

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K15724

研究課題名（和文）土壌微生物が昆虫に及ぼす生態系サービスの解明

研究課題名（英文）Ecological function of soil microbes to insects

研究代表者

伊藤 英臣（Itoh, Hideomi）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：70748425

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：土壌微生物の環境や植物に対する影響はよく知られている。しかし、土壌微生物が昆虫に与える影響についてはほとんど分かっていない。

本研究では農業害虫のホソハリカメムシがBurkholderiaを腸内に保持すること、そして世代ごとに土壌から獲得していることを明らかにした。また、Burkholderiaが獲得できないと生存率が低下し体サイズが矮小化して、繁殖力が著しく低下することがわかった。さらに、カメムシがBurkholderiaを獲得できる土壌とできない土壌があることが判明した。これらのことからカメムシの生存や分布を土壌微生物が規定していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの土壌学研究は環境や植物に対する影響にのみ、そして昆虫学研究は宿主昆虫と腸内細菌の個体レベルの相互作用にのみ焦点が当てられ、両研究が接点を持つことは全くなかった。本研究結果によって、昆虫の生死に土壌微生物によって規定されるという新たな自然科学現象の提唱につながり、土壌学研究の新しい着眼点を提供した。

また、本研究により昆虫の生存・繁殖において生息域の土壌微生物が制限要因になることが明らかになった。昆虫のみならずその他動物の腸内微生物研究においても生息環境微生物との相互作用が注目され、本研究による知見を礎として当該分野の研究が新たな広がりを見せるに違いない。

研究成果の概要（英文）：Soil microbes play pivotal roles in environmental sustainability and plant biodiversity by enhancing carbon/nitrogen cycles and plant growth via symbiosis. However, impact of soil microbes on host insects through the symbiotic association remains unclear.

We revealed that *C. punctiger* harbors a specific Burkholderia symbiont in the gut and acquires it from soils every generation. Aposymbiotic insects showed significantly lower survival rate, retarded growth, and smaller body size. Furthermore, aposymbiotic adults exhibited no or few mating and egg-laying. We found that there were some soils where stink bugs could acquire Burkholderia and others where they could not. These results indicate that establishment of the symbiosis strongly depends on the composition of soil microbiota.

研究分野：土壌微生物学

キーワード：土壌微生物 昆虫 農業害虫 腸内細菌

## 1. 研究開始当初の背景

土壌微生物は炭素・窒素循環や汚染物質の浄化を行って環境保全に寄与し、また根粒菌や菌根菌に代表されるように植物に共生して有益な効果をもたらす。こうした土壌微生物の環境や植物に対する生態的役割(生態系サービス)は100年以上前に発見され、今日もなお土壌学の主要な研究対象であり、環境保全や農作物増産をねらった基礎から応用に至る数多くの研究が生み出され、農学術の進歩に大きく貢献してきた。このように、これまで土壌学は環境科学や植物学と融合することで大きく発展を遂げ、土壌微生物の「環境」や「植物」に対する生態系サービスは揺るぎない常識として広く認知されている。この一方で、土壌微生物が陸域生態系の主要な構成員である「昆虫」へもたらす直接的な有益な効果はほとんど分かっていない。土壌には100万種以上と推定される微生物が生息しており、陸域を生活圏とする昆虫も100万種以上が知られている。陸域生態系において両者が接触していることは想像に難くないが、現在に至るまで土壌微生物の昆虫に対する生態系サービスは未開拓である。

近年、ダイズの害虫であるホソヘリカメムシが毎世代土壌中から *Burkholderia* 属細菌を獲得し、腸内に共生させることにより高い適応度効果(成長期間の短縮や産卵数の増加)を得ることが見出された。これは土壌微生物が昆虫に共生して直接的にベネフィットをもたらす初めての報告例であるが、この現象がどの程度一般的なものであるかは未だ調査例が少なく明らかとはなっていない。また、土壌から獲得することがわかっているが、どんな土壌から獲得できるまたはできないのかわかっていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、ホソヘリカメムシの近縁種の複数の農業害虫カメムシ類を研究対象に、土壌微生物との共生の実態を明らかにするとともに、土壌由来の共生微生物がこれら斑点米カメムシの成長や繁殖に与える影響について調査を行い、土壌微生物が昆虫にもたらす生態系サービスを解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 農業害虫カメムシ類における土壌微生物との共生系の多様性の解明

