

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：82670

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07819

研究課題名(和文)揮発性代謝産物が真菌類とシロアリとの情報伝達で果たす役割とそのメカニズム解明

研究課題名(英文)Elucidation of the role of microbial volatile organic compounds in signaling between wood-decay fungi and termites

研究代表者

小沼 ルミ (KONUMA, Rumi)

地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・開発本部開発第二部バイオ応用技術グループ・主任研究員

研究者番号：90463075

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：一部のMVOC成分はホルモン(同一個体内において機能するもの)あるいはフェロモン(異個体もしくは異種生物間において機能するもの)としての機能を付与されるなど、MVOCの中には情報伝達(コミュニケーション)の手段として重要な役割を担うものが存在する。
本研究では、木材腐朽菌由来のMVOCがシロアリを誘引または忌避行動を誘発するのを明らかにするため、14種類のMVOC成分に着目について、イエシロアリおよびヤマトシロアリを用いたバイオアッセイを実施した。その結果、シロアリを誘引または忌避行動を誘発するMVOC成分を明らかにした。また、当該成分に対するシロアリの触角電位応答を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

建物等施工後のシロアリ防除方法としては薬剤散布が一般的であるが、人体および周辺環境への影響が懸念されることから、近年、ベイトシステム(毒餌駆除法)が注目されている。シロアリを効率よく駆除するためには比較的広範囲のシロアリを強力に誘引することが必要となるが、現在行われているベイトシステムでは餌として単純に木材を用いているのみでシロアリの誘引効果が低いことが現状である。本研究を遂行することにより、シロアリ誘引効果の高い化合物が明らかになれば、効率のよいシロアリ誘引駆除剤の開発につながる。

研究成果の概要(英文)：Some microbial volatile organic compounds (MVOCs) have a function as hormones or pheromones, and some MVOCs play an important role as a means of communication tools. In order to clarify the role of MVOCs in attraction/avoidance behaviors of termites, *Coptotermes formosanus* Shiraki and *Reticulitermes speratus* (Kolbe), we focused on 14 MVOCs and conducted behavioural bioassays. In this study, we identified MVOCs that induce termite attractant/repellent behavior. We also confirmed electroantennograms of termites to that component.

研究分野：木材保存学

キーワード：シロアリ 木材腐朽菌 MVOC

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 代表者らは、これまでに木材腐朽菌が放散する揮発性有機化合物(MVOC; Microbial Volatile Organic Compounds)を測定するための手法を確立した¹⁾。さらに、木材腐朽菌によって木材が分解(腐朽)されている際には特異的な揮発性成分が放散されることを突き止めた²⁾。一部のMVOC成分はホルモン(同一個体内において機能するもの)あるいはフェロモン(異個体もしくは異種生物間において機能するもの)としての機能を付与されるなど、MVOCの中には情報伝達(コミュニケーション)の手段として重要な役割を担うものが存在する。

(2) 本研究では、木材の二大生物劣化原因である木材腐朽菌とシロアリとの相互作用に注目した。両者はいずれも高含水率の木材を餌(基質)として好み、木材における腐朽被害とシロアリによる食害は混在する場合も多く、生育場所を等しくする真菌類とシロアリの間には何らかの相互作用が生じているのではないかと考えたためである。実際に、シロアリの中には腐朽木材を好んで摂食する種が存在することや³⁾、キチリメンタケがイエシロアリやヤマトシロアリが属するミゾガシラシロアリ科のシロアリに共通する道しるべフェロモンと同じ物質((Z,Z,E)-3,6,8-dodecatrien-1-ol)を代謝することが知られており、腐朽材あるいは腐朽菌によるシロアリ誘引効果が確認されている⁴⁾。しかしながら、キチリメンタケ以外の腐朽菌に由来する揮発性成分において、シロアリ誘引効果を示す成分はほとんど特定されていない。

2. 研究の目的

本研究では、木材腐朽菌とシロアリとの生物間相互作用の中で、木材腐朽菌に由来する「におい=MVOC」が、どのような意味を持つ「情報」としてシロアリに認識され、誘引/忌避行動などを誘発するのかを菌種ごとに解析し、そのMVOC成分を明らかにすることを目的とする。本研究は、シロアリを効果的に毒餌へ誘導するベイトシステム(毒餌駆除法)への応用や、木材からシロアリを遠ざける技術の開発など、シロアリの行動を「におい」によって人工的にコントロールすることを目指すものである。

3. 研究の方法

(1) 供試シロアリ

イエシロアリ(*Coptotermes formosanus*)は国立研究開発法人森林研究・整備機構(つくば市)内で飼育中のものを用いた。ヤマトシロアリ(*Reticulitermes speratus*)は茨城県御前山付近で採集したものを用いた。いずれの供試シロアリについても実験の1日以上前に木材から紙上に移して調整した個体を実験に用いた。

