

## キクセラ目菌類の昆虫腸内への適応と進化に迫る

大沢 和広 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 出川 洋介 (筑波大学 生命環境系)

### 背景と目的) キクセラ目の分類学的背景

菌類は水中で誕生し陸上に進出して大繁栄を遂げた。接合菌門は、陸上に進出して最初に成立した原始的な菌群で、水生昆虫の腸内に共生するトリコミクス綱とその他接合菌綱との2綱に分けられてきた。近年の分子系統解析により、後者に属すキクセラ目と前者に属すハルペラ目とは単系統群を成すことが判明し、現在ではこれらはキクセラ亜門として一つに統合された。しかし、片や水生昆虫腸内共生菌であるのに対し、キクセラ目菌のほとんどは土壤腐生菌であり、その生活様式は全く異なる。これらはどのように進化し成立してきたのだろうか? 予備調査により、2種のキクセラ目の菌類が、ハサミムシ目昆虫の糞より高頻度に出現することを発見した。検討の結果、これらはキクセラ目の進化過程を解く鍵を握っていることが判明したので、ここに報告する。

### 方法と結果)

#### ①ハサミムシ目昆虫の採集と培養株の確立

二種のハサミムシ目昆虫(ハマベハサミムシ、ヒゲジロハサミムシ)を茨城県で採集した。糞を回収し素寒天培地(抗生物質入り)に接種し、室温で約1週間培養した。糞上で孢子嚢柄形成が確認された場合には、孢子をMEYE培地(富栄養培地)に単離して、培養株を確立し、顕微鏡を用いて観察して同定した。

#### ②昆虫の解剖・消化管内の観察

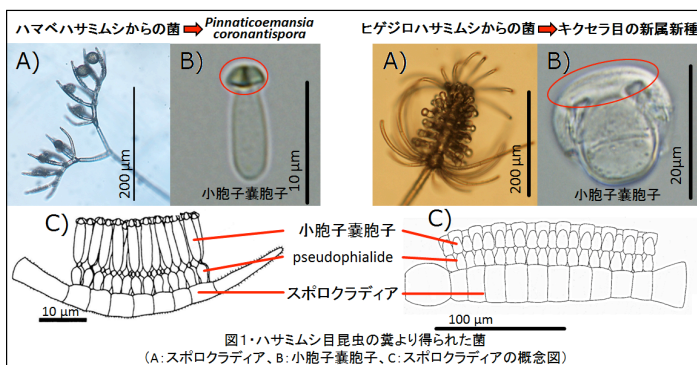
これらの菌が昆虫の消化管内に生息する可能性が予想されたことから、昆虫を解剖して、消化管を摘出し、内壁を光学顕微鏡およびSEMにより精査して、消化管のどの部位(前腸・中腸・後腸)に菌が存在し、どのように挙動しているのかを観察した。

#### ③分子系統解析

分離菌株についてSSU、LSU(D1/D2) rDNA領域の塩基配列を決定し、分子系統解析(最尤法)によりハルペラ目、キクセラ目の他種と比較して、これらの系統分類学的位置を明らかにした。

### 結果)

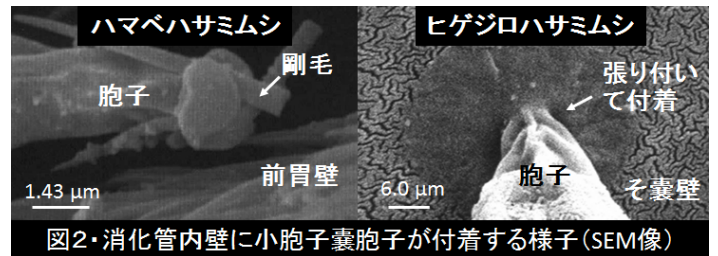
#### ①ハサミムシ目昆虫の糞より得られたキクセラ目菌類



各ハサミムシ目昆虫の糞より単離されたキクセラ目菌類を図1に示した。いずれの菌もキクセラ目菌類の定義を満たす基本的な構造(図1C)を有していた。ハマベハサミムシの糞からの菌は、スポロクラディアが羽状に配列し、小孢子嚢胞子の末端部に特徴的な冠状構造を持つことから、既知種 *Pinnaticoemansia coronantispora* と同定された。ヒゲジロハサミムシの糞からの

菌は、スポロクラディアの両端より放射状に伸びた附属枝、小孢子嚢胞子の末端部に膜状構造を持つ点で、キクセラ目のいずれの既知種にも該当せず、新属新種であると判断された。両者の小孢子嚢胞子に見られる修飾構造は他のキクセラ目菌には知られない注目すべき構造である(図1B)。

#### ②小孢子嚢胞子は修飾構造により前腸に付着して増殖していた



消化管内壁を観察した結果、いずれの菌も、小孢子嚢胞子とその修飾構造の部分により、各ハサミムシ目昆虫の前腸(食道・そ嚢・前胃)壁面に頑強に付着することが判明した。ハマベハサミムシの腸内では三稜形の修飾構造の溝部分で前胃壁に密生する剛毛を挟むようにして付着していたのに対し、ヒゲジロハサミムシでは膜状の修飾構造が展開してそ嚢壁表面に円盤状に張り付いていた(図2)。また両種ともに付着した小孢子嚢胞子は、腸内で発芽成長し、大型の腸内孢子を形成する様子が確認された。この腸内孢子が糞とともに排出されることで、糞上で新たな小孢子嚢胞子を生じるという生活環が明らかになった。

#### ③ハサミムシ目昆虫二種からの菌はキクセラ目の基部に位置

分子系統解析の結果、これら二種はキクセラ目内の基部にそれぞれ独立のクレードをなした。即ち、同目内で最も初期に分化して成立した分類群と判断される。

### 考察)

水生昆虫共生性のハルペラ目菌は宿主の後腸・中腸に付着する。しかし、本研究で明らかになったハサミムシ目昆虫のキクセラ目菌は、前腸に付着していた。土壤腐生性と考えられてきたキクセラ目菌の中に、昆虫の前腸に付着し、増殖するステージを持つ種が存在していたという事実は全くの新知見である。また系統解析により、これらの菌はキクセラ目内で最も原始的な分類群であることが判明した。以上のことから、キクセラ目菌は、ハルペラ目菌より、腸内と陸上双方での生育ステージを有する種群を経て、次第に陸上での生活に適応して成立してきたと解釈できる。

本研究で解明された2目の中間的な性質を有すキクセラ目菌は消化管内壁への付着のために小孢子嚢胞子末端部の構造を特殊に分化させていたが、これらの菌群と、水生昆虫の腸管壁に付着生活をするハルペラ目の小孢子嚢胞子の内部の微細構造を比較検討することで、更に詳細な進化プロセスを解明することが可能だと考え、現在TEMを用いて検討中である。