

氏名(本籍)	吉浪 誠(千葉県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲第 35 号
学位授与年月日	2021 年 3 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 2 項該当
学位論文題名	食菌性害虫ヒラタチャタテ <i>Liposcelis bostrychophila</i> Badonnel の 摂食嗜好性を決定する糸状菌の特性に関する研究
論文審査委員	(主査) 古畑 勝則 (副査) 三宅 司郎 良永 裕子

論文内容の要旨

ヒラタチャタテは屋内性チャタテムシの代表種であり、一般家屋だけでなく、食品関連施設や製薬工場などの環境に普通に見られる。また、保存された食品や穀物に好んで生息するため、世界中で保存食品の害虫として、食品衛生上深刻な問題を引き起こしている。ヒラタチャタテは体長 1.0~1.3 mm で、成虫になっても翅がないタイプのチャタテムシである。また、雌のみで単為生殖し、生涯で約 110 個の卵を産むため、非常に高い繁殖能力を持っている。さらに、食物がなくても最大 2 ヶ月間生存可能で、屋内環境でも短期間で定着できる。食性は雑食性であるが、特にビール酵母や糸状菌を好むことが報告されている。食品関連施設や製薬工場などの施設環境に繁殖した糸状菌にヒラタチャタテなどの食菌性チャタテムシが大量発生し、体表や糞を介して環境に糸状菌を拡散させる事例が非常に多い。したがって、施設内に繁殖した糸状菌が増加すると、環境に生息するチャタテムシの数も増加するため、これらのチャタテムシは糸状菌の繁殖の指標となっている。また、ヒラタチャタテは多種の殺虫剤に耐性を持ち、その防除が困難となるため、施設内の糸状菌の繁殖を防いで、チャタテムシの発生を予防する対策が基本となる。チャタテムシの発生予防には、嗜好性が高い糸状菌の種類を理解することが重要であるが、ヒラタチャタテの糸状菌の嗜好性や、嗜好性が高い糸状菌の特性に関する研究はみられない。一方で、ヒラタチャタテなどの殺虫剤抵抗性昆虫を防除するための効果的な手段として、物理的対策や環境的対策などを統合した防除手法である総合的害虫管理 (Integrated Pest Management, IPM) が最近注目されている。IPM の基本は、対象となる害虫の発生状況をモニタリングし、適切な対策を早期に行うことであり、このモニタリングを効果的に行うためには、害虫を誘引する有効な物質や手段が求められる。これまでもヒラタチャタテを効果的に捕獲できるトラップを開発するために、

紫外線や餌を使った誘引剤について様々な研究がなされてきたが、摂食嗜好性が高い糸状菌をモデルとして、その嗜好性に関する要因を多角的に解明し、誘引へ応用した研究はみられない。

そこで、本研究では食品関連施設で見られる代表的な糸状菌を対象に、ヒラタチャタテの摂食嗜好性を評価し、嗜好性の高い糸状菌の形態的特性、光学的特性、生化学的特性、糸状菌によって産生される臭気物質などの要因とそれらの関連性について検討した。本研究の概要は以下のとおりである。

I. 糸状菌に対する摂食嗜好性評価

室内環境から採取した 4 種の糸状菌、すなわち *Aspergillus tubingensis*、*Aspergillus flavus*、*Penicillium chrysogenum*、*Cladosporium cladosporioides* を供試菌として、ヒラタチャタテの摂食嗜好性試験を行った。供試菌を発育させた直径 8 mm ペーパーディスク（糸状菌ディスク）を直径 9 cm のプラスチックケースに等間隔で配置し、成虫 30 頭をケース中央から放虫した後、装置を $27 \pm 1^\circ\text{C}$ （湿度 80% 以上）に設定したインキュベーターに保管した。保管後 2~4 日目に各ディスク上に集まった個体数を毎日計測し、3 日間の合計数を比較した（ $n=10$ ）。その結果、供試菌のなかで、最も嗜好性の高かった糸状菌は *P. chrysogenum* であった。次いで、*C. cladosporioides*、*A. tubingensis* と続き、*A. flavus* の嗜好性が最も低かった。また、*P. chrysogenum* と *C. cladosporioides* のディスク上の菌糸や胞子は摂食され、菌体はほとんど残っていなかったが、*A. tubingensis* と *A. flavus* の菌体は摂食されていなかった。これらの結果から、ヒラタチャタテは糸状菌の種類によって異なる摂食嗜好性を示すことが明らかとなり、*P. chrysogenum* の嗜好性が最も高いことが判明した。

