

令和元年6月19日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00639

研究課題名(和文) ライチョウのDNAバーコーディング法を用いた食性解析と採餌環境ポテンシャル評価

研究課題名(英文) Investigation of food resources of Lagopus muta japonica by DNA barcoding and evaluation of potential habitat for food resources

研究代表者

上野 薫 (UENO, Kaoru)

中部大学・応用生物学部・准教授

研究者番号：30373070

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：北アルプスの3地域にて7～9月の雛の餌資源を雛の日齢と共に直接観察し、母親との違いや季節や地域による違いを把握した。また母親と雛の糞を用いたDNA解析による餌資源の推定も行い、採食頻度の高いものであれば直接観察法と矛盾しないことを示した。さらに3地域の7月の行動軌跡と植生調査結果および航空画像を用いて利用環境をGIS解析し、植物群落名としての地域特異性はあるがいずれも高頻度(72～92%)で雪田環境を利用しており、育雛初期に雪渓や池塘が多く存在する環境が、高い採餌環境ポテンシャルを有することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、ニホンライチョウの餌資源において採食頻度の高いものであれば、DNAバーコーディング法と直接観察法の両法において同等の結果を示すことを明らかにし、調査目的に合わせた手法の選択を可能にした。また、野生個体において死亡率の高い時期の雛の採食資源を明らかにしたことにより、同様に死亡率の高いこの時期の人工飼育下での飼料設計および現地での生息地保全に役立てることができる。さらに、本研究によるGIS解析を用いた餌資源ポテンシャルの評価では、地域間での質的比較や潜在的に重要な本種のハビタットの推定を行う基盤作成ができ、今後の地域個体群の構造解明および現地での保全地選定などへの貢献が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Plant-derived food resources of Japanese rock ptarmigan (*Lagopus muta japonicus*) were investigated by DNA barcoding and direct observation method in Mt. Taro, the Japan's Northern Alps in Toyama Prefecture, Japan in August. The list of plants was mostly the same as the other's in high frequency of the food resources. Season variation and difference between the regions of chick's food resources from July to September at three mountain area of the Alps by direct observation method were also investigated in 2014 to 2018.

Further, their habitat in July was also analyzed by GIS and their tracks and vegetation structure and aerial photographs. High-frequency (72-92%) of their habitat was snow bed of all their home ranges, thus they have some local differences in the plant sociological community. These studies indicated much of snowy valleys and bog pools meaning high-potential for plant-derived food resources as these ptarmigans in early season of chick breeding in these area.

研究分野：生態学、土壤物理学

キーワード：ニホンライチョウ 採食資源 直接観察法 DNAバーコーディング法 育雛初期 北アルプス GIS解析 雪田環境

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ニホンライチョウは本州中部の高山帯のみに生息し、ライチョウ属としては世界最南端に分布する、絶滅危惧 B 類(環境省, 2012)に指定された国の特別天然記念物である。主な餌資源は高山植物である。高山帯は気候変動により雪解けが早期化し、植物の芽吹き時期や植生の種構成の変化が予想される(工藤・横須賀, 2012)。また、育雛初期の死亡率は高く(大町山岳博物館, 1992)、育雛期の食性に関する報告はあるものの(小林・中村, 2011)、雛の成長過程は明確ではなく、山域による特異性についても明らかではない。さらに、野生個体の採食資源についてはこれまでは直接観察法での報告しか存在せず、直接観察による植物種の同定の曖昧性や実際に飲み込んだものとしての把握となっているかについては、これまで評価されてこなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では、まず野生個体の新鮮糞をサンプルとした DNA 解析により実際に飲み込まれていた採食資源をリストアップするとともに、同現地かつ同時期での直接観察法による採食資源のリストも作成し、これらを比較することで両方法の妥当性や信頼性を評価する。この結果を担保とし、これまでに調査時期でしか評価されてこなかった雛の成長過程に伴う採食資源について、日齢を把握するとともに雛の成長過程における採食資源の変化や山域による特異性や共通性について直接観察法により明らかにする。最後にこれらの採食資源の結果を用いて、北アルプスの三山域について最も雛の採食資源が限定的な日齢である 7 月中のライチョウ雛の行動位置と現地の植生を重ね合わせ、採食資源ポテンシャルの評価を行い、今後の野生個体の生存率を高める現地保全のための基礎データを提示する。

