

氏名	なはえる えうゝ あ さいふん NAHAER EVA SAIFUN
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	富理工博甲第161号
学位授与年月日	平成31年3月26日
専攻名	地球生命環境科学専攻
学位授与の要件	富山大学学位規則第3条第3項該当
学位論文題目	Molecular ecological studies of sika deer inhabiting central Japan (日本中部地域に生息するニホンジカの分子生態学的研究)
論文審査委員 (委員長)	岩坪 美兼 若杉 達也 柏木 健司 山崎 裕治

学位論文内容の要旨

学位論文題目: Molecular ecological studies of sika deer inhabiting central Japan

(日本中部地域に生息するニホンジカの分子生態学的研究)

地球生命環境科学専攻

氏名 NAHAER EVA SAIFUN

Abstract

At present, origin and geographical distribution of some mammalian species have been increasing with their number including distribution range in central Japan at an alarming rate. The present doctoral dissertation is focusing especially for sika deer (*Cervus nippon*). Rapid expansion of this species has resulted serious ecological imbalance subsequently loss of biodiversity. To elucidate the ecology of increasing wild sika deer is an important issue from the viewpoint of biodiversity, agriculture, forestry and conservation purposes. Genetic analysis with the advantage of widely used nuclear DNA microsatellite has been emerged as the most popular, versatile marker type for ecological applications, available for inferring population structure and dynamics. This study will clarify the genetic characteristics of sika deer in Toyama Prefecture, entering routes of multiple groups from adjacent Prefectures. Since the number of deer populations in Toyama Prefecture is increasing every year, continuous monitoring is necessary in near future. This dissertation aims to disentangle the contribution of background and understanding the current population structure using 11 polymorphic microsatellite loci. The present study identified that hybridizing with a resident and introduced species to enhance genetic diversity, population structure, gene flow and dispersal pattern around Toyama Prefecture. This thesis demonstrates mainly five chapters, such are:

I) The first part briefly illustrates general introduction of the study.

II) In the second part, previously maternally-inherited mitochondrial DNA analysis detected individuals possessing exogenous haplotypes of sika deer mainly from central part of Toyama Prefecture, which was thought to be derived from artificially introduced individuals. The present study assessed the effects of hybridization on the exogenous and indigenous haplotypes in the major occurrence area; this has created a fear of alteration of indigenous ecosystem. Using the NewHybrids software the results reliably distinguished that hybrids between the two species are fertile and produce viable offspring in backcrosses with both parental species. Furthermore, the study elucidated the contribution of genetically divergent ancestral sources and subsequent loss of pure parental species due to continuous mating across generations in the central part of Toyama Prefecture.

III) In the third part, population genetic diversity, genetic structure, admixture and migration paths were identified. Deviations from the HWE were observed in the present study, resulting from the mixture of samples from different sources. The Result of pairwise F_{ST} , Fisher's exact test and molecular variance (AMOVA) among Toyama and neighboring Prefectures populations showed low but significant differentiation ($F_{ST} = 0.028$, $P < 0.0001$). Nei's genetic distances also displayed populations were genetically very close. In addition, factorial correspondence analysis (FCA) and principal coordinate's analysis (PCoA) identified genetic similarity between regional neighboring Prefectures, although Gifu was slightly distinct. The detected genetic continuities seem more related to the effect of past historical events. Historical migration results identified dispersal into Toyama Prefecture from all three directions, thus suggested that sika deer entered into Toyama Prefecture from multiple routes. Although, migration into Toyama Prefecture was high especially from one to

the east whereas from Toyama Prefecture to south. Furthermore the study results highlight that the corridors may still be functional as there is evidence of contemporary migration. This was also confirmed Bayesian STRUCTURE results, suggested that population of Toyama Prefecture derive from multiple ancestral sources, consequently five distinct clusters were present in the neighboring Prefectures populations. Each of the Prefectures has strong biasness of one particular cluster however; Toyama Prefecture showed multiple lines of genetic structure and maximum admixture across the central region.

IV) Finally, the main goal was to assess whether any isolation-by-distance pattern in data sets using mantel tests. The result suggested significant but weak positive relationship between geographic and genetic distance, ($R_{xy} = 0.14$, $R^2 = 0.02$, $P < 0.002$). Additionally, spatial genetic structure results indicated the presence of non-random spatial structuring and genetic association among individuals at larger distances. Individuals below this threshold, share a higher proportion of genes, than spatially distant individuals. Furthermore, both male and female sika tended to be dispersed further away from the natal area, although interestingly slight higher indication was observed for female bias dispersal. This result was also supported with the negative Assignment index analysis (AIC) provided the evidence of female biased dispersal among Toyama and neighboring Prefectures.

V) Lastly, from these findings, it could be concluded that gene flow among neighboring population was high and started occurring many years before from the present study period. Additionally the present study observed central part of Toyama Prefecture mixed with multiple ancestral sources and mostly prevailed with polluted gene pool. Therefore, concern has been expressed that conservational strategy should be taken to maintain genetic integrity in Toyama Prefecture.

【審査結果要旨】

当博士論文審査委員会は、当該論文「Molecular ecological studies of sika deer inhabiting central Japan（日本中部地域に生息するニホンジカの分子生態学的研究）」を詳細に査読した上で、平成31年2月5日（火）に学位論文発表会を公開で実施し、論文内容の口頭発表を受けて詳細な質疑応答を行った。以下に、当委員会による審査の結果を要約する。

近年、人間活動の拡大に伴い、生物多様性に対する負の影響が高まっている。そして多くの生物種が生息範囲や個体数を減少させており、絶滅の危機に陥っている。その一方で、生息範囲や個体数を増加させている生物も存在する。そのような生物の1つとして、ニホンジカが知られている。ニホンジカは古くから日本列島のほぼ全域に生息していたが、北陸地方などの積雪量の多い地域では、個体数は限られていた。しかし近年、富山県を含む北陸地方においても、生息地の拡大と個体数の増加が知られている。ニホンジカが増加することで、生態系を支える植生の変化や、中部日本に固有の高山植物の食害などが懸念されており、適切な管理が求められている。しかし、そのための基礎資料となる生態情報に加え、遺伝的情報がほとんど得られていないのが現状である。これに対して、最近の研究では、富山県とその周辺域のニホンジカに関して、ミトコンドリアDNAを指標にした遺伝学的調査が行われており、富山県に複数の経路でニホンジカが進出したこと、また、かつて飼育され、その後逸出した九州産ニホンジカに由来する個体（外来個体）が増加していることが指摘されている。しかし、複数経路で進出した個体や、外来個体同士の交雑実態など、不明な点が多かった。

そこで本博士論文研究では、分析精度の高いマイクロサテライトDNAを指標とした遺伝子解析を行い、交雑実態の確認（第二章）、集団構造解析（第三章）、そして個体レベルの移動パターン（第四章）を行った上で、富山県におけるニホンジカの分布域形成パターンと有効な管理方法の提言を行った（第五章）。

交雑実態の確認（第二章）において、富山県および周辺県から得られたニホンジカについて、11の遺伝子座を用いた解析を行った結果、任意交配集団からの逸脱が示唆された。このことは、個体間でランダムな交配が行われていないことを意味している。そしてその原因として、複数の由来を持つ祖先（遺伝子プール）の存在と混合が考えられる。そこで、交雑状態の推定を目的とした解析を行った結果、複数世代に渡る交雑が生じていることが示唆された。そして、交雑の進行により、富山県において、純粋な在来遺伝子プールが既に崩壊している可能性が示唆された。

第三章では、集団の遺伝的多様性、集団構造、そして分散過程の推定が行われた。富山県集団と周辺県集団との間の遺伝的分化の程度を調べた結果、分化の程度は必ずしも高くはないが、有意な遺伝的分化が存在することが示唆された。また、Factorial Correspondence Analysisの結果、地理的に近隣の集団間における遺伝的な類似性の高さが明らかにされた。その傾向は特に東西それぞれの地域で顕著であった。そこで、歴史的な移住パターンを調べた結果、富山県の周辺県それぞれから、個体の移住が生じていたことが示唆された。またその移住は、現在も継続していると推察された。同様に、ベイズ法に基づく集団構造推定の結果、

現在富山県に生息するニホンジカには、複数の遺伝的祖先グループの内在が示唆され、それらの間では遺伝的混合が進んでいることが示された。

第四章では、個体レベルの移動解析が行われた。マンテルテストにより距離による隔離の検定を行った結果、相関の程度は低いが、有意な正の相関が認められた。また、個体間の地理的距離の拡大が、ランダムな個体の移動に制限を加えていることが示唆された。また、雌雄別にみると、いずれも広範囲の移動が推察されたが、雌の方がわずかに移動範囲が広いことが示唆された。

以上の結果を踏まえて、第五章では、富山県と周辺県における高頻度かつ継続的な遺伝子流動の存在と、それら遺伝的祖先グループの混合が、今日の富山県におけるニホンジカ集団の遺伝的組成を形成していることが推察された。また、ニホンジカ管理における遺伝的情報の重要性の提示と、それに基づいた管理方法について提言した。

これまで、ニホンジカをはじめとする大型哺乳動物を扱った研究は枚挙にいとまがないが、遺伝学的な視点で行われた研究は必ずしも多くはなかった。特に、本博士論文研究で地域レベルにおいて詳細な遺伝学的調査が行われたことは、富山県におけるニホンジカ管理に留まらず、他の地域、特に現在分布が拡大している地域における資源管理を行う上で、重要な情報の提供になると判断される。また、研究成果や手法の提示は、野生生物の管理に限らず、生物多様性の理解と保全を行う上で、極めて有益な情報を提供したものと、高く評価されるものである。なお、本審査論文の成果は、2編の原著論文として国際専門誌に公表されている。

以上を総合して判断した結果、当審査委員会は、本申請論文が博士（理学）の学位を授与するに十分値すると認め、合格と判断する。