

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292083

研究課題名(和文) 共生スパイラルに着目した森林昆虫関連微生物の探索とその多様性創出機構の解明

研究課題名(英文) Search for forest insect-associated microorganisms and clarification on production mechanism of their diversity, focusing on symbiotic spiral in relationships between the insects and microorganisms

研究代表者

梶村 恒 (Kajimura, Hisashi)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：10283425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：キクイムシ類、カミキリムシ類、クワガタムシ類、シロアリ類、ゾウムシ類、ハナムグリ類、キバチ類、ガ類、タマバエ類等を捕獲し、その習性(穿孔様式、成育特性、繁殖様式など)を確認した。キクイムシ類については、遺伝的分布様式を考察し、人工飼育系も導入した。虫体や生息場所に潜むダニ類、菌類、線虫を検出し、種同定と系統解析を行った。新種の発見、分布範囲の確認、特殊生態の発見、時間的変化や相互作用系も解明した。

研究成果の概要(英文)：We collected some forest insect species (Scolytinae, Cerambycidae, Lucanidae, Termitidae, Curculionidae, Cetoniinae, Siricidae, Heterocera, Cecidomyiidae etc.) and confirmed their ecological habits (boring pattern, growth traits, and reproductive strategy). In Scolytinae, genetic distribution pattern was discussed, and breeding using semi-artificial diets was carried out. We detected mites, fungi, bacteria and nematodes associated with the insect body and their habitats, identified and determined their status in phylogenetic system. We discovered several novel species, detected distributional area, found specific life-mode, compared the results among seasons and years, and clarified symbiotic interactions between the organisms examined.

研究分野：森林保護学

キーワード：生物多様性 共生 昆虫・ダニ 菌類 線虫

1. 研究開始当初の背景

(1)生物多様性 (biodiversity) の研究は、数多くの生物群を対象として行われてきた。しかし、微小なものや、樹体内・生物体内に潜んでいるものについては、発見・同定の困難さもあって、十分に研究が進んでいない。また、種の多様性だけでなく、生態的多様性、遺伝的多様性の保護や保全についても、人目を惹き、稀少性の高い生物が優先されてきた傾向がある。

(2)多種多様な生物の共存を可能にする生物学的背景は、共生 (symbiosis) である。寄生から両者に利益がある相利共生まで、様々な程度で相互に作用し合う、生物間の緊密な関係である。その作用は、植物、動物、昆虫、微生物の様々な生物群間でみられ、その様式は複雑多岐にわたる。

(3)森林生態系は、生物間相互作用が群を抜いて発達している系であり、それらの結果として大きな多様性が生み出されてきたが、その創出と維持機構の真の姿に迫るためには、個々の生物間相互作用を解明していく必要がある。

(4)新規生物の系への加入は、より複雑な生物間の関係を浮かび上がらせ、さらなる共生者の発見へと繋がる。生物多様性を考える際には、このような '共生スパイラル' の可能性を常に意識しておく必要がある。

2. 研究の目的

(1)森林は生物多様性の源であるが、未開の“ホットスポット”が残されている。森林に生息する昆虫やダニの中には、線虫や菌類を貯蔵・運搬する特殊な器官を進化させ、逆に線虫や菌類の中には、その昆虫やダニに便乗・付着するために特異的な形態を発達させた一群が存在するのである。

(2)この入れ子構造の複雑な共生関係 (“共生スパイラル”) について、森林が育んだ種多様性、遺伝的多様性、生態的多様性を総合的に解析する。すなわち、その器官を探索し、中に存在する微生物を形態および DNA 情報に基づいて同定し、種の多様性を明らかにする。様々な樹種や森林タイプにおける分布範囲を確認するとともに、分子マーカーを利用して、遺伝的背景の異なる個体群を見出す。さらに、各生物群の生態、とくに相利共生の可能性を追求するために、他生物の生存に及ぼす影響、取り込みや乗り移りの経路と仕組みなどを検証する。系統関係やハビタット類似性を考慮して、共進化の可能性にも言及する。最終的に、森林生態系における共生スパイラル成立に関わる統一理論の構築をめざす。

