細胞質多角体病ウイルスの交差感染・発病と 食草種ならびにストレスとの関係

野口 洋子・山口 邦友

埼玉県蚕業試験場

Effects of Food Plants and Stress Agents on the Development of Disease in Lepidopterous Insects Subjected to Cross-Infection with Cytoplasmic-Polyhedrosis Viruses. Youko NOGUCHI and Kunitomo YAMAGUCHI (Saitama-Ken Sericultural Experiment Station, Kumagaya, Saitama 360, Japan). *Jap. J. appl. Ent. Zool.* 28: 9-13 (1984)

Although cross-infection of *Spodoptera litura* with the cytoplasmic-polyhedrosis virus (CPV) of *Hyphantria cunea*, is usually not lethal, a high mortality rate and a short period of lethal infection occur when the infected larvae are reared on food plants with low nutritive value, which delays larval growth.

Hyphantria cunea and *Spodoptera litura* subjected to cross-infection with the CPV of *Bombyx mori* recovered from the disease. In these insects, however, the susceptibility to cross-infection with the CPV of *Bombyx mori* and disease recovery were not always affected by feeding on different food plants and exposure of the infected larvae to stress agents such as cold (5°C), starvation and Na-EDTA administration.

緒 言

各種昆虫における細胞質多角体病ウイルス (CPV) の交差感染成立後の発病過程をみると、感染しても顕著な発病がみられず、死亡を免れる場合がある。とくにカイコ CPV に交差感染した昆虫では、顕著な治ゆ現象が観察されている (野口・山口, 1982)。

一方、昆虫における交差感染成立の難易や発病虫の生存期間は、食草や飼育温度等の条件により影響を受けやすいと言われている (荒武・栢村, 1972, 1974; 鮎沢ら, 1969; 林屋ら, 1971; 樺沢, 1966)。また、昆虫に種類のストレスを与えることによりウイルスの感染が助長されたり、潜在的に感染したウイルスの増殖が誘起されることが報告されている (有賀・福原, 1960; 有賀ら, 1960)。

このように、CPV に交差感染した昆虫でも発病の程度が異なったり、治ゆする場合があるが、それらの現象はウイルスの種類と昆虫種の組み合わせにより生起する固有な現象なのか、あるいは飼育条件やストレスに影響されて容易に変動する現象であるのか明らかでない。

そこで、前報 (野口・山口, 1982) において、CPV に感染しても治ゆしたり、発病しても死亡しなかった昆虫種を供試してウイルスの交差接種を行い、その際食草種

を変えたりストレス処理を行うことによって、交差感染成立後の発病の程度および治ゆ過程にどのような影響が現われるか調査した。

本文に入るに先立ち、ご指導と本稿のご校閲をたまわった東京大学農学部渡部 仁博士、ならびにご教示いただいた埼玉県蚕業試験場原久寿雄博士、同柳田健郎博士に深く感謝の意を表する。また、供試虫を分与してくださった日本化薬 (株) 農業事業部上尾研究所桐原重樹氏に厚くお礼申し上げる。

材 料 と 方 法

1. 供試昆虫およびウイルス接種法

ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*)、アメリカシロヒトリ (*Hyphantria cunea*) およびヒメシロモンドクガ (*Orgyia thyellina*) の幼虫を供試した。ハスモンヨトウは日本化薬 (株) 農業事業部上尾研究所より分与された卵のふ化幼虫を、アメリカシロヒトリおよびヒメシロモンドクガは埼玉県蚕業試験場付近の桑で採集した卵のふ化幼虫、あるいは採集後幼虫を桑葉で飼育した室内2世代ふ化幼虫を使用した。

アメリカシロヒトリ CPV はハスモンヨトウに、またカイコ CPV (TC 系統) はアメリカシロヒトリおよびヒメシロモンドクガにそれぞれ接種した。すなわち、常法

1983年6月28日受領 (Received June 28, 1983)

