平成 25 年度 横浜市繁殖センター研究事業報告書

横浜市繁殖センターは、希少動物の繁殖や研究を行う非公開施設として、カンムリシロムク、カグー等の希少動物を飼育し、その繁殖と飼育下で累代的に維持していくことに努めている。また、国内の動物園としては初めての研究を目的とした実験施設を備え、希少野生動物の亜種判定や個体間あるいは種間の近縁関係、雌雄判別などに関する遺伝子解析や繁殖のための性ホルモンの定量など、様々な分野での「種の保存」に係わる研究を行うほか、横浜市立動物園の動物からの精子や卵子の収集・凍結保存等を行っている。

本報告書では、平成25年度に繁殖センターが実施した研究事業について報告する。なお、 希少動物「種の保存」共同研究事業推進委員会運営要領(平成22年4月28日制定)に基 づく横浜市立動物園3園(野毛山動物園、金沢動物園、よこはま動物園)との共同研究に ついては、「3園共同研究」として本文中に明示する。

<要約>

平成25年度は、希少野生動物の精子3種、体組織31種44点の凍結保存を行なった。また、よこはま動物園、野毛山動物園および繁殖センターで飼育されている6種について糞中ステロイドホルモン濃度を測定した。

一方、DNA 関連研究として、横浜市立動物園の飼育鳥類 18 種 81 羽について DNA による雌雄判別を行った。さらに、動物園動物 1 種について mtDNA やマイクロサテライト DNA による親子鑑別と遺伝的多様性の解析を行った。

<目次>

- (1) 糞中ステロイドホルモン測定による妊娠診断、発情周期の解明
- (2) 配偶子および体組織の凍結保存
- (3) 動物の各種 DNA 解析
- (4) 大学等との共同研究
- (5) 学会等発表資料

(1) 糞中ステロイドホルモン測定による妊娠診断、発情周期の

解明

(3 園共同研究)

平成 25 年度は、よこはま動物園、野毛山動物園および繁殖センターで飼育されている 6 種について測定を行なった。(表 1)。

また、横浜市環境創造局と岐阜大学農学部(現 応用生物科学部)間の共同研究協定書に基づき、ゴールデンターキン、ニホンカモシカ、インドゾウ(よこはま動物園、金沢動物園)、インドサイ、アラビアオリックス、アミメキリン、ホッキョクグマ、メガネグマ、ツシマヤマネコ、レッサーパンダ、ユーラシアカワウソ、シロテテナガザル、オランウータン、アカアシドゥクラングール、フランソワルトンの糞中ステロイドホルモン(もしくは血中、尿中ステロイドホルモン)動態について、岐阜大学応用生物科学部動物繁殖学研究室と共同研究している。

平成25年度 性ホルモンの測定結果

繁殖センター 石井裕之 大沼友有子 研究補助 瀬尾亮太 雨宮勇斗 堀田裕子

繁殖センターでは酵素免疫測定法にて、横浜市内 3動物園で採取した排泄物から性ホルモンやその代謝物を抽出し、測定を行っている。性ホルモンを測定する目的は、妊娠の早期発見や繁殖適期の特定など飼育下野生動物の繁殖生理を解明し、その飼育管理を改善することにある。

測定値をグラフ化したものを図1から図8に示した。

表1 H25年度 繁殖センターで性ホルモンを測定した動物種

動物種	個体番号・愛称	性別	所属園	検体	測定ホルモン
スマトラトラ	No. 4 デル	2	よこはま動物園	糞	プロジェステロン
					エストラジオール17β
テングザル	No.3 アプル	우	よこはま動物園	糞	プレグナンジオール
					エストラジオール17β
オカピ	No. 3 ビディ	우	よこはま動物園	糞	プレグナンジオール
レッサーパンダ	キンタ	우	野毛山動物園	糞	プロジェステロン
					エストラジオール17β
レッサーパンダ	ウミ	8	野毛山動物園	糞	テストステロン
レッサーパンダ	ケンケン	8	野毛山動物園	糞	テストステロン
アンデスコンドル	ジュン	3	野毛山動物園	糞	テストステロン
					エストラジオール17β
ミゾゴイ		8	繁殖センター	糞	テストステロン

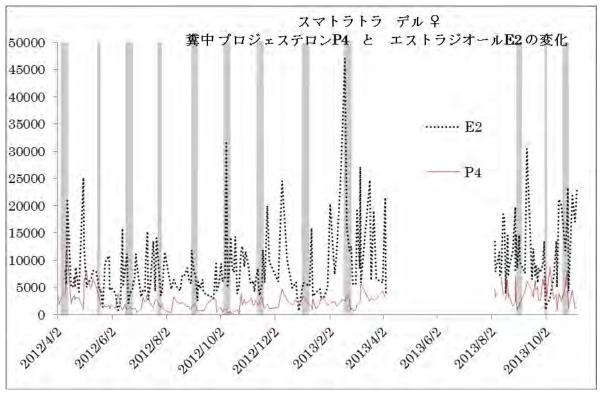


図2 テングザル No. 2♀アプル

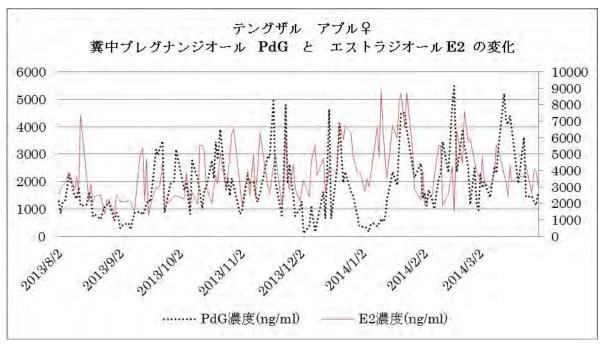


図3 オカピ♀ビディ

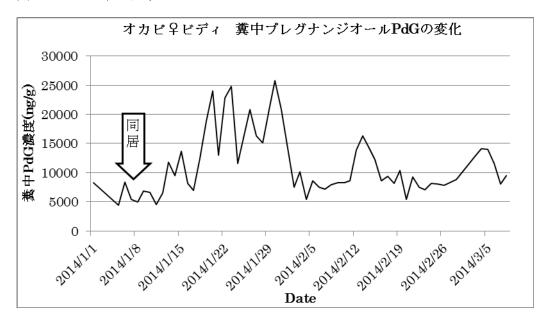


図4 レッサーパンダ ♀キンタ

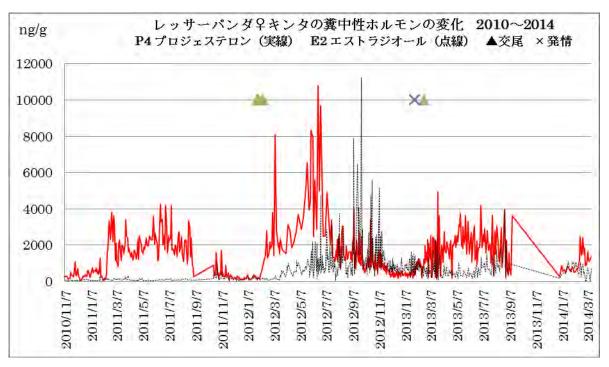


図5 レッサーパンダ みウミ

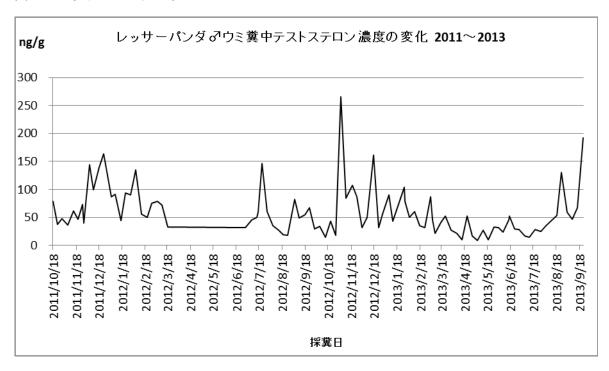
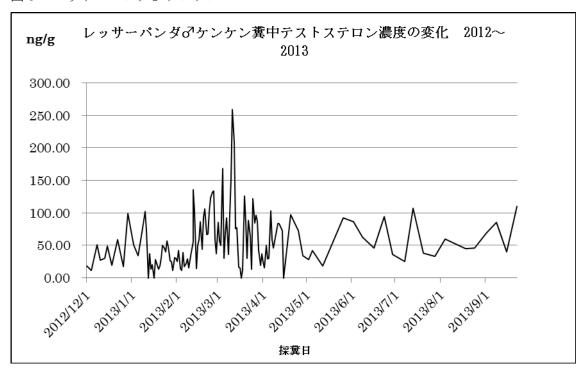


