

解 説

読物企画

ハダニの薬剤抵抗性

刑部 正博*・上杉 龍士

京都大学大学院農学研究科

(平成21年5月19日受理)

Keywords: linkage group, acaricide resistance management, *Tetranychus urticae*.

はじめに

近年、農業害虫の防除に関する考え方は大きく変化し、ともすれば農業一辺倒になりがちな防除から、生態的機能を活用した持続的な技術への変革が模索されている。そのような中で、農業はしばしば悪者にされがちである。確かに、過去に環境への残留や母乳への影響など深刻な問題をもたらした一面もある。しかし、放置すれば虫害や病害の影響により多大な農作物が減収を余儀なくされるなかで、世界の食料生産と安定供給において農業が果たしてきた役割は極めて大きい。地球温暖化とそれに伴う害虫の発生様相や地理的分布の変化と、現在の食料供給問題を考えれば、今後においてもその役割の重要性に変わりはなく、その中で環境への負荷を軽減し、生態的機能の活用と共に食料生産における病虫害管理の両輪を成す薬剤の開発が必要不可欠である。

一方、殺虫剤のように生物集団に対して強烈的な淘汰圧を及ぼす薬剤の使用は、薬剤抵抗性の発達という、我々にとってネガティブな小進化の問題を宿命的に抱えている。特に、世代が短く、増殖力が高いハダニ類では薬剤抵抗性が古くから大きな問題になっており、日本ではミカンハダニやカンザワハダニにおいて顕著であった。また、1990年代以降、ナミハダニの薬剤抵抗性発達が世界的に深刻化しており、もちろん日本も例外ではない。近年のナミハダニの薬剤抵抗性問題の特徴として、単一の殺ダニ剤に対する抵抗性の発達が、作用機作が同じ薬剤だけでなく、異なる複数の薬剤に対しても抵抗性をもたらす例が見られる点にある。このような現象が起こる原因は不明であるが、異なる複数の薬剤に対する抵抗性遺伝子が相互に関連しあっ

ているように思える。

我々の研究室ではこの問題に関して、染色体地図への抵抗性遺伝子のマッピングによる機能の類別化、および遺伝子間の連鎖が抵抗性発達に与える集団遺伝学的な効果(ヒッチハイキングなど)という観点からアプローチしようと考え、その基盤として薬剤抵抗性遺伝子間の連鎖解析を開始した。まだ研究の端緒を捜しての模索段階に過ぎないが、海外の文献から見えてくる薬剤抵抗性発達の現状や薬剤間の関係を含めて、我々の研究について紹介したい。同時に、経済のグローバル化ならびに植物検疫の変化が、日本国内のハダニの薬剤抵抗性発達にもたらす影響についても考えてみたい。

1. 複雑化したハダニの薬剤抵抗性発達の現状

Whalonら¹⁾によれば、米国の薬剤抵抗性データベース Arthropod Pest Resistance Database (APRD; <http://www.pesticideresistance.org/>)に登録されている農業害虫および衛生害虫の中で、抵抗性を獲得した薬剤数はナミハダニが最も多く、リンゴハダニも9位にランクされている(表1)。また、両種共に最初の薬剤抵抗性の記録は古く、ナミハダニが1943年であり、リンゴハダニでも1951年である。現在では、両種における薬剤抵抗性の交差関係は従来にないほど複雑化しているようである。いくつかの文献に公表されたデータに基づいて、ナミハダニの薬剤抵抗性の交差関係の例を図1にまとめてみた²⁻⁶⁾。これらには、交配実験などが見られず、野外個体群の状況証拠から推定されたものも含まれているので、その点では注意が必要である。しかし、それを割り引いたとしても、単一薬剤による選抜によって、複数の異なるクラスの薬剤に対して抵抗性が発達する現象は確実に起こっているようである。同様の現象がリンゴハダニにおいても世界的な規模でみられている⁷⁾。

従来の交差抵抗性は、共通の作用点の変異あるいは解毒

* 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
E-mail: mhosaka@kais.kyoto-u.ac.jp
© Pesticide Science Society of Japan

表1 抵抗性を獲得した薬剤数が多い節足動物（農業害虫および衛生害虫）の上位20種

順位	種	学名	抵抗性が報告 されている 薬剤数	最初の 報告年	加害対象
1	ナミハダニ	<i>Tetranychus urticae</i>	80	1943	ワタ, 花卉, 果樹, 野菜
2	コナガ	<i>Plutella xylostella</i>	76	1953	アブラナ科
3	モモアカアブラムシ	<i>Myzus persicae</i>	68	1955	果樹, 野菜, 樹木, 穀物, タバコ
4	コロラドハムシ	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	48	1955	ナス, ピーマン, ジャガイモ, トマト
5	イエバエ	<i>Musca domestica</i>	44	1947	都市
6	オウシマダニ	<i>Boophilus microplus</i>	43	1947	ウシ
7	チャバネゴキブリ	<i>Blatella germanica</i>	42	1956	都市
8	タバココナジラミ	<i>Bemisia tabaci</i>	39	1981	温室, ワタ
9	リングハダニ	<i>Panonychus ulmi</i>	38	1951	果樹
10	ワタアブラムシ	<i>Aphis gossypii</i>	37	1965	ワタ, 野菜
11	アカイエカ的一种	<i>Culex pipiens pipiens</i>	34	1961	ヒト
12	ホップイボアブラムシ	<i>Phorodon humuli</i>	34	1965	ホップ, プラム
13	オオタバコガ	<i>Helicoverpa armigera</i>	33	1969	ワタ, トウモロコシ, トマト
14	ニセアメリカタバコガ	<i>Heliothis virescens</i>	33	1961	ヒヨコマメ, トウモロコシ, ワタ, トマト
15	ネッタイエカ	<i>Culex quinquefasciatus</i>	31	1952	ヒト
16	ヨトウ的一种	<i>Spodoptera littoralis</i>	30	1962	アルファルファ, ワタ, ジャガイモ, 野菜
17	コクヌストモドキ	<i>Tribolium castaneum</i>	30	1962	貯穀, ラッカセイ, モロコシ
18	ヒツジキンバエ	<i>Lucilia cuprina</i>	25	1958	ウシ, ヒツジ
19	ロビンネダニ	<i>Rhizoglyphus robini</i>	22	1986	観賞植物, 貯蔵タマネギ
20	ハマダラカ的一种	<i>Anopheles albimanus</i>	21	1964	ヒト

