

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：30109

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23678

研究課題名（和文）ニホンカモシカの保全遺伝学的研究とレフュジア仮説の解明

研究課題名（英文）Conservation genetics and elucidation of the Refugia hypothesis of Japanese serow

研究代表者

伊藤 哲治 (Itoh, Tetsuji)

酪農学園大学・農食環境学群・講師

研究者番号：70751931

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：ニホンカモシカの保護・管理に有用な情報・地域個体群の構築過程・氷河期以降の分布拡大の過程について明らかにすることを目的として、長野県のニホンカモシカ、2018年度84試料・2019年度64個体の滅失個体について、マイクロサテライトDNAおよびミトコンドリアDNAを解析した。その結果、マイクロサテライトDNAの解析結果では3つの分集団が確認され、ミトコンドリアDNA解析では、4つのハプロタイプグループが確認された。2つの遺伝子マーカーで得られた遺伝子情報と空間分布は、各マーカーの遺伝様式が違っても関わらず、同様の空間分布が確認された。これはニホンカモシカの生態的特徴が影響したと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ニホンカモシカは、長野県内や近隣の地域には、4つの保護地域と7つの地域個体群が分布しており、今後の全国のカモシカの保護・管理を進める上で、本地域の保全遺伝学的研究の情報は重要と考えられる。本州の中央部に位置する各地域個体群の遺伝的構造を明らかにすることは、国内のカモシカの地域個体群の構築過程および氷河期以降の分散の過程に言及する新たな知見を得られる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to elucidate useful information for conservation and management, the process of establishment of local populations, and the process of distribution expansion since the Ice Age about of Japanese serow. Microsatellite DNA and mitochondrial DNA were analyzed for samples of Japanese serow (84 samples in 2018 and 64 individuals in 2019) in Nagano Prefecture. As a result, three subpopulations were identified in the microsatellite DNA analysis, and four haplotype groups were identified in the mitochondrial DNA analysis.

The genetic information and spatial distributions obtained from the two genetic markers showed similar spatial distributions, despite the different inheritance styles of each marker. This is thought to be due to the ecological characteristics of Japanese serow.

研究分野：保全遺伝学

キーワード：ニホンカモシカ 保全遺伝学 管理 マイクロサテライト ミトコンドリアDNA 遺伝的構造

## 1. 研究開始当初の背景

日本の固有種であるカモシカは、我が国の特別天然記念物に指定されている野生動物である。13の保護地域と40の地域個体群が設定されている(カモシカ特定鳥獣保護管理計画技術マニュアル: 環境省, 2010)。カモシカは“なわばり性”の非常に強い大型哺乳類であることから、地域個体群の遺伝的構造が特徴的である可能性が極めて高いと考えられる。しかし、カモシカの保全遺伝学的研究分野における先行研究は、地域個体群のハプロタイプの比較や遺伝的多様性の評価に留まる研究(Okumura, 2004)が主であり、地域個体群の遺伝子流動や空間分布に関する研究(三重県教育委員会・奈良県教育委員会・和歌山県教育委員会, 2018)は極めて少なく、近親交配や血縁関係に関する研究は皆無である。また、ツキノワグマ、ニホンジカ、ニホンザルのように、日本の野生動物哺乳類の分子系統地理学的な研究(Kawamoto et al. 2007; Nagata et al. 1999; Ohnishi et al. 2009)は充分に行われていない。

