

Volatile communication of mushrooms and fungivore animals: especially the relationship between mushroom with fungivore slugs

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-07-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/00054653

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



題名：キノコとキノコ食性動物の匂いコミュニケーション
—特にキノコ食性ナメクジとの関係—

Volatile communication of mushrooms and fungivore animals:
especially the relationship between mushroom with fungivore
slugs

所属：自然科学研究科自然システム学専攻
生態学研究室

氏名：北林慶子

Abstract

Even though many mushrooms have a unique volatiles, its ecological significance has not been elucidated. Given the fact that mushrooms are spore-dispersing "flower" of fungi, it could be reasonable to hypothesize that the volatile of mushrooms is used for attracting spore dispersers, or distracting predator animals. This study aims to clarify the ecological function of the mushroom volatiles in fungal spore dispersal strategy through verifying the volatile-communication of mushrooms with animals, and the spore dispersal ability of the fungivore slug.

We conducted the following investigation to study the spore dispersal ability of slugs. (1) investigate the habitat of slugs, (2) observe excretions of slugs (3) germination experiments of excreted spores (4) fungal phase analysis in excreta of slugs, and (5) measurement of the distance traveled by slugs at the forest floor. As a result, slugs consumed many spores of wood-rotting fungi and continued to excrete tens of thousands to thousands of spores on average for 4 days, and mainly found to inhabit the fallen tree. In addition, spores excreted by slugs retained (or promoted) the germination ability. And, the movement distance of slugs was maximum 10.5 m on 5 hours. These results suggest that slugs have poor mobility compared to other spore-disperse animals, but have a high probability of transporting spores that retain germinating ability to fallen trees that are suitable mainly for wood-rotting fungi habitats it is conceivable that. That is, it was suggested that slugs possess potential as spore dispersal suitable for wood-rotting fungi.

Next, we conducted following investigation about the volatile communication of mushrooms and animals. (1) The preference test of slugs to some mushroom species (2) volatile components analysis of mushrooms (3) observation of response to volatiles of slugs (4) Amanitin toxin resistance test of slugs (5) observation of response to volatiles of *Drosophila anguralis*, *D. busckii* and *D. melanogaster*. As a result, *Amanita palidorosea* were totally repelled by slugs. In addition, it was found that Dimethyl trisulfide produced by *A. palidorosea* during the rotting period, and 1-Pentanol, Ethyl butyrate, 2- propyl-1-pentanol produced during the spore production and spore dispersal period also have a repellent effect. The above results suggest that *A. palidorosea* avoids feeding from slugs while changing odor components at each growth stage of mushroom. In the next observation of the reaction of *Drosophila*, *D. anguralis* and *D. busckii* did

not respond to any volatiles. On the other hand, *D. melanogaster* showed a repellent response to 1-pentanol combined with 2 or more other volatiles and also single of 3-octanone, 2-propyl-1-pentanol, and Ethyl butyrate. It is possible that the difference between the reactions of *D. melanogaster* and *D. anguralis*, *D. busckii*, observed in the above, may reflect the difference in the larval habitat of each species.

要旨

キノコは様々な匂いを生産するが、その生態学的意義は明らかにされていない。植物は匂いを利用して送粉者や捕食者を忌避・誘引させており、同様に菌類の“花”であるキノコも、動物散布や被食防御に匂いを利用していると考えられる。しかし、ほとんどの菌類の匂い成分や、その経時変化、またキノコの匂いと動物に対する反応については十分に研究されていなかった。そこで本研究では、キノコの匂いを用いた動物とのコミュニケーションを調べることで、キノコの匂いの生態学的な機能を明らかにし、菌類の孢子散布戦略の理解を深めることを目的とした。キノコの匂いの生態学的意義を明らかにするには、(1) 菌食性動物の孢子散布能力 (2) 広い分類群のキノコの匂い成分に対する、菌食性動物の反応 (3) 菌食性動物が忌避・誘引反応を示す、キノコの匂い成分、の3点を調べる必要がある。そこで、本研究は菌食性動物として、ヤマナメクジとショウジョウバエに注目した。本研究ではこれら2種を実験動物に用いることで、これまで実験が困難だった、忌避・誘引する菌種の同定や匂い成分の検出、さらに個々の菌類の匂い成分の菌食性動物に対する効果について、多種の菌類間で比較することを可能にした。

