

(続紙 1)

京都大学	博士 (人間・環境学)	氏名	孫田 佳奈
論文題目	Genetic and ecophysiological consequences of habitat diversification in <i>Saxifraga fortunei</i> (Saxifragaceae) [ダイモンジソウ (ユキノシタ科) においてハビタット多様化がもたらす遺伝的および生理生態的影響]		
(論文内容の要旨)			
<p>植物は周囲の環境に応じて多様な表現型を示す。表現型の進化は主に生育環境の差異に起因する自然選択によってもたらされ、その結果として種内に複数の生態型を生じることがある。ユキノシタ科のダイモンジソウは東アジアに広域分布する多年生草本で、主に林床の湿った岩場に生育する。しかし日本列島においては草原・高山帯・溪流沿い等の多様な環境にも生育しており、このようなハビタットにおいては葉の形態や植物体の大きさ等が異なる生態型が存在して、亜種や変種、品種のレベルで認識されてきた。そこで本論文では、各生態型の系統進化パターンとハビタットの環境への適応機構を明らかにすることで、ダイモンジソウの多様な表現型の進化過程を解明することを目的とした。</p> <p>本論文は3章構成となっている。第1章では系統解析および集団遺伝解析により東アジアにおける系統進化史および日本列島における各生態型の系統的起源を推定した。第2章では同一河川内において川岸の岩場と滝の壁面にすみ分けているダイモンジソウと姉妹種のエチゼンダイモンジソウの遺伝的および生態的な特性が、ハビタットの空間的連続性に与える影響を推定した。第3章では、ダイモンジソウの多様な生育環境を特徴づける環境要因のうち光環境に着目して、異なる光の強さへの適応機構を解明した。そして最後の総合考察でダイモンジソウが日本国内でハビタットと生態型の多様化を起こした歴史的過程と原因について考察して、今後の課題について論じている。</p> <p>第1章では、核 ITS および葉緑体 DNA の塩基配列 (合計 2,676 bp) を用いたユキノシタ節全体の系統解析を行い、また ddRAD-seq 法で得られたゲノムワイド SNP を用いてダイモンジソウの日本列島内の遺伝構造を調べた。その結果、ダイモンジソウにはユーラシア大陸と日本列島の2つの系統があり、それらの分岐は古く (約 704 万年前)、遺伝的分化が大きかったことから、両集団は地理的障壁によって長く隔離されていたことが示唆された。また、日本列島内には約 366 万年前に南北の地域系統があった。特に南系統内ではおおよそ北から南への段階的な分岐があり、南に行くほど遺伝的多様性が低くなったことから、南日本の祖先集団は更新世以降に北から南へ分布拡大したことが推察された。そ</p>			

して、ダイモンジソウ種内の多様な生態型は南日本系統の末端に位置していた。高山型および溪流型の遺伝的なまとまりは支持されず、祖先形質復元ではそれぞれ複数回起源したことが示唆された。このように日本列島における多様な生態型は局所的な自然選択によって平行進化した可能性が示唆された。

第2章では、ダイモンジソウとその姉妹種であるエチゼンダイモンジソウを対象に、集団の空間配置の違いが生じる遺伝的影響を検証した。両種は福井県と石川県の2つの河川の上流部に同所的に生育しているが、河川内においてはそれぞれハビタットが異なり、ダイモンジソウは河川沿いの湿った岩の上に連続的に分布するのに対し、エチゼンダイモンジソウは滝の壁面に生育するために滝ごとに集団が隔離される。葉緑体DNAのハプロタイプとMIG-seq法で得られたゲノムワイドSNPを用いて集団遺伝解析を行った結果、ダイモンジソウは河川内において明瞭な遺伝構造がない一方で、エチゼンダイモンジソウはわずか1 km未満の範囲の小さな空間スケールにおいて明瞭な遺伝構造があった。特に、同一河川内では滝の集団ごとに異なる葉緑体ハプロタイプが優占しており、また葉緑体DNAとゲノムワイドSNPともに地理的距離による遺伝的隔離があることが示唆された。これはエチゼンダイモンジソウのハビタットが滝ごとに空間的隔離されることで種子と花粉の流動が妨げられることによって生じたことが考察された。このように、ハビタットの違いは遺伝子流動のパターンを変えて、空間遺伝構造の違いをもたらすと考察された。

第3章では、ほぼ隣接する距離にある同祖集団でありながら、強光下に生育する明所型と暗い林床で生育する暗所型の2つの生態型に着目し、葉形質と光合成速度の比較を行った。2つの生態型を異なる光環境下で栽培して、表現型における不可逆的な遺伝要因と可塑性のある環境要因に区別した。その結果、明所型は暗所で生育しても柵状組織が発達して細胞配列が密になり、高い光合成速度を示した。一方で暗所型は強光耐性実験において常に光阻害の程度が大きく、短期的な（4時間）強光照射による葉の光阻害の程度と、長期的（30日間）な強光下栽培における葉の枯死率がともに高くなった。このように、強光への適応が遺伝的な支配を受けているために、明所型と暗所型の間では不可逆的な生態型の分化が生じていた。

