

学 位 論 文 題 名

Genetic structure of two gull species based
on mitochondrial DNA control region sequences

（ミトコンドリア DNA コントロール領域の塩基解読による
カモメ 2 種の遺伝構成の解明）

学位論文内容の要旨

生物は、種内や個体群内に遺伝的変異を保持している。その遺伝的変異の数や頻度からなる集団の構成を、遺伝構成 (genetic structure) と言う。遺伝構成の形成には、過去の集団サイズの変動、遺伝的交流の距離や方向、遺伝的交流を妨げる地形的要因などが影響を与える。そのため、生態的特徴や生息域が共通する種間では、遺伝構成も似通ったものになる可能性がある。逆に近縁種間や同所的に分布する種間でも、生態的特徴の違いによって異なる遺伝構成が形成されると考えられる。しかしこれまでの研究の大半は、対象種や個体群についてのみ遺伝的特徴を把握することに終始し、種間に見られる生態的特徴の差異と遺伝構成との関連は十分に論じられていない。本研究では、同属に分類され、分布域が重なっているウミネコ (*Larus crassirostris*) とオオセグロカモメ (*L. schistisagus*) の遺伝構成の違いについて、二種の生態的特徴の違いとの関連を明らかにすることを目的とした。

本研究で対象とした二種は、ともに沿岸域に適応しており、生息環境や餌種、繁殖行動など生態的特徴に多くの共通点が見られる。どちらも飛行能力にすぐれており、長距離の移動が可能である。ウミネコの分布域は、九州、朝鮮半島からオホーツク海に到る日本近海、オオセグロカモメの分布域は、東北地方から北海道周辺、カムチャッカ半島であり、二種の分布域は北海道周辺で重なっている。二種の間に見られる最も大きな生態的特徴の違いは、群れの集合性である。ウミネコが数百～数千巣にも及ぶ大きな繁殖コロニーを形成するのに対し、オオセグロカモメの繁殖コロニーは数十～数百巣程度の規模で、単独巣も多く見られる。ウミネコの方が巣間距離も短く、群飛行動といった個体間の協調行動も見られている。

二種の遺伝構成は、ミトコンドリア DNA コントロール領域の解析により求めた。各繁殖コロニーにおいて雛を捕獲し、翼下静脈から血液を採取した。その血液から DNA を抽出し、PCR 法によって解析対象領域を増幅した後、オートシーケンサーを用いて塩基配列を解読した。

本研究の主だった内容は、4 章から構成される。

第 1 章では、遺伝構成を解明するための解析領域を選定した。上記の二種にカモメ (*L. canus*) を加えた 3 種について、ミトコンドリア DNA のチトクローム *b* 領域とコントロール領域の全塩基配列を解読し、それらを種間および種内で比較することで高変異領域を特定した。コントロール領域全体では、チトクローム *b* 領域よりも約 2 倍程度置換速度が速く、またコントロール領域内では、5' 端付近に塩基置換が局在していることが分かった。この結果から、コントロール領域 5' 付近の 438 bp および 373 bp を解析領域とした。

第 2 章では、ウミネコとオオセグロカモメの系統関係を推定するため、DNA データベース

に登録されていた他種のカモメの塩基情報とともに、近隣結合法により系統樹を作製した。ウミネコは、大型カモメのクレードの最も早い時期に分岐しており、対照的にオオセグロカモメは、最も遅く分岐していることが分かった。ウミネコとオオセグロカモメの分岐年代は約 100~140 万年程度と推定された。

