氏名（本籍）	西野　貴騎
学位の種類	博　士（　　学術　　）
学位記番号	博　甲　第　　9859　　号
学位授与年月日	令和　3　年　3　月　25　日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	ノコギリカメムシにおける新奇な微生物共生系の研究

主査	筑波大学教授	博士（理学）	深津　武馬
副査	筑波大学教授	博士（農学）	高谷　直樹
副査	筑波大学教授	博士（工学）	野村　暢彦
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	竹下　典男

論　文　の　要　旨

昆虫類は陸上生態系における生物多様性の中核となる生物群であるが、多くが微生物との密接かつ高度な共生関係にあり、微生物共生は生物多様性、進化および機能の理解に重要である。細菌、原生生物、真菌など、さまざまな昆虫共生微生物が知られているが、従来の研究の多くは共生細菌に関するものであり、共生真菌はまだこれからの研究分野といえる。共生細菌についても、まだ解明が不十分な昆虫群が多数存在している。本研究で著者は、ノコギリカメムシ *Megymenum gracilicorne* において他に類例のない後脚外部共生器官を同定し、特定の糸状菌を環境から選択的に獲得して卵表面に塗布することにより、卵を菌糸で被覆防衛するという新規な現象を明らかにした。さらにノコギリカメムシ科の腸内共生細菌を初めて微生物学的に同定し、その多様性と環境獲得を解明した。

ノコギリカメムシを含むノコギリカメムシ科昆虫では、雌成虫の後脚に特異的な扁平器官の存在が記載され、聴音器官であるとされてきた。ところが同部位が白色の菌糸様の物質に覆われるという観察から、当該器官の機能に関する通説に疑義が生じた。著者は第1章の序論に引き続き、第2章でノコギリカメムシの雌成虫後脚器官および菌糸様物質の実体の解明をめざし、飼育観察、真菌の単離培養、組織学的観察、菌叢解析、RNA-seq解析、GC-MS解析等を実施した。雌後脚扁平部は外見上は聴音器官に類似するものの、表面を覆うのは実は鼓膜ではなく多数の小孔を備えたクチクラであり、発達した分泌上皮に裏打ちされ、成熟雌成虫では小孔から菌糸束様のものが大量に伸びる様子が観察された。ITS amplicon-seq解析、分離培養および分子系統解析より、当該部位にはノムシタケ科（Cordycipitaceae）の昆虫寄生菌として知られる*Lecanicillium*属、*Simplicillium*属、*Akanthomyces*属の糸状菌が優占することが示された。すなわちノコギリカメムシ雌成虫は、後脚扁平器官の何らかの分泌物により、特定の昆虫寄生糸状菌を選択的に繁茂させていることが示唆された。さらに著者は、雌成虫が産卵時に後脚跗節で反対側の後脚扁平器官の表面を引っ掻いては卵表面に触れる行動を左右交互にリズミカルに繰り返すという独特の行動を示すことを発見した。産卵後の卵塊は数日で伸長した菌糸で覆われ、当該行動により糸状菌を卵表面に接種していることがわかった。共同研究者により、卵塊が菌糸で覆われることで寄生蜂の産卵が抑制されることが示され、新規な防衛共生であることが判明した。菌糸で覆われた卵塊からは幼虫が正常に孵化し、その体表には菌糸の付着が見られたが、その後の飼育過程で２齢、３齢への脱皮成長に伴い糸状菌は失われた。著者が野外集団由来の雌成虫の後脚扁平器官および産卵卵塊の菌叢解析を行った結果、(i) 同じ雌成虫の後脚器官および卵塊の菌叢は類似しており、卵表面塗布行動による菌伝達が確認された；(ii) しかし同じ雌成虫の後脚器官および卵塊の菌叢が同一でない場合も散見され、菌伝達は完全ではなく環境からの混入等もある程度の頻度で生じていることが示唆された；(iii) 同じ宿主集団由来の雌成虫の菌叢は互いに似ている傾向がある一方で、かなりの多様性が観察された；(iv) 一方、異なる宿主集団由来の雌成虫の菌叢は異なる傾向があり、共生菌叢の地域性が示唆された；(v) 同じ宿主集団由来の雌成虫でも、採集年が異なると菌叢が異なることが観察された。これらの知見を総合すると、ノコギリカメム

シの後脚扁平器官の共生菌は安定に垂直伝達されておらず、毎世代雌成虫によって環境獲得されているものと考えられた。トランスクリプトーム解析から、後脚扁平器官が独特の遺伝子発現パターンを示すこと、糸状菌維持のために代謝が活発になっている可能性があることなどが示唆された。卵表面物質のプロテオーム解析からは、抗微生物ペプチドにより微生物をコントロールしている可能性などを示唆するデータを得た。

さらに著者は第3章で、ノコギリカメムシにおける腸内細菌の局在、系統、伝達様式、培養性、適応度効果などについて、組織学的観察、野外個体の中腸盲嚢部に由来する細菌 16S 領域の配列決定、卵および幼虫に由来する細菌 16S 領域の配列決定、中腸摩砕物由来の共生細菌培養、培養共生細菌の供与/非供与による飼育実験などを実施した。その結果、*Pantoea*属に近縁な共生細菌が中腸共生器官の盲嚢内腔に局在し、個体や集団間で多様性を示し、安定な垂直感染は見られず、基本的に毎世代環境獲得されているらしいこと、そして宿主ノコギリカメムシに正の適応度効果を有するらしいことを明らかにした。これらの新発見と従来の知見を統合して、著者は第4章で今後の研究展望について総括した。

審　査　の　要　旨

本論文は、ノコギリカメムシというこれまでほとんど研究がなされていなかった生物を対象に、微生物との共生関係の解明に取り組んだ研究成果を報告したものである。著者による新規な後脚共生器官の同定、昆虫病原糸状菌の環境獲得による共生関係の成立、産卵時の特異な菌塗布行動の発見、卵の菌糸被覆、被覆菌糸による接近抑制に基づく卵寄生蜂に対する物理的防衛、カメムシ上科では例外的な腸内共生細菌の種内多様性および環境獲得、その他の数多くの新知見を報告するものであり、微生物学、昆虫学、生態学、行動学などの複数分野を俯瞰する研究成果であり、その独創性および学術的価値は十分に高いものと評価される。これらの新知見は基礎科学的に重要であるのみならず、真菌の微生物制御や選択培養の観点、未利用の新規生物資源としての潜在性など、将来的に応用的な研究に展開しうる可能性も十分に想定される。

令和3年1月18日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。