

ハダニに対する UVB の致死効果と光回復

京都大学 大学院農学研究科 生態情報開発学分野 ^{むらた やすまさ おさかべ まさひろ}
村田 康允・刑部 正博

はじめに

近年の研究により、太陽光中の中波長の紫外線 (UVB; 280 ~ 315 nm) がハダニ類に対して、生存率低下や産卵数減少等、様々な影響を与えることが明らかになってきた (OHTSUKA and OSAKABE, 2009; SUZUKI et al., 2009; SAKAI and OSAKABE, 2010)。UVB は生物に対して DNA 損傷や活性酸素の生成等を介して悪影響を及ぼす (SINHA and HÄDER, 2002) ことから、オゾン層の破壊などによる地上での紫外線 (UV) 量の増加が生態系に及ぼす影響に注意が払われている (UNEP, 2010; BALLARÉ et al., 2011)。

UV は波長 10 ~ 400 nm の電磁波であり、太陽光 UV は波長によって UVC (200 ~ 280 nm), UVB (280 ~ 315 nm), UVA (315 ~ 400 nm) に分類される。UVC はオゾン層より上空で吸収されるため、地上には届かない。UVB はその多くがオゾン層により吸収されるが、一部は UVA とともに地上に到達する。生物体中の DNA や RNA 等の核酸物質は 260 nm 付近の光を最も吸収する。このため、地上に届く太陽光 UV では波長の短い UVB が効率よく生物の DNA に吸収され、シクロブタンピリミジンダイマーおよび (6-4) 光産物と呼ばれる異常構造 (DNA 損傷) を引き起こす。これらの DNA 損傷が生じると、転写や翻訳の障害となり、細胞死や機能異常をもたらすと考えられる。

一方、生物には様々な環境ストレスによって引き起こされる DNA 損傷を正常な状態に戻す修復機構が存在する。なかでも、UV による DNA 損傷に対する修復機構としては、光回復と呼ばれる現象がよく知られている。光回復は、UVB により損傷を受けた生物に UVA や可視光を照射すると、その光エネルギーを用いて上述のピリミジンダイマーが特異的に正常化される修復現象であり、1949 年にバクテリアでその存在が実証された (KELNER, 1949)。その後、分子メカニズムや生物影響に関して多くの研究がなされてきた (SANCAR, 2003)。しかし、生物には、この光回復機構を持つものと持たないものが存在する。例えば、同じ哺乳類でもカンガルーなど

の有袋類は光回復機構を持つのに対し、ヒトを含めた有胎盤哺乳類はこれを持たない (CHIANG and RUPERT, 1979; LI et al., 1993)。ダニ類では UVB 照射後の可視光照射によって生存率が上昇 (回復) することを示した SANTOS (2005) の興味深い報告があり、野外の太陽光下での生存に光回復が寄与している可能性が示唆される。

ハダニ類は世界的に分布し、著しい薬剤抵抗性の発達が深刻な問題となっている重要な農業害虫である。筆者らの研究室では、UVB を用いたハダニ類の物理的防除を視野に入れつつ、生理学および生態学的観点から研究を進めている。そこで本稿では、ナミハダニ *Tetranychus urticae* に対する UVB の致死効果と光回復に関するこれまでの研究成果の概要について紹介したい。

I UVB 積算照射量とハダニの死亡率

SAKAI et al. (2012) は、紫外線カットフィルムと透過フィルムの下にナミハダニの卵をおいて太陽光に暴露して、太陽光 UV の影響の季節変化を調べた。春から秋に渡る 2 年間の調査結果から、太陽光 UV によるナミハダニ卵の死亡率が最も高いのは紫外線強度が最も高い夏ではなく、春であり、一方秋には太陽光 UV に暴露された卵でも多くがふ化することがわかった。太陽光 UVB 照射量と気温の季節変動を見ると、春は気温が低めで UVB 照射量が多め、逆に秋は気温が高めで UVB 照射量が急激に減少している (図-1)。ハダニは変温動物なので、春には夏より卵期間が長く、その間に多くの UVB を浴びる可能性があり、秋には残暑の中で卵期間は比較的短く、しかも弱めの UVB を浴びることになる。その結果、卵期間中の UVB 積算照射量は春に多く、秋に少なくなることが予想される。ステップワイズ重回帰分析により、ナミハダニ卵の死亡率は UVB 積算照射量と線形関係にあり、それによって最もよく説明されることが示された (SAKAI et al., 2012)。

