
第5章 食性の評価

小寺祐二

1. はじめに

食物は、野生動物にとって「生存必須資源」の一つであり、天候からの避難場所や逃走用、営巢用の隠れ場所となるカバーや水とともに生息地の環境収容力を決定する要因である（ダスマン 1984）。また、食物の利用可能量や栄養素は、季節的・経年的に変動するだけでなく、火事や伐採などの環境攪乱によって変動するが、それによって動物の数や個体群の分布が変化する可能性がある（Litvaitis et al. 1996）。そのため、動物種の食物利用について理解することは、野生動物を管理するうえで最優先に取り組むべき課題の一つである。そこで本章では、野生動物の研究者が理解しておくべき、動物による食物利用の評価技術の基礎について解説する。なお、「食性」には、動物の摂食習性に対して摂食方法の行動的、生理的側面を含む広い意味が含まれる。野生動物の食性研究の全体像については「野生動物の研究と管理技術（永文堂出版）」の第10章で Litvaitis et al. (1996) が総括している。そのため、本章では食性研究の全体像については Litvaitis et al. (1996) の要約に留め、同書での記載が比較的少ない食物利用量の測定方法を中心に解説する。

2. 食性研究の重要性

自動車や航空機は、エネルギー保存の法則によって常に活動範囲を制限されている。たとえば、ある自動車が移動可能な範囲は、「燃料の種類」と「給油所の分布」、「燃費」、「タンク容量」によって自ずと限界が定まる。この限界を超えることは、自動車でガス欠、航空機では墜落という結果をもたらす。これらの乗り物と同様に、野生動物の各個体もエネルギー保存の法則に束縛

されつつ生存している。すなわち、生命の維持・活動、成長、繁殖などに必要な物質を食物として体外から取り入れ、エネルギーなどを獲得したうえで、不要物を体外に排出する現象によって生命・健康の維持や繁殖活動が可能になっている（奥村・田中 1995）。動物栄養学では、生命の維持・活動に不可欠なこの一連の現象を総称して栄養（nutrition）、生体内における物質の化学変化を代謝（metabolism）と呼んでいる（奥村・田中 1995）。乗り物における「燃料」は野生動物では食物（動物栄養学的には栄養素（nutrient））にあたり、「給油所の分布」は「食物の分布」に相当する。また、「燃費」は、栄養素の吸収（absorption）効率と動物のエネルギー要求によって決まる。栄養素の吸収効率は、消化過程の違い（単胃か複胃かなど）だけではなく、食物の種類や性質によって変化することも知られている（奥村・田中 1995）。さらに「タンク容量」は栄養素の蓄積能力に該当する。動物の場合、移動可能限界を超えることは個体の死を意味する。一方、乗り物と動物ではいくつか異なる点がある。たとえば、乗り物で使用される燃料は品質がある程度一定しているが、動物では採食対象が多様であるうえ、栄養素もタンパク質や脂質、炭水化物、ビタミン、ミネラルなど（奥村・田中 1995）多岐にわたり、採食要求は個体の性・年齢や季節などによって変化する（Litvaitis et al. 1996）。また、食物における栄養素の構成も消化率に影響する。たとえば反芻動物では、可溶性炭水化物を過剰に摂食すると他の栄養素の消化率が低下するデンプン消化減退（starch depression）が生じるが、このときに食物中の蛋白質含有率を高めると消化率が回復することが知られている（奥村・田中 1995）。さらに給油所はほぼ一定の距離ごとにあるのに対して、野生動物の場合は採食対象種の分布や利用可能量、栄養素が季節的・経年的に変動する（ダスマン 1984; Litvaitis et al. 1996）。そのため、これらの食物に関わる条件が個体の行動圏形成に強く影響し、場合によっては個体の繁殖や生存をも左右している。たとえば、繁殖に関わる重要な時期や栄養素の蓄積量が少ない時期に、動物の行動圏内で食物の質の低下や利用可能量の不足が生じれば、繁殖に失敗する確率や死亡率が上昇する。そのため、野生動物の行動圏の形成理由について考察したり、個体の健康状態などを推測したりするうえでも、対象種の食性を明らかにする研究は重要な意味をもつ。また、食物資

源の量と分布は、生息地選択に影響する環境特性の一つであるため (Litvaitis et al. 1996), 野生動物の食物利用パターンが未知ならば, その生息地管理は不可能となる。

3. 何がどこまでわかるのか

野生動物の食性は場所や時期, 個体の性・年齢によって異なるうえ, 捕食者-被食者間の種間関係や繁殖成功率に影響する外的要因などに関する研究の基盤となる (Litvaitis et al. 1996)。そのため, 食物利用量の変化を把握し, 野生動物の食性を明らかにすることは重要な研究課題である。

食物利用量の測定方法には, 直接観察や採食地での調査, 消化管内容物などの試料調査がある (表 1; Litvaitis et al. 1996)。直接観察では, 双眼鏡や望遠鏡を用いて野生動物の採食活動を観察し, 消費された食物の種類と頻度を記録する。食物利用量は, 食物の噛み取り数 (bite count) や採食時間として定量化され, 各食物の噛み取り数や採食時間が全体に占める割合が相対頻度として算出される。また, 食物の採食量は, 食物項目ごとの噛み取り数と一噛み当たりの採食量の積から推定することができる。しかし, 食物の識別精度が観察対象までの距離や観察者の知識, 植物群落の複雑さ, 植物の生長程度合いによって左右されるうえ, 適用できるのが開放的な環境に生息する昼

表 1 野生動物を対象とした食物利用量の測定方法

測定方法	評価指標	特徴
直接観察	<ul style="list-style-type: none"> ・噛み取り数 ・採食時間 	<ul style="list-style-type: none"> ・食物の識別精度がさまざまな要因によって左右される ・開放的な環境に生息する昼行性の動物や飼育個体など, 採食活動が観察可能な種に限定される
採食地での調査	<ul style="list-style-type: none"> ・現存量の差 ・採食痕 	<ul style="list-style-type: none"> ・植食動物をおもな対象とした手法 ・肉食動物のように移動する動物を補食する種に対しては一般的ではない
試料調査	<ul style="list-style-type: none"> ・重量比 ・容積比 ・ポイント枠法による占有比 ・出現頻度 	<ul style="list-style-type: none"> ・消化管内容物や排泄物などの試料を利用する測定方法で, 野生動物の食性分析では最も一般的 ・さまざまな評価指標を算出できるが, 分析にあたっては注意を払う必要がある (「4. 試料調査による食物利用量の測定方法の基礎」を参照)

行性の動物に限定されるため、野生動物の食物利用量調査としての適用範囲は広くない (Litvaitis et al. 1996).

