

別寒辺牛湿原の植物遺体上に生じるビョウタケ目菌類相の調査

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 栃原 行人

## はじめに

日本の寒冷地の湿性地では、植物遺体の供給が微生物による分解速度を上回るために泥炭が形成され、その上に植物遺体が積み重なって湿原が形成される。湿原では特有の動植物に加え、陸域および水域を特徴づける多様な動植物が相まって豊かな生物多様性が育まれている。特有の希少種を擁する場合も多いため、保全生物学的な観点から植物相・動物相調査が行われることは多い。しかし、難分解性である植物細胞壁の分解酵素をもつために、植物遺体の重要な分解者である微小菌類に関しては、国内の湿原において十分な菌相調査が行われた例はきわめて少ない。

今回の調査地である厚岸湖・別寒辺牛湿原における菌相は、出川（2000）により全分類群を対象とした調査が行われたほか、田中（2003）により流水中の水生子嚢菌類が調査された。しかし、これらの研究では子嚢菌門ビョウタケ目に属する菌類は重点的に調査されておらず、数種が報告されたのみであった。ビョウタケ目菌類は、多くが植物遺体上に数ミリ内外の子嚢盤（きのこ）を腐生的に形成する。主に種（または属）レベルで基質植物種に対する選択性をもつ場合が多く、特に寒冷地の湿原においてはリターの主たる分解者のひとつと考えられる。そこで、本研究では厚岸湖・別寒辺牛湿原においてビョウタケ目菌類を対象とした菌相調査を行い、基質植物名とともに記録した。北海道においてビョウタケ目菌類は夏季期間に子嚢盤を形成し、初夏と盛夏では菌相が異なると思われることから、調査は6月上旬と7月下旬に2回実施した。

## 材料と方法

### ① 野外調査

厚岸町内を移動しながら、厚岸水鳥観察館付近の低湿地および塩湿地、別寒辺牛川中流域のボート乗り場付近の低湿地、愛冠岬付近の山林、PF 第 1 幹線林道沿いの湿地、および別寒辺牛湿原の高層湿原域を訪れて採集を試みた。各地点を踏査しながら、植物基質上に生じ、肉眼で確認できるサイズのビョウタケ目菌類を基質ごと採集し、その場でできるだけ基質植物名も同定・記録した。得られた試料は研究室に持ち帰って分離培養を行うとともに（②を参照）、風乾させ標本として国立科学博物館菌類標本庫に収蔵した。

調査は 2019 年 6 月 4－7 日および 7 月 29－31 日に行った。なお、日程および天候の影響により別寒辺牛湿原の高層湿原域における採集は 7 月のみ行った。

### ② 分離培養

Hosoya and Otani (1997)にならい、得られた子囊盤から分離培養を行った。生きた子囊盤 1 点を基質ごと切り取り、PDA (ポテトデキストロースアガー) プレート培地の上蓋の裏側に貼りつけた。子嚢胞子が PDA 培地上に射出され、胞子が発芽したことを確認したら、胞子を PDA 培地ごと切り取り、PDA 斜面培地に移した。各斜面培地には FC-をサフィクスとする科博の菌株番号を付し、4°Cで管理した。

### ③ DNA 抽出および DNA 配列解読

菌株から約 1 センチメートル角の菌糸体を切り出し、MEB に 2 週間入れて培養した後、グラスミルクを用いた改変 CTAB 法 (Hosaka and Castellano 2008) を用いて DNA を抽出した。培養が得られなかった標本については、子嚢盤を DNA 抽出溶液 (Tochihara and Hosoya 2019) に浸し、DNA 抽出を試みた。ITS1-5.8S-ITS2 領域 (以下、ITS と省略) を増幅するため、ITS1F および ITS4 のプライマーセットを用いた PCR 反応を行い、ABI PRISM 3500xL を用いてシーケンシング反応を行った。

### ④ 同定

得られた標本に対し、Hosoya and Otani (1997) にならって形態観察を行い、記載文献と照合して種同定を行った。また、ビョウタケ目菌類には形態的特徴に乏しい種も多数含まれるため、DNA 解析を行うことで同定の精度が向上することが期待される。そこで、ITS 配列が得られた標本については、GenBank データベースの BLAST 検索を行い、その結果も同定の参考とした。なお、ITS 配列が解読できなかった標本や、明らかにコンタミネーションに由来する配列が得られた標本については、形態データのみに基づいて種同定を試みた。

## 結果および考察

2 回の調査で計 25 種 27 点のビョウタケ目菌が得られた。得られた標本のリストを以下に示す。記述は「TNS-F-をサフィクスとする標本番号 (採集年月日、十進法で表した緯度経度) 基質植物情報」の形式で行った。なお、科の扱いは研究者により見解が異なるが、できるだけ最新の知見を踏まえ、筆者が適宜判断した。緯度経度は世界測地系 WGS84 に従った。

### Mollisiaceae ヘソタケ科

1. *Mollisia* sp. 1 TNS-F-81554 (2019-06-04, 43.106367, 144.892017、ボート乗り場付近) 樹種不明落枝上に腐生。
2. *Mollisia* sp. 2 TNS-F-81557 (2019-06-04, N43.106367, E144.892017、ボート乗り場付近) ヨシの腐朽稈に腐生, 81564 (2019-06-04, N43.164695, E144.851192、林道沿いの湿地)

ヨシの腐朽稈に腐生。

メモ：いずれもイネ科草本遺体から発生する菌で、水鳥調査館近辺の低層湿原において多くみられた。BLAST 検索では *Phialocephala* 属菌が高い相同性を示したが、これは *Mollisia* 属のアナモルフの一つであるため、*Mollisia* として記録した。

3. *Mollisia* sp. 3 TNS-F-81706 (2019-07-30, 43.170043, 144.849046、高層湿原) カラフトイソツツジの落枝に腐生。

#### Vibrisseaceae ピンタケ科

4. *Vibrissea* sp. TNS-F-81566 (2019-06-04, 43.164695, 144.851192、林道沿いの湿地) オニグルミ腐朽葉柄上に腐生。

メモ：本菌は BLAST 検索により *Vibrissea flavovirens* (Pers.) Korf & J.R. Dixon に近縁であることが判明したが、腐朽材に生じ黄土色の子嚢盤を形成する同種に対し、クルミ類の葉柄に生じ黒い子嚢盤を形成することで識別できる。また、顕微鏡レベルでは、同種が 200  $\mu\text{m}$  を超える子嚢と 150  $\mu\text{m}$  を超える子嚢胞子を形成するのに対し、本種の子嚢長は 120–150  $\mu\text{m}$ 、子嚢胞子長も 30–40  $\mu\text{m}$  と全く異なる。本種は本州中部地方以北からも複数の標本が収集され、科博に収蔵されているが、未記載の可能性が高いと推定される。

#### 所属科未確定

5. (属未確定) TNS-F- 81585 (2019-06-07, 43.019042, 144.838836、愛冠岬付近の林) シラカバの落葉に腐生。

メモ：本種は托外皮層の底辺部が茶色に着色する点と、紡錘形の胞子をもつこと、菌糸様の毛をもつことからヒナノチャワソウ科の *Callycelina* 属に類似する。特に *Callycelina populina* によく似ており、発生基質も同一であるが、胞子が長い点が異なり、BLAST 検索でも同種とは一致しなかった。予備的に実施した分子系統解析では、*Callycelina* 属ではなく *Mollisia* 属に近縁な菌であると思われる、今後分類学的処置を講じる必要がある。

#### Pezizellaceae ペチゼラ科

6. *Bisporella* sp. TNS-F-81562 (2019-06-04, 43.164695, 144.851192、林道沿いの湿地) 樹種不明の材上に腐生。

メモ：子嚢盤は 0.5–1.0 mm で無柄、無毛、黄土色。托外皮層は多角菌組織でカロテノイドの油球を含む。

#### Helotiaceae ビョウタケ科 (広義)

7. *Sclerotinia spermophila* Noble TNS-F-81563 (2019-06-04, 43.164695, 144.851192、林道沿いの湿地) イネ科草本の腐朽稈とみられる植物片に腐生。日本新産種。

メモ：本菌は菌株から抽出した DNA に基づく BLAST 検索により種同定を行ったが、標本の傷みが激しく形態観察は行えていない。

### Hyaloscyphaceae ヒナノチャワソタケ科 (広義)

8. *Cistella* sp. TNS-F-81581 (2019-06-06, 43.097511, 144.860525、水鳥観察館付近の湿地) スゲ属の落葉に腐生。

メモ：本菌はスゲ属の腐朽用に生じ、黒い子嚢盤に白いふちどりがあり、有毛である点で *Psilachnum lateritioalbum* (P. Karst.) Höhn. に似るが、毛の先端が顆粒をもつ点で区別され、この特徴に基づき *Cistella* 属とみなすのが妥当である。ただし、明瞭な槍型の側糸をもち、側糸が子嚢から長く突き出す点は *Cistella* 属としてはやや非典型である。Ellis and Ellis (1985)にはスゲ属から生じる *Cistella* 属菌は記録されておらず、正確な種同定は行えなかった。

9. *Hyphopeziza pygmaea* (Mouton) Huhtnen TNS-F-81573 (2019-06-05, 43.139553, 144.873058、林道沿いの広葉樹林) ミズナラの落葉上に腐生。

メモ：本種は Hosoya & Otani (1997)により本州のモンゴリナラ落葉から報告されているが、今回のものは北海道からの初報告である。

10. *Phialina lachnobrachya* (Desm.) Raitv. TNS-F-81558 (2019-06-04, 43.106367, 144.892017、ボート乗り場付近の湿地) ツツジ科植物 (?) の落葉上に腐生。

メモ：本菌は4孢子性であることや、毛や側糸に明るい黄色の油球が含まれることが特徴で、子嚢や孢子の大きさも過去の記載文献と一致する。しかし、BLAST 検索の結果では、韓国産の本種との ITS 配列の相同性は 96.1%と低く、複数の隠蔽種をもつ可能性があるため今後検討を要する。

### Lachnaceae シロヒナノチャワソタケ科

11. *Albotricha acutipila* (P. Karst.) Raitv.? TNS-F-81555 (2019-06-04, 43.106367, 144.892017、ボート乗り場付近の湿地) ヨシの腐朽稈に腐生。

メモ：ヨシの稈から生じる *Albotricha* 属菌としては、基準種である *Albotricha acutipila* が知られ、今回の標本の形質状態は同種にほぼ一致する。しかし、BLAST 検索では *A. acutipila* として登録されているいずれの配列とも一致しなかった。また、GenBank に *A. acutipila* の種名で登録されている配列には複数系統があるとみられ、同種には今回の標本を含め複数の隠蔽種が存在する可能性がある。なお、ITS 配列の相同性に着目して科博標本を調べたところ、今回採取した菌は豊富町や根室市からも見出されていることが分かったが、本州以南のヨシ遺体からは標本が採られておらず、寒冷地のヨシに特有の菌である可能性がある。

12. *Albotricha albotestacea* (Desm.) Raitv.? TNS-F-81584 (2019-06-07, 43.019042, 144.838836, 愛冠岬付近) ミヤコザサの腐朽稈に腐生。

メモ：前種とは基質が異なり、子囊盤がより小さい。形態的特徴は *Albotricha albotestacea* に酷似し、BLAST 検索の結果も同種との近縁性を示唆しているが、96%の相同性は同種とみなすには低すぎるため、やはり同種の隠蔽種の一つと推定される。

13. *Dasyscyphella cassandrae* TNS-F-81709 (2019-07-30, 43.170043, 144.849046, 高層湿原) ヤチツツジの落枝に腐生、日本新産種。

メモ：ヤチツツジの腐朽落枝から特異的に生じる菌で、子囊盤が先端に顆粒を欠く毛に覆われることと、糸状で長い胞子をもつことで特徴づけられる。これまでヤチツツジの分布域から広く報告されており、日本からは著者が 2018 年に北海道長万部町、豊富町および根室市で初めて発見した(未報告)。いずれもヤチツツジの個体数がきわめて少ないため、十分な標本が採集できていない。本種は *Dasyscyphella* 属の基準種であるが、同属は多系統であることが示されていることから (Hosoya et al. 2010)、今後状態のよい標本を採集し、分類学的研究に供することが望まれる。

14. *Lachnum asiaticum* (Y. Otani) Raitv. TNS-F-81701 (2019-07-29, 43.020204, 144.84528, 愛冠岬周辺) 海岸台地上のササ類の腐朽稈に腐生。

メモ：Otani (1967)が北海道産の標本をもとに新種記載した種で、ササ類の稈に腐生し、毛は樹枝状物質を帯びる。北海道内ではふつうにみられる。

15. *Lachnum controversum* (Cooke) Rehm TNS-F-81565 (2019-06-04, 43.164695, 144.851192, 林道沿いの湿地) ヨシの腐朽稈に腐生、日本新産種。

