

| | |
|---------------|--|
| 氏 名 (本 国 籍) | 山本 彩織 (和歌山県) |
| 学 位 の 種 類 | 博士 (農学) |
| 学 位 記 番 号 | 農博甲第 6 6 5 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 2 9 年 3 月 1 3 日 |
| 研 究 科 及 び 専 攻 | 連合農学研究科 生物生産科学専攻 |
| 研究指導を受けた大学 | 岐阜大学 |
| 学 位 論 文 題 目 | ライチョウの生息域外保全に向けた繁殖生理の解明 と性判別法の確立に関する研究 |
| 審 査 委 員 会 | 主査 岐阜大学 教 授 岩 澤 淳 副査 岐阜大学 教 授 土 井 守 副査 静岡大学 教 授 高 坂 哲 也 副査 岐阜大学 准教授 楠 田 哲 士 |

論 文 の 内 容 の 要 旨

ニホンライチョウ (*Lagopus muta japonicas*) は、キジ目ライチョウ科ライチョウ 31 亜種のうちで世界最南端に生息する亜種であり、日本の重要な固有種であるが、地球温暖化の影響を受けて絶滅の危機に瀕している種であることが強く懸念されている。そのため、国内では近年生息域内外での保全の取り組みが進められているが、生息域外保全を行う動物園ではいまだに繁殖学的・生理学的なデータが極めて少ない現況にある。そこで本研究では、まず飼育下で既に繁殖が成功している同じライチョウ科の亜種であるスバルバルライチョウ (*L. m. hyperboreus*) を用いて、各動物園で飼育されている異なる光線管理下での個体の内分泌状態を調査し、さらにはそのモニタリング結果から得られた生理学的な知見から、外的な環境の変化に伴う生殖腺活動、換羽の発現並びに体重の変動などへの影響を解明した。さらにこれらの結果をニホンライチョウの生息域内外の保全に応用するために生息域内で採取した排泄糞から DNA を抽出して PCR 法によって性判別を行い、一方で性ステロイドホルモン代謝物を同じ糞試料から抽出して酵素免疫測定法により測定して、雌雄各個体の糞中のステロイドホルモン含量の動態を調査して内分泌状態の把握を試みた。

本研究では、先ずスバルバルライチョウの内分泌動態を非侵襲的に行う糞試料に関して腸糞と盲腸糞でモニタリングを試み、モニタリングを行う試料としては腸糞の方が適切であることを明らかにし、次に飼育下スバルバルライチョウの腸糞から長期間内分泌モニタリングを行い、照明条件や外気温などの環境からの刺激が内分泌活動へ大きな影響を与え、その結果本種の繁殖行動、肉冠の形態、換羽に伴う外観および体重と採食量に明確な変化をもたらしていることを解明した。これらの内分泌学的な知見をニホンライチョウに応用するため、先ずライチョウの糞由来 DNA を用いた PCR 法による性判別方法を検討し、これまでに鳥類で報告されている P2/P8 と 2550F/2718R のプライマー 2 種を用いて性

判別を行った結果、2550F/2718Rの方がP2/P8よりも本種の性判別に適していることを明らかにした。その検討を行った上で、さらにこの2550F/2718Rプライマーからの増幅産物のシーケンスデータを基にプライマーLm-F/Lm-Rを設計し、Z染色体由来増幅産物の増幅率を上げて性判別率を向上させた。さらに、野生ニホンライチョウの内分泌動態の状況を雌雄別に把握するために、生息地内で採取した糞試料をLm-F/Lm-Rプライマーを用いてPCR法を行い雌雄を判定し、それと同時に雌雄の糞中のステロイドホルモン含量の動態を野生での繁殖行動学的知見と合わせて詳細に調査して、本種の季節的な生殖腺活動に関する知見を多く明らかにした。

これらの研究成果は、今後特に国内で進められるニホンライチョウの飼育下繁殖において極めて重要な知見を与え、今後の本種の生息域内外の保全に大いに貢献するものと考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

