

Phytochemicals for Pest Control that Restrain the Voracity of *Spodoptera litura* Larvae

ハスモンヨトウの暴食を抑える方法による害虫制御の可能性の探求

MAYA UEMURA¹ RYU NAKATA², TATSUYA YOSHIDA² & NAOKI MORI^{2*}

植村麻弥¹, 中田隆², 吉田達哉², 森直樹^{2*}

¹Mie Prefectural Tsu High School, 3-1-1 Shinmachi, Tsu, Mie 514-0042, Japan

²Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kitashirakawa Oiwake-cho, Sakyou-ku, Kyoto, Kyoto 606-8502, Japan

* mokurin@kais.kyoto-u.ac.jp

¹三重県立津高等学校 (〒514-0042 三重県津市新町3-1-1)

²京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻 (〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町)

* mokurin@kais.kyoto-u.ac.jp

Abstract

The common cutworm, *Spodoptera litura* (F.), is one of the most destructive polyphagous pests in the world. To identify phytochemicals that can restrain the voracity of *S. litura* larvae and thus be used for pest control, the larvae were fed leaves from unidentified *Lavandula* sp. (Lamiaceae), Japanese pepper (Rutaceae: *Zanthoxylum piperitum*), Japanese mustard spinach (Brassicaceae: *Brassica rapa* var. *perviridis*), narrowleaf angelonia (Scrophulariaceae: *Angelonia salicariifolia*), and soybean (Fabaceae: *Glycine max* var. *Tamahomare*). We observed that *S. litura* larval growth was clearly inhibited by Japanese mustard spinach and narrowleaf angelonia leaves. Larvae that were fed leaves from these two species weighed less than larvae that were fed soybean leaves. When we determined the amounts of mono-, di-, tri-, and tetrasaccharides in *S. litura* larvae that were fed either Japanese mustard spinach, narrowleaf angelonia, or soybean (Tamahomare) leaves, we found lower levels of these sugars in larvae that were fed leaves from the former two plant species.

Key words: *Spodoptera litura*, Phytochemicals, Saccharides

要旨

チョウ目幼虫であるハスモンヨトウは広い食性を持つ重要害虫の一種であり、世界中に分布する。幼虫は暴食するからこそ害虫になりうる。本研究では、暴食を抑える植物由来の化学成分発見を目指して、ラベンダーの未同定種（シソ科）・サンショウ（ミカン科）・コマツナ幼苗（アブラナ科）・アングロニア（オオバコ科）・ダイズ（タマホマレ）（マメ科）をハスモンヨトウに与え、その生育の様子を調べた。ハスモンヨトウ幼虫の生育はラベンダー未同定種・サンショウ・コマツナ若芽・アングロニアで確認した。このうち、ダイズと比較すると、サンショウ・アングロニアで有意に体重増加は阻害されていた。また、ハスモンヨトウ体内の単糖類から四糖類を分析したところ、サンショウ・アングロニアを与えたハスモンヨトウ血中の多糖類は有意に減少していた。

重要語句: ハスモンヨトウ、植物性化学成分、多糖類

序論

チョウ目ヤガ科のハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) は極めて広食性の昆虫であり、野菜や果物などの作物を食害する。暖地系の害虫で(1)、休眠性がないため日本では関東中部以南に生息する。近い将来、地球温暖化等による気候変動でハスモンヨトウが東北以北において発生するようになると、国内の農業や食品産業に大きな影響を与えると予想できる。

防除策として、薬剤や防虫ネットが挙げられる。また、若齢幼虫に昆虫成長制御剤は効果的だが、老齢幼虫に対しては効果が低い。最近では殺虫剤耐性を持つ害虫も存在し(2)、防虫ネットを利用しても、ネット上やハウス資材上に産卵すると幼虫が侵入するため完全に防除するのは難しい。

