

2014 年度

博士学位論文

生物多様性オフセットに向けた  
ネズミ科の分子生態学的評価

Molecular evaluation of Muridae ecology  
and potential application to biodiversity offsetting

中部大学大学院

応用生物学研究科 応用生物学専攻

白子 智康

目次	
和文要約 .....	1
英文要約 .....	3
1. 緒論 .....	6
2. ノーネットロスに向けた個体群の遺伝的多様性評価.....	9
2-1. 岐阜県高山市野麦に同所的に生息するネズミ科 3 種の遺伝的構造	
2-1-1. 研究背景及び目的	
2-1-2. 調査及び実験方法	
2-1-3. 結果及び考察	
2-2. 愛知県弥勒山に生息するメタ個体群内の局地個体群間における <i>Apodemus</i> 属 2 種の 遺伝的分化	
2-2-1. 研究背景及び目的	
2-2-2. 調査及び実験方法	
2-2-3. 結果及び考察	
3. DNA バーコーディング法を用いたネズミ科の種同定と餌資源推定.....	31
3-1. 愛知県弥勒山における DNA バーコーディング法を用いたネズミ科の植物性餌資源 推定法の確立	
3-1-1. 研究背景及び目的	
3-1-2. 調査及び実験方法	
3-1-3. 結果及び考察	
3-2. ヴェトナム・カッチェン国立公園における DNA バーコーディング法を用いたネ ズミ科の種同定と餌資源推定への応用	
3-2-1. 研究背景及び目的	
3-2-2. 調査及び実験方法	
3-2-3. 結果及び考察	
4. 総括 .....	57
5. 謝辞 .....	59
6. 引用文献.....	60
7. 研究業績.....	66

## 和文要約

環境影響評価法では，社会基盤整備による生物多様性の損失を防ぐ手段として「生物多様性オフセット」が提唱され，回避，低減，代償というミティゲーションの種類と優先順位が示されている．生物多様性は，遺伝子，種，生態系の階層構造となっていることから，個体数だけでなく遺伝的多様性まで考慮した評価手法の開発が必要である．しかし，既存の動物調査法では保全対象種の生育の有無，個体数のみを評価する手段しかなく，また餌資源を担保するための有効な調査法も確立されていない．

ネズミ科は森林害獣として研究されてきたが，1992年に開催されたリオの国連地球サミットにおいて森林の健康指標となると報告されてからは，森林生態系の安定性を評価する指標種として研究されるようになってきた．しかし，ネズミ科についても未だに個体数を指標としているため，集団内の遺伝的多様性，遺伝的構造等は不明なままである．また，生態評価において最も重要な餌資源についても不明である．そこで本研究ではネズミ科をモデルケースとして分子生態学的手法を応用した新たな環境アセスメント手法を用いて，集団の遺伝的構造や餌資源について明らかにし，本手法の妥当性についても検討した．

ネズミ科において種特異的な生態と遺伝的構造の関連を明らかにするために，岐阜県高山市野麦に同所的に生息するアカネズミ *Apodemus speciosus*，ヒメネズミ *A. argenteus*，ヤチネズミ *Eothenomys andersoni* の遺伝的構造について比較検討した．その結果，移動性が高いアカネズミは，定住性が強いヒメネズミとヤチネズミよりもハプロタイプ多様度が高いだけでなく，遺伝的に遠縁な集団を形成していた．そのうえ，アカネズミは MINIMUM SPANNING NETWORK 解析において過去に遺伝的多様性の大きな損失がなかった環状型ネットワークを形成したことから，他の2種に比べて新規個体群が流入する動的平衡状態を保った集団を維持していることが明らかとなった．

次いで，愛知県春日井市弥勒山に生息するアカネズミとヒメネズミにおけるメタ個体群内の局地個体群間での遺伝的分化について比較検討した．分子分散分析を用いた評価の結果，アカネズミはヒメネズミに比べて局地個体群間での遺伝的分化係数が小さくなったことから移動性が高いことが示唆された．また，遺伝的交流障壁の位置を推測する BARRIER 解析を行ったところ，植生だけでなく地形的要因が局地個体群間の遺伝的分化要因となっている可能性が示唆された．

さらに，愛知県春日井市弥勒山の捕獲地周辺に生育する植物の rbcL データベースを作成し，DDBJ を併用して DNA バーコーディング法を用いた糞中植物残渣からの餌資源推定技術開発を行った結果，従来の方法では不可能だった種レベルでの餌資源植物同定が可能となった．また，植生調査が不可能なヴェトナム・カッティエン国立公園の熱帯雨林内においては DDBJ のみの相同性検索であっても科レベルでの同定が可能であることが明らかになった．

以上より，分子生態学的手法を用いることで野生ネズミ集団内の遺伝的構造，動的平衡状態について初めて明らかとなっただけでなく，ネズミ科の餌資源及びその嗜好性を明ら

かにできた。本手法はネズミ科の遺伝的多様性及び餌資源まで考慮したより実質的な生物多様性保全に向けた評価手法として期待できると考えられた。また、ネズミ科だけでなく、従来手法では明らかにできなかった他の哺乳類の遺伝的多様性、集団の遺伝的構造、餌資源推定などにも転用可能であることから、遺伝的多様性まで考慮した生物多様性オフセットに向けた環境アセスメント手法として期待できると結論した。

## 英文要約

### **Molecular evaluation of Muridae ecology and potential application to biodiversity offsetting**

According to the Environmental Impact Assessment Law in Japan, "biodiversity offsetting" is described as a system for mitigating the loss of biodiversity through careful planning and development of social infrastructure. Three categories of biodiversity offsetting have been proposed, with the differences between categories reflecting the extent of mitigation that is required: avoiding impacts, minimizing impacts, and compensating for impacts. Since measures of biodiversity are based on a hierarchical structure and are considered at the levels of the gene, species and ecosystem, evaluations need to consider factors ranging from genetic diversity to overall population numbers. It is therefore necessary to new develop approaches for conserving biodiversity, particularly since existing methods are restricted to population censuses and determining whether or not population growth is positive or negative. In addition, there is not the effectively methods of food sources becoming the important habitat conditions in the case of mitigation. As a model case, I developed an environmental impact assessment method based on molecular ecological techniques and measurements of genetic diversity in the rodent family Muridae.

Although the members of the Muridae have long been considered to be a forest harmful animal, since the Earth Summit in Rio de Janeiro, 1992, studies have shown that the species diversity of the Muridae in forests is well suited for emphasis has shifted towards using the diversity of the Muridae in forests as an ecological indicator of ecosystem health. However, the details of the genetic diversity and population genetic structure of the murid populations in these environments is unclear, because the Muridae still assumes the number of individual as evaluation index. Moreover, despite the importance of food resource utilization in ecological studies, relatively little is known about the food preferences of the murids in these forest areas. As part of this research, I examined the genetic diversity and population genetic structure of wild murid populations, and identified the food plants utilized by these rodents using molecular genetic techniques. I also assessed the validity of these techniques for potential application in biodiversity offsetting.

In order to clarify the relationship between species-specific habitat and genetic structure in the Muridae, the population genetic structure of three sympatric species (*Apodemus speciosus*, *A. argenteus* and *Eothenomys andersoni*) distributed in the foothills of Mt. Norikura in Gifu, Japan, were compared using mitochondrial D-loop

sequences. The findings revealed that the *A. speciosus* population, which is migratory, exhibited greater haplotype diversity than the *A. argenteus* and *E. andersoni* populations, which were more sedentary. In addition, the *A. speciosus* population was more diverse than the other two species. Construction of a MINIMUM SPANNING NETWORK for the *A. speciosus* population revealed that the inferred genetic structure was stable and that the population had not undergone any significant decreases in genetic diversity in the past; in other words, each haplotype was associated with a specific ring in the network and several derived haplotypes were also identified. Conversely, the *A. argenteus* and *E. andersoni* populations exhibited weaker hereditary population structure, as the populations of both species did not form a similar ring-shaped network. The data showed that the *A. speciosus* population kept the dynamic equilibrium to flow in of the individual newer than other two species.

Metapopulation-level comparisons of genetic differentiation based on mitochondrial D-loop sequences were also performed on local populations of sympatric *A. speciosus* and *A. argenteus* on Mt. Miroku in Aichi, Japan. Analysis of molecular variance results revealed that the  $F_{st}$  values of the *A. argenteus* population were slightly higher than those of *A. speciosus*, implying that gene flow among local populations of *A. speciosus* occurred was higher it was than among populations of *A. argenteus*. In addition, analysis using the BARRIER program revealed that, in both species, genetic differentiation resulting from barriers to gene flow was more likely attributed due to geographic factors than to barriers imposed by vegetation.

The DNA sequences obtained from residual plant substances in the murid feces of *A. speciosus* and *A. argenteus* on Mt. Miroku in Aichi, Japan were subjected to homology searches against sequences in a local *rbcL* database and the DDBJ to identify candidate food plant species. By using this method, it was possible to identify the food plants utilized by the rodents which would not have been possible based on histological examination alone. In addition, in a tropical rain forest of Cat Tien National Park in Vietnam where it was impossible to construct a local *rbcL* database, I used DNA barcoding methods to identify the food plants utilized by murids to family level by using only DDBJ sequence data.

Taken together, the molecular methods described here not only clarified the genetic structure and dynamic equilibrium associated with gene flow in extant murid populations, but they could also used to identify the food resources utilized by murids in forest environments. Further, the analyses of genetic diversity and food resource utilization in wild murids used in this study also demonstrated the potential for the application of these methods to the conservation of biodiversity. Given the ease with

which these methods can be applied to other mammals, the potential for developing environmental assessment methods based on estimates of genetic diversity is considered likely examined in the future.

## 1. 緒論

「生物多様性オフセット」とは、国際的なパートナーシップである「ビジネスと生物多様性オフセットプログラム (BBOP)」によると「生物多様性のネットでの損失をゼロ (ノーネットロス)、できればネットでの正の影響 (ネットゲイン) とするよう、社会基盤整備プロジェクトによって生じる生物多様性への不可避な影響を代償するために意図した保全行動」と定義されている (宮崎 2010). 具体的な事例としては、2005 年よりマダガスカルにおいて BBOP が住友商事と協力した「アンバトビー・プロジェクト」が挙げられ、鉦山サイト周辺 (4,900ha) における希少生物保護のためのバッファゾーンの設定および環境に配慮したパイプラインルートの設定だけでなく、鉦山サイトとは離れた場所にサイトの 5 倍に相当する面積 (6,800ha) を確保することで、生物多様性オフセットを実施した (Forest Partnership Platform, <http://www.env.go.jp/nature/shinrin/fpp/maintenance/new/bbop.html>). 日本国内では 1997 年に制定された環境影響評価法において回避、低減、代償というミティゲーションの種類と優先順位が示されており、生物多様性オフセットは代償ミティゲーションとほぼ同義となっている (田中 2009). また、生物多様性国家戦略 2012-2020、自然再生推進法や生物多様性基本法においても開発によって失われる生物多様性を開発事業者が同等に再生することで補償するため、これらを実現するには生物多様性の開発による損失と再生による増加が同等であることを定量的に評価する手法が必要であるとされている (宮崎 2011).

このような背景から、世界で最初に生物多様性オフセットを制度化した米国では既に多くの生態系復元事業が行われている (田中 2009). 社会・経済的、生態学的に様々な問題を引き起こしてきたマティリハダムの撤去及び流域生態系の復元事業では、生態系復元方法に関する複数案について比較検討することで、生態系の価値を定量的に分析し、生態学的な見地から最善の案を選択したと報告されている (田中 2007). しかし、絶滅危惧種に指定されるスチールヘッド *Oncorhynchus mykiss* (大型の回遊マス) の生息環境としての適性や流域における在来・外来植物の植被率、希少種の有無等が指標とされており、保全対象となったスチールヘッドの遺伝的多様性については考慮されていない (田中 2007). また、近年では国内でも前述の自然再生推進法に基づいた自然再生事業が環境省や各地方公共団体によって取り込まれており、これまでに湿地や干潟、森林、高原等、様々な生態系を対象として自然再生事業が実施されてきた (環境省自然環境局自然環境計画課 2009). しかし、「科学的知見に基づき実施されることが重要」と述べられているにも関わらず、保全対象地の整備や外来種の除去、環境学習といった手法に留まっているのが現状である (環境省自然環境局自然環境計画課 2009). 1992 年にリオデジャネイロで開催された地球サミットにおいて採択された生物多様性条約によると、生物多様性とは「すべての生物 (陸上生態系、海洋その他の水界生態系、これらが複合した生態系その他生息又は生育の場のいかなを問わない.) の間の変異性をいうものとし、種内の多様性、種間の多様性及び生態系の多様性を含む」と定義されている (味岡 2013). そのため、より実質的な生物多様性オフセッ



トに向けた生物多様性評価には個体数だけでなく遺伝的多様性まで考慮した評価手法の開発が必要である。

さらに、ミティゲーションの際には生態系を構成する生物の捕食-被食関係の解明が重要であるため、これらの関係を精度高く調査する生態調査や影響予測のための手法の確立が必要である(松木ら 2003)。そのため、新潟県小佐渡東部で実施されている自然再生事業では放鳥したトキ *Nipponia nippon* の餌場環境を確保することを目的としてドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* 等の水生動物が生息できる湿地を整備している(環境省自然環境局自然環境計画課 2009)。また、環境評価手法の一つである HEP において使用される評価種の保全のための HSI モデルでは、ハビタットの質は餌条件等の生存必須条件から決定されるため(田中 2007)、国内で作成されたテン *Martes melampus* ((財)日本生態系協会ハビタット評価グループ 2004) やニホンリス *Sciurus lis* (田村 2009) の HSI モデルでは餌条件が評価のための変数となっている。ただし、これらの餌条件は既報をもとに評価しているため、保全を実施する生息環境で実際に利用されている餌資源の推定は行われていない。さらに、キタキツネ *Vulpes vulpes* (三沢 1979) やニホンイタチ *Mustela itatsi* (藤井ら 1998) において生息環境の違いにより餌資源が異なることが報告されていることから、保全対象地における餌資源推定は必要不可欠であると考えられる。一方、人里への出没などの深刻な問題を引き起こすツキノワグマ *Ursus thibetanus* ですら、その被害原因と推測されている食性調査が行われることは稀なのが現状である(中下ら 2010)。これらのことから、ミティゲーションの際の餌資源確保、野生動物の有効な保護管理を実施し、生物多様性を維持するためには、精度の高い餌資源推定法の開発が必要であると考えられる。

ネズミ科(Muridae)は、古くから農林業に被害を及ぼす森林害獣として防除のための研究がされてきた(渡辺 1962, 太田 1984)。しかし、森林の更新に寄与する種子散布に貢献していることや(北畠・梶 2000)、前述の地球サミットにおいて森林性のネズミ科を含む小型哺乳類が森林の健康指標となることが報告されている(Sato et al. 2006)。さらに、ホンドギツネおよびホンドテン(近藤 1980)、フクロウ(白石・北原 2007)等の食性調査においてネズミ科が確認されていることから、生態系ピラミッドの下層に位置するネズミ科は上層に位置する肉食動物にとっての餌資源として重要であると考えられる。このような背景から、近年は防除のための研究から森林生態系の安定性を評価する指標種としての研究に移り変わってきたが(黒田・勝野 2007, 勝俣ら 2008)、これらの研究はいずれも個体数のみを指標としている。また、東京でのアカネズミ *Apodemus speciosus* の遺伝的多様性評価の報告では、多摩川や道路で分断されている集団は遺伝的多様性が低いことが報告されている(Hirota et al. 2004)。これらの報告から、生息の有無や個体数のみの評価だけでなく、遺伝的分化、遺伝的構造及び遺伝的交流障壁の有無を評価する環境アセスメント手法の確立に取り組む必要があると考えられる。また、野生動物の生態調査・研究において餌資源は最も基礎的かつ重要な課題の一つであるにもかかわらず(松木ら 2003)、ネズミ科の餌資源については、飼育下での給餌実験により採食された生物種の確認報告(水島・山田

1974) や、胃内容物のデンプン粒形態による採食作物種同定の報告 (立川・村上 1976) などが主で、自然条件下での餌資源について生物種レベルでの同定には至っていないのが現状である。

本研究では野生のネズミ科をモデルケースとして、分子生態学的手法を応用した新たな評価手法を用いて、遺伝的多様性ノーネットロスに向けた個体群の存続に重要な遺伝的多様性や遺伝的構造について明らかにした。また、ミティゲーションの際、生息条件に必要な餌資源確保のために DNA バーコーディング法を用いた餌資源推定法を開発し、その妥当性について検討した。これらを併用することにより、遺伝的多様性まで考慮した生物多様性オフセットに向けた環境アセスメント手法の確立を行い、遺伝的多様性ノーネットロスという新たな概念を提言した。

## 2. ノーネットロスに向けた個体群の遺伝的多様性評価

### 2-1. 岐阜県高山市野麦に同所的に生息するネズミ科 3 種の遺伝的構造

#### 2-1-1. 研究背景及び目的

遺伝的多様性が低下した生物集団は生息環境の変化に対して適応の柔軟性を失うこととなり、人為的なものを含めた環境攪乱に対しても非常に脆弱な集団となってしまう（山根 1999）。このような理由から、従来の保全対象となる生物集団の生息状況、人口統計学的基礎データと併せて、それらの遺伝的構造を明らかにすることは、その生物集団の保全のためには極めて重要である（山根 1999）。本研究で用いるネズミ科のアカネズミ *Apodemus speciosus*、ヒメネズミ *A. argenteus* 及びヤチネズミ *Eothenomys andersoni*（図 1-1）についてはいずれも日本固有種であることから、それぞれの個生態について多くの研究がされてきた（藤巻 1970；村上 1980；金子 2008）。これら 3 種は同所的に生息することが知られており、微生息環境利用の相違についても多くの報告があるが（大津 1973；関島ら 2001）、ネズミ科の遺伝的構造についての報告はわずかである。Hirota et al. (2004) は河川や都市域によって分断されたアカネズミ個体群の遺伝的構造を解析することで個体群の分化過程を推測している。また、Ohnishi et al. (2000) はヒメネズミにおける行動圏の重なる個体間の遺伝的な近縁性について報告している。しかし、ヤチネズミについてはこれまで前者 2 種のように遺伝的構造について報告されていない。また、同所的に生息するこれらネズミ科 3 種の遺伝的構造の相違について比較検討された報告もない。そこで、本研究では亜高山帯である岐阜県高山市高根町野麦の乗鞍岳麓のシラカンバ群落を調査地とし、過去の調査（環境省自然環境局生物多様性センター 2002）において生息が確認されているアカネズミ、ヒメネズミ及びヤチネズミの 3 種について（図 1-1）、ミトコンドリア DNA の D-loop 領域（Hirota et al. 2004）多型を基にハプロタイプを決定し、遺伝的構造の相違について解析を行った。本領域はダイレクトシーケンスが可能で、進化速度が速く個体変異が検出しやすいミトコンドリア DNA の機能を有しない自然選択に対して中立な領域である。そのため、ある特定のハプロタイプ（DNA 多型）が調査地内で自然選択を受けることはなく、同一環境下ではハプロタイプ間で生存・繁殖などに遺伝的に有意な差はないと仮定することができる。従って、調査地集団内のネズミ科 3 種のハプロタイプ数の差異は、生活様式などの個生態及び生息地適性の相違による移出入と定着性によるものと考えられる。これらの手法を用いてネズミ科 3 種の遺伝的多様性や遺伝的構造の相違から集団内の個体数維持機構の相違について検討した。

#### 2-1-2. 調査及び実験方法

##### 2-1-2-1. 捕獲調査

本捕獲調査は 2008～2011 年にかけて（積雪のため 11～4 月は未実施）岐阜県高山市高根町野麦の乗鞍岳麓部のシラカンバ群落（北緯 36 度 3 分，東経 137 度 33 分，標高 1580m）で合計 24 回実施した（図 1-2）。また、本研究では捕獲調査地での植生調査も実施した。捕



図 1-1. ネズミ科 3 種 (撮影日 2012 年 2 月 9 日)

左から, アカネズミ *Apodemus speciosus*, ヒメネズミ *A. argenteus*, ヤチネズミ *Eothenomys andersoni*

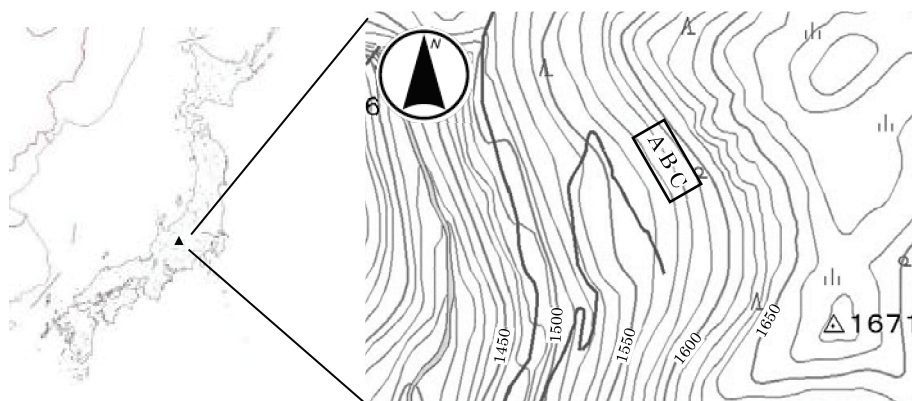


図 1-2. 調査地概要 (岐阜県高山市高根町野麦)

図中の枠線は調査区, 英文字は調査区内に設置した各コドラートを示す.

獲調査及び植生調査共に、上野ら（2011）に従って調査区内に3面のコドラート（A,B及びC）（各コドラート共に12m×12m）を設置した（図1-2）。各コドラート内の3m間隔の格子状の交点（コドラートの枠上は含まない）を罫設置定点とし、一コドラートあたり9地点、調査区合計27地点を設けた。生け捕り罫（シャーマントラップ, 6.5×5.5×16.0cm, H.B.SHERMAN）を各罫設置定点に1台ずつ設置し、一つのコドラートに9台、合計27台としてのべ1944トラップナイト調査を実施した。餌は罫1台あたり約5g（押し麦：クルミ=20:1, 質量比）を使用した。捕獲確認の際に昆虫などの持ち出しにより罫内の餌が減少した場合は、捕獲個体の餓死を防ぐため十分に餌を補充した。低温時には罫の凍結や捕獲個体の凍死を防ぐために罫を落葉等で覆った。毎月1回3連夜、0時、8時、16時の8時間毎に合計8回の捕獲確認を実施し、捕獲個体の種類、性別、体重、尾長、耳長、後足長、繁殖状況を記録後、記号放逐法（森林野生動物研究会1997）に準じた指切りによる個体識別を行い、捕獲地点にて放獣した。

#### 2-1-2-2. 植生調査

ヤチネズミにおける植生の選好性については報告されていないが、アカネズミ、ヒメネズミについては草本、木本の区別なく下層植生（林床植生）の多い環境を活発に利用すると報告されている（Sato et al. 2006）。そのため本研究でも島田・谷（2005）、呉・安藤（2010）に従い、草本と木本は区別せず、2009～2010年の捕獲調査時に各コドラート別に下層植生（地上高1.3m未満の低木と草本）の被度を算出した。さらに、本調査区内の各コドラート間で植生区分が同一であることを検証するために、被度10%以上の植物種を対象として二元指標種分析（TWINSPAN）（PC-ORD, MjM Software）を行った。その際 Pseudospecies cut levels（仮想種カットレベル）は、被度（%）（0<, 10<, 25<, 50<, 75<）を用いた。なお植生調査及び二元指標種分析の結果、3コドラートの植生はいずれも同一と判断された。

#### 2-1-2-3. 全 DNA 抽出

捕獲されたアカネズミ87個体、ヒメネズミ82個体、ヤチネズミ62個体の毛より DNeasy Blood&Tissue Kit（QIAGEN）を用いて、全DNAを抽出した。抽出された全DNA中に含まれるPCR反応の阻害物質を除去するため GENE CLEAN SPIN Kit（MP-Biomedicals）を用いて全DNAを精製した。

#### 2-1-2-4. PCR 増幅

精製した全DNAを鋳型として、D-loopの部分領域を以下のPCR法で増幅した。滅菌水35.5μlに、2mM dNTP 5μl, 25mM MgSO<sub>4</sub> 2μl, 10×PCR buffer 5μl, 20μMプライマー（Forward: 5'-TCCCCACCATCAGCACCCAAAGC-3' 及び Reverse: 5'-TGGGCGGG TTGTTGGTTTCACGG-3'）（Hirota et al. 2004）各0.5μl, 1.0U/μl KOD-Plus-DNA Polymerase（TOYOBO）0.5μl, 全DNA抽出溶液1μlを加え、PCR反応溶液50μlを調整した。PCR反応条件は、熱変性94°C2分1回後、熱変性94°C15秒、アニーリング63°C30秒、伸長反応68°C90秒を1サイクルとして30サイクル繰り返した後に、伸長反応68°C7分1回としてDNAサーマルサイクラー（Gene Amp PCR System 9700, Biosystems）

で PCR 反応を行った。反応後, 未反応な dNTP 等の除去のため QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて精製した。

## 2-1-2-5. ダイレクトシーケンス及びアライメント

マルチキャピラリーDNA 解析システム (CEQ2000XL, BECKMAN COULTER) 付属のプロトコールに従い, CEQ DTCS Quick Start Kit (BECKMAN COULTER) を用いて Dye Terminator Cycle Sequence 法により D-loop の塩基配列を決定した。決定された塩基配列は, MEGA5.05 (Tamura et al. 2011) により, 全サンプルの塩基配列をアライメントし, DNA 多型の検出を行った。さらに, 遺伝子解析ソフトウェア ARLEQUIN ver.3.5.1.2 (Excofier et al. 1992) を用いて, ハプロタイプ多様度, 塩基多様度を算出した。また, 同様に ARLEQUIN ver.3.5.1.2 (Excofier et al. 1992) を用いてハプロタイプの違いを最小の突然変異数で説明する MINIMUM SPANNING NETWORK (以降, MSN) を構築した。MSN は, 種内の遺伝的近縁性を表示する手法であり, 過去の個体群動態の推定や現在の遺伝的構造を把握することができる (味岡 2013)。これらの解析を併用して 3 種の遺伝的構造の相違を明らかにした。