以上の研究結果から、ダイモンジソウは日本列島における南方への分布拡大の過程において、集団動態および自然選択の影響を受けて多様な表現型を獲得したこと、光環境は表現型の分化をもたらす選択圧の一つであったことが示唆された。また、表現型が異なれば生態系内でのすみ分けが可能になっていることと、ハビタットの空間配置によって遺伝子流動パターンの違いを生じていることが推察された。

(論文審査の結果の要旨)

日本列島の植物にはユーラシア大陸、とくに東アジアに起源をもち、これが日本列島に移入したのちに多様化したものが多い。大陸と日本で同じ植物種であっても、大陸では単一の生育環境に限られて単型化しているものが、日本列島においては様々な生育環境に進出して、外部形態や機能を変化させながら亜種や変種のレベルで多様化を起している事例が多くある。その理由としては、日本列島が比較的狭小な面積の島嶼であるために、植物が生育する環境が大陸と異なり、多様な環境や地形に生育することを余儀なくされたことが挙げられる。例えば河川は距離が短くて急勾配であるために頻繁に増水を起こし、川岸に生育する植物は葉形態を流線型にするなどの適応が起こる。本研究ではこのように日本列島において生育環境と外部形態が顕著な多様化を起しているダイモンジソウを対象にして、ユーラシア大陸の母種が日本列島に移入したのちに、様々な生育環境に適応した生態型に進化した過程を系統解析で明らかにしたものである。また、生育環境が異なる生態型の違いが、集団内と集団間における遺伝子流動に及ぼす影響を明らかにするとともに、生態型の間で遺伝的に固定した不可逆的な形態や生理特性があるために生態型が分化し、維持されていることを検証している。

第1章は系統解析の研究である。研究を始めるにあたって、5変種1品種に分類される日本のダイモンジソウが単系統群であることは検証されていなかった。そこで葉緑体と核ゲノムの塩基配列を解析して、日本のダイモンジソウはユーラシア大陸のものから約704万年前に分岐した単系統群であることを明らかにした。さらに日本列島内には約366万年前に分岐した南北の地域系統があることを見出した。この南北系統があることは新知見であり、現在の分布境界は新潟県北部から福島県北部にかけての緯度を境にしたものであった。さらに詳細な系統解析を行うために、5変種1品種を含む61地点から採取した試料を用いて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系統解析を行っている。その結果、様々な生育地に対応した5変種1品種の種内分類群はすべて南の系統に含まれ、平行進化の結果として現れたものであることが示唆された。南系統内では北から南への段階的な分岐があり、しかも南の集団ほど遺伝的多様性が低くなったことから、南日本の祖先集団は更新世以降に北から南へ分布拡大したことが推察された。種内の多様な生態型は遺伝的にはまとまらず、複数回起源であることがわかった。この知見は、溪流帯や高山帯などの生育環境が強い選択圧として植物に作用し、局所的な自然選択による平行進化が生じたことを示唆している。

第2章では、生育環境の違いが植物の集団遺伝構造や遺伝子流動に大きな違いをもたらすことを検証している。同一河川内に生育するダイモンジソウとエチゼンダイモンジソウは共

通祖先に由来する姉妹種であるが、前者は川岸の岩上に、後者は滝の壁面にすみ分けをしている。両種の集団遺伝解析を行った結果、ダイモンジソウには遺伝構造がない一方で、エチゼンダイモンジソウはわずか1 km未満の生育範囲において滝ごとに明瞭な遺伝構造があった。このことは、植物が生育地環境の選好性を高くするほど遺伝子流動が妨げられて、空間遺伝構造が形成されやすいこと、各小集団が孤立しやすいことを示唆している。生態型が特殊化することは集団の孤立を促して、さらにその特殊性を維持することにつながっており、生態型が維持されるしくみを説明している意義がある。

第3章では、ほぼ隣接する距離にある同祖集団でありながら、強光下に生育する明所型と暗い林床で生育する暗所型の2つの生態型に着目し、葉形質と光合成速度の比較を行った。一般に植物の葉は光環境に対して可塑性があり、同一個体内でも陽葉と陰葉が形成されることが知られている。しかしダイモンジソウの北系統は、祖先形質として暗い林床に生育する性質を維持しており、草原の明所に生育できる生態型は特殊化した派生型であると評価される。本研究では、生育環境が変わっても表現型において不可逆的に維持される葉内構造や光合成特性があることが示されており、とくに暗所型が明所に移入することを困難にしていることが明らかになった。このように、光環境の違いという一般的な環境要因であっても、ダイモンジソウの明所型と暗所型の間では遺伝要因が、不可逆的な生態型の分化と維持に関わっていることが明らかになった。

このように本研究は、多くの塩基多型情報に基づいた系統地理学や集団動態の解析、生育環境の違いに基づいた集団遺伝構造と遺伝子流動パターンの比較解析、葉内構造と光合成量の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、日本列島のなかで多様化を遂げたダイモンジソウとその姉妹種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、新たな環境の生育地に進出しながら葉形態の多様化を生み出して、葉形態に基づく種内の多様性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。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相関環境学専攻 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4年1月26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