

氏名(本籍)	た なべ ゆう ひこ 田 辺 雄 彦 (茨 城 県)		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 乙 第 1978 号		
学位授与年月日	平成 15 年 12 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	A Molecular Phylogenetic Study of Zygomycota (接合菌門の分子系統学的研究)		
主 査	筑波大学教授	農学博士	柿 蔭 眞
副 査	筑波大学教授	農学博士	河 野 義 明
副 査	筑波大学助教授	農学博士	山 岡 裕 一
副 査	筑波大学教授	理学博士	徳 増 征 二
副 査	NCIMB ジャパン学術顧問	理学博士	杉 山 純 多

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

菌類界に属する接合菌門は、「生活環において鞭毛を有するステージを持たず、かつ有性生殖によって厚壁の休眠胞子としての接合胞子を形成する菌類」として定義される。接合菌門は Hawksworth et al.(1995) の分類体系では 2 綱 11 目から構成されており、腐生性から植物・昆虫・微生物などへの寄生・共生性の種までを含む、形態的にも生態的にも多様な生物群である。接合菌門には植物病原菌や有用物質生産菌なども数多く知られており、これら菌類の系統関係を明らかにすることは、農業や発酵工業等の応用面でも非常に重要である。しかしながら、接合菌門は形態的分化の程度が低く、また分子系統解析が行なわれた分類群も非常に限られているため、接合菌門の高次分類群間の系統関係は不明な点が多い。更に近年の分子系統研究により、一部接合菌類とツボカビ類や微孢子虫類との系統的近縁性が示唆されるなど、接合菌門の系統に関して新たな問題も生じてきている。そこで本研究においては、接合菌門の高次分類群間、及びそれらと周辺の生物群との系統関係の解明を目的として、複数の遺伝子による分子系統学的解析を行った。その際、接合菌門の高次分類群の中で比較的安定した形態的・生態的共通性で纏められている「目」のレベルを主な解析対象として、その単系統性や目間の系統関係の解明に重点を置いた。

#### (1) 土壤微生物寄生性の「目」に着目した nSSU rDNA による接合菌門の系統解析

土壤微小動物や菌寄生性の接合菌類であるトリモチカビ目・ジマルガリス目は、純粋培養が困難なことから、これまで全く遺伝子解析が行なわれていなかった。このため、この 2 目の菌類を中心に nSSU rDNA (核小サブユニットリボソーム RNA 遺伝子) の塩基配列を決定して既知配列と併せて分子系統解析を行い、この 2 目と他の接合菌門の目との系統関係を中心に接合菌門系統全体の考察を試みた。その結果、ハルペラ目・キクセラ目・トリモチカビ目の 3 目が一つの単系統群を形成する可能性が示唆された。同時にハエカビ目がツボカビ門のコウマクノウキン目と一つの単系統群を形成することも判明し、接合菌門の多系統性が改めて示唆された。従来の研究と本研究の結果から接合菌門の各目はわずかの例外を除いてそれぞれ系統的に纏まった分類群であることが判明したが、上記 2 つ以外の「目」間の系統関係は、本解析では解明できなかった。

## (2) EF-1 $\alpha$ , RPB1 遺伝子による接合菌門の高次系統の解析

nSSU rDNA による解析では、接合菌門の高次分類群間の系統関係を一部しか解明できなかったため、新たに系統解析能力が高いとされる、RNA polymerase II 最大サブユニット (RPB1) 及びペプチド鎖伸長因子 (EF-1  $\alpha$ ) の2つの遺伝子をマーカーとして選択し、接合菌門を中心に菌類4門より代表種の遺伝子配列を決定して分子系統解析を行った。その結果、EF-1  $\alpha$  はアミノ酸多重置換によって多くの系統的情報を失っており、菌類の高次分類群の系統解析には適さないことが判明した。これに対し、RPB1 による系統解析では複数の新知見が得られた。まず、キクセラ目・ハルペラ目・ジマルガリス目の3目が単系統群を形成することが判明した。この結果は、この3目が共有する「菌糸に規則的に形成される二又状の構造を持つ隔壁」という形質が共有派生的であることを示唆し、接合菌門の系統推定における菌糸微細構造の重要性を示唆した。nSSU rDNA の解析結果とは異なり、トリモチカビ目は上記3目からなる系統群に含まれなかったが、この系統群の最外群に位置する可能性は統計的に棄却できなかった。RPB1 による系統解析では、nSSU rDNA の解析でケカビ目に含まれなかった *Mortierella* 属が最外群としてケカビ目に含まれることが示唆された。また、nSSU rDNA の解析同様、コウマクノウキン目とハエカビ目の系統的近縁性が示唆され、接合菌門の各「目」の単系統性も同様に支持された。さらに、真核生物の出現初期に分岐したと考えられていた微胞子虫類 (Microsporidia) が、接合菌門に近縁であるとする仮説を、微胞子虫類を含む真核生物全体からの EF-1  $\alpha$ , RPB1 両遺伝子配列を含めた系統解析を行って検証した。その結果、微胞子虫は菌類界や接合菌門に含まれないことが判明したが、微胞子虫類が菌類界と姉妹群関係にある可能性は否定されなかった。

以上のように、本研究においては、コウマクノウキン目とハエカビ目の近縁性を明らかにし、接合菌門の多系統性を強固なものとし、微胞子虫の接合菌門起源説を棄却した。また、ハルペラ目・キクセラ目・ジマルガリス目で構成される単系統群を発見し、菌糸隔壁の微細構造が系統推定において重要であることを指摘した。また、接合菌門の「目」が系統的にも纏まった分類であることを分子系統解析から立証した。

## 審査の結果の要旨

接合菌は、菌類の中の一つの大きな分類群で、11の目で構成されるが、この中には、有機物を分解し腐生的に生活しているものから、植物・昆虫・微生物などに寄生したり、共生したりしているものが含まれ、形態的にも生態的にも極めて多様な生物群である。また、接合菌には植物病原菌や菌根菌、さらには有用物質生産菌なども数多く知られている。しかしながら、これらの菌類の系統関係は、まったく不明のままで、このことが、接合菌の分類体系の構築に大きな支障となっていた。そのため、本研究は、接合菌の高次分類群間、および、それらと周辺の生物群との系統関係の解明を目的として、複数の遺伝子による分子系統学的解析を行ったものである。

まず、最初に、nSSU rDNA (核小サブユニットリボソーム RNA 遺伝子) を用いて、土壤微生物寄生性の接合菌の系統解析を行った結果、接合菌には、系統的に異なる分類群が含まれていることや、これまで生態的に異なることから、いくつかの目に分けられていた分類群が一つの単系統群を形成することなどを明らかにしている。しかし、すべての分類群の系統関係を解明できなかったため、次に、系統解析能力が高いとされる EF-1  $\alpha$  (ペプチド鎖伸長因子) と RPB1 (RNA polymerase II 最大サブユニット) の2つの遺伝子を用いて、系統解析を行った結果、EF-1  $\alpha$  はアミノ酸多重置換によって多くの系統的情報を失っており、菌類の高次分類群の系統解析には適さないことが判明したが、RPB1 による系統解析では、これまで明らかでなかった目内や目間、さらに他の分類群との系統関係を明らかにすることができ、また、接合菌の進化を類推することも可能となった。

以上のように、本研究は、接合菌の目間の系統関係や進化を明らかにしたもので、この成果は、今後の接合菌の分類体系再構築のための基礎研究として極めて重要であるとともに、植物病原菌、菌根菌、有用物質生産菌などの農学上重要な菌類を研究する際の基礎的情報としても非常に有用である。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。