

令和元年6月19日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18619

研究課題名(和文) DNAバーコーディングによる種同定を利用した、熱帯林の主要な種子散布者評価の試み

研究課題名(英文) Evaluation of seed dispersers in a tropical forest using DNA barcoding

研究代表者

辻 大和 (Tsuji, Yamato)

京都大学・霊長類研究所・助教

研究者番号：70533595

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：助成期間中、インドネシア・西ジャワ州パガンダラン自然保護区で計6回の野外調査を実施した。滞在中に1) モニタリング木の選定、2) 霊長類の観察、3) マレーヒヨケザルの土地利用調査、4) 糞虫相の調査を実施し、各果実食者の種子散布者としての役割の評価を試みた。残念ながら、本研究の最大の目的であった、DNAバーコーディングによる散布者の定量化は完了できなかったが、主要な動物の相対的な重要性を明らかにすることができた。とくに、従来ほとんど情報がなかった、ヒヨケザルの活動並びに食性に関して多くの知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、各果実食者の種子散布への相対的な貢献を明らかにすることを目的に調査を行い、特に1) 霊長類の重要性、2) ヒヨケザルの重要性、3) 糞虫の役割の3つに関して成果を得た。助成期間中、国内外の学会で22回の発表を行い、公表した論文は12件、分担執筆した書籍は2件だった。このうち、Int. J. Primatol.誌に発表した論文は、種子散布者としてのマカク類の役割に焦点を当てた総説で、当該分野において今後多く引用される文献になると考えている。研究成果をホームページで公開したほか、市民講座・公開講座などで発表し、一般の方々への還元を試みた。

研究成果の概要(英文)：During the grant period, I visited Pangandaran Nature Reserve, West Java, Indonesia six times, and conducted 1) setting of monitoring tree, 2) behavioral observation of diurnal primates, 3) study on ranging behavior of Malayan flying lemurs, and 4) study on dung beetle fauna. Unfortunately, evaluation of dispersers using DNA bar-coding was not successful, but I could evaluate the relative importance of each frugivorous animal on the seed dispersal via behavioral observation. Especially, I could obtain new information on the ranging behavior of the flying lemurs, for which few data has been shown. I and my students had 12 presentations at domestic and international congress, and published 12 papers during the grant period.

研究分野：生態学

キーワード：霊長類 種子散布 DNA

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

1. 研究開始当初の背景

種子散布は、芽生えた場所から動かずに一生を過ごす植物が、子孫を残し分布を広げるプロセスである。種子散布は植物の適応度、ひいては森林動態に関わる問題で、多くの研究者の関心を集めてきた。

動物による種子散布の効率 (SDE) は、(1)結実木への訪問頻度、(2)訪問当たり採食量、(3)飲み込みによる種子へのダメージ、(4)散布された種子の生存率の積で表される。SDE を果実食者間で比較すれば、各果実食者の相対的な重要性がわかる。申請者はこれまで、マカク・コロブス・類人猿などの霊長類、および食肉類の散布する種子の構成、種子の破壊率、散布場所を明らかにしてきた。平成 23 年度に採択された科学研究費 (若手 B) では、東南アジアの森林で同所的に生息する果実食者による液果利用を明らかにした。

近年、SDE の枠組みに基づいて種子散布効率を求め、果実食者を特徴づける試みが増えている。ところが、ジャコウネコ、コウモリ、ヒヨケザルなど、夜行性動物による散布効率の評価が行われたことはほとんどない。とくに熱帯林では、動物相に占める彼らの割合が大きく、彼らの種子散布が植物の適応度に与える影響が大きいと考えられるが、それを実際に検証した例はわずかである。その理由は、彼らの夜間行動をバイアスなしに観察するのが困難なためである。現状では、霊長類・鳥類が主要な種子散布者だとされているが、あらゆる動物の散布効率を正しく評価できれば、果実食者の位置づけが、大きく変わるかもしれない。

そこで本研究は、DNA バーコーディングに基づく種同定を新たに導入しようと考えた。動物が食べ残した果実片を集め、表面に付いた唾液から DNA を抽出して採食者を同定すれば、あらゆる動物による液果利用を定量化できる。さらに、給餌実験や発芽実験を行って、SDE の枠組みに基づいた情報を集めれば、種子散布効率の比較により、各果実食者の相対的な重要性を評価できると考えた。

