

# マルカメムシ類の腸内共生細菌と利用できるエサ植物

産業技術総合研究所 <sup>ほそ</sup> <sup>かわ</sup> <sup>なか</sup> <sup>ひろ</sup>  
細川貴弘

## はじめに

多くのカメムシ類が植物をエサとして利用しているが、その大部分は複数種の植物を利用しており、一種の植物に特化しているカメムシは少ない(友国ら, 1993)。通常は野生植物を利用してカメムシが、季節や年によっては農作・園芸植物に甚大な被害を及ぼすことはしばしばである。ある種のカメムシが利用できる植物種の範囲の規定要因を解明することは、進化生態学においてはもちろん、害虫管理においても重要である。

植物食性のカメムシ類には一般的に腸内細菌との共生関係が進化していることが古くから知られている(BUCHNER, 1965; 菊池, 2004)。宿主カメムシから実験的に腸内共生細菌を除去すると、種によって程度は様々であるが、カメムシの成長・繁殖パフォーマンスは低下する(例えば HOSOKAWA et al., 2006; KIKUCHI et al., 2007)。共生細菌の具体的な生物機能が解明された例はないが、おそらくは宿主カメムシの栄養代謝において共生細菌が何らかの役割を担っていることが考えられる。

腸内共生細菌が、宿主カメムシの利用できるエサ植物の範囲を規定しているのかもしれない。この仮説を検証するためには、異なる植物を利用するカメムシ間で腸内共生細菌を置き換える実験が有効と思われる。しかしカメムシ類の腸内共生細菌は難培養性で実験操作が困難であるため、そのような実験はこれまで実現していなかった。

最近筆者らは、マルカメムシ類に見られる「カプセルを介した腸内共生細菌の垂直伝播」という非常にユニークな現象をうまく利用することで、カメムシ間での共生細菌の置き換えに成功した(HOSOKAWA et al., 2007)。本稿では、まず前半でマルカメムシ類と腸内細菌の共生系の特徴を概説する。後半では共生細菌置き換え実験の方法・結果を詳しく説明し、その実験から得られた昆虫類の植物利用能力に関する新知見を紹介する。

## I マルカメムシ類と腸内細菌の共生系

### 1 マルカメムシ類

マルカメムシ類はカメムシ亜目の中に一つの科(マルカメムシ科 Plataspidae)を形成し、日本国内では3属(*Coptosoma* 属, *Megacocta* 属, *Brachyplatys* 属)12種が記載されている。そのほとんどが複数のマメ科植物の師管液をエサとして利用するが、種によって利用する植物種の範囲は異なっている(友国ら, 1993)。

日本国内において最も普通に見られるのは、マルカメムシ *Megacocta punctatissima* である。この種は、マメ科作物の茎上に大集団を形成して吸汁する農業害虫となっているだけでなく、しばしば人家付近にも大量発生して悪臭を放つ不快害虫としても有名である。しかしマルカメムシ以外の種は、農作・園芸植物を吸汁することはほとんどなく、また生息密度が比較的低いため害虫として扱われることはない。

### 2 腸内共生細菌イシカワエラ

上述の通り、植物食性のカメムシ類は一般的に腸内共生細菌を保持している。これらのカメムシ類には中腸の後端に盲嚢部と呼ばれる特別な構造が存在し、その内腔は単一種の細菌でほぼ埋め尽くされている(菊池, 2004)。マルカメムシ類も例外ではなく、盲嚢部に大量の共生細菌を保持している。最近の分子生物学的手法を適用した研究によって、マルカメムシ類の腸内共生細菌はその分子系統およびゲノム特性が非常にユニークであることが明らかにされており(HOSOKAWA et al., 2006)、以下ではその知見について紹介する。

