

害虫個体群の制御

農作物の生物的害虫防除



生物間相互作用

分析的アプローチ



アワヨトウ: 牧草の害虫とその内部寄生バチ
長距離移動飛翔昆虫: 中国から飛来し、大発生する



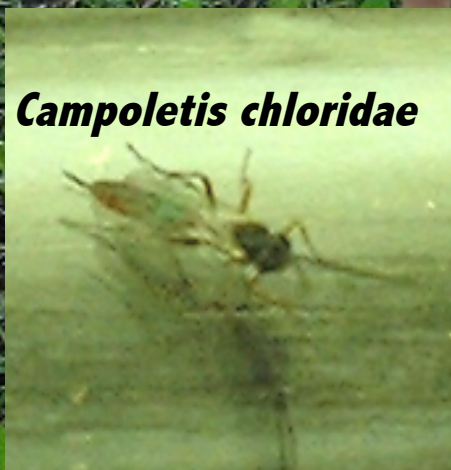
Cotesia kariyai



Cotesia ruficrus



Microplitis mediator



Campoletis chloridae



Meteorus pluchricornis



外部寄生バチ

Euplectrus separatae

生き物間相互作用

寄主側－排除する戦略



寄生する側－排除されない戦略



寄主の生理状態を制御する
外部・内部寄生バチ

内部寄生バチと寄主との関係

1. 免疫

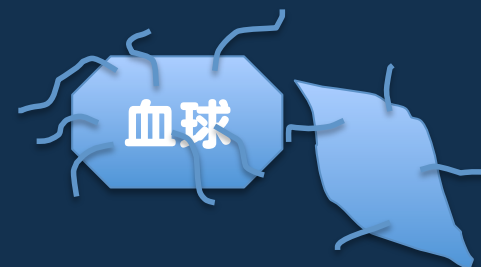
- a. 寄生される側の防御応答
- b. 寄生する側の制御

2. 寄生バチの食糧の確保

3. 寄生バチと農薬の苦い関係

寄生される(寄主)側の応答

1. 寄生バチのような大きな異物 → 細胞性防御応答

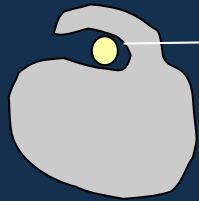


2. 化学物質、細菌やバクテリア → 液性防御応答

抗菌物質/
解毒代謝酵素等の
誘導

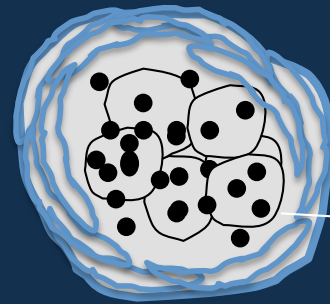
体内に侵入した異物に対する細胞性防御応答

1. 食作用(phagocytosis)



細菌など

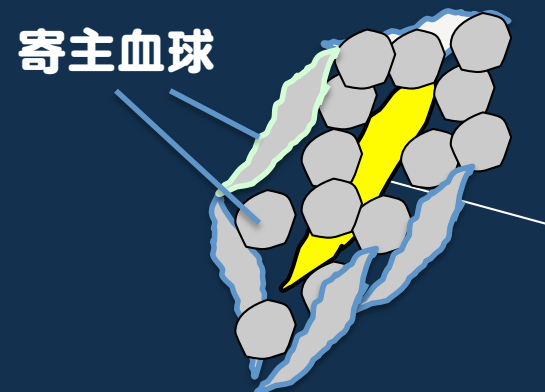
2. 小結節形成(nodule formation)



細菌

3. 包囲作用(encapsulation)

寄生蜂卵など
血球より大きい異物



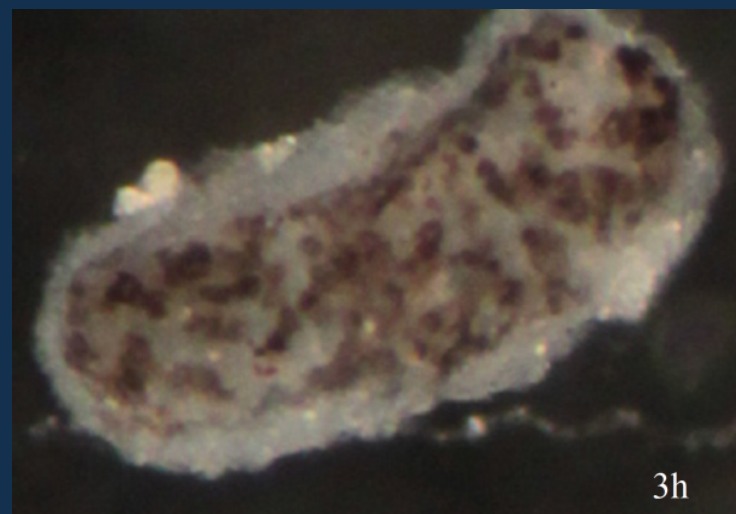
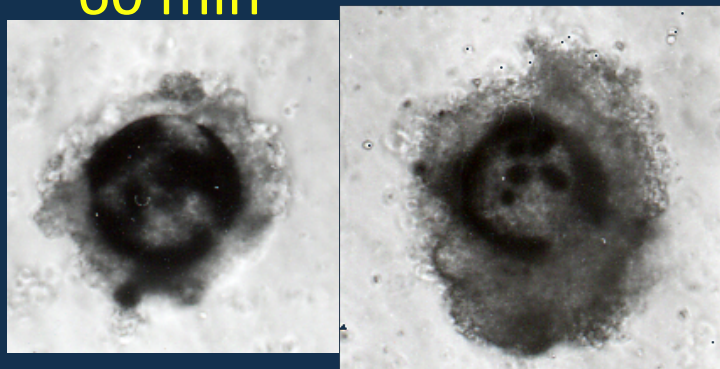
寄生バチの卵

包囲作用

人工的に注入
寄生バチの幼虫のみ

Sephadex beadsの注入

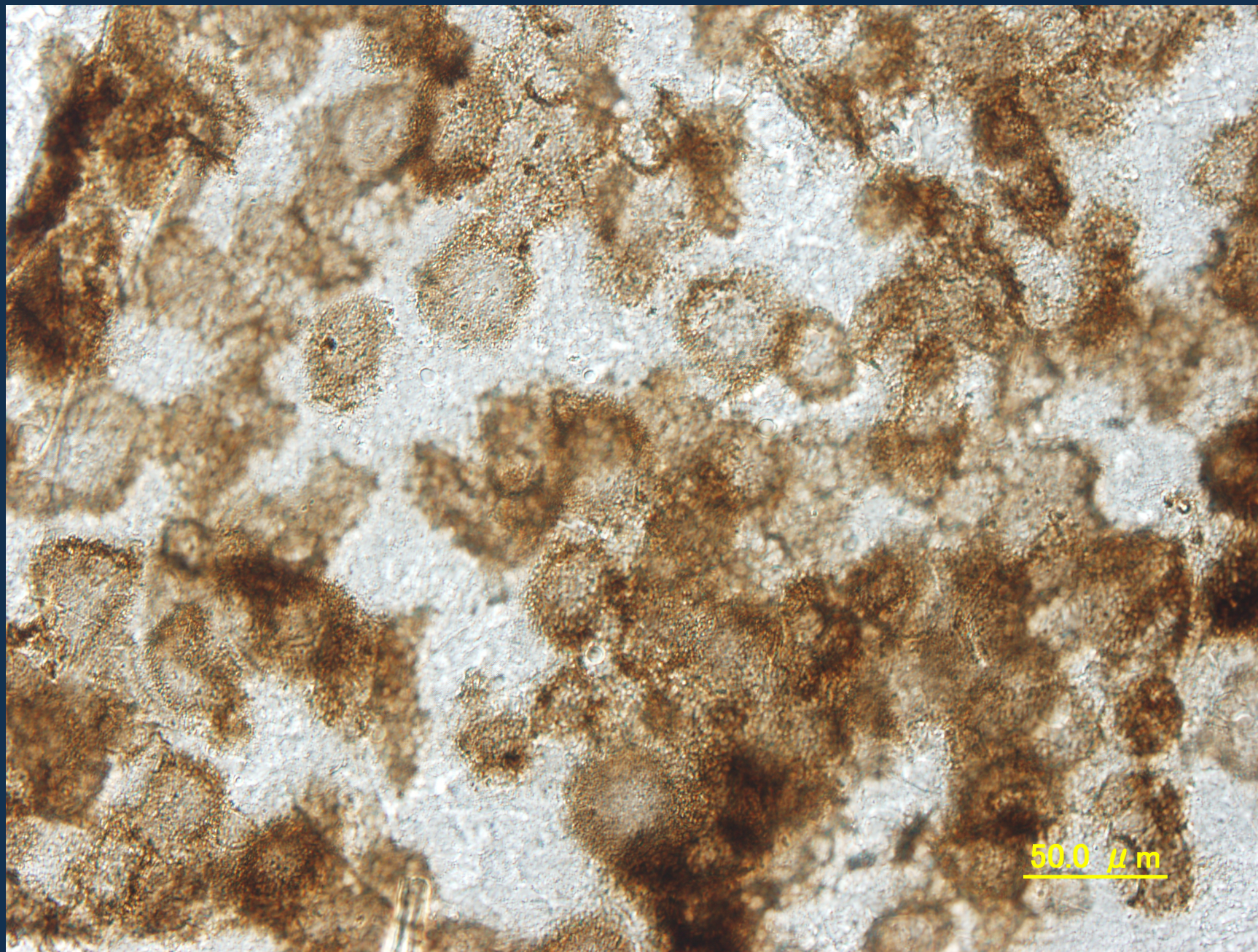
60 min



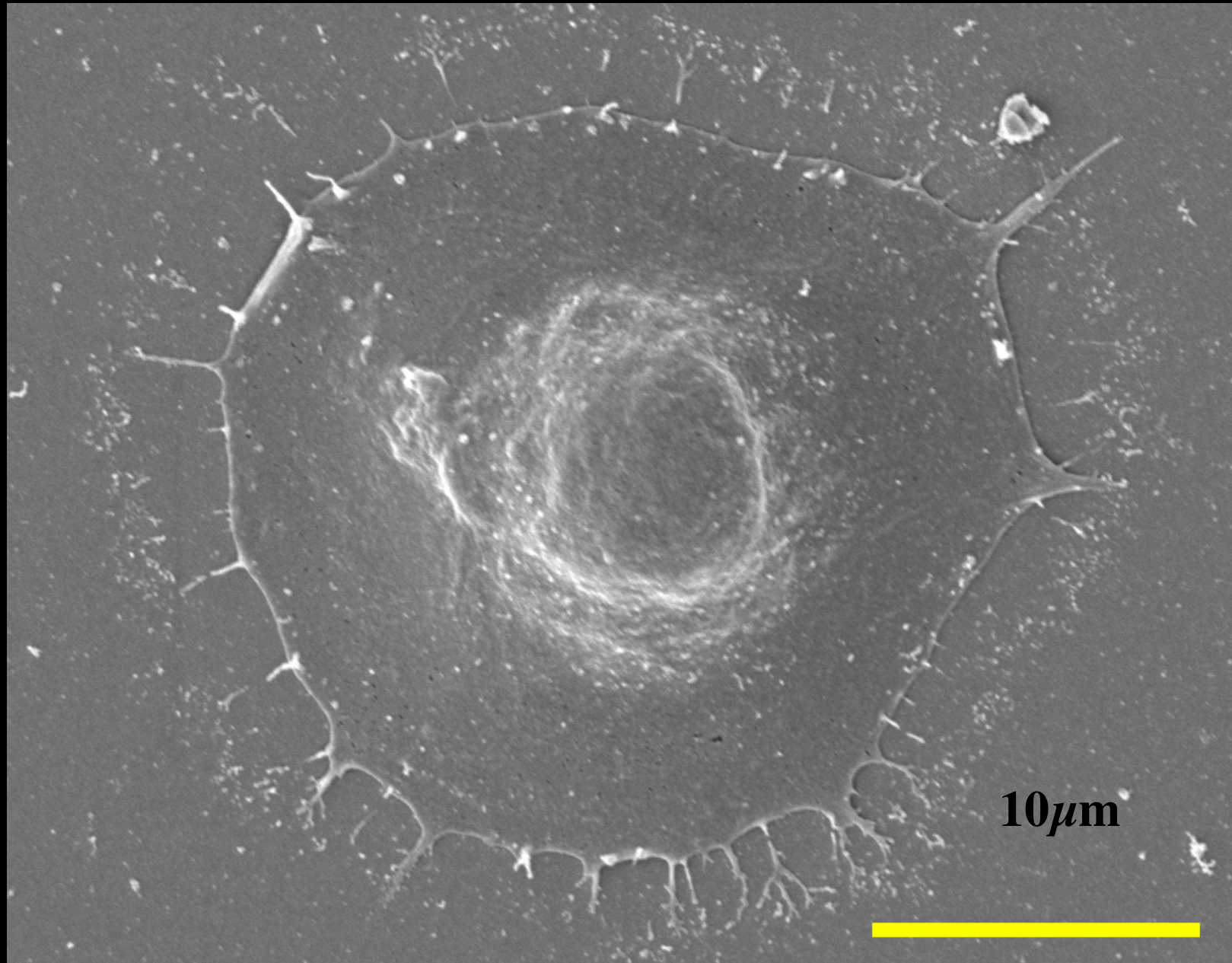
**包囲化では必ず異物表面に
メラニン化が起こる**

包囲作用に大きな意味を持つ血球種に着目

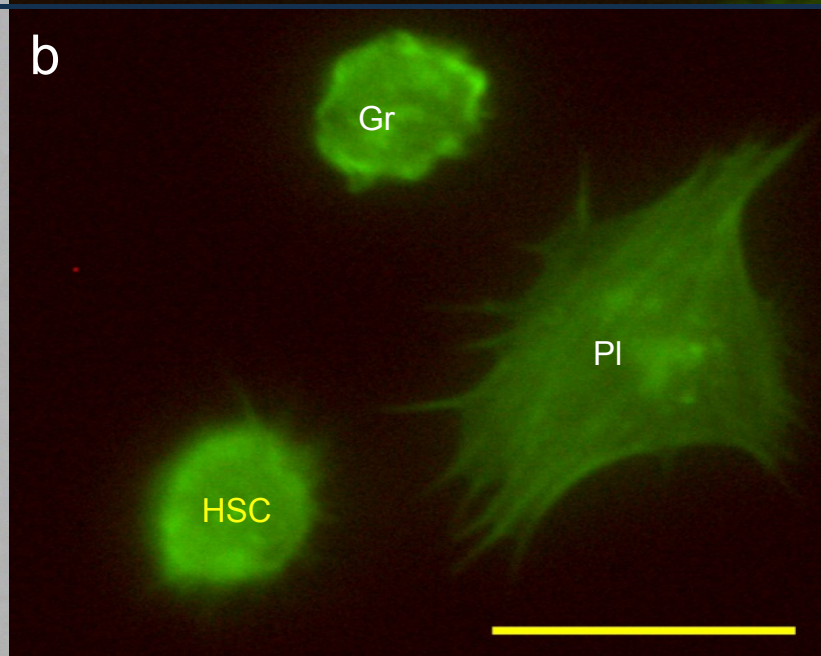
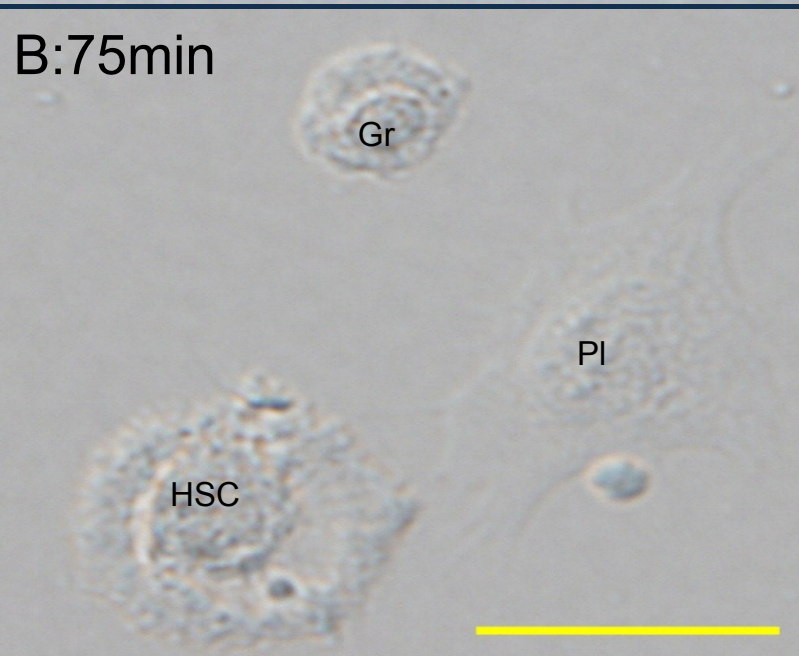
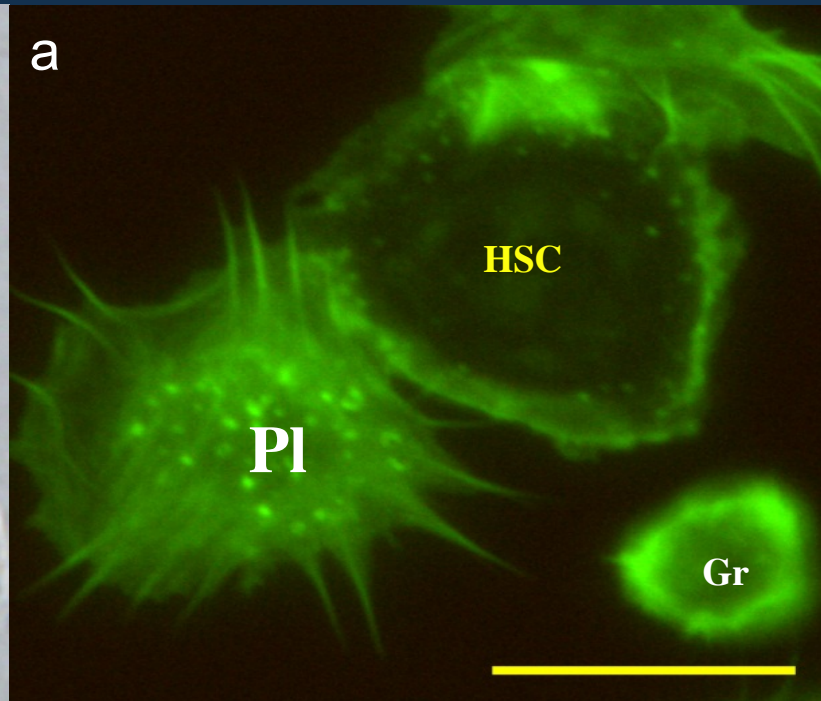
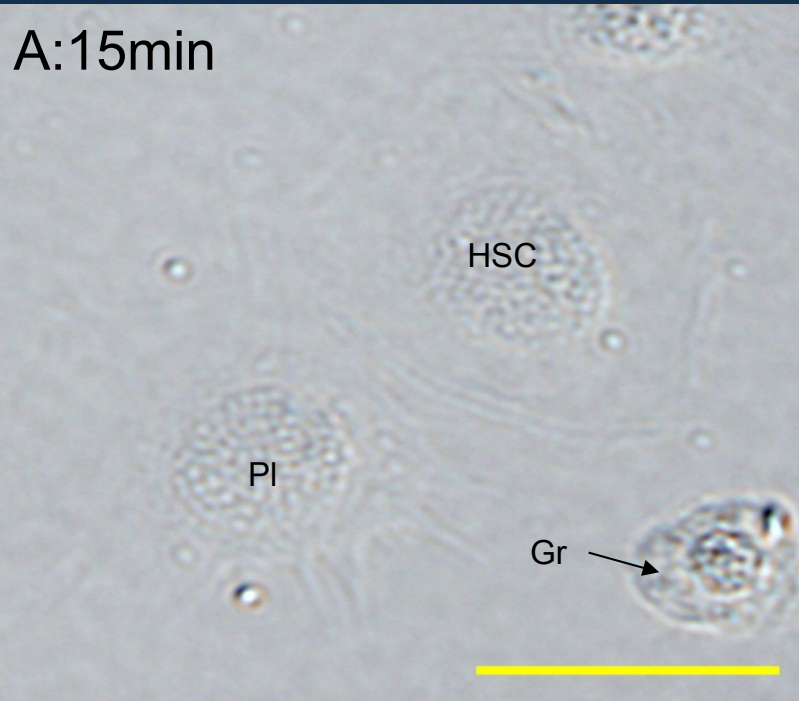
異物(寄生バチ) の表面の状態