表 1-1. アカネズミのミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域に認められた 39 ハプロタイプの DNA 多型箇所とハプロタイプごとの各コドラートにおける捕獲個体数

ハプロタイプ	DNA多型箇所 <sup>1)</sup>																														コドラート										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	A	B	C								
NA11	A	A	A	C	G	T	A	T	T	A	T	A	C	T	C	C	A	T	T	A	A	C	T	-	-	C	C	A	T	T	A	A	C	C	C	G	1	0	3		
NA25	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NA29	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	0	
NA35	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	2	2	
NA39	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA43	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA44	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	1	
NA46	.	.	.	.	.	G	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	2	4	
NA47	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4	1	4	
NA48	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	0	
NA52	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA53	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NA56	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	3	
NA57	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	2	
NA61	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	1	0	
NA62	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NA66	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NA67	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	1	6	
NA69	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA73	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA74	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA80	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NA87	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NA89	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	1	0	0
NA90	T	G	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	0	
NA91	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	0	0	
NA93	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	2	
NA94	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NA95	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA102	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	0	
NA107	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	0	
NA111	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	0	
NA113	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	0	
NA114	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA116	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NA119	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	0	
NA120	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	3	
NA124	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	0	
NA130	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	0	

1) DNA 多型箇所は PCR 増幅領域のプライマーを含まない 5' 末端からの塩基数 (299~301bp)

・ : NA11 と同一の塩基を示す

表 1-2. ヒメネズミのミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域に認められた 26 ハプロタイプ  
の DNA 多型箇所とハプロタイプごとの各コドラートにおける捕獲個体数

ハプロタイプ	DNA多型箇所 <sup>1)</sup>																												コドラート													
	1 2 2 2 2 2 2 2 2																												A B C													
	4	5	6	8	8	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	6	8	8	8	8	9	9	9	9	0	0	0	2	2	4	5	6	7	8		
NH12	T	T	C	T	T	C	C	T	-	C	T	T	A	C	G	C	T	C	T	C	A	A	T	T	G	A	A	C	C	C	G	C	T	T	T	C	A	4	0	0		
NH15	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9	4	8
NH20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	2	5
NH30	.	.	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	1	1
NH40	C	C	.	.	T	T	-	.	C	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	.	.	.	.	.	.	0	1	0	
NH41	.	.	.	.	T	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0
NH55	.	.	.	.	T	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4	6	3
NH57	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	T	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	0	1	0
NH58	.	.	.	.	T	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	.	C	.	.	.	.	.	2	2	1
NH61	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	G	T	.	A	.	.	.	C	T	G	.	.	.	1	0	0	
NH69	.	.	.	.	.	.	C	-	T	.	.	.	.	A	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	1	0
NH73	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0
NH75	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	T	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	2
NH85	.	C	.	.	T	T	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	G	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NH89	.	.	.	.	T	.	-	A	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	0	0
NH97	.	.	.	.	T	.	-	T	.	.	T	.	T	.	T	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	2
NH99	.	.	.	.	T	T	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1
NH105	.	.	.	.	T	.	-	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	1	0	1	
NH106	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	0	1	0	
NH107	.	.	C	.	T	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	T	G	.	T	T	.	.	.	.	0	0	1	
NH108	.	.	.	.	T	.	-	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0	
NH109	.	.	.	.	.	.	-	T	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NH112	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	3	0	0		
NH116	.	.	.	.	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1	
NH117	.	.	.	A	.	.	-	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	0	0	1		
NH118	.	.	.	.	C	T	-	C	-	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	0		

1) DNA 多型箇所は PCR 増幅領域のプライマーを含まない 5' 末端からの塩基数 (302~303bp)

・ : NH12 と同一の塩基を示す

表 1-3. ヤチネズミのミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域に認められた 14 ハプロタイプ  
の DNA 多型箇所とハプロタイプごとの各コドラートにおける捕獲個体数

ハプロタイプ	DNA多型箇所 <sup>1)</sup>																	コドラート					
	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 3																	A B C					
	2	3	3	2	2	3	3	4	6	7	7	7	9	9	0	1	2	5	8	0			
NY17	T	A	G	T	C	T	T	A	T	T	C	A	G	T	C	T	T	T	G	A	1	0	1
NY18	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	12	1
NY21	.	G	A	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	A	.	.	C	C	.	A	9	5	1
NY33	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	.	A	1	0	0
NY34	.	G	A	.	.	.	A	.	A	.	T	.	A	.	.	C	C	.	A	1	0	0	
NY56	.	.	.	C	.	C	.	G	.	C	.	.	.	.	T	C	.	.	.	2	0	0	
NY57	.	.	.	C	T	.	.	.	.	C	.	G	A	.	T	.	.	.	.	1	0	0	
NY65	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	1	0	2	
NY67	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	3	2	1	
NY75	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	6	0	0	
NY76	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	1	0	0	
NY87	.	G	A	.	.	.	.	.	.	G	T	.	A	.	.	C	C	.	A	1	0	0	
NY90	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	A	.	.	C	C	.	A	1	0	0	
NY93	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	0	2	

1) DNA 多型箇所は PCR 増幅領域のプライマーを含まない 5' 末端からの塩基数 (313bp)

・ : NY17 と同一の塩基を示す

### 2-1-3. 結果及び考察

アカネズミは、PCR 増幅できた D-loop の塩基サイズ (以降、D-loop サイズ) は 299-301bp で 63 か所の塩基置換及び挿入の組み合わせから 39 ハプロタイプが確認された (表 1-1). ハプロタイプ NA11 については DNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>) (以降、DDBJ) に登録し、Accession number (AB728571) を取得した. ヒメネズミの D-loop サイズは 302-303bp で 39 か所の塩基置換及び挿入の組み合わせから 26 ハプロタイプが確認された (表 1-2). ハプロタイプ NH12 については DDBJ に登録し、Accession number (AB728572) を取得した. ヤチネズミの D-loop サイズは全て 313bp で 20 か所の塩基置換から 14 ハプロタイプが確認された (表 1-3). ハプロタイプ NY17 については DDBJ に登録し、Accession number (AB728573) を取得した.

これら 3 種はいずれもコドラート間の平均捕獲個体数において 3 種間で有意差は認められなかった (Mann-Whitney U 検定,  $P < 0.05$ ) (表 1-4). しかし、ハプロタイプ数、ハプロタイプ多様度及び塩基多様度の平均はいずれもアカネズミ (ハプロタイプ数 19.0, ハプロタイプ多様度 0.97, 塩基多様度 0.025, 以降同様) が、ヒメネズミ (12.0, 0.88, 0.017) 及びヤチネズミ (7.7, 0.79, 0.014) よりも有意に高くなった (Mann-Whitney U 検定,  $P < 0.05$ ) (表 1-4). また、MSN を構築した結果、アカネズミはヒメネズミ及びヤチネズミよりも多様な系統によって複雑な環状構造を形成する安定維持型を示した (小池 2003) (図 1-3).

表 1-4. ネズミ科 3 種のコドラートごとの捕獲個体数及びミトコンドリア DNA D-loop 領域における遺伝的多様性

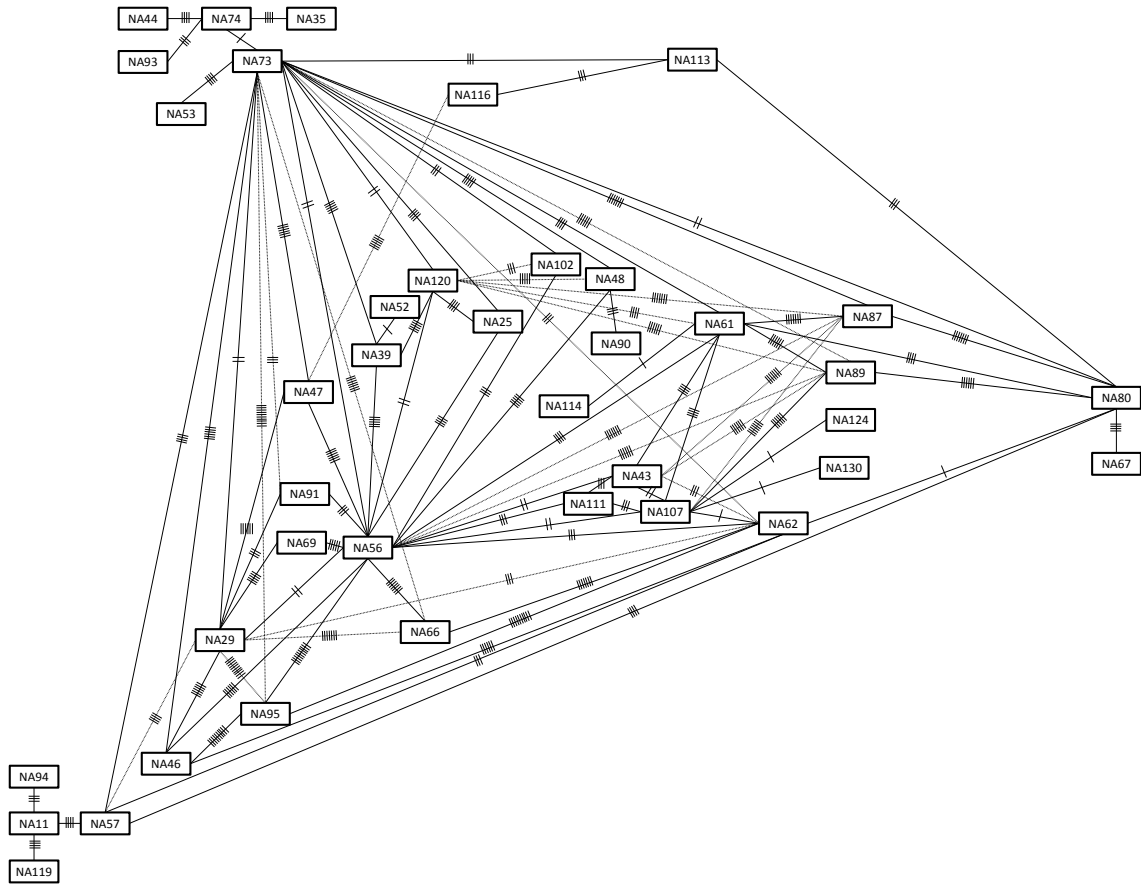
種名/コドラート	捕獲個体数	ハプロタイプ数	ハプロタイプ多様度	塩基多様度
アカネズミ( <i>Apodemus speciosus</i> )				
A	29	21	0.97	0.026
B	17	15	0.99	0.025
C	41	21	0.95	0.024
平均±標準偏差 <sup>1)</sup>	29.0±12.0 ns <sup>2)</sup>	19.0±3.5 a	0.97±0.02 a	0.025±0.001 a
ヒメネズミ( <i>A. argenteus</i> )				
A	35	14	0.90	0.017
B	19	9	0.87	0.017
C	28	13	0.89	0.016
平均±標準偏差 <sup>1)</sup>	27.3±8.0 ns	12.0±2.6 b	0.88±0.02 b	0.017±0.0002 b
ヤチネズミ( <i>Eothenomys andersoni</i> )				
A	35	14	0.88	0.018
B	19	3	0.55	0.011
C	8	6	0.93	0.012
平均±標準偏差 <sup>1)</sup>	20.7±13.6 ns	7.7±5.7 b	0.79±0.21 b	0.014±0.003 b

1) 同列内の異なるアルファベット間で有意差あり ( $P < 0.05$ , Mann-Whitney U 検定).

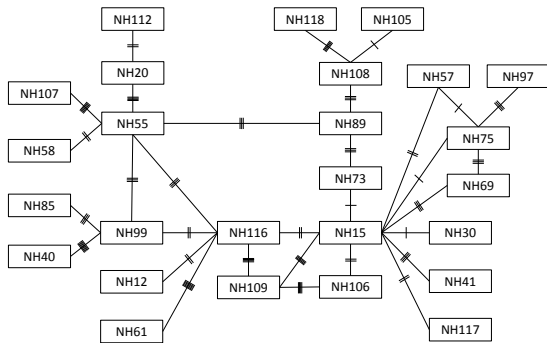
2) ns : 有意差なし ( $P < 0.05$ , Mann-Whitney U 検定)



アカネズミ (*Apodemus speciosus*)



ヒメネズミ (*A. argenteus*)



ヤチネズミ (*Eothenomys andersoni*)

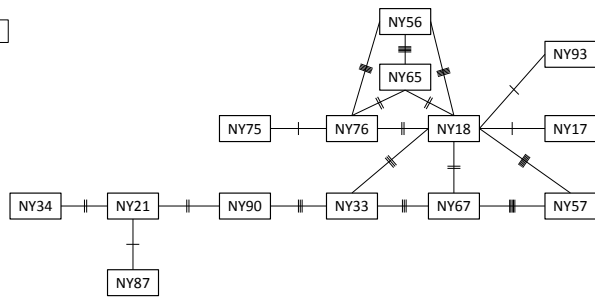


図 1-3. ネズミ科 3 種のミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域で確認されたハプロタイプを用いて構築した MINIMUM SPANNING NETWORK

四角内のアルファベットと数字はハプロタイプ名を示す

ハプロタイプ名詳細は表 1-1~表 1-3 を参照

ハプロタイプをつなぐ直線上にある線の本数は塩基の置換数を示す

アカネズミは草本層や低木層の発達した林床植生の豊富な環境 (Nishikata 1981) を、ヒメネズミはこれに加え立木が近接している環境を選好すると報告されている (関島ら 2001)。また、ヤチネズミは、スギ、カラマツ及び落葉広葉樹林で陰湿な場所において生息数が多いと報告されている (大津 1970)。本調査地では 3 種間の平均捕獲個体数において有意差は認められず、ミズナラやミヤマザクラ等の高木が生育し、オシダやノリウツギ等の林床植生が豊富で、湿り気のある林内に生育するサワギク等が確認されていることから、3 種全ての生息条件を満たすハビタット適性の高い生息地であると考えられた。さらに、ヒメネズミはアカネズミに対して生態的に劣勢であるため、隔離された島ではヒメネズミは集団を維持することができない可能性があるとして報告されている (鈴木 2007)。また、関島 (1999) は個体数が増加する夏から秋にかけてアカネズミとヒメネズミにおいて有意な排他的分布が認められたが、それ以外の季節では両種の空間分布は互いに独立であると報告している。本研究では平均捕獲個体数において両種間に有意差は認められなかったことから、本調査地は隔離された島とは異なり生息地が解放されていて餌資源や棲家等が豊富にあるため両種間で競合が起こらなかったと考えられた。一方、ヤチネズミにおいては他種との競合についての報告はないが、山形県白鷹山地での調査 (標高 500~520m) においてアカネズミ及びヒメネズミに比べ、ヤチネズミは著しく少なかったと報告されており (大津 1973)、同様に長野市近郊での小哺乳類捕獲調査 (標高 420~630m) でもヤチネズミが少ないことが報告されている (宮尾ら 1979)。これに対し、亜高山帯から高山帯にかけて実施した本州八ヶ岳での調査 (標高 1500~2600m) では、アカネズミ及びヒメネズミよりもヤチネズミの捕獲数が多かったと報告されている (宮尾ら 1963)。本調査地も標高 1580m の亜高山帯であり、ヤチネズミが比較的多く捕獲されたことから、本調査地におけるネズミ科の種構成は亜高山帯特有のものであると考えられた。

選定された調査地によって植生や捕食者等、生息環境の地域性に大きな違いがあるため他の調査地の遺伝的多様性と単純な比較には無理があるかもしれないが、東京の都市近郊でのアカネズミの遺伝的多様性評価ではハプロタイプ多様度が 0.00-0.86 と、本調査結果で最も低かったヤチネズミの 0.55-0.93 よりも著しく低いことが報告されている (Hirota et al. 2004)。また、MSN の結果からもアカネズミは安定維持型を示しており、都市や河川が遺伝子交流の障壁となっていると推測される都市近郊の森と比較すると、山脈の麓に位置する本調査地の遺伝子交流は活発であり、障壁となる顕著な因子は少なかったと推測された。

また、集団内の遠縁関係については、ヒメネズミで最も多く確認されたハプロタイプ NH15 が 21 個体 (全捕獲個体数に対して 25.6%, 以降同様)、ヤチネズミでは NY18 が 19 個体 (30.6%) 確認されたのに対し、アカネズミで最も多く確認されたハプロタイプ NA47 及び NA67 は 9 個体 (10.3%) であった。さらに、アカネズミの塩基多様度は 0.025 と他の 2 種に比べて有意に高く、MSN の結果も非常に複雑な構造であったことから本調査地において他の 2 種に比べて系統的に遠縁の個体が多かったことが明らかとなった。アカネズミ

はきわめて移動性が高く環境の変化に対して高い適応力を持ち、食料の豊富な場所に次々と移動する習性をもつため、ヒメネズミ及びヤチネズミに比べて移動性が非常に高く移動範囲も広いと報告されている(大津 1973)。このことから、本調査地でも移動性の高いアカネズミは3種中で最も移出入が頻繁であったため他の2種よりも遺伝的多様性が高くなったと推測された。これに対し、ヒメネズミ及びヤチネズミはアカネズミに比べて定住性が高いため(大津 1973)、同一母系集団が維持され遺伝的多様性が低かったと考えられた。従って、アカネズミは他の2種に比べて新規個体群がより多く流入することによって動的平衡状態を保った集団を維持していることが明らかとなった。

以上のように、本研究結果から同所的に生息するアカネズミ、ヒメネズミ、ヤチネズミの3種は種ごとの生態の相違により遺伝的多様性及び遺伝的構造が異なることが明らかとなった。このことから、種によって集団内の個体群維持機構は異なると考えられた。これまでの環境アセスメント評価はいずれも種ごとに個体数にのみ注目して行われてきたが、個体群維持のためには種ごとの遺伝的多様性及び遺伝的構造についても評価する必要があることが明らかとなった。これらの手法はネズミ科以外の動物種についても利用可能であると考えられるため、生物多様性オフセットへと応用することで個体数だけでなく遺伝的多様性まで考慮した評価が可能となる。さらに、個体群の動的平衡状態を把握することでより持続的な生物多様性の保全が実施できると考えられた。

## 2-2. 愛知県弥勒山に生息するメタ個体群内の局地個体群間における *Apodemus* 属 2 種の遺伝的分化

### 2-2-1. 研究背景及び目的

アカネズミとヒメネズミは両種とも日本固有種で日本列島のほぼ全域に生息しており、全国レベルで普遍的な種である(金子 2008)。また、両種共森林帯の多くの場所において同所的に生息しているため、競合種として両種の個生態(関島 1997)、植生に対する嗜好性(関島 1999)や行動範囲(Sato et al. 2006)が報告されてきたが、いずれも個体数を指標としたものであった。生物集団の絶滅や生息数減少要因は、環境変動による生息地適性の低下だけでなく、遺伝的交流の制限による近交弱勢や遺伝的浮動によっても起こる(山根 1999)。そのため、河川や都市、高速道路等によるアカネズミの遺伝的交流の分断(吉田ら 1994; Hirota et al. 2004)、ヒメネズミの遺伝的交流と地理的距離の関連(Ohnishi et al. 2000)といった遺伝的分化と地理的要因の関連について報告がある。しかし、これらの遺伝的分化に関する報告は、いずれも遺伝的交流の分断要因となる市街地や河川において調査が行われており、両種の生息地適性に大きく寄与すると推測されている植生・地理的要因と遺伝的分化との関係性についてメタ個体群内の局地個体群間で評価を行った研究はない。

そこで、メタ個体群内の局地個体群間における *Apodemus* 属 2 種の遺伝的分化を検討するために、愛知県春日井市弥勒山に同所的に生息する *Apodemus* 属 2 種(アカネズミ、ヒメネズミ)の捕獲調査を異なる 3 つの植物群落で実施した。従来の個体数に着目した評価法と共に、遺伝子レベルでは D-loop のハプロタイプ多様度で遺伝的多様性を評価し、調査地全体の両種の遺伝的構造については MSN を用いて解析した。さらに、調査区間の遺伝的分化を分子分散分析(Analysis of Molecular Variance : AMOVA)で評価した後、有意な分化が認められた場合は BARRIER によって遺伝的交流障壁の位置を推測した。また、定着性に寄与すると推定された植物群落の特性や植物群落間の個体移動の制限要因について検討した。

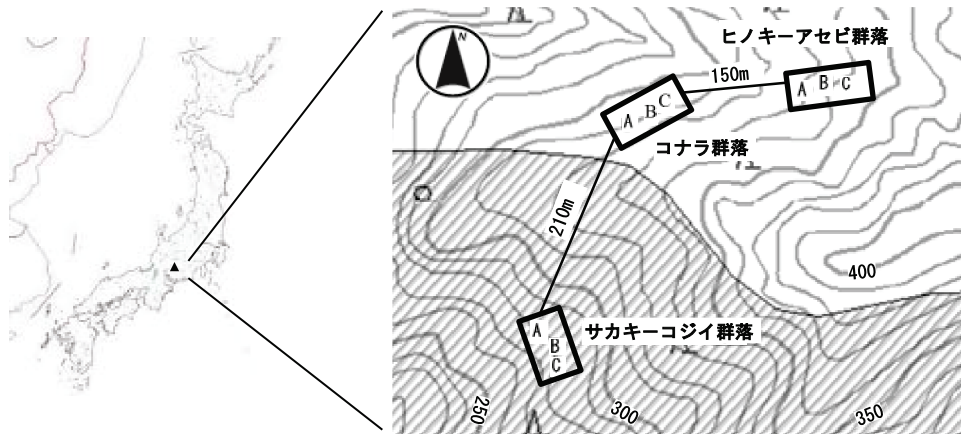


図 2-1. 調査地概要（愛知県春日井市廻間町弥勒山）

図中の枠線は調査区，英文字は調査区内に設置した各コドラートを示す．斜線部はコナラクリ群落，無地の部分はスギ・ヒノキ・サワラ植林地を示す（環境庁自然保護局 1999）．

## 2-2-2. 調査及び実験方法

### 2-2-2-1. 調査方法

#### (1) 調査区

調査期間は 2008 年 6 月～2011 年 5 月，愛知県春日井市東部丘陵に位置する弥勒山（北緯 35 度 18 分，東経 137 度 3 分，標高 436m）を調査地とした（図 2-1）．弥勒山は北東側には岐阜県多治見市，南西側には愛知県春日井市の二つの市街地に挟まれる形で位置し，南東は道樹山に連なる．昭和 45 年には自然環境，生物多様性の保全を目的とする愛知高原国定公園に指定された．環境省の自然環境保全基礎調査によると弥勒山の植生はコナラクリ群落とスギ・ヒノキ・サワラ植林地がほぼ全域を占めていると報告されているが（環境庁自然保護局 1999），実際に踏査するといくつかの異なる群落がモザイク状に成立している．愛知県は森林の 60%以上をスギ・ヒノキなどの人工林が占めており，都市近郊の低山地はコナラなど落葉広葉樹からなる二次林が広がっている（愛知県史編さん委員会 2010）．そこで，愛知県内の典型的な二次林であるヒノキアセビ群落（北緯 35 度 18 分 33 秒，東経 137 度 3 分 49 秒，標高 340m，斜面方位：西南西，傾斜角 19.2 度）とコナラ群落（北緯 35 度 18 分 32 秒，東経 137 度 3 分 44 秒，標高 310m，斜面方位：北北西，傾斜角 26.6 度），さらに常緑性二次林としてサカキコジイ群落（北緯 35 度 18 分 25 秒，東経 137 度 3 分 41 秒，標高 280m，斜面方位：南南西，傾斜角 27.3 度）の異なる 3 つの植物群落に調査区を設置した（図 2-1）．

本研究では「2-1-2-1. 捕獲調査」と同様に 3 つの調査区内に 12m×12m のコドラートを 3 面（各調査区共に，A，B，C とする）設置した．コナラ群落とヒノキアセビ群落は同じ谷筋に位置しており，サカキコジイ群落との間には高低差 40m 程度の尾根筋がある．また各調査区間の直線距離は，ヒノキアセビ群落とコナラ群落間が約 150m であるのに対し，コナラ群落とサカキコジイ群落間は約 210m となった（図 2-1）．

## (2) 捕獲調査

捕獲調査は2008年6月～2011年5月の3年間毎月3連夜継続的に実施した。「2-1-2-1. 捕獲調査」と同じ捕獲罟、餌を使用し、同様の方法で各罟設置定点に生け捕り罟を1台ずつ設置、一つのコードラートに9台、一調査区あたり27台、全調査区合計で81台としてのべ8748トラップナイト実施した。

## (3) 植生調査

本研究では、各コードラート別に木本層（樹高1.3m以上の木本層）と下層植生（地上高1.3m未満の低木と草本）に分けて行った。木本層は2009年10月及び11月の2度、コードラート内に生育するもの、またコードラート外に生育していても枝がコードラートにかかるものについて毎木調査を行った。下層植生は最も多くの種類が確認された2010年4月に被度を調査した。さらに、木本層は本数（0<, 2<, 5<, 10<, 20<）、下層植生は被度（%）（0<, 10<, 25<, 50<, 75<）を Pseudospecies cut levels（仮想種カットレベル）に用いて TWINSpan を行った。

### 2-2-2-2. 遺伝的多様性評価方法

本研究では、2008年6月～2011年5月に捕獲されたすべてのアカネズミ（164個体）、ヒメネズミ（89個体）について「2-1-2. 調査及び実験方法」と同様の手法を用いて D-loop の DNA 多型を検出した。その後、遺伝子解析ソフトウェア ARLQUIN ver.3.5.1.2 (Excofier et al. 1992) を用いてハプロタイプ多様度を算出した。

