

昆虫の母性行動を利用した有害菌特異的抗菌物質の探索

上村 佳孝 [北海道大学大学院農学研究院 / 助教]

背景・目的

昆虫の多くは産卵した卵を産んだままにするが、一部の昆虫では卵が孵化するまでの間、親が保護するという行動が知られている。ハサミシ類(革翅目昆虫)はそのような保護行動を示す昆虫の一群である。ハサミシ類の母親は、卵を頻りに舐め、唾液でコートすることにより、脆弱な卵をカビやバクテリアから保護しているものと考えられている。本研究では、唾液腺からの有害菌に特異性の高い抗菌物質の同定を長期的目標と設定し、その基礎として、菌類(真菌類)とハサミシ類の卵保護行動の関係を解析した。

内容・方法

コバネハサミシ *Euborellia* の飼育は、卵を産んだ後、雌を単離飼育し、産卵確認後、0-1日、2-5日、6-9日、10-12日(各 $n = 11-14$)に10卵を滅菌生理食塩水500 μ で洗浄し、抗生物質 Chloramphenicol(100 μ g/ml)を添加したPDA培地平板3枚に100 μ ずつ塗抹した。同様の処理を10倍希釈液についてもおこなった。平板は25℃で7日間培養し出現コロニーを観察した。各菌種は単離培養し、形態観察および26SrRNA領域のNL1-4断片・ITS領域の1-4断片の塩基配列決定により同定した。

また、単離された *Cladosporium cladosporioides* の存在が4種ハサミシ類の卵発育に及ぼす効果を検討した。平板に培養された *C. cladosporioides* 上に、親が保護中の卵(産下後まもなく卵中の胚が目視できない段階のもの)を設置し、その後の発育を経時的に観察した。卵の表面殺菌処理はおこなっていない。対照群では、*Cladosporium* を接種していない培地上に卵を設置した。

結果・成果

コバネハサミシの卵洗液塗抹の計300枚の平板培養の結果、計708個の真菌由来のコロニーを得た。細菌・放線菌に由来すると考えられるコロニーは今回の解析から除外した。種数は少なく、属レベルまで同定された6種のうち *Rhizopus* sp.(クモノスカビ類)の優占度が特に高く、卵の発育段階を問わず、約90%を本種が占めた。全体の約6.5%を占める *Verticillium* (複数種、および近縁属を含む可能性がある)約1.7%を占める *Cladosporium cladosporioides* 続き、他の3属(*Simplicillium*, *Mucor* sp., *Penicillium* sp.)はそれぞれ0.5%以下の出現頻度であった。Goudey-Perrière(1989)によるフランス産オオハサミシ *Labidura ripa* (オオハサミシ科 *Labiduridae*) についての先行研究と比較すると、*Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium*

共通して観察されているが、今回優占の見られた *Rhizopus* は報告されておらず、卵にアソシエートする菌相には大きな違いがあったといえよう。

種レベルにまで同定ができ、かつ、実験に適したコロニー形状を呈する *Cladosporium cladosporioides* は、その存在が以下の4種のハサミシ類の卵の発育に与える影響を調べた:コバネハサミシ、コヒゲジロハサミシ *Euborellia annulipes*、マルムネハサミシ *Anisolabella distincta* 以上、マルムネハサミシ科 *Anisolabididae*、チビハサミシ *Paralabella curvicauda* ハサミシ科 *Spongiphoridae*。対照群に設置された卵は、卵周辺に菌糸(菌種未同定)が繁茂するとともに、卵自体はいびつにしぼみ、腐敗の様子を呈していたことから、設置4日以内には全部死滅したものと判定された。これに対し、*C. cladosporioides* 上に設置された卵は、4日目までは楕円球の形状と白色光沢を保ち、生存しているものと判断された(全4種について $P < 0.001$)。その後、胚の発育・孵化が3種で確認された。

以上の結果から、親の保護行動から隔離されたハサミシ類の卵は、その種類を問わず、微生物による侵襲に極めて脆弱であるが、*Cladosporium* の存在はその生残に対して強い正の効果を持つことが明らかとなった。Goudey-Perrière(1985)も同属の *C. herbariarum* がオオハサミシ卵の発育に正の効果をもつことを報告しており、有益な菌が産地・科の異なるハサミシ類から独立に単離されたことは興味深く、菌-ハサミシ間にゆるい共生関係が存在している可能性もある。

今後の展望

母親に保護を受けているハサミシ卵からは、限られた種類の菌類しか検出されず、その中で特に *Cladosporium cladosporioides* は、卵の発育に関して悪影響を与えず、むしろ他の有害な菌の繁殖から卵の守る効果があることが示された。なぜ特定の菌のみが、母親によって除去されずに残っているのか?母親の唾液腺を効率良く大量に集める技術は現在検討中であり、確立に至っていないが、その技術が確立され、各種菌類に対する唾液物質の抗菌スペクトルが明らかになれば、この問題に対する解決が得られ、有害菌に特異性の高い抗菌物質の同定につながるものと期待される。