

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K21209

研究課題名(和文) カメムシ類の必須共生細菌はなぜ南西諸島でのみ多様化したのか？

研究課題名(英文) Why have intraspecific symbiont polymorphisms of stinkbugs occurred only in the Nansei islands?

研究代表者

細川 貴弘 (Hosokawa, Takahiro)

九州大学・理学研究院・助教

研究者番号：80722206

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：南西諸島に生息する一部のカメムシ類では必須共生細菌の多型という極めて異例な現象が見られる。一方、それらのカメムシの日本本土地域の集団では共生細菌の多型は見られない。本研究課題の目的は、カメムシ類の必須腸内共生細菌がなぜ南西諸島でのみ多様化し、本土地域では単一の共生細菌に固定されているのかを明らかにすることである。以下の仮説を検証し、概ね仮説を支持する結果が得られた。

「共生細菌プールが南西諸島の環境中には存在するが、本土の環境には存在しないためである。」
本研究の成果は南西諸島の生物多様性のこれまで知られていなかった一面を明らかにしたものである。

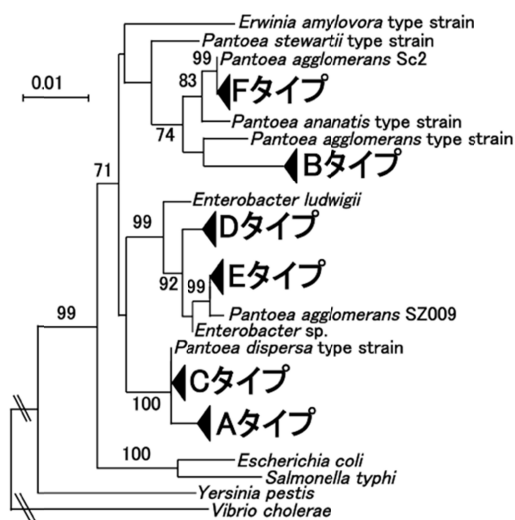
研究成果の概要(英文)：Why are symbiont polymorphisms of stinkbugs found only in the Nansei islands but not in the Japanese main lands. This study tested the hypothesis that there is the environmental symbiont pool in the Nansei islands but not in the Japanese main lands. Results of the experiments favored the hypothesis. This study sheds light on a new aspect of the biodiversity in the Nansei Islands.

研究分野：進化生物学

キーワード：カメムシ 共生細菌 環境細菌

1. 研究開始当初の背景

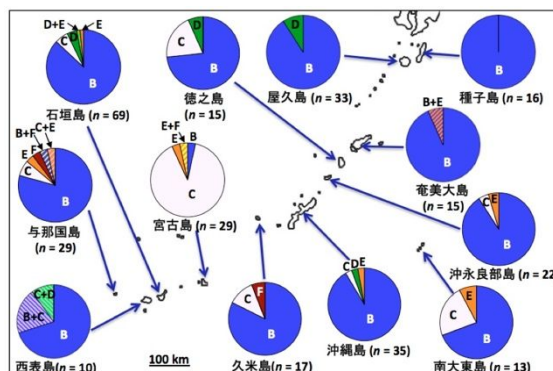
- (1) 昆虫類の必須共生微生物：多くの昆虫類が成長や繁殖に必要な栄養分の合成と供給を体内の共生微生物に依存しており、共生微生物なしには生きていけない。また、宿主昆虫は必須共生微生物をメス親から子へ垂直伝播することによって安定的に維持している。必須共生微生物はもはや宿主昆虫の体の一部になっていると言っても過言ではない。
- (2) 一対一の共生関係：このような必須共生関係においては、宿主昆虫と共生微生物の間の共種分化と共進化の結果として各宿主に種特異的な単一の共生微生物が進化する、すなわち“一対一の共生関係”が進化することが予想される。これまでにアブラムシ類やゾウムシ類など多くの昆虫グループにおいて必須共生微生物との一対一の共生関係が実証されてきた。
- (3) 応募者のこれまでの研究成果：応募者も複数の昆虫グループにおいて必須共生微生物との一対一の共生関係を実証してきた。ところが最近、一部のカメムシ類では一対一の共生関係が成立していないという予想外の現象を発見した。重大な果樹害虫であるチャバネアオカメムシは腸内に必須共生細菌を保持し、共生細菌なしではまったく成長できない。日本全国で採集したサンプルについて共生細菌の同定を行ったところ、本種の必須共生細菌には多型が存在していることが明らかとなった。さらに興味深いことに、本土地域（北海道、本州、四国、九州）では単一の共生細菌しか見られないのに対して、南西諸島では著しい共生細菌の多型が見られた(下図および右上図)。他の種のカメムシについても同様に調査したところ、4種のカメムシで南西諸島



