

令和元年5月27日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07474

研究課題名(和文)「1形態種 = 1系統属仮説」に基づく日本産菌類の多様性および独自性の検証

研究課題名(英文) Evaluation of fungal diversity and uniqueness in Japan based on the "one morphological species = one phylogenetic genus" hypothesis

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：形態的特徴の類似性から1種とされてきた菌類集団について分類学的再検討を行った。これにより、かつては種内におけるわずかな形態的変異と認識されていた形質についての、系統的有用性を分子系統解析から評価するとともに、隠蔽種存在を明らかにすることを試みた。その結果、例えば淡水性子の菌類として世界中から報告されている *Lophiostoma bipolare* では、本菌群が単一種ではなく7属11種からなる種複合体であることを見出した。以上を含め、研究期間中に4新科・17新属・50新種(8新組合せを含む)の菌を命名・記載し、日本産菌類の多様性と独自性について、その一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通じ、4新科・17新属・50新種(8新組合せを含む)の菌を命名・記載したことで、日本産菌類の多様性と独自性について、その一端が明らかになった。本研究により、菌類がもつ微小な形態的差異の系統的有用性が証明され、各菌類種の宿主範囲が、従来考えられていたよりもより限定的であることが示唆された。これにより、これまで記載されてきた既知種の種同定を抜本的に見直す契機となるものと考えられる。申請者が確立した培養菌株のごく一部から、すでに多数の新規代謝産物が見いだされつつある。本研究で670菌株の純粋培養株をあらたに収集したことで、有用代謝産物の探査源としての微生物遺伝資源が確保できたといえる。

研究成果の概要(英文)：A taxonomic revision was conducted on the fungal population that had been considered to be a single species due to morphological similarities. In order to determine the possible existence of undescribed cryptic species, the phylogenetic significance of traits that were once recognized as minute intra-species morphological variations was evaluated based on molecular phylogenetic analyses using sequences of 18S, ITS, 28S nrDNA, tef-1, rpb2, and beta-tubulin. The analysis found, for example, that the freshwater ascomycete *Lophiostoma bipolare*, which has been reported from various countries, was a heterogenous species-complex comprised of seven genera and eleven species. Including the above result, four new families, 17 new genera, and 50 new species (including eight new combinations) were discovered and described, demonstrating species diversity and uniqueness of fungi in Japan.

研究分野：菌学

キーワード：菌類 種分類 隠蔽種 分類体系 生物多様性 固有種

1. 研究開始当初の背景

菌類分類学は分子系統解析の出現後、急速に進展している。形態形質に基づく従来の伝統的菌類分類学を、分子系統学的に再検討した結果、少なくとも高等菌類 (子のう菌類・担子菌類) においては、門・綱・目レベルの高次分類群に大きな誤りがないものの、科以下のランクは大きく見直すべきであることが判明した。その後、「科」レベルでは、新規系統群が次々に発表されており、例えば菌界最大の分類群であるクロイボタケ綱では、数年の間に 41 科から 105 科へと系統的知見が大幅に増加した。また、形態によって規定されてきた従来の「属」は、系統的類縁性のない複数の属へと分割・再編が盛んに進められている。以上の進展は、特定の分類群をターゲットとした国際的コンソーシアムによる抜本的分類改訂や、従来は重要視されてこなかった無性生殖世代の形質を菌類分類体系へ統合することが契機となっている。

一方、他分野においても波及効果の高い、菌類の「種」に対する検討には、大きな問題点が潜んでいる。種同定における遺伝子バーコーディング領域を、リボソーム DNA の ITS 配列とすることで合意が得られていることから、明確に種を線引きするための遺伝的基準が存在するかのように思われがちである。しかしこれらの研究は、ごく限られた新しい種についての議論であり、既知種の大半を占める古い種 (1790 年代まで遡る) については培養株が存在しないことから塩基配列を決定できず、分子系統的な議論がされないまま保留とされているのが現状である。

