

子のう菌類の分類体系再構築に対する無性世代形態からの新アプローチ

平山和幸

岩手大学大学院連合農学研究科生物生産科学専攻 博士課程

(配属：弘前大学農学生命科学部)

緒言

菌類とは、醸造や発酵など食品分野での利用や代謝産物の医療分野での利用、または植物病原菌による作物への被害や病原真菌による動物の真菌症の発症など、ヒトと深く関わりのある生物である。その種数は150万種と推定されているが、現在確認されているのはその6.5%程度の約10万種にすぎず、多くの菌類遺伝資源が未発掘の状態にあるといえる¹⁾。菌類の大半が微小であるため発見が困難であることもその要因の1つであるが、分類体系が混乱状態にあることにも重大な問題があると考えられる。なかでも菌界最大のグループである子のう菌類は混乱が著しい。子のう菌類とは有性生殖により子のうと呼ばれる袋状構造の中に子のう胞子を形成する菌類である。本菌群の分類は主に子のう果（子実体）、子のう、子のう胞子といった形態を比較し、その類似性に基づき行われてきた。しかし、近年の分子系統学の発達によってこれまでの分類には系統を反映していない形態に基づいた人為分類が多く含まれていることが示され

ており再分類・再編が求められている。

これまでに著者らは子のう菌類に関して、子のう果や子のう胞子といった形態的特徴および分子系統解析に基づき、人為分類がなされてきた分類群を再編してきた^{2,3)}。しかし、なかには分類・整理しきれない分類群も存在し、これまでの研究手法では菌類分類に限界があると考えられた。そのため今後、菌類の分類学的混乱の解消には従来の分類とは異なる新たな視点からのアプローチが必要である。そこで著者らが注目したのが菌類の無性世代の形態である。菌類には有性世代と無性世代の二世代を有することが知られている。各世代は耐久器官と分散体というように生存戦略上使い分けられており、いずれも菌類の生活にとって重要と考えられる。しかしながら、これまでの菌類分類では、特に根拠もなく有性世代の形態のみを重要視して行われており、無性世代の形態は無視されてきた。だが、菌類の生存戦略から考えると無性世代も重要であり、分類学的にも意味のあるものと考えられる。近年になり、一部の分類群において無性

孢子の胞子の概形	群	孢子・菌糸体の色	
		無色	有色
一細胞	amerosporae	hyalosporae	phaeosporae
二細胞	didymosporae	hyalodidymae	phaeodidymae
多細胞 (横隔壁)	phragmosporae	hyalophragmae	phaeophragmae
縦横隔壁 (石垣状)	dictyosporae	hyalodictyae	phaeodictyae
糸状	scoleosporae		
コイル状	scoleosporae		
星状	staurosporae		

図1 Saccardo体系における分生子の特徴区分(細矢・出川、2008より⁶⁾)

世代の形態に基づき科または属の再編が行われ、無性世代の分類学上の重要性が示されつつある^{4,5)}。そこで本研究では、有性世代の形態情報に基づいた従来の分類体系に無性世代の形態情報を加えた新しい分類体系を構築するための基礎研究として、子のう菌類クロイボタケ綱(Dothideomycetidae)を対象とし、形態比較と分子系統解析に基づき無性世代形態の分布傾向を推定・考察した。

実験方法

1. 形態比較

無性世代の分類は、分生子の形態(色、隔壁数など)を重要視する Saccardo 体系(図1)、と分生子形成様式(分生子型やその細胞形態)を重要視する Hughes 体系(図2)に基づき行われてきた。本研究でもこれらの体系に基づき、各種の分生子形態および分生子形成様式を観察・比較した。観察は Tanaka et al. (2009) と同様の手法で行った⁵⁾。

2. 分子系統解析

本研究室で採集した無性世代の菌 23 種 31 株および未同定種 14 株の計 45 株を抽出し、リボソーム DNA の 18S・28S の 2 領域から塩基配列を取得した(表1)。各領域のデータセットを GenBank から得た近縁な分類群

