

学位論文題名

Studies on molecular phylogeny and
genetic diversity of the family Mustelidae in Asia

(アジア産イタチ科の分子系統と遺伝的多様性に関する研究)

学位論文内容の要旨

本研究では、日本産イタチ科 3 属 8 種を含むアジア産イタチ科に関する分子系統および各動物種の生物地理的歴史の解明、ならびに、それらの種多様性保全をめざした非侵襲的 DNA 分析法の開発を行った。イタチ科は生態系食物連鎖の頂点に立ち、その存在は健全な生態系のバロメータにもなるため、その種の保全は日本の生態系を維持する上でも不可欠である。また、日本産イタチ科には、ニホンイタチやテンのような日本固有種、イイズナやオコジョのような同所的に生息する氷期の遺存種が含まれ、その系統進化的位置、多様な自然環境への適応、生物地理的歴史を明らかにすることは、進化生物学的にも重要な課題である。さらに、外来種シベリアイタチやアメリカミンクと日本在来種との遺伝的関係および交雑化に関する情報も十分ではない。本研究ではこれらの問題解決のために、従来行われていない分子系統学的解析ならびに分子遺伝学的解析を導入し、イタチ科の生物学的情報を明らかにすることを目的とした。本論文の内容は以下の 3 章から構成される。

第 I 章では、日本およびユーラシア大陸に分布するイタチ科の種間の系統関係を明らかにするため、分子進化速度の異なる 3 遺伝子、ミトコンドリア DNA(mtDNA)の 12S rRNA 遺伝子、チトクロム *b* 遺伝子、核 DNA の IRBP(interphotoreceptor retinoid binding protein) 遺伝子 exon 1 領域の塩基配列を決定し、分子系統解析を行った。その結果、これまで種の独立性および系統関係が議論されてきたニホンイタチとシベリアイタチの間に大きな遺伝距離があり、その距離がイタチ科の別種間の遺伝距離に相当することが明らかになった。さらに、染色体分染法による核型分析でも、両者間で顕著なちがいが見られた。これらの結果は、両者が明らかに別種であり、ニホンイタチが日本固有種であることを支持している。一方で、両種はイタチ科内で近縁関係にあることが証明された。また、イタチ科は、これら 2 種とフェレット類（フェレット、ヨーロッパケナガイタチ、ステップケナガイタチ）を含む大型イタチのグループ、小型イタチのグループ（アルタイイタチ、イイズナ、オコジョ）、アメリカミンクとセスジイタチのグループという大きく 3 系統に分かれることが示唆された。

第 II 章では、日本産イタチ科の各動物種において地理的変異を分析し、地域集団間の遺伝距離に基づき生物地理的歴史を検討した。ここでは種内変異を検出するため、mtDNA の中でも進化速度の速いコントロール領域またはチトクロム *b* 遺伝子領域の塩基配列を解析した。まず、イタチ属に分類される日本固有種ニホンイタチは、本州グループと四国-九州グループの 2 系統に分けられ、日本への渡来・分布拡散が少なくとも 2 回あったことが示唆された。

一方、西日本に移入され分布拡大したことが記録に残っているシベリアイタチでは遺伝的な地域変異が極端に小さく、かつ、韓国在来集団と近縁であった。これは韓国から日本へ移入された集団の創始者効果（ボトルネックの一種）によるものと考えられた。また、対馬および台湾のシベリアイタチはロシア産や韓国産とは離れた遺伝距離を有しており、独自に進化した島の在来集団であることが示唆された。

