

Environment Research and Technology Development Fund

環境省環境研究総合推進費終了研究等成果報告書

**種内競争を用いた特定外来生物（オオヒキガエル）の駆除法の開発
(4RF-1402)**

平成26年度～平成28年度

**New Method for Controlling an Invader Animal (Cane Toads)
Using Intraspecific Competition**

京都大学

平成29年5月

環境省
総合環境政策局総務課環境研究技術室
環境保健部環境安全課環境リスク評価室
地球環境局総務課研究調査室

種内競争を用いた特定外来生物（オオヒキガエル）の駆除法の開発

(4RF-1402)

I. 成果の概要	・ ・ ・ ・ ・	i
1. はじめに（研究背景等）	・ ・ ・ ・ ・	i
2. 研究開発目的	・ ・ ・ ・ ・	i
3. 研究開発の方法	・ ・ ・ ・ ・	ii
4. 結果及び考察	・ ・ ・ ・ ・	v
5. 本研究により得られた主な成果	・ ・ ・ ・ ・	vi
6. 研究成果の主な発表状況	・ ・ ・ ・ ・	xi
7. 研究者略歴	・ ・ ・ ・ ・	xi
II. 成果の詳細		
（1）種内競争を用いた特定外来生物（オオヒキガエル）の駆除法の開発 （京都大学）	・ ・ ・ ・ ・	1
要旨	・ ・ ・ ・ ・	1
1. はじめに	・ ・ ・ ・ ・	1
2. 研究開発目的	・ ・ ・ ・ ・	2
3. 研究開発方法	・ ・ ・ ・ ・	5
4. 結果及び考察	・ ・ ・ ・ ・	1 2
5. 本研究により得られた成果	・ ・ ・ ・ ・	2 4
6. 国際共同研究等の状況	・ ・ ・ ・ ・	2 7
7. 研究成果の発表状況	・ ・ ・ ・ ・	2 7
8. 引用文献	・ ・ ・ ・ ・	2 9
III. 英文Abstract	・ ・ ・ ・ ・	3 0

課題名 4RF-1402 種内競争を用いた特定外来生物(オオヒキガエル)の駆除法の開発

課題代表者名 原村 隆司 (京都大学白眉センター)

研究実施期間 平成26～28年度

累計予算額 27,769千円(うち平成28年度:8,165千円)
予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード 特定外来種、オオヒキガエル、種内競争、石垣島、進化生態学、

研究体制

(1) 種内競争を用いた特定外来生物(オオヒキガエル)の駆除法の開発に関する研究 (京都大学白眉センター)

研究概要

1. はじめに(研究背景等)

外来種の防除・駆除法の開発は、生物多様性や在来種の保全を行ううえで避けては通れない課題の一つである。特に四季折々の環境を持ち、固有の在来種が多く生息する日本では、いかにして生態系や在来種に悪影響を与えず、効率良く外来種を防除・駆除していくのかが、今後の重要なテーマとなっている。というのも、これまでの外来種の防除法は、多くの作業員を雇った人海戦術であったり、農業などの化学物質を用いた駆除法、放射線を使った外来種不妊化による根絶などであった(図1)。しかし、ターゲットとなる外来種以外の他の在来種を殺してしまったり、多くの労働員及び長期間の雇用による多額な駆除費用などの問題が発生していた。

両生類外来種の代表であり、特定外来種であるオオヒキガエルは、石垣島において、在来種への影響が報告されている。しかし、オオヒキガエルの一般的な駆除法は現在のところ個体の捕獲のみであり、効果的な駆除・防除ができていない状況である。そのため、本研究の持続的なオオヒキガエルのコントロール、駆除に関する研究は、愛知目標の一つである「侵略的外来種が制御され、根絶される」という目標の実現に大きく貢献できるものと思われる。



図1 本研究の概要

2. 研究開発目的

本研究では、沖縄県石垣島に定着している特定外来種オオヒキガエルを対象とし、彼らが進化させてきた行動や生態、特に種内競争を利用した新たな防除・駆除法の開発を目的としている(図2)。進化学的・生態学的手法を利用する本防除法は、外来種(本研究の場合オオヒキガエル)のみを効率良く集め、しかも在来種に悪影響を与えることもないと考えられる。そのため、オオヒキガエルを用いた防除・駆除法の開発は、他の外来種の防除対策にも適用できる。両生類では、雌を集めるために雄は鳴き(メイトコール)、更にオタマジャクシは化学物質(フェロモン)などでコミュニケーションをとっている。そこで、(1)オオヒキガエルの鳴き声(メイトコール)の解析及び野外実験、(2)オタマジャクシが持つ化学物質(フェロモン)の分析・抽出及び生体実験、(3)オタマジャクシの種

内・種間競争を利用した生物防除、に関する調査を行なった。

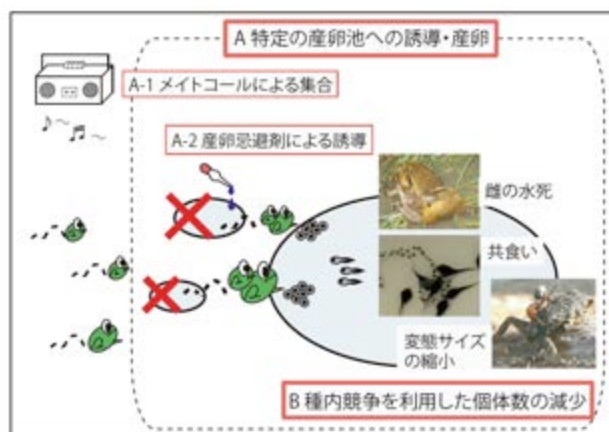


図2 オオヒキガエルを用いた本研究の概要

3. 研究開発の方法

(1) オオヒキガエルの鳴き声（メイトコール）の解析及び、野外実験

1) 雄のメイトコールの解析及びサークルを用いた野外実験

オオヒキガエルの雄が求愛のために発するメイトコールに個体差が見られるのかを確かめるために、野外の雄のメイトコールを録音した。また、コールを録音した雄は捕獲し、体長、体重等を記録した。これは、両生類ではメイトコールの長さや周波数（Hz）等に体サイズが関係していることが知られているからである。録音したメイトコールは、鳴き声の長さや周波数を分析し、また、メイトコールの特徴と雄の表現型との関係性を検証した。

オオヒキガエルを含めたカエル類では、雌は周波数の低いメイトコールを好むなどの特徴がみられる。そこで、メイトコールを人工的に加工し、より効率良くオオヒキガエルを集めることができないかと考えた。人工的に低い周波数のコール、高い周波数のコール、コーラスの3つのメイトコールを作成した。基本となるオオヒキガエルの鳴き声の周波数は657Hz、低い周波数は564Hz、高い周波数は734Hzである。

これらのコールを用いプレイバック実験を行った。実験は直径7mのサークルを作り（外縁は網で囲みである：図3）、スピーカーから鳴き声を流し、10分後のオオヒキガエルの位置を記録した。

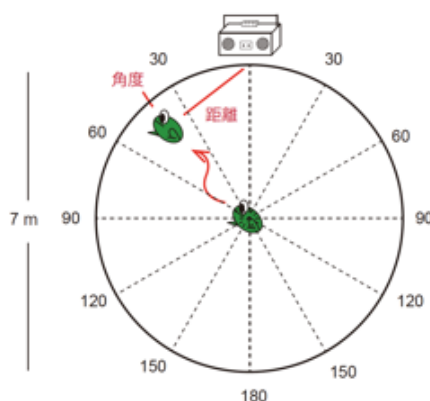


図3 サークル実験の方法

2) 半野外環境下でのプレイバック実験

人工作成したメイトコールがオオヒキガエル個体を集められるかどうかを、野外環境下で検証した。実験区（柵で囲んだ部分）は 20m × 5m である（図4、図5）。実験区には雄4匹、雌1匹を夜に放し、メイトコールをスピーカーから流した。翌朝、オオヒキガエル個体がそれぞれどちら側にいたのか（スピーカー側か反対側か）を記録し、人工作成したメイトコールがオオヒキガエルを誘引できたかどうかを確認した。



図4 半野外実験の写真



図5 半野外実験の概要

3) オオヒキガエル繁殖場でのプレイバック実験

a サトウキビ畑の人工池でのプレイバック実験

野外の繁殖場所でも、人工作成したメイトコールがオオヒキガエル個体を集めることができるかどうかを検証した。「サトウキビ畑のため池」にプレイバック装置を設置した(図6)。メイトコールを流す前に周辺のオオヒキガエル個体数をカウントし、鳴き声を流した3-4時間後に再度、ため池に集まっているオオヒキガエル個体数をカウントした。メイトコールを流す場合と流さなかった場合とを比較し、メイトコールがオオヒキガエルを集合させるのかを検証した。



図6 野外繁殖場でのプレイバック実験

3) オオヒキガエル繁殖場でのプレイバック実験

b 森林環境でのプレイバック実験

上記3)-aで行なったプレイバック実験を、森林に囲まれた山間部の水域で行なった(図7)。メイトコールを日没直後に流し、3-4時間後に水辺に集まってきたオオヒキガエルを捕獲した。



図7 山間部での水辺(親水公園)

(2) 化学物質(フェロモン)の分析・抽出及び、野外での生体実験

京都大学農学部化学生態学研究室の吉永助教の協力のもと、オオヒキガエルオタマジャクシが持つ

ていると考えられる化学物質（フェロモン）の抽出を行なった。今回は、①オタマジャクシをクラッシュ後、水のみで処理（Water）、②オタマジャクシをクラッシュ後メタノールで処理（MeOH）し、2つの化学物質を抽出した（図8）。



図8 抽出した2つの化学物質（Water, MeOH）

抽出した2つの化学物質を用い、オオヒキガエル成体とオタマジャクシを使った生体実験を行なった。成体での実験では生息場所選択を（図9）、オタマジャクシでは遊泳行動実験を行なった。

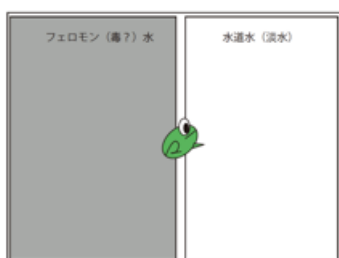


図9 フェロモンを使った生息場所選択の実験方法

（3）種内・種間競争を利用した生物防除に関する実験

1）種内競争を利用した生物防除

異なるオオヒキガエルのオタマジャクシ密度の飼育容器を用意した（図10）。オオヒキガエル密度は10匹、20匹、40匹である。実験開始から20日後、飼育容器内のオタマジャクシの生存率、体長、体重、ステージ（日齢）を測定した。



図10 オオヒキガエル密度効果実験（種内競争）の様子

成長抑制フェロモンの室内実験を行なった。オタマジャクシ（大）とオタマジャクシ（小）を、中央を網で区切った容器（500ml：図11）で3日間飼育する。コントロールでは、オタマジャクシ（小）のみで、オタマジャクシ（大）とは同居させていない。3日後、オタマジャクシ（大）を取り出し、オタマジャクシ（小）のみを10日間飼育した。更に10日後、成長したオタマジャクシの体長、体重、ステージ（日齢）を測定した。



図 1 1 成長抑制フェロモンを検証する実験装置。真ん中に網で区切りがしてあり、オタマジャクシ大とオタマジャクシ小が物理的に接触できないようになっている

2) 種間競争を利用した生物防除

飼育容器（衣装ケース：38×55×40 cm、約60L）の中に、①オオヒキガエルオタマジャクシ（10匹）＋サキシマヌマガエル（10匹）、②オオヒキガエルオタマジャクシ（10匹）＋ヤエヤマアマガエル（10匹）、③オオヒキガエルオタマジャクシ（10匹）＋ヒメアママガエル（10匹）を入れ飼育した（図12）。実験開始から20日後、オオヒキガエルオタマジャクシの個体数を確認し、生存率、体長、体重、ステージ（日齢）を測定した。



図 1 2 在来種との種間競争の実験装置

4. 結果及び考察

(1) オオヒキガエルの鳴き声（メイトコール）の解析及び、野外実験

1) 雄のメイトコールの解析及びサークルを用いた野外実験結果

体重の重い個体（大きい個体）が、一回のメイトコールの時間が長く、また低い声で鳴いている傾向が見られた（図13）。

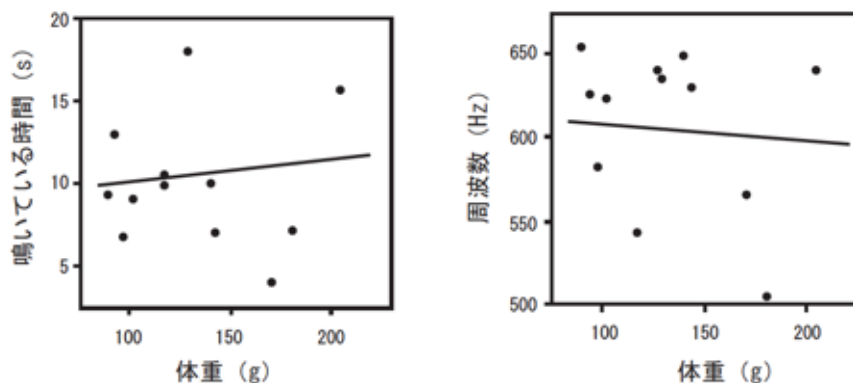


図 1 3 オオヒキガエル雄の体重とメイトコールとの関係

雄はコーラスを流した時によりスピーカーに引きつけられ、一方雌は、低い周波数のメイトコールを流した時に引きつけられた（図14と図15）。

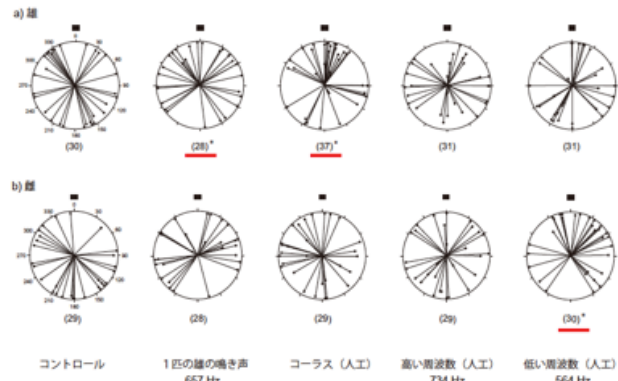


図 1 4 サークル実験の個体の移動の方向。■はスピーカーの位置

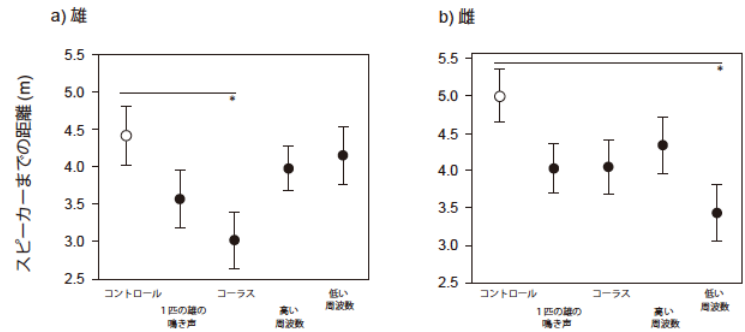


図 1 5 サークル実験の個体とスピーカーまでの距離

2) 半野外環境下でのプレイバック実験

オオヒキガエルはスピーカー側に移動しており (X^2 検定、 $X^2=33.93$, $P<0.001$)、また、雌雄ともメイトコールに誘因されていた (雄: $X^2=16.09$, $P<0.001$ 、雌: $X^2=3.94$, $P<0.005$) (図 1 6)。