表1 使用菌株および GenBank accession numbers

学名	菌株番号	GenBank accession number	
		18S	28S
<i>Acrogenospora altissima</i> *	H 5230	-	-
<i>Acrogenospora sphaerocephala</i> *	AT 3	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	CBS 916.96	DQ678031	DQ678082
<i>Amniculicola lignicola</i>	Ying01	EF493863	EF493861
<i>Aquaticheirosora lignicola</i>	RK-2006a	AY736377	AY736378
<i>Arthopyrenia salicis</i>	CBS 368.94	AY538333	AY538339
<i>Ascochyta fabae</i>	CBS 524.77	EU754034	EU754133
<i>Aureobasidium pullulans</i>	CBS 584.75	DQ471004	DQ470956
<i>Batcheloromyces proteae</i>	STE-U 1518	AY251102	EU019247
<i>Berkleasmiium micronesiacum</i> *	JCM 14127	-	-
<i>Berkleasmiium sinense</i> *	KT 1868	-	-
<i>Bioconiosporium</i> sp.*	H 5232	-	-
<i>Bipolaris maydis</i>	CBS 134.39	AY544727	AY544645
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	CBS 115476	DQ677998	DQ678051
<i>Camarosporium quaternatum</i>	CBS 483.95	GU296141	GU301806
<i>Capnodium coffeae</i>	CBS 147.52	DQ247808	DQ247800
<i>Cercospora beticola</i>	CBS 116456	DQ678039	DQ678091
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	CBS 170.54	DQ678004	DQ678057
<i>Cladosporium herbarum</i>	CBS 399.80	DQ678022	DQ678074
<i>Coniosporium perforans</i>	CBS 885.95	FU358305	FJ358237
<i>Delitschia didyma</i>	UME 31411	AF242264	DQ384090
<i>Delitschia winteri</i>	CBS 225.62	DQ678026	DQ678077
<i>Dendryphiella arenaria</i>	CBS 181.58	DQ471022	DQ470971
<i>Dicranidium</i> sp.*	yone 150	-	-
<i>Dictyosporium bulbosum</i> *	yone 221	-	-
<i>Dictyosporium</i> sp.-1*	yone 234	-	-
<i>Dictyosporium</i> sp.-2*	H 5241	-	-
<i>Didymella exigua</i>	CBS 183.55	EU754056	EU754155
<i>Diplodia mutila</i>	CBS 431.82	DQ678012	DQ678064
<i>Dothidea insculpta</i>	CBS 189.58	DQ247810	DQ247802
<i>Drechslera tritici-repentis</i>	AFTOL-ID 173	AY544716	AY544672
<i>Endophragmiella</i> sp.*	yone 262	-	-
<i>Endophragmiella valdiviana</i> *	yone 145	-	-
<i>Epicoccum nigrum</i> 1*	HR 2	-	-
<i>Epicoccum nigrum</i> 2*	HR 7	-	-
<i>Epicoccum nigrum</i> 3*	H 4150	-	-
<i>Excipularia</i> sp.*	KT 2494	-	-
<i>Falciformispora lignatilis</i>	BCC 21117	GU371834	GU371826
<i>Farlowiella carmichaeliana</i>	CBS 206.36	AY541482	AY541492
<i>Friedmanniomyces endolithicus</i>	CCFEE 5180	GU250326	GU250367
<i>Fusicladium convolvularum</i>	STE-U 3884/CBS 112706	AY251124	EU035428
<i>Fusicladium effusum</i>	STE-U 4524/CPC 4525	AY251125	EU035429
<i>Gibbera conferta</i>	CBS 191.53	GU296150	GU301814
<i>Glioniopsis praelonga</i>	CBS 112415	FJ161134	FJ161173
<i>Halomassarina thalassiae</i>	BCC 17055	GQ925843	GQ925850
<i>Helicascus nypae</i>	BCC 36751	GU479754	GU479788
<i>Helicomycetes roseus</i>	CBS 283.51	DQ678032	DQ678083
<i>Helicosporium phragmitis</i>	CBS 245.49	DQ767649	DQ767654
<i>Helminthosporium gigasporium</i> *	H 4627	-	-
<i>Helminthosporium veltinum</i> *	H 4626	-	-
<i>Hysterium angustatum</i>	CMW 20409	FJ161153	FJ161194
<i>Keissleriella cladophila</i>	CBS 104.55	GU296155	GU301822
<i>Lentithecium fluviatile</i>	CBS 122367	GU296158	FJ795451

