

スミレ属植物を宿主とする不完全サビキン *Uredo* 属菌の系統分類学的検討

須藤 悠太郎 (筑波大学 生物学類)

指導教員：岡根 泉 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

サビキンは担子菌門サビキン目に属する生体栄養性の植物絶対寄生菌である。これまで 7000 種以上が報告され、最大で 5 つの形態および機能的に異なる孢子世代を持つ種や、異種寄生種が含まれる。無性世代だけが確認されている種や有性世代を形成せずに生活環を完結させる種は不完全サビキンと呼ばれている。スミレ属植物を宿主とする不完全サビキンには 3 種の *Uredo* 属菌が報告されている。そのうちの *Uredo iyoensis* と *Uredo alpestris* は主に夏孢子堆中の周辺糸状体の有無によって区別されているが、形態的な類似性が認められ、形の異なる 2 タイプの夏孢子 (図 1) を形成することでも共通性がある。先行研究において *U. iyoensis* と同定された標本の塩基配列データからなる系統群に *U. alpestris* の登録配列データが含まれたことから、これらの 2 種が分子系統学的にきわめて近縁である可能性も示唆されている。また、*U. iyoensis* については 2 タイプの夏孢子が一孢子堆内で形成されることがないため、その同根性が疑問視されている。

本研究では、*U. iyoensis* および *U. alpestris* とされているスミレ属植物を宿主とする *Uredo* 属菌の分類学的取扱いとそれらの系統位置を明らかにすることを目的として、夏孢子堆の周辺糸状体の有無および夏孢子的の形に着目しながら、分子系統学的な検討を行った。

材料と方法

供試標本：*U. alpestris*：国立科学博物館植物研究部菌類標本庫 (TNS-F) 所蔵標本 5 点

U. iyoensis：筑波大学寄生菌学研究室標本庫 (TSH) 所蔵標本 8 点；茨城大学教育学部菌学標本庫 (IBA) 所蔵標本 24 点

本研究で採集：ST-1、ST-2 (筑波大学川上演習林)；ST-3 (筑波大学八ヶ岳演習林)；ST-4 (筑波山)；ST-5、ST-6 (茨城県亀谷地湿原)；ST-7 (茨城県佐白山)；ST-8 (栃木県日光)

形態観察：夏孢子的の形態観察と形態測定のために各標本の 1 孢子堆から掻き取った孢子のプレパラートを作製し、また、夏孢子堆の周辺糸状体の有無を確認するため、孢子堆切片のプレパラートを作製して光学顕微鏡観察を行った。各標本で形成されていた夏孢子的の形態タイプの割合を調べるため、20 個の孢子堆から夏孢子的を掻き取って光学顕微鏡で識別した。また、表面構造の詳細な観察は走査型電子顕微鏡 (SEM) で行った。

分子系統解析：形態タイプを識別した夏孢子堆から掻き取った夏孢子的の DNA を抽出し、rDNA ITS 領域および 28S rDNA D1/D2 領域の塩基配列を決定して、近隣接合法 (NJ 法) と最尤法 (ML 法) による解析を行った。解析には、当研究室に蓄積されているサビキンの配列データから予備検討によって本研究の供試菌と近縁であると推測された既知種の配列を加えた。

結果と考察

形態観察：孢子の大きさは *U. iyoensis* および *U. alpestris* の記載とほぼ一致していた。また、*U. alpestris* とされていた標本を含む全ての供試標本の孢子堆において周辺糸状体を認めることができなかった。周辺糸状体が形成されない特徴は *U. iyoensis* の形態的

特徴と一致するものである。全 45 標本で観察した各 20 個の夏孢子堆は、標本毎に単一のタイプの夏孢子的を形成しており、33 点が楕円形 (elliptic、E タイプ)、12 点が微突起形 (mucronate、M タイプ) の夏孢子的を形成していた (図 1)。SEM による観察の結果、2 タイプの夏孢子上で表面構造に有意な差は認められなかった。

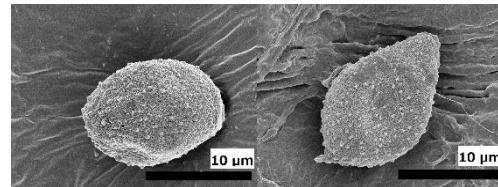


図 1 *U. iyoensis* の 2 タイプの夏孢子上：楕円形 (左) と微突起形 (右、孢子先端部に突起が見られる)

分子系統解析：供試標本に由来する ITS 領域の配列データに基づく解析では夏孢子的のタイプを反映する 2 群に分かれ、解析に用いた 181 サイト中 3 サイトで塩基置換が認められた (図 2)。

ITS 領域および D1/D2 領域に基づく系統解析では、供試標本の配列データからなる系統群と *Phakopsora* 属菌 (Phakopsoraceae) が姉妹群を形成した。また D1/D2 領域を対象とした系統解析の結果、供試標本の配列データからなる系統群には *U. alpestris* の D1/D2 領域の登録配列データ (AF426212) が含まれた。

以上の結果から、本研究に用いたスミレ属植物を宿主とする *Uredo* 属菌は Phakopsoraceae に属する菌であることが推測されたが、姉妹群を支持するブートストラップ値は低かった。解析に用いた Phakopsoraceae の既知種の配列データが少なかつたことによるものと思われ、配列データを増すことで姉妹群を特定する必要がある。ITS 領域を対象とした系統解析では夏孢子的の形態タイプを反映する系統群に分かれ、また、各標本において単一のタイプの夏孢子的のみが観察されたことから、1 つの個体群が両方のタイプの夏孢子上を形成することはないと推測される。したがって夏孢子上の形態の違いは、異なる個体群における形質の違いであることが示唆された。この形質がスミレ属植物を宿主とする *Uredo* 属菌の種の分類基準として十分な形質であるかについては他の領域の DNA 配列データを解析するなど慎重に検討していく必要がある。また本研究においても、周辺糸状体の形成が認められなかった標本からなる系統群に周辺糸状体を有するとされる *U. alpestris* の登録データが包含されたが、そのデータの元となる標本の周辺糸状体については確認できていない。今後、周辺糸状体が確認された標本を供試するとともに、D1/D2 領域以外の遺伝子領域の塩基配列データを用いた分子系統解析を行う必要がある。その上で、周辺糸状体およびその他の形態形質の分類基準としての評価をおこない、スミレ属植物を宿主とする *Uredo* 属菌の分類学的取扱いについてさらに検討する必要がある。

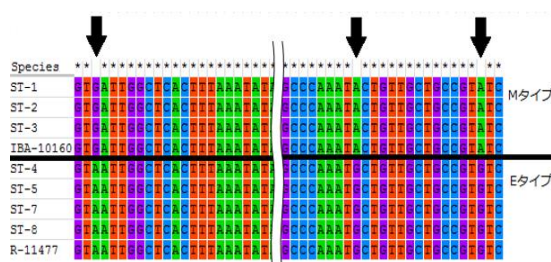


図 2 供試標本の塩基配列 (矢印の所のサイトが孢子タイプ毎に異なっている)