

令和 2 年 6 月 20 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05765

研究課題名(和文)地衣類の共生コンビネーションの可塑性と多様性 - 北極から南極までの系統地理学

研究課題名(英文)Plasticity and diversity of lichens' symbiotic combinations - Pole-to-Pole phylogeography

研究代表者

長沼 毅 (Naganuma, Takeshi)

広島大学・統合生命科学研究所(生)・教授

研究者番号：70263738

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：世界の陸域に広範囲に分布するイワタケ類地衣類の共生微生物相を生物地理的な観点から解析するため、すでに南極やアフリカ赤道域から採集したイワタケ類に加え、フィンランドの北極・亜北極域、赤道域のギアナ高地、カナダ亜北極域、南アフリカおよびオーストリアアルプスでイワタケ類を採集し、かつ、国立極地研究所から北極圏スピッツベルゲン島産のイワタケ類を入手した。これらのイワタケ類試料について菌類・藻類と共生微生物相の小サブユニットrRNA遺伝子解析および網羅的マイクロバイオーム解析を行った。その結果、南極域と非南極域の間に生物地理的な境界線、いわば地衣類微生物の「ウォレス線」が引けることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地衣類は、人類の将来的な課題「火星テラフォーミング」において“最初の光合成生物”として送られる“先遣生物”になる可能性がある。地球でもっとも火星に近い環境は南極であるが、その南極の地衣類の共生微生物相が他地域と大きく異なることは、火星先遣生物の検討材料になると考えられる。また、本研究で得られた「同じ共生藻種でも葉緑体が異なる」という知見は、環境ストレスに応じた光合成オルガネラのバリエーションを暗示し、やはり火星先遣生物の検討項目を提示したことになると考えられる。このように、本研究には、火星テラフォーミングという、直近ではないが将来的な重要課題に取り組む足場を築くという意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Microflorae associated with rock tripe lichens that occur on most land areas of the Earth were profiled in terms of biogeography. The lichen specimens were obtained from Antarctica, equatorial Africa, Arctic and sub-Arctic Finland, equatorial Guiana Shields, sub-Arctic Canada, South Africa and Austrian Alps, as well as from the herbarium of the National Institute of Polar Research.

The specimens were analyzed to profile the co-occurring microflorae as well as co-symbiotic fungal and algal species. The results showed a biogeographic border between microflorae of the Antarctic and non-Antarctic rock tripe lichens.

研究分野：微生物生態学

キーワード：地衣類 イワタケ類 共生関係 微生物相 可塑性 分子系統 生物地理 系統地理

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地衣類は菌類がハウス(紫外線や乾燥、強風などの環境ストレスからのシェルター)を、藻類が光合成産物を提供し合う共生体である。菌類・藻類の共生種の組合せは地衣類のタイプごとに特異的であり、生物地理的な分布特性を示すと考えられるが、その一方で、組合せの可塑性や、種レベル以下での組合せの多様性も指摘されていた。ここでは菌種・藻種という系統の問題と、継承される環境適応という進化の問題と、共生の原因/結果としての生物地理の問題が緋い交ぜになっていて、これを解き明かす学問分野としては系統地理学が有効と考えられた。

地衣類の生物地理の研究例はそれほど多くなかった。生物医学系の学術文献データベース PubMed にて「地衣類、生物地理」の検索語で 1995~2014 年の 20 年間で 99 件しかヒットしなかった(右図)。うち 2010 年以降で全体の半分以上(58 件)だった。さらに「地衣類、系統地理」で検索すると、2003~2014 年の 12 年間で 11 件しかヒットしなかった。ちなみに、本研究課題申請年の 2015 年から現在(2020 年 6 月)までの 6 年足らずの間の該当ヒット数は 11 件であり、年あたりの論文数が倍増したことがわかる(それでも年に 2 件程度しかないが)。

2. 研究の目的

本研究では、他の生物や人間による攪乱の少ない荒原を調査フィールドとし、地球上の幾つかの荒原にて「誰にでも判別しやすくサンプリングしやすい地衣類」を対象として、その系統地理学的な解析から、菌類 - 藻類の共生関係の可塑性と多様性を解明することを目的とした。

本研究では限られたサンプリング機会で、できるだけ多くの試料を採取するため、サンプリング対象としては「誰にでも判別しやすく、サンプリングしやすい地衣類」をターゲットにし、その有力な候補のひとつとしてチャシブゴケ菌綱の葉状地衣類を検討した。

