

ヤマトシジミの寄主植物カタバミに含まれる産卵刺激物質の探索

大村 祐輝 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 古川 誠一 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

チョウの雌成虫は、その子孫である幼虫が餌とする植物(寄主植物)に選択的に産卵するという行動を示す。その際には、接触した葉が寄主植物であるかを見分ける必要があり、その鍵として葉に含まれる特定の化学物質(産卵刺激物質)を認識するとされている。

ヤマトシジミ (*Zizeeria maha*) は、チョウ目シジミチョウ科に属し、日本では本州以南に生息する普通種で、汎存種として知られる雑草のカタバミ (*Oxalis corniculata*) を寄主植物としている。ヤマトシジミは日本で頻繁に見られるほか飼育も容易なため、シジミチョウ科のモデル生物として利用できると期待でき、その生活環を明らかにすることが必要とされている。また、チョウ目の産卵刺激物質を同定する研究は多く試みられてきたが、シジミチョウ科の研究は未だ進んでおらず、本研究では、寄主植物カタバミの葉に含まれる、ヤマトシジミが認識する産卵刺激物質を同定する事を目的とした。

【材料・方法】

(1) 試験溶液の抽出・分画

2021年6月に筑波大学構内で採取したカタバミ葉(105.74 g)を、メタノールで一晩抽出した。残渣を再度抽出して、メタノール粗抽出物(以下、CME: crude methanol extract と略)を得た。CMEは、エバポレータでメタノールを留去後、蒸留水に溶解し、分液漏斗を用いてジエチルエーテルと分液操作を行った(得られた水画分1をDWE1、ジエチルエーテル画分をDEEとした)。

DWE1はさらに、分液漏斗を用いた酢酸エチルとの分液操作により、水画分2(DWE2)および酢酸エチル画分(EAE)を得た。得られた各画分を試料とし、以下に述べる生物試験を行い、産卵刺激活性を評価した。

(2) 生物試験

ヤマトシジミは25°C、60-70% RH、16L:8Dの条件下で継代飼育し、前日に産卵行動が認められた既交尾の雌成虫を産卵刺激活性試験に用いた。

試料溶液、または対照として溶媒のみを、カタバミと同じ三枚葉を持つ塩化ビニル製の人工葉(クローバーとして市販)に塗布した。溶媒を風乾させた後、試料葉2枚、対照葉2枚を、透明な角型ポリスチレン容器(7×7×7cm)に、それぞれが対角になるように配置し、ヤマトシジミ雌1頭を放飼して、ナイロンメッシュの通気口付きの蓋をした。この生物試験容器を、飼育室内に5時間置き、その間に産卵された卵の数を計測した。

(3) 統計解析

得られた産卵数のデータは、統計ソフトEZR(Easy R, version 1.55; Kanda 2013)を用いて、Wilcoxon符号付順位和検定を利用して解析した。

(4) 薄層クロマトグラフィー(TLC)

TLCは、シリカゲル(展開溶媒: 30%MeOH/CHCl₃)、およびODS(展開溶媒: 30%H₂O/MeOH)を用いて試料を展開し、UV

照射(254 nm、365 nm)、およびヨウ素蒸気にさらして分離した化合物を確認した。

【結果・考察】

(1) メタノール粗抽出物(CME)

CMEを塗布した人工葉と対照としてメタノールのみを塗布した人工葉を雌成虫に与えた結果、CMEを塗布した人工葉に有意に多数の卵が産下された。このことから、CMEにはヤマトシジミの産卵刺激物質が含まれていることが示唆された。

(2) 水画分1(DWE1)とジエチルエーテル画分(DEE)

産卵刺激活性が認められたCMEをDWE1とDEEに分画し、それぞれ生物試験を行ったところ、DWE1画分にのみ産卵刺激活性を認めた。このことから、産卵刺激物質はジエチルエーテルには溶けにくい水溶性の物質であると考えられた。

(3) 水画分2(DWE2)と酢酸エチル画分(EAE)

DWE1をさらに二つの画分に分け、生物試験を行ったところ、DWE2およびEAEのいずれも、対照区に比べて有意に試料区に産卵した。このことから、産卵刺激物質は、水と酢酸エチルのどちらにも可溶性化合物であるか、複数の活性成分がそれぞれの画分に存在するという可能性が示唆された。

(4) 薄層クロマトグラフィー(TLC)による分析

活性を示したDWE2およびEAE画分について、TLCを用いてその成分組成を調べた。

DWE2には強くテーリングしたスポットが一つ確認された。EAEでは短波長のUVで少なくとも6個のスポットが確認された。シリカゲルの展開溶媒に1滴のギ酸を添加して展開したところ、EAEとDWE2のスポットにおけるテーリングが抑制された。したがって、これらの画分には酸性物質が含まれることが分かった。カタバミに多く含まれる酸性物質としてはシュウ酸が知られており、水溶性・酸性という化学的性質から、DWE2のテーリングスポットはシュウ酸であると考えられた。

【展望】

今後は、DWE2画分に含まれると推定したシュウ酸を、定性・定量的に分析して産卵刺激活性との関係を調べることで、および、EAE画分をさらに分画して生物試験することによって、カタバミに含まれるヤマトシジミの産卵刺激物質の単離を目指す。