

令和4年9月6日

糞から調べる絶滅危惧種のトカゲの食べ物

千葉県立中央博物館 栗田隆気 研究員と琉球大学熱帯生物圏研究センター 戸田守 准教授は、沖縄県に生息する絶滅が危惧されているヤモリの仲間のクロイトカゲモドキ *Goniurosaurus kuroiwae kuroiwae* の食性に関する共同研究を行いました。この研究では生体や個体群になるべく負荷をかけずに正確に食性を調査するための方法を検討するとともに、クロイトカゲモドキがどのような餌を食べているのかを明らかにしました。本研究の成果は2022年9月5日に、オーストラリア連邦科学産業研究機構（CSIRO）が刊行する学術誌「Wildlife Research」にて Online Early で公開されました。

<<研究の概要>>

野生動物が何を食べているのかを正確に把握することは生物同士の栄養的なつながり（食物網など）を明らかにしたり、地域の生態系を保全するためにきわめて重要です。また、絶滅が危惧される種の食性に関する情報は、その種を対象とした保全にも欠かすことができません。この研究では、生きた個体へ与える負荷が小さいかまったくないと考えられる糞に注目し、クロイトカゲモドキの糞に含まれる餌生物を形態観察とDNAで推定して、それらから得られる情報を比較しました。その結果、DNAを使った分析のほうが多くの種類の餌生物を特定できた一方で、形態観察をしたほうが検出される頻度が高い餌もあることもわかりました。本研究でも確認されたとおり一般的にDNA分析のほうが餌生物の検出力が高いとされていますが、本研究は食性を正確に推定するためには形態とDNAの両方を使うのが望ましいこと、DNAのみを使う場合にも十分な予備的分析が必要であることを示しました。

また、この研究ではクロイトカゲモドキが大型の無脊椎動物を主に捕食していることが明らかになりました。生息地の開発など様々な脅威に直面し、法的にも種の保全が必要とされているクロイトカゲモドキが今後も安定して生息するには、これらの無脊椎動物群集の成立に必要な亜熱帯の湿潤森林環境が維持されてゆく必要があります。このヤモリの生息地の一部は2021年に国連教育科学文化機関（ユネスコ）の世界自然遺産に登録された沖縄島北部のやんばる地域に含まれており、環境の適切な維持管理が求められることが改めて示されました。

<<発表者名>>

栗田隆気（千葉県立中央博物館 研究員）

戸田守（琉球大学熱帯生物圏研究センター 准教授）

<<研究の背景>>

野生動物の食性を調べる方法は、標本を解剖して胃や腸の中身を摘出する、吐き戻させて胃の中身を取り出す、筋肉や骨を構成する元素の性質から推定する（安定同位体比分析）、動物にカメラを取り付けて記録する、調査者が直接観察するなど、様々です。しかし、特に絶滅危惧種や希少種の調査では多くの個体を集団から取り除いたり過剰に負荷をかけたりすること（標本化や吐き戻し法）には慎重を期さねばなりませんし、ある種では問題のない方法でも別の種に同じことをすると大きな負荷を与えてしまう場合もあります（吐き戻し法など）。一方、直接観察などの負荷をかけにくい方法では十分なデータを集めるためには膨大な労力が必要になることも珍しくありません。

動物の糞から食性を調べる方法は、生体に与える負荷がまったくないか、ごくわずかで、種によってはたくさん試料を集めるのもさほど難しくないという長所があります。ただし、消化が進んでバラバラになった残存物の形を観察して餌の種類を特定するのは多くの場合非常に困難です。そこで、糞に含まれる餌の DNA から種を特定しようという試みがなされ（faecal DNA metabarcoding）、野生動物の食性研究に著しい発展をもたらしてきました。しかし、形態による分析と DNA による分析の結果を比較した研究は少なく、方法間で結果がどの程度一致するのか、検出力は餌生物の種類によってどう異なるのかなど、方法の特性が十分に理解されているとはいえません。

