

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：84410

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16238

研究課題名（和文）シカ管理施策の影響評価：歯のコラーゲン・炭酸塩同位体分析による生態変化の検証

研究課題名（英文）Elucidating effects of management practices on deer by measurements of stable isotope ratio in bone-collagen and carbonates of deer teeth

研究代表者

原口 岳（Haraguchi, Takashi）

地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所（環境研究部、食と農の研究部及び水産研究部）・環境研究部・研究員

研究者番号：90721407

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：窒素・炭素・酸素の安定同位体分析を、農作物被害を引き起こすシカの分布とその変遷を明らかにする手法へ応用することを目的として、大阪府北摂地域で捕獲されたシカから得た試料の分析を実施した。シカのエサ植物の代表として野生植物であるササ・栽培作物であるイネの同位体組成を分析し、シカ捕獲地域におけるこれらエサ植物の同位体の分布を表す地図を作成した。耕作地付近で捕獲されたシカは高い窒素同位体比を示し、シカの窒素同位体比が農作物利用の指標となることが確認された。研究資料として保存されていたシカの歯から抽出した骨コラーゲンの分析によって、2008年以前の過去に遡って農作物加害の実相を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

農業被害の増加に伴う野生動物の効果的な管理・防除施策に対する要請を背景として、安定同位体分析による近過去のシカと現在のシカの生態を、栽培作物の利用率に着目して比較する手法を開発した。本手法により、シカが大きく個体数密度を増やす前後における食性の違いを共通手法により比較することや、客観的な指標に基づいてシカによる農作物被害の実態を評価することが可能となった。今後、地域ごとの防除実施状況などの情報と組み合わせることにより、空間明示的な防除施策の立案に活用していくことが期待される。

研究成果の概要（英文）：Aiming at applying isotopic information for the elucidation of spatiotemporal changes of crop damages by sika deer, and for the management of crop-damaging individuals, tooth and hair were collected from deer harvested in Hokusetsu district, Osaka, Japan. In order to build spatially explicit isotope mixing model in particular for nitrogen isotope as the indicator of deer consumption of fertilized crop, this project employed isoscape, a geologic map of isotope ratios for the dwarf bamboo; a deer preferred wild plant, and rice; a crop as surrogates of food sources of deer. Based on the approach, deer harvested close to cropland showed high nitrogen isotopic ratio, which was at least partly ascribed to the consumption of  $^{15}\text{N}$  enriched crop. As exemplified in this project, this method enabled to trace back the process to induce crop damage by the deer, based on the isotope measurements of stored deer specimens.

研究分野：生態学

キーワード：生態系管理 鳥獣被害対策 安定同位体分析 同位体地図（アイソスケープ） 空間明示的な管理計画

## 1. 研究開始当初の背景

特定鳥獣保護管理計画策定のためのガイドラインには、野生動物の管理は順応的であること、つまり農業被害状況や個体数に応じて管理施策を改善・修正することが求められている。かつて一部地域で捕獲禁止されるまでに減少した一方、過去20年以上にわたって農業被害と自然植生の衰退をもたらしてきたニホンジカ (*Cervus nippon*, 以下、シカ) においても、順応的管理を実現することは極めて重要である。特に、捕獲頭数などの短期的な数値目標の達成が真に有効であったかは、到達目標に立ち返って多角的に検証される必要がある。たとえば被害防除は、生息地や採餌といったシカの生態を変化させ、シカが農業にもたらすリスクを抑制する。さらに、これら施策はシカをエサ資源から遠ざけ、増殖を抑制する効果もある。他方、局所的な捕獲の強化は、個体の移動を介して、被害地域の集中のような予期せぬ反応をもたらす場合がある。管理施策の究極的目標はシカに起因する社会経済的リスクの抑制であることに鑑みれば、個体数減少のみを施策の効果とすべきではなく、シカの生態の継続観測に基づく施策の評価が求められている。しかし、通時的にシカの生態を比較するうえでは、下記の障害がある。第一に、シカに関わる社会経済的問題が顕在化するまでは、農業被害をもたらすシカ個体の生態については調査がおこなわれてこなかった。第二に、調査手法が多様であり、地域毎に手法が異なることが比較を困難にしている。また、調査者に起因する観測誤差のため、過去の別の調査者による調査との比較も困難である。第三に、通時的に生態情報を蓄積し共有する基盤が整備されていない。これらの理由から過去と現在のシカの生態を比較できないことが、シカの順応的管理を実現するうえでの障害となってきた。

## 2. 研究の目的

本研究では「野生動物管理施策の強化が、シカの生態をどのように改変したのか？」を明らかにすることを目標として、シカの歯に同位体を用いた考古学的アプローチを適用し、近過去と現在のシカの生態を共通尺度で比較することを目的とした各種の手法開発をおこなった。研究開始当初、各手法を精査した結果、炭素窒素安定同位体分析が生態学一般に用いられている手法であったのに対し、酸素同位体比の分析は分析手法上の課題が残されていることが明らかになったため、特に窒素安定同位体分析 ( $\delta^{15}\text{N}$  値) を中心として、シカにとってのエサ資源の示す同位体比の空間分布を明らかにし、空間明示的な同位体食性評価モデルを構築する「同位体地図」の応用法を確立することとした。一方、酸素同位体比においては、同位体地図を作成する上で必要とされる、化合物特異的な同位体比を多検体で分析可能とするため、試料前処理方法の検討と測定結果の補正方法について検討することとした。

## 3. 研究の方法

本研究では、大阪府におけるシカの主要な生息地である北摂地域を調査地域とした。大阪府においてシカ管理施策上の大きな変更（被害地域の農地を広域に囲う大規模防護柵の設置）のあった2008年以前を管理施策強化前、18年以降を強化後（現在）と定義し、2008年以前に調査地域で捕獲されたシカから採取された切歯の試料を炭素窒素安定同位体の分析に供試すると共に、研究課題実施期間中（2019年から2020年）の狩猟捕獲個体より切歯を採取し、同様に分析に供試した。

切歯は酵素処理により除肉し、歯冠部のみを切り出したものを希塩酸により脱灰、水溶したものをろ過後に凍結乾燥してコラーゲンのみ抽出した。また、シカの炭素窒素安定同位体比からエサに占める農作物の割合を算出するうえで必要となる、シカのエサ植物の安定同位体比を推定するために、調査地域の多地点から採取して炭素窒素安定同位体分析に供試した。

シカが食害する栽培作物の代表としては、被害額が最大であり、調査地域で実施される聞き取り調査からも主要な被害作物であると考えられるイネ（水稲）を選定した。作物以外のエサ植物、すなわち野生植物の代表としてはシカ嗜好植物であり、調査地域内に広く生育するササを選定した。これら二種についてそれぞれ炭素窒素安定同位体分析の結果から空間補完することによってエサ植物の同位体地図を作成した。この地図を用いてシカ捕獲地点付近における栽培作物と野生植物の同位体比を推定し、シカの窒素同位体比と比較した。同位体地図によるエサに占める農作物の割合の算出には、申請者の過去の研究においてシカの同化に伴う同位体濃縮係数 (trophic enrichment factor) を測定している毛を供試した。2008年以前の試料は切歯のみが保存されていたため、毛の供試試料は2019年から2020年に掛けて捕獲された個体のみから採取された。

最後に、個体の生存期間中にシカの生息場所の標高が変わる程度に生息地を変更したことを検出するための指標として、酸素安定同位体比を用いるための分析条件の検討をおこなった。試験試料としてササを使用し、樹木年輪の酸素同位体分析手法として一般に用いられるセルロース抽出法を葉試料に適用可能とするために簡便化・改良した。また、酸素同位体の分析に用いるため、新たにセルロースのワーキングスタンダードを調整した。

## 4. 研究成果

4-1. エサ資源の窒素同位体地図の作成および捕獲されたシカの体毛の窒素同位体比との比較  
農作物(イネ)と調査地に広く分布するシカ嗜好性の野生植物(ササ)の分析結果より、調査地域(大阪府北摂地域)におけるシカの餌資源の炭素窒素安定同位体地図(アイソスケープ)を作成し、シカの毛の同位体比との比較をおこなった。イネの窒素安定同位体比は平均 3.9 (-0.3~8.6; 最小値~最大値) ‰、ササは平均-1.0 (-6.1~5.0) ‰を示し、同位体組成のうえで異なる資源として判別されることを明らかにした。また、動物園飼養個体より求めたシカの毛と餌の窒素同位体比の差を表す窒素同位体比の濃縮係数が 4.0 ‰から 5.1 ‰であり、シカの毛の  $\delta^{15}\text{N}$  値が平均 3.7 (-1.0~6.6) ‰であったことから、少なくとも 2019 年から 2020 年に捕獲されたシカは農作物と野生植物の双方を摂食しているという作業仮説を支持する結果が得られた。更に、土地被覆に占める捕獲地点周辺の耕作地面積の割合が多いほど(図 1)、また、捕獲地点から最寄りの耕作地までの距離に近いほど、毛の  $\delta^{15}\text{N}$  値は高かった。

