

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25430189

研究課題名(和文) 分子生物学的手法によるオキナワキノボリトカゲ外来個体群の原産地の特定

研究課題名(英文) Identification of origins of *Japalura polygonata polygonata* by molecular biology techniques

研究代表者

本多 正尚 (HONDA, Masanao)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：60345767

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：中部琉球固有のオキナワキノボリトカゲ *Japalura polygonata polygonata* の南九州(宮崎県日南市、鹿児島県指宿市)への移入経路や分布の現状をDNA塩基配列や生態調査から考察した。核DNAの結果は不明瞭であったが、ミトコンドリアDNAの基づく結果では、宮崎県の個体群は、奄美諸島の個体群と近縁になった。一方、鹿児島県の個体群には、明らかに系統の異なる2ハプロタイプが存在しており、奄美諸島の個体群と近縁になるものと、沖縄諸島と近縁になるものが混在した。野外調査の結果では、生息確認林が宅地造成のため消失する等の環境変化があったが、宮崎県と鹿児島県の全てが存続していた。

研究成果の概要(英文)：We investigated data for DNA sequences and ecological features in order to elucidate the dispersal route of *Japalura polygonata polygonata* from the Central Ryukyus to southern Kyushu (Nichinan City, Miyazaki Pref. and Ibusuki City, Kagoshima Pref.) and to reveal persistence of invasive populations. Results based on mitochondrial data supported a close relationship between populations from Miyazaki and Amami Island Group although variation in nuclear genes failed to show distinct structures. On the other hand, Kagoshima populations were shown to have two haplotypes, suggesting independent origin from two areas, Amami and Okinawa Island Groups. Field observations found breeding colonies in southern Kyushu existed through environmental changes, such as destruction of forests for residential land developments.

研究分野：保全遺伝学

キーワード：保全 多様性 琉球列島 爬虫類 キノボリトカゲ科 遺伝子 原産地 人為分布

### 1. 研究開始当初の背景

中部琉球(奄美・沖縄諸島)固有のオキナワキノボリトカゲ *Japalura polygonata polygonata* は、アガマ科に属する半樹上棲の小型のトカゲで、日本本土には本来分布していない。しかし、最近になって宮崎県日南市と鹿児島県指宿市で本亜種の外来性の繁殖集団(以下、外来個体群)が確認され、局地的に高密度になっていることが明らかになった(e.g., Ota et al., 2006)。

本国内外来個体群では、在来個体群と同様、昆虫をはじめとする小動物の捕食が確認されている(e.g., 末吉他, 2008)。しかし、九州本土に生息する在来のトカゲ類には日中に地上と樹上の両方で視覚的に獲物を探す種はいない。したがって、本亜種が分布拡大した場合、九州在来の潜在的餌動物の中には捕食圧の影響を強く受けるものが少なくないこと、ひいては在来生態系、とりわけ生物多様性の低下に少なからず影響を及ぼすことが強く懸念される。実際に小笠原諸島では、探餌生態が在来種と異なる北米産グリーンアノールが定着した結果、餌となる昆虫や競合する在来種のトカゲが激減し、場所によってはほとんど消滅してしまっている(e.g., 自然環境研究センター, 2008)。

しかし、本外来個体群の分布や生態に関しては、分担者らによって断片的に調査されたのみで(e.g., 太田他, 2012)、どこから移入されたかという根本的な問題には全く手が付けられていない。塩基配列を利用した産地判別は既にいくつかの種で行われ、優れた成果を上げているが(e.g., Kawamura et al., 2006)、日本産爬虫類には応用されていない。本研究のように実際に日本産爬虫類でも応用可能であることを示し、移入経路を特定することは、本亜種のさらなる移入を防ぐばかりでなく、他の陸棲動物の外来種対策にも有用である。

