

## 神戸市に生息するセトウチサンショウウオの保全のための取り組み

兵庫県立尼崎小田高等学校 科学研究部生物班

鎌倉 亜斗夢

### 1. はじめに

神戸市は、大都市でありながら、六甲山をはじめとする緑の山々と北区や西区に広がる豊かな田園風景を有し、各地域で小型サンショウウオ類の繁殖が知られている。日本産有尾目はキタサンショウウオを除きすべてが固有種である。小型サンショウウオ類はイモリやカエル類と異なり地域ごとの分化が著しく、一般に1種の分布域は狭い。

旧カスミサンショウウオ *Hynobius nebulosus* は長年、愛知県以西に1種のみが生息するとされていた(MATSUI *et. al.* 2006, TANI and HOELKER 2016)。2019年2月、DNAの塩基配列や形態・成体の比較により、9種(カスミサンショウウオ *H. nebulosus*, ヤマトサンショウウオ *H. vandenburghi*, アブサンショウウオ *H. abuenis*, アキサンショウウオ *H. akiensis*, ヤマガチサンショウウオ *H. bakan*, イワミサンショウウオ *H. iwami*, サンインサンショウウオ *H. setoi*, セトウチサンショウウオ *H. setouchi*, ヒバサンショウウオ *H. utsunomiyaorum*)に分けるのが妥当とする論文が発表された。兵庫県では、このうちセトウチサンショウウオ *H. setouchi* が瀬戸内海沿岸に、ヒバサンショウウオ *H. utsunomiyaorum* が宍粟市に、サンインサンショウウオ *H. setoi* が新温泉町に生息することがわかっている(MATSUI *et. al.* 2019, 高橋 2020)。国営明石海峡公園神戸地区あいな里山公園においては、NPOの兵庫・水辺ネットワークなどの里山保全活動により、セトウチサンショウウオの生息が毎年確認されている。また一般市民対象の観察会なども開催されている。

### 2. 目的

これらの小型サンショウウオ類は形態的に似ているため(高田・大谷 2011)、セトウチサンショウウオを、私たち専門家でない者が形態的に同定するのは難しい。よって形態形質と遺伝的形質を合わせて判断する必要があると思われる。今回私たちはサンプル採集したサンショウウオ類について形態観察および塩基配列解析を行い、種同定を試みた。

### 3. 方法

兵庫県神戸市北区のある地点(YO)で2021年3月15日にサンショウウオ類2個体(標本番号210086, 210087)をサンプル採集した(図1)。また神戸市北区国営明石海峡公園 神戸地区 あいな里山公園 (YK)で2018年6月15日にサンショウウオ類11個体(180034-180039, 180042-180043)をサンプル採集した(図1)。採集されたサンショウウオ類は尾の一部を切除し、サンプル採集後、捕獲個体は逃がした。また神戸市北区の別地点(YN)では卵塊を1つ採集し、持ち帰り、飼育し、死亡個体からサンプル採集した(標本番号210084)。各サンプルからDNAエキストラクターFMキット(和光純薬工業)もしくはLysis Buffer for PCR(タカラバイオ)を用いて粗全DNAを抽出した。mtDNAのcyt b後半領域850bpを、種特異的に設計したプライマーセット(HNCY134F:5'-CTTCAGCTTTCTCATCAGTAGCACACAT-3', HNCY014R:

5'-GGTTTGTCCAATTCAAGTAAATGGTTGT -3')を用いて、PCR 法により DNA 増幅を行った。PCR 産物は調整後、北海道システムサイエンス社に委託し、塩基配列を解読した。塩基配列のアラインメントおよび系統樹の作成は MEGA7 を用いた(Kumar *et. al.* 2018)。

#### 4. 結果

採集された成体のサンショウウオ類は暗灰色の体表に黒色顆粒および白色顆粒が散在し体全体を覆っていた。尾の上縁には薄く黄色の条線が見られた(図 2)。幼生の体表は黄褐色で黒色顆粒が散在した。遺伝子解析では今回私たちが解析した 14 個体はすべてセトウチサンショウウオのクレード A2b の中の 3 つのクレードの一つの A2b1a に属した(図 3)。

