

1.はじめに

オオサンショウウオ(*Andrias japonicus*)

- ・世界最大級の両生類
- ・国の特別天然記念物
- ・チュウゴクオオサンショウウオ (*Andrias davidianus*)との交雑が問題となっている

【岐阜県】

- ・木曾川・長良川で生息を確認
- ・詳細な生息調査が行われていない

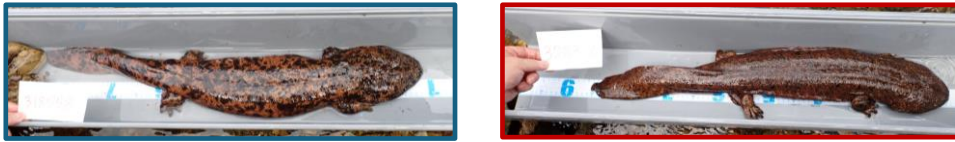


国産個体 交雑個体

2.分布状況調査

【目的】

下呂市菅田川の現地調査 → 岐阜県初の交雑個体を発見



国産個体

成体…91個体捕獲 うち約40%

幼生…73個体捕獲 うち約85%が交雑個体

今年7月1日から中国種・交雑個体を特定外来生物に指定

岐阜県全体の交雑の把握と対処が必要

分布域がはっきりしていないために
生物多様性に配慮されていない河川工事

今年作られた護岸
横穴がなく
生物に
配慮していない



過去作られた護岸
横穴があり
生物に
配慮している

繁殖巣穴を破壊

詳細な分布域を把握し行政へ啓発

【方法】

多くの河川で直接生息を確認するのは困難

環境DNA

- ✓ 各河川での生息の有無を把握
- ✓ 木曾川を中心に行う
- ✓ 現地調査する河川を選択

現地調査

- ✓ オオサンショウウオの生息の確認
- ✓ 交雑個体の有無を確認

効率的に分布域を把握する

5.食性調査

交雑個体がヤマカガシを嘔吐
オオサンショウウオによる捕食例なし

オオサンショウウオと交雑個体で
食性に違いがあるのではないかと



オオサンショウウオの吐瀉物
□ ヤマカガシ □ サワガニ
□ ヘビ類 □ カエルの卵塊

【方法1: 同定の手順】

DNAを抽出し、予想される種のプライマーを用いてPCRを行う。
電気泳動で増幅を確認し、塩基配列が予想の種と等しいかを、DBJなどをもとに判定する。

▶ヘビはヒバカリと予想

Glu-5' eeg(5' -TGATATGAAAAACCCACCGTTG-3'),
H16064(5' -CTTTGGTTTACAAGAACAATGCTTTA-3')

▶カエルの卵塊はトノサマガエルと予想

(5' -TAGAAGAGCAGAATGAGGCAG-3'),
(5' -GCCACTTACCTTCCACCACAC-3')

【方法2: 強制嘔吐】

1. 捕獲したオオサンショウウオの口にポンプのチューブを差し込み、水を流し込む
2. 胃袋が水で満たされたら腹部を押しプラスチックコンテナに嘔吐させる
3. 嘔吐物をエタノールに入れ、液浸標本として保存する
4. 目視・DNA解析等で種の判別をする

【方法3: 安定同位体比の測定】

餌の種類や捕食量によって安定同位体比が変化
▶安定同位体比を測定することで食性や捕食量の違いを明らかにできる。

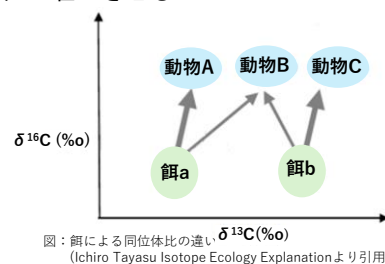


図: 餌による同位体比の違い (Ichiro Tayasu Isotope Ecology Explanationより引用)

捕食行動や食性・捕食量の違いを明らかにし、
交雑個体の生態系への影響を解明する

3.国内交雑個体

岐阜県の個体でない国産種のマイクロサテライトDNAを確認

捕獲日	個体番号	調査場所	AJP01	AJP07-1	AJP16	AJP25	mtDNA
2023/12/09	Ag0027	菅田川	J ^G	J ^C	J ^G	J ^G	J
2023/12/09	Ag0028	菅田川	J ^G	J ^C	J ^G	J ^G	J
2023/12/09	Ag0029	菅田川	J ^G	J ^C	J ^C	J ^G	J

