

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23580212

研究課題名(和文) ウイルス感染に対する有性・無性繁殖の抵抗性：森林に自生するヤマノイモにおける検証

研究課題名(英文) The difference between sexual and asexual *Dioscorea japonica* offsprings of resistance against virus

研究代表者

井上 みずき (INOUE, MIZUKI)

秋田県立大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：80432342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝的多様性の高いヤマノイモ集団ほどCYNMV やJYMV の感染率が低いという仮説は棄却され、病原体 = 赤の女王モデルが野外において単純に成り立つわけではないことが示された。アブラムシのウイルス保有は30分程度で検出できなくなるため、ヤマノイモが高密度に存在するかどうか感染率に影響を与える可能性がでてきた。
ウイルス感染株の地下部への資源配分はウイルス感染株よりもむしろ大きいことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The pathogen-red-queen hypothesis was rejected in this field study because infection rate of CYNMV and JYMV did not negatively correlate with genetic diversity of *Dioscorea japonica*.
Virus such as CYNMV and JYMV were inactivated in 30 minutes after Aphids sucked virus-infected leaves. It suggests that infection rate depends on the density of *Dioscorea japonica* individuals.
When *Dioscorea japonica* were infected by JYMV, they did not show negative effect on resource allocation in underground organs compared to that of non-infected *D. japonica*.

研究分野：森林生態学

キーワード：垂直感染経路 水平感染経路 ウイルス ヤマノイモ 遺伝的多様性 アブラムシ バイオマス

1. 研究開始当初の背景

野生植物は常に、菌類・細菌類・ウイルスの感染と戦っている。その中でもウイルスは微小で扱いにくく、ウイルスに感染しても病徴を呈しない植物個体も存在することから野生植物における研究は進んでいない。ただし近年、分子生態学的手法の進展により、ウイルスの感染の有無をPCR法などで判定することが容易となってきた。

温帯植物の約7割は有性繁殖と無性繁殖の両方の繁殖戦略を保持している。有性繁殖は無性繁殖に比べて2倍のコストがかかる。しかし、病原体や寄生者に対抗進化できるために無性繁殖と比べて有利であるという説(病原体=赤の女王モデル, Parasite Red Queen model; Hamilton

1990)が存在する。この説では稀な対立遺伝子を持つ植物個体ほど有利になるため、有性繁殖によって遺伝的変異が生み出される状況がウイルスに抵抗性のある状態となる。この説の信憑性は高いが野外集団における検証例は少ない。

2. 研究の目的

森林に自生するヤマノイモ個体群を用いて、ヤマノイモの種子とムカゴを介したウイルスの感染拡大メカニズムを明らかにするとともに、ウイルスの感染の有無がヤマノイモ個体の適応度に与える影響を評価する。



図1 ウイルスに感染した野外のヤマノイモ個体のモザイク葉

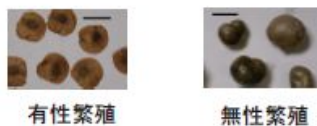


図2 ヤマノイモの種子とムカゴ

3. 研究の方法

病原体=赤の女王仮説を検証するために、秋田県内の5集団を対象に、ヤマノイモの遺伝的多様性をマイクロサテライト分析により、ウイルスの遺伝的多様性は、RT-PCRを利用し塩基配列を決定することで明らかにする。ウイルス感染の有無は、より簡便なRT-LAMP法を使用する。感染ヤマノイモ個体からの垂直

感染率を明らかにするために、感染個体のムカゴや種子を実験室にて発芽させ、ウイルスの有無を確認する。加えて、非感染個体のムカゴを発芽させ、森林内にて定期的にウイルスチェックを行ない、水平感染率を明らかにする。水平感染のベクターであるアブラムシのウイルスチェックも行なう。森林におけるウイルス感染個体と非感染個体の適応度の違いを明らかにするために、同じジェネットに属するウイルス感染ラメットと非感染ラメットの初期死亡率・成長速度・繁殖量の違いを比較する。