3. 研究の方法

(1)様々な森林で、トラップや餌木の設置、取材を行い、生息する昆虫を採集する。他の生物を住まわせる器官 (mycangia, nematangiium, acarinarium 等) を有する可能性のある昆虫

を選別し、種同定する。成虫の体表や生息場所に潜むダニも検出し、種同定する。

(2)これらの昆虫やダニを解剖し、菌類を保持する器官を探索する。その部位と構造を明らかにするとともに、菌類の分離と培養を行なう。また、解剖時に線虫も釣り上げ、培養する。純化した菌類や線虫を種同定する。これらの昆虫と関連微生物の DNA 解析を行ない、遺伝的系統を採集地間で比較する。

(3)さらに、各生物群の生態 (穿孔・存在様式、成育特性、繁殖様式など) も調べ、人工飼育法も駆使して、相互作用系 (他生物の生存に及ぼす影響、取り込みや乗り移りの経路と仕組みなど) を明らかにする。

(4)森林タイプ、立地環境、樹種などを基軸にした多様性データ解析を行い、森林生態系における共生スパイラル成立に関わる統一理論を構築する。

4. 研究成果

(1)キクイムシ類、カミキリムシ類、クワガタムシ類、ゾウムシ類、キバチ類、シロアリ類、ガ類などの樹木穿孔性昆虫を、各調査地で見つけ捕り、あるいは倒木を回収して羽化を待った。また、人為的に伐採・放置して餌木も用意、あるいは生け捕りトラップを設置して採集した。

タマバエ類などのゴール形成昆虫やゾウムシ類・ガ類などの種子食昆虫、ハナムグリ類などの訪花性昆虫は、とくに植物フェノロジーをモニタリングしながら、捕獲した。

これらの供試虫の体表や生息場所を丹念に観察し、ダニ類が潜んでいないか確かめた。(2)上記の様々な昆虫と共生・寄生・随伴している菌類や線虫の検出に成功し、数々の新種を見出し、世界に先駆けて記載した。

分布範囲の確認も行い、例えば、ヒゲナガカミキリ族に便乗する細菌食性線虫は、生息域が重なるような条件下での細かい種分化が確認された。キクイムシ類については、虫体の DNA データから系統地理学的解析を実施し、個体群の遺伝的分布様式を考察した。(3) 生息場所を切開して内部状態を調べ、各生物群の生態も確認した。

とくに、西表島においては、キクイムシ類が他種の共生菌を盗んだり (養菌窃盗性) 奪ったり (養菌強奪性) していることを発見した。また、人工飼育によるキクイムシ類の繁殖生態の解明にも取り組み、利他的行動を発見した。

ダニ類については、例えば、シロテンハナムグリ寄生ダニが、名古屋港の埋立緑地では低い寄生率であり、つくば市周辺では高い寄生率が維持されていた。

一部の分離菌株については、寄主木へ接種して、その作用も実証した。

相互作用の仕組みや時間的変化などについても吟味した。

(4)各生物群の多様性データ解析によって共生スパイラルが成立する要因を考察すると

ともに、キクイムシ類については、細胞内における細菌の多重共生に関する理論的背景を明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 28 件)

