

学 位 論 文 題 名

Bio-systematics of *Oryza* AA genome wild taxa (*Oryza sativa* complex) by morpho-physiological traits, isozymes and RFLPs

(形態・生理形質, アイソザイムおよびPFLPを用いた
Oryza 属 AA ゲノム野生種の系統分類学的研究)

学位論文内容の要旨

Oryza 属植物の中でアジアとオセアニアに分布する *O. rufipogon*、アメリカに分布する *O. glumaepatula*、オーストラリアに分布する *O. meridionalis*、およびアフリカに分布する *O. barthii* と *O. longistaminata* は、栽培イネと AA ゲノムを共有する近縁野生種で *O. sativa* complex を構成し、イネの育種上重要な遺伝資源とされるが、それらの分類および系統分化については不明な点が多い。系統分類関係の解明には対象とする生物群のもつ遺伝変異の量および地理的分布を明らかにすることが必要である。遺伝変異は形態特性や生理特性、生化学マーカー、分子マーカー等の多型性によって評価されるが、多数の系統に対し性質の異なる複数の指標の多型性を同時に調査し、それらの結果を総括的に評価した研究例は少ない。本研究は *Oryza* 属 AA ゲノム野生種の系統分類関係の解明を目的とし、上記の 5 種、合計 183 系統について形態・生理的特性、アイソザイム、核 DNA、ミトコンドリア DNA、および葉緑体 DNA における多型性を調査した。

1) 実験環境下で植物体を栽培し、量的に評価が可能な 22 の形態・生理的形質を調査した。*O. rufipogon* と *O. glumaepatula* は種内変異が大きく、主成分分析

の結果、両種の系統はそれぞれ2つと3つの生態型へと分けられた(*O. rufipogon* -I,II および *O. glumaepatula* -I,II,III)。多年生的な特徴を示した *O. rufipogon* -I と *O. glumaepatula* -I、および一年生的な特徴を示した *O. rufipogon* -II、*O. meridionalis* と *O. barthii* の間にはそれぞれ表現型の類似性が認められた。安定な環境下で密度依存的な死亡因の影響を強く受ける多年生型野生イネは、より多くの資源を栄養生長に費やし、不安定な環境下で不可測な攪乱を強く受ける一年生型野生イネは、より多くの資源を生殖生長に費やす傾向を明らかにした。アマゾン河の洪水域に分布し、植物体を川面に浮遊させる *O. glumaepatula* -II は高い個体再生能力と節間伸長能力によって特徴づけられた。深水湿原に生息する *O. glumaepatula* -III は大型の穂と浮水能力を持つ小穂によって特徴づけられた。異なる環境条件下に自生する野生イネは各々異なる自然選択圧を受け、独自の適応形質を分化していると理解された。

2) デンブンあるいはアクリルアミドを担体に用いた15酵素の29遺伝子座におけるアイソザイム分析、および36プローブを用いた核DNAのRFLP分析により、5種はおのこの独立した核遺伝子型を分化していることが明らかになり、種形成後、種間の遺伝子流動が制限的であったことが示唆された。*O. meridionalis* は他種に対する核遺伝子の差が最も大きかった。*O. meridionalis* の分布するオーストラリアと他地域との、ウォーレス線を挟んだ地理的、生態的な隔離が核遺伝子の分化を強めたものと推察された。

3) 9プローブと8プローブを用い、ミトコンドリアDNAと葉緑体DNAのRFLP分析を行った。*O. rufipogon* は他の4種に比べ、ミトコンドリアDNA、葉緑体DNAともに多くの種内変異性を持っていた。*O. glumaepatula* のミトコンドリアDNAと葉緑体DNAはそれぞれ2つの型(M1とM2およびC1とC2)に大別

された。M1 と M2 はそれぞれ *O. longistaminata* と *O. barthii* のミトコンドリア DNA に類似し、C1 と C2 は共に *O. barthii* の葉緑体 DNA に類似することを明らかにした。*O. rufipogon* のオセアニアに分布する系統のミトコンドリア DNA は *O. meridionalis* のミトコンドリア DNA に類似するが、両者の葉緑体 DNA には類似性が認められなかった。

同じ材料を供試したにも関わらず、各調査では結果が一致しなかった。特に形態および生理特性、核のマーカー（アイソザイムと核 DNA）、細胞質分子マーカー（ミトコンドリア DNA と葉緑体 DNA）を指標として示される種内、種間の遺伝変異性の間には大きな差が認められた。この結果の不一致は、各々の指標の持つ分化様式や遺伝様式の差によるものであると推察された。各調査によって得られた結果の比較、統合を試みた。

4) 形態・生理的特性が類似した 2 つの多年生型分類群間、および 3 つの一年生型分類群間に核、オルガネラの遺伝的な類似性は認められなかった。分類群間に認められた形態・生理的特性の類似性は、各特性の表現型が似通った自然選択圧の下、各分類群において独立に収斂的に分化した結果の成因的相同であり、同祖因的に分化した結果ではないことが示唆された。

5) *O. rufipogon* は形態・生理的特性、分子マーカー双方において他種と比較し、より多くの種内変異を持っていた。*O. rufipogon* はアジア、オセアニア広域の多様な環境条件下に適応しており、これらの遺伝変異は *O. rufipogon* の地理的分化の際に生じた適応放散の結果であると推測される。同一地域で採集された *O. rufipogon* の多年生系統と一年生系統は、遺伝的に類似していたのに対し、地理的に隔離された地域で採集された系統は形態・生理的特性が類似していても遺伝的には異なる傾向にあった。このことは、*O. rufipogon* における多年生と一年