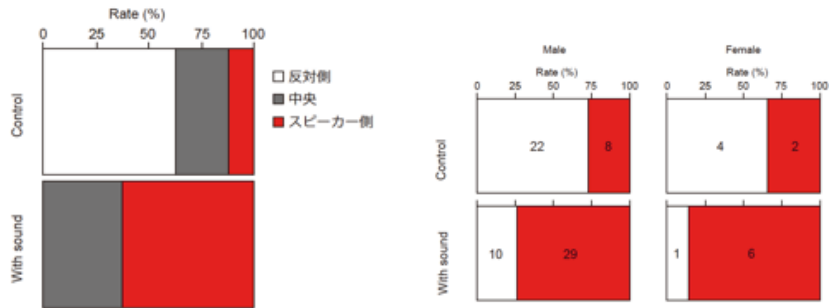


図 1 6 左側がオオヒキガエルが居た割合を、右側がオオヒキガエルが居た個体数を示す。赤色がオオヒキガエルがスピーカー側に居たことを表す

3) オオヒキガエル繁殖場でのプレイバック実験

a サトウキビ畑の人工池でのプレイバック実験

オオヒキガエルはメイトコールを流した場合にため池に多く集まっていた。また、鳴き声を流す時間が長いほど、より沢山のオオヒキガエルが集まる傾向があった (メイトコール有無: $F=26.69$, $P<0.05$, $AIC=73.17$, 時間: $F=8.96$, $P<0.05$, $AIC=71.08$ 、図 1 7)。



図 1 7 重回帰分析 (ステップワイズ) の結果

3) オオヒキガエル繁殖場でのプレイバック実験

b 森林環境でのプレイバック実験

3-4時間のメイトコールのプレイバックで、22匹（雄：19匹、雌：3匹）のオオヒキガエルを集めることができた（図18）。



図18 捕獲できたオオヒキガエル個体

考察

オオヒキガエルの雄はコーラスに、雌は低い周波数のメイトコールに反応し、スピーカーに集まってきた。このことから、人工的に加工したオオヒキガエルのメイトコールも他オオヒキガエル個体を集めることができ、また、流すメイトコールを変えることで雌雄を選択的に集めることができる可能性が示唆された。

半野外実験やサトウキビ畑、山間部でメイトコールを利用した調査から、このメイトコールを利用した駆除は効果的であると考えられた。サトウキビ畑のため池では、メイトコールを流した場合には多くのオオヒキガエルが集まっていた。また、山間部の水域でも、我々が入っていけない森林環境に生息するオオヒキガエルを一カ所に集めることができる。メイトコールは音なので、薬剤のように自然環境や在来種に悪影響を与えることもなく、またコストもほとんどかからない（Ward and Schlossberg, 2004）。そのため外来種（特に両生類）においては、効率的な防除法であるといえる。また、環境省が行なっている「オオヒキガエル捕獲大作戦」と組み合わせることで、効率良くオオヒキガエルを捕獲する手助けになるかもしれない。

また、まだオオヒキガエルが移入していない場所でメイトコールを流すことは、スクリーニングとしても効果があるかもしれない。西表島では、過去に数回オオヒキガエルの目撃情報が出ており、これは石垣島の港からの物資輸送に紛れて、西表島にオオヒキガエルが侵入したと考えられている。本研究期間に、内閣府管轄の石垣島の港でスクリーニング手法としてメイトコールを流す調査を行なった。幸運なことに、この調査期間にオオヒキガエル個体を捕獲することはなかったが、今後も、石垣島及び周辺の島々の港近くでメイトコールを流すことで、偶発的に入ってしまったオオヒキガエルの見落としを防ぐことができるかもしれない。

（2）化学物質（フェロモン）の分析・抽出及び、野外での生体実験

結果

成体の生息場所選択の結果を図19に示す。水（Water）で抽出した化学物質では、オオヒキガエルは時間と共にその水域を避ける傾向がみられたが（ χ^2 検定、 $\chi^2=9.63$, $P=0.074$ 、有意差はなし）、メタノールで抽出した化学物質にはそのような傾向は見られなかった（メタノール： $\chi^2=1.59$, $P>0.05$ 、コントロール： $\chi^2=0.00$, $P=1.00$ ）。

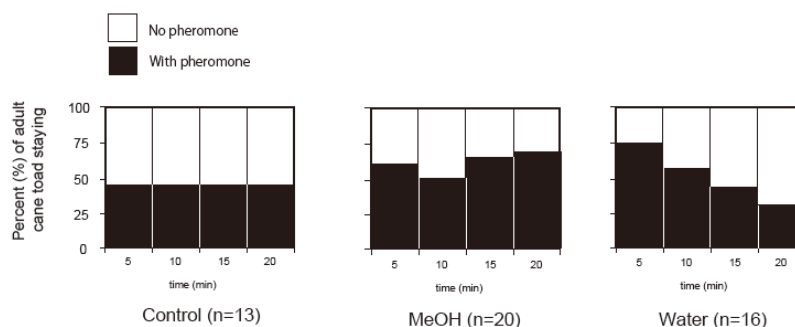


図19 生息場所選択の結果。左から、コントロール、メタノール抽出物 (MeOH)、水抽出物 (Water)

オタマジャクシの遊泳行動では、時間とともに遊泳時間は長くなっていた。しかし、コントロール及び抽出した2つの化学物質間（Water, MeOH）で有意な差は見られなかった（図20、Generalized Linear Model; 時間: $df=3$, $F=44.33$, $P<0.001$ 、処理: $df=2$, $F=0.79$, $P>0.05$ 、時間*処理: $df=6$, $F=0.95$, $P>0.05$ 、図(2)-4）。

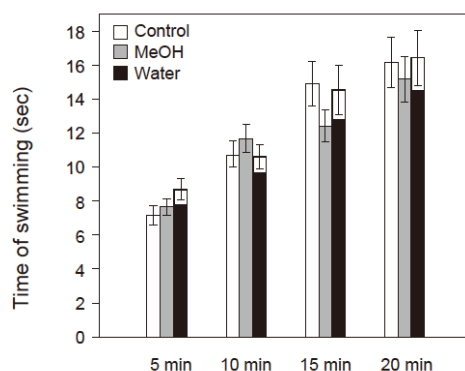


図20 各時間ごとの処理間（コントロール、MeOH抽出物、Water抽出物）によるオタマジャクシの遊泳行動

考察

抽出方法の違いで得られた化学物質は異なっていたが、成体を用いた生息場所選択実験及びオタマジャクシの遊泳行動実験では有意差は見られなかった。そのため、現時点では、化学物質（を使用した防除法の実用化の可能性は低いと思われる。

しかし、オーストラリアのオオヒキガエル防除調査において、生きたままのオタマジャクシを潰した警告フェロモンの有効性が示されている（Hagman and Shine 2008, 2009）。私の研究では冷凍処理したオタマジャクシから化学物質の抽出を試みたが、これが化学物質の抽出を困難にした原因かもしれない。化学物質を用いた防除法の開発に関しては、輸送・飼養許可を踏まえた更なる調査・研究が必要であると考えられた。

(3) 種内・種間競争を利用した生物防除に関する実験

1) 種内競争を利用した生物防除結果

オタマジャクシの体長、体重、ステージは生息密度の違いによって異なり、高い密度（オオヒキガエルオタマジャクシ40匹）では、オタマジャクシの成長は抑制され、また発育ステージも低かった（図21）。

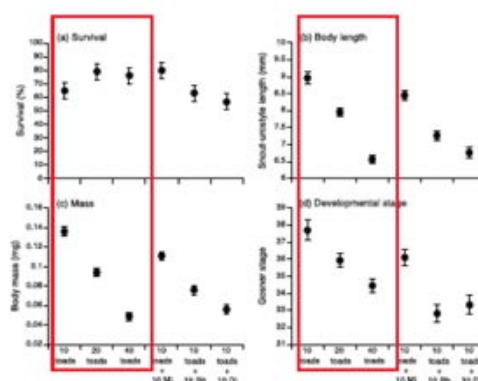


図21 オオヒキガエルオタマジャクシの生存率及び形態

成長抑制フェロモンでは、同居させた小さなオタマジャクシは、成長が抑制された（図22）。本実験では大きなオタマジャクシと小さなオタマジャクシでは物理的接触はないので（網でお互いの居場所は分けられている）、大きなオタマジャクシが出している何らかの化学物質が小さなオタマジャクシの成長を抑制しているものと考えられる。



図 2 2 コントロール（大きいオタマジャクシ）と成長を抑制されたオタマジャクシ（小さいオタマジャクシ）の写真。

2) 種間競争を利用した生物防除結果

在来種（サキシマヌマガエル、ヤエヤマアマガエル）と同居させたオオヒキガエルオタマジャクシは生存率も低く、また、オタマジャクシの体サイズ及び体重も小さいままだった（図 2 3、図 2 4）。特にサキシマヌマガエルはオオヒキガエルオタマジャクシに強いネガティブな効果を与えていた。

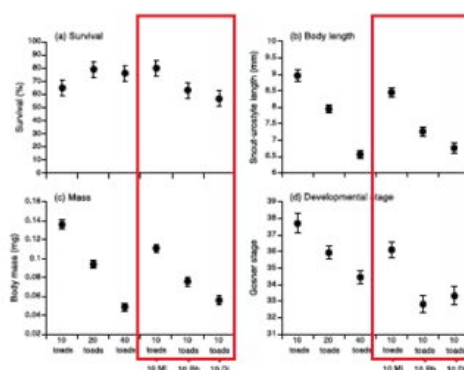


図 2 3 在来種と同居させたオオヒキガエルオタマジャクシの生存率と表現型



図 2 4 それぞれの処理区のオオヒキガエルオタマジャクシの成長率の違い

考察

1) 種内競争を利用した生物防除

小さなオタマジャクシは変態しても小さな個体にしかれない。より小さな変態個体は在来昆虫などの捕食者や日差し・乾燥にとっても弱く死に易い。そのため、より小さな変態個体（つまりより小さなオタマジャクシ）を作ることは、オオヒキガエルの重要な防除法となる。

密度効果による種内競争では、生息密度が高くなるにつれてオオヒキガエルオタマジャクシの成長は抑制された。また、オオヒキガエルの大きなオタマジャクシは、他オタマジャクシの成長を抑制する化学物質を出しており、他のオオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制する。いずれもオタマジャクシが放出している化学物質が他個体の成長を抑制していると考えられる。しかしどのような化学物質がオオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制しているのかは分からなかった。オオヒキガエルオタマジャクシが他個体の成長を抑制するので、私がオーストラリアの研究者らと開発したオオヒキガエルオタマジャクシのトラップでオタマジャクシを大量に捕獲し（Crossland et al. 2012）、それらを目の細かい洗濯ネットなどに入れオオヒキガエルの繁殖池に放置することで、罠で捕獲できなかったオオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制することができるかもしれない。

2) 種間競争を利用した生物防除

在来両生類のオタマジャクシ（特にサキシマヌマガエルやヤエヤマアオガエル）がオオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制していた。そのため、在来種カエルを増やすことで、オオヒキガエルの防除に貢献できるかもしれない。サキシマヌマガエルは水田で、ヤエヤマアオガエルは山中の用水路やサトウキビ畑の人工池で繁殖が観察されるので、環境に応じてこれら在来種のオタマジャクシを放逐することは、直ちに行なえるオオヒキガエル防除法である。これらのカエルを人工増殖して放逐する事業は、オオヒキガエル防除だけでなく自然保護の啓発活動としても役立つものと思われる。

5. 本研究により得られた主な成果

（１）科学的意義

1) オオヒキガエルの鳴き声（メイトコール）の解析及び、野外実験

オオヒキガエルのメイトコール使用により他個体オオヒキガエルを集められる可能性を示した本研究は、申請者が提案している「進化学的・生態学的手法」を利用した外来種の防除法としての例を示すことができた。パソコンで人工的に加工したメイトコールでもオオヒキガエルを集めることができ、更にオオヒキガエルの雌雄を選択的に集めることができるのも興味深い。メイトコールを流す時期、場所を決めたり、現在環境省指導のもと石垣島で行なわれている「オオヒキガエル捕獲大作戦」と連携することで、オオヒキガエルの捕獲効率を上げることができる。メイトコールをパソコンで加工することは現在ではとても簡単で費用もかからないので、今後も研究を進めることで、多くのオオヒキガエルを集めることのできるより効果的なメイトコールを人工作成することができる。また、このメイトコールを利用した手法は、すでにオオヒキガエルが定着している石垣島のような場所以外にも、西表島のような今後オオヒキガエルが移入してしまうかもしれない場所でのスクリーニングとしても役立つ。これは、オオヒキガエルの新たな場所への移入・定着の予防策となる。また、現在西表島に定着している外来両生類（シロアゴガエル）の駆除にも応用できるとと思われる。

2) 化学物質（フェロモン）の分析・抽出及び、野外での生体実験

オオヒキガエル成体やオタマジャクシを化学物質（フェロモン）で操作する試みは興味深いものであるが、現時点では、化学物質を用いたオオヒキガエル防除法の実用化の可能性は低いように思われた。しかし、本研究成果は、化学物質によるオオヒキガエル個体のコントロールの可能性を少なくとも示しており、化学物質を使用した防除が、全く可能性が無いとはいえない。化学物質は少量でも生物に効果があり、また種特異性がある。そのため、オオヒキガエルが持つ化学物質を利用した防除は、在来種や生態系に優しい手法として今後発展させなければならない手法であると考えている。

3) 種内・種間競争を利用した生物防除に関する実験

オオヒキガエルのオタマジャクシは、他個体の成長を抑制する化学物質を出していることが分かった。現時点での実用化の方法として、捕獲したオオヒキガエルオタマジャクシをすぐに殺処分するのではなく、洗濯網などのネットにに入れてオオヒキガエルの繁殖池である水場に入れておけば、ネット外のオオヒキガエルのオタマジャクシの成長を抑制でき、変態サイズを小さくできる。オオヒキガエルの変態個体は、石垣島在来種の他のカエルのものと比べてもとても小さく、乾燥などの環境要因に対して弱い。変態サイズを更に小さくすることは、強い日差しや乾燥に対しての耐性を更に弱めることになるので、オオヒキガエルの個体数を減らすうえで重要である。これは、我々があまり手を加えなくても、自然とオオヒキガエル個体を減少させることができる可能性を秘めている。

オオヒキガエルのオタマジャクシサイズを小さくするのは、石垣島に生息する在来両生類を用いた実験でも明らかとなった。本来、外来種は在来種に悪影響を与え絶滅に追い込むと考えられているが、今回の結果は、在来カエルのオタマジャクシはオオヒキガエルよりも強く、在来種を利用した新たな防除法を提供する点で興味深い。特に石垣島在来のサキシマヌマガエルやヤエヤマアオガエルがオオヒキガエルにネガティブな影響を与えた。実用的なオオヒキガエル防除としては、在来カエルのオタマジャクシを人工的に増やしオオヒキガエルの繁殖池に放逐することが考えられる。今後は、在来カエルが持つ化学物質も調査することで、化学物質を利用した防除の開発が望まれる。

（２）環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

平成27年度八重山地域オオヒキガエル等防除対策会議にアドバイザーとして参加し、これまでのオオヒキガエル研究内容及び防除方法（特に在来種両生類を用いた防除法）について提言した（2016年2月3日）。また、人工作成によるメイトコールの防除法は、石垣島で行なわれている「オオヒキガエル捕獲大作戦」の事業の中に組み込むことで、より効果的にオオヒキガエルを駆除できると思われる。

6. 研究成果の主な発表状況（※別添：報告書作成要領参照）

（1）主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) Crossland M. R., T. Haramura, & R. Shine (2016). *Fejervarya sakishimensis* (Sakishima Rice frog). Observation of a terrestrial beetle larvae (Family Caribidae) as a frog predator in Japan. *Herpetological Review*. 47: 107-108.
- 2) Haramura, T., H. Takeuchi, M. R. Crossland, & R. Shine (2016). Biotic resistance to an alien amphibian: larvae competition between Japanese frog and invasive cane toads. *Plos ONE*. 11: e0156396.
- 3) 竹内寛彦、原村隆司（2016）．河口域で発見されたオオヒキガエルの幼生．*Akamata*. 26: 8-10.

