

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：32644

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25890020

研究課題名(和文) ミナミハンドウイルカにおける行動調査ならびに集団遺伝学的解析による群れ構造の解明

研究課題名(英文) Group structure in Indo-Pacific bottlenose dolphin using genetic method

研究代表者

北 夕紀 (KITA, YUKI)

東海大学・生物学部・講師

研究者番号：30710917

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：ドルフィンスイムが盛んな御蔵島周辺海域に生息するミナミハンドウイルカの血縁関係を明らかにするため、行動調査にて個体識別がなされているイルカのDNAを鋳型としてmtDNAならびに12種類の多型マイクロサテライトにて多型データを構築し、親子鑑定ならびに血縁解析を行った。その結果、2組の兄弟関係に矛盾が生じ、離乳するまでに識別可能な生物学的特徴が得られなかったことによる仔イルカの取り違いを示唆した。また、子育てに参加しない父親個体の存在が3組示唆された。血縁関係は保全のための基礎情報となることから、適切な保全管理を行うために、個体識別調査と併用して集団遺伝学的調査を行っていく必要が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Kin relationship was investigated wild Indo-Pacific bottlenose dolphin in Mikura Island, Tokyo, Japan using mitochondrial DNA and 12 microsatellite DNA markers.

As a result of genetic analysis, 2 pairs of dolphins weren't a brother, but it was said that they were a brother by underwater observation. It was suggested that the difference in these results depends on characteristic natural markings on the body wasn't obtained before a offsprings were weaned from their mothers. Moreover, 3 individuals of the paternity dolphin who doesn't participate in offspring rearing was suggested.

It's expected that genetic and kin relationship information becomes basic information like identification information. So, it's necessary to be using with an underwater observation and be doing a genetic analysis to do appropriate maintenance and management.

研究分野：集団遺伝学

キーワード：ミナミハンドウイルカ 集団遺伝学 血縁関係 群構造 保全管理

## 1. 研究開始当初の背景

### (1)ハンドウイルカの群構造の解明

ハンドウイルカ (*Tursiops truncatus*) は、マイルカ科に属する小型ハクジラで、水族館などでもっとも多く飼育されている種の一つである。また、日本では小型商業捕鯨の対象種でもあり、水産学的にも重要な種である。

申請者は、一見大群に見えるハンドウイルカの群れが、実は沿岸定住型のように小さな血縁グループの混成なのではないかとの疑問を持ち、和歌山県太地町の追い込み漁にて捕獲されたハンドウイルカ 1 群 165 頭について集団遺伝学的手法を用いて親子鑑定ならびに血縁解析をおこない集団構造の解明をおこなってきた。その結果、野生下ハンドウイルカ 1 群は沿岸定住型同様、母子を中心とした 2~6 頭の小集団から構成されるが、メスもオスも離乳すると母親から離脱し、再び彼らの群れに戻ってこないことを考察した。つまり、沿岸定住型の個体群が拡大家族型であるのに対し、和歌山県太地町で捕獲されたハンドウイルカ 1 群は核家族型であることを明らかとした(Kita et al, 2013)。

一方、先行研究において、ある時間断面における知見が手早くかなりの精度で得られるが、個体レベルでの継続的なデータを得ることは不可能である。また、集団サイズが大きく、混群が予想される場合、群れ内の社会構造が血縁個体により成り立つものなのか否かが集団遺伝学的手法のみでは考察の域を出ないという問題も生じた。すなわち、これらの問題を解決するためには、日本近海に生息する沿岸定住性の個体群を用いた従来の目視や写真撮影による継続的な個体調査研究に集団遺伝学的手法を併合させ社会構造を解明していくことが重要であると示唆された。

### (2)本研究課題への着想に至った背景

水族館にて一般的に飼育されているハンドウイルカと同じ *Tursiops* 属に属するミナミハンドウイルカ(*Tursiops aduncus*)は、伊豆諸島御蔵島、小笠原諸島、天草諸島などに広く生息している(Sakai et al, 2006)。そのため、伊豆諸島や御蔵島周辺海域ではドルフィンスイムが盛んに行われていることから、イルカの生息環境への人的介入の影響の問題を調査するためにも、個体数の推定、沿岸定住性個体群の他地域間の移動の有無、血縁関係や個体間関係などを調査し、群れ内の社会構造の解明が求められている。そのため、保全目的による目視調査が 1994 年より行われており、他地域への移動が少なく遺伝的に孤立しているのではと示唆されている(森阪ら 2010)。個体識別調査は、一般的にイルカの身体の傷跡や鰭のかけ等の特徴を利用して行われている。また、母子関係については、インファントポジションで新生児と 3 回以上の同伴が観察された場合に母子と判定して

