

令和元年6月13日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04735

研究課題名(和文) 熱帯降雨林における流水性両生類の多様性維持機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of the diversity of amphibian larvae in streams of tropical rain forests

研究代表者

夏原 由博 (Natuhara, Yoshihiro)

名古屋大学・環境学研究科・教授

研究者番号：20270762

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 7,500,000円

研究成果の概要(和文)：マダガスカルにおいて、流水性のオタマジャクシの多種が共存できるメカニズムと溪流生態系における役割を解明し、森林改変による両生類への影響と両生類が減少することによる溪流生態系への影響を評価した。具体的には、(1)オタマジャクシの種組成への生息地の不均一性とかく乱による影響を明らかにした。(2)種間競争がオタマジャクシの種間で口器の分化を促進し、維持することを示した。競合種の存在下でオタマジャクシが餌を変える能力を実証した。(3)オタマジャクシがリターの分解を促進し、その排泄物が溪流の栄養塩の重要な供給源であること、ニッチの異なる2種が共存することでリターの分解を促進する効果を実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の独創的な点は、一見競争関係にある近縁種の間接的種間相互作用が種の多様性を高め、種の多様性が物質循環を通じて生態系の生産機能に及ぼす影響を評価することである。また、人為的な攪乱が生物間相互作用の強さの変化を介して、生態系機能の劣化と生物多様性の減少を引き起こすことを明らかにした。これらの知見から、人間活動圧力の拡大にともなって、危機に瀕している熱帯森林生態系における持続的な自然資源管理に必要な配慮を導いた。

研究成果の概要(英文)：Present study clarified mechanisms to leave many species of amphibians coexist in streams, effects of deforestation on amphibians and effects of decrease of tadpoles on stream ecosystems. The results indicate that (1) microhabitat heterogeneity (i.e., space partitioning) and habitat disturbance strongly structured assemblages. (2) Interspecific competition has promoted diversification of mouth parts in tadpoles, and tadpoles are able to shift their resource preference in the presence of competitors, and (3) Tadpoles contribute litter breakdown, tadpole faecal pellets are important latent sources of nutrients in freshwater environments, and there is an additive effects of tadpole diversity on litter breakdown.

研究分野：生態学

キーワード：安定同位体比 採餌ギルド 種間相互作用 間接効果 環境DNA

1. 研究開始当初の背景

マダガスカル両生類の種数が多い多様性のホットスポットであり、特に 90%の種が固有種である。しかし、森林開発が両生類をはじめとする野生生物の存続を脅かしている。熱帯における両生類の多様性が維持されているメカニズムとその保全に関して、(1) 生物群集で競合する可能性のある複数の種がどのようにそしてなぜ共存することができるのかについて議論が続いている (Levine et al. 2009)。群集中の異なる構成員が異なる資源を使用するという資源配分は、種間競争を緩和することを可能にする主要なメカニズムである (Chase and Leibold 2003)。熱帯のオタマジヤクシは多様であり、溪流で最大のバイオマスを示すことがあるが、どのような群集構造があるかについてはほとんど知られていない。(2) 採餌ニッチの分割による資源分配は、餌資源利用に適応する形態学的変化によって促進され得る (Wagner et al. 2012)。しかし、ジェネラリストとスペシャリストが安定して共存できる方法とその理由については十分には解明されていない。(3) オタマジヤクシは生態系エンジニアであり、群集構造に強く影響を与える可能性があり (Ranvestel et al. 2004)、リターの分解に貢献している (Iwai et al. 2009)。オタマジヤクシは、リターの直接分解と、排泄物を介して間接的に微生物の活動強化によって分解を促進する (Rugenski et al. 2012)。しかし、リター分解による栄養塩リサイクルへの貢献についてはあまり知られていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生物多様性が高くかつ危機にさらされている降雨林において、流水性のオタマジヤクシ多種が共存できるメカニズムと溪流生態系における役割を解明し、森林改変による両生類への影響と両生類が減少することによる溪流生態系への影響を評価することである。特に、(1) 豊かなオタマジヤクシ群集を抱えるマダガスカルのラヌマファナで自然林、選択的伐採による二次林、森林に接した農地において、オタマジヤクシの種組成への生息地の不均一性とかく乱による影響を明らかにし、(2) 腸内容と安定同位体分析を組み合わせることによって、オタマジヤクシの共存における摂餌ニッチの役割について、ジェネラリストとスペシャリストの比較を通じて解明する。(3) オタマジヤクシの採餌ニッチの多様化は、溪流生態系にも影響を及ぼすことが考えられる。口器形態が異なるオタマジヤクシの栄養ニッチと機能的役割を明らかにするため、落葉を機械的に分解する可能性がある一般型口器を持つ種に対して、そのような能力はないと予想される漏斗状口器の種も排せつ物を介した間接効果に関しては同等であるという仮説を検証する。

