北西部太平洋におけるアオウミガメの産卵および摂餌集団の遺伝的構造に関する研究

浜端　朋子

目　次

序論 1
第 **1** 章　北西部太平洋におけるアオウミガメ産卵個体群の遺伝的構造 5
1. 1. 緒言 5
1. 2. 試料と方法 7
1. 3. 結果 11
1. 4. 考察 13
第 **2** 章　日本沿岸の摂餌域におけるアオウミガメの甲長および遺伝的組成 19
2. 1. 緒言 19
2. 2. 試料と方法 21
2. 3. 結果 25
2. 4. 考察 27
総合考察 34
謝 辞 39
引用文献 41
表（**Tables**） 52
図（**Figures**） 63

序論

地球上で最も初期のウミガメはジュラ紀に出現し（Pritchard 1997），現生のウミガメに近いものも，白亜紀には地球上に出現していたと考えられている（Hirayama 1998）．現生のウミガメ類は 2 科 6 属 7 種に分類され，本研究で対象とするアオウミガメ（*Chelonia mydas*）は，ウミガメ科に属する．本種は，太平洋，大西洋，インド洋の熱帯から亜熱帯の温暖な海域に広く分布し，祖先的な種からおよそ 3,400 万年前に分岐したと推定されている（Naro-Maciel et al. 2008）．しかし，それほどの長い時間，どのように地球上で起きた環境変化に耐え，種が存続してきたのかという進化的な背景はほとんど明らかにされていない（Hawkes et al. 2009）．

アオウミガメは，長い進化的な時間の中で存続してきた一方で，過去数世紀にわたる人間による食料利用が原因で，19 世紀の初頭までに世界中で個体数が激減した（Jackson 1997; Jackson et al. 2001）．さらに 20 世紀に入ると，沿岸域における人間活動の活発化に伴い，産卵浜の消失や沿岸漁業などによる様々な人為的脅威の影響を受けて，ウミガメ類全体の個体数がさらに減少し（Bolten et al. 2011），現在，アオウミガメも国際自然保護連合（IUCN）のレッドリストにおいて，絶滅危惧（Endangered）として掲載されている（IUCN 2013）．このような背景によって，本種の生物学的研究による科学的データは保全施策に応用するためにも必要とされているが，既に生じた個体数の激減により，本種の生態系における本来の役割を捉えることは難しいとされている（Bjorndal 1980）．また，高度な移動性と成熟まで 25 年から 50 年を要するとされる長い世代時間のために（Chaloupka et al. 2004），生活史を追跡することも困難であり，進化的背景のみならず，現在でも本種の生態については，多くの事が未解明である．

これらの生物学的な謎を解明するため，また，保全上の問題を克服するために，アオウミガメの研究は，世界中で盛んに行われている．それらの研究の中で，1980 年代後半に開始され，現在も継続的に行われているミトコンドリア DNA（mtDNA）を用いた

研究は, アオウミガメを含むウミガメ類の生態に関する知見を飛躍的に増やしてきた手法の一つである. この mtDNA による研究が解明した最も重要なアオウミガメの特性に, 母浜回帰性（natal homing）が挙げられる.

1900 年代の中頃から，大西洋のアセンション島や南米のスリナムのアオウミガメ産卵地に上陸するメスを対象としておこなわれた標識再捕獲の調査では, 異なる産卵地で標識を装着された個体が，ブラジル沖の摂餌域では混合して捕獲される一方，産卵浜に上陸する際には，標識を装着された砂浜に再上陸することから，アオウミガメには産卵地に対する固執性あることが明らかにされていた (Carr 1975; Pritchard 1976). この性質から Carr（1967）は，ウミガメは，産卵時に自分の生まれた浜に回帰していると考え，母浜回帰説を提唱した. DNA 解析は, まずアオウミガメの産卵上陸メスを対象として，母系遺伝する mtDNA を用いて行われた．その結果，離れた産卵地間で，ハプロタイプが全くか，ほとんど重複しないことが明らかになり，Carr の提唱した母浜回帰性が支持された（Meylan et al. 1990; Bowen et al. 1992）．その後，標識再捕調査によって産卵浜への固執性や母浜回帰性が必ずしも厳密な性質ではないことが明らかになってきたが（Limpus et al. 2003），mtDNA のコントロール領域を用いた研究からは，メス個体による遺伝子流動が頻繁に起きているとは考えにくい個体群構造が明らかになっている．したがって，メスによる母浜回帰は実際に行われていると考えられ，広く支持されてきた（Jensen et al. 2013）．そして，これらの研究によって明らかにされた遺伝的分化の明確な産卵個体群については，保全上，個別の遺伝的管理が必要であると考えられ（Moritz 1995），個体群構造の解明が本種の保全を考える場合にも応用されている（Wallace et al. 2010）．現在までに，アオウミガメの mtDNA コントロール領域のハプロタイプは，太平洋，大西洋，地中海，インド洋の様々な産卵地から報告され（Bourjea et al. 2007; Chassin-Noria et al. 2004; Cheng et al. 2008; Dethmers et al. 2006; Dutton et al. 2008; Encalada et al. 1996; Nishizawa et al. 2011; Nishizawa et al. 2013）, それぞれの産卵地で検出されたハプロタイプの情報が蓄積されてきた．その結果，ハプロタイプの情報をもとに，新たに

研究された個体群の系統的な位置付けを推定することや，摂餌域・移動経路で捕獲された個体の起源地域を推定することが可能になってきた．

北西部太平洋におけるアオウミガメ産卵個体群についての先行研究では，台湾および日本から遺伝的に独立な地域個体群が報告されてきた（Cheng et al. 2008; Nishizawa et al. 2011, 2013）．しかしながら，北西部太平洋の産卵地が全て島嶼域に限られることから，島によっては産卵調査自体が困難で，これまでに全く調査が行われていない地域も残されている．そのため，まだ認識されていない産卵個体群が存在する可能性が高い．北西部太平洋のアオウミガメの集団組成や摂餌生態について，遺伝的手法を用いて詳細に解析するためには，基礎となる産卵個体群の遺伝的情報を埋めることが求められている．そこで本研究では，北西部太平洋におけるアオウミガメ産卵個体群の遺伝的構造を詳細に明らかにし，その情報に基づいて日本沿岸の摂餌群の組成について，詳細に調べることを目的とした．まず，第 1 章では，北西部太平洋において未調査地として取り残されていた琉球列島の中央部にあたる中琉球の産卵地の試料を用いて遺伝的構造を解析し，中琉球の産卵個体群の遺伝的情報を収集した．さらに，インド太平洋における既知の産卵個体群との比較により，北西部太平洋の北限の産卵個体群が，歴史的にどのように形成されてきたのかについて検討した．第 2 章では，日本沿岸におけるアオウミガメ摂餌域の個体の遺伝的情報と体サイズ情報に基づいて，日本沿岸を摂餌域として利用するするアオウミガメの由来を推定し，各摂餌域アオウミガメがどのような群構成を持ち，各摂餌域を成長に伴ってどのように利用しているかについて検討した．最後に総合考察では，本研究で明らかになった北西部太平洋アオウミガメの産卵個体群の進化的位置付けと，摂餌群の甲長と遺伝的組成によって推定された摂餌生態から，これらの個体群の長期的存続を可能にするには，どのような視点で本研究結果を保全に応用すべきかについて考察した．

なお，東部太平洋に生息し，クロウミガメ（英名 black turtle）と呼ばれるウミガメについては，形態的特徴から独立種（*Chelonia agassizii*），アオウミガメの亜種（*Chelonia*

mydas agassizii）, アオウミガメと同種の地域個体群とするなど研究者によって見解が分かれ，分類学的議論が活発に行われている（Kamezaki and Matsui 1995; Pritchard 1997; Pritchard 1999）. 現在までにおこなわれた遺伝的系統解析からは，独立種を支持する結果は得られていない（Bowen et al. 1992; Karl and Bowen 1999; Naro-Maciel et al. 2008）. 本研究内ではこの位置づけについては特に議論せず, クロウミガメとされるものについては，ハワイのアオウミガメ個体群と合わせて，ハワイおよび東部太平洋のアオウミガメとした.

第 1 章　北西部太平洋におけるアオウミガメ産卵個体群の遺伝的構造

1. 1. 緒言

アオウミガメは，およそ 3,400 万年前に祖先的な種から分岐したと考えられ（Naro-Maciel et al. 2008），過去の大きな気候変動と，それに伴う海水準の変動を超えて生き残ってきた（Hamann et al. 2007）. しかしながら，本種の個体群が気候変動の影響を受けてどのように変化し，どのように生き残ってきたのかを知るための化石証拠などはほとんどない（Hamann et al. 2007; Hawkes et al. 2009）. アオウミガメの個体群がどのような歴史を経てきたのかを知るために，ミトコンドリア DNA（mtDNA）のコントロール領域の系統関係を用いた研究が行われ，産卵個体群はメスの母浜回帰性により維持されていることが明らかにされてきた（Bowen et al. 1992）. これまでに mtDNA を用いたアオウミガメの産卵地における個体群構造の研究は，広域の個体群についても，地域個体群を対象としても行われ，系統地理的推定，個体群間の関連性の解明，そして保全に応用すべく，適切な管理単位の推定が行われてきた（Lahanas et al. 1994; Encalada et al. 1996; Chassin-Noria et al. 2004; Dethmers et al. 2006; Cheng et al. 2008; Dutton et al. 2008; Nishizawa et al. 2011）. しかしながら，いくつかの地域では未だに個体群の構造や進化的歴史が十分には解明されていない.

北西部太平洋は，全体的な個体群構造があまり詳細に明らかにされていない地域のひとつである. この地域におけるアオウミガメの産卵地は，小笠原諸島，琉球列島，台湾に分布している（Kamezaki 1989; Cheng et al. 2008）. 小笠原諸島は，日本列島の本州からおよそ 1,000 km 南に位置する. 小笠原諸島の産卵個体は，1978 年からモニタリングが継続されており，産卵数の増加がみられている数少ない産卵地である（Chaloupka et al. 2008）. 一方，琉球列島は，およそ 1,200 km にわたって九州と台湾の間に連なる島嶼群で，ここにアオウミガメの産卵地が点在している（Fig. 1.1）. 琉球列島における，アオウミガメの産卵地の分布に関する研究はこれまでにいくつか行われてきたが（Kamezaki 1989），産卵個体群の大きさに関する研究は，石垣島の一部で行われたものに限られる（Abe et al. 2003）. 琉球列島の中でも，中央部にあ

たる中琉球では, 年間の産卵数(メスの上陸回数や産卵巣数)が明らかにされている島はほとんどなかったが, 近年, 地元の調査団体による産卵調査や, 自治体の環境調査制度の一環として, ウミガメ類の産卵数をモニタリングする島が増えてきた, その結果, 毎年アオウミガメの産卵数が100を超える島がいくつかあることが明らかにされ(奄美海洋生物研究会・沖永良部ウミガメネットワーク・鹿児島県与論町・日本ウミガメ協議会未発表データ, Table 1.1), これまでに認識されてこなかった産卵個体群の存在が示唆された.

北西部太平洋の産卵個体群を対象に行われた遺伝的研究からは, 台湾から 2 個体群, 八重山諸島から 2 個体群, 小笠原諸島から 1 個体群の 5 つの遺伝的に独立した個体群が明らかにされてきた(Fig. 1.1, Cheng et al. 2008; Nishizawa et al. 2011, 2013). これらの個体群は, 分布北限に位置する相対的には小さな産卵集団であるにもかかわらず, 台湾の蘭嶼(Lanyu)から報告された個体群を除いて, 深く分岐した系統のハプロタイプが個々の産卵個体群から同所的に検出され, 高い遺伝的多様性を保持することが明らかにされた. この多様性は, 分布の中心である低緯度の個体群から高緯度の分布縁辺にある産卵地に移入してきた歴史を反映していると考えられてきた(Cheng et al. 2008; Nishizawa et al. 2011, 2013). しかしながら, 上記の 5 個体群は, それぞれの地域個体群として個別に報告されてきたため, 分布縁辺部の産卵個体群が, 全体としてのどのように形成されてきたかという点については, 十分に議論されてこなかった. この北西部太平洋のアオウミガメ個体群の歴史を明らかにするため, 本研究ではまず, 既知の 5 つの産卵個体群について, その遺伝的組成を再検討した. その中で, 小笠原諸島や八重山諸島の産卵個体群からは, 低緯度地域ではほとんど見つかっていないクレードIVというグループに属するハプロタイプが検出されている特徴に注目した. このような分布様式は, このクレード(IV)が移入してきた系統ではなく, この地域に固有の系統である可能性を示唆している. したがって, 北西部太平洋の産卵個体群において多系統のハプロタイプが分布するのは, 北限に存在していた個体群と, 低緯度地域の産卵個体群からの移入者との二次的接触が起きたためだと解釈することができる(Maggs et al. 2008). そこで, 本研究では, 北西部太平洋にはアオウミガメ産卵個体群のレフュージアが存在したと仮説を立てた. もしこ

の仮説が正しければ，北西部太平洋の個体群は，レフュージア個体群が持つ特徴である，固有系統の多様性や固有系統の祖先的なハプロタイプ（Maggs et al. 2008）を含むと考えれる．しかしながら，現在のところ，小笠原諸島と八重山諸島の間の地域からの試料は調査されておらず，地理的に大きな空白があるため，北西部太平洋の産卵個体群の歴史を詳細に推定することは難しい．そこで，本研究では，八重山諸島のさらに北に位置する中琉球のアオウミガメの産卵地の遺伝的組成を明らかにし，深く分岐したハプロタイプが同所的に検出される北西部太平洋アオウミガメの産卵個体群構造が，どのような形成過程によって説明できるかを議論する．

1. 2. 試料と方法

採集方法

2005 年から 2012 年の間に，中琉球の 7 カ所の産卵地からアオウミガメ 70 個体分のサンプルを採集した（Table 1.1）．加計呂麻島，請島，与路島については，採集をおこなった砂浜間の距離が最も遠い場所でも 18 km 以内だったため，1 つの産卵地としてまとめて，解析に用いた．中琉球の採集した産卵地については，以下の略称で表記する：奄美大島北西部：NWA，加計呂麻島，請島，与路島：KUY，沖永良部島：OEB，与論島：YOR，沖縄島北部：NOK，沖縄島中西部：CWO，座間味島：ZAM．さらに，2003 年および 2011 年に八重山諸島の西表島南西部の産卵地から 8 個体分のサンプルを収集した．これらは，Nishizawa et al.（2011）による同一産卵地から採集された 26 サンプルとまとめて解析に用いた．

奄美大島，加計呂麻島，沖永良部島，西表島南西部では，夜間に砂浜で巡視をおこない，産卵上陸したメスに標識を装着し，個体を識別した上で組織を採集した．標識として，パンチを用いて装着するジャンボタグを用いた際には，皮膚と筋肉組織が得られるため，その組織を試料とした．パンチを用いないインコネルタグを用いた際は，Dutton（1996）で示されている方法を参考に，解剖鋏を用いて皮膚組織を採集した．

産卵上陸したメス個体の組織試料以外に，本研究では，昼間の砂浜調査で採集可能な死

亡した幼体および死亡胚も試料として用いた. 請島および与路島については, 陸路でアクセスできない産卵浜が多く, それらの砂浜には, 昼間の満潮時に海側から砂浜に上陸して, 死亡幼体や胚の採集を試みた. しかしながら, ほとんどの巣穴が何らかの生物に捕食されており, 卵殻のみが残されていたため, 各巣穴に残されていた卵殻を収集して, 試料とした. 卵殻は変色が見られるものが多く, 劣化が見られたため, 各巣穴から少なくとも卵 3 個以上に相当する卵殻を回収し, 各巣穴につき PCR 増幅に成功した卵 1 個分の卵殻だけをその巣穴の試料として用いた.

ウミガメ類のメスは, 1 度の繁殖シーズンにおよそ 2 週間の間隔で複数回産卵上陸し, これらの砂浜は, 同じか非常に近いことが知られている(Miller 1997). したがって, 死亡幼体, 死亡胚, 卵殻を用いる場合は, 同一雌によって産卵された異なる巣穴から試料を採集する危険性がある. そのため, 同一雌由来の試料を重複して採集することを避けるために, 調査毎に記録されている各巣穴の産卵日を基に, 産卵されて 2 週間以内の巣穴だけを対象に採集し, 同じ産卵浜から複数年にわたる死亡幼体, 死亡胚の採集は行わなかった. 卵殻の採集は 2012 年のみおこない, 同一雌個体による複数の産卵巣からの採集する危険性を可能な限り避けた.

DNA 解析方法

採集した組織試料は, DNA 抽出を行うまで, 食塩か 99%エタノールに漬けて保存した. DNA は, フェノール・クロロホルム法で抽出し, TE バッファーに溶解した. プライマーには, LCM15382 : 5’-GCTTAACCCTAAAGCATTGG-3’ および H950 : 5’-GTCTCGGATTTAGGGGTTTG-3’（Abreu-Grobois et al. 2006）を用いて, mtDNA の tRNA-Thr, tRNA-Pro および, コントロール領域 5‘側を含むおよそ 950 塩基の断片を PCR 増幅した.

鋳型 DNA として 1 μL の抽出 DNA を用い, 12.5 μL または 15.0 μL のスケールで PCR 反応をおこなった. 反応条件は, 94℃で 3 分間の熱変性後, 94℃で 30 秒, 55℃で 30 秒または 60 秒, 72℃で 60 秒の増幅反応を 30－40 サイクル, 最終伸長反応を 72℃で 3 分おこない, 4℃

で保存した.

卵殻サンプルについては，1度のPCR反応では，電気泳動で増幅が確認できないことが多かったため，最初のPCR産物を鋳型DNAとしたセカンドPCR反応をおこなった．増幅したPCR産物はExoSAP-IT（USB Products）を用いて精製した．精製は，37度で30分から60分酵素反応させ， 80℃で15分間インキュベートし，酵素を失活させた．サイクルシーケンス反応には，1.5μLの精製したPCR産物とBig Dye Terminator Cycle Sequence Ready Reaction Kit, version 3.1 （Applied Biosystems）を用い，PCR反応と同じプライマーを用いて両方の鎖に対してそれぞれおこなった．サンプルはエタノール沈殿により精製し，ABI 3130xl Genetic Analyzer（Applied Biosystems）で塩基配列を読み取った．得られた波形ファイルは，DNA BASER（Heracle Biosoft S.R.L）で相補鎖配列を合わせ，アラインメントにはMEGA 5 （Tamura et al. 2011）に組み込まれているClustal Wを用いた．得られた配列は，Norman et al. （1994），Dethmers et al. （2006, 2010），Cheng et al.（2008），Hamabata et al. （2009），およびNishizawa et al. （2011, 2013）で報告されている380塩基または500塩基のハプロタイプと比較し，米国のNOAA, National Marine Fisheries Service, Southwest Fisheries Science Center がインド太平洋域で標準化を進めているアオウミガメのハプロタイプの命名法に則ってハプロタイプ名を決定した.

