



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	Indica-Japonica Differentiation and its Relevance to Domestication Process of Rice : Bioarchaeological and Molecular Genetic Studies(内容の要旨)
Author(s)	陳, 文炳
Report No.(Doctoral Degree)	博士(農学) 甲第001号
Issue Date	1994-03-14
Type	博士論文
Version	
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2342

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名（国籍）	陳文炳（中華人民共和国）
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	農博甲第1号
学位授与年月日	平成6年3月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学位論文題目	<i>Indica-Japonica</i> Differentiation and its Relevance to Domestication Process of Rice: Bioarchaeological and Molecular Genetic Studies
審査委員	主査 静岡大学教授 中井弘和 副査 静岡大学教授 後藤正夫 副査 信州大学教授 氏原暉男 副査 岐阜大学教授 古田喜彦 副査 静岡大学教授 西垣定治郎

論文の内容の要旨

栽培稲 *Oryza sativa* の起源と品種間変異についての研究は長い歴史を持ち、品種分類に関してもさまざまな体系が提案されてきた。雑種不稔性・形質変異などの従来の手法に加えて、アインザイムや、さらに最近ではDNAレベルの変異研究が盛んになった。しかし、研究者の結論は必ずしも一致せず、未解決の問題が多数残されている。本研究の目的は最近開発された分子遺伝学的方法を応用して、栽培イネと野生イネの変異と進化を、特にインド型・日本型の分化の過程に焦点をあてて明らかにすることである。多数の品種・系統を用いて、核および細胞質遺伝子の変異を調査した。また典型的な日本型とインド型品種の交雑F₂世代における分子マーカーの分離様式を、現在みられるインド型・日本型群内の多様性との関係において考察した。過去の進化過程を探る最も直接的な手法は、植物遺体の遺伝的分析であるが、植物ではサンプルや方法の制約から、あまり研究は進んでいない。本研究では、中国と日本における遺跡から発掘された植物遺体のDNA分析を試み、種の同定およびインド型・日本型判定の可能性を検討した。本論文は以上の研究結果をまとめたもので、次の5章により構成されている。

第一章、今まで得られているイネの起源と分化についての研究成果と未解決の問題を紹介し、本研究でとり上げる問題を述べる。*O. sativa* の分類には、大きく分けてインド型・日本型2群への分類と、それにジャワニカを加えた3群への分類が提唱されているが、著者は前者の立場をとり、本論文では

indica, *japonica*の2亜種として扱う。

第二章. 90品種の中国産栽培イネを供試し、生理的・形態的形質（フェノール反応、塩素酸カリ感受性およびふ毛の長さ）に基づく判別関数によって、43インド型品種と47日本型品種に分けた。幼芽を用いて、インド型・日本型間で多型性を示す8つの同位酵素遺伝子座の変異調査を行ったところ、21の異なる遺伝子型が見出された。その多変量解析によると、供試品種は第1軸上で大きく2分され、それらは、形質の判別関数によって分類されたインド型・日本型の分類に大体一致した。また、インド型品種群の同位酵素遺伝子型は日本型品種群より多様であることも示された。次に葉緑体DNA (cpDNA) のORF100領域に見出された断片欠失の有無をPCR法 (DNAポリメラーゼ増幅法) で分析した結果は、86%のインド型品種はこの部分のcpDNAが欠失しているのに対し、日本型品種では6%が欠失しているのみであることを示した。以上の3つの方法で得たインド型-日本型分類の結果は互いによく一致していた。

90品種中、中国の伝統的な分類法で31は梗、10は籼と云われているものであった。判別関数によると、97%の梗品種は日本型であって、90%の籼品種はインド型であった。梗品種の大部分は日本型特異的な同位酵素遺伝子型を持ち、籼品種はほとんどインド型の同位酵素遺伝子型を持っていた。また94%の梗は日本型品種特異的な非欠失型cpDNAを持っていたのに対し、全ての籼品種はインド型特異的な欠失型cpDNAを持っていた。これらの結果、中国の伝統的な籼-梗分類がインド型-日本型分類とよく対応することが、形質や分子レベルで、また核遺伝子と細胞質遺伝子の両方で確認された。

第三章. 第二章で取り上げたインド型・日本型に特異的な葉緑体DNAの欠失型・非欠失型の分布を、更に多数の栽培イネおよび同じゲノムを持つ野生イネ5種について調査した。アジア各国から収集した137品種 (中国産90品種も含めた) の栽培イネは判別関数法によって66のインド型品種と71の日本型品種に分類された。cpDNAのPCR分析によると、インド型品種は89%が欠失型で、日本型品種では6%が欠失型であった。*O. sativa* の野生祖先種と考えられる*O. rufipogon* にも二種類のcpDNA型、すなわち欠失型と非欠失型が発見された。供試した*O. rufipogon*の系統の52%は欠失型cpDNAを持っていたのに対し、同じAAゲノムを共有していても*O. sativa*とは比較的類縁関係が遠い野生種*O. glumapatula*, *O. longistaminata*, *O. meridionalis*, *O. barthii* などには欠失型cpDNAを持つ系統が6%しか見出されなかった。このことは、この欠失型cpDNAは*O. rufipogon*の種内で主に拡がったことを示唆する。

