

昆虫の研究における細胞内共生微生物感染の問題点

近畿中国四国農業研究センター・広島大学生物圏科学科

広島大学生物圏科学科

三
わた
渡

浦
なべ
部

かず
まさ
真

き
や
也

はじめに

偏性細胞内共生微生物 (obligate intracellular symbiosis) は宿主生物の細胞内だけで増殖し, *Wolbachia*, *Rickettsia* や *Cardinium* 等がよく知られている (表-1)。これらの共生微生物は様々な宿主の性などを操作していることが明らかとなってきた。これらは基本的には卵を介して母親からその子孫に伝えられる。細胞質をほとんどもたない精子には潜りこめないため, 父親から次の世代に伝えられることはほとんどない。そのため, 雄殺し, フェミニナイズーション, 産雌性単為生殖や細胞質不和合などの様々な生殖異常を引き起こして感染雌の適応度の増加をはかる。非常に興味深い現象で注目を浴びている。しかし, 最近, 生物的防除で利用する天敵に感染が確認され, 野外への放飼による問題点が次々と指摘され出した (MOCHIAI et al., 2002; PERLMAN et al., 2006)。

本稿では, まずこれらの共生微生物の紹介とこれらによる宿主の操作について紹介し, 次に微生物の感染によって引き起こされるであろう昆虫研究の問題点を指摘する。最後に, 簡単に共生微生物の感染の有無を調べる方法を紹介する。

I 昆虫の感染頻度

どれくらいの種が共生微生物に感染しているのかわかるか。有名な *Wolbachia* での調査を紹介する。最初に *Wolbachia* 研究では第一人者である WERREN 博士が少なくとも約 20% の無脊椎動物種 (主に昆虫) に感染していると報告した (WERREN et al., 1995; WERREN and WINDSOR, 2000)。次いで JEYAPRAKASH and HOY (2000) が 76% の無脊椎動物に感染していると報告した。両者の報告には大きく隔りがある。両者は感染の有無を PCR 法で行っている。JEYAPRAKASH and HOY (2000) は感染検出率が高い PCR 用試薬を使った。彼らはこの試薬が二つの報告での感染率の違いの主な理由であるとした。しかし, 根本的に調査の方法を検討しなければ真の感染頻度に近づかないとする意見もある (TAGAMI and MIURA,

2004; HILGENBOECKER et al., 2008)。TAGAMI and MIURA (2004) は日本のモンシロチョウ感染率を調査した。島根県松江市で 56 個体調べて 0%, 広島県福山市で 161 個体調べて 3.1% 等, 他の地域を入れて 357 個体調べた結果, 全体では 3.4% という低頻度であった。これは調査個体数が少ないと感染個体を発見できる確率が非常に低いことを示している。そこで, HILGENBOECKER et al. (2008) はメタアナリシス meta-analysis で 66% が感染しているであろうと予測した。このことから, かなりの昆虫が低頻度で感染していることを示している。ここで注意してほしいのは, 同一種でも感染個体と非感染個体が存在することと個体群中の感染個体頻度はかなり低い可能性があるということである。例えば, 後述するが生活史パラメータなどを調べた個体の中には感染個体が含まれる可能性がある。

以下に共生微生物による操作と注意点を示す。

II 細胞質不和合

共生微生物による宿主の操作で一番よく知られているものは細胞質不和合 (cytoplasmic incompatibility: CI) である。細胞質不和合とは正常な雌雄がある組み合わせでは子どもを残すことができない現象である。この現象をつかさどる要因は細胞質に存在している。*Wolbachia* や *Cardinium* のような共生微生物が知られている (表-1)。

細胞質不和合について一番簡単な方向性細胞質不和合で説明する。表-2 からわかるように共生微生物に感染している雌雄間と非感染の雌雄間, 感染雌と非感染

表-1 主な共生微生物の宿主の操作

共生微生物	CI	MK	FM	PI	DF	IF	参考文献
<i>Wolbachia</i>	○	○	○	○		○	
<i>Richettsia</i>		○		○	○		1)
<i>Spiroplasma</i>		○					2)
<i>Cardinium</i>	○		○	○	○		3)

CI: 細胞質不和合, MK: 雄殺し, FM: フェミニナイズーション, PI: 産雌性単為生殖, DF: 産卵数減少, IF: 産卵数増加。

1) WERREN et al. (1994); HAGIMORI et al. (2006), SAKURAI et al. (2005), 2) HURST et al. (1999), 3) WEEKS et al. (2001); ZCHORI-FEIN et al. (2001); PERLMAN et al. (2008); GOTOH et al. (2006)。

Problems of Insects Infected with Obligate Intracellular Symbiosis. By Kazuki MIURA and Masaya WATANABE

(キーワード: 共生微生物, 生物的防除, ふ化率, 性比)

表-2 細胞質不和合

	非感染雄	感染雄
非感染雌	○	CI
感染雌	○	○

○：子どもができる組み合わせ。
CI：細胞質不和合を起こす組み合わせ。

雄の間では子どもができる。しかし、非感染雌と感染雄の間では子どもができない。前述したとおり、共生微生物は細胞質に寄生し、卵を通して次世代へ伝搬する。雄のつくる精子にはほとんど細胞質がないため母親側からしか共生微生物は伝搬されない。もし、共生微生物が寄生しても宿主の増殖力が高くなるとすれば、共生微生物自身が増えるためには自分が存在しない宿主個体群をこの世から葬り去ればよい。そうすれば共生微生物の寄生した宿主が増加し、結果的には共生微生物も増えることとなる。

ここで簡単な数式 (HOFFMANN et al., 1990) で個体群中への感染個体の頻度変化を考えることにする。

$$P_{t+1} = \frac{Pt(1-\mu)(1-Sf)}{1-SfPt - ShPt(1-Pt) - \mu ShPt^2(1-Sf)}$$

ここで P_t は世代 t における感染成虫の頻度 (雄と雌は同じとする)。 F は非感染雌と比較した感染雌の相対的産卵数、 H は不和合 (非感染雌×感染雄) と和合 (その他の組み合わせ。ただし、和合のふ化率はすべて同じとする) の相対的ふ化率を表す。また、 $Sh = 1-H$ 、 $Sf = 1-F$ とする。 μ は母親から子どもへの非垂直感染率である。なお、本式は表-3 の組み合わせがランダムに交配することを仮定している。細胞質不和合によるふ化率であるが、観察されたすべての場合が0%に近いわけではない。例えば、ガの一種 *Ephestia* 属ではスジコナマダラメイガ *Ephestia kuehniella* では非感染雌と感染雄の子どものふ化率は60.8%に対しスジマダラメイガ *E. cautella* では0%であった (SASAKI and ISHIKAWA, 1999)。シミュレーションはふ化率が50%の場合と10%の場合で行った (図-1)。ふ化率が50%の場合約60世代目で感染個体の頻度がほぼ1となり、10%では30世代で頻度がほぼ1となる。ふ化率が低いほど個体群中の感染頻度は急激に高くなる。

このようなことは現実には起こっているのだろうか？ 一方方向性細胞質不和合で知られて昆虫はショウジョウバエ *Drosophila* spp. やヒメトビウンカ *Laodelphax striatellus* 等がある。NODA (1984) は日本のヒメトビウンカは

表-3 それぞれの組み合わせでの子どものカテゴリー

	非感染雄	感染雄
非感染雌	$(1-Pt)(1-Pt)$	$(1-Sh)(1-Pt)Pt$
感染雌	$(1-Sf)Pt(1-\mu)(1-Pt)$ $(1-Sf)Pt\mu(1-Pt)$	$(1-Sf)Pt(1-\mu)Pt$ $(1-Sf)Pt\mu(1-Sh)Pt$

