

ウリミバエのラズベリーケトントリフルオロアセテートへの反応について

佐藤 雅*・金田 昌士**・佐々木 幹了*・榎本 竜二¹⁾・
岡山 大介¹⁾・宮部 幸多¹⁾*

横浜植物防疫所調査研究部

Response of Melon Fly, *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) to Raspberry Ketone Trifluoroacetate. Masaru Satoh*, Masashi Kaneda**, Motonori Sasaki*, Ryuji Enomoto¹⁾, Daisuke Okayama¹⁾ and Kota Miyabe¹⁾* (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10, Shin-yamashita, Naka-Ku, Yokohama, 231-0801 Japan.)¹⁾Naha Plant Protection Station, 2-11-1 Minato-machi, Naha, Okinawa, 900-0001 Japan. (*Present address: Risk Analysis Division, Yokohama Plant Protection Station. **Present address: Yokohama, Kanagawa prefecture, Japan.) *Res. Bull. Pl. Prot. Japan.* 57: 11-15 (2022).

Abstract: The attractiveness of a fluorinated analog of cuelure (CL), raspberry ketone trifluoroacetate (RKTA) to the male melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), was investigated. A trapping test in the laboratory found that RKTA captured more male flies than CL, while a field trapping test indicated the contrary, based on which the potential superiority of RKTA over CL as an attractant for the melon fly was not certified. Whether flies responded to RKTA before sexual maturation or not was also investigated. It is suggested that the development of ejaculatory apodeme indicates male sexual maturity in some fruit fly species, so the areas of ejaculatory apodemes of male melon flies were measured. As a result, the development of the ejaculatory apodemes of males have responded to RKTA resembled that of mated males. Furthermore, RKTA scarcely attracted males before mating. Therefore, RKTA seemed to attract sexually matured males. Moreover, many males did not respond to RKTA, even after the sexual maturation. These results indicate that it should be difficult to use RKTA as an attractant for the male annihilation technique to eradicate the melon fly.

Key Words: *Bactrocera cucurbitae*, male attractants, raspberry ketone trifluoroacetate, cuelure, sexual maturation

緒 言

ウリミバエ *Bactrocera cucurbitae* は、かつてミカンコミバエ *B. dorsalis* とともに我が国の南西諸島に発生し、生果実や野菜に深刻な被害をもたらした重要害虫である。ミカンコミバエは1986年に、ウリミバエは1993年に我が国から根絶されたが、植物防疫所及び都道府県によって両種の再侵入を防ぐための侵入警戒調査が実施されている。両種の侵入警戒調査には、それぞれの種の雄成虫を誘引する化学物質を誘引剤とするトラップが使用されており、ウリミバエに対してはキュウルア（以下CL）が、ミカンコミバエに対してはメチルオイゲノール（以下ME）が誘引剤として使用されている。しかし、CLはMEよりも誘引力が弱いことから、CL又はMEを誘引剤とするトラップを同じ密度で設置した場合、ウリミバエはミカンコミバ

エよりも高密度にならないとトラップで捕捉できないという欠点がある（Shelly *et al.*, 2010）。

ウリミバエはCLの類縁化合物にも誘引されることから、CL以上に有用な誘引物質の探索が実施されてきており、ラズベリーケトンホルマート（4-(4-ホルミルオキシフェニル)-2-ブタノン、別名メロルア）のように室内でウリミバエを強く誘引する化合物も見出されているが、野外においてCLを明らかに上回る効果を持つ化合物は未だ発見されていない（Shelly *et al.*, 2012）。

一方、ウリミバエと同属のクインスランドミバエ *B. tryoni* も雄成虫がCLに誘引されるが、ラズベリーケトントリフルオロアセテート（4-(4-(2,2,2-トリフルオロアセトキシフェニル)-2-ブタノン、以下RKTA）が室内試験で同種に対してCLより高い誘引性を示すことが報告されている（Park *et al.*, 2016;