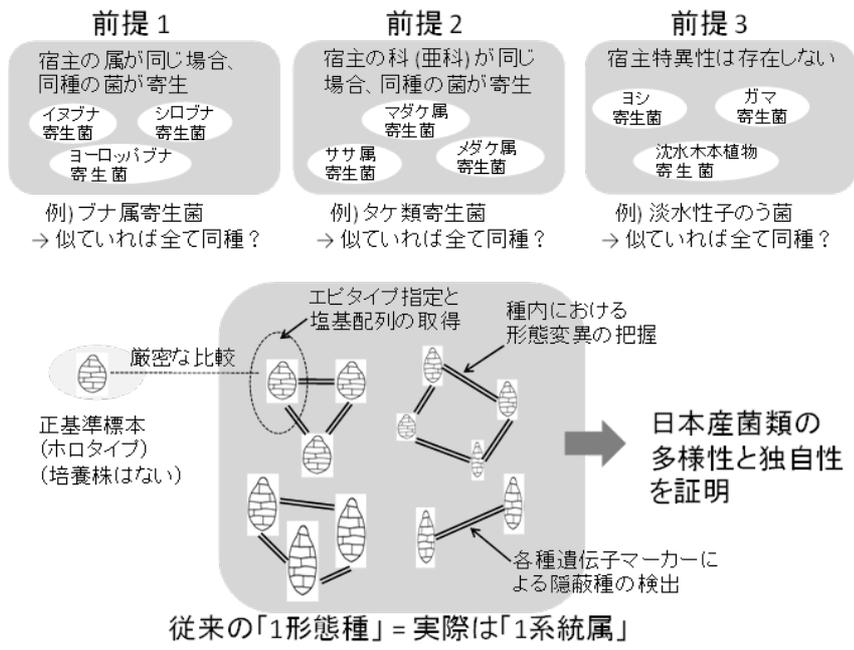
この問題点を解決するため、近年では「エピタイプ指定」という命名規約上の処理がなされている。これはある種について、乾燥した正基準標本 (ホロタイプ) と形態的に一致していると考えられる新鮮な標本をエピタイプとして認定し、エピタイプに由来する培養株から塩基配列を得ることで分子系統情報を得る、という手順を踏む。すなわち、標本しか残っておらず実体が不明の菌類種について、「お墨付き」を与えるのが「エピタイプ指定」であり、古い種を現在の議論に復活させる有効な手段として積極的に取り組まれている。しかし、このエピタイプ指定は、ホロタイプとエピタイプ (の候補となる標本) 間でのごく限られた標本に基づく形態的比較解析しかなされておらず、形態的差異の乏しい菌類において本当に正確な同定がされているのか疑問が残る。

菌類分類学では微小な形態的差異を持つ系統的意味を、まだ正確には理解できていない。例えば汎世界的に分布する淡水性のう菌類の 1 種とされてきた菌では、実際のところ複数の種からなる収斂進化した集団であることが明らかとなった。また、欧州のヨーロッパナ寄生菌と同一種であると同定されてきた、日本産シロブナ寄生菌のある集団を分子系統解析した結果、日本産の集団は欧州産の種とは異なり、かつ多数の未記載種が存在することも明らかになりつつある。これらのことから、かつては種内におけるわずかな形態的変異と認識されていた形質には、重要な系統的意味が含まれているものと推測することができる。

2. 研究の目的

菌類分類学において形態的に 1 種とされている集団は、実は系統的な 1 属に相当するという「1 形態種 = 1 系統属仮説」(1 morphological species = 1 phylogenetic genus hypothesis, 以下 1MS = 1PG 仮説) の提案および証明を試みる。

菌類の種同定においては、図に示した 3 点の「前提」が、検証がされないまま半ば事実とされているが、本研究では各菌類種の宿主特異性および宿主範囲を厳密に評価する。これにより、日本産菌類の多様性 (本邦には想像以上に多数の菌種が存在すること) と独自性 (欧米産の菌種とは異なる独自の種構成が存在すること) を明らかにしたうえで、菌類における「種」の実体に迫ることを目的とした。



3. 研究の方法

菌類分類学における種同定は、宿主特異性がきわめて高い植物病原菌類の事例を除けば、曖昧な前提のもと行われてきた可能性がある。その前提とは「宿主植物の属ごとに（前提 1）、あるいは科（亜科）ごとに（前提 2）同一の菌種が寄生する」もしくは「腐生的な菌種では、宿主特異性が全く存在しない（前提 3）」と言いかえることができる。菌類の「1形態種」内に見られる形態的類似性を根拠としたこれらの前提について、本研究では分子系統学的に再検討することを試みた。

研究対象とする菌群は、上記の前提に対応させ、1) 宿主植物の「属」が同じであれば、寄生する菌類種が同一であるとされている分類群（ブナ属を中心とした木本植物寄生菌）、2) 宿主植物の「科（亜科）」が同じであれば、寄生する菌類種が同一であるとされている分類群（タケ類寄生菌）、3) 宿主特異性は存在せず、広範な植物質に生じるとされている腐生的分類群（淡水生子の菌類）、に設定した。

これらの菌群について、形態形質を基に1種と同定されている日本産菌類の培養株取得、これらの培養株からの、種レベルでの系統解析に必要な遺伝子マーカーの塩基配列決定および「1形態種」の集団内に含まれている隠蔽種の洗い出し、各培養株の分離元となった標本から菌の形態情報取得と、各系統群がもつ微細な形態的差異に関する系統学的有用性の評価、を通じ、菌類分類学における従来の「1形態種」は、複数の隠蔽種からなる「1系統属」に相当すること（1MS = 1PG 仮説）を検証するとともに、日本産菌類の多様性と独自性について明確化することを試みた。

4. 研究成果

採集調査により、670株の純粋培養株をあらたに収集した。これらのうち約85%の570株についてDNAを抽出し、28S nrDNAの塩基配列を取得することで、菌類の基本的な系統情報を把握した。その結果から以下の菌群を選定し、多遺伝子領域（18S, ITS, 28S rDNA, *tef-1*, *rpb2*, *beta-tubulin*）に基づく分子系統解析と形態情報の比較をすることにより、菌類の「1形態種」における単一性を評価した。

前提1の菌群として、ブナ属植物に寄生する *Asterosporium*, *Cheirospora*, *Scolicosporium*, *Neohendersonia* の各属について、分類学的再検討を行った（学会発表5）。いずれの属も世界的に広く分布する代表的な種を含み、それらの種は様々なブナ属植物を宿主とするものと従来は考えられていたが、基準宿主であるヨーロッパブナの寄生菌とは異なる別種の菌が、日本産のブナ属には寄生していることが明らかとなった。例えば *Cheirospora* 属の代表的な種である *C. botryospora* の33菌株について、分子系統解析を行った結果から、ヨーロッパブナ寄生種（狭義の *C. botryospora*）以外に、少なくとも4種の未記載種が日本産ブナ属植物に寄生していることが判明した。このことから、宿主植物の属ごとに同一の菌種が寄生しているわけではなく、近縁な宿主植物に寄生している菌であっても、日本産菌類は独自に進化した系統群によって構成されていることが示唆された。

前提2のタケ類寄生菌に関する検討では、*Lophiotrema*, *Neokalmusia*, *Phialosporostilbe*, *Roussoella* 各属内の種について、単系統性を評価した（論文8）。これらの属には、宿主範囲が広く様々なタケ類の属に生息するとされている種が含まれているが、それらの多くは種複合体であることが判明した。例えば *Phialosporostilbe* 属の *P. gregariclava* では、宿主植物や分布域の違いに応じ、3種で構成されていることが示唆された。

前提3では、腐生的な淡水生子の菌類として世界中から報告されている *Lophiostoma bipolare* の単一性について分類学的検討を行った。29菌株について6遺伝子領域を用いた分子系統解析を行った結果、本菌群が単一種ではなく7属11種からなる種複合体であることを見出した（論文4）。

以上を含め、研究期間中に4新科・17新属・50新種（8新組合せを含む）の菌を命名・記載し、日本産菌類の多様性（本邦には想像以上に多数の菌種が存在すること）と独自性（欧米産の菌種とは異なる独自の種構成が存在すること）について、その一端を明らかにした。これまで形態的類似性を基に記載されてきた種（1 morphological species）には、狭い宿主範囲をもった複数の隠蔽種が含まれていることが本研究により示唆された。よって、日本産菌類の多様性は過小評価されており、真の菌類相を把握できていない可能性が高いといえる。今後は、塩基配列データを用いた分子系統解析により、従来の「種」の単系統性について再検討する必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 24 件)

