで，羽化２４時間前には頭部と翅の部分が黒色となる（黒色蛹 black pupa）。羽化直前に蛹のクチクラ層が割れ，灰色を呈する（灰色蛹 Gray pupa）。これら蛹の３つの段階と羽化した直後およびそれ以後の段階の性フェロモンの含有量の変化を調べた３連の実験結果を表２－２－１にまとめた。この表から明らかなように，羽化直前の灰色蛹にすでに性フェロモンの存在が認められ，羽化後３時間までその含有量は増加し，以後ほとんどが死亡する８日目までそのまま維持されている。

Table 2-2-1 Pheromone content in females of almond moth of different ages

	Pupal stages		Hours after emergence				Days after emergence			
	Black**	Gray***	0	1	2	3	1	2	3	8
1)	—*	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}
2)	—	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}
3)	—	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}				

* No activity was found at the highest concentration tested, namely one female per ml.

** One day before emergence.

*** Just begins eclosion.

Unit; One female-equivalent per ml.

性フェロモンの生成時期に関して，ノシメーおよびスジコナーマダラメイガ雌についても検討し，スジマダラメイガと同様に，灰色蛹期にはじめてそれが生成することを認めた。

なお，ノシメマダラメイガでは〃black pupa〃で生成するという報告もある。[5]

フェロモンの生成時期を決定する同様の研究はヤガの類およびカイコガについて行なわれており，カイコガでは羽化4日前の蛹にすでにフェロモンの生成が認められ，[22] ヤガでは1日前に認められる種がある。[23]

交尾後のフェロモン量の変化に関して，フェロモンが消失する種[22]と，しない種[23]が報告されている。ここではスジーおよびノシメーマダラメイガについて得た知見をのべる。スジマダラメイガでは，交尾後フェロモンが消失することが判明した。羽化後14時間雌雄を分けて交尾させないでおいた後に，同じ容器に移して交尾させる。交尾した対は1対毎に試験管に隔離し，交尾開始時から起算して，1時間毎に1mℓの塩化メチレンを加え，雄を含んだまま溶媒抽出し，抽出液の性フェロモン活性を調べた。結果を表2－2－2に示す。交尾を始めてから4～5時間後頃から，性フェロモン含有量は急激に減少しはじめ，24時間後には全く認められなくなる。

Table 2-2-2 Change in content of sex pheromone in mated females of almond moths

	Hours after mating								
	0	1	2	3	4	5	6	11	24
1)	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	—*
2)	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1}	—	—
3)	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-1}		10^{0}	—

Unit ; one female-equivalent per ml.

* No activity was found at the highest concentration tested, namely one female-equivalent per ml.

スジマダラメイガは夜に羽化する（第6章参照）。成虫を羽化後，翌朝まで（羽化後14時間）飼育ポット内に放置した場合に，その時の性比と14時間内に交尾を経験した雌個体(産卵する個体より推定)の割合および14時間後の雌虫体内のフェロモン量の関係

を調べた。結果を図２－２－１に示す。この実験の設定は大量飼育の際，もし雌雄が交尾

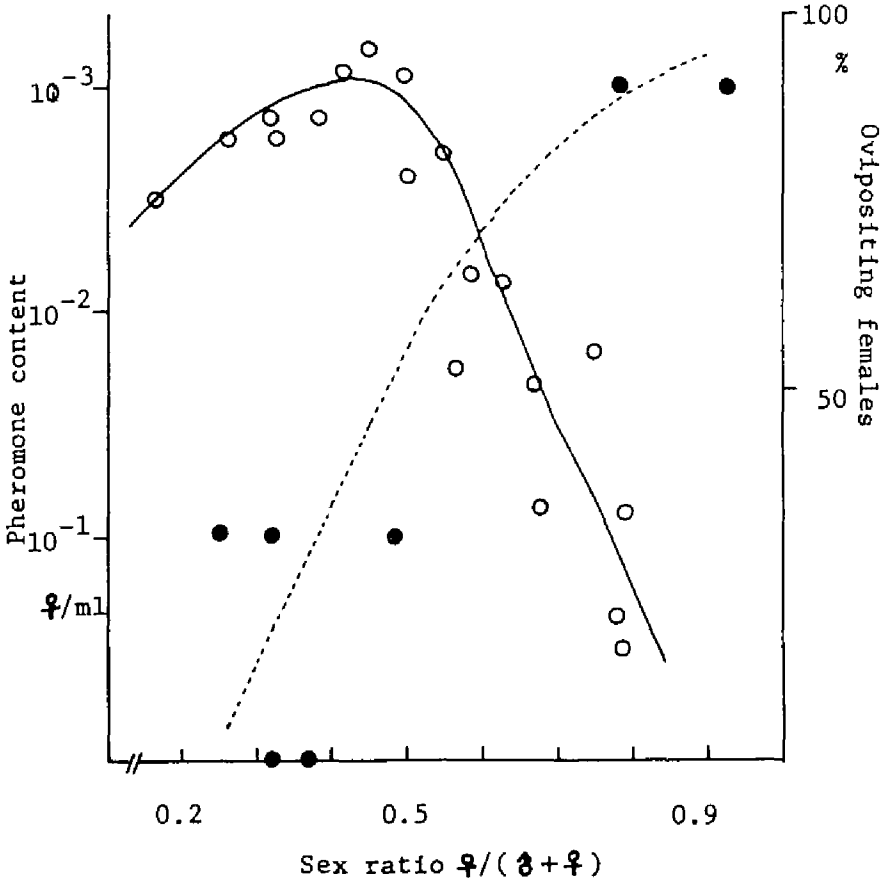


Fig. 2-2-1 Relationship between sex ratio, pheromone content, and percent of ovipositing females 14 hours after emergence. The line with open circles indicates the percent of ovipositing females, and the dotted line with solid circles showes the pheromone content. (The almond moth)

を自由に行なった場合の，残っているフェロモン量を推定するための予備実験である。一般に多くの昆虫がそうであるように，スジマダラメイガの雄の羽化は雌の羽化が始まるよりも約１日早い。したがって，羽化の初期には雄蛾の多い個体群となり，羽化が終りに近

い場合には雌蛾の圧到的に多い個体群となる。図から明らかなように，性比が0.5より小さい時には，交尾雌が多く，フェロモン量は少ない。反対に大きい時には，未交尾雌の率が高くなり，フェロモン量も増大する。

同様にノシメマダラメイガについて検討した結果を表２－２－３に示す。交尾を始めた時に，１対毎に試験管に入れて隔離した場合には，交尾を始めて２時間後頃からフェロモ

Table 2-2-3 Change of pheromone content in mated female mothe (the Indian-meal moth)

	Hours after mating									
	Isolated pair							Grouped pair		
	1hr	2hr	3hr	4hr	6hr	12hr	24hr	24hr	48hr	72hr
1)	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	—*	10^{-1}	—	—	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}
2)	10^{-2}	10^{-1}	—	—	—	—	—	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}
3)	10^{-2}	—	—	—	—	—	—	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}

Unit; one female-equivalent per ml.

* No activity was found at the highest concentration tested, namely one female-equivalent per ml.

ンの急激な減少がみられる。一方，交尾中の対を集め，飼育ポットに group（６２対，７７対，７８対）として保持し，その中から３日間毎日１０対をサンプリングし，フェロモン量を調べると，group で保持した場合には奇妙にも，交尾後の雌は未交尾と同様の活性（10^{-2}♀／mℓ）を示した。この group の場合の結果は Brady[5] が得た結果と一致する。交尾を始めた雌雄を１対毎に隔離する場合と集団として保持した場合に，このように，フェロモン量に差がでることは，大変興味深く，さらにくわしく検討を加えなければならない問題であろう。とにかく，ノシメマダラメイガでは交尾後のフェロモン量に疑問があるため，できるだけ未交尾雌が多く，しかも羽化後の経過時間の長い時点に雌成虫を集めることにした。

交尾すればフェロモンが消失するスジマダラメイガでは，フェロモン抽出の材料として未交尾の雌だけを集めるか，交尾を始めて４～５時間以内，羽化後３時間以上の交尾雌を

集めなければならず，多大の労力を必要とする。しかし，この難点は表２－２－４に示すように，３０℃で飼育すれば，羽化した成虫の性比が１対１であるが，２０℃で飼育すれば，雌成虫のみが得られる特殊な系統（ＦＴ－系統）[24]を使用することによって解決された。すなわち，ＦＴ－系統のスジマダラメイガを２０℃で飼育すれば，雄蛾は存在しないので，交尾によるフェロモンの損失は全く考慮しなくてもよいことになる。

Table 2-2-4 Number of almond moths emerged at various temperatures when 150 eggs were raised on 30g of rice bran

Temperature	Number of emerged moths ♂	(♂)	♀
20°C	1	0	48
20°C	0	0	51
20°C	0	4	51
20±5°C	1	2	48
20±5°C	1	11	24
20±5°C	2	0	44
30°C	44	0	66
30°C	56	0	55
30°C	55	0	42

第３節　雌蛾の大量生産[25]

スジマダラメイガについては前節でのべたような性フェロモンの抽出に好都合なＦＴ－系統があり，３０℃で飼育して，採卵し，この卵を２０℃で育てて雌蛾の生産を行なった。生育に要する日数は，３０℃で約８０日，２０℃で約６０日である。そこで２０℃での大量飼育の際に，最も適当と考えられる生息密度を検討した。大量飼育に用いた容器は，縦２３cm，横２９cm，巾１１cmのポリエチレン製バットで密閉できるフタがあり，フタには中

心部に縦１１cm，横１５cmの穴をあけ，寒冷紗を溶着して通気ができるようにした（以下バットと略称する）。

雌蛾の体重は生息密度によって変動する。[26,27] はじめに入れる米ヌカ１ｇあたりの卵数と，羽化してくる雌成虫の個体数，個体の重量および羽化期間の関係を求めた。この飼育試験はポットを用いて行なった。結果を図２－３－１に示す。はじめに入れる卵数が多いと，

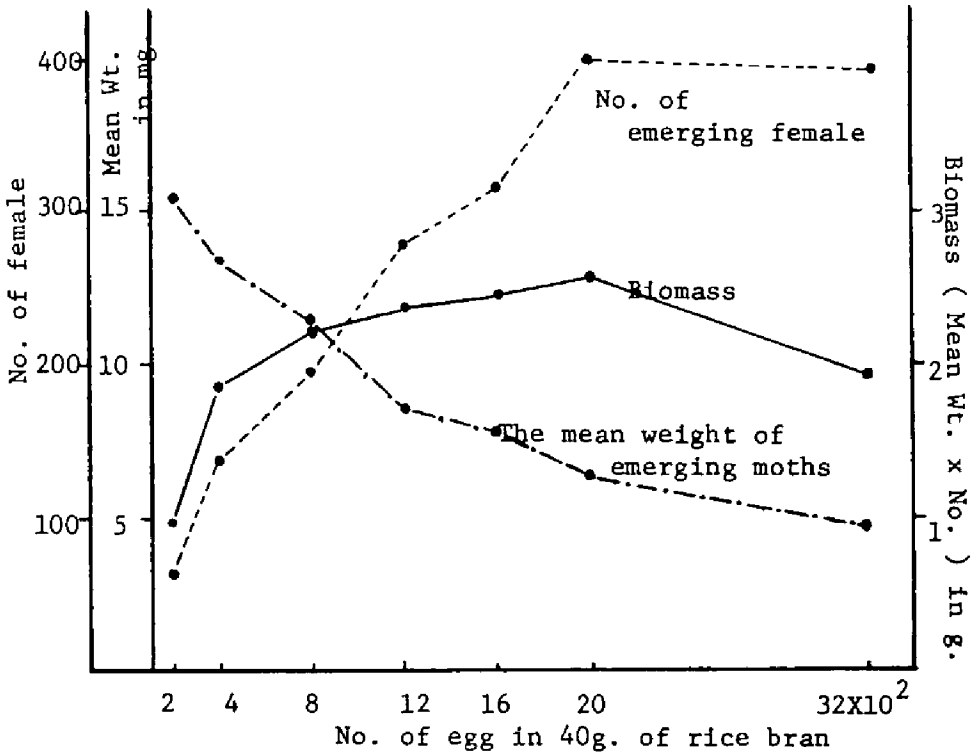


Fig. 2-3-1 Effects of egg density in the rice bran on moth emergence.

羽化個体数はある程度比例して増加し，最後には平衡に達する。そして体重は逆に減少し，図には示してないが羽化期間は長くなる。一方，はじめに入れる卵数が少ないと，個体数は少ないが，体重は重くなり，羽化が短期間に終る傾向を示す。ヌカあたりの雌生産量（個体数×個体重）は適当な密度（８００～１２００卵／４０ｇ）で最大になり，卵数がより少なくても多くても減少する。ここで単位食物量あたりの羽化数を最大にするか，雌の総

体重を最大にするかが問題になる。それは全羽化雌から抽出される性フェロモンの量によって決められるべきであるが，体の大きさによって性フェロモンの含有量に大きな変動は認められない。[28] それで雌総体重が最大となる飼育密度のうちでも，用いる卵数が比較的少なく，羽化が短期間に終る米ヌカ４０ｇあたり８００～１２００卵の密度を選んだ。ちょうど，その密度で米ヌカは最後にはほとんど全部消費されている。[28] １バットあたりに換算すると，米ヌカ２００ｇに卵５０００個を入れ，雌蛾が１３００頭得られることになる。バット８００個を使用し，羽化した雌成虫は毎日電気掃除器を利用して集め，塩化メチレン中に浸漬して保存した。結局，このようにして雌蛾約１００万頭を生産し，その他に逐次集めた処女雌蛾２０万頭と合せて，性フェロモンの抽出精製の材料とした。

ノシメマダラメイガは２５℃７０～８０％RH で飼育すると，卵から成虫まで３０～３５日である。この蛾および次にのべるスジコナマダラメイガには，スジマダラメイガの場合のような好都合な系統はなく，そのような系統を作ろうとする試みも失敗に終った。[29] ノシメマダラメイガでの飼育密度の選定は次のように行なった。すなわち，米ヌカが最後にはほとんど消費され，しかもできるかぎり大きな成虫が得られることを目標に，適当な密度を経験的に求めた。その結果２００ｇの米ヌカに卵２５００個あるいは２０対の当日羽化した成虫を投入して得られる密度が最適と考えられた。累計６００個のバットを使用し，雌雄合わせて６７万頭を飼育した。前節でのべたように，ノシメマダラメイガでは，成虫の密度が高い場合には性フェロモンは交尾後も消失しない。したがって，厳密に未交尾雌のみを集める必要はないと思われる。しかし，未交尾雌が多く，交尾を始めたとしても，２時間以上を経過しない時点に，羽化した雌蛾を集めることが望ましいと思われる。したがって，羽化した成虫は毎日，羽化のピークが観察される（第６章第２節参照）午後４時半頃から２時間後，すなわち，午後６時半頃を中心として集めて材料とした。

スジコナマダラメイガの場合にも，ノシメマダラメイガと同様の方法により，飼育密度を求めた。その結果，バットあたり，米ヌカ２００ｇ，当日羽化した成虫３０対を入れ，２５℃，６０～９０％RH，長日条件下（１４明 ： １０暗）で飼育した。この条件で卵から成虫まで約６０日を要する。羽化した成虫は飼育条件下では９時間以上経過した翌朝にならなければ calling も交尾も行なわない。（第６章第１節参照）したがって蛾にとって，〃夜〃の間に毎日羽化成虫を集めれば，未交尾の雌が得られることになる。夜間に成虫を集めるためには文字通りの暗黒では作業ができない。そこで作業のできる程度のうす明るさで，しかも蛾の光周性が乱れないような暗期条件を作り，夜間に羽化した成虫を集めた。

バット累計1000個を用いて，蛾の大量生産を行なったが，ダニ，カビ，寄生蜂（コマユバチの類）等による予期せざる障害のために，雌雄合せて５７万頭を得たにとどまった。

第４節　化学構造の推定

雌１頭に含まれる性フェロモンは，一般に極めて微量であり，その雄蛾に対する生物活性は極めて強力である。たとえば，スジマダラメイガの雌１頭に含まれるフェロモンを１ℓの溶媒で希釈し，その約100μℓをガラス棒につけて雄蛾に近づけると，この雄蛾は翅を小刻みに振動させて興奮し，ガラス棒のまわりに誘引されて集まり，雄が互に交尾をしょうとする。この強力な活性に着目して，雌蛾の塩化メチレン粗抽出物を材料にして，種々の化学反応を行ない，反応生成物の雄蛾に対する活性の変動を観察した。その結果，用いた反応の種類により，反応物の活性が完全に消失する。このことから精製単離を行なう前にフェロモン分子の感能基を的確に推定することができる。[30,31,32]

３種のマダラメイガ類の雌の塩化メチレン粗抽出物を，それぞれの反応について，１雌等量を用いて調べた結果を表２－４－１に示す。３種の蛾のフェロモンはいずれも，炭素－炭素二重結合と酢酸エステル構造を有することが推定される。表では活性を＋か－で示したが，さらにフェロモンのアルカリ加水分解－アセチル化の反応について，生物活性の変化を詳細に１０倍希釈の生物試験で追跡した。加水分解の処理により完全に消失した活性は，アセチル化反応を施すことによって，加水分解前の活性に完全に回復する。

Table 2-4-1 Results of functional group tests of crude pheromone extracts in 3 species of female moths

Reaction	Male moth responce to reaction product derived from		
	C.cau.	*P.inter.*	*A.kueh.*
Bromination(1)	—	—	—
Debromination of product(1)	+		
Catalytic hydrogenation	—		
Hydrolysis with dilute alkali(11)	—	—	—
Acetylation of product(11)	+	+	+
Reduction with $LiAlH_4$	—	—	—
Reduction with $NaBH_4$	+	+	+
Reaction with 2,4-dinitro-phenylhydrazine	+	+	+
Acetylation	+		
Methylation with diazomethane	+		

性フェロモンは揮散した状態で強力な活性を示すことから考えても，その研究にガスクロマトグラフ法（以下GCL法と略）が有力な分析手段となろうことは予想がつく。一般の検知器のほかに，フェロモンを雄で検知する装置（以下Biodetectorと略）をBayerの方法に準じて図２－４－１に示すように考察した。

雄蛾を約２０頭入れるガラス管のケージおよびそのセットの方法を図２－４－２に模式図で示す。フェロモンがＧＬＣ法でカラムから溶出した時のみ，ケージ内の雄蛾が興奮して顕著な挙動を示す。この時間の測定によりフェロモンのカラム保持時間（以下Rt と略）が測定できる。前述の感能基試験と同様に，フェロモンの粗抽出物で分析が可能であり，フェロモンに対する感度は，当然水素炎イオン化検知器（Ｆ．Ｉ．D.と略）よりも高い。F.I.D.で全くピークが認められなくても，Biodetectorで検知することができる。マダラメ

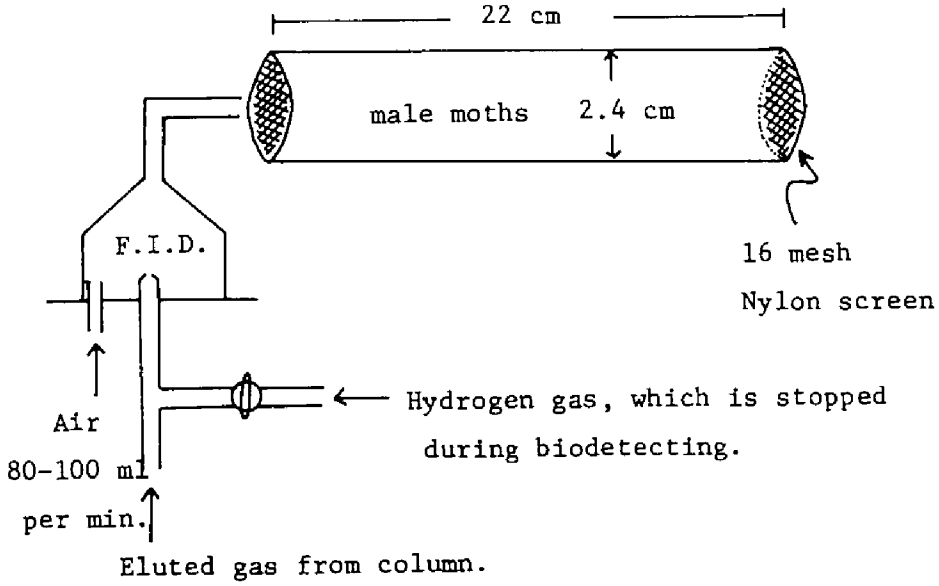
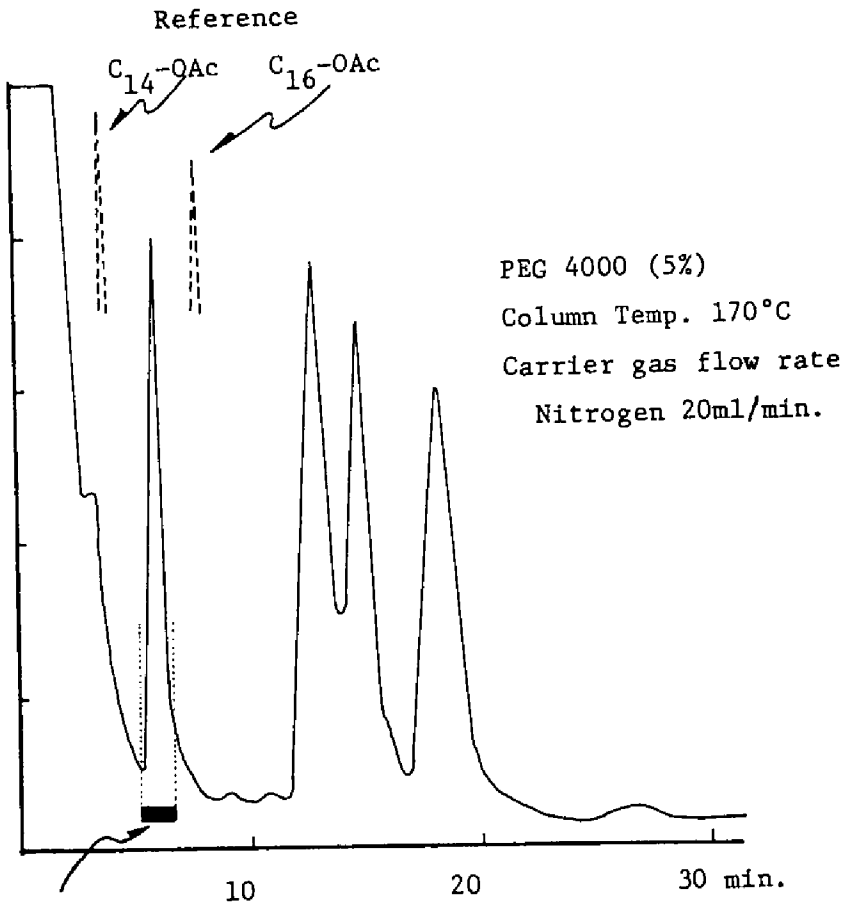


Fig. 2-4-2 Biodetector for gas chromatograph.