- 1) 梶村 恒, 山岡裕一, 升屋勇人 (2017) トベラ生立木に穿孔するピロウジマコキクイムシの随伴菌 *Fusarium solani* の病原性. 森林防疫 66(1): 10-18. 査読有
http://bojyokyoikai.main.jp/66_1CovCon.pdf
- 2) Kawasaki, Y., Schuler, H., Stauffer, C., Lakatos, F. and Kajimura, H. (2016) *Wolbachia* endosymbionts in haplodiploid and diploid scolytine beetles (Coleoptera: Curculionidae:Scolytinae). *Environmental Microbiology Reports* 8(5): 680-688. 査読有
DOI: 10.1111/1758-2229.12425
- 3) Kanzaki, N., Kajimura, H. and Okabe, K. (2016) *Rhabditoides aegus* n. sp. an associate of stag beetles and sap flow in Japan. *Nematology* 18: 195-208. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002953
- 4) Kanzaki, N. and Ide, T. (2016) *Diplogasteroides luxuriosae* n. sp. associated with *Acalolepta luxuriosa* (Cerambycidae) from Japan. *Nematology* 18: 221-233. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002955
- 5) Kanzaki, N., Giblin-Davis, R.M., Ye, W., Herre, E.A. and Center, B.J. (2016) Recharacterization of three *Parasitodiplogaster* species based on morphological and molecular profiles. *Nematology* 18: 417-437. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002967
- 6) Kanzaki, N. (2016) Stomatal dimorphism of *Neodiplogaster acaloleptae* (Diplogastromorpha: Diplogastridae). *PLoS ONE* 11: e0155715. 査読有
DOI: 10.1371/journal.pone.0155715
- 7) Kanzaki, N., Sakamoto, H. and Maehara, N. (2016) *Diplogasteroides nix* n. sp. (Nematoda: Diplogastridae), a cryptic species related to *D. andrassyi*, isolated from *Monochamus urussovii* (Coleoptera: Cerambycidae) from Hokkaido, Japan, with remarks on the body surface structures. *Nematology* 18: 753-773. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002990
- 8) Kanzaki, N., Tanaka, S.E., Fitza, K., Kosaka, H., Slippers, B., Kimura, K., Tsuchiya, S. and Tabata, M. (2016) *Deladenus nitobei* n. sp. (Tylenchomorpha: Allantonematidae) isolated from *Sirex nitobei* (Hymenoptera: Siricidae) from Aomori, Japan, a new member of the siricidicola superspecies. *Nematology* 18: 1199-1217. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00003025
- 9) Kanzaki, N., Aikawa, T., Maehara, N. and Thu, P.Q. (2016) *Bursaphelenchus kesiyae* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), isolated from dead wood of *Pinus kesiya* Royle ex Gordon (Pinaceae) from Vietnam, with proposal of new subgroups in the *B. fungivorus* group. *Nematology* 18: 133-146. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00003051
- 10) Kanzaki, N., Maehara, N., Akiba, M., Tanaka, S.E. and Ide, T. (2016) Morphological characters of dauer juveniles of three species of *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937. *Nematology* 18: 209-220. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002954
- 11) Herrmann, M., Weiler, C., Rodelsperger, C., Kanzaki, N. and Sommer, R.J. (2016) Two new *Pristionchus* species (Nematoda: Diplogastridae) from Taiwan are part of a species-cluster representing the closest known relatives of the model organism *Ppacificus*. *Zoological Studies* 55: 1-29. 査読有
DOI: 10.6620/ZS.2016.55-48
- 12) Ando, Y., Masuya, H., Motohashi, K., Linnakoski, R. and Yamaoka, Y. (2016) Phylogenetic relationship of Japanese isolates belonging to the *Grosmania piceiperda* complex (Ophiostomatales). *Mycoscience* 57: 123-135. 査読有
DOI: 10.1016/j.myc.2015.12.001
- 13) 加賀谷悦子, 上田明良, 升屋勇人, 神崎菜摘 (2016) アメリカマツノキクイムシ(コウチュウ目:キクイムシ科)の生態と随伴生物:日本への侵入リスクの考察のために. *日本応用動物昆虫学会誌* 60: 77-86. 査読有
DOI: 10.1303/jjaez.2016.77
- 14) Yamaoka, Y., Kuroki, D., Matsutani, K., Aoyama, T., Masuya, H. and Kajimura, H. (2015) Pathogenicity of *Fusarium solani* associated with a bark beetle, *Scolytogenes birosimensis*, to *Pittosporum tobira*. *Journal of Forest Research* 20: 514-521. 査読有
DOI: 10.1007/s10310-015-0505-2
- 15) Cognato, A.I., Hoebeke, E.R., Kajimura, H. and Smith, S.M. (2015) History of the exotic ambrosia beetles *Euwallacea interjectus* and *Euwallacea validus* (Coleoptera: Curculionidae: Xyleborini) in the United States. *Journal of Economic Entomology* 108(3):1129-1135. 査読有
DOI: 10.1093/jee/tov073
- 16) Kanzaki, N., Okabe, K. and Kobori, Y.

