

氏名・(本籍)	まつ むら しゅん いち 松 村 俊 一
学位の種類	博 士(理 学)
学位記番号	理博第2145号
学位授与年月日	平成16年9月22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	東北大学大学院理学研究科(博士課程)生物学専攻
学位論文題目	A phylogeographical study of a coastal plant ( <i>Limonium wrightii</i> : Plumbaginaceae) in the northwestern Pacific Islands (北西太平洋の島嶼に生息する海岸性植物(イソマツ科イソマツ)の系統 地理学的研究)
論文審査委員	(主査) 教授 河 田 雅 圭 教授 占 部 城 太 郎 助教授 牧 雅 之

## 論 文 目 次

Summary .....	1
Chapter 1. General introduction .....	6
Chapter 2. Intraspecific variations of flower colour within <i>Limonium wrightii</i> .....	29
Chapter 3. Accelerated evolution in oceanic islands: intraspecific rate heterogeneity in nuclear rDNA and its distance-independent geographic structure .....	62
Chapter 4. Origin of the leapfrog distribution pattern of flower colour polymorphism: <i>inference from chloroplast DNA sequences</i> .....	87
Chapter 5. Allozyme genetic diversity and the geographic structure in insular populations of <i>Limonium wrightii</i> .....	109
Chapter 6. Pollinators of <i>Limonium wrightii</i> and their differentiation among flower colour morphs .....	135
Chapter 7. Estimating seed dispersal ability on oceanic current .....	152
Chapter 8. General discussion .....	162
References .....	169

## 論 文 内 容 要 旨

島嶼環境は、生物の進化を研究する上でダーウィンやウォーレスの時代から注目され、進化学の発展に寄与してきた。これらの大部分の研究は、ハワイなどの強く隔離された海洋島の島嶼群で行われており、琉球列島などの大陸島を対象とした研究は世界的に見ても少ない。しかしながら、島嶼でみられる生物の進化や種分化について、より一般性を持たせるためには、大陸の環境と類似している大陸島での

研究も欠かすことができない。特に、琉球列島は、弧状に島嶼が連なることから生物の移動について方向性を考えやすく、生物の進化を研究する上で適した地域であると考えられる。また、琉球列島を中心とする東アジアの亜熱帯島嶼域は、世界的にも稀な連続した湿潤環境にあり、生物相が豊富である。琉球列島は生物区系の境界付近にあることから、島嶼によって生物相が大きく異なる。この種構成の違いは、生物間の相互作用にも差異を生じさせていることが期待される。このような異なる生物間相互作用のもとで、どのように生物が進化するか研究することは、生物多様性がどのような環境下で創出および維持されるのかを知る上で重要である。これまでの生物地理学的研究は、その生物の歴史性に焦点をあてたものが主であり、生物の持つ特性に対する観点は乏しかった。そこで本研究では、遺伝的交流に影響を与えるために植物の種分化に重要であると考えられる花形態の変異に特に注目して、分子系統学的研究を行った。

過去の報告から花色に関する種内変異が知られていた、海岸性植物のイソマツ *Limonium wrightii* (Hance) Kuntze を研究対象として選んだ。イソマツは琉球列島を中心として、台湾から屋久島付近および伊豆・小笠原諸島の海岸岩場に特異的に分布する、イソマツ科の植物である。まず、イソマツにどのような花色変異があり、それらがどのように分布するのか不明であったために、台湾から屋久島の計36島で、140集団について現地調査を行った。その結果、イソマツには6つの花色タイプが認めることができた。4つは新しく確認された花色タイプである。また、黄色とピンク色という全く異なる花色個体が優占して分布し、これら2つの花色タイプは沖永良部島を除いて異所的に分布することがわかった。沖永良部島でも基本的に両花色個体は異所的に分布しているが、分布域が接する場所ではほかの花色タイプも含めると、約700m にわたる混生地を形成していた。この混生地でも両花色タイプは近接して生育することは少なかった。一方で、オレンジ色の花色タイプはこの混生地のみで観察されたが、非常に低頻度である。また、白色やクリーム色の花色タイプはほかの4つの島嶼でもごく稀に観察されたものの、混生地では比較的頻度が高かった。これらの花色タイプは、黄花の個体とピンク花の個体が交雑してできた個体であると推測される。また、萼筒が白い黄色タイプは、奄美諸島の請島と海洋島である大東諸島のみで見られたが、これは近縁種であるハマサジ *L. tetragonum* (Thunb.) Bullock やタイワンハマサジ *L. sinense* (Girard) Kuntze と同じ花色タイプである。