採食地での調査には、食物の現存量の差を推定する方法と採食痕から推定する方法がある。さらに前者には採食前後で調査地の現存量を比較する方法と、採食された場所とされていない場所の現存量を比較する方法がある。採食前後の現存量を比較する場合、類似の環境下に二つの調査区を設置して採食前に一つの調査区の食物をすべて採取し、採食期間後に残りの調査区の食物を採取する。そして、これらの現存量の差を食物利用量の近似値とする。採食された場所とされていない場所の比較では、金網などの囲いを用いて調査地に対象動物の排除区を設置する。そして、採食期間後に調査地の排除区と非排除区で食物をすべて採取して計量し、両者の差から食物利用量を推定する。採食痕を用いた方法には、一定の面積内の対象種の個体数を数え、採食された個体の相対頻度と採食対象種の割合から利用量の比率を推定するなどの方法がある。いずれにしても、採食地での調査はシカなどの植食動物を対象とした手法である。肉食および雑食動物のように、自ら移動可能な動物が採食対象に含まれる種では、採食対象の移動による影響が生じるため食性調査法としては一般的ではない。

消化管内容物などの試料調査は、肉食や雑食動物に関わらず評価可能であるため、野生動物の食物利用量の測定方法では最も一般的な手法である。この方法では、胃や腸などの消化管内容物、糞、ペリット (pellet: 口から吐き出した不消化物) を収集し、目視や顕微鏡を使って内容物を同定する。食物利用量は、各食物項目の体積や重量が1試料中に占める割合や、全試料に対して各食物項目が出現した試料の割合 (出現頻度) として評価される。この方法の詳細については次節以降に解説する。

ところで、本節の冒頭で食物利用量の把握は重要だと述べたが、食性に関する研究には食物の利用可能量や選択性の評価、栄養組成分析などもあり、野生動物による生息地の利用パターンや活動を制限する要因について理解を深めたり特定の食物を野生動物が選択する理由を理解したりするうえで、これらの項目も不可欠であることを忘れてはいけない。ちなみに、資源利用様式に関する情報を表現する際に、利用 (use)、選択 (selection)、選好性

(preference)という言葉が用いられるが、それぞれ独立した意味を持っている。利用とは動物による食物資源の消費があることを示し、選択とは動物が利用可能な食物の選択肢の中から食物を選んでいることを意味している。つまり、食物の利用量に対して著しく多く利用しているならば、その利用は選択的であるといえる。また、選好性は、複数の等価な餌資源を動物が獲得できる場合に決められるものである(第7章も参照)。

そのほか詳細については割愛するが、野生動物の食性研究に携わるのであれば「野生動物の研究と管理技術(永文堂出版)」などを通読して、その全体像を理解しておくべきである。

【コラム5】糞分析におけるミミズの検出方法

第5章の食性評価でも解説されているように、消化されやすい食物は採食物として検出できない場合がある。とくに糞では胃内容物と比べて内容物の消化の程度が大きいいため、その可能性は一層高まる。検出されなければ、当然食物としての価値を評価することはできない。糞分析は、「消化過程を経た食物集団の組成を評価する」という前提がある(高槻 2011)ことを理解しておく必要がある。

しかし、消化されやすい食物や水洗時に流失しやすい食物であっても、適切な方法を用いることで、糞からの出現の有無を確認できる場合もある。その代表例がミミズである。ミミズは土壌動物のなかで現存量が大きいこともあり、ニホンアナグマやタヌキなどさまざまな哺乳類の食物資源となっている(たとえば、山本 1994)。しかしミミズは消化されやすく、通常の糞分析で確認することは困難である。本コラムでは、とくに中型食肉目の糞分析で利用されている「ミミズの検出方法」について紹介する。

1. ミミズの検出方法

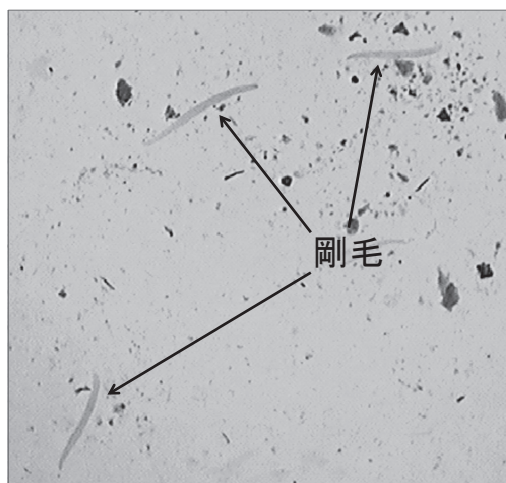
ミミズの採食の有無をどうやって確認するのか？

ミミズの体は複数の体節に分かれており(図Ⅰ)、体節ごとに剛毛(図Ⅱ)



図Ⅰ フトミミズ科のミミズ

複数の体節で区切られているのがわかる。



図Ⅱ ミミズの剛毛

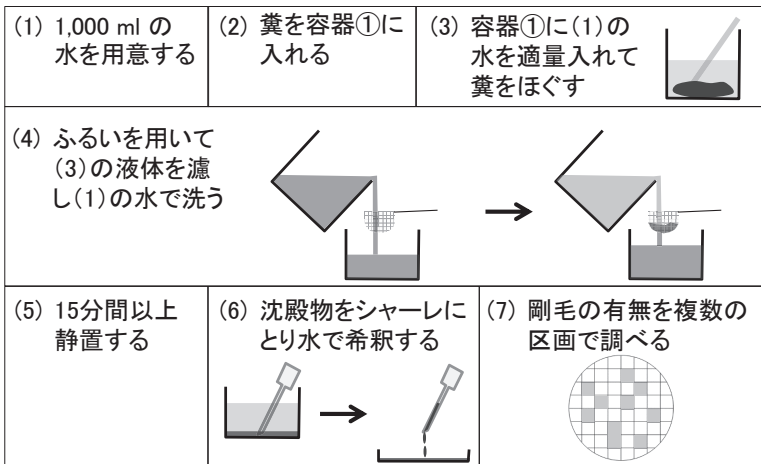
これらの剛毛は、腐敗させたミミズから採取したものである。

が生えている。本州以南に優占するフトミミズ科の剛毛は、各体節（第一体節と最後の体節は除く）に30本以上生えているため（石塚・皆越 2014）、1個体のミミズが採食されただけでも相当数の剛毛が出現することになる。剛毛はミミズ本体に比べて消化されにくいいため、糞分析においてミミズの出現の有無を確認するための有効な指標となる。

剛毛の有無の調べ方

通常の糞分析では、ふるいを用いて糞を水洗するが、その際にほとんど

の剛毛はふるいを通過してしまう。そのため、剛毛の有無を確認するためには、水洗時にふるいを通過した液（以下、通過液）を下記の方法により調べる必要がある（図Ⅲ）。この方法は、Kaneko et al. (2006, 2009) に準拠しているが、容器やふるいの大きさなどは筆者が設定したものであることに留意されたい。なお、イノシシの食性分析では、剛毛が通過しない格子サイズ（40 μm ）のふるいを用いてミミズの出現の有無が調べられている（たとえば、Fournier-Chambrillon et al. 1995; Bauber et al. 2003）。



