

令和元年6月18日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08104

研究課題名(和文) ヒメトビウンカの生殖様式を操作する共生細菌2種と病原性ウイルスとの相互作用の解明

研究課題名(英文) Interaction between two symbiotic bacteria controlling reproductive mode of their hosts and a phytopathogenic virus in the small brown planthopper

研究代表者

真田 幸代 (SANADA, Sachiyo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・グループ長

研究者番号：80533140

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ヒメトビウンカは異なる2種の共生細菌ボルバキアとスピロプラズマに感染する。これらの共生細菌は自分たちの次世代を効率よく残すために、ボルバキアでは感染オスと交尾した非感染メスを不妊にしたり、スピロプラズマでは感染した雌が産んだ仔のうち雄だけを殺す。また、ヒメトビウンカはイネ縞葉枯ウイルスを媒介し、水稻に被害をもたらす。本研究では、これらの2種の細菌と1種のウイルスが、ヒメトビウンカに同時に存在することで、互いにどのような影響を及ぼしあうか検証した。その結果、スピロプラズマがヒメトビウンカの生涯産卵数などに負の影響を与えるが、ボルバキアが二重感染することでその影響が緩和されることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒメトビウンカはイネ縞葉枯ウイルス(RSV)を水稻に媒介し、しばしば甚大な被害をもたらす。RSVに関してはこれまで多くの研究が行われてきたが根絶するまでには至っていない。また、ヒメトビウンカには、2種の共生細菌が存在するが、これらがヒメトビウンカの生活史形質にどのような影響を及ぼすのかについては不明な点が多い。本研究の成果で、イネ縞葉枯ウイルス及び2種の共生細菌の相互作用と、これら3種によるヒメトビウンカの生活史形質への影響が明らかにされれば、共生系進化に関する新たな学術的知見をもたらすだけでなく、ヒメトビウンカの増殖力やウイルス媒介能力を共生細菌によって制御する技術開発につながる知見となる。

研究成果の概要(英文)：The small brown planthopper (SBPH) is known to be infected by two symbiotic bacteria *Wolbachia* and *Spiroplasma*. These symbiotic bacteria induce the sterile females or kill only male offspring in order to efficiently increase their next generation. On the other hand, SBPH is also known as a vector of a phytopathogenic virus Rice Strip Virus and cause serious damage in cultivated rice. In this study, we examined how these two kinds of bacteria and one kind of virus interact when they coexist in the SBPH. As a result, it was revealed that although *Spiroplasma* infection has a negative effect on fertility of females, the double infection of *Wolbachia* and *Spiroplasma* relieve the negative effect.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：スピロプラズマ ボルバキア イネ縞葉枯ウイルス 雄殺し 細胞質不和合 生活史形質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ヒメトビウンカ(図1)は古くからイネの害虫として知られ、イネ縞葉枯病に対する抵抗性イネ品種の育種や薬剤抵抗性などの多くの研究がなされてきた。また、ヒメトビウンカは宿主の生殖様式を操作する共生細菌ボルバキアが感染していることが知られている。このボルバキアは、感染した雄が感染していない雌と交尾すると、その雌が産んだ卵は発生せず死亡する。このようにして、感染していない雌の繁殖を阻害することで、自分たちの遺伝子を次世代へ効率良く残している。さらに、農研機構九州沖縄農業研究センターの研究により、ヒメトビウンカにはボルバキアとは異なる共生細菌スピロプラズマが感染していることが明らかとなっている(Sanada-Morimura et al., 2013)。スピロプラズマは感染した雌が産んだ仔のうち、雄の仔だけを殺す“雄殺し”をする。こうして雌をより多く残すことで、次世代へ遺伝子を効率よく残していると考えられる。以上のように、ヒメトビウンカには2つの共生細菌と1つのウイルスが同時に感染することがあるが、これら3種のヒメトビウンカ内での共存がどのように成立しているかについては全く明らかになっていない。3種間の相互作用を解明することで、ヒメトビウンカ体内で生じている生殖操作する共生細菌と植物病原性ウイルスに関する共生系の進化を明らかにするだけでなく、ヒメトビウンカのウイルス媒介による被害低減技術に利用できる知見が得られる可能性がある。



図1 ヒメトビウンカの雌(左)と雄(右)

### 2. 研究の目的

水稻に病原性ウイルスを媒介することから東アジア全域で近年問題となっているヒメトビウンカには2種の共生細菌ボルバキアとスピロプラズマが存在する。ボルバキアでは感染オスと非感染メスで交配すると不妊となる“細胞質不和合”が起きる。一方、スピロプラズマは、感染メスが産んだオスの仔を殺し、性比をメスに偏らせる。ヒメトビウンカのウイルス保毒率や媒介能力は、これらの共生細菌によって影響を受けると予測されるが、異なる生殖操作をする2種の共生細菌と病原性ウイルスが重複して体内に存在する種はごく希で、これらの相互関係を検証した研究例はない。本研究では、生殖操作する2種の共生細菌がヒメトビウンカの病原性ウイルス保毒率と媒介能力にどのような影響を与えるのか明らかにする。