2. 研究の目的

この研究の目的は、あらゆる果実食者の液果利用を把握したうえで、各動物による種子散布の相対的な重要性を明らかにすることである。熱帯林における夜行性動物の多様性は、温帯林に比べ高いが、種子散布者としての彼らの役割は、技術的な問題でこれまで正しく評価されてこなかった。この研究では、果実片に付いた唾液から DNA を抽出して採食者を種同定し、各動物種の液果利用を把握し、飲み込みや散布が、液果種子の生活史の初期段階に及ぼす影響も明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

インドネシアの熱帯林に自生する液果生産樹種 (5 種) について、各果実食者の種子散布効率と、彼らの相対的な重要性を明らかにする。当初の計画では、1) 果実食者の採食量の評価、2) 飲み込みによる種子の破壊率の評価、3) 散布場所の特徴の評価、4) 発芽率・実生の生存率の評価の 4 項目を調べる予定だったが、助成期間内に 5) 糞虫相の評価を加えた。

4. 研究成果

平成 28 年度は、パガンダラン自然保護区で 2 回の野外調査を実施した。調査地に自生する 5 樹種をモニタリング木として設定し、これらの木の下に落ちている果実片 (食べ残し) に付着した唾液から、DNA を抽出した。並行して、霊長類 2 種 (カニクイザル、ジャワルトン) を対象に直接行動観察を行った。排泄・吐き出しなどの種子の散布行動を観察した場合、その場所を記録した。

平成 29 年度は 2017 年 8-9 月、10 月、2018 年 2-3 月の 3 回、同自然保護区で野外調査を行った。霊長類 (ジャワルトン、カニクイザル) の採食行動を観察したほか、マレーヒヨケザルを捕獲して発信機を装着し、本種の行動圏利用を調査した。ジャワルトンの糞にあつまる糞虫類を採集し、ボゴール農科大学の研究者に種同定を依頼した。2018 年 3 月の調査では、霊長類が採食する果実類を採集した。2017 年 7 月にオーストラリア・パースで開催された国際哺乳類学会、9 月に富山で開催された日本哺乳類学会、10 月にインドネシア・ボゴールで開催された先端拠点形成事業シンポジウムに参加し、研究成果の一部を発表した。

平成 30 年度は、2018 年 8-9 月に同自然保護区で野外調査を実施した。野生霊長類 (ジャワルトン・カニクイザル) の採食行動を観察したほか、調査地に生息するジャコウネコ類の糞を採集した。種子散布に関連した調査として、ジャワルトン、カニクイザル、ルサジカ、ヒヨケザル、ジャコウネコ類の糞に集まる糞虫類を採集し、ボゴール農科大学の研究者に種同定を依頼した。現在、同自然保護区の糞虫相についての論文を投稿準備中である。また、地上に落ちた食べかけのイチジク類を採取し、唾液に含まれる DNA の増幅を行ったが、残念ながら助成期間内に終了できなかった。

野外調査と並行して、ボゴール農科大学およびアングラス大学の学部生・大学院生を指導し、ジャワルトンをはじめとする霊長類の基礎生態に関するデータを充実させるとともに、適宜共同研究者と研究連絡を行って情報を共有した。2018 年 8 月にケニア・ナイロビで開催された国際霊長類学会、9 月に長野で開催された日本哺乳類学会、10 月に中国・大理で開催されたアジア霊長類シンポジウム、2019 年 3 月に神戸で開催された日本生態学会で種子散布に関する研究成果の一部を発表した。

共同研究者のものを含め、22回の学会発表(国際・国内)を行い、12件の学術論文を公表した。このうち、Int. J. Primatol. 誌に発表した論文は、種子散布者としてのマカク類の役割に焦点を当てた総説であり、当該分野において今後多く引用される文献になると期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 12 件)