図6 レッサーパンダ タケンケン



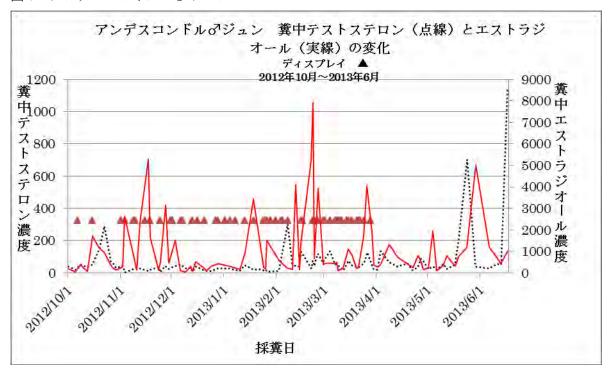
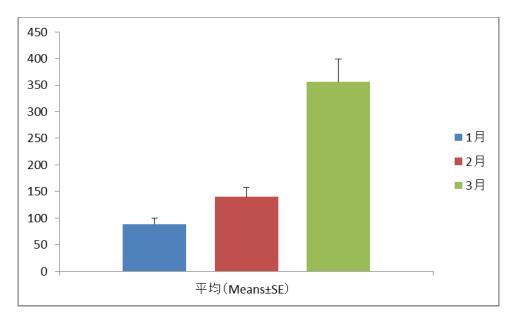


図8 ミゾゴイ



2 配偶子および体組織の凍結保存

平成 25 年度は、哺乳類 6 種の精液の凍結保存を試み、そのうち 3 種の精液を凍結保存した。精液は死亡個体の精巣上体より灌流法により回収しストローに注入後、液体窒素下 (-196 %) に保存した。また、哺乳類 8 種、爬虫類 1 種について卵子回収を行なった。しかしすべての検体において良好な卵子を回収することはできなかった

また、遺伝子保存の一環として、死亡動物の 31 種 44 点 (鳥類 17 種 20 点、哺乳類 14 種 24 点) の体組織 (筋肉、肝臓、脾臓) を-80℃下で凍結保存した。

なお、繁殖センターには平成 11 年以降精子 51 種 (ストロー数 1,230 本)、卵子 3 種 (ウンピョウ、アリクイ、インドガウル)、体組織 145 種が凍結保存されている。(26 年 3 月末)また、平成 25 年 5 月に独立行政法人国立環境研究所と研究協定を締結し、死体組織からの細胞培養に取り組んだ。国立環境研究所から供与された培地を用いて、平成 25 年度は鳥類 4 種 (スバールバルライチョウ、カンムリシロムク、フサホロホロチョウ、シマフクロウ)の細胞保存を試み、カンムリシロムクで良好な培養細胞を得ることができた。

表 1 平成 25 年度精子回収状況

種名	処理日	回収状況	,	保存状況
アカカワイノシシ	130718	潅流		_
アカカンガルー	130717	潅流		
アカカンガルー	140203	潅流		
アカカンガルー	140304	潅流	DHK698	(グリセリン)
アミメキリン	140324	_		
アミメキリン	140221	潅流	HKY (グリセリン) HF-20 (グリセリン)	
フランソワルトン	140224	_		_
ニホンザル	131129	潅流	TTE (グルセリン)
ユーラシアカワウソ	130719	_		_
表2 平成25年度卵子回収状况				
種名	処理日	回収状況	保存状況	
アフリカライオン	130813	_	_	
インドガビアル	130501	_	_	
インドライオン	130523	_	_	
ウンピョウ	140120	_		
オカピ	140201	_	_	
オグロワラビー	130601	_	_	
オセロット	131025	_		
ミナミアフリカオットセイ	130824	_		
ヤブイヌ	140131	_		

3 DNA解析

(1) 鳥類の雌雄判別

横浜市立動物園の飼育展示個体と傷病鳥獣保護個体については、17種81個体で雌雄判別を実施した。また、DNAのポジティブコントロール(PC)サンプル採取のため、他施設から5種9個体の提供を受けた。

横浜市立動物園鳥類雌雄判別および DNA 抽出件数内訳

動物園名	種名	羽数	備考
繁殖センター	スバールバルライチョウ	11	
	カグー	1	
	カンムリシロムク	13	
野毛山動物園	フンボルトペンギン	2	
	チリーフラミンゴ	8	
	ショウジョウトキ	1	
	ミゾゴイ	5	
	アカツクシガモ	8	
金沢動物園	ノスリ	1	
	ハヤブサ	1	
	オオタカ	1	
	クロエリハクチョウ	2	
よこはま動物園	エミュー	5	
	フンボルトペンギン	5	
	オウギバト	2	
	ミナミジサイチョウ	4	
	フサホロホロチョウ	6	
	ライラックニシブッポウソウ	5	

国内他施設からのポジティブコントロール(PC)サンプル提供件数

施設名	種名	羽数	備考
沖縄こどもの国	リュウキュウコノハズク	1	PC サンプル
	ズアカアオバト	3	PC サンプル
	リュウキュウアカショウビン	3	PC サンプル
	コクチョウ	1	PC サンプル
	アオサギ	1	PC サンプル

[目的] よこはま動物園で飼育されている、ベニジュケイの血統管理を目的に、同動物園の飼育個体の遺伝的多様性を解析するとともに複数羽の母親推定を実施した。

[方法]よこはま動物園で飼育されていたベニジュケイ 18 羽分の冷凍組織等から DNA を抽出した。各個体間の遺伝的関係を解明するために、ミトコンドリア DNA の D-loop 領域の塩基配列を解析した。更に核遺伝子の類縁度を把握するために、5 か所のマイクロサテライト DNA 領域の多型を解析した。

[結果]塩基配列解析の結果,よこはま動物園の飼育下ベニジュケイの D-loop 領域 386bp から 4 つのハプロタイプが確認され,それらは大きく 3 グループに分けることが可能であった。(Fig.1) しかしマイクロサテライト DNA の 5 遺伝子座による多型解析では、mtDNA で観察されたグループを確認できなかった。(Fig.2) 更に各データから母親の不確実な 5 羽の母親推定を実施した。(表 1)

[考察] 母系遺伝であるミトコンドリア DNA の系統解析からは、明瞭な3つのグループが確認されたものの、両親遺伝のマイクロサテライト DNA からは明瞭なグループは示されなかった。このことから、よこはま動物園の飼育下ベニジュケイにおいては、際立って遺伝的占有度の高い個体はいないことが示唆された。また、ミトコンドリア DNA の3 グループ間では塩基配列が明瞭に異なることから、ミトコンドリア DNA 解析が母系推定に有効であることが示唆された。

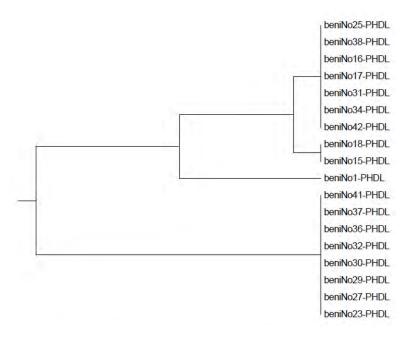


Fig.1 飼育下ベニジュケイ 18 羽の遺伝的関係 (D-loop sequences, 386bp).