3. 研究の方法

(1) 調査地

ラヌマファナ国立公園は、年間降水量が 1700 mm から 4300 mm の間で、43,500 ha の山地雨林 (標高 500 - 1300 m) を含む。ラヌマファナは、少なくとも 112 種の両生類生息する (Straus 2013)。降水量は多く、雨季と乾季が存在する。ラヌマファナ国立公園の一部は、約 30 年前 (1986-1989) に選択的に伐採され、その後は保護地域となっている。択伐は基底面積を 53%、平均樹冠体積を 17% 減少させることで森林構造に悪影響を及ぼした (Ramaharitra 2006)。公園の他の部分は比較的にかく乱されずに残っている。公園には、農地が隣接する。この土地利用の違いを利用して、生息地の不均一性と攪乱の違いによるオタマジヤクシの群集の変化を調べた。

(2) 溪流におけるオタマジヤクシ群集の形成要因

自然林、二次林、そして森林と接した農地にある溪流で調査を行った。各生息地で 3 つの溪流を選びオタマジヤクシをサンプリングした。調査した溪流は 2 次谷で、幅 2.1~3.1 m、ほぼ同じ標高 900-1020 m であった。長さ 2.5 m 程度の微小生息地をサンプリング単位とした。各溪流で 8 つの異なる微小生息地をサンプリングした。サンプリング時間は 1 地点 4 分とした。

採集したオタマジヤクシは目視によって分類した。分類したそれぞれについて標本個体を選び、MS-222 による麻酔の後、DNA 分析による種同定のために尾の断片を採取した。DNA バーコーディングは、ミトコンドリア 16SrRNA 遺伝子に基づいた。また、溪流水を 1 L 採取し、研究協力者の神戸大学源利文博士に依頼して、オタマジヤクシの環境 DNA 解析を実施した。

環境要因

各微小生息地で、流れの幅、水深、天空率を記録した。流速はデジタル電磁水速度計で測定した。底質は有機物、シルト、砂、砂利、石および岩に分類し、相対比率を記録した。各サンプリング単位で捕食者の数 (主にトンボの幼虫と甲殻類) を記録した。また、水の溶存酸素、導電率、および水温を記録した。2 つの 5×10 m プロットを、流れの両側にランダムに作成し、植生、リター量を調査した。

(3) 食性解析

消化管内容分析

採集したオタマジャクシを、MS-222 溶液で安楽死させた後、種ごと 2~3 個のオタマジャクシを解剖し、腸の内容物を洗い流し、プランクトン計数スライドグラス上に載せ、ランダムに選択された 20 個のグリッドで、目に見えるすべての種類と面積を測定した。個々の粒子の測定は ImageJ を用いた。内容物は、植物残骸、識別不可能な品目、昆虫の破片、珪藻類、堆積物、真菌、ワムシ、原生動物、および藻類に分類した。

安定同位体分析

炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) と窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) を測定するために種ごとに 3 から 30 個体採集し、尾の切片を乾燥保存した。オタマジャクシの餌として、微粒子有機物 (FPOM)、周辺生物、落葉、堆積物、および水生植物をサンプリングした。

