

私立大学研究ブランディング事業  
「瀬戸内海 しまなみ沿岸生態系に眠る多面的機能の解明と産業支援・教育」  
①-1 生態系 2017年度進捗報告

1. テーマ ①-1 生態系

テーマ①：藻場・干潟生態系解明 環境 DNA 分析に用いる次世代シーケンサーおよびリアルタイム PCR 装置を新規導入し設置する。また、生物の入った水槽や野外の環境水から DNA を取り出し、環境 DNA 分析の予備調査を行う。バイオロギングでは、芸予諸島周辺海域の干潟におけるナルトビエイ等の行動を追跡し、アサリの食害への関与を調査する。また、バイオロギングなどの手法から海面温度や海流・海上風などの物理データを測定する。

2. 研究目的

【担当：佐藤 淳】

「瀬戸内の里山の哺乳類を対象とした  
DNA メタバーコーディング法による食性分析」

哺乳類の糞を対象とし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を行い、採餌動植物を明らかにすることで、里山生態系における食物網の一端を明らかにする。まずは、その手法を小型哺乳類であるネズミを対象に確立することを第一の目的とする（課題-1）。その後、中国地方、および瀬戸内海芸予諸島の里山生態系に生息するアカネズミ *Apodemus speciosus*（齧歯目ネズミ科；課題-2）やニホンテン *Martes melampus*（食肉目イタチ科；課題-3）を対象に、確立した手法を応用し、これらの哺乳類が関わる食物網の一部の解明を目指す。また、アカネズミやニホンテンの里山生態系における生態的役割を明らかにする。さらに、課題-2においては、地域の特色である島嶼構造がアカネズミの食性の多様化に与えた影響を推定する。課題-3においては、瀬戸内の里山のモデルとなる福山大学キャンパスに生息するニホンテンの食性の分析結果から、人の活動域における人と野生哺乳類との共生に関する新しい知見を得ることを研究目的とする。

【担当：渡辺 伸一】

「バイオロギングを用いた瀬戸内に生息する動物の行動生態学的研究」

河川、干潟、海洋、島の各生態系における高次消費者の移動パターンを研究する。節足動物（カブトガニ）、魚類（クロダイ、ナルトビエイ）、鳥類（オオミズナギドリ、アマツバメ）、哺乳類（スナメリ）とさまざまな分類群を対象に研究する。いずれも各生態系で重要な役割を担っていることが予想される種である。多くは、季節的あるいは生活史の段階に応じて、各生態系を行き来する。たとえば、カブトガニは干潟生態系で幼生期を過ごす、成長と共に海洋生態系へと生息地を広げる。こうした高次消費者の移動を調査し、時間的・空間的利用パターン（ニッチ）から、各生態系に与える影響と生態系間の関連性について評価する。

### 3. 研究成果

#### 3-1. 【担当：佐藤 淳】

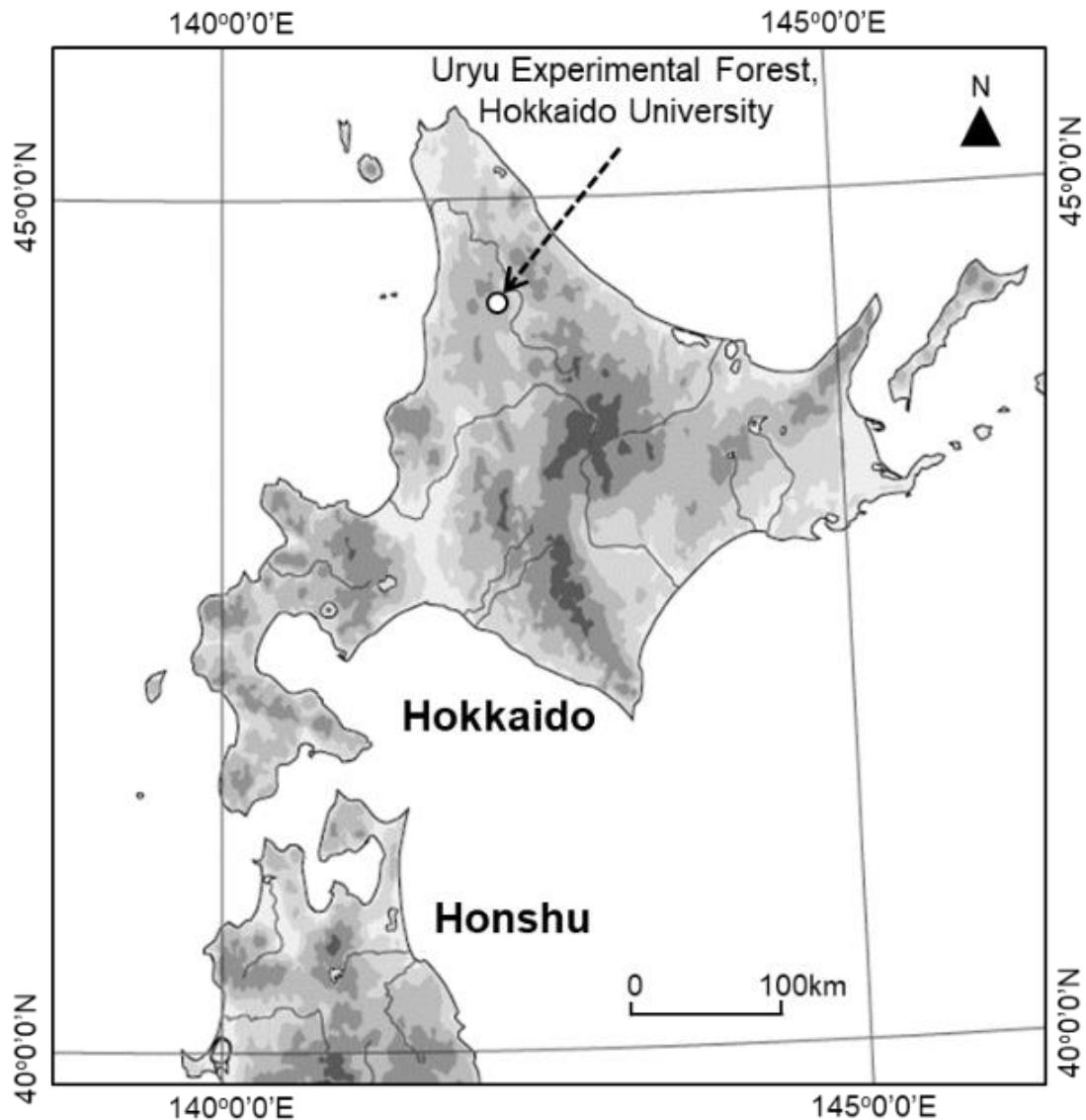
##### （1）次世代シーケンサーを用いた DNA メタバーコーディング法の確立

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の確立のために、日本固有種であり、日本の森林生態系の代表的な種であるヒメネズミ *Apodemus argenteus*（齧歯目ネズミ科）とアカネズミの糞を対象に、その内容物を調査した。本研究では、北海道大学雨龍研究林内（図 1；北緯 44° 03-29'、東経 142° 1-20'）で同所的に生息する上記 2 種をモデルとして、本手法が 2 種の生態的な違いを検出することができるかどうかを試験した。

ヒメネズミ 49 個体とアカネズミ 43 個体の糞よりフェノール・クロロホルム法を用いて DNA を抽出し、両種の植物食性を分析するために、葉緑体ゲノムの一部である *trnL* (UAA) intron P6 loop 領域を対象に PCR を行った。その際に、PCR プライマーには個体識別のためのインデックスと、その後のエマルジョン PCR、および次世代シーケンサーを利用するために必要なアダプターを付加した。引き続き、Ion OneTouch™ 2 を用いたエマルジョン PCR、Ion OneTouch™ ES を用いたエマルジョン PCR 産物の濃縮、を Ion PGM™ を用いた DNA 塩基配列の決定を行った。DNA 塩基配列の取得後、ソフトウェア Claident を用いて、キメラ配列およびリード数 10 以下の信頼性の低い配列を分析から除いたところ、51 配列を取得することができた。平均長は 59 bp（50-60 bp）であった。BLAST 検索により 51 配列の分類群を調査した結果、4 配列はネズミを採集するために餌として使ったオーツ麦 (*Avena sativa*) と一致したため分析から除いた。同様に、3 配列はもう一つの餌であるヒマワリ (*Helianthus annuus*) であったため分析から除いた。最終的に、ヒメネズミとアカネズミの糞中に含まれる DNA 塩基配

列については、8,766 リードおよび6,489 リードをそれぞれ分析に使用した。平均的には、ヒメネズミは1個体あたり3.0 植物分類群 (0 - 8)、アカネズミは1.4 植物分類群 (0 - 5) を食していることが判明した。

BLAST 検索により得られた51配列のうち、2配列を種、16配列を属、33配列



を科に同定した。その後、雨龍研究林の植生情報（ローカルデータベース）と照合することで、植物分類群を絞り込んだ（下表）。

以上の結果を科レベルでまとめた図が以下の図である (A: ヒメネズミの食性、B: アカネズミの食性)。得られた初期情報はリード数であるが、リード数は、糞中に含まれる植物種の量、組織による葉緑体の数および DNA コピー数の違い、プライマーのミスマッチ等による PCR 効率、バイオインフォマティクスの手法により影響を受けることが知られおり、結果にバイアスがかかる可能性があるため、リード数のデータを在不在のデータ (0/1 データ) に変換して図を作成し

た。リード数を加味した結果は後述する。

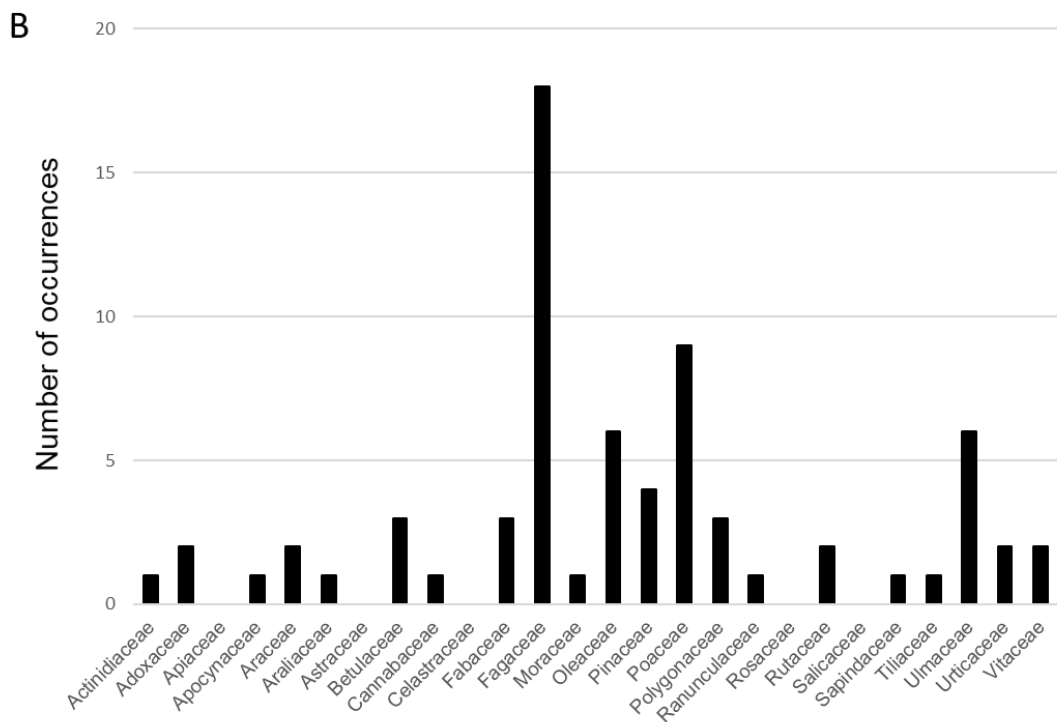
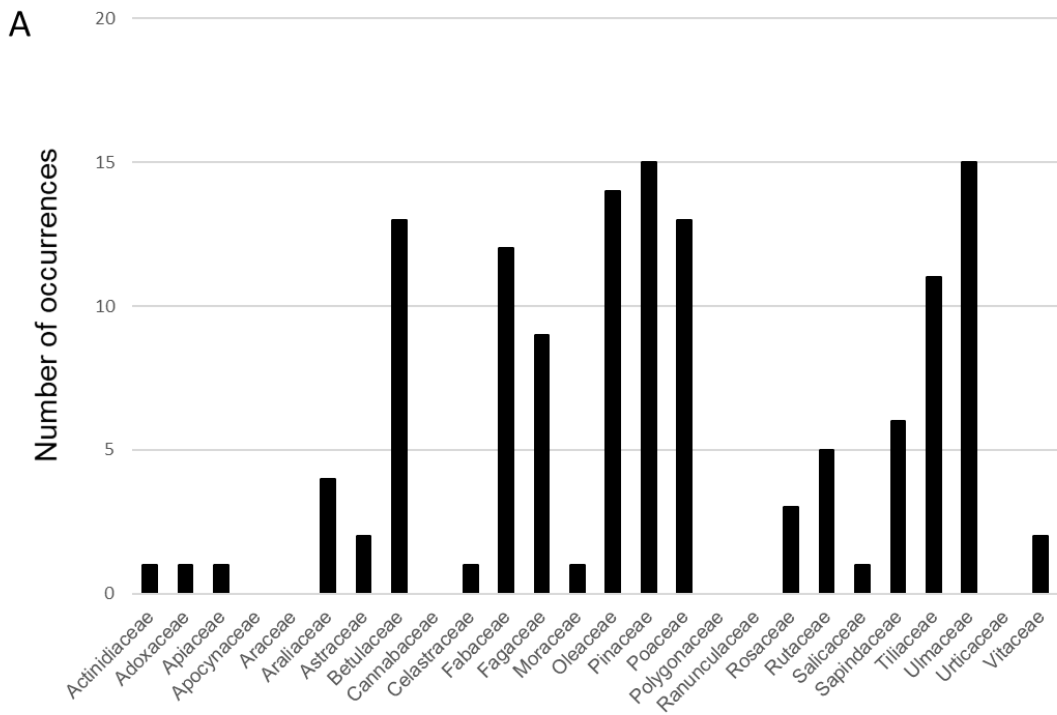
ヒメネズミの食性				
Family	Reads	family	< genus	Taxa below the genus level <sup>4</sup>
Actinidiaceae	30	0	1	<i>Actinidia</i> sp.
Adoxaceae	12	0	1	<i>Viburnum</i> sp.
Apiaceae	14	1	0	
Apocynaceae		0	0	
Araceae	0	0	0	
Araliaceae	88	4	0	
Asteraceae	34	0	2	<i>Cirsium kamschaticum</i> (2)
Betulaceae	951	10	3	<i>Alnus</i> sp. (3)
Cannabaceae	0	0	0	
Celastraceae	28	0	1	<i>Euonymus</i> sp. (1)
Fabaceae	353	12	0	
Fagaceae	598	0	9	<i>Quercus crispula</i> (9)
Moraceae	48	0	1	<i>Morus australis</i> (1)
Oleaceae	732	0	14	<i>Fraxinus mandshurica</i> (14)
Pinaceae	1431	0	15	<i>Abies sachalinensis</i> (15)
Poaceae	625	8	5	<i>Sasa</i> sp. (5)
Polygonaceae	0	0	0	
Ranunculaceae	0	0	0	
Rosaceae	141	2	1	<i>Prunus</i> sp. (1)
Rutaceae	1247	0	5	<i>Phellodendron amurense</i> (5)
Salicaceae	22	1	0	
Sapindaceae	262	0	6	<i>Acer</i> sp. (6)
Tiliaceae	1225	0	11	<i>Tilia</i> sp. (11)
Ulmaceae	899	0	15	<i>Ulmus</i> sp. (15)
Urticaceae	0	0	0	
Vitaceae	26	0	2	<i>Vitis coignetiae</i> (2)