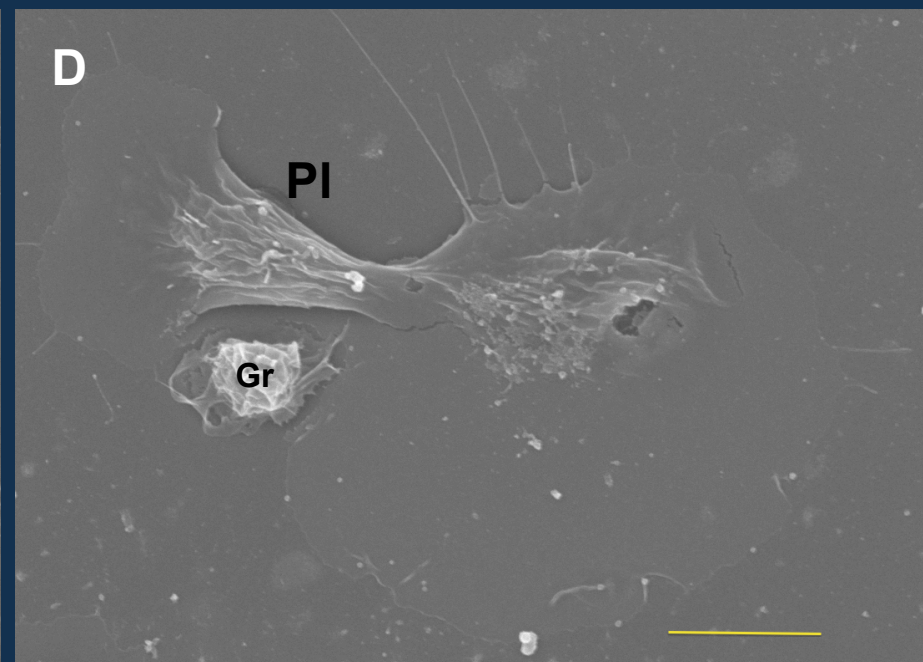
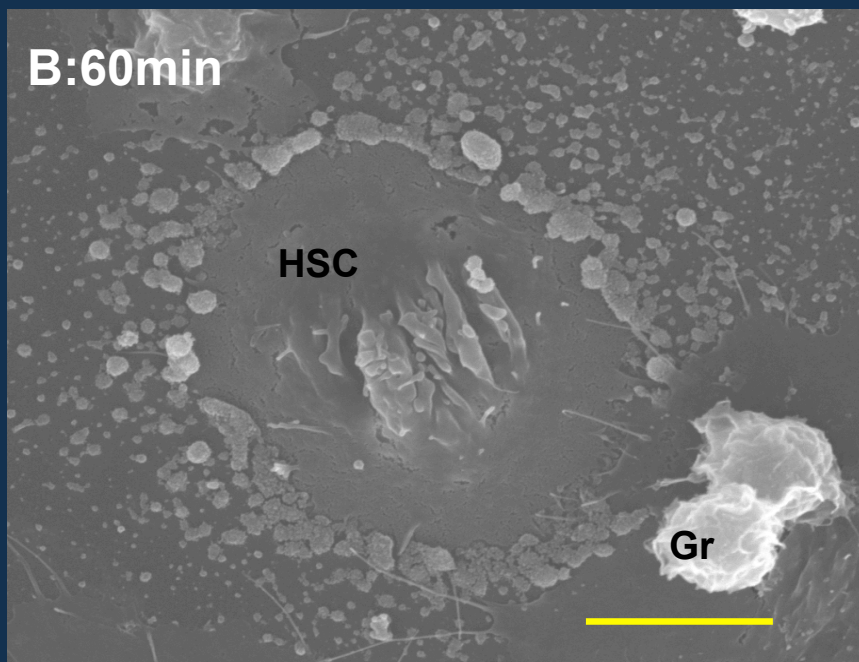
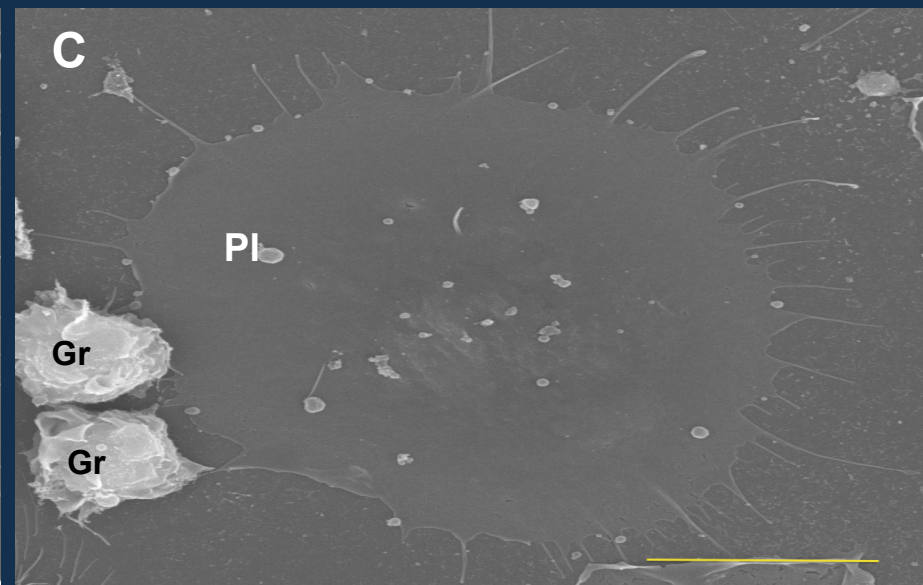
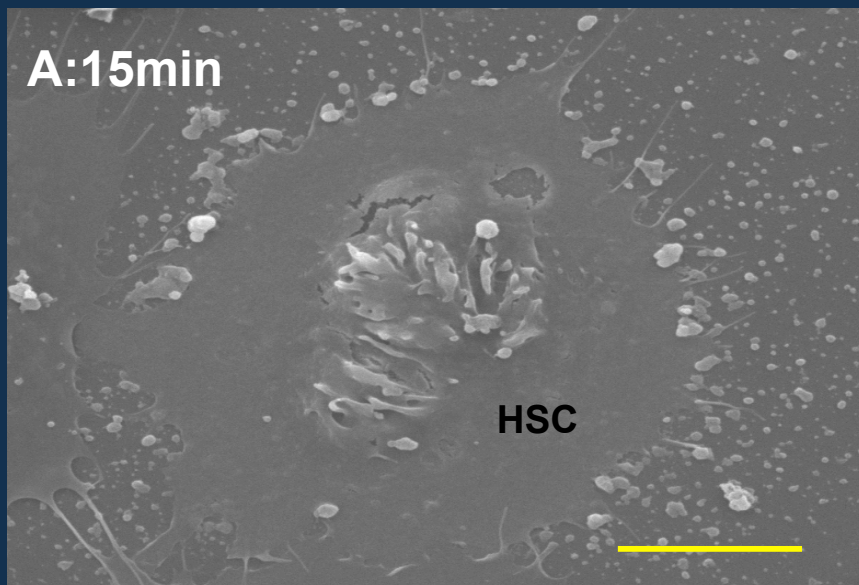
メラニン化を伴う血球種



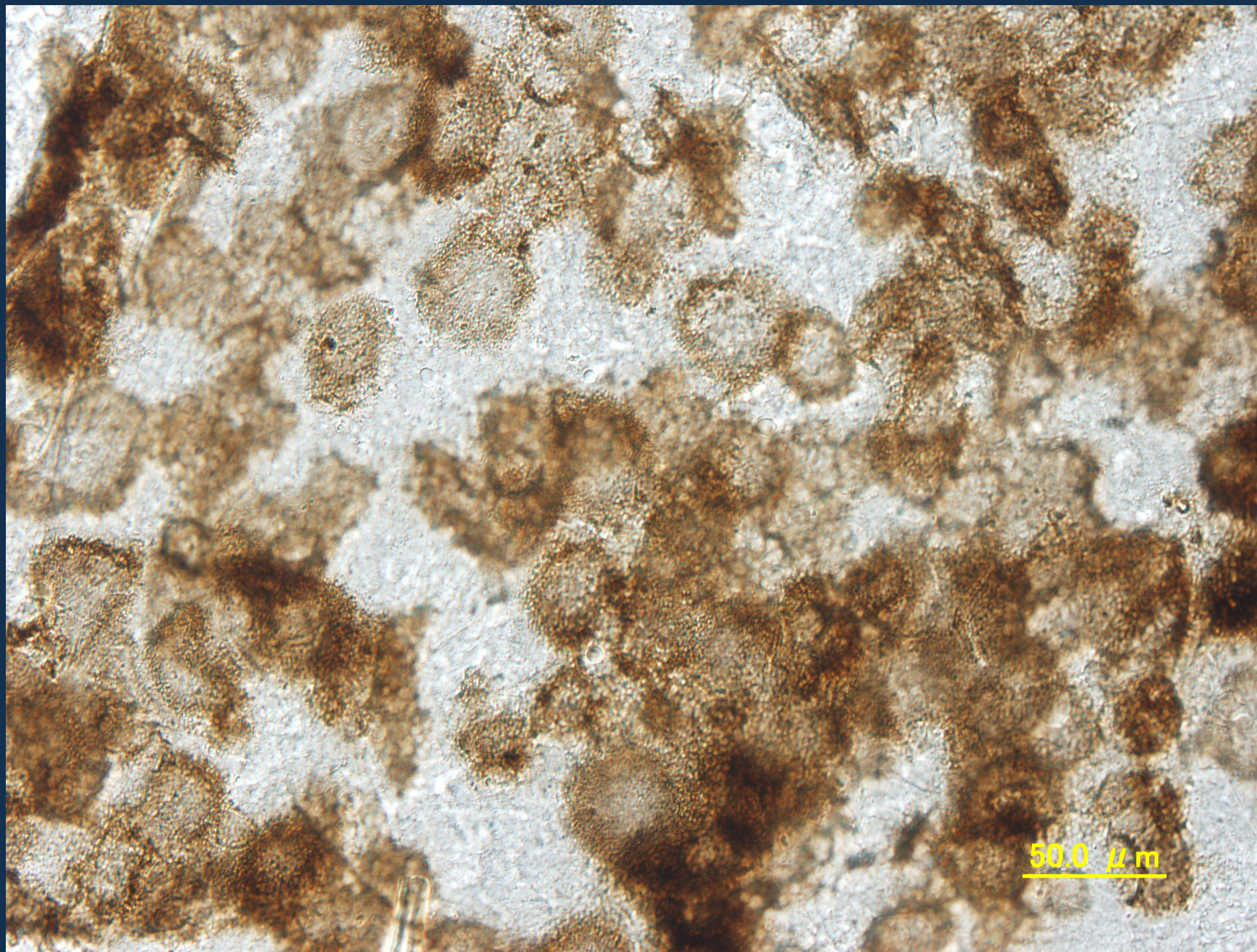
アクチンの染色 (FITC-phalloidin)

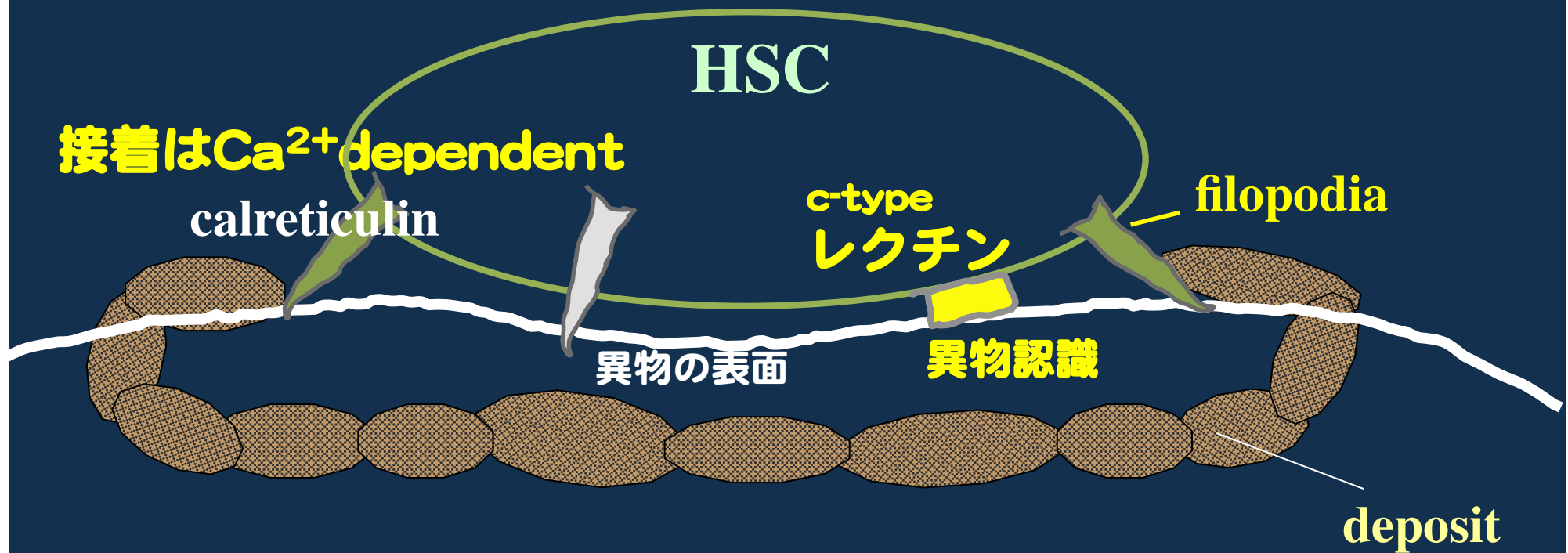


HSCとプラズマ細胞の違い



異物(寄生バチ) の表面に付着したメラニン化する血球





1. 細胞の周りにdepositを形成し、メラニン生成に関与するフェノール酸化酵素(PO)やPO活性化酵素などを分泌
2. メラニンを形成し、他の血球を呼び寄せるマーカーの役

中に入った寄生バチに必要なこと

1. 寄主の持つ生体防御反応の回避

昆虫免疫学

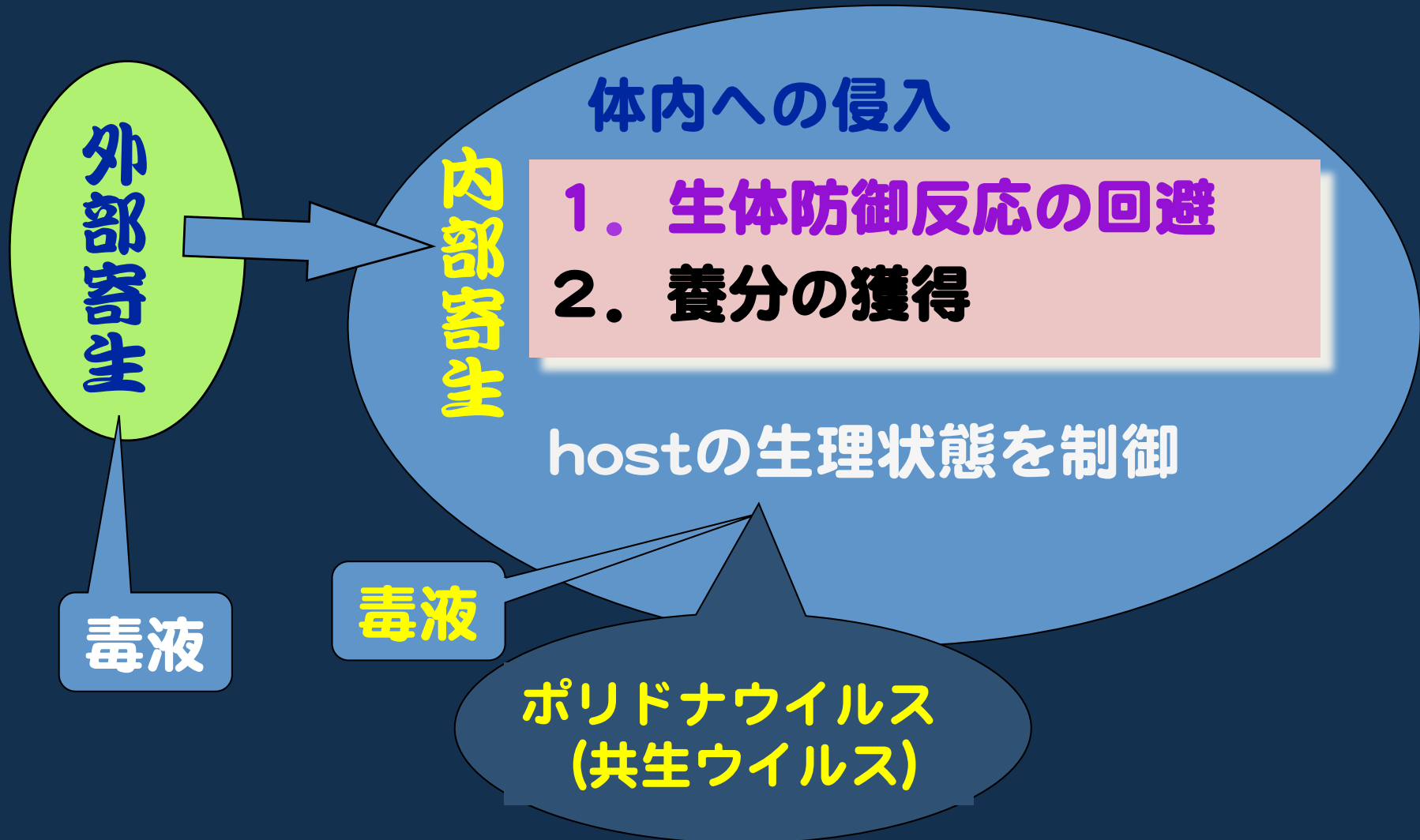
血球による防御反応を逃れる：
細菌などの感染に対応できる体制は維持

2. 寄主から養分をもらう

昆虫栄養学

相手にダメージを与えない仕組み

寄生における進化



寄主調節因子

産卵時に卵と共に寄主に注入する

1. 毒液 (Venom)
2. ポリドナウイルス (PDV)

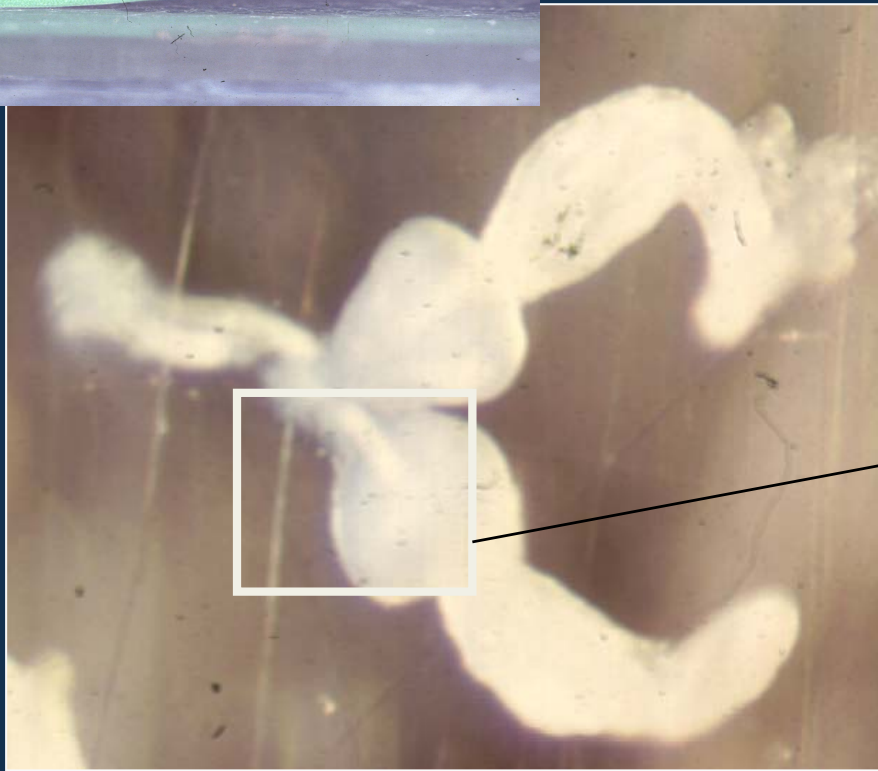


毒液

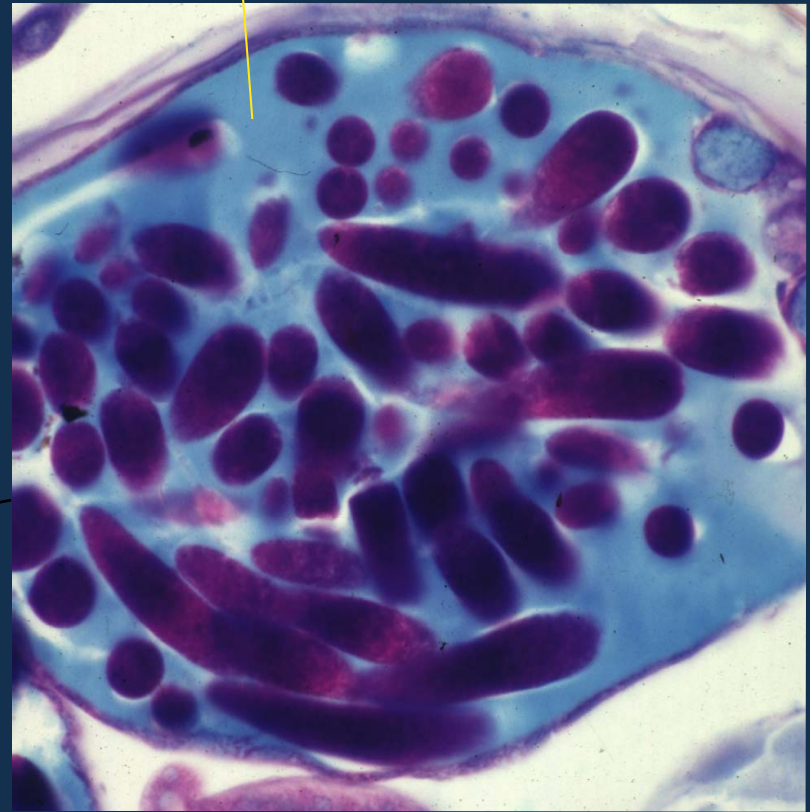
PDV

テラトサイト

ポリドナウイルス

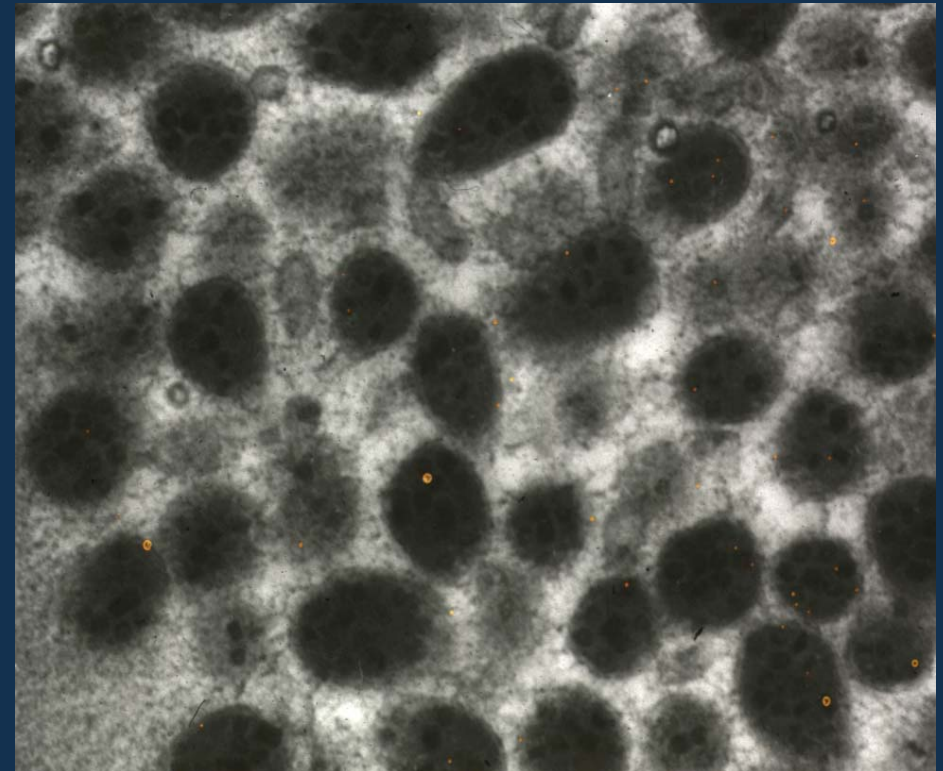
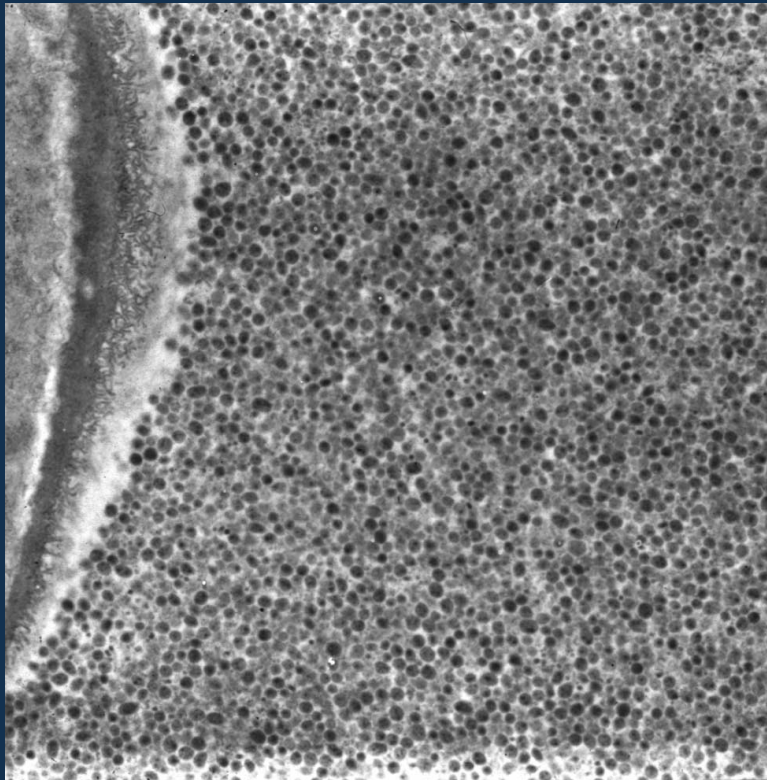


