

## 論文審査の結果の要旨

氏名 渡邊 加奈

本論文は日本列島に特徴的な複雑な種分化の一例として、日本と台湾・中国産の合計6種（形態群）から構成されるオオバウマノスズクサ群（ウマノスズクサ科）（以下オオバ群とする）を研究対象とし、形態情報とDNA情報の解析および人工交配実験に基づき集団間の遺伝子流動について明らかにし、オオバ群がたどってきた進化過程について研究した結果をまとめたものである。導入部、第1章と第2章、これに引き続く総合考察という4部から構成されている。

第1章では、オオバ群の全分布域をカバーするサンプルについての葉緑体DNA系統解析により、大系統群A、BとBのサブクレードとして合計6つの主要な系統群がみとめられたことから、これらについてNested clade phylogeographical analysis (NCPA)を適用し、オオバ群計203個体の緯度経度と葉緑体DNA系統との関係を $\chi^2$ 検定した結果、葉緑体DNA系統と地理分布に有意に関係があることが示された。NCPAではさらに、オオバ群が少なくとも4回、異なる時代に異なる規模で分布域の分断を経験し、そこで生じた各分集団がそれぞれに分布域の拡大と縮小を繰り返したために、系統分化が生じたと推定された。主要な系統の分化パターンと、南西諸島と九州が最後に陸続きであった年代を考慮した結果、オオバ群における葉緑体DNAの地理的分化は、数百万年〜1万年前まで繰り返された氷期の影響による分布域の縮小と分集団化という地理的隔離に起因すると考察された。

第2章ではまず、オオバ群に認められた6つの形態群間及び6つの葉緑体DNA系統群間の生理的な生殖隔離機構の発達を調べるため、70株を用いて総当たり交配実験を実施している。その結果、雌雄を区別しなければ、オオバ群では全ての形態群間及び葉緑体DNA系統群間で種子が形成され、ほとんどが発芽能力を有していることが確認された。従って、オオバ群では一般に、花粉流動が生じる機会さえあれば、形態群間の交配も、葉緑体DNA系統群間の交配も容易に起こりうることが示唆された。

次に、両性遺伝のため種子と花粉の双方により地理的に移動可能な核DNAから5つの領域を選び、それぞれについて系統解析を行った結果、いずれの系統樹においても6つの形態群及び6つの葉緑体DNA系統群のどれも単系統とならなかった。そこで、形態群や葉緑体DNA系統群の地理的分化と詳細に比較するため、5領域のうち最も系統情報を多く含むPI exon

をマーカーとし、オオバ群の全分布域を網羅する 60 個体の遺伝的変異を解析した。得られた塩基配列の一部で配列間組換えが推定されたことから、系譜推定にはネットワークを用いた。得られたネットワーク中には 2 系統  $\alpha$  と  $\beta$  が認められ、 $\alpha \cdot \beta$  のそれぞれに出現頻度の高いアリル（高頻度アリル）が 2 つずつ存在した。そして、これら高頻度アリルは、葉緑体 DNA の A・B 系統それぞれにほぼ対応した地理分布を示した。半数体である葉緑体 DNA と比べ集団分化に数倍の時間を要するといわれる核 DNA においても系統の地理的分化が認められたことから、オオバ群はかなり長期に渡り分布域が分断され 2 つの集団に分化していたと示唆された。 $\beta$  系統のアリル且つ A 系統の葉緑体 DNA を持つ個体と、 $\alpha$  系統の高頻度アリル且つ B 系統の葉緑体 DNA を持つ個体の出現は、A・B 系統の現在の分布域の境界である関東西部に限られていることから、これらの個体は比較的最近の 2 つの集団間における遺伝子流動により生じたと推定した。一方、 $\alpha$  系統の低頻度アリルは B 系統を持つ個体にみられ、東海〜九州に散在していた。このことは、分化した 2 つの集団間においてより古い花粉流動もあったことを示していると推定した。

総合考察では、得られた結果を総合し、氷期がオオバ群の分布域を分断し複数のレフュジアへの逃避による地理的隔離と集団分化を生み、間氷期が各レフュジアからの分布域の拡大と接触をもたらし一旦分化した集団間における二次的な交配を促すことにより、不完全な網状の進化を生じていると考察した。

本論文は、日本列島から台湾にかけての広い地域を対象とし、形態解析と遺伝的解析、人工交配実験に共通のサンプルを使用して 3 つの異なる情報を総合的に評価することを可能にしたこと、遺伝子流動の可能性について人工交配実験により実証的に確かめたことなどの特色を持っており、そのことによりはじめて可能になった研究である。日本列島における種分化はこれまでも氷期の繰り返しと結びつけて議論されてきたが、統計処理には分布域を網羅する多数のサンプル解析が必要であるため客観的な検証が行われたことはなかった。本論文はこれを実現した質の高いデータに基づく先端的な研究であったと評価できる。

なお、本論文の第 1 章は梶田忠、邑田仁との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および論証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。