

D-0801 非意図的な随伴侵入生物の生態リスク評価と対策に関する研究

(1) 非意図的な随伴侵入生物の侵入ルートの解明および防除対策

独立行政法人国立研究所

環境リスク研究センター 主席研究員室（侵入生物研究チーム） 五箇公一
 生物圏環境研究領域 個体群生態研究室 高村健二

<研究協力者> オーストラリア キーンズランド州立グリフィス大学 Jean Marc-Hero
 オーストラリア 豪州連邦科学産業研究機構 Alex Hyatt
 オーストラリア ヴィクトリア州立モナシュ大学 Dennis O' Dowd
 アメリカ合衆国 アーカンソー州 Game & Fish Commission Kelly Irwin
 アメリカ合衆国 私立リー大学 Michael Freake
 韓国 国立ソウル大学 Hang Lee
 独立行政法人農業環境技術研究所 生物多様性研究領域 伊藤健二
 山形大学理学部 横山潤
 独立行政法人製品評価技術基盤機構 稲葉重樹
 東京大学農学生命科学研究科 砂村栄力
 東京大学農学部 寺山守
 香川大学農学部 伊藤文紀

平成20～22年度累計予算額 92,815千円（うち、平成22年度予算額 30,805千円）
 予算額は、間接経費を含む

[要旨] 近年、日本への侵入・分布拡大が問題となっている外来アリ類のアルゼンチンアリ、外来淡水貝類のカワヒバリガイ、および外来寄生物のカエルツボカビを対象として、分子遺伝学的データおよび生態学的・社会学的・経済学的要因解析をもとに、これらの種の侵入ルートおよび分布拡大プロセスを解明し、今後の非意図的侵入生物の対策に資することを目的とした。

アルゼンチンアリ侵入個体群のDNA分析により、本種は日本を含む世界各地で巨大な単一スーパーコロニー（同一家族）を形成していることが示された。個体群動態および分子遺伝学的調査により、本種のスーパーコロニー形成のメカニズムとして、コロニー間の遺伝子流動および敵対性の季節的变化によるコロニー間融合が示唆された。防除剤フィプロニルに対してアルゼンチンアリは在来アリ類よりも感受性が高いことが示された。

カワヒバリガイについては、DNA分析により、日本における侵入個体群は中国および韓国に複数の起源を有し、水路の水の流れに沿って分布を拡大するとともに、飛び火的にも分布を拡大していることが示された。最適駆除努力の空間配分を導き出すためのフレームワークをInformation-Gap理論を用いて構築できた。

カエルツボカビ菌のDNA分析を実施した結果、日本国内のカエルツボカビ菌の多様性が、国外と比較して圧倒的に高いことからカエルツボカビの起源は日本を含むアジアに存在するという新仮説をたてた。日本と海外の位置情報を用いたカエルツボカビのリスクマップ作成により、日本以

外のリスクの高い地域の多くは原因不明とされる両生類の減少地域と一致した。

[キーワード] アルゼンチンアリ、カワヒバリガイ、カエルツボカビ、DNA、侵入ルート

1. はじめに

外来生物法では、規制対象種は「目視で種の判別が可能な種」に限定されており、加えて実質的な規制はペットや生物資材など意図的に導入される種にしか適用されていないため、輸入資材に随伴して侵入してくる微小な生物の影響対策が遅れている。天然資源の輸入大国である我が国では、カエルツボカビのような未知なる随伴微小生物が大量に侵入して、生態系や人の健康に対して思いもよらない影響を及ぼすことが懸念される。このような目に見えない侵入生物に対する対策として急がれるのは検疫システムの強化および普及啓発による問題意識の高揚である。そのためには「どんな生物が」「どこからどのようにして侵入して」「どのような影響を及ぼすのか」を明らかにするとともに、それらの情報を速やかに発信する必要がある。また、近年の地球環境変動および国際経済の流動化は、物資輸送の流れにも大きく影響しており、特に中国を含む東アジアおよび東南アジア諸国の経済発展と中南米諸国の農業転換など環太平洋地域の国際取引はさらに活発なものとなっており、今後ますます随伴侵入生物の侵入リスクは高まると考えられる。国際レベルの情報交流を図り、検疫・防除の効率化を図る必要がある。

本サブテーマでは、非意図的な随伴侵入生物の具体的材料として、特に世界的にも分布拡大と被害が問題とされる**アルゼンチンアリ**、**カワヒバリガイ**、および**カエルツボカビ**に注目した。

アルゼンチンアリ *Linepithema humile* は、IUCN 世界侵略的外来種ワースト 100 掲載種であり、特定外来生物にも指定されている。南米原産の本種は、1800 年代後半から 1900 年代前半にかけてすでに北中米やヨーロッパ各地、南アフリカ、オーストラリアなど世界各国に侵入・定着している。日本には 1993 年に初めて発見され、その後各地で報告が相次いでいる。本種は、複数の巣の融合体であるスーパーコロニーを形成することが知られており、スーパーコロニー内では異なるコロニー間であっても敵対行動が見られない。アルゼンチンアリは原産地では通常、直径数十～数百 m 程度の小規模なスーパーコロニーを形成するが、侵入地においては数千 km に及ぶ少数の巨大なスーパーコロニーを形成する。こうした巨大コロニー形成の結果、在来アリ類を駆逐し、生態系を改変することが問題とされる。

カワヒバリガイ *Limnoperna fortunei* は中国中南部が原産地と考えられ、現在、西日本および東日本において水利施設に侵入し、分布を拡大している特定外来生物である。取水口に目詰まりして通水障害の原因となったり、死んだ貝が悪臭の原因になる等の被害をもたらす。本種は、輸入シジミ類に混じって侵入した可能性が高いとされているが、侵入ルート及び分布拡大プロセスについては明らかにされておらず、今後の被害防止のためにも分布拡大予測と抑制策の確立は急務とされる。

カエルツボカビ症は**カエルツボカビ菌***Batrachochytrium dendrobatidis* Longcore et al. が原因となる両生類の新興感染症で、近年の世界的な両生類野生個体群の激減をもたらしている要因の一つとされる。本菌は真菌の一種で、1998年に中米で初めて確認された一属一種の新種である。本菌に感染して発症したカエルは、皮膚硬化を起こして、皮膚呼吸や浸透圧調整、体温調整機能

などが阻害されて、衰弱死にいたると考えられている¹⁾。本菌による野生カエルの被害は、世界各地で報告されているが²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾、特にオーストラリアおよび中米での被害が著しく、パナマの El Cope という地域では、本菌が侵入してわずか数ヶ月でカエルの種数が60%以上減少し、個体数も90%以上減少したとされる¹⁰⁾。国際自然保護連合IUCNも本種を外来種ワースト100に指定しており、世界的な監視と防除が進められている。

カエルツボカビ菌の本来の宿主はアフリカ原産のアフリカツメガエル *Xenopus laevis* (Daudin) と推測され、このツメガエルが実験動物として、あるいはペットとして世界的に移送されたことに伴い、本菌も世界中に拡散したと考えられている¹¹⁾。その科学的根拠として、1) 一番古いカエルツボカビ標本が、1938年に採集されたアフリカツメガエルの固定標本から見つかった、2) アフリカツメガエルの原産地におけるカエルツボカビ保菌率が一定、3) アフリカツメガエル自体がこの菌に対して抵抗性を示す（発症しない）、ということが挙げられている。しかし、この菌が発見されたのが1998年と新しく、感染拡大状況が十分に把握されていないため、詳しい感染ルートは判明していない。

このような状況下で、2006年12月に両生類特有の感染症であるカエルツボカビ症が麻布大学・宇根有美博士の研究グループによって、ペット用の外来輸入カエルから国内で初めて発見され¹²⁾、社会的にも大きな関心事となった。日本にはオオサンショウウオに代表される固有の両生類が多数生息しており、本菌が野外に蔓延した場合、貴重な両生類多様性が壊滅的被害を受けることも最悪の事態として想定しなくてはならない。特にこの病原体は、アジア地域ではこれまでその存在すら調査されていなかった種であり、まず、日本を含めてアジア全体でどの地域にどれだけ分布しているのかを把握する必要がある。

2. 研究目的

本サブテーマでは、上記3種の分布情報および生物サンプルを収集して、このような「見えない随伴侵入生物」の実態を広く一般へ紹介するためのデータベース構築および一般への公開を目指す。また随伴侵入生物の侵入ルートをDNA分析により明らかにして、国内外における分布拡大プロセスを生物学的要因および人為的要因から解析する。

アルゼンチンアリのサンプル収集を国内外において行い、DNA変異に基づく系統解析に加えて貿易統計データを用いた経済分析により、日本への侵入経路・分布拡大プロセスを解明する。未侵入種においては、今後の侵入経路・分布拡大予測を行い、検疫・防除における提言を行うとともに、国内外における外来アリ防除ネットワークの構築を目指す。