(2) 行動実験

イエシロアリによる行動実験では、1回の実験で職蟻100頭および兵蟻10頭の合計110頭を用いた。「におい」としての刺激源にはヤマトシロアリと同様にMVOC14成分を用い、それぞれ行動実験を5回繰り返して実施した。実験は蓋付きのポリスチレン容器(内寸:260×360×30mm)内で実施した。イエシロアリの行動実験では、刺激源として、4菌種の木材腐朽菌(褐色腐朽菌3菌種および白色腐朽菌1菌種)についても試みた。ヤマトシロアリによる行動実験では、1回の実験で職蟻50頭を用いた。刺激源として14種類のMVOC成分を用いて、各成分について行動実験を5回繰り返して実施した。なお、実験は蓋付きのポリスチレン容器(内寸:175×85×40mm)内で実施した。いずれも行動実験においても、実験開始後1分、5分、10分、20分、30分および60分の時点におけるシロアリ誘引頭数をカウントすることによって誘引率を算出した。

(3) EAG測定

触角電位図(EAG; Electro Antenna Grams)の実験はシロアリ職蟻の触角を含む頭部を用いて行った(図1)。先端を尖らせたガラス製キャピラリーを細胞培養液(Grace's Insect Media, Gibco)で満たし、これを銀線に装着し、電極とした。電極を頭部の切断部分および触角の先端に取り付けた。刺激源となるMVOC成分1に対して100倍量の溶媒で希釈したもの10 μ lをろ紙小片(8×15mm)に滴下し、15cmのパスツールピペット端部に入れて刺激源とした。刺激源に加湿空気を通して触角に与えた。触角電位応答はEAGソフトウェア(EAG Pro, Syntech)で記録した。触角電位応答とは、刺激に対する電位変化であり、刺激によって生じた電位差を測定値とした。なお、各触角について、基準試料(Acetone(99.5%, Wako))及び陰性試料(溶媒)の測定を行い、刺激源の測定値から陰性試料の測定値を差し引いた。この値について、基準試料の測定値を1としたときの比を求め、これを応答値とした。全ての刺激源はシロアリ8頭以上で繰り返してEAG測定を行った。

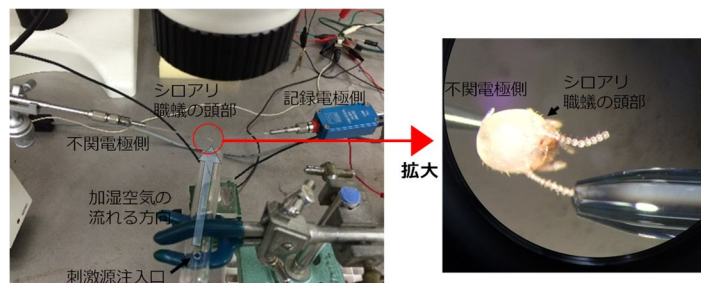


図1 EAG測定の様子

4. 研究成果

(1)

シロアリを誘引または忌避する MVOC 成分を探索するための前段階として、木材腐朽菌に対するシロアリの誘引性または忌避性を調べた。刺激源となる木材腐朽菌として、褐色腐朽菌であるオオウズラタケ、イダタケ、キチリメンタケの3菌種および白色腐朽菌のカワラタケ1菌種の計4菌種を用いて行動実験を行った。その結果、キチリメンタケでは対照の平均誘引率8.0%に対して平均誘引率が69.6%となり、誘引効果があることが明らかになった。キチリメンタケでは当該菌種による腐朽材あるいは菌体によるシロアリ誘引効果が既往の研究で確認されている⁴⁾。そのため、本研究で実施した行動実験について手法の妥当性が確認できた。ただし、キチリメンタケの誘引成分はミゾガシラシロアリ科のシロアリに共通する道しるべフェロモンと同じ成分の(Z,Z,E)-3,6,8-dodecatrien-1-ol であることが既に明らかになっている。そのため、本研究においては、代表者らによって既に明らかにしている木材腐朽菌の MVOC 成分を刺激源として用いることとした。

(2)

(1)と同様の手法で、MVOC 成分 14 種類(表1)を刺激源としたイエシロアリの行動実験を実施した。その結果、供試した MVOC 成分の内3成分について対照と比較して有意な誘引作用が認められた。一方、ヤマトシロアリについてもイエシロアリと同じ刺激源を用いて行動実験を行った。その結果、いずれの MVOC 成分についても平均誘引率は19%以下となり、誘引効果は認められなかった。

(3)

(2)と同じ MVOC 成分 14 種類を刺激源としてイエシロアリ職蟻の EAG 測定を行った。なお、MVOC 成分を希釈するための溶媒として、触角応答電位がほとんど検出されない Hexane を用いた。木材腐朽菌が放散する MVOC 成分に対するイエシロアリの触角応答電位は化合物ごとに異なることがわかった(図2)。触角応答電位が高いものから M-2、M-3 および M-1 はアルコール類に分類される MVOC 成分であり、低いものから M-12、M-14 および M-13 は直鎖状炭化水素であった。このことから、本研究で用いた MVOC 成分においてイエシロアリの触角応答電位はアルコール類に対して比較的高くなり、直鎖状の炭化水素では陰性試料として用いた Hexane も含めて低くなることが明らかになった。

