

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	遠藤力也
論文題目	Symbiotic fungi of the ambrosia beetle <i>Platypus quercivorus</i> (養菌性甲虫カシノナガキクイムシの共生菌類)		
(論文内容の要旨)			
(論文内容の要旨)			
近年日本各地でブナ科樹木萎凋病（以下、ナラ枯れ）の拡大が問題となっている。ナラ枯れは、養菌性キクイムシの一種、カシノナガキクイムシ（<i>Platypus quercivorus</i>, 以下、カシナガ）が植物病原糸状菌 <i>Raffaelea quercivora</i> を宿主木の樹体内へ伝搬することによって起こる。カシナガは宿主樹木の主に辺材部に巣（坑道）を造営するが、この坑道壁には <i>R. quercivora</i> 以外の菌類の存在も確認されており、虫の生態と密接な関係があることが疑われてきた。しかし、カシナガの坑道壁に生息する菌類相や共生菌類の伝搬機構に関する具体的な知見はほとんど無かった。 本論文は、(1) カシナガの共生菌類を解明すること、および (2) 共生菌の伝搬経路・伝搬機構を解明することを目的とした。 第 1 章では、カシナガの宿主樹木 5 樹種の坑道壁における菌類相を解析した。培養法による解析の結果、<i>R. quercivora</i> の他に 2 種の <i>Candida</i> 属酵母（<i>Candida</i> sp. 3, <i>C. kashinagacola</i>）がカシナガの主要共生菌であることを明らかにした。また、非培養法による菌類相の解析の結果、上記 2 種の <i>Candida</i> 属菌に加えて 2 種の <i>Ambrosiozyma</i> 属酵母も比較的高頻度に坑道壁から検出されることを明らかにした。 第 2 章では、カシナガ坑道壁より分離された <i>Candida</i> 属酵母 2 種と <i>Ambrosiozyma</i> 属酵母 2 種を含む計 6 種の酵母について、生理生化学的特徴を明らかにした。生理生化学試験および形態観察の結果等に基づいて、カシナガの主要共生菌の 1 つを <i>Candida kashinagacola</i> と命名・新種記載した。 第 3 章では、カシナガ成虫による木から木への共生菌伝搬機構を検討した。第 1 節では、メス成虫が具えるマイカンギアを経由して伝搬される菌類群集を培養法により明らかにした。この結果、上記 2 種の <i>Ambrosiozyma</i> 属菌と、<i>R. quercivora</i> を含むオフィオストマ科糸状菌数種が高頻度に伝搬されていることを明らかにした。また、飛翔期のメス成虫（新しい宿主木へ未穿孔）はマイカンギア内に球形の構造物を保持しており、この構造物が菌類の伝搬に深く関与していることを実験的に証明した。第 2 節では、マイカンギアを具えないオス成虫が伝搬する菌類群集を培養法により解析した。その結果、オス成虫も上記 <i>Ambrosiozyma</i> 属菌 2 種を伝搬していることを明らかにした。以上から、<i>Ambrosiozyma</i> 属菌は特に坑道造営初期にカシナガの生態に深く関与している可能性が示唆された。 第 4 章では、カシナガ坑道壁で優占している菌種（<i>Candida</i> 属菌 2 種）と、成虫が高頻度に伝搬している菌種（<i>Ambrosiozyma</i> 属菌 2 種）が異なっているという現象を合理的に説明するために、ナラ枯れ被害木の辺材冷水抽出物を用いて菌類の生育試験を行った。この結果、主要共生菌 <i>Candida</i> sp. 3 が辺材冷水抽出物中で旺盛に増殖することを突き止め、これがカシナガ坑道壁の菌類相において優占する一因と考えられた。 本研究から、カシナガの生態には <i>R. quercivora</i> 以外にも複数種の酵母類が密接に関わっており、複雑な複合共生系であることが明らかになった。また共生系の様々な局面で巧妙な機構によって共生菌の生育が制御されている可能性が示唆された。			

注)論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 3 8 字×3 6 行で作成し、合わせて、3,000 字を標準とすること。
論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 words で作成し
審査結果の要旨は日本語 500～2,000 字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

菌類をその巣内で培養し栄養源とする昆虫としては膜翅目のハキリアリや直翅目のシロアリの例が有名であるが、鞘翅目のキクイムシの仲間にも、菌類をその坑道内に培養し栄養源とする養菌性キクイムシ（アンブロシアビートル）と呼ばれる一群の種が知られている。本論文が研究対象としたカシノナガキクイムシ（以下カシナガ）もこの養菌性キクイムシの一種である。カシナガは最近日本各地でナラ・カシ類樹木に激甚な被害を与えている“ナラ枯れ”の媒介昆虫で、雌の前胸背板に、共生菌を格納する菌嚢（マイカンギア）と呼ばれる器官を 5～10 個備えており、この中に共生酵母を保持している。また、この菌嚢にナラ枯れの病原体である *Raffaelea quercivora* を酵母と共に保持し、枯死木から衰弱木や健全木に運び病気を拡大させている。カシナガは寄主樹木の主として辺材部に長い坑道を穿ち、その壁に菌嚢に格納して運んできた共生菌を植え付け、培養する。しかし、これまでこの坑道壁に繁殖している菌がどのような種から構成されているのか、またカシナガによる坑道壁への菌植え付けがどのように行なわれるのかと言った点についてはほとんど明らかにされていなかった。本論文では飛来するカシナガ成虫の菌嚢内の共生微生物や、坑道内に繁殖した菌類を対象に分子生態学的手法を駆使してこれまで未解明であったカシナガと共生菌の関係を精緻に調査した。評価すべき点は以下の 4 点に要約される。

(1) カシナガが 5 種のブナ科樹木樹幹辺材部に穿孔形成した坑道を対象に、その坑道壁に分布する微生物相を既往の培養法と分子生物学的手法（T-RFLP 法）を併用して詳細に比較調査し、2 種の *Candida* 属酵母とナラ枯れ病原菌、*R. quercivora* が各樹種に共通な坑道内主要構成菌種であること、これに続く高頻度検出菌種が *Ambrosiozyma* 属酵母であることを明らかにした。さらに、検出されたこれら主要菌類のリボソーム DNA を対象に、その大サブユニットの D1/D2 領域の塩基配列に基づき分子系統解析を行なった。

(2) 坑道内から検出された酵母など菌類についてその生理的特徴、リボソーム DNA の塩基配列などに基づき詳細な分類学的検討を行い、5 種の酵母について新種記載を行なった。

(3) 枯死木に飛来するカシナガメス成虫の菌嚢内に格納される球形構造物（アンブロシアボール）を詳細に観察することにより、その中に包含される主要菌種が 2 種の *Ambrosiozyma* 属酵母であることを明らかにすると共に、それら菌類が坑道壁に接種されるのに高い湿度が必要であることを示した。

(4) ナラ枯れに感染し枯死したミズナラの辺材変色部の冷水抽出物中でカシナガと関係の深い菌類 6 種の生育を比較したところ *Candida* sp. 3 の増殖が一番早く、本菌が坑道内優占種である原因の 1 つが明らかになった。

以上のように本論文はナラ枯れの病原体媒介者であるカシノナガキクイムシに共生する酵母類など菌類についてその生態の詳細を明らかにしたものであり、微生物生態学、森林生態学、応用昆虫学、菌学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 23 年 2 月 16 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) Web での即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降