

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理学 )	氏名	小林 千浩
論文題目	Phylogeny and divergence time estimation of Piperales (コショウ目の系統と分岐年代推定)		
(論文内容の要旨)			
<p>被子植物の進化の初期に分化した被子植物の総称を基部被子植物といい、多くの形態的に原始的な特徴を有していることで知られる。コショウ目は基部被子植物の一群であるモクレン類に含まれ、熱帯域を中心に世界に広く分布している。コショウ目は生態的・形態的に極めて多様で、熱帯多雨林、温帯林、湿地、乾燥地など様々な環境に生育し、木本・つる植物・草本・寄生植物を含む (Tsengら (1999)、Wankeら (2007)、Frenzkeら (2015))。コショウ目にはサダソウ属 (約1600種)、コショウ属 (1000-2000種)、ウマノスズクサ属 (約600種) という多数の種を含む巨大な3属が含まれるが、特に前2属の分類が混乱している上、これら3属がこれほど多くの種に多様化した過程は不明である。</p> <p>コショウ目の分類を整理し、その起源や多様化・分布拡大の過程を解明するには、信頼性の高い分子系統樹や分岐年代推定が不可欠である。コショウ目やコショウ目内の特定の分類群に焦点を当てた研究の多くでは、属間や亜属間の系統関係は高い解像度で解明されているが、種レベルの系統関係、特にコショウ属やサダソウ属の内部の系統関係については不明瞭な点が多い (Frenzkeら (2015)、Jaramilloら (2008)、Martinezら (2015)、Samainら (2009)、Smithら (2008)、Wankeら (2006)、Wankeら (2007))。Limら (2019)はサダソウ属について高解像度の系統樹を得ているが、アジアの大陸に産する種は解析に含まれていない。また、コショウ目の分岐年代推定については、Smithら (2008)、Martinezら (2015)、Limら (2019)が解析を行っているが、コショウ目の化石記録は少なく、最も多くの化石データを使用しているLimら (2019)でも化石数は11に留まるという問題があった。</p> <p>本研究では、コショウ目の起源や分布拡大の過程を解明して、本目の多様性の理解と分類の整理を進めるため、(1) 多くの化石情報を用いて信頼性の高い分岐年代推定を行い、コショウ目の大半を占める3つの属がどのように分布を拡大したかを推定すること、(2) 巨大な3属の一つであるサダソウ属、特に最大の亜属の<i>Micropiper</i>亜属 (約700種を含む) について、葉緑体DNAに基づく詳細な分子系統樹を構築して種レベルの系統関係を解明した上で、亜属内の多様性を階層的に示すため亜属内分類群を認識すること、(3) <i>Micropiper</i>亜属の核ITS領域に基づく分子系統樹を構築し、葉緑体領域に基づく分子系統樹による系統関係と亜属</p>			

内分類群の認識を検証することの3つを目的とした。

コショウ目の分岐年代推定では、モクレン類179種の葉緑体 *atpB-rbcL*、*rps16*、*rpl16*、*trnK*、*trnL-F* 領域の配列（36種の配列を決定、143種はGenBankから引用）と化石データ44個に基づき、fossilized birth-death modelを使用して分岐年代推定を行った。モクレン類全体の分岐年代推定をfossilized birth-death modelに基づいて行ったのは、本研究が初めてである。

サダソウ属 *Micropiper* 亜属の葉緑体領域に基づく系統推定では、サダソウ属24種36個体の葉緑体 *atpB-rbcL*、*psbK-I*、*rpl16*、*rps16*、*trnG*、*trnK*、*trnL-F*、*trnS-G* 領域の配列を決定した。これに加えて53種の配列をGenBankから引用して最尤法とベイズ法で分子系統樹を構築した。また、葉序、葉の二型性など8つの形態形質を調査した。これに加えて、14種15個体の染色体数を観察した。これらの結果に基づいて *Micropiper* 亜属の内部に節相当の分類群を提案した。

サダソウ属 *Micropiper* 亜属の核ITS領域の解析では、サダソウ属16種30個体の核ITS領域の配列を決定した。これに加えてGenBankから137個体の配列を引用し、最尤法で分子系統樹を構築した。核ITS領域に基づく系統樹と葉緑体領域に基づく系統樹を比較し、*Micropiper* 亜属内の分類群の妥当性を検証した。

分岐年代推定では、先行研究と比較して古い推定年代となり、特にドクダミ科やコショウ科では著しく古い年代が推定された。本研究の系統関係から、ウマノスズクサ属は新旧大陸間を頻繁に移動した一方で、コショウ属・サダソウ属の移動は稀な現象と考えられた。サダソウ属の移動は、先行研究と同様に長距離分散であると考えられたが、コショウ属については、ベーリング地峡が暖温帯であった年代に移動したと推定されたことや、アラスカから化石が発見されていることから、ベーリング地峡の陸橋経由で移動した可能性が新たに示唆された。小笠原諸島の母島に固有の絶滅危惧植物であるタイヨウフウトウカズラは、南米に分布する *Piper umbellatum* と同種とされることがあったが、本研究で得られた系統樹上の位置は大きく異なっていたことから、これらの2種は別種であることが示された。

サダソウ属 *Micropiper* 亜属の葉緑体領域に基づく系統解析では、*Micropiper* 亜属内に7つのクレードが認識された。これらは形態形質、分布、倍数性でもそのまとまりが裏付けられ、節相当の分類群と考えられた。これらをAlatoid、Blandoid、Glabelloid、Glaucoid、japonicoid、Lanceolatoid、Rotundifoliodとして提案した。一方で、数種については、形態と系統樹上の位置の齟齬からどの分類群にも含まれなかった。本研究で得られた系統関係に基づき、これまで分類上の扱いが定まらなかったオキナワスナゴショウをサダソウの変種とした。

*Micropiper* 亜属の核ITS領域に基づく系統樹を葉緑体領域に基づく系統樹と比

較した結果、節相当分類群に関わる不一致が2つ確認された。不一致に関わる枝長から、これらの要因は交雑であると推定された。節相当分類群の単系統性は核ITS領域に基づく系統樹でもBlandoidを除いて維持された。また、Blandoidについても、交雑由来種と考えられた *Peperomia blanda* を除くと分類群として認識可能であることが判明した。葉緑体領域の解析では扱いが定まらなかった種のうち、*P. bicolor* と *P. tuisana* は解析領域による系統関係の不一致や系統樹の枝長から交雑由来種と推定された。以上のことから、*Micropiper* 亜属内に7つの節相当分類群を認識することが妥当であると考えられた。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

被子植物の進化の初期に分化した被子植物の総称を基部被子植物といい、形態的に原始的な特徴を多く有していることで知られている。本論文は、その基部被子植物に含まれるコショウ目の系統分類と分布拡大の歴史の一端を、形態形質、葉緑体DNA、核DNAの観点から研究したものであり、大きな意義がある。

本論文では、コショウ目の起源や分布拡大の過程を解明して、本目の多様性の理解と分類の整理を進めるため、まず、多くの化石情報を用いて信頼性の高い分岐年代推定を行い、コショウ目の大半を占めるウマノスズクサ属、コショウ属、サダソウ属がどのように分布を拡大したかを推定した。その結果、コショウ目は白亜紀初期に起源し、コショウ目の種数の大半を占めるサダソウ属、コショウ属、ウマノスズクサ属は白亜紀末期から古第三紀暁新世に起源したと推定できた。また、ウマノスズクサ属は頻繁に新旧両大陸間を移動している一方、サダソウ属とコショウ属の新大陸から旧大陸への移動はごく稀と推定できた。さらに、サダソウ属の大陸間移動は中新世後期以降の寒冷期と推定できるため、移動は鳥による長距離散布と考えられた。一方、コショウ属の大陸間移動は中新世初期以前の温暖期と推定でき、アラスカから化石も産出していることから、ベーリングア経由の陸伝いの移動の可能性が示唆された。

また、サダソウ属最大の亜属で約700種を有する*Micropiper*亜属について、亜属内の多様性の理解を深めるため、亜属と種の間のカテゴリ認識を試みた。その結果、*Micropiper*亜属の中に、7つの節相当の植物群を認めることに成功した。また、この亜属の進化に雑種形成が関与したこと、節相当植物群間の雑種起源種が存在して、それらはどの節相当植物群にも含まれないことを見出した。このコショウ目の起源と分布拡大の歴史の推定とサダソウ属*Micropiper*亜属の新しい節相当植物群の認識は、ともに基部被子植物の1つであるコショウ目の系統分類に大きく貢献しており、高く評価できる。

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、令和4年3月30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。

要旨公表可能日： 年 月 日以降