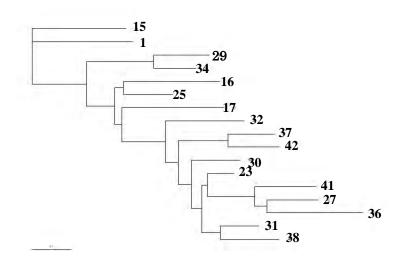


Fig.2 マイクロサテライト DNA 5 領域の多型解析に基づく飼育下ベニジュケイ 17 羽の遺伝的関係 (1 羽は解析不良のため図から除いた) 数字は個体番号。

表 1 No36-No42 の母親推定

Ind.No	TT07	(Hex)	TT080	FAM)	TT400	(FAM)	父	母	推定母親
17	169	171	161	169	192	194			
23	169	169	157	191	190	192	不明	不明	
25	171	171	169	193	192	194	不明	不明	
36	169	171	161	191	190	194	No.17	No.23or25	No23
37	169	171	169	191	192	194	No.17	No.23or25	No23
38	169	169	161	169	194	194	No.17	No.23or25	No25
41	169	171	157	161	190	192	No.17	No.23or25	No23
42	169	171	169	169	192	194	No.17	No.23or25	No25

*No38 は TT40 と TT07 の結果が不一致だが mtDNA の結果から No25 が母親と推定される

4 大学との共同研究

平成25年度、繁殖センターでは以下の大学等研究機関と共同研究を行った。

平成 25 年度共同研究

- (1) 岐阜大学応用生物科学部動物繁殖学研究室 P1 に記載済
- (2) 神戸大学農学研究科生物多様性利用科学講座 希少動物の配偶子保存に関する研究(ウンピョウ他)
- (3) 独立行政法人 国立環境研究所生物生態系環境研究センター ホオアカトキの生物資源凍結保存および希少動物の体細胞培養に関する研究
- (4) 京都大学野生生物研究センター マレーバクの嗅覚情報に関する研究
- (5) 名古屋市立大学医学研究科 霊長類配偶子の凍結保存に関する研究
- (6) 東京都市大学環境学部 カグーのホルモン動態や血液成分等に関する研究
- (7) 北海道大学獣医学研究科 希少動物の感染症研究
- (8) 広島大学理学研究科付属両生類研究施設分化制御機構研究部門 サドガエル等の配偶子保存等に関する研究

5 研究発表

平成25年度は8件の研究発表(ロ頭発表5件、ポスター発表3件)を行った。また1件の共著論文の出版があった。

- 1 第19回日本野生動物医学会大会(ポスター)
- 2 第 29 回日本霊長類学会・日本哺乳類学会 2013 年度合同大会同大会動物園水族館関連 企画 (ポスター)
- 3 平成 25 年度環境創造局職員業務研究改善事例発表会(口頭)
- 4 第61回動物園技術者研究会(ポスター)
- 5 カグーシンポジウム (口頭)
- 6 シンポジウム「身近な自然を守る」(口頭2件)
- 7 シンポジウム「サドガエルの辿った進化」(口頭)
- 8 共著論文(総説)

(平成 25 年 12 月 Chromosome Science 16: 3-9)

第 19 回日本野生動物医学会大会 ポスター発表 (平成 25 年 8 月 31 日)

ミゾゴイの遺伝的多様性の解析

○尾形光昭¹, 三田さくら^{1,2}, 大沼 学³, 渡辺 大介⁴, 松本 令以⁵(¹横浜市繁殖センター, ²仙台市八木山動物公園, ³国立環境研究所、⁴宮崎市フェニックス自然動物園, ⁵横浜市立野毛山動物園)

Studies on the genetic diversity of the Japanese night heron.

OMitsuaki Ogata¹, Sakura Mita¹², Manabu Oonuma³, Daisuke Watanabe⁴, Rei Matsumoto⁵ (¹ Preservation and Research center, city of Yokohama, ² Yagiyama Zoological Park, ³ National Institute for Environmental Studies, ⁴ Miyazaki City Phoenix Zoo, ⁵ Nogeyama Zoological Gardens)

[目的] ミゾゴイは、日本列島で繁殖するサギ科の鳥類である. ミゾゴイの生活史については未解明な点が多いとされる一方で、IUCN レッドリストで絶滅危惧種とされている. 本研究ではミゾゴイの飼育下における生息域外保全を目的に、ミゾゴイ種内の遺伝的多様性を解析した.

[材料及び方法] 神奈川県,宮崎県、沖縄県内で保護されたミゾゴイ合計 8 羽の血液および体組織から DNA を抽出し,ミトコンドリア DNA のチトクローム b 遺伝子,12SrRNA 遺伝子,ND6 遺伝子および ND2 遺伝子の部分配列(合計 1640bp)の塩基配列を解析した.得られた塩基配列を MEGA 5 によりアライメントし,ハプロタイプを決定した.更にミゾゴイに比較的近縁であるとされるゴイサギのマイクロサテライト DNA 増幅用プライマーセット 11 種を用いて,多型解析を試みた.多型解析は GeneScan 2 により行った.塩基配列解析および多型解析は ABI310 ジェネティクアナライザーを使用して行った.

[結果]ミゾゴイ 8 羽のミトコンドリア DNA から 2 つのハプロタイプが確認された.ハプロタイプ間の塩基差は 12 SrRNA 遺伝子上の 1 塩基で,収容地域間で明瞭な違いは見られなかった.一方で,ゴイサギより報告されているマイクロサテライト DNA プライマーセット 11 種類を供試したが,ミゾゴイで多型が確認されたのは 1 種類のプライマーセットのみであった.なお観察されたアリル数は 3 つであった.

[考察] 本研究では、ミゾゴイが収容された地域間において、明瞭な遺伝的違いを確認できなかった。またミトコンドリア DNA のハプロタイプ間の遺伝的違いも小さいことから、種内の遺伝的多様性が高くないことが示唆された。ミゾゴイは台湾や中国南部およびフィリピンに生息し、春から秋にかけて繁殖のために日本列島に渡来する夏鳥であるが、同じ夏鳥であるツバメ等でもの遺伝的多様性が低いことが報告されており、本研究の結果と矛盾しない。本種は絶滅が危惧される一方で、繁殖期に保護個体が動物園等に収容されることが多い。本研究の結果は、これらの保護個体を用いた飼育下繁殖による生息域外保全活動を行うに当たって、収容地域別に個体管理を行う必要性が高くないことを示唆する。今後は、多数のマイクロサテライト DNA の多型解析を行うことにより、本種の遺伝的多様性を詳細に解明し、本種の繁殖計画を策定する必要がある。

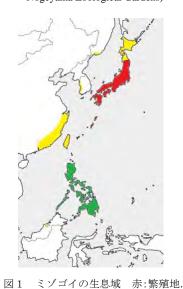
ミゾゴイの遺伝的多様性の解析

○尾形光昭¹, 三田さくら^{1,2}, 大沼学³, 渡部大介⁴, 越野慶太⁴, 桜堂由希子⁵, 松本 令以⁵(¹横浜市繁殖センター, ²仙台市八木山動物公園, ³国立環境研究所, ⁴宮崎市フェニックス自然動物園, ⁵横浜市立野毛山動物園)

Studies on the genetic diversity of the Japanese night heron.