これまでの124種の国内カメムシに関する広範調査において、39種のカメムシの腸内に *Burkholderia* 属細菌が検出されており(文献1)、多様なカメムシが土壌中の *Burkholderia* と共生系を築く可能性が示唆されている。そこで、ホソヘリカメムシ等重要農業害虫カメムシ類を中心にまず継代飼育系を確立し、腸内細菌叢の多様性や獲得経路、さらに *Burkholderia* の再感染実験を行い、成長や繁殖力など宿主への適応度効果を調査した。

### (2) 共生系成立に影響を及ぼす土壌環境要因の解明

カメムシが共生細菌を「獲得できる土壌」と「できない土壌」の特定し、それらの土壌の微生物叢を比較解析し、どのような土壌微生物叢が共生系の成立に影響を与えているのか明らかにした。共生微生物の獲得を土壌に依存するのであれば、カメムシ個体密度と生息地の土壌微生物叢は関連があるはずである。しかしながら、これまでのカメムシ

の野外生態調査において土壌まで調べた例は皆無であり、カメムシ個体密度と土壌の相関の有無は不明である。そこで、野外の雑草地や耕作地において、カメムシの個体密度、土壌微生物叢を調べ、予備的解析や室内実験系で見られた傾向を圃場レベルで検証した。

#### 4. 研究成果

野外で採集した4科6種のカメムシ類の腸内細菌叢を次世代シーケンサーを用いて高解像度に解析したところ、腸内細菌叢の8-9割が *Burkholderia* 属細菌のみで占められていることがわかった。また、消化管の組織学的および分子系統学的解析から、どのカメムシも消化管の後端部に発達する袋状またはチューブ状の器官(共生器官)に *Burkholderia* 属細菌を保持することがわかった。これらのカメムシ類の継代飼育系を確立して *Burkholderia* の感染動態を調べたところ、卵や孵化幼虫は *Burkholderia* に感染しておらず、また孵化幼虫を親個体と同居させて飼育しても *Burkholderia* に感染しなかった。一方、土壌を入れた飼育ケージで孵化幼虫を飼育すると *Burkholderia* に感染した。これらのことから、今回調べた4科6種のカメムシ類は毎世代生息環境の土壌から *Burkholderia* を獲得していることが明らかとなった。

次に、野生個体の共生器官から単離培養した *Burkholderia* を用いてカメムシ類への感染実験を行い、*Burkholderia* がカメムシ類の成長や繁殖に及ぼす影響を調べた。その結果、6種のうち1種を除く4科5種のカメムシ類は *Burkholderia* を獲得できないと、感染個体に比べ成長速度の低下、体サイズの矮小化、交尾行動の減衰、産卵数の減少が生じることが観察された。

さらに、全国37箇所の雑草地において、カメムシ類の生息頭数と土壌中の *Burkholderia* の密度を調べたところ、正の相関が見られた。これをラボスケールで確かめるために、採取した土壌を用いてカメムシ類を飼育し、カメムシの *Burkholderia* への感染率を調べたところ、カメムシが *Burkholderia* を獲得できる土壌とできない土壌があることがわかった。感染率と土壌中の *Burkholderia* の密度を調べたところ、強い相関があり、土壌中の *Burkholderia* の密度が  $10^5$  copies/g-soil を下回ると、カメムシは土壌から *Burkholderia* を獲得できないことが明らかとなった。

以上の結果から、ホソヘリカメムシのみならず、様々なカメムシ類において土壌由来の共生細菌が斑点米カメムシの成長・繁殖において極めて重大な影響を及ぼすこと、またカメムシ生息域の土壌細菌叢が共生成立の可否を問う極めて重要な制限要因となることが示唆された。