1. Tsuji Y., Su H.H. (2018) Macaques as seed dispersal agents in Asian forests: a review. *Int. J. Primatol.* 39(3): 356-376
2. Youlatos D., Widayati K.A., Tsuji Y. (2019) Foot postures and grasping of free-ranging Sunda colugos (*Galeopterus variegatus*) in West Java, Indonesia. *Mamm. Biol.* 95(3): 164-172.
3. Akbar M.A., Rizaldi, Novarino W., Perwitasari-Farajallah D., Tsuji Y. (2019) Activity budget and diet in silvery lutung *Trachypithecus cristatus* at Gunung Padang, West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas* 20(3) 719-724.
4. Asri S.W.Z., Widayati K.A., Tsuji Y. (2019) Age-sex differences in the daily activity and diet of West Javan langur *Trachypithecus mauritius* in the Pangandaran Nature Reserve, West Java, Indonesia: a preliminary report. *Asian Prim. J.* 8(1): 3-13.
5. Tsuji Y., Prayitno B., Tatewaki T., Widayati K.A., Suryobroto B. (2019) A report on ranging behavior of Malayan flying lemurs, *Galeopterus variegatus*, in West Indonesia: Relationships with habitat characteristics. *Biodiversitas* 20(2): 430-435.
6. Nishi E, Suzuki-Hashido N., Hayakawa T., Tsuji Y., Suryobroto B., Imai H. (2018) Functional decline of sweet taste sensitivity of colobine monkeys. *Primates* 59(6): 523-530.
7. Ilham K., Rizaldi, Nurdin J., Tsuji Y. (2018) Effect of provisioning on temporal variation of the activity budget of urban long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in West Sumatra, Indonesia. *Folia Primatol.* 89(5): 347-356.
8. Tsuji Y., Prayitno B., Widayati K.A., Suryobroto B. (2018) Mass mortality of wild Malayan flying lemurs (*Galeopterus variegatus*) and its underlying causes. *Mamm. Study* 43(1): 61-65.
9. Tsuji Y., Ningsih J.I.D.P., Kitamura S., Widayati K.A., Suryobroto B. (2017) Neglected seed dispersers: endozoochory by Javan lutungs (*Trachypithecus auratus*) in Indonesia. *Biotropica* 49(4): 539-545.
10. Ilham K., Rizaldi, Nurdin J., Tsuji Y. (2017) Status of urban populations of the long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*) in West Sumatra, Indonesia. *Primates* 58(2): 295-305.
11. Tsuji Y., Prayitno B., Suryobroto B. (2016) Report on the observed response of Javan lutungs (*Trachypithecus auratus mauritius*) upon encountering a reticulated python (*Python reticulatus*). *Primates* 57(2):149-153.
12. Tsuji Y., Prayitno B., Norwana O., Nishi E., Widayati K.A., Mikami A., Suryobroto B. (2016) The notes on mammal carcasses collected in Pangandaran Nature Reserve, West Java, Indonesia. *HAYATI: J. Biosci.* 23(1): 35-38.

[学会発表](計 22 件)

1. Tsuji Y., Mitani M., Widayati K.A., Suryobroto B., Watanabe K. Dietary habits of wild Javan lutungs (*Trachypithecus auratus*) in secondary-plantation mixed forest: Effects of forest structure, food availability, and seasonality. 6th Asian Primates Symposium & 5th Asian (Indochinese) Primates Conservation Symposium, Dali, China, 20-21 October 2018 (O).
2. Deviani H., Widayati K.A., Tsuji Y. Inter-specific interaction of Javan lutungs (*Trachypithecus auratus*) and sympatric animals in Pangandaran Nature Reserve, West Java, Indonesia. XVII International Primatological Congress, Nairobi, 21 August 2018 (P).
3. Setyowati D.N., Widayati K.A., Tsuji Y. Effect of human activity on ecology of long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*) in Pangandaran Nature Reserve, West Java, Indonesia. XVII International Primatological Congress, Nairobi, 23 August 2018 (P).
4. Tsuji Y., Mitani M., Widayati K.A., Suryobroto B., Watanabe K. Inter-group variations in the dietary habits of Javan lutungs (*Trachypithecus auratus*): Effects of forest structure, food availability, and seasonality. XVII International Primatological Congress, Nairobi, 22 August 2018 (O).
5. Tsuji Y., Widayati K.A., Suryobroto B. Geographical variation in aggressive behavior in *Trachypithecus* monkeys in Asia: a review. XVII International Primatological Congress, Nairobi, 20 August 2018 (O).