マイクロサテライトDNAの電気泳動の鑑定結果

J^G: 岐阜県の国産種のバンド J: 岐阜県以外の国産種のバンド C: 中国種のバンド

交雑個体からのみ発見

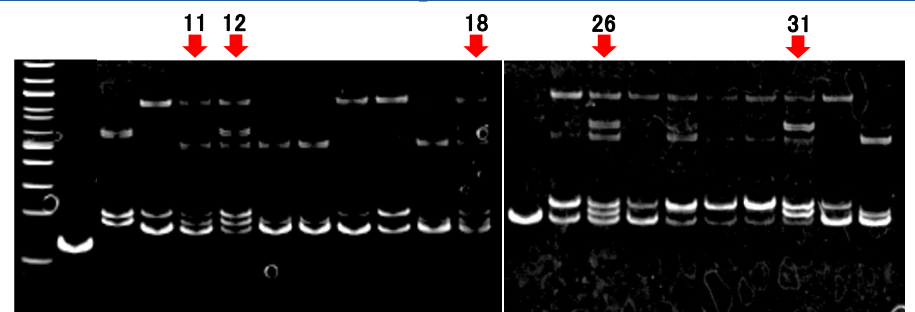
最初に持ち込まれた個体が持っていた可能性がある

地域を特定し、交雑が
どこから持ち込まれたのか明らかにする

【地域の特定】

1. Jを持つ個体のミトコンドリアDNAのCytochrome b領域の一部の673bpを決定する。
プライマーはL14239(5'-TMWCAKCGWTGATGAAATTWTGGCTC-3')と
H14935(5'-GGAAATATCATTCTGGTTGAAT-3')
2. DDBJ(DNA Date Bank of Japan)と照らし合わせる。

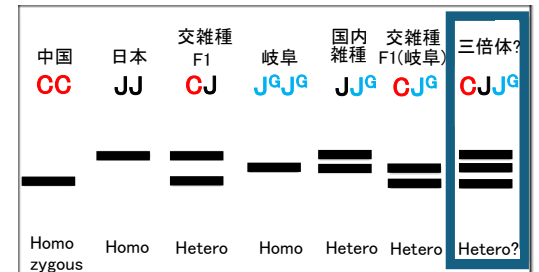
4.三倍体の可能性がある個体



マイクロサテライトDNA AJP25の電気泳動の結果

3本のバンドを持つ個体

- J^G 岐阜県のオオサンショウウオ
- J 岐阜県外のオオサンショウウオ
- C チュウゴクオオサンショウウオ



【考えられる可能性】

- I 全ての相同染色体が3本ずつある(三倍体)
- II 特定の相同染色体だけが3本ある
- III 染色体に転座が起こっている
- IV 異なる遺伝子構成の細胞を持つキメラである

【方法】

- I, II, III: 染色体数や染色体の形状を観察
- IV: エラ以外の細胞も含めた複数の部位で染色体を観察

岐阜県のオオサンショウウオの遺伝子に
何が起きているのかを確かめる

6.まとめ

- ・分布状況調査
- ・交雑個体の生息の有無の調査
- ・染色体異常の原因の解明
- ・食性の違いの調査

データを蓄積し
岐阜県のオオサンショウウオの保全に役立てる

7.参考文献

1. 一般社団法人環境DNA学会.2019.環境DNA調査・実験マニュアルver.2.1
2. https://www.city.kobe.lg.jp/a66324/yutakanaumi_dna.html
3. Natsuhiko Yoshikawa, Masafumi Matsui, Azusa Hayano, Miho Inoue-Murayama.2012. Development of microsatellite markers for the Japanese giant salamander (*Andrias japonicus*) through next-generation sequencing, and cross-amplification in its congener. Conservation Genet Resour (2012) 4: 971-974
4. Matsui, Masafumi, Komada, Noritomo, Yamada, Kumiko, Takada, Makoto, Nishikawa, Kanto, et al.2018. Genetic Uniformity of Japanese Giant Salamander(Amphibia, Caudata) from Kiso River. Current Herpetology 37(1): 23-29
5. 内藤順一.2018.広島県のお可愛川中流域におけるオオサンショウウオの食性.Natural History of Nishi-Chugoku Mountains. 18: 19-34
6. 土井敏男.1999.ニホンシガメを捕食していたオオサンショウウオ.兵庫陸水生物,50: 93
7. 橋本武良.1.1994.オオサンショウウオの餌 ①.兵庫陸水生物,44: 31-32
8. Takuma Kaito, Mamoru Toda.2016.The biogeographical history of Asian keelback snakes of the genus Hebius (Squamata: Colubridae: Natricinae) in the Ryukyu Archipelago, Japan. Biological Journal of the Linnean Society,118: 187-199
9. 徳本雄史,RAMAMONJISOA.Noelikanto,鄭小軍,木村咲稀,夏原由博. 2019. 愛知県に生息するカエル8種の16S rDNAとトノサマガエル属2種のrhod塩基配列,なごやの生物多様性,6: 15-22
10. https://www.ecology.kyoto-u.ac.jp/~tayasu/tayasu/SI_Explanation.html