

報告番号

※
甲第

2995号

主論文の要旨

題名

クスノオオキクイムシとアンブロシア菌の
共生機構とその適応的意義

氏名 梶村 恒

主論文の要旨

報告番号

※ 第

号

氏名

梶村 恒

養菌性キクイムシは、樹木を介した昆虫と微生物との相互関係の進化の過程で、アンブロシア菌と総称される菌類を食糧として積極的に利用する習性を獲得した昆虫群である。本研究では、こうした養菌性キクイムシの一種であるクスノオオキクイムシとアンブロシア菌の共生機構とその適応的意義を、野外調査と実験的手法を併用することによって明らかにした。

本研究において得られた知見は、以下のように要約される。

(1) クスノオオキクイムシ個体群の生態的特徴

- ①本種は、名古屋大学農学部附属演習林に隣接する広葉樹林(愛知県北東部)において1年で1世代を経過した。飛翔分散は雌成虫のみが行い、6月下旬から9月上旬まで続いた。性比は、約1 : 9(♂ : ♀)であった。
- ②寄主木の樹種別にみると、本種の産卵坑道率は、ウリハダカエデ、リョウブ、シロモジ、コハウチワカエデの順に大きくなり、ウリハダカエデにおける繁殖成功率は他の樹種の約50%以下となった。また、ウリハダカエデにおける雌新成虫数が約2、3個体であったのに対し、他の樹種では平均5個体以上であった。
- ③雌成虫は、水平坑道の完成後、垂直坑道を約1 cm形成した時点で産卵を開始し、卵を数個ずつ塊状に産下した。また、成虫は穿入孔を蜘蛛糸状の膜で封鎖することが初めて明らかになった。坑道内の子孫数は、供試木伐倒から60日後まで増加したが、その後は雄成虫の脱出と餌不足による幼虫の死亡により減少した。垂直坑道は幼虫期から蛹期にかけて約2倍に拡張され、最終的に本種の坑道の全長は平均6 cmとなった。
- ④全成育ステージにおいて、坑道あたりの子孫数と坑道長との間には、正の相関が認められた。しかし、回帰直線の傾き(回帰係数)は、卵期(0.68)~蛹期から新成虫期~越冬期(0.16)にかけて大きく低下した。
- ⑤長さ6 cm以上と未満の坑道の間で、雌蛹および雌新成虫の平均生重と体サイズの頻度分布を比較した。その結果、6 cm以上の坑道の平均生重は6 cm

未満のものより有意に大きかったが、体サイズの分布範囲はほぼ同一であった。

- ⑥ 5個体以上が存在した同一坑道内の各個体の成育時期を、蛹は坑道内における新成虫の有無、新成虫は体色によりグループ分けし、この成育時期グループに含まれる蛹および新成虫の平均生重と体サイズの頻度分布を比較した。その結果、蛹、新成虫ともに早い時期に成育した個体の方が平均生重が有意に大きく、また生重の範囲もより大きい方へとシフトしていた。

(2) 坑道内共生菌

- ① シロモジ材の水平坑道から直接接種法により分離された共生菌は、おもに *Ambrosiella* sp.、酵母類、*Paecilomyces* sp.であった。穿入・産卵期には、*Ambrosiella* sp.が優占種であったが、その後は酵母類、*Paecilomyces* sp.が次第に優占的となった。また、他の3樹種の穿入・産卵期の水平坑道からも *Ambrosiella* sp.が優占的に分離された。
- ② 希釈平板法によって算出された各分離菌の坑道1 cmあたりの生菌数の動態も、①の結果とほぼ一致した。また、顕微鏡下で直接計測された *Ambrosiella* sp.の全菌数は、1 齢幼虫期までに急増し、終齢幼虫期になって大きく減少した後、新成虫期までその数を維持していた。
- ③ 垂直坑道の共生菌相の遷移は、水平坑道とほぼ同様の傾向を示したが、幼虫～蛹期において *Paecilomyces* sp.の優占度が大きく、また *Ambrosiella* sp.の生菌数が1 齢幼虫期から終齢幼虫期にかけて大きく減少しない点が異なった。
- ④ SEM観察によって明らかにされた実際の坑道内における共生菌の繁殖状況は、①～③のようなキクイムシの成育に伴う共生菌相の動態をおおよそ反映するものであった。

(3) mycangia(胞子貯蔵器官)内共生菌

- ① 本種のmycangiaは、前胸背と中胸背の間の節間膜が陥没した一对のポーチ状をなし、その開口部は虫体背面に存在することが明らかになった。
- ② SEM観察により、越冬期のmycangia内膜上には、平坦な板状の物質が付着

していること、また飛翔成虫のmycangiaにおいては、開口部側の菌塊表面が粘液状物質により被覆され、貯蔵孢子自体からも粘液物が分泌されていることが観察された。また、開口部を閉鎖する節間膜の膜組織が隆起、肥大し、その表面では刺状突起物が多数形成されていることが初めて確認された。

