

平成 24 年 4 月 27 日

横浜市繁殖センター

平成 23 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、カゲ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 23 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。

<内容要約>

平成 23 年度は、希少野生動物の精子 2 種、体組織 20 種 34 点の凍結保存を行なった。また、よこはま動物園および野毛山動物園で飼育されている 8 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 関連研究として飼育鳥類 4 種について DNA による雌雄判別を行った。さらに、飼育動物 5 種について mtDNA やマイクロサテライト DNA による遺伝的多様性解析を行った。また、野生動物関係の研究とし佐渡島固有の両生類に関する分類学的研究を行なった。

<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 | ・・・P1 |
| (2) 配偶子および体組織の凍結保存 | ・・・P13 |
| (3) 動物の各種 DNA 解析 | ・・・P14 |
| (4) 大学との共同研究 | ・・・P17 |
| (5) 学会等発表資料 | ・・・P18 |

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 23 年度は、よこはま動物園および野毛山動物園で飼育されている 11 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、ホッキョクグマ、ゴールデンターキン、ツシマヤマネコ、インドゾウ、インドサイ、メガネグマ、アミメキリン、シロイワヤギ、アラビアオリックス、レッサーパンダの糞中ステロイドホルモン(もしくは血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23年度 性ホルモンの測定結果

繁殖センター

佐藤英雄

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や血清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整理を解明し、その飼育管理を改善することにある。

平成 23年 3月 31日現在、繁殖センターで性ホルモンを測定した動物は表 1 の通りである。この他に採材している動物の性ホルモンの測定は、岐阜大学にお願いしている。また、野毛山動物園のレッサーパンダ ウミ♂およびキンタ♀（2010年11月～2011年9月分）は神戸大学と協力して、繁殖センターで測定を行った。

性ホルモンは自家製キットを使用して、♀はプロジェステロン（P4）とエストラジオール17β（E2）を、♂はテストステロンを測定した。

測定値をグラフ化したものを図 1 から図17に示した。

なお、膨大な数のサンプルの処理には、繁殖センター研究ボランティアの皆さんの協力が不可欠であったことを付け加えておく。

表1 H23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	個体名（個体番号）	性別	所属園	検体	測定ホルモン
キノボリカンガルー	No, 3 No, 5	♀	よこはま	糞	プロジェステロン エストラジオール 17β
スマトラトラ	デル	♀	よこはま	糞	プロジェステロン エストラジオール 17β
オセロット	ロリ	♀	よこはま	糞	プロジェステロン エストラジオール 17β
ウンピョウ	アニル	♀	よこはま	糞	プロジェステロン エストラジオール 17β
シシオザル	リジー エブリ	♀	よこはま	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 No, 5	♂	よこはま	血液	テストステロン
レッサーパンダ	キンタ	♀	野毛山	糞	プロジェステロン エストラジオール 17β
	ウミ	♂	野毛山	糞	テストステロン
シマウマ	キャンディー	♀	野毛山	糞	エストラジオール 17β (プロジェステロンは測定済み)
動物種	個体名（個体番号）	性別	所属園	検体	測定ホルモン
ライオン	シンク	♀	野毛山	糞	エストラジオール 17β (プロジェステロンは測定済み)
シロテテナガザル	インタン	♀	金沢	尿	エストラジオール 17β
マレーバク	ジュムリ	♂	繁殖センター	血液	テストステロン
	ブレンディング	♂	繁殖センター	血液	テストステロン
	ラバチョ	♂	繁殖センター	血液	テストステロン
	ノジアマ	♂	繁殖センター	血液	テストステロン
	ラバチョ	♂	繁殖センター	血液	テストステロン
	タケコ	♀	繁殖センター	血液	プロジェステロン
	ミミ	♀	繁殖センター	血液	プロジェステロン