¹⁾ 那覇植物防疫事務所

* 現 横浜植物防疫所リスク分析部

** 現 神奈川県横浜市

Siderhurst *et al.*, 2016)。そこで、本調査では、RKTA と CL のウリミバエ雄成虫に対する誘引性を比較し、RKTA をウリミバエの侵入警戒調査の効率化に資する新たな誘引源として利用できる可能性について検討した。

また、ミバエ雄成虫の誘引物質は、ミバエの根絶防除で用いられている雄除去法（以下 MAT）の誘引剤としても使用されており、ミカンコミバエでは ME を誘引剤に用いた MAT が根絶防除の方法として有効である。しかし、ウリミバエについては、沖縄でのウリミバエ根絶防除で示されたように、CL は密度低下を目的とした抑圧防除には有効であるが（松井ら、1990）、MAT での誘引剤としては効果が十分ではないとされている（松井ら、1990; Siderhurst *et al.*, 2016）。その理由の一つとして、Wong *et al.* (1991) は、CL が既に交尾をしている日令の進んだ雄のみを誘引することを指摘している。金田ら（2021）は、ウリミバエ雄成虫の射精甲 ejaculatory apodeme の発達状況を指標として雄成虫の性成熟を調査し、交尾及び CL への反応性との関係を検討した結果、Wong *et al.* (1991) と同様の結果となり、CL に反応しない雄の中には、射精甲の発達状況から交尾可能と考えられる個体が含まれていたことを報告している。そして、CL を用いた雄除去法ではウリミバエの根絶が達成できない理由として、交尾可能な雄成虫を完全には除去することができないことを挙げている。そこで、本調査では、RKTA のウリミバエ雄成虫の誘引性について、射精甲の発達状況を指標としてウリミバエの性成熟との関係を調査し、従来研究されてきた CL に代わって RKTA を誘引剤として使用した雄除去法による、ウリミバエの根絶の可能性についても検討した。

材料及び方法

供試虫は、農林水産大臣の許可を得て 1987 年（昭和 62 年）から横浜植物防疫所調査研究部害虫担当で飼育している奄美大島産ウリミバエ（許可番号 62Y222）を用いた。飼育は、温度を $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度を 60%、日長を 16L:8D に設定した人工気象室内で行い、明期の前後に 1 時間の薄暮を設定した。幼虫飼育は、小麦フスマ、乾燥酵母、砂糖等を混合した人工飼料で行い、成虫飼育は金網ケージ（ $30 \times 30 \times 45\text{cm}$ ）内で、加水分解酵母（AY65、アサヒフードアンドヘルスケア社製）と砂糖を 1:4 で与え、給水は 4.5% の寒天で行った。

1. RKTA 及び CL のウリミバエ雄成虫に対する誘引効果の比較（室内試験）

直径 10cm×高さ 4cm のプラスチックカップと、蓋と底部を切断して筒状にした 2 本の 1.5ml エッペンドルフチューブで作成した簡易トラップ（Fig. 1）に、RKTA または CL を 5 μl 滴下したる紙を入れ、成虫の飼育に使用するものと同じ金網ケージの中央に、RKTA または CL いずれかを誘引源とした簡易トラップを 1 つ設置した。各ケージには餌及び水を入れた上で、羽化後 4,5,6,8,10,12,14 日のいずれかの日齢の雄 20 頭を放飼して実験室（室温 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ）内に設置し、2 時間後に各トラップに捕捉された頭数を数えた。調査は、各日齢について RKTA 及び CL をそれぞれ 6 ケージずつ、頭数にして 120 頭ずつで実施した。

なお、試験は毎回、各日齢について RKTA 及び CL を 3 ケージずつの合計 6 ケージをまとめて実施した。1 日に 1 回のみ、10 時頃に開始して 12 時頃終了というスケジュールで実施し、実験室の空調は常に稼働させて、揮発した RKTA 及び CL が次回の実験に影響しないように考慮した。