そこで筆者らは、ナミハダニの卵、幼虫、第三静止期雌および雌成虫に対して、紫外線ランプを用いて、室内で強度の異なる UVB を様々な時間照射して、積算照射量 (kJ/m^2 ; 照射強度 (W/m^2) $\times$ 照射時間 (秒)) と死亡率との関係を調べた。その結果、UVB による死亡率は UVB の照射強度や照射時間にかかわらず、積算照射量の増加に伴って上昇した (MURATA and OSAKABE, 2013;

Lethal Effects of UVB Radiation and Photoreactivation in Spider Mites. By Yasumasa MURATA and Masahiro OSAKABE
(キーワード: ナミハダニ, UV 損傷, 光回復)

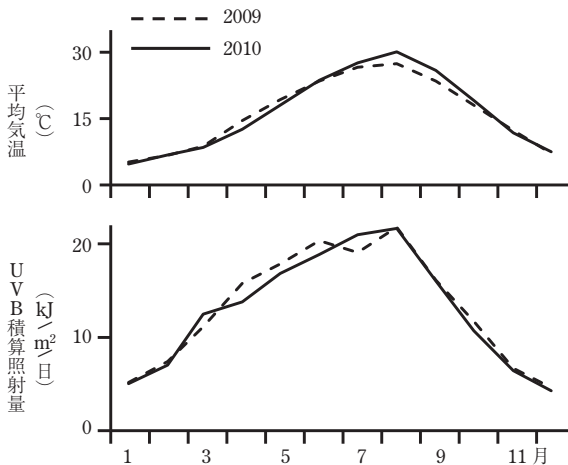


図-1 2009年と2010年の京都市の月平均気温と1日当たり UVB 積算照射量の推移

平均気温は気象庁の気象データより、UVB 積算照射量は京都女子大学の太陽光観測プロジェクト (<http://ponto.cs.kyoto-wu.ac.jp/~konami/climate/>) のデータにより作図。

図-2)。また、雌成虫では積算照射量の増加に伴う産卵数の直線的な減少も認められた。すなわち、UVB の積算照射量が同じであれば、強い照射強度で短時間照射した場合と弱い強度で長時間照射した場合とで、その生物影響が一致する。このことは UVB をハダニ防除に利用する際に、弱い UVB でも長時間照射すれば致死効果や産卵抑制効果が得られることを示している。

次に、UVB の積算照射量 (対数値) に対してプロビット変換した死亡率をプロットしてみると直線性が得られた (図-3)。そこで、供試個体の半数が死亡する積算照射量 (LD_{50} 値) を計算したところ、卵で 0.583 kJ/m^2 、幼虫で 1.17 kJ/m^2 および雌成虫では 25.4 kJ/m^2 であった (可視光存在下での実験)。これにより、防除に必要な積算照射量の推定が可能になった。

一方、太陽光 UVB の1日当たりの積算照射量は $5 \sim 22 \text{ kJ/m}^2$ (冬～夏) である。したがって、この UVB をそのまま浴びることにより、卵や幼虫ではわずか数時間、最も耐性がある雌成虫でも2日間ではほとんどの個体が死亡する計算になる。しかし、前述の屋外実験 (SAKAI et al., 2012) のデータから卵の LD_{50} 値を推定するとほぼ 50.0 kJ/m^2 となり、室内実験の値に比べて実に86倍も大きい。太陽光 UVB に曝された卵は、同時に強い可視光および UVA にも曝されることから、筆者らは次にナミハダニにおける光回復の可能性について検討した。

