

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510294

研究課題名(和文) 外来種によるオオサンショウウオの遺伝子汚染の実態把握

研究課題名(英文) Confirmation of genetic pollution of alien Chinese giant salamander on native Japanese species

研究代表者

松井 正文(Matsui, Masafumi)

京都大学・人間・環境学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40101240

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：京都賀茂川において、在来オオサンショウウオが外来種チュウゴクオオサンショウウオによって遺伝子汚染を受けていることが過去の調査で分かっていた。その実態をさらに詳細に把握するため、新たなマイクロサテライトマーカーを開発し、効率よい遺伝子型判定が可能となった。賀茂川以外の河川も対象に調査した結果、遺伝子汚染は急速に進んでおり、賀茂川では在来種は絶滅した可能性があること、別水系の上桂川でも雑種化が進行していることが確認された。このように京都市域におけるオオサンショウウオの遺伝的汚染は予想以上に進行しており、何らかの方法で純粋な日本産を隔離保全していくことが早急に必要である。

研究成果の概要(英文)： Previous survey revealed that native Japanese giant salamander is genetically polluted through hybridization with alien Chinese salamanders in the Kamo River, Kyoto. In order to understand the matter more closely, we developed new microsatellite markers to make genotyping easier and more correctly. As a result of field survey in the Kamo River and other river systems, it is clarified that genetic pollution is rapidly in progress. Native salamanders might have extinguished in the Kamo River, and hybridization is becoming popular in the Kami-Katsura River in a river system different from the Kamo River. Genetic pollution of native species through hybridization of alien species or resultant hybrids is much more spread than is expected. It is urgently required to find out some way to conserve native species in isolated conditions.

研究分野：資源保全学

科研費の分科・細目：資源保全学・資源保全学

キーワード：中国産 外来種 遺伝子判定 交雑 マイクロサテライト

1. 研究開始当初の背景

外来生物はヒトへの直接の危害から、産業への影響、在来の生物多様性や生態系への影響と、枚挙に暇が無い害を及ぼす。しかも外来生物は、一度定着すると根絶が極めて難しい場合が多い。

その典型的な例が、過去3年間、科学研究費の援助を受けて調査を行った京都賀茂川に定着した中国原産のチュウゴクオオサンショウウオである。そしてこの外来種のオオサンショウウオに対する遺伝子汚染が深刻な状況にまで進み、在来種は遺伝子型からみて全個体の数%しか残っていないことが推察された。

この状況をより詳細に調査することは、特別天然記念物の保護保全の観点から喫緊の課題であった。これまでの成果を、より完全に近づけ、総括するためにこの3年間の科学研究費の補助に応募し、援助を受けることができた。

2. 研究の目的

過去3年間の研究をさらに発展させることが本研究の目的であった。すなわち、在来種の保全対策に必要な、その根拠となる遺伝子鑑定の手法を改良して、効率よく中国遺伝子をもつ個体を選別除去できるようにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 野外調査

平成23年度から25年度の3年間にわたって、京都市賀茂川上流部を中心に、京都府内の河川で従前とおり野外調査を行った。捕獲された個体は研究室に持ち帰って、一時保護飼育し、遺伝型の判定を行って雑種や外来種とみなされた個体は、他機関(京都水族館、日本ハンザキ研究所)に飼育委託した。

(2) 室内調査

野外調査で捕獲されたオオサンショウウオ類から得られた組織を用いて、ミトコンドリアDNAシーケンス法とマイクロサテライト(単純反復配列:SSR)解析法を用いて遺伝子型の判定を行った。

遺伝解析による個体の鑑定は、各遺伝子座の遺伝子型データを元に、NewHybridsソフトウェアを用いて判定を行った。対照となる純粋な中国産として、各地の水族館等からのチュウゴクオオサンショウウオ個体と、純粋な日本産として、三重県伊賀市産の15個体と京都市右京区清滝川産の21個体を用いた。

4. 研究成果

(1) 年度ごとの成果

平成23年度はマイクロサテライトの開発を進めた結果、雑種判定に有効な遺伝子座を複数発見し、ミトコンドリアDNA解析用と同様の組織試料を用いて確実に素早く、検体が雑種か純粋種かを判定することが可能とした(Yoshikawa et al., 2011)。この新たな手法を用いて、野外調査で得られたものに、過去に蓄積されたものを加えた合計148個体のサンプルを解析した。その結果、賀茂川本流の個体の92%(107個体中、98個体)は雑種であることが判明した。さらに23年度には、同様の事態が水系が連続する鞍馬川や高野川だけでなく、遠く離れた桂川水系の花背、広河原でも生じていることを明らかにした。