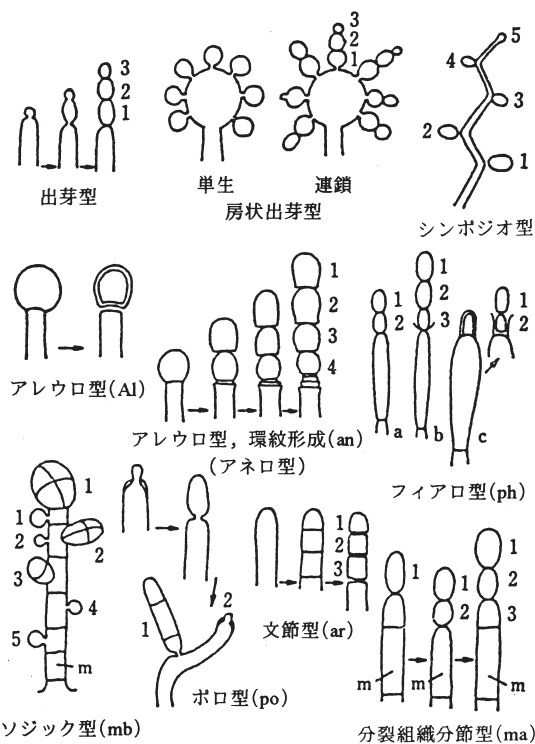


図2 Hughes 体系における分生子形成様式の例(椿ら、1998より⁷⁾)

* 本研究にて採集し塩基配列の取得を行った菌株。太字は無性世代を示している。

表1 使用菌株および GenBank accession numbers (続き)