により調整したそれぞれの多角体浮遊液を供試葉裏面に塗布し、24 時間食下させてウイルスの経口接種を行った。

2. 食草種と発病調査

(1) 飼育法

ハスモンヨトウの場合は、ふ化幼虫に階段希釈したアメリカシロヒトリ CPV をコマツナおよびキャベツ葉を用いて経口接種し、以後も同種の葉を給与して飼育を行った。

アメリカシロヒトリの場合は、ふ化幼虫にカイコ CPV (10^9 多角体/ml) をクワ、サクラ、ケヤキおよびアメリカハナミズキの葉を用いて経口接種し、以後も同種の葉を給与して飼育を行った。

ヒメシロモンドクガの場合は、クワおよびプラタナスの葉を用いて飼育した脱皮直後の 2 齢幼虫に、カイコ CPV を上述と同様の方法で経口接種し、以後も同種の食草で飼育した。

飼育条件は全期間を通じて $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、全明条件とした。

(2) 調査法

ハスモンヨトウの場合は、接種ウイルスの各濃度ごとに 20 頭の調査区を 2 区作成した。このうち 1 区は 3 齢終期に解剖鏡検して多角体形成個体率を調査した。また別の 1 区は 4 齢から個体飼育を行って死亡率、感染後の幼虫生存期間等を調査した。

アメリカシロヒトリおよびヒメシロモンドクガの場合は、ウイルス接種虫の中から各齢終期に 20 頭ずつ任意に抽出して解剖鏡検し、多角体形成状況を調査した。また、別に 20 頭の調査区を作り、発育日数の調査を行った。多角体形成状況調査により多角体形成幼虫がみられなくなるまで調査したが、ヒメシロモンドクガの場合は雌雄で脱皮回数が異なり齢期が不揃いであるため(佐藤, 1977), 3 齢から個体飼育を行って雌雄に分け、蛹化時まで調査を継続した。また、階段希釈したカイコ CPV をふ化幼虫に接種し 1 齢終期に多角体形成個体率を調査し BEHRENS-KÄRBER 法により IC_{50} を求めた。

3. ストレス処理と発病調査

アメリカシロヒトリおよびヒメシロモンドクガのふ化幼虫にカイコ CPV (10^9 多角体/ml) を経口接種し、1 齢脱皮開始時、脱皮終了前、2 齢初期(脱皮終了直後)、2 齢 1 日および 2 齢 2 日幼虫にそれぞれストレス処理を行い、2 齢終期における多角体形成状況を調査した。ストレス処理は 5°C 24 時間飼育、絶食および 1 M の EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) のナトリウム塩

第 1 表 アメリカシロヒトリ CPV を接種したハスモンヨトウの食草の違いによる発病経過

食 草	ウイルス濃度 (多角体 個/ml)	多角体形 成個体率 (%)	幼虫期間 (日/頭)	蛹期間 (日/頭)
コマツナ	10^9	100	19.4/16	12.0/ 3
	10^7	100	19.1/19	10.8/11
	10^5	70	17.6/20	11.0/12
	10^3	35	17.7/17	9.8/15
	—	0	15.7/19	8.5/19
キャベツ	10^9	100	39.0/ 1	—
	10^7	100	35.0/ 1	—
	10^5	70	41.7/ 3	—
	10^3	40	36.6/14	11.1/10
	—	0	22.2/18	10.9/17

幼虫期間および蛹期間については生存個体の平均値を求めた。

第 1 図 アメリカシロヒトリ CPV を接種したハスモンヨトウの食葉の違いと発病状況. a) P. P: 前蛹, P: 蛹. 多角体濃度(個/ml); ●: 10^9 , ▲: 10^7 , ■: 10^5 , ○: 10^3 , △: 非接種.

