

氏名	あお き きょう こ 青 木 京 子
学位の種類	博士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2802 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	シイ型照葉樹林の分子植物地理学的研究

論文調査委員 (主査) 村 上 哲 明 助教授 永 益 英 敏 教授 高 林 純 示

### 論 文 内 容 の 要 旨

植物の地理的分布は、現在の環境条件だけでなく、過去の環境や地史の影響も強く受けていると考えられている。本研究では、照葉樹林帯に属す種群のうちシイ林下に生育し、かつ現在の分布型が似ている複数の種について、DNAレベルの遺伝的変異の地理的分布パターンを比較することによって、照葉樹林の地理的分布の歴史の変遷を考察し、特に氷期のレフュジア（避難地）の位置に関して新たな知見を与えることを第一の課題とした。

まず、照葉樹林構成植物種41種について葉緑体DNAの種内変異のスクリーニングを行った。その結果、種内の遺伝的多様度の高かった照葉樹林構成植物種のうち、シイ林の構成種であり、かつ現在の分布型が似ている6種（バクチノキ、ハマミョウガ、コショウノキ、ホルトノキ、コバノカナワラビ、ホソバカナワラビ）について、日本およびその周辺地域（台湾、韓国の済州島）においてDNAレベルの種内変異の地理的分布パターンを調べた。その際、本研究で解析する葉緑体DNA領域の分子進化速度を推定した結果、 $1.2 \times 10^{-10}$ 塩基（インデルを含む）サイト・年となり、今回解析した領域（約4200bp）に1変異が生じるのに平均して約200万年かかると推定された。現在みられているハプロタイプの大部分は最終氷期（約1-2万年前）よりはるか前の第四紀初期（約200万年前）、あるいはそれ以前に生じ、それが現在まで維持されていたものである可能性が高いことが強く示唆された。

そこで、レフュジアとして重要であった地域をレア・ハプロタイプ（5%以下の低頻度のもの）が分布している地域、または、コモン・ハプロタイプ（頻度5%以上のもの）の数が多地域と仮定し、6種の植物種におけるハプロタイプの地理的分布パターンを比較した。その結果、最終氷期最盛期にシイ属等の花粉化石が出現する九州南部では、これらの数が多かったことから、この仮定の妥当性が支持された。さらに、これまで氷期におけるシイ属等の花粉化石がほとんど検出されていない地域についても、室戸半島にレア・ハプロタイプが複数みられ、紀伊半島で特にコモン・ハプロタイプの数が多かったことから、これらの地域のレフュジアとしての重要性が本研究によって示された。

本研究では、植物の葉緑体DNAと比べて約100倍速い分子進化速度をもつといわれている動物のミトコンドリアDNA多型情報を用いて、森林や植物の分布の歴史の変遷をより詳細に、より最近のものまで追跡することが可能かどうかを検討することを第二の課題とした。このような試みを始める予備段階として、照葉樹林の主要構成樹種であるシイ（コジイ、スタジイ）の実に特異的に産卵・種子食するシイシギゾウムシを材料に選んだ。その結果、シイシギゾウムシは、材料採集および、種同定の容易さのうえで植物地理学的研究に使える条件を満たしていることがわかった。また、シイシギゾウムシ種内のミトコンドリアDNAの変異量は、植物の葉緑体DNAの種内変異量よりもはるかに多く、さらに系統的に近いミトコンドリアDNAハプロタイプが地理的にもまとまって分布するパターンがみられた。このことから、シイシギゾウムシのミトコンドリアDNA多型はシイ型照葉樹林の分子植物地理学的研究へ充分利用できる可能性があることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本論文では、シイ型照葉樹林に生育する6つの植物種について、日本およびその周辺地域における葉緑体DNAの種内変異の地理的分布パターンを明らかにし、この6種に共通したパターンを探索することによって、日本本土における氷期中のレフュジア（避難地）地域を特定することを試みた。そして実際に、照葉樹林の氷期におけるレフュジアとして重要な地域（紀伊半島から室戸半島）を検出することに成功している。これまで、九州南部以外の地域においては氷期における花粉化石がほとんど検出されておらず、氷期中の照葉樹林のレフュジアについては、研究者によって意見が一致していなかった。本論文では、これまで花粉化石がほとんど検出されていない地域において、分子植物地理学の観点から、氷期のレフュジアとして重要であった可能性のある地域を提示した。

また、本論文では、6つの植物におけるハプロタイプの地理的分布を比較した際、レフュジアとして重要であった地域を、レア・ハプロタイプが分布している地域、または、ハプロタイプ数が多い地域と仮定している。これまで分子データを用いたレフュジアの探索法は確立されていたわけではない。本論文では、Petiti et al. (2003) により検証された、レフュジア地域にみられるハプロタイプの独自性の高さに加えて、ハプロタイプ数の多さもレフュジアの場所を特定するための有効な指標であることを明らかにした。日本に生育する植物種について、6種もの種におけるハプロタイプの地理的分布パターンを比較した研究は、これまで本研究以外にはない。今後、複数の植物種について葉緑体DNA多型の地理的分布パターンを明らかにしていく上で、本論文で示されたレフュジア地域の探索基準は適用可能であり、今後の植物地理学的研究にとって重要な指針が示されている。

本論文では、植物の葉緑体DNAより約100倍速い分子進化速度をもつ動物のミトコンドリアDNA多型情報を用いることによって、レフュジアからの最近（最終氷期以後）の分布拡大経路を詳細に追跡したいと考えている。動物のミトコンドリアDNA多型情報を用いて森林や植物の分布の歴史の変遷を追跡するという研究は、これまでほとんどなされておらず、独創的なものである。照葉樹林の主要構成樹種であるシイ類の実に特異的に産卵・種子食するシイシギゾウムシを解析材料に選んだ結果、シイシギゾウムシは、植物堅果の採集によって容易かつ多数採集でき、幼虫から抽出したDNAのみによって近縁種から識別でき、種内のミトコンドリアDNAの変異量はかなり多く、シイ型照葉樹林の分子植物地理学的研究へ充分利用できる可能性があることを示している。これまでの分子植物地理学的研究は、植物の葉緑体DNAの多型のみを用いていたため、取り出せる情報が非常に少なく限界もみられた。本論文で着想し、実際にその有効性が確かめられた、動物のミトコンドリアDNA多型情報を用いて森林や植物の分布の歴史の変遷を追跡するという手法は、他の植生帯の植物や森林についても適用可能であり、今後の植物地理学的研究を大きく発展させる重要な知見を与えている。

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。

論文内容とそれに関連した試問の結果、合格と認めた。