この調査から、黄色の花色タイプの分布域を挟むようにして、琉球列島の両側にピンク色が分布することが明らかになった。これは、“蛙跳び (leapfrog)” 分布として、主に鳥類で注目されてきた特異な分布パターンである。さらに、似たような花色変異と分布パターンが、台湾から琉球列島にかけて分布する他の海岸性植物であるシマアザミ *Cirsium brevicaule* A.Gray でも見つかった。したがって、このような花色変異は類似した要因によって引き起こされたことが期待される。この特異な分布パターンが形成される要因としては、分散仮説、選択仮説、遺伝的浮動仮説などが挙げられている。これらの仮説を検証するには、まず花色変異と遺伝的変異が一致するかどうかが調べる必要があるため、分子マーカーを用いた系統学的解析を行った。解析に用いた領域は、葉緑体DNAの3つの遺伝子間領域と核リボソームDNAのITS領域である。

葉緑体DNAの解析の結果、4つの系統と10のハプロタイプが認められたが、大東諸島のみで見られるハプロタイプを除いて、これらの系統は花色変異とは相関がなかった。この結果からは、各集団のたどった歴史は複雑であると推測された。ピンク色の花色個体が遺伝的にまとまらなかったことから、分散仮説は支持されなかった。したがって、イソマツの分布パターンが形成された要因としては選択仮説か遺伝的浮動仮説が考えられる。

また、核リボソームDNAの解析の結果、大東諸島を除くイソマツでは大きな変異は見られなかったが、大東諸島の集団は非常に多くの共有派生形質によってその単系統性が支持された。このことは、大東諸

島の集団が高い塩基置換率 ( $1.20 \times 10^{-8}$  置換/塩基/年) を持っていることを示している。この塩基置換率はこれまでに報告された植物の中で最も速いものである。大東諸島はサンゴ礁が隆起した特異な海洋島であるが、大東諸島の集団が高い塩基置換率を持っている要因は、1) 集団サイズが小さいことによって強い遺伝的浮動が働いていることや、2) 核リボゾームDNAに見られる協調進化が変異の固定を促進したため、と推測される。特筆すべきことは、同じ海洋島の小笠原諸島などの集団は、大東諸島よりも地理的に遠いにもかかわらず、琉球列島の集団と同じ塩基配列を持っていたことである。このような海洋島の集団間での大きな遺伝的不均質はこれまで報告されたことがない。この植物は、海流によって種子散布を行っていることが、発芽実験などから推測された。したがって、このような地理的構造が形成された要因としては、大東諸島の集団は海流による種子分散経路から離れているために地理的隔離が作用している一方で、小笠原諸島の集団は、種子分散によって比較的新しい時代に定着したと推測される。

さらに、奄美大島南部の3集団は、近縁種と同じ葉緑体DNAハプロタイプである一方で、核リボゾームDNAの塩基配列では、大東諸島を除くイソマツと一致することが明らかになった。これは、過去に近縁種であるハマサジかあるいはタイワンハマサジと交雑を起こして、細胞質捕獲を起こしたものと推測される。標本による調査から、奄美大島にはかつてハマサジが広く分布していたことが推測されたので、この交雑した近縁種はハマサジであると推測される。