### 3. 研究の方法

#### (1) DNA バーコーディング法による餌資源解析

葉緑体 DNA の rbcL 領域を用いたニホンライチョウの植物性餌資源推定法を確立するため、北アルプスの太郎山にてライチョウの糞(33 サンプル)と糞サンプル採集地に自生する植物 73 種を採集した。糞サンプルと植物サンプルでは共に葉緑体 DNA の rbcL 部分領域(257-264 bp.)の DNA 配列を決定し、自生地の rbcL ローカルデータベースを構築し、DDBJ と併用して推定した。

#### (2) DNA バーコーディング法と直接観察法の比較

調査地は、いずれも北アルプス太郎山とし、上記 2. で記載した 2015 年 8 月中旬に採取した糞による DNA バーコーディング法の結果と、下記に示した同地域での 4 年間の直接観察法における 8 月と 9 月の結果について、確認種をそれぞれの出現頻度を併せて比較した。直接観察法の概要は次の通りである。2014 年～2017 年の太郎山周辺で観察した母親と雛について 4 時から 16 時まで連続的に追跡観察した(のべ 15 日間、のべ 15 家族)。ついでみ行動が認められた植物については、そのついでみ回数とともにその場で分かる限り植物種名と採食部位を記録した。なお、地際の小さな植物等をついでみしていた場合や、植生に埋まって確認できないもの、ついでみが明らかに採食できなかったものについてはカウントから除外した。これらの記録と同時に動画(口元付近)と、個体の行動と植生を同画面で記録した動画およびデジタルカメラの静止画像に加え、対象個体の行動追跡 30 分ごとの地点における 1m 方形枠での植生調査結果より総合的に判断した。分類が難しい種については、属および科レベルでの記載にとどめた。

#### (3) 北アルプス三山域におけるニホンライチョウ雛の成長過程に伴う採食資源の特性

2015 年～2018 年の全ての 7 月～8 月の雛(のべ 14 日間、のべ 14 家族)について観察した直接観察法による採食資源の結果を、雛の日齢とともに比較した。調査地は立山雷鳥沢・太郎山・北ノ俣岳とし、直接観察方法は上記(2)と同様である。さらに現地で撮影した写真や動画を精査し、立山室堂における孵化日確認個体であるライチョウの齢査定データを基に、全ての雛について齢査定を行い、採食資源を種と部位の観点から比較した。

#### (4) GIS を用いたニホンライチョウ雛の採食資源ポテンシャル解析

上記(3)で調査された 7 月の雛の行動位置の GPS データと現地植生調査結果および航空画像を材料とし、GIS にて画像分類し主として採餌に利用されていたハビタットの頻度を解析した。画像分類には ArcGIS10.5 を用い、オブジェクトベースの ISO クラスターの教師なし分類にて「ハイマツ群落」、「ダケカンバ群落」、「矮性低木群落」、「高茎草原・雪田植物群落」、「雪田荒原」、「雪田植物群落」、「池塘周辺湿性群落」、「森林植生」の 8 クラスに分類した。クラス名は、工藤(2000, 2009)、小泉(1989)、柴田(1985)、水野(1990)を参考に本種のハビタットの景観名として分かりやすいように決定した。この結果にライチョウの行動軌跡(10m 幅)をレイヤーし、軌跡内のピクセル数から、ハビタットの利用割合を算出した。

### 4. 研究成果

#### (1) DNA バーコーディング法による餌資源解析

DDBJ のみを用いて植物種を推定した結果、合計 22 種(種レベル 13 種、属レベル 5 種、科レベ

ル4種)であったが、rbcL ローカルデータベースと DDBJ を併用することによって、合計 26 種 (種レベル 22 種、属レベル 2 種、科レベル 2 種)に同定精度を向上させることができ、希薄化曲線から餌候補植物の 89%を網羅していることが推定できた。糞中より推定された植物種はガンコウラン (全糞サンプルの 63.6%より検出、以下同様)が最も多く、次いでシラネニンジン (24.2%)、クロウスゴ (21.2%)となった。また、これまで採餌が報告されていなかったチシマザサ (21.2%)、エゾホソイ (15.2%)も重要な餌資源であることが明らかとなった。rbcL ローカルデータベースは本調査地と同等の植生帯での調査にも転用可能である。

