

オビカレハ *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera: Lasiocampidae) の産卵習性と卵固着物質

兼久勝夫・杉山章平

オビカレハは幼虫がウメケムシまたはテンマクケムシと俗称され、梅、桃、桜などの若葉を春から初夏にかけて食害する。その産卵習性は特徴があり、食害樹の小枝に指輪状に巻きつけて産卵する。卵と卵また卵と小枝の間は黒褐色の固化物によって固着されている。この固化物は雌性付属腺の分泌物に由来するものである。

昆虫の雌のおもな内部生殖系は卵巣、輸卵管、付属腺および受精囊よりなっている(Davey 1965, De Wilde 1964)。オビカレハもこれらの器官を有し、付属腺は体重当り大型で、茶褐色の内容物を含有している。これは他の多くの蛾類が乳白色を主とした薄色を呈しているのに対して一つの特徴である。雌性付属腺 (female accessory gland) は膠質腺 (colleterial gland) の別名が示すように、産付卵を固着させる膠質粘液物を分泌する作用を持っている (Wigglesworth 1953)。1967年春にかなりの数のオビカレハを採集飼育し、産卵習性の観察と付属腺内容物の主たる構成成分を調べ、明らかにすることが出来た部分もあるので報告する。

本実験を行なうに当り有益な助言を賜った当研究所小沢潤二郎教授、供試虫の採集、飼育および実験に援助いただいた白神孝、松尾昌子の各氏に深謝する。

実験材料と方法

供試虫

オビカレハは倉敷市内において庭樹として栽植されている桃および桜を食害中のものを採集した。吐糸網を作り群棲している2令幼虫を4月12日に、また営繭蛹化のために栽植樹上およびその付近を歩行中の終令虫を5月12日に採集した。これらに桜葉または柳葉を与えて25°C、24時間照明で飼育し、営繭蛹化させた。1蛹ずつ分離しておいて羽化させて実験に供した。

誘引および交尾試験

大きさが縦横各65 cm、高さ50 cmで、底面板敷、その他は網張りの飼育箱に、直径約20 cmのはえとりびんを2コ入れた。びんのそれぞれに3匹ずつの未交尾雌蛾と雄蛾を収納した直径約5 cm、高さ約3 cmの網蓋付きポリエチレンカップを入れた。飼育箱内に20~40匹の雄蛾または雌蛾を入れて、ガラス窓のある小屋に放置し、薄暮および早朝の活動期の後、びん内に入っている蛾数を調べた。多くの欠点を感じたが、この方法で雌雄の誘引性を検討した。交尾産卵習性は室温で自然照明の室で、桜の小枝を入れて観察した。いずれの場合もはちみつと蔗糖の混合液を脱脂綿につけて与えた。

付属腺内容物

羽化1～4日後の未交尾雌蛾または交尾産卵後の蛾を生理的食塩水中で解剖した。形態の比較観察をするとともに卵巣内の卵を数えた。未交尾雌蛾の付属腺を薄茶色半透明の先端細管部とともに取り出し、数秒間蒸溜水中で水洗し、濾紙で余分の水分を取り除き秤量した。1コまたは5コずつをそれぞれ1N, 0.5N, 0.25N, 0.12N, 0.06Nの各硫酸液で還流加熱分解し、攪拌しながら炭酸バリウム粉末を加えてpH 6.0付近に中和した。これを遠心分離し、上清液を40°Cで減圧濃縮して、下記するクロマトグラフィーを行なった。新鮮な付属腺からの粘質液、数十コずつ含水エーテルまたは90%メタノール中に約1カ月間浸漬した両液の濃縮液、および浸漬後細切して4N, 1N, 0.25N, 0.06Nの塩酸または5%カ性ソーダ液で還流加熱分解した中和濃縮液についてクロマトグラフィーを行なった。

