

## フクロウの繁殖状況と遺伝的多様性に関する研究

環境動物昆虫学研究室 上田昇平

大阪府

### 1. 緒 言

#### 鳥類の衰退

人間活動による生息地の分断化や消失によって、地球規模で消失の危機にさらされており、多くの生物が絶滅の危機に瀕している。特に鳥類では、過去 400 年間に 108 種が絶滅し、現存している鳥類種の約 11% にあたる 1107 種が絶滅危惧種に、約 9% にあたる 952 種が絶滅危惧種の予備軍にあたる保全依存種または準絶滅危惧種に選定されている (IUCN, 2016)。国内においても 15 種がすでに絶滅し、98 種の鳥類が絶滅危惧種に選定されている (環境省, 2020)。

#### フクロウの分布と生態

フクロウ *Strix uralensis* (フクロウ目フクロウ科；以下、本種；図 1) は、スカンジナビア半島から日本にかけてユーラシア大陸北部の森林地帯に広く分布し (König and Weick, 2008)，日本では九州以北の低地から山地の森林、農耕地、草原、里山に生息する樹洞営巣性の夜行性鳥類である (樋口・阿部, 2001)。小型哺乳類や鳥類を主食とする中型猛禽類であり (König and Weick, 2008)，高次消費者であることから、その生息は餌動物となる生物相の豊かさを意味し、生物多様性を示す指標種とされている (Furness and Greenwood, 1993)。本種は、生態系ピラミッドの頂点に位置することから、広大な生息地を必要とするアンブレラ種としても知られており (Roberge and Angelstam, 2004)，本種の保全は他の多くの種の保全に繋がると考えられる。



図 1. フクロウの成鳥

## フクロウの衰退と保全

しかし、近年では主要な生息地である里山の衰退や営巣に必要な大径木の枯死や伐採により生息環境が劣悪化し (Löhmus, 2003; 樋口・伊野, 2004), 本種の個体数は各地で減少しており、都道府県ごとのレッドリストにおいて 3 都県で絶滅危惧 I 類 (東京都, 2023; 千葉県, 2020, 山形県, 2015), 2 県で絶滅危惧 II 類 (岡山県, 2020; 和歌山県, 2022), 大阪府を含む 18 府県で準絶滅危惧に選定 (青森県, 2020; 大阪府, 2014 など) されている。それを受け、各地で巣箱を用いた本種の保全が行われている (風間, 1974; 白石・北原, 2007; 植田, 2014). 大阪府南部でも巣箱を用いた本種の保全が実施されており、その保全効果を検証するためには、個体群の遺伝的多様性やその年次変化を把握することが必要となるが (Frankham *et al.* 2002), 巣箱を利用した本種個体の繁殖状況と遺伝的多様性を経年的に調査した例は少ない。

## 希少種保全における DNA 解析の有用性

近年の生化学的手法の急速な発達によって、分子生物学的手法を集団生物学や野生生物の保全へ利用することが可能になった。形態的特徴に基づく雛の性判定はほとんどの種で不可能か、また特殊な技術が必要であることから (長井, 2008), 近年では Chromo Helicase DNA binding 遺伝子 (以下、CHD) が広く用いられている (Fridolfsson and Ellegren, 1999; 西野, 1999). また、希少種の保全においては、遺伝的多様性の維持が重要であることが認識され、さまざまな手法で遺伝子解析が行われている (Funk *et al.*, 2010; Hull *et al.*, 2010; Omote *et al.*, 2012; Graciá *et al.*, 2015; Horníček *et al.*, 2017). 個体群内の遺伝的多様性や有効集団サイズの解析を行う方法としては、マイクロサテライトマーカーが利用されており、本種やその近縁種でも解析例がある (Fujito *et al.*, 2021).

本研究では、本種の保全に必要な基礎資料を得ることを目的とし、野外調査から大阪府南部における本種の繁殖状況を明らかにするとともに、性決定遺伝子の解析によって巣箱で産まれた雛の性比を判定し、既存のマイクロサテライトマーカーを用いて個体群内の遺伝的多様性を評価した。

## 1. 方 法

### 調査地点

2016～2023 年の 2～6 月に大阪府堺市、河内長野市、岸和田市、富田林市、泉佐野市、和歌山県橋本市の 32 地点に設置した巣箱および営巣の記録がある自然樹洞を、原則と

