

「論文内容の要旨」

論文題目

Genetic diversity and social interactions in *Bufo japonicus*
(*Bufo japonicus* における遺伝的多様性と社会的相互作用)

広域システム・長谷和子

指導教官：嶋田正和

要旨

第1章：序論 General introduction

本論文は、種内の遺伝的多様性、または個体群内の遺伝的多型が、その動物の社会行動にどのような影響を及ぼすかについて、日本産ヒキガエル*Bufo japonicus*を材料とし、分子系統学・分子生態学的手法を用いた遺伝子頻度の解析と、野外調査と操作実験・画像解析による社会行動の定量化を組み合わせることにより、統合的な理解を目指したものである。具体的には、3つの異なるアプローチで、2 亜種混成個体群における遺伝的攪乱と適応度の変化（2章）；局所個体群における繁殖行動（3章）；幼生の集合行動における遺伝的距離の影響（4章）を研究した。

第2章：首都圏の日本産ヒキガエル混成個体群における遺伝的多様性 Population admixture and high larval viability among urban toads

急速に都市化が進む現代において、生息地の減少と断片化は野生種のメタ個体群レベルでの遺伝的多様性を低下させ、局所個体群の絶滅を招くと危惧されている (McKinney 2002; Hamer and McDonnell 2008)。遺伝的に分化した系統が2次的に接触することにより形成される混成個体群では、系統間の交雑により遺伝的多様性が向上し、世代を重ねる事で適応度が上がる事がある (Templeton 1981)。しかし、人為的移入によって構成された混成個体群では、遺伝子の地域性が失われるなど保全生物学的な問題もあ

る (Ellstrand and Schierenbeck 2000).

東京都内の止水(ため池)では、在来東日本亜種であるアズマヒキガエル *B. j. formosus* とともに、人為的に移入した西日本亜種のニホンヒキガエル *B. j. japonicus* の母系をもつ個体が混在しており、2亜種混成個体群を形成している (Hase *et al.* 2012). 本章では、マイクロサテライトマーカーを用いた集団遺伝学的解析により、東京の混成個体群においては、浸透性交雑をとおして多くの個体でその遺伝子型が移入亜種であるニホンヒキガエル型に置き換わっていることを実証した. さらに、幼生の成長率を比較した結果、東京都内のヒキガエルの成長率が東京都外のヒキガエルに比べ有意に 20%ほど高いことが示され (GLMM: $z = 2.692$, $P = 0.0071$), 本研究の結果から、東京のヒキガエルは、移入亜種のニホンヒキガエルの交雑によってその適応度を上げている実態が強く示唆された.

第3章：日本産ヒキガエルにおける高密度下での一妻多夫と同型交配 Female polyandry and size-assortative mating in isolated local populations of the Japanese common toad *Bufo japonicus*

生物の進化を考える上での重要な選択圧には、自然淘汰の他にもう一つ、性選択が関係する (Darwin 1971). 性選択には異性間 (雌雄間) と同性間 (雄間競争, 雌間競争) と大きく分けて2つの選択タイプがあり、この選択の強さは主に実行性比により支配される (Bateman 1948; Andersson 1994). ヒキガエル類のような爆発的繁殖行動を展開する動物群では、実行性比の雄への偏りと個体群密度の上昇により、より強い雄間競争が働く事が予想される (Halliday 1978; Arak 1983).

本章では、個体数密度の異なる2つの東京の繁殖池である低密度の大きなL池(東京大学キャンパス内一二郎池, 面積約 455m^2 , 繁殖参加個体数 $N=483$; 雄 363 : 雌 120) と高密度の小さなS池(東京調布市, 面積約 3m^2 , $N=100$; 雄 83 : 雌 17) を対象に、日本産ヒキガエルの繁殖行動を4年に渡り調査し、ここにかかる性選択を推定した. 本研究では特に、雄間競争の強さに着目し、この指標として1卵塊における「一妻多夫率」と「体サイズ同型交配」について、L池とS池との間における傾向を比較した. マイクロサテライトマーカーを用いた父性解析により、S池では90%という高い一妻多夫率(調べた卵塊10つのうち9つで26~70%がペア雄以外からの受精)を検出したが、L池における同解析では一妻多夫率は20%にとどまった. また、L池では3年連続して有意な体サイズ同型交配が観察された一方で、S池での同観察は2012年の1回のみとなった. 抱接ペアになっている雄とペアにならない単独雄の体長比較では、L池とS池ともに、4年連続で有意な差が認められなかった. 孤立した小さな繁殖池では、

