

令和元年6月12日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18607

研究課題名(和文)固有種ニホンイシガメの遺伝的多様性の解明 種内系統間及び異種間交雑の影響について

研究課題名(英文) An investigation into the genetic diversity of the Japanese pond turtle, *Mauremys japonica*. (the effects of intraspecific and interspecific hybridizations.)

研究代表者

鈴木 大 (SUZUKI, DAI)

東海大学・生物学部・講師

研究者番号：90647489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：ニホンイシガメとクサガメは日本に広く生息する。前者は日本固有種であり、後者は外来種である。マイクロサテライトマーカーを用いて、これらの2種と交雑個体の遺伝的構造を調べた。ニホンイシガメにおいては先行研究により2つの遺伝的に異なる系統が存在するとされていた。本研究の結果、先行研究結果を支持し、両系統が遺伝的交流を生じていることがわかった。クサガメ日本列島集団は同じく先行研究より3系統の存在が知られている。本研究では2系統が存在し、さらに一部の個体においては両系統のDNAを保持していることが示された。交雑個体88個体について同様に調べた結果、30個体が雑種1代目、33個体が戻し交雑個体とみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本列島に生息する生物がどのような進化の歴史を経てきたのかについて、淡水生カメ類を材料に遺伝的変異に基づいて考察した。本研究により、ニホンイシガメは遺伝的に異なる2系統が存在し、それらは現在中国地方を中心に遺伝的に交流を生じ、遺伝的多様性が上がっていることがわかった。一方で、外来種クサガメによる交雑を介した遺伝的攪乱の影響が懸念された。外来種問題は、世界各国でも問題になっている。本研究により、早急に固有種ニホンイシガメの遺伝的独自性を守る必要が高いことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The Japanese pond turtle, *Mauremys japonica*, and the Reeves' Pond Turtle, *M. reevesii*, are widely distributed in Japan. The former is endemic to Japan, but the latter is nonnative. Using microsatellite markers, I determined the genetic structure of them and their hybrids. In *M. japonica*, it was reported they have two different genetic groups by mtDNA analysis, and they were roughly divided Eastern and Western groups. The results of this study supported the previous study and showed that the groups have gene flow in each other. The Japanese *M. reevesii* is reported that they had three lineages by mtDNA analysis. This study showed that they had two lineages. The genetic components of some individuals were share of twos. The genetic structure of hybrids was conducted. In 88 individuals of hybrids, the numbers of F1 and Backcross might be 30 and 33, respectively.

研究分野：動物系統学

キーワード：系統地理学 イシガメ科 遺伝的交流 マイクロサテライト 外来種 交雑 爬虫類 生物保全

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

### 1. 研究開始当初の背景

日本列島に固有の淡水生カメ類の1種であるニホンイシガメ (*Mauremys japonica*) はミトコンドリア DNA の塩基配列に基づき遺伝的に異なる2系統が存在し、それらは中国地方を境に東(本州の大部分と四国)と西(中国地方西部と九州)に分かれて分布していた(Suzuki and Hikida, 2011). 境界地域には両系統が存在したが、一方で先行研究では母性遺伝するミトコンドリア DNA による解析であったため、両系統の遺伝的交流の有無やその程度は不明であった。一方、中国や韓国といった大陸に生息し、現在の日本列島にも多くみられる淡水生カメ類としてクサガメ (*M. reevesii*) が挙げられる。本種は長く日本在来種であるとされてきたが、日本集団は江戸時代以降に人為的に持ち込まれた外来種である可能性が高いことが報告された。加えて、ミトコンドリア DNA による解析により、日本列島内に3系統が存在し、それらは韓国や中国(2系統を含む)に由来することがわかった(Suzuki et al. 2011). さらに、クサガメはニホンイシガメと異種間交雑を生じ、その交雑に由来する個体が繁殖能力を持つことも報告されている(Suzuki et al. 2014).