第 3 章では、二種の分布域が重なっている北海道周辺の個体群(ウミネコ 6 ヶ所、オオセグロカモメ 4 ヶ所)を対象として、コントロール領域 438bp の解析により二種の遺伝構成を求めた。確認されたハプロタイプ数はウミネコの方が多かった(ウミネコ 26 種類、オオセグロカモメ 16 種類)ものの、ウミネコでは 1 種類のハプロタイプの頻度が約 6 割~7 割を占める極端に偏った頻度分布であったため、遺伝的多様度は非常に低い値となった。ウミネコのネットワーク樹は、一つのハプロタイプを中心としてその他タイプが放射状に位置する形状となった。一方のオオセグロカモメでは、極端な頻度の偏りがなかったため、遺伝的多様度は比較的高い値を示した。ネットワーク樹では、各ハプロタイプが連続的に連なり、全体に広がりをもった形となった。急増指数(expansion coefficient)を求めると、ウミネコで 25.8、オオセグロカモメでは 7.6 という値を示した。この指数について他種のカモメでは、急増の程度が大きいとされる種で 15~20、個体数が安定していたと考えられる種で 5~10 という値が報告されている。このことから、ウミネコの個体数は他種と比べても非常に急増傾向が強いと推測され、オオセグロカモメの個体数は安定していたと推測された。Tajima の中立性検定の値(D ; Tajima 1985)からも同様の傾向が導かれた。ウミネコでは有意な負の値をとり、過去の個体数の急増が示唆された。オオセグロカモメでも負の値を示したものの、ゼロからの有意なずれは検出されなかったため、大きな個体数変動は示唆されなかった。Mismatch distribution 解析では、オオセグロカモメにおいても過去に個体数増加を経験していることが示唆されたが、増加の程度はゆるやかであったと推測された。一方のウミネコではほぼゼロに近い個体数から現在のような数十万という個体数へ、非常に短期間で増加したと示唆された。

第 4 章では、ウミネコは日本各地の 13 個体群、オオセグロカモメは第 3 章と同じく 4 個体群を対象として、コントロール領域 373bp を解読した。本章では、個体群間の遺伝関係に焦点をあて、正確確率検定による遺伝的差異の判定、および遺伝距離(D_A , ϕ_{ST})の計算を行った。オオセグロカモメではすべての組み合わせで遺伝距離が小さく、正確確率検定に有意差が見られなかった。対してウミネコでは、異質な遺伝的特徴を持つ個体群の存在が明らかとなった。その個体群とは、南方に位置する 3 個体群と北方の 1 個体群であり、これらは地理的距離の遠い個体群との間のみならず、近い個体群との間でも遺伝的距離が大きく、有意な遺伝的差異が見られた。

以上のことから、ウミネコは分岐年代が早いものの、現在の個体数はごく最近の急激な増加によって確立されたということ、また、いくつかの遺伝的に異質な個体群が存在するということが明らかとなった。一方のオオセグロカモメは、比較的安定した個体数を維持し、個体群間の遺伝的差異も見られないことが分かった。こうした違いは、二種の集合性の違いに基づく、新規コロニーの創設パターンに関係しているのではないかと推測される。ウミネコは少数個体で新たな生息地を次々に開拓することは無く、新しい繁殖コロニーが創設される際には、非常に短期間にコロニーの規模が拡大することが知られている。そのため、ウミネコでは繰返し創設効果が働いて、遺伝的多様性が小さくなりやすいのであろう。そして、新しい個体群に創設効果が働いたため、遺伝構成の異なる個体群が生じると考えられる。対照的にオオセグロカモメは、少数の個体から徐々に分布域を広げつつ個体数を増加させるといった傾向がある。そのため個体数の増減が小さく、個体群間の遺伝的差異も生じにくいのではないかと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 松 田 洋 一

副 査 教 授 東 正 剛

副 査 助教授 増 田 隆 一

副 査 教 授 阿 部 周 一 (大学院水産科学研究科)

副 査 助教授 綿 貫 豊 (大学院水産科学研究科)

学 位 論 文 題 名

Genetic structure of two gull species based on mitochondrial DNA control region sequences

(ミトコンドリア DNA コントロール領域の塩基解読による

カモメ 2 種の遺伝構成の解明)

生物集団における遺伝構成 (genetic structure) の形成には、過去の集団サイズの変動、遺伝的交流の距離や方向、遺伝的交流を妨げる地形的要因などが影響を与える。そのため、生態的特徴や生息域が共通する種間では、遺伝構成も類似したものになる可能性がある。逆に近縁種間や同所的に分布する種間でも生態的特徴の違いによって異なる遺伝構成が形成されることが考えられる。そこで申請者は、同属に分類され分布域が重なっているウミネコ (*Larus crassirostris*) とオオセグロカモメ (*L. schistisagus*) に着目し、これら 2 種における遺伝構成の違いを調べ、2 種間の生態的特徴の違いとの関連を明らかにすることを目的として本研究を行った。

