

Point

国の特別天然記念物であるアマミノクロウサギについて、野外に落ちている糞を回収し、その表面に付着しているDNA情報を読み取ることで、個体識別する手法を開発しました。この手法により、アマミノクロウサギの生息密度を従来よりも高精度に推定することが可能となりました。

DNA情報を用いたアマミノクロウサギの生息密度調査法

環境創造研究所 遺伝子解析室 中村 匡聡、環境創造研究所 環境生態部 吉里 尚子
国土環境研究所 田悟 和巳、国土環境研究所 自然環境保全部 益子 理、中村 圭太、菅野 敬雅

背景

アマミノクロウサギは、世界で奄美大島と徳之島にのみ生息するウサギ科の哺乳類です。ウサギといえば長い耳が特徴ですが、アマミノクロウサギの耳はノウサギの半分ほどの長さしかありません。また、体色も黒っぽく、短い手足に強大な爪を持つなど、本州で見かけるノウサギ類とは大きく異なる姿をしています(写真1)。本種は、化石記録や分子系統学的な研究結果などから、琉球弧とユーラシア大陸がまだ陸続きであった時代に渡ってきた祖先が、今から約200万年前に地殻変動や海面上昇により琉球諸島の島々に取り残され、強力な捕食者がいなかった奄美大島と徳之島でのみ生き残ることができた「遺存固有種」であるといわれています¹⁾。

アマミノクロウサギは、学術的な貴重性や生息個体数の少なさなどの理由から、1963年に国の特別天然記念物に、2004年には種の保存法による国内希少野生動物種に指定されています。環境省が2003年に行った調査結果では、奄美大島に2000-4800頭²⁾、徳之島に約200頭³⁾が生息すると推定されています。しかし、マングースやノネコなどの肉食性外来種の侵入や自然林減少の影響によってその個体数は減少しており、特に徳之島の個体群は絶滅の危険性が高いと考えられています。



撮影者: 益子 理

写真1 アマミノクロウサギ

生息密度推定における問題

対象とする生物の生息密度(単位面積あたりの個体数)に関するデータは、野生生物の保管理を考えるうえで最も基本的な情報となります。アマミノクロウサギの生息密度を推定する方法としては、従来から「糞粒法」が採用されてきました。糞粒法とは文字通り、予め設定した調査ルート歩きながら発見した糞の数を計数し、糞粒発見率、単位時間当たりの糞粒消失率、1頭あたり単位時間あたりの排泄糞粒数等により生息密度を間接的に推定する方法です。本法は、ウサギやシカ等の野外で糞を見分けやすい生物に対してごく一般的に適用されてきた調査法ですが、一方で、糞粒消失率などのパラメータが季節や気象条件により大きく変化するため、推定された生息密度にばらつきが大きく、正確性に欠けるという問題が指摘されてきました。

この問題を解決する選択肢の一つとして、糞由来のDNAを解析することで個体識別を行う「DNA個体識別分析法」があります。この方法は、糞1粒ずつに対して、その糞を排泄した個体を識別することが可能であるため、調査エリア内のすべての糞を回収して分析することができれば、理論的にはエリア内の生息密度を推定値ではなく実数として求められることとなります。したがって、従来の糞粒法と比べ、得られるデータの正確性が飛躍的に向上し、生息密度の変化をより定量的に評価することが可能となります。そこで、当社では、アマミノクロウサギのDNA個体識別分析法を開発し、実際に奄美大島の生息地内で生息密度の推定を試みました。

DNA情報による個体識別

(1)原理

アマミノクロウサギのDNA個体識別分析法は、法医学分野における個人鑑定でも採用されているマイクロサテライト多型解析法を採用しました。分析法開発の際に使用したアマミノクロウサギの筋肉サンプルは、環境省奄美野生生物保護センターにご協力をお願いし、交通事故で死亡した個体の組織片をご提供いただきました。

マイクロサテライトとは、DNAに含まれる2～6塩基程度を単位とした反復配列で、変異が起こりやすいため個体ごとに差異があります。マイクロサテライト多型解析法は、複数か所のマイクロサテライト領域の「DNA型」を調べ、そのDNA型の組合せが完全に一致したときに同一個体であると判定する分析方法です。

分析法開発では、糞から抽出したDNAについて、数百か所のマイクロサテライトの中から最終的に個体識別に有用と判定された8か所を選び出し、親兄弟のみの血縁個体だけで構成された集団を仮定したときの個体識別確率(PID_{sib})を8か所それぞれについて求めました(図1)。同一個体ではないのに8か所すべてのDNA型の組合せが偶然一致する確率は、1/1615個体と計算されました。血縁個体のみが1615個体も含まれる集団というのは、アマミノクロウサギの野生集団では実際にはほぼ存在し得ないと考えられますので、今回開発した個体識別法は、非常に高い精度で個体識別が可能であることが示されました。

