

食材性ゴキブリ類における社会構造と木材消化能力の関係

嶋田敬介

Relationship between social structure and wood-digestion ability in the xylophagous cockroaches

Keisuke SHIMADA

要旨

食材性ゴキブリ類は、一生のほとんどを朽木の中で過ごすゴキブリの総称である。本研究では、食材性ゴキブリ類における社会構造と木材消化能力の関係を明らかにするため、亜社会性のエサキクチキゴキブリと集合性のオオゴキブリを用い、それらの一齢若虫から成虫までの木材の消化能力を、内因性セルラーゼ（エンドグルカナーゼ）遺伝子の発現解析によって調べた。まず、両種のエンドグルカナーゼ遺伝子の配列を決定したところ、各々で3つのcDNA配列が得られ、それらは唾液腺でのみ発現していた。それらの情報を基に、エサキクチキゴキブリ成虫および各齢の若虫におけるエンドグルカナーゼ遺伝子の発現量を解析すると、生まれたばかりの一齢若虫の発現量が成虫と比べ低いことがわかった。一方、オオゴキブリ一齢若虫のエンドグルカナーゼ遺伝子の発現量は、成虫よりは低いものの、比較的高いことが明らかになった。

キーワード：食材性ゴキブリ類 社会構造 木材消化能力 セルラーゼ

Keywords: xylophagous cockroaches, social structure, wood-digestion ability, cellulase

背景

1 はじめに

地球上で最も繁栄している生物の一つとして、昆虫類が挙げられる。昆虫類は、およそ100万もの種を含む一大グループであり、地上の様々な環境に適応している (Grimaidi & Engel, 2005)。私たち人間との関わりも極めて深く、ミツバチやカイコのように産業活動に有益な昆虫がいる一方で、農作物に深刻な被害を与えるバッタやカメムシのような有害な昆虫も存在する。従って、昆虫類は、良い意味でも悪い意味でも、私たち人間にとって非常に身近な存在であると言えるだろう。

ゴキブリは、病原体を運ぶ衛生害虫としておそろく最も有名な昆虫の一つであり、その名を聞けば多くの人が顔をしかめるであろうことが想像に難くない。しかし、実際に衛生害虫になるのはクロゴキブ

リやチャバネゴキブリなど一部の種類に過ぎず、それ以外の多くは森の中でひっそりと暮らしている。その中でも、一生のほとんどを腐朽木の中で過ごし、木材に依存した生活を送るグループを「食材性ゴキブリ類」と言う (図1)。

2 食材性ゴキブリ類とそれらの社会構造

日本国内にはおよそ50種のゴキブリが生息していると言われる。日本産の食材性ゴキブリとして、まず挙げられるのが、エサキクチキゴキブリ *Salganea esakii* (Roth, 1979) とオオゴキブリ *Panesthia angustipennis spadica* (Roth, 1979) である (図2)。エサキクチキゴキブリは九州地方に局所的に分布しており (南西諸島にはタイワンクチキゴキブリが分布する)、オオゴキブリは九州や四国・本州など北海道を除く日本全域に分布し、石川

県にも生息している。両種とも、同じオオゴキブリ科 *Blaberidae* に属し、腐朽材が豊富な森林に住んで朽木を餌かつ生活場所にするという点で類似しているが、大きく異なるのはその社会構造である。

エサキクチキゴキブリを含むクチキゴキブリ属 *Salganea* は、生態が調べられた全ての種で、一夫一妻の家族単位で生活するということが報告されている (Maekawa *et al.*, 2008)。また、同居する両親は、生まれてきた子虫に対して口移しで栄養交換を行い、子の世話をを行う (Shimada & Maekawa, 2011)。このように、親が子の世話をを行い、長期間にわたって家族で生活する特徴を、「亜社会性」と言う。

一方、オオゴキブリ属 *Panesthia* では、野外において、成虫と若齢若虫が同時に採集されることは少なく、クチキゴキブリのように明確な家族構造を持って生活しているわけではないと考えられている (Obata, 1988; Nalepa *et al.*, 2008)。従って、オオゴキブリは、亜社会性を持たず、他の多くのゴキブリが示すような「集合性」のゴキブリである。

3 食材性と社会性の進化の関係

食材性ゴキブリ類や、ゴキブリと系統的に近縁なシロアリで見られるような、家族を基本とした社会性の進化には、「食材性」が深く関わってきたのではないかと考えられてきた。

実は、クチキゴキブリ属の他にも、キゴキブリ属 *Cryptocercus* という亜社会性を持つグループ

がある。キゴキブリの仲間は、キゴキブリ科 *Cryptocercidae* に分類され、クチキゴキブリとは系統的に遠縁であるが、食材性や亜社会性という点で生態的に類似しており、両者の社会性は収斂進化の例であると考えられている (Klass *et al.*, 2008)。このキゴキブリは、近年の系統学的研究から、シロアリの姉妹群であるということが示され (Lo *et al.*, 2000; Klass & Meier, 2006; Inward *et al.*, 2007)、シロアリは真社会性を持ったゴキブリであると言われるようになった (Bell *et al.*, 2007; Inward *et al.*, 2007)。従って、キゴキブリはシロアリの社会性進化を研究する上で重要な分類群であり、そのキゴキブリと似ているクチキゴキブリにも、近年注目が集まっている。シロアリは、木材資源を食い荒らす害虫として知られるが、真社会性(繁殖の分業・世代の重複・共同保育などによって定義される)を持つ社会性昆虫であり、その社会は、巣を創設した女王(母親)・王(父親)と、その子供たちであるワーカー・ソルジャーなどによって構成され、基本的に一夫一妻の家族社会である。同じく真社会性を持つアリやハチなどの膜翅目では、ハミルトンによる血縁選択説 (Hamilton, 1964) などが、真社会性の進化を説明する合理的な理論となっているが、シロアリの場合、「なぜ真社会性が進化したのか」という問いに関する明確な答えは得られていない。

