

令和 2 年 5 月 14 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03946

研究課題名(和文) 南西諸島で発見された新興共生細菌はどんなカメムシとも共生可能か？

研究課題名(英文) Can symbiotic bacteria emerging in the Nansei islands establish mutualistic associations with any stinkbugs

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) 8,800,000円

研究成果の概要(和文)：環境中にはカメムシ類の必須共生細菌と同等の生物機能を持つ自由生活細菌(細菌C~F)が生息している。本研究は、これらの細菌がどのようなカメムシと共生できるのかを明らかにすることを目的としておこなわれ、以下のことを明らかにした。1) 世界的農業害虫であるミナミアオカメムシは細菌C~Fと共生可能であり、さらに細菌C~F以外にも本種の共生細菌になりうる細菌(細菌X)が複数種環境中に存在している。2) ツチカメムシ類(Macroscytus属)の野外集団には細菌C~Fおよび細菌Xと共生している個体が存在する。3) ツチカメムシ類は共生細菌を毎世代環境中から獲得するという、カメムシ上科では前代未聞の特徴を持つ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

- 1、世界的農業害虫であるミナミアオカメムシが、本来の共生細菌だけでなく他の様々な細菌と共生可能であることが明らかになったことから、新しい害虫防除技術の開発につながるかもしれない。
- 2、カメムシ科とキンカメムシ科でのみ発見されていた新興共生細菌(細菌C~F)がツチカメムシ科のカメムシから初めて発見されたことから、新興共生細菌は従来考えられていたよりも幅広い宿主を持ちうると思われる。
- 3、ツチカメムシ科には共生細菌を垂直伝播する種だけでなく環境獲得する種も存在することが示されたことから、今後の共生の進化生物学的研究においてツチカメムシ科はモデル共生系になりうる。

研究成果の概要(英文)：The bacteria, called symbionts C-F, which have biological functions equivalent to those of the essential symbiotic bacteria of some stinkbugs, live in the environment. The purpose of this study was to clarify what range of stinkbugs can be in a mutualistic association with the symbionts C-F. We obtained the following results. (i) The southern green stinkbug *Nezara viridula*, known as a serious agricultural pest, can be in a mutualistic association with not only the symbiont C-F but also other bacteria, called bacteria X, living in the environment. (ii) Burrowing stinkbugs of the genus *Macroscytus* are associated with symbionts C-F and bacteria X in natural populations. (iii) The burrowing stinkbugs do not vertically transmit the symbionts but environmentally acquire the symbionts every generation, which is an unprecedented feature among pentatomoid stinkbugs.

研究分野：進化生物学

キーワード：ミナミアオカメムシ ツチカメムシ 環境獲得

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

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。これらの昆虫は共生微生物をメス親から子へ垂直伝播することで安定的に維持しており、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 (Buchner 1965)。

(2)共種分化と共進化

垂直伝播によって共生関係が安定的に維持される状況では宿主昆虫と共生微生物の共種分化が生じ、その結果として“一対一の共生関係”が進化することが予想される。これまでに多くの昆虫グループにおいて宿主昆虫と必須共生微生物との共種分化 (系統分岐パターンの一致) が示され、一対一の共生関係が実証されてきた (Clark et al. 2000 など)。一方、共生関係が安定的に維持される状況では宿主昆虫と共生微生物の間の共進化・共適応が進み、それぞれの宿主昆虫とその共生微生物の間に特異的な相互作用が進化することも予想されるが、これについては現在のところ明確な実証例はない。

(3)応募者のこれまでの研究成果

応募者は主にカメムシ類を材料にして宿主昆虫と必須共生微生物との一対一の共生関係を実証してきた (Hosokawa et al. 2006 など)。ところが最近、一部のカメムシ類では必須共生細菌を垂直伝播で維持しているにも関わらず、共生細菌に種内多型が存在するという予想外の現象を発見した (Hosokawa et al. 2016)。この発見が本研究課題の提案の発端となっており、以下でその内容を詳説する。

