

兵庫県豊岡市円山川中下流域に生息するコウノトリの採食生態

コウノトリ研究会

武田 広子¹⁾・栗山 武夫¹⁾

Foraging ecology of Oriental White Storks in the middle and lower Maruyama River,
Toyooka city, Hyogo Prefecture, Japan

Oriental White Storks Study Group
Hiroko Takeda and Takeo Kuriyama

コウノトリ (*Ciconia boyciana*) の野生復帰を目指した試験放鳥が2005年より行われており、本種の野生復帰には採食場所として好適な水田などの環境の確保が急務である。本研究では、田植え前の3月および田植え後の6月に、試験放鳥個体の野外での採食行動をビデオカメラを用いて記録し、採食時間および採食環境を把握した。またビデオ解析では困難な餌生物の解析のため、飼育個体の糞によるDNAの解析手法の開発を行い、本種が利用する餌資源の解明を試みた。

野外における試験放鳥個体の1日あたりの活動時間は、3月では12時間39分、6月では15時間5分であった。そのうち採食活動に費やした時間は全体のおよそ45%であり、水田環境で最も多く見られた。

糞のDNA解析においては、餌生物から直接抽出したDNAに比べて、糞中から抽出したDNAは検出精度の低下が大きく、さらなる手法の開発が必要である。

1. はじめに

人為的な影響で個体数が減少した生物を野生復帰させるためには、人工的に繁殖させ再度野外に放つ方法が主流である。しかし、野外に再導入するときに、導入先の環境が対象生物にとって適したものでないと、生存や繁殖が上手くいかず持続可能な個体群の形成には至らない。それゆえ再導入先の環境が適したものであるかどうか判断することは野生復帰にとって不可欠な情報である。本研究では、現在、野生復帰に向けて試験的に放鳥されているコウノトリが、再導入先で持続可能な個体群形成しうるのか判断するために、採食生態に注目した。

コウノトリ (*Ciconia boyciana*) は、コウノトリ目コウノトリ科に属する大型の水鳥で、全長約1.1m、体重4~5kg、翼開長は約2.2mに達する。本種は、河川の浅瀬や湿地、湛水した水田でドジョウやフナなど

の魚類、カエル類や甲殻類などの水生動物等を主に採食する (Hancock *et al.* 1992)。4月から8月にかけてロシアのアムール川中下流域とウスリー川流域、中国東北部の一部で繁殖し、9月から10月にかけて中国南部から南東部一帯に渡り、越冬する (del Hoyo *et al.* 1992)。2008年時点で、全世界で生息個体数は3,000羽と推定され、個体数が減少の傾向にあるため、国際自然保護連合によって *endangered species* (絶滅危惧種) に分類されている。

本種は、江戸時代中期(1730年頃)には東北地方から九州地方にかけて日本列島に広く生息していたが(安田 1987)、明治初期の狩猟解禁による乱獲で個体数が減少した。また河川の整備や水田の乾田化などによる採食環境の変化、営巣木の伐採、農薬散布による採食環境の悪化で、生息地が減少した。1971年に但馬で最後まで生息していた個体が保護

1) 東邦大学理学研究科生物学専攻地理生態学研究室 〒274-8510 千葉県船橋市三山2-2-1

されたことで、日本では野外からコウノトリが姿を消した。

日本での最後の生息地となった兵庫県豊岡市では、1965年から本種の人工飼育を開始し、1989年に人工繁殖に成功した。2005年9月に初の試験放鳥が行われ、コウノトリ野生復帰の第一歩が踏み出された(菊地・池田 2006)。2007年7月には、国内で46年ぶりとなる自然界でのヒナの巣立ちがあり、2009年も9羽が巣立った。

野生復帰が成功するという事は、すなわち持続可能な個体群が形成されることである。そのためには、コウノトリが野外で採食できる環境が必要である。本研究では、兵庫県豊岡市円山川中下流域に生息するコウノトリの採食生態について基礎的なデータを得ることを目的とし、今後の野生復帰を進めるうえで貢献していく。