食材性ゴキブリ類やシロアリが餌とする木質資源は、量は豊富であるが、セルロースを主成分とするために化学的に分解することが難しく、質的には良

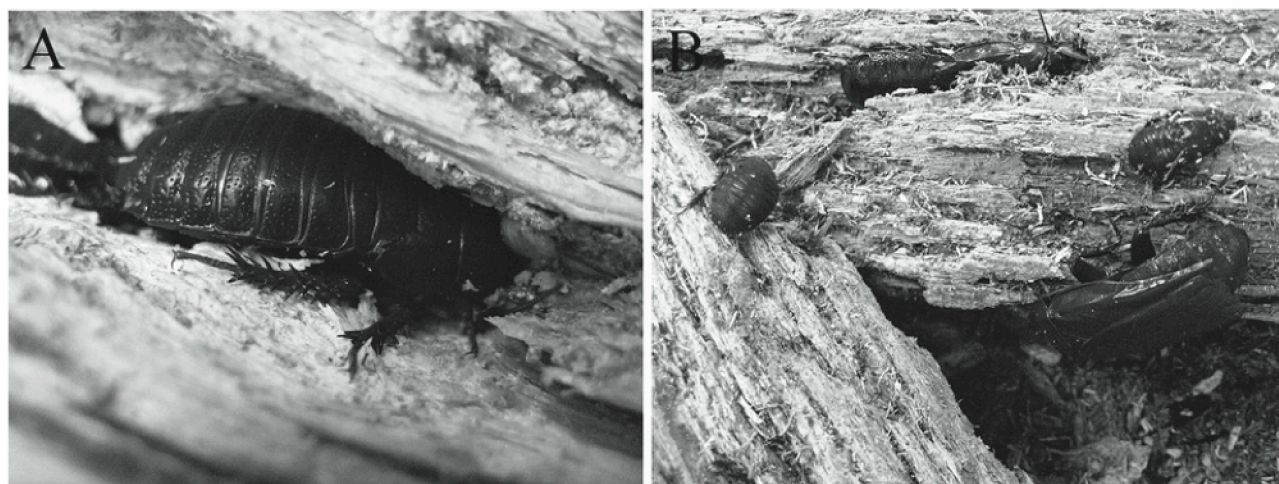


図1 食材性ゴキブリ類。

朽木に穿孔するエサキクチキゴキブリ (A) とオオゴキブリ (B)。本州にはオオゴキブリが生息するのみであるが、九州地方では両種は同所的に生息している場合がある。

