

平成 22 年 6 月 9 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19780044  
 研究課題名（和文） 性フェロモン剤（交信攪乱剤）に対する抵抗性発現メカニズムの解明  
 研究課題名（英文） Mechanism of resistance to a mating disruptant  
 研究代表者  
 田端 純 (TABATA JUN)  
 独立行政法人農業環境技術研究所・生物多様性研究領域・研究員  
 研究者番号：20391211

研究成果の概要（和文）：チャノコカクモンハマキにおける性フェロモン剤（交信攪乱剤）に対する抵抗性発現メカニズムを解明するために、実験室内で選抜・飼育を行うことで、極めて強い抵抗性を示す系統を確立した。この系統の配偶行動を観察したところ、交信攪乱成分（*(Z)*-11-テトラデセニルアセテート）に対する感受性が低下していることが明らかとなった。このような神経・行動レベルでの変異が交信攪乱剤に対する抵抗性の一因と考えられた。

研究成果の概要（英文）：Recently, the first instance of resistance to a mating disruptant was documented in the smaller tea leafroller moth, *Adoxophyes honmai*. To investigate why and how the disruptant became inefficacious, we established highly resistant strain through further artificial selection. Consequently, the selected males could locate the pheromone source even lacking a main component normally indispensable for their attraction. Those males with behavioral or neural shift(s) are likely to overcome some effects of disruptant.

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	540,000	3,440,000

研究分野：応用昆虫学・化学生態学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫

キーワード：総合的害虫管理 (IPM)・性フェロモン剤 (交信攪乱剤)・抵抗性害虫

## 1. 研究開始当初の背景

農産物をはじめとする食の安心・安全に対する消費者の関心は年々強まる一方であり、環境の保全や食品の安全性に配慮した農業害

虫管理技術の開発・改善がますます求められている。その中で、従来の有機合成殺虫剤の代替となる安全性の高い農薬として、害虫の配偶行動を支配する情報交信物質（性フェロ

モン) を利用した製剤が 1980 年代から実用化されている。多くの昆虫では、メスが性フェロモンを交信信号として放出し、これを受信したオスが信号の発信源(メス)にむかって飛翔・定位して交尾に至るが、この性フェロモンを人工的に合成・散布することで、オスメス間の情報交信を攪乱・阻害して標的害虫の増殖を抑えることができる。これらの製剤は、交信攪乱剤と呼ばれており、現在では約 60 万ヘクタールの農耕地で使用されている。

ところが、1996 年頃から、静岡県の一部の茶園でハマキガ類に対する交信攪乱剤(テトラデセニルアセテート剤)の効果が著しく低下していることが報告された。これは従来の殺虫剤における抵抗性に相当するものとされている。現在のところ、本事例が唯一の報告例であるが、将来的に第二、第三の交信攪乱剤抵抗性害虫が出現する危険性がある。したがって、今後の交信攪乱剤のリスク管理に向け、本事例における抵抗性発現メカニズムの解明は急務とされる。

## 2. 研究の目的

研究代表者らは、交信攪乱剤に対する抵抗性を獲得したハマキガ(チャノココクモンハマキ *Adoxophyes honmai* Yasuda) を現地の茶園(静岡県島田市)から採集し、実験室内でさらなる選抜・飼育を行うことで、極めて強い抵抗性を示す系統(以下、R 系統とする)を確立した。また、交信攪乱剤が使用される以前に同じ茶園で採集したハマキガの系統(したがって交信攪乱剤に対する感受性が高い:S 系統)も、実験室内で累代・維持している。本研究では、抵抗性ハマキガのオスが交信攪乱剤の充満する中でいかにして性フェロモンを放出するメスを探索しているのかを明らかにするために、これら 2 系統のハマキガをモデル昆虫として、その行動や生理の比較を行った。具体的には、以下の 2 点を目的として研究を行った。

(1) 性フェロモンや交信攪乱剤に対する反応行動を詳細に観察・比較し、R 系統のみにもみられる反応行動を特定する。

(2) 性フェロモンや交信攪乱剤の刺激によって触角上に生じる電気的応答を、電気神経生理学的手法(触角電図法:EAG 法)を用いて定量的に記録し、これを触角の感受性として両系統で比較して、その差を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 性フェロモンや交信攪乱剤に対する反応行動の観察は、研究代表者の所属する農業