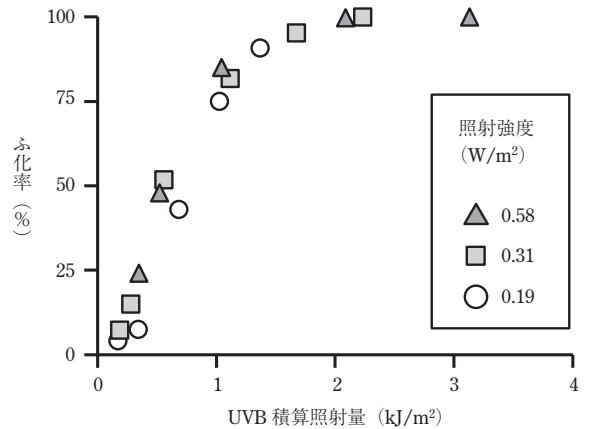


図-2 強度が異なる UVB を照射した卵のふ化率と積算照射量との関係 (MURATA and OSAKABE 2013 より改変)

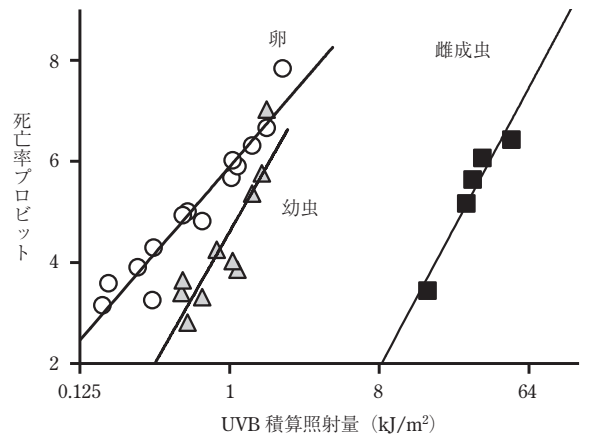


図-3 UVB 積算照射量と各发育ステージの死亡率との関係 (MURATA and OSAKABE 2013 より改変)

II ナミハダニにおける光回復の検証

光回復は、UVB によって生じた DNA 損傷 (ピリミジンダイマー) をフォトリアーゼ (光修復酵素) が可視光や UVA のエネルギーを利用して元の正常な状態に修復する生理機構である (WEBER, 2005)。この現象は古くからバクテリア (KELNER, 1951) をはじめ、甲殻類 (DAMKAER and DEY, 1983; ZAGARESE et al., 1997; MACFADYEN et al., 2004; CONNELLY et al., 2009)、魚類 (WIEGAND et al., 2004)、水生昆虫 (KALTHOFF, 1975; KALTHOFF et al., 1978)、植物 (APARICIO et al., 1976; AHMAD et al., 1997; HADA et al., 2003) 等幅広い生物で検証されている。一方、陸生の節足動物では実証例が極めて乏しい。そのような中、SANTOS (2005) がナミハダニとケナガコナダニ

Tyrophagus putrescentiae の雌成虫に UVB を照射した後に可視光を照射することによって生存率が上昇することを報告したのは注目に値する。

そこで筆者らは、ナミハダニにおける光回復を検証するため、卵に暗黒条件下で UVB (0.16 W/m^2 , 30 分間; 0.288 kJ/m^2) を照射した後、続けてハロゲンランプを用いて可視光 (90 分間; 366 kJ/m^2) を照射した場合と照射しなかった場合でふ化率の変化を調べた。その結果、可視光を照射しなかった対照区のふ化率は 10% であったが、可視光照射によって最大 68% まで上昇した (MURATA and OSAKABE, 2014)。さらに幼虫においては、 0.288 kJ/m^2 の UVB を照射した後に暗黒下の光回復が起こらない条件下で飼育した場合には発育率が 0% になったのに対して、UVB 照射後の可視光照射 (90 分間; 366 kJ/m^2) により、驚くべきことにほぼすべての個体が成虫まで発育した。このことから、ナミハダニに光回復が存在し、UVB による生物影響の軽減に大きく関与していることが明らかになった。屋外と室内での UVB 致死効果の差異についても、光回復効率の違いが関与しているものと考えられる。