イガ類3種の雌各400頭を塩化メチレンで抽出し，抽出物を冷メタノールで抽出して，可溶部を集め，GLC分析の試料とした。図2－4－3にスジマダラメイガ粗抽出物より得られたGLCの一例を示す。Biodetectorによる分析結果では矢印で示す部分に性フェロモン活性を認めた。3種の抽出物をGLC分析し，3種の雄蛾のBiodetectorを用いて，活性部のRt を調べた結果を表2－4－2に示す。カラムは10%，BDS(1,4- Butane-diol Succinateの略)，2mを用いた。3種のマダラメイガ類の性フェロモンのRt は3種とも完全に一致するので，性フェロモンの構造は3種で非常に似かよった構造のものか，あるいは全く同じ化合物と考えられる。



males responded here.

Fig. 2-4-3 Gas chromatogram of the crude pheromone from female almond moths

Table 2-4-2 Retention time of crude pheromone in gas chromatogram using biodetector and F.I.D.

	Species of male moths used			F.I.D.
	C. cau.	*P. inter.*	*A. kueh.*	
Sex pheromone from				
Cadra cautella	1.58-1.66	1.57-1.66	1.57-1.66	
Plodia interp.	1.57-1.67	1.55-1.65	1.57-1.66	
Anagasta kuehn.	1.59-1.67	1.52-1.65	1.59-1.67	
Myristyl acetate				1.00
Myristoleyl acetate				1.18

Column 10% B.D.S. 2m, Temp; 170°C

Retention time of myristyl acetate; 29.7 min.

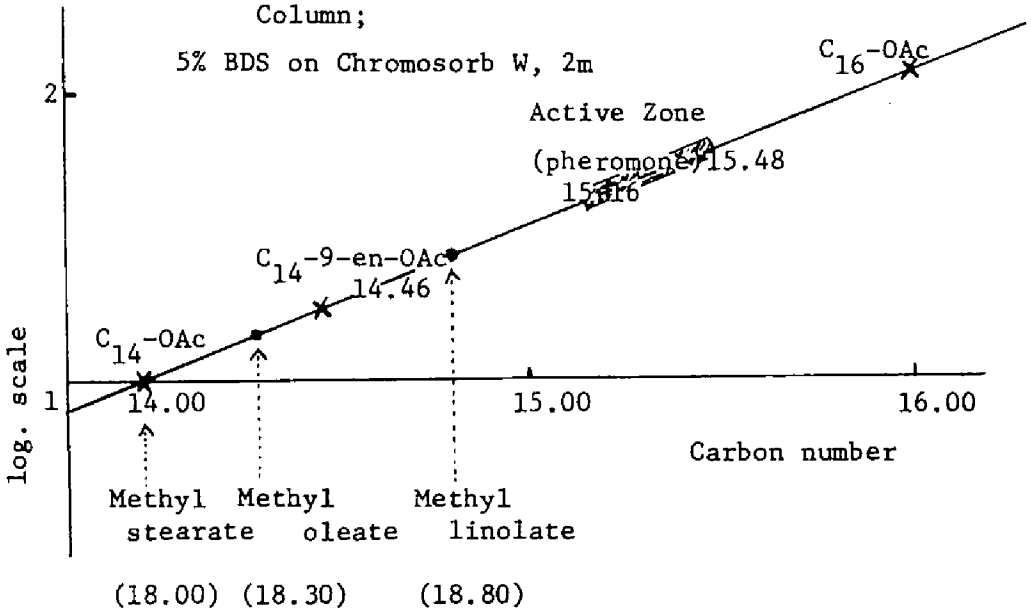
4種類の充填カラムを使用してＧＬＣ分析を行ない，スジマダラメイガの性フェロモンのRt を調べ，myristyl－，palmityl－およびmyristoleyl－acetate のそれらと比較した結果を表２－４－３に示す。この表より次のことが明らかとなる。すなわち，スジ

Table 2-4-3 Retention times of pheromone and acetates on polar and non-polar columns

Column		Temp.	Myristyl acetate	Palmityl acetate	Palmitoleyl acetate	Pheromone
1m	10% NGS	200°	7.9	14.9	—	9.6-12.4
1m	5% SE-30	200°	6.5	13.0	—	6.2- 9.0
2m	10% BDS	170°	30.0	61.6	35.6	46.0-52.0
75cm	25% PEG-20M	190°	5.0	10.4	—	6.4- 8.0

Unit; min.

マダラメイガの性フェロモンが直鎖状の化合物と仮定すると，炭素－炭素二重結合の存在[28]することと考えあわせてフェロモンは炭素数１４のアルコールアセテートと推定される。さらに２m,１０%,ＢＤＳカラムのデータを用いてＥ.Ｃ.Ｌ法[34]による炭素－炭素二重結合数の推定を以下のように行なった（図２－４－４参照）。



X : 0.46 = 0.80 : 0.30

X = 1.23 , then E.C.L. for two unsaturated C_{14}-OAc is calculated to be 15.23

E.C.L. (obserbed) : 15.16 - 15.48

Fig. 2-4-4 Estimation of double bond in sex pheromone

ＢＤＳカラムを用いれば脂肪酸メチルの炭素数とRt の対数は直線関係を示す。一方，脂肪族アルコールの酢酸エステルも同様の関係を示す。脂肪酸メチルの系列でみられる methyl oleate と methyl linolate のE.C.L.の関係がそっくり脂肪族アルコールの酢

酸エステルにおいても成立すると仮定すると，myristoleyl acetateのE.C.L.を測定すれば，二重結合２個を含む炭素数１４のアルコールの酢酸エステルのE.C.Lが推定でき，したがって，そのRt を推定することができる。図２－４－４にその結果を示す。methyl oleate，methyl linolateのE.C.Lは１８.３０および１８.８０となり，myristoleyl acetateのそれは１４.４６になる。したがって，二重結合２個炭素数１４のアルコール酢酸エステルのそれは，$14+\frac{0.46\times0.80}{0.30}$ すなわち，１５.２３と推定される。この値は，biodetector で検知できるフェロモンのRt のE.C.L.値１５.１６～１５.４８によく一致する。したがって，性フェロモンには二重結合が２個含まれる炭素数１４個のアルコールアセテートと推定される。

第５節　フェロモンの単離

多くのりん翅目昆虫では雌の性フェロモンは腹部末端の分泌腺（側胞）より分泌発散される。その性フェロモンの抽出には分泌腺部分のみを集めて，材料とする場合が多い。[16.35～40] しかし，マダラメイガ亜科の昆虫は小型の虫（開張１６～２０mm ）であり，分泌腺部分のみを切り取って集めるには多大の労力を必要とする。また，予備試験的に，雌虫体全体の粗抽出物と腹部末端の粗抽出物とを比較すると，両者には活性に差がない。したがって，抽出材料として，スジマダラメイガでは雌虫体全体を，ノシメーおよびスジコナマダラメイガでは雄を取り除くことなく，虫体全体を塩化メチレンで浸漬し，フェロモンの抽出を行なった。マダラメイガ類８種の性フェロモンの化学構造は，すでにのべたように，炭素数１４，二重結合２個のアルコールアセテートであり，りん翅目昆虫の性フェロモンとして現在知られている最も普通の型の化合物であろうと考えられる。したがって，それらの単離の過程を参考にして，フェロモンの精製を行なった。抽出および単離の概略を次にのべる。スジマダラメイガ処女雌合計120万頭の塩化メチレン浸漬液を原料として，性フェロモンの単離を始めた。虫体をロ別後，ロ液を濃縮する。残渣から－２０℃の冷メタノール（以下用いた量，収量，活性については図２－５－１参照のこと）可溶部をわけ，メタノールを留去して得られた活性な残渣をSiO_2による液体カラムクロマトグラフ法[注)]を４回繰返して精製した。最後に硝酸銀・SiO_2による液体カラクロマトグラフ法により精製して，純粋な性フェロモンとして，無色の油状物6.1mg を単離できた。

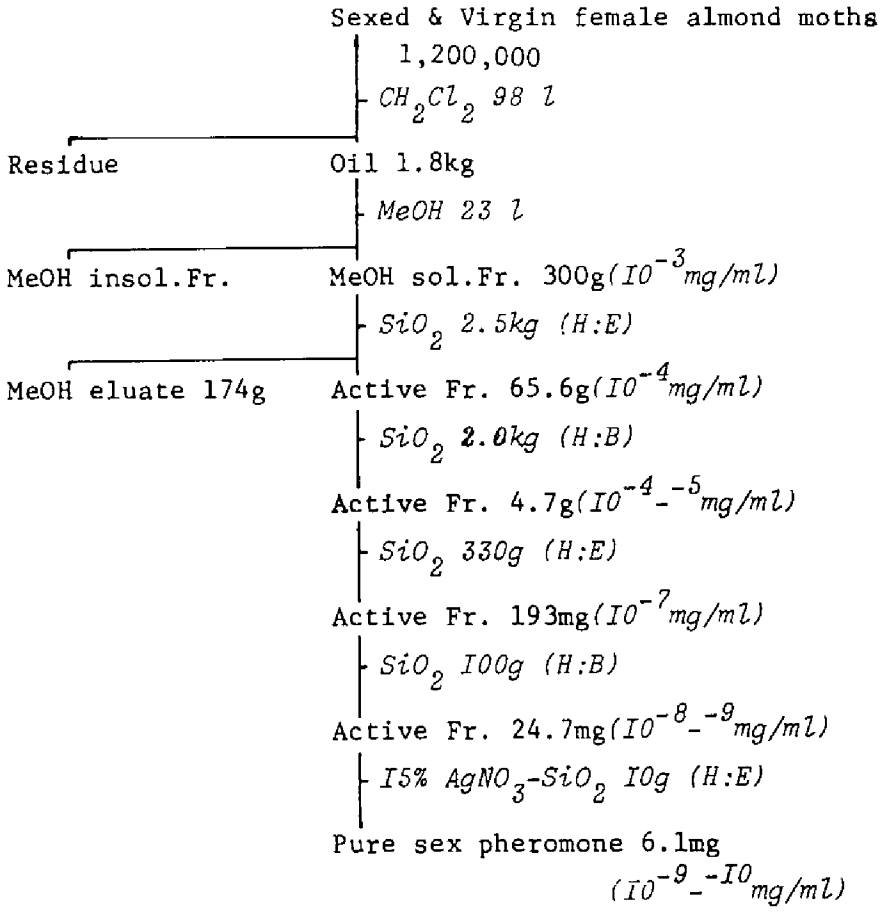


Fig. 2-5-1 Isolation procedure of the sex pheromone from female almond moths.

(H:E) ; hexane : ether , stepwise elution

(H:B) ; hexane : benzene, 3 : 1 mixture

注) SiO_2はすべてMallinkrodt Chemical Works，Silicic acid，100mesh を用いた。カラムは*n*－ヘキサンで充填し，展開は2溶媒系を交互に使用した。*n*－ヘキサン：ベンゼン（3：1）の系と*n*－ヘキサン：エーテルの系である。*n*－ヘキサン：ベンゼン系は終始同一組成を用い，*n*－ヘキサン：エーテル系は400：1，200：1，100：1，100：3，100：5と順次極性を上げてstepwise elutionを行なった。活性部が溶出しない間は（SiO_2g×10）mℓ流す毎に溶媒の極性を上げ，活性部が溶出している時には溶出し終るまで同一組成の溶媒を流しつづけた。両溶媒系ともに，最後にはメタノールで吸着物質を完全に溶出した。

特にノシメーおよびスジコナーマダラメイガの場合では，さきにのべたように，加水分解ーアセチル化の処理を行なっても，活性が完全に回復することがわかっている。そこで，メタノール可溶部について加水分解を行ない，エステルとして存在した脂肪酸を除き，つづいて溶解度の差を利用してステロイド画分を除去した。その後アセチル化を行なうことにより，非常に効率よく，フェロモンを濃縮でき，比較的簡単に性フェロモンを単離できた。次にその概略をのべる。

ノシメマダラメイガ雌雄合計６７万頭およびスジコナマダラメイガ雌雄合計５７万頭の塩化メチレン浸漬液より，虫体をそれぞれ口別し，口液を濃縮する。残渣にメタノールを加え，－２０℃下に冷メタノール（以下用いた量，収量などについては図２－５－２および図２－５－３参照のこと）可溶部を集める。メタノール液を濃縮して得られる残渣に４％苛性カリーメタノールを加え，室温下に加水分解する。反応後，減圧下に溶媒のメタノールを留去し，水を加え，アルカリ性のままエーテル抽出を行なう。エーテル層は飽和食塩水で洗った後，芒硝を加え,濃縮して，結晶状の残渣を得る。これにメタノールを加え，メタノール難溶性の結晶成分（ステロイド画分）を口過して除き，メタノール可溶部(Ⅱ)を集める。メタノール液を濃縮し，残渣にピリジン，無水酢酸を加え，アセチル化反応を行なう。反応物は常法によりエーテル抽出し，後処理を行なって，再び活性な画分とする。これをつづいて数回SiO_2を用いてクロマトグラフ法により精製し，最後に硝酸銀SiO_2を用いてクロマト精製すると，純粋なノシメマダラメイガの性フェロモン0.5 mg が得られた。スジコナマダラメイガの場合には，カラムクロマト精製だけでは目的を達することができず，さらに分取ＧＬＣ法によって精製し，0.8 mg の性フェロモンを単離した。

抽出に用いた雌蛾の数，収量，１頭あたりのフェロモン量を３種の蛾についてまとめて表２－５－１に示す。スジマダラメイガと他の２種とは単離に至る方法が異なり，厳密な比較はできないが，１頭あたりのフェロモン含有量はスジー＞スジコナー＞ノシメーマダラメイガの順に減少し，含有量はng 単位である。

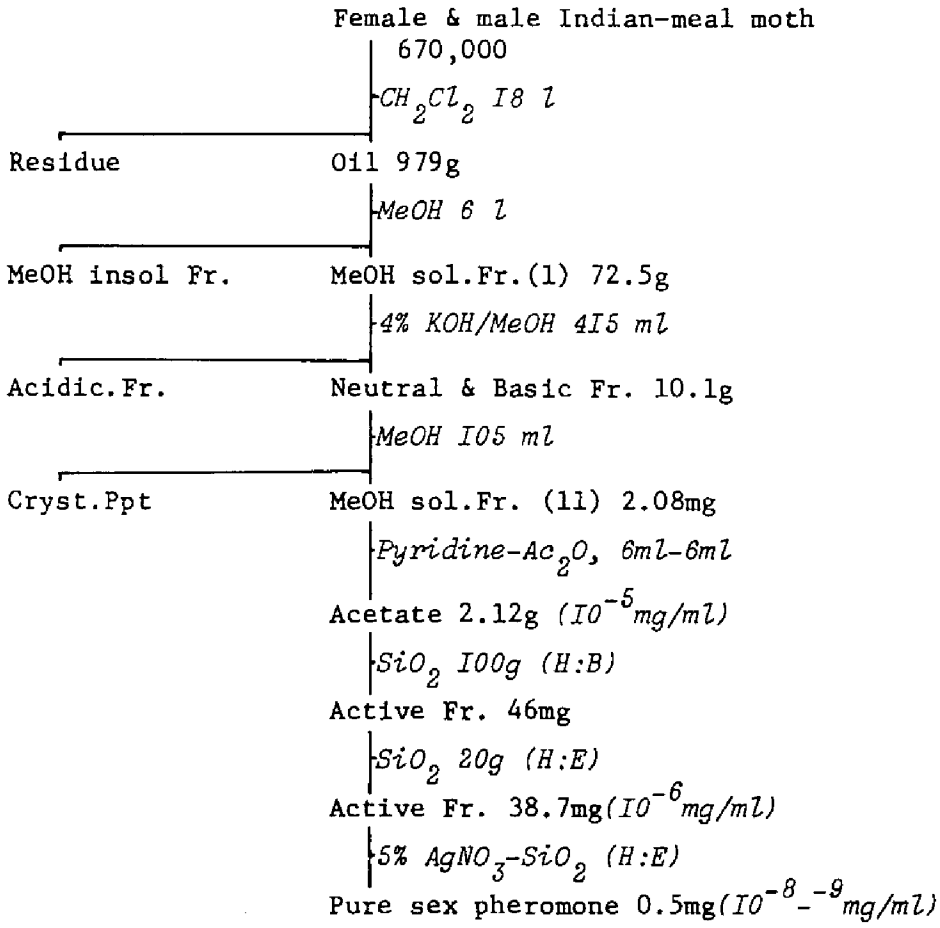


Fig. 2-5-2 Isolation procedure of the pheromone from Indian-meal moths.