(4) エンクロージャー実験による促進効果の検証

Boophis quasiboehmei (以下 BQ、一般型口器) と *Mantidactylus melanopleura* (以下 MM、漏斗状口器) を用いた。両種は、ラヌマファナの溪流で優占種である。一般型口器を持つオタマジャクシは様々な動植物資源を食べるグレイザーである (Whiles & Altig 2010)。対照的に、漏斗状口器のオタマジャクシは、水面から下降する細かい餌を吸い込んで採餌する (Nachtigall 1974)。

エンクロージャー (0.25 m x 0.25 m x 高さ 0.35 m) を使用して、オタマジャクシ密度と多様性がリターに及ぼす影響を調べた。エンクロージャーは 1 mm メッシュのポリエチレン製で、流速が比較的遅い淵に設置した。実験は 40 日間 (10 月 12 日から 11 月 23 日まで) 行った。オタマジャクシの組み合わせは、コントロール、単一種処理 (BQ または MM)、3 つの密度と 2 種の組み合わせ (3BQ + 3MM、6BQ + 6MM)。反復は 5。

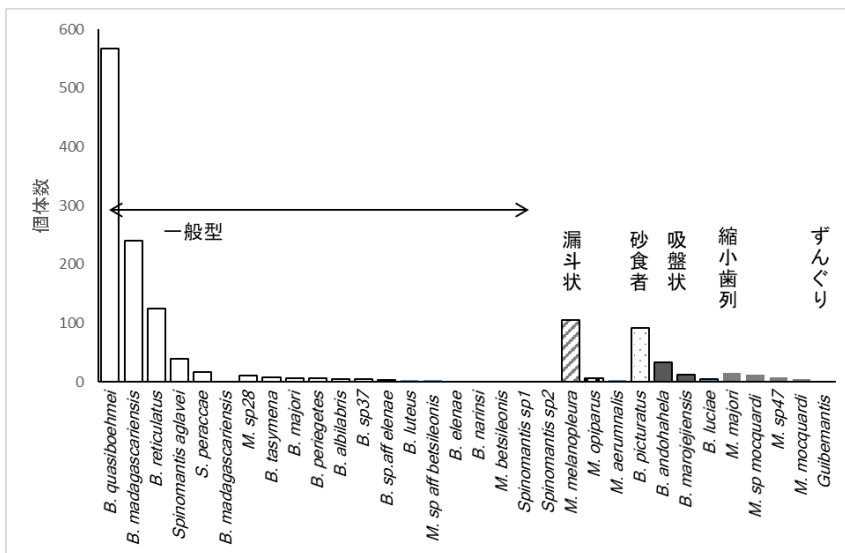
Pauridiantha sp. (アカネ科) および *Chrysophyllum* sp. (アカテツ科) の葉を使った。*Pauridiantha* sp. の葉は柔らかく、高濃度の栄養塩を含んでいる。乾燥葉約 0.8g を 1mm メッシュバッグに固定し、無作為にエンクロージャーに割り当てた。反復数は 5。40 日後、リターを取り出した。

4. 研究成果

(1) オタマジャクシの種組成と採餌ギルドへの環境の影響

10 月の調査で、Mantellidae に属する 32 種、4501 個体を採集した。また、渓流水中の環境 DNA 解析によって、採水地 10 地点中 8 地点からカエルの DNA が検出され、検出され 11 種のうち 3 種は捕獲調査で未記録種であった。

オタマジャクシは 7 つの口器ギルドに属した (図 1)。一般的な口器形態を有する *Boophis* 属のオタマジャクシが優占した。種数 (溪流単位)



は 3 つの生息地で異なっていた (ANOVA, $P=0.0156$)。一方、個体数は生息地間で有意な差は見られなかった。種数と個体数は自然林では 9.75 種 (範囲 6-13) と 533 個体 (344-746)、二次林で 7.5 (5-9) と 380 (127-525)、農地で 15.0 (13-17) と 282.7 (128-415) であった。*Boophis quasiboehmei*、*B. madagascariensis*、*B. reticulatus* が優占した。これらの種はすべての生息地に広く分布していた (図 2)。農地では森林スペシャリストの *B. picturatus*、*S. perraccae*、および *S. aglavei* はまれであった。

図 1 口器タイプの出現頻度

自然林と二次林の間で、環境パラメータに違いはなかった。これら森林の生息地は、天空率、基底面積、導電率、水温、および低木数において農地の生息地と異なっていた。

NMDS1 に関連した環境変数は、流速、微小生息場所の水深、岩の割合、および天空率であった (図 3)。NMDS1 と正の相関がある種は、*B. marojezensis* などであった。NMDS1 と負の相関関係がある種は、森林スペシャリストの *B. picturatus* などであった。NMDS1 は、キャノピーが開いた、深くて比較的速い流速、および岩がある微小生息地を表している。NMDS2 と正の関連がある環境変数は、リター、堆積物、砂であつ

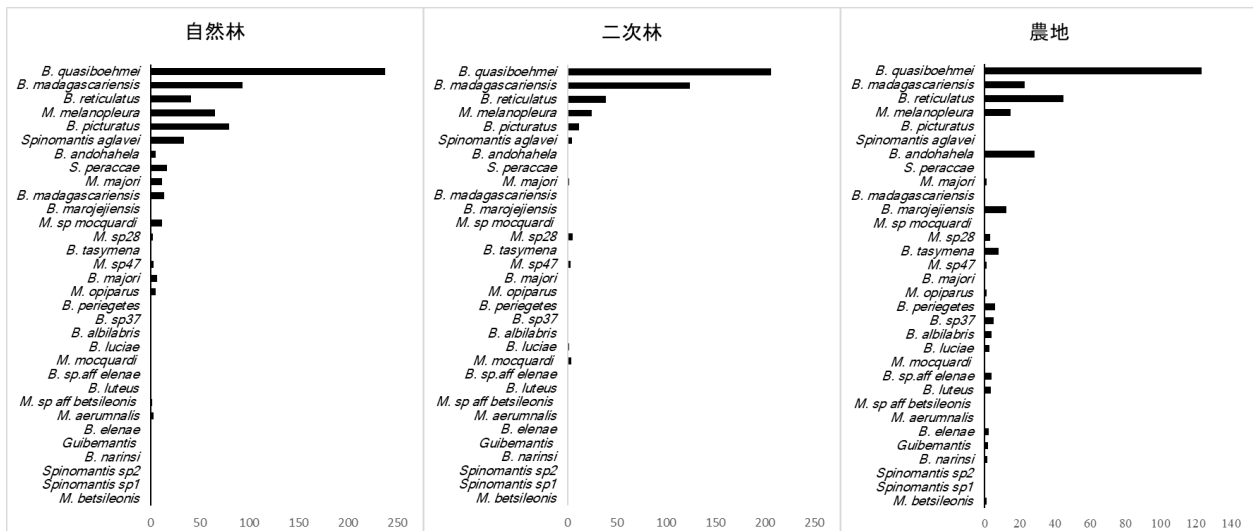


図 2 生息環境別のオタマジヤクシ個体数分布

た。NMDS2 と正の相関がある種は、*B. madagascariensis* などであった。ジェネラリストは図の中心近くに集まった。これは、両種とも森林と農地で広く出現したためである。

オタマジヤクシは 4 つのグループに分類することができた：主に淵環境に生息する種、一般種、オープンな生息地に多い種、砂利底質が優勢な早瀬に適応する種。*Boophis* の砂食種を除いて、ほとんどの森林種はリター砂堆積物の環境軸の周りに集まった。砂食種である *B. picturatus* は砂と正の相関があり、天空率と負の相関があった。吸盤状口器を持つ種の微小生息地は、比較的開放的なキャノピー、深い水深、および岩石底質であった。農地で発見された一般型口器を持ついくつかの *Boophis* は、NMDS1 と NMDS2 の両方と正に相関していた。