P_t ：世代 t における感染成虫の頻度 (雄と雌は同数)、 F ：非感染雌と比較した感染雌の相対的産卵数、 H ：不和合と和合 (和合のふ化率はすべて同じとする) の相対的ふ化率、 μ ：母親から子どもへの非垂直感染率、 $Sh = 1-H$ 、 $Sf = 1-F$ 。

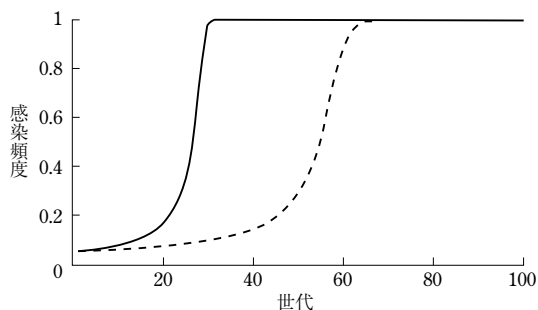


図-1 感染頻度の動態

実線： $P = 0.05$ と $Sh = 0.9$ 、点線： $P = 0.05$ と $Sh = 0.5$ 。詳細は本文参照。

西日本の雄と東日本の雌との間では子どもができないことを明らかにした。彼が調べた個体群は西日本では *Wolbachia* に感染しており、東日本では感染していなかった。その境界地域は1981～82年当時は関東地方南部であると考えられた。しかし、およそ10年後に HOSHIZAKI and SHIMADA (1995) が調べたところ、さらに北方まで拡大し境界地域には感染・非感染個体が共存している多型集団が認められた。このように感染ヒメトビウンカの北進とともに *Wolbachia* も北上している。そして、いつの間にか *Wolbachia* だらけの個体群となっている。つまり、*Wolbachia* 非感染個体群は駆逐されている。シミュレーションの結果のように感染個体の頻度は高くなっていくことがわかる。

このような現象は、遺伝的多様性に深くかかわってくる。細胞質不和合を起こす *Wolbachia* に感染した特定の宿主系統が分布拡大すれば、母系遺伝する多くのミトコンドリア遺伝子の変異に影響してくる。その結果、分布拡大した *Wolbachia* 系統と関連したミトコンドリア遺伝子がヒッチハイキングして個体群中に固定され、個体群中のミトコンドリア遺伝子の多様性は低下する。このような作用は共生微生物による選択的除去 (selective

sweep) と呼ぶ。選択的除去とは、連鎖不平衡パターンを改変し、正の選択を受けた対立遺伝子を含む遺伝子領域のゲノム多様性を究極的に低下させる過程のことである。このような *Wolbachia* 感染による選択的除去の例としてホソチョウの一種 *Acraea encedon*, タマバチの一種 *Biorhiza pallida* やキチョウ *Eurema hecabe* で報告されてきた (ROKAS et al., 2001; JIGGINS, 2003; NARITA et al., 2006)。後述するが、この選択除去も天敵放飼における問題点である。

(1) 研究上の問題点

害虫や天敵の生活史を理解することは重要である。そのため、発育日数、性比、産卵数、生存率（ふ化率・羽化率）等の生活史パラメータを調査する。これらのデータは野外から採集してきた最初の世代で調査を開始することはあまりなく、室内である世代数飼育した集団で調査することがほとんどであると考ええる。集団内のふ化率は感染頻度が1に近いときは安定している。しかし、感染頻度が高くない場合、求めたふ化率は宿主昆虫自体の性質ではない。もし感染の有無を調べていなければ、ふ化率は何に起因しているのかわからなくなる。

単数2倍体の生物では細胞質不和合は少し異なる結果をもたらすことが知られている。単数2数体は蜂、アザミウマやダニで知られている。ここで、簡単に単数2倍体の性決定様式を説明する。ほとんどの雌は受精卵由来の2倍体である。一方、たいていの雄は未受精卵の単為発生による単数体である（詳しくは田上・三浦, 2007）。単数2倍体での細胞質不和合はふ化率が下がる場合と雄率が高くなる2通りが知られている (MOCHIAH et al., 2002)。蜂では局所的配偶競争により性比が雌に偏ることが知られている。性比を調べている個体の一部に雄率が高くなる細胞質不和合共生微生物感染個体が存在すれば解釈が異なってくる。また、蜂の場合、雄率が高くなる理由として性決定が相補的遺伝子 (complementary sex determination) と特異な因子である PSR (Paternal sex ratio; 宿主を雄化する染色体) が知られている。詳細に感染の有無などを調べなくては得られた性比の結果の考察が間違った方向に導かれる。