を調整し、桑葉に塗布して食下させる方法で行った。

結 果

1. 食草種と発病経過

(1) 治ゆが起こらない場合

アメリカシロヒトリ CPV をハスモンヨトウのふ化幼虫に経口接種し、コマツナもしくはキャベツで飼育して発病経過を調査した(第 1 表, 第 1 図)。非接種幼虫の発育は食草の種類によって異なり、キャベツ育幼虫はコマツナ育幼虫と比較して幼虫期間が明らかに長く、また蛹期間も長かった。

ウイルス接種による感染個体は、コマツナ育区では多くの個体が蛹化したが、キャベツ育区の感染個体は幼虫期にほとんど死亡した。コマツナ育区でも高濃度のウイルスを接種した場合には、感染虫のうち蛹期に死亡する

第2表 カイコ CPV に感染したアメリカシロヒトリの食草の違いによる治ゆ経過

食 草	log IC ₅₀	処 理	多角体形成個体率(%) ^{a)}				ふ化～3 齢期間 (日)
			1	2	3	4 ^{b)}	
クワ	5.5	TC 接種	100	(100)	(30)	0	11.8
		非接種	—	—	—	—	10.8
サクラ	5.3	TC 接種	100	(80)	(40)	0	12.5
		非接種	—	—	—	—	12.0
ケヤキ	5.0	TC 接種	100	(50)	0	0	17.0
		非接種	—	—	—	—	15.5
アメリカ ハナミズキ	5.0	TC 接種	100	へい 死			
		非接種	—				

a) () 内は多角体形成細胞出現頻度の疎なもの (治ゆ過程にある)。

b) 調査齢期。

個体がみられた。蛹期に死亡した個体の中腸細胞には多角体が多数形成されており、中腸管腔には幼虫期に形成され、蛹化時に細胞とともに脱落したと考えられる多角体が充満していた。

ウイルス感染虫のうち、死亡を免れた個体は幼虫期間が延長したが、とくにキャベツ育区で顕著に延長した。幼虫期間の延長は脱皮回数の増加によるものではなく、各齢期間の延長によるものであった。一方、交差感染率には食草の種類による明らかな差はみられなかった。

(2) 治ゆが起こる場合

カイコ CPV に感染し治ゆする昆虫について、食草種の違いにより治ゆ過程が異なるか調査した。

まず、アメリカシロヒトリのふ化幼虫にカイコ CPV を経口接種して、クワ、サクラ、ケヤキおよびアメリカハナミズキで飼育し、その後の多角体形成状況を調査した (第2表)。非接種幼虫の発育日数はクワ育区が最も短く、ケヤキ育区は最も長かった。アメリカハナミズキ育区では、幼虫の発育が悪く、1 齢脱皮期前後に全個体が死亡した。

各齢終期に多角体形成状況を調査したところいずれの食草育区でも、1 齢終期にはすべての調査個体で広範

の中腸皮膜の円筒細胞に多角体が形成されていた。しかし、いずれの食草育区の感染幼虫でも、2 齢終期には多角体形成細胞は大部分中腸皮膜から脱落・消失し、さらに4 齢終期にはすべての調査個体で多角体形成は認められなかった。

次に、ヒメシロモンドクガをクワおよびプラタナスで飼育し、脱皮直後の2 齢幼虫にカイコ CPV を経口接種して多角体形成個体率を調査した (第3表)。プラタナス育区では幼虫期間が延長したが、多角体形成細胞の消失状況よりみた治ゆ経過には食草種の違いによる差はみられなかった。

アメリカシロヒトリおよびヒメシロモンドクガにおいても、食草種の違いによる交差感染率の差はみられなかった。また、いずれの場合も多角体形成時の齢期間は延長したが、治ゆ過程に入るとそれ以後の齢期間はウイルス非接種区と差がみられなくなった。一方、ヒメシロモンドクガでは、カイコ CPV に感染後治ゆした場合には脱皮回数が増加する傾向があり、とくに雌より雄で、またクワ育区よりプラタナス育区で脱皮回数が1 回増加する個体の発生率が高かった。

2. ストレスと治ゆ

アメリカシロヒトリおよびヒメシロモンドクガのふ化幼虫にカイコ CPV を経口接種した。1 齢終期にそれぞれ20 頭を任意に抽出して解剖鏡検し、感染率が100%であることを確認した後、残余の幼虫について、1 齢脱皮時から2 齢終期まで時期を変えて、5°C 24 時間飼育、絶食ならびに Na-EDTA の経口投与を行い、多角体形成状況を調査した (第4、5表)。アメリカシロヒトリの脱皮終了直後から絶食した区は、調査時までには飢餓により全個体が死亡した。他のストレス処理区はいずれの時期にストレスを与えた場合でも、2 齢終期にはほとんどの多角体形成細胞は消失しており、脱落せずに残った多角体形成細胞が数個みられる個体がある程度で、対照区とほぼ同様の経過で治ゆし、新たな多角体の形成は起こ

