

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：82105

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14778

研究課題名(和文)シロアリは何故木材をかじることができるか?～大顎へ金属を蓄積するメリットを探る～

研究課題名(英文)Why termites can bite wood? -Benefit of trace metal accumulation to mandibles-

研究代表者

大村 和香子(OHMURA, WAKAKO)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：00343806

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文):シロアリが大顎に強靱な耐久性を付与するメカニズムを解明することを目的として、大顎の強度評価と金属キャリアタンパク遺伝子の発現解析を行った。脱皮直後のネバダオオシロアリ前兵蟻では、大顎強度は兵蟻の1/7程度であった。(擬)職蟻の大顎強度にはシロアリの種間差はなかった。また金属キャリアタンパクの候補遺伝子のクローニングに成功し、頭部と比較して胸腹部における発現が高いことなどを明らかにした。

以上のことから、例えば木材中で一生を終える乾材シロアリでも、木材中に微量しか含まれないマンガンや亜鉛を選択的に大顎へ蓄積することにより、強靱な大顎を形成して木材を摂食できるというメリットがあると考えられる。

研究成果の概要(英文):We evaluated termite mandible strength and tried gene expression and functional analysis of metal carrier proteins in termite body, so as to elucidate a mechanism of adding strong toughness to the mandibles. In the *Zootermopsis nevadensis*, presoldiers, just after ecdysis and had no trace metal on the edge of their mandibles, showed 1/7 of the strength in the soldiers' mandibles. No typical difference in the mandibles was observed among workers(pseudergates) in termite species. Some candidate genes involved with metal carrier proteins were successfully determined, and the genes were expressed higher in their bodies.

As a result, drywood termites, for example, only live inside the wood except during swarming, have numerous benefits on feeding woods by selective accumulation of zinc and manganese to their mandibles.

研究分野：木質科学

キーワード：シロアリ 大顎 金属 強度

1. 研究開始当初の背景

木材害虫として知られるシロアリは、大顎を使って様々な行動を行う。木材を食べる場合は、木材をかじりとり口器へ運ぶ。‘蟻道’と呼ばれるトンネル状のシロアリの通り道を作るときには、大顎で土壌を保持・運搬して自らの糞と混ぜながらそれらを構築する。さらに巣内の若齢個体や卵の世話の際には大顎を使って餌を与えたりこれらを運んだりするが、いったん外敵と遭遇すると大顎で敵に素早く噛み付く。

申請者は、対象物の性質によって変わる咬合力を産み出す「大顎」に興味を持ち、大顎の圧縮強度と表面の微量元素を計測し、シロアリ種による大顎強度と微量元素の含有量との関係を解析した。その結果、大顎にはシロアリ種横断的にマンガン(Mn)が存在すること、大顎先端部に亜鉛(Zn)を特異的に蓄積する乾材シロアリに属するシロアリ種では、他種よりも大顎の比圧縮強度が大きいこと、最も原始的なムカシシロアリの大顎には特異的な金属の蓄積がないことなどを明らかにした(Ohmura et al., 2007a,b; 鈴木・大村ら, 2009)。

上述の研究を通じて、シロアリがどうやって Mn や Zn を選択的に取り込み蓄積するのか、そしてなぜ乾材シロアリのみ Zn を獲得したのか、疑問を持ち、本研究を立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、シロアリの木材を加工する‘道具’である大顎における微量金属の機能を明らかにすることである。

シロアリの大顎にはマンガンや亜鉛といった微量金属の局所的蓄積が認められ、これらは大顎へ強度を付与していると考えられる。また、衰弱・致死したシロアリは微生物による分解を受けるが、大顎は分解されにくいことがわかっており、微量金属が耐久性付与にも関与していると予想される。

本研究ではシロアリ大顎への微量金属の蓄積過程を追跡するとともに、大顎へ強度や耐久性が付与されるメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 供試シロアリ