O. rufipogon には一年生型と多年生型の生態的分化が種内に生じているが、一年生型と多年生型の系統で見出される欠失型の頻度はそれぞれ87%と23%であった。これらの結果は、*O. sativa* の栽培化が始まる以前に、その野生種にすでにインド型・日本型の分化がはじまったこと、さらにインド型は一年生型野生イネから、日本型は多年生型野生イネから起源した可能性を示唆する。

第四章. 日本型×インド型の1交配組合せから得たF₂集団において、四つの同位酵素遺伝子座および四つの核DNAのマーカーの分離を調査した。その結果、同位酵素の二つの遺伝子座*Sdh-1*と*Acp-1*の遺伝子および三つのDNAマーカー (A4-1, A4-3, K4-1) は期待される分離比に適合した。しかしDNAマーカーA4-2および同位酵素遺伝子座*Amp-1*と*Pgi-2*は期待比にあわない分離をした。同位酵素とDNAのマーカーの間にはいずれも連鎖関係は見出されなかった。*Sdh-1*を除くすべての遺伝子座において、インド型親由来の遺伝子を持つ個体の頻度は日本型親の遺伝子を持つ個体より高かった。

四つのDNAのマーカーの組み合わせから期待される遺伝子型は16種類であるが、実際には13種しか出現しなかった。四つのマーカーにおいて、インド型親の遺伝子を相対的に多く持つ遺伝子型のグループはそれを少なく持つ遺伝子型のグループに比較して、F₂個体の頻度が期待値より高かった。またその遺伝

子型の種類もより多様であった。日本型-インド型の雑種集団でしばしば観察されるこの分離の歪みがインド型品種が日本型品種より遺伝的に多様性が高い事実の原因となり得る可能性を検討した。

第五章. イネの生物考古学的研究のための予備実験として、中国および日本の遺跡で発掘された植物遺体（イネ、瓜類、桃、種不明のサンプルなど）からDNAの抽出を試みた。26サンプルの中の23では、核DNAはファイトクロームの遺伝子Phyto[#]6をプライマーとして、cpDNAは（CCP4+ORF100）をプライマーとしてPCR法で増幅させることができた。プライマーの組（CCP3+CCP4）では植物遺体のcpDNAを増幅することができなかった。日本の御井戸遺跡から採取したイネ籾殻（3000年前）と渋川遺跡で採取した藁（350年前）の核DNAおよびcpDNAのPCR分析の結果から、それらは共に日本型イネであると推定された。中国江蘇省の草鞋山遺跡と日本静岡県の有東遺跡で採取した各5サンプルの種不明植物遺体は互いに類似しており、イネ科植物らしいと推定された。同時に分析した現存種の増幅パターンと比較したところ、これらのサンプルのパターンはヨシヤススキよりイネに似ていた。草鞋山遺跡から採取した二つの瓜類植物の種子のDNA増幅パターンは、調査した7種類の現存瓜類植物のDNAパターンのいずれとも一致せず、種を同定することはできなかった。種・亜種の同定のためには、有効な判別マーカーをさらに探索する必要がある。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文では、イネの進化・分化・栽培化について、伝統的および分子遺伝的手法を用いて行なった研究の成果をまとめたものである。本研究を通じて得られた有益な科学的知見は多いが、特記すべき成果として次の5点をあげることができる。：1. 生理、形態的形質に基づく分析、アイソザイム分析、葉緑体DNAのPCR法（DNAポリメラーゼ増幅法）によって中国栽培イネ（*Oryza sativa*）の分類を行ない、インド型、日本型の区分に分子遺伝学的手法が画期的手段となることを明らかにした。2. 中国の伝統的な籾-稈分類がインド型-日本型分類とよく一致することが初めて科学的に解明された。3. 分子遺伝学的手法（PCR法）によって、*O. sativa*の栽培化が始まる以前に、既にインド型-日本型の分化が始まったこと、さらにインド型は一年生型野生イネから、日本型は多年生野生イネから起源したとする画期的な仮説を提唱することができた。4. 日本型×インド型の1交配組み合わせから得たF₂集団において、分子レベルのマーカーの分離を調査することによって、インド型親由来の遺伝子を持つ個体の頻度がより高かった、4つのDNAマーカーにおいて、インド型親の遺伝子を相対的に多く持つ遺伝子のグループはF₂個体の頻度が期待値より高く、その遺伝子型の種類も多様であった、などの結果を得、インド型品種が日本型品種より遺伝的多様性が高くなる遺伝学的原因を解明することができた。5. 考古遺跡から採集した種々の植物遺体からDNAを抽出してPCR法でそれを増幅し得るこ

と、また、このような手法を用いて、従来はほとんど不可能であった考古遺跡からの植物遺体の種あるいは品種の同定ができることを明らかにした。この結果は、今後のイネの進化と起源の研究の飛躍的發展に大きく貢献すると考えられる。

本論文の1部は、育種学分野では世界の一流学術誌といわれる *Euphytica* に、また遺伝学的分野で国際的評価の高い日本遺伝学雑誌に投稿し、受理されているが、いずれのジャーナルにおいても、オリジナリティの高さ、広範な実験材料の選択、論理の確かさなどの点から高い科学的価値を有していると評価されている。

以上のような観点から、本学位論文を審査の結果、合格と決定した。