さらに、調査区間及び調査区内個体間の階層別に遺伝的分化の有意性を検討するために AMOVA を行った。AMOVA は各階層（調査区間、調査区内個体間）における遺伝的多様性の割合（%）、 $F_{ST}$  統計量（0より大きい程調査区間で遺伝的多様性が高い。0の場合は調査区間で遺伝的多様性がない）を算出する。算出方法には「ハプロタイプ頻度のみ」考慮する方法と「塩基の差異で重み付け」する2つの手法がある。「ハプロタイプ頻度のみ」で算出するとハプロタイプが調査区間に均等に分散している場合、 $F_{ST}$  はより大きな（遺伝的多様性が高い）値に評価される。本調査地内にはコードラート間に河川や市街地といった明らかに移動を妨げる障害物は存在しない。そのため、両種の移動は自由であると仮定すると各ハプロタイプは調査区間に均等に分散可能と考えられるため、本研究では「ハプロタイプ頻度のみ」考慮する方法を用いた。算出された  $F_{ST}$  統計量に関しては、各個体をランダムに入れ替えて統計量を繰り返し 10,000 回算出する Permutation test を行い、有意性（ $P < 0.001$ ）を検定した。さらに、MSN を構築し、両種の遺伝的構造の相違を明らかにした。また、調査区間での  $F_{ST}$  をもとに BARRIER ver.2.2 (Franz et al. 2004) による空間解析を用いて遺伝的交流障壁を探索した。BARRIER とは生育が確認された地点や採集地点を母点としてポロノイ図を描き、 $F_{ST}$  のような分子生物学的距離もしくは形態学的な距離行列をもとに距離が最も大きくなる辺を選択した後、それらがつながるように境界を探索する手法である。AMOVA とは異なり遺伝的分化を図示するため複数の調査区間の遺伝的交流障壁を視覚的に捉えることができる。

## 2-2-3. 結果及び考察

### 2-2-3-1. 植生

各調査区の植生は、木本層（樹高 1.3m を超える木本層）（表 2-1）と下層植生（地上高 1.3m 未満の木本と草本）（表 2-2）に分けて評価した。

**木本層**：各調査区 3 コドラートの総種数は、サカキーコジイ群落が多くなり 20 種、次いでコナラ群落 18 種、ヒノキアセビ群落 14 種の順となった。1 コドラートあたりの平均樹種数も総種数とほぼ同じ傾向を示し、最も多くなったサカキーコジイ群落 ( $15.0 \pm 1.0$ ) は、最も少なかったヒノキアセビ群落 ( $9.7 \pm 1.5$ ) に対してのみ有意であった ( $P < 0.05$ , Mann-Whitney U 検定, 以降同様)。2 番目に平均樹種数が多かったコナラ群落 ( $12.7 \pm 2.3$ ) は他調査区との間に有意な差は認められなかった。各調査区における 1 コドラートあたりの平均本数も平均樹種数同様にサカキーコジイ群落 ( $104.7 \pm 12.9$ ) が最も多く、2 番目に平均本数の多くなったコナラ群落 ( $82.0 \pm 5.3$ ) 間とは有意な差が認められた。しかし、最も平均本数が少なかったヒノキアセビ群落 ( $80.0 \pm 22.6$ ) は、両調査区と有意な差は認められなかった。この原因は、ヒノキアセビ群落についてはコドラート毎に本数が大きく異なり、標準偏差が他の 2 調査区よりも著しく大きくなったためであった（表 2-1）。

TWINSPAN の結果（図 2-2）、各調査区の植生（スタンド）は、レベル 1 でコナラ、ソヨゴ及びタカノツメの落葉性と常緑性の混合スタンド群を指標種とするサカキーコジイ群落及びコナラ群落と、クロバイ、ヒノキの常緑性スタンド群を指標種とするヒノキアセビ群落に分割された。さらに、前者はレベル 2 でネジキ、フジを指標種とするサカキーコジイ群落、アカシデを指標種とするコナラ群落に分割された。また、ヒノキアセビ群落はレベル 2 でアセビ、シラカシ、ヤマウルシを指標種とするコドラート B とヤブツバキを指標種とするコドラート A, C に分割された。しかし、いずれの指標種も 1~4 個体と少なかったため（表 2-1）、ヒノキアセビ群落内の 3 コドラート間において木本層の構成種の質的、量的相違はないと判断した。

**下層植生**：各調査区の 3 コドラートの総種数は木本層と反対の傾向を示し、ヒノキアセビ群落 34 種、コナラ群落 25 種、サカキーコジイ群落 12 種となった。また、1 コドラートあたりの平均種数も総種数と同様、ヒノキアセビ群落 ( $24.7 \pm 2.5$ )、コナラ群落 ( $17.3 \pm 4.7$ )、サカキーコジイ群落 ( $9.0 \pm 2.0$ ) の順に有意に少なくなった。各調査区の下層植生の総被度（各群落の 3 コドラートの総和）はヒノキアセビ群落 ( $16.2 \pm 6.7$ ) が最も高くなり、最も低いコナラ群落 ( $5.7 \pm 3.9$ ) との間には有意差が認められ、2 番目に高いサカキーコジイ群落 ( $12.7 \pm 9.8$ ) は両調査区との間に有意差は認められなかった（表 2-2）。

TWINSPAN の結果（図 2-3）、各調査区の植生（スタンド）は、レベル 1 でシキミ、ヤブコウジを指標種とするヒノキアセビ群落及びコナラ群落と、コシダを指標種とするサカキーコジイ群落に分割された。前者はレベル 2 でイヌツゲ、ソヨゴ、ツクバネウツギ、ヤマウルシを指標種とするヒノキアセビ群落と指標種が抽出されなかったコナラ群落に

分割された。また、サカキーコジイ群落はレベル 2 でコナラ、チヂミザサ、フジを指標種とするコドラート A, B とシャシャンボを指標種とするコドラート C に分割されたが、いずれも被度が 1%に満たなかったため (表 2-2), サカキーコジイ群落内の 3 コドラート間において構成種の質的, 量的相違はないと判断できた。

以上の結果, 全ての調査区においてコドラート間での植生の相違は認められなかった。従って, 本研究では同一調査区内のコドラート間の比較は行わず, 調査区間の比較のみを行った。各調査区の量的特性は, サカキーコジイ群落は木本層の種数や本数は多いが, 下層植生の種数は少ない植生を示した。反対にヒノキアセビ群落は木本層の樹種数や本数は少ないが, 下層植生の種数が最も多く, 被度も最も高い植生を示した。コナラ群落は木本層の種数, 本数はヒノキアセビ群落と同等で, 下層植生の種数は 2 番目に多かったが被度は 3 調査区中最も低い植生となった。また, TWINSPAN での結果から, 木本層, 下層植生共に調査区間で種構成が異なることが確認できた。

表 2-1. 各調査区で確認された木本層 (樹高 1.3m 以上) の樹種と本数



科名	学名	和名	サカキー コジイ群落			コナラ群落			ヒノキー アセビ群落		
			A	B	C	A	B	C	A	B	C
Adoxaceae (レンブクソウ科)	<i>Viburnum wrightii</i> var. <i>wrightii</i>	ミヤマガマズミ	-	-	2	-	2	-	-	-	-
Anacardiaceae (ウルシ科)	<i>Toxicodendron trichocarpum</i>	ヤマウルシ	-	1	-	-	-	-	-	1	-
Aquifoliaceae (モチノキ科)	<i>Ilex pedunculosa</i> var. <i>pedunculosa</i>	ソヨゴ	8	9	11	1	2	-	-	-	-
Araliaceae (ウコギ科)	<i>Gamblea innovans</i>	タカノツメ	-	3	2	2	9	8	-	-	-
Betulaceae (カバノキ科)	<i>Carpinus laxiflora</i>	アカシデ	-	-	-	13	8	10	-	-	-
Clethraceae (リョウブ科)	<i>Clethra barbinervis</i>	リョウブ	3	3	2	1	-	-	1	-	-
Cupressaceae (ヒノキ科)	<i>Chamaecyparis obtusa</i> var. <i>obtusa</i>	ヒノキ	-	-	-	-	-	-	26	24	33
Elaeocarpaceae (ホルトノキ科)	<i>Elaeocarpus zollingeri</i> var. <i>zollingeri</i>	ホルトノキ	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Ericaceae (ツツジ科)	<i>Lyonia ovalifolia</i> var. <i>elliptica</i>	ネジキ	1	6	9	-	-	-	-	-	-
	<i>Pieris japonica</i> var. <i>japonica</i>	アセビ	1	6	6	-	5	3	-	1	-
Fabaceae (マメ科)	<i>Wisteria floribunda</i>	フジ	1	5	1	-	-	-	-	-	-
Fagaceae (ブナ科)	<i>Castanopsis</i> sp.	シイ属	4	2	1	7	3	6	-	1	1
	<i>Quercus</i> sp.	コナラ属	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	<i>Q. glauca</i> var. <i>glauca</i>	アラカシ	6	2	1	2	7	4	5	5	2
	<i>Q. myrsinifolia</i>	シラカシ	1	-	-	-	1	1	-	1	-
	<i>Q. salicina</i>	ウラジロガシ	4	2	1	6	6	4	3	4	-
	<i>Q. serrata</i> var. <i>serrata</i>	コナラ	-	1	4	2	3	2	-	-	-
	<i>Q. variabilis</i>	アベマキ	2	2	-	-	-	-	-	-	-
Magnoliaceae (モクレン科)	<i>Magnolia obovata</i>	ホオノキ	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Oleaceae (モクセイ科)	<i>Fraxinus lanuginosa</i>	アオダモ	1	2	-	-	-	-	-	-	-
Pentaphtylacaceae (サカキ科)	<i>Cleyera japonica</i> var. <i>japonica</i>	サカキ	34	19	25	13	6	13	4	39	17
	<i>Eurya japonica</i> var. <i>japonica</i>	ヒサカキ	17	27	42	31	31	20	12	18	9
Pinaceae (マツ科)	<i>Pinus densiflora</i>	アカマツ	-	2	1	-	-	1	-	-	-
Rosaceae (バラ科)	<i>Pourthiaea villosa</i> var. <i>villosa</i>	カマツカ	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Schisandraceae (マツブサ科)	<i>Illicium anisatum</i> var. <i>anisatum</i>	シキミ	-	-	-	-	4	6	3	2	2
Symplocaceae (ハイノキ科)	<i>Symplocos prunifolia</i> var. <i>prunifolia</i>	クロバイ	-	-	-	-	-	1	6	7	4
Theaceae (ツバキ科)	<i>Camellia japonica</i> var. <i>japonica</i>	ヤブツバキ	-	-	-	-	1	-	4	-	1
枯死木(未同定)			9	9	11	-	-	-	-	3	-
	コードラート毎の種数		15	16	14	10	14	14	10	11	8
	平均種数		15.0±1.0 a <sup>1)</sup>			12.7±2.3 ab			9.7±1.5 b		
	3コードラートの総種数		20			18			14		
	コードラート毎の本数		94	101	119	78	88	80	65	106	69
	平均本数		104.7±12.9 a			82.0±5.3 b			80.0±22.6 ab		
	3コードラートの総本数		314			246			240		

分類群及び学名は日本維管束植物目録に準じた（米倉 2012）。

1) 同行内の異なるアルファベット間で有意差あり（P<0.05, Mann-Whitney U 検定）。

表 2-2. 各調査区で確認された下層植生（樹高 1.3m 未満の低木と草本）の種名と被度

科名	学名	和名	サカキーコジイ群落			コナラ群落			ヒノキーアセビ群落			
			A	B	C	A	B	C	A	B	C	
<b>Lycopodiopsida (ヒカゲノカズラ綱)</b>												
Lycopodiaceae (ヒカゲノカズラ科)	<i>Huperzia serrata</i>	トウゲシバ	-	-	-	-	-	-	r	-	-	-
<b>Moniliformopses (シダ類)</b>												
<b>Polypodiopsida (シダ綱)</b>												
Blechnaceae (シシガシラ科)	<i>Blechnum niponicum</i>	シシガシラ	-	-	-	-	-	-	0.6	r	-	-
Dryopteridaceae (オシダ科)	<i>Dryopteris</i> sp.	オシダ属	-	-	-	-	r	-	1.1	r	0.1	-
Gleicheniaceae (ウラボシ科)	<i>Dicranopteris linearis</i>	コシダ	r	r	r	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Diplazium glaucum</i>	ウラボシ	0.7	19.6	16.0	-	-	-	6.1	1.4	-	-
<b>Spermatophyta (種子植物)</b>												
Anacardiaceae (ウルシ科)	<i>Toxicodendron trichocarpum</i>	ヤマウルシ	-	-	-	-	-	-	0.1	0.2	0.4	-
Aquifoliaceae (モチノキ科)	<i>Ilex crenata</i> var. <i>crenata</i>	イヌツゲ	-	-	-	-	-	-	r	0.1	r	-
	<i>I. macrospora</i>	アオハダ	-	-	-	-	-	-	-	r	-	r
	<i>I. pedunculosa</i> var. <i>pedunculosa</i>	ソヨゴ	-	-	-	-	-	-	-	r	r	r
Araliaceae (ウコギ科)	<i>Chengiopanax sciadophylloides</i>	コシアブラ	r	-	-	r	-	-	0.1	r	0.1	-
	<i>Gamblea innovans</i>	タカノツメ	-	-	-	0.1	r	-	-	0.2	r	0.1
Aristolochiaceae (ウマノスズクサ科)	<i>Asarum rigescens</i> var. <i>brachypodium</i>	スズカカンアオイ	-	-	-	0.1	r	r	-	-	r	0.1
Betulaceae (カバノキ科)	<i>Carpinus laxiflora</i>	アカシデ	-	-	-	-	r	r	-	-	-	-
Caprifoliaceae (スイカズラ科)	<i>Abelia spathulata</i> var. <i>spathulata</i>	ツクバネウツギ	-	-	-	-	-	-	-	r	r	0.1
Clethraceae (リョウブ科)	<i>Clethra barbinervis</i>	リョウブ	-	-	-	-	-	-	0.1	r	-	-
Cupressaceae (ヒノキ科)	<i>Chamaecyparis obtusa</i> var. <i>obtusa</i>	ヒノキ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Cryptomeria japonica</i> var. <i>japonica</i>	スギ	-	-	-	-	-	-	-	r	-	-
Ericaceae (ツツジ科)	<i>Lyonia ovalifolia</i> var. <i>elliptica</i>	ネジキ	-	-	-	-	-	r	-	-	-	-
	<i>Pieris japonica</i> var. <i>japonica</i>	アセビ	-	-	-	0.2	0.4	0.3	-	1.1	0.1	-
	<i>Vaccinium bracteatum</i>	シャヤンボ	-	-	r	-	-	-	-	-	-	0.1
	<i>V. hirtum</i>	ウスノキ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r
Fabaceae (マメ科)	<i>Wisteria floribunda</i>	フジ	0.3	r	-	-	-	-	-	-	-	-
Fagaceae (ブナ科)	<i>Castanopsis</i> sp.	シイ属	0.4	0.1	r	0.2	0.5	0.4	0.6	0.1	r	-
	<i>Q. glauca</i> var. <i>glauca</i>	アラカシ	r	r	r	0.1	r	0.2	-	1.2	1.0	-
	<i>Q. myrsinifolia</i>	シラカシ	-	-	-	-	-	-	-	r	-	-
	<i>Q. salicina</i>	ウラボシ	-	-	-	-	r	r	4.9	1.7	0.9	-
	<i>Q. serrata</i> var. <i>serrata</i>	コナラ	r	r	-	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-
	<i>Q. sessilifolia</i>	ツクバネガシ	-	-	-	-	-	-	-	r	-	-
Lauraceae (クスノキ科)	<i>Cinnamomum yabunikkei</i>	ヤブニツケイ	-	-	-	-	r	r	-	-	-	-
Magnoliaceae (モクレン科)	<i>Magnolia obovata</i>	ホオノキ	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-
Oleaceae (モクセイ科)	<i>Fraxinus lanuginosa</i>	アオダモ	-	-	-	-	-	r	r	-	-	-
	<i>Ligustrum japonicum</i> var. <i>japonicum</i>	ネズミモチ	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-
	<i>Osmanthus heterophyllus</i>	ヒイラギ	-	-	-	-	0.1	0.1	-	-	-	-
Pentaphragaceae (サカキ科)	<i>Cleyera japonica</i> var. <i>japonica</i>	サカキ	0.1	0.2	0.1	r	0.3	0.1	1.0	1.1	0.2	-
	<i>Eurya japonica</i> var. <i>japonica</i>	ヒサカキ	0.1	r	0.5	-	0.5	0.3	1.3	4.0	1.7	-
Poaceae (イネ科)	<i>Opismenus undulatifolius</i>	チヂミザサ	r	r	-	r	0.1	0.1	r	-	-	-
Primulaceae (サクランソウ科)	<i>Ardisia japonica</i> var. <i>japonica</i>	ヤブコウジ	-	-	-	r	r	r	r	r	r	-
Rubiaceae (アカネ科)	<i>Mitchella undulata</i>	ツルアリドオン	-	-	-	-	-	-	-	r	-	r
Sapindaceae (ムクロジ科)	<i>Acer</i> sp.	カエデ属	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Schisandraceae (マツバサ科)	<i>Illicium anisatum</i> var. <i>anisatum</i>	シキミ	-	-	-	1.2	3.1	8.1	3.5	3.4	1.6	-
Smilacaceae (サルトリイバラ科)	<i>Smilax china</i> var. <i>china</i>	サルトリイバラ	r	-	-	r	0.1	r	0.1	0.1	0.1	-
Symplocaceae (ハイノキ科)	<i>Symplocos prunifolia</i> var. <i>prunifolia</i>	クロバイ	-	-	-	-	-	0.1	3.4	0.8	3.2	-
Theaceae (ツバキ科)	<i>Camellia japonica</i> var. <i>japonica</i>	ヤブツバキ	-	-	-	-	r	r	-	-	-	-
	コードラート毎の種数		11	9	7	12	19	21	27	22	25	
	平均種数		9.0±2.0 a <sup>1)</sup>			17.3±4.7 b			24.7±2.5 c			
	3コードラートの合計種数		12			25			34			
	コードラート毎の被度		1.6	19.9	16.7	2.0	5.4	9.7	23.3	15.4	9.9	
	3コードラートの合計被度		12.7±9.8 ab			5.7±3.9 a			16.2±6.7 b			

分類群及び学名は日本維管束植物目録に準じた（米倉 2012）。

表中の数字は被度（%）を表す。0.05%未満の場合は r で表記。

1) 同行内の異なるアルファベット間で有意差あり（P<0.05, Mann-Whitney U 検定）。

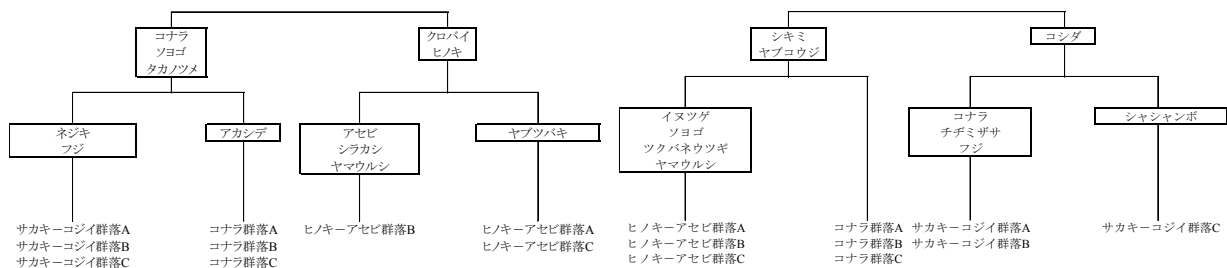


図 2-2. 木本層の TWINSpan による各調査区  
の植生区分  
四角内の植物種名は指標種として抽出さ  
れたものを示す.

図 2-3. 下層植生の TWINSpan による各調査区  
の植生区分  
四角内の植物種名は指標種として抽出さ  
れたものを示す.

### 2-2-3-2. 捕獲個体数及び遺伝的多様性

アカネズミは各調査区の総捕獲個体数 (表 2-3) は、ヒノキアセビ群落 が 74 個体で最も多く、次いでコナラ群落 47 個体、サカキ-コジイ群落 43 個体となった。全ての個体の D-loop のサイズは 299bp で、39 か所の塩基置換の組み合わせから、26 ハプロタイプが確認できた (表 2-4)。ハプロタイプ MA1 については DDBJ に登録し、Accession number (AB701759) を取得した。ヒメネズミは各調査区の総捕獲個体数 (表 2-3) はアカネズミと同様の傾向を示し、ヒノキアセビ群落 が 40 個体で最も多く、次いでコナラ群落 28 個体、サカキ-コジイ群落 21 個体となった。全ての個体の D-loop のサイズは 302bp で、17 か所の塩基置換の組み合わせから 13 ハプロタイプが確認できた (表 2-5)。ハプロタイプ MH4 については DDBJ に登録し、Accession number (AB701760) を取得した。両種共に全調査区の中で下層植生の種数が最も多く、被度が最も高いヒノキアセビ群落において捕獲個体数が最も多かった。この結果は、アカネズミは林床植生の豊富な環境を選好し (Nishikata 1981 ; 上野ら 2011)、同様にヒメネズミも草本層や低木層が発達している環境を選好する (関島ら 2001) といった両種の生息環境利用に関するこれまでの報告と一致するものであった。本研究においても両種共に生息地適性において下層植生が豊富であることが重要な要因となっていると推察された。

各調査区で確認されたアカネズミのハプロタイプ数 (表 2-3) は、ヒノキアセビ群落 が 20 ハプロタイプで最も多く、次いでコナラ群落 16 ハプロタイプ、サカキ-コジイ群落 が 14 ハプロタイプとなった。また、ハプロタイプ多様度 (サカキ-コジイ群落 0.89, コナラ群落 0.88, ヒノキアセビ群落 0.89) (表 2-3) は 3 調査区間で差が認められなかった。これに対し、ヒメネズミのハプロタイプ数 (表 2-3) はヒノキアセビ群落 が 11 ハプロタイプで最も多くなり、次いでコナラ群落 9 ハプロタイプ、サカキ-コジイ群落 5 ハプロタイプとなった。また、ハプロタイプ多様度 (表 2-3) もハプロタイプ数と同様の傾向を示し、コナラ群落 (0.86)、ヒノキアセビ群落 (0.84) 間に差はみられなかったが、サカキ-コジイ群落 (0.58) は両調査区よりも低い傾向がみられた。

AMOVA の結果、アカネズミは遺伝的多様性を構成する 2 つの空間階層（調査区間、調査区内個体間）のうち調査区内個体間の遺伝的多様性の割合は 96.4% となり、調査区間の遺伝的多様性の割合は 3.6% となった（表 2-6）。これに対し、ヒメネズミは調査区内個体間の遺伝的多様性の割合は 89.9% とアカネズミよりも低くなった（表 2-7）。また、調査区間の遺伝的多様性の割合（10.1%）及び  $F_{ST}$ （0.10）はアカネズミより高くなり、調査区間で有意な遺伝的分化が確認された（表 2-7）。しかし、アカネズミも  $F_{ST}$  の値は 0.04 と著しく低かったが、調査区間で有意な遺伝的分化は起こっていた（ $P < 0.001$ , 10,000 回 Permutation test, 以降同様）（表 2-6）。さらに、調査区間で Pairwise  $F_{ST}$  を算出したところ、アカネズミはサカキコジイ群落と他の 2 群落との間で有意な遺伝的分化が起こっていた（表 2-8）。そこで BARRIER を用いて遺伝的交流障壁を探索した結果、サカキコジイ群落と他の 2 群落との間で最も大きな遺伝的交流障壁が認められた（図 2-4）。同様に、ヒメネズミもサカキコジイ群落とヒノキアセビ群落との間で有意な分化が確認され（表 2-9）、サカキコジイ群落と他の 2 群落との間で最も大きな遺伝的交流障壁が認められた（図 2-4）。集団サイズは遺伝的多様性の主要な決定要因であり、個体数の多さは遺伝的多様性の高さと同相関があると考えられている（Frankham et al. 2007）。しかし、本研究においてアカネズミは捕獲個体数が最大となったヒノキアセビ群落では遺伝的多様性の指標としたハプロタイプ多様度は最大とならず、捕獲個体数の最小となったサカキコジイ群落と同程度であった。一方ヒメネズミは、サカキコジイ群落でハプロタイプ多様度が 0.58 となり、コナラ群落（0.86）及びヒノキアセビ群落（0.84）よりも低くなっていた。同様に AMOVA の結果からも、アカネズミよりヒメネズミの方が調査区間での母系集団の遺伝的分化程度が大きく、調査区内での同一母系集団の定着性が高いことが示唆された。これらは、アカネズミの方が移動が活発であり（大津 1973）、進入・定着プロセスが迅速（関島ら 2001）なことから、調査区間で異なる母系集団の移動がヒメネズミよりも活発であったためと推測された。

また、MSN を作成したところ、アカネズミはハプロタイプ MA43 を祖先ノードとして 1 ~ 4 塩基異なる比較的近縁なハプロタイプによる一斉放散型を示し、一部のハプロタイプ（MA49, MA15, MA30, MA1, MA6 等）は環状構造を示した（図 2-5）。しかし、ヒメネズミはネットワーク化していない構造となり、いくつかのクレードに分化する結果となった（図 2-6）。これらの結果は、「2-1. 岐阜県高山市野麦に同所的に生息するネズミ科 3 種の遺伝的構造」と同様の傾向を示した。アカネズミは長時間個体群が維持され遺伝的多様性の損失がなかったモデルと考えられる安定維持型（環状構造）を形成したことから（小池 2003）、調査地に多様な母系集団が流入していることが示唆された。これに対しヒメネズミは環状でない構造が形成されたことからアカネズミに比べ調査地への新規母系集団の流入が少ないと推察された。

以上のことから、アカネズミのように活動距離が広範囲なものに関しては必ずしも捕獲個体数から遺伝的多様性を推測することは適切でないことが示唆された。一方、ヒメネズ

ミはアカネズミよりも移動範囲が狭く定着性が高いため(大津 1973), 局地個体群間での遺伝的交流の制限が起こったと推測された. 従って, 個体群内への新規個体流入の少ないヒメネズミは今後個体群の孤立や何らかの攪乱により個体数が減少し, ボトルネック効果が起こった場合には, 現状よりも遺伝的多様性がさらに低下する可能性が示唆された. また, 両種のハプロタイプ多様度は母集団サイズではなく捕獲個体数に強く依存した可能性も示唆された. このことから, ハプロタイプ多様度を遺伝的多様性評価のための環境アセスメント法として応用していくためには, 捕獲個体数の効果を補正し, より正確に母集団の遺伝的多様性を評価するパラメーターの設定についても検討していく必要があると考えられた.