OMitsuaki Ogata¹, Sakura Mita¹², Manabu Onuma³, Daisuke Watabe⁴, Keita Koshino⁴, Yukiko Sakurado⁵, Rei Matsumoto⁵ (¹ Preservation and Research center, city of Yokohama, ² Yagiyama Zoological Park, ³ National Institute for Environmental Studies, ⁴ Miyazaki City Phoenix Zoo, ⁵ Nogeyama Zoological Gardens)





[目的] ミゾゴイ(Gorsachius goisagi)は、日本列島で繁殖するサギ科の鳥類である(図1). ミゾゴイの生活史については未解明な点が多いとされる一方で、IUCN レッドリストで絶滅危惧種とされている. 本研究ではミゾゴイの飼育下における生息域外保全を目的に、ミゾゴイ種内の遺伝的多様性を解析する.

[材料及び方法] 神奈川県,宮崎県、沖縄県内で保護されたミゾゴイ合計8羽(図2)の血液および体組織からDNAを抽出し,の塩基配列を解析. 更にミゾゴイに比較的近縁であるとされるゴイサギのマイクロサテライトDNA増幅用プライマーセット11種を用いて,多型解析を試みた.

表:供試したマイクロサテライト DNA プライマー(Chang et al. 2009)

緑:越冬地.黄色:目撃地域.	
° R\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \	
/#\ Fift	
A TOTAL N	
i harry the state of i	
2 08	

図 2	サンプル収集地点(神奈川県、宮崎県、沖縄県)	3
地点8	8 羽の mtDNA 1640bp(cytb,12SrRNA,ND2,ND6	
の部分	}配列) で <u>変異サイトは1か所</u> のみ. 観察され <u>たハフ</u>	<u>プ</u>
ロタイ	<u> イプは2つ</u> .	

Primer	PCR	多型 (アリル数)
Nycti14	0	×
Nycti15	×	0 (3)
Nycti22	0	×
Nycti26	0	×
Nycti35	0	×
Nycti36	0	×
Nycti41	0	×
Nycti43	Δ	×
Nycti62	0	×
Nycti68	0	×
Nycti74	0	×

[考察] 本研究では、ミゾゴイが保護された地域間において、明瞭な遺伝的違いを確認できなかった。またミトコンドリア DNA のハプロタイプ間の遺伝的違いも小さいことから、種内の遺伝的多様性が高くないことが示唆された。本研究の結果は、本種の保護活動繁殖地域別に個体管理を行う必要性が高くないことを示唆する。今後は、多数のマイクロサテライト DNA の多型解析を行うことにより、本種の遺伝的多様性を詳細に解明し、本種の繁殖計画を策定する必要がある。

第29 回日本霊長類学会·日本哺乳類学会2013 年度合同大会 同大会動物園水族館関連企画

(ポスター発表)

平成25年9月6日~9月9日

飼育下テングザルの遺伝的多様性について

○尾形光昭1 清野悟2(1横浜市繁殖センター,2よこはま動物園)

Genetic variation of captive proboscis monkey

OMitsuaki Ogata¹, Satoru Seino² (¹ Preservation and research center, city of Yokohama, ²Yokohama zoological gardens)



[研究目的]よこはま動物園で飼育されている,絶滅危惧種テングザル(Nasalis larvatus) の遺伝的な血統管理を目的に,同動物園の創始個体の遺伝的多様性を解析する.

[方法]インドネシア共和国スラバヤ動物園より入園した創始個体 5 頭の血液から DNA を抽出し、マイクロサテライト DNA 4 領域の多型解析を行い、5 頭間の遺伝的な関係を調査した。 更にミトコンドリア DNA の D-loop 領域の塩基配列を解析し、NCBI データベース上のボルネオ島北部(マレー領)個体群との系統関係を解析した.

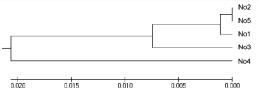


図1 テングザルの生息域

マイクロサテライト DNA 解析.() 内は野生個体 20 頭のデータ

Locus	No. of allels	He	Но
Locus 1	3 (4)	0.62 (0.58)	0.6 (0.58)
Locus 2	6 (6)	0.84 (0.79)	0.8 (0.76)
Locus 3	4 (5)	0.8 (0.66)	1.0 (0.64)
Locus 4	3 (7)	0.62 (0.69)	0.6 (0.7)
Mean.±s.d.	4±1.4	0.75±0.12	0.72±0.19

[結果] マイクロサテライト DNA4 領域からそれぞれ $3 \sim 6$ アリルが確認された.また各領域の平均へテロ接合率は、観察値と期待値で有意差がなかった (p<0.05,表). 一方、よこはま動物園 5 頭の D-loop 領域450bp から 4 つのハプロタイプが確認された(図 2).また、今回確認されたハプロタ



イプと既知のハプロタイプ間で系統解析を行った結果,よこはま動物園の4ハプロタイプは,マレーシアのハプロタイプと大きく分化していることが分かった(図3).

図 2 よこはま動物園 5 頭の D-loop 領域の近縁関係

(UPGMA)

[考察] ミトコンドリア DNA の解析から、よこはま動物園の 5 頭は、少なくとも 3 頭の異なる母親由来であることが明らかとなった。更にマイクロサテライト DNA のアリル数が野生個体のアリル数と大差ないことと、平均へテロ接合率の期待値と観察値に有意差がないことから、5 頭の出身個体群では近親交配が顕著に進行していないこと

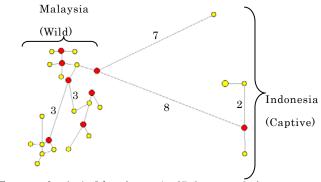


図 3 ハプロタイプネットワーク (D-loop:257bp)

が示唆された.一方で,よこはま動物園のハプロタイプは既知のハプロタイプと大きく分化していることから,テングザル種内の遺伝的多様性は低くないことが示唆された.

第61 回動物園技術者研究会 (ポスター発表)

平成26年2月19日

生息地と協働したカンムリシロムク野生復帰事業10年間の取組

○石井裕之

(横浜市立よこはま動物園・繁殖センター)

カンムリシロムクはインドネシア・バリ島の固有種で、生息地の開発や乱獲により生息数が減少し、近絶滅種に指定されている。野生では1980年代後半から生息数が100羽を下回って減少傾向が続いたため、生息地の西部バリ国立公園では、1988年から散発的に放鳥活動等を行ったが、2006年には野生の個体が確認できない状態になった。

一方、横浜市では 1976 年から野毛山動物園において本種の飼育を開始、1999 年の繁殖センター開所の際には本種を保存に取り組む種として選定し、順調に飼育下個体群を拡大してきた。2003 年に、本市とインドネシア政府との間で「野生復帰計画に関わる合意書」を締結し、2013 年までに 125 羽をインドネシアに提供してきた。また、2004 年からは JICA の支援を受け、技術支援を目的とした人材の交流を行っている。研修では、本種の飼育、診療、血統管理、環境管理、生態モニタリングの講義や実地調査を行うとともに、トキなど国内の野生復帰事業の視察等を行ってきた。さらに、遺伝的多様性の解析や地域住民との協働を進めるための環境教育活動なども協力して行っている。

これらの活動の結果、西部バリ国立公園の飼育下個体群は安定的に維持できるようになり、隣接村では本種の繁殖をともに取り組む段階にまで至っている。さらに、カンムリシロムク保護協会が設立され、インドネシア国内の個人繁殖家も含む飼育個体の個体登録が進められている。そして、昨年、インドネシア政府により、カンムリシロムク保全に関する5か年(2013-2017)計画が策定された。そのため、繁殖センターでは、2013-2014年をJICA支援による技術協力事業の最終フェーズとして、5か年計画に基づき実行される放鳥予定地の環境回復、モニタリング、放鳥等に技術協力するとともにインドネシア国内のステークホルダーが課題を共有する会議等を共催する予定である。