これまでの土壌学研究は環境や植物に対する影響にのみ、そして昆虫学研究は宿主昆虫と腸内細菌の個体レベルの相互作用にのみ焦点が当てられ、両研究が接点を持つことは全くなかった。本研究成果によって、昆虫の生き死にが土壌微生物によって規定されるという新たな自然科学現象の提唱につながり、土壌学研究の新しい着眼点を提供した。また、本研究により昆虫の生存・繁殖において生息域の土壌微生物が制限要因になることが明らかになった。昆虫のみならずその他動物の腸内微生物研究においても生息環境微生物との相互作用が注目され、本研究による知見を礎として当該分野の研究が新たな広がりを見せるに違いない。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Itoh Hideomi, Jang Seonghan, Takeshita Kazutaka, Ohbayashi Tsubasa, Ohnishi Naomi, Meng Xian-Ying, Mitani Yasuo, Kikuchi Yoshitomo	4. 巻 116
2. 論文標題 Host-symbiont specificity determined by microbe-microbe competition in an insect gut	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 22673 ~ 22682
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1912397116	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 -

1. 著者名 Konishi Reo, Shigemori Toshiya, Tamura Runa, Itoh Hideomi, Kikuchi Yoshitomo, Higuchi Hiroya	4. 巻 64
2. 論文標題 Number of Annual Generations of <i>Cletus punctiger</i> (Heteroptera: Coreidae) Estimated Using Developmental Zeros and Effective Accumulative Temperatures of Individuals Carrying Symbiotic Bacteria	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 125 ~ 131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1303/jjaez.2020.125	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 -

1. 著者名 Ishigami Kota, Jang Seonghan, Itoh Hideomi, Kikuchi Yoshitomo	4. 巻 17
2. 論文標題 Insecticide resistance governed by gut symbiosis in a rice pest, <i>Cletus punctiger</i> , under laboratory conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biology Letters	6. 最初と最後の頁 20200780
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsbl.2020.0780	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 -

1. 著者名 Jang Seonghan, Mergaert Peter, Ohbayashi Tsubasa, Ishigami Kota, Shigenobu Shuji, Itoh Hideomi, Kikuchi Yoshitomo	4. 巻 118
2. 論文標題 Dual oxidase enables insect gut symbiosis by mediating respiratory network formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2020922118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2020922118	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 6件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤英臣
2. 発表標題 土と虫の関係性からみえた新たな害虫防除技術コンセプト：土壌微生物を制して害虫を制す
3. 学会等名 第72回北陸病害虫研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤英臣
2. 発表標題 微生物の生き様を理解して利用する
3. 学会等名 The 38th Scienc-ome（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤英臣
2. 発表標題 土壌微生物と農業害虫の関係を解く - 現象の理解と産業への活用を目指して -
3. 学会等名 第100回日本土壌肥料学会中部支部会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤 英臣
2. 発表標題 動物をタフにする土壌微生物：土と動物のあいだには？
3. 学会等名 東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構主催 微生物ウィーク2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 英臣
2. 発表標題 環境微生物と動物の関係を解く-現象の理解と産業への活用を目指して-
3. 学会等名 第6回琉球大学熱生研セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 英臣
2. 発表標題 土と虫の関係性からみえた新たな害虫防除技術コンセプト：土壌微生物を制して害虫を制す
3. 学会等名 第72回北陸病害虫研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤 英臣、木原 稔
2. 発表標題 環境微生物と動物の関係を紐解く-現象の理解と産業への活用を目指して-
3. 学会等名 東海大学マイクロ・ナノ啓発会第11回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 英臣、菊池 義智
2. 発表標題 土壌微生物が昆虫に及ぼす生態系サービスの解明
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 英臣、菊池 義智
2. 発表標題 土壌微生物が昆虫に及ぼす生態系サービスの解明
3. 学会等名 日本土壌肥料学会北海道支部会2019年度大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------