両種共に調査区間で特定のハプロタイプが局在している傾向がなかったことから, 遺伝的交流はされており, 一つのメタ個体群となっていると推察された. しかし, AMOVA の結果ではどちらも調査区間で有意な遺伝的分化が生じていたことから, 異なる母系集団に由来する遺伝的分化も生じていた. また, 本研究では **BARRIER** での遺伝的交流障壁を求める際, 1 領域のみを標的としたためブートストラップ検定を行い, 有意性を検討することができなかった. しかし, 1 領域のみを用いた報告もあり(佐伯 2011), 本研究では **Pairwise  $F_{ST}$**  と **BARRIER** を併用したため, 障壁の有意性については妥当であったと考えられる. そのため, 本研究結果で得られたサカキーコジイ群落とコナラ群落間の遺伝的交流障壁は有意であったと考えられた. 調査区間の環境傾度の小ささやサンプル数の少なさなどの問題もあるが, 両群落の植生の相違が定着性や移動性の要因となったか, もしくは両群落は異なる谷筋にあり高低差も約 40m あるため地形的要因が遺伝的分化要因となった可能性が考えられた.

以上のように, アカネズミはヒメネズミに比べて遺伝的分化係数が小さくなったことから局地個体群間での移動性が高いと考えられた. このことから, 「2-1. 岐阜県高山市野麦に同所的に生息するネズミ科 3 種の遺伝的構造」と同様にアカネズミは動的平衡状態を保った集団を維持していることが明らかとなった. また, **BARRIER** の結果, 植生だけでなく地形的要因が局地個体群間の遺伝的分化要因となっている可能性が示唆された.

環境アセスメント対象地域に調査区を設け, 本評価法を用いることによってハプロタイプ多様度による評価対象集団の遺伝的多様性, MSN による遺伝的安定性を評価することが可能となる. さらに, AMOVA により調査区間で遺伝的分化や局在性の有無を判断し, 調査区間で遺伝的分化が生じていた場合には **BARRIER** を用いて遺伝的交流障壁となっている場所の推定も可能であることが明らかとなった.

表 2-3. アカネズミとヒメネズミの各調査区の捕獲個体数及び  
ミトコンドリア DNA D-loop 領域における遺伝的多様性

調査区/種名	捕獲 個体数	ハプロ タイプ数	ハプロタイプ 多様度
サカキ-コジイ群落			
アカネズミ	43	14	0.89
ヒメネズミ	21	5	0.58
コナラ群落			
アカネズミ	47	16	0.88
ヒメネズミ	28	9	0.86
ヒノキ-アセビ群落			
アカネズミ	74	20	0.89
ヒメネズミ	40	11	0.84

表 2-4. アカネズミのミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域に認められた 26 ハプロタイプ  
の DNA 多型箇所とハプロタイプごとのコドラートにおける捕獲個体数

ハプロタイプ	DNA多型箇所 <sup>1)</sup>																											捕獲個体数																										
	4	4	5	5	6	7	8	9	0	1	2	2	3	3	5	5	5	5	6	6	7	7	7	8	8	8	8	9	9	2	2	2	2	サカキ	コナラ	ヒノキ																		
	1	6	1	4	1	0	8	1	8	4	2	3	6	9	0	1	3	4	7	8	9	2	7	3	6	7	8	0	2	5	6	7	0	5	8	1	4	9	9	A	B	C	A	B	C	A	B	C						
MA1	T	T	T	C	T	A	C	T	C	T	A	C	C	T	T	T	C	T	A	C	A	A	T	A	T	T	C	T	A	A	T	T	A	T	C	G	0	3	0	1	2	4	6	5	2									
MA2	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.				
MA3	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
MA5	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
MA6	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
MA15	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
MA20	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
MA28	C	.	.	.	G	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
MA30	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA32	C	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA39	C	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA42	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA43	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA44	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA47	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA49	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA50	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA55	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA82	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA85	C	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MA88	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA102	C	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
MA155	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA158	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA178	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MA181	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
合計																																																						

1) DNA 多型箇所は PCR 増幅領域のプライマーを含まない 5' 末端からの塩基数 (299bp)

・ : MA1 と同一の塩基を示す

表 2-5. ヒメネズミのミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域に認められた 13 ハプロタイプの DNA 多型箇所とハプロタイプごとの各コドラートにおける捕獲個体数

ハプロタイプ	DNA多型箇所 <sup>1)</sup>														捕獲個体数										
															照葉樹林区			落葉広葉樹林区			ヒノキ人工林区				
	8	8	8	1	2	3	3	5	5	5	5	6	6	8	9	7	A	B	C	A	B	C	A	B	C
MH4	T	T	T	C	T	T	C	C	T	T	C	T	A	G	G	T	4	5	4	2	1	4	1	3	1
MH7	C	.	.	T	.	C	.	T	C	.	.	C	.	T	A	C	0	0	0	0	0	2	5	1	0
MH8	.	.	.	T	.	T	T	.	.	.	.	.	.	.	A	.	0	0	2	1	2	4	1	0	0
MH11	.	A	.	.	C	.	.	T	.	.	.	.	.	.	A	.	1	0	0	1	0	0	1	1	0
MH13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	0	0	0	0	0	2	1	1	1
MH14	.	.	.	T	.	C	.	T	C	.	.	C	.	.	A	.	0	0	0	0	0	0	1	0	2
MH50	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	0	0	0	0	0	0	0	1	0
MH52	.	.	C	T	C	A	.	T	C	.	T	C	.	.	A	.	0	2	2	1	1	1	1	1	0
MH54	.	.	.	A	C	.	T	.	C	.	.	.	.	.	A	.	0	0	0	0	0	0	0	0	1
MH60	.	.	.	A	.	.	T	.	C	.	.	.	.	.	A	.	0	1	0	2	1	1	2	10	2
MH65	.	.	C	T	C	A	.	T	.	C	C	.	.	.	A	.	0	0	0	0	1	0	0	0	0
MH70	.	.	.	T	.	T	T	.	C	.	.	.	.	.	A	.	0	0	0	0	0	0	0	1	1
MH75	.	.	C	T	C	A	.	T	C	.	.	C	.	.	A	.	0	0	0	0	1	0	0	0	0
合計	5	8	8	7	7	14	13	20	7																

1) DNA 多型箇所は PCR 増幅領域のプライマーを含まない 5' 末端からの塩基数 (302bp)  
 ・ : MH4 と同一の塩基を示す.

表 2-6. アカネズミ 26 ハプロタイプを用いた 3 調査区間の分子分散分析 (AMOVA)

	自由度	平方和	分散成分	遺伝的多様性の割合	遺伝的分化係数 ( $F_{ST}$ )	危険率*
調査区間での変異	2	2.7	0.02	3.6	0.04	0.00
個体間での変異	161	71.5	0.44	96.4		
合計	163	74.2	0.46			

\*10,000 回 Permutation test

表 2-7. ヒメネズミ 13 ハプロタイプを用いた 3 調査区間の分子分散分析 (AMOVA)

	自由度	平方和	分散成分	遺伝的多様性の割合	遺伝的分化係数 ( $F_{ST}$ )	危険率*
調査区間での変異	2	3.3	0.04	10.1	0.10	0.00
個体間での変異	86	33.9	0.39	89.9		
合計	88	37.3	0.44			

\*10,000 回 Permutation test

表 2-8. アカネズミの調査区間の Pairwise  $F_{ST}$

	サカキーコジイ群落	コナラ群落
サカキーコジイ群落	—	—
コナラ群落	0.04*	—
ヒノキーアセビ群落	0.06*	0.01

\* $P < 0.001$ , 10,000 回 Permutation test

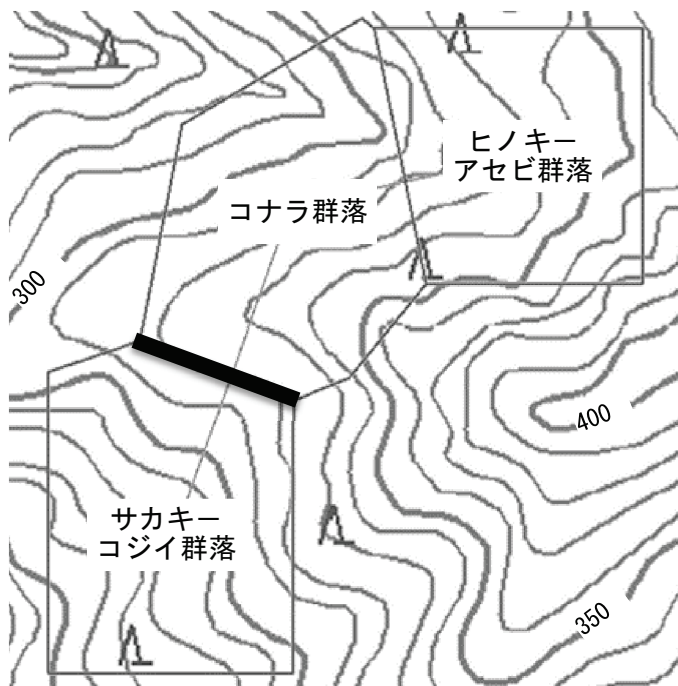


図 2-4. BARRIER によって検出されたアカネズミ及びヒメネズミの遺伝的交流障壁  
コナラ群落とサカキーコジイ群落間の太線が最も大きい遺伝的な障壁。

表 2-9. ヒメネズミの調査区間の Pairwise  $F_{ST}$

	サカキーコジイ群落	コナラ群落
サカキーコジイ群落	—	—
コナラ群落	0.08	—
ヒノキーアセビ群落	0.18*	0.04

\* $P < 0.001$ , 10,000 回 Permutation test



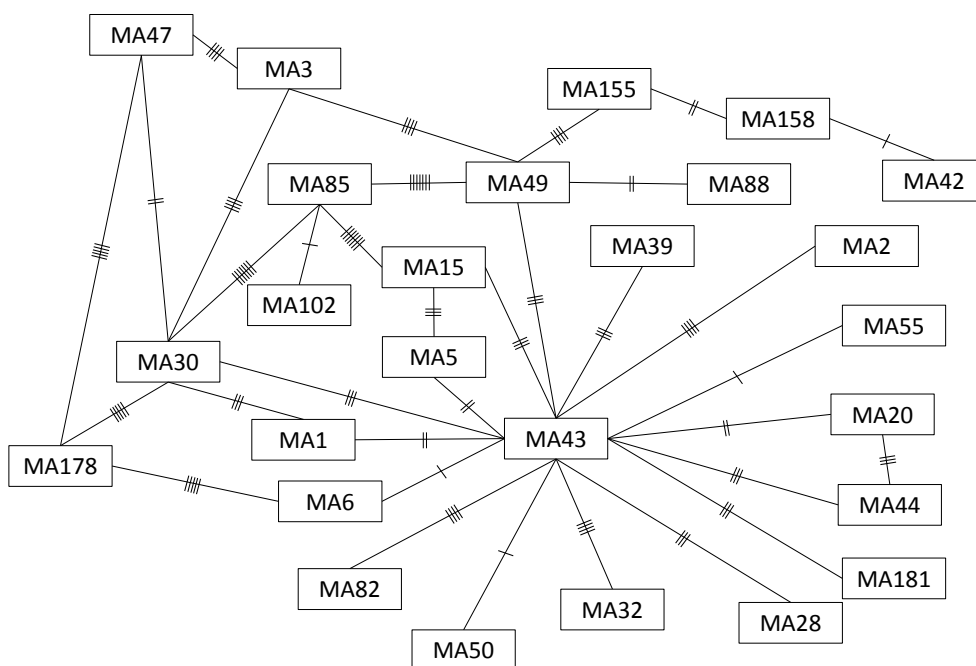


図 2-5. アカネズミのミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域で確認された 26 ハプロタイプを用いて構築した MINIMUM SPANNING NETWORK

四角内のアルファベット及び数字はハプロタイプ名を示す

ハプロタイプ名詳細は表 2-4 を参照

ハプロタイプをつなぐ直線上にある線の本数は塩基の置換数を表す。

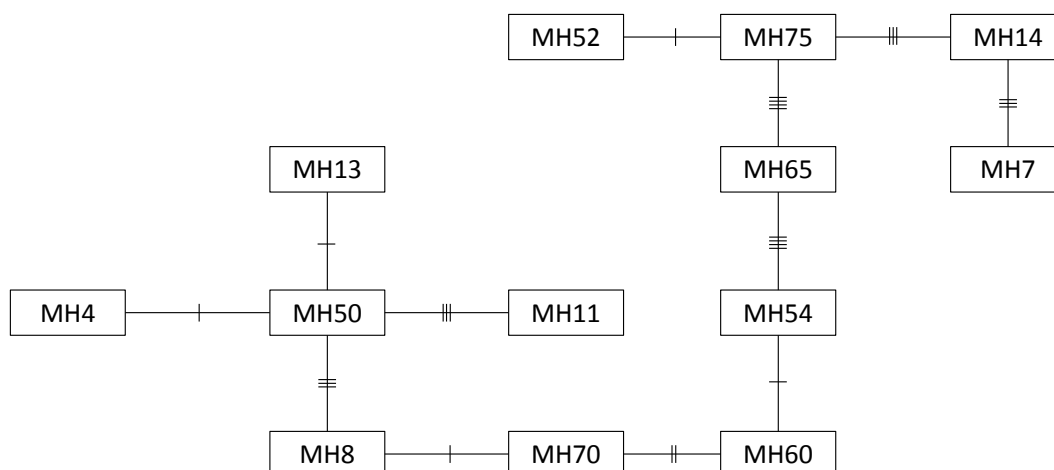


図 2-6. ヒメズミのミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域で確認された 13 ハプロタイプを用いて構築した MINIMUM SPANNING NETWORK

四角内のアルファベット及び数字はハプロタイプ名を示す

ハプロタイプ名詳細は表 2-5 を参照

ハプロタイプをつなぐ直線上にある線の本数は塩基の置換数を表す。

### 3. DNA バーコーディング法を用いたネズミ科の種同定と餌資源推定

#### 3-1. 愛知県弥勒山における DNA バーコーディング法を用いたネズミ科の植物性餌資源推定法の確立

##### 3-1-1. 研究背景及び目的

生物の種同定は形態的・生態的特徴を膨大な種情報と比較することによって行われてきたため、広範な種情報を把握している分類学者でなければ正確に種同定することは困難である(神保ら 2008)。しかし、分類学者によって種同定された標本の塩基配列と同定したい生物種の塩基配列の比較によって種同定を行うことができれば、対象生物の専門的な知識を持っていなくても種同定が可能となる(神保ら 2008)。そこで、最近では特定の短い塩基配列を用いて生物を種同定する DNA バーコーディング法が採用され始めている(神保ら 2008)。DNA バーコーディング法は種同定を簡便にするだけではなく、顕微鏡下でしか観察できない小型のプランクトン(松村ら 2008)、市販の鮮魚の切り身、加工食品の原料となった魚種等(荒見ら 2011)、形態学的な種同定が不可能なサンプルや生体の一部からでも種同定が可能となる。また、これまで顕微鏡観察による形態学的手法でしかできなかったノウサギ *Lepus brachyurus*(松木ら 2003)やマーモット *Marmota caudata* 及びヒグマ *Ursus arctos* (Valentini et al. 2009) 等の餌資源推定にも DNA バーコーディング法が用いられている。

ネズミ科における餌資源については、生態研究を行う上で重要な研究課題である。しかし、これまでの報告は主に胃内容物のデンプン粒形態による採食作物種同定(水島・山田 1974)や、飼育下での給餌実験により採食された生物種の確認(立川・村上 1976)などである。そのため、自然条件下での餌資源について生物種レベルでの同定には至っていないのが現状である。このような背景から、日本固有で生態が比較的良く研究されているアカネズミでさえも、餌資源は葉緑体を含まない柔らかい植物の根茎部、実生、種実、漿果、昆虫類とされ(金子 2008)、同属のヒメネズミについても同様に、種子、果実類、節足動物、緑色繊維質などと報告されるに留まっている(金子 2008)。

そこで、本研究では日本固有種で国内に広く生息し、生態学的な研究報告が多いにもかかわらず、未だに餌資源については不明な点が多いアカネズミとヒメネズミにおける新たな糞中植物種残渣推定法として、葉緑体 DNA を利用した DNA バーコーディング法について検討した。本手法では DDBJ 上に最も多く登録・公開されており(吉川ら 2010)、比較的短い配列で植物種の識別が可能な *rbcL* 遺伝子の部分領域 (ca. 262 bp)(松木ら 2003)を用いた。そして、捕獲地周辺に生育する植物より作成した *rbcL* 遺伝子の DNA データベース(以降、*rbcL* データベース)及び DDBJ を併用したネズミ科の糞中植物種残渣推定法を確立し、植物性餌資源の種同定及びその問題点についても検討した。

### 3-1-2. 調査及び実験方法

#### 3-1-2-1. 捕獲地及び供試試料

「2-2. メタ個体群内の局地個体群間における *Apodemus* 属 2 種の遺伝的分化」の調査において 2009 年 8 月から 2010 年 11 月までの期間に捕獲されたアカネズミ 37 個体、ヒメネズミ 14 個体のうち糞を採取できたアカネズミ 34 個体分、ヒメネズミ 13 個体分の糞をサンプルとして使用した。それぞれ、1 個体あたりから約 50~500 mg の糞サンプルが罠内から採取できた。また、糞サンプルは 1 捕獲個体分を 1 サンプルとして解析を行った。両種の種同定には主に形態的特徴（金子 2008）を用いたが、幼獣個体等は種判別が困難な場合もあったことから、DNA 鑑定も並行して行った。捕獲時に外部形態で種同定が可能であった両種の成体から採取した毛をサンプルとして「2-1-2. 調査及び実験方法」と同様の手法でミトコンドリア DNA D-loop 領域の塩基配列を決定し、決定された塩基配列をもとに全個体の DNA 鑑定を行った。

#### 3-1-2-2. 糞サンプルからの *rbcL* 遺伝子サブクローニング

採取した糞は、アルミバス（ALB-301, IWAKI）を用い 60°C で一晩乾燥させ、全 DNA 抽出サンプル（25~75mg）とした。予備実験として糞中全 DNA 抽出に用いるキットを選定するため、糞中全 DNA 抽出キット（QIAamp DNA Stool Mini Kit, QIAGEN）、土壌中全 DNA 抽出キット（NucleoSpin Soil, MACHEREY-NAGEL）及び植物中全 DNA 抽出キット（DNeasy Plant Mini Kit, QIAGEN）の 3 種類の DNA 抽出キットを用いて同一のサンプルより全 DNA を抽出し、GENECLEAN SPIN Kit（MP-Biomedicals）で精製し、PCR の鋳型 DNA とした。植物中全 DNA 抽出キット（DNeasy Plant Mini Kit, QIAGEN）で抽出を行った鋳型 DNA を用いた際に最も安定して PCR 増幅が確認されたことから、以降の実験は本キットで抽出した鋳型 DNA を用いた。

PCR 反応には EX Taq (TaKaRa) を用い、反応液は付属のプロトコールに従って調整し、0.5  $\mu$ M の *rbcL* プライマー（Forward: 5'-TATCTTGGCAGCATTCCGAGTA ACTCC-3' 及び Reverse: 5'-GATTCGCAGATCCTCCAGAGTAGAGC-3'）（松木ら 2003）を含む 50  $\mu$ l を調整した。PCR 増幅は、DNA サーマルサイクラー（Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystem）を用い、熱変性 95°C 1 分間を 1 サイクル後、熱変性 98°C 10 秒間、アニーリング 56°C 30 秒間、伸長反応 72°C 45 秒間を 1 サイクルとして 30 サイクル行い、最後に伸長反応 72°C 5 分間を 1 サイクルの条件で行った。

増幅確認された PCR 産物を pGEM-T Easy Vector System I（Promega）を用いて大腸菌 JM109（TOYOBO）に形質転換した後、LB 寒天培地から形質転換コロニーを無作為に 1 個体分の糞サンプル当たり最大 30 個ピックアップし、コロニーダイレクト PCR 法によって以下の手順でインサートチェックを行った。EX Taq (TaKaRa) を用い、PCR 反応液の組成及び濃度は付属のプロトコールに従い、0.05  $\mu$ M のインサートチェック用のプライマー（Forward: 5'-CGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGAC-3' 及び Reverse: 5'-AGCGGATAACAATTTTCACACAGGAAAC-3'）を含む 10  $\mu$ l の PCR 反応液を調整し、ピ

ックアップしたコロニーを浸漬した。PCR 増幅は、DNA サーマルサイクラー (Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystem) を用い、熱変性 98°C2 分間を 1 サイクル後、熱変性 98°C10 秒間、アニーリング 55°C30 秒間、伸長反応 72°C60 秒間を 1 サイクルとして 40 サイクル行い、最後に伸長反応 72°C7 分間を 1 サイクルの条件で行った。インサートの確認ができたコロニーについては LB 液体培養後 (37°C, 190 rpm, 一晚), NucleoSpin Plasmid QuickPure (MACHEREY-NAGEL) を用いてプラスミド DNA の抽出を行った。

プラスミド DNA 抽出後、マルチキャピラリー DNA 解析システム (CEQ2000XL, BECKMAN COULTER) 付属のプロトコールに従い、CEQ DTCS Quick Start Kit (BECKMAN COULTER) を用いて、Dye Terminator Cycle Sequence 法で塩基配列を決定した。その際、コロニーダイレクト PCR で使用したプライマーをシーケンス用のプライマーとして用いた。

### 3-1-2-3. rbcL 遺伝子データベース構築

捕獲調査を行った地点周辺に生育する植物種を採集し、「3-1-2-2. 糞サンプルからの rbcL 遺伝子サブクローニング」で使用した植物中全 DNA 抽出キットを用いて、同様の PCR 条件で rbcL 遺伝子を増幅し、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。決定した塩基配列について BioEdit ver.7.1.3.0 (Ibis Biosciences) を用いて rbcL データベースを構築した。

### 3-1-2-4. 糞中植物種残渣の推定

得られた rbcL 遺伝子領域の塩基配列について、まず rbcL データベースと相同性検索を行った。また、rbcL データベースと一致しなかった塩基配列については DDBJ に登録されているすべての塩基配列を対象として相同性検索を行った。ただし、DDBJ には塩基配列のみ登録されている“unpublished”と論文発行されている“published”が混在するため、本研究では信頼性の高い“published”されたデータのみを採用した。全ての検索は blastn プログラムを使用した。また、複数の候補種が検索された場合には、現場での生育確認や既報の植物分布情報 (林ら 1989 ; 畔上ら 1996 ; 清水ら 2001) を参考として候補植物種を選定した。

### 3-1-3. 結果及び考察

両種の糞中残渣から rbcL 遺伝子領域の PCR 増幅を試みた結果、アカネズミは 34 サンプル中 26 サンプル、ヒメネズミは 13 サンプル中 12 サンプルで増幅が確認された。そのうち、アカネズミは PCR が成功した 26 サンプル中サブクローニングが成功した 10 サンプルから 29 クローンの rbcL 遺伝子領域 262 bp の塩基配列を決定した。また、ヒメネズミは PCR 増幅が確認された 12 サンプル全てのサブクローニングが成功し、53 クローンの rbcL 遺伝子領域 262 bp の塩基配列を決定した。

アカネズミの糞から得られた 29 クローン中 11 クローンは捕獲時に餌として用いた押し麦、クルミであったため、残り 18 クローンについて候補種を検索した (表 3-1)。その結果、

rbcL データベースよりフジ *Wisteria floribunda* (一致した塩基数/シーケンスされた全塩基数 : 262/262, 以降同様) が, DDBJ よりトゲチシャ *Lactuca serriola* (262/262) が相同性 100%で検索された. フジは捕獲地において生育が確認されており, トゲチシャはほぼ全国的に帰化しているため (清水ら 2001), これら 2 種は採食された可能性が非常に高いと考えられた. また, rbcL データベースより相同性 100%で複数の候補種が検索された場合もあり, クローン MA73-7, MA102-12 では, コナラ (262/262) 及びツブラジイ *Castanopsis cuspidata* (262/262) の 2 種が同一の相同性で検索された. また, rbcL データベースと 1~2 塩基の相違が認められた場合もあり, クローン MA68-7, 14 は, 1 塩基の相違でヤマザクラ *Cerasus jamasakura* var. *jamasakura* (261/262) が, クローン MA93-4, 16 は, 2 塩基の相違でソヨゴ *Ilex pedunculosa* var. *pedunculosa* (260/262) 及びイヌツゲ *I. crenata* var. *crenata* (260/262) の 2 種が検索された. 両種共に調査地において生育が確認されているため, これら 2 種もしくは *Ilex* 属の近縁種が採食された可能性が示唆された.

