

クサカゲロウの腸内から新規の酵母を複数種発見

クサカゲロウという昆虫の腸内から酵母を分離し、その多様性について、国内で初めて調査しました。その結果、これまで知られていた以上に幅広い種類のクサカゲロウ科昆虫に酵母が生息していたこと、また、それらは主に3種の未記載種で構成されていたことを明らかにしました。

キノコやカビを含む菌類（真菌類）の中には、菌糸を作らず出芽や分裂によって単細胞で増殖を行う種（酵母）が広く存在します。酵母は単細胞で増殖するため、養分を含んだ液体環境に適しており、樹液や花蜜、汚泥などから多種多様なものが得られます。昆虫の腸内も酵母の宝庫であり、クサカゲロウ科昆虫においても1970年代から腸内に酵母が生息していることが知られています。しかしながら、3亜科あるクサカゲロウ科全体に普遍的に酵母が存在するのかどうかは不明でした。

本研究では、長野県の菅平高原および茨城県の筑波大学キャンパスなどでクサカゲロウ科昆虫の成虫を採集し、その腸内から酵母を分離、培養して、分類学的な所属の決定と記載を行いました。採集した計58個体のクサカゲロウは、2亜科6属9種に同定され、その全個体から酵母を分離することができました。DNAの配列情報から、これらはすべてメチニコビア（*Metschnikowia*）属であり、3系統（clade I, II, III）に分かれることが明らかになりました。このうち、clade Iには1未記載種が含まれていました。また、clade IIは全くの新しい系統であり、形態や生理学的性質から2種に分けられました。clade IIは2亜科のクサカゲロウから得られ、これまで知られていた以上に多様なクサカゲロウ科昆虫に酵母が生息していることが判明しました。以上の結果に基づき、これらの酵母を *Metschnikowia* 属の3新種として記載し、その形状が楽器の琵琶に似ていることから、能や平家物語に登場する三面の琵琶の名器に因んで命名しました。

研究代表者

筑波大学生命環境系

出川 洋介 准教授

研究の背景

菌類（真菌類）には、キノコやカビとともに、酵母が含まれます。パンやお酒を造るのに欠かせない狭義の酵母（コウボキン・*Saccharomyces cerevisiae*）に加えて、菌糸を作らず出芽や分裂によって単細胞で増殖を行う菌類を広義の酵母と称します。コウボキンを含む子囊菌^{注1)}には6万もの種があり、このうち、とりわけコウボキン亜門には多種多様な酵母が含まれています。単細胞で増殖を繰り返す酵母という体制は、養分を含んだ液体環境に適した形態であり、自然界では、液体状の樹液や花蜜、汚泥などから得られます。昆虫の腸内も酵母の宝庫であり（Vega and Blackwell, 2005）、本研究で扱ったクサカゲロウ科^{注2)}昆虫においても、1970年代から、腸内に酵母が生息していることが知られてきました。当初、クサカゲロウの腸内酵母は、生物農薬への利用を目指した北米での研究（Hagen, Tassan, and Sawall, 1970）がなされた際に発見され、その後2000年代になって、ようやく分類学的位置づけが解明し *Metschnikowia* 属^{注3)}に属す特異な種であることが明らかにされました（Nguyen et al. 2006; Suh, Gibson, and Blackwell 2004）。しかし、過去の研究は、3亜科あるクサカゲロウ科の1亜科のみを対象としており、腸内酵母が、クサカゲロウ科全体に普遍的なものかどうか不明でした。また、日本では、クサカゲロウの腸内酵母については調査前例がありませんでした。