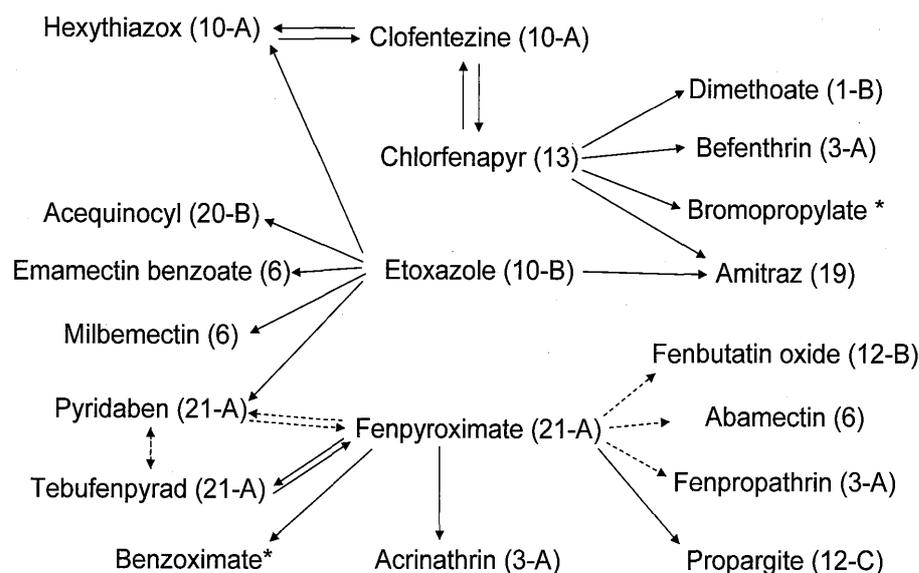
APRD: Arthropod Pest Resistance Database (<http://www.pesticideresistance.org/>)Whalon *et al.* (2008) より改変

図1 ナミハダニの薬剤抵抗性に関する文献²⁻⁶⁾に見られる殺ダニ剤間の交差関係の例(状況証拠による推定も含む)。薬剤名右の()内はIRAC Mode of Action Classification v5.3 (July 2007)による分類グループ, 1: アセチルコリンエステラーゼ阻害, 3: ナトリウムチャンネル調節, 6: 塩素イオンチャンネル活性化, 10: 発育阻害(作用機作不明), 12: ATP合成阻害, 13: 酸化的リン酸化阻害, 19: オクトパミン活性化アゴニスト, 20: ミトコンドリア complex III 電子伝達阻害, 21: ミトコンドリア complex I 電子伝達阻害, *: 作用機作不明

代謝系の発達などにより、主に同じクラスの薬剤に対して同時に抵抗性を示すものであった。しかし、前にも述べたように、現在見られるこれらの抵抗性では、クラスが異なる複数の薬剤に対する抵抗性遺伝子が相互に関連しあっている可能性が考えられる。LenormandとRaymondは⁸⁾、2遺伝子座間における連鎖不平衡と淘汰に関する理論⁹⁾に基づいて、主導遺伝子以外の遺伝子によっても相当程度の薬剤抵抗性を発揮する場合には、これらの異なる遺伝子座間に正の連鎖不平衡が発生し、一方の遺伝子座に掛かる淘汰が、もう一方の遺伝子座の遺伝子の利益になる可能性を予測している。

2. クロルフェナピルとエトキサゾール抵抗性遺伝子間の連鎖

Van Leeuwenら¹⁰⁾によれば、ベルギーでは、ナミハダニのクロルフェナピル抵抗性は不完全劣性でポリジーンによって支配されている。しかし、我々が調査した日本のナミハダニのクロルフェナピル抵抗性は完全優性で、単一遺伝子支配であった¹¹⁾。また、エトキサゾール抵抗性は完全劣性で単一遺伝子支配であった¹¹⁾。そこで、クロルフェナピルだけに抵抗性を持つ $Chl^R Eto^S$ 系統（遺伝子記号の Chl と Eto はそれぞれクロルフェナピルとエトキサゾールを、^R と ^S はそれぞれ抵抗性と感受性を示す）とエトキサゾールだけに抵抗性を持つ $Chl^S Eto^R$ 系統を作出して戻し交配 [$(Chl^S Eto^R \text{♀} \times Chl^R Eto^S \text{♂}) \text{♀} \times Chl^S Eto^R \text{♂}$] を行い、組換え率を算出した。なお、多くのハダニと同様に、ナミハダニは産雄単為生殖を行い、受精卵は二倍体の雌になり、未受精卵は半数体の雄になる。