すべて査読あり

1) Matsumura M, Kato W, Hashimoto A, Takahashi YS, Shirouzu T, Tanaka K (2018)

- Crassiperidium* (Pleosporales, Dothideomycetes), a new ascomycetous genus parasitic on *Fagus crenata* in Japan. *Mycosphere* 9: 1256-1267. Doi: 10.5943/mycosphere/9/6/13
- 2) Nekoduka S, Tanaka K, Sano T (2018) Epidemiology of apple bitter rot caused by *Colletotrichum acutatum* sensu lato. *Journal of General Plant Pathology* 84: 262-271. DOI: org/10.1007/s10327-018-0789-0
 - 3) Hashimoto A, Sasaki Y, Harada Y, Tanaka K (2018) *Collapsimycopappus*: A new leaf pathogen with mycopappus-like propagules in Mycosphaerellaceae. *Forest Pathology* 48: e12452 (1-7). Doi: org/10.1111/efp.12452
 - 4) Hashimoto A, Hirayama K, Takahashi H, Matsumura M, Okada G, Chen CY, Huang JW, Kakishima M, Ono T, Tanaka K (2018) Resolving the *Lophiostoma bipolare* complex: Generic delimitations within Lophiostomataceae. *Studies in Mycology* 90: 161-189. Doi: org/10.1016/j.simyco.2018.03.001
 - 5) Wijayawardene NN, Hyde KD, Rajeshkumar KC et al. (Tanaka K 32 番目/97 名中) (2017) Notes for genera: Ascomycota. *Fungal Diversity* 86:1-594. DOI: org/10.1007/s13225-017-0386-0
 - 6) Tanaka K, Hashimoto A, Matsumura M, Sato T (2017) *Brevicollum*, a new genus in Neohendersoniaceae, Pleosporales. *Mycologia* 109: 608-619. DOI: org/10.1080/00275514.2017.1387432
 - 7) Hashimoto A, Matsumura M, Hirayama K, Fujimoto R, Tanaka K (2017) Pseudodidymellaceae fam. nov.: Phylogenetic affiliations of mycopappus-like genera in Dothideomycetes. *Studies in Mycology* 87: 187-206. DOI: org/10.1016/j.simyco.2017.07.002
 - 8) Hashimoto A, Matsumura M, Hirayama K, Tanaka K (2017) Revision of Lophiotremataceae (Pleosporales, Dothideomycetes): Aquasubmersaceae, Cryptocoryneaceae, and Hermatomycetaceae fam. nov. *Persoonia* 39: 51-73. DOI: org/10.3767/persoonia.2017.39.03
 - 9) Gross A, Beenken L, Dubach V, Queloz V, Tanaka K, Hashimoto A, Holdenrieder O (2017) *Pseudodidymella fagi* and *Petrakia deviata*: Two closely related tree pathogens new to central Europe. *Forest Pathology* 47: e12351 (1-15). DOI: 10.1111/efp.12351
 - 10) Mochizuki K, Nishida T, Murata K, Ishida K, Sunada A, Asari S, Ohkusu K, Tanaka K (2017) *Rousoella solani* causing keratomycosis, with an observed both sexual and asexual morphs. *Journal of Infection and Chemotherapy* 23: 651-654. DOI: org/10.1016/j.jiac.2017.03.005
 - 11) 佐藤豊三・小野剛・田中和明・服部力 (2016) 小笠原諸島の樹木類等より分離された菌類. *日本微生物資源学会誌* 32: 163-178. http://www.jsrms.jp/journal/No32_2/No32_2_163.pdf
 - 12) Ariyawansa HA, Hyde KD, Tanaka K, Maharachchikumbura SSN, Al-Sadi AM, Elgorban AM, Liu ZY (2016) Additions to Karst Fungi 3: *Prosthemium sinense* sp. nov., from Guizhou Province, China. *Phytotaxa* 284: 281-291. DOI: org/10.11646/phytotaxa.284.4.4
 - 13) Watanabe K, Sekiguchi M, Sato T, Hsiang T, Kaneko S, Tanaka K, Kanda M, Fujita N, Nozawa S (2016) Phylogenetic analysis of the synnema-producing genus *Synnemapestaloides*. *Journal of Fungi* 2: 28 (1-10). DOI:10.3390/jof2040028
 - 14) Hyde KD, Hongsanan S, Jeewon R et al. (Tanaka K 47 番目/112 名) (2016) Fungal diversity notes 367-490: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal Diversity* 80: 1-270. DOI: 10.1007/s13225-016-0373-x
 - 15) Li GJ, Hyde KD, Zhao RL (Tanaka K 109 番目/141 名) (2016) Fungal diversity notes 253-366: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal Diversity* 78: 1-237. DOI: 10.1007/s13225-016-0366-9
 - 16) Wijayawardene NN, Hyde KD, Wanasinghe DN, Papizadeh M, Goonasekara ID, Camporesi E, Bhat DJ, McKenzie EHC, Phillips AJL, Diederich P, Tanaka K, Li WJ, Tangthirasunun N, Phookamsak R, Dai DQ, Dissanayake AJ, Weerakoon G, Maharachchikumbura SSN, Hashimoto A, Matsumura M, Bahkali AH, Wang Y (2016) Taxonomy and phylogeny of dematiaceous coelomycetes. *Fungal Diversity* 77: 1-316. DOI: 10.1007/s13225-016-0360-2
 - 17) Boonmee S, D' souza MJ, Luo Z, Pinruan U, Tanaka K, Su H, Bhat DJ, McKenzie EHC, Jones EBG, Taylor JE, Phillips AJL, Hirayama K, Eungwanichayapant PD, Hyde KD (2016) Dictyosporiaceae fam. nov. *Fungal Diversity* 80: 457-482. Doi: 10.1007/s13225-016-0363-z
 - 18) Hashimoto A, Matsumura M, Hirayama K, Yonezawa H, Tanaka K (2016) Taxonomy and phylogeny of *Cryptocoryneum* (Pleosporales, Dothideomycetes). *Mycological Progress* 15: 45 (1-12). DOI: 10.1007/s11557-016-1186-8