アカネズミの食性				
----------	--	--	--	--

Family	Reads	family	< genus	Taxa below the genus level <sup>4</sup>
Actinidiaceae	88	0	1	<i>Actinidia</i> sp.
Adoxaceae	36	1	1	<i>Viburnum</i> sp.
Apiaceae	0	0	0	
Apocynaceae	19	0	1	<i>Cynanchum caudatum</i>
Araceae	191	0	2	<i>Lysichiton camtschatcensis</i> (2)
Araliaceae	18	1	0	
Asteraceae	0	0	0	
Betulaceae	87	2	1	<i>Alnus</i> sp. (1)
Cannabaceae	256	1	0	
Celastraceae	0	0	0	
Fabaceae	40	3	0	
Fagaceae	3622	0	18	<i>Quercus crispula</i> (18)
Moraceae	19	0	1	<i>Morus australis</i> (1)
Oleaceae	193	0	6	<i>Fraxinus mandshurica</i> (6)
Pinaceae	120	0	4	<i>Picea</i> sp. (1), <i>Abies sachalinensis</i> (3)
Poaceae	122	6	3	<i>Sasa</i> sp. (2), <i>Phleum pratense</i> (1)
Polygonaceae	206	3	0	
Ranunculaceae	21	0	1	<i>Anemone</i> sp. (1)
Rosaceae	0	0	0	
Rutaceae	173	0	2	<i>Phellodendron amurense</i> (2)
Salicaceae	0	0	0	
Sapindaceae	23	0	1	<i>Acer</i> sp. (1)
Tiliaceae	17	0	1	<i>Tilia</i> sp. (1)
Ulmaceae	335	0	6	<i>Ulmus</i> sp. (6)
Urticaceae	781	0	2	<i>Laportea bulbifera</i> (2)
Vitaceae	122	0	2	<i>Vitis coignetiae</i> (2)

図から両種ともに Fagaceae(ブナ科)の植物への依存が大きいことがわかる。本調査地にはブナ科の植物としてミズナラ (*Quercus crispula*) のみが知られていることから、おそらくはミズナラの堅果(ドングリ)を食べたものと思われる。一方で、堅果への依存はヒメネズミ (43 個体中 9 個体) よりもアカネズミ (49 個体中 18 個体) の方で強い結果となった。このことは、アカネズミが、堅果に含まれる植物の 2 次代謝産物であるタンニン (フェノール化合物) に対して、よ

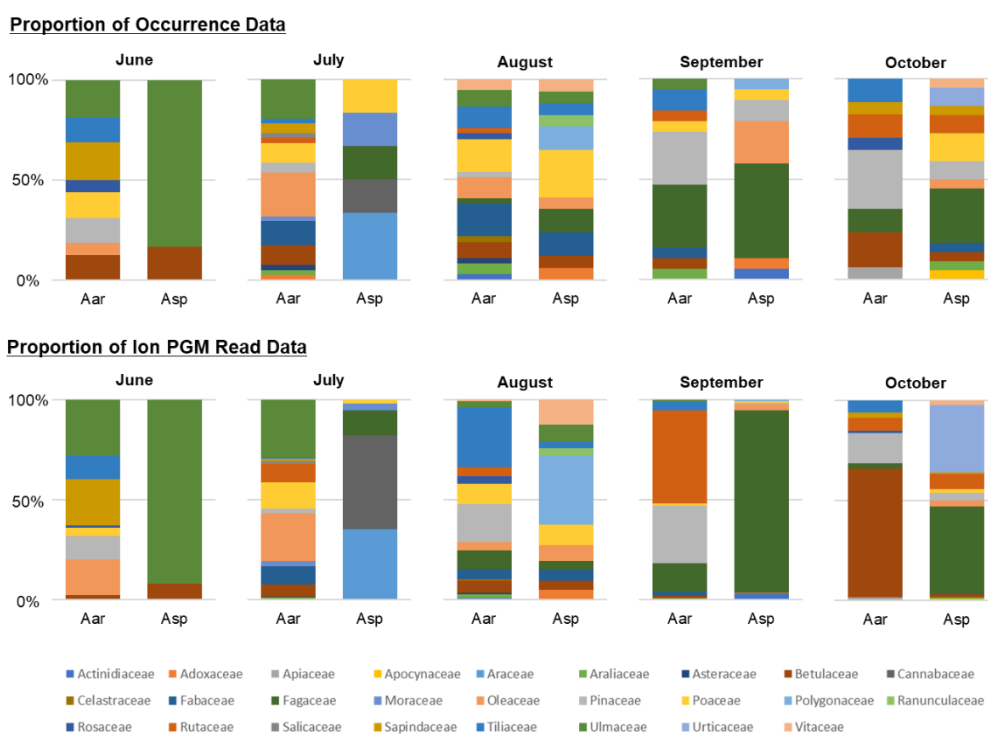
り強い耐性があることと、同調査地において、アカネズミが年による堅果の豊凶パターンと一致した個体群の変動を示す一方で、ヒメネズミはその傾向を示さないという過去の個体群生態学に関する知見と一致する。上図の結果から、アカネズミはミズナラへの依存が強く、独占的であるのに対して (B)、ヒメネズミは、他の植物種への依存を示す (A)。特に、高木植物種を食する傾向にある。例えば、



カバノキ科 (Betulaceae)、モクセイ科 (Oleaceae)、マツ科 (Pinaceae)、シナノキ科 (Tiliaceae)、ニレ科 (Ulmaceae) は高木分類群である。このことは、ヒメネズミが、半樹上性のネズミであり、アカネズミと比較して木登りを得意とする生態学的特性と一致する。

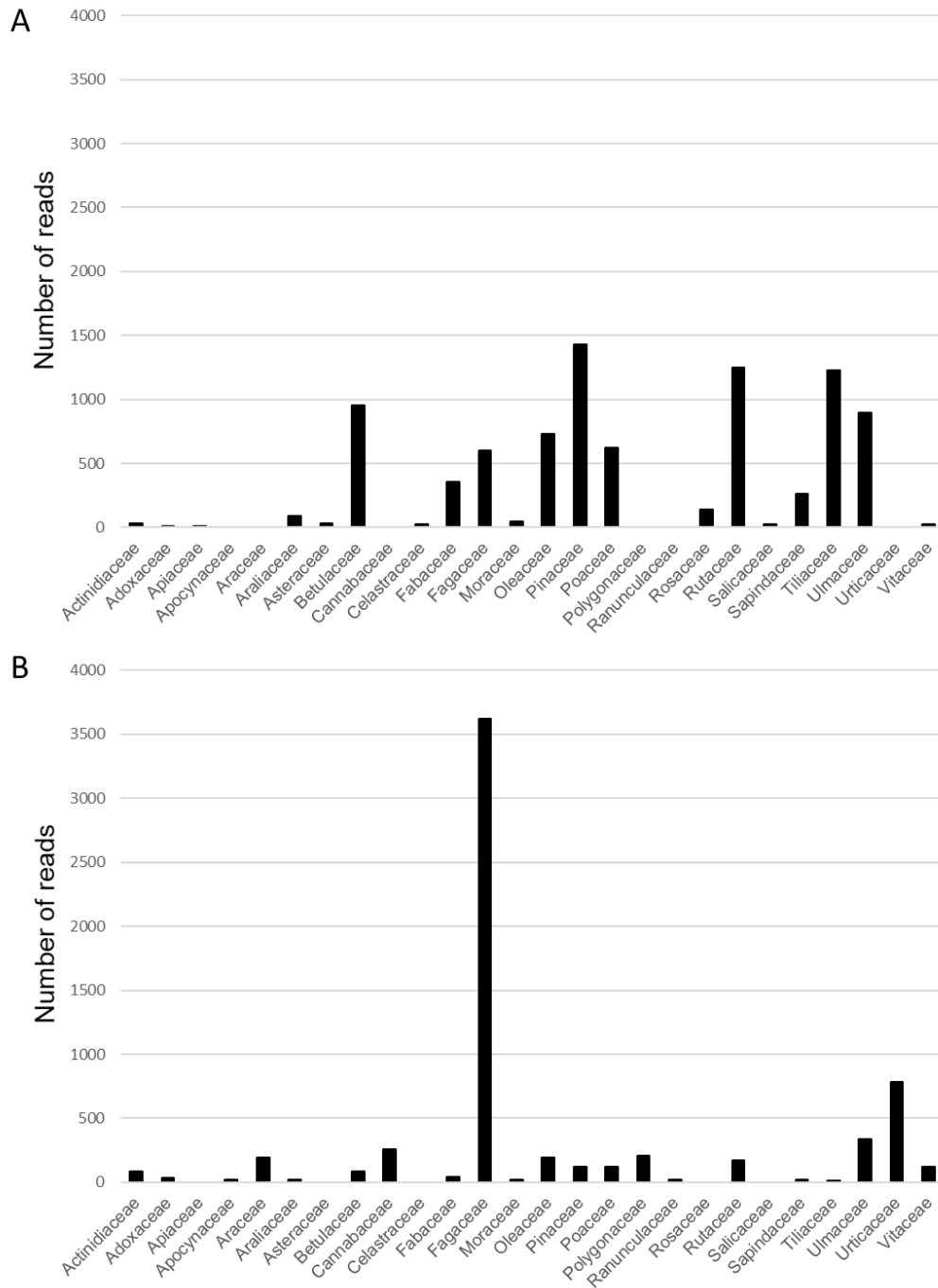
以下の図は、リード数を加味したヒメネズミ (A) とアカネズミ (B) の植物食性図であるが、アカネズミの堅果への依存やヒメネズミの他の高木種への依存の点で、在不在データと一致した。ただし、リード数データは、1 個体が非常に多くの量の植物種を食べた場合に、主要な食性とみなしてしまう危険性があることを確認することができた。例えば、ヒメネズミの 1 個体がミカン科 (Rutaceae) の 70% のリードを占めており、また、アカネズミの 1 個体がイラクサ科 (Urticaceae) の 98% のリードを占めていることから、リード数では主要な食性として示されている点において在不在データとは異なる。しかしながら、おおむねリード数を用いることで、在不在データと一致する結論が得られることを確認した。

