

ムクドリ の 遺 伝 的 多 様 性 調 査

静岡県立掛川西高等学校
自然科学部 2年 島田莉乃 他3名

1 研究動機・目的

生物の遺伝的多様性を調査する方法の1つに SNP(一塩基多型)が用いられることがある。SNP とは、個体間で見られる DNA の一塩基単位での相違である。この SNP は地域性が見られることがあり、たとえば、カワトンボでは種の判別に用いられており¹、スギでは遺伝的地域性識別のために用いられている²。私たちはこの SNP を利用することで、ムクドリ の 遺 伝 的 多 様 性 を 調 査 出 来 る の で は な い か と 考 え、研究を開始した。

ムクドリ (Sturnus cineraceus) は、スズメ目ムクドリ科に属する留鳥であり、日本に広く分布する。私たちの住む環境中にも密接に生息し、群れをつくって採食したり、ねぐらを作ったりする習性があり、夏から冬にかけて数万羽もの大規模なねぐらを作ることがある³。スズメ目であるムクドリは、年に1回以上繁殖を行い、二峰型の繁殖期をとる。繁殖時期は、おおよそ4月上旬に始まり、しだいに頻度が増加して、4月下旬に第一ピークに達する。その後頻度は減少するが、再び増加し、6月上旬に第二ピークがあり、6月下旬に終わる⁴。都市部の駅前や住宅街などでは、ムクドリが騒音や糞害などの被害を及ぼすことがあり、駆除対象に指定されている地域も多くある。

本研究は、生態に影響を与えずに遺伝的地域性を探ることを目的とした。自然に抜けたムクドリ の 羽 根 から DNA を 得 て、塩基配列を解析し、地域性のある SNP を 見 つ け る こ と が 出 来 れ ば、ムクドリ の 遺 伝 的 多 様 性 が 明 ら か に な る。さらには、全国のムクドリ の 羽 根 を 集 め る こ と が 出 来 れ ば、ムクドリ の 地 域 移 動 性 も 明 ら か に す る こ と が 出 来 る の で は な い か と 考 え た。

2 方法

(1) 羽根の収集方法

本研究では、対象であるムクドリが人の生活環境中に生息していることから、電話や SNS、メールを用いて日本全国の動物園や野鳥園、野鳥の会などに羽根の収集・提供の協力を依頼した。なお、静岡県内の羽根は自分たちで採集した。また、今回用いたムクドリ の 羽 根 は ムクドリ が 生 活 す る 中 で 自 然 に 抜 け 落 ち た 羽 根 を 対 象 と し た た め、個体を直接捕獲する必要がなく、生態に影響を与えない収集方法だといえる。

(2) 実験方法

羽根から羽軸を1mm³切り落とし、DNA抽出試薬(Universe All Extraction Buffer II)25μL、滅菌蒸留水15μLを混ぜホモジェナイズを行った。次に、95℃で10分間加熱し、5℃で20分間15000rpm遠心分離を行った。この上澄み液をDNA抽出液とした。この抽出液1μLに、DNAポリメラーゼ酵素(KOD one Master Mix)25μL、滅菌蒸留水15μL、Forwardプライマー(5'-atggcattcccacgaataaa-3')1μL、Reverseプライマー(5'-gaagggcgatatccagtgag-3')1μLを混合し、PCR溶液とした。このPCR溶液を図1に示す温度サイクルでDNAを増幅した後、アガロースゲルによる電気泳動にて増幅を確認し、図2のように増幅に成功した試料はmacrogen社にシーケンスを依頼した。なお、今回の増幅領域は、ミトコンドリアDNAのCO1遺伝子領域である。

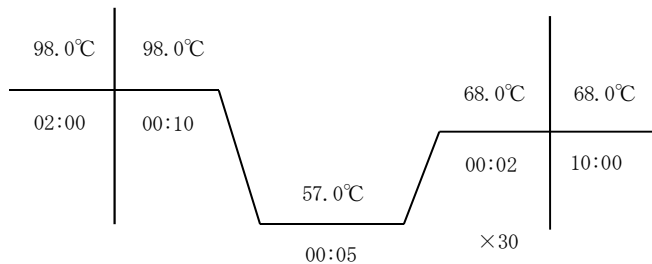


図1 PCR法の温度サイクル



図2 電気泳動の結果

3 結果

(1) 羽根の収集について

SNS等で協力を呼び掛けた結果、全国計16地点の羽根の収集に成功した。得られた地点を図3に示す。



| | | | |
|---|---------|---|---------|
| ① | 宮城県大崎市 | ⑨ | 神奈川県平塚市 |
| ② | 新潟県新潟市 | ⑩ | 愛知県津島市 |
| ③ | 群馬県高崎市 | ⑪ | 大阪府羽曳野市 |
| ④ | 埼玉県上尾市 | ⑫ | 大阪府松原市 |
| ⑤ | 埼玉県春日部市 | ⑬ | 大阪府堺市 |
| ⑥ | 埼玉県桶川市 | ⑭ | 大阪府富田林市 |
| ⑦ | 東京都東大和市 | ⑮ | 大阪府富田林市 |
| ⑧ | 千葉県木更津市 | ⑯ | 大阪府枚方市 |
| ● | 静岡県袋井市 | ● | 静岡県藤枝市 |
| ○ | 静岡県掛川市 | ○ | 静岡県沼津市 |

