

ギフチョウの食草カンアオイに関する研究 (Ⅲ) ギフチョウ幼虫の誘引物質の探索について

太田 和子

家政学部健康栄養学科

(2007年11月7日受理)

Studies on *Heterotropa* including the diet plants of *Luehdorfia japonica* (Ⅲ) Investigation of the attractants for larvae to *Luehdorfia japonica*

Department of Health and Nutrition, Faculty of Home Economics,
Gifu Women's University, 80 Taromaru, Gifu, Japan (〒501 - 2592)

OTA Kazuko

(Received November 7, 2007)

諸言

ギフチョウ (*Luehdorfia japonica*) はアゲハチョウ科に属し、秋田以西の本州に広く分布する日本固有種。早春に羽化し、その美しい模様から「春の女神」とも呼ばれている。幼虫はウマノスズクサ科カンアオイ属、フタバアオイ属、サイシン属の植物を食草とし、各地域によって選択性に違いがみられる。カンアオイ類は里山に生育し、生育速度も遅く、近年の里山の開発により激減しつつある。そこでギフチョウの絶滅も懸念され、環境省のレッドデータリストでは絶滅危惧類に挙げられている¹⁾。

我々は1992年よりカンアオイ類の組織培養による増殖について取り組んできた²⁾³⁾。それとともになぜギフチョウはカンアオイ類を好むのかに興味をいだいた。

蚕とその食草である桑との関係については、蚕の人工試料を開発するため古くから多くの研究がなされてきた。浜村⁴⁾は、蚕が食物を摂取するためには、誘引され、咬み、連

続して摂取する3つの段階があり、それぞれに別の物質が関与していることを明らかにしている。ジャコウアゲハでは摂食刺激物質としてアリストロキア酸が関与することが知られている⁵⁾。また沼田ら⁶⁾⁷⁾はキチョウの摂食刺激物質を食草のメドハギから見つけ出している。高石ら⁸⁾はギフチョウの摂食刺激物質を調べるためミヤコアオイの葉を溶媒で抽出し誘引物質、咬ませる物質、のみこませる物質について検討している。

そこで、我々も岐阜県各務原市産のギフチョウを用い、食草のヒメカンアオイの抽出物および芳香物質についての誘引実験を行ったので、報告する。

材料および方法

(1) ギフチョウの飼育

岐阜県各務原市日本ライン鶴沼の森より採集したギフチョウ幼虫を本学のガラス飼育室(図1)内で飼育し、1994、1995年に実験に供した。



図1 ギフチョウ飼育室

(2) 植物材料

1994年に岐阜県各務原市に自生のものおよび本学飼育室内で鉢栽培しているヒメカンアオイ (*Heterotropa takaai* F. Maekawa) の葉部を採取した。

(3) 抽出方法

カンアオイ油

ヒメカンアオイ葉約50gを2~3cmの幅に切り、丸底フラスコに密に充填した。フラスコ容量の約半分の蒸留水を加え、煮沸蒸留装置を組み立て、金網上で煮沸し、冷却管より流出する液を分液ろうとに集めた。蒸留を2時間行った。分液ろうとを6~20時間放置し上層部、水層部に分け、ろうとの壁面に付いたものをろ紙で拭いて壁面油とした。冷蔵庫で保存した。

各種溶媒による抽出

材料約3gを細かく刻み、エタノール、蒸留水、アセトン、ジエチルエーテルをそれぞれ加えて、乳鉢ですりつぶした。抽出液に着色しなくなるまで、それぞれの溶媒で抽出を繰り返した。抽出液を合わせて、ろ紙 (No. 1) でろ過した。1994年実験ではそのうち少量の原液を保存し、残りを減圧乾固した。乾固後、それぞれの抽出液を3ml加え濃縮液 (約1g葉/ml) とした。1995年実験では1mlが葉1枚分 (0.5g分) に相当するよう

に濃縮したものを1濃度とした。そしてその1/10希釈液も実験に使用した。

(4) 芳香物質

タカサゴ香料(株)より寄贈いただいた精油のエレミエッセンス油 (E oil 1), エレミ油 (E oil 2), オコチア油 (O oil), 精油成分のメチルオイゲノール (ME), シネオール (C), α ピネン (α P) を用いた。エレミエッセンス油とエレミ油をガスクロマトグラフィーで比較したところ、やや成分に違いが見られた。