環境技術研究所内の生物検定用暗室に設置した風洞装置(風速約 0.3m/秒)を用いて行い、暗視用赤外線ライト付デジタルビデオカメラで記録した。性フェロモンや交信攪乱剤は、原体となる化合物を購入後、実験室内で精製し、調合・作製した。風洞装置の風上に、様々な濃度や成分組成に調整・配合した性フェロモンまたは交信攪乱剤を設置したのち、風下にオスのハマキガを放し、それぞれに対する反応行動を観察・記録した。昆虫の行動はしばしば再現性がよくないので、なるべく多数の個体について同じ処理・条件での行動の観察を繰り返し、際立った行動が観察された場合は、その行動が数世代にわたって安定して観察されるかどうかを確認した。また、S 系統のオスもあわせて用意し、同様の処理・条件での行動観察を行い、R 系統の行動と比較した。

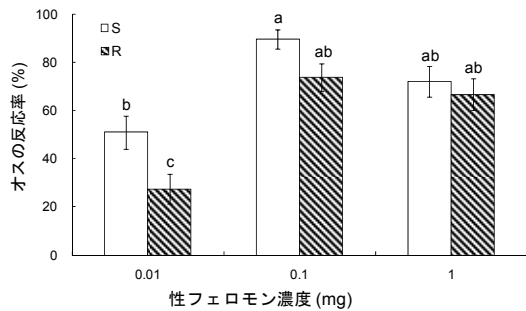
(2) 性フェロモンや交信攪乱剤に対するオス触角の感受性を、触角電図法(EAG 法)を用いて電気的応答として記録した。EAG 法は、昆虫の化学生態学では一般的な手法であり、性フェロモン等の刺激によって触角上に生じる神経電位の変化を、触角の先端に設置した記録電極(ガラス微小電極)から前置増幅器を介して増幅し、オシロスコープで記録する手法である。S および R 両系統のオス触角を、様々な濃度・成分組成の性フェロモンや交信攪乱剤で刺激し、得られた EAG 応答値を定量的に比較した。さらに、触角全体の電位変化だけでなく、触角を構成するより小さい性フェロモン受容組織(毛状感覚子)単位での電気的応答の記録を試みた。

## 4. 研究成果

チャノココクモンハマキの性フェロモンは、(Z)-9-テトラデセニルアセテート(Z9-TDA)、(Z)-11-テトラデセニルアセテート(Z11-TDA)、(E)-11-テトラデセニルアセテート(E11-TDA)、10-メチルロードデシルアセテート(10Me-DA)の 63:31:4:2 の混合物である。このうち、Z11-TDA がテトラデセニルアセテート剤の有効成分である。

まず、上記 4 成分の混合物の濃度を 0.01~1mg の範囲で調整した性フェロモンアールを作成し、これらに対する反応性の差異を S および R 系統間で比較した(図 1)。両系統とも合計 0.1mg を担持させた誘引源に最もよく反応したが、いずれの誘引源に対しても R 系統のオスは S 系統のオスよりも弱い反応を示した。この差は性フェロモン濃度が薄い場合(0.01mg)に特に顕著であった。

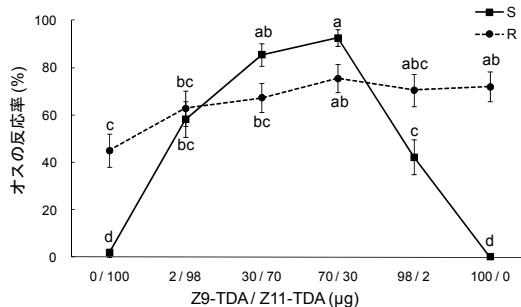
図 1. 様々な濃度の性フェロモンアールに対する S および R 系統の反応性。異なる文字を付した値間には有意差



あり (Ryanの多重比較,  $P < 0.05$ ).

次に、交信攪乱成分である Z11-TDA と、もうひとつの主要な性フェロモン成分である Z9-TDA の成分比を様々に変えた性フェロモンルアーを作成し、それぞれを誘引源としてオスの反応行動を観察した。S 系統では、天然の性フェロモンの成分比に近い 70/30 (Z9-TDA/Z11-TDA) のルアーに対して最もよく反応したが、それよりも成分比が偏ると反応活性は低下し、Z11-TDA を含まない 100/0 のルアーや、反対に Z9-TDA を含まない 0/100 のルアーに対しては全く反応を示さなかった (図 2)。一方、R 系統では、S 系統とは全く異なる反応行動が観察された。R 系統のオスは、Z11-TDA の成分比に関わらず、どのルアーに対しても同じようによく反応した。驚くべきことに、S 系統では全く反応がみられなかった 100/0 や 0/100 のルアーに対しても、R 虫の多くは反応を示した (図 2)。この事実は、抵抗性を有する R 系統のオスは、交信攪乱成分として使用されていた Z11-TDA ともうひとつの主要成分である Z9-TDA の成分比の違いをほとんど識別しないで反応していることを示す。