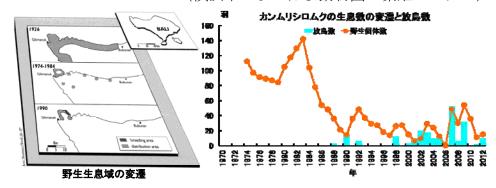
生息地と協働したカンムリシロムク野生復帰事業

10年間の取組

〇石井裕之

(横浜市立よこはま動物園・繁殖センター)

カンムリシロムクはインドネシ ア・バリ島の固有種で、生息地の開 発や乱獲により生息数が減少し、I UCNのレッドリストで近絶滅種 に指定されている。野生では 1980 年代後半から生息数が100羽を下回 って減少傾向が続いたため、生息地 の西部バリ国立公園では、1988年か



ら散発的に放鳥活動等を行っているが成果が上がらず、2006年には野生の個体が確認できない状態になった。

一方、横浜市では1976年から野毛山動物園において本種の飼育 を開始、1999年の繁殖センター開所の際には本種を保存に取り組 む種として選定し、順調に飼育下個体群を拡大してきた。2003 年 には、本市とインドネシア政府との間で「野生復帰計画に関わる 合意書」を締結し、これまでに125羽をインドネシアに送致して





きた。また、2004 年からは JICA の支援を受け、生息地における保護活動や飼育繁殖・環境保全を目的に研修員の受け入れ や専門家の派遣を行っている。研修員の受入れでは、本種の飼育、診療、血統管理、環境管理、生態モニタリングの講義や 実習を行うとともに、トキなど国内の野生復帰事業の視察等を行ってきた。専門家の派遣でも、飼育、診療などの分野で技 術支援するとともに、遺伝的多様性の解析や地域住民との協働を進めるための環境教育活動なども協力して行ってきた。

これらの活動の結果、西部バリ国立公園の飼育下個体群は安定的に維持できるようになり、国立公園に隣接する村でも住 民が本種の飼育繁殖に協働して取り組む段階にまで至っている。さらに、カンムリシロムク保護協会が設立され、インドネ シア国内の個人繁殖家も含む飼育個体の血統登録が進められている。そして、昨年、インドネシア政府により、カンムリシ ロムク保全に関する5か年(2013-2017)計画が新たに策定された。そのため、繁殖センターでは、2013-2014年を JICA 支

援による技術協力事業の最終フェーズとして、5か年計画に基づき実行される放 鳥予定地の環境回復、モニタリング、放鳥等に技術協力して野生個体群の回復を 支援するとともに、インドネシア国内のステークホルダーが課題を共有する会議 等を共催する予定である。

その他の主な成果

生息地に植樹する苗木育成技術向上、野外モ ニタリング技術向上、 遺伝的多様性の解析



われるようになった



国立公園の繁殖施設では飼育下繁殖が順調に行 地域住民も協働して飼育下繁殖に取り組み始めた



5 か年計画に基づいて行われた第 1 回放鳥セレモ

平成25 年度環境創造局職員業務研究改善事例発表会 (口頭発表)

平成25年11月12日

平成 25 年度環境創造局職員業務研究改善事例発表会(口頭発表) (平成 25 年 11 月 12 日 横浜市開港記念会館)

ニホンライチョウの生息域外保全を目的としたスパールバルライチョウの導入経過 動物園課繁殖センター 白石利郎

はじめに

横浜市繁殖センターは、横浜市立よこはま動物園ズーラシアの敷地内にある、希少動物の飼育・繁殖と種の保存に係る調査・研究を目的として作られた非公開の施設である。これまでは、インドネシア産のカンムリシロムクやマレーバク、ニューカレドニアのカグーなど、外国産希少動物の域外保全基地としての役割を担って来たが、昨年度末からは日本産希少動物の保全に係る取り組みも始めており、その一環として新たにスバールバルライチョウの導入を図った。

分類

ライチョウ(Lagopus mutus)は北半球の寒冷な地域に広く分布し、北極圏では標高の低い地域に、低緯度地方では標高の高い地域に生息し、地域によっておよそ23 亜種に分けられる。ニホンライチョウ(L. m. japonicus)もその一亜種で、本州中部の標高2,400m以上の高山帯にのみ生息しており、他の地域の亜種とは完全に隔離された世界の最南端に分布していることから、氷河期の遺存種とされている。スバールバルライチョウ(L. m. hyperboreus)は、北極圏のノルウェーのスバールバル諸島とロシアのフランツ・ヨーゼフ諸島に分布している亜種で、ライチョウの中では最大亜種とされる。

背景

ニホンライチョウは国指定の特別天然記念物(大正 12 年)、種の保存法に基づく国内希少野生動植物種(平成 5 年)であり、環境省のレッドリスト(2012)では近い将来野生での絶滅の危険性が高いとされる絶滅危惧 IB 類に指定されている。かつてニホンライチョウは、北アルプス、中央アルプス、南アルプスに分布していたが、1960年代後半には中央アルプスから姿を消し、1980年代には約3,000羽と推定されていた個体数も、現在2,000羽以下となっている。原因としては、地球温暖化に伴う植生や動物相の変化、細菌・ウイルス等の拡大、観光客やカラス・シカ等による生息環境の攪乱などが挙げられる。

このような状況の中で、環境省は昨年 10 月、ニホンライチョウの保護増殖事業計画を策定 し、生息地のモニタリングや生息環境の維持・改善、普及啓発の推進を掲げると共に、飼 育下での繁殖および絶滅地域への再導入も検討されている。

日本国内における本格的なニホンライチョウの飼育は1963年に長野県の大町山岳博物館で始められた。1970年代には累代繁殖にも成功し、1986年には5世代目まで誕生したが、

継続飼育は困難で、2004年には全ての飼育個体が死亡して40年にわたる国内での飼育活動は中断された。同博物館ではその翌年にライチョウ保護事業計画策定委員会を立ち上げて、今後のライチョウ保護に関する提言をまとめたが、その中で、ライチョウの飼育技術を確立することがこの鳥の保護の観点から重要であること、その第一段階として外国産亜種を用いて人工繁殖技術を確立し、第二段階で日本の野生個体を飼育下に取り込んで生息域外保全を行うことが示されている。これを受けた形で、2008年に上野動物園がノルウェーのトロムソ大学極生物学研究部門からノルウェー産の亜種、スバールバルライチョウの受精卵を導入して国内での飼育を開始した。その後、2010年には富山市ファミリーパークでも同大学から受精卵を輸入して繁殖させ、これらの繁殖個体の飼育を2011年から、石川県立いしかわ動物園や長野市茶臼山動物園、東京都多摩動物公園でも始めており、各園が連携してライチョウの飼育管理技術・繁殖技術の確立、健康管理技術の確立等を目指している。

横浜市繁殖センターへの導入

横浜市繁殖センターでは、国内で6番目の飼育施設として、2013年3月24日に富山市ファミリーパークから雄1羽、雌1羽のスバールバルライチョウの導入を図った。暑熱刺激や感染症に弱いライチョウを飼育するため、導入に際しては飼育施設内にクーラーを設置すると共に、舎内の消毒を徹底した。また、北極圏に生息するスバールバルライチョウの繁殖を促すため、人工照明による日照管理を行ない、繁殖期に向けて長日刺激を与えた。

飼育上の問題点

国内でスパールバルライチョウの飼育をする上で、現在次のような問題点が指摘されている。

- (1) ライチョウ用の飼料として、低蛋白高繊維であるウサギ用ペレットが代用食として用いられているが、これが適切か否かの評価が充分になされていない。
- (2) 国内におけるスパールバルライチョウの産卵数は最大で41個、平均で24.3個と異常に多く、卵殻が無い軟卵などの異常卵もしばしば見られる。
- (3) 国内におけるスパールバルライチョウの受精率は平均で22.4%、孵化率は11.38%と極端に低い。
- (4) しばしば下痢や食滞などの症状を呈する。緑膿菌症など、常在菌の感染による死亡例が見られる。

