

特集：次世代農業への挑戦—抵抗性機構の解明と環境調和型殺虫剤の開発—

ポストゲノム時代のアブラムシ防除研究

—抵抗性の発達を追い越せるのか—

 農業環境技術研究所 ^{すず}鈴 ^き木 ^{けん}健

はじめに

アブラムシは、日本だけでも約 700 種知られており (松本, 2008), このうち約 200 種が農林害虫に数えられる (浜, 1992)。アブラムシは概してとても小さく軟弱な虫だが、増殖力が非常に旺盛で、植物病原ウイルスの伝搬などによって農業生産に大きな被害を与えることから重要な防除対象となっている。アブラムシの生活環は極めてユニークかつ巧妙で (図-1), 寄主転換, 翅型転換, 生殖様式転換等, 生態・形態・生理を様々に切り換えて環境変化に適応していく。アブラムシをさらに厄介ならしめているのは殺虫剤抵抗性の問題である。これまでに様々なタイプの殺虫剤に次々に抵抗性を発達させ、防除が非常に難しい「抵抗性害虫のエリート」と呼ばれるようになった (浜, 1992)。ネオニコチノイド系殺虫剤の登場で現在「エリート」の影は薄い状態になっているが、過度の依存はまた新たな抵抗性の発達をもたらすのではないかと…との危惧は拭えない。

ここ数年の間に、様々な昆虫のゲノム解読、発現遺伝子解析が急速に進められてきたが、アブラムシに関しても例外ではない。遺伝子レベルでの抵抗性発現機構の理解が進む中、抵抗性問題解決にゲノム情報を利用しない手もないと思われるが、では、果たしてどのように利用し得るのか考えてみたい。

I アブラムシの殺虫剤抵抗性

第二次世界大戦後の有機合成殺虫剤 (以降「殺虫剤」) の登場以来、アブラムシの防除にも主として殺虫剤が使われてきた。長い間、アブラムシは感受性の高い (殺虫剤がよく効く) 虫と認識されていたが、1980 年ごろからモモアカアブラムシ、ワタアブラムシで有機リン剤やカーバメート剤に対する抵抗性が目立つようになり (浜, 1987), 80 年代の終わりごろには代替薬剤としてよく効いていたピレスロイド剤にまで高度の抵抗性が確認され (森下・東, 1990; 西東, 1990), 防除が非常に困難になった。1990 年代に入って登場したネオニコチ

ノイド系殺虫剤は、従来型の殺虫剤に抵抗性を発達させたアブラムシにも優れた効力を示し、アブラムシの抵抗性問題は今のところ沈静化しているといった状況である。ネオニコチノイド系殺虫剤の登場は、これまでにない作用機構を有する新たな殺虫剤の開発が抵抗性問題解決の即効性のある強力な手段であることを明白に示した。しかしながら、タバコナジラミやコロラドハムシで既にネオニコチノイド系殺虫剤抵抗性が確認されており (NAUEN and DENHOLM, 2005), モモアカアブラムシそのものにおいても薬剤の種類によっては系統間で感受性に 100 倍もの差が見られる (FOSTER et al., 2008) ことが報告されている。幸い、まだアブラムシについては圃場レベルで明らかなネオニコチノイド系殺虫剤抵抗性は確認されていないが、警戒を怠るべきではないだろう。

