

# 神戸市に生息するカスミサンショウウオの分布と遺伝的特性の解明 -兵庫県内他地域との比較-

兵庫県立尼崎小田高等学校

カスミサンショウウオ研究班 大路 紘裕

## 1. はじめに

カスミサンショウウオ *Hynobius nebulosus* は止水産卵性の小型サンショウウオで、愛知県から長崎県にかけての西日本に分布する (松井 2005)。本種はアロザイム分析により地理的に分かれる 4 グループの存在が示されており、兵庫県南部はこの 4 グループのうちの eastern グループに含まれる (MATSUI *et al.* 2006、図 1)。またミトコンドリア DNA 解析により、青木ら (2011) は eastern グループの中に、中部地方から近畿地方にかけて分布する系統 (A グループ) と、近畿地方から四国中国地方および瀬戸内海沿岸にかけて分布する系統 (B グループ) があることを報告している。兵庫県産カスミサンショウウオがこの B グループに属することが報告されている (Tani・Hoelker 2016)。

今回は、神戸市及び兵庫県各地のカスミサンショウウオの遺伝的特性をさらに詳細に解明し、神戸市と兵庫県内他地域と比較することを目的とした。さらに県内の各地のカスミサンショウウオ生息地特定方法開発のための基礎調査として、カスミサンショウウオが産卵する水源に接する土壌とカスミサンショウウオの生息していない本校中庭の土壌生物を比較した。

## 2. 方法

2017 年から 2018 年にかけて兵庫県内の高等学校 (県立篠山鳳鳴, 県立三田祥雲館, 姫路市立飾磨, 県立三木, 神戸学院大学附属) が地元で採集したサンプルを持ち寄り, 本校で遺伝子解析実験を行った。これに本校独自の調査地 3 地点を加えた 6 地点 (篠山市, 三田市 2 地点, 神戸市, 姫路市, 淡路市) の計 31 個体のサンプルを用いて mtDNA の *cytb* 領域の塩基配列を解読した。

自作のツルグレン装置を用いて神戸市あいな里山公園のカスミサンショウウオが産卵する水源に接する土壌と、カスミサンショウウオの生息していない本校 (兵庫県立尼崎小田高等学校) の中庭の土壌動物を比較した。微細構造の観察には光学顕微鏡 (図 2) および走査型電子顕微鏡 (卓上顕微鏡 Miniscope® TM3030 : 日立ハイテクノロジーズ : 図 3) を用いた。

## 3. 結果

今回解析した兵庫県産のサンプルはすべて 1 つのグループを形成した。このグループは青木ら (2011) が報告した B グループである可能性が高いと思われた。県内 6 地点で採集された 31 個体から 13 個のハプロタイプが確認された。三田市と篠山市の 2 地点で同じハプロタイプが 1 つ確認された以外は、すべて各地に固有のハプロタイプであった。

あいな里山公園と本校中庭の土壌動物を観察した結果 (表 1、図 2・3)、トビムシ類・クモ類・ダニ類・ササラダニ類は両地点で観察された。ハチ類・ハネカクシ類は神戸市あいな里山公園でのみ観察された。

## 4. 考察

土壌動物について両地点の特性を比較するには、さらにサンプル数を増やすことや私たち自身が土壌動物の分類能力を身に着ける必要があると思われた。文献を基に同定を行ったが、土壌動物の同定は私達には難しかった。今回両地点で採集された個体は同類でも、種は異なることが強く予想された。土壌動物の抽出や抽出サンプルの管理は比較的容易で、しかもサンプルの持つ情報量は非常に豊富であると思われた。今後ともサンプルを収集継続し、少しずつ観察を続けていきたい。

遺伝子解析の結果からは兵庫県産カスミサンショウウオの遺伝子的多様性が高いことが示された。今後、より多くの高校生と協力して調査範囲を広げ、兵庫県下のカスミサンショウウオのさらに詳細な分布を解

明し、本種の遺伝的多様性の保全に貢献したい。

参考文献

青木玄・松井正文・西川完途・田邊真吾・大川博志. 2011. ミトコンドリア DNA に基づくカスミサンショウウオの遺伝的変異. 爬虫類両棲類学会報 2011 : 67(発表要旨).

青木 淳一. 1999. 日本産土壌動物一分類のための図解検索. 1076pp. 東海大学出版会, 東京.

