

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月28日現在

機関番号：82617

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21770096

研究課題名（和文） 腐生菌と菌根菌の比較生物地理：ヒメツチグリ目の起源と進化を探る

研究課題名（英文） Comparative biogeography of saprotrophic and ectomycorrhizal fungi: origin and evolution of Geastrales (Basidiomycota, Phallomycetidae)

## 研究代表者

保坂 健太郎 (HOSAKA KENTARO)

独立行政法人国立科学博物館・植物研究部・研究員

研究者番号：10509417

研究成果の概要（和文）：菌根菌に宿主植物の存在が必須であるのに対し、腐生菌の場合はそうではない。そのため、偶然に孢子が分散した先に適当な栄養分さえあれば、十分に定着する可能性がある。本研究では腐生菌の代表としてヒメツチグリ属を対象とし、近縁の菌根菌であるヒステランギウム類の生物地理パターンと比較した。その結果、腐生菌では南北両半球間の分散と定着が、菌根性のものに比べて頻繁に起こっていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Ectomycorrhizal fungi require host plants to survive, but saprotrophic fungi do not require such partners. Because of that, spores of saprotrophic fungi may have higher success rate of colonization in new habitat even after a long distance, e.g., transoceanic, dispersal. This study investigated biogeographic patterns of saprotrophic mushrooms represented by Geastrales, and compared patterns with those of Hysterangiales, ectomycorrhizal mushrooms. The results indicated that transoceanic dispersal between Northern and Southern Hemispheres has occurred much more frequently for saprotrophic mushrooms.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：系統、生物地理、菌類、腐生菌、キノコ、分散、担子菌類、地理的隔離

## 1. 研究開始当初の背景

動物や植物に比べると、菌類には複数の大陸にまたがって分布するような、広域分布種がほとんどであると信じられていた時期がある。これは菌類が微生物であり、微小な孢子によって生殖し分布を拡大するため、大陸

間などの遠距離分散が容易に起こると考えられていたからである。

近年の分子系統学的手法を用いた研究により、この仮説が必ずしも正しくないことが明らかになってきた。研究代表者は担子菌門スッポンタケ亜綱ヒステランギウム目の系

統地理を研究し、同目が明確な系統地理パターン（南半球起源であることなど）を示すことを明らかにした。これは同目が大陸ごとに固有種を有すること、および遠距離分散・定着は可能であるが、長い進化の歴史の中では比較的low頻度でしか起こらなかったことを示唆している。

ただしヒステランギウム目は地下生の子実体（キノコ=担子菌類の有性生殖組織）を形成するため、孢子分散は風ではなく小動物（小型哺乳類および有袋類）による。さらに同目は菌根性であり、共生関係にある宿主樹木との間にはある程度の特異性が見られる。そのため同目の分散・定着は特定宿主の存在に依存していると考えられる。つまり孢子分散媒体（小動物）と宿主樹木という2つの系統的に全く異なる生物の存在が、同目の分散・定着の制限となっている可能性がある。

一方、研究代表者はスポンタケ亜綱の高次系統関係を解明する研究の過程においてヒステランギウム目に近縁な3目の存在を明らかにした。そしてスポンタケ亜綱の各目は、近縁であるにもかかわらず、生態的に全く異なる特徴を示すことがわかった。ただし、ヒステランギウム目を除く3目の生物地理（特に系統地理パターン）に関しては全世界に分布する分類群であるという以外には全くと言ってよいほど実態が明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

地下生・菌根性のヒステランギウム目との比較対象として地上生・腐生性のヒメツチグリ目の系統地理パターンを明らかにすることを目的とした。

腐生菌は一般的に特定の宿主や基質への依存度が少なく、特に風で孢子を分散させる腐生菌は遠距離（例：大陸間）の分散・定着が比較的頻繁に起こっている可能性があるが、その系統地理パターンはほとんどの分類群で明らかにされていない。本研究では腐生菌の代表としてヒメツチグリ目に焦点をあて、野外調査と分子系統学的手法を組み合わせ、同目の起源を探ることを第一の目的とした。また近縁関係にある分類群と系統地理パターンを比較することにより、生態的特徴と生物地理の相関関係に一般的傾向を見出すことを第二の目的とした。

具体的には(a) ヒメツチグリ目の起源、および (b) 同目のハワイ固有種の起源、をアジア（日本）、オセアニア（オーストラリアとニュージーランド）、ハワイでの野外調査、およびヨーロッパ、北アメリカ、南アメリカから提供されるサンプルを基に分子系統的解析を行い、明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では野外調査・採集とそれに続くDNA抽出、塩基配列の決定、およびそのデータに基づく系統・生物地理解析を行なった。

野外調査は、現地での共同研究者の協力を得て、日本各地（特に小笠原諸島、琉球列島、北海道、各地の海岸部）、ヨーロッパ（スペイン、スウェーデン、オランダ）、アフリカ（カメルーン）、オーストラリア、ニュージーランド、ニューカレドニア、タイ、中国（雲南省）、台湾、ハワイ、北アメリカ、南アメリカ（アルゼンチン）で行なった。研究代表者が採集した標本については全点を国立科学博物館植物研究部の菌類標本庫に保管した。また、比較対象として標本庫に保管されている乾燥標本を世界の主要な標本庫より入手し、研究に用いた。