核酸を染める染色
フォイルゲン染色



内部寄生バチがもつポリドナウイルス

(カリヤコマユバチ)



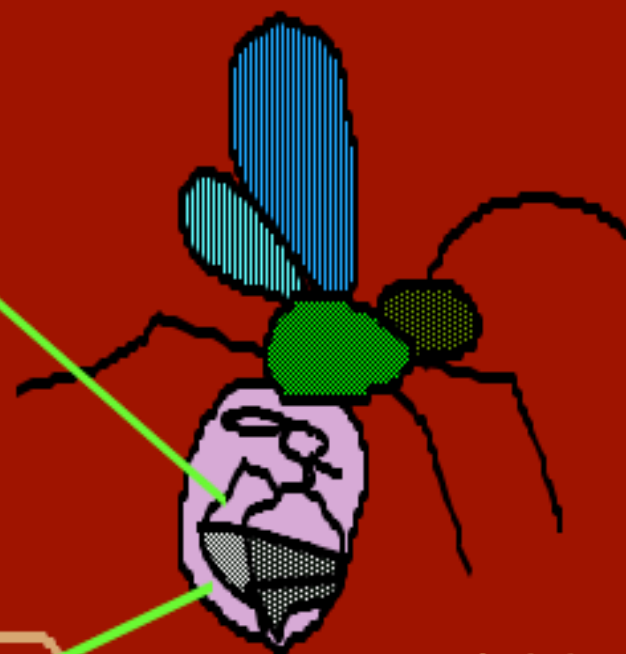
プロウイルス

ポリドナDNA

ハチ



染色体外DNA



寄主細胞



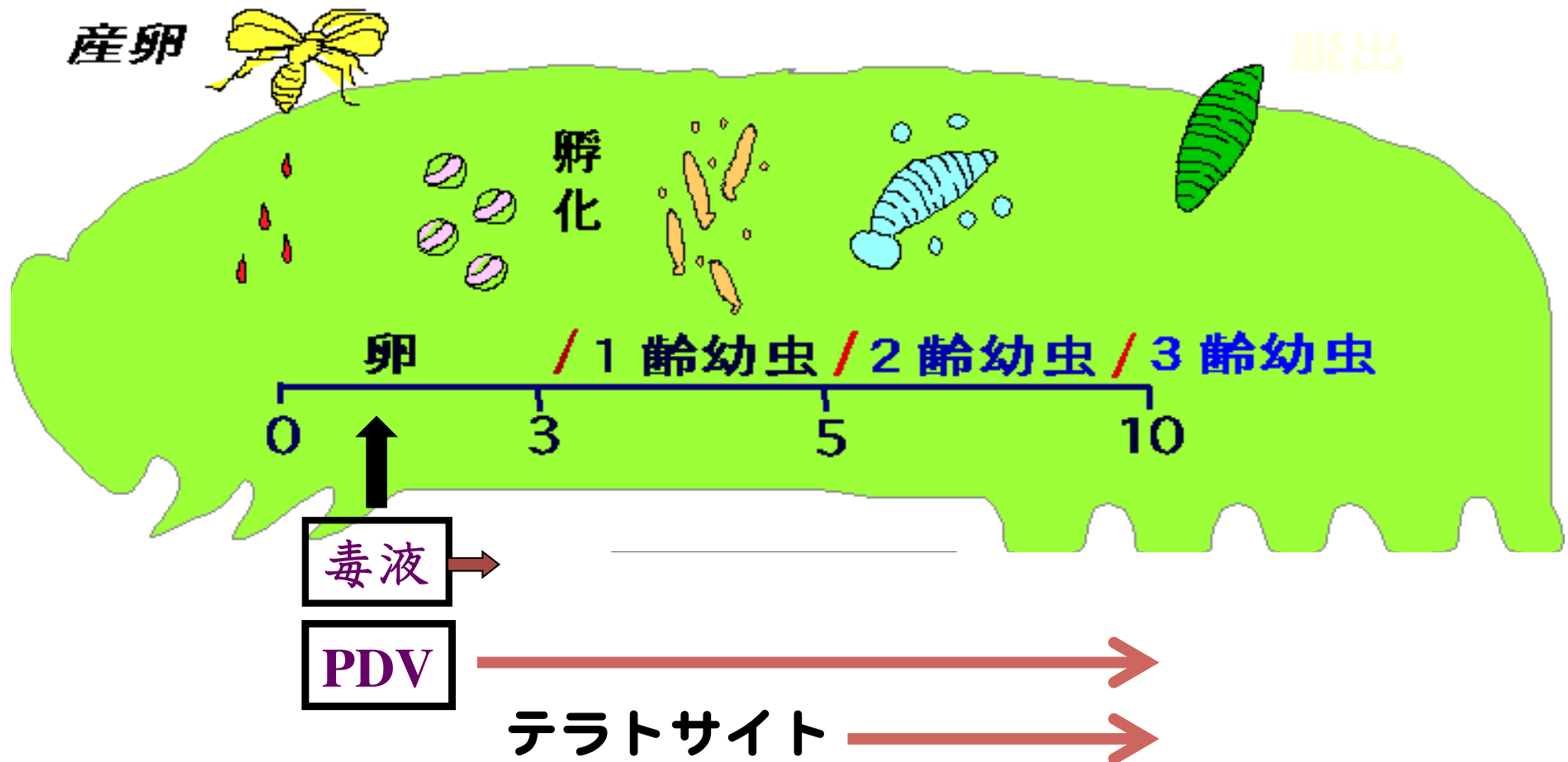
侵入
増殖はしない

寄主調節因子

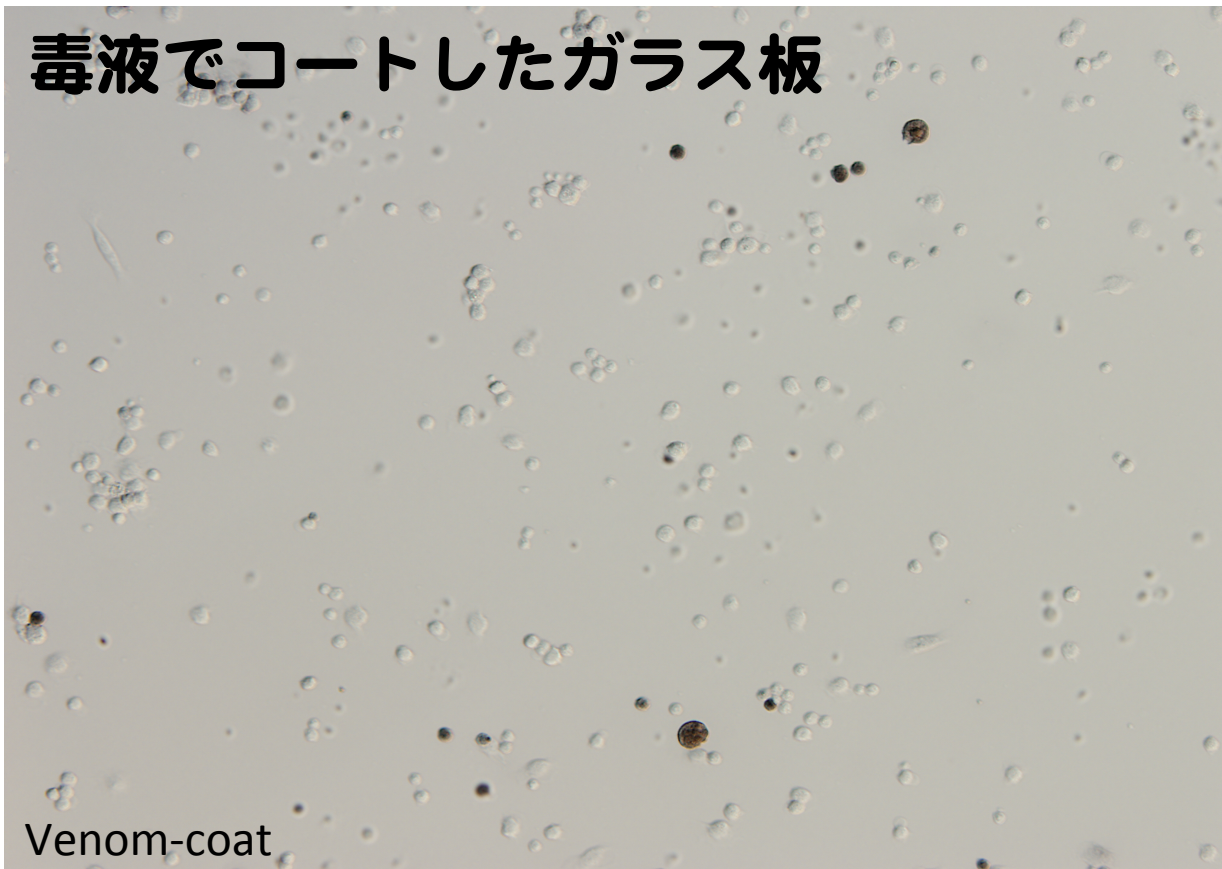
寄生初期から働く要因

寄主が異物を包囲化するには十分な時間

1. 毒液 (Venom)
2. ポリドナウイルス：主な遺伝子の発現まで1時間

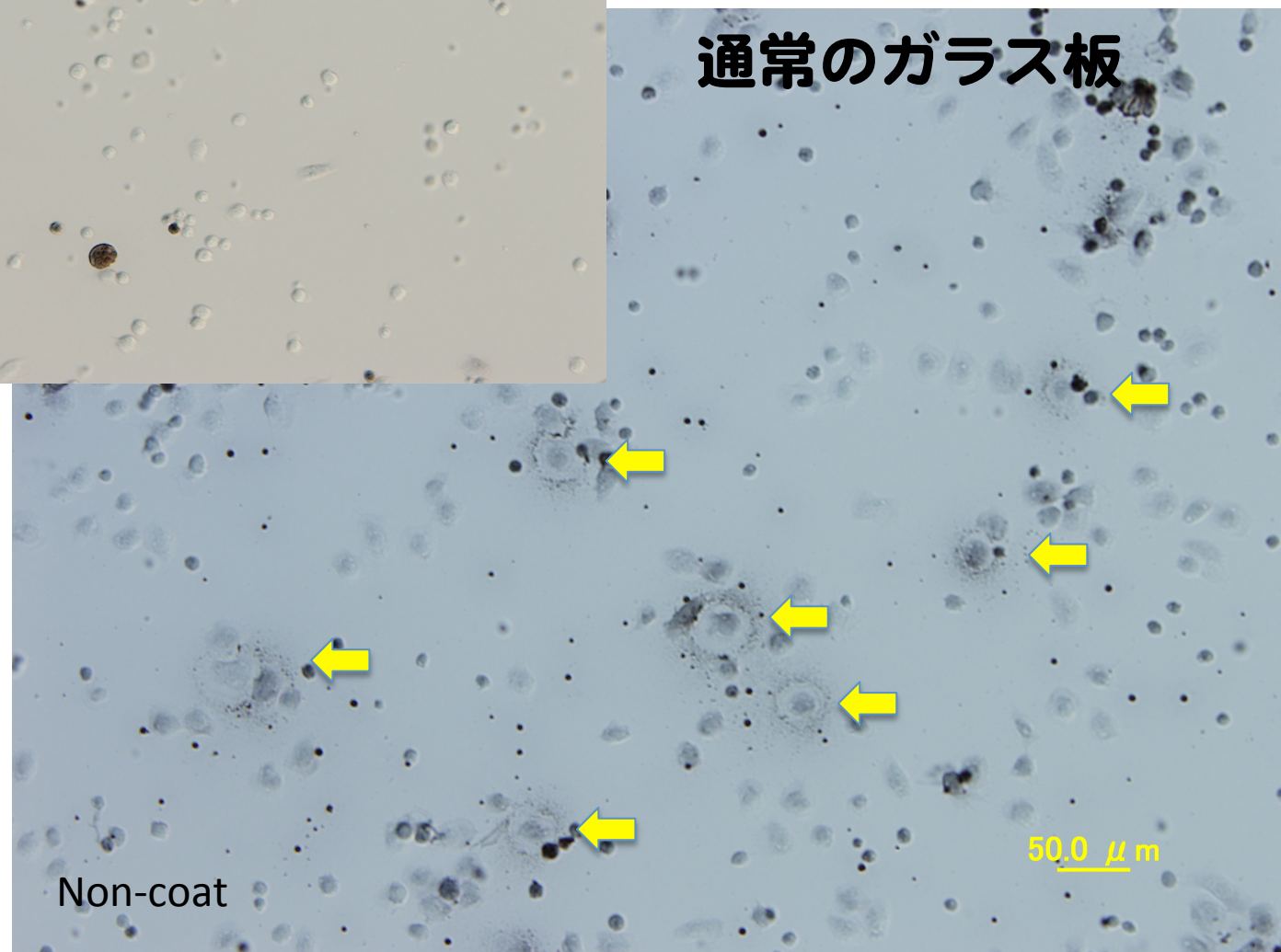


毒液でコートしたガラス板



Venom-coat

通常のガラス板

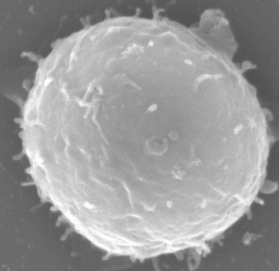


Non-coat

50.0 μ m

毒液(venom)の血球への影響

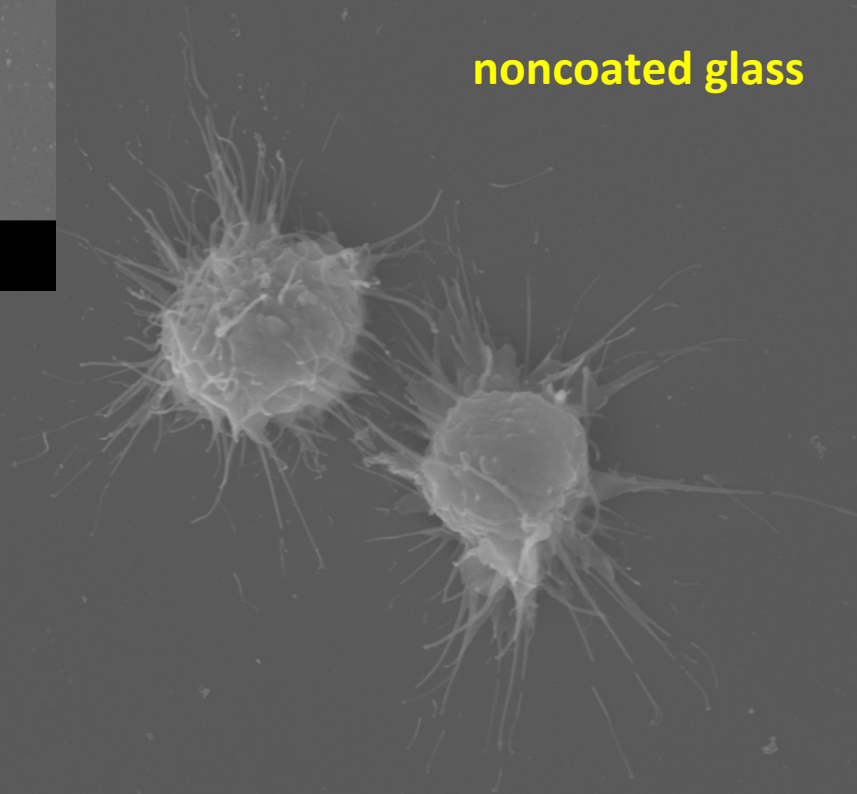
venom-injected V-coated glass



21-Sep-12

WD15.0mm 15.0kV x5.0k 10um

noncoated glass

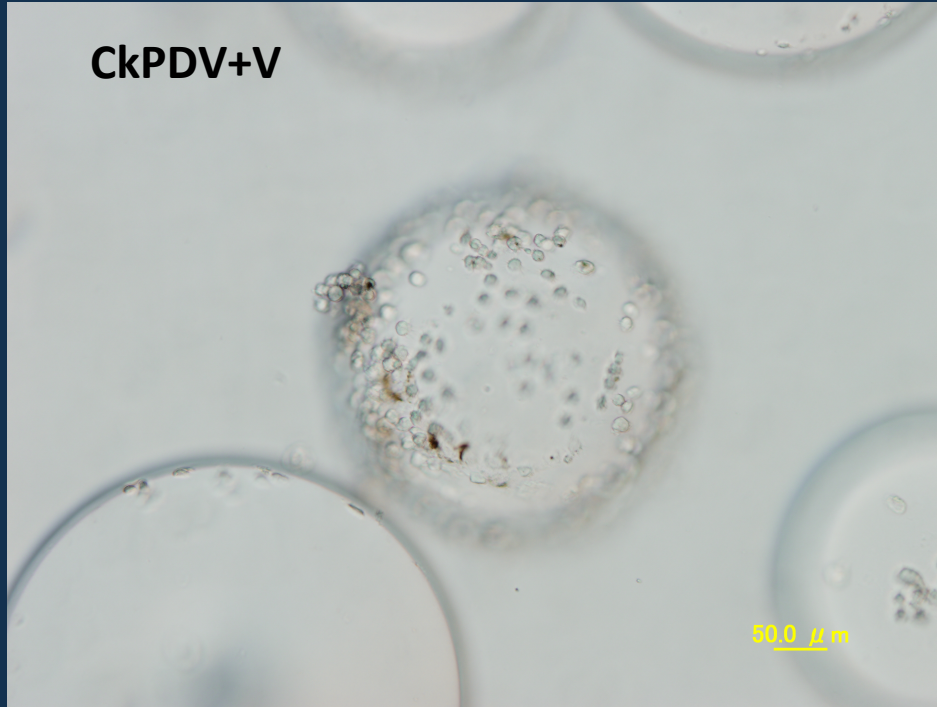


21-Sep-12

WD15.0mm 15.0kV x2.7k 10um

ポリドナウイルス+毒液を注入した寄主にBeadsを注入

CkPDV+V



Contr.



寄主の免疫をコントロール

毒液の作用： 寄生直後-2時間くらい

PDVの作用： 1.5時間以降

接着阻害

リン酸化阻害

アクチンの伸展阻害

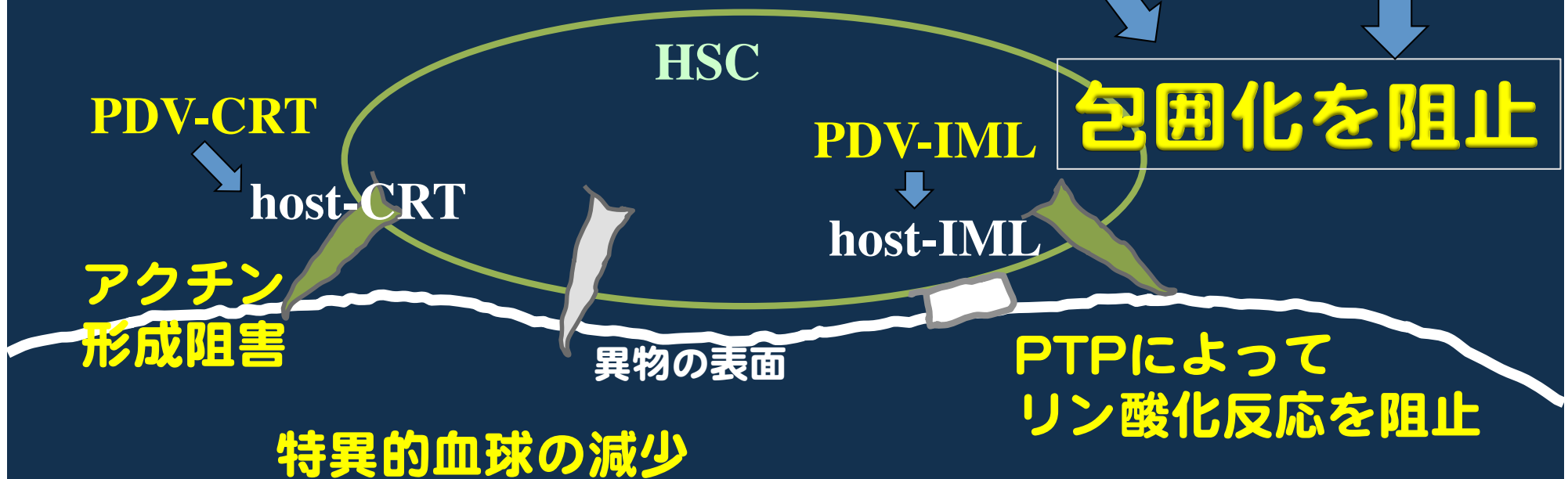
寄生バチの毒液およびPDVに存在する因子

*PDV-IML(Immunelectin) → host-IML

*PDV-CRT(Calreticulin) → host-CRT

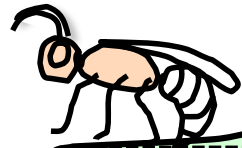
*PDV-Protein tyrosine phosphatase (PTP)
脱リン酸化酵素

