

慶應義塾大学経済学部研究プロジェクト

最終成果論文（2021年度）

# 冬虫夏草とその宿主昆虫の食草および 生育条件に着目した環境動態解析

—ガヤドリナガミノツブタケを対象とした

安定同位体比分析—

経済学部 4年 学籍番号：21805694

氏名：笠原悠二

（指導教員：糟谷大河准教授）

語数：25,890 字（words）

# 目次

<b>1.</b>	<b>はじめに .....</b>	<b>1</b>
1.1.	食物連鎖・栄養段階 .....	1
1.1.1.	食物連鎖・栄養段階の概要 .....	1
1.1.2.	冬虫夏草における栄養段階 .....	4
1.2.	安定同位体比分析 .....	5
1.2.1.	安定同位体比分析の概要 .....	5
1.2.2.	食物網調査における安定同位体比分析の利用例 .....	6
1.2.3.	その他の用途での安定同位体比分析の利用例 .....	7
1.3.	本研究の調査地及び調査対象 .....	8
1.4.	本研究の目的 .....	10
<b>2.</b>	<b>材料及び方法 .....</b>	<b>12</b>
2.1.	実地調査 .....	12
2.1.1.	調査地 .....	12
2.1.2.	マエモンオオナミシヤクの概要 .....	14
2.1.3.	ガヤドリナガミノツブタケの概要 .....	15
2.1.4.	実地調査の時期及びその結果 .....	16
2.2.	材料 .....	19
2.3.	方法 .....	20
<b>3.</b>	<b>結果 .....</b>	<b>21</b>
3.1.	安定同位体比分析における評価結果 .....	21

<b>4. 考察</b> .....	<b>26</b>
4.1. 結果のうち有意な差異が認められないと考えられるもの .....	26
4.1.1. 考察評価外とした試料について.....	26
4.1.2. 炭素・酸素の安定同位体比分析結果について.....	28
4.2. 有意な差異が認められたもの .....	29
4.2.1. 地域差について .....	29
4.2.2. 陸上生態系における炭素・窒素移行に関する先行研究 .....	31
4.2.3. 栄養段階の移行について.....	32
4.2.4. 水素の分析結果について.....	37
4.3. 本調査地における調査対象生物の生活環 .....	39
4.4. 結論.....	43
<b>5. 謝辞</b> .....	<b>44</b>
引用文献 .....	45

# 1. はじめに

## 1.1. 食物連鎖・栄養段階

### 1.1.1. 食物連鎖・栄養段階の概要

食物連鎖という言葉があるように、生態系は多くの生物の捕食—被食関係に基づいて成立している。しかし、生態系は実際にはその他の関係を含む多くの相互作用の中で成立しているのではないだろうか。栄養の収受という観点から見ても、捕食者と被食者という一方通行の関係のみではなく、複数種が共生・共存関係にある場合が自然界では多く存在する。森林生態系における共生関係としては、植物の根に対して自らの組織を組み合わせて生きる菌根菌を例として挙げるができるだろう。菌根菌は、草本植物や木本植物の根圏に着生して炭水化物や窒素化合物などの栄養の授受を行うだけでなく、異なる植物間の栄養の受け渡し役も担っており、植物群落や森林の安定的成長を維持する役目を果たしている（畑・奈良, 1998, pp. 142-146）。生物は、このように生態系内で複数の役割を果たす中で、生態系の安定に寄与していると言える。Yodzis (2001) は、海洋生態系の調査を行うにあたって、生息するそれぞれの種の関係性を網目状に図示しており、文字通り食物網（food web）を定義し、描き出している（Yodzis, 2001）。

本研究での主な調査対象の一つの分類である冬虫夏草類も、生態系の中で非常に重要な役割を担っていることがある。冬虫夏草とは、広義には昆虫やクモ類などの節足動物に寄生し、それらの体表にきのこ状の子実体を形成する子嚢菌類の総称である。冬虫夏草類は、子実体の表面に粉状か、粘液質の分生子（無性孢子）を作るアナモルフ、すなわち無性世代や、有性生殖を行い減数分裂に

より子嚢胞子を形成するテレオモルフ、すなわち有性世代のいずれか、もしくはその両方の生活環を有する。一方、狭義の冬虫夏草は、中国とその近隣の高山帯にのみ分布するシネンシストウチュウカソウ *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora と、その近縁種である *Cordyceps aspera* Pat. や *O. crassispora* (M. Zang, D.R. Yang & C.D. Li) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora などの昆虫寄生菌を指す(日本冬虫夏草の会, 2014, p. 12)。本研究では、広義の冬虫夏草に位置づけられる菌類に焦点を当てる。冬虫夏草が生態系の中で直接に他の生物種に影響を及ぼすのは、主にその宿主や冬虫夏草の捕食者に対してである。例えば、地中の冬虫夏草が鳥類に掘り当てられて摂食されたり、菌食性の節足動物に冬虫夏草の子実体が摂食されたりすることがありうる（盛口, 1996, pp. 168-169、鎌田・佐藤, 1998, p. 176）。ところが、それら直接的に影響を及ぼす生物を通して、冬虫夏草は広く森林生態系にも大きな影響を及ぼすことがある。その一例として、サナギタケ *Cordyceps militaris* (L.) Fr. がその宿主であるブナアオシャチホコ *Syntypistis punctatella* Motschulsky を通してブナ林の生態系に与える影響が知られている。ブナアオシャチホコは、チョウ目シャチホコガ科に属する中形の蛾で、幼虫はブナ *Fagus crenata* Blume とイヌブナ *Fagus japonica* Maxim. の葉を食草とし、10年程度の周期で大発生をブナ林で繰り返している（鎌田・佐藤, 1998, pp. 158-160）。ブナアオシャチホコの大発生を抑制する生物に、目立った天敵として、鳥類や昆虫類などの捕食者、寄生蠅や寄生蜂などの寄生者などが存在する（同, pp. 153-154）。サナギタケは、夏に幼虫やさなぎの時期のブナアオシャチホコに子嚢胞子を飛ばし、翌年の夏ごろに子実体を大量に形成する（図 1）<sup>1</sup>。一方で、宿主に感染していない期間については、多くの菌類がそうしているよ

<sup>1</sup> 感染にあたっては、子嚢胞子が宿主の表皮に付着するのみでは感染しない。表皮の子嚢胞子が発芽し、菌糸がさなぎの表皮を突き破って体内に侵入することで感染する（同, pp. 168-169）。

うに、サナギタケもまた土壤中でアナモルフ（無性世代）の形態で生きながらえているのである。このようにサナギタケは、宿主が大発生した年以降の夏にも、子嚢胞子を通して宿主に菌糸を侵入・感染させておくことで、大発生後数年にわたって、ブナアオシャチホコの個体数減少に一役買っているのである（同, pp. 189-190）。これに関して、鎌田・佐藤（1998）は、サナギタケがブナアオシャチホコを宿主とする利点について、①サナギタケの子実体の発生時期と幼虫期間が重なっていること、②土の温度が菌の感染に適する 8月に幼虫が蛹化のために土の中に潜ること、③さなぎの期間がおよそ 9か月と長いこと、の 3 点を挙げている（同, pp. 193-196）。

冬虫夏草類には、不特定多数の宿主を持たず、特定の生物種を宿主として感染し、宿主の生活環に依存した生活史を全うする種が多く見られる。このような進化を遂げている背景としては、特定の種や環境に依存することで、安定した栄養源や生育環境が手に入るということが推測される。ところが、冬虫夏草類について、このような宿主依存的な生活環を形成する効果を実証することは難しく、宿主と寄生菌の間の栄養段階や生活環の関係について実証的な研究を行うことには重要な意義がある。

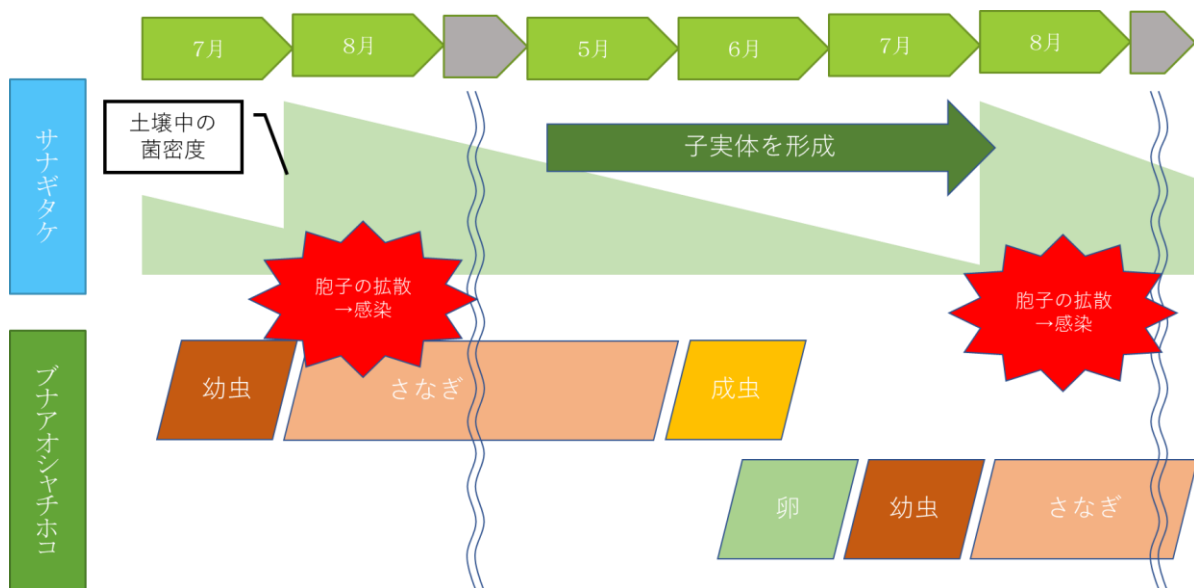


図 1 サナギタケとブナアオシャチホコの生活環（鎌田・佐藤, 1998, p. 201 を改変）

### 1.1.2. 冬虫夏草における栄養段階

それでは、冬虫夏草が生きるにあたって、栄養はその宿主からどのように移行しているのだろうか。特定の宿主に感染した冬虫夏草が寄生した宿主から栄養を得ているのであろうことは、視覚的に容易に想像される。しかし、寄生菌は宿主に感染して即座に子実体を形成するとは限らない。宿主に特定の形態的变化があった場合や気温・湿度などの環境変化があった場合に一気に感染を進行させて栄養を吸収することがあるからである<sup>2</sup>。そのため、成虫の宿主昆虫に発生する冬虫夏草には、宿主が幼虫の段階で得た栄養を利用して成長する場合と、成虫の段階で得た栄養を利用している場合とがあると推測される。また、宿主から得た栄養については、直接の利用はせずに、それらを用いて何らかの化合物を生成し、吸収している可能性が考えられる。

しかし、冬虫夏草が具体的にどのような栄養源に依存して生存しているか、また、得た栄養を直接的に利用しているか否かなどは、見た目には明らかではない。例えば、Guo et al. (2017) は、シネンシストウチュウカソウの同一個体の宿主及び子実体の部分を細かく分割した上で、炭素安定同位体比分析を行い、宿主から子実体への栄養段階の移行が推測されることを示している。このように、冬虫夏草が栄養源を何に依存しているかということを検証するにあたっては、裏付けとなる実験が必要となる。Guo et al. (2017) では、炭素安定同位体

---

<sup>2</sup> Araújo et al. (2018) は、台湾アリタケ *Ophiocordyceps unilateralis* (Tul. & C. Tul.) Sacc.を含むアリ生の *Ophiocordyceps* 属の冬虫夏草について形態的特徴の比較を行っており、アリ生の冬虫夏草に多く見られる特徴として、冬虫夏草の胞子の拡散に有利なように、宿主を木の枝の上方に移動させてから感染を進行させるという行動を挙げている。この他にも、サナギタケは、宿主が蛹の期間のみならず幼虫の期間に感染したとしても、繁殖に有利な蛹の期間までその感染の進行を遅らせることが知られている（鎌田・佐藤, 1998, pp. 194-195）。このように、最初の感染時期に関わらず、自身の生存や繁殖に有利なように子実体形成の時期を遅らせる冬虫夏草の例が存在する。

を用いて、宿主と冬虫夏草の間で生物濃縮が発生していることが示唆されている。一方で、窒素安定同位体を用いた生物濃縮や栄養の移行についての検証や、宿主の食草と宿主自身、およびそれに寄生する冬虫夏草との間の関係についての検証は行われておらず、冬虫夏草の栄養源を実証的に明らかにするためには不十分であった。そのため本研究では、炭素および窒素安定同位体を主な指標とし、食草・宿主・寄生菌のそれぞれについて安定同位体比分析を行うことで、対象となる冬虫夏草の栄養源について検証を行った。

## 1.2. 安定同位体比分析

### 1.2.1. 安定同位体比分析の概要

同位体とは、同じ元素のうち、原子核内の陽子の数が同じで中性子数が異なる元素のことを指す。同位体は、中性子数が異なるため重さがわずかに異なるほか、異なる性質を持つことがある。同位体は、三重水素  $3\text{H}$  など自然界では放射線を出しながら崩壊してしまう不安定な性質を持つ放射性同位体と、重水素  $2\text{H}$  など比較的安定した性質を持つ安定同位体の大きく 2 つに分かれる（山中, 2020, pp. 1-2）。

安定同位体とは、 $^{12}\text{C}$  と  $^{13}\text{C}$  など、自然界全体として一定割合で存在する比較的安定した同位体である。これら安定同位体のうち、自然界の中では、重い同位体の方が軽い同位体より多いことが一般的である。ただし、安定同位体の存在比は、自然界全体としては一定であっても、個々の生物や土壌のレベルでは様々な環境要因により差異が生じる（土井, 2016, p. 4）。元素の同位体は、熱力学的な性質がわずかに異なるため、重い同位体と軽い同位体の間で反応速度の違いが生じるが、この反応速度の違いを同位体効果（**isotope effect**）と呼ぶ（同, p. 4）。

安定同位体比分析は、安定同位体の僅かな存在比の差異をその熱力学的な性質を利用して検出することで、差異が生じた環境要因を推定する手法である。安定同位体比を決定する要因は、降水量、高度、海岸線からの距離、生物濃縮の有無など様々なものが考えられる（檜山ほか, 2008）。そのため、安定同位体比分析を行うにあたっては、差異を生じさせると推定されるような環境要因を特定し、それにあわせた分析対象を選定して比較することが重要となる。

### 1.2.2. 食物網調査における安定同位体比分析の利用例

安定同位体比分析の生態学的研究における主たる利用例としては、食物網の調査が挙げられる。ある生物の捕食者は、その捕食対象から栄養を得る。そのため、捕食者の安定同位体比は、捕食対象のそれを反映したものとなる。しかし、栄養段階の推移によって生物濃縮が引き起こされるため、安定同位体比は両者で必ずしも一致しない。生物濃縮の影響を強く受けた場合、窒素などの安定同位体比は、栄養を吸収する側でより高い同位体比となることが一般的となる。このような安定同位体比の性質を利用して、ある生物の安定同位体比を調べることで、その栄養源を明らかにする試みが広く行われている。