メモ：本菌はヨシの腐朽稈に、子実層が赤みを帯びた子囊盤を形成することで知られ、日本新産種である。ヨシの腐朽稈は他のシロヒナノチャワソウ科菌類にとってもよい基質として知られ、科博にはヨシに発生した本州産の本科標本が多数収蔵されているが、その中に本種は含まれていなかった。亜寒帯の湿地を特徴づける菌であると推定される。

16. *Lachnum pudibundum* (Quél.) J. Schröt. TNS-F-81567 (2019-06-04, 43.164695, 144.851192, 林道沿いの湿地) 樹種不明の落枝上に腐生。

17. *Lachnum virgineum* (Batsch) P. Karst. TNS-F-81559 (2019-06-04, 43.106367, 144.892017, ボート乗り場付近) 樹種不明の落枝上に腐生。

18. *Lachnum* sp. 1 TNS-F-81571 (2019-06-05, 43.139553, 144.873058) 腐朽した草本

の茎に腐生。81575 (2019-06-05, 43.139553, 144.873058、林道沿い) 腐朽したオオヨモギの茎に腐生。

メモ：草本の茎に腐生する *Lachnum* 属菌としては *Lachnum nudipes* (Fuckel) Nannf. が広く知られるが、同種は毛の先端に結晶を有するのに対し本種は有さず、孢子も本種のほうが大きい。

19. *Lachnum* sp. 2 TNS-F-81560 (2019-06-04, 43.106367, 144.892017), 81561 (2019-06-04, N43.107225, E144.89215、ボート乗り場付近) ケヤマハンノキの落葉上に腐生。

メモ：ハンノキ類の落葉から生じる菌で、2019年に道東地方の幅広い地域から採集された。

20. *Lachnum* sp. 3 TNS-F-81572 (2019-06-05, 43.139553, 144.873058、林道沿い) ミズナラの落葉上に腐生。

メモ：ミズナラの落葉から生じる菌で、日本全国から多数の標本が採集されている。

*Lachnum papyraceum* (P. Karst.) P. Karst. に似るが、子嚢および孢子がより大きく、BLAST 検索の結果も合致しておらず、未記載の可能性はある。

21. *Lachnum* sp. 4 TNS-F-81568 (2019-06-04, 43.164695, 144.851192、林道沿い) ヨシの腐朽稈に腐生。

メモ：ヨシの稈から生じる菌であるが、*Lachnum controversum* とは子実層が白色であることで容易に区別される。

22. *Lachnum* sp. 5 TNS-F-81569 (2019-06-05, 43.139553, 144.873058、林道沿い) イネ科植物 (おそらくイワノガリヤスカ) の葉上に腐生。

メモ：毛が茶色を帯びる点が非典型ではあるが、*Lachnum* 属におくことが妥当である。

*Lachnum pudicellum* (Quél.) J. Schröt. はイネ科草本に生じることと、成長した毛の基部が茶色くなる点で類似するが、子嚢および孢子の大きさが全く異なる。

23. *Lachnum* sp. 6 TNS-F-81704 (2019-07-30, 43.170043, 144.849046、高層湿原) カラフトイソツツジの落葉上に腐生。

メモ：イソツツジ類の落葉上に特異的に生じる菌で、著者は北海道内の複数個所で採取しており、未記載種であると思われる。

24. *Incrucipulum foliicola* Tochihara TNS-F-80703 (2019-07-30, 43.170043, 144.849046、高層湿原) ヤチヤナギ落葉上に腐生。

メモ：著者が2019年に長万部町産の標本に基づいて新種記載を行った種で (Tochihara &

Hosoya 2019)、ヤチヤナギの腐朽落葉上に黄色い子囊盤を形成する。道内各所や尾瀬など、他のヤチヤナギ分布域からも採集されており、広域に分布すると思われる。次種にきわめて近縁であるが、発生部位が異なることと、本種は子囊基部にかぎ型構造をもつことで区別できる。

25. *Incrucipulum sulphurellum* (Peck) Baral TNS-F-80705 (2019-07-30, 43.170043, 144.849046、高層湿原) ヤチヤナギ落枝上に腐生、日本新産種。