チャバネアオカメムシの各地の野外集団について必須共生細菌を同定したところ、本種の共生細菌には種内多型が存在しており (図1、以下では共生細菌A~Fと記す)、南西諸島の

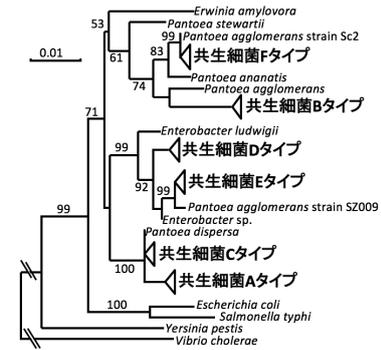


図1:チャバネアオカメムシで発見された共生細菌A~F.

の集団では異なる共生細菌を持つ宿主個体が混在していた (図2)。この前代未聞の現象がどのように生じたのかについて調べると、共生細菌C, D, E, Fは南西諸島の環境中 (土壌中など) に自由生活細菌としても生息しており、これらがカメムシ体内に侵入し、元の共生細菌であるBと置き換わって新しい共生細菌になることが繰り返し生じて共生細菌の種内多型が形成されたことが明らかとなった。カメムシはどの共生細菌と共生しても同じように成長・繁殖できることから、宿主カメムシに対するA~Fの生物機能はすべて同じであると考えられた。またどの共生細菌も次世代に垂直伝播されていた。

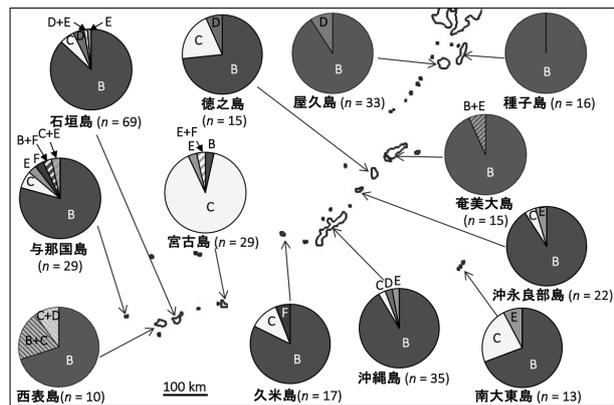


図2:南西諸島におけるチャバネアオカメムシの必須共生細菌の種内多型 (nは調査個体数)

さらに興味深いことに、細菌C~Fはチャバネアオカメムシだけでなく、南西諸島に生息する他種のカメムシの共生細菌にもなっていた。野外自然集団でC~Fとの共生が確認されているカメムシを表1に列挙するが、驚くべきはその多様性である。チャバネアオカメムシと同じカメムシ科に属するものの系統的には大きく離れており、寄主植物も異なる4種のカメムシ、さらにはキンカメムシ科の5種のカメムシがチャバネアオカメムシと同じ共生細菌C~Fを共有しているのである。したがって、少なくともこれらのカメムシについては宿主と共生細菌の間の相互作用が共通している可能性が考えられ、これは宿主の種ごとに特異的相互作用が進化するという予想を覆すものである。

科名	種名	共生細菌	主な寄主植物
カメムシ科	チャバネアオカメムシ	C, D, E	複数の科にわたる植物
カメムシ科	フタホシツマジロカメムシ	C, D, E	クログク (ヤシ科)
カメムシ科	タイワントゲカメムシ	D	キク科の複数種
カメムシ科	ミカントゲカメムシ*	C	ヒラミレモン (ミカン科)
カメムシ科	クチナガカメムシ*	C	ミフクラギ (キョウチクトウ科)
キンカメムシ科	ミカンキンカメムシ	C	センダン (センダン科)
キンカメムシ科	ミヤコキンカメムシ	C, D	カキバカンコノキ (コミカンソウ科)
キンカメムシ科	ナナホシキンカメムシ*	C	オオバギ (トウダイグサ科)
キンカメムシ科	ハラアカナナホシキンカメムシ*	C	シマシラキ (トウダイグサ科)
キンカメムシ科	ラデンキンカメムシ*	C	アカギ (コミカンソウ科)

