

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	内 藤 拓 哉
論文題目	海産絶滅危惧魚類アカメの遺伝的集団構造の解明および集団サイズの推定		

(論文内容の要旨)

アカメ *Lates japonicus* は日本固有の大型海産魚類であり、その主要な生息域は宮崎県および高知県に限られている。本種は遊漁やアクアリウムの対象として人気がある一方で、限られた分布域と生息環境の悪化から絶滅が危惧されている。本研究では、本種の保全のために不可欠な基盤情報として、詳細な遺伝的集団構造、現在の有効集団サイズと近い過去における減少状況、成魚の現存個体数の推定を行うことを試みた。

第1章 序論

本章ではアカメの現状と保全上の問題点について整理し、保全遺伝学的研究が困難である本種に対してどのようなアプローチで研究を進めるかについて、近年の遺伝学的分析手法の発展とあわせて検討した。

第2章 ddRAD-seq法により取得したSNPを用いた遺伝的集団構造の解明

遺伝的集団構造、すなわち生息地間で繁殖集団の分離があるかどうかを調べることは、保全上の基礎知見として不可欠であるとともに、以降の分析の対象とする地域単位を決める上でも重要である。本研究では多くの一塩基多型 (SNP) が得られる縮約的なゲノムワイド分析によって集団構造を調べた。

アカメの主要な生息地を網羅するよう、高知県中央部の浦戸湾に流入する久万川、西部の四万十川、宮崎県北部の塩見川、南部の大淀川水系支流の合計4河川でアカメ当歳魚を計284個体採集し、鰭の一部のみを遺伝分析用サンプルとして切除した後に放流した。そのサンプルからddRAD-seq法により取得した780座位のSNPに基づく集団構造解析を行ったところ、両県のアカメは遺伝的に分化した集団であることが明らかになった。また、宮崎県集団には高知県集団に近い遺伝的特徴を持つ個体が複数含まれていたことから、一部個体が仔稚魚期に両集団間を移送されるなど、集団間で限定的な遺伝子流動が存在する可能性も示唆された。同一県内の河川間での遺伝的分化は検出されなかった。

第3章 現在の有効親魚数と近年の有効集団サイズ変動の推定

有効集団サイズはその集団の遺伝的多様性の喪失率を示すため、絶滅危険性を定量化し保全のために必要な対策を考える上で重要な指標である。本章では、個体数の減少が特に危惧されているアカメ宮崎集団を対象に、現在の有効親魚数 (単一繁殖期における有効集団サイズ) および近年の有効集団サイズの変動を推定した。2017-2020年に宮崎県大淀川支流で採集したアカメ当歳魚を対象とし、有効親魚数の推定にはサンプル内の全兄弟および半兄弟関係の割合に基づく手法 (SA法) および連鎖不平衡に基づく手法 (LD法) を用いた。予備実験により第2章で用いたddRAD-seq法や、GRAS-Di法などの縮約的ゲノム分析では半兄弟関係を正確に推定できないことが確認されたため、本章ではさらに多くのSNPを得ることが可能な全ゲノムリシーケンス法を使用した。

全兄弟・半兄弟関係の正確な推定に必要なシーケンスカバレッジおよびSNPのフィルター条件を事前に検討した上で、合計311個体について平均カバレッジ13.2×の全ゲノムリシーケンスを行い、10,380-19,045座位のSNPを取得して以降の分析に用いた。

SA法による推定の結果、現在の有効親魚数は2017-2019年の間で160-521であった。LD法では152-388となり、両手法で大きな差はなかった。いずれの値も集団が遺伝的多様性の喪失を避けて長期間存続するためには不十分であり、現状では宮崎集団の将来的な絶滅の可能性は高いと考えられる。ソフトウェアGONEによる近年の有効集団サイズ変動推定からは、アカメ宮崎集団は約30世代前（約150年前）から顕著に減少しており、集団サイズの減少には人間活動が影響している可能性が示唆された。

第4章 Close-Kin Mark-Recapture法を用いたアカメ宮崎集団の成魚個体数推定

有効集団サイズが遺伝的多様性の喪失に関わるのに対し、現在の成魚の総個体数は生態的要因、例えば交配機会の減少などを通じてより直接的に絶滅可能性につながるため、保全を考える上で非常に重要な指標であり、絶滅危険性の評価においても重視されている。本研究では、近年新たに開発された、個体間の血縁関係を標識のように用いて成魚の個体数を推定する理論であるClose-Kin Mark-Recapture (CKMR) 分析のうち、子世代の年級群間での半兄弟関係を利用する手法を硬骨魚では世界で初めて適用し、アカメ宮崎集団の成魚総個体数を推定した。これは、繁殖に参加する成魚の個体数が少ないほど、異なる年級群の間に見いだされる半兄弟関係のペア数が多くなるという原理に基づいている。

第3章で取得した2017年級-2020年級の4年級群、合計311個体の当歳魚サンプルを使用して血縁関係の分析を行ったところ、異なる年級間にまたがる半兄弟ペアが合計240ペア推定された。このペア数と用いたサンプル数に基づきベイズ法によるCKMR分析を行った結果、直近2020年の成魚個体数は505個体（95%信用区間：416-599）と推定され、アカメ宮崎集団の生息個体数が海産魚としては極めて少ないことが示された。

第5章 総合考察

本種の宮崎集団は有効集団サイズも現在の成魚個体数も少なく、存続が危ぶまれる状態であることが明確に示された。保全のためには捕獲の制限だけでなく、本種が稚魚期の成育場として強く依存している汽水域のコアマモ群落の再生が必要と考えられる。本研究では主に宮崎集団を対象としたが、高知集団についても今後定量的データを示し、それに基づいて保全方針を検討することが必要である。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

アカメは「幻の魚」などとして一般にもよく知られているが、生物学的知見はほとんど得られておらず、保全方策を検討することができない状態が続いていた。本論文では、本種の保全に不可欠な基礎的情報を多方面から明らかにし、具体的な方策立案に向けて状況を大きく進展させた。評価できる点は以下の通りである。

- 1) アカメは遺伝的多様性が極めて低く、通常用いられる遺伝マーカーの多型性が少ない。多数の分析用サンプルを入手することが難しいため、保全遺伝学的研究の実施が困難な状況だった。本論文では、分析対象として採集が比較的容易な当歳魚に着目し、ゲノムワイドな大量のSNPと新規の分析手法を導入することで、下記のとおり明確な成果を得た。このアプローチは今後、同様の状況下にある生物の保全遺伝学的研究においても有効と考えられる。
- 2) アカメの主要分布域を網羅した集団構造分析によって、宮崎県と高知県の集団がそれぞれ独立的であることを示し、個別の保全対策が必要であることを示した。
- 3) 現在の宮崎県集団の有効集団サイズが長期的な存続には不足していることを明らかにし、その小ささは人為的な影響の結果である可能性を過去の変動履歴推定から示した。
- 4) 海産の希少種では標識再捕獲法などが使えないため、これまで成魚の個体数を推定する手段がなかったが、半兄弟関係に基づくCKMR法を硬骨魚類に初めて適用し、宮崎県集団の成魚個体数が数百個体であり、海産魚類としては極めて少ないことを明らかにした。

以上のように本論文は、希少海産魚ではその遺伝的多様度の低さと標本採集の困難さにより保全遺伝学的研究が困難であるという問題を解決するため、新たな方法論の導入とその有効性の実証を行ったものであり、海洋生物学および保全生物学の発展に寄与するところが大きい。よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和6年1月18日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：令和6年6月1日以降（学位授与日から3ヶ月以内）