(H:E),(H:B) ; see fig. 2-5-1

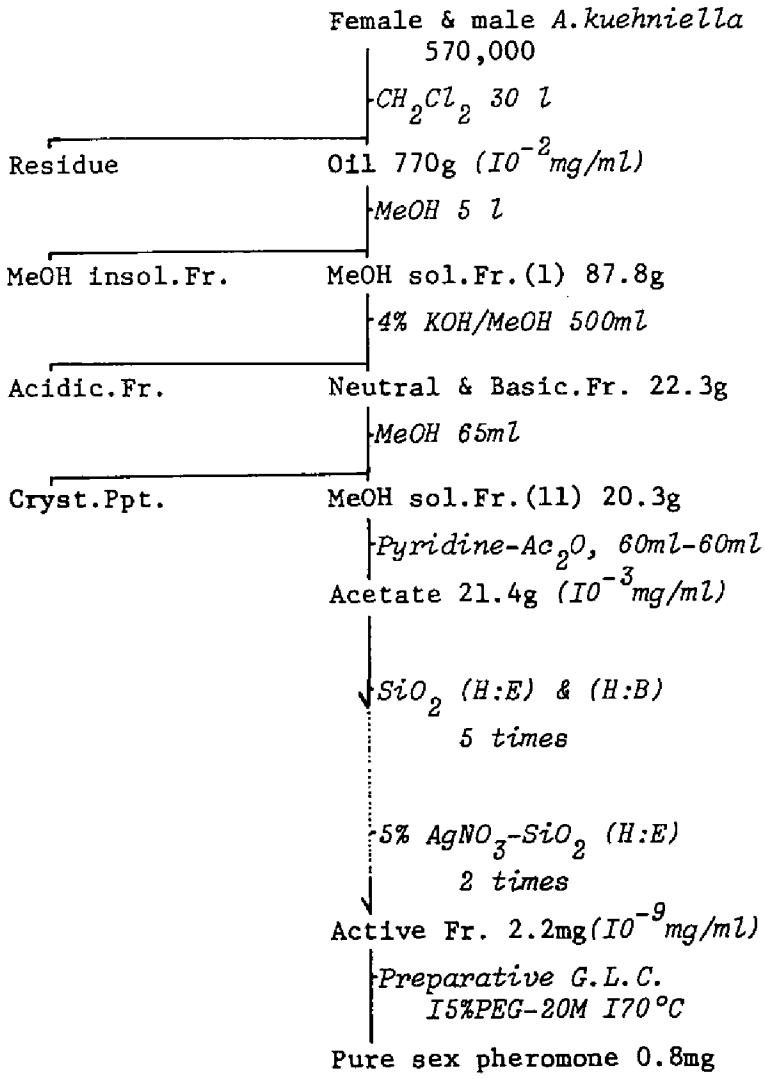


Fig. 2-5-3 Isolation procedure of the pheromone from Mediterranean flour moths

(H:E),(H:B) ; see fig. 2-5-1

Table 2-5-1 Yield of sex pheromone from 3 species of Phycitid moth

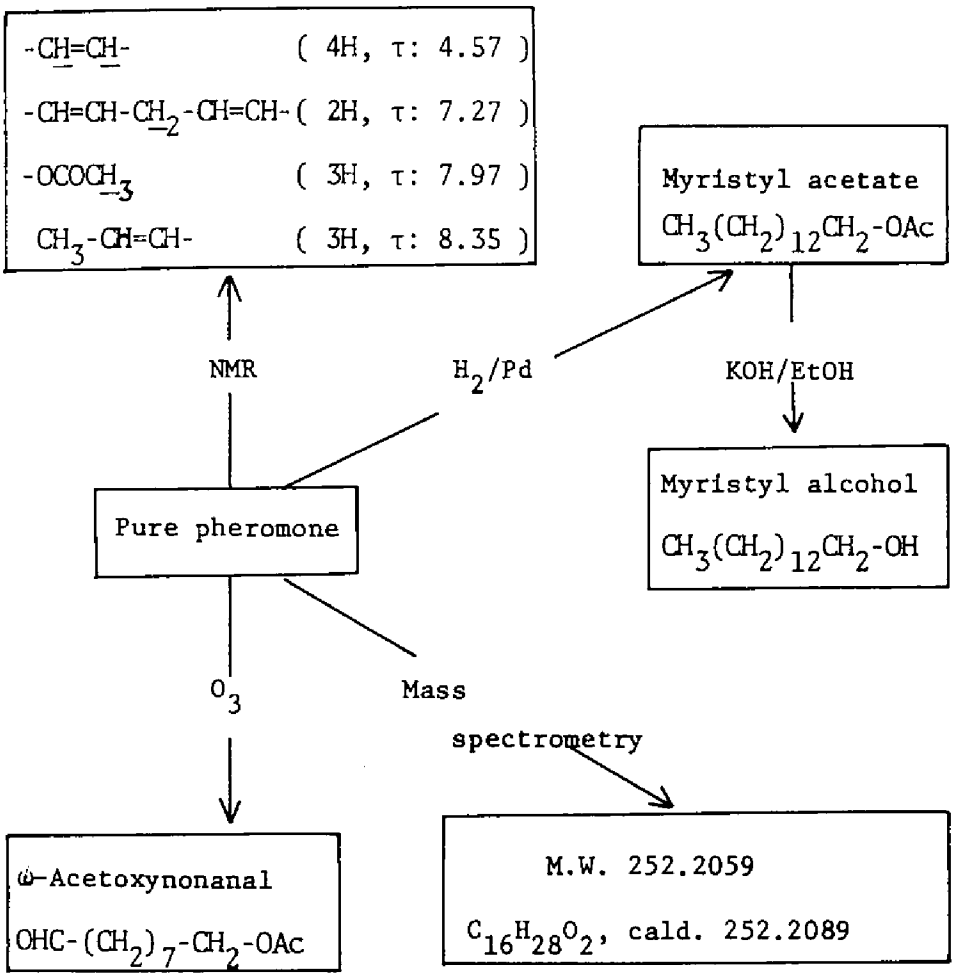
	Female moth used	Yield	Yield/Female moth
C.cautella	1,200,000	6.1mg	5.08ng
P.interpunctella	335,000	0.5mg	1.49ng
A.kuehniella	283,000	0.8mg	2.83ng

第6節　性フェロモンの構造決定

スジマダラメイガの性フェロモンの化学構造の決定は，図２－６－１に示した方法によって行なった。まず，高分解能質量分析は表２－６－１に示す少くとも７種類の分子イオンを与えた。相対強度の最も強い分子イオン m/e，252.2059が，炭素－炭素二重結合２個炭素数１４のアルコールアセテート；$C_{16}H_{28}O_2$ の理論値252.20893とよく一致する。

２０μg のフェロモンを用いて，パラジウム黒触媒で，接触還元すると，生成物として myristyl acetate を，さらにこれをアルカリ加水分解すると，myristyl alcohol を与えることがＧＬＣ法により判明した。したがって，性フェロモンは直鎖状の化合物と結論される。次に核磁気共鳴吸収スペクトル（以下ＮＭＲスペクトルと略）（図２－６－２）の解析によりフェロモン分子は一端がアリル位のメチル基，他端が－OAc 基である。炭素－炭素二重結合が２個あることを考慮すると，フェロモンの化学構造は９，１２－tetradacadienyl acetate と結論される。図２－６－２中に観察されるその他の２種類の化学シフトは混在する不純物に帰因すると判断したが，このことをさらにミクロオゾン分解反応[41,42]によって確認した。すなわち，２０μg のフェロモンをオゾン分解すると，分解生成物の一つがω-acetoxynonanal であることを，以下の方法により結論できた。すなわち，Oleyl acetate を出発物質として同様の方法によって導びかれたω-acetoxynonanal のＧＬＣ法によるRt とフェロモン分解物のRt が一致すること，およびＧＬＣ－直結マス

スペクトル分析により，両試料が同一の分裂様式を示すことである。



$$CH_3CH{=}CH{-}CH_2{-}CH{=}CH{-}(CH_2)_7{-}CH_2{-}OAc$$

Fig. 2-6-1 Identification of the sex pheromone of the almond moth, *Cadra cautella*

Table 2-6-1 Molecular ion peaks obserbed in high resolution mass spectrogram

Mass obserbed	Relative intensity	Mass calculated	Assignment C,H,O, only
252.2059	10	252.20893	$C_{16}H_{28}O_2$
252.2822	2-3	252.28170	$C_{19}H_{36}$
256.2392	5-6	256.24023	$C_{16}H_{32}O_2$
278.2833	7-8	278.28210	$C_{16}H_{38}O_3$?
279.1577	3-4	279.15964	$C_{16}H_{28}O_4$
280.3124	2	280.31300	$C_{20}H_{40}$
281.0487	5-6	281.04500	$C_{16}H_9O_5$

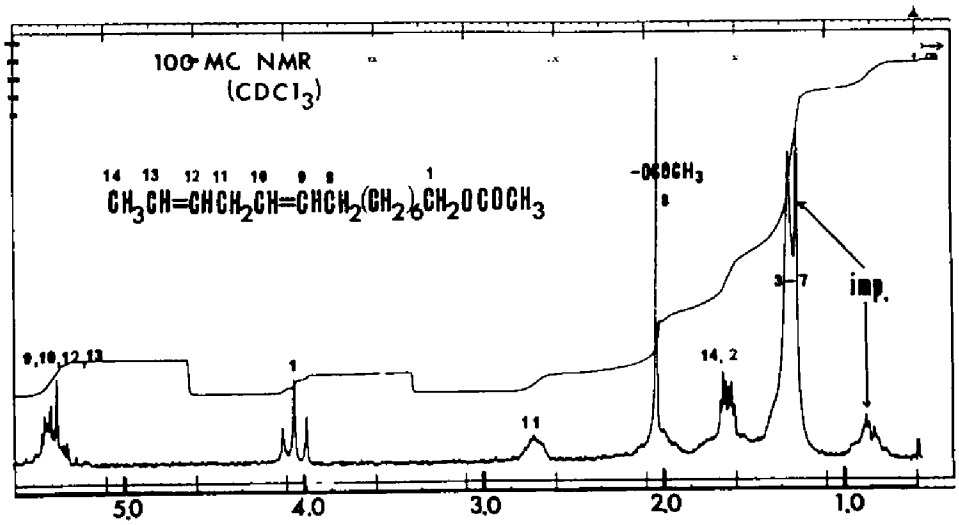


Fig. 2-6-2 NMR spectrum of the sex pheromone isolated from almond moths

二重結合の幾何構造については，IR スペクトル（図２－６－３参照）が上記の構造を支持する以外に，９７０cm^{-1}にトランス二重結合の存在を示す吸収が認められることか

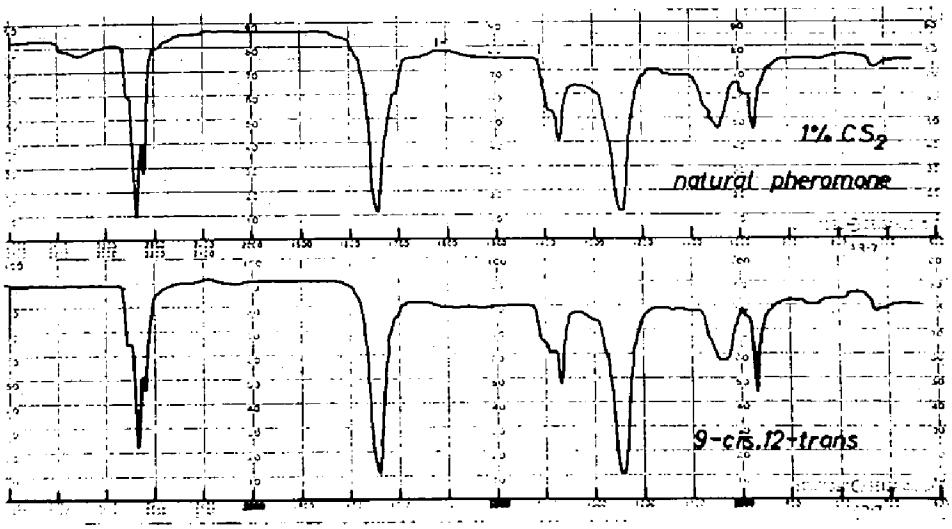


Fig. 2-6-3 I.R. spectrum of sex pheromone
Upper; Isolated from almond moths
Lower; Synthetic compound

ら，二重結合のうち，少くとも１個はトランス二重結合と判断される。しかし，結局可能な４幾何異性体をすべて合成し，結論から先にのべれば，天然性フェロモンが *cis* -9，*trans* -12-tetradecadienyl acetate であることを，NMRスペクトル，IR スペクトル，およびGoley カラムを用いたＧＬＣ法により確認できた。４幾何異性体の合成およびGoley カラムを用いたＧＬＣ法による４異性体の分離，および各異性体のフェロモン活性については次の章で述べる。

ノシメーおよびスジコナーマダラメイガの性フェロモンの構造は，それぞれGoleyカラムを用いたＧＬＣ法およびノシメマダラメイガの場合にはフェロモン５μg，スジコナマダラメイガの場合には２０μgを用いて，ミクロオゾン分解を行ない，その生成物をω-acetoxynonanalとＧＬＣ法によって同定した結果，スジマダラメイガの性フェロモンと

完全に同じ物質であることが明らかになった。

以上の結果，マダラメイガ亜科に属する貯穀害虫3種は，その性フェロモンとして全く同一化合物を持ち，その構造が *cis*-9, *trans*-12-tetradecadienyl acetate であると結論できた。

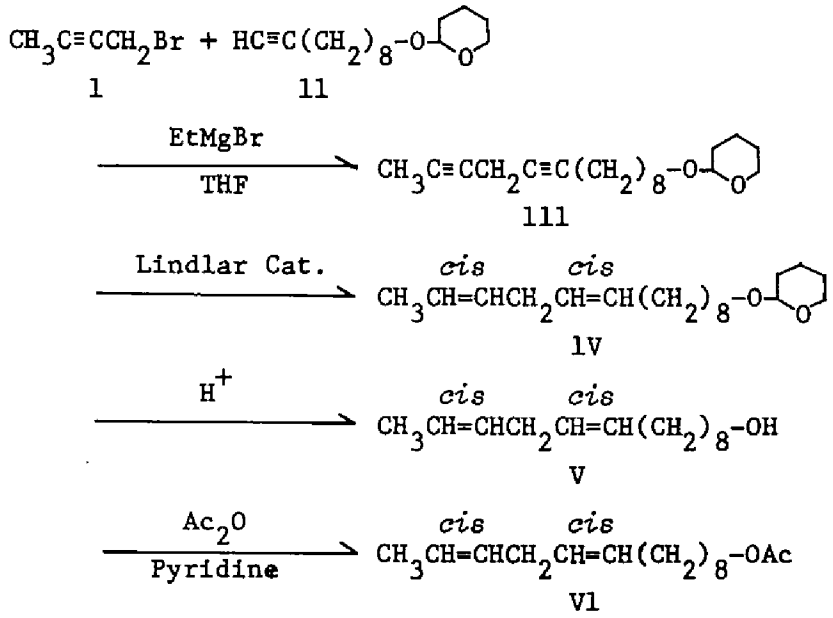
第３章　性フェロモンと幾何異性体の合成および生物活性

マダラメイガ亜科の貯穀害虫３種の性フェロモンは同一化合物で，その構造は９，１２-tetradecadienyl acetateと結論できた。しかし，２個の炭素－炭素二重結合に関する幾何構造は不明のままである。そこで，その構造を決めるために，理論的に可能な４種の異性体をそれぞれ異なる経路で合成した。合成できた４異性体はＮＭＲですべて互いに異なるスペクトルを与え，Goleyカラムを用いたＧＬＣ法で相互に分離でき，生物活性の比較の結果とも合わせて，天然の性フェロモンの構造が *cis* -9, *trans* -12-tetradecadi-enyl acetate であると結論した。

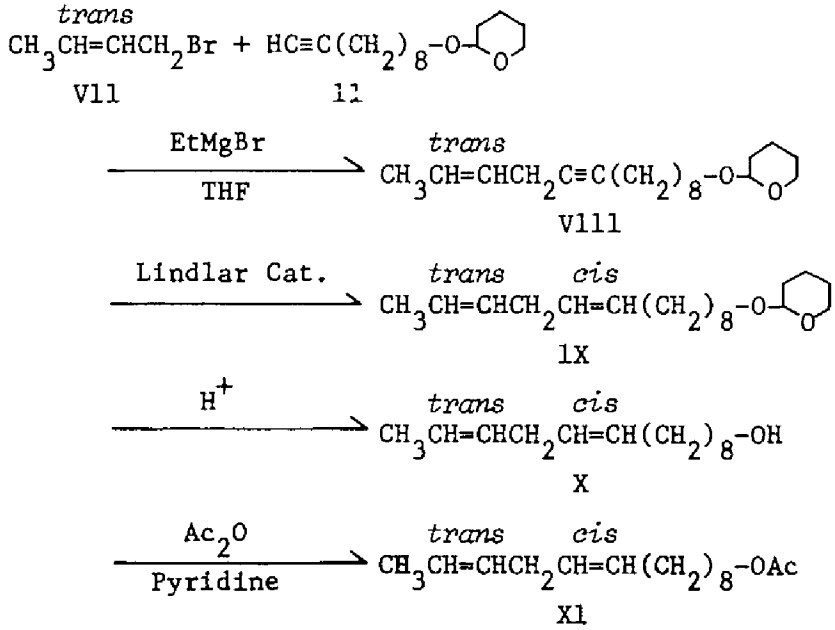
第１節　性フェロモンおよび幾何異性体の合成

合成経路は図３－１－１に示す。アセチリドとハロゲン化物による合成およびWittig

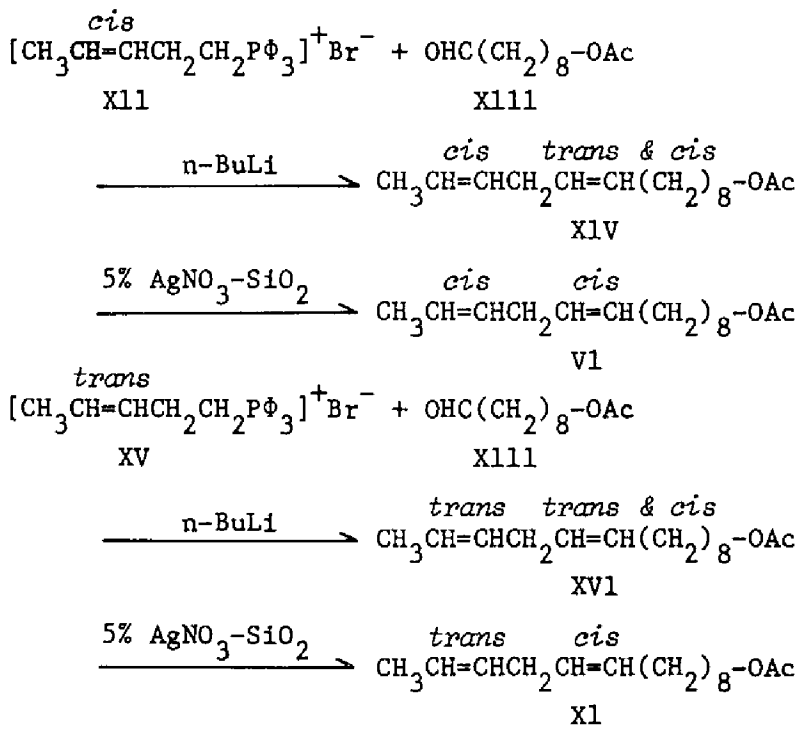
Route 1



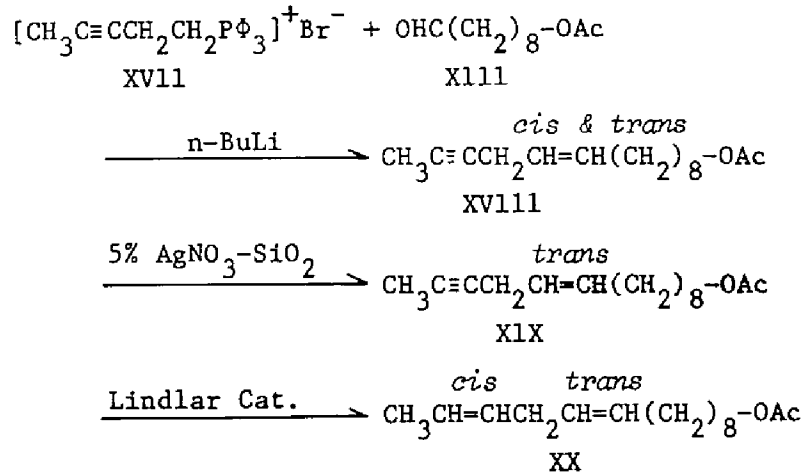
Route 2



Route 3



Route 4



Route 5

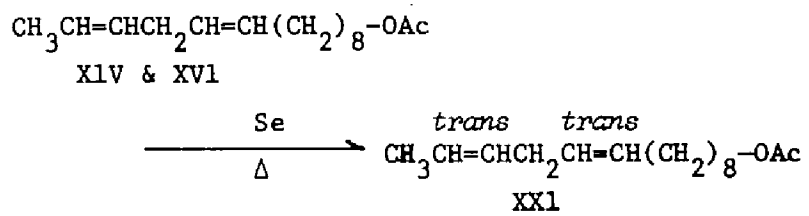


Fig. 3-1-1 Synthetic routes of sex pheromone and its geometric isomers.

