

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15562

研究課題名（和文）菌類による天敵寄生蜂を利用した対菌食者防御システムの解明

研究課題名（英文）Biological defense system of fungi against fungivores insects using parasitoid wasps

研究代表者

向井 裕美（Mukai, Hiromi）

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：70747766

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、シイタケ菌、菌食性キノコバエ、その天敵寄生バチを対象として、菌類による対菌食者防御システムの解明を目指した。寄生バチは、シイタケ菌糸やキノコバエの食害を受けた菌糸の匂いに誘引される。シイタケ菌糸は物理的損傷を受けると、植物でも報告されているモノテルペンアルコール類などの揮発化合物を増加させた。キノコバエの被食により、さらに菌類特有の化合物（未同定）が増加することもわかった。これら化合物に対して、寄生バチは触角の電気生理学的応答を示した。シイタケ菌は植物と同様の物質に加え、菌類独自の物質を併用して菌食性昆虫の天敵寄生バチを誘引し、食害を抑制している可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、植物と菌類で共通のメカニズムにより寄生バチを利用した防御戦略が獲得されている可能性を示すものであり、界を超えた生物の収斂進化の理解を推し進める新たなモデル系となり得る。植物で既知の防御戦略概念や理論を菌類にも適用可能とし、植物と菌類をめぐる生物間相互作用の統一的理解、及び腐食連鎖内における生物間相互作用研究の飛躍的な発展が、今後期待される。また菌類をめぐる生物間相互作用における行動生態学・群集生態学的知見を科学的に解明することで、土着性天敵寄生バチの化学誘引剤の開発等により総合的病害管理（IPM）に繋げ、食用きのこ栽培管理技術の発展にも寄与できる。

研究成果の概要（英文）：This research project aimed to elucidate the biological defense system of fungi by using shiitake mushroom, fungus gnats, and their natural enemies, the parasitoid wasps. Parasitoid wasps got attracted to the odor of fungi, and mycelial block which have been consumed by larvae of the fungus gnats. When the mycelium was physically damaged, it increased volatile compounds such as monoterpene alcohols, which have also been reported in plants. We also discovered that the larva-infested mycelium increased the amount of fungus-specific compounds (not yet identified). In addition, the parasitoids exhibited electrophysiological antennal response to these special odor components. These results suggest that shiitake fungi attract the parasitoid wasps by using a combination of fungus-specific compounds in addition to plant-specific compounds to control the feeding damage of fungus-eating insects.

研究分野：森林生態学

キーワード：化学生態 相互作用 菌類 生物防御 寄生蜂

## 1. 研究開始当初の背景

菌類は、植物同様、食物連鎖の基盤として森林生態系を支える重要な存在である(深澤, 2013; 大園, 2018; Birkmoe et al., 2018)。担子菌類が繁殖のためにつくる子実体(きのこ)は、昆虫等の菌食者に孢子分散を担ってもら一方で、過度な摂食を抑えるため、様々な化学物質を含み菌食者の成長を阻害する(Rohlf & Churchill, 2011)。このような菌類の防御システムは、子実体形成前の菌糸成長期から備わる重要な生存戦略である(Künzler, 2018)。植物では、自身で身を護る直接的防御に加え、植食者を食べる天敵を利用する生物的防御により、防御力を高めることが知られる(Walters, 2011)。移動能力の低い菌類では、植物同様、他生物の利用も含む多様な防御戦略を備えている可能性が高い。

我々は近年、栽培シタケの主要害虫であるナガマドキノコバエ類(キノコバエ)の幼虫に寄生するハエヒメバチ類(寄生バチ)を発見した(Mukai & Kitajima, 2019)。予備的検討から、この寄生バチがキノコバエの食害を受けたシタケ菌の匂い(揮発性化合物)に強く誘引されることを明らかにした。キノコバエの幼虫は、シタケ子実体だけでなく菌糸も旺盛に摂食する。このことから、「菌類は、菌食者の天敵である寄生バチを匂いで誘引し、菌食者を駆除することにより、子実体形成前の食害を抑えている」と考えるに至った。

## 2. 研究の目的

生物的防御は、他生物の感覚に働きかけて行動を操作し、自身を補食者等から防御する、複雑な生物間相互作用により成立する。我々は、シタケ菌、シタケ害虫であるキノコバエ、寄生バチを対象としたこれまでの予備的検討から、植物と菌類は共通の化学物質群により寄生バチを誘引している可能性が高く、植物と菌類は分類的に遠縁でありながら、利用する寄生バチの感覚的制約に規定され、極めて類似した生物的防御システムが収斂的に進化したと予想した。