Fig.1 Trap used in this study

2. RKTA 及び CL のウリミバエに対する誘引効果の比較（野外試験）

那覇市の末吉公園（那覇市首里末吉町 1 丁目 3-1）において、2019 年 8 月から 5 か月間、RKTA またはサンケイ化学社製ユーゲルア（侵入警戒調査用 ME 及び CL 混合剤）各 2ml を誘引剤としたスタイナートラップを 3 個ずつ、隣のトラップと 20～30m 程度の距離をおいて設置し、週 1 回設置場所をローテーションしながら（合計 21 回）、誘殺されるハエ類の頭数を調査した。誘殺されたハエがウリミバエだった場合には不妊虫か否かについても調査した。誘引剤は 4 週間に 1 回、調査時に交換した。なお、RKTA については、ミバエ調査に使用するルー用のコットン（直径 1cm×長さ 2.5cm）に浸漬して室内で一晩放置し、固化したものを誘引剤として使用した。

3. ウリミバエ雄成虫の性成熟と射精甲の発達の関係についての調査

ミバエ雄成虫の性成熟の指標として、射精甲の発達状況が利用できることが *B. cacuminata* やセグロモミバエ *B. correcta* で確かめられている（Raghu *et al.*, 2003; Kaneda *et al.*, 2018）。金田ら（2022）は、ウリミバエについて、雄成虫の羽化後の日齢と射精甲の発達の間関係を調査し、射精甲が日齢の経過とともに大きくなっていき、7 日齢で平均約 220,000 μm^2 となって飽和することを確かめた。そこで、ウリミバエ雄成虫が交尾可能と

なる日齢とその時点の射精甲の面積を明らかにするため、4日齢の雄10頭と、性成熟しているが未交尾の23日齢の雌10頭を小型の金網ケージ(15×15×20cm)に入れて飼育し、毎日薄暮終了時に交尾している雌雄を吸虫管で捕獲した。ケージは12個使用した。捕獲した雄成虫は、-30℃の低温で殺虫後に、腹部を10% KOH中に1~3時間置いてから実体顕微鏡(オリンパス社製、SZ16)下で解剖して射精甲を取り出した。取り出した射精甲は、ポリビニルアルコールでプレパラート封入し、オリンパス社製の生物顕微鏡(BX53)に設置したデジタル撮影装置(DP27)及び付属ソフト(cellSens Ver.1.18)を使用して面積を測定した。ただし、捕獲頭数が20頭を超えた場合には、20頭について面積を測定した。また、対照として、交尾をしていない雄成虫も同時に各ケージから1頭ずつ捕獲して同様に射精甲の面積を測定した。

4. ウリミバエ雄成虫の性成熟とRKTAへの反応の関係についての調査

ウリミバエ雄成虫の性成熟の状態と、RKTAへの反応の関係を明らかにするため、1.の室内試験に供試した雄成虫を、試験終了後に簡易トラップに捕捉された供試虫と捕捉されなかった供試虫を分けて-30℃で殺虫し、それぞれの射精甲の面積を3.と同じ方法で測定した。面積の測定は、捕捉された供試虫と捕捉されなかった供試虫から各10~12頭について、あるいは捕捉された供試虫が10頭に満たない場合には全ての個体について実施した。

結果

1. RKTA及びCLのウリミバエに対する誘引効果の比較(室内試験)

ウリミバエの雄成虫は、RKTA、CLともに羽化後4日齢で

はごくわずかししか簡易トラップに捕捉されなかったが、5日齢以降は捕捉数が増加し、8日齢で供試虫数に対する捕捉数の割合(捕捉率)はほぼ最大に達した。RKTAとCLの捕捉率は8日齢まではほとんど差は認められなかったが、10日齢以降はRKTAが75%~93%、CLが56%~73%であり、RKTAがCLより高い傾向が見られた(Fig. 2)。

