

第3節 カモシカの生息状況の整理及び解析

1 DNAによる糞判定方法の説明と結果

1) カモシカ及びシカ糞、体毛試料のDNA判定方法

調査地にてカモシカ糞塊と判断されたもの、及びシカとカモシカの判別が困難であった糞粒/糞塊、または種不明でカモシカと疑われる動物体毛については、DNA解析によりその糞粒/糞塊/体毛の種の判別を実施した。

糞については調査地にて10粒程度の糞を、使い捨ての割り箸等を用いて採取し、15 ml 遠沈管もしくはチャック付きポリ袋に入れて研究室へ持ち帰り、室温もしくは冷蔵/冷凍で保管した。体毛も同様に割り箸等を用いて数本を採取し、チャック付きポリ袋に入れ、冷凍で保管した。

本調査では、LAMP法とPCR法の2つの方法を相互に用いた。LAMP法によるシカ/カモシカ糞判別はAikawa *et al.* (2015)によるもので、ミトコンドリア(mt)DNAのチトクロム**b**遺伝子を対象として、種特異的プライマーセットによる増幅の有無により、カモシカとシカを判別する。本調査ではシカ・カモシカ識別キット(ニッポンジーン:NE0181)を用いた。なお用いた試薬量は全て半量とした。PCR法による判別(西田, 未発表)は、mtDNA 12S rRNA領域を対象に、LAMP法と同様に、カモシカ及びシカをそれぞれ特異的に増幅するプライマーセットを同時に用い、増幅断片の長さの違いにより種を判別するものである。カモシカ増幅用プライマーセット:CapCer-F2 (5'-ACAGGAACACGGCGTAAAC-3') × Cap-R1 (5'-GCTATAGTGTGTCAGCTGTTATAGG-3') はカモシカでのみ132塩基対(bp)の増幅バンドを、シカ増幅用プライマーセット: Cer-F1 (5'-CCCAGCCTTCCTATTGACCCTT-3') × CapCer-R4 (5'-TGCAAGGTGTCGTGAGCTAC-3') は、シカでのみ198bpの増幅バンドを示す。

糞からのDNAの抽出はLAMP法キット付属の抽出液もしくはMightyPrep reagent for DNA(タカラバイオ)を用いた簡易法により行った。爪楊枝を用い糞の表面を拭うか、糞を突き刺し、そこに付着した試料をDNA抽出試料とした。LAMP法キット付属の抽出液では、0.2 ml PCRチューブに抽出液を50 µl加え、そこへ先ほどの試料が付着した爪楊枝の先端をハサミで切り落とした。その後、サーマルサイクラーにて60°C 10分、90°C 5分の熱処理を加え、この溶液を粗抽出DNA溶液とした。MightyPrep reagent for DNA試薬では、1.5 ml スクリューキャップチューブ/0.2 ml PCRチューブに100 µlの試薬を加え、そこへ試料が付着した爪楊枝先端を落とし入れた。反応はブロックインキュベーター/サーマルサイクラーにて95°C 10分で行った。体毛試料は、1本~数本を用い、Gentra Puregene Tissue Kit(QIAGEN)によりDNAの抽出を行い、20~30 µlのDNA溶液を得た。

簡易法により増幅が認められなかった試料については、DNeasy Blood & Tissue Kit(QIAGEN)により全DNA抽出を行った。糞の内部や表面の粘膜が残存していると想定される部分の数十mgを取り出し、これを1.5 ml マイクロチューブに入れ、ATL buffer 270 µlとタンパク分解酵素であるproteinase-K 30 µlを加えた。その後、56°Cで一昼夜の転倒混和にてタンパク質の分解をおこなった。17,000 G、10分の遠心操作後、上澄みの50 µl~100 µlを新しいチューブに取り、ATL bufferにて200 µlに調整した。その後の操作はキット付属のマニュアルに従い、抽出DNAは150 µlのAE bufferにより溶出し、4°Cにて保存した。

PCRはTks Gflex DNA Polymerase(タカラバイオ)を用い、反応系量は25 µlとした。粗DNA抽出液は0.5 µlを反応液に加えた。各プライマーの濃度は0.4 µMとし、上述の4つのプライマーを同時に用いた。反応サイクルは94°C 1分ののち、94°C 30秒、60°C 15秒、68°C 15秒を40回繰り返した。さらに、この方法により増幅が認められなかった場合は、カモシカ用とシカ用プライマーセットを分け、それぞれ個別にPCRを行った。得られたPCR産物は2%アガロースゲルにて30分の電気泳動を行い、エチジウムブロマイドにて染色後、トランスイルミネーターにて増幅バンドの有無及びその長さの確認するこ

とで種の判別を行った。

カモシカ及びシカ以外の種と推測された試料については、哺乳類の mtDNA チトクロム *b* 遺伝子の一部を対象としたユニバーサルプライマーセットである L14724 及び H15149 (Irwin *et al.* 1991) を用いて TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ) による PCR を行い、ジデオキシ法によりその塩基配列を決定した。得られた塩基配列から、INSD (国際塩基配列データベース) 登録データとの BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) による相同性検索 (Altschul *et al.* 1990) により種を同定した。

2) カモシカ及びシカ糞、体毛試料の DNA 判定結果

カモシカ及びシカ糞の DNA 解析による種判定の結果を表 II - 3_1 にまとめた。この表の末尾には、カメラ回収時に発見された糞塊の判定結果も含んでいる。DNA 解析を行った糞塊は宮崎・大分・熊本の 3 県分を合わせて 389、体毛試料は 23 であった。カモシカと判定された糞塊は 129、シカと判定された糞塊が 248、不明が 12 であった。体毛は、カモシカと判定されたものが 3、シカが 17、イノシシが 3 であった。なお、糞からの簡易 DNA 抽出による LAMP 法および PCR 法における種判別について、それぞれの解析成功率に大きな違いはなかったが、PCR 法の方が状態の悪い糞粒においても解析に成功できる傾向があった。糞試料について、種を同定できなかった 11 試料のうち、2 試料はカモシカ / シカではないと推測されるものであった。残りの 10 試料のうち 9 試料はいわゆるボロ糞であり、ほとんどが粒の形状も大きく崩れた状態のものであった。概ね、糞粒の形状が維持されている状態であれば同定可能であった。

1 糞塊の糞粒数が計数された糞塊のみを用い (227 糞塊: カモシカ 96、シカ 131)、種と糞粒数との関係を箱ひげ図 (図 II - 3_1) 及び頻度分布図 (20 粒毎) (図 II - 3_2、図 II - 3_3) で示した。カモシカと判定されたものの最少は 20 粒で、次いで 30 粒、44 粒、70 粒、82 粒、100 粒と続いた。最大粒数は 2135 粒、平均±標準偏差が 448.4 ± 355.9 粒、中央値が 389.5 粒であった。一方でシカは最少粒数が 11 粒、最大が 436 粒、200 粒を超える糞塊は合わせて 8 糞塊が記録された。平均±標準偏差が 101.2 ± 62.2 粒、中央値が 90 粒であった。調査されたカモシカ糞塊とシカ糞塊において、シカの最大粒数である 436 粒以下において、両種の 1 糞塊中粒数は重複していた。カモシカと判定された糞塊において、粒数が 20 粒、30 粒と少なかったものは、いずれもボロ糞と記録されており、分解や流出の進んだ糞塊であったことを示唆している。また 70 粒であった糞塊は粒径が小さく、仔カモシカの糞であった可能性がある。頻度分布図においてカモシカは 180 ~ 200 粒及び 380 ~ 400 粒でピークを示すものの、180 ~ 520 粒までの幅広いレンジで頻度が高くなっており、標準偏差も ± 355.9 粒と大きく、粒数のばらつきが大きかった。これはため糞の頻度 / 個体数と糞塊の分解・流出の影響を受けた結果と考えられる。また本調査において、一般的にカモシカの最少糞粒数とされてきた 200 粒を超える糞粒数の多いシカ糞塊も複数検出された。シカの最大糞粒数である 436 粒、続く 300 粒は例外的であるとはいえ、250 粒未満の糞塊 (カモシカ・シカの両方を含む) においてカモシカと判定された糞塊 (28 糞塊) の割合は 18.1% (28/155 糞塊)、カモシカと判定された糞塊中における割合は 29.2% (28/96 糞塊) とその割合は大きかった。結果として例外的なシカ糞塊を除き、250 粒未満の糞塊は糞粒数のみでは種の判別は困難であり、DNA 診断は有効な手段であった。