下図に、季節的な食性の変動についての分析結果を示す。上段が在不在デー

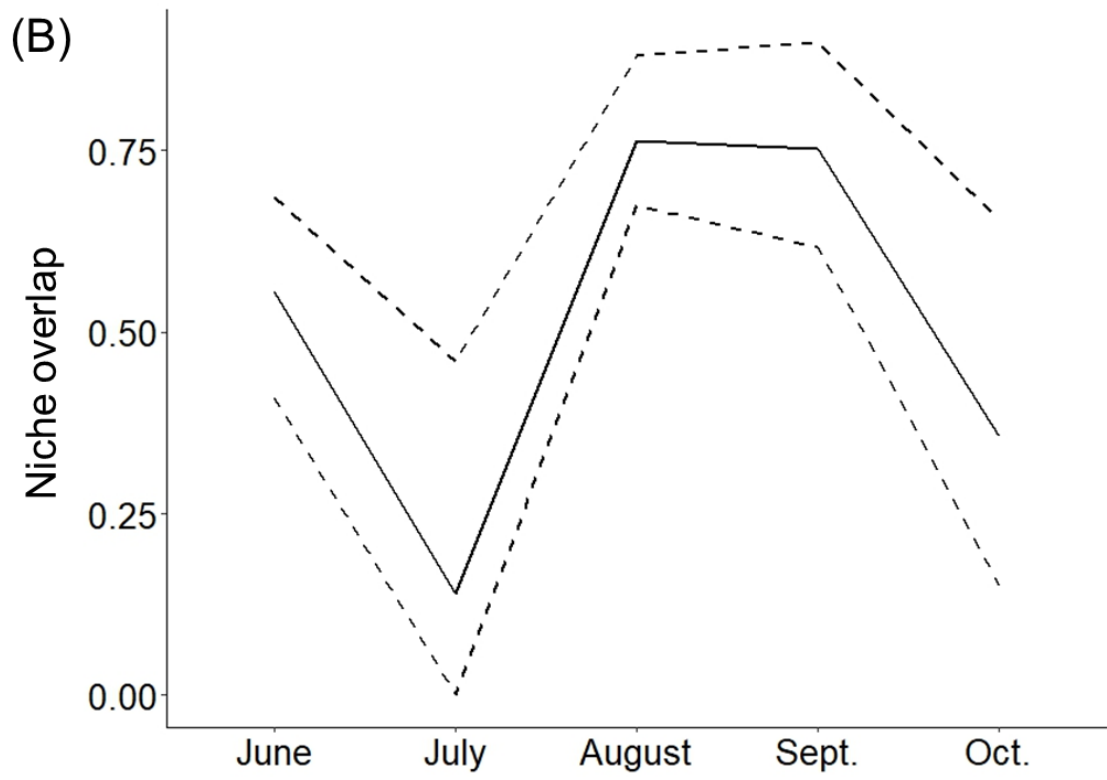
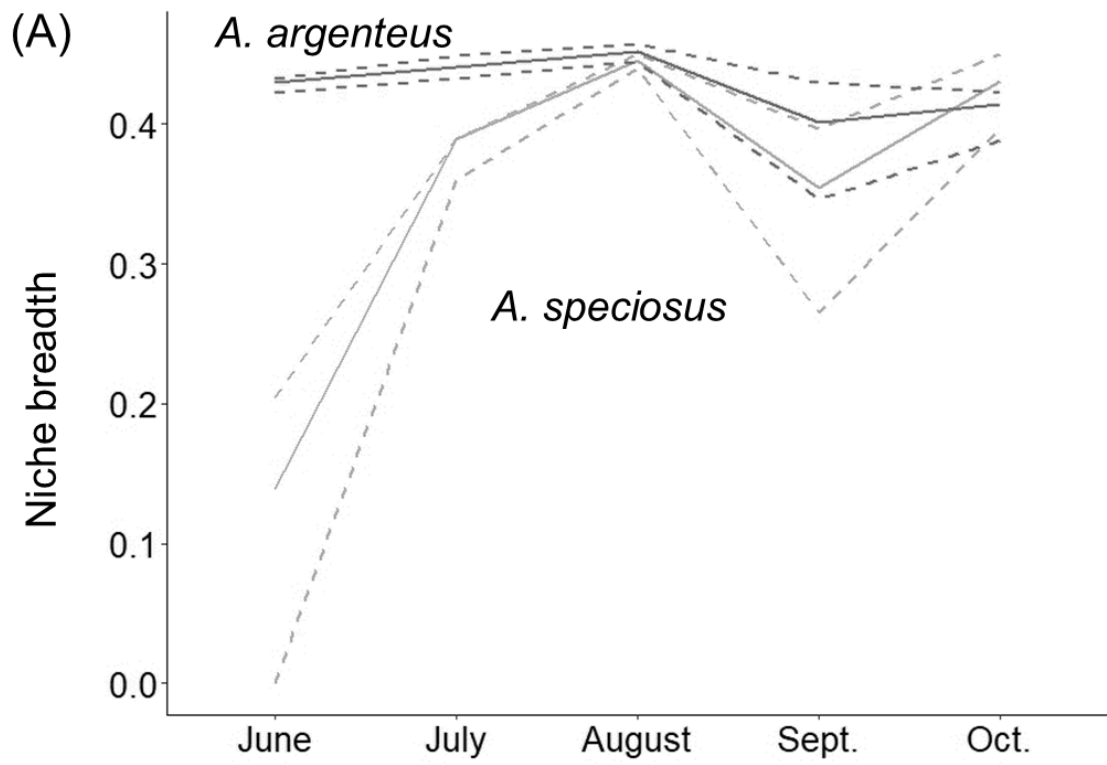


タ、下段がリード数を加味したデータとなる。Aar はヒメネズミ (*Apodemus argenteus*)、Asp はアカネズミ (*Apodemus speciosus*) を示す。両種ともに季節によって食性の変動していることがわかる。この図において、リードデータにおける 9 月のヒメネズミのミカン科 (Rutaceae) と、アカネズミのイラクサ科 (Urticaceae) の割合が在不在データと比較して高いことが示されているが、これは上述の通り、1 個体の影響である。

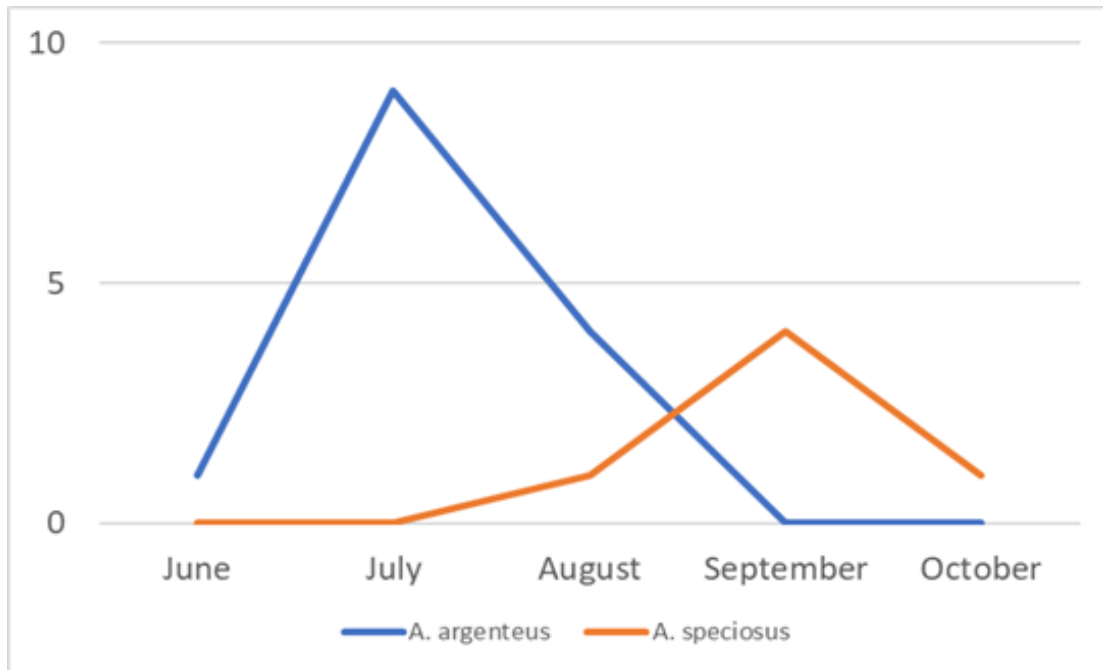
これらのヒメネズミとアカネズミの食性の季節変化を、ラオのニッチ幅とピアンカのニッチ重複を用いて表したのが下図である。ヒメネズミは季節を通してニッチ幅が大きく変動しない一方で、アカネズミのニッチ幅には、春から秋にかけて増加する傾向がみられた。両種のニッチ重複は8月と9月に最大となった。全体的に食性の違いはあるものの、ヒメネズミとアカネズミの食性は科レベルでは有意な違いは見られなかった。







季節変動について、特筆すべき点はモクセイ科 (Oleaceae) である。下図に示すように、ヒメネズミは7月をピークとし、アカネズミは9月をピークとする。ローカルデータベースとの照合により、本調査地のモクセイ科の植物は、ヤチダモ (*Fraxinus mandshurica*) であることが判明した (上の表)。過去の知見により、ヤチダモの種子はミズナラと同様にタンニン量が多いことが知られている。アカネズミが種子の生産される秋にヤチダモを食べていることは、タンニン耐性の強い本種の特徴と一致する。

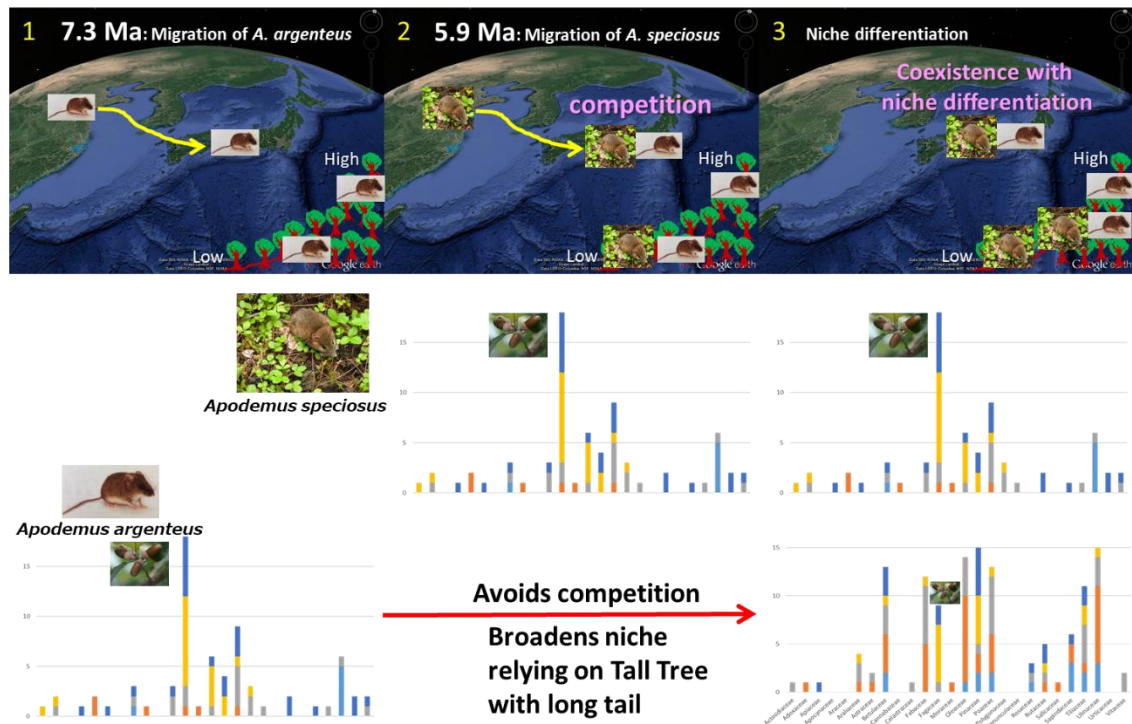


本研究により、次世代シーケンサーを用いたネズミの食性を分析する手法を確立した。本手法が日本の哺乳類に応用されたのは初めてのことである。本手法により、ヒメネズミとアカネズミの食性の違いが示され、両種はニッチの分割をしていることが示唆された。過去の生態学的な研究によると、体サイズの大きなアカネズミは、ヒメネズミに対して競争において優勢となることが知られている。おそらく、堅果をめぐる競争の中で、劣勢のヒメネズミは、他の植物種への依存を強めていったのではないかと推察される。

進化的には、アカネズミよりもヒメネズミの起源の方が古いことが知られている (下図)。日本列島では両種は同所的に生息すると記載されるが、ヒメネズミがより高い山地に生息し、アカネズミが里山に近い低地に生息域を持つことが知られている。本研究による食性の結果に基づいて考察すると、日本列島に最初にやってきたヒメネズミは堅果に依存しており、その後、アカネズミがやってきたことにより競争が起き、ヒメネズミが競争を避けるために堅果以外の植物種に依存するようになるのと同時に、山地側に分布域を移動していったと推察される。

いう仮説が可能である。今後、この仮説を検証するためには、日本列島全域において、ヒメネズミとアカネズミの食性の違いを調査する必要がある。

## Speculation?



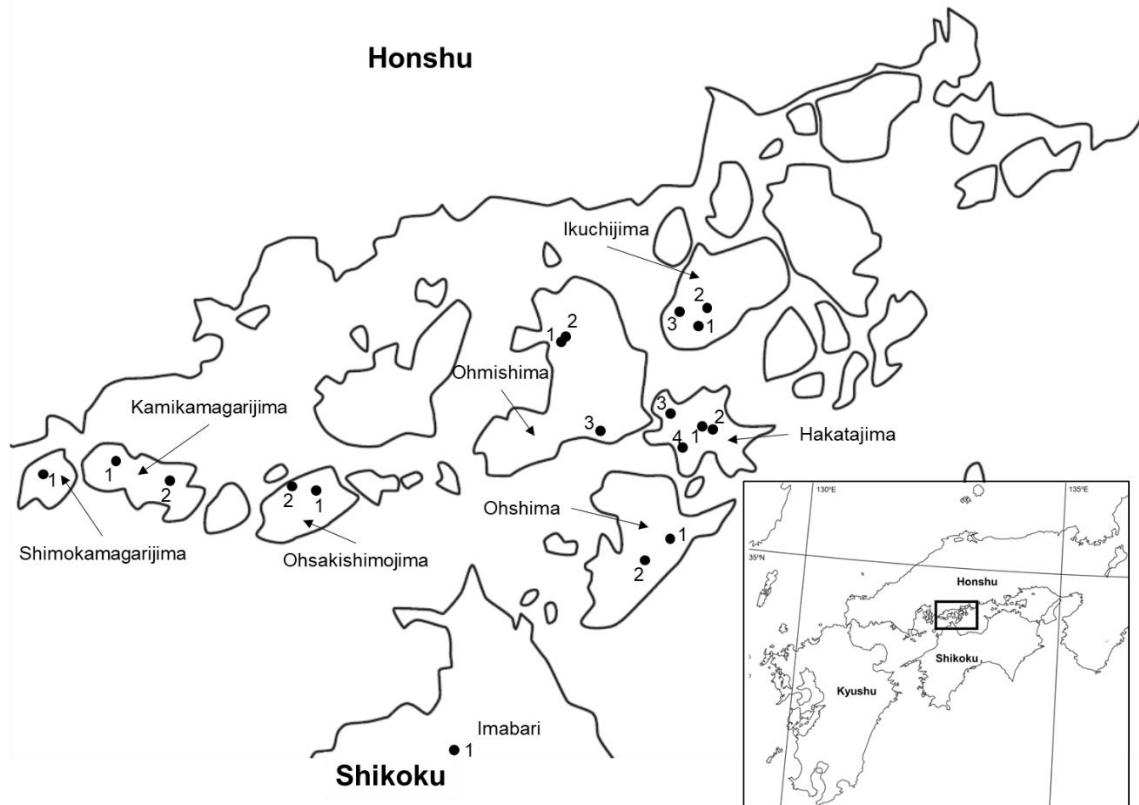
現在、上記の研究成果を、以下の通り、Journal of Mammalogy に投稿中であり、Major Revision の裁定を受け、その後、改定原稿を投稿中である。