反応による合成を検討した。二重結合の幾何構造による異性体を合成する一般的な方法としては，アセチレン化合物を接触還元によってシス化合物へ，液安中アルカリ金属による還元反応でトランス化合物へ導く方法が知られている[43]。Route 1および2はその方法によったもので，それぞれ，*cis*-9, *cis*-12-tetradecadienyl acetate(Ⅵ)および*cis*-9, *trans*-12-tetradecadienyl acetate(Ⅺ)に導くことができた。ⅦとⅡからⅧを作る段階でJacobsonらはＴＨＦ(tetrahydrofuranの略)中で$LiNH_2$を用い，好収量でⅧを得ているが[40]，筆者の比較検討したところではむしろGrignard試薬による方法が最も好結果を与えた[44～46]。アリル構造の臭化物が反応に関与する場合，反応機構からみて必ずしも幾何構造が保持されると考えられないので，トランス構造のⅦとの縮合で得られたⅧの二重結合はトランス構造のままであるとは断定できない。しかし，それは続く三重結合の

シス還元によって得られるⅨ，さらにその加水分解物Ⅹなど，すべてRoute -1の場合の相当する化合物Ⅳ やⅤと全く異なった化合物であった。したがって，Ⅷはトランス構造と結論される。

アセチレン三重結合のシス還元には数%のトランス異性体が副生することが知られている。後述するGoleyカラム を用いたＧＬＣで未精製のⅥおよびⅪを分析すると，目的成分以外に微量の他の３異性体のピークが認められる。$AgNO_3$-SiO_2カラムで精製すると除くことができた。

Route３は，ⅥおよびⅪの大量合成法である。Wittig 反応で生成する二重結合の幾何構造は phosphorane，溶媒などで決定されることが知られている。[47,48] Route３および４で行なったWittig 反応では，シス二重結合の生成が優先する。副生するトランス二重結合化合物を $AgNO_3$-SiO_2カラムで精製して除き，好収量でⅥおよびⅪを得た。

Route４ではⅩⅦ と ⅩⅢのWittig 反応によりシスおよびトランス構造の混合物ⅩⅧ が得られる。この混合物を$AgNO_3$-SiO_2 カラムで分離精製すると，容易にトランス構造のⅩⅨを得た。その収量はシス化合物の約1/3である。ⅩⅨをシス還元することにより *trans* -9, *cis* -12化合物（ⅩⅩ）の合成ができた。

trans -9, *trans* -12-tetradecadienyl acetate ⅩⅩⅠはRoute ５によって合成できた。すなわち，Route ３により得られるⅩⅣあるいはⅩⅥを分離精製することなく，Se触媒下に，N_2 気流中で熱異性化を行ない，[49] 得られる油状物を$AgNO_3$-SiO_2カラムで精製し，主成分としてⅩⅩⅠを得た。 合成法としては 1,4-dialkyne化合物（Ⅱ）あるいは，trans-en,-yne 化合物（Ⅶ）を液安中金属ナトリウムで還元すれば生成するはずであるが，1,4-dialkyneは アルカリで容易に 1,3-dialkyneに異性化することが知られている。[50] おそらくそのためであろうと見られるが，ⅡおよびⅦは共にトランス還元を行なうと，mono-ene化合物にまで還元され，目的のⅩⅩⅠを与えない。

以上の方法により合成した各異性体はすべて異なるＮＭＲスペクトルを与えた 図３－１－２，３，４，５参照）。特にτ：8.3付近のアリル構造のメチル基およびτ：4.57 付近のビニールプロトンのシグナルは幾何構造を反映して，各々複雑な割れ方を示す。しかし，化学シフトに関しては差異がない。一方，τ：7.2付近にみられる divinyl methane 型のメチレンの吸収は broadあるいはtripletとして観察される以外に，表３－１－１に示すように，各異性体で異なった化学シフトを与える。このことは， methyl 9,12-octadecadienoate で観察される結果とよく一致する。[51] スジマダラメイガより得られた性フ

ェロモンのNMRは *cis*-9, *trans*-12-化合物(XI)とよく一致する。また，divinyl methane型のメチレンの化学シフトはXIのそれと完全に一致する。

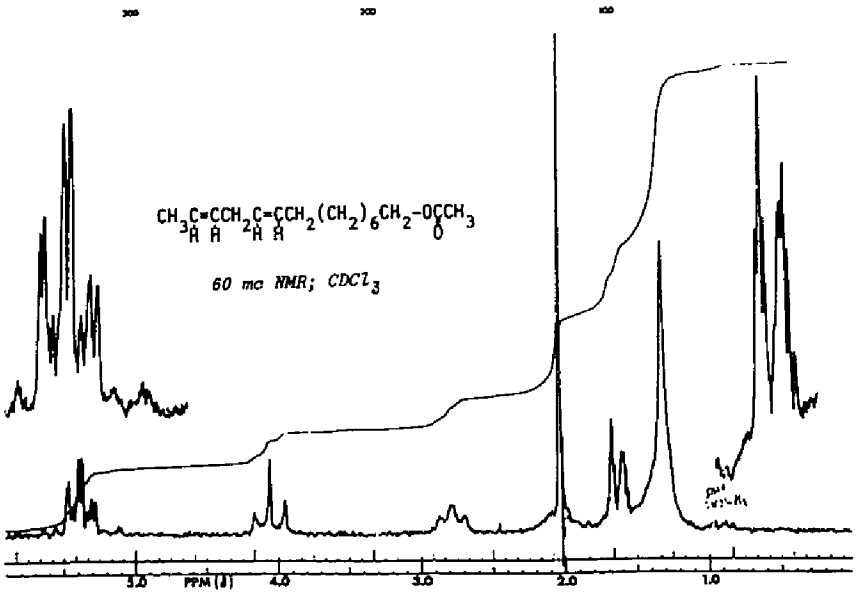


Fig. 3-1-2 NMR spectrum of compound VI

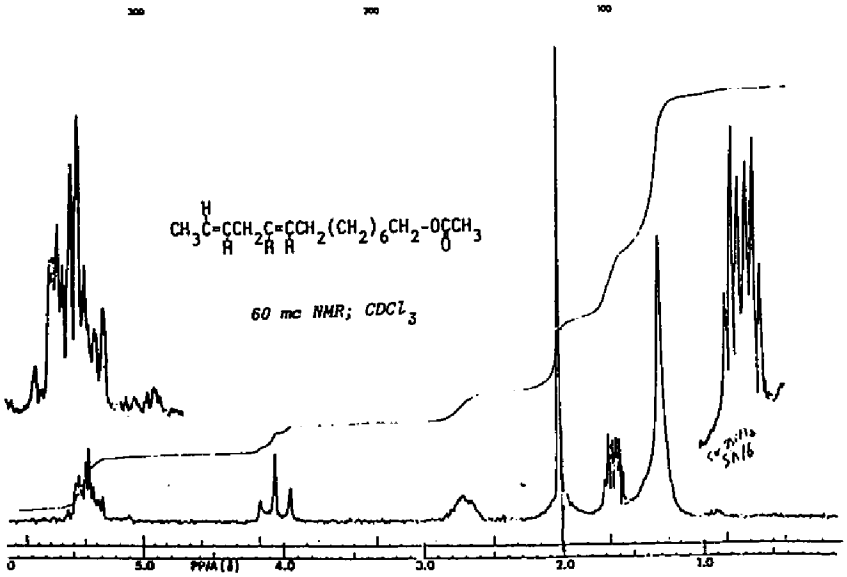


Fig. 3-1-3 NMR spectrum of compound XI

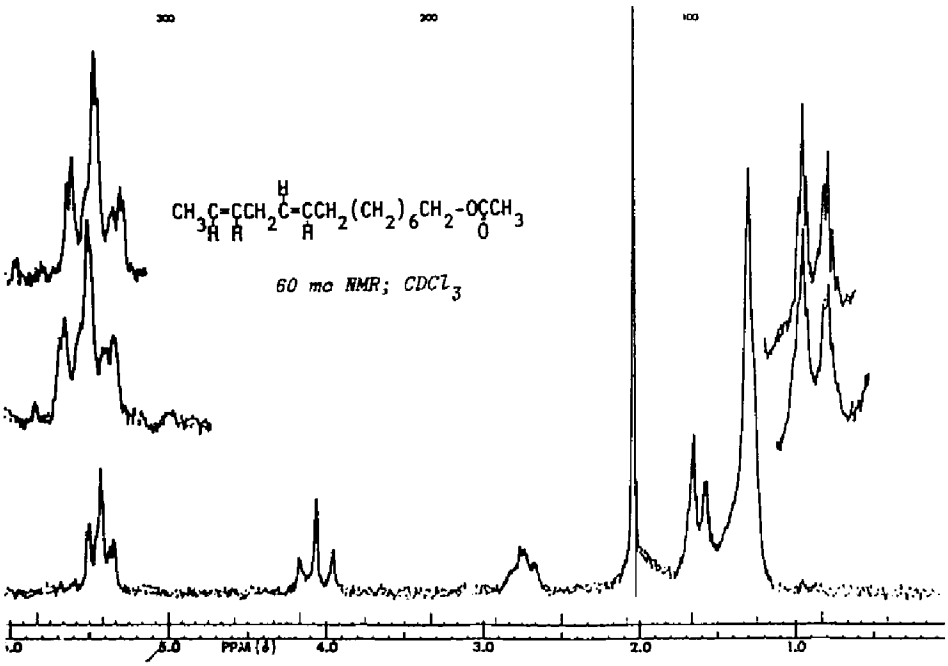


Fig. 3-1-4 NMR spectrum of compound XX

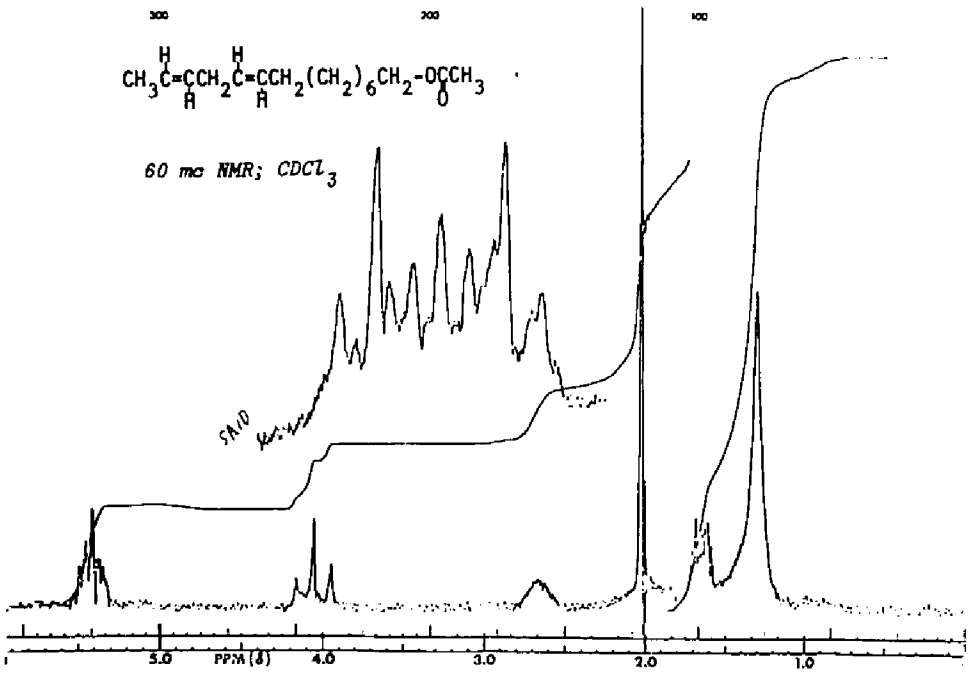


Fig. 3-1-5 NMR spectrum of compound XX1

Table 3-1-1 Chemical shift of divinyl methane methylene in geometric isomers of sex pheromone

	τ	Shape
cis- cis	7.22	broad triplet
cis-trans	7.28	broad
trans-cis	7.24	broad triplet , distorted
trans-trans	7.35	broad
Sex pheromone isolated	7.28	broad

各異性体のIRスペクトルを図3－1－6，7に示す。Ⅵ以外の化合物では970 cm^{-1}にトランス二重結合に帰因する吸収が認められる。

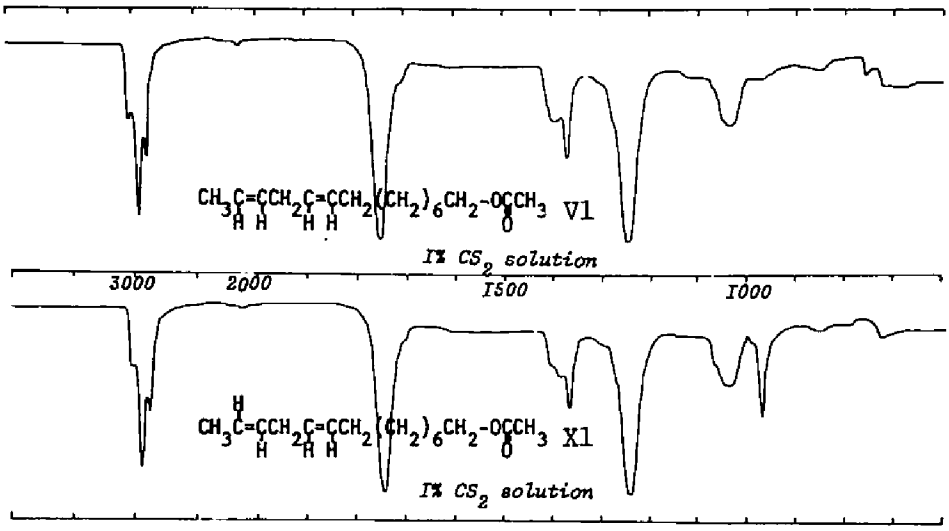


Fig. 3-1-6 I.R. spectrum of compound V1 and X1

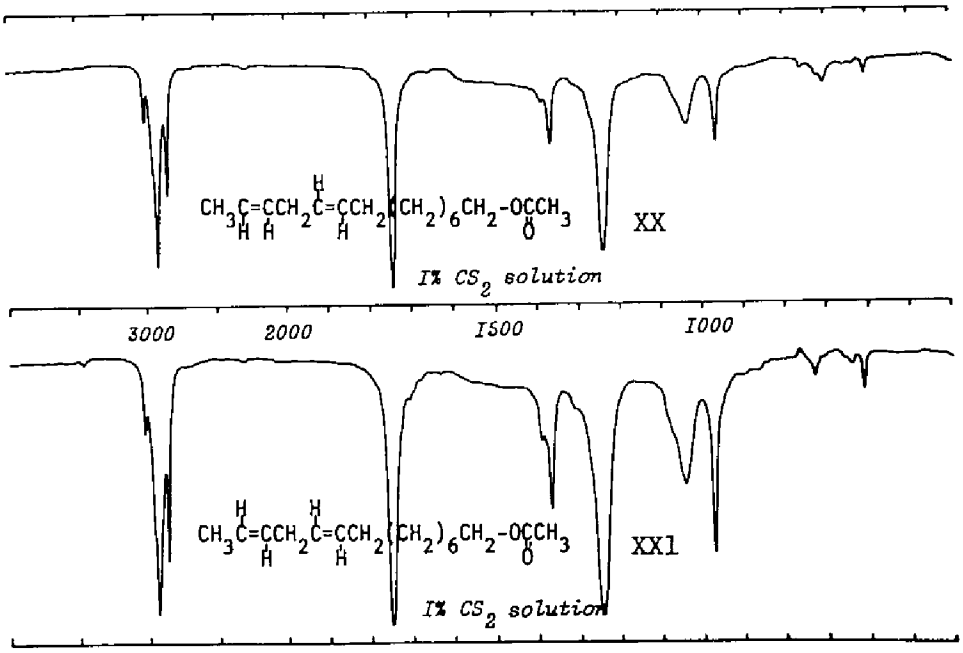


Fig. 3-1-7 I.R. spectrum of compound XX and XXI

ＧＬＣ分析による各異性体の分離を検討した。その結果を表８－１－２に示す。充填カラムを用いた場合，Ⅵおよび Ⅺを各単独で分析すると，異なったRt を与えるが，混合物

Table 3-1-2 Separation of geometric isomers of the pheromone by gas-liquid chromatography

	Isomer of 9,12-tetradecadienyl acetate				
	cis-cis	*cis-trans*	*trans-cis*	*trans-trans*	Standard C_{14}-OAc
Packed column 160° 10% PEG-20M 150cm	1.635	1.542			1.000 (12.8min)
Goley column 160° BDS, 45m X 0.5mm	1.865	1.721	1.835	1.721	1.000 (35.2min)
Goley column 160° R-45, 45m X 0.25mm	1.224	1.167	1.253	1.183	1.000 (46.9min)

では単一ピークを与える。そこでGoley カラムを検討した。BDS Goley カラムでは XI と XXI が分離しなかったが，R−45カラム（polypropylene glycol，Ucon oil LB−550X）を用いると，ほぼ満足な結果を得，各異性体は XI，XXI，VI，XX の順に分離溶出する。図3−1−8に天然のスジマダラメイガの性フェロモンと4異性体混合物のGLCの結果を示した。GLC分析の結果からも，天然の性フェロモンのRt は合成化合物XIのそれと完全に一致することがCo-クロマトを行なうことにより確認された。

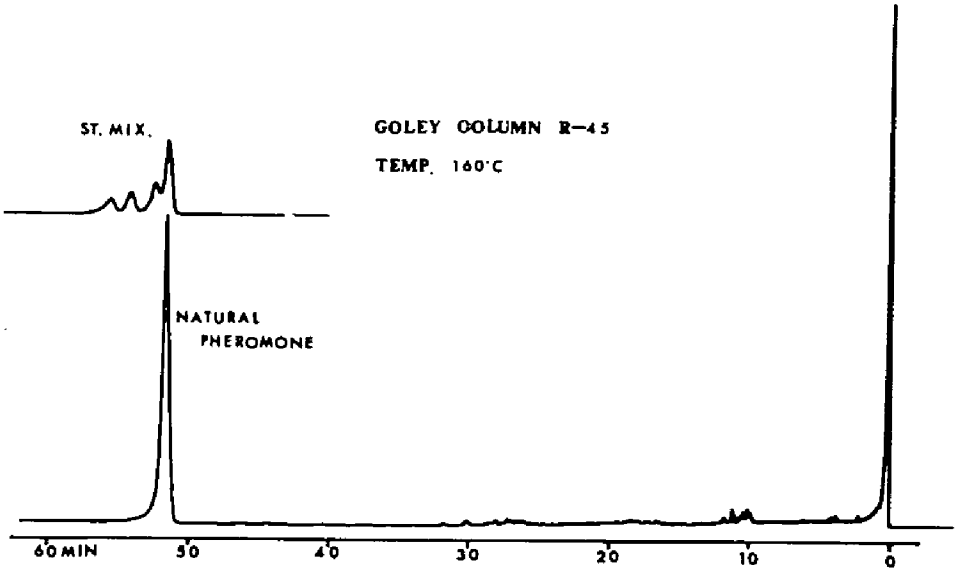


Fig. 3-1-8 Identification of the geometric structure in the sex pheromone. Elution order in the ST.MIX. is as follows ; XI< XXI < VI < XX

つぎに各異性体の合成過程についてくわしくのべる。

1. $CH_3C{\equiv}CCH_2C{\equiv}C(CH_2)_8-O-$ （Ⅱ）の合成

塩化カルシウム管を付したジムロート冷却管，滴下ロートを装着し，あらかじめN_2気流を通じておいた 100 mℓ の三口フラスコに，金属マグネシウム 0.28g，無水THF 40 mℓ を入れ，N_2 を通じながら，滴下ロートより bromoethane 1.09g のTHF

（１０mℓ）液を滴下し，攪拌してＥｔMgBr 溶液を作る。マグネシウムが消失した後，油浴上で７０℃に加温しながら１－tetrahydropyranoxy－9－decyne(Ⅱ) 2.38gのTHF液１０mℓを徐々に滴下する。１時間攪拌後，塩化第一銅２００mgを加え，更に３０分間攪拌する。次に，２－butyne－1－bromide(Ⅰ)1.35gのＴＨＦ液１０mℓを約２時間を費して徐々に滴下する。そして約４０時間８０℃で加熱還流した。冷却後，水とエーテルを加え，反応液を２Ｎ－HCℓで酸性にした後，エーテル抽出した。エーテル層はNa_2CO_2飽和水で洗浄，水洗後，芒硝で乾燥した。溶媒を留去後，残渣にヘキサンを加え，SiO_2層を通して口過し，SiO_2層はエーテルで洗い，口液および洗液を合して濃縮した（2.9g）。N_2ガス中で減圧蒸留し，bp１３４－１４０／0.01mmHg留分を集める。収量４２１mg，ＧＬＣで単一ピークを与える。ＮＭＲで τ：8.2〔３Ｈ，CH_3－C≡C－〕，τ：6.96〔２Ｈ；C≡C－CH_2－C≡C－〕，τ：7.98〔２Ｈ；－C≡C－CH_2－R〕を認める。本留分は蒸留直後は無色であるが，室温で放置すると短時間に着色し，黄色となる。

2. $CH_3CH \overset{cis}{=} CH\ CH_2\ CH \overset{cis}{=} CH(CH_2)_8$ －O－ （Ⅳ）の合成

Ⅲ４２１mgを８０mℓのn－ヘキサンと共に反応フラスコに入れ，キノリン１滴，Lindlar 触媒[52] ２００mgを加え，水素を吸収させる。時間経過と共に水素の吸収量を追跡し，６８mℓ（室温下）を吸収した時に反応を止める。触媒を口別し，口液を減圧で濃縮して，液体４２１mgを得る。ＧＬＣにより反応の進行を確認した。ＧＬＣ（PEG－20M １９０℃）Rt，6.1min （出発物質Ⅲ：23.3min）