競合阻害



メラニン沈着に関与する
酵素群がはたらかない？

細胞性免疫制御機構



PDVによる制御

異物認識、包囲化の阻止

アポトーシス誘導

PDV遺伝子発現による脱リン酸化や
アクチン阻害による伸展の阻止

血球

受容体の拮抗阻害

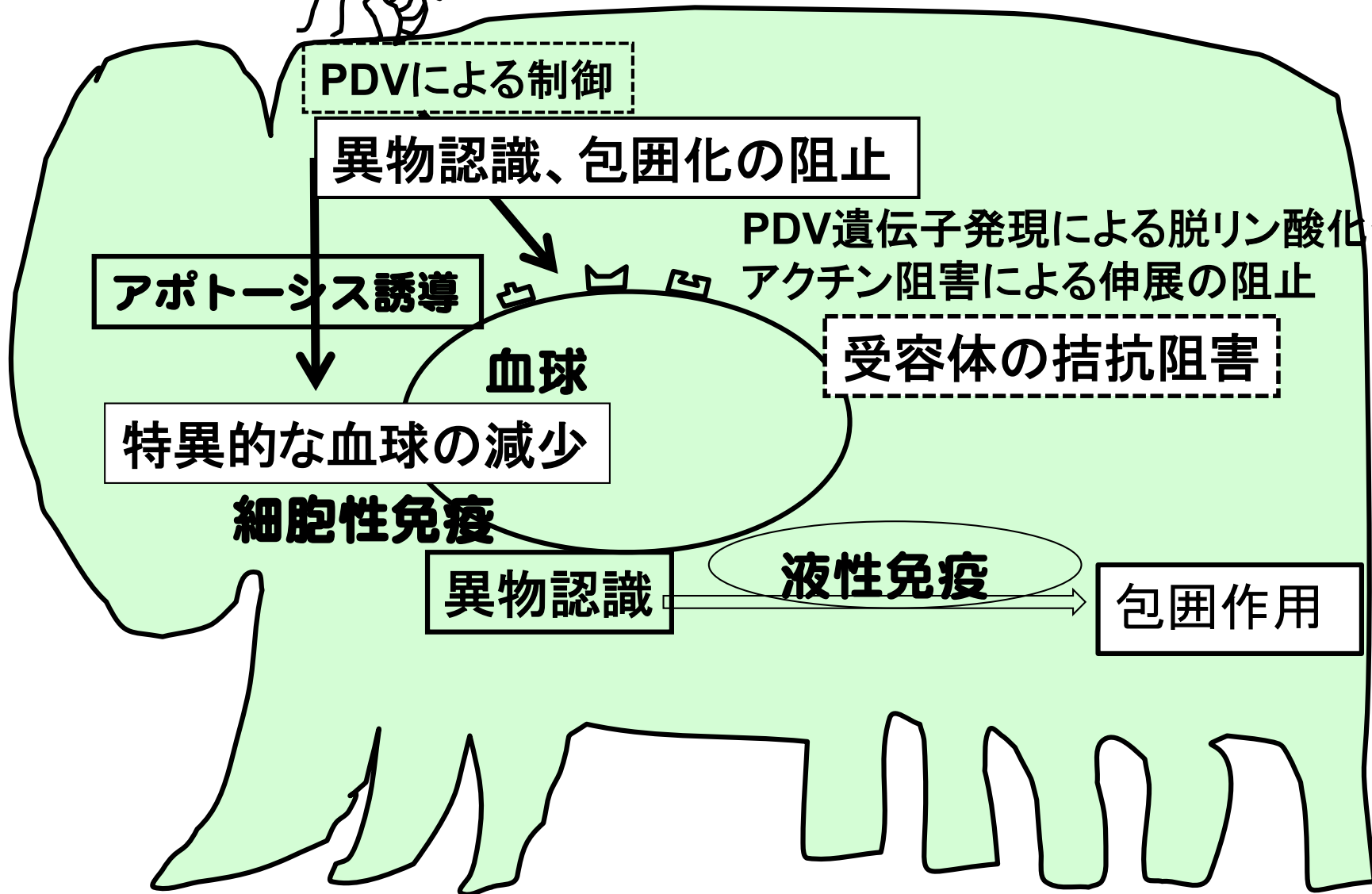
特異的な血球の減少

細胞性免疫

異物認識

液性免疫

包囲作用

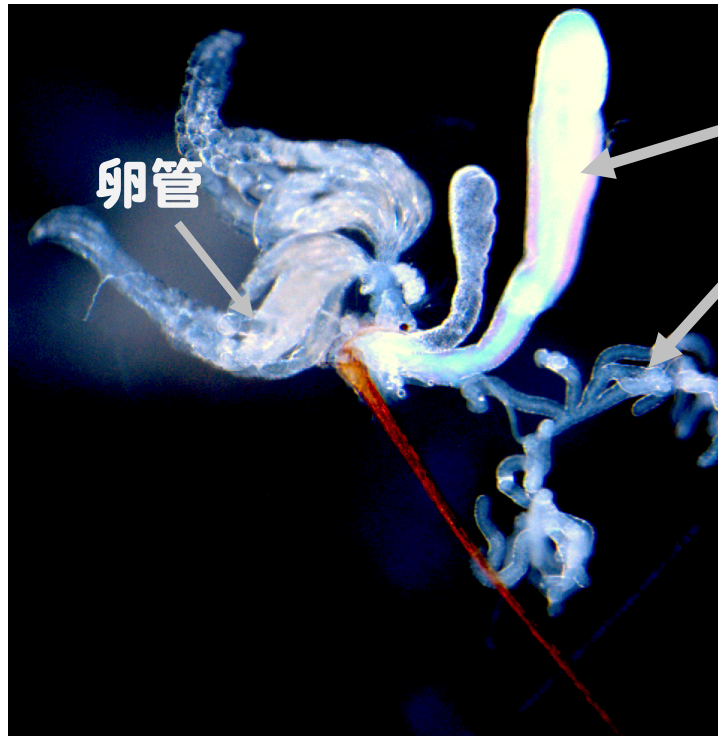


**共生ウイルスとは違った核酸ではなく
タンパク質からなるウイルス様粒子を持つ内部寄生バチ**

寄主の免疫反応の回避機構



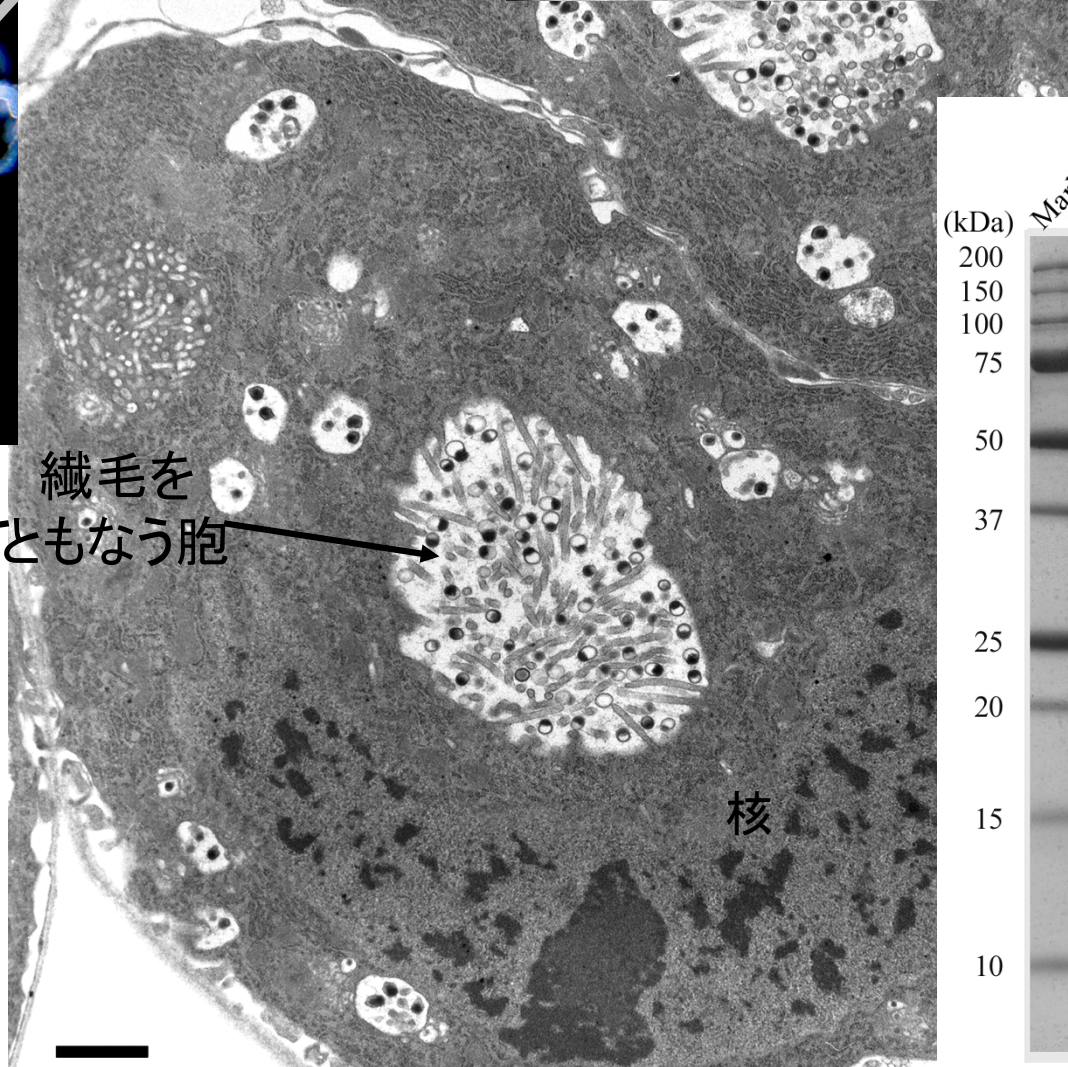
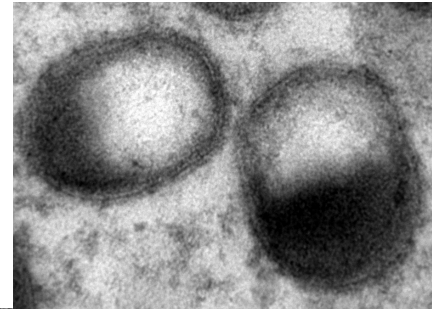
核酸を持たないタンパク粒子MpVLPを毒腺で生産する



毒嚢

毒腺

卵管



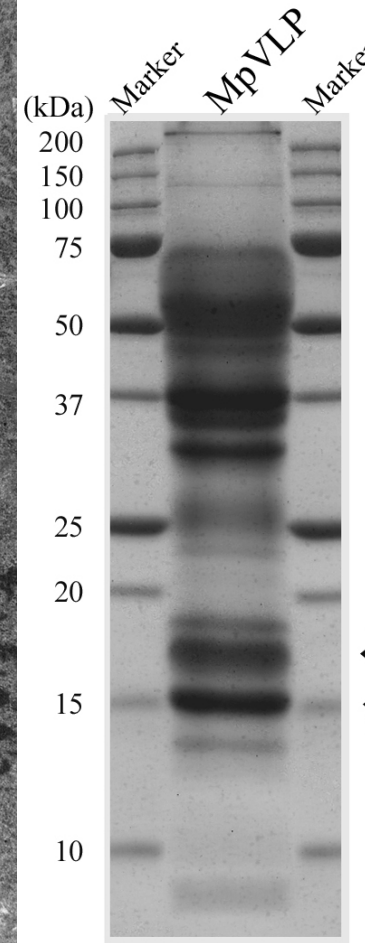
繊毛をともなう胞

核



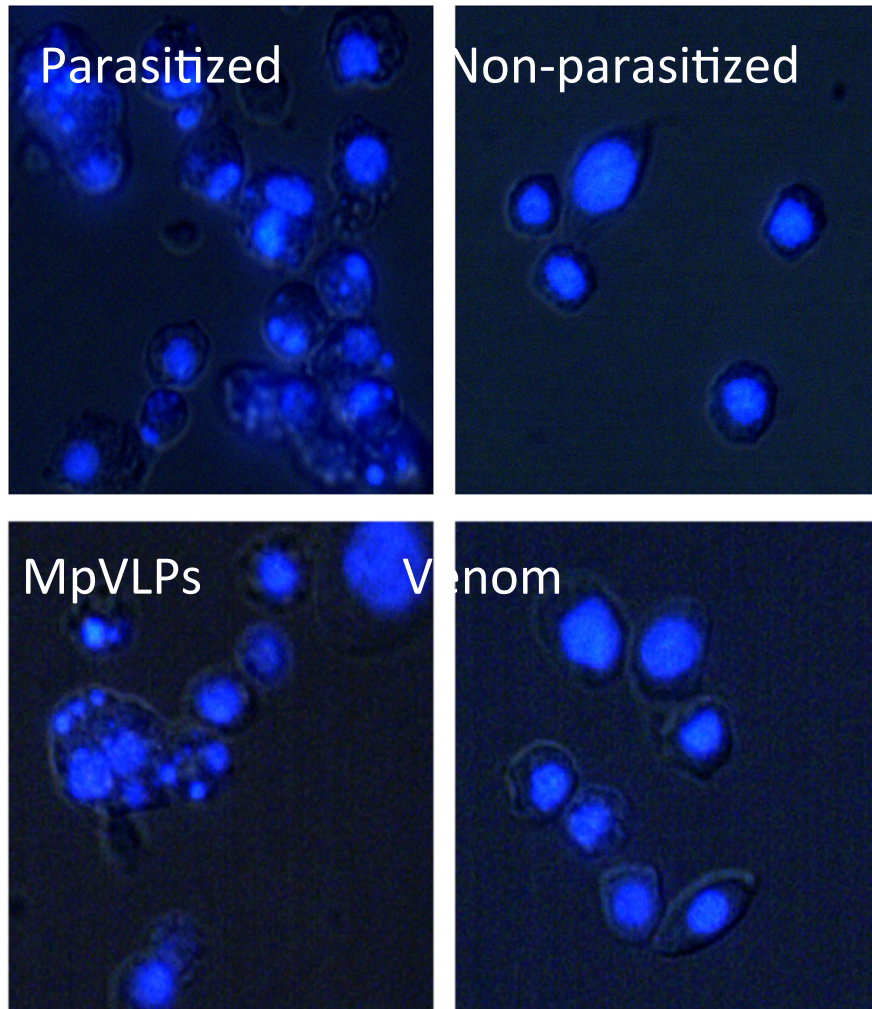
毒腺細胞

Common Duct

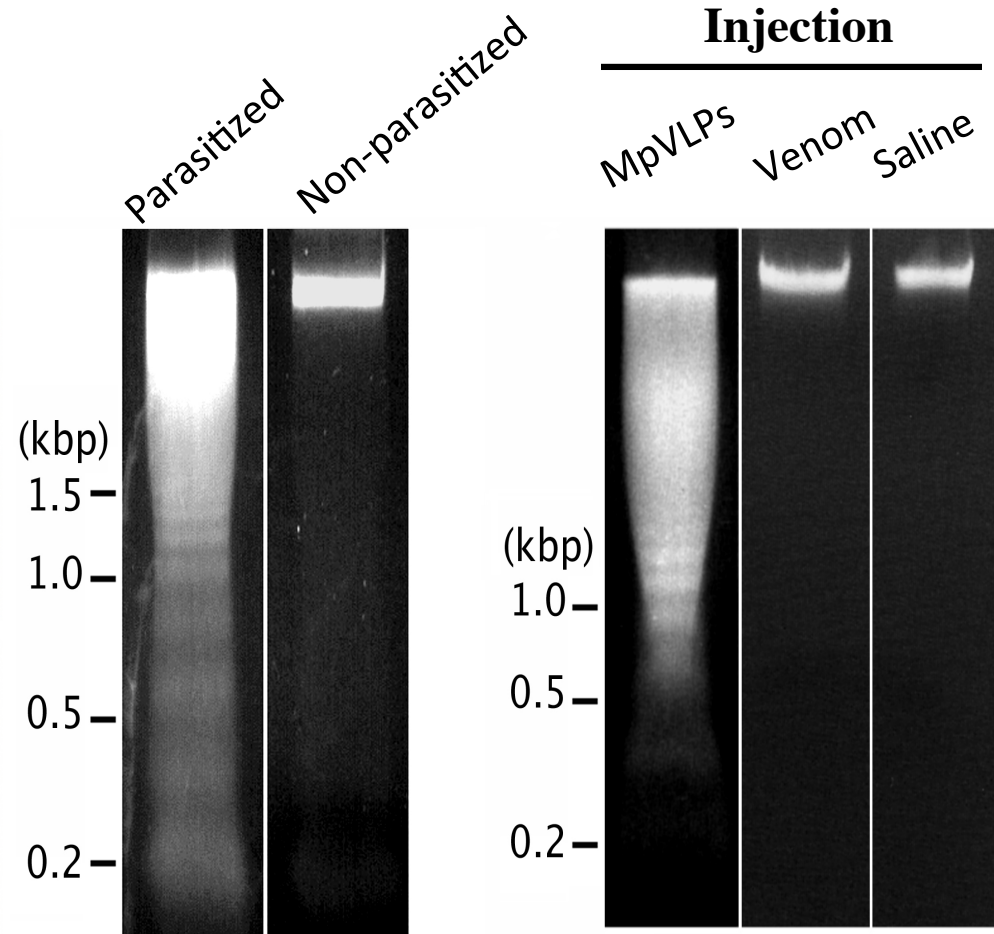


寄主血球における核凝集と断片化

Hoechst33342染色

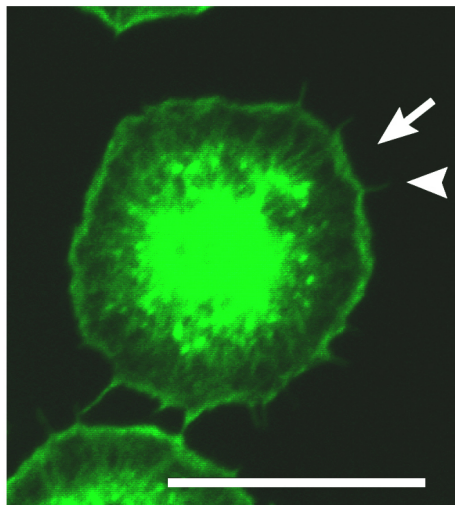


Injection



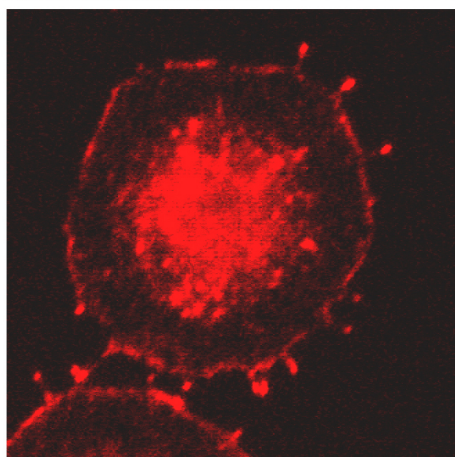
血球における糸状仮足/葉状仮足 および接着斑の形成

F-actin染色



葉状仮足

糸状仮足



接着斑

Phosphotyrosine抗体染色

接着斑

- ・ 機械的な力を発揮
- ・ シグナル伝達の間
(チロシンキナーゼ(FAK)
によるリン酸化)