- (2015) *Bursaphelenchus sakishimanus* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) isolated from a stag beetle, *Dorcus titanus sakishimanus* Nomura (Coleoptera: Lucanidae), on Ishigaki Island, Japan. *Nematology* 17: 531-542. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002887
- 17) 前田太郎, 坂本佳子, 岡部貴美子, 滝久智, 芳山三喜雄, 五箇公一, 木村澄 (2015) ミツバチに寄生するアカリダニ-分類, 生態から対策まで-日本応用動物昆虫学会誌 59: 109-126. 査読有
DOI: 10.1303/jjaez.2015.109
- 18) Kawasaki, Y., Ito, H. and Kajimura, H. (2014) Equilibrium frequency of endosymbionts in multiple infections based on the balance between vertical transmission and cytoplasmic incompatibility. *PLoS ONE* 9 (4): e94900. 査読有
DOI: 10.1371/journal.pone.0094900
- 19) Kanzaki, N., Giblin-Davis, R.M., Carrillo, D., Duncan, R. and Gonzalez, R. (2014) *Bursaphelenchus penai* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae), a phoretic associate of ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytinae) from avocado in Florida. *Nematology* 16: 683-693. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002797
- 20) Kanzaki, N., Woodruff, G.C. and Tanaka, R. (2014) *Teratodiplogaster variegatae* n. sp. isolated from the syconia of *Ficus variegata* Blume on Ishigaki Island, Okinawa, Japan. *Nematology* 16: 1153-1166. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002843
- 21) Kanzaki, N., Li, H.-F., Lan, Y.-C. and Giblin-Davis, R.M. (2014) Description of two *Pseudaphelenchus* species (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) associated with Asian termites and proposal of new subfamily Tylaphelenchinae n. subfam. *Nematology* 16: 963-978. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002823
- 22) Kanzaki, N., Akiba, M., Kanetani, S., Tetsuka, K. and Ikegame, H. (2014) *Bursaphelenchus osumiana* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) isolated from dead *Pinus armandii* var. *amamiana* in Osumi Islands in Japan. *Nematology* 16: 903-916. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002817
- 23) Kanzaki, N. and Akiba, M. (2014) Isolation of *Bursaphelenchus muctonatus kolymensis* from *Monochamus nitens* from Japan. *Nematology* 16: 743-745. 査読有
DOI: 10.1163/15685411-00002820

