

日本産カッパミケス科菌（ツボカビ門、フタナシツボカビ目）の分類学的研究 Taxonomic study of Kappamycetaceae (Rhizophydiales, Chytridiomycota) isolates from Japan

○瀬戸健介(筑波大・菅平高原実験センター), 出川洋介(筑波大・菅平高原実験センター)

フタナシツボカビ目 (Rhizophydiales) は、Letcher ら (2006) により、分子系統解析 (James et al. 2000, 2006) によってツボカビ門内に認識されたクレードの 1 つである「*Rhizophyidium* clade」に対して設立された目で、遊走子の微細構造の特徴により他の目と区別される。目内では、分子系統解析の結果と遊走子の微細構造の特徴に基づいて下位分類の整理が進められており、現在では 10 科 18 属にまとめられている。演者らは、2011 年度より、中部山岳地域を含め日本国内のフタナシツボカビ目菌の多様性の解明を目指し、各地のサンプルよりフタナシツボカビ目菌の分離培養を行ってきた。現在までに 31 菌株の確立に成功している。本発表では、これらの菌株のうち、主に菅平高原から分離された、カッパミケス科菌についての詳細な同定結果について報告する。カッパミケス科 (Kappamycetaceae) は、Letcher ら (2006) によりフタナシツボカビ目内に提唱された科で、キネトソームおよび鞭毛を生じない中心小体 (non-flagellated centriole: nfc) の中心に不透明な芯が見られる点において目内の他の分類群と区別される。既知種は 1 属 1 種 *Kappamyces laurelensis* のみで、この他は未同定種として扱われている。

本研究では、長野県上田市菅平高原から分離された 5 菌株を含む計 8 菌株 (KS30, 31, 34, 54, 57, 72, 78, 84) のカッパミケス科菌を供試した。各菌株は土壌より、花粉を用いた釣菌法により分離された。科内の分類学的整理を目的として、これらの菌株の光学顕微鏡による菌体の形態の観察、透過型電子顕微鏡による遊走子の微細構造の観察、LSU rDNA 遺伝子と ITS1-5.8S rDNA-ITS2 遺伝子の塩基配列を用いた分子系統解析を行なった。

光学顕微鏡観察では、各菌株の PmTG 寒天培地上での生育過程および遊走子の放出様式を観察した。KS30, 31, 34, 54, 72, 84 は、1) 一本の細い仮根軸を生じ、先の方で糸のような仮根が分枝する、2) 遊走子嚢は球形、3) 遊走子放出時に遊走子嚢壁が消失する、という特徴を持ち、互いによく似ていた。既知種 *K. laurelensis* は、よく似た形態を持つが、遊走子放出時に遊走子嚢壁は消失せず 1 つの大きな放出口を生じるという特徴において、これら 6 菌株とは区別できる。一方、KS57, 78 は、生育初期の段階では先の 6 菌株と似ていたが、1) 成長するにつれて遊走子嚢は卵形あるいは楕円形になる、2) 遊走子放出時に遊走子嚢壁は消失せず 1~数個の穴が生じる点において異なっていた。

透過型電子顕微鏡観察は、KS31, 57, 72, 84 について行なった。いずれの菌株でも、キネトソームの中心に不透明な芯が見られたが、nfc には同様の構造は見られなかった。また、厚い膜に囲まれ電子密度の高い内容物を含む小胞がキネトソームの周辺に存在しているところが観察された。これは *Kappamyces laurelensis* においても見られる特徴である。以上のことから、カッパミケス科の定義の修正が必要であると考えられる。

分子系統解析の結果、供試菌株 8 株を加えた、既知種 *K. laurelensis* および未同定菌株 (Letcher et al. 2008) を含むカッパミケス科は高い支持で単系統群をなした。また、カッパミケス科内では、科の基準種 *K. laurelensis* および未同定菌株と KS72, 84 を含むクレード 1、KS30, 31, 34, 54 を含むクレード 2、KS57, 78 を含むクレード 3 の、3 つのクレードに分かれた。また、クレード 1 内では、KS72 と *K. laurelensis* が単系統群をなし、これに対して KS84 が姉妹群をなした。形態的にほぼ一致する KS30, 31, 34, 54, 72, 84 は、異なる 2 つのクレードに分かれた。今後、より詳細な観察を行い、これら 2 つのクレードを識別する形態的、微細構造的特徴を探索する必要がある。また、クレード 3 に属する KS57, 78 は、既知種いずれとも形態的に区別できるため、本クレードは未記載属であると考えられる。