

Artificial Control of Mating Activity of the Smaller Tea Tortrix, *Adoxophyes orana* Fischer von Röslerstamm, and a Quantitative Bioassay for the Sex Pheromone. Yoshio TAMAKI, Hiroshi NOGUCHI and Takeshi YUSHIMA (National Institute of Agricultural Sciences, Nishigahara, Kita-ku, Tokyo) Received May 6, 1969. *Botyu-Kagaku*, 34, 107, 1969. (with English Summary 110).

13. コカクモンハマキにおける交尾活性の人為的制御と性フェロモンの生物学的定量法 玉木佳男・野口 浩・湯嶋 健 (農林省農業技術研究所) 44. 5. 6 受理

コカクモンハマキ *Adoxophyes orana* FISCHER VON RÜSLERSTAMM の交尾には一定の暗黒期間を経過することが必要である。幼虫期を16時間照明下に、蛹期以後を全照明下におかれた個体は、羽化後3日目に暗黒期開始後7～8時間で最大の交尾活性を示す。また、暗黒期に続く明期は交尾活動に対する刺激となり、これを促進する。

性フェロモン抽出物に対する雄成虫の反応も全照明下羽化後3日目に暗黒期7時間を経過させることによって最大となる。

これらの事実にもとづいて性フェロモンの生物定量法を設定した。本法によってフェロモン量 1×10^{-6} F.E. (雌当量) から 1×10^{-2} F.E. までの定量が可能である。さらに供試雄成虫の全照明下における羽化後日数と暗黒期時間を調節することにより、性フェロモンに対する感度を任意に制御することができる。

コカクモンハマキ雄成虫は雌の生殖する性フェロモンによってその交尾行動が解発される(玉木ら, 1969)。この性フェロモンの分離同定をはじめとして雌個体における性フェロモン生産の動的側面を追跡するにあたってはこれの定量的生物試験法の確立がきわめて重要な問題である。一般に性フェロモンの生物試験は、個体がフェロモンを感知して異性に向って移動を開始してから交尾を完了するまでの一連の交尾行動のうちのある特定の顕著な行動を利用して行なわれる。多くの昆虫は一日のうちのある特定の時間帯にのみ交尾が行なわれる。すなわち交尾行動にいわゆる circadian rhythm が見られる昆虫が多い。このような昆虫ではその性フェロモンの生物試験にも交尾行動の circadian rhythm を考慮する必要がある。夜行性昆虫では一般にその交尾行動は夜間に行なわれるが、この時間帯をそのまま利用する生物試験法(Shoreyら, 1964; George, 1965; Zayed ら, 1963)は多大の労力を要する。そこで人工照明を用いて交尾活性の高い時間帯を昼間にもってくる方法 (Sekul & Cox, 1967) や、成虫を数日間全照明下において circadian rhythm を破壊した条件下で行なう方法 (Berger, 1966; Butt & Hathaway, 1966; Roelofs & Feng, 1967) がとられている。

Russ (1966) はテングハマキを羽化後数日間全照明下におき、その後一定の暗黒時間を経過させることによって交尾活性が高まることを見出した。本報では Russ (1966) の方法を応用したコカクモンハマキの交尾活性の人為的制御とこれにもとづいた定量的生物試験法について述べる。

材料と方法

供試昆虫は Tamaki (1966) の方法によって 25°C 、16時間照明下で累代飼育したものである。蛹化個体は雌雄に分け $15 \times 37 \times 20$ cm のプラスチック製羽化箱に収容し、 20°C 全照明下に置いた。

交尾行動の観察は未交尾の雌雄各1頭を径9 cm のシャーレに入れて行ない、雌の calling と雄の dance (玉木ら, 1969) および交尾について記録した。供試数は最低20対である。

性フェロモンの抽出は羽化後1～2日目の未交尾の雌をメチレンクロライドに浸漬し、 5°C に約3週間放置したのち吸引が過した。涙液はロータリーエバポレーターを用いて 30°C 以下で濃縮し、1 ml 当り20頭の雌に相当する抽出液を調製した。抽出液は約5 μl を濾紙小片につけ、溶媒を揮発させたのち、未交尾の雄10頭を収容した200 ml の三角フラスコ中に投入した。性フェロモンに対して雄は反応し典型的な dance を行なう (玉木ら, 1969) のでその数を記録した。反復は最低4回とし計40頭の雄を供試した。

結果と考察

コカクモンハマキを羽化後全照明下においた場合の羽化後日数と交尾率との関係は第1図に示すとおりとなった。この試験は雌雄ともに7時間の暗黒期を経過させたのちに再度照明して交尾率を調査したものである。

