

氏名(本籍)	陶山佳久(岐阜県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第956号
学位授与年月日	平成4年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	アロザイムによるオオシラビソ天然林の集団遺伝学的研究
主査	筑波大学教授 農学博士 大庭喜八郎
副査	筑波大学教授 農学博士 菊池文雄
副査	筑波大学教授 理学博士 藤伊正
副査	筑波大学助教授 農学博士 荒木真之

## 論文の要旨

オオシラビソ (*Abies mariesii* Mast.) はマツ科モミ属に属するわが国特産の常緑針葉高木であり、本州における亜高山帯針葉樹林を構成する代表的な樹種の一つである。これらの天然林は、わが国に現存する原生的な自然植生のうち大面積を占めるものとしてきわめて貴重な存在である。しかしながらこれらの森林を構成する樹種が保有する遺伝的変異の大きさについてはほとんど解明されていない。

本研究では、本州各地に隔離して分布しているオオシラビソ天然林の遺伝的変異を明らかにすることを目的とし、アロザイムを利用して集団遺伝学的手法によって以下の手順で研究を進めた。まず、その遺伝的指標として利用することのできるアロザイムの検出を行った。次いでオオシラビソの主要分布地域である11山域の天然林集団について、検出した遺伝子座の遺伝子組成を調査し、オオシラビソが保有する遺伝的変異・各地域集団内に存在する遺伝的変異・各集団間の遺伝的差異を明らかにした。さらにそれらの結果をこの種の最終氷期以降の分布変遷に結びつけて考察した。

オオシラビソにおける標識遺伝子を検出することを目的とし、その雌性配偶体におけるアイソザイムの遺伝子分析を行った。すなわちオオシラビソの天然分布域の広範囲から母樹別に種子を採集し、合計1,003母樹の種子の雌性配偶体を試料としてアイソザイムの検出を行った。電気泳動は平板ポリアクリルアミドゲル垂直電気泳動法を用い、次の15酵素種についてアイソザイムの検出を行った。すなわち、シキミ酸脱水素酵素 (ShDH)・グリセリン酸脱水素酵素 (G2DH)・リンゴ酸脱水素酵素 (MDH)・6-ホスホグルコン酸脱水素酵素 (6PGD)・グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6PD)・グルタミン酸脱水素酵素 (GDH)・ジアホラーゼ (DIA)・テトラゾリウム酸化酵素

(TZO)・アスパラギン酸アミノ転移酵素 (GOT)・ホスホグルコムターゼ (PGM)・エステラーゼ (EST)・ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)・アラニンアミノペプチダーゼ (AAP)・フマラーゼ (FM)・アコニターゼ (ACO) の15酵素種である。これらのアイソザイムのバンドパターンに分離がみられた母樹の雌性配偶体群について、観察された表現型の分離比とメンデル遺伝にもとづく1:1の期待分離比との適合性をカイ二乗検定を用いて調べた。その結果、6-ホスホグルコン酸脱水素酵素 (6PGD) を除く14酵素種についてアロザイム、合計23遺伝子座、69対立遺伝子を検出した。

次に、検出した23アロザイム遺伝子座のうち *Mdh-2* 遺伝子座を除く22遺伝子座について、オオシラビソの主要分布地域である11の山域、すなわち八甲田・八幡平・早池峰・月山・栗駒・蔵王・吾妻・苗場・妙高・飛騨・白山のオオシラビソの天然林における合計1,003母樹の遺伝子型を調べ、それらをもとに集団遺伝学的解析を行った。その結果、オオシラビソの天然林が保有する遺伝的変異について、以下の5つの重要な知見がえられた。

第一に、この種が保有する遺伝的変異はきわめて低いレベルであることがわかった。すなわち、調査した22遺伝子座においては多くの対立遺伝子が検出されたものの、きわめて頻度の低い遺伝子が多く、ほとんどの遺伝子座で単型的な傾向がみられた。遺伝的変異の大きさを示す尺度である多型的遺伝子 (95%レベル) の割合、1遺伝子座あたりの対立遺伝子数、1遺伝子座あたりの対立遺伝子の有効数および平均ヘテロ接合度 (全集団の遺伝子多様度 ( $H_T$ ) の平均値は、それぞれ22.7%, 3.00, 1.08, 0.063という低い値であった。