地衣類の生活型には葉状、痂状(かじょう、かさぶた状)、樹状の 3 タイプがある。痂状は採りにくく、樹状は見つけにくい上に採りにくいものに対し、葉状は岩石表面などで見つけやすい上に採りやすい。その代表例としてチャシブゴケ菌綱のイワタケ類(*Umbilicaria* 属)(図 1)に本研究では着目した。その理由は:

南極から北極まで地球規模で(グローバルに)分布していること
野外でも属レベル(悪くても科レベル)なら容易に判別可能なこと
本応募者らはすでに南極・北極域などで採取した経験があること
国内の植物標本庫(ハーバリウム)も利用できること、などである。

採取したイワタケ類について DNA 塩基配列にもとづくに分子系統分類を行った。そのターゲットとなる遺伝子ないし DNA 領域の塩基配列とその目的を以下に示す。

18S rRNA 遺伝子: 菌類と真核藻類の大まかな種同定
16S rRNA 遺伝子: 真核藻類の葉緑体の分類、シアノバクテリアなどの原核生物大まかな種同定
ゲノムの ITS 領域: 菌類と真核藻類の大まかな種同定



図 1 イワタケ
(約 1 cm)

本研究は地球規模でのサンプリングを目論み、特に日本南極地域観測事業(JARE)の第 IX 期計画(平成 28~令和 2 年度)とリンクさせた南極調査を含むことも企図し、研究期間を 5 年とした。この 5 年の間で入手したイワタケ類から順次、上記のターゲット DNA 配列についてシーケンスし、系統分類的な解析を施して地理的な特徴と対応させることを主な目的とした。

3. 研究の方法

調査フィールドは他の生物や人間からの攪乱を受けにくい辺地の荒原とし、できるだけ多様で分散的な候補地として、高緯度域(南極、北極)および中~低緯度域の高山ならびに乾燥地などを選定した。現地では位置・環境情報の取得と生態調査をしつつ、イワタケなどの葉状地衣類を採取した。また、国内のハーバリウムからもサンプルを入手した。これらのサンプルの採集地(入手先)を以下に挙げる:

本研究以前の採集サンプル: 南極・昭和基地周辺、アフリカ・ルウェンゾリ山頂氷河
初年度(2016 年度)フィンランドの北極圏・亜北極圏、赤道域のギアナ高地
第 2 年度(2017 年度)カナダ亜北極域のサルイット、亜南極(海洋性南極)のシグニー島
第 3 年度(2018 年度)は南アフリカ・ゴールデンゲートハイランド国立公園
国立極地研究所のハーバリウムから北極圏スピッツベルゲン島産のイワタケ類地衣類
第 4 年度(2019 年度)オーストリア・アルプス

採集・入手した地衣類サンプルについて菌類・藻類の構成種および藻類葉緑体ならびに共生微生物相について、18S rRNA 遺伝子(菌類、藻類)および 16S rRNA 遺伝子(藻類の葉緑体、シアノバクテリア、その他のバクテリアやアーキア)をターゲットとした標準的なクローン解析を行ったほか、Illumina 社の MiSeq を用いた次世代シーケンシングによる 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域をターゲットとした網羅的マイクロバイオミクス解析を行った。これにより、各地から採取した地衣類を構成する菌類と藻類および藻類葉緑体の遺伝子的な距離と地理的な距離を比較し、系統地理学的な考察を行うことができた。

4. 研究成果

(1) 地衣類を構成する菌類と藻類および葉緑体のコンビネーション

南極・昭和基地周辺から採集した地衣類について、地衣類を構成する菌類と藻類の 18S rRNA 遺伝子および ITS 領域の塩基配列を解析して分子系統樹を作成したところ、菌類はイワタケ類 (*Umbilicaria* 属) の複数種からなり (図 2)、藻類は *Coccomyxa* 属と *Trebouxia* 属の種からなるが、ひとつの地衣類に両藻類が共存する例はなかった (図 3)