本研究では、コウノトリの採食生態についての野外調査と、本種の糞に残存する餌生物のDNA解析手法の検討を行った。

2. 野外調査

コウノトリの野外での採食生態を明らかにするために、2007年～2008年にかけて、兵庫県豊岡市円山川中下流域(図1)に生息する放鳥個体の野外調査を行った。試験放鳥された個体の中で、給餌に依存せず野外で生息している個体(個体番号:J0363、雌、6歳(2009年11月現在))を調査対象とした。J0363の行動範囲となった、豊岡市の出石川下流域(円山川水系の支流)を調査範囲とした(北緯 $35^{\circ}30'$ 、東経 $134^{\circ}50'$ 、南北約7.5km、東西約5.0km、約 37.5km^2)。ここでは、3月(田植え前、調査日3月23日)と6月(田植え後、調査日6月9日)の調査について報告する。

(1) 方法

J0363は、小坂地区農業集落排水施設の北約70mに位置する電柱上(北緯 $35^{\circ}49'$ 、東経 $134^{\circ}83'$ 、3月)と田多地地区にあるパナソニックエレクトロニックデバイス但馬株式会社工場敷地内の電柱上(北緯 $35^{\circ}49'$ 、東経 $134^{\circ}86'$ 、6月)に罫をとった。観察・追跡調査は、コウノトリが出石川下流域で行動する時間帯に合わせて開始、終了した(3月:5:20～18:40、

6月:3:50～19:30)。追跡は、車を用いて1人で行い、警戒されない距離(約100m以上)を保ちながら、コウノトリが採食行動をしている間、その行動をビデオカメラで撮影した。観察時に採食場所、採食時間、採食した餌生物の種類や大きさなどを野帳に記入し、同時にビデオカメラで直接音声を録音し、記録した。撮影には、ビデオカメラをアタッチメント(倍率12倍)で望遠鏡とつなげたシステム(35mmカメラ換算で約5,000mm相当)を用いた。

観察時にビデオテープに記録した映像を再生して、コウノトリの採食時間、採食した餌生物の種類や大きさを解析した。採食時間は、J0363を追跡したデータ(1日の活動時間に対して7割以上の時間を追跡できたデータ)から求めた。コウノトリは一度に

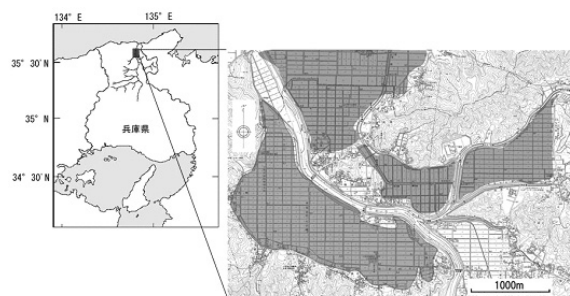


図1 調査地
(左図 ■ : 兵庫県豊岡市、
右図 ■ : 水田(出石川下流域))



写真1 野外調査の様子

数kmの距離を飛んで移動することがあり、観察者はしばしば、2~3時間見失うことがあった。採食した餌生物の種類は、コウノトリが餌生物を嘴にくわえ上げたときの映像を繰り返し再生し、観察時の記録と併せて、判断した。またコウノトリの行動(追いかけた、捕らえた、くわえた、飲み込みかた)も判断の基準とした。餌生物の大きさはコウノトリ(雌、4、5歳)の嘴の長さ、平均 $22.41 \pm 0.58\text{cm}$ ($n=16$ 、兵庫県立コウノトリの郷公園の測定データ)を基準にして、相対的な大きさを推定した。ビデオ画像が不鮮明であったり、コウノトリが観察者の反対側を向いてしまったり、餌が見えなかった場合は観察不能とした。

ビデオ映像を解析して得られた、嘴に対する餌の相対的な大きさから実際の餌の大きさを推定し、コウノトリが採食した餌の重量を算出した。土地所有者に許可を得て、採食に利用した水田やビオトープ、水路でも網等を用いて餌生物を捕獲し、その体長と湿重量を計測した。それらの値から体長-湿重量換算式を求めて、採食した餌の重量を計算した。

(2) 結果と考察

野外における放鳥個体(J0363)の1日あたりの活動時間は、3月では12時間39分(5:40~18:19)、6月では15時間5分(4:09~19:14)であった。3月の日の出・日の入り時刻(調査日2008年)は、それぞれ5:59、18:13で、6月は4:46、19:12であった(国立天文台天文情報センター 2009)。他の時期の観察結果と、トキの就鳩行動パターンの研究(丁 2007)から、コウノトリが1日あたりに活動する時間の長さは、日の出・日の入り時刻と関係していると考えられた。

