

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22510244

 研究課題名（和文） 個体群相互関係を考慮した琉球列島産クロイワトカゲモドキの
 遺伝的多様性の解明と保全

 研究課題名（英文） Genetic diversity and conservation of *Goniurosaurus kuroiwa*e from the
 Ryukyu Archipelago, Japan, with special reference to the relationships
 among its populations

研究代表者

本多 正尚 (HONDA MASANAO)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：60345767

研究成果の概要（和文）：中部琉球の固有種で絶滅危惧種に指定されるクロイワトカゲモドキの遺伝的多様性と保全をミトコンドリア DNA の変異から考察した。その結果、形態データに基づく従来の系統仮説を支持せず、奄美諸島産オビトカゲモドキと残りの沖縄諸島産 4 亜種との間で大きな遺伝的分化を示すこと、沖縄諸島の中に 6 つの独立な系列があり、基亜種とマダラトカゲモドキはそれぞれ単系統にならないこと等が明らかになった。また、保全遺伝学的な見地から、すべての個体群は絶滅の危険性が高いと判断された。

研究成果の概要（英文）：We analyzed variations in approximately 1,200 base positions of mitochondrial DNA sequences in order to discuss genetic diversity and conservation of *Goniurosaurus kuroiwa*e from the Central Ryukyus, Japan. Results do not support the relationships hypothesized on the morphological ground in that the present results strongly suggest that the primary dichotomy, with substantial genetic divergence, between *G. k. splendens* from the Amami Island Group and the remaining subspecies from the Okinawa Island Group, and that the presence of at least six independent lineages within the latter, indicating non-monophyly for each of *G. k. kuroiwa*e and *G. k. orientalis*. All populations are endangered from the viewpoint of conservation genetics.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：保全遺伝学

科研費の分科・細目：資源保全学・資源保全学

キーワード：環境保全，多様性，琉球列島，爬虫類，トカゲモドキ科，遺伝子

1. 研究開始当初の背景

中部琉球に固有のクロイワトカゲモドキは、日本唯一のトカゲモドキ科のヤモリで、現行の分類では 5 亜種が認識されている。各

亜種の分布は 1 つから多くて 4 つの島嶼に限られ、全て環境省と沖縄・鹿児島県から絶滅危惧種（IA, IB, II 類）の指定を受ける。本種は極めて高い遺存性を有し、琉球列島の

生物進化や地史を考える上でも貴重な種である。しかし、近年の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ほとんどの個体群が存続の危機に瀕している。その中には数個体しか記録のない亜種マダラトカゲモドキの伊江島個体群等、保全上非常に重要な個体群を含むが、真の保全の対象となるべき個体群の検出やそれらの多様性の評価に関しては研究が非常に遅れていた。

このような状況の中、申請者らのミトコンドリア DNA 配列の保全遺伝学的分析で、本種が同一亜種の単一島嶼個体群間でも遺伝的に大きく分化し、単系統にならないことが明らかになった (Ota et al., 1999; 太田・本多, 1999)。これは、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を強く示唆している。しかも、この遺伝的分化パターンは、類似した分布パターンと遺存固有性を共有する他の爬虫類とは全く異なり (Honda et al., 2002; 太田他, 2003)、他種からの単純な類推は誤った結論を導きかねない。すなわち、本種の全個体群に対して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。しかし、これまで分析されたのは、全 5 亜種 10 島嶼個体群のうち 3 亜種 3 島嶼個体群について、それぞれ 1～3 個体だけであり (Ota et al., 1999; 本多, 2002a)、個体群の遺伝的多様性を適切に評価しきれていない。また、近年他種において遺伝子浸透や交雑の存在も明らかになり (e.g., Okamoto et al., 2006)、単純なミトコンドリア DNA 配列の基づく保全遺伝学的分析だけでなく、遺伝子浸透や交雑等の個体群相互関係も考慮した評価が必要と考えられる。