研究内容と成果

本研究では長野県の菅平高原を中心に、茨城県の筑波大学構内など、各地でクサカゲロウ科昆虫の成虫を採集し（図1）、そこから酵母を分離、培養、分類学的に同定して、検出された未記載種について、新種として記載^{注4)}しました。採集したクサカゲロウ科昆虫は合計58個体で、これらは2亜科6属9種に同定されました。58個体それぞれについて、前腸の内容物を培養したところ、全個体から酵母が検出され、それぞれ1株ずつを分離培養しました。そして、28S rDNA領域の配列を決定し、BLAST検索^{注7)}をして予備的に解析を進めたところ、全株が *Metschnikowia* 属菌であることが明らかになりました。次に、同属の28S rDNA領域のデータセットを作成し、最尤法で系統解析^{注5)}を行った結果、得られた酵母は大きく3つのクレード（clade I, II, III）^{注6)}に分かれることが分かりました。Clade Iは既知のクサカゲロウ科昆虫腸内酵母を含むクレードで、細胞が球形であること、および、*Chrysoperla* 属のクサカゲロウ科昆虫から得られやすいという特徴があり、分離株もこれらの特徴を有していました。しかし、他の生理学的な特徴が異なっており、ITS領域を用いた系統解析では既知種と分かれたことから未記載種と判断し、*M. shishimaru* として記載しました。Clade IIは完全な新規系統で、2亜科のクサカゲロウ科昆虫から得られた分離株が属しており、2つのサブクレード（A, B）に分かれていました。サブクレードAは、厚壁胞子の形態が垂球形から紡錘形であり、サブクレードBは球形、姉妹群の *M. corniflorae* は球形から垂球形である点で区別されました。また、サブクレードBが栄養源として4種類の炭素源を利用できるのに対して、サブクレードAはこれらを利用できないという点で、明瞭に区別されました。以上の結果から、2つのサブクレードAとBをそれぞれ *M. kenjo* と *M. seizan* として新種記載しました。Clade IIIは、クサカゲロウ科昆虫腸内由来の既知種1種とブドウ由来の既知種2種を含むクレードでした。本研究では1株のみが得られ、クレード内の系統関係も不明瞭であったため新種として記載はせず、引き続き、データ収集を続けることとしました。*Metschnikowia* 属の酵母は、有性生殖をする際に、楕円形の酵母細胞の一端が細長く伸びて、特徴的な形の子嚢になり、内部に針状の子嚢胞子を作ります。通常、有性生殖の誘導は難しいのですが、今回、培地上で酵母と他のカビと共培養をして戦わせるという新しい方法を用いることにより、子嚢の誘導に一部、成功し、記載に盛り込むことができました（参考図）。

なお、新種記載した種小名については、これらの子嚢の形状が日本古来の楽器「琵琶」によく似ていることから、能（謡曲）の「絃上（観世流では玄象）」や平家物語の「青山之沙汰」に登場し、名器と讃え

られた三面の琵琶(「絃上(玄象)」、「青山」、「獅子丸」)になぞらえ、3新種の酵母のうち子嚢が未発見の clade I の未記載種は獅子丸に因んで *M. shishimaru*、clade II の2種をそれぞれ *M. seizan*、*M. kenjo* と命名しました(図3)。この三面の琵琶は、現在は行方不明とされていますが、遣唐使の藤原貞敏が唐から持ち帰ったとされ、このうち獅子丸は、あまりにも素晴らしい音色を出すので、日本に持ち帰る途上、海底の八大龍王が聞き惚れて、竜宮城に持って行ってしまったとも、洋上の荒波を鎮めるために海底の竜王に献じたともいわれています。能の絃上では、須磨の浦に村上天皇の亡霊が現れ、龍王に命じて獅子丸を藤原師長に授けるというストーリーになっており、今後、この酵母の子嚢の発見が期待されます。

本研究の結果、日本産クサカゲロウ科昆虫も腸内に酵母を保有していること、また、クサカゲロウ科の2亜科にわたって、普遍的に酵母を腸内に保有するという性質が共有されていたことが明らかになりました。

今後の展開

本研究では日本産クサカゲロウ科昆虫を対象としましたが、日本において記録がない他の亜科目については調査が行えていません。また、clade II は、今回全く新しく発見された新規クレードであり、目下、日本産クサカゲロウ科昆虫に固有な酵母だということになりますが、これは他の国や地域での研究が進んでいないためと考えられます。今後、より広範な地域で、クサカゲロウ科全体を対象とした調査が必要です。

参考図



図1 本研究で採集したクサカゲロウ科の昆虫(左:セボシクサカゲロウ、右:アミメクサカゲロウ)