身近な生物であるほ乳類や鳥類の生物に対しても、安定同位体比分析は広く用いられている。David and Flaherty (2012) では、陸上および海上のほ乳類における安定同位体比分析研究が概観され、ほ乳類における生態系内での栄養の移行過程や濃縮の有無に関する検証に安定同位体比分析が有用であることが示されている。Kuwaie et al. (2008) では、シギ類の一種であるヒメハマシギの栄養源を調べるため、安定同位体比分析を行っている。その結果、それまで重要な栄養源だと考えられてきた甲殻類などの大型底生生物のみではなく、バイオフィームと呼ばれる微細生物の集まりや底生微細藻類が栄養源として重要な役割を果たしていることが明らかとなっている（Kuwaie et al., 2008）。

安定同位体比分析による食物網の検証を行っている例のうち、冬虫夏草類に比較的近い分野を対象としたものには、菌根菌や菌従属栄養植物、昆虫などの先行研究が存在する。**Bidartondo et al. (2004)** は、光合成をほとんど行わないラン科の植物に着目し、ラン菌根の安定同位体比分析を行うことで、これらの植物が菌根菌に栄養のほとんどを依存していることを明らかにしている。**Johansson et al. (2015)** は、複数種のツツジ科の植物に対する共生菌の安定同位体比の変化に着目し、それぞれ共生菌に栄養を依存しているものの、依存度については種間で差異が見られることを示した。また、**Rooney et al. (2006)** は、陸上生態系における腐食食物網に着目し、陸上食物網の捕食者の多くが、実は腐食食物網由来の栄養に依存していることを明らかにしている。このように、栄養に関して依存関係にある種間であっても、その程度は様々であるため、その詳細を安定同位体比分析で明らかにしようとする試みに意義があるのである。

### 1.2.3. その他の用途での安定同位体比分析の利用例

安定同位体比分析の手法は、ヒトを含む霊長類についても有効であると考えられる。**Crowley (2012)** は、ヒト以外の霊長類に対する安定同位体分析を行う際に必要となる具体的な試料や手順を概観し、霊長類の摂食形態を定量化するためにこの手法が有用であることを示した。**Kusaka et al. (2010)** では、炭素および窒素の安定同位体比を用いて縄文人の食生活の変遷を分析しており、地域によって、海産物と陸産物の摂取割合が異なることを示唆している。人類学・考古学の分野では、実物をもとにした検証が難しいことが多い一方で、このような安定同位体分析の手法は、食性や生活史を調査する上で一定の有用性があると考えられる。

安定同位体比は、分析に供する試料の環境情報を反映するため、環境動態解析の手法としても用いられる。この性質を産業面で応用し、各種農林畜産物や

水産物の産地識別手法としての利用が進められている。産地識別の対象としては、牛肉や米などの事例が進んでいる（中下ほか, 2008、鈴木ほか, 2009）。その一方で、菌類における事例も存在する。Chung et al. (2019) は、韓国産および中国産の乾燥シイタケに対し、安定同位体比分析を行い、酸素や窒素の安定同位体比が産地識別に重要な要素であることを明らかにしている。

このように、安定同位体比分析の手法は、環境情報の定量化を通して、様々な応用の可能性が存在する技術である。

### 1.3. 本研究の調査地及び調査対象

本研究においては、茨城県常陸大宮市家和楽の鉱山跡において報告されているガヤドリナガミノツブタケ *Akanthomyces tuberculatus* (Lebert) Spatafora, Kepler & B. Shrestha、マエモンオオナミシヤク *Triphosa sericata* Butler を主な調査対象として安定同位体比分析による環境動態解析を行う。調査地である鉱山跡地の廃坑は、形成されてから 100 年程度が経過した、砂岩および泥岩を主成分とする人工的な洞窟となっている（菊池ほか, 2020）。本調査地の洞窟は、洞窟という環境の性質上、気温や湿度は年間を通して比較的安定している上、外界からの生物の侵入も少ない。そのため、宿主を含む栄養源さえ安定的に確保できれば、寄生菌にとって非常に生育しやすい環境である。

一般的に、マエモンオオナミシヤクは、1 年の周期で生活環を全うし、洞窟内で越夏・越冬を行い、成体となってからは目立った捕食行動を取らないという生態がある（駒井ほか, 2011, p. 850）。そのため、成虫になってからの主な栄養源は、幼虫の時期に摂食した食草に全面的に依存すると考えられる。本調査地の洞窟は、本種の越夏・越冬のための休眠場所となっており、本種に寄生して発生する冬虫夏草の一種であるガヤドリナガミノツブタケの周期的な発生箇

所ともなっている。一般的に、ガヤドリナガミノツブタケは、広く蛾類の成虫を宿主としており、日本各地に広く分布する（日本冬虫夏草の会, 2014, p. 100）。実際の分析対象となるガヤドリナガミノツブタケおよびマエモンオオナミシヤクは、坂井ほか（2018）の示すように、本調査地の洞窟内で例年夏頃に確認されているが、その生態の詳細な調査は行われていない。そのため、調査時に分析のための試料の採集に併せて、それらの生態的特徴を明らかにすることも必要である。

ガヤドリナガノミツブタケは、本調査地の洞窟において経年的に発生が報告されている（坂井ほか, 2018）一方で、洞窟という環境の性質上、広く胞子を分散させることは難しく、栄養源についても非常に制限を受けていると推測される。そのため、宿主となるガの成虫が一定の場所で一定期間休眠をする事実が重要となる。先述のサナギタケがブナアオシャチホコに著しく依存した生活環を形成していたことと同様に、ガヤドリナガミノツブタケにおいても、安定した生活環を形成する上で宿主昆虫の生活環が非常に重要な要素なのではないかと推測される。安定同位体比分析は、既存の研究で示されている食物網を定量化するために有用な手法であるが、分析を行うためには、栄養段階の推移が一定程度明確になっている必要がある。本調査地においては、非常に閉鎖的な空間で両種が観察されているほか、周辺の森林でマエモンオオナミシヤクの幼虫の食草も採集することが可能である。そのため、実際に栄養源となっていると推測される試料を段階ごとに入手することが容易であり、安定同位体比分析によって冬虫夏草類の栄養源を検証するにあたって、好条件が揃っていると考えられるため、本研究での調査地および調査対象として設定した。

## 1.4. 本研究の目的

本研究では、茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟に発生するマエモンオオナミシヤクに感染するガヤドリナガミノツブタケの調査を行った。本研究の調査対象地では、洞窟という非常に閉鎖的な環境にも関わらず、経年的にガヤドリナガミノツブタケの子実体が発生したマエモンオオナミシヤクの個体が観察されている（坂井ほか, 2018）。そのため、先述のサナギタケの例のように、宿主と寄生菌の生活環や栄養段階が密接に結びついていると考えられる。一方で、サナギタケが宿主を持たない期間そうしているように、ガヤドリナガノミツブタケも洞窟内の土壌などから腐生的に栄養を得ている可能性が推測される。これについて、本研究では主たる目的と副次的な目的をそれぞれ1つ設定したい。

第一に、本研究の主たる目的は、冬虫夏草類の栄養源に関する予察を行うことにある。冬虫夏草類のテレオモルフにおいては、一般に、宿主から栄養や水分を奪って吸収し、生育している。一方で、アナモルフの形態や胞子の段階でも一定の栄養や水分を得ることで生命の維持をしていると推察される。また、それらの栄養源としては、①完全に宿主からの栄養に依存している場合、②周囲の土壌や空気中からも吸収している場合、の2つが予想される。①の場合についても、(1)宿主からの栄養素をそのまま利用している場合、(2)代謝により化合物を生成し、それらを体内で栄養として用いる場合、の2つが予想される。本研究では、安定同位体比分析により、主に窒素に着目して評価を行うことで、宿主昆虫や周辺環境から寄生菌への栄養段階の移行についての予察を行う。

次に、本研究の副次的な目的として、本調査地におけるマエモンオオナミシヤクおよびガヤドリナガノミツブタケの生活環の解明が挙げられる。ガヤドリナガミノツブタケは、広く蛾類の成虫を宿主とし、秋以降に子嚢胞子が成熟した子実体が観察されることが多い（日本冬虫夏草の会, 2014, p. 100）。しかし、

本調査地の洞窟においては、かねてより菌類研究者の間で 6-8 月ごろにその成長した姿が観察されている（坂井ほか, 2018）。後述のマエモンオオナミシヤクの具体的な生活環と併せると、本調査地における両種的生活環は、一般的な報告例とは異なるものが形成されている可能性が考えられる。標本を採取する過程で、両種の個体数およびその様子を観察することで、本調査地における両種的生活環について明らかにすることも、本研究の副次的な目的となるだろう。

## 2. 材料及び方法

### 2.1. 実地調査

#### 2.1.1. 調査地

本研究では、茨城県常陸大宮市家和楽に所在する、2 か所の鉱山跡地の廃坑において調査を行った（図 2, 図 3）<sup>3</sup>。本調査においては、地質を含む来歴について同様の特徴を持ち、100 m 程度近隣に存在する 2 つの洞窟において調査・採集を行っている。標本のうち、寄生菌と宿主については、洞窟内で採取を行い、宿主の食草であるクマヤナギ *Berchemia racemosa* Sieb. et Zucc. については、洞窟周辺の二次林の林縁で採取を行った。また、土壌については、洞窟の壁面および地面、クマヤナギ採取地の周囲で試料を約 10 g 採取した。ここで、調査対象とした洞窟の性質を概観する。坑道は、主に砂岩と泥岩で構成されており、そこに発達する金を含む石英脈のため掘削されたものである。2 つの洞窟のうち、大きい方の洞窟の高さは 1.5-2 m 程度、全長は 100 m を超えるとされ、内部には 10 を超える分岐が存在する（菊池ほか, 2020）。小さい洞窟の高さは同じく 1.5-2 m 程度であるが、分岐はなく全長は 20 m 程度であるため相対的に閉鎖的な環境であることが調査の過程で認められた。

洞窟内部では、天井から雨水が染み出す様子が観察され、洞窟の至る所で 10-30 cm 程度の浸水が確認された。洞窟内には、鍾乳洞に形成されるような氷柱状の二次生成物が確認された。これについて、菊池ほか（2020）は、炭酸カ

---

<sup>3</sup> 調査を行った洞窟は、近隣の 2 つの洞窟であるため、以降においては、その区別をするためにその長さによって便宜的に区別し、長い洞窟を「大穴」、短い洞窟を「小穴」と表記することがある。

ルシウムの沈殿・付着や雨水が染み出してきたことにより、100年前後の長期間で形成されたと推測されるとしている。したがって、洞窟を形成する岩石の成分や染み出してきている雨水の成分は、洞窟内の土壌の安定同位体比に影響を与える要素となる。

両洞窟は共に出入口は1つのみであり、調査対象含む諸生物もそこから出入りしていると考えられる。実地調査において、洞窟内には、調査対象の他にマダラカマドウマ *Diestrammena japonica* Blatchley や宿主昆虫の捕食者であるコキクガシラコウモリ *Rhinolophus cornutus* Temminck およびモモジロコウモリ *Myotis macrodactylus* Temminck が観察された。洞窟内の地面には、雨水のほか、これらコウモリの仲間のものであると思われる排泄物が堆積しており、これらの要素も洞窟内の土壌の安定同位体比に影響を与える要素と考えられる。

試料のうち、クマヤナギについては洞窟の周辺の二次林の林縁で採取を行った。クマヤナギが採取された周辺の土壌は、ほとんどが腐植（植物の落ち葉や枯れた根が堆積したもの）となっており、その間を川や雨由来の水が染み出している様子が観察された。このような周囲の土壌の状態も安定同位体比に影響を与える要素となる。

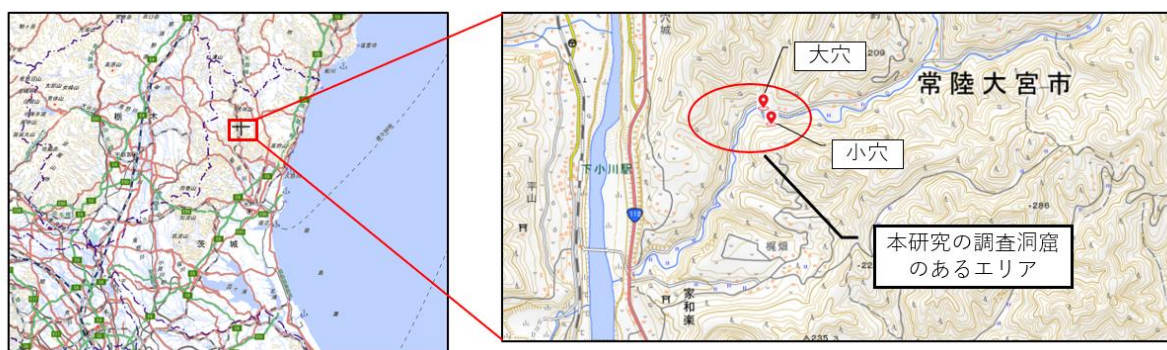


図 2 本研究の調査地の地図（茨城県常陸大宮市家和楽）（国土地理院, 2021）



図 3 調査を行った洞窟の概要

### 2.1.2. マエモンオオナミシャクの概要

本研究では、洞窟内に生息するマエモンオオナミシャクという蛾を主たる分析対象の1つとして据えている。マエモンオオナミシャクは、シャクガ科ナミシャク亜科の蛾であり、翅の色はやや赤みを帯びた淡灰褐色で、翅を広げた大きさは、40-45 mm 程度となる。分布は、北海道から九州まで日本各地にわた

る。本種は春に交尾産卵し、夏に羽化、さらに翌春に交尾産卵という生活環を繰り返すが、成虫は洞穴などに入って越夏・越冬するという点に特徴がある（岸田, 2011, pp. 265-266）。つまり、一般的に蛾や蝶のような鱗翅目昆虫は、卵や蛹の形態で厳しい環境を乗り越えることが多い一方で、本種は成虫のまま洞窟という閉鎖環境に潜むことによって、越夏・越冬する。このように、本種は特に晩秋から初春にかけて長期間休眠をするという、他の蛾類には見られない特異的な性質を持つ。幼虫は、本研究で分析対象としたクマヤナギのほか、クロウメモドキ *Rhamnus japonica* var. *decipiens* Maxim.をはじめとしたクロウメモドキ科の植物を食草とする。

マエモンオオナミシヤクの和名は、古くはマエモンウスグロオオナミシヤクとされていたが、井上ほか（1982）においては、現在の名称に改称されている。上述の通り、本種は一般には春先にかけて交尾を行うとされているが、岐阜県の鍾乳洞内で8月に交尾中の個体が報告されている（岸田, 2011, pp. 265-266）ように、生態については依然として不明な点が多い。

### 2.1.3. ガヤドリナガミノツブタケの概要

本研究では、マエモンオオナミシヤクに寄生して発生が確認されているガヤドリナガミノツブタケも主たる分析対象としている。ガヤドリナガミノツブタケは、ガの成虫に寄生する気生型の冬虫夏草であり、宿主の体表を覆うように白色の菌糸を伸ばした後、淡黄色の子実体を形成する（日本冬虫夏草の会, 2014, pp. 100-101）。従来、子嚢殻の色や形状によって、アメイロスズメガタケ、ガヤドリキイロツブタケと呼ばれていたが（清水, 1994, p. 220）、系統学的には同種であると考えられる。従来、本種は *Cordyceps* 属に含められ、*Cordyceps tuberculata* f. *molleri* (Henn.) Kobayasi という学名で認識されてきたが、Kepler et al. (2017) により、系統学的手法に基づきその分類の再検討が行われた結果、

