

**京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書**

2019年5月3日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 霊長類研究所・社会進化分野

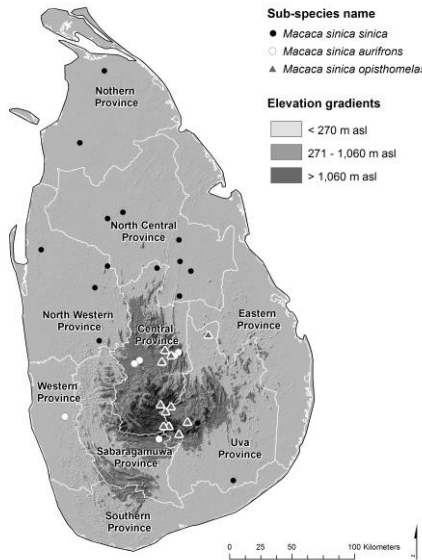
職 名 准教授

氏 名 Michael A Huffman

助 成 の 種 類	年度 ・ 研究活動推進助成		
申請時の科研費 研究課題名	スリランカのトクモンキーにおけるアレンの法則の検証:尾長変化は環境適応か、種分化過程か		
上記以外で助成 金を充当した 研究内容	同所的生息するグレーラングルにおけるアレンの法則を検討する基礎データの収集		
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名) 京大霊長類研究所・助教・田中裕之 University of Sri Jaywardenepura・教授・Charmalie AD Nahallage		
発表学会文献等	(この研究成果を発表した学会・文献等) 学術雑誌 American J. Primatologyに投稿する準備完了。また、2019年7月中旬に熊本市で開催される日本霊長類学会の大会で同内容を発表する予定。		
成果の概要	研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)		
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000 円	
	使用した助成金額	1,000,000 円	
	返納すべき助成金額	0 円	
	助成金の使途内訳	費 目	金 額
		消耗品	195,210
		旅費(国外調査)	804,790
当財団の助成につ いて	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。)		

スリランカのトクモンキーにおけるアレンの法則の検証：尾長変化は環境適応か、種分化過程か

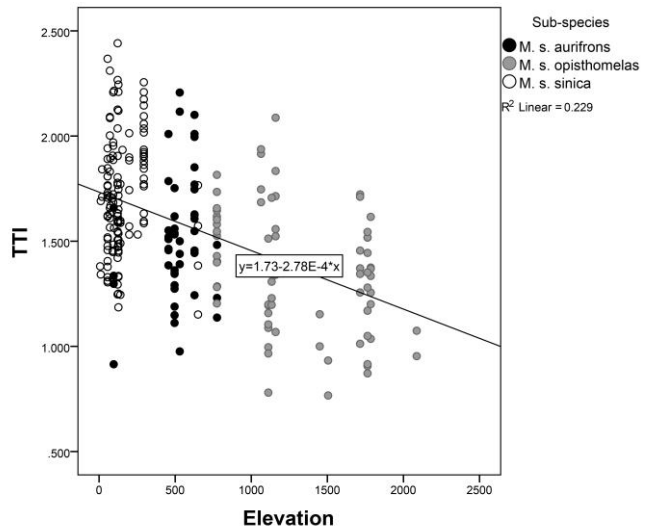
恒温動物では、温暖な地域に生息個体よりも寒冷地に生息する個体の方が尾など体の突出部が小さくなるというアレンの法則(Allen's Rule)が知られている。1877年に発表されたこの法則は、体温調節の関数としての手足など体の部位の割合における生態地理的解剖学的変化を予測している。それ以来、この現象は様々な動物種で検証されてきた。霊長類目のマカク類では、相対尾長(RTL)がアレンの法則を検証するために最も頻繁に測定される部位の1つである。今日まで、これらの研究は主に無作為に収集された博物館標本、または侵略的な方法による捕獲個体に頼っていた。スリランカ固有種のトクモンキー(*Macaca sinica*)は、3亜種が異所的に分布している。スリジャヤワルデネプラ大学人類学教室教授 Charmalie AD Nahallage (京大・理学博士)らとの共同研究によって、これらのうち低地乾燥地域から中間地帯に生息する *M. s. sinica* と 1500m 以上の高山帯に生息する *M. s. opisthomelas* では、尾長が異なることが観察されている。本研究は、トクモンキー亜種分類の形態的特徴のひとつである尾長に着目して、アレンの法則の検証を試みようと考えた。マカカ属のサルでは同じ種群に属し、異所的分布する種の間でアレンの法則と考えられる尾長の変化が認められるが、種内でアレンの法則を研究できるのはトクモンキーにおいて他にない。本研究の目的はトクモンキーを用いて、アレンの法則を明らかにすることである。



