

氏名	やまねきょうこ 山根京子
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	農博第1313号
学位授与の日付	平成15年3月24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	農学研究科応用生物科学専攻
学位論文題目	Evolutionary processes of polyploidization and genetic differentiation in perennial buckwheat ( <i>Fagopyrum cymosum</i> Meisn.) revealed by molecular markers (シヤクチリソバ野生集団における倍数体成立と遺伝的分化の分子マーカーによる解明)
論文調査委員	(主査) 教授 大西近江 教授 遠藤 隆 教授 谷坂隆俊

### 論 文 内 容 の 要 旨

シヤクチリソバは栽培ソバ、ダツタンソバに近縁な野生種で、漢方薬として中国、タイ、ネパールなどで利用されている。シヤクチリソバには二倍体と四倍体が存在し、二倍体は中国雲南省と四川省を中心とした中国南西部と東チベットに、四倍体は南はタイ北部から西はインド西北部にかけての広い範囲の分布が確認されており、四倍体はソバ属で最も広い分布域を持っている。シヤクチリソバはソバ属の野生種の中では最もよく知られた種であるが、種内変異の研究はほとんどなかった。本論文では、ほぼ全ての分布域(チベットを含む中国、タイ、インド、ブータン、ネパール)から収集したシヤクチリソバの自然集団の種内変異を、形態形質の分散分析、アロザイム分析、葉緑体DNAおよび核DNA(アルコール脱水素酵素遺伝子, *Adh*)の塩基配列の比較分析を行った結果をまとめたものである。研究の中心課題は *Adh* の塩基配列の比較からシヤクチリソバの倍数性の進化と地域集団の地理的分化を明らかにすることである。

シヤクチリソバは他の虫媒他家受精種に比べて種内および集団内の多様性が極めて高いことがアロザイム変異、葉緑体DNAと *Adh* の塩基配列の変異の分析から明らかとなった。また、シヤクチリソバに近縁なダツタンソバを含めた地域集団間の系統解析から、ダツタンソバはシヤクチリソバのチベット地方の集団から種分化したことが示された。ダツタンソバの種内変異量は著しく小さく、シヤクチリソバはダツタンソバ育種における遺伝資源として大いに期待できることが明らかとなった。シヤクチリソバの種内には遺伝的にも地理的にも区別できる二つのグループが存在し、グループ間の遺伝的分化の程度は大きかった。この遺伝的分化は横断山脈をはさんだ東と西で起こっており、分子時計を用いて解析したところ、この遺伝的分化は今から約70~150万年前に起ったものであると推定された。この年代がチベット-ヒマラヤ地方の造山運動が活発化したとされる年代と一致したことから、シヤクチリソバの遺伝的分化はこの時期の地形的、あるいは気候的な変動が原因となったと考えられた。

シヤクチリソバの四倍体は細胞遺伝学的な観察や形態観察により、同質倍数体と考えられてきた。同質倍数体は減数分裂時に正常な対合が起こりにくく、特に種子繁殖をする植物では自然界では成立しにくいとされ、遺伝的な研究もまれである。そこで、四倍体シヤクチリソバの起原と進化過程を明らかにする目的で、シヤクチリソバの二倍体と四倍体の系統関係を、葉緑体DNAと *Adh* の塩基配列を用いて調べたところ、いずれの結果もシヤクチリソバの四倍体が二回以上、全く別の二倍体集団から生じていることが明らかとなった。*Adh* の塩基配列の比較分析の結果は、四倍体は遺伝的に分化した二倍体シヤクチリソバ間の交雑に由来する同質四倍体であり、倍数化は少なくとも三回異所的に生じていることを示していた。

遺伝的多様性に関しては、シヤクチリソバの四倍体は極めて高いアロザイム変異を保有していたが、これは四倍体の成立後の新たな変異の蓄積によるものではなかった。*Adh* の塩基多様度を二倍体と四倍体で比較したところ、さらに詳細な結果が得られた。(1)シヤクチリソバでは四倍体が別の二倍体から生じることにより、二倍体の遺伝子プールから四倍体へ遺伝的変異が供給されていた。(2)別々に生じた四倍体の間で遺伝子交流が起り、遺伝子座内組換えにより、全く新しい遺伝子型