学名	菌株番号	GenBank accession number		学名	菌株番号	GenBank accession number	
		18S	28S			18S	28S
<i>Leptosphaeria doliolum</i>	CBS 505.75	GU296159	GU301827	<i>Prosthemium neobetulinum</i>	VM20081002	AB553639	AB553746
<i>Leptosphaeria maculans</i>	DAOM 2229267	DQ470993	DQ470946	<i>Prosthemium orientale</i>	JCM 16965	AB553642	AB553750
<i>Letendraea helminthicola</i>	CBS 884.85	AY016345	AY016362	<i>Prosthemium stellare</i>	VM20050611	AB553650	AB553781
<i>Lindgomyces cinctosporae</i>	Raja R56-1	AB522430	AB522431	<i>Pseudoacrodictys deightonii*</i>	H 4993	-	-
<i>Lindgomyces ingoldianus</i>	ATCC 200398	AB521719	AB521736	<i>Pseudoacrodictys sp.*</i>	yone 286	-	-
<i>Lophiostoma macrostomum</i>	JCM13545	AB521731	AB433273	<i>Pseudocercospora vitis</i>	CPC 11595	DQ289864	GU214483
<i>Lophiostoma sagittiforme</i>	KT 1934	AB618693	AB369267	<i>Pseudotetraploa curviappendiculata 1</i>	HC 4930	AB524467	AB524608
<i>Lophiotrema lignicola</i>	CBS 122364	FJ795488	FJ795445	<i>Pseudotetraploa curviappendiculata 2</i>	HC 4932	AB524468	AB524609
<i>Lophiotrema neoarundinaria</i>	KT 856	AB524455	AB524596	<i>Pseudotetraploa javanica</i>	HC 4934	AB524470	AB524611
<i>Lophiotrema nucula</i>	CBS 113826 / JCM 14132	AB618703	AB619021	<i>Pseudotetraploa longissima</i>	HC 4933	AB524471	AB524612
<i>Lophium mytilinum</i>	CBS 269.34	DQ678030	DQ678081	<i>Pyrenochaeta nobilis</i>	CBS 407.76	EU754107	DQ678096
<i>Macrophomina phaseolina</i>	CBS 227.33	DQ678037	DQ678088	<i>Quadriclura bicornis</i>	yone 153	AB524472	AB524613
<i>Massaria inquinans</i>	M19	HQ599444	HQ599402	<i>Quadriclura meridionalis</i>	KT 2607	AB524473	AB524614
<i>Massaria platanoidea</i>	M7	HQ599457	HQ599420	<i>Quadriclura septentrionalis</i>	KT 920	AB524476	AB524617
<i>Massarina eburnea</i>	H3953	AB521718	AB521735	<i>Ramichloridium musae</i>	CBS 190.63	GU214577	EU041857
<i>Megacapitula villosa*</i>	H 5247	-	-	<i>Rousoella pustulans</i>	JCM 13127	AB524482	AB524623
<i>Melanomma pulvis-pyrus</i>	IFRDC 2044	FJ201985	FJ201984	<i>Rousoellopsis tosaensis</i>	JCM 13128	AB524484	AB524625
<i>Microthyrium microscopicum</i>	CBS 115976	GU296175	GU301846	<i>Scoliosporium sp. 1*</i>	KT 2126	-	-
<i>Monodictys capensis*</i>	HR 1	-	-	<i>Scoliosporium sp. 2*</i>	H 5369	-	-
<i>Monodictys desquamata*</i>	KT 2039	-	-	<i>Setosphaeria monoceras</i>	CBS 154.26	AY016352	AY016368
<i>Montagnula opulenta</i>	CBS 168.34	AF164370	DQ678086	<i>Solicorynespora mulanjeensis 1*</i>	H 4629	-	-
<i>Morosphaeria ramunculicola</i>	JK 5304B	GU479760	GU479794	<i>Solicorynespora mulanjeensis 2*</i>	H 5255	-	-
<i>Morosphaeria velataspora</i>	BCC 17058	GQ925840	GQ925851	<i>Sordaria fimicola</i>	15-6291	AY545724	AY545728
<i>Mycosphaerella punctiformis</i>	CBS 113265	DQ471017	DQ470968	<i>Spegazzinia deightonii 1*</i>	yone 66	-	-
<i>Mytilinidion californicum</i>	EB 0385	GU323186	GU323208	<i>Spegazzinia deightonii 2*</i>	yone 212	-	-