図Ⅲ 糞中におけるミミズの剛毛の有無の調べ方

本文も参照のこと。

- (1) 1,000 ml の水を用意する。
- (2) 糞を適当な大きさの容器①に入れる。
- (3) 容器①に、糞が水に浸るくらいまで(1)の水を入れる。そして、糞がやわらかくなってから糞をほぐす。
- (4) ふるい（格子サイズ 0.5 mm）を用いて、容器②（高さ 8.5 cm×長さ 13.0 cm×幅 14.0 cm）の上で(3)の液体を濾す。そして、ふるい上の残渣物を(1)に残っている水で洗う。
- (5) 容器②の通過液（1,000 ml）は、攪拌した後、沈殿物と上澄み液に分けるために 15 分以上静置する。

- (6) 沈殿物 5 ml をピペットで採取する。そして、それらを 1 cm 格子つきのシャーレ（直径 9.3 cm）に移し、10 ml の水で希釈する。Kaneko et al. (2006, 2009) では、15 ml の沈殿物を採取し剛毛の有無を調べているが、筆者が行った研究では、沈殿物の濁りが強く観察が困難な場合が多かったため、水で希釈したうえで剛毛の有無を調べた。
- (7) 実体顕微鏡（倍率 20 倍）を使用して、シャーレ上の 1 cm 格子内の剛毛の有無を任意に 10 区画調べる。調べる区画の位置をすべての分析で統一したが、目的によってはランダムに選ぶ必要があるだろう。

2. 分析の注意点

ミミズの出現の有無を確認するだけであれば、剛毛が出現した時点で分析は終了する。しかし、剛毛が出現しなかったとしても、「対象動物がミミズを採食していない」ということを結論づけることはできない。調べた場所や採取した沈殿物の中に、たまたま剛毛が存在しなかっただけかもしれないからである。これらの影響を最小限に抑えるためには、すべての沈殿物を調べる必要があるが、それには大変な労力と時間がかかる。そのため、現時点では、沈殿物の一部を採取して、さらにその一部を調べるという方法がとられている。しかし、沈殿物の採取量や調査区画数がどの程度であれば見落としが少なくなるのかは残念ながら不明である。

（關 義和）

4. 試料調査による食物利用量の測定方法の基礎

試料の収集

前節で述べたように消化管内容物などの試料調査は、食物の種類によらず食物利用量を評価できる優れた手法である。しかし、胃や腸などの消化管の内容物、糞、ペリットといった分析用試料を一定数以上収集する必要がある。予備調査や既存研究の分散推定値に基づいて統計学的に必要な試料数を計算することは可能である。しかし、対象種の食性の幅や季節的变化などを考慮

すると、必要な試料の最低数を示すことは難しく、新たな試料を追加しても結果に変化が見られなくなるほど多くの試料をそろえることが望まれる。そのため、消化管内容物や糞、ペリットのうち、分析に用いる試料は可能なかぎり容易に多数を収集できるものに限定される。また、収集する試料を決定する際には、収集しやすさだけでなく動物による消化の影響についても頭に入れておく必要がある。たとえば、糞やペリットは対象動物を捕殺することなく容易に多数を収集できるが、これらは消化不能な食物項目の残渣であり、これを用いた分析では結果に偏りが生じることを忘れてはいけない。イノシシはタケ類の地下茎やイネを採食した際にペリットを吐き出すことがあるが、これは恒常的行動ではないため、ペリットを食性分析に用いれば偏った結果しか得られない（図1-4）。また、胃内容物でも消化の影響は生じる。吐き出されたペリットは胃に入らず、よく咀嚼され極小片となった食物や速



図1 イノシシによるササ類の稈の採食痕



図2 ササ類の稈を採食した後でイノシシが吐き出したペリット



図3 イノシシによるイネの実の採食痕



図4 イネの実を採食した後でイノシシが吐き出したペリット

やかに消化される食物は、水洗時に流失するなどして検出が困難になるからだ。糞やペリットほどではないものの、胃内容物でも分析結果の偏りが生じていることは理解しておかねばならない。

分析に必要な試料数について考える際、季節的区分についても注意する必要がある。食性分析で季節の変動を検討する場合、生物学的に意味のある期間（発情期と非発情期など）で区分する必要があるが、通常、各季節的区分の長さは不均一になる。長さが短い季節的区分では試料不足に陥る可能性が高まるが、いずれの区分でも十分な試料数を揃えなければならない。また、イノシシやニホンジカなど大型哺乳類では行政の事務的な理由で年度末や年度当初の捕獲頭数が少なくなることがあり、消化管内容物は必要数を揃えることが難しくなるケースもある。このように、人為的な影響で試料不足に陥る可能性がある種では、期間が長い季節的区分でも試料数に注意する必要がある。

分析に必要な試料数について検討する際、調査地域の広さの妥当性も検討すべきである。特定個体の行動圏やなわばり内部だけで収集した試料の分析結果は、対象個体群の食性ではなく特定個体の食性を反映している可能性が高い。とくに糞やペレットを試料として用いる場合、試料の採集地点に偏りがなく、対象種の行動圏やなわばりよりも広い範囲に調査地域が設定されているかを確認したうえで分析しなければならない。

試料数以外の課題として、試料の分析での取り扱いの問題がある。たとえば胃内容物分析なら、1個体の胃内容物全体を分析するのか、一部を抽出して分析するのかということである（図5）。作業効率という点では、前者の



図5 1個体のイノシシから採取した胃内容物

すべてを分析に用いるとかなりの労力と時間が必要になる。

場合、試料の総量が多いほど分析に要する労力や時間が増加する。また、試料調査における代表的な分析方法では、各食物項目の容積や重量が1試料中に占める割合で食物利用量を評価することが多いが、試料の取り扱い方法によって母数の基準が決定する。分析で得られた数値の重み付けや意味も、試料の取り扱い方法によって決定するのである。胃内容物全体を分析対象とすれば、対象個体が捕殺される前に採食した食物内容の評価になる。ただし、胃内容物の総量は個体ごとに異なるため、得られた数値の尺度も個体ごとに異なる(図6)。つまり、ある食物項目の乾重量比の値が10%だったとしても、胃内容物の総量が2,000gの個体と500gの個体では、単純に食物として等価ではない点に注意する必要がある。その一方で、1個体の胃内容物から一