6月の採食生態に関して、より詳細な分析が必要であるため、6月については骨格を述べ、ここから3月の採食生態を中心に報告する。1日あたりの活動時間に占める採食時間の割合は、3月で42.6%、6月で48.3%であった(図2)。この採食時間には、追跡の途中で個体を見失った時間(約2時間)が含まれていないため、実際の採食時間より短いと推測された。豊岡市福田地区において、放鳥個体(雌)を冬期に追跡調査した結果では、コウノトリの1日あたりの活動時間に対する採食時間の割合は、約90%であった

(豊岡市役所 2008)。また、豊岡市内で行った調査では、水田での生物量は6月がピークで、冬期はあらゆる採食環境(水田、水路、畔、河川浅水域)で生物量がきわめて小さいという結果から(内藤 他

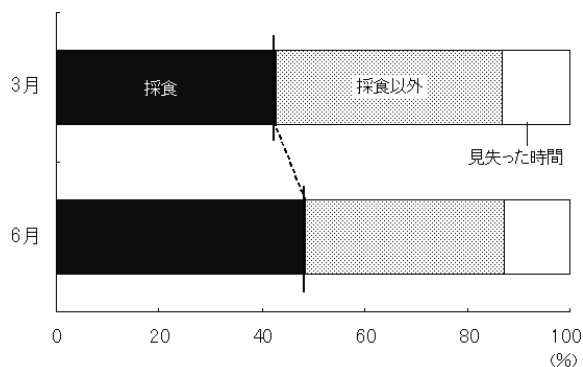


図2 1日あたりの活動時間に占める採食時間の割合

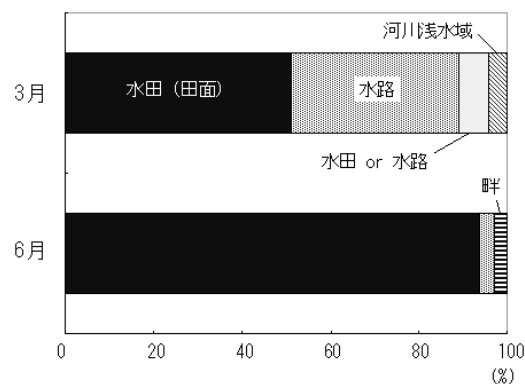


図3 採食に利用していた環境の割合
コウノトリを見失った時間(図2参照)は、採食以外とした場合。

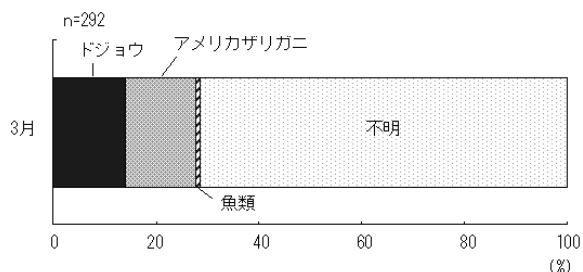


図4 採食した餌種 (3月)
餌種不明が71.6%を占めた。

2009)、1日あたりに活動できる時間と餌量によって、1日あたりの採食時間の割合が変化すると推測された。

採食に利用していた環境は、3月、6月とも水田地帯が最も多く、3月は田面を51.1%、水路を38.0%利用していた(図3)。6月はほとんどが田面での採食を確認した(93.8%)。採食した餌種について、体サイズの小さい餌生物はビデオ撮影した映像を解析した際に判別できないものが多く、映像から判別できたものの中で3月は主にドジョウ、アメリカザリガニであった(図4)。6月は主にカエル類幼生の採食を観察した。採食した餌量については、餌種不明のものが多く(3月:71.6%)、その内96.2%が5.0cm未満の大きさであったため、映像解析からだけでは餌量を正確に推定することは困難であった。餌生物調査の結果から餌量を推定する方法(豊岡市役所 2008)と、本研究によるビデオ映像解析の結果を組み合わせ、餌量推定の精度を向上させることが、今後の課題となった。

3. 糞の餌生物DNA解析

野外でのコウノトリの採食行動の観察および、ビデオカメラで撮影した映像の解析から判定した餌生物についてより詳細に知る方法として、コウノトリの糞を採集し、その中に残存する餌生物のDNAを解析する方法を検討した。

(1) 糞サンプルの採集

コウノトリは野外でドジョウやアメリカザリガニ、カエル類幼生など、多様な餌生物を採食していたが、全ての餌生物を解析するのは困難であった。そこで餌が既知である本種人工飼育個体の糞中の餌生物DNAを解析した。糞の採集とDNA抽出作業は、兵庫県立コウノトリの郷公園(以下、郷公園。兵庫県豊岡市祥雲寺)と同公園附属飼育施設コウノトリ保護増殖センター(以下、保護増殖センター。豊岡市野上)の協力を得て行った。保護増殖センターの個体ケージ内で飼育されている7個体の給餌内容を5日間、個体ごとに固定した。給餌内容は、ドジョウ、マアジ、ニジマスの3種を組み合わせた(ドジョウのみ、マアジのみ、ドジョウ・マアジ、ドジョウ・マアジ・ニジマスの4組)。飼育の関係上、ニジマス

については他2種と組み合わせただけのものみの給餌とした。朝の餌容器の回収時(9:00から10:30の間)に、餌生物DNAを抽出するために必要な糞量(150~200mg)を得るため、個体ケージ内で発見した本種の糞の中で一番新鮮であると判断された糞の固形部分を、割り箸で可能な限り採集し、サンプルとした。採集した糞は、チャック付きポリ袋に入れ、冷蔵庫(4℃)で一時的に保存した。その後糞を70%エタノールが入ったスクリュウ管瓶に移し変えて、冷蔵庫(4℃)で保存した。保護増殖センターの飼育7個体から、34の糞サンプルを採集した。また、野外で1つの糞サンプルと郷公園検疫棟において2つの糞サンプルを採集した。個体ケージ内の地面の状態は、草地もしくは裸地であった。

(2) 糞からの餌生物DNA抽出、PCR法によるDNAの増幅

3日から1ヶ月間保存した糞サンプルを電子秤で計量し、糞DNA抽出キット ZR Fecal DNA Kit (ZYMO RESEARCH)のプロトコルに従い、DNAを抽出した。

各サンプルから抽出したDNAを鋳型にして、ミトコンドリアDNAの16SリボソームRNA遺伝子(16SrDNA)領域をポリメラーゼ連鎖反応(PCR: Polymerase Chain Reaction)法により増幅した。プライマーは、Deagle *et al.* (2007)によってマカロニペンギンの糞のDNA解析で用いるために設計された、16S1F-degenerate: 5'-GAC GAK AAG ACC CTA-3'、および16S2R-degenerate: 5'-CGC TGT TAT CCC TAD RGT AAC T-3'を用いた。16S1F-degenerate / 16S2R-degenerateのプライマーセットは、魚類、頭足類、甲殻類のDNAを増幅させることが確認されている(Deagle *et al.* 2007)。PCR反応液は、鋳型DNA溶液を1μL、10×Ex Taq Buffer (TaKaRa Bio)を1μL、BSA (ウシ血清アルブミン)を1μL、2.0μMの各プライマーを2.0μL、dNTP Mixtureを0.8μL、TaKaRa Ex Taq Hot Start Versionを0.1μL加え、超純水にて総量を10μLにしたものを使用した。

PCRは、94℃で10分間加熱したのち、94℃で30秒間の変性、54℃で30秒間のアニーリング、72℃で45秒間の伸張を1サイクルとして35サイクルを繰り返

し、72°Cで2分間の最終伸張を行った。PCR産物は、1.5%アガロースゲル電気泳動により増幅産物を確認した。同時に、餌生物であるドジョウ、マアジ、ニジマスの組織から、それぞれDNAを抽出し、糞サンプルと同様の条件でPCRを行った。

(3) 結果と考察

採集した37サンプルの内、26サンプルについてDNAを抽出し、13サンプルでPCRを行った。この13サンプルの内、10サンプルで16S1F-degenerate / 16S2R-degenerateの増幅産物と考えられる180bpから270bpのバンドが確認された(図5：レーン1~7)。餌生物であるドジョウ、マアジ、ニジマスにおいても、同プライマーセットの増幅産物と考えられるバンドが確認された(図5：レーン8、9、10)。採集時に排泄されてから時間が経過していると判断した糞では、バンドが確認できなかった。朝に排泄されたと判断した新鮮な糞であっても、バンドが確認できないものがあった。これらより、DNA解析に用いる糞は排泄されてから時間が経過していないものを採集することが重要であると考えられた。糞サンプルから確認されたバンドは、餌生物の組織から直接抽出したDNAに比べて不明瞭で、コウノトリの糞中から抽出したDNAは検出精度が低いと考えられた。野外で採集した1つの糞サンプルでは、バンドを確認することができたが検出精度が低かった(図5：レーン1)。これは、コウノトリの消化作用によって餌生物のDNAが断片化されて短いためと推測された。また、餌生

