

特集：ポストゲノム時代の害虫防除研究のあり方～昆虫ゲノム情報とIPM～

# ゲノム研究と天敵利用

農業生物資源研究所 <sup>ひの</sup>日 <sup>もと</sup>本 <sup>のり</sup>典 <sup>ひで</sup>秀

## はじめに

これまでに多くの昆虫種のゲノム解読が開始、進行中であるが、天敵昆虫とされる種はキョウソヤドリコバチ *Nasonia vitripennis* およびその近縁2種のみである（野田・三田，2008）。キョウソヤドリコバチはキンバエやニクバエなどのハエ類の寄生バチであり、寄主の蛹に産卵する。本種は、家畜の糞などにたかるハエの生物的防除にも利用されているが、ゲノム研究の目的は、むしろ多様な生活史戦略の進化的理解を深めるためといえよう。

したがって、農業害虫の生物的防除に利用される天敵昆虫類のゲノム研究は、全くといっていいほど、手がつけられていない。そこで、本稿では、ゲノム解読が進められていない昆虫種におけるDNA研究を概観し、その利点と限界を考察することで、昆虫ゲノム研究が将来、天敵利用に貢献できる分野について述べてみたい。

なお、農業害虫防除に用いられる天敵には、捕食性天敵と捕食寄生性天敵がある。このほかにもウイルスや糸状菌など微生物も天敵であるが、本稿では天敵昆虫類・ダニ類に限定する。

## I 非モデル昆虫種でのDNAマーカー利用

非モデル昆虫種でDNA分析が普及したきっかけは、RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) の出現によるところが大きい。RAPDは既知の塩基配列情報を必要とせず、また、多型性が高いため、様々な分類群で利用されてきた。再現性に難がある、得られるバンドパターンが必ずしも同じ遺伝子座や対立遺伝子によるものではない等の理由から、最近では利用が少なくなってきたが、RAPDが果たした役割は大きかった。

また、多くの昆虫種のミトコンドリアDNAを増幅できるプライマー情報が提供 (SIMON et al., 1994) されたことも大きい。通常は個体内多型を無視できるミトコンドリアDNAは解析もしやすく、そのPCR-RFLPによる種の識別や塩基配列解読による系統解析など、様々な

用途に用いられるようになってきた。

これらの情報を用いたDNA多型は、DNAマーカーとして、種の識別、系統の識別などに利用されてきた (日本，2005)。天敵利用の場面でもDNAマーカーとしての利用が一般的であるので、この辺りを紹介する。

## II 天敵利用におけるDNAマーカー

天敵利用には大きく分けて、生物農薬的利用 (放飼増強法)、土着天敵の保護利用、導入天敵の永続的利用 (伝統的生物的防除)、の3種類があるのは周知のとおりである。それぞれにおいて、DNAマーカーをどのように利用可能か、紹介する。

### (1) 生物農薬的利用 (放飼増強法)

生物農薬的利用は、施設栽培などの人為的環境で天敵がそもそも存在しない場合や、露地栽培であっても土着天敵が少なく効果が得られない場合に、大量増殖した天敵を人為的に放飼して害虫を防除するものである。生物農薬として天敵を利用する場合は基本的に農業登録が必要である。ハダニ、アザミウマ、コナジラミといった、微小で薬剤抵抗性の発達しやすい害虫群に対する天敵が、数多く登録されている。

生物農薬的利用で問題となるのは、大量増殖が不可欠であるという点である。室内で累代飼育した系統は、遺伝的浮動やボトルネック効果、さらには室内環境への適応によって、もとの集団から形質が変化してしまう、近親交配を繰り返すために近交弱勢が起こる等の懸念がある (BIGLER, 1989; LEPLA and ASHLEY, 1989)。これら进行评估するためには、増殖率・行動など天敵として重要な形質をそれぞれ測定しなくてはならないが、作業が煩雑なため効率化が望まれている。

