

## 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25年 5月29日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22770074

研究課題名（和文） 全生活環に基づいた小房子のう菌類分類体系再構築の試みとアナモルフ仮説の検証

研究課題名（英文） Phylogenetic reconstruction of the loculoascomycetous fungi based on morphological and molecular characters of the fungal holomorph

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

研究成果の概要（和文）：小房子のう菌類について多数の遺伝子領域に基づいた分子系統樹を構築した。この有性生殖世代の系統樹に無性生殖世代（アナモルフ）の形態形質情報を統合した。以上により「アナモルフ形質の方が系統に関与する」という新仮説を検証した。その結果、アナモルフの形態形質から属や種を明確に定義づけられる例が複数みられた。分類体系上にほとんど考慮されることがなかったアナモルフが菌類進化に大きく関与しており、系統分類に重要であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Multi-gene phylogenetic analyses of loculoascomycetous fungi (Dothideomycetes, Ascomycota) were conducted to evaluate the phylogenetic significance of morphological characters of anamorphic species. The results indicated that phenotypic characters of anamorphs may sometimes be phylogenetically informative and useful for species/generic delimitation rather than those of teleomorphs. Phylogenetic information of anamorphs will provided valuable insights in better understanding of the natural classification of the Fungi, although it has not been fully incorporated in fungal systematics until now.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：菌学

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：菌類、分類、多様性、生活環、有性生殖、無性生殖

### 1. 研究開始当初の背景

菌類は医療、農業、食品業などの面で広く活用されている有用微生物資源である。しかしその種数は推定150万種と見積もられているにも関わらず、世界全体でも約8万種しか把握できていない（推定種数の5%）。さらに、属や科はおろか目レベルでさえ枠組みが定まっていないことが、多様性把握の大きな障

壁となっている。

なかでも菌界最大のグループである小房子のう菌類は、有用代謝産物の探索源として注目され経済的重要性が高いにもかかわらず、分類の非常に難しい菌群とされており、目レベルの高次分類群設立が相次いでいる。

申請者は本菌群の系統解明を目的として、幅広い生態域から小房子のう菌類を収集し、

基礎的分類研究を行ってきた。その結果、2新属、25新種を含む約300種を命名・公表してきた。これにより日本産菌類の多様性把握とインベントリーの構築にある程度は寄与できたといえるが、従前の目標であったより自然な分類体系の確立には至らず、研究手法の転換が必要と考えられた。そのきっかけとなったのが、「菌界は特に根拠もなくテレオモルフの形質により分類されているが、現行の分類体系上にほとんど考慮されていないアナモルフの方が系統により関与していそうだ」という発見である(以下、アナモルフ仮説)。

例えば、*Massarina* 属という小房子のう菌類は、テレオモルフ形質により従来単一属とされていたが、培養下で形成されるアナモルフの形質により新属5属へと明確に区別できた。またトゲ状付属物を有するアナモルフ胞子の特徴により新科 *Tetraplosphaeriaceae* として特徴付けることができた (Tanaka et al. 2009, *Studies in Mycology* 64: 175–209)。

この例は、分類体系上にほとんど考慮されることなく軽視されてきたアナモルフが系統分類の解明に重要であることを意味する。本研究では、「アナモルフ仮説」の正当性を検証すると同時に、有性・無性両世代(ホロモルフ)の情報を整理・統合することにより分類体系の再構築を目指した。

## 2. 研究の目的

最も分類学的混乱のみられる小房子のう菌類(菌界最大のグループ)について、多数の遺伝子領域に基づいた分子系統樹を構築する。この系統樹に従前はほとんど利用されてこなかった無性生殖世代(アナモルフ)の形態形質情報を統合する。

具体的には、北日本産菌類(おもにテレオモルフ)200株について4遺伝子領域に基づく系統樹を構築し、既存の分類基盤情報を拡充する。同時に系統不明の亜熱帯産菌類(おもにアナモルフ)100株の塩基配列も同様に決定する。