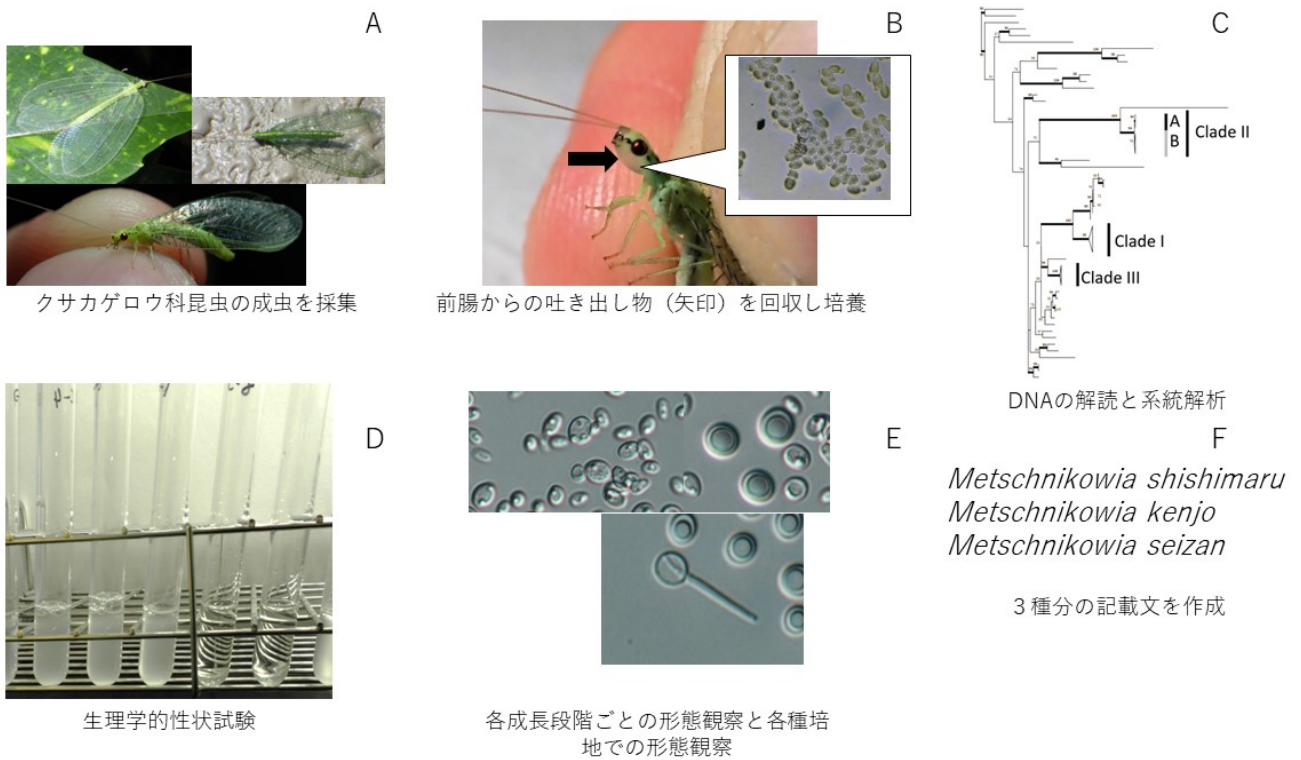


図2 本研究の概要

成虫のクサカゲロウ科昆虫を採集し(A)、酵母を含んだ吐き出し物を回収、培養した(B)。そこから酵母細胞を1つ分離して、1株の分離菌株からDNAを抽出して、28S rDNA領域の配列を決定し、系統解析を行った(C)。系統解析の結果を基に分離菌株を選定し、生理学的な性質(D)と形態情報を取得(E)して種を同定した。そのうち、いずれの既知種とも一致しないもの3種を未記載種と判断し、新種記載をした(F)。