例えば、病気の検出や、複数の系統を飼育したときに起こりえる系統間のコンタミネーションは、病原菌特異的マーカーや、系統特異的マーカーを作成すれば、容易に検出可能である。また、多数の遺伝子座をモニタリング可能なDNAマーカーを利用した多型調査が一般的になれば、遺伝的浮動や近交弱勢も容易に検出可能になる。さらに、ふ化率や発育速度、寄生率等といった有用形質は多数の遺伝子座に支配される量的遺伝形質であると考えられるものが多いが、こうした有用形質をモニタ

Genome Research and Biological Control Agents. By Norihide HINOMOTO

(キーワード: DNAマーカー, 生物農薬的利用, 土着天敵の保護利用)

リングすることも可能になり、さらには有用形質を強化した優良系統の育種にも道が開ける。DNA マーカーの開発技術はかなり普及してきており、これらの実施は、そう遠い将来のことではないかもしれない。一方で、ゲノム解析がより一般的になり、その天敵種あるいは近縁種で遺伝子機能解析が行われるようになれば、有用形質そのものの遺伝子を得ることができ、さらに品質管理が容易に行えるようになるだろう。

生物農薬として利用される天敵には、非休眠性や薬剤抵抗性といった有用形質が育種・選抜で付与されることもある。しかし、生物農薬は放飼後に増殖して効果を発揮するものが主であるから、こうした優良系統を入手すれば、他社でも増殖は簡単である。DNA マーカーを用いれば、こうした“海賊版”を検出することも可能になり、育成者の権利保護にもつながる。例えば、市販のタイリクヒメハナカメムシのマイクロサテライト頻度を、メーカー2社および野外個体群で比較したところ、遺伝的組成は明らかに異なっていて、しかも、それぞれのメーカーに特異的な遺伝子座が見られた (HINOMOTO et al., 2006; 図-1)。こうした検出技術が一般化すれば、放飼した系統の野外個体群への影響など、生態系への影響調査にも応用できる。

## (2) 土着天敵の保護利用

土着天敵の保護利用は、近年見直されてきている天敵の利用法である。もともと、野外生態系には害虫の天敵となるような種がたくさん存在するが、農業生態系では化学農薬の散布によって結果的に天敵が排除されてしまう場合も多い。しかし、近年の減農薬や選択性の高い農薬の利用によって、これまで見られなかった天敵が多く見つかるようになってきた。

例えば、チャの重要害虫カンザワハダニの天敵であるカブリダニは、これまでケナガカブリダニが優占種であることが多かった。ケナガカブリダニ野外個体群の中には薬剤抵抗性をもつものが知られており、こうした系統が薬剤散布環境下で優占種となったと考えられる。しかし、近年ではニセラーゴカブリダニなどの種が増加傾向にあり、ケナガカブリダニの構成比が下がっている例が見られるようになってきた (SANTOSO et al., 2004)。

捕食性天敵の多くは餌範囲が広い多食性 (広食性) であり、ターゲットとなる害虫を実際に有効に捕食している天敵種を見極めるのは難しい。しかし近年、害虫種特異的な DNA マーカーを用い、捕食性天敵から餌種を検出する試みが現れてきた (SYMONDSON, 2002)。害虫種特異的マーカーが充実してくれば、こうした検出も信頼性を増し、保護すべき天敵が容易に判断可能になるであろう。

