

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06802

研究課題名(和文) 普遍性と固有性の検証に基づいた日本産菌類種構成の再評価

研究課題名(英文) Reassessment of fungal species composition in Japan based on verification of universality and uniqueness

研究代表者

田中 和明 (Tanaka, Kazuaki)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：60431433

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：菌類の種同定に関する2つの前提、すなわち、ブナ類を中心とした同属の本木植物に寄生する、ある属の菌種は同一種(普遍種)であるという考え(前提1)と、日本産タケ類寄生菌は独自の種(固有種)で構成されているという考え(前提2)について形態比較と分子系統解析により検証した。前提1は概ね否定され、前提2は概ね肯定される結果となった。本研究により得られた菌類の分類学的検討を進め、1新目・10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の一端について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本産菌類の種に関する「普遍性」と「固有性」という対照的な特徴について、形態学的・分子系統学的に検証した。結果として日本の菌類相は従来考えられていたよりも、より多様な種により構成されていることを明らかにした。菌類の種同定に関連した従前の前提を見直すことで、菌類における種の考え方を根本的に変えていくきっかけになることが期待できる。本研究課題を進めるなかで約400株以上の純粋培養株を新たに取得した。これらを微生物遺伝資源として系統保存するとともに、有用代謝産物の探査源として整備・利用した。

研究成果の概要(英文)：Plant parasitic fungi in Japan have been identified mainly based on two assumptions. For example, fungi on woody plants such as beeches (*Fagus* spp.) have been considered to be the same species (universal species) between Japan and Europe/America (Assumption 1). It has also been believed that some fungal species on bamboos in Japan are composed of unique species (endemic species) (Assumption 2). These assumptions about species boundaries of ascomycetous fungi in Japan were tested by morphological comparison of phenotypic characters and phylogenetic analyses using molecular data. Assumption 1 was generally rejected, while assumption 2 was generally accepted. One new order and ten new species (including eight new combinations) of ascomycetous fungi were discovered and described, demonstrating species diversity 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

真菌類(以下、菌類とする)の種数は150万種と見積もられているが、これまでに全世界で約10万種程度しか見いだされていない。日本からは約1万2千種が報告されているが、多数の未記載種が存在することは間違いなく、日本産菌類の種構成を正しく理解するために、菌類分類学が果たすべき役割はまだ大きい。

形態形質に基づく従来の伝統的菌類分類学は、近年、分子系統学的に再検討され、大幅改訂が進められている。「科」レベルでは、新規系統群が次々に発表され、子のう菌門のクロイボタケ綱では、4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。「属」レベルでも、新属の発見や再編が盛んに進められている。これらの進展は、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形質の菌類分類体系への統合が契機となっている。一方、他分野に対して波及効果の大きい菌類の「種」の把握では、DNAバーコーディング領域(核リボソームDNA内部転写スペーサー領域:ITS)が定められていることから、問題がないように思われがちである。しかし実際には、単一種と考えられていた菌群から、複数の隠蔽種が見つかる事例があり、正確な種同定は容易ではない。そこで、日本産菌類の種構成を解明するために、従前の種同定に用いられてきた「前提」を根本的に見直す必要があるのではないかと考えた。

日本の菌類分類学は、欧米の研究成果をいわば手本として進展してきた。例えば日本産ブナ属の寄生菌を種同定する際には、それらの成果を基に検討され、よほど顕著な形態的差異が認められない限り、欧米産の菌種と同種であると判断されている例が多い。すなわち、特に明確な根拠は無いものの「同属の木本植物に寄生するある属の菌種は同一種(普遍種)である(前提1)」と見なされてきたのが現状である。例えば、*Asterosporium asterospermum* という菌は、元来ヨーロッパブナから記載された菌種であるが、その後、日本のシロブナやイヌブナからも見いだされ、*A. asterospermum* と同定されている。しかし、申請者がこれまでに行った分子系統解析の結果から、日本産の本菌群には、本家のヨーロッパブナ寄生種とは明確に異なる複数種が存在するものと考えられた。つまり、誤った前提のもとに、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。