全北区に広く分布するイタチ属イイズナでは、北海道集団と本州集団の間で遺伝的分化が見られ、核型の相違とも一致した。さらにユーラシア大陸の広域および北アメリカにおける地理的変異を調べた結果、日本集団は大陸集団から分化していた。しかし、本州集団は北海道集団よりもユーラシア大陸の集団に近縁であったことから、これまで大陸からサハリンを通り、北海道を経て本州に渡来してきたと思われていた本州のイイズナ集団が、朝鮮半島などの南方から渡来してきた可能性も示唆された。また、ユーラシア大陸集団において、中央アジアにはいくつかの系統が分布する一方、広範囲にわたるシベリア集団では遺伝的に均一化されていた。それに対し、同じく全北区に広く分布するオコジョでは、北海道集団と本州集団間での分化は見られなかった。日本、ユーラシア大陸、北アメリカ集団間の遺伝的分化も明瞭ではなく、イイズナに比べて遺伝的な地域変異が低いことが明らかになった。オコジョは、最終氷期に *refugia* が極限され、その後短期間で現在の分布域に拡散したものと考えられた。

テン属に分類される日本固有種テンにおいて地理的変異を調べたところ、たとえば、岐阜集団と別亜種にされているツシマテンが近縁であり、遺伝距離と地理的距離の相関関係は見られなかった。クロテンは北海道内で遺伝的分化が小さかった。また、最近独立種とも報告されているアナグマ属ニホンアナグマも日本国内では地理的分化が見られなかったが、ユーラシア大陸の集団と比較すると顕著な遺伝的分化が見られた。このようにテンとアナグマにおいて日本列島内の地理的変異が小さいことは、近い過去にボトルネックを経験し、短期間に日本において分布域を拡大したことが示唆された。

第 III 章では、第 I 章および第 II 章で得られた分子系統学的成果に基づき、同所的に分布する食肉類の種保全をめざした糞 DNA 分析法を開発した。野生動物の行動圏および分布調査には、従来、テレメトリー調査や糞内容物分析が行われてきたが、テレメトリー調査における捕獲は動物に多大なストレスを与える。また、糞内容物分析からは食性の情報が得られるが、類似した体サイズや食性を有す動物種間では糞からの種判定が困難な場合が多い。しかし、糞から採取した DNA 分析により種判定や性別判定ができれば、非侵襲的に野生動物の行動圏や分布域を調査することが可能となる。そこで、前章で得られた mtDNA の塩基配列情報を用いて、遺伝子増幅法により種を判定できるプライマーを開発した。さらに、性別判定できる DNA マーカーも開発した。モデルケースとして、長崎県対馬に同所的に分布する食肉類 4 種（ツシマヤマネコ、ノネコ、ツシマテン、シベリアイタチ）を対象動物とした。その結果、フィールドの糞から約 80% という高い成功率で種判定および性別判定できる手法を確立することができた。この非侵襲的手法により、対馬のフィールドから比較的容易に採取できる糞を用いた、より詳細な行動圏ならびに分布域の調査を可能にした。

以上の成果は、アジア地域に生息するイタチ科の系統進化的研究のみにとどまらず、種多様性の保全管理対策にも大きく貢献するものである。

学位論文審査の要旨

主 査 助 教 授 増 田 隆 一
副 査 教 授 松 田 洋 一
副 査 教 授 木 村 正 人
副 査 教 授 東 正 剛

学 位 論 文 題 名

Studies on molecular phylogeny and genetic diversity of the family Mustelidae in Asia

(アジア産イタチ科の分子系統と遺伝的多様性に関する研究)

イタチ科は日本の生態系における食物連鎖の頂点に立ち、その種の保全は生態系を維持する上でも不可欠である。特に、日本産イタチ科には固有種や氷期の遺存種が含まれ、系統進化的位置や生物地理的歴史を明らかにすることは、日本における哺乳類相の多様性成立機構の解明にも重要な課題である。また、シベリアイタチやアメリカミンクなど外来種の日本在来種との雑種化や生態系への攪乱も懸念される。これらの背景を踏まえた本研究では、日本産 3 属 8 種を含むアジア産イタチ科の分子系統解析、各種の生物地理的歴史の検討ならびに種多様性保全をめざした非侵襲的 DNA 分析法の開発に関する成果が斬新で高く評価できる。