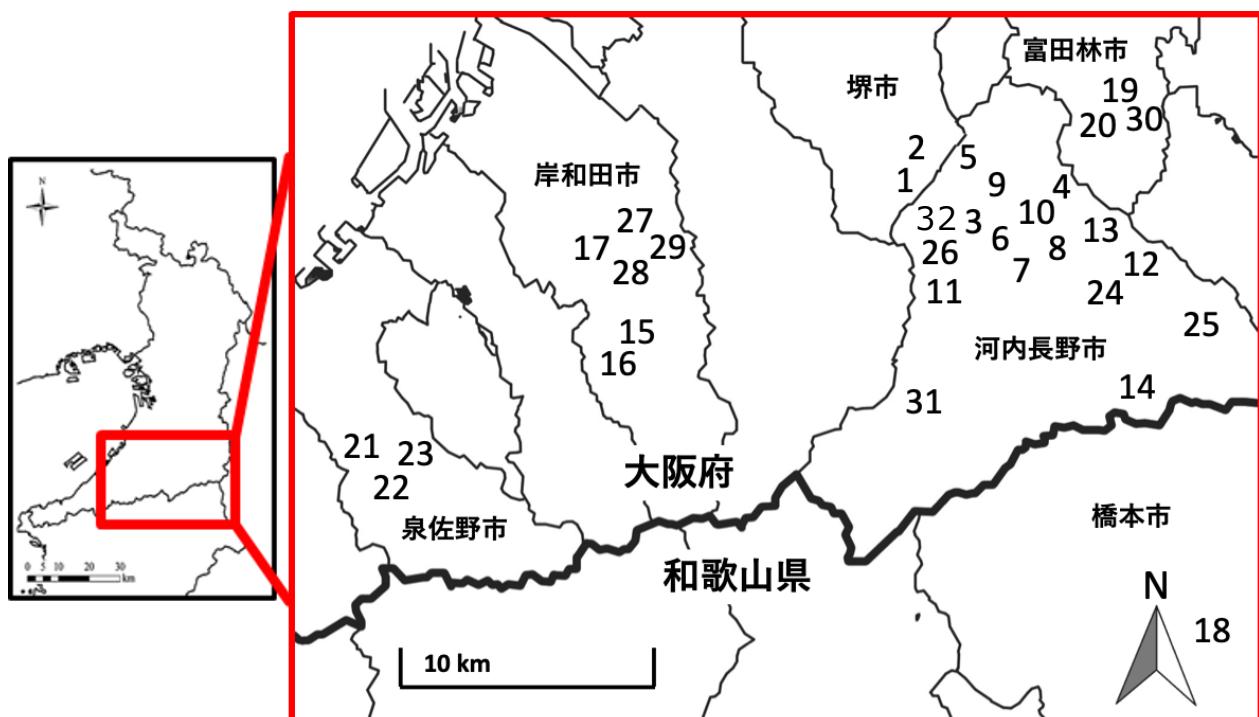


図 2. 本研究においてフクロウ用の巣箱を設置した地点。保全の観点から詳細な場所については示さない。

して週 1 回巡回した（図 2）。各調査地には 1 地点あたり 1 個の巣箱（幅 450 mm, 奥行 450 mm, 高さ 500 mm）が地上から 5～6 m の高さに設置されていた（図 3）。

### 巡回調査と DNA 検体の採集

長竿に取り付けたカメラを用いて巣箱内を観察し（図 3），営巣の有無や雛の状態を確認した。繁殖への影響や親鳥の抵抗による調査者の負傷などのおそれがあるため（Eriksson *et al.*, 1984），特に抱卵期間における調査は極力控えた。

調査結果から，営巣の有無や産卵数，雛の状態などの繁殖状況を記録し，繁殖成功率

と平均巣立ち雛数を計算した。巣立ちが近い本種の雛を確認した場合は雛を巣から取り出し、個体識別のための足輪を取り付けて巣に戻した（図 4）。この際に、DNA 解析に使用するサンプルとして雛の胸部から羽根を採取し、DNA 解析に供した。

2016 年 23 個体、2017 年 19 個体、2018 年 18 個体、2019 年 20 個体、2020 年 29 個体、2021 年 24 個体、2022 年 14 個体、2023 年 9 個体、計個体から DNA 検体を採集した。



図 3. 木に設置したフクロウ用巣箱。長竿に取り付けたカメラで巣箱内を観察している。



図 4. 巣箱の中で孵化したフクロウの雛。大阪府南部では 1 巣あたり 1-3 個体の雛が確認された。

## DNA 抽出

DNeasy Blood & Tissue Kit（株式会社キアゲン製）を用いて、採集した羽根の羽軸基部から全 DNA を抽出した。以下、試薬の調製は製品に付属のプロトコルに準拠した。

## CHD を用いた性判定

Takara Ex Taq（Takara 社製）を用いて CHD を PCR 反応によって増幅した。プライマーには、2550F（5'-GTTACTGATTCGTCTACGAGA-3'）と 2710R（5'-ATTGAAATGATCCAGTGCTTG-3'）を用いた（Fridolfsson and Ellegren, 1999）。PCR 反応にはサーマルサイクラー（Thermal Cycler GeneAtlas）を用いた。温度条件、サイクル数を以下に示す。

98.0°C : 300 秒

98.0°C : 10 秒, 40.0°C : 30 秒, 72.0°C : 60 秒 35 サイクル

72.0°C : 420 秒

1×TAE buffer (ナカラライテスク株式会

社製) 40ml にアガロース LE (ナカラ

イテスク株式会社製) 0.6g と Gel Red

(富士フィルム和光純薬株式会社製)

1.0μl を加えて作成したアガロースゲ

ルを 1×TAE buffer で満たされた泳動槽

(Mupid-exu, タカラバイオ株式会社

製) に設置し, PCR 産物 3μl, Loading

dye (ナカラライテスク株式会社製) 1μl の

混合液をゲルのウェルに入れ, 50V で 50 分間電気泳動をおこなった. アガロースゲル

に紫外光を照射してバンドの有無を確認した.