この交配によって得られた B_1 個体（♀）の遺伝子型は、これらの遺伝子座が完全に連鎖していた場合には $Chl^S Eto^R / Chl^S Eto^R$ と $Chl^R Eto^S / Chl^S Eto^R$ がそれぞれ 50% の割合で、連鎖がない場合にはこれらに組換えによって生じた $Chl^S Eto^S / Chl^S Eto^R$ および $Chl^R Eto^R / Chl^S Eto^R$ を加えた 4 つの遺伝子型がそれぞれ 25% ずつ出現する。エトキサゾール抵抗性は完全劣性のため、得られた B_1 卵を 50 ppm のエトキサゾールに浸漬処理すると、受精卵（♀）ではエトキサゾール抵抗性遺伝子がヘテロの卵（ $Chl^R Eto^S / Chl^S Eto^R$ と $Chl^S Eto^S / Chl^S Eto^R$ ）は淘汰され、ホモの卵だけが生き残る（生存率は連鎖の有無に関わらず 50%）。次に、エトキサゾール処理した卵から发育した雌成虫（ $Chl^S Eto^R / Chl^S Eto^R$ 、 $Chl^R Eto^R / Chl^S Eto^R$ ）を 50 ppm のクロルフェナピルに浸漬処理した。クロルフェナピル抵抗性は完全優性のため、感受性ホモの個体（ $Chl^S Eto^R / Chl^S Eto^R$ ）が淘汰され、ヘテロの個体（ $Chl^R Eto^R / Chl^S Eto^R$ ）は生き残る。ここで、生き残るべき $Chl^R Eto^R / Chl^S Eto^R$ は組換えによって生じた遺伝子型なので、これらの薬剤抵抗性遺伝子が完全に連鎖している場合には、全ての個体が感受性ホモになり、死亡率が 100% に

なる。一方、連鎖がない場合（組換え率 50%）には、感受性ホモとヘテロの個体の割合が 1:1 となり、死亡率は 50% になる。したがって、この処理による雌成虫の生存率がそのまま組換え率の推定値になる。交配実験と薬剤検定の結果、エトキサゾール抵抗性遺伝子とクロルフェナピル抵抗性遺伝子は同一染色体上で、組換え率 14.8% で連鎖していることが分かった（表 2）。

三点交雑法によって染色体上の相対的位置を決定するため、これらの薬剤抵抗性遺伝子とリンゴ酸脱水素酵素（MDH）およびフォスフォグルコイソメラーゼ（PGI）との連鎖についても調べた。MDH とエトキサゾールおよびクロルフェナピル抵抗性との間の組換え率はそれぞれ 40.3 および 29.8% であった。したがって、これらの薬剤抵抗性遺伝子と MDH が同一染色体上の遺伝子座に支配されていることが明らかになった。これらの組換え率に基づいて、Kosambi の式¹⁴⁾ により地図距離を推定し、遺伝地図を作成した（図 2）。一方、PGI はこれらのいずれとも連鎖が認められず、別の連鎖群に存在していると考えられた。なお、抵抗性遺伝子と酵素遺伝子との連鎖解析の詳細については刑部と上杉⁷⁾ および Uesugi ら¹¹⁾ の参考文献 をご覧いただきたい。

表 2 戻し交配 [$(Chl^S Eto^R \text{♀} \times Chl^R Eto^S \text{♂}) \text{♀} \times Chl^S Eto^R \text{♂}$] による B_1 のエトキサゾール 50 ppm による淘汰後の生存個体（雌成虫）に対するクロルフェナピル 50 ppm 処理による生死と組換え率

処理	雌成虫数	
	死亡	生存
クロルフェナピル処理	191	30
対照（水処理）	11	124
補正死亡率（%）	85.2	
組換え率（%）	14.8	

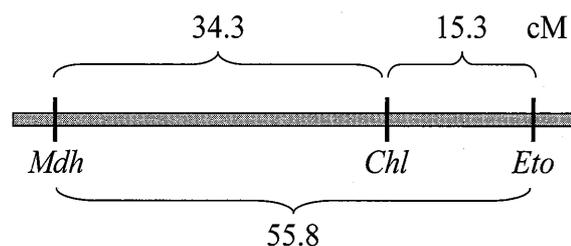


図 2 エトキサゾール（ Eto ）およびクロルフェナピル（ Chl ）抵抗性とリンゴ酸脱水素酵素（ Mdh ）の遺伝地図。地図距離は Kosambi の式¹⁴⁾ により推定した。

3. ヘキシチアゾクスとエトキサゾール抵抗性 遺伝子間の連鎖

日本で最初に発見された青森県相馬村のエトキサゾール抵抗性のナミハダニ個体群は、エトキサゾールによる選抜を受けたことがないものであった¹³⁾。この地方も含めてリンゴ栽培地帯では、当時、ヘキシチアゾクスが盛んに使用されており、ヘキシチアゾクスとエトキサゾールとの交差抵抗性が疑われた。しかし、Nauen と Smaghe¹⁵⁾ は、ヘキシチアゾクスとエトキサゾールとの交差抵抗性は報告されていないとしていた。そこで我々は、ヘキシチアゾクスとエトキサゾールに対する抵抗性遺伝子の連鎖関係を調べた⁶⁾。Herron と Rophail¹²⁾ によれば、オーストラリアのナミハダニのヘキシチアゾクス抵抗性は、単一の遺伝子に支配され、不完全優性である。なお、Herron ら²⁾ は、オーストラリアで最初に発見されたヘキシチアゾクス抵抗性はクロフェンテジンからの交差抵抗性により発達した可能性を指摘している。