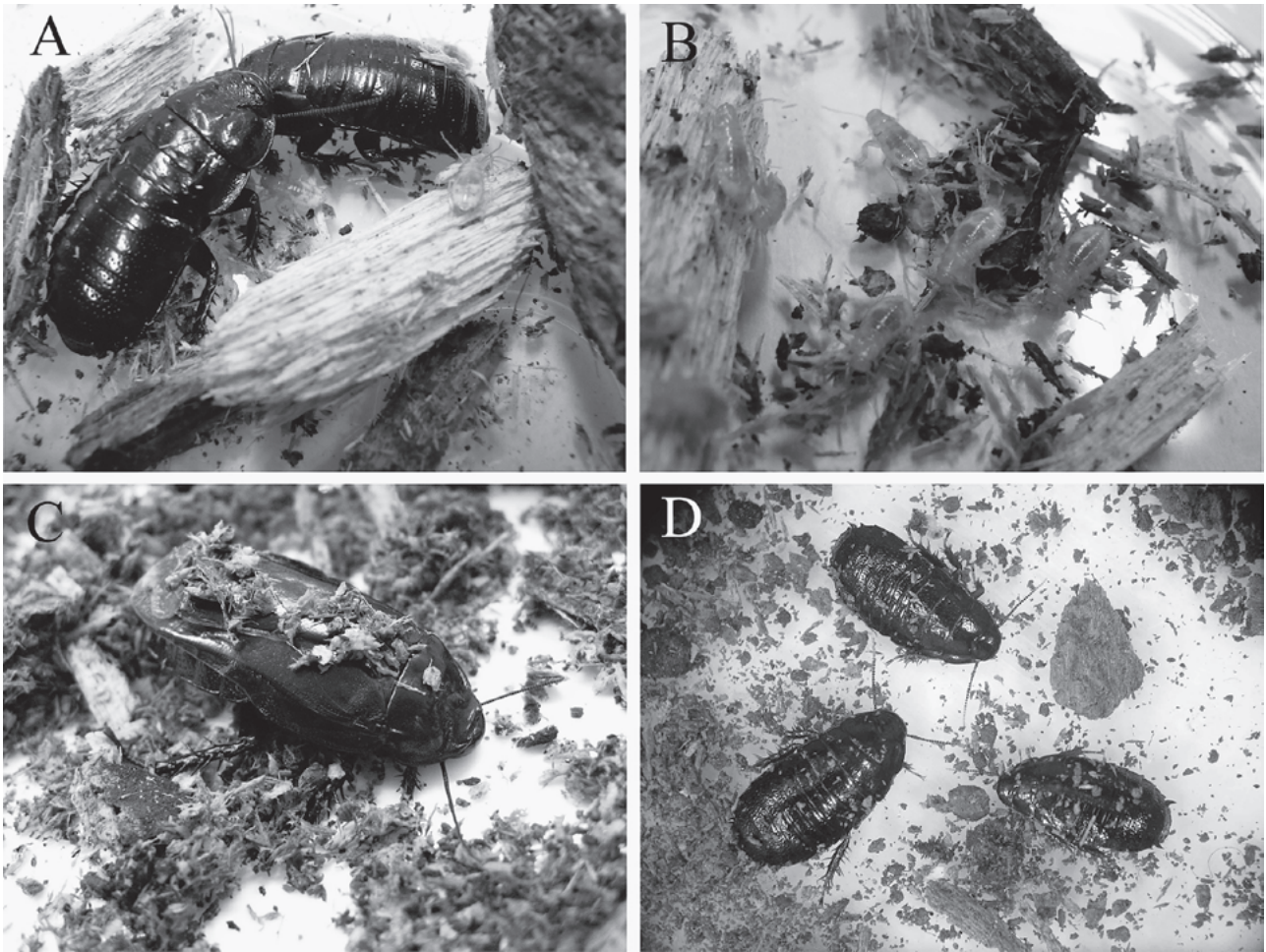


図2 エサキクチキゴキブリとオオゴキブリの成虫と若虫。

亜社会性を持つエサキクチキゴキブリの雌雄成虫 (A) と一齢若虫 (B)．集合性のオオゴキブリの雌成虫 (C) と一齢若虫 (D)．エサキクチキゴキブリの一齢若虫のクチクラ表皮は薄く、黒色で硬化したクチクラ表皮を持つオオゴキブリの一齢若虫とは対照的である。

い餌資源とは言えない(柴田・富樫, 2006)．従って、特に未成熟な子にとっては、木材を餌とすることは容易ではないと考えられる．これを補うために、親は子に対して給餌するなどの世話をを行う必要が生じ、長期的な家族構造が形成されるようになり、家族を基本とする社会性が進化したのではないかとする説が「食材性に伴う一夫一妻の生態的制約説」である(松本, 1991; Nalepa & Jones, 1991; Nalepa & Bell, 1997)．この考えに基づけば、食材性ゴキブリにおいて、亜社会性を持つ種では若齢の若虫の木材消化能力は低く、亜社会性を持たない種では木材消化能力は高いことが予想されるが、そのような関係性が実際にあるかどうかは不明である．系統的に近縁で、同じ食材性のゴキブリにもかかわらず、社会構造が大きく異なるクチキゴキブリとオオゴキブリは、上記の関係性を検証する比較研究の対象とし

て、非常に適した分類群であると考えられる．

4 ゴキブリにおけるセルロースの消化

セルロース、リグニンやヘミセルロース等を主成分とする木質資源を利用するためには、木材の消化酵素であるセルラーゼが必要不可欠になる．一般的に、動物の多くは自前のセルラーゼを持たず(渡辺, 2001; Davison & Blaxter, 2005)、体内に共生する微生物の働きによって、セルロースを分解している場合が多い．シロアリは、セルロースの分解に共生微生物の力を借りている代表的な例である．派生的なシロアリ科を除く、ムカシシロアリ科・オオシロアリ科・レイビシロアリ科・シュウカクシロアリ科・ミゾガシラシロアリ科・ノコギリシロアリ科をまとめて「下等シロアリ」と呼び、その後腸には、セルラーゼを分泌する原生動物や細菌が多数共生し

ている (Ohkuma & Brune, 2010; Brune & Ohkuma, 2010). これらの共生微生物は, シロアリが取り込んだセルロースを分解すると共に, アミノ酸合成や窒素固定を行う働きを持つ (Hongoh *et al.*, 2008a, b). シロアリの姉妹群であるキゴキブリも, 同様に腸内共生微生物を保有する (Cleveland *et al.*, 1934; Ohkuma *et al.*, 2009).

しかしながら, シロアリ自身はセルラーゼをつくれないうかという, 実はそうではない. シロアリは共生微生物の力を借りる一方で, 自前のセルラーゼも使っている (Watanabe *et al.*, 1998; Tokuda *et al.*, 2004). 下等シロアリでは, 唾液腺という組織からセルロースの分子鎖を内側から切断していくエンドグルカナーゼ (endo-beta-1,4-glucanase: EG) が分泌される. 昆虫の中で, 自身のセルラーゼを持つグループは限られているが (Lo *et al.*, 2003; Davison & Blaxter, 2005), シロアリと, これに近縁なゴキブリの仲間は, このエンドグルカナーゼを持っている (Lo *et al.*, 2000). クチキゴキブリとオオゴキブリの場合, シロアリやキゴキブリのように腸内にセルロース分解性の微生物は共生しておらず (Cleveland *et al.*, 1934; Scrivener *et al.*, 1989), 自身のエンドグルカナーゼが主に木材消化に機能していると考えられている. 従って, 食材性ゴキブリの木材消化能力を調べる場合, 「体内でつくられるエンドグルカナーゼの量」が, 個体の消化能力を測る良い指標になると考えられる.

本研究では, 食材性ゴキブリ類における社会構造と若虫の木材消化能力の関係性を明らかにすることを目的とし, 亜社会性をもつエサキクチキゴキブリと集合性のオオゴキブリを用いて, それらの一齢若虫から成虫までの木材の消化能力を, エンドグルカナーゼ遺伝子の発現解析を行うことによって調べた. なお, 本稿は, 著者らの近年の学術論文 (Shimada & Maekawa, 2008) を基にしている.

材料と方法

1 食材性ゴキブリ類

エサキクチキゴキブリは, 2006年と2007年の4月から9月にかけて, 鹿児島県屋久島町および長崎県平戸市の森林にて採集した. オオゴキブリは, 2006年から2007年の4月から9月にかけて石川県羽咋市および福井県坂井市の森林にて採集した.

採集したゴキブリは研究室に持ち帰り, エサキクチキゴキブリは家族単位で個別に小型の飼育ケースに入れ, オオゴキブリは全て同じプラスチック製飼育ケースに入れ, 室温・恒暗条件で維持した.