<i>Neoheteroceras macrosporium*</i>	JCM 14566	-	-	<i>Spegazzinia lobulata 1*</i>	H 5259	-	-
<i>Neotestudina rosatii</i>	CBS 690.82	DQ384069	DQ384107	<i>Spegazzinia lobulata 2*</i>	yone 279	-	-
<i>Neottiosporina paspali</i>	CBS 331.37	EU754073	EU754172	<i>Spegazzinia tessarthra*</i>	SH 287	-	-
<i>Periconia cookei 1*</i>	H 4432	-	-	<i>Spencermartinsia viticola</i>	CBS 117009	DQ678036	DQ678087
<i>Periconia cookei 2*</i>	H 4790	-	-	<i>Stachybotrys sp.*</i>	yone 111	-	-
<i>Periconia digitata*</i>	CBS 510.77	-	-	<i>Stagonospora macropycnidia</i>	CBS 114202	GU296198	GU301873
<i>Periconia igniaria*</i>	CBS 379.86	-	-	<i>Sydowia polyspora</i>	CLS-10	AY544718	AY544675
<i>Petrakia paracochinensis*</i>	yone 278	-	-	<i>Teratosphaeria fibrillosa</i>	CBS 121707	GU296199	GU323213
<i>Petraklopsis sp.*</i>	SH 234	-	-	<i>Teratosphaeria jonkershoekensis</i>	CBS 112224	GU296200	GU301874
<i>Phacellium paspali</i>	CBS 113093	GU214669	GQ852627	<i>Tetraploa aristata</i>	CBS 996.70	AB524486	AB524627
<i>Phaeodothis winteri</i>	CBS 182.58	GU296183	GU301857	<i>Tetraploosphaeria nagasakiensis</i>	KT 1682	AB524489	AB524630
<i>Phaeosphaeria avenaria</i>	CBS 602.86	AY544725	AY544684	<i>Tetraploosphaeria sasicola</i>	KT 563	AB524490	AB524631
<i>Phaeosphaeria juncophila</i>	CBS 575.86	GU456307	GU456328	<i>Tetraploosphaeria yakushimensis</i>	KT 1906	AB524491	AB524632
<i>Phaeotrichum benjaminii</i>	CBS 541.72	AY016348	AY004340	<i>Tingoldiogo graminicola</i>	KH 68	AB521726	AB521743
<i>Phoma herbarum</i>	AFTOL-ID 1575	DQ678014	DQ678066	<i>Trematosphaeria pertusa</i>	CBS 122368	FJ201991	FJ201990
<i>Piricauda cochinchensis 1*</i>	H 5250	-	-	<i>Trichodelitschia munkii</i>	Kruys 201	DQ384070	DQ384096
<i>Piricauda cochinchensis 2*</i>	H 5251	-	-	<i>Triploosphaeria acuta</i>	KT 1170	AB524492	AB524633
<i>Piricaudilium sp.*</i>	yone 70	-	-	<i>Triploosphaeria cylindrica</i>	KT 1800	AB524494	AB524635
<i>Piricaudiopsis sp. 1*</i>	KT 1623	-	-	<i>Triploosphaeria maxima</i>	KT870	AB524496	AB524637
<i>Piricaudiopsis sp. 2*</i>	KT 1830	-	-	<i>Triploosphaeria yezoensis</i>	KT 1715	AB524497	AB524638
<i>Pleomassaria siparia</i>	CBS 279.74	DQ678027	DQ678078	<i>Tripopermium sp.*</i>	other 6	-	-
<i>Pleospora herbarum</i>	CBS 714.68	DQ767648	DQ678049	<i>Tubeufia cerea</i>	CBS 254.75	DQ471034	DQ470982
<i>Polyposphaeria fusca 1</i>	KT 1043	AB524462	AB524603	<i>Ulospora bilgramii</i>	CBS 110020	DQ384071	DQ384108
<i>Polyposphaeria fusca 2</i>	KT 1616	AB524463	AB524604	<i>Venturia inaequalis</i>	CBS 594.70	GU296205	GU301879
<i>Preussia terricola</i>	DAOM 230091	AY544726	AY544686	<i>Versicolorisporium triseptatum</i>	SH 130	AB524501	AB330081
<i>Prosthemium betulinum</i>	VM20040721	AB553644	AB553754	<i>Westerdykella cylindrica</i>	CBS 454.72	AY016355	AY004343
<i>Prosthemium canba</i>	JCM 16966	AB553646	AB553760	<i>Xylaria hypoxylon</i>	spat 03-03	AY544692	AY544648
<i>Prosthemium intermedium</i>	KT 2082	AB553647	AB553771				

