【371】

氏　名（本籍）	計　屋　昌　輝（はかり　や　まさ　てる）（神奈川県）
学位の種類	博　　士（理　　学）
学位記番号	博　乙　第　2407　号
学位授与年月日	平成 20 年 11 月 30 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	**Molecular Phylogeny and Evolution of the *Haptoglossa* Species, Nematode Parasitic Peronosporomycetes** （線虫寄生性卵菌 *Haptoglossa* 属の分子系統解析と進化）

主　査	筑波大学教授	理学博士	徳　増　征　二
副　査	筑波大学教授	理学博士	井　上　　勲
副　査	筑波大学教授	学術博士	橋　本　哲　男
副　査	筑波大学教授	農学博士	柿　嶌　　眞

論　文　の　内　容　の　要　旨

卵菌類は吸収による従属栄養を行う生物群で長年菌界の一群とされてきたが鞭毛，細胞壁成分，生化学的特徴，核相などの違いから現在はストラミニピラ界の Heterokonta 門ツユカビ亜門に分類されている。最近の分子系統解析を用いた研究は卵菌綱内の系統関係の解明に絶対寄生性で全実性のグループの研究が不可欠であることを明らかにした。しかし，このグループの探索・研究は，分離観察法，培養法，系統保存法とも未発達で，他のグループと比較して著しく遅れている。

本研究は陸生の線虫を宿主とする全実性内部寄生性である *Haptoglossa* 属菌についてその系統学的位置を明らかにし，卵菌綱全体の進化を考察することを目的として行った。*Haptoglossa* 属菌は 11 種が記載されているが，卵菌綱内の系統的，分類学的位置は未だ定まっていない。本研究では発見効率の良い分離平板法，培養法，系統保存法を確立し，生活環の連続観察，微細構造観察，分子系統解析を行うことに成功した。

序論においては，本属の設立から現在までの分類学的および系統的な位置の変遷の歴史を記述し，卵菌綱における系統に関する研究や説を比較検討した。その結果，本属と海生の絶対寄生性の全実性卵菌類との系統的関係が最も注目されている研究課題であることがわかった。

第 1 章において新たに開発した三員培養法による本属菌の培養や保存方法を記述した。この方法により 10 の培養系統の確立に成功し，各系統について培養による連続観察を行い，各構造の形態的特徴および生活環を明らかにし，2 既知種の再記載と，3 新種の記載を行った。また，水分条件が遊走子の放出法，遊泳回数などに強く影響することを明らかにした。

第 2 章においては，遊走子の鞭毛および内部構造の微細構造の観察結果を示した。一次遊走子の前鞭毛のマスチゴネマの有無に焦点をあて観察した結果，マスチゴネマが欠けていることが確認された。他方，一次遊走子の内部にマスチゴネマ原基を含むベシクルが存在することが新たに確認され，二次遊走子形成時にそれが前鞭毛に移送されると推定した。また，一次遊走子に卵菌類特有のベシクル構造の存在が確認でき，本属が卵菌綱に含まれる可能性を強く示唆した。

SSUrDNA の塩基配列および COII のアミノ酸配列を用いた分子系統解析の結果（第 3 章），本属は単系統群であり，卵菌綱クレードに包含されるが，後者を構成する典型的な卵菌類の 2 亜綱には含まれず初期に分岐した群であることが示唆された。また，本属は褐藻類に寄生する別属と姉妹群を形成したが両者の遺伝的距離は離れていた。属内の系統では不動胞子性と遊走子性の種群が別のクレードを形成したが，後者の単系統性は支持されなかった。

総合考察では以上の研究結果に基づいて卵菌綱全体の進化について菌体，有性生殖，遊走子の遊泳性について考察を行った。その結果，嚢状あるいは未発達な糸状の菌体で全実性，有性生殖は行わないという特徴がより原始的，糸状の菌体で分実性，卵生殖による有性生殖を行うという特徴がより派生的な形質であることが示唆された。遊走子の遊泳性は 2 回遊泳性が基本的で，1 回遊泳性あるいは不動胞子性は各系統群で独立して生じたことが明らかになった。以上の結果，考察から *Haptoglossa* 属が現在陸域で栄えている典型的な卵菌類とは異なる陸に適応した系統群であると結論した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

ツユカビ亜門に属する生物は卵菌類として長年菌界に含まれていた。近年，動物や藻類の全実性の絶対寄生菌がこの生物群に含まれ, 典型的な卵菌類より早くに分岐したとして脚光を浴びるようになった。しかし，このグループは稀産で，系統保存することが困難であることが研究の障害となっている。本研究は培養の比較的容易な陸生の線虫を宿主とする *Haptoglossa* 属に着目し, 分離方法, 培養法を開発して培養系統を確立し，生活環の長期連続観察，菌体や遊走子を安定的に得て微細構造観察，分子系統解析を行い，本属の系統的位置を総合的に明らかにすることを目的として行われた。

研究の主な結果として, (1)10 培養系統の生活環を連続観察し 3 新種 2 既知種を記載 / 再記載したこと, (2) 遊走子の遊泳回数と培地の水分条件の関係を明らかにしたこと，(3）一次遊走子前鞭毛のマスチゴネマ欠失の確認と同遊走子内にマスチゴネマ原基包含ベシクルを発見したこと，(4）一次遊走子内に卵菌類に特有なベシクル構造の存在を確認したこと，(5）分子系統解析により *Haptoglossa* 属は単系統群であることを確認したこと，(6）綱内で初期に分岐したグループの一つであることを明らかにした。その結果に基づいて本属の綱内の系統的位置および進化の道筋について考察している。

以上のように，本論文は暫定的にツユカビ亜門の所属とされている *Haptoglossa* 属を培養による形態，生活環の観察，遊走子の微細構造観察，分子系統解析により，本属がツユカビ亜門内で比較的初期に分岐した独自のグループであることを明らかにし，菌体，遊走子の遊泳性，有性生殖などの形質の進化を総合的に考察したものである。本研究により全実性絶対寄生性のグループを培養により研究するという新しい方法を確立され，今後のツユカビ綱およびその関連生物群の分類，系統の研究の発展におおいに貢献するものとして高く評価できる。

よって，著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。