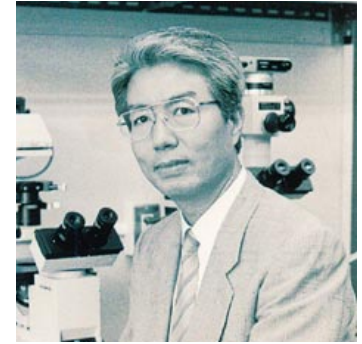


Elucidation of response mechanisms of insects to environments and their utilization

昆虫の環境応答機構の解明と制御

プロジェクトリーダー 眞山 滋 志

神戸大学 農学部 教授



トマトの葉に食害をあたえるニジュウヤホシテントウ

1. 研究の目的

昆虫は時の移り変わりや多様な環境条件に応答・適応して、個々の生活を営んでいます。季節や日夜の変動に伴う温度変化や光周期のリズムは無数の昆虫の成長や行動に大きな影響を与えています。また、昆虫の周りには多くの昆虫や植物、微生物および動物が生息しており、これら他生物種との激しい戦いや或いは協調的で相補的な作用もしています。草食性の昆虫は農作物に対する害虫として私たちの食料の安定的供給を脅かすことも多く、また、植物の受粉を助けたり有用物質も生産する益虫もいます。昆虫の間でも天敵昆虫のように食物連鎖の循環の中で互いに食うか食われる関係もあり、昆虫に寄生する微生物もあります。

本研究では、このような昆虫が示す生物学的および物理的環境に対する特異な応答と適応機構に着眼して、それらの応答機構を解明することを目指しています。そしてその特異なメカニズムを有効利用する方法を創出したいと考えています。とくに、

- 1) 植物の葉面に棲息する微生物（葉上エキソファイト）や植物組織内に内生する微生物（エンドファイト）と食害昆虫体内における微生物の関係を解析して、昆虫の生活におけるこれら微生物の役割を明らかにするとともに、昆虫を制御する微生物ベクターの開発を試みます。
- 2) 昆虫の特異的機能の一つである昆虫の相互関係に見られる寄主・寄生関係にかかわる化学物質の解明や学習能力を利用した匂い探知システムの開発を目標に、有機化学者と生物学者が協力して、寄主昆虫探索の手がかりとなる物質の解明と学習能力を利用した天敵昆虫の防除効果を高める技術、寄主認識や産卵刺激物質を利用した人工寄主による天敵昆虫の大量増殖技術の開発を行います。
- 3) 昆虫の発生や行動、代謝などの制御に根幹的に重要な光周性の機能解明のため、特異で多様な光周性を発現している昆虫を材料に、蛹休眠の誘導及び覚醒の分子制御機構の解明と光周性の分子機構を解明し、その制御法の開発を行います。