以下のシロアリ種を実験に供した。

・ネバダオオシロアリ (*Zootermopsis nevadensis* (Hagen)) 擬職蟻、ニフ、兵蟻

2003年に兵庫県川西市の山林においてコロニーごと採集し、森林総合研究所構内の実験室内で飼育。

・アメリカカンザイシロアリ (*Incisitermes minor* (Hagen)) 擬職蟻

2010年に東京都内の被害家屋から入手した被害材を森林総合研究所構内の飼育室(26±2、65% R.H.)においてアクリル製大型デシケーター内に厳重に保管・飼育。

・コウシュンシロアリ (*Neotermes koushunensis* (Shiraki)) 擬職蟻

2016年に沖縄県内で採集。

・イエシロアリ (*Coptotermes formosanus* Shiraki) 職蟻

2010年に鹿児島県日置市の海岸林に営巣していた巣ごと森林総合研究所構内に移設し、飼育室(26±2、65% R.H.)において飼育。

・ヤマトシロアリ (*Reticulitermes speratus* (Kolbe)) 職蟻

森林総合研究所構内などで野外生息コロニーを採集。

(2) 大顎試料の調製

上記供試シロアリ頭部から大顎を採取し、各大顎のエッジ部分を両面粘着性のカプトンテープに仮固定した。大顎全体をエポキシ樹脂で包埋して12時間放置後にカプトンテープを剥がし、エッジ部分を露出させた状態(図1)で下記(5)に示すMSE試験に供した。

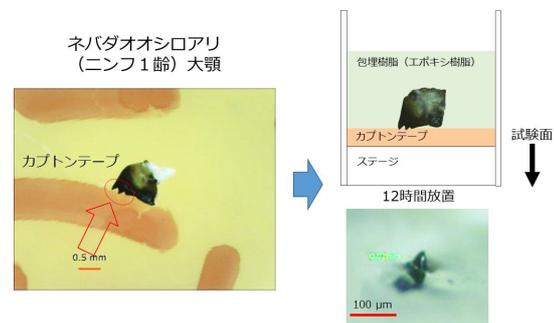


図1 大顎試料の固定法

(3) 供試木材

スギ辺材(早材、晩材)を二方まさに採材し、下記(5)に示すMSE試験に供した。

(4) 脱皮個体の調製

メソプレン、ハイドロプレン、テフフェノジド、メトキシフェノジド、スピロテトラマトで約 60 μg/cm² で処理したセルロースろ紙を上記シロアリ種(ニフまたは擬職蟻)に投与し、各脱皮促進作用物質のシロアリ種による作用の違いを検討した。

(5) MSE (Micro Slurryjet Erosion) 法による微小領域の表面強度評価

試験方法

本法は一定量の粒子を試料面に投射し、生じる凹みの深さ(=エロ-ジョン深さ)や形状を測定し、粒子投射とそれに伴うエロ-ジョンの進行をもとに、表面ならびに深さ方向の強度を見積もる方法である。本研究では大顎の特に歯先(エッジ)部分ならびにスギの早材部と晩材部といった、微小な領域における強度をMSE法を適用して評価した(図2)。

治具上に固定した大顎のエッジ部分ならびにスギ辺材に対して(I)多角アルミナ(平均粒子径 1.2μm、不定形)または球状シリカ(平均粒子径 5 μm、球形)を試験機(MSE-A、(株)パルメソ製)から投射後(II)触針式形状測

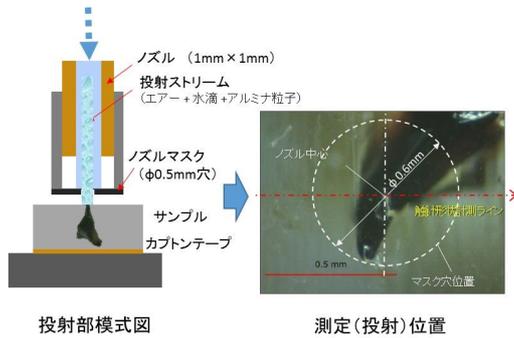


図2 MSE試験 投射・測定部概要

定器を用いてエッジ表面に生じた凹凸の形状を計測した。

データ解析

(I) → (II) の工程を繰り返すことにより、試験材表面からのエロージョンの深さと投射粒子量、エロージョン率 (= 投射粒子重量 1g あたりのエロ - ジョン深さ。単位: $\mu\text{m/g}$) の関係を解析した。

