

特集：昆虫バイオ〔1〕

バイオテクノロジーの進展と害虫防除

農林水産省蚕糸・昆虫農業技術研究所 ^の野 ^だ田 ^{ひろ}博 ^{あき}明

はじめに

10年以上も前から、新しい作物の育種などをめざしてバイオテクノロジーの研究が始められた。当初の期待に比べて困難な部分もわかってきたが、ここ10年の間に着実に進展し成熟してきている。応用昆虫学の分野ではどうであったであろうか。当初、バイオテクノロジーをどのように利用し、展開していくのかについては明確な方向性はほとんどなかったように思われる。そしてこれまで、昆虫微生物関係を除くと、応用昆虫学分野とバイオテクノロジーとのかかわりについてまとめられたものは少ない。害虫防除の分野でも近年のテクノロジーの発展の影響を受けつつあり、ここで、進展しつつあるバイオテクノロジーと害虫防除とのかかわりを概観しておくことも、重要であろうと思う。

戦後、優れた化学農薬の開発によって作物は害虫による被害から守られてきた。現在でも化学農薬の有用性は、なんら変わることはない。しかし、化学農薬といえども万能ではない。カメムシのように畑の外から飛来して長期にわたって加害するものでは、何度も薬剤を散布しなければならぬ。また、果樹の枝の中を食害するような昆虫に対しては、あまり有効ではない。また、薬剤の散布は労力のかかる作業であり、できれば簡便にすませたいところであろう。さらに、薬剤防除は、薬剤に対する害虫の抵抗性を発達させたり、環境汚染の一因にもなることもある。最近、生物農薬が商品化され、天敵による防除がより身近になってきたとはいえ、いまのところ限られた害虫にしか適用できない。また、有機農法なども試みられているが、現在の収量・品質を維持するにはやはり化学農薬に頼らざるを得ないのが現状である。これまでの防除技術を大きく飛躍させることはできないであろうか。バイオテクノロジーがその一翼を担ってくれないか、というのが関係者の期待であろう。

バイオテクノロジーということばはかなりあいまいに使われているが、従来から、農業分野ではかなり広い範囲を包含してきた。この特集でも、幅広くとらえ、他の著者によって、昆虫の分子系統解析、昆虫の生体防衛、

抗菌性タンパク質など、現在盛んに研究が行われつつある分野について、紹介されている。そこで、本稿では主に害虫防除の観点から、現在行われている研究や、将来的な目標などについて紹介したい。個々の内容の詳細については、個別に文献を参照していただきたい。

I 耐虫性植物の作出—遺伝子組換え技術

今日、バイオテクノロジーによって、特定の害虫の発育を阻害する物質を産生する遺伝子を植物の中に入れることができるようになってきた。そして、当初双子葉植物でしかできなかった組換えが、単子葉植物でも簡単にできるようになってきた (LEEMANS, 1993)。耐虫性の作物の作出は1987年に、昆虫病原菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt 菌) の殺虫性タンパク質 (Bt 毒素, δ -トキシシン) 遺伝子をトマトやタバコに組み込んだのが最初である (BARTON et al., 1987; FISCHHOFF et al., 1987; VAECK et al., 1987)。この殺虫性タンパク質は、世界的にみれば殺虫剤として既に30年間使われてきている。また、その作用機作もよく研究されており (堀, 1991; HONEE and VISSER, 1993)、単一の遺伝子を組み込むだけでよいというのは、有利な素材である (表-1)。最近、イネにもこの殺虫性タンパク質が組み込まれ、ニカメイチュウとコブノメイガに対して耐虫性を示している (FUJIMOTO et al., 1993)。そのほかの素材としては、プロテアーゼインヒビター、植物のレクチン、昆虫の抗菌性タンパク質 (本特集参照) などが有望視されている。プロテアーゼインヒ

表-1 *Bacillus thuringiensis* の殺虫性タンパク質を用いたトランスジェニック植物

年次	植物	文献
1987	タバコ	VAECK et al.
	トマト	FISCHHOFF et al.
	タバコ	BARTON et al.
1989	イネ	YANG et al.
1990	ワタ	PERLAK et al.
1991	タバコ・カラシナ	BASU et al.
1992	ジャガイモ	CAROZZI et al.
1993	トマト	PERLAK et al.
	トウモロコシ	KOZIEL et al.
	イネ	FUJIMOTO et al.

Biosis の検索等による

ピターは、多くの昆虫に代謝阻害を引き起こし、Bt 菌の殺虫タンパク質では防除できない昆虫種にも使える可能性がある。しかし、Bt 菌の殺虫タンパク質に比べて、多量に発現しないと害虫に対する防除効果は低いと考えられている。また、顆粒病ウイルスがもっている核多角体病ウイルスの感染を増進する因子であるエンハンシンの遺伝子をタバコの葉に入れることにより、アワヨトウの幼虫の生育を遅らせたという報告もある (HASHIMOTO et al., 1993)。

遺伝子組換えによってつくられた耐虫性作物は、これまでの薬剤散布に比較して、薬剤が土壌や水系を汚染することもなく、また薬剤が到達しない部位 (根や植物体内) への適用も可能である。組換え植物は、除草剤耐性やウイルスの耐病性の付与を中心に増えてきており、アメリカ合衆国では、1992年には161件の野外試験が認可されている (KAREIVA, 1993)。しかし、それに伴って、組換え植物が圃場外に進出し、自然の生態系に影響を及ぼしはしないかと懸念されている。また、Bt 菌の殺虫性タンパク質を組み込んだ植物についても、その植物が栽培されているところには絶えずこのタンパク質が存在するわけで、必要以上に自然界に残留することになる。このことは、絶えず殺虫性タンパク質による淘汰圧がかかるわけであり、抵抗性の獲得を早めることになるかもしれない。また、殺虫性タンパク質単独で害虫を防除することも抵抗性発達を早める (VAN RIE, 1991)。また、既に Bt 剤そのものに対する害虫の抵抗性が発達してきており (浜, 1991)、対策が必要とされている。

現在、殺虫性タンパク質に対する抵抗性害虫の発達を遅らせるために、以下のような対策が考えられている (BRUNKE and MEEUSE, 1991)。

- ①昆虫で徐々に抵抗性が発達したりしないように非常に高いレベルで殺虫性タンパク質を発現させる。
- ②低いレベルで殺虫性タンパク質を発現させ、昆虫の発育を遅らせ、活動をよくして捕食者に捕食されやすくする。
- ③薬剤防除と併用する。
- ④殺虫性タンパク質だけでなく、プロテアーゼインヒビターなどのほかの素材も植物に組み込む。
- ⑤交差抵抗性の程度にもよるが、他の Bt 菌の異なる殺虫性タンパク質の遺伝子が入った植物を替わりに栽培する。
- ⑥殺虫性タンパク質を組み込んだ植物を圃場全体に作付けせず、組み込まれていない植物を一部植えて、野外個体群の抵抗性のレベルが一気に上がらないようにする。

II 形質転換昆虫の作出の可能性

天敵などの益虫にはよい形質を入れ、害虫には害作用を減らすように形質転換することができれば、昆虫の利

用あるいは害虫の制御にとって、飛躍的な発展が望める。生物に遺伝子を導入するには、一般にベクターと呼ばれる DNA に目的の遺伝子をつなげて、生物の中に入れてやる。微生物では、プラスミドと呼ばれ細胞質内で自律的に増殖する DNA をベクターに用いており、植物では病原細菌に由来する Ti プラスミドなどを利用して、ベクターを用いることなく、直接目的の遺伝子を細胞や卵の中に入れて染色体に取り込ませることもある。カイコでは卵に遺伝子を注入し、その遺伝子を発現させることに成功している (TAMURA et al., 1990)。しかし、形質転換昆虫をつくるのには、その遺伝子が生殖細胞の染色体に組み込まれ、次世代に伝わる必要がある。そのためには、よいベクターを作ることが重要ということになる。

昆虫に遺伝子を導入することは、ショウジョウバエを除いて進展が遅れており、今のところ、農業害虫や衛生害虫に遺伝子を導入することには成功していない (HANDLER and O' BROCHTA, 1991)。ショウジョウバエでは、交雑発生異常を引き起こす P 因子をベクターとして自由に形質転換できる。ショウジョウバエでは、その他に *hobo* 因子を使っても形質転換できる (BLACKMAN et al., 1989)。これらの因子は、もともと遺伝子の間を動き回ることができる性質をもっており、トランスポゾンと呼ばれるものである。残念ながらこれらの因子は他の昆虫体内では働かず、したがって、ショウジョウバエ以外の昆虫でも働くベクターを探すことが先決である。現在、このベクター候補として研究されているのがマリナーと呼ばれるトランスポゾンである (ROBERTSON, 1993; ROBERTSON and MACLEOD, 1993)。このトランスポゾンは広い範囲の昆虫にみつかっており、多くの昆虫で遺伝子を導入するベクターとして使えるのではないかと期待される (LIDHOLM et al., 1991)。

昆虫のウイルスも昆虫体内に遺伝子を導入するベクターとして使える可能性がある (前田, 1993)。しかし、ウイルスに関してはまだこれといった候補がない。その中において、昆虫の共生微生物を利用して昆虫に遺伝子を導入しようとする研究もある。共生微生物は宿主昆虫との親和性が高く、昆虫体外へ取り出し、目的の遺伝子を微生物に導入し、昆虫の体内に戻してやれば、昆虫の体内で目的の遺伝子を発現することができる。昆虫を直接形質転換することは難しいが、微生物ならば比較的容易に形質転換させられるという背景がある。オオサシガメの消化管内の共生微生物に遺伝子を入れることも成功している (BEARD et al., 1992)。これを利用して、人間に病原を媒介する蚊に対して遺伝子を導入し、病原を媒介で

きない蚊を作りだし、これまでの蚊の個体群と置き換えようという計画もある (ALDHOUS, 1993; BEARD et al., 1993 a, b)。

III 天敵生物の利用と改変

昆虫の病原微生物のなかでも、研究が進んでいるのは、*Bacillus thuringiensis* と核多角体病ウイルスである。前者は既に耐虫性植物をつくる素材として述べた。それ自身微生物防除に用いることができるばかりでなく、産生する殺虫性タンパク質も農薬として使われている。100種類以上知られている昆虫病原細菌のなかで、防除剤として商品化されているのは、*Bacillus* 属菌だけである (STARNES et al., 1993)。現在でも新しい菌株が分離されており、宿主域の異なるものや、より優れた毒素を産生する菌株が探索されている。殺虫性タンパク質は、その殺虫スペクトラムによって今のところ数種類に分けられており、さらにその中で細かく分類されている。殺虫性タンパク質の検出には、これまでは抗体を用いていた。最近では PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) によって、殺虫性タンパク質の遺伝子を増やし、その増えた DNA を制限酵素で切断することによって、その Bt 菌がどのような殺虫性タンパク質をつくるかが判定できるようになってきた (浅野ら, 1993 a, b)。

後者の核多角体病ウイルスも既に防除に利用されている。このウイルスは外来遺伝子を組み込んで発現させるのに優れた系として使われており、毒素や昆虫の発育を阻害するような物質をつくる遺伝子を組み込んで、より効率のよい微生物農薬を作り出す努力が積み重ねられている (POSSEE et al., 1990; 前田, 1993)。利用されている遺伝子は、昆虫のホルモン・酵素、神経毒ペプチド、Bt 菌の殺虫性タンパク質などである。

前述のように、我が国でも生物農薬を使った防除が真剣に考えられている。そこでは、天敵生物を農薬のように使うので、その天敵の大量増殖と品質の管理が重要になっている。さらに、その天敵を育種したり、改変しようとする研究が行われている (Hoy, 1991)。寄生蜂や捕食性のダニなどが殺虫剤で淘汰され、殺虫剤に強い系統が選抜されている。これによって、これまで薬剤に弱く、薬剤防除とは併用し難かった天敵の利用を容易にすることができる。また、さらに薬剤抵抗性の遺伝子などを天敵に導入しようと考えられている。既に述べたように、昆虫の形質転換はいまだ容易ではないが、将来的に可能になれば、より有用な天敵を作り出せる。

しかし、微生物の改変も含めて、天敵生物を改変して野外に放飼するには人や有用動物に対する影響や、生態

系に与える影響を十分検討する必要がある、既にこの点からも論議が起こっている (GOODMAN, 1993)。我が国でも天敵導入の生態系へ与える問題点 (広瀬, 1994) や、生物農薬の安全性評価 (岡田, 1993; 鈴井, 1994) に関して注意が払われている。

IV 昆虫の系統分類

昆虫は主として外部形態によって分類同定されている。しかし、微生物の分類では、既に DNA がタイプ要素として機能することが認められている (杉山, 1994)。また、リボソーム RNA 遺伝子の配列から推定した系統関係が、従来の分類体系とよく合っているといわれている。昆虫は複雑な構造をしており、外部形態で十分分類が可能であろうが、そのような表現型 (Phenotype) の比較に加えて、遺伝子型 (Genotype) の検討も行えば、分類の複雑な系統群では役立つと思われる (馬渡, 1993)。

また、農業害虫は地域や寄主植物ごとに分化していることがある。例えばワタアブラムシやハダニのように外見では区別できないが、寄生している植物によって、生理的性質が異なると思えるものがある (刑部, 1993)。

また、寄生蜂の種の判別においても、より客観的な判断基準があるとよい。さらに、薬剤抵抗性を示す個体群の把握も重要である。これまでの飼育による生理的特徴の比較や、アイソザイムの分析などに加えて、タンパク質のアミノ酸配列や DNA の塩基配列の決定が有用になりつつある。

最も盛んに研究されているのがリボソーム RNA 遺伝子である。リボソーム RNA とは、リボソームの中に入っている RNA で、その RNA を作り出す鋳型となるゲノムの遺伝子がリボソーム RNA 遺伝子である。リボソームはタンパク合成にかかわる大切な分子で、細菌のような原核生物から真核生物であるカビ、昆虫、ほ乳類に至るまでほとんどの生物に存在している。大切な分子であるので、大きな変異は致命的となる。そのため、これまで分子の進化が非常にゆっくりであったと考えられる。したがって、分子の保存性が高く、塩基配列の変異が少ないので、遠く離れた生物同士でも系統関係を比較することができる。この特徴を使ってウнка類の脂肪体の細胞内の酵母様共生微生物のリボソーム RNA 遺伝子を分析したところ、この共生微生物は子囊菌類の核菌類に属すると推定できた (NODA et al., 1994)。

昆虫の種類や系統、個体群の間で区別や比較をする場合には、リボソーム RNA のように保存性のきわめて高い分子を用いるとあまり違いが見いだせない。それぞれ

の目的にあった分子種または手法を用いる必要がある (BRUNS et al., 1991)。細胞内小器官のミトコンドリア遺伝子は、進化速度が速く、より近い生物を比較できると言われている。RFLP (制限酵素断片長多型) 解析は、種や亜種のレベルでの比較に都合がよい。本誌でも以前に植物、植物病原菌及び昆虫での利用について特集が組まれている (第46巻第9号: 1992, 河瀬; 柘植ら; 平八重ら; 村路; 野村)。さらに PCR を用いた検出法も簡便で迅速である (矢野, 1993 a, b)。最近、新系統のタバココナジラミが世界的に被害を起しているが、これが新種ではないかという報告が出た (PERRING et al., 1993)。この両者を区別するのに、RAPD-PCR が有効であった (GAWEL and BARTLETT, 1993)。また、アブラムシのバイオタイプの検出にも使われている (BLACK et al., 1992)。この方法では、10塩基程度の短いプライマーを用いて PCR を行いアガロースゲル電気泳動によって、増幅された DNA の数と大きさを比較する。装置が比較的安価でそろえやすいことや、操作が簡単で速く分析できるので、昆虫分野にも急速に普及している。

おわりに

近年、DNA やタンパク質の分析手法が発達し、上記以外にも関連分野での研究が進展している。昆虫のホルモンでは、ホルモン・レセプターの遺伝子が解析されており (KOELLE, 1991)、薬剤抵抗性の機作についても分子レベルでの理解が深まっている (MULLIN and SCOTT, 1992)。また、バイオテクノロジーとは直接かかわってはいないが、近年のコンピュータ・ネットワークの充実と発展は、応用昆虫学・植物防疫の分野でも、深くかかわっていくと思われる。ソフトの面でもハードの面でも、積極的にネットワークが広がることを期待したい。

引用文献

- 1) ALDHOUS, P. (1993) : Science 261 : 546~548.
- 2) 浅野真一郎 (1993 a) : 蚕糸学雑誌 62 : 210~215.
- 3) ——— (1993 b) : ibid. 62 : 223~227.
- 4) BARTON, K. A. et al. (1987) : Plant Physiol. 85 : 1103~1109.
- 5) BASU, D. et al. (1991) : Indian J. Exp. Biol. 29 : 1002~1009.
- 6) BEARD, C. B. et al. (1992) : Am. J. Trop. Med. Hyg. 46 : 195~200.
- 7) ——— et al. (1993 a) : Insect Mol. Biol. 1 : 123~131.
- 8) ——— et al. (1993 b) : Parasitology Today 9 : 179~183.
- 9) BLACK IV, W. C. et al. (1992) : Bull. Entomol. Res. 82 : 151~159.
- 10) BLACKMAN, R. K. et al. (1989) : EMBO. J. 8 : 211~217.
- 11) BURRKE, K. J. and R. L. MEEUSE (1991) : TIBTECH 9 : 197~200.
- 12) BRUNS, T. D. et al. (1991) : Annu. Rev. Ecol. Syst. 22 : 525~564.
- 13) CARROZZI, N. B. et al. (1992) : Plant Molec. Biol. 20 : 539~548.
- 14) FISCHHOFF, D. A. et al. (1987) : Bio/Technology 5 : 807~813.
- 15) FIJIMOTO, H. et al. (1993) : ibid. 11 : 1151~1155.
- 16) GAWEL, N. J. and A. C. BARTLETT (1993) : Insect Mol. Biol. 2 : 33~38.
- 17) GOODMAN, B. (1993) : Science 262 : 1507.
- 18) 浜 弘司 (1991) : 植物防疫 45 : 502~505.
- 19) HANDLER, A. F. and D. A. O'BROCHTA (1991) : Annu. Rev. Entomol. 36 : 159~183.
- 20) HASHIMOTO et al. (1993) : 2nd International Symposium on Molecular Insect Science Abstracts p.75.
- 21) 平八重一之ら (1992) : 植物防疫 46 : 320~325.
- 22) 広瀬義躬 (1994) : 農業技術 49 : 145~149.
- 23) HONEE, G. and B. VISSER (1993) : Entomol. exp. appl. 69 : 145~155.
- 24) 堀 秀隆 (1991) : 植物防疫 45 : 493~497.
- 25) HOY, M. (1991) : Resistance '91 : Achievement and Development in Combating Pesticide Resistance. Elsevier Science Publishers, London. pp 307~324.
- 26) KAREIVA, P. (1993) : Nature 363 : 580~581.
- 27) 河瀬真琴 (1992) : 植物防疫 46 : 307~314.
- 28) KOELLE, M. R. et al. (1991) : Cell 67 : 59~77.
- 29) KOZIEL, M. G. et al. (1993) : Bio/Technology 11 : 194~200.
- 30) LEEMANS, J. (1993) : ibid. 11 : S 22~26.
- 31) LIDHOLM, D-A. et al. (1991) : J. Biol. Chem. 266 : 11518~11521.
- 32) 前田 進 (1993) : 昆虫ウイルスとバイオテクノロジー, サイエンスハウス.
- 33) 馬渡峻輔 (1993) : 遺伝 47 : 43~47.
- 34) MULLIN, C. A. and J. G. SCOTT (1992) : Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance. American Chemical Society symposium series 505, pp 1~13.
- 35) 村路雅彦 (1992) : 植物防疫 46 : 326~329.
- 36) NODA, H. et al. (1994) : submitted.
- 37) 野村昌史 (1992) : 植物防疫 46 : 330~333.
- 38) 岡田斉夫 (1993) : 関東東山病虫研報 40 : 1~5.
- 39) 刑部正博 (1993) : 果樹試報特別報告 4号
- 40) PERLAK, F. J. et al. (1990) : Bio/Technology 8 : 939~943.
- 41) ——— et al. (1993) : Plant Mol. Biol. 22 : 313~321.
- 42) PERRING, T. M. et al. (1993) : Science 259 : 74~77.
- 43) POSSEE, R. D. et al. (1990) : Molecular Insect Science. Plenum Press, New York, pp 113~123.
- 44) ROBERTSON, H. M. (1993) : Nature 362 : 241~245.
- 45) ——— and E. G. MACLEOD (1993) : Insect Mol. Biol. 2 : 125~139.
- 46) STARNES, R. L. et al. (1993) : American Entomol. 39 : 83~91.
- 47) 杉山純多 (1994) : 日本農芸化学会誌 68 : 48~53.
- 48) 鈴井孝仁 (1994) : 農業技術 49 : 21~26.
- 49) TAMURA, T. et al. (1990) : Jpn. J. Genet. 65 : 401~410.
- 50) 柘植尚志ら (1992) : 植物防疫 46 : 315~319.
- 51) VAECK, M. et al. (1987) : Nature 328 : 33~37.
- 52) VAN RIE, J. (1991) : TIBTECH 9 : 177~179.
- 53) YANG, H. et al. (1989) : Sci. Agric. Sin. 22 : 1~5.
- 54) 矢野 博 (1993 a) : 農及園 68 : 25~31.
- 55) ——— (1993 b) : 農業技術 48 : 544~549.