

ウンカ、ヨコバイ類の細胞内共生微生物

満 井 喬

理化学研究所

(平成5年2月20日受理)

Intracellular Symbiotes of the Plant- and Leaf-hoppers

Takashi MITSUI

The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN), Hirosawa, Wako 351-01, Japan

はじめに

多くの昆虫では、腸内細菌のような細胞外共生微生物のほかに、細胞内に共生微生物をもつことが知られている。これらの共生微生物は宿主の生体防御機構に認識されることなく、むしろ両者が共存する道を選び進化を遂げてきたのであろう。昆虫における細胞内共生微生物の最初の発見は、1887年の Blockmann によるゴキブリの共生微生物で、この共生微生物の存在する細胞群をブロックマン体と呼んでいた。細胞内共生に関する研究においてパイオニア的存在で、細胞内共生の概念を確立したのは Buchner とその弟子たち (1965) である。Buchner によれば、昆虫約 130 万種のうち少なくとも 10% 以上の種が細胞内共生微生物をもつという¹⁾。彼は細胞内共生微生物を“Symbiote”または“Symbiont”と名づけ、経卵によって次世代に伝播することを示した。宿主である昆虫は Symbiotes に生息場所を提供し、Symbiotes は宿主に栄養的に不可欠な物質—たぶんビタミンのような—を供給するのではないかと考え、“共生”は昆虫と微生物に相利的な共存関係と定義した。しかしその後、共生は少なくとも一方の生物に有利に働く片利的な関係も含むと理解されているが、相利共生と片利共生の区別は難しい²⁾。共生菌 (Symbiotes) の大部分は原核生物であるが、後述するウンカ類では酵母様の真核生物をもっている。昆虫の種によっては 1 種類の共生菌しかもたない場合もあるが、一般には複数種をもつ。

ヨコバイ類の細胞内共生微生物

1. 菌細胞 (mycetocyte), 菌細胞塊 (菌器, mycetome) の形成

共生菌は菌細胞と呼ばれる特殊に分化した巨大細胞の中で増殖する。セミ、ヨコバイ類では菌細胞が集合して、菌細胞塊 (マイセトーム) と呼ばれる特殊な器官を形成する。雌成虫体内の菌細胞中で増殖した共生菌は、卵巣が発達した時期に体液中に出て、卵巣小管の柄部の細胞に侵入する。その後、第一次卵母細胞の卵黄が蓄積する前に共生菌は卵の後極に侵入し、後極付近で共生菌の塊となって存在する。これを symbiont ball (以下 sb と略す) と称する。卵が成熟して産下されると、共生菌は次の第二次卵母細胞に上と同様に侵入する。sb は胚子発生と共に前極に移り、胚反転期 (blastokinesis) の背部閉鎖 (dorsal closure) 前に体内に入り、再度後極に移動する。その間に sb は菌細胞、菌細胞塊を形成していくので、その過程をヨコバイ (*Euscelis plebejus*) を代表例として簡単に説明する。

図 1 に示すように、sb は産卵後 1~2 日は後極に位置し、胚子発生に伴って 3~4 日で前極に移動する。5~6 日で胚に頭部が形成されるが、このとき頭部は後極に向いており、8~9 日で胚子反転が起こって前極に向く。この反転前に sb は体内に取り込まれ、胚子反転に伴って後極に再移動する。*Euscelis* には、2 種の原核生物が共生菌として存在し、これをおのおの“a”および“t”-symbiote と呼ぶ。さらに両共生菌は形態的にも異なった“infective form”と“vegetative form”