平成24年度は、前年度までの鴨川水系に加え、由良川水系でも野外調査を行った。これに、京都市に保護された個体も加え、延べ90個体(うち83個体が新規確認個体)のオオサンショウウオを確認した。前年度に開発したマイクロサテライトマーカーは雑種の世代数、両親の遺伝型の推定を行うには必ずしも十分ではなかったため、24年度は新たに17遺伝子座を開発し(Yoshikawa et al., 2012)、前年度と合わせた計21遺伝子座のう

ち、特に有効と思われる 15 遺伝子座を用いて、90 個体の遺伝子鑑定を行なった。その結果、23 個体 (25.6%) が純粋な日本産、4 個体が中国産 (4.4%)、2 個体が中国産または雑種 (2.2%)、61 個体が雑種 (67.8%) と判定され、日本産は 99~100%の事後確率で明瞭に判別できた。雑種の中でも雑種第 1 代 (F1 : 日本産と中国産の間の子)、雑種第 2 代 (F2 : F1 同士の間の子)、日本産との戻し交雑 (日本産と F1 の子)、中国産との戻し交雑 (中国産と F1 の子) をかなりの部分まで識別できた。

平成 25 年度は、チュウゴクオオサンショウウオ及び交雑個体が従来から高密度に認められる鴨川水系と、昨年度に同様の状況が確認された桂川水系の上桂川における現状把握に重点をおいた。その結果、市民からの通報で保護された 18 個体と、回収された死体 1 頭を含む合計 119 個体 (すべて新規確認個体) を調査できた。これらすべてについて、15 遺伝子座のマイクロサテライト遺伝子鑑定を行なった結果、60 個体 (50.5%) が純粋な日本産、1 個体が中国産 (0.8%)、1 個体が中国産または雑種 (0.8%)、57 個体が雑種 (47.9%) と判定された。賀茂川本流で捕獲された 20 個体の中に純粋な日本産と判定されたものはなく、純粋な中国産と判定されたものは 1 個体 (5.0%)、雑種と判定されたのは 19 個体 (95.0%) であった。高野川水系でも捕獲された 3 個体すべて (100%) が雑種であった。桂川水系では捕獲された 96 個体のうち、60 個体 (62.5%) が日本産、36 個体 (37.5%) が雑種と判定された。雑種と判定されたものはほとんどが上桂川で発見され、その詳細な内訳は広河原の 1 個体、上桂川支流寺谷川の 6 個体全て、灰屋川合流点の 1 個体、京北宮町付近の 33 個体中 28 個体、京北比賀江町付近の 2 個体中 1 個体、桂川支流有栖川の 1 個体であった。

(2) 成果のまとめ

新たに開発されたマイクロサテライト 15 遺伝子座を使用した鑑定結果は、これまでの研究の通り、賀茂川産オオサンショウウオの大部分が日本産と中国産の雑種であることをはっきりと示し、雑種の内訳を迅速かつ比較的簡便に識別できた。

研究の発端となった賀茂川水系では捕獲個体の大半 (95.0%) が雑種で占められた。最終年度に、源流に近い祖父谷川から、下流の市街地にある勤進橋、鳥羽大橋まで調査範囲を広がせたが、純粋な日本産はまったく発見されず、中国産と判定される個体も 1 個体だけであった。雑種の中には比較的大型の個体でも 2 代目以降と推定されるものが多く、現在では雑種同士の繁殖によって賀茂川水系個体群が維持されている可能性が強く示唆された。

この鴨川水系から遠く離れた桂川水系の上桂川、とくにその上流部でも在来種と外来種の交雑が高頻度で生じている事実が、本調査で確認され、未調査の河川での調査の必要性が示唆された。調査範囲を桂川水系にも広めた結果、右京区内の桂川の各支流では外来種は見つからず、純粋な日本産オオサンショウウオのみが確認されたが、左京区内の桂川上流部の本流及び支流では雑種のみが見られ、やや下流の右京区内の桂川本流では日本産と雑種が両方発見された。これら雑種の中には F1 だけでなく F2、戻し交雑も多くみられ、賀茂川童謡上桂川源流域でもすでに雑種同士の繁殖が始まっていることが示された。また、桂川源流部では雑種がかなりの割合を占めて在来種を駆逐しており、本流沿いに下流へと拡散していることが強く示唆された。今年度の調査では雑種が発見されなかった、上桂川にそそぐ右京区内の各支流でも、今後本流からの雑種の侵入が強く懸念される。

桂川下流部の支流である有栖川で雑種 1 頭が発見されたが、これは賀茂川からの雑種流入、遡上が進んでいることの例かも知れず、

今後さらに上流にまで遡上してくる可能性は非常に高いと思われる。

本調査中、最終年度9月中旬には台風によって予期せぬ各河川の氾濫があった。台風直後には河川敷に避難した個体が保護され、調査に資したが、氾濫による河川形態の変化のためか、上桂川水系ではこれまで日本産が見られた地域で、ほとんどが雑種に変わっていた。そして、繁殖期に重なった出水、氾濫によって繁殖場所は大きな影響を受けて、冬季の幼生調査では孵化個体がほとんど捕獲できなかった。