採集した年による違いを調べるため，沖永良部島で2011年に採集した8試料，2012年に採集した7試料について，ARLEQUIN version 3.5（Excoffier and Lischer 2010）を用いて，Exact test（Raymond and Rousset 1995）により比較したが，有意差は見られなかった（$p = 0.600$）．他の採集地点では，複数年にわたって採集していたとしても，1試料しか収集していない年が多いため，比較を行わず，全ての採集地点ごとに複数年にわたる試料をまとめて解析した．ハプロタイプの塩基置換サイト数，ハプロタイプ多様度，塩基多様度は，ARLEQUINを用いて計算した．塩基置換数の推定が必要な解析については，太平洋地域のアオウミガメの先行研究（Dethmers et al. 2006; Nishizawa et al. 2011）で使われたTamura–Nei モデルを用いた（Tamura and Nei 1993）．中琉球における7ヶ所の産卵地の間の遺伝的分化についても，

ARLEQUIN を用いて，Exact testとPairwise F_{ST}により，比較した．多重比較検定の有意水準は，B-Y method（Benjamini and Yekuiteli 2001）で補正した．

さらに，隣り合う産卵地間で遺伝的に有意な分化が見られなかった産卵地を何通りかの方法で組み合わせ，個体群構造を推定した．860塩基のハプロタイプを用いて，中琉球の産卵地だけで遺伝的分化を比較した場合と，380塩基のハプロタイプを用いて，インド太平洋地域の他の産卵個体群も含めて比較する方法を比べたが，中琉球内の産卵集団について，両者で有意差の出る組み合わせに違いは無かった．そのため，中琉球内の個体群構造は全て860塩基のハプロタイプを用いて推定した．

中琉球を一まとめにした集団と，上記の情報で推定された中琉球内の個体群の両方について，Exact testsとPairwise F_{ST}を用いて，オーストラシア，東南アジア，北西部太平洋における既知の産卵個体群の遺伝的分化を比較した．この解析では，380塩基のハプロタイプを用いて，中琉球以外の北西部太平洋で独立に報告されてきた，オーストラシア，東南アジアの17個体群（Dethmers et al. 2006），台湾の2個体群（Cheng et al. 2008），八重山諸島の2個体群（Nishizawa et al. 2011），小笠原諸島の1個体群（Nishizawa et al. 2013）についても，遺伝的分化を確認した．これらの解析ではすべて，Pairwise Φ_{ST}でも遺伝的分化を調べたが，全ての場合でF_{ST}値の方が遺伝的分化の検出力が高かったため，本研究ではF_{ST}値を用いた．さらに，上記の既知の産卵個体群および，今回推定された中琉球の産卵個体群ついて，検出されたハプロタイプが属するクレードの頻度を求めた．

380塩基のハプロタイプ間の関係については，TCS 1.21（Clement et al. 2000）で95%連結規律を設定し，ハプロタイプネットワークを構築した．ハプロタイプネットワークの作成時に，ハプロタイプ中の欠損または挿入は，単一の突然変異のイベントとして1塩基に置き換えてアライメントしたデータを用いた．また，MEGA5でTamura and Neiモデルを用い，380塩基のハプロタイプについて近隣結合樹（Saitou and Nei 1987）も作成した．系統樹の信頼性は，10,000回のブートストラップ解析で検証した． 70％以上のブートストラップ値で支持された枝に対してのみ，結果に値を示した．なお，追加収集した試料を含め，北西部太平洋の産卵個体から得ら

れたハプロタイプは，ハワイおよび東部太平洋のアオウミガメのハプロタイプとは一致しなかったため，上記全ての集団間比較には，ハワイおよび東部太平洋の産卵個体群のハプロタイプは含めなかった.

1. 3. 結果

今回追加的に収集した78サンプルから10ハプロタイプを同定し，GenBankに登録した（Accession No. AB819806–819815, Table 1.2）. 860塩基の配列をアライメントした結果，47ヶ所の塩基置換サイトが見つかり，そのうち39ヶ所が転位，8ヶ所が挿入または欠失であった. 決定した860塩基長のハプロタイプは全て，これまでに500塩基のCMJで始まるハプロタイプ，または380塩基のCmPで始まるハプロタイプを含んでいた（Table 1.2）. 10ハプロタイプのうち，1つのハプロタイプCmP54.1は，中琉球からは検出されず，西表島南西部からのみ検出された. 500塩基のCMJ15として報告されていたハプロタイプは，860塩基のハプロタイプでは追加された360塩基部分に1ヶ所の塩基置換サイトを含み，2つのハプロタイプCmP121.1 およびCmP121.2に分けられた. ハプロタイプCmP70.1は，500塩基のハプロタイプCMJ17が八重山諸島および奄美大島周辺の摂餌個体から報告され（Hamabata et al. 2009），これまでに調査された産卵地では見つかっていなかったが，今回初めて中琉球のNWA，KUY，CWOから発見された.

中琉球全体では，台湾を除く北西部太平洋で最も広く分布しているハプロタイプCmP50.1が優占し，全体の49%を占めた（Cheng et al. 2008; Nishizawa et al. 2011, 2013）. NWAおよびNOKでは，ハプロタイプCmP39.1が優占した. このCmP39.1は，中琉球の6つの島で検出されており，ハプロタイプCmP50.1と同様に北西部太平洋に広く分布していることが分かっている（Cheng et al. 2008; Nishizawa et al. 2011, 2013）. 860塩基のハプロタイプについて求めたハプロタイプ多様度は，ZAMで最も低い値（0.491 ± 0.175）を示し，CWOで最も高い値（0.900 ± 0.161）を示したが，塩基多様度は，YORで最も低い値（0.001 ± 0.001）となり， CWOで最も高い値（0.017 ± 0.011）となった（Table 1.2）. 中琉球全体をまとめたハプロタイプ多様度は0.687

± 0.043, 塩基多様度は0.014 ± 0.007であった.

中琉球のアオウミガメ産卵個体群の遺伝的構造

中琉球の産卵地をまとめて, オーストララシア, 東南アジア, 北西部太平洋から報告されている22産卵個体群と比較した場合, 全ての個体群と遺伝的に有意に分化していることが示された(Table 1.3).

中琉球の産卵地間でExact testsおよびPairwise F_{ST}比較した場合, 21組の対比較のうち7組で遺伝的に有意な分化が認められなかった(Table 1.4). この解析において, 4組の隣り合う産卵地で遺伝的に有意な分化が認められなかった(KUYとOEB, OEBとYOR, NOKとCWO, CWOとZAM).

さらに産卵個体群の構造を調べるために, 有意差の認められなかった産卵地をまとめて, 様々な組み合わせでの検定をおこなった結果, NWA／KUY-OEB-YOR／NOK／CWO-ZAMの組み合わせについて, Pairwise F_{ST}の値が隣り合う産卵地間で全て有意に分化する結果となった (Table 1.5). しかしながら, Exact testでは, KUY-OEB-YORとNOK間, NOKとCWO-ZAM間の統計的に有意な遺伝的分化は見られなかった. さらに, この組み合わせの中でNWA とNOK間, KUY-OEB-YORとCWO-ZAM間の遺伝的分化は統計的に有意ではなく, 隣接する産卵集団とは分化していても, 離れた産卵集団との分化が支持されない結果となった(Table 1.5). また, これらの4集団は, 八重山諸島及び台湾の産卵個体群とは遺伝的に分化していると結果となったが, NWAとNOKは, 小笠原諸島の産卵個体群とは分化していないという結果になった(Table 1.6.).

オーストララシア, 東南アジア, 北西部太平洋の全ての産卵個体群との対比較では, 台湾の蘭嶼の産卵個体群と半島マレーシア(Peninsilar Malaysia)の産卵個体群, 蘭嶼の産卵個体群および西ジャワ(West Java)の産卵個体群がExact testで, 有意差が認められず, 蘭嶼と半島マレーシア, 蘭嶼と西ジャワ, 南東サバ(SE Sabah)と西ジャワの3組がPairwise F_{ST}で遺伝的が認められなかった(Table 1.6). しかしながら, これらの産卵個体群は地理的に離れており,

間に別の産卵個体群が存在する産卵地をはさんでいることから，それぞれ別の産卵個体群として扱い，各産卵個体群で検出されるハプロタイプのクレードの頻度を求めた.

TCSで描いたハプロタイプネットワークは，5つのハプロタイプグループに分かれた（Fig. 1.2）. 近隣結合樹は，オーストララシア，東南アジアの産卵個体群で報告されていた主要な5つのクレードを持つ系統樹と似た樹形を示した（Dethmers et al. 2006）. 中琉球で検出されたハプロタイプはクレードI，IV，Vの3クレードに属していた.

1. 4. 考察

北西部太平洋地域における産卵個体群の遺伝的構造

本研究の結果から，中琉球のアオウミガメは，八重山諸島および小笠原諸島のアオウミガメ産卵個体群で報告されてきた遺伝的多様性と同等の多様性を持つことが明らかになった（Nishizawa et al. 2011, 2013）. これらの産卵個体群は全て，インド太平洋地域で報告されてきた産卵個体群とは遺伝的に分化していた. 先行研究において，八重山諸島および小笠原諸島の産卵個体群で見られた，多系統のハプロタイプからなる遺伝的組成は，これらの系統が，オーストララシアや東南アジアの産卵個体群で報告されてきた5系統中3系統に属するため（Dethmers et al. 2006），インド太平洋地域の赤道付近などの産卵個体群が，間氷期に産卵地として利用できる環境の拡大に伴って，高緯度に移入してきた歴史を反映していると考えられてきた（Nishizawa et al. 2011, 2013）. しかしながら，現在の北西部太平洋の産卵個体が，全て低緯度の産卵個体群に起源をもつのであれば，北西部太平洋で検出されるハプロタイプの祖先的多型が，低緯度地域の個体群から検出されるはずであるが，クレードIV のハプロタイプについては，東南アジアのごく一部で検出されるものの，その他の産卵個体群では全く検出されていない（Fig. 1.3）.

クレードIVは，半島マレーシアおよびサラワク（Sarawak）の産卵個体群で検出されたハプロタイプCmP82という1ハプロタイプで初めて報告された系統であり，このクレードに属するハプロタイプはCmP82を除いて見つかっていなかった（Dethmers et al. 2006）. ところが，本研究と先

行研究で解析した北西部太平洋の産卵個体の遺伝的組成を見てみると，ハプロタイプCmP82とは別の9ハプロタイプが検出された．そのうち8ハプロタイプが小笠原産卵個体群で検出され（Nishizawa et al. 2013），4ハプロタイプが中琉球から検出されている．クレードIVに属するハプロタイプの頻度は小笠原産卵個体群で81％（うちCmP39が51％）を占め，中琉球では36％を占めた（Table 1.2）．半島マレーシアおよびサラワクから北西部太平洋の産卵地の間には，いくつもの産卵地が存在するが，この間にクレードIV に属するハプロタイプは，全く検出されていない．特定の個体群や地域に固有のハプロタイプ分布と固有ハプロタイプの多様性は，レフュージア個体群を識別する重要な特徴の二つとされており（Maggs et al. 2008）．このクレードIVに属するハプロタイプの地理的な分布パターンと，北西部太平洋域内のハプロタイプCmP39を中心とするクレードIV の多様性は，この系統が，半島マレーシアやサラワク のあるスンダランドの産卵地よりも，北西部太平洋で生存してきた系統であることを示唆する．そして，この系統がスンダランドで検出されるのは，メス個体が稀に見せる産卵地の変更によって拡大，固定した結果であると考えられる．クレードIV の北西部太平洋と東南アジアのごく一部の産卵個体群でのみ検出されるという限定的な分布様式は，北西部太平洋の小さな個体群からは，分散する確率が低いことに加え，太平洋地域の先行研究でも示唆されてきたメスの母浜回帰性の影響によるものであると考えられる（Dethmers et al. 2006; Cheng et al. 2008; Nishizawa et al. 2011）．

大西洋のアオウミガメで行われた研究では，氷期にはアオウミガメの産卵地は赤道付近に縮小され，現在の高緯度地域に分布する産卵地は，間氷期に産卵可能な地域が広がるにつれ，赤道付近の個体群からの移入個体により形成されたものであると考えられていた（Encalada et al. 1996）．そして，太平洋の高緯度の産卵地でも同じような形成過程を経たであろうと考えられてきた．もし，過去の氷期に，太平洋と大西洋の高緯度の環境が類似していた場合，琉球列島や小笠原諸島もアオウミガメの繁殖には気候的に適さなかったと考えられる．しかしながら，他の生物の歴史的な分布を調べた研究では，これらの地域がレフュージアとして働き，個体群が氷期にも絶滅することなく現在まで存続していたことが示唆されている．たと

えば，造礁サンゴは，更新世にも完新世にも，琉球列島全体に分布し，第四紀を通して琉球列島周辺は，熱帯から亜熱帯の海洋環境が維持されていたことが知られている（Nakamori et al. 1995;中森・太田 2001）. また，小笠原諸島に関しては研究例が非常に少ないが，インド太平洋の熱帯から亜熱帯の岩礁潮間帯に生息地とするスジクモハゼ（*Bathygobius cocosensis*）の小笠原諸島個体群は，遺伝的解析から 100万年以上存続していたと推定されている（Mukai et al. 2009）. したがって，この地域で上記の種が生存していたことは，その間，この地域の海洋環境も亜熱帯を維持していたことを示している. これらのことから，アオウミガメの産卵個体群についても，クレードIVの祖先的ハプロタイプを持つものが，氷期にも北西部太平洋地域で維持されていたと考えられる. 氷期から間氷期の気候が変わる際には，大規模な海水準の変化を伴うため，氷期に産卵地として利用できた地域の特定は難しい. そのため，レフュージアとして働いた地域を特定することも難しいが，現在の小笠原産卵個体群が，クレードIV の多様性が最も高く，小笠原諸島がレフュージアであった可能性は高い. 中琉球は，他の北西部太平洋産卵個体群と比べて，小笠原産卵個体群とのPairwise F_{ST}値が低く，互いに遺伝的に類似している（Table 1.3）. 実際に，共通するハプロタイプが多いことから，小笠原諸島から中琉球への産卵個体の移入は，複数回起こっていた可能性がある. 八重山産卵個体群からは，クレードIV のハプロタイプが検出されているものの，ハプロタイプ数およびその割合は少なく，台湾産卵個体群からは全く検出されていない. したがって，これらの地域は，レフュージアではなかった可能性が高い. おそらくハプロタイプCmP39やCmP121をもつ個体が，小笠原諸島や中琉球から八重山諸島へと移入したため，クレードIVに属するハプロタイプがこの地域にも分布していると考えられる.

さらに，今回および先行研究では，クレードIおよびVに属するハプロタイプが北西部太平洋地域で検出されている. この結果は，アオウミガメの移入の歴史を示唆している. 北西部太平洋で検出されたクレードI とV に属するハプロタイプのいくつかは，オーストララシアや東南アジアの個体群と共通している（クレードI のCmP49，クレードV の CmP20 and CmP77，Dethmers et al. 2006; Cheng et al. 2008; Nishizawa et al. 2011, 2013; 本研究）. そして，クレー

ドIのハプロタイプは東南アジア，東部インド洋に広く分布し，クレードV のハプロタイプは，西部太平洋に広く分布している（Dethmers et al. 2006, Fig. 1.3）. 通常，遺伝子流動は，その種の分布の中心（サイズの大きな集団）から縁辺部（サイズの小さな集団）に向かって，非対称に起こる（Eckert et al. 2008; Kawecki 2008）. したがって，上記のクレードIおよびVが示す分布パターンは，この2系統については，アオウミガメの産卵地がより集中的に分布する赤道周辺域が起源であると考えることが自然である.

クレードIとVに属し，現在の北西部太平洋に固有ハプロタイプ（クレードIのCmP50，CmP53，CmP19，CMJ32，クレードVのCmP54）はおそらく，CmP49 やCmP20のように，各クレードで祖先的であると考えられるハプロタイプから，移入後に生じたものだと考えられる.

ハプロタイプCmP49は，北西部太平洋に比較的近い産卵地の中では，東南アジアで見られ，ハプロタイプCmP20はミクロネシアで優占する（Dethmers et al. 2006）. したがって，東南アジアやミクロネシアなどの産卵地から，高緯度の産卵地に移った産卵メスの子孫が，世代を超えて繁殖し，この系統が北西部太平洋地位にも分布拡大したのと推察される.

このように，今回および先行研究で解析した北西部太平洋のアオウミガメ産卵個体群の遺伝的組成は，長く維持されてきた系統と，新たに南方から移入してきた系統の混合により，形成されたことを示した. 現在の北西部太平洋産卵個体群が維持している高い遺伝的多様性は，この地域固有の系統が，低緯度地域の起源をもつ個体と二次的接触したことにより形成されてきたと考えられる. 大西洋と太平洋では，おそらく氷期に同緯度であっても異なる海洋環境が形成されており，現在の両海洋のアオウミガメ産卵北限に位置する個体群は，必ずしも同調的な進化を経ておらず，両海洋間では本種の繁殖が可能だった北限の緯度は，違っていたのであろう.

中琉球で産卵するアオウミガメの個体群構造

これまでの太平洋のアオウミガメ産卵個体群の遺伝的構造に関する研究は，Norman et al.（1994）に従って，380塩基の短い断片で行われてきた. しかしながら，Hamabata et al.（2009）

と Nishizawa et al.（2010）は，より長い500塩基（一部は520塩基）の長さの断片でアオウミガメ摂餌群のハプロタイプを報告し，いくつかの380塩基で報告されたハプロタイプは，延長した長い配列部分に塩基置換サイトを持ち，異なるハプロタイプとして細分化できることを報告した．たとえば，広域に分布するハプロタイプの一つであるCmP20は，500塩基長ではCMJ2，CMJ8，CMJ14， CMJ33の4ハプロタイプに分けられ，mtDNAのコントロール領域でも，より長い配列を用いることで産卵個体群の遺伝的解像度を高められる可能性が示唆された．近年，更に長い800塩基を超えるコントロール領域の配列を用いることで，大西洋や地中海のアカウミガメや（Saied et al. 2012; Shamblin et al. 2012），カリブ海地域ののタイマイ（Browne et al. 2010; Leroux et al. 2012; Velez-Zuazo et al. 2008）の個体群構造がより詳細に明らかにされてきた．

本研究では，太平洋のアオウミガメについて，初めて800塩基を超える配列で解析した．今回解析した中琉球内の産卵個体からは，4ハプロタイプ以上に細分化できることが分かっているハプロタイプCmP20を延長しても，ひとつのハプロタイプCmP20.1しか検出しなかったことから，解析するDNA領域を伸長した場合に，この地域の産卵個体群の構造の解像度を高められるか否かを確認することは出来なかった．しかしながら，新たに同定されたハプロタイプCmP121.1とCmP121.2は，どちらも内側にハプロタイプCmP121（380塩基）/CMJ15（500塩基）を含み，それぞれKUYとZAMから検出された．したがって，380塩基または500塩基の断片では特定できなかった産卵地が，これらの長い2つのハプロタイプにより特定できる可能性を示した．

八重山諸島で行われた先行研究では，わずか60 kmしか離れていない石垣島と西表島の産卵地間で，遺伝的に分化し，隣接する台湾の産卵個体群とも明確に分化していることが示されていた（Nishizawa et al. 2011）．一方，中琉球の産卵個体群は，八重山および台湾地域の産卵個体群間で見られたほどの明瞭な集団構造は示さなかった．しかも，隣接する産卵地とは有意に分化していても，中琉球内のより離れた産卵地とは遺伝的分化していない場合も多かった．また，今回推定した中琉球内の4つの産卵集団は，八重山諸島および台湾の産卵個体群に対しては，明確な遺伝的分化が示されたが，NWAとNOKの産卵個体の遺伝的組成

は，八重山諸島や台湾よりも地理的に離れた小笠原個体群とは全く区別できない結果になった．中琉球の産卵地は，小笠原諸島からの複数回の移入が示唆され，中琉球と小笠原のアオウミガメが歴史的に強いつながりがある可能性は，前セクションで考察した．しかしながら，そのような歴史的なつながりに加え，中琉球の各産卵地では，個体数が少ないために，遺伝的浮動の効果も働き，今回のような，隣接地で有意に遺伝的違いがみられても，離れた産卵地間で有意な違いが見られないという結果になったと考えられる．中琉球の産卵個体群の詳細な構造決定には，本研究で採集をおこなった産卵地での追加的な試料採集と，本研究では採集していない島からの採集に加え，Tikochinski et al.（2012）が地中海のアカウミガメで報告したmtDNAのShort Tandem Repeat領域などを用いた解析手法で，小笠原諸島の産卵個体を含めた，更なる解析をおこなう必要性がある．本研究により，中琉球の産卵個体群の構造推定には，上記のような課題も浮き彫りとなったが，今回得られた結果は，これらの問題点を踏まえても，中琉球に複数の遺伝的集団が含まれていることを示している．