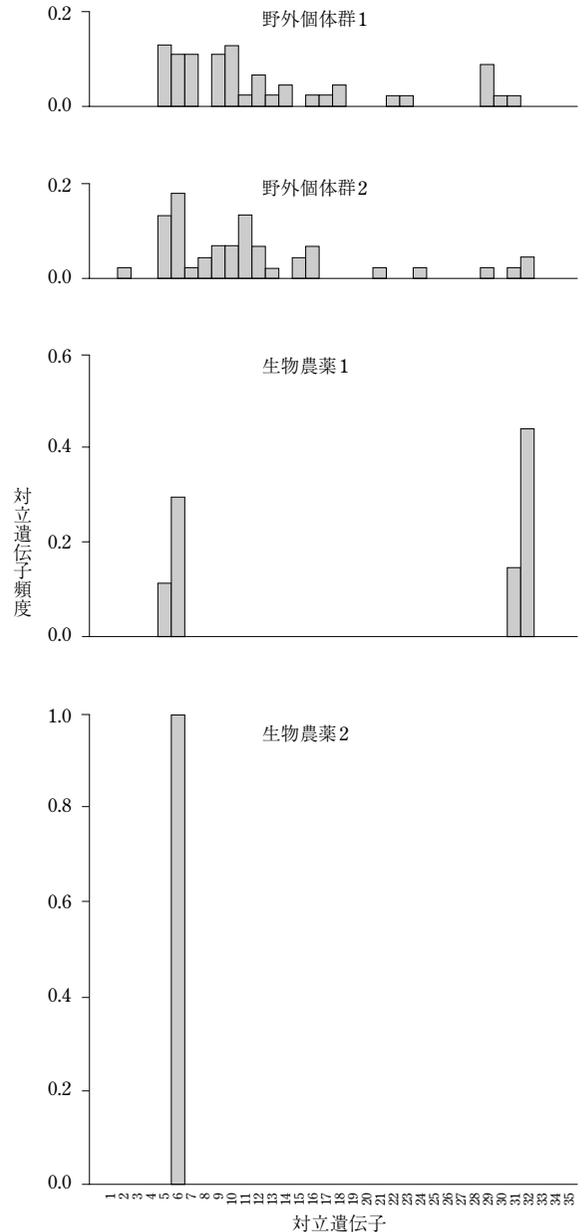


図-1 タイリクヒメハナカメムシ個体群のマイクロサテライト遺伝子頻度  
野外個体群に比べ、生物農薬では対立遺伝子数が極端に少ない (HINOMOTO et al., 2006 より作成)。

寄生性天敵は、通常は寄生された害虫種を室内に確保して羽化を待てば天敵種の同定は可能であり、ある害虫種に寄生する天敵種を特定するのは捕食性天敵ほど困難ではない。しかし、有効利用のためには、圃場全体での寄生率を評価しなくてはならないが、これも種の識別マ

ーカーが得られれば、容易に行える (GREENSTONE, 2006)。

### (3) 導入天敵の永続的利用

導入天敵の永続的利用は、通常、国内に定着した侵入害虫に対して、その起源地から天敵を導入することで行われる。害虫種も、その起源地では天敵により密度が抑えられており、大問題とはならないことが多いので、その地で天敵を探索することが重要である。害虫の侵入経路を特定するには、やはり分子マーカーを用いた経路推定が必要となる。起源地がわかった場合も、その地で害虫を抑えているのがどの種であるのか知る必要があり、それには上述の土着天敵の保護利用と同じ手法での対処が可能である。

## III DNA マーカーの種類

DNA マーカーとして、種や系統の識別には、ミトコンドリア DNA や核リボソーム RNA 遺伝子などが用いられることが多い。ミトコンドリア COI 遺伝子の一部の塩基配列を用いてあらゆる動物種を識別しようという DNA バーコード法 (HEBERT et al., 2003) の試みも、カナダを中心に普及してきている。また、移動分散などの解析には、マイクロサテライトなど、より種内多型の多い領域が利用される。いずれにしても、着目する形質にかかわる遺伝子そのものではなく、形質が違う系統でそれぞれがもつ中立的なマーカーにたまたま違いがあっただけのものを利用しているにすぎない。

DNA マーカーとして用いるには、何らかの形で変異を検出しなくてはならない。PCR によって増幅した DNA 領域の電気泳動による多型検出が最も一般的なものの、遺伝子をコードしている領域には塩基長を変化させるような変化が乏しいことが多いため、例えば、ミトコンドリア COI 遺伝子領域の PCR 増幅断片長多型のみで種の識別を行うことは、常に有効とは限らない。比較的容易になった塩基配列解読技術と組み合わせたものが上述の DNA バーコード法であるが、これも、現状では完全なものとは言えない状況である。したがって、ミトコンドリア上の他の遺伝子領域や、核ゲノム上の遺伝子を特定することが、今後、ますます重要になってくるであろう。

今後は、天敵としての有用形質そのものを把握しておく必要もある。しかし、多種多様な害虫種・天敵種のゲノムを読むのは、いかに次世代シーケンサーが普及しつつあるといっても、まだまだ先の話であろう。このような場合、例えば、寄生バチはハチ目なので、キョウソヤドリコバチや、既にゲノム解読が完了したミツバチ

*Apis mellifera* のゲノムが利用できるかもしれない。ヒメハナカメムシは、オオサシガメの一種 *Rhodnius prolixus* と同じカメムシ目なので、これが利用できるかもしれない。様々な分類群での代表種のゲノム情報が得られれば、既知のゲノム情報から、目的の遺伝子を取ってくることも容易になると期待できる。

## IV 新たな天敵利用法

EST (expressed sequence tag) 解析は、発現遺伝子の断片を分析するもので、ゲノム全体を解読するのに比べると、比較的安価に機能遺伝子を調査できる。EST は、分子マーカーとして生態レベルでの解析に用いるにも有効である。有望な天敵種では、EST ライブラリの構築を進めることで、より効率的な天敵利用への道筋を付けられるのではないか。このようなゲノムレベルでの理解を、現在得られている知見に加えることで、進展が見られそうな例を以下にあげたい。

### (1) 揮発性化学物質の利用

害虫が植物を加害すると、植物が防御反応を起こした際に発する揮発性化学物質 (herbivore-induced plant volatiles ; HIPV) に天敵が誘引されるという天敵—植食者—植物の三者系は、一般によく知られるようになってきた (塩尻ら, 2002)。植物側の遺伝子レベルでの解明は進んできているものの、天敵側では全くといっていいほど進んでいない。これら HIPV の受容機構が分子レベルで解明できれば、どんな匂い物質が天敵を誘引しやすいかを効率的に解明でき、天敵を誘引しやすい匂い物質を生産させる作物品種の選定や育成が可能になる。さらには、その物質を人工的に合成して天敵を誘引することで、さらに効率的な天敵利用が可能になると期待できる。フェロモンなどの受容機構に関する分子メカニズムが、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* やカイコ *Bombyx mori* などでゲノム情報を用いて明らかになってきている (NAKAGAWA et al., 2005 など)。天敵ゲノム情報の解析が進展すれば、天敵の寄主探索の分子機構を明らかにできるだろう。

### (2) 寄生バチの寄主範囲

寄生性天敵は、寄主となる害虫に卵を産み付け、寄主体液を消化して成長する。寄主体内で成長する内部寄生性の天敵には、寄主のもつ生体防御反応を回避する機構が備わっている。例えば、ポリドナウイルスをもつ寄生バチは、毒液とポリドナウイルスを寄主体内に注入し、寄主の血球がポリドナウイルスに感染すると、毒液に包まれた寄生バチの卵は、血球から守られる。この仕組みの分子レベルでの解明はまだ行われていない。生物間相

相互作用の分子レベルの解明と、天敵を利用した害虫防除が結びつく良い例であるため、寄主・寄生バチ双方のゲノムレベルでの研究が望まれる。この研究には、キョウソヤドリコバチのゲノム解析の成果を生かせるであろう。

### (3) トランスジェニック天敵

今後の天敵利用における遺伝子工学的手法としては、トランスジェニック天敵の試みもある。ハダニの捕食性天敵であるカブリダニの一種 *Metaseiulus occidentalis* で形質転換の成功例があり (PRESNAIL and HOY, 1992)、組換え遺伝子は100世代以上にわたり保持されていた。彼女らはガイドラインを作成したうえで、野外放飼実験を行った (HOY, 2000)。もちろん、害虫防除の場面で実際にトランスジェニック天敵を放飼するのは、まだまだ安全性の確保などの課題が残る。しかし、不妊虫放飼法のような方法を取り入れることで、技術的には対応可能であろう。むしろ問題は、どんな遺伝子を導入するかという点にある。組換え技術だけではなく、遺伝子情報、発現解析などを通じた、より深い理解のために、天敵のゲノム情報が求められる。

## おわりに

前章までに述べたように、DNA マーカーを用いた天敵の評価は、マーカーさえ作成できれば、現時点でも十分利用可能な技術である。マーカー開発そのものも、さほど困難なものではない。比較的容易にマーカー開発を