Sato JJ, Shimada T, Kyogoku D, Komura T, Uemura S, Saitoh T, and Isagi Y (2018) Dietary niche partitioning between sympatric wood mouse species (Muridae: *Apodemus*) revealed by DNA meta-barcoding analysis. Journal of Mammalogy (投稿中)

### (2) 瀬戸内海島嶼アカネズミの食性分析

前節で確立した手法を用いて、瀬戸内海島嶼に生息するアカネズミの食性を分析することで、本地域のアカネズミの生態的な役割を探るとともに、島による隔離が食性に与える影響について調査した。下図の7島から、アカネズミ88個体分の糞サンプルを収集し、前節と同じ手法によりフェノール・クロロホ

ルム法による DNA 抽出、PCR、IonPGM 実験系による DNA 塩基配列の決定を順次行った。前節では、植物種のみを対象としたが、本研究では、植物種に加えて動物種の検出を試みるために、葉緑体 DNA である trnL 領域とともにミトコンドリアゲノムの中から CO1 領域をターゲット領域とした DNA バーコードマーカーを用いた。次世代シーケンサーによる食性分析の一つの弱点として、得られる DNA 塩基配列が短いことによる分類群同定率の低さが挙げられる。そこ



で、本研究では、サンガー法を用いて、より長い断片の DNA 塩基配列の決定も試みた。

データ分析の手法も前節と同じであり、ソフトウェア Cleident を用いてデータを処理した後、BLAST 検索を行った。得られた DNA 塩基配列の中から、餌として用いたオーツ麦 (*Avena sativa*) に相当する配列を分析から除いた。trnL 領域については、89 個の DNA 塩基配列が得られた。平均長は 59.5 bp (54-60 bp) であった。その内、4 配列がオーツ麦であった。89 配列の内、14 配列を種、32 配列を属、43 配列を科に同定した。以下の表に結果を示す。

アカネズミの植物食性	
Family	Identified genera <sup>1</sup>
Anacardiaceae	<i>Rhus</i> (1), <i>Toxicodendron</i> (14)
Apiaceae	<i>Aegopodium</i> (2), <i>Osmorhiza</i> (3)
Aquifoliaceae	<i>Ilex</i> (4)
Araliaceae	UIS <sup>2</sup> (19)
Asteraceae	UIS <sup>2</sup> (1)
Betulaceae	<i>Alnus</i> (9)
Cannabaceae	<i>Aphananthe</i> (11), <i>Celtis</i> (9)
Caprifoliaceae	<i>Lonicera</i> (2)
Caryophyllaceae	UIS <sup>2</sup> (9)
Celastraceae	UIS <sup>2</sup> (1)
Convolvulaceae	UIS <sup>2</sup> (2)
Cupressaceae	<i>Cryptomeria</i> (12), <i>Juniperus</i> (2), UIS <sup>2</sup> (1)
Elaeagnaceae	<i>Elaeagnus</i> (11)
Ericaceae	<i>Rhododendron</i> (1)
Euphorbiaceae	UIS <sup>2</sup> (3)
Fabaceae	<i>Glycine</i> (1), <i>Leucomphalos</i> (1), <i>Pueraria</i> (3), <i>Robinia</i> (6), UIS <sup>2</sup> 1 (2), UIS <sup>2</sup> 2 (6)
Fagaceae	<i>Castanea</i> (1), <i>Quercus</i> (33)
Juglandaceae	<i>Platycarya</i> (1)
Juncaceae	<i>Luzula</i> (1)
Lardizabalaceae	UIS <sup>2</sup> (20)
Lauraceae	UIS <sup>2</sup> (12)
Moraceae	UIS <sup>2</sup> (1)
Musaceae	UIS <sup>2</sup> (1)
Myricaceae	UIS <sup>2</sup> (3)
Oleaceae	<i>Ligustrum</i> (3)
Osmundaceae	<i>Osmunda</i> (1)
Pentaphragmalaceae/ Theaceae	UIS <sup>2</sup> (6)
Pinaceae	UIS <sup>2</sup> 1 (2), UIS <sup>2</sup> 2 (1)
Plantaginaceae	<i>Veronica</i> (3)

Poaceae	UIS <sup>2</sup> 1 (1), UIS <sup>2</sup> 2 (6), UIS <sup>2</sup> 3 (4), UIS <sup>2</sup> 4 (4)
Pontederiaceae	<i>Pontederia</i> (1)
Ranunculaceae	UIS <sup>2</sup> 1 (1), UIS <sup>2</sup> 2 (3)
Rosaceae	UIS <sup>2</sup> 1 (18), UIS <sup>2</sup> 2 (6), UIS <sup>2</sup> 3 (5)
Rubiaceae	UIS <sup>2</sup> 1(3), UIS <sup>2</sup> 2 (5)
Rutaceae	UIS <sup>2</sup> (5)
Sapindaceae	<i>Acer</i> (2)
Schisandraceae	<i>Illicium</i> (1), <i>Kadsura</i> (4)
Solanaceae	UIS <sup>2</sup> (2)
Theaceae	UIS <sup>2</sup> 1(9), UIS <sup>2</sup> 2 (1)
Ulmaceae	UIS <sup>2</sup> (8)
Violaceae	UIS <sup>2</sup> (1)
Vitaceae	UIS <sup>2</sup> (6)
1:カッコの中の数字は、その植物アイテムを食べたアカネズミの個体数	
2: Unidentified sequence	

C01 領域については、105 個の DNA 塩基配列が得られた。平均長は 151.8 bp (109-165 bp) であった。その中で、線虫と同定された配列はアカネズミの食物アイテムとはみなさずに分析から除去した。105 配列の内、70 配列を属あるいは種、25 配列を科まで同定した。残りの 10 配列は、上科、あるいは目のレベルで同定した。以下の表に結果を示す。

アカネズミの動物食性		
Order	Family (Superfamily)	Identified genera <sup>1</sup>
Coleoptera	Carabidae (Caraboidea)	<i>Carabus</i> (2), <i>Calathus</i> (1), <i>Scarites</i> (1), Carabidae sp. (2)
Coleoptera	Curculionidae (Curculionoidea)	<i>Hypera</i> (1)
Coleoptera	Hydrophilidae (Hydrophiloidea)	<i>Hydrophilus</i> (3)
Coleoptera	Melolonthidae (Scarabaeoidea)	<i>Holotrichia</i> (1)
Diptera	Calliphoridae (Oestroidea)	<i>Calliphora</i> (1), <i>Lucilia</i> (2)
Diptera	Cecidomyiidae (Sciaroidea)	Cecidomyiidae sp. (5)
Diptera	Chironomidae (Chironomoidea)	<i>Tanytarsus</i> (1), <i>Cricotopus</i> (1), <i>Ablabesmyia</i> (1), <i>Procladius</i> (1), <i>Polypedilum</i> (1)

Diptera	Culicidae (Culicoidea)	<i>Culex</i> (1)
Diptera	Drosophilidae (Ephydroidea)	<i>Drosophila</i> (5), <i>Mycodrosophila</i> (1)
Diptera	Empididae (Empidoidea)	<i>Anthepiscopus</i> (1)
Diptera	Muscidae (Muscoidea)	<i>Coenosia</i> (2), <i>Neodexiopsis</i> (2)
Diptera	Phoridae (Platypezoidea)	<i>Megaselia</i> (1), Phoridae sp. (37)
Diptera	Psychodidae (Psychodoidea)	<i>Psychoda</i> (2), Psychodidae sp. (4)
Diptera	Rhagionidae (Rhagionoidea)	<i>Rhagio</i> (1)
Diptera	Sphaeroceridae (Sphaeroceroidea)	Sphaeroceridae sp. (1)
Diptera	Syrphidae (Syrphoidea)	<i>Eristalis</i> (1)
Diptera	Tabanidae (Tabanoidea)	<i>Hybomitra</i> (2)
Diptera	Tachinidae (Oestroidea)	<i>Athrycia</i> (1), <i>Avibrissosturmia</i> (2), <i>Belvosia</i> (1), <i>Eumea</i> (1), <i>Pales</i> (1), <i>Smidtia</i> (1), <i>Solieria</i> (1), Tachininae sp. (1)
Diptera	Tipulidae (Tipuloidea)	<i>Tipula</i> (2), Tipulidae sp. (1)
Diptera	Diptera sp. 1	UIS <sup>2</sup> (1)
Diptera	Diptera sp. 2	UIS <sup>2</sup> (1)
Hymenoptera	Apidae (Apoidea)	<i>Thyreus</i> (1)
Hymenoptera	Tenthredinidae (Tenthredinoidea)	<i>Claremontia</i> (1), <i>Nematus</i> (1)
Lepidoptera	Brahmaeidae (Bombycoidea)	<i>Brahmaea</i> (1)
Lepidoptera	Sphingidae (Bombycoidea)	<i>Cephonodes</i> (1)
Lepidoptera	Castniidae (Sesioidea)	<i>Synemon</i> (3)
Lepidoptera	Crambidae (Pyraloidea)	<i>Anydraula</i> (1), <i>Hydrillodes</i> (1), <i>Omiodes</i> (1)
Lepidoptera	Erebidae (Noctuoidea)	<i>Arctia</i> (1), <i>Amata</i> (2), <i>Phaeomolis</i> (4)
Lepidoptera	Noctuidae (Noctuoidea)	<i>Apamea</i> (1), <i>Arcte</i> (1), <i>Argyrosticta</i> (1), <i>Herminia</i> (1), <i>Hypocala</i> (1), <i>Lophozancla</i> (1), Noctuidae sp. (20), <i>Peridroma</i> (1), <i>Spodoptera</i> (1), <i>Xestia</i> (3), <i>Xylena</i> (4)

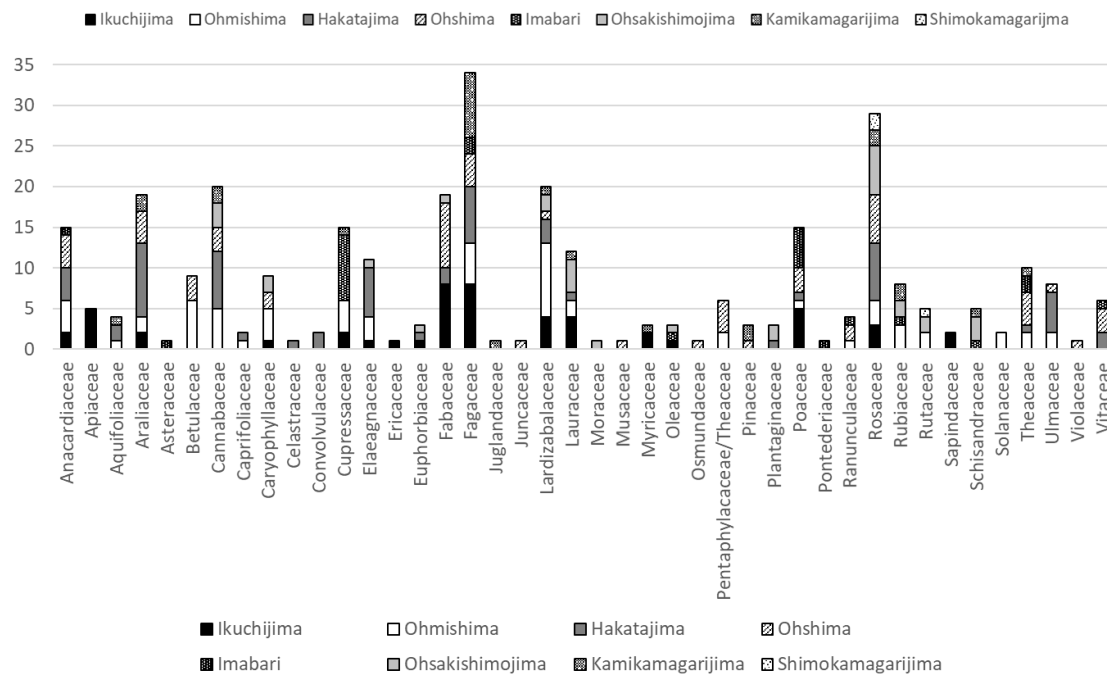
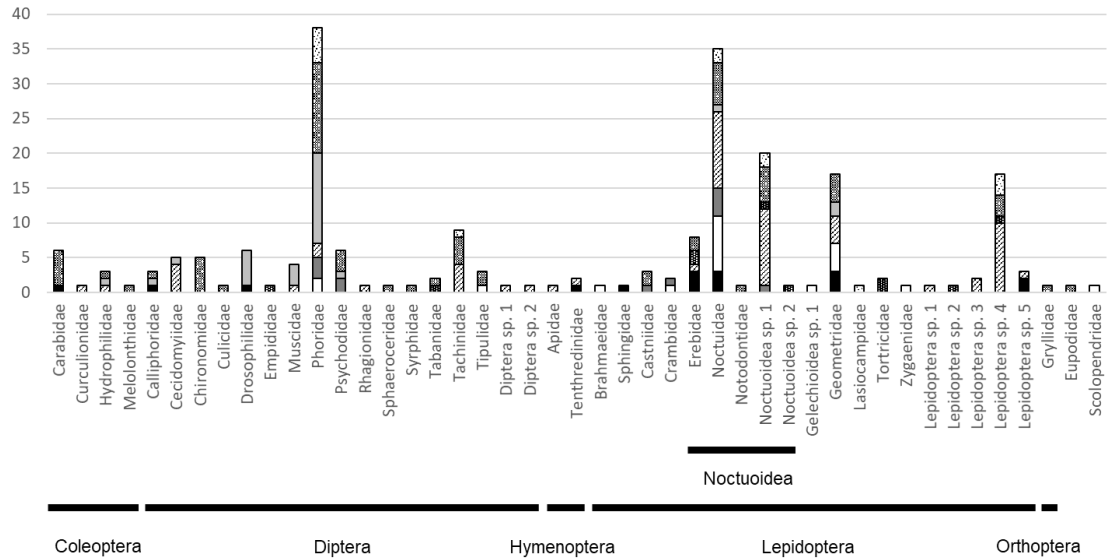
Lepidoptera	Notodontidae (Noctuoidea)	<i>Nystalea</i> (1)
Lepidoptera	Noctuoidea sp. 1	Noctuoidea sp. (20)
Lepidoptera	Noctuoidea sp. 2	Noctuoidea sp. (1)
Lepidoptera	Gelechioidea sp. 1	Gelechioidea sp. (1)
Lepidoptera	Geometridae (Geometroidea)	Geometridae sp. (11), <i>Jankowskia</i> (4), <i>Operophtera</i> (1), <i>Wilemania</i> (1)
Lepidoptera	Lasiocampidae (Lasiocampoidea)	<i>Malacosoma</i> (1)
Lepidoptera	Tortricidae (Tortricoidea)	<i>Thrincoptera</i> (2)
Lepidoptera	Zygaenidae (Zygaenoidea)	<i>Illiberis</i> (1)
Lepidoptera	Lepidoptera sp. 1	UIS <sup>2</sup> (1)
Lepidoptera	Lepidoptera sp. 2	UIS <sup>2</sup> (1)
Lepidoptera	Lepidoptera sp. 3	UIS <sup>2</sup> (2)
Lepidoptera	Lepidoptera sp. 4	UIS <sup>2</sup> (17)
Lepidoptera	Lepidoptera sp. 5	UIS <sup>2</sup> (3)
Orthoptera	Gryllidae	<i>Velarifictorus</i> (1)
Arachnida	Eupodidae	Eupodidae sp. (1)
Chilopoda	Scolopendridae	<i>Scolopendra</i> (1)
1:カッコの中の数字は、その植物アイテムを食べたアカネズミの個体数		
2: Unidentified sequence		

