

論文内容の要旨

応用生命工学専攻

平成 10 年度博士課程進学

氏名 ウェリザル シャムスリザル

指導教官 横田 明

論文題目 Polyphasic Taxonomic Study of Yeast-producing Basidiomycetes

(酵母時代を有する担子菌類の多相分類学的研究)

序

現在、担子菌酵母は 34 属 220 種が記載されている。その分類は形態と生理学的性質に基づくものであった。しかし、DNA レベルの比較によって、いくつかはその多系統性が指摘されている。酵母時代を有する担子菌類は系統的に多岐にわたり、担子菌類を構成する 3 つの系統群（サビキン類、クロボキン類、帽菌類の系統群）すべてに分布している。その分類体系の構築には多相分類学的なアプローチが不可欠である。本研究では、多相分類学的アプローチによりいくつかの担子菌酵母の系統進化的な解析を行った。

結果と考察

1. タイ由来の新規サビ菌類酵母の多相分類学的解析

この研究で用いた酵母はタイにおいて生きている植物の葉表面より分離された。3 つの株（33-1A-1, 36-2A, 36-2B）は担子菌の特徴を持つ。ピンク〜オレンジ色のコロニー、ジアゾニウムブルー B（DBB）呈色およびウレアーゼ試験陽性、内分芽型出芽、多層細胞壁、そして隔壁を持つ後担子器に冬胞子を形成す

る。さらに、分子系統学的解析によると、これら 3 株は *Rhodotorula minuta* コンプレックスおよびテレオモルフ種 *Occultifur externus* の系統群内において新たな系統を形成した。これら 3 株の特徴である主要糖組成としてグルコースを有することと主要ユビキノ系 Q-9 を持つことは *R. minuta* や *O. externus* には見られない。33-1A-1 株は他の 2 株とは以下の点において異なる。LSU rDNA の D1/D2 領域において 2 塩基、ITS 領域において 4 塩基の違いがある。また、菌体糖組成としてマンニトールが少なく、炭素源の資化性のパターンに違いが見られた。よって、33-1A-1 は 36-2A および 36-2B とは別種であると考えられる。36-2A 株と 36-2B 株は SSU、LSU rDNA、ITS 領域において同一塩基配列であったことより、同種であると考えられる。18-2A 株はピンク色のコロニー、DBB 呈色およびウレアーゼ試験陽性、内分芽型出芽、多層細胞壁、主要糖組成としてマンノース、主要ユビキノ系 Q-10、そして多室担子器に冬胞子をつくる。分子系統学的解析からこの株は *R. minuta* コンプレックス内の *R. minuta* 株と近縁であった。この株と *R. minuta* 基準種は、LSU rDNA の D1/D2 および ITS 領域においてそれぞれ 3 塩基の違いがあった。多相分類学的研究に基づき、18-2A 株に対し *Rhodotorula* の属新菌種を、33-1A-1、36-2A、36-2B 株に対して新属を提唱する。これら 4 株はテレオモルフ時代を有することが示唆されたので、さらに有性時代の有無を確認することが必要である。

2. 核 SSU rDNA 塩基配列に基づくシダ植物寄生性サビキンの系統学的位置の解明

サビキン類は、宿主植物と共進化をとげたものと推定され、シダ植物に寄生する属が現存するサビキンの中で最も原始的であると考えられてきた。我々はシダ寄生サビキンとシダに寄生しないサビキンの核 SSU rDNA の塩基配列を決定し、それらを比較することによりサビキン類の系統学的関係を解析した。系統樹によると、サビキン類は単系統であり、サビキン類系統に属する他の腐生性の酵母と系統群を形成した。シダ寄生サビキンの 2 属はサビキン類系統樹の初期に分岐した位置を占めてはおらず、単系統を形成しないことにより、これら 2 属は原始的ではないと考えられる。寄生菌類の系統進化と宿主植物の系統進化は一致しなかった。系統樹は菌類とその宿主植物との類縁性を反映していない。すなわち、寄生菌類とその宿主植物は独立に進化してきたと考えられる。この研究より、主としてその宿主植物、形態、生活環に基づいて推定されたシ

