学位論文題名

Conservation biological study of the
Japanese sable *Martes zibellina brachyura* in Hokkaido

(北海道におけるエゾクロテン *Martes zibellina brachyura* の
保全生物学的研究)

学位論文内容の要旨

北海道に分布するエゾクロテン (*Martes zibellina brachyura*) は、クロテンの一固有亜種である。20 世紀初めにエゾクロテンは高い捕獲圧の影響を受け、1920 年からは捕獲禁止とされている。しかしながら、その後エゾクロテンの分布や個体群動態などの生物学的情報はきわめて少ない。加えて、1940 年代には、北海道にテンが導入された。すなわち、エゾクロテンとテンとの交雑が起きるおそれがある。このような状況から、エゾクロテンは、IUCN レッドデータリストのデータ不詳亜種 (Data Deficient) とカテゴリー分類されている。

エゾクロテンの生物学的特徴を明らかにし、その保全策を提示するために、エゾクロテンの分布、導入されたテンとの遺伝的關係、食性に関する情報を得るための研究を行った。保全策は、対象種のステータスによって変更する必要があるので、種の有効なモニタリング手法を開発する必要がある。そこで、糞から抽出した DNA を用いたモニタリング手法の有効性を評価した。

(1) 北海道におけるエゾクロテンと導入されたテンの現在の分布
エゾクロテンと導入されたテンの分布を、死体と撮影された写真の収集によって明らかにした。エゾクロテンは、北海道北部と東部に分布している一方、テンは北海道西部と南部に分布していた。これら 2 種は札幌付近のわずかな地域でしか同所的に分布していなかった。

(2) テンとエゾクロテンのミトコンドリア DNA 変異
エゾクロテンと導入されたテンのチトクローム b (112bp)、tRNA-thr (67bp)、tRNA-pro (65bp)、コントロール領域 (277~280bp) の塩基配列 (521~524bp) をエゾクロテンとテンとで比較し、両種の遺伝的關係を調べた。各種内の塩基置換率 (エゾクロテン 3.8~15.0%、テン 1.9~16.4%) は、種間の塩基置換率 (5.8~16.6%) とほぼ同じであった。塩基配列データの比較から、エゾクロテンの 5 つのハプロタイプとテンの 4 つのハプロタイプが、大きく 2 つのグループ (クラスター A と B) に分

けられることがわかった。クラスターAには、テンの2ハプロタイプとエゾクロテンの2ハプロタイプが含まれ、クラスターBには、テンの3ハプロタイプとエゾクロテンの2ハプロタイプが含まれていた。最終的な結論を確証するには、ミトコンドリア DNA の他の領域や核 DNA の解析が必要であるが、この結果からはエゾクロテンとテンの間に過去に交雑が起きたか、両種ともにミトコンドリア DNA に類似したヘテロプラズミーを有していると考えられるか、ミトコンドリア DNA のコピー配列を核 DNA に有しているためと考えられる。

(3) 北海道におけるエゾクロテンの食性

エゾクロテンの食性の季節変化を調べるため、北海道東部で 1998 年から 2002 年までに採集した糞 193 個と胃内容物 20 個を分析した。エゾクロテンは雑食性であり、哺乳類・昆虫類・植物・鳥類・は虫類・両生類・魚類・甲殻類を採食していた。哺乳類は年間を通じて主要な食物で、とくにヤチネズミ類 (*Clethrionomys* spp.) の出現頻度が高く (糞からの出現頻度 56.3%)、ついでエゾシマリス (*Tamias sibiricus*, 19.3%)、アカネズミ類 (*Apodemus* spp., 14.6%) であった。昆虫類は夏期に多く出現し (48.8%)、一方植物は果実類がほとんどで、秋期 (45.7%) と冬期 (68.4%) に多く出現した。これらの結果から、エゾクロテンは哺乳類を主要な食物とする一方、その量の変動に対応するために昆虫類や植物種子も必要で、それらを供給する多様な自然環境を維持することがエゾクロテンの保全に重要であることが示唆された。