## (2) DNA バーコーディング法と直接観察法の比較

### <両方法で確認された種>

ガンコウラン、シラネニンジン、クロウスゴ、チシマザサ、チングルマ、ミネズオウ、スノキ属、キンコウカ、ミヤマキンバイ、イネ科、アオノツガザクラ、イワショウブの計 10 種+種不明 1 属 1 科であった。8 月以降の若鳥もしくは成鳥の採食頻度として高い種が確認されていると評価された。

### <直接観察のみで確認された種>

ハクサンボウフウ、ウサギギク、タカネヨモギ、コイワカガミ、クロマメノキ、コバイケイソウ、イワイチョウ、ハイマツ、スギゴケ、ハクサンイチゲ、ゼンテイカ、スゲ属、コメススキ、シナノキンバイ、イワオトギリソウ、クモマニガナ、ニガナ属の計 15 種+種不明 2 属であった。クロマメノキ、イワイチョウ、ハクサンイチゲ、スゲ属、コメススキについては比較的採食頻度が高かったが DNA 法では確認されず、糞を採取した個体の行動域に限定された結果と考えられた。

### <DNA 解析のみで確認された種>

エゾホソイ、ナナカマド、ミヤマリンドウ、ゴゼンタチバナ、マメ科、シラタマノキ、コケモモ、タテヤマリンドウ、ドロイ、クスノキ属 (現地では未確認)、ネバリノギラン、ハクサンチドリ、ミツバノバイカオウレン、の計 11 種+種不明 1 科+種不明 1 属であった。エゾホソイとナナカマド以外は糞からの出現頻度が 10%未満であり、太郎山での採食頻度があまり高くないものが記載されていると考えられた。

### <総括>

DNA 法と直接観察法を比較したところ、採食頻度が高いと推定される種については概ね共に確認されており、8 月以降の太郎山周辺における母親およびその雛の餌資源としては、どちらの手法であっても概ね同等の結果が得られていたことが示された。また、採食部位や実際の採食頻度や日齢 2 週間未満の若い雛の採食内容の把握においては直接観察法が、DNA ローカルデータベースが存在する植生での 8 月以降の若鳥や成鳥の採食内容の把握においては DNA 法が適しているなど、今後は目的に合わせた方法の選択が可能である。ただし、サンプル採集や観察にあたっては、その時期の対象種のハビタットとしての景観や植生が十分に反映された条件での実施となるように留意すべきである。

## (3) 北アルプス三山域におけるニホンライチョウ雛の成長過程に伴う採食資源の特性

三山域に共通して、9~14 日齢ではガンコウランなどの矮性常緑低木の葉の採食は確認されなかったが、25 日齢ではそれらの葉を採食していた。8 月の太郎山での 25 日齢以上の追跡個体でも、矮性常緑低木の葉の採食が認められた。このことから、25 日齢以降の雛では親と同等の植物の採食が可能と判断された。さらに、立山雷鳥沢では太郎山と同様に、スノキ属の採食割合が高く、雛の餌資源として最も重要な植物はスノキ属の新葉であり、北ノ俣岳では雪田性の草本を主に利用していることが分かった。

本研究により野生個体において死亡率の高い時期の雛の採食資源を明らかにすることができ、同様に死亡率の高いこの時期の人工飼育下での飼料設計および現地での生息地保全に役立てることができる。ニホンライチョウの 2 週間齢程度までの初期の雛においては、採食資源環境に制限がかかっていることが明らかになり、今後のハビタット保全においては雛の成長度を配慮する必要があることも示唆している。

## (4) ニホンライチョウ雛の GIS を用いた採食資源ポテンシャル解析

立山雷鳥沢の現地調査においては、緩斜面に「矮性低木群落」が、雪渓との距離が近く凹部の急斜面には「高茎草原・雪田植物群落」および「雪田植物群落」の雪田環境が発達していた。また画像解析で利用頻度が高かったクラスは「高茎草原・雪田植物群落」と「雪田植物群落」のような「雪田環境」であり (計 72%)、これは太郎山や北ノ俣岳との共通点であった (72~94%)。このことは、育雛初期に雪渓や池塘が多く存在する環境が、高い採餌環境ポテンシャルを有することを示唆していた。特異点としては、湿性環境の質の違いによる植物種構成の違いが挙げられた。立山雷鳥沢では広域的に 9 月までに徐々に消失する季節性湿地が、北ノ俣岳では 7 月までに消失する季節性湿地が存在し、太郎山ではほぼ通年を通して水を湛える池塘が広がる持続性湿地が存在する。季節性湿地は、傾斜や方位によって雪解け速度に差が生じるため、全体として植物の生育速度は地点によって多様になると推測される。太郎山は基本的に緩傾斜な平原であり、雪渓は 7 月には東側斜面の一部にしか残っていないが、池塘が広く分布している。つまり太郎山における植物の生育速度は、季節性湿地が多い立山雷鳥沢よりも均質的であ

