

哺乳類の分布拡大の経路を把握するために、しばしば遺伝解析が用いられる (Yamazaki 2018, 久保田ほか2021, Anderson 2021)。シカの分布拡大地域の一つである山形県では、ミトコンドリアDNA (以下 mtDNA) 解析の結果、南北異なる地域からのシカの移入が示唆された (佐藤ほか2013)。福島県では会津地方南部と栃木県日光市のシカの mtDNA 解析が行われ、会津地方南部のシカは出自の異なる2系統のハプロタイプを持つ個体が混在していることが明らかとなっている (藤間ほか2021)。

そこで本研究では、会津地方南部の結果を踏まえ、福島県内のシカの分布の最前線である裏磐梯地域の北塩原村で捕獲されたシカ個体を対象とした mtDNA 解析を行い、その由来を推定することを目的とした。

材料及び方法

1. サンプル採取

2021年8月18日に福島県北塩原村さくら小学校付近で捕獲されたシカ (ID: FKS21001) と、2021年

10月18日に福島県北塩原村二ノ沢で捕獲されたシカ (ID: FKS21002) の2個体から筋肉片を採取した (表1, 図1b)。使用したシカの筋肉片は、DNA抽出まで -20°C (冷凍保存) の条件下で99.5%エタノールで保存した。

2. DNA解析

DNA抽出は、DNeasy Blood & Tissue Kits (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて行った。シカの筋肉片及び耳片約25mgを破碎後、Kitの標準プロトコルに従って行った。抽出したDNAを使用し、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって mtDNA の調節領域を増幅した。PCRプライマーや条件については藤間ほか (2021) に従った。その後精製産物 $2\mu\text{L}$ に $10\mu\text{M}$ の上記のプライマー $0.96\mu\text{L}$ 、および滅菌水 $20\mu\text{L}$ と混合し、ユーロフィンジェノミクス株式会社に送付してシーケンスを委託した。シーケンス反応においては、Nagata et al. (1998) と Nabata et al. (2004) で用いられた以下の4つのプライマーを使用した; L15926 (5

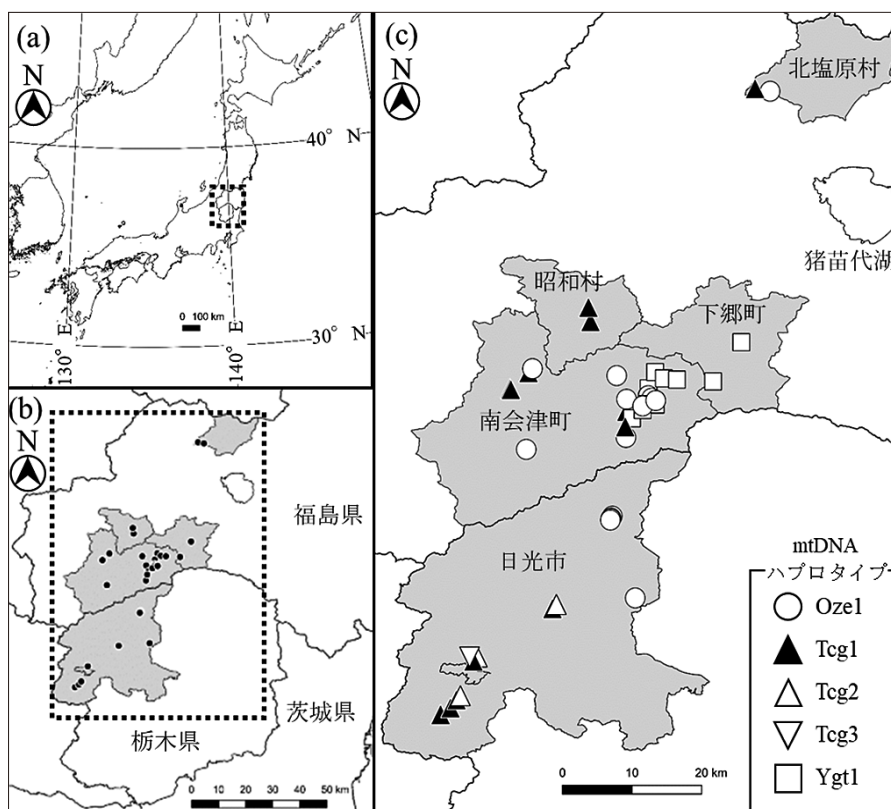


図1. 研究の調査地域とハプロタイプ分布 (藤間ほか2021を一部改変)

(a) 日本列島における本研究の地域。(b) 福島県と栃木県における本研究の調査地域。黒点はサンプル捕獲地点を示す。(c) 各個体のハプロタイプの詳細。一部ハプロタイプについては地点が重複していたため若干の調整を行った。

‘-CTAATACACCAGTCTTGTAACC-3’), LD15 (5’-TATATGCCCATGCTTATAAGC-3’), HD8 (5’TTGACTTAATGCGCTATGTA-3’), H597 (5’-AGGCATTTTCAGTGCCTTGCTTTG-3’)。また捕獲個体の性別を判別するため, Yamauchi et al. (2000) の手法を用いた。

3. データ解析

得られた塩基配列データは, GeneStudio Pro 2.2 (GeneStudio, Inc. 2016) を用いてアラインメントを行った。また北塩原村の2個体のハプロタイプを比較するために藤間ほか (2021) で使用されているシカ119個体をデータ解析に追加した。その後, GeneStudio Pro 2.2 (GeneStudio, Inc. 2016) を用いて全配列を整理させた。ハプロタイプの決定には, DnaSP ver. 5.10.1 (Rozas and Rozas 1995, Librado and Rozas 2009) を用いて行った。

結果と考察

裏磐梯地域の北塩原村で採取された2個体のmtDNAからは, 2種類のハプロタイプが確認された。(表1, 図1)。FKS21001のハプロタイプはTcg1_R6a, FKS21002のハプロタイプはOze1_R6cであった(アクセッション番号 LC717510, LC717511 DDBJ, DNA Data Bank of Japan)。また, 本研究および藤間ほか (2021) から7種類のハプロタイプが確認された(表2)。

今回の結果から, 北塩原村においても会津地方南部と同様に長い間遺伝的に交流のない2系統のハプロタイプを持つシカ個体が存在していることが明らかとなった。このことは, 会津地方南部で形成されたシカ集団が北塩原村へと北上している可能性が高いことを

示唆している(図1)。なお, 山形県や宮城県, 岩手県で捕獲されたシカのmtDNAハプロタイプとは不一致であったため, 福島県以北よりシカが南下してきた可能性は低いと考えられる(佐藤ほか2013)。このままシカが北上を続けることによって, 北塩原村あるいは裏磐梯地域に遺伝的多様性の高い集団が定着してしまうと, 国の天然記念物である雄国沼湿原植物群落などへの侵入と生態系への影響が懸念される。実際に, 北塩原村役場農林課によれば, 2021年11月中旬にはメス成獣(緯度経度, 37°39'27.2"N 139°56'43.4"E), 2022年2月初旬にはメス成獣(37°39'35.5"N 139°56'48.9"E), 2022年2月中旬にはオス成獣1頭とメス成獣複数頭(37°39'55.2"N 139°57'36.7"E)が目撃されている。メスの成獣の目撃情報が多いことは, 現在までに分布の拡大が進み, ある程度の規模の集団が既に定着していることを示唆しているのかもしれない。シカによる生態系への被害を最小限に抑えるために, 遺伝情報を有効活用し, 個体数管理やモニタリングを継続して行う必要がある。

謝 辞

本研究を行うにあたり, 北塩原村鳥獣被害対策実施隊および北塩原村役場農林課にはサンプルを提供していただきました。また, 北塩原村役場農林課にはシカの分布状況に関する情報を提供していただきました。本研究の一部は福島大学重点研究分野foR-Fプロジェクトの助成を受けたものです。

引用文献

Anderson, D., Negishi, Y., Ishiniwa, H., Okuda, K., Hinton, T. G., Toma, R., Nagata, J., and Kaneko, S. (2021). Introgression dynamics

表1. 本研究で使用したニホンジカサンプルのサンプリング情報とmtDNAハプロタイプ

サンプルID	性別	捕獲場所	捕獲日	mtDNAハプロタイプ	Accession No.
FKS21001	メス	福島県北塩原村さくら小学校付近	2021.8.18	Tcg1_R6a	LC717510
FKS21002	オス	福島県北塩原村二ノ沢	2021.10.18	Oze1_R6c	LC717511

表2. 本研究と藤間ほか2021で確認された各地域のmtDNAハプロタイプ

地域名	n	N _{hap}	mtDNAハプロタイプ						
			Oze1_R6c	Oze1_R7a	Tcg1_R6a	Tcg1_R7b	Tcg2_R7b	Tcg3_R6a	Ygt1_R6a
北塩原村	2	2	1	0	1	0	0	0	0
会津地方南部 ¹	58	3	37	0	7	0	0	0	14
日光市	61	6	5	1	45	1	7	2	0

n, サンプル数; N_{hap}, ハプロタイプ数。¹会津地方南部には南会津町, 昭和村, 下郷町が含まれる。

- from invasive pigs into wild boar following the March 2011 natural and anthropogenic disasters at Fukushima. *Proceedings of the Royal Society B*, 288, 20210874.
- 尾関雅章・岸元良輔 (2009) 霧ヶ峰におけるニホンジカによる植生への影響：ニッコウキスゲ・ユウスゲの被食圧. 長野県環境保全研究所研究報告, 5, 21-25.
- 環境庁 (1978) 第2回自然環境保全調査 動物分布調査報告書 (哺乳類) 7. 大蔵省印刷局, 東京.
- 環境省 (2021) 全国のニホンジカ及びイノシシの個体数推定の結果について. (<https://www.env.go.jp/press/109239.html>) 2022年7月3日確認.
- 久保田将之・永田純子・新井一司・小西清夏・溝口康 (2021) 東京都荒川河川敷において捕獲されたニホンジカのミトコンドリアDNAを用いた地域的な由来の推定. 森林防疫 FOREST PESTS, 70(5), 3-6.
- 小林春香・奥村修・石井桃花 (2022) 尾瀬地域におけるニホンジカの生息状況と植生被害および対策について. 低温科学, 80, 519-527.
- 佐藤真・中村一寛・玉手英利・門脇正史・遠藤好和・高槻成紀 (2013) 山形県で確認されたニホンジカ (*Cervus nippon*) の出自——ミトコンドリアDNA多型に基づく推定——. 哺乳類科学, 53(1), 131-137.
- 庄司亜香音・後藤拓弥 (2019) 尾瀬国立公園におけるニホンジカ対策. 水利科学, 62(6), 99-118.
- 藤間理央・高木俊人・斎藤涼我・千本木洋介・奥田圭・永田純子・兼子伸吾 (2021) 福島県会津地方南部において近年分布を拡大しているニホンジカ個体群の遺伝的組成とその起源. 野生生物と社会, 9, 57-64.
- 内藤俊彦・木村吉幸 (2007) 福島県域尾瀬におけるニホンジカ越冬状況について——平成17年度調査結果——. 福島生物, 50, 33-41.
- Nagata, J., Masuda, R., Kaji, K., Kaneko, M., and Yoshida, M. C. (1998). Genetic variation and population structure of the Japanese sika deer (*Cervus nippon*) in Hokkaido Island, based on mitochondrial D-loop sequences. *Molecular Ecology*, 7(7), 871-877
- Nagata, J., Masuda, R., Tamate, H. B., Hamasaki, S., Ochiai, K., Asada, M., Tatsuzawa, S., Suda, K., Tado, H., and Yoshida, M. C. (1999). Two genetically distinct lineages of the sika deer, *Cervus nippon*, in Japanese Islands: comparison of mitochondrial D-loop region sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13(3), 511-519.
- Nabata, D., Masuda, R., Takahashi, O., and Nagata, J. (2004). Bottleneck effects on the sika deer *Cervus nippon* population in Hokkaido, revealed by ancient DNA analysis. *Zoological Science* 21(4), 473-482
- 福島県 (2021) 福島県ニホンジカ管理計画 (第2期). (https://www.pref.fukushima.lg.jp/uploaded/life/609103_1687981_misc.pdf) 2022年7月3日確認.
- Yamauchi, K., Hamasaki, S. I., Miyazaki, K., Kikusui, T., Takeuchi, Y., and Mori, Y. (2000). Sex determination based on fecal DNA analysis of the amelogenin gene in sika deer (*Cervus nippon*). *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(6), 669-671.
- 山内貴義・工藤雅志・高槻成紀 (2007) 岩手県におけるニホンジカの保護管理の現状と課題. 哺乳類科学, 47(1), 39-44.
- Yamazaki, Y. (2018). Genetic population structure of sika deer, *Cervus nippon*, derived from multiple origins, around Toyama Prefecture of Japan. *Zoological science*, 35(3), 215-221.
- Librado, P., and Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Rozas, J., and R. Rozas (1995). DnaSP, DNA sequence polymorphism: an interactive program for estimating population genetics parameters from DNA sequence data. *Bioinformatics* 11(6), 621-625.

-
- 1 福島大学大学院共生システム理工学研究科 (〒960-1296 福島県福島市金谷川1)
 - 2 十日町市立里山科学館 越後松之山「森の学校」キョロロ (〒942-1411 新潟県十日町市松之山松口1712-2)