

マツヘリカメムシが苦手とする植物の探索

生物資源科学部 応用生物科学科

1年 鈴木 ちひろ

1年 原子 ひかり

1年 木村 千聖

2年 塩谷 理乃

生物資源科学部 生物生産科学科

1年 鈴木 麻央

指導教員 生物資源科学部 応用生物科学科

助教 福原 和哉

生物資源科学部 生物生産科学科

准教授 野下 浩二

生物資源科学部 生物環境科学科

助教 倉田 正観

【背景・目的】

一括りにカメ虫といっても、形や色、大きさまで様々な種類が存在している。秋田キャンパス周辺でよく観察される茶色い大きなカメ虫は、北米原産のマツヘリカメムシという外来種であり、日本のみならずヨーロッパでも生息域を急速に拡大している。また、生息域の拡大により、マツヘリカメムシの主な寄主である、マツ属植物の生育に悪影響があるとの報告もある。

そこで本研究では、見た目が不快なだけではなく、生態系にも悪影響を及ぼしているマツヘリカメムシの防除に利用可能な成分を含む植物種を探索することを目的とした。そのために、秋田キャンパスにて採取した野草および秋田県内で栽培されている野菜・山菜の抽出物を調製し、それら抽出物に対してマツヘリカメムシが忌避反応を示すかを試験した。

【実験方法】

1. 植物素材の収集

秋田キャンパスにおいて、ヘラオオバコ・ブタナ・サンショウの3種を採取した(サンショウの写真:図1)。また、大潟キャンパスで栽培される湯沢ギク(図2)をはじめ、13つの野草・野菜・山菜のサンプルを福原助教より提供していただいた。



図1. サンショウ (秋田キャンパスにて撮影)



図2. 湯沢ギク

2. カメムシの採集並びに飼育

秋田キャンパスにおいて、マツヘリカメムシを 18 匹採取した。採集したカメムシは飼育容器（アズワン丸型 V 式容器 V-12、内径 149 mm×高さ 91 mm）にて飼育し、餌として秋田キャンパス内のマツの枝を与えた。

3. 抽出物の調製

1. で収集した植物素材について、以下のように抽出物を調製した。

- ① サンプルを電子天秤で秤量し、フォースミルまたはフードプロセッサーに入れ、粉碎した。
- ② 粉碎したサンプル 2.5 g を計りとり、50 mL のねじ付き試験管に移した。
- ③ 溶媒（メタノールまたはヘキサン）をメスシリンダーで 25 mL 計り、ねじ付き試験管に入れた。
- ④ 超音波洗浄機を使用し、30 分間抽出を行なった。
- ⑤ ブフナー漏斗と吸引ビンを使用し、抽出液を吸引濾過にて回収した。
- ⑥ 吸引ビンに回収された抽出液を、秤量済みの 200 mL ナス型フラスコに移した。
- ⑦ ロータリーエバポレーターを使用して抽出液を濃縮した。
- ⑧ 濃縮後、200 mL ナス型フラスコを真空デシケーターで乾燥し、残った溶媒や水分を取り除いた。
- ⑨ 200 mL ナス型フラスコの重量を計り、得られた抽出物量を調べた。
- ⑩ 抽出物が 100 mg/mL になるように溶媒に溶かし、スクリュウ瓶に移した。メタノール抽出物はメタノールに、ヘキサン抽出物はエタノールに溶かした。サンプルを移したスクリュウ瓶はコンテナに入れ、 -30°C の冷凍庫にて保存した。

以上の方法により、合計 41 種の抽出物を調製した。

4. カメムシへの活性試験①:抽出物を近づけた際の反応の確認

半分に切ったろ紙の全体に調製した抽出物をかけた。ピンセットでろ紙をマツヘリカメムシに近づけ、反応を確認した。なお、ポジティブコントロールとして、クモヘリカメムシの忌避フェロモンとして知られる *trans*-2-オクテナールを使用した。

5. カメムシへの活性試験②:飼育容器内に置いた抽出物に対する反応の確認

飼育容器内にキムワイプを敷き、抽出物を染み込ませたろ紙および溶媒のみを染み込ませたろ紙を飼育容器内の両端に配置した。この容器内にマツヘリカメムシを 10 匹入れ、試験開始直後(10 時)、昼休み(12 時)、および放課後(16 時~18 時)に飼育容器のどこにカメムシがいるのか、抽出物を避けるような様子はあるかを確認した。