始めに、野外採集の個体群から、ヘキシチアゾクスとエトキサゾールの両方に抵抗性を示す $Eto^R Hex^R$ 系統 (Hex : ヘキシチアゾクス) と、両方の薬剤に感受性の $Eto^S Hex^S$ 系統を選抜した。両抵抗性遺伝子間の連鎖解析のため、これらの系統について ($Eto^R Hex^R \text{♀} \times Eto^S Hex^S \text{♂}$) の交配を行い、 $F_1 \text{♀}$ ($Eto^R Hex^R / Eto^S Hex^S$) を得た。この $F_1 \text{♀}$ に、処女のまま半数体の♂卵 ($F_2 \text{♂}$ 卵) を産卵させ、ヘキシチアゾクスとエトキサゾールの両方をそれぞれ 50 ppm ずつ含有する薬液に浸漬処理して、ふ化率を調査した。前述のように、ナミハダニは産雄単為生殖を行い、受精卵は二倍体の雌になり、未受精卵は半数体の雄になる。このため、処女雌に産卵させると、全ての卵が半数体の♂卵になる。半数体では、遺伝子の優性劣性に関係なく、抵抗性遺伝子の有無によって淘汰後の生死が決まるため、遺伝解析には利用しやすい。それぞれの薬剤について、50 ppm では、感受性遺伝子を持つ卵は死亡し、抵抗性遺伝子を持つ卵はふ化する。 $F_2 \text{♂}$ 卵の遺伝子型は、これらの抵抗性遺伝子が完全に連鎖している場合には、

$$Eto^R Hex^R : Eto^S Hex^S = 0.5 : 0.5$$

となり、完全に独立している場合には、

$$Eto^R Hex^R : Eto^R Hex^S : Eto^S Hex^R : Eto^S Hex^S = 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25$$

となる。したがって、ヘキシチアゾクスとエトキサゾールの混合液による卵の死亡率は、完全連鎖の場合には 50%、独立の場合には 75% となり、その他の場合はこれらの中間の死亡率を示すはずである。Nauen と Smaghe¹⁵⁾ の報告からの予想に反して、得られた死亡率は 48% であった (表 3)。このため、これらの抵抗性遺伝子は、完全に連鎖しているかあるいは強く連鎖していると考えられた。

表 3 ヘキシチアゾクスとエトキサゾールをそれぞれ 50 ppm ずつ含有する薬液による $F_2 \text{♂}$ 卵の死亡率

	供試卵数	ふ化率 (%)	補正死亡率 (%) ^a
ヘキシチアゾクス + エトキサゾール (各 50 ppm)	503	47.5	48.7
対照 (蒸留水)	448	92.6	—

^a Abott の補正式¹⁶⁾ より算出

これらの解析では、両薬剤に対する抵抗性がいずれも単一遺伝子支配であることを前提にしている。そこで、次に遺伝子座の数を検討するための検定交雑を行った。交配の方法は ($Eto^R Hex^R \text{♀} \times Eto^S Hex^S \text{♂}$) $\text{♀} \times Eto^S Hex^S \text{♂}$ (図 3) であり、得られた F_2 処女♀に $F_3 \text{♂}$ 卵を産卵させた。産卵した F_2 処女♀毎に、 $F_3 \text{♂}$ 卵を 2 つのグループに分け、それぞれをエトキサゾール 50 ppm またはヘキシチアゾクス 50 ppm に浸漬処理して、ふ化率を調べた。この検定交雑により、 $F_3 \text{♂}$ 卵の両薬剤による死亡率の組合せから、親である $F_2 \text{♀}$ の遺伝子型を推定することができる (図 3)。これらの交配実験は先行研究の結果に従って、ヘキシチアゾクスとエトキサゾールが共に単一の遺伝子によって支配されている^{11,12)} ことを仮定して設計した。この仮説が正しければ、 $F_3 \text{♂}$ 卵の死亡率は、理論上、いずれの薬剤の場合も 50% または 100% のいずれかになるはずである。

各 F_2 処女♀が産んだ $F_3 \text{♂}$ 卵のエトキサゾールによる死亡率の出現頻度は、50% 付近と 100% の 2 つのピークに分かれ、それぞれの合計頻度はほぼ 1:1 になった (図 4)。したがって、エトキサゾール抵抗性は、先行研究の通り、単一遺伝子支配と考えられる。しかし、ヘキシチアゾクスでの死亡率は、10% 以下の場合から 100% まで間断なく分布した。さらに、 $F_2 \text{♀}$ で期待される遺伝子型のうち、 $Eto^R Hex^S / Eto^S Hex^S$ から産まれた $F_3 \text{♂}$ 卵が示すべき死亡率 (ヘキシチアゾクスによる死亡率が 100% で、エトキサゾールによる死亡率が 50%) に相当するデータが全く得られなかった (図 4; 散布図の破線の楕円で囲まれた部分)。この結果は、エトキサゾール抵抗性遺伝子を持つ個体は必ずヘキシチアゾクスに対しても抵抗性を獲得していることを示している。しかし、ヘキシチアゾクスに対して抵抗性であっても、エトキサゾールには感受性の個体は数多く見られた。これらのことから、このナミハダニのヘキシチアゾクス抵抗性には複数の遺伝子 (座) が関与しており、そのうちの一つの遺伝子座がエトキサゾール抵抗性の遺伝子座と完全あるいは強く連鎖しているものと考えられた。したがって、同じ染色体上のほぼ 15 cM という比較的狭い領域にクロロフェナピル抵抗性遺伝子とエトキサゾール抵抗性遺伝子に加え

