

## 令和3年度筑波大学山岳科学センター機能強化推進費（調査研究）報告書

1. 課題名 :  
山岳県・長野県における野生動物・外来生物の集団動態評価および管理のための研究基盤整備 ～遺伝解析から農村研究まで Part III～
2. 代表者名 : 津田吉晃
3. 参画者名 :  
山下亜紀郎（つくば・助教）  
清野達之（八ヶ岳演習林・准教授）  
杉山昌典（八ヶ岳演習林・技術専門職員）  
黒江美紗子（長野県環境保全研究所・研究員）  
陸斉（長野県環境保全研究所・研究員）  
北野聡（長野県環境保全研究所・主任研究員）  
大西尚樹（森林総合研究所東北支所・チーム長）  
橋本操（岐阜大学教育学部・准教授）  
兼子伸吾（福島大学共生システム理工学類）  
柳生将之（株・環境アセスメントセンター北信越支社）  
中村明日加（株・環境アセスメントセンター北信越支社）  
高木俊人（福島大学大学院 D1）  
小井土凜々子（筑波大学大学院・山岳科学学位プログラム M2）  
神藤友宏（筑波大学大学院・山岳科学学位プログラム M2）

#### 4. 研究・事業の目的

山岳科学センターの2ステーションが位置する長野県は、国民の祝日・山の日の第1回全国山の日記念大会が2016年に開催されたことに代表されるように日本有数の山岳県といえる。特に県内の山々には天然記念物であるカモシカをはじめツキノワグマ、シカなど多くの大型哺乳類が生息している。しかし近年では、これら山岳を代表するような野生動物が人里あるいは農地に出没し、農林業への被害が深刻化しており、これら野生動物管理は人も居住する山岳地域において解決すべき大きな問題となっている。長野県の報告では、ニホンジカをはじめとする野生鳥獣による農林業被害額は、年間9億3千万円(平成28年度)と推定されている。そこで長野県では長野県野生鳥獣被害対策基本方針により、カモシカ、ツキノワグマ、シカ、イノシシ、鳥類、外来種などを対象に、これら動物による鳥獣被害対策に取り組んでいる。しかし、これら動物の現在の分布拡大の程度、時空間スケールにおける集団動態については不明な点が多く、また農業被害があってもそれがどの動物によるかさえわからないケースもある。ここで分子生態学的手法を用いることで遺伝的多様性、有効なサイズなどを含めた集団動態評価や農業被害物からDNAを抽出することで種識別などが可能となる。さらにこれら動物の時空間的な行動パターンや、環境地理学、農村社会学的な視点での評価も加えることで、これら野生動物を対象にした山岳の諸問題の解決策をより総合的に評価できると期待できる。そこで本研究課題では、MSC教員に加え、MSCと連携協定を締結し、鳥獣被害、外来種問題に多くのデータ蓄積のある長野県環境保全研究所、令和元年8月28日に活力ある地域社会の形成・発展のための連携協定を締結した上田市、さらには森林総合研究所や岐阜大学等との研究者や野生動物管理に携わるNPO法人などと連携する。そして、遺伝解析を用いた分子生態学手法から環境地理学、地誌学、農村研究など幅広い視野により野生動物・外来種の集団動態評価および管理の提案を行う研究基盤形成を目的とする。但し、本機能強化プロジェクト予算でこれら全てを行うことは不可能なため、各テーマについて研究サポート、立ち上げおよびネットワーク構築の基盤整備的な研究を行うことを目的とする。そして、本研究の成果を踏まえて大型予算獲得を目指し、本研究成果を山岳現場・社会に還元することを大目的とする。