光回復には一般的に UVA や青色光 (波長: $350 \sim 450 \text{ nm}$) が有効とされている (CHIANG and RUPERT, 1979; SHIROYA et al., 1984; SANCAR, 2003)。そこで、ナミハダニの卵に UVB を照射した後、UVA、青、緑、黄、赤の可視光を照射してふ化率を調べたところ、UVA、青および緑 ($\leq 500 \text{ nm}$) で高い回復効果が認められ、黄と赤ではほとんど回復が見られなかった (図-4; MURATA and OSAKABE, 2014)。さらに、UVB 照射後、様々な強度と時間の可視光 ($40.6 \sim 309 \text{ kJ/m}^2$) を照射して、光回復効果と可視光の照射強度と照射時間との関係を調べたところ、UVB の致死効果と同様、光回復効果についても可視光の積算照射量への依存が確認された (MURATA and OSAKABE, 2014)。

III UVB 照射から可視光照射までのタイムラグと光回復

フォトリアーゼによる DNA 修復の分子機構については詳細な研究が進められている (SINHA and HÄDER, 2002; WEBER, 2005)。ハダニにおいても光回復効果が大きな効果を持つことから、UVB を防除に用いようとする場合には逆にこの光回復を弱めることにより防除効果を高めることが可能と予測される。キンギョ *Carassius auratus* の卵を用いた実験では、可視光および UVA 存在下で UVB を照射した後に暗黒条件下においても正常にふ化する卵の割合は低下しなかった。これに対して、UVB

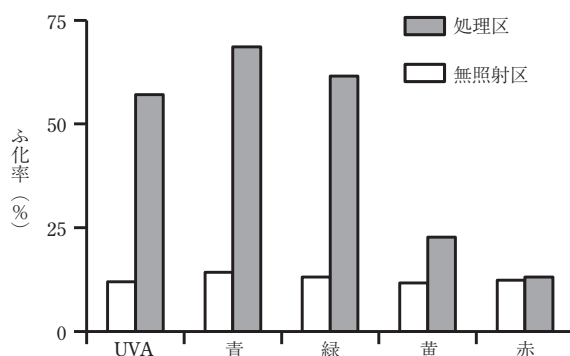


図-4 UVB 照射後に UVA および各色の可視光を照射した処理区と無照射区における卵のふ化状況 (MURATA and OSAKABE 2014 より改変)

照射時およびその数時間前から暗黒条件下に置いた場合、UVB 照射後に可視光および UVA を照射しなかった場合には顕著なふ化率 (正常ふ化) の低下が認められた (WIEGAND et al., 2004)。このことは、UVB 照射と同時にしくはその後に可視光および UVA に暴露することで光回復が起こったことを示唆する。

最近の研究からナミハダニにおいても UVB 照射と同時に白色光を照射した場合でも光回復が生じることが示唆されている (SUZUKI et al., 2014)。したがって、UVB によるハダニ防除を想定すると、夜間に照射して光回復を抑制して防除効果を高める方法が考えられる。過去の研究例を見ると、BARCELO (1981) は光回復の影響を避けるために UVC を照射後、ハダニを 24 時間暗黒下に置いた (このとき、BARCELO は UVA および UVB による生物影響の修復については光回復の関与は想定していなかったようである)。しかし、施設栽培で UVB をハダニ防除に用いようとするれば、24 時間の暗黒条件を得ることは不可能である。それでは、UVB 照射後にどのくらいの期間を暗黒条件下に保てば光回復を抑制できるのだろうか？

そこで筆者らは、UVB 照射 (0.288 kJ/m^2) から可視光が照射されるまでのタイムラグ (0 ~ 4 時間) が卵のふ化率および幼虫の発育率に及ぼす影響を調べた。実験では、ナミハダニの卵に暗黒下で UVB を照射し、その直後 (0 時間後)、1 時間後、2 時間後、3 時間後および 4 時間後にハロゲンランプによる可視光を 90 分間 (366 kJ/m^2) 1 回だけ照射し、直ちに暗黒条件下に置いてふ化率を調べた。UVB 照射後に可視光を照射しないで、暗黒条件下で維持した処理区を対照として光回復によるふ化率の上昇を調べた (図-5; MURATA and OSAKABE, 2014)。その結果、UVB 照射直後に可視光を照射した場