図からわかるとおり、この条件下では羽化後3日目のものが最も高い交尾率、83.0%を示す。この値は自

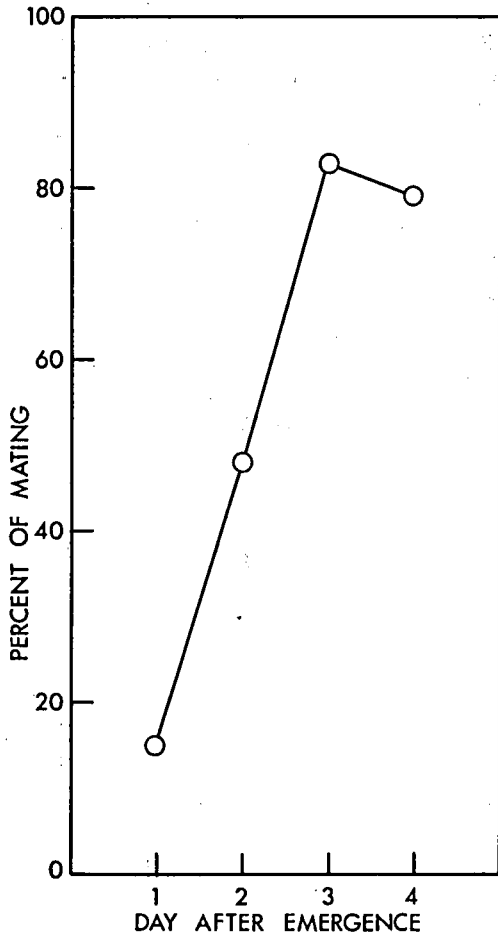


Fig. 1. Percent of mating of the smaller tea tortrix moths which had been kept in continuous light after emergence. Observations on mating after 7 hours-dark period.

然光下における最大交尾率を若干上まわっている(玉木ら, 1969)。また自然光下においては羽化1日目から高率で交尾が行なわれるが、全照明後一定暗黒期の経過という条件では羽化1日目の交尾率はきわめて低く、これが3日目にかけて急激に上昇するのが特徴である。この交尾率が最高値を示すに要する全照明下の日数は、交尾行動の circadian rhythm が全照明条件によって破壊されるに必要な日数であろうと思われるが、この点に関してはさらに詳細な調査が必要である。

全照明下におかれた羽化後3日目の雌雄をいろいろな長さの暗黒期を経過させたのち再照明し、その交尾行動を観察した。その結果を第2図に示す。暗黒期2時間ではまったく交尾行動をとらなかったが、暗黒期

の長さが長くなるにしたがって再照明時の雌の calling, 雄の dance, および雌雄の交尾が多く見られるようになった。そして暗黒期7時間では交尾率が91%に達した。この91%の内訳は暗黒期内に交尾していたものが14%で、再照明後に交尾したものが77%である。暗黒期8時間では100%が交尾したが、その内訳は暗黒期内に交尾していたものが90%に達し、残りの10%が再照明後に交尾した。すなわちコカクモンハマキの交尾活動には一定の暗黒期が必要であり、暗黒状態が継続する場合は暗黒期開始後一定時間で暗黒状態下でも正常な交尾が行なわれる。さらに一定暗黒期後の再照明は交尾に対する刺激として働き、交尾行動は促進され、かつ短時間内に集中して行なわれる。ここで用いた試験条件下では交尾が暗黒期開始後7~8時間に行なわれることが明らかであるが、この暗黒期間は幼虫飼育時の日長によって変化することが予想される。

以上の結果は16時間照明下で飼育したコカクモンハマキを蛹期以後全照明下においた場合、羽化後3日目の成虫を7~8時間暗黒下においたのち再照明すれば交尾活性を最大の状態にすることができることを示している。同時に羽化後の経過日数または暗黒期の長さを調節することにより任意の交尾活性をもった個体を得ることができることを示している。

性フェロモン抽出物に対する雄成虫の反応を調査した結果を第3図と第4図に示す。全照明下に一定の期間おいた雄成虫の、 1×10^{-4} F.E. (雌当量) の性フェロモン抽出物に対する反応は羽化後の日数とともに増大し、羽化後3日目で最大の反応率を得た(第3図)。また全照明下においた羽化後3日目の雄成虫を用いて暗黒期の長さをいろいろ変えて調査したところ、暗黒期の長さが7時間で最大の反応率を得た(第4図)。すなわち前述の交尾率における結果と同様に、性フェロモンに対する雄の反応も、全照明下羽化後3日目の個体を7時間暗黒下に保ったのちに再照明を行なった場合が最大である。