糸状仮足や葉状仮足の伸展



新たな接着斑の形成

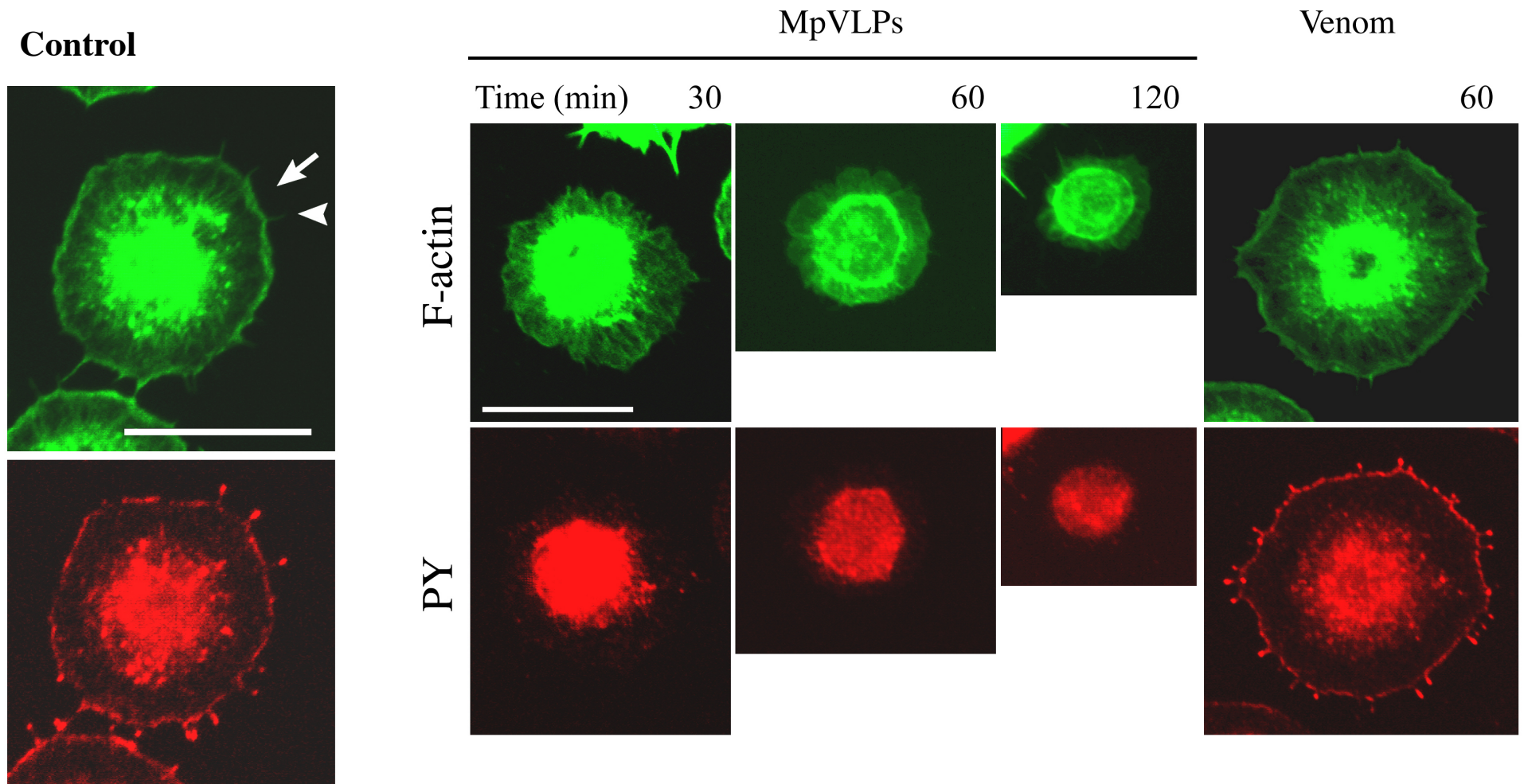
古い接着斑の崩壊

ストレスファイバーの形成、
接着斑への架橋



新たな接着斑の形成

MpVLPは顆粒細胞のPhosphotyrosine clusterの消失と糸状仮足/葉状仮足の退縮を引き起こす



寄生の非常に早い時期におけるアポトーシスに 先行した寄主の包囲作用回避手段として

共生ウイルスを持たない
寄生バチ



異物表面への付着
ができない

接着斑のリン酸化の阻害で
糸状仮足/葉状仮足形成
を阻害している

ポリドナウイルスをもつ寄生バチ
毒液とポリドナの両方にコード



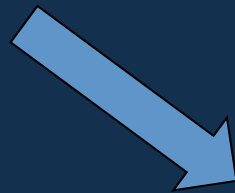
早期には毒液の作用

PDVの発現



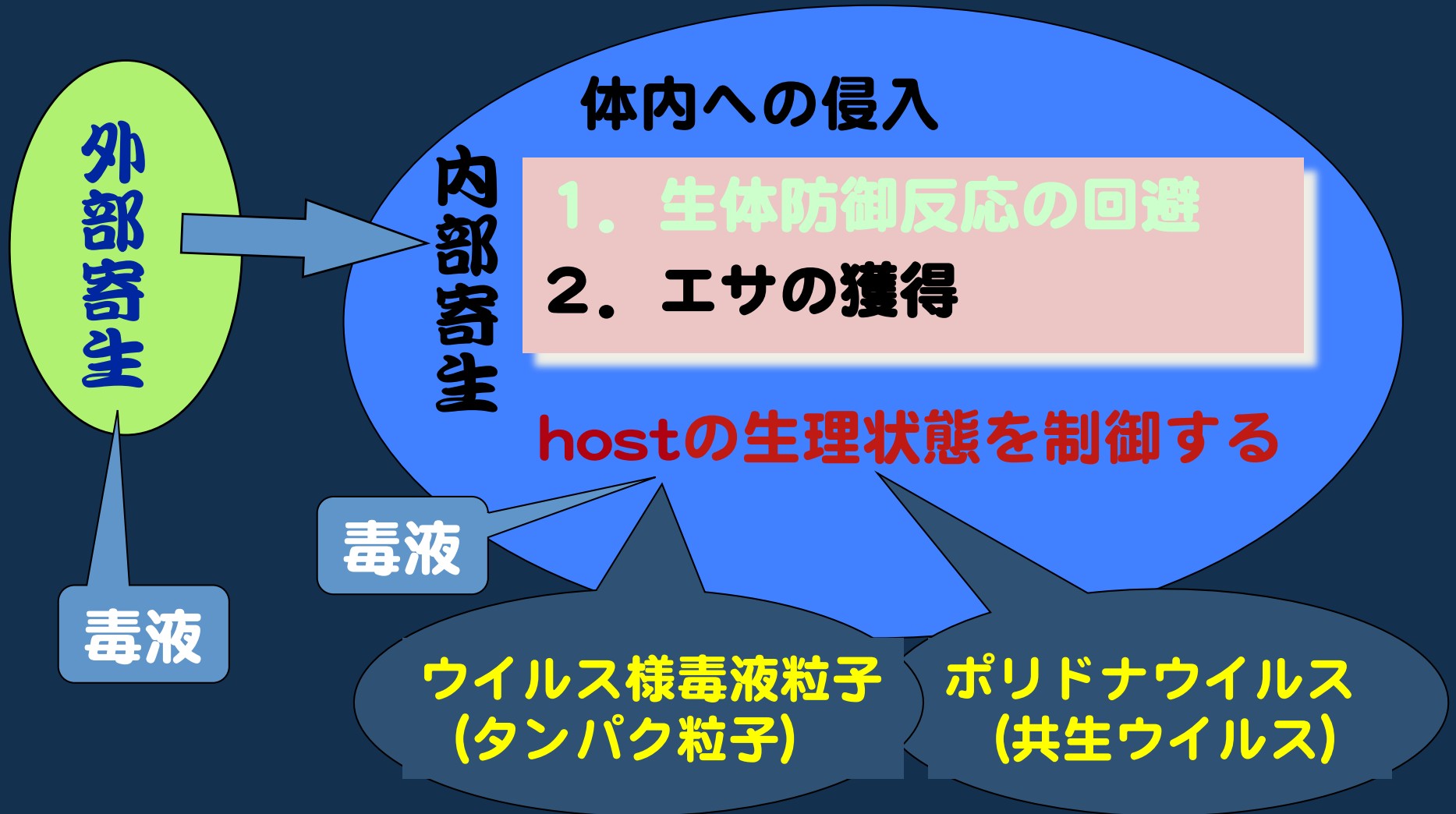
脱リン酸化

受容体の拮抗阻害



包囲作用の抑制

寄生における進化



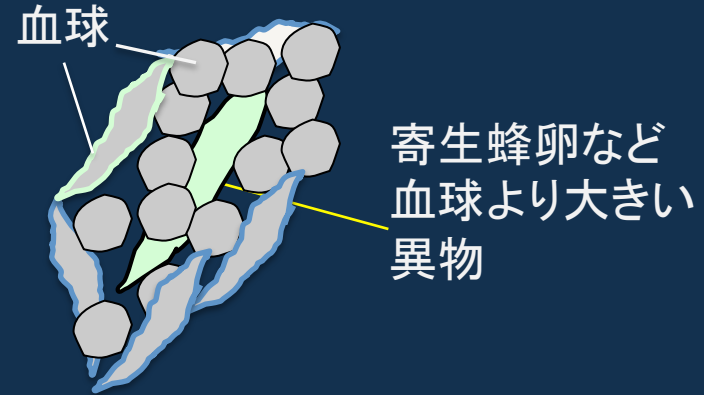
**細胞性防御機構にはもう一つ
巧みな寄生バチ排除法があった**

体内に侵入した異物に対する細胞性防御応答

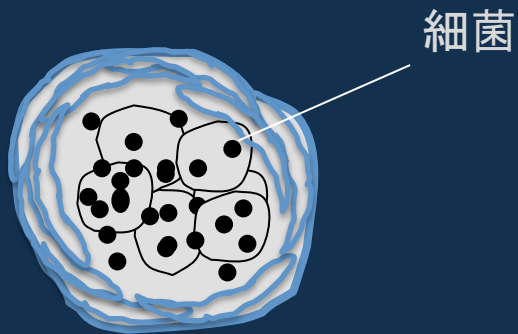
1. 食作用(phagocytosis)



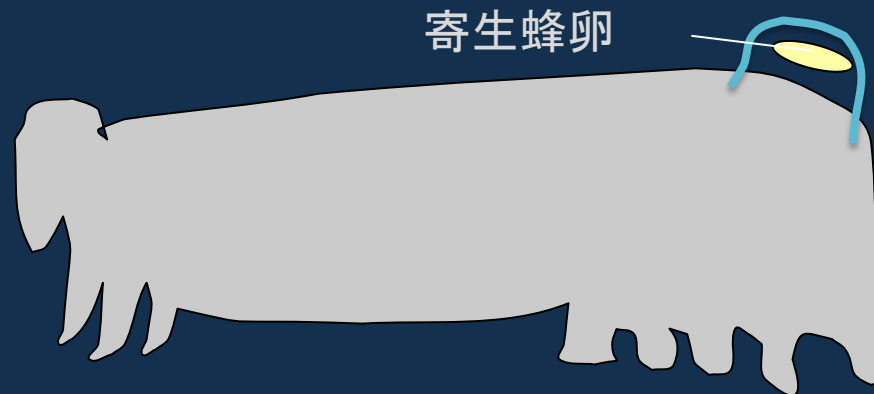
3. 包囲作用(encapsulation)



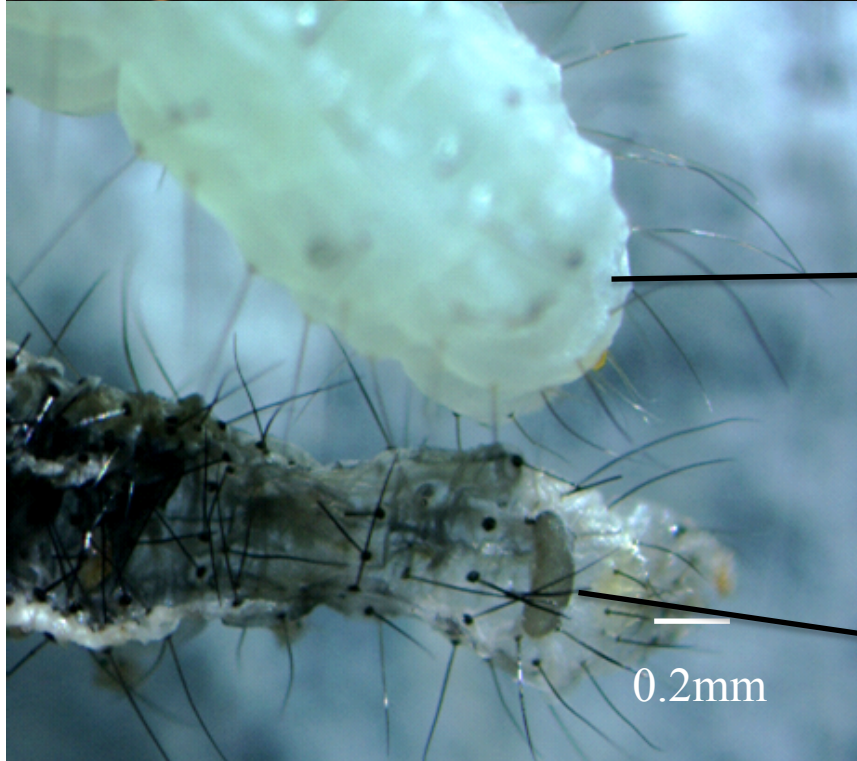
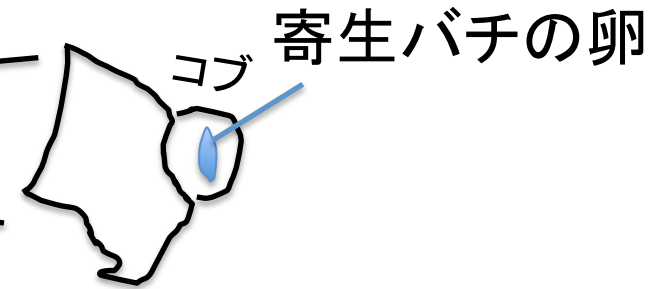
2. 小結節形成(nodule formation)



4. こぶ形成 (cuticular encystment)



ウワバ類のコブ形成



脱皮後の幼虫の後部

脱皮ガラ

黒化している寄生バチの卵

各種ウワバ幼虫のコブ形成率： ウワバ類一般に見られる現象

Host species	Stadium of host larva	Number of the loopers attacked by parasitoid	Number of loopers forming cyst	コブ形成率
<i>A. nigrisigna</i>	1st	55	47	85.5 ac
	2nd	40	35	87.5 a
	3rd	20	17	
	4th	9	5	
	1st	25	22	
	2nd	25	22	
	1st	25	18	72.0 abc
	2nd	20	13	65.0 bc
<i>E. rutirifrons</i>	2nd	20	15	75.0 abc
<i>A. agnata</i>	1st	39	26	66.7 b
	2nd	37	23	62.1 b
<i>T. intermixta</i>	1st	14	2	14.3 d
	2nd	20	0	0

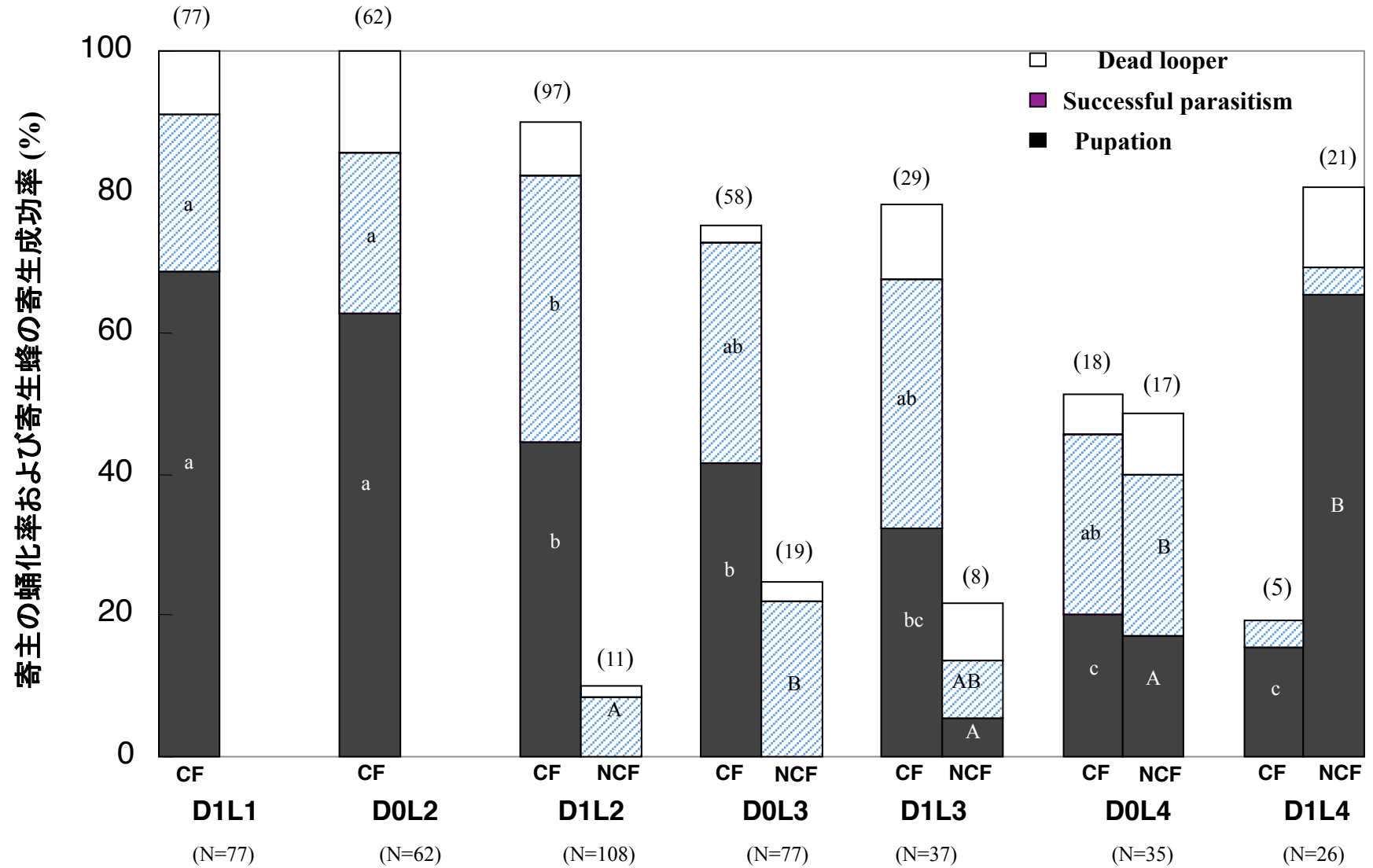
多くの
ウワバ類

こぶ形成率
60-80%

1) Different alphabetical letters indicate significant difference in a column by Chi-square test (p<0.05)