- ③未成熟新成虫および越冬成虫のmycangia内からは、*Ambrosiella* sp.以外に酵母類、*Paecilomyces* sp.などが分離された。しかし、その他の成育段階の成虫からは、*Ambrosiella* sp.のみが分離された。さらに、蛹を無菌的に脱蛹、成熟させた成虫のmycangiaからは共生菌が分離されなかったのに対し、未成熟成虫に同様の処理を加えた場合には、*Ambrosiella* sp.が100%分離された。また、飛翔成虫のmycangia内からは、飛翔分散した寄生樹種と関係なく、*Ambrosiella* sp.のみが分離された。
- ④mycangia内の*Ambrosiella* sp.生菌数は、飛翔期に最大量となり、その後産卵期までに急減し、幼虫期以降はさらに減少した。全菌数の変化もほぼ同様のパターンを示したが、産卵後の大きな減少傾向は認められなかった。また、飛翔成虫のmycangia内では孢子の割合が極めて大きくなった。
- ⑤越冬成虫を5℃下に置いた場合、mycangia内の優占種は、常に酵母類と*Paecilomyces* sp.であった。これに対して、25℃処理区では、すべての処理期間において*Ambrosiella* sp.のみが分離された。また、越冬成虫に5、15、20、25℃の4段階の温度処理を加えた場合、20℃および25℃処理区の*Ambrosiella* sp.生菌数が、処理日数の延長とともに増加した。しかし、いずれの処理日数においても、25℃処理区の方が20℃処理区より生菌数が多く、また25℃処理区の孢子数のみが増加していた。

(4) クスノオオキクイムシの人工飼育

- ①本種の羽化個体が得られたのは、本種の*Ambrosiella* sp. 1とハネミジカキクイムシの*Ambrosiella* sp. 3を与えて飼育した場合のみであった。本種の*Paecilomyces* sp.および*Candida* sp.、ミカドクイムシおよびサクキクイムシの*Ambrosiella* spp.では成虫まで成育できなかった。しかし、羽化率は

Ambrosiella sp. 1を与えた処理区(68.8%)の方が*Ambrosiella* sp. 3を投与した区(17.6%)よりも高く、また雌蛹の平均生重も大きかった。

②4樹種の鋸屑添加培地上で生育させた*Ambrosiella* sp. 1によって飼育した結果、シロモジとコハウチワカエデの鋸屑を添加した場合のみ、羽化成虫が得られた。また、これらの平均雌蛹重間には、有意な差は認められなかった。

③菌の培地上での面積を食物資源量の指標としたとき、孵化幼虫1個体あたりの*Ambrosiella* sp. 1の菌面積が10cm²までは、平均蛹生重、蛹化率ともに菌面積の増加につれてほぼ直線的に上昇した。しかし、この面積以上になると増加傾向は小さくなり、平均蛹重は9mg、蛹化率は80%の一定の上限值に到達した。

(5) アンブロシア菌の化学的分類

①SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いて、クスノオオキクイムシ、ミカドキクイムシ、ハネミジカキクイムシ、サクキクイムシと共生する7種のアンブロシア菌のタンパク質分析を行った結果、各キクイムシの*Ambrosiella* spp.は、本種の*Paecilomyces* sp.や*Candida* sp.より多数の明瞭なバンドを持ち、またキクイムシの種に特異的な泳動パターンを示した。

②ミカドキクイムシの*Ambrosiella* sp.は、他属の3種とかなり疎遠であり、一方、多くの共通する生活様式を持つクスノオオキクイムシとハネミジカキクイムシの*Ambrosiella* sp.はその類縁性がきわめて高かった。

以上の結果を総合して、次のことが示唆された。

①本種の主要な食物資源(PAF)は、*Ambrosiella* sp.であり、彼らはこの菌を様々な樹種の寄主木内に持ち込み、坑道全体をその繁殖場所としている。しかし、本種の繁殖成功は寄主木の化学成分により大きな影響を受けるものと推察される。

②親成虫は、坑道サイズを拡大することによって*Ambrosiella* sp.の量を増大させ、この資源量に応じて産卵数を調節している。早く孵化した幼虫は、良質の食物資源を優占的に利用して体サイズの大きい個体となる。このよ

うな資源利用様式により、本種は限られた資源量下でより大きな個体を効率的に生産できるものと思われる。

- ③mycangia内への共生菌の獲得は、脱蛹直後に行われ、坑道内に存在する菌を非選択的に取り込んでいる。その後、取り込まれた共生菌の中でPAFのみが選択的に培養される。このPAFの選択的培養の発現は、温度により規定され、至近要因としてはmycangiaの付属腺からの分泌物やPAFの生産する抗生物質による影響が考えられる。また、坑道内への貯蔵胞子の接種様式が、坑道部位によるPAFの繁殖速度の違いに対応した、適応的なものであることが示唆された。
- ④養菌性キクイムシは、同一樹木内で共存しながら種特異的なPAFと共生関係を成立させている。また、キクイムシ間の生態学的特徴を比較することによって、その類似性が高いほど共生するPAFはより近縁である可能性が示された。さらに、他種キクイムシの共生菌は自種のPAFの近縁種であれば潜在的に利用可能であるが、その場合にはキクイムシの適応度が低下することが初めて実証された。
- ⑤④の結果に基づき、キクイムシとアンブロシア菌との種特異的な共生関係の進化ルートを説明する新しい仮説(PCM: pairwise coevolutionary mutualism, DCM: diffuse coevolutionary mutualism)を提案した。
- ⑥本研究結果をもとに、キクイムシとアンブロシア菌の共生機構の特質を明らかにし、また両者の相互作用系の特徴とその成立過程を共生(symbiosis)の定義に従って詳細に検討した。