

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570016

研究課題名(和文)植物の二次代謝物質がアリ共生型アブラムシの起源と進化に与えた影響について

研究課題名(英文)The effects of plant secondary phenolics on origin and evolution of ant-attended aphids

研究代表者

八尾 泉 (YAO, IZUMI)

北海道大学・(連合)農学研究科(研究院)・農学研究院研究員

研究者番号：70374204

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：アリ共生型アブラムシは、夏季の栄養劣化した植物上でも甘露を排出し続けている。本研究は、アブラムシが体内に植物二次代謝物質(タンニン等)を分解する共生細菌を住まわせることによって、通年の甘露生産を実現し、アリの継続的な随伴を可能にさせたアリ共生型アブラムシに進化したという仮説を、分子生物学的手法を用いて検証した。カシワの縮合型タンニンは季節進行と共に増加したが、アブラムシ体内にタンニンを特異的に分解する細菌は検出されなかった。検出された微生物はブフネラの他にボルバキアと二次共生微生物だった。ブフネラ保有量は季節を通じて大きな変化はなかったが、ボルバキアは2つのピークが現れた。

研究成果の概要(英文)：Ant-attended aphids continuously produce honeydew even in summer deteriorate plants. Using molecular technique, this study examined the hypothesis that ant-attended aphids allowed to harbor tannin-degrading symbionts in their guts, and thereby realize season-round honeydew producing, and enable themselves to get continuous ant attendance. Concentration of condensed tannin in *Quercus dentata* leaves increased with the progressive of season. Tannin-degrading bacteria was not found in ant-attended aphids. *Buchnera*, *Wolbachia*, and secondary symbionts were detected in the ant-attended aphids. Although the abundance of *Buchnera* in aphids did not fluctuate during the season, that of *Wolbachia* had two peaks in the season.

研究分野：動物生態学, 進化生態学

キーワード：アリーアブラムシ共生関係 ブフネラ ボルバキア タンニン カシワ 季節動態

1. 研究開始当初の背景

一般的に植物は春の芽吹きから展葉終了後までが栄養レベルが高く、夏に向かって急速に水分・アミノ酸などが減少していく。また植物二次代謝物質のタンニンが増加する。植物篩管液に全面的に依存している吸汁性昆虫のアブラムシは、夏季の栄養劣化した植物上で個体・コロニーサイズが減少する。アリと共生するアブラムシは、尾部(肛門)から甘露を排出し、その甘露はアリに採餌される。アリ共生型アブラムシは、夏季の栄養劣化した植物上でも甘露を排出し続けており、秋までコロニーを維持している。ある種のアカネズミはタンニンを分解する細菌を体内に持っており、ドングリの消化を助けていることが報告されている。

2. 研究の目的

本研究は、アブラムシが体内に植物二次代謝物質(タンニン等)を分解する共生細菌を住まわせることによって、通年の甘露生産を実現し、アリの継続的な随伴を可能にさせたアリ共生型アブラムシに進化したという仮説を、分子生物学的手法を用いて検証する。

3. 研究の方法

(1)本研究では、2通りの方法でアブラムシ体内の共生微生物を調べた。供試虫として、カシワにコロニーを形成し、アリと共生する *Tuberculatus quercicola* (カシワホシブチアブラムシ)を用いた。2012年6~7月初旬のカシワホシブチアブラムシを採集し、1.5ml チューブ3本を用いて、それぞれ1匹、6匹、30匹を投入し、すりつぶした。遠心後に上澄み液をタンニン培地に塗布した。48時間後にコロニーができるかどうかを確かめた。多くの微生物で保守的に保存されている 16Sr-RNA 遺伝子を増幅し、DGGE(変性剤濃度勾配ゲル電気泳動)法を用いて、アブラムシ体内の微生物を網羅的にスクリーニングした。ゲルから増幅産物のバンドを切り出し、シーケンスを行い、遺伝子データベースを利用して、微生物の同定を行った。さらに定量PCR法を用いて、同定された微生物の季節動態を追跡した。寄主植物カシワの葉の含水率・葉の厚さ(パンチでくり抜いた単一面積の重量を測定した)・二次代謝物質であるタンニンを2週間ごとに定量した。タンニンは、加水分解型タンニンと縮合型タンニンに分けて定量した。アブラムシの個体数も2週間ごとに調査した。

4. 研究成果

いずれの処理区においてもコロニーは生育せず、アブラムシがタンニン分解細菌を保持している可能性は低いと考えられた。アブラムシ体内の微生物は、*Buchnera* (ブフネラ)、*Wolbachia* (ボルバキア)、二次共生微生物が同定された。ブフネラとボルバキアの個体群動態が季節的に変化するかどうか

を調べるために、それぞれのプライマーとプローブを作成し、Taqman probe方式で定量PCRを行った。その結果、ブフネラは寄主植物の質が良い6月にピークを示し、その後は大きな変動は見られなかった(図1)。一方ボルバキアは夏に向かって増加を示した後に減少し、再び増加するM字型の動態を示した(図2)。