ヒメネズミの糞から得られた 53 クローン中 20 クローンは捕獲時に餌として用いた押し麦, クルミであったため, 残り 33 クローンについて候補種を検索した (表 3-2). その結果, rbcL データベースよりヒノキ (262/262), アセビ *Pieris japonica* var. *japonica* (262/262) が, DDBJ よりトゲチシャ (262/262) が相同性 100%で検索された. ヒノキ及びアセビは共に調査地において生育が確認されており, トゲチシャについても前述のとおりであるため, これら 3 種については採食された可能性が高いと考えられた. またアカネズミと同様に, クローン MH73-10, MH80-1, 24 は rbcL データベースよりツブラジイとコナラが同一の相同性で検索された. 3 種が rbcL データベースより相同性 100%で検索された場合もあり, クローン MH73-27 ではアラカシ *Q. glauca* var. *glauca* (262/262), シラカシ *Q. myrsinifolia* (262/262) 及びウラジロガシ *Q. salicina* (262/262) が同一の相同性で検索された. いずれも調査地において生育が確認されているため, これら 3 種もしくは *Quercus* 属の近縁種が採食された可能性が示唆された. ヤマザクラ (260/262), アセビ (261/262) は rbcL データベースと, ウメ *Prunus mume* (258/262) は DDBJ の登録データと相同性が高かったが, 1~4 塩基の DNA 多型が確認されたため, 本種もしくはその近縁種が採食された可能性が示唆された. さらに, 調査地において生育可能性のない植物種のみが検索される場合もあった. クローン MH-25 は相同性 100%で *Lactuca muralis* (262/262), *Tolpis azorica* (262/262), *T. succulenta* (262/262), *T. umbellata* (262/262) の 4 種が検索されたが, いずれも国内での自生が確認されていない植物種であった. しかし, 既報の植物分布情報で *Lactuca* 属のアキノノゲシ *L. indica* (林ら 1989) やヤマニガナ *L. raddeana* (畔上ら 1996) は全国的に分布しているため, 両種もしくは同属の種が採食された可能性も考えられた. また, クローン MH82-19 も同様に *Larrea divaricata* 及び *L. tridentata* の 2 種が同一の相同性で検索されたが, どちらも国内での自生が確認されておらず, さらに 16 塩基の多型が確認された.

rbcL データベースもしくは DDBJ と相同性 100%で 1 種のみ検索できたものは両種の合

計で 51 クローン中 28 クローンとなり約半数の採食候補植物が検索できた。しかし、調査地に生育している可能性のない植物種のみ検索されるケースもあった。本研究では *rbcL* データベース作成のための植物採集は 1 面あたり約 144m<sup>2</sup> のコドラート 9 面で実施したが、アカネズミの行動圏は最大で 1853±602m<sup>2</sup>、ヒメネズミは 1199±6m<sup>2</sup> と報告されていることから (Oka 1992)、今後は両種の行動範囲を考慮して、より広範囲でより詳細な植生調査及びデータベースの構築を行う必要があると考えられた。また、捕獲地周辺に生育する限られた植物種の中であっても、複数種が同一の塩基配列を持つため候補種を絞れないケースや、相同性検索の結果数塩基の DNA 多型が認められたため種内変異であるのか近縁の異なる種であるのか判断できないケースが認められた。本法では 1,400 bp 以上ある *rbcL* 遺伝子のうち 262 bp のみを使用したため、より長い配列を使用することで種同定できる可能性も考えられた。そこで、候補種を絞れなかったコナラ及びツブラジイと、アラカシ、シラカシ及びウラジロガシについて DDBJ に登録されている塩基配列を使用して *rbcL* 遺伝子領域 1,459 bp の多型を探索した。その結果、コナラ及びツブラジイについては 5 塩基の置換が確認されたため、より長い配列を使用することによって両種の識別は可能となると考えられた。しかし、アラカシ、シラカシ及びウラジロガシについては種間で DNA 多型が確認されなかったため、*rbcL* 遺伝子でのこれら 3 種の識別は不可能であると考えられた。さらに、糞中の DNA は消化等により断片化していることから、標的とする配列が長いと PCR による増幅が困難であるため、1,400 bp 以上ある *rbcL* 遺伝子全体を餌資源推定に用いるのは妥当ではないと考えられる。このことから、現状では DDBJ を利用する場合には、多くの塩基配列が登録されている本研究で用いた *rbcL* 遺伝子部分領域を用いるのが最も糞中植物種残渣を識別できる可能性が高くなると考えられた。また、DDBJ だけでなく捕獲地周辺の植物についての *rbcL* 遺伝子データベースを構築することによって糞中植物種残渣を識別する精度を高めることができると考えられた。

松木ら (2003) が行ったノウサギの食性解析の結果では、1 個体あたり少なくとも 3 種、多いものでは 16 種もの植物種が検出されている。それに対して本研究結果では多くても 1 個体あたり 3 種であり、大部分は 1 種のみ検出されている。このように検出数が少なくなった理由としては、本研究対象としたネズミ科 2 種はノウサギよりも体サイズ及び糞が小さいため、微量に採食されたサンプルが検出されなかった可能性が示唆された。さらに、アカネズミは 29 クローン中 11 クローン、ヒメネズミは 53 クローン中 20 クローンと捕獲餌が多く検出されていることから、両種は消化にかかる時間が短く直前に採食した植物種のみ検出された可能性も考えられた。また、ヒメネズミ 3 頭から複数の有毒成分を含むアセビ (形井ら 1975) が候補種として検索された。これまでに、アカネズミでは急性毒性を示すタンニンを含むミズナラ *Q. crispula* var. *crispula* を少量ずつ摂取することによって馴化し、ダメージを緩和することが報告されている (島田 2008)。同様にアセビも何らかの方法によってダメージを緩和し、採食している可能性が示唆された。

本結果から、野生下のアカネズミ及びヒメネズミの糞中植物種残渣について、*rbcL* を利

用した分子生物学的手法を用いることにより、一部種レベルでは推定できないケースがあったものの、技術的には少なくとも科レベルまでは推定可能であることが示唆された。ただし推定精度を上げるためには、調査地における評価対象種の行動範囲に見合った植生調査及びデータベースの作成、ならびに同一の *rbcL* 配列を有する異種の識別法の確立が必要であると考えられた。

表 3-1. アカネズミの糞から決定された *rbcL* 遺伝子領域 (262bp) をもとに検索された採食候補植物種一覧

捕獲個体No. (クローン数)	クローン No.	候補植物種	科	Accession No. (DDBJ)*	相同性*	E value*
MA68(2)	7	<i>Cerasus jamasakura</i> var. <i>jamasakura</i> (ヤマザクラ)	Rosaceae (バラ科)	-	261/262	e <sup>-142</sup>
	14	<i>Cerasus jamasakura</i> var. <i>jamasakura</i> (ヤマザクラ)	Rosaceae (バラ科)	-	261/262	e <sup>-142</sup>
MA73(1)	7	<i>Castanopsis cuspidata</i> (ツブラジイ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Quercus serrata</i> var. <i>serrata</i> (コナラ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
MA93(2)	4	<i>Ilex pedunculosa</i> var. <i>pedunculosa</i> (ソヨゴ)	Aquifoliaceae (モチノキ科)	-	260/262	e <sup>-141</sup>
		<i>Ilex crenata</i> var. <i>crenata</i> (イヌツゲ)	Aquifoliaceae (モチノキ科)	-	260/262	e <sup>-141</sup>
	16	<i>Ilex pedunculosa</i> var. <i>pedunculosa</i> (ソヨゴ)	Aquifoliaceae (モチノキ科)	-	260/262	e <sup>-141</sup>
		<i>Ilex crenata</i> var. <i>crenata</i> (イヌツゲ)	Aquifoliaceae (モチノキ科)	-	260/262	e <sup>-141</sup>
MA102(3)	26	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシャ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	29	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシャ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	30	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシャ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
MA102(3)	12	<i>Castanopsis cuspidata</i> (ツブラジイ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Quercus serrata</i> var. <i>serrata</i> (コナラ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	15	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシャ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	16	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシャ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
MA125(1)	1	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシャ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
MA132(1)	6	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシャ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	261/262	e <sup>-142</sup>
MA160(1)	5	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシャ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
MA165(4)	2	<i>Wisteria floribunda</i> (フジ)	Fabaceae (マメ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	8	<i>Wisteria floribunda</i> (フジ)	Fabaceae (マメ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	12	<i>Wisteria floribunda</i> (フジ)	Fabaceae (マメ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	22	<i>Wisteria floribunda</i> (フジ)	Fabaceae (マメ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>

\*: *rbcL* データベースで検索された場合 *rbcL* データベースとの相同性及び E value を示す。

また、DDBJ で検索された場合には Accession No., 相同性及び E value を示す。

表 3-2. ヒメネズミの糞から決定された rbcL 遺伝子領域 (262bp) をもとに検索された採食候補植物種一覧

捕獲個体No. (クローン数)	クローン No.	候補植物種	科	Accession No. (DDBJ)*	相同性*	E value*
MH67(4)	2	<i>Cerasus jamasakura</i> var. <i>jamasakura</i> (ヤマザクラ)	Rosaceae (バラ科)	-	260/262	e <sup>-137</sup>
	10	<i>Prunus mume</i> (ウメ)	Rosaceae (バラ科)	KF154878	258/262	e <sup>-135</sup>
	15	<i>Prunus mume</i> (ウメ)	Rosaceae (バラ科)	KF154878	258/262	e <sup>-135</sup>
	18	<i>Prunus mume</i> (ウメ)	Rosaceae (バラ科)	KF154878	258/262	e <sup>-135</sup>
MH73(2)	10	<i>Castanopsis cuspidata</i> (ツブラジイ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	8	<i>Quercus serrata</i> var. <i>serrata</i> (コナラ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
MH73(2)	7	<i>Chamaecyparis obtusa</i> var. <i>obtusa</i> (ヒノキ)	Cupressaceae (ヒノキ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	27	<i>Quercus glauca</i> var. <i>glauca</i> (アラカシ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Quercus myrsinifolia</i> (シラカシ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Quercus salicina</i> (ウラジロガシ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
MH77(2)	27	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	13	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	261/262	e <sup>-142</sup>
MH80(7)	27	<i>Pieris japonica</i> var. <i>japonica</i> (アセビ)	Ericaceae (ツツジ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	1	<i>Castanopsis cuspidata</i> (ツブラジイ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Quercus serrata</i> var. <i>serrata</i> (コナラ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	24	<i>Castanopsis cuspidata</i> (ツブラジイ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Quercus serrata</i> var. <i>serrata</i> (コナラ)	Fagaceae (ブナ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	19	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	29	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	14	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	22	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	261/262	e <sup>-142</sup>
	MH80(3)	4	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262
24		<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
11		<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	261/262	e <sup>-142</sup>
MH80(2)	30	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	12	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	260/262	e <sup>-139</sup>
MH81(2)	13	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	9	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
MH82(2)	12	<i>Pieris japonica</i> var. <i>japonica</i> (アセビ)	Ericaceae (ツツジ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	19	<i>Larrea divaricata</i>	Zygophyllaceae (ハマビシ科)	AF200472	246/262	e <sup>-115</sup>
		<i>Larrea tridentata</i>	Zygophyllaceae (ハマビシ科)	AY935748	246/262	e <sup>-115</sup>
MH82(5)	8	<i>Pieris japonica</i> var. <i>japonica</i> (アセビ)	Ericaceae (ツツジ科)	-	262/262	e <sup>-144</sup>
	5	<i>Pieris japonica</i> var. <i>japonica</i> (アセビ)	Ericaceae (ツツジ科)	-	261/262	e <sup>-142</sup>
	12	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	22	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	29	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	261/262	e <sup>-142</sup>
MH(2)	22	<i>Lactuca serriola</i> (トゲチシヤ)	Asteraceae (キク科)	HM850098	262/262	e <sup>-144</sup>
	25	<i>Lactuca muralis</i>	Asteraceae (キク科)	HE963528	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Tolpis azorica</i>	Asteraceae (キク科)	HM850400	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Tolpis succulenta</i>	Asteraceae (キク科)	HM850401	262/262	e <sup>-144</sup>
		<i>Tolpis umbellata</i>	Asteraceae (キク科)	HM850402	262/262	e <sup>-144</sup>

\*: rbcL データベースで検索された場合 rbcL データベースとの相同性及び E value を示す。  
また、DDBJ で検索された場合には Accession No., 相同性及び E value を示す。



## 3-2. ヴェトナム・カッチェン国立公園における DNA バーコーディング法を用いたネズミ科の種同定と餌資源推定への応用

### 3-2-1. 研究背景及び目的

「3-1. 愛知県弥勒山における DNA バーコーディング法を用いたネズミ科の植物性餌資源推定法の確立」では国内の弥勒山において捕獲調査を行ったため、調査地周辺の植生調査を行うことが可能であった。また、日本国内で生育する植物については体系的な分類が確立されており、各植物種の分布情報や DNA データベースが充実している。そのため、作成したデータベースと既存の DNA データベースを併用した餌資源推定が可能となった。これに対し、餌資源情報がないため解析対象生物が膨大となってしまうことから、あらかじめ DNA データベースを作成することが困難である海洋生物などは DNA バーコーディング法を用いた餌資源解析において既存の DNA データベースを利用した推定が報告されている (Suzuki et al. 2006 ; Riemann et al. 2010)。また、仮に DNA データベース作成が可能であっても対象生物の行動範囲に合わせた広域での餌資源候補生物の生育調査が必要となり、餌資源の候補となる多数の生物種の採取及び塩基配列を決定しなければならないが、既存のデータベースを利用した手法であればこの労力を省くことができる。

本研究で調査地としたカッチェン国立公園 Cat Tien National Park (以下、国立公園) は、3 省にまたがる非常に広大な熱帯雨林である。さらに、地雷や不発弾等、ヴェトナム戦争の痕跡をとどめるため全域の踏査が許可されていない。国立公園は UNESCO やラムサール条約に登録された地域を含むヴェトナム国内で最大の熱帯雨林保全地域を有しており、国立公園の生物相に関する情報は、国立公園のホームページ (Cat Tien National Park 2012) や学術論文 (Polet & Ling 2004) から得ることができる。このような生物相の調査は、1990 年代初頭から直接観察、捕獲、フィールドサイン、地域住民からの聞き取り調査法などで実施されてきた。最初の主要な生物相のリストは、FIPI (1993) によって記載された哺乳類リストで、次いで Le et al. (1998) に記載された動物誌であった。しかし、この 2 つのリストはいずれも聞き取り調査が中心で直接的なフィールド調査の裏付けのないものであった。そのため、現在でも国立公園内の生物相リストには、実際に捕獲、目視によって生息確認されている「confirmed (確認)」と、曖昧な証言で確証がないものや過去の文献から推測した「possible (可能性あり)」という 2 つのカテゴリーが存在したままとなっている。2001 年には The Institute of Ecology and Biological Resources と The Vietnam-Russia Tropical Centre が共同で生物多様性調査を実施した (IEBR 2001; VRTC 2002)。この時の調査は、世界的にも注目を得やすいアジアゾウ *Elephas maximus*, ジャワサイ *Rhinoceros sondaicus*, 野生牛及び霊長類などの大型哺乳類のみを対象としたものであり、哺乳類相の中でも種多様性が高いネズミ類 (Cat Tien National Park 2012) については調査対象とならなかった。そのため、現在国立公園内に生息していると予測されているネズミ類は、Polet & Ling (2004) によると 10 種と報告されているが、その内「confirmed (確認)」は 2 種のみである (表 4-1)。また、国立公園のホームページ (Cat Tien National Park 2012) か

ら入手可能な哺乳類リストではネズミ科 14 種すべてが「possible (可能性あり)」のカテゴリとなっている (表 4-1)。しかし, Kuznetsov & Filatova (2007) の報告では国立公園において 11 種のネズミ科が捕獲確認されている (表 4-1)。ネズミ科は食物ピラミッドの最下位層に位置し, 哺乳類相の多様性維持のための餌資源として重要であるにも関わらず (Polet & Ling 2004), 詳細な生息調査はされていない状況である。このようにネズミ科の生息調査が困難である理由の一つとして種同定の難しさが挙げられる。主にネズミ科の分類には頭骨形態が用いられるため経験則が必要とされる。また, 個体差が大きく, 信頼性の高い種同定を行うためには種ごとに多くの個体数が必要となる。さらに, 種によっては分類が確立していない場合もあり *Niviventer* 属については最近まで分類が未解決のままとなっていた (Balakirev et al. 2011)。そこで, Balakirev et al. (2011) は形態学だけでなく分子生物学的手法も併用した新たな手法を用いてヴェトナムと東インドシナに生息する *Niviventer* 属 13 種について分類している。

表 4-1. カッティエン国立公園で報告されているネズミ科の一覧

Species (Synonym <sup>1)</sup> )	Cat Tien List <sup>2)</sup>	Polet et al. <sup>3)</sup>	Kuznetsov et al. <sup>4)</sup>
<i>Bandicota indica</i>	Possible: Si	Possible: ?	—
<i>B.savilei</i>	Possible: Rp	Possible: Sp, Ph	—
<i>Berylmys berdmorei</i> ( <i>Rattus berdmorei</i> )	Possible: Rp	Possible: Sp, Ph	Captured
<i>B.bowersi</i> ( <i>R.bowersi</i> )	Possible: Si	—	—
<i>Chiropodomys gliroides</i>	Possible: Rp	—	Captured
<i>Leopoldamys edwardsi</i>	—	Possible: Rp	Captured
<i>L.milleti</i> ( <i>R.edwardsi</i> )	Possible: Rp	—	—
<i>L.sabanus</i> ( <i>R.sabanus</i> )	Possible: Si	—	Captured
<i>Maxomys surifer</i> ( <i>R.surfer</i> )	Possible: Rp	Confirmed: Sp, Ph	Captured
<i>Mus cervicolor</i>	—	—	Captured
<i>Niviventer bukit</i>			
<i>N.fulvescens</i> ( <i>R.bukit</i> )	Possible: Rp	Confirmed: Sp, Ph	Captured
<i>N.langbianis</i>	—	—	Captured
<i>Rattus andamanensis</i> ( <i>R.argentiventer</i> )	Possible: Rp	Possible: ?	—
<i>R.tanezumi</i> ( <i>R.flavipectus</i> , <i>R.koratensis</i> )	Possible: Si	Possible: Si	Captured
<i>R.losea</i>	Possible: Si	—	—
<i>R.rattus</i>	—	—	Captured
<i>Rhizomys pruinosus</i>	Possible: Rp	Possible: ?	—

1) Musser et al. 2005, 2) The List of Mammals of Cat Tien National Park, 3) Kuznetsov and Filatova 2007, 4) Polet et al. 2004

Si : 目視, Sp : 採取標本, Rp : 地元の村人・森林警備員・滞在客からの報告, ? : 記載の基となった標本が不明, Ph : 写真または動画による確認, — : 未記載

熱帯雨林の哺乳類相の種多様性維持のためにはネズミ科が中・大型哺乳類の餌資源として重要な役割を担っていると予測されている (Kuznetsov & Filatova 2007). 従って, ネズミ科の個体数維持のためには, 餌資源を調査し, それら餌資源の持続的採食が可能な熱帯雨林保全法が必要となってくる. しかし, ヴェトナムにおけるネズミ科の餌資源に関する報告は未だにない. 本研究では国立公園におけるネズミ科の餌資源調査のために, まず捕獲された個体を Balakirev et al. (2011), Tamrin & Abdullah (2011) に従って形態学的手法と分子生物学的手法を併用した種同定を行った. また, 本調査地はヴェトナム国内最大の面積規模を有する非常に広大な熱帯雨林であり, 地雷や不発弾等ヴェトナム戦争の傷跡を遺すことから餌資源候補となる生物の生育調査のため全域を踏査することが許可されていない. そこで, 捕獲されたネズミ科の餌資源について DDBJ を利用した DNA バーコーディング法により, 餌資源候補生物を推定した.

### 3-2-2. 調査及び実験方法

#### 3-2-2-1. 調査地概要

国立公園はヴェトナム南部のホーチミン市から北東部へ約 160 kmの内陸部に位置し (図 4-1A), 広さ 71,350ha で Binh Phuoc, Lam Dong, Dong Nai の 3 省にまたがっている (図 4-1B). Nam Cat Tien を主要部として, その北西部に隣接する Tay Cat Tien, この Tay Cat Tien から北部へ 5km ほど離れたところに位置する Cat Loc の 3 つのエリアに区分されている (図 4-1B). 1978 年に Nam Cat Tien と Tay Cat Tien が保護地域となり, 1992 年にこの 2 つのエリアが国立公園に指定された. 同年, Cat Loc でジャワサイ (開発による生息地の破壊, 装飾品となる角目的の乱獲によって, 現在は絶滅) (WWF, 2012 年 2 月 10 日確認) が確認され, 1998 年に指定地域が現在の広さ (71,350ha) まで拡大した. 国立公園は, Nam Cat Tien のヘッドクォーター (標高 119m) を中心に高低差がほとんどない平坦な地であるにも関わらず, ヴェトナムの他の保全地域に比べて非常に種多様性が高く, ヴェトナムで確認されている哺乳類の約 30% (生息の可能性のあるものも含めると約 43%) が確認されている (Polet & Ling 2004). この理由については, 地理学的にドラット高原とメコンデルタの移行帯にあり (Polet & Ling 2004), *Diptero carpaceae* (Dipterocarpaceae フタバガキ科) を優占種とする常緑熱帯林及び落葉熱帯林 (雨緑林), それらの混合林, 竹林, 湿地, 草地, 農地など多様な植生がモザイク状に存在しているためと考えられている (Polet & Ling 2004). 国立公園が作成した動植物相リスト (2011 年 4 月 7 日現在) (Cat Tien National Park 2012) によると哺乳類は 38 科 113 種が記載されている.

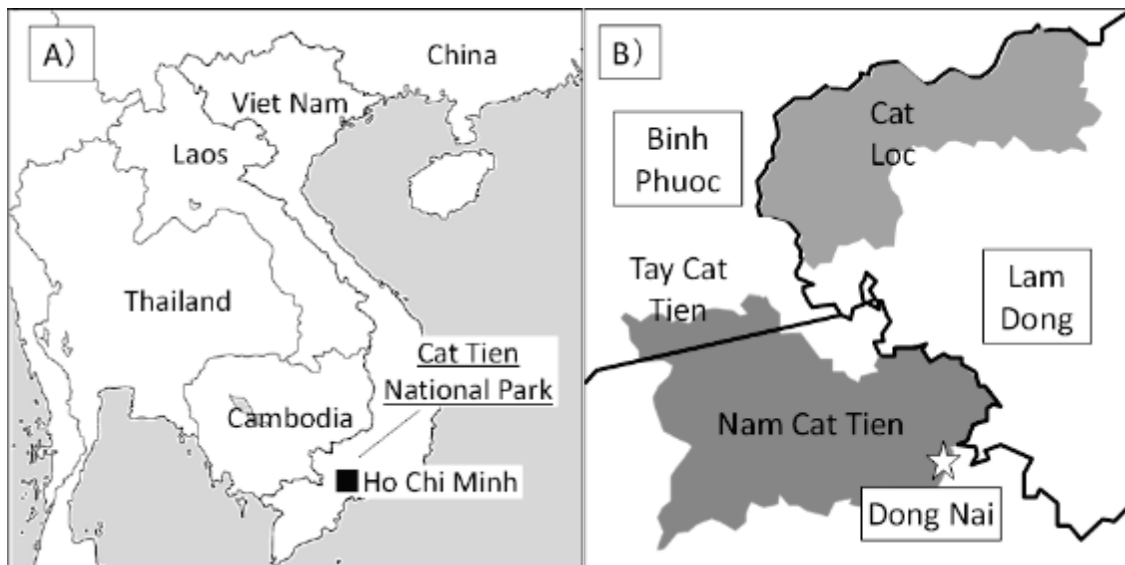


図 4-1. カッティエン国立公園（石澤ら 2011）

A) ヴェトナムにおけるカッティエン国立公園の位置

B) 国立公園の敷地（灰色の部分）（☆：国立公園事務所；北緯 11 度 25 分 24 秒，東経 107 度 25 分 43 秒，標高 119m）

### 3-2-2-2. 捕獲法及び供試試料

捕獲調査は 2011 年 3 月，2012 年 3 月及び 9 月の 3 回，合計 24 日間実施した。捕獲罠にはシャーマントラップ（6.5 × 5.5 × 16.0 cm, H. B. Sherman Traps）（のべ 890 トラップナイト），ビクタートラップ（17.6 × 8.7 cm, Woodstream Corporation）（のべ 870 トラップナイト）及びパンチュートラップ（9.0 × 3.8 cm, 日本トラップ研究所）（327 トラップナイト）を使用した。いずれのトラップも国立公園内に整備されたトレイル沿いに設置した。餌は罠ごとに変えてパンチュートラップ及びスナップトラップにはピーナッツにピーナッツバターを塗布したもの，シャーマントラップにはピーナッツと押し麦を用いた。設置した翌日に捕獲確認をし，捕獲個体の外部形態を計測したのち，フラットスキン標本と骨格標本を作製した。また，捕獲された個体は現地にて DNA バーコーディング法による種同定のための DNA 抽出サンプルとして肝臓を，同法による餌資源（動物，植物）の種同定のために胃腸内容物を摘出し，自然乾燥させた。「3-1. 愛知県弥勒山における DNA バーコーディング法を用いたネズミ科の植物性餌資源推定法の確立」では，ネズミ科の捕殺許可を得ることができなかったため，アカネズミおよびヒメネズミの糞を用いて餌資源を推定した。しかし，糞中の DNA は分解され，断片化している可能性が高い（Soininen et al. 2009）。また，本調査地では糞便の雨による流出，昆虫等による持ち出しが頻繁に確認されたため糞便の採集が困難であった。そこで本研究では国立公園からネズミ科の解剖許可を得ることができたため胃腸内容物を用いて餌資源推定を実施した。

### 3-2-2-3. 捕獲個体の種同定法

#### (1) 分子生物学的手法による種同定法

解析対象とする DNA 配列は、動物の DNA バーコーディング法で繁用されており動物界の大部分の分類群で利用可能なユニバーサルプライマーがあり、種レベルでの変異を多く含むミトコンドリア DNA のシトクロームオキシダーゼサブユニット I 遺伝子 (CO I) (Folmer et al. 1994; Hebert et al. 2003), シトクローム b 遺伝子 (Cytb) (Irwin et al. 1991; Robins et al. 2007) 及び種内変異の解析によく用いられている D-loop (Hirota et al. 2004) の 3 領域を解析対象とした。

捕獲個体の肝臓から DNeasy Blood&Tissue Kit (QIAGEN) を用いて全 DNA 抽出後、GENECLEAN SPIN Kit (MP-Biomedicals) で全 DNA を精製した。精製した全 DNA を鋳型として、TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ) を用いて CO I と Cytb の増幅を行った。PCR 反応液の組成及び濃度は付属のプロトコールに従い、CO I については 0.5 $\mu$ M のプライマー ( LCO1490: 5' -GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' 及び HCO2198: 5' -TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' ) (Folmer et al. 1994), また、Cytb についても CO I と同一の全 DNA を鋳型として 0.5 $\mu$ M の Cytb プライマー (H15915: 5' -GGAATTCATCTCTCCGGTTTACAAGAC-3' 及び Cytb Rglu2L: 5'-CAGCATTTAACTG TGACTAATGAC-3') (Irwin et al. 1991; Robins et al. 2007) を含む 50 $\mu$ l を調整した。PCR 増幅は、DNA サーマルサイクラー (Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystem) を用い、CO I, Cytb 共に熱変性 94 $^{\circ}$ C1 分間を 1 サイクル後、熱変性 94 $^{\circ}$ C30 秒間、アニーリング 50 $^{\circ}$ C30 秒間、伸長反応 72 $^{\circ}$ C1 分間を 1 サイクルとして 35 サイクル行い、最後に伸長反応 72 $^{\circ}$ C10 分間を 1 サイクルの条件で行った。

D-loop 領域の塩基配列の決定は、CO I, Cytb と同一の全 DNA を鋳型として、「2-1-2. 調査及び実験方法」と同様の手法を用いて行った。その後、DDBJ に登録されているネズミ科の CO I (4 属 14 種), Cytb (4 属 14 種) 及び D-loop (2 属 17 種) の塩基配列を用いて MEGA5.05 (Tamura et al. 2011) により 3 領域の最尤系統樹を構築し、種推定を行った。

#### (2) 形態学的手法による種同定法

形態学的な分類については Musser (1981), Lunde & Son (2001) 及び Balakirev et al. (2011) に従い、前述の分子生物学的手法による属もしくは種の推定結果をもとに、さらに外部形態、特に頭骨の形態学的手法によって最終的に種を同定した。

### 3-2-2-4. DNA バーコーディング法を用いた植物性餌資源解析

現地で摘出し、自然乾燥させた胃内容物をアルミバス (ALB-301, IWAKI) 60 $^{\circ}$ C で一晩乾燥させ、植物性餌資源解析用のサンプルとして用いた。

「3-1-2-2. 糞サンプルからの rbcL 遺伝子サブクローニング」の方法に従って胃内容物の植物性食物残渣推定のために rbcL の塩基配列を決定し、blastn プログラムを使用して DDBJ に登録されている全ての塩基配列を対象として相同性検索を行った。ただし、本研

究でも信頼性の高い“published”されたデータのみを採用した。その際、Valentini et al. (2009) に従い、相同性 98%以上のクローンのみを餌資源候補植物種として採用した。また、相同性検索の結果、2 種以上が同じスコアで検索された場合は種レベルより上位の分類群（属もしくは科）とした (Valentini et al. 2009)。ただし、複数の科が同じスコアで検索された場合は「推定不可」とした。さらに、捕獲餌として用いた押し麦や多重塩基を含むクローンについても除外した。

#### 3-2-2-5. DNA バーコーディング法を用いた動物性餌資源解析

動物性被食物については、植物性餌資源解析と同一の胃腸内容物から「3-2-2-3. 捕獲個体の種同定法」と同様の方法で全 DNA を精製した。精製した全 DNA を鋳型として、動物の DNA バーコーディング法に用いられる CO I (Folmer et al. 1994) について、MightyAmp DNA Polymerase Ver.2 (タカラバイオ) を用いて増幅した。PCR 反応液の組成及び濃度は付属のプロトコールに従い、0.3 $\mu$ M の CO I プライマー (LCO1490:5'-GGTCAACAAATCA

TAAAGATATTGG-3' 及び HCO2198:5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3')

(Folmer et al. 1994) を含む 50 $\mu$ l を調整した。PCR 増幅は、DNA サーマルサイクラー (Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystem) を用い、熱変性 98°C2 分間を 1 サイクル後、熱変性 98°C10 秒間、アニーリング 60°C15 秒間、伸長反応 68°C40 秒間を 1 サイクルとして 30 サイクルの条件で行った。PCR 増幅後、「3-2-2-4. DNA バーコーディング法を用いた植物性餌資源解析」と同様の方法で動物性餌資源の塩基配列を決定した。

塩基配列を決定後、blastn プログラムを使用して植物性餌資源同様に DDBJ に登録されている全ての塩基配列を対象として相同性検索を行い、信頼性の高い“published”されたデータのみを採用した。その際、植物性餌資源推定とは異なり、相同性の高い検索結果がほとんど得られなかったため、Suzuki et al. (2006) や Riemann et al. (2010) に従い、相同性検索の結果、最も相同性の高かった塩基配列を用いて系統樹を作成し、目レベルで動物性餌資源を推定した。さらに、植物性餌資源と同様に捕獲個体由来のクローンや多重塩基を含むクローンについては除外した。

### 3-2-3. 結果及び考察

#### 3-2-3-1. 捕獲及び種同定結果

2011 年 3 月、2012 年 3 月及び 9 月の計 3 回の調査で合計 30 個体が捕獲された。CO I は 30 個体中 27 個体の増幅に成功し、塩基サイズは 649-665bp であった。120316-1, 120316-2, 120904-1 については CO I が増幅できなかったため、CO I の系統樹構築からは除外した (図 4-2)。また、Cytb (図 4-3) 及び D-loop (図 4-4) は 30 個体全ての増幅に成功し、Cytb の塩基サイズは 1143bp, D-loop の塩基サイズは 299-305bp であった。ただし、D-loop 領域については DDBJ に登録されている *Rattus* 及び *Niviventer* の 2 種のみを用いた。

最尤系統樹を作成した結果、CO I (CO-1~3) (図 4-2) 及び Cytb (Cy-1~3) (図 4-3) の 2 領域はクレードがほぼ同じ構造となり、*Maxomys* 属、*Niviventer* 属及び *Rattus* 属は 3 つの異なったクレードを形成した。さらに、*Niviventer* 属の CO-2 及び Cy-2 クレードはそれぞれ *N. fulvescens* (CO-2-1, Cy-2-1), *N. confucianus* (CO-2-2, Cy-2-2) 及び *N. bukit* (CO-2-3, Cy-2-3) を含む 3 つのサブクレードを形成した。さらに、最尤系統樹の結果と外部形態および頭骨形態の測定値を併用した解析の結果 (表 4-2, 3), *Maxomys surifer* が 17 個体 (図 4-5), *Niviventer bukit* が 3 個体 (図 4-6), *N. fulvescens* が 2 個体 (図 4-7) と種同定された。

これに対し、*Rattus* 属 (図 4-8) は CO I 及び Cytb の両系統樹共に種レベルで異なったクレードを形成しなかった (CO-3, Cy-3)。*Rattus* 属は、世界中で 66 種が確認され (Musser & Carleton 2005), 広範囲に分散し、多くの亜種を含む混在したグループとして定義されている (Yigit et al. 1997)。そのため、*Maxomys* 属や *Niviventer* 属に比べ形態学的な特徴による同定は困難であると考えられている (Yigit et al. 1997)。また、ネズミ科の種同定において分子生態学を用いた手法は、形態学的な分類が未解決である場合等でも信頼性を高めるために有効であることから一般的になりつつあるが (Balakirev et al. 2011), Cytb の分子系統樹では既存の DDBJ に登録されていた *R. rattus* (クマネズミ) (FJ842266, HM217365, JQ823261, JQ823495) の 4 配列は異なるクレードに属した。これらのことから、DDBJ に登録されている塩基配列データの種同定の精度が疑われた。さらに、*Rattus* sp. と推定された 8 サンプルは CO I, Cytb 及び D-loop (図 4-2~4-4) の全ての領域において複数のクレードに分かれ、Cytb の *R. rattus* のように形態による種同定結果とマッチングしていないものもあった。

また、D-loop を用いて構築した分子系統樹は CO I 及び Cytb の分子系統樹とは大きく異なり、*Niviventer* 属が 2 つのクレードに分割された (図 4-4)。さらに、DDBJ に登録されている塩基配列の数が少なく、*Maxomys* 属を系統樹に含めることができなかった。これらのことから、分子生物学的手法による種同定法において D-loop では *Maxomys* 属、*Niviventer* 属、*Rattus* 属を区別することができないため、CO I 及び Cytb が有効であった。また、*Rattus* 属については現時点では分子生物学的手法による種同定は不適切であった。

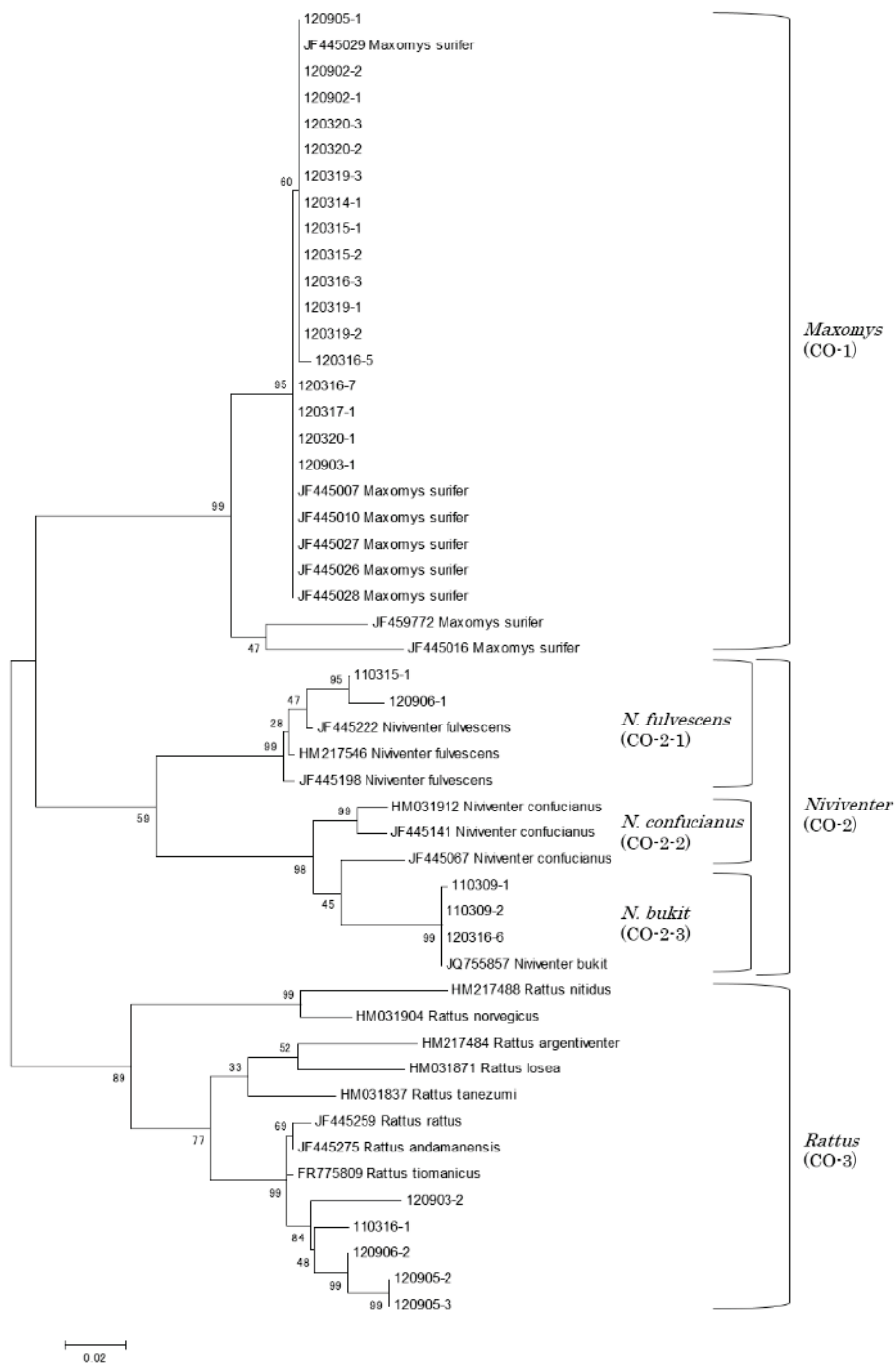


図 4-2. ミトコンドリア DNA CO I 遺伝子領域を用いて構築した最尤系統樹

個体番号 : 110308-1; 110308-2; 110315-1; 110316-1; 120314-1; 120315-1; 120315-2; 120316-3; 120316-5; 120316-6; 120316-7; 120317-1; 120319-1; 120319-2; 120319-3; 120320-1; 120320-2; 120320-3; 120902-1; 120902-2; 120903-1; 120903-2; 120905-1; 120905-2; 120905-3; 120906-1; 120906-2 を使用.

学名前のアルファベット及び数字は DDBJ の Accession number を示す.

枝上の数値はブートストラップ値, スケールは遺伝的距離を示す.



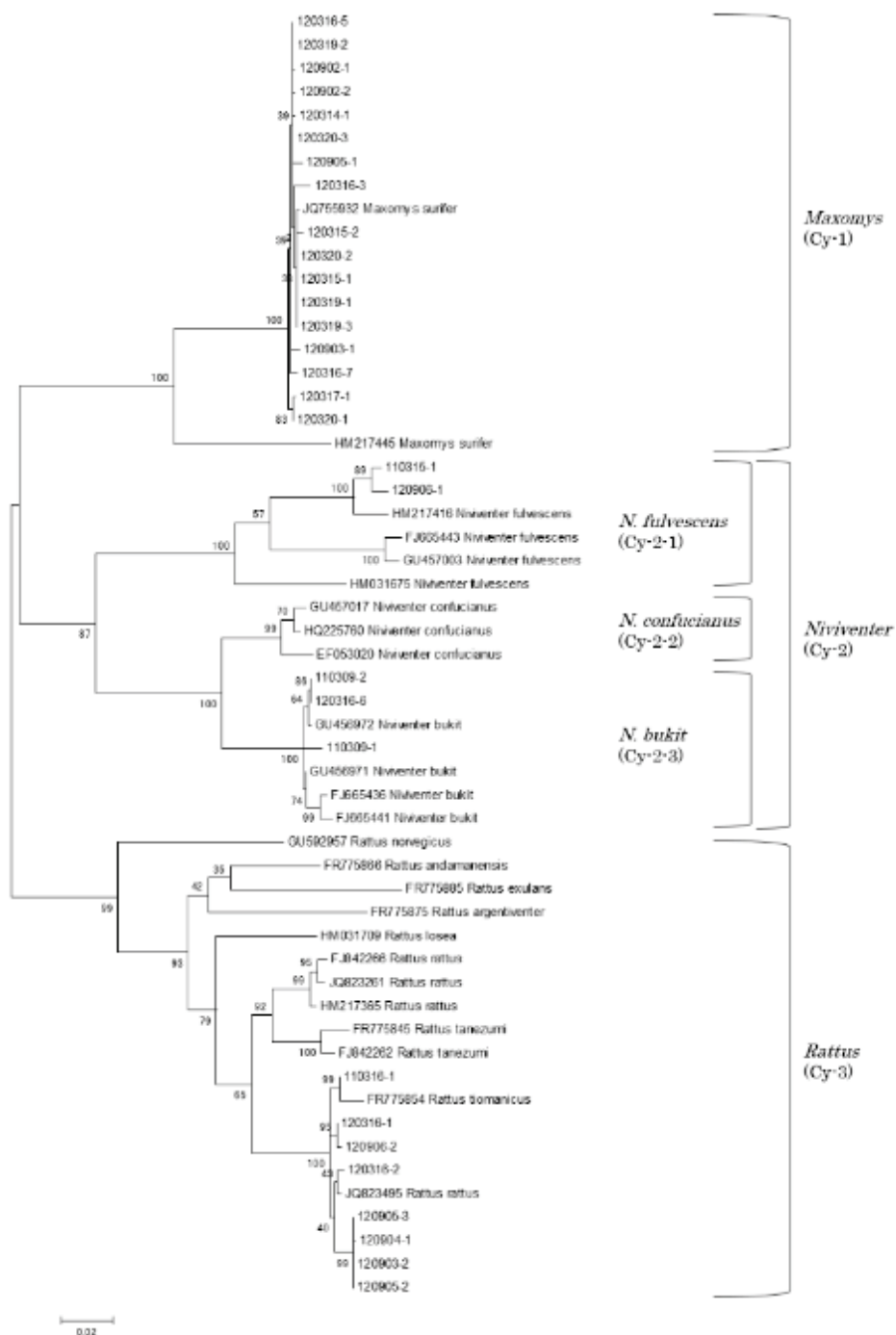


図 4-3. ミトコンドリア DNA Cytb 遺伝子領域を用いて構築した最尤系統樹

個体番号 : 110308-1; 110308-2; 110315-1; 110316-1; 120314-1; 120315-1; 120315-2; 120316-1; 120316-2; 120316-3; 120316-5; 120316-6; 120316-7; 120317-1; 120319-1; 120319-2; 120319-3; 120320-1; 120320-2; 120320-3; 120902-1; 120902-2; 120903-1; 120903-2; 120904-1; 120905-1; 120905-2; 120905-3; 120906-1; 120906-2 を使用.

学名前のアルファベット及び数字は DDBJ の Accession number を示す.

枝上の数値はブートストラップ値, スケールは遺伝的距離を示す.

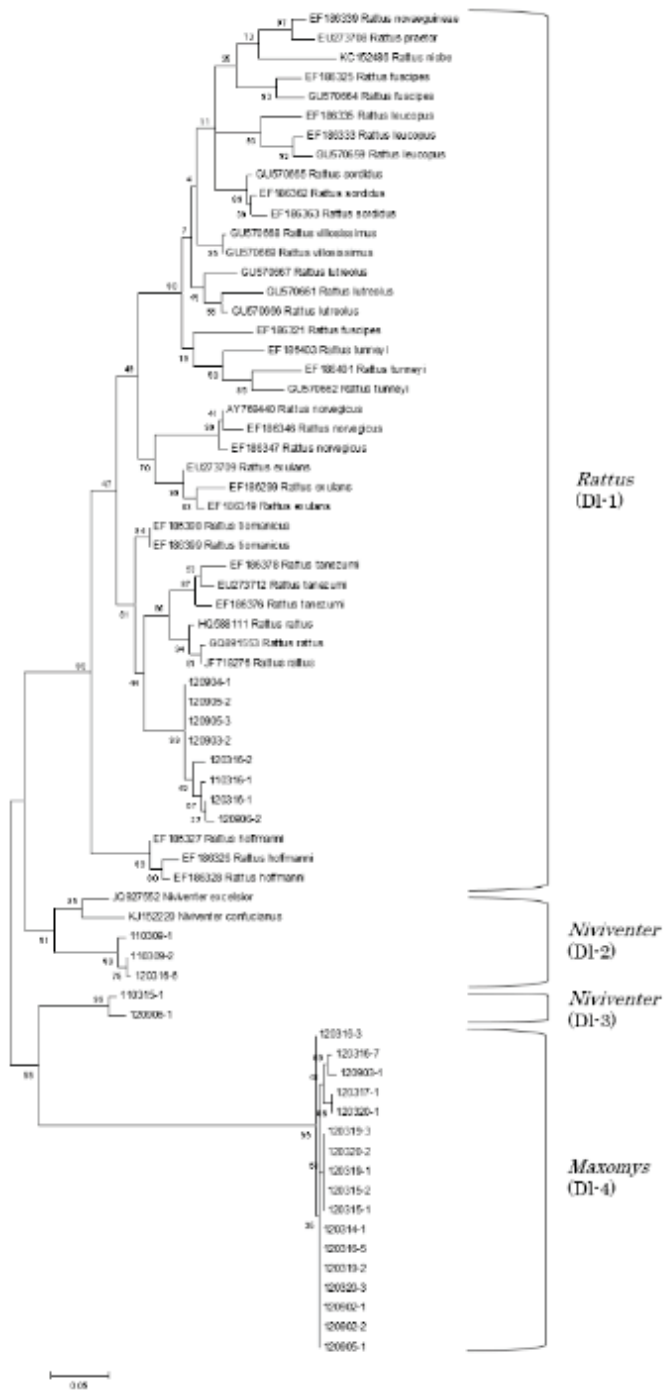


図 4-4. ミトコンドリア DNA D-loop 遺伝子領域を用いて構築した最尤系統樹

個体番号 : 110308-1; 110308-2; 110315-1; 110316-1; 120314-1; 120315-1; 120315-2; 120316-1; 120316-2; 120316-3; 120316-5; 120316-6; 120316-7; 120317-1; 120319-1; 120319-2; 120319-3; 120320-1; 120320-2; 120320-3; 120902-1; 120902-2; 120903-1; 120903-2; 120904-1; 120905-1; 120905-2; 120905-3; 120906-1; 120906-2 を使用.

学名前のアルファベット及び数字は DDBJ の Accession number を示す.

枝上の数値はブートストラップ値, スケールは遺伝的距離を示す.

表 4-2. カッティエン国立公園で捕獲された *Niviventer* 属, *Rattus* 属および *Maxomys* 属における外部形態計測結果

	Species	BW (g)	HB (mm)	TL (mm)	T (mm)	TR (%)	E (mm)	Hfwo (mm)	HFw (mm)
	個体番号								
	110309-1	91.0	162.0	336.0	174.0	107.4	18.5	29.5	31.0
	110309-2	64.0	135.0	295.0	160.0	119	22.0	28.0	29.0
	120316-6	80.0	145.0	317.0	172.0	118.6	17.0	28.0	29.0
	110315-1	77.0	121.5	293.0	171.5	141.2	19.5	27.5	29.5
	120906-1	98.0	140.0	314.0	174.0	124.2	21.0	30.0	31.0
<i>Niviventer</i>	References								
	<i>N. bukit</i> <sup>1)</sup>		110-122			119			
	<i>N.confucianus</i> <sup>1)</sup>	-	125-135	-	-	130	-	-	-
	<i>N.fulvescens</i> <sup>2)</sup>	60.0-135.0	131.0-172.0	-	160.0-221.0	-	17.0-23.0	-	30.0-34.0
	<i>N.langbianis</i> <sup>2)</sup>	58.0-98.0	131.0-162.0	-	154.0-199.0	-	19.0-22.0	-	29.0-33.0
	<i>N.tenaster</i> <sup>2)</sup>	23.0-140.0	120.0-189.0	-	174.0-234.0	-	23.0-26.0	-	32.0-35.0
	個体番号								
	110316-1	52.0	123.0	270.0	147.0	119.5	20.0	29.0	30.0
	120316-1	161	170	333	163	96	18	35	37
	120316-2	88	160	325	165	103	-	30	32
	120903-2	106.0	170.0	350.0	180.0	105.9	21.0	30.0	32.0
	120904-1	120	160	330	170	106	20	32	34
	120905-2	99.0	145.0	295.0	150.0	103.4	21.0	32.0	34.0
	120905-3	118.0	160.0	330.0	170.0	106.3	21.0	33.0	35.0
	120906-2	144.0	180.0	335.0	155.0	86.1	22.0	34.0	36.0
<i>Rattus</i>	References								
	<i>R.argentiventer</i> <sup>2)</sup>	-	176.0-230.0	-	172.0-201.0	-	20.0-24.0	-	35.0-40.0
	<i>R.exulans</i> <sup>2)</sup>	-	91.0-124.0	-	105.0-146.0	-	-	-	21.0-26.0
	<i>R.losea</i> <sup>2)</sup>	-	131.0-166.0	-	143.0-161.0	-	17.0-20.0	-	31.0-34.0
	<i>R.nitidus</i> <sup>2)</sup>	-	173.0-177.0	-	168.0-171.0	-	21.0	-	37.0-38.0
	<i>R.osgoodi</i> <sup>2)</sup>	-	124.0-171.0	-	102.0-137.0	-	-	-	26.0-37.0
	<i>R.rattus</i> <sup>2)</sup>	-	173.0	-	196.0	-	-	-	34.0
	<i>R.remotus</i> <sup>2)</sup>	-	185.0	-	204.0	-	-	-	36.0
	個体番号								
	120314-1	183.0	200.0	380.0	180.0	90.0	17.5	42.0	45.0
	120315-1	118.0	180.0	336.0	156.0	86.7	25.0	38.0	40.0
	120315-2	198.0	200.0	373.0	173.0	86.5	22.0	36.5	39.0
	120316-3	152.0	190.0	370.0	180.0	94.7	25.0	37.5	40.0
	120316-5	155.0	195.0	370.0	175.0	89.7	15.0	37.0	39.5
	120316-7	158.0	186.0	356.0	170.0	91.4	24.0	37.0	40.0
	120317-1	180.0	205.0	391.0	186.0	90.7	25.0	42.0	44.0
	120319-1	185.0	195.0	375.0	180.0	92.3	27.0	38.0	40.0
	120319-2	164.0	190.0	344.0	154.0	81.1	23.0	40.0	42.5
	120319-3	176.0	185.0	360.0	175.0	94.6	25.0	37.0	39.0
	120320-1	185.0	180.0	361.0	181.0	100.6	27.0	39.5	42.0
	120320-2	162.0	180.0	347.0	167.0	92.8	23.0	38.5	41.0
	120320-3	168.0	185.0	366.0	181.0	97.8	21.0	36.0	38.0
	120902-1	150.0	180.0	350.0	170.0	94.4	22.0	38.0	41.0
	120902-2	138.0	175.0	330.0	155.0	88.6	-	38.0	40.0
	120903-1	176.0	180.0	348.0	168.0	93.3	25.0	41.0	43.0
	120905-1	72.0	150.0	284.0	134.0	89.3	23.0	38	39.0
<i>Maxomys</i>	References								
	<i>M.surifer</i> <sup>2)</sup>	-	155.0-206.0	-	153.0-208.0	-	24.0-28.0	-	40.0-47.0

1) Balakirev et al. 2011, 2) Lunde and Son 2001

BW : 体重, HB : 頭胴長, TL : 全長, T : 尾長, TR : 尾率, E : 耳長, Hfwo : 爪なし後足長, HFw : 爪あり後足長.