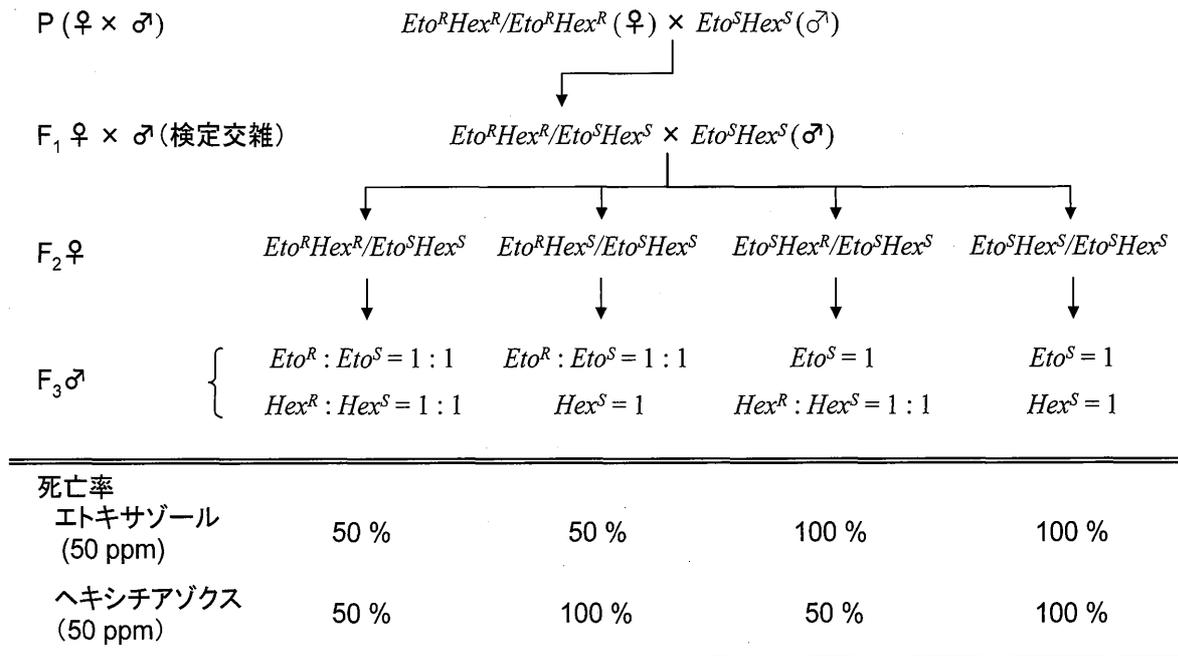


図3 ヘキシチアゾクス (Hex) およびエトキサゾール (Eto) 抵抗性の遺伝子座数に関する検定交雑の手順と薬剤検定により期待される F₃ ♂卵の死亡率. 図中の各遺伝子型は両薬剤に対する抵抗性が単一遺伝子支配であることを仮定した場合のものである.

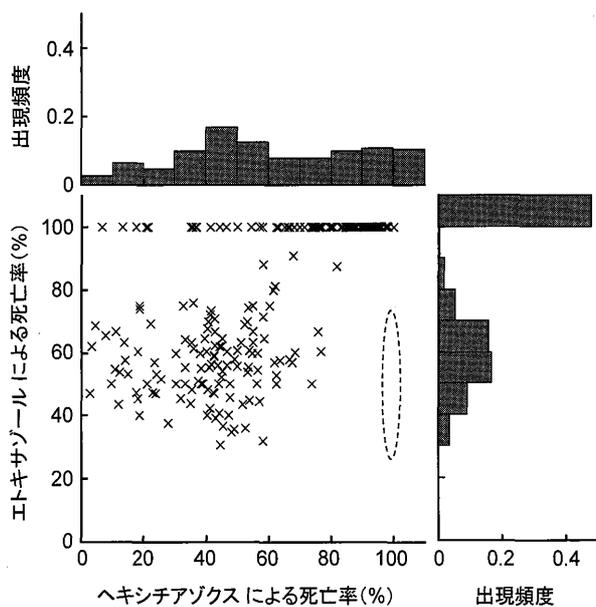


図4 ヘキシチアゾクスおよびエトキサゾールによる F₃ ♂卵の死亡率の分布と薬剤毎の頻度分布. 分布図の各プロットは, 各 F₂ ♀個体が産んだ F₃ ♂卵の死亡率. 出現頻度はその範囲の死亡率を示した F₃ ♂卵を産んだ F₂ ♀の頻度.

て, ヘキシチアゾクス抵抗性遺伝子のうちの少なくとも一つが存在するようである (図5).

ヘキシチアゾクス抵抗性については, エトキサゾールと強く連鎖している遺伝子を持たない個体の中にも明らかな抵抗性を示すものが存在することから, それぞれが単独でも抵抗性を付与する複数の遺伝子がヘキシチアゾクス抵抗

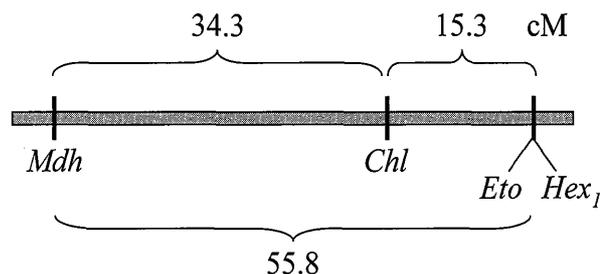


図5 エトキサゾール抵抗性と強く連鎖したヘキシチアゾクス抵抗性 (Hex₁) の遺伝地図上の位置づけ.

性に関与しているものと考えられる. この抵抗性機構は, 小さな効果を持つ多数の遺伝子が関与すると考えられてきた従来のポリジーン支配による抵抗性の発現機構とは異なるものであろう. 同様の機構は, ベルギーのナミハダニにおけるクロルフェナピル抵抗性でも報告されており, そこでは個々に抵抗性を付与する遺伝子の数は数個 (遺伝子座) であると考えられている¹⁰⁾. このような機構では, どの遺伝子が抵抗性を発現しているかによって, 他の薬剤との交差関係の現われ方も異なる可能性がある. したがって, 今後, 薬剤抵抗性の発現機構を解析する上でこれらの遺伝的機構についても考慮する必要があり, 個々の遺伝子と他の薬剤に対する抵抗性遺伝子との連鎖関係にも関心が持たれる.