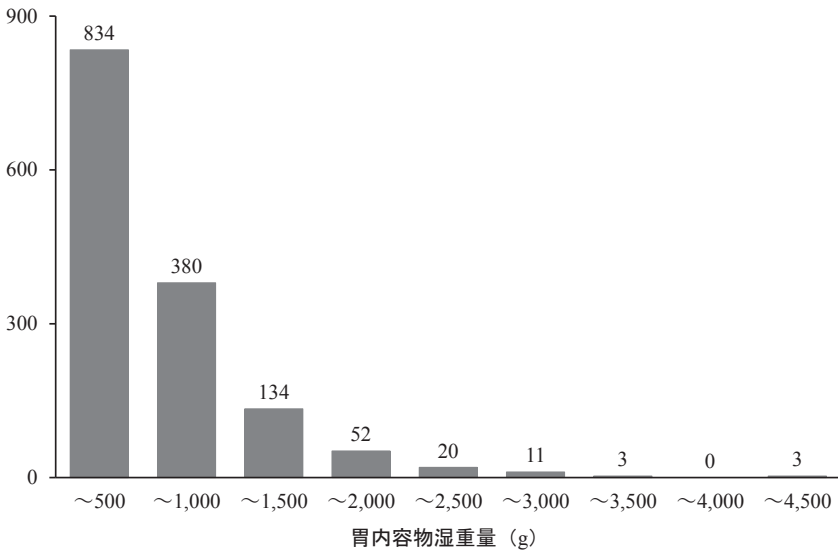


図6 イノシシの胃内容物湿重量区分(500g区分)ごとの個体数分布

小寺(2011)より引用。島根県で捕獲された1,438個体から得られた値で、平均値は 572.1 ± 17.2 (標準誤差)g。図中の数字は区分ごとの個体数を示す。野生動物から得られる試料の重量が、均等になることはない。たとえば、胃内容物の全量分析で特定の食物項目の重量比が10%だった場合、胃内容物の全量が2,000gの個体ならば200gを、全量が500gの個体ならば50gを採食していたことになる。つまり、前者(1% = 20g)と後者(1% = 5g)では尺度が異なっている。比率を用いた分析では、食糧資源を評価する際に重要な質量などの指標が見えにくくなる場合があるので注意する。

部を抽出して分析する場合、作業に要する労力や時間を低減できるし、抽出量をそろえることができれば分析で得られた数値の尺度もある程度までそろえられる可能性がある。しかしこの方法では、胃内容物の総量が個体ごとに異なることの生態学的意味を無視することになる。また、試料を完全に同量抽出しても、その抽出試料は比重の異なる食物項目が任意の比率で集合した結果に過ぎないので、得られた数値の尺度も厳密には個体ごとに異なる点に注意が必要である。たとえば、比重が軽い項目の割合が高い試料と、比重が重い項目の割合が高い資料で、それぞれ容積比1%という値が得られたとしても真の等価とはいえない。さらに乾重量比は、食物を項目ごとに分類した後で乾燥させて算出するが、あらかじめ乾燥後の総量がそろえるように推測して抽出することはできない。以上のように、試料全体分析も抽出分析でも完璧な方法ではなく、どちらの手法を用いるのかは、調査の目的などから調査実施者が判断するしかない。その際、調査実施者は各手法の長所・短所を十分に理解しておくべきである。

分析の対象とする試料の種類や必要となる試料数、調査時期、調査地域、試料の取り扱い方法が決まれば、つぎは野外での試料収集活動である。野外での試料収集の際にまず気をつけるべきことは、感染症対策をしっかりと行うことである。すなわち、糞などの試料採集は素手でせず、ゴム手袋などを着用の上、ピンセットやトングを用いる。細菌やウイルス、寄生虫が野生動物から伝染する確率が高くなかったとしても、糞などとの接触機会の増加や接触時間の延長とともに感染リスクも増加することは間違いない。そのため、採集した試料は、可能な限り迅速に滅菌して保存することが望まれる。一般的に糞や消化管内容物などは5~10%ホルマリンや70%アルコールに液浸して保存するが、筆者は後者をお勧めする。ホルマリン溶液を用いると分析時に薬品の廃棄処理に手間がかかるうえ、密封性の高いサンプル管に封入しなければならないので、それなりの広さの保存場所が必要になるからだ(内部が試料で満たされていなくてもサンプル管の大きさは変えられないため)。70%アルコールならば廃液処理の心配は不要である。また、最近では高機能なチャックバック類が一般に流通しており、これらを用いれば少量の溶液で保存でき、試料の容積を最低限に抑えることができる。ホルマリンとは異なる

り、保存溶液程度のアルコールが気化しても健康被害が生じることは考えにくいので、70%アルコールを用いる場合はチャックバック類も保存容器として利用できる。ただし、高機能とはいえども溶液が染み出すこともあるので、試料番号などを油性ペンでチャックバックに直接記載するべきではない。ラミネートした番号札のステープラー等によるチャックバック余白への装着や樹脂製番号札の同封、溶剤耐性が強いシールに番号を記載して貼付するなど、有機溶剤の影響で記録が消失しないよう工夫する必要がある。また、70%アルコールでは寄生虫の虫卵を死滅させられないので、分析の際にはマスクやゴム手袋を装着するなど注意が必要である。

分析の事前準備

採集した試料は分析前に土壌用のふるいで水洗するが、このときに使用するふるいの格子サイズは分析結果に強く影響する。たとえば、水洗による試料の流失量を可能な限り少なくするには、格子サイズを小さくすればよい。しかし、格子サイズを小さくすると、食物に占める「不明物質（種などが特定できない食物項目）」の割合が増加する可能性が生じる（図7）。逆に、食物に占める「不明物質」の割合を減らすためには格子サイズを大きくすればよいが、それでは本来同定可能だった試料の流失量が増加してしまう。そのため、分析の事前準備として適切な格子サイズを調べておくことは重要である。適切な格子サイズの条件とは、「同定可能な試料の流失量が最小限であ

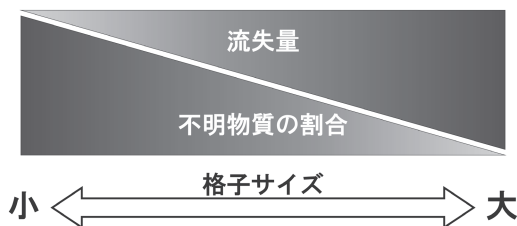


図7 ふるいの格子サイズの差が分析に及ぼす影響

ふるいの格子サイズを小さくすれば水洗時の試料の流亡量を少なくできるが、分析結果における「不明物質」が占める割合が増加する。格子サイズを大きくすると「不明物質」の割合を減らすことができるが、本来同定可能だった試料の流亡量が増加する。分析に先立ってふるいの適切な格子サイズを見つけておくことが重要である。

ること」、および「食物に占める不明物質の割合が、分析結果に偏りを生じさせない程度に小さいこと」である。一つ目の条件は比較的容易に設定できる。同定可能な試料中でもっとも小さな物の大きさを基準に、それが通過できない格子サイズを選択すればよい。二つ目の条件は設定が容易ではない。まず、同定可能な試料の流失量が最小限となる格子サイズのふるいで分析し、食物に占める不明物質の割合を確認するしかない。不明物質の割合が大きい場合には、格子サイズを少しずつ大きくし、二つの条件が折り合うふるいを決定するのが効率的だろう。また、経時的に採食対象や採食方法が変化する動物種については、時期によって適切な格子サイズも変化する可能性があるので注意を要する。経時的に食性を比較することが調査目的ならば、時期によって格子サイズを変えることはできない。この場合、予備調査を実施して、いずれの時期でも分析結果に偏りを生じさせにくい格子サイズを把握しておくことが求められる。なお、経費や時間の関係で事前に格子サイズを決めることが困難な場合、先行研究を参考に格子サイズを決定してもよい。ただし、これはあくまでも便宜的な方法なので、同定可能な試料の水洗時における流失量や食物に占める不明物質の割合が明らかに多かった場合には、手間や時間をかけてでも適切な格子サイズを改めて検討しなければならない。

分析の事前準備としては、ふるいの格子サイズのほか、食物項目の区分方法を決定しておく必要がある。試料のすべてを種レベルで分類できれば区分方法に特別な配慮はいらないが、食物をよく咀嚼する動物では採食対象をより高い階層の分類群までしか同定できないことがある。また、調査目的によっては対象種が動植物のどの部位を採食したかが重要になる場合もある（たとえば308頁の表2）。さらに雑食性の動物では、採食した動物と植物について一つの表の中に記載しなければならない。いずれにしても、客観的な規則に則った食物項目の区分と階層分けをする必要がある。たとえば、生物分類群に従って食物項目を区分した場合、第1階層が目、第2階層が科、第3階層が種といった具合に整理された表を作成することになる。対象種が採食した植物の部位ごとに区分する場合も同様で、研究目的と照らし合わせた、生物学的に意味のある整理が求められる。これらの結果を考察する際に、異なる階層の項目を同等に扱うことは厳禁である。

試料調査における代表的な食物利用量の測定方法

試料調査における代表的な食物利用量の測定方法として、各分析試料の総量に対する各食物項目の重量比や容積比、ポイント枠法による占有比を用いる方法がある。食物の利用可能量や選択の測定、栄養組成分析まで研究を進展させることを念頭に置くと、いずれかの方法によって各食物項目の利用量を把握することは必要不可欠である。その一方で、動物による採食要求量は少ないが必須の栄養素（ビタミンやミネラルなど）を含む食物は、先述した方法では過小評価される。そのため、食物利用量の評価と同時に各食物項目の出現頻度を算出する必要がある。本節では各手法の手順や利点、課題について解説する。

(1) 重量比

目視や顕微鏡下で内容物を同定したうえで、各項目の乾燥重量を計測し、それが1試料中に占める割合（重量%）を次式より算出する方法である。

$$\text{項目 A の重量 \%} = \frac{\text{1 試料中の項目 A の乾燥重量}}{\text{1 試料の総重量}} \times 100$$

食物から獲得できるエネルギーや栄養素の量を評価できるという点で、他の方法よりも直接的な手法である。分析手順は、内容物を同定した後、区分けた食物項目ごとにまとめて定温乾燥機などで完全に乾燥させ、重量を計測するという単純なものである。ただし、試料の完全乾燥および重量計測の際には注意を要する。試料を完全に乾燥させるには、定温乾燥機などの中で試料を一定時間乾燥させなければならないが、完全乾燥に要する時間は試料の種類や量、乾燥機の種類によって変化するため、いずれの食物項目試料でも確実に完全乾燥する時間を、あらかじめ設定しておく必要がある。具体的には、代表的な試料を乾燥機に入れて、定時間隔（24時間ごとなど）で重量計測を行い、試料重量の減少が確認されなくなる時間を計測する。これにより、いずれの食物項目試料でも重量が減少しなくなる時間を乾燥時間に設定する。なお、経費や時間の都合上、事前に乾燥時間を決めることが困難な場合、既出論文を参考にする方法もある。ただし、食物項目や総重量が既存

の研究と大きく異なる場合には、乾燥時間の長さは調査者自身が検討しなければならない。

重量計測の際の注意点として、少量の乾燥試料を扱う場合、試料および容器の温度と室温の温度差が大きいと計測誤差が生じることが挙げられる。これについては、乾燥機から取り出した試料をデシケーター内で室温まで放冷した後に重量計測することで対応しなければならない。そのほか、湿度管理が徹底された環境下で重量計測するなど基本操作に注意する必要がある。

(2) 容積比

目視や検鏡などで内容物を同定したうえで、各項目の容積を計測し、それが1試料中に占める割合（容積%）を次式より算出する方法である。

$$\text{項目 A の容積 \%} = \frac{\text{1 試料中の項目 A の容積}}{\text{1 試料の総容積}} \times 100$$

試料を乾燥させる必要がないため、重量比よりも操作が容易な評価方法である。手順は、内容物を同定した後、分けした食物項目ごとにメスシリンダー内の容積が既知の水中に投入し、容積の増加分を計測する。容積を計測後に重量比を計測することも可能である。比重が軽い食物項目は重量比に対して過大に、比重が重い項目は過小に評価される。

(3) ポイント枠法による占有比

方眼加工を施したシャーレ等の容器に水を張り、水洗後の試料を投じて一様に拡げ、試料に被われた格子の交点の数を食物項目ごとに集計する方法である（図8）。次式より占有比を算出して採食量の指標とする。なお、格子交点の総数は、前もって適切な数を決めておく必要がある。

$$\text{項目 A の占有比} = \frac{\text{1 試料中で項目 A に覆われた格子交点の数}}{\text{格子交点の総数}} \times 100$$

おもに植食動物の食性分析（Leader-Williams et al. 1981 など）に用いられてきた方法で、食物項目で覆われる面積がその項目の容積を反映しているこ

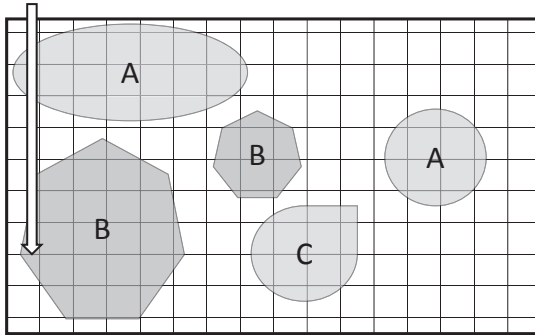


図8 ポイント枠法による分析方法

方眼加工を施したシャーレやバット等の容器に水を張り、水洗後の試料を投じて一様に拡げ、試料に被われた格子交点の数を食物項目ごとに集計する。試料に被われた格子交点の数を集計する際は、格子線ごとに一定方向に向かってカウントする。たとえば、左端の格子線から開始し、上から下に向かってカウントする（図では項目A：2カウント、項目B：3カウントとなる）。1列目のカウント終了後は、右隣の格子線を同様にカウントする（同じく、項目A：3カウント、項目B：6カウントとなる）。総カウント数が、予定の値に達した時点で分析を終了する。

とを前提にしている。同様の方法が、植物群落の植生調査でも用いられている（Rothery 1974 など）。重量比や容積比と比較して非常に操作が容易な評価方法である。ポイント枠法によって算出された占有比は、重量比および容積比による分析と同様の結果が得られることが報告されている（Sato et al. 2000）。ただし、試料を投じる容器に施す方眼の格子サイズと、カウントする格子交点の総数の設定には注意する必要がある。たとえば、分析試料の個々の小片に対して容器の格子サイズが小さすぎると、試料の一部分に偏った集計結果になる可能性や交点を正確にカウントできないといった問題が生じる（図9）。逆に格子サイズが大きいと分析に必要な試料の量が増加し、作業効率の低下や試料不足に陥る危険がある。そのため、分析に用いる容器の方眼については、試料の状態に照らし合わせて適切な格子サイズを選択することが重要である。

カウントする格子交点の総数は、ポイント枠法の分析結果についての偏りと精度（第6章参照）を決める重要な要素である。カウント総数を多くすれば精度の高い分析方法になるが、「簡便である」というポイント枠法のメリ

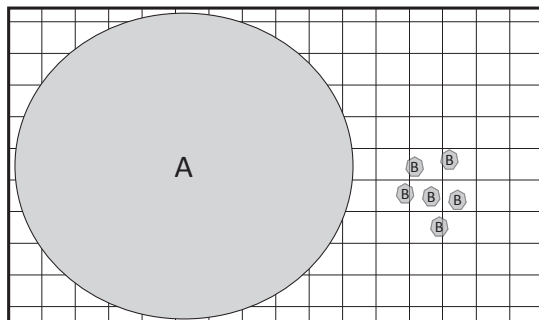


図9 ポイント枠法において、試料を投じる容器に施す方眼の格子サイズが分析に与える影響

分析試料の各小片の大きさに対し、方眼の格子サイズが小さすぎると格子交点を正確にカウントできない可能性が生じる。図中のAは格子サイズよりも大きいため、中心部分の格子点数を正しくカウントすることができない。また、総カウント数を十分大きな値に設定していなかった場合には、項目Aのカウント数が過大となる可能性もある。一方、分析試料の各小片の大きさに対し、方眼の格子サイズが大きすぎると作業効率の低下や試料不足に陥る可能性がある。図中のBは格子サイズより小さいため、格子交点を被う確率が低下している。その結果、総カウント数に達するまでに必要な時間や試料量が増加する。

ットが薄れる。反対にカウント総数が過小ならば、重量比や容積比とは異なる結果が得られる危険も生じる。そのため、重量比や容積比と同等の結果が得られる最低限のカウント総数について、あらかじめ把握しておく必要がある。たとえば、高槻・立脇（2012）は中型食肉目の食性分析におけるポイント枠法について、乾重量比との比較や必要となるカウント総数の評価を行っている。また、Sato et al. (2000) は、カウント総数400点のポイント枠法の結果と、重量比および容積比の結果を直接比較し、ポイント枠法の有効性を明らかにしている。イノシシの胃内容物分析で筆者が実施した方法では、まず十分に多いカウント総数（1,000点）によるポイント枠法を実施し、一定カウント数ごと（たとえば100点ごと）に占有比を算出した。つぎに、ポイント枠法に用いた試料を重量比によって分析し、カウント総数1,000点のポイント枠法の有効性を確認するために双方の結果を比較した（図10）。さらに、カウント総数1,000点の分析結果に対する一定カウント数ごとの結果の類似度を算出し、最低限のカウント総数を求めた（図11）。

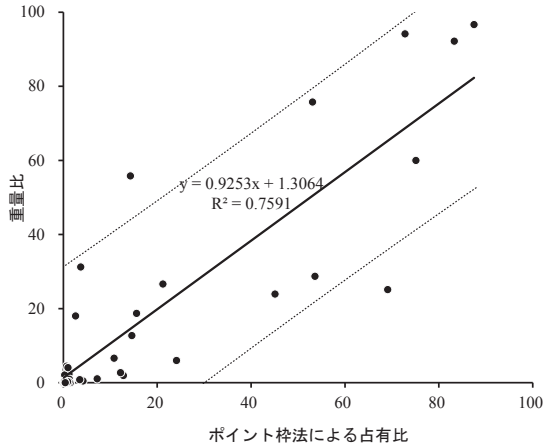


図10 イノシシの胃内容物においてポイント採法による占有比と重量比を比較した事例
 分析結果全体としては、ポイント採法による占有比と重量比は同様の傾向を示した。実践は回帰直線、破線はその95%信頼区間を示す。

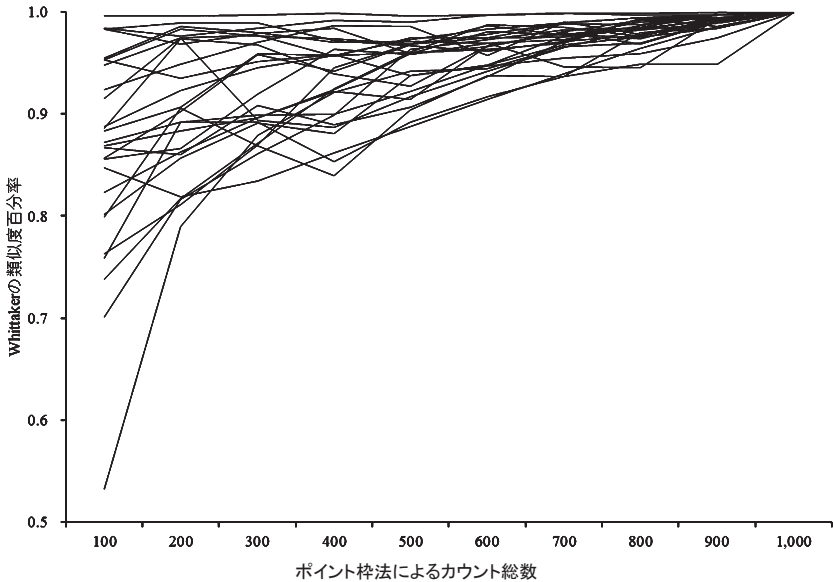


図11 ポイント採法において、1,000カウントを基準とした場合の類似度の推移 (n=27)
 各サンプルにおける Whittaker の類似度百分率の推移を示す。イノシシの胃内容物では400~500カウント程度で十分と判断した。

(4) 出現頻度

季節的区分ごとの総試料数に対して、各項目が出現した試料数の割合を次式により算出する方法である。

$$\text{項目 A の出現頻度} = \frac{\text{該当する季節的区分において項目 A が確認された試料数}}{\text{該当する季節的区分の総試料数}} \times 100$$

動物にとって必要不可欠でも採食要求量が少ない食物に関しては、利用量の評価では栄養素としての価値が過小評価される。それに対し、出現頻度は必要不可欠かつ少採食要求量の食物を評価するのに優れている。また、度数を用いて算出するため、より有効に統計学的処理ができる利点をもつ。ただし、エネルギー量などの違いによる食物の価値が、出現頻度では反映されているとは限らない。そのため、試料調査による食性分析では、食物利用量の評価と併せて出現頻度を算出し、双方の結果に基づいた議論を展開する必要がある。

なお、出現頻度は、重量比や容積比、ポイント枠法などに用いたデータを使って算出することができる。

近年では、炭素・窒素安定同位体比を用いた食性評価も行われているが、それらについてはコラム 6 を参照されたい。

分析結果の評価方法

試料調査による食性分析では比較的単純な結果が得られるが、その整理・評価方法については要点がいくつかある。

得られた結果については、まず生物分類群に基づいた食物一覧表に整理すべきである。これは当たり前の作業のようだが、利用量や出現頻度とは関係なく検出された採食対象種の一覧をすべて明記した文献（たとえば Schley and Roper 2003; Herrero et al. 2006）は多くない。食物一覧表は、食性の地域差や経時の変化を考察するうえで、基礎的かつ重要な情報である。とくに食性に関する既存研究が少ない種を対象としている場合、食物一覧は生態学的な価値が高いと考えてよい。

つぎに注意すべきこととして、季節的区分の分け方があげられる。食性分

析で季節的変動を検討する場合、生物学的に意味のある期間で区分する必要があることは「試料の収集」の項で指摘したとおりである。春夏秋冬や月、週など人間が作った暦に基づいた季節的区分をしてはいけない。また、繁殖時期やフェノロジーなど食物とは別の生態学的な基準を適用する場合は別として、食性分析の結果に基づく区分をする場合は注意が必要である（ただし、特定の食物の存在が調査対象種の生存を左右するなど特殊な条件下で、その食物の有無を基準とする場合などは除く）。食性分析の結果は食物の項目数と利用量の統合物なので、これらを同時に評価する過程を組み込んだ区分方法が理想的である。これを実現するには、食物の項目数と利用量から類似度を算出し、クラスター分析の結果から季節的区分を判定するなどの方法がある（図12）。ただし、どのような方法を用いるにしても、野生動物の食性は一般的に個体差が大きく、季節的変化も漸次的に進展することが多いので、個々の試料同士で分析すると季節的区分が判定困難になる可能性がある。これについては、月や週など人為的な暦で便宜的に区分して対応せざるを得ないが、それらの区分同士の類似度を算出するなどし、最終的には生物学的に意味の

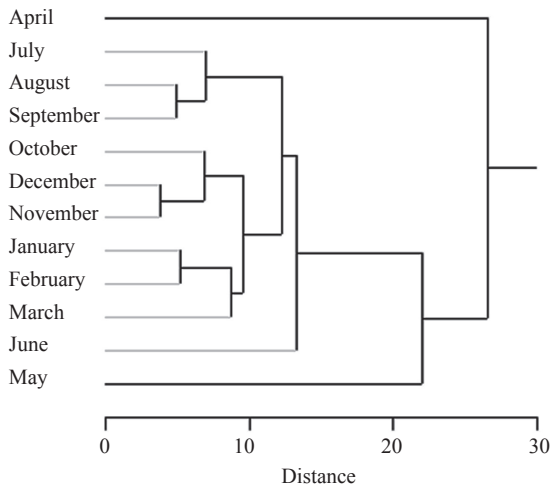


図12 鳥根県石見地方のイノシシ個体群における胃内容物の構成をクラスター分析した事例

小寺ほか（2013）より引用。

ある期間に再度整理することが求められる。

季節の区分ができれば、季節的変動についての評価も可能になる。たとえば、出現頻度ならば度数データをもとに算出されるため、 χ^2 独立性の検定によって季節的な差の有無を統計的に検討できるし、生息地の選択性の評価手法（たとえば Neu et al. 1974 の方法など）を用いれば食物の選択性についても評価できる。食物利用量については、季節的区分ごとに平均値や中央値を算出できるので、ANOVA や Kruskal-Wallis 検定など独立多群の差の検定で食物項目ごとに季節的変動の有無を示すことができ（表2）、さらに多重比較で区分間の差の有無について示すことも可能である。ただし、4節の「試料の収集」で解説したように、食物利用量の測定で得られた値については母数の問題がある。つまり、試料の全量分析でも抽出分析でも、得られた数値の尺度が厳密には個体ごとに異なるので、統計学的に正しい結論を導くこと

表2 島根県石見地方に生息するイノシシの胃内容物構成比（ポイント採法による占有比）の季節的変動

食物項目	季節区分 (n)				Kruskal-Wallis test	
	5-6月 (7)	7-9月 (26)	10-12月 (177)	1-3月 (83)	H	p
植物質	99.3	90.6	96.9	97.7	4.17	0.2439
地下部	66.2	22.8	53.2	39.8	19.61	0.0002
塊茎	8.0	14.8	43.3	21.3	25.84	< 0.0001
根	0.2	0.4	0.0	0.2	18.56	0.0003
タケ類	57.9	7.6	9.9	15.5	16.34	0.001
果実・種子	0.9	11.7	22.3	21.0	7.01	0.0717
堅果類	0.2	0.8	20.0	20.4	28.12	< 0.0001
イネ	0.0	6.8	1.3	0.1	31.99	< 0.0001
種子	0.2	0.5	0.2	0.0	20.30	0.0001
果実	0.5	3.6	0.8	0.5	17.59	0.0005
同化部	8.0	33.4	3.9	3.7	55.07	< 0.0001
双子葉植物	4.8	27.6	2.4	2.0	54.73	< 0.0001
単子葉植物	3.2	5.8	1.5	1.7	47.58	< 0.0001
その他植物質	24.3	22.7	17.5	33.3	23.21	< 0.0001
繊維質	22.6	20.8	15.8	30.3	19.41	0.0002
不明植物質	1.6	1.9	1.7	2.9	8.86	0.031
動物質	0.2	4.3	3.0	2.0	5.94	0.1144
その他	0.5	5.1	0.1	0.2	17.51	0.0006

小寺ほか（2013）より改変。各項目の季節区分ごとの平均値を示している。

ができない。そのため、利用量の評価では統計学的分析に固執すべきではない。

【コラム6】炭素・窒素安定同位体比を用いた食性研究の事例

これまで動物の食性解析で多く用いられてきた手法は、糞や胃の内容物、直接観察などを基にしたものであった。これらの手法は採食した品目を細かいレベルまで同定できるという利点がある一方で、資源により消化率が異なるため実際に動物が消化吸収したものではないこと、採食した直後の断片的な食性データしか得られないこと、個体ごとの食性を評価しづらいことなどの欠点がある。これらの問題を補う手法として近年発達したのが安定同位体比を用いる方法である。とくに炭素・窒素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$)は食物網における生物の捕食-被食関係を解析するための指標として幅広く活用されている。本コラムでは、食性研究に安定同位体比を用いる意義について概観し、実際の研究事例として筆者が行ったヒグマの食性研究について紹介する。

1. 安定同位体比とは？

同じ原子番号をもつが、質量(重さ)の異なる原子または原子核のことを同位体と呼ぶ(たとえば、 ^{14}N と ^{15}N)。そのうち放射性崩壊を起こさず自然界に一定の割合で存在するものを安定同位体(stable isotope)という。窒素Nの場合、大気中の窒素の中で ^{14}N は99.635%を占め、 ^{14}N より中性子が一つ多く重い ^{15}N は0.365%存在する。