における必須共生細菌の多型を発見した。

2. 研究の目的

南西諸島に生息する一部のカメムシ類では必須共生細菌の多型という極めて異例な



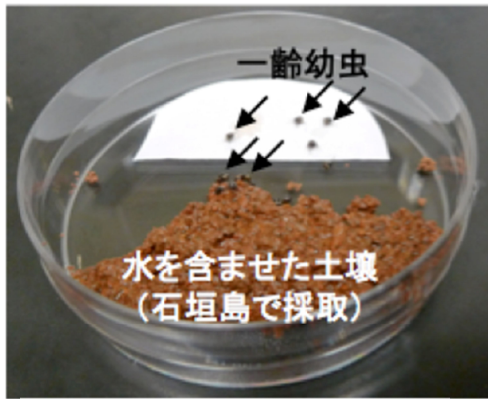
現象が見られる。一方、それらのカメムシの日本本土地域の集団では共生細菌の多型は見られない。本研究課題では、なぜ南西諸島でのみ共生細菌の多様化が生じ、本土地域では生じないのかを明らかにすることを目的とし、特に環境中の共生細菌プールに着目した調査・実験をおこなう。

3. 研究の方法

以下の仮説を検証するために実験をおこなった。

仮説：南西諸島でのみ共生細菌の多様化が生じている理由は、共生細菌プールが南西諸島の環境中には存在するが、本土地域の環境中には存在しないためである。

- (1) 土壌の採取：土壌はなるべくカメムシの生息場所の近辺で採取した。土壌中の細菌群集構造が変化しないように、採取した土壌は枯葉や枯れ枝などをなるべく取り除き、実験に使用するまでは冷蔵庫内で保存した。
- (2) カメムシの飼育系統の確立：宿主カメムシの遺伝的相違が結果に影響を与える可能性を排除するために、実験に使うカメムシは石垣島に由来する系統に統一した。現地でカメムシの採集をおこない、実験室で飼育系統を確立した。
- (3) カメムシからの共生細菌の除去：チャバネアオカメムシではメス親が共生細菌を卵の表面に塗布し、孵化幼虫がこれを摂取することで共生細菌を垂直伝播している。孵化する前に卵の表面をエタノールなどで殺菌することによってカメムシから共生細菌を除去した。
- (4) カメムシへの土壌細菌群集の接種：共生細菌を除去したカメムシの孵化幼虫に水を含ませた土壌を提示することでカメムシの体内に土壌細菌群集を取り込ませた(次ページの図を参照)。カメムシの孵化幼虫は必ず水分を摂取する習性があるため、この方法によってすべての幼虫に土壌細菌群集を取り込ませることができる。1地点の土壌サンプルあたり1,000頭強のカメムシ幼虫を供試した。
- (5) カメムシの飼育と羽化率の記録：土壌細菌群集を接種したカメムシは、他の細菌によるコンタミネーションを防ぐために無菌的環境で飼育した。正常に羽化する