以上により1)「アナモルフ形質の方が系統に関与する」という新仮説を検証するとともに、2)全生活環(ホロモルフ)からの分類体系改編を試みる。

## 3. 研究の方法

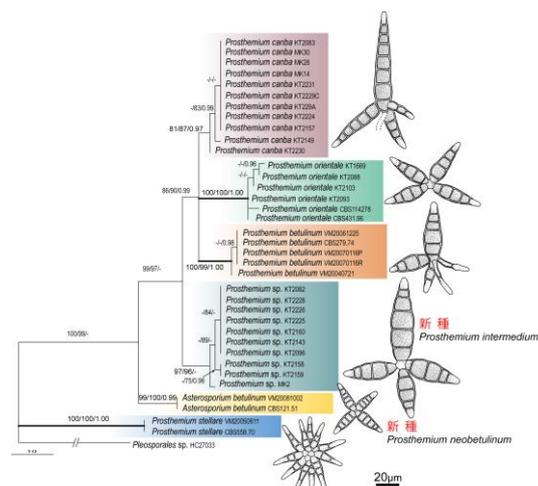
既存の小房子のう菌類150菌株についてSSUおよびLSUリボソームDNA、RNAポリメラーゼII(RPB2)、transcription elongation factor(TEF1)の4領域より塩基配列を決定し、信頼性の高い分子系統樹を構築するとともに、現行の分類体系の評価と再編を行う。同時に、小房子のう菌類に所属することが予想

されるアナモルフ菌類50菌株について、同領域の解析から系統情報を把握し、系統推定の鍵となるアナモルフ形質の探索を試みる。以上の計200株の現有株に加え、あらたな採集菌株100株を選定・追加解析し、全生活環に基づく分類体系の補強を目指す。

## 4. 研究成果

### <平成22年度>

白神・八甲田山地およびロシアのブナ目植物に寄生するアナモルフ菌類の *Asterosporium* 属菌および *Prosthemium* 属菌を重点的に採集し、計43分離菌株を得た。これらについてSSU, LSU, ITS nrDNA およびβチューブリン遺伝子の塩基配列を取得し分子系統解析を行った。その結果、*Prosthemium* 属の2新種が北日本のカバノキ属植物から見いだされた。*Asterosporium* 属菌は *Prosthemium* 属(クロイボタタ綱)に類似するため混同されてきたが、フンタマカビ綱に所属する系統的に大きく異なった属であることが明らかとなった。*Prosthemium* 属は、有性生殖の結果 *Pleomassaria* 属とよばれる有性生殖世代(テレオモルフ)を形成する。しかし菌類分類に重要とされるテレオモルフの形態は、何れの種でも類似しており種の識別には適用できなかった。対照的に、分子系統解析により見出された各種は、アナモルフの形態形質から明確に定義づけられた。以上の例は、分類体系上にほとんど考慮されることなく軽視されてきたアナモルフが子のう菌類の進化に大きく関与しており、系統分類の解明に重要であることを示唆するものと思われた (Tanaka et al. 2010, *Botany* 88: 1057–1071; 下図)。



### <平成23年度>

アナモルフ菌群を重点的に収集する目的で、沖縄県石垣島および西表島にて菌類採集

調査を行った。その結果約 200 点の乾燥標本と 100 株の純粋培養株が得られた。これらの大半は現在までに調査不足であった系統群で占められていることから、菌類の系統進化を考察する上で重要な試料が入手できたといえる。またテレオモルフ菌群の試料整備を目的として、東北地方（白神山地、八甲田山周辺）にてブナ目植物の寄生菌類調査を行った。これにより新規性の高い菌（新属・新種）を多数含む 70 菌株が得られた。以上の試料収集を進めるとともに、およそ 100 菌株については 18S・28S nrDNA のシーケンス取得とその分子系統解析を進めた。その過程で、2 新属・4 新種のアナモルフ菌群と、1 新科・3 新種のテレオモルフ菌群を命名し論文発表した。そのほかアナモルフ菌群のみで構成される新規系統群も見出された。

#### <平成 24 年度>

北日本（北海道、青森県、秋田県、岩手県）を中心に採集調査を行った。また、研究協力者の協力により日本各地（岐阜県、福岡県、沖縄県、小笠原諸島など）より植物試料を収集し、目的とする菌株の分離を試みた。以上により、約 300 点の乾燥標本と 250 株の純粋培養株が得られた。培養株のうち、半数以上の 126 株は小房子の菌類の系統であると考えられた。今年度新たに得られた菌株と、前年度中に同定を進めていた菌株のうち、およそ 150 菌株については 18S・28S nrDNA のシーケンス取得とその分子系統解析を進めた。さらに必要に応じて、EF-1 $\alpha$  遺伝子の塩基配列や菌類のバーコーディング領域である nrDNA ITS の配列を決定した。

その結果、本菌群に関する様々な分類学的新知見が得られた。たとえば、ブナ類に寄生する *Asteromassaria* 属菌のように、テレオモルフの形態形質から 1 種と仮同定されていた菌であっても、実際は少なくとも 4 科 4 属 11 種からなる複合種である事例が分子系統解析の結果から判明した。これらの各種は、培養下において形成されるアナモルフの形態形質によって明確に特徴づけることができた。そのほか、アナモルフのみで構成される新規系統群も見出されたことから、菌類の分類体系を再構築する上で、アナモルフの形態形質は有用な系統学的指標になりうるということが強く示唆された。