農業において、出荷できる量が確保できれば農業は成り立つ。自然界からハスモンヨトウの成長を阻害する物質を発見し、農学に応用できれば、これからの日本の農業などに活用できると思われる。チョウ目幼虫は暴食できるので、害虫化する。その制御を目的に殺虫剤が開発されるが、殺すが故に幼虫側の抵抗性も出現しやすいと考えた。そこで、幼虫を殺さず、その暴食を抑える植物性の化学物質の探索を試みた。本概念から開発される害虫の制御剤は幼虫を殺さず、そのパフォーマンスを抑えることで作物を保護することを目的とする。このような薬剤には幼虫側の抵抗性が発達し難い側面を与えることが出来るのではないだろうか。

試料と方法

事前にハスモンヨトウに有害な植物の目星をつけ、実習でその植物もしくはダイズを摂食させた個体の体液を分析し、比較した。

予備実験

サンショウ（自宅）、未同定種ラベンダー（自宅）、コマツナ若芽をハスモンヨトウに与え、摂食後数日間の様子を観察した。コントロールには人工飼料を用いた。実験には孵化後 17～21 日のハスモンヨトウ終齢幼虫を用いた。

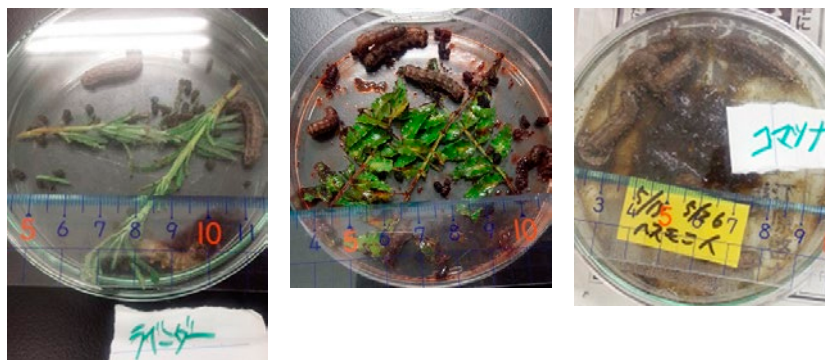


Fig. 1. 左から順に、ハスモンヨトウにラベンダー (2015/6/7)、サンショウ (2015/6/9)、コマツナ若芽 (2015/6/3) を与えた写真。

候補植物の生育阻害活性評価

実習では、アンゲロニア (エンジェルラベンダー) とサンショウを用意し、3日間食べさせて毎日体重を測定した。コントロールにはタマホマレ (ダイズ) を用いた。

ハスモンヨトウ血液中の多糖類の分析

それぞれの植物を与えた際のハスモンヨトウの代謝への影響をみるため、ハスモンヨトウ幼虫にアンゲロニア、サンショウ、タマホマレを与えてそれぞれ育成し、次の手順で LCMS を用いて血液中の糖を分析した。ハスモンヨトウの体液を取り、氷上で同量の 100% エタノールと混ぜ、80℃の温浴中で 10 分温めた。それを 5 分間遠心し、上澄み液 25 μ l を取り、PMP (1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone) と体液中の糖を反応させた。誘導体化した糖をスピニカラム (MonoSpin C18) で精製し、LCMS で分析した。

結果

予備実験の結果

ラベンダー (未同定種) を与えた全個体は摂食を開始した 2 日後に死亡した。目立った外傷は無く、体に健康な個体よりも多く水分が含まれているような感触がした。また、サンショウを与えた個体のうち何体かは生き残った。糞の色がコントロールに比べて赤っぽくなっており、液状になっているものもあった。コマツナ若芽を与えたものは摂食開始の翌日に全滅した。糞は茶色で下痢のようになっていた (Fig.1)。このことからこれらの植物にはハスモンヨトウに対するなんらかの毒性があり、特に、未同定種ラベンダーやコマツナ若芽には強い毒成分が含まれると示唆された。

候補植物の生育阻害活性評価

アンゲロニア及びサンショウを与えた個体では、タマホマレを与えた個体に比べ、体重は増加しなかった (Fig.2)。このことから、アンゲロニアおよびサンショウがハスモンヨトウの生育阻害活性を持つことが示唆された。

ハスモンヨトウ血液中の多糖類の分析

タマホマレを与えた個体に比べ、アンゲロニアとサンショウを与えた個体の体液中のグルコース量は減少した。また、タマホマレを与えた個体で検出されたパントースがアンゲロニアとサンショウを与えた個体の体液中には少なかった (Fig.3)。このことからアンゲロニアとサンショウがハスモンヨトウの糖代謝に何らかの影響を及ぼすことが示唆された。