さらに多角アルミナまたは球状シリカの作用で得られた各々のエロ - ジョン率の逆数を算出し、各々耐摩耗性、耐衝撃性の指標とした (単位: $\text{g}/\mu\text{m}$)。以上の試験結果をもとに、各大顎エッジ部分ならびにスギ辺材における早・晩材の耐摩耗性と耐衝撃性を比較した。

(6) シロアリにおける金属キャリアタンパクの発現・機能解析

これまでに他の生物で金属イオンのキャリアとしての関与が示唆されている候補遺伝子 (Zinc transporter, Malvolio) を、ネバダオオシロアリおよびコウシュンシロアリにてクローニングした。得られた候補遺伝子について、qRT-PCR でカースト間の発現解析を行った。

4. 研究成果

(1) 薬剤による前兵蟻への誘導

薬剤による誘導効果の違い

各種薬剤に暴露後 2 週間における前兵蟻への誘導効果を表 1 に示す。

表 1 薬剤別の前兵蟻への誘導効果

	メトキシフェノジド	テブフェノジド	メソレン	ハイドロプレ	コントロール
ネバダオオシロアリ	0%	0%	60%	80%	20%
アメリカカンザイシロアリ	-	-	20%	60%	-
コウシュンシロアリ	-	-	0%	8%	-

この結果から、供試薬剤中ではハイドロプレが最も誘導効果が高いと判断した。

ネバダオオシロアリの前兵蟻への誘導

ハイドロプレを用いてネバダオオシロアリニフを前兵蟻へ誘導させ (写真)、脱皮直後の大顎を MSE 試験に供した。



写真 ハイドロプレで誘導した前兵蟻

(2) シロアリ大顎・木材の強度

大顎の部位、階級別の強度比較 (投射粒子種: 多角アルミナ)

ネバダオオシロアリに関しては大顎の部位別 (兵蟻大顎における先端部と基部) (図 3 - 1) ならびに階級別 (ニフ 1 齢、前兵蟻、兵蟻) (図 3 - 2) で多角アルミナを投射した場合のエロ - ジョン進行度 (投射粒子量とエロ - ジョン深さとの関係: エロ - ジョン進行度が小さいほど強度が大きいことを示す。) を比較した。

