

研究成果報告書（第26回学術研究助成）

2019 年 4 月 8 日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団

理事長 野村茂樹 殿

所属機関名 日本大学薬学部

職 名 准教授

氏 名 広瀬 大

1. 研究課題

マツ科と菌根共生するヌメリイグチ属の本邦における種多様性と系統地理学的パターン

2. 共同研究者

なし

3. 研究報告

I. 研究の目的

ヌメリイグチ属 (*Suillus* 属) は、担子菌門イグチ目に属する宿主特異性が高い菌根菌で、主にマツ科（特にマツ属、カラマツ属）と共生している。本属の地球規模での分布は北半球におけるマツ属の自然分布域と重なっており、現在100種程が記載されている。本属の分類学は分子系統学的解析による再編が近年進められ、隠蔽種の存在や大陸レベルでの遺伝的分化などが明らかにされている。新たな分類学的基盤が整備されつつある状況の中、本邦で行われてきた多様性調査は分子系統学的手法の普及前に行われたものが殆どである。そのため、現在の分類体系で再評価する必要がある。一方、本邦における本属の分布は緯度や標高によらず広域に分布しているが、同一種が全域に分布することは殆どないため、種毎で現在の地理的分布の形成プロセスが異なることが予想される。この様な背景から、① 本邦のヌメリイグチ属の種多様性をDNA情報も考慮した分類体系で再評価すること、② 同定された数種について系統地理学的パターンを比較すること、を本研究の目的とした。これらの目的を達成するために、過去の分類学的調査で得られた標本と、これまであまり調査が行われてこなかった宿主や地域で新たに獲得した標本の両方を利用した種多様性評価を進めた。

II. 研究の方法

本研究では、本邦のヌメリイグチ属の種多様性の再評価と代表菌種の系統地理学的パターンを明らかにするという目的を達成するために、次の3つの研究課題を遂行した。① 過去に採集された標本の遺伝子解析、② これまで分類学的調査があまり行われてこなかった宿主や地域における試料採集及び形態観察、遺伝子解析、③ これらのデータを基にした種多様性評価と系統地理学的解析。以下に各項目の方法を示す。

- ① 鳥取県にある菌蕈研究所は日本で最も充実したヌメリイグチ属標本コレクションを所蔵している機関である。本研究所には、イグチ目の分類を専門とする長澤栄史先生により1960年以降に採集された300点以上の標本に加え、日本の菌類分類学の礎を築いた故本郷次雄先生により採集された標本も所蔵されており、これまでの本邦のヌメリイグチ属の分類学的研究に用いられた多くの標本が所蔵されている。本研究所に協力して頂き、本研究ではこれらの

標本を用いたDNA分析を行った。DNA抽出後、菌類でDNAバーコード領域とされているrRNA ITS領域をPCR増幅、塩基配列の決定を行った。

- ② 過去の分類学的調査では島嶼や五葉マツ類（ゴヨウマツやハイマツ）を宿主とする地域での種の記載が乏しいため、これらが分布する地域（北海道、長野、伊豆・小笠原諸島）において本属子実体の採集を行った。得られた試料は巨視的及び微視的な形態観察を行うとともにrRNA ITS領域の塩基配列を決定した。
- ③ Klofac (2013)、Nguyen et al. (2016) の分類体系に基づき種多様性の再評価を行なった。また、Nguyen et al. (2016) のデータを基に本邦産各種のグローバルスケールでの系統地理的パターンを明らかにした。国内に広く分布し分析試料数が比較的多かった *Suillus luteus*、*S. granulatus*、*S. spraguei* に関しては国内スケールでの系統地理学的パターンを明らかにした。

III. 研究結果

菌蕈研究所保有の214試料についてDNA分析を試み、40試料についてITS領域の部分塩基配列を決定することができた。また、2017-2019年に採取した102試料についてITS領域の全塩基配列を決定した。これらのデータに加え、研究代表者が既に得ていた20試料の塩基配列を加えることで、これまでに本邦で報告されている種のうち1種 (*S. sibiricus*) を除くすべての種の塩基配列を取得することができた。これらのデータを基に種多様性の再評価を行ったところ、本邦産の *S. placidus*、*S. salmonicolor* (*S. subluteus*)、*S. tomentosus*、*S. viscidipes* については分類学的に再検討する必要があることが明らかになった。ITS領域に基づく分子系統解析によりグローバルスケールでの系統地理学的パターンを明らかにしたところ、地域間で遺伝的分化がみられた種とそうでない種に分けられた。地域間で遺伝的分化がみられた種については、*S. viscidus* のようにアジア、欧州、北米のいずれの地域間でも遺伝的分化がみられた種や *S. granulatus* のようにアジアと欧州・北米間でのみ遺伝的分化がみられた種など、種により異なるパターンが検出された。国内スケールにおいては *S. spraguei* で北部に多い系統と南西部に多い系統の2系統が検出されたが、*S. luteus* と *S. granulatus* においては明確なパターンはみられなかった。

IV. 考察

本邦産ヌメリイグチ属は勝本 (2010) と Nagasawa & Sato (2016) に基づくとこれまでに20種報告されていた。本研究により、*S. viscidipes* はヌメリイグチ属から転属させることが妥当であると判断されたこと、新たに採取した標本の分析から日本新産種の *S. plorans* と *S. cothurnatus*、新種1種が発見されたことから、本邦産ヌメリイグチ属は22種となった。また、これまで報告されてきた本邦産 *S. placidus*、*S. salmonicolor* (*S. subluteus*)、*S. tomentosus* はいずれも既知種とは系統的に独立しており新種の可能性が高いと考えられた。これらの分類学的処置は今後の課題である。ヌメリイグチ属は孢子による長距離分散が可能な種が多いと考えられるが、本研究の結果から系統地理学的パターンに多様性がみられることが明らかとなった。今後分析する試料数を増やすことやITS領域以外の分子マーカーを用いて詳細に検討する必要があるが、歴史的要因に加え種間での生活史特性の違いがパターンに多様性をもたらしている可能性がある。

V. 成果発表

2019年度の日本植物分類学会において研究成果を発表する予定である。

VI. 今後の課題

当研究課題では、マツ科樹木にとって重要な共生者であるヌメリイグチ属の本邦における種多様性の再評価と種毎の系統地理学的パターンの比較を行うことをめざした。残念ながら、菌蕈研究所所有の乾燥標本からのDNA分析の成功率は2割弱にとどまり、得られた塩基配列の長さもITS領域全長には至らなかった。これらのことから、系統地理学的研究に長期保管された乾燥標本を有効利用する上で課題が残った。長期保管された標本からのDNA分析に関しては菌類以外の生物群において様々な技術が検討されており、今後それらの応用を進める必要がある。また、国内スケールでの系統地理学的研究を進める上ではITS領域では解像度が低いことが分かった。現在、本邦産13種についてゲノム解析を進めている。今後これらの結果を用いれば高解像の分子マーカーを用いた解析が可能になると考えられる。