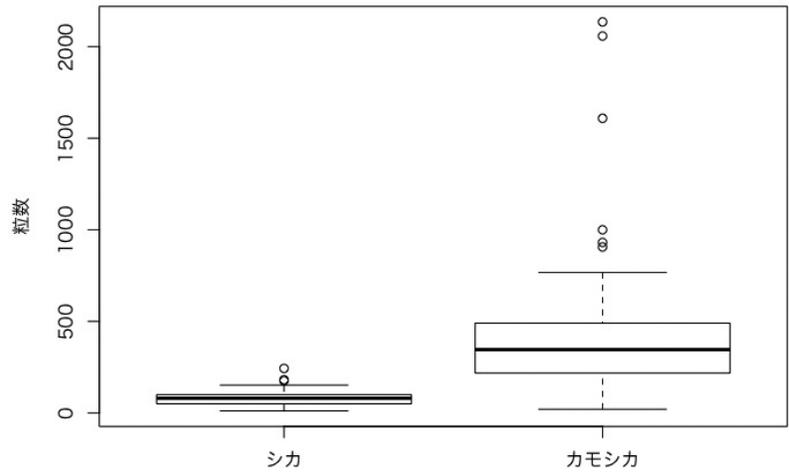


図 II-3_1 シカ糞とカモシカ糞の1糞塊当たり粒数の箱ひげ図（糞の判定は DNA による）

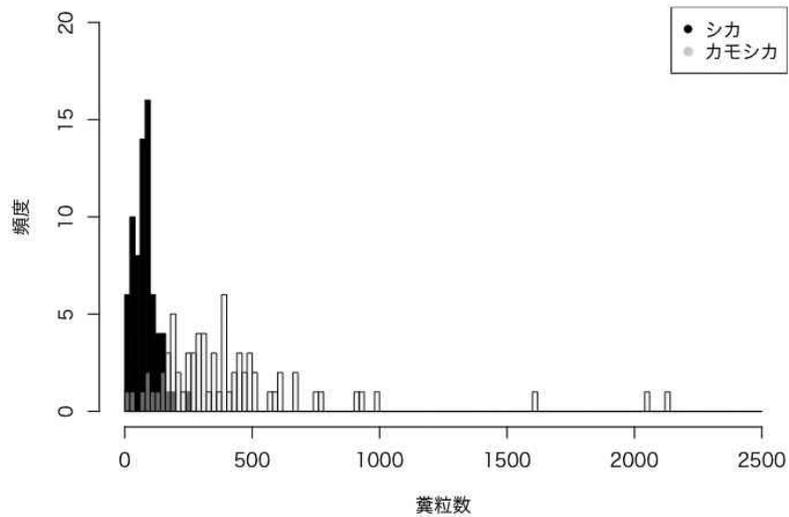


図 II-3_2 カモシカとシカの1糞塊の粒数頻度分布（糞の判定は DNA による）
灰色の棒は両種の糞の重なりを示す

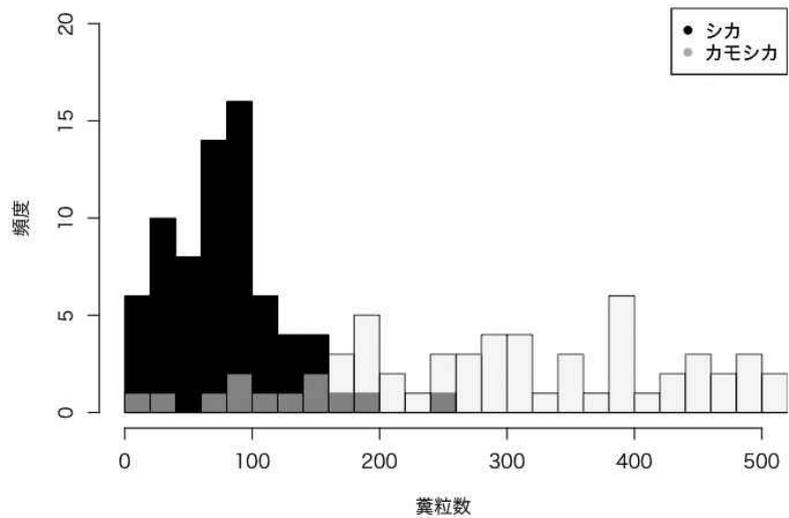


図 II-3_3 カモシカとシカの1糞塊の粒数頻度分布（500 粒まで表示；糞の判定は DNA による）
灰色の棒は両種の糞の重なりを示す

表Ⅱ-3_1 DNA解析試料リストおよびDNA判別結果

大分県

研究室 No.	県 No.	DNA 判別結果	採集時予想	採集日	糞粒数	調査地点	方法
18SS017		カモシカ		2019.01.05		竹田市神原	LAMP/PCR
190F001	180216 番外-1	カモシカ	カモシカ?	2018.02.16	510	三重町桑河内	LAMP/PCR
190F002	180216 番外-2	カモシカ	カモシカ?	2018.02.16		三重町桑河内	LAMP/PCR
190F003	180216Q-1	カモシカ	カモシカ?	2018.02.16	約 800	三重町桑河内	LAMP/PCR
190F004	180216Q-2	カモシカ	カモシカ?	2018.02.16	約 600	三重町桑河内	LAMP/PCR
190F005	180216Q-4	カモシカ	カモシカ?	2018.02.16	約 400	三重町桑河内	LAMP/PCR
190F006	180928-1	シカ	シカ?	2018.09.28	約 200	三重町城山	LAMP/PCR
190F007	190125KAR-1	シカ	シカ?	2019.01.25	約 150	緒方町鳥嶽	LAMP/PCR
190F008	160223Y-1	カモシカ	カモシカ?	2016.02.23		三重町袖河内	LAMP × /PCR
190F009	160223Y-1	カモシカ	カモシカ?	2016.02.23		三重町袖河内	LAMP/PCR
190F010	181208INZ-4	カモシカ	カモシカ?	2018.12.08	236	三重町福積	LAMP/PCR
190F011	181208INZ07	カモシカ	カモシカ?	2018.12.08	300	三重町福積	LAMP/PCR
190F012	181208INZ-9a	カモシカ	カモシカ?	2018.12.08	400	三重町福積	LAMP × /PCR
190F013	181208INZ 一番外	カモシカ	シカ?	2018.12.08	200	三重町福積	LAMP/PCR
190F015	20190511 FUJ-B-1a	シカ	シカ?	2019.05.11	67	佐伯市藤河内	single PCR
190F016	20190511 FUJ-B-1b	シカ	シカ?	2019.05.11	138	佐伯市藤河内	LAMP/PCR
190F017	20190511 FUJ-B-2a	シカ	シカ?	2019.05.11	179	佐伯市藤河内	LAMP/PCR ×
190F018	20190511 FUJ-B-2b	シカ	シカ?	2019.05.11	50	佐伯市藤河内	LAMP/PCR
190F019	20190512 HIC-1	カモシカ	カモシカ?	2019.05.12	194	佐伯市七年山	LAMP/PCR ×
190F020	20190524 INZ-0524-1	カモシカ	カモシカ	2019.05.24	456	豊後大野市福積	LAMP × /PCR
190F021	20190525 ONT-1a	カモシカ	カモシカ	2019.05.25	1009	豊後大野市御獄	LAMP/PCR
190F022	20190525 ONT-1b	シカ	シカ?	2019.05.25	107	豊後大野市御獄	LAMP/PCR
190F023	2019.03.23 FUR-1a	カモシカ	カモシカ	2019.03.23	420	竹田市振顔野	LAMP × /PCR
190F024	2019.03.23 FUR-1b	カモシカ	カモシカ	2019.03.23	約 400	竹田市振顔野	LAMP/PCR
190F025	2019.03.23 FUR-2a	カモシカ	カモシカ	2019.03.23	747	竹田市振顔野	LAMP/PCR
190F026	2019.03.23 FUR-2b	カモシカ	カモシカ	2019.03.23	444	竹田市振顔野	LAMP × /PCR
190F027	2019.03.23 FUR-3	シカ	シカ?	2019.03.23	106	竹田市振顔野	LAMP × /PCR
190F028	2019.03.24 YUR-1	カモシカ	カモシカ?	2019.03.24	558	竹田市綴木	LAMP × /PCR
190F029	2019.03.24 YUR-2	シカ	カモシカ?	2019.03.24	436	竹田市綴木	LAMP × /PCR
190F030	2019.03.24 YUR-3	シカ	カモシカ?	2019.03.24	約 300	竹田市綴木	LAMP × /PCR
190F031	2019.03.24 YUR-4	シカ	シカ?	2019.03.24	約 250	竹田市綴木	LAMP × /PCR
190F032	2019.03.24 YUR-5	シカ	シカ?	2019.03.24	165	竹田市綴木	LAMP/PCR
190F033	2019.03.24 YUR-6	シカ	シカ?	2019.03.24	230	竹田市綴木	LAMP/PCR
190F034	2019.03.24 YUR-7	シカ	シカ?	2019.03.24	174	竹田市綴木	LAMP/PCR
-	祖母山	シカ	高野採取			祖母山	LAMP/PCR
190F035	20190215HIG-1	シカ	シカ	2019.02.15	151	緒方町山手本谷	LAMP × /PCR
190F036	20190215HIG-2	シカ	シカ	2019.02.15	181	緒方町山手本谷	LAMP × /PCR
190F037	20190215HIG-5	シカ	シカ	2019.02.15	112	緒方町山手本谷	LAMP × /PCR
190F038	20190215HIG-6	シカ	シカ	2019.02.15	112	緒方町山手本谷	LAMP × /PCR
190F039	20190215HIG-7	シカ	シカ	2019.02.15	83	緒方町山手本谷	LAMP/PCR
190F040	20190215HIG-8	シカ	シカ	2019.02.15		緒方町山手本谷	LAMP/PCR
190F041	20190216MO-1	カモシカ	カモシカ	2019.02.16	514	緒方町ドウカイ谷	LAMP/PCR
190F042	20190216MO-X	シカ	カモシカ?	2019.02.16	約 60	緒方町ドウカイ谷	LAMP/PCR
190F043	20190223-1	シカ	カモシカ	2019.02.23		緒方町小河内林道	LAMP/PCR
190F044	20190223-2	シカ	カモシカ	2019.02.23		緒方町小河内林道	LAMP × /PCR
190F045	20190224DAD-1	シカ	シカ	2019.02.24	105	緒方町駄床林道	LAMP/PCR
190F046	INZ-0919-1a	カモシカ	カモシカ				PCR
190F047	INZ-0919-1b	カモシカ	カモシカ				PCR
190F048	INZ-B1a	カモシカ	カモシカ	2019.12.21			PCR
190F049	INZ-B1b	カモシカ	カモシカ	2019.12.21			PCR