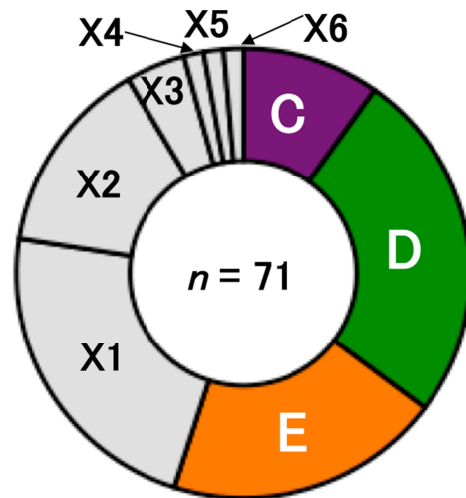
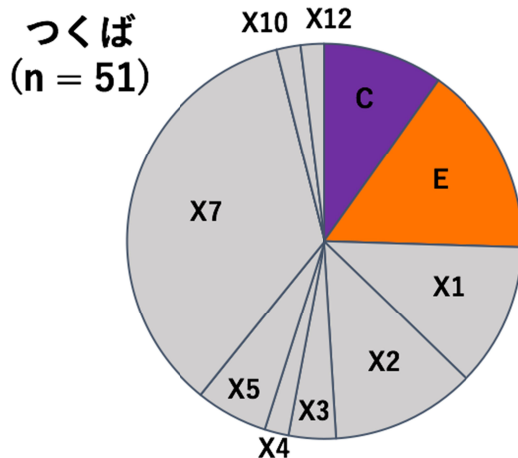
共生細菌を除去した一齢幼虫に土壌内の細菌群集を取り込ませる

カメムシが出なければ土壌細菌群集中に共生細菌プールが存在しなかったと判断し、正常に羽化するカメムシが出てきた場合は共生細菌プールが存在していたと判断した。また、羽化率(=羽化成虫数/供試幼虫数)を土壌間で比較することによって、各土壌中の共生細菌プールのサイズを相対的に評価した。

- (6) 共生細菌プールを構成する細菌の同定：
羽化したカメムシそれぞれの腸内の細菌からDNAを抽出し、16SrRNA遺伝子のPCR増幅・クローニング・塩基配列決定をおこなった。分子系統解析によって細菌を同定し、土壌中の共生細菌プールの組成を明らかにした。

4. 研究成果

つくば、福岡、沖縄島の土壌について調査したところ、正常に羽化した個体の割合は地域間で有意な違いはなかった。したがって、各土壌中の共生細菌プールのサイズは同等であると考えられた。正常に羽化した成虫が保持していた細菌の調査では以下の図の結果が得られており、これは仮説を概ね指示するものである(下図および右上図)。ただし本土地域の土壌中には共生細菌プールがまったく存在しないのではなく、南西諸島に比べてその規模が小さい可能性が高い。今後、本土地域と南西諸島地域の両方でさらに地点数を増やして調査する必



要がある。

参考データ：石垣島の土壌での調査結果 (Hosokawa et al. 2016)

本研究の成果は南西諸島の生物多様性の新たな一面を明らかにし、昆虫生態学・微生物生態学・生物地理学など多岐にわたる学問分野に対して大きなインパクトを与えるものである。また、昆虫類の必須共生細菌になりうる自由生活細菌が土壌中にどの程度存在し、どのように分布するのかが、共生の進化生物学のみならず応用昆虫学においても重要な知見となるものである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

Itoh H., Matsuura Y., Hosokawa T., Fukatsu T., Kikuchi Y. (2017) Obligate gut symbiotic association in the sloe bug *Dolycoris baccarum* (Hemiptera: Pentatomidae). *Applied Entomology and Zoology* 52: 51-59. 査読有

DOI 10.1007/s13355-016-0453-0

Hosokawa T., Matsuura Y., Kikuchi Y., Fukatsu T. (2016) Recurrent evolution of gut symbiotic bacteria in pentatomid stinkbugs. *Zoological Letters* 2: 24. 査読有

DOI 10.1186/s40851-016-0061-4

[学会発表] (計3件)

細川貴弘・深津武馬、カメムシの共生細菌になれなかった環境細菌、第61回日本応用動物昆虫学会大会、2017年3月29日、東京農工大学(小金井)
今西萌美・細川貴弘、ミナミアオカメムシではなぜ共生細菌の種内多型が生じていないのか?、第61回日本応用動物昆虫学会大会、2017年3月28日、29日、東京農工大学(小金井)

細川貴弘、チャバネアオカメムシの必須共生細菌の種内多型とその起源、日本進化学会第18回大会、2016年8月26日、東京工業大学(目黒区)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細川 貴弘 (HOSOKAWA, Takahiro)

九州大学・理学研究院・助教

研究者番号：80722206

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

菊池 義智 (KIKUCHI, Yoshitomo)

伊藤 英臣 (ITO, Hideomi)