図1 キノポリカンガルー No, 3♀

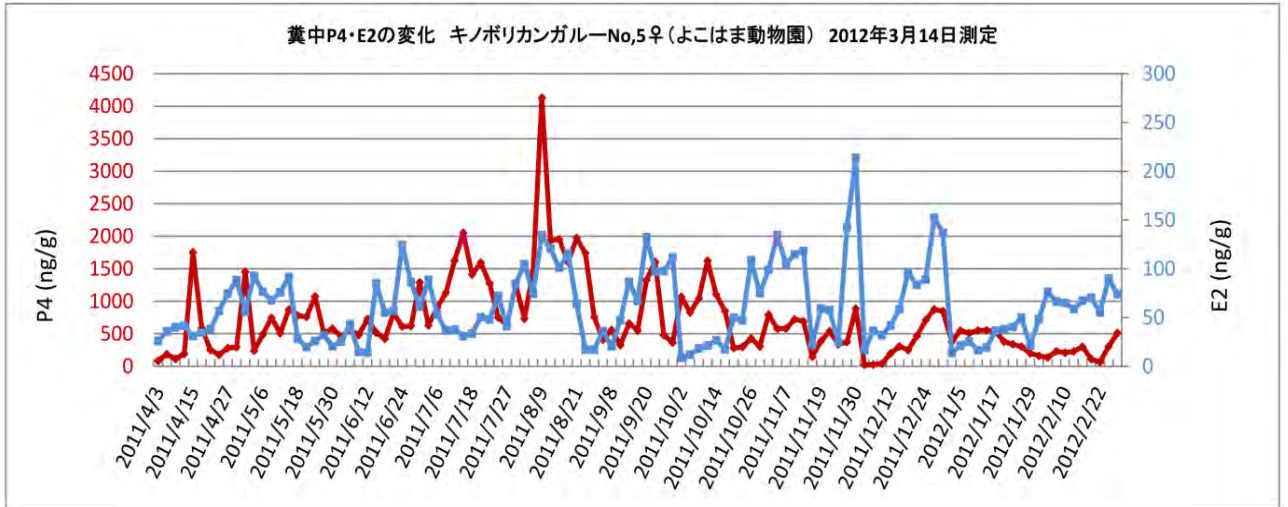


図2 キノポリカンガルー No, 5♀

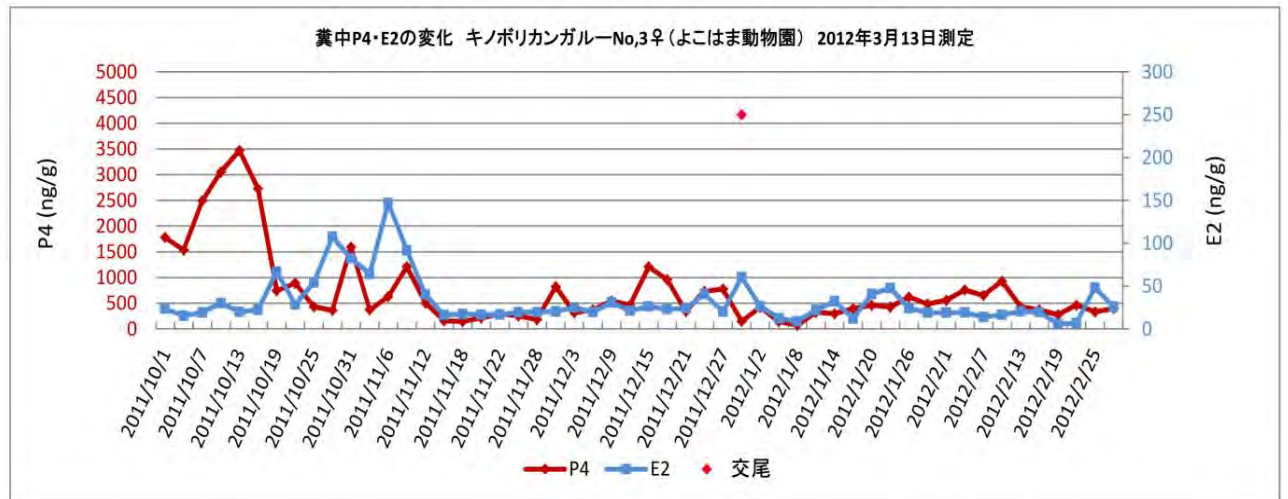


図3 スマトラトラ デル♀

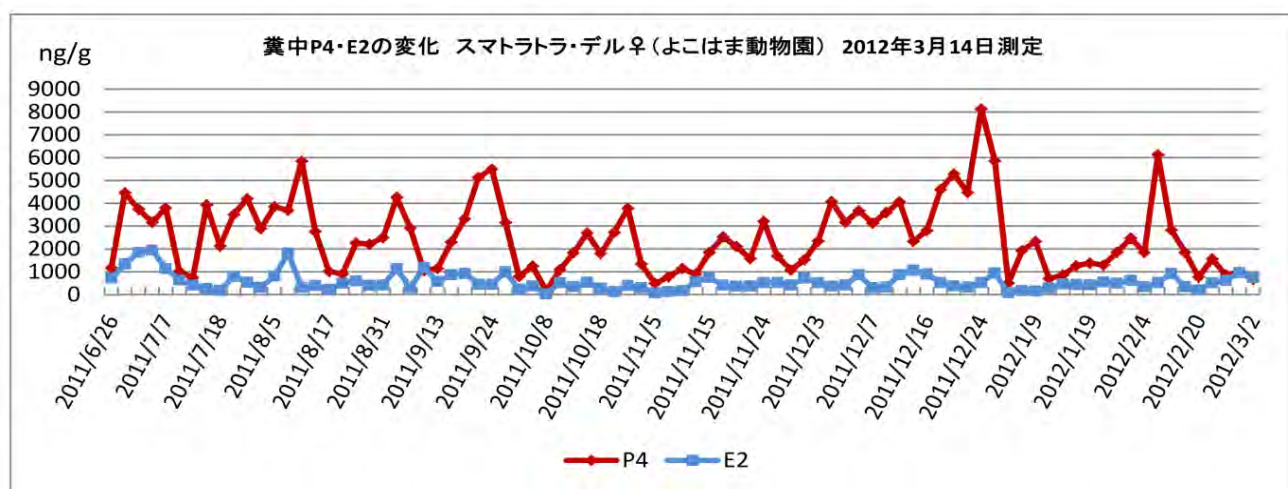


図4 オセロット ロリ♀

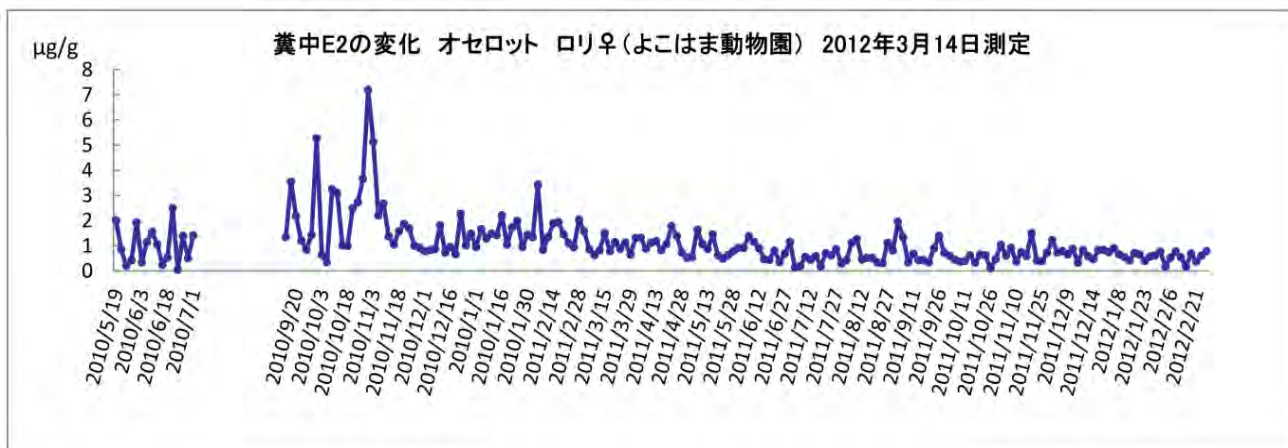


図5 ウンピョウ アニル♀

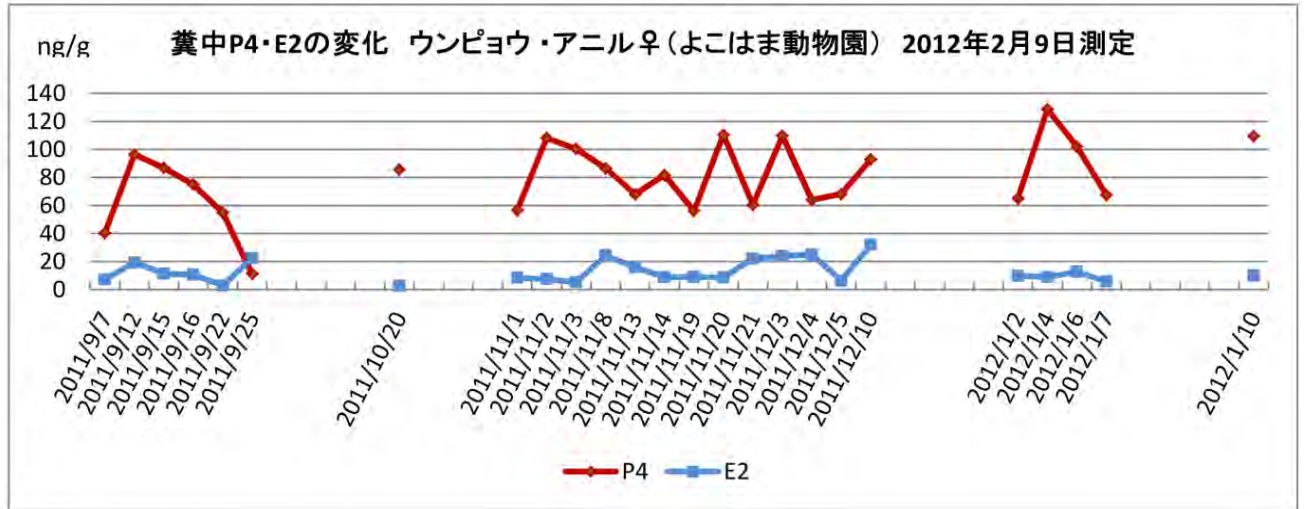


図6 シシオザル リジー♀、エブリ♀

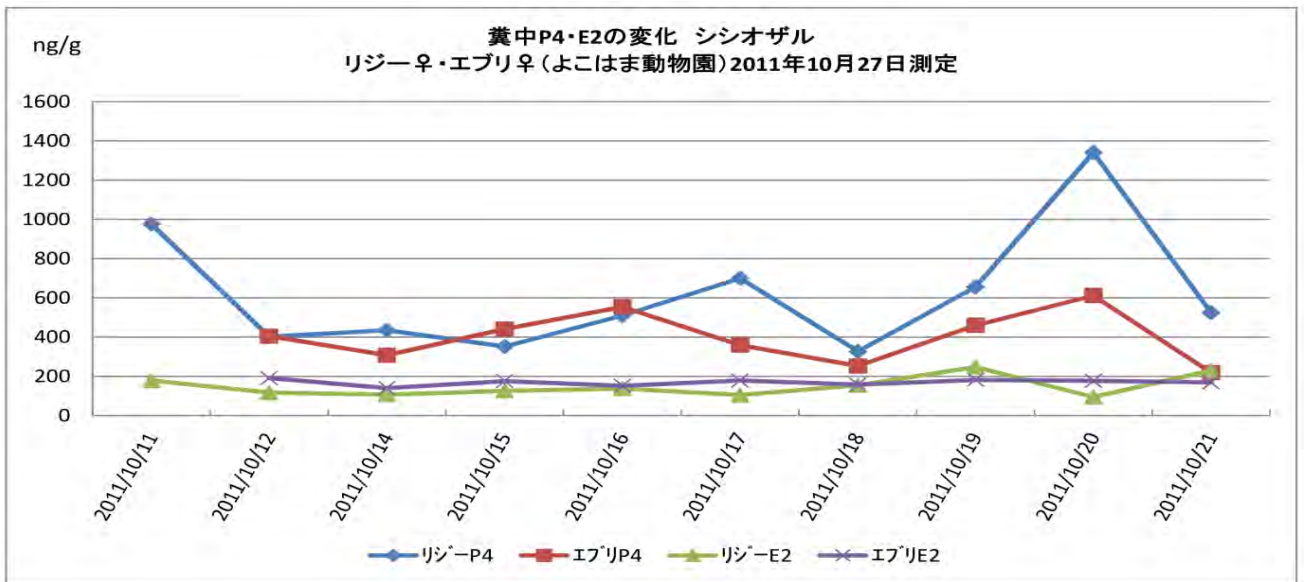


図7 テングザル No, 3♂、No, 5♂

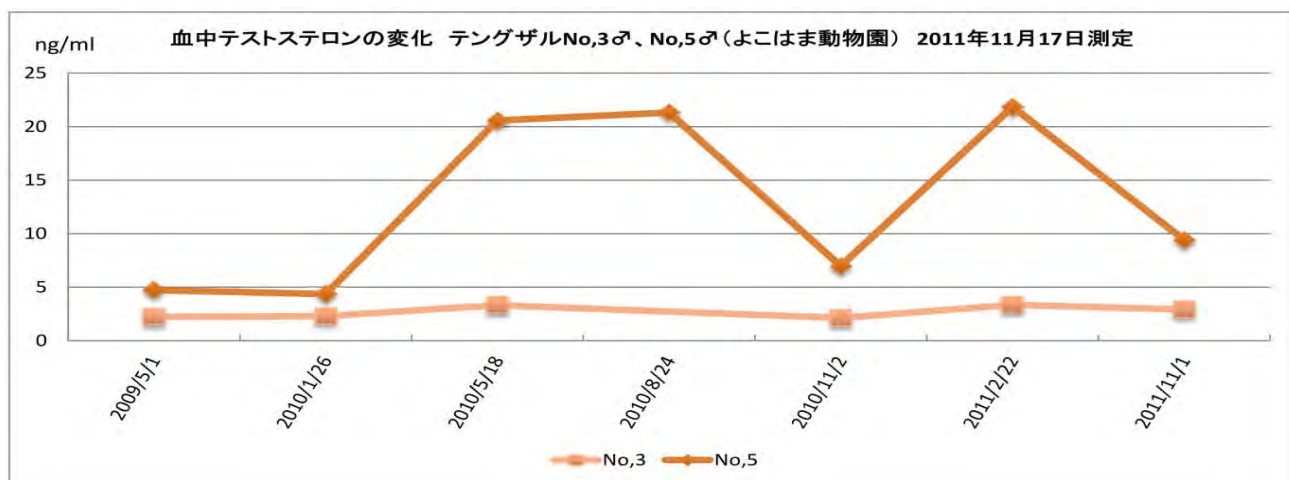


