氏　　名　兵藤不二夫（ひょうどう ふじお）
学位(専攻分野)　博　士（理　学）
学位記番号　理　博　第2510号
学位授与の日付　平成14年3月25日
学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻
学位論文題目　Role of the symbiotic fungi and its evolution in fungus-growing termites (Isoptera : Macrotermitinae)
（キノコシロアリにおける共生キノコの役割とその進化）
論文調査委員　（主査）教授 清水　勇　教授 山村則男　教授 今福道夫

論文内容の要旨

キノコシロアリの仲間は共生を栽培するように進化した特徴を持つことからシロアリの中でも，極めて特異な位置をしめる。本申請論文ではキノコシロアリ（Macrotermitinae）と共生キノコ（*Termitomyces*）との共生関係について研究し，総合的な考察を行っている。

まず，共生キノコの役割を明らかにするために *Macrotermes gilvus* の菌園の炭水化物，リグニン，キチン，単糖類などの化学分析や CP/MAS^{13}CNMR 分析を行った。菌園の古くなった部分では炭水化物含量が増加し，リグニンの分解が進んでいること，またセルラーゼを用いた実験により，この部分ではセルロースの消化性が約3倍増大していることを示した。さらに *Macrotermes carobnarius* においても，菌園内ではリグニンの量に違いが認められないが，菌園間では，リグニンが分解されていることを示す実験結果を得ている。このような結果に基づき，*Macroterme* 属のシロアリでは，共生キノコは難分解性のリグニンを分解し，餌としての菌園の炭水化物をより容易に利用できるものにしていると推論している。

つぎに，各種のキノコシロアリを材料にして，菌園の化学成分の割合や，消化管内のキチナーゼ，N-アセチルグルコサミナーゼなどの酵素の比活性を比較分析した。その結果，*Macrotermes* 属の菌園では炭水化物・リグニン比が菌園が古くなるにつれて増加したが，*Odontotermes* 属，*Hypotermes makhamensis*, *Ancistrotermes pakistanicus*, *Pseudacanthotermes militaris* の菌園ではその比は減少する，あるいは変化しなかった。他方，キチン・炭水化物比及び灰分含量は *Odontotermes* 属，*H. makhamensis*, *A. pakistanicus*, *P. militaris* の菌園では古くなるにつれて増加したが *Macrotermes* 属の菌園では変化しなかった。また，ワーカー腸内のキチナーゼ，N-アセテルグルコサミナ—ゼは *O. takensis*, *H. makhamensis*, *A. pakistanicus*, *P. militaris* で *M. annandalei* の活性よりも高かった。さらに，菌園，ワーカー，および菌糸塊の炭素安定同位体比を測定した結果，調べたすべての種において，δ^{13}C の値は古い菌園，シロアリ，菌糸塊の順に増加した。共生キノコのシロアリの栄養源としての重要性は δ^{13}C の two source model に基づき *Odontotermes* 属，*H. makhamensis*, *A. pakistanicus*, *P. militaris* の方が *Macrotermes* 属よりも高いと考えられた。これらの結果をもとに，*Odontotermes* 属，*H. makhamensis*, *A. pakistanicus*, *P. militaris* においては，シロアリは共生キノコそのものを増やして，直接のエサ源としていると論じている。

最後に，キノコシロアリにおいて共生キノコの役割がどのように進化したかを明らかにするために，キノコシロアリ亜科の6属について，ミトコンドリアチトクロームオキシダーゼⅡ遺伝子の DNA 配列に基づく分子系統樹を作成した。その結果，最尤法，最節約法及び近隣接合法による系統樹はすべてキノコシロアリ亜科の単系統性を支持し，（*Macrotermes* 属＋（*Pseudacanthotermes* 属＋*Ancistrotermes* 属＋*Microtermes* 属＋（*Odontoterme* 属＋*Hypotermes* 属）））という関係が推測された。この樹形は *Pseudacanthotermes* 属が *Macrotermes* 属と単系統のグループに属さないということ以外は，基本的には形態に基づくものと同じである。この推定された系統関係と上述の結果から，キノコシロアリにおけるリグニン分解及びエサ源としての共生キノコの利用の分化はこれらの属の種分化初期に生じたものであると議論している。

論文審査の結果の要旨

キノコシロアリとキノコ担子菌との共生関係はよく知られている。シロアリがこの共生関係において，どのような利益を得ているかについては，セルラーゼ供給説，リグニン分解説や直接エサ源説などの仮説が出されているが，不明な点が多かった。

本研究においてはまず，共生キノコの役割を調べるために，*Macrotermes gilvus* から採集した菌園について化学分析及び CP/MAS^{13}CNMR 分析を行い，菌園の古い部分ではリグニン分解が生じており，セルロースが消化されやすい形態になっていることを明らかにした。また *M. carobnarius* の菌園においても化学分析の結果，エイジの古い菌園でリグニンの減少を見いだしている。これらの観察は，この属においては共生キノコの役割はリグニンを分解し，シロアリによるセルロースの消化性を促進するという「リグニン分解仮説」を支持する実験結果であると言える。

次に，いくつかのキノコシロアリ種から採集した菌園におけるキチンや炭水化物，灰分などの化学成分の割合，シロアリ腸内で菌の消化に関わると考えられるキチン分解酵素活性，シロアリの炭素安定同位体比を測定した。これらの結果は共生キノコはキノコシロアリの種によって異なる役割を持っていることを示唆するものであった。すなわち *Macrotermes* 属においては，リグニン分解が共生キノコの主な役割であるのに対し，*Odontotermes* 属，*Hypotermes makhamensis, Ancistrotermes pakistanicus, Pseudacanthotermes militaris* においては，共生キノコは直接のエサ源として重要であると考えられる結果を得ている。

キノコシロアリにおいて共生キノコの役割がとのように進化したかを明らかにするために行った分子系統解析では，キノコシロアリ亜科の 6 属について，ミトコンドリアチトクロームオキシダーゼⅡ遺伝子の DNA 配列（680bp）に基づく分子系統樹を作成した。最尤法，最節約法，近隣接合法とも基本的に同じ分子系統関係を示し，*Macrotermes* 属が他のキノコシロアリ属のなかで比較的に初期に分化したことを示唆した。ここで得られた系統関係と，上述の結果を総合して，キノコシロアリにおけるリグニン分解およびエサ源としての共生キノコの利用の分化は，これらの属の種分化初期に生じたものであるとした。このように本申請論文は，いままで不明な点が多かった，キノコシロアリの菌との多様な共生関係とその進化について，様々な手法でもって研究を展開し，新たな知見を得て総合的に考察した点が評価された。

審査委員会は主論文に報告されている内容の検討と試問した結果に基づき，本論文が本専攻の学位審査基準を十分に満たしているものと判定した。