

菌根を分離源とした菌根性きのこの遺伝資源拡充 ～分離源菌根の形態学的特徴の解明と分離手法の改良～ 遠藤 直樹 (鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝資源研究センター)

<謝辞>

本助成金研究を遂行するにあたり、ご支援頂いた公益財団法人発酵研究所(IFO)中濱理事長および関係各位、実験等にご協力頂いた鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝資源研究センター、中桐 昭教授、前川 二郎教授、早乙女 梢准教授、上田 祥子氏、山本 樹氏、菅原 遼氏、矢倉愛実氏ほか、学生諸氏に深く御礼申し上げます。

<背景>

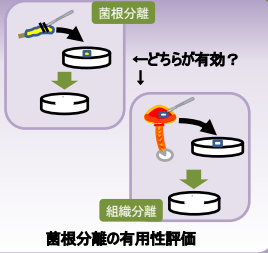
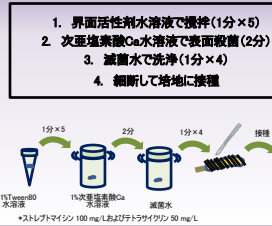
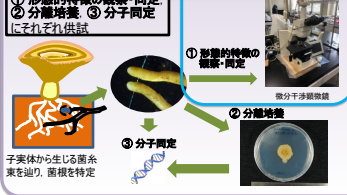
菌根性きのこ...樹木と外生菌根を形成し共生
→腐生性きのこ種と比べて生殖器官である子実体からの分離培養が困難
→基礎・応用研究の材料となる菌株が殆ど得られていない

<本研究の目的>

- 目的1:** 菌根性きのこの栄養器官である菌根からの分離培養法(菌根分離法)により本菌群の菌株拡充
目的2: 菌根を分離源として利用するため、種同定の基準となる菌根の形態情報を集積

