

学位論文題名

A systematic study of benthic marine dinoflagellates

(海産底生性渦鞭毛藻類の系統分類学的研究)

学位論文内容の要旨

渦鞭毛藻類は世界中の様々な環境の水圏に分布する単細胞の微細藻である。本研究で扱っている海産底生性渦鞭毛藻は砂地、海藻表面、タイドプールなどに生息しており、海浜および沿岸環境の生態系において重要な位置を占めている。これらには砂粒の間隙に生活する種類、基質に着生する種類、遊泳細胞と不動細胞のステージを昼夜で繰り返す種類などが含まれ、近年の研究の進展によって底生性種独特の形態および生態が明らかになってきた。しかし、その多様性や進化についての知見は少ないのが現状である。よってこの問題を解決するため、本研究では主に国内外の亜熱帯から温帯域で採取した材料から単藻培養株を確立し、それらの光学顕微鏡、走査型および透過型電子顕微鏡を用いた観察、さらに SSU rDNA 配列を用いた分子系統解析を行った。渦鞭毛藻は細胞表面を鎧板と呼ばれるセルロースの殻に覆われた有殻の種類と鎧板を持たない無殻の種類に分けられる。本研究では、第1章で無殻、第2章で有殻、第3章で付着性の底生性渦鞭毛藻を扱っている。

第1章では5属 (*Personadinium*, *Gymnodinium*, *Spiniferodinium*, *Amphidinium*, *Testudodinium*) 19種(含9新種)の無殻渦鞭毛藻を記載した。このうち *Amphidinium* 属の2種と *Gyrodinium* 属の1種について、形態的特徴と分子系統解析の結果に基づき、それぞれ *Testudodinium* 属と *Personadinium* 属を新たに設立した。遊泳性の分類群である *Gymnodinium* 属は細胞頂端に馬蹄形の apical groove と呼ばれる構造を持つことで定義される。*Katodinium dorsalisulcum* はこの特徴を持ち、分子系統解析の結果からも本種を *Gymnodinium* 属に移動すべきとの結論を得、新組み合わせ *Gymnodinium dorsalisulcum* を提唱した。また、表面に多数の棘が分布するヘルメット型の殻に覆われ、着生性の不動細胞を持つ *Spiniferodinium galeiforme* の遊走細胞は *Gymnodinium* 属の特徴を持ち、また分子系統解析でも本種が *Gymnodinium* 属のクレードに入ることが示された。この結果から、*Spiniferodinium* 属の不動細胞の特殊な形態と付着性という性質は遊泳性の *Gymnodinium* 属の一系統から進化したものと考えられた。本種の分類学的な位置(属)については、*S. galeiforme* の特殊な栄養細胞形態と生活環を考慮し、*Gymnodinium* 属に移すのではなく、*Spiniferodinium* 属の維持が妥当であると判断した。底生性渦鞭毛藻のなかで最大かつ最重要な属が *Amphidinium* 属である。本研究においても本属の種の出現数は最も多かった。既知種に加え、細胞形態、細胞分裂様式および分子系統解析の結果に基づいて7種を新種として記載した。分子系統解析では、*A. massartii/carterae* 種複合体の中に3グループが認識されたが、それらに相当する種の原記載の記述が明確でないことから、種の同定にはいたらなかった。また、本研究では、*Amphidinium* 属が多系統であるという SSU rDNA を用いた先の研究を支持する結果も得た。この結果に基づき、真の *Amphidinium* 属には属さないクレ-

ドの一つに対し，新属 *Testudodinium* の設立を提唱した。本研究における *Amphidinium* 属に関する興味深い発見は，いくつかの系統で細胞鱗片の存在が確認されたことである。Sekida et al. (2003)は *Amphidinium* の 2 系統株における細胞鱗片の存在を報告しているが，本研究ではより広範な種について細胞鱗片の有無の検証をおこなった。その結果，4 種について細胞鱗片の存在が確認され，しかもそれらが系統的に離れていることが明らかとなった。このことはいくつかの系統で独立に細胞鱗片の消失が起こったことを示唆している。また，*Amphidinium* 属クレードの根本で分岐する大型の種では，今まで知られている細胞鱗片とは全く異なる構造の鱗片が見つかった。本属における細胞鱗片の獲得と進化，消失を明らかにするにはさらに広範な種の微細構造学的，分子学的研究が必要であるが，本研究は，その端緒を開いたものであると言える。