本研究は、上述した標本や捕獲個体の収集における制約を少なくするためオープンソースの2D-CADアプリケーションであるLibreCADで処理されたデジタル写真を使用して、新しい非侵襲的手法を設計および検証しました。これを使用してピクセル化測定値を生成し、RTL相当物、すなわち尾部から幹部への指標(TTI) = 尾部(尾部付け根から前端まで)のピクセル数 / 胴体(首のつけ根から尾部までのピクセル数) × 100)を計算しました。海拔7から2087mの間の36か所からの259個体の野生トクモンキー(*Macaca sinica*)のTTIを分析に使用した。サンプルは、それらが自然に分布しているすべての高度気候帯を表す場所で、3つすべての推定亜種(*M. s. sinica*, *M. s. aurifrons* と *M. s. opisthomelas*)から収集した。これらのデータは、高度が上がるにつれてRTLが減少することを予測しながら、アレンの法則を検証するために使用された。我々の結果はこの予測を強く支持した。高度と年間平均気温の間には、統計的に有意な負の相関もあった。TTI指数の最良の予測因子は標高だった。この非侵襲的方法是、相対的な体の部位(尾、胴体)の割合の迅速な形態計測評価のための有効な方法であり、野生動物にも応用できるという点で、形態学的特徴および霊長類におけるそれらの進化の研究に利用できる材料の範囲を広げることができた。

【スリランカ産オナガザル科3種の比較系統地理学を目指して】

本研究では、トクモンキーの亜種分類や分布域による尾長変化を、トクモンキーの系統地理との関係で理解することを目指し、研究助成期間中も従来と同じ方法で島内各地のトクモンキ



本研究は、上述した標本や捕獲個体の収集における制約を少なくするためオープンソースの2D-CADアプリケーションであるLibreCADで処理されたデジタル写真を使用して、新しい非侵襲的手法を設計および検証しました。これを使用してピクセル化測定値を生成し、RTL相当物、すなわち尾部から幹部への指標(TTI) = 尾部(尾部付け根から前端まで)のピクセル数 / 胴体(首のつけ根から尾部までのピクセル数) × 100)を計算しました。海拔7から2087mの間の36か所からの259個体の野生トクモンキー(*Macaca sinica*)のTTIを分析に使用した。サンプルは、それらが自然に分布しているすべての高度気候帯を表す場所で、3つすべての推定亜種(*M. s. sinica*, *M. s. aurifrons* と *M. s. opisthomelas*)から収集した。これらのデータは、高度が上がるにつれてRTLが減少することを予測しながら、アレンの法則を検証するために使用された。我々の結果はこの予測を強く支持した。高度と年間平均気温の間には、統計的に有意な負の相関もあった。TTI指数の最良の予測因子は標高だった。この非侵襲的方法是、相対的な体の部位(尾、胴体)の割合の迅速な形態計測評価のための有効な方法であり、野生動物にも応用できるという点で、形態学的特徴および霊長類におけるそれらの進化の研究に利用できる材料の範囲を広げることができた。

【スリランカ産オナガザル科3種の比較系統地理学を目指して】

本研究では、トクモンキーの亜種分類や分布域による尾長変化を、トクモンキーの系統地理との関係で理解することを目指し、研究助成期間中も従来と同じ方法で島内各地のトクモンキ

一分布域で糞試料を採集し、系統地理学的解析に用いる遺伝マーカーであるミトコンドリア DNA の D-loop 領域の塩基配列データの蓄積を行った。

2018 年 9 月のスリランカ渡航では、霊長類系統地理学を担当する田中洋之（霊長類研究所・助教）とともにウバ州カタラガマ及び東部州パナマを調査し、試料採集を行った。Nahallage 教授の実験室にて、2018 年 2 月に採集した北中部州ミヒンターレ及び中部州ハサラカのトクモンキーと、カタラガマのグレイラングールの糞サンプルから DNA 抽出を行った。核ゲノムに挿入されたミトコンドリア様配列を誤増幅しないため次の様な 2 ステップの PCR 法を行った。最初にミトコンドリア DNA (mtDNA) の標的配列を含む 9000 ベースを一度に増幅するロング PCR を行い、次いでロング PCR の産物を用いて標的配列である D-loop 領域の PCR を行った。2 回目の PCR で得られた PCR 産物を日本に持ち帰り、当研究所で Applied Biosystems 社の塩基配列決定装置を用いて、約 1200 ベースの D-loop 領域の配列を決定し、データとして蓄積した。

中部州ハサラカは中間地帯であり、トクモンキーの低地亜種と高山帯亜種が隣接して分布する。この地帯で採集されたサンプルを用いて、遺伝子流動の実態を調査するためのマイクロサテライト DNA 分析の予備的な実験を行った。40 個のマイクロサテライト遺伝子座について、トクモンキーで利用可能な遺伝子座の探索を開始した。現在もこの実験は継続している。

スリランカのオナガザル科では、トクモンキーの他にはムラサキガオラングールやグレイラングールがいる。前者は生息地環境の違いにより亜種分類がなされているが、低地に広く分布する後者では亜種の分類がない。これら 2 種のラングールについても島内分布域の系統地理的な分析を行い、トクモンキーをふくめた比較系統地理学の観点で、スリランカのオナガザル科の進化を研究する必要があると考えて、スリランカにおける調査ではラングール 2 種のサンプリングも行った。予備的に、ミヒンターレ及びパナマ産グレイラングールの mtDNA のチトクローム b 遺伝子と D-loop 領域の塩基配列を決定した。2019 年 3 月の渡航で、スリランカ北部のこれまで調査を行っていない地域を一週間ほどかけて、サル分布及び試料採集調査を実施した。今後、mtDNA およびマイクロサテライト DNA 解析を行い、オナガザル科 3 種のスリランカにおける系統地理を解明していく計画である。