2 RNA抽出とcDNAの作成

先行研究より, エンドグルカナーゼ遺伝子は唾液腺で発現していることが予想されたため, まず唾液腺組織からTotal RNAの抽出を行った. 両種の成虫個体を用い, シャーレ上で解剖して唾液腺を摘出し, 液体窒素で瞬間凍結した後, ディープフリーザー VT-78 (日本フリーザー, 日本) にて

表1 リアルタイム定量PCRに用いた各プライマーの配列

遺伝子名		プライマー配列	増幅断片長 (bp)
<i>SeEG1</i>	Forward	5'-GCC CAT AAT CCA ACT CAG TAC AGA-3'	71
	Reverse	5'-TGC CAT AGC CCA CCA CAT AAC-3'	
<i>SeEG2</i>	Forward	5'-GGG TAG TTT AGG AAT GGC TTC AA-3'	70
	Reverse	5'-GGG TTT TAG GCC AGC AGA TG -3'	
<i>PaEG1</i>	Forward	5'-GGC GAC TTT GTG AAA TTT GGA-3'	69
	Reverse	5'-GCT GAT AAC TCC CCA GGC TAA A-3'	
<i>PaEG2</i>	Forward	5'-TGC AGC CTA TCT CTG CCT TGA-3'	70
	Reverse	5'-TGT TGC AAA TGC TCT GTA TTC AGT T-3'	
<i>SeBactin</i>	Forward	5'-AGC GAG AAA TTG TCC GCG AT-3'	68
	Reverse	5'-CGA TGG TGA TGA CCT TGG CCA-3'	
<i>PaBactin</i>	Forward	5'-AGC GAG AAA TCG TCC GCG AT-3'	68
	Reverse	5'-CGA TGG TGA TGA CCT TGG CCA T -3'	

RNAを抽出するまで -80°C で保存した。1.5mlチューブに凍結した組織を入れ、ハンドホモジェナイザー（アズワン、日本）によって組織を破碎し、RNAgent Total RNA Isolation System（Promega, USA）およびFast Pure RNA Extraction Kit（Takara, 日本）を用い、Total RNAを得た。得られたRNAをDNase I（Takara, 日本）で処理し、ゲノムDNAを除去した。続いて、抽出したRNAを鋳型に、Oligo (dt) プライマー（Invitrogen, USA）を用いて、SuperScript First-Strand Synthesis System for RT-PCR（Invitrogen, USA）によりRT-PCRを行い、cDNAを作製した。手順は全て付属のプロトコールに従って行った。

3 エンドグルカナーゼ遺伝子の部分配列の決定

作成した各種の唾液腺のcDNAを鋳型とし、シロアリとゴキブリ用に設計された、エンドグルカナーゼ遺伝子特異的な縮重プライマー（Lo *et al.*, 2000）を使用し、サーマルサイクラー（GeneAmp PCR System 2700; Applied Biosystems, USA）を用いてPCR（Polymerase Chain Reaction）を行った。得られた増幅断片は、エタノール沈殿を行った後、MagExtractor-PCR & Gel Clean up-Kit（Toyobo, 日本）およびQIAquick Gel Extraction Kit（Qiagen, 日本）により精製した。

それぞれ単一の増幅産物を得るため、精製した増幅産物を用いてサブクローニングを行った。まず、Dyna Express DNA Ligation Kit（Toyobo, 日本）を用いて、pGEM-T Vector（Promega, USA）またはpT-7Blue-2 T-vector（Novagen, USA）にライゲーション反応させた。続いて、ライゲーション産物を形質転換によりコンピテントセル*E. coli* JM109（Takara, 日本）または*E. coli* XL1-Blueに導入して培養した後、挿入されたDNA断片をコロニーPCRにより増幅させた。増幅産物は上記と同様に精製した。

サブクローニングによって得られた産物を鋳型にDYEnamic ET terminator Cycle Sequencing Kit（GEヘルスケア、日本）を用い、シークエンス反応を行った。精製した反応産物は、オートシーケンサーABI 373S DNA Sequencing System（Applied Biosystems, USA）を用いてダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定した。以上の過程により、それぞれ9クローン以上の塩基配列を決定した。また、内部標準遺伝子には細胞骨格を構成する

アクチンタンパクである β -actin遺伝子を選定し、特異的プライマーを用いて（Shimada & Maekawa, 2008）、上記と同様な方法で、塩基配列を決定した。

4 分子系統解析

MacClade 4.08（Maddison & Maddison, 2005）を用いて、得られた塩基配列をアミノ酸配列に翻訳した。さらに、BLASTP（NCBI, USA）を用いて相同性の高い配列を探索した。

各種の各エンドグルカナーゼ遺伝子を、ClustalX 1.83（Thompson *et al.*, 1997）およびMacClade 4.08を用いてアラインメントした。系統樹の作製にはPAUP* 4.0b10（Swofford, 2002）を用い、最節約法と近隣結合法により分子系統樹を作成した。近隣結合法の作成には、Kimuraの2変数法（Kimura, 1980）により補正された遺伝距離を用いた。系統樹の信頼性の評価には、1000回のブートストラップ解析を行った。

5 半定量的RT-PCR

両種の成虫をシャーレ上で解剖し、唾液腺・前腸・中腸・後腸を含む消化管組織を取り出した。取り出した消化管はRNAを抽出するまで -80°C で保存した。上述した通り、各種の各組織からcDNAを作製した。

