

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：34504

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2013

課題番号：21405015

研究課題名(和文) キツネザル類の生活史の進化に関する社会生態学的・遺伝学的研究

研究課題名(英文) Socio-ecological and genetical study of the evolution of life histories of lemur species

研究代表者

高畑 由起夫(Takahata, Yukio)

関西学院大学・総合政策学部・教授

研究者番号：90183061

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円、(間接経費) 4,440,000円

研究成果の概要(和文)：22年間のワオキツネザル個体群資料を解析した結果、メスの最長寿命は20年、オスは13年だった。メスの平均寿命は4.8年、4歳以上のメスの出産率は70%以上で、老齢による繁殖低下はなかった。DNA分析でアカンボウ19頭の父性を確認、オスのコドモは4頭にとどまった。メスは複数オスと交尾し、配偶者選択とオスの順位は相関しなかった。体重に性差はなく、1999年の体重2.2～2.3kgと比べて、2011年の体重は1.99kgに減少していた。これは環境条件の変化等によると考えられる。捕獲個体の尾、臭腺、顔面形態等も計測した。チャイロキツネザルの種子散布を調べるため、採食樹2種の遺伝的多型を分析した。

研究成果の概要(英文)：We analyzed 22-year demographic data of a wild ringtailed lemur population. The longest life span was 20 years (female) and 13 years (male). The mean life span of females was 4.8 years. Mean birth rate of adult females (> 4 years) was over 70%, and no sign of reproductive senescence. Based on the microsatellite analyses, the paternities of 19 infants were decided. Out of them, only four infants were sired by alpha-males. Behavioral data showed that estrus females mated with multiple males, irrespective of their ranks. No sexual difference was observed in body mass. Their body mass decreased from 2.2-2.3 kg recorded in 1999 to 1.99 kg in 2011, which may have originated from many factors including environmental changes. Morphological features of tails, stink glands, and facial forms were also analyzed. Polymorphic microsatellite loci for two endemic trees were characterized in order to investigate gene flow via pollination and seed dispersal by brown lemur.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：自然人類学(5901)

キーワード：人類学 生態学 遺伝子 行動学 進化 ワオキツネザル マダガスカル

1. 研究開始当初の背景

まず、社会生態学の視点から霊長類の生活史を見直す研究が盛んになったことがあげられる。ホミニゼーション(ヒト化)の過程において、長寿命のほか、長い養育期間・後繁殖期間等の特性が発達した。これらの特性が進化した要因を明らかにするために、他の霊長類との比較によって、生活史形質にかかる淘汰圧を理解する必要がある。

次に、より祖形に近い原猿類の生活史に関する長期的資料が、著しく乏しいことがあげられる。とくにマダガスカル島に生息する原猿類(キツネザル類)は真猿類と独立に群れ生活を進化させたが、1.メスがオスよりも優位を占める。2.身体サイズに性差が少ない。3.群れの社会的性比がほぼ1対1である等、真猿類と異なる特徴があり、「キツネザルシンドローム」と呼ばれている。これらの特性が進化した際の淘汰圧を調べるため、長期的資料の蓄積が必要であると判断した。

2. 研究の目的

本研究の主な目的は、マダガスカル共和国南部に生息するワオキツネザル(*Lemur catta*)の生活史形質の特徴と、その形質が進化した要因の分析、ならびに生活史形質と遺伝的構造との関係を明らかにすることである。最終的には、霊長類の生活史の進化を探る比較資料を得ることをめざした。

具体的なテーマは、1.メスの繁殖パラメーター(出産率、繁殖可能期間[寿命、初産年齢、閉経の時期等で決定される]、出産間隔等)の解明、2.老齢個体の生存や繁殖特性、3.オスの生活史と繁殖成功、4.生活史特性と個体群の遺伝的構造の関係、5.歯・骨格標本からの形態学的分析とロコモーションの研究、6.チャイロキツネザルと採食樹との共生関係等である。とくに、長期調査によってほとんどのメス個体の年齢を把握することで、老化の問題も含め、繁殖特性を明らかにすることをめざした。