繁殖センターでの改善点

繁殖センターでは、これまでに指摘された問題点を解決するために、以下のような改善を 試みた。

(1) 繁殖率を向上させるため、繁殖期に高蛋白飼料を給与。

- (2) 受精率の向上と超過産卵抑制のため、ケージ飼育から小間飼育に変更し、自然抱卵による繁殖を促す。
- (3) 食滞予防のため、果物類や木の葉等の給与。

飼育経過および繁殖成績

導入した雌は 6 月 2 日に産卵を開始した。その日から 4 日間、一日 $0.5 \sim 1.5$ 時間雌雄を同居させ、更に 6 月 16 日 ~ 18 日の 3 日間、一日 $2.5 \sim 3$ 時間同居させた。最初に産んだ 10 卵を孵卵器に入れ人工孵化とし、残りを自然抱卵で親鳥に育てさせることにした。親鳥が抱卵したのは 15 卵だった。

解卵器へ入れた 10 卵のうち 5 卵が孵化したため人工育雛で育てた。自然抱卵では、抱卵開始から 28 日目に 4 羽が孵化したが、3 羽は初期段階で圧死してしまった。残る 11 卵のうち有精卵は 7 卵で、このうち発生後期卵を孵卵器に入れたところ 2 羽が孵化したため、親鳥につけて育てさせ、3 羽が育った。



スバールバルライチョウの雛

人工孵化と自然抱卵を合わせるとこのペアの有精卵率は 68.0%だった。ただし、産卵してから雌雄を同居させて、4 卵目から受精したことが分かっているので、これを差し引くと有精卵率は 77.2%となった。

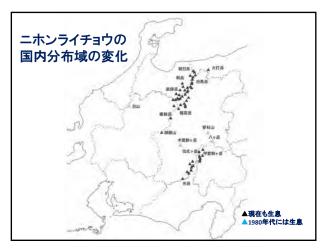
今後の展望

今後は、繁殖率を向上させるだけでなく、人工授精などの技術や、配偶子保存・体細胞保存など遺伝子保存技術の確立を目指すと共に、大学などの研究機関と共同で病理診断や感染症対策なども進めていきたい。













日本におけるライチョウの飼育

- > 1963年 長野県大町山岳博物館での平地飼育開始
- ▶ 1966年 富山県が立山で人工飼育を開始
- ▶ 1970年 大町山岳博物館で三世の誕生
- ▶ 1971年 富山県での人工飼育終了
- ▶ 1984年 大町山岳博物館で五世の誕生
- > 2004年 大町山岳博物館で最後の個体死亡 ライチョウ保護事業策定委員会設置
- 2008年 上野動物園がノルウェーのトロムソ大学よりスバールバルライチョウの導入
- ▶ 2010年 富山市ファミリーパークが同大学より導入
- > 2013年 国内6番目のスパールバルライチョウ飼育施設として 横浜市繁殖センターで導入



スバールバルライチョウ飼育上の問題点

- ▶飼料として用いているウサギ用ペレットが適切かどうかの栄養学的評価がなされていない
- ▶産卵数が最大41個、平均で24.3個と異常に多い
- ▶卵殻のない軟卵などの異常卵がしばしば見られる
- ▶受精率が平均22.4%、孵化率が11.4%と極端に低い
- ▶下痢や食滞などの症状をしばしば呈する
- > 感染症等による死亡率が高い

横浜市繁殖センターでの改善点

- >繁殖率向上のため、繁殖期に高蛋白飼料を給与
- ≫受精率向上とストレス軽減のため、ケージ飼育から小間飼育 に変更
- ▶超過産卵抑制のため、自然繁殖による孵化を促す
- ▶食滯予防のため、果物類や木の葉等の給与











繁殖成績

- ▶人工孵化(10卵) 有精卵数 6 孵化数 5
- ▶自然繁殖(15卵) 有精卵数 11 孵化数 6
- ▶全体(25卵)

有精率(有精卵数/全産卵数×100)=68.0% 有精率(有精卵数/交尾受精後卵数×100)=77.2% 孵化率(人工孵化数/有精卵数×100)=64.7%

今後の課題

- >繁殖率の向上
- >人工授精の技術確立
- 配偶子の凍結保存、体細胞保存など遺伝子保存技術 の確立
- >病理診断・感染症対策

カグーシンポジウム (ロ頭発表) 平成25年9月7日 カグーシンポジウム (口頭発表) (平成 25 年 9 月 7 日 立教大学池袋キャンパス)

国際保護鳥カグーの保護と国内におけるカグーの飼育

横浜市繁殖センター 白石利郎

カグー(*Rhynochetos jubatus*)は南太平洋の島ニューカレドニアの固有種で、1950 年代から既に絶滅が危惧されていた希少種である。生存が脅かされるようになった主な原因は、鉱山開発による環境破壊、狩猟圧、外来動物の侵入などで、このためニューカレドニア南部州政府では、1972 年にカグーの狩猟、捕獲、飼育を規制する法律を設け、1980 年には州立公園を整備するなど保護政策を進めてきた。

今からおよそ 25 年前の 1989 年 5 月、横浜市の市政 100 周年、開港 130 周年を記念して、ニューカレドニア南部州政府から 1 ペアのカグーが横浜市へ寄贈され、国内での本格的な飼育が始められた。当時、海外の動物園でもほとんど飼育されていなかったカグーだが、翌年には横浜市の動物園で繁殖にも成功した。その後も継続して繁殖に取り組み、その実績が評価されて、1997 年にはニューカレドニアからアメリカやドイツの動物園へも輸出されるようになった。飼育下での繁殖には未だ課題も多いが、横浜市の動物園では海外とも連携しながら、積極的にカグーの生息域外保全に取り組んでいる。



















国際保護鳥とは

- 1949年のUNESCOとIUCNの会議において、ICBPの提言で選ばれた絶滅の危機に瀕している鳥13種その後、追加と削除がなされ、最終的に1960年までに指定された13種が該当
- ・ 以降、50年以上にわたり改定されていない

該当種:













SUBORDER: RHYNOCHETI

Genus: Rhynocheus

aux & de sta Murs.)

bird, widely distributed over the whole of New Caledonia. The introduction by Europeans of cats, dogs,
opins and rast to the island, and the gradual clearing
tist forest habitat, has had a disastrous effect on this
eving are spread.

Billions flightless bird, and its numbers have been so
esteromation. Apart from being an easy prey to preted during display,
al red. Her similar.

Let Mer similar.

aratively common

hardively common

hardively common the market of these interesting birds is to be realized,
hardively common

hardively common the market of these interesting birds is to be realized,
hardively common

hardively common the market of these interesting birds is to be realized,
hardively common the market of these interesting birds is to be realized, extermination. Apart from being an easy prey to dators, it lays only one egg per season, and incubat takes a long time, some 56 days. It has been be captivily, but these successes are rare and of no para assistance in preserving the species. If any increas reprotection must be made completely effective. The likely method of ensuring success would be to intro-several breeding pairs to some other, suitable true island, which has not been colonised and is fre predactors, as has been done with the Birds of Para on Little Tobago. Kagus inhabit humid forests and are largely noctur feeding on insects, Jarvae and worms which they on, or in, the ground. Their long pointed and sign on, or in, the ground. Their long pointed and sign on insects, Jarvae and worms which they on, or in, the ground. Their long pointed and sign into the soft, damp earth, and the long, sili-like nor are protected by being almost completely covered. The nest is placed on the ground and is constructe takes and the silication. The chicks, which are well con with mottled brown and yellow down, are said to main in the nest for a considerable period.