表1:南西諸島に生息するカメムシで共生細菌C~Fによる置換が確認されているカメムシ (*は応募者による未発表データ)

2. 研究の目的

以上のことから、共生細菌C~Fはカメムシの新興共生細菌として様々な種のカメムシへと広がりつつある可能性がある。そこで本研究は、この新興共生細菌C~Fがどのようなカメムシと共生できるのかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ミナミアオカメムシと新興共生細菌の実験的共生

ミナミアオカメムシ *Nezara viridula* は世界的な農業害虫として知られている。特異的で培養できない共生細菌が存在すること、共生細菌なしには成長できないこと、共生細菌は卵表面塗布によって垂直伝播されることが明らかとなっている (Prado et al. 2006, Tada et al. 2011)。本種の飼育系統を確立し、卵塊の表面を殺菌することによって無菌1齢幼虫を得た。この幼虫に共生細菌C～Fの培養液を経口接種することによって実験的に共生させ、その後の経過を観察した。

(2) ツチカメムシ類における新興共生細菌の探索

ツチカメムシ *Macroscytus japonensis* の共生細菌は環境中に生息する細菌と非常に近縁であることが知られているが (Hosokawa et al. 2012, 2016)、過去の調査はごく一部の集団に限られていた。*Macroscytus* 属のカメムシであるツチカメムシ *M. japonensis*、コツチカメムシ *M. fraterculus*、*Macroscytus* sp. (和名不明) を日本国内の各地で採集し、各個体が保持する共生細菌を分子生物学的に同定 (*16S rRNA* 遺伝子配列の決定) することによって、新興共生細菌C～Fと共生しているかどうかを調べた。

(3) ツチカメムシ類における共生細菌の垂直伝播の検討

Macroscytus 属のツチカメムシ類の共生細菌には著しい種内多型が見られ、ほとんどの共生細菌が培養可能である (以下の研究成果を参照)。このことからツチカメムシ類では共生細菌を垂直伝播せずに、毎世代環境中から獲得していることが予想される。これを検討するためにツチカメムシ類の卵表面に共生細菌が塗布されているかどうかを *16S rRNA* 遺伝子配列の診断PCRによって調べた。

4. 研究成果

(1) ミナミアオカメムシと新興共生細菌の実験的共生

ミナミアオカメムシの無菌1齢幼虫に対して細菌C～Fを接種したところ、確率は低いものの、正常に成長する個体が見られた (図3)。これらの個体の共生器官内の細菌を分子生物学的に同定したところ、大半の個体では接種した細菌であることが確認された。しかし一部の個体では接種したものではない細菌が共生しており、これらは飼育時の餌等に混入 (コンタミネーション) していた細菌である可能性が高い。これらの結果から、①細菌C～Fは共生器官への定着率が低いもののミナミアオカメムシと共生できる、②細菌C～F以外にも本種の共生細菌になりうる細菌 (以下では細菌Xと記す) が複数種環境中に存在していることが明らかとなった。実験室で培養可能であり、なおかつミナミアオカメムシと共生可能な細菌を発見したことから、共生の分子機構を解明するための新しいモデル実験系となる可能性が示唆された。さらには新しい害虫防除技術の開発にも繋がるかもしれない。