その一方、本来の生息地である中部琉球では、開発による生息地の減少、移入生物による生態的攪乱、違法な商取引等により多く在来個体群が存続の危機に瀕しており、本亜種は絶滅危惧種(環境省: II 類)の指定を受けている。このため、外来個体群の在来個体群回復のための活用を求める声も少なくない。しかし、外来性個体や飼育個体の安易な再導入は、とりわけ遺伝的多様性の攪乱の視点から慎重に検討すべきであると指摘されている(Syed et al., 2007)。したがって、在来個体群においても現状の詳細な把握と遺伝的多様性の解明が必要である。実際に、中部琉球産爬虫類に関しては、代表者らの保全遺伝学的分析で、同一種・亜種内あるいは単一島嶼内に保全の対象となるべき進化的に独立な個体群が複数存在すること、類似した分布パターンを示す種同士の場合であっても異なる遺伝的分化パターンを示すものがあることが明らかになっている(Ota et al., 1999; 太田・本多, 1999)。これは、本亜種

の在来個体群に対しても、独自の詳細な遺伝的多様性の調査の必要性を強く示唆しているが、これまで公表された遺伝的データはない。

本亜種に関しては、代表者らのこれまでの調査により在来個体群の生態的情報や組織標本が蓄積しており、「国内外来種」の単なるケーススタディではなく、今後予想される再導入に対する議論の際に必要な不可欠となる在来個体群の遺伝情報の基盤構築に対しても十分な情報提供が行えると考え、本研究立案に至った。

### 2. 研究の目的

本研究ではオキナワキノボリトカゲ外来個体群の移入経路の特定を行うと同時に、在来島嶼個体群の遺伝的多様性保全のための基礎情報を得るため、各個体群間・内において複数のミトコンドリア遺伝子と核遺伝子の塩基配列あるいはマイクロサテライトの変異(以下遺伝マーカー)を分析する。本研究で期間内に扱う主な事項は、次の通りである。

- (1) 在来個体群の遺伝的分化パターンを明らかにし、個体群を特徴づける遺伝マーカーを検出する。
- (2) 遺伝マーカーを用いて外来個体群の産地を判別し、聞き取り調査の結果を合わせ、外来個体群の移入経路・過程を推定する。
- (3) 外来個体群の分布域、個体数、餌等の基本データを継続調査し、駆除・封じ込めおよび再移入防止等の保全策を検討する。
- (4) 在来個体群の遺伝的分化パターンや遺伝的多様性等から、保全すべき単位を明らかにし、生態データも合わせ、保全上優先順位の高い個体群を特定する。
- (5) 他種の情報も合わせ危急性の高い地区を明らかにすると同時に、再導入を前提としてものではなく、純粋にその是非も含め、保全に関わる問題を包括的に議論する。

### 3. 研究の方法

本研究で使用する組織サンプルの一部、および生態学的なデータは、代表者と分担者が十数年掛けて集めたものである。これに加え、追加の組織サンプルの採集を行った。同時に、分布域や生息数等の生態学的調査、実験室での遺伝的な実験を行い、在来個体群の遺伝的分化パターンの把握と外来個体群の原産地を特定する遺伝マーカーの検出に努めた。

[調査対象] キノボリトカゲ *Japalura polygonata* は、アガマ科に属する半樹上棲の小型のトカゲで、4 亜種に分けられている。本研究の対象であるオキナワキノボリトカゲ *J. p. polygonata* は中部琉球の奄美諸島

の7島嶼、沖縄諸島の21島嶼から分布報告があり(e.g., 前之園・戸田, 2007)、絶滅危惧種(環境省:II類、沖縄県:II類、鹿児島県:準絶滅危惧種)の指定を受けている。残りの3亜種のうち、サキシマキノボリトカゲ *J. p. ishigakiensis* が宮古諸島と八重山諸島、ヨナグニキノボリトカゲ *J. p. donan* が与那国島、キグチキノボリトカゲ *J. p. xanthostoma* が台湾に分布する。

[外来個体群調査地] 宮崎県日南市の丘陵地帯、指宿市の2つ分断された地域での先行調査(e.g., 中間, 2008)を参考に、現在報告されている場所、過去に目撃例があった場所、地理的あるいは植生的に本亜種が好みそうな場所において調査を行った。

[在来個体群調査地] 沖縄諸島の代表的な島嶼(沖縄島北部個体群、同南部個体群、渡嘉敷島個体群、久米島個体群、伊平屋島個体群)および奄美諸島の代表的な島嶼(奄美大島個体群、徳之島個体群、請島個体群)での調査を行った。