ダ寄生サビキンがサビキンの中で最も原始的であるという系統学的な仮説は見直さなければならないと考える。

3. 分子および形態的特徴によるクロボキン類における *Graphiola phoenicis* および *G. cylindrica* の系統学的関係

Graphiolales はヤシに寄生し生息域は熱帯および亜熱帯に限られる。*Graphiola* の系統学的位置は菌類の放散と進化という観点から菌類学者に注目されてきた。主として形態学的データに基づいて本菌はいろいろとその分類学的位置を変えてきた。本研究において、我々は *Graphiola phoenicis* および *G. cylindrica* の核 SSU rDNA 塩基配列を決めた。系統樹によると、この 2 つの種はクロボキン類の中でお互い最も近縁であった。しかし、形態的特徴により、*G. cylindrica* は *Graphiola* 属より除かれることが示唆された。*G. phoenicis* の SSU rDNA には 4 つのグループ I イントロンの挿入が認められたが、*G. cylindrica* には存在しなかった。これらのイントロンは進化の過程において水平移動によって獲得されたものであると考えられる。これらのイントロンは *G. phoenicis* の同定の分子マーカーとして使える。

4. 多相的分類学的アプローチの適用：帽菌類に属した “*Taphrina*” *californica* と “*Taphrina*” *maculans* の系統学的位置

“*Taphrina*” *californica* CBS 374.39 および “*Taphrina*” *maculans* CBS 427.69 は DNA レベルおよび表現形質において担子菌類の性質を示した。すなわち、DBB 呈色およびウレアーゼ試験陽性、内分芽型出芽、多層細胞壁、主要ユビキノン Q-10、G+C 含量 49.3 mol% (CBS 374.39)、46.7 mol% (CBS 427.69)、さらに細胞壁にキシロースを含んでいた。分子系統学的解析の結果、両株は互いに近縁であり、帽菌類のシロキクラゲ菌類（例えば、*Tremella moriformis*, *T. globospora*, *Bullera alba*, *Cryptococcus neoformans*）と系統群を形成した。すなわち、両株は古生子囊菌類の *Taphrina* に属さない。LSU rDNA の D1/D2 領域の塩基配列比較によると、両株はシロキクラゲ菌類の酵母 *Trimorphomyces papilionaceus* に最も近縁であった。両株は G+C 含量において若干の相違が見られたが、SSU rDNA が同一配列であり、LSU rDNA D1/D2 領域において 1 塩基の違いであったことより、同一種である考えられる。さらに、D1/D2 領域において両株は *T. papilionaceus* と 1 塩基の相違があった。シロキクラゲ菌類に属する酵母の多く

はマイコシンを生産し、さらにそれらのマイコシンに *Taphrina* のいくつかの株は殺されることが報告されていることを考慮すると、おそらく、これら両株が分離されたときに混入しており、培養段階で *Taphrina* を死滅させたと考えられる。

結論

本多相分類学的研究により以下のことを明らかにした。(1) DNA レベルおよび表現形質を合わせて比較することにより、サビキン類系統群に属する新規の分類群を示すことができた。(2) 形態や宿主植物に基づき分類同定されてきたサビキン類は必ずしも進化を反映したものではないことを明らかにし、分子系統学的解析により、系統進化を反映した分類多系の構築が可能であることを示した。(3) 分子および形態的特徴によりクロボキン類に属する *Graphiola* の2種の進化的関係を明らかにした。(4) “*Taphrina*” 2種の誤同定を示し、その真の帰属を明らかにした。従来の分類学的解析では明らかにできなかった酵母時代を有する担子菌類の系統関係を多相分類学的研究により明らかにできた。熱帯地域由来の新規菌群の発見は熱帯地域の多様性を反映していると考えられる。

参考文献：

Sjamsuridzal W, Tajiri Y, Nishida H, Thuan TB, Kawasaki H, Hirata A, Yokota A, Sugiyama J (1997) Evolutionary relationships of members of the genera *Taphrina*, *Protomyces*, *Schizosaccharomyces*, and related taxa within the archiascomycetes: integrated analysis of genotypic and phenotypic characters. *Mycoscience* **38**, 267-280

Sjamsuridzal W, Sugiyama J (1998) Detection of multiple insertions of group I introns in the nuclear small subunit ribosomal RNA gene from the ustilaginomycete *Graphiola phoenicis* parasitic on palm. *J Gen Appl Microbiol* **44**, 355-360

Sjamsuridzal W, Nishida H, Ogawa H, Kakishima M, Sugiyama J (1999) Phylogenetic positions of rust fungi parasitic on ferns: evidence from 18S rDNA sequences analysis. *Mycoscience* **40**, 21-27