クロマトグラフィー

東洋濾紙 No. 51A の濾紙クロマトグラフィーとシリカゲルGの薄層クロマトグラフィーにより、アミノ酸、糖類およびフェノール性物質の分離、同定を主目的にして種々の展開液を用いて行なった。各図に付記したものが好適であり多用した。発色剤の調整法は橋本(1962)と杉本・今戸、古谷、岡田・松井(1964)によった。糖類の発色剤としてはナフチルレゾルシン硫酸、アニスアルデヒド硫酸、アニリン水素フタレート、アニシジンフタレート、アンスロンおよびアンモニア性硝酸銀の各試薬を用いた。アミノ酸の発色剤としてはニンヒドリン試薬を用いた。フェノール性物質の発色剤としてはジアゾベンチジン、同スルフェニル酸、同エールリッヒ試薬、ベルリン青反応、リンモリブデン酸、フォルインのフェノール試薬、および2, 6ジクロロキノロンクロロイミド試薬を用いた。糖用として記述したナフチルレゾルシン硫酸、アニスアルデヒド硫酸およびアンモニア性硝酸銀はフェノール性物質を違った色調で発色させた。5%ヨウソのクロロホルム液、5%塩化アンチモン液、ドラゲンドルフ試薬やpH指示色素液なども用いた。これらの発色試薬および同定のための試薬は和光薬品製または東京化成製のものを使用した。

結 果

オビカレハの交尾と産卵

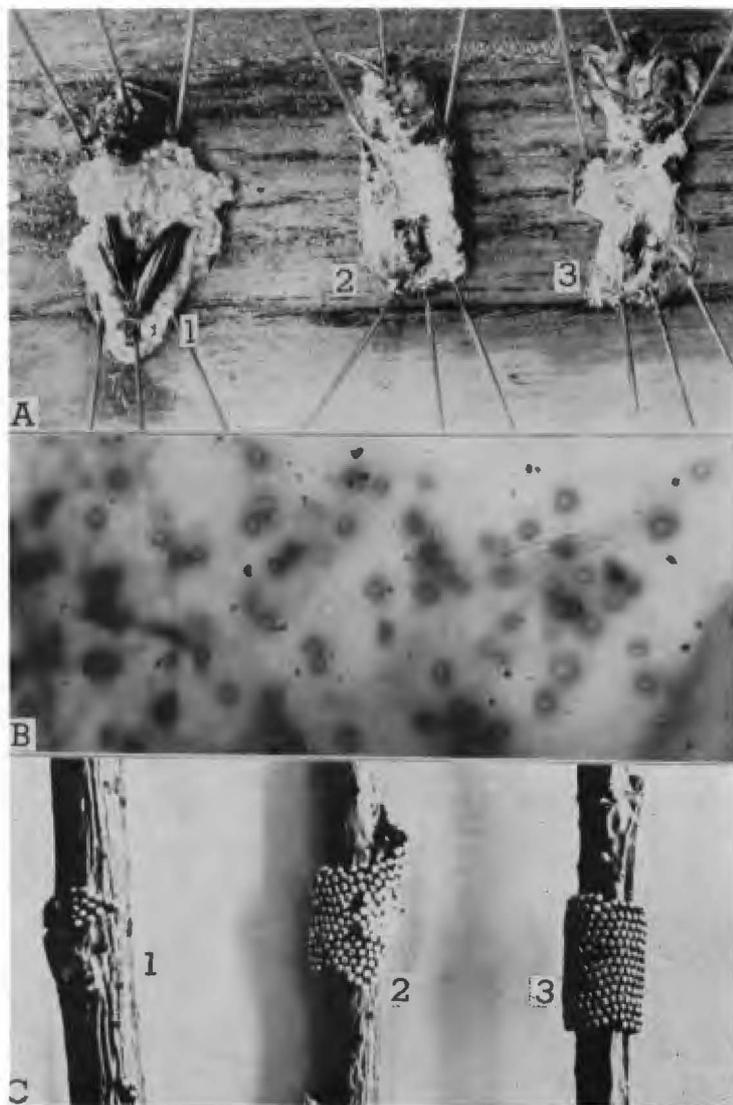
4月12日に2齢幼虫で採集し、25°Cで飼育したものは5月1日より営繭蛹化し、5月14日より羽化し始めた。野外条件のまま成長したものは5月10日頃から営繭蛹化し、5月24日より羽化し始めた。蛹期間は雌で平均16日(14～19日)、雄は14.5日(13～17日)であった。したがって羽化当初は雄蛾が多く、末期になると雌蛾の方が多かった。成虫は比較的短命で、与えたはちみつと蔗糖液をほとんど摂取しないようで、1週間内外で雌雄ともに死亡した。薄暮と早朝に活潑に飛び廻り、また趨光性も顕著であった。雌は腹部が大きいいためか雄ほど活潑でなかった。