第 2 章　日本沿岸の摂餌域におけるアオウミガメの甲長および遺伝的組成

2. 1. 緒言

多くの海洋生物は，幼体期に海流による受動的な分散を経験し，成長後は積極的に回遊をおこなうなど，成長に伴って生息地や空間的分布を変える（たとえば，ニホンウナギ（Tsukamoto 1992），クロマグロ（Farley et al. 2007），ホホジロザメ（Jorgensen et al. 2010）など）．この生息地の移動に伴い，様々な生息地で異なる脅威に直面する．しかしながら，高い移動性のために，生涯を通してどのような生息地で過ごすのかを理解することが難しく，包括的な管理や保全を計画することも容易ではない．

アオウミガメの生活史の全容は，高度な移動性に加え，長い世代時間のために，現在でも解明されていない．近年の研究により，本種は，幼体や成体でも，外洋域で過ごす個体がおり，摂餌域利用には個体差もあることが明らかにされてきたが（González Carman et al. 2012; Hatase et al. 2006; Parker et al. 2011），典型的な生活史としては，まず砂浜で孵化した個体は外洋で数年間を過ごした後，餌となる海草や海藻の分布する沿岸の浅海域（沿岸の水深約 200m まで）に移ると考えられている（Bolten 2003）．浅海の生息地に加入する体サイズは，オーストラリアの東側から報告されている標準直甲長（SCL）で，およそ 41.5 cmであることが知られている（Limpus et al. 2005）．なお，この甲長は曲甲長（CCL）で報告された値を Bjorndal & Bolten（1989）内の換算式に基づき，SCL へ換算したものである．浅海域は，沿岸漁業，人間活動による水質汚染，船舶の航行による衝突など，ウミガメ類に対する人為的脅威が数多く存在し，生涯の生息地の中で最も死亡率の高い場所の一つであることが，アカウミガメを用いた研究から指摘されている（Bolten et al. 2011）．おそらく，アオウミガメについても同様に，浅海域は人為的脅威が大きな場所であると考えられる．したがって，浅海の摂餌域に分布するアオウミガメの体サイズデータは，各摂餌域の人為的脅威が，どの成長段階の個体に及びうるのかを評価するために重要な情報となる．

さらに，それらのウミガメが由来する産卵地を推定することで，どの産卵個体群が浅海で生

じる災害の影響を受けるかを知ることができ，各成長段階を適切に管理していくための情報を得ることができる．Mixed Stock Analysis（MSA）は，個体が由来すると考えられる潜在的な産卵地と各摂餌域の遺伝的なデータを用いて，どのウミガメの産卵地と摂餌域につながりがあるのかを明らかにしてきた（Bolker et al. 2007 など）．この情報は，どの産卵地（または摂餌域）の災害が，離れた摂餌群（または産卵地の個体群）に影響しうるかということを考えるデータとしても用いることができる（Bowen et al. 2004, 2005 など）．さらに，南西部太平洋のトレス海峡にあるアオウミガメ摂餌域で行われた研究では，幼体と成体ではハプロタイプ組成に違いがあり，MSA の結果，この海域の摂餌群に寄与する産卵集団が，幼体と成体で異なることを明らかにした（Jensen 2010）．通常，ウミガメ類の生物学では，長期的なデータの蓄積を待つことは難しい．しかしながら，この体サイズデータと遺伝的組成のデータを組みわせる解析を応用することで，個体群動態の長期的な傾向を推測し，成長に伴う生息地の変化に関する知見を増やすことが期待できる．また，将来アオウミガメ個体群に変化が起きた場合，そのインパクトを評価するための基礎的データとしても利用することができる．

日本は，アオウミガメの北西部太平洋における，産卵地および摂餌域として北限に位置する（Hamabata et al. in press; 亀田・石原 2009; Kamezaki 1989; 岡本 他 2011; 島田 2009）．摂餌域は琉球列島周辺の亜熱帯の海域から，本州北部の沿岸の温帯海域まで広がっている（亀崎 他 2007）．MSA を用いた先行研究では，琉球列島の摂餌域の個体は，日本の産卵地だけでなく，西部太平洋，東部太平洋，東南アジアなど様々な産卵地に由来する一方，本州・四国・九州の摂餌域は，日本国内で最も規模の大きな産卵地である小笠原諸島に由来する個体が優占することが明らかにされた（Nishizawa et al. 2013）．その研究では，南琉球にある八重山諸島の摂餌域では，成長段階間のハプロタイプ頻度に有意な違いは見られなかったが（Nishizawa et al. 2013），他の摂餌域ではサンプル数が十分ではなく，成長段階間の比較は行われなかった．さらに，日本国内では，二番目に規模の大きなアオウミガメ産卵地域である中琉球の産卵個体群に関する遺伝的データがその当時は明らかにされておらず，解析に含まれていなかった．本研究では，摂餌域における追加試料と中琉球産卵個体群のデータを

加え，日本沿岸の摂餌域のアオウミガメの組成が，成長段階によって変わるかどうかを調べた．そして，先行研究（Nishizawa et al. 2013）において，アオウミガメの摂餌群の形成に影響すると考えられてきた仮説や要因が，日本沿岸のアオウミガメの摂餌群の形成を説明できるかどうかを検証し，各摂餌域におけるアオウミガメの動態について考察する．

2. 2. 試料と方法

本研究で用いた試料

1991 年から 2012 年に 4 か所の摂餌域で混獲されたまたは，その周辺に漂着したアオウミガメの 152 個体の組織または血液試料を収集した（Table 2.1）．各採集地点における試料は，以下の通り 4 か所の摂餌域から得られた．八重山諸島周辺（八重山摂餌域）から 52 個体，沖縄島周辺（沖縄摂餌域）から 46 個体，室戸岬周辺（室戸摂餌域）から 40 個体，尾鷲湾周辺（尾鷲摂餌域）から 19 個体．八重山摂餌域と沖縄摂餌域は，琉球列島に位置し，室戸摂餌域と尾鷲摂餌域は，それぞれ四国および本州西部の太平洋側に位置する（Fig. 2.1 a）．生きた状態で捕獲された個体は，個体識別用の標識を装着後に放流し，同一個体から複数回の試料採集は行っていない．八重山摂餌域の試料には，Hamabata et al.（2009）および Nishizawa et al.（2013）で用いられた同一海域の試料のうち，個体の甲長とハプロタイプの記録が残されている試料を加え，八重山摂餌域からは 345 個体を解析に用いた（Table 2.2）．同様に，室戸摂餌域および尾鷲摂餌域の試料もそれぞれ Hamabata et al.（2009）の同一摂餌域の試料とまとめ，室戸摂餌域は 93 個体，尾鷲摂餌域は 32 個体で解析を行った（Table 2.2）．さらに，Hamabata et al.（2009）で用いられた鹿児島県の野間池周辺海域の混獲個体，38 個体についても，野間池摂餌域として用いた．甲長のデータを用いない解析については，Nishizawa et al.（2013）で用いられた沖縄県宜野座周辺（宜野座摂餌域）からの 20 個体と，関東周辺海域（関東摂餌域）の 47 個体も，解析に含めた．宜野座摂餌域は，沖縄摂餌域と同様，沖縄島周辺海域であるため，沖縄摂餌域の試料にまとめ，計 66 個体で解析した．甲長の分布は，八重山諸島及び室戸岬についてのみ，標準直甲長（SCL）を用いて作成した．沖縄，野間池，尾鷲摂餌域の甲長

の分布については，傾向を把握できるほどのサンプル数が得られなかったため，作成しなかった．成長段階による比較を行う解析では，各摂餌域の個体は，甲長頻度に増減変化が生じるSCL 50 cm および 70 cm を区切りとして，SCL 50 cm 未満をサイズクラス I，SCL 50 cm 以上，70 cm 未満をサイズクラス II，SCL 70 cm 以上をサイズクラス III として，3 つのサイズクラスに分けた．

インド太平洋域のアオウミガメ産卵地から報告されている，27 個の産卵個体群の mtDNA ハプロタイプデータを先行研究から引用し，Mixed Stock Analysis（MSA）に用いた（Fig. 2.1 b, Chassin-Noria et al. 2004; Dethmers et al. 2006; Cheng et al. 2008; Dutton et al. 2008; Hamabata et al. 2009 and in press; Nishizawa et al. 2011 and 2013）．中琉球のアオウミガメ産卵集団については，第 1 章で複数の集団を含んでいることが示唆されたが，その構造が不明瞭であることから，ここでは，中琉球全体を一つの地域集団として解析に用いた．また，2013 年に採集された奄美大島北西部の産卵メス 4 個体の試料も解析に追加した（Table 2.1）．

DNA analysis

採集した皮膚や筋肉組織は 99％エタノールに入れ，血液試料はヘパリンで凝固を防止した後凍結し，分析に用いるまで保存した．皮膚や筋肉組織からはフェノールクロロホルム法で DNA を抽出し，血液試料からは DNeasy Blood and Tissue Kit（QIAGEN）を用いて DNA を抽出した．PCR 増幅は，プライマーLCM15382 と H950（Abreu-Grobois et al. 2006）を用いて行った．鋳型 DNA は 1-2 μL を 12.5 または 15.0 μL スケールの反応液に対し用いた．反応条件は，94℃で 3 分間の熱変性をおこなった後，94℃で 30 秒，55℃で 30 秒，72℃で 60 秒の増幅反応を 35－40 サイクル行い，最終伸長反応を 72℃で 3 分間おこない，4℃で保存した．配列は，ABI model 3130xl（Applied Biosystems Inc.）を用いて，両方の鎖について読み取った．相補鎖配列は，DNA BASER（Heracle Biosoft S.R.L）によって合わせ，MEGA 5（Tamura et al. 2011）の Clustal W を用いてアラインメントした．得られた配列は，Chassin-Noria et al.（2004），Cheng et al.（2008），Dethmers et al.（2006 and 2010），Dutton et al.（2008），Hamabata

et al.（2009, in press）, Nishizawa et al.（2011, 2013）および Norman et al.（1994）によって報告されている 380 塩基, 500 塩基, あるいは 860 塩基の mtDNA コントロール領域のハプロタイプと比較した. 新たに検出されたハプロタイプに対しては, インド太平洋域のハプロタイプ命名ルールに従って, 命名した.

集団遺伝学的解析

全ての配列は最も短いハプロタイプに揃えるため, 380 塩基に切って解析した. ALREQUIN V.3.5.（Excoffier and Lischer 2010）を用いて, 各摂餌域のハプロタイプ多様度（*h*）, 塩基多様度（π）を求めた. また, 後の MSA を行う摂餌群内のサイズクラスごとについても, ハプロタイプ多様度（*h*）, 塩基多様度（π）を求めた. 採集した試料は, 採集した年によってサンプル数と季節に偏りがあるため, ハプロタイプ組成の年変動については解析しなかった. 八重山摂餌域, 室戸摂餌域, 尾鷲摂餌域については, 季節変動を調べるために, 表層水温（SST）のデータを基に, 冬季と夏季の二群に分けた. 八重山摂餌域は, SST が 25°C を下回る 12 月から 4 月に採集された個体を冬季試料（137 個体）とし, SST が 25°C 以上になる 5 月から 11 月を夏季試料（208 個体）とした. 室戸摂餌域と尾鷲摂餌域は, SST が 20°C を下回る 12 月下旬から 5 月中旬に採集された個体を冬季試料（室戸 15 個体, 尾鷲 9 個体）とし, SST が 20°C 以上になる 5 月下旬から 12 月中旬に採集された個体を夏季試料（室戸 79 個体, 尾鷲 22 個体）とした. SST の情報は, 気象庁ホームページ（http://www.data.kishou.go.jp/kaiyou/db/OK/dbindex_OK.html）, 日本海洋データセンターのホームページ（http://www.jodc.go.jp/index_j.html）, 高知県水産試験場のホームページ（http://www.suisan.tosa.pref.kochi.lg.jp/kaikyo_inf/show）および, 三重県水産試験場のホームページ（http://www.mpstpc.pref.mie.lg.jp/SUI/kaikyo/index.htm）より収集した. 季節変動は, ARLEQUIN を用いて Exact test（Markov chain length of 500,000 steps with 10,000 dememorization steps, Raymond and Rousset 1995）によって調べた. 摂餌域間の遺伝的分化についても ARLEQUIN を用いて, 上記と同じ条件の Exact test と, Pairwise Φ_{ST} test（10,000

random permutations）によって調べた．摂餌群の多重比較検定の有意水準は，B-Y method（Benjamini and Yekutieli 2001）で補正した．遺伝的距離と地理的距離の関係は，GenAlEx（Peakall and Smouse 2012）を用いて，Pairwise Φ_{ST} の値と対数化した地理的距離をもとに，マンテルテストをおこなって調べた．

Mixed stock analysis

MSA は，それぞれの摂餌域でサイズクラスに分けたグループに対しておこなった．野間池摂餌域，室戸摂餌域，尾鷲摂餌域については，地域間で遺伝的な分化が認められず，どのサイズクラスのグループでも最も多く検出されるハプロタイプと二番目に多く検出されるハプロタイプが摂餌域間で同じであったため，各サイズクラスの試料を野間池-室戸-尾鷲摂餌域としてまとめ，MSA に用いた．沖縄摂餌域は，サイズクラス II および III の試料数が 20 個体未満であったため，MSA にはサイズクラス I のみ用いた．

MSA は，二通りのベイズ法で推定した．一つ目は，many-to-one（M2O）解析と呼ばれ，Pella and Masuda（2001）によって開発された解析ソフト BAYES を用いて，摂餌域への産卵個体群の寄与率を各摂餌域のサイズクラス毎にそれぞれ推定した．もう一方は，many-to-many（M2M）解析と呼ばれ，Bolker et al.（2007）によって開発された R 用のパッケージソフト mixstock を用いて，複数の摂餌群を同時に推定した．どちらのベイズ法についても，条件 1：各摂餌域に寄与する可能性は，どの産卵個体群でも等しいとする（$M2O_1$ および $M2M_1$），条件 2：産卵個体群の相対的な規模を考慮する（$M2O_2$ および $M2M_2$），条件 3：産卵個体群の相対的な規模と産卵地から摂餌域までの距離を考慮する（$M2O_3$ および $M2M_3$），という 3 通りの事前分布で解析した．なお，産卵地の規模に関するデータは，Amorocho et al.（2012），Cheng et al.（2008），Dethmers et al.（2006），Maison et al.（2010），および Hamabata et al.（in press）から引用して解析に用い，距離は，地図上で直線距離を測り，データとして用いた．また，M2O 解析，M2M 解析のどちらについても，全 27 産卵個体群による寄与率の推定と，27 個体群を 7 つの地域集団（台湾・八重山・中琉球・小笠原・東南アジア/インド洋・西部太平洋・

東部太平洋，Fig. 2.1 b）に区分けした推定を行った．M2O 解析では，潜在的に寄与しうる 7 つの産卵集団数に対して，マルコフ連鎖モンテカルロ法（MCMC）で 20,000 回から 100,000 回試行し，半数の 10,000 から 50,000 回を burn-in として切り捨てた．M2M 解析についても，7 本の鎖に対して MCMC を 50,000 回から 100,000 回試行し，25,000 回から 50,000 回を burn-in として切り捨てた．Gelman and Rubin shrink factor を計算し，全ての MCMC において shrink factor が 1.2 を下回ったものについて収束したと判断し，結果として採用した．摂餌域でのみ検出され，産卵地が特定できていないハプロタイプ（orphan haplotype）は，MSA からは除外した．

2. 3. 結果

標準直甲長の分布

八重山摂餌群における SCL は，33.0 cm から 96.5 cm の範囲を取り，40.0 cm から 44.9 cm にピークを持つ一峰型の分布を示し，サイズクラス I の個体数が最も多かった（Fig. 2.2 a）．沖縄摂餌群の SCL は，31.0 cm から 98.0 cm の範囲にあった．室戸摂餌群の SCL は 37.2 cm から 105.2 cm の範囲で，45 cm から 49.9 cm および 75 cm から 79.9 cm にピークを持ち，サイズクラス II および III の個体数が多いことを示す二峰型の分布となった（Fig. 2.2 b）．さらに，野間池摂餌域の SCL は，40.6 cm から 96.7 cm，尾鷲摂餌域の SCL は 37.3 cm から 95.4 cm の範囲にあった．

ハプロタイプ構成，遺伝的多様性および遺伝的分化

本研究で新たに日本沿岸のアオウミガメ摂餌域および奄美大島北西部の産卵地で採集した 161 個体から，820 塩基の 29 ハプロタイプを同定した（Table 2.1）．29 ハプロタイプ中，27 ハプロタイプは，380 塩基あるいは 500 塩基で報告されている短いハプロタイプの配列を内側に含んでおり，24 ハプロタイプは，800 塩基以上のハプロタイプとして既に同定されている配列

と一致していた. 2 つのハプロタイプは, これまでに全く検出されていないハプロタイプであった. 1 つは尾鷲摂餌域で見つかり, 既知のハプロタイプ CmP50 の一塩基違いであり, CmP210.1（GenBank accession number AB896707）と命名した. もう 1 つは, 室戸摂餌域でのみ検出され, 既知のハプロタイプ CmP39.1 に 10 塩基の挿入があり, ハプロタイプ CmP208.1（GenBank accession number AB896708）と命名した.

ハワイや東部太平洋の産卵集団に特徴的なハプロタイプ（CmP1, CmP4, CmP6 および CmP15）は, 八重山摂餌域, 室戸摂餌域, 尾鷲摂餌域で検出された. これらハワイおよび東部太平洋に特徴的なハプロタイプの頻度は, 八重山摂餌域のサイズクラス I で 0.6%（n = 1）, サイズクラス II で 3.6%（n = 4）, サイズクラス III で 10.7%（n = 6）だった. 室戸摂餌域および尾鷲摂餌域では, サイズクラス II および III でのみ 2 個体ずつ検出され, 野間池摂餌域も含めた頻度を求めると, サイズクラス II では, 8.3%, サイズクラス III では, 2.3%だった.

摂餌域でのみ検出されているハプロタイプを持つ個体の割合は, 八重山摂餌域で 4%（n = 14）, 沖縄摂餌域で 7%（n = 3）, 野間池・室戸・尾鷲摂餌域で 7%（n = 11）であった.

ハプロタイプ多様度および塩基多様度は八重山摂餌域で最も高く（h = 0.8672 ± 0.0102, and π = 0.0339 ± 0.0169）, 尾鷲摂餌域が最も低く（h = 0.6516 ± 0.0907, π = 0.0206 ± 0.0109）, 北の摂餌域ほど低くなった（Table 2.3）.

八重山摂餌域, 室戸摂餌域, 尾鷲摂餌域におけるハプロタイプ頻度の有意な季節変動は見られなかった（八重山 : p = 0.547, 室戸 : p = 0.482, 尾鷲 : p = 1.000）. 沖縄摂餌域における混獲個体と漂着個体間のハプロタイプ頻度についても, 有意な違いは見られなかった（p = 0.528）.

Exact test および Pairwise Φ_{ST} では, 琉球列島に位置する八重山摂餌域と沖縄摂餌域が, 野間池, 室戸, 尾鷲摂餌域とは, 遺伝的に有意に異なることを示し, 野間池, 室戸, 尾鷲摂餌域間は, Pairwise Φ_{ST}が全て負の値をとった（Table 2.4）. さらに, Exact test および Pairwise Φ_{ST} では, 関東摂餌域が野間池摂餌域および尾鷲摂餌域と有意に異なっていた（Table 2.4）. 遺伝的距離と地理的距離の関係を調べたマンテル検定では, 有意な相関が認められた（r =

0.674, p = 0.019）. 同一摂餌域内の異なるサイズクラス間においては，遺伝的な分化は見られなかった（Table 2.5）.

Mixed Stock Analysis

27 の産卵個体群全てを起源集団として用いた解析は，MCMC の試行回数を 100,000 回まで増やしても，$M2O_1$ を除いて収束しなかった．7 つの地域集団を区分けした地域推定では，$M2O_1$，$M2O_3$，$M2M_1$ および $M2M_2$ においては収束したが，MCMC の試行回数を 100,000 回まで増やしても，$M2O_2$ と $M2M_3$ では収束しなかった．そのため結果には，$M2O_1$，$M2O_3$，$M2M_1$ および $M2M_2$ の地域推定のみを示した（Fig. 2.3）.

M2O 解析および M2M 解析では，八重山摂餌域への台湾と西部太平洋産卵集団の寄与率および，野間池-室戸-尾鷲摂餌域への中琉球と小笠原の寄与率において，点推定の結果に違いが見られた．しかしながら，全体としては，M2O 解析および M2M 解析の結果も，M2O 解析または M2M 解析それぞれで，産卵集団に関する条件を考慮した場合としなかった場合で，同様の結果が得られた.

八重山摂餌域では，日本の産卵集団からの寄与率が，サイズクラスによって変化した．サイズクラス I では，八重山産卵集団の寄与率が殆どの推定結果で最も高くなった．サイズクラス II では，全ての推定結果で中琉球の産卵集団が最も高い寄与率を示し，八重山摂餌域のサイズクラス III では，小笠原の寄与率が高くなるとともに，東部太平洋の産卵地を含めた太平洋の様々な産卵地の寄与率が全体的に高くなると推定された．野間池-室戸-尾鷲摂餌域は，全サイズクラスにおいて小笠原の寄与が最も大きく，M2M 解析では，中琉球産卵集団の寄与も，小笠原に次いで高い結果となった.

2. 4. 考察

本研究で採集した個体の甲長データから，日本沿岸の摂餌域には，様々な成長段階のアオウミガメが生息していることが明らかになった．しかしながら，今回二か所の摂餌域で作成した

甲長の頻度分布では，異なるパターンが見られた．八重山諸島からは，黒島周辺のアオウミガメで一峰型の甲長頻度分布が報告されており（亀田他 2013），本研究の八重山摂餌域における甲長頻度分布も同じ結果となった．これまでに野間池摂餌域や室戸摂餌域の甲長頻度分布は未発表であるが，二峰型を示すことが知られている（日本ウミガメ協議会未発表）．二峰型の甲長頻度分布は，隣接する尾鷲摂餌域（岡本他 2011），台湾の東海岸（Cheng & Chen 1997），オーストラリア東海岸のショールウォーター湾（Shoalwater Bay）からも報告されている（Limpus et al. 2005）．今回甲長頻度分布を調べるために用いた個体は，一部季節的に偏り，採集された年も不連続であるなど，計画的な採集によって得られたものではないが，八重山摂餌域および，室戸摂餌域で見られた甲長頻度分布は，過去の報告と照らし合わせると，それぞれの摂餌域の特徴を十分表していると考えられる．

日本沿岸のアオウミガメ摂餌域の集団遺伝的解析は，琉球列島の 2 摂餌域と本州西部・四国・九州を合わせた摂餌群間では，どの成長段階で比較しても，遺伝的に有意に異なることが明らかになった．先行研究では，沖縄島沿岸の宜野座摂餌域と野間池摂餌域間，宜野座摂餌域と室戸摂餌域間で，有意な遺伝的違いは見られていなかったが（Nishizawa et al. 2013），先行研究と同じように，より保守的な sequential Bonfferoni 補正を用いても，沖縄-野間池間，沖縄-室戸間の有意差は支持された．したがって，沖縄摂餌域と室戸摂餌域のサンプル数が増えたことにより，この地域の集団構造の解像度が高まったと考えられる．マンテルテストの結果では，遺伝的分化が地理的距離に相関があることを支持したが，野間池摂餌域，室戸摂餌域，尾鷲摂餌域間で見られた Φ_{ST} の負の値は，ゼロと見なすことができる．この結果は，これらの 3 ヶ所の摂餌域は，遺伝的に区別できず，ひとつの摂餌群を構成していることを示唆する．関東摂餌群との比較については，更なる試料採集が必要であるが，摂餌群の遺伝的分化は黒潮が琉球列島と九州間を横切る場所で起きている可能性が高い．

日本沿岸のアオウミガメ摂餌域における MSA

今回の MSA における結果は，M2O 解析と M2M 解析で一部，結果が一致しなかった．こ

の不一致の一つである，八重山摂餌域への台湾と西部太平洋の産卵地の寄与率で見られた違いは，先行研究でも同様に指摘されていた（Nishizawa et al. 2013）．これは．ハプロタイプ CmP20 が台湾と西部太平洋の産卵地で共通して検出されることによるものと考えられる（Cheng et al. 2008; Dethmers et al. 2006）．また，野間池・室戸・尾鷲摂餌域に対する中琉球産卵集団の寄与率については，中琉球と小笠原の産卵個体群間の遺伝的な違いが小さいことが原因で，解析間の点推定値が大きく違う結果になったと考えられる（Hamabata et al. in press）．MSA における同様の問題点は，太平洋地域のアオウミガメで行われた他の研究や他のウミガメ類で行われた研究でも指摘されている（Dethmers et al. 2010; Jensen 2010; Jensen et al. 2013）．

MSA による産卵地と摂餌域の関連の推定精度を改善するには，産卵地間の個体群構造の解像度を高めることが必要である．アオウミガメのマイクロサテライトを用いた産卵個体群の集団遺伝学的解析では，遺伝的分化の検出力が下がることが知られている（FitzSimmons et al. 1997; Roberts et al. 2004; Nishizawa et al. 2011．ただし，オスによる遺伝子流動も限定的であり，オスも生まれた浜に近い地域に戻って繁殖を行っていることが示唆されている FitzSimmons et al. 1997; Roden et al. 2013 など）．そのため，現在，産卵地間の個体群構造の解像度を高める手法として mtDNA のコントロール領域を用い，700 塩基以上の長い配列で調べ直すことで，産卵個体群の遺伝的構造と MSA による推定の精度を高める再解析が進められている（Jensen et al. 2013 および，その中の引用参照）．残念ながら，現段階では，インド太平洋域のアオウミガメに関して，長いハプロタイプが報告されている産卵地は限られている．また，これらの問題に加え，今回の摂餌域で採集した試料のうち 5.6％は，由来となる産卵地が不明のハプロタイプであり，これはインド太平洋域における産卵地の採集が未だ不十分であることを示している．したがって，MSA によって摂餌群に対する産卵個体群の寄与率推定の精度を高めるためには，mtDNA のコントロール領域の長い配列を用いた産卵個体群の再解析と，産卵地における更なる試料採集の必要性は，本研究の結果からも明らかである．このような問題点はあるものの，本研究の結果は，各摂餌群に寄与しうる産卵集団の候補，各摂餌群への

産卵集団の寄与率が今回解析したサンプル内のサイズクラスで変わりうるかどうかを示しており，各摂餌群の集団構造を把握し，摂餌群の成長段階による違いの考察をある程度行えるものである.

今回の研究で，中琉球の産卵集団を新たに加えた結果，中琉球の産卵地に由来するアオウミガメが，琉球列島や，本州・四国・九州の摂餌域にも広く分布していることが明らかになった. しかしながら，八重山摂餌群および沖縄摂餌群は，どのサイズクラスも，インド太平洋域の様々な産卵地に由来する個体によって構成されていた. この傾向は，サイズクラス間を考慮せずに推定した先行研究において場合でも示されており（Nishizawa et al. 2013），サイズクラスごとに推定した場合でも，普遍的に認められる傾向であることが明らかになった. Nishizawa et al.（2013）は，八重山摂餌域および宜野座摂餌において，八重山諸島，小笠原諸島，西部太平洋などの様々な産卵集団に由来する個体が生息するのは，北赤道海流と黒潮によって引き起こされる孵化幼体の初期分散が影響していると説明した. 一方，野間池，室戸，関東摂餌域になると，それらの海流による南方の産卵地由来の孵化幼体の供給が減るために，日本の産卵地由来の個体が増えると考察した（Nishizawa et al. 2013）. 孵化幼体の初期分散の影響は，成長段階の初期の個体の分布に，より大きく表われると考えられる. 八重山摂餌域および沖縄摂餌域における甲長 50 cm 未満のサイズクラスで，西部太平洋の産卵地の寄与がみられたことは，Nishizawa et al.（2013）の孵化幼体の初期分散が影響する仮説を支持している. しかしながら，今回の推定では，八重山摂餌域および沖縄摂餌域の甲長 50 cm 未満のサイズクラスにおいて，より近い産卵地である八重山諸島と中琉球の産卵地の寄与率が相対的に高い結果となった. これは，アオウミガメの幼体が加入する浅海の生息地は，生まれた浜に近い場合があり，摂餌域に加入直後の幼体は，近い産卵地に由来するものも多い場合があることを示している. 離れた西部太平洋と近隣の産卵地に由来する個体が両方見られることから，八重山諸島や沖縄島の産卵地からの孵化幼体の初期分散は，より複雑であることが考えられる. これを支持するひとつの研究例がある. 沖縄島の産卵地からのアカウミガメの孵化幼体の初期分散をシミュレーションした場合，全ての孵化幼体が黒潮に流されて分散するわけではなく，一

部の孵化幼体は，黒潮反流によって，周辺を漂流することが示されている（Okuyama et al. 2011）．琉球列島では，アカウミガメとアオウミガメの両種が産卵するため，この初期分散パターンは，おそらくアオウミガメでも起こると考えられ，複雑な初期分散の影響によって，遠くの産卵地の個体と近くの産卵地の個体が混在する可能性は高い．また，より成長した幼体の方が，生まれた浜，将来産卵する浜に近い摂餌域への分布するとする仮説もあるが（Bowen et al. 2004），今回の八重山摂餌域の推定結果では，サイズクラス II や III に含まれる幼体後期や亜成体・成体で，小笠原産卵集団やより離れたハワイおよび東部太平洋の産卵地に由来する個体の割合が高まり，この仮説は支持されなかった．八重山摂餌群や沖縄摂餌群へ寄与する産卵集団の組成は，部分的には海流の影響で説明できるが，外的要因だけでなく，生物学的要因によっても影響されているはずであり，今後は，摂餌域の選択に影響する生物学的要因を解明し，多面的に本摂餌群動態の解明を試みる必要がある．また，今回，試料数の問題から摂餌群のサイズおよび遺伝的組成の年変動については検討していない．今後は，経年的および通年の試料採集によって，今回の成長段階毎に示された推定結果が，八重山摂餌群に普遍的に見られる傾向であるかどうかの検討も必要である．

一方，野間池摂餌域，室戸摂餌域，尾鷲摂餌域を合わせたデータでは，個体の体サイズに関係なく，小笠原諸島の産卵地の由来の個体が優占した．遺伝的結果と，MSA の結果だけ見ていると，これらの摂餌群の個体は幼体から成体まで定住し，維持されているように見える．しかしながら，二峰型の甲長分布は，これらの摂餌群の動態も複雑であることを示唆している．

二峰型の甲長分布が形成される要因としては，(1)小笠原諸島の産卵地で生まれ，甲長 50 cm から 70 cm に成長した個体が元々野生に少なかった，(2)甲長 50 cm から 70 cm の個体は，定置網に入りにくい，(3)これらの摂餌域にアオウミガメは，甲長 50 cm に達すると，何らかの生態学的要因でこれらの摂餌域を離れ，甲長 70 cm に成長する頃に再び加入する，などが考えられる．小笠原諸島のアオウミガメ産卵地では，1978 年から産卵数のモニタリングが継続的に行われ，産卵数は 2005 年までのデータで増加傾向を見せている（Chaloupka et al. 2008）．また，小笠原諸島で生まれた孵化幼体やこれらの摂餌域のアオウミガメの死亡率が特異的に

高まるような要因は，過去数十年間で報告されていない．したがって，小笠原諸島の産卵地で生まれ，甲長 50 cm から 70 cm に成長した個体だけが元々野生に少ないという可能性は非常に低い．さらに，このサイズクラスのアオウミガメだけが，定置網への混獲を避けられることを示すような，行動的なデータも報告されていない．アオウミガメの二峰型の甲長分布が同じように報告されているショールウォーター湾においても，18 年間継続して，成体の捕獲数が上回ることから，幼体後期の個体が捕獲されないのは，死亡率が要因ではなく，採集されていない他の生息地への移動を示していると考えられている（Limpus et al. 2005）．同様に，野間池，室戸，尾鷲摂餌域も，幼体から成体まで長期的に個体が定住しているのではないと考えられる．

今回サイズクラス II として区分した甲長 50 cm から 70 cm という成長段階は，性成熟前に成長が加速する期間に相当する（Chaloupka et al. 2004）．そのため，それ以前のサイズの個体に比べて，必要な餌資源の量が増加する時期であると考えられる．アオウミガメは，密度に依存した成長速度を示し，種内競争が成長を制限することが知られている（Bjorndal et al. 2000）．したがって，成長率を維持する，あるいは，さらに上げるためには，種内競争を減らす必要があり，種内で生息地を地理的に分けることが，種内競争を減らす方法の一つである．そのため，一つの可能性として，本州・四国・九州の摂餌域は，八重山摂餌域よりも種内競争が高く，本州西部・四国・九州の沿岸のアオウミガメは，このサイズクラスに達すると，他の個体との種内競争を避けて，成長率を上げるために，他海域へ移動するのではないかと考えられる．これまでに，八重山摂餌域と本州西部・四国・九州沿岸の摂餌域のアオウミガメでは，胃内容物が異なることが報告されているが（亀田・石原 2009），これらの摂餌域間で成長率の違いや生息密度は評価されたことが無い．したがって，現段階では，この仮説を支持する証拠は得られていない．今後，移動先となる摂餌域の特定，分布する餌資源の成長率への影響，生息密度と種内競争についての評価といった多面的な研究によって，本摂餌域でアオウミガメが二峰型の甲長分布を示す理由が明らかになると考えられる．

本研究では，まず，甲長と遺伝的なデータを用いることで，琉球列島の摂餌域と本州西部・四国・九州沿岸の摂餌群間の遺伝的な分化が，幼体から亜成体以降になった後も維持されて

いるものの，各摂餌域のアオウミガメ組成は，甲長によって変化があり，成長に伴い個体の出入りが常に起きていることを示した．

総合考察

本研究では，まず第 1 章で，アオウミガメの遺伝的解析が行われていなかった中琉球における産卵地の試料を解析し，この地理的な空白を埋めることにより，北西部太平洋におけるアオウミガメ産卵個体群が，進化的に固有の系統を含んでいることを明らかにした．第 2 章では，第 1 章で得られた中琉球の産卵集団の遺伝的データと既知の産卵個体群のデータに基づいて，日本沿岸の摂餌域に集まるアオウミガメの由来を成長段階毎に推定し，どの摂餌域も成長段階間で遺伝的組成に大きな変化は見られないが，摂餌域に集まる個体は成長に応じて入れ替わる可能性が高いことを示した．ここでは，本研究で明らかになった北西部太平洋のアオウミガメ集団が持つ進化的特徴と摂餌生態から，北西部太平洋の集団を将来にわたって安定的に維持するためには，どのような視点が必要となるかについて考察する．

近年，個体群特有の生活史を持ち，生息地によって特異的な個体群動態を示すウミガメ類をより効率的に管理するために，地域的管理単位（Regional Management Unit: RMU）を定め，各 RMU の状況に応じた保全資源の投資を可能にしようとする枠組みが提唱された（Wallace et al. 2010）．RMU は，産卵地の分布，生息密度など，多様な指標を基に定義される．その中で，個体群の遺伝的情報も遺伝的管理上，重要な指標であり，RMU 間の境界を明確にする有効な手段として位置付けられている．2010 年の段階で，アオウミガメについては世界で 17 の RMU が定義され，北西部太平洋のアオウミガメについては，南シナ海北部から本州沿岸の摂餌域を含め，ひとつの RMU として定義されている（Wallace et al. 2010）．

北西部太平洋で報告されてきたアオウミガメ産卵個体群は，その遺伝的多様性の高さから，本種の遺伝的多様性の維持のために，個々の地域個体群を保全していくことが重要であると，これまでも指摘されてきた（Cheng et al. 2008; Nishizawa et al. 2011）．本研究の第1章で明らかになった結果は，北西部太平洋地域のアオウミガメ産卵個体群が，単に高い遺伝的多様性を保持しているだけでなく，系統的な固有性，進化的な重要性を持つことを示している．一般的に，生物の分布辺縁部は，分布の中心部に比べて環境条件や生息地の条件が劣る．したが

って，辺縁部の個体群は小さいうえに，分布域の分断化なども重なって，遺伝子流動が少ないことから，分布中心部の個体群に比べて脆弱であると考えられ，保全上の優先順位は低いとみなされる傾向がある（Channell & Lomolino 2000）．北西部太平洋のアオウミガメについては，地域全体で見積もっても，産卵巣の数にして年に数千巣ほどに留まると考えられる．オーストラリア北東部のRaine Islandや，スル海にあるマレーシアやフィリピンのTurtle Islandsでは，それぞれ例年1–2万巣が報告されており（Limpus et al. 2003; Shanker & Pilcher 2003），北西部太平洋で産卵するアオウミガメの個体数は，赤道付近に比べると非常に少ない．しかしながら，分布域の縮小を経験してきた絶滅危惧種の個体群が，現在でも残っている分布域を見てみると，歴史的な分布域の中心ではなく，辺縁部である例が非常に多いことが知られている（Channell & Lomolino 2000）．これは，常に生存や繁殖に最適だったとは限らない分布辺縁の環境で長く存続しえた個体群は，必ずしも好適とは言えない環境への適応進化によって，分布の中心の個体群には無い生物学的な特性を獲得しており（Kawecki 2008），種が生物的・物理的環境の変化に直面した際，辺縁の個体群のみが生き残れる場合があるからだと考えられる．北西部太平洋のアオウミガメについても，繁殖に適した環境の範囲が，現在よりも狭まり，条件も厳しかったと考えられる氷期を超えて生存してきたことで，赤道付近の分布の中心で存続してきた個体群には無い，生物学的な特性を獲得している可能性は高い．そのような生物学的特性は，将来起こる環境変化に対する高い適応度をもたらし，本種の進化的な潜在能力として働くかもしれない．したがって，本種の存続を考えるうえで，北西部太平洋のアオウミガメ個体群は，重要であり，長期的な保全対象のRMUとして管理する必要がある．

この第1章で明らかになった北西部太平洋に固有のアオウミガメ母系統の長期的維持について考える際，各産卵地の保全に加え，これらの産卵地で生まれた個体が多く分布する摂餌域を保全することができれば，より高い効果が期待できる．第2章で扱った本州西部・四国・九州の摂餌域は，遺伝的組成と個体の由来推定を見てみると，小笠原諸島と中琉球の産卵地に由来する個体が優占していた．そのため，一見，これらの摂餌域の生息環境を健全に維持することができれば，小笠原諸島と中琉球の産卵個体群を効率的に保全できるように見える．

しかしながら，第2章で示されたように，室戸岬の周辺の摂餌群の甲長組成を見てみると，サイズクラスIIの個体の出現頻度が顕著に下がり，小笠原諸島と中琉球から摂餌に集まった個体が，この時期には，別の摂餌域へ移動している可能性が非常に高い．この結果は，この摂餌域に保全資源の投資を集中させたとしても，小笠原諸島と中琉球の産卵個体群の維持に対して限定的な効果しか期待できないことを意味する．さらに，もしこの海域で混獲される個体の総数が増加または安定していたとしても，サイズクラスIIIの個体数が減少してきた場合，この海域に加入する予定であった個体が，加入前に他の摂餌域で何らかの影響を受け，摂餌群の構造に変化が起きていることを示唆する．今後，標識採捕調査や個体の追跡，摂餌域を広げた遺伝的解析によって，サイズクラスIIに達した個体の移動先を特定していくことが必要である．また，既に進行してきた気候変動に伴う海水温の上昇は，短期的には，餌資源の生産性を向上し，ウミガメ類の個体数増加をもたらすことが予想されている（Hawkes et al. 2009）．しかしながら，長期的には，ウミガメ類の餌資源の分布変化，海面上昇による産卵地の消失，温度性決定であるウミガメの性比の偏りを引き起こすと推定されている（Robinson et al. 2009）．したがって，現在あるいは今後，一時的に摂餌域におけるアオウミガメの総個体数が増加したとしても，長期的に安定するとは限らず，むしろ減少に転じる恐れもある．本州西部・四国・九州の摂餌域でサイズクラスIIに達した幼体が移動する場所が特定できない段階では，まず，小笠原諸島と中琉球の産卵数の変動を長期的に把握し，各摂餌域ではサイズクラスIとIIIの個体数を独立にかつ，注意深くモニタリングを続けることが必要である．