メモ：基質植物ヤチヤナギの落枝から生じる菌で、従来日本では報告されていなかった。著者は2019年の調査で本調査地をはじめ、道内各所、青森県六ヶ所村、尾瀬などで発見に至った。

### 3) まとめ

元来ビョウタケ目菌類は種レベルまで正確に同定することは難しく、今回も属レベルの同定にとどまった種が多かった。しかし、これまでの本州の調査では確認できなかった菌が複数確認され、日本新産種や未記載と思われる種も含まれており、今後詳細な形態観察と分子系統解析を行って分類学的検討を行う予定である。

調査箇所ごとの傾向としては、水鳥調査館近辺、ボート乗り場付近、PF 第1幹線林道沿いなどに発達する低層～中間湿原では、菌相は優占種ヨシの腐朽稈上に生じる複数種のヘソタケ科やシロヒナノチャワンタケ科の菌で特徴づけられ、その他の湿原の構成植物（イネ科の稈や硬質な双子葉類の茎など）にも菌の発生がみられた。また、湿原の周辺林から飛ばされてきた落葉上にも菌の発生が確認された。国道44号線とJR根室本線の間位置する塩湿地では、塩生植生が発達するものの、植物遺体上にビョウタケ目菌類の発生は全く見られなかった。海外では塩湿地からのビョウタケ目菌の報告もあるが（Calado and Barata 2012）、基本的には生育に適さない場所であることが示唆される。厚岸町北部に位置する高層湿原域においては、生育する植物種が限定されるため菌の多様性も低かったが、ヤチヤナギやヤチツツジなどの希少種に特異的な菌の発生が見られた。

今回の調査の課題としては、研究拠点が遠方のため天候を考慮した調査日程を組めなかった点が挙げられる。6月の日程では降雨の影響で試料の表面にカビが発生するなど試料の状態が悪く、また7月の日程では猛暑のため菌類の発生量が極端に少なかった。また、湿原内で採取した試料はそもそも多湿なため状態が悪化しやすく、形態観察やDNA抽出が行えないものが複数存在した。今後は、湿地での試料採集の際には、現場で一定時間乾燥させるなど、持ち帰る前の工夫が求められる。

湿原の各構成植物種に対するビョウタケ目菌類の発生状況は、湿原の保全や現状評価を行う上でも重要性が高いと考えられることから、今後も調査者を増員しさらに綿密な調査を行う必要がある。

## 引用文献

- Calado, M. & Barata, M. (2012) Salt marsh fungi. *In: Marine fungi and fungal-like organisms*, Walter de Gruyter, Berlin, pp. 345–381.
- Ellis, M.B. & Ellis, J.P. (1985) *Micro Fungi on Land Plants: An Identification Handbook*. Croom Helm, London.
- 出川洋介 (2000) 「別寒辺牛湿原の菌類相とその分布上の特性」平成 12 年度厚岸湖・別寒辺牛湿原学術研究奨励補助金制度報告書。
- Hosaka, K. & Castellano, M.A. (2008) Molecular Phylogenetics of Geastrales with Special Emphasis on the Position of Sclerogaster. *Bulletin of the National Science Museum. Series B, Botany* 34 (4): 161–173.
- Hosoya, T. & Otani, Y. (1997) Hyaloscyphaceae in Japan (1): Non-glassy haired members of the tribe Hyaloscypheae. *Mycoscience* 38: 171–186.
- Hosoya, T., Sasagawa, R., Hosaka, K. Sung, G.-H., Hirayama, Y., Yamaguchi, K., Toyama, K. & Kakishima, M. (2010) Molecular phylogenetic studies of Lachnum and its allies based on the Japanese material. *Mycoscience* 51: 170–181.
- Otani, Y. (1967) Notes on some cup fungi of the Hyaloscyphaceae collected in Hokkaido, Japan. *Transactions of the Mycological Society of Japan* 8: 33–42.
- 田中和明 (2003) 「厚岸湖および別寒辺牛湿原における水生子のう菌類の分類学的研究」平成 15 年度厚岸湖・別寒辺牛湿原学術研究奨励補助金制度報告書。
- Tochihara, Y. & Hosoya, T. (2019) Three new species of *Incrucipulum* (Lachnaceae, Helotiales, Ascomycota) from Japan. *Phytotaxa* 403 (1): 25–38.