

氏 名 米澤 隆弘

学位 (専攻分野) 博士 (理学)

学位記番号 総研大甲第 1079 号

学位授与の日付 平成 19 年 3 月 23 日

学位授与の要件 先導科学研究科 生命体科学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 The Phylogeny and Evolution of Arctoidea

論文審査委員 主 査 助教授 田辺 秀之
教授 長谷川政美
教授 颯田 葉子
助教授 足立 淳
教授 遠藤 秀紀 (京都大学)

Arctoidea is a clade in the order Carnivora, and consists of Mustelidae (weasels), Procyonidae (raccoons), Ailuridae (red pandas), Mephitidae (skunks), Ursidae (bears), Phocidae (seals), Odobenidae (walruses), and Otariidae (sea lions). Arctoidea is an ecologically, morphologically, and zoogeographically very diversified group. To understand the diversity of Arctoidea and the biological events occurred in the process of evolutionary history of this taxon, the phylogenetic tree provides us with the most basic and essential information. The higher level relationships among Arctoidea have been very complicated and enthusiastically discussed. During the last decade, morphological and molecular phylogenetic studies have gradually resolved that there are three major clades, Musteloidea (Mustelidae, Procyonidae, Ailuridae, Mephitidae), Pinnipedia (Phocidae, Odobenidae, Otariidae), and Ursoidea (Ursidae). However, phylogenetic relations of inter and intra clades are still unresolved. The purpose of this study is to resolve the phylogenetic relations among Arctoidea through analyses of the mitochondrial genomes and the multiple nuclear genes. In this study, I used the largest dataset up to now among the studies on this problem with the separate model which can take account of different tempos and the modes of evolution among different genes.

In chapter I, I mentioned about the diversity of Arctoidea and the phylogenetic position of Arctoidea among Carnivora. This chapter is the introduction of the whole thesis. The subsequent chapters deal with particular problems about the relations in each of the three major clades of Arctoidea. I mention about the phylogenetic relations and the evolution of Musteloidea in chapter II, that of Pinnipedia in chapter III, that of Ursidae in chapter IV. Finally, I mention the relations between Musteloidea, Ursidae, and Pinnipedia in chapter V on the basis of the preceding chapters.

The phylogenetic problems of Musteloidea can be focused on the deep branching of family Mustelidae and the phylogenetic relations among the families of Musteloidea. To resolve these problems, I determined the complete mitochondrial genomes of *Ailurus fulgens* (red panda), *Procyon lotor* (raccoon), *Martes melampus* (Japanese marten), *Enhydra lutris* (sea

otter), and *Meles meles* (Eurasia badger) and several nuclear genes of arctoids. The family Mustelidae, which consists of Mustelinae (weasels, martens), Lutrinae (otters), Melinae (badgers), and Taxidiinae (American badgers), is the largest family among Carnivora and is a highly diverse group. My results strongly support the hypothesis that the Taxidiinae branched at first, followed by the branching of the Melinae. After that, Mustelinae diversified, and Lutrinae evolved within Mustelinae. About Musteloidea, the monophyly of Mustelidae+Procyonidae among Musteloidea was strongly supported. On the other hand, the relations between Mustelidae+Procyonidae, Ailuridae, and Miphitidae are still unclear. In my analysis, the Ailuridae/Mephitidae monophyly tree and the Mephitidae-basal tree are indistinguishable in log-likelihood score, and this problem remains unresolved.

Pinnipedia is a clade that has paddle-like limbs via aquatic adaptation and consists of Otariidae, Odobenidae, and Phocidae. Phocidae consists of the subfamily Phocinae and Monachinae. Moreover, Phocinae consists the tribe Phocini with 8 species, Cystophorini with single species, and Erignathini with single species. The relations among Phocini are complicated. In my result, the monophyly of subtribes Phocina (6 species) and of subtribe Histriophocina (2 species) in Phocini were strongly supported. The relations among Phocina remained ambiguous. The subfamily Monachinae consists of the tribe Monachinae with 2 species, Miroungini with 2 species, and Lobodontini with 4 species. In the relations of Lobodontini, the monophyly of *Hydrurga* and *Leptonychotes* was strongly supported, but phylogenetic positions of the other 2 species remained ambiguous. Otariidae consists of 2 genera with 9 species of fur seals and 5 genera with 5 species of sea lions. They distributes both in the northern hemisphere and the southern hemisphere. In my result, the monophyly of the otariid in the southern hemisphere was strongly supported. This is an unexpected clade in the previous studies. In addition, the otariid in the northern hemisphere became paraphyly and the closest outgroup, Odobenidae, distributes in the northern hemisphere. From this phylogenetic relations and from the information of the fossil record, I constructed the new scenario of the evolution and the

zoogeographical radiations of otariid. The origin of otariidae is probably in the northern hemisphere. One clade of otariids migrated to the southern hemisphere during the Late Miocene or Early Pliocene and explosively expanded their distribution area.

Ursidae consists of Ursinae with 6 species, Tremarctinae with a single species, and Ailuripodinae with a single species. The problem of Ursidae is the relations among Ursinae. To resolve this problem, I determined the mitochondrial genomes of *Ursus thibetanus* (Asiatic black bear) and *Ailuropoda melanoleuca* (giant panda). I inferred the relations among Ursinae, but these relations remained ambiguous, probably because of the rapid radiation. According to my estimations of the divergence times, the time between Ailuropodinae and the other ursid split was about 29 Ma, and the time of rapid evolutionary radiation was 12Ma. These times are remarkably older than those of previous studies.

The origin of Pinnipedia is a main problem in the evolutionary studies of Arctoidea and has been discussed enthusiastically in many research fields such as anatomy, paleontology and molecular phylogeny. In my result, the monophyly of Pinnipedia+Musteloidea was strongly supported. This is the first study that indicates this monophyletic relationship with a high statistical significance. Moreover, the monophyletic relationship of Pinnipedia/Musteloidea was not so influenced by the taxon sampling. In these meanings, the result of this study is robust and stable. The time of Ursidae/(Musteloidea+Pinnipedia) split was estimated at about 40Ma and the time of Musteloidea/Pinnipedia split was estimated at about 37Ma. These estimations of divergence dates were discussed in the context of the fossil evidence.

論文の審査結果の要旨

アークトイド (Arctoidea) は哺乳綱食肉目に属するクレードであり、①イタチ類 (イタチ上科)、②齧脚類、③クマ類の3つのグループから構成されている。それぞれのグループの科レベルでの分類群は、①イタチ上科: イタチ科、アライグマ科、レッサーパンダ科、スカンク科、②齧脚類: アザラシ科、セイウチ科、アシカ科、③クマ類: クマ科となっている。アークトイドは極地から熱帯雨林地帯に至るまで地球上のほぼ全域に分布しており、さらに齧脚類およびイタチ科の一部では海洋にまで生息域を広げている。その食性も肉食から草食まで幅広く、アークトイドは形態学的にも、動物地理学的にも、生態学的にも非常に多様なグループであり、その進化過程で生じた生物学的イベントを理解するには信頼できる系統樹を構築する必要がある。しかしながら、現在までにアークトイド内部の系統関係に関しては、多くの系統仮説が出されており、統一見解が得られていないのが現状である。そこで、本博士論文では、アークトイド内部の系統進化を分子レベルで明らかにすることを目的として、それぞれの科レベルでの代表種から Total genomic DNA を抽出し、PCR法により目的とする遺伝子領域の増幅、精製を行った後、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定して、最尤法による分子系統解析を行っている。解析対象とした遺伝子領域は、ミトコンドリア DNA の全コーディング領域および次に挙げる核由来の遺伝子領域である。TTR (intron 1: 784 bp)、IRBP (exon 1: 1272 bp)、RAG1 (exon 1: 1092 bp)、APOB (exon 26: 960 bp)、type I STS markers (exons: 966 bp, introns: 1049 bp)、SRY (exon and intron) (これらの核遺伝子の一部は、グループによって解析を省略しているものもある)。

本論文の構成は5つの章から成り、第1章では、アークトイドの生物学的な特徴と、これまでの系統関係に関する問題点について記載しており、第2章から第4章までは、①イタチ上科 (第2章)、②齧脚類 (第3章)、③クマ類 (第4章)、それぞれのグループ内部における分子系統解析の結果と考察が述べられている。最後の第5章では、アークトイド全体の分子系統解析に関する考察がなされており、特に齧脚類の起源に焦点を当ててまとめられている。

まず①イタチ上科における分子系統解析の結果から、1) イタチ科の初期進化における系統関係を明確にすることができたこと (ニホンテン、アメリカテン、クズリ、ミンク、カナダカワウソ、ラッコ、ニホンアナグマ、アメリカアナグマの系統関係)、2) イタチ科とアライグマ科の単系統性が強く支持されたこと、3) イタチ科+アライグマ科、レッサーパンダ科、スカンク科の系統関係は今回用いたデータからは不明であること、などが述べられており、イタチ上科内部の系統関係がかなり明らかにされ、始新世・漸新世の境界付近から現存する種の多様化が生じたものと考察している。

次に②齧脚類における分子系統解析の結果から、4) アシカ科内部において、南半球に分布するアシカが単系統であること、具体的には、ミナミアメリカオットセイ、ニュージーランドオットセイ、グアダルペオットセイ、オーストラリアアシカ、ニュージーランドアシカ、ミナミアフリカオットセイ、オタリアの単系統性が明らかにされたこと、5) アシカ科とセイウチ科の単系統性が強く支持されたこと、6) アザラシ科内部の系統関係を明確

にすることができたこと、などが報告されており、特に核遺伝子を用いた場合に total ML 法により系統樹を作成することがより適正な系統樹作成に有用であった点が論じられている。またこの章では、中新世における鰭脚類化石データの年代も考慮し、鰭脚類の祖先集団における、①海生適応、②北半球での適応放散と分布の拡大、③北半球から南半球への進出、④南半球での適応放散と分布の拡大、という 4 つの過程を海流図を用いて考察しており、分子系統と化石年代、古代地球海洋環境を考慮した、興味深いシナリオを提唱している。

さらに③クマ類における分子系統解析の結果から、7) ホッキョクグマとヒグマの単系統性が強く支持されたこと、8) ジャイアントパンダとその他のクマ科の分岐は約 3000 万年前と推定され、従来の推定値よりも大幅に古いことが示唆されたこと、9) ジャイアントパンダの分岐後、急速な種分化が生じたが(アメリカクロクマ、ツキノワグマ、マレーグマ)、その系統関係は今回用いたデータからは不明であること、が報告されている。

最後に、鰭脚類の起源に関して、10) イタチ上科と鰭脚類が単系統であることが強く支持され、それはタクソンサンプリングによらず、安定して強固な結果であり、本研究で初めて統計的に有意な結果を出すことができたものと報告されている。

以上のように、本博士論文には 1) から 10) で示したような、多数の重要な新知見が盛り込まれており、アークトイド全体にわたって分子系統学的に明らかにされた点のみならず、特に鰭脚類の起源に関して、化石データや海流図も考慮して総合的に考察している点などで高い学術的価値を持っているものと考えられた。審査員一同により、本論文は博士(理学)に十分値するものと判断された。なお、「イタチ上科の起源と進化に関する分子系統学的研究」に関連する部分は、申請者を筆頭著者として、国際学術誌 *Gene* に掲載される予定 (accepted) である。