

(別紙2)

## 審査の結果の要旨

論文提出者氏名：長谷和子

本論文は、種内の遺伝的多様性や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*を対象として解析したものである。DNA情報による分子系統解析、分子集団遺伝学手法を用いた遺伝子頻度の解析、野外調査と操作実験・画像解析による社会行動の定量化解析の、異なる3つのアプローチを組み合わせることにより、統合的な理解を目指している。これにより、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。

1章の総合序論で日本産ヒキガエルの生息分布や生活史、社会的相互作用を述べた後、続く2章では、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、これ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、2亜種混在集団で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、幼生の日齢生存率を比較した結果、都内のヒキガエルの生存率が都外のヒキガエルに比べ有意に20%ほど高い結果が得られ、東京のヒキガエルは移入亜種のニホンヒキガエルとの交雑によって、その適応度を上げている実態が明らかになった。

3章では、個体数密度の異なる2つの東京の繁殖池である、低密度で面積の大きいL池（東京大学キャンパス内駒場池）と、高密度で面積の小さなS池（東京調布市の寺の池）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ている。繁殖期に夜間に繰り広げられる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池との間の差異を比較した。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を検出したが、L池における同様の解析では一妻多夫率は20%に留まった。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が、S池での同様のパターンは2012年の1回のみ観察となり、後者は乱婚が示唆される。このように、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、雄の多重包接なしでも水中に漂う精子による体外受精によって一妻多夫が常態化している実態を示した。これは両生類で最初の成果である。

4章では、ヒキガエルの幼生（オタマジャクシ）は集合（aggregation）を作り集団で泳ぐ事が知られている。血縁者同士はより集合しやすい可能性を探るために、一部のカエル類の幼生に血縁認

識能があると報告された脊椎動物共通のMHC（主要組織適合遺伝子複合体）に焦点を当てた。ミトコンドリアDNA（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卵塊由来のヒキガエルの幼生（ヒキガエル*Bufo japonicus* の東西2亜種*B. j. japonicus*、*B. j. formosus*、および近縁種ミヤコヒキガエル*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に基づいた幼生の「集合の強さ」を応答変数とし、mtDNAの遺伝的距離とMHC遺伝領域の相同性などを説明変数として一般化線形モデル（GLM）で統計解析しモデル選択した結果、「集合の強さ」と「遺伝的相同性」の間には有意な相関が認められた。ヒキガエル幼生の集合という集団レベルの行動において、遺伝的相同性に規定される血縁認識機構が「集合の強さ」の傾向に影響する事を示した貴重な成果である。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、兄弟内の血縁者間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」が強まるという、2段階の遺伝的支配が関与する可能性が示唆され、たいへん興味深い。

5章は総合考察であり、*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、近親交配と異系交配、そして血縁と非血縁の識別が、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考察しているが、この分野の研究に深い洞察を与えている。

以上、当博士論文の研究は、遺伝的多様性が関わる血縁認識と動物の社会的相互作用の関連について、多面的な手法を駆使した総合的理解に達していると考えられる。以上の点から本論文は、博士(学術)の学位を与えるのにふさわしい内容であると、審査委員会は全員一致で判定した。