

氏名	Hani Susanti		
学位の種類	博士（環境制御学）		
学位記番号	博甲第 9624 号		
学位授与年月	令和 2 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則 第 4 条第 1 項該当（昭和 2 8 年 4 月 1 日文部省令第 9 号）		
審査組織	グローバル教育院		
学位論文題目	Taxonomical Study of <i>Paludistellatrianguloculus</i> gen. et sp. nov. (Volvocales, Chlorophyceae) from Acidic Wetland with its Relatives and the Biomass Production (酸性環境から得られた新属新種 <i>Paludistellatrianguloculus</i> （緑藻綱オオヒゲマワリ目）と近縁種に関する分類学的研究およびそのバイオマス生産について）		
	(職名)	(学位)	(氏名)
主査	筑波大学教授（協働大学院）	博士（理学）	河地 正伸
副査	筑波大学特命教授	理学博士	渡邊 信
副査	筑波大学特命教授	工学博士	中嶋 光敏
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	中山 剛
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	Myra O. VILLAREAL

論文の要旨

微細藻は海、淡水、湿地など様々な環境に生育し、これら生態系の生産者として重要な役割を担っている。近年、バイオマス生産への微細藻の利用が盛んに研究されているが、研究対象となっている微細藻はごく一部に限られている。酸性湿地（ミズゴケ湿地）は、東南アジアを含め世界中に広く分布しているが、その酸性度のため利用には問題点も多い。このような環境の持続可能な利用には、この環境に生育する生物と生態系の理解が必要だが、我々の知識は未だ限定的である。著者は長野県の酸性湿地から、*Chlamydomonas* 様緑藻を単離し、培養株（NIES-4318）を確立した。本株は酸性条件でよく増殖し、脂質を多く産生する。酸性湿地の理解とその利用に関する一助として、本研究では NIES-4318 の分類学的研究及びバイオマス生産に関する研究を行った。

18S rDNA 塩基配列の比較から、NIES-4318 に近縁であることが示唆された NIES-4317、SAG75.81、SAG12.72、SAG19.88 を含め、光学顕微鏡観察、分子系統解析、ITS-2 二次構造の比較を基にした分類学的研究を行った。光学顕微鏡観察の結果、いずれの株も 2 本鞭毛性の楕円形の細胞、半球形のパピラ、中央にピレノイドを持つ星状の葉緑体などの点で類似していたが、眼点の形態などにおいて株間に違いが見られた。18S rDNA、*atpB*、*psaB* の塩基配列に基づく系統解析の結果、これらの株は緑藻綱オオヒゲマワリ目の *Chloromonadinia* 系統群の中で 1 つのクレードを形成した。*Chloromonadinia* の中で、い

ずれの既知属のタイプ種も、本クレードに近縁ではなかった。また本クレードに属する種は、形態的特徴からも *Chloromonadinia* 内の他の属とは区別できる。そのため、本クレードを新属として扱うことが妥当であると考え、新属 *Paludistella* を提唱する。*Paludistella* の中では SAG75.81 が最初に分岐し、NIES-4318 と NIES-4317、SAG12.72 と SAG19.88 からなる2つのクレードが確認された。これらの株の種レベルの分類を検討するため、リボソーム RNA 遺伝子の ITS-2 領域の二次構造を構築し、比較を行った。その結果、NIES-4318 と NIES-4317 のペアを除くすべての組み合わせで、1個以上（～12個）の相補的塩基置換（CBC）が確認された。これらの結果から、本研究で調査した5株は、*Paludistella* 属の2新種、2新組み合わせ、*P. meslinii* comb. nov. (SAG 75.81)、*P. chlorostelata* comb. nov. (SAG 12.72)、*P. asymmetrica* sp. nov. (SAG 19.88)、*P. trianguloculus* sp. nov. (NIES-4317, NIES-4318) に分類することを提唱する。

Paludistellatrianguloculus (NIES-4318)は酸性湿地から単離された緑藻であり、酸性条件でよく増殖するとともに、脂質を多く産生する。そこで酸性湿原でのバイオマス生産の可能性を探るために、本株を用いたバイオマス生産について研究を行った。培地としては一般的な微細藻培地である AF-6 を pH4.0 に調整したものと、市販されているミズゴケ土から開発した EsPW を用いた。AF-6 に比べて、EsPW は窒素量が少なく、炭素量が多かった。培養実験の結果、NIES-4318 は AF-6、EsPW とともに良好な増殖を示した。バイオマス生産量に関しては、AF-6 と EsPW で有意な差はなかったが、脂質量は EsPW の方が有意に多かった。また脂肪酸組成にも差が見られ、EsPW ではオレイン酸が多く、リノール酸が少なかった。このような違いは、培地の化学組成によるものだと考えられる。さまざまな藻類において、窒素飢餓が脂質産生増大につながるということが知られており、本研究でも EsPW の窒素量が少ないことが脂質量増加につながったと考えられる。培養実験の結果、培地の pH はいずれの培地においても上昇し、最終的にほぼ中性 (pH6.74-6.99) になった。このように培養による水の中性化は、ミズゴケ湿原の水の利用に応用できる可能性がある。また培養によって、多量の可溶性有機炭素が分泌され (130-145 mg/L)、培地中の多糖が増加した (15.5-22.6% w/w)。このような有機物も、従属栄養生物の培養などの応用が考えられる。

本研究では、酸性湿地から単離した培養株を基にした分類学的調査により、2新種を含む新属 *Paludistella* を報告した。また培養実験により、本株が脂質や有機物生産、さらに水の中性化に有用である可能性を示した。このような藻類の利用は、酸性湿原をそのままの形で利用する (paludiculture) ことを可能にする可能性があり、さらなる研究が望まれる。

審査の要旨

【批評】

博士論文では、申請者が酸性湿地より採集・単離した緑藻に関して、分類学的研究、およびこれを利用した脂質生産に関する基礎的な研究を行っている。第1部では本株および近縁種に関して、形態比較、分子形質の解析を行い、2新種を含む4種を緑藻綱オオヒゲマワリ目の新属に分類することを提唱している。また第2部では本株を用いた、酸性培地による脂質生産に関する研究を行い、本種は酸性培地においても脂質を多く産生という結果を得ている。論文の構成、結果、考察に関しては十分な内容であると判断できる。

【最終試験の結果】

令和2年1月16日、専門委員会において、専門委員会委員の全員出席のもと、申請者に論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

【結論】

上記の学位論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、申請者は博士（環境制御学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。