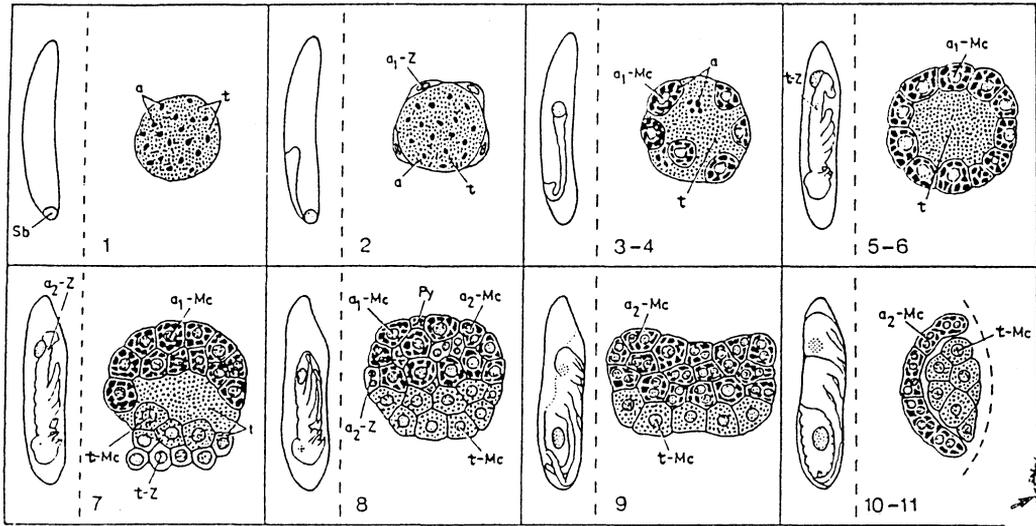


図1 *Euscelis plebejus* の胚子発生とマイセトーム形成³⁾

図中の数字は卵の日齢を示す(23°C). 点線より左は胚子発生の経過, 右はマイセトーム形成の経過を示す. 右下の↑矢印は幼虫のマイセトーム, sbは symbiont ball.

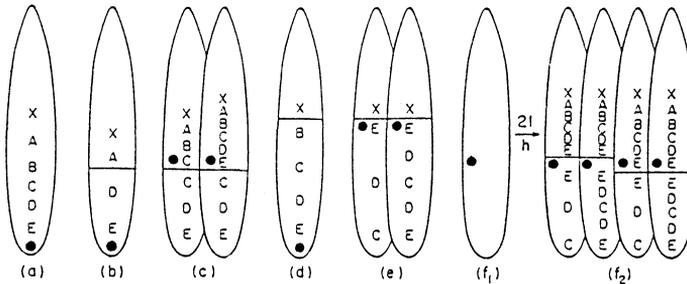


図2 *Euscelis plebejus* の胚子発生に及ぼす後極質の影響⁴⁾

X: 胚外域, A: 前頭, B: 顎頭, C: 胸部, D: 腹部前端, E: 腹部後端, ●: sbを含む後極質.

をもち、前者で卵巣へ侵入し、マイセトームに入ると後者に変わって増殖する。産卵直後“a”および“t”共生菌はsb中に混在しているが、胚発生と共に分裂した細胞がsbに近づき、まず“a”共生菌のみを取り込み、3~4日で第一次“a”菌細胞(primary a-mycetocyte, a₁-MC)が生ずる。a₁-MCは再度分裂を繰り返し、2核のa₂-MCとなる。一方、“t”共生菌はこれより遅れて、別の細胞に取り込まれ、t-MCを形成する。それぞれの菌細胞は10~11日で胚の腹部左右両側に分かれて1対のマイセトームを形成する。したがって、ヨコバイ類の幼虫や成虫では腹部に1対のあたかもオルガンのように見えるマイセトームが認められる³⁾。

2. *Euscelis plebejus* の胚子発生と symbiont ball

Sander(1976)⁴⁾は *Euscelis* の卵を用いて興味深い実験を行なった。sbを先を丸めた針で卵殻の上から後端から前端に向けて押し上げ、卵の一部を結紮して生ずる胚子のパターンを調べた(図2)。(a)は正常な胚を生ずるが(b)のようにsbを含む後極質(posterior pole material)を残して結紮すると、結紮前に頭部、後部に腹部が生じて胸部は形成されない(図3, A)。(c)のように、sbを前方に移動させて(b)と同じ位置で結紮すると、sbが移動してきたところが腹部後端となってそれより前方に完全な胚が形成される場合が多く見られた(図3, B)。しかし、一部はsbが移動