ユーラシアに分布するイタチ科内の系統関係を明らかにするため、分子進化速度の異なる 3 遺伝子、ミトコンドリア DNA(mtDNA)の 12S rRNA 遺伝子、チトクロム *b* 遺伝子、核 DNA の IRBP 遺伝子 exon 1 領域をマーカーとして分子系統解析を行った。その結果、これまで種の独立性が議論されてきたニホンイタチとシベリアイタチが十分に遺伝的分化しており、両者の遺伝距離がイタチ科の別種間に相当することが明らかになった。さらに、核型においても両者間で顕著なちがいを見出した。これらの結果は、両者が別種であり、ニホンイタチが日本固有種であることを支持している。一方、両種は互いに近縁であることも証明された。また、イタチ属は、これら 2 種とフェレット類 3 種を含む大型イタチグループ、小型イタチグループ (3 種)、アメリカミンクとセズジイタチのグループという 3 系統に分類できた。

日本産イタチ科の各種において、mtDNA のコントロール領域またはチトクロム *b* の塩基配列に基づき地理的変異と生物地理的歴史が検討された。まず、イタチ属ニホンイタチは、本州グループと四国-九州グループの 2 系統に分けられ、日本への渡来が少なくとも 2 回あ

ったことが示唆された。一方、シベリアイタチの西日本集団で検出された極端に低い遺伝的多様性と韓国在来集団との近縁性は、韓国から日本へ移入された集団の創始者効果によるものであることが示された。また、対馬および台湾のシベリアイタチはロシア産や韓国産とは遠縁であり、独自に進化した島集団であることが明らかとなった。

全北区に広く分布し氷期の遺存種と考えられるイタチ属イイズナでは、北海道集団と本州集団の間で遺伝的分化が見られ、核型の相違と矛盾しない。本州集団は北海道集団よりもユーラシア大陸の集団に近縁であったことから、これまで大陸からサハリン-北海道を経て本州に渡来してきたと考えられてきた本州のイイズナ集団が、朝鮮半島などの南部経由で日本に渡来したという新しい可能性が示された。また、ユーラシア大陸集団において、中央アジアにいくつかの系統が分布する一方、広範囲にわたるシベリア集団は遺伝的に均一化している傾向を見出した。それに対し、ほぼ同所的に分布するオコジョでは、北海道集団と本州集団間での分化は見られず、また、日本、ユーラシア大陸、北米集団間の遺伝的分化も明瞭ではなく、イイズナに比べて地理的変異が低かった。オコジョは、最終氷期に避難所が極限され、その後に短時間で現在の分布域に拡散したものと考えられた。

日本固有種テン属テンの地理的変異について、遺伝距離と地理的距離の相関関係は認められない。クロテンは北海道内で遺伝的分化が小さい。また、アナグマ属ニホンアナグマも日本国内では地理的分化が見られなかったが、大陸集団と比較すると顕著な遺伝的分化が見られた。このようにテンとアナグマにおいて日本列島内の地理的変異が小さいことは、近い過去にボトルネックを経験し、短時間で日本において分布拡散したことを示唆するものである。

上述のように得られた分子系統学的成果に基づき、同所的に分布する食肉類の糞 DNA による種と性別の判定法を開発した。長崎県対馬に同所的に分布する食肉類 4 種を対象種とし、mtDNA の塩基配列情報を用いて、種および性別を判定できるプライマーを設定し、遺伝子増幅法を行った。その結果、野外で得られた糞から約 80%という高い成功率で種と性別を判定できる手法を確立することができた。この非侵襲的手法に、今後、個体識別法を加えることにより、絶滅が危惧されるツシマヤマネコなどの詳細な行動圏や分布域の調査を可能にするものと期待される。

以上の申請者が得た成果は、アジア地域に生息するイタチ科の系統進化的研究にとどまらず、日本における絶滅危惧種を含めた種の多様性の保全対策にも大きく貢献するものである。よって、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判断した。