

クサカゲロウ科昆虫の腸管に生息する酵母

吉橋 佑馬 (筑波大学 生物学類)

指導教員：出川 洋介 (筑波大学 生命環境系)

1. 導入

昆虫をはじめとした節足動物の腸管内には様々な微生物が生息している。それらの中には宿主との共生関係を持ったものも多数存在している。例えばシロアリ目の下等シロアリの仲間は木材の分解に際して腸管内に生息するトリコニファ等の原生生物やバクテリアが生産する酵素による消化の補助を受けている。また、近年、コウチュウ目のゾウムシ科では鞘翅の硬化に関わるチロシンの合成を共生器官の中で飼っているバクテリアに頼っていることが明らかにされた (Anbutsu et al. 2017)。一方、内生する真菌類と節足動物との共生関係も多く知られており、例えばコウチュウ目のキクイムシ類ではマイカンギアと称する専用の器官が分化し、ここにアンブロシア菌と呼ばれる菌群の菌体を蓄えておき、成虫自身が掘った坑道内に菌を接種し、それを幼虫が餌として利用するといった共生関係を持っている。

クサカゲロウ科は昆虫綱のアミメカゲロウ目に属する。1970年代に成虫の前腸後端付近にある分岐腸 (diverticulum) 中に酵母が存在することが発見され、共生していると推定された。幼虫は肉食性であり、成虫は甘露や植物の花蜜などを食べるという生活をしており、酵母は成虫にのみ存在していた。昆虫と酵母との関係についても調べられており、クサカゲロウが必要とする必須アミノ酸とビタミン、糖の混合物で構成された餌を食べさせた系とさらに静菌剤を加えた系を用意し、それぞれ必須アミノ酸を一種類抜いたもの同士を比較することで、バリンがなく静菌剤がある状況下では卵生産のパフォーマンスが低下することが報告されている。これにより、昆虫は必須アミノ酸のバリンの供給を酵母に頼って、両者は共生関係にあると推定された (Hagen et al. 1970)。しかし、この時点で酵母は正確に同定されておらず、また、その後再検討もないため、クサカゲロウと酵母の関係は不明瞭なままであった。以降の研究で欧州や北米などからクサカゲロウ科昆虫より得られた酵母の新種記載や報告がなされており、クサカゲロウ科 4 属 6 種の成虫から合計 2 属 7 種の酵母が分離されている。

一方、日本を含め、アジアにも多様なクサカゲロウ科昆虫が生息しているが、酵母の検討例は全く無い。本研究では、まず日本産のクサカゲロウ科昆虫の成虫を採集して腸管に生息すると推定される酵母のフロラを解明することから着手した。

2. 方法

1) 昆虫の採集：2018年7月～11月の間、長野県上田市菅平高原、上田市芳田、茨城県つくば市、東京都港区 (国立科学博物館附属自然教育園) において採集を行って、クサカゲロウ科昆虫を採集した。採集した個体は一個体ずつ、無菌遠沈管もしくはビニール袋に入れて実験室に持ち帰り処理を行った。市田 (1992) を参照し、形態に基づき、種同定を行った。

2) 酵母の分離培養と同定：採集した各クサカゲロウ個体について胸部圧迫による吐き出し物、および、解剖による分岐腸を得てこれらを PDA 培地に直接接種し、滅菌した柄付き針で広げた。出現した酵母のコロニーを一次分離した後、希釈平板法により単細胞を回収し純粋培養を確立した。それらを徳増青木保存培地に

て斜面培養およびグリセリン 10%水溶液による-80度の凍結保存により保管した。これらの分離菌株について、形態観察及び、分子系統解析により種同定を試みた。酵母細胞は、Axioskope (Zeiss) を用いて観察し撮影、計測した。分子系統解析には LSU の D1/D2 を含む領域の塩基配列を決定し、Kurtzman et al. (2005) を参照し、各種の代表的な菌株の配列データセットを作成し、最尤法によって系統樹を構築した。

3. 結果

7 から 11 月の 4 か月間に、合計 117 個体のクサカゲロウ目昆虫が採集された。これらは、形態に基づき、計 13 種に同定された。うち 13 種の 109 個体の成虫から酵母の分離を試みた。まずアミメクサカゲロウの 1 個体について、胸部圧迫による吐き出し物、解剖による分岐腸からの分離を行ったところ、同一の酵母を産していた。そこで、以降のサンプリングではいずれかの部位のみからの分離を行った。その結果 9 種 38 個体から 38 菌株を得た。分離菌株の酵母細胞について、計測を行い写真とともに記録した。現在、分子系統解析による種同定を進めている途上だが、既に決定済みの一部の配列を用いて予備的に系統解析を行った。その結果、ヤマトクサカゲロウには複数の酵母が生息している可能性が示唆された。また、ヤマトクサカゲロウとミナミクサカゲロウから同種の酵母が得られた。

4. まとめと考察

1) 日本 (アジア) で初めて、クサカゲロウ科昆虫の腸管の酵母フロラを調査し、9 種 38 個体のクサカゲロウ目昆虫の腸管より、38 株の酵母が分離され、これらは全てメチニコビア属のものであった。クサカゲロウ科からは従来 7 種の酵母が知られていたが、この 7 種やそれに類縁な酵母とは著しく異なるものが含まれていた。北米や欧州と腸管内の酵母のフロラが異なっている可能性がある。

2) ヤマトクサカゲロウの複数個体の腸管に生息する酵母を分離培養して系統解析した結果、少なくとも 5 種以上の酵母が認められたこと、および、2 種の成虫から同種の酵母が認められたことから、現段階では、クサカゲロウ科昆虫と酵母の種との間には種特異な関係は存在しない可能性が示された。しかし、いずれの酵母もすべて、メチニコビア属の種であった。成虫の腸管に生息する酵母は幼虫期には存在せず、また、次世代に対し酵母を渡す行動も現段階では知られていない。このためクサカゲロウ科昆虫は成虫になってから酵母を獲得すると考えられる。しかし、このときに何等かの理由でメチニコビア属の酵母が優占するようである。同属は花蜜酵母としても知られており、成虫が、酵母を野外から得る際に、餌となる花蜜に存在する酵母と関連性があるのか調べる必要がある。また、今後の展望としてクサカゲロウを継代飼育し、羽化直後の無菌的な成虫を用意して、酵母を与えず、あるいは、人為的に別の酵母を与えるなどの実験を行い、酵母がどのように定着するのか検討し、クサカゲロウ科昆虫と酵母とがどのような関係にあるのか、明らかにしていきたい。