

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658050

研究課題名(和文) 共生ウイルスとテラトサイトが作る寄主環境の調節機構の解析

研究課題名(英文) Regulative mechanism to host physiological condition by symbiotic virus and teratocytes of parasitoids

研究代表者

田中 利治 (Tanaka, Toshiharu)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：30227152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：寄主は、体内に侵入した寄生バチの卵などの異物に対して細胞性免疫応答により排除しようとする。寄主体内でハチが発育するには、寄主の免疫応答を逃れる必要がある。つまり、卵とともに寄主に注入される共生ウイルス(PDV)と毒液(V)および卵が孵化し幼虫になる時にテラトサイトと呼ばれる細胞が、寄主の細胞性免疫の制御およびハチ幼虫の養分を寄主を傷つけずに手に入れる働きを持つことがわかってきている。本研究では、2種類のハチを同時に寄生させたり、片方を寄生させ、もう一方のPDVとVを人工的に注入することでハチの発育への影響を明らかにした。また天敵としての利用の際に起こる多重寄生の不都合な点についても示した。

研究成果の概要(英文)：In nature, inter- and intraspecific competitive interactions can occur between two or more female parasitoids foraging for hosts (=extrinsic competition) and multiple larvae competing for the host resources within the same individual host (=intrinsic competition). Knowledge and understanding of these interactions are important in biological control programs for selection of effective bio-control agents and management strategy to avoid conflict amongst exotic and native natural enemies.

We evaluated the foraging strategies and intrinsic competitive interactions amongst three endoparasitoids, the solitary *Meteorus pulchricornis* (Wesmael), and the two gregarious *Cotesia kariyai* (Watanabe) and *Cotesia ruficornis* (Haliday) in their common host, *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae). Furthermore, defense mechanisms employed by competing parasitoids to eliminate their competitors were also investigated during multi parasitism in focusing physiological stress of PDV or VLP and teratocytes.

研究分野：昆虫生理学

科研費の分科・細目：農学 応用昆虫学

キーワード：内部寄生蜂 寄主制御

## 1. 研究開始当初の背景

寄生蜂は生態系を安定に保つために必須の存在であり、寄生蜂の特性を明らかにすることは、省エネ農業を維持するための重要な基礎研究となる。特に寄生蜂の幼虫期における種間競争を生理学的視点からとらえた研究は複雑でありやられていない。多くは生態学的解析だが、アウトプットによる判断から、実際に体内でおこっている種間競争を明らかにしていない。寄主体内で競争相手を大顎で傷つけ寄主の防御反応によって相手を排除することは、既に報告されているが、同時に寄生した場合何が原因で片方が優位に立つかなどの生理的要因や相手の発育を抑制する生理的ストレスについては、ほとんど分かっていない。これらは寄主特異性や種分化の要因を明らかにする上でも重要な意味を持ち、寄生蜂が持つ巧妙な制御機構の解明や有効利用への可能性を広げる。

本研究では、今までとは違った視点で種間競争を捉える。寄生初期に寄主の生理状態を制御する因子として共生ウイルス（蜂のゲノムに組み込まれているポリドナウイルス：PDV）の働き、卵の漿膜から分化してふ化後に幼虫と共に発育するテラトサイトの働きに着目する。寄生直後から寄主細胞内で発現するPDVは、寄生初期に働く寄主制御因子であり、テラトサイトはPDVによって制御された環境下で脂肪体の局所的消化を行い幼虫の養分を獲得する働きや幼虫期の寄主の生体防御反応を抑制する働きをしている。

## 2. 研究の目的

寄生蜂が寄主の生理状態を卵や幼虫の発育に都合の良いように制御することは知られているが、他の種が同時に寄生した場合、体内の制御系がどうなるかはわかっていない。長年の寄生バチの研究を生かして内部寄生蜂2種を同じ寄主に寄生させることで、幼虫期における種間競争がどのように調整されているかを発現遺伝子の違いによって明らかにする。これは1種だけで行っていた寄主制御機構の解析に新しい視点をもたらし、同一寄主内で幼虫の兄弟同士が共存するようになった多寄生蜂の進化機構を解明する研究へと発展する。本研究では、寄主制御要因としてのポリドナウイルスとテラトサイトの働きを利用して、異なった種が作る寄主環境が利用できるかを、寄生初期における生体防御反応と寄生後期における養分確保の視点から明らかにする。

