

# 博士論文の内容の要旨

## Abstract of Doctoral Dissertation

氏名 Full Name	青木 渉
学位名 Name of Degree	博士 Doctor of (農学/PHILOSOPHY in AGRICULTURAL)
学位授与年月日 Date of The Degree Conferral	2023年 3月 20日/March 20th
論文題目 Dissertation Title	カキシメジ類を含む日本産 <i>Tricholoma</i> 属の資源探索とその利用可能性に関する研究

(博士論文の内容の要旨 Abstract of Doctoral Dissertation)

日本国内において、マツタケなど資源価値の高い菌類や、毒素であるウスタル酸を含有するカキシメジ (*Tricholoma ustale* (Fr.) P. Kummer) など、種々の毒きのこを包含するとともに、難培養性である外生菌根菌として知られる *Tricholoma* 属 (キシメジ属) は、栽培化や多様性に関する研究が盛んにおこなわれるとともに、江戸時代から日本国内で資源利用されている分類群のきのことして有名であるため、新たな資源価値を有する菌類として注目を浴びている。しかし、日本国内ではそれら *Tricholoma* 属についての分類学的な知見は 1900 年代に形態的な検証から海外の既知報告種との比較により報告された種がほとんどであり、近年発達した分子系統解析による遺伝子配列による検討がなされていないとともに、そうした種は低地で記載された種が主であり、亜高山帯や高山帯での調査はいまだ不十分であることが知られる。同様の問題を抱えたカキシメジ類菌類については過去に食資源として利用されてきた過去がある点や、生態学的に種の識別が樹木種に依存していることが示唆されている点でも、これら菌類について生態生理学的な実験による多面的なアプローチは必須である。

本研究ではカキシメジ類菌類について国内外の博物館より供試した標本 40 点および筆者が国内各地で採取した 57 点の計 97 点の標本を解析に用いて、複数領域の遺伝子を用いた DNA 解析と形態観察を用いた分類学的な精査を行うとともに、カキシメジの単離培養株における形態と栄養要求および最適培地の選択、アカマツの二者培養による外生菌根とその形態、菌根形成数と宿主への反応を計測したとともに、ブナ科植物の宿主に対する反応の変化を母樹法をもちいてブナ科植物へと感染させ、その後ブナ科植物を単離培養することで菌根数にどのような変化が現れるか、分類学的な考察結果を踏まえて宿主への嗜好性の検証・考察を行った。加えて、毒素であるウスタル酸について個別に分析を行った。さらに、長野県内の亜高山帯から高山帯を中心に採取した *Tricholoma* 属菌類を基に、国内にて和名で報告されている *Tricholoma* 属菌類と海外の既知種を報告文献を参考に、菌類のバーコード領域である ITS 領域による比較解析を行い、有用な種については新種記載を行った。

カキシメジ類菌類は多遺伝子を用いた分子系統解析で 5 系統へと分岐した。このうち 4 系統は未記載であったため、それぞれ *T. kakishimeji*: カキシメジ, *T. matsushimeji*: マツシメジ, *T. miyama-matsushimeji*: ミヤママツシメジ, *T. kakishimejioides*: カキシメジモドキとして新種報告, 1 系統は海外で既知種であった *T. stans*: アザシメジとして識別された。また、それまでカキシメジの学名に当てられていた *T. ustale* の学名に当たる菌類は、本研究で採取、収集された標本からは検出されなかったため、国内には存在しないか希少な菌類であると考えられる。加えて、*T. miyama-matsushimeji* は、欧州に分布する *T. albobrunneum* と日本の本州以南に分布する *T. matsushimeji* と

連続的な遺伝的特徴を示していたことと、分子年代推定において 190 万年前とごく近年に種分化を示していることから、最終氷河期の遺存種の可能性が高い。これら採取標本から本研究では 28 株、4 系統の培養株を確立した。それぞれの培養株は白色から褐色で 20mm/月で伸長したが、*T. kakishimejioides* は伸長速度が遅く、また褐色の色素を産生する特長を有していた。培養株の最適培地はそれぞれ、*T. kakishimeji* は 1×MNC 培地、*T. matsushimeji* は 0.3×窒素源培地、*T. stans* は 0.3×炭素・窒素源培地、*T. kakishimejioides* は 2×炭素・窒素源 MNC 培地であった。培養株を元手とした菌根合成ではすべてのカキシメジ類外生菌根は白色で菌糸束を多量に発生させる外観を持ち、また顕微鏡下では菌鞘構造は菌糸構造を示し、入り組んでいるとともに、菌の分泌物に由来すると思われる結晶を有し、ハルティヒネットは植物細根の皮層細胞内に発達していた。さらに、自然環境における外生菌根と実験的に合成された外生菌根の間で形態は大まかに一致していた。ブナ科植物への感染はアカマツ上で菌根合成中に消失した *T. kakishimejioides* を除いてすべての系統で確認されたが、マツ属に特異性を示すと考えられた *T. matsushimeji* においてはフィールド研究の結果とは一致しない結果が得られた。これは *T. matsushimeji* が自然条件下でもブナ科植物への感染が可能である事を示している。しかし、後の単離培養においてブナ科植物上での菌根数が減少傾向にあったことから、嗜好性は低いと思われた。ウスタル酸分析の結果では、*T. kakishimeji* 系統の標本からのみ高濃度のウスタル酸が検出されたため、本種が国内でカキシメジによる食中毒を引き起こす原因菌である。また、*T. matsushimeji* は過去の記録から、実際に食利用されてきた種そのものと推察された。以上のようにカキシメジにおける資源利用の推定を踏まえ、国内の *Tricholoma* 属全体と海外種との遺伝子での比較解析を行った結果、国内には 16 種の未記載種、20 種の海外既知種が検出された。特に亜高山帯や高山帯で採取された、新種 *T. alpinum* : タカネゴヨウシメジや日本新産種 *T. melleum* : コガネシメジについては海外種との関連が認められたため、高山域に生息する菌類は最終氷河期に日本列島に侵入し、現在の高山域に定着したと推定される。

本研究では、主題である“*Tricholoma* 属の資源利用可能性を検討する”という命題に対して、亜高山帯や高山帯において多数の有用菌類と近縁な菌類を検出したことに加え、カキシメジ類の、いわゆる毒きのことされる菌類について分類学、生理生態学、分析化学など多面的なアプローチから資源としての利用価値を模索した。加えて、日本国内の亜高山帯以上の森林における *Tricholoma* 属について遺伝資源探索を目的とした系統解析研究を中心としたが、本来入手の難しい欧米や北米など大陸の標本や培養株を日本国内で入手できるようになる点で有用であり、新たな菌類資源研究の基礎として役立つものと考えられるとともに、これが *Tricholoma* 属の成り立ちやその進化を解明しうる重要なピースであることを示した。