進められそうなミトコンドリアゲノムの解読や EST ライブラリの作成から始めることが有効ではなかろうか。ただ、対象種が多いため、かかわる研究者数がボトルネックとなっている。より多くの研究者が分子マーカーの開発・利用に携わるとともに、優先的に解析すべき害虫種・天敵種の選定にもかかわる必要がある。一方、機能遺伝子そのものの単離・解明は、まだまだこれからの分野である。リファレンスとなるモデル昆虫種でのゲノム解読が進めば、多種多様な害虫・天敵種の遺伝子単離が容易になり、天敵利用の効率的発展につなげられると期待できる。

## 引用文献

- 1) BIGLER, F. (1989): J. Appl. Entomol. 108: 390 ~ 400.
- 2) GREENSTONE, M. H. (2006): Bull. Entomol. Res. 96: 1 ~ 13.
- 3) HEBERT, P. D. N. et al. (2003): Proc. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci. 270: 313 ~ 321.
- 4) 日本典秀 (2005): 植物防疫 59: 345 ~ 348.
- 5) HINOMOTO, N. et al. (2006): Appl. Entomol. Zool. 41: 499 ~ 506.
- 6) HOY, M. A. (2000): Exp. Appl. Acarol. 24: 463 ~ 495.
- 7) LEPPLA, N. C. and T. R. ASHLEY (1989): Bull. Entomol. Soc. Am. 35: 33 ~ 44.
- 8) NAKAGAWA, T. et al. (2005): Science 307: 1638 ~ 1642.
- 9) 野田博明・三田和英 (2008): 蚕糸・昆虫バイオテック 77: 131 ~ 138.
- 10) PRESNAIL, J. K. and M. A. HOY (1992): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 7732 ~ 7736.
- 11) SANTOSO, S. et al. (2004): J. Acarol. Soc. Jpn. 13: 77 ~ 82.
- 12) 塩尻かおりら (2002): 応動昆 46: 117 ~ 133.
- 13) SIMON, C. et al. (1994): Ann. Entomol. Soc. Am. 87: 651 ~ 701.
- 14) SYMONDSON, W. O. C. (2002): Mol. Ecol. 11: 627 ~ 641.

## (新しく登録された農業4ページからの続き)

つつじ類：ツツジグンバイ：—  
つばき類：チャドクガ：—  
さるすべり：うどんこ病：—  
かなめもち：ごま色斑点病：—

### 「殺菌剤」

●マンジプロバミド水和剤  
22379：レーバスフロアブル (シンジエンタ ジャパン)  
09/6/4  
マンジプロバミド：23.3%  
ばれいしょ：疫病：収穫7日前まで  
だいず：べと病：収穫7日前まで  
あずき：茎疫病：収穫7日前まで  
ぶどう：べと病：収穫14日前まで  
はくさい：べと病：収穫14日前まで  
トマト：疫病：収穫前日まで  
●シモキサニル・ベンチアパリカルブイソプロピル水和剤  
22397：ベトファイター顆粒水和剤 (日本曹達) 09/6/24  
シモキサニル：24.0%，ベンチアパリカルブイソプロピル：  
10.0%  
きゅうり：べと病：収穫前日まで

たまねぎ：べと病：収穫7日前まで  
だいず：茎疫病：収穫7日前まで  
トマト：疫病：収穫前日まで  
ばれいしょ：疫病：収穫7日前まで

### 「除草剤」

●フルセトスルフロン粒剤  
22380：スケダチ1キログラム (石原産業) 09/6/4  
フルセトスルフロン：0.22%  
移植水稲：ノビエ、コナギ、ホタルイ、ウリカワ、ヒルムシロ、ヘラオモダカ (北海道)  
22381：ヒエクッパ1キログラム (石原バイオサイエンス)  
09/6/4  
フルセトスルフロン：0.22%  
移植水稲：ノビエ、コナギ、ホタルイ、ウリカワ、ヒルムシロ、ヘラオモダカ (北海道)  
22384：スケダチジャンボ (石原産業) 09/6/4  
22385：ヒエクッパジャンボ (石原バイオサイエンス)  
09/6/4  
フルセトスルフロン：0.44%

(16ページに続く)