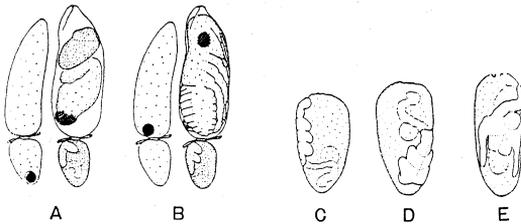


図3 図2に示す結紮実験から得られた胚⁴⁾

A: 図2 (b) から得られた胚で、結紮上端に頭部、下端に腹部が形成されている、B: 図2 (c) から得られた胚で、結紮上端に完全な胚が形成されている、C: 図2 (d) から得られた胚で、前頭部を欠いている、D: 図2 (e) から得られた胚で、腹部と胸部が逆転している、E: 図2 (e) から得られた胚で、胸、腹部が鏡像で二重になっている。

してきた部分が腹部後端とはならず胸部となる場合もあった。このことから、sb およびそれに伴って移動してきた後極質が腹部後端を特異的に決定するものではなさそうである。(d) のような部位で結紮を行なった場合、前頭部を欠いたほぼ正常な胚を生ずるが(図3, C), (e) に示すように後極質を結紮部のすぐ下に移動した場合は、頭部を欠き腹部の位置が反対になったもの(図3, D), あるいはその鏡像が二重にできる場合が認められる(図3, E)。(f₁) のように sb を図2に示す位置まで移動しておき、21 時間後に結紮した場合は (f₂) に示すように sb を含む、含まないにかかわらずいずれの場合も結紮前部に完全な胚が形成される。これらの実験から Sander は個々の体節を決定する特定の物質があるのではなく、前極質、後極質はパターン形成全体に影響し、前極にピークをもつ物質の濃度勾配と、後極にピークをもつ濃度勾配とがあって、それらの物質の濃度の比率によって頭、胸、腹など各体節が分化するのではないかと考えた。図2でわかるとおり、sb が存在する点の付近が多くの場合腹部後端になっているが、腹部形成に sb またはその生産する物質が重要にかかわっているのか、または sb と共に移動してきた本来卵自身がもっている後極質が重要なのか、疑問が残る。腹部形成と sb との関係は未だ完全に解明されていないが、これに関するこれまでの研究を紹介してみよう。

Schwemmler(1974)⁵⁾ は、*Euscelis plebejus* の卵の後極に X 線照射を行なった。その結果、sb は不活性化し後極にとどまることが多く、このような卵では腹部を欠く頭胸胚を生じた。幼虫に餌を通して抗生物質(tetracycline) を与えつづけ、得られた雌成虫から卵

を取ると、共生菌の数が減少した卵とまったく共生菌をもたない卵が得られた。前者では胚発生が遅れ、生じた胚は腹部の節数が少なく、共生菌の数と腹部節数の間に関連がみられた。後者ではまったく腹部を欠いた頭胸胚のみが得られた。また雌成虫にリゾチームを注射して得た卵では共生菌の数が少なく、したがって腹部節数の少ない胚が生じた。これらの結果から彼は *Euscelis* の胚子発生には共生菌が重要な役割を果たし、腹部形成に不可欠であると結論した。共生菌の少ない卵は pH や浸透圧が低下しており、この変化が直接または間接的に後極質の濃度勾配を変えることによりパターン形成に変化が出ると考えている。

しかし、その後 Douglas(1988)⁶⁾ は *Euscelis incisus* を供試して Schwemmler の実験を追試し、まったく異なる結果を得ている。卵の後極を、sb のみを隔離するよう注意深く結紮した結果、大部分の卵は孵化し、体長が短くなる以外には外見的にもまったく異常が認められなかった。結紮卵から得られた幼虫は腸内細菌は認められ、植物体から吸汁するにもかかわらず成長せず、1 週間程度で死滅した。また幼虫に chlorotetracycline を投与すると腸内細菌が死滅し、成長が停止して死に至るが、細胞内共生菌やマイセトームにはまったく異常が認められなかった。このことから、ヨコバイでは、Schwemmler が主張しているような共生菌が卵の胚発生に対して不可欠な機能を有しているとは考えにくく、共生菌の役割はアミノ酸、ビタミン、ステロイド等、宿主の栄養供給に寄与していると考えたほうが妥当であると結論している。“a” および “b” 共生菌の分離・培養も試みられているが、両共生菌とも非常に不安定で、分離後わずかな時間で失活する。

