

(続紙 1)

京都大学	博士 (人間・環境学)	氏名	高橋 大樹
論文題目	Evolutionary history and mechanisms for generating floral morphological diversity of <i>Asarum</i> (Aristolochiaceae) in East Asia (東アジアにおけるウマノスズクサ科カンアオイ属の進化史とその花形態の多様化機構)		
(論文内容の要旨)			
<p>日華植物区系は地球上における温帯性植物種の多様性が最も高い地域の一つである。とくに中国の雲南省と四川省から中国南部、台湾、琉球列島を経て本州に至る回廊の地域には近縁種が多様化を起こした事例が多くある。その要因としては、中新世以降の気候変動や地形の複雑化によって引き起こされた地理的隔離が主因として考えられてきた。一方で生物的要因、特に花形態の多様化や訪花昆虫との相互作用も植物の多様化に重要な役割を果たすが、日華植物区系では生物的要因が温帯性植物の多様化に寄与したかについては知見が少ない。ウマノスズクサ科カンアオイ属カンアオイ節は上述の回廊地域に約90種が分布する多年生草本で、種子の散布能力が低いために地理的隔離の影響を受けやすく、花サイズや花色、開花期等の花形質が多様化している特徴がある。本論文はこのような背景のもとで、著しい多様性を示すカンアオイ節に着目し、地理的隔離と生物的要因が温帯性植物の多様化に与えた影響を解明することを目的としている。</p> <p>本論文は5章構成となっている。第1章では系統解析によって研究対象とするカンアオイ節が単系統群であることを明らかにした。第2章ではさらに大量のDNA多型に基づく種間の系統解析を行い、カンアオイ節の多様化過程を考察した。第3章以降では、カンアオイ節のなかで萼裂片長に顕著な地理的勾配があるサカワサイシン列の3種1変種を対象にしており、まず第3章ではDNA情報に基づいて列内の進化史を推定した。第4章ではこの萼裂片長の形成要因が自然選択に因ることを形態分化と遺伝的分化度の比較から検証した。第5章では萼裂片長が最も異なる2種の繁殖生態の比較を行って、萼裂片長の意義を推定した。そして総合考察で仮説の検証と今後の課題について論じた。</p> <p>第1章では、研究対象であるカンアオイ節が共通祖先に由来することを検証した。カンアオイ属の5節44種についてITS領域531 bpと葉緑体DNAの <i>matK</i>1,474 bpの塩基配列に基づき系統解析を行った。そしてカンアオイ節が単系統群であることを確認した。</p> <p>第2章では、中国から日本列島までの分布域を網羅するカンアオイ節79種を対象にして、葉緑体DNA26,786 bp、ならびに1,348,526 bpのゲノム塩基配列を用いた系統解析を</p>			

行った。その結果、約 960 万年前の中新世に 3 つの地域系統（中国大陸と琉球・台湾、日本列島）が形成され、更新世後期の気候変動期に地域系統内の種分化が起きたことが示唆された。また、日本列島や琉球列島、中国本土にて、開花時期や花の大型化などが急速に進化している群が系統樹上で複数あることが認められた。また、多くの単系統群において分布域が異なる事例が多く存在することから、種の多様性形成には異所的種分化が貢献していることが示唆された。

第3章では花形質の進化要因の一例を検証するため、サカワサイシン列の4分類群：3種1変種を研究対象にした。この4分類群は四国の室戸半島から足摺岬、さらに宮崎県にかけての範囲に隔離分布しており、西に分布する分類群ほど萼裂片長が長いことが知られている。33集団264個体のDNAを用いたマイクロサテライト解析を行い、要約統計量を用いたABC解析によって過去における集団動態を解析した。その結果、現在は西端に分布する萼裂片が最長の種と東端にある最短の種が約40万年前に分岐した後に、約7.6万年前の氷期に交雑を起こして四国中央部に生育する中間長の種が形成され、さらに約1.9万年前の最終氷期にこの中間長の種と最長の種が交雑を起こして、やや長めの萼裂片長の変種が形成されたことが推定された。

第4章では3章で得られた4分類群間の遺伝的分化指数 (F_{ST}) と、16集団433花で計測した花形態の形質の分化指数 (Q_{CT}) を比較して、花の形態形質に自然選択が作用したかを検証した。その結果、サカワサイシン列における花形態では Q_{CT} が有意に大きく、自然選択によって花形態の違いが形成・維持されている可能性が示唆された。

第5章では、サカワサイシン列で萼裂片長が約12 cmで最長の種と、最短（約1.5cm）の種の繁殖生態の比較を定点にて3年間行った。その結果、萼裂片の長い分類群の花では双翅目昆虫の訪花頻度が高く、形成種子のDNA解析からは他殖率が高い（84～90%）傾向があった。一方で萼裂片長が最短の種では地上徘徊性のヨコエビやワラジムシなどが捕獲され、他殖率が低下して（約67%）自殖率が上がる傾向があった。著しく伸長した萼裂片の意義は不明なままであるが、双翅目昆虫を誘引し、他家受粉を増進させるために進化した可能性があるかと推測した。

以上の研究結果から、日華植物区系におけるカンアオイ節の多様性形成には、第四紀における気候変動に伴う分布域の変動がもたらした異所的種分化が寄与したこと、ならびにサカワサイシン列を事例にして検討されたように花形態の多様化が訪花昆虫相の違いをもたらしたことの両方の可能性があることが示唆された。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