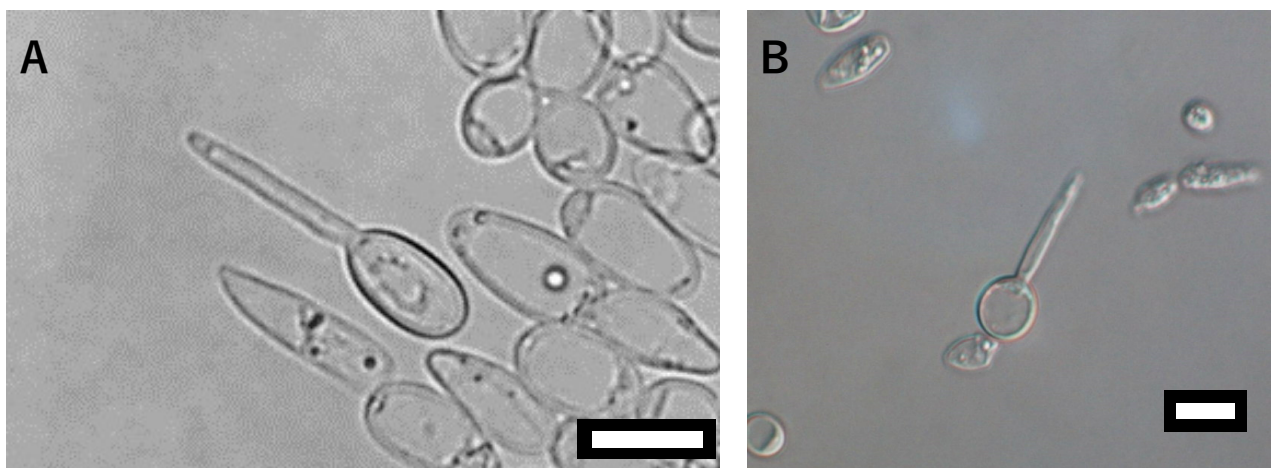


図3 本研究で発見した新種の酵母の子嚢 (A: メチニコビア・ケンジョウ *Metschnikowia kenjo*, B: メチニコビア・セイザン *Metschnikowia seizan*)。スケールバーはいずれも 10 μ m。

用語解説

注1) 子嚢・子嚢菌門

袋状の細胞の中で減数分裂が起きた結果、単相に戻った核を囲むように内生的に形成される胞子を子嚢胞子、これを格納している袋状の細胞のことを子嚢という。子嚢菌門は、子嚢・子嚢胞子を有性生殖構造として作る。

注2) クサカゲロウ科

昆虫のアミメカゲロウ目アミメカゲロウ亜目内の一つの科。1500 前後の種が知られているが、昆虫の科としては比較的小さな分類群である。科内は 3 亜科に分かれるが、国内ではそのうち 2 亜科（クサカゲロウ亜科、アミメクサカゲロウ亜科）のみ確認されている。

注3) *Metschnikowia* 属

子嚢菌門コウボキン亜門コウボキン目の出芽酵母の 1 属。現在、単系統の属としては酵母では最大の属であり記載種数は 80 種を超える。特徴として紡錘型から針状の子嚢とその中に含まれる針状の子嚢胞子を形成する。

注4) 記載

生物の個々の種に対して、その特徴を明らかにする文章を作成すること。分類学的には、ラテン語または英語による記載文を作成して、ラテン語の学名を与えて新種として発表することを指す。学名は属名と種小名の 2 つの要素で構成されており、今回の場合は、属名は既存の *Metschnikowia* 属となり、これに属する新しい種に対して種小名を付けた。

注5) 系統解析（分子系統解析）

系統解析は DNA データを用いる分子系統解析を指す。本研究では最尤法という計算方法を用い、*Metschnikowia* 属の現在の種の DNA 配列のデータセットの状態になる確率（尤度）を計算し、最も可能性の高いものを選択した。

注6) クレード

ある共通の祖先から種分化して生じたすべての子孫を含む集まりのこと。近年、菌類の分類体系においては、分子系統解析の結果、ひとまとまりになった系統樹の枝をクレードと呼ぶこともある。

注7) BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 検索

NCBI (アメリカ国立生物工学情報センター) が提供している配列相動性検索システム。Web ブラウザーから、NCBI Genbank という公共データベースに登録された配列を対象に、検索が行えるという利点がある。特に菌類においては、rDNA 領域を用いた簡易同定に利用できる。

研究資金

本研究は、科研費による研究プロジェクト (19H03281、出川洋介) の一部として実施されました。また、本研究は JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム (JPMJSP2124、吉橋佑馬) の支援も受ました。

掲載論文

【題 名】 Novel *Metschnikowia* yeasts from the gut of green lacewing in Japan.

(日本産クサカゲロウ科昆虫腸内から得られた新規 *Metschnikowia* 属酵母)

【著者名】 吉橋佑馬 (筑波大学生物学学位プログラム博士後期 3 年)、出川洋介 (筑波大学生命環境系)

【掲載誌】 Antonie van Leeuwenhoek

【掲載日】 2023 年 9 月 28 日

【DOI】 10.1007/s10482-023-01887-0

問合わせ先

【研究に関すること】

出川 洋介（でがわ ようすけ）

筑波大学生命環境系／山岳科学センター菅平高原実験所 准教授

URL: <https://dgw-sugadaira.jimdofree.com/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp