

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (人間・環境学)	氏名	江頭幸士郎
論文題目	Systematic studies of two Japanese brown frogs (日本産アカガエル二種の系統分類学的研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>日本列島産のアカガエル属の多くの種は平野部や山間部の水辺に生息しているが、同属のタゴガエルは例外的に山地の溪流沿いを生息地としている。タゴガエルは日本固有種で本州以南に分布するが、その体サイズなどの形態、産卵時期・場所などの生態にかなりの変異が見られることが知られていた。また、本州にはタゴガエルの他に、やはり山地の溪流沿いに生息するナガレタゴガエルが分布する。本論文は、形態の詳細な解析に加え、遺伝生化学的手法を駆使して、タゴガエルとナガレタゴガエルの関係、タゴガエルの隠蔽種の有無、変異の地理的パターン、形態・生態の分化様式などを明らかにしようとしたものである。</p> <p>本研究の主対象となったタゴガエルは山地に広く分布するが、アカガエル属のなかでは世界的に見ても例外的に、地下の伏流水中に産卵する習性を基本とすることで注目されている。これまでに、形態的差異から隠岐諸島および屋久島産の個体群は、それぞれ独立の亜種、オキタゴガエル、ヤクシマタゴガエルとして記載されてきたが、本土産の個体群のなかには、まだ多くの隠蔽種が存在する可能性が生態学的・核学的知見から推定されている。他方、ナガレタゴガエルはタゴガエルと同所的に分布し、形態的・生態的に大きく異なることで独立種として記載されたが、ミトコンドリアDNA (mtDNA) に基づく予備的な系統解析の結果、タゴガエルに含まれることが示唆されていた。このように、タゴガエル類の分類に関しては多くの問題が残されていることを指摘した (第1章)。</p> <p>タゴガエルの遺伝的変異を明らかにするためmtDNAに基づく系統解析を行ったところ、二つのクレード (A, B) が認められた。クレードBはタゴガエルのみから構成されていたが、クレードAはタゴガエルとナガレタゴガエルを含んでいた。タゴガエル系統のうち、少なくとも一部は既知の亜種と対応したが、その他にも形態的には区別できない多くの系統の存在が明らかになった。これらの系統はそれぞれが隠蔽種の可能性が高く、タゴガエルは複数種で構成される種群をなすことが示された (第2章)。</p> <p>母親からしか遺伝しない母系遺伝のマーカーであるmtDNAからは、同所的に分布するクレード間の交雑の有無を知ることができない。そこで、両性遺伝する核DNAマーカーの挙動を知るために、近畿地方で同所的に生息し、サイズが顕著に異なる二型について、mtDNAに加え、核DNAの解析を行った。その結果、mtDNAの系統樹が形態的変異と必ずしも対応しない一方で、核DNAの変異はこの二型の変異とよく一致した。これは大小二型間に生殖隔離が存在することを示すもの</p>			

で、基準産地の標本を照合した結果、大型は真のタゴガエル、小型は未記載種とされるべきであると考えられた。またmtDNAの結果が大小二型と一致しないのは、過去に両者の間で浸透交雑が起こったためと推察された（第3章）。

最後に、タゴガエル種群全体とナガレタゴガエルについて、複数の核遺伝子を用いた解析を行ったところ、二つのクラスター（I・II）が認められた。ナガレタゴガエルはこのうちIIの内部で固有のサブクラスターを成すことから、独立種と見なせると結論された。またこの解析により、ナガレタゴガエルが姉妹群のタゴガエル種群と分かれたのは約90万年前と、比較的新しいことが示された。ナガレタゴガエルがmtDNAの系統樹上で単系統にならないのは、種分化からの歴史が浅く、系列選別が不完全なためと考えられた。一方、タゴガエル種群は核DNAの解析でも複数のサブクラスターに分けられたが、それらの間の遺伝的交流は限定的であり、それぞれが独立種である可能性が高いと推定された（第4章）。

このように、長い間、広域分布種として扱われてきたタゴガエルの中に、多数の隠蔽種が含まれていることが明らかになった。本種の基準産地である岐阜上宝産の個体群は本州東部から中部まで広域分布する遺伝型であることから、この遺伝型が真のタゴガエルと結論できる。すでに独立亜種とされているオキタゴガエルとヤクシマタゴガエルを除く隠蔽種にはまだ学名が付けられておらず、それらの分類学的な位置付けと記載は今後の課題として残された。本研究で得られた結果は、日本列島の流水環境に生息するカエル類の系統関係や種分化過程の解明に大きな貢献をしたばかりでなく、数種の隠蔽種を含むタゴガエル種群の保護のために指針を示すものとなった。

(論文審査の結果の要旨)

タゴガエルとナガレタゴガエルは両生綱カエル目アカガエル科のアカガエル属に属する。この科は多くの属を含み、その中でもアカガエル属は、かつては北半球を中心に広域分布し、数百種を含む大きなグループとされていた。しかし、最近の研究によりこの属は細分され、真のアカガエル属はユーラシアと北米の一部に分布する47種に限定された。これらの種のほとんどは水田や池など止水の解放水面で繁殖し、ごく一部が流水で繁殖するにすぎず、ナガレタゴガエルはそうした数少ない1種である。一方、タゴガエルは他に例を見ない伏流水産卵性の種として注目されている。

タゴガエルは分布域が広く、本州、四国、九州の山地に見られる普通種であるにも関わらず、記載命名されたのは1931年のことである。その後、屋久島、隠岐という離島の集団が別亜種として記載された。

その後の調査で、離島に限らず本土内部においても、タゴガエルが形態的・生態的変異を内包していることが注目され、種内の集団分化について予備的な調査も試みられたが、多数個体を用いた十分な遺伝的解析が行われたことはなかった。一方、近縁種ナガレタゴガエルはタゴガエルと同所的に分布し、形態的・生態的に異なることから独立種として記載されたが、遺伝生化学的にはタゴガエルと極めて近いという報告もあった。本研究は、詳細な形態比較と分子系統解析によって、タゴガエルおよびナガレタゴガエルの系統関係を明らかにしようとしたものである。本研究の最も大きな成果は、ナガレタゴガエルはタゴガエルと複雑な関係を持ち、タゴガエルとされてきたものの中に複数の隠蔽種が存在することを初めて明らかにした点にある。

本研究は、使用した標本の収集範囲の広さ、扱った個体数の多さ、また駆使した解析手法の先駆性に大きな特徴がある。この研究により、従来、断片的な知見しかなかったタゴガエルとナガレタゴガエルの種内変異・分化について、客観的かつ信頼性の高い新知見が得られた。従来断片的報告からは想像できなかった多数の隠蔽種の存在は、綿密な野外調査と、mtDNAと核DNA双方を用いた分子系統解析によって初めて明らかになったものである。母親由来の遺伝情報のみを含むmtDNAの解析結果では、タゴガエルとナガレタゴガエルは互いに側系統群をなし、ナガレタゴガエルはタゴガエルに内包されると同時に、タゴガエルの一部を含むという解釈困難な結果が得られた。また、タゴガエルの中では本州の東西の広大な範囲に分布する2系統が明確に区分され、四国や九州の系統は本州西部ではなく、東部の系統に含まれるという、生物地理学的に解釈困難な結果が得られた。そこで、核DNAを用いた解析を行ったところ、ナガレタゴガエルとタゴガエルは別クレードに分離され、またタゴガエルの東西それぞれの系統が単一群をなすという結果が得られた。しかし、ナガレタゴガエルの系統には一部ながらタゴガエルが含まれるという結果は変わらなかった。そこで、その原因を説明するためにさらに解析を進めたところ、両者間で浸透交雑が生じている可能性よりも、両者の分化が極めて新しい時代に生じたために十分な系列選別ができていない可能性の高いことが示された。このように、mtDNAのみの解析から得られた不自然な結果を、核DNA情報を用いることによってうまく説明するのに成功したことは高く評価で

きる。また、本研究は、日本列島の地史に関しての信頼できる最新の情報に基づいて、新たな分子時計目盛りを設定し、各遺伝型間の分化の程度を比較することによって、タゴガエルの日本列島における進化史の問題を合理的に説明したのものである。

タゴガエルはこれまで分布域の広い普通種であるとされてきたため、離島産の亜種を除き、環境省のレッドリストには掲載されてこなかった。しかし、タゴガエルが、複数の隠蔽種から構成されているという本研究の結果は、狭い分布域しか持たない個々の隠蔽種の保護のために特別の配慮が必要であることを意味している。したがって、本研究はタゴガエル類の保全のための新たな視点を提示したという意味においても高く評価できる。

このように、本研究はタゴガエル類だけでなく、サンショウウオ類をも含む流水産卵性両生類の集団分化過程の解明に新しい途を開くものである。したがって、本学位申請論文は、自然と人間の調和的な共生を可能にする新しい科学・技術のあり方を探求する相関環境学専攻自然環境動態論講座にふさわしい内容を具えたものと言える。

よって  
本論文は博士（人間・環境学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年1月14日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降