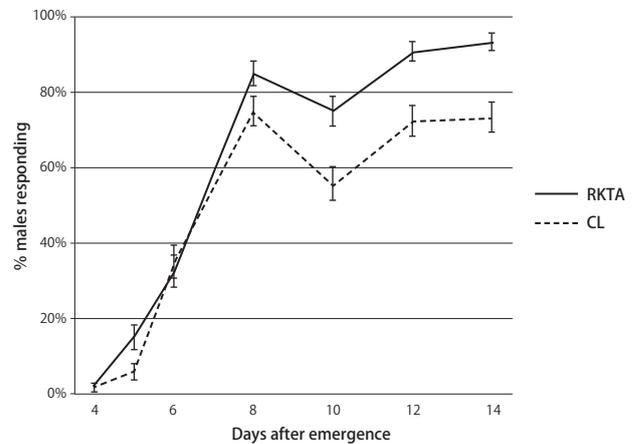


Fig.2 Mean response (±SEM) to cuelure (CL) and raspberry ketone trifluoroacetate (RKTA) of *B. cucurbitae*

2. RKTA及びCLのウリミバエに対する誘引効果の比較(野外試験)

2019年8月~12月にかけて合計21回調査した結果、RKTAでは合計229頭、ユーゲルアでは合計372頭のウリミバエの雄成虫(全て不妊虫)が誘殺された(Table 1)。なお、調査の目的外の観察結果ではあるが、それ以外のミバエ(ほとんどがミスジミバエ *B. scutellata*)がRKTAでは1,276頭、ユーゲルアでは338頭誘殺された。

Table 1 Number of flies captured in traps baited with raspberry ketone trifluoroacetate (RKTA) or mixture of methyl eugenol (ME) and cuelure (CL)

Lure		Date																			Total	mean ± SEM		
		Aug				Sep					Oct				Nov				Dec					
		8	15	22	29	5	12	19	26	3	10	17	24	31	7	14	21	28	5	12	19	26		
RKTA	<i>B. cucurbitae</i>	15	2	2	1	2	8	3	65	32	15	2	14	3	7	8	9	16	0	5	11	9	229	10.9 ± 3.2
	Other Tephritidae	63	56	71	48	35	56	123	235	63	91	43	139	37	11	49	23	28	5	2	75	23	1276	60.8 ± 11.6
ME・CL	<i>B. cucurbitae</i>	31	9	8	11	2	4	0	102	50	13	11	6	5	13	16	3	42	7	5	14	20	372	17.7 ± 5.1
	Other Tephritidae	9	6	15	14	12	8	36	57	16	24	8	16	9	65	7	0	9	1	1	13	12	338	16.1 ± 3.7

3. ウリミバエ雄成虫の性成熟と射精甲の発達の関係についての調査

ウリミバエの雄成虫では5日齢から交尾が確認された。交尾をしていたペアの数は、5日齢は9ペア、6日齢は41ペア、7日齢は23ペア、8日齢では9ペアであった。ただし、7日齢までに100頭以上の雄成虫を、ペアとして捕獲するか又は対照として捕獲したために、8日齢については対照となる、交尾をしていない雄成虫がほとんどいなくなってしまうことから、射精甲の面積の測定は行わなかった。

調査の結果、交尾雄の射精甲の面積は、5日齢で180,187~219,983µm²(平均202,673µm²)、6日齢で195,177~226,884µm²(平均213,366µm²)、7日齢で195,702~239,116µm²(平均218,596µm²)と日齢とともに増加した。また、全ての個体で射精甲の面積は180,000µm²以上であったことから、ウリミバエの雄は射精甲の面積が180,000µm²以上になると交尾可能となることが示唆された。このような個体は未交尾の雄でも見られ、5日齢では計測した個体の半数の6頭で、また、6日齢及び7日齢では

1頭を除いた全ての個体で、射精甲の面積は $180,000\mu\text{m}^2$ 以上であった (Fig. 3)。

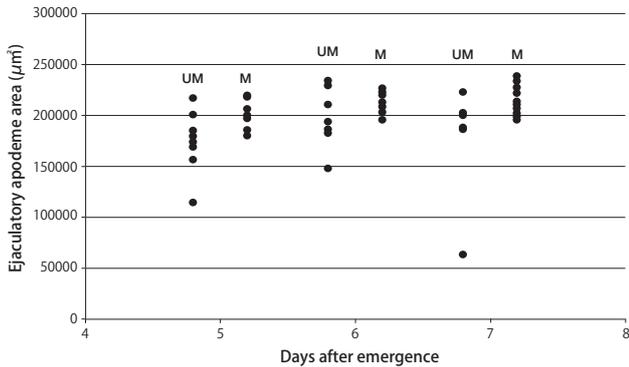


Fig.3 Ejaculatory apodeme size of mated and unmated males in *B. cucurbitae*
UM: unmated males, M: mated males.