(4) 糞から抽出したミトコンドリア DNA の部分配列比較によるイタチ類の種判別

イタチ類の糞から種を判別するために、ミトコンドリア DNA のチトクローム b、tRNA、コントロール領域の塩基配列を比較した。北海道内の複数の調査地域から採集した 189 個の糞のうち、47 個 (24.9%) の糞について対象領域の PCR 増幅が確認され、5 個 (2.7%) の糞について、種を識別することが出来た。このうち 3 つの糞はエゾクロテンのものであり、ほかの二つはそれぞれテンとイタチ (*Mustela itatsi*) の糞であった。識別率が低かったのは、糞内の PCR 阻害物質によって、PCR 阻害が生じていることが主要因であると推測された。糞から抽出した DNA シーケンス技術は、種識別だけでなく、遺伝学的な研究にも応用可能である。

結 論

エゾクロテン個体群の保全生物学の上での位置づけについて、いくつかの問題がある。第 1 に、かつては全道的に分布していたエゾクロテンの現在の分布は北海道東部と北部に限定されている。なぜエゾクロテンの分布域が縮小したのかを明らかにする研究が必要である。第 2 に、導入されたテンとエゾクロテンの遺伝的關係がたいへん近いことが明らかになったことから、両種の交雑が懸念される。第 3 に、ハビタットの悪化がエゾクロテンに影響するかもしれない。なぜなら、エゾクロテンは各季節にさまざまな食物を利用していたからである。エゾクロテンには、一年を通じてさまざまな食物を供給できるような食物の豊かな自然環境が必要である

う。最後に、個体群の推移や繁殖についての情報は現状ではほとんどない。これは個体群モニタリングの手法がないことに起因すると考えられた。そこで、糞から抽出した DNA 塩基配列を分析する手法を開発した。エゾクロテンは現在、IUCN レッドリストの定義による絶滅危惧亜種ではない。しかし、保全策がもし遅れたら、やがてエゾクロテンが絶滅危惧亜種となる可能性がある。保全生物学の方針を含めて新たな方向性を見いだす必要がある。

学位論文審査の要旨

主査	教授	大泰司	紀之
副査	教授	藤田	正一
副査	教授	神谷	正男
副査	助教授	増田	隆一
副査	助教授	鈴木	正嗣

学位論文題名

Conservation biological study of the Japanese sable *Martes zibellina brachyura* in Hokkaido

(北海道におけるエゾクロテン *Martes zibellina brachyura* の
保全生物学的研究)

北海道に分布するエゾクロテン (*Martes zibellina brachyura*) は、クロテンの一固有亜種である。20 世紀初めにエゾクロテンは高い捕獲圧の影響を受け、1920 年からは捕獲禁止とされている。しかしながら、その後のエゾクロテンの分布や個体群動態などの生物学的情報はきわめて少ない。加えて、1940 年代には、北海道にテンが導入された。すなわち、エゾクロテンとテンとの交雑が起きるおそれがある。このような状況から、エゾクロテンは、IUCN レッドデータリストのデータ不詳亜種 (Data Deficient) とカテゴリー分類されている。

本研究は、エゾクロテンの生物学的特徴を明らかにし、その保全策を提示するために、エゾクロテンの分布、導入されたテンとの遺伝的関係、食性に関する情報を得るための研究および、種の有効なモニタリング手法を開発するために、糞から抽出した DNA を用いたモニタリング手法の有効性を評価したものである。

(1) 北海道におけるエゾクロテンと導入されたテンの現在の分布

本研究によって、エゾクロテンは、北海道北部と東部に分布している一方、本州から導入されたテンは北海道西部と南部に分布していること、これら 2 種は札幌付近のわずかな地域でしか同所的に分布していないことが明らかになった。

