

氏名(本籍)	よし だ やす こ (長野県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第5010号
学位授与年月日	平成21年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	野生サクラソウ集団の多様性と適応に関する研究
主査	筑波大学准教授 農学博士 大澤 良
副査	筑波大学教授 農学博士 奥野 員 敏
副査	筑波大学教授 農学博士 江面 浩
副査	筑波大学教授(連携大学院) 農学博士 津村 義彦

論文の内容の要旨

遺伝的多様性は種の適応進化の基盤であり、集団内の遺伝的多様性が高いほど潜在的な進化ポテンシャルを保有している。近年、分子マーカーによる多様性評価は多くの種で用いられているが、集団が長期的に存続する上で重要な適応に関する遺伝的多様性を評価するためには、自然選択を受け、適応に関係していると考えられる表現形質の遺伝的多様性の評価を併せて行うことが重要である。

サクラソウ (*Primula sieboldii*) は、北海道から九州および、アジア北東部に生息する多年生草本であり、自家不和合性をもつ異型花柱性である。また日本の伝統的な園芸植物のひとつであるが、現在は開発や乱獲などによってその野生種は準絶滅危惧植物に指定されている。これまでにサクラソウの保全のために葉緑体 DNA とマイクロサテライトマーカーを用いた核 DNA による野生集団の遺伝的多様性の評価に基づいて、集団固有の歴史的背景を維持する上で必要な遺伝的に近縁な種内の集団を系統としてまとめる保全単位が決定されている。しかしサクラソウの長期的な存続には、適応に関する遺伝的多様性の把握に基づく保全単位の設定が不可欠である。そこで本研究では、野生サクラソウの保全のための適応関連形質の遺伝的多様性の評価を目的として、北海道と埼玉、長野地域由来3集団の計5集団を用いて、表現型の集団内・間の遺伝的多様性の評価および適応に関連する形質の把握を試みた。さらに分子マーカーを用いた表現形質の遺伝的多様性の評価が可能であるかを検証した。

これまでにサクラソウの多様性評価の指標とされてきた花卉形状と花卉面積の集団内・間の遺伝的変異を評価したところ、花卉の切れ込みと最大幅と面積は有意な集団間差が認められたが、花卉形質の遺伝的変異は主に集団内に維持されていた。さらに花卉形質は自然選択に中立な形質であることが明らかとなり、集団内の遺伝的多様性の目視評価の指標となることが明らかとなった。

次にサクラソウの適応関連形質に関する集団内・間の遺伝的変異を評価するために上記集団由来の株について6形質を対象に2003-2005年に筑波大学農林技術センターで同一環境栽培を行った。その結果、出芽日と葉数は集団内変異よりも集団間変異が大きく、表現形質の集団間の遺伝的分化程度 (Q_{ST}) が自然選択に中立な分子マーカーによる遺伝的分化程度 (F_{ST}) よりも顕著に大きいことから各自生地において異なる自然選択によって分化した形質であり、適応に関連している形質であることが示唆された。特に、他の4集団

に比べて明らかに遺伝的に分化した埼玉集団の出芽日について、その要因を解析したところ、埼玉自生地の気温は高く、出芽日と自生地の気温の間に有意な正の相関が認められ、出芽時期の低温や遅霜が出芽日の選択圧となり集団間分化を引き起こしていることが示唆された。

表現型可塑性は各形質の環境変動に対する反応性である。本論文では6形質について、その集団内・集団間の遺伝的変異の評価を行うために、2004年につくばと諏訪、2005年にはつくばと八ヶ岳という2種類の複数環境での栽培を行った。その結果、適応関連形質である出芽日の可塑性はつくば・諏訪栽培では有意な集団間差が認められなかったが、つくば・八ヶ岳栽培では埼玉集団のジェネットが示す可塑性は他の集団に比べ有意に大きかった。また集団内変異も埼玉集団だけ有意に大きかった。自生地の気温が高い埼玉集団に対する自然選択圧は弱いため、八ヶ岳の環境に対応できるジェネットとできないジェネットが維持されているため、集団内・間の変異が他の集団に比べて大きくなったものと考えられる。また、他の4集団は気温が低い自生地由来であるため、八ヶ岳の環境でも十分に対応できることが示された。

表現型の遺伝的多様性の分子マーカーによる間接的評価の可能性を検証することを試みた。野生集団由来の個体を親とした分離集団により連鎖地図を作成し、出芽日と異型花柱性に関する花型に関するQTL解析により明らかになった各形質に関与する遺伝子座の近傍にあるマーカーを用いて多様性評価を行った。その結果、出芽日に関する2遺伝子座で早晩を示す対立遺伝子が検出されたが、作成した遺伝子地図の精度が十分ではないこと、あるいは対象形質とマーカー遺伝子座との間に組換え型が見られることなどの理由からこれらの対立遺伝子を用いて野生集団の出芽日の多様性を明確に評価することはできなかった。しかし、次代の生産に関わり集団の存続に影響を及ぼす形質である異型花柱性については、長花柱花と短花柱花にそれぞれ特異的な対立遺伝子を示す複数のマーカー遺伝子座が検出され、これらのマーカーを用いて集団内の花型の評価が可能であることが示唆された。

本研究の結果から、本研究で用いた5集団は先行研究により北海道と他の4集団が異なる保全単位に分類されていたが、適応関連形質である出芽日の遺伝的変異を考慮すると、同一保全単位とされていた長野集団と埼玉集団は明らかに別の単位にすべきであること、また同じ長野集団でも出芽日が異なる集団は別の保全単位にすべきであることが明らかになった。現在、保全事業あるいは自然再生事業において保全単位に留意することが提案されているが、本研究は、その単位の設定には分子マーカーだけではなく適応に関わる形質の多様性評価も加味する必要があることを明確にし、さらに形質評価を代替する分子マーカー利用の可能性を提示したものである。

審査の結果の要旨

本論文は、絶滅危惧種である野生サクラソウ集団において、集団内・集団間の遺伝的多様性を分子マーカーと出芽日などの表現型とで評価し、適応関連形質である出芽日の遺伝的変異を考慮すると、これまで分子マーカーだけによる多様性評価に基づいて同一保全単位とされていた複数集団が明らかにそれぞれ別の単位にすべきであること、また同じ地域集団でも出芽日が異なる集団は別の保全単位にすべきであることを明らかにし、野生集団保全のための適応関連形質を考慮した地域的保全単位の決定を実証したものである。方法論としてのみ提唱されてきた手法を実証したこと、ならびに遺伝子連鎖地図を作成し形質に連鎖した分子マーカーによって多様性評価手法を行い本手法の問題点および可能性を明確にしたことは保全生物学の発展に大きく寄与するだけでなく、遺伝育種学的観点からも高く評価できる。

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。