考察

予備実験において、コマツナ若芽・ラベンダー (未同定種) を与えたハスモンヨトウ幼虫が翌日あるいは 2 日目に全滅したが、特にコマツナ若芽に注目した。実際の農業現場では、コマツナはハスモンヨトウに食害されることが知られている (3)。それにもかかわらず、コマツナの若芽には明確なハスモンヨトウ殺虫活性が確認された。同様な現象はトウモロコシでも知られている。トウモロコシ葉に含まれる DIMBOA (2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one) は幼苗時には植物体に高濃度で含まれており、幼苗時に昆虫の食害から身を守っていると考えられている (森直樹, 私信)。今回の結果は、同様な現象がコマツナでも起こっていると考えられた。著者らが知る限り、コマツナ若芽におけるハスモンヨトウ殺虫成分の報告はない。

本研究では、幼虫の抵抗性発現を抑えつつも幼虫の暴食を抑えることで作物を保護する方法論の確立に向けて研究を行った。すなわち、植物成分に殺虫成分の同定は本研究の目的ではない。しかしながら、今後は、コマツナ若芽に含まれる本活性物質の同定が望まれる。

候補植物の生育阻害活性評価およびハスモンヨトウ血液中の多糖類の分析の実験から、アンゲロニア及びサンショウには、ハスモンヨトウの暴食を抑える成分がある可能性が示唆された。実際にこれらの植物を与えたハスモンヨトウの血中の多糖類はハスモンヨトウに抵抗性を持たないタマホマレを与えた場合と比較して、大きく減少していた。本実験では、血中多糖類の現象とハスモンヨトウの生育阻害を直接関連付けることは出来なかったが、今後何らかの指針となる結果と考える。

今回得られた結果を踏まえて、いくつかの課題点が見つかった。第一に、この分析手法ではハスモンヨトウの血糖であるトレハロースを検出することができなかった点がある。血中のト

ハスモンの体重の変化(平均値)

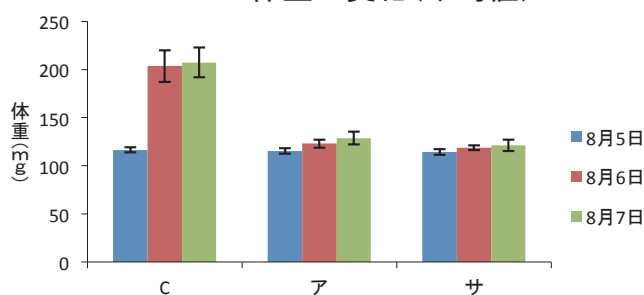
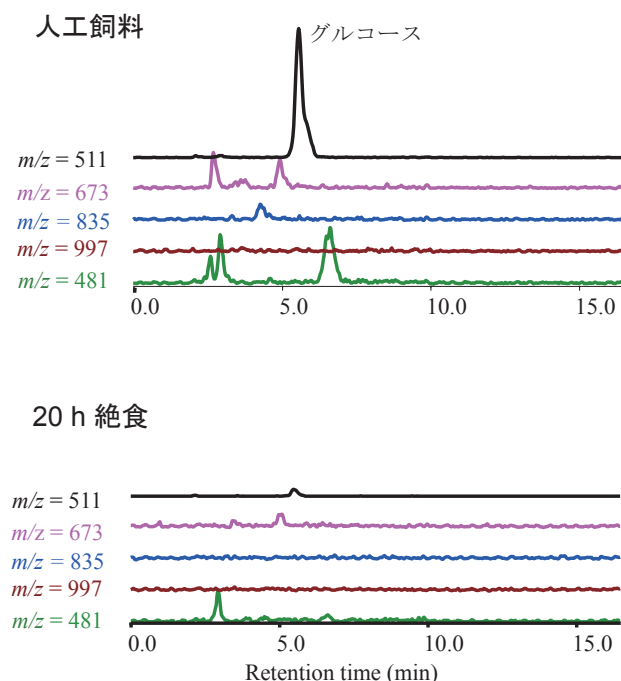
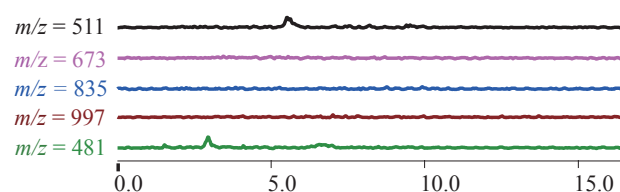