また，第2章で解析した八重山諸島や沖縄島周辺の摂餌域は，どのサイズクラスでも日本国内のみならず，日本国外の産卵地からの寄与率がある程度見られることが明らかになった．これら琉球列島のアオウミガメ摂餌域については，たとえ日本国内のアオウミガメ産卵数が経年的に捉えられていても，摂餌群の形成と変動に影響する要因を特定することは難しい．本研究では，成長段階で区切り，その群構造から個体の出入りについて考察したが，サイズクラス間で見られた変化が普遍的なパターンであると結論付けるには注意を要する．特に，東部太平洋に由来すると考えられる個体の割合が，亜成体と思われる甲長70 cm以上の八重山摂餌群

で高くなる結果は，生物学的な説明が難しい．アオウミガメは，メスには強い母浜回帰性がある一方で，mtDNAで定義された産卵個体群間でオスによる遺伝子流動があると考えられてきた（Roberts et al. 2004）．しかしながら，最近，マイクロサテライトおよび核DNA中のSingle nucleotide polymorphisms（SNPs）を用いて太平洋の広域5ケ所（台湾・ミクロネシア・ハワイ・メキシコ・ガラパゴス）の産卵個体群を比較した研究では，全ての個体群間で有意な遺伝的違いが認められ，オスによる遺伝子流動についても，限定的である可能性が示された（Roden et al. 2013）．この結果は，オスの繁殖域がメスの繁殖域に対して広いとは必ずしも言えないことを示唆する．したがって，本研究では，形態的に雌雄判別が難しいために，雌雄の違いは一切考慮していないが，八重山諸島の甲長70 cm以上の摂餌群において，東部太平洋など，より遠くの産卵地由来の個体の割合が高まる結果が，オスの分布や繁殖域の広さを反映した可能性も低いと考えられる．八重山摂餌群で得られた本結果については，経年的な調査によってサンプル数を増やし，結果の一貫性を検証することに加え，これら遠方に由来する個体のその後の移動を追跡すること，そして，長距離移動の要因を明らかにする為の本種の生物学的情報の更なる収集が必要である．また，今回孵化幼体の海流による分散の影響について検討したが，孵化幼体の初期分散が影響する時間的スケールは明らかにされておらず，各個体がどの時期まで受動的な要因で分散するのか，海流の影響が浅海の摂餌群のどのサイズクラスまで反映されるのかといったことも今後検討する必要がある．それ以外にも，他地域におけるアオウミガメ摂餌域の変化，とくに摂餌域の消失などが生じた場合，琉球列島の摂餌群の組成に影響すると考えられる．琉球列島の摂餌群については，北西部太平洋に留まらず，より広域を意識した多面的なデータ収集によって，その動態に大きく関わる要因を明らかにすることができると考えられる．当然，琉球列島の摂餌群については，先行研究でも指摘されたように，保全という視点でも，東南アジアも含め，太平洋全体でアオウミガメの産卵地が分布する国家を含めた協力が求められる（Nishizawa et al. 2013）．現在，太平洋地域でも，島嶼域を含め，産卵地や周辺で見つかる個体のモニタリングが実施されている国や地域は増え，情報は各地に蓄積されつつある（Maison et al. 2010）．それらの情報共有が実現し，遺伝的なデータを含

めた長期的モニタリングの実施が可能になることで，太平洋域のアオウミガメの摂餌生態に関する理解が深まり，効果的な保全策を考えることができると考えられる．

アオウミガメは，ウミガメ類の中でも特に成熟までにかかる時間が長く，オーストラリア東部沿岸の野生個体を用いて成熟までの年数を推定した研究では，25 年から 50 年を要すると考えられている（Chaloupka et al. 2004）．したがって，海洋環境に起きた異変が，将来の産卵個体群に影響したとしても，数字として反映されるまでには数十年の時間がかかる．摂餌群を継続的にモニタリングすることは，産卵数には反映される前に，変化を捉えることにつながる．将来何らかの災害が摂餌域や産卵地に変化が生じた場合，あるいは，気候変動により摂餌域への個体の分散や加入に大きな変化が生じ始めた際，今回の結果は，それらの変化を知り，影響を評価する際に有効な過去の基準的なデータとなろう．

謝 辞

本論文を執筆するにあたり，ご指導いただきました京都大学大学院理学研究科教授 疋田努博士に心より感謝申し上げます．本学位論文の審査の副査として審査に関わって下さいました京都大学大学院理学研究科准教授 渡辺勝敏博士，准教授 本川雅治博士，助教 岡本卓博士，NPO 法人日本ウミガメ協議会会長，神戸市須磨海浜水族園園長，東京大学大学院農学生命科学研究科客員教授 亀崎直樹博士に感謝申し上げます．また，亀崎直樹博士には，本論文の研究を遂行するまで，多くの方々の協力が得られるように便宜を図っていただきましたことに改めて感謝申し上げます．

本研究で用いたアオウミガメの組織は，取得場所である各自治体の許可を得て採集したもの，あるいは許可取得者との共同研究として借用したものです．真夏の砂浜調査，夜間調査で多くのご協力を頂きました沖永良部ウミガメネットワークの山下芳也氏，黒田寛之氏，奄美海洋生物研究会の興克樹氏，水野康次郎氏，奄美大島渡連キャンプ場の荒田利光氏，鹿児島県与論町環境課の田中實氏，NPO 法人日本ウミガメ協議会の石原孝博士に心より感謝申し上げます．奄美大島の産卵試料の一部を提供頂きました，奄美海洋展示館にも感謝申し上げます．八重山諸島の産卵および混獲個体試料，室戸岬周辺，三重県尾鷲湾周辺の混獲個体試料は，NPO 法人日本ウミガメ協議会より借用しました．試料採集に携わられた亀田和成氏，渡辺紗綾氏，河野希和氏，岡本慶氏，各漁協の皆様に感謝申し上げます．沖縄島における産卵試料の一部，定置網混獲個体，漂着個体の試料は，一般財団法人沖縄美ら島財団の河津勲氏より借用しました．試料採集に携わられた嘉陽宗幸氏，井上尚志氏，琉球大学ウミガメサークル「チュラガーミー」の皆様，河津勲氏に感謝申し上げます．本論文の第一章に当たる投稿論文の初期原稿を読んでいただき，多くの建設的なご意見を頂きましたアメリカ合衆国 NOAA, National Marine Fisheries Service, Southwest Fisheries Science Center 奥山隼一博士，京都大学大学院理学研究科助教 岡本卓博士，英語論文の執筆に際し，英語表現について何度も親身にご指導下さいました京都大学大学院理学研究科 中島エリザベス博士に，

心より感謝申し上げます. また, 本論文の第二章にあたる論文のために, 先行研究の試料について未発表である甲長データをご提供頂き, データ解析においても多くの助言を頂きました京都大学大学院情報学研究科の西澤秀明氏にも深く感謝申し上げます. 本研究で検出された全ハプロタイプについて, 名称の確認と新規標準名の付与をおこなって下さったアメリカ合衆国 NOAA，National Marine Fisheries Service，Southwest Fisheries Science Center の Michael Jensen 博士にも大変お世話になりましたこと深く感謝申し上げます. また, シーケンサーのオペレーターとして本研究に協力してくださった川口恵里氏, 動物学教室の学生の方々, 日々の研究において助言を下さった動物系統学研究室の皆様にも感謝申し上げます.

本研究は，文部科学省グローバル COE プログラム，文部科学省卓越した大学院拠点形成支援補助金，公益財団法人黒潮生物研究財団平成 24 年度研究助成，一般財団法人沖縄美ら島財団平成 24 年度調査研究・技術開発助成，公益財団法人日本科学協会平成 25 年度笹川科学研究助成の経済的支援を受けて行いました．これらの支援に，改めて感謝申し上げます．

最後に, 社会人から再度学生として博士後期課程へ編入することに理解を示し, 今日まで筆者を支え, 温かく応援してくれました父 邦昭, 母 律子, 姉 直子, そして学位取得を楽しみにしてくれていましたが, 残念ながら本学位論文の完成前に他界した祖母 國武アキエに, この場を借りて心からの感謝を述べさせて頂きます.

本論文内の図の掲載は, Springer-Verlag Berlin Heidelberg の許可の下で使用しています.

引用文献

Abe O, Shibuno T, Takada Y, Hashimoto K, Tanizaki S, Ishii H, Funakura Y, Sano K, Okamura Y (2003) Nesting populations of sea turtle in Ishigaki Island, Okinawa. Proceedings of 4th SEASTAR2000 Workshop, pp 40–43.

Abreu-Grobois FA, Horrocks JA, Krueger B, Formia A, Beggs J (2006) New mtDNA dloop primers which work for a variety of marine turtle species may increase the resolution of mixed stock analyses, Book of abstracts from the 26th annual symposium on sea turtle biology and conservation. International Sea Turtle Society. 179. ISBN: 9608792614.

Amorocho DF, Abreu-Grobois FA, Dutton PH, Reina RD (2012) Multiple distant origins for green sea turtles aggregating off Gorgona Island in the Colombian eastern Pacific. PLoS One 7:e31486. doi: 10.1371/journal.pone.0031486

Benjamini Y, Yekutieli D (2001) The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. The Annals of Statistics 29: 1165–1188.

Bjorndal KA. (1980) Nutrition and grazing behavior of the green turtle *Chelonia mydas*. Marine Biology 56:147–154.

Bjorndal KA, Bolten AB (1989) Comparison of straight-line and over-the-curve measurements for growth rates of green turtles, *Chelonia mydas*. Bulletin of Marine Science 45:189–192.

Bjorndal KA, Bolten AB, Chaloupka MY (2000) Green turtle somatic growth model: evidence for density dependence. Ecological Applications 10:269–282.

Bolker BM, Okuyama T, Bjorndal KA, Bolten AB (2007) Incorporating multiple mixed stocks in mixed stock analysis: “many-to-many” analyses. Molecular Ecology 16:685–695.

Bolten AB (2003) Chapter 9: Variation in sea turtle life history patterns: neritic vs. oceanic developmental stages. In: Lutz PL, Musick JA, Wyneken J (eds) The biology sea turtles Vol. II. CRC Press, pp 243–257.

Bolten AB, Crowder LB, Dodd MG, MacPherson SL, Musick JA, Schroeder BA, Witherington BE, Long KJ, Snover ML (2011) Quantifying multiple threats to endangered species: an example from loggerhead sea turtles. Frontiers in Ecology and the Environment 9:295–301.

Bourjea J, Lapègue S, Gagnevin L, Broderick D, Mortimer JA, Ciccione S, Roos D, Taquet C, Grizel H (2007) Phylogeography of the green turtle, *Chelonia mydas*, in the Southwest Indian Ocean. Molecular Ecology 16:175–186.

Bowen BW, Bass AL, Chow S-M, Bostrom M, Bjorndal KA, Bolten AB, Okuyama T, Bolker BM, Epperly S, Lacasella E, Shaver D, Dodd M, Hopkins-Murphy SR, Musick JA, Swingle M, Rankin-Baransky K, Teas W, Witzell WN, Dutton PH (2004) Natal homing in juvenile loggerhead turtles (*Caretta caretta*). Molecular Ecology 13:3797–3808.

Bowen BW, Bass AL, Soares L, Toonen RJ (2005) Conservation implications of complex population structure: lessons from the loggerhead turtle (*Caretta caretta*). Molecular Ecology 14:2389–2402.

Bowen BW, Meylan AB, Ross JP, Limpus CJ, George H, Avise JC (1992) Global population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. Evolution 46: 865–881.

Browne DC, Horrocks JA, Abreu-Grobois FA (2010) Population subdivision in hawksbill turtles nesting on Barbados, West Indies, determined from mitochondrial DNA control region sequences. Conservation Genetics 11: 1541–1546.

Carr A (1967) So excellent a fishe; a natural history of sea turtles. Natural History Press

Carr A (1975) The Ascension Island green turtle colony. Copeia 1975:547–555.

Channell R, Lomolino MV (2000) Dynamic biogeography and conservation of endangered species. Nature 403:84–6.

Chaloupka M, Bjorndal KA, Balazs GH, Bolten AB, Ehrhart LM, Limpus CJ, Suganuma H, Troëng S, Yamaguchi M (2008) Encouraging outlook for recovery of a once severely exploited marine megaherbivore. Global Ecology and Biogeography 17: 297–304.

Chaloupka M, Limpus C, Miller J (2004) Green turtle somatic growth dynamics in a spatially disjunct Great Barrier Reef metapopulation. Coral Reefs 23:325–335.

Chassin-Noria O, Abreu-Grobois FA, Dutton PH, Oyama K (2004) Conservation genetics of the east Pacific green turtle (*Chelonia mydas*) in Michoacan, Mexico. Genetica 121: 195–206.

Cheng I-J, Chen T-H (1997) The incidental capture of five species of sea turtles by coastal setnet fisheries in the eastern waters of Taiwan. Biological Conservation 82: 235–239

Cheng I-J, Dutton PH, Chen C-L, Chen H-C, Chen Y-H, Shea J-W (2008) Comparison of the genetics and nesting ecology of two green turtle rookeries. Journal of Zoology 276: 375–384.

Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Molecular Ecology 9: 1657–1659.

Dethmers KEM, Broderick D, Moritz C, Fitzsimmons NN, Limpus CJ, Lavery S, Whiting S, Guinea M, Prince RIT, Kennett R (2006) The genetic structure of Australasian green turtles (*Chelonia mydas*): exploring the geographical scale of genetic exchange. Molecular Ecology 15: 3931–3946.

Dethmers KEM, Jensen MP, FitzSimmons NN, Broderick D, Limpus CJ, Moritz C (2010) Migration of green turtles (*Chelonia mydas*) from Australasian feeding grounds inferred from genetic analyses. Marine and Freshwater Research 61: 1376.

Dutton PH (1996) Methods for collection and preservation of samples for sea turtle genetic studies. Proceeding of the International Symposium Sea Turtle Conservation Genetics. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-396, pp 17–24.

Dutton PH, Balazs GH, LeRoux RA, Murakawa ShKK, Zarate P, Martines LS (2008) Composition of Hawaiian green turtle foraging aggregations: mtDNA evidence for a distinct regional population. Endangered Species Research 5: 37–44.

Eckert CG, Samis KE, Lougheed SC (2008) Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. Molecular Ecology 17: 1170–1188.

Encalada SE, Lahanas PN, Bjorndal KA, Bolten AB (1996) Phylogeography and population structure of the Atlantic and Mediterranean green turtle *Chelonia mydas*: a mitochondrial DNA control region sequence assessment. Molecular Ecology 5: 473–483.

Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources 10: 564–567.

Farley JH, Davis TLO, Gunn JS, Clear NP, Preece AL (2007) Demographic patterns of southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*, as inferred from direct age data. Fisheries Research 83:151–161.

FitzSimmons NN, Limpus CJ, Norman JA, Goldizen a R, Miller JD, Moritz C (1997) Philopatry of male marine turtles inferred from mitochondrial DNA markers. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 94:8912–7.

González Carman V, Falabella V, Maxwell S, Albareda D, Campagna C, Mianzan H (2012) Revisiting the ontogenetic shift paradigm: The case of juvenile green turtles in the SW Atlantic. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 429:64–72.

Hamabata T, Kamezaki N, Hikida T Genetic structure of green turtle (*Chelonia mydas*)

peripheral populations nesting in the northwestern Pacific rookeries: evidence for northern refugia and postglacial colonization. Marine Biology in press.

Hamabata T, Nishida S, Kamezaki N, Koike H (2009) Genetic structure of populations of the green turtle (*Chelonia mydas*) in Japan using mtDNA control region sequences. Bulletin of the Graduate School of Social and Cultural Studies, Kyushu University 15: 35–50.

Hamann M, Limpus CJ, Read MA (2007) Chapter 15: Vulnerability of marine reptiles in the Great Barrier Reef to climate change. Climate change and the Great Barrier Reef: a vulnerability assessment, Great Barrier Reef Marine Park Authority and Australia Greenhouse Office, Hobart, pp. 465–496.

Hatase H, Sato K, Yamaguchi M, Takahashi K, Tsukamoto K (2006) Individual variation in feeding habitat use by adult female green sea turtles (*Chelonia mydas*): are they obligately neritic herbivores? Oecologia 149:52–64.

Hawkes LA, Broderick AC, Godfrey MH, Godley BJ (2009) Climate change and marine turtles. Endangered Species Research 7:137–154.

Hirayama R (1998) Oldest known sea turtle. Nature 392, 705-708.

IUCN (2013) Red list of threatened species (Internet). Version 2013.1. Available from: http://www.iucnredlist.org/

Jackson JBC (1997) Reefs since Columbus. Coral Reefs 16:23–32.

Jackson JB, Kirby MX, Berger WH, Bjorndal KA, Botsford LW, Bourque BJ, Bradbury RH, Cooke R, Erlandson J, Estes JA, Hughes TP, Kidwell S, Lange CB, Lenihan HS, Pandolfi JM, Peterson CH, Steneck RS, Tegner MJ, Warner RR (2001) Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. Science 293:629–37.

Jensen MP (2010) Assessing the composition of green turtle (*Chelonia mydas*) foraging grounds

in Australasia using mixed Stock Analyses. Dissertation, University of Canberra, Australia

Jensen MP, FitzSimmons NN, Dutton PH (2013) Chapter 6: Molecular genetics of sea turtles. In: Wyneken J, Lohmann KJ, Musick JA (eds) The biology of sea turtles, Vol. III. CRC Press, pp 135–161. ISBN:9781439873076

Jorgensen SJ, Reeb CA, Chapple TK, Anderson S, Perle C, Van Sommeran SR, Fritz-Cope C, Brown AC, Klimley AP, Block BA (2010) Philopatry and migration of Pacific white sharks. Proceedings of the royal society B Biological Science 277:679–88.

亀田和成，若月元樹，亀崎直樹 (2013) 八重山諸島黒島の摂餌海域におけるアオウミガメの個体群構造と成長速度．沖縄生物学会誌 51: 93‐100.

亀田和成，石原孝 (2009) 日本沿岸におけるアオウミガメの消化管内容物．うみがめニュースレター 81:17‐23.

Kamezaki N (1989) The nesting sites of sea turtles in the Ryukyu Archipelago and Taiwan. Current Herpetology in East Asia, pp. 342–348.

Kamezaki N, Matsui M (1995) Geographic variation in skull morphology of the green turtle, *Chelonia mydas*, with a taxonomic discussion. Journal of Herpetology 29:51–60.

亀崎直樹，松沢慶将，水野康次郎，島達也 (2007) 第 45 回爬虫両棲類学会大会要旨：漂着死体の記録からみた日本沿岸域のウミガメ類の分布．爬虫両棲類学会報 1:78.

Karl SA., Bowen BW (1999) Evolutionary Significant Units versus Geopolitical Taxonomy: Molecular Systematics of an Endangered Sea Turtle (genus Chelonia). Conservation Biology 13:990–999.

Kawecki TJ (2008) Adaptation to Marginal Habitats. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 39: 321–342

Lahanas PN, Miyamoto MM, Bjorndal KA, Bolten AB (1994) Molecular evolution and population genetics of Greater Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*) as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. Genetica 94: 57–66.

Leroux RA, Dutton PH, Abreu-Grobois FA, Lagueux CJ, Campbell CL, Delcroix E, Chevalier J, Horrocks JA, Hillis-Starr Z, Troëng S, Harrison E, Stapleton S (2012) Re-examination of population structure and phylogeography of hawksbill turtles in the wider Caribbean using longer mtDNA sequences. Journal of Heredity 103: 806–820.

