

クロララクニオン植物の分類学的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大田, 修平 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/26742

氏名	大田 修平
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第904号
学位授与の日付	平成19年3月22日
学位授与の要件	課程博士(学位規則第4条第1項)
学位授与の題目	クロララクニオン植物の分類学的研究
論文審査委員(主査)	植田 邦彦(自然科学研究科・教授)
論文審査委員(副主査)	笹山 雄一(自然計測応用研究センター・教授), 東 浩(自然科学研究科・助教授), 福森 義宏(自然科学研究科・教授), 山田 敏弘(自然科学研究科・講師)

ABSTRACT

Morphology, life cycle and ultrastructure, were investigated for eight unidentified strains of chlorarachniophytes, in order to determine their taxonomic positions. Although one of the eight strains was identified as a known species, *Lotharella amoebiformis*, characteristics from other strains did not match those of any known chlorarachniophytes. As a result, two new genera and seven new species have been recognized.

Based on the morphological, ultrastructural and life cycle data obtained and the published data of molecular phylogeny, the generic and species level taxonomic characteristics were re-evaluated. The present study proposed that at the generic level, the chlorarachniophytes were classified by the following morphological and ultrastructural characteristics: (i) the microscopic morphology of vegetative cells, (ii) the presence or absence of a pyrenoid, (iii) the ultrastructural feature of the pyrenoid, and (iv) the location of a nucleomorph in the periplastidal compartment. At the species level, the life cycle pattern was proposed as the main taxonomic characteristic.

The present study newly introduced the time-lapse video microscopy for the observation of chlorarachniophyte life cycles. From the time-lapse video observations, several unusual behaviors of daughter cells after cell division (post-cell division behavior) were found in three chlorarachniophytes, *Lotharella vacuolata*, *Bigelowiella longifila* and *Gymnochlora dimorpha*. That is, the only one of the two daughter cells always migrated after cell division. Because the phylogenetic positions of those three species were distantly related, it was concluded that the behavior would be a plesiomorphic feature. Although the biological significance of the feature is still unknown, at least in *B. longifila*, it would be reasonable to state that the behavior is play an important role in forming suspendable colonies.

要約

クロララクニオン植物(クロララクニオン植物門)は、5属9種からなる海産単細胞性藻類の小さな一群で、熱帯、亜熱帯、温帯の沿岸域、あるいは外洋域に分布する。本植物の最初の種は、1930年Geitlerによって記載された。しかし本種が再発見され、その後、独立した植物門の藻として認識されたのが、1984年であり、分類学的研究の歴史が極めて浅く、主要植物門に比べて種多様性の認識が甚だしく遅れている。したが

って、クロララクニオン植物の探索と培養株の確立を行ない、それらの詳細な観察を通して、各培養株に分類学的な位置付けを与えることは、本植物の多様性の全体像を理解する上で重要な最初の段階であると考えられる。

このため本研究は、(1) 野外よりクロララクニオン植物を探索・分離し、新規に単藻培養株を確立すること、(2) 独自に確立した培養株、および培養株保存機関にある未同定培養株の形態、微細構造、生活環の詳細な観察を行ない、それぞれの分類学的な位置付けを行うこと、(3) 種レベル・属レベルの分類形質の再評価を行なうこと、を目的とした。また、同時に 18S rDNA による系統解析を行ない、これまで知られていなかった RCC365 株の系統的位置を明らかにするとともに、細胞分裂後の挙動に関する進化的考察を行なった。

■ 分類学的結論と考察

本研究における野外サンプリングの結果、パラオ共和国よりクロララクニオン植物の未同定培養株を新規に 17 株確立することに成功した。本研究では、そのうち独自に確立した 3 株と既存の培養株 5 株の合計 8 株の未同定培養株 (CCMP240 株, P329 株, Hajime 株, CCMP242 株, P314 株, MBIC10866 株, BC52 株, RCC365 株) について、光学顕微鏡的形質、電子顕微鏡レベルの形質 (微細構造)、生活環の比較検討、および 18S rDNA 配列に基づいた分子系統解析を行なった。

(1) 属の形質の再評価

クロララクニオン植物の分類体系は、Hibberd and Norris (1984) が設立したクロララクニオン植物門に Ishida et al. (1996) が属および種レベルの基準を導入した分類体系が存在する。この体系下では、ピレノイドの微細構造とヌクレオモルフの位置が属レベルの分類形質として用いられており、クロララクニオン植物門内に 3 属、*Chlorarachnion* 属、*Lotharella* 属、*Gymnochlora* 属が認識された。ピレノイドの微細構造は現在までに 4 つのタイプ (深裂型、管状陥入型、ヌクレオモルフ内包型、および浅裂型) が知られている。*Chlorarachnion* 属は、ヌクレオモルフ内包型かつヌクレオモルフがピレノイド内にあること、*Lotharella* 属は、深裂型でヌクレオモルフがピレノイド基部にあること、*Gymnochlora* 属は、管状陥入型のピレノイドでヌクレオモルフがピレノイド内にあることでそれぞれ定義されてきた。

