

Natural Hybridization and Directional Introgression of Two Species of Japanese Toads *Bufo japonicus formosus* and *Bufo torrenticola* (Anura:Bufonidae) Resulting from Changes in Their Spawning Habitat

アズマヒキガエル (*Bufo japonicus formosus*)



ナガレヒキガエル (*Bufo torrenticola*)



(2017/09/19-20 位山演習林にて撮影)

岐阜県南西部でも、鼓膜の大きさがアズマヒキガエルとナガレヒキガエルの中間的な大きさのものがみつかり、両種の雑種である可能性がある。

(岐阜県 / <http://www.pref.gifu.lg.jp/kurashi/kankyo/shizenhogo/c11265/nagare-hikigaeru.html>)

RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) 法... 10 個程度の塩基配列をプライマーに用い、核 DNA を鋳型として PCR を行う。核 DNA 上に個体差が存在した場合、増幅された DNA 断片の大きさに違いが見られる。この多型を RAPD (増幅断片多型 DNA) と呼ぶ。

(山梨大学工学部生命工学科 山村研究室 / <http://www.geocities.jp/takedensis/RAPD>)

Abstract

日本固有のヒキガエルである *Bufo japonicus formosus*(以下“Bj”),*Bufo torrenticola*(以下“Bt”)を RAPD 法と mtDNA シーケンシングにより判別した。異なる地点から採集されたそれぞれのサンプルより種特異的な RAPD と mtDNA の配列が推定された。分子情報は、日本中部の林内河川から採集されたヒキガエルの多くが、たとえ Bj の mtDNA を所有していても、Bt と戻し交雑をしていることを示した。恐らく交雑初期において、オスの Bt と Bj の mtDNA を所有しているメスの間で、河川横の止水域で産卵を強いられた結果、Bj から直接的な遺伝子侵入が生じた。さらに、多くの交雑個体は数値的に優占している Bt と戻し交雑をした。近年の洪水による産卵地の地形の変化がこの状況を生んだかもしれない。

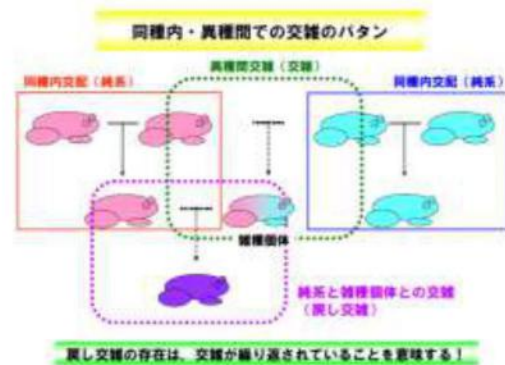
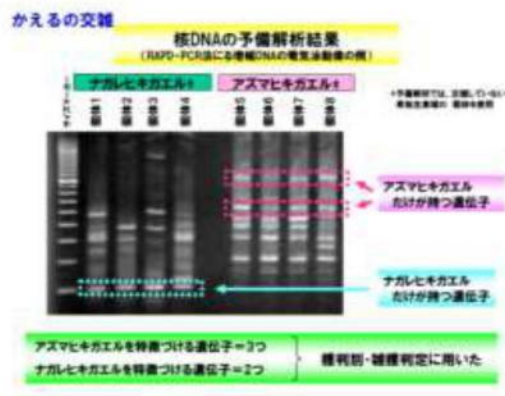
Introduction

本研究の調査地の野積川では、Bj は主に止水域、Bt は流水中で産卵する。しかし、Bt は Bj の産卵場所にも移動する。両種の交雑個体が発見されているが、外見の特徴からでは判断が困難な個体も存在する。本研究の目的は分子技術によって、遺伝子侵入を効果的に評価することである。

Materials and Methods

福光と呉羽から Bj, 東近江から Bt, 同所的に分布する野積川から兩種を採集した. それぞれ指先を切り, DNA 抽出までエタノール中に保存した. 吻から肛門の距離 (SVL), 鼓膜の大きさ (TW) を計測した. $TW/SVL < 5.9\%$ は Bt, $TW/SVL > 4.9\%$ は Bj と判断した. 種特異的なフラグメントの在/不在は 0 と 1 で記録した. (野積川以外の) 個体より推定された RAPD は, 種の判定に用いた. 野積川の個体は, 片方の種のフラグメントを持つ個体は純系, 兩種の全てのフラグメントを持つ個体は F_1 , それ以外を F_x とした.

Results



ミトコンドリアDNA分析による母親推定の結果

	アスマヒキガエル mtDNA	ナガレヒキガエル mtDNA
1999年採集個体 合計19個体	19個体	0個体
2003年採集個体 合計10個体	10個体	0個体

※ mtDNAは、事前に野積川以外の個体で確認

すべての個体が、アスマヒキガエルのmtDNAを持っていた

すべての交雑において、母親はアスマヒキガエル
あるいは アスマヒキガエルのmtDNAを持つ雑種であった