寄生時の発育段階によるコブ形成率の違い

若齢期はコブ排除成功率が高い



CF : コブ形成した幼虫

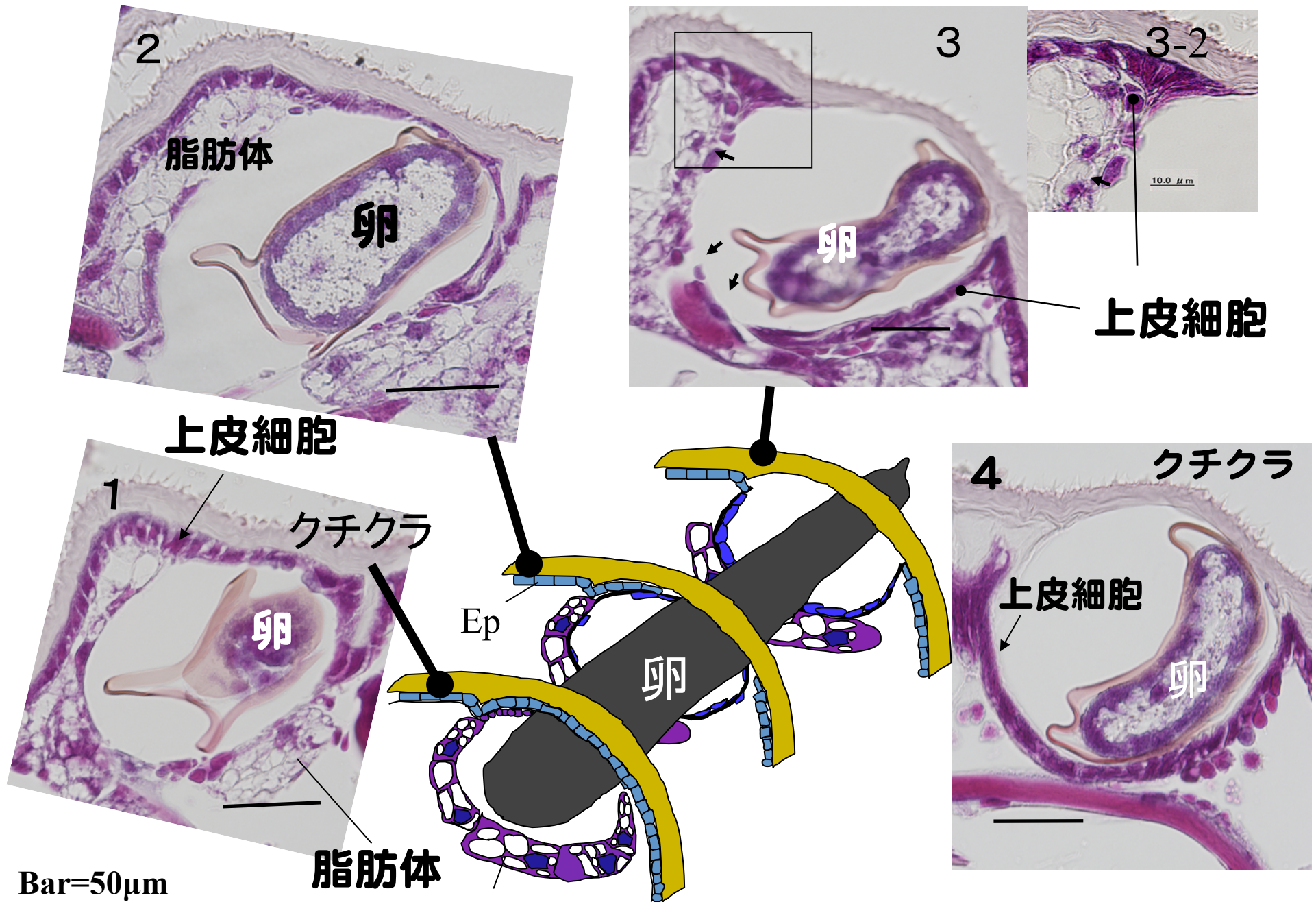
NCF : コブ形成しなかった幼虫

寄生時の発育段階

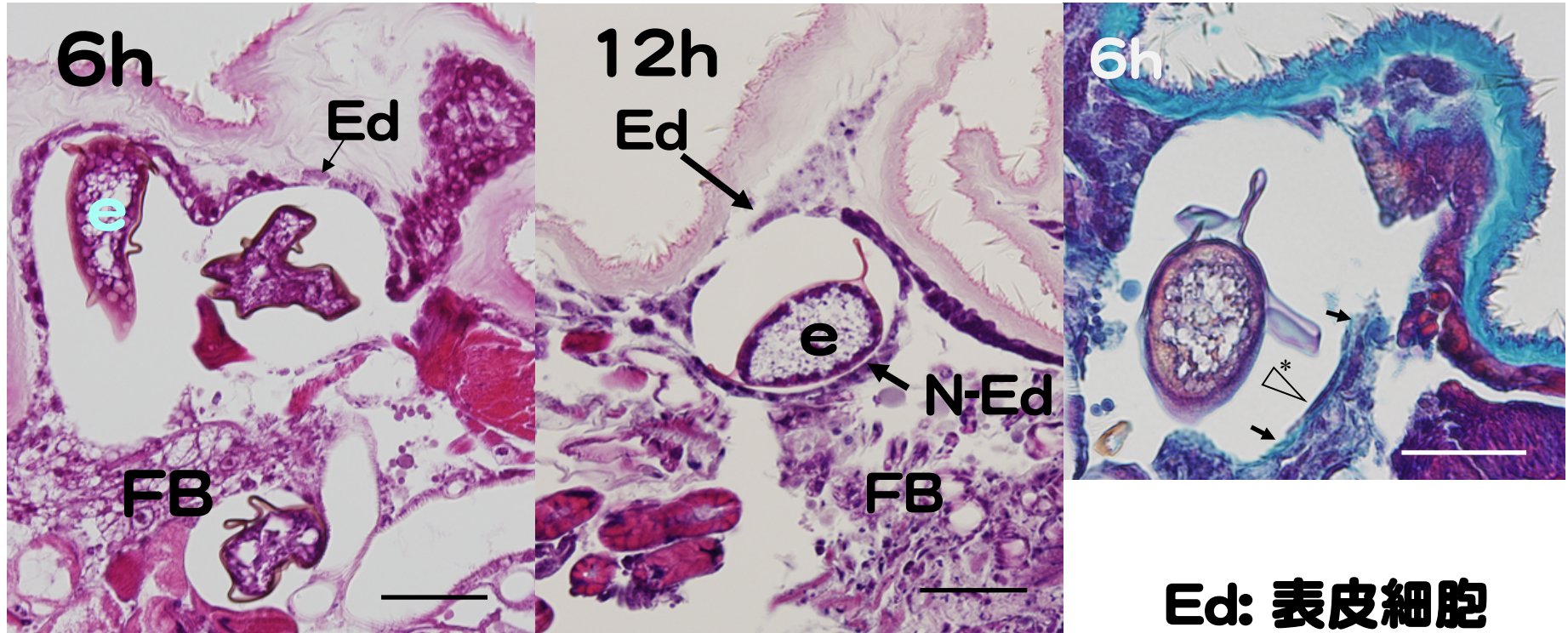
コブ形成の仕組み



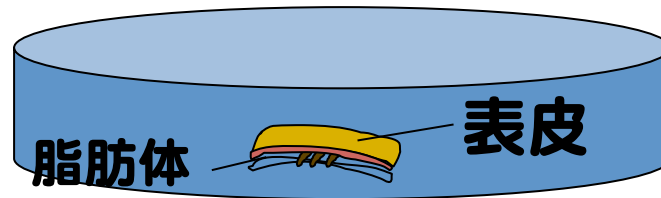
いかにして体内に産みこまれた卵を“体外”に排除



表皮細胞と脂肪体の間に卵をはさんだin vitro系で コブ形成反応が再現できた



Ed: 表皮細胞
FB: Fat body
M: 筋肉
e: 卵
Bar=50 μ m



ウワバ類は尾部にコブを作ることで大きな異物を排除できる

内部寄生バチと寄主との関係

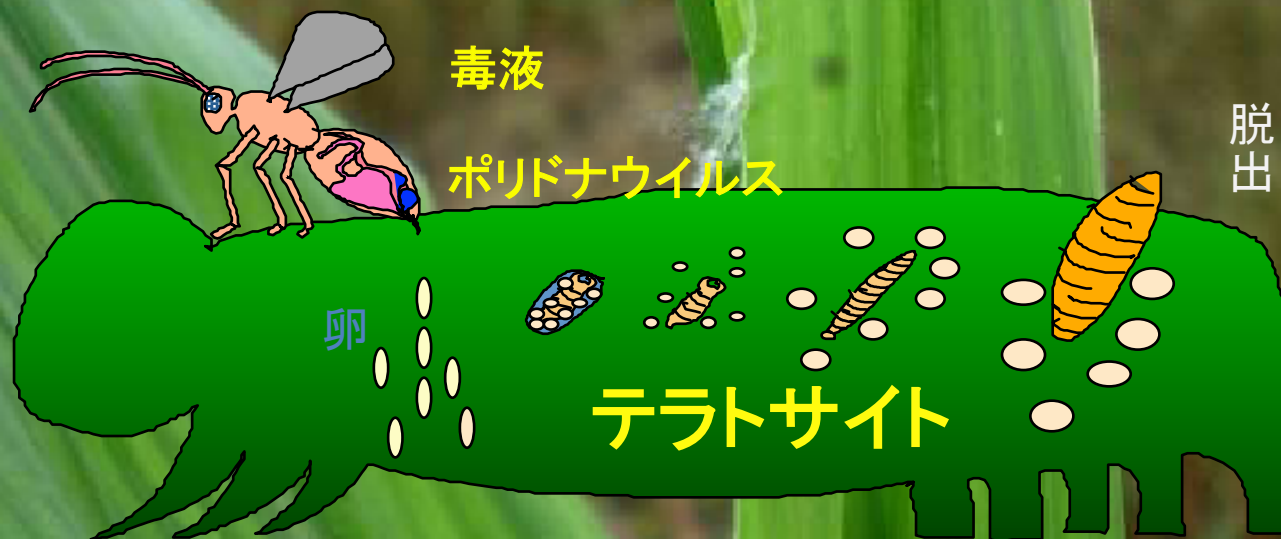
1. 免疫

- a. 寄生される側の防御応答
- b. 寄生する側の制御

2. 寄生バチの食糧の確保

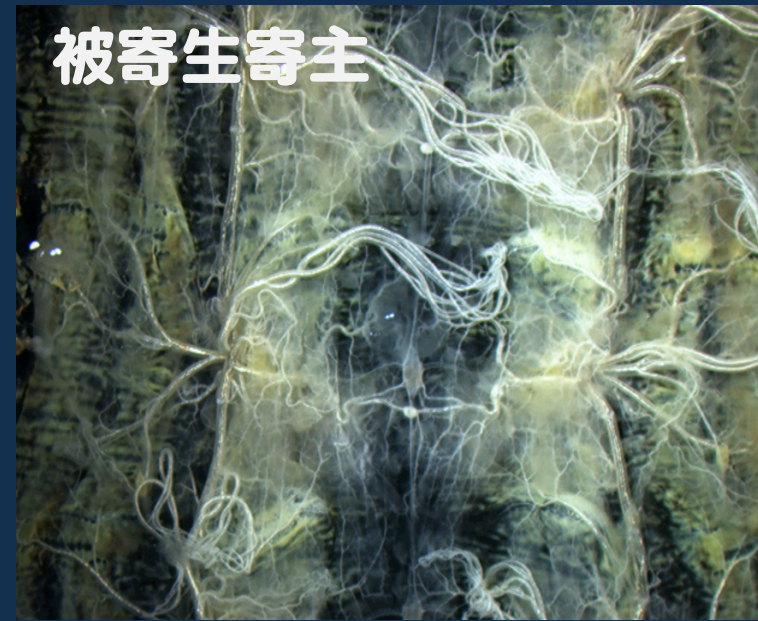
3. 寄生バチと農薬の苦い関係

寄主から養分をとるには
寄主にできるだけdamageをあたえない



内部寄生バチの栄養摂取戦略

- ターゲットは脂肪体

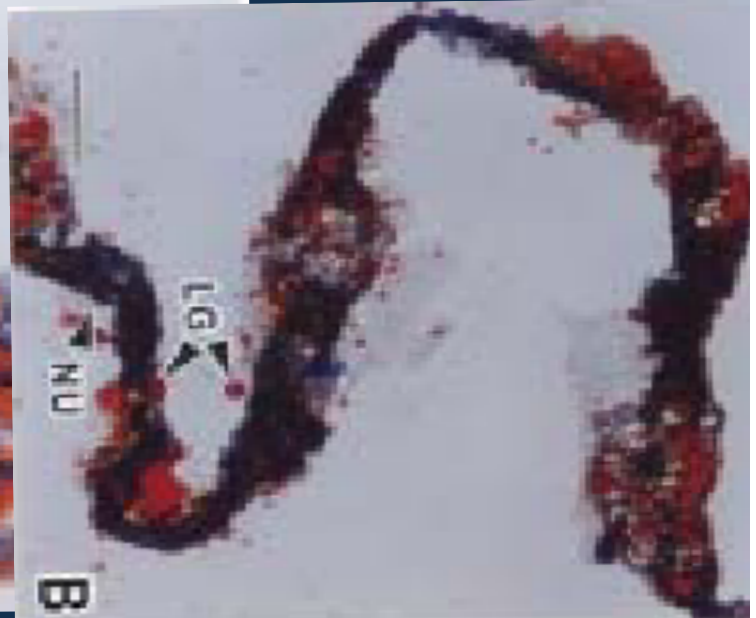


寄主の**栄養貯蔵器官である**脂肪体から栄養をとっている

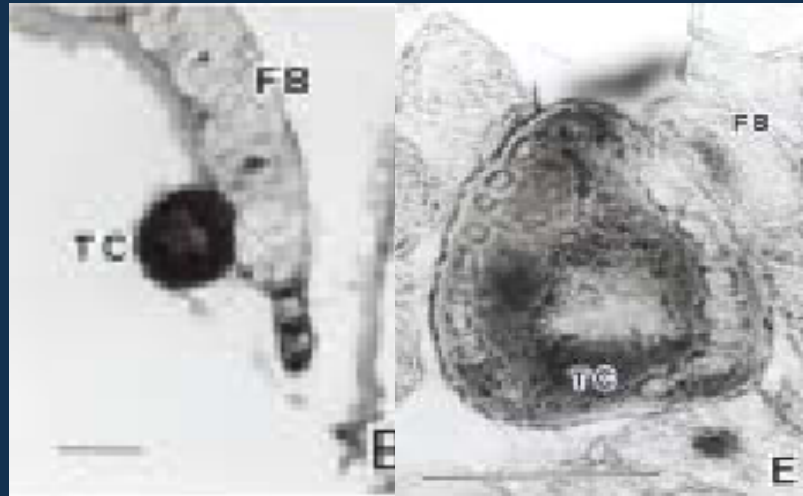
内部寄生バチは 何をエサとしているか

- どのように摂食するのか？

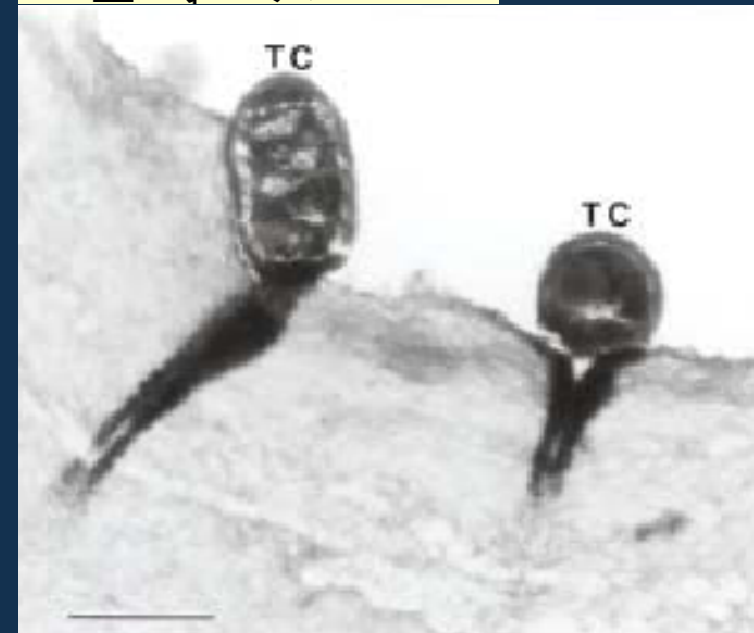
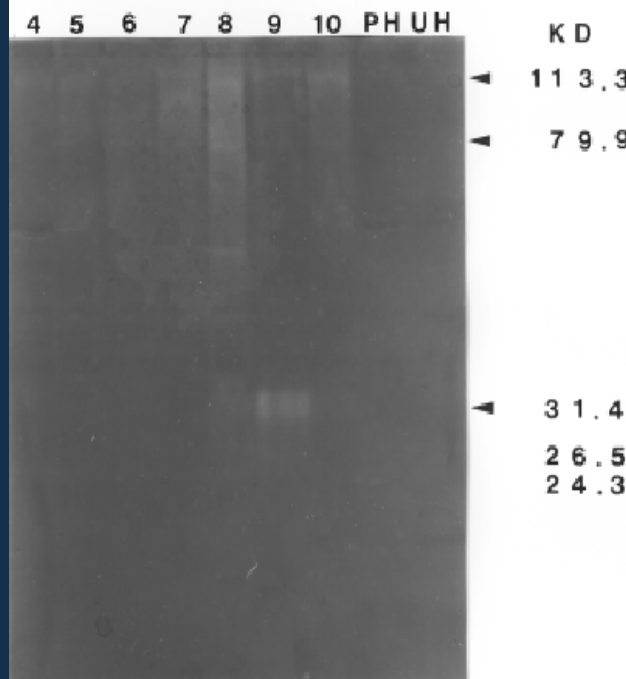
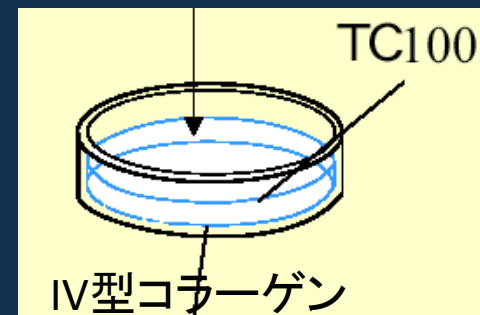
幼虫が脂肪体の細胞外マトリックスを摂食？



テラトサイトから細胞外マトリックスを壊す酵素が分泌

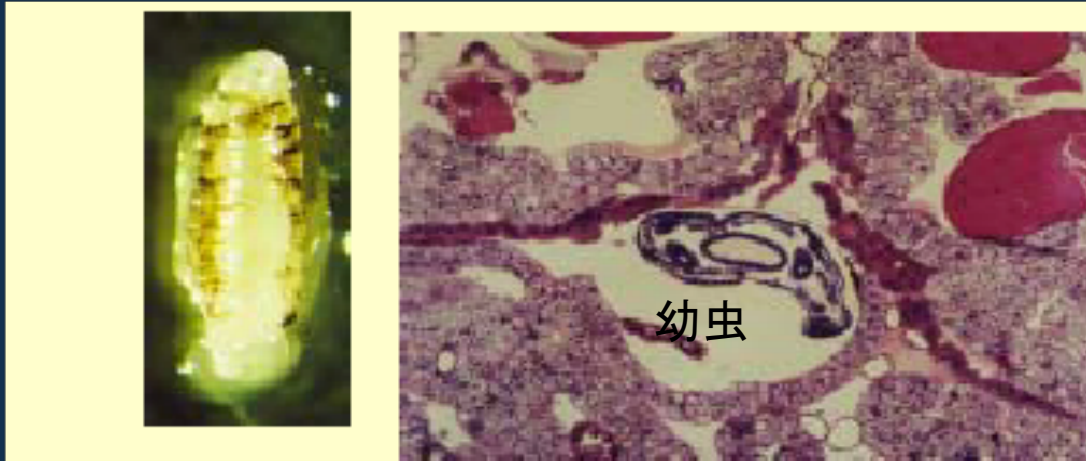


テラトサイト

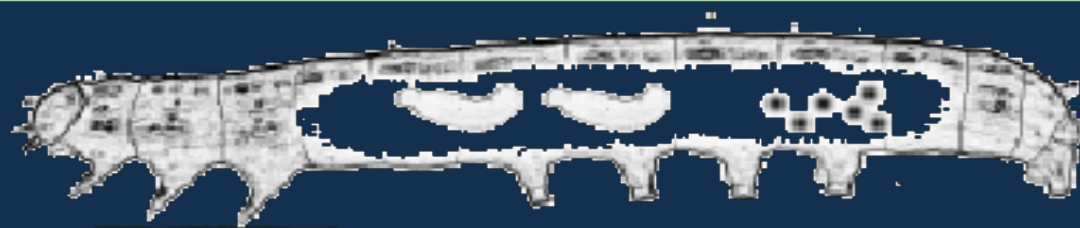




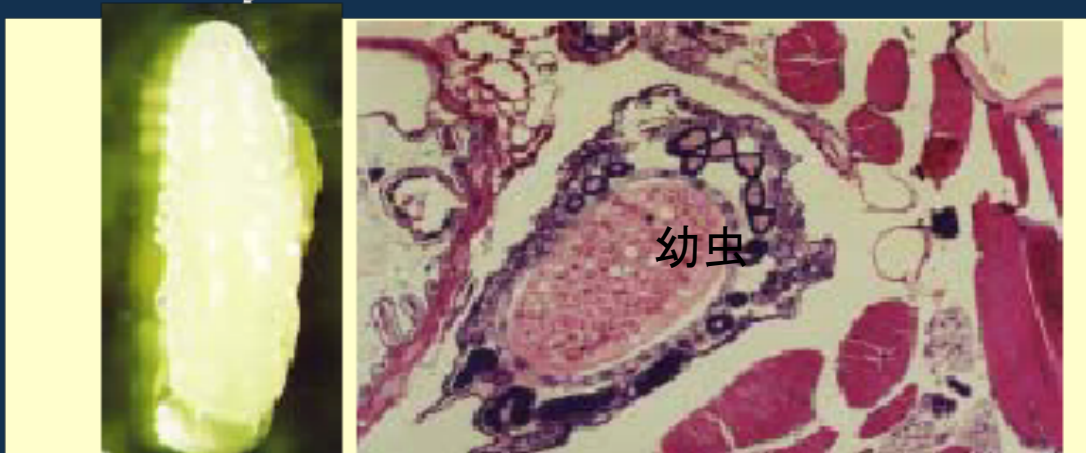
幼虫のみ移植



テラトサイトがなければ幼虫の発育は不十分



寄主に幼虫とテラトサイトを移植



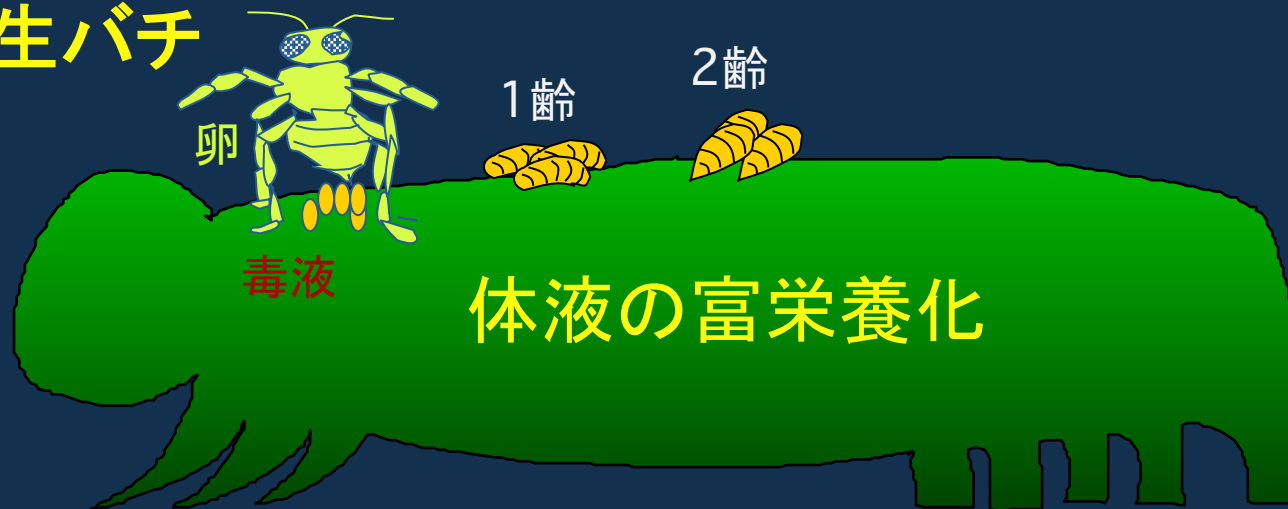
テラトサイトが局所的に脂肪体を壊すことで幼虫の摂食を助けている

幼虫寄生バチにおける栄養摂取戦略



外からの養分吸収

外部寄生バチ



ウスマユヒメコバチ

毒液の注入



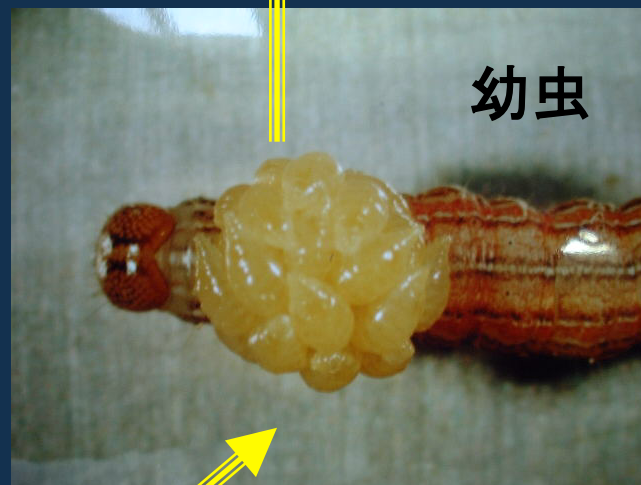
卵



蛹



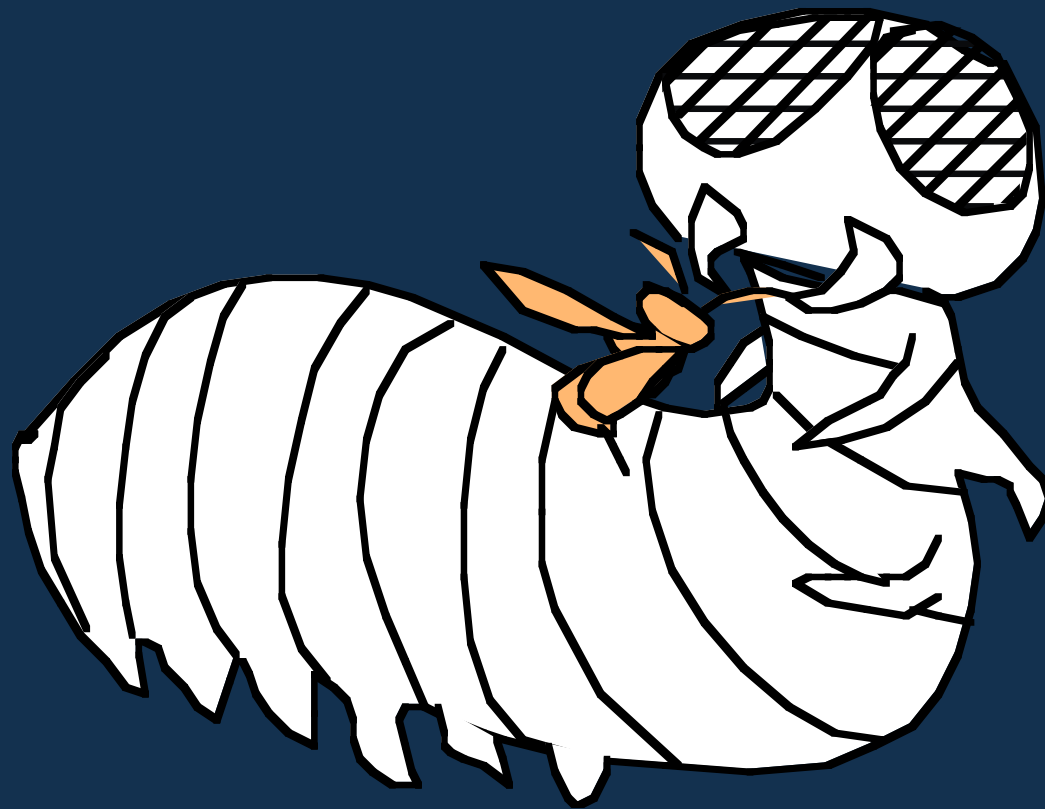
幼虫



幼虫



攻撃されにくい場所は？



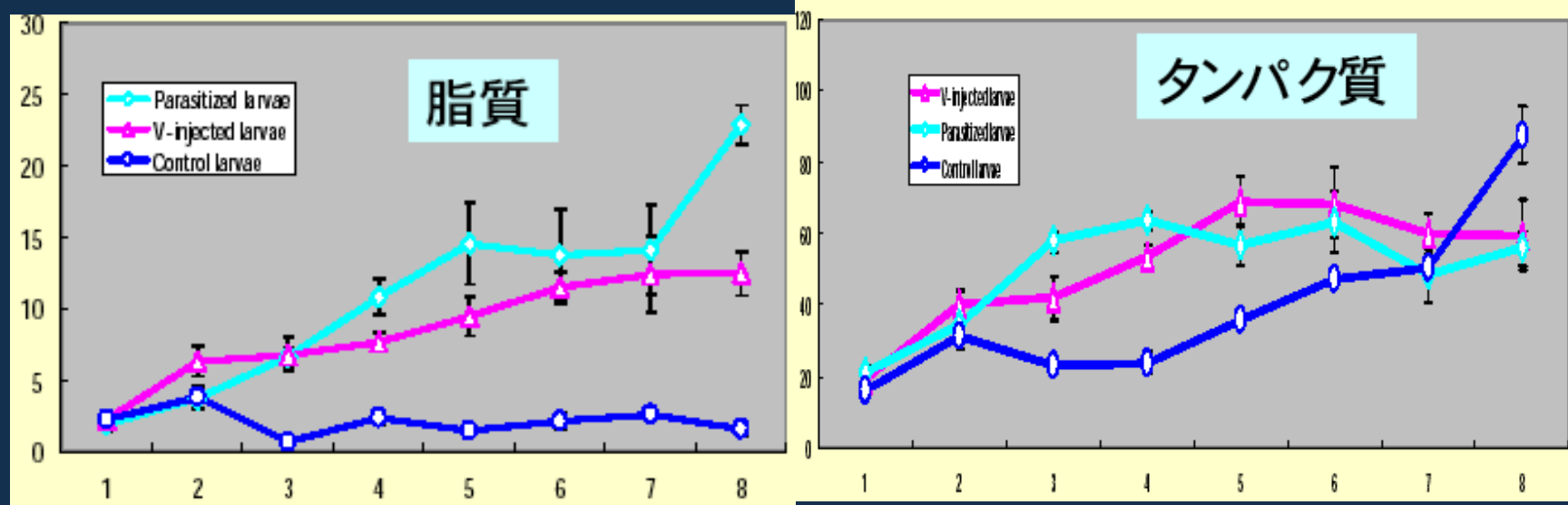
産卵スキーム



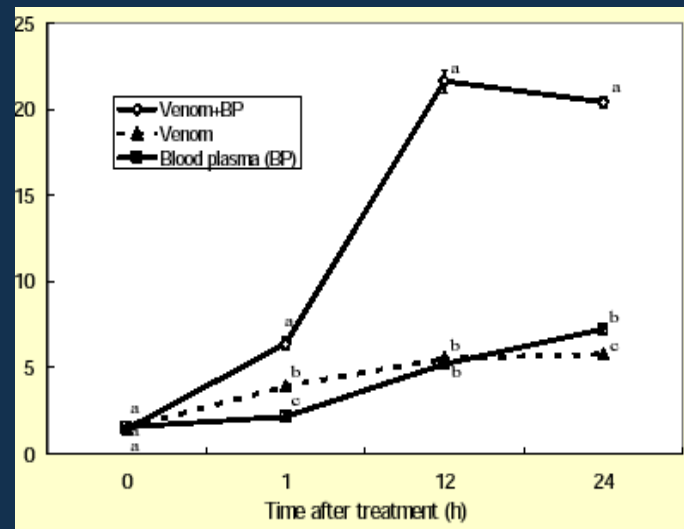
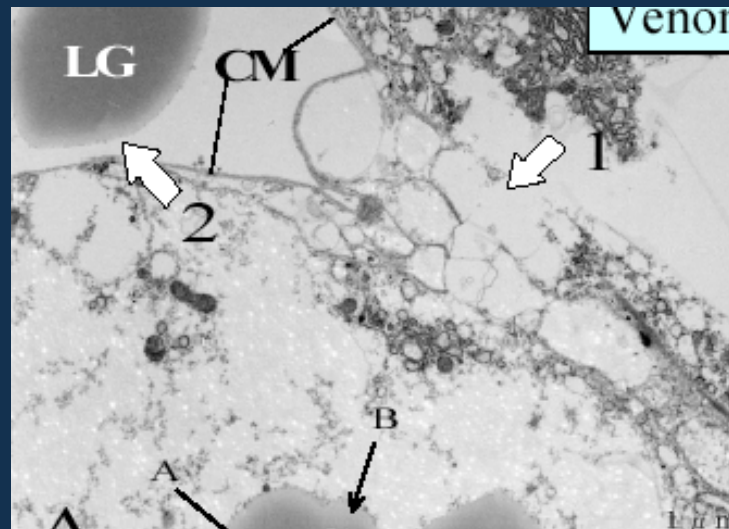
1. 寄主の後部を認識
2. 寄主の後部に乗る
3. 寄主の蠕動運動により前方を知る
4. 後部から前方へ
5. 寄主の頭を認識して最適な場所に卵を生む