現在、カモシカは分布域が高標高域から低標高域に分布が広がっている一方で、管理による捕獲やニホンジカとの生息地の競合などの要因により、個体数が減少の傾向にある。近年では、保全遺伝学研究が発展し、日本の野生動物を対象に多くの調査・研究が実施されている。しかし、カモシカに関してはまだ実施例が少なく、本研究によって、我が国の固有種・特別天然記念物であるカモシカの科学的な保護・管理を行う上で重要な情報が得られると考えられる。カモシカの保全遺伝学的研究に関する新たな知見を得られると考えた動機は、申請者が紀伊山地カモシカ保護地域第5回特別調査(三重県教育委員会・奈良県教育委員会・和歌山県教育委員会, 2018)の遺伝子分析を担当したことがきっかけである。本事業において、紀伊半島地域個体群は紀北地域を中心に分布する分集団と、三重県から和歌山県紀南地域にかけ分布する分集団に分けられることを明らかにした。この結果は、前述したように、カモシカの“なわばり性”を強く持つ生態的特徴が、色濃く地域個体群の遺伝的構造と空間分布に影響したことを示す結果となった。また、個体群内の血縁関係や遺伝子流動についての解析を行うことにより、他の日本の野生動物とは違うカモシカ特有の遺伝的・空間的構造を明らかにすることができると考えたのである。分子系統地理学的解析では、紀伊半島において、地理的に大きく離れた岐阜県や静岡県などの本州中部で確認されたハプロタイプと同じ集団に属しているハプロタイプが確認された。この結果は、他の日本の野生動物の分子系統地理とは異なる結果を示した。カモシカを除く日本の野生動物の分子系統地理研究では、最終氷河期にレフュジアへの避難による集団隔離と系統分岐が起こり、最終氷河期以降の広葉樹林の拡大に伴い分布が拡大していき、地理的に分子系統が分かれていった仮説がなされている(玉手, 2013)。しかし、カモシカは、最終氷河期におけるレフュジアへの避難とその後の分布拡大が、他の種と異なる過程があったのではないかという仮説が示唆されたのである。この仮説を裏付けるために、複数の個体群が分布しており、本州の中央部に位置する長野県とその近隣の地域のカモシカについての保全遺伝学的研究が必要であると考えた。

## 2. 研究の目的

長野県とその周辺地域には、4つの保護地域(北アルプス、越後・日光・三国、関東山地、南アルプス)と7つの地域個体群(北アルプス、長野北部、越後・日光・三国、関東山地、八ヶ岳、南アルプス、中央アルプス)が分布している。集中して地域個体群が分布しているが、各地域個体群の保全遺伝学的研究がなされていない。今後の長野県内および近隣地域のカモシカの保護・管理を進める上で、保全遺伝学的研究から得られる情報は重要と考えられる。また、本州の中央部に位置する地域個体群の遺伝的構造を明らかにすることは、各地域個体群の構築過程やカモシカの氷河期以降の分布拡大の過程について、新たな知見を得ることができると考えられる。本研究は、十分な保全遺伝学的研究の情報が得られてこなかったカモシカについて、本州中央部の捕獲個体の試料を用いて、マイクロサテライトDNAおよびミトコンドリアDNAの2種類の遺伝子マーカーを分析し、カモシカの各地域個体群の遺伝的・空間的構造、個体群の構築過程、氷河期以降の分布拡大について明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

試料: 長野県で得られた捕獲個体試料(筋組織) 2018年度84試料・2019年度64個体

ミトコンドリアDNAのControl領域の分析・解析: ミトコンドリアDNAは母系遺伝の様式をとることから、ハプロタイプの分布によって示される遺伝的構造は、母系と関連の深い構造と言える。ミトコンドリアDNAのControl領域の分析はOkumura(2004)に従い、一部改変して実施する。各試料においてハプロタイプの決定後に以下の解析を行う。

- A) 各ハプロタイプの地理的分布と各地域個体群のハプロタイプの構成の違い。
- B) 雌雄の違いによるハプロタイプの空間分布の比較による分散状況。
- C) 分子系統樹の作成による分子系統地理学的解析を行い、未だに明らかとなっていないカモシカと他の日本の野生動物の分子系統地理の違いを明らかにする。

