

ツシマヤマネコの糞等のDNA分析(2023年度)

齋藤 佳子, 松尾 進

Fecal and Tissue DNA Analysis of Tsushima leopard cats (2023)

Yoshiko SAITO and Susumu MATSUO

キーワード: ツシマヤマネコ、糞のDNA分析、動物種と雌雄の判別、個体識別

Key words: Tsushima leopard cats, fecal DNA analysis, identification of species and sex, individual identification

はじめに

ツシマヤマネコは、対馬にのみ生息する野生のネコで、その生息数は減少傾向にあり、1994年に「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律」に基づき「国内希少野生動植物種」に指定された。1995年には「ツシマヤマネコ保護増殖事業計画」が策定され、ツシマヤマネコが自然状態で安定的に存続できる状態になることを目指し、様々な取組が行われている。当センターでは、2006年度から環境省からの委託を受けて、痕跡調査で採取された糞等のDNA分析を行っている。

本稿では、2023年度分として分析依頼を受けた検体のうち2024年3月末までの判定結果を報告する。

分析方法

各分析は、Kurose, *et al.* (2005)¹⁾と Menotti-Raymond & O'Brien (1995)²⁾に基づく吉川, 他(2017)³⁾の方法に準じて行った。

1 動物種の判別

痕跡調査において、ツシマヤマネコのものである可能性が高いとして採取された糞のうち、215検体を被検材料とした。

これらの検体について、Kurose, *et al.* (2005)¹⁾と吉川, 他(2017)³⁾に従い、ミトコンドリアDNAのcytochrome b 遺伝子をターゲットとした primer sets を用い、*Prionailurus bengalensis* (ツシマヤマネコ)、*Martes melampus* (テン)、*Mustela sibirica* (イタチ)、*Felis catus* (イエネコ)、*Canis lupus* (イヌ)の5種の特異的遺伝子をPCRで増幅させ、電気泳動を行い、5種を判別した。

2 雌雄の判別

動物種の判別を実施した検体のうち、ツシマヤマネコのDNAが検出された糞(動物種の判別に使用したDNA) 162検体を被検材料とした。

これらの検体について、吉川, 他(2017)³⁾に従い、核DNAをターゲットとしたprimer setsによりX染色体およびY染色体の特異的DNA領域をSemi-Nested PCRで増幅させ、電気泳動を行い、雌雄を判別した。

また、一部の検体については、吉川, 他(2017)³⁾に従い、シークエンサーを用いて、増幅産物の塩基配列を決定した後、BLAST検索によりX染色体およびY染色体上のDNAであることを確認し、雌雄を判別した。

3 個体識別

動物種の判別を実施した検体のうち、ツシマヤマネコのDNAが検出された糞(動物種の判別に使用したDNA)、過去に死亡した個体の筋肉及び保護個体の糞と漿液のうち、10検体を被検材料とした。

これらの検体について、Menotti-Raymond & O'Brien³⁾によって報告されたMicrosatelliteをマーカーにして、その遺伝子型を決定し、吉川, 他(2017)³⁾に従い、各遺伝子座のアリルの組み合わせにより個体を識別した。

分析結果

1 動物種の判別結果

動物種の判別結果を表1に示す。215検体を分析した結果、213検体について動物種を判別することができた(判別率約99%)。その内訳は、ツシマヤマネコが160検体、ツシマヤマネコとテン両方が検出さ

れたものが1検体、ツシマヤマネコとイヌ両方が検出されたものが1検体、テンが26検体、テンとイエネコ両方が検出されたものが1検体、テンとイヌ両方が検出されたものが1検体、イエネコが23検体、不明が2検体であった。

表1 動物種の判別結果 (2023年度)

動物種	検体数
ツシマヤマネコ	160
ツシマヤマネコとテン	1
ツシマヤマネコとイヌ	1
テン	26
テンとイエネコ	1
テンとイヌ	1
イエネコ	23
不明	2
計	215

(2024年3月末判定分まで)

2 雌雄の判別結果

雌雄の判別結果を表2に示す。162検体を分析した結果、52検体について雌雄を判別することができた(判別率約32%)。その内訳は雄が12検体、雌が40検体であった。

表2 雌雄の判別結果 (2023年度)

性別	検体数
雄	12
雌	40
不明	110
計	162

(2024年3月末判定分まで)

3 個体識別結果

10検体を分析した結果、7検体(約70%)で各遺伝子座を決定することができた。

参考文献

- 1) Kurose N., R. Masuda & M. Tatara: Fecal DNA analysis for identifying species and sex of sympatric carnivores: a noninvasive method for conservation on the Tsushima Islands, Japan, *Journal of Heredity*, **96**(6), 688–697(2005).
- 2) Menotti-Raymond, M. A. & S. J. O'Brien: Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felidae, *Journal of Heredity*, **86**(4), 319–322(1995).
- 3) 吉川 亮, 他: ツシマヤマネコの糞等のDNA分析(2005-2015), *長崎県環境保健研究センター所報*, **62**, 133–138(2017).