図3 羽根を収集出来た地点

(2) SNPについて

図3に示したうち、DNA増幅・シーケンスに成功した地点(個体数)は、千葉県木更津市(1)、愛知県津島市(1)、静岡県掛川市(1)、静岡県沼津市(2)、新潟県新潟市(1)、神奈川県平塚市

(3)、大阪府羽曳野市(1)、群馬県高崎市(2)、埼玉県市(3)である。

今回のシーケンス結果から、SNPであると考えられる位置を図4に示す。表の上の数字は塩基配列の位置を示している。千葉県木更津市の、C01遺伝子領域の

| | 464 | 465 | 466 | 581 | 582 | 583 | 797 | 798 | 799 |
|-----------|-----|----------|-----|-----|----------|-----|-----|----------|-----|
| 千葉(木更津) | G | C | A | T | G | C | A | G | G |
| 愛知(津島) | G | T | A | T | G | C | A | A | G |
| 静岡(掛川) | G | T | A | T | G | C | A | A | G |
| 静岡(沼津) | G | T | A | T | G | C | A | A | G |
| 新潟(新潟) | G | T | A | T | G | C | A | A | G |
| 神奈川(平塚) | G | T | A | T | G | C | A | A | G |
| 大阪(羽曳野) | G | T | A | T | G | C | A | A | G |
| 群馬(高崎) | G | T | A | T | G | C | A | A | G |
| 埼玉(上尾①・③) | G | T | A | T | G | C | A | A | G |
| 埼玉(上尾②) | G | T | A | T | A | C | A | A | G |

図4 見られた塩基配列の違い

465 番目と 798 番目の塩基配列に SNP が発見された。465 番目の塩基が千葉県木更津市では、“C” であるのに対し、その他 8 地点では “T” であり、798 番目の塩基が千葉県木更津市では “G” であるのに対して、その他 8 地点では “A” となっている。

また、埼玉県上尾市の個体には同地点内での SNP が確認された。同じく C01 遺伝子領域の 582 番目の塩基配列が、②の個体では “A” なのに対し、①・③の個体では、“G” であった。

4 考察・今後の展望

今回の結果から、千葉県木更津市とそのほかの地域との間に SNP が存在することが考えられる。465 番目の塩基と 798 番目の塩基では、千葉県以外のすべての地域で塩基配列が一致していたことから、今回見られた SNP は地域性のあるものだと考えられる。東京湾を挟んで位置する千葉県木更津市と、神奈川県平塚市とで塩基配列の違いが見られることから、図 5 のように、この 2 地点の間にムクドリ移動を妨げているものがある可能性がある。私たちは、物理的な障害の可能性、もしくはムクドリのねぐらの規模

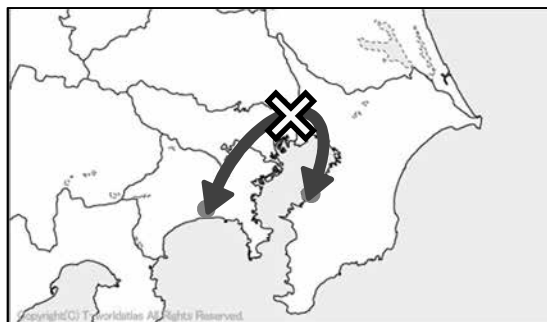


図 5 ムクドリが移動できない原因

や数、ムクドリの採食地域と関係があると考えている。また、埼玉県桶川市では同地点内での SNP が見られた。これは、同地点内で見られた SNP であることから、個体差によるものだと考えられる。

今後は、千葉県木更津市を中心とする関東圏で、3 個体以上を目安として地点数を増やして調査を進め、より詳しくムクドリの SNP について調べていく。また、東京湾周辺を調査し、地域性をつくっている原因について追究していく。

また、本研究では生態に影響を与えない調査を目指し、研究を進めた。これは、他の生物にも応用できると考える。鳥類はもちろん、DNA が混じっているであろう糞を使った調査、昆虫類の翅を使った調査もできるだろう。より、自然環境にやさしい生態調査を今後も目指していきたい。

5 参考文献

1. 荻部治紀, 守屋博文, 林 文男, 「神奈川県を中心としたカワトンボ属の分布」, 2010
2. 内山 憲太郎, 松本 麻子, 「スギの遺伝的地域性識別のための SNP パネルの開発と利用」, 「森林総合研究所研究報告」(Bulletin of FFPRI) Vol.17 No. 2 (No.446) 141 - 148 June 2018
3. 環境庁, 「第 4 回自然環境保全基礎調査 X. ムクドリの集団ねぐらの現状と動向」, 1989
4. 浅川真理, 斎藤隆史, 「ムクドリの繁殖個体群構成」, 山階鳥学誌, (J. Yamashina Inst. Ornithol.), 38: 1:13, 2006