入手した標本全点よりDNAを抽出した。抽出は保存された子実体組織（または乾燥標本の一部）を液体窒素中で粉碎後、CTAB抽出・グラスミルク精製を行なうことにより行った。

抽出されたDNAより核遺伝子(2マーカー = ITS 領域および *nucLSU-rDNA*) およびミトコンドリア遺伝子(ATP6)の計3マーカーをPCR増幅し、塩基配列を決定した。それらの配列に基づき、再節約法(PAUP)およびベイズ法(MrBayes)による分子系統解析を行った。

## 4. 研究成果

ヒメツチグリ属菌のうち、全世界に広域分布するエリマキツチグリ(*G. triplex*)を集中的にサンプリングし200点以上の標本を得た。形態観察の結果、子実体の水平方向の大きさ、外皮の吸湿性の有無、外皮の偽柔組織層の色と厚さ、繊維層の色と表面構造、内皮の色、および孔縁盤の形態は、標本間で明確な差異が認められた。一方、担子孢子は球形~類球形で、表面にはいぼ状突起が存在し、その大きさや形態には明瞭な違いは認められなかった。

分子系統解析の結果、ヒメツチグリ属とその関連属では24の単系統群が検出されたが、その中で形態的にエリマキツチグリと同定された標本は高い多系統性を示し、異なる9単系統群に分割された(図1)。これらは最節約法による解析で90%以上の高いブートストラップ値で支持され、そのうち4系統群は、系統樹の末端部分で単系統をなし、その他5系統群は系統樹上で分散した。さらに、これらの系統群は形態的にもそれぞれ特徴づけられた。すなわち、子実体の水平方向の大きさ、外皮の偽柔組織層および繊維層の色と形態、内皮の色、および孔縁盤の形態は系統を反映し、エリマキツチグリの分類に重要な形質であることが明らかとなった。なお従来、分類学上重要と考えられていた外皮のえりまき状構造の有無は、系統を反映しないこと

が示された。

従来からエリマキツチグリと近縁関係が示唆されていた *Trichaster* 属についても、スウェーデン産のサンプルを系統解析に加えて、系統的な位置を推定した。その結果、同属はスウェーデンを含むヨーロッパ産のエリマキツチグリ様菌とほぼ同一の塩基配列を持つことが明らかとなった。このことからヒメツチグリ属 *Geastrum* と *Trichaster* 属を別属として扱うことは不相当であり、シノニムとすることを提唱した。ただし、*Trichaster* 属のタイプ種である *T. melanocephalus* は *Geastrum melanocephalum* として扱うことにした。*Geastrum triplex* としないのは、そもそも *G. triplex sensu lato* が多系統であり、ヨーロッパ産のサンプルは狭義のエリマキツチグリではないと認識しているからである。

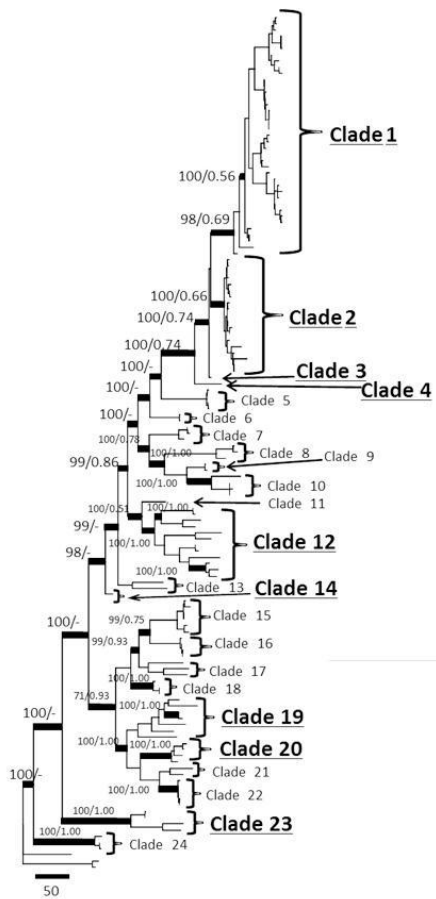


図1. ヒメツチグリ属の系統樹

3 遺伝子の塩基配列を基に再節約法で得た系統樹を示した。枝上の数字は再節約法のブートストラップ値/ベイズ法の事後確立。太字で示した計9クレードが広義のエリマキツチグリであり多系統性を示した。*Trichaster melanocephalus* は clade 2 に属した。

*Trichaster* 属とヒメツチグリ属がシノニムであることは、形態的な相違からも驚くべきことであったが、ヨーロッパ産のエリマキツチグリと *Trichaster* 属の間には、子実体が巨大化するという共通点がある。このため、何らかの原因で子実体が巨大化し、そのうち内皮が消失性となった一群が *Trichaster* 属であると考えられる。