<方法>

土壌試料中から菌根を抽出し、
①形態的特徴の観察・同定
②分離培養
③分子同定
にそれぞれ従った



<結果(目的1)>

表1. 菌根分離の結果

学名	個人番号	推定宿主	菌糸 伸長	分離 確立	汚染
<i>Amanita caesareoides</i>	TaY20180906-01	ウダイカン	-	-	+
<i>A. secotiae</i>	TaY20180604-02	スズギ	-	-	+
<i>A. citrinannulata</i>	MarN20170708-04	アラカシ	+	+	-
<i>A. ibotengutake</i>	TaY20180608-04	ヒマヤスギ	+	+	-
<i>A. longistriata</i>	MarN20170708-02	アラカシ	-	-	-
	TaY20180708-01	クロマツ	-	-	-
<i>A. manginiana</i>	TaY20180719-06	スズギ	-	-	-
<i>A. melaleuca</i>	TaY20180708-02	クロマツ	+	+	-
<i>A. oberwinkleriana</i>	TaY20171101-01	コナラ	-	-	-
<i>A. orientagemmata</i>	NaoE20180914-16	コナラ	+	+	-
<i>A. spissacea</i>	TaY20170715-01	アラカシ	+	+	-
<i>A. virginoides</i>	SuR20181020-18	コナラ	-	-	+
<i>A. vaginata</i>	TaY20180808-01	フナ	-	-	+
<i>Amanita</i> sp.	TaY20180808-11	クリ	-	-	+
<i>Boletus leucomelaena</i>	TaY20180907-11	シラカシ	-	-	+
	TaY20180907-20	コナラ	-	-	+
	SuR20180919-25	コナラ	-	-	+
<i>Boletus hirsutake</i>	TaY20180719-09	スズギ	-	-	+
<i>B. violaceofuscus</i>	TaY20170715-02	クヌギ	+	+	-
	TaY20180719-10	スズギ	-	-	-
<i>Cantharellus cinnabarinus</i>	NaoE20180814-01	コナラ	-	-	-
<i>Craterellus luteocornis</i>	TaY20180814-302	アラカシ	+	+	+
<i>Cr. tubiformis</i>	TaY20171101-04	コナラ	-	-	+
<i>Craterellus salor</i>	TaY20181021-05	コナラ	-	-	+
<i>Entoloma aprile</i>	MS20180509-01k	ヤマザラ	-	-	-
<i>E. clypeatum</i>	MS20180428-01k	ニホンシシ	-	-	-
<i>E. sepium</i>	MS20180426-01k	クヌギ	-	-	-
<i>Hydnum repandum</i>	TaY20171026-02	スズギ	-	-	-
	TaY20171125-02	スズギ	-	-	-
<i>H. rufescens</i>	TaY20180707-18	コナラ	-	-	-
<i>Laccaria vinaceaovaleana</i>	TaY20171116-01	スズギ	-	-	-
<i>Lactarius akahatus</i>	TaY20181003-03	クロマツ	+	+	+
	TaY20181016-01	クロマツ	+	+	+
<i>L. chrysorhynchus</i>	TaY20181021-03	アラカシ	-	-	+
<i>L. latitior</i>	SuR20181216-10	クロマツ	+	+	+
<i>L. subindigo</i>	TaY20180918-44	クロマツ	+	+	+
<i>L. lacticolor</i>	TaY20171103-08	クヌギ	+	+	+
<i>L. tottoriensis</i>	TaY20171026-11	モミ	+	+	+
	TaY20180907-13	シラカシ	+	+	+
<i>Leccinum pseudosaburum</i>	TaY20180717-01	イシダシ	-	-	+
<i>Phellodon fuliginosus</i>	TaY20171202-01	クロマツ	-	-	+
	TaY20181117-002	クロマツ	-	-	+
<i>Retiboletus ornatipes</i>	TaY20171117-01	コナラ	-	-	+
	NaoE20180725-06	コナラ	-	-	+
<i>Rhizoglyphus roseolus</i>	TaY20171202-02	クロマツ	+	+	+
<i>Russula nigricans</i>	TaY20181021-04	コナラ	-	-	+
<i>Sarcodon scabrosus</i>	NaoE20181004-12	スズギ	-	-	+
<i>Sarcodon</i> sp.	TaY20181005-30	アラカシ	+	+	-
<i>Suillus spraguei</i>	TaY20180907-02	チナレシラカシ	-	-	+
<i>Tricholoma auratum</i>	SuR20181216-04	クヌギ	+	+	+
	SuR20171116-02	アラカシ	+	+	+
<i>Tricholoma cf. portentosum</i>	TaY20171121-01	シラカシ	-	-	+
	TaY20171121-02	シラカシ	-	-	+
<i>T. japonicum</i>	SuR20181026-001	スズギ	+	+	+
	TaY20171123-07	クロマツ	-	-	+
<i>Tricholoma matsutake</i>	TaY20181021-04	アラカシ	+	+	+
<i>T. pseudomatsutake</i>	SuR20181216-04	アラカシ	-	-	+
<i>T. saponaceum</i>	TaY20180907-11	シラカシ	-	-	+
<i>T. sejunctum</i>	TaY20180907-15	シラカシ	-	-	+
<i>T. sejunctum</i>	TaY20180918-14	オシロイバナ	-	-	+
<i>T. striatum</i>	TaY20181117-001	クロマツ	+	+	+

表2. 菌根分離と組織分離の比較

学名	個人番号	分離結果 菌根	汚染の有無 菌根
<i>Amanita caesareoides</i>	TaY20180906-01	-	+
<i>Amanita manginiana</i>	TaY20180719-06	-	+
<i>Amanita virginiana</i>	SuR20181020-18	-	+
<i>Boletus leucomelaena</i>	TaY20180907-11	-	+
<i>Boletus leucomelaena</i>	TaY20180907-20	-	+
<i>Boletus hirsutake</i>	TaY20180719-09	+	+
<i>Cantharellus salor</i>	TaY20181021-05	-	+
<i>Lactarius akahatus</i>	TaY20181003-03	+	+
<i>Lactarius akahatus</i>	TaY20181016-01	+	+
<i>Lactarius subindigo</i>	SuR20180918-44	+	+
<i>Lactarius tottoriensis</i>	TaY20180907-13	+	+
<i>Leccinum pseudosaburum</i>	TaY20180717-01	-	+
<i>Phellodon fuliginosus</i>	TaY20181117-002	-	+
<i>Retiboletus ornatipes</i>	TaY20180717-01	+	+
<i>Sarcodon scabrosus</i>	NaoE20181004-12	-	+
<i>Sarcodon</i> sp.	TaY20181005-30	+	+
<i>Tricholoma auratum</i>	SuR20181216-04	+	+
<i>Tricholoma japonicum</i>	TaY20181021-04	+	+
<i>Tricholoma matsutake</i>	TaY20180918-14	+	+
<i>Tricholoma striatum</i>	TaY20181117-001	+	+