各消化管組織（唾液腺・前腸・中腸・後腸）由来のcDNAを鋳型として、エンドグルカナーゼ遺伝子特異的なプライマーを用い、半定量的RT-PCRを行った。半定量的RT-PCRとは、目的の遺伝子に特異的なプライマーを用いてPCRを行い、増幅反応が見られたか否かによって、その遺伝子が発現しているかを検証する方法である。プライマーには、遺伝子の部分塩基配列決定に用いた縮重プライマーを用いた（Lo *et al.*, 2000）。コントロールとして、各種の β -actin遺伝子の発現も調べた。

6 リアルタイム定量PCR

リアルタイム定量PCRとは、PCR反応による遺伝子産物の増幅率が元の鋳型の量に依存することを利用し、サンプル内における特定のmRNAの量を定量することで、目的遺伝子がどの程度発現しているのかを推定する方法である。両種のエンドグルカナーゼ遺伝子の配列から、Primer Express ソフトウェア（Applied Biosystems, USA）を用い、特

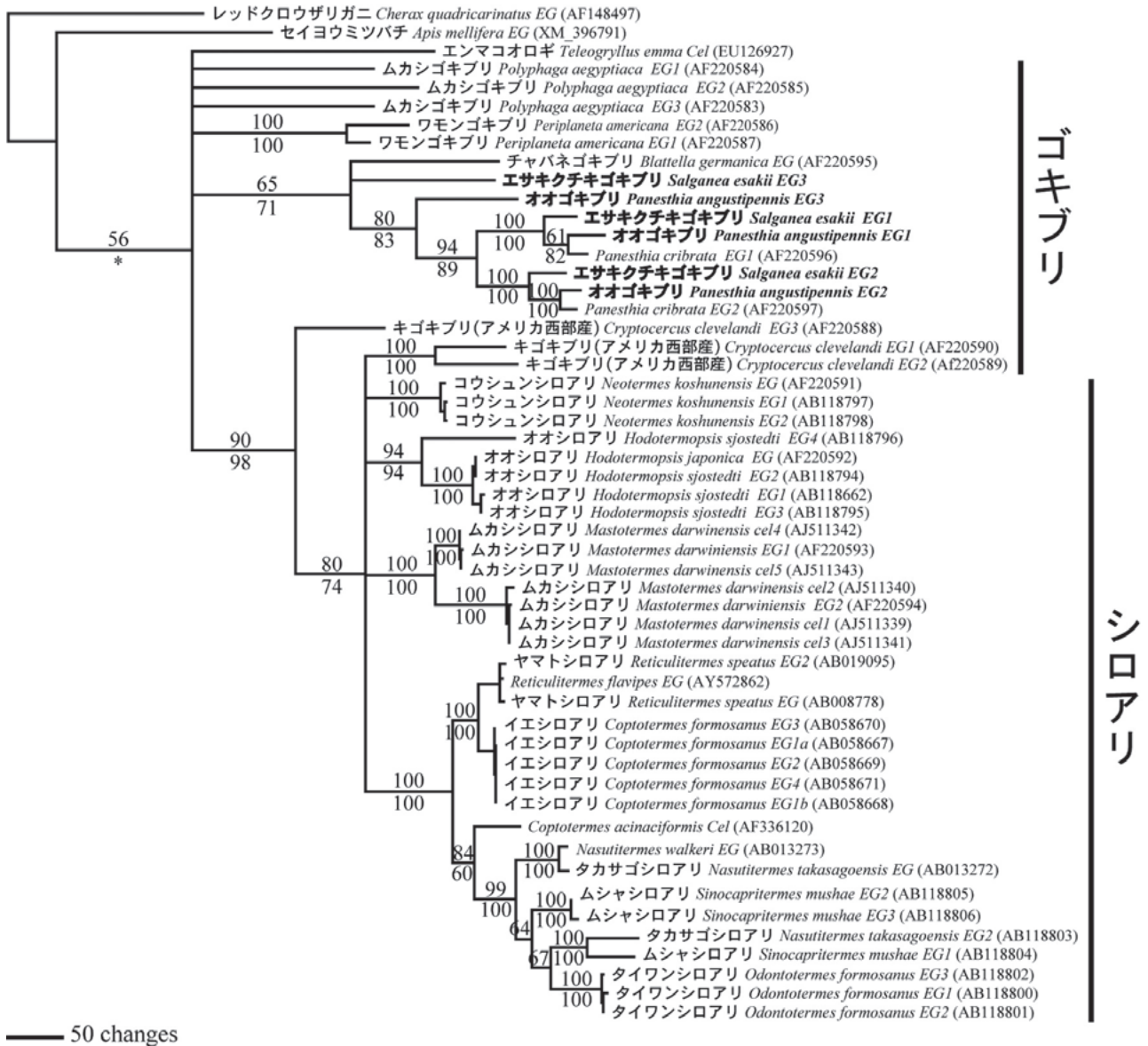


図3 ゴキブリとシロアリのエンドグルカナーゼ遺伝子の最節約系統樹。

太字で示されているのが、本研究により決定されたゴキブリ2種のエンドグルカナーゼ遺伝子である。各枝の数字はブートストラップ値 (%) を示し、上は最節約法、下は近隣結合法に基づいた解析により得られたものである。各 OTU 末尾の () 内におけるアルファベット及び数字は GenBank の Accession No. を表す。

異的なプライマーを新たに設計した (表1; Shimada & Maekawa, 2008)。蛍光色素には SYBR Green I (Bio-Rad, 日本) を使用し、MiniOpticon Real-Time PCR System (Bio-Rad, 日本) により解析を行った。得られたデータの分析は、ABI PRISM 7700 Sequence detection System (Applied Biosystems, USA) に付属のプロトコールに従って行い、各齢の発現量の違いは Tukey's test (永田・吉田, 1997) によって検定した。

結果と考察

エサキクチキゴキブリとオオゴキブリのエンドグルカナーゼ遺伝子の塩基配列を決定したところ、3つの cDNA 配列 (965bp) がそれぞれで得られた (*SeEGI-3* と *PaEGI-3*) (Accession No は Shimada & Maekawa, 2008 を参照)。翻訳されたアミノ酸配列は 321 アミノ酸残基で、終止コドンが含まれないことを確認した。得られた配列は、シロアリや他のゴキブリのエンドグルカナーゼ遺伝子のアミノ酸配列との保存性が高いことがわかり、オオゴキブリと同属の *Panesthia cribrata* のエンドグルカナ

エサククチキゴキブリ

オオゴキブリ

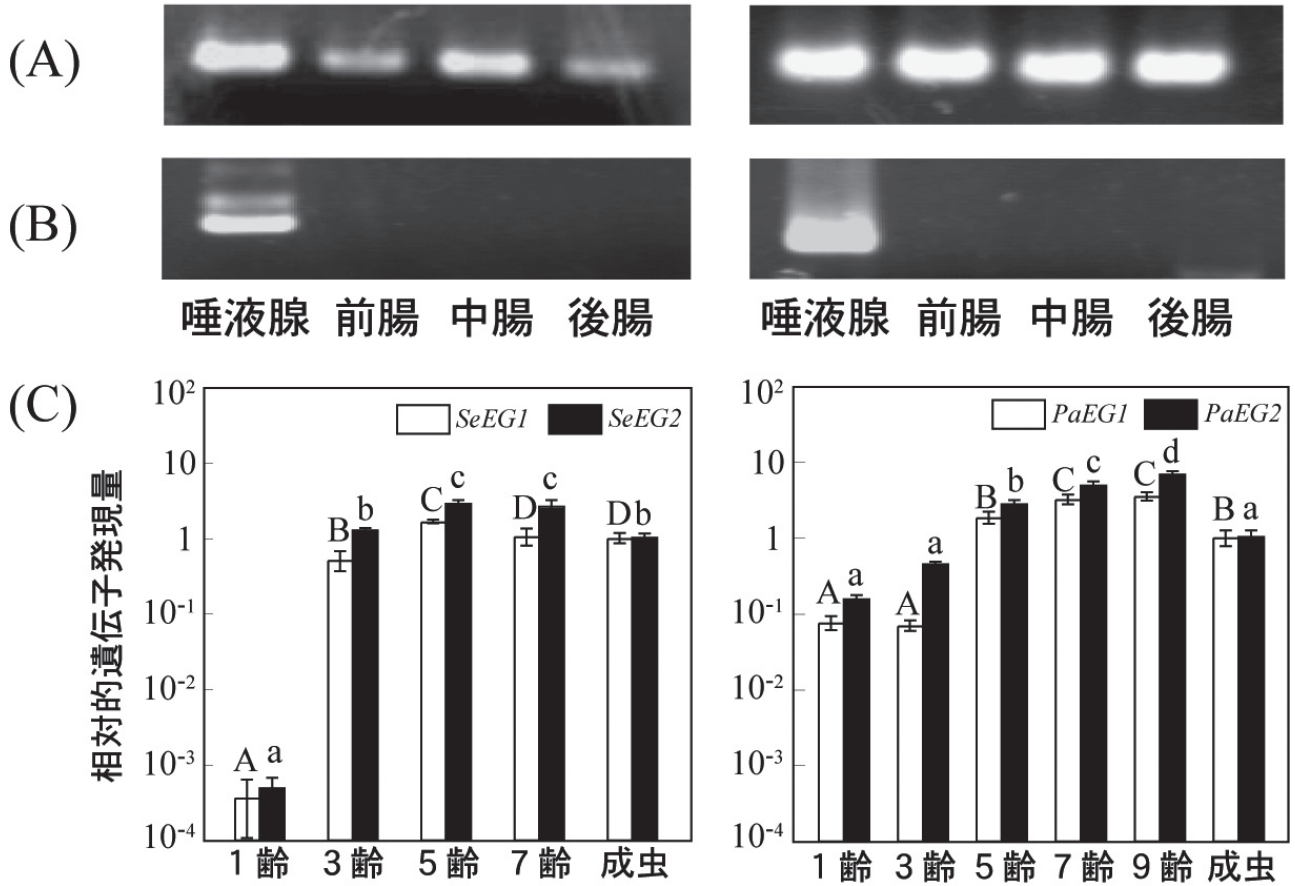


図4 エサククチキゴキブリ (左) およびオオゴキブリ (右) における定量PCRの結果。

唾液腺および各消化管組織（前腸，中腸，後腸）における β -actin 遺伝子 (A) とエンドグルカナーゼ遺伝子の発現 (B)。 β -actin 遺伝子はどの細胞でも一定して発現していると考えられるハウスキーピング遺伝子である。(C) は若虫の各齢と成虫におけるエンドグルカナーゼ遺伝子の相対的な遺伝子発現量を示す。白いカラムがEG1遺伝子，黒いカラムがEG2遺伝子を示す。カラム上のアルファベットは，異なる場合には有意な差があることを示す (Tukey's test, $p < 0.05$)。

ーゼ遺伝子 (Accession No. AF220595, AF220596) との相同性が最も高かった。図3は，今回得られた配列と既知の配列を含めたエンドグルカナーゼ遺伝子の分子系統樹を示している (ゴキブリ7種17配列とシロアリ11種33配列)。最節約法と近隣結合法それぞれの解析によって得られた系統樹の樹形を比べると，樹形に大きな違いは見られなかった (従って，最節約法に基づいた系統樹を示す)。相同性検索の結果と同様に，今回得られた配列は，*Panesthia cribrata* のエンドグルカナーゼ遺伝子等と高い確度で単系統群を構成することが示された (図3)。以上の結果から，今回得られた各配列は，両種の内因性のエンドグルカナーゼ遺伝子であると考えられる。

