

静岡市に生息するニホンアカガエルの現状とDNA多型に関する研究：教育教材としての利用

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-06-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 加藤, 英明 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.14945/00010302">https://doi.org/10.14945/00010302</a>

## 静岡市に生息するニホンアカガエルの現状と DNA 多型に関する研究

— 教育教材としての利用 —

Study of the Current Situation and DNA Polymorphisms of the Japanese Brown Frog, *Rana japonica* in Shizuoka City, Shizuoka Prefecture, Japan

加藤 英明

Hideaki KATO

（平成 28 年 10 月 3 日受理）

### 要約

日本に広く分布するニホンアカガエルを環境教育の学習に用いるための基礎データとして、静岡市葵区薬師地域の生息状況を調査した。その結果、対象地のニホンアカガエルの卵塊数の減少が明らかになり、産卵場所の消失が原因であると推測された。ミトコンドリアDNAの比較では、本集団が遺伝的に東西に大きく分かれるニホンアカガエルの西グループに属し、その分布の東限に位置することから、生物地理学上重要であることが明らかになった。しかしながら、2016年に始まった薬師地域の開発事業により、本種の生息地の縮小に伴う個体数の減少が危惧され、残された生息地の保全と今後のモニタリングが必要とされる。

### はじめに

ニホンアカガエル *Rana japonica* Boulenger, 1879は、無尾目アカガエル科に属し、本州から四国、九州に広く分布する。本種の生息地は、谷津を含めた平地や丘陵地であり、主に水田で繁殖する（前田・松井, 1999）。産卵期は、両生類や爬虫類を始め多くの生物が活動を休止する冬季である。本州のカエル類では産卵が一番早くに始まり、12月から産卵する地域もある（内山ほか, 2009）。幼生は5月下旬から6月にかけて変態上陸し、成長の早い個体は翌年に産卵に参加するが、本種の寿命は2～3年で繁殖後翌年まで生き残る個体は少ないとされる（日高ほか, 1996）。

本種の特殊な生態は、学校教育で日本の四季の変化に伴う生物の活動や生態系に関する探究活動において、観察や教材、環境指標として用いることで生物多様性の理解を深めるために重要であると考えられる。しかしながら、静岡県における本種の生息の現状は十分に調査されておらず、静岡市葵区薬師地域の生息状況を始め、他地域の集団との遺伝的な差異についての報告はない。本研究は、今後の環境教育の一環としてニホンアカガエルを学習に用いるために必要とされる基礎データを得るために、生息地における卵塊数とその経年の変化を記録した。また、静岡市のニホンアカガエル集団の学術的な価値を明らかにするために、DNA配列を決定して遺伝的な差異を調査した。

### 材料と方法

本調査は、静岡市でニホンアカガエルの生息が唯一確認されている、静岡市葵区薬師周辺で行った。調査期間は2010年から2016年までの7年間で、卵塊数の確認は、繁殖期である12月から3月までの間に、調査範囲内のすべての畔と水辺を歩き、目視により行った。産卵場所はアルファベットで地図に示し、卵塊数は過去に記録したものと重複しないように、新しい卵塊のみ記録した。これらの調査は、薬師の田んぼと遊ぶ会会員と地権者の協力を得て卵塊の出現日を確認し合いながら行い、2010年以前の状況については、聞き込み調査において同会員から情報を得た。ニホンアカガエルのメスは、500~3000個ほどの卵を含む卵塊を1年間に1度産卵するため、卵塊数は個体数の指標になる（長谷川，2003；渡部ほか，2014）。本調査では、卵塊数を性成熟に達したメスの個体数とした。

DNA配列の比較では、幼生の尾部の組織からmtDNA Extractor WB Kit (Wako) を用いてDNAを抽出した。PCR反応はSumida and Ogata (1998) に従い、プライマーは5'-CCATACCTTCTTCTACAAAGAC-3'と5'-GTTCTGCAGGGATCGCTAA-3'を用い、ミトコンドリアDNAのチトクロームb領域を増幅して塩基配列を決定した。DNA配列は、Sumida and Ogata (1998) の静岡県藤枝産と神奈川県伊勢原産のデータと比較した。

