

氏 名 くら た かおる こ
倉 田 薫 子
学位(専攻分野) 博 士 (人間・環境学)
学 位 記 番 号 人 博 第 319 号
学位授与の日付 平成 18 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 人 間 ・ 環 境 学 研 究 科 相 関 環 境 学 専 攻
学位論文題目 ニューカレドニアにおける *Nepenthes vieillardii* Hook. f.
(Nepenthaceae) の種内分化

論文調査委員 (主 査)
教 授 松井正文 教 授 加藤 眞 助教授 瀬戸口浩彰 助教授 市岡孝朗

論 文 内 容 の 要 旨

ウツボカズラ科の植物は、葉と葉柄が変化した捕虫囊という水さし状の構造を持ち、昆虫を誘引してそこで溺れさせ、消化し、そこから栄養塩類等を得る食虫植物である。この捕虫という性質は、蛇紋岩地帯のような、土壌が貧栄養な場所での生育を可能にしている。本論文は、ニューカレドニアの蛇紋岩土壌に限って分布するウツボカズラの1種 *Nepenthes vieillardii* について、形態学および分子生物学的手法を用いて、集団間および集団内の形態・遺伝的変異を解析し、さらにそれぞれの集団の生育地の土壌条件とそれへの植物の適応を分析し、蛇紋岩地帯での集団分化過程を考察したものである。

ニューカレドニアはゴンドワナ大陸由来の大陸島で、蛇紋岩が島の面積の約三分の一を覆っている。*Nepenthes vieillardii* はこの蛇紋岩由来の土壌に生育する形態変異の大きな種であるが、捕虫囊の形態のみに着目したこれまでの分類学的研究では、その変異の実態に迫るには至らなかった。これまで見過ごされていた花や果実の形態にも着目し、遺伝子の塩基配列情報をも分析に加えることで、この種の集団分化をより詳細に考察できるであろうことを第1章で議論した。

第2章では、5地域16集団から採集された本種の標本を対象にして、捕虫囊、花、果実の形態を計測し、その変異を多変量解析した。その結果、これらの形質の変異は、集団内で小さく、集団間で大きいことが明らかとなった。また各集団の生育環境を林縁、水辺、灌木林、荒廃地の4種類に分類して、これらの形質との関係を調べたところ、いくつかの形質と生育環境の間に有意な相関が認められた。

第3章では、遺伝的変異の集団分化を検出するため、葉緑体 DNA ハプロタイプ解析を行なった。まず本種の単系統性を検討した結果、5地域16集団から採集した294個体の全てが、共通祖先に由来する単系統群であることが明らかになった。調べた約4660bpの塩基配列のうち17サイトで多型が見つかり、17種類のハプロタイプが識別された。この中には、島のほぼ全域にわたって分布する広域共有ハプロタイプのほかに、特定の地域に固有、あるいは特定の集団に固有なハプロタイプも数多く認められた。集団内の遺伝的多様度は、島の東部海岸地域で高く、蛇紋岩土壌が広域に広がる南部平原地域で低かった。ハプロタイプ変異の分子分散分析の結果、集団固定指数が高く、集団間分化が進行しており、隣接する集団間でも遺伝子流動はほとんどないことが示唆された。17種類のハプロタイプの系統樹を構築したところ、相互に非常に長いステップ数を持っていたことから、過去に葉緑体 DNA 変異を蓄積した後に集団の分断が起こったと考察された。

形態的にも、遺伝的にも、高い集団間分化が観察されたため、第4章では、この集団分化をもたらした環境条件の探索を行なった。この種が生育する蛇紋岩土壌は、さまざまな金属元素に富むことが知られている。そこで、それぞれの集団の生育地において、土壌中の金属元素含有量と電気伝導度、pHを測定したところ、それらの値は集団間で大きく異なっていた。次に、これらの値と形態との相関を分析したところ、蛇紋岩に特異的に多く含まれるNiなどの重金属元素の含有量と形態との間に、有意な相関はほとんど見られなかった。一方、CaおよびMgの含有量と電気伝導度は、花序サイズなどいくつかの形態との間に有意な相関を示した。

第5章では、増幅断片長多型法(AFLP)によって核DNAの集団間・集団内分化を解析した。増幅断片長多型の分子分

散分析の結果は高い集団間固定指数を示し、葉緑体 DNA と同様に核遺伝子においても集団間で分化が進んでいることが示された。固定指数をもとに各集団の系統樹を構築したところ、1 例を除いて集団は地域ごとにまとまり、同じ地域内の集団は類似した遺伝的変異を保有していることが示唆された。