(4)

(3)と同じ MVOC 成分を刺激源として、ヤマトシロアリ職蟻の EAG 測定を行った。ただし、イエシロアリではほとんど触角電位応答がなく MVOC の溶媒として使用した Hexane について、ヤマトシロアリでは明らかな応答を示した。そのため、ヤマトシロアリの EAG 測定の際には、MVOC の溶媒および陰性試料としてミネラルオイルを用いた。ヤマトシロアリ職蟻の EAG 測定の結果、応答値が 0.7 以上となった MVOC は M-7、M-5 および M-6 であり、応答値が 0.1 以下となったのは M-14、M-12 および M-13 であった。このことから、ヤマトシロアリの触角応答電位はエステル類に対して比較的高くなり、直鎖状の炭化水素ではイエシロアリと同様に低くなることが明らかになった。また、ヤマトシロアリの MVOC 成分に対する触角応答電位はイエシロアリと比較して 10 倍程度高く出しており、ヤマトシロアリとイエシロアリでは触角応答の感度に違いがあるものと推察された。

表1 供試 MVOC 成分

MVOC成分	化学分類
M-1	アルコール
M-2	アルコール
M-3	アルコール
M-4	アルコール
M-5	エステル
M-6	エステル
M-7	エステル
M-8	ケトン
M-9	ケトン
M-10	セスキテルペン
M-11	フラン誘導体
M-12	直鎖炭化水素
M-13	直鎖炭化水素
M-14	直鎖炭化水素

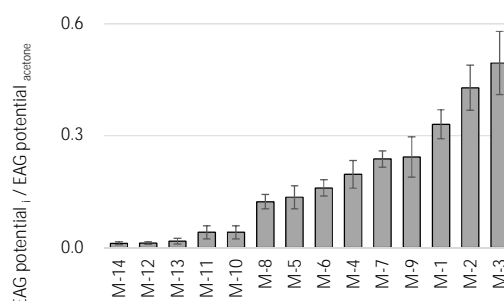


図2 刺激源ごとのイエシロアリ職蟻の触角応答電位 (i) をアセトンに対する触角応答電位の比で示した (n=8)。刺激源はヘキサンで 1:100 に希釈したものをを用いた。エラーバーは標準誤差。

参考文献

- 1) 木材保存 41(3): 108-118(2015).
- 2) Biotechnol Lett 37(9): 1845-1852(2015).
- 3) Wood Research 55: 1-9(1973).
- 4) Materials und Organismen 29: 133-146 (1995).

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 小沼ルミ	4. 巻 7
2. 論文標題 木材腐朽菌由来の揮発性有機化合物（MVOC）による木材保存の可能性	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 しるあり	6. 最初と最後の頁 1-9
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10件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小沼ルミ，瓦田研介，大村和香子，高梨琢磨，吉田 誠
2. 発表標題 木材腐朽菌由来の揮発性有機化合物がヤマトシロアリの触角応答電位に及ぼす影響
3. 学会等名 日本木材保存協会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小沼ルミ，大村和香子，高梨琢磨，瓦田研介，吉田 誠
2. 発表標題 木材腐朽菌が放散する揮発性有機化合物がイエシロアリの触角応答電位に及ぼす影響
3. 学会等名 日本木材学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小沼ルミ，大村和香子，高梨琢磨，瓦田研介，吉田 誠
2. 発表標題 オオウズラタケが放散する揮発性有機化合物がイエシロアリの触角電位応答に及ぼす影響
3. 学会等名 日本木材保存協会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小沼ルミ
2. 発表標題 木材腐朽の検出手法に関する検討
3. 学会等名 カビ毒研究連絡会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小沼ルミ、大村和香子、高梨琢磨、瓦田研介
2. 発表標題 木材腐朽菌由来の揮発性代謝産物に対するイエシロアリの触角電位測定
3. 学会等名 日本木材学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小沼ルミ、大村和香子、高梨琢磨、瓦田研介
2. 発表標題 オオウズラタケ由来の揮発性有機化合物に対するイエシロアリの触角電位応答の比較
3. 学会等名 日本木材保存協会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小沼ルミ
2. 発表標題 木材腐朽菌由来の揮発性有機化合物による腐朽診断に向けた研究
3. 学会等名 日本木材学会生物劣化研究会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 古賀晴華、渡邊英博、西野浩史、北條優、大村和香子、高梨琢磨、横張文男
2. 発表標題 7種のシロアリ触角葉系球体構成の比較解析
3. 学会等名 日本動物学会九州支部
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 古賀晴華、渡邊英博、西野浩史、大村和香子、高梨琢磨、横張文男
2. 発表標題 Similarity and Variability of glomerular organizations of the antennal lobes in seven species of termites
3. 学会等名 国際動物学会/日本動物学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 古賀晴華、渡邊英博、西野浩史、北條優、大村和香子、高梨琢磨、横張文男
2. 発表標題 シロアリの脳内ニューロパイル及び触角葉系球体構成のカースト比較
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2017年

〔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	大村 和香子 (OHMURA Wakako) (00343806)	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 (82105)	