図8 レッサーパンダ ウミ♂

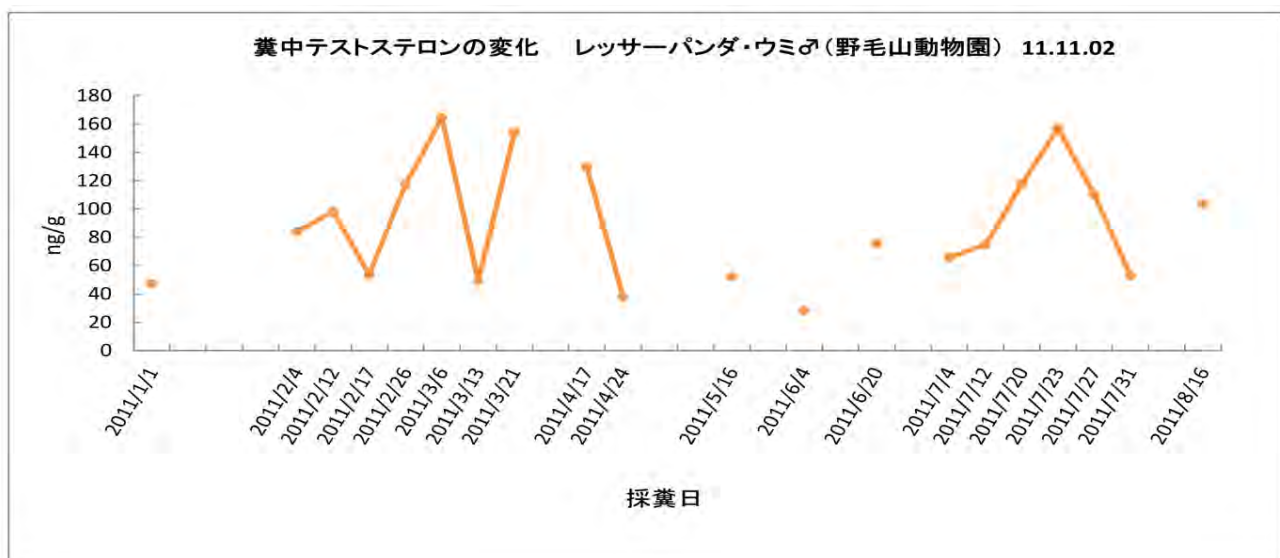


図9 レッサーパンダ キンタ♀ 2010年11月～2011年9月

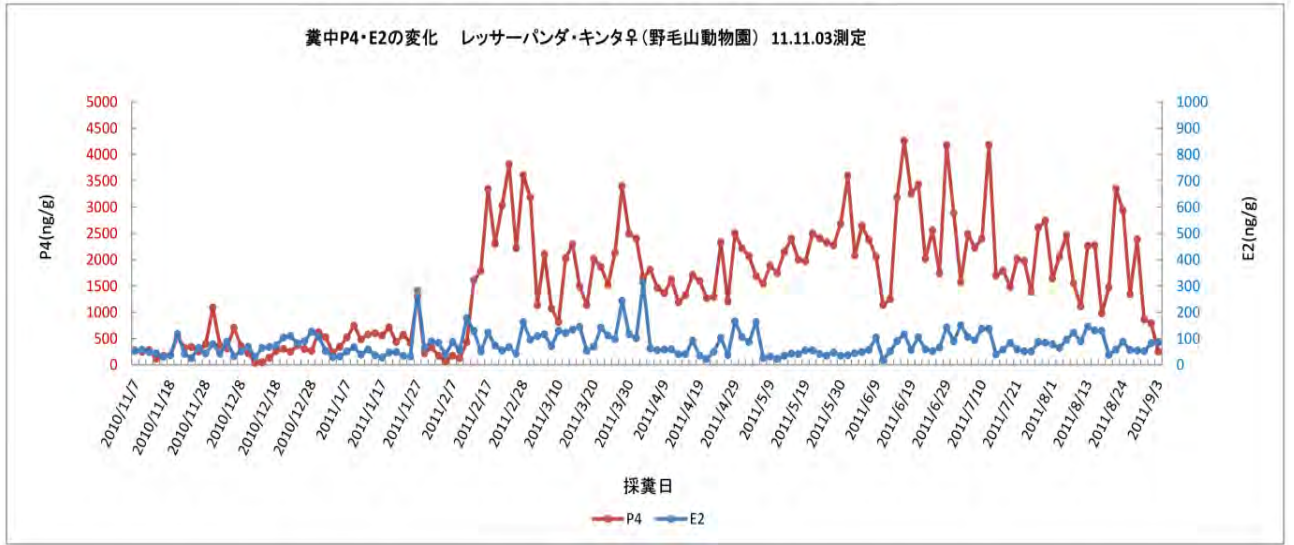


図10 レッサーパンダ キンタ♀ 2011年10月～2012年3月

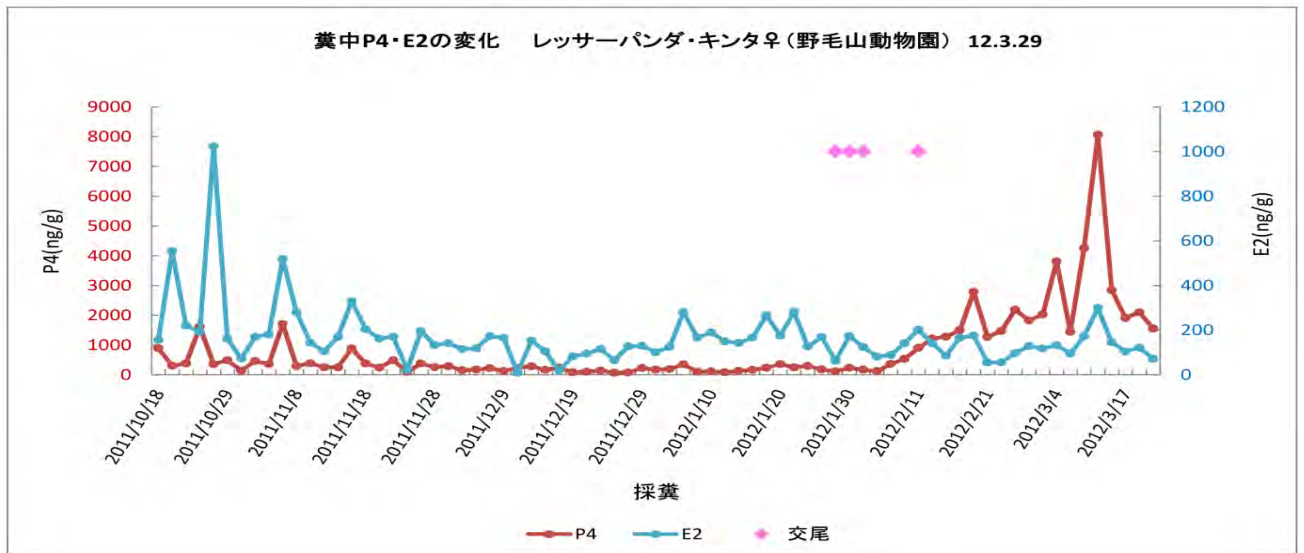


図 11 シマウマ キャンディー♀

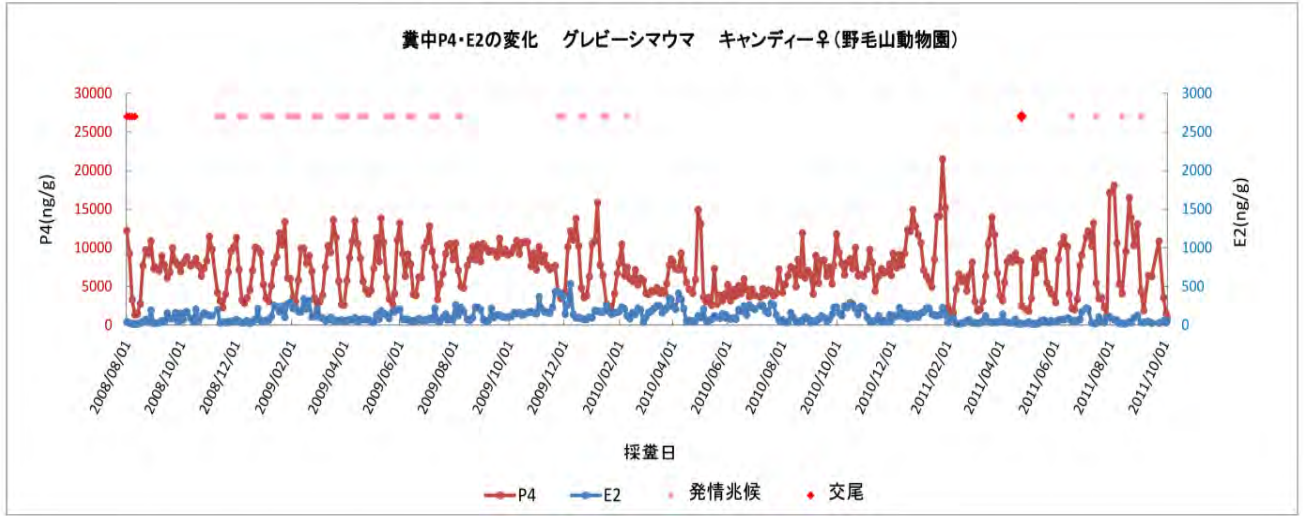


図 12 ライオン シンク♀

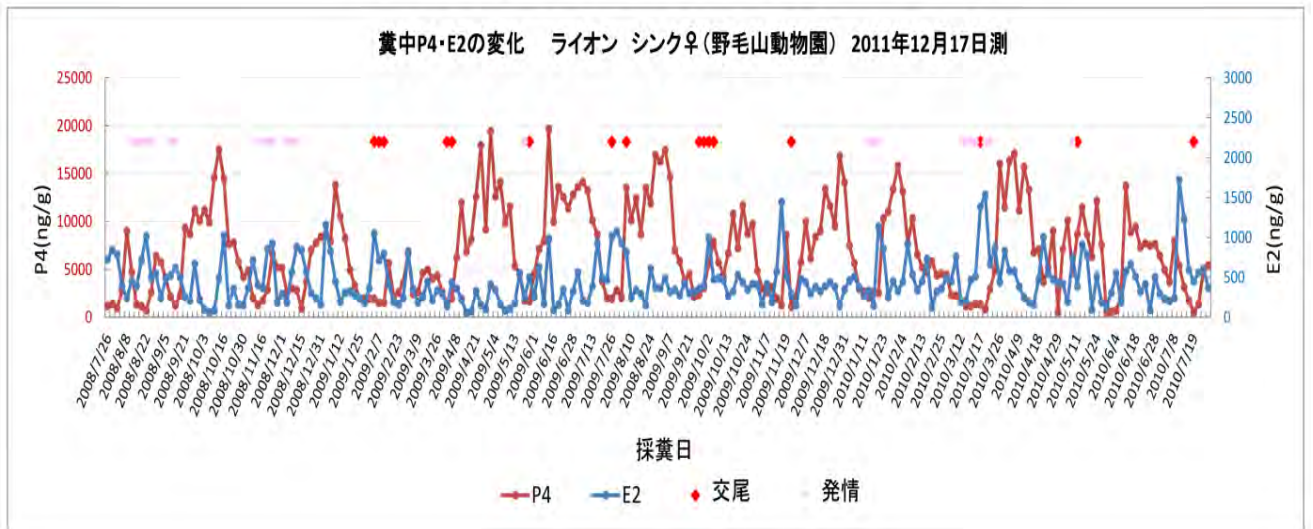


図 13 シロテナガザル ユウタロウ♂

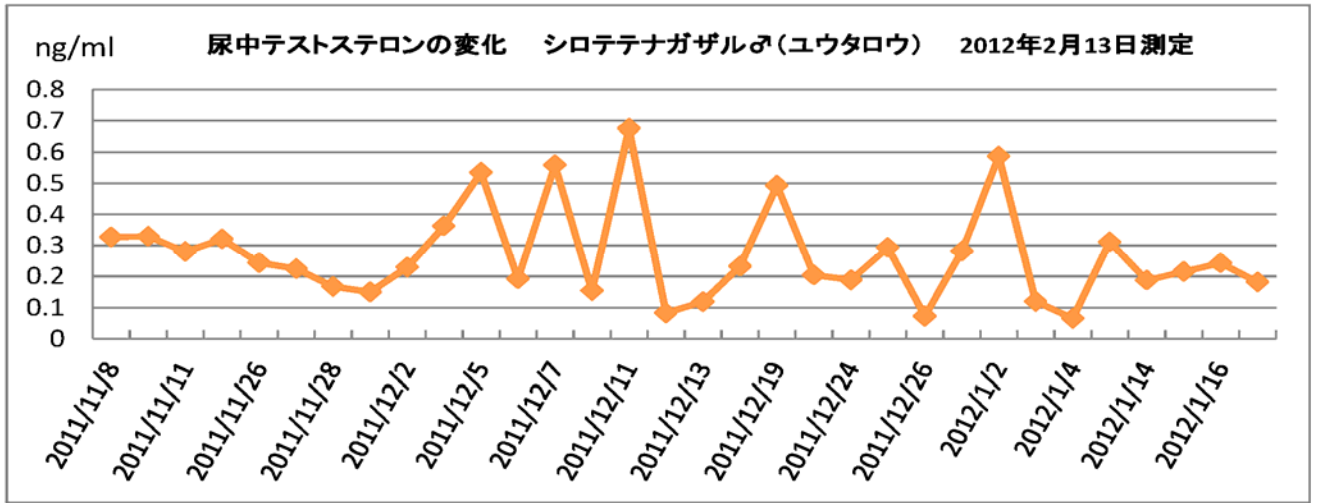