<<研究で行ったこと>>

そこで本研究では、形態分析と DNA 分析から推定される餌生物構成を比較するために、沖縄県の沖縄島とその周辺の4つの離島に生息するクロイワトカゲモドキというヤモリの仲間（図1）について、餌生物を推定しました。まず、糞に含まれている消化されずに残った断片の形態を観察して、餌の種類を特定しました。次に、まったく同じ糞のサンプルから形態がわからないほど細くなった沈殿物を集め、その沈殿に含まれている DNA を分析して塩基配列のデータを取得し、データベースに登録されている配列と照合しました。この作業によって、分析で得られた塩基配列がどのような生物のデータとよく一致するのか調べることができ、種類を特定することができました。最後に、形態と DNA で得られた分析結果を比べて、違いがあるかどうかを検討しました（図2）。

さらに、クロイワトカゲモドキは絶滅が危惧される希少な動物で、法律によって保護されていることから、種の保全に貢献するためにどの餌生物がよく食べられているのかを調べました。また、環境や成長段階の違いによる餌生物の違いがあるのかも検討し、本種の食性の全容の解明に取り組みました。

<<研究からわかったこと（1）：形態分析と DNA 分析の比較>>

2つの分析法を比較した結果、全体的に DNA による分析のほうが高頻度で餌生物を検出できることがわかりました。特に、ミミズ類や昆虫の幼虫のように体が柔らかい動物は DNA 分析でしか検出されなかったものや形態観察より DNA 分析で高頻度に検出されたものを含んでおり、DNA 分析は消化されやすい餌の検出に威力を発揮することが確認されました。一方、クモ類や昆虫のハサミムシ類は形態分析での検出頻度が高く、本研究の DNA 分析の

デザインでは、これらをうまく検出できていない可能性が示唆されました。全体的に2つの方法で推定された餌生物群集には違いがありました(図3)。これは単に形態分析で検出できなかった餌生物をDNA分析では検出できたというだけでなく、形態分析とDNA分析は同じ糞サンプルを使っても異なる質のデータを生成していると解釈すべき結果でした。

餌生物の分類学的な知識がなくても種類を特定できる、たくさんの検体を分析する際に時間効率が良いなど、多くの長所がDNA分析にはありますが、形態分析にも実験のための初期投資が小さくて済む、餌生物の在否だけでなくそれぞれの量の情報が得られる、餌生物の成長段階も知ることができる(たとえば昆虫なら幼虫か成虫か等)などの特筆すべき点があります。これらのことから、特に研究対象とする動物の餌について事前に知見がない場合、量の評価が重要になる場合、餌生物の種類について特段の正確性が求められる場合などは、形態分析とDNA分析の両方を相補的に用いることが望ましいと言えます。

<<研究からわかったこと(2):クロイトカゲモドキの食性>>

この研究のもう一つの成果は、絶滅危惧種であるクロイトカゲモドキがどのような餌生物をどのくらい食べているのかを明らかにしたことです。これまでは図鑑等で昆虫、クモ類、ムカデ類、ワラジムシ類を食べるとシンプルに説明されていましたが、本研究で検出された餌生物はカタツムリ、ミミズ、クモ、ムカデ・ヤスデ、甲殻類、昆虫など実に22目にも及び、様々な無脊椎動物を捕食していることがわかりました。なかでも、ミミズ、クモ、オオムカデ、バッタ、ゴキブリなどは検出される頻度が高く、大型であるため、本種の主な餌になっていると推定されました。さらに、体の小さい幼体では成体よりもヨコエビ(体長数ミリメートルの甲殻類)を多く食べていることが明らかになり、幼体と成体では捕食している餌生物に若干の違いがあることが示唆されました。また、検出頻度も量もわずかですが、硬い甲羅を持つカニの仲間、臭いにおいを出すカメムシの仲間、本来は樹上にいるはずのセミの仲間など意外な動物が検出され、予想以上に食性の幅が広いことに驚きました(図4)。