Limpus CJ, Miller JD, Parmenter CJ, Limpus DJ (2003) The green turtle, *Chelonia mydas*, population of Raine Island and the northern Great Barrier Reef, Memoirs of the Queensland Museum, 49. 1843–2001.

Limpus CJ, Limpus DJ, Arther KE, Parmenter CJ (2005) Monitoring Green Turtle Population Dynamics in Shoalwater Bay : 2000–2004. Queensland Environmental Protection Agency and the Great Barrier Reef Marine Park Authority

Maggs C, Castilho R, Foltz D, Henzler C, Jolly M, Kelly J, Olsen J, Perez K, Stam W, Vainola R, Viard F, Wares J (2008) Evaluating signatures of glacial refugia for north Atlantic benthic marine taxa. Ecology 89: 108–122.

Maison KA, Kelly IK, Frutchey KP (2010) Green turtle nesting sites and sea turtle legislation throughout Oceania: NOAA Technical Memorandum. NMFS-F/SPO-110

Meylan AB, Bowen BW, Avise JC (1990) A genetic test of the natal homing versus social facilitation models for Green turtle migration. Science 248:724–727.

Miller J (1997) Chapter 3 Reproduction in Sea Turtles, The biology of sea turtles, In: Lutz P, Musick J (eds) CRC Press, pp 51–81. ISBN: 0849384222

Moritz C (1995) Uses of molecular phylogenies for conservation. Philosophical Transactions of the royal society B Biological Science 349:113–118.

Mukai T, Nakamura S, Nishida M (2009) Genetic population structure of a reef goby, *Bathygobius cocosensis*, in the northwestern Pacific. Ichthyological Research 56: 380–387.

Nakamori T, Iryu Y, Yamada T (1995) Development of coral reefs of the Ryukyu Islands (southwest Japan, East China Sea) during Pleistocene sea-level change. Sedimentary Geology 99: 215–231.

中森亨, 太田陽子 (2001) 4 南西諸島. In: 町田洋, 太田陽子, 河名俊男, 森脇広, 長岡信治 (編)日本の地形 7 九州・南西諸島. 東京大学出版会, pp 219–286.

Naro-Maciel E, Le M, FitzSimmons NN, Amato G (2008) Evolutionary relationships of marine turtles: A molecular phylogeny based on nuclear and mitochondrial genes. Molecular Phylogenetics and Evolution 49: 659–662.

Nishizawa H, Abe O, Okuyama J, Kobayashi M, Arai N (2011) Population genetic structure and implications for natal philopatry of nesting green turtles *Chelonia mydas* in the Yaeyama Islands, Japan. Endangered Species Research 14: 141–148.

Nishizawa H, Naito Y, Suganuma H, Abe O, Okuyama J, Hirate K, Tanaka S, Inoguchi E, Narushima K, Kobayashi K, Ishii H, Tanizaki S, Kobayashi M, Goto A, Arai N (2013) Composition of green turtle feeding aggregations along the Japanese archipelago: implications for changes in composition with current flow. Marine Biology 160: 2671–2685.

Nishizawa H, Okuyama J, Kobayashi M, Abe O, Arai N (2010) Comparative phylogeny and historical perspectives on population genetics of the Pacific hawksbill (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*), inferred from feeding populations in the Yaeyama Islands, Japan. Zoological Science 27: 14–18.

Norman JA, Moritz C, Limpus CJ (1994) Mitochondrial DNA control region polymorphisms: genetic markers for ecological studies of marine turtles. Molecular Ecology 3: 363–373.

岡本慶，石原孝，谷口真理，山下訓右，亀崎直樹 (2011) 熊野灘沿岸に出現するウミガメ類. うみがめニュースレター 88:13‐17.

Okuyama J, Kitagawa T, Zenimoto K, Kimura S, Arai N, Sasai Y, Sasaki H (2011) Trans-Pacific dispersal of loggerhead turtle hatchlings inferred from numerical simulation modeling. Marine Biology 158:2055–2063.

Parker DM, Dutton PH, Balazs GH (2011) Oceanic Diet and Distribution of Haplotypes for the Green Turtle, *Chelonia mydas*, in the Central North Pacific. Pacific Science 65:419–431.

Peakall R, Smouse P (2012) GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research–an update. Bioiformatics 28:2537–2539.

Pella J, Masuda M (2001) Bayesian methods for analysis of stock mixtures from genetic characters. Fishery Bulletin. National Marine Fisheries Service/NOAA: Seattle 99:151–167.

Pritchard PCH (1976) Post-nesting movements of marine turtles (Cheloniidae and Dermochelyidae) tagged in the Guianas. Copeia 1976:749–754.

Pritchard PCH (1997) Chapter 1: Evolution, Phylogeny, and Current Status. In: Lutz PL, Musick JA (eds) The biology of sea turtles CRC Press, pp 1–28. ISBN: 0849384222

Pritchard PCH (1999) Status of the black turtle. Conservation Biology 13:1000–1003.

Raymond M, Rousset F (1995) An exact test for population. Evolution 49: 1280–1283.

Robinson R, Crick H, Learmonth J, Maclean I, Thomas C, Bairlein F, Forchhammer M, Francis C, Gill J, Godley B, Harwood J, Hays G, Huntley B, Hutson A, Pierce G, Rehfisch M, Sims D, Santos B, Sparks T, Stroud D, Visser M (2009) Travelling through a warming world: climate change and migratory species. Endangered Species Research 7:87–99.

Roberts MA, Schwartz TS, Karl SA (2004) Global Population Genetic Structure and Male-Mediated Gene Flow in the Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*): Analysis of Microsatellite Loci. Genetics 166: 1857–1870

Roden SE, Morin PA, Frey A, Balazs GH, Zarate P, Cheng I-J, Dutton PH (2013) Green turtle population structure in the Pacific: new insights from single nucleotide polymorphisms and microsatellites. Endangered Species Research Vol. 20: 227–234

Saied A, Maffucci F, Hochscheid S, Dryag S, Swayeb B, Borra M, Ouerghi A, Procaccini G, Bentivegna F (2012) Loggerhead turtles nesting in Libya: an important management unit for the Mediterranean stock. Marine Ecology Progress Series 450: 207–218.

Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4: 406–425.

Shamblin BM, Bolten AB, Bjorndal KA, Dutton PH, Nielsen JT, Abreu-Grobois FA, Reich KJ, Witherington BE, Bagley DA, Ehrhart LM, Tucker AD, Addison DS, Arenas A, Johnson C, Carthy RR, Lamont MM, Dodd MG, Gaines MS, LaCasella E, Nairn CJ (2012) Expanded mitochondrial control region sequences increase resolution of stock structure among North Atlantic loggerhead turtle rookeries. Marine Ecology Progress Series 469: 145–160.

Shanker K, Pilcher NJ (2003) Marine Turtle Conservation in South and Southeast Asia: Hopeless Cause or Cause for Hope? Marine Turtle News Letter No. 100: 43–51.

島田貴裕 (2009) 八丈島沿岸に生息するウミガメの予備調査. うみがめニュースレター 79:7-8.

Tamura K, Nei M (1993) Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. Molecular Biology and Evolution 10: 512–526.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution 28: 2731–2739.

Tikochinski Y, Bendelac R, Barash A, Daya A, Levy Y, Friedmann A (2012) Mitochondrial DNA STR analysis as a tool for studying the green sea turtle (*Chelonia mydas*) populations: the Mediterranean Sea case study. Marine genomics 6: 17–24.

Tsukamoto K (1992) Discovery of the spawning area for Japanese eel. Nature 356: 788–791.

Velez-Zuazo X, Ramos WD, Van Dam RP, Diez CE, Abreu-Grobois FA, McMillan WO (2008) Dispersal, recruitment and migratory behaviour in a hawksbill sea turtle aggregation. Molecular Ecology 17: 839–853.

Wallace BP, DiMatteo AD, Hurley BJ, Finkbeiner EM, Bolten AB, Chaloupka MY, Hutchinson BJ, Abreu-Grobois FA, Amorocho D, Bjorndal KA, Bourjea J, Bowen BW, Dueñas RB, Casale P, Choudhury BC, Costa A, Dutton PH, Fallabrino A, Girard A, Girondot M, Godfrey MH, Hamann M, López-Mendilaharsu M, Marcovaldi MA, Mortimer JA, Musick JA, Nel R, Pilcher NJ, Seminoff JA, Troëng S, Witherington B, Mast RB (2010) Regional management units for marine turtles: a novel framework for prioritizing conservation and research across multiple scales. PLoS One 5:e15465. doi: 10.1371/journal.pone.0015465

表（Tables）

Table 1.1. Green turtle samples used for this study and the approximate annual number of clutches in each location. Dead hatchlings of OEB (n = 4) and NOK (n = 2), which were preserved in salt or 99% ethanol by the Sea Turtle Association of Japan, were also used. The samples from ZAM were the same as those used in Hamabata et al. (2009). As for the three samples used as ones from Iejima Island in Hamabata et al. (2009), it was learned after that publication that the record of their locality was incorrect, and the true locality was in NOK. We therefore included these three samples as ones collected in NOK in the present study.

Region	Locality	Code	N	Sampling year	No. of clutches/yr.
Central Ryukyus	Northwestern Amami Oshima Isl.	NWA	9	2011 and 2012	150[*1]
	Kakeromajima/Ukejima/ Yorojima Isls.	KUY	12	2012	200[*1]
	Okinoerabujima Isl.	OEB	19	2006, 2009, 2011 and 2012	70–160[*2]
	Yoronjima Isl.	YOR	7	2012	50–150[*3]
	Northern Okinawajima Isl.	NOK	7	2006–2010 and 2012	50–100[*4]
	Central western Okinawajima Isl.	CWO	5	2010 and 2012	5–15[*4]
	Zamamijima Isl.	ZAM	11	2006	50–170[*4]
Yaeyama	Southwestern Iriomotejima Isl.	-	8	2003 and 2011	-

[*1] Amami Marine Life Research Association unpubl data, [*2] Okinoerabu Sea Turtle Network unpubl data, [*3] Environment Division of Yoron Town unpubl data, [*4] Sea Turtle Association of Japan unpubl data

Table 1.2. Frequencies of green turtle mtDNA haplotypes (860-bp) and haplotype (*h*) and nucleotide (π) diversities in this study. Haplotype frequencies in the other northwestern Pacific rookeries (500-bp or 380-bp) are also listed with reported names. Ishigakijima and Iriomotejima indicate Ishigaki and Iriomote of the previous study (Nishizawa et al. 2011), respectively. The clade into which each haplotype was classified is shown in the first line. The nomenclature of clades follows that of Dethmers et al. (2006).

		Clade I						Clade IV										Clade V					
860-bp haplotype		CmP50.1	CmP53.1	CmP49.1	-	-	-	-	CmP39.1	CmP70.1	-	CmP121.1	CmP121.2	CmP126.1	-	-	-	CmP20.1	CmP54.1	-			
Region	Rookery																				N	*h*	π
Central Ryukyus	NWA			2					6	1											9	0.556 ± 0.165	0.010 ± 0.006
	KUY	7							3	1		1									12	0.636 ± 0.123	0.015 ± 0.008
	OEB	12	1	2					3					1							19	0.591 ± 0.119	0.010 ± 0.005
	YOR	4	3																		7	0.571 ± 0.120	0.001 ± 0.001
	NOK	1	1						5												7	0.524 ± 0.209	0.013 ± 0.008
	CWO	2	1						1	1											5	0.900 ± 0.161	0.017 ± 0.011
	ZAM	8							1				1					1			11	0.491 ± 0.175	0.015 ± 0.008
	total	**34**	**6**	**4**					**19**	**3**		**1**	**1**	**1**				**1**			**70**	**0.687 ± 0.043**	**0.014 ± 0.007**
Yaeyama	SW Iriomotejima	4	1																3		8	-	-
500-bp haplotype		CMJ25	CMJ26	CMJ30	CMJ29	CMJ32	CMJ35	-	CMJ18	CMJ17	CMJ23	CMJ15		CMJ16	CMJ19	CMJ20	CMJ38	CMJ8	CMJ6	CMJ11		Source	
Yaeyama	Ishigakijima	2							5			3						5	24	2	41	Nishizawa et al. 2011	
Yaeyama	SW Iriomotejima	10										1						1	14		26	Nishizawa et al. 2011	
380-bp haplotype		CmP50	CmP53	CmP49	CmP18		CmP19	CmP37	CmP39	CmP70	CmP95							CmP20	CmP54	CmP77			
380-bp other name				C3				JPNa										A3		A4			
Ogasawara	Ogasawara	13	2	4		2		1	53		2	3		4	12	3	3		1		103	Nishizawa et al. 2013	
Taiwan	Lanyu			14																	14	Cheng et al. 2008	
Taiwan	Wan-an				26		1											13			40	Cheng et al. 2008	

Table 1.3. P-values of the Exact tests, pairwise F_{ST} values, and their p-values between the combined central Ryukyu and other reported Pacific populations. Significant values are shown in bold. These analyses are all based on 380-bp haplotypes.

Region	Country	Rookery	p-value of the Exact test	F_{ST}	p-value of the F_{ST}	Source
Western Pacific	Japan	Ishigakijima	**< 0.001**	0.296	**< 0.001**	1
	Japan	Iriomotejima	**< 0.001**	0.191	**< 0.001**	2
	Japan	Ogasawara	**< 0.001**	0.123	**< 0.001**	3
	Taiwan	Lanyu	**< 0.001**	0.501	**< 0.001**	4
	Taiwan	Wan-an	**< 0.001**	0.400	**< 0.001**	4
	Australia	Northern Great Barrier Reef	**< 0.001**	0.471	**< 0.001**	5
	Australia	Coral Sea	**< 0.001**	0.428	**< 0.001**	5
	Australia	Southern Great Barrier Reef	**< 0.001**	0.616	**< 0.001**	5
	New Caledonia	New Caledonia	**< 0.001**	0.259	**< 0.001**	5
	Micronesia	Micronesia	**< 0.001**	0.326	**< 0.001**	5
	Papua New Guinea	Papua New Guinea	**< 0.001**	0.469	**< 0.001**	5
Southeast Asia	Australia	Gulf of Carpentaria	**< 0.001**	0.336	**< 0.001**	5
	Indonesia	Aru	**< 0.001**	0.545	**< 0.001**	5
	Indonesia	Berau Islands	**< 0.001**	0.261	**< 0.001**	5
	Malaysia	SE Sabah	**< 0.001**	0.337	**< 0.001**	5
	Malaysia and Philippines	Sulu Sea	**< 0.001**	0.478	**< 0.001**	5
	Malaysia	Sarawak	**< 0.001**	0.444	**< 0.001**	5
	Malaysia	Peninsular Mal.	**< 0.001**	0.427	**< 0.001**	5
Eastern Indian	Australia	Ashmore Reef	**< 0.001**	0.296	**< 0.001**	5
	Australia	Scott Reef	**< 0.001**	0.320	**< 0.001**	5
	Indonesia	West Jawa	**< 0.001**	0.398	**< 0.001**	5
	Australia	Northwest Shelf	**< 0.001**	0.458	**< 0.001**	5

Source: 1: Nishizawa et al. 2011, 2: Nishizawa et al. 2011 and this study, 3: Nishizawa et al. 2013, 4, Cheng et al. 2008, 5: Dethmers et al. 2006

Table 1.4. Pairwise comparisons of the central Ryukyu rookeries based on the 860-bp region. The p-values of the Exact tests are above the diagonal, and pairwise F_{ST} values and their p-values are below the diagonal. Rookery abbreviations are explained in the legend of Table 1.

	NWA	KUY	OEB	YOR	NOK	CWO	ZAM
NWA		0.006**	0.002**	< 0.001**	0.503	0.065	< 0.001**
KUY	0.274** (p = 0.007)		0.512	0.060	0.090	0.548	0.599
OEB	0.339** (p = 0.001)	-0.035 (p = 0.765)		0.179	0.038*	0.341	0.600
YOR	0.437** (p < 0.001)	0.090 (p = 0.177)	0.056 (p = 0.243)		0.037*	0.419	0.065
NOK	-0.031 (p = 0.586)	0.206 (p = 0.079)	0.285** (p = 0.012)	0.361* (p = 0.043)		0.249	0.008**
CWO	0.166 (p = 0.072)	-0.079 (p = 0.892)	-0.026 (p = 0.754)	-0.060 (p = 0.623)	0.096 (p = 0.306)		0.241
ZAM	0.445** (p < 0.001)	-0.020 (p = 0.485)	-0.031 (p = 0.622)	0.096 (p = 0.072)	0.392** (p = 0.007)	0.031 (p = 0.513)	

* p < 0.05, ** p < 0.0137 in B-Y method for 21 simultaneous tests.

Table 1.5. Pairwise comparisons of the populations which were inferred in the central Ryukyus based on the 860-bp region. The p-values of the Exact tests are above the diagonal, and pairwise F_{ST} values and its p-values are below diagonal. Rookeries whose samples were pooled are connected by “-“. Rookery abbreviations are explained in the legend of Table 1.

	NWA	KUY-OEB-YOR	NOK	CWO-ZAM
NWA		< 0.001**	0.502	< 0.001**
KUY-OEB-YOR	0.330** (P < 0.001)		0.069	0.625
NOK	-0.031 (P = 0.582)	0.264** (P = 0.005)		0.053
CWO-ZAM	0.351** (P < 0.001)	-0.032 (P = 0.905)	0.288** (P = 0.008)	

* p < 0.05, ** p < 0.0204 in B-Y method for 6 simultaneous tests.

Table 1.6. Pairwise comparisons among the four inferred populations in the central Ryukyu rookeries and all the other populations in the NW Pacific, Australasia, and Southeast Asia based on 380-bp. The p-values of the Exact tests are above the diagonal, and pairwise F_{ST} values and the p-values are below the diagonal. Rookery abbreviations are explained in the legend of Table 1. Nonsignificant differences ($p \geq 0.05$) are highlighted by gray shading.