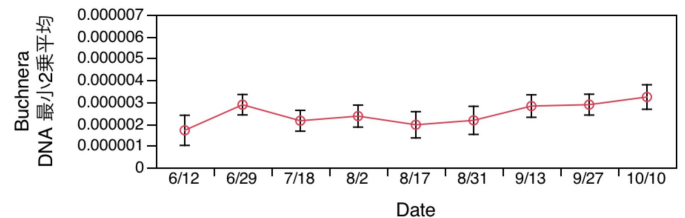


図1 ブフネラの季節動態

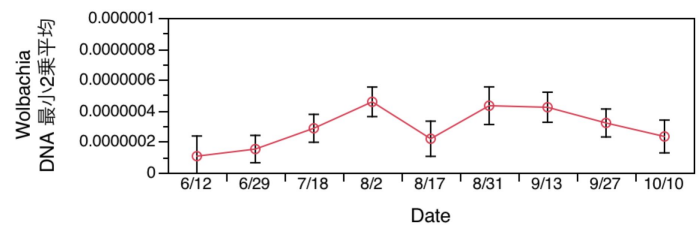


図2 ボルバキアの季節動態

カシワの葉の含水率は6月の展葉時が最も高く、7月下旬以降は約53%前後で推移した(図3)。

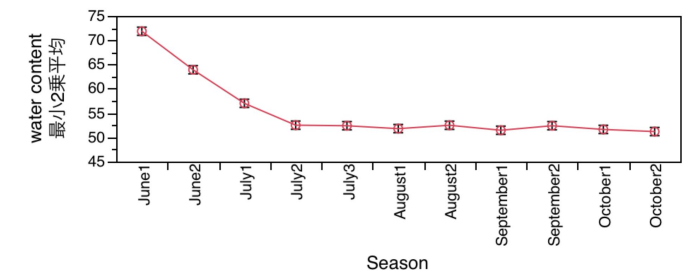


図3 カシワ葉の含水率の季節推移

カシワの葉は7月に向かって厚くなっていき、その後は大きな変動は見られなかった(図4)。

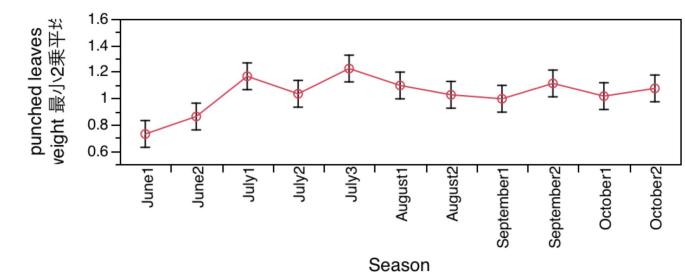


図4 カシワ葉の厚さの季節推移

カシワの葉の加水分解型タンニンは、展葉時が高く、7月以降は著しく減少した(図5)。

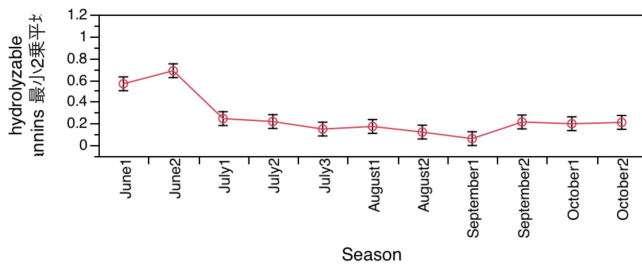


図5 カシワ葉に含まれる加水分解型タンニンの季節推移

一方、縮合型タンニンは、6月初旬は限界検出値以下だったが、季節進行と共に増加していき、7月下旬以降はほぼ一定となった(図6)。

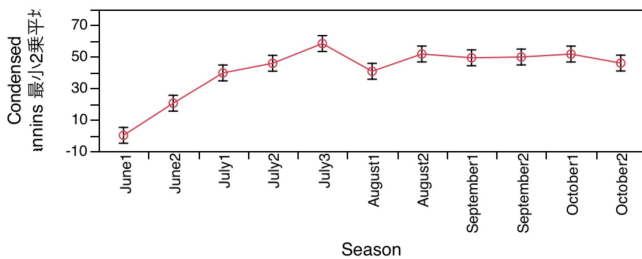


図6 カシワ葉に含まれる縮合型タンニンの季節推移

アブラムシの個体数は8月初旬にピークに達し、その後は減少していった(図7)。

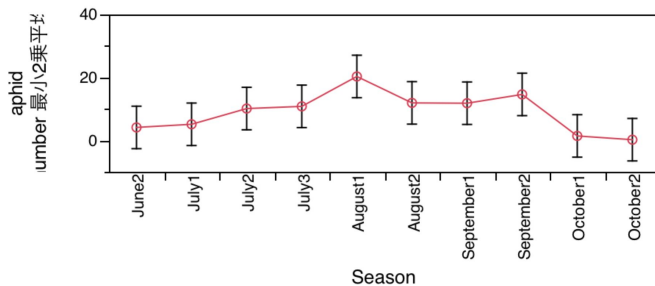


図7 アブラムシ個体数の個体群動態

ブフネラは季節を通じて大きな変化は見られなかったが、ボルバキアの季節動態は、縮合型タンニンの季節推移と同様の傾向が見られた。野外の季節動態は気温・雨量などの様々な要因に影響を受けるために、今後数年にわたって調査を続ける必要があるだろう。本研究では、タンニン培地の実験からは、タンニン特異的分解細菌は検出されなかったが、タンニン培地は1種類ではなく、いくつかの種類があることを考慮すると、アブラムシがタンニン特異的分解細菌を保有していないと結論づけるのは早計であろう。今後は

タンニン濃度を段階希釈したタンニン培地を作成し、実験に用いることが考えられるだろう。

また本研究では、ほぼ全てのアブラムシサンプルにおいてボルバキアが検出された。他の昆虫内でボルバキアが見出されている例はいくつかあるが、ボルバキアは宿主に対して寄生的であったり、栄養補完を行うなどの共生的であったりとその役割は様々である。ほぼ全てのカシワホシブチアブラムシにおけるボルバキアの検出は興味深く、その役割の解明は今後の課題となるであろう。

今回の研究では、タンニンを加水分解型と縮合型とに分けて定量したが、加水分解型タンニンは展葉時に高く、またその時期のアブラムシ個体数の増加が同調している傾向が見られ、加水分解型タンニンは植食性昆虫にとって正の効果を与えていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Watanabe T, Yao I, and Akimoto S (2015) Taxonomic revision of the *Tuberculatus quercicola* group (Hemiptera: Aphididae: Drepanosiphinae), myrmecophilous aphids associated with *Quercus* species, based on morphometric and molecular phylogenetic studies. *Entomological Science* 18, 55-65. 査読有, DOI: 10.1111/ens.12111