おり、エシュロンポジションは母子同伴とみなさないとされている。しかしながら、これらの保全調査は目視調査のみで行われており、遺伝的血縁関係は不明瞭である。

## 2. 研究の目的

伊豆諸島御蔵島海域のミナミハンドウイルカの母子関係は行動から判定していること、兄弟関係も行動による母子関係からの類推であることから母子関係や兄弟関係も不明な点が多い。さらには、子育てに参加しない父親の判別が困難などの課題がある。

以上のことを解決するために、本研究課題では、集団遺伝学的手法を用いて御蔵島周辺海域に生息するミナミハンドウイルカの血縁関係を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

御蔵島周辺海域に生息するミナミハンドウイルカ全頭約 100 頭の糞より抽出した DNA を鋳型とし、ミトコンドリア DNA (mtDNA) ならびに 12 種類の多型マイクロサテライトにて多型データを構築する。具体的な方法は Kita et al (2013) に従う。

構築された多型データに 1994 年より行われている目視調査ならびにビデオデータから得られた生物学的情報を統合させ、親子鑑定ならびに血縁解析を行い、御蔵島ミナミハンドウイルカの個体間血縁関係を考察する。

## 4. 研究成果

### (1)個体識別サンプルについて

御蔵島観光協会、京都大学野生動物研究センター、東京農業大学、その他ボランティアとの連携協力のもと、300 サンプル以上の DNA を獲得し、重複個体のソーティングを目視調査やビデオデータを基に行ったところ、全頭の 75%を網羅した。

重複サンプルについては mtDNA 解析により矛盾の有無を調査したのち、多型マイクロサテライトを用いた実験に供した。しかしながら、多型マイクロサテライトにおける実験にて、明らかに同一個体とは言い難い結果が得られた。これには個体識別における人為的エラー、マイクロサテライトにおけるタイピングエラーが考えられ、前者においては同一個体より最低 3 回の糞採取、後者においてはマイクロサテライトに代わる新規多型マーカーの開発の必要性が示唆された。

### (2)DNA 多型解析

御蔵島ミナミハンドウイルカ 75 個体のうち、重複サンプルにおいて矛盾が生じなかった 54 個体の DNA を鋳型として、12 種類の多型マイクロサテライト解析を行った。その結果、3~9 種類のアリルが検出され、ヘテロ接合度の観察値は 0.111~0.796 であった。また、ハーディーワインバーグ平衡検定の結果、いずれの多型マーカーにおいても有意差は認められず、多型マーカーとして有効である

ことが示唆された(表 1)。

表 1 御蔵島ミナミハンドウイルカ 54 個体における 12 種類の多型マイクロサテライト解析結果

Locus	Allele Num.	H (O)	H (E)	HWE
DlrFCB4	7	0.407	0.451	0.910
DlrFCB16	5	0.519	0.591	0.882
TexVet5	5	0.407	0.528	0.932
TexVet7	5	0.648	0.657	0.668
EV5	3	0.111	0.301	0.991
KWM9	9	0.796	0.750	0.313
KWM12	7	0.444	0.571	0.973
Mk3	6	0.611	0.661	0.805
Mk5	5	0.611	0.636	0.697
Mk6	5	0.574	0.563	0.485
MK8	4	0.500	0.532	0.920
Mk9	5	0.611	0.666	0.859

Locus は各マイクロサテライトマーカー名、Allele Num. はアリル数、H(O)はヘテロ接合度における観察値、H(E)はヘテロ接合度における理論値、HWE はハーディーワインバーク平衡検定の結果を示す。

### (3)mtDNA 解析

54 個体の DNA を鋳型として mtDNA 遺伝子解析を行ったところ、4 種類のハプロタイプが検出され、そのうち 2 種類はミナミハンドウイルカ由来のハプロタイプであったが(JTa01、JTa02)、残りの 2 種類はハンドウイルカ由来のハプロタイプであった(JTt10、TT037)(アクセッションナンバー: LC003514、LC003515、AB303163、HQ436284)。さらに JTt10 においては、申請者が以前に明らかにした和歌山県太地町由来沖合型個体群と同一ハプロタイプであることが明らかとなり、御蔵島個体群の移りまたは沖合型個体群の混入が示唆された。

### (4)母子鑑定

項目(2)ならびに(3)で得られた多型データを用いて、8 組 14 個体の母子ペアにおいて母子鑑定を行った。その結果、エッセンメーラーの母権肯定確立計算値は 97.4%~100%となり、いずれも母子関係にあると判定された