以上の結果を科レベルでまとめた図が以下の2つの図である。本研究では、リード数のデータを返還した存在のデータ (0/1 データ) のみを用いて分析を行った。

瀬戸内海島嶼のアカネズミの植物食性に関しては、前節の北海道のアカネズミと同様に、Fagaceae (ブナ科) の植物に強く依存していることがわかる (下図)。このことから、瀬戸内海島嶼のアカネズミも北海道と同様に堅果 (ドングリ) に依存することがわかり、種子散布者としての生態的な役割を持つことが示唆される。一方で、北海道のアカネズミがブナ科の植物を独占的に食していたことと比較して、瀬戸内海島嶼のアカネズミは多様な植物種に依存していることが明らかとなった。特に、Rosaceae (バラ科) の植物への依存が強いことが示唆された。次世代シーケンサーを用いた分析では種まで同定できなかったが、サンガー法を用いた分析により、このバラ科の植物は、クサイチゴ (*Rubus hirsutus*) あるいは近縁のキイチゴ属の植物であることが分かった (データは記載しない)。このように、北海道とは対照的に多様な植物食性



を持つに至った瀬戸内海島嶼のアカネズミであるが、その理由としては、瀬戸内は、北海道と比較して低緯度の温暖な地域にあり利用可能な植物相が多様であることを理由とするか、あるいは瀬戸内海島嶼にヒメネズミ（競合相手）が生息していないことが原因かなどが考えられる。



次に、動物食性に関してまとめたのが下図である。主要な動物食アイテムとして、ノミバエ科 (Phoridae) とヤガ上科 (Noctuoidea ; 特にヤガ科 Noctuidae) が検出された。しかし、ノミバエについては、体サイズが非常に小さいうえ、動物の糞を餌とする習性をもつことから、アカネズミの動物食ア

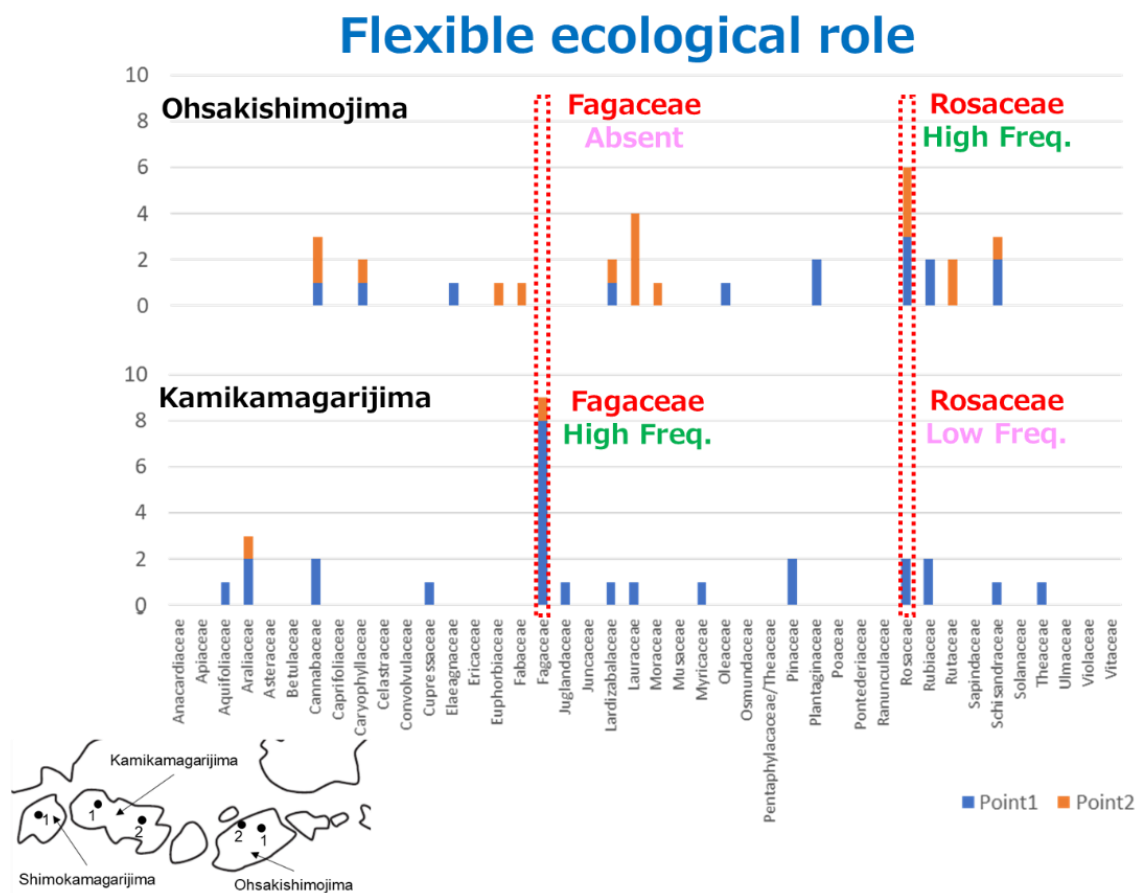
アイテムではない可能性が高い。ヤガ上科に属する蛾は、果実吸蛾類と呼ばれ、古くから果樹園被害の原因となってきた。ミカンやレモンなどの果樹を主要産業とし、果樹園が多く存在する瀬戸内海島嶼において、果樹園に近接する森林に生息するアカネズミが果実吸蛾類を餌として利用しているということは示唆的である。つまり、農業生態系において、アカネズミは農業被害を抑制する役割を持つと考えられる。これまで、LEDなどの照明器具を用いて、果実吸蛾類の被害を抑制する手法が採用されてきたが、「アカネズミの生息する森を維持する」という生物学的な農業被害抑制手法が効果的である可能性がある。

次に、瀬戸内海島嶼による隔離が島の生態系の分化に与えた影響を探った。アカネズミの植物、および動物食性を島ごとに調査したところ、近接する2島（大崎下島と上蒲刈島）における植物食性に違いがみられた（下図）。北海道でもみられたように、ブナ科（Fagaceae）の植物はアカネズミにとって主要な食物である。しかしながら、大崎下島においては、ブナ科の植物を食するアカネズミは1個体も見られなかった。その代わりに、バラ科（Rosaceae）の植物（クサイチゴ）を、8個体中6個体が食していた。一方で、上蒲刈島においては、分析した島のうち最も高い頻度で、アカネズミはブナ科の植物を利用していたが、バラ科の植物への依存は低頻度であり、クサイチゴについては餌として全く利用していなかった。このことは、アカネズミがそれぞれの島で異なる生態的役割を果たしている可能性を示唆する。今後、より分析サンプル数を増やすことでこの仮説を検証し、島の分断化が生態系に与えた影響を明らかにしたい。

本研究により、瀬戸内海島嶼におけるアカネズミの食性の概要、島嶼生態系におけるアカネズミの生態的役割、島による隔離がアカネズミの食性に与えた影響に関して新たな知見を得ることができた。その一方で、ローカルデータベースの不在や次世代シーケンサーのマーカールにおける情報量不足による低い種同定率などの問題が残った。今後、島嶼の動植物を対象として、DNAバーコードマーカールと同領域の塩基配列を決定することで、ローカルデータベースを構築することが重要である。また、多型的でより長い領域をターゲットとした種同定率の高いDNAバーコードマーカールの新規デザインが必要であると思われる。

現在、上記の研究成果を、以下の通り、Mammal Study に投稿中である。

Sato JJ, Kyogoku D, Komura T, Inamori C, Maeda K, Yamaguchi Y, and Isagi Y (2018) Diet flexibility and ecological roles of the large Japanese wood mouse *Apodemus speciosus* (Rodentia: Muridae) on Seto Inland Sea islands suggested from DNA meta-barcoding analyses. Mammal Study (投稿中)



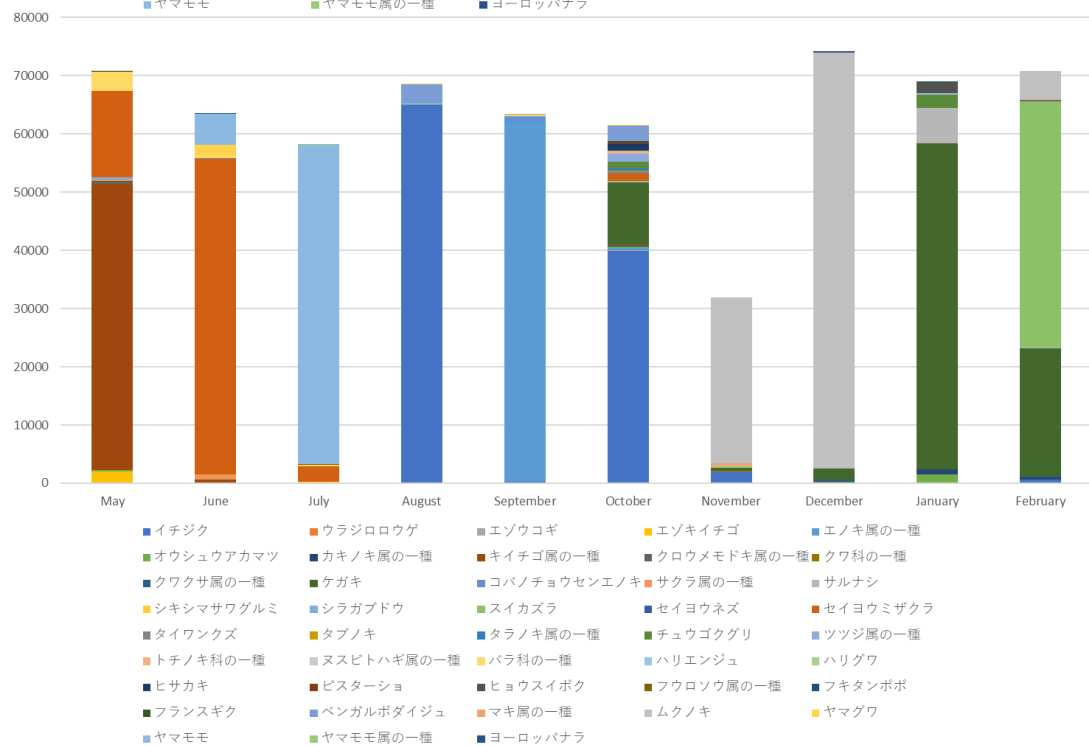
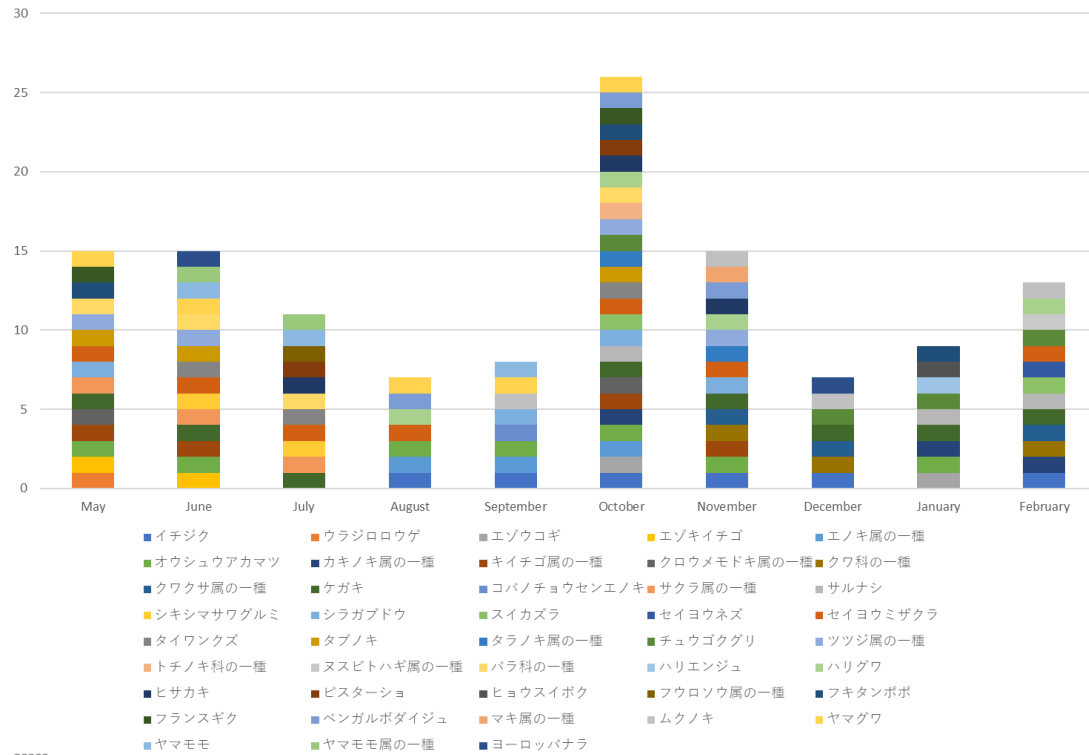
### (3) 福山大学キャンパス内に生息するニホンテンの食性分析