まず、ヤマナメクジの孢子散布能力を検証した。ヤマナメクジの生息場所を調査すると、全113個体の捕獲場所は倒木が68%で最も多く(77個体)、続いて子実体20%(22個体)、樹上7%(8個体)、地上5%(6個体)の順であった。次に、ヤマナメクジの摂食物と孢子の摂食の有無を調べるために、捕獲した個体34個体の排泄物を観察したところ、73.5%(25個体)で担子菌類の孢子が観察された。それから、ヤマナメクジが摂食している菌類種を明らかにするために、野外で採集したヤマナメクジ8個体の排泄物中の菌相を解析した結果、計288,630 OTU配列を検出した。そのうち、54.9%が子囊菌門、43.4%が担子菌門、と約半数ずつであった。担子菌門の菌相は、66.1%がハラタケ目の腐生菌で、29.7%が Trichosporonales、次に Hymenochaetales の木材腐朽菌が上位で検出した担子菌18目のうち、6目が木材腐朽菌と最も多かった。次に、排泄した孢子について、排泄する孢子量と体内滞留期間を調べたところ、ヤマナメクジの孢子排泄期間は、最長7日、最短2日、平均4.23日であった。1日の平均排泄孢子数の推定値は、1日目に最大104022728.3個、6日目に最小21501個であり、7

日目には 51501 個と推定された。発芽実験により、排泄物中の孢子とコントロール孢子の発芽率を比較すると、すべての菌種の孢子でコントロールよりも高いか同程度の発芽率を示していた。また孢子は、培地での培養前の排泄物中でも、ヒラタケ 7.5%、トキイロヒラタケ 4.3%、ナラタケモドキ 3.75%の発芽率を示していた。最後に、林床でのヤマナメクジの移動距離と移動パターンを調査した。5 時間の移動距離は最大 10.35m で、移動距離 3m 未満の個体は 5 個体、3m 以上の個体数は 10 個体であった。また、ヤマナメクジが移動中に到達した倒木の本数は、3m 未満移動したグループの平均本数は 0.2 本で、3m 以上移動したグループは 2 本で、活発な個体は複数の倒木を渡り歩く様子が観察された。以上のヤマナメクジの孢子散布能力に関する調査から、ヤマナメクジは多くの材上生のキノコの孢子を摂食し、数万～数千個の孢子を平均 4 日間排泄し続けており、主に、倒木上を好んで生息することがわかった。また、排泄した孢子は発芽力を保持（または促進）していた。これら結果から、ヤマナメクジは他の孢子散布動物に比べて移動力が乏しいものの、発芽能力を保持した状態の孢子を、主に材上生のキノコの生息環境に適した倒木に運搬する確率が高いと考えられる。また、実際にヤマナメクジは木材腐朽菌を最も摂食していたことから、ヤマナメクジは材上生の腐生菌や木材腐朽菌に適した孢子散布者としての潜在能力を有することが示唆された。

続いて、ヤマナメクジのキノコ菌種に対する嗜好性を調査するため、キノコの子実体全 7 目 14 科 19 属 43 種を用いた嗜好性実験を行った。その結果、ヤマナメクジは外生菌根菌であるアケボノドクツルタケとニセクロハツのみに、100%の忌避率を示した。一方、木材腐朽菌とリター分解菌には忌避反応を示さなかった。次に、ヤマナメクジがアケボノドクツルタケに含まれるアマニチン毒を忌避した可能性を検証するために、アマニチン毒耐性の評価を行った。その結果、1000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、100 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ すべての濃度で全個体が生存しており、ヤマナメクジは高いアマニチン毒耐性があることがわかった。これらのことから、ヤマナメクジはアケボノドクツルタケの匂いを忌避したと考えられる。

次に、嗜好性実験でヤマナメクジが 100%忌避した、アケボノドクツルタケの匂いの利用について明らかにするために、アケボノドクツルタケが生産する匂いからヤマナメクジとショウジョウバエ 3 種に忌避効果のある成分の同定を行った。まず、アケボノドクツルタケに含まれる忌避効果のある匂い成分を検出するため、野外で採集した子実体の匂い成分分析を行った。全 4 目 8 科 11 属