3. $CH_3CH \overset{cis}{=} CH\ CH_2CH \overset{cis}{=} CH(CH_2)_8$－OAc（Ⅵ）の合成

Ⅳ４２０mgを無水メタノール８０mℓに溶解し，約５０mgのTsOHを加え，室温下に攪拌，一夜放置した。Na_2CO_3の結晶を加え，中和した後，減圧下に濃縮し，水を加え，エーテルで抽出した。エーテル層は水洗後，芒硝を加えて乾燥した。溶媒を留去後油状物３２０mgを得た。SiO_2 ７gを用いてカラムクロマトを行ない，ベンゼン溶出部を除いた後，クロロホルム溶出部１５０mg（Ⅴ）を得た。反応の進行はＧＬＣで確認した。（Ⅴ）に無水酢酸１mℓピリジン１mℓを加え，室温下に一夜放置してアセチル化を行なった。常法により氷水で分解，エーテル抽出し，洗浄して油状物１５７mgを得た。SiO_2 ７gのカラムを用いて精製し，ベンゼン溶出部としてＧＬＣで単一ピークを示す油状物１５０mg（Ⅵ）を得た。ⅤおよびⅥのＧＬＣ（PEG－20M １９０℃）RtはⅤ；3min，Ⅵ；2.3minを与えた。ＧＣ－Massによる分子量m／e；２５２，ＩＲで９７０cm^{-1}の吸

収を認めない。Goleyカラムによる GLCで微量の他の幾何異性体の混在を認めたので，$AgNO_3-SiO_2$カラムでさらに精製し，3%および5%エーテル含有ヘキサンで溶出して，目的物(Ⅵ)を得た。

4. $CH_3CH\overset{trans}{=}CH\ CH_2\ C{\equiv}C(CH_2)_8$ -O- (Ⅶ)の合成

Ⅱの合成と全く同様にして，金属マグネシウム0.25g，bromoethane 1.2gより EtMgBrを調製し，Ⅱ 2.4g，塩化第一銅200mg，Ⅶ 1.35gを反応させた。Ⅱの場合と同様に洗浄，精製し，油状物2.8gを得た。N_2 気流下に減圧蒸留し，bp130-138/0.015mmHgの留分を集めた。収量500mg，GLC(PEG-20M 190℃)Rt；11.0min，NMRより τ：4.6〔2H；-CH=CH-〕，τ：7.2〔2H；-C=C-CH_2-C≡C-〕，τ：7.9〔2H，C≡C-CH_2-R〕が認められる。蒸留直後は無色であるが，短時間で黄色化する。

5. $CH_3\ CH\overset{trans}{=}CH\ CH_2\ CH\overset{cis}{=}CH(CH_2)_8$ -O- (Ⅸ)の合成

Ⅶ 387mgをn-ヘキサン20mℓと共に反応フラスコに入れ，キノリン1滴，Lindlar触媒100mgを加えて，水素添加した。水素32mℓを吸収した時に反応を止め，触媒をロ別し，減圧下に濃縮した。油状物収量407mg，GLCで反応の進行を認めた。GLC(PEG-20M 190℃)のRt；8.0min(出発物質Ⅶ；Rt 11.0min)

6. $CH_3\ CH\overset{trans}{=}CH\ CH_2\ CH\overset{cis}{=}CH(CH_2)_8$-OAc(Ⅺ)の合成

Ⅵの場合と同様にⅨ 407mgをメタノール30mℓに溶解し，TsOH約50mgを加え，同様に処理した。SiO_2 7gで精製し，クロロホルム溶出部(Ⅹ)231.9mg を得た。GLC(PEG-20M 190℃)のRt；3.8min(出発物質(Ⅸ)；8.0min)。Ⅹを前述のように無水酢酸1mℓ ピリジン1mℓでアセチル化し，SiO_2(7g)カラムで精製し，ベンゼン；ヘキサン(1：3)で溶出し，目的物質209mgを得た。GLC(PEG-20M 190℃)で主成分(Ⅺ)80%，Rt：3.3min 副成分20%，Rt 2.3minの混合物とわかった。NMRよりアリル構造のメチル基以外に$C\underline{H}_3$-CH-メチル基がdoublet で観察され，GC-Massで2成分ともm/e：252を与える。そこで $AgNO_3$・SiO_2 20gを用い，カラムクロマトを行ない，5%エーテル含有ヘキサンおよび10%エーテル含有ヘキサンで溶出し，精製した目的の物質(Ⅺ)・107mgを得た。

7. Route 3によるⅥの合成

N_2 気流下に粉状のⅫ 2.5gを無水エーテル60mℓと共に三口フラスコに入れ，氷水冷却下にn-BuLi溶液(10% in n-hexane) 5mℓを注射器を用いて滴下した。

反応液は赤色透明となる。滴下終了後３０分攪拌をつづけ，つづけてXII 1g のエーテル溶液１０mℓ を徐々に滴下した。０℃で４時間攪拌し，一夜放置した。反応物に水，エーテルを加え，分液してエーテル層を採り，水洗後芒硝で乾燥する。溶媒を留去した後，析出する結晶を n－ヘキサンで洗浄しながらロ別する。ロ液および洗液は SiO_2層を通してロ過し，SiO_2層はベンゼンで洗浄する。ロ液および洗液を合して濃縮し，XIV 550mgを得る。GoleyカラムでのＧＬＣ分析の結果，VI を主成分とする幾何異性体の混合物とわかる。$AgNO_2$－SiO_2 カラムでクロマト精製し，VI を得る。

8. Route 3によるXIの合成

同様にしてXV 2.5 g，n－BuLi（２０％ in n－hexane）５mℓ，XII 1 g を反応させ，処理して，XVI 970mg を得る。ＧＬＣ分析の結果，XIの純度約７５％と判明する。$AgNO_3$－SiO_2 カラムで精製してXIを得る。

9. $CH_3CH\overset{cis}{=}CH\ CH_2\ CH\overset{trans}{=}CH(CH_2)_8$ -OAc XX の合成

XVII 3 g を３０mℓ の無水ベンゼンと共に三口フラスコに入れ，N_2 気流下に前述のように n－BuLi（20% in n－hexane ）５mℓ，XII 1.5g と反応させる。反応物を後処理して粗油状物（XVIII）800mgを得る。ＧＬＣ分析で重なり合った２ピークを与え，両成分共にm／e250を与えた。（XVIII）700mg を用いてSiO_2 20gで精製し，ベンゼン：ヘキサン（１：３）で溶出し，更に$AgNO_3$－SiO_2 カラムで分離し，XIX 30mg，シス異性体６０mg を得る。PEG－20M 160℃におけるＧＣＬのＲｔ；XIX，19min，シス異性体；17.5 min。

XIX ３０mg を n－ヘキサン中でLindlar 触媒100mg を用いて還元し，水素約４ mℓ を吸収した時点で反応を止める。反応の進行はＧＬＣで確認した。溶媒を留去後，$AgNO_3$-SiO_2カラムで精製し，目的物質XX 12.8 mg を得た。ＧＣ－Mass の結果，m／e：252を与え，ＩＲで 970cm^{-1} の吸収を認める。

10. $CH_3CH\overset{trans}{=}CH\ CH_2CH\overset{trans}{=}CH(CH_2)_8$ -OAc（XXI）の合成

Route 3の異性体混合物XIVおよびXVI 600mgをＳｅ４７mg と共にN_2 気流下２１０～２２０℃で６時間加熱した。反応後 n－ヘキサンを加え，SiO_2層を通してロ過し，ベンゼンでSiO_2層を洗浄した。ロ液および洗液は合して濃縮し，褐色油状物５７５mg を得た。$AgNO_3$・SiO_2 ６０ｇを用いてカラムクロマトを行ない，エーテル：ヘキサン５：１００および１０：１００で展開し，Goley カラムで主成分である分画XXI 74.3 mg を得る。ＧＣ－Massでm／e；２５２を与え，ＩＲで９７０cm^{-1}の吸収を認める。

11. Golayカラムを用いたＧＬＣの運転条件

機　　械　；　Hitachi -Perkin Elmer. Model F−6

カ　ラ　ム　；　Ucon oil LB−550X（polypropylene glycol）

（通称名　R−45）　内径0.25mm 長さ45m

キャリャーガス　；　N_2 1.5気圧　1ml／min

分割比　64：1

空気1.2気圧　，水素0.6気圧，温度160℃，感度1×1

第2節　性フェロモンおよび幾何異性体の生物活性

合成した9，12-tetradecadienyl acetate の4幾何異性体，および雌成虫より単離したマダラメイガ亜科3種のそれぞれの性フェロモンを，チャマダラメイガを含めて，4種のマダラメイガ類の雄蛾を用いて生物試験し，その活性を比較検討した。

生物試験法にはすでに詳述した方法を用いた。この方法は鋭敏かつ簡単であるが，精度にとぼしい。したがって，7〜11回くりかえして試験した結果をまとめて活性とした。

スジー，ノシメー，スジコナーおよびチャーの4種のマダラメイガの雄に対する9,12-tetradecadienyl acetate の各異性体の誘引活性をまとめて表3−2−1に示す。す

Table 3-2-1 Pheromonal activity of geometric isomers by glass-rod method

	Isomer of 9,12-tetradecadienyl acetate			
	cis-cis	*cis-trans*	*trans-cis*	*trans-trans*
C. cautella	10^{-9}	10^{-11}	10^{-9}	10^{0}
P. interpunctella	10^{-4}	10^{-11}	10^{-9}	10^{-2}
A. kuehniella	10^{-3}	10^{-10}	10^{-4}	10^{-2}
E. elutella	10^{-5}	10^{-10}	10^{-4}	—

Unit ; mg per ml

なわち，9-*cis*，12-*trans*体は4種の雄蛾に対して，最も強い誘引活性を有する。その他にスジマダラメイガでは9-*cis*，12-*cis*体と9-*trans*，12-*cis*体が，ノシメマダラメイガでは，9-*trans*，12-*cis*体がそれぞれ9-*cis*，12-*trans*体の約1/100程度の活性を示す。このことは，当該化合物に9-*cis*，12-*trans*体が1%含まれていれば，当然起りうることであり，また合成径路からみて，その程度の異性体の混入はないとはいい切れない。しかし，9-*cis*，12-*cis*体と9-*trans*，12-*cis*体をその他のスジコナーおよびチャーの2種のマダラメイガ雄で試験すると，9-*cis*，12-*trans*体の10万分の1あるいは，それ以下の活性を示し，ほとんど活性をもたないに等しい。したがって，9-*cis*，12-*trans*体が混入したために起った現象とは考えられない。むしろ，スジマダラメイガおよびノシメマダラメイガは他の2種の雄に較べて，幾何異性体の識別能力が劣っているように思われる。

合成フェロモン（9-*cis*，12-*trans*体）とマダラメイガ類3種より単離された天然のフェロモンの活性を4種の雄蛾で調べると，その結果は表3－2－2に示される。4種

Table 3-2-2 Activity of isolated pheromone by glass-rod method

	pheromone derived from			
	C.caut.	*P.interp.*	*A.kueh.*	Synthetic
C.cautella	10^{-10}	10^{-10}	10^{-10}	10^{-11}
P.interpunctella	10^{-10}	10^{-10}	10^{-10}	10^{-11}
A.kuehniella	10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}	10^{-10}
E.elutella	10^{-9}	10^{-7}	10^{-9}	10^{-10}

Unit ; mg per ml

の雄蛾すべてが単離された天然のフェロモンに同程度の強い活性を示す。合成フェロモンは単離されたフェロモンより活性が約10倍高い。この事は単離されたフェロモン中にまだ微量残存する不純物によると考えられる。

また，表3－2－1および3－2－2をよくみると，雄蛾の種により，フェロモンの感

受性が１０倍ほど異なる。すなわち，スジーおよびノシメーマダラメイガはスジコナーおよびチャーマダラメイガよりもフェロモンに対する感受性が高いといえる。

チャマダラメイガの雄は他の３種の雄と同程度に *cis*-9，*trans* -12-tetradecadienyl acetateに強い活性を示すことは，すでにのべた。したがって，その性フェロモンには種特異性はなく，やはり他のマダラメイガの場合と同様，同じ化合物をその性フェロモンとすると思われる。

第4章　*Cis*-9, *trans*-12-tetradecadienol-1の存在

スジマダラメイガ性フェロモンの単離過程で，SiO_2 2.5 Kg を用いてクロマト精製を行なった際，活性な画分を溶出した後，メタノールでカラムを溶出し，不活性部を得た（図4－1－1参照）。この不活性部をアセチル化すると，顕著なフェロモン活性（10^{-3}～10^{-4} mg/mℓ）を示すことがわかった。そこで，この画分を精製し，最後に酢酸エステルとして，性フェロモン約700μgを含む画分7.5 mg を得た。[53] このアルコールが精製途中で生成したartifactか，あるいは本来含有されていたものかどうかを調べる目的で，各発育過程の雌虫体内のフェロモンとアルコール量の変動を調べた。その結果，虫体内にフェロモンと共に常にアルコールが存在し，しかもそれはフェロモンの生成するよりも早い時期にすでに含まれていることが判明した。ノシメーおよびスジコナーの2種のマダラメイガも同様にアルコールを含有している。

性フェロモンの生成よりも早い時期にすでに含まれていること，および雄に含まれていないことから，*cis*-9, *trans*-12-tetradecadienol-1は，性フェロモンの前駆物質である可能性は十分である。以下，このアルコールを前駆体アルコールと仮称する。

第1節　*Cis*-9, *trans*-12-tetradecadienol-1の同定

図2－5－1のメタノール溶出部のうち，124gを原料とし，図4－1－1に示す方法で濃縮，精製を行なった。アセチル化後は雄成虫に対する活性を指標にカラムクロマトグラフ法で精製し，最後に10^{-7}～10^{-8}mg/mℓ の活性を示す物質7.5 mg を得た。この物質は充填カラム（15%PEG-20M 180℃）およびGoleyカラム（Ucon oil LB－550X 0.25mm×45m 160℃）によるGLC分析で，*cis*-9, *trans*-12-tetradecadienyl acetate標品と同一Rtを示した。しかし，注入量に対するピークの応答が低く，GLCでの定量の結果，フェロモン（前駆体アルコールの酢酸エステル）の収量は，約700μgと測定された。

一方，別に20万頭のスジマダラメイガより得られたメタノール溶出部39gを材料と

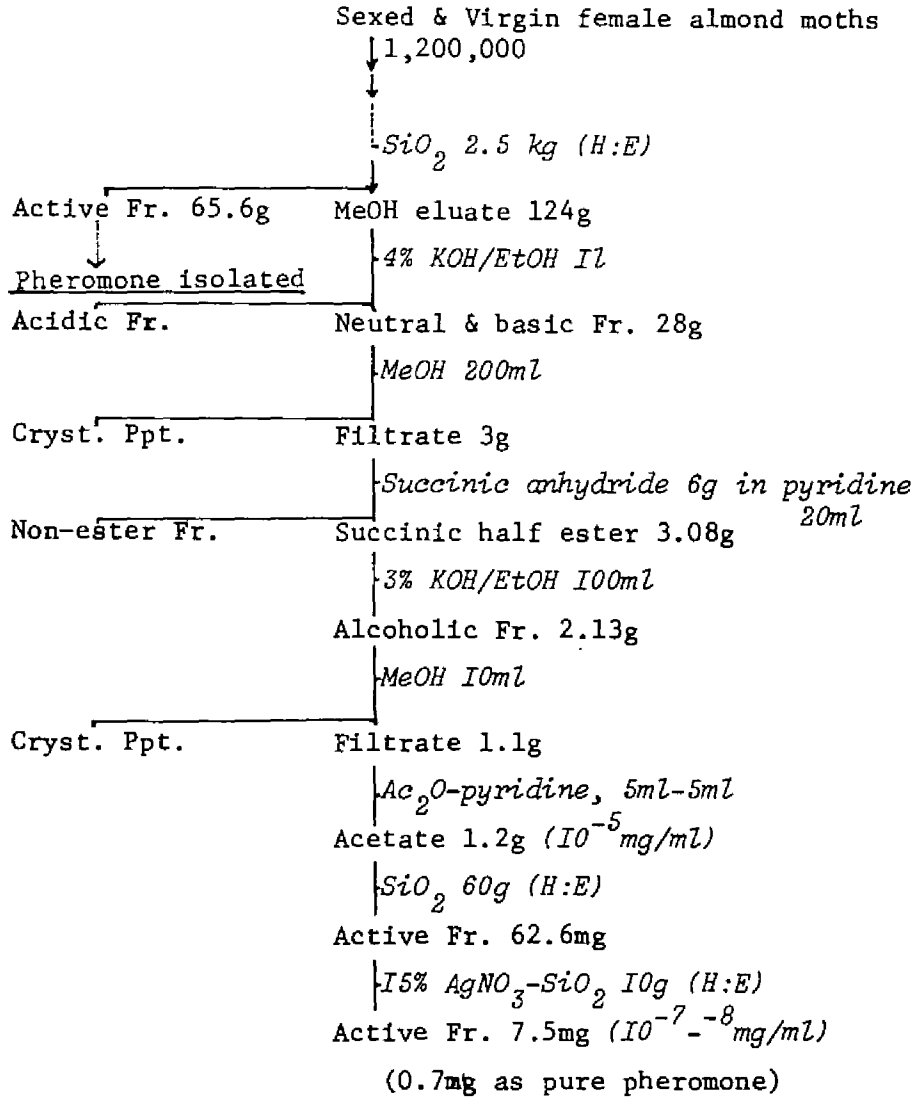


Fig.4-1-1 Isolation procedure of *cis*-9,*trans*-12-tetradecadienol-1 as its acetate from female almond moths

(H:E) ; see fig. 2-5-1

して，前駆体アルコール中の他の幾何異性体の存在を検討した。この際，カラムクロマトグラム法では$AgNO_3$・SiO_2カラムによる精製を行なわず，SiO_2カラムのみをくりかえし使用して最後に前駆体アルコールの酢酸エステル450μgを含む画分7.5mgを得た。Goleyカラムによる分析の結果9-*cis*，12-*trans*以外の幾何構造を持つ異性体が全く存在しないことを確認した。したがって，9，12-tetradecadienol-1が生成する時には，その二重結合の幾何構造はすでに9-*cis*，12-*trans*となっており，9-*cis*，12-*cis*アルコールから幾何構造の異性化反応を経て生合成される可能性はないと思われる。

第2節　雌虫体内での前駆体アルコールの含有量

種々の発育過程のスジマダラメイガ雌について虫体内の前駆体アルコール含量を追跡した。また，ノシメーおよびスジコナーの2種のマダラメイガについても，羽化1日後の処女雌についてその含量を調べた。その結果3種のマダラメイガでフェロモンとともに常に前駆体アルコールが存在し，その含量はフェロモンの約1／10であった。

方法および結果

スジマダラメイガ雌で，種々の発育過程（終令幼虫，褐色蛹，灰色蛹，羽化直後，3時間後，1日後，3日後）にある雌各5頭を集め，塩化メチレンに浸漬し，抽出した。抽出液を濃縮乾固した後，それぞれSiO_2 5gを充填したカラムで展開し，ベンゼン50mℓ，クロロホルム50mℓで溶出した。ベンゼン溶出部には性フェロモンが，クロロホルム部には前駆体アルコールが分離して得られる。後者は溶媒を留去して，ピリジン，無水酢酸各1mℓを加え，アセチル化する。反応物はエーテル抽出し，得られたacetateを*n*-ヘキサンに溶解して生物試験した。ベンゼン部は濃縮後，*n*-ヘキサンに転溶して，同様に生物試験に供した。ノシメーおよびスジコナーの2種のマダラメイガの羽化1日後の処女雌についても同様に検討した。なお，雄蛾の塩化メチレン抽出物は活性がないが，同様にアセチル化して生物試験に供した。

結果を表4－2－1と4－2－2にまとめた。表4－2－1に示すように，幼虫および褐色蛹期には性フェロモンおよび前駆体アルコールは存在しない。黒色蛹期になると，前駆体アルコールの生成が認められる。つづいて灰色蛹で始めて，性フェロモンが生成し，前駆体アルコール量も増加する。すなわち，前駆体アルコールの生成の方が性フェロモンより時期的に早い。羽化後3時間まで性フェロモンは増加するが，それに伴なって，アル

Table 4-2-1 Content of pheromone and the corresponding alcohol in virgin females of almond moth at various stages.

	Pupal stages			After emergence			
	Brown	Black**	Gray***	0hr	3hr	1day	3days
Pheromone	–*	–	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}
	–	–	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
Alcohol as	–	10^{0}	10^{-1}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}
acetate	–	10^{0}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}

Unit; One female-equivalent per ml

* No activity was found at the highest concentration tested, namely one female per ml.