アブラムシは経済上非常に重要な害虫であるため、抵抗性発達のメカニズムに対する関心も高く、分子生物学的レベルでの解明が最も進んでいる虫の一つとあって差し支えない。特に、モモアカアブラムシに関してはイギリスで半世紀も前から先駆的な研究が行われてきた。抵抗性のモモアカアブラムシでは、解毒分解酵素の一種カルボキシエステラーゼ (CE) が体内で大量に生産され、有機リン剤、カーバメート剤、ピレスロイド剤に対する抵抗性の原因となっている (DEVONSHIRE and MOORES, 1982)。この CE の過剰生産は構造遺伝子のコピー数が倍々と増幅したためである (FIELD et al., 1999)。さらに、ピリミカープなどカーバメート剤の一部に対する抵抗性には標的酵素アセチルコリンエステラーゼ (AChE, 2 種あるうちの一方のみ) の変異が (NABESHIMA et al., 2003), ピレスロイド剤抵抗性にはナトリウムチャンネルの構造変異 (*kdr* 因子) が (MARTINEZ-TORRES et al., 1999) かかわっていることが明らかにされている。ワタアブラムシでは有機リン剤抵抗性に関してはやはり CE の生産量の増大が原因である。抵抗性系統では感受性系統がもつ CE の 2 箇所のアミノ酸が置換した変異型の CE が特異的に過剰生産されており、これには遺伝子コピー数の増幅と転写活性の上昇の両面がかかわっているらしい (PAN et al., 2009)。ピリミカープなどカーバメート剤に対する抵抗性には AChE の構造変異が (ANDREWS

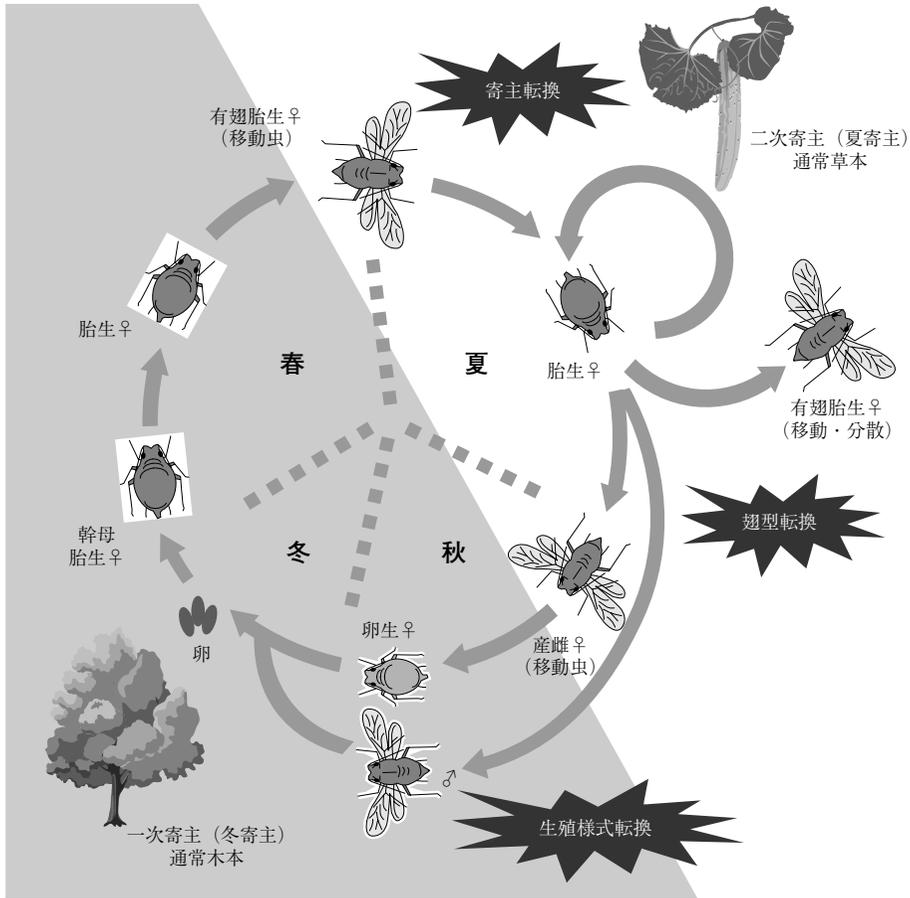


図-1 アブラムシの生活環

この生活環になじまないアブラムシも多い。同一種内でも系統間で異なる場合がある。アブラムシの生活環の特徴的な部分をほとんど含む一例と考えていただきたい。

et al., 2004 ; Toda et al., 2004), ピレスロイド剤抵抗性には *kdr* 因子がかかっている (土田・駒崎, 2002) ことはモモアカアブラムシと同様である。

