

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06332

研究課題名(和文)サルはにおいて毒キノコを判別するのか：忌避を誘導する揮発性物質の特定

研究課題名(英文) Do monkeys recognize poisonous mushrooms odors?

研究代表者

澤田 晶子 (Sawada, Akiko)

京都大学・野生動物研究センター・特任研究員

研究者番号：10646665

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)：先行研究では、極めて多様なキノコを食べる屋久島のサルが毒キノコを忌避しており、その背景には嗅覚情報が関与している可能性が示された。本研究では、サルが忌避するキノコにおい成分の特定ならびに毒キノコのおい成分を用いた給餌実験により、嗅覚に基づく毒キノコ忌避行動を検証した。野生のサルは、有毒種を多く含むテングタケ類のキノコに対してにおい確認する、かじって吐き出すなど検査行動を示す傾向が強い。飼育ニホンザルを対象とした給餌実験の結果も、テングタケ類に含まれる揮発性物質が警告臭として機能し得る可能性を強く示唆するものであり、哺乳類と毒キノコのおいの進化生態学的意義の解明につながる成果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物と菌類の相互作用は森林生態系における重要なメカニズムのひとつであるが、動物側の視点に立った研究は未だに少なく、キノコ食性哺乳類の実態についてはさらに限られた知見しかない。毒キノコのおいが哺乳類に対する警告臭として進化した可能性を支持する結果が得られたことは本研究の大きな成果であり、キノコのおいの進化生態学的意義を探るうえで重要な知見となる。

研究成果の概要(英文)：Our previous studies have reported that Japanese macaques in Yakushima sometimes exhibit “examining behaviors” while handling mushrooms. High examination rate followed by high rejection rates against Amanita spp. indicated that macaques were capable of distinguishing poisonous mushrooms using previous knowledge and olfactory clues. In captive, macaques recognized a volatile compound extracted from Amanita spp. and obsessively showed examining behaviors, suggesting distinctive Amanita odors can function as a warning odor against mycophagous animals.

研究分野：採食生態学

キーワード：ニホンザル 菌食 忌避行動 キノコ 採食生態学

1. 研究開始当初の背景

動物と菌類の相互作用は、森林生態系における重要なメカニズムのひとつである。分解者である菌類は生態系の物質循環において重要な役割を果たし、キノコ(菌類の繁殖器官:子実体)を食べる動物は孢子散布者として菌類の分布拡大に貢献する。とりわけ、無脊椎動物よりも体サイズが大きく、行動域も広い哺乳類は、菌類にとって重要な孢子散布者となり得る [Gehring *et al.* 2002]。動物による被食散布を必要とするキノコは、植物の果実や花がそうであるように、視覚・嗅覚への信号によって動物を誘引するが、キノコにおいては動物に忌避作用を及ぼすものもある。哺乳類と無脊椎動物とでは、採食行動によってキノコに与える損傷の程度が著しく異なる。ゆえに、菌類にとってより重大な敵である哺乳類に対する警告シグナル(警告臭)として、キノコにおいて進化したとする説 [Hanski 1989; Sherratt *et al.* 2005] もあるが、信号の受け手である哺乳類側の反応が検証されてこなかったため推測の域を出なかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、サルが選択・忌避するキノコの揮発性物質を特定し、毒キノコ忌避メカニズムにおけるキノコにおける役割を明らかにすることである。研究対象である屋久島のニホンザルは、年間を通じて極めて多様なキノコを食べる。その際に、検査行動(におう、かじって吐き出す、手元を注視する、など)を示すことがあり、サルが検査行動をとったり、途中で採食を終了したりするキノコは毒キノコである確率が高かった [Sawada *et al.* 2014]。このことは、毒キノコ忌避行動の背景には嗅覚情報が関与している可能性を強く示唆するものであり、キノコにおける進化生態学的意義を探るにあたり最適な研究対象である。

3. 研究の方法

(1) 野生ニホンザルが忌避するキノコの揮発性物質の特定

鹿児島県熊本郡屋久島町・西部林道域で、サルの菌食行動に伴う詳細な行動をビデオカメラで記録した。サルが選択・忌避したキノコ種を特定するため、サルが採食中に落とした断片や手に取ったが食べなかったキノコ片を採集し、遺伝子解析を実施した。種同定結果の信頼性や正確性を高めるには、遺伝子データベース上の既知の配列情報を増やすことが必要不可欠であることから、サルの採食頻度が高いイグチ科、ベニタケ科、テングタケ科のキノコを中心に採取し、形態学的特徴に基づく種同定ならびに遺伝子解析による種同定をおこなった。