沖縄島北部のやんばる地域で行われた先行研究により、このような無脊椎動物群集は森林の林床の乾燥化に弱いことが知られています。したがって、クロイトカゲモドキの餌となる無脊椎動物には年間を通じて安定して温暖湿潤に保たれた森林が必要であり、本種を絶滅の脅威から守るためにもこのような環境を保全する必要があると考えられます。本種の生息域のうち、沖縄島北部は2021年7月にユネスコの世界自然遺産に登録されました。本地域では環境保全と環境学習・ツーリズムなどの利活用のバランスを今後いかにとっていくかが重要な課題となりますが、本研究は手付かずの森林地帯の適切な保全の必要性を改めて示しました。

<<博物館の研究として>>

この研究では爬虫両生類を研究対象としている著者が、同博物館で甲殻類(エビ・カニの仲間)や昆虫、魚類を研究している他の研究者のアドバイスや手ほどきを受けて、餌生物の大まかな分類群を形態から特定したり、DNA分析を行ったりしました。研究者といえども自身の専門外の生物の知識や新しい技術をひとりで習得して研究を進めることは困難です。本研究は多様な専門家と専門家が集まる場としての博物館に支えられた成果だと言えます。

<<発表雑誌>>

雑誌名：「Wildlife Research」

論文タイトル：「Comparison of morphological identification and DNA metabarcoding
for dietary analysis of faeces from a subtropical lizard」

著者：Takaki Kurita, Mamoru Toda

DOI：https://doi.org/10.1071/WR22054

<<関連する事業・研究課題>>

本成果は、以下の事業・研究課題によって実施しました。

東京動物園協会野生生物保全基金

研究課題名：「日本産トカゲモドキ類の食性の解明」

日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究 C

研究課題名：「個体群相互関係を考慮した琉球列島産クロイトカゲモドキの遺伝的多
様性の解明と保全」

<<お問い合わせ先>>

千葉県立中央博物館 研究員 栗田 隆気

〒260-8682 千葉県千葉市中央区青葉町 955-2

TEL: 043-265-3111

E-mail: kurita@chiba-muse.or.jp



図1. クロイトカゲモドキ

クロイトカゲモドキは頭先から尾の付け根までが最大 100mm 程度になる夜行性のヤモリの仲間です。家屋に出没する種類のようにツルツルの壁面に張り付くことはできず、主に地表で活動します。生息地の破壊・劣化、外来種による捕食、密猟等が原因で個体数が減少していると考えられており、「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律」（種の保存法）で保全が必要な種に指定され、無許可での捕獲等が禁じられています。