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

（2）主な口頭発表（学会等）

- 1) 原村隆司、M. R. Crossland, & R. Shine. 外来種オオヒキガエルオタマジャクシの防除法．日本生態学会第62回全国大会 2015年3月15-22日 鹿児島大学
- 2) Haramura, T., H. Takeuchi, M. R. Crossland, & R. Shine. Biotic resistance to an alien amphibian, cane toad: larvae competition between native frog and cane toads. The 8th World Congress of Herpetology. August 15-21, 2016. Hangzhou, CHINA.
- 3) 原村隆司. 種内、種間競争を利用したオオヒキガエルの新たな防除法．企画集会3「外来両生類・爬虫類の防除法の最前線」 企画者（原村隆司[京大・白眉/京大・フィールド研]）．日本爬虫両棲類学会第55回大会 2016年11月26-27日 琉球大学
- 4) 原村隆司、M. R. Crossland, & R. Shine. 種内コミュニケーションを利用したオオヒキガエルの防除法．第64回日本生態学会大会 2017年3月14-18日 早稲田大学

7. 研究者略歴

課題代表者：原村隆司

京都大学大学院理学研究科博士後期課程修了、理学博士、
現在、京都大学白眉センター特定助教 / 京都大学フィールド科学教育研究センター連携助教

4RF-1402 種内競争を用いた特定外来生物（オオヒキガエル）の駆除法の開発

国立大学法人京都大学

白眉センター

原村 隆司

平成26～28年度累計予算額：27,769千円（うち平成28年度：8,165千円）

予算額は、間接経費を含む。

〔要旨〕

外来種の防除・駆除法の開発は、生物多様性や在来種の保全を行ううえで避けては通れない課題の一つである。特に四季折々の環境を持ち、固有の在来種が多く生息する日本では、いかにして生態系や在来種に悪影響を与えず、効率良く外来種を防除・駆除していくのかが、今後の重要なテーマとなっている。両生類外来種の代表であり特定外来種であるオオヒキガエルは、石垣島において、在来種への悪影響が報告されている。本研究では、オオヒキガエルを対象とし、両生類特有の雄が持つメイトコールや、種内・種間競争による防除、化学物質を用いた防除方策を評価することを目的とした。

本研究結果から、オオヒキガエルではメイトコールを利用した防除の有効性が示された。人工作成したメイトコールは、オオヒキガエルの雌雄を選択的に集めることができ、野外実験においても、多くのオオヒキガエル個体を捕獲することができた。種内・種間競争による防除では、在来両生類のオタマジャクシ（特にサキシマヌマガエルとヤエヤマアマガエル）がオオヒキガエルのオタマジャクシの成長を抑制することが分かり、在来両生類の人工的な個体数増加がオオヒキガエル防除に役立つことが分かった。化学物質を用いた防除（オオヒキガエル成体の行動コントロール）は、化学物質の同定が困難であり直ちに技術化することは難しいとの結論となった。

以上より、オオヒキガエルの防除技術化の候補としてはメイトコールの利用が最も有望であった。メイトコールを使用したこの防除は経済的負担も少なく、また何よりも「音」であるため在来種などに悪影響を与えない。メイトコールを利用した防除は、シロアゴガエルのような他の外来両生類防除に応用できるだけでなく、地域住民の方々にもできる簡便な防除法として提供できる。

〔キーワード〕

特定外来種、オオヒキガエル、種内競争、石垣島、進化生態学

1. はじめに

外来種の防除・駆除法の開発は、生物多様性や在来種の保全を行ううえで避けては通れない課題の一つである。特に四季折々の環境を持ち、固有の在来種が多く生息する日本では、いかにして生態系や在来種に悪影響を与えず、効率良く外来種を防除・駆除していくのかが、今後の重要なテーマとなっている。というのも、これまでの外来種の防除法は、多くの作業員を雇った人海戦術であったり、農薬などの化学物質を用いた駆除法、放射線を使った外来種不妊化による根絶などであった（図1）。しかし、ターゲットとなる外来種以外の他の在来種を殺してしまったり、

多くの労働員及び長期間の雇用による多額な駆除費用などの問題が発生していた。

両生類外来種の代表であり、特定外来種であるオオヒキガエルは、石垣島において、在来種への悪影響が報告されている。しかし、オオヒキガエルの一般的な駆除法は現在のところ個体の捕獲のみであり、効果的な駆除ができていない状況である。そのため、本研究の持続的なオオヒキガエルのコントロール、駆除に関する研究は、愛知目標の一つである「侵略的外来種が制御され、根絶される」という目標の実現に大きく貢献できるものと思われる。

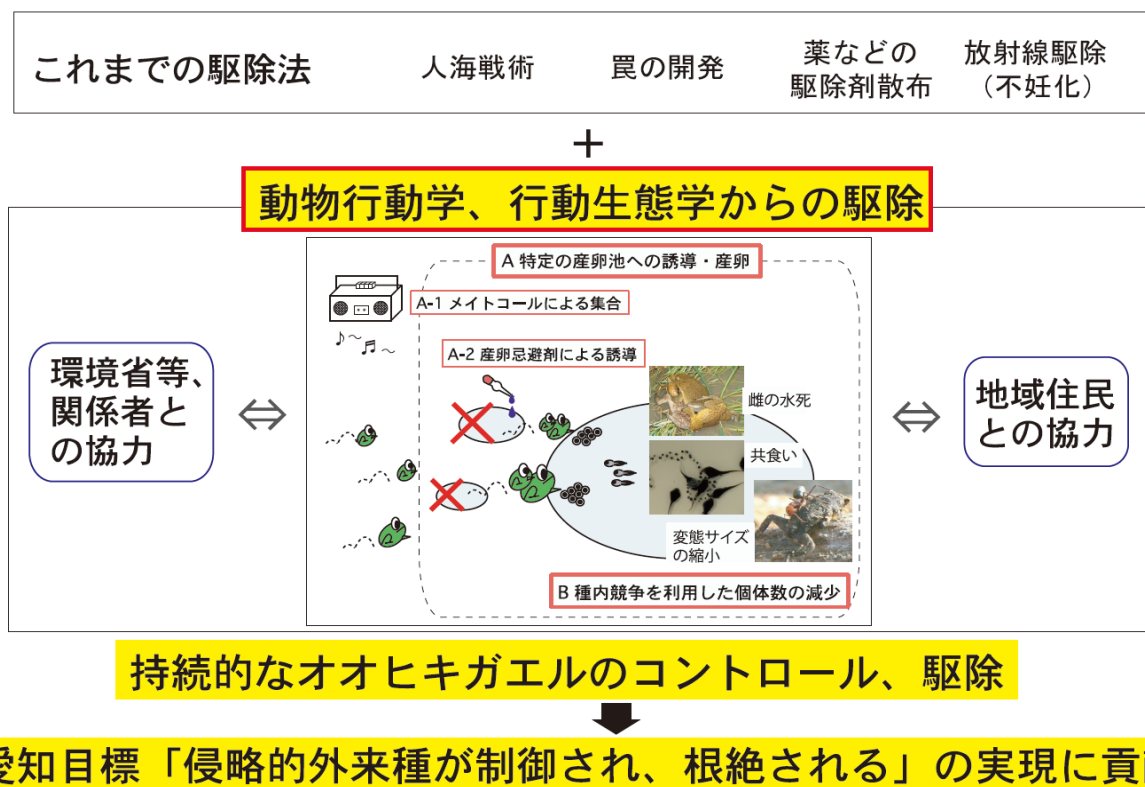


図1 本研究の概要

2. 研究開発目的

本研究では、沖縄県石垣島に定着している特定外来種オオヒキガエルを対象とし、彼らが進化させてきた行動や生態、特に種内競争を利用した新たな防除・駆除法の開発を目的としている（図2）。進化学的・生態学的手法を利用する本駆除・防除法は、外来種（本研究の場合オオヒキガエル）のみを効率良く集め、しかも在来種に悪影響を与えることもないと考えられる。また、オオヒキガエルを用いた本防除法の開発は、他の外来種の防除対策にも貢献する。両生類では雌を集めるために雄は鳴き（メイトコール）、更にオタマジャクシはフェロモンなどの化学物質でコミュニケーションをとっている。そこで、（1）オオヒキガエルの鳴き声（メイトコール）の解析及び野外実験、（2）オタマジャクシが持つ化学物質（フェロモン）の分析・抽出及び生体実験、（3）オタマジャクシ種内・種間競争を利用した生物防除、に関する調査を行なった。

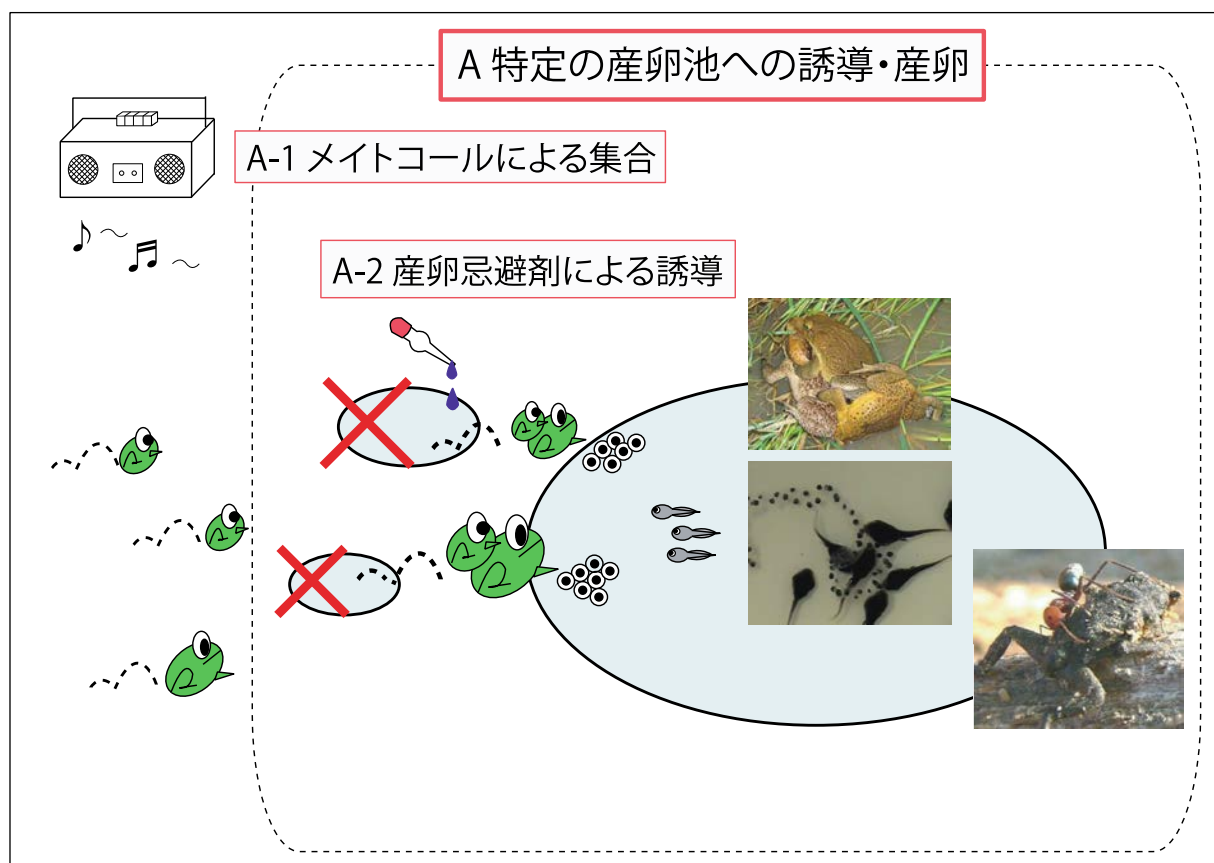


図2 オオヒキガエルを用いた本研究の概要

(1) オオヒキガエルの鳴き声（メイトコール）の解析及び、野外実験

両生類では雌により好まれる雄の鳴き声（以下メイトコール）があることが報告されている（Davies and Halliday, 1978; Arak, 1983）。動物には「性選択」という現象があり、一般に雌は体の大きな雄を交尾相手として好む。その際、ヒキガエルでは、雌は雄の体サイズを推測するためにメイトコールを利用しており、より低い周波数のメイトコールを好むことが分かっている。というのも、体の大きな雄は低い周波数のメイトコールを出すからである。また、雄個体では、コーラスなど複数の個体が鳴いている場所に集まってくる傾向も報告されている。これは、複数雄が集まることでメイトコールが遠くまで届き、多くの雌を引き寄せられるからである。もしオオヒキガエルでも雌個体のメイトコールに違いがみられ、大きな雄が持つ特有のメイトコールを明らし、更により好まれるメイトコールを人工的に作成できれば、多くのオオヒキガエル個体を特定の場所に集合させることができる。また、オオヒキガエルの雌雄を選択的に集めることができる防除が可能かもしれない。そこで、オオヒキガエルの鳴き声を人工的に加工し、周波数等を加工することで、より効率的にオオヒキガエル他個体を集めることができるメイトコールによる防除法を考えた。

本研究では、1) 雄のメイトコールの解析、2) サークルを用いた野外実験、3) 人工作成したメイトコールを用いたプレイバック実験、を行なった。

(2) 化学物質（フェロモン）の分析・抽出及び、野外での生体実験

化学物質（フェロモン）は、個体の行動をコントロールできる可能性がある（Wassersug, 1997）。特に、オオヒキガエル成体の行動やオタマジャクシの行動を操作することができれば、特定の水域にオオヒキガエルを集めたり、より効果的なオタマジャクシ捕獲の罠を作成できる。これまでの研究から、オオヒキガエルのオタマジャクシは卵を共食いすることが知られている。進化生態学的に考えると、雌は自身の卵が同種オオヒキガエル捕食者から食べられると適応度が下がるため、雌は産卵する際にオオヒキガエルオタマジャクシがいる場所を避けると考えられる。つまり、オオヒキガエル成体個体は、同種オオヒキガエルオタマジャクシの存在を彼らが持っている化学物質によって認識している可能性が示唆される。

本研究では、オオヒキガエルオタマジャクシが持っていると考えられる化学物質の同定・抽出を行なった。両生類のオタマジャクシが持つ化学物質（フェロモン）の同定・抽出に関する研究はほとんど報告例がなく、またオオヒキガエルに関しては全く研究例がない。今回は、オオヒキガエルオタマジャクシの冷凍個体を用いて、異なる2つの方法から化学物質を抽出した。また、その抽出した化学物質を石垣島へ持って行き、オオヒキガエル成体による生息場所選択及び、オタマジャクシの行動反応に関する実験を行なった。