** One day before eclosion.

*** Just begins eclosion.

Table 4-2-2 Content of pheromone and the corresponding alcohol in virgin females 1 day after emergence

	C.cautella	*P.interpunc.*	*A.kuehniella*
Pheromone	10^{-3}	10^{-3}	10^{-1}–10^{-2}
Alcohol	–	–	–
Alcohol after acetylation	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1}

Unit ; one female-equivalent per ml

Assay was conducted using each species of male moths

コール量も増加し，最終的には性フェロモンの1/10量常に虫体内に含まれている。表には示さないが，いずれの種の雄蛾抽出物についても，そのアセチル化物は活性を示さず，

したがって，雄蛾中に前駆体アルコールは存在しない。

羽化1日後の3種の処女雌について性フェロモン量と前駆体アルコール量を調べた結果を表4－2－2にまとめた。3種ともに，性フェロモン量の約1／10量がアルコールであることがわかる。

考　察

りん翅目昆虫の性フェロモンは，アルコールの酢酸エステルである場合が多い。しかし，酢酸エステルとしてのフェロモン以外に，相当するアルコールが存在するという指摘はオオタバコガ Corn earworm の例が知られているにすぎない。オオタバコガではアルコールも弱いながら，性誘引性を持つという[82]。マダラメイガ類3種の場合には，そのアルコールは全く誘引性を示さない。前述のように，フェロモンより早い時期にアルコールが生成することおよび雄には存在しないことから，このアルコールは性フェロモンの前駆物質と考えられる。

一方，性フェロモンの構造が酢酸エステルであるという知見にもとづき，性フェロモンの単離の方法として，フェロモン粗抽出物を加水分解し得られるアルコールをつづいてアセチル化する精製方法がある。すでにのべたノシメーおよびスジコナーの2種のマダラメイガ，Loelofs 等が研究したナシノヒメシンクイ Oriental fruit moth および Oblique-banded leaf roller moth[38][54]は，この方法で，性フェロモンの単離が行なわれた。この方法は単離操作が容易になるばかりでなく，前駆体アルコールをも性フェロモンに変換して回収できる利点がある。

第5章　マダラメイガにおける性フェロモンと配偶行動

屋内という閉鎖的な空間に互いにまじり合って棲息しているマダラメイガ類4種のうち，少くとも3種，スジー，スジコナーおよびノシメ－マダラメイガは，その性フェロモンとして同じ化合物 *cis*-9, *trans*-12-tetradecadienyl acetate を用いている。フェロモンは両性生活を営む昆虫で雌雄の同種認識の手段であるが，それが同一化合物であり，しかも同じ場所に生息分布する以上，何か他の同種認識の手段，あるいは，そのために生じる混乱を避けるための生物的な分化現象を考えるのは当然の帰結である。そこで，精製性フェロモンと雌蛾のフェロモン粗抽出物を比較し，フェロモン以外の第二次因子による種特異性の発現の可能性を検討するとともに，蛾の生態および行動を観察し，マダラメイガ類の配偶行動における sexual isolation の機構についても検討した。いずれの場合も明確な結論を下せないが，次にのべることが考えられる。

第1節　精製フェロモンとフェロモン粗抽出物の誘引性の比較

前節で合成性フェロモンが強力な誘引性を示すことを明らかにした。ところが，ケージを用いて野外試験に近い状態で生物試験を行なうと，雌蛾の塩化メチレン抽出物には活性が認められるが，合成フェロモンにはみかけ上ほとんど効力がないという奇妙な現象にぶつかった。そこで，この現象の解明を目的として，スジマダラメイガについて，精製性フェロモンと雌蛾から塩化メチレンで抽出するという装作をほどこしたままのフェロモン粗抽出物に対する雄蛾の反応の比較を行なった結果についてのべる。

材料と方法

供試雄蛾として，30℃飼育のFT－系統，羽化3日目の未交尾雄成虫を用いた。生物試験法－1では50頭を，生物試験法－2では20頭を用いた。供試フェロモンとしては，次の2種を用いた。

1）雌蛾の塩化メチレン粗抽出物；　20℃飼育の未交尾雌成虫を塩化メチレン(濃度1♀／mℓ）で浸漬抽出して得られる、フェロモンの粗抽出物であり，10倍毎の希釈法に

より1♀／mℓから10^{-5}♀／mℓまでの供試液を作った。また別に100頭および1000頭の雌蛾の腹部末端のみを切り取り，10mℓの塩化メチレンに浸漬し，10♀／mℓ，および100♀／mℓ液を作った。

2）精製フェロモン；　Route 3で合成し，精製したフェロモンで，塩化メチレン希釈して10^{-2}mg/mℓから10^{-7}mg/mℓまでの供試液を作った。2種の試料とも常に冷所に保存した。生物試験－1および－2に用いる場合には，それぞれ，これらの液1mℓをシャーレに採り，規定のロ紙片（1×3㎝）に浸して，風乾し，試料をできるだけ完全にロ紙に含ませるように計らった。

生物試験法には次の3方法によった。生物試験法－1；　100×150×160㎝³(2.4m³)の箱を木枠で作り，表面にテトロンガーゼを張り，さらにその上からビニールで覆いをした。この覆いは外から吹き込む風の影響を防ぐためである。この箱の側面の上部にハエトリリボン（4㎝×30㎝）を貼りつけて，そのハエトリリボンの上部に試料の性フェロモンを含んだロ紙を貼りつけ，雄蛾の誘引試験を行なうものである。まず，箱内でのハエトリリボンの適当な設定位置をきめるために，図5－1－1に示した6ケ所（a～f）

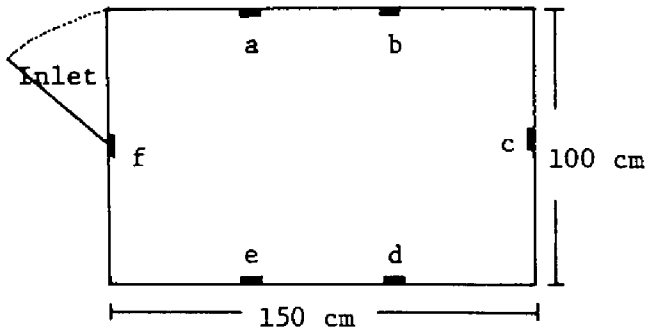


Fig. 5-1-1 Setting position of the sticky traps in the assay room.

についてフェロモンを含まないロ紙をつけたハエトリリボンを用いて，雄蛾60～70頭を放し，Blank testを行ない，場所による選好性を調べた。その結果，f点以外は位置による差がないことを認めた。そこでaとbの中間点およびdとeの中間点にそれぞれハエトリリボンを貼りつけ，一方の側にフェロモンを付け，他方にはフェロモンをつけない

でおく。夕方5時頃に箱の底（中央）から供試雄蛾５０頭を放し，２０時間後の翌日午後１時頃，両側のハエトリリボンに付着した雄蛾をそれぞれかぞえ，供試雄蛾に対する百分率で，その試料の誘引率とした。試験は２５±１℃６０～８０％RH ほとんど暗黒状態で行なった。前回用いたフェロモンの残留による次の試験への影響をさけるため，充分換気を行なうと共に，常に低濃度の試料から高濃度の試料へと試験を行なった。また一連の実験の終了後は，箱を水洗し，日光と外気に曝して，次の試料の試験に供した。

生物試験法－２；　図５－１－２に示す装置を用いた。供試雄蛾をあらかじめガラス管

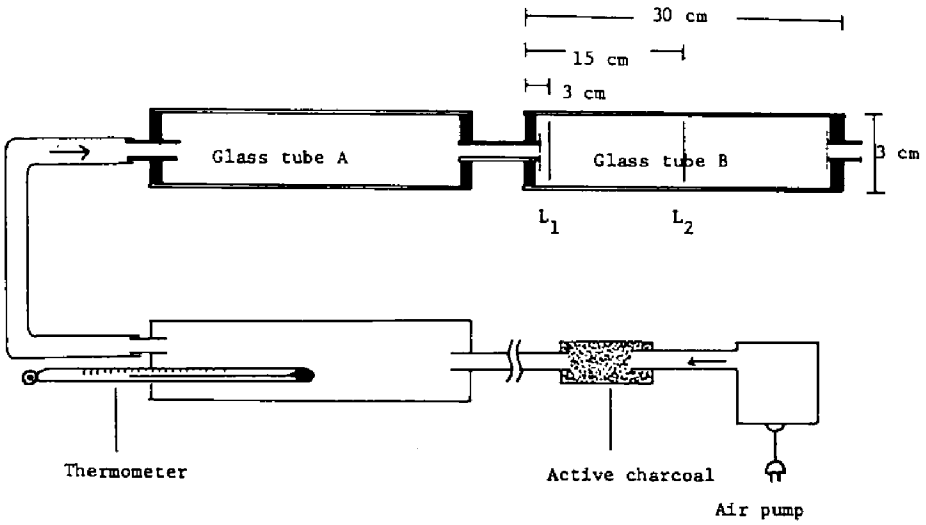


Fig. 5-1-2 Apparatus for bioassay method-2
Sex pheromone is set in glass tube A, and male moths are confined in the downwind half of glass tube B

BのL₂線より風下側に入れておき，ガラス管Aにロ紙に含ませた試料を入れる。そして空気を毎分600mℓ，活性炭槽および緩衝槽を通して送る。1分後にa）翅を特徴的に振動させる（以下バタツキ行動と呼ぶ）。b）L₂線よりも風上側に移動する（以下定位行動と呼ぶ）。c）L₁の線より風上へ集まる（誘引行動と呼ぶ）。の3行動を示す虫数を測定し，それぞれの百分率を求める。30℃70%RH下で行ない，空気は新鮮なフェロモンを含まぬ外気を用いた。

生物試験法－8；　すでにのべたように，フェロモンの単離の際に用いた方法であり，比較および確認のため用いた。

実験結果

生物試験－1で行なった2種類のフェロモン試料による誘引性の結果は，図5－1－3，5－1－4に示す。これら2試料の誘引性は明らかに異なる。すなわち，雌の塩化メチレ

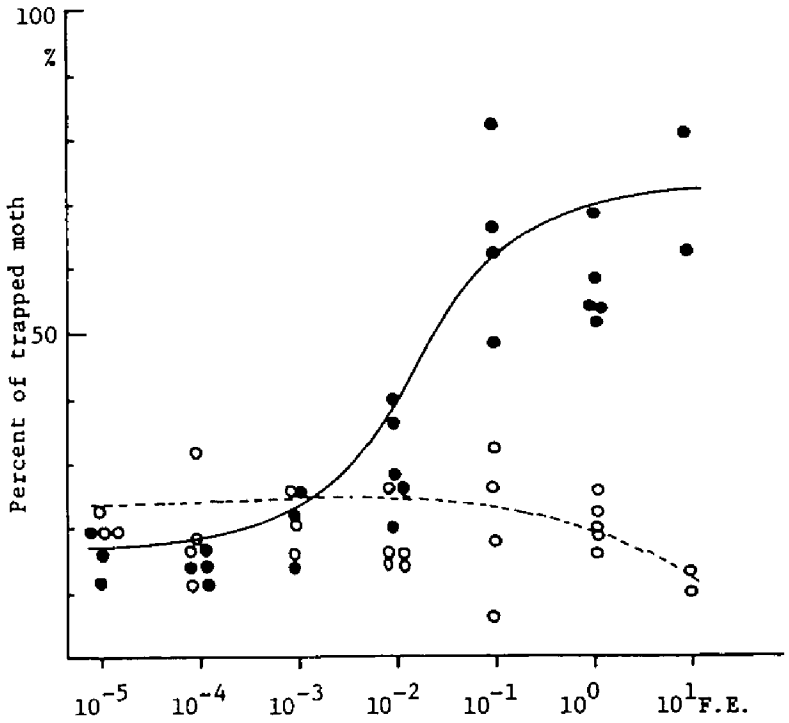


Fig. 5-1-3 Activity of the crude extract of female moths by bioassay method-1

●—● ; pheromone trap, ○--○ ;control trap

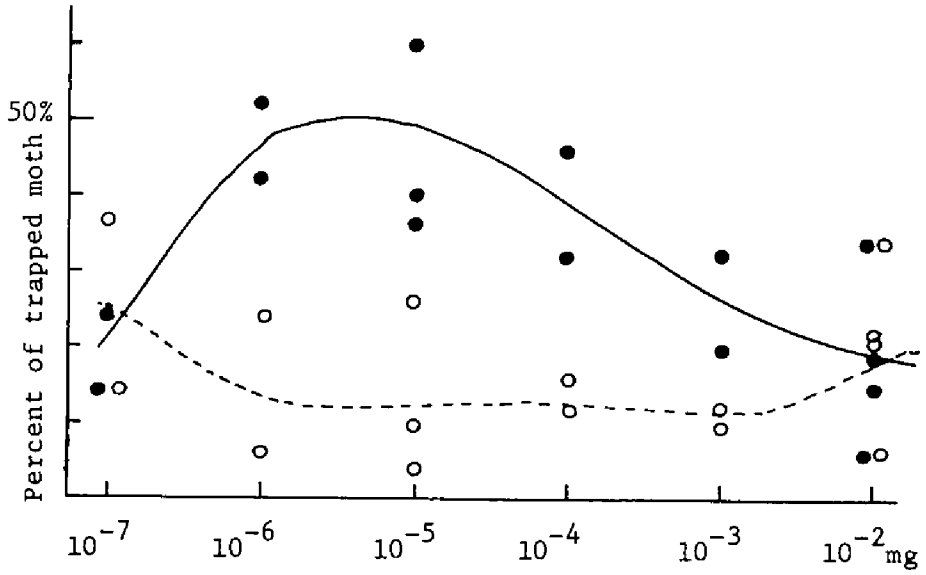


Fig. 5-1-4 Activity of the synthetic sex pheromone by bioassay method-1

●—● ; pheromone trap, o--o ; control trap

ン粗抽出物の誘引性は10^{-2}♀より濃度と共に高くなり，10^{-1}♀以上では誘引性は高いままに保たれている。そして対照区に付着する虫の率は高濃度の試料では減少している。一方，精製フェロモンでは，10^{-5}～10^{-6}mgが最高の誘引率を示すが，誘引される率はせいぜい50％で塩化メチレン粗抽出物の70％には及ばない。10^{-4}，10^{-3}，10^{-2}mg と高濃度になるにしたがって誘引率は低下し，粗抽出物による結果と異なる。生物試験中の雄蛾の行動を観察したが，両試料の場合共に，箱内で雄蛾は活発に飛びまわり，精製フェロモンによって雄蛾の行動が抑制されている可能性は認められない。

生物試験－2では，性フェロモンに曝した場合に雄蛾が示す代表的な3行動，すなわち，バタツキ行動，定位行動，誘引行動を分析し，それぞれの百分率と，フェロモン量の関係を求めた。結果を図5－1－5に示す。両試料共にプロビット変換すると直線となり，3

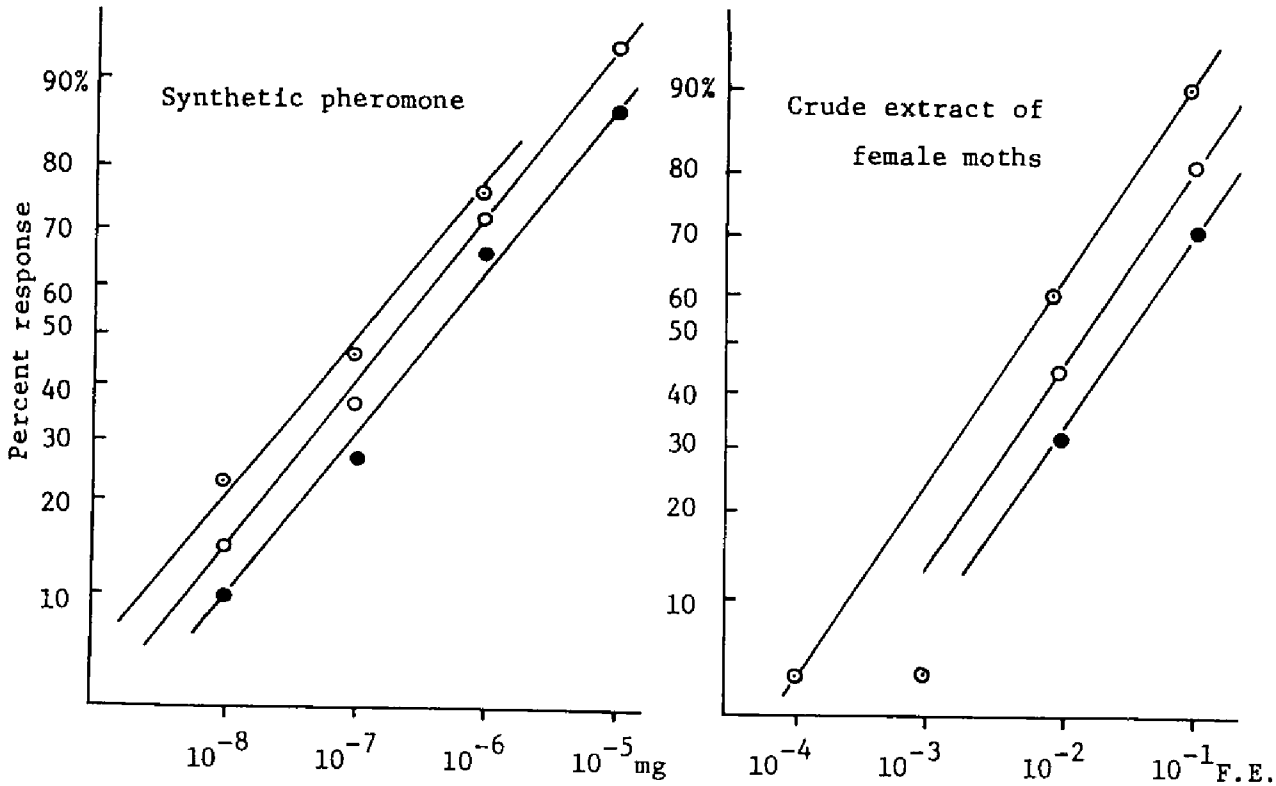


Fig. 5-1-5 Correlation between pheromone-dose and three kinds of behaviour of male moths by bioassay method-2.

●—● ; Wing fluttering, ○—○ ; Orientation, ⊙—⊙ ; Attracted to pheromone source

行動の直線は互に平行になる。生物試験－1の結果と異なり，この試験法では精製フェロモンと粗抽出物の間に顕著な差が認められず，特に高濃度の精製フェロモンが強力な誘引性を示した。

生物試験法－3では，すでにのべたように，塩化メチレン粗抽出物では10^{-3}♀／mℓ，精製フェロモンでは10^{-10}mg／mℓで誘引性を示す。

考　　察

生物試験－1で雌の塩化メチレン粗抽出物と精製フェロモンとで，はっきり異なる結果を得た。この結果は，精製フェロモンの場合，濃度が高くなるとあたかも誘引性を示さないかのようにみえる。しかし，生物試験－2で精製フェロモンが強力な活性を示すことを明らかにした。そこで，この原因を調べるため，生物試験法－2を用いて，ロ紙に含ませたフェロモンの誘引性の経時変化を調べた。結果は図5-1-6に示すように，雌の粗抽出物が3時

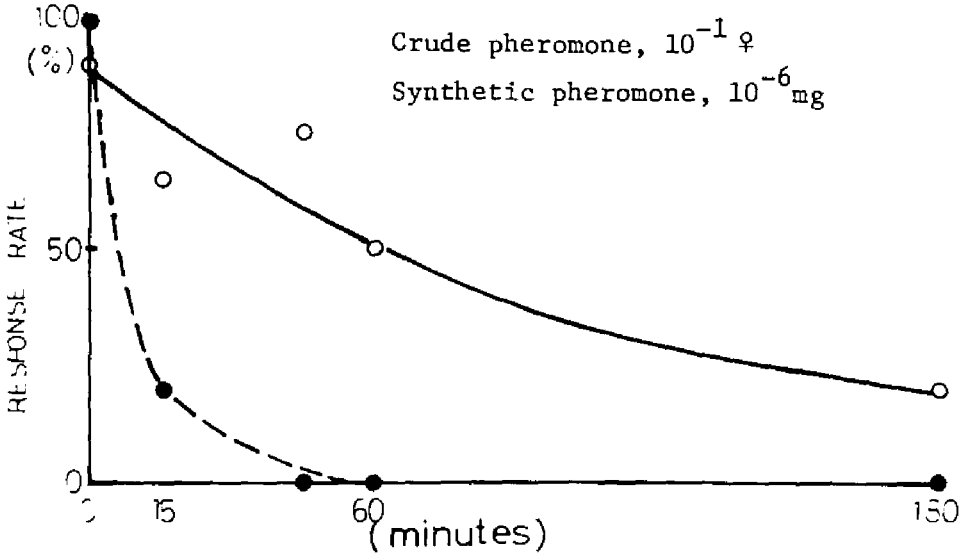


Fig. 5-1-6 Decrease of pheromonal activity in air stream.