本実験に用いた誘引試験方法ははえとりびんのため出入りが円滑でなく、不規則に行なわれる欠点があった。しかし雄蛾は雌蛾に誘引され、その反対は見られない結果を得た。それを第1表に示す。カイコやヤマユガ類に見られるような大型の誘引腺は見られず、またカイコで見られるような交尾前のはげしい運動もなかった。昼間でも時々活発に飛翔することがあり、その時に雌蛾を収納したびんへ雄蛾が飛び込むことがあった。

第 1 表 オビカレハの性誘引試験

放飼虫	調査回数	瓶内捕獲全虫数		雌蛾瓶と雄蛾瓶の比較					
		雌蛾瓶	雄蛾瓶	雌蛾瓶	雄蛾瓶	雌蛾瓶	雄蛾瓶	雌蛾瓶	雄蛾瓶
雄蛾	62	79	42	32	11	11	8		
雌蛾	25	9	7	6	1	4	14		

交尾産卵習性は長野(1917)や林(1937)が詳述しているが、若干付記する点も加えて、今回の観察の要点を記述する。交尾は雌蛾の羽化後1~2日以内に雌雄逆方向の定位で静止して、1~3時間行なわれた。その後1~2日以内に、直径4~7mmの小枝を選び、2~3時間かけて産卵が行なわれた。交尾および産卵は夜間のほうが多いようであるが、昼間でもしばしば見られた。通常産卵を開始すると、卵巣内のほとんどの卵を1回に産付してしまう。産卵後の蛾を解剖すると、卵はごくわずか残っているのみか、または全くなかった。卵巣中の卵は羽化時にほとんど全部が完成された状態にあり、マイマイガやニカメイガで見られるような小さい卵や



第1図 A: 未交尾蛾(1)および交尾産卵蛾(2は約90%産卵した蛾, 3はほぼ完全に産卵した蛾)の雌性付属腺と卵巣
 B: 雌性付属腺の外層の膜面
 C: 未交尾蛾(1)と交尾蛾(2と3)による卵塊

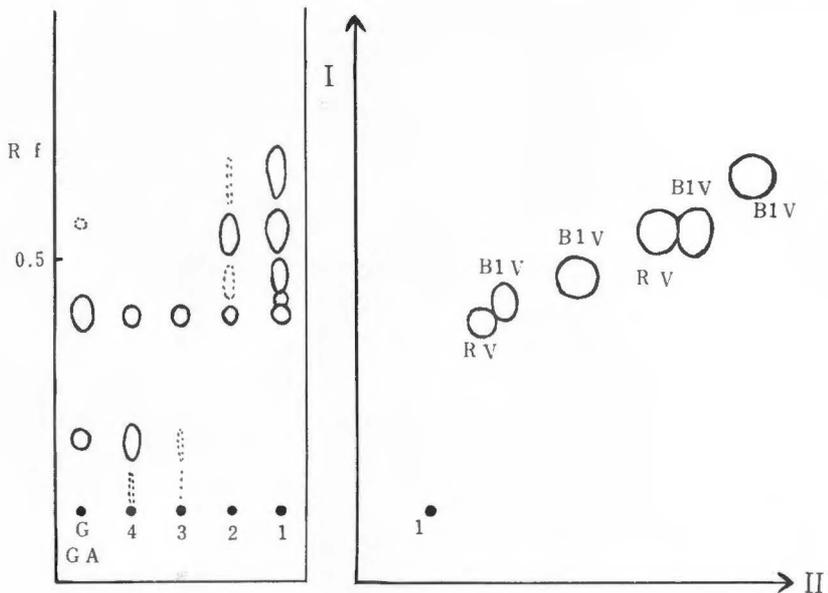
小胞状のものは認められなかった。40匹の雌蛾について含有卵数を調べたところ、1匹当たり平均390コ(313~492コ)であった。

