

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 14 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24710271

研究課題名(和文)日本列島における地下生キノコの多様性評価と遺伝資源の保存

研究課題名(英文) Diversity of hypogeous fungi in Japan and the conservation of genetic resources

研究代表者

木下 晃彦 (Kinoshita, Akihiko)

東京大学・新領域創成科学研究科・客員共同研究員

研究者番号：70533983

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は日本で未発見のキノコ類、とくにトリュフのように地下にキノコを形成する分類群を対象に、多様性の評価、および菌株作成による遺伝資源の保存を目的としました。およそ200個の子実体のDNAを解析し、少なくとも日本には4属20種が存在することを明らかにしました。さらにそれらは海外の既知種とは異なる日本固有の系統群であることも明らかにしました。解析した数種は菌株や乾燥標本としても保存しています。こうした成果は論文、学会発表、一般向け雑誌に発表しました。

研究成果の概要(英文)：In this study, I estimated the diversity of undiscovered fungal taxa in Japan that forms fruit bodies at underground as truffles and I also made the cultures to conserve genetic resources. I collected nearly 200 fruit body samples with the help of volunteers and analyzed the ribosomal DNA. So far, four genera and 20 species has been identified, and almost all of which are assumed to be new species. Moreover, some Japanese species have unique phylogenetic characters compared to the known species reported from overseas areas. These are also keeping as cultures and dried specimen. I published these outcomes through academic articles, academic meetings and a magazine for general public.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学

キーワード：新種 遺伝子資源の保存 日本のトリュフ

1. 研究開始当初の背景

陸上植物と共生する菌類(菌根菌)は、宿主の成長を支えるだけでなく、ストレス耐性を有する種が多く、植物の適応力を向上させる環境資材として用いられる。さらにその繁殖器官(キノコ)には食用・薬用としての利用価値をもつ種が多い。しかしそうした仲間は、人目につきやすい地上性のキノコの分類群に限られている。私はこれまで、地下にキノコを形成するトリュフ(*Tuber* spp.)の多様性や進化特性について研究をおこない、日本には20種を超える種が存在し、またそれらの進化特性も世界的にみて極めて稀なものであることが分かった。日本を含む東アジアは、現在見つかっている種よりもはるかに多い種が存在する可能性が指摘されており(Mueller et al. 2007)、これらの種の多くに、地下生キノコの分類群が含まれることが予測される。

2. 研究の目的

本研究では、200個もの地下生キノコ標本を用いて、それらの多様性と資源有効性を評価し、さらに培養株の作成による資源化を試みた。

3. 研究の方法

日本国内の100地点以上から採集した地下生キノコを対象に、菌類の種の判別に用いられるrDNA ITSの塩基配列を解読して種を特定する。さらに、統計的な潜在種数を分類群ごとに求めて種数を評価し、日本で発生する地下生キノコの潜在的な多様性を評価した。

4. 研究成果

本研究の結果、担子菌3科4属から合計20種を特定し、分子系統解析の結果、日本固有の系統群を形成するものが存在した。分類群別に結果を示す。

(1) イッポンシメジ属(*Entoloma* spp.):

2002年から2010年の間に国内で採取した34サンプルの子実体からDNAを抽出し、rDNA ITS領域のシーケンスを行った。ITS領域の97%の相同性に基づき種を決定し、各種のLSUおよびタンパク質をコードする*rpb2*領域もシーケンスした。その結果、日本には4種存在することが明らかになり、これらは属内の2つの主要クレードに属することが分かった。そのうちの1種はこれまで地下生菌の存在が知られていなかった系統群に属し、近縁種が樹木と共生関係にある種(菌根菌)が多かったことから、この種(図2)は、菌根菌であると考えられた。一方、3種が属した系統群は、従来から地下生菌の存在が知られていたグループで、これらは腐生菌と考えられた(図1)。本研究で明らかにした4種のうち、2種については新種記載をおこなった。

