

氏 名	しのはらわたる 篠原 渉
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2805 号
学位授与の日付	平成 16 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	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	ナチシケシダの細胞学的及び遺伝学的多様性に関する研究

論文調査委員 (主 査) 助教授 村 上 哲 明 教 授 戸 部 博 教 授 高 林 純 示

論 文 内 容 の 要 旨

オオシケシダ属 (*genus Deparia*) のモノグラフを完成させた Kato (1984) によると、ナチシケシダ (*Deparia petersenii*) はオオシケシダ属の種の中でも特に広い分布域を有し、葉の大きさ、羽片の形、毛の量などには非常に大きな変異があることが報告されている。本論文では様々な葉の変異を含むナチシケシダを日本、台湾、および中国雲南省の複数の地点から採集し、まず、染色体の観察、葉緑体 DNA にコードされる *rbcL*, *ndhF* 遺伝子の塩基配列の解析、および形態形質の計測を行った。

染色体の観察からは 4 種類のサイトタイプ (2 倍体, 4 倍体, 5 倍体, 6 倍体) が、葉緑体 DNA の解析からは 14 種類ハプロタイプ (タイプ A~N) がそれぞれみつかった。今回、135 個体のナチシケシダを調べた限りでは、2 倍体は台湾のみに分布していた。4 倍体と 6 倍体は日本の各地に広く分布しており、5 倍体は屋久島の楠川集団でのみ見つかった。

葉緑体 DNA ハプロタイプと倍数体の関係については、2 倍体と 4 倍体は、互いに共通するハプロタイプ (タイプ B と G) を複数有していたことから、4 倍体は 2 倍体から 2 回以上独立に起源したことが示唆された。一方、2 倍体または 4 倍体と 6 倍体では共通するハプロタイプが 1 つもみられなかった。さらに 5 倍体は 4 倍体または 6 倍体と共通するハプロタイプを有していた。形態計測の結果、2 倍体または 4 倍体と 6 倍体の間には葉の大きさにおいて有意な差異が計測され、6 倍体は 2 倍体または 4 倍体と比較して葉が小さいということがわかった。また、5 倍体は 4 倍体と 6 倍体の中間的な葉の大きさを有していることがわかった。また 5 倍体の孢子稔性を調べたところ、5 倍体は稔性が非常に低いこともわかった。

葉緑体 DNA ハプロタイプの結果から 2 倍体または 4 倍体と 6 倍体は遺伝的にも大きく分化しており、2 倍体または 4 倍体と 6 倍体は互いに異なる生物学的実体であるという結論に至った。また 5 倍体は 4 倍体と 6 倍体の雑種であると考えられた。

一方、台湾のナチシケシダ 2 倍体集団にも大きな葉形変異がみられた。そこで、このような 2 倍体集団が遺伝的には均一な 1 つの生殖集団であるのかどうかを、アロザイム多型を遺伝マーカーとした集団遺伝学的解析により検討した。その結果、台湾の内洞および溪頭のナチシケシダ 2 倍体集団は、集団内ではランダム交配し、また集団間でも大きな遺伝子交流のある遺伝的に均一な集団であることが示された。

以上の結果から、Kato (1984) のナチシケシダが特に大きな形態の変異を有しているのは、この形態種に複数の生物学的に異なる種が含まれていたことに加えて、1 つの生物学的種内にも大きな葉形変異のあることが合わさった結果であることが本論文により明らかになった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文では、葉形および形態形質の変異が非常に大きいものの、それらの変異が連続的であるために 1 つの形態学的種として扱われてきたナチシケシダ (*Deparia petersenii*) を材料として、135 もの多数の個体について、染色体の観測による倍数

性の決定，葉緑体DNAにコードされる *rbcL*，*ndhF* 遺伝子の塩基配列の解析，および形態形質の計測を行なうことにより，ナチシケシダに含まれる 2 倍体または 4 倍体と，6 倍体とは別の生物学的種であり，6 倍体は形態の上でもより小型の葉形をもつことを明らかにした。さらに，2 倍体と 4 倍体はハプロタイプ多型を共有しており，2 倍体から 4 倍体への進化は複数回起こっていることも明確に示した。このように，細胞学的観察（染色体数の計数），分子レベルの解析，および形態形質の計測を組み合わせることによって，非常に複雑な表現形質の変異を示して，分類学的にも混乱していたナチシケシダの生物学的実体を解明したことは，本論文の特筆すべき点である。また，染色体数の多い（基本数が 40 本で，6 倍体の胞子体では 240 本の染色体が観測されることになる）シダ植物において多数の個体について染色体数を正確に決定するためには，観察技術の習熟が必須である。本論文において，135 個体の染色体数を正確に算定していることは，申請者が高い技術を習得したことを如実に示している。さらに，葉緑体DNAの解析においても，はじめてシダ植物 *ndhF* 遺伝子を PCR 増幅のためのプライマーを開発するなど，随所に研究上の工夫も見られている。

これらは，植物分類学の分野において特に高く評価されるものである。これらに加えて，本研究では台湾のナチシケシダ 2 倍体集団に対してもアロザイム多型に基づく集団遺伝学的解析を行うことで，大きな葉形変異が 1 つの生殖集団内に見られる多型であることも明確に示している。これらのことから，本論文では，ナチシケシダという形態種に特に大きな葉形変異がみられる原因を明らかにすることが出来ている。複数の解析法を組み合わせることで複雑や分類群の生物学的実体を解明したことは高く評価できる。

以上のことから，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。論文内容とそれに関連した試問の結果，合格と認めた。