図-1は、細菌の分子系統解析に最も一般的に使われている16S rRNA 遺伝子の配列に基づいて描かれた分子系統樹である。マルカメムシ類の腸内共生細菌は、大腸菌 *Escherichia coli* などが属するガンマプロテオバクテリアの仲間である。この系統樹で注目すべき点は二つある。一つはマルカメムシ類の保持する腸内共生細菌はカメムシの種によって異なるが、それらは単系統を形成することである。この生物学的意義については後の節で詳述するとして、ここではこのクレードに属する細菌、すなわちマルカメムシ類の腸内共生細菌はイシカワエラ (*Ishikawaella*) と名付けられていることだけを述べておく。この系統樹において注目すべきもう一つの点は、腸

Gut-symbiotic Bacteria and Host Plant Range of Plataspid Stinkbugs. By Takahiro HOSOKAWA

(キーワード: 植物食性昆虫, 共生微生物, 植物利用能力, 垂直伝播, カプセル)

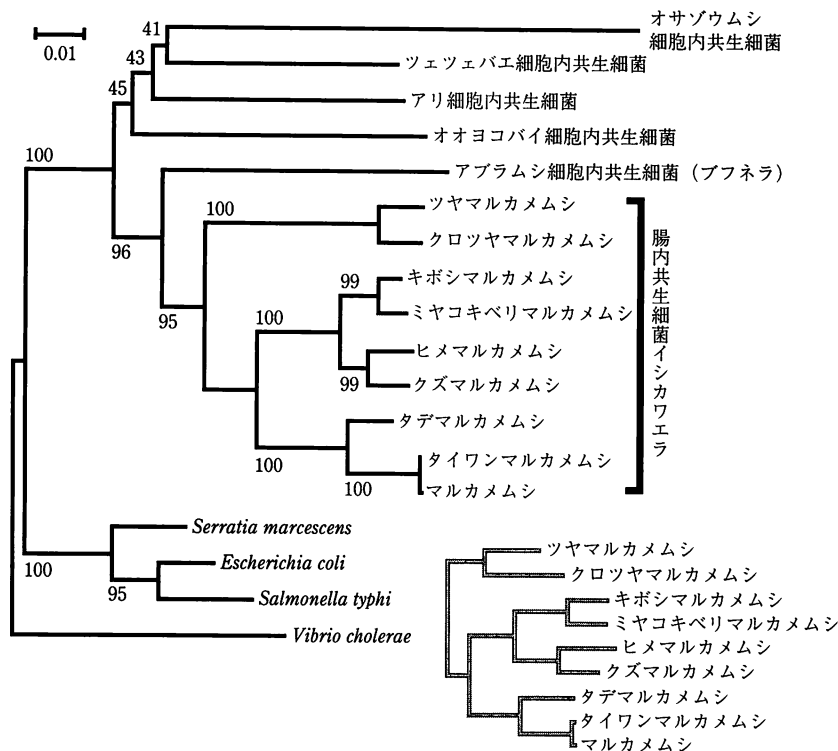


図-1 マルカメムシ類の腸内共生細菌イシカワエラの系統的位置  
 16S rRNA 遺伝子 (1330 bp) の近隣結合法系統樹. 数値はブートストラップ値. 右  
 下は宿主カメムシのミトコンドリア 16S rRNA 系統樹における分岐パターン.

内 (細胞外) 共生細菌であるイシカワエラの周辺に位置する細菌はすべて昆虫類の細胞内共生細菌となっていること、とりわけ、最近縁のグループがアブラムシ類の細胞内共生細菌ブフネラ (*Buchnera*) となっていることである。ブフネラは最も研究が進んでいる昆虫類内部共生細菌であり、豊富な生理学的知見の蓄積だけでなく、既に全ゲノム配列も解明されている (DOUGLAS, 1998 ; SHIGENOBU et al., 2000)。今後、イシカワエラとブフネラ、さらにはその周辺に位置する他の昆虫の細胞内共生細菌も含めた詳細な比較を行うことで、昆虫類における内部共生細菌の多様性に関して重要な洞察が得られる可能性は高い。イシカワエラの全ゲノム解析は現在進行中であるが、そのゲノムサイズは約 0.85 Mb と推定されており、ブフネラ (ゲノムサイズ 0.45 ~ 0.65 Mb) と同様に他のガンマプロテオバクテリアのゲノムサイズ (例えば大腸菌は 4.0 Mb) よりもずっと小さいことがわかっている。

