

## 論文審査の結果の要旨

氏名 坂山英俊

本論文は3章からなり、第1章はフラスコモ属の培養株を用いた走査電子顕微鏡による卵胞子壁の表面と断面構造と葉緑体 *rbcL* 遺伝子の塩基配列情報に基づく正確な種同定と分類学的再検討、第2章は核 DNA マーカーを用いたフラスコモ属の葉緑体遺伝子系統樹の再検討、第3章は複数 DNA マーカーによるフラスコモ属の系統解析について述べられている。

車軸藻類（シャジクモ目）は系統進化学的には陸上植物に最も近縁であると考えられている植物である。その中でフラスコモ（*Nitella*）属は最も種数が多く、3亜属（*Nitella*・*Hyella*・*Tieffallenia*）に分類され、世界中で約200分類群の存在が報告されている。Wood (1962, 1965)はフラスコモ属の種を主に栄養器官の特徴により分類し、種以下分類群を卵胞子の特徴に基づいて識別し、当時知られていた204種を53種に再編成した。そのため、多くの日本・アジア産の種はそれよりも記載年代が先行する種のシノニムであると解釈された。その後、車軸藻類の系統分類学的研究としては過去の分類学的研究で用いられた古い標本を使用した卵胞子（受精卵）の走査型電子顕微鏡（SEM）を用いた種レベルの識別・同定、または限られた種の培養株を用いた *rbcL* 遺伝子・18SrDNA 遺伝子を用いた属・種レベルの系統解析は実施されてはいたが、形態学的な種レベルの分類学的識別基準を DNA 等の独立したデータから検証するような研究は実施されていなかった。論文提出者は修士論文において、採集したフラスコモ属の材料をすべて培養株とすることにより、成熟した卵胞子の SEM 形態と分子系統解析を結合させた種レベルの分類学的再検討の方法論を世界に先駆けて確立した。しかし、この研究で扱われた材料はわずか9種であり、また、種レベルの分類学的結論が母性遺伝する葉緑体コードの一遺伝子の分子系統樹のみに依存しているという問題や、塩基配列の情報不足のためと思われる属以下の系統関係における不明瞭な部分が残されていた。本論文ではこれ

らの問題を解決するために、世界中から新たに 15 分類群・36 サンプルを採集し、新たな系統解析 DNA マーカーを開発し、更にこれまで用いられていない SEM による卵胞子壁断面構造の特徴を分類形質として導入した。

第 1 章では解析する分類群の範囲を広げ、また卵胞子の断面構造という新しい識別形質を導入し、フラスコモ属 23 種の実体を明らかにした。第 2 章では、近縁な多くの分類群を含む *Tieffallenia* 亜属 19 種 40 サンプルを用いた核コードの ITS-5.8S rRNA 遺伝子を用いた分子系統解析を実施した。その結果、葉緑体 *rbcL* 遺伝子系統樹は核 DNA マーカー系統樹と矛盾しておらず、解析した範囲において *rbcL* 遺伝子系統樹は系統関係に関する信頼できる情報とみなせた。第 3 章では *Tieffallenia* 亜属内のより信頼度の高い分子系統樹を構築するために、*rbcL* 遺伝子に加え更に *atpB* 遺伝子と *psaB* 遺伝子の塩基配列を決定し、この 3 つの葉緑体遺伝子塩基配列と核コードの ITS-5.8S rRNA 遺伝子の塩基配列を結合した合計 4553 塩基対 19 種 40 サンプルを用いた分子系統解析を実施した。その結果、ほぼ全ての種間の系統関係が明らかとなり、卵胞子壁表層構造の形態に基づき、網目・乳頭状、スポンジ状、微細顆粒状、結節状の 4 つの卵胞子クレードが高い信頼度で解析された。一方、各卵胞子クレード内において種レベルの識別形質として Wood (1962, 1965) が重視した栄養器官形態は一貫していなかった。従って、Wood (1962, 1965) が種レベルの識別に用いた栄養器官の特徴よりも、卵胞子の特徴が系統を反映していることが示唆され、*Tieffallenia* 亜属において栄養器官形態に基づいた Wood (1962, 1965) の種のコンセプトは用いるべきではないと結論された。また、複数の卵胞子クレードに Wood (1962, 1965) が同じ節に分類した種がまたがっており、Wood (1962, 1965) の本亜属内の節レベルの分類は基本的に系統を反映していないことが明らかとなった。したがって、卵胞子壁表層構造を基本とする節レベルの新分類体系を構築すべきであると結論された。

以上のように論文提出者は本論文において、自ら開発した手法に基づく微細形態と分子系統を組み合わせた極めてオリジナリティーの高い分類学的研究を実施し、フラスコモ属の新分類体系構築の基

盤を形成した。

なお、本論文第 1 章と 3 章は、原慶明・野崎久義との共同研究であるが、論文提出者が主体となって観察及び解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。