II. 摂食嗜好性に関わる糸状菌の形態的、光学的および生化学的特性

嗜好性評価試験において最も嗜好性が高かった *P. chrysogenum* の形態的、光学的、生化学的特性について、供試菌の他 3 種と比較し、ヒラタチャタテの摂食行動と、嗜好性を決定する糸状菌の特性との関連性を調べた。まず、形態的特性について、糸状菌コロニーの表面特性および高さ、胞子の形状およびサイズ、菌糸の太さを拡大観察した結果、*P. chrysogenum* と *C. cladosporioides* のコロニー表面は滑らかで、菌糸が密に発育したピロード状であった。一方、*A. tubingensis* と *A. flavus* のコロニー表面は不均一で、菌糸の密度が粗い粉状であった。*P. chrysogenum* と *C. cladosporioides* のコロニーの高さは 200 μm 、*A. flavus* は 400 μm 、*A. tubingensis* は 1,000 μm であり、高さに大きな差が見られた。ヒラタチャタテは、糸状菌の摂食時に、脚を曲げ、口器を糸状菌の位置まで下げて菌体を顎で剥し取っていた。ヒラタチャタテの体高は 300~400 μm で、口器は頭部の下面に位置し、頸部の駆動域が小さいため、口器よりも低い位置の餌を摂食しやすい体の構造となっていた。*P. chrysogenum* および *C. cladosporioides* のコロニーの高さは、ヒラタチャタテの体高よりも低かった。また、菌糸と胞子は、ヒラタチャタテの口器よりも低い位置で密集して発育していたため、これらの菌体を容易に食べることができた。これらの結果より、ヒラタチャタテの糸状菌摂食時の行動が明らかとなり、この摂食行動の詳細については世界で初めての報告である。さらに、ヒラタチャタテは、コロニーの高さが低い

ビロード状の糸状菌である *P. chrysogenum* および *C. cladosporioides* を餌として好むことが判明した。

次に、糸状菌を UV 照射 (330~385 nm) 下で観察した結果、*A. tubingensis* と *A. flavus* の菌糸は発光したが、摂食嗜好性の高い *P. chrysogenum*、*C. cladosporioides* の菌糸は発光せず、発光しない糸状菌の方が、嗜好性が高いことが示唆された。さらに、糸状菌ディスクの pH を測定した結果、*P. chrysogenum* を含む他の供試菌は 5.2~6.6 であったが、*A. tubingensis* は 3.1 と酸性を示した。*A. tubingensis* は嗜好性評価試験においては、2 番目に嗜好性が高かったが、ディスクの菌体は摂食されずに残っていたことから、糸状菌を餌としてではなく、虫体よりも高い菌糸のコロニーを潜伏場所としていたことが推察された。

Ⅲ. 糸状菌の臭気による嗜好性評価および臭気物質の同定

糸状菌が産生する臭気物質による嗜好性について、自作の嗅覚誘引装置を用いて評価を行った。装置は中央ボックスと 4 つのチャンバーで構成され、各チャンバーに 4 種の糸状菌ディスクを配置し、中央ボックスに向かって、各チャンバー側から空気が流れるように調整した。成虫 120 頭を中央ボックスから放虫し、装置を 27±1℃ (湿度 80%以上) に設定したインキュベーターに保管した。保管後 3 日目に各チャンバー内の個体数を計測した (n=5)。その結果、*P. chrysogenum* の糸状菌ディスクを置いたチャンバーで最も多くの個体数が確認された。次いで、*C. cladosporioides*、*A. flavus* が多く、*A. tubingensis* は誘引された個体数が最も少なかった。摂食嗜好性評価の結果と同様に、臭気による評価試験においても *P. chrysogenum* が高い嗜好性を示し、ヒラタチャタテの摂食行動を誘発させる臭気物質の産生が示唆された。

そこで、*P. chrysogenum* が産生した臭気物質を同定するため、各糸状菌ディスクの臭気物質を GC/MS で測定した結果、35 種類の臭気物質が検出された。嗜好性が最も高かった *P. chrysogenum* から検出された物質は 9 種類 (styrene、1,5-octadien-3-ol、1-octen-3-ol、3-octanone、4-methylundecane、2,6,10-trimethyldodecane、3,3,4-trimethyldecane、3,4,5,6-tetramethyloctane、butylated hydroxy toluene) であり、このうち 1,5-octadien-3-ol と 2,6,10-trimethyldodecane は、*P. chrysogenum* のみから検出された。したがって、これらの臭気物質がヒラタチャタテの誘引物質の候補であることが示唆された。

このように、本研究では、ヒラタチャタテの糸状菌の摂食嗜好性試験の結果により、糸状菌の種類によって嗜好性が異なり、食品関連施設で一般的に見られる 4 種の糸状菌の中では、*P. chrysogenum* が最も嗜好性が高いことが明らかになった。また、ヒラタチャタテの嗜好性が高い糸状菌の特性との関連性を検討し、摂食嗜好性を決定する糸状菌に共通する要因を特定した。すなわち、ヒラタチャタテにとって嗜好性の高い糸状菌は、口器よりも低い位置で密集して発育するビロード状のコロニーを形成し、また紫外線照射下で菌糸は発光しない種類であった。さらに、これらの糸状菌は特定の臭気物質を

