

Point

クマタカの「巣材」から網羅的な獲物のDNAを検出することに成功しました。クマタカは環境影響評価における生態系を評価する指標種として上位性注目種に選定されることが多いため、その食性を把握することは、その地域の生態系評価において重要な手掛かりとなります。今回、獲物のDNAに着目した新たなサンプリング対象について検討しましたので、先行事例として紹介します。

DNA分析によるクマタカの食性解析

大阪支社 生態・保全部 一瀬 弘道、斎藤 史之、環境創造研究所 遺伝子解析室 相馬 理央

※本研究は、クマタカ生態研究グループ(クマタカの生態研究および保護管理活動を行う団体)との共同研究で実施しました。

はじめに

環境影響評価では、生態系の上位性注目種として猛禽類が選定されることが多くあります。食物連鎖の頂点に位置する猛禽類の食性を把握することは、その地域の生態系を評価するうえでとても重要です。これまでクマタカの巣内育雛期の食性については、ビデオカメラによる画像解析、食べ残しの採取による骨、獣毛、羽等の形態の視認同等により調査されてきました。しかし、クマタカの巣内に運ばれてくる獲物は、体部の一部が解体または捕食されている場合や、幼獣や雛の場合があることから、種の同定が困難または同定できる種に限られていることの課題がありました。

そこで本研究では、獲物の種判別の方法としてDNAメタバーコーディング法を用い、網羅的かつ効率的に検出するサンプリング対象の検討を行いました。

調査・分析方法

滋賀県および三重県に位置する鈴鹿山脈のエリアで、巣内育雛期のクマタカ8ペア計9巣を対象としたサンプリングを行い、獲物のDNAを取得するために6種類のサンプリング対象を検討しました(図1)。



①ペリットとは獲物の未消化物を口から吐き出した塊であり、④～⑥は滅菌綿棒を使用した採取手法、⑥雛の総排泄腔-綿棒は、総排泄腔で体温を計測後、体温計の先を滅菌綿棒で拭いDNAを採取

図1 検討した6種類のサンプリング対象

採取したサンプルについて、次世代シーケンサーを用いたDNAメタバーコーディング法により、獲物の種類を網羅的に検出しました。獲物のDNA検出には、哺乳類を検出対象として設計されたプライマーセット(MiMammal)を使用しました¹⁾。

調査・分析結果

採取地において繁殖成功したクマタカ6ペアの巣、古巣や繁殖中断した2ペアの巣から58サンプルを採取し、DNA分析をしました。その結果、哺乳類17種、その他の分類群として鳥類11種、爬虫類1種の計29種の獲物が検出されました。

サンプリング対象別に検出された獲物の種数の順位をみると、1位が「③巣材」の27種、2位が「④巣材-綿棒」の23種、3位が「①ペリット」の22種となりました。

サンプリング対象別に獲物の種類の網羅率^{※1}を算出した結果においても、「③巣材」が最も高い網羅率を示しました(図2)。巣材として使用される針葉樹や広葉樹の枝葉には溝や節があり、葉は複葉で分かれており、その構造によって獲物の体組織・血液・体液が付着しDNAを保持している可能性が考えられました。

※1 獲物の網羅率=調査対象ペア(巣)毎のサンプリング対象別の検出種数/調査対象ペア毎(巣)の総検出種数

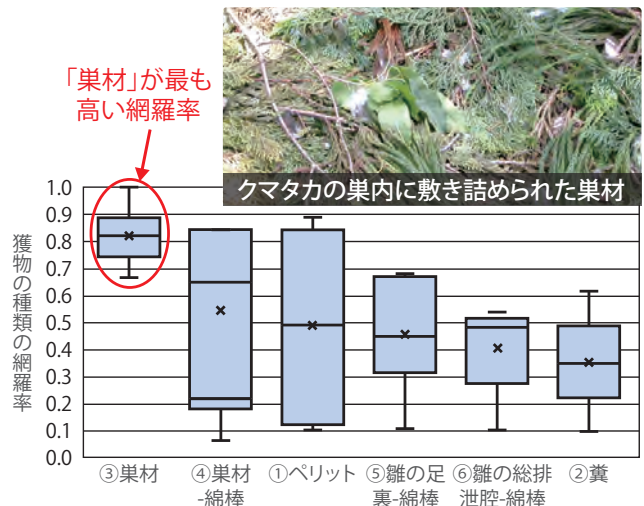


図2 サンプリング対象別の獲物の網羅率

本研究により得られた新たな知見

(1)糞(尿酸)からの獲物のDNA検出

巢内および営巣木直下の林床で確認されるクマタカの糞は、ほとんどが白い尿酸部分(図3)でしたが、採取し分析を行いました。これまで、尿酸自体には捕食した獲物のDNAは含まれず²⁾、DNAの増幅阻害物質が含まれている²⁾³⁾ことから、尿酸部分から獲物のDNAを検出することは困難であると考えられてきました。

しかし、分析結果では17種の獲物が検出され(表1)、既存の知見とは異なる結果が得られました。さらに巢内採取と地上採取の糞において、検出種数に有意差が認められなかったことから、地上に落ちている糞(尿酸)でも獲物のDNA検出に有効であることが明らかになりました。



図3 採取された糞(尿酸)

表1 糞(尿酸)から検出された獲物

No.	種名	巢内	地上
1	ヒミズ	○	○
2	ミズラモグラ	○	
3	アズマモグラ	○	○
4	コウベモグラ		○
5	ノウサギ	○	
6	ニホンリス	○	○
7	ムササビ	○	○
8	アカネズミ		○
9	タヌキ		○
10	ニホンイタチ	○	
11	アナグマ	○	○
12	イノシシ		○
13	ニホンジカ	○	○
14	アオバト		○
15	ツツドリ or カッコウ ^{※2}		○
16	アオゲラ	○	
17	カケス		○
合計	17種	10種	13種

※2 ツツドリorカッコウについては、本検討での分析領域において両種間に塩基配列の違いがないため、種の識別はできませんでした。

(2)古巣からのDNA検出

2年前に繁殖成功した古巣の巣材についても採取・分析したところ、5種の獲物が検出され、検出種として、アズマモグラ、コウベモグラおよびイノシシが含まれていました。これらの種は自ら営巣木を登ってクマタカの巣に入ることはできないため、約2年間、獲物のDNAが古巣の巣材に残っていた可能性が考えられました。

新たなサンプリング対象の提案

今回のサンプリング対象のうち、巣材では獲物のDNAを網羅的に検出でき、巢内育雛期を通して運ばれてきた獲物を把握することができます。一般的に抱卵期～巢内育雛期前期に巣に近づくことは営巣活動への影響が大きいので避けるべきですが、巢内育雛期の後期または雛の巣立ち後にサンプリングすることにより、営巣活動に対する人の影響を低減・回避することができます。ペリットおよび糞については、巣材ほどの網羅性はないものの、地上で採取が可能であり、短時間かつ簡易に行うことができるメリットがあります。

これまで鳥類のペリットや糞(尿酸以外)からDNAを抽出して獲物の種類を分析した事例はありましたが、巣材や糞(尿酸)を対象としたものは先行事例がないため、新たなサンプリング対象であるといえます。

おわりに

猛禽類の主な獲物の種類は文献等に情報がありますが、環境影響評価では、その対象地域に生息する獲物を把握したうえで評価することが重要です。クマタカをはじめとする森林性の猛禽類の獲物を現地調査で目視確認できる機会は極めて少ない状況にあります。今回の検討により、DNAメタバーコーディング法が、クマタカの食性を明らかにするツールとして有効であることが明らかとなりました。クマタカ以外の猛禽類にも適用可能な方法であることから、今後も本手法を活用して地域の生態系評価の精度向上につなげていきたいと考えています。

[引用文献]

- 1) Ushio M et al. (2017). Environmental DNA enables detection of terrestrial mammals from forest pond water. *Molecular Ecology Resources*, 17(6), e63–e75.
- 2) 小村ら (2020) 動物食性動物を対象とした食性解析手法. *日本生態学会誌*70:91–102
- 3) Oehm J et al. (2017) Diet analysis in piscivorous birds: What can the addition of molecular tools offer? *Ecology and Evolution*, 7:1984–1995