福山大学キャンパスは人の活動域と森林生態系との境界に存在することから、里山のモデルと捉えることができる。キャンパス内に出現する野生生物の餌ニッチを明らかにすることで、人と野生生物との共生のための新規の知見を得ることを目的としている。2016年4月から2017年2月にかけて、福山大学内で計105個の糞を採取し(右図)、*Cytb*、*Co1*、*Rbc1*の3つの遺伝子領域のDNAバーコーディング分析を行うことで、排糞した動物の種同定、サンガー法を用いた餌動物および餌植物の同定を行った。その結果、101個の糞の動物種の同定を行い、テンの出現頻度が最も高く87個(87/101, 86.1%)であった。食性分析では、ニホンテンの動・植物質の食性を調査した結果、季節による食性の変化をとらえた。以上が、昨年度までの成果である。



今年度は、昨年度と同サンプルを対象に、次世代シーケンサーを用いたDNAメタバーコーディングを採用することで、より詳細な食性の分析を行った。DNAバーコードマーカは、上述のアカネズミの研究でも使った

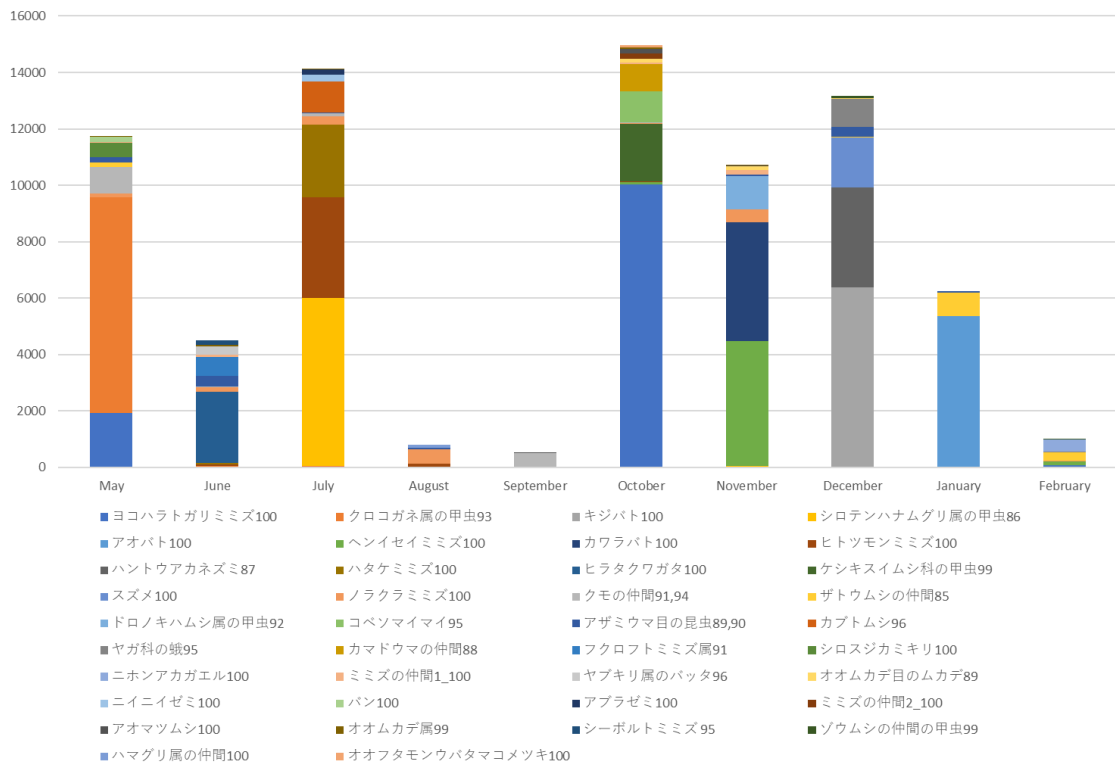
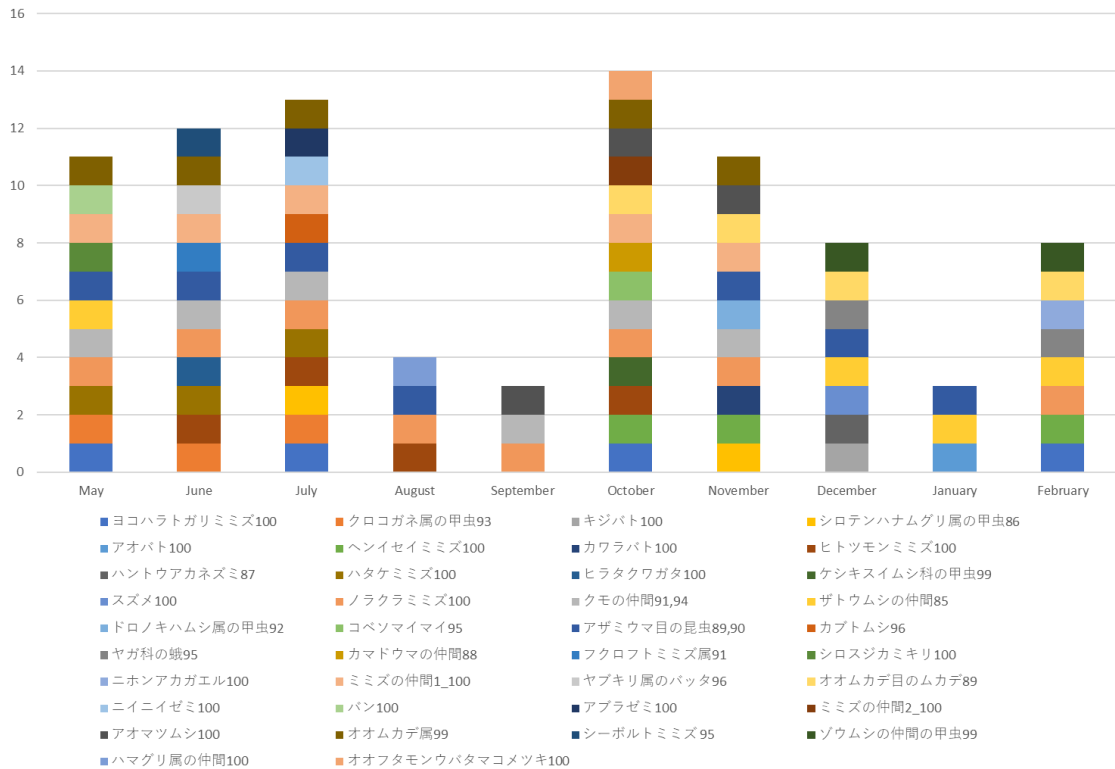
クエンサーの分析を行ったため、それぞれの食物アイテムを食したニホンテンの個体数に関する情報を得ることはできない。今回は、質的な情報として月ごとの分類群数を推定し、さらに量的な情報として、リード数に基づく月ごとの主要食物の概要の推定を行った。上述のアカネズミの分析と同様にBLAST検索により分類群の同定を行った。



以下の図は、葉緑体 trnL 領域の DNA 塩基配列に基づく、ニホンテンの植物食性に関する質的分析の結果である。分析に先立ちリード数が5月から2月までの10か月の合計100に満たないDNA塩基配列を分析から除いた。分析 trnL の平均長は49.6 bp (39-62 bp) であった。2016年5月から2017年2月まで、月別に利用した植物食アイテムを示す。8月と12月の多様性が最も低く7分類群であり、10月の多様性が最も高く26分類群であった。

次に、リード数に基づく量的情報について、同様に分析した結果が以下の図である。上図では、各月にニホンテンが多様な植物分類群を食していることが示唆されたが、リード情報によると、各月には独占的に利用される植物分類群が存在することが明らかとなった。5月にはキイチゴ属(バラ科)の1種とセイヨウミザクラ(バラ科)、6月にはセイヨウミザクラ、7月にはヤマモモ(ヤマモモ科)、8月と10月にはイチジク(クワ科)、9月にはエノキ属の1種(ニレ科)、11月と12月にはムクノキ(アサ科)、1月にはケガキ(カキノキ科)、2月にはケガキとスイカズラ(スイカズラ科)を主要な植物食とし、季節により植物食性が劇的に移り変わることが明らかとなった。

以下の図は、ミトコンドリア DNA COI 領域の DNA 塩基配列に基づく、ニホンテンの動物食性に関する質的分析の結果である。分析に先立ちリード数が5月から2月までの10か月の合計100に満たないDNA塩基配列を分析から除いた。また、BLAST検索により、ニホンテン(糞をした動物)とヒト(実験者等のコンタミネーション)と同定されたDNA塩基配列、細菌、菌類(キノコを含む)、原生生物等の微生物、環境サンプルに相当するDNA塩基配列、ニホンテンが積極的に食べたとは思えない動物(ハエ、アリ、チャタテムシ、トビムシ)を分析から除いた。さらに、最終的に、配列一致度が85%に満たないDNA塩基配列は、分類群の同定に際して解釈が難しいためにこれらも分析から除いた。分析 COI の平均長は307 bp (137-313 bp) であった。2016年5月から2017年2月まで、月別に利用した動物食アイテムを示している。9月の多様性が最も低く3分類群であり、植物食性と同様に10月の多様性が最も高く14分類群であった。



5月にはヨコハラトガリミミズとクロコガネ属（甲虫）の1種、6月にはヒラタクワガタ（甲虫）、7月にはシロテンハナムグリ属（甲虫）の1種、ヒトツモンミミズ、ハタケミミズ、8月と9月には動物の採餌は極めて少なく、10月には再びヨコハラトガリミミズ、11月にはヘンイセイミミズとカワラバト、12

月にはキジバト、ハントウアカネズミ（分布からアカネズミと判断できる）、そしてスズメ、1月にはアオバト、2月には再び動物の採餌が極めて少ない結果となった。春から夏にかけては甲虫類等の昆虫を食べ、夏から秋にはミミズ類、そして冬にはネズミや鳥といった脊椎動物を食べる傾向を示した。ニイニイゼミやアブラゼミが7月（夏）にみられ、ニホンアカガエルが2月（冬）にみられた点も以上の傾向と一致する。

植物と動物食性ともに、8月、9月、12月、1月の多様性とリード数が少ないのは、分析個体数が少ないことが影響していることは明らかであり（それぞれ、2、3、3、3個体分）、今後の課題として挙げられる。

本研究により、ニホンテンが季節を通して多様な餌に依存し、そして各々の季節で利用可能な餌を柔軟に食べていることが明らかとなった。昨年度のサンガー法を用いた分析結果に加え、ネズミ類、鳥類、両生類が新たな餌として明らかとなり、冬季の食性に関する見方が変わった。ニホンテンは、一次消費者としての植物食、二次消費者としての昆虫食、そして、より高次の捕食者としての哺乳類・鳥類・両生類食を示し、生態系の中で多様な役割を持つことが明らかとなった。春から秋にかけては、多様な植物や無脊椎動物を食べる一方で、冬季には一度の採餌活動で大きなエネルギーを得ることが可能な脊椎動物への依存を強めているように見える。今回の報告には詳しく述べなかったが、ニホンテンの糞からは極めて多様な菌類が検出されていることから、ニホンテンを中心とした生物間相互作用の解明は、動植物にとどまらず、より広い視点で捉える必要があると思われる。ニホンテンは里山生態系を維持のための鍵となる動物と言えるであろう。今後は、経年変化を追うことで、ニホンテンの餌ニッチの全容を明らかにし、本種の里山生態系における役割をより詳しく明らかにする必要がある。別の視点からは、ニホンテンの存在しない瀬戸内海島嶼の生態系との比較によりニホンテンの里山生態系における役割の重要性が明確になると考えられる。

里山のモデルとしての福山大学キャンパスの生態系は、瀬戸内海芸予諸島の入り口の生態系として位置づけることが可能であり、今後、島嶼生態系を解明するための対照区と考えることができる。島嶼・非島嶼を舞台に、アカネズミやニホンテンをモデルとしてその食性を分析することで、人と自然との共生の場である里山生態系あり方が見えてくるものと考えている。



### 3-2. 【担当：渡辺 伸一】

#### (1) ナルトビエイが撮影した広島県松永湾の魚類相と海底環境の比較

近年、瀬戸内海では貝食性のナルトビエイが増え、二枚貝類への食害が報告されている。また、ナルトビエイの増加が貝類以外の生物にも影響することが予想される。ナルトビエイと他種の関わりや生息環境を調べることは、瀬戸内海の生態系の変化を把握する上で重要である。本研究では、広島県松永湾に来遊するナルトビエイにビデオカメラを付け、遭遇した魚種と各種の撮影環境の比較から、種間関係について考察した。