Yao I (2014) Costs and constraints in aphid-ant mutualism. *Ecological Research* 29, 383-391. 査読有, DOI: 10.1007/s11284-014-1151-4

八尾泉 (2013) アリ共生によって制限されたアブラムシの移動・分散. *生物科学* 64, 180-188. 査読有, http://www.ruralnet.or.jp/seibutsu/064_03.htm

Yao I (2012) Seasonal trends in honeydew-foraging strategies in the red wood ant *Formica yessensis* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 59, 1351-1363. 査読有, <http://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/handle/2115/52961>

Yao I and Kanbe T (2012) Unique haplotypes in ant-attended aphids and widespread haplotypes in non-attended aphids. *Ecology and Evolution* 2, 2315-2324. 査読有, DOI: 10.1002/ece3.348

〔学会発表〕(計 7 件)

八尾泉 (2015) 「アリ随伴アブラムシ共生

微生物プフネラの遺伝的変異」, 第 62 回日本生態学会 (2015.3/19 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島県・鹿児島市)

八尾泉 (2014)「*Tuberculatus* 属アブラムシの共生細菌プフネラは宿主のアリ随伴と体色に關与しているか?」, 第 61 回日本生態学会 (2014. 3/18 広島国際会議場, 広島県・広島市)

八尾泉 (2014)「アブラムシ共生微生物 *Buchnera* は host のアリ随伴に關与しているか?」, 2013 年度日本応用動物昆虫学会・日本昆虫学会共催支部大会 (2014. 1/22 北海道大学総合博物館, 北海道・札幌市)

八尾泉 (2013)「*Tuberculatus* 属アブラムシ体内の微生物ボルバキアに対する季節的定量」, 第 73 回 日本昆虫学会 (2013. 9/15 北海道大学農学部, 北海道・札幌市)

八尾泉 (2013)「アリ共生はアブラムシの翅と飛翔筋を減少させる」, 第 60 回日本生態学会 (2013. 3/8 グランシップ・静岡県コンベンションアーツセンター, 静岡県・静岡市)

八尾泉 (2013)「アリ共生がアブラムシの飛翔器官に及ぼす影響」, 2012 年度日本応用動物昆虫学会・日本昆虫学会共催支部大会 (2013. 1/22 北海道大学総合博物館, 北海道・札幌市)

八尾泉・片桐千仞 (2012)「アリ共生型・非共生型アブラムシの脂質分析と飛翔筋について」, 第 72 回日本昆虫学会 (2012. 9/16 玉川大学, 東京都・町田市)

〔図書〕(計 1 件)

八尾泉 (2013), 上田恵介ら編, 『行動生物学辞典』(東京化学同人), 幹母 (p. 95) と甘露 (p. 96) の項目を担当

〔その他〕

ホームページ

<http://insect3.agr.hokudai.ac.jp/%7EYao/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八尾 泉 (YAO IZUMI)

北海道大学・大学院農学研究院・研究員

研究者番号: 70374204