### 3. 研究の方法

平成28年度

SW系統・S系統・W系統・NI系統のそれぞれについて、イネ縞葉枯ウイルス感染系統・非感染系統を作出し、合計で8系統の組み合わせで、生活史形質を比較することとした。現在のところ、野外から採集したW系統とRSVの両方に感染しているR(+) $W(+)$ 系統に抗生物質処理をして、RSVのみに感染したR(+) $W(-)$ 系統を作出した。また、これら2系統の仔世代から、ウォルバキアのみに感染しているR(-) $W(+)$ 系統、どちらにも感染していないR(-) $W(-)$ 系統をそれぞれ作出し、生活史形質を比較した。

平成29年度

野外から採集したボルバキアとスピロプラズマに2重感染しているW(+) $S(+)$ 系統から、テトラサイクリン処理によって、スピロプラズマのみに感染したW(-) $S(+)$ 系統を作出することに成功したため、昨年度に引き続き、感染組み合わせごとに生活史形質を計測し、比較した。

平成30年度

昨年度から引き続きスピロプラズマがヒメトビウンカに及ぼす正の影響を明らかにするため、スピロプラズマとボルバキアの二重感染系統と、ボルバキア単独感染系統、スピロプラズマ単独感染系統、どちらにも感染していない非感染系統を、テトラサイクリン処理により作出した。

二重感染系統およびスピロプラズマ単独感染系統の若齢幼虫～成虫にかけてのスピロプラズマ感染密度の推移をリアルタイムPCRによって定量した。

### 4. 研究成果

平成28年度

繁殖能力：メスの産卵数と仔の性比と数、生存能力：幼虫死亡率と成虫寿命についてデータを収集することができ、生存能力については解析済みである。生存能力については、全体的な傾向としてRSVに感染することで負の影響をヒメトビウンカに与えている可能性が示唆されたが、繰り返し1回の実験結果のため、さらに繰り返しを行って検証する必要がある。また、繁殖能力については、データが膨大なため、現在解析中である。SW系統・S系統については、RSVに感染した野外系統を得ることができなかったため、今後はRSV感染イネをこれらの系統に吸汁させ、人為的にRSV感染系統を作出し、残る4系統について実験を行う必要がある。

平成29年度

生活史形質を計測し、比較した結果、スピロプラズマの感染がヒメトビウンカの幼虫期間に負の

影響を与えていることを明らかにすることができた。

一方、それぞれの系統にイネ縞葉枯ウイルスを感染させ、ウイルスと共生細菌の両方に感染させた系統を長期間維持していることが大変難しく、その生活史形質の測定までには至っていない。原因の一つとしては、ウイルスの経卵伝搬率が 90%程度となっていて、経代している過程でウイルス保毒率が低下してしまうことであり、実験に供試する際に再度、保毒率を高めておかなければならないなど実験の実施に大きな労力が必要なことである。もうひとつの原因としては、スピロプラズマ感染系統を維持する場合、オスについては感染していない系統から導入しなければならないため、交尾のタイミングを外してしまうなどでうまく増殖できないことがある。そのため、スピロプラズマ感染系統の維持も難しい。しかし、本年度末までには順調に増殖する系統を作出することができたため、ウイルス感染系統を作出する準備も整備することができた。

平成 30 年度

作出した系統の幼虫期間、成虫寿命、生涯産卵数および殺虫剤抵抗性を比較した結果、スピロプラズマの感染が生涯産卵数に対してのみ負の影響を及ぼすことが示唆された(図 2)。

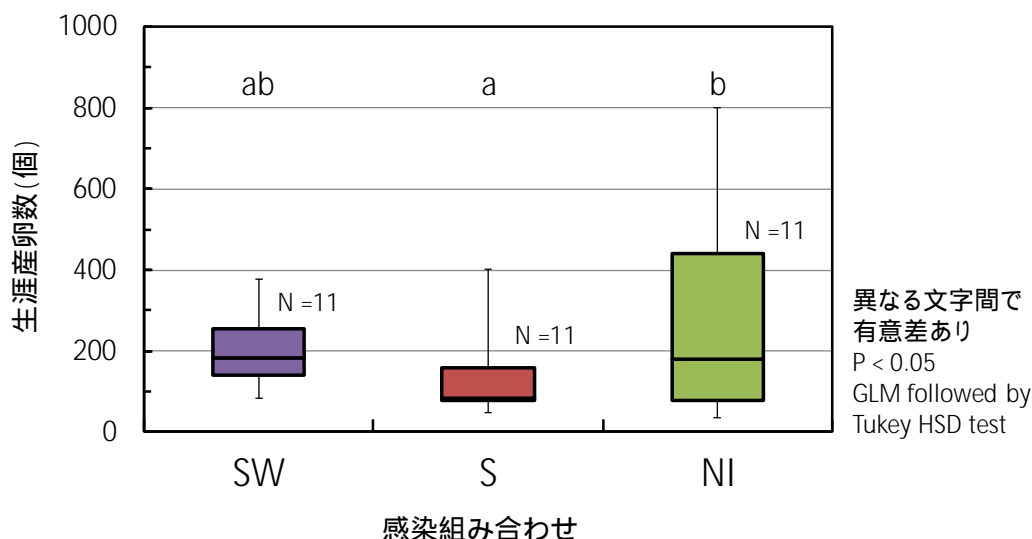


図 2 共生細菌系統の生涯産卵数 (Fertility)

SW はボルバキアとスピロプラズマの二重感染、S はスピロプラズマ感染、NI はどちらにも感染していない系統。

このスピロプラズマの負の影響はボルバキアが共存する場合に、共存しない場合に比べて弱められていた。その原因の一つとして、老齢幼虫期以降は二重感染系統のスピロプラズマ密度が単独感染の場合に比べて顕著に抑制されていること(図 3)が考えられた。この結果は、異なる生殖操作戦略を持つこれら 2 種の共生細菌間で競合が生じていることを示唆している。

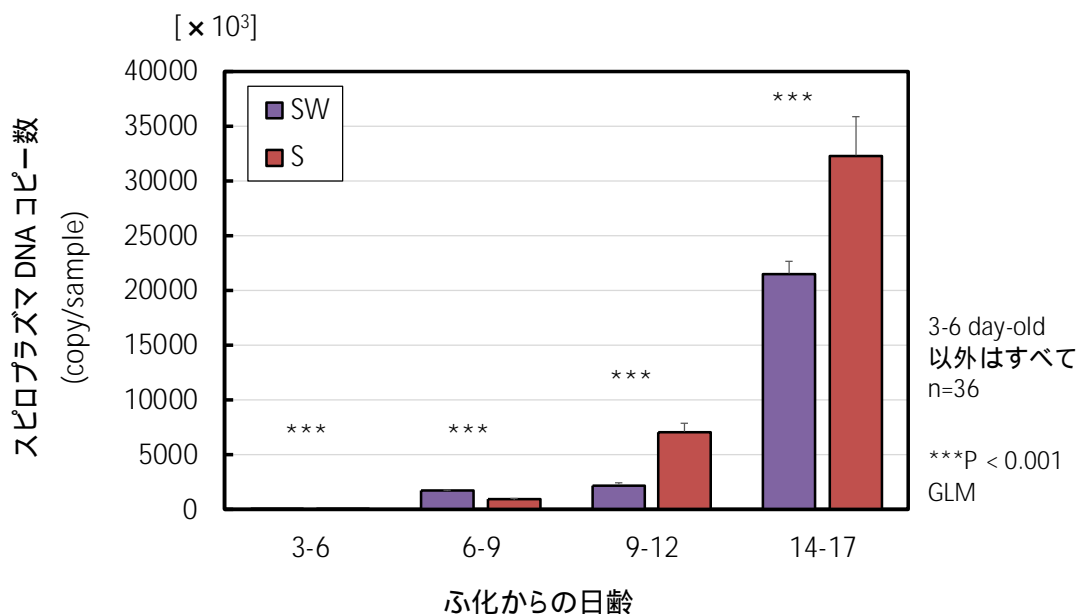


図 3 S 系統と SW 系統のスピロプラズマコピー数

RSV 保毒系統として継代飼育している系統を用いて、保毒虫を放飼するイネの播種後日齢、および保毒虫の日齢や放飼期間の検討を行ったが、いずれも伝播は確認できなかった。そのため、野外から RSV 感染イネ株を採取し、そこへスピロプラズマ・ボルバキア二重感染系統の幼虫を放飼した。その結果、RSV 保毒二重感染系統の作出に成功した。現在は RSV 保毒二重感染系統から、テトラサイクリン処理によりスピロプラズマ単独感染系統および非感染系統を作出済みである。今後はこれらの系統を用いて感染実験系を確立し、各共生細菌が RSV の伝播に及ぼす影響について明らかにしていく予定である。

#### <引用文献>

Sachiyo Sanada-Morimura, Hiroaki Noda, Masaya Matsumura, Journal of Heredity, 104 巻、2013、821-829

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kazuki Yoshida, Sachiyo Sanada-Morimura, Makoto Tokuda, Ecology and Evolution, 印刷中、2019

〔学会発表〕(計 3 件)

吉田一貴、真田幸代、徳田誠、共生細菌 *Wolbachia* と *Spiroplasma* はヒメトビウンカのパーフォーマンスにどのような影響を及ぼしているか、日本生態学会、2017

吉田一貴、真田幸代、徳田誠、共生細菌 *Wolbachia* と *Spiroplasma* がヒメトビウンカの発育および増殖に及ぼす影響、九州病害虫研究会、2018

吉田一貴、真田幸代、徳田誠、生殖操作を行う共生細菌 2 種の共存が宿主ヒメトビウンカに及ぼす影響、日本応用動物昆虫学会、2019

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

該当無し

#### 6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：徳田誠

ローマ字氏名：TOKUDA Makoto

所属研究機関名：佐賀大学

部局名：農学部

職名：准教授

研究者番号(8桁): 60469848

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。