さらに、ニホンイシガメは近年個体数の減少が懸念されており、環境省や各地方自治体のレッドリストに掲載されることも多く、その保全が喫緊の課題となっている。保全対策の立案においても、種内の遺伝的多様性を解明することが必要不可欠であった。

### 2. 研究の目的

本研究は、ニホンイシガメにおける集団遺伝構造を把握することを最大の目的としている。ニホンイシガメにおいて、種内遺伝的多様性がどのようにして生じてきたのかを明らかにするため、種内の系統間の遺伝的交流と、異種との交雑による影響の2点がニホンイシガメの集団遺伝構造に与える影響についてマイクロサテライトマーカーを用いて検証を行った。また、クサガメとの異種間交雑は、遺伝的攪乱という外来種問題も含んでおり、保全遺伝学的観点からの考察も本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

ニホンイシガメの集団遺伝構造を明らかにするため、両性遺伝する核遺伝子であり、進化速度が速く、個体レベルでの遺伝的多型を解析するのに適したマイクロサテライトを分子マーカーとして利用した。マイクロサテライトマーカーについては、ニホンイシガメに対しては5座位、クサガメは5座位、交雑個体は3座位をそれぞれに用いた。それぞれにおいて得られた遺伝的多型に基づき、Structure 解析を実施した。ニホンイシガメとクサガメは、種ごとに解析を行った。交雑個体については、親種であると考えられるニホンイシガメとクサガメも解析に加えた。得られた結果から、各解析群におけるもっとも適当とされるグルーピングを行うとともに、それらの解析群内における遺伝構造について調べた。

### 4. 研究成果

ニホンイシガメの集団遺伝構造を把握するため、154 個体について5座位のマイクロサテライトによる Structure 解析を実施した。本解析による分集団数を推定した結果、K では、K=2 の時に最大となったため、この値が最適なクラスター数であると判断した。個体ごとに遺伝構造を見ると、ミトコンドリア DNA で実施された先行研究結果と概ね一致した(Suzuki and Hikida, 2011). すなわち、中国地方を境に、それぞれの東西に分かれる分布パターンを示した。しがたって、マイクロサテライトによる2つのクラスターは、ミトコンドリアの2系統にそれぞれに対応すると考えられる。先行研究のミトコンドリア DNA により2系統が混在するとされた中国地方における個体のいくつかにおいては、Structure 解析により、東西の系統が遺伝的に交流していることが示された。すなわち、ニホンイシガメの種内にある2系統の間には生殖隔離機構は存在していないこと、そして中国地方は2系統が遺伝的に交流し、遺伝的多様性が高い地域であることが示された。一方で、東海地方の一部地域および四国西部においても、両系統の交流が示唆された。このうち、東海地方においては、ミトコンドリア DNA の東系統のみが見られる地域であり、西系統の分布域とは地理的に大きく離れており、その起源は不明である。一方の四国西部については、ミトコンドリア DNA では東系統に含まれる。しかし、豊後水道を挟んで九州西部(大分県や宮崎県)には西系統が生息する。そのため、四国西部においては両系統が混在する可能性があり、それは最終氷期において四国西部と九州東部が陸続きになっていたことに起因するとみられた。

クサガメにおいても、88 個体に対する5座位のマイクロサテライトによる Structure 解析を実施した。こちらも K=2 が最大となり、2つのクラスターに分かれることが示された。本種におけるミトコンドリア DNA の先行研究(Suzuki et al. 2011) では3系統が確認され、それらは韓国の1系統と中国の2系統とされたが、本研究結果と照合すると、マイクロサテライトによる2つのクラスターは韓国系統と、中国の2つの系統を合わせたものと合っていた。また、その地理的分布パターンについて、先行研究では、韓国系統が日本全国ほぼ全ての地点より確認

され、東日本と九州の一部に中国の系統が、そして2つ目の中国の系統が能登半島でのみ確認され、この能登半島集団は3系統が混在しているとされていた。本研究における各クラスターの分布パターンも、この先行研究の傾向を概ね一致した。相違点としては、ミトコンドリア DNAでは韓国の系統が分布している山口県と京都府、和歌山県のいくつかの個体において、本研究結果より2系統が遺伝的交流を生じている可能性が示唆された。

