

## 緒言

世界の人口は、1950年～1987年の間に25億人から50億人へと2倍に膨れあがった。国連は、人口が2025年までに85億人に達し、来世紀末に100億人を越えてようやく安定すると見積もっている。将来、これだけの人口を支える食糧をどのようにして確保するかは、人類の生存をかけた極めて重要な課題である。既に開発途上国では、低所得層を中心に約7億8千万人の栄養不足人口があり、これは開発途上国総人口の約5分の1に相当する（1990年）。また、将来についても、2010年で栄養不足人口は、依然として6億4千万人と予想されている（農業白書1995）。

食糧問題解決への農業施策として、肥培管理・灌漑技術・病虫害防除等の栽培技術を、より効率的に制御したり、高収量を示す品種を育成、普及したりする取り組みがなされてきた。その一方で、栽培に多額の労力と資本を投入した農産物に対して、害虫、ネズミ、そして微生物などによる収穫後の損失（ポストハーベストロス）が発生していることが少なくない。特に、食糧問題をかかえる熱帯、亜熱帯地域にとって、収穫後における損失の回避は、社会的、経済的に大きな意義を持っている。このような損失は、イネ、コムギ、トウモロコシ及び、マメ科作物などの農産物に限らず、これらを原料とした加工食品にも及ぶ。FAO（国連食糧農業機構）の推計によると、世界のポストハーベストロスは、10%を越える（石倉1983）。食糧増産を考えると、農産物の生産性を高めることは勿論のこと、ポストハーベストロスをいかに低減させるかが大きな課題でもある。

マメ科植物は600属13,000種にも及び、イネ科植物につ

いで、人類にとって有用な作物が多い。これらは、根粒菌と共生し、比較的やせ地でも生育しやすいうえに、タンパク質含量の高い種子を生産する。それ故、中国南部起源のダイズ、アフリカ起源のササゲ、アメリカ大陸起源のインゲンマメやラッカセイなどは、起源地とは遠く離れた世界各地に伝播し、特に熱帯、亜熱帯地域において、重要なタンパク質源として栽培されている。

マメ科作物のポストハーベストロスには、主にマメゾウムシ類害虫によって、もたらされている(図1)。マメゾウムシ類は、鞘翅目マメゾウムシ科に属する甲虫であり、頭部がゾウのようにのびているゾウムシ科の昆虫とは遠縁である。これまでに確認されているマメゾウムシ類は、1,365種あり、極地を除く世界各地に分布している(梅谷 1987)。このうち、食用マメ科作物の害虫として知られているものは、約20種で、生活様式の違いから屋外型と屋内型の2つのタイプに分類される。

屋外型のマメゾウムシ類は、マメ科作物の登熟種子を食害する。これらの成虫は登熟中の莢に産卵し、卵から孵化した幼虫が種子に食入することにより、被害を及ぼす。このタイプのマメゾウムシ類は、登熟種子のみで生活を繰り返し、完熟種子では生育することができない。そのため、これらは成虫で越冬し、栽培期に被害を発生させるが、貯蔵中の完熟種子に被害を及ぼすことはない。屋外型で日本に生息している種は、ソラマメゾウムシ(*Bruchus rufimanus* BOHEMAN)とエンドウマメゾウムシ(*B. pisorum* (L.))の2種である。

屋内型のマメゾウムシ類は、完熟した種子においてのみ生活を繰り返すことができる。これらのマメゾウムシ類の成虫も、圃場に飛来して莢に産卵することはあるが、圃場の害虫として問題となったことはない。問題は、産



図1. マメゾウムシ類によるマメ種子の食害

卵された種子が収穫、貯蔵されたとき、また、貯蔵中の種子に成虫が飛来したときである。種子を食害して生育した幼虫は、蛹、成虫と変態して種皮を破って出てくる。通常、成虫は、羽化後食物を取らずに交尾し、産卵するため、比較的短期間に増殖することができる。それ故、このタイプのマメゾウムシ類は、大量の種子に被害を及ぼし、貯蔵中の最大の害虫となっている。代表的なものとして、アズキゾウムシ (*Callosobruchus chinensis* (L.))、ヨツモンマメゾウムシ (*C. maculatus* (F.))、インゲンマメゾウムシ (*Acanthoscelides obtectus* (Say))、そしてブラジルマメゾウムシ (*Zabrotes subfasciatus* (BOHEMAN)) があり、日本では前者2種が分布している。

貯蔵害虫は生息場所が屋内であるため、その防除は、栽培期の広い圃場条件とは異なり、収穫後の小空間で行えるという利点を持つ。防除法の中で中心的な役割を果たしている方法は、くん蒸処理であるが、ガス状で作用するくん蒸剤は、いずれも毒性が強く、最近では、残留農薬の発がん性や抵抗性害虫の出現等が問題視されている(中北 1986)。そのため、くん蒸剤などの化学的防除法に代わる、安全でかつ経済的な防除法として、作物の虫害抵抗性を利用することに大きな期待がよせられている。