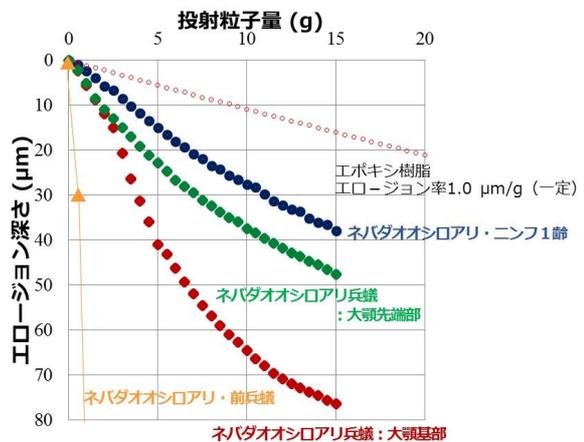


図3 - 1 ネバダオオシロアリ大顎の階級ならびに部位別エロ - ジョン進行度

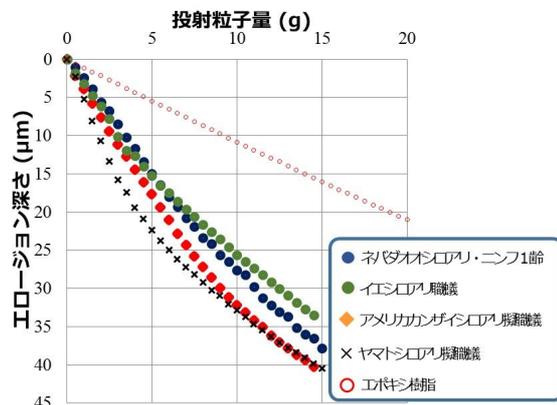


図3 - 2 シロアリ種別の大顎エロ - ジョン進行度

大顎の部位別では基部よりも先端部の方が、階級別では兵蟻よりも（擬）職蟻（ニンフ）の方が強度が大きかった。また微量金属が蓄積していない前兵蟻の大顎強度は非常に小さくMSE 試験に供することが困難なほどであった。シロアリ種間比較は職蟻の大顎のみ供試したが種間での顕著な強度差は認められなかった。

深さ方向のエロ - ジオン変化率比較（投射粒子種：多角アルミナ）

エロ - ジオン率 ($\mu\text{m/g}$) = エロ - ジオン深さ (μm) / 単位面積あたりの粒子投射量 (g) と定義して、（擬）職蟻（ニンフ）大顎のエロ - ジオン深さとエロ - ジオン率の関係をシロアリ種間で比較した（図4）。エロ - ジオン率は大きいほど強度が小さいことを示す。

エロ - ジオン率はアメリカカンザイシロアリでは最表面層が最も小さく（強度は最も大きく）、内層に行くにつれ特に表層～深さ30 μm で大きく変化し、表層から10 μm 程度のごく浅い内層で最も大きく（強度は最も低く）、内部に行くにつれて減少（強度は増加）し深さ30 μm 以降、ほぼ一定になった。これは大顎を形成するクテクラ層の多層構造を反映していると推察される。

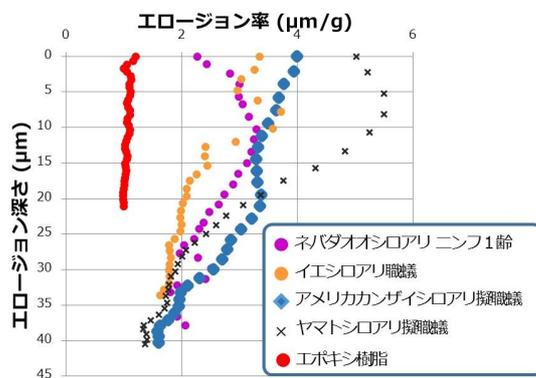


図4 大顎の表面深さ方向のエロ - ジオン率変化 - シロアリ種間比較

大顎のシロアリ種間、階級間の耐摩耗性と耐衝撃性比較（投射粒子種：多角アルミナ、球状シリカ）

全般として耐衝撃性が高いほど耐摩耗性も高かったが、ネバダオシロアリニンフのみ、耐摩耗性が供試シロアリ中で最も強いにもかかわらず、耐衝撃性が弱かった（図5）

スギ辺材の早・晩材の強度比較（投射粒子種：多角アルミナ、球状シリカ）

木材では多角アルミナ投射の場合、粒子端部（数十 nm オーダー）により繊維が切断されるような破壊形態を、球状シリカの投射では粒子の衝突により繊維が変形しつつ疲労破壊する形態を示した。

早材は晩材と比較して、多角アルミナを投射した場合は約 10 倍、球状シリカを投射した場合は約 5 倍、エロ - ジオン進行度が大きい（強度が小さい）ことが示された。またスギ辺材