表3. 菌根分離法の分子同定結果

個人番号	形態同定	菌根の外形	菌根の内部	菌根の長さ	菌根の太さ	菌根の形状
MarN20170708-04	<i>Amanita citrinannulata</i>	<i>Amanita citrinannulata</i>	丸い	100	527	
TaY20180608-04	<i>Amanita ibotengutake</i>	<i>A. ibotengutake</i>	丸い	100	616	
TaY20180708-02	<i>A. melaleuca</i>	<i>A. melaleuca</i>	丸い	99	664	
NaoE20180914-16	<i>A. orientagemmata</i>	<i>A. orientagemmata</i>	丸い	99	528	
TaY20170715-01	<i>A. spissacea</i>	<i>A. spissacea</i>	丸い	99	647	
TaY20170715-02	<i>Boletus violaceofuscus</i>	<i>Boletus violaceofuscus</i>	丸い	99	613	
TaY20181003-03	<i>Craterellus luteocornis</i>	<i>Craterellus luteocornis</i>	丸い	98	723	
TaY20181016-01	<i>Lactarius akahatus</i>	<i>Lactarius akahatus</i>	丸い	99	650	
TaY20181021-03	<i>L. chrysorhynchus</i>	<i>L. chrysorhynchus</i>	丸い	99	704	
SuR20181216-10	<i>L. latitior</i>	<i>L. latitior</i>	丸い	99	705	
TaY20180918-44	<i>L. subindigo</i>	<i>L. subindigo</i>	丸い	97	759	
TaY20171103-08	<i>L. lacticolor</i>	<i>L. lacticolor</i>	丸い	98	720	
TaY20171026-11	<i>L. tottoriensis</i>	<i>L. tottoriensis</i>	丸い	98	888	
TaY20180907-13	<i>L. tottoriensis</i>	<i>L. tottoriensis</i>	丸い	98	888	
TaY20171202-02	<i>Rhizoglyphus roseolus</i>	<i>Rhizoglyphus roseolus</i>	丸い	96	538	
TaY20181005-30	<i>Sarcodon</i> sp.	<i>Sarcodon</i> sp.	丸い	99	617	
TaY20181026-001	<i>T. japonicum</i>	<i>T. japonicum</i>	丸い	100	610	
TaY20181021-04	<i>T. matsutake</i>	<i>T. matsutake</i>	丸い	100	847	
TaY20181117-001	<i>T. striatum</i>	<i>T. striatum</i>	丸い	99	610	

表4. 菌根分離に成功し、分子同定できた種の外生菌根形態

学名	菌根の外形	菌根の内部	菌根の長さ	菌根の太さ	菌根の形状
<i>Amanita citrinannulata</i>	丸い	丸い	100	527	
<i>Amanita ibotengutake</i>	丸い	丸い	100	616	
<i>Amanita melaleuca</i>	丸い	丸い	99	664	
<i>Amanita orientagemmata</i>	丸い	丸い	99	528	
<i>Amanita spissacea</i>	丸い	丸い	99	647	
<i>Boletus violaceofuscus</i>	丸い	丸い	99	613	
<i>Craterellus luteocornis</i>	丸い	丸い	98	723	
<i>Lactarius akahatus</i>	丸い	丸い	99	650	
<i>Lactarius chrysorhynchus</i>	丸い	丸い	99	704	
<i>Lactarius latitior</i>	丸い	丸い	99	705	
<i>Lactarius subindigo</i>	丸い	丸い	97	759	
<i>Lactarius lacticolor</i>	丸い	丸い	98	720	
<i>Lactarius tottoriensis</i>	丸い	丸い	98	888	
<i>Leccinum pseudosaburum</i>	丸い	丸い	96	538	
<i>Phellodon fuliginosus</i>	丸い	丸い	99	617	
<i>Retiboletus ornatipes</i>	丸い	丸い	100	610	
<i>Sarcodon scabrosus</i>	丸い	丸い	100	847	
<i>Sarcodon</i> sp.	丸い	丸い	99	610	
<i>Tricholoma auratum</i>	丸い	丸い	99	617	
<i>Tricholoma japonicum</i>	丸い	丸い	100	610	
<i>Tricholoma matsutake</i>	丸い	丸い	100	847	
<i>Tricholoma striatum</i>	丸い	丸い	99	610	