22 種の子実体の分析の結果、種・成熟度・捕集方法別に 48 試料から 65 種の匂い成分が検出された。これらのうち、アケボノドクツルタケから検出された匂い成分から、忌避効果のある匂い成分候補を 6 種選出した。これら選出した匂い成分を試料に用いて、ヤマナメクジの反応の観察を行った。その結果、アケボノドクツルタケの腐敗期に産生される Dimethyl trisulfide (DMTS) を含む試料に対して 100%の忌避率を示した。また、アケボノドクツルタケの孢子散布期に生産する成分である 1-Pentanol、 Ethyl butyrate、2-Propyl-1-pentanol に対しては忌避効果を示した。これらの結果から、アケボノドクツルタケは、孢子生産期～散布期には 1-Pentanol、 Ethyl butyrate、2-Propyl-1-pentanol、そして腐敗期には DMTS を用いて、ヤマナメクジによる被食を回避している可能性が示唆された。

次に、ショウジョウバエ 3 種の菌食性 *D. angurialis*、バクテリア食性 *D. busckii*、果実食性 *D. melanogaster* の匂い成分に対する反応を観察した。その結果、*D. angurialis* と *D. busckii* ではすべての匂いで誘引や忌避の反応はみられなかった。一方、*D. melanogaster* は 1-pentanol とその他成分を 2 つ以上の組み合わせと、3-octanone、 2-propyl-1-pentanol、Ethyl butyrate に対して、忌避反応が認められた。以上で観察された *D. melanogaster* と *D. angurialis*、*D. busckii* 2 種の反応の違いは、種ごとの食性や幼虫の生息環境の違いを反映している可能性があることが示唆された。

本研究では、ヤマナメクジは木材腐朽菌と生息地を共有し、孢子散布に貢献していること、外生菌根菌のアケボノドクツルタケが生産する 5 種の匂い成分がヤマナメクジを忌避させていること、ショウジョウバエ 3 種間で匂い成分に対する感受性がことなること、以上のことが明らかになった。

平成 31 年 1 月 31 日

学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

キノコとキノコ食性動物の匂いコミュニケーション—特にキノコ食性ナメクジとの関係—

2. 論文提出者 (1) 所 属 自然システム学 専攻

(2) 氏 名 北林慶子 きたばやし けいこ

3. 審査結果の要旨（600～650 字）

... 本論文はキノコの匂いを介した捕食者との関係や生存戦略を明らかにすることを目的とし、菌食性で学習能力の高い動物であるヤマナメクジを用い、1) 様々な菌種に対する嗜好性の調査、2) ヤマナメクジの腐朽木間の移動パターン、摂食した腐朽性菌類子実体胞子の発芽活性の調査、3) ヤマナメクジが忌避・誘引したキノコの揮発性物質の分析とその候補物質を用いたバイオアッセイ、を行った。ヤマナメクジは木材腐朽菌の子実体を嗜好した。ヤマナメクジは点在する倒木間を渡り歩くように移動し、子実体を摂食後平均 4 日 最長 7 日間 1 日 2 万から 1 億個の胞子を排泄した。排泄された胞子は排泄時点でコントロールよりも高い発芽率を示した。合計 29 種のキノコでナメクジの摂食行動を観察した結果、有毒なアamaniチン含有するアケボノドクツルタケ *Amanita pallidorozea* に忌避反応を示した。キノコの匂い成分を GCMS で分析した結果、40 種の揮発性物質が検出され、そのうちの代表的な物質を用いて、バイオアッセイを行ったところ、*A. pallidorozea* から検出されたジメチルトリスルフィドに強い忌避反応を示した。また同種の子実体から検出した 3 種の揮発成分に対し反応を示し、3 つを組み合わせた場合に最も強い忌避反応を示した。これらのことから、キノコの匂いはナメクジの忌避行動を誘起することがわかった。キノコ食動物として普遍的に分布するナメクジや巻貝など陸生貝類の存在は知られているが、その生態はこれまで報告されていない。本研究で得られた成果は世界的に評価されることが期待できる。(630 字)

4. 審査結果 (1) 判 定 (いずれかに○印) ○ 合 格 ・ 不 合 格

(2) 授与学位 博 士 (理学)