さらに、真猿類での母系的社会集団の進化と比較することで、ヒトも含めた霊長類のメス/女性の繁殖特性の考察を目指した。こうした総合的研究は、哺乳類についても先行研究例は少ない。そのため、霊長類学にとどまらず、行動生態学、進化生物学、集団遺伝学等周辺多分野への貢献が期待できる。

3. 研究の方法

(1)対象: 主な研究対象は、京都大学の小山直樹名誉教授らが1989年から、個体識別に基づいて継続的に調査しているベレンティ保護区のワオキツネザル個体群である。フィールドワークは2009年から2013年まで毎年、出産期の前後を中心に実施した。さらに比較資料として、マダガスカル北西部アンカラファンツィカ国立公園に生息するチャイロキツネザル(*Eulemur fulvus*)も対象とした。

(2) 個体群動態資料

ベレンティ保護区で22年間に記録されたワオキツネザルの個体情報を整理した。1989年の時点で、14.2haの主調査地域内に行動域を持っていた群れの個体は計63頭だった。その後、1989年~2011年に出生が記録された個体は計512頭、主調査地域外からの移入個体は計91頭であった。

まず、ワオキツネザルの出産期に相当する9月を基準に、メスの寿命、オスの群れでの滞在期間、個体群動態(出生・死亡・消失・移出入)等の基礎資料を完成させた。

さらにメスの繁殖成功を左右する要因を明らかにするために、複数の要因を説明変数に用いた一般化線形混合モデルによって分析した。出産の有無、幼児の生存・死亡、群れからのメスの追い出しの有無等を応答変数に、群れサイズ、オトナメス数、メスの年齢、群れのアカンボウの数、降水量などを説明変数に一般化線形混合モデルをつくり、モデル選択基準(AIC)を用いて、最適なモデルを選択した。

(3) 行動学的資料

フィールド調査では、とくに交尾、採食、育児等の行動観察を実施した。交尾行動の観察結果は、(4)遺伝学的資料の分析とあわせて、父子判定の資料として利用した。

(4) 遺伝学的資料の収集と解析

採集された遺伝学的資料の分析等は日本国内で行った。

ワオキツネザルについては、個体間で顕著な相違を示す超可変領域があるミトコンドリアDNAのDループ領域と、2塩基から4塩基の反復配列多型を示すマイクロサテライトを用いて父子判定を試みた。とくに後者では、DNA試料160検体をシーケンサー(ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer)を用いて解析し、11マイクロサテライト遺伝子座について、各検体の遺伝子型を決定した。

行動観察とあわせて、子供、母親、父親候補(群れのオトナオス)の遺伝子型を比較し、父親候補の中から適合しないオスを排除することで、父親を決定した。さらに、父性解析ソフトウェアCervus 3.0.3(Kalinowski et al., 2007)を用いて、最尤推定法による父性確率を調べた。

(5) 形態学的資料の収集と解析

捕獲調査で、個体の体重、尾長、尾囲、尾幅、尾厚、臭腺の長さ・幅・高さ、睾丸の長さ・幅・厚み、前腕長、手長、手幅、第三指長、耳最大長、耳最大幅、頭最大幅、腹部の皮厚、腸骨稜上部の皮厚等を計測した。また、写真を用いた顔面計測で、瞳孔間距離、両眼距離、眼長、額幅、額右辺長および額左辺長、耳間距離、口吻長、口吻幅等を計測した。

(6) チャイロキツネザルの採食樹を対象とし

た遺伝学的資料の収集と解析

チャイロキツネザルに種子散布を頼る種子植物2種 (*Protorhus deflexa*、*Astrotrichilia asterotricha*) を対象に、次世代シークエンサー (Roche 454 GS Junior) で、種子や実生の母植物を特定するために必要なマイクロサテライトマーカーの開発を試みた。

