

論文審査の結果の要旨

氏名：中村 春花

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題目：昆虫感染性大型微胞子虫の性状解明に関する研究

審査委員：（主査） 教授 山田 昌彦
（副査） 教授 北 宜裕
教授 太田 祐子
准教授 島山 吉則

化学合成農薬による病虫害防除は農業生産の増大と安定化に貢献してきたが、環境への負荷、耐性病虫害の出現などが大きな問題となってきた。そこで、持続可能な農業を実現するため、化学合成農薬の多用を控え、複数の防除法を組合せるとともに環境への負荷を低減する総合的有害生物管理

（Integrated Pest Management、IPM）が推進されている。これに向けて、昆虫も様々な病原微生物に感染して致死するため、昆虫病原微生物の活用が検討されてきた。微胞子虫はカイコ微粒子病（微胞子虫 *Nosema bombycis* によって引き起こされる）を始めとする昆虫病原微生物であり、現在 1,500 種ほど報告されているため、今後の利用が期待されるものの、これまでに開発された製剤はバッタを対象とした製剤 1 つにすぎない。この原因には、生きた生物を製剤化するための保存・孵化方法を始めとして、微胞子虫の遺伝変異・分類、特性解明が進んでこなかったことが要因である。

本研究は、この点に着目し、チョウ目以外のトンボ目昆虫から微胞子虫を国内で初めて分離した上、これとともに、国内で新たに発見されてきた大型微胞子虫群について保存・孵化特性、分類上の位置、胞子形成様式等の解明を行ったものである。

この課題の設定は、生物資源科学に関連した農業上の重要問題を解決する課題設定となっており、これまで研究の進んでいなかった微胞子虫、特に最近発見されてきた大型微胞子虫に焦点をあてた独創性・専門性の高い研究課題と評価できる。また、これらの大型微胞子虫は日本で発見されたものであり、国際的な視点からも新規性が高い。研究成果は農業への応用性があり、昆虫病原微生物としての潜在的可能性が高い微胞子虫の利用可能性を開くものであり、社会的な意義が高く、IPM に関係する研究者に対してもインパクトは大きいと考えられる。

緒言に続く第 1 章では、2012 年に小笠原諸島で分離された大型微胞子虫 *Trachipleistophora haruka* が、カイコ微粒子病を引き起こす微胞子虫 *Nosema bombycis* を対照とした孵化特性を解明した。すなわち、*Nosema bombycis* が蒸留水（D.W.）、生理食塩水（NaCl）では、4°C および 25°C で孵化しないのに対し、*Trachipleistophora haruka* は、生理食塩水（NaCl）、特に 25°C で孵化することを解明した。

第 2 章では、これまで多くの農業害虫が存在するチョウ目昆虫についての微胞子虫が研究されてきたのに対し、広く様々な微胞子虫を得るために、トンボ目昆虫から微胞子虫の分離を試み、国内で初めてその分離に成功した。発見された微胞子虫株から 4 株を選抜し、胞子サイズと遺伝子解析により分類を行ったところ、*Nosema* 属とは異なって大型の胞子サイズであり、*Trachipleistophora* 属、*Vavraia* 属、*Paranosema* 属に近いと判定した。

第 3 章では、第 1 章で示した *Trachipleistophora haruka* と *Nosema bombycis*、さらに第 2 章で新たに発見し、*Trachipleistophora* 属に近いと判定した大型微胞子虫の FOA-2014-10 株、最近、発見され、*Vavraia* 属に属する大型微胞子虫 YGSL-2015-13 の 4 つの微胞子虫について、孵化特性を調査した。この結果、*Nosema bombycis* が蒸留水（D.W.）、生理食塩水（NaCl）では、4°C および 25°C で孵化しないのに対し、25°C では 3 つの大型微胞子虫は生理食塩水（NaCl）で孵化する特性を持っていた。ま

た、*Nosema bombycis* が KOH では 4°C および 25°C で極めて高い孵化率を示すのに対し、FOA-2014-10 株は 4°C ではほとんど孵化せず、25°C でも 10% 程度の孵化率しかなかった。これらの結果は、最近発見された大型微胞子虫群が、これまでの知見が多い *Nosema bombycis* とは異なる孵化特性を有しており、遺伝的に遠縁であることを示唆している。また、これらの大型微胞子虫はカイコに対し、接種濃度により高い感染率を示し、防除への利用可能性が示された。

第 4 章では、第 3 章で使用した大型微胞子虫 3 株を用い、胞子形成様式を調査した。各発育ステージの推移を比較すると、供試微胞子虫 3 株は、*Nosema bombycis* よりも栄養繁殖期から胞子形成期への発育にかかる時間が長く、胞子形成に長時間を要した。*T. haruka* と FOA-2014-10 の胞子形成様式は、胞子形成時に出現する外膜内に 2~32 個の単核性胞子を形成する *Trachipleistophora* 属の胞子形成様式と近似していた。YGSL-2015-13 は、外膜内に 8・16・32 個の単核性胞子を形成し、*Vavraia* 属微胞子虫の胞子形成様式に近似していたが、*T. haruka* では栄養繁殖期、FOA-2014-10 と YGSL-2015-13 では胞子形成期において従来の報告例にないステージを確認した。これらの結果は、これらの大型微胞子虫の胞子形成様式が従来の知見とは異なることを示し、微胞子虫の遺伝変異がかなりあることを示唆している。

これらの結果を総括し、最近、発見されてきた大型微胞子虫群は、既知のカイコ微粒子病を引き起こす微胞子虫 *Nosema bombycis* 等とはかなり特性が異なっている一方、互いに比較的類縁関係が高いとした。また、新たな特性を持つ微胞子虫が発見されたことは微胞子虫の分類も再検討する必要性があるとした。既知の微胞子虫が一般に生理食塩水での保存をしてきたことが製剤化への 1 つの問題となってきたのに対し、これらの大型微胞子虫は生理食塩水では孵化してしまい、保存ができないことから、今後、保存方法の検討が製剤化への糸口となる可能性があること、また、このような新たな特性を持つ微胞子虫が発見されたことは、微胞子虫を用いた生物防除剤開発の可能性拡大につながるとした。

本論文は、既知の微胞子虫に関する知見と比較し、その利用上の問題点を指摘しつつ、新たに発見された大型微胞子虫の特性を解明する研究を組み立てている。研究目的は、農業生産における生物的防除への微胞子虫の利用性を拡大することとして、明確に示されている。大型微胞子虫が既知の微胞子虫と異なる特性を持つという仮説を立て、一貫してその検証のための実験を組み立てている。

既知の微胞子虫と比較した研究結果が示されており、微胞子虫の遺伝変異に関する分野における研究成果の位置づけは明確である。大型微胞子虫を自ら発見するとともに、最近新たに発見された大型微胞子虫を用いており、新規性・独創性は高く、世界でも評価されると考えられる。

首尾一貫した論理のもとに研究が展開され、最近発見された、また、自ら新たにトンボ目から分離した大型微胞子虫は既知の微胞子虫と特性が異なっており、新たな特性を持つ微胞子虫が発見されたことが微胞子虫を用いた生物防除剤開発の可能性拡大につながるという結論は適切である。

論文題目は、研究内容を適切に表している。論文は適切な学術用語を使用し、明確な論述としており、それを分かりやすく示す図表となっている。

以上により、本論文は、博士（生物資源科学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 3 年 2 月 22 日