

## 大型類人猿生息地の人為的攪乱における集団遺伝学的・生態学的研究

Population Genetical and Ecological Study on Disturbance in Great Ape's Habitat.

京都大学霊長類研究所 共同利用研究員 嶋田 誠

The Cooperation Research Program of Primate Research Institute, Kyoto University.

Makoto K. SHIMADA

The primary forest intensively used by a chimpanzee group at Bossou, which have been studied since 1976 by a research team of Kyoto University, Primate Research Institute, is rather small (about 1km<sup>2</sup>) and does not connected with other primary forest. The home range of Bossou group is about 10 km<sup>2</sup> and located in peripheral area of Nimba Mountain forests. About five-km distance with savanna area separates both forests. According to the demographic record of the group since 1976 (Sugiyama 1999), most of the individuals born in Bossou group disappeared from the group before maturation. On the contrary, the record of immigration shows only one male immigrant, two visitor males, and no female immigration. The habitat circumstance and the demographic record suggest a potential threat of genetic deterioration of the wild chimpanzee group.

The purpose of this study is to judge genetic deterioration and to reveal the degree of gene flow between Bossou group and groups in the Nimba Mountains.

I surveyed Nimba Mountains from three approaches, and confirmed existence of chimpanzee group at each of the three sites in Nimba Mountains. Using corrected hair, feces, and urine samples, I am typing microsatellite loci.

### 1. 研究目的

人為的な攪乱による野生動物の生息域の分断化は、世界各地でますます加速されている。集団サイズの小さな個体群は大きな個体群に比べて絶滅する確率が高い(Berger 1990)ことから、本来、広い範囲で遺伝子の交換をおこなってきた種では、人為的攪乱による繁殖集団の細分化は、集団の存続に致命的な影響を及ぼす危険がある。類人猿では森林に依存しているため、森林伐採による人為的な生息地断片化を受けやすく、また人目につく場所での移動は困難なため、孤立の危険が高いと考えられる。ところが、そのような研究は充分になされていない。

1976年より継続的に観察されてきたギニア共和国のボッソウ (Bossou) 村のチンパンジー集団においては、観察開始当初より、限られた範囲 (約10km<sup>2</sup>) を少数個体 (約20頭) からなる群れで遊動していた。十数年ほど前から生息地周辺の開発により、近隣の群れとの移動が困難になり、同時に、近隣のいくつかの群れの消息が途絶えるようになった(Sugiyama 1991)。

また、一般に他のチンパンジー集団でメスが出生群を出て他群へ移籍し、オスは出

生群にとどまりテリトリーを防衛するという社会構造をとる (Goodall 1986; Nishida (ed.) 1990)のとは異なり、ボッソウの群れでは、両性とも一定の年齢に達すると出生群から姿を消している(Sugiyama 1991,1999)。この現象と群れの孤立化との関連は、ほとんど知られておらず、解明する必要がある。

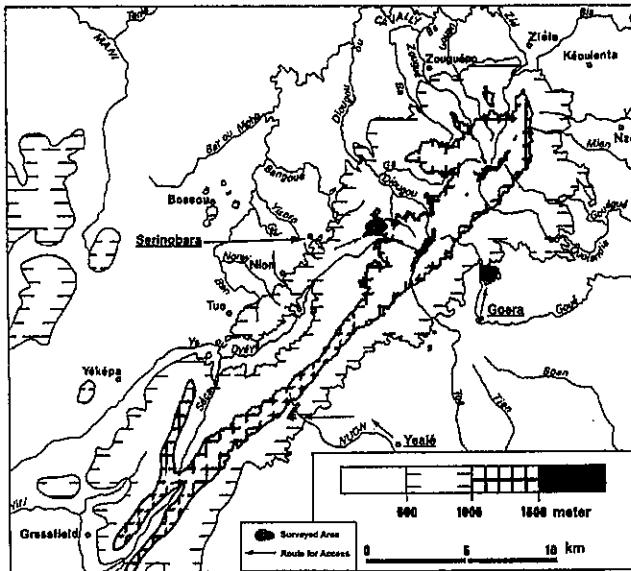
そこで、本研究はボッソウの群れとその比較的近隣に生息しているいくつかのチンパンジーの群れから多数個体の体毛試料を採取し、群れごとの遺伝子の構成を標識として、(1)群れ間の移住の程度を推定することと、(2)ボッソウ群と近隣の群れとの間でそれぞれの群れの遺伝的変異性を算出し、孤立化に伴う遺伝的変異性の低下と両性における移出との関連を解明することを目的とする。

### 2. 研究経過

野外調査 ;

Bossou, Nimba山地 (Seringbara, Goera, Yeale)の調査;

Bossou群から最も近い他群はNimba山地の群れであると考えられている。Bossouの小森林は村に近接した標高差約200mの小山群に位置するのに対し、Nimba山地はそ



の約220 km<sup>2</sup>の地域がユネスコの世界遺産に定められて保護されており、標高約800mから1752mの山頂までの地帯を除いた約170km<sup>2</sup>は森林である (Matsuzawa & Yamakoshi 1996)。両者の森林は数kmのサバンナ植生によって隔てられている。以下のように、2回にわたり野外調査を行った。

第1回現地調査 (99年1 - 3月: 文部省科研費 #10041168 代表者 杉山幸丸) ;

おもに共同研究者の早川祥子とともに Bossou群のチンパンジーの追跡と試料 (体毛、糞、尿) 採取を行った。この時点で、Bossou群の全構成個体 21頭の試料を採取した。また、Nimba山のうちGoeraサイトの痕跡調査およびSeringbaraサイトの予備調査を行った。

第2回現地調査 (99年9 - 10月: COE形成基礎研究費 #10CE2005 代表者 竹中修) ;

おもにNimba山地の3地点 (Seringbara, Goera, Yeale) の痕跡調査及び試料採取を行った。

痕跡調査の結果、Seringbaraサイトにチンパンジーが生息していることが痕跡とチンパンジーの音声によって確かめられた。Goeraサイトは、集中的にチンパンジーに

使われる時期とそうでない時期があることが示唆された。Yealeサイトでは、棒を使ったアリ釣りをに行った痕跡が発見された。

試料採取 ; 採集した数

Bossou; 全21個体

Seringbara, Nimba; 45 Hair samples

Goera, Nimba; 1 Hair samples

Yeale, Nimba; 12 Hair samples

実験条件の最適化 ;

PCR条件の検討 ; 反応液組成 (マグネシウムイオン濃度、7-deaza dGTPの有無等)、アニリング温度、泳動条件などを検討した。PCR Mixture (FABP, Pla2A); 2mM Mg<sup>2+</sup> - 0.2 mM each dNTP (7-deaza dGTP used instead of dGTP) - 0.2μM each primers - 1μM IRD-40 dATP - 0.25U TaKaRa Taq - about 4ng template genome DNA /1 x PCR Buffer.

PCR Mixture (Rena4); 2mM Mg<sup>2+</sup> - 0.2 mM each dNTP - 0.095% deionized formamide - 0.2μM each primers - 1μM IRD-40 dATP - 0.25U TaKaRa Taq - about 4ng template genome DNA /1 x PCR Buffer.

PCR Reaction (FABP); initial denaturation 94°C 3min. - (denaturation 94°C 1min - annealing 56°C 1min - extension 74°C 2min.) x 35

PCR Reaction (Pla2A); initial denaturation 94°C 3min. - (denaturation 94°C 1min - annealing 58°C 1min - extension 74°C 2min.) x 35

PCR Reaction (Rena4); initial denaturation 94°C 3min. - (denaturation 94°C 1min - annealing 64°C 1min - extension 74°C 2min.) x 35

#### DNA試料の調整;

京都大学霊長類研究所 (PRI) のチンパンジーについて、おもに実験条件最適化のため用いるために、血液試料及び体毛試料からそれぞれDNAを抽出した。血液試料はフェノール・クロロホルム法により、体毛試料はIsohair (ニッポンジーン) を用いた。野生由来の試料については、現在体毛試料の一部を用いてDNA抽出を行った。

#### タイピング;

現在のところ暫定的にタイピングをしており、表の通りである。

PRIのチンパンジー血液由来DNAサンプルの条件では、野生チンパンジーの体毛試料由来DNAサンプルのタイピングは困難であることが、判明した。原因は調査中であるが、血液由来DNAサンプル使用時の条件よりアニーリング温度を下げて行うことで、この問題を回避しようとしている。

### 3. 研究成果

#### 野外調査;

従来より、Nimba山地に生息するチンパンジーが最も地理的に近接していると考えられ、1991年には杉山によりGoeraが (Sugiyama 1995)、1993年には松沢と山越によりYealeの調査が始められた (Matsuzawa & Yamakoshi 1996)。これら2地点はNimba山地の中でも、Bossou側から見ると山脈峰筋のサバンナ植生地帯を越えた反対側斜面にあたり、Bossouから移出した個体が直接到達するには距離があった。ところが、今回の調査で新たに加えたSeringbaraは、BossouからNimba山地へいたる最短ルートの途上にあり、Bossouの移出個体が直接通過する可能性が高い地域である (地図参照)。

実験条件の最適化を一部の領域で行った。タイピングは現在行っている途中である。

#### 4. 今後の課題と発展

Seringbaraサイトにチンパンジーが生息していることが確認されたことで、Bossouで突然姿が見られなくなった個体が移出したことを、直接観察により実証すべく、新サイトに観察ステーションを設置し、同調査隊の別メンバーが調査中である。今後、直接観察が達成された際には、個体のDNA判定が必要になると思われる。

PRI		Mr	Pa	Cl	Rk	RO	GN	Pa	Po	Pu	AK	AT	Ai
FABP 表現型	1-4	1-7	1	1-4	1	4	4-7	1-4	1-7	1-4	1-4	4	
Pla2A 表現型	133	127-136	139-152	130	130-133	133	133-139	133-139	139	136	125-136	125-139	
Rena4 表現型	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

Bossou				Nimba										
標本名	D24	D25	D26	D27	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Y1	Y2	Y3	Y4
FABP 表現型	A-C	A-B	?-?	A-B	Y-A	A	Z-B	Z-B	B-D	B-D	B-C	A-C	Z	A-?

Pla2A 表現型

Rena4表現型

持ち帰ったサンプルの数は目的を達成するのに不足ないと思われるが、現状では、検査したマイクロサテライト遺伝子座の数が少なく、本研究の目的を達成してはいない状況である。今後遺伝子座数を増やし、変異性の定量、means' Dの算出などにより、Bossou群の変異性低下の検証とBossou・Nimba間の移出入の頻度とその性別について、検証していく。

- Berger, J. (1990) Persistence of different-sized populations: An empirical assessment of rapid extinctions in bighorn sheep. *Conservation Biology* 4: 859-866.
- Goodall, J. (1986) *The Chimpanzees of Gombe: Patterns of Behavior*, Harvard Univ. Press. Cambridge, Massachusetts.
- Matsuzawa, T., Yamakoshi, G. (1996) Comparison of chimpanzee material culture between Bossou and Nimba, West Africa. In: *Reaching into thought: The mind of the great apes*, Russon, A.E., Bard, K.A., & Parker, S.T. (eds.). Cambridge University Press, Cambridge. pp. 211-232.
- Nishida, T. (ed.) (1990) *The Chimpanzees of the Mahale Mountains*. Univ. Press of Tokyo.
- Sugiyama, Y. (1991) Habitat Isolation and Population Structure of Wild Chimpanzees in and around Bossou, West Africa. In: *Wild conservation: Present Trends and Perspectives for the 21st Century*. Maruyama, N. et al. (eds.). Japan Wildlife Research Center, Tokyo. pp. 32-35.
- Sugiyama, Y. (1995) Tool-use for catching ants by chimpanzees at Bossou and Monts Nimba, West Africa. *Primates* 36: 193-205.
- Sugiyama, Y. (1999) Socioecological factors of male Chimpanzee migration at Bossou, Guinea. *Primates* 40: 61-68.

##### 5. 発表論文リスト

- SHIMADA, MK.: A Survey of Nimba Mountain, West Africa from three routes: confirmed new habitat and ant-catching wands use of chimpanzees. *Pan African News* 7 (1) (in press).
- SHIMADA, MK., NOZAWA, K., MIWA, N., & SHOTAKE, T.: Blood protein variations in chimpanzees, orangutans, gibbons, and humans. *The Journal of Animal Genetics* (accepted with revision).