

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (人間・環境学)	氏名	福谷 和美
論文題目	Systematic studies of Japanese toads (日本産ヒキガエルの系統分類学的研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>種の地理的境界を明確にすることは、生物多様性の形成過程を解明する上で重要である。種の境界を決定するために、これまで表現型や分子データが用いられてきており、特に両生類のような表現型の差が近縁種間で小さい生物では、分子データ解析技術が大きく貢献している。さらに近年は、より大規模な遺伝子データを用いることで遺伝構造や地理的構造をこれまでよりも詳細に解明することが可能になっている。日本の両生類においても分子データ解析技術の向上により、種の境界の研究は進んできたが、未だに解明されていない種群も残っている。その一つがヒキガエル属である。九州以北の日本列島には2種1亜種のヒキガエル属が生息する。西日本に基亜種ニホンヒキガエル(以下、亜種ニホン)、東日本に亜種アズマヒキガエル(以下、アズマ)が側所的に分布し、両亜種の分布境界にアズマと重複して独立種ナガレヒキガエル(以下、ナガレ)が分布している。亜種ニホンとアズマを含む種ニホンヒキガエル(以下、種ニホン)は止水産卵性、ナガレは流水産卵性を示し、形態的にも2種は異なっている。しかし、先行研究におけるミトコンドリアの遺伝的解析では、ナガレは亜種ニホンに近縁であり、種ニホンは側系統群になることが示唆されていることから、日本産ヒキガエル属の種の分類や境界は明確になっていない。そこで、本研究では分子系統解析と集団遺伝学的解析、生態学的な生息適地解析に基づき、種ニホンとナガレの遺伝的多様性や分類学的関係、進化史を調べることで、2種における多様性形成過程を解明して、種の分類を整理して、境界を明確にすることを目的としている。</p> <p>本論文は3章構成となっている。</p> <p>第1章では種ニホンとナガレの系統関係を明らかにした。まずミトコンドリア cytochrome b 領域の塩基配列に基づき系統解析を行うことで、種ニホンとナガレは2種を合わせて単系統群になることを確認した。また分岐年代推定を行うことで、日本産ヒキガエル属は中新世中期から後期の気候変動の影響を受けて、中新世末期約570万年前に日本の中で東西に分岐したことが明らかになった。分子系統解析で認められた東日本の系統はアズマに対応し、その中に3つのサブクレードが認められた。西日本の系統には亜種ニホンとナガレが含まれていた。ナガレは単系統であったが、九州に分布する亜種ニホンのサブクレードと姉妹群になり、亜種ニホンは側所的に分布する2つのサブクレードが側系統になることが明らかになった。</p> <p>第2章では、ミトコンドリアDNAの個体群動態の解析と最終氷期における生息適地の</p>			

推定を行い、日本産ヒキガエル属の個体群動態がどのように第四紀の気候影響を受けてきたか、その過程を考察した。また、系統間の生息適地の類似性を検定することで、生息適地の分化の可能性も調べた。その結果、東北地方内の系統は、第四紀の氷期・間氷期のサイクルの影響を受けて、日本海・太平洋の沿岸部がレフュージアとなり、分布が隔離されることで分岐した可能性が示唆された。また、中部地方に分布する系統は、氷期に日本アルプスなどの標高の高い地域には分布できなかったこと、西日本内の系統は、氷期に局所的に存在していた河川沿いに集団が生息していた可能性が示唆された。さらに、溪流で繁殖するナガレの個体群動態に対する氷期の影響は、止水で繁殖する種ニホンに対する影響よりも小さかった可能性が示唆された。各クレードの分布は、最終氷期以降から現在までの個体群の拡大によって形成されてきたことが示唆された。

第3章では、MIG-seq 法で得られたゲノムワイド SNP (一塩基多型) を用いて、日本列島内のヒキガエル属の遺伝構造解析を行った。その結果、日本産ヒキガエル属は5つの遺伝クラスターに分かれることが分かった。またSNPの系統関係からは、アズマ、亜種ニホン、ナガレがそれぞれ単系統であることも示された。ナガレと他のクラスターとの間で、交雑はほぼ認められず、ナガレが別種であることを裏付ける結果になった。種ニホン内の4つのクラスターは各境界で交雑していることが確かめられ、4つのクラスター間の交雑帯における解析の結果、亜種ニホンとアズマ間では、明瞭な地理的障壁は存在しないが、交雑帯は狭い範囲に限定されており、交雑に対して負の選択が作用している可能性が示唆された。すなわち遺伝的な分化が維持されていることが確認されたので、亜種ニホンとアズマを独立した別種とすることを提案した。

総合考察においては、ミトコンドリアDNAとSNPの系統間が異なる要因の候補を挙げ、ナガレの分化要因として可能性のあるものを検討した。また、ニホンとアズマ、ニホンとナガレ、アズマとナガレ間の交雑帯に関して、それぞれ複数の地域にあることから、最終氷期以降の個体群の拡大から接触が生じるまでの期間の長さの違いによって、種間の交雑域における遺伝子流動の程度に差が生じている可能性を論じた。長期的に交雑している地域の方が、集団間で遺伝的分化が進んでいると考えられた。