キノコの揮発性物質は、シリカモノリス捕集剤(Monotrap DCC18、ジールサイエンス社)で吸着した。湿度の高い屋久島の林床では、キノコをガラス瓶で覆いその中に吸着剤を24時間静置するという従来の手法ではキノコの腐敗が進み、腐敗臭が発生しやすことがわかった。実験室の異なる条件下(室温/冷蔵/60°C)で捕集作業を試みた結果、バイアルにキノコと捕集剤を入れ、60°Cに設定した恒温乾燥機で1時間加熱するという手法が最も良い結果を得ることができた。吸着させた揮発性物質を溶媒抽出した後、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)で解析し、付属のライブラリーに登録されたスペクトルと比較し、類似度85%以上の物質を選出した。

(2) 毒キノコにおける飼育ニホンザルの反応の検証

調査の結果、野生のサルが検査行動や拒否反応を示す割合は、テングタケ属で著しく高くなることがわかった。テングタケ属には有毒種が多く含まれることから、誤食によってもたらされる潜在的な危険性をサルが認識していることが推察される。テングタケ属のキノコには「つば」や「つぼ」といった特徴的な部位があるが、いったんは手に取っていることから、食べられるかどうかの最終判断は、視覚情報よりも嗅覚情報に基づいている可能性が高い。そこで、京都大学ヒト行動進化研究センターで飼育されるニホンザルを対象に、テングタケ属のにおいを吸着させた食物片を呈示し、においを手がかりとした忌避行動が成立し得るか検証した。

4. 研究成果

(1) 野生ニホンザルが忌避するキノコの揮発性物質の特定

におい成分を捕集したすべての属のキノコから、炭素数5~10の炭化水素や炭素、水素、酸素からなる炭化水素化合物が検出された。中でも、ベンズアルデヒド、4-ヒドロキシ-4-メチル-2-ペンタノン、3-オクタノン、テルペン系の炭化水素化合物は、属を問わず多くのキノコ種から検出され、先行研究 [Chen & Wu 1984; Rapior *et al.* 1996] とも一致することから、これらの化合物は普遍的なキノコ臭を構成する物質であると考えられる。一方、ニオイドクツルタケ *Amanita oberwinklerana* からは塩素と窒素を含む有機化合物が、有毒種コテングタケモドキ *A. pseudoporphyria* からは塩素、窒素、硫黄を含む有機化合物が検出されるなど、テングタケ属の多くから炭化化合物が検出された。一般的に、塩素を含む化合物は特有の刺激臭(塩素臭)を発生し、肉食動物の代謝産物に多く含まれる揮発性硫化化合物は動物臭を呈する [Nolte *et al.* 1994]。有毒種を多く含むテングタケ属から、特有の臭気をもつ揮発性化合物が検出されたことで、警告臭として毒キノコにおいて進化した可能性を示唆する先行研究 [Sherratt *et al.* 2005] を支持する結

果が得られた。

(2) 毒キノコのおいに対する飼育ニホンザルの反応

テングタケ属のおいが捕食者に対する警告臭として機能し得ることを実証するため、キノコを食べたことのない飼育ニホンザルで給餌実験をおこなった。まずは、一般的なキノコのおいに対する反応を調べるため、オトナ6頭(個別飼育)と3歳のコドモ7頭(グループ飼育)に市販キノコ(マッシュルーム、エリンギ、ヤナギマツタケ)を与えたところ、野生個体とは異なり、キノコに対する食嗜好性は極めて低かった。とりわけオトナではその傾向が強く、検査行動をみせた後にキノコを拒否し、3日目以降は手にとることもなかった。

そこで、サルが好む果物片(ブドウ・ミカン)にキノコのおいを吸着させて、その反応を確認することにした。使用した揮発性物質は、1-オクテン-3-オール(一般的なキノコのおい)および2-メチルフラン(テングタケ類のおい)で、果物片とともに密閉容器に入れることにおいを吸着させた。1-オクテン-3-オールを用いた給餌実験では、半数近くのサルが検査行動を示すことなく食べ、残りのサルも検査行動をとったものの拒否することなく食べた。2-メチルフランを用いた実験では、何度も繰り返し検査行動をとる、果物片を地面にこすりつける、果物の皮を剥くなど、ほぼすべてのサルがより顕著な反応を示した。結果として、採食を拒否する個体はいなかったものの、これは使用した果物片(ブドウ・ミカン)に対する食嗜好性が非常に高かったためだと考えられ、2-メチルフランに対してサルがより強く反応を示すことは明白であった。野生のサルも高い頻度でテングタケ類のキノコを検査・忌避することを鑑みると、2-メチルフランが警告臭として機能している蓋然性は高い。