	NWA	KUY-OEB-YOR	NOK	CWO-ZAM	Iriomotejima	Ishigakijima	Lanyu	Wan-an	Ogasawara	Northern Great Barrier Reef	Coral Sea Platform	Southern Great Barrier Reef	New Caledonia	Micronesia	Papua New Guinea	Peninsular Malaysia	Sarawak	Sulu Sea	Berau Islands	SE Sabah	Aru	Gulf of Carpentaria	Ashmore Reef	Scott Reef	West Java	North West Shelf
NWA		< 0.001**	0.498	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.268	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
KUY-OEB-YOR	0.330 < 0.001**		0.069	0.764	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
NOK	-0.031 0.588	0.264 0.005**		0.053	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.817	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
CWO-ZAM	0.351 < 0.001**	-0.035 0.953	0.288 0.011*		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Iriomotejima	0.418 < 0.001**	0.194 < 0.001**	0.390 < 0.001**	0.181 0.003**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Ishigakijima	0.341 < 0.001**	0.346 < 0.001**	0.342 < 0.001**	0.338 < 0.001**	0.098 0.004**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Lanyu	0.707 < 0.001**	0.583 < 0.001**	0.821 < 0.001**	0.676 < 0.001**	0.618 < 0.001**	0.583 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.8002	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.029*	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.023*	0.0637	< 0.001**
Wan-an	0.494 < 0.001**	0.455 < 0.001**	0.505 < 0.001**	0.454 < 0.001**	0.458 < 0.001**	0.418 < 0.001**	0.673 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Ogasawara	0.014 0.206	0.208 < 0.001**	-0.023 0.455	0.215 < 0.001**	0.299 < 0.001**	0.269 < 0.001**	0.484 < 0.001**	0.385 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Northern Great Barrier Reef	0.598 < 0.001**	0.533 < 0.001**	0.611 < 0.001**	0.562 < 0.001**	0.543 < 0.001**	0.519 < 0.001**	0.747 < 0.001**	0.590 < 0.001**	0.446 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	0.010*	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Coral Sea Platform	0.533 < 0.001**	0.484 < 0.001**	0.548 < 0.001**	0.503 < 0.001**	0.494 < 0.001**	0.471 < 0.001**	0.700 < 0.001**	0.546 < 0.001**	0.408 < 0.001**	0.602 < 0.001**		0.006**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Southern Great Barrier Reef	0.792 < 0.001**	0.699 < 0.001**	0.805 < 0.001**	0.753 < 0.001**	0.712 < 0.001**	0.684 < 0.001**	0.877 < 0.001**	0.741 < 0.001**	0.573 < 0.001**	0.770 < 0.001**	0.099 0.006**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
New Caledonia	0.292 < 0.001**	0.306 < 0.001**	0.313 < 0.001**	0.291 < 0.001**	0.317 < 0.001**	0.295 < 0.001**	0.598 < 0.001**	0.397 < 0.001**	0.249 < 0.001**	0.187 0.006*	0.285 0.001**	0.633 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Micronesia	0.383 < 0.001**	0.371 < 0.001**	0.391 < 0.001**	0.343 < 0.001**	0.367 < 0.001**	0.314 < 0.001**	0.564 < 0.001**	0.313 < 0.001**	0.320 < 0.001**	0.504 < 0.001**	0.442 < 0.001**	0.649 < 0.001**	0.281 < 0.001**		0.003**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Papua New Guinea	0.653 < 0.001**	0.544 < 0.001**	0.685 < 0.001**	0.568 < 0.001**	0.547 < 0.001**	0.475 < 0.001**	0.872 < 0.001**	0.471 < 0.001**	0.453 < 0.001**	0.695 < 0.001**	0.650 < 0.001**	0.840 < 0.001**	0.535 < 0.001**	0.142 0.003**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.007**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Peninsilar Malaysia	0.498 < 0.001**	0.495 < 0.001**	0.612 < 0.001**	0.547 < 0.001**	0.527 < 0.001**	0.500 < 0.001**	0.054 0.162	0.583 < 0.001**	0.413 < 0.001**	0.658 < 0.001**	0.607 < 0.001**	0.805 < 0.001**	0.437 < 0.001**	0.485 < 0.001**	0.703 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.001**	0.005**	< 0.001**
Sarawak	0.582 < 0.001**	0.508 < 0.001**	0.610 < 0.001**	0.541 < 0.001**	0.521 < 0.001**	0.494 < 0.001**	0.784 < 0.001**	0.578 < 0.001**	0.424 < 0.001**	0.654 < 0.001**	0.612 < 0.001**	0.812 < 0.001**	0.474 < 0.001**	0.479 < 0.001**	0.722 < 0.001**	0.626 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Sulu Sea	0.587 < 0.001**	0.541 < 0.001**	0.619 < 0.001**	0.573 < 0.001**	0.556 < 0.001**	0.532 < 0.001**	0.687 < 0.001**	0.599 < 0.001**	0.454 < 0.001**	0.656 < 0.001**	0.621 < 0.001**	0.772 < 0.001**	0.5124 < 0.001**	0.518 < 0.001**	0.692 < 0.001**	0.598 < 0.001**	0.657 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Berau Islands	0.268 < 0.001**	0.299 < 0.001**	0.310 < 0.001**	0.291 < 0.001**	0.313 < 0.001**	0.296 < 0.001**	0.397 < 0.001**	0.377 < 0.001**	0.255 < 0.001**	0.466 < 0.001**	0.406 < 0.001**	0.656 < 0.001**	0.180 < 0.001**	0.290 < 0.001**	0.458 < 0.001**	0.296 < 0.001**	0.416 < 0.001**	0.297 < 0.001**		0.014*	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
SE Sabah	0.344 < 0.001**	0.387 < 0.001**	0.440 < 0.001**	0.406 < 0.001**	0.414 < 0.001**	0.393 < 0.001**	0.201 0.007**	0.473 < 0.001**	0.330 < 0.001**	0.556 < 0.001**	0.498 < 0.001**	0.727 < 0.001**	0.281 < 0.001**	0.384 < 0.001**	0.561 < 0.001**	0.105 0.010*	0.509 < 0.001**	0.341 < 0.001**	0.098 0.010*		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	0.013*	< 0.001**
Aru	0.795 < 0.001**	0.632 < 0.001**	0.826 < 0.001**	0.713 < 0.001**	0.649 < 0.001**	0.612 < 0.001**	0.952 < 0.001**	0.692 < 0.001**	0.513 < 0.001**	0.758 < 0.001**	0.726 < 0.001**	0.872 < 0.001**	0.690 < 0.001**	0.583 < 0.001**	0.867 < 0.001**	0.792 < 0.001**	0.813 < 0.001**	0.750 < 0.001**	0.483 < 0.001**	0.659 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Gulf of Carpentaria	0.349 < 0.001**	0.371 < 0.001**	0.404 < 0.001**	0.379 < 0.001**	0.387 < 0.001**	0.373 < 0.001**	0.366 < 0.001**	0.429 < 0.001**	0.329 < 0.001**	0.485 < 0.001**	0.440 < 0.001**	0.597 < 0.001**	0.284 < 0.001**	0.364 < 0.001**	0.486 < 0.001**	0.294 < 0.001**	0.456 < 0.001**	0.460 < 0.001**	0.249 < 0.001**	0.240 < 0.001**	0.547 < 0.001**		< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**	< 0.001**
Ashmore Reef	0.316 < 0.001**	0.346 < 0.001**	0.375 < 0.001**	0.329 < 0.001**	0.357 < 0.001**	0.307 < 0.001**	0.425 < 0.001**	0.332 < 0.001**	0.293 < 0.001**	0.526 < 0.001**	0.440 < 0.001**	0.704 < 0.001**	0.220 0.001**	0.125 0.002**	0.218 0.002**	0.302 < 0.001**	0.482 < 0.001**	0.504 < 0.001**	0.196 < 0.001**	0.206 < 0.001**	0.653 < 0.001**	0.193 < 0.001**		0.004**	< 0.001**	< 0.001**
Scott Reef	0.323 < 0.001**	0.370 < 0.001**	0.419 < 0.001**	0.385 < 0.001**	0.397 < 0.001**	0.375 < 0.001**	0.233 0.006**	0.463 < 0.001**	0.313 < 0.001**	0.556 < 0.001**	0.467 < 0.001**	0.728 < 0.001**	0.242 0.002**	0.364 < 0.001**	0.568 < 0.001**	0.113 0.013*	0.509 < 0.001**	0.509 < 0.001**	0.182 < 0.001**	0.089 0.024*	0.696 < 0.001**	0.080 0.026*	0.140 0.009*		< 0.001**	< 0.001**
West Java	0.449 < 0.001**	0.460 < 0.001**	0.559 < 0.001**	0.501 < 0.001**	0.491 < 0.001**	0.465 < 0.001**	0.174 0.062	0.550 < 0.001**	0.387 < 0.001**	0.632 < 0.001**	0.576 < 0.001**	0.792 < 0.001**	0.383 < 0.001**	0.452 < 0.001**	0.669 < 0.001**	0.075 0.047*	0.607 < 0.001**	0.574 < 0.001**	0.191 < 0.001**	0.073 0.054	0.776 < 0.001**	0.281 < 0.001**	0.271 < 0.001**	0.115 0.021*		< 0.001**
North West Shelf	0.579 < 0.001**	0.520 < 0.001**	0.560 < 0.001**	0.549 < 0.001**	0.532 < 0.001**	0.507 < 0.001**	0.728 < 0.001**	0.581 < 0.001**	0.435 < 0.001**	0.646 < 0.001**	0.593 < 0.001**	0.7755 < 0.001**	0.487 < 0.001**	0.493 < 0.001**	0.689 < 0.001**	0.631 < 0.001**	0.650 < 0.001**	0.646 < 0.001**	0.440 < 0.001**	0.525 < 0.001**	0.753 < 0.001**	0.139 < 0.001**	0.425 < 0.001**	0.377 < 0.001**	0.604 < 0.001**	

* $p < 0.05$, ** $p < 0.0079$ in B-Y method for 325 simultaneous tests.

Table 2.1. Frequencies of mtDNA 820-bp haplotypes of samples additionally collected from the nesting females in the northwestern Amami Oshima Island (NWA) and Japanese foraging green turtles.

	nesting females	Additional samples from FGs				GenBank
820-bp haplotype	NWA in 2013	Yaeyama	Okinawa	Muroto	Owase	Accession No.
CmP20.1		9	10			AB819806
CmP20.3			1			KF311745
CmP20.4			1			KF311746
CmP50.1		9	15	8	1	AB819809
CmP39.1	4	13	5	18	10	AB819807
CmP39.2				1		AB896709
CmP54.1		5	2			AB819811
CmP32.1		1	2			KF311749
CmP61.1		3	1			KF311755
CmP53.1		2	2		1	AB819810
CmP77.1		2				KF311759
CmP22.1		2	1			KF311747
CmP49.1		2	1			AB819808
CmP4.1					1	KC306666
CmP4.6					1	KC306647
CmP6.1				1		KC306657
CmP15.1				1		KC306649
CmP127.1		2				AB856321
CmP121.1		1		1	1	AB819813
CmP126.1			1	1		AB819815
CmP79.1				2		AB896712
CmP128.1			1	1		AB896711
CmP95.1				1	1	FJ917196
CmP18.1			3	1		AB896713
CmP70.1				1		AB819812
CmP122.1				1	2	AB896710
CmP51.1		1		1		AB896706
CmP208.1				1		AB896708
CmP210.1					1	AB896707
total	4	52	46	40	19	

Table 2.2. Haplotype frequencies in the each size class of the foraging grounds.

Haplotype name		Yaeyama FG			Okinawa FG			Nomaike-Muroto-Owase FG		
380-bp	CMJ	I	II	III	I	II	III	I	II	III
CmP20	CMJ2	49	28	14	5	2	5			2
CmP50	CMJ25	33	20	7	6	4	5	9	4	11
CmP39	CMJ18	23	22	8	3		2	29	12	48
CmP54	CMJ6	12	4	1		1	1	1	1	5
CmP32	CMJ9	10	8	4	1	1				2
CmP61	CMJ12	8	2	3	1					
CmP53	CMJ26	3	5	1	1	1		2		2
CmP77	CMJ11	6	1	2						
CmP57	CMJ31	8	1	1						
CmP22	CMJ3	2	3	1	1					
CmP49	CMJ30	4	3	3	1			1	1	1
CmP4	CMJ36		1	1					1	1
CmP19	CMJ35	1								
-	CMJ34	2								
CmP127	CMJ19	1	3	2				1		2
CmP121	CMJ15	1	2	2				1		3
CmP126	CMJ16	3					1	1		
CmP67	CMJ13	2								
CmP91	CMJ28	2								
CmP1	CMJ27	1	3	5						
CmP44	CMJ37	1								
CmP79	CMJ22	1							1	2
CmP128	CMJ20	2			1			1	1	
CmP76	-									
-	CMJ32							2		
-	CMJ21									1
CmP95	CMJ23								2	2
-	CMJ24							1		
CmP18	CMJ29	1			2		1	1		
CmP70	CMJ17		1							
CmP47	CMJ1		1							
CmP6	-								1	
CmP15	-									1
CmP122	CMJ4		1	1				1		2
-	CMJ5	1								
-	CMJ7	1								
-	CMJ10	1								
CmP51	-		1					1		
CmP208	-									1
CmP210	-									1
total		179	110	56	22	9	15	52	24	87
Source		Hamabata et al. 2009 Nishizawa et al. 2013 This study			This study			Hamabata et al. 2009 This study		

Table 2.3. Haplotype (*h*) and nucleotide (*π*) diversity of green turtles in the foraging grounds at the Japanese coasts.
Values calculated for the total samples of each foraging ground and the size groups of each foraging ground and regional foraging grounds based on 380-bp haplotypes.

Foraging ground		N	*h*	*π*
Yaeyama	total	345	0.8672 ± 0.0102	0.0339 ± 0.0169
	I	179	0.8647 ± 0.0151	0.0339 ± 0.0169
	II	110	0.8570 ± 0.0180	0.0342 ± 0.0172
	III	56	0.8929 ± 0.0235	0.0344 ± 0.0174
Okinawa (Ginoza)	total	66	0.8364 ± 0.0269	0.0359 ± 0.0181
Okinawa	I	22	0.8745 ± 0.0456	0.0373 ± 0.0194
	II	9	-	-
	III	15	-	-
Nomaike	total	38	0.6913 ± 0.0823	0.0236 ± 0.0124
Muroto	total	93	0.6632 ± 0.0479	0.0220 ± 0.0113
Owase	total	32	0.6516 ± 0.0907	0.0206 ± 0.0109
Nomaike-Muroto-Owase	I	52	0.6652 ± 0.0674	0.0231 ± 0.0120
	II	24	0.7355 ± 0.0877	0.0239 ± 0.0127
	III	87	0.6784 ± 0.0536	0.0237 ± 0.0122

Table 2.4. Pairwise comparisons of the foraging grounds based on the 380-bp sequences. The p-values of the Exact tests are above the diagonal, and pairwise F_{ST} values and their p-values are below the diagonal. Data of Okinawa were including samples from Ginoza used in Nishizawa et al. (2013). Data of Kanto foraging ground were from Niahizawa et al. (2013)

	Yaeyama	Okinawa	Nomaike	Muroto	Owase	Kanto
Yaeyama		0.2152	0.0004**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
Okinawa	0.0087 (p = 0.1292)		0.0001**	0.0000**	0.0000**	0.0080**
Nomaike	0.1468** (p < 0.0001)	0.1334** (p = 0.0001)		0.2906	0.1090	0.0188*
Muroto	0.1872** (p < 0.0001)	0.1767** (p < 0.0001)	-0.0093 (p = 0.6045)		0.1542	0.1190
Owase	0.1823** (p < 0.0001)	0.1636** (p = 0.0002)	-0.0202 (p = 0.7690)	-0.0178 (p = 0.8371)		0.0058**
Kanto	0.1319** (p < 0.0001)	0.0647** (p = 0.0112)	0.0795** (p = 0.0136)	0.0790** (p = 0.0033)	0.0787* (p = 0.0243)	

*P < 0.05, **P < 0.01507 in B-Y method for 15 simultaneous tests.

Table 2.5. Pairwise comparisons of the size classified foraging groups based on the 380-bp sequences. Size class I is SCL < 50 cm, size class II is 50 ≤ SCL < 70 cm, size class III is SCL ≥ 70 cm. The p-values of the Exact tests are above the diagonal, and pairwise F_{ST} values and their p-values are below the diagonal.

Size class	Yaeyama FG			Okinawa FG	Nomaike-Muroto-Owase FGs		
	I	II	III-	I	I	II	III
Yaeyama FG							
I		0.1429	0.1509	0.5949	< 0.0001**	0.0006**	< 0.0001**
II	-0.0010 (p = 0.4115)		0.8049	0.5202	< 0.0001**	0.0017**	< 0.0001**
III	-0.0053 (p = 0.5728)	-0.0101 (p = 0.8042)		0.5704	<0.0001**	0.0009**	< 0.0001**
Okinawa FG							
I	-0.0090 (p = 0.5041)	-0.0169 (p = 0.6732)	-0.0166 (p = 0.6200)		0.0006**	0.0058**	0.0003**
Nomaike-Muroto-Owase FGs							
I	0.2028** (p < 0.0001)	0.1628** (p < 0.0001)	0.1999** (p < 0.0001)	0.2031** (p = 0.0011)		0.4700	0.6090
II	0.1544** (p = 0.0004)	0.1118** (p = 0.0037)	0.1361** (p = 0.0031)	0.1283** (p = 0.0232)	-0.0255 (p = 0.7508)		0.5733
III	0.1754** (p < 0.0001)	0.1358** (p < 0.0001)	0.1695** (p < 0.0001)	0.1786** (p = 0.0008)	0.0036 (p = 0.2808)	-0.0079 (p = 0.4895)	

*P < 0.05, **P < 0.0137 in B-Y method for 21 simultaneous tests.

図（Figures）

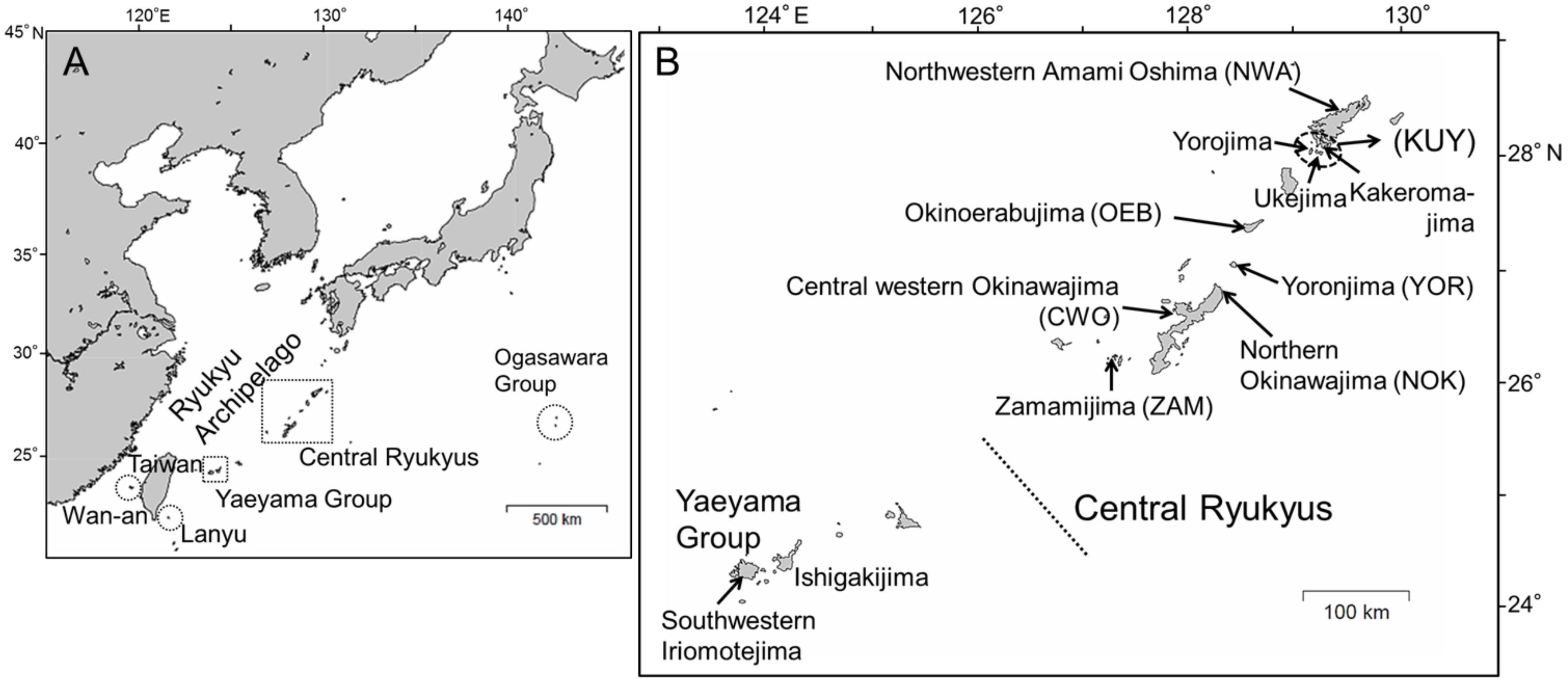

Fig. 1.1. (A) Location of the Ryukyu Archipelago (the Central Ryukyus and Yaeyama Group), Ogasawara and Taiwan (Lanyu and Wan-an Islands).
(B) Extended map of the Central Ryukyus and Yaeyama Group.
Sampling sites in this study are indicated by arrows. The final publication is available at http://link.springer.com. (Doi: 10.1007/s00227-013-2352-z)

