

シロオビアゲハの寄主適応性と植物成分に関する研究

村上 忠幸

広島大学大学院生物圏科学研究科

Studies on the relationships between host-plant acceptability and plant constituents in host selection by a swallowtail butterfly, *Papilio polytes*

Tadayuki Murakami

Graduate school of Biosphere, Hiroshima University
Higashi-Hiroshima 739-8521, Japan

要 旨

第 1 章 序 論

チョウやガなどの鱗翅目昆虫の99%以上は植食性であり、その大部分は比較的狭い範囲の植物を寄主とする狭食性もしくは単食性である。寄主植物に対する適応性は、おもに幼虫の摂食と成虫の産卵という2つの行動によって制御されており、雌の産卵における寄主認識は種の存続にとって重要な鍵となる。すなわち、成虫の移動能力が幼虫に比べて著しく高いこと、植物に対する成虫と幼虫の選好性や適応度、とくに化学的応答性にしばしば大きな差がみられることなどを考慮すると、雌成虫の産卵行動は寄主適応性にきわめて重要な意味を持っている。したがって、それぞれの種にみられる寄主特異性は、進化的あるいは共進化的な生存競争の過程で生じたすがたといえるが、その議論をするとき、植物化学的情報は極めて有用な手がかりとなる。特に、植物中の2次代謝産物は雌成虫の産卵行動に重要な役割を演じていることが知られている。一般に、寄主植物には産卵刺激物質が含まれているが、同時に産卵を抑制する産卵阻害物質が含まれていることがある。雌成虫がある植物を受容するか拒絶するかは、その両者の生理活性強度の相互バランスによって決定されると考えられている。

世界には、約560種のアゲハチョウ類が生息するといわれ、日本には約20種類が生息する。そのうち最も種類の多いパピリオ属(*Papilio*)のほとんどはミカン科(Rutaceae)植物を寄主としている。これまでの研究を通じて、数種のアゲハチョウ類のミカン科植物に対する適応性と植物成分の関係が報告されているが、産卵刺激物質の同定に到った例は限られている。そこで本研究では、パピリオ属チョウの寄主適応性と植物成分の関係をさらに明らかにするため、シロオビアゲハ(*Papilio polytes*)のミカン科植物に対する成虫の産卵反応および幼虫の適応性を調べ、ヒラミレモン(寄主植物)およびカラスザンショウに含まれる産卵刺激物質を明らかにすることを目的とした。また、本研究を遂行して得られた知見や体験を背景として、理科教育のなかに「チョウ類の寄主適応性」という概念を導

入し位置付ける試みを行った。

第2章 植物成分を介したシロオビアゲハの4種のミカン科植物に対する弁別受容特性

シロオビアゲハは奄美諸島以南から南西諸島、台湾などの亜熱帯、熱帯地域にかけて広く分布しており、サルカケミカンおよびヒラミレモンを主要な寄主としている。本研究では、ミカン科植物を寄主とするシロオビアゲハの狭食性について生理化学的要因を明らかにするため、ヒラミレモン(寄主植物)、カラスザンショウ、ハマセンダン、コクサギの4種のミカン科植物に対する成虫の産卵反応性および幼虫の生育応性を検討した。なお、コクサギ以外の植物は、シロオビアゲハと同所的に分布している。コクサギはシロオビアゲハの生息域に分布していないが、本州に広く分布し一部のアゲハチョウ類が食草として利用しているで取り上げた。

これら4種の植物の新鮮葉とMeOH抽出物、MeOH抽出物から分配抽出して得られたCHCl₃可溶分、*i*-BuOH可溶分および水溶性画分に対する産卵試験の結果、ヒラミレモンおよびカラスザンショウに強い産卵活性がみられ、産卵刺激物質の存在が示唆された。また、ハマセンダンには中程度の産卵反応性があり、濃度反応性などを検討して刺激物質と弱い阻害物質が共存することがわかった。さらに、コクサギには弱い産卵阻害物質があるが、刺激物質がないこともわかった。

1齢および5齢幼虫の生育適応性試験より、ヒラミレモンおよびカラスザンショウでは、1齢、5齢とも高い生存率を示し、ハマセンダンのそれはわずかに低かった。コクサギでは、1齢の死亡率が高く、5齢はハマセンダンと同程度の生存率であった。以上から、シロオビアゲハの4種のミカン科植物に対する適応性は、ヒラミレモン=カラスザンショウ>ハマセンダン>>コクサギということが明らかになった。

第3章 ヒラミレモンに含まれるシロオビアゲハの産卵刺激物質

シロオビアゲハの主要な寄主植物の一つであるヒラミレモンの新鮮葉のMeOH抽出物から得られた水溶性画分に高い産卵刺激活性が認められた。そこに含まれる産卵刺激物質を明らかにするため、ポーラスポリマーゲルおよびイオン交換樹脂による分離と産卵反応試験を並行して行い、¹³CNMRによって主要な化合物を同定して産卵刺激物質の探索を行った。

ヒラミレモンの水溶性画分を分離していくと、もともとあった強い産卵刺激活性は消失した。酸性画分+中性・両性画分および中性・両性画分+塩基性画分の混合試料でそれぞれ単独の画分に比べ活性が高くなる傾向がみられ、3つの画分をすべて混合した場合、強い活性を示した。つまり、産卵刺激物質は3つの画分に分散しており、これらを混合したとき協力作用によって強い活性を発現することがわかった。