一般に、作物の虫害抵抗性は、1) 選好性 (preference) : 害虫の産卵、摂食、生息に対する適否、2) 生育阻害性 (anti-biosis) : 害虫の生育、生存に対する有害な影響、3) 耐性 (tolerance) : 害虫の加害に対して耐える能力、の3つに大別して考えられ、抵抗性品種は、これらの性質を1つあるいは2つ以上を有している(末永・岡本 1966)。農業経営上、虫害抵抗性を示す品種が存在する場合、その他の形質、例えば収量や品質等を考慮した後、

優位性が見いだされたとき、その品種を栽培に移すことができる。しかしながら、既存の品種から抵抗性を示すものを選択できない場合は、新たに抵抗性を付与した品種を育成しなければならない。

一般に、植物と昆虫の間には、相互の物理的、化学的刺激から発する一連の生理反応によって規定された、寄主-寄生者関係が成り立っている。この関係は、相互淘汰とともに共進化してきた、昆虫の食性と、植物の防御機構との密接な対応関係の結果、生じてきたものと推察されている（寒川 1983）。抵抗性品種を育成する際には、目的とする作物と害虫の寄主-寄生者関係を把握すべきことは言うまでもない。

マメゾウムシ類の場合、屋外型のソラマメゾウムシとエンドウマメゾウムシは、それぞれソラマメ、エンドウマメのみを寄主とする単食性害虫である。一方、アズキゾウムシなどの屋内型のマメゾウムシ類は、一般に数種のマメ科作物を食害する狭食性害虫である（梅谷 1987）。後者のマメゾウムシ類は、寄主とはならないマメ科種子にもよく産卵する。アズキゾウムシは、アズキ、ササゲ、リョクトウなどのササゲ属作物を好適な寄主とし、これ以外でも、エンドウマメ、ダイズ、ソラマメで生育することができる。しかしながら、ササゲ属作物と比較的近縁であるインゲンマメでは生育することができず、産卵はしても、孵化した幼虫は、種子に食入後、1幼齢にて死亡する（石井 1952）。

石井（1952）は、成分を任意に変えることのできる人工豆を用いて、インゲンマメ種子でアズキゾウムシが育たない物質的原因の解明を試みた。その結果、インゲンマメ種子の水溶性画分が、アズキゾウムシの生育を阻害することを見いだした。水溶性画分には、キシロース、

ラムノース、アラビノースの五単糖が含まれていたが、これらは生育阻害の根本となる要因ではなかった。

その後、インゲンマメ種子に生育阻害物質が存在するといういくつかの報告がなされた。Applebaum et al. (1969, 1970) は、インゲンマメ種子から抽出したサポニン、デンプン及び、ヘテロ多糖が、アズキゾウムシの生育を阻害することを見いだした。しかしながら、ヘテロ多糖は、インゲンマメを寄主とするインゲンマメゾウムシの生育を阻害しなかった (Applebaum and Guezs 1972)。供試したヘテロ多糖は、アラビノース、キシロース、ラムノース、グルコース、そしてガラクトースを含んでいた。また、Janzen et al. (1976) は、インゲンマメ種子のレクチン (lectin) がヨツモンマメゾウムシの生育を阻害することを報告した。レクチンは、赤血球を凝集させるタンパク質で、植物、動物及び微生物に広く分布し、特にインゲンマメ種子に含まれるものを PHA (phytohemagglutinin) と呼んでいる。これらの物質はいずれも、種子中に含まれる濃度では、アズキゾウムシまたは、これに近縁のヨツモンマメゾウムシの生育を阻害しなかった (Ishimoto and Kitamura 1988)。そのため、インゲンマメ種子には、これら以外に、主要な生育阻害物質が含まれるものと考えられた。

Ishimoto and Kitamura (1988) は、インゲンマメのアズキゾウムシ生育阻害性について、物質的機構の解明を試み、 $\alpha$ -アミラーゼインヒビター ( $\alpha$ AI) タンパク質を、主要な生育阻害物質として見いだした。 $\alpha$ AI は、種子重の 0.4 ~ 0.5 % 含まれ (Marshall and Lauda 1975)、アズキゾウムシ及びヨツモンマメゾウムシ幼虫の  $\alpha$ -アミラーゼ活性を強く阻害した (Ishimoto and Kitamura 1989)。人工豆を用いた飼育試験において、 $\alpha$ AI は、0.5 % 濃度で両マメゾウムシの生育に強い阻害性を示した (Ishimoto and Kitamura 1989)。

$\alpha$  A I の遺伝子を、アズキゾウムシやヨツモンマメゾウムシに食害されるアズキなどに導入し、種子において、 $\alpha$  A I を合成、蓄積させることができれば、これらの害虫に対する抵抗性品種が育成できるものと考えられる。インゲンマメとアズキは、分類学的に近縁ではあるが、交配による雑種は得られていない。そこで交配法に代わる育種的手段として、遺伝子組換え技術が考えられる。 $\alpha$  A I 遺伝子は、既に Moreno and Chrispeels (1989) により同定されている。その遺伝子をアグロバクテリウムを介した形質転換法により、エンドウマメ (Shade et al. 1994, Schroeder et al. 1995) 及びアズキ (Ishimoto et al. 1996) に導入したところ、マメゾウムシ類に対して高度抵抗性が付与された。