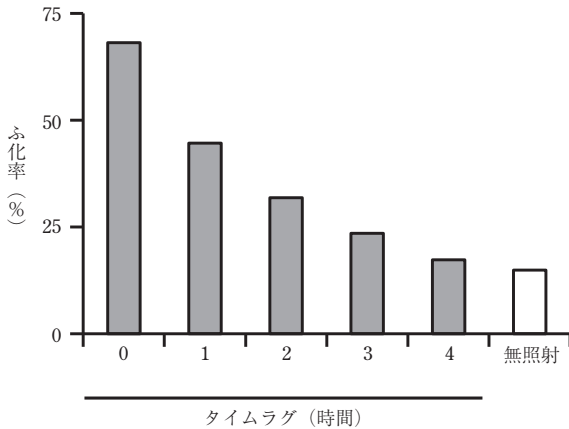


図-5 UVB 照射から可視光照射までのタイムラグと卵のふ化率との関係 (MURATA and OSAKABE 2014 より改変)

合では、対照区に比べ大幅なふ化率の上昇が確認されたが、UVB 照射から可視光照射までのタイムラグが長くなるに連れて光回復効果は低下し、4 時間後の可視光照射では効果がなくなった。

WIEGAND et al. (2004) はキンギョの胚発生のどの時期に UVB 感受性が高くなるかを調べた。その結果、受精日 (産卵日; Day 1) ~ 4 日目 (Day 4) の中で、受精の翌日 (Day 2) が最も感受性が高いことがわかった。タイセイヨウマダラ *Gadus morhua* でも、同様に胚発生の早い時期に UV 感受性が高い時期があることが報告されている (KOUWENBERG et al., 1999)。このことは、卵の胚発生における形体形成と UVB 損傷のタイミングが生存に大きく影響していることを示唆する。ナミハダニ卵においても産卵から 24 ~ 48 時間 (25°C) の時期に UVB 感受性が最も高くなることが明らかになった (MURATA and OSAKABE, 2014)。このため、UVB 照射後のタイムラグによる光回復効果の減少について、感受性が高い発育ステージに至る前に DNA 損傷が修復しきれなかったことが原因ではないかと想像している。一方、幼虫への UVB 照射後の可視光照射では、0 ~ 4 時間のタイムラグはその後の生存・発育に何の影響も与えなかった (MURATA and OSAKABE, 2014)。この実験では、光回復処理を行わなかった幼虫から成虫まで発育した個体は見られなかったが、幼虫期の死亡はあまり見られず、ほとんどの個体が第一静止期もしくはそこから第一若虫への脱皮時に際して死亡した (MURATA and OSAKABE, 2014)。これら光回復のタイミングとその効果について、筆者らは現在、DNA 損傷に対するフォトリアーゼの修復速度と発育ステージ特異的感受性との関係に注目してそのメカニ

ズムを検討しているところである。

おわりに

著しい薬剤抵抗性の発達により、農家がハダニ防除剤の選択に窮するような深刻な地域も見られる中、紫外線による物理的防除が可能になれば、薬剤抵抗性管理に役立つものと期待される。筆者らの研究成果から、夜間、夜明けまでに 4 時間以上を残して照射が終了する UVB 照射時間帯の設定によって効果的にハダニを防除できると考えられる。幼虫ではタイムラグの光回復抑制効果は認められなかった。しかし、LD₅₀ 値を計算した実験 (図-3) は一定の可視光存在下で行っていたため、幼虫に関してはこの値が防除のための照射時間を決定する際の基準になる。

また、応用場面では様々な状況が考えられ、UVB と生物的防除法との併用も考え得る選択肢の一つである。有力な生物防除資材であるカブリダニ類はハダニよりも UVB 感受性が高く (TACHI and OSAKABE, 2012)、そのため UVB 照射による悪影響を懸念する声もしばしば耳にする。しかし、カブリダニ類はハダニよりも敏感に UV を避けることができる (TACHI and OSAKABE, 2012; 2014)。ハダニおよびカブリダニに顕著に有害な影響を及ぼすのは UVB の中でも 310 nm 未満の波長と考えられる (SAKAI and OSAKABE, 2010; TACHI and OSAKABE, 2014)。これまでの研究から、ハダニはこの有害な波長を認識できないのに対して、カブリダニは認識して忌避することがわかってきた (SAKAI and OSAKABE, 2010; TACHI and OSAKABE, 2014)。これらの実験データおよび圃場試験における観察から、筆者らは UVB の利用がカブリダニによる生物的防除へ及ぼす悪影響は小さいと予測している。これらの点については、今後の研究課題である。