### 結果と考察

#### 産卵地と卵塊数の調査

薬師周辺では、A地点とB地点の2カ所でニホンアカガエルの卵塊を確認し、聞き込み調査からC地点とD地点、E地点の3カ所で過去に本種が産卵していたことが明らかになった（図1，2）。A地点における2003年から2016年までの卵塊数は合計419個であり、最小数は2009年の6個で、最大数は2016年の72個であった（表1）。B地点では、2003年と2004年、2010年から2012年までの間に合計38個の卵塊が確認されたが、2013年以降に卵塊は見つからなかった。C地点とD地点、E地点では、2010年から2016年までの調査期間内に卵塊を確認できなかったが、聞き込み調査から、C地点とD地点では2003年まで、E地点では2004年までニホンアカガエルが産卵していたことが明らかになった。これらA地点からE地点までの5地点における年間の総卵塊数は、2003年では181個であったが、2016年では72個のみであった。最も産卵数が少なかった年は2009年で、卵塊数はわずか6個のみであった。2013年以降、薬師周辺で卵塊が確認された場所はA地点のみで、調査期間において1月16日から2月26日までの間に産卵を確認



図1. 薬師におけるニホンアカガエルの産卵の様子。

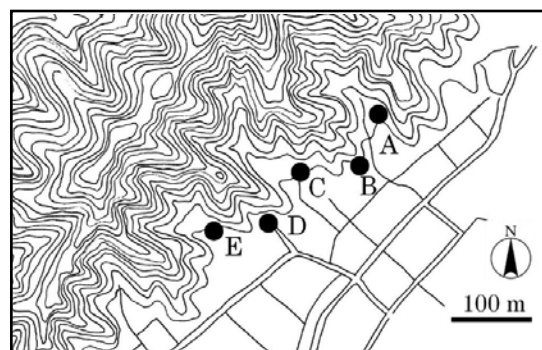


図2. 静岡市葵区薬師周辺において、2003年から2016年までにニホンアカガエルの産卵が確認された場所。国土地理院地図より。

表1. 薬師周辺の産卵地5地点 (A~E) における卵塊数の記録.

年 産卵地	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
A	22	48	37	33	33	20	6	43	29	13	15	30	18	72
B	26	2	0	0	0	0	0	3	2	5	0	0	0	0
C	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D	41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E	66	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

した.

本調査により、静岡市葵区薬師地域のニホンアカガエルの卵塊数は、過去13年間で半数以下に減少していることが明らかになり、生息個体数も同様と推測された。C地点とD地点では、本種が産卵地として利用していた水田が2003年に埋め立てにより消失した。また、E地点は耕作放棄の翌年に埋め立てられたため、2005年以降に卵塊は確認されていない。このように、産卵場所の消失が本種の生存に影響を与えることは明らかであり、薬師周辺の生息密度は、卵塊数の減少に伴い低下したと推測される。A地点では、2004年に卵塊数が増加したが、それは産卵場所を失った集団の一部の個体がA地点に移動して産卵したと考えられる。本種の活動期の移動距離は、産卵地に隣接する森内で平均20.6 m、最大でも40.5 m程度であり（水野，2013）、繁殖場所を失った個体の多くは、異なる繁殖場所に移動することができなかった可能性が高い。

A地点の卵塊数は2004年に一時的に増加したが、その後は減少した。ニホンアカガエルが産卵に利用している水田の面積は20㎡ほどの大きさであり、生息密度が高くなった環境において餌の不足に伴う共食いなどが影響し、上陸まで生存できる個体が限られたものだと考えられる。2009年にはさらに産卵数が減少して6個のみになったが、前年に産卵地の水量が上陸時期まで確保できなかったことが影響したと推測された。2010年と2014年、2016年には卵塊数が増加したが、これは前年に田んぼと遊ぶ会の会員による冬季湛水の水田の拡張によるものと推測する（図3）。また、2013年以降は、水田脇の畑に幅1295 mm × 奥行 860 mm × 高さ457 mmのプラスチック水槽4個を設置し、遺伝的な偏りを避けるために各卵塊から50個ほどの卵を採取し一時保護を行っている。さらに、同様な方法で得た卵を、筆者が管理する静岡大学教育学部の飼育室において育て、変態後の上陸個体を2014年と2015年にそれぞれ200個体を繁殖地の水田に戻した。このような放流個体を含め、上陸個体の成長や生存数、移動性については、今後標識による追跡調査が必要となる。