前3年に引き続いて3年間行った本調査によって、特別天然記念物の危機の実態を詳細に明らかにするという目的は達せられた。その一方で、遺伝子汚染の防除について具体的な提言はできず、捕獲雑種個体の処置についても問題が残された。賀茂川では純粋日本産種がほぼ壊滅した可能性がますます高くなっており、今後発見された場合には雑種の除去が済むまで隔離飼育する必要がある。その一方で、食物環を通じての生態系全体への影響も考慮すると、戻し交雑個体の中で、より純粋日本産種に近い遺伝子型をもつものの選別、選択的掛け合わせによる純粋日本産種に近い系統の確立も急がれる。しかし、これらの実行のためには、施設における飼育下繁殖手法の確立が必須である。

賀茂川の問題の重要性もあることながら、今後、より重点をおくべきはまだ純粋日本産の率が高い地域での外来種、雑種の駆除と、純粋種しか確認されていない地域での外来種、雑種の侵入阻止であり、そのための方法の策定が急がれる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

Yoshikawa, N., S. Kaneko, K. Kuwabara, N. Okumura, M. Matsui, and Y. Isagi. Development of microsatellite markers for the two giant salamander species (*Andrias japonicus* and *A. davidianus*). *Cur. Herpetol.*, 査読有, Vol. 30, 2011, pp. 177-180 doi. 10.5358/hsj.30.177

吉川 夏彦、松井 正文、西川完途、京都賀茂川産チュウゴクオオサンショウウオの現状(III) 爬虫両棲類学会報、査読無し、2012 巻、2012、67-68. Doi. --

松井 正文、第1章「外来生物クライシス(危機)」、*Coastal Bioenvironment*、査読無し、Vol.2012、2012、pp.43-51. Doi. --

Yoshikawa, N., M. Matsui, A. Hayano, and M. Inoue-Murayama. Development of microsatellite markers for the Japanese giant salamander (*Andrias japonicus*) through next-generation sequencing, and cross-amplification in its congener. *Conservation Genetics Resources*, 査読有, Vol. 4, 20123, pp. 971-974, doi. 10.1007/s12686-012-9685-7

Yoshikawa, N., M. Matsui, and M. Inoue-Murayama. Characterization of nineteen microsatellite markers for the Japanese clouded salamander, *Hynobius nebulosus*, using the NGS. *Conservation Genetics Resources*, 査読有, Vol.5, No.3, 2013, pp. 603-605, doi. 10.1007/s12686-013-9861-4

吉川 夏彦・松井 正文・西川 完途・村山美穂、次世代シーケンサーによるマイクロサテライトマーカーの開発とその利用、爬虫両棲類学会報、査読無し、2013 巻、2013、50 Doi. --

松井 正文、外来生物によるヒトと環境への影響 第5回 環境・多様性を壊す外来動物-2-、月刊保団連, 査読無し、1163号、

2014、46-49.

〔学会発表〕(計7件)

松井正文・吉川夏彦・西川完途 京都賀茂
川産オオサンショウウオの現状 第8
回オオサンショウウオの会 平成23
年10月1日 瀬戸市

吉川夏彦・松井正文・西川完途 京都賀茂
川産チュウゴクオオサンショウウオの現
状(III) 日本爬虫両棲類学会
平成23年10月9日 京都大学

松井正文・西川完途・吉川夏彦 京都市に
おけるオオサンショウウオ類の交雑につ
いて 第83回日本動物学会 平成
24年9月15日 大阪大学

松井正文・吉川夏彦・西川完途 京都賀茂
川産オオサンショウウオの現状 第9
回オオサンショウウオの会 平成24
年9月29日 岩国市

吉川夏彦・松井正文・西川完途・村山美穂 次
世代シーケンサーによるマイクロサテラ
イトマーカ-の開発とその利用 第51
回日本爬虫両棲類学会 平成24年11
月10日 愛知学泉大学

松井正文・吉川夏彦・西川完途 京都賀茂
川産オオサンショウウオの現状 第10
回オオサンショウウオの会 平成25
年10月12日 京都市

松井正文・西川完途・吉川夏彦 京都産オオ
サンショウウオ交雑の現状 第52回日
本爬虫両棲類学会 平成25年11月
2日 北海道東海大学

〔図書〕(計1件)

松井 正文、三愛会、人間と文化 79、2013、
pp. 37-66

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松井 正文 (MATSUI, Masafumi)

京都大学・大学院人間・環境学研究科・教
授

研究者番号: 40101240

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: