

氏名(本籍)	ナンダ ジョ トウ (ミャンマー)			
学位の種類	博士(理学)			
学位記番号	博甲第6335号			
学位授与年月日	平成24年10月31日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	<b>Taxonomic Study on Freshwater Species of Gas-vacuolated Oscillatoriid Cyanobacteria Using a Polyphasic Approach</b> (多相的アプローチによる淡水産ガス胞含有藍藻ユレモ類の分類学的研究)			
主査	筑波大学教授	理学博士	井上 勲	
副査	筑波大学教授	理学博士	渡邊 信	
副査	筑波大学教授	博士(理学)	石田 健一郎	
副査	筑波大学教授	農学博士	彼谷 邦光	

### 論文の内容の要旨

ユレモ目 (Oscillatoriales) は地球上のあらゆるところに生息する糸状藍藻類であり、糸状体が分枝しないこと、アキネートやヘテロシストと称する分化細胞を持たないことで特徴づけられる。Anagnostidis & Komárek (1988) は細胞内におけるガス胞 (藍藻の浮上を制御する細胞内タンパク複合体) の有無を重要視し、ユレモ目の分類学的再編を行った。とくにガス胞を持つ淡水性のユレモ類は中・富栄養湖沼においてしばしば大量発生し、また一部は藍藻毒 (シアノトキシン) を放出する等の水環境問題を引き起こすことから、世界中でその動態を解明するための研究が行われている。

その一方、ガス胞を持つ淡水性ユレモ類の分類はかなり混乱した状況にあり、分類学的再編の途上にある。その大きな理由の一つとして、最近の分子系統研究が既存の分類体系の系統進化を反映していないことを明らかにしたことが挙げられる。Suda et al. (2002) は、ガス胞を有する淡水産ユレモ類について、分子系統を含む多相的分類研究を行い、3属5種を記載した。しかしながら、現在ユレモ目の分類学の鍵となっているガス胞の有無についても、一部の種においては顕微鏡下におけるガス胞の識別が困難であり、その存在が曖昧・不明なまま放置されているという状況にある。ガス胞を持つユレモ類の多様性を理解するためには、このような分類学的位置が曖昧な種を多相的アプローチで調べ、新種記載等の適当な分類学的措置を行なうなどの継続的な努力が必要である。本研究においてはこの問題に取り組むため、ガス胞の存在が曖昧な種である *Oscillatoria kawamurae* 12株と非常に小さいガス胞を持つ新種と思われるユレモ株を5株、日本、ラオス、ミャンマーから分離取得し、多相分類学的研究を行うこととした。

新規種であると考えられる5株は全て類似した形態を示し、トリコーム (糸状体) は長さ 11.7- 16.6  $\mu\text{m}$ 、群体をつくらずに単独で存在し、青緑色を呈した。色素の化学分析の結果、新規種はフィコシアニン、フィコエリスリン、アロフィコシアニンを持っていることがわかった。この藍藻は二つのトリコームが絡み合う構造をつくること、非常に小さなガス胞を持っていること、というこれまで藍藻ではほとんど知られていない2つの珍しい特徴を示した。透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察を行なってみたところ、他の藍藻で観察されているガス胞とほぼ同様の特徴的な円柱の集合体構造が見られた。TEM 観察によって、同種がユニーク

なチラコイド膜の細胞内分布構造を持つこともわかった。脂質分析の結果、パルミチン酸 (C16:0) がもっとも多く含まれていることがわかった。ガス胞遺伝子をターゲットとした PCR 法によって増幅産物を得ることに成功し、DNA データバンクを用いた相同性検索から本種が確かにガス胞遺伝子を保有していることが確認された。PCR 法によってこれら 5 株の 16S rDNA の配列を取得したところ、全ての株が同一の配列を示した。16S rDNA に基づく分子系統解析の結果、本種は他のガス胞を持つユレモ類 (*Planktothrix* 属、*Planktothricoides* 属) とは近縁性を示さず、最も近縁な配列は、ガス胞を持たないユレモ類である *Phormidium* 属の 1 株であった。この株との遺伝子の相同性は 94% 弱と低く、また極めて小さいガス胞を持つなどのユニークな特徴から、本種をユレモ目の新属新種 *Aerosakkonema funiforme* として記載した。

一方、*O. kawamurae* の分離株 12 株は若干細胞サイズに変異が見られたものの、概して記載論文とほぼ同様の形態を示した。光合成補助色素はフィコエリスリンとアロフィコシアニンの 2 種が確認された。脂質分析の結果、本種にはパルミチン酸 (C16:0) がもっとも多く含まれていることがわかった。*O. kawamurae* についてはその巨大な細胞構造のために TEM 観察のための固定処理に完全には成功していないものの、不鮮明ながら同様のガス胞類似構造が観察された。本種についてもガス胞遺伝子をターゲットとした PCR 法によって、ガス胞遺伝子を保有していることが確認された。16S rDNA の配列を取得したところ、全ての株が同一の配列を示した。16S rDNA に基づく分子系統解析の結果、本種は同じ *Oscillatoria* 属の *O. princeps* と *O. duplisecta* と近縁であることがわかり、16S rDNA 配列の相同性はそれぞれ 97.4%、98.4% と高い値を示した。現在の *Oscillatoria* 属の定義に拠れば、ガス胞を含む種は *Oscillatoria* 属に含めることができないため、*O. kawamurae* は *Oscillatoria* 属から分離することとなるが、*Oscillatoria* 属のタイプ種である *O. princeps* と遺伝子の相同性が高く同属である可能性も除外できないため、現時点で *O. kawamurae* に対して新属を提唱することは時期尚早であると結論づけられた。

以上の結果、ガス胞を有する淡水産ユレモ類は、少なくとも 5 属 (*Aerosakkonema*, *Limnothrix*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, and *Planktothricoides*) に分類することができることが判明した。

## 審査の結果の要旨

本研究により、湖沼においてしばしば大量発生して環境問題を引き起こすガス胞を持つ淡水性のユレモ類に、新属新種 *Aerosakkonema funiforme* が発見され、国際植物命名規約にそって正式に記載され、国際藻類学会誌 *Phycologia* で発表された。さらにガス胞の有無が不明であった *Oscillatoria kawamurae* にガス胞類似構造とガス胞遺伝子が確認された。これによって、ガス胞を有する淡水産ユレモ類は少なくとも 5 属 (*Aerosakkonema*, *Limnothrix*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, and *Planktothricoides*) に分類することができることが判明し、藻類分類学分野および水環境学分野において画期的な知見を得ることができたと判断された。

平成 24 年 9 月 13 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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。