

氏 名	おく やま ゆう だい 奥 山 雄 大
学位(専攻分野)	博 士 (人間・環境学)
学 位 記 番 号	人 博 第 402 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 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	Diversification of the genus <i>Mitella</i> (Saxifragaceae) and allies driven by pollination specialization and interspecific hybridization (送粉様式の特異化と種間交雑がもたらしたチャルメルソウ類の多様化)
論文調査委員	(主 査) 教 授 加 藤 真 准教授 市 岡 孝 朗 准教授 瀬 戸 口 浩 彰 教 授 井 鷲 裕 司

論 文 内 容 の 要 旨

絶え間ない造山運動の支配下にある日本列島には多様な溪流環境が豊富に存在し、そこはさまざまな生物の適応放散の場となってきた。そのような溪流環境で著しく多様化した植物にユキノシタ科チャルメルソウ属がある。日本列島で進行した生物の多様化過程を探るために、チャルメルソウ属に焦点を当て、送粉様式の観察と分子系統解析、および人工交配実験をもとに、送粉様式の特異化や種間交雑がどのようにチャルメルソウ属の多様化に関わったかを考察した。

本論文は全部で7章から構成されている。第一章ではまず、生物間相互作用が介在した植物の種分化や多様化の事例を渉猟し、チャルメルソウ類が種分化や多様化の仕組みを研究するのに優れたモデル系になりうることを論じた。

第二章では、チャルメルソウ属の花形態の特異性に着目し、日本に分布する本属4種の訪花昆虫の調査を行った。その結果、調査した4種すべてが、吸蜜に訪れるキノコバエ類によって送粉されていることを明らかにした。これは双子葉植物で初めてのキノコバエ媒の報告である。ここで送粉にかかわるキノコバエ類は、チャルメルソウ類と同所的に生育するコケ類を幼虫時代の餌として利用しており、このことは両者が共に溪流環境で進化してきたことを物語っている。

第三章では、北米と日本に分布する28種のチャルメルソウ類の送粉様式を調査し、18種がキノコバエ媒であることを確認した。この18種のうち筒型の花形態を持つ5種では、口吻が著しく伸長したシギキノコバエ属 (*Gnoriste*) の1種に特異的に送粉されていた。一方、皿型の花を持つ13種では、口吻が伸長しない数属のキノコバエ類に送粉を依存していた。次に、これらの植物を含むチャルメルソウ類53種について分子系統解析を行った結果、皿型と筒型の花形態がそれぞれ短舌および長舌のキノコバエに対する適応として、祖先的な雌蕊／雄蕊突出型の花形態から複数回独立に起源したことが明らかとなった。これらのことから、温帯林の急峻な溪流沿いという環境では、送粉昆虫としてこれまであまり省みられることがなかったキノコバエ類が送粉者として重要な役割を果たしており、特定の種のキノコバエへの特殊化が花形態の進化に関わっていることが示された。

第四章では、チャルメルソウ類の中で特に東アジアで多様化を遂げた単系統群であるチャルメルソウ節について網羅的サンプリングを行い、DNAの塩基配列の類似度と、人工交配実験によって得られたF1雑種の花粉稔性の双方を考慮することによって、未記載の3種を含む13の生物学的種を明確に認識できることを示した。本研究は、DNAの塩基配列情報によって種認識をするという方法論 (DNA分類) が被子植物でも有用であることを実証した数少ない研究例である。

第五章では、日本列島各地のチャルメルソウ節植物の大掛かりなサンプリングを行ない、葉緑体DNAと核DNAの地理的変異を調査した。その結果、葉緑体でも核でも、DNAの一部が種間交雑の影響を著しく受けており、地域集団ごとに異なる遺伝構造が作り出されていることが明らかになった。また、従来同じ系統学的情報を持つと考えられてきた核リボソーム遺伝子のETSとITS領域 (external and internal transcribed spacer) の間で、浸透交雑の影響が異なって現れることも明らかになった。

第六章では、チャルメルソウ節全種の4つの核遺伝子座（GS2, GBSSI-A, GBSSI-B, PCK-A）を用いた系統解析から、チャルメルソウ節の共通祖先が総ゲノム重複を伴う1回の種間交雑によって起源したことを明らかにした。この発見は、共通のゲノム重複後の遺伝子進化あるいは形質進化のプロセスを、13種に多様化したチャルメルソウ節の種間で比較することで、ゲノム重複がどのように被子植物の多様化や適応に影響を与えてきたかを解明する道を開くものである。

終章の第七章では、第六章までの結果をまとめ、チャルメルソウ類の多様化機構について議論した。チャルメルソウ節は北米に自生する祖先種の交雑に伴う異質倍数化によって起源し、日本列島の溪流環境における特定の送粉者への特殊化が種分化の引き金となり、それらの種間交雑がさらなる多様化を促進した可能性が高いと考えられる。言い換えるならば、チャルメルソウ類の多様化には、1) 植物とキノコバエ類との特異的送粉共生関係の成立、2) 送粉者が介在した近縁種間の生殖隔離機構の進化、3) 種間交雑による遺伝子浸透がもたらした局所的適応、が重要な役割を果たしたことが示唆された。

チャルメルソウ類は遺伝的にも形態的にも生態的にも著しい多様化を遂げているばかりでなく、世代時間の短さや交雑実験の容易さなど、遺伝学的に扱いやすい特性を十分に備えているため、多様化機構の研究のモデル系として今後大きな役割を果たすであろうと期待される。

論文審査の結果の要旨

白亜紀以降に起こった被子植物の著しい多様化の背景には、送粉者が介在した種分化があったと考えられている。日本には五千種を超える被子植物が分布しているが、そのような植物の多様化が実際にどのように起こったのかほとんどわかっていないのが現状である。日本列島には多様な溪流環境が豊富に存在し、そこはさまざまな生物の適応放散の場となってきたが、そのような溪流環境で著しく多様化した植物にユキノシタ科チャルメルソウ属がある。本学位申請論文は、このチャルメルソウ属に焦点を当て、送粉様式の観察と分子系統解析、および人工交配実験をもとに、送粉様式の特殊化や種間交雑がどのようにチャルメルソウ属の多様化に関わったかを明らかにしたものである。

本論文は全部で七章からなり、送粉者が介在した種分化の事例を整理したのち、第二章で、チャルメルソウ属の4種の送粉様式を調査した。その結果、調査した4種すべてが、吸蜜に訪れるキノコバエ類によって送粉されていることを明らかにした。これは双子葉植物で初めてのキノコバエ媒の報告である。ここで送粉にかかわるキノコバエ類は、チャルメルソウ類と同所的に生育するコケ類を幼虫時代の餌として利用しており、このことは両者が共に溪流環境で進化してきたことを物語っており、非常に興味深い。

第三章では、北米と日本に分布する28種のチャルメルソウ類の送粉様式を調査し、18種がキノコバエ媒であることを報告した。この18種のうち筒型の花形態を持つ5種では、口吻が著しく伸長したシギキノコバエ属（*Gnoriste*）の1種に特異的に送粉されていた。一方、皿型の花を持つ13種では、口吻が伸長しない数属のキノコバエ類に送粉を依存していた。次に、これらの植物を含むチャルメルソウ類53種について分子系統解析を行った結果、皿型と筒型の花形態がそれぞれ短舌および長舌のキノコバエに対する適応として、祖先的な雌蕊／雄蕊突出型の花形態から複数回独立に起源したことが明らかとなった。この結果は、チャルメルソウ類が北米と日本の溪流環境でキノコバエ媒を独立に採用することによって、よく似た花形態を獲得しつつ多様化したことを示唆しており、この研究は送粉者が介在した植物の多様化過程を明らかにした数少ない研究の一つとして高く評価できる。

第四章では、チャルメルソウ類の中で特に東アジアで多様化を遂げた単系統群であるチャルメルソウ節について網羅的サンプリングを行い、DNAの塩基配列の類似度と、人工交配実験によって得られたF1雑種の花粉稔性の双方を考慮することによって、未記載の3種を含む13の生物学的種を明確に認識できることを示した。本研究は、DNAの塩基配列情報が種認識に有用であることを実証した数少ない研究例であると同時に、形態だけでは見落とされていた生物多様性に光を当てたことも意義深い。植物相がほとんどわかっている日本にあって、未記載の植物を3種も見出したことも、本研究の特筆すべき貢献である。

第五章では、日本列島各地のチャルメルソウ節植物の大掛かりなサンプリングを行ない、葉緑体DNAと核DNAの地理的変異を調査した。その結果、葉緑体でも核でも、DNAの一部が種間交雑の影響を著しく受けており、地域集団ごとに異なる遺伝構造が作り出されていることが明らかになった。この研究は、種間交雑が種形成にかかわったことを示す数少ない例

として貴重である。

第六章では、チャルメルソウ節全種の4つの核遺伝子座を用いた系統解析から、チャルメルソウ節の共通祖先が総ゲノム重複を伴う1回の種間交雑によって起源したことを明らかにした。この発見は、ゲノム重複が植物の形態進化や種分化にどのように影響するかを研究するのに新たな道を開くものとして高く評価できる。

終章の第七章では、第六章までの結果をまとめ、チャルメルソウ類の多様化機構について議論した。チャルメルソウ節は北米に自生する祖先種の交雑に伴う異質倍数化によって起源し、日本列島の溪流環境における特定の送粉者への特殊化が種分化の引き金となり、それらの種間交雑がさらなる多様化を促進したという結論は、本研究の白眉である。

チャルメルソウ類は遺伝的にも形態的にも生態的にも著しい多様化を遂げているばかりでなく、世代時間の短さや交雑実験の容易さなど、遺伝学的に扱いやすい特性を十分に備えているため、多様化機構の研究のモデル系として今後大きな役割を果たすであろうと期待されている。そして、チャルメルソウ類をそのような研究のモデル系として確立させた本研究の功績はきわめて大きいと言える。

本論文の二～三章および五章の内容はすでに国際誌に掲載されている（二章はBotanical Journal of the Linnean Society, 三章はMolecular Phylogenetics and Evolution, 五章はMolecular Biology and Evolution）。

以上のように、本研究は、植物の送粉様式を明らかにするための忍耐強い野外観察と、日本とアメリカの自生地を徹底的に巡った密度の濃いサンプリング、最新の手法を駆使した分子系統解析、各地から集めてきた鉢植えの植物への手厚い管理、周到に計画された交配実験などによって、チャルメルソウ類の多様化過程を明らかにした緻密で独創性の高い研究であると評価できる。

本申請者が所属する相関環境学専攻自然環境動態論講座の目的の一つは、密接に相互作用しあう生物同士の共生とそれが介在した種分化や進化を探究することであり、本研究はこの目的に沿ったものと言える。

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20年1月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行なった結果、合格と認めた。