

ムカデゴケ科地衣類を宿主とする地衣生菌の多様性調査および分離・培養と接種実験

大巻 彩乃 (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】

地衣生菌 (Lichenicolous fungi) は菌類と藻類の共生体である地衣類を宿主とする菌類の総称で、世界で約 2,300 種、日本で約 150 種が報告されている。地衣類を構成する菌類は藻類を紫外線や乾燥から守り、藻類は菌類に光合成産物を栄養として提供することで両者は相利共生的な関係を築き、地衣体という一つの共生体を作っている。多くの地衣生菌は地衣類に寄生しているが、地衣類に与える影響は非常に小さいため、両者の関係は片利共生的であると言われている。地衣生菌に関する研究は世界的に見ても進んでおらず、基本的な生物学的情報が不足している。日本における地衣生菌研究はヨーロッパ諸国と比較して進んでおらず、日本には未報告の種が数多く存在すると予測される。

そこで本研究では、日本の地衣生菌の多様性を解明するため、つくば市を中心とした茨城県内の地衣生菌の多様性とその生態を調査した。つくば市付近において比較的地衣生菌の感染が見られるムカデゴケ科の地衣類を宿主とする地衣生菌を対象として、採集、分離、培養、同定を行い、多様性調査を行った。さらに分離した地衣生菌を人工的に地衣類に感染させる接種実験を実施し、宿主の上でどのような挙動をするのか、その生態的な特性を調査した。

【方法】

(1) 採集調査および分離培養

つくば市内で樹皮に着生したムカデゴケ科地衣類を宿主とする地衣生菌を探索した。採集された試料について実体顕微鏡および光学顕微鏡下で分生子殻、子嚢果、子嚢、子嚢胞子など各部の形態観察および計測を行い、先行研究を参照して同定を試みた。地衣生菌の分生子を麦芽エキス寒天培地に接種し、分離株を得た。分離株から DNA を抽出し、rDNA ITS 領域の配列を決定して、BLAST 検索を行った。近縁な菌株の塩基配列情報を GenBank より取得してデータセットを作成し、近隣結合法と最尤法による系統解析を行い、同定された種の系統学的位置づけを検証した。

(2) 接種実験

ムカデゴケ科地衣類コフキメダルチイ (*Dirinaria applanata*) を採集し、実体顕微鏡下で地衣生菌の子実体がないことを確認した。表面の付着物を取り除くために水道水で 5 分間の浸漬洗浄を 1 回、0.005% エーロゾル OT に浸して 1 分間の超音波洗浄を 5 回行った。分離に成功した培養株の含菌寒天片を洗浄した地衣体に接種し、滅菌蒸留水で湿らせたろ紙を敷いたガラスシャーレ内に地衣体を置き、蓋をして経過を観察した。

【結果】

(1) 採集調査

形態の異なる 5 種の菌を発見し、形態学的特徴、系統解析結果および先行研究に基づき、5 種のうち 3 種が地衣生菌であると判断した。この 3 種の地衣生菌はより詳細な調査の結果、子嚢菌類の *Cylindromonium* sp., *Sphinctrina* sp., Bionectriaceae (科) の 1 種と同定した。*Cylindromonium* 属はアジア新産である。塩基配列が得られた *Cylindromonium* sp. は分子系統解析

の結果、*Cylindromonium* 属を構成する 4 種を含む単系統群に含まれた。BLAST 検索で最も相同性が高く、形態学的特徴も類似していた *Cylindromonium lichenicola* とは 90% 以上の高いブートストラップ値で姉妹群を形成した。

(2) 接種実験

Cylindromonium sp. を接種した 4 つの地衣体全てでコロニー形成が確認された。接種から 8–18 日で直径 4 mm 程度のコロニーが形成され、分枝した菌糸の先端に分生子が塊状に形成された。接種から約 3 週間で、コロニー上に分生子塊とオレンジ色の子嚢殻が散在するように形成された。この子嚢殻は(1)採集調査で採集した Bionectriaceae の 1 種の地衣生菌と形態学的特徴が酷似していた (図 1)。なお、麦芽エキス寒天培地や他の培地上では有性・無性生殖器官は形成されなかった。

今回、地衣生菌でないと判断した 2 種の菌は、地衣内生菌や昆虫寄生菌として報告されている菌であり、本接種実験でも生殖器官の形成は認められなかった。

【まとめ・今後の展望】

本研究では、アジア新産である *Cylindromonium* sp. をはじめとする 3 種の地衣生菌が発見された。また、*Cylindromonium* 属の有性世代の確認はこれが初めてとなる。分子系統解析の結果、本研究で発見された *Cylindromonium* sp. は新種の可能性が示唆された。今後は接種実験で確認された有性世代の形態学的特徴を同じ科内の菌と比較し、ITS に加え他の遺伝子領域も用いた分子系統解析を行い、分類学的帰属を決定したい。

地衣生菌の接種実験は、これまで数例しか行われてこなかった。地衣体に接種したところ有性・無性世代の両方が確認されたことから、*Cylindromonium* sp. にとって地衣体は生殖器官を形成するのに適した基質であると考えられる。

今後、さらなる採集調査と接種実験の条件を変えることなどにより、日本における地衣生菌の多様性と生態的な特性の解明を目指したい。

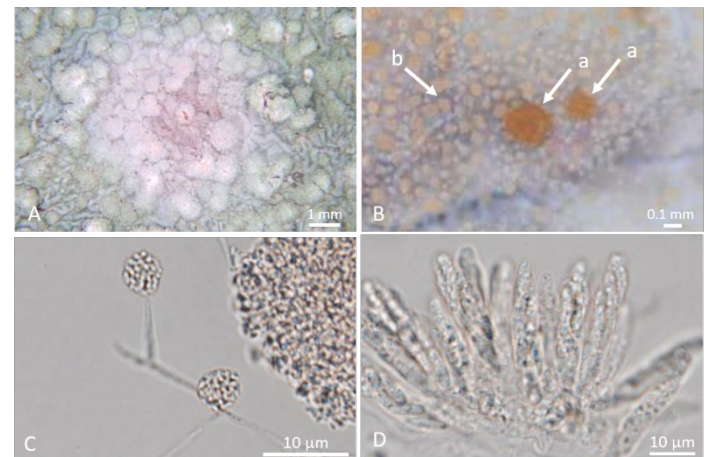


図 1. *Cylindromonium* sp. の分離株を *Dirinaria applanata* に接種した結果 (A) 地衣体上の淡桃色のコロニー (接種 8 日後) (B) 子嚢殻 (矢印 a) と分生子塊 (矢印 b) (接種 3 週間後) (C) 粘塊状の分生子 (D) 子嚢および子嚢胞子