#### 5. 考察

形態観察から、4 個体は旧カスミサンショウウオであると推定されたが(高田 2011)、ヤマトサンショウウオなどの他のサンショウウオ類と区別して、セトウチサンショウウオであると推定することは難しかった。ただし、地理的な分布からはセトウチサンショウウオであると推定できた。遺伝子解析の結果から、すべての個体はクレード A2b1a に属したことから、すべてがセトウチサンショウウオであると推定できた(図 3)。私達高校生にとっては、形態的特徴のみからセトウチサンショウウオを識別することは難しかった。特に幼生の同定は困難を極め、このような場合遺伝子解析を行うことは同定に非常に有効であると思われた。

今回解析した個体はすべてクレード A2b1a に属したことから、神戸市内のセトウチサンショウウオ個体群は局所的な地域固有の遺伝的形質を持つ可能性があり、なるべく早く地理的分布の全容を解明する必要があると思われた。全容が解明されるまでは、各地域の遺伝的純系を保全するために、生息地点間の移入などは厳重に慎むべきであると思われた。

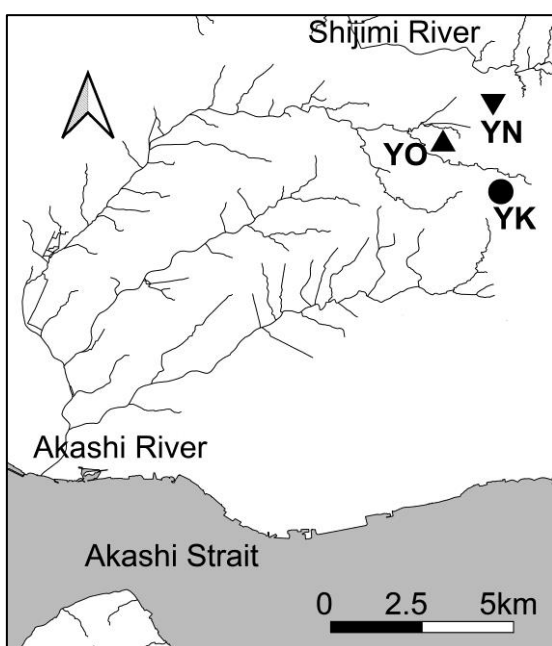


図 1 採集地 志染川は加古川水系。



図 2 捕獲した成体(標本番号 210087)