キノコ食性動物の研究は、昆虫をはじめとする無脊椎動物を対象としたものが多い。キノコ食性哺乳類の実態については限られた知見しかなく、糞分析に基づく「どのキノコを食べるか」という情報はあっても、「毒キノコを忌避するか」「どのように判断するのか」に着目した研究はほぼ存在しない。有毒食物の忌避は動物の食性の進化において極めて重要なテーマであり、毒キノコのおいの進化生態学的意義の解明につながる知見が得られたことは、本研究課題の大きな成果である。

<引用文献>

- Hanski I (1989) Fungivory: fungi, insects and ecology, In: Wilding N, Collins NM, Hammond PM, Webber JF eds, *Insect-Fungus Interactions*, Academic Press, 25- 68.
- Sherratt TN, Wilkinson DM & Bain RS (2005) Explaining Dioscorides' "double difference": why are some mushrooms poisonous, and do they signal their unprofitability? *The American Naturalist*, 166, 767-775.
- Sawada A, Sato H, Inoue E, Otani Y & Hanya G (2014) Mycophagy among Japanese macaques in Yakushima: fungal species diversity and behavioral patterns, *Primates*, 55, 249-257.
- Gehring CA, Wolf JE & Theimer TC (2002) Terrestrial vertebrates promote arbuscular mycorrhizal fungal diversity and inoculum potential in a rain forest soil, *Ecology Letters*, 5, 540-548.
- Rapier S, Cavalié S, Andary C, Pélissier Y, Marion C & Bessière JM (1996) Investigation of some volatile components of seven fresh wild mushrooms (Basidiomycetes), *Journal of Essential Oil Research*, 8, 199-201.
- Chen CC & Wu CM (1984) Volatile components of mushroom (*Agaricus subrufecens*), *Journal of Food Science*, 49, 1208-1209.
- Nolte DL, Mason JR, Epple G, Aronov E & Campbell DL (1994) Why are predator urines aversive to prey?. *Journal of Chemical Ecology*, 20, 1505-1516.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mushegian AA, Neupane N, Batz Z, Mogi M, Tuno N, Toma T, Miyagi I, Ries L & Armbruster PA	4. 巻 24
2. 論文標題 Ecological mechanism of climate mediated selection in a rapidly evolving invasive species	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecology Letters	6. 最初と最後の頁 698-707
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ele.13686	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 該当する

1. 著者名 Tsuchida S, Hattori T, Sawada A, Ogata K, Watanabe J, Ushida K	4. 巻 83
2. 論文標題 Fecal metabolite analysis of Japanese macaques in Yakushima by LC-MS/MS and LC-QTOF-MS	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1012-1015
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1292/jvms.21-0076	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 Sawada A, Hayakawa T, Kurihara Y, Lee W, Hanya G	4. 巻 4
2. 論文標題 Seasonal responses and host uniqueness of gut microbiome of Japanese macaques in lowland Yakushima	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Animal Microbiome	6. 最初と最後の頁 54
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s42523-022-00205-9	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 Kitabayashi K, Kitamura S & Tuno N	4. 巻 12
2. 論文標題 Fungal spore transport by omnivorous mycophagous slug in temperate forest	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 e8565
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ece3.8565	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 Matsuura T, Bangay R & Tuno N	4. 巻 14
2. 論文標題 Mild Winter Causes Increased Mortality in the Fall Webworm <i>Hyphantria cunea</i> (Lepidoptera: Arctiidae)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Insects	6. 最初と最後の頁 534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/insects14060534	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 該当する

1. 著者名 Tuno N, Farjana T, Uchida Y, Iyori M & Yoshida S	4. 巻 14
2. 論文標題 Effects of Temperature and Nutrition during the Larval Period on Life History Traits in an Invasive Malaria Vector <i>Anopheles stephensi</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Insects	6. 最初と最後の頁 543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/insects14060543	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 Hanya G, Ohta T, Kurihara Y, He T, Sawada A, Shiroishi I & Kinoshita K	4. 巻 85
2. 論文標題 Mineral acquisition of Japanese macaques: Contents in the foods, digestibility, and sodium provisioning experiment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 American Journal of Primatology	6. 最初と最後の頁 e23502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ajp.23502	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Akiko Sawada
2. 発表標題 Do monkeys avoid poisonous mushrooms? Japanese macaques living in Yakushima Island with high fungal diversity
3. 学会等名 Mushrooms as 'food for thought': Cognitive science perspectives on fungi (symposium), The 44th Annual Meeting of the Cognitive Science Society (国際学会)
4. 発表年 2023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	都野 展子 (Tuno Nobuko) (60295102)	金沢大学・生命理工学系・准教授 (13301)	
研究 分担者	宮部 貴子 (Miyabe Takako) (10437288)	京都大学・ヒト行動進化研究センター・助教 (14301)	

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		
ノルウェー	University of Bergen		