4. 研究成果

(1) メスの寿命と繁殖

1989~1998年の出生個体201頭 (メス77頭、オス97頭、性別不明27頭) および調査開始時 (1989年) に主調査地域内に行動域があった群れの個体63頭の記録から、寿命と繁殖期間について調べた。

最長寿命はメスで20歳、オスで13歳であった。通常は生まれた群れに留まるメスを対象に寿命を計算したところ、平均寿命は 4.8 ± 4.8 歳 ($n=77$) であった。この資料をもとに生存曲線を描くと、2歳までの死亡率が高く、その後は年齢に応じてゆるやかに減少する曲線を描いた。なお、2歳に達したメスの平均寿命は、 7.8 ± 4.0 歳 ($n=46$) であった。

初産は早い個体で2歳だったが、3歳と4歳にピークがあった。年齢別出産率を見ると、2歳と3歳で低く、4歳から10歳までは70%を超えた。11歳以降は個体数が少なくなるので、はっきりした傾向はわからないが、11歳以降も複数のメスが出産を続けており、大多数のワオキツネザルのメスは生涯を通じて繁殖をおこなうことが明らかになった。

これらの結果から、ワオキツネザルは身体サイズと比較し、寿命が長いことがあきらかになった。一方、老年期での繁殖力の著しい低下は認められなかった。これらの特徴は、キツネザル類全体で指摘されている「身体サイズに比較して基礎代謝が低い」という傾向と関連するのかもしれない。

(2) メスの繁殖成功

一般化線形混合モデルによる分析の結果、出産および幼児の生存は群れサイズに正の影響を受けることが明らかになった。この傾向は、群れサイズが小さいと繁殖上の不利益があることを示している。一方、「大きい群れではメス間の繁殖競争が強く働いて、繁殖上の不利益が生じるのではないか」という予測は否定された。ワオキツネザルの群れでは群内競争よりも、群間競争の方が相対的に強く働くことが示唆された。その結果、群れ同士の闘争で不利な小さい群れは、十分な食物資源が得られなかったり、ストレスを受けたりしているのかもしれない。

同時に、メスの追い出しの有無はオトナメス数に正の影響を受けることが明らかになった。これは「大きい群れの方が繁殖上の不利益がある」という予測に近い結果となった。さらに群れサイズよりも群れのオトナメスの数を用いたモデルが、実際に観察された追

い出しの有無をよく説明できることも判明した。これらの結果は、ワオキツネザルの社会構ではメスの競争 (female competition) が強く働いていることを示唆している。

同じキツネザル科の近縁種であるキリンディ保護区のアカピタイキツネザルを対象におこなわれた先行研究では、大きい群れの方が繁殖上の不利益があり、追い出しも起きやすいと報告されている (Kappeler & Fichtel, 2012)。ワオキツネザルとアカピタイキツネザルの違いは、これら2種の社会システムの違いに関連していると考えられるが、キツネザル類の社会生態の進化について重要な知見であると思われる。

(3) オスの繁殖成功

父子判定の結果から、3群19頭の子供の中で、最優位オスは全体の21% (19頭中4頭) の子供を残していた。近縁種のアカピタイキツネザルで71% (Kappeler & Port, 2008)、ペローシファカでは91% (Kappeler & Schaffler, 2008) が最優位オスの子供だったという結果が報告されている。このように、他のキツネザルの種に比べて、オスの繁殖の偏りは小さいようだ。この結果は、ワオキツネザルのオス間の繁殖競争が、他のキツネザルの種に比べて、弱いことを示唆している。

(4) 生体計測等による形態学的調査

尾：生体計測によって尾は前後径・左右径とも、密生している毛で実質の2倍前後 (1.4倍~3.3倍) の太さに見えていることが判明した。これは尾を使ったコミュニケーションのコストが小さいことが示唆する。また、未成熟個体は成体に比べて、毛によって太く見える程度が大きいことも明らかになった。

臭腺：前腕に存在する前臭腺の幅・高さには性差があり、メスの臭腺はオスより未発達だった。オスの前臭腺からは悪臭を発する液体が分泌し、群のテリトリーを維持するための臭い付け (マーキング) あるいはオス間の優劣関係等に用いられている。一方、臭腺の膨らみに季節変化の可能性が認められたが、これらは今後の課題である。