2016年6～8月、2017年5～8月に広島県松永湾でナルトビエイ 15 個体にビデオカメラとデータロガーを装着し、2～12 時間記録した。得られた映像を1分毎に集計し、エイが遊泳した海底環境(砂泥・藻場・アマモ場・岩礁)と摂餌がみられた海底の環境(摂餌環境)を記録した。また、出現した魚種と撮影した海底環境および水深を算出した。各魚種の出現した環境の割合と水深を全体の撮影環境と比較した。

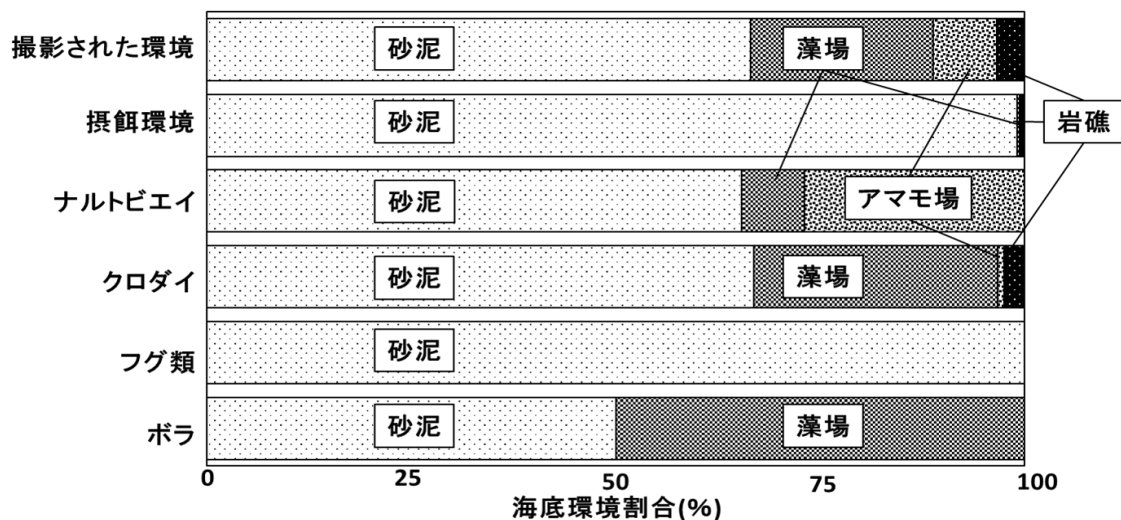


図1. 撮影された海底環境の比較

計 145 時間の映像から、海底環境の 67%が砂泥だった(図1)。また、摂餌は計 141 回、99%が砂泥で、比較的深い海域で見られた。魚類は計 7 種 956 回撮影され、ナルトビエイ(57%)とクロダイ(34%)で全体の 9 割を占めた。両種ともに砂泥での出現割合が高いが、ナルトビエイは比較的浅い海域のアマモ場で、クロダイは深い海域の藻場で多く撮影された。

遭遇した魚類の 9 割がナルトビエイとクロダイだった。しかし、この結果が松永湾の魚類相を反映した結果とは考えられない。ナルトビエイが撮影したことによって、本種が好む環境を選択的に撮影したことで、同じ環境を好む魚種に

偏ったことが考えられる。ナルトビエイは主に砂泥を遊泳し、摂餌は比較的深い砂泥で行われた。しかし、その間に遭遇した他のナルトビエイは、比較的水深の浅いアマモ場でも多く確認された。よって、ナルトビエイがアマモ場を摂餌以外の目的で利用する可能性がある。クロダイは、岩礁や藻場などの海底に固着した無脊椎動物を捕食する。しかし、クロダイが撮影された環境は砂泥と藻場で、撮影環境の割合とほぼ一致した。砂泥でナルトビエイの後方や腹面下を追尾する様子が映像から確認されており、エイが摂餌した際に掘り出された底生生物を捕食していることが推察される。瀬戸内海では、クロダイの増加がナルトビエイ同様に二枚貝類へ食害を与える要因と考えられている。両種が瀬戸内海の砂泥に集合することで、二枚貝類の資源減少を促進している可能性がある。

## (2) 広島県松永湾におけるナルトビエイの餌探索行動

現在、瀬戸内海における二枚貝類の資源は枯渇状態にあり、そのひとつの要因として、ナルトビエイによる食害が指摘されている。ナルトビエイは低密度かつ局所的に分布する二枚貝を探して摂餌しているものと考えられるが、その摂餌戦略は明らかになっていない。本研究ではデータロガーを用いた行動調査の結果から、本種の摂餌戦略を考察した。

2017年7～8月に広島県松永湾で捕獲したナルトビエイ5個体に加速度・地磁気ロガーを装着し、放流から96～120時間の行動データを記録した。記録データから、摂餌がみられた海底での行動を3タイプ（探索、摂餌、摂餌後）に分類し、それぞれの時間と距離を算出した。

計7761回の着底のうち557回で摂餌が確認された。摂餌時間は探索時間に比べて有意に長く、摂餌距離は探索距離に比べて有意に短かった。また、摂餌後の時間と距離は探索・摂餌に比べて有意に短かった（図2）。探索時間が摂餌時間より短いことから、ナルトビエイは着底後すぐに餌を探して掘る場所を決めていると考えられる。また、摂餌距離が短く、摂餌後の時間と距離が短かった。このことから、狭い範囲で摂餌し、餌がなければすぐに離底して、つぎの餌場へと移動していることが推察される。また、摂餌時間は探索時間と比べてばらつきが大きかった。これはナルトビエイが餌密度の違いに応じて、摂餌時間を調節しているからではないかと考えられる。つまり、餌が高密度で分布する場所では摂餌時間を延ばし、低密度の場所ではすぐに餌場を移動していることが予想される。以上のように、本種は探索と摂餌を繰り返すことで、効率よく広範囲を探索して、海底の二枚貝類を摂餌していることが推察される。

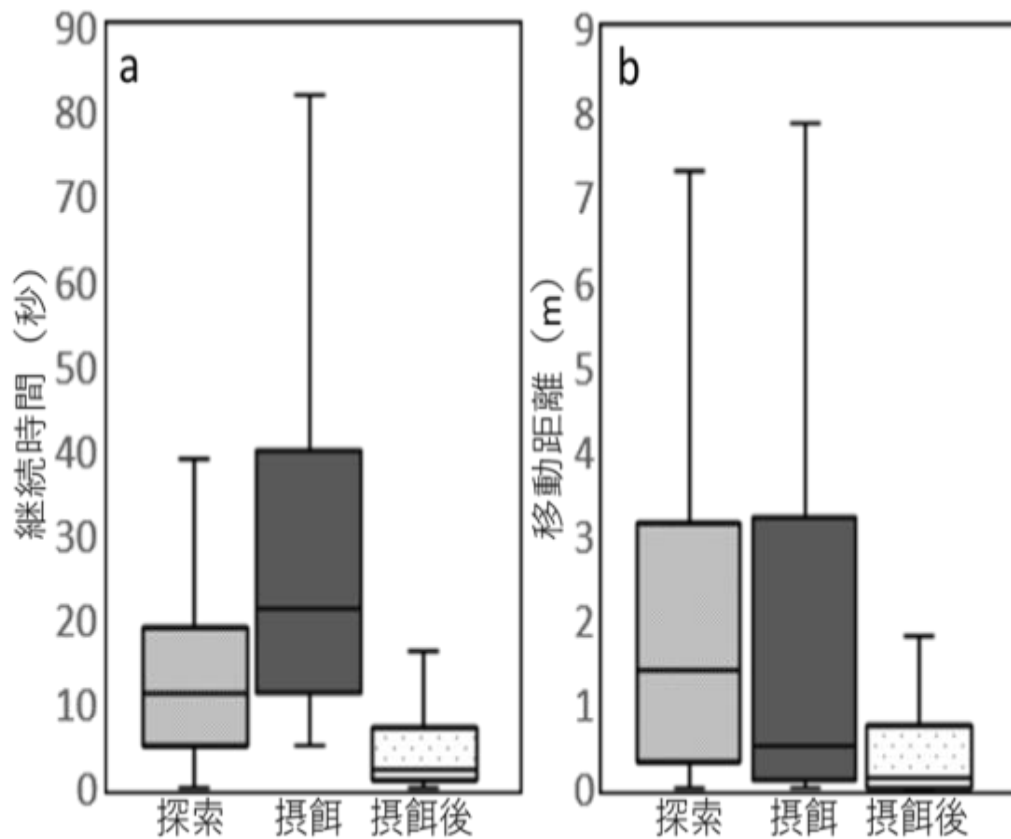


図2. 海底滞在中の各行動の継続時間の比較 (a) と移動距離の比較 (b)

### (3) 瀬戸内海のおオミズナギドリの食性と摂餌行動

オオミズナギドリは、主に日本周辺の離島で繁殖する海鳥である。海洋生態系の上位に位置する本種の採餌行動は、その海域における水産資源の分布の影響を受ける。太平洋や日本海で繁殖する集団は、数百から千キロにも及ぶ広い海域を飛び、局所的に大量発生するカタクチイワシ、マイワシ、サンマなどの小型の浮魚類を食べる。一方、瀬戸内海で繁殖する集団は、主に繁殖地周辺の100キロ以内の狭い海域で採餌することが知られているが、その食性は明らかになっていない。本研究では、瀬戸内海における本種の食性を明らかにすることで、採餌海域が狭い理由と繁殖生態の特性を考察した。

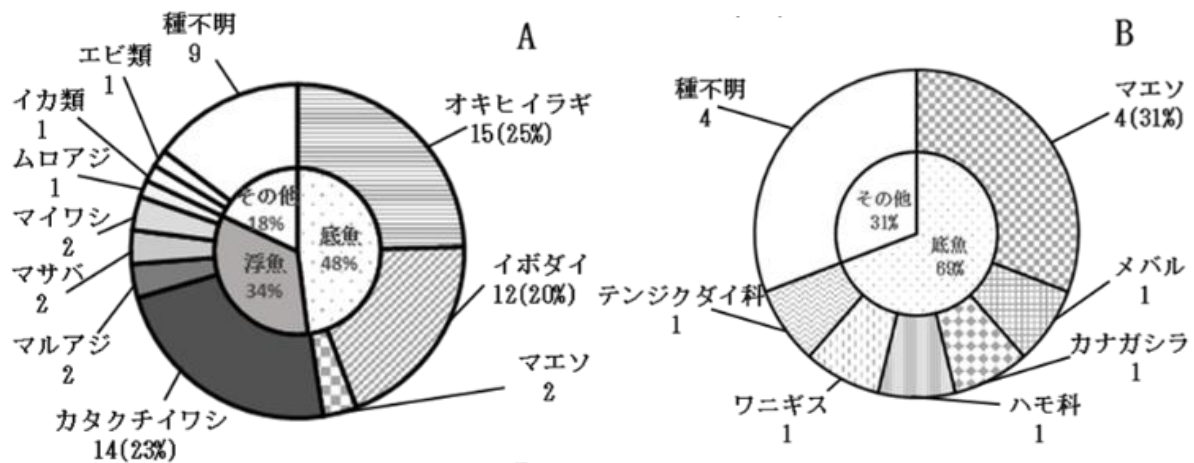


図3. 胃内容物から出現した餌種の割合 (A) とビデオカメラで撮影された採餌割合 (左)。餌種の下の数値は出現した回数を示す。

2011～2017年の育雛期に、山口県上関町宇和島で繁殖するオオミズナギドリ  
の親鳥16羽が吐き戻した胃内容物を分析した。未消化物から可能な限り種を  
同定し、各種の出現割合を算出した。2017年の育雛期に親鳥2羽の腹部にビデ  
オカメラを装着し、翌日に2時間40分間の映像を記録した。撮影された映像  
から採餌中の行動を観察し、採餌した魚種を同定して各種の割合を算出した。

胃内容物分析から計10種52個体の餌種を同定した。オキヒイラギ、カタク  
チイワシ、イボダイの順に多く、底魚が全体の48%を占めた(図3A)。映像分析  
から計6種9個体の餌種を同定した。マエソが最も多く、底魚が全体の69%を占  
めた。また、すべての採餌が底曳き網漁船の後方で行われた(図3B)。

分析した胃内容物は消化の程度から帰巢の1日以内に採餌したものと考えら  
れ、映像も繁殖地を出た日に撮影されたものである。よって、本研究の結果は繁  
殖地周辺の海域での食性を反映していたといえる。胃内容物と映像の分析から、  
計16種が餌となっており、うち9種は他地域では記録のない魚種だった。こう  
した食性の地域差は採餌海域の餌資源の違いによるものだと示唆される。他地  
域における結果から、本種は深く潜ることができないため、浮魚類を主な餌とし  
ていると考えられている。本研究では、胃内容物に占める浮魚類の割合は低く、  
映像からは浮魚類の採餌は見られなかった。このことから、繁殖地周辺では採餌  
可能な浮魚類の密度が低かったことが予想される。映像から、すべての採餌が底  
曳き網漁船の後方で、死んだ魚を食べたようだった。よって、採餌した底魚のほ  
とんどが投棄魚であったと考えられる。以上の結果から、瀬戸内海では繁殖地周  
辺の浮魚類の密度が低く、代わりに投棄魚である多様な底魚類を利用した結果、  
他地域に比べて採餌範囲が狭くなったと考えられる。また、栄養価に乏しい底魚

類を採餌することが繁殖率や集団サイズに影響を与えていることも予想される。

#### (4) 周防灘におけるスナメリの分布と鳴音の特徴

スナメリはアジアの沿岸域に生息する小型鯨類である。ミナミハンドウイルカなど他の小型鯨類では、80 頭以上の大きな群れを形成することが知られている。一方、スナメリは単独もしくは10 頭以下の小さな群れで生活するが、群れの機能については明らかになっていない。小型鯨類はクリック音という短い鳴き声を使って障害物や餌を探索する。クリック音の間隔は目標物との距離によって変化し、摂餌の際には近距離の餌を精度よく探索するため短い間隔に、休息の際には長い間隔に変化することが報告されている。本研究では野外で録音したスナメリのクリック音の間隔を群れと単独で比較して、スナメリの群れの機能を考察した。