物のドジョウのバンドは他の2種と比較して薄く、餌生物種によっても、DNAが検出されにくい種類があると考えられた。これは、用いたプライマーセットに餌生物種による増幅のしやすさがあり(Deagle *et al.* 2007)、それがひとつの要因と推測された。これらのことから、消化によって断片化されたDNAを増幅し、それぞれの動物群に応じた、新たなプライマーを作成する必要があると考えられた。コウノトリが採食する餌生物を本種の糞DNAを用いて網羅的に食性解析を進めていくためには、解析手法の精度の向上、高コストな資金と時間を要する効率面の改善などが、今後の課題として残された。

謝辞

本研究にあたり、野外調査やDNA解析において、多大なご協力をいただいた兵庫県立コウノトリの郷公園の三橋陽子獣医、吉沢拓祥氏、同公園職員の方々、兵庫県森林動物研究センターの森光由樹研究員、東邦大学理学部の長谷川雅美教授に深く御礼申し上げます。また、現地での調査を快く手伝ってくださった、豊岡市民の皆様にも、この場を借りて感謝申し上げます。調査期間中、調査の拠点として家を貸してくださった大字健一氏、田中忠夫氏に御礼申し上げます。PRO NATURA FUNDからは研究活動を行う上で経済的な支援をしていただきました。最後に、東邦大学理学部生物専攻生態部門の方々にも感謝致します。

引用文献

- del Hoyo J., Elliott A and Sargatal J (eds.). 1992. Handbook of the Birds of the World, Vol1, Lynx Edicions, Barcelona.
- Deagle BE., Gales NJ., Evans K., Jarman SN., Robinson S., Trebilco R. and Hindell MA. 2007. Studying seabird diet through genetic analysis of faeces: a case study on Macaroni Penguins (*Eudyptes chrysolophus*). PloS ONE, 2 (9): e831.
- Hancock JA., Kushlan JA. and Kahl MP. 1992. Storks, Ibises and Spoonbills of the world. Academic Press, London.

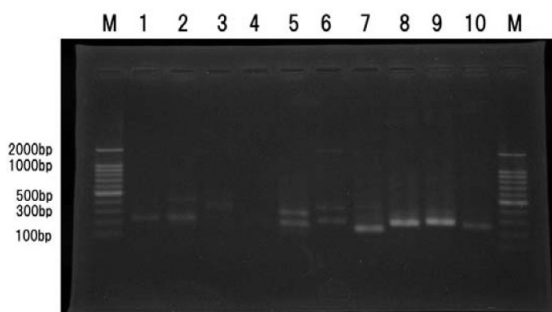


図5 16S1F-degenerate / 16S2R-degenerateのプライマーによる泳動像
Mは100bpDNAラダーマーカー(TaKaRa)

- 菊地直樹・池田啓. 2006. 但馬のこうのとり. シリーズ但馬V. 但馬文化協会.
- 国立天文台天文情報センター. 2009. 暦計算室.
<http://www.nao.ac.jp/koyomi/>
- 内藤和明・大迫義人・池田啓・佐藤直. 2009. コウノトリの再導入地における餌生物量. 日本生態学会大会講演要旨集, 56: 483pp.
- 丁長青. 2007. トキの研究. 新樹社: 1-406.
- 豊岡市役所. 2008. 福田地区コウノトリ生息状況調査報告書: 1-48.
- 安田健. 1987. 江戸諸国産物帳 丹羽正伯の人と仕事. 晶文社: 63pp.

The Oriental White Stork (*Ciconia boyciana*) is a large waterfowl of the endangered species. Artificial rearing started in 1965 because the number of individuals decreased sharply due to hunting and the deterioration of the native habitat. The release for reintroduction is begun in Toyooka City, Hyogo Prefecture in 2005. In this study, we investigated foraging ecology of Oriental White Storks in the field in March (before rice planting) and June (after rice planting), and the usefulness of DNA-based faecal analysis using the faeces of the breeding individuals in a dietary study.

The activity time of a wild individual was 12 hours 39 minutes/day and 15 hours 5 minutes/day in March and June, respectively. The foraging activity time was about 45% among those. The foraging was observed mostly in the rice field in March and June.

Prey DNA in faeces was detected, but it is hard to detect their DNA compared with those from the organization of prey.