他 5 件

- 〔学会発表〕(計 32 件)
- 1) 水野孝彦, 梶村恒 (2017) 人工飼料を利用した養菌性キクイムシ成虫の成熟評価法の確立. 第 61 回日本応用動物昆虫学会大会, 東京農工大学小金井キャンパス(小金井), 2017 年 3 月 28 日.
 - 2) 鶴岡建汰, 梶村恒 (2017) クリ堅果における内部状態と利用昆虫類の変遷. 孤立木と林内木での比較. 第 128 回日本森林学会大会, 鹿児島大学郡元地区(鹿児島), 2017 年 3 月 27 日.
 - 3) 中野文尊, 梶村恒 (2017) 西表島の里山林における飛翔性甲虫群集の林況間比較. 第 64 回日本生態学会大会, 早稲田大学早稲田キャンパス(東京), 2017 年 3 月 15 日.
 - 4) 岩下幸平, 佐藤貴紀, 梶村恒 (2017) ナラ枯れ木上の菌食性昆虫相の変化: ハカワラタケの状態に着目して. 第 64 回日本生態学会大会, 早稲田大学早稲田キャンパス(東京), 2017 年 3 月 15 日.
 - 5) Kajimura, H. (2016) Biology and impact of *Xyleborini* ambrosia beetles in Japan. International Congress of Entomology. Orlando, Florida, USA, September 29, 2016.
 - 6) 諸見里穂高, 梶村恒 (2016) シキミタマバエのゴール形成プロセス: 共生菌はいつ繁茂するのか? . 日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会大会合同大会, 大阪府立大学中百舌鳥キャンパス(堺), 2016 年 3 月 27 日.
 - 7) 神崎菜摘, 井手竜也 (2016) センノカミキリより検出された *Diplogasteroides* sp. 日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会大会合同大会, 大阪府立大学中百舌鳥キャンパス(堺), 2016 年 3 月 27 日.
 - 8) 岡部貴美子 (2016) 甲虫寄生ダニにみる景観と寄生生物の重要な関係. 第 63 回日本生態学会大会, 仙台国際センター(仙台), 2016 年 3 月 21 日.
 - 9) 岩下幸平, 杉本美華, 三枝豊平, 松井理生, 梶村恒 (2015) ナラ枯れ木におけるキノコヒモミノガの発生消長と餌資源利用様式. 日本昆虫学会第 75 回大会, 九州大学文系キャンパス(福岡), 2015 年 9 月 21 日.
 - 10) 藤戸茜, 水野孝彦, 梶村恒 (2015) 人工飼育下のアイノキクイムシの共同穿孔: 利他的行動の発見. 日本昆虫学会第 75 回大会, 九州大学文系キャンパス(福岡), 2015 年 9 月 20 日.
 - 11) 岩下幸平, 松井理生, 服部力, 梶村恒 (2015) ナラ枯れ木に発生するハカワラタケとキノコヒモミノガ類の生活環-被害履歴を考慮した季節消長の把握-. 第 126 回日本森林学会大会, 北海道大学農学部(札幌), 2015 年 3 月 27 日.
 - 12) 神崎菜摘, Gavin C. Woodruff, 秋庭満輝,

- 前原紀敏 (2015) マツノマダラカミキリより分離された *Diplogasteroides* sp. 第 126 回日本森林学会大会, 北海道大学農学部(札幌), 2015 年 3 月 27 日.
- 13) 神崎菜摘, 岡部貴美子, 小堀陽一 (2015) サキシマヒラタクワガタから分離された *Bursaphelenchus* sp. 第 59 回日本応用動物昆虫学会大会, 山形大学, 2015 年 3 月 26 日.
- 14) 岡部貴美子, 長谷川元洋 (2015) 土壌性ダニの多様性保全におけるマイクロハビタットの評価. 第 59 回日本応用動物昆虫学会大会, 山形大学, 2015 年 3 月 26 日.
- 15) 藤戸 茜, 水野孝彦, 梶村 恒 (2015) アイノクイムシにおける条件的繁殖分業制の可能性: 姉妹が同居すると一方はヘルパーになる!?. 第 62 回日本生態学会大会, 鹿児島大学郡元キャンパス(鹿児島), 2015 年 3 月 19 日.
- 16) 西村朋也, 梶村 恒, Jiri Huler (2014) 菌栽培昆虫の多様な食糧調達法: 西表島のクイムシは菌を盗み、奪う. 2014 年度日本生態学会中部地区大会, 信州大学教育学部長野キャンパス(長野), 2014 年 12 月 6 日. *「優秀ポスター賞」受賞
- 17) Kanzaki, N., Li, H.-F., Lan, Y.-C. and Giblin-Davis, R.M. (2014) Two *Pseudaphelenchus* species (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) associated with Asian termites. Japan-Korea Joint Symposium on Nematology 2014, Tsukuba, Japan, 2014 年 9 月 19 日.
- 18) Kanzaki, N. (2014) Taxonomy and description of nematodes: Can diversity be described?. Japan-Korea Joint Symposium on Nematology 2014, Tsukuba, Japan, 2014 年 9 月 19 日.
- 19) 神崎菜摘, 田中龍聖, Gavin C. Woodruff (2014) *Teratodiplogaster* sp. isolated from syconia of *Ficus variegata* from Ishigaki and Iriomote Islands. 第 22 回日本線虫学会大会, つくば研究交流センター, 2014 年 9 月 17 日.
- 20) 西村朋也, 梶村 恒, Jiri Huler (2014) 日本における養菌窃盗性クイムシの発見. 日本昆虫学会第 74 回大会, 広島大学教育学部(東広島), 2014 年 9 月 16 日.
- 21) 藤戸 茜, 水野孝彦, 梶村 恒 (2014) 人工飼育でわかったアイノクイムシの繁殖生態. 日本昆虫学会第 74 回大会, 広島大学教育学部(東広島), 2014 年 9 月 16 日.
- 22) 遠藤力也, 升屋勇人, 大熊盛也 (2014) ナガクイムシ複合共生系から微生物資源を獲る. 日本微生物資源学会第 21 回大会, 東京農業大学世田谷キャンパス, 2014 年 9 月 4 日
- 23) Okabe, K. (2014) Symbiotic specificity between lucanid beetles and canestriniid mites. 14th International Congress of