また，それぞれの種の，エンドグルカナーゼ遺伝子 (*SeEG1*&*SeEG2* および *PaEG1*&*PaEG2*) に着目してみると，EG1はEG1同士で，EG2はEG2同士で高い確度で単系統群を構成していることから (図3)，少なくともクチキゴキブリとオオゴキブリが分岐するより前に，これら遺伝子の進化 (遺伝子重複) が起こったことが考えられる。このような分岐は，*Coptotermes* 属や *Nasutitermes* 属・*Sinocapritermes* 属などシロアリでも見られる (図3)。

半定量的RT-PCRの結果，両種において，唾液腺でのみ顕著な増幅反応が見られた (図4A, B)。この結果から，エサククチキゴキブリとオオゴキブリにおいても，他のゴキブリと同様にエンドグルカナ

ーゼは唾液腺でつくられていると考えられる (Lo *et al.*, 2000).

リアルタイム定量PCRの結果、亜社会のエサキクチキゴキブリ一齢若虫のエンドグルカナーゼ遺伝子 (*SeEG1* & *SeEG2*) の発現量は、成虫と比べて1/1000程度と、非常に低いことが示された(図4C). この結果から、エサキクチキゴキブリの一齢若虫の木材消化能力は、親成虫と比べて著しく劣っていることが示唆される。一方、亜社会性を持たないオオゴキブリ一齢若虫の*PaEG1* および *PaEG2* の発現量は、成虫の1/10程度と比較的高い値を示した(図4C). 従って、オオゴキブリの一齢若虫は、成虫と比べ、それほど変わらない木材消化能力を持っていると考えられる。これらの結果は、食材性ゴキブリにおいて、「社会構造」と「若虫の木材消化能力」の間には、密接な関係があることを強く示唆する。

亜社会性のエサキクチキゴキブリの一齢若虫は、クチクラ表皮が薄く、動きも緩慢で、非常に弱々しい印象である(図2B). クチキゴキブリ属の若虫は、極めて未熟な状態で生まれ、脱皮を重ねて成長し、このような成長の仕方は晩成性発達と呼ばれる (Nalepa *et al.*, 2008). また、親成虫は、若齢の若虫に対して、口移しで栄養交換を何度も行うことが知られている (Shimada & Maekawa, 2011). 未熟で木材消化能力が低い子は木材を自力で餌として利用することが難しいため、親は子に連れ添い、頻繁に給餌することで子の生存率を高めていると考えられる。一方で、オオゴキブリの一齢若虫は、褐色でしっかりとした表皮を持って素早く動き回る(図2D). クチキゴキブリ属の若虫とは対比的に、オオゴキブリ属の若虫は孵化直後から活発に活動できる早成性発達である (Nalepa *et al.*, 2008). また、野外でも若齢若虫が成虫と同時に見つかることは少なく、親から給餌を受けることもないと考えられる。従って、若齢段階から高い木材消化能力を持つオオゴキブリの若虫は、給餌などの親子間の相互作用を必要とせず、早期から親から自立して生活できるということが示唆される。

本研究は、食材性ゴキブリ類やシロアリにおいて、今まで概念的に提唱されているに過ぎなかった、子の未熟な木材消化能力を保障するための親の世話行動の発達が社会性の進化に大きく関わってい

たとする「食材性に伴う一夫一妻の生態的制約説」を支持する証拠の一つになると考えられる。食材性ゴキブリ類では、このような親から子への給餌行動は、長期にわたる家族生活を維持する基礎となり、亜社会性を持つグループ(現生のクチキゴキブリやキゴキブリ)が進化したと考えられ、さらに、その一部のグループ(現生のシロアリ)が繁殖の分業を伴う高度な社会性(真社会性)を進化させたということが類推されるが、現時点では決定的な議論はできない。今後は、キゴキブリやシロアリに加え、他のゴキブリの若虫の木材消化能力に関する解析を行う必要があるだろう。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導いただいた前川清人准教授(富山大学)に深く感謝いたします。また、適切なお助言をいただいたC. A. Nalepa 博士(ノースカロライナ大学)に心から感謝いたします。そして、調査や実験に協力して下さった前川研究室の皆様(土屋真利子, 中村雄祐, 石谷恭子, 板野紘宜, 白崎一佳, 山本知代, 渡邊大, 斎藤友香理)に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Bell, W.J., Roth, L.M. & Nalepa, C.A. (2007). Cockroaches Ecology, Behavior, and Natural History. The Johns Hopkins University Press, Maryland, 230 pp.
- Brune, A. & Ohkuma, M. (2010). Role of the termite gut microbiota in symbiotic digestion, Bignel, D. E., Roisin, Y. & Lo, N. (eds.), Biology of Termites: A Modern Synthesis, pp. 439-476. Springer, Heidelberg.
- Cleveland, L.R., Hall, S.R., Sanders, E.P. & Collier, J. (1934). The wood-feeding roach *Cryptocercus*, its protozoa, and the symbiosis between protozoa and roach. *Memoirs of the American Academy of Arts and Sciences* 17: 185-342.
- Davison, A. & Blaxter, M. (2005). An ancient origin of glycosyl hydrolase family 9 cellulase genes. *Molecular Biology and Evolution* 22: 1273-1284.
- Grimaldi, D. & Engel, M.S. (2005). *Evolution of the Insects*. Cambridge University Press,

