

ワタアブラムシの寄主選択阻害因子

農林水産省野菜・茶業試験場 篠 田 徹 郎

はじめに

ワタアブラムシ (*Aphis gossypii* GLOVER) は多くの野菜、花き、果樹に寄生し、吸汁加害して生育障害やすす病を起こすとともに、多くの病原ウイルスを媒介して甚大な被害をもたらす世界的な園芸作物の害虫である。近年、国内では殺虫剤抵抗性の系統が顕在化し、薬剤のみによる防除は年々困難になりつつある (浜, 1987)。

本種はモモアカアブラムシとともに最も広食性のアブラムシの一つで、稲泉 (1980) によれば、その寄主植物は116科912種にもよる。ただし、本種は種内に多様な寄主選択性の異なるバイオタイプ (寄主型) を包含しているため、個々の寄主型の寄主植物種の総和は膨大な数になる。これが本種がきわめて“広食性”である理由の一つと考えられる (高田, 1992)。

個々の寄主型の寄主範囲について、まだ十分にわかっていないが、それほど広くないかもしれない。例えば、メロンに寄生する個体群 (ウリ系) はナスで飼育した場合、ほとんど増殖できず、逆にナスの個体群 (ナス系) はキュウリでほとんど増殖できない (西東, 1991)。また、ウリ系、ナス系ともに寄生、増殖できない植物が、それぞれメロンやナスにごく近縁の植物種中に存在する (篠田, 1990)。

ワタアブラムシの寄主として不適なこれらの植物には、表皮の硬さや厚さ、ワックス、毛茸などの物理的因子、栄養の欠如、忌避物質、摂食阻害物質、生育阻害物質などの化学的因子など種々のタイプの寄主選択阻害因子を持つものが存在すると考えられる。ワタアブラムシ抵抗性の作物やその近縁種の寄主選択阻害因子が明らかになれば、それらを耐虫性品種選抜の指標としたり、その形質を支配する遺伝子を利用した生物工学的育種への道も開ける。また、育種的に利用できない植物種でも、忌避物質や摂食阻害物質などがみつければ、これらをリード化合物として、選択的な昆虫制御剤の開発が期待される。

本稿では、以上のような視点から、筆者らが行ったウリ科植物におけるワタアブラムシ寄主選択阻害因子の解析事例について紹介する。

I ニガウリ及び野生 *Cucumis* 属植物の寄主選択阻害因子

1 各種ウリ科植物でのワタアブラムシの生育と行動

ワタアブラムシ (ウリ系) の産子直後の幼虫にウリ科野菜及びその近縁野生種の葉片を与えて個体飼育すると、キュウリ、カボチャ、スイカ、メロン、ヘチマなどの作物では良好に發育し、産子数も多いが、*C. metuliferus* などの野生 *Cucumis* 属植物や、ニガウリ (*Momordica charantia*) では幼虫期の死亡率が高く、子虫がほとんどあるいは全く産まれない (図-1, 篠田ら, 1990)。

ある種のアブラムシ抵抗性植物では警報フェロモンや分泌性の毛茸が寄主選択阻害因子として報告されているが、これらの抵抗性ウリ科植物の葉上で、ワタアブラムシの吸汁行動を観察すると、速やかに口吻を葉に押し付けて吸汁を行い、忌避的な行動や毛茸による吸汁の阻害は認められない。しかし、ニガウリや *C. metuliferus* では、メロンやキュウリに比べて、ワタアブラムシは頻繁に吸汁を中断し、1回当たりの吸汁時間が短い。また甘露の排せつ頻度も少ない (表-1, BARRANGANら, 1993)。これらのことから抵抗性ウリ科植物の葉内には、摂食阻害物質が存在する可能性が高いと考えられる。