熊本県

研究室番号	糞番号	コードラート名	調査地	DNA 判別結果	採集日	糞粒数	採集状況	方法
19KF001	No. 1	SE-A	清栄山	シカ	2019.01.23	142	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF002	No. 2	SE-A	清栄山	シカ	2019.01.23	83	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF003	No. 3	SE-A	清栄山	シカ	2019.01.23	86	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF004	No. 4	SE-A	清栄山	シカ	2019.01.23	148	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF005	No. 5	SE-A	清栄山	シカ	2019.01.23	257	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF006	No. 6	SE-A	清栄山	シカ	2019.01.23	259	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF007	No. 7	SE-A	清栄山	シカ	2019.01.23	84	高森地区調査時	LAMP × /PCR
19KF008	No. 8	SE-A	清栄山	シカ	2019.01.23	78	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF009	No. 9	SE-B	清栄山	シカ	2019.01.23	138	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF010	No. 10	SE-B	清栄山	シカ	2019.01.23	161	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF011	No. 11	SK-A	下切	シカ	2019.01.24	153	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF012	No. 12	SK-A	下切	シカ	2019.01.24	142	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF013	No. 13	SK-B	下切	カモシカ	2019.01.24	408	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF014	No. 14	SK-B	下切	カモシカ	2019.01.24	763	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF015	No. 15	SK-C	下切	カモシカ	2019.01.24	1233	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF016	No. 16	SK-D	下切	シカ	2019.01.25	171	高森地区調査時	LAMP × /PCR
19KF017	No. 17	SK-D	下切	カモシカ	2019.01.25	781	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF018	No. 18	SK-D	下切	カモシカ	2019.01.25	472	高森地区調査時	LAMP/PCR
19KF019	No. 19		下切 SK-D コドラート外	カモシカ	2019.12.20	250 以上	現地踏査	LAMP/PCR
19KF020	No. 20		下切 SK-D コドラート外	シカ	2019.01.09	不明	目撃情報	LAMP/PCR
19KF021	No. 21		下切 SK-D コドラート外	シカ	2019.01.27	75	取材時に採集	LAMP/PCR
19KF022	No. 22	HR-A	洞ヶ岳	シカ	2019.01.29	75	内大臣調査時	LAMP/PCR
19KF023	No. 23	HR-A	洞ヶ岳	シカ	2019.01.29	107	内大臣調査時	LAMP × /PCR
19KF024	No. 24	HR-A	洞ヶ岳	シカ	2019.01.29	65	内大臣調査時	LAMP/PCR
19KF025	No. 25	CH-A	中腹	シカ	2019.01.29	103	内大臣調査時	LAMP/PCR
19KF026	No. 26	KM-A	小松神社	シカ	2019.01.31	86	内大臣調査時	LAMP/PCR
19KF027	No. 27	KM-A	小松神社	シカ	2019.01.31	114	内大臣調査時	LAMP/PCR
19KF028	No. 28	KM-A	小松神社	シカ	2019.01.31	107	内大臣調査時	LAMP/PCR
19KF029	KZ-A ①	KZ-A	コウザキ谷	シカ	2019.08.25	80	糞塊調査時	PCR

19KF031	IS-B ①	IS-B	石ニタ谷	シカ		2019.09.01	53	糞塊調査時	PCR
19KF032	SP-A ①	SP-A	小金峰	カモシカ		2019.09.24	325	糞塊調査時	PCR
19KF033	HT-A ①	HT-A	本谷	シカ		2019.10.28	27	センサーカメラ回収時	PCR
19KF034	HT-A ②	HT-A	本谷	シカ		2019.10.28	45	センサーカメラ回収時	PCR
19KF035	KM- ①	KM-A	小松神社	シカ		2019.10.28	116	センサーカメラ回収時	PCR
19KF036	KM- ②	KM-A	小松神社	シカ		2019.10.28	85	センサーカメラ回収時	PCR
19KF037	KM- ③	KM-A	小松神社	シカ		2019.10.28	88	センサーカメラ回収時	PCR
19KF038	KM- ④	KM-A	小松神社	シカ		2019.10.28	96	センサーカメラ回収時	PCR
19KF039	KM- ⑤	KM-A	小松神社	シカ		2019.10.28	66	センサーカメラ回収時	PCR
19KF040	KM- ⑥	KM-A	小松神社	シカ		2019.10.28	102	センサーカメラ回収時	PCR
19KF041	OB-A1 ①	OB-A	大久保谷	シカ		2019.11.04	93	センサーカメラ回収時	PCR
19KF042	OB-A1 ②	OB-A	大久保谷	シカ		2019.11.04	130	センサーカメラ回収時	PCR
19KF043	OB-A2 ①	OB-B	大久保谷	シカ		2019.11.04	87	センサーカメラ回収時	PCR
19KF044	IS 外①		石ニタ谷コドラート外	シカ		2019.11.12	119	熊本県シカ糞調査時	PCR
19KF045	IM ①		槻木市ノ俣山	シカ		2019.11.12	162	熊本県シカ糞調査時	PCR
19KF046	AD 外①		中継塔コドラート外	シカ		2019.11.13	28	センサーカメラ回収時	PCR
19KF047	AD 外②		中継塔コドラート外	シカ		2019.11.13	30	センサーカメラ回収時	PCR
19KF030	GY-B ①	GY-B	五勇谷	シカ		2019.08.26	119	糞塊調査時	PCR
19KF048	SU2 ①		内大臣鴨猪谷	不明		2019.11.07	不明	熊本県シカ糞調査時	PCR ×
19KF049	KZ 外①		コウザキ谷コドラート外	シカ		2019.11.25	不明	センサーカメラ回収時	PCR
19KF050	KZ 外②		コウザキ谷コドラート外	シカ		2019.11.25	不明	センサーカメラ回収時	PCR