以上の研究を通じ、2 新科・4 新属・15 新種（新組み合わせを含む）を見出し公表した。また、本研究の主題であった「アナモルフの系統分類学的有用性を示す事例」も複数例見られた。既存の分類体系を強化するためにテレオモルフ菌群を収集し系統解析すると同時に、現時点では分類体系へ積極的に組み込まれていないアナモルフ菌群について、その

系統を考察することにより、ホロモルフからの自然な分類体系が再構築できると考えられる。

#### 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 23 件）

1)–16) 査読あり  
17)–23) 査読なし

- 1) Schoch CL et al. (全 155 名中、Tanaka K 134 番目) (2012) Nuclear ribosomal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *PNAS* 109: 6241–6246.
- 2) Kepler RM, Sung GH, Harada Y, Tanaka K, Tanaka E, Hosoya T, Bischoff J, Spatafora JW (2012) Host jumping onto close relatives and across kingdom by *Tyrannicordyceps* (Clavicipitaceae) gen. nov. and Ustilaginoidea (Clavicipitaceae). *American Journal of Botany* 99: 552–561.
- 3) Yamamoto J, Tanaka K, Ohtaka N, Sato T (2012) Black leaf spot of Japanese persimmon (*Diospyros kaki*), a new disease caused by *Adisciso kaki* sp. nov. *Journal of General Plant Pathology* 78:99–105.
- 4) Nekoduka S, Kanematsu S, Tanaka K, Harada Y, Sano T (2012) *Valdensia* leaf blight of highbush blueberry caused by *Valdensinia heterodoxa*, a new fungal disease in Japan. *Journal of General Plant Pathology* 78: 151–159.
- 5) Tanaka K, Endo M, Hirayama K, Okane I, Hosoya T, Sato T (2011) Phylogeny of *Discosia* and *Seimatosporium*, and introduction of *Adisciso* and *Immersidiscosia* genera nova. *Persoonia* 26: 85–98.
- 6) Hirayama K, Tanaka K (2011) Taxonomic revision of *Lophiostoma* and *Lophiotrema* based on reevaluation of morphological characters and molecular analyses. *Mycoscience* 52: 401–412.
- 7) Crous PW, Tanaka K, Summerell BA, Groenewald JZ (2011) Additions to the *Mycosphaerella* complex. *IMA Fungus* 2: 49–64.
- 8) Raja HA, Tanaka K, Hirayama K, Miller A, Shearer CA (2011) Freshwater Ascomycetes: Two new species of *Lindgomycetes* (Lindgomycetaceae, Pleosporales, Dothideomycetes) from Japan and USA. *Mycologia* 103:1421–1432.
- 9) Hosoya T, Han JG, Sung GH, Hirayama Y, Tanaka K, Hosaka K, Tanaka I, Shin HD (2011)