具体的には以下の調査・実験を行う。

まず、病原体=赤の女王仮説の検証のために秋田県内の5地点において20m四方に存在するツル状のヤマノイモ全個体から葉を採取する。

ヤマノイモの個体サイズの指標として地際直径を測定する。

個体あたり葉5枚を観察し、ウイルスの病徴の有無を記録する

Mizuki et al (2005c)で開発したマイクロサテライトマーカーを用いて、葉からDNAを抽出、マイクロサテライト分析により、ヤマノイモの遺伝的多様性を明らかにする

個体あたり葉5枚を選び、RT-LAMP法により、ウイルス感染の有無を確認する。

ウイルス非感染ヤマノイモ個体への水平感染率およびベクターであるアブラムシのウイルス保有率と保有するウイルスの遺伝的多様性を明らかにする

春の時点でウイルスに非感染の個体が秋にどのぐらいウイルスに感染しているのかRT-LAMPを用いて明らかにする。

ウイルス葉を吸汁させたアブラムシがどの程度ウイルスを保有するのか、時間に伴う検出率の低下状況を明らかにする。

ウイルス感染ヤマノイモ個体と非感染個体の初期死亡率、繁殖量を比較する

感染個体と非感染個体のムカゴを採取し、実験室にて発芽実験を行なう。

初期死亡率・成長速度・繁殖量を測定する。

4. 研究成果

遺伝的多様性の高いヤマノイモ集団ほどCYNMVやJYMVの感染率が低いという仮説は棄却され、病原体=赤の女王モデルが野外において単純に成り立つわけではないことが示された。

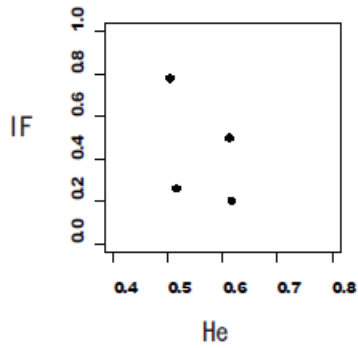


図3 ヤマノイモ 4 集団のヘテロ接合度とウイルス感染率

アブラムシのウイルス保有は30分程度で検出できなくなるため、ヤマノイモが高密度で存在するかどうか感染率に影響を与える可能性がでてきた。短時間でウイルスの水平感染能力は失われると考えられるが、野外では新規の水平感染が発見された。特に、東京の田無ではウイルスの新規感染率が30%を超えた。



図4 無翅アブラムシ



図5 有翅アブラムシ

弱光条件下であっても、極弱光条件下で育成してもウイルス感染株と非感染株で初期死亡率には違いはなかった。ウイルス感染株が必ずしも成長速度が低いわけではなく、特に次年度への貯蔵分となる地下部への資源配分は、ウイルス感染株よりもむしろウイルス非感染株で大きいことが明らかとなった。

弱光条件

極弱光条件

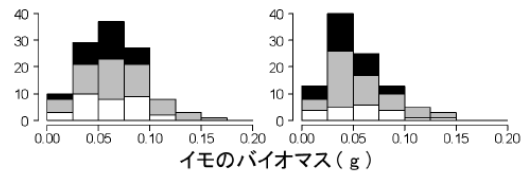


図6 2つの弱光条件下におけるヤマノイモの地下部への資源投資量
黒はウイルス有をグレーはウイルス有だが無病徴、白はウイルス無を示す。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

井上みずき 森林に自生するヤマノイモのウイルス保有率が新規感染に与える影響、第 62 回日本生態学会 2015.3.21 (鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市))

井上みずき クローナル植物ヤマノイモにおけるウイルス罹病率の集団間変異、第 61 回日本生態学会 2014.3.15 (広島国際会議場(広島県・広島市))

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 みずき (INOUE, Mizuki)

秋田県立大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：80432342

(2) 研究分担者

藤 晋一 (FUJI, Shinichi)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：40315601

(3) 連携研究者

()

研究者番号：