ると考えらえる。北ノ俣岳は、基本的には急斜面であるが雪渓は早期に消失する。このような湿地環境の違いは、ライチョウの育雛初期における採食資源の質と量に直結すると考えられ、立山雷鳥沢でライチョウの個体数が多い背景の一つと推測された。本研究により、山域間での質的比較や潜在的に重要な本種のハビタットの推定を行う基盤作成され、今後の地域個体群の構造解明および現地での保全地選定などへの貢献が期待できる。

#### <引用文献>

- 小林篤・中村浩志(2011), ライチョウ *Lagopus mutus japonicus* の餌内容の季節変化, 日本鳥学会誌, 60 巻 2 号, 201-214.
- 小泉武栄(1989), 北アルプス薬師岳における斜面発達と強風地植物群落, 日本生態学会誌, 39 巻, 127-137.
- 工藤岳(2000), 「高山植物の自然史-お花畑の生態学-」, 70, 118, 北海道大学図書刊行会.
- 工藤岳(2009), 7.2 雪田植物: 雪解け傾度が作り出す環境変化と生物現象, 「高山植物学-高山環境と植物の総合科学-」, 共立出版, 204-205.
- 工藤岳・横須賀邦子(2012), 高山植物群落の開花フェノロジー構造の場所間変動と年変動 市民ボランティアによる高山生態系長期モニタリング調査, 保全生態学研究, 17 巻, 49-62.
- 水野一晴(1990) 北アルプスのカールにおける植物群落の分布と環境要因の関係 地理学評論, 63A-3, 127-153.
- 大町山岳博物館(1992), 「ライチョウ 生活と飼育への挑戦」, 信濃毎日新聞社, 44.
- 柴田治(1985), 「高地植物学」, 内田老鶴圃, 66.

#### 5. 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計2件)

Taichi Fujii, Kaoru Ueno, Motoyasu Minami (2019) Identification of food plants in the diet of Japanese ptarmigan (*Lagopus mutus japonicus*) in the Japan's Northern Japan Alps using DNA barcoding, *Wildlife and Human Society* 6(2)(in press) (査読有)

Taichi Fujii, Kaoru Ueno, Motoyasu Minami (2019) Plant-derived food resources of Japanese rock ptarmigan (*Lagopus muta japonica*) identified by DNA barcoding using rbcL local database constructed from alpine plants found in the Northern Japan Alps, Japan, *Grouse News* 57, 13-19 (査読無)

<http://galliformes.org/news/grouse-news/57>

##### [学会発表](計4件)

松浦大悟・山田浩輔・高須富美子・南基泰・上野薫, 北アルプス太郎山周辺におけるニホンライチョウ雛の7月の採食資源, 第23回野生生物と社会学会(ポスター発表, 要旨集 P90), 2017年

山田浩輔・松浦大悟・森遼介・南基泰・上野薫, 北アルプス太郎山周辺におけるニホンライチョウ雛のGISを用いたハビタット解析, 第23回野生生物と社会学会,(ポスター発表, 要旨集 P90), 2017年

藤井太一, 橋本知英, 加賀春香, 上野薫, 南基泰, DNAバーコーディング法を用いた北アルプスに生息するニホンライチョウの餌資源推定, 第64回日本生態学会大会(ポスター発表, 要旨集 P62), 2017年

鈴木雄祐, 鈴木景子, 藤井太一, 上野薫, 南基泰, 北アルプス太郎山におけるニホンライチョウの糞中植物残渣からの餌資源推定, 2016年度日本生態学会中部地区会(ポスター発表, 要旨集 P37), 2016年

#### 6. 研究組織

##### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 南 基泰

ローマ字氏名:(MINAMI, motoyasu)

所属研究機関名: 中部大学

部局名: 応用生物学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 90340207

(2)研究協力者

研究協力者氏名：本多 潔

ローマ字氏名：(HONDA , Kiyoshi )

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。