#### 5. 研究・事業の成果の概要

## ツキノワグマ

全国集団、長野県6地域、さらに木曾地域内と異なる地理的スケールで遺伝構造解析を行った。全国スケールでは、2019年度から取り組んでいる全国1300個体以上を対象とした、両性遺伝する核DNAおよび母性遺伝するミトコンドリアDNAの多型情報を用いた遺伝構造解析・集団動態推定の精度を上げ、また生息域の主な構成種であり、重要な餌資源でもあるブナ、ミズナラなどの広葉樹木の最終氷期以降の分布移動も推定した。これにより、本州中部では最終氷期最盛期(LGM)以前に日本アルプス周辺を境に2つの地域集団に分かれ、LGM以降の温暖な時期にこれら2系統が遭遇し混合集団が形成されたこと、またこの混合集団がその後の東西の地域集団と再度、遺伝子流動をもったことが分かった。また東北地方の奥羽山脈、北上山地の地域集団もLGM以前に分化しており、LGM以降に北上山地から奥羽山脈の集団へと遺伝子流動がおこったことを推定した。ブナ、ミズナラの過去の分布推定もこれら結果を支持した。特にLGMには日本アルプスの東側は乾燥・寒冷によりこれら樹種が生育できた可能性が低く、これがLGMにおけるツキノワグマ集団の西・東の遺伝構造を形成した要因の1つとなったと考えられる。逆に北上山地はLGMにおいてはミズナラが少なからず生育できた可能性が高く、LGMにおける北上山地でのツキノワグマ地域集団の生残を支持した。

長野県スケールでは、長野県長野県環境保全研究所で2006年以降保管されてきた捕殺・捕獲個体試料のうち、継続的な試料蓄積のある6市町村(大田市・松本市・塩尻市・木島平村・山ノ内町・上田市)を対象に、約650個体の試料について、核DNAおよびミトコンドリアDNAの遺伝情報を取得した。さらに歯の年輪数から推定した供試個体の年齢情報を用いて、誕生年に遡り1986年~2022年までの時空間的な遺伝構造、遺伝的多様性および血縁性などの集団遺伝学的解析を行った。個体レベルでゲノム組成を考慮して遺伝構造を評価するSTRUCTURE解析の結果、大田市以外の各地域内では複数の地域系統が検出されたが、上田市を除いた4地域ではそれら遺伝構造に地理的パターンはみられなかった。また全6地域において時間スケールに沿った遺伝構造の変化はみられなかった。1995年以降の各誕生年集団においては、集団内の遺伝的多様性の経時変動と県内の捕殺頭数の年次変動に明確な関係がみられなかった。これら結果により、今後より詳細に評価する必要はあるが、長野県におけるツキノワグマの個体数調整が次世代集団の遺伝的多様性に大きな影響を与えた可能性は低いことが示唆された。一方、各地域内から複数の地域系統が検出されたことから、これら系統の保全を考慮した保護管理策が必要であることも分かった。

木曾地域スケールでは体毛(毛根)から遺伝解析できるようにヘアトラップを35か所設置し、定期的に体毛を採取し、核DNA、ミトコンドリアDNAおよび性別別遺伝子により遺伝情報を得て、地域内の遺伝構造を評価した。210の体毛から抽出したDNAについて、PCR増幅不全がみられた場合は再度DNA抽出あるいはPCRを行うなど適宜対処し、最終的に79サンプルについては僅かな欠損データを許容して遺伝子型決定することができた。それ以外のサンプルについては毛根部位の劣化、体毛にほとんど毛根部位が含まれていなかったなどでPCRに資するDNAが抽出できなかったと考えられる。クローン解析の結果、これら79の遺伝子型は56個体に起因することがわかった。これら56個体から8つの核DNAの遺伝的グループが検出され、多くの個体でこの遺伝的グループの分布には地理的パターンがみられ、地域内の稜線などの微地形がツキノワグマの移動分散に影響を与えていることがわかった。ミトコンドリアDNAについては42個体から遺伝情報を取得することができ、計4つのハプロタイプが検出された。これらはOhnishi et al. (2009)を参照すると、琵琶湖以東、北上山地北部など東北地方太平洋側まで広く分布するハプロタイプE01(22個体)、長野県や山梨県などの本州中部の特定地域に固有なハプロタイプE17(17個体)、富山県から新潟県の日本海側に限定的に分布し、福島県内陸側で主に分布するハプロタイプE07および、これまでの先行研究、データベース(ジーンバンク)で報告されている新規ハプロタイプであった。対象範囲が10km程度と比較的小さいスケールであるにも関わらず、このような明確な遺伝構造を検出でき、また新規のミトコンドリアDNAハプロタイプを検出できたことは新しい知見である。またヘアトラップを使ってこのような詳細な遺伝構造を評価した先行研究はほとんどないため、非侵襲的な遺伝構造評価の手法開発という意味でも成果を上げることができた。