図 14 シロテナガザル インタン♀

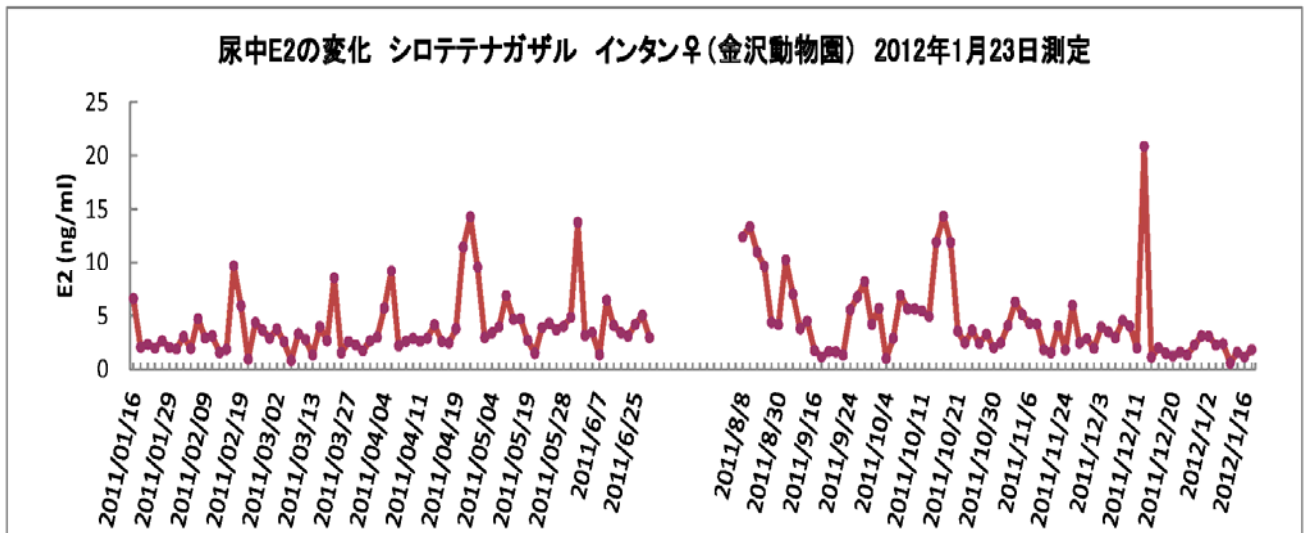


図 15 マレーバク ♂ 5 頭

血中テストステロンの変化 マレーバク(繁殖センター) 2012年2月14日測定

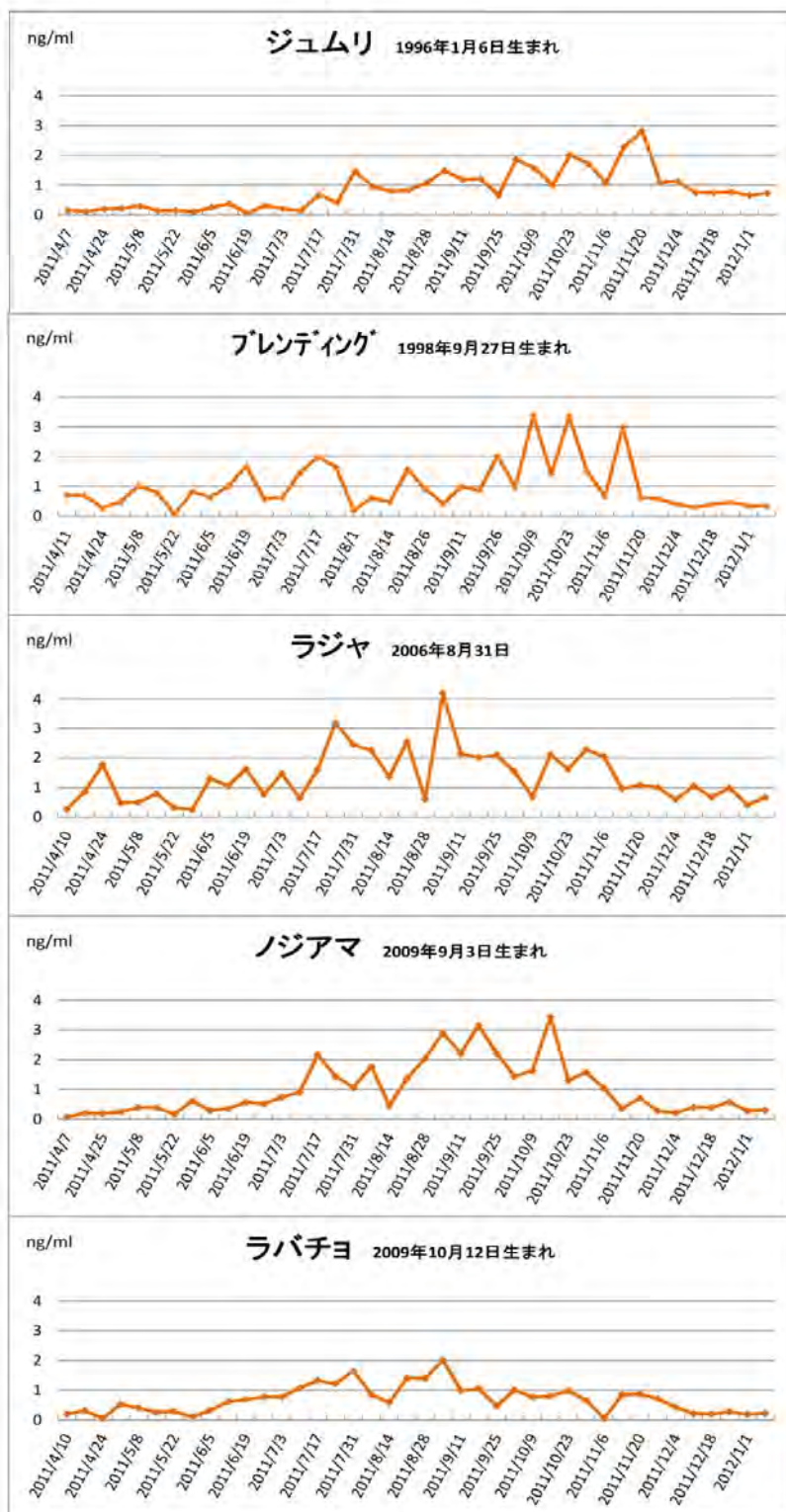


図 16 マレーバク ミミ♀

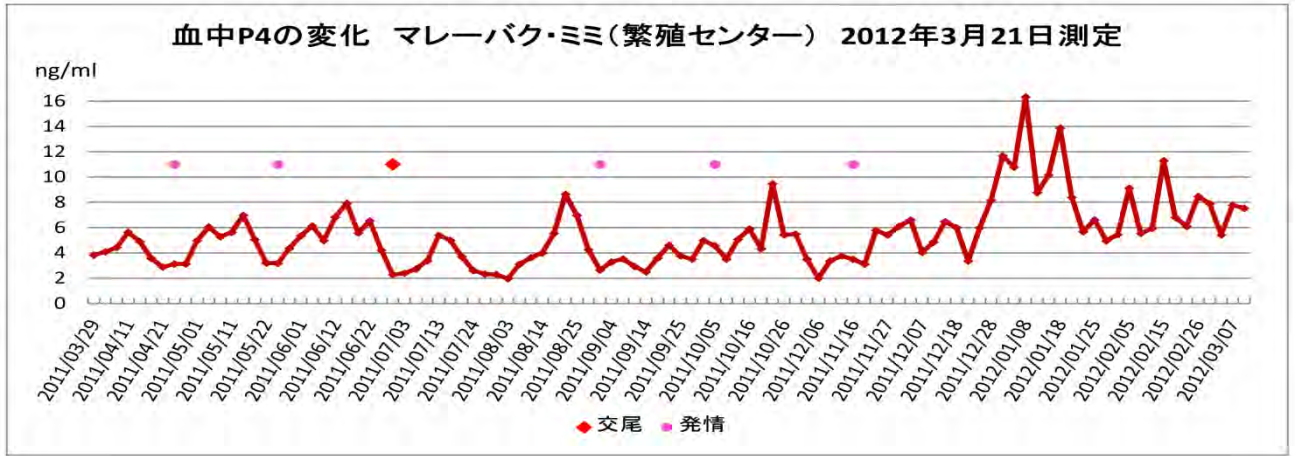
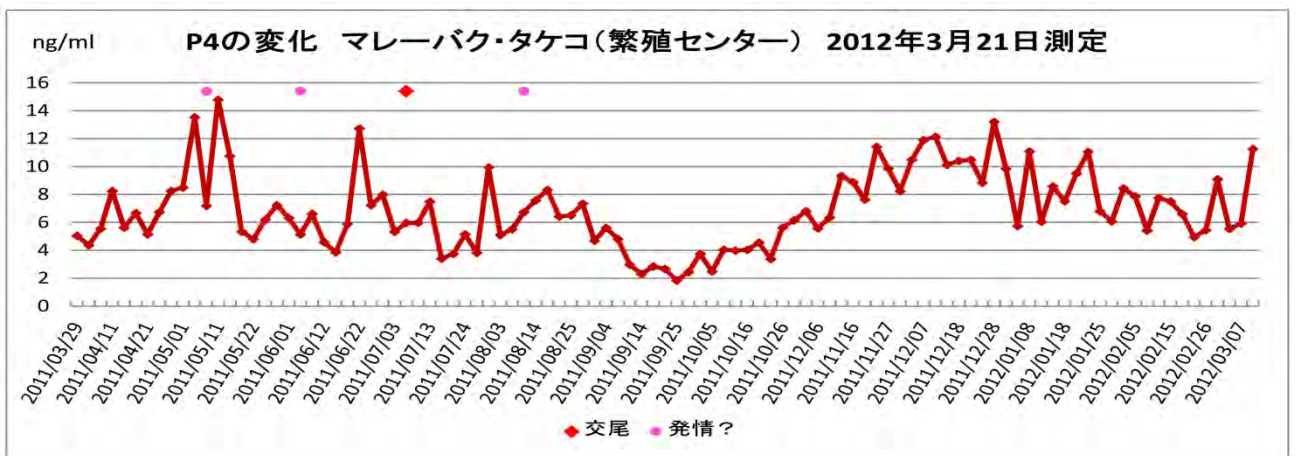


図 17 マレーバク タケコ♀



2 配偶子および体組織の凍結保存

平成 23 年度は、11 種（哺乳類 10 種、爬虫類 1 種）の精液の凍結保存を試み、そのうち 2 種の精液を凍結保存した。精液は死亡個体の精巣上部より灌流法もしくは細切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。（表 2）

また、哺乳類 6 種について卵子回収を行なった。その結果、2 種で卵子を回収できたがいずれも性状が良好ではなかったため、凍結保存を実施しなかった（表 3）。なお、これらの結果は希少動物人工繁殖研究会第 20 回会議で報告する予定となっている。

また、遺伝子保存の一環として、死亡動物の 20 種 34 点（鳥類 7 種 16 点、哺乳類 12 種 17 点、爬虫類 1 種 1 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 年以降これまでに精子 52 種（哺乳類 40 種、鳥類 10 種、爬虫類 2 種、ストロー本数 1,243 本）、卵子 2 種、体組織 130 種 679 点が凍結保存されている。（平成 24 年 3 月末現在）

横浜市繁殖センター・精子回収状況(2011. 4~2012. 3)