6. カメムシへの活性試験③:シャーレ内に置いた抽出物に対する反応の確認

直径 120 mm(高さ 20 mm)のシャーレに、半分に切った直径 90 mm のろ紙 2 枚を両端に置いた。それぞれのろ紙にサンプルおよび溶媒を 500 μL ずつ染み込ませた。このシャーレ内にマツヘリカメムシを 3 匹もしくは 5 匹入れ、試験開始直後(10 時)、昼休み(12 時)、および放課後(16 時~18 時)に飼育容器のどこにカメムシがいるのか、抽出物を避ける様子があるかを確認した。

【結果と考察】

1. カメムシへの活性試験①:抽出物を近づけた際の反応の確認

はじめに、ポジティブコントロール(蒸留水で10倍に希釈した *trans*-2-オクテナール)、および溶媒として使用したメタノールおよびエタノールに対するカメムシの反応を確認した。

trans-2-オクテナールを近づけると、マツヘリカメムシは避けるような様子を見せた。また、溶媒について、メタノールに対しては反応を示さなかったものの、エタノールに対しては近づいてくるような反応を示したため、以後、メタノール抽出物を中心に試験することにした。

23種の抽出物について試験したが、忌避反応には個体差があり、再現性に乏しかった。そこで、忌避反応の有無をより長時間確認できるように、試験法を変更することにした。

2. カメムシへの活性試験②:飼育容器内に置いた抽出物に対する反応の確認

より長時間の忌避反応を確認するため、飼育容器内に抽出物と溶媒をそれぞれ染み込ませたろ紙を置き、数時間後に観察して、忌避反応を示すか確認した。

はじめに、*trans*-2-オクテナールに対する反応を確認したところ、飼育容器内のカメムシがサンプルを染み込ませたろ紙を避け、溶媒(蒸留水)を染み込ませたろ紙の近くにいる様子が観察された(図 3a)。この様子を基準として、抽出物を避ける様子が観察できるか確認した。

9種類のメタノール抽出物に対する反応を確認したところ、サンショウの葉および湯沢ギクの葉の抽出物に対する忌避反応が観察された(図 3b・3c)。また、それ以外のサンプルについては、忌避反応は見られなかった(図 3d)。

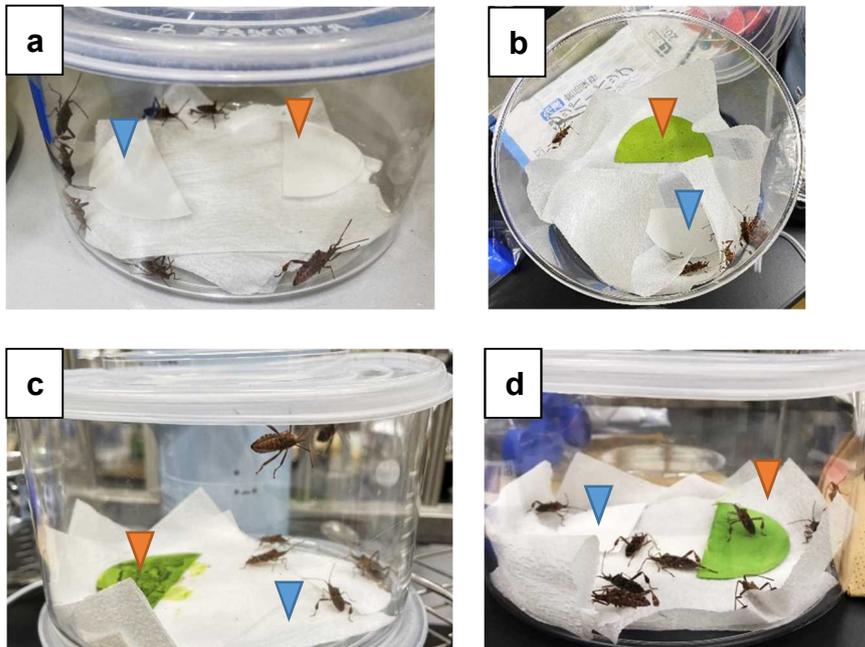


図 3. 飼育容器内に配置した抽出物に対するマツヘリカメムシの反応 (橙矢印がサンプル、青矢印が溶媒のみ、それぞれ染み込ませたろ紙) : (a) *trans*-2-オクテナール; (b) サンショウの葉抽出物; (c) 湯沢ぎくの葉の抽出物; (d) ブタナの葉の抽出物。