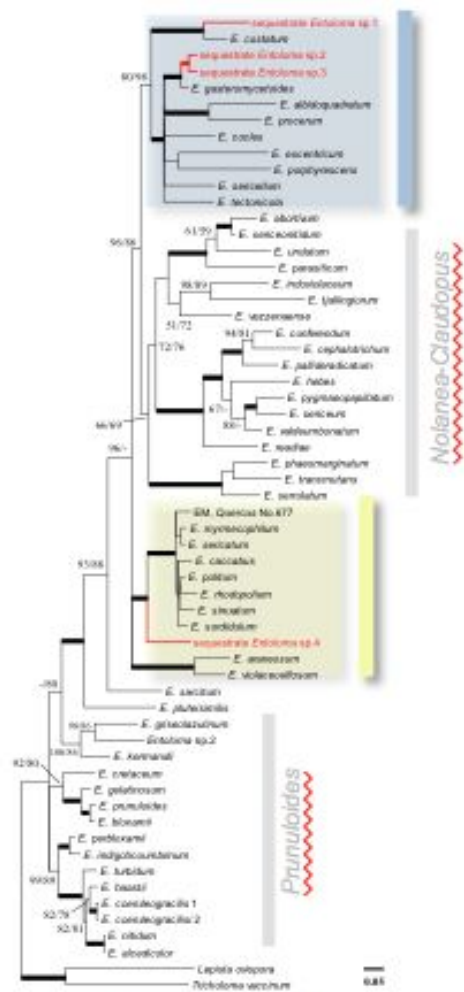


Fig.1 *rpb2*領域の塩基配列に基づくBayes法による*Entoloma*属の系統樹(数値はBPP/MLを示す。系統樹の太線は両方の値とも>90%を指す)赤フォントが日本種を示す

図1. *Entoloma* 属の系統樹

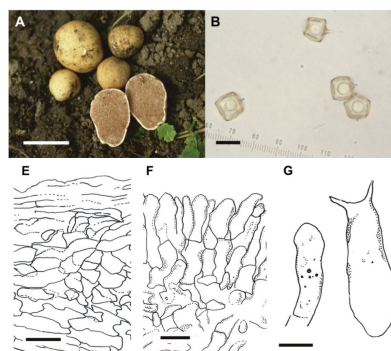
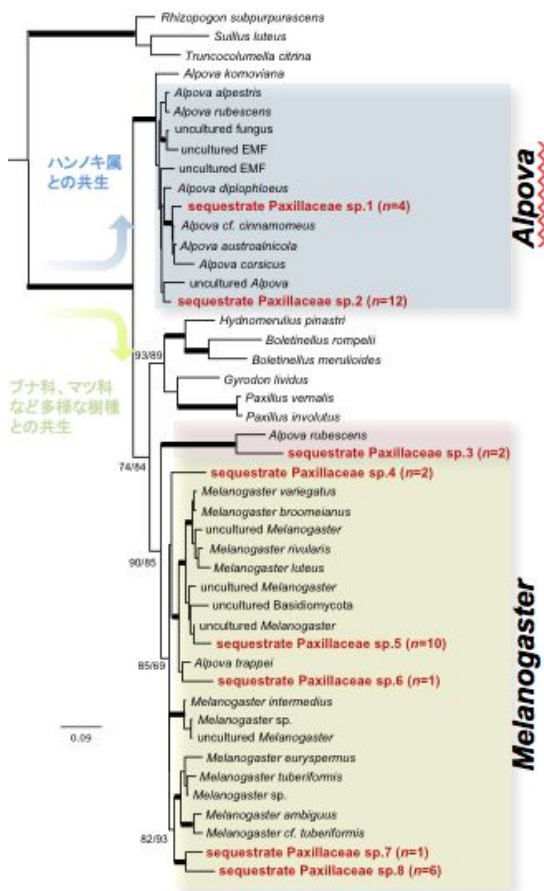


図2. 新種記載したうちの1種、*E. prismaticum* Sasaki Kinoshita et Nara sp. nov.

(2) ヒダハタケ科アルポバ属、メラノガステル属(*Alpova* spp. *Melanogaster* spp.):

2002年から2009年までの間に国内の20地点以上から採取された38サンプルの子実体を対象に、グレバや胞子などの全個体の形態特徴を観察した後、rDNA ITS領域をシーケン

スし、種を特定した。続いて NCBI 等で公開される既知種や環境サンプルの塩基配列と併せて分子系統解析を行った。系統解析の結果、ハンノキ属に特異性が高いと考えられる種 (*Alpova* 属) は 2 種、ブナ科を中心とし多様な樹種下で発生する種 (*Melanogaster* 属) は 6 種あり、そのうちの複数の種で固有の系統を形成したことから、アジア種の系統的重要性が明らかになった (図 3)。



ヒダハタケ科における *Alpova* と *Melanogaster* 属の系統関係 (rDNA ITS+LSU 領域の塩基配列に基づく ML 系統樹。数値は ML/BPP のを示し、太線は両方の値とも >90% を示す) 赤フォントが日本種を示す