図 4-5. *Maxomys surifer* (撮影日 2012 年 3 月 19 日)



図 4-6. *Niviventer bukit* (撮影日 2012 年 3 月 16 日)



図 4-7. *Niviventer fulvescens* (撮影日 2012 年 9 月 6 日)



図 4-8. *Rattus* sp. (撮影日 2012 年 3 月 16 日)

### 3-2-3-2. 植物性餌資源推定結果

捕獲されたネズミ科の胃内容物から *rbcL* の PCR 増幅を試みた結果, *M. surifer* は 17 サンプル中 17 サンプル, *Rattus sp.* は 8 サンプル中 4 サンプル, *N. fulvescens* は 2 サンプル中 2 サンプル, *N. bukit* は 3 サンプル中 3 サンプルで増幅が確認された. また, *M. surifer* は PCR が成功した 17 サンプルから 268 クローン, *Rattus sp.* は 4 サンプルから 22 クローン, *N. fulvescens* は 2 サンプルから 24 クローンの *rbcL* 261~264bp の塩基配列が決定できた. また, *N. bukit* は 3 サンプル中 2 サンプルはインサートが確認されなかったため, サブクローニングに成功した残りの 1 サンプルから 2 クローンの *rbcL* 262 bp の塩基配列を決定した. 種ごとに BLAST を用いた検索の結果, 推定された植物を表 4-4 に示した.

相同性検索の結果, 4 種合計の 316 クローンから 34 科 22 属 15 種が検索された. 推定レベルの比率をみると種レベルで推定できたのが 185 クローン (58.5%) となり, 属レベルで 18 クローン (5.7%), 科レベルで 97 クローン (30.7%) となった. また, 複数の科が検出され「推定不可」としたクローン数は *M. surifer* 及び *Rattus sp.* 合わせて 16 クローンとなり, 全体の 5% 程度に留まった. 検索プログラム ARSA を使用して Lineage を「Tracheophyta」, Feature を「viet nam AND *rbcL*」のキーワードで DDBJ に登録されているヴェトナムで採取された維管束植物の *rbcL* の DNA データを検索したところ 95 件が検索され, 62 種のみ植物種が登録されていた (2014 年 9 月現在). ヴェトナムに生育する維管束植物は 10,500 種とされているため (SilvaCarbon, URL: <http://swp.gmu.edu/silvacarbon/>), DDBJ に登録されているデータ数が非常に少ないことから, ヴェトナムに生育する植物種については DDBJ に登録されていない可能性が高い. これらのことから, 本研究では種レベルでの推定の信頼性が低くなったと考えられた.

植物性餌資源については Lauraceae (28.5%) や Fabaceae (15.2%) 等の採食頻度が高いことから, 植物の科によって嗜好性の違いがあると推測された. 特に, Lauraceae は *M. surifer* において 17 個体中 11 個体, *N. fulvescens* において 2 個体全てで推定されていることから, 両種にとって重要な餌資源であると考えられた. また, Fabaceae は *N. bukit* を除く 3 種すべてで推定されており, 採食頻度も高かったことからこれらの科は国立公園に生息するネズミ科にとって重要な餌資源となっている可能性が示唆された. しかし, 国立公園に優占して生育している植物は Dipterocarpaceae 及び Lythraceae であることから, 優占種が有効な餌資源となっている訳ではないことが明らかとなった. このことから, 国立公園におけるネズミ科の保全のためには現在の優占種とは異なった戦略が必要であると考えられた.

以上のことから, 既存のデータベースのみを使用した相同性検索であっても科レベルでの同定が可能であることが明らかとなった. また, これまでヴェトナムを含めた熱帯雨林に生息するネズミ科において餌資源推定は行われていなかったことから, 科レベルであっても植物性餌資源推定には十分に有意義であると考えられた.



### 3-2-3-3. 動物性餌資源推定

捕獲されたネズミ科の胃内容物から CO I の PCR 増幅を試みた結果, *M. surifer* は 17 サンプル中 14 サンプル, *Rattus sp.* は 8 サンプル中 4 サンプル, *N. bukit* は 3 サンプル中 3 サンプル, *N. fulvescens* は 2 サンプル中 1 サンプルで増幅が確認された. さらに, *M. surifer* は PCR できた 14 サンプルから 105 クローン, *N. bukit* は 3 サンプルから 8 クローン, *N. fulvescens* は 1 サンプルから 1 クローンの CO I 653~659bp の塩基配列が決定できた. また, *Rattus sp.* は 4 サンプル中 1 サンプルはインサートが確認されなかったため, サブクローニングに成功した残りの 3 サンプルから 11 クローンの CO I 651-657 bp の塩基配列を決定した. 決定した 125 クローン及びそれらを BLAST 検索した結果スコアが最も高くなった DDBJ 上の塩基配列を用いて作成した最尤系統樹を図 4-9 に示した. さらに, 最尤系統樹を作成した結果, 推定された動物種を表 4-5 に示した.

最尤系統樹を作成した結果, 目レベルでクラスターが形成された. また, 動物性餌資源については植物性餌資源とは異なり相同性が低かったことから, 目レベルで推定した. ただし, Orthoptera (直翅目) はクラスターが分かれ, Phasmatodea (ナナフシ目) を間に挟む形となっており, Coleoptera (甲虫目) も同様にクラスターが分かれ, Diptera (双翅目) を間に挟む形を形成した. そのため, これら 4 つの目と同じクラスターに属するクローンは推定不可とした. 推定不可としたクローンは *M. surifer*, *Rattus sp.* 合計で 18 クローンとなり全体の 14.4% を占めた.

Stylommatophora (マイマイ目) や Lepidoptera (鱗翅目) といった採食頻度の高い目も確認されたことから, 目によって嗜好性の違いがあると推測された. Stylommatophora は *N. fulvescens* を除く 3 種で合計 9 個体から, Lepidoptera は *M. surifer*, *N. bukit* 合計 6 個体から推定されており, 採食頻度が高かったことから国立公園に生息するネズミ科にとって重要な餌資源となっている可能性が示唆された.

動物性餌資源推定において PCR 増幅できなかったもしくはインサートが確認されなかった個体は *M. surifer* 3 個体, *Rattus sp.* 5 個体, *N. fulvescens* 1 個体で合計 9 個体となり, 植物性餌資源推定における 6 個体 (*Rattus sp.* 4 個体, *N. bukit* 2 個体) よりも多くなった. この要因としては, 本手法で動物性餌資源推定に用いた CO I 領域 (651-659bp) は植物性餌資源推定に用いた *rbcL* 領域 (261-264bp) の倍以上の長さであるため, 微量に採食された動物由来の CO I の PCR 増幅が不可能だった可能性が考えられた. 植物性餌資源を対象とした糞便からの餌資源推定ではあるが, Soininen et al. (2009) はより短い P6 loop (10-143bp) を用いており, 長い DNA 配列は断片化が進んでしまうため糞便からの餌資源推定には向かないと報告している. 胃内容物は糞便と比較すれば断片化が進んでいないかもしれないが, 採餌から時間がたったもの等, 条件によっては消化による断片化が考えられる. より精度の高い動物性餌資源推定のためには DNA データベースの構築と併せて, より短い塩基配列で種同定が可能な領域を探索する必要性が示唆された.

本研究では, サンプル数が少なかったため, 捕獲されたネズミ科 3 属について食性の違



いを検討することはできなかった。また、3月（乾季）と9月（雨季）における季節性についても検討することができなかった。これらを明らかにするためには調査を継続することが必要不可欠であると考えられる。しかし、*Maxomys* 属、*Niviventer* 属および *Rattus* 属における餌資源についてのこれまでの報告は、果実、種子、昆虫類といったレベルでの推定であった（Lim 1970 ; Langham 1983 ; Wu & Yu 2004）。本研究手法を用いることで、植物性餌資源については科レベル、動物性餌資源については目レベルでの推定が初めて可能となった。このことから、本研究で用いた DNA バーコーディング法は、ネズミ科の餌資源推定に有効であると考えられた。

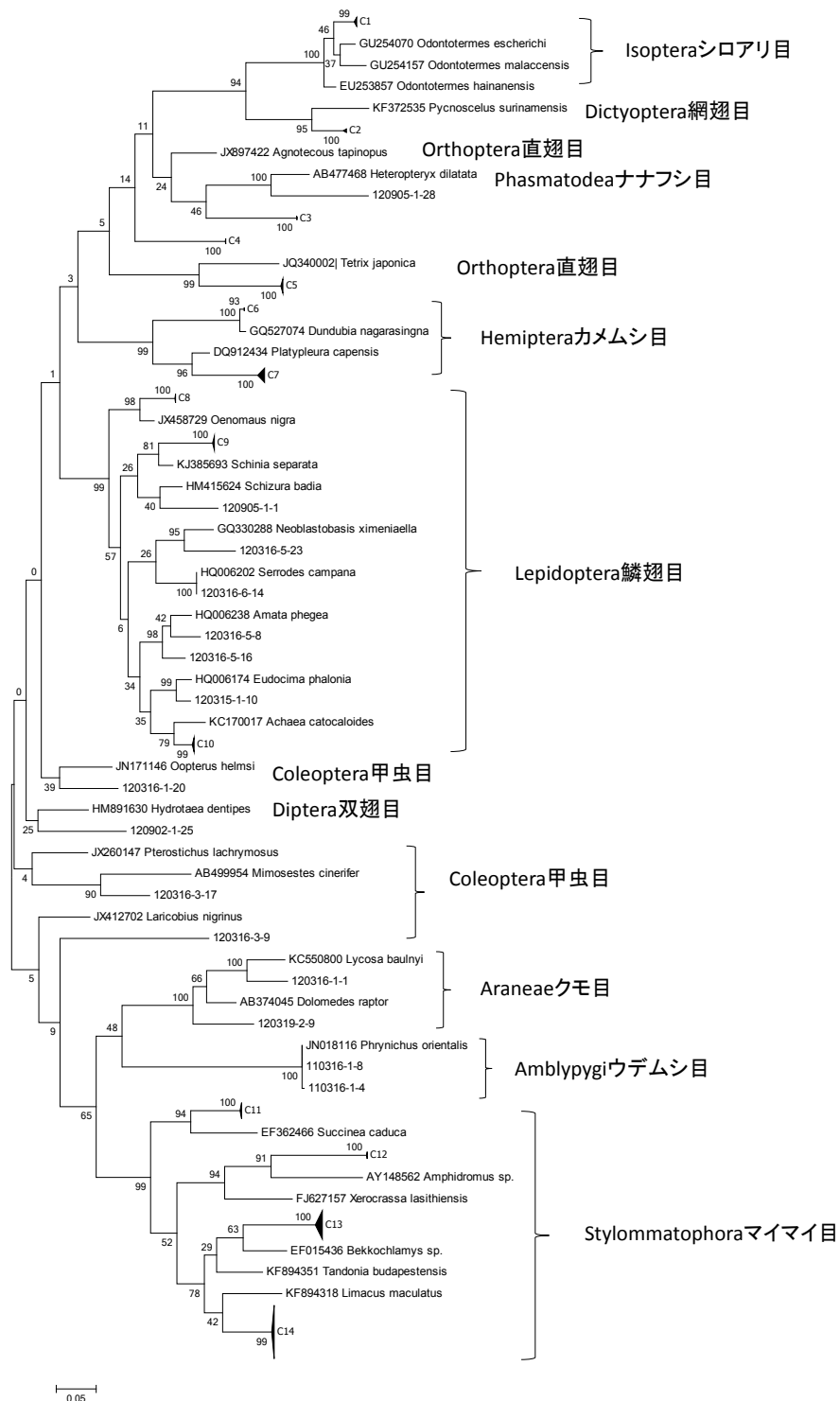


図 4-9. カッティエン国立公園で捕獲されたネズミ科 4 種の胃内容物より決定された CO I 遺伝子領域 (651~659bp) 及び BLAST 検索の結果最も相同性の高かった塩基配列を用いて構築した最尤系統樹. 同一のクレードに胃内容物より得られたクローンのみが属する場合はグループ化した (C1~C14). 枝上の数値はブートストラップ値, スケールは遺伝的距離を示す.

表 4-5. カッティエン国立公園で捕獲されたネズミ科 4 種の胃内容物より CO I 遺伝子領域 (651-659bp) をもとに推定された餌資源動物一覧

候補動物(目)	Maxomys surifer (14/17)														Rattus sp. (3/8)				Niviventer fulvescens (1/2)			Niviventer bukit (3/3)			合計
	Ms1	Ms2	Ms3	Ms4	Ms5	Ms6	Ms7	Ms8	Ms9	Ms10	Ms11	Ms14	Ms16	Ms17	RI	R2	R4	Nf2	Nb1	Nb2	Nb3	クローン数	個体数		
Stylommatophora				1	1			15	8			10	12	5			5				2	59	9		
Lepidoptera	1		13		3	8							1								1	27	6		
Hemiptera	8													2								10	2		
Araneae								1								1						2	2		
Dictyoptera											1							1				2	2		
Isoptera														2					1	4		5	2		
Amblypygi				2	4	8	2	15	1	8	3	1	12	9	4	2	5					2	1		
推定不可	8	1	13	3	4	8	2	15	1	8	3	12	12	15	4	2	5	1	1	4	3	18	6		
合計	8	1	13	3	4	8	2	15	1	8	3	12	12	15	4	2	5	1	1	4	3	125	21		

#### 4. 総括

現在の代償ミティゲーションでは、生態系の質と量の現状維持を目指すノーネットロスを目標としているが、実際には特定の保全対象生物の生息の有無や個体数を評価対象指標としている。そのため、移設される個体群の遺伝的多様性やその構造が明らかにされず、移設による人為的な創始者効果や移設後の遺伝的浮動など個体数の回復、維持に直接関連する遺伝的多様性は考慮されていないのが現状である。また、愛知県では平成 21 年に COP10 開催地にふさわしい生物多様性に配慮した地域づくりを進めるための行動計画として「あいち自然環境保全戦略」が策定され（愛知県環境部 2009）、その戦略の一つとして保全対象となる生物種を選定し、それらについての生態系ネットワークの保全・創出が目標として掲げられている。しかし、現在までのところ生息の有無、個体数、生息地ポテンシャル評価による生態系ネットワーク評価に留まっている。そこで、本研究で供試した典型種となるネズミ科を指標として県土レベルで AMOVA や BARRIER といった解析手法を用いることで、これまでの個体数にのみ注目した生態系ネットワークの評価だけではなく、遺伝的交流まで考慮したより実態に近い生態系ネットワークの評価が可能になると考えられる。

さらに、遺伝的多様性評価は保全単位の設定に有効であると推測される。例えば、立田ら（2008）は房総半島に分布するニホンジカ集団において、道路や湖等の移動分散を妨げる可能性のある地理的障壁を基に個体群ユニットを決定した結果、ユニット間で有意な遺伝的分化が示されたと報告している。本研究の例では、アカネズミは環境変化に対して高い適応力を持つため（大津 1973）、移動が活発であり広範囲で遺伝的交流が可能であることから潜在的に遺伝的多様性が高い種特異性がある。そのため、遺伝的変異のハビタット内での局在性が低く、移設される個体数がある程度確保できれば個体群全体の遺伝的変異を維持した状態で移設が可能である。従って、移設後はハビタットの餌条件や連続性を担保した代償ミティゲーションを行えば個体数と遺伝的多様性は開発前後である程度保証できると考えられる。これに対して、ヒメネズミは移動性が低く保守的な空間利用様式であることから（関島ら 2001）、同一のハビタット内で遺伝的変異が局在している可能性がある。そのため、一部の局地個体群を移設しても集団全体の遺伝的多様性を網羅している可能性が低い。従って、アカネズミとは異なり代償ミティゲーションによる遺伝的多様性の担保は難しいと推測された。

また、近年、比較的広い面積を持つ企業緑地は地域の生物多様性保全に有効であるとして注目されている（三輪 2011）。しかし、企業緑地の生物多様性への貢献度評価についての実際の評価はほとんどない（川本ら 2012）。代償ミティゲーションによって中型哺乳類の保全対象地を復元する場合、餌資源の確保は必要不可欠である。そのため、中型哺乳類の餌資源となるネズミ科を指標として DNA バーコーディング法を用いた餌資源評価を行うことで、企業緑地における中型哺乳類の生息地としてのポテンシャル評価が可能になると考えられる。さらに、企業緑地においてネズミ科の餌資源を明らかにすることができれば、

ハビタットに配慮した企業緑地の整備法及び管理法を提言することが可能になる。また、企業緑地ではハツカネズミ等による機器類への被害といった獣害も報告されている（日本経済新聞電子版，2013年3月25日確認）。本手法を用いて餌資源を明らかにし、施設周辺の餌資源となる植物を排除することで、生物多様性保全だけでなく獣害予防も考慮した企業緑地の整備法及び管理法を提言することも可能である。

このように、分子生態学的手法を用いることで野生ネズミ集団内の遺伝的構造、動的平衡状態が初めて明らかとなっただけでなく、ネズミ科の餌資源及びその嗜好性を明らかにできた。これらのことから生物多様性オフセットに向けたネズミ科の分子生態学的评价として、個体群内の遺伝的多様性及び遺伝的構造評価、個体群間での遺伝的分化とその要因の推測といった手法により遺伝的多様性ノーネットロスという新たな提言が可能となった。また、生育植物の *rbcL* データベース構築により種レベルでの植物性餌資源推定が可能となり、*rbcL* データベースが構築できない場合でも科レベルでの推定が可能であることが明らかとなったことから、より有効な餌資源評価が可能となった。これらの手法はネズミ科の遺伝的多様性及び餌資源まで考慮したより実質的な生物多様性保全に向けた評価手法として期待できると考えられた。また、ネズミ科だけでなく、従来手法では明らかにできなかった他の哺乳類の遺伝的多様性、集団の遺伝的構造、餌資源推定などにも転用可能である。従って、本研究で用いた分子生態学的手法を生物多様性オフセットへと応用することで、保全対象地において個体数だけでなく遺伝的多様性まで考慮した評価が可能となり、個体群の動的平衡状態を把握することにより持続的な個体群の保全へと発展させることが期待できる。さらに、個体群間の遺伝的交流障壁を取り除くことで生態系ネットワークを形成し、より広域レベルでの保全を行うことが可能となる。また、保全対象種の餌資源評価を行うことで代償地における餌資源の確保を実施することが可能となる。以上のことから、本研究で実施した評価法は遺伝的多様性まで考慮した生物多様性オフセットに向けた環境アセスメント手法として期待できると結論した。

## 5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり，中部大学大学院応用生物学研究科教授南基泰農学博士には終始ご指導ご助言をいただきました．同研究科教授中村研三農学博士，同研究科教授宗宮弘明農学博士には本研究の批評ならびにご助言をいただきました．また，同研究科講師上野薫学術博士，同研究科講師愛知真木子農学博士，現代教育学部児童教育学科講師味岡ゆい応用生物学博士にはご指導ご助言をいただきました．

(株)生物資源研究所代表取締役森雄二郎氏，羽島顆粒工業(株)会長森正治氏，(株)ケイトー代表取締役宮澤大輔氏及び野麦オートビレッジ奥原渉・弥生ご夫妻には調査地を提供していただきました．カッティエン国立公園 Do Tan Hoa 氏，中部大学応用生物学部環境生物科学科上野薫研究室卒業生の皆様には供試試料採集にご協力いただきました．中部大学大学院応用生物学研究科応用生物学専攻博士前期課程 2009 年度修了中村早耶香氏，2012 年度修了石澤祐介氏，2014 年度修了川本宏和氏には調査から解析に至るまでのご助力をいただきました．また，同大学応用生物学部環境生物科学科南基泰研究室実験補助員森高子氏及び卒業生ならびに学生の皆様には様々なご協力をいただきました．

本研究は日本私立学校振興・共済事業団平成 23 年度学術研究振興資金，独立行政法人日本学術振興会科学研究費補助金（挑戦的萌芽研究，課題番号 22651009），トヨタ財団助成プログラム「よりよい未来を築く知の探究」の援助を受けて行われました．

上記の方々に加え，数多くの方々にご支援，ご助力をいただきました．  
記して謝意を表します．

## 6. 引用文献

- (財)日本生態系協会ハビタット評価グループ(2004)テンの HSI モデル ver.1.0, (財)日本生態系協会編, ハビタット評価モデルシリーズ 2, (財)日本生態系協会, 東京.
- 愛知県環境部(2009)あいち自然環境保全戦略, <http://www.pref.aichi.jp/0000028443.html>.
- 愛知県史編さん委員会(2010)愛知県史, 愛知県, pp158-159, 愛知.
- 味岡ゆい(2013)第 1 章 1. 生物多様性, 環境生物学序論 (南基泰, 山木昭平編), 風媒社, p10, 名古屋.
- 味岡ゆい(2013)第 1 章 5.4-3 ハプロタイプネットワーク, 環境生物学序論 (南基泰, 山木昭平編), 風媒社, pp62-63, 名古屋.
- 荒見真一郎, 佐藤恵美, 布藤聡(2011)DNA バーコードの魚種同定への適用性, 食品衛生学雑誌 52, 205-210.
- 畔上能力・永田芳男・菱山忠三郎・西田尚道(1996)山溪ハンディ図鑑 2 山に咲く花. 山と溪谷社, p81, 東京.
- Balakirev, AE., Abramov, AV., Rozhnov, VV. (2011) Taxonomic revision of *Niviventer* (Rodentia, Muridae) from Vietnam: a morphological and molecular approach, Russian Journal of Theriology 10, 1-26.
- Cat Tien National Park (2012) Ecosystem, <http://www.namcattien.org/ecology.htm>.
- Excoffier L., Smouse P E., Quattro J M. (1992) Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distance Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data, Genetics 131, 479-491.
- FIPI (Forest Inventory and Planning Institute) (1993) Luan Chung Kinh te ky thuat VQG Cat Tien [Feasibility Study of Cat Tien National Park], Unpublished Report, Forest Inventory and Planning Institute Hanoi, Vietnam.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vriegenhoek R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, Molecular Marine Biology and Biotechnology 3, 294-299.
- Frankham R., Ballou JD., Briscoe DA. (2007), 保全遺伝学入門, pp289-320.
- Franz M., Etienne G., Evelyle H. (2004) Geographic Patterns of (Genetic, Morphologic, Linguistic) Variation: How Barriers Can Be Detected by Using Monmonier's Algorithm, Human Biology 76, 173-190.
- 藤井猛, 丸山直樹, 神埼伸夫(1998)多摩川中流域河川敷におけるニホンイタチの食性の季節的变化, 哺乳類科学 38, 1-8.
- 藤巻裕蔵(1970)日本の哺乳類(9) げっ歯目 アカネズミ属 ヒメネズミ, 哺乳類科学 19, 1-11.
- 林弥栄, 平野隆久, 畔上能力, 菱山忠三郎, 西田尚道(1989)山溪ハンディ図鑑 1 野に咲く花, 山と溪谷社, p112, 東京.
- Hebert PDN., Cywinska A., Ball SL. deWaard JR. (2003) Biological identifications

- through DNA barcodes, *Proceedings of the Royal Society B* 270, 313-321.
- Hirota T., Hirohata T., Mashima H., Sato T., Obara Y. (2004) Population structure of the large Japanese field mouse, *Apodemus speciosus* (Rodentia:Muridae), in suburban landscape, based on mitochondrial D-loop sequences, *Molecular Ecology* 13, 3275-3282.
- IEBR (Institute of Ecology and Biological Resources) (2001) Bao Cao Ket Qua dieu tra xay dung danh luc dong vat hoang da (thu, chim, bo sat, ech nhai) o Vuon Quoc Gia Cat Tien [Report on Surveys for Preparing Lists of Animals (Mammals, Birds, Reptiles,Amphibians) in Cat Tien National Park], Unpublished Report, Institute of Ecology and Biological Resources, Hanoi, Vietnam.
- Irwin DM., Kocher TD., Wilson AC.(1991)Evolution of the cytochrome b gene of mammals, *Journal of molecular Evolution* 32, 313-321.
- 石澤祐介, 白子智康, 味岡ゆい, 上野薫, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh, 山田祐彰, 南基泰(2011)ヴェトナム・カッティエン国立公園で捕獲されたネズミ科の DNA バーコーディング法を用いた種同定及び餌資源予備調査, *生物機能開発研究所紀要* 12, 33-54.
- 神保宇嗣, 吉武啓, 伊藤元己 (2008) DNA バーコーディングによる同定支援システムと JBOLI 構想, *日本生態学会誌* 58, 123-130.
- 金子之史(2008)齧歯目. 日本の哺乳類 (阿部永, 編), 東海大学出版会, pp.116-146, 秦野.
- 環境庁自然保護局(1999)第 5 回自然環境保全基礎調査 植生調査報告書, [http://www.biodic.go.jp/kiso/fnd\\_f.html](http://www.biodic.go.jp/kiso/fnd_f.html).
- 環境省自然環境局生物多様性センター(2002)生物多様性調査 動物分布調査報告書(哺乳類), 環境省自然環境局生物多様性センター, 富士吉田.
- 環境省自然環境局自然環境計画課(2009)全国の自然再生の取り組み 自然との共生を目指して, 環境省自然環境局自然環境計画課, 東京.
- 形井雅昭, 松島保, 寺井忠正, 廻治雄(1975)アセビ葉の成分について (第 4 報) Pieristoxin F, Pieristoxin G および数種の有毒成分の分離と構造, *薬学雑誌* 95, 778-783.
- 勝俣達也, 菅原泉, 上原巖, 佐藤明(2008)針葉樹人工林と広葉樹二次林における野ネズミ 2 種の生息地選択, *関東森林研究* 59, 243-246.
- 川本宏和, 田崎里実, 石澤祐介, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 橋本良樹(2012)出光興産(株)愛知製油所グリーンベルトにおける哺乳類相予備調査, *生物機能開発研究所紀要* 13, 85-107.
- 北畠琢郎, 梶幹男(2000)ブナ・ミズナラ移植実生の生残過程における捕食者ネズミ類の生息地選択の影響, *日本森林学会誌* 82, 57-61.
- 小池裕子(2003)種内多型と保全遺伝学, 保全遺伝学 (小池裕子, 松井正文編), 東京大学出版会, pp51-52, 東京.
- 近藤高貴(1980)芦生演習林におけるホンドギツネ (*Vulpes vulpes japonica*) とホンドテン