ウンカ類の細胞内共生微生物

ヒメトビウンカ (*Laodelphax striatellus*)、トビロウンカ (*Nilaparvata lugens*)、セジロウンカ (*Sogatella furcifera*) には細菌様原核生物のほかに酵母様共生微生物 (yeast like symbiotes, YLS) が多数存在することが知られている。ウンカ類の YLS は幼虫や成虫の腹部脂肪体組織の中で菌細胞として存在しているが、ヨコバイ類のようなマイセトームは形成しない。雌成虫の脂肪体組織に存在する共生菌が、体液を通じ卵巣小管に達し、卵の後極付近に sb を形成することはヨコバイ類と同じである。その後、どのようにして組織細胞に取り込まれて菌細胞を形成するのか詳しい研究はない。ウンカ体内の YLS は幼虫期間においては体重の増加に伴い指数的に増加し、成虫になると雄では数が減少するが、

雌では羽化後も増加しつづけ、腹部脂肪体は YLS で充満しているのが見られる。このように多数存在する YLS は宿主に対してどのような役割を果たしているのかわかるか、まず胚子発生との関連から考察してみよう。

1. ウンカ類の胚子発生と YLS

Lce と Hou(1987)⁷⁾ はトビロウンカ幼虫の高温処理、リゾチーム投与、卵の結紮の手法を用いて胚子発生に及ぼす YLS の影響を調べた。孵化幼虫を高温 (32°C) で育て (高温処理という)、得られた成虫を 26°C で産卵させると、雄成虫の生殖にはまったく影響が見られないが、雌成虫が産下した卵は YLS をまったく含まないかまたは少数しか含まない (subsymbiotic eggs)。この subsymbiotic eggs は産卵後 110 時間までは正常に発生が進むが、胚子反転も背部閉鎖も起こらず、したがって sb は前極にとどまっている。このような卵の胚は小さく縮み、腹部が退化している。雌成虫にリゾチームを投与した場合も、高温処理ほど有効ではないが、ごく一部の卵は異常で、胚子反転が起こらず、sb は前極にとどまり眼点は後極に形成される (正常卵では頭部が前極、したがって眼点は前極にある)。卵の後極の sb と卵黄の間に膜が存在するので、この部分で結紮を行なうと、110 時間までは発生が進み、その後高温処理と同様に腹部が分化しないで縮み、ついには完全に消失した頭胚となる。sb を部分的に卵黄部分に残るように膜より下端を結紮すると、YLS の数が少ないが胚の側に残る。このような卵は発生が 5 日ぐらい遅れるけれども正常な胚を生じた。次に、高温処理虫の脂肪体の蛋白を分析した結果、処理虫では 131 kDa の蛋白質 (protein Y と名づけている) が正常虫に比して少ないことがわかった。この protein Y は YLS の抽出物や発生中の正常卵には検出されるが、産下直後の卵や結紮によって sb を分離した胚では見られなかった。これらのことから、彼らは YLS が宿主に対して protein Y を供給し、これが胚発生に不可欠であり、腹部体節の形成を支配するものと結論している。

加賀山ら (1990)⁸⁾ はトビロウンカ卵の sb にレーザー照射することによって共生菌の一部を殺した結果、上と同じように胚子反転が起こらず、眼点が後極に形成されたことを報告している。春山ら (1991)⁹⁾ は JH 活性物質 NC-184 をトビロウンカ産下直後の卵に処理すると図 4B に示すように胚子反転が起こらず、sb は前極にとどまり眼点が後極に形成される異常卵が出現することを報告している。この異常卵の胚は腹部の形成が不完全で、上に述べた高温処理による卵と同じような状態を示した。しかし、この化合物による共生菌への直接