本種は雌ヘテロ型の性決定であるため, つまり, 雌の染色体構成が ZW (ヘテロ), 雄が ZZ (ホモ) であり, W 染色体上の CHD-W 遺伝子と Z 染色体上の CHD-Z 遺伝子とではイントロンの長さが異なる (Fridolfsson and Ellegren, 1999; 西海, 1999). バンドが 1 本 (650 bp 付近のみ; ホモ) であれば雄, 2 本 (650 bp 付近と 1,100 bp 付近; ヘテロ) であれば雌と判定した (図 5). 得られた結果から性比を算出し, 雄の比率が 50% と有意に異なるかを, 両側二項検定を用いて検討した.

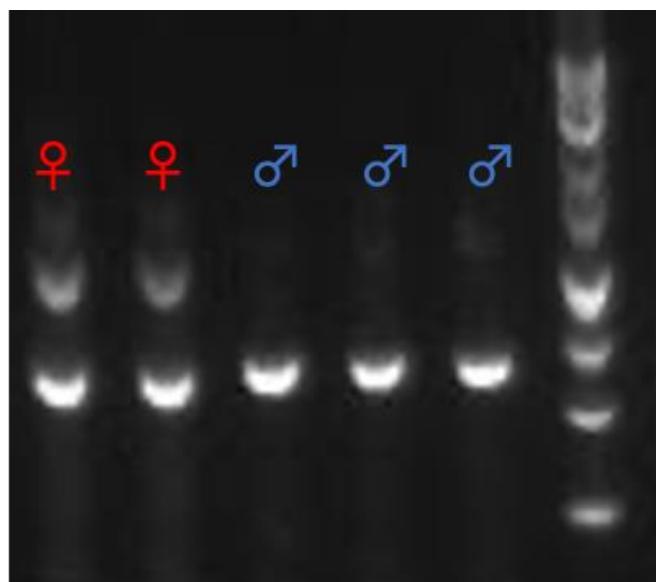


図 5. CHD 遺伝子の電気泳動結果の例. バンドが二本出た場合はメス. 一本出た場合はオスと判定した.

## マイクロサテライト解析

解析には Hausknecht *et al.* (2014) がヨーロッパの本種個体群の解析のために使用した 8 組の SSR プライマーを用いた。フォワードプライマーの 5'側に 4 種類のユニバーサル配列 (tail A-D) を付加し (Blacket *et al.*, 2012), リバースプライマーの 5'側にも PIG-tailing 配列を付加した (表 1)。これらのプライマーを用いて, Two-step Multiplex PCR 法により, SSR 断片を増幅した。1 回目の PCR では, 上記のプライマーペアを用し, SSR 断片を増幅し, 2 回目の PCR では, 1 回目の PCR で増幅された SSR 断片の 5'側に蛍光色素付きアダプター配列を添加した。温度条件, サイクル数を以下に示す。

(first PCR)

95.0°C : 300 秒

95.0°C : 30 秒, 60.0°C : 90 秒, 72.0°C : 30 秒 25 サイクル

(second PCR)

95.0°C : 30 秒, 60.0°C : 90 秒, 72.0°C : 30 秒 10 サイクル

60.0°C : 30 秒

ABI Prism 3130 Analyzer (Applied Biosystems, Foster, CA) を用いて, PCR 反応物の電気泳動を行い, GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems, Foster, CA) を用いて, 得られた PCR 産物の DNA フラグメントサイズを決定した。遺伝子座ごとの対立遺伝子から遺伝子型を特定し, GenAlEx 6.5 ソフトウェア (Peakall and Smouse, 2006) を用いて, アリル数 ( $A$ ), ヘテロ接合度の観察値 ( $H_O$ ), ヘテロ接合度の期待値 ( $H_E$ ) を求めた。また,

遺伝距離による主座標分析 (PCoA) を行った。また, Fstat 2.9.4 ソフトウェア (Goudet, 1995)を用いて遺伝的多様性の指標としてアリル多様度( $A_R$ ), Nei の遺伝的多様度( $H_S$ )を各年について計算し比較した。

表 1. フクロウのマイクロサテライト解析に用いた各遺伝子座の蛍光色素とプライマー, tail, PIGtailing の各配列.

遺伝子座 蛍光色素	配列(5'-3')	tail(A-D)
		PIGtailing
13D8 (FAM)	F : CTATATCATATCGTTGCTTCCA R : CATCTGCGGTACATCATATAA	A : GCCTCCCTCGCGCCA GTTTCTT
Oe128 (FAM)	F : CGTTGTAAATGATGAATCGCCTAGTGC R : ATGCATGTATACATACAAACCTGG	A : GCCTCCCTCGCGCCA GTTTCTT
Bb111 (VIC)	F : CTTTGTCAAGTTCCTGTAG R : ATCAGTCAAGTCATCACCAATA	B : GCCTTGCCAGCCCCGC GTTTCTT
15A6 (VIC)	F : ACCTCAGAACAGCAGACAGAAC R : CCTTGCGATTGCTGTAAC	B : GCCTTGCCAGCCCCGC GTTTCTT
BooW18 (NED)	F : TTCTGCCTTACAGTCTAGT R : AAAAACCTATCTTGAGT	C : CAGGACCAGGCTACCGTG GTTTCTT
BooW7 (NED)	F : ACATCAAAGATAGATAGATAG R : TCATAGCATAAAGTCCTA	C : CAGGACCAGGCTACCGTG GTTTCTT
Bb126 (PET)	F : TCTCCAGAACGGTTGTCATC R : TGCTAAAACCTTACAGAACAG	D : CGGAGAGGCCGAGAGGTG GTTTCTT
Oe045 (PET)	F : GTATGTTCTACGTTGGATTCCA R : AACCTGGCAAGTGCTGTT	D : CGGAGAGGCCGAGAGGTG GTTTCTT

### 3. 結果と考察

#### 大阪府南部におけるフクロウの繁殖状況

2016～2023 年の繁殖確認地点数は 11～17, 巣立ち確認地点数は 8～13, 繁殖成功率は 65～86%, 平均巣立ち雛数は 1.9～2.4 であった（表 2）。

繁殖状況の調査の結果、本調査地における本種の繁殖成功率（73%）はスロベニアにおける報告（80%, Vrezec, 2016）と同程度であった。また、平均巣立ち雛数（2.0）はフィンランドにおける報告（1.17～3.21, Pietiainen, 1989）の範囲内に収まっていた。このことから、2023 年の繁殖状況はヨーロッパを含む他地域と同程度であったと考えられる。

表 2. 2016～2022 年の、フクロウの繁殖確認地点数、巣立ち確認地点数、繁殖成功率および平均巣立ち雛数。繁殖成功率は巣立ち確認地点数を繁殖確認地点数で除して百分率で表したものであり、平均巣立ち雛数は巣立ち雛数を巣立ち確認地点数で除したものである。

年	繁殖を確認した地点	巣立ちを確認した地点	繁殖成功率	標識雛数	平均巣立ち雛数
2023	11	8	73%	16	2.0
2022	15	12	80%	28	2.3
2021	17	11	65%	22	2.0
2020	17	13	76%	29	2.2
2019	14	12	86%	21	1.8
2018	13	11	85%	17	1.5
2017	11	8	73%	15	1.9
2016	12	9	75%	22	2.4

#### 遺伝子解析による雛の性判定

CHD 遺伝子による性判定の結果、雄の割合は 2016 年 43%, 2017 年 59%, 2018 年 43%, 2019 年 60%, 2020 年 50%, 2021 年 62%, 2022 年 34%, 2023 年 53% で、どの年

の雛でも有意な性の偏りは認められなかった（表 3, 4）。

本種やその近縁種では餌条件が悪いときに雛の性比が雄に偏ることが確認されていることから（Brommer *et al.*, 2003; Appleby *et al.*, 1997），この 8 年間において，本調査地における親鳥の栄養状態に問題はなかったと考えられた。

表 3. CHD 遺伝子を用いたフクロウの性判定の結果. 2016~2023 年の間に各調査地点の巣箱および自然樹洞において巣立った雛について、雄を青色、雌を赤色、判別できなかった雛を灰色（「？」で表記）で色分けした.

巣箱No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
2016	♂	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2017	♀	♀	♀	♀	?	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2018	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2019	♂	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2020	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2021	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂
2022	♂	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2023	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
巣箱No.	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
2016	♂	♀														
2017	♂															
2018	♂	♀														
2019	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2020	♂	?	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂
2021	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2022	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
2023	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂

表 4. 2016~2023 年におけるフクロウの性判別に利用した個体数、雄の比率および両側二項検定の結果.

Year	N	% male	P
2016	21	42.9	0.66
2017	17	58.8	0.63
2018	14	42.9	0.79
2019	20	0.60	0.50
2020	26	0.50	1.00
2021	21	0.62	0.38
2022	28	0.34	0.14
2023	16	0.53	1.00
total	163	48.1	0.89

## マイクロサテライト解析による遺伝的多様性

SSR では 7 遺伝子座で有効な增幅が見られ、それぞれで複数のアリルを確認したため、これらを多型遺伝子座とした（表 5）。遺伝子型は全ての個体で異なり、個体識別が可能であった。平均のヘテロ接合度の観察値 ( $H_o$ ) は 0.53、平均のヘテロ接合度の期待値 ( $H_E$ ) は 0.54 であり、全ての多型遺伝子座でハーディーワインベルグ平衡からの逸脱は見られなかった ( $p > 0.05$ )。これらの結果から、これらの遺伝子座が本個体群の集団遺伝解析に適切な遺伝子マーカーであると判断した。

表 5. 2019~2021 年 4~6 月に大阪府南部と和歌山県北部で採集したフクロウのマイクロサテライト解析に用いた各遺伝子座の対立遺伝子数 ( $A$ )、配列の長さ (bp)、ヘテロ接合度の期待値 ( $H_E$ )、ヘテロ接合度の観察値 ( $H_o$ )。