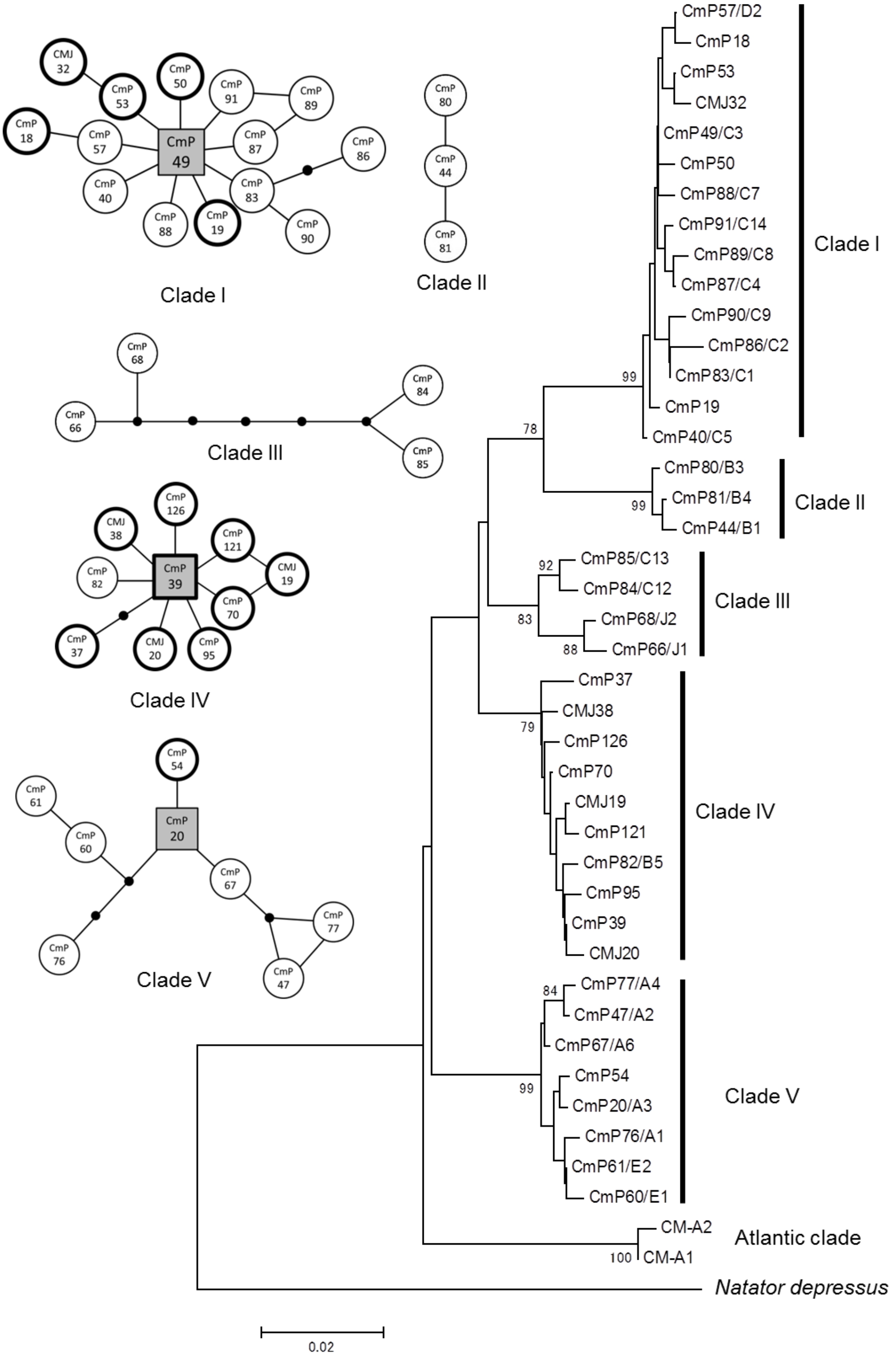

Fig. 1.2. Neighbor joining (NJ) tree and minimum spanning networks (top left) showing the relationships among 40 mtDNA control regions.

The names of haplotypes used in Dethmers et al. (2006) were also adopted in the NJ tree. Presumed ancestral haplotypes (based on their internal position in the network and the number of lineages that arose from them) are represented by squares, and missing intermediate haplotypes are represented by black circles. Fifteen haplotypes identified after the study by Dethmers et al. (2006) are represented by thick frames. The final publication is available at http://link.springer.com. (Doi: 10.1007/s00227-013-2352-z)

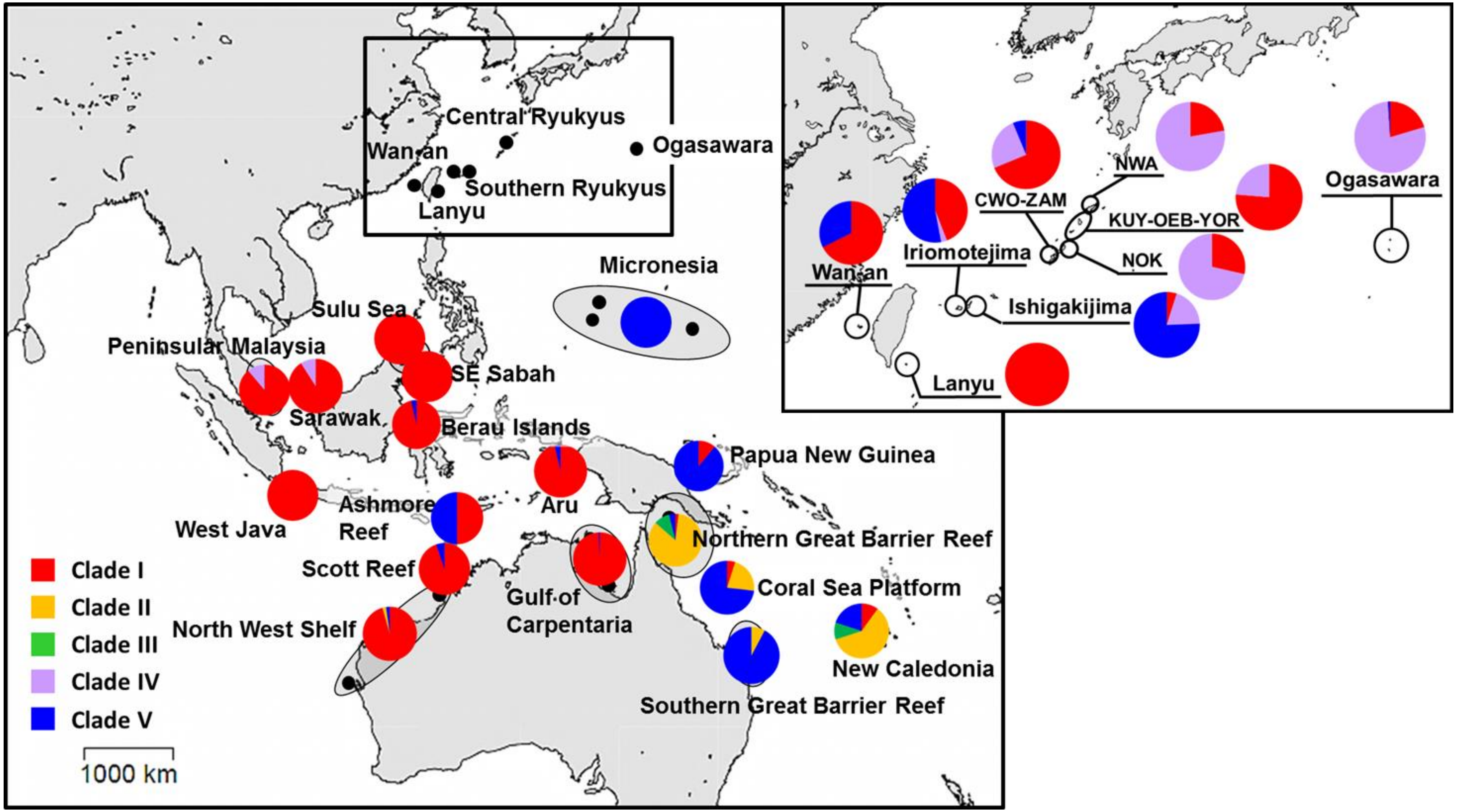

Fig. 1.3. Frequencies of observed clades in reported populations (absolute values).
Clade frequency data other than for the central Ryukyu population were from Dethmers et al. (2006), Cheng et al. (2008), Nishizawa et al. (2011) and Nishizawa et al. (2013). The final publication is available at http://link.springer.com. (Doi: 10.1007/s00227-013-2352-z.)

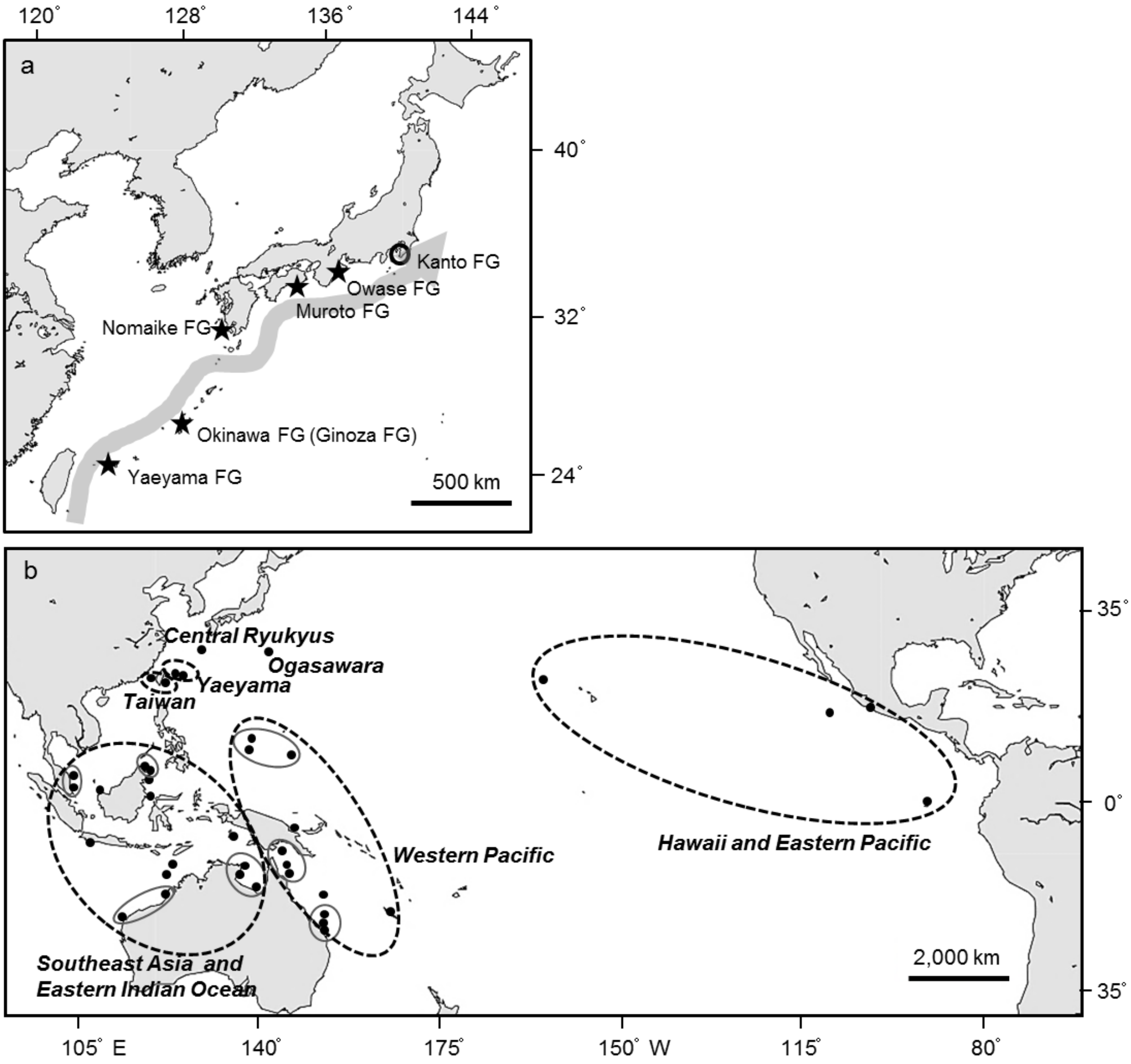

Fig. 2.1. a) Locations of the foraging grounds of this study (a) and rookeries (black dots) and regional groups of rookeries (dashed circle) used in this study (b).

Analyzed FGs were indicated by stars. Referenced Ginoza FG were indicated after Okinawa FG, and the Kanto FGs was indicated by circle. Gray line represents the general path of the Kuroshio Current in the direction of the arrows. Rookery data were from Chassin-Noria et al. 2004, Dethmers et al. (2006), Cheng et al. (2008), Dutton et al. (2008), Nishizawa et al. (2011, 2013), and Hamabata et al. (in press).

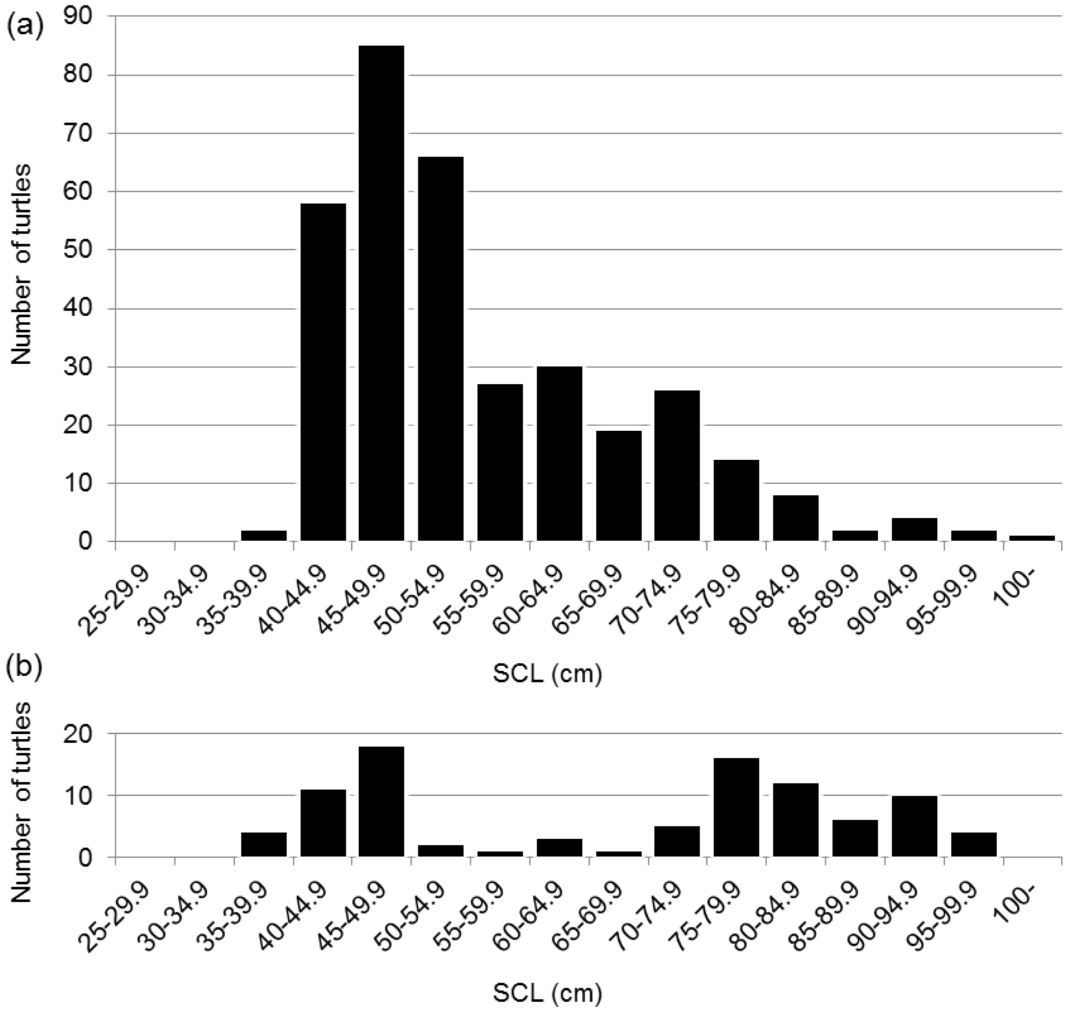

Fig. 2.2. Size frequency distributions in the foraging grounds: Yaeyama (a) and Muroto (b).

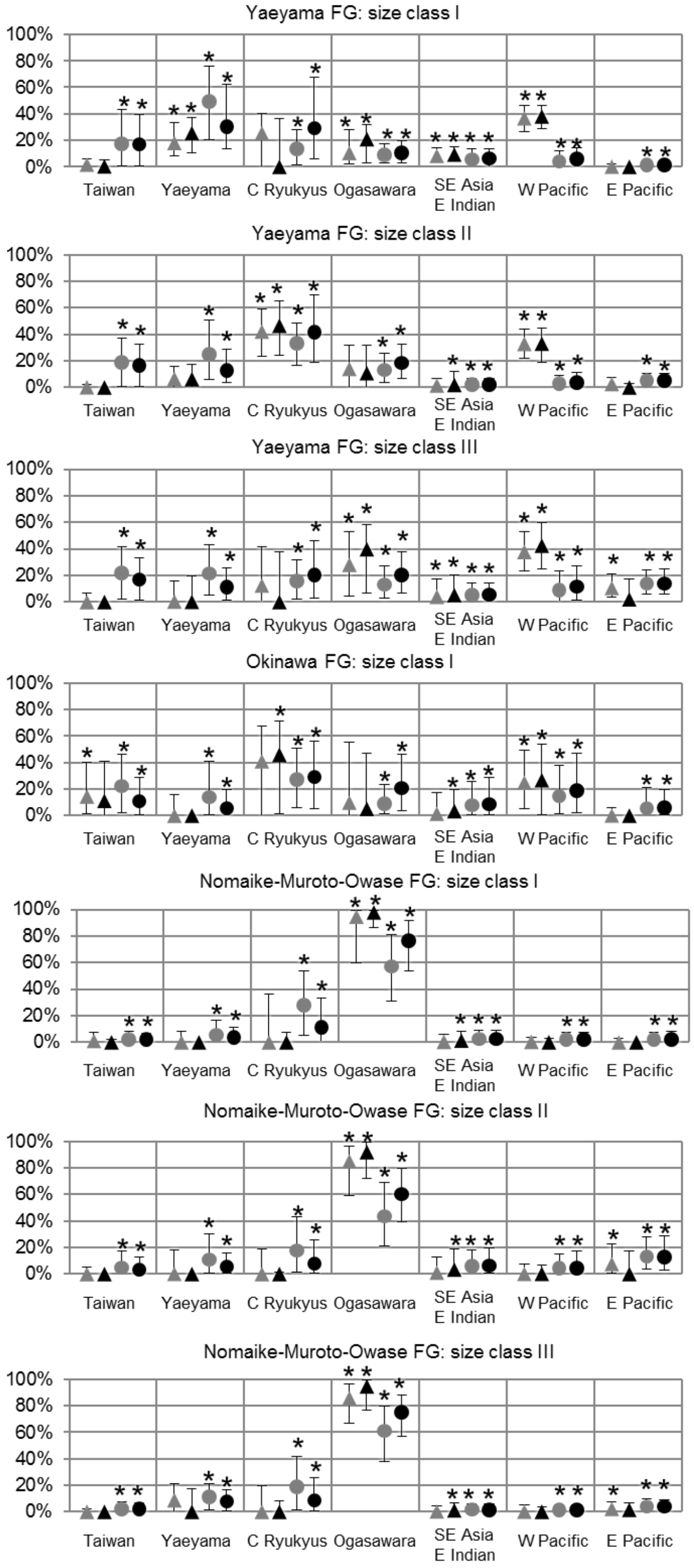

Fig. 2.3. Estimated contributions of regionally grouped source populations to green turtle foraging aggregations at Japanese coasts. Triangle and circle represent M2O and M2M analysis, respectively. Bars represent 95% probability intervals, and asterisks (*) represent that the intervals do not include zero. Uninformative prior estimations ($M2O_1$, $M2M_1$) were indicated in gray, and informative prior estimations ($M2O_3$, $M2M_2$) were indicated in black.