図 2. Z11-TDA と Z9-TDA の成分比を変えた合成性フェロモンルアーに対する S および R 系統の反応性. 各ルアー



一は他に E11-TDA (4 μg) と 10Me-DA (2 μg) をそれぞれ含む。異なる文字を付した値間には有意差あり (Ryanの多重比較,  $P < 0.05$ )。

このような特異な反応行動を示すオスのハマキガにおける、性フェロモン成分に対する触角の電気生理学的応答を調査した。EAG

法によって Z11-TDA に対する触角全体の神経電位を定量的に記録したところ、S 系統と R 系統の間で有意な差は認められなかった。しかし、触角を構成する毛状感覚子レベルでは、少なくとも 2 つの性フェロモン成分受容細胞が存在することが明らかとなった。これらの受容細胞レベル、あるいは中枢神経レベルでの性フェロモン成分バランスの認識の差異によって、オスの行動に変化が生じたものと考えられる。

交信攪乱剤がどのように作用して性フェロモンによる交尾相手の探索を阻害しているのか、その詳細な作用機構は、テトラデセニルアセテート剤も含め、多くの製剤で解明されていない。実際の圃場では、いくつかの異なる作用が複合的に働き、結果として交信攪乱効果が引き起こされていると思われるが、ひとつの仮説として、テトラデセニルアセテート剤のように性フェロモンを構成するいくつかの成分のうちの一部を交信攪乱剤として使用すると、天然のメスが放出する性フェロモン成分のバランス (成分比) を崩す作用があるのではないかと考えられている。一般に、ガ類の性フェロモンでは、構成成分の成分比がオスの反応誘起に重要な影響を与える。前述のとおり、チャノコカクモンハマキにおいても、非抵抗性の S 系統では、Z9-TDA と Z11-TDA が 70/30 に調整されたルアーに対し最も強い反応が見られ、それよりも成分比が大きくなると反応活性が低下した (図 2)。また、Z11-TDA を過剰に受容すると、オスの行動そのものが抑制されるとの報告もある。ところが、抵抗性を発達させた R 系統のオスにおいては、Z11-TDA の性フェロモン中の成分比がほとんど反応に影響しない (図 2)。したがって、たとえテトラデセニルアセテート剤 (Z11-TDA) によって天然のメスが放出する性フェロモン成分のバランスが大きく歪められていたとしても、攪乱されることなく交尾相手と巡り会うことができると考えられる。

では、仮にこのような成分バランスの歪められた性フェロモン信号に対しても反応できる個体が抵抗性をもたらしているとして、なぜそのような個体が出現したのだろうか。ある薬剤に対する抵抗性を獲得した昆虫が集団中に現れるのは、それぞれの個体とその薬剤に徐々に慣れて抵抗力を身につけるからではなく、遺伝的にその薬剤が効きにくい個体が少数ながらもともと集団中に存在し、そのような遺伝子を持つ個体の頻度が増加するからである。テトラデセニルアセテート剤による性フェロモン成分バランスの歪みの影響を遺伝的に受けにくい個体が、野外のチャノコカクモンハマキ集団に存在し得るのだろうか。実は、このハマキムシの野外虫が放出する性フェロモン中の Z11-TDA の成分

比には、大きな集団内変異や地理的変異があることがわかっている。つまり、全成分中における Z11-TDA の割合が少ない性フェロモンを放出するメスもいれば、多い性フェロモンを放出するメスも存在する。それに伴い、Z11-TDA の割合が少ない性フェロモンに反応するオスもいれば、多い性フェロモンに反応するオスも存在すると考えられている。このような、性フェロモンの成分比に大きなバリエーションがある場合、非常に大きく偏った成分比の性フェロモン（成分バランスの歪んだ性フェロモン）にも反応し得るようなオス個体が天然に存在していても不思議ではないだろう。一方で、通常の混合比の性フェロモンに対しては、R 系統のオスは S 系統よりも弱い反応しか示さなかった（図 1）。この事実は、反応性の幅が極端に広い個体は反応の鋭敏さにおいては相対的に劣っていることを示唆する。そのため、自然条件下ではこのような個体の頻度は多くないと考えられる。しかし、交信攪乱剤の使用に伴い、幅広い反応性を持つ個体の適応度が上がり、その頻度が徐々に増加することによって抵抗性が顕在化したのではないだろうか。