が生じていた。

シャクチリソバの四倍体でみられた遺伝的変異は、遺伝子が重複した後に機能的制約が緩和されたことにより生じたと考えられる中立でないサイトでの変異ではなかった。すなわち、従来提唱されていた四倍体における多様性の獲得機構とは異なる機構で多様性が獲得されたと結論された。シャクチリソバの四倍体に変化に富む環境に適応し、生育地を広げてきた背景には、この高い遺伝的多様性が寄与したと考えられ、植物において倍数性が進化に重要な役割を果たしてきたというこれまでの説を裏付ける結果となった。近年、起原を調べる目的で研究されたほとんど全ての倍数体が多起原であるという報告があることから、シャクチリソバで明らかとなった多様性獲得機構は他の植物でも働いている可能性があると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

シャクチリソバは漢方薬の素材として日本にも導入されたがほとんど利用されることなく、現在では薬草園や植物園の標本として維持されているか、あるいは薬草園から逃げ出して野生化したものが分布している。しかし、最近の交配技術の発達によりシャクチリソバは栽培ダツタンソバとの交配が可能となり、ダツタンソバの育種材料として注目を集めつつある。本論文は中国南部からネパール、インドのヒマラヤ山岳地帯にいたるシャクチリソバの自生地から収集したシャクチリソバの自然集団について、形態とアロザイム変異の分析、葉緑体 DNA と *Adh* 遺伝子の塩基配列の分析を行い、シャクチリソバの種内、集団間変異を集団遺伝学的、分子系統分類学的に解析して、四倍体シャクチリソバの成立過程と地理的分化の過程を明らかにした研究をまとめたものであり、評価すべき点は次の通りである。

1. シャクチリソバは調査した全ての項目について他の虫媒他殖性植物よりも集団内、集団間の多様性が高いことを示した。この多様性は一方では四倍体シャクチリソバの多起原に由来するものであり、他方ではヒマラヤ造山活動にともなう地理的気候的分断によって生じた地理的分化に由来するものであることを指摘した。しばしば指摘される雲南省など中国西南部における作物、近縁野生種の多様性について、具体的な例を与えた点が顕著な貢献である。

2. シャクチリソバに極めて近縁であるダツタンソバはシャクチリソバの東チベット集団から種分化したことをアロザイム、葉緑体 DNA、*Adh* 遺伝子に関する系統類縁関係の分析結果から結論した。

3. 同質四倍体である四倍体シャクチリソバの成立過程を *Adh* 遺伝子の塩基配列から解析し、二倍体の異なる 3 タイプ L, L', S の種々の組合せで四倍体が成立していることを示した。そして、四倍体シャクチリソバは異所的に少なくとも 3 回以上生じていることを示した。同質倍数性植物の多起原を分子マーカーを用いて証明した点が植物系統分類学への貴重な貢献である。

4. *Adh* から分類した L, L', S の 3 つのタイプ内およびタイプ間での塩基多様度を比較分析し、四倍体シャクチリソバの多様性獲得の機構を推察した。倍数体の多様性獲得の機構としてこれまで重要視されていたのは倍数体成立後の遺伝子重複による機能的制約の緩和にともなう中立でないサイトでの変異の蓄積である。四倍体シャクチリソバの多様性は、遺伝的に分化した二倍体から多起原によってより多くの変異の供給を受けること、成立した四倍体間に遺伝子交流があり、その結果異なるタイプ間で遺伝子座内組換えが起り新しいタイプが生じること、などによって高い変異性を維持していることを示した。同質四倍体植物の変異の獲得機構として多起原に基づく新しい機構の例を提示したことは、倍数性植物の多くが多起原であるという最近の研究結果とあいまって植物遺伝進化学にとって非常に重要な貢献である。

以上のように、本論文はシャクチリソバ自然集団の集団遺伝学的、分子系統分類学的解析を通して、シャクチリソバ倍数体の成立と地理的分化の過程を明らかにしたものであり、集団遺伝学、系統分類学、植物遺伝学、植物育種学並びに栽培植物起原学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお平成15年1月14日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。