ツキノワグマではこのように2019年度以降からの研究として、体系的に遺伝構造を評価することができた。またこれらデータの一部は2021年度の長野県第二種特定鳥獣管理計画(第5期ツキノワグマ保護管理案)の関連部会に情報提供した。

## ニホンジカ

近年、ニホンジカの個体数増加による農林業被害や都市部への進出、鉄道との衝突などの社会的被害が増加しており、適切なシカ管理のためには、過去や現在の個体の移動によって形成された種内の系統やその分布を把握し、シカの生態を踏まえた管理単位や管理方針を決定することが喫緊の課題である。しかし、これまでのニホンジカの遺伝学的研究では、母親のみから遺伝するミトコンドリアDNAが主に用いられてきた。ミトコンドリアDNAは、その遺伝的特性のために雌を介した種内系統や多様性のみを反映しています。ヒトでは、進化史、医学、犯罪捜査など様々な目的のために、母性遺伝するミトコンドリアDNA、両性遺伝する核DNAおよび、父性遺伝する性染色体(Y染色体)を対象にして研究が進んできた。シカでもY染色体を対象にした先行研究があるが、塩基置換を対象にしていたため、突然変異率が低いため、十分な多型情報を得られていないのが実情であった。そこで、本研究では、ヒトの犯罪捜査などにも使われるY染色体上の突然変異率の高い単純繰り返し配列(SSR)に着目し、シカでも父親のみから遺伝するY染色体情報を迅速かつ簡易的に評価する手法の確立を目指した。具体的には近縁種であるアカシカの公開ゲノム情報を用いて、ニホンジカの雄の種内系統を識別可能にする遺伝マーカーを選抜し、最終的に多型性の高い16遺伝座を得ることができた。これら16遺伝子座を国内8地域の集団に供試したところ、北海道、本州、九州からなる九州以北と、屋久島と種子島からなる大隅諸島の2グループに分かれることがわかった。これは中国・四国地方を境に

南北 2 つの種内系統に分けられるミトコンドリア DNA とは異なるパターンであり、雄と雌で種内系統とその分布のパターンが明確に異なることがわかった。また、今回開発した遺伝マーカーは、近年在来シカとの交雑が確認されている台湾由来の外来シカの雄を判別することも可能であり、外来シカの生息調査や、在来シカとの交雑調査への有効性も確認できた。これらのことから、今後のシカ管理において有用な遺伝ツールを開発することができた。

#### ブラウントラウト

上高地にかつて移植されたと考えられる産業管理外来種ブラウントラウトは長野県内で分布を広げており、長野県で個体数管理が急務な外来生物といえる。これまでの遺伝解析および聞き取り調査から長野県に分布拡大している集団は基本的に上高地由来であるものの、千曲川下流～信濃川では上高地に由来しない系統も検出された。そこで長野県北部の千曲川下流域で重点的なサンプル採取およびミトコンドリア DNA を用いた遺伝解析を行った。その結果、上高地からは十分なサンプル数を解析しても 2 つのミトコンドリア DNA ハプロタイプしか検出されなかったが、千曲川下流では、これら 2 タイプに加え、フランスの養殖場や国内他地域などでも検出されているもう 2 タイプが検出された。これらのことから、上高地由来の系統が約 100 年かけて 100 数十 km 下流に分布拡大しているのと共に、私的放流により他系統も分布していることもわかった。

#### その他

これまでの継続研究を発展し、長野県内外のネットワークも構築拡充することで、民間助成金（住友財団）や科研・基盤 B を獲得でき、また受託事業などを対応することができた。

## 6. 研究業績・事業実績

### 査読付国際誌

Takagi T, Tsuda Y, Torii H, Tamate HB, Kaneko S, Nagata J (2022). Development of paternally-inherited Y chromosome simple sequence repeats of sika deer and their application in genetic structure, artificial introduction, and interspecific hybridization analyses. *Population Ecology*, 64, 150–160.

