

( 続紙 1 )

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                     |    |       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----|-------|
| 京都大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 博士（人間・環境学）          | 氏名 | 吉川 夏彦 |
| 論文題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | ハコネサンショウウオの系統分類学的研究 |    |       |
| (論文内容の要旨)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                     |    |       |
| <p>本論文は、流水産卵性の小型サンショウウオであるハコネサンショウウオについて、遺伝生化学的手法を用いて地理的変異を解析したものである。その解析結果は、本州と四国に広く分布するとされてきたこの種の中に、深い遺伝的分化を伴う複数の集団が存在し、少なくともその一部は隠蔽種であることを示した。</p> <p>まず、第1章ではミトコンドリアDNAのcyt（シトクロム）b遺伝子の変異に基づき、ハコネサンショウウオと中国大陸産の近縁種についての分子系統解析及び生物地理学的考察を行った。次に、第2章で核DNAを反映するアロザイムの変異を調べ、前章の結果と比較することによって、集団の分化パターンを再検討した。さらに、第3章では、前章の結果からその存在が判明した、近畿地方で同所的に分布する2遺伝型について、アロザイムとミトコンドリアDNA両面から詳細な解析を行い、両者の間に遺伝的交流があるかどうかを検討した。最後に、第4章では本州東北部に分布する遺伝型について、アロザイム変異に基づき、集団の地理的構造を分析した。</p> <p>本研究の発端は、これまで系統分類学的研究が遅れていたハコネサンショウウオについて、過去にしばしば議論されてきた本種と、中国大陸産のハコネサンショウウオモドキとの分類学的関係を解明するところにあった。そこで、ミトコンドリアDNAのcyt b遺伝子の塩基配列を用いて系統解析を行った結果、大陸産のハコネサンショウウオモドキは、その中に大きく分化した3系統を含み、そのうち2つは日本産のハコネサンショウウオと単系統をなすものの、遺伝的に大きく分化しており、互いに別種であると判断された。ハコネサンショウウオは単系統群をなすが、内部に4つのクレード（IからIV）と、複数のサブクレードを含み、クレードIIIとIVは西日本の複数地点で同所的に分布することも明らかになった。分岐年代推定の結果、この属の分化開始は後期中新世にさかのぼり、このような集団分化に日本列島形成期の地史的イベントが強く影響したと推定された（第1章）。</p> <p>片親からしか遺伝しない母系遺伝のマーカーであるミトコンドリアDNAからは、同所的に分布し、遺伝的に異なるクレード間で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、電気泳動に基づく種内のアロザイム変異を調べた。その結果、本種の分布域全体の中にミトコンドリアDNAで認められたクレードまたはサブクレードとほぼ一致する6つの遺伝型（東北北部型、東北南部型、筑波型、本州西南型、近畿型、四国型）が確認され、それらは、サンショウウオ類の近縁種間で一般に観察される値と</p> |                     |    |       |

同等以上の遺伝的距離をもって分化していることが明らかになった。ミトコンドリアDNAの解析において中国山地の1地点で同所的に分布しながらも遺伝的に大きく異なることの見出された2系統は、これらの遺伝型のうち、本州西南型と四国型に相当した。アロザイム変異からみて両者は生殖的に隔離されており、互いに別種と見なされるべきであると判断された（第2章）。

本州西南型は近畿地方では、近畿型とも広範囲にわたって同所的に分布するので、それらについてアロザイム分析を行ったところ、両者の間にも生殖隔離の存在が推定された。したがって本州西南型は四国型だけでなく、近畿型とも別種である可能性が示唆された。また同時にミトコンドリアDNAに基づく系統地理学的解析を行い、両系統の起源と分布形成過程を推定した（第3章）。

最後に、アロザイム変異の分析によって、残された広大な地域である本州東北部産の個体について、集団間の分化の程度を調べた。その結果、他集団から地理的に隔離されている筑波型は他のどの集団からも大きく分化していることが明らかとなった。残りの東北北部型、東北南部型および本州西南型の一部に属する集団は連続的に分布しながらも、分布境界付近で複数の遺伝子座の対立遺伝子頻度が急激に変化することから、遺伝的には不連続であることが明らかとなった。すなわち、これらの集団は側所的に分布しながらも生殖的に隔離されていることが示唆された（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ハコネサンショウウオの中に、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箱根産の個体群は本州西南型であることから、この遺伝型が真のハコネサンショウウオであり、すべての隠蔽種にはまだ学名が付けられていない。これらの隠蔽種について、それぞれの分類学的な位置付けと記載が今後の課題として残されたものの、本研究で得られた結果は、日本列島の溪流環境に生息する両生類の系統分類と、分布形成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ハコネサンショウウオ种群の保護・保全のために十分な配慮が必要であることを示している。

(論文審査の結果の要旨)

日本産のサンショウウオ類は両生綱サンショウウオ目のサンショウウオ科に属するが、その中でサンショウウオ属が東アジア、とくに日本国内で多様に分化しているのに対し、本研究の対象となったハコネサンショウウオ属は、日本にハコネサンショウウオ、大陸にハコネサンショウウオモドキのそれぞれ1種が知られるだけであった。この属の種には、変態後も肺をもたず皮膚呼吸のみに頼り、頭骨に大きな空隙をもつといった特徴がある。本属は古くから、有尾類の中で原始的とされるサンショウウオ科の中でも、最も起源が古いと考えられてきたが、この考えは最近の分子系統学的研究によっても支持されており、世界から注目されている動物群である。

ハコネサンショウウオが記載命名されたのは1700年代後半のことで、これは日本産の両生類すべての中で最も早く、本種は国内よりも、むしろ海外でその存在が古くから知られていた。国内でも、分布域が広く、本州の東北端から西南端まで及び四国の山地に見られるうえに、幼生は発育に2年以上を要するため、一年を通して溪流中に幼生が見られることから、他の小形サンショウウオ類にくらべると良く知られた動物であった。その一方で、伏流水中で繁殖するため、その卵が確認されたのは他の小形サンショウウオ類にくらべて著しく遅く、1930年代に入ってからであった。さらに、地域によっては年に二回産卵するなど、生活史的にも興味深い種である。

ハコネサンショウウオが種内で著しい色彩変異を示すことは古くから注目されていたが、種内の集団分化について深い考察が行われたことはなかった。別属である近縁のサンショウウオ属では、識別できる十分な形態変異が少なかったために、分類学的研究は長いあいだ停滞していたが、近年、遺伝生化学的手法が導入されて、多くの隠蔽種が見つかってきた。そのため、そのような手法を使った、ハコネサンショウウオ属の種内変異の解析が待たれていた。本研究は、この未知の分野に、最新の分子系統解析を駆使することによって、ハコネサンショウウオとされていたもののの中に複数の隠蔽種が存在する事を初めて明らかにしたものである。

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、断片的な知見さえなかったハコネサンショウウオの種内変異・分化について、客観的かつ信頼性の高い新知見が得られることになった。従来の研究では予想さえされなかった、複数の隠蔽種を含む本種の遺伝構造の実態は、綿密な野外調査および、アロザイムとミトコンドリアDNAの解析という室内実験から成る本研究によって初めて明らかになったものである。同所的に分布することが明らかになった異なる遺伝クレード間の関係を調べるために、アロザイム変異の分析を行ったところ、両者の間で交雑がおきていないことを突き止めることに成功した。これは、現在ではすたれつつあるアロザイム分析の意義を再認識させるもので、開発に膨大な時間と費用を要するマイクロサテライトなどを用いずに、短期間で自然下での交雑の有無を確認するのに成功したことは高く評価できる。

最近の海外の研究によってハコネサンショウウオ属は極めて古い時代に、他の小形

サンショウウオ類と分岐したとする年代推定がなされているが、それによれば本種が日本に存在したのは、この列島が生じる前になってしまうという大きな矛盾があった。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と、各遺伝型間の分化の程度を比較して、新たな分子時計目盛りを設定することにより、日本列島における進化史の問題をより合理的に説明したものである。

サンショウウオ類は人間生活と概して疎遠の関係にあるが、ハコネサンショウウオでは例外的に人との密接な関係が見られる。本種は分布域の各地で古くから薬用や食用に利用され、現在でも福島県下などの一部地域で捕獲・販売されている。そして、多くのサンショウウオ類の絶滅が危惧される中であって、唯一、環境省のレッドリストに掲載されていない状況にある。人里離れた山地に生息する本種も、山岳道路やダムの建設によって実際には生存が脅かされつつあることは間違いない。しかし、生物の保護の必要性は集団の小ささや分布範囲の狭さに関連しているため、ハコネサンショウウオのように広域分布するとされる種は、絶滅危惧種指定の対象となりにくかった。

従来広域分布種とされていたがために、日本産のサンショウウオ類の中では唯一、保護・保全の対象となっていなかったハコネサンショウウオが、実は異なる複数の隠蔽種を含むことが、この研究によって明らかにされた。個々の隠蔽種の分布範囲は狭く、今後はそれらの保護のために特別の配慮が必要となる。したがって、本研究はハコネサンショウウオ种群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、本研究はハコネサンショウウオにとどまらず、他のサンショウウオ類をはじめとする有尾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22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。

Webでの即日公開を希望しない場合は、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：                      年                      月                      日以降