“蛙跳び”分布に関する選択仮説や遺伝的浮動仮説からは、中立な遺伝子マーカーについて、花色変異と関係なく、地理的に近い集団同士が遺伝的にも近いと予測される。核リボゾームDNAのITS領域ではほとんど違いが見られなかったため、より詳細に集団間の遺伝的関係を明らかにするために、さらにアロザイムを用いた集団遺伝学的解析を行った。この結果、各集団間の遺伝的距離については、おおまかな地理的傾向が見られたので、選択仮説や遺伝的浮動仮説が支持される。また、集団間の遺伝的流動は非常に低いと推定された ( $Nm = 0.105$ )。この値は、異なる花色集団間でも、また各花色集団内でも同じように低かったため、何らかの生殖隔離が働いて各花色の分布域が決定されているとは考えにくい。さらに、このような大きな分布域にまたがる各集団が、遺伝的浮動のみによって共通した花色を示す確率は非常に低いと考えられるので、少なくとも何らかの選択圧が作用した可能性が高いことが推測される。これまでの観察からは、イソマツでは小型ハナバチが主要な送粉者となっており、ピンク色の花にはより大型のハナバチやカリバチ、チョウといった昆虫も訪花するという、花色タイプ間で送粉者の種構成の違いが観察された。この送粉者の違いが、どのような選択圧の違いをもたらしているのか、現時点では不明であるが、今後、移植実験などを行い、送粉者の訪花行動などを調べることで明らかにできると期待される。

一方で、小笠原諸島の集団と琉球列島の集団間では、遺伝的距離はあまり大きくなかった。これは、小笠原諸島の集団が、琉球列島の集団から分化してから時間があまりたっていないことを示している。小笠原諸島の植物集団については、これまで推定母集団との遺伝的距離が大きいことが報告されていたので、この結果は小笠原諸島の植物が、様々な時代に定着したことを示唆するものである。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、これまでに種内花色変異が知られていたイソマツ科イソマツ (*Limonium werigtii*) に関して、その花色変異の進化過程に関して、系統地理学的解析を行ったものである。まず、現地における花色変異の調査により、新たに見られたパターンを含めて6つの花色個体を見出し、それぞれが特徴的な地理的パターンを示すことを明らかにした。特に、黄色とピンク色の集団は、蛙跳びパターン (Leapfrog pattern) と呼ばれる稀な分布パターンを示した。これらの分布パターンが、どのように生成されたのかについて、分子系統学的解析を試みた。葉緑体DNAの変異を解析することにより、黄色とピンクの集団がそれぞれ同一のクラスターを形成しないことを明らかにし、蛙跳びパターンが生成される理由として、「分散仮説」が当てはまらないことを示した。一方、酵素多型遺伝子を用いた集団遺伝学的解析によって、地理的に近い集団が、遺伝的にも近いことが明らかとなった、これは「遺伝的浮動仮説」か「自然淘汰仮説」を支持する結果である。核リボソームDNAのITS領域における変異の解析では、イソマツの種内変異が乏しく、花色変異の分布パターンについての考察は行えなかったが、海洋島である大東島の集団で、これまで植物で知られている例では最も速い塩基置換速度が見られた。一方、伊豆諸島や小笠原諸島は、琉球列島と同じハプロタイプを示した。これらの事実は、海流による種子散布パターンから説明できることを本論文では明らかにした。以上の結果より、花色変異の分布パターンには、自然淘汰と遺伝的浮動の両方が働いている可能性があるが、異なる花色間で訪花昆虫相の違いがみられることから、何らかの生物間相互作用が影響を与えている可能性をさらに示唆した。花色変異に関しては、古くから植物進化学的に重要なテーマであり、これに関して、最新の手法を用いて解析した点は、非常に高く評価できるものである。

本論文で用いられている方法は、いずれも妥当であり、結果に関しても問題がないことが、論文審査担当者および最終試験担当者によって確認された。また、得られた結果に基づく考察は、進化生物学および植物分類学に多大な貢献をもたらすものであると判断された。以上より本提出論文は、松村俊一氏が、自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。したがって、松村俊一氏提出の博士論文は、博士（理学）の学位論文として合格を認める。