

アゲハチョウ類の寄主選択及び寄主転換に関する化学生態学的研究

中山 忠宣

広島大学大学院生物圏科学研究科

Chemoecological study of host selection and host shifts in papilionid butterflies.

Tadanobu NAKAYAMA

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8521, Japan

第1章 序 論

昆虫類はその種数、個体数の点から見て地球上で最も繁栄しているグループの一つである。この昆虫類の食性は過半数が植食性に分類され、多くの植物を寄主として利用している。しかし、それぞれの種が利用できる植物は限られており、的確な寄主選択がその種の存続や繁栄に直接的に関わってくる。昆虫類の寄主選択は、雌成虫の産卵と幼虫の摂食による2つの行動過程により制御されており、それぞれにおいて植物中の化学成分が特に重要な役割を果たしている。アゲハチョウ類においては幼虫に比べ成虫の移動能力が格段に高いことから、雌成虫の産卵による寄主選択が重要となっている。雌成虫は産卵を行う直前に前肢を葉に叩きつける「ドラミング」と呼ばれる行動をとり、その際、前肢附節に存在する味覚受容器により植物成分を感知し、その植物が寄主植物かどうかを認識する。最終的に産卵するかどうかは、植物に含まれる産卵刺激物質と産卵阻害物質の相対的なバランスによって決定される。現在までの研究により、数種のアゲハチョウ類における産卵刺激物質及び産卵阻害物質が同定されている。それらを種ごとに比較していくとしばしば化学構造に類似性を見出すことができる。このことからアゲハチョウ類の寄主転換には植物成分が深く関係していることが示唆されている。しかし、現在までのアゲハチョウ類の産卵制御物質に関する報告は限られており、どのような化合物が寄主転換の鍵物質となっているか論じるには不十分である。本研究ではこれまで報告例のないシロオビアゲハ (*Papilio polytes*) とミカドアゲハ (*Graphium doson*) を実験材料とし、これら2種のアゲハチョウ類の産卵制御物質を明らかにすることで、アゲハチョウ類の寄主認識及び寄主転換と植物成分との関係を解析することを目的とした。

第2章 シロオビアゲハに対するミカン科植物の寄主適合性

真正アゲハ属 (*Papilio* 属) はミカン科植物 (Rutaceae) を主要な寄主としているが、その食性の幅は種によって異なり寄主特異性を示す。本実験に用いたシロオビアゲハは南西諸島以南に生息する真

正アゲハ属の一種であり、ミカン科のサルカケミカンを主要な寄主としている。しかし、シロオビアゲハが生息する地域にはその他にも数種のミカン科植物が分布している。そこで、本章では主要な寄主植物であるサルカケミカンとともに、同所的に分布する他のミカン科植物としてハナシンプウギ、ゲッキツ、アワダンを取り上げこれらに対するシロオビアゲハの適合性を調べた。また本州に広く分布し他のアゲハチョウ類の一般的な寄主植物となっていながら、シロオビアゲハの分布とは一致しないミカン科植物としてキハダを取り上げ、これについてもシロオビアゲハの適合性を調べた。これら5種のミカン科植物に対するシロオビアゲハの適合性は、雌の生葉に対する産卵反応と幼虫の成育適性により評価した。またアゲハチョウ類の寄主選択で重要になっている産卵行動に関しては、各植物の抽出物及び分画物に対する雌成虫の産卵反応を調べた。その結果、シロオビアゲハは主要な寄主となっているサルカケミカンにはもちろん、ハナシンプウギ、キハダに対しても高い適合性を示した。一方、ゲッキツ、アワダンに対しては、成虫、幼虫ともに適合性は低かった。また、サルカケミカン、ハナシンプウギには高い活性を示す産卵刺激物質の存在が、適合性の低かったゲッキツとアワダンには産卵阻害物質の存在が明らかとなった。キハダにも産卵刺激活性は認められたが、生葉と比べるとその活性は低かった。