臭腺の発達について、1歳児ではオトナメス並か、それよりも小さいことが明らかになった。メスの臭腺は成長してもあまり発達しないのに対して、オスは2歳前後で急激に発達するようだ。これは睾丸下降やマーキング行動の発達と連動している可能性がある。

顔面写真による計測：計測項目では、有意な性差が認められなかった。また、個体差が小さいことが伺えた。

さらに顔面写真によって、ワオキツネザルの顔面の「見た目」の発達を定量的に分析した。その結果、ワオキツネザルではいわゆる幼児図式 = 幼児であることを視覚的に示す顔面形態の特徴が少ないことが示唆された。

キツネザル類は嗅覚等が発達していること等から、視覚的な特徴よりも、体臭等で当歳児としての特徴を呈すればよいのかもしれない。この点も今後の課題である。

(5)死亡個体の剖検

アカンボウ1頭の死亡を確認し、剖検をおこなった。直接的死因は不明だが、大きな要因に脊髄損傷による下肢(および尾)の麻痺が挙げられる。その結果、上肢のみで母親にしがみつかなければならず、何度も木から落下して、最終的に死亡に至ったと考えられる。

(6)平均体重等の変化

体重の減少:2011年の捕獲調査で73個体の体重を計測したが、これを1999年での95個体、2006年での76個体の体重と比較した。その結果、2006年にはオトナのメスは1999年の2.27kgから1.98kgに、オスは2.22kgから1.99kgに減少していた。2011年ではともに1.99kgであった。

出産率ならびに幼児死亡率:上記の体重減少にもかかわらず、出産率は高い値を維持していることが判明した(73.0%)。その一方で、幼児死亡率が極めて高く(86.2%)、個体群の総数が減っていることが明らかになった。これらの現象は生活環境の変化(生息地の乾燥化による採食樹の減少、人為的移入種であるチャイロキツネザルとの競合、人為的餌付けや給水等の中止等)も含めて、複数の要因が働いた可能性がある。

(7)チャイロキツネザルの採食樹2種についての遺伝学的調査

Protorhus deflexa と *Astrotrichilia asterotricha* の DNA のショットガンライブラリを作成し、GS Junior を用いて *P. deflexa* は2個体で合計112,363の配列断片と *A. asterotricha* は1個体で73,923の配列断片を得た。Msatcommander でジヌクレオチド反復を7回以上とトリ-ヘキサヌクレオチド反復を4回以上含むマイクロサテライト配列を含む領域を探索し、Primer3 でプライマーを設計した(設計数:972と394遺伝子座)。そのうち68と67遺伝子座で20個体のDNAを増幅し、ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer でマイクロサテライト領域の多型を確認したところ、それぞれ19個ずつの遺伝子座で多型が確認された。平均ヘテロ接合度はそれぞれ0.484と0.485だった。全19マーカーを用いたときのProbability of identityは、それぞれで 5.7×10^{-13} および 1.1×10^{-11} と小さい値をとるため、親子関係の判別に有効であることが示された。子から片親候補を絞り込む排他確率はそれぞれ0.986と0.978であり、もう片親を絞り込む排他確率は0.999と0.999となる。

今後、これらのマーカーを用いて、対象樹種の種子散布による遺伝子流動を検出し、対

象樹種のチャイロキツネザルの種子散布による遺伝子流動を明らかにする予定である。

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12件)

茶谷薫、普遍性を生み出すための個別的学習:名古屋芸術大学生活科教育への教材提案、名古屋芸術大学教職センター紀要、査読無、1巻、2014、pp.27-35

(URLは未整備)

茶谷薫、市野進一郎、川本芳、佐藤宏樹、Anna Schnöll、ワオキツネザルの前腕臭腺分析(II)、名古屋芸術大学紀要、査読無、35巻、2014、pp.225-231