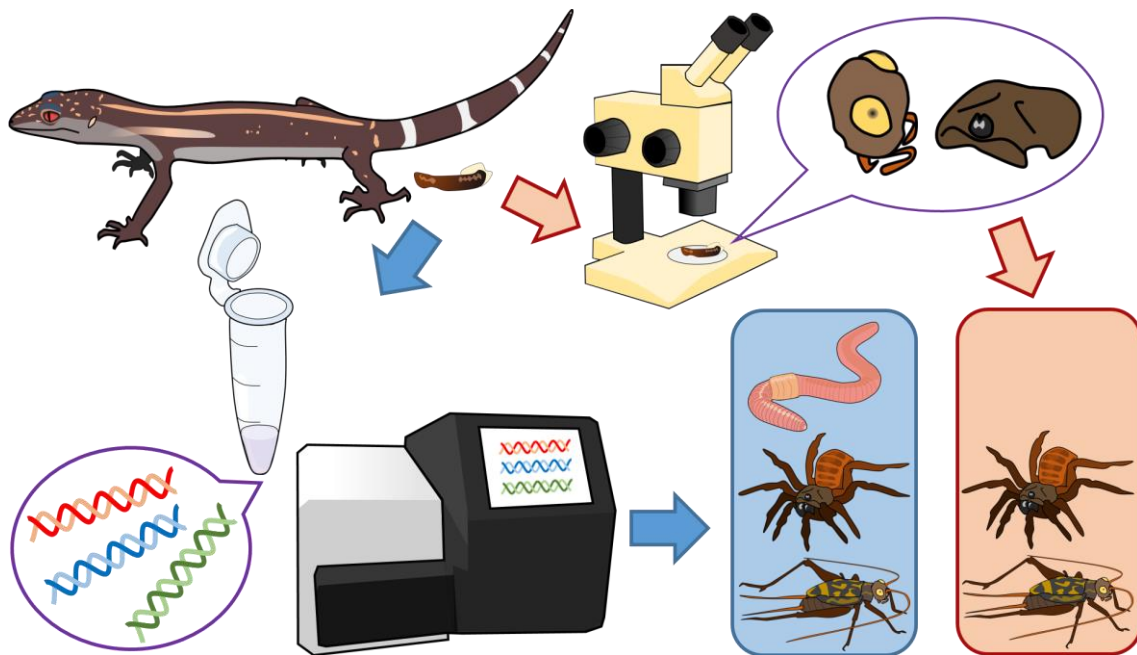


図2. 糞に含まれている餌生物を調べるための2つの方法

形態による分析（赤矢印）では、クロイトカゲモドキの糞に含まれている消化されずに残ったパーツを取り出して、顕微鏡で観察し、特徴が残っている破片ひとつひとつについてなんの仲間なのかを特定します。DNAによる分析（青矢印）では糞から抽出したDNAの塩基配列を分析し、データベース上に登録されている塩基配列と比較して、類似の配列を持つ生物を特定します。DNA分析では、ミミズ類のように容易に消化されて形が残りにくい動物も検出することができます。

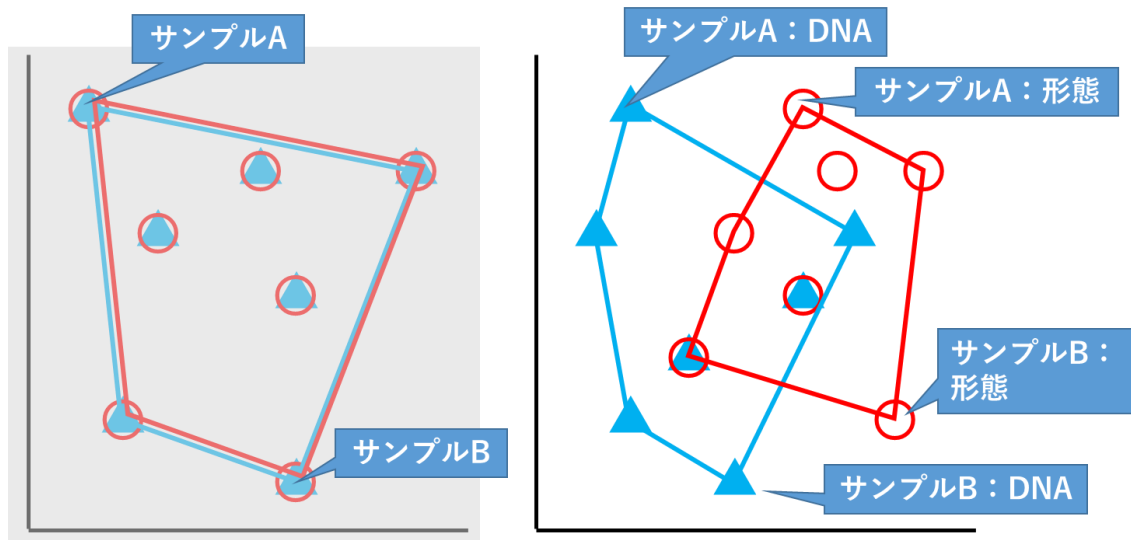


図3. 形態分析と DNA 分析の比較の模式図

ある糞サンプル A に含まれている餌生物のレパートリーを形態(赤丸)と DNA(青三角)で調べ、それらの結果が過不足なくまったく同じだったとき、A の赤丸と青三角はぴったり重なります。別のサンプル B で同じことをして、やはり方法間で推定された餌のレパートリーが同じだったとき、B の赤丸と青三角も重なります。サンプル A と B で位置がずれるのは別々の糞なので含まれている餌の動物が異なるためです(偶然重なる可能性もあります)。もし、形態分析と DNA 分析がどんな餌でもまったく同じように検出できるならば、左図のようにすべてのサンプルで赤丸と青三角が重なり、それらが表す範囲(一番外側にある丸や三角を繋いだ線)も重なります。