(5) ギフチョウ幼虫の誘引実験

ろ紙を使用した実験

直径30cmの円形のろ紙 (No. 1) の周辺部に鉛筆で直径1cmの円を描き、そこに各試料溶液をスポットした。プラスチック容器 (縦62cm×横44cm×高さ22.5cmまたは縦74cm×横40cm×高さ35cm) をエタノールでよく拭いた後、ろ紙を置き、3~5時間絶食させた4~5齢幼虫10頭をろ紙の中心に置いた (図2)。1994年の実験では、60~120分間幼虫を自由に移動させ、10分おきに幼虫の移動を観察した。そして、試料に滞在した幼虫数をカウントして観察回数で割り平均値を求めた。1995年には、方法を改良し、30分間観察を続け、幼虫がスポットに到達したら再びろ紙中央に

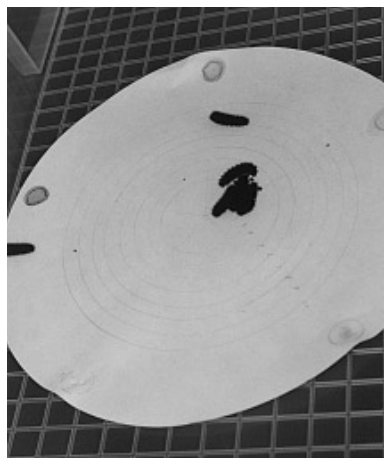


図2 ろ紙を用いた誘引実験

戻して、各スポットに延べ何匹到達するかをカウントした。個別実験は溶媒をコントロールとし、「誘引割合 = 試料に到達した数 ÷ コントロールに到達した数」で求めた。比較実験では、個別実験で最大となった条件で比較した。2回実験を行い、平均値を求めた。

色の実験では、青、赤、黄、白、黄緑、緑、茶、橙の折り紙を用い、直径1cm、高さ3cmの円筒を作り、ろ紙の周辺部に置いた。その後は比較実験と同様に幼虫をカウントした。時々ろ紙は回転させ、位置を移動させた。

オルファクトメーターを用いた方法

平尾・石川¹⁰⁾による蚕の実験を参考にオルファクトメーターを作成し実験に用いた。矩形の平面を持つ硬質塩化ビニールとガラスで作った密閉できる箱からなり、その両端の穴から空気が平等に流れ込み、中央の線上の穴から吸引ポンプで空気を吸引する。一方の穴から香気をもう一方の穴から無臭の空気を送ることにより、香気に対する幼虫の移動を観察することができる(図3)。

容器内をエタノールで拭き、3~5時間絶食させた5齢幼虫を10匹入れ、5分後および10分後に試料側、コントロール側に移動した幼虫の数を測定した。ヒメカンアオイ葉抽出液は100倍希釈、芳香物質は1000倍希釈を用いた。



図3 オルファクトメーター

結果および考察

1. ヒメカンアオイ葉の各種抽出物による誘引作用

1994年に幼虫を120分間放置し10分おきに滞在場所を観察して、それぞれのスポットに滞在した平均滞在幼虫数を計算する方法で比較した所、コントロールとして抽出溶媒、抽出原液、1ml中に葉1g分になるように濃縮した抽出液をセットにして個別に測定した結果が図4である。各コントロールの抽出溶媒には1匹も滞在しなかった。各溶媒とも濃縮液の方が幼虫数は多くなった。しかし、各区低い値となった。エーテル抽出液、エタノール抽出液が他よりやや高い値となった。

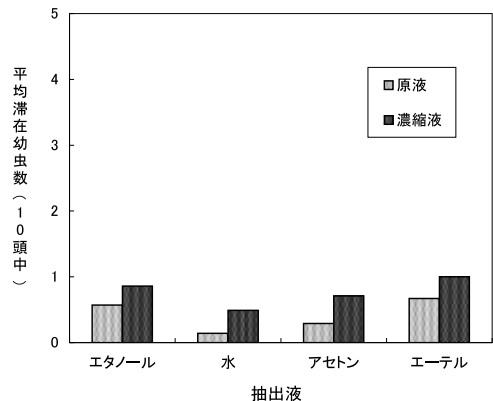


図4 ヒメカンアオイ葉抽出液の誘引作用
(1994年)

各抽出溶媒により個別に誘引実験を行った。

1995年には、方法を変えてスポットに達した幼虫は真中の位置に戻し、30分間続けて観察し、スポットへの移動幼虫数を数える方法で行った。抽出液ごとに個別に行った実験では、コントロールの抽出液に移動した幼虫数をもとに割合を計算した。各抽出液とも1を越えた(図5)。最も高かったのはメタノール抽出液で、コントロールの7倍となった。次にエタノール抽出液が高かった。

