

学 位 論 文 題 名

Molecular ecological studies on the population structure of the grey-sided vole, *Clethrionomys rufocanus* (Sundevall)

(エゾヤチネズミ 個体群構造の分子生態学的研究)

学位論文内容の要旨

哺乳類では、一般にメスは出生地の近くで繁殖し、オスは離れた場所へ分散した後に繁殖することが知られている。分散行動に見られるこの性差は、個体群の社会構造や遺伝構造の形成過程において重要な役割を持つと考えられる。哺乳類における個体の分散行動や繁殖活動と個体群構造の関係は、明瞭な家族集団や群を作る種を中心にこれまで研究が進められてきた。しかし、群を作らず単独生活する種では、実際の個体群構造はほとんど明らかにされていない。本研究は、単独生活をするエゾヤチネズミ *Clethrionomys rufocanus* の野外個体群を対象に、個体群の社会的および遺伝的な構造がどのように形作られているのか、そのパターンとプロセスを明らかにすることを目的として行った。

哺乳類の個体群研究では、これまで蛋白質多型が血縁関係や遺伝構造を推定するための分子マーカーとして利用されてきた。しかし、蛋白質の分析に内臓などの組織を必要とすることから、個体の生存や繁殖に著しく影響するため、個体群研究への利用が難しかった。そこで、本研究ではDNAマーカーの利用を考え、まず繰り返し配列であるミニサテライトDNAの多型を検出する **multilocus DNA fingerprint**法を本種に応用し、この方法が親子関係の推定に利用できることを明らかにした。しかし、この方法では遺伝子頻度を求めることができないため、個体群の遺伝構造の推定に利用できない。そこで、著しい多型性を示すCA塩基繰り返し配列（マイクロサテライトDNA）を多数単離し、遺伝子座ごとに遺伝子型を決定する方法を確立した。この方法では、決定した遺伝子型から遺伝子頻度の算出と親子関係の推定が可能であるため、個体群の社会構造と遺伝構造を同時に分析することができる。この方法はまた、PCR法を利用してDNAを増幅するため、個体識別のために切り取る指から抽出できる微量のDNAでも十分な分析が可能である。そのため、サンプル採取時に個体の生存や繁殖へ与える影響が極めて少ない。さらに、これらの核DNAの変異を検出する方法に加えて、ミトコンドリアDNAの最も変異に富むD-loop領域の塩基配列を、PCR法を用いて直接決定する方法も確立した。ミトコンドリアは母親から子へ細胞質遺伝をするため、この方法によりそれぞれの個体が属している母系列を容易に推定できるようになった。

周期的な個体数変動を示すハタネズミの仲間では、春先の血縁メスの分布が変動要因の一つとして重要視されている。そこで、春の繁殖期開始直後に札幌近郊の防風林の一部（1 ha）において捕獲調査を行い、マイクロサテライトDNAの遺伝子型と遺伝子頻度から個体間の血縁度を求め、またミトコンドリアDNAの塩基配列（約300bp）から母系列を推定することにより、血縁個体がどのような分布をしているのか推定し

た。そのtrapping grid内で捕獲された81個体（オス39、メス42）のミトコンドリアDNAの塩基配列を解読した結果、13の母系列が明らかになった。また、これらの個体の4種類のマイクロサテライトDNAにおけるヘテロ接合度から、この個体群が任意交配集団であることが示唆された。推定した母系列と血縁度をもとに個体の分布を検討したところ、3つの母系列において、高い血縁度を示すメスのほとんどが互いに隣接して分布していることが明らかになった。一方オスでは、そのような分布はどの母系列でも見られなかった。オスとメスの間で見られた分布の違いは、主に分散行動の差によるものと考えられたが、高い血縁度を示すメスの集まり(クラスター)は、それぞれ孤立しており、また一部の母系列に限られていたことから、メスの分布には分散したメス個体の繁殖成功度が低いこと、血縁個体が冬期に共同営巣することも関与していると考えられた。

ついで、春の血縁個体の分布が実際にどのような過程で生じるのか明らかにするため、3 haの野外実験柵内に遺伝子型が既知のエゾヤチネズミを導入し、秋から春にかけて生け捕りワナ法を用いて定期的に柵内の全個体の行動圏の把握と幼獣からの分析試料の採取を行い、マイクロサテライトDNAの遺伝子型をもとに血縁関係と遺伝構造を調べた。その結果、自然個体群で推測したように越冬時には繁殖メスは子やオス成獣と共同で営巣するが、分散個体の場合には他の分散個体と営巣することが示唆された。また、冬期の生存率は、血縁・非血縁を問わず、単独よりも2個体以上で営巣した場合に高くなることが示唆された。春の繁殖開始時には、ほとんどのメスは越冬地点に隣接してそれぞれ独立した行動圏を持ったが、オスは離れた場所へ分散して、母親や同腹の姉妹以外のメスと重なる行動圏を持った。したがって、春には血縁メス個体の多くは隣接して分布するが、血縁オスが隣接して分布することはほとんどなく、血縁個体の分布は自然個体群で観察された分布とよく類似していた。また、血縁メス個体が集中した分布を示すにも関わらず、オスの分散によってほとんどの同腹の兄弟・姉妹間で近親交配が回避されていた。さらに、3種類のマイクロサテライトDNAにおける遺伝子型頻度から任意交配の状態にあることが分かった。

本研究から、エゾヤチネズミでは血縁メスはクラスターを作る傾向にあるが、オスは母親や同腹の血縁メスと離れて分布するという社会構造を持ち、またそのような分散パターンの違いが遺伝的に任意交配の状態をもたらしていることが初めて明らかにされた。今後は、このような個体群構造が個体の繁殖成功や生存とどのように関係しているのか、また遺伝的変異の保持にどのように関与しているのか明らかにする必要がある。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 田 勉 弘

副 査 教 授 馬 渡 駿 介

副 査 教 授 阿 部 永 (大学院農学研究科)

副 査 助 教 授 阿 部 周 一

(大学院地球環境科学研究科)

学 位 論 文 題 名

Molecular ecological studies on the population structure of the grey-sided vole, *Clethrionomys rufocanus* (Sundevall)

(エゾヤチネズミ 個体群構造の分子生態学的研究)

著者はエゾヤチネズミを対象として、個体の行動と集団の社会構造および遺伝構成の成り立ちとの関係を明らかにするために、分子遺伝学的手法を取り入れた新たな解析法の開発を行い、野外における個体群の親子判定はもとより遺伝構成解析の道を開いた。これにより、自然集団と実験集団の2つの野外集団において、エゾヤチネズミの各個体群の遺伝構造および社会構造の分子生態学的な検討を行い、個体の分散行動にみられる性差が集団構造の構築に強く係わっていること、特に、雄の分散によって近親交配が回避され、その結果、任意交配の状態が導かれるという、これまでの研究では得られなかった新事実が見いだされ、高い評価を受けており、今後の展開にも大きな期待が寄せられているとともに、この分野の研究に貢献するところ大なるものがある。

さらに、参考論文は主論文の内容に直接関与した5編の論文(英文)の他に、個体群生態学に関する4編の論文など計9編を国内外の国際学術専門誌に公表し、それらの内容はいずれも新知見を含むものとして関連分野において高く評価されている。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。