第3表 カイコ CPV に感染したヒメシロモンドクガの食草の違いによる治ゆ経過

食 草	log IC ₅₀	処 理	多角体形成個体率(%) ^{a)}				幼虫期間 (日/頭)			
							♂		♀	
			2	3	4	5 ^{b)}	4	5	5	6 ^{c)}
クワ	5.3	TC 接種	100	(10)	(5)	0	24.0/3	27.2/5	29.6/10	31.5/2
		非接種	—	—	—	—	23.5/6	—	27.8/11	32.0/3
プラタナス	5.3	TC 接種	100	(35)	(20)	0	29.0/1	33.8/8	35.4/ 5	39.5/6
		非接種	—	—	—	—	26.2/8	31.5/2	32.7/ 6	35.0/1

a) () 内は多角体形成細胞出現頻度の疎なもの (治ゆ過程にある)。

b) 調査齢期。

c) 脱皮回数。

第4表 カイコ CPV に感染したアメリカシロヒトリのストレス処理後の治ゆ経過

処理時期	調査時期	処 理 法		
		低温	絶食	Na-EDTA
1 齢脱皮開始時	2 齢終期	(15)	—	—
" 終 期	"	(20)	—	—
2 齢(脱皮直後)	"	(30)	へい死	(10)
" 1 日	"	(25)	(10)	(20)
" 2 日	"	(25)	(30)	(30)
—	"	(15)	(15)	(15)
—	1 齢終期	100	100	100

多角体形成個体率(%)で表示。()内は多角体形成細胞出現頻度の低いもの(治ゆ過程にある)。

なかった。

考 察

CPV に交差感染後死亡を免れる程度の発病状況を示す昆虫では、発育日数が延長するような不良な食草条件下では死亡率が著しく増加し、死亡時期も早くなった。したがって、治ゆが起こらない場合の発病程度は、食草条件の影響を受けやすいと考えられた。一方、CPV に交差感染後治ゆが起こる昆虫では、飼料価値の劣る食草で飼育すると、非接種幼虫と比較して CPV 接種幼虫では幼虫期間が若干長くなることはあっても、治ゆ現象そのものには何らの影響もみられなかった。

各種昆虫の自然界におけるウイルス病の発生は、時として爆発的に起こることがある。この原因の一つとして環境諸要因がストレスとなり潜在保持しているウイルスの増殖を誘発することが考えられる(有賀, 1970)。このような現象に関連して、ストレスとウイルス病の発生との関係については、カイコを中心に多くの研究が行われている。低温(福原・有賀, 1959; 鮎沢, 1961)や EDTA 等化学薬品投与(有賀・福原, 1960)はとくに効果が高く、アメリカシロヒトリでも EDTA 投与や他種ウイルス接種によりウイルス病が誘発されたことが報告されている(有賀ら, 1960; LONGWORTH and CUNNINGHAM, 1968)。

カイコ CPV に交差感染後治ゆが起こる昆虫においても、治ゆ後潜在的なウイルスが残存する可能性が考えられた。そこで、カイコ CPV に交差感染後治ゆが起こる場合に、過激なストレス処理を行って、治ゆ過程が変化するか否か調査した。しかし、今回の実験方法では新たな多角体形成を観察することはできなかった。

以上の結果から、治ゆを伴わないが死亡を免れるような発病の程度は、宿主昆虫の生理条件に左右されやすい

第5表 カイコ CPV に感染したヒメシロモンドクガのストレス処理後の治ゆ経過

処理時期	調査時期	処 理 法		
		低温	絶食	Na-EDTA
1 齢脱皮開始時	2 齢終期	(50)	—	—
" 終 期	"	(40)	—	—
2 齢(脱皮直後)	"	(40)	(35)	(25)
" 1 日	"	(40)	(25)	(20)
" 2 日	"	(30)	(15)	(20)
—	"	(30)	(25)	(25)
—	1 齢終期	100	100	100