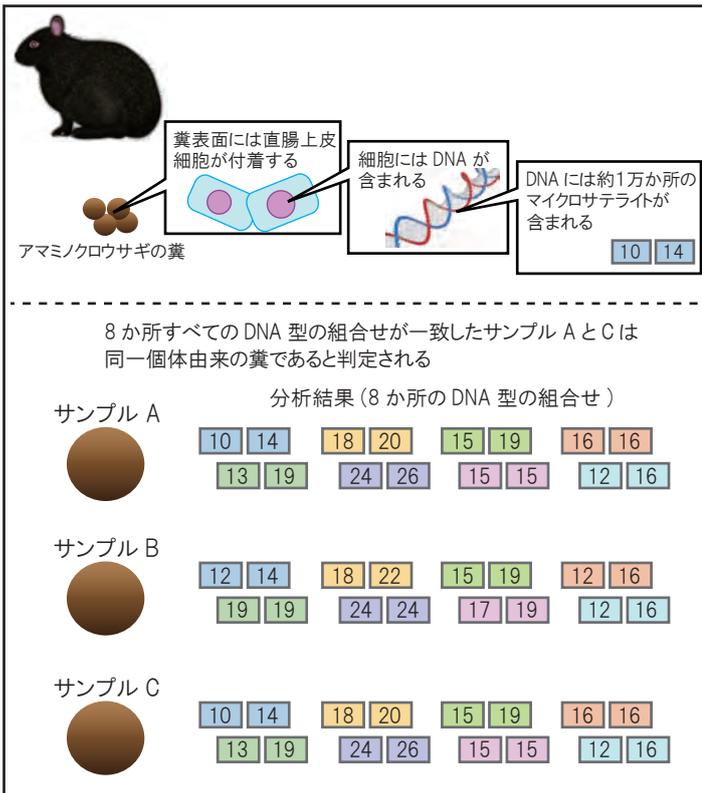


図1 DNA個体識別分析法の原理

(2)奄美大島における検証

アマミノクロウサギは、林道の脇のような開けた場所で糞をする性質があるため、その糞は比較的簡単に見つけることができます。奄美大島の原生林内を通る林道沿いに約1.4kmの調査ルートを設定し、2016年春に6日間にわたってルート上で見つけた糞サンプルを回収しました。

計207個の糞を回収し、そのうちDNA型データが得られた検体は150検体でした。個体識別分析の結果、150検体から52個体が識別され、同時に実施した性別分析の結果から、それぞれ雄32個体、雌12個体、性不明8個体ということもわかりました(図2)。この結果は、事前に予想されていた個体数よりもかなり多いものであり、従来の糞粒法による推定値は、実際の生息個体数を過小評価している可能性が示唆されました。また、同一個体由来の糞の出現位置は、多くが数十m以内に収まっていましたが、最大で150～200m程度離れて出現したケースもあり、過去のテレメリー調査によって推定されていた本種の行動範囲とおおよそ一致することもわかりました。

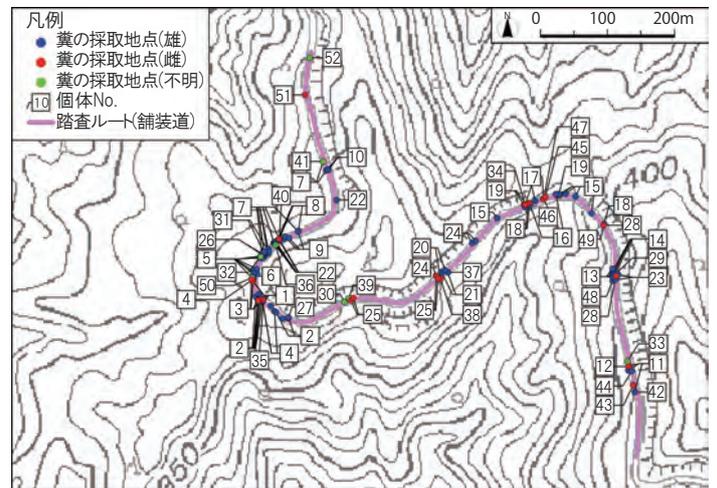


図2 DNA個体識別法により検出された個体

おわりに

環境省はUNESCO世界自然遺産として奄美大島、徳之島、沖縄本島北部、西表島をまとめた「奄美・琉球」の登録を目指しています。奄美大島を代表する固有生物であるアマミノクロウサギについては、保護増殖事業計画が策定され⁴⁾、生息密度の推定および分布状況のモニタリングを継続的に実施する必要性が示されています。当社が開発したDNA個体識別分析法は、生息密度推定のための効果的なツールになりうると期待されます。なお、本分析法は、「特願2017-185344:アマミノクロウサギの個体識別方法及びPCRプライマーセット」として特許出願中です。

【参考文献】

- 1) 山田文雄(2017), ウサギ学, 東京大学出版会
- 2) Sugimura & Yamada(2004), Acta Zoologica Sinica 50, 519-526
- 3) 杉村乾, 佐藤重穂, 山田文雄(1995), 徳之島におけるアマミノクロウサギの生息状況について, チリモス 6, 17-21
- 4) 文部科学省・農林水産省・環境省 (2015), アマミノクロウサギ保護増殖事業計画, 環境省webサイト <https://www.env.go.jp/nature/kisho/hogozoushoku/pdf/jigyoukeikaku/amaminokrouusagi2.pdf>