マイクロサテライト DNA の分析・解析：マイクロサテライト DNA をマーカーとした場合、遺伝的多様性、遺伝子流動、血縁関係の評価だけでなく、分集団の構造を解析する方法が考案されている。この解析結果とミトコンドリア DNA のハプロタイプの分布を合わせて考慮することで、地域個体群の遺伝的・空間的構造を明らかにすることができる。マイクロサテライト DNA は、スクリーニング研究 (Nishimura et al. 2011; Yamashiro et al. 2017) において、多型性の高かった 12 遺伝子座を分析、各試料の遺伝子型 (対立遺伝子の組み合わせ) を決定し、以下の解析を行う。B) 分集団解析による空間分布を明らかにし、各分集団間の遺伝子流動および遺伝的分化について、分化係数 ( $F_{st}$ ) などの指標により評価する。

+ の結果から、各地域個体群に関して以下の項目について明らかにしていく。

- A) 2 種類の遺伝子マーカーによる各地域個体群の遺伝的構造と空間分布を明らかにし、各地域個体群が構築された過程を明らかにする。
- B) 各個体間の血縁関係と空間分布の関係性を明らかにし、近交係数 ( $F$  値) および血縁度 ( $r$  値) などの指標を用いて、各地域個体群内の近親交配を評価する。

#### 4. 研究成果

マイクロサテライト DNA の解析結果では 3 つの分集団が確認された。さらにミトコンドリア DNA 解析では、4 つのハプロタイプグループが確認された。各個体の 2 つの遺伝子マーカーで得られた遺伝子情報と空間分布は、各マーカーの遺伝様式が違っても関わらず、同様の空間分布が確認された。ニホンカモシカは雌雄共に強いなわばり意識をもつ生態的特徴が遺伝的な空間構造に強く影響したと考えられる。コロナ禍の影響により研究の進行が大幅に遅延しているが、今後、2020 年度の滅失個体の解析を行い、さらに「個体間の血縁関係と空間分布」および「氷河期以降の分布拡大の過程」について解析を行う予定である。

#### 引用文献

- Kawamoto Y, Shotake T, Nozawa K, Kawamoto S, Ken-ichiro Tomari K, Kawai S, Shirai K, Morimitsu Y, Takagi N, Akaza H, Fujii H, Hagihara K, Aizawa K, Akachi S, Oi T, and Hayaish S. 2007. Postglacial population expansion of Japanese macaques (*Macaca fuscata*) inferred from mitochondrial DNA phylogeography. *Primates* 48:27-40.
- 三重県教育委員会・奈良県教育委員会・和歌山県教育委員会 . 2018 . 紀伊山地カモシカ保護地域 第 5 回特別調査報告書 . 286pp.
- Nagata J, Masuda R, Tamate HB, Hamasaki S, Ochiai K, Asada M, Tatsuzawa S, Suda K, Tado H, and Yoshida MC. 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* Vol 13(3): 511-519.
- Nishimura T, Ymauchi K, Deguchi Y, Aoi T, Tsujimoto T, and Matsubara K. 2011. Development of Microsatellite Marker Assay for Individual Identification in Japanese Serows (*Capricornis crispus*). *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 16 (1): 75-78.
- Ohnishi N, Uno R, Ishibashi Y, Tamate HB, and Oi T. 2009. The influence of climatic oscillations during the Quaternary Era on the genetic structure of Asian black bears in Japan. *Heredity* 102: 576-589.
- Okumura H. 2004. Complete sequence of mitochondrial DNA control region of the Japanese serow *Capricornis crispus* (Bovidae: Caprinae). *Mammal Study* 29: 137-145.
- 玉手 英利 . 2013 . 遺伝的多様性から見えてくる日本の哺乳類相：過去・現在・未来 . 地球環境 18(2) : 159-167.
- Yamashiro A, Yamashiro K, Kawaguchi Y, and Yamashiro T. 2017. Species, sex, and individual identification of Japanese serow (*Capricornis crispus*) and sika deer (*Cervus nippon*) in sympatric region based on the fecal DNA samples. *Conservation Genetics Resources* 9:333-338.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
連携研究者	川本 芳  (Kwamoto Yoshi)  (00177750)	日本獣医生命科学大学・獣医学部・客員教授    (32669)	

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