2. 研究の目的

本研究では野外調査から各個体群の生息状況を把握すると同時に、ミトコンドリア DNA 配列、核 DNA 配列、マイクロサテライトの変異を調べ、各個体群間・内の分化の程度や系統学的な関係、および遺伝子浸透や交雑の有無や程度等を分析する。本研究が目的とする主な事項は、1) 各島嶼個体群あるいは単一島嶼内の地域個体群を保全上 1 つの単位としてまとめて扱うべきか、それともそれぞれを個別の単位として扱うべきかを議論するため (e.g., Moritz, 1994; Karl and Bowen, 1998)、各個体群間の遺伝的分化や系統関係を推定すること、2) それぞれの個体群において環境に対する適応力を予測するため (Loeschke et al., 1994)、各個体群内の遺伝的分化の程度や集団内構造を解析すること、3) 生息状況から推定された保全上優先順位の高い個体群と個体群内の遺伝

的多様性の状態とを重ね合わせることで、特に在来環境の保全の緊急性が高い場所について特定すること、4) 遺伝子浸透や交雑の有無や程度を明らかにして個体群相互関係を考慮した個体群の遺伝的多様性の評価を検討すること、5) 他種のデータとも比較して琉球列島の保全のあり方を考察すると同時に、この地域の爬虫類の生物地理や多様化の道筋を解明することである。

3. 研究の方法

以下の通り、環境省の委託調査およびその後の現状変更手続きにより得た組織サンプルを用い、島嶼間・内の遺伝的な分化や関係をミトコンドリア DNA 配列から分析した。同時に、沖縄県と鹿児島県に現状変更手続きを申請し、追加の組織サンプルの採集および分布域や生息数等の生態学的調査を行った。また、マイクロサテライトを用いた分析も行った。

調査対象は次の個体群とした。基亜種クロイトカゲモドキ (環境省絶滅危惧 II 類) 沖縄本島北部個体群: 分布域は広く、北部内での遺伝的分化が予測される一方で、マングースの侵入や林道建設等、個体群を脅かす要素は多い。同中部個体群: 詳細が全く不明で、北部個体群と南部個体群の交雑帯を形成している可能性がある。同南部個体群: 極めて狭い生息地が世界遺産指定されたため環境が急激に悪化している。同古宇利島個体群: 生息域が極めて狭く、近年の橋開設のため開発が進んでいる。同瀬底島個体群: 好適な生息地が公園化され、大幅に失われている。マダラトカゲモドキ (IB 類) 渡名喜島個体群: 近年目撃例がほとんどなく、個体群の消滅が懸念される。同渡嘉敷島個体群: 東部は比較的個体数が多いが、西部は近年の林道建設により個体群の存続が危ぶまれている。同伊江島個体群: これまで数個体しか記録がなく、予備調査により極狭い範囲での生息が確認されているが、依然として危機的状況である。クメトカゲモドキ (IB 類): 牧草地開墾のため生息場所の縮小・分断が急速に進み、ここ数年で急激に環境が悪化している。イヘヤトカゲモドキ (IA 類): 生息場所の縮小・分断が急速に進んでいるが、生息状況に関する客観的な資料がない。オビトカゲモドキ (II 類): 他と地理的に離れているため、大きな遺伝的分化が予想されるが、天然記念物指定が遅れたため、ペット業者により大量に採集され、個体数が激減している。野外調査で追加の組織サンプルの採集は、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行った (本多, 2002b)。

塩基配列を用いた分析では、まず各個体群について数～10 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) について, PCR-ダイレクトシーケンシング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, 最尤法やベイズ法等による系統推定, 多様度指数等の集団遺伝学的解析を行った。

次に, 単一島嶼内での分化が示唆された沖縄本島および沖縄本島南部個体群に近縁と考えられた伊江島個体群については, 個体数を増やして, ミトコンドリア DNA チトクローム b 遺伝子の塩基配列を決定し, 上記と同様の分析法にて解析を行った。

上記の方法に加え, 核の多型の遺伝子マーカーであるマイクロサテライト分析のためのプライマー開発にも着手した。制限酵素で処理した核 DNA 断片から, ビオチン標識プローブと磁気ビーズによってマイクロサテライトを選択し, クローニングと塩基配列決定により適切なマイクロサテライト領域を探索する。それらの領域を増幅できるプライマーを設計した。