以上の結果を総合して性フェロモンの生物定量法を設定した。その操作は次のとおりである。

コカクモンハマキ雄蛹(幼虫期は25°C, 16時間照明)を20°C, 全照明の恒温室内におく。成虫は羽化後3日目に10頭ずつ200 mlの三角フラスコに入れ綿栓をしたのち、8~10本ずつブリキ製の箱に入れて暗黒状態に7時間おく。フラスコを箱からとり出して再度照明下におく。性フェロモンのメチレンクロライド抽出液5 μ lを濾紙小片に附着させ、濾紙を数回振って溶媒を揮発させたのち前述のフラスコ内に投入する。性フェロモンがある場合雄は典型的な交尾ダンスを開始するのでその数を記録する。ただしこのダンスは一般に間接的であり、ダンスを行なった個体数の正確な

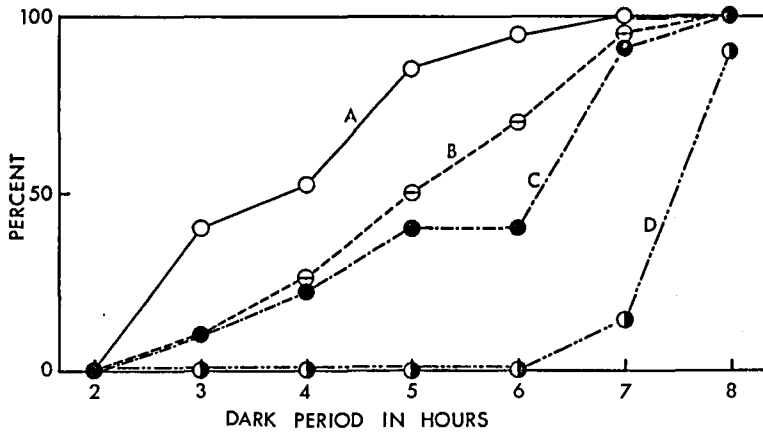


Fig. 2. Influence of dark period on the mating behavior of the smaller tea tortrix moths which had been kept under continuous light for 3 days from the emergence.

- A, Calling position of females
- B, Mating dance of males
- C, Mating
- D, Pairs mated in the dark period

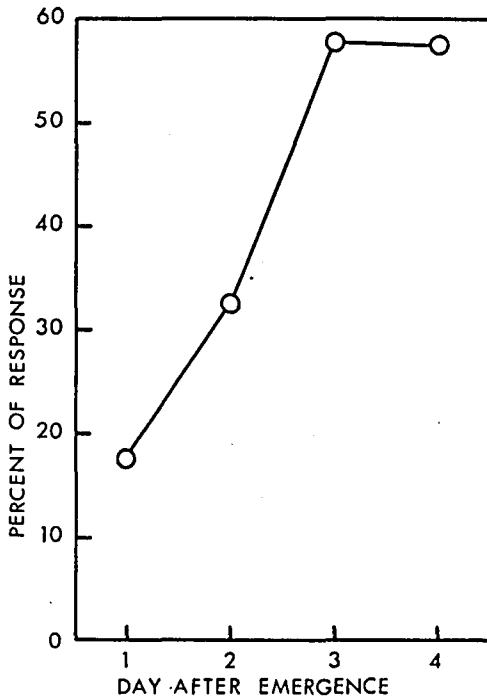


Fig. 3. Response of male moths to sex pheromone extract. The males were held in continuous light for 1 to 4 days from the emergence, and then placed in the dark for 7 hours.

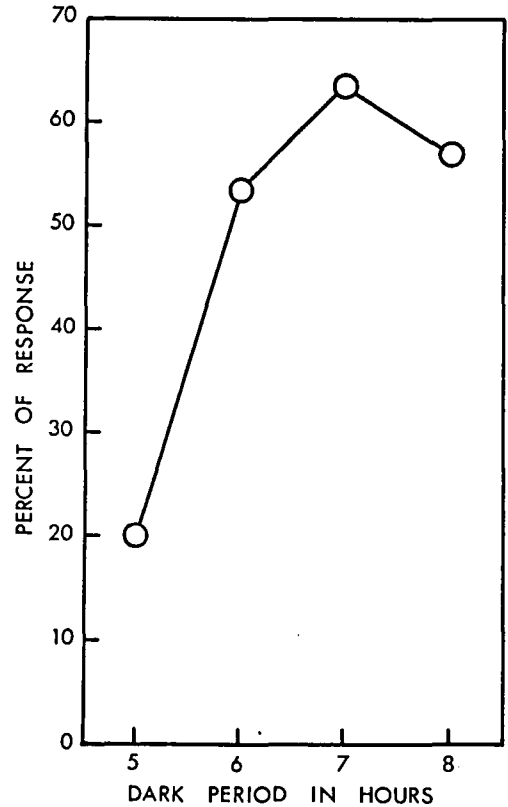


Fig. 4. Response of male moths to sex pheromone extract. Males were held in continuous light for 3 days from the emergence, and then placed in the dark for 5 to 8 hours.

