

平成 21 年 6 月 10 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18780038
 研究課題名 (和文) 昆虫ウイルスの遺伝的多様性維持機構に関する進化生態学的研究
 研究課題名 (英文) Studies on evolutionary ecology of genetic diversity of an insect virus

研究代表者
 高務 淳 (Takatsuka Jun)
 独立行政法人 森林総合研究所・森林昆虫研究領域・主任研究員
 研究者番号：80399378

研究成果の概要：

本研究は、ハマキガとウイルスをモデルシステムとして研究し、ウイルスの適応度が環境によってどのように変化するかを明らかにすることを目的とし、これをもって微生物防除の高度化に資することを旨とするものである。

ウイルス遺伝子型間に、感染性や生産性に変異があり、それらは、昆虫種によって影響を受けることが明らかになった。また、これら昆虫が摂食する餌によっても、影響を受けることも明らかとなった。これらのことから、ウイルス遺伝子型の適応度形質が宿主や宿主の寄主植物と交互作用していることが明らかになった。微生物防除においてストレインを選択する場合、ストレインと環境との交互作用を考慮し、適切に施用することで、より安定した効果が期待できる可能性が示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,800,000	0	1,800,000
2007 年度	800,000	0	800,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	300,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：昆虫ウイルス、適応度、多様性、微生物防除

1. 研究開始当初の背景

昆虫ウイルスは、しばしば昆虫個体群に流行病を引き起こし、その動態に多大な影響をあたえる。しかし、流行を引き起こす要因やメカニズムの完全な解明には至っていないのが現状である。これらを解明することにより、ウイルスを利用する効果的な害虫管理法や、伝染病の管理技術の開発に基盤となる資

料を提供できるとかんがえられる。自然界では、遺伝的に見ても表現型から見ても多様なウイルス個体群が宿主と持続的に相互作用していると考えられるが、これまでの研究では、単に均一なウイルスと宿主としてとらえられてきた。そのため、生態学的相互作用の解析においては、実際に起こっている相互作用との間にズレを生じ、流行動態の完全な解

明を妨げる要因の一つとなっていると考えられる。昆虫ウイルスと昆虫個体群との相互作用を理解するためには、ウイルス個体群を多様な遺伝子型の集団としてとらえ、研究を推進すべきである。

2. 研究の目的

本研究課題では、ウイルスの進化や宿主との生態学的相互作用を理解する上で、重要と考えられるウイルスの遺伝的多様性の役割や維持機構について、生態学的な視点から研究を推進する。ウイルスの遺伝的多様性維持機構の一つとして、ウイルス遺伝子型と環境（宿主昆虫や宿主昆虫の寄主植物）との相互作用が考えられる。すなわち、ある環境で適応度が高いウイルス遺伝子型も別の環境では他のウイルス遺伝子型よりも適応度が低くなるというような、環境を介したトレードオフが働いていることが考えられる。本課題では、チャハマキとチャノコカクモンハマキと両種昆虫に感染する昆虫ポックスウイルスをモデル系として、環境を介したトレードオフについて解析し、ウイルス遺伝子型の適応度が環境によってどのように変化するかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ハマキガの昆虫ポックスウイルスの性状解析

ゲノムの制限酵素パターンやハイブリダイゼーションによって他の昆虫ポックスウイルスと比較した。また、遺伝子を解析し、系統解析を行った。

(2) 簡易同定法および多様性解析法の開発

性状解析の結果得られた情報を利用し、PCR法や制限酵素、サザンハイブリダイゼーション法による解析を用いてウイルス種の同定とゲノムの多様性を解析する方法を開発した。

(3) 野外ウイルス個体群の遺伝的多様性

野外からウイルス感染虫を採集し、ウイルスを分離精製した。分離した昆虫ポックスウイルスに多数のウイルス遺伝子型が含まれている場合には、*in vivo* クローニング法により純化ウイルスを得た。得られた多数のウイルスは、ゲノムの制限酵素断片長解析 (RFLP) とサザンハイブリダイゼーション法により、ゲノムの変異を検出した。

(4) ウイルス遺伝子型と環境との相互作用の解析

数ウイルス遺伝子型を用い、チャハマキとチャノコカクモンハマキに対して生物検定を行った。感染率やウイルス生産性について調査した。宿主と餌とウイルス遺伝子型について相互作用の存否を調査した。

4. 研究成果

(1) ウイルスの性状解析と簡易同定法の開発
ハマキの昆虫ポックスウイルスをウイルス学的に性状解析し、Family: Poxviridae、Subfamily: Entomopoxvirinae、Genus: Betaentomopoxvirus と同定した (図1)。

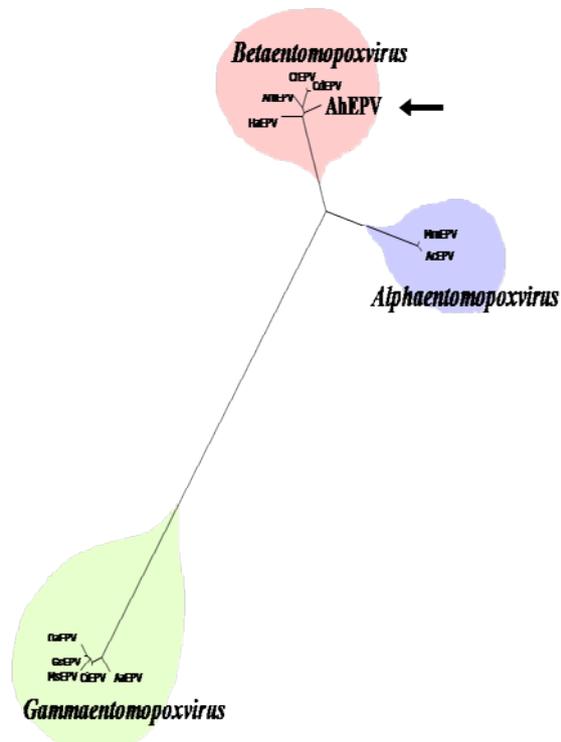


図1 ハマキガの昆虫ポックスウイルス (AhEPV) の系統学的な位置。Betaentomopoxvirusに属する。

また、野外から採集した感染虫から分離純化したウイルスを、構造蛋白遺伝子のPCR-RFLP法および、ウイルスゲノムのRFLPとサザンハイブリダイゼーションによって、ウイルス種の同定を行うとともに、変異を検出した (図2)。