<http://www.nua.ac.jp/download/kiyou.html> (現在、整備中)

Sato H, Ichino S, Hanya G, Dietary modification by common brown lemurs (*Eulemur fulvus*) during seasonal drought conditions in western Madagascar. Primates、査読有、Vol. 55, 2014、pp.219-230

DOI:10.1007/s10329-013-0392-0

Takahata Y, Koyama N, Ichino S, Miyamoto N, Soma T, Nakamichi M, Do ringtailed lemurs exhibit a skewed birth sex ratio depending on social and environmental conditions? A preliminary analysis of a wild population, African Study Monographs、査読あり、Vol. 34、2013、pp.57-64

<http://hdl.handle.net/2433/173532>.

茶谷薫、市野進一郎、宮本直美、相馬貴代、ワオキツネザルのアカンボウの剖検と死因の推定、名古屋芸術大学紀要、査読無、Vol. 34、2013、pp.179-184

<http://www.nua.ac.jp/download/kiyou.html> (現在、整備中)

Ichino S, Chatani K, Kawamoto Y, Sato H, Schnöll A, Soma T, Koyama N, Aimi M,

Takahata Y, Decrease in the body mass of wild ringtailed lemurs at Berenty Reserve in Madagascar with environmental changes, African Study Monographs, 査読有、Vol.34、2013、pp.109-118

<http://hdl.handle.net/2433/179134>.

Sato H, Adenyo C, Harata T, Nanami S, Itoh A, Takahata Y, Inoue-Murayama M, Development of microsatellite markers for *Astrotrichilia asterotricha* (*Meliaceae*), an endemic tree in Madagascar, using next-generation sequencing technology, Conservation Genetics Resources, 査読有、Vol.5、2013、pp.959-961

DOI: 10.1007/s12686-013-9943-3

Sato H, Adenyo C, Harata T, Nanami S, Itoh A, Takahata Y, Inoue-Murayama M, Isolation and characterization of microsatellite loci for a large-seeded tree *Protorhus deflexa* (*Anacardiaceae*), Applications in Plant Sciences, 査読有、Vol.2、2013、p.1300046

DOI:<http://dx.doi.org/10.3732/apps.1300046>

茶谷薫、宮本直美、市野進一郎、川本芳、Razaiarivelo C、ワオキツネザルの顔面特徴 - サル用デジタルカメラ顔認識機能開発のための試み - 、名古屋芸術大学研究紀要、査読無、Vol. 33、2012、pp.189-196
<http://www.nua.ac.jp/download/kiyou.html> (現在、整備中)

Ichino S, Rabeloarivony H, New cases of vertebrate predation by the ring-tailed lemur (*Lemur catta*), with references to the difference from Eulemur species and other primates, African Study Monographs, 査読有、Vol. 32、2011、pp.69-80
<http://hdl.handle.net/2433/143673>

茶谷薫、宮本直美、市野進一郎、川本芳、Razaiarivelo C、ワオキツネザルの前腕臭腺分析、名古屋芸術大学研究紀要、査読無、Vol. 32、2011、pp.241-249

<http://www.nua.ac.jp/download/kiyou.html> (現在、整備中)

茶谷薫、宮本直美、市野進一郎、川本芳、Razaiarivelo C、ワオキツネザルの尾の中身、名古屋芸術大学紀要、査読無、31 巻、2010、pp.285-292

<http://www.nua.ac.jp/download/kiyou.html> (現在、整備中)

[学会発表](計 9 件)

市野進一郎、ワオキツネザルのメスの繁殖競合、日本霊長類学会第 29 回大会、2013 年 9 月 7 日、岡山理科大学

Sato H, The role of frugivorous lemur as large-bodied seed disperser in a Madagascar tropical forest, 5th East Asian Federation of Ecological Societies International Congress in conjunction with 59th Annual Meeting of Ecological Society of Japan, 2012, March 20、龍谷大学瀬田キャンパス