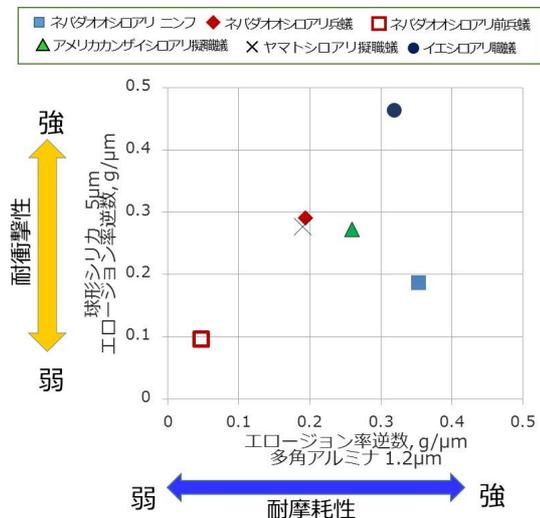


図5 大顎のシロアリ種間、階級間の耐摩耗性と耐衝撃性比較

の晩材は、シロアリ（擬）職蟻大顎の強度とほぼ同程度であることが明らかとなった。

（3）シロアリにおける金属キャリアタンパクの発現・機能解析

コウシュンシロアリを用いた実験では、Zinc transporter のホモログ遺伝子をクローニングすることができた。この遺伝子について、脱皮直後の大顎の柔らかいワーカー、通常の大顎の硬いワーカー、兵蟻の 3 種の個体において、頭部と胸腹部の 2 部位における発現解析を行ったところ、いずれの個体でも胸腹部で発現が高い状態だった。しかし、脱皮直後と通常のワーカーでは、有意な発現の差は見られなかった。

ネバダオシロアリを用いた実験では、Malvolio のホモログ遺伝子をクローニングすることができた。この遺伝子について、ワーカー、兵蟻、有翅虫（オス）、有翅虫（メス）の 4 種の個体において、頭部と胸腹部の 2 部位における発現解析を行ったところ、どの階級も胸腹部で発現が高い状態だった。

本研究の遂行により、大顎に金属蓄積が見られない、脱皮直後のネバダオシロアリ前兵蟻の大顎強度が兵蟻の大顎の 1 / 7 程度であること、大顎内部の多層構造ならびに金属の蓄積位置を反映し、大顎強度は表層からごく内層部分で最も高く、内層に行くにつれて強度が低下すること、金属キャリアタンパク候補遺伝子である Zinc transporter や Malvolio のホモログ遺伝子が、頭部と比較して胸腹部で発現が高いことなどが明らかとなった。

以上のことから、シロアリが大顎に金属を蓄積するメリットとして、木材中に微量しか含まれないマンガンや亜鉛を選択的に大顎へ蓄積することにより、強靱な大顎を形成して木材を摂食できることが考えられた。

今後、金属キャリアタンパク候補遺伝子である Zinc transporter や Malvolio のホモログ遺

伝子発現の状況と、大顎の強度および金属イオンの蓄積状況をリンクさせ、これらの遺伝子の
大顎の耐久性への関与を検討していきたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

大村和香子：シロアリのあご(2)～大顎の金属が語るシロアリの進化～、協会ニュース、査読無、8:11、2017

〔学会発表〕(計 4 件)

大村和香子、北條優：シロアリ大顎および木材の耐摩耗性と繰り返し疲労耐性評価、日本木材学会大会研究発表要旨集、68:N15-P-17、2018年

大村和香子、鈴木養樹、北條優：異なるシロアリ種における大顎先端部の耐摩耗性、耐衝撃性比較、日本木材学会大会研究発表要旨集、67:N18-P2-22、2017年

大村和香子、鈴木養樹、北條優：シロアリ大顎先端部の強度測定と脱皮個体の調製、日本環境動物昆虫学会年次大会要旨集、28:31、2016年

大村和香子、鈴木養樹、神原広平、北條優：シロアリ大顎の耐久性(I) MSE 試験による表面強度の測定、日本木材学会大会研究発表要旨集、66:N27-06-1415、2016年

〔図書〕(計 1 件)

大村和香子：第1章 シロアリの生態、シロアリ及び腐朽防除施工の基礎知識 新版、12-56、(公社)日本しろあり対策協会、2017

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

大村 和香子 (OHMURA, Wakako)
国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員等
研究者番号：00343806

(2)研究分担者

北條 優 (HOJO, Masaru)
琉球大学研究推進機構・特命講師
研究者番号：80569898

(3)連携研究者

鈴木 養樹 (SUZUKI, Yoki)
国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員等
研究者番号：90353739