以上の研究結果から、日本のヒキガエルの分類を整理して、それぞれの種の地理的境界と交雑帯を明確にした。またヒキガエル類は気候変動や地理的な変化によって祖先系統の中で系統的分岐が生じた後、接触域を維持しながらも、遺伝的分化が進行することによって、異なる種に分化してきたことを明らかにした。

(論文審査の結果の要旨)

生物の地理的分布の変遷を明らかにする系統地理学は、生物多様性創出機構を解明する上で重要なアプローチである。特に両生類は移動分散能力に乏しく、かつ繁殖に水辺が不可欠であることから、他の脊椎動物に比べて地域集団間の分化が大きい傾向にある。また日本産の両生類は、種や系統内での分化パターンの類似しているものが多いことが知られており、そのような共通した分化パターンをもたらす、何らかの共通した生物地理学的要因が根底にあると考えられる。日本に生息するヒキガエルは、日本の両生類の中では珍しく、非常に広い分布域をもっており、ニホンヒキガエルは本州の近畿地方を境界として東西に形態的に分化し、西日本は基亜種ニホンヒキガエル、東日本は亜種アズマヒキガエルに分けられている。ニホンヒキガエルから種分化したと考えられているナガレヒキガエルは、東日本系統のアズマヒキガエルと同所的に分布していることが知られており、ナガレヒキガエルが溪流産卵性という特殊な繁殖特性を獲得したことで止水産卵性種と同所的に生息することが可能になったと考えられている。しかし、これまでの遺伝的解析によって、ナガレヒキガエルは亜種ニホンヒキガエルに近縁であることが示唆されているうえ、サンプル地点数が不十分なために詳細な系統関係や、系統の分布域など不明な点も多い。本研究は、ミトコンドリアDNAと核遺伝子の解析、ニッチモデリングから日本固有のヒキガエル2種の種の境界を明確にして種分類を見直し、さらに種分化過程の解明へ新たな洞察を与えるものである。

第1章では、ミトコンドリアDNAを用いた分子系統解析を行い、日本列島におけるヒキガエル属の系統関係と分岐年代を明らかにしている。また、分布が重複する両生類の他の種の遺伝的な地理構造と比較することで、共通する地理的分化パターンをもたらした気候や地理的イベントに関して考察を行うことで、日本の系統地理学における新たな知見をもたらした。

第2章では、第1章で明らかとなった各系統が現在の分布に至った歴史的背景を明らかにすることを目的として、集団遺伝学的解析、レフュージアの推定を行っている。その結果、日本産ヒキガエル属は氷期の影響や、サブ系統の相互作用などを受け、分布域を複雑に変化させてきたこと、また、サブ系統間は氷期後の分布拡大によって二次的接触をしている可能性が示唆された。

第3章では日本列島におけるヒキガエル属の遺伝的地理構造を検証するために、SNPを用いた遺伝構造解析を行った。さらに二次的接触帯での遺伝子流動に関して検証を行うことで、分類学的再検討を行う上で重要な知見をもたらした。これまで西日本に

分布するニホンヒキガエルと東日本に分布するアズマヒキガエルは亜種として扱われてきたが、交雑帯における遺伝子流動が制限されていることから、別種とみなせるほど十分に遺伝的に分化していることを示した。その結果、日本産のヒキガエルをニホンヒキガエル、アズマヒキガエル、ナガレヒキガエルの3種とすることを提案している。

生殖隔離が不完全な集団間の二次的交雑域では、交雑を通じて隔離障壁が発達し、遺伝的分化が起こりつつあると考えられ種分化を研究する上で重要である。一般的に交雑帯では、雑種の適応度低下や形質置換によって交配を避ける方向へと淘汰が進行し、種間の隔離の強化がみられる。さらに二次的交雑帯での集団間相互作用は、段階的な隔離の強化を通して、集団内での多様化をもたらすと考えられる。しかし、この理論を野外の生物を調査して示した研究は少なく、さらに生殖隔離の程度が異なる複数の交雑帯を比較した研究はほとんどない。特に、日本産ヒキガエル属は鳴嚢を持たず繁殖の鳴き声も単純であることから、生殖隔離に関する形質置換を調査することは困難であった。本論文では、ゲノム解析技術の向上に伴う、詳細な遺伝構造解析をもとに、交雑の方向性や浸透強度などの交雑の実態を解明している。特に、3種が東西の境界地域において分布を接しており、各々の境界における遺伝的分化形成過程の違いに関する考察は、他の生物における多様性形成過程を調査する上でも重要な知見を与えるであろう。今後さらに、雑種の適応度調査や繁殖個体の表現型の調査を通じて隔離機構が解明されると期待でき、生物多様性の起源・維持を理解することに大きく寄与することとなる。

このように本論文は、日本全国を広く網羅する大量のサンプルを用いて、塩基配列情報に基づいた系統地理学や集団動態、ニッチモデリングなどのさまざまな手法を駆使して、遺伝的多様性形成過程について重要な知見を与えた。これは、日本や東アジアの他の生物の歴史生物地理の研究、または関連する研究分野の発展にも大きく寄与するものである。したがって本論文の成果は、相関環境学専攻自然環境動態論講座の目的の一つである、生物多様性をもたらす機構の解明に貢献するものであり、本研究は同講座にふさわしい内容を備えたものとして、高く評価できる。

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、令和6年1月24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