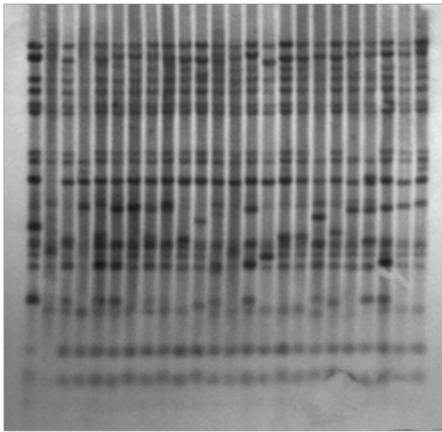


図2 ハマキガの昆虫ボックスウイルスのゲノムのサザンハイブリダイゼーション解析。

(2) ウイルス個体群の遺伝的多様性

ウイルス種内の変異が研究期間を通じて著しく高いことが明らかとなった。特徴として、個体群中に頻度1で出現する多数のウイルス遺伝子型が存在した(図3)。

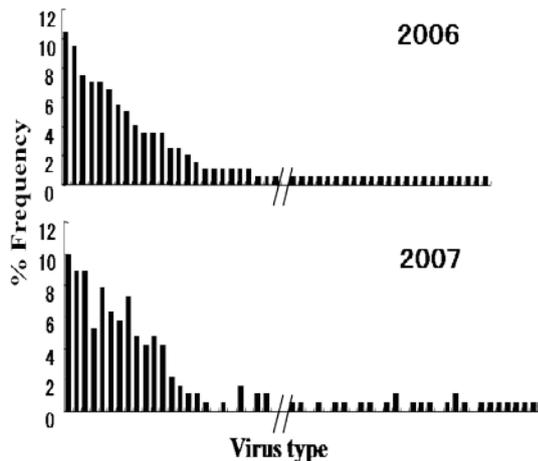


図3 野外から分離したウイルスの遺伝子型の頻度。

(3) ウイルス遺伝子型と環境との相互作用の解析

この多様性が維持される機構の1つとして、ウイルス遺伝子型の適応度が宿主や宿主の寄主植物によって変化することを考え、生物検定を行った。昆虫ボックスウイルスの数遺伝子型を供試し、チャノコカクモンハマキおよびチャハマキに対して、生物検定を行い、感染性や娘ウイルスの生産性を調査した。その結果、ウイルス遺伝子型間に、感染性や生産性に変異があり、それらは、昆虫種によって影響を受けることが明らかになった。また、人工飼料とチャノキおよびマサキを昆虫の

餌として同様に調査したところ、これら昆虫が摂食する餌によっても、感染性やウイルス生産性が影響を受けることも明らかとなった。これらのことから、ウイルス遺伝子型の適応度形質が宿主や宿主の寄主植物と相互作用していることが明らかになった。

(4) まとめ

微生物を用いて害虫を管理する場合、最適なストレインを選び、防除資材として開発し、さまざまな環境で施用しようとするのが一般的である。微生物防除の欠点として防除効果が、環境によって変動し、不安定であることがあげられるが、この一因は、野外では、微生物が宿主に与える影響は、環境によって変化し、いつでも一定ではないためかもしれない。すなわち、ある環境で有利なストレインも異なる環境では、不利で別のストレインの方が有利であるという可能性がある。しかし、このような点は、これまでほとんど研究されてこなかった。本研究は、ハマキガとウイルスをモデルシステムとして研究し、ウイルスの適応度が環境によってどのように変化するのかを明らかにすることを目的とし、これをもって微生物防除の高度化に資することを旨としたものである。本研究から、ウイルス遺伝子型の適応度形質が宿主や宿主の寄主植物と相互作用していることが明らかになった。これらのことから、微生物防除においてストレインを選択する場合、ストレインと環境との相互作用を考慮し、適切に施用することで、より安定した効果が期待できる可能性が示された。

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2件)

- ① 高務淳、昆虫ウイルスとその害虫管理への利用、森林防疫、57、4-11、2008、査読有
- ② Jun Takatsuka、Characterization of a nucleopolyhedrovirus of *Epinotia granitalis* (Lepidoptera: tortricidae)、Journal of Invertebrate Pathology、96、265-269、2007、査読有

[学会発表] (計2件)

- ① 高務淳、島津光明、マイマイガから分離された糸状菌とカシワマイマイのウイルス、第53回日本応用動物昆虫学会大会、2009/3/30、北海道大学
- ② 高務淳、ハマキのウイルスをヨトウで生産する、第52回日本応用動物昆虫学会大会、2008/3/27、宇都宮大学

[図書] (計1件)

- ① 高務淳、微生物の事典、朝倉書店、
300-301、2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高務 淳 (Takatsuka Jun)

独立行政法人 森林総合研究所・森林昆虫

研究領域・主任研究員

研究者番号：80399378

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：