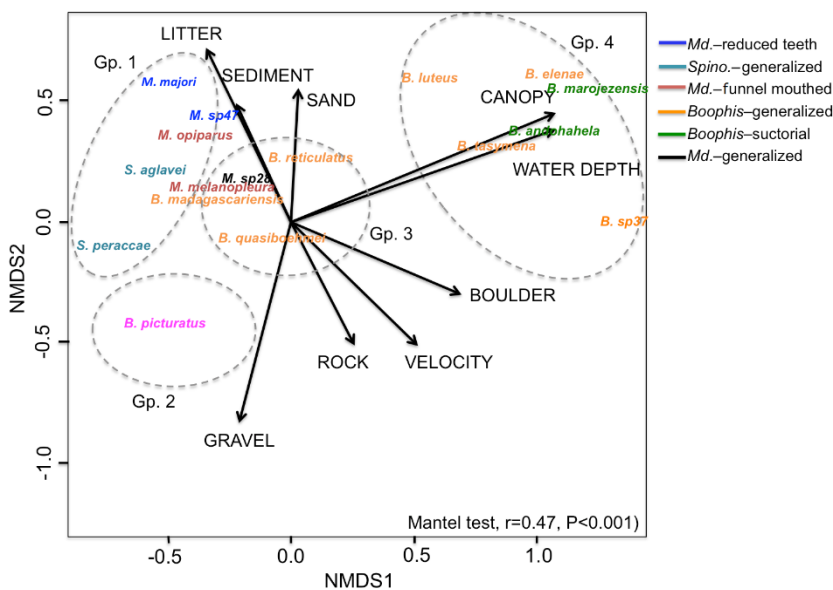


図 3 n-NMDS による種の配置。矢印は環境要因の軸との相関関係を示す。Gp. 1 は特殊化した口器を持つ種群、Gp. 2 は礫質に適応した種群、Gp. 3 は一般型口器の種群、Gp. 4 はオープンな生息地を好む種群

(2) 採餌ニッチの多様性

同位体比は、餌資源間で異なっていた (図 4)。ペリフェトン、FPOM および堆積物の $\delta^{13}\text{C}$ 値は類似していた。水草の炭素同位体値は変異が大きく、森林から農地までで -31.78‰ から -20.99‰ の範囲であった。 $\delta^{15}\text{N}$ 値は *B. picturatus* がより高い栄養レベルを占めるとされるのを除いて、多くの種がほぼ同様の値を有した。一方 $\delta^{13}\text{C}$ に大きな違いがみられた。同じ口器タイプの種は必ずしも類似の同位体比を示さなかった。ジェネラリストとスペシャリストの間で、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ のいずれにも差はなかった。しかし、両方のクラスターについて、同種の個体間では C よりも N の変動が大きかった ($P < 0.001$)。これは、それぞれの種の個体

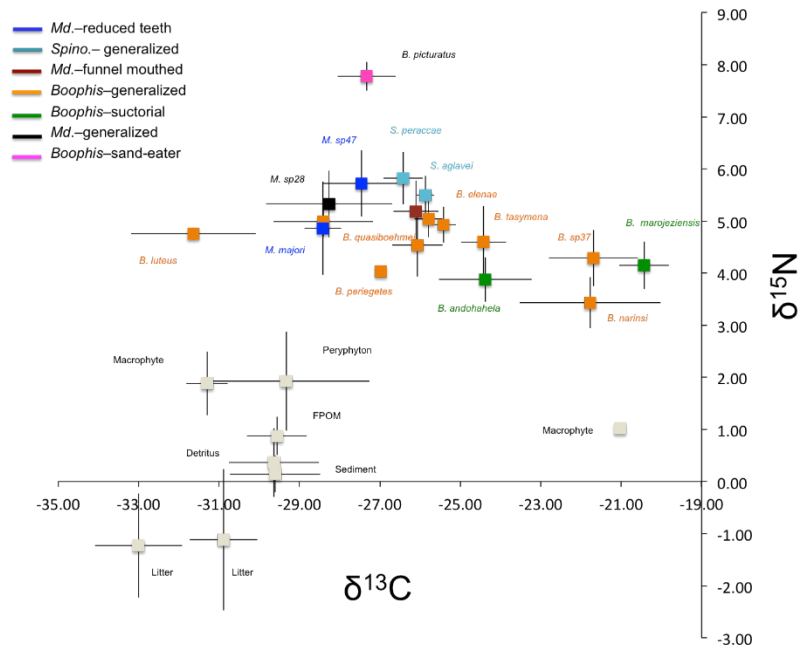


図4 オタマジャクシおよび餌の同位体比

とMMのオタマジャクシは、 $\delta^{15}\text{N}$ がほぼ等しかったが、 $\delta^{13}\text{C}$ は異なっており2種間で、体組織のC、N、C:Nに違いは見られなかった。MMはBQよりもNとPを高い濃度で排泄したが、N:P排泄比に差はなかった。葉の分解はオタマジャクシ密度および落葉の種類に依存した(図5)。MMは、葉の種類に関係なく、高密度でのみ分解に影響した。BQによる効果は、中密度および高密度で、そして柔らかい葉でのみ観察された。オタマジャクシ混合飼育が落葉の分解に及ぼす影響は相加的であった。相加効果は、オタマジャクシ2種の間の相補的効果はないか非常に弱いことを示唆した。

が、Cの含有量よりもNの方が変動しやすい資源を摂食する可能性があることを示唆している。

腸内容からは口器によって餌の種類を区別できなかった。他種と餌の共通性が少ない特殊な口器を持つ種は、*M. majori* (菌列減少)、*M. melanopleura* (漏斗状)、*B. picturatus* (砂食者)である。*M. melanopleura*は浮遊粒子を専門とする懸濁フィーダーである。一方、*B. picturatus*の前腸は、砂粒子(58%)によって占められていた。他の餌は、藻類、底質、および不明の物質で構成されていた。*M. majori*の腸は、原生動物(32%)および鉱物質(44%)を含んでいた。一般型口器の場合、珪藻が23%以上で腸内容物の主要部分を占めた。

(3) エンクロージャー実験

BQはMMよりも速く成長した。BQ

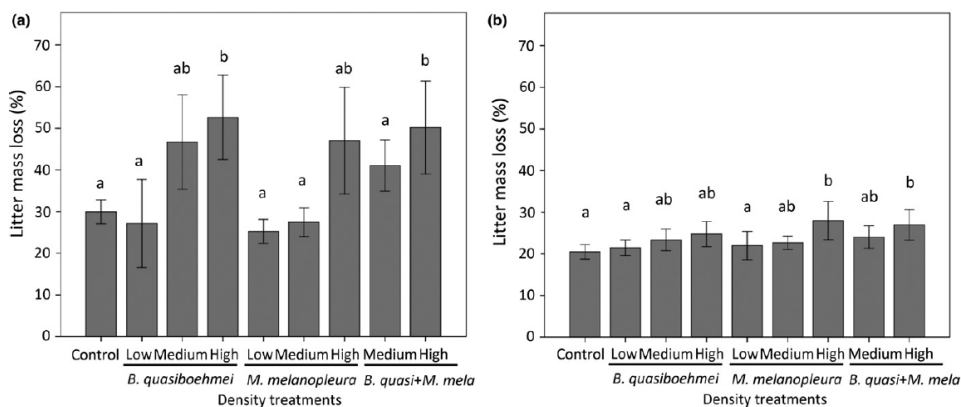


図5 *B. quasiboehmei* (一般型口器)と*M. melanopleura* (漏斗型口器)をの落葉分解効果。(a) *Pauridiantha* spの葉、(b) *Chrysophyllum* sp.の葉。対照区は葉のみでオタマジャクシを入れていない。