Ichino S, Soma T, Miyamoto N, Sato H, Koyama N, Takahata Y, Lifespan and lifetime fecundity in a population of ring-tailed lemurs (*Lemur catta*) at Berenty Reserve, Madagascar, 5th East Asian Federation of Ecological Societies International Congress in conjunction with 59th Annual Meeting of Ecological Society of Japan, 2012, March 19、龍谷大学瀬田キャンパス

Fichelt C, Ichino S, Kappeler P, Female reproductive competition in lemurs: what constrains and regulates group size? 8th Goettinger Freilandtage, 2011, December 8, Goettingen, Germany

佐藤宏樹、マダガスカル熱帯林における植

物 - 霊長類間の強い散実共生系、第 27 回
日本霊長類学会、2011 年 7 月 17 日、犬山
国際観光センター

Ichino S, Kawamoto Y, Miyamoto N, Hirai
H, Koyama N, Male reproductive
strategies of ring-tailed lemurs (*Lemur
catta*) at Berenty Reserve, Madagascar,
International Primatological Society
XXIII Congress, Sept 15, 2010, Kyoto,
Japan

Soma T, Feeding ecology and rank in
ring-tailed lemurs (*Lemur catta*) in the
Berenty reserve, Southern Madagascar,
International Primatological Society
XXIII Congress, Sept 15, 2010, Kyoto,
Japan

Ichino S, Soma T, Miyamoto N, Sato H,
Koyama N, Takahata Y, A 20-year study of
a ring-tailed lemur (*Lemur catta*)
population at Berenty Reserve,
Madagascar, The 7th Goettinger
Freilandtage, Dec 9, 2009, Max Planck
Institute for Biophysical Chemistry,
Goettingen, Germany

市野進一郎、相馬貴代、宮本直美、佐藤宏
樹、小山直樹、高畑由起夫、マダガスカル、
ベレンティ保護区におけるワオキツネザ
ルの個体群動態：20 年間の記録、第 25 回
日本霊長類学会、2009 年 7 月 20 日、中部
学院大学

〔図書〕(計 4 件)

Takahata Y, Koyama N, Ichino S, Miyamoto
N, Soma T, Nakamichi M, Springer, Female
coexistence and competition in
ringtailed lemurs: A review of a
long-term study at Berenty, Madagascar,
in: (J Yamagiwa & L Karczmarski, eds.)
Primates and Cetaceans, 2013, pp.
129-147

Ichino S, Soma T, Koyama N, Springer, The

impact of alopecia syndrome on female
reproductive parameters in ring-tailed
lemurs (*Lemur catta*) in Berenty Reserve,
Madagascar, in: (J Masters, M Gamba, F
Genin & R Tuttle, eds.) Leaping Ahead:
Advances in Prosimian Biology, 2013,
pp.377-386

Soma T, Koyama N, Springer, Eviction and
troop reconstruction in a single
matriline of ring-tailed lemurs (*Lemur
catta*): what happened when
“grandmother” died? in: (J Masters, M
Gamba, F Genin & R Tuttle, eds.) Leaping
Ahead: Advances in Prosimian Biology,
2013, pp. 137-146

佐藤宏樹、京都通信社、キツネザルの昼と
夜の行動の謎を解く、中川尚史、友永雅己、
山極壽一編『日本のサル学のアした 霊長
類研究という「人間学」の可能性』、2012、
pp.106-111

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高畑 由起夫 (TAKAHATA, Yukio)
関西学院大学・総合政策学部・教授
研究者番号：9 0 1 8 3 0 6 1

(2) 研究分担者

川本 芳 (KAWAMOTO, Yoshi)
京都大学・霊長類研究所・准教授
研究者番号：0 0 1 7 7 7 5 0

茶谷 薫 (CHATANI, Kaoru)
名古屋芸術大学・音楽学部・准教授
研究者番号：8 0 2 7 8 5 3 0

(3) 連携研究者

山越 言 (YAMAKOSHI, Gen)
京都大学・大学院アジア・アフリカ地域研究
研究科・准教授
研究者番号：0 0 3 1 4 2 5 3