Kagus are related to the rails and sun bitterns, an explicitly they do well on a diet of minocd raw in explicitly they do well on a diet of minocd raw in

na Hook-billed Kingfisher ブッポウソ

全長約 25cm。頭上と頸は黒色で羽縁が 淡青色。背・肩羽・翼は黒く、各羽に黄色い 斑点がある。尾は褐色味のある黒色。下面と 以自かの 男子の 歌いが、けつかり、現といい。
現点がある。尾は褐色味かある黒色、下面と頸の側面は白い。
嘴は黒色で下嘴は白点が。足は灰色。
螺は進むなが頭上は黒く、終色
あないは淡黄色の小野かを利の大端にある。
ニューギニアとの属島に分布し、低地から標高
1,200mの森林に生息。
人をあまり恐れない。
夜行性で、夜間に特徴のある声でよく鳴くといれる。
林内の落葉の中をあるったり、地面を掲って昆虫・カエルなど食べる。
カギパシトビ
Chondrohierax uncinatus
Hook-billed Kite
ワシカ目ワシカカ科
全長 35~38cm と小型で、翼長 26.5
~32.1cm、尾長 17.3~22.8cm、体重約
60g。
和名のように上嘴が鋭く下に湾曲して、それが長く大きい。
茶褐色型が普通のタイプで、頭は濃黒灰
現色
上面は濃素褐色、足は灰色で数本の
黒帯がある。
戦から下腹まで栗茶色の太い横

黒帯がある。喉から下腹まで栗茶色の太い横縞がある。虹彩は灰白色。 黒色型は全身が 真黒で、尾に1本の灰色の帯が目立つ。アメリカのテキサス州からメキシコ・キューバ・ペルー・ボリ カラー Rhynochetos jubatus Kagu

19日 - Knynochetos Juodus Kagu 9 トロケー科 [E] 全長約56cmで、雄は雌より大きい。雌雄同色。全身が淡灰色で背と尾はやや褐色がかる。後郷から後頸毛及が記引がある。風切には黒色・白色おび栗色の横斑があり、翼を 開くと目立つ。嘴と足は橙赤色で長い。虹彩 は赤色。南西太平洋のニューカレドニア島特 産。以前は島全域に分布したが、今日では人が近づかない山地の原生林に限って分布し、絶 がたよれている。こっケル採掘のための森林 伐採や輸入されたイヌ・ネコなどによる捕食が減 少の主因とされる。飼育は比較的やさしく、飼 少の土田などれる。即同は12年以下とし、、即 育下での繁殖例が知られる。果は地上に枝と 葉で造り、淡黄褐色に灰色と褐色の斑のある 卵約62×45mmb1個廃在した。 単文代で約35日行う。野生では主に夜行 性といわれ、カタフムリ・ミズ・カエル・昆虫などを 食べる。あまり飛ぶことはできない。

展へる。あまり飛ぶことはできない。 属名はギリシア語で鼻に長い毛のある(鳥)の 意で、おそらく後頭にある長い冠羽に由来。種 小名はラテン語でたてがみのあるの意。 英名・和 名は鳴き声に由来するニューカレドニア原住民の 呼称。和名はカンムリサギモドキともいう。ワシン トン条約附属書 1 適用鳥。 🧳 45













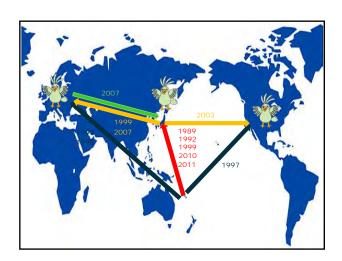




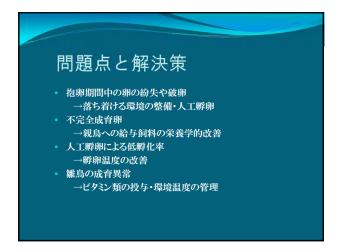


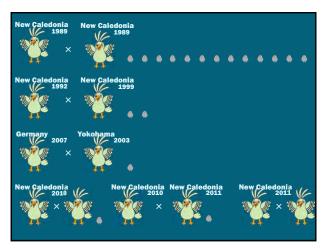


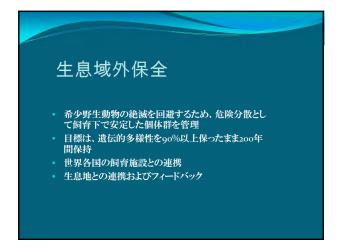














シンポジウム「身近な自然を守る」 (ロ頭発表2件) 平成26年3月8日

シンポジウム 身近な生き物を守る(口頭発表) (平成26年3月8日 横浜市開港記念会館)

ニホンライチョウの保全に向けて

動物園課繁殖センター 白石利郎

ライチョウ(Lagopus mutus)は北半球の寒冷な地域に広く分布し、北極圏では標高の低い地域に、低緯度地方では標高の高い地域に生息し、地域によっておよそ 23 亜種に分けられています。ニホンライチョウ(L. m. japonicus)もその一亜種で、本州中部の標高 2,400m以上の高山帯にのみ生息していて、他の地域の亜種とは完全に隔離された世界の最南端に分布していることから、氷河期の遺存種と言われており、国指定の特別天然記念物になっています。かつてニホンライチョウは、北アルプス、中央アルプス、南アルプスに分布していましたが、1960 年代後半には中央アルプスから姿を消し、1980 年代には約 3,000 羽と推定されていた個体数も、現在 2,000 羽以下となり、環境省のレッドリストでは近い将来野生での絶滅の危険性が高いとされる絶滅危惧 IB 類に指定されています。原因としては、地球温暖化に伴う植生や動物相の変化、細菌・ウイルス等の拡大、観光客やカラス・シカ等による生息環境の攪乱などが挙げられます。このような状況の中で、環境省は 2012 年 10 月、ニホンライチョウの保護増殖事業計画を策定し、生息地のモニタリングや生息環境の維持・改善、普及啓発の推進を掲げると共に、生息域外(飼育下)での保全に動物園と協力して取り組んでいくことになりました。

これに先駆けて 2008 年に東京都上野動物園では、ノルウェーのトロムソ大学極生物学研究部門からノルウェー産の亜種、スバールバルライチョウの受精卵を導入して、ニホンライチョウ飼育のシュミレーションとして国内での飼育を開始しました。その後、2010 年には富山市ファミリーパークでも同大学から受精卵を輸入して繁殖させ、これらの繁殖個体の飼育を 2011 年から、石川県立いしかわ動物園や長野市茶臼山動物園、東京都多摩動物公園でも始めています。横浜市繁殖センターでは、国内で 6 番目の飼育施設として、2013 年3 月から 1 ペアのスバールバルライチョウを導入して飼育を始め、6 月から 7 月にかけて人工孵化および自然繁殖により雛を成育させることが出来ました。しかし、全体的に産卵異常や肥満、疾病など問題も多く、取り組まなければならない課題は数多く残されています。横浜市繁殖センターでは、これからも各動物園と連携しながらニホンライチョウの生息域内保全を目指して取り組んでいきたいと思います。



人工育雛で育ったスパールバルライチョウの雛





































サドガエルの辿った進化

横浜市繁殖センター 尾形光昭

2012年12月7日、新潟県佐渡島に生息するカエルが「サドガエル」(Glandirana susurra)として新種に認定されました。南西諸島を除く日本列島では実に22年ぶりとなるカエルの新種であり、なおかつ佐渡島の脊椎動物では唯一の固有種です。

サドガエルは近縁種で日本列島に広く生息するツチガエル(*G.rugosa*)に似ていますが、ツチガエルに比べ腹部が鮮やかな黄色を呈すること、両者で鳴声が明瞭に異なることなどの特徴があります(下図)。