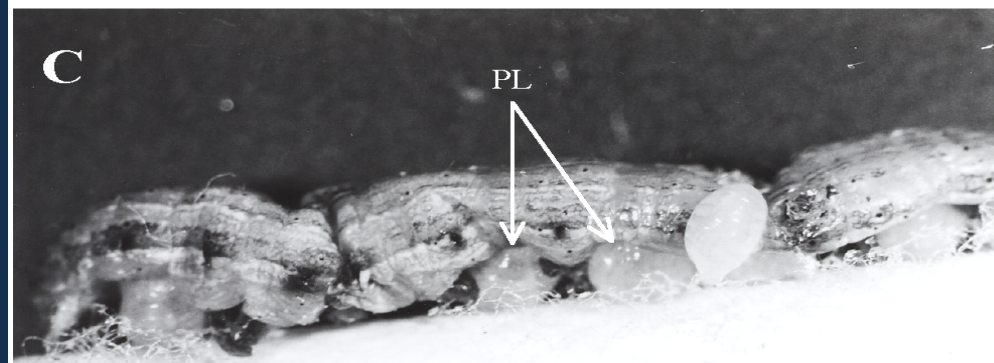
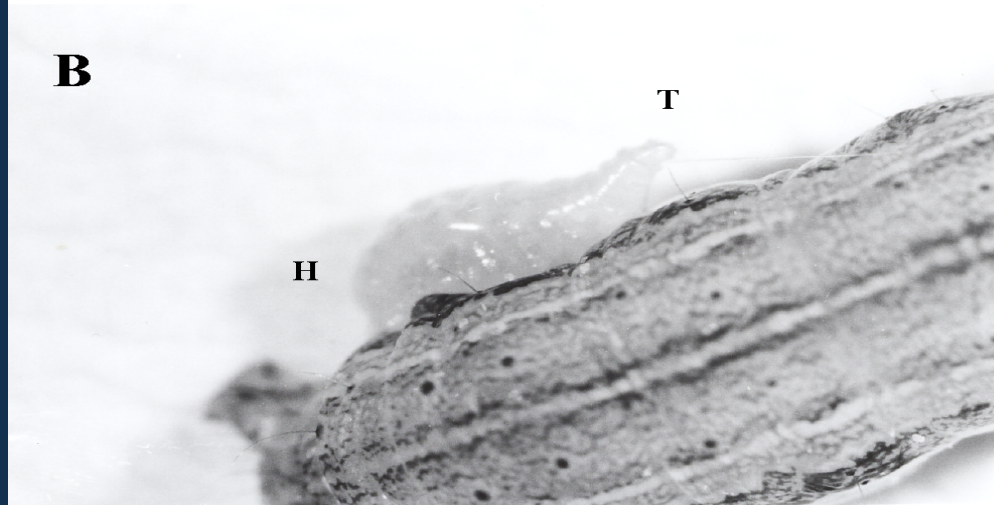
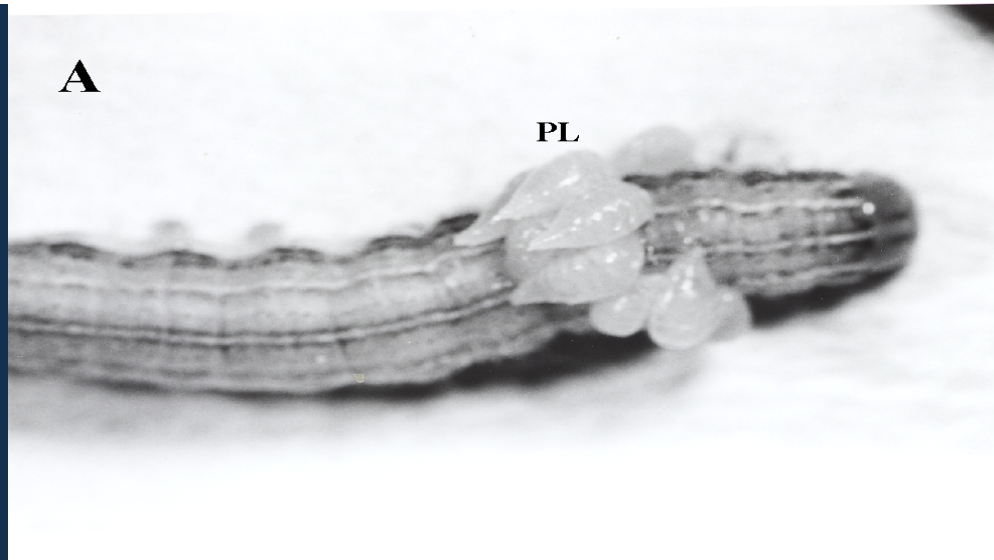
外部寄生バチによって寄主は 高脂質・高タンパク血症となる



MMP, hyaluronidase, phospholipase Bの活性が検出された



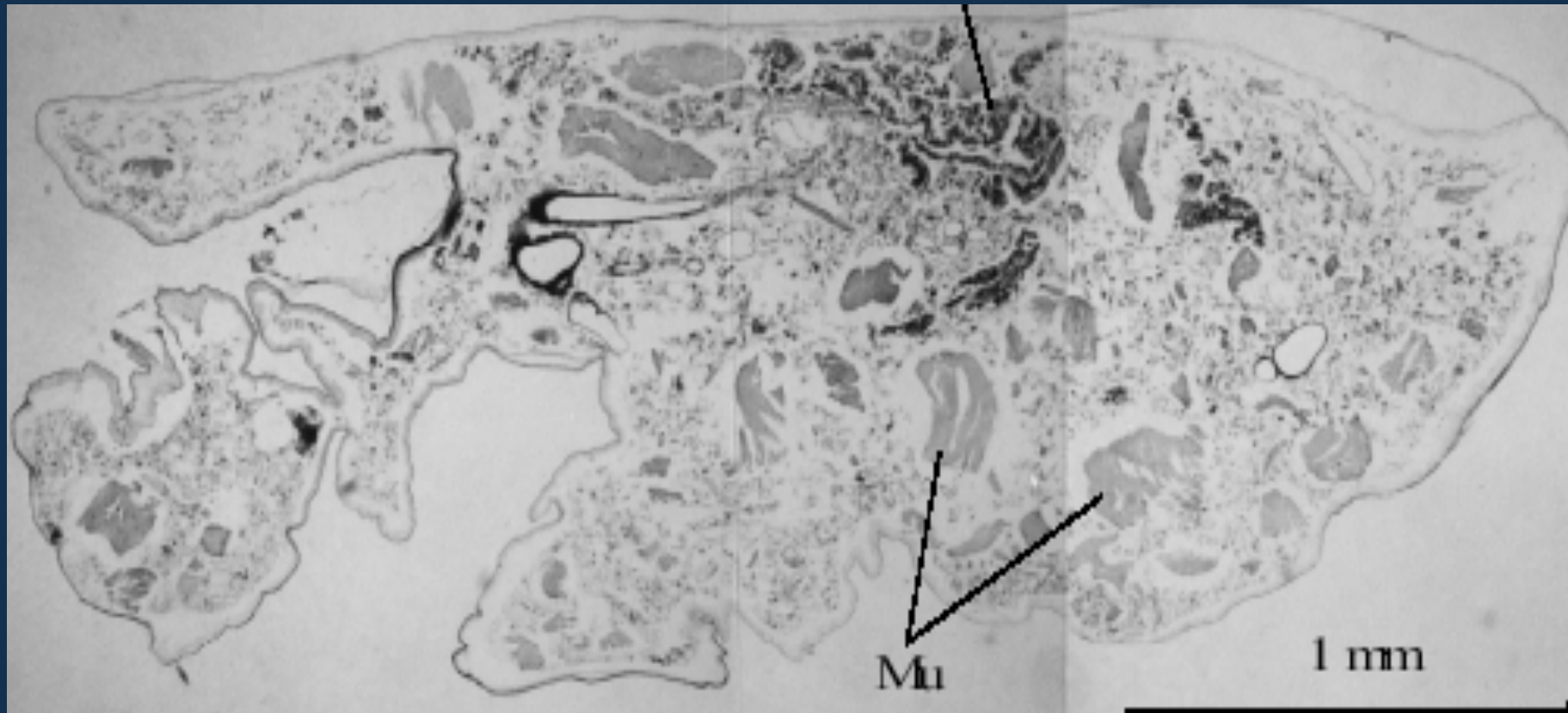
サナギになる
る前に
ハチ幼虫は
移動する



最後に全部吸い取る寄生蜂

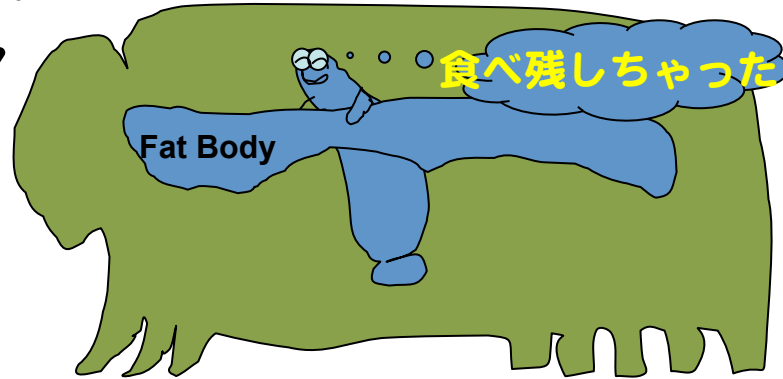


寄主資源を残さず利用するためにserine proteinase (トリ
プシン活性を持つ)を注入し
寄主自体を消化して摂食する

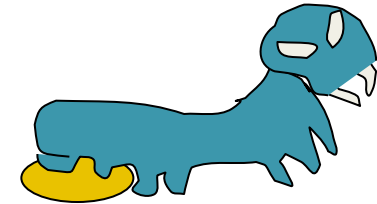


残すエサ(寄主脂肪体) にはどんな意味が？

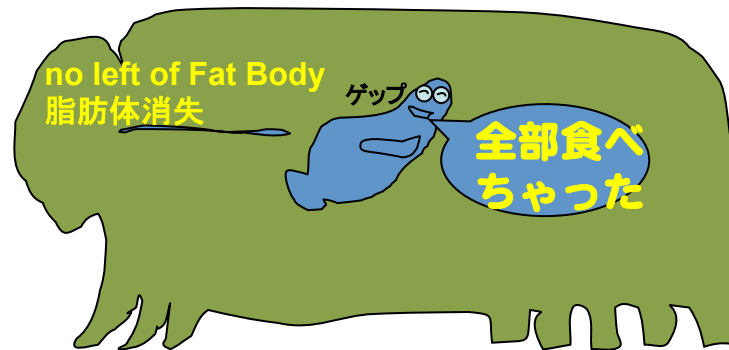
left-over
食べ残し



ハチの繭をガードする



Eating up
食べ尽くし

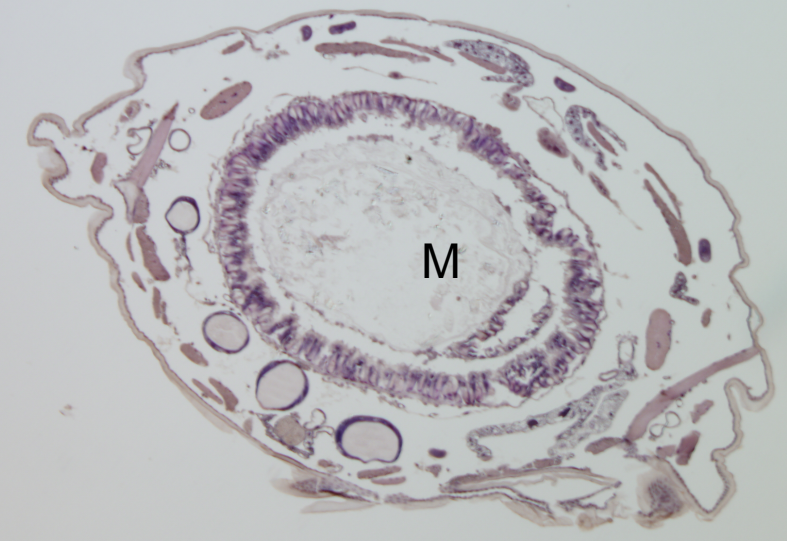


dead

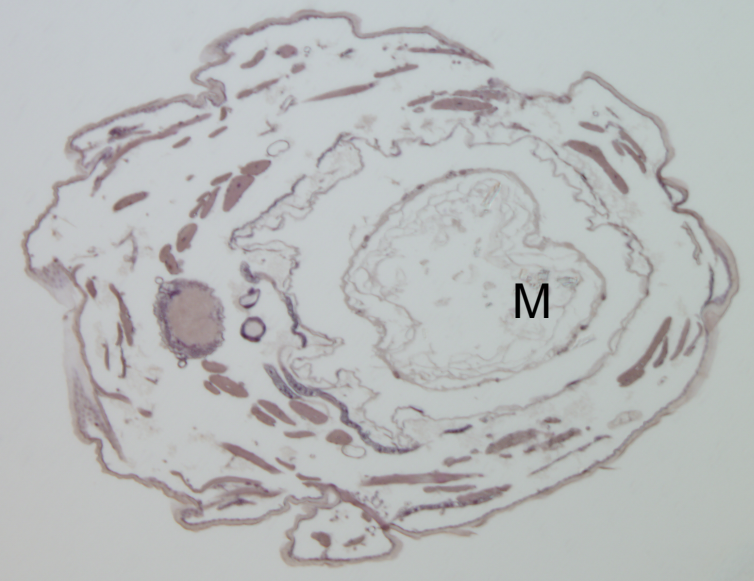
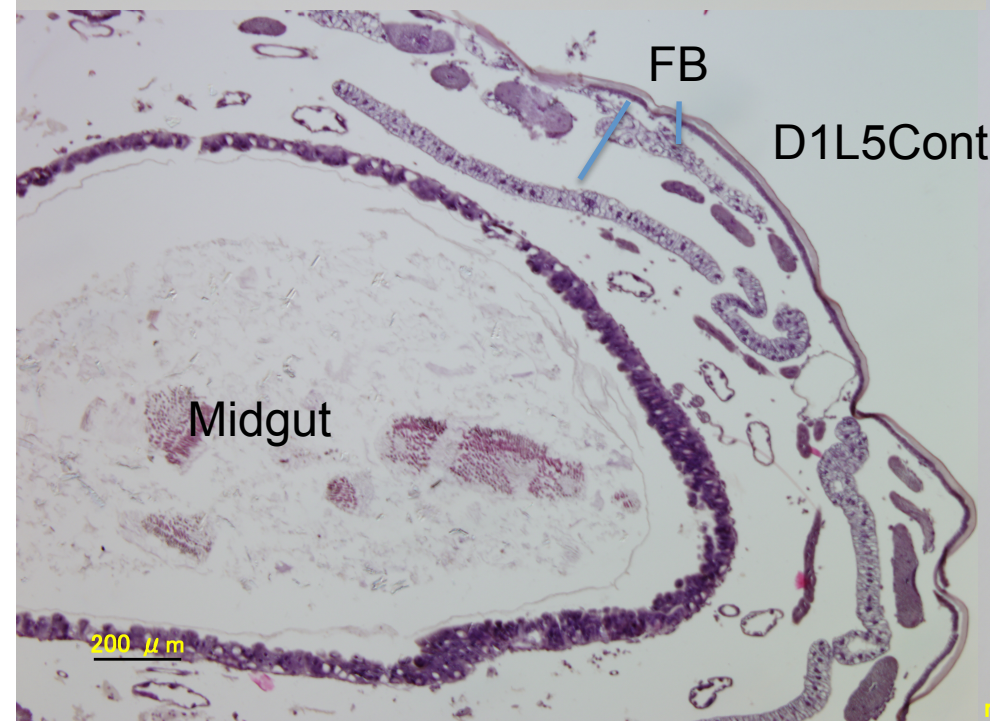


M. mediator

D1L4Contr.



D1L5Contr.



no guardの蛹は食べられる？



2次寄生蜂 *Gelis agilis* に対して



no guard



未寄生寄主や2次寄生バチに対する単寄生バチのガード行動

寄主によるハチの繭へのガードする期間

寄主ガード期間 (Mean±SD)	羽化までの期間1) (Mean±SD)	Geris の寄生成功 率(%)	Mm羽化率 (%)
5.5±2.1 (35)	6.5±0.9 (29)	8.6(2)	82.9 (29)

Host guard

食べ残した脂肪体は、
寄主によるガードの活用

内部寄生バチと寄主との関係

1. 免疫

- a. 寄生される側の防御応答
- b. 寄生する側の制御

2. 寄生バチの食糧の確保

3. 寄生バチと農薬の苦い関係

コナガ：殺虫剤抵抗性

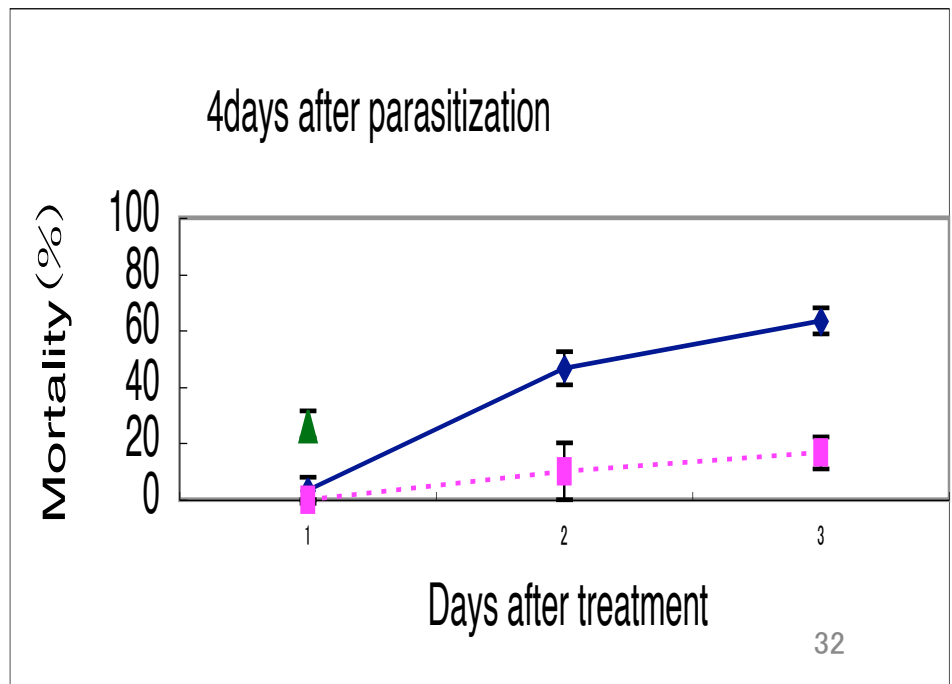
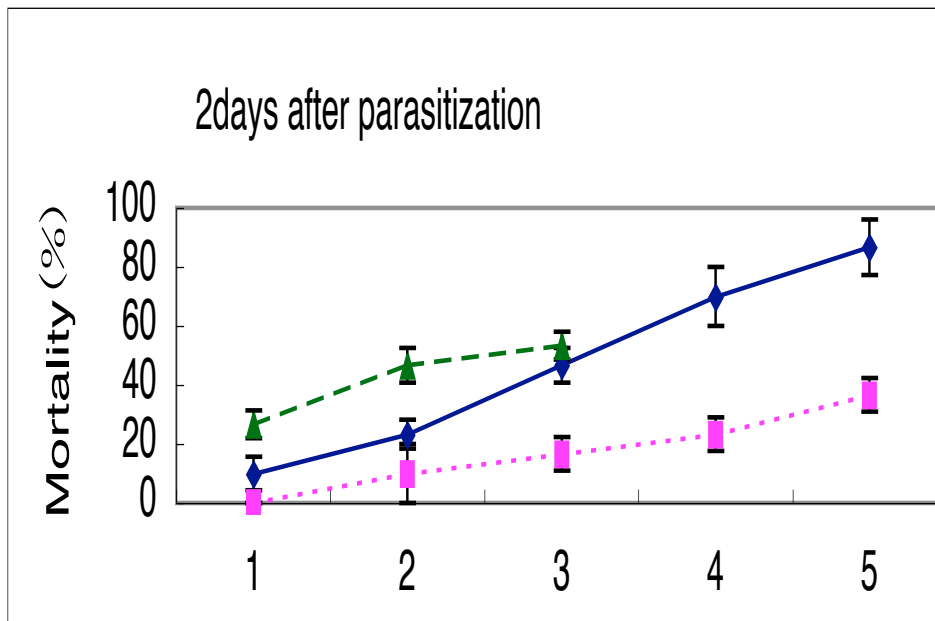
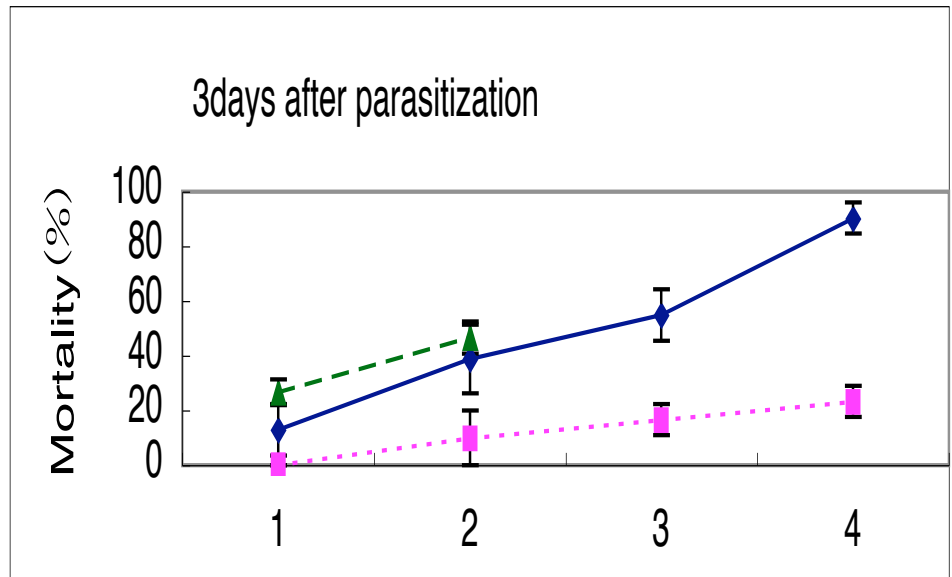
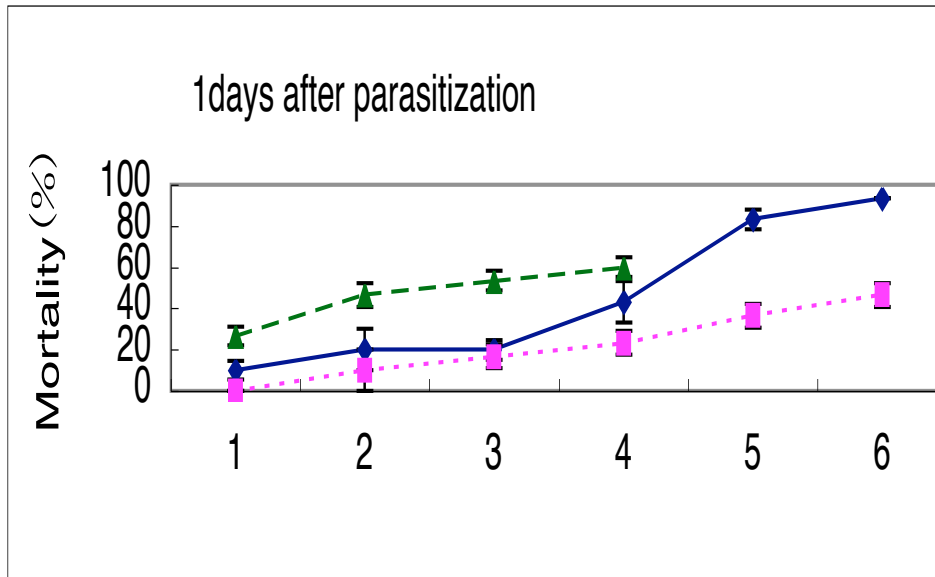