## 3. 研究の方法

本研究において内部寄生バチ3種、つまり単寄生蜂ギンケハラボソコマユバチ（以降ギンケ）、2種の多寄生蜂カリヤサムライコマユバチ（以降カリヤ）およびキアシヤガサムライコマユバチ（以降キアシ）が同じフィールド内に存在することから3種間における探索戦略と内部競争を生態学的視点および生理学視点をを用いて、内部寄生蜂同士における競争者を排除する防御メカニズムについて検討した。

## 4. 研究成果

生態学視点として、Y字管による選択実験から、産卵された寄生蜂が体内で孵化して幼虫になっているステージが4日以降の寄主に対しては多寄生（異種間寄生）も過寄生（同種間寄生）も避けて未寄生を好んで寄生することがわかった。しかし寄生後2日目の寄主に対しては、多寄生も過寄生も起こった。一方、飼育ケース内に置いた食害を受けた植物上に居る被寄生寄主間の自由選択実験では、多寄生も過寄生も起こることが多かった。つまり寄主の外的選択要因は、食害を受けた植物からの臭いと内部の寄主の状態を判別して寄生していることがわかった。

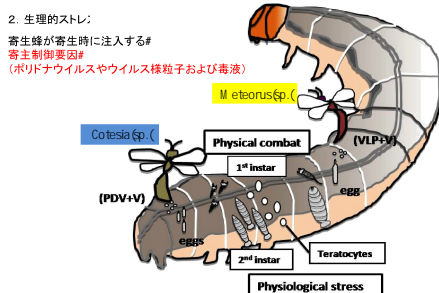
3種寄生蜂間における内部競争は、最初の寄生から多寄生が起こったときの時期の違いに依存していた。3種間の組み合わせでキアシはギンケとカリヤの両種に比べて競争力が劣っていた。しかし、キアシとカリヤの寄生では、最初の寄生後1時間以内の場合では両種とも脱出し、キアシの寄生が最初でその後24時間から96時間後までは、カリヤの発育を抑制しキアシが寄主から脱出してきた。一方カリヤが最初に寄生した場合は、ギンケおよびキアシの発育を抑えて脱出してきた。しかし、どの場合の組み合わせでも寄生された寄主は、単独で寄生された寄主に比べると発育が抑制され小さい寄主となった。

寄主体内で起こる寄生蜂間競争は、物理的排除と生理的ストレスによる場合が考えられる。物理的排除は、寄生蜂の1令幼虫が持つ大顎により相手に傷を負わせることで寄主の細胞性防御反応を引き起こさせて殺してしまうことがわかった。3種間の1令幼虫の大顎を顕微鏡により観察したところギンケが一番鋭く、カリヤ、キアシの順であった。これはギンケが一番競争力が強いことを支持する結果となった。どの種も2令

幼虫は大顎が小さかったことから、物理的排除は1令期に起こるものと思われた。

生理的ストレスの解析では、寄生蜂が産卵時に寄主体内に卵とともに注入するカリヤやキアシのポリドナウイルス(CkPDV or CrPDV)と毒液およびギンケのウイルス様粒子(MpVLP)と毒液がそれぞれの寄生において寄主の生理状態を制御する働きがあることが明らかになっている。そこでこれらの制御因子に着目して解析を行った。それぞれの寄生蜂を寄生させた後に別の寄生蜂の制御因子を人工的に寄主に注入した結果、ギンケが寄生し1時間以内にCkPDVと毒液を注入した場合、寄主から脱出してくるギンケが35%となり、2日目でも42%となり通常の60%近く脱出するのと比べて減少していた。一方CrPDV+毒液は同様に人工的に注入してもギンケの脱出には影響を与えなかった。カリヤの産卵後にMpVLPを注入した場合は、若干の減少は見られたがあまり大きな影響はなかった。しかし、キアシの産卵に対して、単独では寄生成功率が約9%と非常に低い5令寄主を用いた場合に、CkPDV+毒液の注入によって62%まで寄生成功率を引き上げた。これはキアシのPDVが寄主の生体防御機構を制御出来るのが若齢に限られているのに対し、カリヤが寄主アワヨトウの終齢まで寄生可能なためにキアシが持っていない寄主制御機構をカリヤのPDVが発現したことで寄主の生体防御反応を抑制したことを示している。以上のことから種間競争力の違いや、通常の寄生ではかなり低い寄生成功率を示す種でも、幅広い寄主齢にまで寄生できることが示された。