間後にも活性を持続するのに比して，精製フェロモンは１時間で活性が完全に消失した。このことから，雌の塩化メチレン粗抽出物ではフェロモン以外に混在する物質（群）が保香剤のような働きをして，フェロモンを長時間，ゆっくり揮散させ，雄蛾の反応に適当な濃度を作りだすものとも考えられる。一方，合成フェロモンは，短時間に一挙に揮散し，生物試験のケージのどの部位も，高濃度になりすぎ，雄蛾が方向性を見失なうことにより，活性がないかのように判断される。

一方，最近Brady らはスジーおよびノシメーマダラメイガの雄成虫を用いて，精製フェロモンに対する誘引性を42.4 m^3の空間で同様にしらべ，スジマダラメイガには性フェロモン以外にそれに協力的に働く物質の存在を示唆した。[55]

以上のべたように，スジマダラメイガの精製フェロモンとフェロモン粗抽出物のケージ内での生物試験成績が異なる原因について，フェロモンの揮散速度の差が問題であると判断したが，ワタアカミムシのPropylure にN，N-diethyl-*m*-toluamideを加えると野外で強力な誘引性を示す例も知られており，Brady 等の提察している第二次物質の存在する可能性も否定できない。[56]

第２節　マダラメイガの配偶行動と性フェロモン

前章でのべたように，スジマダラメイガ性フェロモンには協力的に働く物質の存在する可能性は否定できないが，一方，精製フェロモンだけで強力な誘引性を示すことも明らかである。そこで，ここでは主に３種のマダラメイガを用い，配偶行動における sexual isolation の機構の解明を目的として，生態的，形態的および行動の観察を行なった。その結果，マダラメイガ類４種は羽化時刻および羽化後 calling を行なうまでの時間が相互に異なり，交尾を始める時刻が異なることを明らかにした。また，結婚様式とでも云える配偶行動が２様式に大別できた。このような生態的な分化によってもなお，異種間で交尾を行なうことがあるが，交尾器の形態が異なることにより，安定した完全な交尾に至らず，短時間で終り，産下卵はふ化しない。以上，このような機構により，いずれの機構も決定的ではないが，sexual isolation が行なわれていると思われた。

羽化時刻；

４種のマダライガ類について，蛹から羽化してくる成虫数を，３０分毎に２４時間にわたって測定し，羽化時刻を決定した。測定は飼育条件下（２５℃，１４時間明，１０時間

暗）で行ない，夜間の観察は弱い赤色光下で行なった。得られた結果を図５－２－１に示す。雄と雌の羽化に顕著な差が認められないので，両者の合計を各３０分の羽化数とし，

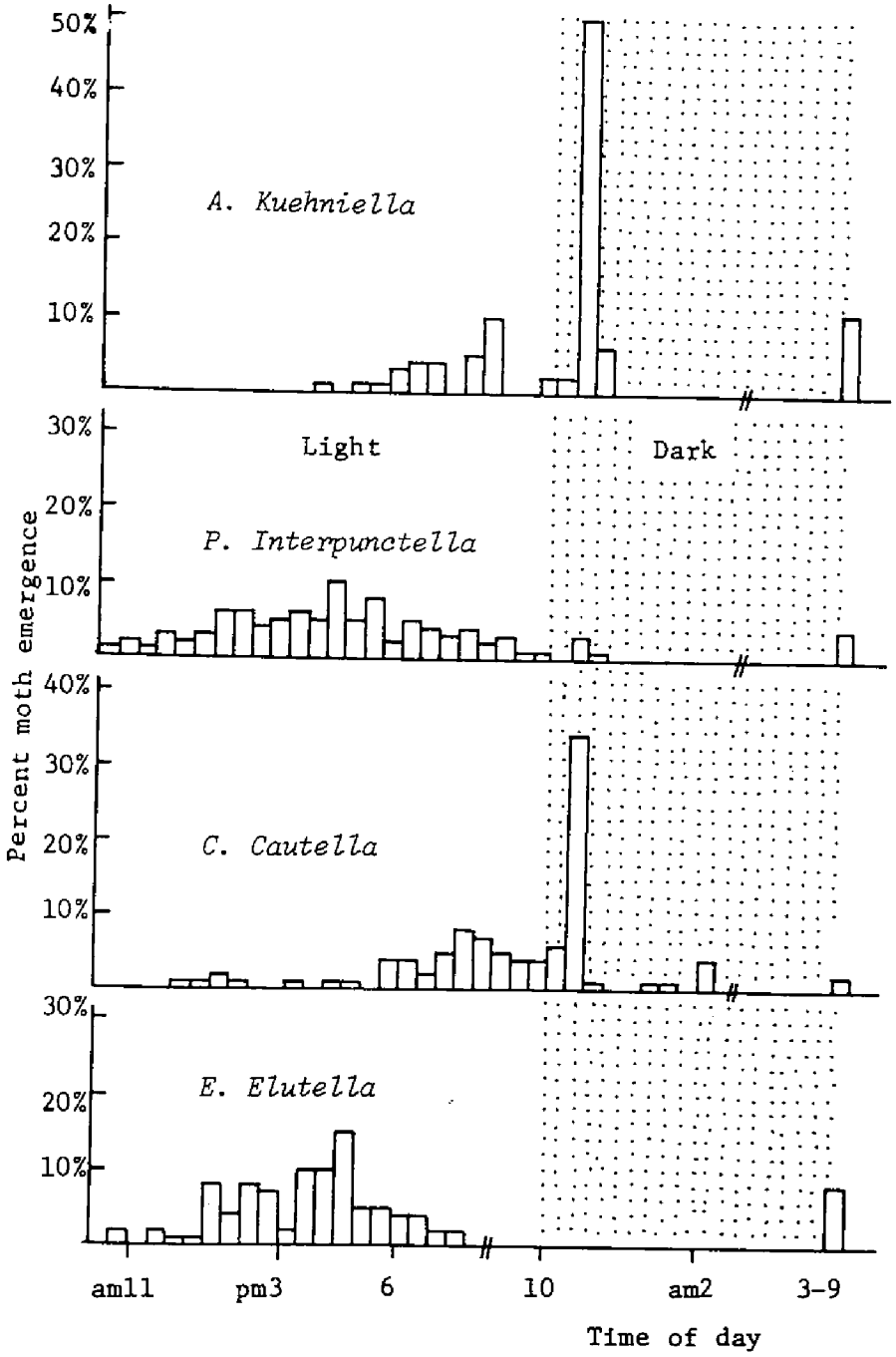


Fig. 5-2-1 Emergence time of phycitid moths.

２４時間内の全羽化数に対する百分率で示した。羽化の様式は４種で，２つの型に分けられる。スジーおよびスジコナーマダラメイガは共に暗期の始まる３０分後から１時間後に至る３０分間に，羽化が最も盛んになる。１日間の全羽化個体数のうち，それぞれ３３％および５０％がこの３０分間に羽化して成虫になる。一方，ノシメマダラメイガとチャマダラメイガは，全く同じ様式を呈し，午後４時から４時３０分頃を中心として，ダラダラと羽化する。

Callingの観察；昆虫の雌成虫が求愛行動として，性フェロモンを発散するために，特別の姿勢をとることが知られている。この独特の姿勢を calling pose と呼び，その姿勢をとることを callingと呼ぶ。この calling pose は種より異なり，マダラメイガ類では体を弓なりにして，上方へ分泌器管を突出すようにする。一方，体をへの字形に曲げて，下方へ突出す種もある。[57] 図５－２－２に４種のマダラメイガの callingを示す。一般的に雌がcallingを行なう時間帯には雄の飛しょう行動が活発になり，交尾が行なわれると考えられる。[58,59] そこで，交尾時刻を推定するために当日に羽化した処女雌蛾２０～５０頭を１０頭毎にポットに入れ，飼育条件で連続３日間，１時間毎に callingを行なっている虫数を観察し，callingの日周性を検討した。暗黒下での観察は弱い赤色光下で行なった。チャマダラメイガを除く３種について，結果を図５－２－３に示す。

スジコナマダラメイガは暗から明へ変る瞬間から callingを始める。また日の経過と共に暗黒下でも callingを始めるにいたる個体数の割合が増加してくる。暗黒下の初期（ｐｍ９時頃）には，常に calling虫数率が最低となる。

ノシメマダラメイガとスジマダラメイガは明から暗に変る直後から callingを始め，明時には calling虫数率が低下する。なお，スジマダラメイガでは，真夜中に一度 callingを中止する時間帯があるように思われる。以上の結果，スジマダラメイガの callingは他の２種と異なる日周変化をすることがわかる。一方，ノシメマダラメイガの観察中，１５分間停電し，昼間に突然暗黒となった（図中矢印で示す）。このため calling虫数率は激増した。この事実は日周性に関係のない明暗変化も callingに影響を与えることを示唆する。

上述の推論を確認するため，さらに，羽化後１時間以内の処女雌１０～２０頭を集め，ポットに入れて，羽化後一定時間明あるいは暗条件下に放置した後，逆の暗あるいは明条件下に移し，日週性と無関係な明暗刺激の callingに対する影響を調べた。結果を図５－２－４に示す。

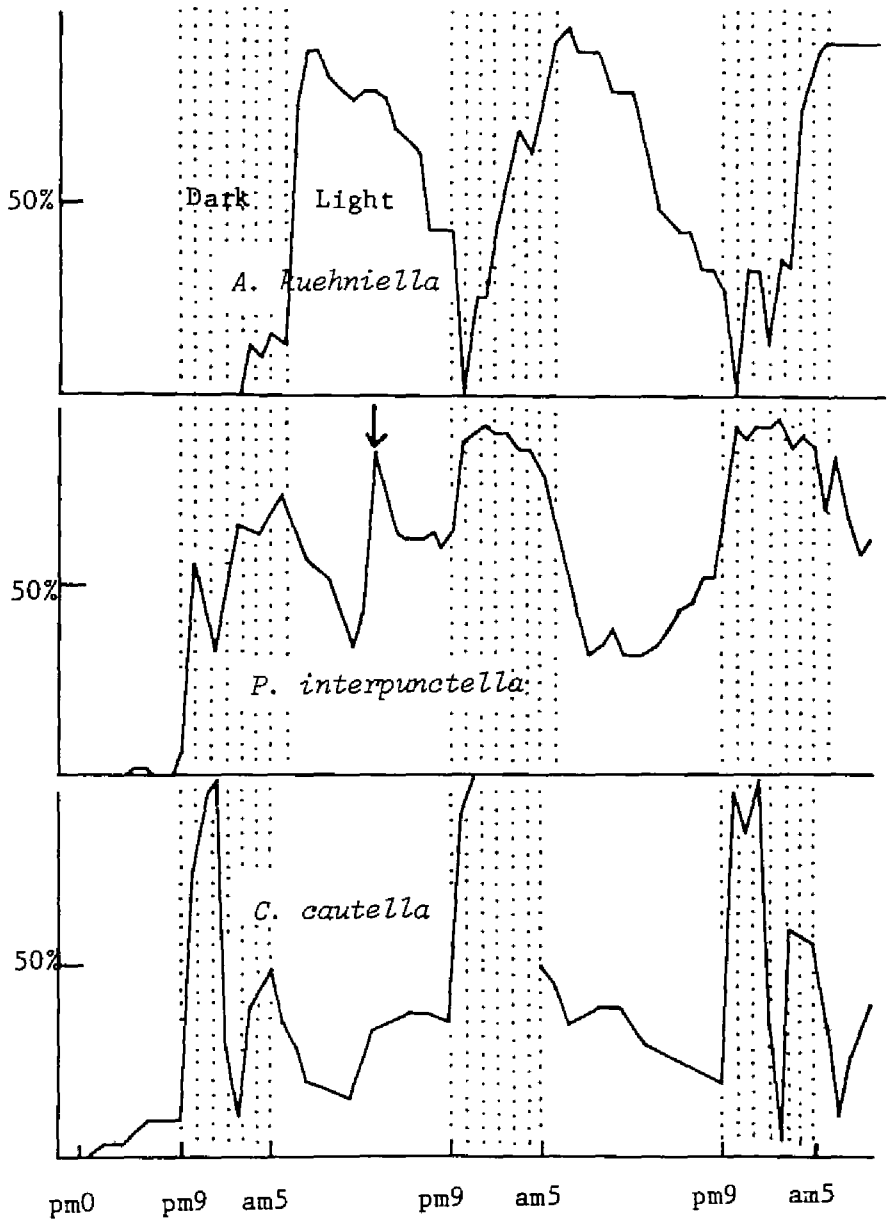


Fig. 5-2 3 Daily rhythm of calling pose exhibited by unmated females

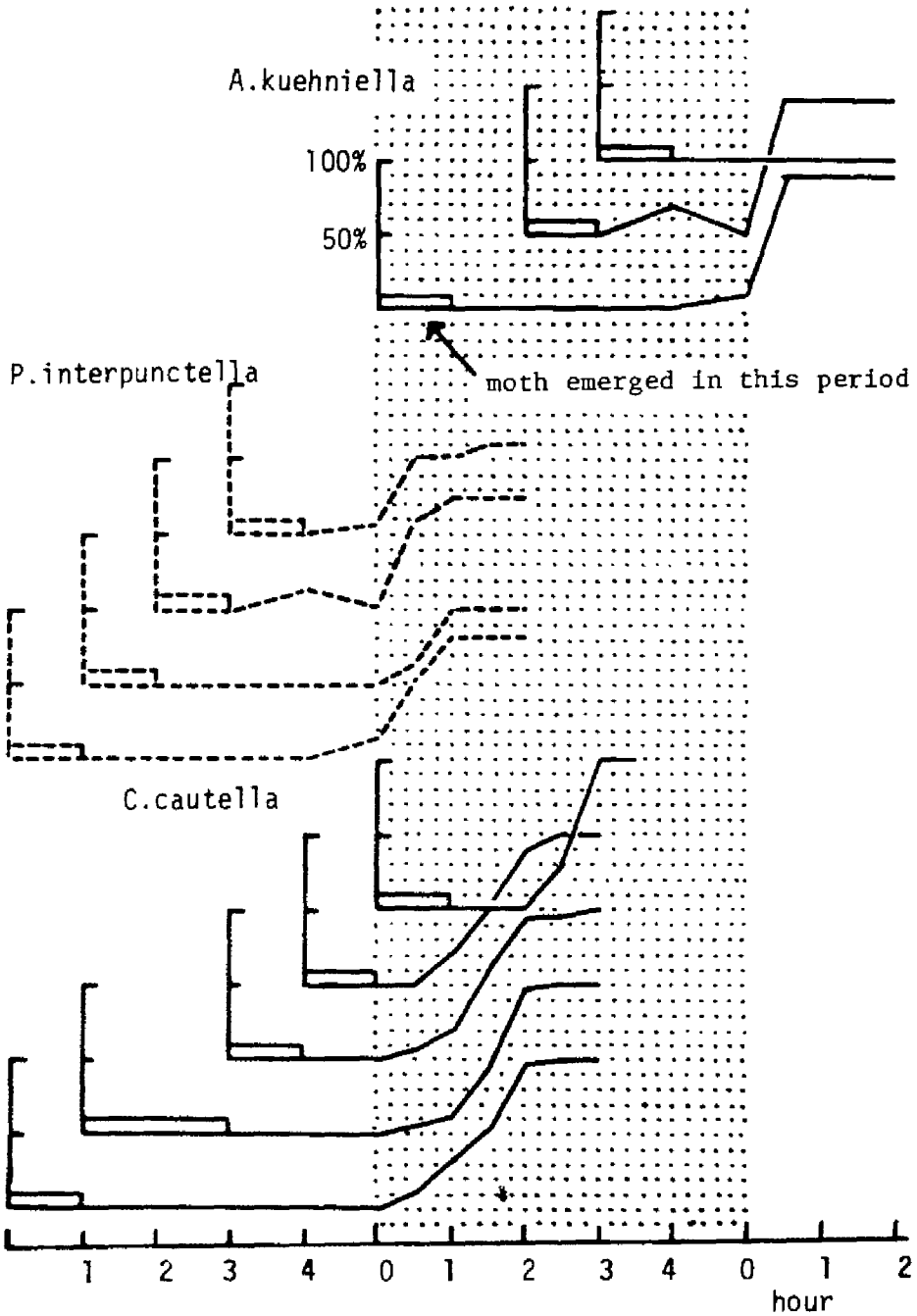


Fig. 5-2-4 Changes in calling behaviour of phycitid moth after emergence under light and dark conditions

日週的明暗条件下では，羽化後少くとも９時間経過しなければ calling を始めないスジコナマダラメイガが，羽化後２～３時間暗条件下に放置するだけで，つづいて明条件下に移すと，３０分以内に calling を始め，他の２種と異なることがわかる。

共によく似た calling の日周変化を示すノシメーおよびスジマダラメイガは両者の羽化時刻を考慮すればやはり異なることがわかる。すなわち，昼間羽化するノシメマダラメイガは羽化後１～２時間明条件下に置き，つづいて暗条件下に移すと calling を始め，１～２時間後に最大の calling 率を示す。一方，スジマダラメイガは，個体群の大部分が暗黒下に羽化するが，この場合には暗条件下で羽化後３時間後に，１００％の calling が観察される。すなわち，暗開始３０分～約１時間後の羽化のピーク時に羽化した成虫は，暗開始約４時間後に calling を行なうことになる。

チャマダラメイガについては，上記のような観察をくわしく行なっていないが，別の実験として，当日羽化した処女雌５３頭を１頭ずつ小型シャーレに隔離して，明条件下で羽化後 calling を開始するまでの時間を測定した。その結果，最短時間は羽化後１０～１５分，最長時間は５時間，５０％の雌が calling を始めるまでの時間は １００ 分と観察された。同じ方法で同様に昼間に羽化するノシメマダラメイガ雌４６頭について観察すると，最短時間５０分，５０％が calling を始めるまでの時間は７時間１０分であり，１０時間後になっても calling を始めない個体が１８％あった。したがって，チャマダラメイガは飼育条件下では，明時間内に大部分が calling を開始し，他の３種の calling 時刻と異なることがわかる。

雄蛾の性フェロモンに対する感受性が日周的に変化し[19,20]，雄蛾の飛しょう行動が活発になる時間帯は雌蛾の calling の時間帯と一致することが知られている[58,59]。したがって，マダラメイガ４種の calling の時間帯がすでにのべたように，互いに異なることから，交尾時刻は４種で互いにすべて異なると推定される。

配偶行動の観察；

マダラメイガ類４種は，すでにのべたように，異種間で誘引し合い，時に交尾を行なうことが観察される。そこで，交尾に至る配偶行動を４種のマダラメイガで観察し，行動の比較を行なった。その結果を模式図として，図５－２－５に示す。マダラメイガ類４種は配偶行動の面から２様式に分割できる。すなわち，calling を行なっている雌蛾に雄が誘引され，雌の尾端に接近すると雌蛾が半回転して雄と向い合い，その後交尾が行なわれる型(I)と，雌の尾端に接近した雄が，さらに雌の正面前までまわり，交尾を完了する型(II)で

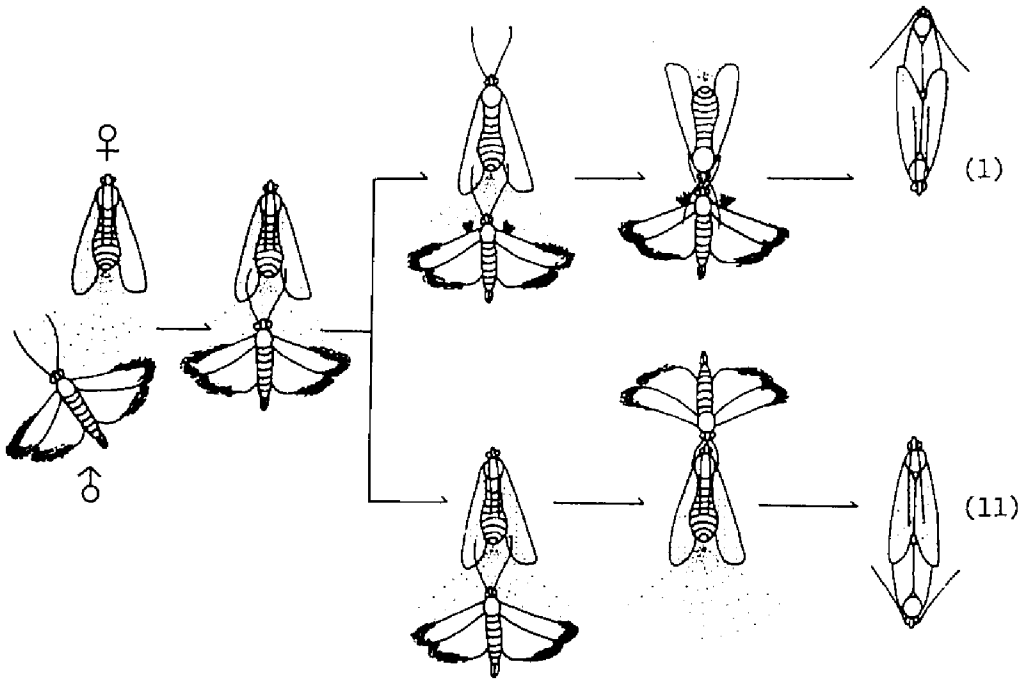


Fig. 5-2-5 Two types of mating behaviour displayed by phycitid moths.