付属腺内容物は卵とともに少量ずつ分泌される。未交尾蛾で10コについて調べたところ、1コ当たり平均61mg(50~73mg)であった。これが産卵終了後は収縮して糸状になっていた。これを第1図Aに示す。付属腺の最外層は5%カ性ソーダで加熱分解した時に薄茶色の透明囊状物として残り、表面に微小隆起を有する膜状物よりできていた。これを第1図Bに示す。酸加水分解ではこの残留物はなく、キチン質でできていることが推定された。付属腺内容物は体外に出ると急速に粘着固化した。濾紙につけると数分以内に固化し、水中で付属腺を破ると少しずつ拡散しながら沈殿し、やがて固化した。4%フォルマリン液やアルコールに浸漬すると非常に固くなった。

第1図Cに正常に産卵されたものと未交尾蛾が産卵したものを示す。未交尾のまま放置しておくと、羽化3~4日後より少量ずつ場所も不規則に産卵した。死亡したときに、かなりの数の卵が卵巣内に残り、また付属腺内容物も相当量残り固くなっていた。未交尾蛾の産卵は付属腺からの分泌も不統一であり、はがれやすい小卵塊を作った。しかし急速に分泌物が固化することは正常の産卵と同じであった。未交尾蛾の産卵時に分泌物が多量であると産卵管の末端部が産卵箇所にも固着し、そのまま移動不能となり死亡している例がしばしば見られた。

付属腺内容物の組成

解剖直後の新鮮試料について濾紙クロマトグラフィーを行なった。試料は塗布後急速に



第2図 ナフチルレゾルシン硫酸発色クロマトグラム

I次元: ブタノール-氷酢酸-水 (4, 1, 1), II次元: エチルアセテート-65%イソプロパノール (65, 35). G: グルコース, GA: グルクロン酸, 上の点の部分はグルクロン酸ラクトン体, 1: 0.06N, 2: 0.12N, 3: 0.25N, 4: 0.5Nまたは1Nの各硫酸分解後の中和濃縮液. RV: 赤紫色, B1V: 青紫色

黒褐色に固化し、これは用いた数種の展開液のいずれによっても原点からテイリング様
上昇した。しかしニンヒドリン、アニリン水素フタレートおよびフェノール試薬のい
ずれによっても明瞭なスポットは検出されなかった。このことは分解して検討する
必要を示している。

加水分解物について調べた結果、分解の程度が低い試料中に、糖類の発色剤である
ナフチルレゾルシンやアニスアルデヒドで発色する物質が数コあり、これらは分解
が進むと減少した。反対にアミノ酸の発色剤であるニンヒドリンで検出される物
質は分解が進むにつれて急激に増量して来た。蛋白質が主成分の一つであること
が明瞭である。

第2図にナフチルレゾルシン硫酸で発色させた例を示す。軽度の分解試料中に赤紫
色と青紫色を呈して高 Rf 値を示すスポットがあり、分解が進むにつれて消失し、
原点近くとグルクロン酸と近似の Rf 値をとるスポットが現われて来た。グルコ
ースのスポットはどの試料にもあるが、分解の進んだ試料のほうが若干多量に含
んでいるようであった。グルコースの同定は種々の展開液を用いてガラクトース、
フラクトース、トレハロースその他10種の単糖および少糖類と比較して行な
った。

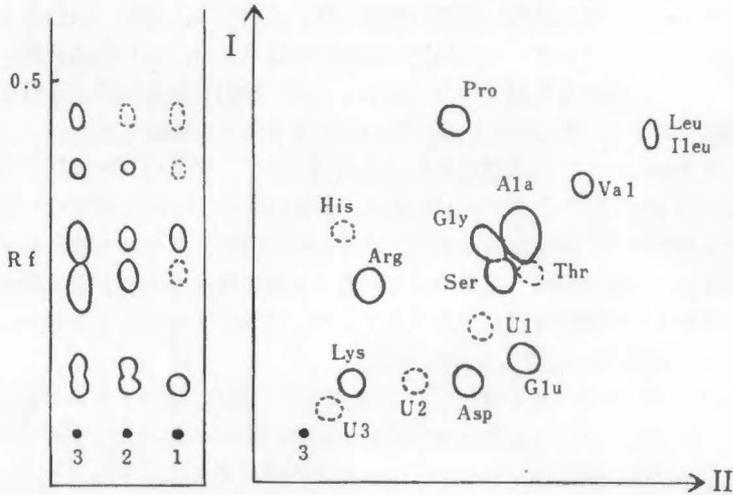
分解された試料中にはベルリン青反応、リンモリブデン酸、2,6ジクロルキノ
クロイミド試薬、その他のフェノール性物質検出反応で陽性のものがあつた。
下記するメタノール抽出液や含水エーテル抽出液中にもフェノール性物質があ
つた。さらにサリシンやフロリジンのフェノール性配糖体の展開状態や発色性
は軽度の分解試料中のみに見られるものと似ていた。フェノール性配糖体が
付属腺内容物中にあると推定される。しかしグルコース配糖体かグルクロン酸
配糖体か、またはそれ以外のものも存在するかなどは明確でない。

数十コの付属腺をメタノールおよび含水エーテルに約1ヶ月間浸漬した場合にも、
ナフチルレゾルシンやアニスアルデヒド試薬で陽性反応を示すものが検出され
た。メタノール抽出液のものは軽度の酸加水分解と似たクロマトグラムを示し
た。しかし陽性スポットは3コしか認められず、酸加水分解試料のそれより少
なかつた。エーテル抽出物中にはナフチルレゾルシンのほかベルリン青反
応、リンモリブデン酸、2,6ジクロルキノクロイミド、ジアゾベンチジンな
どのフェノール性物質検出用試薬で陽性反応を示す2つ以上のスポットが各
種の展開液によって得られた。これらはフェノール性配糖体の自然分解によ
来すると考えられる。

対照用としてサリシン（オルソヒドロキシベンジルアルコールとDグルコースの
配糖体）とフロリジン（フロレチンとDグルコースの配糖体）を用いた。これら
はナフチルレゾルシンやアニスアルデヒドで発色し、アニリン水素フタレ
ート、ジアゾベンチジン、ベルリン青反応は陰性であつた。サリシンとフロ
リジンの各種の展開液での Rf 値はブタノール、氷酢酸、水（4, 1, 1）で
0.73 と 0.89、エチルアセテート、65%イソプロパノール（65, 35）で
0.45 と 0.87、エチルアセテート、メチルエチルケトン、蟻酸、水（5, 3,
1, 1）で 0.52 と 0.82、またクロロホルム、蟻酸エチル、蟻酸（5, 4, 1）
で 0.09 と 0.12 であつた。すなわち軽度の分解試料中のものと発色性と展
開状態がよく似ていた。

フェノール性配糖体のフェノール基を同定するために、酸分解中のものおよび
エーテル抽出物中のフェノール性物質と合成純品化合物とを比較した。しかしカ
テコール、レゾルシン、プロトカテキン酸、パラキノン、上記配糖体をエマル
ジンで酵素分解したもの、その他十余種の単純フェノール類は該当せず、試
料不足から同定するに至らなかつた。

付属腺内容物の主成分が蛋白質であり、それが分解の進行にともなって遊離アミノ酸の顕著な増加によって明らかなことを第3図に示す。軽度の分解によってまずアスパラギン酸が明瞭に検出された。分解の進んだ試料中に検出されるアミノ酸はロイシン、イソロイ



第3図 ニンヒドリン発色クロマトグラム

I次元: フェノール-0.08%アンモニア水 (4, 1), II次元: ブタノール-氷酢酸-水 (4, 1, 1). 1: 0.06N, 2: 0.12N, 3: 0.25N, 0.5 N又は1Nの各硫酸分解後の中和濃縮液