- Molecular phylogenetic assessment of the genus *Hyphodiscus* with description of *Hyphodiscus hyaloscyphoides* sp. nov. *Mycological Progress* 10: 239–248.
- 10) Tayone WC, Honma M, Kanamaru S, Noguchi S, Tanaka K, Nehira T, Hashimoto M (2011) Stereochemical Investigations of Isochromenones and Isobenzofuranones Isolated from *Leptosphaeria* sp. KTC 727. *J Nat Prod* 74: 425–429.
  - 11) Tanaka K, Hirayama K, Iqbal SH (2010) *Diadema ahmadii* (Pleosporales), a new ascomycetous species from Pakistan. *Mycotaxon* 113: 337–342.
  - 12) Tanaka K, Mel'nik VA, Kamiyama M, Hirayama K, Shirouzu T (2010) Molecular phylogeny of two coelomycetous fungal genera with stellate conidia, *Prosthemium* and *Asterosporium*, on Fagales trees. *Botany* 88: 1057–1071.
  - 13) Tanaka K, Hirayama K, Iqbal SH (2010) *Massariosphaeria websteri* sp. nov. and several members of the Pleosporales noteworthy to Pakistan. *Mycologia Balcanica* 7: 77–85.
  - 14) Hirayama K, Tanaka K, Raja HA, Miller AN, Shearer CA (2010) A molecular phylogenetic assessment of *Massarina ingoldiana sensu lato*. *Mycologia* 102: 729–746.
  - 15) Nekoduka S, Tanaka K, Harada Y, Sano T (2010) Phylogenetic affinity of *Mycochaetophora gentianae*, the causal fungus of brown leaf spot on gentian (*Gentiana triflora*), to *Pseudocercospora*-like hyphomycetes in Helotiales. *Mycoscience* 51:123–133.
  - 16) Nekoduka S, Tanaka K, Sano T (2010) Pathogenicity of *Mycochaetophora gentianae*, causal fungus of gentian brown leaf spot, as affected by host species, inoculum density, temperature, leaf wetness duration, and leaf position. *Journal of General Plant Pathology* 76:370–376.
  - 17) 平山和幸・米澤洋朗・田中和明 (2012) 日本新産種 *Dictyosporium bulbosum* および *D. digitatum* (糸状不完全菌類) の記載. *青森自然誌研究* 17: 51–54.
  - 18) 佐々木幸江・田中和明・中村文葉・中島千晴 (2012) イヌエンジュ斑点病菌 *Pseudocercospora cladrastidis* の同定と分子系統解析. *青森自然誌研究* 17: 55–61.
  - 19) 橋本陽・佐藤玄樹・田中和明・栗原祐子 (2012) 日本新産種 *Koorchaloma madreya* および *K. novojournalis* (子のう菌門, フンタマカビ綱) の記載. *青森自然誌研究* 17: 62–64.
  - 20) 藤田有紀・鶴田美穂・三浦佑水・清野佳子・田中和明・佐野輝男・岡部敏弘 (2011) 未利用資源の活用例: バイオ抗菌剤 -微粒子化した水溶性青森ヒバ油- を用いたリンゴ腐らん病治療への応用. *コンバーテック* 455: 101–105.
  - 21) 田中和明 (2011) 日本新産種 *Rebentischia massalongoi* および *R. abietis* (子のう菌門, クロイボタケ綱) の記載. *青森自然誌研究* 16: 39–42.
  - 22) 平山和幸・田中和明 (2011) 西表島で発見された広義 *Massarina* 属菌の日本新産種について. *青森自然誌研究* 16: 43–47.
  - 23) 原田幸雄・田中和明・佐野輝男 (2011) ヨシの麦角に寄生するヒメバツカクヤドリタケ: 分生子の形成と麦角への寄生性. *冬虫夏草* 31: 9–15.
- [学会発表] (計 23 件)
1. 田中和明 (2012) 微小な菌類 (カビ類) の新種記載. 第 11 回日本分類学会連合公開シンポジウム; 種の記載の現場に迫る, 東京, 東京大学駒場キャンパス, 2012 年 1 月 7 日.
  2. 廣岡裕吏・田中和明・升屋勇人・窪野高德 (2012) *Fusarium* 様アナモルフを持つ *Cosmospora sensu lato* の新系統群. 平成 24 年度日本菌学会関東支部年次大会 (千葉県・日本大学薬学部) 2012 年 4 月 21 日.
  3. 橋本陽・佐藤玄樹・松田考広・平山和幸・田中和明 (2012) *Dinemasporium* 属およびその関連属の分類学的再検討 (2). 日本菌学会第 56 回大会, 岐阜, 岐阜大学, 2012 年 5 月 26–27 日.
  4. 平山和幸・弘佑介・小野寺惇・田中和明 (2012) スポロドキア形成菌 *Berkleasium* 属およびその形態的類似属の系統評価. 日本菌学会第 56 回大会, 岐阜, 岐阜大学, 2012 年 5 月 26–27 日.
  5. 田中和明・鳥谷部綾美・山崎紘司・橋本陽・平山和幸 (2012) ブナ類に寄生する *Scolicosporium* 様菌類の分類学的検討. 日本菌学会第 56 回大会, 岐阜, 岐阜大学, 2012 年 5 月 26–27 日.
  6. 原田幸雄・福嶋康高・殿内暁夫・田中和明・佐野輝男 (2012) オオバナノエンレイソウを中間宿主とするクサヨシ冠さび病菌の一型. 平成 24 年度日本植物病理学会東北部会, (鶴岡市・山形大学農学部), 2012 年 9 月 13–14 日.
  7. 佐々木幸江・田中和明・中村文葉・中島千晴 (2011) イヌエンジュ斑点病菌 *Pseudocercospora cladrastidis* の分子系統解析. 平成 23 年度日本植物病理学会東北部会, (青森市・青森市民ホール), 2011 年 10 月 31–11 月 1 日.
  8. 橋本陽・佐藤玄樹・田中和明・栗原祐子 (2011) 日本新産種である *Koorchaloma madreya* および *K.*

