

氏 名 (本 国 籍)	Md. Abdul Baten (バングラデシュ人民共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 6 3 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 2 7 年 3 月 1 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 3 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物環境科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Molecular Phylogenetic Analysis and Geographical Distribution of Newly Established Genus <i>Phytophythium</i> (新しく設立された属 <i>Phytophythium</i> の分子系統解析 と地理的分布)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 准教授 須 賀 晴 久 副査 岐阜大学 教 授 景 山 幸 二 副査 静岡大学 教 授 糠 谷 明

論 文 の 内 容 の 要 旨

Phytophythium 属は、卵菌綱に属する *Pythium* 属から最近分かれて設立された属である。これまでに 23 種が知られており、*P. helicoides* と *P. vexans* を含むいくつかの種は水媒伝染および土壌伝染して多くの植物に苗立枯れや根腐れを引き起こす重要な植物病原菌である。本研究では、形態と分子系統に基づく *Phytophythium* 属内の種およびそれらの我が国における分布を明らかにすることを目的とした。

分子系統解析では、種が未同定であった日本産 13 菌株を含む 36 菌株の *Phytophythium* 属菌株を用いて、核にコードされているリボゾーム DNA の Internal Transcribed Spacer 領域 (rDNA ITS)、rDNA の大サブユニット遺伝子 (rDNA LSU) およびミトコンドリアにコードされている Cytochrome Oxidase I (*coxI*)、同 II (*coxII*) 遺伝子の塩基配列に基づいて解析した。その結果、本属は分子系統的に 3 つのクレードに分かれることが明らかになった (クレード 1~3)。クレード 1 は 12 種からなる最大のクレードであり、他クレード 2 とクレード 3 はそれぞれ 2 種からなっていた。日本産 13 菌株のうち 2 菌株はクレード 2 の *P. chamaehyphon* と近縁であったが、独立した単系統を形成したことから新種の可能性が考えられた (以下 Unk 1)。その他 11 菌株は既知種と単系統を形成しており、5 菌株は *P. vexans*、2 菌株は *P. litorale*、2 菌株は *P. marcuriale*、2 菌株は *P. oedochilum* であると考えられた。

Phytophythium 属菌の分布について 20 道県について調査した。95 カ所の河川、灌漑用

水路あるいは池の水を採取し、芝草の葉を捕捉材料として菌を分離した。その結果得られた 1,492 菌株について、形態および rDNA ITS 領域または *coxI* 遺伝子の塩基配列の相同性検索を行い、123 菌株が *Phytopythium* 属菌、残りの菌株は *Pythium* 属菌と判定した。*Phytopythium* 属菌は 15 道県から分離されており、種としては *P. chamaehyphon*、*P. litorale*、*P. helicoides*、*P. vexans* および 2 つの新種候補（以下 Unk 2、Unk 3）からなっていた。それらの中で *P. helicoides* の分離頻度が最も高く、北は山形県、南は沖縄県を含む 12 県で分離されたことから、日本各地に本菌種が生息していると分かった。

分子系統解析の結果で新種候補となった Unk 1 は、分子系統的に最も近縁な *P. chamaehyphon* とは形態的にも異なっていたことから新種 *P. okinawaense* sp. nov. と命名した。また、分布調査で分離された Unk 2 は、分子系統的、形態的に他の種とは異なる特徴を持っていたことから新種 *P. hokkaidense* sp. nov. と命名した。Unk 3 については有性器官の形成が認められなかったことから、種は未同定のままとした。さらに、他の分布調査で分離された菌株について、分子系統解析および形態観察の結果から 4 菌株を新種 *P. iriomotense* sp. nov. および 1 菌株を *P. aichiense* sp. nov. と命名した。

分子系統解析においてクレード 2 に属していた *Pythium helidoides* CBS 293.35 菌株は、苗立枯れのソバから分離された 2 菌株とともに単系統を形成した。CBS 293.35 菌株も 1930 年に我が国でソバ苗立枯病の病原菌として報告された菌株であった。Takimoto (1930) は、本菌株を新種 *Phytophthora fagopyri* と同定したが、その後 van der Plaats-Niterink (1981) は形態観察から *Pythium helicoides* とした。しかし、本研究では、分子系統的に、また形態的にも *P. helicoides* とは異なることが明らかになったため、*Phytopythium. fagopyri* comb. nov. とした。

以上のように本研究では、形態と分子系統に基づいて *Phytopythium* 属内の種を明らかにし、日本におけるそれらの分布を調べた。その結果、本属内に新たに 4 つの新種を見出し、1 つの種名変更を行うとともに本属菌が国内に広く分布していることを明らかにした。