シン、バリン、プロリン、アラニン、グリシン、セリン、アルギニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、リジンが明瞭で、ヒスチジン、スレオニン、未同定の3物質が微量検出された。未同定のもので図中UIとしたものは酸加水分解試料中にあり、カ性ソーダ分解試料中にははっきりしなかった。グルコサミンと推定される。

エーテル可溶物中に脂質と認められるものはほとんどなかった。したがって付属腺内容物中に脂質類はあってもごくわずかである。

考 察

幼虫初期に吐糸網上に群棲し、食葉性で目立ちやすいオビカレハは、薬剤防除が進歩した今日では農業上問題は少ない。むしろ薬剤防除の行なわれない庭樹として栽植されている桃などで、ときに多発するよう見られる。幼虫は比較的大型で、羽化時に卵巢内の卵はほとんど完成されており、特徴ある産卵習性、性誘引物質など今日でも興味ある研究対照の1つであろう。

多くの蛾類が性誘引物質を出していることは明らかにされつつあるが (Jacobson 1965)、オビカレハにおいても雌蛾が雄蛾を誘引する物質を発散していることが判明した。試験方法として考えると、本実験の飼育箱とはえとりびんを使用する方法は多くの欠点が見うけられた。放出される誘引揮発性物質の濃度勾配を作りうる器具を用いるか、より広い空間と適当なトラップを用いて、自然に近い条件で実験することが適切であると考えられる。

竹田ら (1954, 1960) はカイコ, ヤママユガ類その他数種の蛾について, 誘引腺の物質揮散過程を組織学的に検討している。オビカレハにおいては, カイコやヤマユガ類で見られるような大型の誘引腺は認知できなかった。より小型の器官から分泌揮散されていると推定される。組織学的に検討することは残された問題の1つである。

昆虫類の雌性付属腺分泌物は産卵卵を包み固着させたり, 卵鞘を形成している (Wigglesworth 1953, De Wilde 1964)。オビカレハにおいては, 体重当りの付属腺重量比が大きいこと, 卵と卵の間の充填固着の作用が大きいことが特徴である。付属腺の構成を大別すると, オビカレハにおいては薄茶色半透明の先端細管部と輸卵管近くの膨隆部に2分される。本実験ではいっしょにして分析したため不明の点が多いが, 細管部で分泌物を作り, 膨隆部は貯蔵的な役割りをしていると推察される。

構成成分として蛋白質が大きな部分を占めており, 主たるアミノ酸組成を知ることができた。11種の明瞭なスポットと5種の微量的スポットとして, クロマトグラム上で認知できた。Riley and Forgash (1967) はキイロショウジョウバエの付属腺内容物を組織化学的染色法とクロマトグラフィーで調べて, 10種のアミノ酸とかなりの量のグルコサミンが含まれていることから, ムコ蛋白であろうと報じている。オビカレハとショウジョウバエでは産卵様式は違っているが, 主たるアミノ酸組成はよく似ている。しかし, グルコサミンの点は違っており, ショウジョウバエでかなりの量が明瞭に認められているのに対して, オビカレハでは酸加水分解によって極めて微量しか存在していない。しかもそれは5%カ性ソーダ分解の残留物として認められるキチン質様の付属腺外層膜から由来していると考えられる。したがって, オビカレハの付属腺内容物中にはグルコサミンはほとんどなく, 蛋白成分はフェノール性成分と結合して卵に膠着し, 体外で固化するものと考えられる。

