学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 論理博第1461号

学位授与の日付 平成17年3月23日

学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当

学位論文題目 アロザイム多型マーカーを用いたシダ植物における種・集団レベルの解

析

(主 查) 論文調查委員 助教授 村 上 哲 明 助教授 永 益 英 敏 教 授 戸 部 博

論文内容の要旨

申請者の研究は、シダ植物においてアロザイム多型解析を用いて、種レベルの解析(第1章・第2章)および集団レベル での解析(第3章)を行ったものである。以下に、各章での研究方法、成果の要約を示す。

「第1章 アロザイム多型解析による日本産オオアカウキクサ類の分子分類」

形態が単純で種の実体が十分には明らかになっていないオオアカウキクサ(アカウキクサ科)についてアロザイム多型解析を用いて調べ、日本国内での遺伝的変異や隠蔽種の有無、さらに外来種の逸出について研究した。

日本に生育する73地点のオオアカウキクサ類(アカウキクサ属オオアカウキクサ節の種群)を 8 酵素種のアロザイム多型で解析し、6 つのアロザイム型(AW型、BW型、BZ型、TA型、TO型、YA型)を識別した。有機農法のために移入されている国際イネ研究所(IRRI)の系統と比較すると、BZ型は CA2008 系統($A.\ caroliniana$ Willd.)と、BW型は MI4087 系統(人工交配雑種)と同一のアロザイム・パターンを示しており、BZ型と BW型は外来系統が逸出したものと考えられる。また、YA型のアロザイム・パターンは $A.\ filiculoides$ Lam. のものに、AW型は $A.\ microphylla$ Kaulf. のものにきわめて近似しており、それぞれ、これらとの類縁性が示唆された。わずかに1遺伝子座の差異で近縁である TA型と TO型は、アロザイム・パターンの比較から豪州の $A.\ rubra$ R. Br. との類縁性が示された。

形態形質(球状体上の鈎状毛の隔壁)の点では、A. filiculoides と類似する YA型(隔壁はほとんどない)と TA型(先端部に多数の隔壁)は明瞭に区別できた。さらに TA型の鈎状毛は、等間隔に数枚の隔壁がみられた A. rubra の鈎状毛とも違いが認められた。国内の標本庫にある標本では、鈎状毛の性質の点で YA型に相当する標本は見つからなかった。TA型に相当する標本は1919年までさかのぼることができ、TA型(あるいは TO型)が真のオオアカウキクサ A. japonica Frach. et Sav. である可能性が高いと結論づけられた。

「第2章 推定種間雑種ドウリョウイノデにおけるアロザイム多型と葉緑体 DNA の塩基配列多型に基づく雑種形成の解析」 日本産のイノデ属(オシダ科)については、基本的な種分類はよく整理されており、種間の推定雑種も多く報告されており、しばしば多数の雑種個体が生育することが知られている。種特異マーカーとしてのアロザイム多型と母性遺伝マーカーである葉緑体 DNA 多型を併用して、推定雑種の両親種および雑種形成の方向性(どちらが母親でどちらが父親か)の解析を行った。

推定雑種ドウリョウイノデおよびその推定両親種であるイノデ、アイアスカイノデを含む4集団を調査した。外部形態と 胞子稔性の情報に基づいて種および雑種の同定を行い、ドウリョウイノデを含む4つの推定雑種を見出した。その4つの推 定雑種は、それぞれ、形態的な特徴から推定された両親種のもつ特異的なアロザイム多型マーカーを共有しており、推定両 親種が全ての雑種について正しかったことが支持された。

次に、複数の雑種個体が見つかったドウリョウイノデ、アイカタイノデ(アイアスカイノデ×カタイノデ)、ハコネイノデ(アイアスカイノデ×サイゴクイノデ)では、母性遺伝する葉緑体 DNA の多型解析により、両親種のいずれもが雑種の母親(卵親)となっていたことが示された。しかし、その比率は同等ではなく、ドウリョウイノデでは、4 集団いずれにお