最後に交雑個体については、交雑個体88個体、3座位について上記と同様の解析を実施した。また、親種であるニホンイシガメおよびクサガメも解析に加えた(前者95個体、後者88個体)。その結果、本解析においても、 $K=2$ が最大となり、2つのクラスターはそれぞれニホンイシガメとクサガメに該当する結果となった。それらを元に、交雑個体の組成を見ると、交雑1代目であるF1とみなされるものが30個体確認された。さらに、戻し交雑であると推定された個体のうち、1/4がニホンイシガメで3/4がクサガメのものが28個体、逆に1/4がクサガメ、3/4がニホンイシガメのものが5個体であった。それ以外の個体については、本研究結果からは詳細は不明であった。以上より、ニホンイシガメとクサガメの交雑個体が存在し、さらに戻し交雑個体がある一定数確認されたことより、両種において遺伝子浸透が生じている可能性があることが示された。したがって、外来種クサガメとの交雑によって、日本在来かつ固有のニホンイシガメが影響を受けていることが示されたため、保全遺伝学の観点よりニホンイシガメの生息地からクサガメを取り除くなどの防除対策を取ることが強く求められる。

また、本研究で行った野外調査のうち、ニホンイシガメの分布記録はあるものの、確実な証拠標本が無かった長崎県の壱岐において調査を行ったところ、ニホンイシガメ2個体を採取した。これは、約40年ぶりの発見記録であり、証拠標本を持つものとしては初めてとなる記録であった。また、近年はニホンイシガメの記録の無かった島根県の隠岐における調査では、ニホンイシガメは見つからなかったものの、クサガメとの交雑個体を1個体得ることができた。両地域のカメ相の特徴として、過去にニホンイシガメの記録があったこと、そして現在はクサガメが最優占種となっていることが挙げられる。すなわち、比較的最近まではニホンイシガメが生息していたが、現在はクサガメにその生息環境を奪われていることを示唆している。ニホンイシガメの保全を考える際に、遺伝子解析のみならず、生態調査についても実施することが強く望まれる。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計2件)

鈴木大, 松尾公則, 長崎県壱岐島におけるニホンイシガメの捕獲記録, 九州両生爬虫類研究会誌, 査読無, 8巻, 2017, pp. 1-8

Nakano T., Nakamura R., Ohtsuka S., Suzuki T., Suzuki D., Low genetic diversity in *Ozobranchus jantseanus* (Hirudinida: Ozobranchidae) in Japan: possibility of introduction with their host turtles., *Parasitology International*, 査読有, 66号6巻, pp. 798-801.

### 〔学会発表〕(計7件)

上野真太郎, 亀崎直樹, 鈴木大, 谷口真理, 三根佳奈子, 鳥井正男, 門脇一貴, 佐野光彦, ニホンイシガメとクサガメの雑種の産卵能力の評価, 第6回淡水ガメ情報交換会, 2019  
鈴木大, 日本産カメ類の未来, 北海道爬虫両棲類研究会第7回大会, 2019

Suzuki D., Hikida T., Phylogeographic studies about the freshwater turtles in the Japanese main islands, 6th Turtle Evolution Symposium, 2018

鈴木大, 松尾公則, 長崎県壱岐島におけるニホンイシガメの分布, 第56回日本爬虫両棲類学会大会, 2017

鈴木大, 日本のカメ類の起源と遺伝子, 科研プロジェクト(JSPS 科研 15K07233)報告会. シンポジウム 岡山の陸水の生き物を考える カメ類を中心に, 2018

鈴木大, 淡水性カメ類における分類の現状 - スッポン属を中心に -, 第55回日本爬虫両棲類学会大会, 2016

Suzuki, D., Aizu, M., Noro, T., Yabe, T., Hikida, T., Interspecific hybridization between *Mauremys japonica* and *M. sinensis* inferred from molecular approach., The 8th World Congress of Herpetology, 2016

### 〔図書〕(計 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：  
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

daisuzuki

<https://daisuzuki.jimdo.com/>

## 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。