遺伝子座	対立遺伝子数( $N_A$ )	配列の長さ(bp)	ヘテロ接合度	
			期待値 ( $H_E$ )	観察値( $H_o$ )
13D8	9	141-167	0.636	0.568
Bb111	2	222-224	0.125	0.139
BooW7	7	113-130	0.687	0.739
Bb126	2	167-195	0.146	0.076
Oe128	7	328-344	0.768	0.696
15A6	5	154-170	0.709	0.718
Oe045	9	208-212	0.725	0.754

2016 から 2023 年にかけての  $A_R$  は 4.7-5.4、 $H_S$  は 0.52-0.62 であった（図 6）。同じ遺伝子マーカーを使用した Hausknecht *et al.* (2014) におけるヨーロッパ全域の個体群の  $A_R$  は 4.5-7.7、 $H_S$  は 0.55-0.74 であった。本研究の  $A_R$  と  $H_S$  の値はヨーロッパ個体群の範囲に収まっており、大阪府南部における本種個体群の遺伝的多様性はヨーロッパと同

程度の高い値で推移していると考えられた。一方、2016-2020年まで見られていた2つのレアアリルが2021年以降には見られず、個体群からの消失が疑われた。

主座標分析では雛のプロットが地域ごとに集まらず、近縁な個体が別地域でも確認された（図7）。以上のことから、本種は大阪府南部を広く移動し、遺伝的交流が行われていると考えられた。また、雛の対立遺伝子の組み合わせから、2016～2023年の間に2回以上繁殖が行われ、各年の雛の遺伝子型の比較ができた17地点の巣箱の内、少なくとも10地点では年によって繁殖する親鳥ペアの一方または両方が1回以上置き換わっていると考えられた（図8）。