ニホンライチョウ (*Lagopus muta japonica*) は、キジ目ライチョウ科ライチョウ 31 亜種のうちで世界最南端に生息する亜種であり、日本の重要な固有種であるが、地球温暖化の影響を受けて絶滅の危機に瀕している種であることが強く懸念されている。そのため、国内では近年生息域内外での保全の取り組みが進められているが、生息域外保全を行う動物園ではいまだに繁殖学的・生理学的なデータが極めて少ない現況にある。そこで本研究では、まず飼育下で既に繁殖が成功している同じライチョウ科の亜種であるスバルバルライチョウ (*L. m. hyperboreus*) を用いて、各動物園で飼育されている異なる光線管理下での個体の内分泌状態を調査し、さらにはそのモニタリング結果から得られた生理学的な知見から、外的な環境の変化に伴う生殖腺活動、換羽の発現並びに体重の変動などへの影響を解明した。さらにこれらの結果をニホンライチョウの生息域内外の保全に応用するために生息域内で採取した排泄糞から DNA を抽出して PCR 法によって性判別を行い、一方で性ステロイドホルモン代謝物を同じ糞試料から抽出して酵素免疫測定法により測定して、雌雄各個体の糞中のステロイドホルモン含量の動態を調査して内分泌状態の把握を試みている。

本研究は4章からなり、第1章ではスバルバルライチョウの内分泌動態の非侵襲的なモニタリング試料としての糞中のステロイドホルモン代謝物含量についての調査、第2章では非侵襲的に飼育下スバルバルライチョウの内分泌動態の長期モニタリング調査、第3章ではライチョウの糞由来 DNA を用いた PCR 法による性判別方法の確立、第4章では野生ニホンライチョウの雌雄判別とそれらの内分泌動態を検討し解明している。

第1章では、スバルバルライチョウの内分泌動態を非侵襲的に行う糞試料に関して腸糞と盲腸糞でモニタリングを試み、モニタリングを行う試料としては腸糞の方が適切であることを明らかにした。第2章では、飼育下スバルバルライチョウの腸糞から長期間内分泌モニタリングを行い、照明条件や外気温などの環境からの刺激が内分泌活動へ大きな影響を与え、その結果本種の繁殖行動、肉冠の形態、換羽に伴う外観および体重と採食量に明確な変化をもたらしていることを解明した。第3章では、

ライチョウの糞由来 DNA を用いた PCR 法による性判別方法を検討し、これまでに鳥類で報告されているプライマーには P2/P8 と 2550F/2718R があるが、2550F/2718R の方が P2/P8 よりも本種の性判別に適していることを明らかにした。その検討を行った上で、さらにこの 2550F/2718R プライマーからの増幅産物のシーケンスデータを基にプライマー Lm-F/Lm-R を設計し、Z 染色体由来増幅産物の増幅率を上げて性判別率を向上させた。さらに第 4 章では、野生ニホンライチョウの内分泌動態の状況を雌雄別に把握するために、生息地内で採取した糞試料を第 3 章で作製したプライマー Lm-F/Lm-R を用いた PCR 法により雌雄を判定し、同時に雌雄の糞中のステロイドホルモン含量の動態を野生での繁殖行動学的知見と合わせて詳細に調査して、本種の季節的な生殖腺活動に関する知見を多く明らかにすることができた。これらの研究成果は、今後特に国内で進められるニホンライチョウの飼育下繁殖において極めて重要な知見を与え、今後の本種の生息域内外の保全に大いに貢献するものと考えられた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

【基礎となる論文】

・ Yamamoto S, Kusuda S, Horiguchi M, Ishihara Y, Doi O. Seasonal changes in supraorbital comb characteristics and fecal testosterone levels in captive male Svalbard rock ptarmigans (*Lagopus muta hyperboreus*). Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 21(2): 41-45, 2016.

・ 山本彩織, 楠田哲士, 高橋幸裕, 堀 秀正, 堀口政治, 石原裕司, 土井 守. スバルライチョウの排泄糞中の性ステロイドホルモン値とその動態における腸糞中と盲腸糞中の比較. 日本野生動物医学会誌. 20(3): 51-55, 2015.

【その他の論文】

・ Yamamoto S. Mechanisms affecting reproduction and ornament expression in male Tetraonidae birds. Reviews in Agricultural Science. 4: 1-7, 2016.