武田博清. 2002. トビムシの住む森-土壌動物から見た森林生態系. 266pp. 京都大学学術出版会, 京都.

松井正文. 2005. 両生類の地理的変異. 種分化と動物地理. in 増田隆一・阿部永編. 動物地理の自然史-分布と多様性の進化学, 63~77. 北海道大学図書刊行会, 札幌.

MATSUI M., K. NISHIKAWA, T. UTSUNOMIYA & S. TANABE. 2006. Geographic allozyme variation in the Japanese clouded salamander, *Hynobius nebulosus* (Amphibia: Urodela). Biological Journal of the Linnean Society, 89 : 311-330.

Tani, Y. and Hoelker, S. 2016. Morphological observation and Gene analysis of the salamander (*Hynobius nebulosus* Temminck et Schlegel) collected from Japan : Hyogo, Kobe, Aina. Hyogo biology 15, 79-85

謝辞

神戸高校 SSH 事業咲いテクプログラムの一環として、カスミサンショウウオのサンプル採集・DNA抽出・PCR法によるDNA抽出ならびにデータ処理を共同研究者の兵庫県立篠山鳳鳴高等学校・兵庫県立三田祥雲館高等学校・神戸学院大学附属高等学校・姫路市立飾磨高等学校・兵庫県立三木高等学校の生物部員の顧問および部員とともに実施した。遺伝子解析にあたり兵庫教育大学准教授笠原恵氏にご指導いただいた。現地調査実施に際して、あいな里山公園園長高畑正氏・高橋真理子氏にご尽力いただいた。日立ハイテクノロジーズ 寺田大平氏、濱敦司氏に電子顕微鏡の貸し出しおよび操作方法のご指導をいただいた。皆様に感謝いたします。

表 1. 土壌生物採集結果

|        | あいな里山公園<br>(図 1) | 尼崎小田高校<br>中庭<br>(図 2) |
|--------|------------------|-----------------------|
| トビムシ類  | 3 種類、<br>計 3 個体  | 2 種類、<br>計 6 個体       |
| クモ類    | 1 個体             | 1 個体                  |
| ダニ類    | 1 個体             | 2 個体                  |
| ササラダニ類 | 1 個体             | 1 個体                  |
| ハチ類    | 1 個体             |                       |
| ハネカクシ類 | 1 種類 2 個体        |                       |

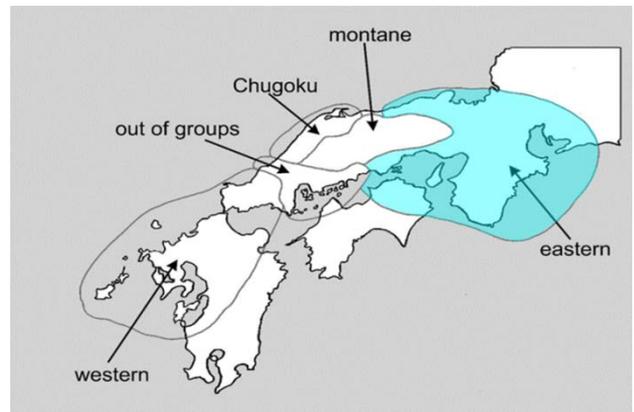
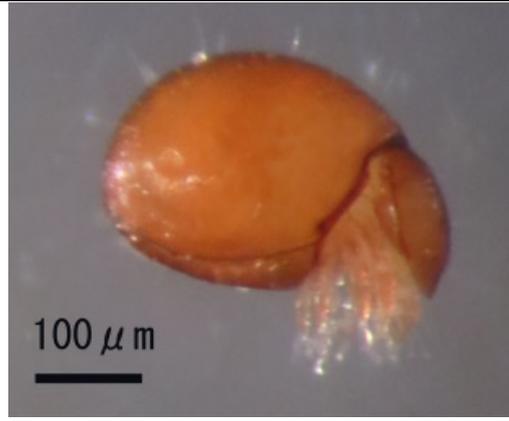


図 1. カスミサンショウウオの 4 グループの分布地域 (MATSUI et al. 2006 の図を改変。)