II アブラムシの遺伝子データベース

他の昆虫の例に漏れず、アブラムシの遺伝子データベース (全ゲノム, 発現配列タグ: EST) も「急激に」充実してきている。数年前なら Blast サーチ (よく似た遺伝子やタンパク質の配列を探す手法の一つ) であっさり “no hits found (相同な配列は見つからない)” と切り捨てられていた配列に対して、今改めてサーチしてみると何十もの EST がヒットしてくる。

アブラムシの中で全ゲノムの解読が行われているのはエンドウヒゲナガアブラムシ (図-2) のみである。解読を行っている “The International Aphid Genomics



図-2 ゲノムが解読されているエンドウヒゲナガアブラムシ

Consortium (IAGC)” の白書によると、エンドウヒゲナガアブラムシを対象に選んだ理由は (ごく手短かに要約すれば)、「扱いやすくこれまで積み上げられてきた研究

資産が豊富」ということである。白書では、アブラムシの殺虫剤抵抗性を適応現象の一つのモデルとして重視しており、アブラムシゲノムが解読されることで、アブラムシ防除のための多くの新たな標的候補が発見されるであろうと述べている。

エンドウヒゲナガアブラムシのゲノム配列はNCBIでも公開されているが、AphidBase (<http://w3.rennes.inra.fr/AphidBase>) という独自のデータベースにも組み上げられ、特にシヨウジョウバエおよびハマダラカのゲノムデータベースとの照合による遺伝子機能のアノテーションに重点を置いた体裁になっている。

ESTのNCBIへの登録配列数はエンドウヒゲナガアブラムシ：169,928配列、モモアカアブラムシ：27,686配列、ワタアブラムシ：8,344配列、ミカンクロアブラムシ：4,304配列、ムギクビレアブラムシ：458配列(2009年9月11日調べ)で、やはり農業害虫として重要な種について多く解析されている。

III アブラムシのユニークな生活環形成に 関与する遺伝子探索の現状

ネオニコチノイド系殺虫剤の例に見るように、新規な作用機作の(新規な標的に作用する)新たな薬剤の開発は殺虫剤抵抗性問題に対する強力な解決手段の一つである。この意味で、アブラムシのユニークな生活環の形成に関与する遺伝子(の産物やそれが関与する生理反応)は新規性・特異性などの点からいって格好の標的候補になるであろう。アブラムシ遺伝子データベースの充実とともにマイクロアレイなどによるこれらの遺伝子の探索研究も数多く報告されてきている。ここでは、そのような研究の中からほんの一部を紹介する。もちろん、これらの研究のすべてが新規な薬剤作用点の探索を第一目的としているわけではなく、純粋にアカデミックな興味为主であると思われるものも多いが、現時点では基礎志向も応用志向もまだ遺伝子探索という同じ車両に乗っている状態であると言える。

(1) 寄主適応

RAMSEY et al. (2007) は、モモアカアブラムシの消化管で他器官に比べ特に発現量の多い遺伝子の一つをタンパク分解酵素の一種 *cathepsin B* 遺伝子と同定した。さらに、この遺伝子の塩基配列に、タバコを寄主として選択する系統とそうでない系統との間で複数の(アミノ酸置換を伴うものも含む)一塩基多型(*Single Nucleotide Polymorphisms*: SNPs (スニップス))を見いだした。モモアカアブラムシの新しい寄主に対する適応には、この酵素が植物の阻害物質を回避するように進化するこ