これらの結果から、サンショウの葉および湯沢ギクの葉には、カメムシが忌避する成分が含まれる可能性があることがわかった。一方で、試験に用いたプラスチック容器には高さがあり、カメムシが各所に分散し、忌避反応を起こしているかの判断が難しかった。

そこで、より狭いシャーレを用いて、繰り返し試験することで、サンショウの葉および湯沢ギクに対する忌避反応を確認することにした。

3. カメムシへの活性試験③:シャーレ内に置いた抽出物に対する反応の確認

はじめに、*trans*-2-オクテナールに対する反応を確認した。シャーレに入れた全てのカメムシがサンプルを染み込ませたろ紙を避け、溶媒(蒸留水)が染み込んだろ紙にいた(図 4a)。

この試験法でも忌避活性が確認できると考えられたため、サンショウの葉抽出物について、この方法で試験した。試験は2枚のシャーレを用いて行い、それぞれのシャーレに5匹および3匹のマツヘリカメムシを入れた。試験開始からおよそ2時間後、カメムシの様子を確認したところ、すべてのカメムシが死んでしまっていた(図 4b)。カメムシが抽出物を染み込ませたろ紙上で死んでいたことから、サンショウの葉抽出物には忌避活性があるだけでなく、カメムシに対する毒性がある可能性が示唆された。

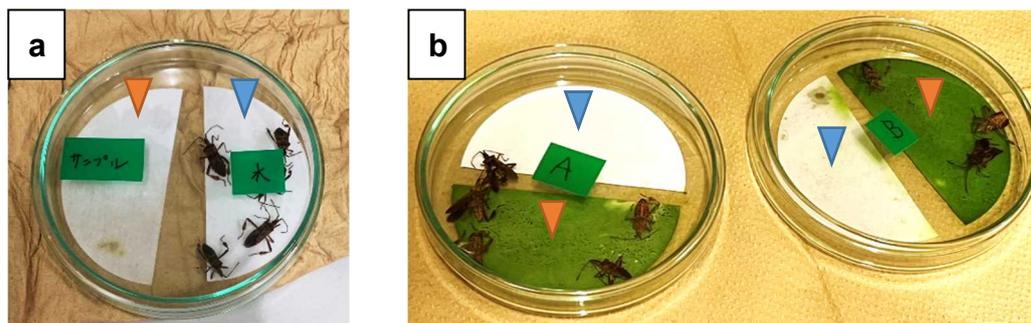


図 4. シャーレに配置した抽出物に対するマツヘリカメムシの反応 (橙矢印がサンプル、青矢印が溶媒のみ、それぞれ染み込ませたろ紙): (a) *trans*-2-オクテナール; (b) サンショウの葉抽出物

【まとめと今後の課題】

本研究では、秋田キャンパスの野草や秋田県で採集された野菜・山菜を抽出し、それら抽出物に対し、マツヘリカメムシが忌避反応を示すか試験した。その結果、サンショウの葉および湯沢ギクの抽出物に対し、忌避反応を示すような様子が観察された。これらの結果から、これら植物にはマツヘリカメムシが避ける成分が含まれる可能性があることがわかった。一方で、飼育していたカメムシが死んでしまったこともあり、活性の強さの定量や成分の特定には至らなかった。

今後は、本研究で開発した試験法(活性試験②および③)を駆使して、さまざまな濃度の抽出物の活性を確認して、各植物抽出物の活性の強さを定量するとともに、抽出物を各種クロマトグラフィーなどで分画することで、どの成分が忌避反応をもたらしているかの特定を目指す。

【謝辞】

湯沢ギクをご提供いただきました神田啓臣先生にこの場を借りて感謝申し上げます。