このように本種は、地域的に隔離された集団間で、形態的にも遺伝的にも分化が進んでおり、集団間の遺伝子流動は、種子散布によっても、花粉散布によっても、ほとんど起こっていないことが明らかになった。本種の分布域の拡大と分断の歴史を高い信頼度で推定することはできないが、本種の集団間の遺伝的分化は蛇紋岩地帯の分断に伴う生育地の分断に起因していると結論できる。多くの集団で観察された遺伝的変異の小ささは、集団サイズの縮小に伴う遺伝的浮動に由来していると考えられるが、集団内の形態変異の小ささは自然選択の存在を示唆している。本研究の結果は、蛇紋岩地域に隔離分布する多くの固有植物を保護する上で、たとえ小集団であっても、その集団の持つ遺伝的変異の保持に配慮することの必要性を示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

ウツボカズラ科の *Nepenthes* 属植物は、捕虫のために特殊化した捕虫囊の形態で分類されることが多かったため、花や果実の形態についての研究はこれまで十分に行なわれてこなかった。また、近年になって DNA の塩基配列情報をもとにした分子系統解析が盛んになり、種間の系統については理解が進んできたが、種内の集団間・集団内の遺伝的変異についてはいまだ十分に研究されていない。そこで、花や果実の形態にも着目し、集団間・集団内の遺伝的変異についても分析することによって、ウツボカズラの集団分化過程を解明しようとしたのが本研究である。

ニューカレドニアは、 Gondwana 大陸に起源をもつ古い島嶼で、6000 種もの種数と、古い系統の群の繁栄によって象徴される、特異な植物相を持つ。そこには、きわめて特異な土壌条件を生む蛇紋岩地帯が広域に分布しており、そこでの植物の種分化も著しい。本研究では、この蛇紋岩地域に特異的に分布するウツボカズラの 1 種 *Nepenthes vieillardii* について、詳細な形態比較と、葉緑体および核の遺伝子の塩基配列情報の徹底した読み取りを通して、その集団分化に迫った。

本種は、捕虫囊の形態に地域集団間で大きな変異が見られ、それらの変異のいくつかは別種として取り扱われたこともある。捕虫囊の形態にもとづいた分類体系に対して、本研究で呈示された花や果実の形態変異をも含めた解析は、本種の地域変異の理解を深めたと言えるだろう。しかし、これらの形態変異が生物相互作用のもとでどのような意味をもっているのかという分析を欠いていたことは、今後の課題である。

本研究で用いられた集団間の遺伝的変異の解析手法は、近年、多くの種の植物で試みられている標準的かつ信頼のおけるものである。多くの被子植物では、葉緑体のようなオルガネラゲノムは母系遺伝を、核 DNA は両性遺伝を行なうことから、集団の遺伝的特性を解明するためには両方の DNA を対象にして解析することが望ましい。本研究では、葉緑体 DNA についてはハプロタイプ解析を、核 DNA については増幅断片長多型法 (AFLP) を用いて解析を進めており、双方の遺伝的特性を踏まえた議論を展開している。

本解析によって明らかになったことは、各地に隔離して分布する本種の集団の間に、遺伝的分化が明瞭に起こっていたという事実である。この結果は、その隔離分布の状況と、形態変異からある程度予測されたものではあるが、集団遺伝学のパラメーターである集団間固定指数として、その集団分化の程度が明瞭に示された功績は評価できるであろう。

葉緑体遺伝子および核遺伝子で認められた遺伝的変異の地理的構造から、ニューカレドニアにおける本種の集団分化過程を類推することは容易ではなく、本研究でもそれには成功していない。しかし、本種の遺伝的変異に関するこの詳細な研究例は、ニューカレドニアにおける植物全般の集団分化を考える手がかりにもなるだろう。

蛇紋岩は多くの金属元素を多量に含み、それが存在する地域の土壌にも多くの金属が蓄積している。本種の各集団産地から得られた土壌サンプルの成分分析は、土壌に含まれる金属の含有量が産地間で大きく異なることを示した。しかし、その成分は本種の形態との間に、必ずしも顕著な相関関係を示さなかった。その中で、Ca および Mg の含有量は本種のいくつかの形質との間に相関を示したが、この結果は土壌環境の違いが形態形質に自然選択を引き起こした可能性を示唆している。

本研究の調査地である蛇紋岩地域の一部では、ニッケル鉱石の露天掘り採掘によって本種の生育地が失われつつある。本種の地域集団の中には、たとえ小集団であっても、集団固有の遺伝的変異が含まれている場合のあることを、本研究は示し

た。集団の遺伝的多様性が社会的にも注目されつつある中で、本研究が明示した遺伝的変異の地理的構造は、植物保護区の設定など、将来の保護計画策定に向けての貢献が期待される。

このように本研究は、緻密なデータをもとに、隔離分布をする植物の1種を例にとって、形態的・遺伝的変異の集団分化を明らかにしたものであり、ニューカレドニアという顕著な進化の舞台で繰り広げられた植物の集団分化と、蛇紋岩地域という特殊土壌における植物の種分化に関して、重要な示唆を与えるものである。したがって、本学位申請論文は、史的時間軸を通じて生物が示す動的な存在様式を探求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、平成18年1月17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。