[野外調査法] 外来個体群では、個体を採集し、胃内容物から餌も分析する。指宿市では、生息個体数や分布域等の基礎的なデータも不足しているので、現状の把握にも努める。これに対して、在来個体群では、指先の切除という生存に影響のない非侵襲的な方法にて組織サンプルの採集を行った(本多, 2002)。

[塩基配列分析] 塩基配列を用いた分析では、各個体群について数個体を対象にし、ミトコンドリア DNA 遺伝子(12S rRNA、16S rRNA、チトクローム b)および核 DNA 遺伝子(Rag1)について、PCR-ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。得られた結果から、個体群間の遺伝的分化やそれらの関係および個体群内の遺伝的分化や多様性を、最尤法やベイズ法による系統推定、多様度指数等の集団遺伝学的解析を行った。

[産地判別] 上記の塩基配列分析で、各在来個体群を特徴付ける遺伝マーカーを検出し、外来個体群の配列と比較し、原産地の候補地を絞る。

[聞き取り調査] 日南市、指宿市、原産地の候補地において、観葉植物やペットとしての持ち込みや持ち出し等、予想される経路や方法について調査した。

[野外調査と遺伝的解析の統合] 遺伝的分化パターンから、自然分布域で各在来個体群を特徴づける遺伝マーカーを用いて外来個体群との比較を行い、聞き取り調査の結果と合わせ、外来個体群の移入経路・過程を推定する。同時に、在来個体群について、遺伝的分化パターンから保全すべき単位を明らかにし、各個体群内の遺伝的多様性や生態学的データも合わせ、保全上優先順位の高い個体群を検出し、再導入の是非も含め、包括的な議論を行った。

#### 4. 研究成果

野外調査の結果、日南市の報告のあった地点で、調査期間中の3年間、オキナワキノボリトカゲ成体が採集された。これは、定着した集団が現在も引き続き生息していることを示唆する。一方、指宿市では、指宿神社付近において調査期間中の3年間、継続して移入個体群が観察された。これよりも少し離れた、以前報告のあった地点では、平成26年の調査に個体を確認したが、平成25年と平成27年の調査で発見できなかった。この地点は、生息確認林が宅地造成のため消失して環境が変化していたが、付近の林で移入個体群は少数ながら存続していたと考えられた。

塩基配列を用いた分析では、オキナワキノボリトカゲ、南部琉球産亜種サキシマキノボリトカゲは、それぞれ単系統群を形成しなかった。しかし、島嶼間での多くの場合、明瞭な遺伝的分化がみられた。したがって、ミトコンドリアから大凡の産地推定は可能であると判断された。

また同分析では、この2亜種からなるクラスターの中で、日南市の個体は奄美諸島の奄美大島・請島・加計呂麻島・喜界島の個体群と近縁になった。しかし、指宿市の個体には、明らかに系統の異なる2ハプロタイプが存在しており、奄美諸島の奄美大島・請島・加計呂麻島・喜界島の個体群と近縁になるものと、沖縄島と近縁になるものが混在した。詳しい原産地については、沖縄島のように島内で遺伝的に大きく分化している場合もあり、今後さらなる分析が必要であると判断された。

#### 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 3件)

本多正尚 (2016) 外地島からのオキナワキノボリトカゲ(爬虫綱:アガマ科)の新記録. Akamata (26): 印刷中. [査読有]

本多正尚 (2015) 来間島のサキシマキノボリトカゲ(爬虫綱:アガマ科)の確認記録. Akamata (25): 23-24. [査読有]

本多正尚 (2015) 屋我地島と古宇利島のオキナワキノボリトカゲ(爬虫綱:アガマ科)の確認記録. Akamata (25): 25-27. [査読有]

[学会発表](計 0件)

[図書](計 0件)

[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

本多正尚 (HONDA, Masanao)  
筑波大学・生命環境系・教授  
研究者番号：60345767

### (2) 研究分担者

太田英利 (OTA, Hidetoshi)  
兵庫県立大学・自然・環境科学研究所・教授  
研究者番号：10201972