2 ワタアブラムシ摂食阻害物質の検定法

吸汁性昆虫に対する摂食阻害物質の検定法は、検定試料を添加した人工飼料を、パラフィルム膜を通して吸汁させる方法を基本として、種々の方法が開発されている。ウンカでは、被検体液を与えて、3齢幼虫5頭を飼育し、1週間後の生存率から摂食阻害活性を判定している (金, 1982)。ムギミドリアブラムシでは被検体液をのせたパラフィルム膜上への24時間後の定着率によって摂食阻害活性を判定している (DREYER et al., 1981)。しかし、前者の方法は判定に時間がかかり、また後者の方法は対照区の人工飼料自体へのワタアブラムシの定着率が低く、試料の活性の判定が難しい。そこで、新たに次のようなワタアブラムシ摂食阻害活性物質の検定法を考案した (篠田ら, 1991)。

本法は、図-2に示したように、ELISAなどに用いられる96穴のマイクロタイタープレートを検定容器として使い、以下の手順で検定を行う。

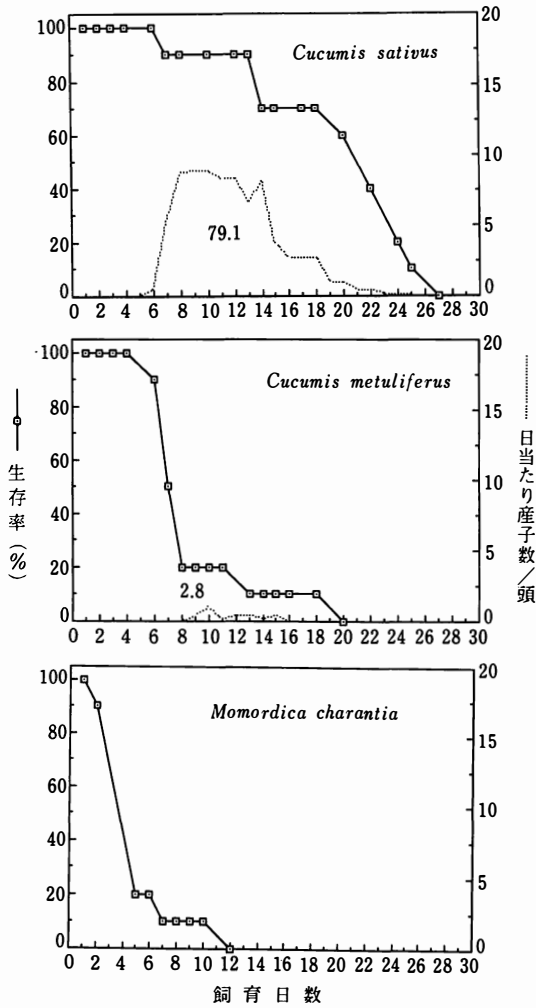


図-1 数種ウリ科植物で飼育したワタアブラムシの生存率及び日当たり産子数
 図中の数字は1頭当たり平均総産子数, 上からキュウリ, ウリ科野生種, ニガウリ

- ① 各ウェルにワタアブラムシ成虫を2頭ずつ入れ、上面を薄く延ばしたフィルム(ノボックスII)で覆う。左端の列は、後で標準糖溶液を入れるためにあけておく。
- ② 植物体抽出物を人工飼料(終濃度, シュークローズ 35%, リボフラビン 50 ppm)に加えた被検体液をフィルム上に15 μ lずつ滴下する。通常、横1列11ウェルを1試験区とし、最上段には人工飼料液のみを滴下し、対照区とする。
- ③ 上からマイクロタイタープレートの蓋をした後、試料の乾燥を防ぐため全体をサランラップで包み、25 $^{\circ}$ Cの恒温槽中に一晩放置する。ワタアブラムシは薄膜を通

表-1 数種ウリ科植物における平均吸汁時間及び甘露排せつ頻度

植物	平均吸汁時間(秒)	甘露排せつ頻度/24時間
<i>Cucumis sativus</i> キュウリ	508.0	19.0
<i>Cucumis melo</i> メロン	454.1NS	24.6NS
<i>Cucumis metuliferus</i>	176.1*	9.0*
<i>Momordica charantia</i>	225.4*	1.8**