生物地理学的には、エリマキツチグリ様菌の9系統群は、地理的に異なる5地域（北半球環太平洋、両半球環太平洋、ヨーロッパ-北アメリカ、暖温帯日本、および北半球熱帯-亜熱帯-暖温帯）に分布することも明らかとなった。ただし、高次系統で明確に南半球と北半球クレードには分かれなかった。一方で、系統樹の末端部分のサブクレード内に、南北両半球からのサンプリングが混在する傾向にあった。これらはヒメツチグリ属菌が南北両半球間の分散を頻繁に行っていたことを示唆しており、腐生菌が明確な生物地理パターンを示さない、という当初の仮説を支持するものであった。

ハワイ産のサンプルは単系統群を形成しなかった。また、ハワイ産サンプルと他地域からのサンプルが同一の塩基配列を持つこともなかった。そのことから、ハワイに現在分布する種は人為的に持ち込まれたものではなく、自然分散によるものであることが示唆された。ただし系統樹の枝長を見る限り、他地域のサンプルと同一ではないものの非常に近い関係にあるものも多く、ハワイに分布するサンプルの種概念については、さらに詰めていく必要がある。特筆すべきは、ハワイ産のサンプルは日本を含む東アジア、または北米のものと近縁であったということである。このことから現在ハワイに分布する種は東アジアまたは北米を起源とし、別地域から複数回分散してきたと考えられる。また、オーストラリア・ニュージーランド産のサンプルとは近縁関係になかったことから、南半球起源ではないと推測された。

以上のように、広義のエリマキツチグリ 9 系統群は形態的に支持され、また分布域も限定されるため、それぞれを別種として扱うことが妥当であると考えられた。これらのことから、従来のエリマキツチグリを、タイプ標本を含む種を狭義の *G. triplex* と定義し、8 新種を提唱して、計 9 種に整理再編した。

以上の研究成果のうち、エリマキツチグリの分子系統解析に関しては、学術論文として、すでに *Mycoscience* 誌に出版された。さらに、本研究の過程で、我が国の海浜から収集されたヒメツチグリ属菌について形態的特徴を検討した結果、3 種 (*G. campestre*, *G. corollinum* および *G. hungaricum*) を日本新産種と認め、学術論文として、*Mycotaxon* 誌で報告した。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計16件)

① Schoch et al. (155人中72番目), 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1117018109](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1117018109) (査読有)

DOI: 10.1073/pnas.1117018109

② Kasuya T, Hosaka K, Uno K, Kakishima M. 2012. Phylogenetic placement of *Geastrum melanocephalum* and polyphyly of *Geastrum triplex*. Mycoscience.

DOI: 10.1007/s10267-012-0186-z (査読有)

③ Kasuya T, Hosaka K, Sakamoto H, Uchida A, Hoshino T, Kakishima M. 2011. New records of *Geastrum* from Japanese sand dunes. Mycotaxon 118: 1-15.

DOI: <http://dx.doi.org/10.5248/118.1>

(査読有)

④ Hosaka K, Uno K. 2011. Assessment of the DNA quality in mushroom specimens: effect of drying temperature. Bulletin of the National Museum of Nature and Science, series B 37: 101-111. (査読有)

⑤ Giachini AJ, Hosaka K, Nouhra E, Spatafora J, Trappe JM. 2010. Phylogenetic relationships of the Gomphales based on nuc-25S-rDNA, mit-12S-rDNA, and mit-atp6 DNA combined sequences. Fungal Biology 114: 224-234.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2010.01.002> (査読有)

[学会発表] (計38件)

① Hosaka K. 2011. Comparative biogeography of ecologically distinct, but closely related fungi: a case study from Phallomycetidae. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (2011年9月9日), 札幌.

② Hosaka K. 2011. Fungal DNA barcoding and related projects at the National Museum of Nature and Science, Japan. Annual Meeting of Japan Society for Culture Collections (2011年9月8日), 札幌.

③ Hosaka K. 2011. Systematics of an enigmatic basidiomycete, *Broomeia*: its phylogenetic and biogeographic implications. Asian Mycological Congress

(2011年8月8日), Incheon, Korea.

④ Hosaka K. 2011. Do ectomycorrhizal and saprotrophic mushrooms show different biogeographic patterns? International Botanical Congress (2011年7月25日), Melbourne, Australia.

⑤ Hosaka K. 2010. Recent advances in systematics and biogeography of mushroom-forming fungi (Basidiomycota, Fungi). The 30th Anniversary Symposium of the Japan Society for Microbial Systematics (2010年12月9日), 東京.

[図書] (計2件)

① 保坂健太郎 (分担執筆), 2012. 進化学事典. 共立出版, 996 ページ.

② 保坂健太郎・細矢剛・長澤栄史 (監修), 2011. 山溪カラー名鑑日本のきのこ (増補改訂新版). 山と溪谷社, 639 ページ.

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

保坂 健太郎 (HOSAKA KENTARO)

独立行政法人国立科学博物館・植物研究部・研究員

研究者番号: 10509417

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: