

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年3月31日

現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2009～2012

課題番号：21687002

研究課題名（和文）シロアリと卵擬態菌核菌の相互作用メカニズムの解明

研究課題名（英文）Interection between termites and termite-egg mimicking fungi

研究代表者

松浦 健二（MATSUURA KENJI）

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：40379821

研究成果の概要（和文）：本研究では日米のヤマトシロアリ属8種およびイエシロアリから見つけたAthelia属の菌核菌に加え、西表島において高等シロアリのタカサゴシロアリの巣内から全く別系統のTrechispora属の菌核菌を発見し、菌核菌によるシロアリの卵擬態は少なくとも独立に2回進化したことを明らかにした。また、シロアリの卵保護行動に関わるフェロモンの分析から、卵の揮発物質が女王フェロモンと共通の物質であり、卵保護において重要な機能を果たすとともに、二次女王分化抑制の役割を果たしていることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：We found a novel type of termite ball in the subtropical termite, *Nasutitermes takasagoensis*. Phylogenetic analysis indicated that Z-type is an undescribed Trechisporoid fungus, *Trechispora* sp., indicating two independent origins of termite-egg mimicry in sclerotium-forming fungi.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2011年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2012年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
総計	8,700,000	2,610,000	11,310,000

研究分野：生態・環境

科研費の分科・細目：生物、

キーワード：シロアリ・卵保護・菌核菌・進化

1. 研究開始当初の背景

本研究のテーマである「シロアリの卵に擬態する菌核菌」は新種の菌核菌が、シロアリの卵に物理的・化学的に擬態した菌核を作り、シロアリに保護、運搬させるという現象である。この新種の菌核菌はシロアリの卵運搬本能を巧みに利用してシロアリをコントロールしている。この卵擬態によるシロアリと菌類の新たな関係は、シロアリと様々な微生物の多様な関係を代表する現象の一つとして国際的にも注目されている。

2. 研究の目的

本研究では、（1）シロアリと卵擬態菌核菌の分布について広域サンプリング調査と系統解析によって体系的に分析する。

（2）また、シロアリの卵認識物質と菌核菌の卵擬態物質の全貌を解明し、シロアリと卵擬態菌核菌の相互作用における化学擬態の進化メカニズムを明らかにする。（3）物理的卵認識の詳細を明らかにし、卵擬態菌核菌の菌核形態にかかる選択と、物理的擬態の進化過程を明らかにする。（4）卵擬態菌核菌を保有することによるシロアリへの影響を、卵量の誤認識による産卵抑制のコスト、卵塊中での発芽による卵の殺傷のコスト、菌核菌による他の微生物に対する抗菌作用とシロアリ卵の生存率に与える影響の側面から分析する。短期的、長期的な視点からこの相互作用が両者に与えるコストと利益を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 卵擬態菌核菌の広域分布調査および系統解析 西表島および石垣島においてタカサゴシロアリ *Nasutitermes takasagoensis* を広域採集し、新たに発見されたタイプの卵擬態菌核菌 (Nタイプと称す) の分布と保有率を明らかにする。Nタイプ卵擬態菌核菌を単離培養し、そのrRNA遺伝子のITS領域の分析を行い、近縁な菌核菌との系統関係を明らかにする。日本および米国のヤマトシロアリ属シロアリから単離した卵擬態菌核菌についてrDNAのIGS領域の塩基配列を分析し、ITS領域の分析からは検出できなかった種内レベルの遺伝的距離を明らかにし、ホストのシロアリ種、および地理的距離との関係を解明する。IGS領域をプライマーセットLR12R(5' - GAACGCCTCTAAGTCAGAATCC-3')と5SA(5' - CAGAGTCCTATGCGCGTGAT-3')を用いて増幅し、これをクローニングして塩基配列を決定し、系統解析を行う。また、シロアリコロニー間の水平伝播の可能性を検証するため、同じコロニーから複数の菌株を単離し、IGS領域のRFLPを行い、シロアリの1コロニーあたりが保有する菌核菌のStrainの数を推定する。

(2) 化学的卵擬態メカニズムの解明 これまでにシロアリの卵認識フェロモンの主成分として卵およびワーカーの唾液に含まれる抗菌タンパク質のリゾチームとセルロース分解酵素の一つであるβグルコシダーゼが明らかになっているが、他にも卵認識フェロモンの補助物質が存在する可能性がある。高速液体クロマトグラフィーによりシロアリの卵および唾液腺タンパク質を分画し、疑似卵ビーズを用いた卵認識バイオアッセイによりフェロモン活性を測定する。また、二次元電気泳動によりシロアリの唾液中のタンパク質と卵表面物質を比較分析し、卵認識バイオアッセイにより補助物質の候補成分をスクリーニングする。

(3) 物理的卵擬態メカニズムの解明 タカサゴシロアリの卵サイズと疑似卵サイズの選好性、および卵塊中に保有していた菌核菌のサイズ分布を比較する。このNタイプ菌核菌にかかるサイズ選択と、ヤマトシロアリが保有する菌核菌にかかるサイズ選択を比較することにより、卵擬態菌核菌の形態進化のプロセスを解明する。卵サイズの選好性については、0.02ミリ間隔で異なるサイズのガラスビーズを基材とした疑似卵(表面に卵認識フェロモンを塗布)の運搬活性を比較することによって評価する。

4. 研究成果

(1) 高等シロアリにおける新たなタイプの卵擬態菌核菌の発見 西表島においてタカサゴシロアリの卵塊中から発見された新たなタイプの卵擬態菌核菌 (typeZ) についてITS領域の塩基配列に基づいて系統解析を行った結果、ヤマトシロアリ属のものとは異なる菌核菌であった。

シロアリの卵認識・卵運搬を利用して巢内に運搬され、保護されるという戦略は、少なくとも独立に2回起源したことが示された。また、ホスト種のシロアリの卵サイズ選好性と実際の卵サイズ、および菌核サイズを比較解析した結果、菌核菌は投資資源当たり運搬される菌核数が最大となるサイズ、すなわち、適応度が最大化されるサイズで菌核を生産していることが示唆された。

(2) 卵の揮発性物質の特定 ヤマトシロアリの職蟻が物理的に接触できないように金網で囲んだ卵を覚えているという実験結果から、卵から揮発性フェロモンが出ており、職蟻はそれをcueとして卵への定位を行っている可能性が示唆されたため、HS-GC/MSを用いて、卵の揮発成分を分析したところ2種類の揮発性成分が検出された。それらの揮発性成分が職蟻による卵運搬行動にどのような効果を持つのかを調べた結果、シロアリの職蟻は揮発性フェロモンによって卵を定位し、卵表面の化学的情報によって卵を認識していることが明らかになった。シロアリにおいて、女王によって生産される卵は、ワーカーが巢内の複数個所に運搬して、卵塊を形成し世話を行う。ヤマトシロアリは光の届かない閉所に生息するため、視覚情報を用いることができない。そのため卵を認識する際は、表面の化学物質(リゾチームやβ-グルコシダーゼなど)を卵認識フェロモンとして利用している事が知られていたが、シロアリ卵における揮発性フェロモンの存在が最近明らかとなった。

(3) 女王フェロモンの成分、2メチル1ブタノールとブチルブチレートの近縁種の女王分化に対する抑制効果を明らかにするため、同属6種について種間交差活性を測定した。その結果、*R. amamianus*, *R. miyatakei*については有意に女王分化を抑制することが分かった。しかし、*R. yaeyamanus*, *R. okinawanus*, *R. flavipes* および *R. virginicus* では抑制しなかった。*R. flavipes* と *R. virginicus* では系統的に離れていることで、別の物質を女王フェロモンとしていることが考えられる。女王フェロモン物質は卵からも放出されており、これらは卵の糸状菌に対する抗菌機能を有していることも明らかになった。有意な交差活性を示した *R. amamianus*, *R. miyatakei* は、両種とも卵擬態菌核菌ターマイトボールを保有しており、また、女王フェロモン物質はターマイトボールの発芽抑制効果があることが明らかになっており、女王フェロモンは糸状菌への防衛機能として進化した物質が、二次的に女王の存在と繁殖能力を示すシグナルとして進化した可能性が示唆された。

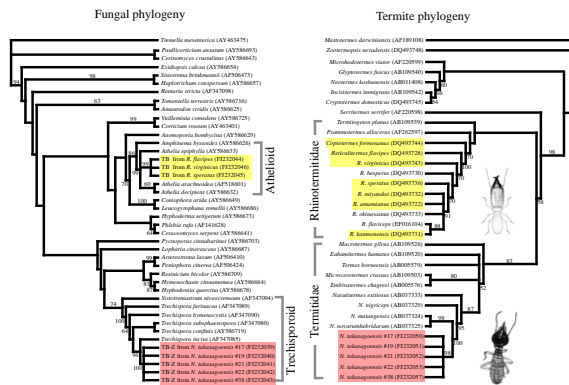


図1 シロアリと卵擬態菌核菌の系統樹

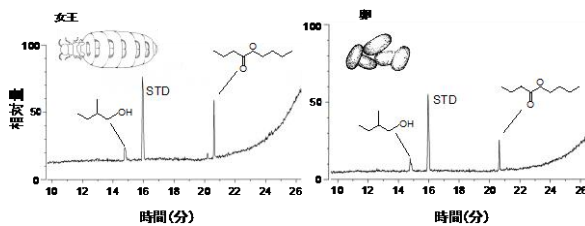


図2 ヤマトシロアリの女王フェロモンと卵の揮発成分

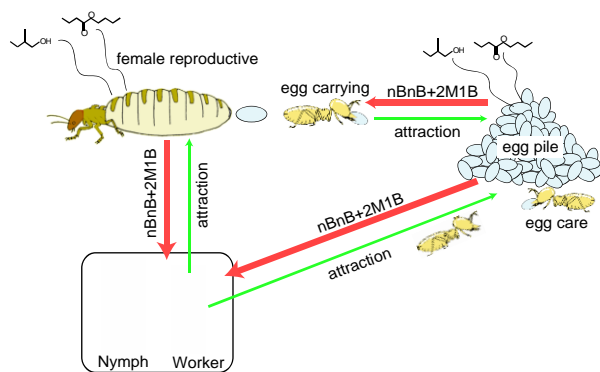


図3 卵揮発物質の卵定位における機能

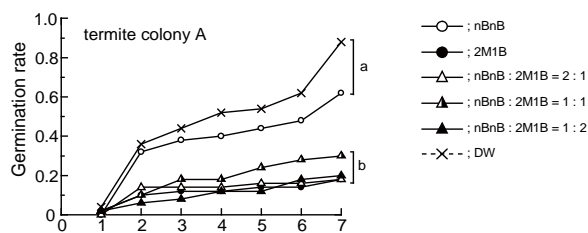


図4 卵揮発物質による卵擬態菌核菌の発芽抑制

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 7 件)

①Matsuura, K.: Multifunctional queen pheromone and maintenance of reproductive harmony in termite colonies. *Journal of Chemical Ecology* 38(6): 746-754 (2012).
DOI:10.1007/s10886-012-0137-3

②Yamamoto, Y., Kobayashi, T. and Matsuura, K.: The lack of chiral specificity in a termite queen pheromone. *Physiological Entomology* 37(2): 192-195 (2012).
DOI:10.1111/j.1365-3032.2011.00806.x

③Matsuura, K. and Yamamoto, Y.: Workers do not mediate the inhibitory power of queens in a termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Insectes Sociaux* 58(4): 513-518 (2011).
DOI:10.1007/s00040-011-0170-1

④Himuro, C., Yokoi, T. and Matsuura, K.: Queen-specific volatile in a higher termite *Nasutitermes takasagoensis* (Isoptera: Termitidae). *Journal of Insect Physiology* 57:962-965 (2011).
DOI:10.1016/j.jinsphys.2011.04.012

⑤Yamamoto Y. and Matsuura K.: Queen pheromone regulates egg production in a termite. *Biology Letters* 7(5):727-729 (2011).
DOI:10.1098/rsbl.2011.0353

⑥Matsuura K., Himuro, C., Yokoi T., Yamamoto Y., Vargo E.L. and Keller, L.: Identification of a pheromone regulating caste differentiation in termites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107: 12963-12968 (2010).
DOI:10.1073/pnas.1004675107

⑦Matsuura, K. and Yashiro, T.: Parallel evolution of termite-egg mimicry by sclerotium-forming fungi in distant termite groups. *Biological Journal of Linnean Society*, 100: 531-537 (2010).
DOI:10.1111/j.1095-8312.2010.01444.x

[学会発表] (計30 件)

①松浦健二・矢代敏久。「シロアリの女王が有性生殖卵と単為生殖卵を産み分ける仕組み」第57回日本応用動物昆虫学会大会 (日本大学) 2013年3月29日

②松浦健二。「シロアリの女王は卵門数を調節して有性生殖と単為生殖を使い分ける」第28回個体群生態学会 (東邦大学) 2012年10月20日。

③山本結花・松浦健二。「ヤマトシロアリにおけるコロニー内の産卵量調節機構」日本生態学会近畿地区会 2012年度第1回例会日本生態学会第一回例会 (滋賀) 2012年6月。

④日室千尋・横井智之・松浦健二。「シロアリ類3種における女王フェロモンの同定、比較」日本応用動物昆虫学会 (近畿大学) 2012年3月27日。

⑤松永武・松浦健二. 「シロアリの女王フェロモン物質の糸状菌に対する抗菌活性」日本応用動物昆虫学会(近畿大学)2012年3月27日.

⑥内藤龍太・松浦健二. 「ヤマトシロアリにおいて卵の不揮発性物質が二次女王分化に与える影響」日本応用動物昆虫学会(近畿大学)2012年3月27日.