多角体形成個体率(%)で表示。()内は多角体形成細胞の出現頻度の低いもの(治ゆ過程にある)。

が、治ゆ現象は生理条件やストレスの影響を受けないことから、通常の発病抵抗性とは異なる防御機構が関与していることが考えられた。

また、交差感染成立の難易も、交差感染成立後の生存期間に比べ、宿主昆虫の生理条件による影響を受けにくいものと考えられた。

摘 要

1) ハスモンヨトウを異なった食草種で飼育し、アメリカシロヒトリ CPV による交差感染後の発病状況を調査したところ、発育期間を延長するような飼料価値の劣る食草種で飼育した場合は死亡率が著しく高まり、死亡時期も早まった。

一方、カイコ CPV に感染したアメリカシロヒトリやヒメシロモンドクガを異なった食草種で飼育し治ゆ経過を調査したところ、食草種を変えても治ゆ経過には影響が見られなかった。

上記の調査における交差感染率は、食草種により明らかな差が認められなかった。

2) アメリカシロヒトリやヒメシロモンドクガにカイコ CPV を交差感染させ、治ゆ過程に入った脱皮期以後の各時期に、5°C 24 時間飼育、絶食、Na-EDTA 投与の処理を行い治ゆ経過に及ぼす影響を調査したところ、いずれの場合も新たな多角体形成は認められなかった。

3) 以上の結果から、治ゆを伴わないが発病へい死を免れるような抵抗性は、宿主昆虫の生理条件に左右されやすいが、治ゆ現象はこれとは異なり、飼育条件等の影響を受けにくいことが明らかとなった。

引 用 文 献

荒武義信・栢村鶴雄(1972) 野外昆虫ウイルスのカイコに対する病原性。蚕試験 25: 235—251。

- 荒武義信・栢村鶴雄(1974) マイマイガ幼虫の飼料条件とカイコ細胞質多角体病ウイルスによる交差感染との関係. 九病虫研会報 **20**: 42—44.
- 有賀久雄(1970) 昆虫ウイルス病の誘発現象. 化学と生物 **8**: 474—481.
- 有賀久雄・福原敏彦(1960) 化学薬品の添食による家蚕多角体病の誘発. 日蚕雑 **29**: 44—49.
- 有賀久雄・吉武成美・大和田道子(1963) 家蚕細胞質多角体病ウイルスの経口感染率を左右する諸要因について. 日蚕雑 **32**: 41—50.
- 有賀久雄・吉武成美・渡部 仁・福原敏彦(1960) 数種りんし目こん虫の多角体病とその誘発. 応動昆 **4**: 51—56.
- 鮎沢千尋(1961) 低温処理による家蚕多角体病の誘発について. 日蚕雑 **30**: 101—108.
- 鮎沢千尋・荒武義信・倉田啓而(1969) マツカレハ細胞質多角体病ウイルスの蚕への影響に関する研究. 蚕試報 **23**: 469—497.
- 林屋慶三・松原藤好・西田 順・川本文彦(1971) 人工飼料育蚕と桑葉育蚕との比較. I. 消化液の抗ウイルス作用の比較. 京工繊大繊報 **6**: 87—100.
- 福原敏彦・有賀久雄(1959) 温度処理による家蚕多角体病の誘発現象. 日蚕雑 **28**: 235—241.
- 樺沢 敦(1966) 蚕およびマツカレハ中腸型多角体病ウイルスの異種昆中への病原性. 茨城蚕試要報 **1**: 84—88.
- LONGWORTH, J.F. and J.C. CUNNINGHAM (1968) The activation of occult nuclear-polyhedrosis viruses by foreign nuclear polyhedra. J. Invertebr. Pathol. **10**: 361—367.
- 野口洋子・山口邦友(1982) 数種鱗翅目昆虫における細胞質多角体病ウイルスの交差感染と発病. 応動昆 **26**: 281—287.
- 佐藤 威(1977) ヒメシロモンドクガの休眠性と生活史. 応動昆 **21**: 6—14.