

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440199

研究課題名(和文) 新命名規約に対応した不完全菌類分類体系の新構築：菌界最大群のクロイボタケ綱を例に

研究課題名(英文) Proposal of fungal systematics coped with the discontinuation of dual nomenclature: an example in Dothideomycetes

研究代表者

田中 和明 (Tanaka, Kazuaki)

弘前大学・農学生命科学部・准教授

研究者番号：60431433

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：菌類分類学は新規命名規約(有性・無性生殖時代の統合化)によって新たな展開を迎えつつある。真の意味でこれに対応した分類体系を提案するため、菌界最大群のクロイボタケ綱について、不完全菌類からみた新たな分類基盤の構築を試みた。その結果、大部分が無性生殖時代の種で構成されるペリコニア科やディクティオスポリウム科など、新たな系統群が見いだされ、菌類分類体系を再構築するに当たって、不完全菌類の形態形質が系統的に有用であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Phylogenetic significance of asexual morphs in dothideomycetous fungi was evaluated to propose a new undertaking in fungal systematics coped with the discontinuation of dual nomenclature of pleomorphic fungi. Morphological examinations and phylogenetic analyses using SSU, LSU, and ITS nrDNA, and TEF1 sequences were carried out for sexual and asexual species in Dothideomycetes to understand their ordinal and familial placements. Several lineages which mostly include species with asexual morphs, such as Periconiaceae and Dictyosporiaceae, were recognized as natural phylogenetic groups. Therefore, phenotypic characters of asexual fungal species were considered as significant phylogenetic indicators for evaluating evolutionary relationships among Dothideomycetes.

研究分野：菌学

キーワード：菌類 分類 系統 無性生殖 有性生殖 分類体系 命名規約 不完全菌類

1. 研究開始当初の背景

(1) 命名規約の変更

菌類分類学は変革期を迎えている。培養菌株によるタイプ指定の容認や、ラテン語記載義務の撤廃に加え、2013年1月1日からは二重命名法 (Dual Nomenclature System) が完全撤廃された。菌類は、有性および無性生殖時代のそれぞれに別の学名が与えられるといった二重命名法が、同一種に対して特例的に認められてきた。しかし、今後これらの学名は一本化され、両時代をさす学名間でも優先権が争われる。「新たな命名規約」による 1 Fungus = 1 Name (1F = 1N) の流れにより、従来の菌類分類体系には重要視されてこなかった無性生殖時代が大きな意味をもつこととなった (図 1)。

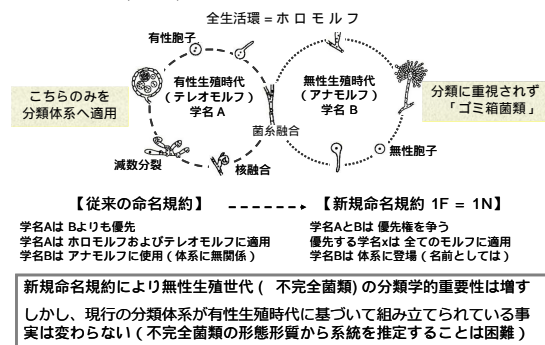


図 1. 菌類命名規約の変更

学名のインフレーション (ダブルカウント) が抑制されること、より理解しやすい学名の運用が可能となること、無性生殖時代の学名も分類体系に登場するためより系統を反映した自然分類が将来的に構築できることなど、新たな命名規約による利点は大きいと一般的には考えられている。しかし、菌種の学名が無性または有性生殖時代のどちらに変わろうとも、現行の分類体系が有性生殖時代の形態形質に重点を置き構築されているという事実には変わりはない。

(2) 菌類分類体系の問題点

菌類は推定種数 150 万ともいわれる巨大生物群であり、広く活用されている有用微生物資源であるが、その分類・同定は分子ツールの利用が可能となった現在においても非常に難しい。なかでも子のう菌門に所属する菌界最大群の「クローボタケ綱」 (Dothideomycetes) は、有用二次代謝産物の探査源として注目されているものの、その分類の困難さから基礎研究が立ち遅れてきた。