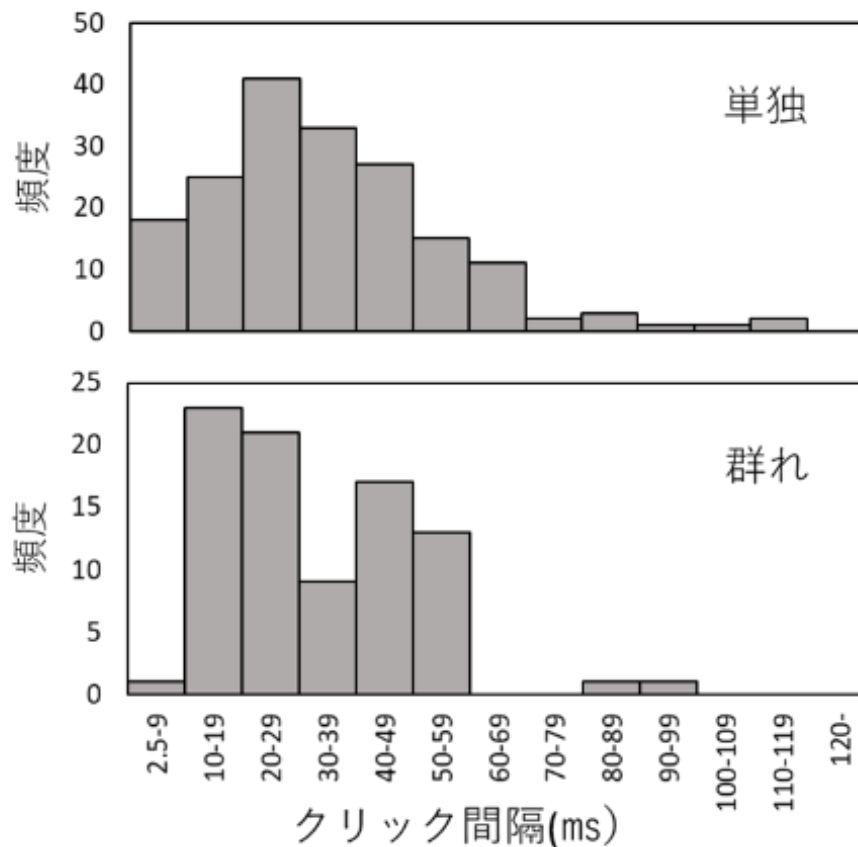


図4. 単独と群れのクリック間隔の比較

2015～2017年に瀬戸内海西部の周防灘周辺で音響ロガーを調査船で曳航し、スナメリの鳴き声を録音した。録音データから連続したクリック音が6回以上記録されたスナメリの鳴き声を探し、そのクリック間隔の平均値を算出した。また、クリック音が一列に連なる場合を「単独」、複数列のクリック音が同時に記

録された場合を「群れ」と定義した。「単独」と「群れ」の場合でクリック間隔の頻度分布を比較した（図4）。

計84時間の録音データから、単独で176回、群れで86回のスナメリの鳴き声を検出した。クリック間隔の頻度分布は、単独では1つ（20-29ms）、群れでは2つのピーク（10-19・40-49ms）が見られた。また、群れでは10ms未満の鳴き声が極端に少なかった。

小型鯨類が群れで行動する機能には、摂餌効率の向上、捕食者や周囲への警戒レベルの向上が予想される。スナメリが摂餌に使用するとされるクリック間隔の短い鳴き声(<10ms)の頻度は、群れより単独で多かった。一方、休息時に使用するクリック間隔の長い鳴き声(>40ms)の頻度は、単独より群れで多かった。これらの結果は、スナメリが群れるときには、摂餌せず、休息していることを示唆する。ハンドウイルカなどの大きな群れを形成する小型鯨類は、機敏な魚を群れで追い込んで、摂餌する。一方、スナメリは底生性の魚や甲殻類などの無脊椎動物を摂餌する。こうした海底に潜む餌生物を単独で摂餌していることが予想される。瀬戸内海には、スナメリの捕食者となる大型のサメ類や哺乳類は生息していない。しかし、休息時にも船舶の往来や海底の障害物などに警戒する必要がある。ハンドウイルカでは、群れて休息する際に、鳴き声の頻度を下げることが知られている。これは近くにいる他の個体の声を聴くことで、活動レベルを下げて警戒レベルを上げていると考えられている。よって、スナメリが群れる際にクリック音の間隔が長くなることから、群れには活動レベルを下げて警戒レベルを上げる機能があると考えられる。

#### （5）環境DNAを用いた笠岡市神島水道におけるカブトガニの分布域の推定

かつて岡山県笠岡市は、カブトガニの代表的な生息地だったが、環境悪化により生息数が激減し、生息地の保全が急務となっている。カブトガニの生息地を保全するには、その分布域を正確に把握することが重要である。しかし、現在の笠岡市のカブトガニは低密度であり、主に夜間に活動するカブトガニを直接観察することは容易ではない。近年、水生生物の分布を調べる手法として注目されているのが、環境DNAによる分析である。水中には、そこに生息する生物に由来するDNA断片（環境DNA）が含まれる。この環境DNAを調べることで、水生生物の分布を調べることができる。本研究では、環境DNAを用いて、笠岡市神島水道内でカブトガニの分布域を推定する手法の確立を試みた。

2017年5～9月にカブトガニを飼育する博物館の飼育池の4カ所、笠岡湾の40カ所から表層水10を採水した。採水サンプルは、実験室でフィルターろ過し、DNAを精製した。その後、リアルタイムPCRでカブトガニのミトコンドリアチトクロームb遺伝子の部分配列（114bp）を増幅した。決定したDNA配列

をBLASTで検索し、類似度が95%以上でカブトガニの塩基配列と一致した場合を「カブトガニDNA検出」とした。

飼育池3カ所(75%)と笠岡湾10カ所(25%、図5○印)でカブトガニDNAを検出した。カブトガニDNAは、湾奥部で1カ所、そのほか9カ所は湾中央部でのみ検出した。また、同日に隣接した場所(100m以内)で採水しても、検出(○)と未検出(×)の場合があった。

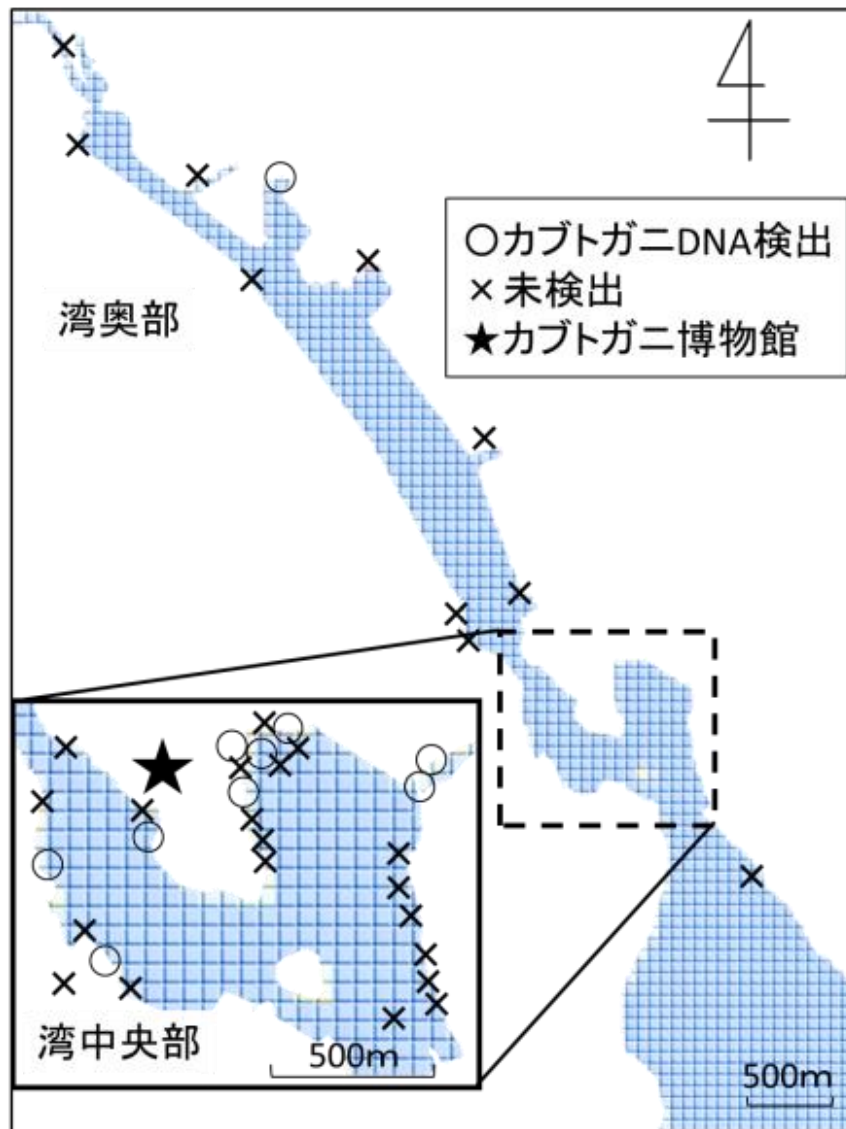


図5. 岡山県笠岡市神島水道におけるカブトガニDNAの検出・非検出の比較

カブトガニがいる飼育池におけるカブトガニDNAの検出率は75%だった。また、笠岡湾内の隣接した場所間で検出結果に差が見られた。これらは、環境DNAの放出範囲が狭く、局所的であることを示している。飼育池および笠岡湾は、潮汐の影響を受けて水位が変化する。この潮汐により環境DNAの分布が影

響したことが考えられる。よって、より確実にカブトガニの分布を推定するには、採水場所を増やし、時間を空けて複数回採水することが必要であると考えられる。カブトガニ DNA が多く検出された湾中央部には、幼生の生息地や産卵場所があり、カブトガニの分布情報と重なる。しかし、湾奥部ではこれまでカブトガニの分布情報がほとんどない。検出が 1 ヶ所のみだったことから、低密度で生息しているか、一時的に湾奥部を利用したのかもしれない。このように環境 DNA 分析は低密度な状況でも、カブトガニの分布調査を行う上で有効な手法だと考えられる。今後、年間を通じて定期的に採水することでカブトガニの生息域の季節変化を調べ、生息域保全に必要な詳細な分布の情報が得られることが期待される。

#### 4. 今後の研究計画

【担当：佐藤 淳】

「瀬戸内の里山の哺乳類を対象とした

DNA メタバーコーディング法による食性分析」

文部科学省私立大学ブランディング事業「瀬戸内海 しまなみ沿岸生態系に眠る多面的機能の解明と産業支援・教育」テーマ③では、しまなみ沿岸生態系の持続可能性を探るための生態学的な知見を蓄積する。一つの大きな目標は、島嶼生態系としまなみ沿岸生態系との縦のつながりを明らかにすること、つまり、森と海との生態系の連関を明らかにすることである。その中で、今年度の瀬戸内海島嶼のアカネズミの食性分析結果は、島嶼生態系の解明に資する研究成果であるが、上述の通り、サンプル数が少ないこと、ローカルデータベースの不在や DNA バーコードマーカーの情報量不足から種同定率が低いことなどの課題があった。来年度は、これらの課題を解決することで、アカネズミを中心とした瀬戸内海島嶼生態系をより詳細に明らかにしたいと考えている。因島の藻場や干潟生態系が事業の中心的な対象であるため、特に因島の森林生態系に焦点を当て、サンプル収集、動植物相の把握とローカルデータベースの構築、新規マーカーの開発を行いたい。

さらに、森と海をつなぐ島嶼陸域水系をターゲットに環境 DNA 分析を行い、その生物多様性を解明するための予備実験を行いたい。具体的には、島嶼陸域水系の魚類相や哺乳類相を分析するために既存の DNA バーコードマーカーである MiFish および MiMammal を利用して分析するシステムを整備する。

また、事業のもう一つの大きな目標は、生態系から得られた知見を資源利用に活かすことにある。テーマ②では、しまなみテッポウギスという大型のシロギス



の完全養殖・量産を目指しているが、その中で野生のシロギスの食性に関する知見が養殖にとって有益な情報となる可能性がある。上記、哺乳類で活用した DNA メタバーコーディング法を瀬戸内海島嶼沿岸域に生息する野生のシロギスに適用することで、シロギスの食性を解明したい。特に稚魚の食性を解明するための技術を確立したいと考えている。シロギスの食性の解明は、しまなみ沿岸生態系を明らかにする研究テーマ①の一部にもなるため、特に藻場生態系におけるシロギスの生態的役割という観点でも研究を進める。

**【担当：渡辺 伸一】**

**「バイオロギングを用いた瀬戸内に生息する動物の行動生態学的研究」**

各対象動物で以下のように計画している。

カブトガニ：環境 DNA をもちいて、笠岡市の干潟および海中に生息するカブトガニ生態および幼生を検出する手法を開発し、湾内外におけるカブトガニの分布を特定する。将来的には、これまでにカブトガニから得られたバイオロギングデータと比較することで、カブトガニの移動・分散の経路を推定したい。

オオミズナギドリ：新たに開発した超小型フライトレコーダーをオオミズナギドリに装着し、オオミズナギドリの利用場所の環境情報を分析する。本調査には、データロガーの開発が不可欠であるが、機器開発は東京大学大気海洋研究所を中心とした戦略的創造研究推進事業 CREST のプロジェクトとして進行中である。

ナルトビエイ：今年度開発した行動解析の手法を使い、さらに多くのエイから行動データを得る。得られたデータから、摂餌行動について詳しく解析し、アサリ等の食害対策を講じる。