本研究の実施にあたって、パナソニック株式会社から UVB ランプをお借りした。ここに御礼申し上げる。

引用文献

- 1) AHMAD, M. et al. (1997): Plant Cell 9: 199 ~ 207.
- 2) APARICIO, P. J. et al. (1976): Biochem. Biophys. Res. Commun. 70: 1071 ~ 1077.
- 3) BALLARÉ, C. L. et al. (2011): Photochem. Photobiol. Sci. 10: 226 ~ 241.
- 4) BARCELO, J. A. (1981): Photochem. Photobiol. 33: 703 ~ 706.
- 5) CHIANG, T. and C. S. RUPERT (1979): Photochem. Photobiol. 30: 525 ~ 528.
- 6) CONNELLY, S. J. et al. (2009): Photochem. Photobiol. 85: 144 ~ 152.
- 7) DAMKAER, D. M. and D. B. Dey (1983): Oecologia 60: 169 ~ 175.
- 8) HADA, H. et al. (2003): Plant Cell Environ. 26: 1691 ~ 1701.
- 9) KALTHOFF, K. (1975): Oecologia 18: 101 ~ 110.
- 10) ——— et al. (1978): Photochem. Photobiol. 27: 317 ~ 322.
- 11) KEINER, A. (1949): Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 35: 73 ~ 79.
- 12) ——— (1951): J. Gen. Physiol. 34: 835 ~ 852.

- 13) KOUWENBERG, J. H. M. et al. (1999): Mar. Biol. **134**: 269 ~ 284.
- 14) LI, Y. F. et al. (1993): Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **90**: 4389 ~ 4393.
- 15) MACFADYEN, E. et al. (2004): Glob. Change Biol. **10**: 408 ~ 416.
- 16) MURATA, Y. and OSAKABE, Mh. (2013): J. insect physiol. **59**: 241 ~ 247.
- 17) ——— and ——— (2014): Exp. Appl. Acarol. **63**: 253 ~ 265.
- 18) OHTSUKA, K. and ——— (2009): Environ. Entomol. **38**: 920 ~ 929.
- 19) SAKAI, Y. and ——— (2010): Photochem. Photobiol. **86**: 925 ~ 932.
- 20) ——— et al. (2012): Appl. Entomol. Zool. **47**: 67 ~ 73.
- 21) SANCAR, A. (2003): Chem. Rev. **103**: 2203 ~ 2237.
- 22) SANTOS, C. D. (2005): Internat. J. Acarol. **31**: 429 ~ 431.
- 23) SHIROYA, T. et al. (1984): Photochem. Photobiol. **40**: 749 ~ 751.
- 24) SINHA, R. P. and D.-P. HÄDER (2002): Photochem. Photobiol. Sci. **1**: 225 ~ 236.
- 25) SUZUKI, T. et al. (2009): J. Insect Physiol. **55**: 649 ~ 654.
- 26) ——— et al. (2014): J. Insect Physiol. **62**: 1 ~ 10.
- 27) TACHI, F. and M. OSAKABE (2012): Naturwissenschaften **99**: 1031 ~ 1038.
- 28) ——— and ——— (2014): Environ. Entomol. **43**: 787 ~ 794.
- 29) UNEP (2010): EEAP Report 2010, 328 pp.
- 30) WEBER, S. (2005): Biochim. Biophys. Acta **1707**: 1 ~ 23.
- 31) WIEGAND, M. D. et al. (2004): J. Fish Biol. **64**: 1242 ~ 1256.
- 32) ZAGARESE, H. E. et al. (1997): J. Plankton Res. **19**: 357 ~ 367.