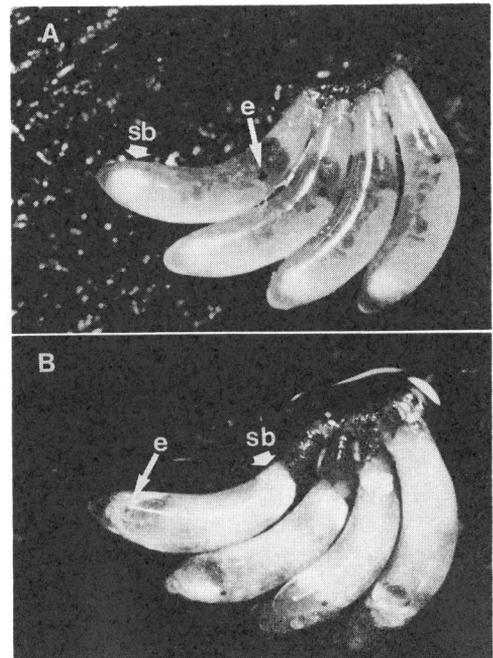


図 4 トビロウンカの胚子発生と NC-184 の影響 (春山裕史氏より提供)

A: 正常卵 (産卵 9 日後), B: 産卵直後に NC-184 を処理した卵 (産卵 9 日後), 胚子反転が起こらないため眼点が後極に形成されている。sb: symbiont ball, e: 眼点。

の影響については未だ不明である。

2. ウンカの成長と YLS

ウンカの成長に及ぼす共生菌の影響を調べるには、宿主から何らかの方法で共生菌を除去し、正常虫との成長や生理的諸反応を比較しなければならない。そこで、宿主から共生菌を除去した虫 (aposymbiotic insects) を作出することが試みられた。

野田と斉藤 (1979)¹⁰⁾ はヒメトビウンカの孵化幼虫を 35°C で 3 日間飼育し、25°C に戻す (高温処理) と YLS の数が著しく減少し、成長が遅れるとともに、脱皮の異常によって多くの昆虫が成虫に至らずに死ぬことを報告している。ヒメトビウンカでは、細胞間や菌細胞中にバクテリアも共生しているが、高温処理ではバクテリアには影響が見られない。また、高温処理虫は甘露の量からみると正常に吸汁していると考えられるにもかかわらず成長がわるく、産卵数も減少する。これらのことから、YLS は宿主の脱皮、成長、産卵等に不可欠な物質を供給しているのではないかと考えられている。しかし、その物質を特定するには至っていない。高温処理以

外にも抗生物質の投与によっても YLS を除去することができる。Chen ら¹³⁾ はトビロウカカの人工飼料に抗生物質を混ぜて給飼し、ポリオキシンやクロラムフェニコールなどが YLS の数を著しく減少させ、幼虫の成長を抑制することを報告している。

3. ウンカカの YLS の分離と培養

三橋 (1975)¹²⁾ はヒメトビウンカカの卵から YLS を取り出し、*in vitro* で初めて培養に成功したが、これを継代することはできなかった。その後、Kusumi ら (1979)¹³⁾ は同じくヒメトビウンカ卵から 2 種の YLS を分離、継代培養に成功し、Ls-1、Ls-2 と名づけた。おのおの YLS から抗体を作り菌細胞に処理したところ、ともに反応することから、Ls-1、Ls-2 ともに確かにヒメトビウンカ脂肪体菌細胞に由来することが確かめられている。Ls-1 は 22°C 以下および 33°C 以上では成長できず至適温度は 25~31°C であり、Ls-2 の至適温度は 22~35°C であった。Ls-1 は 37°C に 6 日間放置すると活性を失うが、Ls-2 は 9 日間以上置いても、25°C に戻すと活性を取り戻すという。抗生物質に対する感受性も両者で異なり、Ls-2 はシクロヘキシミドに対して感受性が高い。さらに、同じグループによってトビロウカカの卵および脂肪体からも 2 種類の形態的に異なる YLS が分離、継代培養され、おのおの NI-1、NI-2 と名づけられている。NI-1 が虫体内では優勢種であり、共に免疫抗体の手法から宿主由来であることが確かめられている。

次に、Ls-1、Ls-2 と NI-1、NI-2 の抗体をヒメトビウンカ、トビロウカ、セジロウカカの菌細胞と免疫反応させた結果、NI-1 と Ls-2、NI-2 と Ls-1 は免疫的に同じような反応を示した。このことから、これら 3 種のウンカカの YLS は同種のものであろうかと考えられるが、今後確かめなければならぬ。しかし、酵母の同定にはかなりの困難が予想される。