本研究課題は、**菌類による寄生バチの行動操作を伴う対菌食者防御システムを解明すること**を目的とし、これにより植物と菌類をめぐる生物間相互作用の統一的な理解、及び生食連鎖の知見を基盤とした腐食連鎖内における生物間相互作用研究の発展に寄与する。

## 3. 研究の方法

本研究では、シタケ菌、フタマタナガマドキノコバエ、その天敵であるシタケハエヒメバチを主な対象として、1)菌類による匂いを利用した寄生バチの行動操作を実証し、2)菌食性昆虫を宿主とする寄生バチの化学感覚特性を解明する、という二段階のアプローチにより課題を遂行する。

### 1) 菌類による匂いを利用した寄生バチの行動操作の実証

シタケ菌によるハチ誘引化学物質の特定:

被食シタケ菌の匂いの捕集及びガスクロマトグラフィー-質量分析法(GC-MS)を利用した化学分析により、寄生バチを誘引する化学物質を特定する。

寄生バチによる防御効果の検証:

Mukai & Kitajima (2019)で確立した手法に従い、模擬栽培施設内に寄生バチを導入し、キノコバエの幼虫の死亡率、及びシタケ菌の子実体数や質量等から、シタケ菌の繁殖成功度を定量する。

### 2) 菌食性昆虫を宿主とする寄生バチの化学感覚特性の解明

シタケ菌の匂いに対する寄生バチの行動及び電気生理学的応答の調査:

で特定した匂い成分に対する寄生バチの嗜好性を、Y字型ガラス管を用いて調査する。ガスクロマトグラフ 触角電位図記録装置(GC-EAD)を用いて、触角の電気生理学的応答を調査する。

異なるキノコバエ類に寄生するハチの匂い応答の系統的比較:

国内の菌床栽培シタケハウス内では、複数の寄生バチとキノコバエの寄生関係が確認されており、これらの地理的分布は種ごとに異なる(向井, 未発表)。それぞれのキノコバエを宿主とする寄生バチについて、匂い嗜好性の調査や触角の電気生理学的応答を系統的に比較し、シタケ菌とそれぞれの菌食者及び寄生バチの三者間の対応を明らかにする。

## 4. 研究成果

### ◆ シタケ菌による寄生バチ誘引化学物質の特定

キノコバエの幼虫による被食がシタケ菌系にどのような匂いの変化をもたらすのか詳細に調べるため、無処理、物理的損傷処理、幼虫による被食処理、の3群を設定し、固相マイクロ抽出法(SPME)により揮発成分を捕集し、GC-MSを用いて化学分析を行った。無処理のシタケ菌系からは、1-オクテン-3-オール、リモネン、カルビルアセテート等が検出されたが、物理的損傷処理によりこれらの物質が増加することが示された。物理的損傷処理では、これらの物質以外

にも 3-オクタノン, 1-オクタノール, リナロール, カルベオール等に加え, 特定困難な複数のセスキテルペン類が顕著に増加した。これは, 物理的損傷処理により, 菌糸細胞が破壊されたことに伴う匂いの変化と考えられた。さらに, 幼虫による被食処理では, 1-オクテン-3-オールや 3-オクタノンに近い Rt において, 特有の化学物質 (未同定物質; compound A) が検出された。この物質は幼虫に菌糸を摂食させてから時間が経過すると減少してしまうことから, 幼虫が今まさに菌糸上に存在し菌糸を摂食していることを示す匂いである, と考えられた。

◆ シイタケ菌の匂いに対する寄生バチの行動及び電気生理学的応答の調査

ナガマドキノコバエ類の主要な寄生バチとして知られるシイタケハエヒメバチは, 物理的損傷処理されたシイタケ菌糸, 幼虫による被食処理されたシイタケ菌糸のいずれの匂いにも定位行動を示すことが, Y字型ガラス管を用いた選択試験により実験的に示された。被食処理による定位行動の増強効果は, 雄よりも雌で顕著であったことから, 宿主であるキノコバエの検出能力は雄よりも雌で高いことを示していると考えられた。

また寄生バチを誘引する匂い成分を特定するため, GC-EAD を用いて, 上記検出された揮発化合物に対する寄生バチの触角の電気生理学的応答の調査を行った。その結果, compound A, 1-オクテン-3-オール, 1-オクタノール, リナロール, カルベオール, カルビルアセテートに対して, シイタケハエヒメバチは再現性高く応答することを確認した。リモネンは, GC-MS 分析では常時検出される主要成分であったが, 寄生バチは触角応答を全く示さなかった。Compound A を除く 5 種の化合物に対しては, シイタケハエヒメバチと同じ Orthocentrinae に属する近縁種であるヨリメハエヒメバチ及び *Orthocentrus* sp. B についても, 同様に顕著な触角応答を示すことがわかった。これら 2 種はいずれも菌床シイタケ栽培施設から見つかっており, ナガマドキノコバエ類の幼虫に寄生行動を示すことが確認されている。