ウイルスのより寄主の免疫反応を抑制することで、防御反応を逃れることがわかった。カリヤが終齢まで寄生できる要因をこの2種のポリドナウイルスを比較することで明らかにし、寄生蜂の進化がどのように起こったかを明らかにしていく。



## 今後の研究への方向性

キアシとカリヤが同時寄生した場合は、キアシ単独では寄生率が低い5令などでも60%以上が寄生成功に至ることから、カリヤのポリドナウ

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 5 件)

1. Peter M. Magdaraog, T. Tanaka, J. A. Harvey. Inter- and intraspecific host discrimination in gregarious and solitary endoparasitoid wasps. *BioControl* 58: 745-754 (2013) 査読あり
2. Jeffrey A. Harvey, Erik H. Poelman, Toshiharu Tanaka Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps *Annu. Rev. Entomol.* 58, 333-351. (2012) 査読あり
3. Yokoi, K., Koyama, H., Ito, W., Minakuchi, C., Tanaka, T. and Miura, K. Involvement of NF- $\kappa$ B transcription factors in antimicrobial peptide gene induction in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Dev. Comp. Immunol.* 38, 342-351 (2012). 査読あり
4. Yokoi, K., Koyama, H., Minakuchi, C., Tanaka, T. and Miura, K. Antimicrobial peptide gene induction, involvement of Toll and IMD pathways and defense against bacteria in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Results in Immunology* 2, 72-82 (2012). 査読あり
5. Magdaraog, P.M., Harvey, J.A., Tanaka, T. and Gols, R. Intrinsic competition among solitary and gregarious endoparasitoid wasps and the phenomenon of resource sharing. *Ecological Entomology* 37, 65-74 (2012). 査読あり

[学会発表](計 7 件)

1. 加藤大貴、小山裕明、水口智江可、田中利治、横井翔、三浦健、コクヌストモドキの ToII 遺伝子群の逆遺伝学的機能解析、第 58 回応用動物昆虫学会、高知大学、2014/3/28
2. 山路拓弥、田中利治、中松豊、シロヘリクチプトカメムシの唾液腺分泌物がアワヨトウ幼虫のメラニン形成や包囲化作用に及ぼす影響、第 58 回応用動物昆虫学会、高知大学、2014/3/28、
3. 澤友美、向冴子、森瑞記、加藤良晃、立石剣、田中利治、中松豊、異物へのメラニン沈着を抑制するテラトサイトの働きについて、第 58 回応用動物昆虫学会、高知大学、2014/3/28

4. 三浦健、加藤大貴、小山裕明、水口智江可、田中利治、横井翔 コクヌストモドキの免疫シグナル伝達経路の特性について、第 58 回応用動物昆虫学会、高知大学、2014/3/27

5. Magdaraog Peter, 田中利治、種間競争におけるハチが持つ生理的効果、第 57 回応用動物昆虫学会、日本大学 2013/3/29

6. 澤友美、山際桃子、加藤倭久、藤本竜志、向冴子、加藤良晃、立石剣、田中利治、中松豊、ハチの寄生が脂肪体の細胞遊出に及ぼす影響、第 57 回応用動物昆虫学会、日本大学 2013/3/28

7. 米本和生、澤友美、田中利治、中松豊、外部捕食寄生蜂アワヨトウウスマユヒエコバチの毒液が寄主アワヨトウ幼虫の精巣に及ぼす影響、第 57 回応用動物昆虫学会、日本大学 2013/3/28

6. 研究組織

(1)研究代表者

田中 利治 (TANAKA Toshiharu)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授  
研究者番号：30227152

(2)研究分担者

中松 豊 (NAKAMATSU Yutaka)  
皇學館大学・教育学部・准教授  
研究者番号：00456617