(3) 種内・種間競争を利用した生物防除に関する実験

1) 種内競争を利用した生物防除

オオヒキガエルを特定の場所へ集合、誘導させ産卵させることができれば、個体群密度が上がれば種内競争も激しくなる。その結果、共食い頻度が増加しオオヒキガエル個体数が減少したり、密度効果などの影響でオタマジャクシサイズが小さくなると予想される。両生類ではオタマジャクシと変態サイズは相関する。変態サイズは今後の生活史においても重要で、小さな変態サイズの個体は捕食者や物理環境（乾燥など）による死亡率も高く、またその後の繁殖成功率も低くなると言われている（Cabrera-Guzmán et al. 2013）。そのため、オオヒキガエルの防除においては、変態サイズを小さくすること（つまりオタマジャクシサイズを小さくすること）は重要な防除法の一つである。

また、オオヒキガエルのオタマジャクシは卵や小さなオタマジャクシを共食いする。進化生態学的に考えると、大きなオタマジャクシはできるだけ小さなオタマジャクシを共食いしたいため、小さなオタマジャクシには成長してほしくない（小さいほうが食べ易い）。そのため、大きなオタマジャクシは共食いを容易にするように、小さなオタマジャクシの成長を抑制することが予想される。

そこで、オオヒキガエルの変態サイズを小さくするための密度効果及び成長抑制フェロモンの有無の確認に関する実験を行った。

2) 種間競争を利用した生物防除

私（原村）の野外観察から、石垣島において、在来両生類が豊富にいる場所ではオオヒキガエルが少ないように思われた。オオヒキガエルのオタマジャクシは在来種オタマジャクシと比べ、体サイズがとても小さく、競争に弱いと考えられる。そのため、石垣島在来の両生類のオタマジ

ヤクシは、オオヒキガエルに対してネガティブな効果を与えているのではないかと予想した。特にオタマジャクシは、水域という限られた場所に生息している。そのため、もし在来両生類のオタマジャクシがオオヒキガエルオタマジャクシにネガティブな効果を与えているならば、在来両生類を増やすというオオヒキガエル防除法を開発できるかもしれない。このことを検証するため、オオヒキガエルオタマジャクシと在来種オタマジャクシとを同居させオオヒキガエルオタマジャクシの成長率を測定する実内実験を行った。

3) オオヒキガエル及び在来カエルの飼育水（氷）を用いた防除法の評価

オタマジャクシの種内・種間競争では、オタマジャクシから出ている化学物質がオオヒキガエルオタマジャクシにネガティブな効果を与えていると考えられる。これらの化学物質はオタマジャクシの飼育水に含まれると考えられる。そこで、オタマジャクシの飼育水を冷凍保存し、その氷を利用した防除が可能かどうかを実験によって検証した。

3. 研究開発方法

(1) オオヒキガエルの鳴き声（メイトコール）の解析及び、野外実験

1) 雄のメイトコールの解析及びサークルを用いた野外実験

オオヒキガエルの雄が雌への求愛のために発するメイトコールに個体差が見られるのかを確かめるために、ICレコーダー（OLYMPUS、LS-14）とガンマイク（OLYMPUS、ME31）を用いて、野外の雄のメイトコールを録音した。また、メイトコールを録音した雄は捕獲し、体長、体重を記録した。これは、両生類では鳴き声の長さや周波数（Hz）等に体サイズが関係していることが知られており、体の大きい雄個体に特有のメイトコールがあるかどうかを検証するためである。録音したメイトコールは、パソコン上でAdobe Audition CS6を用いて、鳴き声の長さや周波数を分析した。また、統計解析ソフト（JMP 11、SAS Institute Inc）により、メイトコールの長さ及び周波数が雄の体サイズと関係があるのかを検証した。

オオヒキガエルを含めたカエル類では、雌は周波数の低い鳴き声を好むことが知られている。そこで、オオヒキガエルのメイトコールを人工的に加工し、周波数の低い鳴き声等を作成することで、より効率良くオオヒキガエルを集めることができるメイトコールを作れないかと考えた。そこで、録音したオオヒキガエルのメイトコールをコンピュータで加工し、人工的に低い周波数のコール、高い周波数のコール、コーラスの3つのメイトコールを作成した。基本となるオオヒキガエルのメイトコールの周波数は657Hz、低い周波数のコールは564Hz、高い周波数のコールは734Hzである。

野外で録音したオオヒキガエルのメイトコール（オス1匹）、低い周波数のコール、高い周波数のコール、コーラス（5匹以上のコール）、ピンクノイズ（コントロール）を用いたプレイバック実験を行い、オオヒキガエルがそれぞれのメイトコールに集まるかどうかを調べた。プレイバック実験は直径7mのサークルを作り（外縁は網で囲んである：図3）、スピーカーからメイトコールを流し、10分後のオオヒキガエルの位置を記録した。位置は、スピーカーとの角度とスピーカーまでの距離を記録した。

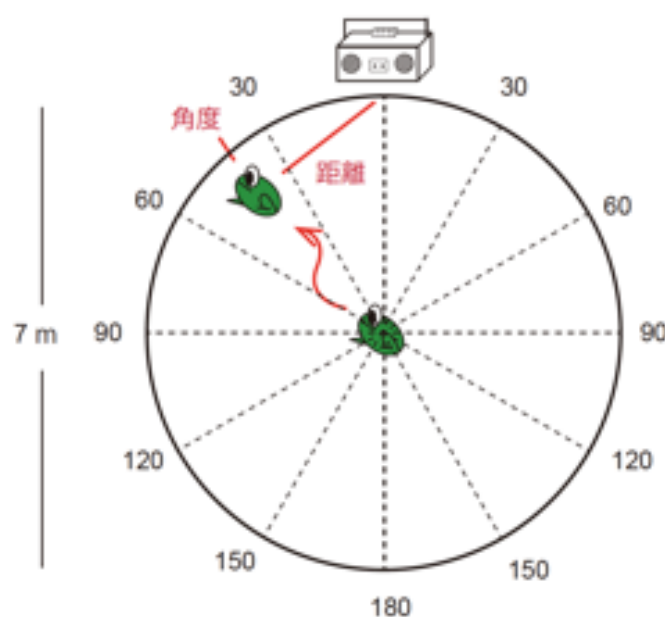


図3 サークル実験の方法

2) 半野外環境下でのプレイバック実験

人工的に作成したメイトコールがオオヒキガエル個体を集合させることができるのかどうかを、柵で囲んだ野外環境下で検証した。実験区（柵で囲んだ部分）は $20\text{m} \times 5\text{m}$ である（図4、図5）。実験区には雄4匹、雌1匹を夜に放し、スピーカーから人工作成したメイトコールを流した。産卵まで誘導できるかを確認するために、実験区の両サイドに人工池を設置してある。翌朝、オオヒキガエル個体がそれぞれどちら側にいたのかを記録し、人工作成したメイトコールがオオヒキガエルを誘引できたかどうかを確認した。



図4 半野外実験の写真

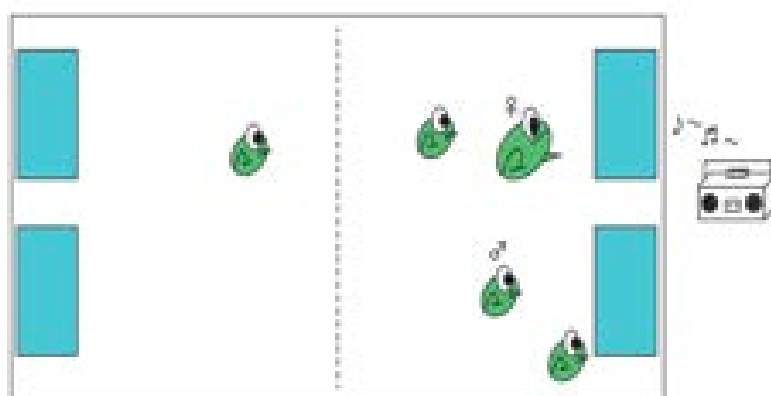


図5 半野外実験の概要

3) オオヒキガエル繁殖場でのプレイバック実験

a サトウキビ畑の人工池でのプレイバック実験

オオヒキガエルが繁殖している実際の野外でも、人工作成したメイトコールがオオヒキガエル個体を集めることができるかどうかのプレイバック実験を行なった。石垣島でオオヒキガエルの繁殖場となっている「サトウキビ畑のため池」にプレイバック装置を設置した（図6）。メイトコールを流す前に周辺のオオヒキガエル個体数をカウントし、メイトコールを流した3-4時間後に再度、ため池に集まっているオオヒキガエル個体数をカウントした。メイトコールを流す場合と流さなかった場合とを比較し、メイトコールの有効性を検証した。また同時に気象庁が提供している、平均気温、最低・最高気温、降水量、風速、湿度、気圧のデータを利用し、オオヒキガエル個体数の変動にこれら物理要因も影響するののかも調べた。



図6 野外の繁殖場でのプレイバック実験の方法（上）と調査場所（下）

3) オオヒキガエル繁殖場でのプレイバック実験

b 森林環境でのプレイバック実験

オオヒキガエルは、サトウキビ畑や田んぼのような見晴らしの良い場所だけでなく、山間部の水域でも繁殖している。森林に囲まれたこのような場所では、我々が山の中に入っていくのも困難なため、オオヒキガエル成体の捕獲はとても難しい。そこで、比較的開けた水辺にオオヒキガエルを誘導できれば、捕獲効率は格段と上がる。上記3)-aで行なったプレイバック実験を、森林に囲まれた山間部の水域（親水公園）で行なった（図7）。低い周波数及びコーラスのメイトコールを日没直後から流した。そして3-4時間後、に水辺に集まっているオオヒキガエルを捕獲した。



図7 野外の繁殖場でのプレイバック実験の方法（上）と調査場所である山間部での水辺（親水公園）（下）

（2）化学物質（フェロモン）の分析・抽出及び、野外での生体実験

京都大学農学部化学生態学研究室の吉永助教の協力のもと、オオヒキガエルオタマジャクシが持っていると考えられる化学物質（フェロモン）の抽出を行なった。石垣島でオオヒキガエルオタマジャクシを捕獲し、冷凍安楽死させた後、京都大学の吉永助教のもとへ郵送し、化学物質の抽出、分析を行なった。今回は、①オタマジャクシをクラッシュ後水のみで処理（Water）、②オタマジャクシをクラッシュ後メタノールで処理（MeOH）の2つの手法で抽出した（図8）。

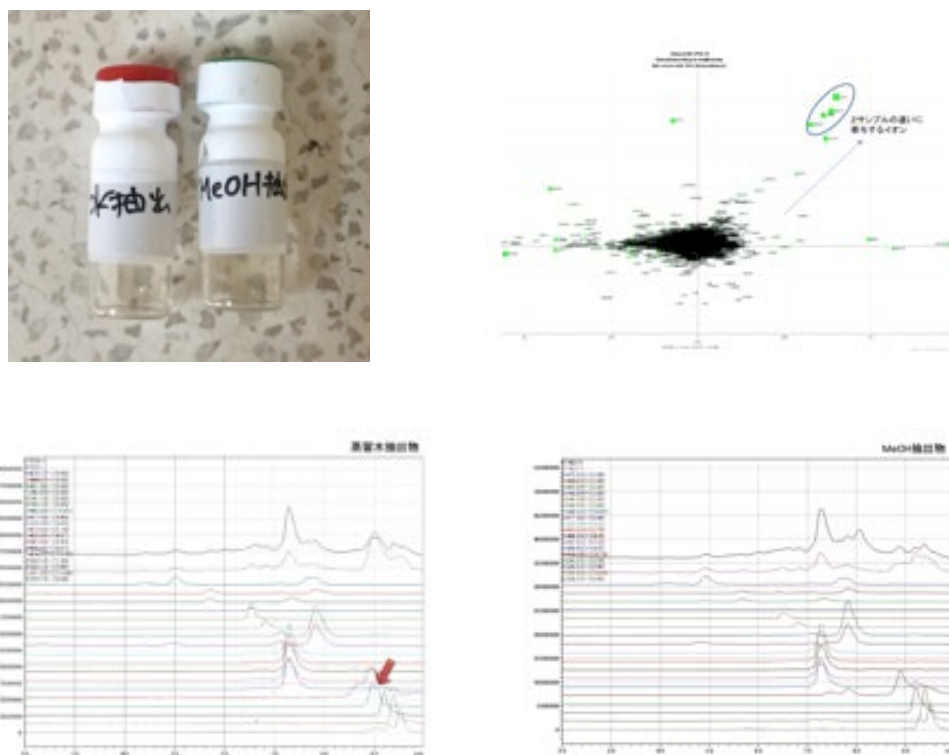


図8 抽出した2つの化学物質（Water, MeOH）とその化学成分

抽出した2つの化学物質は冷凍状態で石垣島へ運び、オオヒキガエル成体とオタマジャクシを使った生体実験を行なった。成体での実験では生息場所選択（図9）、オタマジャクシでは遊泳行動実験を行なった。生息場所選択実験では、化学物質を含んだ水域と水道水（コントロール）のみの水域を設置し、5分後、10分後、15分後、20分後のオオヒキガエル成体の位置（どちらの水域に定住していたか）を記録した。この実験によって、オオヒキガエル成体が化学物質を嫌がるのかが分かる。化学物質を含んだ水域は、Water、もしくはMeOHで抽出したいずれかの化学物質を入れている。

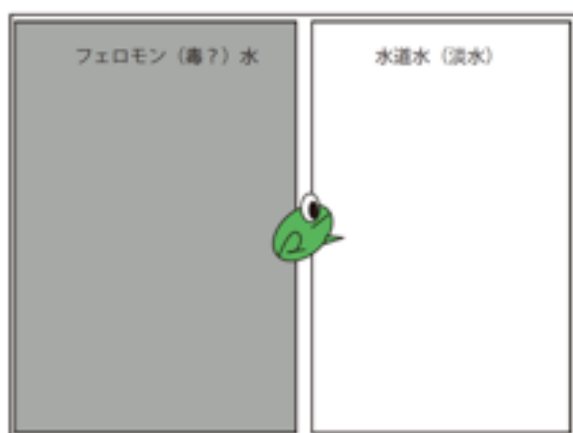


図9 フェロモンを使った生息場所選択の実験方法

オタマジャクシを用いた実験では、ビデオカメラを用いたオタマジャクシの遊泳行動を記録した。Water、MeOHで抽出した化学物質、水道水（コントロール）を含ませた水域にオオヒキガエルのオタマジャクシをそれぞれ1匹入れ、各個体の遊泳行動を20分間記録し、化学物質を嫌がるなどして遊泳行動が変化するのかを記録した。

（３）種内・種間競争を利用した生物防除に関する実験

１）種内競争を利用した生物防除

異なるオオヒキガエルオタマジャクシ密度の飼育容器（衣装ケース：38×55×40cm、約60L）を用意した。オオヒキガエル密度は10匹、20匹、40匹である。飼育容器は底に2cm程度土を敷き、オタマジャクシの餌としている。実験はこの3処理区で6セット行なった（図10）。実験開始から20日後、オオヒキガエルの個体数を確認し、生存率を計算した。また、オタマジャクシは各容器から10匹ずつ取り出し、体長、体重、ステージ（日齢）を測定した。ステージは、Gosner(1960)をもとに、脚の発達度や尾の相対長に基づいて決定した。



図10 オオヒキガエル密度効果実験（種内競争）の様子

成長抑制フェロモンの室内実験では、27年度に招聘したCrossland博士（シドニー大学）の協力のもと行なった。人工授精させたオオヒキガエルの卵から孵化直後の幼生（小さなオタマジャクシ）を取り出した。オオヒキガエルの大きなオタマジャクシは、野外から捕まえてきた。大きなオタマジャクシと小さなオタマジャクシを、中央を網で区切った容器（500ml：図11）で3日間飼育する。中央を網で区切っているため、大きなオタマジャクシと小さなオタマジャクシは物理的接触をすることはない。そのため、もし小さなオタマジャクシが成長を抑制されれば、大きなオタマジャクシが出している何らかの化学物質が原因だと考えられる。コントロールでは、小さなオタマジャクシのみで、大きなオタマジャクシとは同居させていない。3日後、大きなオタマジャクシを取り出し、小さなオタマジャクシのみを10日間飼育した。更に10日後、成長したオタマジャクシの体長、体重、ステージを測定した。