Type (1) ; female turns to approaching male.

Type (11) ; female stands still in the course of mating.

ある。(II)の場合には雌は全く動かない。型(I)を示す種には，スジー，ノシメー，およびチャーマダラメイガがあり，型(II)を示す種はスジコナマダラメイガである。

一方，マダラメイガ類の雄蛾にはツヅリガ亜科（ツヅリガ，ハチミツガ）の雄と同様に，前翅前縁基部にwing gland（ドイツ語名；Borstentrichter）と呼ぶ分泌細胞群を持つ種が知られている。[60] ノシメマダラメイガ，スジマダラメイガおよびチャマダラメイガにはこのwing glandが観察される。しかし，スジコナマダラメイガは全くそれを欠く。した

がって，配偶行動と wing gland の有無について密接な関係があるように思われる。すなわち，雌が積極的に配偶行動に加わり，接近する雄を半回転して待ち受ける種には，その雄に wing gland が存在する。雌は全く動かず，雄の一方的な行動によって交尾が行なわれるスジコナマダラメイガでは，それを欠くことになる。

図５－２－６に蛹から脱皮直後のスジマダラメイガ雄が，翅を伸展して乾かしているところを示す。この時には前翅の wing gland も伸展させており，その存在がよくわかる。図５－２－７にはスジコナマダラメイガ雌に交尾を試みるスジマダラメイガ雄の写真を示す。この時スジマダラメイガ雄の wing gland がドイツ語の意味（ロート状の剛毛）通りに，ロート状に開いていることが観察できる。通常の歩行および飛しょう時には，これはたたみこまれており，雄蛾がフェロモンを感知し，性的に興奮し，雌蛾に誘引され，雌蛾に接近した時，はじめて写真に示されるように，雄蛾は wing gland を開く。

ツヅリガ亜科に属するハチミツガは，wing gland から undecanal を発散することが知られており，male pheromone の分泌器管と考えられている[61]。同様にツヅリガの雄もここから甘い芳香を分泌し，この芳香をつけたガラス棒に，ツヅリガの雌は明らかに誘引される。しかし，ノシメーおよびスジーマダラメイガについて，wing gland の塩化メチレン抽出物をガラス棒につけ，calling 中のそれぞれの雌蛾に与えても，雌蛾は何ら顕著な行動を示さない。したがって，マダラメイガ類の wing gland は，ツヅリガ類の場合ほど，交尾行動に重要性をもっていないように思われる。異種間の雌雄の交尾が観察されることから，たとえ wing gland が何か化学物質を分泌しているとしても，その化合物が種特異性を保持させ，同種の認識の手段として働いているようには思われない。wing gland の働きについては，なお今後の検討に待たなければならないが，配偶行動と wing gland の有無に密接な関係があることは興味深い。

異種間交尾；

マダラメイガ類は異種の雌雄で交尾をすることがある。図５－２－８にノシメマダラメイガ雌とスジマダラメイガ雄の交尾の写真を示す。チャマダラメイガを除く３種で，異種間交尾を検討した結果，同種間を含めて９種の組合せのうち，ノシメマダラメイガ雌とスジコナマダラメイガ雄の組合せを除く，８種の組合せで，それぞれ交尾が観察できた。しかし，同種間での交尾継続時間が，ノシメマダラメイガ約６０分，スジーおよびスジコナーマダラメイガで約 100 分と観察されるに比較して，異種間では１４分を最長記録として，すべて短時間に終ることを認めた（図５－２－９）。交尾器の形態が互いに異なると

とが知られており[62]，そのため完全な交尾が行なわれないと想像される。

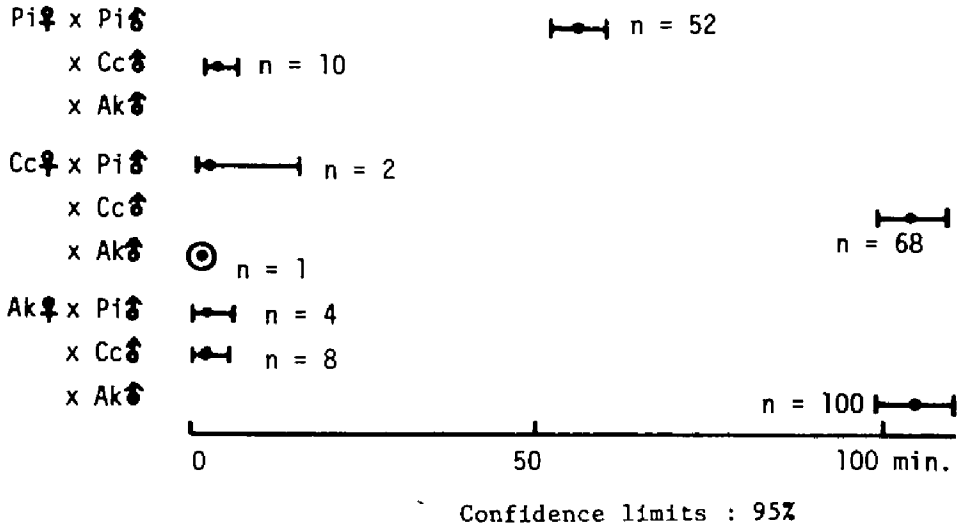


Fig. 5-2-9 Duration of mating in phycitid moths

異種の雄と交尾した雌は，再び calling を行ない，その産下卵はふ化しない。また，calling を再開した雌は，その後同種雄と交尾して，正常な受精卵を産下することが観察される。このような事実から考えて，同一化合物をそのフェロモンとするマダラメイガ類は最終的な isolation の機構として，種それぞれの形態の相違を利用していると考えられる。

以上，生態，行動，形態を観察した結果をまとめると，羽化時刻およびそれにつづく，calling の時刻の相違により，マダラメイガ類4種はすべて相互に異なる時刻に交尾を行なう，いわば，交尾に関して〃住み別け〃を行なっていることが判明した。配偶行動の様式が2つの型に別けられ，一方の型を示す種の雄には wing gland が存在することを認めた。しかし，生態および行動の分化のみで，すべては解決せず，異種間で交尾することが時に観察されるが，この場合には形態的な障害のためか完全な交尾（受精）にならないと思われる。

第6章 まとめ

同種の昆虫個体間で通信手段として働く活性物質を一般にフェロモンと定義し[15.63]，特に雌雄間で働く物質を性フェロモンという。本論文の第2章までに述べたとおり，マダラメイガ亜科に属する3種の昆虫の性フェロモンの単離および構造決定に関する研究を完成した。

性フェロモンの歴史は，1959年 Butenandt らがカイコガ *Bombyx mori* の雌から分泌発散される性フェロモン Bombykol を単離したとき[16]から始まった。その後現在までに性フェロモンとしてその構造が明らかにされている昆虫*は筆者の研究したマダラメイガ類3種を含めて24種[13.14.31.35～40.54.61.64～75]である。

性フェロモンはその作用性から，同種個体間でのみ働く，換言すれば，種特異性が極めて高い物質と考えられてきた[77]。しかし，本論文で取り扱ったマダラメイガ亜科3種の昆虫の性フェロモンは同一化合物であり，したがって，まったく種特異性がないことが明らかとなった。もっとも性フェロモンの種特異性が必ずしも存在しない事実は，すでにヤママユガ科[78.79.80]，ヤガ科[81.82.83]，ハマキガ科[84]，ホソハマキガ科[38]，ヒトリガ科[75]，カツオブシムシ科[72]，ドクガ科[85.87]，ミツバチ科[88]に属する昆虫において認められ，種特異性ばかりか，属特異性もない事例が見つけられてきた。しかし，マダラメイガ亜科3種の昆虫のように，互に同所種の関係にありながら，それらの性フェロモンが同一化合物であるという事例は，ハマキガ科[54]とホソハマキガ科[38]にあるが，それらとともにこのマダラメイガ亜科昆虫の場合が数少ない例の一つである。

マダラメイガ亜科昆虫の性フェロモンの単離，構造決定の過程で，つぎのような諸点において，創意工夫を施して，この研究の遂行に役立てた。すなわち，性フェロモン含量の雌生体内での消長の検討，3種のマダラメイガ雌成虫の大量飼育法の確立，微量の粗製フェロモンを用いての化学構造の推定，また単離された性フェロモンがその本来の特性から極めて少量しか得られないために，その微量による構造決定など本研究の内容の一つの特

注）性フェロモンと定義してよいかどうか不明なキクイムシ類のフェロモンと，作用が不明なマダラチョウ類およびヤガ類の hair pencil secretion は除外した。

徴と考えている。

また性フェロモンの単離の過程でアルコール性画分に，アセチル化すればフェロモン活性を示す物質の存在を知り，この物質が *cis*-9, *trans*-12-tetradecadienol-1であることを単離同定した。このアルコールは，マダラメイガ類3種にすべて含まれており，雄に含まれず，フェロモンの生成よりも早い時期の雌虫体に含まれていることから，性フェロモンの前駆体と考えた。このような性フェロモンの前駆体が指摘された例は今までにカイコガ以外にはない。[89, 90]

スジー，ノシメー，およびスジコナーマダラメイガの3種の昆虫が互に同所種でありながら，同一化合物を性フェロモンとしている事実は，それらの昆虫が自然界において，どのような様式によって，互に配偶相手を識別するのかという問題，言い換えれば，それらの sexual isolation の機構の問題を提起する。この問題に検討を加えた結果が本論文の後半に述べられている。

sexual isolation の機構として，第二次物質がそれに関与する場合と生態的な分化によると考えられている場合が知られている。[38, 54, 91, 92, 93] そこでまず合成した純粋な性フェロモンと雌蛾より塩化メチレンで抽出しただけの粗製フェロモンとを3種類の生物試験法で比較検討し，第二次物質の存在の可能性を検討した。その結果，野外試験に近いケージを用いた試験法では，その他の2方法による生物試験結果と異なり，精製フェロモンがほとんど誘引性を示さないかのような印象を受けたが，一定の気流中に置いた両試料の誘引性の経時的変化を調べると，精製フェロモンが顕著に活性を失うことから，両者のケージ内での誘引性の相違はフェロモンの揮散速度に関係があるように思われた。

一方，4種のマダラメイガについて，生態，行動，形態の面から sexual isolation の機構の検討を行ない，4種の交尾時刻が互いに異なり，交尾に関して時間的な〃住み別け〃をしていること，配偶行動が2様式に分割でき，一方の型を示す種の雄には必ず wing gland が存在し，配偶行動時にはそれを開くことを認めた。異種間で交尾をすることが観察されるが，その場合，交尾の継続時間が短く，その後雌は同種の雄と正常に交尾し，受精卵を産下することから，異種間での交尾は，交尾器の形態の相違により物理的に妨げられていると思われた。

以上によりマダラメイガ類は生態的，行動上および形態においても，それぞれ互に分化して，sexual isolation していると考えられ，同じ場所で共存して生息できる理論的可能性を明らかにした。

マダラメイガ亜科昆虫3種の性フェロモンを明らかにし，それらの sexual isolation

に重要な役割を果していると考えられる点を指摘したが，これらの結果は昆虫性フェロモンの今後の研究に資するところが大きいものと確信している。

文　献

1. G.R. Dickins ; *Trans R. Ent. Soc. Lond.* 85 331(1936)
2. O.W. Richards, W.S. Thompson ; *ibid.* 80 169 (1932)
3. M.J. Norris ; *Proc. Zool. Soc. London* 1933 903(1933)
4. I. Schwink ; *Z. vergl. Physiol.* 35 167(1953)
5. U.E. Brady E.B. Smithaick ; *Ann. Entomol. Soc.* 61 1260
6. R.M.M. Traynier ; *Can. Entomol.* 100 5(1968)
7. R.M.M. Traynier ; *ibid.* 102 534(1970)
8. R. Barth ; *Zool. Jb.(Abilg. allg. Zool. und Physiol. Tiere)* 58
9. 河野常盛；米麦貯蔵の理論と実際（河出書房 1951） P294, P301
10. 桐谷圭治；植物防疫 15 5(1961)
11. 川崎倫一；植物防疫 15 317(1961)
12. 高岡市郎；中沢邦男；奏野たばこ報告 41 1(1956)
13. Y. Kuwahara, C. Kitamura, S. Takahashi, H. Hara, S. Ishii, H. Fukami ; *Science* 171 801(1971)
14. Y. Kuwahara, H. Hara, S. Ishii, H. Fukami ; *Agr. Biol. Chem.* 35 447(1971)
15. P. Karlson, A. Butenandt ; *Ann. Rev. Entomol.* 4 39(1959)
16. A. Butenandt, R. Beckmann, E. Hecker ; *Z. phyiol. Chem.* 324 71(1961)
17. Y. Kuwahara, C. Kitamura, F. Takahashi, H. Fukami ; *Botyu-Kagaku* 33 158(1968)
18. H.H. Toba, A.N. Kishaba, W.W. Wolf ; *J. Econ. Entomol.* 61 812 (1968)
19. Y. Tamaki, H. Noguchi, T. Yushima ; *Botyu-Kagaku* 34 107(1969)
20. H.H. Shorey, L.K. Gaston ; *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 58 597(1965)
21. 高橋史樹；応動昆 5 185(1961)
22. R.A. Steinbrecht ; *Z. vergl. Physiol.* 48 341(1964)

23. H.H.Shorey S.U.McFarland, L.K.Gaston ; *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 61 372(1968)

24. 高橋史樹, 六浦晃 ; 応動昆 8 129(1964)

25. F.Takahashi, C.Kitamura, Y.Kuwahara, H. Fukami ; *Botyu-Kagaku* 33 163(1968)

26. 高橋史樹 ; 応動雑 21 170(1956)

27. 〃 ; 個体群生態学の研究 3 27(1956)

28. 北村実彬 ; 卒業論文(1968)

29. F.Takahashi, Y.Kuwahara ; *Botyu-Kagaku* 35 11(1970)

30. I.Tomida, S.Ishii ; *Appl. Ent. Zool.* 3 108(1968)

31. J.A.Klun, T.A.Brindley ; *J. Econ. Entomol.* 63 779(1970)

32. L.M.McDonough, D.A.George, B.J.Landis ; *ibid.* 63 408 (1970)

33. E.Bayer ; *J. Gas. chromatography* 4 67(1966)

34. T.K.Miwa, K.L.Mikolajczak F.R.Earle I.A.Woff ; *Anal. Chem.* 32 1739(1960)

35. R.C.Berger ; *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 59 766(1966)

36. A.A.Sekul A.N.Sparks ; *J. Econ. Entomol.* 60 1270(1967)

37. W.L.Roelofs H.Arm ; *Nature* 219 513(1968)

38. W.L.Roelofs A.Comeau R.Stelle ; *ibid.* 224 723(1969)

39. B.A.Bierl, M.Beroga C.W.Collier ; Science 170 87(1970)

40. M.Jacobson R.E.Redfern W.A.Jones M.H.Aldridge ; *ibid.* 170 542(1970)

41. M.Beroza, B.A.Bierl ; *Anal. Chem.* 38 1976(1966)

42. 〃 ; *ibid.* 39 1131(1967)

43. R.A.Raphael ; Acetylenic Compounds in Organic Synthesis (中川正澄訳 朝倉書店 1963) P23

44. W.J.Gensler, G.R.Thomas ; J.Am.Chem.Soc. 73 4601(1951)

45. H.Taniguchi, I.M.Mathai, S.L.Miller ; *Tetrahedron* 22 867 (1966)

46. A. Tai, F.Matsumura, H.C.Coppel ; *J. Org. Chem.* 34 2180(1969)

47. U.Schollkopf ; *Angew. Chem.* 71 260(1959)

48. L.D.Bergelson, M.M.Shemyakin ; *Tetrahedron* 19 149(1963)

49. J.P.Kass, G.O.Burr ; *J. Am. Chem. Soc.* 61 1062(1939)

50. 松村興一, 森田桂 ; 武田研究所報 30 154(1970)

51. J.M.Purcell, S.G.Morris H.Susi ; *Anal. Chem.* 38 588(1966)

52. H.Lindlar ; *Helv. Chim. Acta.* 57 446(1952)

53. 美矢豊文 卒業論文(1969)

54. W.L.Roelofs J.P. Tette; *Nature* 226 1172(1970)

55. U.E.Brady J.H.Tumlinson Ⅱ, R.G.Brownlee, R.M.Silverstein; *Science* 171 802(1971)

56. W.A.Jones M. Jacobson; *ibid.* 159 99(1968)

57. Y.Tamaki, H.Noguchi, T.Yushima ; *Botyu-Kagaku* 34 97(1969)

58. L.L.Sower, H.H.Shorey L.K.Gaston ; *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 63 1090(1970)

59. 佐々木正己, 一瀬太良 ; 応動昆講演要旨 P5(1971)

60. R.Barth ; *Z. wiss. Zool.* 150 1(1937)

61. H.Roller, K.Biemann, J.S.Bjerke, D.W.Norgard, W.H.McShan; *Acta ent. behemoslov.* 65 208(1968)

62. C.Heinrich ; *United State National Museum Bulletin* 207 Smithonian Institute Washington D.C. (1956)

63. P.Karlson, M.Lüscher ; *Nature* 183 55(1959)

64. A.Butenandt, N.D.Tam ; *Z. physiol. Chem.* 308 277(1957)

65. A.Butenandt, R.Beckmann, D.Stamm, E.Hecker ; *Z. Naturforsch.* 14b 283(1959)

66. A.Butenandt, E.Hecker ; *Angew. Chem.* 73 349(1961)

67. W.A.Jones, M.Jacobson, D.F.Martin ; *Science* 152 1516(1966)

68. R.M.Silverstein, J.O.Rodin ; *ibid* 157 85(1967)

69. J.S.Read, F.L.Warren ; *Chem. Commun.* 1968 792

70. M.Jacobsom C.E.Lilly, C.Harding ; *Science* 159 208(1968)

71. N.E.Gary ; *ibid.* 136 778(1962)

72. J.O.Rodin, R.M.Silverstein, W.E.Burkholder, J.E.Gorman ; *ibid.* 165 904(1969)

73. J.H.Tumlinson, D.D.Hardee, R.C.Gueldner A.C.Thompson P.A.Hedin, J.P.Minyard ; *ibid.* 166 1010(1969)

74. R.F.Henzell M.D.Lowe ; *ibid.* 168 1005(1970)

75. W.L.Roelofs R.T.Carde ; *ibid.* 171 685(1971)

76. Y.Tamaki, H.Noguchi, T. Yushima C. Hirano ; *Appl. Ent. Zool.* (1971) in press

77. 石井象二郎；昆虫の生理活性物質（南江堂，東京1969） P117

78. 竹田寛；*J. of the Shinshu Univ.* 13 1(1957)

79. E.Priesner ; *Z. vergl. Physiolog.* 61 263(1968)

80. D.Schneider ; *J. Inseet. Physiol.* 8 15(1962)

81. H.H.Shorey, L.K.Gaston ; *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 58 600(1965)

82. R.S.Berger, T.D.Canerday ; *J. Econ. Entomol.* 61 452(1968)

83. W.L.Roelofs A. Comeau ; *ibid.* 63 969(1970)

84. C.J. Sandars ; *Science* 171 911(1971)

85. K.Gornitz ; *Anz. Schädlingskunde* 22 145(1949)

86. I. Schwink ; *Z. angew. Entomol.* 37 349(1955)

87. K.G.Adlung ; *ibid.* 54 304(1964)

88. C.G.Butler, D.H.Calam, R.H.Callow ; *Nature* 213 423(1967)

89. A.Butenandt ; *Naturwiss.Rdsch.* 8 457(1955)

90. A.Butenandt ; *Nova Acta Leopoldina. N.F.* 17 445(1955)

91. 小原嘉明；植物防疫 22 478(1968)

92. A.Manning ; *Ann. Rev. Entomol.* 12 471(1967)

93. M.Wilson, W.H.Bossert ; *Recent Prog. Homone Res.* 19 678 (1963)