宮崎県

研究室試料 No.	野外試料 No.	調査地	DNA 判別結果	試料内容	採取日	糞粒数	糞古さ	解析方法 *
18SS001	IK1801-01	猪子谷	シカ	糞	2018.09.22	82		PCR
18SS002	KJ1801	川中神社	-	糞	2018.09.22			sequence
18SS003	SM1801	曾見	シカ	糞	2018.09.23			PCR
18SS004	SM1801	曾見	シカ	糞	2018.09.23			PCR
18SS005	SM1802	曾見	シカ	糞	2018.09.23			PCR
18SS006	TK1801-02	多古羅	カモシカ	糞	2018.09.24	576	中	PCR
18SS007	TK1801-01	多古羅	カモシカ	糞	2018.09.24	517	中	PCR
18SS008	KJ1801	川中神社	シカ	体毛	2018.09.22			PCR
18SS009	IK1801	猪子谷	シカ	体毛	2018.09.22			PCR
18SS010	-	曾見	シカ	体毛	2018.09.23			PCR
18SS011	TB18-01	田代ヶ八重	シカ	体毛	2018.09.23			PCR
18SS012	YH1804	矢筈岳	シカ	糞	2018.10.08	22		PCR
18SS013	YH1804	矢筈岳	シカ	糞	2018.10.08			PCR
18SS014	YH1804-01	矢筈岳	シカ	糞	2018.10.08	135		PCR
18SS015	YH1802	矢筈岳	シカ	糞	2018.10.08	120		PCR
18SS016	FK1801	深年	イノシシ	毛	2018.10.08			sequence
18SS017	FK18	深年	未解析	食痕	2018.10.08			
18SS018	FK18	深年	未解析	食痕	2018.10.08			
18SS019	GO1801-01	祇園滝	カモシカ	糞 (乾燥)	2018.10.20	481	新	PCR
18SS020	YO1801-01	弓木	カモシカ	糞 (乾燥)	2018.10.20	475	新	PCR
18SS021	YB1801	矢櫃	シカ	糞	2018.10.20	70		PCR
18SS022	GG1801-01	権現尾	カモシカ	糞	2018.10.21	449	古	PCR
18SS023	GG1801-02	権現尾	カモシカ	糞	2018.10.21	767	古	PCR
18SS024	GG1801-03	権現尾	カモシカ	糞	2018.10.21	391	新	PCR
18SS025	GG1801-04	権現尾	カモシカ	糞	2018.10.21	662	新	PCR
18SS026	GG1801-05	権現尾	カモシカ	糞 (ホロ)	2018.10.21	-	ホロ	PCR
18SS027	GG1801-06	権現尾	カモシカ	糞	2018.10.21	180	中	PCR
18SS029	GG1801-07	権現尾	カモシカ	糞 (乾燥)	2018.10.21	198	中	PCR
18SS030	GG1801-09	権現尾	カモシカ	糞	2018.10.21	120	ホロ	PCR
18SS031	GG1801-10	権現尾	カモシカ	糞	2018.10.21	200	古	PCR
18SS032	GG1801	権現尾	カモシカ	体毛	2018.10.21			PCR
18SS033	OS1801	尾鈴	シカ	糞	2018.10.21	97		PCR
18SS034	-	椎葉村白岩谷	シカ	糞				PCR
18SS035	-	椎葉村園見岳	シカ	糞			古	PCR
18SS036	KA1801	寒川	シカ	糞	2018.11.03			PCR
18SS037	KA1802	寒川	シカ	糞	2018.11.03	105		PCR
18SS038	JZ1803	地藏岳 (尾八重)	シカ	糞	2018.11.04	-	小粒	PCR
18SS039	JZ1804	地藏岳 (尾八重)	シカ	糞	2018.11.04		小粒	PCR
18SS040	JZ1804-01	地藏岳 (尾八重)	シカ	糞	2018.11.04	70		PCR
18SS041	JZ1805	地藏岳 (尾八重)	シカ	糞	2018.11.04	60		PCR
18SS042	JZ1805-01	地藏岳 (尾八重)	シカ	糞	2018.11.04	30		PCR
18SS043	JZ1805	地藏岳 (尾八重)	シカ	糞	2018.11.04			PCR
18SS044	KA1804	地藏岳 (尾八重)	シカ	体毛	2018.11.04			sequence
18SS045	EB1801-01	烏帽子岳	シカ	糞	2018.11.12	100		PCR
18SS046	NJ1803-?	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.12		中	PCR
18SS047	NJ1803-01	虹の滝	シカ	糞	2018.11.12	152		PCR
18SS048	NJ1803-02	虹の滝	シカ	糞	2018.11.12			PCR
18SS049	NJ1803-03	虹の滝	シカ	糞	2018.11.12	100		PCR
18SS050	NJ1803-04	虹の滝	シカ	糞	2018.11.12	61		PCR
18SS051	NJ1803-05	虹の滝	シカ	糞	2018.11.12			PCR
18SS052	NJ1803-06a	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.12	428	中	PCR
18SS053	NJ1803-06b	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.12	281	中	PCR
18SS054	NJ1803-07a	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.12	619	中	PCR
18SS055	NJ1803-07b	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.12		古?	PCR
18SS056	SU1801-01a	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	144		PCR
18SS057	SU1801-01b	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13			PCR
18SS058	SU1802-01	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	64		PCR
18SS059	SU1802-02a	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	-		PCR
18SS060	SU1802-02b	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	-		PCR
18SS061	SU1802-03	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	243		PCR
18SS062	SU1802-03 近く	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	50		PCR
18SS063	SU1802-04	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	90		PCR
18SS064	SU1802-05	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	132		PCR

18SS065	SU1802-06	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	78			PCR
18SS066	SU1803	銀鏡	シカ	糞	2018.11.13	144			PCR
18SS067	RB1802-01	龍房山	カモシカ	糞	2018.11.14	509	新		PCR
18SS068	RB1802-02a	龍房山	カモシカ	糞	2018.11.14	906	中		PCR
18SS069	RB1802-02b	龍房山	カモシカ	糞	2018.11.14	148	中		PCR
18SS070	RB1802-03	龍房山	カモシカ	糞	2018.11.14	316	古		PCR
18SS071	TM1802	竹之元	シカ	糞	2018.11.23	-			PCR
18SS072	TM1803	竹之元	シカ	糞	2018.11.23	60			PCR
18SS073	TM1803-01	竹之元	カモシカ	糞	2018.11.23	317	中		PCR
18SS074	TM1803-02	竹之元	カモシカ	糞	2018.11.23	425	古		PCR
18SS102	TM1803-03	竹之元	カモシカ	糞	2018.11.23	365	古?		PCR
18SS075	TM1803-04	竹之元	カモシカ	糞	2018.11.23	342			PCR
18SS076	TM1803-05	竹之元	カモシカ	糞	2018.11.23	323	古		PCR
18SS077	TM1804-02	竹之元	シカ	糞	2018.11.23	-			PCR
18SS078	TM1804-01	竹之元	シカ	糞	2018.11.23	75			PCR
18SS079	TM1804-03	竹之元	シカ	糞	2018.11.23	-			PCR
18SS080	SJ1802	狭上神社 (狭上谷)	シカ	糞	2018.11.24	50			PCR
18SS081	SJ1802	狭上神社 (狭上谷)	シカ	糞	2018.11.24	115			PCR
18SS082	SJ1802	狭上神社 (狭上谷)	シカ	糞	2018.11.24	-			PCR
18SS083	SJ1803-01	狭上神社 (狭上谷)	カモシカ	糞	2018.11.24	305	中		PCR
18SS084	SJ1803-02	狭上神社 (狭上谷)	シカ	糞	2018.11.24	90			PCR
18SS085	SJ1803-03	狭上神社 (狭上谷)	カモシカ	糞	2018.11.24	-	古?		PCR
18SS086	SJ1804-01	狭上神社 (狭上谷)	カモシカ	糞	2018.11.24	188	古?		PCR
18SS087	YN1804	横野	シカ	糞	2018.11.24	101			PCR
18SS088	YN1804	横野	シカ	糞	2018.11.24	-			PCR
18SS089	ID1802	井戸内峠	シカ	糞	2018.11.25	-			PCR
18SS090	ID1802-01	井戸内峠	カモシカ	糞	2018.11.25	247	古		PCR(separate)
18SS091	ID1803-01	井戸内峠	シカ	糞	2018.11.25	-			PCR
18SS092	KD1801-01	釜山谷	シカ	糞	2018.11.25	85			PCR
18SS093	NJ1802-?	虹の滝	シカ	糞	2018.11.25	35	新	ボロ	PCR
18SS094	NJ1802-01	虹の滝	シカ	糞	2018.11.25	-		ボロ	PCR
18SS095	NJ1802-02	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.25	1609	古		PCR
18SS096	NJ1802-03	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.25	741	中		PCR
18SS097	NJ1802-04	虹の滝	シカ	糞	2018.11.25	-		ボロ	PCR
18SS098	NJ1802-05	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.25	138	中		PCR
18SS099	NJ1802-06	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.25	398	中		PCR
18SS100	NJ1802-07	虹の滝	カモシカ	糞	2018.11.25	582	中		PCR
18SS101	NJ1802-08	虹の滝	シカ	糞	2018.11.25	181	新		PCR
18SS103	SI1801	下板谷	未解析	体毛					
18SS104	T01801-01	綾大吊橋 (照葉大橋)	シカ	糞	2018.12.07	78			PCR/LAMP
18SS105	T01801	綾大吊橋 (照葉大橋)	シカ	糞	2018.12.07	76			PCR/LAMP
18SS106	T01801	綾大吊橋 (照葉大橋)	シカ	糞	2018.12.07	40			PCR/LAMP
18SS107	T01802-01	綾大吊橋 (照葉大橋)	シカ	糞	2018.12.07	62			PCR/LAMP
18SS108	T01802	綾大吊橋 (照葉大橋)	シカ	糞	2018.12.07	-			PCR/LAMP
18SS109	T01802	綾大吊橋 (照葉大橋)	シカ	糞	2018.12.07	-			PCR/LAMP
18SS110	T01802	綾大吊橋 (照葉大橋)	シカ	糞	2018.12.07	82			PCR/LAMP
18SS111	T01802	綾大吊橋 (照葉大橋)	シカ	糞	2018.12.07	88			PCR/LAMP ×
18SS112	北浦林道	北浦林道	カモシカ	糞	2018.12.06	-			PCR/LAMP
18SS113	SO-7-01	北浦林道	シカ	糞	2018.12.07	-			PCR/LAMP
18SS114	20181207-01	北浦林道	カモシカ	糞	2018.12.07	>1000			PCR/LAMP
18SS115	南郷カシバ 20181129	南郷	カモシカ	糞	2018.11.29	500			PCR/LAMP
18SS116	KA1805-01	寒川	カモシカ	糞	2018.12.12	388	新		PCR/LAMP
18SS117	KA1805-02	寒川	カモシカ	糞	2018.12.12	441	古		PCR/LAMP
18SS118	KA1805- 区域外→区域内とした	寒川	カモシカ	糞	2018.12.12	約 350	中		PCR/LAMP
18SS119	KA1805	寒川	カモシカ	糞	2018.12.12	約 100	古?		PCR/LAMP
18SS120	KA1801	寒川	シカ	糞	2018.12.12	-			PCR/LAMP
18SS121	KA1801	寒川	シカ	糞	2018.12.12	約 100			PCR/LAMP
18SS122	YG1801-01	矢研の滝	未解析	体毛	2018.12.13	毛			
18SS123	YG1801-02	矢研の滝	シカ	糞	2018.12.13	-			PCR/LAMP
18SS124	YG1801-03	矢研の滝	シカ	糞	2018.12.13	145			PCR/LAMP ×
18SS125	YG1801-04	矢研の滝	シカ	糞	2018.12.13	-			PCR/LAMP
18SS126	G018		シカ	糞	2018.12.13	-			PCR/LAMP
18SS127	YG1801-01	矢研の滝	シカ	糞	20181223	-			PCR/LAMP
18SS128	北浦林道 (スギ林内)	北浦林道	シカ	糞	20190111	-			PCR/LAMP
18SS129	SU1801	銀鏡カメラ回収時	カモシカ	糞	20190113	約 300			PCR/LAMP
18SS130	RB1802	龍房山カメラ回収時	カモシカ	糞	20190113	-			PCR/LAMP
18SS131	G01801	祇園滝カメラ回収時	シカ	糞	20190114	109			PCR/LAMP
18SS132	G01801	祇園滝カメラ回収時	カモシカ	糞	20190114	>150			PCR/LAMP
18SS133	G01801	祇園滝カメラ回収時	カモシカ	糞	20190114	>250			PCR/LAMP
18SS134	G01801	祇園滝カメラ回収時	カモシカ	糞	20190114	約 200			PCR/LAMP
18SS135	G01801	祇園滝カメラ回収時	カモシカ	糞	20190114	約 250			PCR/LAMP
18SS136	竹之元	竹之元カメラ回収時	カモシカ	糞	20181223	-			PCR/LAMP
18SS138	GG18-01	権現尾カメラ回収時	カモシカ	糞	20190118	>300			PCR/LAMP
18SS139	GG18-01	権現尾カメラ回収時	カモシカ	糞	20190118	82			PCR/LAMP
18SS140	GG18-01	権現尾カメラ回収時	シカ	糞	20190118	36			PCR/LAMP
18SS141	NJ18-A	虹の滝カメラ回収時	カモシカ	糞	20190202	-			PCR/LAMP
18SS142	NJ18-B	虹の滝カメラ回収時	カモシカ	糞	20190202	-			PCR/LAMP

*再解析の結果も含む。×：失敗

2 シカの分布及び生息密度

九州地区では、従来カモシカ密度推定に糞塊法 (p. 7) が使用されてきた。この方法を改良して岩本ほか (2000) はシカの密度推定のための FUNRYU プログラムを作成した。その後、その地に生息している糞虫の種類により計算法を改良した FUNRYU Pa (池田・岩本 2004) が九州各地で使われるようになっていたので、以下の分析にはその改良法による計算結果を用いることにした。

今回の報告では、第4回特別調査で示した図表とほぼ同じものを作成し、2012年度の報告と、今回の報告での変化について比較できるよう心掛けた。

1) シカ分布及び生息密度調査結果の収集

本特別調査を担当している各県の文化財担当者から、シカの分布及び生息密度調査を継続的に行っている県の林務あるいは自然環境部署に、調査結果の提供を依頼した。熊本県は2014年度に県下全域212地点で、大分県は2015年度に90地点で、また宮崎県は2018年度に196地点で調査を行っている。今回の分析は第4回特別調査報告書作成以降の時期について行うので、これらの資料を主として使うことにした。なお、鈴木 (森林総合研究所九州支所) が別途、県の担当部署等から収集したシカ調査資料 (1996～2006年度、及び2015年度) も必要に応じて使用することにした。なお、以下の分布図作成用の計算は鈴木が担当した。

2) シカ密度分布図作成の方法

調査地点数は計1627地点 (図II-3_4) で、各県の糞粒調査地点数は表II-3_2に示す。糞粒プログラム (FUNRYU Pa: 池田・岩本 2004) を用いて、糞粒数を基に各地点の1km²あたりのシカ生息密度を算出した。ただし、いくつかの調査地点ではシカ生息密度が数百頭、最大で837頭と算出された。日本国内では、シカ高密度地域である金華山 (伊藤 1986) や洞爺湖の中之島 (Kaji *et al.* 1988) の生息密度が約60頭である。したがって、本調査のこれらの調査地点では、地形などにより糞が蓄積されやすい環境など、何らかの理由によって生息密度が過大評価されている可能性がある。そこで、算出された生息密度が60頭を超えた調査地点の生息密度を60頭として扱うことにした。また、2002年の熊本県のデータでは、緯度経度ではなく5kmメッシュ番号が記されていたため、各メッシュの南西の交点を緯度経度として扱った。