4. 国および地域間における薬剤抵抗性の 違いと遺伝子流入

ナミハダニのエトキサゾール抵抗性の遺伝様式は日本と韓国で報告されているが、韓国では完全な母性遺伝が報告され、核外遺伝子の関与が示唆されている⁴⁾のに対して、日本では母性効果は見られず、完全劣性で単一遺伝子支配である^{11,13)}。クロルフェナピル抵抗性については、日本では単一遺伝子支配の不完全優性である¹¹⁾のに対して、ベルギーでは複数遺伝子支配で不完全劣性遺伝子である¹⁰⁾。ヘキシチアゾクス抵抗性については、オーストラリアでは不完全優性で単一遺伝子支配である¹²⁾のに対して、日本では複数の遺伝子支配であった⁶⁾。このように、同じ薬剤に対する抵抗性であっても、それを付与している遺伝子が国あるいは地域によって異なる場合があることが分かってきた。薬剤抵抗性遺伝子が、淘汰がない環境下でのハダニの適応度を低下させるようであれば、ある系統が蓄積できる抵抗性遺伝子の種類は制限されるかもしれない。しかし、実際には抵抗性の獲得による適応度の低下の事例¹⁷⁾は少なく、むしろ適応度には影響が認められない場合が多いようである。また、いったん抵抗性が発達すると、薬剤の使用をやめても、多くの場合は完全な感受性の回復が望めないのが現状であろう。

たとえ国内で既に抵抗性が発達している薬剤であっても、海外からの別の抵抗性遺伝子の流入と拡散は避けたいところである。しかし、経済のグローバル化により、以前に比べて遥かに多くの農産物が世界中を移動している。これに伴って、難防除害虫のグローバル化も進んでいる。さらに、日本の植物検疫体制では、非検疫有害動植物リスト（植物防疫法施行規則第五条の二）に挙げられる害虫が増えており、ハダニ類についても、2005年にナミハダニとタケスゴモリハダニが、また2007年にはアシノワハダニ、サガミハダニ、イシイハダニの3種が追加され、現在では以前から挙げられていたカンザワハダニ、リンゴハダニ、ミカンハダニを加えた8種が掲載されている。ミルベメクチンやアバメクチンなどのマクロライド系殺ダニ剤は、現在、世界的にナミハダニ防除の主流となっている。2008年現在、日本においてこれら殺ダニ剤に対する抵抗性の発達には報告されていない。しかし、韓国ではミルベメクチンおよびアバメクチンに対して抵抗性を発達させたナミハダニが存在する。したがって、これらの抵抗性遺伝子の日本国内への流入が懸念されるが、ナミハダニは非検疫有害動植物リストに挙げられており、その侵入を検疫によって水際で止めることはできないのが現状である。

日本に既に存在する抵抗性については、その抵抗性遺伝子が海外から国内に持ち込まれても、短期的にはおそらく大きな問題にならないであろう。しかし、前述のように、

国内にある抵抗性遺伝子とは別の抵抗性遺伝子が入ってくる可能性があり、長期的に見ればリスクをはらむ。抵抗性遺伝子の種類が増えることは、ハダニが持つ対殺ダニ戦略の手札が増えることを意味し、今後新規に開発される殺虫剤の効果が薄れる可能性が考えられるからである。

5. 薬剤抵抗性遺伝子の地域的拡散

国内には存在しない薬剤抵抗性遺伝子の海外からの流入は、国内でそのハダニの集団に突然変異が生じた場合と同様の事象として考えることができる。単一の有限集団と任意交配を仮定した集団遺伝学理論によれば、突然変異の発生はその遺伝子が将来的に固定するかあるいは失われるかのいずれかの運命をたどる。しかし、集団が複数の有限な小集団に分かれている場合、遺伝的浮動などにより小集団間で遺伝子頻度に差が生じ、遺伝的分化が起こる。また、この分化の程度は小集団間での個体の移動頻度に影響される。このようなことがナミハダニの抵抗性においても生じることが、室内の実験個体群で実証された¹⁹⁾。エトキサゾール抵抗性遺伝子を低頻度に持つナミハダニ個体群を、実験的に32の小さな局所個体群に分け、毎世代12匹の雌成虫を新しい寄主植物（インゲンマメ）の葉に移動させて、12世代にわたって飼育を継続した。その結果、32系統中10系統では抵抗性個体が20%以下の低頻度となり、20系統では抵抗性が失われた。しかし、残りの2系統では50%以上の個体が抵抗性を示した。このことは、それぞれの系統における抵抗性遺伝子が、殺虫剤による淘汰とは無関係に、遺伝的浮動によって機会的に消滅または増加したことを示している。したがって、薬剤淘汰がない環境下においても、局所集団ごとに、遺伝的浮動によって異なる抵抗性遺伝子の初期頻度が上昇している可能性がある。また、コロラドハムシを想定したFollettとRoderickのシミュレーション研究では、遺伝的分化が生じるような局所個体群に分かれたメタ個体群において、遺伝子の流入と薬剤淘汰、創始者効果によって、薬剤抵抗性遺伝子頻度の高い局所集団が部分的に集まって出現した²⁰⁾。したがって、抵抗性が発生した場合の遺伝子の拡散と頻度は、個体群の遺伝的構造と密接な関係があると考えられる。

ハダニ類は体サイズが小さく、翅を持たない。このようなハダニ類の分散方法は、歩行による分散、および風や上昇気流を利用した空中分散である。歩行による分散は、食害が進んだ葉から質の良い隣の葉や枝への移動など、近距離の分散に使われる。一方、ハダニは風や上昇気流に乗って飛ぶ（図6）ことで、比較的遠い場所への分散を実現しているようである^{21,22)}。歩行分散および空中分散のいずれの場合も、成虫化後間もない若い既交尾雌が分散の主体である²³⁾。ハダニでは、通常、最初の交尾だけが有効であり、雌成虫は発育した葉上で比較的近縁な雄と交尾する可能性