NS, *, **は, Mann-WhitneyのU検定により, キュウリの値と比較した場合, それぞれ, 有意差なし, 5%有意及び1%有意。

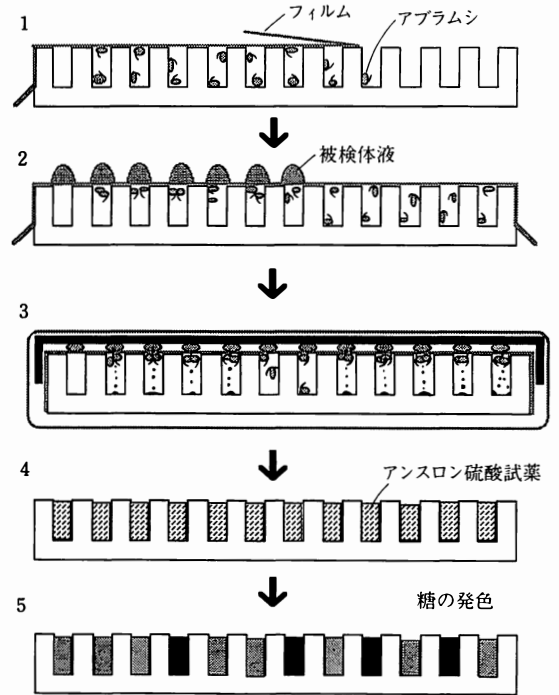


図-2 マイクロタイタープレートを用いたワタアブラムシ摂食阻害活性の測定法

して被検体液を吸汁し、甘露を容器内に排せつするが、被検体液に摂食阻害物質が含まれている場合は甘露の排せつ量が減少する。

④ プレートから供試虫を除去し、左端のウェルに標準糖溶液(水及び5 μ g/ μ lのシュークローズ溶液を各2 μ l)を入れた後、各ウェルにアンスロン硫酸試薬を340 μ lずつ入れ、沸騰水中で12分間加熱する。

⑤ 対照区では甘露中の糖が発色し、緑色になるが、摂食阻害活性を持つ試験区は黄色のままである(口絵-1)。マイクロタイタープレートリーダーを用いて620または690 nmの波長で各ウェルの吸光度を測定して、糖

量を算出し、これを指標に摂食阻害活性を判定する。

本法は、供試虫のセット及び糖の発色操作にやや手間がかかるが、標準で1プレート当たり、対照区を含めて8試料(各11ウェル)が検定でき、セットした翌日に結果が出るので、多数の試料を迅速に検定するのに適している。

3 ニガウリ及び野生ウリ科植物に含まれるワタアブラムシ摂食阻害物質

上述の検定法で、ニガウリや野生 *Cucumis* 属植物茎葉のメタノール抽出液の活性を調べると、いずれも甘露の排泄量が有意に減少し、特にニガウリ抽出物に強い摂食阻害活性がみられる。

ニガウリ茎葉のメタノール抽出液を各種のクロマトグラフィによって分画し、摂食阻害活性画分のスクリーニングを繰り返し行ったところ、最終的に100 ppmの添加濃度で強い活性を示す4種の物質が単離された。そのうち最も多く含まれている物質は、NMRスペクトルから、ニガウリに特異的なククルピタシンの1種、モルディシンIIであることが明らかになった(篠田ら、未発表)。本物質は、ニガウリ茎葉中に単独でワタアブラムシの摂食を阻害するのに十分な濃度で含まれることから、ニガウリの寄主選択阻害因子の一つである可能性が高い。

一方、*C. metuliferus*などの野生 *Cucumis* 属植物の場合、ククルピタシンを含む画分には活性がみられず、また分画するに伴って活性が複数の画分に分散低下し、ニガウリのように単独で強い活性を持つ物質は現在のところみつからない(篠田ら、未発表)。これらの植物では複数の摂食阻害物質が共同で作用するのか、あるいは全く別の吸汁阻害機構があるのか現在解析中である。

II ワタアブラムシ抵抗性メロン品種の寄主選択阻害因子

1 ワタアブラムシ抵抗性メロン品種の特性

メロンは耐虫性品種が育成されている数少ない野菜の一つで、アメリカの研究者によって、インドから導入された品種中にワタアブラムシ抵抗性が見いだされ、本抵抗性を導入したワタアブラムシ抵抗性系統が“PMAR No. 5”をはじめいくつか育成されている(McCREIGHT et al., 1984)。最近、国内でも“PMAR No. 5”と“アールスK”を交雑し、その後代からアールスに近い果実形質を有するワタアブラムシ抵抗性中間母本“メロン久留米5号”が育成されており、今後の利用が期待されている(吉田, 1989)。

抵抗性メロン品種は、ニガウリや野生 *Cucumis* 属植物

ほど強くないが、明りような抗生作用を示し、ワタアブラムシの産子数が栽培品種に比べて1/3~1/2となる。また強い耐性を有し、強制的に多数のアブラムシを寄生させた場合でも、縮葉や苗の萎縮が軽微でほぼ正常に成長する。この抗生作用及び耐性はいずれも主に単一優性の遺伝子によって支配されることがわかっている(BOHN et al., 1973; KISHABA et al., 1976)。

抵抗性品種では、忌避物質や毛茸の影響は認められないが、甘露の排泄頻度の減少、頻繁な吸汁の中断がみられ、吸汁の阻害が起こっていることがわかる(篠田・田中, 1989a)。しかし、ニガウリや野生 *Cucumis* 属植物の場合と異なり、抵抗性品種葉のメタノール抽出液に顕著な摂食阻害活性は認められない(篠田・田中, 1989b)。

KENNEDYら(1978)は、電気的吸汁行動解析装置を用いて、ワタアブラムシは抵抗性品種でも感受性品種と同様に口針を正常に篩管まで到達できるが、その後の篩管からの吸汁継続時間が短いことを報告している。このことから、篩管あるいはその周辺に局部的に摂食阻害因子が存在することが予想されている。

2 ワタアブラムシの吸汁によるカロース形成反応

植物は微生物など異物の侵入に対して応答し、化学的障壁(ファイトアレキシン、脂質過酸化物質、キチナーゼ、グルカナーゼの生産など)や物理的障壁(リグニン形成、パピラ形成、離層形成、カロース形成)などを新たに生産し、局部的誘導抵抗性を発揮することが知られている(道家, 1990)。このうちカロースは、 β -1, 3グルカンを主成分とする多糖類の1種で、塩基性アニリンブルーで染色後、蛍光顕微鏡で観察すると明青色の蛍光を発することで識別できる。筆者は、ワタアブラムシの吸汁加害を受けたメロン葉を組織化学的に比較し、カロースの形成反応に品種間差があることを見いだした(篠田, 1993)。

抵抗性及び感受性メロン葉をワタアブラムシに一定時間(5~20分)吸汁させた後、切片標本を作り、吸汁部位を蛍光顕微鏡で観察すると、感受性品種ではカロースの形成はごく少ないか全く認められないのに対し、抵抗性品種では口針鞘の周辺にかなり多量のカロースが認められる(口絵-2及び表-2)。この間、感受性品種ではワタアブラムシは連続して吸汁を続けるが、抵抗性品種では、途中で口針を引き抜く例が多くみられる。

カロースがワタアブラムシの吸汁に与える影響については今のところ不明であるが、同じ β -1, 3グルカンであるラミナリンを人工飼料に添加して与えると摂食阻害作用が認められることが報告されている(CAMPBELL, 1986)。また、カロースは篩板上に形成されて篩管液の流

表-2 抵抗性及び感受性メロンにおける口針鞘の到達組織及びカロース形成程度

系 統	吸汁時間 (分)	到達組織			カロース		
		表皮	柔組織	篩部	++	+	-
感受性	～5	0	1	0	0	0	1
	～10	1	2	1	0	0	4
	～15	0	5	4	0	2	7
	～20	1	2	5	0	4	4
抵抗性	～5	1	4	0	5	0	0
	～10	0	3	1	3	0	1
	～15	1	3	1	5	0	0
	～20	0	5	8	7	5	1

++, +, -は, それぞれ, 口針鞘の周辺の細胞全体に顕著なカロース形成が認められる, わずかにカロース形成が認められる, カロース形成が認められない, ことを示す。

動を妨げることも知られている。これらのことから, 抵抗性メロン品種ではワタアブラムシの吸汁に反応して形成されたカロースが篩管液吸汁を阻害している可能性が十分考えられる。

おわりに

以上, ワタアブラムシ抵抗性ウリ科植物における寄生選択阻害因子の解析事例について紹介した。最後に問題点と今後の課題を指摘しておきたい。

ワタアブラムシのような吸汁性微小昆虫では, 鱗翅目幼虫など大型のそしゃく性昆虫と異なり, 摂食阻害活性が実験で確認された物質でも, 植物組織, 細胞内に局在している場合, 吸汁時に全く接触することがないかもし

れない。したがって, 現在は技術的に困難であるが, 摂食阻害物質の組織, 細胞内での分布について今後明らかにする必要がある。また, これまで昆虫の寄生選択阻害因子の解析は, 摂食阻害物質など「静的」な因子に重点が置かれてきたが, アブラムシのような吸汁性微小昆虫では, カロース形成など吸汁部位に局所的に誘導される「動的」な因子が重要な役割を果たしていることが考えられ, この点を今後もっと重視する必要がある。

引用文献

- 1) BARRANGAN, R. C. ら (1993): 関西病虫研報 35: 33~34.
- 2) BOHN, G. W. et al. (1973): J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98: 37~40.
- 3) CAMPBELL, B. C. et al. (1986): Entomol. Exp. Appl. 41: 17~24.
- 4) 道家紀志 (1988): 化学と生物 28: 246~254.
- 5) DREYER, D. L. et al. (1981): J. Chem. Ecol. 7: 273~284.
- 6) 浜 弘司 (1987): 植物防疫 41: 159~164.
- 7) 稲泉三丸 (1980): 宇都宮大農学報特 37, 132pp.
- 8) KENNEDY, G. G. et al. (1978): J. Econ. Entomol. 71: 13~16.
- 9) KISHABA, A. N. et al. (1976): J. Amer. Soc. Hort. Sci. 101: 557~561.
- 10) 金武祚 (1982): 昆虫の生理活性検定法 (高橋正三編) 培風館, 東京, pp. 73~80.
- 11) McCREIGHT, J. D. et al. (1984): Hortscience 19: 309~310.
- 12) 西東 力 (1991): 応動昆 35: 145~152.
- 13) 篠田徹郎 (1993): 応動昆 37: 145~152.
- 14) ———・田中清 (1989a): 同上 33: 249~251.
- 15) ———・田中清 (1989b): 関西病虫研報 31: 74~75.
- 16) ———ら (1990): 同上 32: 55~56.
- 17) ———ら (1991): 同上 33: 87~88.
- 18) 高田 肇 (1992): 植物防疫 46: 127~132.
- 19) 吉田健実 (1989): 平成元年度日種協育種技術研究会 シンポジウム資料, pp. 77~88.

お知らせ

○理化学研究所第17回科学講演会開催のお知らせ

日 時: 平成6年10月26日(水) 10:00~17:05

場 所: ヤクルト本社ビル ヤクルトホール

主 催: 理化学研究所

後 援: 科学技術庁

協 賛: 関連学・協会

入 場: 無料

<プログラム>

第I部

- 1) 理研における脳・神経科学研究への取り組み (理研・国際フロンティア研究システム長)

伊藤正男氏

- 2) 脳はどのように形を見分けるか (理研・国際フロンティア研究システム思考電流研究チームリーダー)

田中啓治氏

- 3) 脳の学習の多様性——人とネズミの動作 (南カリフォルニア大・神経工学センター所長)

マイケル・アービブ氏

- 4) 物質科学と情報科学の相互作用による脳科学の展開 (理研・国際フロンティア研究システム・脳回路モデル研究チームリーダー) 田中 潔氏 第II部

- 1) 脳と心 (理研・国際フロンティア研究システム 伊藤正男氏 長)

- 2) 脳がつくられるしくみ (理研・分子神経物理学研究室主任研究員) 御子柴克彦氏

- 3) 脳とコンピューター——人工頭脳の実現に向けて (理研・国際フロンティア研究システム・情報処理研究グループディレクター) 甘利俊一氏

連絡先: 理化学研究所・開発調査室

Tel 0484-62-1111 (内線 2472~2474)