日本列島の植物種には、中国や更に西部のヒマラヤ温帯域に同種あるいは近縁種が分布するものが多い。この地域は日華植物区系と呼称され、温帯性植物の種多様性が顕著に高いことに特徴があり、近年の生物多様性保護に対する世界的関心の高まりとともに研究が活発に行われるようになった。とくに近年における次世代シーケンサーによるゲノム解読技術の飛躍的向上と、大量データを扱う解析理論の技術が進歩したことによって、区系全域にわたる集団動態を詳細に解析することが可能になってきた。本論文もこのような技術的、理論的な発展を基にして、日華植物区系の植物の多様性形成過程を高精度に調べたものである。また、従来に行われた研究では、中国本土に多数の種が分布している一方で、東アジア辺縁部にある日本列島から台湾にかけての島嶼には少数種が分布する事例、あるいは同一種が広域に分布する事例の研究が中心であった。しかし本研究で扱ったカンアオイ属カンアオイ節は、全90種のうち65種ほどが日本の本州から琉球列島を経て台湾に至る島嶼部に集中していることにおいて異なっている。また、この地域に分布する種の花形態には顕著な多様性があることも特徴的である。島嶼でカンアオイ節が種多様性を形成することができたことについては、いまだ詳細な理解に至っていない。本研究はこのような背景のもとで、分布域全体を網羅してサンプリングを自ら行い、これまで情報がなかった中国雲南省や四川省から中国本土東部にいたるまでの種も加えて研究対象にしている。これによって、大陸部と島嶼部における種分化過程の比較が可能になっている。特に種多様性形成過程の要因として、異所的種分化だけに因らずに、萼裂片長の顕著な相違に基づく花形態進化がもたらした影響を調べた試みは、本研究の独創性の一端である。

第1章と第2章は系統解析の内容である。研究を開始するにあたりカンアオイ節が共通祖先に由来する単系統群であることは未知であったため、まず単系統群であることを検証したうえで、ddRAD-seqによるゲノム解析によって、大量の一塩基多型情報を得て、中国本土を含めた分布全域における種分化過程の議論が可能になった。ここで最初に「中国大陸、琉球と台湾、日本列島」の3つの地域系統に分岐した年代が約960万年前の中新世であることは先行研究と比べて最も古く、気候の寒冷化に伴う陸橋の形成やヒマラヤ山脈の隆起に伴う東アジアの乾燥化と植生帯の移動などが起きた時期と符合することは新規性のある知見である。また、3つの地域系統で共通している結果として、現生種の多くは更新世の後期から末期の最終氷期にかけての時期に分岐していることから、ここでも気候変動に伴う分布域変遷が大きく影響している可能性が示唆されたことは重要な知見である。

第3章以降の研究では、日本の四国から九州の宮崎にかけて、かつて氷期には連続した陸地になっていた地域に分布するサカワサイシン列の4分類群に焦点をあてている。この分類群において「東から西に向けて萼裂片長が伸びる」現象は昭和50年代に

指摘されたことであるが、計測データなどが未発表のままであった。本研究では分布域全体で多数の花形態を計測して、萼裂片長の地理的勾配が確かに存在することを検証したうえで、DNA情報による集団動態解析を行っている。ここで得られた2回交雑モデルが高い事後確率で支持されたことは、最終氷期最寒冷期に分布域が重なっていた知見、ならびに葉緑体DNAに交雑の痕跡が残されていたことと符合していた。このように、更新世の気候変動が各分類群の分布を変えて交雑の機会を与え、交雑によって新たな種が形成されたことは、島嶼部におけるカンアオイ節の種多様性形成の1つのパターンを示している。また、遺伝的分化指数と花形態の分化指数を比較することによって、花形態の分化に対して自然選択が作用したことは、論理的には正しいものである。ただし、自然選択の内容が訪花昆虫相の違いであることを暗示しながらも、第5章のなかで訪花昆虫相の関与を確定するには残念ながら至らなかった。この課題は長期的な継続観察が必要であるために、今後の継続課題としてさらなる研究が望まれる。

本論文の研究成果は、地球上で温帯性植物の種多様性が最も高い日華植物区系における植物の分布域形成の過程を推定するとともに、琉球列島から本州に至る日本列島の島嶼部で顕著な種多様性を形成した事例において、第四紀後期における気候変動と分布域変遷に伴う交雑が関与したことをゲノムレベルでのDNA解析によって解明した初めての知見である。また、系統樹上で特定の枝において花形態や開花期の多様化が顕著に起きていることを示しており、自然選択が強く作用したことを示唆したことは、植物の種多様性形成過程の一面を説明するものとして高く評価できる。

このように本研究は、大量の塩基多型情報に基づいた系統地理学や集団動態、3年間に渡って定点調査で調べた訪花昆虫相調査、形態測定などの様々な手法を駆使した緻密なデータをもとにして、典型的な日華植物区系要素であるカンアオイ節植物における種多様性形成過程について重要な知見を与えるものである。また、第四紀における気候変動が分布域変動をもたらして時には交雑を起こし、花形態の多様化を生み出して種多様性の形成に貢献した可能性を示唆するものである。これらの成果の多くは、国際誌に掲載されているか、現在審査中である。本学位論文は、地球規模での環境変動と自然環境の動的関わりを探究する関連環境学専攻 自然環境動態論講座にふさわしい内容を備えたものと言える。

よって、本論文は博士（人間・環境学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和3年1月13日、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。なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 令和 年 月 日以降