いてもアイアスカイノデがイノデよりも高い頻度で母親となっており、雑種形成の方向は少なくともドウリョウイノデでは 均等ではないことが示された。

「第3章 アロザイム多型解析に基づくシダ植物の集団内遺伝構造の研究」

アロザイム多型を集団内の遺伝マーカーとして用いて、シダ植物種の集団内遺伝構造(集団内での特定の対立遺伝子の集中分布)についての研究を行った。

シダ植物では、直径数 mm 程度の1個体の配偶体(前葉体)上に近接して卵と精子が形成されるので、自殖が起こりやすいと考えられていた。その自殖率は、アロザイム多型を遺伝マーカーとして、ランダム交配からのずれを示す Wright (1969) の近交係数 F値により示されてきている。さまざまなシダ植物の種で推定された自殖率は0に近いものが大部分であったが、一部には自殖率が1に近いものや、イノモトソウのように中間的な自殖率(混合型交配)を示すものも報告されてきた。ただし、F値は近親交配(自殖)だけでなく、集団内の分集団構造の存在によっても高い値を示す。しかし、シダ植物の胞子はきわめて小型で散布されやすく明瞭な集団内遺伝構造があるはずがないと考えられ、これまで詳しく検証されたことがなかった。

第1節では、混合型交配と報告されていたイノモトソウ(イノモトソウ科)の集団について、集団内の全個体の遺伝子型の分布図をつくり、Moran の I を用いた空間的自己相関の解析により集団内遺伝構造の有無を調べた。その結果、イノモトソウでは集団内の遺伝子型の分布図から目視で容易に読み取れるほど明瞭な集団内遺伝構造が存在することがわかった。 さらに空間的自己相関解析により、イノモトソウの平均的なパッチは直径 $4\sim 9\,\mathrm{m}$ の大きさであると推定された。その範囲内ではイノモトソウはほぼ他殖していることも示された。ただし、イノモトソウは雑草性の四倍体のシダ植物としては特殊な種であり、それゆえにこのような結果が得られた懸念もあった。

そこで、第2節では、二倍体で、より自然度の高い環境である森林の林床に生育する複数のシダ植物種(シシガシラ、クマワラビ、オシダ)においても同様の解析を行った。その結果、3種の各2集団すべてでも明瞭な集団内遺伝構造がみられた。さらにその平均的なパッチの大きさは $1 \sim 15 \, \mathrm{m}$ であった。シダ植物では胞子による分散・移動が大きいと考えられるにも関わらず、複数のシダ植物種において、わずか $1 \sim 15 \, \mathrm{m}$ をパッチサイズとする集団内遺伝構造があるという結果が得られた。この結果からみると、少なくとも大多数の胞子は親の胞子体の近くに落ちて、そこから次世代の胞子体が形成されるというのがシダ植物において一般的である可能性が高いと結論づけられた。

論文審査の結果の要旨

シダ植物は、特にその胞子が小さく、火山島などに最初に侵入してくる植物でもあることから、その散布能力は高く、集団内遺伝構造などがあるとは誰も想像すらしていなかった。ところが本論文によって、シダ植物において集団内遺伝構造があることはかなり一般的な現象であり、大部分の胞子は親個体の側に落ちて次世代を形成していることが明確に示された。これは、今後、シダ植物における集団構造や適応進化の研究においても、新たな視点を与える重要な発見である。さらに、シダ植物にも絶滅危惧種に指定されているものは少なくないが、それらは集団内であっても移植などは慎重に行うべきであるという、保全政策を考える上でも新たな視点を提供している。また、アロザイム多型解析を活用して、日本産のオオアカウキクサ類に多数の隠蔽種が含まれていること、ならびに外国から農業目的で導入した品種が逸出していること、さらにはイノデ類の雑種形成の様式についても明らかにするなど、十分な研究成果を上げている。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、論文内容とそれに関連した事項について 試問を行った結果、合格と認めた。