第3章 シロオビアゲハの産卵制御物質

前章で評価した5種のミカン科植物のうち、サルカケミカン、ハナシンプウギ、ゲッキツの3種に含まれるシロオビアゲハの産卵制御物質の同定を試みた。サルカケミカン、ハナシンプウギからは産卵刺激物質を、ゲッキツから産卵阻害物質の同定を試みた。生物試験に基づきシロオビアゲハが活性を示した画分をカラムクロマトグラフィー、TLCスティックなどを用いて順次分画し、それぞれの植物からシロオビアゲハが活性を示す主要な画分を特定した。

サルカケミカンのシロオビアゲハが産卵刺激活性を示した画分に含まれる主成分をHPLCにより単離した。それらの化合物は、NMRやFAB-MSなど各種機器分析や化学反応を利用して、アミノ酸誘導体の*trans*-4-hydroxy-*N*-methyl-L-proline [(*-*)-(2*S*, 4*R*)-4-hydroxy-1-methylpyrrolidine-2-carboxylic acid; HMP]と糖関連化合物の2-*C*-methyl-D-erythronic acid [(*-*)-(2*R*, 3*R*)-2-methyl-2,3,4-trihydroxybutanoic acid; MEA]を同定した。HMPは弱いながらもそれぞれ単独で産卵刺激活性を示した。MEAは単独では産卵刺激活性を示さなかったが、HMPと混合すると顕著にその産卵刺激活性を高める協力作用を示した。HMPとMEAを混合したサンプルは、本種に対してサルカケミカンの生葉と同程度の産卵刺激活性を示し、サルカケミカンへの産卵行動はこれら2つの化合物により十分に解発されることが明らかとなった。また、これらの2つの化合物はハナシンプウギの抽出エキスから分画した産卵刺激活性を示す主要な画分にも含まれていた。このことからシロオビアゲハはハナシンプウギを寄主植物と認識する際にも同一の化合物を利用していると考えられた。

一方、ゲッキツの抽出エキスから産卵阻害活性を示す画分を特定した。それらの画分に含まれる成分としてtrigonelline [1-methylpyridine-3-carboxylic acid]を単離・同定した。Trigonellineを用いて生物試験を行ったところ、葉の含有量付近で明らかな産卵阻害活性が認められた。このことからシロオビアゲハがゲッキツを寄主として利用できない一つの要因に、産卵阻害物質としてtrigonellineが関与していることが明らかとなった。しかし、trigonellineの活性はやや低く、ゲッキツにはtrigonelline以外の産卵阻害物質も含まれていると考えられた。

第4章 ミカドアゲハの産卵刺激物質

アオスジアゲハ属 (*Graphium* 属) の一種のミカドアゲハはモクレン科 (*Magnoliaceae*) のオガタマノキを寄主とする単食性に近いアゲハチョウである。そこで主要な寄主植物であるオガタマノキより、ミカドアゲハの産卵刺激物質の同定を試みた。オガタマノキのメタノール抽出エキスには産卵刺激活性が認められ、産卵刺激物質の存在が確認された。そこでメタノール抽出エキスをクロロホルム、イソブタノールで順次分配抽出し、クロロホルム画分、イソブタノール画分、水溶性画分の3つの画分に画分し生物試験を行った。その結果イソブタノール画分、水溶性画分に高い産卵刺激活性が認められた。まず水溶性画分の分析を行ったところ、産卵刺激物質としてD-(+)-pinitol [3-O-methyl-D-chiro-inositol] を同定した。Pinitol はそれ単独で中程度の産卵刺激活性を示した。また、ミカドアゲハの副次的な寄主植物として知られているタイサンボクの植物成分を同様の手法で分析したところ、タイサンボクにもpinitolが含まれていた。これらのことからpinitolはミカドアゲハの寄主認識に関わる主要な成分であると考えられた。Pinitol はミカドアゲハの寄主植物とはなっていないが他のアゲハチョウ類が寄主植物として利用しているウマノスズクサにも含まれている。そこでウマノスズクサの生葉をミカドアゲハに提示したところ産卵する個体も確認された。すべての個体が産卵したわけではないが、ウマノスズクサの生葉に産卵する個体が存在したことから、ミカドアゲハがウマノスズクサ科からモクレン科へと寄主転換を行った可能性が示唆された。