加賀山ら (1993)¹⁴⁾ はトビロウカ卵の sb にレーザーを照射したときに生ずる異常発生の研究から、sb の中で最も優勢種である YLS が胚子発生に何らかの影響を与えているのではないかと考えた。この問題を解決するためには、aposymbiotic eggs の作出と YLS を分離、培養して YLS が産出する物質を特定する必要がある。そこでまず、YLS の分離と同定を試みた。卵を表面殺菌し、10 種類の培地を用いて、好気および嫌気両条件下で YLS の分離培養を行なった結果、A~G の 7 コロニーを得た。これらのコロニーを形成する YLS の同一性を確認する方法として、18 S-rRNA をコードしている DNA 領域 (18 S-rDNA) を PCR (poly-

merase Chain Reaction) 法により増幅した後、制限酵素で切断したときのパターンを比較する方法を採用した。PCR のプライマーとして、ビール酵母、アカパンカビ、粘菌、キイロシヨウジョウバエの 4 種の真核生物の 17~18S-rDNA の共通性の高い領域が用いられている。上記の A~G のグループの YLS から抽出した DNA を鋳型とし PCR を行なった結果、すべてのサンプルから DNA 断片が増幅され、A~F グループでは約 1600 塩基対、G グループでは約 1300 塩基対の DNA 断片が増幅された(図 5)。この DNA を 5 種類の制限酵素を用いることによって切断し、そのパターンを比較することによって YLS をグループ分けした結果、ここに得られた 7 種の株はおのおの異なるパターンを示した。図 6 はその代表例で、制限酵素として *Hha* I を用いて切断した場合の DNA 断片の分布を示している。すなわち、7 種の異なる YLS が得られたことになる。しかし、この 7 種の YLS が本当に虫体由来の酵母であるのか、虫体内で優勢種 (外見的には 1 種と思われる) が分離されているかどうか、得られた株の中に前述の NI-1 や NI-2 が含まれているかなど、解決しなければならない多くの疑問がある。

以上のように、ウンカ類の細胞内共生酵母様微生物に関しては、菌の同定、宿主に対する役割と機能などまだ研究が始まったばかりで今後の発展を期待するものである。

4. ウンカ類の細胞内共生バクテリア

前にも述べたとおり、ウンカ類には YLS のほかにバクテリアやリケッチア様微生物が唾腺、中腸、脂肪体などに共生し、経卵伝播することが知られている。これら共生微生物の生産する生理活性物質の探索と利用に関する研究が、農林水産省を中心として盛んに行なわれているので簡単に紹介しておこう。

常識的には同一の昆虫種からは同じ細胞内共生菌が分離されると考えられる。しかし、この予想に反し、産地を異にする同種のウンカから共生菌を分離してみると、地域により多種多様で、日本、東南アジアの各地で採集したウンカカの卵から合計 700 株以上の共生菌が分離されている¹⁵⁾。酵母類と思われる株は除外してあるので、これらの多くは細菌で、一部は同定されていない。また、平八重らによる最近の研究¹⁶⁾によると、累代飼育を開始する前に分離された菌株が、半年間の累代飼育を経過する間にまったく検出されなくなるという。逆に、葉面に散布したバクテリアがトビロウカに取り込まれて、高頻度に経卵伝播することが、金コロイド免疫電顕観察によって明らかにされている。彼らはこの共生細菌

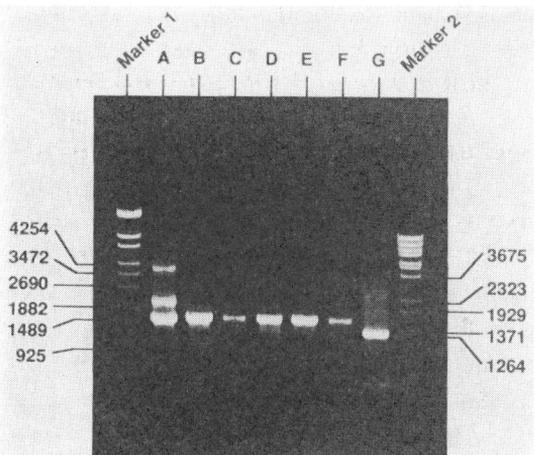


図 5 トビイロウンカより単離された YLS から抽出した DNA の PCR による増幅

左側より、第 1 レーン：マーカー DNA (λ DNA を *Eco* T14 I で切断)、第 2～第 8 レーン：グループ A～G の増幅結果、第 9 レーン：マーカー DNA (λ DNA を *Bst* P I で切断)。レーン外の数字はマーカーによって示される塩基対数。