4. ウリミバエの性成熟と RKTA への反応についての調査

羽化後の日齢に関係なく、RKTA の簡易トラップに捕捉された個体の射精甲の面積は最低でも $190,000\mu\text{m}^2$ 以上であった。一方で、簡易トラップに捕捉されなかった個体についても、射精甲が、3. の調査で交尾可能となる面積であることが示唆された $180,000\mu\text{m}^2$ 以上の個体が多く見られ、4日齢では10頭中3頭が、5日齢では全ての個体が、6日齢では12頭中11頭が、射精甲の面積が $180,000\mu\text{m}^2$ 以上であった (Fig. 4)。

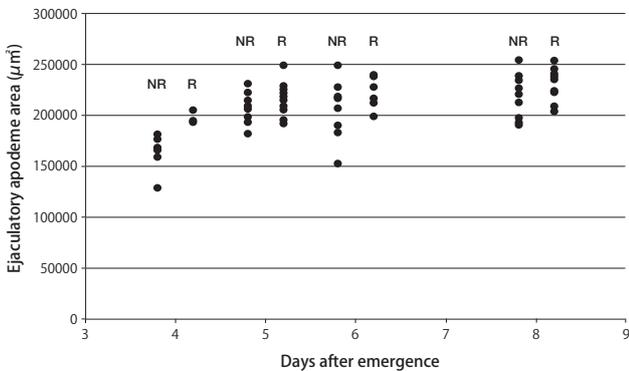


Fig.4 Ejaculatory apodeme size of respond and non-respond males in *B. cucurbitae*
NR: non-respond males to raspberry ketone trifluoroacetate (RTKA), R: respond males to RTKA.

また、8日齢(あるいは本調査では調査を行わなかった7日齢)で供試虫の射精甲は概ね飽和したと考えられ、供試虫が RKTA の簡易トラップに捕捉されたか否かに関わらず、全ての供試虫の射精甲の面積はほぼ $180,000\mu\text{m}^2$ 以上となり、各日齢での平均値も $215,000\mu\text{m}^2$ 以上となった。この結果は、金田ら (2021) の調査の結果 (7日齢で平均約 $220,000\mu\text{m}^2$ となって飽和) とも一致した。

考 察

RKTA 及び CL のウリミバエに対する誘引効果を比較した室内試験では、RKTA 及び CL の簡易トラップでの捕捉率は8日齢まではほとんど差は認められなかったが、10日齢以降は RKTA の簡易トラップの方が20%程度高かった。しかしながら、野外試験においては、RKTA を誘引源としたスタイナートラップでのウリミバエの誘殺数は、ME と CL の混合剤であるユーゲルアの7割弱にとどまり (1回の調査あたりの誘殺頭数は、RKTA で10.9頭、ユーゲルアで17.7頭)、RKTA がより効果的な誘引剤となり得る可能性は示されなかった。

Lehman *et al.* (2019) は、ハワイで、RKTA、CL 及びメロルアを誘引剤として網室及び野外でウリミバエの誘引試験を行った。各誘引剤をろ紙にしみこませて実施した網室での調査では RKTA が最もウリミバエを誘引し、黄色粘着板を使用した野外試験でも、試験開始後6時間までは RKTA が最もウリミバエを誘引した。しかしながら、6時間後以降は RKTA の誘引力は著しく低下し、CL と同程度となってしまった。その理由として、RKTA は CL より揮発性が高いため多くのウリミバエを誘引することが考えられる一方、RKTA は大気中の水分によって加水分解してしまうため、時間が経つと誘引効果が弱くなる可能性を指摘している (ただし、加水分解してもウリミバエを誘引するラズベリーケトンになるため、誘引効果が無くなるわけではないと考えられる)。したがって、本調査において、室内試験と野外試験で異なる調査結果が得られたのは、室内試験は2時間、野外試験は誘引剤の交換間隔が4週間という、両者の調査時間の差が主な理由であると考えられる。このことから、RKTA 自体はウリミバエに対して CL を上回る誘引性を発揮する可能性はあるものの、揮発性を維持しつつ、空気中の水分による加水分解を抑制する効果的な方法が開発されない限り、ウリミバエに対する誘引剤として利用することは困難であると考えられる。