* 本研究にて採集し塩基配列の取得を行った菌株。太字は無性世代を示している。

* 本研究にて採集し塩基配列の取得を行った菌株。太字は無性世代を示している。

NJ tree
18S+28S rDNA
1181 bp
NJBT/MPBT

- 分生子型**
A アレウロ型
B 出芽型
P ボロ型
Ph フィアロ型
- 分生子形成細胞**
I 形成細胞一点のみ
II 環状形成
III シンボジオ、形成細胞複数
IV シンネマ
- 分生子の色**
○ 無色
● 有色
- 分生子の細胞**
1 単細胞
2 二細胞
3 多細胞
4 石垣状
- 分生子の大きさ**
S ー30 μmまで
M 30ー50 μm
L 50 μm 以上

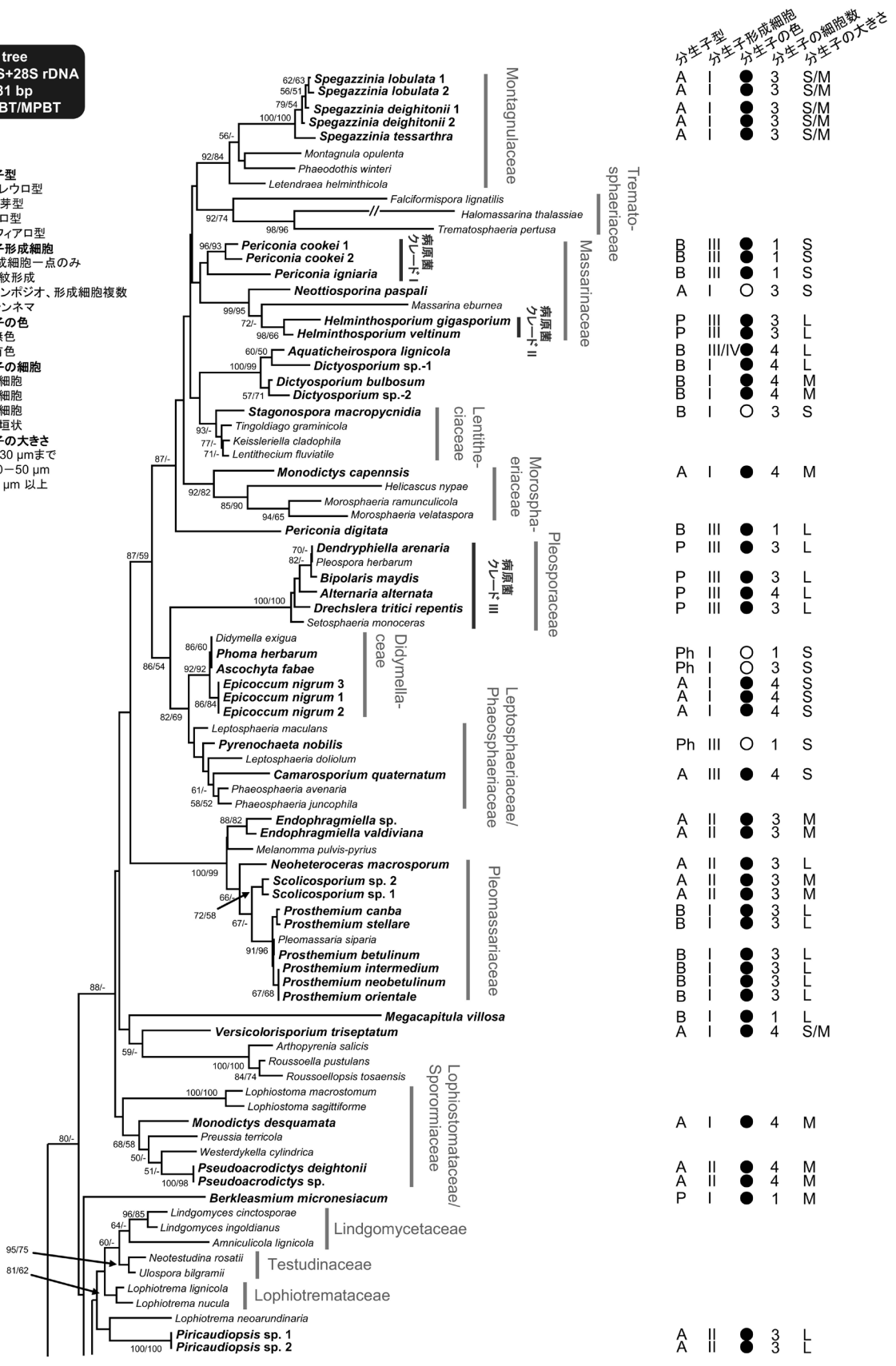


図3 リボソーム DNA 18S 領域 (715 bp) および 28S 領域 (466 bp) に基づく近隣結合樹
樹上に近隣結合法 / 最大節約法のブートストラップ値 (BT) 50% 以上を示した

(表 1) と統合し、近隣結合法 (NJ) および最大節約法 (MP) を用いて解析し、系統樹を作成した (図 3)。図 3 には近隣結合法に基づく系統樹を示した。抽出および塩基配列の取得については Hirayama et al. (2010)、データセットの解析・系統樹作成は Hirayama et al. (2011) と同様の手法で行った^{2,3)}。

結 果

1. 分生子形成様式の分布傾向

分生子型に関して、目レベルでは共通傾向は見いだされなかった。しかし、一部の科においては共通傾向が見られ、Montagnulaceae はアレウロ型、Pleosporaceae はポロ型、Pleomassariaceae および Tetraplospheariaceae は出芽型で分生子を形成する種で構成されることが示唆された。分生子形成細胞に関して、目レベルで Pleosporales とその他の目で分けて比較したところ、Pleosporales では形成細胞が一点のみの種が多く確認されるのに対し、その他の目ではシンポジオ型やシンネマといった形成細胞を複数形成する種が多く確認された。ただし、Pleosporales においても植物病原菌を多く含む病原菌クレード I-III においてはシンポジオ型または形成細胞を複数形成する種がまとまる傾向が確認された。

2. 分生子形態の分布傾向

Pleosporales とその他の目で分けて比較したところ、Pleosporales には多細胞または石垣状で比較的大きな分生子を形成する種が多く見られた。一方、その他の目では単細胞または二細胞で比較的小さな分生子を形成する種が見られた。

考 察

クロイボタケ綱において、分生子形成様式と分生子形態は Pleosporales とその他の目でそれぞれ異なる傾向が見られた。Pleosporales では、分生子形成細胞が一点のみ、分生子は比較的大型で多細胞の種が多く見られた。分生子の大型化や多細胞化は分生子の耐久性を向上させ、生存率を高くすると推測される。そのため、Pleosporales は生存率の高い分生子を少数生産する“少産少死型”へと進化したと推測された。一方、その他の目では分生子形成細胞は複数形成され、分生子は小型で単細胞または二細胞の種が多く“多産多死型”であると推測された。また、Pleosporales とその他の目の系統関

係を見てみると、その他の目を祖先として Pleosporales が派生していると推測される (図 3)。このことから、クロイボタケ綱では無性世代の形態は小型・単細胞の分生子を多数生産する“多産多死型”から大型・多細胞の分生子を少数生産する“少産少死型”へと進化した可能性が示唆された。ただし、Pleosporales における植物病原菌で構成される系統群 (病原菌クレード I-III) では、複数の分生子形成細胞を有する傾向があり多産型であることが推測される。植物病原菌は多くの場合、春先に植物に感染・発病 (一次伝染) し、その病斑上で無性的に胞子を形成し他の植物体へと感染を拡大 (二次伝染) していくため、病原菌クレード I-III の菌は二次伝染時の胞子分散・感染に適応進化したものと推測される。現段階では無性世代の菌についてごく一部の種についてしか系統を考察できておらず、これらの仮説について議論するには今後さらなるサンプルの追加が必要であろう。

要 約

本研究では子の菌類クロイボタケ綱における無性世代形態の分布傾向の推定を目的とした。本綱の祖先系統である複数の目では分生子形成細胞を複数形成し、単細胞または二細胞の小型分生子を多数生産する“多産多死型”の種がまとまる傾向が確認された。一方、派生系統である Pleosporales では分生子形成細胞が一点のみで、多細胞または石垣状の大型分生子を少数生産する“少産少死型”の種がまとまる傾向が確認された。ただし、Pleosporales において、植物病原菌で構成される系統群では分生子形成細胞を複数形成する種が多く、“多産型”へと進化したと考えられる。

謝 辞

本研究に対し助成を頂きました公益財団法人三島海雲記念財団ならびに関係者の方々に深謝致します。

文 献

- 1) P.M. Kirk et al : Ainsworth & Bisby's dictionary of the Fungi, 10th edn. CAB International, 2008.
- 2) K. Hirayama, K. Tanaka, H.A. Raja, A.N. Miller, C.A. Shearer : *Mycologia*, **102**, 729-746, 2010.
- 3) K. Hirayama, K. Tanaka : *Mycoscience*, doi10.1007/s10267-011-0126-3, 2011.
- 4) P.W. Crous et al : *Studies in Mycology*, **55**, 235-253.
- 5) K. Tanaka, K. Hirayama, H. Yonezawa, S. Hatakeyama, Y. Harada, T. Sano, T. Shirouzu, T. Hosoya : *Studies in*

Mycology, **64**, 175-209, 2009.

6) 細矢剛、出川洋介：菌類のふしぎ—形とはたらきの驚異の多様性 (国立科学博物館編)、pp. 73-80、東海大学出版会、2008.

7) 椿恵介ほか：不完全菌類図説—その採集から同定まで、アイピーシー、1998.