図 3. ヒダハタケ科地下生菌の分子系統樹

(3) ショウロ属 (*Rhizopogon* spp.):

2000 年から 2011 年の間に、国内の 85 地点から採取した 120 サンプルの子実体から DNA を抽出し、rDNA ITS 領域のシーケンスを行った。ITS 領域の 97% の相同性に基づき種を決定し、各種の LSU、およびタンパク質をコードする *atp6* 領域もシーケンスした。その結果、日本には 8 種存在することが明らかになった。採取地点と発見種数の関係から、潜在種数を推定した結果、25-35 種になり、未発見の種が数多く存在する可能性があることが分かった (図 4)。分子系統解析の結果、8 種のうち 2 種はこれまで知られていなかった系統群を形成したことから、日本種のなかには非常に稀な進化特性をもつ種が存在する事が明らかになった。

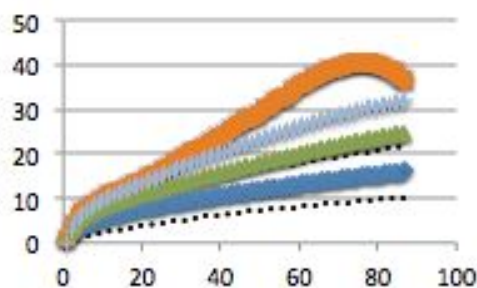


図 4. 日本の *Rhizopogon* 属の推定種数 (上から 3 つまでが推定種数) 縦軸は種数、横軸は採取地点数

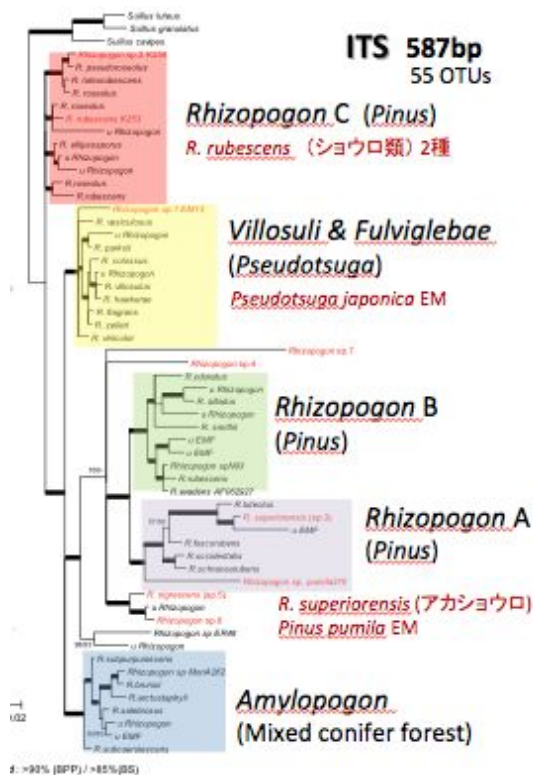


図 5. *Rhizopogon* 属の分子系統樹

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Akihiko Kinoshita, Hiromi Sasaki, Nara Kazuhide, Multiple origins of sequestrate basidiomes within *Entoloma* inferred from molecular phylogenetic analyses, Fungal Biology, 査読有, Vol.116, 1250-1262, DOI: 10.1016/j.funbio.2012.09.006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2012.09.006>

[学会発表](計 1 件)

木下晃彦、佐々木廣海、奈良一秀、ヒダハタケ科地下生菌 *Alpova* 属と *Melanogaster* 属の多様性と進化、日本菌学会第 57 回大会、2013 年 6 月 7-9 日、東京農業大学。

〔図書〕(計1件)

木下晃彦、文一総合出版、このは「地下に潜ったキノコのはなし」、2014、1P

〔その他〕

ホームページ等

キノコの系統進化と多様性：

[http://lbf.nenv.k.u-tokyo.ac.jp/content/s/Nara\\_lab/Nara\\_labs\\_research\\_6/Phylogeny\\_and\\_diversity\\_of\\_fungi.html](http://lbf.nenv.k.u-tokyo.ac.jp/content/s/Nara_lab/Nara_labs_research_6/Phylogeny_and_diversity_of_fungi.html)

6．研究組織

(1) 研究代表者

木下晃彦 (Kinoshita, Akihiko)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・

客員共同研究員

研究者番号：70533983