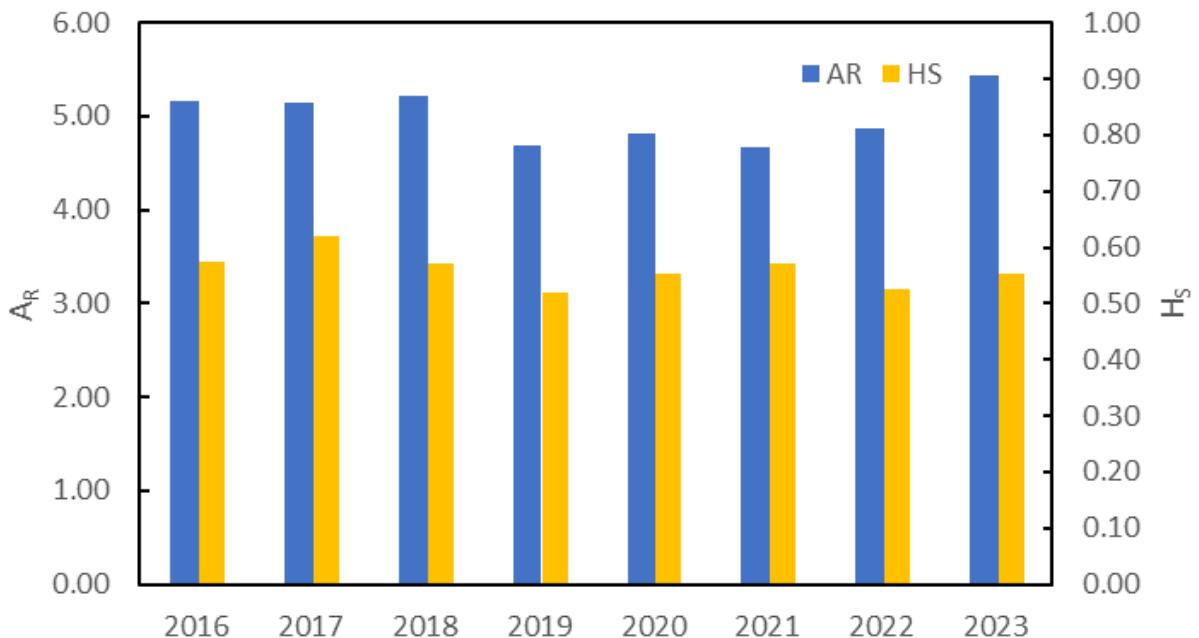


図6. 大阪府南部におけるフクロウ雛のアリル多様度 ( $A_R$ ) と Nei の遺伝的多様度 ( $H_S$ )。

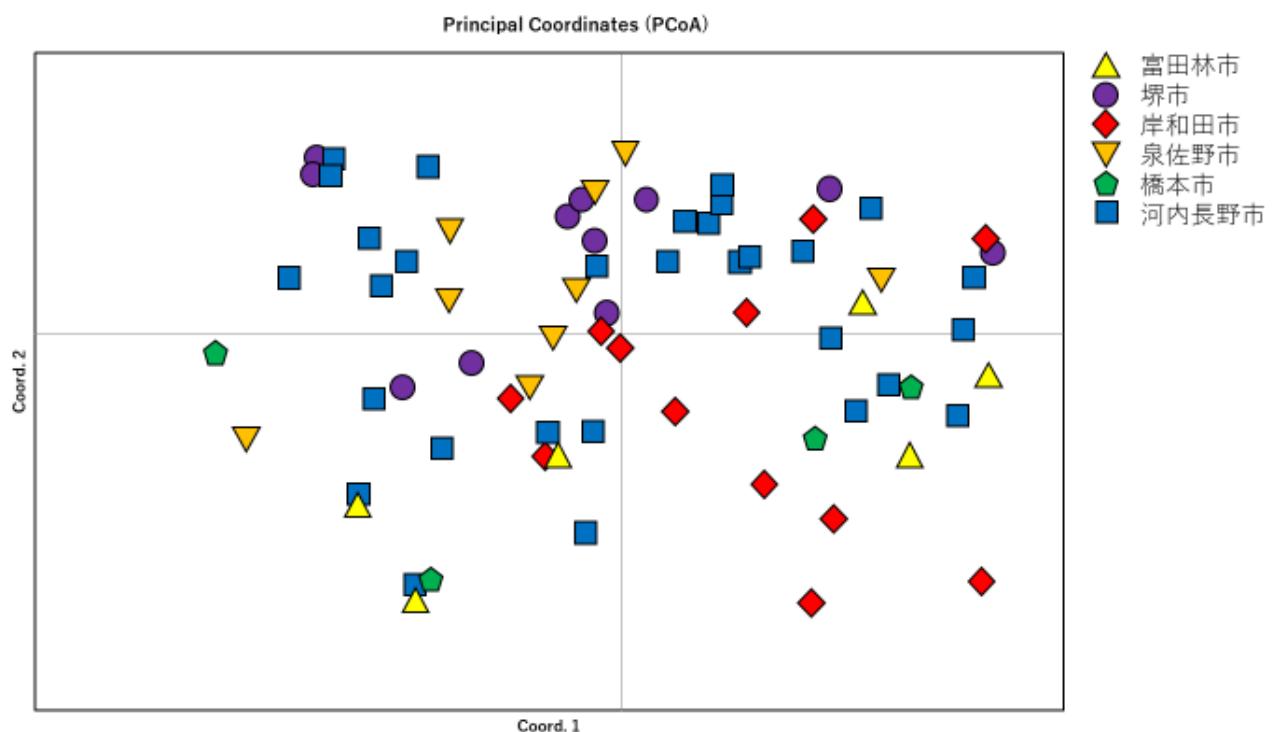


図 7. PCoA の結果。プロットは各個体を表し、プロット間の距離は個体間の遺伝距離を示す。色はその個体が巣立った巣箱のある市町村を示す。

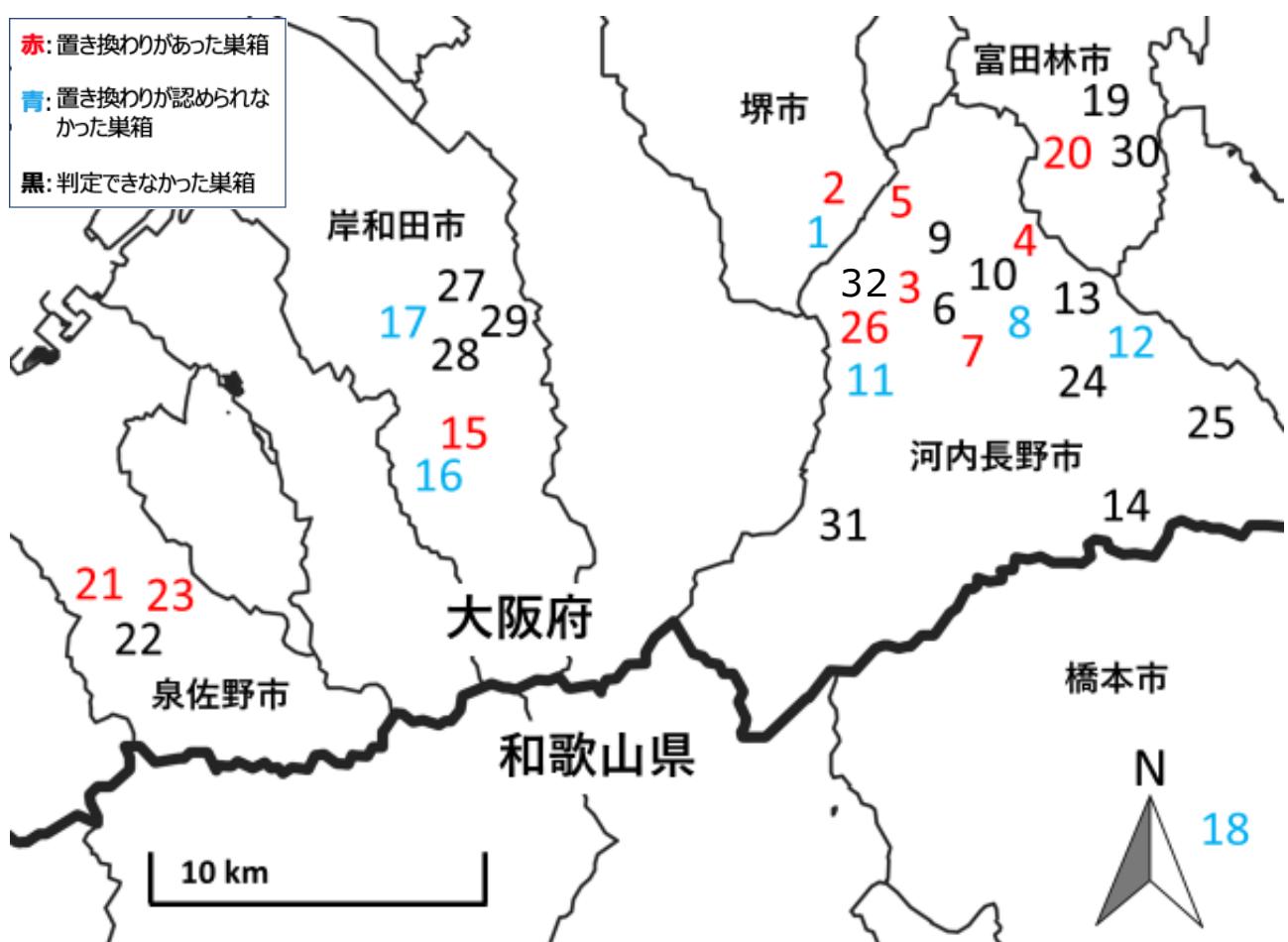


図 8. 2016～2023 年の間に、営巣した親鳥ペアの少なくとも片親が一回以上置き換わっ

た地点(赤色)、青色は営巣した親鳥ペアの置き換わりが認められなかった地点(ただし置き換わりがないとは言い切れない)。

本研究では、大阪府南部における本種の繁殖状況と遺伝的多様性を調査した結果、本種が巣箱を利用してすることで安定して繁殖しており、地域間で遺伝的交流が頻繁に行わることで、高い遺伝的多様性が保たれていることが明らかとなった。

#### 4. 謝 辞

調査に御協力いただいた大阪公立大学の那須義次博士、きしわだ自然資料館の風間美穂氏、岸和田丘陵地区整備課、岸和田市都市整備課、岸和田市水とみどり課、環境ボランティア団体「シャープグリーンクラブ（SGC）」、富田林の自然を守る会、堺自然ふれあいの森、堺市環境共生課、大阪府営泉佐野丘陵緑地、都市公園長野公園管理共同体の関係各位に深く感謝申し上げる。

## 5. 引用文献

- Appleby, B. M., S. J. Petty, J. K. Blakey, P. Rainey and D. W. MacDonald (1997). Does variation of sex ratio enhance reproductive success of offspring in tawny owls (*Strix aluco*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 264: 1111–1116.
- 青森県（2022）青森県レッドデータブック（2020年版）.  
[https://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kankyo/shizen/reddatabook\\_2020.html](https://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kankyo/shizen/reddatabook_2020.html)（2023年12月29日アクセス）.
- Blacket, M. J., C. Robin, R. T. Good, S. F. Lee and A. D. Miller (2012) Universal primers for fluorescent labelling of PCR fragments—an efficient and cost-effective approach to genotyping by fluorescence. *Mol. Ecol. Resour.* 12: 456-463.
- Brommer, J. E., H. Pietiäinen and H. Kolunen (2002) Reproduction and survival in a variable environment: Ural owls (*Strix uralensis*) and the three-year vole cycle. *The Auk* 119: 544-550.