本菌群の 2 亜綱・10 目・41 科は、主に有性生殖時代 (テレオモルフ: 減数分裂を伴う) の形態形質 (子実体、子のう、胞子など) により定義付けられてきた。一方、申請者は無性生殖時代 (アナモルフ: クローンにより増殖) の形質により明確に規定できるグループ

の存在を明らかにし、5 属 17 種からなる新科のテトラプロスフェリア科を提唱した。この発見は従来の菌類分類体系にほとんど考慮されてこなかった無性生殖時代の形質が、分類学上重要であり、系統進化的にも意義があることを示唆している。

菌類には 1) 有性・無性の両生殖時代により生活環を全うする種、2) 無性生殖をせず有性生殖時代のみを持つ種、3) 有性生殖時代を放棄し無性生殖のみで進化してきた種 (あるいは単に人間が有性生殖時代を見いだせていない種) が存在する。前者 1) 2) の種は、有性生殖時代の形質を重要視した現行の分類体系に直接的な意味を持つ。すなわち、有性生殖時代の形態形質を精査することにより、遺伝子データは少なくとも何綱・何目・何科に所属するかを推測することが可能である。対照的に 3) に相当する種は古くから「不完全菌類」と呼ばれ、属名・種名は与えられるものの、それ以上の系統情報については、塩基配列データを用いない限り「菌界のおそらくは子のう菌門に所属する」ということ以外の系統推定が不可能であった。つまり、不完全菌類 (あるいは無性生殖時代) に基づいた分類体系が存在しない為に、ただの「ごみ箱菌類」としてしか系統情報を持っていない状態であるといえる。このように系統を理解できない種が存在することは、菌類分類体系における大きな欠点であるといえる。

2. 研究の目的

本研究ではクローボタケ綱菌類 (有性生殖時代) とクローボタケ系不完全菌類 (無性生殖時代) から得た塩基配列を分子系統解析することで、最大級のクローボタケ綱系統樹を構築することを試みた。有性生殖時代の形質に基づく既知の目や科ごとに、どのような形質をもった不完全菌類が所属するかを把握することで、不完全菌類の情報を統合したクローボタケ綱の新たな分類体系の提唱を目指した。

3. 研究の方法

クローボタケ綱は菌界最大の菌群であるため分類基盤の確立が遅れてきたが、近年になって 5 遺伝子 356 菌株に基づく分子系統樹が発表され、その系統理解が急速に進みつつある (Schoch et al. 2009, Studies in Mycology 64: 1-15)。

申請者は独自の菌株コレクションとして、多様な科で構成される 891 株のクローボタケ菌群 (有性生殖時代の菌株) を分離済みである。既知のクローボタケ綱分子系統樹と、申請者現有の菌株から得た塩基配列情報を統合することで、クローボタケ綱菌類のより充実した分子系統樹を 5 遺伝子領域 (SSU, LSU rDNA, TEF1, RPB1, RPB2) に基づき構築した。

本研究で重点をおく不完全菌類については、これまでに930株をすでに得ている。塩基配列データから系統を推定してきたこれまでの経験から、およそ半数はクロイボタケ綱に所属する不完全菌であると考えられる。これらの菌群が、クロイボタケ綱の系統樹内において、どのような系統群に分散するのかを把握することで、各無性生殖世代の形態形質がもつ系統的有用性を評価した。

以上、現有の菌株について形態形質の把握と分子系統解析を進めるとともに、本研究では北海道から沖縄県まで広範な地域から菌類を新たに採集することで、多様な系統群にまたがる新規性の高い菌種について系統考察に加えることを試みた。

#### 4. 研究成果

菌類分類学は新規命名規約（二重命名法の撤廃 = 有性・無性生殖時代の統合化）によって新たな展開を迎えつつある。真の意味でこれに対応した分類体系を提案するため、菌界最大群のクロイボタケ綱について、不完全菌類（無性生殖時代）からみた新たな分類基盤の構築を目指した。