第 2 章では 6 属 (*Prorocentrum*, *Symbiodinium*, *Thecadinium*, *Coolia*, *Heterocapsa*, *Pileidinium*) 9 種 (含 2 新種) を記載した。*Prorocentrum* 属では *P. rhathymum*, *P. cassubicum* の 2 種の底生性種の分子情報を新たに加えることができた。その結果，底生性種である *P. rhathymum* が主にプランクトン性の系統群から比較的最近分岐しており，プランクトン性種から底生性種への進化の可能性が示唆された。また本研究で新種として記載した *H. psammophila* はその培養中の行動から真の底生性渦鞭毛藻であることを明らかにした。興味深いことは他のすべての *Heterocapsa* 属のメンバーはプランクトン性であり，本種がそのような系統群から底生性の生活様式を獲得して，進化したものであることを明らかにした点である。また，パラオの海岸の砂から分離した有殻渦鞭毛藻の一種は細胞の下殻に比べて上殻が非常に小さく，鍍版配列も他の渦鞭毛藻には見られない独特のパターンをもつことから，新属・新種，*Pileidinium ciceropse* として記載した。

第 3 章では生活環の大部分を付着性の不動細胞として過ごす渦鞭毛藻に焦点を当てた。本研究では 4 属 (*Galeidinium*, P23, *Crystero-operire*, *Parastylodinium*) 4 種 (含 3 新種) を記載した。パラオ産の殻状渦鞭毛藻の一種は，独特の付着性細胞をもち，無殻の遊走細胞を形成して繁殖する。細胞内微細構造，HPLC による葉緑体の色素分析，SSU rDNA と葉緑体コードの *rbcL* 遺伝子を用いた分子系統解析の結果，本種は珪藻起源の葉緑体を持つことが明らかになった。独特の栄養細胞形態，共生藻をもつことなどに基つき，本種を新属・新種 *Galeidinium rugatum* として記載した。また，SSU rDNA を用いた分子系統解析では，*G. rugatum* は珪藻起源の葉緑体を持つ *Kryptoperidinium foliaceum*, *Durinskia baltica* と単系統になり，特に *K. foliaceum* と近縁であることが示された。*K. foliaceum* は遊泳性の種であるため，上で述べた *S. galeiforme*, *P. rhathymum*, *H. psammophila* と同様に *G. rugatum* の場合もプランクトン性種から底生性種が進化した明確な例である。

以上のように，本論文は，従来の光学顕微鏡による形態観察に加え，それぞれの種の株を確立し，それを用いての走査型電子顕微鏡観察，透過型電子顕微鏡観察および抽出 DNA に基づく分子系統学的解析を統合した分類学的研究をおこなったもので，海産底生性渦鞭毛藻の多様性の理解に貢献した。

学位論文審査の要旨

主 査 助 教 授 堀 口 健 雄
副 査 教 授 増 田 道 夫
副 査 教 授 片 倉 晴 雄
副 査 助 教 授 小 亀 一 弘

学 位 論 文 題 名

A systematic study of benthic marine dinoflagellates

(海産底生性渦鞭毛藻類の系統分類学的研究)

渦鞭毛藻類は世界中の様々な環境の水圏に分布する単細胞の微細藻である。本論文で扱った海産底生性渦鞭毛藻は砂地、海藻表面、タイドプールなどに生息しており、海浜および沿岸環境の生態系において重要な位置を占める。近年の研究の進展によって底生性種独特の形態および生態が徐々に明らかになってきたものの、その多様性や進化についての知見は少ないのが現状である。本論文では主に国内外の亜熱帯から温帯域にかけて採取した材料から単藻培養株を確立し、それらの光学顕微鏡、走査型および透過型電子顕微鏡を用いた観察、さらに SSU rDNA 配列を用いた分子系統解析を行っている。このように分子データや透過電顕データまでもを加味した生物多様性研究は数少なく、今後の微細藻類の多様性研究の方向性を示す研究として評価できる。