*Akanthomyces* 属として分類され、*Akanthomyces tuberculatus* (Lebert) Spatafora, Kepler & B. Shrestha という学名に変更されている。本種が感染してから子実体が成熟するまでの期間にはバラツキが見られ、前年の冬に感染した個体が、翌年の春や夏に観測された事例も存在する（日本冬虫夏草の会, 2014, pp. 100-101）。

#### 2.1.4. 実地調査の時期及びその結果

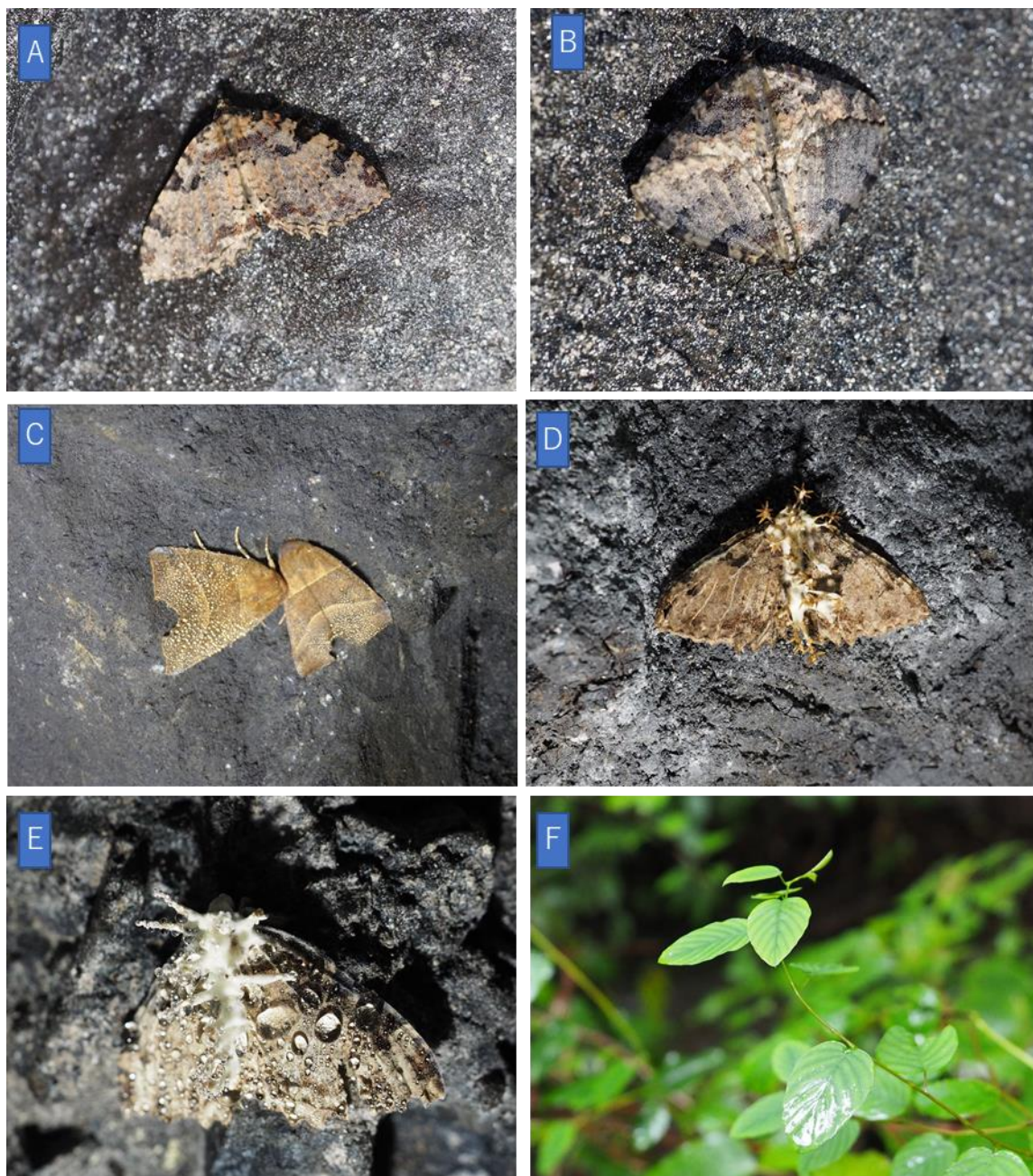
実地調査は、2021年6月30日、9月1日、11月3日の3回実施した。調査地はいずれも上述の通りであり、2地点の洞窟内を目視で観察を行った。調査日のいずれにおいても天候は安定しており、採取時点において雨水の直接的な影響は認められなかった。

調査結果として、6月30日および9月1日の調査においては、いずれもマエモンオオナミシヤクの活動中の個体およびガヤドリナガミノツブタケの発生が確認される個体の双方が観察された。ガヤドリナガミノツブタケは、図4のD,Eで示すように、観察時点で子囊殻を形成している個体も形成していない個体も観察された。そのため、成長速度や感染時期について一概に判断を行うことは難しい。感染が確認された宿主の表面は菌糸で覆われていたほか、脚の部分が硬直化し、壁面や天井から落ちにくい状態となっていた。マエモンオオナミシヤクについては、両方の調査において、活動中の個体が大量に観察され、交尾中の個体も観察された。壁面や天井に止まっている個体についても、活動中であることが観察され、感染しているものの菌糸が発生していない個体は観察されなかった。

11月3日の調査においては、ガヤドリナガミノツブタケの子実体発生が確認される死亡個体が数体観察された一方で、活動中・休眠中のマエモンオオナミシヤク個体は発見されなかった。また、6月30日と9月1日の調査においては観察されなかったマエモンオオナミシヤクのものと思われる翅が、洞窟内の地

面および水面に落下していることが観察された。

合計 3 回の調査において、マエモンオオナミシヤク、ガヤドリナガミノツブタケ、クマヤナギのほか、洞窟およびその周辺の土壌や、洞窟内に生息する蛾類である、プライヤキリバ *Goniocraspidum pryeri* Leech の標本の採取を行った（図 4）。プライヤキリバについては、マエモンオオナミシヤクのほかに当該洞窟に生息が確認されている蛾の一種であり、本研究の直接の分析対象ではないものの、マエモンオオナミシヤクを対象とした分析結果との比較のために採集した（図 4, C）。



- A：洞窟内で確認されたマエモンオオナミシヤク  
B：マエモンオオナミシヤクの交尾中の個体（6月30日の調査で確認）  
C：本調査地において比較のために入手をしたプライヤキリバ  
D：子囊殻の発生が確認されたガヤドリナガミノツブタケ（および感染したマエモンオオナミシヤク）  
E：ガヤドリナガミノツブタケの菌糸発生が確認されるマエモンオオナミシヤク（水滴は洞窟内の湿度によるもの）  
F：洞窟周辺において確認されたクマヤナギ

図 4 調査において採集した標本の一部

## 2.2. 材料

2021年6月から11月にかけて、茨城県常陸大宮市家和楽の鉾山跡地の洞窟を中心に野外調査を行い、合計23点の標本を収集した。標本のうち、蛾の試料については、比較のため、同調査地において採取されたプライヤキリバ1点を試料に含めている（表1）<sup>4</sup>。また、試料のうちM1については、採取時点でガヤドリナガミノツブタケとは異なる菌類の感染が目視で確認されており、考察にあたっては、後述の通りその評価対象から外している。クマヤナギについては、洞窟周辺において入手した試料3点のほか、地域比較のために茨城県つくば市筑波において採集された試料2点が含まれている。つくば市の試料については、ミュージアムパーク茨城県自然博物館の伊藤彩乃学芸員経由で入手した。土壌については、調査を行った2つの洞窟の壁面・地面および洞窟周辺のクマヤナギ採取地から計6点を試料とした。入手した標本については、プラスチック製容器に入れてシリカゲルで包埋した後に、冷蔵庫で4℃で自然乾燥させて乾燥標本を作製し、紙製の標本袋に入れて保存した。表1は、本研究で安定同位体比分析を行った試料の概要をまとめたものである<sup>5</sup>。

---

<sup>4</sup> プライヤキリバについては、ガヤドリナガミノツブタケの宿主としては報告例がなく、本試料についても、寄生菌の感染は確認されていない。安定同位体は試料の周囲の環境情報を反映するため、基本的にはマエモンオオナミシャクと比較した際に有意な差異が出るとは考えにくい。種による差異が発生するかを簡易的に判断するため、試料として加えている。

<sup>5</sup> 表に示す標本の分類について、以降の文章においては、冬虫夏草にあたるものを「寄生菌」、宿主の蛾およびその比較標本にあたるものを「宿主」、宿主の蛾の食草にあたるものを「食草」、土壌に関するものを「土壌」、と簡便的に表記することがある。

表 1 本研究で分析を行った試料の概要

標本番号	分類	種名	採取地	採取年月日	採取者
K1	冬虫夏草	<i>Akanthomyces tuberculatus</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/6/30	笠原悠二
K2	冬虫夏草	<i>Akanthomyces tuberculatus</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/6/30	笠原悠二
K3	冬虫夏草	<i>Akanthomyces tuberculatus</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/6/30	笠原悠二
K4	冬虫夏草	<i>Akanthomyces tuberculatus</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/6/30	笠原悠二
K5	冬虫夏草	<i>Akanthomyces tuberculatus</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/9/1	笠原悠二
K6	冬虫夏草	<i>Akanthomyces tuberculatus</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/11/3	笠原悠二
K7	冬虫夏草	<i>Akanthomyces tuberculatus</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/11/3	笠原悠二
M1	宿主の蛾	<i>Triphosa sericata</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/6/30	笠原悠二
M2	宿主の蛾	<i>Triphosa sericata</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/6/30	笠原悠二
M3	宿主の蛾の比較サンプル	<i>Goniocraspidum pryri</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/6/30	笠原悠二
M4	宿主の蛾	<i>Triphosa sericata</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/6/30	笠原悠二
M5	宿主の蛾	<i>Triphosa sericata</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/9/1	笠原悠二
S1	宿主の蛾の食草	<i>Berchemia racemosa</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟周辺	2021/9/1	笠原悠二
S2	宿主の蛾の食草	<i>Berchemia racemosa</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟周辺	2021/9/1	笠原悠二
S3	宿主の蛾の食草	<i>Berchemia racemosa</i>	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟周辺	2021/9/1	笠原悠二
S4	宿主の蛾の食草（地域比較用）	<i>Berchemia racemosa</i>	茨城県つくば市筑波	2021/6/15	伊藤彩乃
S5	宿主の蛾の食草（地域比較用）	<i>Berchemia racemosa</i>	茨城県つくば市筑波	2021/6/15	伊藤彩乃
T1	冬虫夏草発生地付近の土壌	—	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/9/1	笠原悠二
T2	冬虫夏草発生地付近の土壌	—	茨城県常陸大宮市家和楽のクマヤナギ採取地	2021/9/1	笠原悠二
T3	冬虫夏草発生地付近の土壌	—	茨城県常陸大宮市家和楽のクマヤナギ採取地	2021/9/1	笠原悠二
T4	冬虫夏草発生地付近の土壌	—	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/11/3	笠原悠二
T5	冬虫夏草発生地付近の土壌	—	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/11/3	笠原悠二
T6	冬虫夏草発生地付近の土壌	—	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	2021/11/3	笠原悠二

## 2.3. 方法

安定同位体比分析用試料は、収集した標本から、剃刀の刃を用いて約 100 mg になるように分離・粉碎し、5 ml のマイクロチューブに封入をして作成した。このように作成した試料 23 点を昭光サイエンス株式会社に送付し、安定同位体比分析を委託した。具体的な分析機器として、炭素と窒素の安定同位体比分析には Model FlashEA1112-DELTA V PLUS ConFlo III System (EA-IRMS) を、水素と酸素の安定同位体比分析には TCEA-DELTA V PLUS ConFlo III System を用いた（いずれも ThermoFisher Scientific 製）。

### 3. 結果

#### 3.1. 安定同位体比分析における評価結果

分析を行った試料 23 点全てにおいて、炭素、窒素、水素、酸素いずれについても正常に分析結果が得られた。これら安定同位体比分析の結果は表 2 に示す通りである。これらの分析値を元に、安定同位体比の傾向を見るために 4 種類の元素それぞれの組み合わせで 2 軸散布図を作成したものが図 5.1-5.6 である。

なお、分析結果の評価・考察にあたっては、試料の分類を元に F 検定および t 検定を行い、グループ間の平均値の差が有意であるか否かの評価を行った（両側検定で有意水準 5% で評価を行った）。

この過程で、M1 のマエモンオオナミシヤクの試料について、同位体比の評価結果が他のマエモンオオナミシヤクの試料と比べて明らかに異常値となっていたため、考察にあたっては、その評価対象から外している。この原因について、当該試料については、前述のとおり採取の段階でガヤドリナガミノツブタケ以外の菌類が感染していることが目視で確認されていたため、組織の分解が進行していたことが推測される。

表 2 安定同位体比の分析結果

標本番号	分類	採取地	$\delta^{13}\text{C}$ [VPDB](‰)	$\delta^{15}\text{N}$ [Air](‰)	$\delta\text{D}$ [VSMOW](‰)	$\delta^{18}\text{O}$ [VSMOW](‰)
K1	冬虫夏草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-27.287	1.762	-50.5073	16.4824
K2	冬虫夏草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-30.081	2.54	-50.2828	14.1394
K3	冬虫夏草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-28.977	2.369	-46.6575	12.2392
K4	冬虫夏草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-32.144	2.257	-60.3709	14.7736
K5	冬虫夏草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-29.851	2.112	-113.0694	15.1372
K6	冬虫夏草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-30.9	3.293	-129.4085	16.6403
K7	冬虫夏草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-29.661	1.858	-47.0131	13.2659
M1	宿主の蛾	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-30.439	3.933	-82.0258	17.3527
M2	宿主の蛾	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-31.432	2.463	-224.993	14.7129
M3	宿主の蛾の比較サンプル	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-29.419	0.557	-207.9874	17.5306
M4	宿主の蛾	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-29.074	1.04	-154.6031	15.5585
M5	宿主の蛾	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-30.779	0.853	-182.878	15.9248
S1	宿主の蛾の食草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟周辺	-36.836	-2.252	-103.4249	16.7538
S2	宿主の蛾の食草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟周辺	-37.661	-1.836	-96.5636	16.5054
S3	宿主の蛾の食草	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟周辺	-36.614	-2.377	-84.3608	18.1701
S4	宿主の蛾の食草（地域比較用）	茨城県つくば市筑波	-31.614	-3.747	-92.1158	19.3241
S5	宿主の蛾の食草（地域比較用）	茨城県つくば市筑波	-31.76	-4.201	-88.8303	18.4075
T1	冬虫夏草発生地付近の土壌	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-29.773	0.499	-77.9397	8.5535
T2	冬虫夏草発生地付近の土壌	茨城県常陸大宮市家和楽のクマヤナギ採取地	-28.591	0.262	-65.3623	10.5548
T3	冬虫夏草発生地付近の土壌	茨城県常陸大宮市家和楽のクマヤナギ採取地	-28.691	0.466	-71.3518	12.3718
T4	冬虫夏草発生地付近の土壌	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-11.88	3.823	-75.5694	12.4387
T5	冬虫夏草発生地付近の土壌	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-15.666	4.899	-93.5223	5.4169
T6	冬虫夏草発生地付近の土壌	茨城県常陸大宮市家和楽の洞窟内	-25.949	4.441	-94.3634	1.4507