図 1 1 成長抑制フェロモンを検証する実験装置。真ん中に網で区切りがしてあり、大きなオタマジャクシと小さなオタマジャクシが物理的に接触できないようになっている

2) 種間競争を利用した生物防除

使用した在来両生類のオタマジャクシは、オオヒキガエルと同じ水域を産卵場所として利用している、サキシマヌマガエル、ヤエヤマアマガエル、ヒメアママガエルの3種である。いずれの種のオタマジャクシも、オオヒキガエルのオタマジャクシと同じ水域を生息場所として利用していることが確認できている。飼育容器（衣装ケース：38×55×40 cm、約60 L）の中に、①オオヒキガエルオタマジャクシ（10匹）＋サキシマヌマガエル（10匹）、②オオヒキガエルオタマジャクシ（10匹）＋ヤエヤマアマガエル（10匹）、③オオヒキガエルオタマジャクシ（10匹）＋ヒメアママガエル（10匹）を入れ飼育した。そのため、すべての飼育容器のオタマジャクシの密度は20匹である。飼育容器には底に2 cm程度土を敷き、オタマジャクシの餌としている。実験は6セット行なった（図12）。実験開始から20日後、オオヒキガエルの個体数を確認し、生存率を計算した。また、オタマジャクシは各容器から10匹ずつ取り出し、体長、体重、ステージ（日齢）を測定した。ステージは、Gosner(1960)をもとに、脚の発達度や尾の相対長に基づいて決定した。



図 1 2 在来種との種間競争の実験装置

3) オオヒキガエル及び在来カエルの飼育水（氷）を用いた防除法の評価

オタマジャクシの飼育水がオオヒキガエルオタマジャクシにネガティブな効果を与えるかどうかの実験を行なった。オオヒキガエルオタマジャクシを20匹ずつ入れた飼育容器（衣装ケース：38×55×40cm、約60L）を用意した（図13）。飼育容器は底に2cm程度土を敷き、オタマジャクシの餌としている。オタマジャクシが入っている飼育容器に、①オオヒキガエルのオタマジャクシを飼育した氷を毎日入れたもの、3日に1回ずつ入れたもの、②サキシマヌマガエルを飼育した氷を毎日入れたもの、3日に1回ずつ入れたもの、③ヤエヤマアマガエルを飼育した氷を毎日入れたもの、3日に1回ずつ入れたもの、④コントロール（水道水）の氷を毎日入れたもの、3日に1回ずつ入れたもの、の4処理を行なった（図13）。実験開始から20日後、飼育容器内に残っているオオヒキガエルオタマジャクシの個体数を確認、生存率を計算し、オタマジャクシ飼育水のネガティブ効果を検証した。

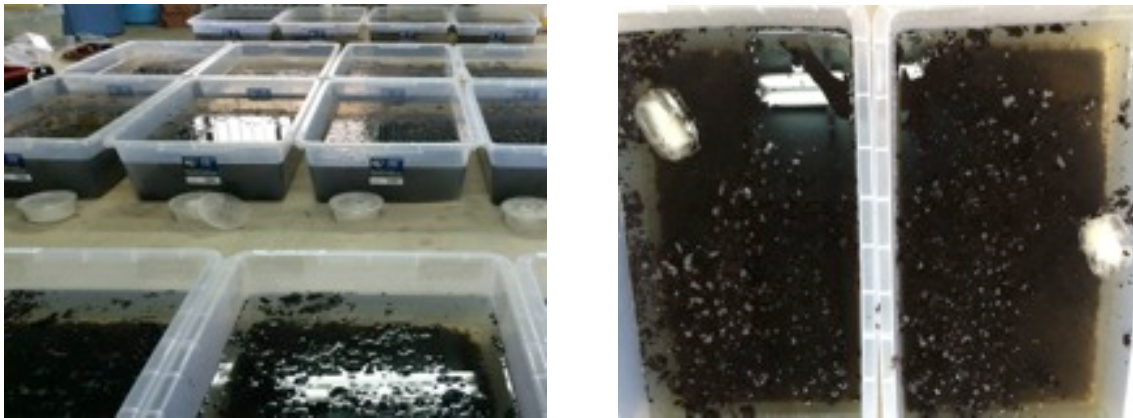


図13 氷を使ったオタマジャクシの飼育実験の様子

4. 結果及び考察

（1）オオヒキガエルの鳴き声（メイトコール）の解析及び、野外実験

1) 雄のメイトコールの解析及びサークルを用いた野外実験

結果

メイトコールの長さ（鳴いている時間）と周波数（Hz）に関して、オオヒキガエル雄の大きさ（体重）との関係を調べたところ、体重の重い個体（大きい個体）が鳴いている時間が長く、また低い周波数で鳴いている傾向が見られた（図14）。つまり、体重が重く大きなオオヒキガエルの雄は、周波数の低いメイトコールを持っており、より雌に好まれる個体であることが示唆された。

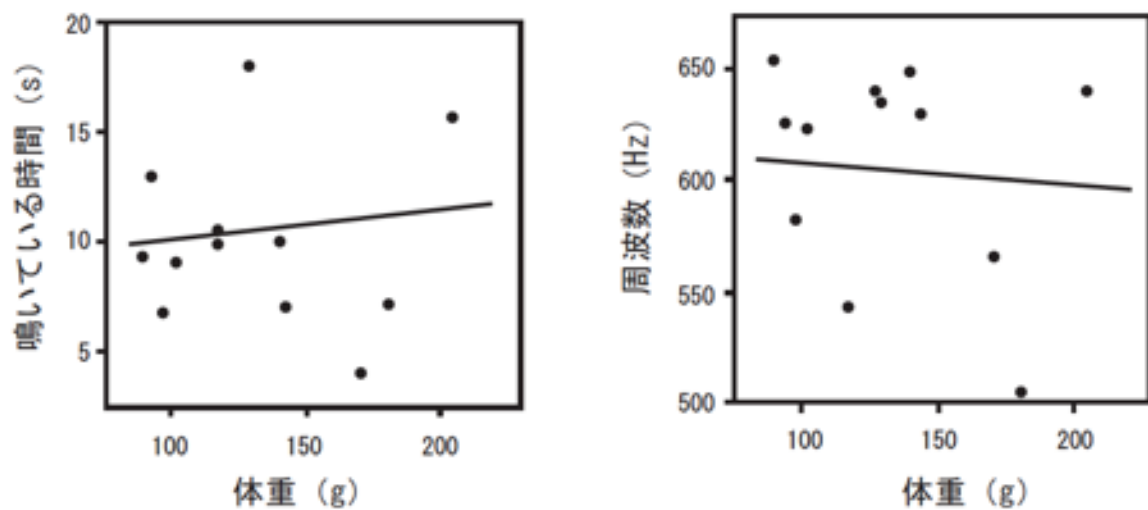


図 1 4 オオヒキガエル雄の体重とメイトコールとの関係

図 3 のサークル実験において、10 分後のオオヒキガエルの雄、雌個体のスピーカーまでの方向及び距離に関する結果を図 1 5 と図 1 6 に示す。雄はコーラスを流した時によりスピーカーに引きつけられ、一方雌は、低い周波数のメイトコールを流した時によりスピーカーに引きつけられた。

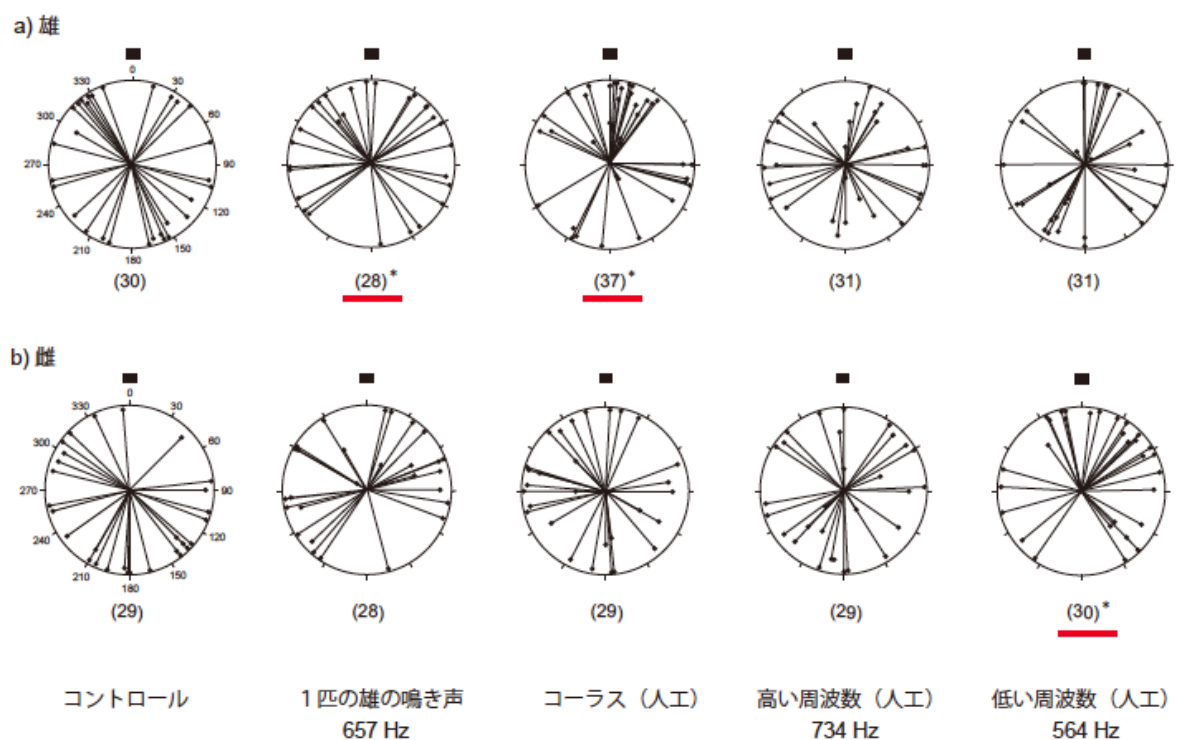


図 1 5 サークル実験の個体の移動の方向。■はスピーカーの位置

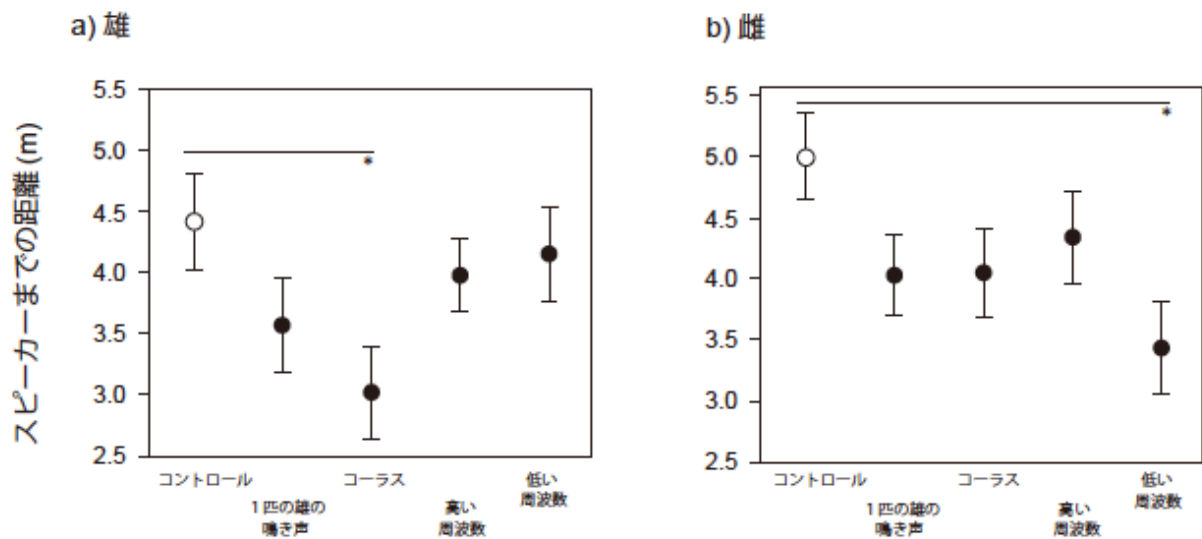


図 1 6 サークル実験の個体とスピーカーまでの距離

2) 半野外環境下でのプレイバック実験

図 4、図 5 の野外での実験結果を示す (図 1 7)。メイトコールを流すと、翌朝にはオオヒキガエルはスピーカー側に移動しており (図 1 7 上; X^2 検定、 $X^2=33.93$, $P<0.001$)、また、雌雄ともメイトコールに誘因されていた (図 1 7 下; 雄: $X^2=16.09$, $P<0.001$ 、雌: $X^2=3.94$, $P<0.005$)。

3) オオヒキガエル繁殖場でのプレイバック実験

a サトウキビ畑の人工池でのプレイバック実験

ステップワイズ回帰分析の結果、オオヒキガエルは人工作成したメイトコールを流した場合にサトウキビ畑のため池に多く集まっていた。また、メイトコールを流す時間が長いほど、より沢山のオオヒキガエルが集まる傾向が示された (メイトコール有無: $F=26.69$, $P<0.05$, $AIC=73.17$, 時間: $F=8.96$, $P<0.05$, $AIC=71.08$ 、図 1 8)。降水量、気温等は、オオヒキガエルが集まった数とは関係がなかった。つまり、人工作成したメイトコールはオオヒキガエル個体を明らかに集める効果がみられた。