表5. *Hydnum*属の系統と菌根形態の関係

属名	学名	個人番号	推定宿主	菌根の外形	菌根の内部	菌根の長さ	菌根の太さ	菌根の形状
<i>Rufes</i>	<i>Hydnum</i> sp. 1	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	100	527	
<i>centria</i>	<i>Hydnum</i> sp. 2	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	100	616	
<i>Hydnum</i>	<i>H. repandum</i>	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	99	664	
<i>Polida</i>	<i>H. cf. vesiculosum</i>	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	99	528	
<i>H. minimum</i>	<i>H. minimum</i>	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	99	647	
<i>H. cf. albidum</i>	<i>H. cf. albidum</i>	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	99	613	
市場で入手	<i>Hydnum</i> sp. 3	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	98	723	
	<i>H. cf. albidum</i>	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	99	650	
	<i>H. cf. albidum</i>	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	99	704	
	<i>H. cf. albidum</i>	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	99	705	
	<i>Hydnum</i> sp. 4	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	97	759	
	<i>Hydnum</i> sp. 4	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	98	720	
	<i>Hydnum</i> sp. 4	SuR20180906-01	アラカシ	丸い	丸い	98	888	

表6. 菌根分離に成功し、分子同定できた種の外生菌根形態

学名	菌根の外形	菌根の内部	菌根の長さ	菌根の太さ	菌根の形状
<i>Amanita citrinannulata</i>	丸い	丸い	100	527	
<i>Amanita ibotengutake</i>	丸い	丸い	100	616	
<i>Amanita melaleuca</i>	丸い	丸い	99	664	
<i>Amanita orientagemmata</i>	丸い	丸い	99	528	
<i>Amanita spissacea</i>	丸い	丸い	99	647	
<i>Boletus violaceofuscus</i>	丸い	丸い	99	613	
<i>Craterellus luteocornis</i>	丸い	丸い	98	723	
<i>Lactarius akahatus</i>	丸い	丸い	99	650	
<i>Lactarius chrysorhynchus</i>	丸い	丸い	99	704	
<i>Lactarius latitior</i>	丸い	丸い	99	705	
<i>Lactarius subindigo</i>	丸い	丸い	97	759	
<i>Lactarius lacticolor</i>	丸い	丸い	98	720	
<i>Lactarius tottoriensis</i>	丸い	丸い	98	888	
<i>Leccinum pseudosaburum</i>	丸い	丸い	96	538	
<i>Phellodon fuliginosus</i>	丸い	丸い	99	617	
<i>Retiboletus ornatipes</i>	丸い	丸い	100	610	
<i>Sarcodon scabrosus</i>	丸い	丸い	100	847	
<i>Sarcodon</i> sp.	丸い	丸い	99	610	
<i>Tricholoma auratum</i>	丸い	丸い	99	617	
<i>Tricholoma japonicum</i>	丸い	丸い	100	610	
<i>Tricholoma matsutake</i>	丸い	丸い	100	847	
<i>Tricholoma striatum</i>	丸い	丸い	99	610	

表7. 菌根分離に成功し、分子同定できた種の外生菌根形態

学名	個人番号	分離結果		汚染の有無	
		根圏	菌根	根圏	菌根
<i>Amanita caesareoides</i>	TaY20180906-01	-	-	+	+
<i>Amanita manginiana</i>	TaY20180719-06	-	-	-	+
<i>Amanita virgineoides</i>	SuR20181020-18	-	-	-	+
<i>Boletopsis leucomelas</i>	TaY20180907-11	-	-	+	+
<i>Boletopsis leucomelas</i>	TaY20180907-20	-	-	+	+
<i>Boletus hirsutiusculus</i>	TaY20180719-09	+	-	-	-
<i>Cortinarius albus</i>	TaY20181021-05	-	-	+	+
<i>Lactarius akahatsu</i>	TaY20181003-03	+	-	-	+
	TaY20181016-01	-	+	+	-
<i>Lactarius subindigo</i>	SuR20180918-44	+	+	-	-
<i>Lactarius tottorensis</i>	TaY20180907-13	-	+	+	+
<i>Leccinum pseudocababrum</i>	TaY20180717-01	-	-	+	+
<i>Phellodon fuliginoscabrus</i>	TaY20181117-002	-	-	+	+
<i>Retiboletus ornatis</i>	TaY20180717-02	+	-	-	+
<i>Sarcodon scabrosus</i>	Nae20181004-12	-	-	+	+
<i>Tricholoma sp.</i>	TaY20180905-30	-	-	-	-
<i>Tricholoma japonicum</i>	SuR20181026-001	+	+	-	-
<i>Tricholoma matsutake</i>	SuR20181021-04	+	+	-	-
<i>Tricholoma sejunctum</i>	SuR20180918-14	+	+	-	+
<i>Tricholoma striatum</i>	TaY20181117-001	+	+	-	-