### 3 カプセルによる垂直伝播

昆虫類の体内共生微生物は、一般的に宿主の母親から子に伝えられる (母系垂直伝播)。マルカメムシ類の腸

内共生細菌イシカワエラも母系垂直伝播するが、その伝播機構は他に例を見ない非常にユニークなものである。

マルカメムシ類はすべて卵塊をつくって産卵するが、産卵の際、メスは必ず卵塊の下側に暗褐色の小粒をいくつか産みつける (図-2)。この小粒は「カプセル」と呼ばれており、その内部には産卵したメスの中腸に由来するイシカワエラが大量に含まれている (HOSOKAWA et al., 2005)。卵からふ化した幼虫はすぐにカプセルを探り、口吻を使ってカプセルの内容物を摂取する。つまりイシカワエラは、カプセルを介して母親から子へと伝播されるのである (HOSOKAWA et al., 2006)。この垂直伝播機構はマルカメムシ科の種すべてに見られる特徴であるが、他の科のカメムシでは見つかっていない。

このような共生細菌伝播機構においては、卵塊からカプセルが脱落したり、幼虫がカプセルを見つけそこなうことが起こりうるので、垂直伝播の確実性は低いように思える。しかし、実際はこの伝播方法でイシカワエラは連続と伝えられてきている。分子系統解析はイシカワエラの単系統性を示したが (図-1)、さらにその分岐パターンを宿主カメムシの系統樹 (図-1 右下) と比べると、

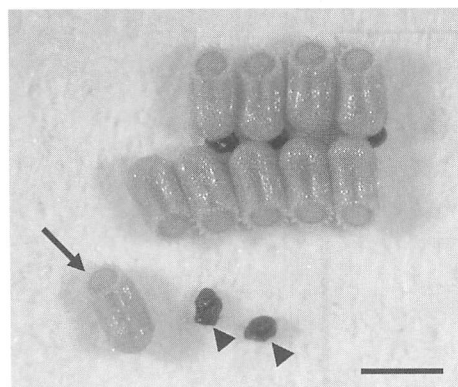


図-2 マルカメムシ *M. punctatissima* の卵塊  
矢印は卵塊から分離した卵、矢じりは卵塊から分離したカプセルを指している、スケールバーは1 mm.

完全な一致が見られる。これは各々のマルカメムシ類が保持しているイシカワエラは共通祖先をもち、宿主カメムシの種分化に引き続いて共種分化してきたことを意味している。言い換えると、イシカワエラは各マルカメムシ類が種分化する以前から現在まで延々と垂直伝播され続けているのである。

マルカメムシ類の「カプセル」は、生物現象として興味深いだけでなく、他の共生系では実現できない有意義な実験を可能にする。例えば、ふ化幼虫に異種のカプセルを吸わせることによって、各宿主カメムシと各イシカワエラを自由に組み合わせる共生させることができる。その事例については次章で詳しく紹介する。

#### 4 イシカワエラの機能

前節で述べたように、イシカワエラはカプセルを介して宿主カメムシの母親から子へ伝えられるため、ふ化前の卵塊からカプセルを取り除いておくことでイシカワエラを保持しない宿主個体を得ることができる。図-3はマルカメムシ *M. punctatissima* における、イシカワエラを保持する個体と保持しない個体の成長パフォーマンスを比較した結果である。イシカワエラを保持していない幼虫は保持する幼虫に比べると羽化率が低く（すなわち幼虫期の死亡率が高く）、羽化しても体サイズが小さい。加えて、イシカワエラをもたずに育った成虫では、成長の遅延や白っぽい体色など様々な異常が見られ、繁殖することなく羽化後数日で死亡することも明らかになっている。つまりマルカメムシが正常に成長・繁殖するためにはイシカワエラは絶対的に必要ということである。ここではマルカメムシ *M. punctatissima* の結果を示したが、*Coptosoma* 属、*Brachyplatys* 属の種についてもほぼ同様の結果が得られており (Hosokawa et al., 2006)、イ

