

## 「審査の結果の要旨」

論文提出者氏名 土田 努

微生物の内部共生は、多くの昆虫に普遍的に見られる現象である。そのなかでも、エンドウヒゲナガアブラムシ (*Acyrtosiphon pisum*) はそれを発達させていて、すべてがアブラムシの生存・繁殖に必須の共生細菌 *Buchnera* を体内に保有することが知られている。さらに一部の個体は、*Buchnera* に加え、二次的に獲得された多種多様な共生細菌を保有している。この二次共生細菌はアブラムシに必須ではないが集団中に広く存在しているという事実から、アブラムシ集団中に共生微生物が維持されるメカニズムは何か、という進化生態学における重要な問題が提起される。そこで本研究では、二次内部共生細菌の自然集団中での維持機構を明らかにすることを目的として、調査、観察、および実験を行っている。

まず、どのような共生細菌が日本集団に存在しているかを明らかにするため、本州のほぼ全域をカバーする 81 地点から採集した 119 の単一雌由来系統を材料に、特異的 PCR 法を用いて大規模なスクリーニングを行なっている。その結果、4 種類の二次共生細菌 (PASS, PAUS, *Rickettsia* および *Spiroplasma*) をエンドウヒゲナガアブラムシ日本集団から検出している。さらに、それらを本州の 43 地点で、より詳細な解析を行い、4 種類の二次共生細菌は、それぞれ特徴的な集団内感染頻度および地理的分布を持っていることを明らかにしている。そのパターンは、PASS は全国に高頻度、PAUS は北日本に集中的に高頻度、*Rickettsia* および *Spiroplasma* は、関東以南に低頻度というものであった。

そこで PAUS に焦点を絞って、この共生細菌の分布の規定に関与している環境要因を明らかにすることを試みている。重回帰分析をおこなったところ、PAUS の感染頻度と環境要因との間に有意な相関が検出している。そして、PAUS の感染頻度は、シロツメクサ上で高頻度になり、年平均気温が低い地点で高頻度になり、また年平均降水量 (湿度) が少ない地点で高頻度になるという傾向が示めされている。重回帰分析によって抽出された 3 つの候補のうち、どの要因が実際に PAUS の維持にかかわっているのかを野外データに基づいて推察しようと、同一地点の異なる宿主植物上で、気温および降水量の変化に伴う PAUS の頻度変化を調査している。その結果、PAUS はシロツメクサ上でのみ高頻度で推移しており、気温や降水量の変化に対してはほとんど相関が見られず、この傾向は調査した 3 地点の全てで観察している。このことから、宿主植物の種類が PAUS の維持にもっとも影響を与えているらしいと考察している。

PAUS は、これまでその微生物学的な実態はほとんど明らかにされていない。そこで、PAUS の形態、アブラムシ体内での局在、微細構造、および感染能力を調査している。蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) を用いた解析によって、PAUS は主に、一次共生細菌 *Buchnera* が存在する菌細胞の周辺部の鞘細胞、および体液中に存在していることを明らかにしている。この *Buchnera* との空間的に密接な局在は、必須共生細菌と二次共生細菌のあいだで様々な生物間相互作用が生じていることが示唆される。また、感染個体の体液を非感染個体に注入することで PAUS の感染能力を調査したところ、PAUS は体液注入 9 日後から次世代に伝わり始め、13 日後以降に産まれてきた仔は全て PAUS に感染していた。感染した PAUS は安定して垂直伝播し、24 世代後にも安定して保持されていた。また、PAUS は垂直感染の他に水平伝播する能力をも有してい

ることを明らかにしている。

シロツメクサ上で PAUS が高頻度に維持されている機構として、PAUS の感染がシロツメクサ特異的にアブラムシの適応度を上昇させているという宿主特異的な適応度上昇仮説を提出している。この仮説を検証するために、抗生物質処理により、アブラムシに必須の一次共生細菌 *Buchnera* には影響を及ぼさずに、PAUS を選択的に除去する技術を開発している。そして、カラスノエンドウとシロツメクサという2種の主要な宿主植物上における、アブラムシの体重、産子数、寿命といった各種の適応度を指標にして調査している。カラスノエンドウ上において PAUS 感染個体は、非感染個体よりも産子数が若干増加する傾向を示した。一方、シロツメクサ上における PAUS 感染個体の産子数は、非感染個体よりも劇的に増加し、総産子数では約2倍もの差が現れた。これらの結果は、”PAUS 感染による宿主特異的な適応度上昇仮説”を支持し、シロツメクサ上での感染個体の維持には PAUS の生物機能が大きく関与していると考察している。

本研究で得られた結果から、アブラムシにとって好適な植物が、PAUS 感染の有無によって、変化してしまうという非常に興味深い現象が明らかとされている。この結果は、共生微生物が昆虫の宿主植物特異性に大きく関与する可能性があることを意味していて、本研究が初めての重要な報告である。よって、本研究は博士(学術)の学位を授与するに相当するものと審査委員会は認める。