

<p>ふりがな 氏名（本籍） 学位の種類 学位記番号 学位授与の要件 学位授与年月日 学位論文題目 発表誌名</p>	<p>ばーすと ふえりつくす BAST FELIX 博士（学術） 乙総黒博第5号 学位規則第4条第1項該当 平成22年3月5日 Comparative Ecophysiology and Phylogeography of <i>Monostroma</i> (Monostromataceae, Chlorophyta) in Southern Japan. Spatiotemporal sex ratios of a dioecious marine green alga <i>Monostroma latissimm</i> (Kutz.) Wittr. Bast, F., Hiraoka, M. and Okuda, K. (2009) International Journal on Algae, Vol. 11, Issue 2, Pp141-150 Seasonality and thallus ontogeny of edible seaweed <i>Monostroma latissimm</i>(Kutzing) Wittrock (Chlorophyta, Monostromataceae) from Tosa Bay, Kochi, Japan. Bast, F., Shimada, S., Hiraoka M. and Okuda, K. (2009), Hydrobiologia, Vol. 630, No. 1, Pp161-167 Asexual life history by biflagellate zooids in <i>Monostroma latissimm</i> (Ulotrichales). Bast, F., Shimada, S., Hiraoka M. and Okuda, K. (2009), Aquatic Botany, Article in press</p> <p style="text-align: right;">審査委員 主査 教授 奥田 一雄 副査 准教授 久保田 賢 副査 准教授 関田 諭子</p>
論文の内容の要旨	
<p>Monostroma species, an important edible green algae in Japan, are ubiquitous and abundant in marine and estuarine intertidal zones where they provide habitats and nutrients to the meiofauna. On the basis of unique life history and thallus ontogeny patterns, mating tests and the homology of first internal transcribed spacer sequences (nrDNA ITS), <i>Monostroma</i> sp. naturally occurring at Uranouchi Inlet, Kochi Pref. and commercially cultivated at the Shimanto River estuary, Kochi Pref. were conclusively identified as <i>Monostroma latissimum</i> (Kuetzing) Wittrock. Seasonal fluctuations in thallus length were found to be distinctive to the habitat where the strain grows and re-occur annually. Cytological investigation on the gametangial ontogeny revealed that gametogenesis in <i>M. latissimum</i> occurs in patches along apical regions of fronds and the gametes release by dehiscence of gametangia, leading to the disintegration of thalli. The overall primary sex ratio of <i>M. latissimum</i> has been found to be about 1:1 which is likely to reflect Fisherian selection. Asexually reproducing <i>M. latissimum</i> is discovered at a low</p>	

論文の内容の要旨

saline habitat and this strain is found to have similar ITS sequences with that of the sexually reproducing strain. *Monostroma* sp. distributed along Kuroshio Coast of Japan were found to be cross fertilizing and have similar sequences for the gene encoding small subunit of ribosome (nrDNA 18S), however, a substantial variance was observed in ITS sequences. Phylogenetic systematics of Monostromataceae has been investigated using nrDNA ITS, 18S sequences and a combined data matrix.

論文審査の結果の要旨

ヒトエグサ属の種は、世界中の沿岸海域および汽水域に広く豊富に分布し、周囲の種々の動物の住処や食料を供給しており、また日本では、食用に利用される重要な有用海藻である。

申請者は、高知県沿岸で採集したヒロハノヒトエグサ (*Monostroma latissimum*) を本論文の基本的な材料として用い、生態調査による季節消長をはじめとし、培養実験をベースとした生殖や、個体発生、生活史に関する研究をしている。さらに、DNA バーコーディングや mRNA の二次構造解析などに基づき、分子系統学的手法を用いた研究も行っている。このような研究の結果から、以下の 11 項目にわたる主要な新知見を得ている。

1. 天然および養殖されている藻体は有性生殖するタイプであるのに対し、土佐湾から新たに発見した藻体が無性生殖するタイプであった。しかし、両方のタイプは同種であり、いずれも *Monostroma latissimum* (Kützinger) Wittrock と同定される。
2. 藻体の長さに基づく季節消長のパターンは生育地に特有であり、また、毎年繰り返される。
3. 藻体の出現と衰退は高塩分濃度で早期に起こったことから、塩分濃度は孢子体の成熟または配偶体の老化に影響を及ぼすことが示唆される。
4. 配偶子形成は藻体周縁部において不連続的に起こり、配偶子は配偶子嚢細胞壁の裂開によって配偶子後端からまっすぐに放出され、その結果として、その藻体部分が崩壊する。
5. 基本的な性比は約 1:1 であることから、自然選択における野生型遺伝子の優勢 (Fisher の優勢仮説) を反映している。
6. 生活史型、藻体の発生様式、配偶子嚢の形態形成、分子系統学的解析の結果を総合すると、*Monostroma latissimum* は *Monostroma oxyspermum* (マキヒトエ) に進化的に最も近縁である。
7. 生活史型はヒトエグサ科の種の分類のための有効な基準形質とはいえない。
8. 黒潮沿岸の各地に分布するヒトエグサ属の種の間で、生育地にかかわらず交配が可能であり、また、18S 核リボソーム DNA (nrDNA) 遺伝子の塩基配列は保存されている。しかし、高頻度に変異するといわれている ITS1 領域の塩基配列には本質的な変異があることから、種形成は同所的に起こったことが示唆される。
9. 分子系統学的解析から、*Ulvopsis* 属はヒトエグサ科よりも *Gomontia* 科に所属すべきである。
10. 現在一般に Ulvophyceae (アオサ綱) の中で Ulotrichales (ヒビミドロ目) と Ulvales (アオサ目) を区別しているのは人為分類である。
11. 高位の分類群における系統関係を明らかにする上で、5.8S nrDNA 遺伝子の解析は有効である。

学位論文は全体が 8 つの章で組み立てられており、第 1 章の緒言と第 8 章の抄録を

論文審査の結果の要旨

除く2章から7章が主な研究成果となっている。なお、2章、4章および5章は、申請者が参考論文としているそれぞれ3報の学会誌掲載論文の内容を踏まえて記載されている。それぞれの章の内容は概略以下の通りである

緒言では、研究の背景、目的、何をどこまで明らかにするかについて、用いる手法を含めて詳細に解説している。

高知県沿岸における食用種ヒロハノヒトエグサの季節消長と個体発生

土佐湾の海浜および汽水域の異なる3つの地点において、2005年11月から2007年7月までの間、各生育地の環境とヒロハノヒトエグサの季節消長を調査している。また、これら生育地の異なる藻体株を種レベルで同定するため、培養実験がなされ、また、ITS1領域のDNA塩基配列の解析を行っている。これらの調査と実験から、天然藻体株と四万十川河口で養殖されている藻体株の間で、お互いに配偶子が交配すること、また、双方のITS1領域の塩基配列が一致するという結果を得ている。藻体長の季節消長は両株で異なるが、双方ともに冬季に繁茂し、夏期に枯れる調査結果を得ている。高塩分濃度の生育環境で藻体の出現と衰退が早まることから、塩分濃度が胞子体の成熟または配偶体の成長と生存に影響していると考えられている

潮間帯緑藻ヒロハノヒトエグサの配偶子嚢の形態形成

成熟した雌雄異株のヒロハノヒトエグサの配偶体における配偶子嚢の発達過程を光学顕微鏡で調べている。形態の異なる2つのタイプが存在したが、これらはお互いに無作為に交配する集団であるという結果を得ている。藻体周縁部の栄養細胞がそのまま配偶子嚢に分化して膨潤し、その中で色素体が分裂して眼点をもった多数の配偶子が形成される。配偶子の放出は暗黒条件から強光条件に移すことで誘導され、配偶子嚢の裂開によって同調的に起こるという結果を得ている。

雌雄異株ヒロハノヒトエグサの空間的・時間的な性比について

環境条件が介在する性比は、生物共通に受容されるメカニズムの一つであり、子孫の性質に影響を及ぼすが、藻類において、この点を明らかにした実験上の証拠はほとんどない。異なる生育地と異なる季節における野外のヒロハノヒトエグサの性比の変動を調べている。生育地と季節によらず、すべての場合で性比は約1:1であるという結果を得ている。このことから、自然界における雄性または雌性の配偶体の生存に差異をもたらすような影響を与える環境要因は存在しないという考察をしている。

ヒロハノヒトエグサにおける2本鞭毛遊走細胞による無性生殖

高知県宇佐でヒロハノヒトエグサの無性生殖株を発見し、その発生と核ITS領域の塩基配列を調べている。無性生殖株は2本鞭毛をもち、負の走光性を示す遊走細胞を放出し、直立体に発達する発生様式をもつという結果を得ている。無性生殖株の発生

論文審査の結果の要旨

様式と ITS 領域の塩基配列が有性生殖株と一致することから、これら同種の異なる株においては、性の進化にかかわらず、ITS 領域の塩基配列が維持されていると示唆している。また、ITS 領域の塩基配列を用い、ヒロハノヒトエグサと他のヒトエグサ科の種の間で系統学的な位置づけについて考察している。

ヒトエグサ科藻類の交配群内に多様性の存在を示す DNA バーコード分析

ヒトエグサ科の種は世界中に分布する共通の潮間帯藻類からなっている。また、土佐湾に生育するヒトエグサ属藻類は、形態測定と交配試験によって生物学的に同じ種からなっている。しかし、地理的に分散した種間相互交配の能力とその系統地理学的な知見に関する報告はない。申請者は、高頻度に変異する nrDNA の ITS1 領域の一次および二次構造を用いた DNA バーコード解析により、ヒロハノヒトエグサーヒトエグサ群 (*Monostroma latissimum-nitidum* complex) は、同所的な種の出現による進化が起こったか、または、系統内で対立遺伝子が不完全に淘汰されたことを示唆している。ヒロハノヒトエグサーヒトエグサ群には、保存性の高い 18S nrDNA 遺伝子の塩基配列に有意の多様性がないことから、同所的に種形成が起こったと考察している。

分子系統学に基づくヒトエグサ科の分類学的再検討

世界中の潮間帯沿岸および汽水域に広く分布し、一層の細胞層からなる体制をもつもののその形態が異なる緑藻類は、いままでヒトエグサ科の一科に所属すると考えられてきた。しかし、この考えはヒトエグサ科に系統学的多様性があるという認識を妨げてきた。申請者は、5つの異なる分子データ (ITS1, ITS2, 5.8S リボゾーム遺伝子, 18S nrDNA 遺伝子, *rbcL* 葉緑体 DNA 遺伝子) を用いてヒトエグサ科藻類の系統関係を調べている。分子系統学的解析により、生活史の中に *Codiolum* 様の胞子体ステージをもつヒトエグサ科藻類はヒビミドロ目 (Ulotrichales) 内の3つの遺伝集団に入るという結果を得ている。また、ヒビミドロ目とアオサ目 (Ulvales) を区別している現在の分類は人為的であり、ヒビミドロ目とアオサ目ともに複数の系統群を含む可能性があるという結果を得ている。その上で、いままで見過ごされてきた 5.8S 遺伝子は高位の系統関係を解析する有効な遺伝子領域であると提案している。

最終章では、本論文で申請者が行った生態学的、生理学的、分子系統学的研究のそれぞれの新知見の抄録を記載し、研究成果の活用および将来展望を述べている。

本論文は、高知県沿岸のヒロハノヒトエグサを中心として、野外調査と培養実験を通じた生理生態学的研究および分子生物学的手法を用いた種分類学的研究を行い、多面的なアプローチからヒトエグサ属の種の理解を深めている。特に、有性生殖株に加えて無性生殖株の存在を明らかにし、双方の株が同種であるという結果を見いだしたことは本論文の核心部分であり、また、その結果を踏まえてヒトエグサ科全体の分類体系を再検討する研究に繋げていることは特筆に値する。ヒトエグサ科藻類は高知県

論文審査の結果の要旨

沿岸だけではなく全世界に広く分布し、また、養殖して食用に供されることから、本論文の生態学的および系統学的研究成果は生態系の維持とその理解に寄与し、自然と人間との共生を目指す黒潮圏科学に関連する内容を含んでいると考えられる。