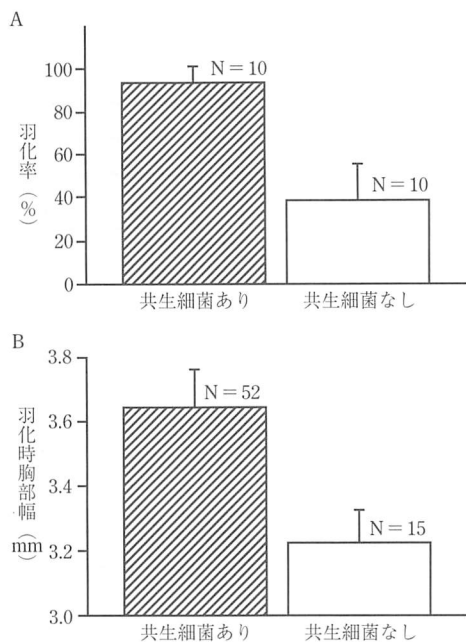


図-3 マルカメムシ *M. punctatissima* におけるカプセルを吸わせた幼虫（共生細菌あり）と吸わせなかった幼虫（共生細菌なし）の成長パフォーマンスの比較

A: 羽化率, B: 羽化時胸部幅. どちらのグラフも平均値と標準偏差を示しており、実験区間には統計的に有意な違いがある ( $P < 0.0001$ ).

シカワエラへの絶対的依存性は、マルカメムシ科のすべての種に共通な特徴と考えられる。

残念ながら、イシカワエラにより具体的な機能は現在のところ解明されていない。マルカメムシ類は植物の師管液のみをエサとしている。一般的に植物の師管液は糖分以外の栄養素に乏しく、昆虫類の成長や繁殖に十分な物質を含んでいるとは考えにくい。おそらくは、エサの中に不足している栄養素をイシカワエラが合成して宿主カメムシに供給していると思われる。アブラムシ類はマルカメムシ類同様、植物の師管液をエサとしているが、成長に必須なアミノ酸の供給を細胞内共生細菌ブフネラに依存していることが一連の生理学的研究とブフネラの全ゲノム解析から明らかとなっている (Douglas, 1998; Shigenobu et al., 2000)。今後、マルカメムシ類—イシカワエラの共生系についても同様の解析を行うことで、相互作用が物質レベルで解明されるであろう。

## II 腸内共生細菌の種間置き換え実験

### 1 マルカメムシとタイワンマルカメムシのエサ植物利用能力の違い

マルカメムシ *M. punctatissima* は本州、四国、九州に生息している。クズなどの複数のマメ科植物をエサとして利用し、ダイズなどの農作物からも頻繁に吸汁する害虫である。一方、南西諸島以南に生息する同属近縁種のタイワンマルカメムシ *M. cribraria* (図-1 右下参照) は、もっぱらタイワンクズをエサとしており、他の植物からの吸汁はまれである(友国ら, 1993)。2種は形態的にはっきりと区別できるが、実験室内で交配させると妊性のある雑種が生まれることから遺伝的にはさほど分化していないと考えられる。

野外で異なるエサ植物を利用していることから、2種のエサ植物利用能力は異なっている可能性が考えられる。このことは、実験室内飼育における繁殖パフォーマンスの測定で確認することができる。本州産のマルカメムシはダイズとエンドウをエサとした飼育系において正常に成長・繁殖する。ところが同じ飼育系で沖縄本島産のタイワンマルカメムシを飼育すると、成長・産卵は正常だが卵のふ化率がマルカメムシよりもはっきりと低い(マルカメムシは約80%、タイワンマルカメムシは約50%)。どちらの種も野外で採集した卵塊のふ化率は80%以上である。これらのことから、マルカメムシはダイズとエンドウをエサとしてうまく利用できるが、タイワンマルカメムシはうまく利用できない、すなわち2種のエサ植物利用能力は異なると考えられる。

このエサ植物利用能力の違いは、保持するイシカワエラの違いによって引き起こされているかもしれない。これを確かめるためには、2種のカメムシの間でイシカワエラを実験的に置き換えてふ化率を測定すればよい。その実験の方法と結果について、以下で詳しく紹介する。

### 2 実験方法

イシカワエラの置き換えは2種のカメムシ間で相互に行ったが、ここではマルカメムシのイシカワエラをタイワンマルカメムシのものに置き換える方法を例にして説明する。逆の置き換えについては、2種を入れ替えてまったく同じ方法で行った。

実験方法の概要を図-4に示す。マルカメムシの卵塊(カプセル付き)を2等分し、一方は対照区としてカプセルをいったん取り外し、そのまま卵とカプセルを再配置した。もう一方は、細菌置換区としてカプセルをすべて取り去り、代わりにタイワンマルカメムシの卵塊から取り外したカプセルと一緒に再配置した。つまり対照

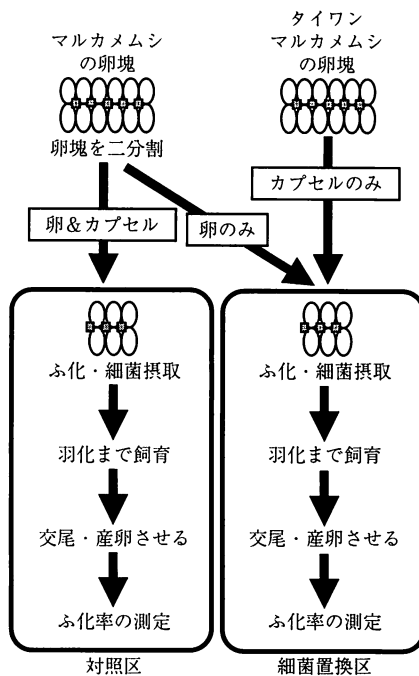


図-4 腸内共生細菌の種間置き換え実験の方法の概要

区、細菌置換区ともに卵はマルカメムシのものであるが、対照区はマルカメムシ由来のカプセル、実験区はタイワンマルカメムシ由来のカプセルということになる。

それぞれの卵塊からふ化した幼虫を、ダイズの株上に移して羽化まで飼育した。羽化成虫は同一卵塊由来の雌雄をペアにしてシャーレに入れ、エンドウの莢を与えて産卵数とふ化率を調べた。

### 3 結果と考察

カプセルからイシカワエラを取り込んだ幼虫を飼育したところ、細菌置換区においても羽化までの成長に特に異常は見られなかった。マルカメムシにおいてもタイワンマルカメムシにおいても、対照区と細菌置換区の羽化率はともに95%以上であり、実験区間に有意な差は見られなかった。また、羽化した成虫の体色や体サイズにも大きな違いは見られなかった。これらの羽化成虫をペアリングして産卵させると、イシカワエラを置き換えたメスも正常に産卵を行い、産卵数には対照区と細菌置換区の間で有意な違いが見られなかった。ここまでをまとめると、両カメムシ種ともに本来のイシカワエラを保持していても、異種のイシカワエラを保持していても成長パフォーマンスおよび産卵数は変わらないことが明らかとなった。

しかし、ここで注目すべきふ化率にはイシカワエラの置き換えの影響が劇的に現れた。本来のイシカワエラを

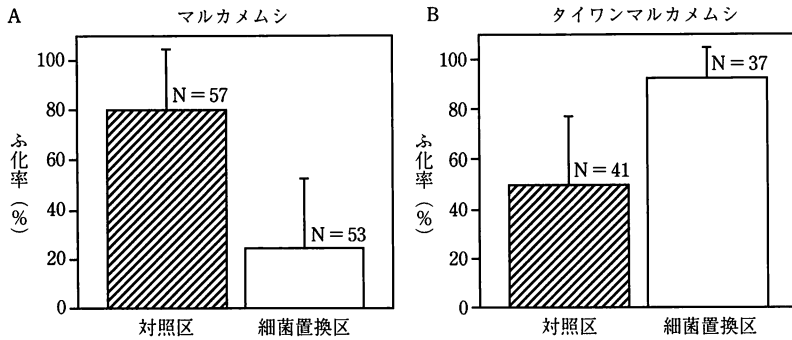


図-5 イシカワエラの種間置き換えをしたメスが産んだ卵のふ化率

A: マルカメムシ, B: タイワンマルカメムシ。どちらのグラフも平均値と標準偏差を示しており、実験区間には統計的に有意な違いがある ( $P < 0.0001$ )。

保持している場合はマルカメムシのふ化率は約80%、タイワンマルカメムシでは約50%であったが、イシカワエラを置き換えるとマルカメムシのふ化率は約25%に低下し、タイワンマルカメムシのふ化率は約90%に上昇した(図-5)。つまりどちらのカメムシ種においても、マルカメムシ由来のイシカワエラを保持しているとダイズとエンドウをうまく利用できるということである。この結果は、宿主カメムシのエサ植物利用能力に腸内共生細菌が大きな影響を与えていることをはっきりと示している。

ある昆虫がある植物をエサとして利用できるかどうかは、昆虫の遺伝子型、すなわち昆虫ゲノム上の遺伝子によって規定されていると考えられてきた。したがって、共生微生物の遺伝子型も宿主のエサ植物利用能力に影響を与えているという結果は、進化生態学における重要な新発見である。また、共生微生物が宿主昆虫の農作物利用能力に影響を与えているという観点では、害虫管理においても注目すべき発見と言える。

## おわりに

近年、体内共生微生物が宿主昆虫の様々な表現型形質に影響を与えることが次々と明らかになってきている。植物利用能力に関しては、本稿で紹介した HOSOKAWA et al. (2007) のほかにも TUCHIDA et al. (2004) がある。植

物利用能力にとどまらず、寄生蜂への耐性 (OLIVER et al., 2003) や生活史形質 (LEONARDO and MONDOR, 2006) にまでも影響を与えるという報告があり、今後も予想だにしない現象が報告されるのではないかと筆者は期待している。一方で、昆虫の共生微生物を利用した害虫管理の試みもここ数年で注目すべき進歩を見せている (例えば BEN BEARD et al., 2002)。本稿およびこれらの知見が、読者の方々に植物害虫管理に関する新しいアイデアをもたらすものとなれば筆者としては幸いである。

## 引用文献

- BEN BEARD, C. et al. (2002): *Annu. Rev. Entomol.* 47: 123 ~ 141.
- BUCHNER, P. (1965): *Endosymbiosis of Animals with Plant Microorganisms*, Interscience, New York, 909 pp.
- DOUGLAS, A. E. (1998): *ibid.* 43: 17 ~ 37.
- HOSOKAWA, T. et al. (2005): *FEMS Microbiol. Ecol.* 54: 471 ~ 477.
- et al. (2006): *PLoS Biol.* 4: e337.
- et al. (2007): *Proc. R. Soc. B* 274: 1979 ~ 1984.
- 菊池義智 (2004): *植物防疫* 58: 424 ~ 428.
- KIKUCHI, Y. et al. (2007): *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 4308 ~ 4316.
- LEONARDO, T. E. and E. B. MONDOR (2006): *Proc. R. Soc. B* 270: 2543 ~ 2550.
- OLIVER, K. M. et al. (2003): *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100: 1803 ~ 1807.
- SHIGENOBU, S. et al. (2000): *Nature* 407: 81 ~ 86.
- 友国雅章ら (1993): *日本原色カメムシ図鑑*, 全国農村教育協会, 東京, 380 pp.
- TUCHIDA, T. et al. (2004): *Science* 303: 1989.

(新しく登録された農薬 13 ページからの続き)

### 「展着剤」

#### ●展着剤

22053: クミテンエース (クマイ化学工業) 07/11/14

22054: リノーエース (日本農薬) 07/11/14

22055: 理研スプレイザーエース (理研グリーン) 07/11/14  
 ポリアルキレングリコールアルキルエーテル: 36.0%  
 殺虫剤, 殺菌剤 (稲, 麦類, 野菜類, 花き類, 果樹類, 茶,  
 芝) 添加  
 落果防止剤 (りんご) 添加