以上の結果から, 幼虫の咀嚼等による菌の物理的損傷や, 被食による唾液の混入等の刺激が特定の揮発性化合物を発生させ, 寄生バチの定位行動を高めることを明らかになった。また, その化学感覚特性は, 菌食性昆虫を宿主とする寄生バチに共通のものである可能性が高い。植物では, 植食性昆虫の被食により特定の揮発化学物質を放出して寄生バチを誘引することが既知の事実であり, その成分として知られるリナロールや 1-オクタノールが今回の調査でも検出されている。一方, カルベオールやカルビルアセテートは菌類や微生物特有の物質と考えられている。シイタケ菌は, 植物と同様の化学物質に加え, 菌類独自の化学物質を併用した独自のシステムにより, 菌食性昆虫の天敵寄生バチを誘引し, 食害をコントロールしている可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 末吉昌宏、風間宏、向井裕美、北島博	4. 巻 20
2. 論文標題 食用きのこ栽培施設で発生したツクリタケクロバネキノコバエ <i>Lycoriella ingenua</i> (Dufour, 1839)(双翅目クロバネキノコバエ科)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 森林総合研究所研究報告	6. 最初と最後の頁 356-362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiromi Mukai, Hiroshi Kitajima	4. 巻 148
2. 論文標題 Laboratory evaluation of <i>Orthocentrus brachycerus</i> (Hymenoptera: Ichneumonidae), as a potential biological control agent in mushroom cultivation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Applied Entomology	6. 最初と最後の頁 348-357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jen.12843	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kyohei Watanabe, Hiromi Mukai, Hiroshi Kitajima, Masahiro Sueyoshi	4. 巻 26
2. 論文標題 The Ichneumonid parasitoids of the fungus gnat genus <i>Neoempheria</i> Osten Sacken (Diptera: Mycetophilidae) infesting edible fungi in the sawdust-based cultivation houses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Systematic Entomology	6. 最初と最後の頁 53-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 向井裕美、高梨琢磨、北島博
2. 発表標題 キノコ害虫防除技術の開発に向けて - キノコ栽培における天敵生物や振動を用いた新規害虫防除の試み -
3. 学会等名 社団法人電子情報通信学会、農林水産ICTスペシャルセッション（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 向井裕美、所雅彦、北島博、楠本倫久
2. 発表標題 菌食者からの化学隠蔽か：菌類は食害されると“キノコ臭”を減らす
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会第66回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 向井裕美、高梨琢磨、小野寺隆一
2. 発表標題 振動で害虫を減らす：菌床シイタケ栽培における磁歪式振動発生装置を利用したナガマドキノコバエ類の物理的防除
3. 学会等名 日本きのこ学会第24回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 向井裕美、所雅彦
2. 発表標題 シイタケ菌床害虫フクレナガマドキノコバエ類の性フェロモンに関して
3. 学会等名 日本きのこ学会第24回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 向井裕美、所雅彦、北島博、楠本倫久、橋田光
2. 発表標題 シイタケ菌をめぐる菌類 - 菌食者 - 寄生バチ相互作用系にて機能する情報化学物質
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会第65回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 向井裕美
2. 発表標題 キノコ栽培における害虫防除の実態と 振動による新たな可能性
3. 学会等名 第28回日本環境動物昆虫学会セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiromi Mukai, Hiroshi Kitajima, Masahiko Tokoro
2. 発表標題 Fungivore-induced fungi volatiles attract parasitoid wasps Orthocentrinae (Hymenoptera: Ichneumonidae) as fungivore enemies: behavioral and electrophysiological responses of wasps to host cue
3. 学会等名 The 26th International Congress of Entomology (ICE2020Helsinki) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 渡辺恭平・向井裕美（第10章分担執筆）	4. 発行年 2020年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 323
3. 書名 寄生バチと狩りバチの不思議な世界	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 振動を用いたキノコの栽培技術	発明者 高梨琢磨、向井裕美、ほか	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願番号2021-174731	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 振動を用いた害虫の行動及び成長の制御によりキノコ類を保護する方法	発明者 向井裕美、高梨琢磨、小野寺隆一、阿部翔太、小野利文	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願番号2021-116885	取得年 2023年	国内・外国の別 国内

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------