B地点では、2005年から2009年までは産卵期に水田に水場が形成されず、ニホンアカガエルが産卵することはなかった。その後は水田脇の水路の拡張により、わずかに産卵が確認されたが、2013年以降は再び水量が減少し、繁殖地として利用されていない。このように、水田の乾燥化による本種への影響は大きく、薬師の生息集団を維持するには、産卵場所と幼生が生育する期間の水量を確保し、上陸個体数を増やすことが必要不可欠であ



図3. 産卵用に冬季湛水水田に整備したA地点の様子.

る。

本種は、繁殖期に水が残った水田や池の浅い場所などの止水に産卵し、繁殖期以外は森林や草地を主な活動の場とする（佐藤正孝・安藤尚，1984）。また、開けた浅い止水がニホンアカガエルの産卵環境として好適であるが、水温や水辺の植生などに対して産卵場所の好適性がある（門脇，2002）。薬師の集団の保全には、現在の産卵地の環境を整えることが最優先となろう。

#### DNA 配列と地理的分布

ミトコンドリアDNAでは、薬師産の3個体からチトクロームb領域の412 bpが決定された（表2）。これらの配列は互いに完全に一致した。また、Sumida and Ogata（1998）のDNA配列との比較では、西グループに属する静岡県藤枝市の個体と2ヶ所の塩基を除くすべての塩基配列が一致したが、東グループの神奈川県伊勢原市の個体では37ヶ所に塩基の違いがみられた。

ニホンアカガエルは、遺伝的な違いから西集団と東集団に分けられ、太平洋側ではDNAの比較に用いられた静岡県藤枝産と神奈川県伊勢原産の集団が東西グループの境界とされる（Sumida and Ogata, 1998）。しかし、それらの間に存在する集団との遺伝的な差異は明らかになっておらず、分布の境界線は曖昧であった。静岡県には湖西市から三島市まで本種が広く分布しているとされるが、生息地の消失により、2003年には富士市と沼津市、三島市で本種の産卵は確認されていない（静岡県自然環境調査委員会，2004）。本調査地である静岡市薬師周辺より東の個体群が消えたことは、県内における分布の東限が薬師であり、ニホンアカガエルの西集団の分布の境界を意味する。

静岡県では、本種の生息が確認できなくなった地域が増えており、静岡市葵区薬師から西の分布では、20 km離れた藤枝市藪田で産卵が確認されている。しかし、藤枝市藪田では2003年に20個の卵塊が確認されているのみであり（静岡県自然環境調査委員会，2004）、本調査が行われた2010年から2016年までの期間に卵塊は確認されていない（加藤，未発表）。現在確認できる産卵地はさらに西へ13 km離れた場所であり、今後薬師の集団が消えた場合、ニホンアカガエルの西集団の分布が33 km狭まり、遺伝的地域多様性も失うことになる。本種は静岡県のレッドデータにおいて絶滅危惧Ⅱ類に位置づけられており、静岡市薬師の生息地の存在は、生物地理学的に重要であるとともに、県内における本種の保全において貴重である。

しかしながら、本調査地の薬師では2016年7月から開発が始まり、市内で唯一の産卵地であるA地点に接する森が伐採され、山土が削られた（図4）。同年8月23日には、田んぼと遊ぶ



図4. ニホンアカガエルの繁殖地A地点に隣接する森の伐採。2016年8月29日の様子。

表2. ニホンアカガエルのミトコンドリアDNAチトクロームb領域の配列. 配列上段, 静岡県静岡市薬師産; 中段, 静岡県藤枝市藪田産; 下段, 神奈川県伊勢原市三宮産. ドットは同じ塩基を示す.