シカ生息密度分布の推定および密度分布マップの作成のために、算出された生息密度を基に一般化加法モデル (GAM) を構築した (Grüss *et al.* 2014)。ただし、生息密度が0と算出された調査地点が全体の約21%と過剰であった。そこで、0が多いデータセットに適している Tweedie 分布を仮定したモデルを作成した (Candy 2004; Shono 2008)。モデルでは、算出された生息密度を目的変数として扱った。テンソル積に変換された緯度経度と調査が行われた年度およびそれらの交互作用を説明変数とした。つまり、一般化加法モデルの式は

$$y = a + te(\text{緯度}, \text{経度}, k = 45) + s(\text{調査年度}, k = 5) + ti(\text{緯度}, \text{経度}, by = \text{調査年度}, k = 70)$$

となり、 y は糞粒法を基に算出されたシカ生息密度、 s は平滑化項、 te はテンソル積の平滑化項、 ti はテンソル積を含む交互作用の平滑化項、 k は knot 数、 a は切片を示す。

各説明変数の影響の強さをF検定によって評価した。また、シカ生息密度マップを作成するために、作成したモデルによって全期間を通じて調査が行われた地点を中心とした周囲100km² (東西南北を面とした10km×10kmの正方形) の生息密度を推定した。ただし、推定範囲は森林に限定した。

表Ⅱ-3_2 各県における各年の糞粒調査地点数

	調査年	調査地点数
熊本県	2002	94
	2006	110
	2014	212
大分県	1996	71
	2002	80
	2006	133
	2015	90
宮崎県	1996	197
	2002	126
	2006	139
	2015	179
	2017	196

3) シカ分布図の作成結果

調査地点の分布を図Ⅱ-3_4に示す。これらの分布地点でのシカ生息密度から、一般化加法モデルにより図Ⅱ-3_5（1996～2017年度）と、図Ⅱ-3_6（直近の2013～2017年度）のシカ密度分布図を作成した。

図Ⅱ-3_5から、シカ生息密度は調査開始当時と比べて三県とも増加傾向にあることが分かる。しかし、一般化加法モデルの結果（ $r^2 = 0.221$, deviance explained = 19.39%）は、シカ生息密度は緯度経度と調査年の交互作用の影響を強く受けることを示している（表Ⅱ-3_3）。すなわち、シカ生息密度の増減の傾向は地域によって異なると考えられる。

大分県では、英彦山および国東半島で生息密度が倍増し、高密度地域が拡大した。また東部でも増加傾向がみられた。大分県と宮崎県、熊本県の県境では低密度で維持されている。

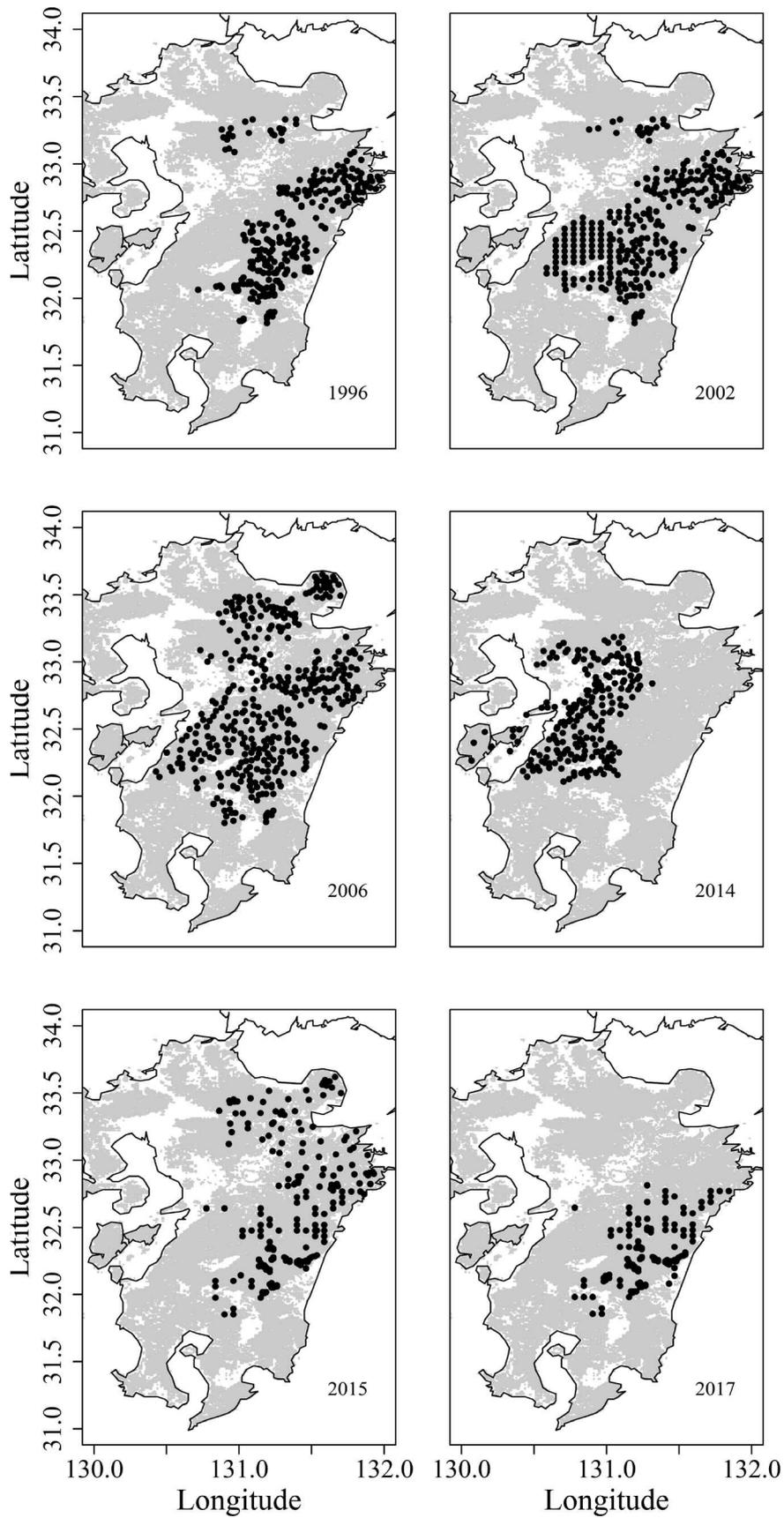
熊本県では、葦北郡で急激な増加がみられた。宮崎県では、熊本県との県境や鹿児島県との県境など三か所で増加傾向があった。