3つの画分に含まれる産卵刺激物質を同定するため、¹³CNMR分析を行い、各画分の主要成分を標品のシグナルと比較し検索した結果、酸性物質としてD-Quinic acid、両性物質としてL-Proline、L-Stachidrine、塩基性物質としてDL-Synephrine、Cholineを主要成分として同定した。また、これら5種の化合物の新鮮葉に対する組成比(%(w/w))は、¹³CNMRによって、それぞれ0.4、0.2、0.3、0.2、0.1%と求めた。これら5種すべてを含む試料に対する反応率は88%と高い活性が認められ、これらの物質による協力作用を確認できた。また、5種の化合物のうち一つを除いた試料の活性はいずれも低くなったが、とくにD-Quinic acidを除いた場合、著しい低下が見られた(反応率18%)。なお、これらの化合物はいずれも単独では活性を示さなかった。

ヒラミレモンは形態的、成分的にウンシュウミカンに類似している。また、シロオビアゲハに寄主範囲のよく似たクロアゲハ (*Papilio protenor*) では、シロオビアゲハのヒラミレモンに含まれる5種の産卵刺激物質のうちコリンを除く4種がウンシュウミカンに含まれるクロアゲハの産卵刺激物質と共通している。また、同様に、ナミアゲハ (*Papilio xuthus*) のウンシュウミカンに含まれる産卵刺激物質に対しては、Stachidrine と Synephrine 共通である。このように、ミカン属植物を寄主とするパピリオ属チョウの産卵刺激物質は、多数の物質で構成されている傾向があり、また、共通する化合物があることが分かった。さらに、このような化合物として Choline がはじめて同定された。

第4章 カラスザンショウに含まれるシロオビアゲハの産卵刺激物質

一般に、カラスザンショウは、シロオビアゲハの寄主として記載されていないが、成虫の産卵反応性および幼虫の摂食適応性から判断して、適応性は極めて高い。そこで、ヒラミレモンと同様に産卵刺激物質の探索を試みた。

まず、強い産卵活性のあった水溶性画分をポラスポリマーゲルにより分離し産卵刺激活性を調べたところ、ヒラミレモンでは強い活性があった画分に相当するカラスザンショウの画分には中程度の活性しか認められず、別の画分(ヒラミレモンでは活性が低かった画分に相当)に強い活性があった。この画分についてイオン交換樹脂による分離を行い、産卵反応性を調べたところ、中性・両性+塩基性画分に80%程度の強い活性がみられた。一方、中性・両性および塩基性画分は比較活性が低かったため、この強い活性は中性・両性物質と塩基性物質の協合作用によって発現していると推定された。

以上から、カラスザンショウの産卵刺激物質系は、シロオビアゲハとヒラミレモン、クロアゲハとウンシュウミカンの関係にみられるような物質系とは異なった物質系を構成していることが推定される。

第5章 チョウ類の寄主適応性を理科の教材とする試み

今日、理科教育では児童・生徒の興味・関心に依拠した科学的探究過程に基づく学習活動が強調されはじめている。すなわち、従来の教科・科目の枠組みにとらわれない学習の広がりが求められるようになり、同時にそれに対応する学習内容の開発が急務となっている。そこで、本研究を通じて得た知見や経験をもとにして「チョウ類の寄主適応性」をテーマとする教材の開発を試みた。モンシロチョウ、クロアゲハ、ナミアゲハ等を対象として、野外観察、飼育観察を通じて摂食適応性、産卵反応性を検討するための幼虫および成虫の飼育法、生物試験法、成分化学的実験法を開発し、授業に供するプロセスを考案した。

第6章 総合考察

野外で主要な寄主植物の一つであるヒラミレモンに対するシロオビアゲハの適応性について、5種の産卵刺激物質の存在および幼虫に高い摂食適応性が明らかになった。一方、実験室で高い適応性が認められたカラスザンショウは、野外ではシロオビアゲハと同所的に分布するものの、その植生とチョウの行動という生態学的な要因によって寄主になり得ていないことが推定される。すなわち、カラスザンショウは高木で比較の日当たりのよい環境で生育する植物であるが、シロオビアゲハは日陰

を好み、比較的低い場所で生活しているということが、両者の関係を希薄にする一因と考えられる。

本研究で明らかになった、ヒラミレモンに含まれるシロオビアゲハの産卵刺激物質は、ミカン属植物に対すパピリオ属チョウの産卵刺激物質としてはウンシュウミカン-クロアゲハ、ウンシュウミカン-ナミアゲハに次いで3例目となる。いずれも多成分系の協力作用によって産卵行動を活性化するという共通点がみられ、化合物も類似性がみられる。シロオビアゲハのもう一方の主要な寄主であるサルカケミカンには、2種(*trans*-4hydroxy-N-methyl-L-proline(HMP)、2-methyl-2,3,4,-trihydroxy-erythrobutanoic acid(MEA))の産卵刺激物質が同定されている。この関係では、単純な化合物系で産卵反応が活性化されている。このような知見からシロオビアゲハの寄主転換を考察すると、サルカケミカンからヒラミレモンやウンシュウミカンに向かう寄主転換に際して、HMPが鍵を握る化合物と考えられる。つまり、この化合物を手がかりにヒラミレモンおよびウンシュウミカンに共通に含まれ、構造的に類似なstachydrineに到達し、さらに適合していく過程で多様な物質系による産卵刺激システムを獲得したと推定できる。また、野外で寄主となり得ていないカラスザンショウは、ミカン属植物よりもさらに複雑な産卵刺激物質系が示唆されるが、シロオビアゲハにとってさらなる寄主転換の対象になりうる可能性があると考えられる。