- Brommer, J. E., P. Karell, J. N. Painter, T. Pihlaja C. R. Primmer and H. Pietiäinen (2003) Ural owl sex allocation and parental investment under poor food conditions. *Oecologia* 137: 140-147.
- 千葉県（2019）千葉県レッドリスト動物編（2019年改訂版）.  
[https://www.bdcchiba.jp/redlist\\_animal\\_2019](https://www.bdcchiba.jp/redlist_animal_2019)（2024年6月23日アクセス）.
- Eriksson, D., A. Lundberg and B. Westman (1984) Estimating age of Ural owl nestlings from body part measurements. *Ann. Zool. Fennici* 21: 313-316.
- Frankham, R., J. D. Ballou and D. A. Briscoe (2002) Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press, Cambridge.
- Fridolfsson, A. K. and H. Ellegren (1999) A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *J. Avian Biol.* 30: 116-121.
- Fujito, N. T., Z. R. Hanna, M. Levy-Sakin, R. C. Bowie, P. Y. Kwok, J. P. Dumbacher and J. D. Wall (2021) Genomic Variation and Recent Population Histories of Spotted (*Strix occidentalis*) and Barred (*Strix varia*) Owls. *GBE* 13. evab066.
- Funk, W. C., E. D. Forsman, M. Johnson, T. D. Mullins and S. M. Haig (2010) Evidence for recent population bottlenecks in northern spotted owls (*Strix occidentalis caurina*). *Conserv. Genet.* 11: 1013 - 1021.
- Furness, R. W. and J. J. D Greenwood (1993) Birds as a monitors of environmental change. Chapman and Hall, London.
- Goudet J (1995) FSTAT: A computer program to calculate F -statistics, version 1.2. *Journal of Heredity* 86, 485–486.
- Graciá, E., J. Ortego, J. A. Godoy, J. M. Pérez-García, G. Blanco, M. d. M. Delgado, V. Penteriani, I. Almodóvar, F. Botella and J. A. Sánchez-Zapata (2015) Genetic signatures of demographic changes in an avian top predator during the last century: Bottlenecks