これら 2 種の遺伝構成を調べるために、最初にミトコンドリア DNA の解析領域の選定を行った。ウミネコ、オオセグロカモメにカモメ (*L. canus*) を加えた 3 種について、ミトコンドリア DNA のチトクローム *b* 領域とコントロール領域の塩基配列を解読し、それらを種間および種内で比較することで高変異領域を特定した。その結果、コントロール領域全体ではチトクローム *b* 領域よりも約 2 倍程度置換速度が速く、またコントロール領域内では 5' 端付近に塩基置換が局在することを見いだした。この結果から、コントロール領域 5' 付近の 438bp および 373bp を解析領域に決定した。

次に、ウミネコとオオセグロカモメの系統類縁関係を推定する目的で、DNA データベースに登録されている他種のカモメの塩基情報を利用して、近隣結合法と最節約法を用いて系統樹を作製した。その結果、ウミネコは大型カモメのクレードの最も早い時期に分岐し、対照的にオオセグロカモメは最も遅く分岐したことを明らかにした。また、ウミネコとオオセグロカモメの分岐年代は約 130 万年前程度と推定した。

2種の分布域が重なる北海道周辺の個体群（ウミネコ 6 カ所、オオセグロカモメ 4 カ所）を対象として、コントロール領域 438bp の解析により 2 種の遺伝構成を調べた。用いた個体群で、ウミネコ 26 種類、オオセグロカモメ 16 種類のハプロタイプを検出した。ハプロタイプ数はウミネコの方が多かったが、1 種類のハプロタイプの頻度が約 6~7 割を占める極端な頻度分布を示し、むしろ遺伝的多様度が低いことを明らかにした。一方、オオセグロカモメでは極端な頻度の偏りがなかったため、遺伝的多様度は比較的高い値を示した。急増指数 (expression coefficient) はウミネコで 25.8、オオセグロカモメでは 7.6 となり、ウミネコの個体数は非常に急増傾向が強く、オオセグロカモメの個体数は安定していたと推定された。また、Tajima の中立性検定の値からも同様の結果が得られた。mismatch distribution 解析の結果からは、オオセグロカモメにおいても過去に個体数増加を経験したことが示唆されたが、増加の傾向は緩やかであったと推定された。

次に、ウミネコでは北海道から西日本に至る地域から 12 カ所と韓国から 1 カ所、オオセグロカモメでは北海道の 4 カ所の個体群を対象として、コントロール領域 373bp の塩基配列を解析し、個体群間遺伝構成の地域差を調べた。オオセグロカモメでは全ての組み合わせで遺伝距離が小さく、正確確率検定に有意差が見られなかった。それに対してウミネコでは異質な遺伝的特徴を持つ個体群の存在が明らかになった。その個体群は、南方に位置する 3 個体群と北方の 1 個体群であり、これらは地理的距離の遠い個体群間だけでなく、近い個体群との間でも遺伝距離が大きく、有意な遺伝的差異が見られた。

以上の結果に基づき、申請者は、ウミネコは分岐年代が早いものの、現在の個体数はごく最近の急激な増加によって確立されたこと、また、幾つかの遺伝的に異質な個体群が存在することを示唆した。一方のオオセグロカモメは、比較的安定した個体群を維持し、個体群間の遺伝的差違も見られないことを明らかにした。このような違いは 2 種類の集合性の違いにもとづく新規コロニーの創設パターンに関係することを推測させるものである。本研究の結果は、ウミネコでは新しい個体群に創始者効果が働き遺伝構成の異なる個体群が生じる可能性を示すとともに、対照的にオオセグロカモメでは、個体群における個体数の増減は小さく、個体群間の遺伝的差違も生じにくいことを強く示唆している。

本研究は、綿密な研究計画のもとに実施されたものであり、得られたデータも豊富かつ精度の高いものである。また得られた結果にもとづいて論理的な考察がなされており、論文としての完成度も高い。本研究の成果は、学術的にも価値の高いものであり、鳥類の生態学に限らず、広く個体群生態学や進化生態学の発展に寄与するものと考えられる。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（地球環境科学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと判定した。