3) オオヒキガエル繁殖場でのプレイバック実験

b 森林環境でのプレイバック実験

3-4 時間のメイトコールのプレイバックで、22 匹 (雄: 19 匹、雌: 3 匹) のオオヒキガエルを集めることができた (図 1 9)。

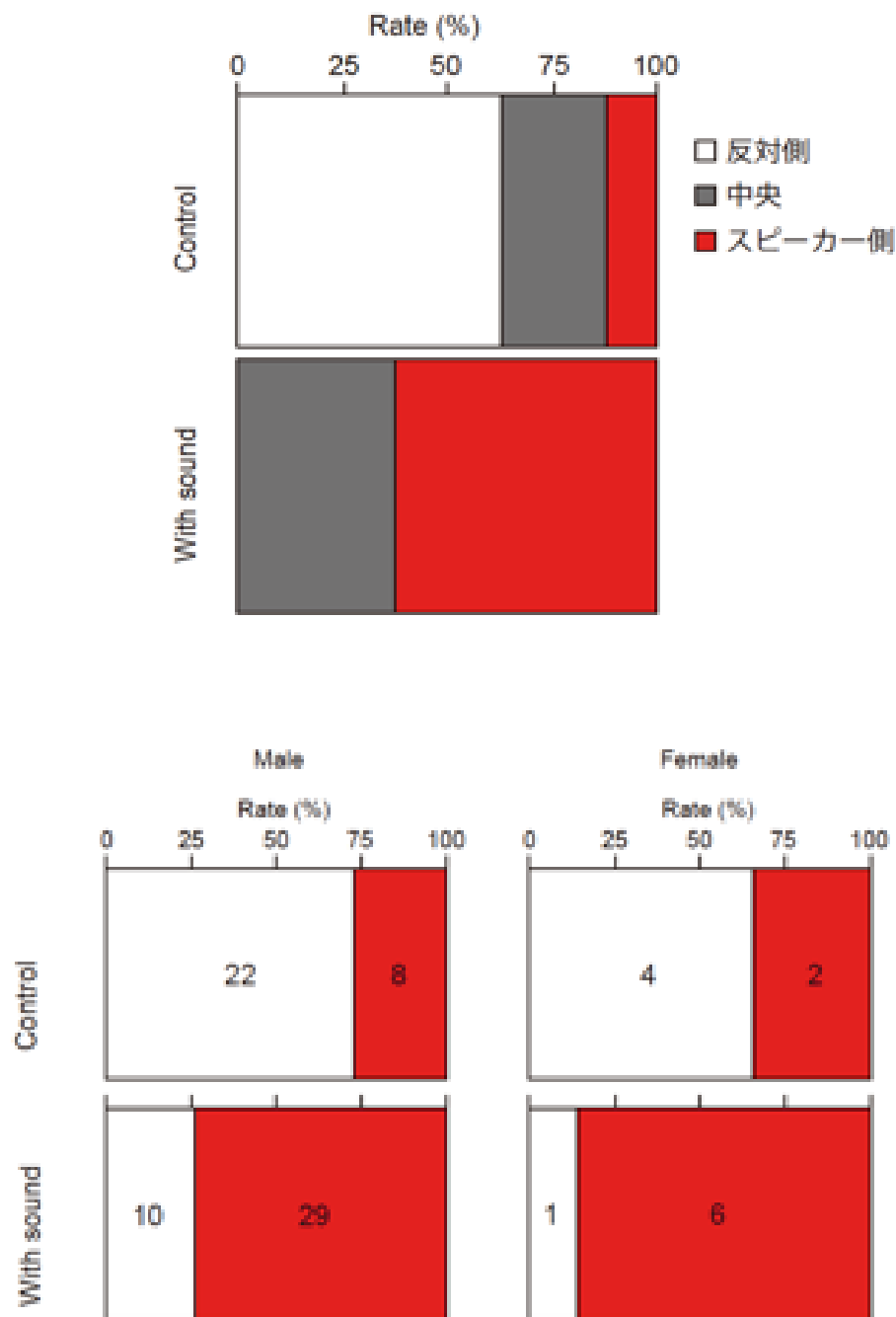


図17 上がオオヒキガエルの居た割合を、下がオオヒキガエルが居た個体数を示す。赤色はオオヒキガエルがスピーカー側に居たことを表す

▼現在の推定値

ロック	追加	パラメータ	推定値	自由度	平方和	"F値"	"p値(Prob>F)"
☒	☒	切片	5.8997823	1	0	0.000	1
☐	☒	sound{NO-chorus + low}	-3.1870278	1	97.95003	26.687	0.00059
☐	☒	時間	-0.0325084	1	32.86991	8.955	0.01514
☐	☐	average temp	0	1	0.363309	0.089	0.7731
☐	☐	high temp	0	1	0.425064	0.104	0.75503
☐	☐	low temp	0	1	0.036148	0.009	0.92772
☐	☒	降水量	-0.0507232	1	13.47851	3.672	0.08757
☐	☒	風速	0.6444328	1	12.06357	3.287	0.10325
☐	☐	湿度	0	1	1.227163	0.309	0.5937
☐	☐	気圧	0	1	0.70086	0.173	0.68804

▼ステップ履歴

ステップ	パラメータ	アクション	"p値"	逐次平方和	R2乗	Cp	p	AICc	BIC
1	sound{NO-chorus + low}	追加	0.0151	56.00595	0.4009	4.4767	2	73.1662	72.6834
2	時間	追加	0.0318	29.66494	0.6132	1.3464	3	71.0849	69.1967
3	降水量	追加	0.1893	8.94638	0.6772	1.7992	4	73.6069	69.3022
4	風速	追加	0.1033	12.06357	0.7636	1.7129	5	75.7488	67.5831

図 1 8 重回帰分析（ステップワイズ）の結果



図 1 9 捕獲できたオオヒキガエル個体

考察

オオヒキガエルの雄はコーラスに、雌は低い周波数のメイトコールに反応し、スピーカーに集まってきた。このことから、人工的に加工したオオヒキガエルのメイトコールも他オオヒキガエル個体を集めることができ、また、流すメイトコールを変えることで（例えばコーラスのみ、低

い周波数のみ) オオヒキガエルを雌雄別々に選択的に集めることができる可能性がみられた。

メイトコールに関する両生類の他の研究例でも、雄はコーラスのような複数個体の鳴き声により反応することが報告されている (Semlitsch, 2008)。これは、複数個体が鳴き交わすコーラスによって鳴き声はより大きく遠くまで伝えることができるので、雄個体は、より大きなコーラスの鳴き声に加わろうとするためである。また、コーラスの鳴き声は、そこに水辺があるという指標にもなるので、繁殖のため水辺を探す個体にとっては良い指標となる。雌は、予想通り低い周波数のメイトコールに反応した。低い周波数のメイトコールは大きな雄個体を意味するので、できるだけ大きな雄と抱接したい雌にとっては、この反応は適応的である。

また、半野外実験やサトウキビ畑、山間部でメイトコールを利用した調査から、実際にオオヒキガエルが生息している野外でも、このメイトコールを利用した防除には効果的であると考えられた。サトウキビ畑のため池では、メイトコールを流した場合には流さなかった場合よりも多くのオオヒキガエルが集まっており、またメイトコールを流す時間に応じて集まるオオヒキガエル個体も増えた。山間部の水域の調査でも、我々が入っていけない森林環境に生息するオオヒキガエルを一カ所に集めることができた。メイトコールは「音」なので、薬剤のように自然環境や在来種に悪影響を与えることもなく、またコストもほとんどかからない (Ward and Schlossberg, 2004)。そのため外来種 (特に両生類) においては、効率的な手法であるといえる。

これまで環境省は「オオヒキガエル捕獲大作戦」と称してオオヒキガエルの駆除を行ってきた。これは島民の方々の協力のもとランダムサンプリングでオオヒキガエルを捕獲する事業であるが、メイトコールをあらかじめ流しておけば、その周辺を集中的に作業することで捕獲効率が格段に上がるかもしれない。コストもかからないメイトコールを用いた本手法は、今後より効率良くオオヒキガエルを捕獲する手助けになる。

また、これまでのアドバイザーボード会合で有識者の方から、「スクリーニングとしてオオヒキガエルのメイトコールを使用できるのでは」というアドバイスを頂いた。申請者の本研究では、石垣島に定着しているオオヒキガエルを1ヶ所に集めるという目的で、メイトコール使用の有効性を示す事ができた。しかし同時に、まだオオヒキガエルが移入・定着していない場所でメイトコールを流すことで、「偶発的に移入してしまったオオヒキガエルを見つけ出せる」可能性がある。実際に石垣島の隣の西表島では、過去に数回オオヒキガエルの目撃情報が出ている。これは石垣島の港からの物資輸送に紛れて、西表島にオオヒキガエルが侵入したと考えられている。メイトコールを聞いたカエルは、雌雄とも活動性が上がり、隠れていた物陰から出てくる。本研究期間に、内閣府管轄の石垣島の港でスクリーニング手法としてメイトコールを流す調査を行なった (図20)。幸運なことに、この調査期間にオオヒキガエル個体を捕獲することはなかったが、今後も、石垣島及び周辺の島々の港近くでメイトコールを流すことで、偶発的に入ってしまったオオヒキガエルの発見見落としを防ぐことができるかもしれない。



図 2 0 内閣府沖縄総合事務局石垣港湾事務所が所有する場所（港）でのスクリーニング調査場所

（２）化学物質（フェロモン）の分析・抽出及び、野外での生体実験 結果

成体の生息場所選択の結果を図 2 1 に示す。水（Water）で抽出した化学物質では、オオヒキガエルは時間と共にその水域を避ける傾向がみられたが（黒色が化学物質を含んだ水域： X^2 検定、 $X^2=9.63$, $P=0.074$ 、有意差はなし）、メタノール（MeOH）で抽出した化学物質にはそのような傾向は見られなかった（MeOH: $X^2=1.59$, $P>0.05$ 、Control: $X^2=0.00$, $P=1.00$ ）。

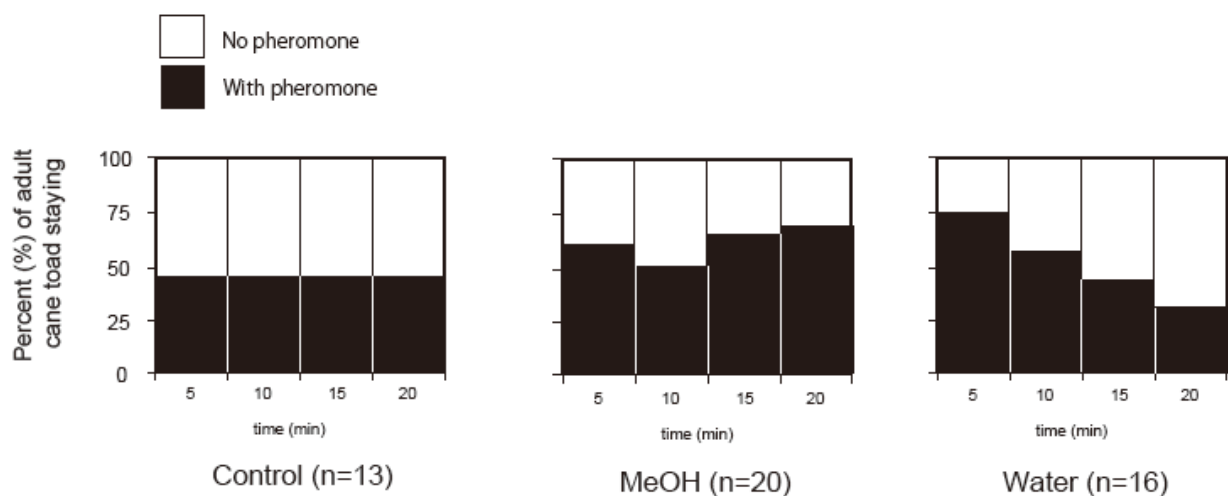


図 2 1 生息場所選択の結果。左から、コントロール、メタノール抽出物 (MeOH)、水抽出物 (Water)

オタマジャクシの遊泳行動では、時間とともに遊泳時間は長くなっていた。しかし、コントロール及び抽出した 2 つの化学物質間（Water, MeOH）で有意な差は見られなかった（Generalized Linear Model；時間：df=3, $F=44.33$, $P<0.001$ 、処理：df=2, $F=0.79$, $P>0.05$ 、時間*処理：df=6, $F=0.95$, $P>0.05$ 、図 2 2）。

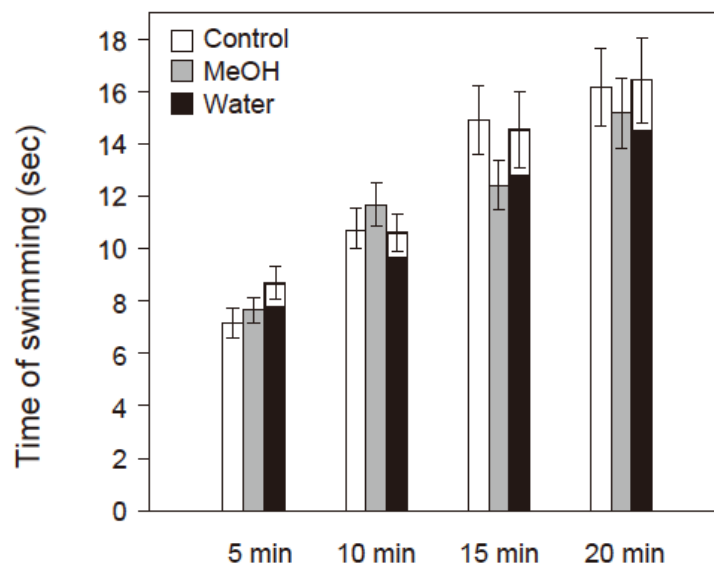


図 2 2 各時間ごとの処理間（コントロール、MeOH抽出物、Water抽出物）によるオタマジャクシの遊泳行動

考察

抽出方法の違い（MeOH、Water）で得られた化学物質は異なり、成体を用いた生息場所選択実験ではWater抽出された化学物質を忌避する傾向が見られた（有意差はなし）。また、オタマジャクシでは、遊泳行動に処理間（Control、MeOH、Water）で違いは見られなかった。そのため、現時点では、化学物質（フェロモン）を使用した防除法の実用化の可能性は低いと思われる。

しかし、オーストラリアのオオヒキガエル防除調査において、生きたままのオタマジャクシを潰した警告フェロモンの有効性が示されている（Hagman and Shine 2008, 2009）。オーストラリアと今回の私の研究で最も異なっている点は、私の研究では冷凍処理したオタマジャクシからオオヒキガエルの行動を操作できる化学物質を抽出しようとした点である（法律上の観点から、生きたオオヒキガエルを輸送したり、協力研究者の研究室でのオオヒキガエル飼養は不可能であったため、今回は冷凍処理した個体を使用している）。両生類及びオタマジャクシの化学物質に関する研究はほとんど行なわれておらず、オオヒキガエルの行動を操作できる化学物質は生きたオタマジャクシしか持っていないのか、冷凍処理したオタマジャクシでは全く含まれていないのかは現時点ではまだ分からない。オオヒキガエルが定着している石垣島や小笠原諸島では、オオヒキガエルが持つ化学物質やフェロモンの解析を現地で行なうことはできない（化学分析等を行なえる大学及び研究施設が石垣島や小笠原諸島には皆無である）。化学物質、フェロモンを用いた防除法の開発に関しては、輸送・飼養許可を踏まえた更なる調査・研究が必要であると考えられた。

(3) 種内・種間競争を利用した生物防除に関する実験

1) 種内競争を利用した生物防除結果

オタマジャクシの生存率には、密度の違い（10匹、20匹、40匹）によって差はないようにみられた（図23a）。しかし、オタマジャクシの体長、体重、発育ステージは生息密度の違いによって明らかに異なり、高い密度（オオヒキガエルオタマジャクシ40匹）では、オタマジャクシの成長は抑制され、体長が短く体重も小さく、また発育ステージも低かった（図23b, c, d）。