第二に、各地域集団が保有する集団内の遺伝的変異もそれぞれ低いレベルであることがわかった。すなわち、11集団それぞれにおける遺伝的変異の大きさを示す多型的遺伝子座 (95%レベル) の割合、1遺伝子座あたりの対立遺伝子数、1遺伝子座あたりの対立遺伝子の有効数及び平均ヘテロ接合度 (平均ヘテロ接合体率の期待値) の平均値は、それぞれ15.3%, 1.55, 1.08, 0.05であった。とくに東北地方北部の集団ではきわめて低い値を示し、この種の天然分布の最も北部に位置する八甲田・八幡平・早池峰の3集団のヘテロ接合度の平均値は0.015というきわめて低い値であった。

第三に、現在各地域集団は地理的に完全に隔離しているにもかかわらず、集団間の遺伝的分化の程度は低く、隔離した地域集団間の遺伝的差異は小さいことがわかった。すなわち、11の地域集団間の遺伝的分化の程度を示す遺伝子分化係数 ( $G_{st}$ ) は0.053であり、オオシラビソが保有する遺伝的変異のほとんど (約95%) が地域集団内の変異に起因することがわかった。また、各集団間の遺伝子の違いの程度を示す尺度である遺伝距離の範囲は0.000から0.032の範囲であり、平均値は0.005という低い値であった。

第四に、遺伝的変異の大きさは全体的に低いことが認められたが、その程度は各地域集団によって差があり、南から北へ向かうにしたがって小さくなる地理的勾配があることがわかった。すなわち、各集団の南北の位置を示す緯度と平均ヘテロ接合度との間には高い負の相関があり ( $r = -0.88^{**}$ )、高緯度の集団ほど遺伝的変異が小さくなる傾向が認められた。また同様に、最も遺伝的変異の大きかった飛騨集団からの地理的距離が遠くなるほど各集団の遺伝的変異が小さくなる傾向が

認められた ( $r = -0.88^{**}$ )。

第五に、各地域集団は地理的に近いものほど遺伝的に似かよっていることがわかった。すなわち、各地域集団間の遺伝距離と地理的距離との間には正の相関関係があり ( $r = +0.69^{**}$ )、地理的距離が遠くなるほど遺伝距離が大きくなるという傾向が認められた。また、この遺伝距離をもとにクラスター分析を行った結果、分化の程度は小さかったもののクラスターは各集団の地理的位置とよく対応しており、大きく分けて東北グループ(北緯38度以北)、中部地方グループおよび白山集団の3グループに別れた。さらに、微小林分である月山を除けばすべての集団が地理的に隣合った集団から順にクラスターを形成していた。

つぎに、これらの現在のオオシラビソ天然林における遺伝的変異を示す結果は、この種の現在までの地史的な分布変遷を反映しているものと考え、本研究の結果から、今から約2万年前の最終氷期最寒冷期におけるオオシラビソの遺伝的変異とその分布について2つの推測を行った。すなわち第一に、最終氷期最寒冷期においてオオシラビソ天然林が保有していた遺伝的変異性も低いレベルであったと考えた。第二に、最終氷期寒冷期におけるオオシラビソの分布は当時の亜寒帯針葉樹林全域には十分に広がっておらず、その分布の中心地は中部地方に偏っていたと考えた。また、これらの推測は、既往の生態地理学的研究および古生態学的研究の諸事実と一致している。

## 審 査 の 要 旨

本研究はわが国の亜高山帯の主要樹種の一つで、現在隔離分布をしているオオシラビソの天然林の遺伝的分化、過去の地史的伝播経路を明らかにする集団遺伝学的研究を目的としたものである。オオシラビソが隔離分布している11山域において合計1,003個体の種子を採取した。雌性配偶体を用いてアイソザイム分析を行い、15酵素種で計23遺伝子座、総計69個の対立遺伝子を検出した。ついで各個体の遺伝子型を判定し、各集団の遺伝子頻度を求めて解析した結果、種の遺伝的変異量、また地域集団間の遺伝的分化はきわめて小さいことを明らかにした。さらに集団の平均ヘテロ接合度と遺伝距離が南から北(緯度および距離)へ低下するクラインを見いだし、最終氷期のオオシラビソの分布中心が中部地方にあったことを示した。以上のオオシラビソの集団遺伝学的研究成果はきわめて高く評価されるものであり、本種の遺伝資源保存に対しても貴重な基礎情報である。

よって、著者は博士(農学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。