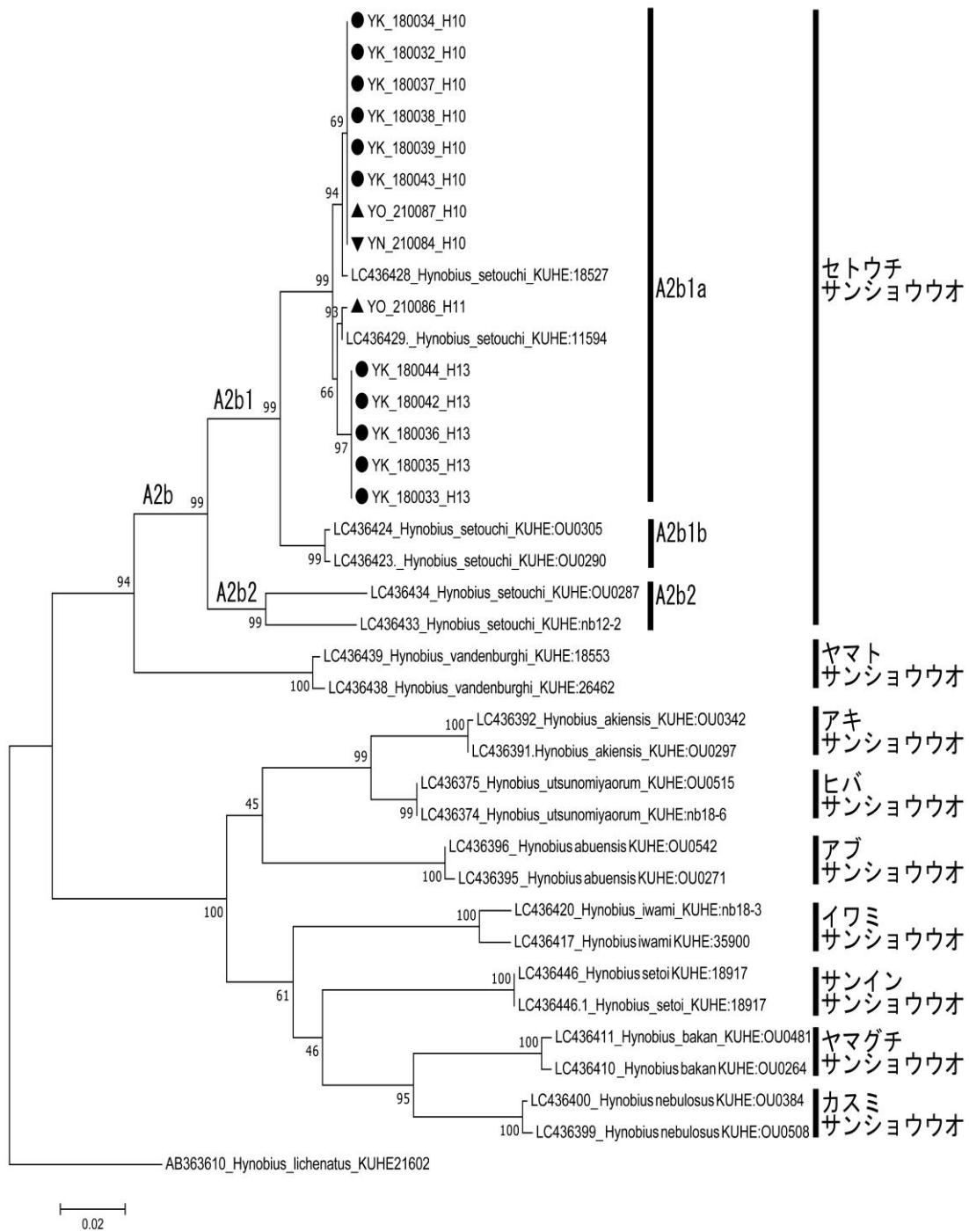


図 3 cyt b 後半領域(771bp)の最尤法による系統樹

分岐点の数字は 1050 回試行した時のブートストラップ値(%)を示す。●はあいな里山公園(YK)のデータ。▲は YO, ▼は YN のデータ。各データの左側の数字および記号はアクセッション番号と標本番号。A2b は MATSUI *et al.* 2019 が示したクレードを表す。外群はトウホクサンショウウオ *H. lichenatus*。和名で示した 9 種のサンショウウオは旧カスミサンショウウオから分かれた 9 種。

## 6. 参考文献

- 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.
- MATSUI M., H. OKAWA, K. NISHIKAWA, G. AOKI, K. ETO, N. YOSHIKAWA, S. TANABE, Y. MISAWA, & A. TOMINAGA. 2019. Systematics of the Widely Distributed Japanese Clouded Salamander, *Hynobius nebulosus* (Amphibia: Caudata: Hynobiidae), and Its Closest Relatives. Current Herpetology (38)-1 ;32-90.
- 高田榮一・大谷勉. 2011. 原色爬虫類・両生類検索図鑑. 292pp. 北隆館, 東京.
- 高橋鉄美. 2020 ひょうごのレッドリスト展 : ひとつはく通信 ハーモニー, 106 , 2-3. 兵庫県立人と自然の博物館, 三田.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, and Tamura K (2018)Molecular Biology and Evolution 35: 1547-1549.
- 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

## 7. 謝辞

ご指導をいただいた兵庫教育大学教授 笠原恵氏ならびに埼玉県立川の博物館 藤田宏之氏に感謝いたします。現地調査実施に際して、国営明石海峡公園神戸地区あいな里山公園旧職員 高畑正氏・高橋真理子氏および兵庫・水辺のネットワーク 大嶋範行氏にご尽力いただいた。平成28・29・30・31・令和2・3年度神戸市公園緑化協会神戸みどりの夢基金, 2018年度公益財団法人武田科学振興財団 (Takeda Science Foundation) 中学校・高等学校理科教育振興助成より助成を受けた。皆様に感謝いたします。