産生し、ヒラタチャタテは摂食嗜好性の高い糸状菌の臭気を探知できるものと考えられた。

これらの結果により、食品工場や食品貯蔵施設、製薬工場など多くの施設で問題となっているチャタテムシの防除において、チャタテムシの繁殖リスクが高い糸状菌の種類を把握することの有効性が示された。また、こうした糸状菌をモニタリングすることにより、チャタテムシの発生リスクを早期に予測することができる。さらに、施設環境に存在するリスクの高い糸状菌を積極的に除去することができれば、チャタテムシをはじめとする食菌性害虫の発生予防につながると考えられた。一方で、本研究で明らかになった糸状菌が産生する特定の臭気物質など、嗜好性の高い糸状菌がもつ共通の特性は、チャタテムシの効率的なモニタリングおよび捕獲に必要な誘引剤の開発などに応用が可能であり、世界的に検討が進められているチャタテムシに対する総合的有害生物防除（IPM）の手法の発展につながると考えられた。

論文審査の結果の要旨

ヒラタチャタテは屋内性チャタテムシの代表種であり、一般家屋だけでなく、食品関連施設や製薬工場などの環境に普通に見られる。また、保存された食品や穀物に好んで生息するため、世界中で保存食品の害虫として、食品衛生上深刻な問題を引き起こしている。ヒラタチャタテは体長 1.0~1.3 mm で、成虫になっても翅がないタイプのチャタテムシである。また、雌のみで単為生殖し、生涯で約 110 個の卵を産むため、非常に高い繁殖能力を持っている。さらに、食物がなくても最大 2 ヶ月間生存可能で、屋内環境でも短期間で定着できる。食性は雑食性であるが、特にビール酵母や糸状菌を好むことが報告されている。食品関連施設や製薬工場などの施設環境に繁殖した糸状菌にヒラタチャタテなどの食菌性チャタテムシが大量発生し、体表や糞を介して環境に糸状菌を拡散させる事例が非常に多い。したがって、施設内に繁殖した糸状菌が増加すると、環境に生息するチャタテムシの数も増加するため、これらのチャタテムシは糸状菌の繁殖の指標となっている。また、ヒラタチャタテは多種の殺虫剤に耐性を持ち、その防除が困難となるため、施設内の糸状菌の繁殖を防いで、チャタテムシの発生を予防する対策が基本となる。昆虫の発生予防には、チャタテムシの嗜好性が高い糸状菌の種類を理解することが重要であるが、ヒラタチャタテの糸状菌の嗜好性や、嗜好性が高い糸状菌の特性に関する研究はみられない。一方で、ヒラタチャタテなどの殺虫剤抵抗性昆虫を防除するための効果的な手段として、物理的対策や環境的対策などを統合した防除手法である総合的害虫管理（IPM）が最近注目されている。IPM の基本は、対象となる害虫の発生状況をモニタリングし、適切な対策を早期に行うことであり、このモニタリングを効果的に行うためには、害虫を誘引する有効な物質や手段が求められる。これまでもヒラタチャタテを効果的に捕獲できるトラップを開発するために、紫外線や餌を使った誘引剤について様々な研究がなされてきたが、摂食嗜好性が高い糸状菌をモデルとして、その嗜好性に

関する要因を多角的に解明し、誘引へ応用した研究はみられない。

そこで、食品関連施設で見られる代表的な糸状菌を対象に、ヒラタチャタテの摂食嗜好性を評価し、嗜好性の高い糸状菌の形態、光学的特性、生化学的特性、糸状菌によって産生される臭気物質などの要因とそれらの関連性について検討を行った。

室内環境から採取した 4 種の糸状菌、すなわち *Aspergillus tubingensis*、*Aspergillus flavus*、*Penicillium chrysogenum*、*Cladosporium cladosporioides* を供試菌として、ヒラタチャタテの摂食嗜好性を検討した結果、最も嗜好性の高かった糸状菌は *P. chrysogenum* であった。次いで、*C. cladosporioides*、*A. tubingensis* と続き、*A. flavus* の嗜好性が最も低かった。また、*P. chrysogenum* と *C. cladosporioides* のディスク上の菌糸や胞子は摂食され、菌体はほとんど残っていなかったが、*A. tubingensis* と *A. flavus* の菌体は摂食されていなかった。これらの結果から、ヒラタチャタテは糸状菌の種類によって異なる摂食嗜好性を示すことが明らかとなり、*P. chrysogenum* の嗜好性が最も高いことが判明した。

