

# カメムシタケの性状に関する研究

森林資源科学講座 森林資源生物学分野

佐々木史

## 【はじめに】

冬虫夏草菌は寄主となる昆虫体内に寄生し、死に至らしめた後に子実体を形成する昆虫病原菌であるが、幾つかの種類においては漢方薬として利用されることもある。冬虫夏草菌は特定の昆虫に選択的に寄生を行う場合が多い上、目的とする昆虫への病原力が強く、目的外の昆虫への影響が少ないことから害虫防除への使用が期待できる。

カメムシタケ(*Cordyceps nutans* Pat.)はカメムシ類にのみ寄生を行う子囊菌である。寄主であるカメムシ類は農林業で主要な害虫となっている種も多く含まれる。

本研究ではカメムシタケの性状を明らかにすることを目的として分離法の検討を行い、さらに得られた分離株を用いて生理的性状を検討した。また、寄主となるカメムシ類の種、子実体の形態、塩基配列の比較により種特性の検討を行った。

## 【材料および方法】

### < 菌株分離法の検討 >

カメムシタケは北海道大学苫小牧研究林において 2002 年 7~9 月に採取した。1 子実体からストローマを 5~6 片、虫体を 2 片に分断し、得られた各部位の切片を約半数ずつ 30 秒あるいは 5 分で 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> により表面殺菌を行った。滅菌水にて十分洗浄の後、ろ紙上で乾燥させ、Saboulaud-glucose 寒天培地に植菌した。子囊胞子は射出された胞子を培地上に画線培養することにより分離した。分離菌株の同定は子囊胞子由来菌株の菌叢との比較による判別の後、PCR-RFLP により確認した。

### < 培養特性の検討 >

分離菌株 3 系統を供試菌として使用した。温度試験は 5~35 °C まで 5 °C 刻みにインキュベーター内の温度を設定し、pH 6.5 で培養を行った。pH 試験は初発 pH を 5.0~11.0 まで 1.0 刻みに設定し 25 °C で培養を行った。基本培地として Saboulaud-glucose 寒天培地を用い、各系統について 6 反復、暗条件で 3 ヶ月間培養した。菌糸成長量(mm)は縦方向と横方向の平均値によって算出した。

### < 寄主特異性と種内変異の検討 >

2002 年 7~9 月に採取した 52 子実体の寄主の同定を行い、寄主の種ごとに 52 子実体のうち 3 系統ずつを供試菌とした。供試された子実体は 60 系統で乾燥標本にしたものである。子実体が 3 系統得られなかった場合は、得られた子実体の最大系統数を使用した。形態の比較のために各子実体について、子囊果、子囊、二次胞子の長さおよび幅を測定した。子囊果と子囊は 20 反復、二次胞子は 30 反復計測した。塩基配列の比較には、各供試菌の DNA を抽出し、PCR によって ITS 領域を増幅の後、5.8s rDNA の配列をオートシーケンサーで決定した。

## 【結果および考察】

### < 菌株分離法の検討 >

子囊胞子から分離した菌株のコロニーは白色~赤茶色と幅があり、1 ヶ月の伸長

が 10 mm 以下であった。ストローマまたは虫体由来の分離菌株で、子嚢胞子分離株と同様な菌叢形態を持ち、成長の遅いコロニーを形成した菌株を選び、子実体および子嚢胞子分離菌株と共に PCR-RFLP 解析した結果、すべて同一のパターンが見られ、分離の成功が確認された。分離菌株はストローマ 30 秒殺菌処理区とストローマ 5 分殺菌処理区ならびに虫体処理区の間有意差が見られ( $p < 0.008$ )、ストローマからの分離においては十分な殺菌時間である 5 分間が必要とされた。またストローマよりも虫体からの方が分離に適していることが示された。

#### < 培養特性の検討 >

温度試験では 20 および 25 において成長量が大きく、5、30 および 35 で伸長は見られなかった。カメムシタケの菌糸は低温下において伸長を行うことはできないようであるが、5 で培養した供試菌は試験後、室温に放置した所、菌糸の伸長が見られたことから、低温下では本菌は死滅しないが著しく活性が下がるようである。pH 試験では pH 7.0~9.0 において成長量が大きく、pH 5.0 で伸長は見られなかった。pH 10.0 と pH 11.0 ではごくわずかに伸長が確認された。一般的に菌類は弱酸性を好み、サナギタケやシネンシス冬虫夏草などの冬虫夏草も低 pH で伸長を行うことが可能である。その理由について、菌の生息環境の土壌が酸性であることが挙げられているが、カメムシタケにおいても生息環境調査の必要性が示唆された。

#### < 寄主特異性と種内変異の検討 >

寄主は、カメムシ 9 種が同定された(表)。1 子実体の子嚢果、子嚢、二次胞子の長さおよび幅について、寄主に対する特徴的な傾向は認められなかった。ITS1 および ITS2 の領域には数塩基配列が異なった系統が見られたが、これは個体変異であると考えられ、5.8s rDNA の配列は供試した全てが同一の配列となった。この配列は GenBank に登録されている中国で採取されたカメムシタケ 1 系統とも 100 % の相同であった。しかしながら、登録されている他のいくつかの系統とはかなり低い相同性を示した。従って、今回供試したカメムシタケは、寄主となるカメムシの種に因る特異性は確認されなかった。

表. 同定された寄主と子実体数

| 寄主   | 採取子実体数 |
|--|--------|
| <i>Acanthosoma denticaudum</i> Jakovlev(セアカツノカメムシ)               | 6      |
| <i>Acanthosoma forficula</i> Jakovlev(ヒメハサミツノカメムシ)               | 21     |
| <i>Acanthosoma haemorrhoidale angulatum</i> Jakovlev(ツノアカツノカメムシ) | 1      |
| <i>Acanthosoma labiduroides</i> Jakovlev(ハサミツノカメムシ)              | 11     |
| <i>Elasmucha putoni</i> Scott(ヒメツノカメムシ)                          | 1      |
| <i>Lelia decempunctata</i> Motschulsky(トホシカメムシ)                  | 6      |
| <i>Pentatoma japonica</i> Distant(ツノアオカメムシ)                      | 1      |
| <i>Pentatoma rufipes</i> Linnaeus(アシアカカメムシ)                      | 4      |
| <i>Urostylis annulicornis</i> Scott(ヘラクヌギカメムシ)                   | 1      |