その個体群密度の高さが雄間競争をさらに強め、結果として、雄の継続的ハラスメントなしでも、一妻多夫が継続的に起る事を示した。

第4章:オタマジャクシの集合形成における血縁・系統の及ぼす影響 Quantitative analysis of the genetic influences on the aggregation behavior in toad tadpoles

ヒキガエルの幼生は、「群れ」（正確には、集合=aggregationと呼ばれる）を作り集団で泳ぐ事が知られている。このような集合は、補食回避、探索能向上といった適応的な観点からは、協力行動の1つとしても捉える事ができる。この協力行動も血縁選択説 (Hamilton 1964) で説明できる可能性がある場合は、血縁者同士はより群れやすいことになる。仮に血縁者同士がより群れやすいのならば、何らかの血縁認識機構が関与しているはずである。実際、一部のカエル類の幼生には血縁認識能があると考えられており、その遺伝的基盤として、脊椎動物共通でMHC (主要組織適合遺伝子複合体) が注目されている (Waldman 2008など)。

本章では、ヒキガエルの幼生の集合がどのようなルールに従って形成されるのかについて、特に血縁認識能の影響の程度を調べるため、mtDNAに基づく系統関係及びMHC遺伝子におけるハプロタイプ相同性 (classII exonの塩基多様度) と、幼生の集合行動との相関について、検証を行った。2013年3月から5月にかけて採集した18卵塊由来のヒキガエルの幼生 (ニホンヒキガエル*Bufo japonicus* の東西2亜種*B. j. japonicus*; *B. j. formosus*, およびミヤコヒキガエル*B. gargarizans miyakonis*) を用いて、孵化後、別々に飼育した幼生グループ25匹ずつを組み合わせた計50匹の幼生集団について、最隣接個体間距離分析 (Clark and Evans 1954) に基づいた幼生の「集合の強さ」を、定量的に評価した。筆者は、実験に用いた18卵塊の系統関係 (母系) についてmtDNA (cytb 831bp) を基に解析した後、全3100個体について4種の制限酵素を用いたPCR-RFLPによりMHC classII exon partial (320bp) 遺伝子型を決定し、「集合の強さ」と「集団内の系統・血縁関係」との間における相関を求めた。同じ系統・または異なる系統を組み合わせた幼生グループ64集団の集合行動について、遺伝子型と行動実験の動画を解析した結果、「集合の強さ」と「系統的距離 = mtDNA pairwise distance」の間には、有意な相関が認められた (GLM: $t = 3.440, p < 0.001$)。幼生の「集合の強さ」は、系統的に遠い相手と構成組み合わせられたとき程、弱くなった。一方、「MHC遺伝子の相同性」においては、兄弟の中 (同一卵塊由来の幼生グループの集合行動) でのみ、有意な正の相関が示された (GLM : $t = 3.334, p = 0.003$)。

本研究は、ヒキガエルの幼生の集合（aggregation）という脊椎動物の集団レベルの行動において、遺伝的相同性（genetic similarity）に規定される血縁認識機構が、集団の「集合の強さ」の傾向に影響する事を示した。また、ヒキガエルの幼生では、系統的に離れた集団では「mtDNA に基づく遺伝的距離」が遠いほど「集合の強さ」が弱まり、兄弟内といった血縁者内での行動においては、「MHC遺伝子の相同性」が高いほど「集合の強さ」が強まる、2段階による遺伝的な支配である可能性が示唆された。

第5章：総合考察 General discussion

2-4章までの研究結果から、総合考察を行った。*B. japonicus* 局所個体群における遺伝的多様性の維持が、行動レベルにまでどのように影響しているのかについて、inbreeding と outbreeding, そして kin recognition と social discrimination が、どのように相互作用しながら動物の分布や社会行動を規定してきたのかについて、進化生態学的視点から論じた。