Fig. 2. ハスモンヨトウの三日間の体重変化 (各 5 体の平均値 $\pm$ SEM)。

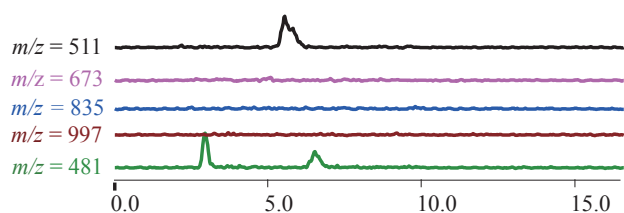
C, タマホマレ; A, アンゲロニア; S, サンショウ



アンゲロニア



タマホマレ



サンショウ

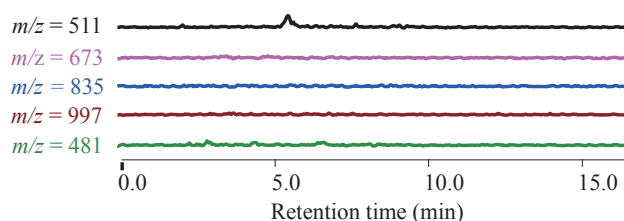


Fig. 3. LC/MS における多糖類の分析結果. 左から人工飼料、20h 絶食、右上からアンゲロニア、タマホマレ、サンショウ.

$m/z = 511$, 単糖類; $m/z = 673$, 二糖類; $m/z = 835$, 三糖類; $m/z = 997$, 四糖類; $m/z = 481$, ペントース

レハロース検出のために、別の分析手法を検討する必要がある。また、用いた植物が含む糖の組成や量、ハスモンヨトウの腸内や排泄物の糖の組成なども調べる必要がある。

今回、広食性で知られる害虫ハスモンヨトウ幼虫に身近な植物を与え、その生育を観察するとともに、血中の多糖類の化学的な検出を行った。得られた結果は僅かであるが、身近な植物にも害虫ハスモンヨトウに抵抗性があることを知った。植物と昆虫の「食う－食われる」の関係の一端を垣間見ることが出来た。また、本研究を通して「コマツナ若芽にハスモンヨトウ殺虫成分が含まれること」、「生育阻害を受けたハスモンヨトウの血中には多糖成分が減少していること」を明らかにした。著者らが知る限り、これらは新知見である。

謝辞

今回に実験が行えたのは、多くの方のご協力あってのことです。担当の農学部応用生命科の松浦教授、三重県立津高等学校 SSC 生物部齋藤氏をはじめとする部員の皆様、及び顧問の先生方、ELCAS 基盤コース後期から、実験をはじめ様々なことで

ご指導、ご協力を頂きましたことを心より感謝いたします。

今回、学術的に興味深いテーマと出会えたので、できれば、植村が京都大学に入学後、科学的側面から再び本テーマに取り組みたいと考えています。

また、この実験はハスモンヨトウがいなくては行えませんでした。彼らにも、深く感謝いたします。

参考文献

1. 松浦博一・内藤篤・菊池淳志. 「ハスモンヨトウの耐寒性と越冬に関する研究」. 日本応用動物昆虫学会誌 5: 3-44. (1991).
2. Kikuchi, Y., M. Hayatsu, T. Hosokawa, A. Nagayama, K. Tago & T. Fukatsu. Symbiont-mediated insecticide resistance. PNAS 109: 8618-8622. (2012).
3. 横井進二・辻英明. 「ヨトウガ、ハスモンヨトウ終齢幼虫の食草間の移動に関する実験」. 応用動物昆虫学会誌 19: 157-161. (1975).