<引用文献>

- ①Chase JM, Leibold MA (2003) Ecological niches: linking classical and contemporary approaches. Univ. Chicago Press
- ②Iwai N, Pearson RG, Alford RA (2009) Shredder-tadpole facilitation of leaf litter decomposition in a tropical stream. *Freshwater Biology* 54:2573-2580
- ③Levin SA et al. (2009) The Princeton guide to ecology. Princeton University Press
- ④Ramaharitra T (2006) The effects of anthropogenic disturbances on the structure and composition of rainforest vegetation. *Tropical Resources Bulletin* 25:32-37
- ⑤Rugenski AT, Murria C, Whiles MR (2012) Tadpoles enhance microbial activity and leaf decomposition in a neotropical headwater stream. *Freshwater Biology* 57:1904-1913
- ⑥Strauß A, Randrianiaina RD, Vences M, Glos J (2013) Species distribution and assembly patterns of frog larvae in rainforest streams of Madagascar. *Hydrobiologia* 702:27-43
- ⑦Wagner CE, Harmon LJ, Seehausen O (2012) Ecological opportunity and sexual selection together predict adaptive

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① Ramamonjisoa N, Rakotonoely H, Natuhara Y (2018) Contrasting effects of functionally distinct tadpole species on nutrient cycling and litter breakdown in a tropical rainforest stream. *Freshwater Biology* 63: 202-213
- ② Ramamonjisoa, N, Rakotonoely H, Natuhara Y (2018) Differential vulnerability of two sympatric tadpoles to an invasive crayfish predator. *Hydrobiologia* 818: 119-127
- ③ Ramamonjisoa, N, Rakotonoely H, Natuhara Y (2018) Defense investments and growth responses under different predation risks and gape-limitation predation threats in a tadpole prey. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 72: 144
- ④ Natuhara Y (2018) Green infrastructure: innovative use of indigenous ecosystems and knowledge. *Landscape and Ecological Engineering* 14: 187-192
- ⑤ Ramamonjisoa N, Natuhara Y (2017) Hierarchical competitive ability and phenotypic investments in prey: inferior competitors compete and defend. *Journal of Zoology* 301(2): 157-164.
- ⑥ Ramamonjisoa N, Rakotonoely H, Natuhara Y (2017). Food preference in relation to resource toughness and protein level in a pond dwelling tadpole. *Journal of Herpetology* 51(1): 47-51.
- ⑦ Ramamonjisoa N, Iwai N, Natuhara Y (2016) Post-metamorphic costs of carnivorous diets in an omnivorous tadpole. *Copeia* 104: 808-815.
- ⑧ Ramamonjisoa N, Rakotonoely H, Natuhara Y (2016) Animal or algal materials: food toughness, food concentration, and competitor density influence food choice in an omnivorous tadpole. *Herpetologica* 72(2): 114-119.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 河田萌音、倉林敦、Ramamonjisoa N、夏原由博、他 (2018) メタバーコーディング手法を用いた両生類の環境 DNA 検出. 日本生態学会第 66 回大会、神戸
- ② Natuhara Y, Ramamonjisoa N (2018) Diversity of frogs in Satoyama landscape of Madagascar. International Consortium of Landscape and Ecological Engineering, Taichung

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：倉林敦

ローマ字氏名：(KURABAYASHI, Atsushi)

所属研究機関：長浜バイオ大学

部局名：バイオサイエンス部

職名：准教授

研究者番号：00327701

研究分担者氏名：境優

ローマ字氏名：(SAKAI, Masaru)

所属研究機関：中央大学

部局名：理工学部

職名：助教

研究者番号：10636343

研究分担者氏名：島田 知彦

ローマ字氏名：(SHIMADA, Tomohiko)

所属研究機関：愛知教育大学

部局名：教育学研究科

職名：講師

研究者番号：30610638

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：源利文

ローマ字氏名：(MINAMOTO, Toshifumi)