

氏名	お だ たか し 小 田 貴 志
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1453 号
学位授与の日付	平 成 17 年 1 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 地 域 環 境 科 学 専 攻
学位論文題目	Molecular phylogeny of the genus <i>Amanita</i> , and its application to taxonomy, biogeography and evolution (<i>Amanita</i> 属の分子系統と, 分類学, 生物地理学, 進化学へのその応用) (主 査)
論文調査委員	教 授 二 井 一 禎 教 授 高 藤 晃 雄 教 授 武 田 博 清

論 文 内 容 の 要 旨

Amanita (テングタケ) 属菌は, 世界的な分布範囲を持つ大型担子菌で, 現在約500種が確認されている。子実体の形態形質が顕著で, 有毒種と食用種の双方が含まれ, さらに針葉樹から広葉樹まで幅広い樹種と菌根を形成するなどといった特徴があることから, 古くから注目されてきた分類群であり, 様々な視点から研究がなされてきた。しかし, これらの研究の基礎となる分類学については, 亜属・節レベルの分類体系や種概念そのものについて諸説が混在している。本論文では, *Amanita* 属菌の分子系統学的解析を通して分類学的な問題の解決を図り, 得られた知見に基づき本属の生物地理, 進化についての解釈を試みた。これらの研究の主な内容は次の通りである。

第2章では分子系統解析に基づき *Amanita* 属全体の分類体系の再検討を行った。まず, 日本産本属菌36標本について核内 ribosomal DNA における ITS 領域の塩基配列の決定を行い, その配列に基づき作成した分子系統樹を形態的指標による既往の分類体系と比較した。比較対象とした既往の分類体系は Bas (1969) および Singer (1986) の体系で, いずれも胞子のアミロイド性および傘の条線の有無に基づき本属を *Amanita* 亜属と *Lepidella* 亜属に分類している。しかし, 節レベルの分類では両者の見解は異なっている。これらの体系と今回得られた分子系統樹を比較したところ, 本属を *Amanita* 亜属と *Lepidella* 亜属とに二分することは妥当であると考えられた。次に, 節レベルの分類については Bas (1969) は *Amanita* 亜属を2節, Singer (1986) は4節に分けている。しかし, 分子系統樹からは本亜属は3節に分けられ, 柄の基部が球根状に膨らんでいるものを *Amanita* 節, 柄につばがなく袋状のつばがあるものを *Vaginatae* 節, 柄につばと袋状のつばがあるものを *Caesareae* 節とすることが妥当であることが明らかとなった。一方, *Lepidella* 亜属は, Bas (1969) および Singer (1986) のいずれの体系とも異なり, 分子系統樹では大きく2つのグループに分かれ, かつ各グループ内で共通した形態的特徴が認識されなかった。これらの事実から, *Lepidella* 亜属に関する既往の分類体系は系統を反映したものではないことが示唆された。さらに, 現在まで亜種あるいは変種と考えられてきた *A. hemibapha* 3 亜種および *A. vaginata* 3 変種については, 得られた分子系統解析結果から, それぞれ個別の種として扱うのが適していることが明らかとなった。

第3章では, さらなる野外調査によって発見された日本産 *Amanita* 属菌4種について, 分子系統学的情報および形態的特徴を調べ, *A. areolata*, *A. concentrica*, *A. griseoturcosa*, *A. imazekii* として新種記載を行った。*A. areolata* は中型~大型の子実体を形成する種で, 茶色の傘の表面がひび割れ, 傘の条線がなく, アミロイド性の胞子を有する, といった特徴を持つ。これら形態的特徴および分子系統解析の結果に基づき *Lepidella* 亜属に属することが明らかとなった。*A. concentrica* は中型~大型の子実体を形成する種で, 白色の傘の上面に角錐状のいぼを有し, 傘の条線があり, 柄の基部に顕著な環状の外被膜が複数付着し, 非アミロイド性の胞子を有する, といった特徴を持つ。これら形態的特徴および分子系統に基づき *Amanita* 亜属 *Amanita* 節に属することが明らかとなった。*A. griseoturcosa* は中型の子実体を形成する種で, 傘の色が灰青緑色で, 傘の条線がなく, 袋状のつばを有し, アミロイド性の胞子を有する, といった特徴を持つ。これら形態的特徴および分子系統に基づき *Lepidella* 亜属に属することが明らかとなった。*A. imazekii* は大型の子実体を形成する種で, 傘

の色が褐色から灰褐色で条線が短く、袋状のつばを有すし、非アミロイド性の胞子を有する、といった特徴を持つ。形態的特徴および分子系統に基づき *Amanita* 亜属 *Caesareae* 節に属することが明らかとなった。

次に、第4章では形態的変異が著しい日本産 *A. pantherina* について分子系統解析を行い、分類学的整理を行った。すなわち、日本において *A. pantherina* とされる17標本について核内 ribosomal DNA の ITS 領域の塩基配列を決定し、その塩基配列に基づき分子系統樹を作成した。その結果、日本において *A. pantherina* と同定されていたものには、近縁の未知種が混在していたことが明らかとなった。さらに本未知種に関して形態学的検討および化学分析を行った。その結果、本未知種は毒成分イボテン酸が最初に単離されたにもかかわらず、分類学的取り扱いが不明であったイボテングタケであることが明らかとなった。以上の結果を踏まえて、本種を *A. ibotengutake* として新種記載した。

第5章では、世界的に分布する2種 *A. muscaria* および *A. pantherina* について、種内変異を明らかにし、地理的分布との関係について調べた。まず、様々な地域から採集された *A. muscaria* 27標本、*A. pantherina* 15標本について、核内 ribosomal DNA の ITS 領域および β -tubulin 遺伝子の塩基配列を決定し、塩基配列多型に基づく *A. muscaria* および *A. pantherina* の種内変異を明らかにした。つぎに、得られた塩基配列情報を用いて系統樹を作成し、形態ならびに採集データとあわせて解析した。その結果、得られた系統樹は ITS 領域のみ用いた場合、 β -tubulin 遺伝子のみ用いた場合、ITS 領域と β -tubulin 遺伝子の両方を用いた場合のいずれにおいてもほぼ同一のトポロジーを示した。また、採集データを加えた解析結果より、*A. muscaria* には少なくともユーラシアグループ、ユーラシア亜高山帯グループ、北アメリカグループが存在することが明らかとなった。これらの分化はユーラシア大陸に存在した *A. muscaria* 祖先種が気候変動およびベーリング陸橋あるいは北大西洋陸橋を通じてのユーラシア大陸から北アメリカ大陸への分布拡大によって生じたと推測された。一方、*A. pantherina* については少なくともユーラシアグループ、北アメリカグループが存在することが明らかとなった。これらの分化には *A. muscaria* と同様にベーリング陸橋あるいは北大西洋陸橋を通じての分布拡大が大きく関与していると推測された。

第6章では、以上の結果をとりまとめ、*Amanita* 属内の分類体系、種レベルの分類、およびそれらの生物地理、進化について総合考察を行った。

論文審査の結果の要旨

Amanita 属菌は、子実体の形態形質が顕著で、有毒種と食用種の双方が含まれ、かつ針葉樹から広葉樹まで幅広い樹種と菌根を形成するといった特徴から古くより注目されてきた分類群であり、現在まで本属菌の生物地理学、進化学、生態学、毒性学などに関する研究が数多く報告されてきた。このような研究成果の信頼性は最も基礎的な知見である分類学的情報の正確さによって大きく左右されるが、形態的指標によってのみ行われてきた既往の分類体系では、亜属・節レベルの体系だけでなく種概念そのものについて諸説が混在している状況であった。本論文では、このような *Amanita* 属菌の分類学における諸問題を分子系統解析によって解明し、その得られた結果を本属菌の生物地理、進化の解釈へと応用したものである。その評価すべき点として以下の点が挙げられる。

- 1 : 諸説が混在していた *Amanita* 属全体の分類体系について、分子系統解析に基づき再検討を行った。その結果、本属が *Amanita* 亜属と *Lepidella* 亜属に、また *Amanita* 亜属は3節に分類されることを示した。
- 2 : 分子系統解析によって、現在まで亜種あるいは変種と考えられてきた *A. hemibapha* 3亜種および *A. vaginata* 3変種について、それぞれ個別の種として扱うのが適していることを示した。
- 3 : 新たに発見された日本産 *Amanita* 属菌4種について、分子系統学的情報および形態的特徴を基に、*A. areolata*, *A. concentrica*, *A. griseoturcosa*, *A. imazekii* として新種記載を行い、本属の分類学的知見の蓄積に寄与した。
- 4 : 分子系統解析により、日本産 *A. pantherina* とされていた種には近縁で未知の別種が混在していたこと、さらにこの未知種が毒成分イボテン酸が最初に単離されたイボテングタケであったことを示し、*A. ibotengutake* として新種記載を行った。また、この研究を通して、形態的な類似による種の混同の解決に分子系統解析が非常に有効であることを示した。
- 5 : 世界的に分布する *A. muscaria*, *A. pantherina* について、核内 ribosomal DNA の ITS 領域および β -tubulin 遺伝子

の塩基配列多型を明らかにし、形態的指標では識別が困難であった種内変異の検出を可能にした。また、分子系統解析結果から *A. muscaria* には少なくともユーラシアグループ、ユーラシア亜高山帯グループ、北アメリカグループが、一方 *A. pantherina* については少なくともユーラシアグループ、北アメリカグループが存在することを解明し、それぞれの生物地理学的な変遷および進化過程についての仮説を示した。

以上のように、本論文は *Amanita* 属の分類学上の諸問題を分子系統解析によって解明したものであり、微生物環境制御学、菌学、生物地理学、進化学、生態学などに寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成16年11月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。