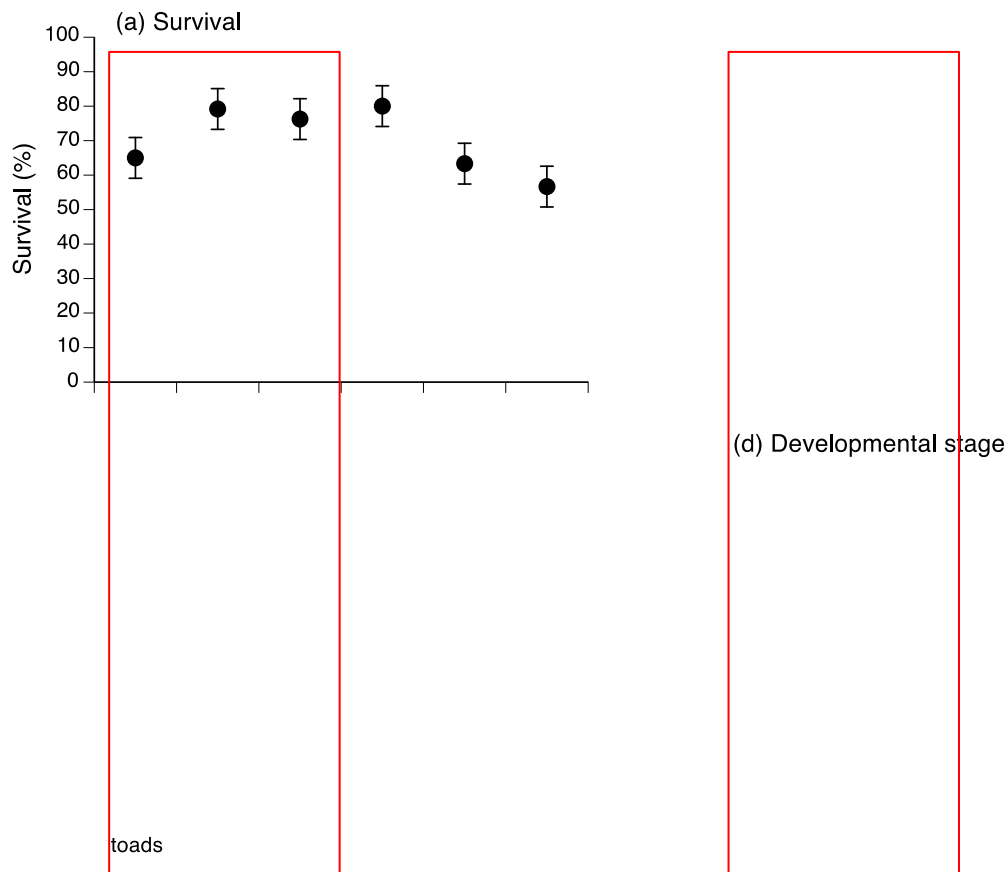


図23 オオヒキガエルオタマジャクシの生存率及び形態（体長、体重、ステージ）

成長抑制フェロモンに関する実験では、オオヒキガエルの大きなオタマジャクシと同居させた小さなオタマジャクシは、成長が抑制され、コントロール（大きなオタマジャクシ無し）と比べて成長できなかった（図24上）。それはオタマジャクシの体重で比較しても明らかであり、オオヒキガエルの大きなオタマジャクシと同居させた小さなオタマジャクシの体重は有意に小さかった（図24下）。本実験では、大きなオタマジャクシと小さなオタマジャクシは物理的接触がないので（網でお互いの居場所は分けられている）、何らかの物理的攻撃によって小さなオタマジャクシの成長が抑制されているわけではなく、大きなオタマジャクシが出している何らかの化学物質が小さなオタマジャクシの成長を抑制しているものと考えられる。

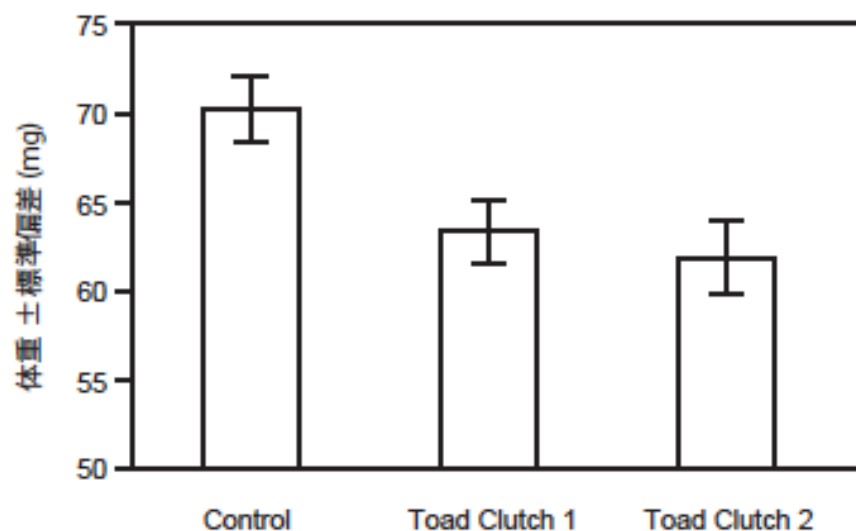


図 2 4 上：コントロール（大きいオタマジャクシ）と成長を抑制されたオタマジャクシ（小さいオタマジャクシ）の写真。下：コントロール（大きなオタマジャクシとの同居なし）と処理区（大きなオタマジャクシとの同居あり）との体重の差

2) 種間競争を利用した生物防除結果

石垣島在来両生類（ヒメアマガエル、ヤエヤマアオガエル、サキシマヌマガエル）と同密度（20匹）で飼育したところ、サキシマヌマガエルとヤエヤマアオガエルと同居させたオオヒキガエルオタマジャクシは生存率も低く、また、オタマジャクシの体サイズ及び体重も小さいままだった（図 2 5、図 2 6）。特にサキシマヌマガエルはオオヒキガエルオタマジャクシに強いネガティブな効果を与えており、先に述べたオオヒキガエルオタマジャクシの種内競争（密度効果）の高密度（40匹）と同等の効果を得られており、オオヒキガエルオタマジャクシにとって成長を抑制される強い競争者であることが示された。

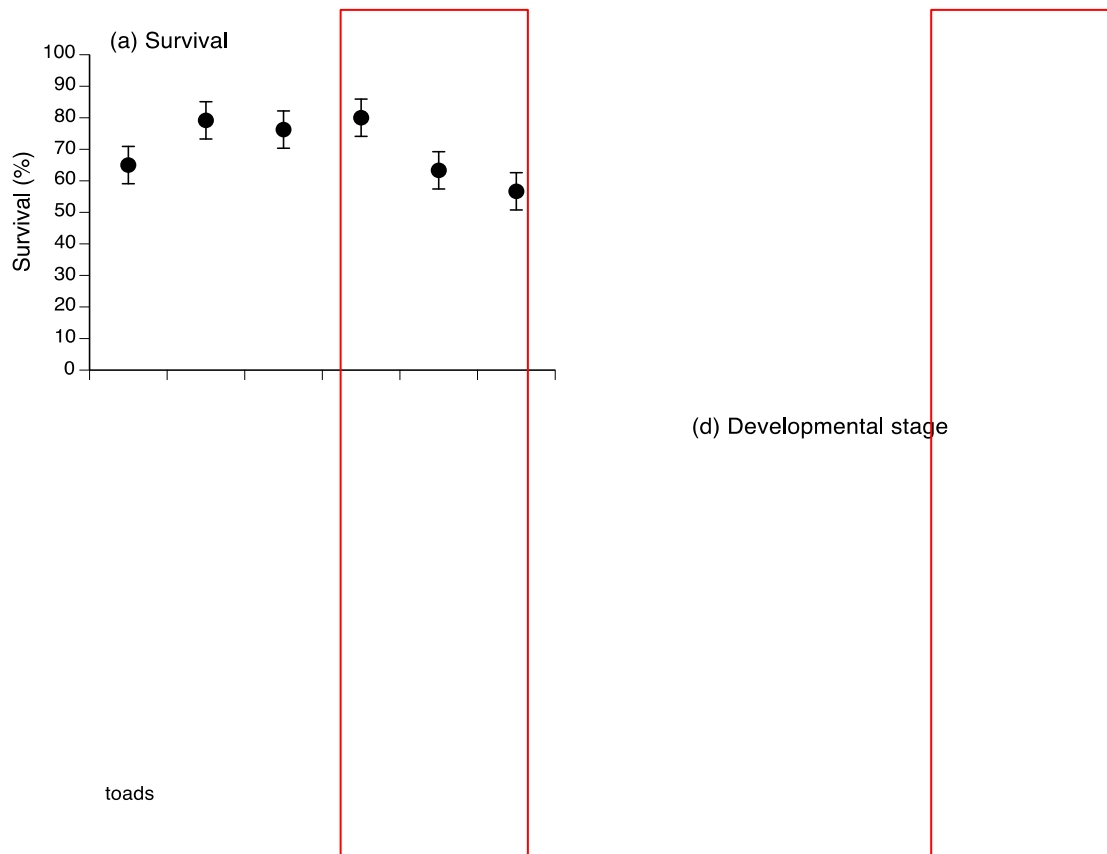


図 2 5 在来種（左からヒメアマガエル、ヤエヤマアオガエル、サキシマヌマガエル）と同居させたオオヒキガエルオタマジャクシの生存率と形態（体長、体重、ステージ）



図 2 6 それぞれの処理区のオオヒキガエルオタマジャクシの成長率の違い。左から、種内競争（オオヒキガエルオタマジャクシのみ低密度（10匹）、オオヒキガエルオタマジャクシのみ中密度（20匹）、オオヒキガエルオタマジャクシのみ高密度（40匹））、と種間競争（オオヒキガエルオタマジャクシとサキシマヌマガエル中密度（20匹）、オオヒキガエルオタマジャクシとヒメアマガエル中密度（20匹）、オオヒキガエルオタマジャクシとヤエヤマアオガエル中密度（20匹））

3) オオヒキガエル及び在来カエルの飼育水（氷）を用いた防除法の評価

それぞれの飼育容器のオタマジャクシの生存率は、①オオヒキガエルのオタマジャクシを飼育した氷を毎日入れたもの（97.5%）、3日に1回づつ入れたもの（97.5%）、②サキシマヌマガエルを飼育した氷を毎日入れたもの（100%）、3日に1回づつ入れたもの（95%）、③ヤエヤマアオガエルを飼育した氷を毎日入れたもの（87.5%）、3日に1回づつ入れたもの（100%）、④コントロール（水道水）の氷を毎日入れたもの（95%）、3日に1回づつ入れたもの（92.5%）であり、処理間で差はみられなかった。

考察

1) 種内競争を利用した生物防除

小さなオタマジャクシは変態しても小さな個体にしかなれない。特にオオヒキガエルの変態個体は小さく（平均約1 cm）、より小さな変態個体は在来昆虫などの捕食者や日差し・乾燥にとっても弱く死に易い。そのため、我々が手を加えずにオオヒキガエルの個体数を減らすためには、より小さな変態個体（つまりより小さなオタマジャクシ）を作ることは、効果的で重要な防除法である。

密度効果による種内競争では予想どおり、生息密度が高くなるにつれてオオヒキガエルオタマジャクシの体長及び体重は小さくなり、成長は抑制されていた。これは、先のメイトコールを用いたオオヒキガエル成体の防除と合わせて、メイトコールにより1カ所にオオヒキガエルを集め産卵させることが有効であることを意味する。また、オオヒキガエルの大きなオタマジャクシは、他の小さなオタマジャクシの成長を抑制する化学物質を出しており、密度効果と同様に他個体のオオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制する。今回の実験から、いずれもオタマジャクシが放出している化学物質（フェロモン）が他オオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制していると考えられた。しかし現時点では、どのような化学物質がオオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制しているのかは分からなかった。しかし、オオヒキガエルオタマジャクシが他オオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制することは分かっているので、以前に私がオーストラリアの研究者らと開発したオオヒキガエルオタマジャクシのトラップでオタマジャクシを大量に捕獲し

（Crossland et al. 2012）、捕獲したオタマジャクシを目の細かい洗濯ネットなどに入れて逃げられないようにして、オオヒキガエルの繁殖池に放置することで、繁殖池にまだ残っているオオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制することができると考えている。この洗濯ネット中のオオヒキガエルオタマジャクシから出る化学物質によって成長が抑制されたオオヒキガエルオタマジャクシは小さい変態個体にしかなれないので、結果的にオオヒキガエルの個体数を減らすことができると考えている。

2) 種間競争を利用した生物防除

在来両生類のオタマジャクシ（特にサキシマヌマガエルやヤエヤマアオガエル）がオオヒキガエルオタマジャクシの成長を抑制しているという結果は、野外においても在来種カエルを増やすことで、オオヒキガエルの防除に貢献できることを意味している。これらの在来種は元々石垣島に生息しているので、数を増やしても生態系には悪影響を与えないと予想される。サキシマヌマガエルは水田で、ヤエヤマアオガエルは山中の用水路やサトウキビ畑の人工池で繁殖が観察され

るので、環境に応じてこれら在来種のおたまジャクシを放逐することが、直ちに使用できるオオヒキガエル防除法であろう。これら2種のカエルは石垣の方々にとっても馴染み深く、またヤマアマガエルは緑色の美しい、多くの人々に愛されるカエルである。更にカエルは、人工受精などによって簡単に卵を得られ、おたまジャクシの飼育も簡単である。これらの石垣島の在来カエルを人工増殖して放逐する事業は、オオヒキガエルの個体数を減らす防除法としてだけでなく、地域の自然や動物を守り維持するといった自然保護の啓発活動としても大いに役立つものと思われる。

3) オオヒキガエル及び在来カエルの飼育水（氷）を用いた防除法の評価

オオヒキガエル及び在来カエルの飼育水（氷）を用いた防除では、それぞれの処理に関して差はなく、オオヒキガエルのおたまジャクシを死亡させる防除法として実用化することは難しいことが示唆された。有意な差がでなかった理由として、氷の中に含まれている化学物質の量が少ない、又は冷凍することによってオオヒキガエルのおたまジャクシに影響する化学物質が壊れてしまった可能性がある。また、毎日おたまジャクシの飼育水をオオヒキガエルの繁殖池に入れたりするのは、効率的でもない。化学成分を利用した防除は、今後も外来種防除においては重要だと考えられ研究を進める必要はあるが、本研究結果からは、現時点での実用化の可能性は低いと思われる。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

1) オオヒキガエルの鳴き声（メイトコール）の解析及び、野外実験

オオヒキガエルのメイトコールの使用により他個体オオヒキガエルを集められる可能性を示した本研究は、申請者が提案している「進化学的・生態学的手法」を利用した新たな外来種の防除・駆除法としての例を示すことができたと思われる。更に、パソコンで人工的に加工したメイトコールでもオオヒキガエルを集めることができ、雌雄で好みのメイトコールに違いがあることを示したのも興味深い。つまり、オオヒキガエルの雌雄を選択的に集めることのできる可能性を表している。オオヒキガエルは1匹の雌が3万個近い卵を産むため、これが特定外来種として繁殖力の高い原因の一つである。そのため、雌を集中的に捕獲することができれば、新たな爆発的個体数増加を防ぐことができる。そのため、産卵時期には低い周波数のメイトコールを流すことでオオヒキガエルの雌を集中的に捕獲したり、また非繁殖期である冬には雌の産卵の可能性は低いので、コーラスのメイトコールを流すことで雄を集中的に捕獲できる（図27）。このような雌雄の選択的な防除手法は、オオヒキガエルの個体数を減らすうえでは効果的であると考えられる。

また、現在環境省指導のもと石垣島で行なわれている「オオヒキガエル捕獲大作戦：住民の協力のもとオオヒキガエルを捕獲するイベント」と本研究で得られたメイトコールによる防除を合わせて行なえば、オオヒキガエルの捕獲効率はより上がると考えられる。これまでの「オオヒキガエル捕獲大作戦」では、島民の方々が自由に好きな場所でオオヒキガエルを捕獲していた。そのため、オオヒキガエルの捕獲効率にはランダム性が高いと思われる。メイトコールはオオヒキガエルを1箇所に集めることができるので、「オオヒキガエル捕獲大作戦」の2～3週間前から特定の場所でメイトコールを流し続け、「大作戦」の日にはそのメイトコールを流した周辺を重

点的に駆除してもらえれば、オオヒキガエルの捕獲効率は格段に上がるものと思われる(図27)。ICレコーダーやスピーカーを用いたメイトコールの再生、またパソコンによる効果的なメイトコールの人工作成は、現在ではとても簡単で費用もかからないので、今後も研究を進めることで、より多くのオオヒキガエルを集めることのできる協力なメイトコールを作成することができるかもしれない。

このメイトコールを利用した防除は、すでにオオヒキガエルが定着している石垣島のような場所以外にも、西表島のようなオオヒキガエルが今後移入してしまうかもしれない場所でのスクリーニング方法としても役立つ可能性がある。このことは、外来種の新たな場所への移入・定着の予防策としても役立つであろう。