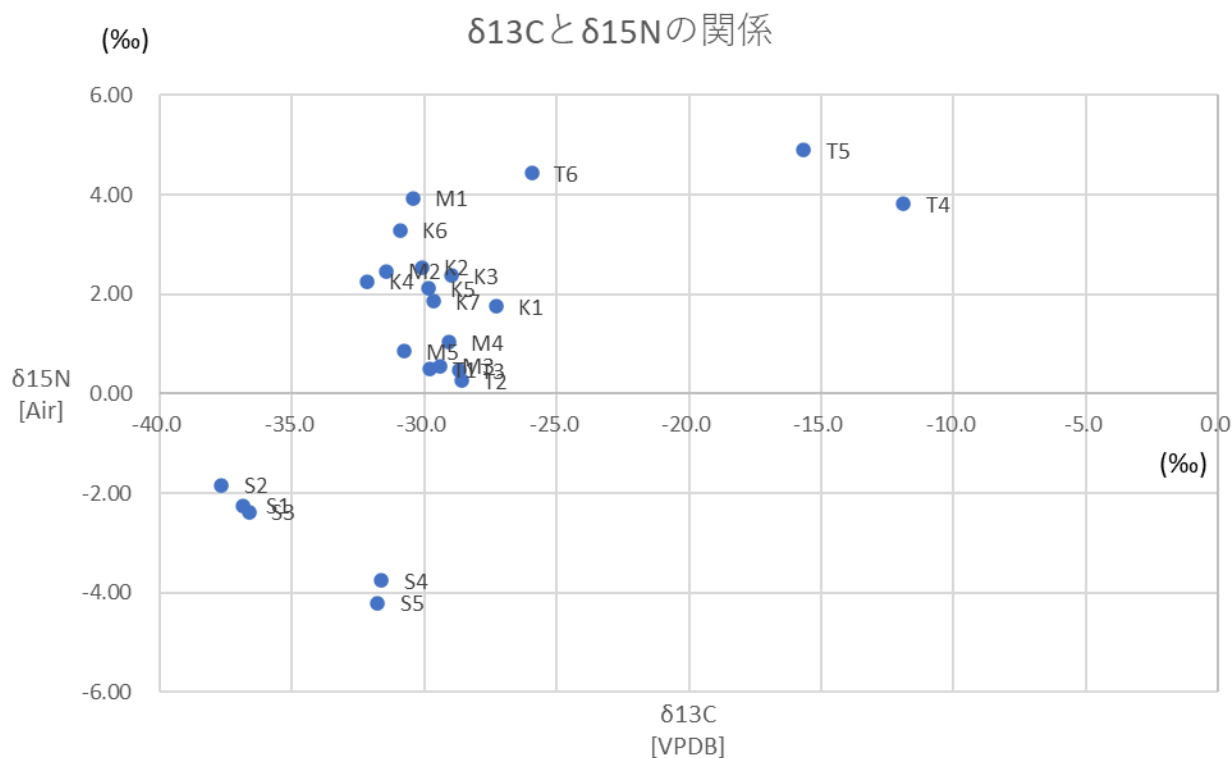


図 5.1 炭素と窒素の安定同位体比分析の結果散布図（全体）

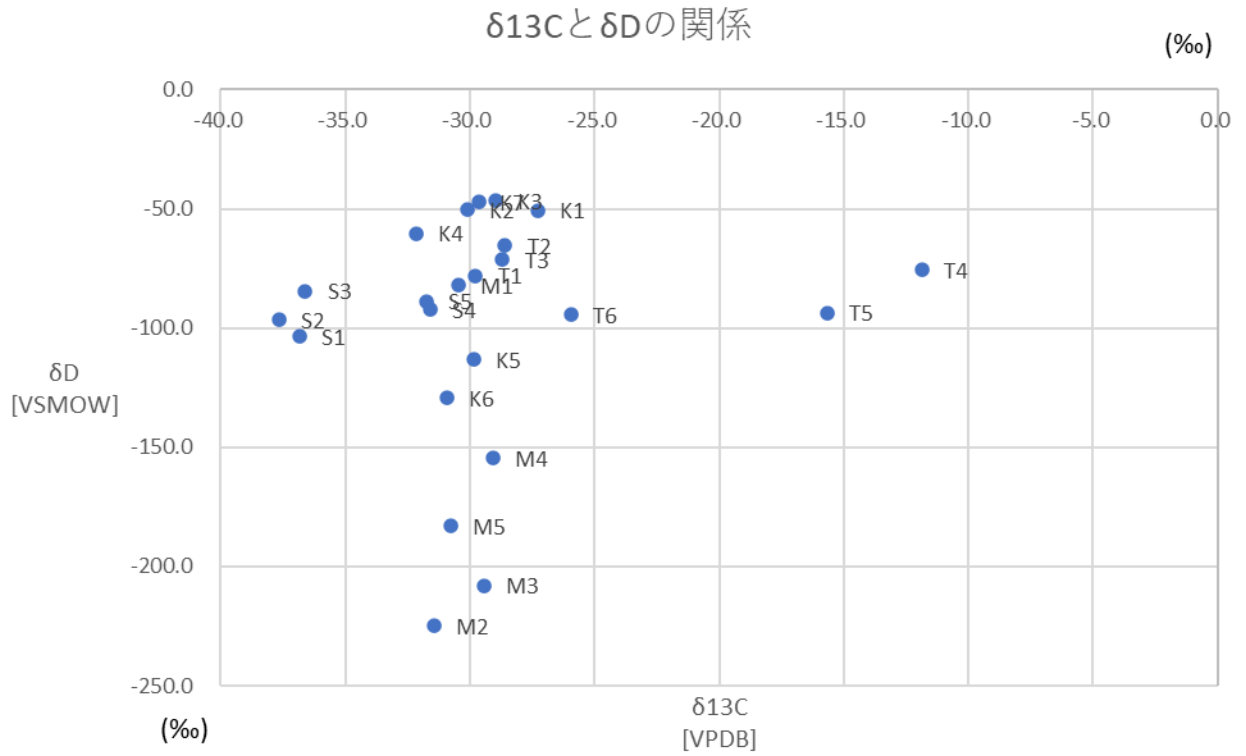


図 5.2 炭素と水素の安定同位体比分析の結果散布図（全体）

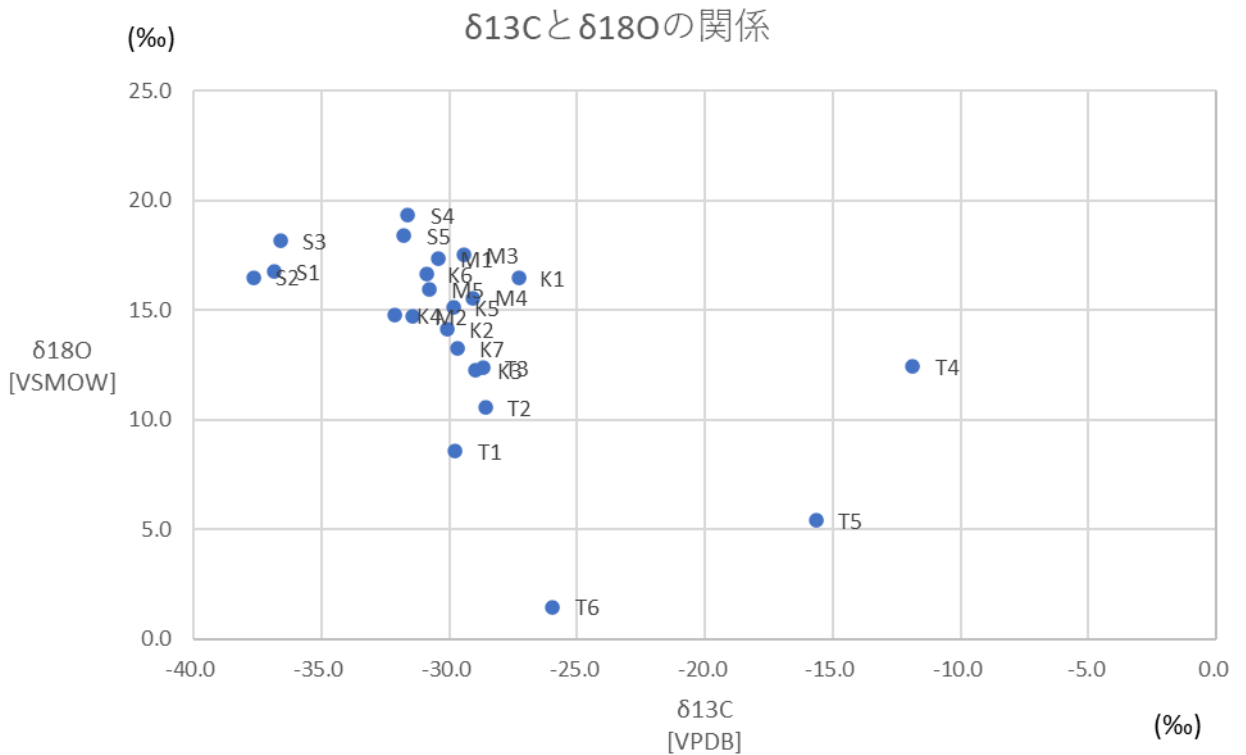


図 5.3 炭素と酸素の安定同位体比分析の結果散布図（全体）

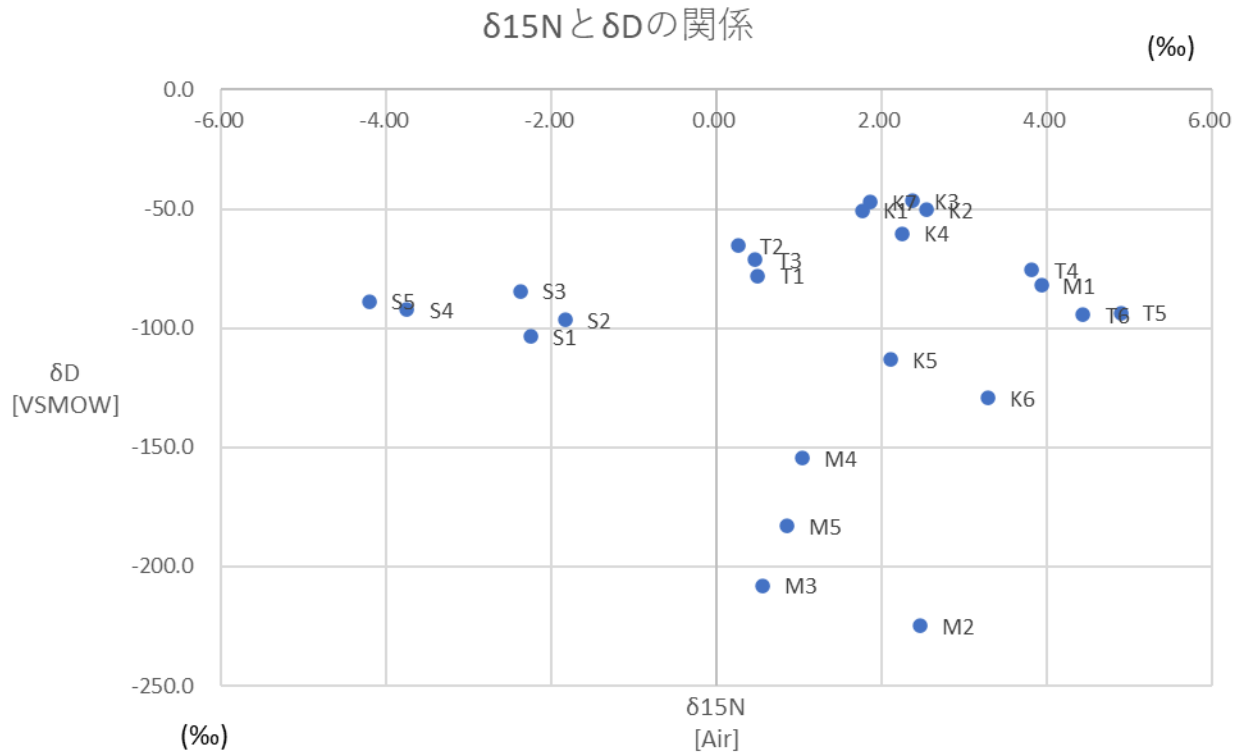


図 5.4 窒素と水素の安定同位体比分析の結果散布図（全体）

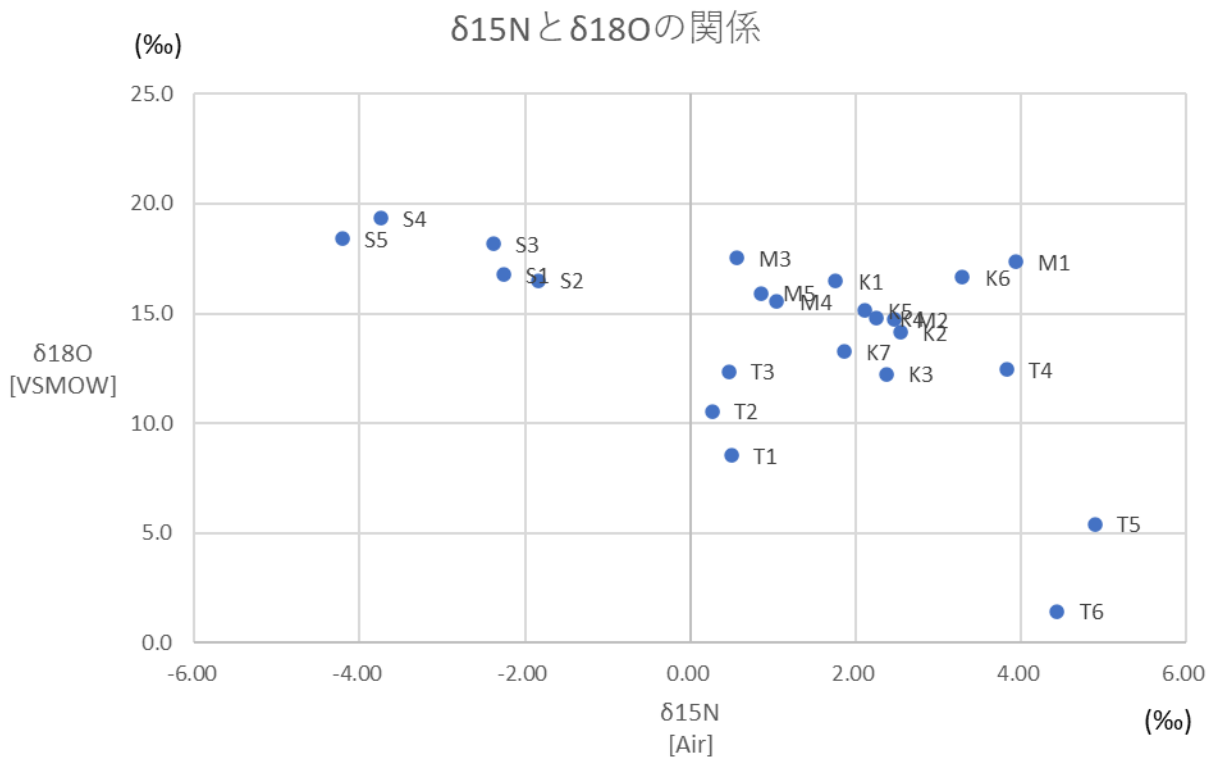


図 5.5 窒素と酸素の安定同位体比分析の結果散布図（全体）

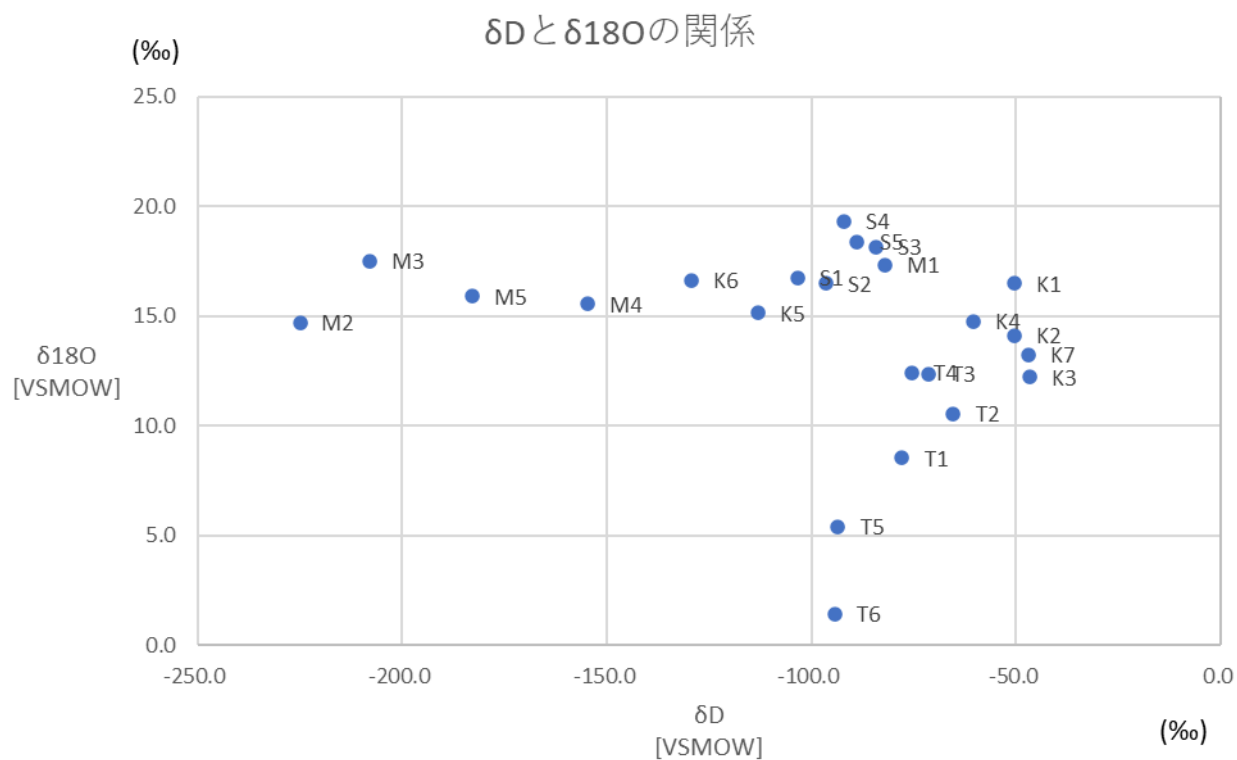


図 5.6 水素と酸素の安定同位体比分析の結果散布図（全体）

## 4. 考察

### 4.1. 結果のうち有意な差異が認められないと考えられるもの

#### 4.1.1. 考察評価外とした試料について

表 2 に示される安定同位体比分析を行った分析試料 23 点について、試料の分類に基づきグルーピングを行い、その結果の評価を行った。評価の結果、M1 のマエモンオオナミシヤクの試料および T1-T6 の土壌の試料については、合理的な関係性を他の試料との間で識別することができなかったため、以降の考察における評価の対象外としている。M1 の試料については、その原因については、ガヤドリナガミノツブタケ以外の菌類の感染であると考えられる。

土壌については、T1 から T6 までの試料において、いくつかの安定同位体比にバラつきが見られた。一般的に、土壌や川の水などについては、試料を入手した周囲の環境情報を反映すると考えられる。そのため、酸素や水素のような水由来の情報、炭素のような空気中の二酸化炭素由来の情報については、概ね一定でグルーピングされることが想定されていた。また、主に栄養段階の移行を反映する窒素の安定同位体比についても、概ね一定でグルーピングされることが想定されていた。しかし、T1 から T6 の試料については、特に炭素、窒素、酸素の安定同位体比について、図 6 で強調するように、一定程度のバラつきが見られた（図 6）。これらのバラつきについては、試料を入手した場所に関する情報と必ずしも合致するものではなかった（表 3）。バラツキの原因としては、洞窟内の土壌に関するものと、クマヤナギ採取地の土壌に関するものが考えら

れる。洞窟内の土壌については、雨水による溶解や石英脈の有無などにより洞窟内でも採取場所によって土壌の成分が異なっていた可能性、溜まっていた水に洞窟に生息する生物の排泄物が混入していた可能性などが考えられる。クマヤナギ採取地については、採取した土壌がほとんど腐植であったため、植物由来の情報を反映していた可能性が考えられる。いずれの要因に関しても、現存の判断材料で合理的な説明要素を特定することは困難であるため、以降の考察の対象外とした。

なお、土壌の安定同位体比分布は有意な関係性を認めることができなかったのに対し、食草・宿主・寄生菌については、後述の通り、主に炭素および窒素の安定同位体比の値からグルーピング可能であり、酸素については3分類について概ね同様の傾向となっている。よって、本研究の目的において示した仮説の1つであった、ガヤドリナガミノツブタケが洞窟内の土壌などから腐生的に栄養を得ている可能性は否定された。

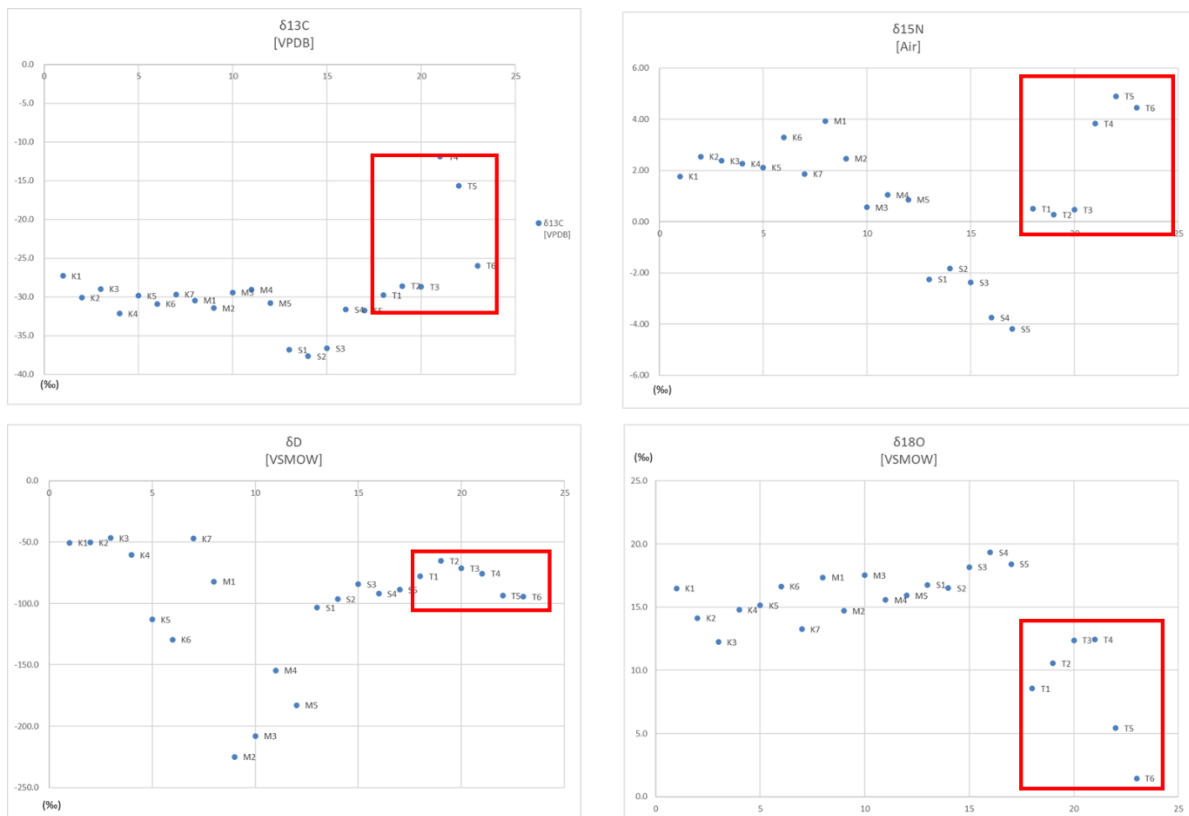


図 6 各同位体比における土壌試料のバラつき

表 3 土壌試料の具体的な採取地点

標本番号	土壌の具体的な採取地	採取年月日	採取者名
T1	茨城県常陸大宮市家和楽の小穴壁面の土	2021/6/30	笠原悠二
T2	茨城県常陸大宮市家和楽のクマヤナギ採取地	2021/9/1	笠原悠二
T3	茨城県常陸大宮市家和楽のクマヤナギ採取地	2021/9/1	笠原悠二
T4	茨城県常陸大宮市家和楽の大穴壁面の土	2021/11/3	笠原悠二
T5	茨城県常陸大宮市家和楽の大穴地面の土	2021/11/3	笠原悠二
T6	茨城県常陸大宮市家和楽の小穴地面の土	2021/11/3	笠原悠二

#### 4.1.2. 炭素・酸素の安定同位体比分析結果について

本研究で採取したガヤドリナガミノツブタケ、マエモンオオナミシヤク、クマヤナギの炭素と酸素の安定同位体比分析の結果に基づいて、散布図の作成を行った（図 7）。3 種の試料は、図 7 の赤線で示すように、概ね 1 つのグループとして評価することが可能であった。

炭素については、その影響要素は、後述する栄養段階の移行に関するものと、環境的な要因に関するものが考えられる。このうち、環境的な要因については、大気中の CO<sub>2</sub> の取り込みによる炭素同位体比の変動が挙げられる。この時、洞窟内で採取された試料については、洞窟という閉鎖環境内での CO<sub>2</sub> 取り込みの影響が反映されることとなるため、その影響は概ね同様になると推測される。そのため、概ね 1 つのグループとして評価した結果については、この推測と符合する。一方で、クマヤナギの試料については、いずれも洞窟外で入手している。よって、地域的にはほぼ同一であるが、CO<sub>2</sub> 取り込みの元となる大気の性質が若干異なることが想定される。そのため、図 7 の青枠で示すように、S1-3 のクマヤナギの試料について、K に示す寄生菌と M に示す宿主昆虫のグループとの間で、若干の差異が存在することについて特段の異常はないと考える。

酸素について、その影響要素は、採取地における水分の取り込みによる変動が考えられる。水分については、雨水もしくは雨水由来の河川からの水分が具

体的な影響要素となる。本研究においては、調査地は地理的に近接したほぼ同一地域であり、洞窟内に染み出す雨水もその由来としては、洞窟周囲に降った雨水と同一であると推測される。そのため、酸素に関して概ね1つのグループであると評価した結果について、特段の問題はないと考える。一方で、水素に関しては、後述するように蛾の試料を中心にバラつきが見られたため、水分由来の影響の正確な評価を行うにあたっては、現地の水の試料を別途入手して分析を行う必要がある。

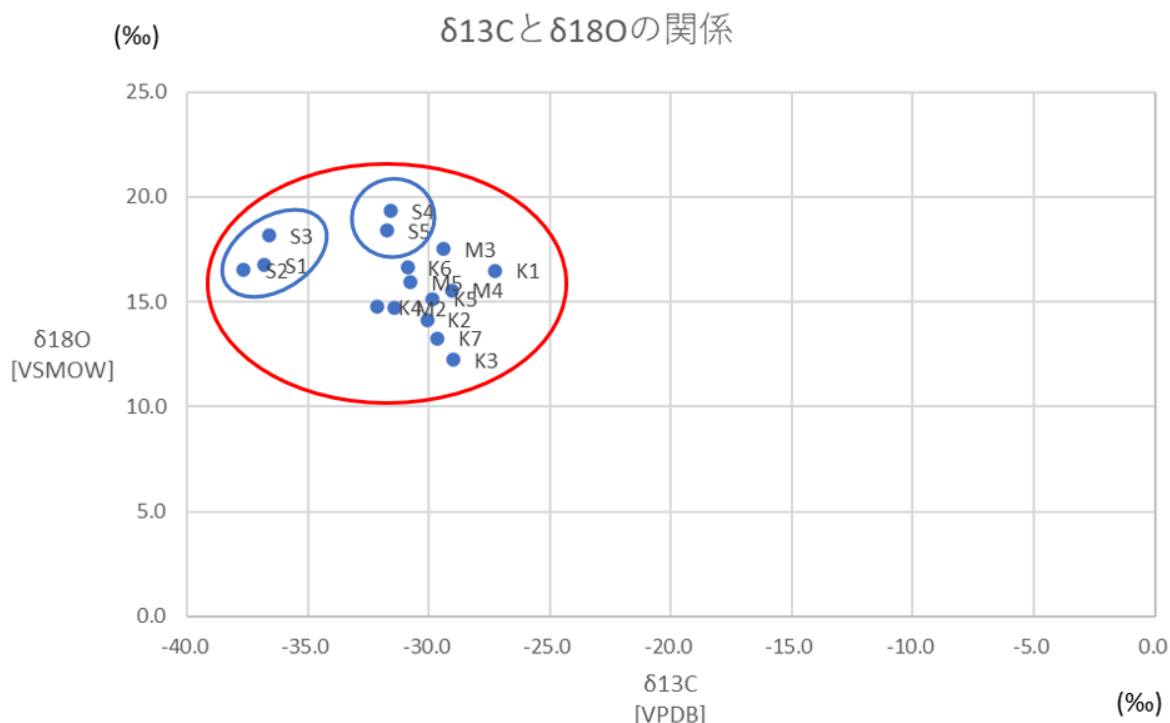


図 7 炭素と酸素の安定同位体比分析の結果散布図（食草・宿主・寄生菌）

## 4.2. 有意な差異が認められたもの

### 4.2.1. 地域差について

図 7 および図 8 の青枠で示すように、クマヤナギの試料について、炭素と窒素の安定同位体比において、S1-3 のグループと S4,5 のグループに分かれた。

S1-3 の試料については、茨城県常陸大宮市家和楽において採取された試料であり、S4,5 の試料については、茨城県つくば市筑波において採取された試料である。両地点は、距離的には 80 km 程度離れており、海拔高度は家和楽が約 100-200 m 程度であるのに対し、筑波は 700-800 m 程度の地域である（国土地理院, 2021）。地形的には、両者共に山間部、かつ海岸線からの距離も安定同位体比に影響を与えるほどの差異はなく、大きな影響があるとは考えにくい。しかし、家和楽と筑波という、同じ茨城県内の内陸部に位置する比較的近距離の地域においても、このような地理的要素が安定同位体比分析の結果に影響を与えることが示唆された。安定同位体比分析においては、複数の要因によって共通の指標が変動することになるため、同内容の研究を行うにあたっては、このような環境的影響を可能な限り認識することが、栄養段階の移行を検証する際には重要となるだろう。なお、以降の考察においては、地域的差異による影響を区別するため、クマヤナギの分析値のうち、つくば市で採取された S4,S5 の結果を除外して図を作成している。

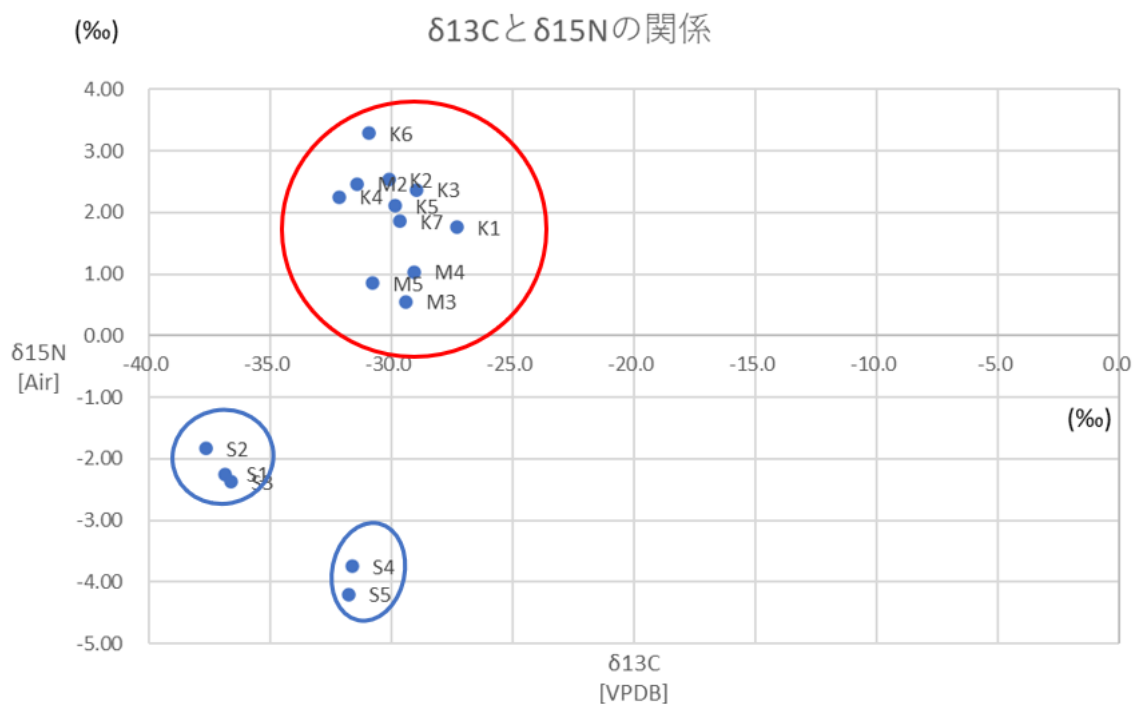


図 8 炭素と窒素の安定同位体比分析の結果散布図（食草・宿主・寄生菌）

#### 4.2.2. 陸上生態系における炭素・窒素移行に関する先行研究

本研究の主な目的は、冬虫夏草類の栄養源に関する予察を行うことにあった。安定同位体比分析を用いた陸上生態系における栄養源に関する先行事例については、炭素や窒素を分析の指標に用いたものが存在する。Herrera et al. (2003) は、熱帯雨林に生息する多種類の鳥類について、炭素安定同位体比 ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) と窒素安定同位体比 ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) を用いて分析を行い、鳥類の栄養源が果実や種子などの植物由来を中心にするか、昆虫などの動物由来を中心にするかによって窒素の安定同位体比が約 4‰異なることを示している。また、昆虫を栄養源としている場合に、餌となる昆虫が食べていた植物の炭素安定同位体比によって、その捕食者である鳥類の炭素安定同位体比も変動することが示唆されている (Herrera et al., 2003)。このように、捕食者の窒素および炭素の安定同位体比は、その捕食対象の分類や捕食対象が食べていたものの安定同位体比に影響を受ける。

陸上生態系における安定同位体比分析の先行事例のうち、他の生物に栄養源を依存している生物の事例に、菌従属栄養植物の例が挙げられる。菌従属栄養植物は、光合成による栄養分の生成を縮小させ、共生菌から受け取る栄養分を主たる栄養源とする植物であるが、その形態は実に多様である。部分的菌従属栄養の状態では、光合成に由来する炭素と共生菌に由来する炭素の両方を有している状態となる (遊川, 2014)<sup>6</sup>。部分的菌従属栄養の場合、その炭素安定同位体比は、独立栄養の場合とも菌従属栄養の場合とも異なるため、安定同位体比分析において、その差異を分析することが可能となる。Gebauer and Meyer

---

<sup>6</sup> 菌由来の栄養を得るにあたっては、完全に自らの光合成により栄養を得る「独立栄養」と、菌由来に完全に依存する「菌従属栄養」という状態の間に、「部分的菌従属栄養」という状態が存在する。

(2003) は、菌従属栄養植物であるラン科の植物と独立栄養であるラン科の植物の双方に炭素と窒素の安定同位体比分析を行い、菌従属栄養である場合には、それぞれの安定同位体比が有意に高いことおよび独立栄養と考えられていた植物の一部に部分的菌従属栄養であると推定される植物が存在することを示した。Hynson et al. (2016) は、ラン科およびツツジ科の部分的菌従属栄養および独立栄養の植物に炭素および窒素の安定同位体比分析を行い、栄養の入手経路の違いがそれぞれの安定同位体比の差異として表れていることおよび、それらの差異が種の分類と相関があることを示した。また、先行研究から得られる菌従属栄養植物および菌根菌における関係として、菌類から植物に栄養が移行する場合および植物から共生菌が栄養を受け取る場合のいずれにおいても、炭素および窒素の安定同位体は濃縮され、栄養を受け取る側の安定同位体比は高くなるということがある (Zimmer et al., 2007, Johansson et al., 2015)。このことは、食物連鎖による栄養段階の移行や生物濃縮といった生態学の基本的な事実と符合する。冬虫夏草類については、具体的な栄養源の評価や生物濃縮の有無について、このような先行研究は行われていないため、以降においては、主に窒素について安定同位体比の傾向を評価することでその栄養源や生物濃縮の有無について考察を行う。

#### 4.2.3. 栄養段階の移行について

本研究において入手した試料のうち、同一地域内で採取された食草・宿主・寄生菌の安定同位体比分析結果を用いて散布図を作成した(図 9, 図 10, 図 11)。各図において赤枠と青枠でそれぞれ示すように、炭素および窒素の同位体比について、宿主・寄生菌と食草の 2 つのグルーピングを行うことが可能であった。また、2 つのグループを比較すると炭素と窒素の双方において、特に窒素において、食草から宿主・寄生菌への濃縮が確認された。

食草から宿主への栄養段階の移行については、宿主昆虫が幼虫の時期に食草であるクマヤナギを摂食したことを反映していると考えられる。前述したとおり、安定同位体比分析を用いた食物網の調査においては、捕食対象に基づいた栄養の移行のほか、生物濃縮についても多くの事例が報告されており、これらのことと本研究の結果は符合する。特筆すべきは、幼虫から成虫になる段階で蛹化を経ているにも関わらず、安定同位体比の傾向が受け継がれていることである。安定同位体比分析は、目視では観察不可能な生物の具体的な栄養源を探る手法として注目されているものの、代謝をはじめとした生化学的な変化の影響を加味することが困難である一面がある。今回の結果は、炭素や窒素を指標とした安定同位体比分析が、冬虫夏草類のみではなく、広く昆虫における食物網調査などにおいても有効であることを示唆している。

ここで、宿主と寄生菌の安定同位体比を比較すると、炭素についてはほとんど差異がなく、窒素について若干の差異が見られている（図 10, 図 11）。図 11 において紫枠と黄緑枠でそれぞれ宿主と寄生菌のグルーピングを行っている通り、窒素については、宿主と寄生菌との間で若干の濃縮の傾向が見られる。しかし、図 11 から明らかな通り、食草から宿主への濃縮の傾向に比べてその差は軽微であり、有意水準も低いものとなっている。そのため、宿主から寄生菌への安定同位体比の濃縮が、マエモンオオナミシャクとガヤドリナガミノツブタケとの間で見られるか否かを判断するにあたっては、本調査地における分析試料の数を増やす、また、他地域でも同様の傾向が見られるかの調査を行うなどの対応を行う必要があるだろう。したがって、宿主から寄生菌への栄養段階の移行については、本研究においては、概ね宿主の栄養素を受け継ぐ形となっており、濃縮についてはその可能性が示唆されているにとどまるといえる。

これらの結果を鑑みると、本研究で調査対象としたガヤドリナガミノツブタケは、宿主への感染を通じて、その食草由来の栄養に強く依存していることが

明らかとなった。したがって、ガヤドリナガミノツブタケは宿主に感染するまでは、ほとんど休眠した孢子などの状態で栄養を消費せずに洞窟内に潜伏しており、宿主の飛来に併せて栄養の吸収（感染）と次世代への繁殖行為（子嚢胞子形成）を一気に行うと考える。また、その栄養獲得は、宿主昆虫の食草の影響を強く受けることから、同一地域内であっても、天候などの影響を受け変化すると考える。その変化が推測される例としては、マエモンオオナミシヤクが他の食草を食べるようになった場合や、ガヤドリナガミノツブタケがマエモンオオナミシヤク以外の種の蛾を宿主として発生した場合が挙げられる。これらの場合、ガヤドリナガミノツブタケが依存する栄養源は、実際に本菌が寄生した宿主の食草によって変動することとなる。

本研究で調査対象とした洞窟内で発生するガヤドリナガミノツブタケは、視覚的には極めて閉鎖的な環境に生育し、物理的には環境変化の影響を受けにくいといえる。しかし、本研究で栄養源については外界の植物に強く依存していることが明らかとなったため、森林内で環境変化が起こった場合、その影響を強く受けることが推測される。

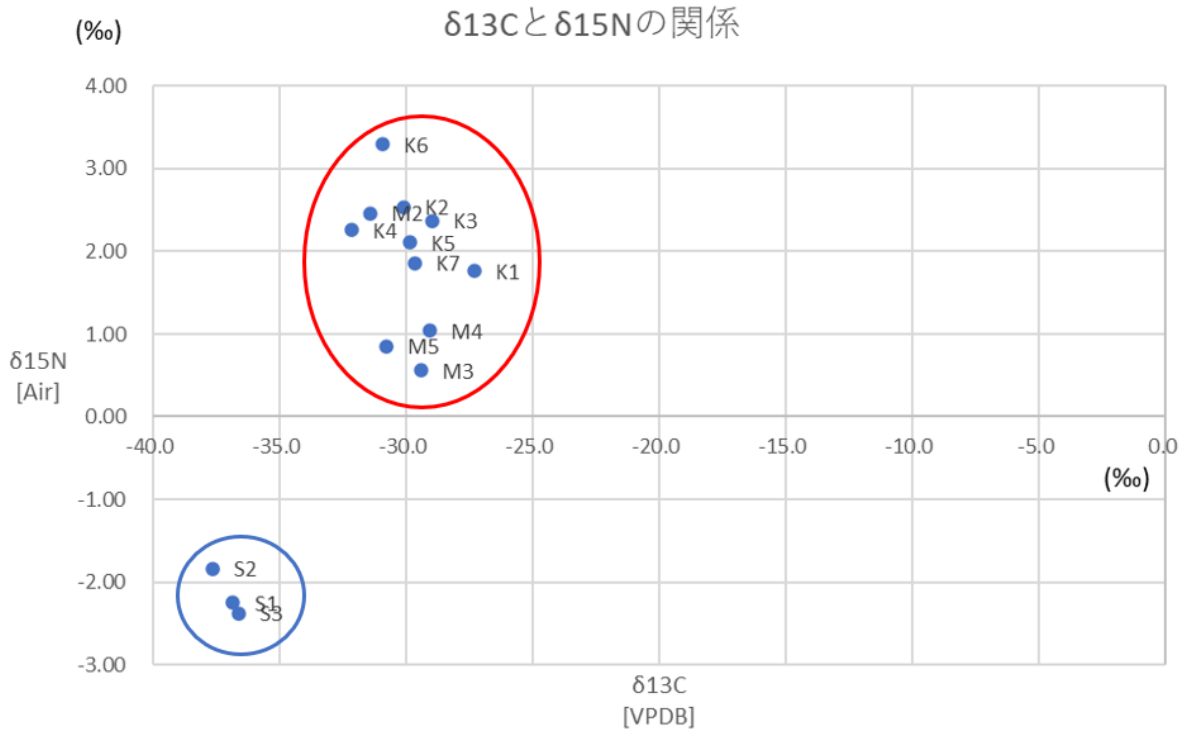
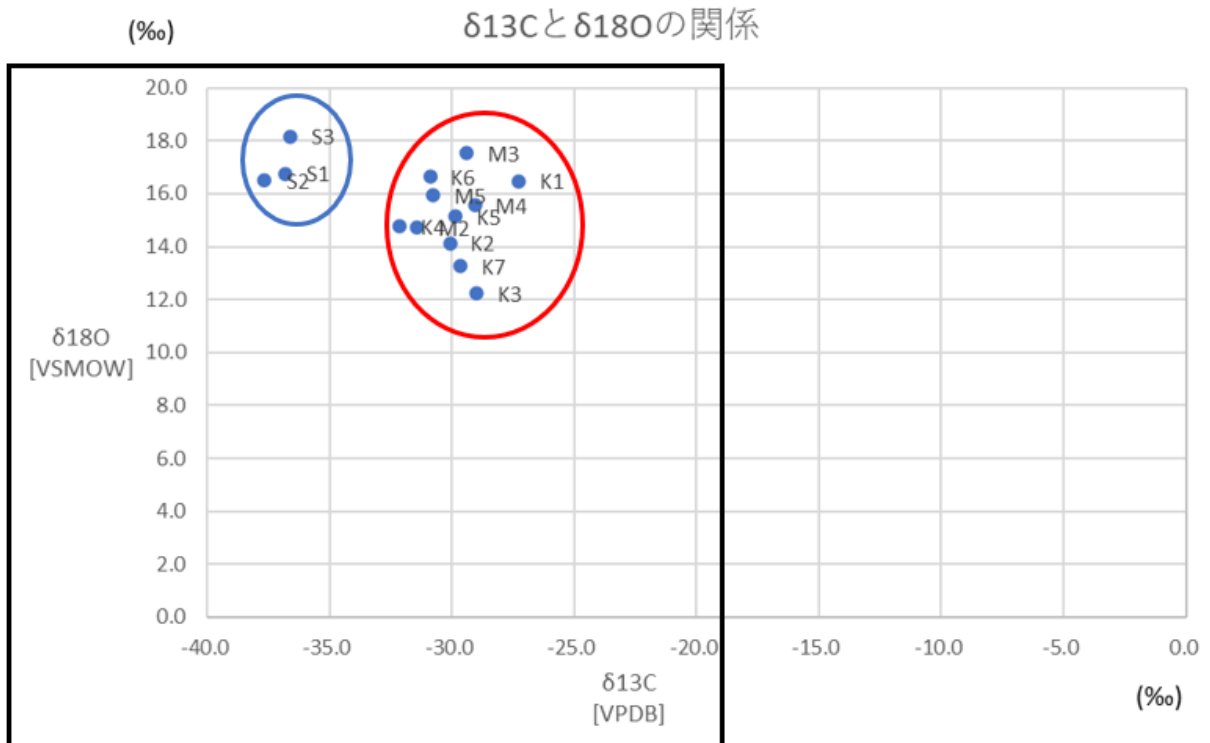


図 9 炭素と窒素の安定同位体比分析の結果散布図（図 8 を加工）



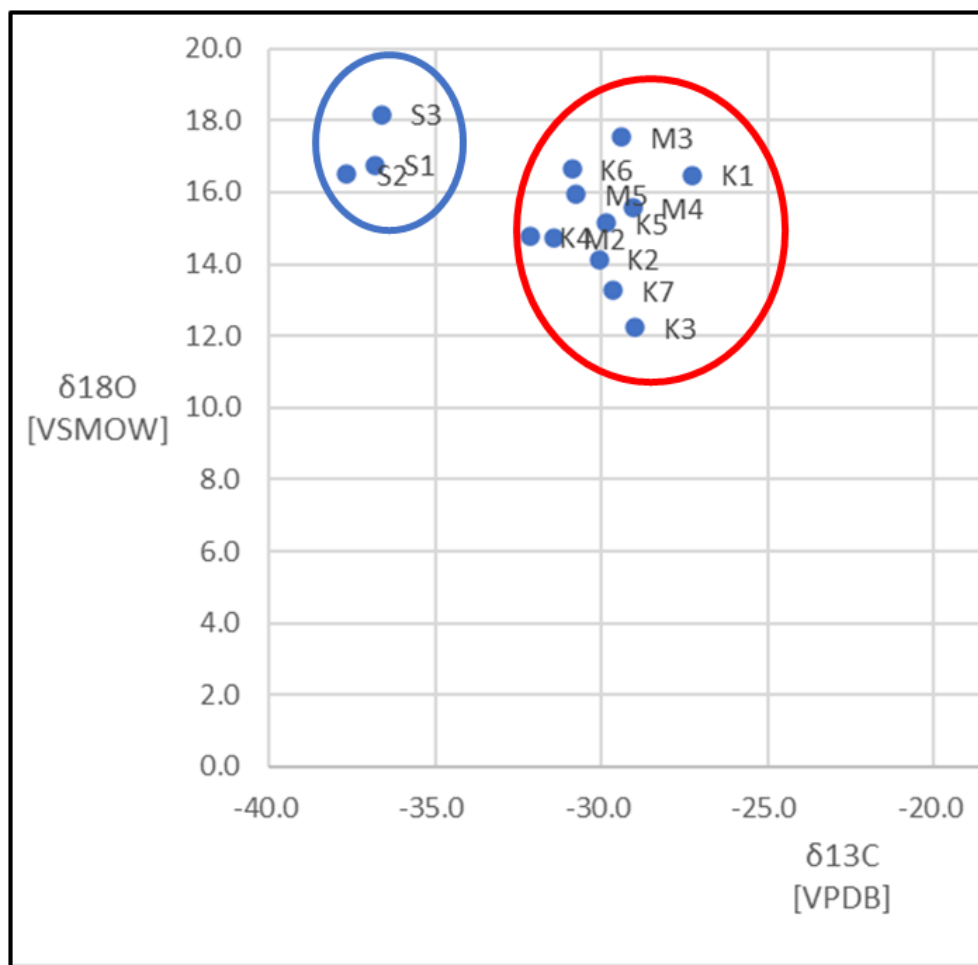


図 10 炭素と酸素の安定同位体比分析の結果散布図 (食草・宿主・寄生菌)

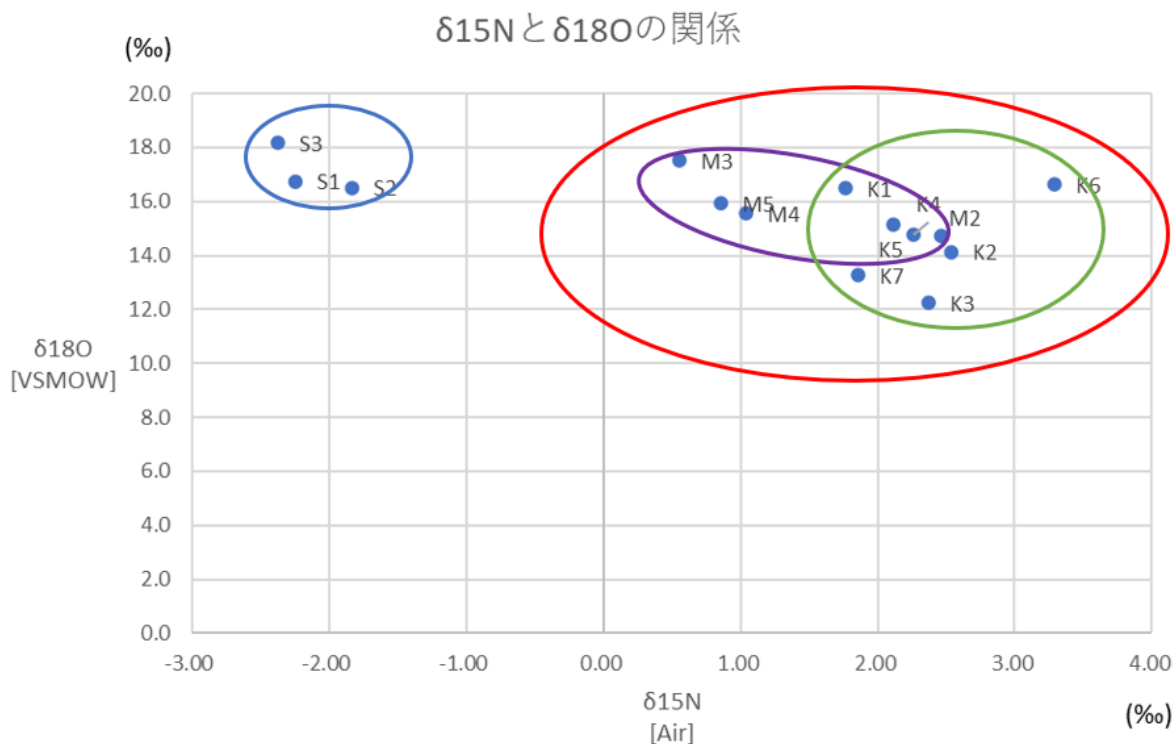


図 11 窒素と酸素の安定同位体比分析の結果散布図（食草・宿主・寄生菌）

#### 4.2.4. 水素の分析結果について

本研究において入手した試料のうち、同一地域内で採取された食草・宿主・寄生菌の酸素および水素の安定同位体比分析結果を用いて散布図を作成した（図 12）。図 12 に示す通り、酸素については各試料で概ね同様の傾向を示したが、水素については宿主グループと食草・寄生菌グループに分かれる結果となった。

酸素安定同位体比に関する評価結果の項目で触れた通り、一般的には水素の安定同位体比については概ね雨水などの環境由来の水の影響を反映すると考えられる。そのため当該試料については、酸素と同様に水素についても概ね同様の傾向を示すことが自然であると考えられる。ここで、グループが分かれた要因を考察するにあたっては、①宿主側に変動要因がある場合、②食草および寄生菌側に変動要因がある場合の 2 つの場合が想定される。

前者については、宿主昆虫の水分補給行動が重要な要素になるが、本研究においては宿主昆虫の行動について個別に調査を行うことはしていない。そのため、宿主に由来する要因であるか否かを確かめるためには今後、本調査地のマエモンオオナミシヤクの生態についてより詳細な調査を行うことが望まれる。

後者の場合については、洞窟と洞窟外で環境が分かれていること、栄養段階について直接的に繋がっていないことを踏まえると、宿主・食草間の要因と宿主・寄生菌間の要因を区別する必要がある。宿主・食草間の要因としては、洞窟内と外界の水の由来が異なるということが考えられる。これを明らかにするためには、洞窟内外共に現地の水の試料を別途入手して分析を行う必要がある。宿主・寄生菌間の要因としては、冬虫夏草が子実体や菌糸の形成にあたって水を消費することが影響している可能性が考えられる。しかし、冬虫夏草とその宿主について、個別にその関係を安定同位体比分析（特に水素）により検証している先行事例は乏しい。そのため、当該要因を考察するにあたっては、閉鎖環境内で培養した冬虫夏草とその宿主を用いて安定同位体比分析を行うなどの検証をする必要がある。

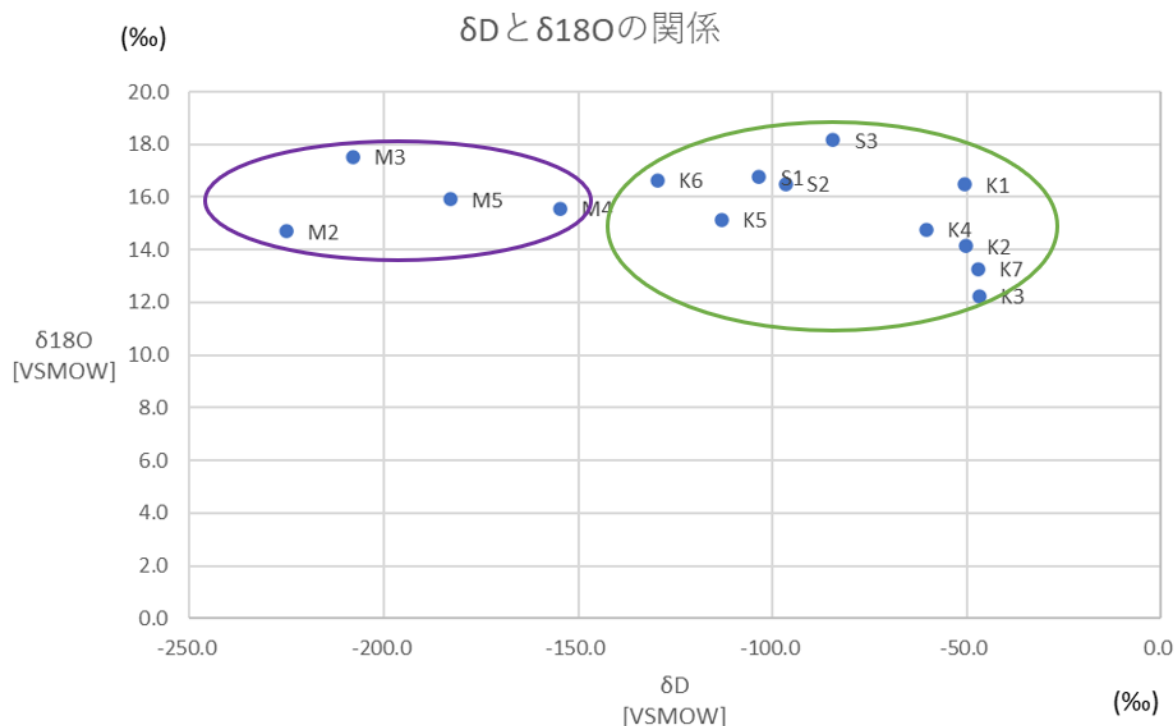


図 12 水素と酸素の安定同位体比分析の結果散布図（食草・宿主・寄生菌）

### 4.3. 本調査地における調査対象生物の生活環

本研究においては、試料の採取を行うため、2021年の6月30日、9月1日、11月3日の3回の実地調査を行った。調査地は、いずれの回も家和楽の洞窟2箇所および洞窟周辺の二次林である。6月30日および9月1日の調査においては、マエモンオオナミシヤクの活動中の個体およびガヤドリナガミノツブタケの発生が確認される個体の双方が観察された。ところが、11月3日の調査においては、ガヤドリナガミノツブタケの子実体発生が確認される死亡個体のみが認められ、活動中の個体は観察されなかった。11月3日の調査においては、洞窟内の地面に、マエモンオオナミシヤクのものと思われる翅が落下していることが確認された。これらの観察結果から、マエモンオオナミシヤクの成虫は、夏から秋への季節の変化に合わせて、洞窟内から洞窟外に生息域を移している

か、何らかの理由で洞窟内で死亡しているものと推定される。

6月30日および9月1日の調査においては、洞窟内で交尾中のマエモンオオナミシヤクの個体が観察された。また、11月3日の調査においては、マエモンオオナミシヤクの死骸と思われる翅が散乱している様子が洞窟内で観察されている。岸田（2011）が示す通り、成虫は一般には春先にかけて交尾を行うとされているが、岐阜県の鍾乳洞内で8月に交尾中の個体が既に報告されている（岸田, 2011, pp. 265-266）。夏の交尾中の個体に関する情報については報告例がほとんどなく、本研究の調査における発見は、それを補足する情報と言えるだろう。ここで、本調査地におけるマエモンオオナミシヤクの生活環については、図13で示す通り、2通りのパターンが存在すると推定される。1つ目のパターンについては、岸田（2011）が示すものと同様、春先に幼虫が孵化、初夏に蛹化および羽化し、夏から翌年春にかけて成虫で過ごした後、春先に交尾と産卵をするというものである。2つ目のパターンについては、秋口に孵化、初冬に蛹化および羽化し、冬から翌年夏にかけて成虫で過ごした後、夏から秋口にかけて交尾と産卵をするというものである。後者のパターンについては、交尾を洞窟内で行っていたとしても、産卵については、クロウメモドキやクマヤナギなどの幼虫の食草が存在する洞窟の外で行われていると考えられる。しかし、本研究の調査においては、森林内での産卵・孵化・蛹化・羽化の過程の観察は行っていない。そのため、実際に2つ目のパターンの生活環が存在するのか、さらに別のパターンが存在するのか、それらの割合は全体のどの程度かなどは明らかではない。これらを明らかにするには、通年での定点観測や特定個体に対する継続調査などのより詳細な調査のデータの積み重ねを行う必要があるだろう。

ガヤドリナガミノツブタケの感染経路について、6月30日および9月1日の調査において、数十匹を超える大量の活動中のマエモンオオナミシヤクの個体が観察されたことに対し、11月3日の調査においては、新たに感染が確認され

た個体はほとんど観察されなかった。このことは、本調査地のガヤドリナガミノツブタケが、宿主昆虫が夏に洞窟に入ることをきっかけに感染を進行させる可能性が低いことを示しているが、その根本的な要因は明らかではない。ガヤドリナガミノツブタケは気生型の菌類であり、なおかつ本調査地では洞窟という閉鎖環境内に発生しているため、感染のための条件としては好条件である。一方で、洞窟内に入ってきた宿主昆虫全てに対して感染を進行させてしまった場合、翌年以降の宿主が枯渇してしまう。そのため、本調査地のガヤドリナガミノツブタケは、宿主の安定的供給を維持するため、感染やその進行の時期を宿主昆虫の生活環に併せて調節している可能性が考えられる。夏の洞窟での感染進行が少なかった要因としては、感染率自体が低いこと、感染およびその進行が夏以外の期間に進行することなどが考えられる。いずれにせよ、その要因を特定するためには、調査地洞窟の環境を再現した実験環境を作成し、対照実験を行うなどして、観察記録を蓄積する必要がある。

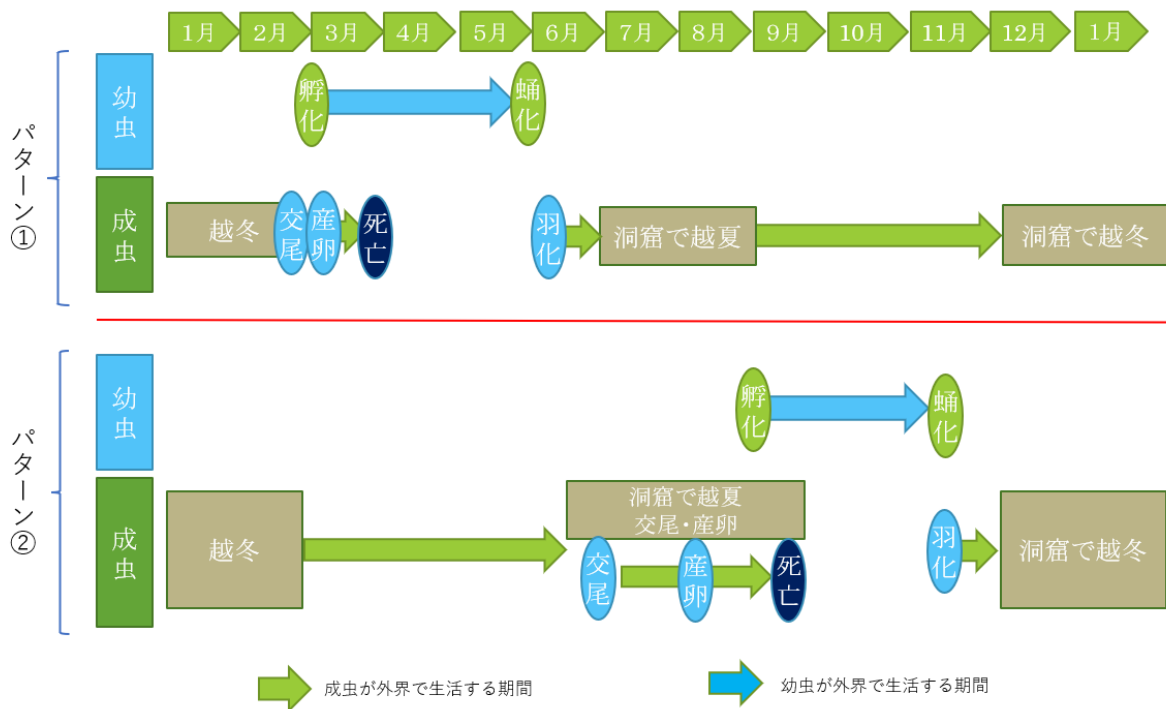
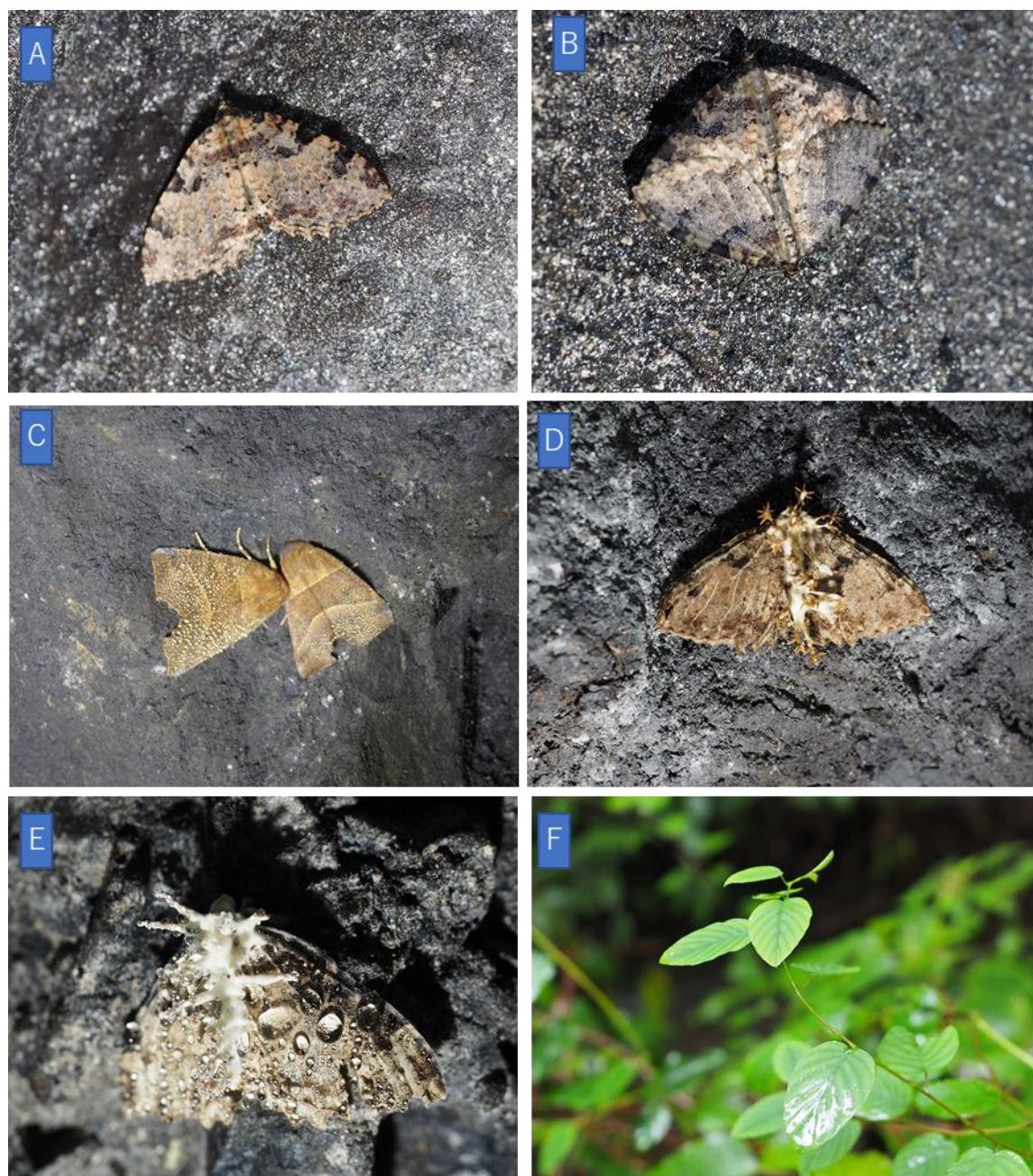


図 13 本調査地におけるマエモンオオナミシヤクの生活環



- A：洞窟内で確認されたマエモンオオナミシャク  
B：マエモンオオナミシャクの交尾中の個体（6月30日の調査で確認）  
C：本調査地において比較のために入手をしたプライヤキリバ  
D：子囊殻の発生が確認されたガヤドリナガミノツブタケ（および感染したマエモンオオナミシャク）  
E：ガヤドリナガミノツブタケの菌糸発生が確認されるマエモンオオナミシャク（水滴は洞窟内の湿度によるもの）  
F：洞窟周辺において確認されたクマヤナギ

図 14 調査において採集した標本の一部（再掲）

#### 4.4. 結論

本研究の目的として、主たる目的と副次的な目的の2つが存在した。主たる目的は、冬虫夏草類の栄養源に関する予察を行うことにあった。本研究では、茨城県常陸大宮市家和楽の鉾山跡の洞窟に発生するガヤドリナガミノツブタケおよびその宿主のマエモンオオナミシヤク、宿主昆虫の食草であるクマヤナギを主な対象として安定同位体比分析を行った。これらの結果、窒素および炭素の安定同位体比が食草と比較して宿主昆虫において有意に高まっていることから、クマヤナギからマエモンオオナミシヤクへの栄養の移行およびその濃縮が確認された。宿主から寄生菌については、食草・宿主間の関係に比べて相対的に差異が小さいものの、窒素についてはマエモンオオナミシヤクからガヤドリナガミノツブタケへの栄養の移行とその濃縮の可能性が示唆された。結果として、今回調査を行ったガヤドリナガミノツブタケは、その宿主昆虫の食草であるクマヤナギに、生存のための栄養源を強く依存していることが示された。したがって、冬虫夏草類一般の栄養源の調査にあたっては、宿主昆虫の被食対象まで加味して評価する必要のあることが示唆された。一方で、宿主と寄生菌の間での栄養段階の移行や生物濃縮の傾向については、依然として検証の余地が存在し、今後は種や地域を変えても同様の結果が得られるかどうかの分析を行うことが必要である。

本研究の副次的な目的は、本調査地におけるマエモンオオナミシヤクおよびガヤドリナガノミツブタケの生活環の解明が挙げられた。本調査においては、6-9月の調査において交尾中の個体が観察されたことなどから、既存の一般的な報告例とは異なる生活環を全うする個体群も安定して存在することが示唆された。

## 5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始ご指導を賜りました慶應義塾大学経済学部生物学教室准教授糟谷大河博士には深く感謝申し上げます。

試料収集にあたっては、ミュージアムパーク茨城県自然博物館学芸員の伊藤彩乃氏ならびに小幡和男氏に多大なご尽力を頂きました。調査地の洞窟ならびに周囲の環境調査にあたっては、千葉科学大学非常勤講師・丸山物産株式会社顧問の菊池芳文博士および丸山物産株式会社の菊池和博代表取締役ならびに菊池大志取締役にご助言・ご協力を頂きました。慶應義塾大学自然科学研究教育センター訪問教授の伊永隆史博士には、本研究の仮説構築や結果評価にあたって、有益なご助言を賜りました。以上の皆様に、心より御礼申し上げます。

## 引用文献

- Araújo J.P.M. et al. (2018) Zombie-ant fungi across continents: 15 new species and new combinations within Ophiocordyceps. I. Myrmecophilous hirsutelloid species. *Studies in Mycology* 90: pp. 119-160
- Bidartondo M. I. et al. (2004) Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. *The Royal Society* 271: 1799–1806
- Chung I. M. et al. (2019) Potential geo-discriminative tools to trace the origins of the dried slices of shiitake (*Lentinula edodes*) using stable isotope ratios and OPLS-DA. *Food Chemistry* 295: 505–513
- Crowley B. E. (2012) Stable Isotope Techniques and Applications for Primatologists. *International Journal of Primatology* 33: 673–701
- David M. B. and Flaherty E. A. (2012) Stable isotopes in mammalian research: a beginner's guide. *Journal of Mammalogy* 93(2): 312–328
- 土井秀幸ほか (2016) 『安定同位体を用いた餌資源・食物網調査法』（共立出版）
- Gebauer G. and Meyer M. (2003)  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  natural abundance of autotrophic and mycoheterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. *New Phytologist* 160: 209–223
- Guo L.X. et al. (2017) Fungus-larva relation in the formation of *Cordyceps sinensis* as

- revealed by stable carbon isotope analysis. *Scientific Reports* DOI:10.1038/s41598-017-08198-1
- 畑邦彦、奈良一秀 (1998) 「ブナ林の共生菌とその役割」『ブナ林を育む菌類』 pp. 75-150、金子繁、佐橋憲生編 (文一総合出版)
- Herrera L. G. et al. (2003) Trophic partitioning in tropical rain forest birds: insights from stable isotope analysis. *Oecologia* 136:439–444
- 檜山哲哉ほか (2008) 「地球の酸素・水素安定同位体を用いた地球水循環研究と今後の展望」(『水文・水資源学会誌』 Vol.21, No2, pp.158-176)
- Hynson N. A. et al. (2016) Plant family identity distinguishes patterns of carbon and nitrogen stable isotope abundance and nitrogen concentration in mycoheterotrophic plants associated with ectomycorrhizal fungi. *Annals of Botany* 118: 467–479
- 井上寛ほか (1982) 『日本産蛾類大図鑑 第1巻：解説編』(講談社)
- Johansson V. et al. (2015) Partial mycoheterotrophy in Pyroleae: nitrogen and carbon stable isotope signatures during development from seedling to adult. *Oecologia* 177: 203–211
- 鎌田直人、佐藤大樹 (1998) 「生物どうしの関係が保つ安定性」『ブナ林を育む菌類』 pp. 151-205、金子繁、佐橋憲生編 (文一総合出版)
- Kepler R. M. et al. (2017) A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (Hypocreales). *IMA Fungus* 8(2): 335-353

- 菊池芳文ほか (2020) 「茨城県常陸大宮の旧金山坑道で発見された鍾乳洞様二次生成物」(『常陸大宮市史研究』3号、pp. 119-130)
- 岸田康則 (2011) 『日本産蛾類標準図鑑 I』(学研教育出版)
- 国土地理院 (2021) 「地理院地図 GSI Maps」  
<https://maps.gsi.go.jp/#15/36.671706/140.396304/&base=std&ls=std&disp=1&vs=c1j0h0k0l0u0t0z0r0s0m0f0>, 最終閲覧日 2022年1月8日
- 駒井古実ほか (2011) 『日本の鱗翅類——系統と多様性』(東海大学出版)
- Kusaka S. et al. (2010) Carbon and nitrogen stable isotope analysis on the diet of Jomon populations from two coastal regions of Japan. *Journal of Archaeological Science* 37: 1968-1977
- Kuwae T. et al. (2008) Biofilm grazing in a higher vertebrate: the western sandpiper. *Calidris Mauri Ecology* 89(3): 599-606
- 盛口満 (1996) 『冬虫夏草を探しに行こう』(日経サイエンス社)
- 中下留美子ほか (2008) 「安定同位体比解析による国産・豪州産・米国産牛肉の産地判別の可能性」(『Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kasishi』 Vol.55, No.4, 191~193)
- 日本冬虫夏草の会 (2014) 『冬虫夏草生態図鑑』(誠文堂新光社)
- Rooney N. et al. (2006) Structural asymmetry and the stability of diverse food webs. *Nature* 442(20): 265-169
- 坂井翔希ほか (2018) 「茨城県内の廃坑におけるマエモンオオナミシャクの成虫に生じた *Cordyceps* 属菌の同定とその子実体の動態」(『日本菌学会大会講演要旨集』 62: 86)

- 清水大典 (1994) 『原色 冬虫夏草図鑑』（誠文堂新光社）
- 鈴木彌生子ほか (2009) 「安定同位体比分析による国産米の産地及び有機栽培判別の可能性」(『BUNSEKI KAGAKU』 Vol.58 No.12 pp.1053-1058, The Japan society for Analytical Chemistry)
- 山中勤 (2020) 『環境同位体による水循環トレーシング』（共立出版）
- Yodzis P. (2001) Must top predators be culled for the sake of fisheries? *Trends in Ecology & Evolution* 16: 78-84
- 遊川知久 (2014) 「菌従属栄養植物の系統と進化」(『植物科学最前線』 5号、pp. 85-92)
- Zimmer K. et al. (2007) Wide geographical and ecological distribution of nitrogen and carbon gains from fungi in pyroloids and monotropoids (Ericaceae) and in orchids. *New Phytologist* 175: 166–175

↓論文印刷前に、下の行を選択して右クリック「フィールドの更新」すること↓

- 本文 35 字×25 行×46 ページ、全 25890 文字