このように、作物の虫害抵抗性を生化学的に解明し、その遺伝子を、交配法もしくは遺伝子組換えにより導入する試みは、今後、ますます盛んになるものと考えられる。しかしながら、育成された抵抗性品種が、害虫の寄生性の適応的变化により被害を受けるようになったり、同じ種の害虫であっても、地方個体群間に寄生性や加害能に相違が見られ、抵抗性品種が、ある地域では感受性であったりすることがある。このような抵抗性の崩壊現象は、マメ科作物においても、ヨツモンマメゾウムシ抵抗性のササゲ系統に認められている (Dick and Credland 1986)。こうした抵抗性の崩壊に対応するためには、複数の抵抗性遺伝子を用意しておくことに加え、その抵抗性の機構を物質的に解明しておくことが非常に重要である (喜多村・石本 1988)。

前述したインゲンマメ種子の  $\alpha$  A I は、アズキゾウムシとヨツモンマメゾウムシに対して生育阻害性を有するが、ブラジルマメゾウムシには阻害性を示さない (Ishimoto and Kitamura 1989)。最近、ブラジルマメゾウムシ抵抗性の

インゲンマメ野生種に、本虫の $\alpha$ -アミラーゼ活性を阻害する新たな $\alpha$ AIが見いだされた (Gatchouse et al. 1987)。そこで、Ishimoto et al. (1995) は、インゲンマメ種内に $\alpha$ AIの変異が存在すると考え、インゲンマメ栽培種及び野生種について、 $\alpha$ -アミラーゼ活性に対する阻害性を調査し、 $\alpha$ AIを以下の4つに分類した。 $\alpha$ AI-1: アズキゾウムシ幼虫やブタすい臓の $\alpha$ -アミラーゼ活性を阻害するもの、 $\alpha$ AI-2: ブラジルマメゾウムシ幼虫の $\alpha$ -アミラーゼ活性を阻害するもの、 $\alpha$ AI-3:  $\alpha$ AI-1と $\alpha$ AI-2の両方の阻害活性を示すもの、 $\alpha$ AI-0:  $\alpha$ -アミラーゼ活性阻害性を示さないもの。これらの変異の中で、ブラジルマメゾウムシ幼虫の $\alpha$ -アミラーゼ活性を阻害するものは、 $\alpha$ AI-2と $\alpha$ AI-3であり、本虫の生育を阻害する可能性がある。

ブラジルマメゾウムシ抵抗性のインゲンマメ野生種は、 $\alpha$ AI以外に、抵抗性に関与するとされるタンパク質、アルセリン (arcelin) を含んでいた (Romero et al. 1986, Osborn et al. 1986, Cardona et al. 1990)。アルセリンは、インゲンマメ野生種のみを確認されており、種子に7~10%の高濃度で存在する。ブラジルマメゾウムシ幼虫は、アルセリンを消化・吸収できないため、タンパク質の栄養欠乏から生育が阻害されると推測されている (Osborn et al. 1988, Minney et al. 1990)。アルセリンは、電気泳動分析により6種類の変異型に分類される (Osborn et al. 1986, 石本 1992)。これらのうち、アルセリン4は、 $\alpha$ AI-2と遺伝的に強連鎖関係にあり、これらが共同してブラジルマメゾウムシ抵抗性に関与している可能性が推察されている (Ishimoto and Kitamura 1993)。つまり、 $\alpha$ AIとアルセリンは、インゲンマメの有望なマメゾウムシ類生育阻害物質であると考えられる。しかしながら、 $\alpha$ AIとアルセリンの変異の中



で、マメゾウムシ類に対する生育阻害性を調査されたものは、 $\alpha$  A I - 1 とアルセリン 1、4 のみであり、また、各変異に関する遺伝学的研究も不十分である。

そこで本研究では、 $\alpha$  A I とアルセリンの変異について、遺伝様式と遺伝的關係を調査するとともに生化学的機能を解析し、虫害抵抗性の育種素材としての可能性を検討する。まず第 1 章において、 $\alpha$  A I とアルセリンの変異について、遺伝様式と相互の遺伝的關係を明らかにし、インゲンマメのマメゾウムシ類抵抗性への関連を考察する。さらに、有望な生育阻害物質として考えられる  $\alpha$  A I - 2 を第 2 章で、 $\alpha$  A I - 3 を第 3 章で、それぞれ単離・精製して、生化学的機能を解析し、虫害抵抗性の育種素材としての可能性を明らかにする。以上の基礎的知見に基づいて、インゲンマメのマメゾウムシ類生育阻害物質に関する遺伝・育種学的研究について考察する。