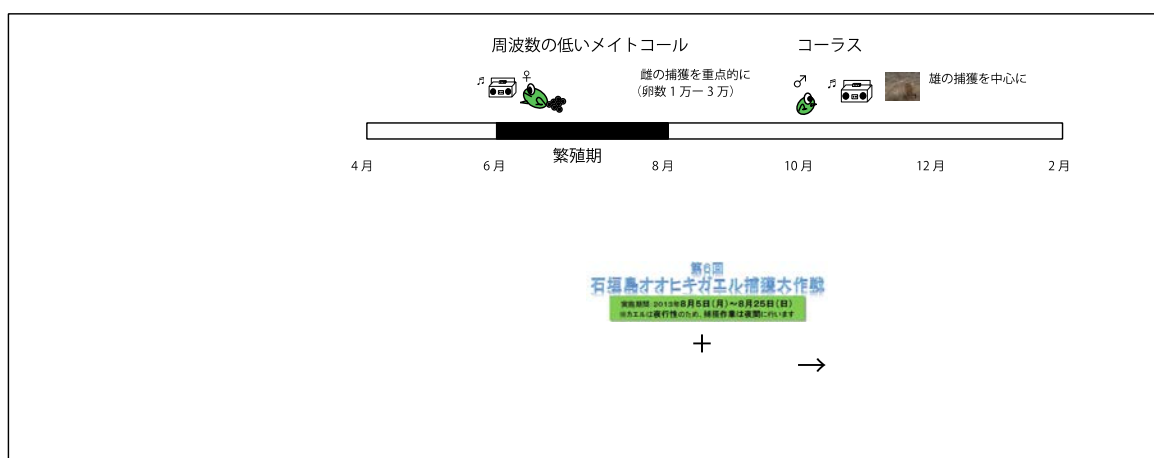


図27 メイトコールを利用したオオヒキガエルの防除例

2) 化学物質（フェロモン）の分析・抽出及び、野外での生体実験

オオヒキガエル成体やオタマジャクシを化学物質（フェロモン）操作する試みはとても興味深いものであるといえるが、現時点では、野外でこれらを応用できる可能性は低いように思われた。オオヒキガエル成体の生息場所選択に関しては、水（Water）で抽出した化学物質を避ける傾向が見られたが、野外のオオヒキガエルの繁殖池でこの抽出した化学物質がどの程度オオヒキガエルを忌避させる効果があるのかは未解決である。しかし、本研究成果は化学物質（フェロモン）による外来種防除の先駆的な手法を示唆しており、これら化学物質を使用した防除は、全く可能性が無いとはいえないと私は考えている。フェロモンは少量でも生物に影響を与え更に種特異性なので、化学物質（フェロモン）によるオオヒキガエルの防除は、在来種にも悪影響を与えない手法として発展させなければならない研究であると私は考えている。

3) 種内・種間競争を利用した生物防除に関する実験

オオヒキガエルのおタマジャクシは高密度になると他おタマジャクシの成長が抑制され、変態サイズが小さくなる。また、大きいオオヒキガエルおタマジャクシは、他小さいおタマジャクシの成長を抑制する何らかの化学物質を出していることが分かった。これらの結果から、オオヒキガエルを特定の場所で産卵させることができれば、自然とおタマジャクシ密度は高くなり変態サイズも小さくなることが予想される。また、捕獲したオオヒキガエルおタマジャクシをすぐに殺処分するのではなく、洗濯網などのネットに置いてオオヒキガエルの繁殖池になっている水域に入れておけば、他オオヒキガエルのおタマジャクシの成長は抑制できる。

オオヒキガエルの変態個体は、石垣島在来他のカエルのものと比べてもとても小さく、乾燥などの環境要因に対して弱い。変態サイズを更に小さくすることは、強い日差しや乾燥に対しての耐性を更に弱めることができるので、オオヒキガエル防除においては重要である。このことは、我々があまり手を加えなくても、自然にオオヒキガエル個体を減少させることができる可能性を秘めている。これは、外来種の防除対策として、新たな知見を提供できるものと思われる。

本来、外来種は在来種に悪影響を与え絶滅に追い込むと考えられていたが、今回の調査結果は、おタマジャクシに関しては、石垣島の在来カエルのおタマジャクシはオオヒキガエルよりも強く、在来種を用いた新たな防除法を提供する点で興味深い結果である。もちろん、オオヒキガエル成体は強い毒を持っておりまた大食漢なため、在来種への悪影響はとても強い。しかし、オオヒキガエルの生活史においては、おタマジャクシ期間はとても弱いことが分かった。このことから、外来種防除には、その外来種の生活史を良く知り、最も効果的な時期に防除を行なう（オオヒキガエルの場合はおタマジャクシ期間）ことが効果的であるといえる。おそらくこの点は他の外来種にも通用すると思われる（他の外来種でも生活史中で最も弱い時期があるのかもしれない）、本研究成果は、今後の外来種防除研究に大きく貢献できると思われる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究から、石垣島及び八重山諸島のオオヒキガエル防除では、メイトコールによる防除が最も効果的であることが分かった。メイトコールは簡便で、コストもほとんどかからず、また在来生物への悪影響も皆無である。特にメイトコールの録音再生とピットホール（落とし罠）の組み合わせが有効だと思われる。オオヒキガエルの落とし罠は市販のバケツ等で簡単に作成できるためコストもほとんどかからない。また、落とし罠にオオヒキガエルが落ちなくとも、メイトコールを再生した場所には沢山のオオヒキガエルが集合するため、石垣島で環境省主催によって行なわれている「オオヒキガエル捕獲大作戦」の事業の中にこのメイトコールを組み込むことで、捕獲効率を格段に上げることができると期待できる。どのくらいの音量で、またどの程度の密度でメイトコールを流す必要があるのかは現時点ではまだ正確に分からないが、オオヒキガエルのメイトコールはかなり遠くまで聞こえるので、まずは田んぼやサトウキビ畑などの障害物の無い平野での活用が効果的だと思われる。そのため、現時点ですぐにでも行政が活用できる防除法であ

と思われる。

また、八重山諸島の離島でのスクリーニング事業も、オオヒキガエルの新たな移入を防ぐうえで活用すべき内容である。これまで西表島等で偶発的にオオヒキガエルが移入してきた。幸い、西表島の港周辺で捕獲できたので、オオヒキガエルの新たな分布拡大は見られないが、偶発的移入の理由に、石垣港等での資材に紛れて侵入している可能性がある。メイトコールはオオヒキガエルの活性を高め、資材等に隠れている個体も外へ出てくると考えられるので、石垣港などの資材置き場及び、西表島等の離島の港でメイトコールを流すことは、紛れこんでいるオオヒキガエルを発見できる手助けになり、こちらもすぐにでも活用が可能である。

もちろん、他の外来両生類の防除にも、このメイトコール使用の考え方は適用できる。メイトコールは両生類（特にカエル）が持つ特有の行動で、更に種特異性を持つ。したがって、現在西表島に定着している外来両生類（シロアゴガエル）の防除や、ひいては本州にすでに定着し広く分布しているウシガエル等にも適用できるものと思われる。

6. 国際共同研究等の状況

オーストラリアのRichard Shine教授（Laureate Fellow of the Australian Research Council, School of Life and Environmental Sciences, The University of Sydney）と彼の研究室のMichael Crossland博士と共に、日豪でのオオヒキガエル防除研究を遂行中である。本研究費でCrossland博士を石垣に招聘し、防除研究も進めた。現在もShine教授らとは連絡を取り合い、オオヒキガエル防除の研究を進めている。また、本研究に関する複数の論文を発表し、現在も数本投稿準備中のものがある。

7. 研究成果の発表状況

（1）誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Crossland M. R., T. Haramura, & R. Shine (2016). *Fejervarya sakishimensis* (Sakishima Rice frog). Observation of a terrestrial beetle larvae (Family Caribidae) as a frog predator in Japan. *Herpetological Review*. 47: 107-108.
- 2) Haramura, T., H. Takeuchi, M. R. Crossland, and & R. Shine (2016). Biotic resistance to an alien amphibian: larvae competition between Japanese frogs and invasive cane toads. *Plos ONE*. 11: e0156396.
- 3) 竹内寛彦、原村隆司 (2016). 河口域で発見されたオオヒキガエルの幼生. *Akamata*. 26: 8-10.

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 原村隆司, Michael Crossland, Rick Shine. 外来種オオヒキガエルオタマジャクシの防除法 日本生態学会第62回全国大会2015年3月18-22日: 鹿児島大学
- 2) Haramura, T., H. Takeuchi, MR. Crossland, R. Shine. Biotic resistance to an alien amphibian, cane toad: larval competition between native frogs and cane toads. The 8th World Congress of Herpetology. August 15-21, 2016. Hangzhou, China.
- 3) 原村隆司, Michael Crossland, Rick Shine. 種内コミュニケーションを利用したオオヒキガエルの防除法 第64回日本生態学会大会 2017年3月14-18日: 早稲田大学 シンポジウム、企画集会
- 4) 原村隆司. 種内、種間競争を利用したオオヒキガエルの新たな防除法. 企画集会3「外来両生類・爬虫類の防除法の最前線」企画者(原村隆司[京大・白眉/京大・フィールド研]). 日本爬虫両棲類学会第55回大会 2016年11月26-27日: 琉球大学 ポスター発表 (学会等)
- 5) 原村隆司, 竹内寛彦, Michael Crossland, Rick Shine. 超正常刺激 (メイトコール) を利用した外来種オオヒキガエルの防除法 日本動物行動学会第35回大会 2016年11月11日~13日: 新潟大学
- 6) Haramura, T. Larval competition between Japanese frogs and cane toads. 22nd International Congress of Zoology. 14-19 November, 2016. Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan. 招待講演 (ゲストセミナー)
- 7) 原村隆司 (京大・白眉セ). 海岸で繁殖するリュウキュウカジカガエルの産卵行動と進化生態学を用いた外来種オオヒキガエルの防除法開発 2015年7月24日: 奈良女子大学 和田・遊佐研究室
- 8) 原村隆司 (京大・白眉セ). 外来種オオヒキガエルの防除法開発 (彼らの行動、生態を利用して) 2015年12月7日: 麻布大学 松井研究室
- 9) 原村隆司 (京大・白眉セ). 両生類 (カエル) の塩分適応と、外来種 (オオヒキガエル) 防除と今後の展望 2017年4月13日: 福山大学 渡辺研究室 京都大学白眉プロジェクト白眉セミナー関係
- 10) 原村隆司. メイトコールとフェロモンを用いたオオヒキガエル防除法の可能性. 2014 Annural Report Meeting of Hakubi Center -Serving People Through Research-. 2015年4月16日. 京都大学芝欄会館山内ホール.
- 11) Haramura, T. Biotic resistance to an alien amphibian: larval competition between native anuran tadpoles and invasive cane toad tadpole. The Hakubi Center for Advanced Research 2015 Annual Report Meeting -Origins of research: Science and Nature / Liberal arts and Humanity-. April 19, 2016. Yamauchi Hall of Shiran Kaikan, Kyoto University.
- 12) Haramura, T. Can we use "ethology" for controlling invader animals? October 18, 2016. Hakubi center, Kyoto University.

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) Davies, N.B., and T.R. Halliday. 1978. Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. *Nature*. 274: 683-685.
- 2) Arak, A (1983) Sexual selection by male-male competition in natterjack toad choruses. *Nature*. 306: 261-262.
- 3) Wassersug, R. J. 1997. Assessing and controlling amphibian populations from the larval perspective. p. 271-281. *In*: M. Green (ed.), *Amphibians in decline: Canadian studies of a global problem*. Herpetological conservation no. 1, Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Saint Louis, MO.
- 4) Cabrera-Guzmán, E., M. R. Crossland, G. P. Brown, and R. Shine. 2013. Larger body size at metamorphosis enhances survival, growth and performance of young cane toads (*Rhinella marina*). *Plos ONE*. 8: e70121.
- 5) Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*. 16: 183-190.
- 6) Semlitsch, R. D. 2008. Differentiating migration and dispersal processes for pond-breeding amphibians. *Journal of Wildlife Management*. 72: 260-267.
- 7) Ward, M. P. and S. Schlossberg. 2004. Conspecific attraction and conservation of territorial songbirds. *Conservation Biology*. 18: 519-525.
- 8) Hagman, M. and R. Shine. 2008. Understanding the toad code: behavioural responses of cane toad (*Chaunus marinus*) larvae and metamorphs to chemical cues. *Austral Ecology*. 33: 37-44.
- 9) Hagman, M. and R. Shine. 2009. Factors influencing responses to alarm pheromones by tadpoles of invasive cane toads (*Bufo marinus*). *Journal of Chemical Ecology*. 35: 265-271.
- 10) Crossland, M. R., T. Haramura, A. A. Salim, R. J. Capon, and R. Shine. 2012. Exploiting intraspecific competitive mechanisms to control invasive cane toad (*Rhinella marina*). *Proceeding of the Royal Society (London) B*. 279:3436-3442.

New Method for Controlling an Invader Animal (Cane Toads) Using Intraspecific Competition

Principal Investigator: Takashi HARAMURA

Institution: The HAKUBI Center for Advanced Research, Kyoto
University, JAPAN
Tel: +81-739-42-3515 / Fax: +81-739-42-4518
E-mail: haramura.takashi.2n@kyoto-u.ac.jp

[Abstract]

Key Words: Invasive animal, Cane toad, Intraspecific competition, Ishigaki island, Evolutionary ecology

Exploiting the controlling methods of invasive animals is one of the most important themes to protect native animals and biological diversity. Especially, in Japan where has beautiful four seasons and many valuable native animals, controlling method of invasive animals which efficiently and no harmful effects to native animals would be needed. Cane toad (*Rhinella marina*) as invasive animal was introduced to Ishigaki island of Okinawa prefecture, and cane toads represent a potential problem for endemic wildlife on Ishigaki. The purpose of present study is to assess the several controlling methods of cane toad such as using mate call, intra-, interspecific competition, and chemical substrate avoiding adult (and tadpole) of cane toad.

From the present studies, synthetic acoustic sounds (mating call) is the most useful method for controlling cane toad population. Acoustic cue (artificial mating call) could collect many cane toads in the field, and the optimal stimulus differed between sexes (males were attracted to the chorus call, and females were attracted to the low-frequency call). Because female cane toads lay very large clutches (8,000 - 30,000 eggs), selective culling of females is likely to be the most effective way of reducing the overall toad population.

In controlling method of cane toad using intra-, interspecific competition, native frog tadpoles in Ishigaki (especially Sakishima rice frog [*Fejervarya sakishimensis*] and Owston's green tree frog [*Rhacophorus owstoni*]) suppressed the development of cane toad tadpoles. Smaller tadpoles grew up only smaller metamorphosis, and smaller metamorphosis is easy to die by biotic and abiotic factors. Therefore, increasing the population of native frog species would constitute a significant form of biotic resistance to the cane toad's colonisation of Ishigaki Island. On the other hand, control using chemical cues (suppression pheromone of cane toad tadpole as intraspecific competition and behavioural control of adult cane toad) is difficult to apply at the present time because

analysis of chemical substance was hard.

In conclusion, the most beneficial controlling method of cane toad in Ishigaki was using acoustic cues (mating call by making artificial). Playback systems are relatively inexpensive and easy to construct, and require little maintenance effort. And, it is no harmful to native animals because of only sound. This playback system using mate call can be applied to other invasive anurans (eg., White-lipped tree frog [*Polypedates leucomystax leucomystax*]), and we can provide to local peoples in Ishigaki as easy and secure controlling method of cane toad.