<https://ja.wikipedia.org/wiki/コナガ>

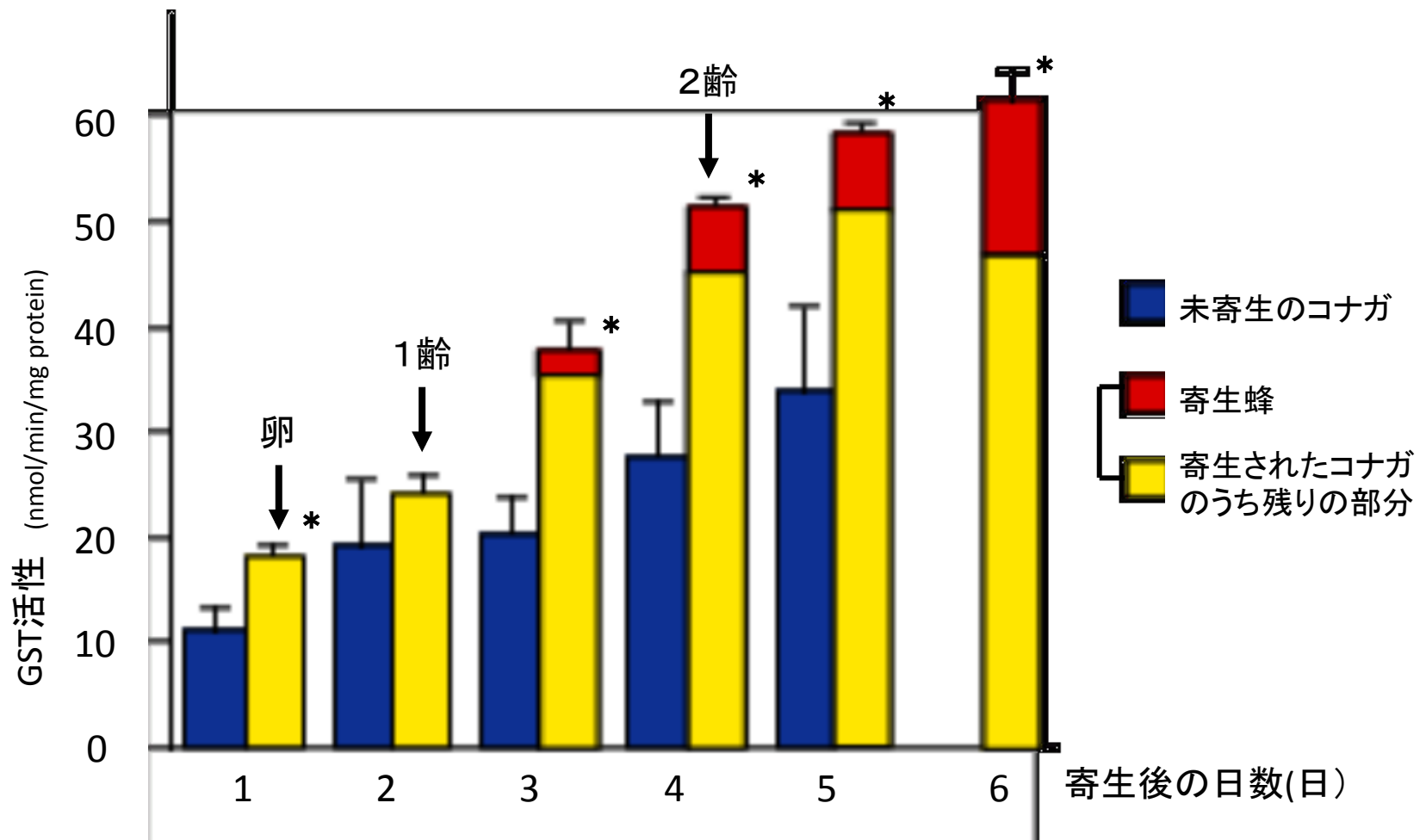


<http://www.pref.aichi.jp/byogaichu/seitaitoboujyo/yasaikyoutuu/yasai-konaga.html>

フェニトロチオンLC50(25ppm)

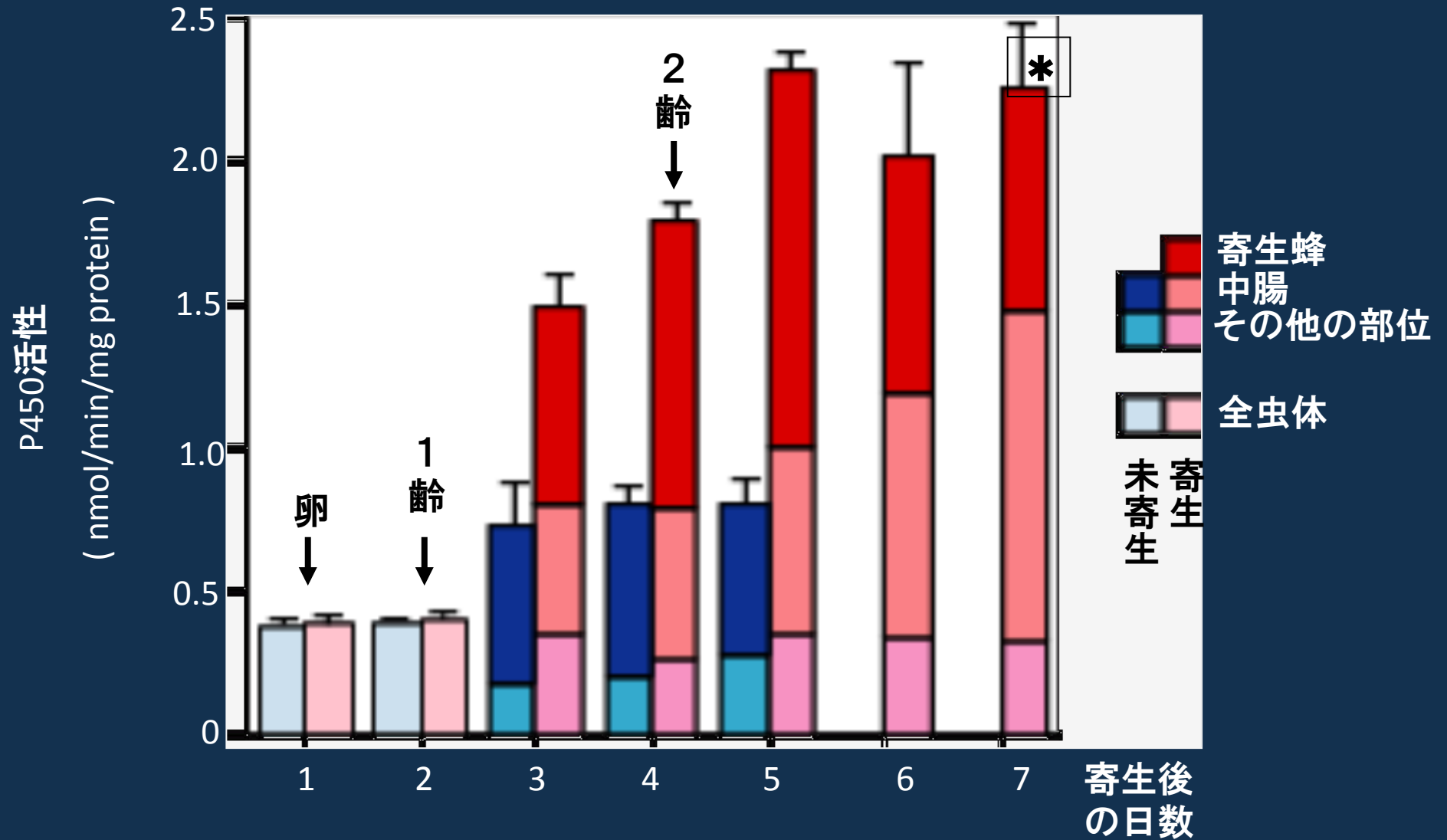


GST活性 (基質CDNB)



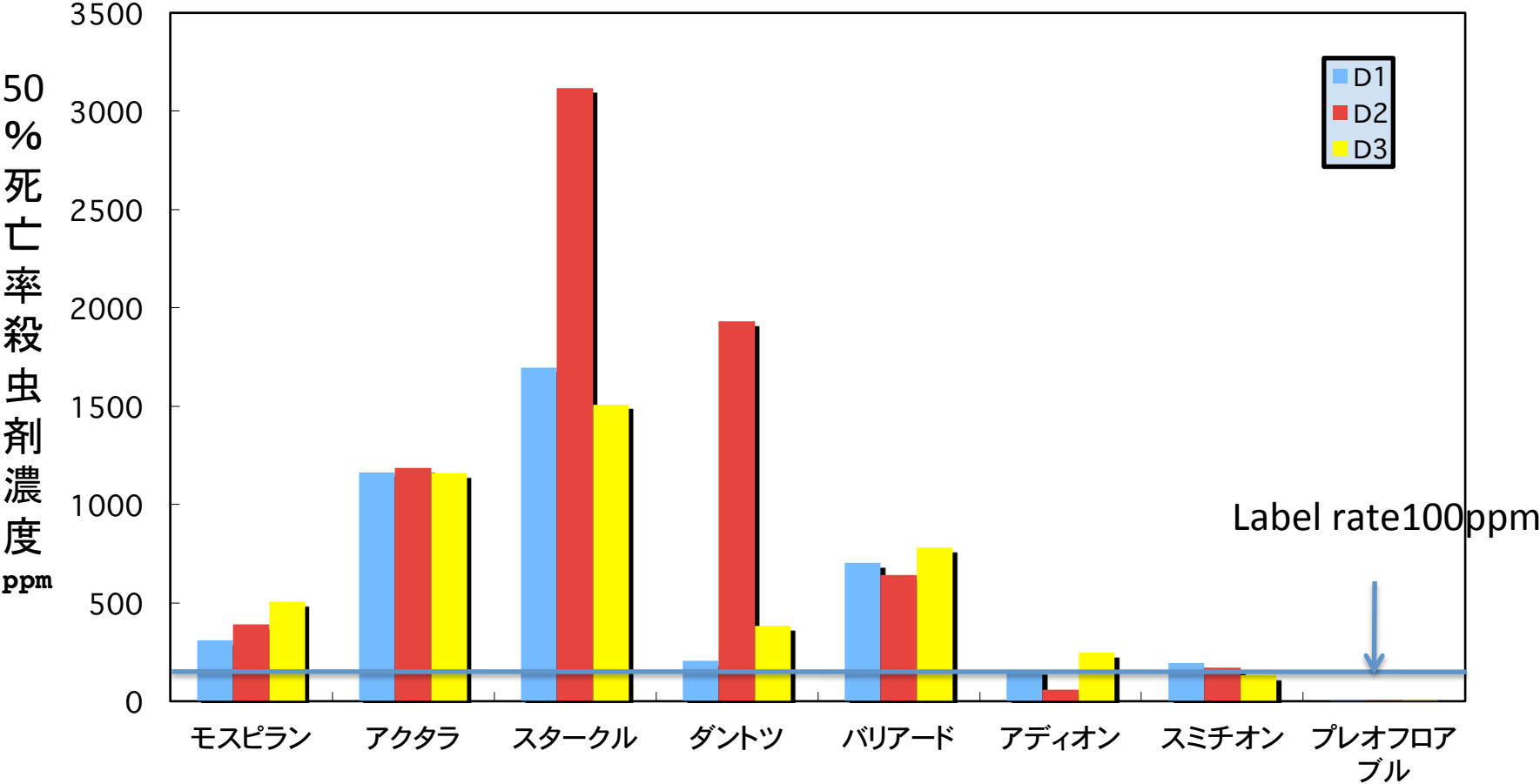
寄生されたコナガの活性が上昇

P450活性



寄生されたコナガの活性が上昇

カリヤコマユバチに寄生されたアワヨトウのLC50値(ppm)

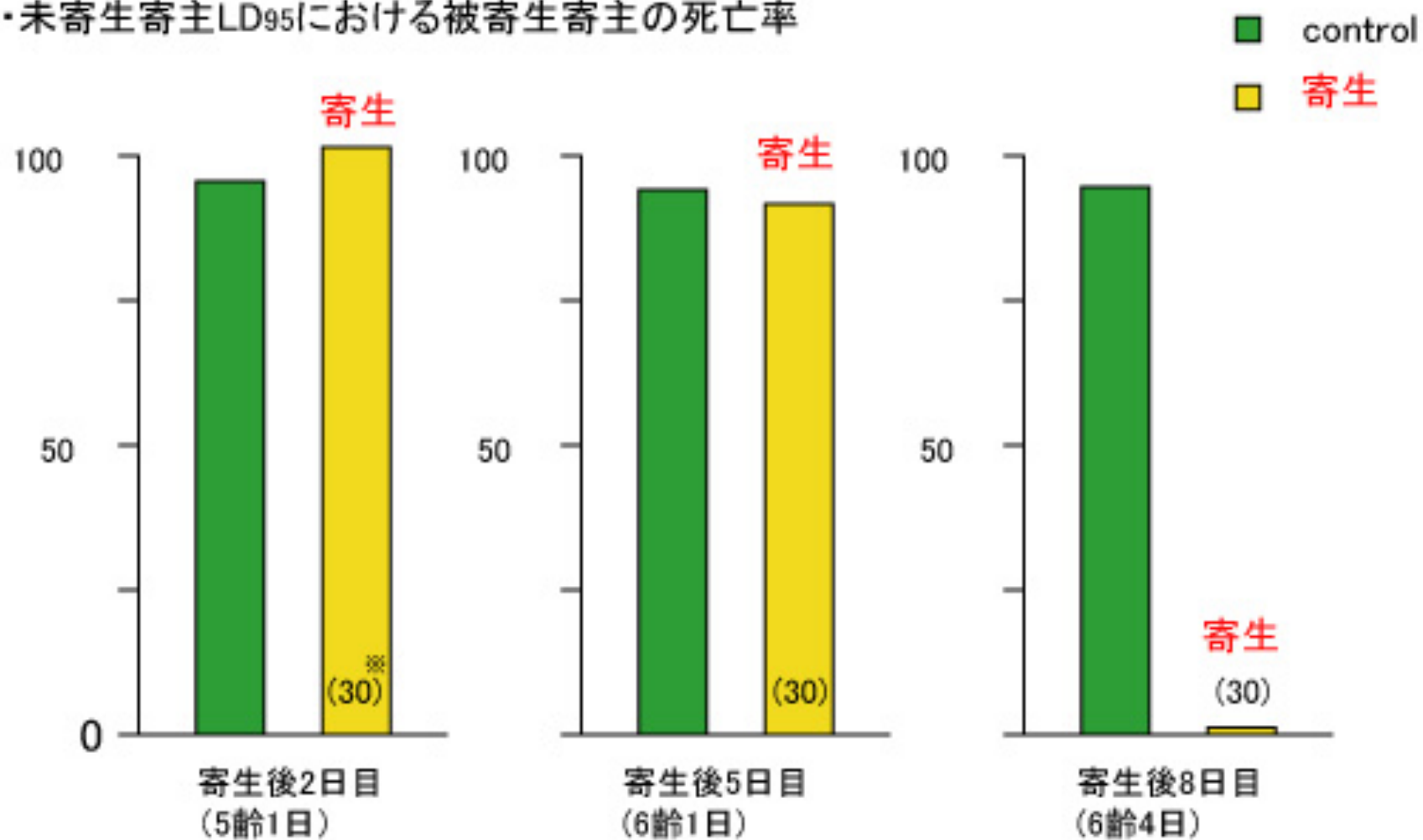




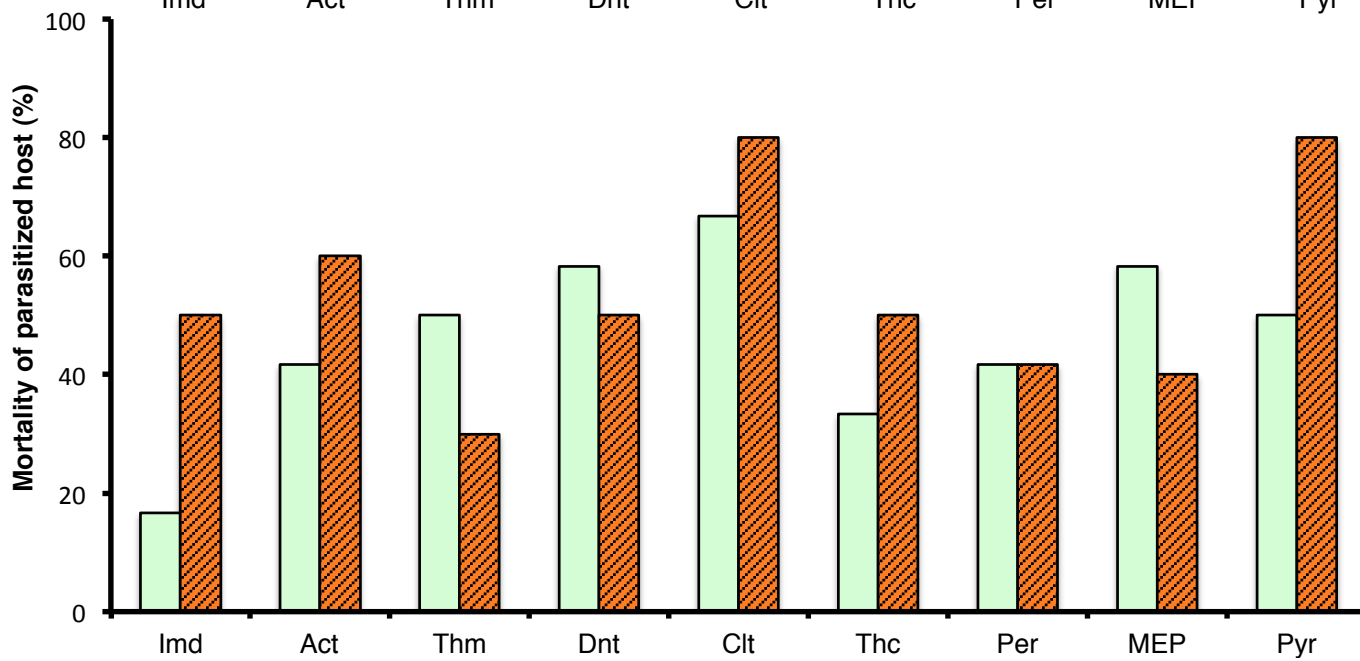
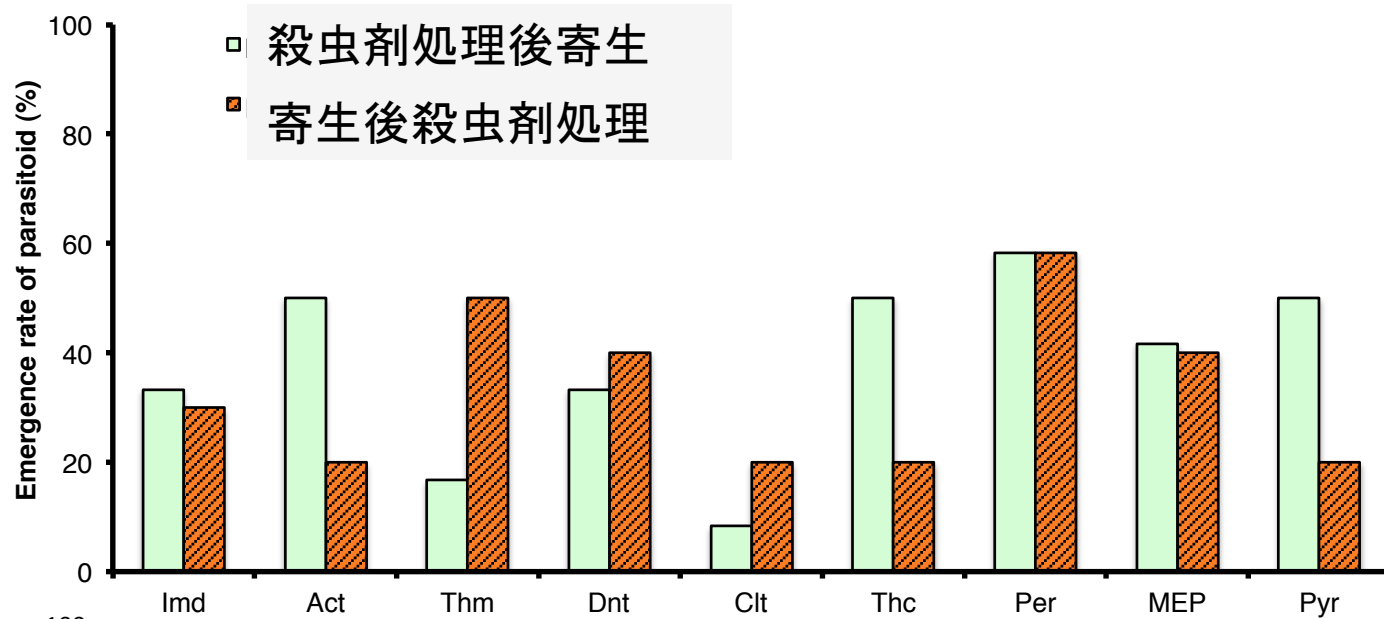
カリヤコマユバチの寄生寄主におけるピリダリル感受性

・未寄生寄主LD95における被寄生寄主の死亡率

薬剤による被寄生寄主の死亡率(%)



※サンプル数



生物間に存在するスキマ

多面的な解析

Fieldとつながる室内研究