本研究で新たにクロララクニオン植物の 8 培養株について分類学的検討を行なった結果、Ishida et al. (1996) の分類基準によって、*Chlorarachnion* 属、*Gymnochlora* 属が十分に定義でき、かつ系統を反映している分類形質であることが再確認された。一方、従来の分類基準のみでは上記 2 属以外の属において、系統を反映して分類することができないことが明らかとなった。そこで本研究においては、Ishida et al. (1996) の分類基準に加え、(1) 生活形 (すなわち、底生性かプランクトン性か)、(2) ピレノイドの有無を属レベルの基準として導入した結果、クロララクニオン植物を全体として 6 属に分類できること、また、それぞれの属は系統を反映していることが明らかとなった。しかし、*Lotharella* 属は上記の分類基準により認識すると、分子系統解析から非単系統性が示されたので、今後の分類学的再検討が必要であることも明らかとなった。

以上をまとめると、クロララクニオン植物の属は、(i) 生活形（生活様式を反映している栄養細胞の形態）、(ii) ピレノイドの有無、(iii) ピレノイドの微細構造、ならびに (iv) ヌクレオモルフの位置を分類形質として導入することで、系統を反映した属レベルの分類が可能となることが明らかとなった。

(2) 種の形質の再評価

Ishida et al. (1996) は栄養細胞の形態ならびに生活環様式を種レベルの分類基準として導入した。しかしながら、本研究を行なうまで、クロララクニオン植物の属のほとんどが1属1種であったため、種レベルの分類形質の議論はこれまでほとんどなかった。本研究の結果、*Bigelowiella* 属、*Chlorarachnion* 属、*Lotharella* 属、*Gymnochlora* 属に新種が加わり、種を認識する形質として何が有用であるかを評価することが可能となった。その結果、各属の種は栄養細胞の形態ならびに生活環様式で明瞭に識別可能であり、クロララクニオン植物の種の分類には Ishida et al. (1996) が導入した分類基準が一般的に広く有効であることが再確認された。クロララクニオン植物の7属中4属は栄養細胞がアメーバ状を呈しているが、アメーバ状細胞は非常に形態的可塑性が大きく、このため分類に有効な形質が少ない。生活環様式は種ごとに明確に区別できるので、クロララクニオン植物の種の認識に有用であると考えている。

本研究によってクロララクニオン植物の8培養株を検討した結果、属・種レベルの形質評価を包括的に行なうことができた。また、個々の培養株に対して分類学的な位置付けを行い、2新属7新種を記載することができた（あるいは記載準備中である）。本研究で検討した培養株と個々の分類上の位置はそれぞれ次の通りである。① CCMP240 株は *Lotharella* 属の新種として位置付け、*Lotharella vacuolata* S. Ota et Ishida in *Phycol. Res.* 53:276. 2005 として正式に記載した。② P329 株は *Lotharella* 属の新種として位置付け *Lotharella coloniformis* (仮称) として記載準備中である。③ Hajime 株は既知種の *L. amoebiformis* Ishida et Y. Hara と同定した。④ CCMP242 株は *Bigelowiella* の新種として位置付け *Bigelowiella longifila* S. Ota et Ishida in *J. Phycol.* 43: 335. 2007 として正式に記載した。⑤ P314 株は *Gymnochlora* 属の新種として位置付け、*Gymnochlora dimorpha* (仮称) として記載準備中である。⑥ MBIC10866 株は *Chlorarachnion* 属の新種として位置付け、*Chlorarachnion amplus* (仮称) として記載準備中である。⑦ BC52 株は新属新種として位置付け、*Norrisiella sphaerica* (仮称) として記載準備中である。⑧ RCC365 株は新属新種として位置付け、*Roscoffiella minor* (仮称) として記載準備中である。

■ クロララクニオン植物の特異な細胞分裂後の挙動について

本研究によって、*Lotharella vacuolata*、*Bigelowiella longifila* および *Gymnochlora dimorpha* の3種で細胞分裂後の娘細胞が変わった（ユニークな）挙動を行なうことを発見した。その挙動とは、すなわち、細胞分裂後、2つの娘細胞の片方だけが運動することを示す。その挙動の生物学的意義については、まだ不明な部分が多いが、プランクトン性である *Bigelowiella longifila* の細胞分裂後挙動は、浮遊性細胞集塊の形成に役立つ

ているのではないかと考えられた。

クロララクニオン植物門内における3種のそれぞれの系統的位置は互いに離れている。このこのため、細胞分裂後の挙動の性質は独立して進化したか、宿主要素が一回獲得したかのどちらかであることが考えられる。上述3種の細胞分裂後の挙動の際、オルガネラの輸送法が良く似ていることから、この性質は独立して進化したと考えるよりは、宿主要素が一回獲得したと考えたほうが妥当である。また、同様の性質はクロララクニオン植物の宿主要素に近縁である *Paulinella chromatophora* や *Euglypha* 属各種でも知られており、細胞分裂後の挙動の性質は、クロララクニオン植物の宿主要素が既に持っていた可能性が高い。今後ケルコゾア全体での細胞分裂後の挙動の進化を議論するためには、さまざまなケルコゾア原生生物における、詳しくかつ広範なタイムラプスビデオ観察データの蓄積が必要である。

■ ピコプランクトン性クロララクニオン植物 *Roscoffiella minor* (RCC365株) について

本研究で新属新種としたクロララクニオン植物 *Roscoffiella minor* (RCC365株) は地中海の水深5mの海洋表層水サンプルから分離されたピコプランクトンである。これまで報告されたピコプランクトンの中でも、ヌクレオモルフを持った二次共生生物のピコプランクトンとしては *R. minor* が初の報告となる。*R. minor* は他のクロララクニオン植物と比べて、非常に単純な細胞形態をしており、ピレノイドを欠いている点で非常にユニークである。また、ヌクレオモルフは他のクロララクニオン植物と比べて、細胞に対するサイズが相対的に大きく、葉緑体に包まれるように位置していることなど、他のクロララクニオン植物と比べて微細構造が大きく異なる。ピコプランクトンはどの分類群においても細胞の体制が単純化する傾向を持っているが、*R. minor* における形態・微細構造の単純化もまた海洋表層水域に適応し、細胞サイズを縮小させる方向に適応した結果であると考えられる。

本研究における18S rDNA配列に基づいた分子系統解析では、*Roscoffiella minor* (RCC365株)の系統的位置は確定せず18S rDNAだけでは情報が足りないことが明らかとなった。プランクトン性クロララクニオン植物のもう一つのグループである *Bigelowiella* 属と系統的な位置関係が明らかになれば、クロララクニオン植物における海洋表層水への適応進化のシナリオを描くことができる。今後は *Roscoffiella minor* (RCC365株)の系統的位置を明らかにするために、他の分子種を用い、さらに広範なタクソンサンプリングを行なった系統解析が必要である。

■ 有性生殖について

また、今回の生活環観察では、*Chlorarachnion amplus* のみに有性生殖と思われる細胞ステージを確認した。接合の様子や接合子の発芽過程を詳細に捉えることができなかったが *Ch. amplus* はおそらく有性生殖をしているだろうと考えられる。クロララクニオン植物の有性生殖は *Ch. reptans* や *Cryptochlora perforans* など少数の例でしか知られていない。今後、*Ch. amplus* の有性生殖をタイムラプス法などで詳細に捉えていくこともクロララクニオン植物の生活環研究において、重要な一課題である。また、*Chlorarachnion* 属の2種間での有性生殖生活環の比較や、属間での比較を行なうこともクロララクニオン

植物生活環研究で残された興味深い課題である。

学位論文審査結果の要旨

クロララクニオン植物は、5 属 9 種からなる海産単細胞性藻類の一群である。本植物は他の主要植物門と比べ未記載種が多数存在しており、種多様性の把握が甚だしく遅れているグループである。したがって、本植物に関する分類学的研究は本植物の種の多様性の全体像を理解する上での第一段階として重要である。そこで本研究は、未同定クロララクニオン植物の単藻培養株の分類学的位置を明らかにすること、また、種および属レベルの分類形質の評価を行なうことを目的とした。本研究では、パラオ共和国より独自に確立した 3 株と既存の培養株 5 株の合計 8 株のクロララクニオン植物の未同定培養株について、光学顕微鏡的形質、電子顕微鏡レベルの形質、生活環の比較検討、および 18S rDNA 配列に基づいた分子系統解析を行なった。その結果、クロララクニオン植物門内に 2 属 7 種が新たに認識された。現在、そのうち 2 種は正式に記載を行い、残りの 6 種は記載準備中である。種レベルの分類形質を検討した結果、現行の分類基準が概ね妥当であることが明らかとなった。また、属レベルの分類形質の評価によって、(i) 生活形（底生性かプランクトン性）、(ii) ピレノイドの有無、(iii) ピレノイドの微細構造、ならびに (iv) ヌクレオモルフの位置のそれぞれの形質の組み合わせで、系統関係を正しく反映した属の認識が可能であることが明らかとなった。

このように申請者はクララクニオン植物門の体系を初めて明らかにしたのみならず、新属の記載など著しい成果を挙げており、博士（理学）の学位に十分に値すると判断した。