綱	目	種	性	由来	採材時年齢(歳)	死因	経過時間(h)	配偶子回収			配偶子回収総数 精子×百万	精子活性	生存精子率(%)	形態正常精子率(%)
								左右	部位	方法				
哺乳類	真無首属有袋	ヨツユビハリネズミ	雄	飼育	4	口腔内上皮癌	29	右	精巣上部尾部	灌流	0.4	<5±	86	23.3
			雄	飼育	10	リンパ腫	5	右	精巣上部尾部	灌流	1.52	-	-	-
		雄	飼育	不明	不明	23	右	精巣上部尾部	灌流	19.95	-	-	-	
		雄	飼育	不明	不明	23	左	精巣上部尾部	灌流	0.24	5++	68	22.9	
		雄	飼育	不明	不明	23	左	精巣上部尾部	灌流	0.05	<5+	74.8	19.7	
	アカカンガルー	雄	飼育	10	衰弱	20	右	精巣上部尾部	灌流	3.2	-	70.6	26.8	
		雄	飼育	不明	不明	20	左	精巣上部尾部	灌流	0.55	-	27.2	11.9	
	オグロワラビー	雄	飼育	4	呼吸不全	4	右	精巣上部尾部	灌流	1.2	-	-	-	
		雄	飼育	不明	不明	4	左	精巣上部尾部	灌流	0.33	-	-	-	
	暹長	アカエリマキキツネザル	雄	飼育	21	肝不全	38	右	精巣上部尾部	灌流	0.5	-	-	-
	雄	飼育	不明	不明	38	左	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-		
	雄	飼育	5	ショック	5	右	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-		
	雄	飼育	不明	不明	5	左	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-		
食肉	ヤブイヌ	雄	飼育	2	不明	5	右	精巣上部尾部	灌流	54	40+++10++	90	22.9	
		雄	飼育	5	衰弱	5	右	精巣上部尾部	灌流	45	20++	84.5	19	
		雄	飼育	5	衰弱	5	左	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-	
		雄	飼育	5	衰弱	5	左	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-	
	インドライオン	雄	飼育	16	肺炎	5	右	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-	
		雄	飼育	16	肺炎	5	左	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-	
偶蹄	カンヌーアカシカ	雄	飼育	19	衰弱	17	右	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-	
		雄	飼育	不明	不明	17	左	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-	
	アメリカヘラジカ	雄	飼育	15	誤嚥	16	右	精巣上部尾部	灌流	4	-	-	-	
	雄	飼育	不明	不明	16	左	精巣上部尾部	灌流	2.6	-	-	-		
爬虫	カメ	雄	飼育	不明	感染症	20	右	精巣上部尾部	灌流	<0.3	-	-	-	
		雄	飼育	不明	感染症	20	左	精巣上部尾部	灌流	0	-	-	-	

・13個体より精子の回収を試み、9個体より採取出来た。そのうちコアラ、ヤブイヌについて保存に供した。

横浜市繁殖センター・卵子回収状況(2011. 4~2012. 3)

綱	目	種	性	由来	採材時年齢(歳)	死因	経過時間(h)	配偶子回収			配偶子回収総数	良好卵子
								左右	部位	方法		
哺乳類	食肉	ヤブイヌ	雌	飼育	8	副腎出血	10	右	卵巣	切開	0	
			雌	飼育	3	卵巣摘出	10	左	卵巣	切開	0	
			雌	飼育	不明	不明	10	右	卵巣	切開	2	0
			雌	飼育	不明	不明	10	左	卵巣	切開	1	0
		雌	飼育	20	不明	8	右	卵巣	切開	1	0	
		雌	飼育	不明	老衰	8	左	卵巣	切開	0		
		雌	飼育	不明	老衰	28	右	卵巣	切開	0		
		雌	飼育	不明	不明	28	左	卵巣	切開	0		
兔	トウホクノウサギ	雌	飼育	不明	不明	5	右	卵巣	切開	0		
		雌	飼育	不明	不明	5	左	卵巣	切開	0		

・5個体より卵子の回収を試み、2個体より採取出来たが何れも形態不良のため保存しなかった。

3 DNA 解析

(1) 鳥類の雌雄判別

横浜市立動物園 3 園の展示、傷病鳥獣をあわせて 11 種 15 個体の雌雄判別を行った。センター飼育個体はカンムリシロムク、カグー、オオミカドバト 3 種 29 個体の雌雄判別を行った。主にカンムリシロムクは羽軸、カグー、オオミカドバトは孵化直後の卵殻膜を検体として用いた。また、国内ペンギン飼育園館 20 施設の 7 種（フンボルト、ジェンツー、ケープ、イワトビ、キング、アデリー、ヒゲ）153 個体の雌雄判別を行った。

《 3 園鳥類雌雄判別種の内訳 》

野毛山

- ・チリフラミンゴ、フンボルトペンギン、ダチョウ、ミゾゴイ（展示）・
チュウシャクシギ、ベニマシコ（保護）

金沢

- ・フクロウ、トビ（保護）

よこはま

- ・ウミネコ、シロミミキジ、フンボルトペンギン（展示）・オオタカ、カモメ（保護）

(2) 飼育動物の遺伝的多様性

① テングザル

よこはま動物園飼育下のテングザル 5 頭は、全頭がインドネシア共和国のスラバヤ動物園由来であるため、個体間の近縁度が高いことが予想される。そこで個体間の血縁関係を解明するために、遺伝的多様性解析を行った。解析には個体差を検出しやすい mtDNA の D-loop 領域とマイクロサテライト DNA を用いた。その結果、マイクロサテライト DNA では個体間に大きな違いは見られなかったが、mtDNA では 4 つのタイプが検出された。mtDNA は母親由来のため、この結果から 5 頭は少なくとも 4 頭の異なる母親由来であることが示唆された。また、これまでに報告されている野生テングザルの mtDNA 配列と比較した結果、従来知られている以上にテングザルの遺伝的多様性が大きいことが示唆された。(図 18)

② カンムリシロムク

同鳥の原産国であるインドネシアの飼育下個体群の遺伝的多様性について、インドネシア国生物多様性センターと共同で解析した。解析に当たってはインドネシア国内飼育下の 220 羽のカンムリシロムクから DNA を抽出し、マイクロサテライト DNA 解析を実施している。現在、カンムリシロムクで個体間多型を示すマイクロサテライト DNA は 1 種しか知られておらず、詳細な解析には足りないため、今後はより多くの多型を示すマイクロサテライト DNA を探索していく必要がある。

③ ベトナムキジ

よこはま動物園で飼育されている尾羽の色の異なるベトナムキジ創始個体間の分類学的関係を明らかにするために、分類学的解析に多用される mtDNA のチトクローム *b* 遺伝子 (351 塩基) と個体間の遺伝的多様性の解析に多用される D-loop 領域 (888 塩基) を解析した。その結果、羽色の異なる創始個体 2 羽間で全く違いが確認されなかった。このことから、少なくとも羽色の違いは分類学的に意味のある違いとは言えない結果だった。ただし、この結論は創始個体が野生由来である場合のみ適用されるもので、創始個体も繁殖個体由来であれば、野生由来のサンプルを解析しなければ結論を得ることは困難である。そのため今後は、野生由来のサンプル収集に努力する必要がある。

④ カグー

繁殖センターで飼育中のカグーのうち、近年ニューカレドニアより新規導入した個体について野生由来個体の可能性があったために、DNA を用いてその可能性を検討した。mtDNA のチトクローム *b* 遺伝子 (332 塩基) と D-loop 領域 (1040 塩基) を解析した。加えてカグーのマイクロサテライト DNA 4 領域について、多型解析も行った。その結果、野生由来の疑いのある個体と飼育個体群由来の個体間で明瞭な違いは確認できなかった。

⑤ ヒガシオオカンガルー

金沢動物園で飼育されているヒガシオオカンガルー 23 頭について、マイクロサテライト 5 領域の DNA 多型に基づく父子鑑定を行った。その結果、飼育記録上の父親とは DNA 鑑定に基づく父親が一致しない場合が見られた。

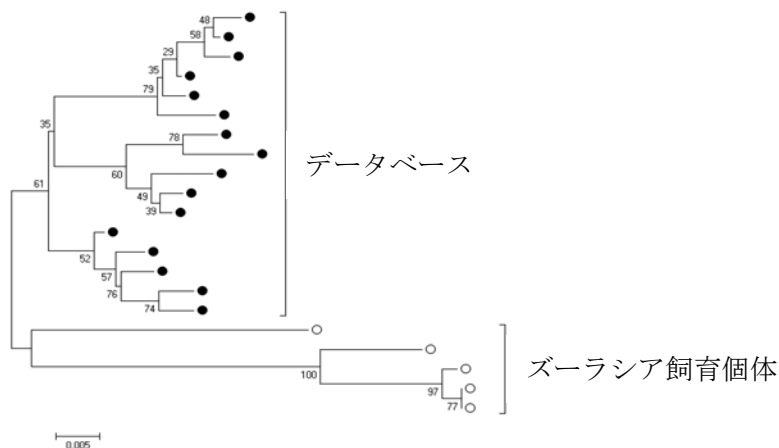


図 18 テングザルにおける D-loop 領域 DNA 配列に基づく系統関係

(3) その他

佐渡島固有の両生類の分類学的研究

佐渡島固有の新種と考えられる両生類について、新種記載に向けた研究として音声学的研究を行うとともに、これまでの研究成果を基に新種記載論文を執筆し、海外の分類学専門雑誌に投稿した。

4 大学との共同研究

平成 23 年度、繁殖センターでは岐阜大学応用生物科学部動物繁殖学研究室および麻布大学獣医学部と共同研究を行った。

平成 23 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) 麻布大学獣医学部
マレーバクにおける種子の排泄量に関する研究

5 発表資料

- 1 保全フォーラム「希少鳥類の保全」(口頭発表)
(平成 23 年 10 月 15 日 多摩動物公園)
- 2 第 59 回動物園技術者研究会発表資料 (口頭発表)
(平成 23 年 10 月 5, 6 日 札幌市円山動物園)
- 3 日本爬虫両生類学会第 50 回大会発表資料 (口頭発表)
(平成 23 年 10 月 10 日 京都大学)
- 4 投稿論文
(平成 24 年 3 月 野生動物医学会誌 17(1):9-12)
- 5 共著論文
(平成 24 年 1 月 Chromosome Research 20:47-55)

保全フォーラム「希少鳥類の保全」（口頭発表）
（平成 23 年 10 月 15 日 多摩動物公園）

インドネシアにおけるカンムリシロムクの野生復帰

白石利郎¹⁾

(¹⁾ 横浜市繁殖センター)

はじめに

カンムリシロムクはインドネシア・バリ島の固有種で、IUCN の RDB で絶滅危惧種(CR)に指定されている希少種である。横浜市の動物園では1976年よりカンムリシロムクの飼育を始め、SSCIが発足した1988年より、種別調整担当園館としてカンムリシロムクの域外保全に取り組んできた。2003年3月に、横浜市はインドネシア共和国政府林業省と合意文書を取り交わ



国立公園で飼育されているカンムリシロムク

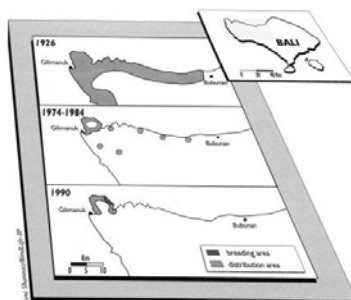
し、7年間で100羽のカンムリシロムクをインドネシア側に提供すると共に、現地での保護活動にも協力していくこととなった。また、2004年1月には国際協力機構(JICA)の草の根技術協力事業の採択を受け、インドネシアにおける飼育管理や環境教育、遺伝子解析などの分野での技術協力や資材提供、横浜への研修生の受け入れ等、カンムリシロムクの野生復帰に向けた支援活動を行っている。

野生での現状

カンムリシロムクは1911年に発見された当初から、バリ島西部の限られた地域にしか生息しておらず、現在ではバリ島西部に位置するバリ・バラト国立公園に残されるのみとなった。これらの地域には、かつてはトラなどが生息する豊かな自然が残されていたが、近年では人口増加による農地の拡大などによって徐々に悪化し、残された野生動物の生存に深刻な影響を与えている。カンムリシロムクについては、もともと生息数が少なかったとされるが、1970年代からは急速に減り始め、2006年には遂に野生下で絶滅した可能性が指摘されている。このような状況に陥った最大の原因は、飼鳥としての乱獲である。カンムリシロムクは1960年代には欧米への飼鳥としての輸出が盛んに行われるようになり、1966年には既に絶滅危惧種に指定されるまでになった。このため1971年



カンムリシロムクの生息地



生息域の変化



国立公園内にある繁殖施設

にインドネシア国内法で捕獲及び輸出が規制され、1975年にはCITESが発効されて国際取引が厳しく規制されるようになったが、その後も密猟は絶たなかった。これは海外への輸出だけでなく、インドネシアの国内需要が高いことによるもので、野鳥を飼うことがステイタスとなるインドネシアの文化が背景にある。

国立公園では、公園内にカンムリシロムクの繁殖場を設けてカンムリシロムクの増殖に努め、殖やした個体を野生へ戻す取り組みを1998年より開始している。

また、密猟対策のための警備の強化や、水場の設置、巣箱の架設などの環境改善にも努めた。この放鳥事業は現在も続けられ、これまでに172羽が国立公園内に放たれている。



野生復帰させたカンムリシロムク

横浜市の活動とこれまでの成果

横浜市からは既に100羽のカンムリシロムクをインドネシアへ輸出している。これらを基に現地での飼育下繁殖が進められて、一部は国立公園内へ放鳥された。また、JICAの支援活動の一環として毎年1回、インドネシアでの技術指導と、インドネシアからの研修員の受け入れを行っているが、これによって飼育技術や個体管理の改善、野生復帰個体のモニタリング、DNA解析による遺伝的多様性の調査などが進められている。更に国立公園と地元NGO団体が地元の子供たちを対象に行っている教育活動をサポートする形で、国立公園やその周辺地域の緑化推進事業を実施した。

横浜市との協力事業を通して、2005年8月にはインドネシアにNGO組織「カンムリシロムク保護協会(APCB)」が設立された。APCBはインドネシアにおけるカンムリシロムクの血統登録の再開や飼育下繁殖の強化、各種セミナーの開催、野生復帰事業の支援、モニタリング等の活動を行っているが、特筆すべきは林業省に働きかけて規制緩和を実現させ、飼育下繁殖個体の流通を活発化させてカンムリシロムクの市場価格を低下させる取り組みを行っていることである。その成果として、取引価格が従来の5分の1程度に下がり、ここ数年来密猟が無くなったとも言われている。

今後の目標

JICAの支援事業は、2008年度よりphase2を迎えたが、この際に(社)あいあいネットと活動を共にすることになり、彼らの活動により、国立公園と地元住民の対話が進められるようになった。この結果、カンムリシロムクの保護活動に地域住民も積極的に参加するようになり、2011年には村でのカンムリシロムク増殖事業が開始された。しかしながら、国立公園の放鳥事業も含めて村での増殖計画は未整備で、放鳥事業をどのように進めていくか、そのマスタープラン作りが今後の大きな課題となっている。

第 59 回動物園技術者研究会発表資料（口頭発表）
平成 23 年 10 月 5, 6 日 札幌市円山動物園

カンムリシロムクの繁殖の成否に関わる要因について

○石井裕之, 白石利郎
(横浜市立よこはま動物園)

カンムリシロムクはインドネシア・バリ島固有の希少種であり、横浜市立よこはま動物園・繁殖センターではこの種の飼育下繁殖に取り組んでいる。1999年から2010年までの12年間で66ペアを飼育してきたが、この66ペアの繁殖に関し今後の飼育管理に役立てるため、雌雄の年齢やペアの形成法、ペアの継続年数などの要因が繁殖結果にどのように影響しているかについて調査した。

カンムリシロムクの繁殖期は4月から9月の年1回であるため、この66ペアから繁殖期の回数に直して延べ193繁殖期の繁殖の成否についての結果が得られた。

雌雄それぞれの年齢と繁殖結果の関係では、雄では15歳を超えてもペアにした個体の約半数が繁殖しているのに対して、雌では12歳以上になるとペアにした個体の約2割しか繁殖しなくなることがわかった。次にペアの形成法を、人為的に組み合わせたものと、複数の雌雄を集団で飼育して自然に出来たものの二つに分けて、形成した年の繁殖結果と比較したところ自然に出来たペアのほうがよく繁殖していることがわかった($p<0.05$ 、 χ^2 検定)。さらに同じペアを継続して飼育すると次第に繁殖しなくなり、4年目では約半数のペアが繁殖しなくなることにもわかった。そして一度繁殖しない年があった後、次の繁殖期に再び繁殖するかどうかを調べたところ、そのような例は66ペアのうち3ペアで各1回見られたのみで、かつ繁殖の中断が2年以上でその後に再開した例はなかった。またこのような繁殖が中断したペアを組みかえると、雄では18例中12例で、雌では10例中6例で繁殖が見られ、組み替えたときの年齢で最高のものは雄で15歳、雌で12歳であった。

以上のことからカンムリシロムクの繁殖の成否に関しては、雌の年齢とペアの形成法、ペアの継続年数が影響していることが示唆された。

カンムリシロムクの繁殖の成否に関わる要因について



横浜市立よこはま動物園・繁殖センター
石井裕之 白石利郎

調査の目的と方法

- 飼育管理に役立てるため、繁殖の成否に関わる可能性のある要因について調査
雌雄の年齢、ペアの形成方法、ペアの継続年数など
- 1999年から2010年までの12年間で66ペアを飼育
- 繁殖期は4月から9月の年1回であるため、この66ペアから延べ193繁殖期の結果を得て、分析

オスの年齢と繁殖結果の関係



- 年齢に関わらずペアにした個体の約半数が繁殖に成功している

メスの年齢と繁殖結果の関係



- 11歳までは年齢に関わらずペアにした個体の約半数が繁殖に成功している
- 12、13歳ではペアにした個体の約2割、14歳以上では繁殖が見られなかった

ペアの形成方法と繁殖結果の関係

	ペアを形成した年の繁殖結果	
	繁殖成功	繁殖失敗
人為的に組合せたペア	22	14
集団で飼育して自然に出来たペア	23	4

(ペアで導入した3ペアを除く63ペアの結果)