4. 研究成果

まず, ミトコンドリア DNA の 12S rRNA, 16S rRNA, チトクローム b の部分配列合計 1200 塩基対を用いた分析では, 奄美諸島徳之島産オビトカゲモドキ *G. k. splendens* と残りの沖縄諸島産の亜種に大きく二分岐することが強く示唆された。沖縄諸島産については, 亜種のうち複数の個体群からなる基亜種とマダラトカゲモドキ *G. k. orientalis* がそれぞれ単系統にはならず, 沖縄本島南部産基亜種+伊江島産マダラトカゲモドキ, 沖縄本島北部産基亜種+古宇利島産基亜種, 渡名喜島産マダラトカゲモドキ, 渡嘉敷島産マダラトカゲモドキ, クメトカゲモドキ *G. k. yamashinae*, イヘヤトカゲモドキ *G. k. toyamai* という進化的に独立な 6 系列の存在が示唆された。これらは, 形態データをもとに推定された従来の系統仮説 (Grismer et al., 1994) を全く支持しなかった。

奄美諸島徳之島産オビトカゲモドキと他亜種との遺伝的分化はトカゲモドキ属内の一部の種間よりも大きく, 本亜種を独立の種として分類することが妥当であると判断された。また, 沖縄本島南部産基亜種+伊江島産マダラトカゲモドキと渡嘉敷島産マダラトカゲモドキについても, 分類学的な再評価が必要であると考えられた。

遺伝的多様性については, 上記のように沖縄本島内で現行では 1 つの亜種に分類されているものの中に全く独立の系列が存在することが明らかになった。また, 比較的面積の大きい島嶼内では遺伝的変異が見られたが, 渡名喜島のように小さい島嶼内では変異が

欠落している場合もあった。これらの結果は, 本種の現行の種・亜種分類が生物多様性を過小評価していること, 各地域個体群を遺伝的に独自性の高い個体群として保全していくことの重要性を指摘している。

沖縄本島産基亜種および近縁と考えられる伊江島産マダラトカゲモドキの個体群の関係をさらに詳細に調べるため, マイクロサテライトの開発に当たった。マイクロサテライト候補配列の探索は, 磁気ビーズによる MS 領域の濃縮と大腸菌を用いたサブクローニングによる塩基配列決定, および磁気ビーズによる MS 領域の濃縮と次世代シーケンサーを用いた塩基配列決定にて行った。その結果, 100 前後の候補配列を得て, そのうち 14 遺伝子座を開発・解析した。そのうち 11 座位がジェノタイピング可能となり, 現在詳細を分析中である。

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)

[学会発表] (計 5 件)

①栗田隆気・本多正尚・戸田守, クロイワトカゲモドキの遺伝的集団構造に見られる地理的パターン, 第 48 回沖縄生物学会, 2011 年 6 月 4 日, 琉球大学 (西原町)

②本多正尚・栗田隆気・戸田守・太田英利, クロイワトカゲモドキ (爬虫綱, トカゲモドキ科) の亜種間での遺伝的分化, 第 50 回日本爬虫両棲類学会, 2011 年 10 月 8-10 日, 京都大学 (京都市)

③栗田隆気・本多正尚・戸田守, 亜種クロイワトカゲモドキの遺伝的集団構造: 沖縄島における系群の分布と地理的境界, 第 50 回日本爬虫両棲類学会, 2011 年 10 月 8 日, 京都大学 (京都市)

④太田英利・本多正尚・グエン=チュオンカン, トカゲモドキ属 (爬虫綱, トカゲモドキ科) の系統, 第 50 回日本爬虫両棲類学会, 2011 年 10 月 8 日, 京都大学 (京都市)

⑤Honda, M., Kurita, T., Toda, M., and Ota, H. Phylogenetic relationships, genetic divergence, and biogeography of *Goniurosaurus kuroiwa* (Squamata: Eublepharidae) from the Central Ryukyus, Japan. 7th World Congress of Herpetology, 2012 年 08 月 12 日, Vancouver, Canada

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本多 正尚 (HONDA MASANAŌ)

筑波大学・生命環境系

研究者番号: 60345767

(2)研究分担者

戸田 守 (TODA MAMORU)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター

研究番号：40378534