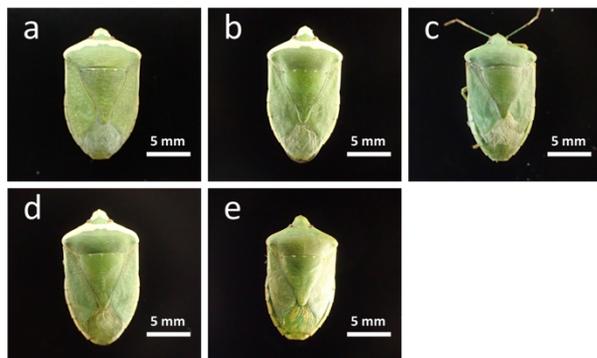


図3：各処理で成虫になったミナミアオカメムシ

(a) 本来の共生細菌を保持、(b) 共生細菌Cを保持、(c) 共生細菌Dを保持、(d) 共生細菌Eを保持
(e) 細菌Xを保持

(2) ツチカメムシ類における新興共生細菌の探索

Macroscytus 属のカメムシでは共生細菌の著しい種内多型が見られ、一部の個体は新興共生細菌 (Cタイプ、Dタイプ、Eタイプ) と共生していることが明らかになった (図4)。また、これらの共生細菌の9割以上 (113 サンプル中 102 サンプル) が培養可能であることが確認された。カメムシ科とキンカメムシ科でのみ発見されていた新興共生細菌が、ツチカメムシ科のカメムシから初めて発見されたことから、新興共生細菌は従来考えられていたよりも幅広い宿主を持ちうると考えられた。

(3) ツチカメムシ類における共生細菌の垂直伝播の検討

Macroscytus 属のカメムシの卵表面に細菌が付着しているかどうかをPCRで調べたところ、大部分の卵において細菌の遺伝子配列の増幅が見られなかった。一部の卵では増幅が見られたが、電気泳動時のバンドは極めて薄いものであった。したがって、*Macroscytus* 属のカメムシの卵表面には細菌はほとんど存在していないと考えられ、これは共生細菌の垂直伝播が生じていない可能性を強く示唆している。共生細菌の著しい種内多型 (図4) と、培養が可能であることを合わせて考えると、*Macroscytus* 属のカメムシは共生細菌を毎世代環境中から獲得している可能性が高い。ツチカメムシ科では共生細菌を垂直伝播する種がすでに知られているが (Hosokawa et

a1. 2013)、本研究によって環境獲得する種も存在することが示されたことから、今後の共生の進化生物学的研究においてツチカメムシ科はモデル系となりうると考えられた。