- Cambridge, 755 pp.
- Hamilton, W.D. (1964). The genetical evolution of social behaviour I, II. *Journal of Theoretical Biology* 7: 1-52.
- Hongoh, Y., Sharma, V.K., Prakash, T., Noda, S., Taylor, T.D., Kudo, T., Sakaki, Y., Toyoda, A., Hattori, M. & Ohkuma, M. (2008a). Complete genome of the uncultured Termite Group 1 bacteria in a single host protist cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 5555-5560.
- Hongoh, Y., Sharma, V.K., Prakash, T., Noda, S., Toh, H., Taylor, T.D., Kudo, T., Sakaki, Y., Toyoda, A., Hattori, M. & Ohkuma, M. (2008b). Genome of an endosymbiont coupling N₂ fixation to cellulolysis within protist cells in termite gut. *Science* 322: 1108-1109.
- Inward, D., Beccaloni, G. & Eggleton, P. (2007). Death of an order: a comprehensive molecular phylogenetic study confirms that termites are eusocial cockroaches. *Biology Letters* 3: 331-335.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111-120.
- Klass, K.-D. & Meier, R. (2006). A phylogenetic analysis of Dictyoptera (Insecta) based on morphological characters. *Entomologische Abhandlungen* 63: 3-50.
- Klass, K.-D., Nalepa, C.A. & Lo, N. (2008). Wood-feeding cockroaches as models for termite evolution (Insecta: Dictyoptera) : *Cryptocercus* vs. *Parasphaeria boleiriana*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46: 809-817.
- Lo, N., Tokuda, G., Watanabe, H., Rose, H., Slator, M., Maekawa, K., Bandi, C. & Noda, H. (2000). Evidence of multiple gene sequences indicates that termites evolved from wood-feeding cockroaches. *Current Biology* 10: 801-804.
- Lo, N., Watanabe, H. & Sugimura, M. (2003). Evidence for the presence of a cellulase gene in the last common ancestor of bilaterian animals. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: S69-S72.
- Maddison, D.R. & Maddison, W.P. (2005). *MacClade 4: Analysis of phylogeny and character evolution (version 4)*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Maekawa, K., Matsumoto, T. & Nalepa, C.A. (2008). Social biology of the wood-feeding cockroach genus *Salganea* (Dictyoptera, Blaberidae, Paneshiinae) : did ovoviviparity prevent the evolution of eusociality in the lineage? *Insectes Sociaux* 55: 107-114.
- 松本忠夫 (1991). シロアリの真社会性の起源とその維持機構. 松本忠夫・東正剛 (共編). 社会性昆虫の進化生態学, pp. 246-297, 海游舎, 東京.
- 永田靖・吉田道弘 (1997). 統計的多重比較検定法の基礎. サイエンティスト社, 東京, 187 pp.
- Nalepa, C.A. & Bell, W.J. (1997). Postovulation parental investment and parental care in cockroaches. Choe, J.C. & Crespi, B.J. (eds.) , *The Evolution of Social Behavior in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 26-51.
- Nalepa, C.A. & Jones, S.C. (1991). Evolution of monogamy in termites. *Biological Review* 66: 83-97.
- Nalepa, C.A., Maekawa, K., Shimada, K., Saito, Y., Arellano, C. & Matsumoto, T. (2008). Altricial development in subsocial wood-feeding cockroaches. *Zoological Science* 25: 1190-1198.
- Obata, Y. (1988). Behavioral and ecological studies on life history traits and familial relationship in the wood-feeding cockroaches *Panesthia angustipennis spadica* Shiraki, *Salganea esakii* Roth and *S. taiwanensis* Roth (Blattaria: Blaberidae, Panesthiinae). Master of Science Thesis, Department of Biology, University of Tokyo, 56 pp.
- Ohkuma, M. and Brune, A. (2010). Diversity, structure, and evolution of the termite gut microbial community. Bignel, D.E., Roisin, Y. & Lo, N. (eds.) , *Biology of Termites: A Modern Synthesis*, pp. 439-476, Springer, Heidelberg.
- Ohkuma, M., Noda, S., Hongoh, Y., Nalepa, C.A. &

- Inoue, T. (2009). Inheritance and diversification of symbiotic trichonymphid flagellates from a common ancestor of termites and the cockroach *Cryptocercus*. *Proceedings of the Royal Society of London B* 276: 239-245.
- 柴田叡式・富樫一巳 (2006). 樹の中の虫の不思議な生活—穿孔性昆虫研究への招待. 東海大学出版会, 東京, 290 pp.
- Scrivener, A.M., Slaytor, M. & Rose, H.A. (1989). Symbiont-independent digestion of cellulose and starch in *Panesthia cribrata* Saussure, an Australian wood-eating cockroach. *Journal of Insect Physiology* 35: 935-941.
- Shimada, K. & Maekawa, K. (2008). Correlation between social structure and nymphal wood-digestion ability in the xylophagous cockroaches *Salganea esakii* and *Panesthia angustipennis* (Blaberidae: Panesthiinae). *Sociobiology* 52: 417-427.
- Shimada, K. & Maekawa, K. (2011). Description of the basic features of parent-offspring stomodeal trophallaxis in the subsocial wood-feeding cockroach *Salganea esakii* (Dictyoptera, Blaberidae, Panesthiinae). *Entomological Science* 14: 9-12.
- Swofford, D.L. (2002). PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. (1997). The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876-4882.
- Tokuda, G., Lo, N., Watanabe, H., Arakawa, G., Matsumoto, T. & Noda, H. (2004). Major alteration of the expression site of endogenous cellulases in members of an apical termite lineage. *Molecular Ecology* 13: 3219-3228.
- 渡辺裕文 (2001). 動物のもつセルラーゼ. *Journal of Applied Glycoscience*, 48: 343-351.
- Watanabe, H., Tokuda, G., Lo, N. & Noda, H. (1998). A cellulase gene of termite origin. *Nature* 349: 330-331.