⑦松浦健二. 「シロアリの繁殖分化制御機構を探る:女王決定に関わる遺伝的要因とフェロモン」日本農芸化学会(京都女子大学)2012年3月25日. 招待講演

⑧松浦健二. 「The origin and evolutionary process of termite queen pheromone」日本生態学会/EAFES(龍谷大学)2012年3月19日.

⑨日室千尋・横井智之・松浦健二. 「Queen Pheromone in Termites」日本生態学会/EAFES(龍谷大学)2012年3月19日.

⑩山本結花・松浦健二. 「Influence of symbionts on feeding behaviour in a termite」日本生態学会/EAFES(龍谷大学)2012年3月19日.

⑪松浦健二. 「シロアリのフェロモン同定と社会行動制御による応用への可能」日本農薬学会(岡山)2012年3月14日.

⑫松浦健二・山本結花・末廣亘. 「シロアリ女王フェロモンの多面的機能と進化プロセス」第27回個体群生態学会大会(岡山大学)2011年10月15日.

⑬日室千尋・横井智之・山本結花・松浦健二. 「シロアリ類の女王フェロモン」第27回個体群生態学会大会(岡山大学)2011年10月15日.

⑭松浦健二. 「私がシロアリの社会を研究する理由」日本動物行動学会(慶応大学)2011年9月10日. 動物行動学会賞受賞講演

⑮松浦健二. 「2倍体生物における血縁度不均衡と血縁選択による性比バイアス」日本動物行動学会(慶応大学)2011年9月10日.

⑯日室千尋・横井智之・松浦健二. 「高等シロアリの1種タカサゴシロアリの女王フェロモンの分析」日本動物行動学会(慶応大学)2011年9月10日.

⑰松浦健二・山本結花・末廣亘・内藤龍太. 「シロアリの女王フェロモンの特定が導く新たな社会システムの謎解き」第55回日本応用動物昆虫学会大会(九州大学)2011年3月28-29日.

⑱日室千尋・横井智之・松浦健二. 「高等シロアリに属するタカサゴシロアリの女王フェロモンの分析」第55回日本応用動物昆虫学会大会(九州大学)2011年3月28-29日.

⑲松浦健二・山本結花・矢代敏久・日室千尋・横井智之. 「ヤマトシロアリの単為生殖による女王位継承システムの進化的安定性」第58回日本生態学会(札幌)2011年3月10日.

⑳山本結花・瀧側太郎・松浦健二. 「シロアリの女王特異的遺伝子発現と女王フェロモンの抑制効果」第58回日本生態学会(札幌)2011年3月9日.

㉑松浦健二・山本結花・日室千尋・横井智之. 「シロアリの女王存在情報のコロニー内伝達メカニズム」第29回日本動物生態学会(沖縄)2010年11月19-20日.

㉒日室千尋・横井智之・松浦健二. 「シロアリ卵の揮発性フェロモンの機能について」第29回日本動物生態学会(沖縄)2010年11月19-20日.

㉓山本結花・松浦健二. 「女王フェロモンは女王自身の繁殖を抑制するのかわか?」第29回日本動物生態学会(沖縄)2010年11月19-20日.

㉔松浦健二. 「社会性昆虫学の最前線:解き明かされる女王の秘密」日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部合同例会(鳥取大学)2010年10月22日.

㉕松浦健二. 「シロアリの卵に化ける菌類の進化:フェロモンでシロアリをだます仕組み」(シンポジウム:昆虫科学研究の最前線 生態と化学). 日本農芸化学会大会(東京大学駒場). 2010年3月30日.

㉖松浦健二. 「シロアリなんてこわくない:頭を使って害虫に克つ」(シンポジウム:応用昆虫学が拓く未来). 第54回日本応用動物昆虫学会大会(千葉大学). 2010年3月27日. 招待講演

㉗中野裕子・松浦健二. 「ヤマトシロアリの女王の繁殖戦略」第54回日本応用動物昆虫学会大会(千葉大学). 2010年3月27日.

㉘山本結花・日室千尋・横井智之・松浦健二. 「シロアリの女王フェロモンの特定」第54回日本応用動物昆虫学会大会(千葉大学). 2010年3月27日.

㉙日室千尋・横井智之・松浦健二. 「シロアリ卵の揮発性フェロモンの役割一卵への定位と認識メカニズム」第54回日本応用動物昆虫学会大会(千葉大学). 2010年3月27日.

[その他]

ホームページ等

<http://www.insecteco.kais.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松浦 健二 (MATSUURA KENJI)

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号: 40379821