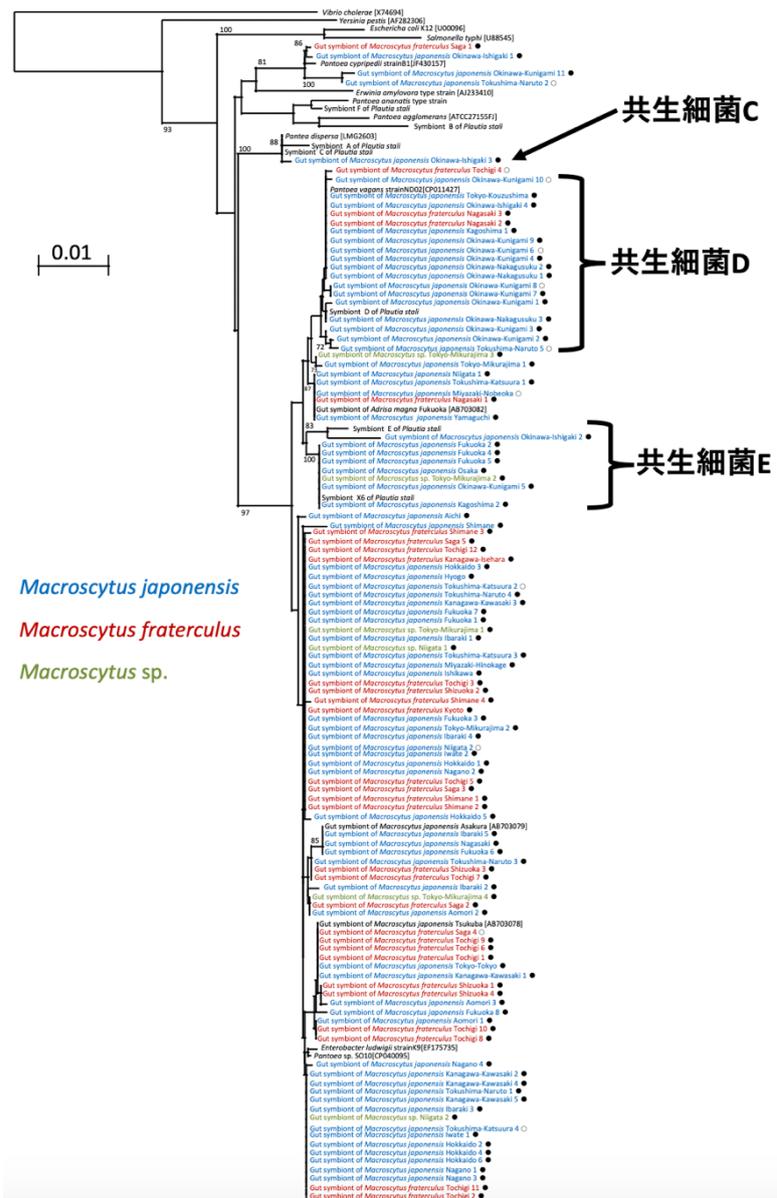


図4：全国から採集した *Macroscytus* 属のカメムシの共生細菌の分子系統樹 (16S rRNA 遺伝子配列に基づく)。色は宿主の種の違いを表している。

<引用文献>

Buchner (1965) *Endosymbiosis of animals with plant microorganisms*: Interscience
 Clark et al. (2000) *Evolution* 54: 517-525
 Hosokawa et al. (2006) *PLoS Biology* 4: e337
 Hosokawa et al. (2012) *Applied and Environmental Microbiology* 78: 4758-4761
 Hosokawa et al. (2013) *PLoS ONE* 8 (5): e65081
 Hosokawa et al. (2016) *Nature Microbiology* 1: 15011
 Prado et al. (2006) *Annals of Entomological Society of America* 99:577-585
 Tada et al. (2011) *Applied Entomology and Zoology* 46: 483-488

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hosokawa T., Imanishi M., Koga R., Fukatsu T.	4. 巻 54
2. 論文標題 Diversity and evolution of bacterial symbionts in the gut symbiotic organ of jewel stinkbugs (Hemiptera: Scutelleridae)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 359-367
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi.org/10.1007/s13355-019-00630-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 細川貴弘、今西萌美、深津武馬
2. 発表標題 キンカメムシ類における腸内共生細菌の多様化と進化
3. 学会等名 第64回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊修人、細川貴弘
2. 発表標題 ツチカメムシ類(Macroscytus属)は腸内共生細菌を垂直伝播するか？
3. 学会等名 第64回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊修人、細川貴弘
2. 発表標題 ツチカメムシ類 (Macroscytus属) における腸内共生細菌の多様性
3. 学会等名 第63回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今西萌美、西出雄大、深津武馬、細川貴弘
2. 発表標題 昆虫の共生器官に複数種の細菌が同時共生しない理由ーボトルネック仮説の検証ー
3. 学会等名 第63回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細川貴弘、渡邊修人、深津武馬
2. 発表標題 カメムシの共生細菌になれる細菌となれない細菌の比較
3. 学会等名 日本進化学会第20回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今西萌美、西出雄大、深津武馬、細川貴弘
2. 発表標題 カメムシが複数種の細菌と同時に共生しないのはなぜか
3. 学会等名 日本進化学会第20回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡邊修人、深津武馬、細川貴弘
2. 発表標題 チャバネアオカメムシの共生細菌になれる環境細菌となれない環境細菌の違い
3. 学会等名 第62回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今西萌美、西出雄大、細川貴弘
2. 発表標題 複数種の細菌と同時共生しているカメムシはなぜ少ないのか
3. 学会等名 第62回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 細川貴弘
2. 発表標題 カメムシ上科における共生細菌の垂直伝播機構および共生細菌の置換実験
3. 学会等名 第62回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 細川 貴弘、辻 和希	4. 発行年 2017年
2. 出版社 共立出版	5. 総ページ数 184
3. 書名 カメムシの母が子に伝える共生細菌	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	古賀 隆一 (Koga Ryuichi)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・研究グループ長 (82626)	