生の分化が地理的分化の後、各々の地域において独立的に生じたものであることを示唆する。

O. glumaepatula のミトコンドリア型 M1 は葉緑体型 C1 と、M2 は C2 と対になる傾向が認められた。M1-C1 型は *O. longistaminata* に、M2-C2 型は *O. barthii* にそれぞれ由来し、多元的にアフリカからアメリカに伝播されたと推測される。細胞質とは対称的に *O. glumaepatula* の核遺伝子は他種から独立したもので、細胞質型の異なる系統に多くのアイソザイム対立遺伝子や DNA の制限酵素断片が共有されていた。地理的分化の過程において異なる細胞質型の植物間に遺伝子流動が生じていたと示唆される。

O. meridionalis と *O. rufipogon* のオセアニア系統は類似したミトコンドリア DNA を分化していたが、その他の分子マーカーでは同様の傾向は認められなかった。両者のミトコンドリア DNA 間に収斂進化が生じた可能性が示唆された。

本研究では形態・生理的特性、および分子マーカーを指標とした複数の変異解析の結果を比較、統合し *Oryza* 属 AA ゲノム野生種間の系統分類関係を明らかにした。分化様式の異なる指標が示す多型性は、対象とする生物群の系統分化に対し、異なる側面からの解釈を与える。系統分類関係の解明には複数の指標を用いた遺伝変異の解析とそれらの総括的な評価が必要であることを示した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 島 本 義 也

副 査 教 授 佐 野 芳 雄

副 査 教 授 三 上 哲 夫

副 査 名誉教授 森 島 啓 子 (国立遺伝学研究所)

学 位 論 文 題 名

Bio-systematics of *Oryza* AA genome wild taxa (*Oryza sativa* complex) by morphophysiological traits, isozymes and RFLPs

(形態・生理形質, アイソザイムおよび PFLP を用いた
Oryza 属 AA ゲノム野生種の系統分類学的研究)

本論文は、図 21、表 26 からなる総頁数 117 の英文論文である。別に、参考文献 10 編が添えられている。

作物の近縁野生種は、一次遺伝資源として重要であり、それらの遺伝変異の量、その地理的分布とそれらの系統発生的関係を知ることは重要である。本研究は、イネ属の AA ゲノム野生種で、*Oryza sativa* complex を構成しているアジア、オセアニアに分布する *O. rufipogon*、中南米に分布する *O. glumaepatula*、オーストラリアに分布する *O. meridionalis*、およびアフリカに分布する *O. barthii* と *O. longistaminata* の系統分類関係の解明を目的とし、上記の 5 種の形態・生理的特性、アイソザイム、核 DNA、ミトコンドリア DNA、および葉緑体 DNA における多型性をもとに、多変量解析の指標が示す遺伝変異を解析した。

実験環境下で供試 5 種を栽培し、量的に評価が可能な形態・生理的特性を調査した。自生地環境が類似する *O. rufipogon* の多年生系統と中米・南米北部に分布する *O. glumaepatula* の多年生系統の間、および *O. rufipogon* の一年生系統、*O. meridionalis* と *O. barthii* の間には形態・生理的特性の類似性が認められた。*O. glumaepatula* のアマゾン河の洪水域に自生する系統とブラジル南部の深水湿地に自生する系統では、各々固有の表現型が分化していた。異なる環境条件下に自生する野生イネは、各々異なる自然選択圧を受け、適応的な形質群が確立していると理解され、収斂進化の可能性が示された。アイソザイム遺伝子座の多型性と、核 DNA の RFLP 分析により、5 種は各々特異的な核遺伝子型が

分化し、種形成後、種間の遺伝子流動が制限されているとした。

ミトコンドリア DNA と葉緑体 DNA の RFLP 分析から、*O. rufipogon* は、ミトコンドリア DNA と葉緑体 DNA とともに他の 4 種に比べ種内変異に富んでいた。RFLP データの主成分分析の結果、*O. glumaepatula* のミトコンドリア DNA 型は、*O. longistaminata* のミトコンドリア DNA 型に類似するタイプと *O. barthii* のミトコンドリア DNA 型に類似するタイプの 2 つに大別された。*O. glumaepatula* の葉緑体 DNA 型は、2 つのタイプに大別され、その一方は *O. barthii* の葉緑体 DNA 型に類似した。このことから、*O. glumaepatula* は中米・南米北部に分布する系統が *O. longistaminata* と共通の祖先型に由来し、アマゾン河流域に分布する系統が *O. barthii* と共通の祖先型に由来すると推測され、両者が多元的にアフリカからアメリカへ伝播し、その後の地理的分化の過程において異なる細胞質型の植物間の遺伝子流動が示唆された。

O. rufipogon は他種と比較し多くの種内変異を持ち、アジアとオセアニアの広域の多様な環境条件下に適応しており、地理的分化の際に適応放散が生じたと推測される。同一地域で採集された *O. rufipogon* の多年生系統と一年生系統は、遺伝的に類似するが、異なる地域で採集された系統は形態・生理的特性が表現型的に類似していても遺伝的に異なった。したがって、多年生と一年生の分化は地理的分化の後、各々の地域において独立的に生じたと考えられる。また、*O. rufipogon* のオセアニア系統と *O. meridionalis* は、類似したミトコンドリア DNA 型を、その他の分子マーカーでは異なる遺伝子型を持つことから、両者のミトコンドリア DNA 間に収斂進化の可能性が示唆された。

本研究は、イネ属 AA ゲノム野生種の形態・生理的特性および分子マーカーの変異を明らかにし、比較、統合を行ったもので、イネの植物遺伝資源の遺伝的評価、系統分類学および進化学において重要な貢献をし、高く評価できる。よって、審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論分の提出者 秋本正博 は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格があるものと認定した。