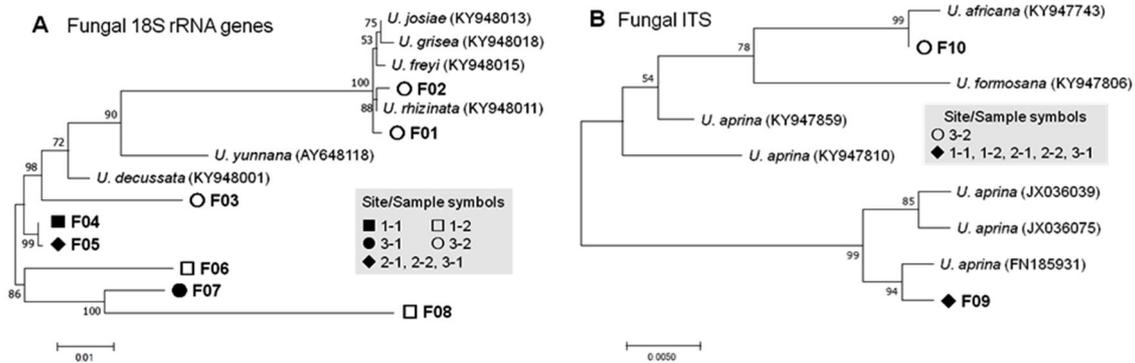


図 2. 南極・昭和基地周辺のイワタケ類地衣類の構成菌類の 18S rRNA 遺伝子 (A) および ITS 領域 (B) の塩基配列にもとづく分子系統樹

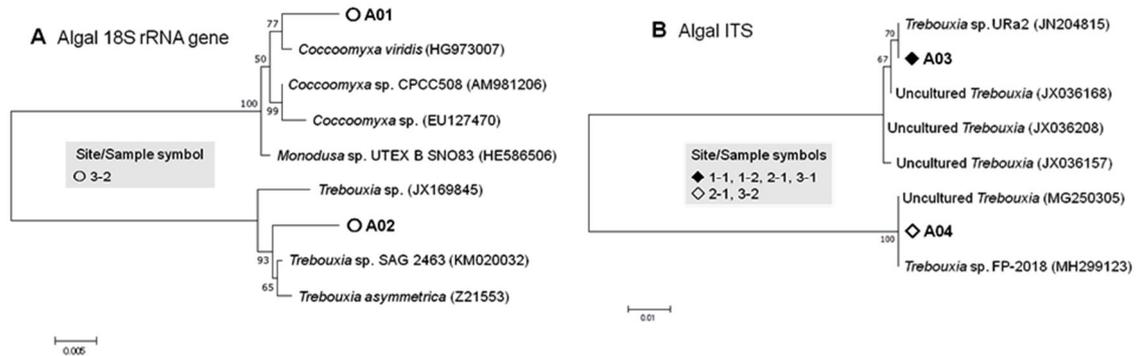


図 3. 南極・昭和基地周辺のイワタケ類地衣類の構成藻類の 18S rRNA 遺伝子 (A) および ITS 領域 (B) の塩基配列にもとづく分子系統樹

一方、地衣類を構成する藻類の葉緑体について、16S rRNA 遺伝子のほぼ全長と V3-V4 領域の塩基配列を解析したところ、上述の構成藻類 (*Coccomyxa* 属と *Trebouxia* 属) に典型的な葉緑体ではなく、*Neglectella* 属藻類や他の南極には見られない藻類の葉緑体に近縁であることがわかった (図 4)。このことは、藻類と葉緑体の間に今まで知られていなかったコンビネーションあるいは「隠れた多様性」 cryptic biodiversity があることを示しているのかもしれない。

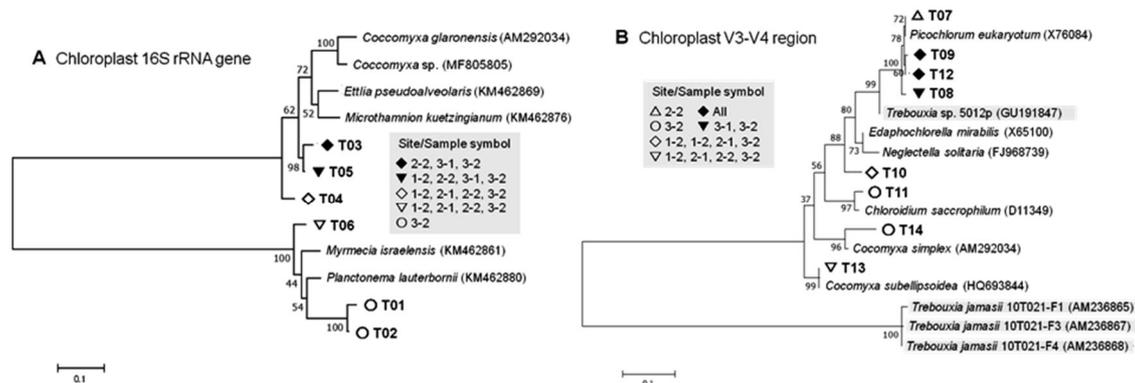


図 4. 南極・昭和基地周辺のイワタケ類地衣類を構成する藻類葉緑体の 16S rRNA 遺伝子のほぼ (A) および V3-V4 領域 (B) の塩基配列にもとづく分子系統樹

(2) 地衣類に共存する微生物の種組成 (微生物相)

シアノバクテリア

南極・昭和基地周辺から採集した地衣類について、地衣類を構成するシアノバクテリアの葉緑体の 16S rRNA 遺伝子と V3-V4 領域の塩基配列を解析したところ、地衣類構成種としてよく知られている *Nostoc* 属は少なく、むしろ、これまで地衣類との関係があまり知られていなかった *Microcoleus* 属のシアノバクテリアが優占することがわかった。

シアノバクテリア以外の原核生物

地衣類には光合成独立栄養を営むシアノバクテリア以外にも、主に従属栄養と考えられる微生物 (原核生物) が共存することが知られているが、それらの種組成 (微生物相) や生理的役割などはまだ報告例が少ない。本研究では、世界各地から集めたイワタケ類地衣類の共存微生物について、16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域について網羅的解析を行い、その微生物相の地理的な分布傾向を調べた。個々の遺伝子型 (非培養法の遺伝子解析のみなので“種”とは呼べず、ここではファイロタイプと呼ぶ) は、種レベルでの特徴や傾向性は細かくなりすぎるので、ここでは門レベルでの顕著な特徴についてのみ報告する。なお、シアノバクテリア以外の原核生物のうち、バクテリアのファイロタイプのみが検出され、アーキア (古細菌) は検出されなかった。

世界各地の地衣類の共存微生物相において、もっとも顕著な特徴は、南極産イワタケ類の共存微生物相では Bacteroidetes 門が優占する一方、非南極域のイワタケ類では Proteobacteria 門が優占していることである (図 5)。

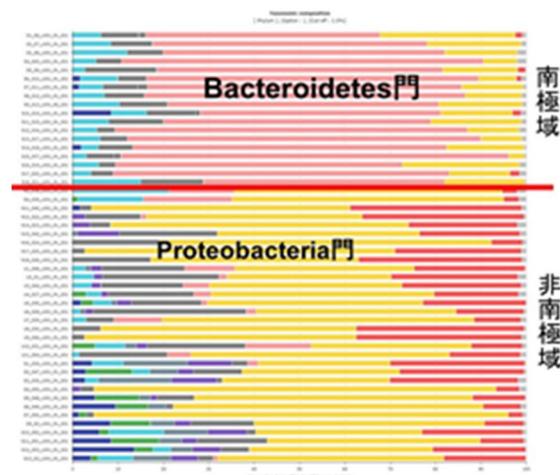


図 5. 世界各地で採集したイワタケ類地衣類 (*Umbilicaria* 属) のシアノバクテリア以外の共存微生物の門レベルでの組成

このことは、南極域と非南極域の間、すなわち周南極域に、生物地理学的な境界線が存在することを示唆するものである。動物地理学で有名な分布境界線 (ウォレス線) になぞらえて、微生物ウォレス線と呼べるかもしれない。ただし、調査例 (サンプル数) をさらに増やすことと、門レベル以下の分類単位での詳細な検討を行なうことが必要なことはもちろんであり、今後はサンプルおよびデータの拡充と、近年の発達が目覚ましいバイオインフォマティクスを用いた大量データの高精度解析を行なうことを期したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Merry S. Faluaburu, Ryosuke Nakai, Satoshi Imura, Takeshi Naganuma	4. 巻 7
2. 論文標題 Phylotypic characterization of mycobionts and photobionts of rock tripe lichen in East Antarctica	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 203
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/microorganisms7070203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Faluaburu, M.S., Kashihara, K., Ayaka, O., Uetake, J., Imura, S., Hahn, M., Naganuma, T.
2. 発表標題 Analysis of bacterial microbiota associated with genus Umbilicaria lichen by Illumina MiSeq and Sanger sequencing methods
3. 学会等名 The Ninth Symposium on Polar Science
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Merry S. Faluaburu, Ohsato Ayaka, Jun Uetake, Satoshi Imura, Takeshi Naganuma
2. 発表標題 Biogeography of bacterial flora associated with rock tripe and related lichens inhabiting polar, alpine and equatorial regions
3. 学会等名 The Eighth Symposium on Polar Science 第8回極域科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Merry S. Faluaburu, Katsuhiko Kasihara, Jun Uetake, Satoshi Imura, Takeshi Naganuma
2. 発表標題 Diversity of bacteria associated with rock tripe lichens inhabiting Arctic, Antarctic and alpine locations
3. 学会等名 The Seventh Symposium on Polar Science (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊村 智 (Imura Satoshi) (90221788)	国立極地研究所・研究教育系・教授 (62611)	
研究分担者	辻本 恵 (Megumu Tsujimoto) (90634650)	慶應義塾大学・環境情報学部(藤沢)・講師 (32612)	
研究分担者	中井 亮佑 (Ryosuke Nakai) (90637802)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究員 (82626)	