一方、ツチガエルは日本国内で複数の集団に分かれています。興味深いことに、サドガエルは対岸の越後平野に生息するツチガエルではなく、遠く離れた関東平野のツチガエルに最も近縁です。そのうえ不思議なことに、佐渡島には越後平野に生息するツチガエル集団も生息するのです。以上から、現在、関東平野に生息しているツチガエル集団は、過去には佐渡島を含め東日本に広く生息していたこと、そして佐渡島が本州から分離した後、佐渡島内でサドガエルへと進化したことが示唆されます。更にその後、越後平野など北日本の日本海側には、関東集団とは別のツチガエル集団が侵入し、その一部が佐渡島にも分布を拡大したことが示唆されます。

サドガエルの発見は、生物多様性に関して重要なことを私たちに示唆します。それは、比較的目につきやすい脊椎動物でさえ、まだ知られていない新種が日本国内に生息する可能性があると言うことです。事実、サドガエルが新種記載された 2012 年には、日本列島内のトカゲやメダカから新種が報告されました。そのため、サドガエルは、未記載の新種が存在する可能性を踏まえた上で、生物多様性を保全する必要があることを示す一つの好例と考えられます。









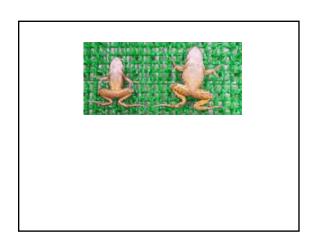
上:サドガエル、下:ツチガエル 右は鳴き声の波形

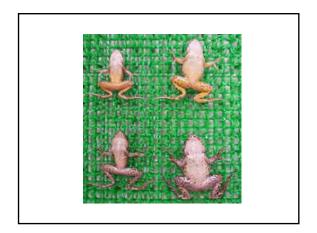
サドガエルの辿った進化

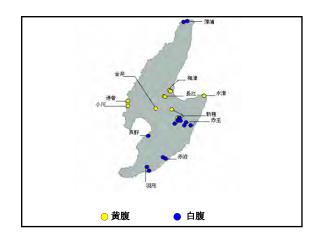
横浜市繁殖センター 尾形

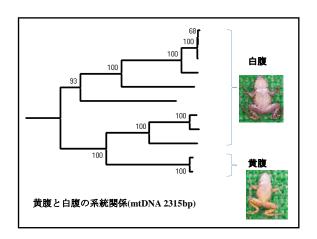


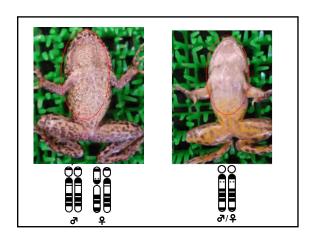


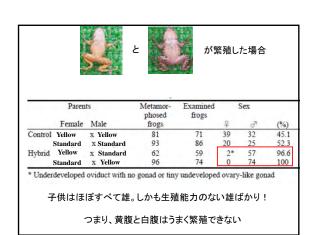






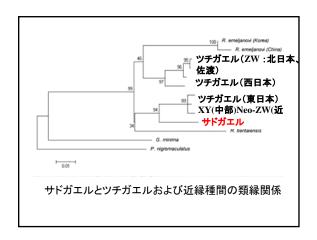




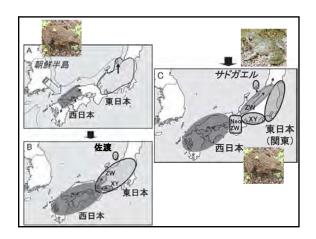














2012年に新種記載された脊椎動物 (日本国内のみ)

- ◆魚類 キタノメダカ
- ◆爬虫類 ヒガシニホントカゲ
- ◆両生類 キタオウシュウサンショウウオ サドガエル

ご清聴ありがとうございました

シンポジウム「サドガエルの辿った進化」 (ロ頭発表) 平成25年7月28日

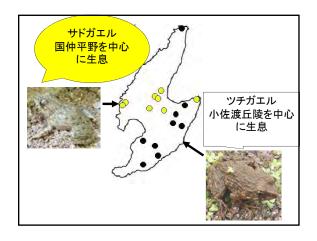


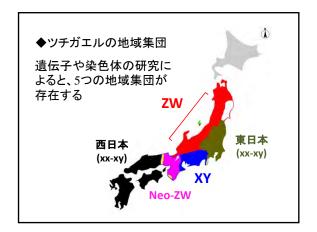




◆触ると臭い! ◆北海道やハワイに も人為的に生息地を

拡大

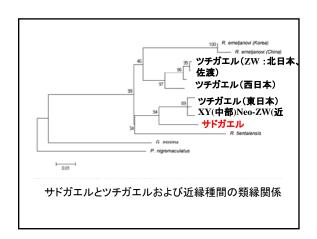


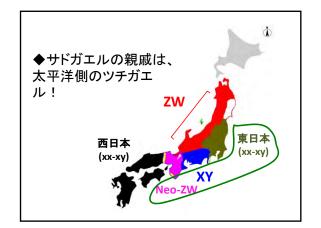


佐渡島の両生類 ニホンアマガエル、ヤマアカガエル、モリアオガエル、アカハライモリ、クロサンショウウオ ↓ 全て本州にも棲息(佐渡固有ではない) なぜサドガエルは進化したのか?

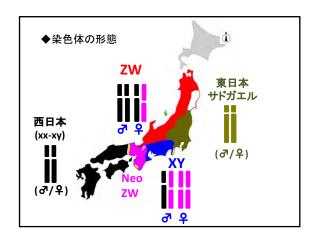
サドガエルの進化における謎

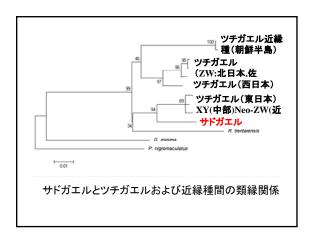
- 何者なのか・・・謎その1
- どこから来たのか・・・謎その2
- ・なぜ、鳴き声が特徴的なのか・・・謎その3
- なぜ、お腹が黄色なのか・・・謎その4







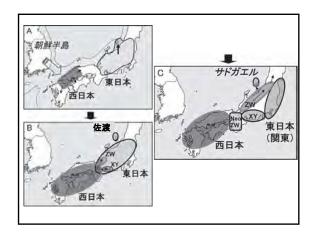




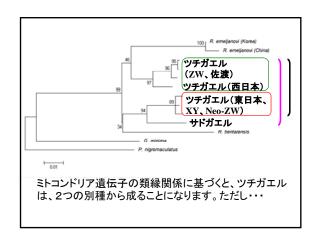


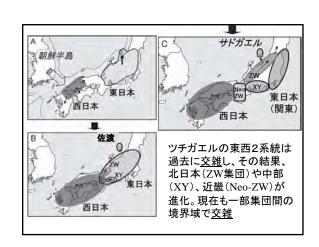
サドガエルとツチガエルの関係

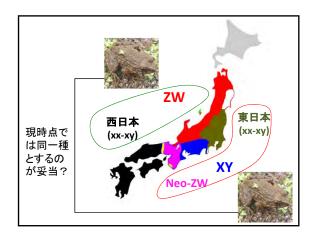
- ツチガエルは「東日本-近畿」「西日本-北日本」の2グループに分かれる。
- サドガエルはツチガエルの「東日本-近畿」 グループの親戚
- 佐渡島のツチガエルは西日本-北日本グループ
- 西日本-北日本グループは朝鮮半島のツチガエル近縁種の親戚

















共著論文

Chromosome Science 16:3-9

平成25年12月

 $https://www.jstage.jst.go.jp/article/scr/16/1\%2B2/16_3/_pdf$

上記URLで公開