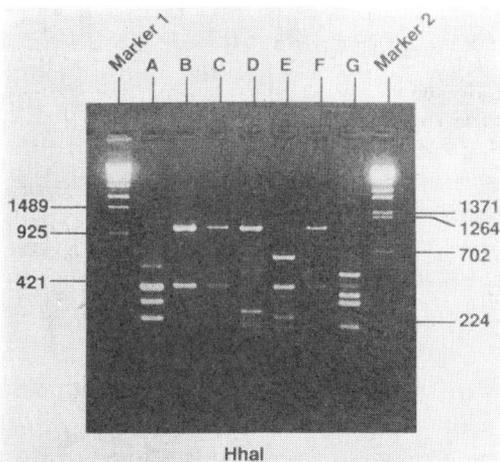


図 6 トビイロウンカより単離された A～G の YLS から増幅された DNA の *Hha* I による切断パターン

左側より、マーカー (λ DNA を *Eco* T14 I で切断)、グループ A～G のパターン、マーカー (λ DNA を *Bst* P I で切断)。レーン外の数字はマーカーによって示される塩基対数。

は宿主に対してアミノ酸等栄養素を供給していると考えている。このような細菌がどうして宿主によって「非自己」と認識されず細胞内に共生しうるので、またこの

「一過性の共生」が本来の「細胞内共生」であるのか、まったく異質なもののなのか、非常に興味深い問題を多く残している。

共生微生物の機能と役割

ショウジョウバエ卵の初期発生においては、母性遺伝子が卵の前後軸・背腹軸の決定を行ない、胚の遺伝子が体節を支配することが明らかとなっている。ウンカやヨコバイにおいても胚子発生が遺伝子によって支配されると考えるほうが妥当であろう。共生微生物が胚発生に影響をもつとすれば、これらの遺伝子発現に何らかの情報を与えるものではなからうか。Schwemmler は共生菌が卵の pH や浸透圧を変化させ、蛋白性物質の濃度勾配を作ると考えており、Lee らは protein Y が情報を提供するのではないかと述べているが、未だ分子レベルでの共生菌の役割についての研究はなされていない。

幼虫の成長、脱皮、変態等に関しては一般に、共生菌が宿主に対してアミノ酸、ビタミン、ステロール等の栄養素を供給しているのではないかと考えられている。アブラムシではメチオニンやトリプトファン等の必須アミノ酸を宿主に供給していることが報告されている。ウンカから得られた NI-1 や NI-2 を液体培養すると、最初は培地中に添加されたアミノ酸が消費され、菌が急激に増殖するが、その後きわめて多種多様なアミノ化合物が濾液中に放出されることが報告されている。生体内でもこのように多種のアミノ酸が合成されるのか、どのように宿主に受け渡すのか明らかではないが、共生菌が宿主の必要なアミノ化合物を供給していると一般には信じられている。

昆虫はステロールを生合成する能力がなく、餌からステロールを摂取する必要がある。野田は液体人工飼料でウンカを飼育し、幼虫が成育するのに飼料中にステロールを必要としないか、またはきわめて少ない量しか要求しないことから、共生菌がステロールを合成し宿主に供給していると結論している¹⁷⁾。ウンカの虫体からはコレステロール、 β -シトステロール、24-メチレンコレステロールおよび Ergosta-5, 7, 24(28)-trien-3-ol が検出される。高温処理によって、YLS の数を減少させた虫体ではこれらのステロールが減少し、コレステロール含量も低い。また分離した YLS からは Ergosta-5, 7, 24(28)-trien-3-ol が多量に検出され、他のステロールはほとんど含まれていない。これらの分析結果から野田は図 7 のようなステロール代謝経路を考えている。しかし、細胞内共生微生物が宿主に対して単に栄養を供給するのみでこんな緊密な共生関係にあるとはどうも考えに