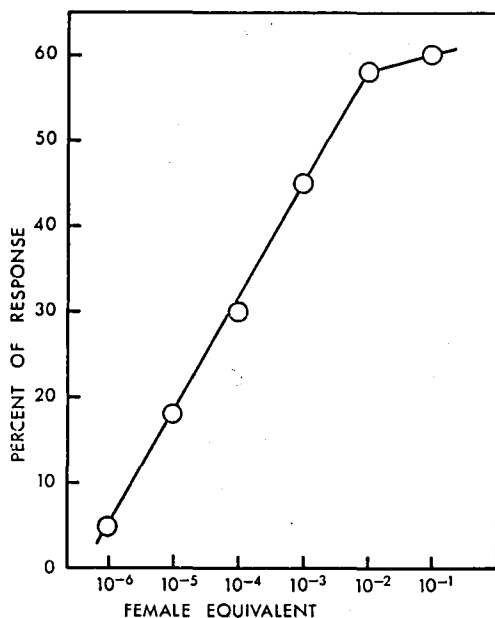


Fig. 5. Concentration-response curve of sex pheromone extract.

記録は困難であるので、計数にあたっては同時にダンスを行なっている個体数の最高値を記録する方法をとった。くり返しは1濃度4回として1濃度につき合計40頭の雄を使用し、一度使用した雄は廃棄する。

この方法によって1 ml が20頭の雌に相当する性フェロモン抽出液をメチレンクロライドを用いた10倍稀釈の濃度段階で検定した場合の濃度反応率曲線を第5図に示した。この方法によると 1×10^{-6} F.E.の性フェロモンに対して5%の反応が見られる。また 1×10^{-6} F.E.から 1×10^{-2} F.E.までは直線性を示し、その回帰式は $Y = 13.30X + 84.40$ であった。したがってこの式を用いて性フェロモン溶液の相対濃度の比較が可能である。

さらに供試雄成虫の羽化後の日数または暗黒期の長さを調節することにより雄成虫の性フェロモンに対する感度を変えることができる。性フェロモンの抽出分離の過程では、きわめて高濃度のフェロモンを取り扱うため、これの生物試験に正常の交尾活性を示す雄を用いることにはしばしば不都合を感じる。この場合、性フェロモンに対する感度をある程度下げた雄成虫を用いる必要がある。本報に述べた方法による雄成虫の交尾活性の制御法はこの条件を十分満足させることができる。

引用文献

- Berger, R. S.: *Ann. Ent. Soc. Amer.* 59, 767~771 (1966).
 Butt, B. A. & D. O. Hathaway: *J. Econ. Ent.* 59, 476~477 (1966).
 George, J. A.: *Canad. Ent.* 97, 1002~1007 (1965).
 Roelofs, W. L. & K. C. Feng: *Ann. Ent. Soc. Amer.* 60, 1199~1203 (1967).
 Russ, K.: *Pflanzenschutzberichte* 34, 161~190 (1966).
 Sekul, A. A. & H. Cox: *Ann. Ent. Soc. Amer.* 60, 691~693 (1967).
 Shorey, H. H., L. K. Gaston & T. R. Fukuto: *J. Econ. Ent.* 57, 252~254 (1964).
 Tamaki, Y.: *Appl. Ent. Zool.* 1, 120~124 (1966).
 玉木佳男・野口 浩・湯嶋 健: 防虫科学 34, 97~102 (1969).
 Zayed, S. M. A. D., T. M. Hussein & I. M. I. Fakhr: *Z. Naturforsch.* 18 b, 265 (1963).

Summary

Mating activities of males and females of the smaller tea tortrix, *Adoxophyes orana* Fischer von Röslerstamm, can be controlled artificially by the light conditions in pupal and adult stages. Maximum mating activity was shown by a pair of adult moths which had been kept under continuous light until the 3rd day after emergence and then placed in the dark for 7 to 8 hours. Response of males to the sex pheromone extract was also found to be a maximum when the 3-day-old males kept in continuous light were held under the dark for 7 hours.

The sex pheromone of the smaller tea tortrix was bioassayed by counting the number of males that exhibited mating dance after exposure to methylene chloride extract of female whole bodies. This procedure can be used to detect an amount of the sex pheromone as low as 1×10^{-6} female equivalent. The response of males to sex pheromone extract can be controlled artificially by changing age of the male moths under continuous light and duration of the dark period.