審 査 結 果 の 要 旨

Phytopythium 属は、卵菌綱に属する *Pythium* 属から最近分かれて設立された属である。これまでに 23 種が知られており、*P. helicoides* と *P. vexans* を含むいくつかの種は水媒伝染および土壌伝染して多くの植物に苗立枯れや根腐れを引き起こす重要な植物病原菌である。本研究では、形態と分子系統に基づく *Phytopythium* 属内の種およびそれらの我が国における分布を明らかにすることを目的とした。

分子系統解析では、種が未同定であった日本産 13 菌株を含む 36 菌株の *Phytopythium* 属菌株を用いて、核にコードされているリボゾーム DNA の Internal Transcribed Spacer 領域 (rDNA ITS)、rDNA の大サブユニット遺伝子 (rDNA LSU) およびミトコンドリアにコードされている Cytochrome Oxidase I (*coxI*)、同 II (*coxII*) 遺伝子の塩基配列に基づいて解析した。その結果、本属は分子系統的に 3 つのクレードに分かれることが明らかになった (クレード 1~3)。クレード 1 は 12 種からなる最大のクレードであり、他クレ

ード2とクレード3はそれぞれ2種からなっていた。日本産13菌株のうち2菌株はクレード2の*P. chamaehyphon*と近縁であったが、独立した単系統を形成したことから新種の可能性が考えられた(以下Unk 1)。その他11菌株は既知種と単系統を形成しており、5菌株は*P. vexans*、2菌株は*P. litorale*、2菌株は*P. marcuriale*、2菌株は*P. oedochilum*であると考えられた。

Phytopythium 属菌の分布について20道県について調査した。95カ所の河川、灌漑用水路あるいは池の水を採取し、芝草の葉を捕捉材料として菌を分離した。その結果得られた1,492菌株について、形態およびrDNA ITS領域または*coxI*遺伝子の塩基配列の相同性検索を行い、123菌株が*Phytopythium*属菌、残りの菌株は*Pythium*属菌と判定した。*Phytopythium*属菌は15道県から分離されており、種としては*P. chamaehyphon*、*P. litorale*、*P. helicoides*、*P. vexans* および2つの新種候補(以下Unk 2、Unk 3)からなっていた。それらの中で*P. helicoides*の分離頻度が最も高く、北は山形県、南は沖縄県を含む12県で分離されたことから、日本各地に本菌種が生息していると分かった。

分子系統解析の結果で新種候補となったUnk 1は、分子系統的に最も近縁な*P. chamaehyphon*とは形態的にも異なっていたことから新種*P. okinawaense* sp. nov.と命名した。また、分布調査で分離されたUnk 2は、分子系統的、形態的に他の種とは異なる特徴を持っていたことから新種*P. hokkaidense* sp. nov.と命名した。Unk 3については有性器官の形成が認められなかったことから、種は未同定のままとした。さらに、他の分布調査で分離された菌株について、分子系統解析および形態観察の結果から4菌株を新種*P. iriomotense* sp. nov.および1菌株を*P. aichiense* sp. nov.と命名した。

過去*Phytophthora fagopyri*や*Pythium helidoides*とされていたCBS 293.35菌株は、分子系統的に他の*Pythium helidoides*菌株とは異なり、苗立枯れのソバから分離された2菌株と単系統を形成した。形態的にも*Pythium helidoides*とは異なっていたことから、その種名を変更して*Phytopythium fagopyri* comb. nov.とした。

以上のように本研究では、形態と分子系統に基づいて*Phytopythium*属内の種を明らかにし、日本におけるそれらの分布を調べた。その結果、本属内に新たに4つの新種を見出し、1つの種名変更を行うとともに本属菌が国内に広く分布していることを明らかにした。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

1. Baten, Md. A., Asano, T., Motohashi, K., Ishiguro, Y., Rahman, M.Z., Inaba, S., Suga, H., Kageyama, K.: Phylogenetic relationships among *Phytopythium* species, and re-evaluation of *Phytopythium fagopyri* comb. nov., recovered from damped-off buckwheat seedlings in Japan. *Mycological Progress* 13:1145-1156, 2014.
2. Baten, Md. A, Li, M, Motohashi, K, Ishiguro, Y, Rahman, M.Z, Suga, H., Kageyama, K.: Two new species, *Phytopythium iriomotense* sp. nov. and *P. aichiense* sp. nov., isolated from river water and water purification sludge in Japan. *Mycological Progress*. (In press)