- (*Martes melampus melampus*) の食性, 大阪教育大学紀要 29, 19-23.
- 黒田貴綱, 勝野武彦(2007)都市近郊域における異なる土地利用タイプとアカネズミの生息との関係, ランドスケープ研究 70, 479-482.
- Kuznetsov GV., Filatova TN. (2007) Rodent community structure in tropical forests in south Vietnam: comparative ecology of two dominant species and implications for conservation, Integrative Zoology 2, 136-143.
- Langham, N. (1983) Distribution and ecology of small mammals in three rain forest localities of peninsular Malaysia, with special reference to Kedah Peak, Biotropica 15, 199-206.
- Le XC., Hoang MK., Le DT., Ho TC., Hoang VT., Nguyen VT., Nguyen TV., Tran VD. (1998) Bao cao ket qua dieu tra khu he dong vat tai KBTTN Cat Loc, Huyen Cat Tien, Tinh Lam Dong [Results of Zoological Survey in Cat Loc Nature Reserve, Cat Tien District Lam Dong Province], Unpublished Report, Institute of Ecology and Biological Resources, Hanoi, Vietnam.
- Lim BL. (1970) Distribution, relative abundance, food habits, and parasite patterns of giant rat (*Rattus*) in west Malaysia, Journal of Mammalogy 51, 730-740.
- Lunde D., Son NT. (2001) An Identification Guide to the Rodents of Viet Nam, American Museum of Natural History.
- 松木吏弓, 島野光司, 阿部聖哉, 矢竹一穂, 竹内亨, 白木彩子, 石井孝, 梨本真(2003)イヌワシを頂点とする生態系の解明—DNA 解析による野生動物の糞内容物からの餌植物同定—, 電力中央研究所報告 U03008, 1-22.
- 松村清隆, 佐藤加奈, 野方靖行, 坂口勇(2008) DNA 情報を利用した海洋生物幼生の種判定と定量的解析の試み, 日本生態学会誌 58, 113-121.
- 三沢英一(1979)生息環境の相違によるキタキツネ *Vulpes vulpes schrencki* KISHIDA の食性の変化について, 哺乳動物学雑誌 7, 311-320.
- 三輪隆(2011)企業緑地の生物多様性評価と防災, 日本緑化工学会誌 37, 286-287.
- 宮尾嶽雄, 両角徹郎, 両角源美, 花村肇, 佐藤信吉, 赤羽啓栄, 酒井秋男(1963)本州八ヶ岳のネズミおよび食虫類 第1報 亜高山帯森林帯のネズミおよび食虫類, 動物学雑誌 72, 133-138.
- 宮尾嶽雄, 両角徹郎, 高田靖司(1979)長野市近郊の小哺乳類—特にヤチネズミの採集について—, 哺乳動物学雑誌 7, 305-310.
- 宮崎正浩(2010)生物多様性のノーネットロス政策—日本における導入の実現性に関する考察—, 跡見学園女子大学マネジメント学部紀要 9, 63-81.
- 宮崎正浩(2011)日本における生物多様性バンクの実現可能性, 跡見学園女子大学マネジメント学部紀要 11, 1-25.
- 水島俊一, 山田英一(1974)北海道の農耕地におけるネズミ類の分布と食性について, 日本応

- 用動物昆虫学会誌 18, 81-88.
- 村上興正(1980)アカネズミの生態, 遺伝 34, 75-81.
- Musser GG. (1981) Results of The Archbold Expeditions. No.105. Notes on Systematics of Indo-Malayan Murid Rodents, and Descriptions of New Genera and Species From Ceylon, Sulawesi, and The Philippines, American Museum of Natural History Volume 168, Article 3.
- Musser GG., Carleton MD. (2005) Mammal Species of the World 3rd ed Ed by Wilson DE., Reeder, DM., Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- 中下留美子, 鈴木彌生子, 林秀剛, 泉山茂之, 中川恒祐, 八代田千鶴, 浅野玄, 鈴木正嗣 (2010) 乗鞍岳畳平で人身事故を引き起こしたツキノワグマの食性履歴の推定—安定同位体分析による食性解析—, 哺乳類科学 50, 43-48.
- Nishikata Sachiko(1981) Habitat Preference of *Apodemus speciosus* and *A.argenteus*, 日本森林学会誌 63, 151-155.
- Ohnishi N., Saitoh T., Ishibashi Y. (2000) Spatial genetic relationships in a population of the Japanese wood mouse *Apodemus argenteus*, Ecological Research 15, 285-292.
- 太田嘉四夫(1984)北海道産野ネズミ類の研究, 北海道大学図書刊行会, 札幌
- 大津正英(1970)山形県の森林内の野ネズミについて 第2報 林型と野ネズミ類の分布, 日本応用動物昆虫学会誌 14, 85-88.
- 大津正英(1973)山形県の森林内の野ネズミについて 第3報 農耕地と異樹種林間の移動, 日本応用動物昆虫学会誌 17, 25-30.
- Oka Teruki (1992) Home range and mating system of two sympatric field mouse species, *Apodemus speciosus* and *Apodemus argenteus*, Ecological Research 7, 163-169.
- Polet G., Ling S. (2004) Protecting mammal diversity: opportunities and constraints for pragmatic conservation management in Cat Tien National Park, Oryx 38, 186-196, Vietnam.
- Riemann L., Alfredsson H., Hansen MM., Als TD., Nielsen TG., Munk P., Aarestrup K., Maes GE., Sparholt H., Petersen MI., Bachler M., Castonguay M. (2010) Qualitative assessment of the diet of European eel larvae in the Sargasso Sea resolved by DNA barcoding, Biology Letters. 6, 819-822.
- Robins JH., Hingston M., Matisoo-Smith E., Ross HA. (2007) Identifying *Rattus* species using mitochondrial DNA, Molecular Ecology Notes 7, 717-729.
- 佐伯いく代(2011)希少樹種ハナノキを対象とした保全単位の設定, 林木の育種 238, 3-8.
- Sato K., Hirata Y., Sakai A., Kuramoto S. (2006) Microhabitat use of wood mice ranging from a reserved belt with evergreen broad-leaved trees to a coniferous plantation, Journal of Forest Research 11, 275-280.
- 関島恒夫(1997)足跡法によるヒメネズミとアカネズミの垂直的ハビタット利用の評価. 日本

- 生態学会誌 47, 151-158.
- 関島恒夫(1999)ヒメネズミ *Apodemus argenteus* とアカネズミ *A.speciosus* の微生物環境利用の季節的变化, 哺乳類科学 39, 229-237.
- 関島恒夫, 山岸学, 石田健, 大村和也, 澤田晴雄(2001)森林伐採後の植生回復初期過程におけるヒメネズミ *Apodemus argenteus* とアカネズミ *A.speciosus* の個体群特性, 哺乳類科学 41, 1-11.
- 島田卓哉(2008)堅果とアカネズミとの関係ータンニンに富む堅果をアカネズミが利用できるわけー, 哺乳類科学 48, 155-158.
- 島田博匡, 谷秀司(2005)三重県の里山における主要群落の林分構造と種組成, 三重県科学技術振興センター林業研究部研究報告 17, 19-44.
- 清水矩宏, 森田弘彦, 廣田伸七(2001)日本帰化植物写真図鑑, 全国農村教育協会, p376, 東京.
- 森林野生動物研究会編(1997)フィールド必携 森林野生動物の調査-生息数推定法と環境解析-, 共立出版株式会社, pp114-121, 東京.
- 白石浩隆, 北原正彦(2007)富士山北麓における人工巣を利用したフクロウの繁殖生態と給餌食物の調査, 富士山研究 1, 17-23.
- Soininen EM., Valentini A., Coissac E., Miquel C., Gielly L., Brochmann C., Brysting AK., Sønstebo JH., Ims RA., Yoccoz NG., Taberlet P., (2009) Analysing diet of small herbivores: the efficiency of DNA barcoding coupled with high-throughput pyrosequencing for deciphering the composition of complex plant mixtures, *Frontiers in Zoology* 6, 16.
- 鈴木仁(2007)小型哺乳類, 保全遺伝学(小池裕子, 松井正文編), 東京大学出版会, pp159-174, 東京.
- Suzuki N., Murakami K., Takeyama H. Chow S., (2006) Molecular attempt to identify prey organisms of lobster phyllosoma larvae, *Fisheries Science* 72, 342-349.
- 立川賢一, 村上興正(1976)アカネズミの食物利用について, 生理生態 17, 133-144.
- Tamrin NAM., Abdullah MT. (2011) Molecular phylogenetics and systematics of five genera of Malaysian murine rodents (*Maxomys*, *Sundamys*, *Leopoldamys*, *Niviventer* and *Rattus*) inferred from partial mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, *Journal of Science and Technology in the Tropics* 7, 75-86.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods, *Molecular Biology and Evolution* 28, 2731-2739.
- 田村典子, (財)日本生態系協会ハビタット評価グループ(2009)ニホンリスの HSI モデル ver.2.0, (財)日本生態系協会編, ハビタット評価モデルシリーズ 1, (財)日本生態系協会,

- 東京.
- 田中章(2007)HEP 入門—くハビタット評価手続き>マニュアル, 朝倉書店, pp112-149  
東京.
- 田中章(2009)“生物多様性オフセット”制度の諸外国における現状と地球生態系銀行, “アースバンク”の提言, 環境アセスメント学会誌 7, 1-7.
- 立田晴記, 吉尾政信, 浅田正彦, 落合啓二, 宮下直(2008)景観遺伝学的解析に基づく野生生物集団における遺伝的不連続性の検出手法, 生物科学 59, 174-181.
- 上野薫, 大畑直史, 久保壮史, 寺井久慈, 南基泰, 小田原卓郎, 那須守, 米村惣太郎, 横田樹広(2011)土岐川・庄内川流域圏におけるアカネズミ(*Apodemus speciosus*)のコードラート別・罫設置定点別 HSI モデルの比較検討, 環境アセスメント学会誌 9, 73-84.
- Valentini A., Miquel C., Nawaz MA., Bellemain E., Coissac E., Pompanon F., Gielly L., Cruaud C., Nascetti G., Wincker P., Swenson JE., Taberlet P. (2009) New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach, *Molecular Ecology Resources* 9, 51-60.
- VRTC (Vietnam-Russian Tropical Centre) (2002) Results of Complex Zoological - Botanical Expedition in Cat Loc - Cat Tien National Park Vietnam, Technical Report No. 36, WWF - Cat Tien National Park Conservation Project, Vietnam.
- 渡辺菊治(1962)作物保護学的見地よりみたネズミの分類及び生態に関する研究, 宮城県立農業試験場報告 31, 宮城県立農業試験場, 仙台
- 呉初平, 安藤信(2010)マツ枯れ被害林におけるアカマツ実生, 稚樹, 幼樹の分布と立地環境, 日本緑化工学会誌 36, 304-310.
- World Wide Fund for Nature (2012) ヴェトナムのジャワサイが絶滅, <http://www.wwf.or.jp/activities/2011/10/1022325>.
- Wu HY., Yu HT. (2004) Spatial Organization of a Forest-Dwelling Murid Rodent, *Niviventer coxingi* in Subtropical Central Taiwan, *ZOOLOGICAL STUDIES-TAIPEI* 43, 612-621.
- 山根明弘(1999)哺乳類における遺伝的劣化と絶滅, 哺乳類科学 39, 45-53.
- Yigit N., Colak E., Sozen M. (1998) The Taxonomy and Karyology of *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769) and *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758) (Rodentia: Muridae) in Turkey, *Turkish Journal of Zoology*, 203-212.
- 米倉浩司(2012)日本維管束植物目録 (邑田仁, 監修), 北隆館, 東京.
- 吉田元一, 鈴木茂忠, 小野珠乙(1994)高速道路により分断された地域のアカネズミの形態・遺伝学的差異, 信州大学農学部紀要 31, 109-124.
- 吉川ひとみ, 杉田律子, 鈴木真一(2010)牧舎由来植物試料の DNA 解析による識別, 法科学技術 15, 151-158.

## 7. 研究業績

### (学術論文・主要論文・査読あり)

白子智康, 愛知真木子, 上野薫, 南基泰(2014)葉緑体 DNA rbcL 遺伝子によるアカネズミ・ヒメネズミの糞中植物種残渣推定, 哺乳類科学 54, 95-101.

白子智康, 上野薫, 南基泰(2014)ミトコンドリア DNA D-loop 領域多型解析による岐阜県乗鞍岳麓におけるネズミ科 3 種の遺伝的構造解析, DNA 多型 22, 16-20.

白子智康, 石澤祐介, 上野薫, 南基泰(2014)愛知県弥勒山におけるアカネズミとヒメネズミの遺伝的構造の相違, 環境アセスメント学会誌 12, 72-84.

Tomoyasu Shirako, Yusuke Ishizawa, Yui Ajioka, Makiko Aichi, Kaoru Ueno, Do Tan Hoa, Bach Thanh Hai, Tran Van Thanh, Masaaki Yamada, Motoyasu Minami. Identification of Muridae species and their food resources using DNA barcoding in Cat Tien National Park, Vietnam, Mammal Study. (掲載可, MS2014-0079)

### (学術論文・査読なし)

南基泰, 白子智康, 味岡ゆい, 愛知真木子, 上野薫(2011)「市街地型孤立林」を地域コミュニティの既存ストックへ転換するための産学官協働による取組 - 教育・研究の場としての価値とその利用法 -, アリーナ 11 号(中部大学編), pp231-238.

石澤祐介, 白子智康, 味岡ゆい, Nguyen Huynh Thuat, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh, 山田祐彰, 南基泰(2011)ヴェトナム・カッティエン国立公園で捕獲されたネズミ科の DNA バーコーディング法を用いた種同定及び餌資源予備調査, 生物機能開発研究所紀要(中部大学), 第 12 号, 33-54.

味岡ゆい, 石澤祐介, 白子智康, Nguyen Huynh Thuat, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh, 南基泰(2012)ヴェトナム・カッティエン国立公園における環境教育に向けたエコツアーリズムについて, 現代教育学研究紀要, 第 5 号, pp11-19.

川本宏和, 田崎里実, 石澤祐介, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 橋本良樹(2012)出光興産(株)愛知製油所グリーンベルトにおける哺乳類相予備調査, 生物機能開発研究所紀要(中部大学), 第 13 号, 85-107.

高野昭人, 中根孝久, 中野未央, 石澤祐介, 白子智康, 味岡ゆい, 南基泰, 磯田進, 矢原正治, 山田祐彰, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh(2013)ベトナム・カッティエン国立公園での薬物資源調査, 日本植物園協会誌, 第 47 号, 75-83.

### (書籍)

白子智康(2013)5.-4-1 個体群内・個体群間の遺伝的多様性, 南基泰・山木昭平(編), 「環境生物学序論」, 風媒社, pp56-59.

白子智康(2014)野麦峠の動植物調査で知ったフィールドワークの大切さ, 宗宮弘明・南基泰(編), 「ESD 自然に学び大地と生きる」, 風媒社, pp105-120.

白子智康, 南基泰(2015)5.-4-1 個体群内・個体群間の遺伝的多様性, 南基泰・上野薫・山木昭平(編), 「環境生物学序論改訂版」, 風媒社. (印刷中)

(国内学会発表, 主要発表)

白子智康, 上野薫, 南基泰, 愛知県弥勒山における *Apodemus* 属 2 種のミトコンドリア DNA ハプロタイプの多様性について, 日本生態学会中部地区大会 (2009 年 12 月, 静岡)

白子智康, 大塚裕貴, 南基泰, 上野薫, 愛知県弥勒山における *Apodemus* 属 2 種のミトコンドリアハプロタイプの多様性について, 日本生態学会第 57 回全国大会 (2010 年 3 月, 東京)

白子智康, 上野薫, 南基泰, 岐阜県高根町野麦におけるネズミ科 3 種の糞中植物残渣 DNA を用いた餌植物の同定, 日本生態学会中部地区大会 (2010 年 3 月, 静岡)

白子智康, 石澤祐介, 上野薫, 南基泰, 愛知県弥勒山における *Apodemus* 属 2 種の林相別遺伝的構造の相違及び餌資源について, 日本哺乳類学会 2011 年度大会 (2011 年 9 月, 宮崎)

白子智康, 石澤祐介, 上野薫, 南基泰, 愛知県弥勒山における *Apodemus* 属 2 種の餌資源及び林相別遺伝的構造の相違について, 日本生態学会中部地区大会 (2011 年 12 月, 静岡)

白子智康, 石澤祐介, 上野薫, 南基泰, 岐阜県野麦峠シラカンバ群落において同所的に生息するネズミ科 3 種の遺伝的構造について, 日本哺乳類学会 2012 年度大会 (2012 年 9 月, 神奈川)

白子智康, 石澤祐介, 川本宏和, 田崎里実, 上野薫, 南基泰, DNA バーコーディング法を用いたネズミ科 3 種の糞中食物残渣の推定, 第 60 回 日本生態学会大会 (2013 年 3 月, 静岡)

白子智康, 石澤祐介, 味岡ゆい, 上野薫, Do Tan Hoa, Bach Thanh Hai, Tran Van Thanh, 山田祐彰, 南基泰, ヴェトナム・カッティエン国立公園で捕獲されたネズミ科の DNA バーコーディング法を用いた餌資源調査, 第 29 回日本霊長類学会・日本哺乳類学会 2013 年度合同大会 (2013 年 9 月, 岡山)

白子智康, 石澤祐介, 味岡ゆい, 上野薫, Do Tan Hoa, Bach Thanh Hai, Tran Van Thanh, 山田祐彰, 南基泰, ヴェトナム・カッティエン国立公園で捕獲されたネズミ科の DNA バーコーディング法を用いた餌資源調査, 2013 年度 日本生態学会 中部地区大会 (2013 年 11 月, 富山)

大塚裕貴, 白子智康, 南基泰, 上野薫, アカネズミのミトコンドリア DNA ハプロタイプの多様性が高い植生について, 日本生態学会第 57 回全国大会 (2010 年 3 月, 東京)

平下義人, 石黒有美, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 岐阜県野麦峠ミズナラ優占林に生息するネズミ科 3 種の個体変動について, 日本生態学会中部地区大会 (2010 年 12 月,

静岡)

石澤祐介, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 愛知県弥勒山における *Apodemus* 属 2 種のミトコンドリア DNA ハプロタイプの多様性について, 日本生態学会中部地区大会 (2010 年 12 月, 静岡)

石澤祐介, 白子智康, 味岡ゆい, 上野薫, 南基泰, Nguyen Huynh Thuat, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh, DNA バーコードを用いたヴェトナム・Cat Tien 国立公園に生息するネズミ科の餌資源調査, 日本哺乳類学会 2011 年度大会 (2011 年 9 月, 宮崎)

石澤祐介, 白子智康, 味岡ゆい, 上野薫, 南基泰, Nguyen Huynh Thuat, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh, DNA バーコードを用いたヴェトナム・Cat Tien 国立公園に生息するネズミ科の餌資源調査, 日本生態学会中部地区大会 (2011 年 12 月, 静岡)

高野昭人, 中根孝久, 石澤祐介, 白子智康, 味岡ゆい, 南基泰, 磯田進, 矢原正治, 山田祐彰, Nguyen Huynh Thuat, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh, ベトナム・カッティエン国立公園の調査 (その 2), 社団法人日本植物園協会第 47 回大会 (2012 年 5 月, 東京)

石澤祐介, 白子智康, 味岡ゆい, 上野薫, Nguyen Huynh Thuat, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh, 山田祐彰, 南基泰, ヴェトナム・カッティエン国立公園で捕獲されたネズミ科の DNA バーコーディング法を用いた種同定及び餌資源調査, 日本哺乳類学会 2012 年度大会 (2012 年 9 月, 神奈川)

川本宏和, 白子智康, 石澤祐介, 上野薫, 南基泰, DNA バーコーディング法によるネズミ科 3 種の糞中食物残渣の推定, 日本哺乳類学会 2012 年度大会 (2012 年 9 月)

南基泰, 石澤祐介, 白子智康, 上野薫, 味岡ゆい, Do Tan Hoa, Tran Van Thanh, 山田祐彰, ヴェトナム・カッティエン国立公園で捕獲されたネズミ科の DNA バーコーディング法を用いた種同定及び餌資源調査, 第 60 回 日本生態学会大会 (2013 年 3 月, 静岡)

#### (国内学会発表, 関連発表)

川本宏和, 田崎里実, 石澤祐介, 白子智康, 上野薫, 味岡ゆい, 橋本良樹, 南基泰, 生物多様性に貢献する出光興産(株)愛知製油所の企業緑地, 第 60 回 日本生態学会大会 (2013 年 3 月, 静岡)

鬼頭宣行, 金山和樹, 和嶋祐己, 川本宏和, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 江口英顕, 山本明宏, 橋本良樹, 藤森誠司, 愛知県知多半島臨海工業地帯企業緑地におけるシャーマントラップによる小型哺乳類捕獲調査, 2013 年度 日本生態学会 中部地区大会 (2013 年 11 月, 富山)

和嶋祐己, 金山和樹, 鬼頭宣行, 川本宏和, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 江口英顕, 山本明宏, 橋本良樹, 藤森誠司, 愛知県知多半島臨海工業地帯企業緑地におけるカメラトラップ法による中型哺乳類相調査, 2013 年度 日本生態学会 中部地区大会 (2013

年 11 月, 富山)

川本宏和, 金山和樹, 鬼頭宣行, 和嶋祐己, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 橋本良樹, 出光興産(株)愛知製油所における哺乳類の企業活動への影響評価, 2013 年度 日本生態学会中部地区大会 (2013 年 11 月, 富山)

白子智康, 南基泰, 渡邊隆広, 中村俊夫, 朱立平, 松中哲也, 西村弥重, DNA バーコーディングを利用したチベット高原プマユムツォ湖より採取された約 15,000 年前の湖底柱状堆積物中に含まれた植物片の種同定, 日本 DNA 多型学会第 23 回学術集会 (2014 年 11 月, 愛知)

安枝美咲, 白子智康, 南基泰, 渥美聡孝, 柴田敏郎, 門田裕一, 岐阜県飛騨地方の固有種キヨミトリカブト識別のための DNA マーカーと雑種について, 2014 年度 日本生態学会 中部地区大会 (2014 年 12 月, 長野)

柴田あかね, 藤井太一, 丹羽直美, 岡本絵里奈, 加藤美の里, 川本宏和, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 貝嶋誠司, 山本明宏, 橋本良樹, 愛知県知多半島臨海工業地帯企業緑地におけるシャーメントラップによる小型哺乳類捕獲調査, 2014 年度 日本生態学会中部地区大会 (2014 年 12 月, 長野)

藤井太一, 丹羽直美, 岡本絵里奈, 加藤美の里, 柴田あかね, 川本宏和, 白子智康, 愛知真木子, 上野薫, 南基泰, 貝嶋誠司, 山本明宏, 橋本良樹, 藤森誠治, 愛知県知多半島臨海工業地帯企業緑地に生息する小型哺乳類の糞中植物残渣からの餌資源推定, 2014 年度 日本生態学会 中部地区大会 (2014 年 12 月, 長野)

川本宏和, 岡本絵里奈, 加藤美の里, 柴田あかね, 丹羽直美, 藤井太一, 白子智康, 上野薫, 南基泰, 橋本良樹, 出光興産(株)愛知製油所におけるカメラトラップ法による中型哺乳類相調査, 2014 年度 日本生態学会 中部地区大会 (2014 年 12 月, 長野)

渥美聡孝, 白子智康, 南基泰, 柴田敏郎, 門田裕一, 飛騨高山の固有種キヨミトリカブトのアルカロイド含有プロファイル, 日本薬学会 第 135 年会 (2015 年 3 月, 神戸)

#### (シンポジウム, 国内)

白子智康, 上野薫, 南基泰, 中部大学研修センターにおけるアカネズミのハプロタイプと林相の関連について, 2009 年度大学間里山交流会 (2009 年 9 月, 長野大学)

石澤祐介, 石黒有美, 白子智康, 上野薫, 南基泰, アカネズミのミトコンドリア DNA ハプロタイプの多様性が高い植生について, 第 7 回大学間里山交流会 in 龍谷大学 (2010 年 9 月, 龍谷大学)

白子智康, 石澤祐介, 川本宏和, 橋本良樹, 南基泰, 生物多様性に貢献する出光興産(株)愛知製油所の企業緑地, 第 6 回 人と自然の共生国際フォーラム (2012 年 10 月, 愛知)

白子智康, 川本宏和, 和嶋祐己, 橋本良樹, 南基泰, 生物多様性に貢献する出光興産(株)愛知製油所の企業緑地, 第 7 回 人と自然の共生国際フォーラム (2013 年 10 月, 愛知)



(シンポジウム, 海外)

白子智康, 上野薫, 南基泰, 遺伝的多様性維持まで考慮した生物多様性評価 Part1 ネズミの好きな森 (2010 年 9 月, 上海) (上海国際博覧会「DEVNET 国際交流館」) (研究シーズ発表)

(受賞)

白子智康, 石澤祐介, 上野薫, 南基泰, 愛知県弥勒山における *Apodemus* 属 2 種の餌資源及び林相別遺伝的構造の相違について, 日本生態学会中部地区大会 (2011 年 12 月, 静岡), 優秀ポスター賞受賞

白子智康, 中部大学学長表彰 (2012 年 1 月 26 日)

(海外調査)

トヨタ財団研究プロジェクトチームの一員として 2011 年 3 月 8 日～16 日, 2012 年 3 月 13～20 日, 同年 9 月 1 日～6 日の 3 回, ベトナム・カッティエン国立公園において現地国立公園スタッフとネズミ科の共同捕獲調査を実施した.