付属腺分泌物中のフェノール性配糖体については, Brunet and Kent (1955) がゴキブリ類の卵鞘形成機構に関連して詳しく研究している。すなわち, 大型の左側付属腺より蛋白質とプロトカテキン酸配糖体を分泌し, ずっと小型の右側付属腺よりベータグルコシダーゼを分泌し, この酵素がプロトカテキン酸を遊離して, これが更にキノン型に酸化されて蛋白質と結合し, 卵鞘を形成すると述べている。Stay and Roth (1962) も19種のゴキブリ類とその他2種の直翅目虫について研究し, プロトカテキン酸と未同定のフェノール性配糖体を確認している。これらの研究は, 付属腺が乳白色で多数の細管分枝状のものよりなり, 長時間かけて徐々に卵鞘を形成する直翅目虫でなされたものである。茶褐色大型, 左右同型で, 2~3時間で分泌されつくすオビカレハでは, 成分および固着硬化機構がゴキブリ類と違うことが予想される。しかしオビカレハにおいてはプロトカテキン酸の配糖体こそ認められなかったが, 数コの未同定のフェノール性配糖体が推定され, またエーテル可溶物中に遊離のフェノール性物質が確認できている。このことはオビカレハにおいてもフェノール性物質が固着硬化に関与していることを示すものと考えられる。フェノール基の同定が残された問題である。

Riley and Forgash (1967) はキイロショウジョウバエの付属腺分泌物が脂質検出反応で陰性であることを報じている。オビカレハにおいても同様の性質を示した。

摘 要

オビカレハの幼虫を野外採集し, 柳葉と桜葉にて飼育羽化させて, 交尾, 産卵, 性誘引

性を観察検討するとともに、卵固着成分となっている雌性付属腺の内容物の組成を検討した。

雌蛾は羽化時に完成された卵のみを有し、1回の産卵でほとんどの卵が産下される。付属腺内容物も産卵量に応じて分泌され、産卵終了時にはほとんど分泌しつくされていた。

雌蛾は雄蛾を誘引する揮発性物質を分泌していた。

付属腺内容物は蛋白質が最も大きな部分をしめており、加水分解物のクロマトグラフィーによって、そのアミノ酸組成はロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、アラニン、グリシン、セリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニン、リジンおよび微量のヒスチジン、スレオニン、その他未同定の3種のノンヒドリン陽性物質がおもなものであった。未同定ながら数コのフェノール性配糖体と推定されるものと、若干の遊離フェノール性物質が検出された。フェノール性物質と蛋白質が結合して産付卵塊を充填固着するものと推定される。

引用文献

- Brunet, P. C. J. and Kent, P. W. 1955. Observations on the mechanism of a tanning reaction in *Periplaneta* and *Blatta*. Proc. Roy. Soc. London (B) 144 : 259—274.
- Davey, K. G. 1965. Reproduction in the insects. 13—28. Oliver and Boyd, London.
- DeWilde, J. 1964. Reproduction. Physiology of insecta 1 : 9—58. Academic Press, New York.
- 橋本庸平. 1963. 薄層クロマトグラフィー. 広川書店, 東京.
- 林 泉. 1937. 梅毛虫蛾の産卵習性. 植物及動物 5 : 925—930.
- 古谷 力. 1964. フェノール性植物成分. 薄層クロマトグラフィー第1集 (化学の領域増刊59号) 61—72.
- Jacobson, M. 1965. Insect sex attractants. Interscience Pub., New York.
- 長野菊次郎. 1917. オビカレハ属. 名和昆虫研報告 2 : 18—22.
- 岡田正志, 松井道夫. 1964. 糖類. 薄層クロマトグラフィー第1集 (化学の領域増刊59号) 121—132.
- Riley, R. C. and Forgash, A. J. 1967. *Drosophila melanogaster* eggshell adhesive. J. Ins. Physiol. 13 : 509—517.
- Stay, B. and Roth, L. M. 1962. The colleterial glands of cockroaches. Ann. Ent. Soc. Amer. 55 : 124—130.
- 杉本典夫, 今戸佐太郎. 1964. アミノ酸. 薄層クロマトグラフィー第1集 (化学の領域増刊59号) 61—72.
- 竹田 寛. 1954. 家蚕及びその他の絹糸虫に於ける雌蛾の雄蛾誘引. 新昆虫 7 : 2—4.
- 竹田 寛, 田中一行. 1960. クワコ, クスサン及びトガリエダシヤクの誘引物質揮散過程に関する研究. 信大繊維報告 10 : 87—89.
- Wigglesworth, V. B. 1953. The principles of insect physiology. E. P. Dutton, New York.