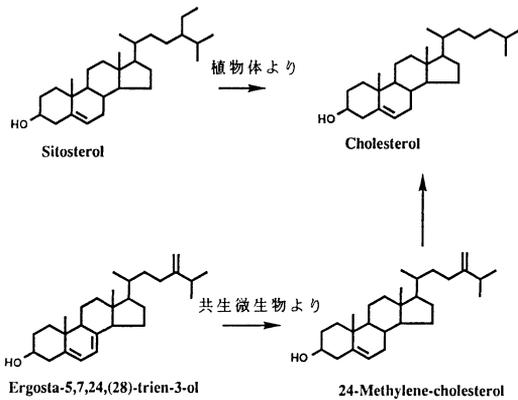


図 7 ウンカにおけるステロールの合成

くい。むしろ、栄養的な面から研究が進められているための結果であり、もっと本質的な「物質交換」が存在してもいいように思われる。

おわりに

ミトコンドリアや葉緑体は微生物であろうか。この疑問は長い間多くの人々によって議論され、賛否両論のあるところであるが、未だ実験的な根拠から確固たる結論は出ていないし、これからもそう簡単に出るとは考えられない。これらのオルガネラと共生微生物との間には共通点はあるが、オルガネラのもつ遺伝情報量から考えても、オルガネラはホストの遺伝子に依存し、自律性や自己増殖性を保っているとは思えない。Schwemmler はヨコバイの共生菌が非常に小さい DNA をもつのは、自由生活に必要な物質生産に関与する遺伝子をホストの DNA に移し、ホストとの「共生」に必要な遺伝子のみを残しているからであり、昆虫と共生微生物の関係はオルガネラの進化のモデルで、共生微生物は進化の中間ステージにあるのではないかと大胆な仮説をたてている。共生菌が宿主に栄養を供給するだけなら、腸内細菌のような細胞外共生でも十分であろうに、なぜ「細胞内共生」なのか、なぜ経卵伝播なのか、これらを分子レベ

ルで解決することは、農業面での微生物の新しい利用技術の開発ばかりでなく、生物間の新しい共存共栄関係の構築にも道を拓くものと夢を抱いている。

引用文献

- 1) P. Buchner: "Endosymbiosis of Animals with Plant Microorganisms," Interscience, New York, p. 901, 1965
- 2) E. J. Houk & G. W. Griffiths: *Annu. Rev. Entomol.* **25**, 161 (1980)
- 3) K. Sander, H. O. Gutzzeit & H. Jäckle: "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology," ed. by G. A. Kerkut & L. I. Gilbert, Vol. 1, pp. 336-337, 1985
- 4) K. Sander: *Adv. Insect Physiol.* **12**, 125 (1976)
- 5) W. Schwemmler: *J. Insect Physiol.* **20**, 1467 (1974)
- 6) A. E. Douglas: *J. Insect Physiol.* **34**, 1043 (1988)
- 7) Y. H. Lee & R. F. Hou: *J. Insect Physiol.* **33**, 851 (1987)
- 8) 加賀山慶一, 池庄司敏明, 井川輝美, 満井 喬, 粕谷敬宏: 第 34 回日本応用動物昆虫学会大会講演要旨, p. 159, 1990
- 9) 春山裕史, 三宅敏郎, 梅原利之, 小倉友幸, 河村保夫, 沼田達雄: 日本農薬学会第 16 回大会講演要旨集, p. 171, 1991
- 10) H. Noda & T. Saito: *Appl. Entomol. Zool.* **14**, 453 (1979)
- 11) C. C. Chen, L. L. Cheng & R. F. Hou: *Z. Angew. Entomol.* **92**, 440 (1981)
- 12) J. Mitsuhashi: *Appl. Entomol. Zool.* **10**, 243 (1975)
- 13) T. Kusumi, Y. Suwa, H. Kita & S. Nasu: *Appl. Entomol. Zool.* **14**, 459 (1979)
- 14) K. Kagayama, N. Shiragami, T. Nagamine, T. Umehara & T. Mitsui: *J. Pesticide Sci.* in press
- 15) 杉浦己代治: 農業技術 **42** (6), 262 (1987)
- 16) 平八重一之, 日比忠明: 化学と生物 **30** (12), 768 (1992)
- 17) 野田博明: 生物情報の解明と制御による新農林水産技術に関する総合研究, 農林水産省, p. 79, 1992