- Acarology, Kyoto, Japan, 2014 年 7 月 14 日 ~ 2014 年 7 月 18 日
- 24) 安藤裕萌, 升屋勇人, 山岡裕一 (2014) 日本産 *Grosmanina piceiperda* complex の分類学的検討. 日本菌学会第 58 回大会, 石川県小松市, 2014 年 6 月 15 日
- 25) 西村朋也, 梶村 恒 (2014) 養菌性クイムシの繁殖成功からみた穿入様式 - ウリハダカエデ伐倒木における種間および年次間比較 - . 第 125 回日本森林学会大会, 大宮ソニックシティ(さいたま), 2014 年 3 月 28 日. *「学生ポスター賞」受賞
- 26) 今井光岳, 梶村 恒 (2014) ナラ枯れ発生地におけるミズナラ生立木伐倒後の処理方法の違いが養菌性クイムシの穿入に与える影響. 第 125 回日本森林学会大会, 大宮ソニックシティ(さいたま), 2014 年 3 月 28 日.
- 27) 加藤啓司, 梶村 恒 (2014) 樹液生産木に対するネプトクワガタの選好性は年によって変わるのか?. 第 125 回日本森林学会大会, 大宮ソニックシティ(さいたま), 2014 年 3 月 28 日.
- 28) 藤戸 茜, 梶村 恒 (2014) アイノクイムシの繁殖生態における温度依存性の実証. 第 61 回日本生態学会大会, 広島国際会議場(広島), 2014 年 3 月 16 日.
- 他 4 件

〔図書〕(計 2 件)

- 1) 梶村 恒 (2014) 4 講: 生物多様性 - さまざま生物と森林のパートナーシップ - 森林と昆虫. 教養としての森林学. 文永堂, 33-37.
- 2) 梶村 恒 (2014) 昆虫と共生する真菌. 環境と微生物の事典. 朝倉書店, 294.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梶村 恒 (KAJIMURA, Hisashi)
 名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授
 研究者番号: 10283425

(2) 研究分担者

岡部 貴美子 (OKABE, Kimiko)
 森林総合研究所・森林昆虫研究領域・チーム長
 研究者番号: 20353625

神崎 菜摘(KANZAKI, Nastsumi)
森林総合研究所・森林微生物研究領域・主
任研究員
研究者番号：70435585

(3)連携研究者
升屋 勇人(MASUYA, Hayato)
森林総合研究所・東北支所・チーム長
研究者番号：70391183