(2) 天敵放飼の問題点

天敵が細胞質不和合を起こす共生微生物に感染している場合、どのように放飼後拡がるかを Travelling Wave Model (TURELLI and HOFFMANN, 1991; SCHOFIELD, 2002) で計算した。

$$p(x, t) = \frac{1}{2} \left[1 - \tanh \left(\frac{x - vt}{2w} \right) \right]$$

ここで、 $p(x, t)$ は距離 x 時間 t における共生微生物

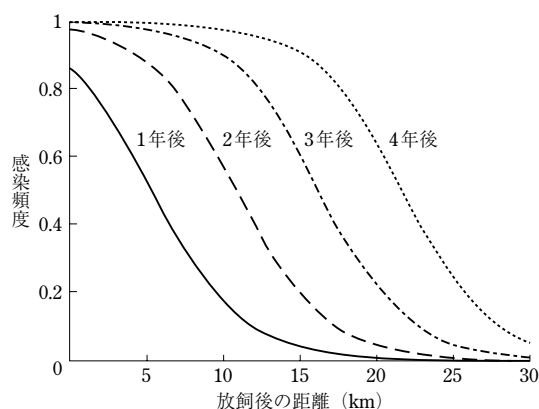


図-2 感染個体の放飼後の動態

の感染頻度、 v は感染波の速度、 w は感染波の幅とする。また、天敵だけが細胞質不和合を起こす共生微生物に感染し、野外個体群は非感染であると仮定する。仮想天敵はタイリクヒメハナカメムシとして、パラメータは TUDA and SHIMA (2002) と柿元ら (2003) から推定した。この結果、2年後で 11 km の範囲で 50% が放飼個体になる (図-2)。生物農薬は大量増殖して販売するので遺伝的多様性が低い (HINOMOTO et al., 2006)。そのため、放飼個体による選択的除去が起こり、野外の遺伝的多様性が低くなる可能性がある。あわせて細胞質不和合微生物感染個体を放飼することにより野外個体群の非感染個体の頻度が減少していく。

また、放飼天敵が細胞質不和合を起こす共生微生物に感染している場合、別の問題を指摘する論文がある。寄生蜂 *Cotesia sesamiae* はアフリカの *Sesamia calamistis* などの鱗翅目幼虫防除に利用されている。この放飼寄生蜂は細胞質不和合を引き起こす *Wolbachia* に感染している。しかし、放飼地域では非感染個体が存在している。そのため、感染個体群を放飼すると、非感染個体群の繁殖力を減少させることが予測されている (MOCHIAH et al. 2002)。また、イスラエルやイタリア原産の寄生蜂 *Encarsia inaron* はコナジラミの一種 ash whitefly の天敵としてカリフォルニアで利用されている。この寄生蜂は細胞質不和合を引き起こす *Wolbachia* と *Cardinium* に感染している。寄生蜂の系統によって感染の状況が異なる。そのため、多数の系統を放飼すると各系統間で不和合が起き、天敵放飼の効果を低下させる可能性が指摘されている (PERLMAN et al., 2006)。

Ⅲ 性 比 異 常

共生微生物による性比異常もよく知られている現象である。ここで性比異常とは雌ばかりが出現したり、雄が出現しても数が少なく、性比が異常に雌に偏っていることを言う。性比異常として産雌性単為生殖、フェミニナイズーションや雄殺しという現象が知られている。

(1) 産雌性単為生殖

共生微生物による産雌性単為生殖化は主に寄生蜂で知られている。通常は雌雄存在し両性生殖をするのであるが、共生微生物に感染すると雌だけで次世代を残す単為生殖になる。現在、膜翅目の産雌性単為生殖は共生微生物によるものとそうでないものが確認されている。

産雌性単為生殖化における注意点

共生微生物による産雌性単為生殖化個体群は両性個体群と同所的に存在する場合も異所的に存在する場合もある。例えば、*Aphytis lingnanensis* (Zchori-Fein et al., 1994), *Encarsia meritoria* (Giorgini, 2001), *Telenomus nawai* (Arakaki et al., 2000) は異所的に存在し、*Trichogramma deion* (Stouthamer and Kazmer, 1994), *T. dendrolimi* (田上・三浦, 未発表) や *Neochrysocharis formosa* (Adachi (Hagimori) et al., 2008) は同所的に存在している。

もし、偶然に両性生殖個体群に少数の共生微生物による産雌性単為生殖個体が混入した場合を考えてみる。この少数の個体がどのように両性個体群に侵入するかをシミュレーションしてみる。このような混成個体群の感染の動態は感染と非感染雌の産卵する子どもの相対値、垂直感染率、そして個体群中の非感染雌によって産卵されるとき性の比に依存する。次の式は個体群中の雌間の感染の平衡比 (F) を表す。

$$F = \frac{w\alpha - x}{w\alpha + (1 - \alpha)wx - x}$$

ここで、 w ；感染雌の産卵数を非感染雌の産卵数で除した値、 α ；垂直感染率、 x ；性比（雌比）とする。膜翅目ではかなり雌に偏っている性比が認められるので、ここでは0.75とする。また、垂直感染率は室内条件下ではどの種でも比較的高く0.9以上の報告が多い。これらの値を入れてシミュレーションすると感染個体の割合は瞬時に100%に近づく。確かに *Encarsia formosa* (van Meer et al., 1995) や *Diplolepis rosae* (Plantard et al., 1999) 等は野外ではほとんど雄を見ることはない。しかし、前章までに述べたように感染個体群と非感染個体群が同所的に認められるため実験中に性比が変化することがあるので注意が必要である。また、同所的に認められ

る感染個体には共生微生物感染が負の影響を及ぼし生存率が極端に低くなっているものもあるので注意が必要である (Miura et al., 2009)。

(2) フェミニナイズーション・雄殺し

フェミニナイズーションとは遺伝的には雄であるが交尾して子どもを産む現象である。キチョウ *Eurema hecabe* (Hiroki et al., 2002), 昆虫ではないがオカダンゴムシ *Armadilidium vulgare* (Rigaud et al., 1991) 等で見つっている。

雄殺しとは共生微生物によって雄が選択的に殺され雌ばかりになる現象である。この現象はナミテントウ *Harmonia axyridis* (Matsuka et al., 1975), ダンダラテントウ *Menochilus sexmaculatus* (新島・中嶋, 1981), リュウキュウムラサキ *Hypolimna bolina* (Dyson and Hurst, 2004), ナガカメムシ *Onocopelutsu fasciatus* (Leslie, 1984) 等で知られている。

フェミニナイズーションと雄殺しは交尾が必要であることが産雌性単為生殖と明らかに異なることである。

(3) 研究上の問題点

性比やふ化率のデータをとるときに問題が起こることは前章までに述べたとおりである。行動学的研究でも問題が起こることが指摘されている (Nakamura et al., 2006)。ナミテントウは同胞の共食いが頻繁に起こることが知られている (Kawai, 1978; Osawa, 1989)。Osawa (1989) はナミテントウの野外個体群の卵塊の約4分の1が同胞の幼虫によって共食いされていることを報告した。これは共食いによって1齢から2齢への生存率が高くなることから機能的な説明がされた (Kawai, 1978; Osawa, 2002)。ナミテントウは前述したとおり、微生物により胚の時期に雄殺しが起こることが知られている。Nakamura et al. (2006) は共食い率とふ化率の間には負の相関を認めた。また、共食い率は非感染卵塊より感染卵塊で高いことを明らかにした。これは、感染卵塊では雄殺しによりふ化率が低下することおよび非感染卵塊ではふ化の斉一性により説明された。非感染個体と感染個体では1齢幼虫から2齢幼虫への生存率が異なる可能性があることは、卵塊上での同胞による共食い進化の説明を再度検証し直さなければならないことを示していると考ええる。

放飼も含めての問題点

フェミニナイズーションも雄殺しも交尾が必要であるため、雌が多くなるに連れ交尾確率が低くなり最終的には個体群が絶滅することになる。

表-4 微生物検出のためのプライマー

プライマー	配列
27f	5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'
704f	5'-GTA GCG GTG AAA TGC GTA GA-3'
926f	5'-AAA CTY AAA KGA ATT GAC GG-3'
519r	5'-GWA TTA CCG CGG CKG CTG-3'
765r	5'-CTG TTT GCT CCC CAC GCT TTC-3'
1,495r	5'-CTA CGG CTA CCT TGT TAC GA-3'

IV 感染の調査方法

この章では、天敵などの微小な個体を例に挙げて感染の有無の解析方法を述べる。

まず、PCR用テンプレートを作成する。0.2 mlのサンプルチューブに個体別に入れ、磨砕液 5% Chelex 20 μ l 中でプラスチック爪楊枝により磨砕し、proteinase K を 1.4 μ l 加えて 56.0℃ で 2 時間以上（可能ならば一昼夜）、続いて 99.9℃ で 3 分処理した抽出液を PCR 法用テンプレートとして用いる。

次に、PCR法を行う。ABI社製のPCR用試薬、プライマー（表-4）等を必要個体数分混ぜ合わせる。プライマーの配列は表-4に示す。これらのプライマーは proteobacteria, flavobacteria-bacteroides や spirochetes 等を増やすことができる。それをPCR用器械で 96℃ で 10 分後、95℃ で 1 分、55℃ で 1 分、72℃ で 1 分 30 秒を 35 回繰り返した後、72℃ で 1 分 30 秒、4℃ で保存する（ここでは 27f と 1,495r : WEISBURG et al., 1991）。

PCR法を行ったサンプルを 1%のアガロースゲルの電気泳動法を行う。もし、感染していれば約 1,000 bp に 1 本のバンドが検出される。

以上の方法を用いて、共生微生物の感染の有無が判別できる。もちろん、卵から成虫までの各ステージで判別が可能である。

もし、バンドが検出された場合、どんな共生微生物に感染しているかはクローニング、DNA シーケンスとしていかなければならない。これは技術的に若干難しいので専門の方に相談されるのが一番である。

おわりに

以上のように、意図しない「見えない生物」が自分の研究対象の昆虫の繁殖・行動・性に影響を及ぼしている事実があることを少しはおわかりいただけたと考える。

是非、実験の前にこの「見えない生物」に感染しているかどうかをチェックしていただきたい。ご一報くださればお手伝いいたします。

引用文献

- ADACHI (HAGIMORI), T. et al. (2008) : Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. **275** : 2667 ~ 2673.
- ARAKAKI, N. et al. (2000) : Entomol. Exp. Appl. **96** : 177 ~ 184.
- DYSON, E. A. and G. D. D. HURST (2004) : PNAS **101** : 6520 ~ 6523.
- GIORGINI, M. (2001) : BioControl **46** : 427 ~ 438.
- GOTOH, T. et al. (2006) : Heredity **98** : 13 ~ 20.
- HAGIMORI, T. et al. (2006) : Curr. Microbiol. **52** : 97 ~ 101.
- HILGENBOECKER, K. et al. (2008) : FEMS Microbiol. Lett. **281** : 215 ~ 220.
- HINOMOTO, N. et al. (2006) : Appl. Entomol. Zool. **41** : 499 ~ 506.
- HIROKI, M. et al. (2002) : Naturwissenschaften **89** : 167 ~ 170.
- HOFFMANN, A. A. et al. (1990) : Genetics **126** : 933 ~ 948.
- HOSHIZAKI, S. and T. SHIMADA (1995) : Insect Mol. Biol. **4** : 237 ~ 243.
- HURST, G. D. D. et al. (1999) : ibid. **8** : 133 ~ 139.
- JEYAPRAKASH, A. and M. A. HOY (2000) : ibid. **9** : 393 ~ 405.
- JIGGINS, F. M. (2003) : Genetics **164** : 5 ~ 12.
- 柿元一樹ら (2003) : 応動昆 **47** : 19 ~ 28.
- KAWAI, A. (1978) : Kontyu **46** : 14 ~ 19.
- LESLIE, J. F. (1984) : Heredity **75** : 260 ~ 264.
- MATSUKA, M. et al. (1975) : Appl. Entomol. Zool. **10** : 84 ~ 89.
- MIURA, K. et al. (2009) : Popul. Ecol. **51** : 245 ~ 252.
- MOCHIAH, M. B. et al. (2002) : Biol. Control **25** : 74 ~ 80.
- NAKAMURA, K. et al. (2006) : Europ. J. Entomol. **103** : 323 ~ 326.
- NARITA, S. et al. (2006) : Mol. Ecol. **15** : 1095 ~ 1108.
- 新島恵子・中嶋邦彦 (1981) : 玉川大学農学部研究報告 **21** : 59 ~ 67.
- NODA, H. (1984) : Entomol. Exp. Appl. **35** : 263 ~ 267.
- OSAWA, N. (1989) : Res. Popul. Ecol. **31** : 153 ~ 160.
- (2002) : Biol. J. Linn. Soc. **76** : 349 ~ 360.
- PERLMAN, S. J. et al. (2006) : Biol. Control **39** : 474 ~ 480.
- et al. (2008) : Genetics **178** : 1003 ~ 1011.
- PLANTARD, O. et al. (1999) : Insect Mol. Biol. **8** : 185 ~ 191.
- RIGAUD, T. et al. (1991) : Endocytobiosis Cell Res. **7** : 259 ~ 273.
- ROKAS, A. et al. (2001) : Heredity **87** : 294 ~ 304.
- SASAKI, T. and H. ISHIKAWA (1999) : Zool. Sci. **16** : 739 ~ 744.
- SAKURAI, M. et al. (2005) : Appl. Environ. Microbiol. **71** : 4069 ~ 4075.
- SCHOFIELD, P. (2002) : J. Theor. Biol. **215** : 121 ~ 131.
- STOUTHAMER, R. and D. J. KAZMER (1994) : Heredity **73** : 317 ~ 327.
- TAGAMI, Y. and K. MIURA (2004) : Insect Mol. Biol. **13** : 359 ~ 364.
- 田上陽介・三浦一芸 (2007) : 応動昆 **51** : 1 ~ 20.
- TUDA, M. and K. SHIMA (2002) : Popul. Ecol. **44** : 251 ~ 257.
- TURELLI, M. and A. A. HOFFMANN (1991) : Nature **353** : 440 ~ 442.
- van MEER, M. M. M. et al. (1995) : Proc. Exp. Appl. Entomol. N.E.V. Amsterdam **6** : 81 ~ 86.
- WEEKS, A. R. et al. (2001) : Science **292** : 2479 ~ 2482.
- WEISBURG, W. G. et al. (1991) : J. Bacteriol. **173** : 697 ~ 703.
- WERREN, J. H. et al. (1994) : ibid. **176** : 388 ~ 394.
- et al. (1995) : Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. **261** : 55 ~ 63.
- and WINDSOR, D. M. (2000) : ibid. **267** : 1277 ~ 1285.
- ZCHORI-FEIN, E. et al. (1994) : Inter. J. Insect Morph. Embryol. **23** : 169 ~ 172.
- et al. (2001) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA **98** : 12555 ~ 12560.