がかかわっているのではないかと推測している。

(2) 翅型

GHANIM et al. (2006) はモモアカアブラムシの無翅型と有翅型の発現遺伝子をマイクロアレイで比較し、有翅型で発現の増大している遺伝子の中からATP代謝にかかわる酵素(*Adenine Nucleotide Translocase*)、他の昆虫においてフェロモンなどの化学的受容にかかわるとされるタンパク質(*OS-D like protein*)、シヨウジョウバエの概日時計変異体で最初に発見された *Takeout* と呼ばれるタンパク質の遺伝子と相同性のある遺伝子を同定した。*Takeout* は疎水性の低分子物質を結合して輸送する分泌タンパクの一つで *JH* 結合タンパクと同じファミリーに属する。アブラムシの翅型制御への *JH* の関与は、ずいぶん昔から取りざたされてはいたが、今一つ決定打に欠けたまま今日に至っている。*Takeout* はこの辺りに関係があるのかないのか、今後の展開に興味もたれる。

(3) 生殖様式

アブラムシの有性世代は、主として秋に日長が短くなることで誘導される。RAMOS et al. (2003) は、長日条件あるいは短日条件で飼育した同一系統のエンドウヒゲナガアブラムシで発現量の異なる遺伝子をディファレンシャルディスプレイ法で探索し、短日条件下で発現が増大する遺伝子として *GABA* 作動性ニューロンのアミノ酸トランスポーター遺伝子を同定した。光周期情報の伝達に関与し、有性型分化の引き金を引いているのではないかと推測している。

(4) 遺伝子ノックダウン

ある遺伝子が何らかの表現型の形成にかかわっていることを証明するには、その遺伝子が発現しない状態を作ってやって、その後の表現型にどのような影響が出るかを調べるのが一般的であろう。アブラムシでは遺伝子ターゲットング(「ノックアウト」)の技術は確立されていないが、*RNAi* (*RNA* 干渉法)を用いた遺伝子「ノックダウン」に関していくつかの報告がある。

JAUBERT-POSSAMAI et al. (2007) はエンドウヒゲナガアブラムシの全身で発現している *calreticulin* 遺伝子と消化管で特異的に発現している *cathepsin L* 遺伝子に対する300~400merの*dsRNA* (二本鎖*RNA*)をマイクロインジェクションし、5日目で約40%発現が抑制されたとしている。ただ、いずれの場合もその後の表現型の変化は観察されておらず、効果が不十分であった可能性も捨てきれない。

MUTTI et al. (2006; 2008) は、エンドウヒゲナガアブラムシの唾液腺で最も多量に発現している *C002* と命名したタンパク質の遺伝子に対する *siRNA* (ほぼ全長の

dsRNAを切断して得られた21～23 merの混合物)をインジェクションし、3日目以降ほぼ完全に発現が抑制されたことを報告している。siRNAをインジェクションされたアブラムシでは師管の探索行動が抑制されるとともに、たとえ吸汁を始めたとしても長続きせず(対照群の50分の1以下)、寿命も著しく短くなることを観察している。

残念なことに、上記(1)～(3)で紹介した遺伝子のノックダウンに関する報告は出ていない。これから続々と出てくるのか? それとも報告できるような結果が得られていないのか? 今しばらく見守っていきたいところである。

おわりに

昆虫の場合に限らず、抵抗性の研究は宿命的に後手に回らざるを得ない。抵抗性が問題になるのは、ある程度薬剤が効かなくなったことが認識されるようになってからであり、それから感受性のものと抵抗性のものを比較して抵抗性のメカニズムを明らかにすることになる。この時点では抵抗性遺伝子をもった個体は相当な割合になっている。新規作用機構をもつ薬剤に対して初めから感受性個体の遺伝子と抵抗性個体の遺伝子をそろえて出すことはできないのである。こういった意味で新規薬剤に対して将来抵抗性が発達するか否かを予測するツールとしての遺伝子データベースの利用については言及しなかった(できなかった)。

抵抗性の発達を回避するには、よく言われるように、効くからといって同じ作用機構の薬剤を使い続けられないことである。IPMの観点も取り入れ、様々な防除オプションを組み合わせた、ローテーションをしたりするの

が望ましいであろう。その中で、これからもアブラムシの防除に殺虫剤は大きな役割を担うことになるであろうが、これもやはりなるべく多くの異なる作用機構のものを、抵抗性が発達する前に切り替えて使用できるような体制が必要と思われる。アブラムシゲノム研究が、新しい標的オプションの探索にうまく生かされれば、抵抗性の発達を追い越した防除が可能になるかも知れない。かなり先は長いような気もするが、期待したい。

引用文献

- ANDREWS, M. C. et al. (2004): *Insect Mol. Biol.* **13**: 555 ~ 561.
- DEVONSHIRE, A. L. and G. D. MOORES (1982): *Pestic. Biochem. Physiol.* **18**: 235 ~ 246.
- FIELD, L. M. et al. (1999): *Biochem. J.* **339**: 737 ~ 742.
- FOSTER, S. P. et al. (2008): *Pest. Manag. Sci.* **64**: 1111 ~ 1114.
- GHANIM, M. et al. (2006): *Insect Biochem. Mol. Biol.* **36**: 857 ~ 868.
- 浜 弘司 (1987): *植物防疫* **41**: 159 ~ 164.
- (1992): 害虫はなぜ農業に強くなるか—薬剤抵抗性のしくみと害虫管理—, 農文協, 東京, 189 pp.
- JAUBERT-POSSAMAI, S. et al. (2007): *BMC Biotechnology* **7**: 63.
- MARTINEZ-TORRES, D. et al. (1999): *Insect Mol. Biol.* **8**: 339 ~ 346.
- 松本嘉幸 (2008): アブラムシ入門図鑑, 全国農村教育協会, 東京, 239 pp.
- 森下正彦・東勝千代 (1990): *応動昆* **34**: 163 ~ 165.
- MUTTI, N. S. et al. (2006): *J. Insect Sci.* **6**: 38.
- et al. (2008): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**: 9965 ~ 9969.
- NABESHIMA, T. et al. (2003): *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **307**: 15 ~ 22.
- NAUEN, R. and I. DENHOLM (2005): *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **58**: 200 ~ 205.
- PAN, Y. et al. (2009): *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **152**: 266 ~ 270.
- RAMOS, S. et al. (2003): *Insect Biochem. Mol. Biol.* **33**: 289 ~ 298.
- RAMSEY, J. S. et al. (2007): *BMC Genomics* **8**: 423.
- 西東 力 (1990): *応動昆* **34**: 174 ~ 176.
- 土田 聡・駒崎進吉 (2002): 平成14年度果樹研究成果情報, 果樹研, つくば, p.29 ~ 30.
- TODA, S. et al. (2004): *Insect Mol. Biol.* **13**: 549 ~ 553.

登録が失効した農薬 (21.10.1 ~ 10.31)

掲載は、種類名、登録番号：商品名(製造者又は輸入者)登録失効年月日。

「殺虫剤」

- アセフェート粒剤
13178: 武田オルトラン粒剤(住友化学)09/10/30
- MEP粉剤
15235: 日農スミチオン粉剤2DL(日本農薬)09/10/08
- ヘキシチアゾクス・DDVPくん煙成型剤
17126: ニッソランVジェット(日本曹達)09/10/25
17127: 新富士ニッソランVジェット(新富士化成業)09/10/25
- チオジカルブ水剤
18400: ラービンフロアブル(バイエルクロップサイエンス)09/10/21
- MEPマイクロカプセル剤

21824: 協友スミチオンMC(協友アグリ)09/10/18

「殺虫殺菌剤」

- MEP・フサライド粉剤
17932: ヤシマラブサイドスミチオン粉剤3DL(協友アグリ)09/10/21

「除草剤」

- シハロホップブチル・ジメタメトリン・ピラゾスルフロンエチル・プレチラクロール粒剤
21107: バイエルホクト1キロ粒剤(バイエルクロップサイエンス)09/10/22