2013から2017年の直近の5ヶ年でみると、全体的に微増しているようにみえる（図Ⅱ-3_6）。

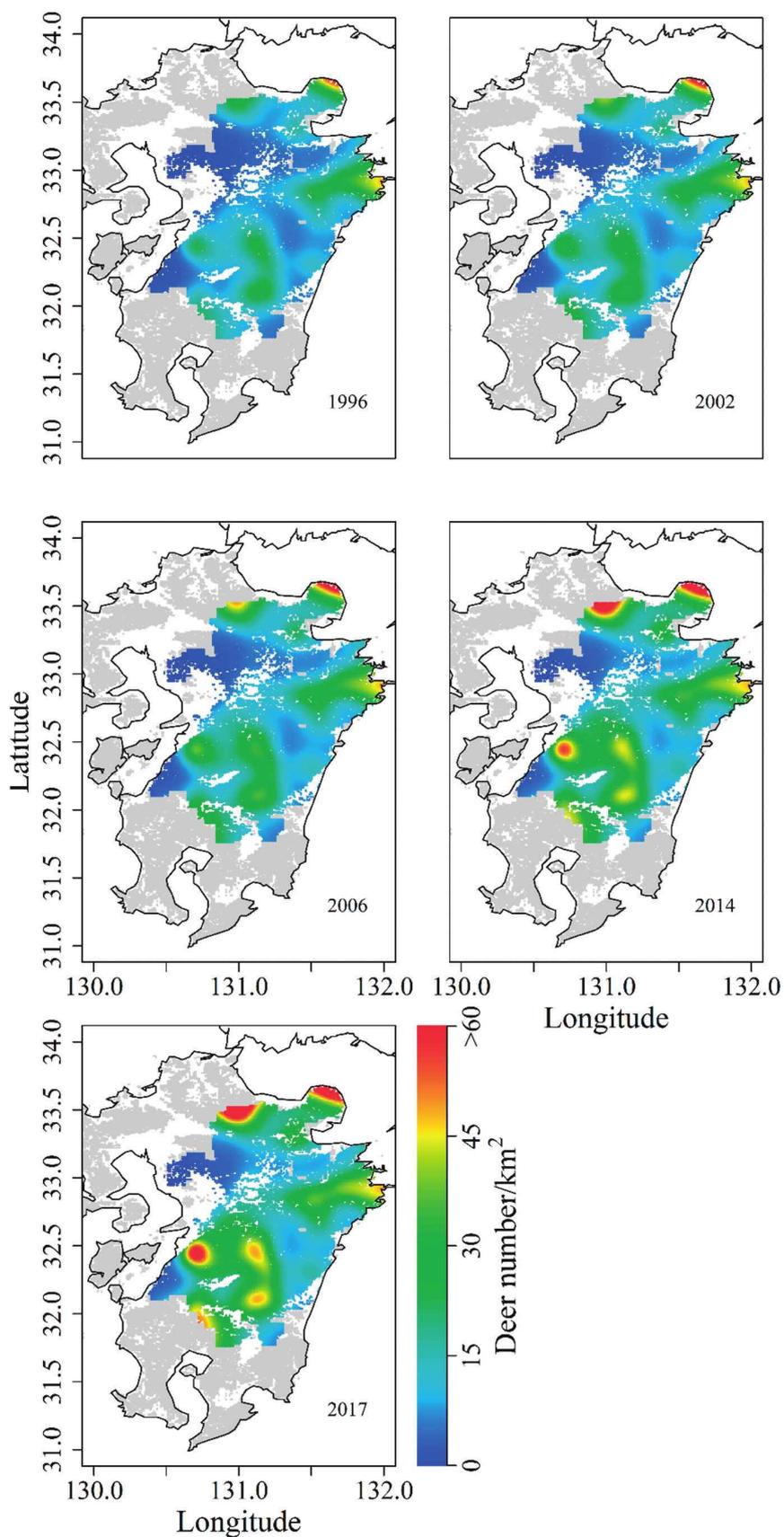
大分県の英彦山と国東半島では飽和状態から大きな変化はないようにみえる。熊本県では、葦北郡で増加・拡大傾向にみえる。宮崎県では熊本県、鹿児島県の県境で増加傾向にみえる。特に、この図Ⅱ-3_6においてカモシカの分布域と重なる地域を見てみると、椎葉（宮崎県）-内大臣（熊本県）に広がる国見岳コアエリアと、カモシカ分布域の南限にあたる大森岳コアエリアでのシカ密度が比較的高い。祖母・傾コアエリア、大崩山コアエリアでの生息密度は赤色となるほどの高密度地域が見られない。これは、第4回特別調査報告書の図Ⅱ-52で示したⅡ期、Ⅲ期を通じての減少傾向が、そのまま続いてきた結果であると思われる。空野山ブリッジエリア、市房山コアエリア、尾鈴山コアエリアの密度も比較的高い。

表Ⅱ-3_3 一般化加法モデルの結果の要約

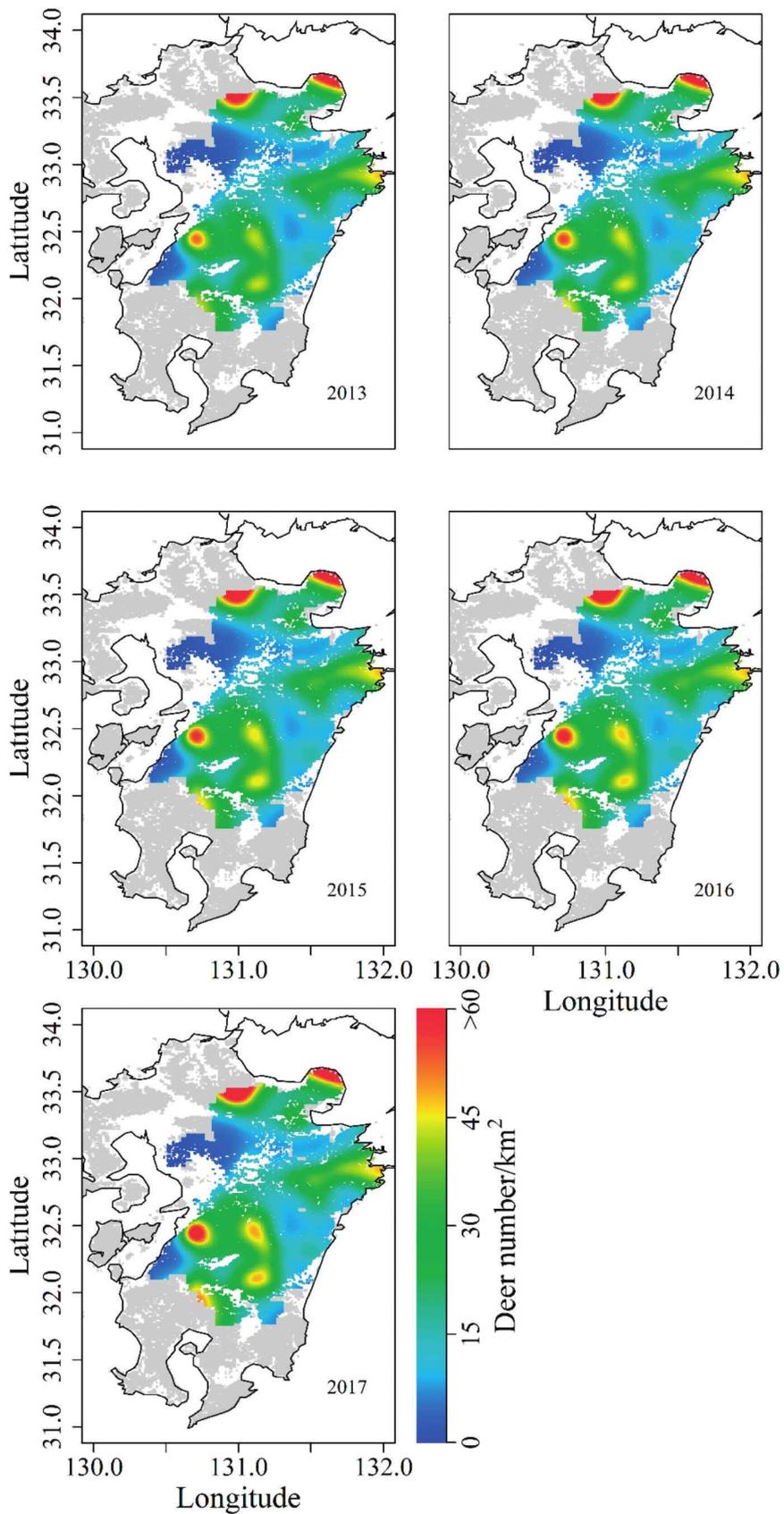
	<i>edf</i>	<i>F</i>	<i>P</i> value
<i>s</i> (調査年)	1.00	1.00	0.413
<i>te</i> (緯度, 経度)	6.90	7.38	<0.001
<i>ti</i> (緯度, 経度, by = 調査年)	48.92	1.926	<0.001