- novojournalis* について. 平成 23 年度日本植物病理学会東北部会, (青森市・青森市民ホール), 2011 年 10 月 31~11 月 1 日.
9. 平山和幸・田中和明・佐野輝男 (2011) ホップおよびカラハナソウにおけるうどんこ病菌の越冬と伝染. 平成 23 年度日本植物病理学会東北部会, (青森市・青森市民ホール), 2011 年 10 月 31~11 月 1 日.
  10. 田中和明・佐野沙織・川端嶺奈 (2011) カシワ黒星病 (新称) を引き起こす *Protoventuria quercina* (日本新産種) について. 平成 23 年度日本植物病理学会, 東京・東京農工大学, 2011 年 3 月 27~29 日.
  11. 赫英紅・田中和明・伊藤大雄・佐野輝男 (2011) リンゴ樹葉圏に生息する病原性および非病原性真菌・細菌類の季節変動のオリゴ DNA マクロアレイ解析. 平成 23 年度日本植物病理学会, 東京・東京農工大学, 2011 年 3 月 27~29 日.
  12. 橋本陽・佐藤玄樹・松田考広・平山和幸・田中和明 (2011) *Dinemasporium* 属およびその関連属の分類学的再検討. 日本菌学会第 55 回大会, 札幌, 北海道大学・北海道立道民生活センターかでの 2.7, 2011 年 9 月 10~11 日.
  13. 本田和幸・上山菜亜紗・平山和幸・Mel'nik VA・田中和明 (2011) 分子系統解析に基づくプレオマッサリア科菌類の分類学的再検討. 日本菌学会第 55 回大会, 札幌, 北海道大学・北海道立道民生活センターかでの 2.7, 2011 年 9 月 10~11 日.
  14. 田中和明・平山和幸 (2011) 広義 *Massarina eburnea* の分類学的再検討. 日本菌学会第 55 回大会, 札幌, 北海道大学・北海道立道民生活センターかでの 2.7, 2011 年 9 月 10~11 日.
  15. 平山和幸・田中和明 (2011) 分子系統解析と形態比較に基づく *Lentithecium* 属およびその関連属の分類学的検討. 日本菌学会第 55 回大会, 札幌, 北海道大学・北海道立道民生活センターかでの 2.7, 2011 年 9 月 10~11 日.
  16. 赫英紅・田中和明・佐野輝男 (2010) マクロアレイ法による異なる病害虫管理条件下で栽培されたリンゴ樹の葉圏微生物相の多様性の比較解析 (2009 年). 平成 22 年度日本植物病理学会, 京都・国立京都国際会館, 2010 年 4 月 18~20 日.
  17. 田中和明 (2010) 新種記載における命名規約上の基本ルール. 第 11 回植物病原菌類談話会 (平成 22 年度日本植物病理学会), 京都, 京都テルサ, 2010 年 4 月 20 日.
  18. 田中和明・遠藤菜惟・平山和幸・岡根泉・細矢剛 (2010) *Discosia* および *Seimatosporium* 属菌の系統と分類 (3), 日本菌学会第 54 回大会, 東京, 玉川大学, 2010 年 5 月 30 日.
  19. 平山和幸・田中和明 (2010) プレオスポラ目における *Lophiostoma* 属と *Lophiotrema* 属の再定義および新科 *Lophiotremataceae* の設立. 日本菌学会第 54 回大会, 東京, 玉川大学, 2010 年 5 月 30 日.
  20. 本田和幸・平山和幸・田中和明・原田幸雄・Mel'nik V.A. (2010) ハクサンシャクナゲ上にみられる希少種 *Nagrajomyces dictyosporus* (分生子果不完全菌) の再発見. 日本菌学会第 54 回大会, 東京, 玉川大学, 2010 年 5 月 30 日.
  21. Tanaka K, Mel'nik VA, Kamiyama M, Hirayama K, Shirouzu T (2010) Molecular phylogeny of two coelomycetous genera with stellate conidia, *Prosthemium* and *Asterosporium*. International Mycological Congress, Edinburgh International Conference Centre, 4 Aug. 2010.
  22. Hirayama K, Tanaka K (2010) Molecular analyses of two pleosporalean genera *Lophiostoma* and *Lophiotrema* and their morphological redefinition. International Mycological Congress, Edinburgh International Conference Centre, 4 Aug. 2010.
  23. 原田幸雄・田中和明・佐野輝男: ヨシの麦角に寄生するヒメバッカクヤドリタケ: 分生子の形成とその伝染環における役割. 平成 22 年度日本植物病理学会東北部会, (福島・コラッセ福島), 2010 年 10 月 4~5 日.
- [図書] (計 1 件)
- 1) 田中和明 (2012) 6 章-3 子のう菌類. 日本進化学会編 「進化学事典」 (ISBN 978-4-320-05777-7). 共立出版, pp. 175-178.
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