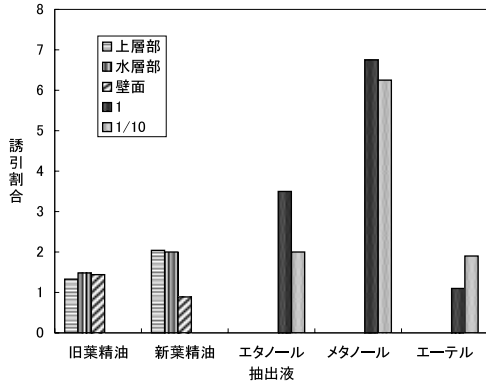


図5 ヒメカンアオイ葉抽出液の誘引作用 (1995年個別実験)
各抽出液により個別に誘引実験を行った。

個別実験で各抽出液の最も誘引割合の高かった分画または濃度を用いて、一緒にスポットし比較実験を行った。これはスポットに移動した幼虫の数で表した(図6)。各抽出液とも10匹以上であった。最も誘引作用が強かったのは、エタノール抽出物であった。

精油は昨年から年を越した旧葉と今年新たに展開した新葉から抽出し、比較した。個別実験では、やや新葉が多く(図5)、比較実

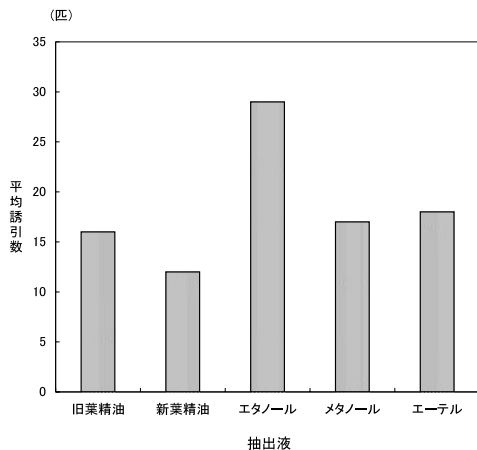


図6 ヒメカンアオイ葉抽出液の誘引作用 (1995年比較実験)
各抽出液の中から最も誘引割合の高かった分画または濃度のものを使用し、同一ろ紙にスポットして比較実験を行った。

験ではやや旧葉の値が高かった(図6)。

次に香気成分のみの影響を測定できる装置オルファクトメーターを作成し、これにより誘引作用を評価した。結果を図7に示す。誘引作用が見られたのは、水蒸気蒸留で得られた精油であった。溶媒抽出物はコントロール以下となった。参考にヒメカンアオイ葉を分析したところ、誘引割合は約1.5であった。

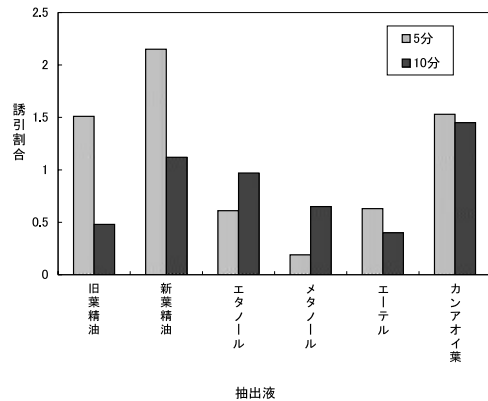


図7 オルファクトメーターによるヒメカンアオイ葉抽出液の誘引作用(1995年)
誘引割合 = 試料の誘引数 ÷ コントロールの誘引数

以上各種の誘引実験を行ったところ、ろ紙実験では、各抽出液とも誘引作用が見られ、特にエタノール抽出液、メタノール抽出液での誘引作用が大きかった。一方、オルファクトメーターを用いた実験では、精油に誘引作用が見られた。溶媒抽出液のろ紙実験と結果が異なったのは、色などの香気以外のファクターも関係するのかもしれない。また、使用濃度や抽出した溶媒臭の影響も考えられる。

高石ら⁹⁾はミヤコアオイ葉の分画を行い、エーテル可溶部に誘引作用があることを報告しているが、今回の実験ではエーテル抽出物にはあまり強い誘引作用は見られなかった。

2. 芳香成分による誘引作用

1994年の実験では、各濃度において比較実

験を行った(図8)。原液では、エレミエッセンス油、エレミ油、オコチア油、シネオールで弱い誘引作用が見られた。1/100希釈液においては、エレミエッセンス油、シネオールで誘引作用がみられた。1/1000希釈では、メチルオイゲノールに弱い誘引が見られた。

1995年の個別実験では、メチルオイゲノールを除き、各物質は希釈した方が原液に比べて誘引作用が高くなった(図9)。各物質ともコントロールに比べて誘引数が多くなった。

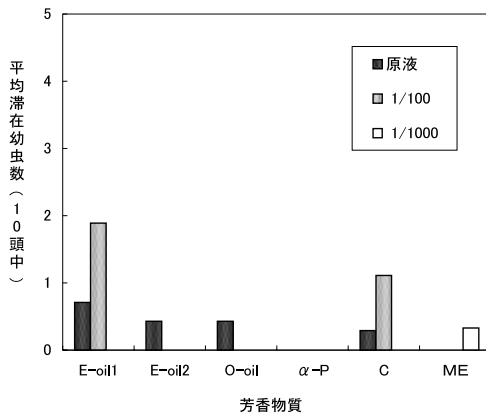


図8 芳香物質の誘引作用(1994年)
芳香物質の各濃度で比較実験したものをまとめた。

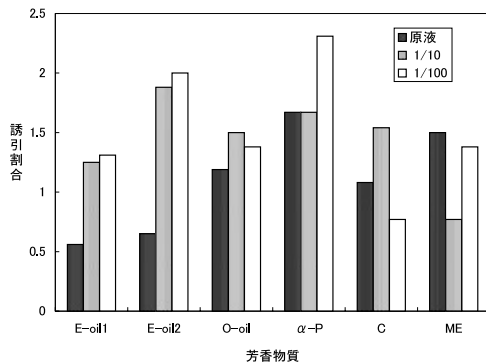


図9 芳香物質の誘引作用(1995年個別実験)
各芳香物質により個別に誘引実験を行った。コントロールには蒸留水を用いた。

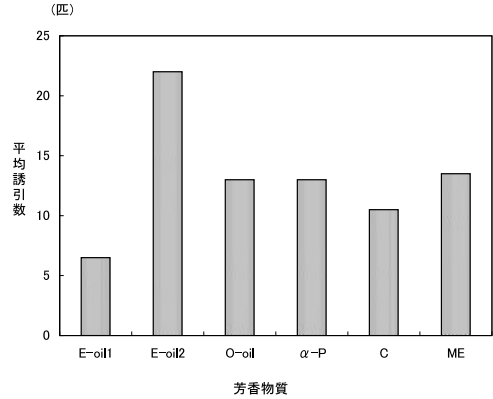


図10 芳香物質の誘引作用(1995年比較実験)
各物質の中から最も誘引割合の高い濃度を用い、同一の紙にスポットして比較実験を行った。

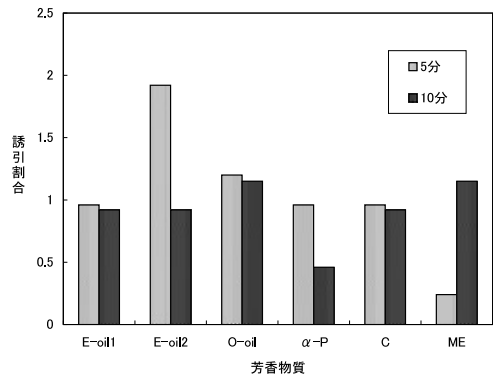


図11 オルファクトメーターによる芳香物質の誘引作用(1995年)
誘引割合 = 試料の誘引数 ÷ コントロールの誘引数

最も誘引作用の高い濃度で、各物質を比較したところ、エレミ油で最も誘引作用が強かった(図10)。しかし、他の成分にもかなり誘引された。

オルファクトメーターによる実験でも5分でエレミ油に誘引作用が見られた(図11)。他の物質はコントロールとあまり変わらなかった。

カンアオイ属の植物にはエレミシン、メチルオイゲノール、サイシノン、サフロール、

アサロンなどが含まれていることが報告されている¹¹⁾¹²⁾。今回は単品のエレミシン、サフロールが手に入れられず、エレミシンを含むエレミ油、サフロールを含むオコチア油を実験に使用した。各実験で、エレミ油の誘引作用が高かったので、エレミシンが誘引作用を持つ可能性もある。また、他の昆虫で単一の物質よりも何種かの物質が混合した方が誘引作用が強いことが報告されており⁵⁾、エレミ油のように複雑な成分を持った混合物質に誘引されたのは、混合物の方が誘引作用が強い可能性も考えられる。

3. 色による誘引作用

8種の色の折り紙の円筒に対する誘引作用を調べたところ、橙に最も強く誘引された(図12)。白は誘引作用が最も低かった。

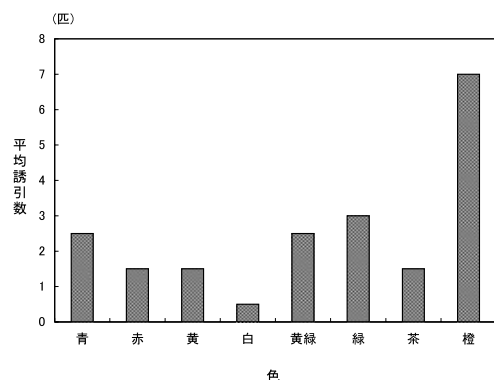


図12 色による誘引作用 (1995年比較実験)

沼田ら¹³⁾はマメ科のメドハギを食草とするキチョウの幼虫で色の誘引作用を調べたところ、黄緑と黄に強く誘引され、橙では誘引作用は少なかったと報告している。ギフチョウ幼虫では、橙に強い誘引作用が見られ、昆虫の種により誘引される色に違いがあると考えられる。

謝辞

本実験の御指導をしてくださった故香川彰

本学名誉教授に感謝し、御冥福をお祈り致します。

本実験の一部を担当された専攻生安藤智恵美さん、梅本陽子さん、西川幸子さん、三浦芳子さんに感謝します。

文献

- 1) 環境省, 生物多様性情報システム絶滅危惧種情報検索ホームページ, http://www.biodic.go.jp/rdb/rdb_f.html 2007
- 2) 太田和子・野呂朱美・山田真紀子・香川彰, 組織培養によるカンアオイの増殖, 園学雑, 62別1, 1993, 428-429
- 3) 太田和子・香川彰, ギフチョウの食草カンアオイに関する研究 () 組織培養によるオナガカンアオイの増殖, 岐阜女子大学紀要, 26, 1997, 65-69
- 4) 浜村保次, カイコの人工飼料への道, みすず書房, 1975, 8-73
- 5) 深海浩, 化学生態学概論生物たちの不思議な物語, 化学同人, 1991, 54-90
- 6) Atsushi Numata, Kazuko Hokimoto, Atsuko Shimada, Hideo Yamaguchi and Kiyokazu Takaishi, Feeding Stimulants for the Larvae of the Yellow Butterfly, *Eurema hecabe mandarina* (Lepidoptera: Pieridae), Appl. Ent. Zool., 13(2), 1978, 133-135
- 7) Atsushi Numata, Kazuko Hokimoto, Atsuko Shimada, Hideo Yamaguchi and Kiyokazu Takaishi, Plant Constituents biologically Active to Insects. . Feeding Stimulants for the Larvae of the Yellow Butterfly, *Eurema hecabe mandarina* (1), Chem. Pharm. Bull., 27(3), 1979, 602-608
- 8) Atsushi Numata, Kazuko Hokimoto, Hideo Yamaguchi, Hideyuki Nishida and Kiyokazu Takaishi, Feeding Stimulants for the Larvae of the Yellow Butterfly, *Eurema hecabe*

- mandarina* DE L'ORAZA (Lepidoptra: Pieridae) Appl. Ent. Zool., 17(4), 1982, 582-584
- 9) 高石清和・山本勝彦・河原有三, カンアオイ属 *Heterotropa*, ウ斯巴サイシン属 *Asiasarum* の植物の化学成分とギフチョウ *Luehdorfia japonica* の食性の研究, 薬学雑誌, 89(8), 1969, 1144-1148
- 10) 平尾常男・石川誠男, 家蚕幼虫の嗅覚に関する研究() Olfactometer による蠶蚕の走化性, 日本蚕糸学雑誌, 33(4), 1954, 277-279
- 11) 斉木保久・赤堀幸男・森永邦夫・平良武男・野呂忠敬・福島清吾・原田利一, ガスクロマトグラフィーによる天然精油の検討(第3報)カンアオイ属植物の精油のガスクロマトグラフィーについてその1, 薬学雑誌, 87, 1967, 1535-1538
- 12) 斉木保久・赤堀幸男・森永邦夫・平良武男・野呂忠敬・福島清吾・原田利一, ガスクロマトグラフィーによる天然精油の検討(第4報)カンアオイ属植物の精油のガスクロマトグラフィーについてその2, 薬学雑誌, 87, 1967, 1539-1543
- 13) Atsushi Numata, Hideo Yamaguchi, Kazuko Hokimoto, Masako Ohtani and Kiyokazu Takaishi, Host Plant Selection by the Yellow Butterfly Larvae, *Eurema hecabe mandarina* (Lepidoptra: Pieridae) Attractants and Arrestants, Appl. Ent. Zool., 20(3), 1985, 314-321