

論文内容要旨(和文)

氏名 傳法隆



論文題目 Speciation in three closely-related species complexes of *Closterium* (Zygnemophyceae, Zygnemophyta) viewed from their molecular information. (分子情報から見たミカツキモ属の三つの種複合体の種分化)

ミカツキモ属藻類には、ホモタリズム、ヘテロタリズム及び単為生殖という3つの異なる生殖様式の存在が知られている。本研究では、これらの藻類の生殖様式と種分化の関係を明らかにするために、形態学的特徴が類似している *C. moniliferum-ehrenbergii* 複合体、*C. calosporum* 複合体及び *C. peracerosum-strigosum-littorale* (*psl*) 複合体の3つの種複合体を用いて、核リボソーム DNA (rDNA) 領域と葉緑体の RuBisCo ラージサブユニット (*rbcL*) 遺伝子の塩基配列を決定し、それらに基づく分子系統学的解析と、さらに SSU rRNA, 1506 group I intron 及び ITS2 の二次構造モデルから種に固有な分子形態の探索を行い、詳細に検討した。

比較的保存性の高い SSU rDNA から構築した系統樹では、形態的に類似した3つの種複合体はそれぞれ独立に1つのクレードを形成した。これから、個々の種複合体は、分子情報からも明らかに近縁な分類群の集合体であることが示された。また、個々の種複合体内を見ると、*C. calosporum* 複合体内では、*C. spinosporum* v. *ryukyuense* は、*C. spinosporum* v. *crassum*, *C. spinosporum* v. *spinosporum* 及び *C. selenastrum* と1つのクレードを形成していた。これらの分類群では、ITS2 のヘリックス II の二次構造には類似性は見られるが、*C. spinosporum* v. *ryukyuense* だけ長さが極端に短かった。さらに、*C. spinosporum* v. *ryukyuense* のヘリックス II の二次構造には比較的長い繰り返し配列がいくつか見られるが、この配列はヘリックス III に起源があり、これからヘリックス II にコピーされしだいに伸長したと類推できることから、これらのホモタリックな生殖様式をもつ一群の中で、*C. spinosporum* v. *ryukyuense* が最も祖先種に近い分類群と推定された。また、*C. calosporum* の変種間でも、ヘリックス II に特徴的な分子構造の重複が見られることから、ホモタリックな変種 v. *himalayense* に近縁な祖先種からヘテロタリックな変種 v. *galiciense* が派生したと推定できた。次に、*C. moniliferum-ehrenbergii* 複合体では、SSU rDNA から得られた系統樹から、ホモタリックな *C. moniliferum* v. *moniliferum* が他の分類群よりも先に分岐することが示された。また、*C. ehrenbergii* の単為生殖株では、沖縄産とベトナム産の株の間で ITS2 のヘリックス I の二次構造が異なり、ベトナム産の株でその先端部分に40塩基からなる同一配列の部分構造の重複が生じていた。沖縄産の単為生殖株の ITS2 の塩基配列は交配群 K と完全に一致し、かつ、分子系統樹からベトナム産の単為生殖株は交配群 K 及び沖縄産の単為生殖株と姉妹群となることから、これらの単為生殖株がヘテロタリックの系統から派生してきたことが推定された。さらに、*C. psl* 複合体でも、栄養細胞がグループ IIA と比べて2倍ほど大きいグループ IIC において、1506 group I intron や ITS2 の塩基配列がグループ IIA と同一であったことから、グループ IIA の倍数化による種分化が起こった可能性が示唆された。最後に、*rbcL* 遺伝子からコドン別にベイズ法によって推定した系統樹から、核 rDNA 領域の分子情報を総合的に推定した系統関係が裏付けられた。

以上の結果から、ミカツキモ属藻類の交配様式には、ホモタリズムからヘテロタリズム、ヘテロタリズムから単為生殖という進化的な傾向性があるものと推定された。また、これらの種複合体間で非遺伝子領域の変異の程度に大きな差異が見られることから、ミカツキモ属藻類の種は、古くから種として確立したものと比較的最近生殖隔離が進んでいるものと混在し、現在なお分化を続けている生物学的種として認識された。

論 文 內 容 要 旨 (英 文)

氏 名 傳 法 隆



論 文 題 目 Speciation in three closely-related species complexes of *Closterium* (Zygnemataceae, Zygnemophyta) viewed from their molecular information.

It is known that populations of the genus *Closterium* can be classified into three categories by process of dormant spore formation: homothallism, heterothallism, and parthenosporism. In the present study, to examine modes of speciation in the *Closterium* along with evolutionary patterns of their mating systems and reproductive types, both coding and non-coding regions of nuclear rDNA and the chloroplast gene encoding the large subunit of RUBISCO (*rbcL*) were analyzed, mainly for the three closely-related species complexes: the *C. calosporum* species complex, the *C. moniliferum-ehrenbergii* species complex, and the *C. peracerosum-strigosum-littorale* (*psl*) species complex.

To begin with, the nuclear-encoded SSU rDNA coding region for 39 taxa of the family Closteriaceae was analyzed to examine their phylogenetic relationship to other conjugating green algae and relationships among taxa within the Closteriaceae. All the Closteriaceae taxa formed one clade in all phylogenetic trees. As to the taxa within the *Closterium*, three clades that each consisted of one of the above-mentioned species complexes were found in all trees. However, phylogenetic relationships among taxa within each clade were unresolved for the most part. It is of particular interest that homothallic entity of *C. moniliferum* v. *moniliferum* was clearly distinguished from and most ancestral to all other entities of the *C. moniliferum-ehrenbergii* species complex. Next, to assess phylogenetic relationships within each species complexes, the non-coding regions of nuclear rDNA were further analyzed. As to the taxa within *C. calosporum* species complex, many repeated sequences were found in ITS2 of the species complex. Putative secondary structure models of ITS2 suggested two possibilities: first, *C. spinosporum* v. *ryukyuense* may be ancestral to the other taxa of Clade I; secondly, heterothallic *C. calosporum* v. *galiciense* may be derived from an ancestor like homothallic *C. calosporum* v. *himalayense*. As regards the *C. moniliferum-ehrenbergii* species complex, ML analysis was run on the combined positions of 1506 group I intron in SSU and ITS2, using 24 representative sequences and one sequence of homothallic *C. moniliferum* v. *moniliferum* as outgroup. ML tree showed that *C. ehrenbergii* was not monophyletic. Also, a characteristic duplication at the tip of helix I of ITS2 secondary structure between heterothallic and parthenosporic strains of *C. ehrenbergii* probably serves as an important cue for detecting the evolutionary deviation of asexual populations from sexual ones. Of the *C. psl* species complex, Group IIC would have been derived from Group IIA via polyploidization. Finally, sequences for the *rbcL* gene were used to re-examine the phylogenetic relationships among taxa of the Closteriaceae inferred from the nuclear rDNA regions. All taxa of the Closteriaceae formed one clade with high posterior probabilities in BI trees in a similar manner as the SSU rDNA. As to the taxa within the *Closterium*, three clades that each consisted of one species complex in all trees were similarly found. Phylogenetic relationships among taxa within *C. calosporum* species complex could be resolved for the most part, which is largely congruent with the results inferred totally from the nuclear rDNA regions.

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

平成17年1月31日

理工学研究科長 殿

論文博士論文審査委員会

主査 原 慶明

副査 玉手英利

副査 丹野憲昭

副査 R. Jordan

副査



学位論文の審査及び最終試験の結果を下記の通り報告いたします。

記

1. 論文申請者

所属名 北海道大学北方圏フィールド科学センター・洞爺臨湖実験所
氏名 傳法 隆

2. 論文題目

Speciation in three closely related species complexes of *Closterium* (Zygnemataceae, Zygnematophyta)
分子情報から見たミカヅキモ属3種複合体における種分化

3. 学位論文公聴会

開催日 平成17年 1月 31日
場 所 理学部2号館25番教室

4. 審査年月日

論文審査 平成17年 1月 25日 ~ 平成17年 1月 31日
最終試験 平成17年 1月 31日

5. 学位論文の審査及び最終試験の結果（「合格」・「不合格」で記入すること）

(1) 学位論文審査 合格
(2) 最終試験 合格

6. 学位論文と審査結果の要旨

別紙のとおり

1. 最終試験の結果の要旨

別紙のとおり

氏名	傳法 隆
学位論文の審査結果の要旨	
<p>研究材料として用いた淡水産の接合藻ミカヅキモは培養条件によって容易に栄養成長過程と生殖過程を制御できるため、有性生殖のメカニズムの研究あるいは現在分類学における種の相対する概念：形態種 (morphospecies) と生物学的種 (biological species) の検証の分野で多くの成果を産んでいる。本論文は後者の研究の典型で、形態種でも生物学的種でも理解しにくい種複合体 (species complex)、すなわち形態種として認められた種を精査すると近縁種との違いが不明瞭になり識別できなくなった、分類群が生物学的種、すなわち交雑実験に依る遺伝的親和性に基づく種概念で解析し、それらが両概念の種としてどのように位置づけられるか、を目的とした研究である。特に種の確立に至る一連の生物現象を種分化 (speciation) というが、交雑実験により生殖的隔離の程度を知ることから種分化の段階が解析できる。また、この種複合体には形態的に別種として認識できない集団の中に生殖的な隔離が成立した生物学的種に相当する交配群が含まれている。本論文ではこれまでに種複合体として扱われてきた3つ集団を取り上げ、まずはじめに、集団内に存在する交配群ごとの形態特徴とそれらの連続性を、種分化の程度を知るメルクマールとして取り上げた生殖様式 (ホモタリック、ヘテロタリックの両性接合および単為生殖) および細胞サイズと外形に焦点を合わせ紹介している。次いで、3つの種集団の系統性を18SrDNAの塩基配列に依拠した分子系統解析を行い、それぞれが全て単系統性を示したことを明らかにした。本論文の主題とそれるのであえて取り上げていないが、この解析で、ミカヅキモ属とトゲミカヅキモ属が同属であること、ミカヅキモの1種 (<i>C. navicula</i>) は別属の可能性のあることの証左を与えている。この遺伝子マーカーでは交配群毎の系統関係まで解析できないので、この遺伝子の変異の激しいイントロン部分であるITS領域における分子(2次)構造に着目して、さらに詳細に分析を行い、3つの種複合体における系統関係を明らかにした。その結果、どの複合体も細胞サイズが小型から大型へ、ホモタリックからヘテロタリックそして単為生殖へ分化していく傾向性を指摘した。さらにある1つの複合体は生殖様式の分化がまだ充分には進行せず、その程度に格差のあることも発見した。この成果は本論文で最も評価できる点であり、一部は斯界のトップレベルにある雑誌に掲載され、国際的にも評価されている。論文ではこの事実をさらに葉緑体にコードされている <i>rbcL</i> 遺伝子をマーカーとして検証し、特に進化モデルを想定した解析法を導入し、確認した。技術・方法において革新的な功績はないが、通常変異の激しいITS領域は系統解析に用いることをさける趨勢にあるが、あえてその領域の2次構造解析に踏み込み、系統解析に成功したことは種ないしは種内の系統関係を解析できるDNAマーカーの少ない植物において光明を与えたことは種分化解析の功績と並んで評価できる。従って、主査はもちろん副査も学位論文として十分な内容と功績のあることを認めた。ただし、種分化に関する考察をさらに深める必要があるとの指摘もあった。なお、主査・副査とも全員で合格と判定した。</p>	
学力確認の結果の要旨	
<p>公聴会で発表した内容と論文審査の結果に基づいて最終試験を行った。特に2つの種概念に対する申請者の考え方、認識の仕方、種分化と生物学的種との関係の理解の仕方、進化過程で種分化をどのように位置づけるか、生殖様式がなぜ種分化と関係するか、など本論文の核心部分に関連する議論を行い、充分とは行かないまでも、論文博士として評価できる必要条件是満たしていることを認めた。また、当然ながら論文審査で指摘した訂正内容を十分検討し revise すること、部分的に抜き出して単独の投稿論文にまとめ、できるだけ早い時期に投稿することを主査と副査一人に勧められた。以上の結果、審査員全員一致で、最終試験を合格と判定した。</p>	