2. 研究の内容

具体的に行っている研究は次のような内容です。

- 1) トマトの葉面には多数の微生物が棲息するが、特に葉面への定着特性が高い微生物（葉上エキソファイト）として、2種の細菌（*Enterobacter cloacae* と *Pseudomonas cepacia*）と酵母を分離しています。一方、ニジュウヤホシテントウはトマト葉を食害するので、本昆虫の消化器系には上述の葉上エキソファイトが移行するものと考えています。そこで、これら葉上エキソファイトに標識遺伝子を導入し、トマト葉や昆虫体内における本菌の動態を解析しています。また、葉上エキソファイトにはキチナーゼ遺伝子を導入してキチン分解能を付与するので、キチンオリゴマー処理法による本菌の葉上増殖促進法を確立し、ニジュウヤホシテントウ中腸内への移行密度を増高させたいと思っています。また、導入したキチナーゼ遺伝子が中腸内で効率的に発現するシステムを構築するため、有効なプロモーション系を検索し、中腸 Peritrophic 膜の酵素分解を試みます。また、植物に内生するエンドファイト微生物（*Pseudomonas* sp.）と昆虫の関係についても同様の解析を行います。これらの研究は今まで詳細に調べられておらず昆虫の特異機能発現におけるエキソファイトおよびエンドファイト微生物の役割を明らかにすることが期待され、昆虫増殖抑制の新たな生物防除法の開発が期待されます。
- 2) また、植物の害虫として重要な鱗翅目昆虫、カメムシ類およびダニ類に寄生する膜翅目昆虫、双翅目昆虫に着目し、寄主認識や産卵刺激にかかわる化学物質を確認するためのバイオアッセイを確立し、物質の精製、単離、同定を行い化学構造を明らかにするとともに寄主におけるそれら物質の生成器官を特定します。たとえば、ホソヘリカメムシの卵寄生蜂カメムシタマゴトビコバチはホソヘリカメムシの卵に遭遇すると、寄主表面を触角で調べた後、産卵管を寄主内部に挿入して産卵します。しかし、本来の寄主でない卵に遭遇した場合、触角でその卵の表面を調べた後産卵することなく卵を離れます。したがって、寄生蜂は寄主表面に存在する物質を手がかりに寄主の認識を行っていると思われます。そこで、この寄主認識物質の構造を明らかにするため、ホソヘリカメムシの卵を有機溶媒で洗った後の抽出液を特定の大きさのガラス玉に付け、ガラス玉への蜂の産卵率が上がるかどうかを調べています。その結果、ガラス玉のみでは反応せず、有機溶媒抽出液を付けたガラス玉には反応が見られましたので、物質の抽出液からの精製、単離、同定を推し進めています。
- 3) さらに、昆虫の光応答機構の解明のため、概日振動機構に関わる遺伝子の応答機構を明らかにするため、数種のモデルを用いて光周性の機能発現の根元である光の入力にかかわる遺伝子およびその産物の動態を解析し、内分泌物質の生産調節に関わる機構と生物時計の発現機構を明らかにするため、特にその制御に関わっているメラトニンの代謝調節をになうN-アセチル転移酵素の環境応答機構とメラトニンの受容体機構を解明します。モデル・システムとして蛹休眠が栄養的入力なしに光周性のみによって調節されるサクサン、卵細胞への遺伝子導入が可能で光周性の突然変異系統の作出が可能なカブラハバチ類、および幼虫休眠を持ち、不完全変態のイエコオロギの一系統を用いて、神経系や変態様式の変異と概日時計遺伝子の挙動の解析を行います。

また、休眠の誘導及び覚醒時には、様々な機能蛋白質が発現され、生理現象の制御に関与していると考えられます。そこで、まず休眠誘導及び覚醒時に特異的に発現する遺伝子を分子生物学的手法により分類します。次いで、休眠誘導及び覚醒条件下、一定時間毎に mRNA を抽出し Northern Hybridization を行うことにより各クローンの発現時期を調べます。この時期を、休眠誘導時に分泌が抑制され、覚醒時には分泌され変態をひき起こす PTHH（前胸腺刺激ホルモン）の分泌時期と比較することにより、得られた遺伝子の生理的意義を明らかにします。次に、得られた遺伝子を大腸菌、及び昆虫細胞で発現させ、発現蛋白質の機能を解析し、休眠誘導及び覚醒におけるこの蛋白質の生理的役割を解析することにより休眠誘導及び覚醒の分子機構を明らかにしたいと思います。そして、これらの分子機構を人為的に調節制御する方法の確立を試みることで昆虫の新規の制御法を開発したいと考えています。

3. 研究の体制

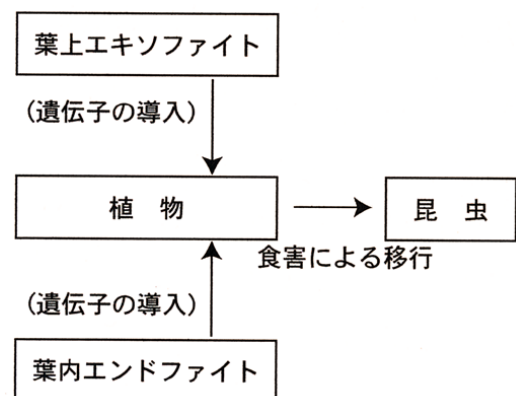
期 間：1999 年 8 月～2004 年 3 月

構 成：研究分担者 6 名が協力して研究を進めています。

実施場所：神戸大学農学部昆虫科学、植物病理学、生物化学研究室、生物資源化学研究室



ホソヘリカメムシ卵抽出液をガラスビーズに塗布した後のカメムシタマゴトビコバチのビーズへの反応（産卵行動）



植物葉上微生物（エキソファイト）および植物内生微生物（エンドファイト）の食害性昆虫への移行解析と害虫制御への利用の概念図