しかし実際はそうはならず、多くのサンプルで、形態分析した結果と DNA 分析した結果で含まれていると推定された餌の動物が異なっていました。そのため、右図のように丸と三角が重なることは少なく、赤と青の範囲に大きなズレがありました。

詳しい分析の結果、形態と DNA 両方で検出できた餌、形態で検出できなかったが DNA では検出できた餌、形態では検出できたが DNA で検出できなかった餌、すべてのパターンが確認されました。これは、2つの異なる方法を使うことでそれらの結果が補い合い、より精度の高い餌生物推定が可能になることを示しています。

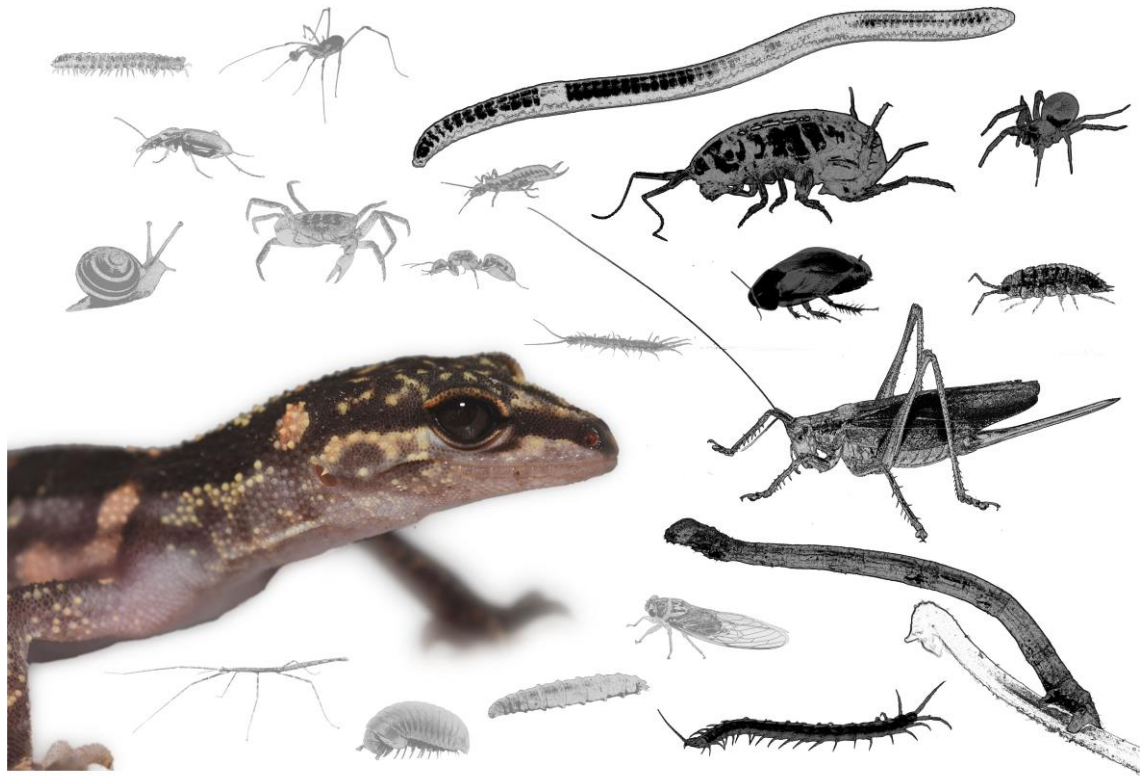


図4. クロイトカゲモドキの餌生物

クロイトカゲモドキに捕食されている無脊椎動物のうち、形態とDNAを合わせた分析によって全糞サンプルの20%未満から検出されたグループを淡色、20%以上から検出されたグループを濃色で示しました。また、糞サンプルの40%以上から検出されたグループ（ミミズ類、ヨコエビ類、バッタ類、チョウ類）は拡大強調して示しています。