対照的に、日本で独自に研究されてきた菌群として、タケ類寄生菌が挙げられる。日野・勝本(1938-1961; 山口大学)は新属・新種を含む200種以上の菌種を命名し、以来これらのタケ類寄生菌は、日本からしか知られていない固有種と認識されている(前提2)。しかし、従前の研究では純粋培養株が得られておらず、それに伴って塩基配列データも不明である種が大半を占める。近年では、タイや中国を中心に、アジアに分布するタケ類の寄生菌が研究されているが、命名済みの日本産タケ類寄生菌種は分子系統解析に加えられないことから、半ば無視された状態にある。しかし、日本および東南アジアの本菌群は、ある程度共通の種で構成されていることを、申請者は把握しつつある。明確な根拠のない日本産タケ類寄生菌の固有性という前提についても、再検討が必要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では日本産菌類に関する「普遍性」および「固有性」といった対照的な事象について再検討することで、日本における菌類種構成の再評価を行い、その菌類相の実体解明を試みる(右図)。

ブナ類寄生菌およびタケ類寄生菌をモデルに、日本および国外の菌種を比較し、菌類種同定の根底にあった前提の検証を試みる。本研究を通じ、日本産菌類はより多様な種で構成されていることが明らかになると予想できる。

前述の「前提」を検証し、各菌類種の宿主特異性や分布範囲を厳密に評価することで、菌類の種に関する考え方を抜本的に見直す大きな契機とすることを目的とする。日本は特に菌類多様性が高い地域であるとされているが、実際にはそれを

普遍性	固有性
<p><モデル> ブナ類寄生菌 【前提1】日本産菌類種は欧米産菌種と同じ? = 多くは普遍種?</p> <p>欧米で研究が盛ん → 日本産菌類の情報が必要</p> <p>409株を現有</p> <p>【課題】普遍種として記載済みの種の再発見と、分子データを基にした正確な種同定の再検討が必要</p> <p>【予想】日本には日本のブナ類に寄生性を特化させた独自の菌類種が多様に存在する</p>	<p><モデル> タケ類寄生菌 【前提2】日本には独自の菌類種が多い? = 多くは固有種?</p> <p>日本での研究例が多い(形態データのみ) → 国外との比較が必要</p> <p>633株を現有</p> <p>【課題】培養株のない日本産「固有種」の再発見と、解釈基準標本の設定による古い種の復活化</p> <p>【予想】日本産「固有種」は海外にも分布するが、従前の理解よりさらに多様な日本産菌類が存在する</p>
<p>真の日本産菌類の種構成を把握する(より多様性が高いことを予測)</p>	

【本研究の概要】これまでの研究により、2つの前提を検証するための培養株を多数取得済みである。「普遍性」および「固有性」は否定されるものの、結果として日本産菌類の多様性が示されるものと予想する。これまで申請者が取り組んできた、子のう菌門を研究対象とする。

体系的に証明した事例はなく、本研究により、従来低く見積もられていた日本の菌類多様性を、真の意味で明らかにできると考えられる。申請者が確立した培養菌株の一部から、多数の新規有用代謝産物が見いだされており(論文計 20 報以上)、遺伝資源の確保およびその後の有効活用という面でも本研究は重要であるといえる。

3. 研究の方法

(1) ターゲットとする菌種の選定と採集

2019 年度は各前提について検討する種を選定した。多数の菌株に基づき形態的変異性や塩基配列の違いを比較する必要があるため、選定種の試料収集に重点を置いた。前提 1 では、青森県および四国地方においてブナ類寄生菌類の採集調査を行った。前提 2 では、多くのタケ類寄生菌の基準産地である山口県を中心に調査を行い、解釈基準標本(以下、エピタイプ標本)の候補となる試料の収集を試みた。2019 年度の結果を基に、その後は補完的な採集調査を行った。

(2) 培養株の確立と培養下における孢子形成誘導

採集された菌類標本から単孢子分離を行い、純粋培養株を確立した。様々な滅菌植物片を置床した寒天培地にて菌を培養し、温度および光条件を検討することで、培養下における有性・無性世代の孢子形成誘導を試みた。

(3) 各菌株の DNA 抽出および塩基配列の取得

得られた菌株について、バーコード・マーカーである核リボソーム DNA 内部転写スペーサー領域(ITS)または 28S nrDNA の塩基配列を取得し、おおまかな系統的特徴を把握した。各菌群における従前の研究背景に従い、ベータチューブリン(β -tubulin)、転写伸長因子(TEF-1)、RNA ポリメラーゼ サブユニット(RPB2)、アクチン(ACT)などさらに系統的解像度が高いマーカー配列を取得し、多領域遺伝子配列に基づく分子系統解析のための準備を整えた。

(4) 分子系統解析

対象とする菌群ごとに、複数遺伝子の塩基配列に基づいた精度の高い分子系統樹を構築し、系統情報を把握した。

(5) 形態的差異の解釈

天然標本上および培養下の菌について、顕微鏡観察をすることで形態的特徴を把握し、分類学的な結論を得た。タケ類寄生菌については、正基準標本(ホロタイプ標本)との形態比較から、新たな分類基準となるエピタイプ標本を選定した。未記載種を正式に記載し、日本産菌類の多様性の一端を明らかにした。

4. 研究成果

2019 年度に、研究対象であるブナ類およびタケ類の寄生菌を採集調査し、約 300 菌株以上の試料をあらたに得た。それらから DNA を抽出し、ITS および 28S nrDNA の塩基配列を取得することで、基本的な系統情報を把握した。調査地点とした東北および中国・四国地方の、両方に見られる広域分布種がいる一方で、限定的に生息する菌種もみられ、その種多様性がうかがえた。さらに、これまでの研究で得られていたブナ寄生菌(約 400 菌株)とタケ類寄生菌(約 630 菌株)の一部について、DNA の抽出とバーコード領域の塩基配列の取得を進めた。

2020 年度および 2021 年度は、前年度までの結果に基づいた補完的な菌類採集調査を行うとともに、DNA 未取得株からの DNA 抽出と、ITS および 28S nrDNA 以外(RPB2、TEF-1、ACT、 β -tubulin)の配列決定を進めた。

ブナ類寄生菌では 475 菌株のうち 46 菌株で、ITS 領域の塩基配列が既知種の配列と 100%一致した。これらには他の遺伝子領域に基づく、当該菌種とは別種であることが示唆される株もあったことから、46 菌株には複数の隠蔽種が含まれているものと考えられた。つまり、欧米の種構成と類似していると従来考えられてきた、日本におけるブナ類寄生菌類の「普遍性」はかなり低いものと推測された。逆に言えば、日本独自の固有種を多数含む菌類種構成であることが示唆された。

タケ類寄生菌では 782 菌株のうち 127 菌株で、既知種との相同性が 100%であった。ただし、それらの多くは申請者が過去に日本のタケ類から記載した菌種であり、日本以外から報告された種と一致する株は 10 株に満たなかった。*Caryospora* 属、*Mycosporium* 属、*Spirodecospora* 属、*Tetraploa* 属の一部の種で、日本のみならず国外においても広く分布する菌種が見出されたことから、日本におけるタケ類寄生菌の固有性は必ずしも肯定されるものではないが、その多くは日本固有の種である可能性が示唆された。

本研究を通じ、ブナ類を中心とした特定の木本植物属に寄生し広く分布する普遍種が見出された一方で、日本産菌類には固有種と思われる独自の種が多数存在することが示唆された。タケ類寄生菌では、日本と東南アジアにおいて普遍的に見出される共通の種も見られたことから、日本産菌類の固有性は部分的に否定されたものの、固有種と思われる菌類の割合がかなり高いことも示された。過去にハチクから *Pleospora punctulata* として記載され、その後実体が不明であった本種に対しエピタイプ標本を新たに設定し、エピタイプ標本由来の培養株から各種塩基

配列を取得することで、本種が *Thyridium* 属の所属菌であることを明らかにした。その他、エピソード標本の候補にできる試料を複数得た。

以上のとおり、菌類の種同定に関する2つの前提、すなわち、同属の木本植物に寄生するある属の菌種は同一種（普遍種）であるという考え（前提1）と、日本産タケ類寄生菌は独自の種（固有種）で構成されているという考え（前提2）について検証した。前提1は概ね否定され、前提2は概ね肯定される結果となった。これにより、日本における菌類種構成の実体解明が進み、これまでの予想以上にその多様性が高いことが明らかになっていくものと考えられる。その他、本研究課題を進めるなかで約400株以上の純粋培養株を新たに取得し、有用代謝産物の探査源として整備・利用した。また、その分類学的検討を進め、1新目・10新種（8新組合せを含む）の菌を命名・記載することで、日本産菌類の多様性の一端について明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nishiyama M, Tayone WC, Maeda H, Tanaka K, Hashimoto M	4. 巻 93
2. 論文標題 DFT Supported Structural Revision of Seiricardines	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 768 ~ 775
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200069	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 -
1. 著者名 Tayone WC, Nishiyama M, Tanaka K, Maeda H, Enomoto M, Hashimoto M	4. 巻 76
2. 論文標題 DFT supported structural elucidations of seiridiasteriscane A, unique 15-nor-asteriscane and novel pestalotiopsin Congeners from Seiridium sp. KT3957	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 131197 ~ 131197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2020.131197	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 -
1. 著者名 Hattori Y, Motohashi K, Tanaka K, Nakashima C	4. 巻 50
2. 論文標題 Taxonomical re-examination of the genus Phyllosticta; Parasitic fungi on Cupressaceae trees in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Forest Pathology	6. 最初と最後の頁 e12630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/efp.12630	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 -
1. 著者名 Dong W, Wang B, Hyde KD, McKenzie EHC, Raja HA, Tanaka K, Abdel-Wahab MA, Abdel-Aziz FA, Doilom MA, Phookamsak R, Hongsanan S, Wanasinghe DN, Yu XD, Wang GN, Yang HA, Yang J, Thambugala KM, Tian Q, Luo ZL, Yang JB, Miller AN, Fournier J, Boonmee S, Hu DM, Nalumpang S, Zhang H	4. 巻 105
2. 論文標題 Freshwater Dothideomycetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Fungal Diversity	6. 最初と最後の頁 319 ~ 575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13225-020-00463-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Inose K, Tanaka S, Tanaka K, Hashimoto M	4. 巻 86
2. 論文標題 Cyclohelminthol CPs: Scope and Limitations of Density Functional Theory-Based Structural Elucidation of Natural Products	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1505 ~ 1515
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.0c02378	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 -

1. 著者名 Inose K, Tanaka K, Koshino H, Hashimoto M	4. 巻 75
2. 論文標題 Cyclopericodiol and new chlorinated melleins isolated from <i>Periconia macrospinosa</i> KT3863	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 130470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2019.130470	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 -

1. 著者名 Wijayawardene NN, Hyde KD, Al-Ani LKT, Tedersoo L, Haelewaters D, Rajeshkumar KC et al. (Tanaka K, 96番目/158名中)	4. 巻 11
2. 論文標題 Outline of Fungi and fungus-like taxa	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mycosphere	6. 最初と最後の頁 1060-1456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5943/mycosphere/11/1/8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hayasaka A, Tanaka K, Hashimoto M	4. 巻 85
2. 論文標題 Isolation and structural elucidation of novel fusicoccan dehydroxypericonicin A from <i>Roussoella</i> sp.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1798-1801
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbab103	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugita R, Tanaka K	4. 巻 86
2. 論文標題 Thyridium revised: Synonymisation of Phialemoniopsis under Thyridium and establishment of a new order, Thyridiales	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 MycoKeys	6. 最初と最後の頁 147-176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3897/mycokeys.86.78989	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 吉岡龍一・田中和明	4. 巻 26
2. 論文標題 日本新産の淡水生子の菌類 <i>Lentithecium aquaticum</i> について	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 青森自然誌研究	6. 最初と最後の頁 10-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 吉岡龍一・成田颯汰・春日一心・田中和明・佐野輝男・小林史尚・島田照久・葛西憲之・大中徹・吉崎尚文・舛田宏樹	4. 巻 24
2. 論文標題 リンゴ落葉粉碎処理がリンゴ黒星病菌子の胞子飛散量に及ぼす影響に関する圃地調査(2019年~2021年)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 弘前大学農学生命科学部学術報告	6. 最初と最後の頁 9-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 0件)

1. 発表者名 杉田綾祐・田中和明
2. 発表標題 Thyridium 属に関する分類学的研究
3. 学会等名 日本菌学会第64回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中雅也・橋本陽・田中和明
2. 発表標題 日本産 Hysterium 目菌の分類学的検討
3. 学会等名 日本菌学会第64回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 芳賀志保・大木保善・田中和明
2. 発表標題 青森県で採集された Pezicula 属菌2種に関する分類学的検討
3. 学会等名 日本菌学会第64回大会
4. 発表年 2020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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
中国	Kunming University	Zhongkai University	Southwest University	他30機関
タイ	Chiang Mai University	Mae Fah Luang University	Mashroom Research Foundation	他7機関
米国	University of North Carolina	University of Illinois	USDA	他11機関
中国	Qujing Normal University	Chinese Academy of Sciences	Kunming Institute of Botany	他20機関
ブラジル	UFMS	UFRN	UFPB	他12機関

共同研究相手国	相手方研究機関			
ドイツ	Freie University Berlin	University of Bayreuth	SNSB	他10機関
インド	National Fungal Culture Collection	Agharkar Research Institute	Birbal Sahni Institute of Palaeosciences	他5機関
スペイン	Universidad Rey Juan Carlos	Universidad Complutense de Madrid	Universidad de Granada	他4機関