第 1 章では 5 属 (*Personadinium*, *Gymnodinium*, *Spiniferodinium*, *Amphidinium*, *Testudodinium*) 19 種 (含 9 新種) の無殻渦鞭毛藻を記載している。このうち *Amphidinium* 属の 2 種と *Gyrodinium* 属の 1 種について、形態的特徴と分子系統解析の結果に基づき、それぞれ *Testudodinium* 属と *Personadinium* 属を設立した。分子系統解析結果から *Katodinium dorsallsulcum* を *Gymnodinium* 属に移動するべきとの結論を得、新組み合わせ *G. dorsallsulcum* を提唱した。また、殻状の着生細胞を持つ *Spiniferodinium galeiforme* は遊泳性の *Gymnodinium* 属のクレードに入ることを示し、このことから本属の不動細胞における特殊な形態はごく一般的な遊泳性の *Gymnodinium* 属の一系統から進化したものと結論された。底生性渦鞭毛藻のなかで最大の *Amphidinium* 属では、既知種に加え、細胞形態、細胞分裂様式および分子系統解析の結果に基づいて 7 種を新種として記載した。また、本属の 4 種について細胞鱗片の存在が確認され (新奇形態の発見も含む)、しかもそれらが系統的に離れているという興味深い事実を発見した。このことはいくつかの系統で独立に細胞鱗片の消失が起こったことを示唆するもので、今後の細胞鱗片の進化研究の緒をひらいたものである。

第 2 章では 6 属 (*Prorocentrum*, *Symbiodinium*, *Thecadinium*, *Coolia*, *Heterocapsa*, *Pleiodinium*) 9 種 (含 2 新種) を記載している。*Prorocentrum* 属では *P. rhathymum*, *P. cassubicum* の 2 種の底生性種の分子情報を新たに加えた。底生性種である *P. rhathymum* が主にプランクトン性の系統群から比較的最近分岐しており、プランクトン性種から底生性種への進化過程が示された。また本研究で新種として記載した *H. psammophila* はその培養中の行動から真の底生性渦鞭毛藻であることを明らかにした。プランクトン性のメンバーが主体の *Heterocapsa* 属にあって、本種は特段の形態の変化を伴わず行動様式としての底生性を獲得した例として興味深い。また、パラオの海岸の砂から分離した有殻渦鞭毛藻の一種は細胞の下錐に比べて上錐が非常に小さく、鍔版配列も他の渦鞭毛藻には見られない独特のパターンをもつことから、新属・新種、*Pleiodinium ciceropse* として記載した。

第 3 章では生活環の大部分を付着性の不動細胞として過ごす渦鞭毛藻に焦点を当て、4 属 (*Galeidinium*, P23, *Cystrero-operire*, *Parastylodinium*) 4 種 (含 3 新種) を記載している。パラオ産の殻状渦鞭毛藻の一種は、独特の付着細胞をもち、無殻の遊走細胞を形成して繁殖する。

細胞内微細構造、HPLCによる葉緑体の色素分析、SSU rDNAと葉緑体コードの*rbcL*遺伝子を用いた分子系統解析の結果、本種は珪藻起源の葉緑体を持つことが明らかとなった。独特の栄養細胞形態、共生藻をもつ点などに基づき、本種を新属・新種 *Galeidinium rugatum* として記載した。また、SSU rDNAを用いた分子系統解析では、本種は珪藻起源の葉緑体を持つ *Kryptoperidinium foliaceum*, *Durinskia baltica* と単系統になり、特に *K. foliaceum* と近縁であることが示された。*K. foliaceum* は遊泳性の種であるため、上で述べたいくつかの例と同様に *G. rugatum* もプランクトン性種から底生性種が進化したことが明確に示された例となった。

これを要するに、著者は、底生性の渦鞭毛藻類の系統分類学的研究において、従来の光学顕微鏡による形態観察に加え、それぞれの種の株を確立し、それを用いての走査型電子顕微鏡観察、透過型電子顕微鏡観察および抽出DNAに基づく分子系統学的解析を統合した系統分類学的研究をおこなった。新属・新種の発見を含め海産底生性渦鞭毛藻類の多様性に関して多くの新知見を得たもので、生物学に貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。