(新しく登録された農薬 5 ページからの続き)

あけび (果実): うどんこ病: 収穫 3 日前まで
 マンゴー: うどんこ病: 収穫 7 日前まで
 稲: ごま葉枯病, いもち病, ばか苗病: 浸種前 (10 分間種子浸漬), (24 ~ 48 時間種子浸漬), (種子粉衣 (湿粉衣)), (種子吹き付け処理 (種子消毒機使用))
 麦類: 斑葉病, 裸黒穂病, なまぐさ黒穂病, 網斑病: は種前 (種子粉衣)
 麦類: うどんこ病, 赤かび病: 収穫 14 日前まで
 とうもろこし (子実): すず紋病: 収穫 30 日前まで
 未成熟とうもろこし: すず紋病: 収穫 7 日前まで
 いちご: じゃのめ病, うどんこ病: 収穫前日まで
 メロン: うどんこ病, 陥没病: 収穫前日まで
 すいか, さやえんどう, 実えんどう, ピーマン, かぼちゃ, にがうり, とうがらし類, ごぼう, にんじん: うどんこ病: 収穫前日まで
 きゅうり: うどんこ病, 黒星病: 収穫前日まで
 かぼちゃ: フザリウム立枯病: は種前 (種子粉衣 (湿粉衣))
 うり類 (漬物用): うどんこ病, つる枯病, 炭疽病: 収穫前日まで
 トマト, ミニトマト: 葉かび病, すずかび病: 収穫前日まで
 なす: うどんこ病, すずかび病: 収穫前日まで
 しそ: さび病: 収穫開始 10 日前まで
 ねぎ: 萎凋病: 定植直前 (5 ~ 30 分間苗根部浸漬), 定植前 (苗床灌注)
 たまねぎ: 乾腐病: 定植直前 (5 分間苗根部浸漬), 定植前 (苗床灌注)
 オクラ: 黒斑病, うどんこ病: 収穫前日まで
 こんにゃく: 乾腐病: 植付前 (種いもの芽基部に散布)
 らっきょう: 乾腐病: 植付前 (5 ~ 30 分間種球浸漬), (5 分間種球浸漬)
 アスパラガス: 立枯病: 収穫 7 日前まで (灌注)
 食用ゆり: 鱗茎さび症: 植付前 (種球瞬間浸漬)
 ふき: うどんこ病: 収穫 14 日前まで
 バセリ: うどんこ病: 収穫 30 日前まで
 しょうが: 白星病: 収穫前日まで
 葉しょうが: 白星病: 収穫 7 日前まで

にら: さび病: 収穫 14 日前まで
 にんにく: 葉枯病: 収穫前日まで
 茶: 炭疽病, もち病: 摘採 14 日前まで
 チューリップ: 球根腐敗病: 植付前 (球根粉衣)
 ばら, きく, 樹木類, 花き類・観葉植物 (ばら, きくを除く): うどんこ病: 発病初期
 きく: 白さび病: 発病初期
 たばこ: うどんこ病: 収穫 10 日前まで

「除草剤」

●プロピリスルフロソ粒剤
 23492: ゼータワンジャンボ (住友化学) 14/7/9
 23493: 協友ゼータワンジャンボ (協友アグリ) 14/7/9
 プロピリスルフロソ: 2.25%
 移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ (北海道, 東北), ミズガヤツリ (北海道を除く), ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, エゾノサヤヌカグサ (北海道), シズイ (東北), オモダカ, クログワイ (北海道を除く), コウキヤガラ (関東・東山・東海, 近畿・中国・四国, 九州)
 ●テブチウロン・DBN 粒剤
 23494: 草退治 J 粒剤 (住友化学園芸) 14/7/9
 テブチウロン: 0.80%
 DBN: 2.0%
 樹木等 (公園, 庭園, 駐車場, 道路, 運動場, 鉄道, 宅地等): 一年生雑草 (雑草発生前), 一年生雑草 (生育初期), 多年生広葉雑草 (雑草発生前 ~ 生育初期), スギナ (雑草発生前 ~ 生育初期)
 ●ピロキサスルホン水和剤
 23495: ソリスト顆粒水和剤 (クミアイ化学工業) 14/7/10
 23496: 理研ソリスト顆粒水和剤 (理研グリーン) 14/7/10
 ピロキサスルホン: 85.0%
 日本芝: 一年生雑草
 ●リムスルフロソ水和剤
 23499: デュボン ハーレイ DF (デュボン) 14/7/23
 リムスルフロソ: 25.0%
 日本芝: 一年生雑草 (春期 ~ 夏期 (雑草発生前期 ~ 生育初期)), 一年生雑草 (秋期 ~ 冬期 (雑草発生前期 ~ 生育初期))