1	50
AGCCCTCTCCCCAACTTGCTCGGAGACCCAGACAACCTTCACACCAGCTA	
.....	
.A.T.....TC.....T.....C.	
51	100
ATCCCCTGGTTACCCACCCACATCAAACCTGAATGATACTTCCTATTC	
.....	
.....A.....T.G.....	
101	150
GCCTATGCCATCCTCCGCTCAATTCCCAATAAACTAGGAGGAGTCTTAGC	
.....	
..T.....C.....C..G.....	
151	200
CCTCCTCCTCTCGATCCTGATTCTTTTCTTGATACCCTTCACCCACACCT	
.....	
...T.....T.A.T.....C.....T.....	
201	250
CCAAACCTCCGTTCCCTTATGTTCCGCCCTATCGCTAAAATCTTCTTTTGA	
.....	
.....T..C..T.....	
251	300
ACTCTAATTGCTAACACAGCTATTCTGACATGAATCGGAGGGCAGCCTGT	
.....TC.....	
T.....C.....C.....C.A.C.....	
301	350
AGAAGACCCGTTTATCATAATTGGTCAAATCGCTTCAGGCCTCTATTTCT	
.....	
.....A.....C..C.....C.....	
351	400
TAATCTTTGTCCTTCTTGTTCCCACTATAGGCCTCCTAGAAAACAAACTC	
.....	
.....C.....T.....T.....	
401	412
CTCAAAGTCTAA	
.....	
..T...A.....	

会会員により埋立て作業地でニホンアカガエルの轢死が確認され、生体が2個体捕獲された。開発による本種の生息地の消失は、薬師集団に大きな影響を与える可能性が高く、今後、早急に適切な代替処置を行うとともに、事業後の個体数の変動を明らかにする必要がある。

### おわりに

以上のように、本調査では静岡市薬師産のニホンアカガエルの遺伝的な位置づけが明らかになり、生物地理学的に重要な集団であることが明らかになった。しかしながら、繁殖地の水田や生息地の森の消失が進行しており、薬師における生息集団の維持が危機的であると判断した。本種は繁殖期と非繁殖期の生息環境を必要とするため、伝統的な湿田と周辺の森や草地を保全することが極めて重要とされる。ニホンアカガエルは、本来の生息地である氾濫原の消失により、人間活動における水田の利用が必要となった生物である。このことは、学校教育の生物多様性の保全の学習において、人と野生生物との関わりについて理解を深めることにつながるだろう。

### 謝辞

本調査において、ニホンアカガエルの産卵地である土地を長年にわたり使用させていただいた地権者の稲垣久雄氏に感謝する。また、本種の繁殖と成育に必要な水田環境を維持していただいた田んぼと遊ぶ会の栗山由佳子氏と守屋司子氏をはじめ会員の皆様に感謝する。

### 引用文献

- 内山りゅう・沼田研児・前田憲男・関慎太郎, 2002. 決定版 日本の両生爬虫類. 336pp. 平凡社, 東京.
- 門脇正史, 2002. ニホンアカガエルの産卵場所の環境条件－特に産卵地点間の水温の違いについて－. 保全生態学研究, 7 (1) : 1-8.
- 日高敏隆, 1996. 日本動物大百科第5巻両生類・爬虫類・軟骨魚類. 176 pp. 平凡社. 東京.
- 前田憲男・松井正文, 1999. 改訂版日本カエル図鑑. 223pp. 文一総合出版, 東京.
- Sumida, M. and Ogata, M., 1998. Intraspecific Differentiation in the Japanese Brown Frog *Rana japonica* Inferred from Mitochondrial DNA Sequences of the Cytochrome b Gene. *Zoological Science*, 15 (6) : 989-1000.
- 水野雄介・橋本啓史, 2013. 愛知県の里山におけるニホンアカガエルの食性の微小生息環境による差異. *野生生物と社会*, 1 (1) : 39-46.
- 長谷川雅美, 2003. 農業土木技術者のための生き物調査 (その8) 両生類調査法. *農業土木学会誌*, 71 (5) : 423-472.
- 静岡県自然環境調査委員会, 2004. まもりたい静岡県の野生生物－県版レッドデータブック－動物編. 351pp. 羽衣出版, 静岡.
- 佐藤正孝・安藤尚, 1984. 愛知の動物. 325pp. 愛知県郷土資料刊行会, 名古屋.
- 渡部恵司・森淳・小出水規行・竹村武士・西田一也, 2014. 圃場整備事業前後のニホンアカガエルの卵塊数の比較. *農業農村工学会論文集*, 82 (1) : 53-54.