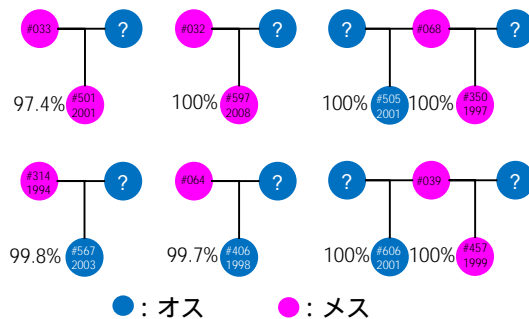


図 1 ． 既知母子ペアにおける母子鑑定結果  
ピンクがメス個体で青がオス個体を示している。

ことより、目視調査結果との矛盾は生じず、集団遺伝学的手法は有効であると示唆された(図 1)。

### (4)血縁解析

項目(2)ならびに(3)で得られた多型データを用いて個体ごとの血縁関係値を算出しグラフ化したところ、平均値-0.01、標準誤差 0.01 となった(図 2)。また、95%の信頼区間において、血縁関係値が 0.48 以上で何らかの血縁関係が示唆された(図 2)。

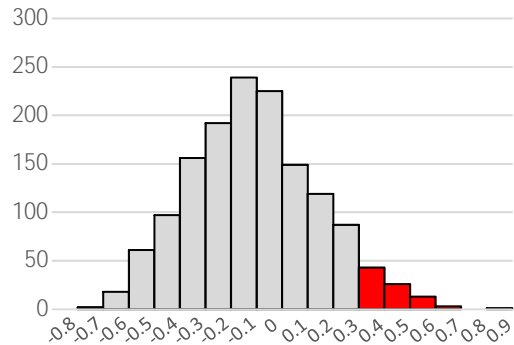


図 2 ． 血縁解析結果

0.48 以上で何らかの血縁関係が示唆されることから、0.48 以上の血縁関係を持つ個体を抜き出し、御蔵島集団における血縁関係図を作成したところ、目視調査において兄弟だと推定されていた 3 ペアにおいて矛盾が生じた(図 3)。これは、親から離乳するまでに咬み跡などの目立った特徴が得られなかったことによる仔イルカの取り違いによるものと示唆された。また、子世代の血縁関係より、二組の母親世代における血縁関係が予測された。すなわち、目視調査が開始される以前の個体や既に死亡し DNA の取得が困難な個体における血縁情報の取得へ応用可能であると示唆された。さらには、1994 年の目視調査開始以前より確認されているオス個体と目視調査開始以降に誕生した個体間にお

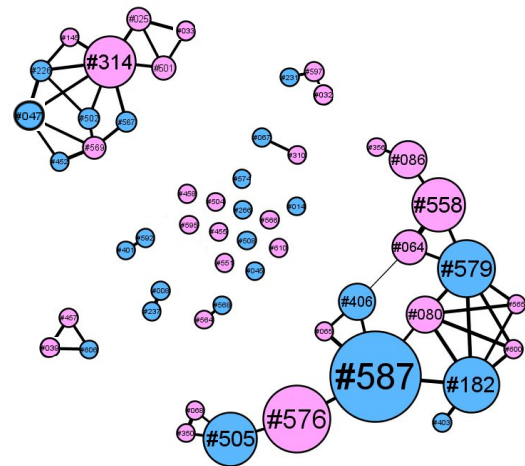


図 3 ． 個体間血縁関係図  
ピンクがメス個体で青がオス個体を示している。

いて血縁関係が認められたことより、子育てに参加せず、目視による行動調査のみでは特定が困難な父系個体の追跡に威力を発揮するものと期待された(図3)。

(5)まとめ

今後様々な行動データが集まる中で、集団遺伝学的解析によって得られる個体間血縁関係は個体識別情報と同様に基礎情報となり重要であると考えられる。したがって、御蔵島ミナミハンドウイルカの適切な保全管理を行うために、個体識別調査と併用して集団遺伝学的調査を行っていく必要があると示唆した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

北夕紀、御蔵島ミナミハンドウイルカにおける血縁解析、日本水産学会、2013年3月30日、北海道大学(北海道・函館市)

酒井麻衣、野生ミナミハンドウイルカにおける養子とりの観察、哺乳類学会、2014年9月5日、京都大学(京都府・京都市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

北 夕紀(KITA, F. Yuki)

東海大学・生物学部海洋生物科学科・講師

研究者番号：30710917

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：