そもそも、交信攪乱剤は、開発された当初は抵抗性が出現し難いものと期待されていた。従来の工業化学的に合成された殺虫剤と異なり、交信攪乱剤の活性成分（性フェロモン）は標的害虫そのものが生産・分泌し、配偶活動に必須な化合物だからである。実際、交信攪乱剤は全世界で 20 年以上使用されているが、前述の通り、抵抗性は本事例でしか報告されていない。しかし、害虫集団に人為選択圧をかけているという意味では、旧来の殺虫剤と変わりはない。事実、本研究で取り上げたように、実用化から十数年後には抵抗性の事例が報告された。今後も抵抗性の発達に注意する必要があるだろう。とは言え、これまでにテトラデセニルアセテート剤以外の製剤で抵抗性が認められたとの報告はない。また、現在流通している交信攪乱剤は、テトラデセニルアセテート剤のような、性フェロモンのうちの一成分を有効成分とした製剤ではなく、性フェロモンに含まれる複数の成分をベースとするものが主流である。現在市販されているチャノコカクモンハマキ用の交信攪乱剤もそのひとつで、抵抗性系統に対しても十分な効果が期待できるように改良されたものである。このような製剤ならば、本研究で考察したようなメカニズムで抵抗性を発達させる可能性は低い。

本研究は、交信攪乱剤に対する抵抗性という世界でも類例がない現象を取り扱った極めて新規性の高いものである。得られた成果は、今後の交信攪乱剤を含む性フェロモン利用技術の開発・改良に関する国内外の研究に対し、大きな影響を与えるものと期待される。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 9 件）

- (1) 田端 純 (2010) アワノメイガ種群の性フェロモン. 植物防疫 64: 139-142. [査読無]
- (2) J. Tabata, M. Minamishima, H. Sugie, T. Fukumoto, F. Mochizuki, and Y. Yoshiyasu (2009) Sex pheromone components of the pear fruit moth, *Acrobasis pyrivorella* (Matsumura). Journal of Chemical Ecology 35: 243-249. [査読有]
- (3) 田端 純 (2009) フェロモンによる発生予察(総説). 植物防疫 63: 781-783. [査読無]
- (4) J. Tabata, T. Yokosuka, M. Hattori, M. Ohashi, H. Noguchi, and H. Sugie (2008) Sex attractant pheromone of the limabean pod borer, *Etiella zinckenella* (Treitschke) (Lepidoptera: Pyralidae), in Japan. Applied Entomology and Zoology 43: 351-358. [査読有]
- (5) J. Tabata, Y. Huang, S. Ohno, Y. Yoshiyasu, H. Sugie, S. Tatsuki, and Y. Ishikawa (2008) Sex pheromone of *Ostrinia* sp. newly found on the leopard plant *Farfugium japonicum*. Journal of Applied Entomology 132: 566-574. [査読有]
- (6) F. Mochizuki, H. Noguchi, H. Sugie, J. Tabata, and Y. Kainoh (2008) Sex pheromone communication from a population resistant to mating disruptant of the smaller tea tortrix, *Adoxophyes honmai* Yasuda (Lepidoptera: Tortricidae). Applied Entomology and Zoology 43: 293-298. [査読有]
- (7) 田端 純, 杉江 元, 望月 文昭 (2007) 性フェロモン製剤(交信かく乱剤)に対する抵抗性. 植物防疫 61: 46-49. [査読無]
- (8) J. Tabata, H. Noguchi, Y. Kainoh, F. Mochizuki, and H. Sugie (2007) Behavioral response to sex pheromone-component blends in the mating disruption-resistant strain of the smaller tea tortrix, *Adoxophyes*

*honmai* Yasuda (Lepidoptera: Tortricidae), and its mode of inheritance. Applied Entomology and Zoology 42: 675-683. [査読有]

- (9) H. Sugie and J. Tabata (2007) The smaller tea tortrix moth exhibits resistance to mating disruptant (sex pheromone). NIAES Annual Report 2007: 16-18. [査読無]

[学会発表] (計3件)

- (1) J. Tabata. Evolution of resistance to mating disruption in the smaller tea tortrix, *Adoxophyes honmai* Yasuda. Fifth Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology. 2009. 10. 29. Hawaii, USA.
- (2) 田端 純. チャノコカクモンハマキにおける交信攪乱剤に対する抵抗性の発達と性フェロモン成分への反応性. 日本昆虫学会. 2008. 9. 15. 香川大学.
- (3) J. Tabata. Resistance to mating disruption in the smaller tea tortrix moth *Adoxophyes honmai* Yasuda. 4th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology. 2007. 9. 12. Tsukuba, Japan.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田端 純 (TABATA JUN)  
独立行政法人農業環境技術研究所・生物  
多様性研究領域・研究員  
研究者番号：20391211