(2) テンとエゾクロテンのミトコンドリア DNA 変異

エゾクロテンと導入されたテンのチトクローム b (112bp)、tRNA-thr (67bp)、tRNA-pro (65bp)、コントロール領域 (277-280bp) の塩基配列 (521-524bp) をエゾクロテンとテンとで比較し、両種の遺伝的関係を調べたものである。本研究によると、各種内の塩基置換率 (エゾクロテン 3.8-15.0%、テン 1.9-16.4%) は、種間の塩基置換率 (5.8-16.6%) とほぼ同じであった。塩基配列データの比較から、エゾクロテンの 5 つのハプロタイプとテンの 4 つのハプロタイプが、大きく 2 つのグループ (クラス

ターAとB)に分けられることがわかった。クラスターAには、テンの2ハプロタイプとエゾクロテンの2ハプロタイプが含まれ、クラスターBには、テンの3ハプロタイプとエゾクロテンの2ハプロタイプが含まれていた。最終的な結論を確証するには、ミトコンドリア DNA の他の領域や核 DNA の解析が必要であるが、この結果からはエゾクロテンとテンの間に過去に交雑が起きたか、両種ともにミトコンドリア DNA に類似したヘテロプラズミを有しているか、ミトコンドリア DNA のコピー配列を核 DNA に有しているためと考えられる。

(3) 北海道におけるエゾクロテンの食性

エゾクロテンの食性の季節変化を調べるため、北海道東部で1998年から2002年までに採集した糞193個と胃内容物20個を分析したものである。本研究から、エゾクロテンは雑食性であり、哺乳類・昆虫類・植物・鳥類・は虫類・両生類・魚類・甲殻類を採食していることがわかった。哺乳類は年間を通じて主要な食物で、とくにヤチネズミ類 (*Clethrionomys* spp.) の出現頻度が高く (糞からの出現頻度 56.3%)、ついでエゾシマリス (*Tamias sibiricus*, 19.3%)、アカネズミ類 (*Apodemus* spp., 14.6%) であることが示された。昆虫類は夏期に多く出現し (48.8%)、一方植物は果実類がほとんどで、秋期 (45.7%) と冬期 (68.4%) に多く出現した。これらの結果から、エゾクロテンは哺乳類を主要な食物とする一方、その量の変動に対応するために昆虫類や植物種子も必要で、それらを供給する多様な自然環境を維持することがエゾクロテンの保全に重要であることが示唆された。

(4) 糞から抽出したミトコンドリア DNA の部分配列比較によるイタチ類の種判別

イタチ類の糞から種を判別するために、ミトコンドリア DNA のチトクローム b、tRNA、コントロール領域の塩基配列を比較したものである。本研究によると、北海道内の複数の調査地域から採集した189個の糞のうち、47個 (24.9%) の糞について対象領域のPCR増幅が確認され、5個 (2.7%) の糞について、3つの糞はエゾクロテンのものであり、ほかの二つはそれぞれテンとイタチ (*Mustela itatsi*) の糞であることが示された。識別率が低かったのは、糞内のPCR阻害物質によって、PCR阻害が生じていることが主要因であると推測されたが、糞から抽出したDNAシーケンス技術は、種識別だけでなく、遺伝学的な研究にも応用可能である。

結 論

情報のきわめて少ない亜種であったエゾクロテンについて、本研究から、保全生物学の位置づけを定めるための重要な知見が得られた。第1に、かつては全道的に分布していたエゾクロテンの現在の分布が、北海道東部と北部に限定されていることが示された。第2に、導入されたテンとエゾクロテンの遺伝的関係がたいへん近いことが明らかになった。第3に、エゾクロテンは各季節にさまざまな食物を利用し、一年を通じてさまざまな食物を供給できるような食物の豊かな自然環境が必要であると推測された。これらの事実はエゾクロテンの保全策を早急に立てる必要を示している。本研究では、糞から抽出したDNAによる種判別効率を調査し、保全策を効果的に進めるための個体群モニタリングの手法としての評価を行っている。本研究結果は、北海道におけるエゾクロテンの保全に大きく寄与するとともに、情報が不足している種の保全という保全生物学では着目されていなかったテーマの一つの指針を与えるものである。

よって審査委員一同は、上記博士論文提出者村上隆広の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。