図Ⅱ-3_4 各年の糞粒法調査地点。Longitudeは経度（十進）、Latitudeは緯度（十進）を示す。



図Ⅱ-3_5 糞粒調査が行われた年におけるニホンジカの推定生息密度分布の変化。2015年にも調査が行われたが、2014年と近いいため省略した。

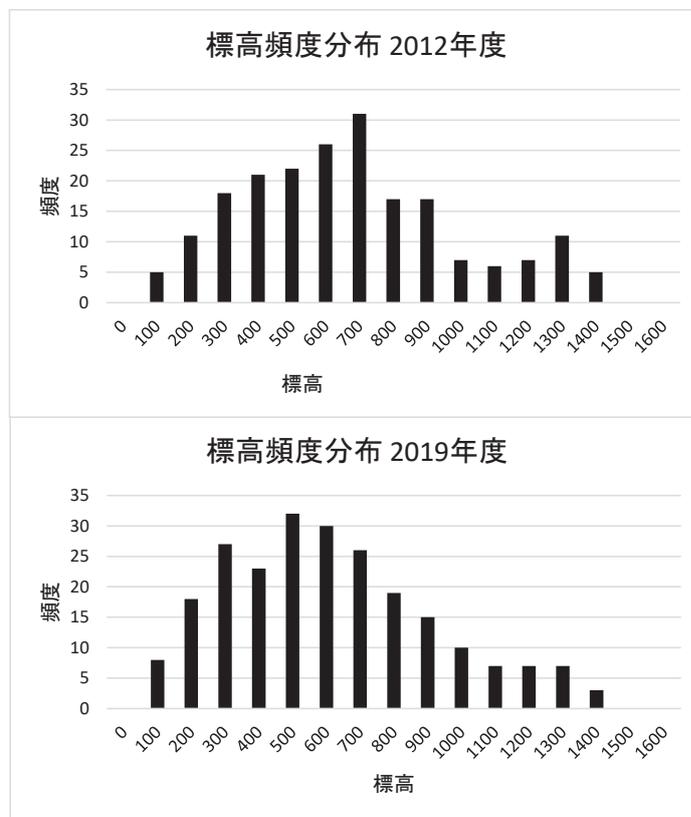


図Ⅱ-3_6 直近5ヶ年におけるニホンジカの推定生息密度分布の変化

3 カモシカの分布及び生息密度

1) カモシカ特別調査における調査方形区の標高と密度推定結果の推移

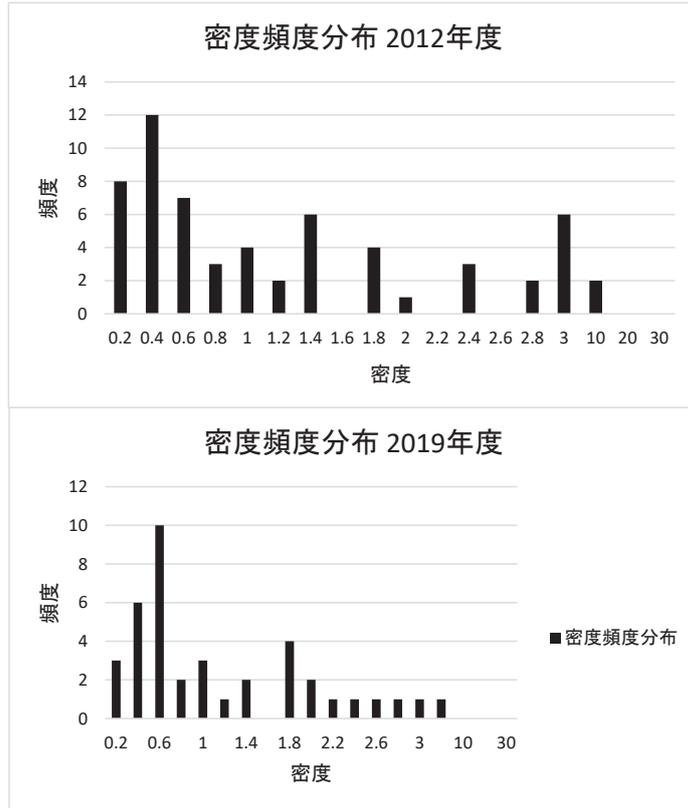
カモシカ特別調査では、1975～1984年ごろに行われていた調査地域をベースに、最近の通常調査や滅失届により新たに生息情報が加わった地域に方形区を設置してきた。そのため、調査方形区の設置位置は、その調査時期でのカモシカ生息範囲をおよそ反映していることになる。その観点から、第4回調査(2012年度報告書)と今回(2019年度報告)の調査方形区について、標高の頻度分布を図Ⅱ-3_7に示した。両方のグラフの差の顕著な違いは、標高頻度のピークが2012年度の700mから、2019年度には500mとかなり下方に移動していることである。もう一つの顕著な変化は1300m付近にあった高標高の方形区のピークがほとんど消えていることである。全体的な方形区調査地の低標高地化とともに、高標高地域での方形区の設置数の減少が起こっている。これは、生息情報(目撃や滅失)が低標高で頻繁に得られる反面、高標高ではほとんど生息情報が得られなかったため調査を行う機会が減ったためであろう。



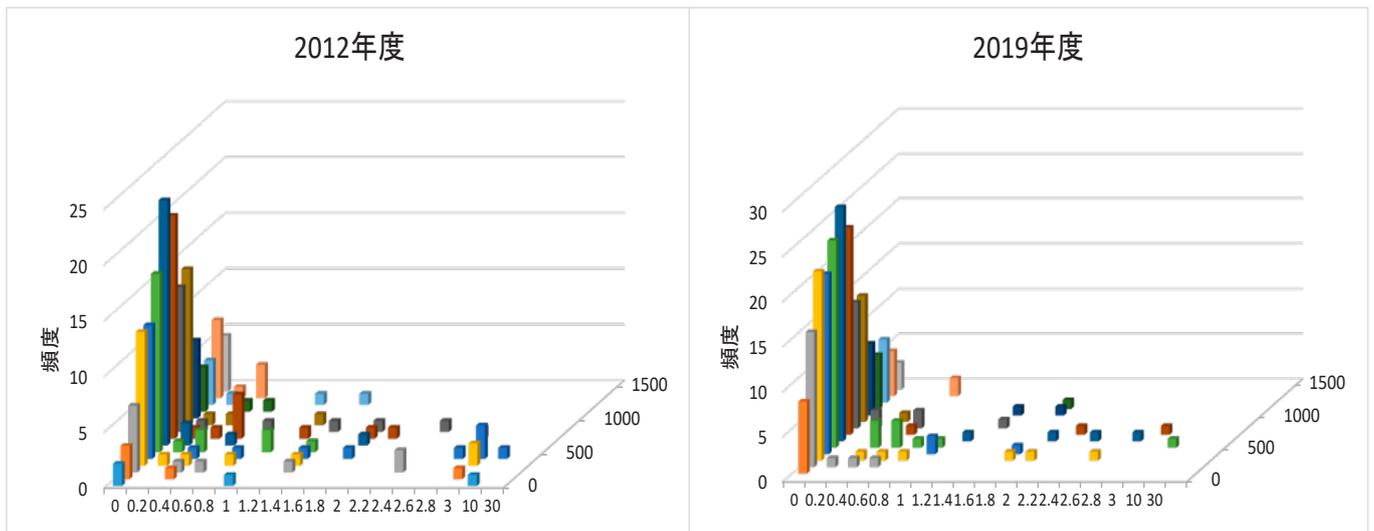
図Ⅱ-3_7 2012年度報告と今回の調査(2019年度報告)における調査方形区位置の標高の頻度分布

次に、各調査方形区で得られた糞塊法によるカモシカ生息密度推定結果の頻度分布を図Ⅱ-3_8に示す。全調査方形区数は2012年度報告書が208、今回が232個であった。

この頻度分布図では、グラフの形の傾向を見やすくするために、0～0.2頭/km²の密度階級は外して示しているが、この0～0.2階級の頻度は、2012年度が125方形区であったが、今回は195方形区(1.56倍)に増えていることに注意する必要がある。その上で、図を見なおしてみるとピークの密度が2012年度の0.4から、今回のピークは0.6頭/km²に上がっているが、それより低い密度の方形区数が今回大幅に減少している。そして、それより上の高密度階級では一様に頻度が下がっている。特に、2012年度には見られていた2.8～10頭/km²の小さなピークは完全に消滅している。まとめると、今回は0～0.2(ほとんどは0)の階級が大幅に増え、高密度の方形区が完全になくなっていることになる。なお、今回の調査の最高推定密度は4.41頭/km²であったが、2012年度の報告書での最高値は14.77頭/km²であった。



図Ⅱ-3_8 2012年度と今回の調査（2019年度報告）における調査方形区のカモシカ推定密度の頻度分布



図Ⅱ-3_9 推定密度、調査方形区の標高、それぞれの階級の頻度分布

X軸に密度、Y軸に方形区の標高、Z軸に方形区の頻度を描き、図Ⅱ-3_9に示した。明らかに、中～高密度地区が全体的に減少し、低標高地と高標高地でカモシカ密度の高い方形区がほぼ消滅している。カモシカ密度が中～高密度を示した方形区で、残っているのは300～700m辺りの中標高地帯だけである。言い換えれば、九州における調査対象地域の中で、現在、カモシカがある程度の密度で生息しているのは中標高地のベルト状の部分であるといえる。