同位体の多くは不安定であり時間が経つと崩壊してしまうが、安定同位体は常に安定状態にある。また、安定同位体の天然物質における自然存在比は物質の種類や状態によりわずかに異なることから、生態学の分野で重要な指標として使われてきた。各同位体の標準となる物質(たとえば、炭素は矢石(PDB)*、窒素は空中窒素)と分析試料の安定同位体組成の違い

を表すために用いるのが「安定同位体比」であり、標準物質と分析試料の安定同位体存在比がどの程度ずれているかを千分率（ δ 値、単位：‰、パーミル）で示す。

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ないし } \delta^{15}\text{N} = \left\{ \left(\frac{R_{\text{試料}}}{R_{\text{標準}}} \right) - 1 \right\} \times 1000$$
$$R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ ないし } {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$$

動物やその採食物をサンプルとする場合は多くの場合、重い炭素同位体（ ^{13}C ）が国際標準物質より少ないので一般的に $\delta^{13}\text{C}$ は負の値となる。

※ PDB は Pee Dee Belemnite の略で、ベレムナイトの化石をさす。

2. 安定同位体比からみる食性履歴

安定同位体比による食物網の解析を行う場合、炭素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ）は対象動物の炭素供給源となっている一次生産者の推定に用いられ、窒素安定同位体比（ $\delta^{15}\text{N}$ ）は消費者の栄養段階を算出するのに用いられる（DeNiro and Epstein 1978）（図 I）。植物の炭素同位体比は、光合成回路によって C4 植物と C3 植物に分けられ（両者の光合成回路を併用する CAM 植物は両者の中間的な範囲に位置する）、おもに C4 植物では $-15 \sim -10\text{‰}$ 、C3 植物では $-30 \sim -25\text{‰}$ となる（Deines 1980）。したがって、C3 植物を多く食べる動物は図 I の系列 A の方に、C4 植物を多く食べる動物は図 I の系列 B の方に位置する。

解析に用いる動物組織の部位によって蓄積されている食性の期間は異なるため、研究の目的に適した組織を選ぶ必要がある。たとえばアメリカクワカマの場合、血液の血漿と赤血球の half-life time（成分が半分入れ替わるのに要する時間）はそれぞれ約 4 日と 28 日といわれていることから比較的採取直前の短期的な食性を反映し（Hilderbrand et al. 1996）、体毛については 1 本丸ごと使う場合には体毛の成長期間すべてを、分割して使用する場合にはその部分が成長した短期間の食性を反映する（Mizukami et al. 2005b; Nakashita et al. 2013）。組織の中でもっともその速度が遅いのが骨コラーゲンであり、動物種によるが数年間の食性を反映しているとさ

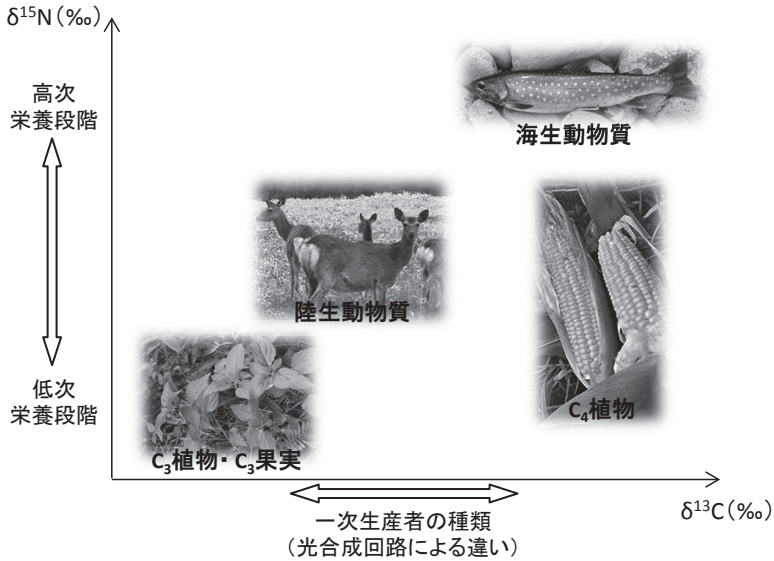


図1 安定同位体比分布に基づく食物網の模式図

れる。

動物組織の安定同位体比からはその動物の生態系内における位置が把握できるのに加えて、複数の採食物の安定同位体比を測定することで、その動物が各採食物をどの程度の割合で消化吸収したか大まかに知ることができる。評価できる採食物のレベルとしては、各採食物の安定同位体比の分布によるが、陸上生態系においてはC3植物、C4植物、陸生動物質、海生動物質程度にとどまり、採食物の種まで同定することは難しい。

3. 安定同位体比を用いた食性解析の研究事例

ここでは、筆者が北海道で実施したヒグマの研究事例について紹介する。ヒグマはこれまで植物質中心の雑食性であったが、北海道東部で1990年代にエゾシカが急増したことでヒグマによるシカ利用が増加したことが糞分析や胃内容物分析で明らかになっている (Sato et al. 2004, 2005)。しかし従来の手法では、すべての個体が同じようにシカを利用しているのか、

またシカを餌として認識し嗜好性を示しているのかどうかについて不明であった。そこで、北海道で捕獲されたヒグマの骨コラーゲンおよび主要採食物の炭素・窒素安定同位体比を測定し、各個体による主要採食物の利用（消化吸収）割合を算出した（ヒグマの主要採食物はこれまで行われた糞や胃内容物の分析から明らかになっているもので、北海道ではヒグマにより大量に摂取される陸生動物質はエゾシカであることが分かっているため、安定同位体比を用いた分析でもエゾシカと種まで判別している）。その結果、個体ごとに食性は大きく異なり、ヒグマが消化吸収した採食物のうちシカが全く含まれなかった個体から50%近く含まれていた個体まで幅広かった。また性差についてはオスの方がメスよりもシカを利用する傾向にあった。また、高質な採食物であるシカの利用割合が多い個体ほど成長が促進されていたことが明らかになった。

安定同位体比からでは対象動物が利用した詳細な資源（種レベル）は評価できないが、研究目的に適した分析試料（体組織）を利用したり従来の手法と併用したりすることで、これまで明らかにできなかった動物の生態（食性の個体差や性差の検証、実際に消化吸収した栄養の影響評価、食性と成長の関係など）を解明することが可能となる。また、捕獲個体からの試料採取だけでなく、野外における糞や体毛などの採取であっても遺伝的解析を併用することで個体ごとの食性を明らかにしたり、その他にえられた情報（採取地点・性・齢・体サイズなど）を加味することでさまざまな解析を行ったりすることができる。本コラムでは安定同位体比を大型哺乳類の生態研究に応用した事例を紹介したが、本手法を用いた生態研究についてより詳細を学びたい方には富永・高井（2008）が参考になるだろう。

（小林喬子）