- 血統を考慮しつつ複数の雌雄を集団で飼育して、自然に出来たペアの方が有意に繁殖に成功している
($p < 0.05$, $\chi^2 = 4.38$)

ペアの継続年数と繁殖結果の関係



- ペアを継続して飼育すると、次第に繁殖しなくなる
- 4年目では約半数のペアが繁殖に成功しなくなる

繁殖しない年があった後、再び繁殖するかどうか？

ペアの繁殖結果の例

例1		例2		例3	
継続年数	繁殖結果	継続年数	繁殖結果	継続年数	繁殖結果
1年目	○	1年目	○	1年目	○
2年目	○	2年目	×	2年目	○
3年目	○	3年目	○	3年目	×
4年目	×	4年目	×	4年目	×
5年目	○	5年目	○	5年目	○

66ペア中3ペアで見られた

1例もなし

1例もなし

繁殖が中断したペアを組みかえると

オス

18例中12例で繁殖が再開

この12例のうちで年齢で最高のもは15歳

メス

10例中6例で繁殖が再開

この6例のうちで年齢で最高のもは12歳

繁殖の成否に関わる要因

- メスの年齢
12歳以上になると繁殖しにくくなる
- ペアの形成方法
雌雄を集団で飼育して、自然に出来たペアの方が繁殖しやすい
- ペアの継続年数
継続年数が長くなると次第に繁殖しなくなる

日本爬虫両生類学会第 50 回大会発表資料（口頭発表）
（平成 23 年 10 月 10 日 京都大学）

佐渡島産ツチガエルの鳴声について

○尾形光昭（横浜市繁殖センター）・関谷國男（新潟大）・長谷川嘉則（かずさDNA研究所）、大谷浩己（広島大・院理・両生類研）、三浦郁夫（広島大・院理・両生類研）

On the advertisement call of the frog *Rana rugosa* from Sado Island, Japan.

○Mitsuaki Ogata, Kunio Sekiya, Yoshinori Hasegawa, Hiromi Ohtani, Ikuo Miura

佐渡島のツチガエル (*Rana rugosa*) には、遺伝的に系統の離れた2つのタイプが存在する。一つは腹部に強い黄色を呈し（黄色タイプ）、もう一方は対岸の新潟産ツチガエルと同様、腹部は白色を示す（本州タイプ）。さらに両者には、腹面顆粒の粗密状態や広告音にも違いが報告されている。本研究では佐渡島産の2タイプ間における広告音の違いを解明する目的で、広告音の音声解析を行った。

室内録音した両者の広告音に、優位周波数や単位時間当たりのパルス数に大きな違いは見られなかった。しかし、一鳴きの継続時間は、両者間で有意に、著しく異なっていた。黄色タイプの持続時間は、これまでに報告されている日本産ツチガエルの中で最長である。一方、本州タイプの広告音には対岸の新潟産ツチガエルと明瞭な違いが見られなかった。更に両者の正逆の人工交雑と戻し交雑により、両者には繁殖後隔離が存在することも明らかとなった。これらことから、黄色タイプは、本州タイプと広告音や外部形態の違い、および繁殖後隔離が生じるほどに他集団から隔離され、種分化が進行していたと推測される。

一方で今回、黄色タイプからは解剖学的に鳴嚢孔が確認されなかった。この鳴嚢孔の欠如が、同所的に繁殖している他のカエル類に比べて、黄色タイプの広告音が小さいことに関連していると考えられる。

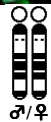
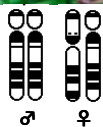
佐渡島産ツチガエル(*Rana rugosa*)の鳴き声について

○尾形光昭(横浜市繁殖センター)、関谷國男(新潟大)、長谷川嘉則(かずさDNA研究所)、大谷浩巳、三浦郁夫(広大、院理、両生類研)

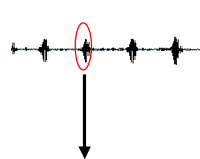
Yellow type



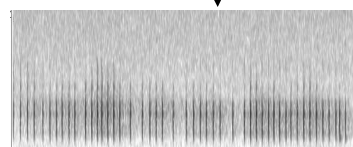
Standard type



Standard type

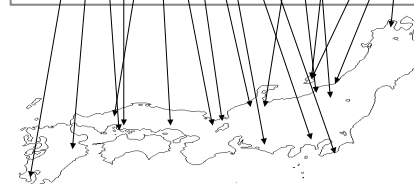
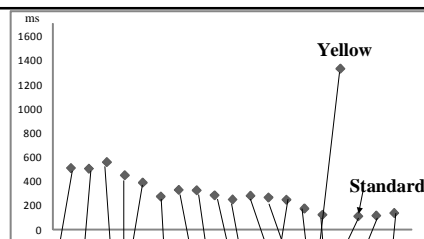


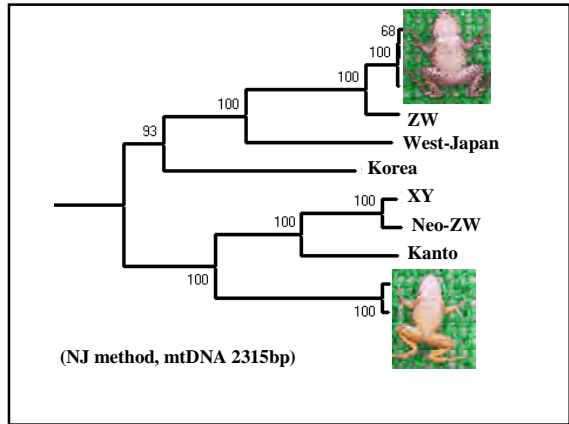
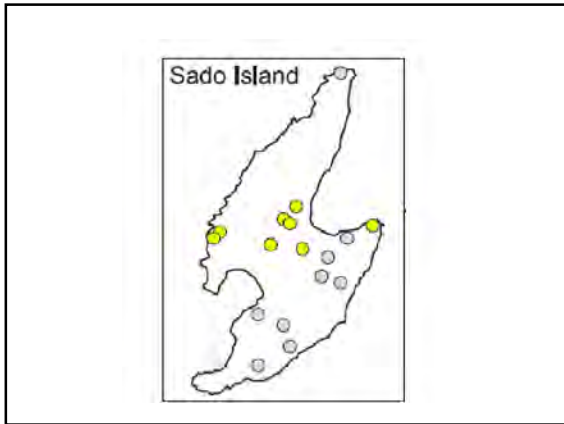
Yellow type



	Calls	Call duration* (ms)	No. of pulse*	Pulse rate (pulse/s)
Yellow (N=3)	16	1333.3±382.3	63.0±6.4	50.8±19.0
Standard (N=3)	19	111.7±9.1	6.8±0.7	61.3±10.1

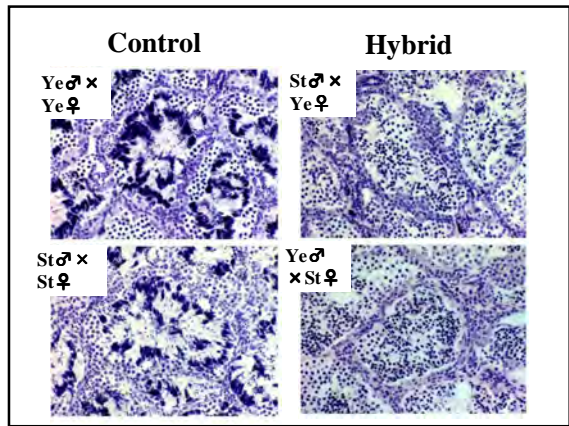
Room temp. 25~27°C; Humidity 60~70% *p<0.01,t-test
SVL:35.6mm-39.1mm (Yellow), 41.1mm-44.5mm(Standard).





	Parents		Metamor- phosed frogs	Examined frogs	Sex		
	Female	Male			♀	♂	(%)
Control	Yellow	x Yellow	81	71	39	32	45.1
	Standard	x Standard	93	86	20	25	52.3
Hybrid	Yellow	x Standard	62	59	2*	57	96.6
	Standard	x Yellow	96	74	0	74	100

* Underdeveloped oviduct with no gonad or tiny undeveloped ovary-like gonad



☆佐渡島産の体色の異なるツチガエルは、一鳴きの継続時間が有意に異なる。

☆黄色タイプの継続時間は、これまで知られている日本産ツチガエルの中で最長。

☆黄色タイプと本州タイプは、広告音および外部形態に明瞭な違いを生じさせるほど長期間にわたり、遺伝的な交流がなかったことが示唆される。

☆佐渡のツチガエル2タイプ間には、繁殖後隔離が存在する。

☆黄色タイプからは、本州タイプとは異なり、鳴嚢および鳴嚢孔が確認されない。