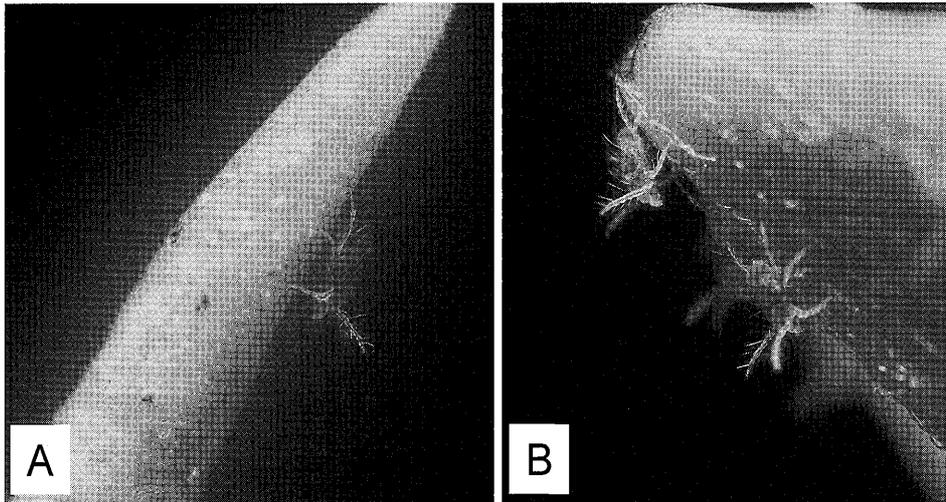


図6 ナミハダニ (A) およびカンザワハダニ (B) 雌成虫の風分散姿勢 (撮影: 久保田 栄氏). 下に向かって定位し, 第1脚と胴体部前方を上げて風を待つ.

が高い. このため, 同じ植物上のごく近い距離にある局所個体群間でも, それらの間の遺伝的交流の進展は遅くなる²⁴⁾. Hinomoto と Takafuji がイチゴに実験的に導入したナミハダニ個体群では, 圃場内の畦間や植物間などに比べて小葉間の遺伝的変異の方が大きく, ごく小さな繁殖単為ごとに創始者効果や遺伝的浮動による機会的変異が生じていることが示唆されている²⁵⁾.

長野県の須坂市と安曇野市のリンゴ園で, マイクロサテライトを遺伝子マーカーとしてナミハダニの個体群構造を調査したところ, 圃場内の樹間では顕著な遺伝的分化は認められなかった²⁶⁾. このことから, 野外のリンゴ園 (100m程度の範囲内) では, おそらく風分散により, ハダニが比較的頻繁に樹間を往来し, 遺伝的交流が進んでいると考えられた. これに対して, 静岡県と熊本県のカンキツ園のミカンハダニでは, 同じ園内の樹間や樹内の局所個体群間で遺伝的分化が検出された²⁷⁾. また, 熊本県内の同一地域 (市) 内のカンキツ園間での遺伝的分化は, 園内の樹間でみられた遺伝的分化に比べてむしろ小さく, 地域内では物理的距離と遺伝的分化の関係が逆転していた²⁷⁾. このことから, 園内の樹間では遺伝的交流が小さく, むしろカンキツ園間で個体が行き来している可能性が示唆される. このような個体群構造を生じる理由は不明であるが, ミカンハダニの空中分散による長距離移動が, ナミハダニの風分散とは異なり, 吐糸と上昇気流を利用したバルーニングによって行われることも要因の一つかも知れない. また, 奈良県平群町の温室栽培のバラ園のナミハダニでは, 先に紹介したリンゴ園とは大きく異なり, 幅 25~30m の畝内でも遺伝的分化が検出され, 遺伝的な空間的自己相関分析から, 遺伝的に類似している範囲は同じ畝内の僅か 2.4~3.6m 程度であることが明らかになった²⁸⁾. したがって, このような環境下においては, ナミハダニが頻繁に往来する限界は数

m程度と考えられる. このことから, 温室内では風分散の頻度は低く, 歩行による分散が中心であると推定される.

このような遺伝的構造に基づいて, 薬剤淘汰がない状況での薬剤抵抗性遺伝子の分布とその拡散を推定すると, リンゴ園のナミハダニでは遺伝子が園内全体に迅速に拡散する可能性がある反面, 個々の局所個体群での遺伝子頻度の高まりは相対的に起こり難いように思われる. しかし, 薬剤淘汰により, 抵抗性が発達する場合には, 早期に園内全体の抵抗性レベルが高まる可能性がある. カンキツ園のミカンハダニでは, 抵抗性遺伝子の頻度が局所個体群間で異なり, 抵抗性遺伝子頻度の高い局所個体群が表れやすいと考えられる. 抵抗性が発達する場合でも, 園内全体が均一に抵抗性になることは少ないかも知れない. 一方, それぞれのカンキツ園内での局所個体群を単位として, 抵抗性の局所個体群が地域的にパッチ状に広がって行く可能性が考えられる. ナミハダニの場合でも, 施設栽培のバラ園のような環境では局所個体群間の遺伝的分化が進んでいることから, 遺伝的浮動などにより抵抗性遺伝子頻度の高い局所個体群が生じやすいと考えられる. 抵抗性の発達に際しても, 抵抗性の広がり方は野外のリンゴ園の場合とは異なることが予測される.

おわりに

ナミハダニを始めとするハダニ類は, その高い増殖力と共に, 著しい薬剤抵抗性の発達のために世界的な難防除害虫となっている. 薬剤抵抗性の発達, 新規薬剤開発の問題に加え, 薬剤の過剰散布を引き起こす. 一方で, 落葉果樹に発生するハダニの種構成は, 防除法の変遷に伴って, 過去 40~50 年間にわたって変化してきた. 例えばリンゴでは, 1950 年代初期に有機リン剤が使用され始めると共にオウトウハダニの多発が認められ, 1960 年代にはリンゴハダ

ニが優占し、1970年代から1980年代初期にかけてはナミハダニの発生量がリングハダニより多くなった^{29,30}。類似の種構成の変化はナシやモモでも知られている。また、近年、複合交信攪乱法の利用などによる殺虫剤散布量の削減により、リング園における優占種がナミハダニから再びリングハダニに変化する事例も知られている³¹。これらの変化には、単に薬剤に対する耐性の種間差異だけでなく、ハダニの種間競争やカブリダニなどの捕食者の活動を通じた種間相互作用も影響しているように思われる³⁰。今後、さらにハダニ類の薬剤抵抗性の発達機構を多面的に解析すると共に、生物的防除法など他の害虫管理法との併用を含め、薬剤抵抗性管理をどう進めるか、戦略的な研究が必要であろう。

参 考 文 献

- 1) M. E. Whalon, D. Mota-Sanchez and R. M. Hollingworth: "Global Pesticide Resistance in Arthropods," ed. by M. E. Whalon, D. Mota-Sanchez and R. M. Hollingworth, CABI, Oxfordshire, pp. 5–31, 2008.
- 2) G. Herron, V. Edge and J. Rophail: *Exp. Appl. Acarol.* **17**, 433–440 (1993).
- 3) Y. Kim, S. Lee, S. Lee and Y. Ahn: *Pest Manag. Sci.* **60**, 1001–1006 (2004).
- 4) S. Lee, K. Ahn, C. Kim, S. Shin, and G. Kim: *Korean J. Appl. Entomol.* **43**, 43–48 (2004).
- 5) T. Van Leeuwen, L. Tirry and R. Nauen: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **36**, 869–877 (2006).
- 6) M. Asahara, R. Uesugi and Mh. Osakabe: *J. Econ. Entomol.* **101**, 1704–1710 (2008).
- 7) 刑部正博, 上杉龍士: 昆虫科学が拓く未来, 藤崎憲治, 西田律夫, 佐久間正幸編, 京都大学学術出版会, pp. 135–156, 2009.
- 8) T. Lenormand and M. Raymond: *Proc. R. Soc. Lond. B* **265**, 1985–1990 (1998).
- 9) M. Slatkin: *Genetics* **81**, 787–802 (1975).
- 10) T. Van Leeuwen, V. Stillatus and L. Tirry: *Exp. Appl. Acarol.* **32**, 249–261 (2004).
- 11) R. Uesugi, K. Goka and Mh. Osakabe: *J. Econ. Entomol.* **95**, 1267–1274 (2002).
- 12) G. A. Herron and J. Rophail: *Exp. Appl. Acarol.* **17**, 423–431 (1993).
- 13) 小林政信, 小林茂之, 西森俊英: 応動昆 **45**, 83–88 (2001).
- 14) D. D. Kosambi: *Ann. Eugen., Loud.* **12**, 172–175 (1944).
- 15) R. Nauen and G. Smagghe: *Pest. Manag. Sci.* **62**, 379–382 (2006).
- 16) W. S. Abbott: *J. Econ. Entomol.* **18**, 265–267 (1925).
- 17) K. Inoue: *J. Pestic. Sci.* **5**, 165–175 (1980).
- 18) Y. Lee, M. Song, K. Ahn, K. Lee, J. Kim and G. Kim: *J. Asia-Pacific Entomol.* **6**, 91–96 (2003).
- 19) R. Uesugi, K. Goka and Mh. Osakabe: *Exp. Appl. Acarol.* **31**, 161–176 (2003).
- 20) P. A. Follett and G. K. Roderick: "Biology of the Chrysomelidae, Vol. IV," ed. by P. Jolivet, M. Cox and T. Hsiao, SPB Academic Publishing, Amsterdam, pp. 1–14, 1996.
- 21) Mh. Osakabe, H. Isobe, A. Kasai, R. Masuda, S. Kubota and M. Umeda: *Exp. Appl. Acarol.* **44**, 165–183 (2008).
- 22) C. A. Fleschner, M. E. Badgley, D. W. Ricker and J. C. Hall: *J. Econ. Entomol.* **49**, 624–627 (1956).
- 23) R. Mitchell: *Ecology* **54**, 1349–1355 (1973).
- 24) 刑部正博: ダニの生物学, 青木淳一編, 東京大学出版会, pp. 173–193, 2001.
- 25) N. Hinomoto and A. Takafuji: *Appl. Entomol. Zool.* **29**, 259–266 (1994).
- 26) R. Uesugi, T. Sasawaki and Mh. Osakabe: *Exp. Appl. Acarol.* (in press)
- 27) Mh. Osakabe, K. Goka, S. Toda, T. Shintaku and H. Amano: *Exp. Appl. Acarol.* **36**, 25–40 (2005).
- 28) R. Uesugi, Y. Kunimoto and Mh. Osakabe: *Exp. Appl. Acarol.* **47**, 99–109 (2009).
- 29) F. Kadono: *Agrochem. Jpn.* **72**, 4–7 (1998).
- 30) Mh. Osakabe, K. Hongo, K. Funayama and S. Osumi: *Oecologia* **150**, 496–505 (2006).
- 31) S. Toyoshima: *Appl. Entomol. Zool.* **38**, 387–391 (2003).

略 歴

刑部正博

生年月日: 1957年3月31日

最終学歴: 静岡大学農学研究科修士課程修了 [京都大学博士 (農学)]

研究テーマ: ハダニおよびカブリダニの変異と相互作用系の解明

趣味: テニス