ササラダニ類



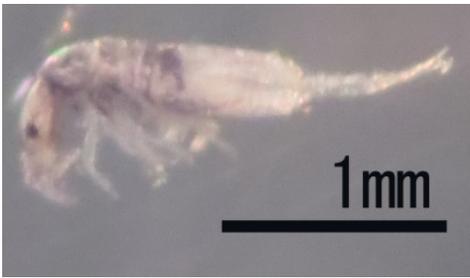
ササラダニ類



ダニ類



クモ類



トビムシ類



トビムシ類



昆虫綱ハチ目



ハネカクシ類

図2. あいな里山公園で採集した土壌生物

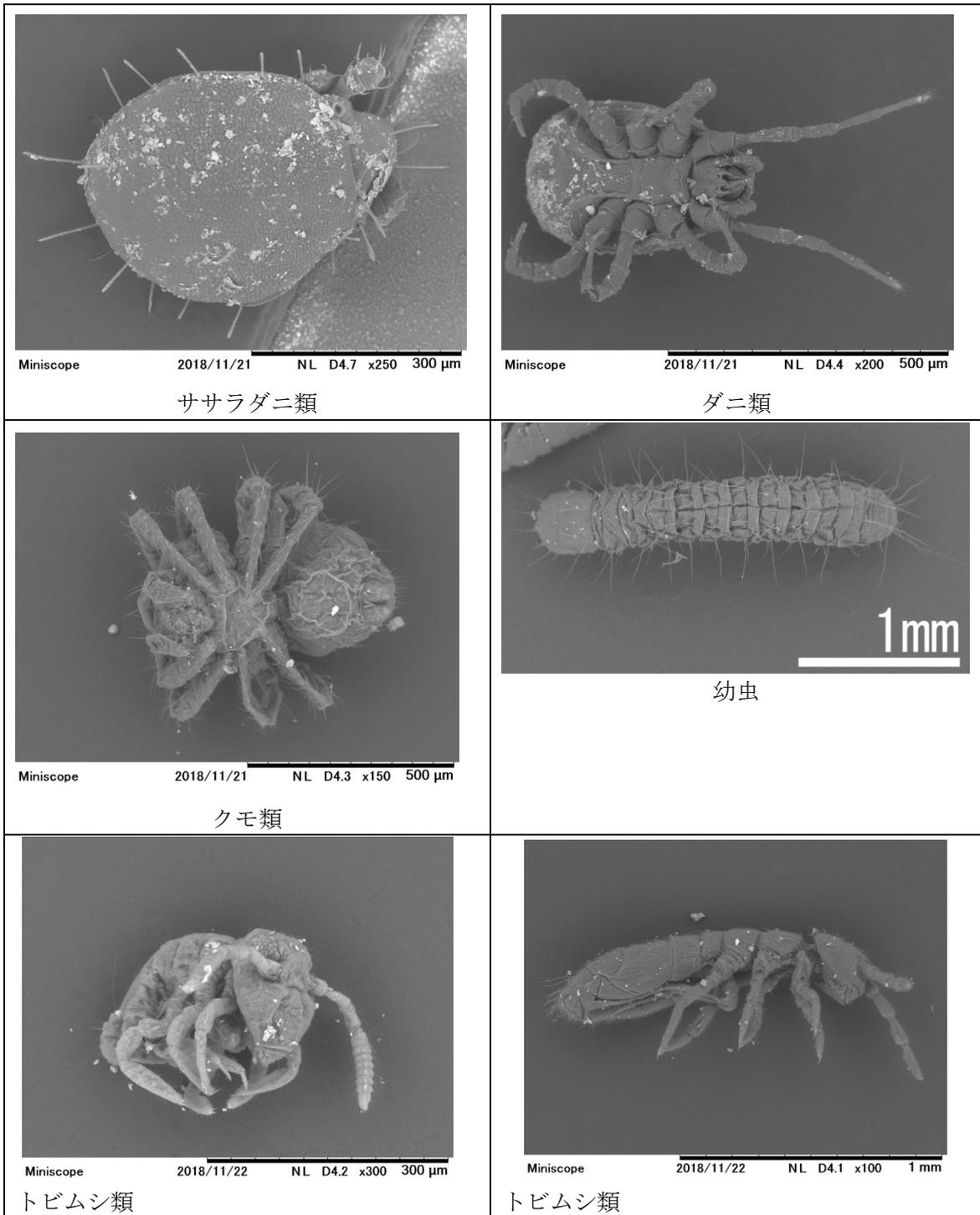


図 3. 尼崎小田高校中庭で採集した土壤生物