〔学会発表〕(計 12 件)

- 1) 橋本陽・高橋勇人・平山和幸・田中和明 (2017) 広義 *Lophiostoma bipolare* の分子系統学的考察. 環境微生物系学会合同大会 2017, 宮城県, 東北大学川内キャンパス. 2017年8月29-30日.
- 2) 高橋拓雅・橋本陽・平山和幸・田中和明 (2017) *Massariosphaeria typhicola* の分類学的再検討 (2). 環境微生物系学会合同大会 2017, 宮城県, 東北大学川内キャンパス. 2017年8月29-30日.
- 3) 荒山恭誠・橋本陽・田中和明 (2017) 広義 *Teichospora* 属の分類学的再検討. 環境微生物系学会合同大会 2017, 宮城県, 東北大学川内キャンパス. 2017年8月29-30日.
- 4) 松村美里・加藤航・橋本陽・高橋由紀子・白水貴・田中和明 (2017) プナに寄生する *Asteromassaria* 様菌類の分類学的検討. 環境微生物系学会合同大会 2017, 宮城県, 東北大学川内キャンパス. 2017年8月29-30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 (2016) プナ属に寄生する *Neohendersonia* 属菌の分類学的検討 (3). 日本菌学会第60回大会, 京都府, 京都大学. 2016年9月17-18日.

〔図書〕(計 1 件)

田中和明 (2017) クロイボタケ: ビックリ箱から飛び出します, pp. 56, 57; 橋本陽・田中和明 (2017) ヒゲとまつげを持つカビ シュードラクネラ *Pseudolachnella*, pp. 66, 67 (日本菌学会編「驚きの菌ワールド 菌類の知られざる世界」東海大学出版部). (ISBN 978-4-486-02136-0)

〔産業財産権〕なし

〔その他〕

田中和明・橋本陽・佐藤美紗季・小野剛・佐藤豊三 (2017) 小笠原諸島産微小子の菌類の同定と多様性. 微生物遺伝資源利用マニュアル 39: 1-22. (ISSN: 1344-1159)
https://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/files/ngrc/micro-man39.pdf

6. 研究組織

- (1) 研究分担者 なし
- (2) 研究協力者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。