第5章 総合考察

シロオビアゲハの産卵刺激物質として *trans*-4-hydroxy-*N*-methyl-L-proline (HMP) と 2-*C*-methyl-D-erythronic acid (MEA) を同定し、産卵阻害物質として trigonelline を同定した。これらを比較すると、HMP と trigonelline は共に両性の含窒素化合物であり化学的性質が類似している。これまでもキハダ中の pheramullin がミヤマカラスアゲハに対して産卵刺激活性を示す一方で、クロアゲハに対しては産卵阻害活性を示すなど、同一の化合物が異なる種に対して異なる生理活性を示すことも報告されており、アゲハチョウ類の産卵刺激物質と産卵阻害物質の受容機構における関連性が示唆された。

また産卵刺激物質のHMPとMEAはアゲハチョウ類の産卵刺激物質として初めての報告であるが、これまでに報告されている他のアゲハチョウ類の産卵刺激物質と構造的類似性をもつ。HMPはウンシュウミカンから同定されたクロアゲハとナミアゲハの産卵刺激物質となっているL-stachydrineと類似した構造を持ち、MEAがラクトン化した化合物はコクサギより同定されたカラスアゲハの産卵刺激物質の一つとなっている。さらにMEAは糖関連化合物という点で、クロアゲハの産卵刺激物質の一つとなっているD-quinic acidやナミアゲハの産卵刺激物質となっている *chiro*-inositol と関連深い。また、現在報告されている他のアゲハチョウ類の産卵刺激物質は、6から10の化合物が生葉と同程度の産卵刺激活性を解発するのに必要となっているのに対し、本研究で同定したシロオビアゲハの産卵刺激物質はわずか2つの化合物で十分な産卵刺激活性を示す。このような化合物の特性や、シロオビアゲハの主要な寄主植物であるサルカケミカンがミカン科植物の中でも起原が古く、多くの真正アゲハ属に寄主植物として利用されていることから、HMPやMEAなどのアミノ酸誘導体や糖関連化合物といった一次生産物に近い化合物が、ミカン科を寄主とする真正アゲハ属の寄主認識の進化的起源や寄主転換に重要な示唆を与えるものと考えられた。

一方、アゲハチョウ類の寄主転換経路は「ウマノスズクサ科」 「モクレン科・バンレイシ科・クスノキ科」 「ミカン科」 「セリ科」の順に行われたと想定されている。この中で唯一報告例

がなかったモクレン科を寄主とするアゲハチョウ類から、ミカドアゲハの産卵刺激物質としてpinitolを同定した。Pinitolの植物中の一般的な生合成経路の一つとして「*myo*-inositol *sequoyitol* *pinitol* *chiro*-inositol」が知られている。この合成経路において、*sequoyitol*はウマノスズクサ科を寄主とするジャコウアゲハ及びアオジャコウアゲハの産卵刺激物質の一つとなっており、*pinitol*は本研究で明らかとなったモクレン科を寄主とするミカドアゲハ以外にもアオジャコウアゲハの産卵刺激物質として報告されている。さらに*chiro*-inositolはミカン科を寄主とするナミアゲハの産卵刺激物質となっている。このように植物中での*pinitol*の合成経路とアゲハチョウ類の寄主転換経路には密接な関係があり、inositol関連化合物はアゲハチョウ類の寄主転換に重要な役割を果たしている化合物の一つであることが示唆された。

これまでアゲハチョウ類の産卵刺激物質の中で桂皮酸誘導体やフラボノイドといった生合成的に進化した化合物がアゲハチョウ類の寄主転換における鍵物質として注目されてきたが、本研究の結果よりアミノ酸誘導体や糖関連化合物といった一次成分に近い化合物が寄主転換における鍵物質になっていると考えられた。