現有の菌株のうち、有性生殖時代の形態形質からクロイボタケ綱に所属することが推定される菌株と、系統的所属を推定できないクロイボタケ綱不完全菌類について、DNAを抽出するとともに、LSU rDNA 配列を取得しブラスト解析することで、基本的系統情報の把握を進めた。

同時に、北海道から沖縄県にわたる広範な菌類採集調査から、研究期間を通じて約500株の純粋培養株を新たに得た。これらについても LSU rDNA 配列に基づく系統推定を進めた。

その結果、既知種とは系統的に一致しないマッサリナ亜目（クロイボタケ綱・プレオスポラ目）の系統群が多数見いだされた。これらの菌群について SSU, LSU, ITS rDNA, TEF1 の配列データに基づく分子系統解析と、形態データの比較を行った結果、2新科・10新属・29新種（7種の新組合せを含む）を見だし、正式に記載・命名した。

本菌群に所属し、大部分が無性生殖時代の種からなるペリコニア科は、1934年に設立されたものの人為的分類群であると見做され菌類の分類体系には用いられてこなかった系統群である。しかし、無性生殖時代の形態形質に基づき他科と明確に区別でき、分子系統的にも独立した系統群であることが見いだされ、自然分類群としてあらためて認識すべきであることが本研究により提案された。そのほか、同じく大部分が無性生殖時代の種からなるディクティオスポリウム類縁菌も、その無性生殖時代の形態的独自性から判断し、独立した系統群であることが確認された。これらの事例は、菌類分類体系を再構築するに当たって、不完全菌類の系統学的有用性を

示す好例であると考えられた (Tanaka et al. 2015)。

各菌株の系統推定を進めるなかで、不完全菌類のクリプトコリネウム属菌が多数見いだされた。本属は有性生殖時代が不明であったため、菌類分類体系に組み込まれておらず、長いこと系統不明な属とされてきたが、本研究によりクロイボタケ綱・ロフィオトレマ科に近縁であることが初めて明らかとなった。本属既知種との比較から、7新種のクリプトコリネウム属菌が見いだされ、正式に命名・記載された。分子系統解析の結果、本菌群はロフィオトレマ科に類縁性があるものの、無性生殖世代の形態的特徴が大きく異なることから、独立した系統群（新科）に所属する可能性が高いと考えられた。本菌群についても、不完全菌類の特徴に基づくことで新たな科の定義を提案できる可能性があると考えられた (橋本・田中 2015)。

以上を通じ、研究期間内に計3新科・21新属・78新種（新組合せを含み）を見だし、正式に命名・記載することで、日本における菌類多様性の一端を明らかにした。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 22 件)

\* 以下全て査読あり

- 1) Rossman AY, Crous PW, Hyde KD, Hawksworth DL, Aptroot A et al. (Tanaka K 35 番目/47 人中) (2015) Recommended names for pleomorphic genera in Dothideomycetes. *IMA Fungus* 6: 507–523. DOI: 10.5598/imafungus.2015.06.02.14
- 2) Ariyawansa HA, Hyde KD, Jayasiri SC, Buyck B, Chethana KWT et al. (Tanaka K 49 番目/130 人中) (2015) Fungal diversity notes 111–252—taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal Diversity* 75: 27–274. DOI: 10.1007/s13225-015-0346-5
- 3) Tanaka K, Hirayama K, Yonezawa H, Sato G, Toriyabe A, Kudo H, Hashimoto A, Matsumura M, Harada Y, Kurihara Y, Shirouzu T, Hosoya T (2015) Revision of the Massarineae (Pleosporales, Dothideomycetes). *Studies in Mycology* 82: 75–136. DOI: 10.1016/j.simyco.2015.10.002
- 4) Thambugala KM, Hyde KD, Tanaka K, Tian Q, Wanasinghe DN, Ariyawansa HA, Jayasiri SC, Boonmee S, Camporesi E, Hashimoto A, Hirayama K, Schumacher RK, Promputtha I, Liu ZY (2015) Towards a natural classification and backbone tree for Lophiostomataceae, Floricolaceae, and Amorosiaceae fam. nov. *Fungal Diversity* 74: 199–266. DOI: 10.1007/s13225-015-0348-3

- 5) Phookamsak R, Norphanphoun C, [Tanaka K](#), Dai DQ, Luo ZL, Liu JK, Su HY, Bhat DJ, Bahkali AH, Mortimer PE, Xu JC, Hyde KD (2015) Towards a natural classification of *Astrosphaeriella*-like species; introducing Astrosphaeriellaceae and Pseudoastrosphaeriellaceae fam. nov. and *Astrosphaeriellopsis*, gen. nov. *Fungal Diversity* 74: 143–197.  
DOI: 10.1007/s13225-015-0352-7
- 6) Raja HA, El-Elimat T, Oberlies NH, Shearer CA, Miller AN, [Tanaka K](#), Hashimoto A, Fournier J (2015) Minutisphaerales (Dothideomycetes, Ascomycota): a new order of freshwater ascomycetes including a new family, Minutisphaeraceae, and two new species from North Carolina, USA. *Mycologia* 107: 845–862.  
DOI: 10.3852/15-013
- 7) Honmura Y, Takekawa H, [Tanaka K](#), Maeda H, Nehira T, Warren H, Hashimoto M (2015) Computation-Assisted Structural Elucidation of Epoxyroussoeone and Epoxyroussoedione Isolated from *Roussoella japonensis* KT1651. *Journal of Natural Products* 78: 1505–1510.  
DOI: 10.1021/np500924n
- 8) Arayama M, Nehira T, Maeda H, [Tanaka K](#), Miyagawa H, Ueno T, Hosokawa S, Hashimoto M (2015) Isolation, ECD assisted structural analyses, biosynthetic discussions, and biological activities of epi-cochlioquinones D and its derivatives. *Tetrahedron* 71: 4788–4794.  
DOI: 10.1016/j.tet.2015.05.044
- 9) Liu JK, Hyde KD, Jones EBG, Ariyawansa HA, Bhat DJ et al. ([Tanaka K](#) 40 番目/78 人中) (2015) Fungal diversity notes 1–110: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal species. *Fungal Diversity* 72: 1–197.  
DOI: 10.1007/s13225-015-0324-y
- 10) Hashimoto A, Sato G, Matsuda T, Matsumura M, Hatakeyama S, Harada Y, Ikeda H, [Tanaka K](#) (2015) Taxonomic revision of *Pseudolachnea* and *Pseudolachnella* and establishment of *Neopseudolachnella* and *Pseudodinemasporium* gen. nov. *Mycologia* 107: 383–408.  
DOI: 10.3852/14-171
- 11) Hashimoto A, Sato G, Matsuda T, Hirayama K, Hatakeyama S, Harada Y, Shirouzu T, [Tanaka K](#) (2015) Molecular taxonomy of *Dinemasporium* and its allied genera. *Mycoscience* 56: 86–101.  
DOI: 10.1016/j.myc.2014.04.001
- 12) Wijayawardene NN, Crous PW, Kirk PM, Hawksworth DL, Boonmee S et al. ([Tanaka K](#) 25 番目/52 人中) (2014) Naming and outline of Dothideomycetes–2014 including proposals for the protection or suppression of generic names. *Fungal Diversity* 69: 1–55.  
DOI: 10.1007/s13225-014-0309-2
- 13) Ariyawansa HA, [Tanaka K](#), Thambugala KM, Phookamsak R, Tian Q, Camporesi E, Hongsanan S, Monkai J, Wanasinghe DN, Mapook A, Chukeatirote E, Kang JC, Xu JC, McKenzie EHC, Jones EBG, Hyde KD (2014) A molecular phylogenetic reappraisal of the Didymosphaeriaceae (= Montagnulaceae). *Fungal Diversity* 68: 69–104.  
DOI: 10.1007/s13225-014-0305-6
- 14) Liu JK, Phookamsak R, Dai DQ, [Tanaka K](#), Jones EBG, Xu JC, Chukeatirote E, Hyde KD (2014) Roussoellaceae, a new pleosporalean family to accommodate the genera *Neorousoella* gen. nov., *Rousoella* and *Rousoellopsis*. *Phytotaxa* 181: 1–33.  
DOI: doi.org/10.11646/phytotaxa.181.1.1
- 15) Schoch CL, Robbertse B, Robert V, Vu D, Cardinali G et al. ([Tanaka K](#) 82 番目/101 人中) (2014) Finding needles in haystacks: linking scientific names, reference specimens and molecular data for Fungi. *Database* Vol. 2014: article ID bau061.  
DOI: 10.1093/database/bau061
- 16) Hirayama K, Hashimoto A, [Tanaka K](#) (2014) A new species, *Lophiostoma versicolor*, from Japan (Pleosporales, Dothideomycetes). *Mycosphere* 5: 411–417.  
DOI: 10.5943/mycosphere/5/3/3
- 17) Hirose A, Kudo S, Murakami T, [Tanaka K](#), Harada Y, Hashimoto M (2014) Lambertellin System, the mechanism for fungal replacement of *Monilinia fructigena* with *Lambertella corni-maritima* without competitive inhibition on agar media. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 22: 2489–2495.  
DOI: 10.1016/j.bmc.2014.02.051
- 18) Hyde KD, Jones EBG, Liu JK, Ariyawansa H, Boehm E et al. ([Tanaka K](#) 29 番目/68 人中) (2013) Families of Dothideomycetes. *Fungal Diversity* 63: 1–313.  
DOI: 10.1007/s13225-013-0263-4
- 19) Raja HA, Oberlies NH, Figueroa M, [Tanaka K](#), Hirayama K, Hashimoto A, Miller AN, Zelski SE, Shearer CA (2013) Freshwater Ascomycetes: *Minutisphaera* (Dothideomycetes) revisited, including one new species from Japan. *Mycologia* 105: 959–976.  
DOI: 10.3852/12-313
- 20) Takekawa H, [Tanaka K](#), Fukushi E, Matsuo K, Nehira T, Hashimoto M (2013) Roussoellols A and B, Tetracyclic Fusicocanes from *Roussoella hysteroideus*. *Journal of Natural Products* 76: 1047–1051.  
DOI: doi.org/10.1021/np400045z
- 21) Hosoya T, Saito Y, Harada Y, [Tanaka K](#), Zhao YJ, Kakishima M (2013) *Stammaria americana*, new to Japan and occurring on

*Equisetum* stems. *Mycosystema* 32: 448–456.  
http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical/jwx22  
01303009

- 22) Nekoduka S, Tanaka K, Sano T (2013) Overwintering of brown leaf spot fungus, *Mycochaetophora gentianae*, in infected gentian leaves as the primary inoculum source. *Journal of General Plant Pathology* 79: 175–177.  
DOI: 10.1007/s10327-013-0438-6

〔学会発表〕(計 16 件)

- 1) 田中和明 (2015) ワンランク上の顕微鏡写真. 第9回植物病害診断研究会. 秋田県, 秋田市秋田拠点センターALVE 多目的ホール. 2015年10月26日
- 2) 服部友香子・中島千晴・田中和明・神田多・本橋慶一 (2015) ヒノキ科樹木3属に寄生する *Phyllosticta* 属菌の分類学的再検討. 樹木医学会第20回大会. 東京, 東京農業大学. 2015年10月25日.
- 3) Hashimoto A, Tanaka K (2015) Phylogenetic and morphological assessment of *Cryptocoryneum*. Asian Mycological Congress 2015, Goa, India, 7-10, October 2015.
- 4) 服部友香子・中島千晴・田中和明・本橋慶一 (2015) ヒノキ科樹木3属に寄生する *Phoma pilispora* の分類学的再検討とエピタイプの確立. 日本菌学会第59回大会, 沖縄県, 那覇市ぶんかテンプス館. 2015年5月15-18日.
- 5) 松村美里・加藤航・橋本陽・René K. Schumacher・高橋由紀子・白水貴・田中和明 (2015) ブナ属に寄生する *Neohendersonia* 属菌の分類学的検討 (2). 日本菌学会第59回大会, 沖縄県, 那覇市ぶんかテンプス館. 2015年5月15-18日.
- 6) 田中和明・秋山楓・中村史哉・松村美里・橋本陽・René K. Schumacher・高橋由紀子・細矢剛 (2015) 日本およびヨーロッパにおけるブナ属寄生菌類の比較. 日本菌学会第59回大会, 沖縄県, 那覇市ぶんかテンプス館. 2015年5月15-18日.
- 7) 橋本陽・田中和明 (2015) *Cryptocoryneum* 属菌の分類学的再検討. 日本菌学会第59回大会, 沖縄県, 那覇市ぶんかテンプス館. 2015年5月15-18日.
- 8) 橋本陽・佐藤玄樹・松田考広・田中和明 (2014) *Pseudolachnella* 様菌類の分類学的検討. 日本菌学会第58回大会, 石川県, サイエンスヒルズ小松. 2014年6月14-15日.
- 9) 松村美里・加藤航・橋本陽・高橋由紀子・白水貴・田中和明 (2014) ブナ属に寄生する *Neohendersonia* 属菌の分類学的検討. 日本菌学会第58回大会, 石川県, サイエンスヒルズ小松. 2014年6月14-15日.
- 10) 田中和明・品野綾子・橋本陽・鳥谷部綾美・山崎紘司・平山和幸・白水貴 (2014) ブ

ナ属に寄生する *Scolicosporium* 様菌類の分類学的検討 (2). 日本菌学会第58回大会, 石川県, サイエンスヒルズ小松. 2014年6月14-15日.

- 11) 佐藤豊三・小野剛・田中和明・服部力 (2014) 小笠原諸島の菌類とその宿主 (追補2). 日本菌学会第58回大会, 石川県, サイエンスヒルズ小松. 2014年6月14-15日.
- 12) 原田幸雄・田中和明・佐野輝男 (2013) ハルニレ白粒葉枯病 (新称) について. 平成25年度日本植物病理学会東北部会 (秋田市・にぎわい交流館), 2013年10月28-29日
- 13) 橋本陽・佐藤玄樹・松田考広・平山和幸・田中和明 (2013) 日本産 *Dinemasporium* 属菌の種分類について. 日本菌学会第57回大会, 東京, 東京農業大学, 2013年6月8-9日.
- 14) 田中和明・平山和幸・橋本陽・白水貴 (2013) マッサリナ亜目 (クロイボタケ綱・プレオスポラ目) の分類学的再検討. 日本菌学会第57回大会, 東京, 東京農業大学, 2013年6月8-9日.
- 15) 佐藤豊三・小野剛・田中和明・服部力 (2013) 新たに明らかになった小笠原諸島の菌類とその宿主. 日本菌学会第57回大会, 東京, 東京農業大学, 2013年6月8-9日.
- 16) 関口麻央・金子繁・神田多・佐藤豊三・田中和明・渡辺京子 (2013) *Synnemapestaloides* 属菌の形態学および分子系統学的解析. 日本菌学会第57回大会, 東京, 東京農業大学, 2013年6月8-9日.

〔図書〕(計 2 件)

1) 田中和明・原田幸雄 (2015) 岩木山周辺の微小菌類について, pp. 193–199. 「岩木山を科学する」刊行会編, 「岩木山を科学する2」, 北方新社, 2015年12月5日 (ISBN 978-4-89297-222-5).

2) 田中和明 (2013) 18.2. 子のう菌類の地理的分布と種分化 (18.2.2. 小房子のう菌類), pp. 382–385; 1.3. 菌類の同定 (1.3.2. カビの同定) pp. 411–412. 日本菌学会編, 「菌類の事典」, 朝倉書店, 2013年10月30日 (ISBN 978-4-254-171471).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田中 和明 (TANAKA KAZUAKI)  
弘前大学・農学生命科学部・准教授  
研究者番号: 60431433