6. Tsuji Y., Indah J., Kitamura S., Widayati K.A., Suryobroto B. Neglected primate seed dispersers: endozoochory by Javan lutungs (*Trachypithecus auratus*) in Indonesia. The 6th International Workshop on Tropical Biodiversity and Conservation. Bogor. October 2017 (0).
7. Deviani H, Widayati K.A., Tsuji Y. Inter-specific interaction of Javan lutungs (*Trachypithecus auratus*) and sympatric animals in Pangandaran Nature Reserve, West Java, Indonesia. The 6th International Workshop on Tropical Biodiversity and Conservation. Bogor. October 2017 (P).
8. Suzuki-Hashido N., Hayakawa T., Tsuji Y., Purba L.H.P.S., Nila S., Widayati K.A., Suryobroto B., Imai H. Evolution of bitter taste receptor genes in the Old-World Monkeys. The 6th International Workshop on Tropical Biodiversity and Conservation. Bogor. October 2017 (P).
9. Nishi E., Suzuki-Hashido N., Hayakawa T., Tsuji Y., Suryobroto B., Imai H. Elucidating Tas1R2/Tas1R3 function of leaf eating monkey, Javan lutung (*Trachypithecus auratus*). The 6th International Workshop on Tropical Biodiversity and Conservation. Bogor. October 2017 (P).
10. Tsuji Y., Prayitno B., Widayati K.A., Suryobroto B. Mass mortality of Malayan flying lemur (*Galeopterus variegatus*) and its causal factors. 12th International Mammalogical Congress, Perth. July 2017 (P).
11. Kurnia I., Nurdin J., Rizaldi, Tsuji Y. Observation of feral behavior of the long-tailed macaque In Gunung Meru: The influence of human presence and implication to management conservation action plan. 9th Asian for Tropical Biological Conservation symposium. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden. China Academy of Science. Yunan. China. March 2017 (0).
12. Tsuji Y., Indah J., Kitamura S., Widayati K.A., Suryobroto B. Neglected primate seed dispersers: endozoochory by Javan lutungs (*Trachypithecus auratus*) in Indonesia. Vth Asian Primate Symposium, Sri Jayewardenepura, October 2016 (0).
13. Tsuji Y., Indah J., Widayati K.A., Suryobroto B. Seed dispersal by leaf monkeys: are Javan lutungs effective seed dispersal agents? XXVI International Primatological Congress, Chicago, August 2016 (0).
14. Kurnia I., Nurdin J., Rizaldi, Tsuji Y. Present situation of urban population of long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*) in West Sumatra. 8th. Asian for Tropical Biological Conservation Symposium. National University of Singapore (NUS), June 2016 (0).
15. 橋戸南美, 早川卓志, 辻大和, Purba L.H.P.S, Nila S., Widayati K.A., Suryobroto B., 今井啓雄. 旧世界ザル苦味受容体の遺伝的多様性. 日本進化学会. 東京大学. 2018年8月22-25日 (P).
16. 辻大和, 三谷雅純, Widayati K.A., Suryobroto B., 渡邊邦夫. 野生ジャワルトン (*Trachypithecus auratus*) の食性の季節変化とその要因. 日本霊長類学会. 武蔵大学. 2018年7月15日(0).
17. Nishi E., Suzuki-Hashido N., Hayakawa T., Tsuji Y., Suryobroto B., Imai H. Sweet taste sensitivity of colobine monkeys. 第62回プリマーテス研究会. 犬山. 2018年1月 (0).
18. 辻大和, Widayati K.A., Suryobroto B. マレーヒヨケザルの大量死とその発生要因. 日本哺乳類学会. 富山大学. 2017年9月 (0).
19. 辻大和, 三谷雅純, Widayati K.A., Suryobroto B., 渡邊邦夫. ジャワルトンの食物プロフィール: 森林構造との関連性. 日本哺乳類学会. 筑波大学. 2016年9月 (0).
20. 辻大和, 北村俊平, Indah J., Widayati K.A., Suryobroto B. リーフモンキーは種子散布者として機能しているか? 日本生態学会. 鹿児島大学. 2016年7月15-17 (0).
21. 三上章允, 今井啓雄, 辻大和, 西栄美子, 早川卓志, Widayati K.A., Suryobroto B. インドネシア・パンガンダランのカニクイザルの色環境. 日本霊長類学会. 鹿児島大学. 2016年7月15-17 (0).
22. 鈴木 - 橋戸南美, 辻大和, 早川卓志, Purba L.H.P.S., Nila S., Widayati K.A., Suryobroto B., 今井啓雄. 葉食適応を果たしたコロブス類の苦味受容体はどのように進化しているか. 日本霊長類学会. 鹿児島大学. 2016年7月15-17 (P).

〔図書〕(計 2 件)

1. 辻大和 (2018) 海の幸を利用するサルたち. 石毛直道・赤坂憲雄 (編著) 食の文化を探る (フィールド科学の入口). 玉川大学出版部. pp. 120-133 (分担執筆).
2. 辻大和 (2017) 世界で一番美しいサルの図鑑. 京都大学霊長類研究所 (編). エクスナレッジ(分担執筆).

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 https://blog.goo.ne.jp/yamato_tsuji

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。