- and expansions of the Eurasian Eagle Owl in the Iberian Peninsula. *PloS one* 10: e0133954.
- Hausknecht, R., S. Jacobs, J. Müller, R. Zink, H. Frey, R. Solheim, A. Vrezec, A. Kristin, J. Mihok, I. Kergalve, P. Saurola and R. Kuehn (2014) Phylogeographic analysis and genetic cluster recognition for the conservation of Ural owls (*Strix uralensis*) in Europe. *J. Ornithol.* 155: 121-134.
- 樋口亜紀・阿部 學 (2001) 飼育下のフクロウ *Strix uralensis* のエネルギー収支. 日本鳥学会誌, 50(1), 25–30.
- Horníček, J., P. Menclová, A. Popelková, D. Rymešová, M. Zárybnická, J. Bryja and J. Svobodová (2017) Microsatellite analysis detects low rate of extra-pair paternity in Tengmalm's owl, *Aegolius funereus*. *J. Vertebrate Biol.* 66: 22-28.
- Hull, J. M., J. J. Keane, W. K. Savage, S. A. Godwin, J. A. Shafer, E. P. Jepsen, R. Gerhardt, C. Stermer and H. B. Ernest (2010) Range-wide genetic differentiation among North American great gray owls (*Strix nebulosa*) reveals a distinct lineage restricted to the Sierra Nevada, California. *Mol. Phylogenet. Evol.* 56: 212-221.
- IUCN (2016) The IUCN Red List of Threatened Species. <https://www.iucnredlist.org/species/22689108/199908915> (2024年6月23日アクセス).
- 環境省 (2020) 環境省レッドリスト 2020. <http://www.env.go.jp/press/107905.html> (2024年6月23日アクセス).
- 風間辰男 (1974) フクロウの生態に関する知見と人工飼育による孵化について. 山階鳥類研究所 7: 333-349.
- König, C. and R. Weick (2008) Owls of the world (2nd ed.). Christopher Helm Publishers, London, UK.
- Löhmus, A. (2003) Do Ural owls (*Strix uralensis*) suffer from the lack of nest sites in managed forests?. *Biol. Conserv.* 110: 1-9.
- 長井和哉 (2008) 希少猛禽類サシバにおける分子生態学的研究 (博士学位論文). 東京大学, 東京.
- 西海 功 (1999) 鳥類の性配分に関する研究と DNA による性判定. 日鳥学誌 48: 83-100.
- 岡山県 (2020) 岡山県版レッドデータブック 2020. <https://www.pref.okayama.jp/page/656841.html> (2024年6月23日アクセス).
- Omote, K., C. Nishida, T. Takenaka and R. Masuda (2012) Temporal Changes of Genetic Population Structure and Diversity in the Endangered Blakiston's Fish Owl (*Bubo blakistoni*) on Hokkaido Island, Japan, Revealed by Microsatellite Analysis. *Zool. Sci.* 29: 299-304.
- 大阪府 (2014) 大阪府における保護上重要な野生生物レッドリスト. <http://www.pref.osaka.lg.jp/midori/tayouseipartner/redlist.html> (2024年6月23日アクセス).
- Peakall, R. and P. E. Smouse (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population

- genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6: 288-295.
- Pietiainen, H. (1989) Seasonal and individual variation in the production of offspring in the Ural owl *Strix uralensis*. *The Journal of Animal Ecology*, 58(3), 905-920.
- Roberge, J. M. and P. E. R. Angelstam (2004). Usefulness of the umbrella species concept as a conservation tool. *Conserv. biol.* 18: 76–85.
- Saladin, V., M. Ritschard, A. Roulin, P. Bize and H. Richner (2007) Analysis of genetic parentage in the tawny owl (*Strix aluco*) reveals extra-pair paternity is low. *J. Ornithol.* 148: 113-116.
- 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.
- 東京都 (2023) 東京都レッドデータブック（本土部）2023 .  
[https://www.kankyo.metro.tokyo.lg.jp/nature/animals\\_plants/red\\_data\\_book/400100a20230424184941875.html](https://www.kankyo.metro.tokyo.lg.jp/nature/animals_plants/red_data_book/400100a20230424184941875.html) (2024年6月23日アクセス)
- 植田睦之 (2014) 温度ロガーをもちいたヤマガラの繁殖時期のモニタリング. *Bird Research* 10: F21-F25.
- Vrezec, A. (2016) The ecology of the Ural Owl at south-western border of its distribution (Slovenia). *Raptors Conserv.* 32, 455-459.
- 和歌山県 (2022) 和歌山県レッドデータブック「2022年改訂版」.  
<https://www.pref.wakayama.lg.jp/prefg/032000/032500/yasei/reddata.html> (2024年6月23日アクセス).
- 山形県 (2015) 山形県第2次レッドリスト（鳥類、昆虫類）について（2015年度改訂版）.  
[https://www.pref.yamagata.jp/050011/kurashi/shizen/seibutsu/yamagata\\_red\\_list2013/yamagata\\_red\\_list2015.html](https://www.pref.yamagata.jp/050011/kurashi/shizen/seibutsu/yamagata_red_list2013/yamagata_red_list2015.html) (2024年6月23日アクセス).