

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06439

研究課題名(和文)アワノメイガ幼虫によるカビ毒産生糸状菌の体内保持・拡散機構の解明

研究課題名(英文) Investigation on the possibility of corn borer warms as a carrier of fungi producing mycotoxins

研究代表者

中川 博之 (Nakagawa, Hiroyuki)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・高度分析研究センター・上級研究員

研究者番号：30308192

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：トウモロコシ圃場におけるフモニシン産生菌の拡散にアワノメイガ幼虫が寄与する可能性を調べるために、トウモロコシ圃場で採取したアワノメイガ幼虫体内と糞からフモニシン産生菌(*Fusarium* 属菌)が分離されるかを調べた。アワノメイガ幼虫由来の腸管部位試料、および糞試料から糸状菌が分離されたため、分子生物学的手法により同定を行ったところ *Fusarium* 属菌が含まれることが確認された。また機器分析(LC-MS/MS法)によりこれらの *Fusarium* 属の一部がフモニシンを産生することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

フモニシンは主にトウモロコシで汚染が問題となるカビ毒であり、植物病原菌である *Fusarium* 属菌(糸状菌)の一部が産生する。アワノメイガはトウモロコシの子実および茎の中を食害する鱗翅(りんし)目害虫である。トウモロコシ圃場におけるフモニシン産生菌の拡散にアワノメイガ幼虫が寄与する可能性は以前から指摘されていたが、その機構について調べた研究はなかった。本研究により、アワノメイガ幼虫体内にフモニシン産生菌保持され、排泄される糞とともに圃場内で拡散される可能性が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：For investigating the possibility of corn borer larvae carrying *Fusarium* fungi in the maize field, those larvae were collected and tested for the isolation of *Fusarium* fungi. Several types of *Fusarium* fungi were isolated, and some of them were classified as "fumonisin producer" type based on the taxonomic identification. These isolated fungi were also tested on the fumonisin production through the cultivation and LC-MS/MS analysis, and fumonisin B1 (FB1), fumonisin B2 (FB2), and fumonisin B3 (FB3) were detected.

研究分野：食品分析

キーワード：カビ毒 フモニシン アワノメイガ トウモロコシ 質量分析法

1. 研究開始当初の背景

フモニシンは主にトウモロコシで汚染が問題となるカビ毒であり、植物病原菌である *Fusarium* 属糸状菌(カビ)の一部が産生する。一方、アワノメイガはトウモロコシの子実および茎の中を食害する鱗翅(りんし)目害虫である。申請者らはこれまでに所属機関のトウモロコシ圃場での観察において、アワノメイガ幼虫の抽出試料から *Fusarium* 属と思われる糸状菌が分離されることを確認していた。そこでトウモロコシ圃場におけるフモニシン産生菌の拡散にアワノメイガ幼虫が寄与するのではないかという仮説に至った。

2. 研究の目的

アワノメイガ幼虫個体を介した *Fusarium* 菌の拡散やフモニシン汚染の伝播があるか否かを明らかにする。

3. 研究の方法

研究開始当初では無菌化したアワノメイガ幼虫を作製し、これにカビ毒産生型 *Fusarium* 属糸状菌を餌と一緒に摂食させ、経時飼育することにより体内に糸状菌が一時的に滞留し、その後排泄されるか否かを調べる予定であった。しかし、人工餌飼育条件下で飼育サイクルを継続すると蛹が羽化しない、卵が孵化しない、等の障害が生じたため、経時飼育することを断念した。このため無菌条件下での飼育(人工飼育)が困難となった。代替実験として、農研機構内のトウモロコシ栽培圃場においてアワノメイガの幼虫を採集し、幼虫の体内組織(腸管)や排泄物(糞)から糸状菌の分離を行った。得られた糸状菌について、分子分類学的手法による菌種同定を行った。*Fusarium* 属と同定された菌については液体培地を用いた個別培養を行い、所定日数培養後、遠心分離を行い上清を回収した。得られた上清サンプルについて液体クロマトグラフィー質量分析法(LC-MS/MS法)による機器分析を行い、フモニシン産生の有無と定量分析を行った。

4. 研究成果

トウモロコシ栽培圃場から採集したアワノメイガ幼虫について、体内組織として腸管を引き抜くことで、幼虫の体表面に付着している菌ではなく体内由来の菌を採取することに成功した(図1)。この試料を滅菌水または緩衝液に懸濁し、糸状菌の分離に使用した。また、採取した幼虫を滅菌済のプラスチックチューブ内で保管したところ、糞を排泄した(図2)ので、これを同様に滅菌水または緩衝液に懸濁し、糸状菌の分離に使用した。

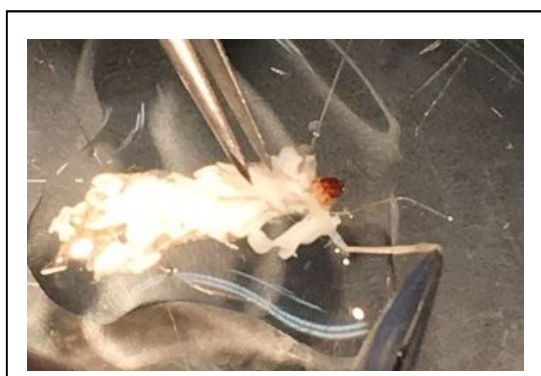


図1. 腸管試料採取の様子

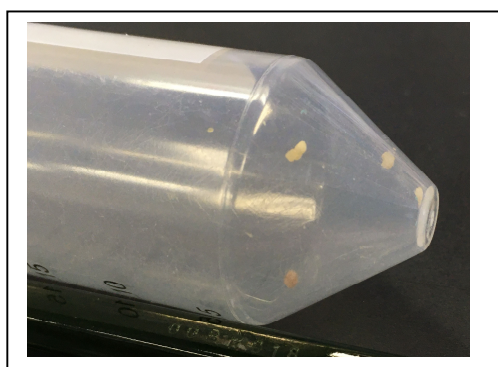


図2. 排泄された糞

寒天培地上で糸状菌の分離を試みたところ、バクテリアや酵母を含む複数の微生物の存在が観察されたが、最終的に糸状菌を複数分離することに成功した。分離された菌について、コロニーの形態等の観察結果から *Fusarium* 属菌と推定されるものを選抜し、分子分類学

的手法による同定を行ったところ、*Fusarium* 属と同定される糸状菌が複数確認された。これらの中にはフモニン産生系統と推定される菌も含まれていた。そこで液体培地を用いた個別培養を行い、培養上清について LC-MS/MS 法による分析を行った。その結果、幼虫の腸内および糞のいずれからも *Fusarium* 属菌が分離され、これらのうち一部はフモニン B₁、フモニン B₂、フモニン B₃ のカビ毒を産生することが確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	渡辺 麻衣子 (Watanabe Maiko) (00432013)	国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部・室長 (82601)	
研究分担者	増中 章 (Masunaka Akira) (80466010)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・西日本農業研究センター・主任研究員 (82111)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	三ツ橋 昇平 (Mitsunashi Shohei)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・主任研究員 (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関