また、嗜好性評価試験において最も嗜好性が高かった *P. chrysogenum* の形態、光学的、生化学的特性について、供試菌の他 3 種と比較し、ヒラタチャタテの摂食行動と嗜好性を決定する糸状菌の特性との関連性について検討したところ、*P. chrysogenum* と *C. cladosporioides* のコロニー表面は滑らかで、菌糸が密に発育したビロード状であった。一方、*A. tubingensis* と *A. flavus* のコロニー表面は不均一で、菌糸の密度が粗い粉状であった。*P. chrysogenum* と *C. cladosporioides* のコロニーの高さは 200 μm 、*A. flavus* は 400 μm 、*A. tubingensis* は 1,000 μm であり、高さに大きな差が見られた。ヒラタチャタテは、糸状菌の摂食時に、脚を曲げ、口器を糸状菌の位置まで下げて菌体を顎で剥き取っていた。ヒラタチャタテの体高は 300~400 μm であり、口器は頭部の下面に位置し、頸部の駆動域が小さいため、口器よりも低い位置の餌を摂食しやすい体の構造となっていた。*P. chrysogenum* および *C. cladosporioides* のコロニーの高さは、ヒラタチャタテの体高よりも低かった。また、菌糸と胞子は、ヒラタチャタテの口器よりも低い位置で密集して発育していたため、これらの菌体を容易に食べることができた。これらの結果より、ヒラタチャタテの糸状菌摂食時の行動が明らかとなり、この摂食行動の詳細については世界で初めての報告である。さらに、ヒラタチャタテは、コロニーの高さが低いビロード状の糸状菌である *P. chrysogenum* および *C. cladosporioides* を餌として好むことが判明した。次に、糸状菌を UV (330~385 nm) 照射下で観察した結果、*A. tubingensis* と *A. flavus* の菌糸は発光したが、摂食嗜好性の高い *P. chrysogenum*、*C. cladosporioides* の菌糸は発光せず、発光しない糸状菌の方が嗜好性が高いことが示唆された。さらに、糸状菌ディスクの pH を測定した結果、*P. chrysogenum* を含む他の供試菌は 5.2~6.6 であったが、*A. tubingensis* は 3.1 と酸性を示した。*A. tubingensis* は嗜好性評価試験においては、2 番目に嗜好性が高かったが、ディスクの菌体は摂食されずに残っていたことから、糸状菌を餌としてではなく、虫体よりも高い菌糸のコロニーを潜伏場所としていたことが推察された。

さらに、糸状菌が産生する臭気物質による嗜好性について、自作の嗅覚誘引装置を用いて評価を行っ

た結果、*P. chrysogenum* の糸状菌ディスクを置いたチャンバーで最も多くの個体数が確認された。次いで、*C. cladosporioides*、*A. flavus* が多く、*A. tubeingensis* は誘引された個体数が最も少なかった。摂食嗜好性評価の結果と同様に、臭気による評価試験においても *P. chrysogenum* が高い嗜好性を示し、ヒラタチャタテの摂食行動を誘発させる臭気物質の産生が示唆された。

そこで、*P. chrysogenum* が産生した臭気物質を同定するため、各糸状菌ディスクの臭気物質を GC/MS で測定した結果、35 種類の臭気物質が検出された。嗜好性が最も高かった *P. chrysogenum* から検出された物質は9種類(styrene、1,5-octadien-3-ol、1-octen-3-ol、3-octanone、4-methylundecane、2,6,10-trimethyldodecane、3,3,4-trimethyldecane、3,4,5,6-tetramethyloctane、butylated hydroxy toluene) であり、このうち 1,5-octadien-3-ol と 2,6,10-trimethyldodecane は、*P. chrysogenum* のみから検出された。したがって、これらの臭気物質がヒラタチャタテの誘引物質の候補であることが示唆された。

このように、ヒラタチャタテの糸状菌の摂食嗜好性試験の結果により、糸状菌の種類によって嗜好性が異なり、食品関連施設で一般的に見られる4種の糸状菌の中では、*P. chrysogenum* が最も嗜好性が高いことが明らかになった。また、ヒラタチャタテの嗜好性が高い糸状菌の特性との関連性を検討し、摂食嗜好性を決定する糸状菌に共通する要因を特定した。すなわち、ヒラタチャタテにとって嗜好性の高い糸状菌は、口器よりも低い位置で密集して発育するビロード状のコロニーを形成し、また紫外線照射下で菌糸は発光しない種類であった。さらに、これらの糸状菌は特定の臭気物質を産生し、ヒラタチャタテは摂食嗜好性の高い糸状菌の臭気、例えば 1,5-octadien-3-ol や 2,6,10-trimethyldodecane を探知できるものと考えられた。

本研究で明らかになった知見は、食品衛生学ならびに環境衛生学の発展に貢献するものであり、それ故に博士(学術)を授与するにふさわしい業績であると審査委員一同判断した。