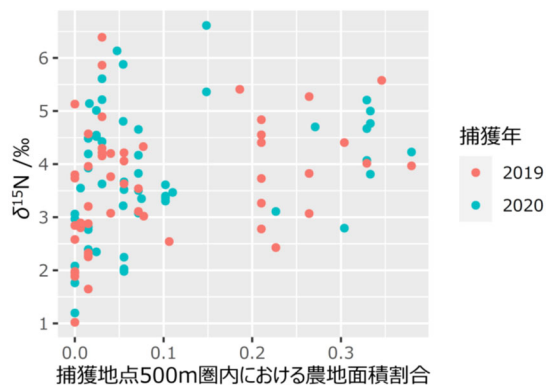


図 1. シカ捕獲地点周辺の農地面積率とシカ体毛の  $\delta^{15}\text{N}$  値の関係

## 4-2. 歯から抽出したコラーゲンの窒素同位体分析の結果

同一個体から採取した毛とコラーゲンの  $\delta^{15}\text{N}$  値は正の相関を示した(Adjusted  $R^2 = 0.14$ ,  $p < 0.05$ , 図 2)。この結果は、同位体濃縮係数は不明であるものの、コラーゲンの  $\delta^{15}\text{N}$  値が毛と同様の指標として用いることが可能である事を示していることに加えて、半年程度で入れ替わる体組織であると考えられる毛から示される農作物利用の傾向と、歯から得られるコラーゲンが示す、より長期的な農作物利用の傾向が一般的には一致することも示している。逆にコラーゲンと毛の  $\delta^{15}\text{N}$  値の回帰線から外れる個体は、生存期間中に農作物利用率の変化が起きたものと考えられる。今後、このような個体が生じる条件を明らかにする事により、獣害を誘発するプロセスや、逆に農作物の食害を防ぐ条件の解明に資することが期待される。また、2019 年・2020 年に捕獲されたシカの  $\delta^{15}\text{N}$  値は平均 4.5 ‰ ( $n = 32$ ) であったのに対し、2008 年以前に捕獲されたシカの  $\delta^{15}\text{N}$  値は平均 4.9 ‰ ( $n = 6$ ) であった(図 3)。今後捕獲地点の詳細な位置や周辺景観などを考慮すると共に、2008 年以前の捕獲個体の測定数を増やすことが可能であるものの、少なくとも今回の分析結果からは 2008 年以前と以後で窒素安定同位体比の明瞭な変化は見られなかったものと結論付けられた。

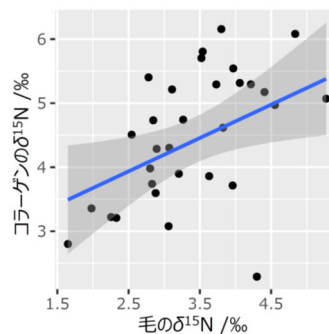


図 2. 同一個体から採取した毛とコラーゲンの  $\delta^{15}\text{N}$  値の対比較

## 4-3. 酸素同位体分析手法の検討

固相抽出のカラムを反応容器として用いることにより、簡易に多数の試料からセルロースを抽出する方法を考案した。また、葉試料は樹脂の含有量が僅かであり、溶媒の浸透も容易であるため、材試料で実施するような高温有機溶媒下による脱脂が必要ないことが確認できた。一方、抽出したセルロースから約 0.15 mg をサブサンプルして繰り返し測定したところ、試料内に 1.5 ‰程度の  $\delta^{18}\text{O}$  値の相違が存在することが明らかになった。このことから、セルロース抽出後に試料のホモジナイズが必要であると考えられた。

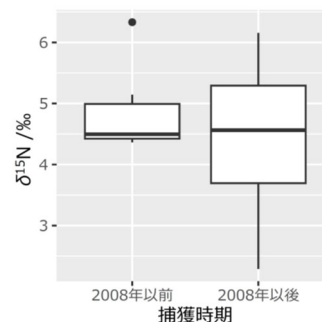


図 3. 捕獲時期が異なるシカの コラーゲン  $\delta^{15}\text{N}$  値の比較

併せて、酸素同位体比を測定する上で必要となるワーキングスタンダードを調整した。この分析においては従来 IAEA-601・IAEA-602 のスタンダードを用いてきたが、これらは安息香酸の純物質であることから未知試料と同じ方法によって処理することが出来ない(凍結乾燥処理をおこなうと昇華する)難点があった。そこで、未知試料と同様に抽出セルロースのスタンダードであり、別ロットの同一の物質について、IAEA-CH-3 の名にて酸素同位体比の値決めが為されている標準物質(IAEA-C-3)を粉碎し、ワーキングスタンダードとして調整した。このワーキングスタンダードを国際標準物質と共に測定して IAEA-CH-3 の公称値と比較し、相互に違いが無いことを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tsunamoto, Y., Koike, S., Tayasu, I., Masaki, T., Kato, S., Kikuchi, S., Nagamitsu, T., Haraguchi, T., Naganuma, T., Naoe, S.	4. 巻 なし
2. 論文標題 Timing of fruiting rather than topography determines the direction of vertical seed dispersal by mammals and birds	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 1-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2020.05.24.112987	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 石塚 謙, 山本 義彦, 幸田 良介, 近藤 美麻, 原口 岳	4. 巻 31
2. 論文標題 特定外来生物ヌートリアによる貝捕食の評価 - 炭素窒素安定同位体分析によるアプローチ -	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 自然保護助成基金助成成果報告書	6. 最初と最後の頁 20-29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.32215/pronatura.31.0_20	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件（うち招待講演 0件／うち国際学会 5件）

1. 発表者名 原口 岳、石塚 謙、幸田 良介
2. 発表標題 シカ糞の示す 15N値は作物を食害する個体の生息地の指標となるのか？ アイソスケープをもちいた分析
3. 学会等名 Japan Geoscience Union Meeting 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 幸田良介、原口岳、石塚謙
2. 発表標題 シカ個体群変動要因の検討：複数時間スケールでの評価
3. 学会等名 日本生態学会第69回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原口岳、幸田良介、石塚謙
2. 発表標題 淀川流域に侵入したヌートリアの餌資源に占める二枚貝の寄与率推定
3. 学会等名 第11回同位体環境学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naoe, S., Tsunamoto, Y., Koike, S., Tayasu, I., Masaki, T., Kato, S., Kikuchi, S., Nagamitsu, T., Haraguchi, T., Naganuma, T.
2. 発表標題 Does vertical seed dispersal by temperate mammal and bird differ among mountains?
3. 学会等名 ESA2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 原口岳、幸田良介、石塚謙
2. 発表標題 摂食内容の異なる複数の飼養個体の情報をもちいた炭素窒素安定同位体栄養濃縮係数 (TEF) 推定: 植食性げっ歯類を例として (Estimation of Trophic Enrichment Factors (TEF) of carbon and nitrogen stable isotope ratios using information of captive-bred individuals under different diets: a case study on herbivorous rodents)
3. 学会等名 第10回同位体環境学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 幸田良介、原口岳、石塚謙
2. 発表標題 農作物利用でシカの栄養状態と妊娠率は向上するのか? 窒素安定同位体比による検証 (Can deer nutritional condition and pregnancy rate improve with increasing crop uptake? Evaluation using nitrogen stable isotope values)
3. 学会等名 日本生態学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haraguchi, T.F., Koda, R., Tayasu, I.
2. 発表標題 Spatial distribution of nitrogen stable isotope ratio in deer feces in an agro-environment, Osaka
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合 (JpGU) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 幸田良介, 石塚謙, 原口岳
2. 発表標題 箕面国有林での捕獲強化に伴うシカ生息密度と空間分布の変化～里地でのシカの増加～
3. 学会等名 日本哺乳類学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kamauchi, H., Ohta, T., Ishida, T., Haraguchi, T.F., Tayasu, I.
2. 発表標題 Contribution of oceanic sulfur to coastal ecosystem using isotope ratio in lichens: formulating distance-decay and applying model selection approach
3. 学会等名 AGU fall meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 直江将司, 綱本良啓, 原口岳, 陀安一郎
2. 発表標題 カラス科鳥類による標高方向の種子散布はブナとハイマツの温暖化からの避難に役立つか: 酸素同位体による評価 (Does vertical seed dispersal by corvids help the escape of beech and stone pine from global warming?: evaluation using oxygen isotope)
3. 学会等名 同位体環境学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahashi, K., Naoe, S., Saeki, K., Koide, Y., Amari, T., Tsunamoto, Y., Tayasu, I., Haraguchi, T., Takahashi, K.
2. 発表標題 Vertical seed dispersal of Japanese crowberry by Japanese black bears and birds: estimation using stable oxygen isotope ratios
3. 学会等名 Frugivores & Seed Dispersal Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tsunamoto, Y., Tayasu, I., Haraguchi, T.F., Naoe, S.
2. 発表標題 ホシガラスによるハイマツの標高方向の種子散布：岩手山周辺での事例 (Vertical seed dispersal of Pinus pumila by nutcracker: a case study of Mt Iwate)
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Haraguchi, T.F., Koda, R., Ishizuka, Y., Tayasu, I.
2. 発表標題 Inter-annual variation of fecal nitrogen stable isotope values, as an indicator of herbivory by deer at cultivated lands (シカの耕作地における採食指標としての糞窒素安定同位体比の年変動)
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 幸田良介, 原口岳, 石塚讓
2. 発表標題 農作物利用はシカの妊娠率を向上させるのか？窒素安定同位体比による検証 (Can the pregnancy rate of deer increase with rise in crop damage by deer? Evaluation using nitrogen stable isotope values)
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 八木龍太, 原口岳, 陀安一郎, 末次健司
2. 発表標題 水素安定同位体比を用いた植物の栄養摂取様式評価法の検討
3. 学会等名 第12回同位体環境学シンポジウム
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------