また、RKTA は交尾開始前の4日齢の雄はほとんど誘引しなかった一方で、射精甲の面積を調査した結果、RKTA に誘引された雄の射精甲は全て交尾済みの雄の射精甲と同等に発達していたことから、RKTA は性成熟前の雄のウリミバエは誘引せず、性成熟した雄を誘引するものと考えられた。しかも、性成熟していても RKTA に誘引されない雄も多数存在していた。これは、Wong *et al.* (1991) や金田ら (2022) が報告した CL の場合と同様であったことから、MAT のための誘引剤としての利用についても、RKTA は CL と同様に困難であり、MAT のための誘引剤については別の物質を探索するべきであると考えられた。

引用文献

- Kaneda, M., T. Kamiji, M. Sasaki (2018) Development of ejaculatory apodeme of *Bactrocera correcta* (Bezzi) (Diptera: Tephritidae) as an indicator of male sexual maturity. *Res. Bull. Prot. Japan.* **54**: 69-75.
- 金田昌士・北田真之・佐々木幹了 (2022) ミカンコミバエ及び

- ウリミバエの性成熟と雄誘引剤への反応について. 植防研報 **57**: 1-6.
- Lehman, K. A., D. C. Barahona, N. C. Manoukis, L. A. F. N. Carvalho, S.G. De Faveri, J. E. Auth, M. S. Siderhurst (2019) Raspberry Ketone Trifluoroacetate Trapping of *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. *J. Eon. Entomol.* **112**: 1306-1313.
- 松井正春・仲盛広明・小浜継雄・長嶺由範 (1990) 沖縄群島伊平屋島における雄除去法によるウリミバエの抑圧防除. 応動昆 **34**: 315-317.
- Park, S. J., R. Morelli, B. L. Hanssen, J. F. Jamie, I. M. Jamie, M. S. Siderhurst, P. W. Taylor (2016) Raspberry Ketone Analogs: Vapour Pressure Measurements and Attractiveness to Queensland Fruit Fly, *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae). *PLoS One* **11**: e0155827.
- Raghu, S., P. Halcoop, R.A.I. Drew (2003) Apodeme and ovarian development as predictors of physical status in *Bactrocera cacuminata* (Hering) (Diptera: Tephritidae). *Aus. J. Entomol.* **42**: 281-286.
- Shelly T. E., R. S. Kurashima, J. I. Nishimoto (2012) Field capture of male melon flies, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), in Jackson traps baited with cue-lure versus raspberry ketone formate in Hawaii. *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.* **44**: 63-70.
- Shelly T. E., J. Nishimoto, A. Diaz, J. Leathers, M. War, R. Shoemaker, M. Al-Zubaidy, D. Joseph (2010) Capture Probability of Released Males of Two *Bactrocera Species* (Diptera: Tephritidae) in Detection Traps in California. *J. Eon. Entomol.* **103**: 2042-2051.
- Siderhurst, M. S., S. J. Park, C. N. Buller, I. M. Jamie, N. C. Manoukis, E. B. Jang, P. W. Taylor (2016) Raspberry Ketone Trifluoroacetate, a New Attractant for the Queensland Fruit Fly, *Bactrocera Tryoni* (Froggatt). *J. Chem. Ecol.* **42**: 156-162.
- Wong, T. T. Y., D. O. Mcinnis, M. M. Ramadan, J. I. Nishimoto (1991) Age-related response of male melon flies *Dacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) to cue-lure. *J. Chem. Ecol.* **17**: 2481-2487.