プレスリリース：令和 4 年 1 月 26 日（福島大学、筑波大学、森林総合研究所）

### 国際学会発表

Koido R, Ohnishi N, Kato A, Yumoto K, Nobis M, and Tsuda Y. “Population demographic history of Asian black bear in relation to the past distribution shifts of cool temperate forests in Japan” Early Career Biogeographers Conference (ECBC) Amsterdam 2021. International Biogeography Society. October 22-24, 2021. Oral presentation (online).

### 国際ワークショップ発表

Koido R, Ohnishi N, Kato A, Yumoto K, Nobis M, and Tsuda Y. “Population demographic history of Asian black bear in relation to the past distribution shifts of cool temperate forests in Japan” CAPES-JSPS Molecular Ecology Workshop. December, 12-15, 2021. Oral presentation (Iriomote Research Station, University of Ryukyus).

### 国内学会等発表

小井土凜々子・大西尚樹・黒江美紗子・陸斉・柳生将之・中村明日香・玉谷広夫・山本敏昭・Michael Nobis・津田吉晃（口頭発表）「異なる時空間スケールにおけるツキノワグマ *Ursus thibetanus* の遺伝構造と集団動態の歴史：野生動物管理に向けて」第 7 回山岳科学学術集会, O3-01, オンライン, 2021 年 12 月（優秀口頭発表賞受賞）

佐々木悠理・橋本操・山下亜紀郎（ポスター発表）「松本市における大型哺乳類による獣害とその対応策」第 7 回山岳科学学術集会, , オンライン, 2021 年 12 月

小井土凜々子・黒江美紗子・陸斉・大西尚樹・玉谷広夫・山本敏昭・津田吉晃（ポスター発表）「長野県内のツキノワグマの時空間的な遺伝構造と集団動態：野生動物管理が及ぼす影響」第 69 回生態学会福岡大会, P1-025, オンライン, 2022 年 3 月

### 関連予算獲得

公益財団法人住友財団 2021 年度環境研究助成：生態・遺伝子・地質・地域特性情報に基づく長野県における野生動物管理の提案：代表・津田吉晃（370 万円）

R4 科研費・基盤 B：ツキノワグマの駆除地域での管理ユニット策定と絶滅危機個体群での有害遺伝子の評価（代表・大西尚樹、分担・津田吉晃ら）

**受託事業（津田吉晃）**

ツキノワグマの遺伝子解析：環境アセスメントセンター（150万円）

**学生表彰実績**

若溪会賞：小井土凜々子（ツキノワグマ保護管理研究の推進および社会普及活動）、2022年3月

山岳科学学位プログラムリーダー賞：小井土凜々子（異なる時空間スケールにおける日本のツキノワグマの遺伝構造と集団動態の歴史：野生動物管理に向けて）、2022年3月

**アウトリーチ活動**

- ・真田と獣の暮らし：クマと遭遇しないために」広報誌さなだ,2021年7月16日
- ・菅平中学校生徒への授業「野生動物管理について」,2021年11月5日
- ・「いろいろな視点から見るクマ・シカの保護管理」,まちなかキャンパス上田：市民むけ講座, 2021年11月27日

## 7. 収支

配分決定額	実支出額の使用内訳				
	物品費	旅費	人件費・謝金	その他	合計
850,000円	687,667円	162,333円	0円	0円	850,000円
備考					

## 主要な設備備品明細書（一品又は一組若しくは一式の価格が10万円以上のもの）

設備備品名	仕様（型式等）	数量	単価（円）	金額（円）	備考