

## 調査研究報告書概要版

サンショウウオ類の種分化は地理的隔離と遺伝的浮動に起因とすることが多く、そのため近縁種の分布は重ならないとされている。国東半島・宇佐地域にはオオイタサンショウウオ (*Hynobius dunni*) とヤマグチサンショウウオ (*Hynobius bakan*) の同属 2 種が異所的・側所的に分布していることが知られていた。しかし、これら 2 種が同所的に分布している地点が発見された。この発見は、2 種間の雑種形成の可能性を示唆するものである。また、両種とも絶滅危惧種に指定されており、特に大分県内のヤマグチサンショウウオは局所的にしか分布していないため、この雑種形成による絶滅の可能性が危惧される。これらを背景に、本研究は、両種の雑種形成の可能性を検証するため、2 種の時間的・空間的なすみわけに関する野外調査を実施した。また、野外調査で採集した個体を用いて交雑実験を行った。更に、雑種判定技術を構築するため、野外個体の詳細な形態計測と統計解析ならびに雑種判定 DNA マーカーの開発に挑んだ。

野外調査は、大分県豊後高田市の近接する 6 地点で、2020 年 12 月下旬から 2021 年 3 月下旬まで計 9 回、2 種の雌雄成体個体数及び新規卵嚢数を対象とした調査を行った。この結果、2 種の繁殖時期も繁殖に適した環境条件も重複していることが分かった。

交雑実験の方法は、雌を 1 個体と雌とは異なる種の雄 2 個体を最低 2 週間 1 つの水槽に入れ、24 時間間隔で繁殖行動および産卵の有無を記録した。産卵した場合、卵の発生の有無を産卵日から 1 週間 24 時間間隔で観察を行った。この結果、オオイタサンショウウオの雌は 7/8 反復において産卵したが、卵が発生したものはその内 1 反復のみであった。ヤマグチサンショウウオの雄は 2/11 反復において産卵し、その内卵が発生したものは 1 反復のみであった。これらのことから、オオイタサンショウウオとヤマグチサンショウウオは発生理学的には雑種形成が可能であるが、行動学的に両種とも他種の異性に対して繁殖行動を示さないと推察された。

野外調査で採集した 167 個体を 24 項目に分けて形態計測を行った。形態計測結果を統計解析した結果、2 種間には 20 項目において有意差が見られ、特に有意差が見られたのは肢であったため、判別の際は四肢に注目すればよいことが分かった。

雑種判定 DNA マーカーの開発のため、オオイタサンショウウオのミトコンドリア DNA の全ゲノム解析を行った。このデータを用いて、雑種判定 DNA プライマーを 27 遺伝子座発見することができた。

本調査研究によって、野外においてもオオイタサンショウウオとヤマグチサンショウウオの間で雑種が形成される可能性が強く示唆された。一方、行動学的に両種は積極的に雑種をつくらないのではないという可能性も得られた。今後は、開発した雑種判定 DNA プライマーを用いて、野外での雑種の発生状況およびその分布状況を明らかにし、早急に大分県産ヤマグチサンショウウオの保全対策を講じて行きたい。また、本種をシンボルとした地域づくりの基盤整備にも取り組んでいきたい。