カワヒバリガイについてはサブテーマ3と連携して、国内各地の侵入地域からサンプル採集を行い、得られた標本のDNA分析により、本種の侵入回数、分布拡大プロセスを推定する。また、海外からの侵入状況、分布拡大に関わる要因を解明し、本種の侵入分布拡大防除対策に資する。

またカエルツボカビについてはサブテーマ4と連携して、国内外の調査機関および両生類飼育愛好家、獣医師との間にネットワークを構築し、日本国内、アジア地域、さらには世界全体のカエルツボカビ分布および遺伝的変異に関するモニタリング調査を行い、その起源や侵入経路の推定に関する知見を得る。

以上、本課題全体で得られた成果を統合し、随伴侵入生物の体サイズや生態的特性に応じた迅速な検疫手法、侵入・定着状況のモニタリング手法、および効率的防除手法の開発を行う。また、侵入生物データベースの収録データについて、侵入経路・分布情報の規格化と検索機能の公開により、身近に進行しつつある問題としての随伴侵入生物の実態を様々な角度から提示し、広く一般に普及啓発すると同時に政策的対応の必要性を環境省にも提示する。

3. 研究方法

アルゼンチンアリについては、侵入個体群のサンプル収集を国内外において行い、ミトコンドリアDNA変異に基づく系統解析を行うとともに、貿易統計データ分析により侵入経路・分布拡大プロセスの解明を試みた。また神戸港で側所的に生息する複数のスーパーコロニーを対象として、分布境界線の年変動の実態および繁殖虫の季節消長を野外調査によって明らかにした。

また、敵対性試験により、敵対性行動の時間的動態について調査した。プラスチックシャーレに異なるコロニーのワーカーを1匹ずつ入れ、5分間敵対行動の有無および強度を観察した。試験区は1区6反復行った。

次にコロニー内およびコロニー間の時空間的遺伝構造を解明するためにソフトウェアSTRUCTUREを用いてマイクロサテライトDNA対立遺伝子頻度に基づくAssignment解析を行った¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。

以上の試験によりスーパーコロニー間の敵対性レベルと遺伝構造の時空間的動態を明らかにし、スーパーコロニー間での遺伝子流動の可能性の検討を行った。

さらに防除薬剤フィプロニルが在来アリ類および地表徘徊性節足動物に与える影響を解析した。室内毒性試験により、在来アリ類とアルゼンチンアリの半数致死濃度LC50値を求めた。次に国立環境研の敷地において、フィプロニル粒剤を防除事業での施用量(0.5g/10m²)設置し、10 m²以内の地表徘徊性昆虫類の個体群動態をピットホールトラップ法により推定した。

国内外における外来アリ研究機関との連携により防除ネットワークを構築するとともに、1年に1回研究集会を開催し、情報の共有化を図った。得られた成果を公表することによって、外来生物リスク管理の普及啓発を行った。

カワヒバリガイについては、国内侵入地域のすべて水系から1地点あたり平均10個体のサンプリングを行い、これをひとつの地域個体群とみなし、国内26地域個体群から計264個体を収集した。これらの地域個体群はさらに上位集団として利根川下流域、利根川上流域、天竜川、矢作川、木曾三川、琵琶湖淀川水系の6つの地方に区分される(表1)。そして国内個体群の起源を探るため、原産国の中国、韓国より4地点、日本と同じ侵入先である、台湾、アルゼンチンの各1地点の合計90個体分のDNA試料を実験に用いた。

次にDDBJに登録されているイガイ科のCOI領域の塩基配列情報をもとに2組のプライマーセットを開発した。それらのプライマーを用いたダイレクトシーケンス法により、277個体のすべてのCOI領域約1203bpの塩基配列を解読した。まず、各地域個体群内の遺伝的多様性の程度を概観するために、遺伝子多様度、塩基多様度を計算した。次にハプロタイプ間の類縁関係を見るために、得られたデータとDDBJに登録されているイガイ科の近縁種3種の塩基配列データを用いて最節約法、

近隣接合法による系統樹を作成した。

日本産の26地域個体群を先に述べた6つの地方に分けて、AMOVA (Analysis of molecular variance) を行い、国内の侵入個体群に見られる遺伝的分化に地理的構造が見られるのか検討した。さらに27個体群間の類縁関係を推定するために、各地域個体群間の純塩基置換率(DA)¹⁶⁾を計算し、近隣結合法により樹状図を作成した。また地域個体群間のPairwise Fstを計算し、遺伝的分化程度の検討を行い、exact test¹⁷⁾を用いて、どの組み合わせでハプロタイプ頻度に有意差が見られるのかを検討した。

カエルツボカビ菌については、国立環境研究所が中核となって、サブテーマ4の課題代表である麻布大学と連携して、国内の獣医師、動物園・水族館・博物館、全国都道府県自治体および環境省の間で研究情報ネットワークを構築し、サンプル採集を実施した。情報発信・交流の場として、国立環境研究所HPの侵入生物データベース (<http://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/>) においてカエルツボカビ情報ページを掲載し、情報のアップデートを行った。さらにオーストラリア、アメリカ、韓国の研究者と情報交流を図り、海外サンプルの採集を図った。

カエルツボカビ菌の採集については既に全世界で報告され、推奨されている、両生類の皮膚を綿棒で拭って、体表の微生物を採集するというスワブサンプル法を採用した。11店舗で飼育販売されていた265個体(在来種3種、外来種15種)、12展示施設(動物園、水族館、博物館)で飼育されていた294個体(在来種17種、外来種58種)、および北海道から南西諸島にいたる964地点の野生個体5,565個体(在来種47種、外来種2種)についてスワブサンプルを採集した。さらに、パナマから73個体、オーストラリアから252個体、USAから54個体の野生両生類スワブサンプルを採集した。

得られたスワブサンプルは、Goka et al (2001)¹⁸⁾の方法に準じて、Lysis BufferによりDNAを抽出し、Goka et al. (2009)¹⁹⁾に準じてNested-PCR法によりカエルツボカビITS-DNA領域(約300塩基)を増幅して、感染の有無を判定するとともに、得られたPCR産物の塩基配列を解析してカエルツボカビ菌のDNA変異を調査した。Nested-PCR法とは、ITS1およびITS2領域を挟む18S領域および28S領域という保存性の高い領域にプライマーを設計して、ITS全体のDNA断片をPCR増幅した上で、この第1PCR産物をテンプレートとして、Annis et al (2004)²⁰⁾が開発したカエルツボカビITS-DNA特異的プライマーBd1aおよびBd2aによって第2PCRを実施して、目的産物(ITS-DNA 300bp)を増幅するという方法である(図1)。この方法によって、野外の夾雑物が大量に混入したスワブサンプルにわずかに含まれるカエルツボカビ菌のDNAを効率よく、高い純度で大量に得ることができる。得られたDNA情報に基づき、最節約法による系統樹を作成した。

日本国内で発見されたカエルツボカビの毒性および両生類の感受性を調べるために、日本国内で感染が認められた在来種のシリケンイモリと、南米原産のベルツノガエルあるいは在来種ヌマガエルを仕切付きプラスチックケース内で同居飼育し、カエルツボカビの感染実験を実施した(図2)。

また、日本国内のカエルツボカビの発生動態を調べるために、在来種であるシリケンイモリと外来種のウシガエルについて、野外集団の感染率の推移を継続的に調査して感染率の季節変動を調べた。

最後に、本研究と既存研究で報告されている感染確認地点の位置情報(計245地点)を用いて、

気温と降水量データに基づき、GIS解析により世界のカエルツボカビリスクマップを作成した。

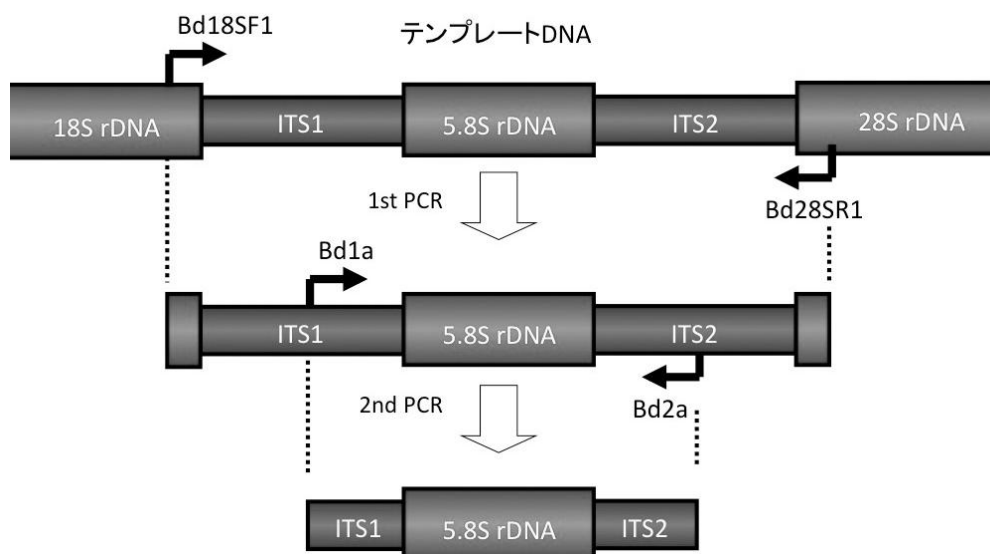


図1. Nested-PCR法の原理

1回目のPCRで確実に合成できるように、保存性の高い18Sおよび28Sの末端領域を含むフラグメントを合成する。このとき、カエルツボカビ以外の様々な菌類のDNAも増幅される。次に、この合成DNAをテンプレートとして、カエルツボカビのITS領域に特異的なプライマーを用いてPCR反応させるとカエルツボカビのDNAフラグメントのみが大量に増幅される。



図2. 感染シリケンイモリから無菌ベルツノガエルへのカエルツボカビ水平感染実験

4. 結果・考察

アルゼンチンアリ

国内外25地点220個体の遺伝解析を行った結果、アルゼンチンアリ侵入個体群は、ヨーロッパおよび北米、オーストラリア、ニュージーランド、日本において単一の遺伝子型を持つ巨大スーパーコロニーを形成していることが明らかになった（図3）。一方、異なる遺伝子型を持つ小規模スーパーコロニーがヨーロッパ、アメリカ、日本に局所分布していた。また、日本にはこれまでのところ5遺伝子型が検出されたことから、日本は侵入地の中でもっとも遺伝的多様性が高く、国際貿易港において多くの物資の移送が行われており、アルゼンチンアリもまた急速に、そして大量に持ち込まれていることが示された。

さらに港湾統計データに基づく分析の結果、アリ類の運搬率が高い²¹⁾農水産品の最大輸入相手国がアメリカであることから、日本のアルゼンチンアリ侵入個体群はアメリカから持ち込まれた可能性が高いと推定された。アルゼンチンアリの発見年代の推移²²⁾をみると、19世紀におもに大西洋を囲んで欧米諸国に、20世紀以降になって環太平洋諸国に分布を拡大している。このことは、19世紀まではヨーロッパを中心とした物資や人の移送が行われており、20世紀になるとアメリカやアジアを中心とした物資や人の移送へと世界貿易構造の変化と連動していると考えられる（図4）。

神戸港において女王およびオスの季節消長を調べた結果、全てのスーパーコロニーで繁殖虫が5月から7月下旬にかけて出現しており、時間的生殖隔離は認められなかった。また、敵対性試験を行った結果、ワーカー同士に比べワーカーのオスに対する敵対性レベルが低く、オスが負傷や死亡する頻度も低かった。このことから、行動学的にはスーパーコロニー間でオスを介した遺伝子流動が起きている可能性が示唆された（図5）。一方、ワーカー同士の敵対性レベルの季節変動を調べた結果、世界中に広く分布するスーパーコロニーの敵対性レベルの変動パターンが他のスーパーコロニーに同調する傾向がみられた（図6）。このことから、コロニー融合の可能性が示唆された。

マイクロサテライト遺伝子座の対立遺伝子頻度に基づく集団遺伝解析を行った結果、隣接するスーパーコロニーは遺伝的に独立しており、遺伝子流動は低頻度でしかおきていないことが明らかになった（図7）。これらの結果から、アルゼンチンアリは安定した環境下では短期間でスーパーコロニーの個体群構造が変化しないと推測される。

以上のことから、日本は他の侵入地に比べ遺伝的多様性が高く、ごく短期間で複数回の侵入がおきていることが示唆された。また、他の侵入地ではみられない遺伝子型を持つ個体群が検出されたことから、原産地から直接侵入した可能性も示された。研究成果をふまえると、アルゼンチンアリの防除スケジュールは、繁殖虫が出現する5月前の防除が効果的であり、防除ユニットとしては単一のスーパーコロニーが分布する地域では、侵入地全体の最適薬量を散布、一方複数のスーパーコロニーが分布する地域では、各スーパーコロニー単位での最適薬量を散布する必要があると考えられる。

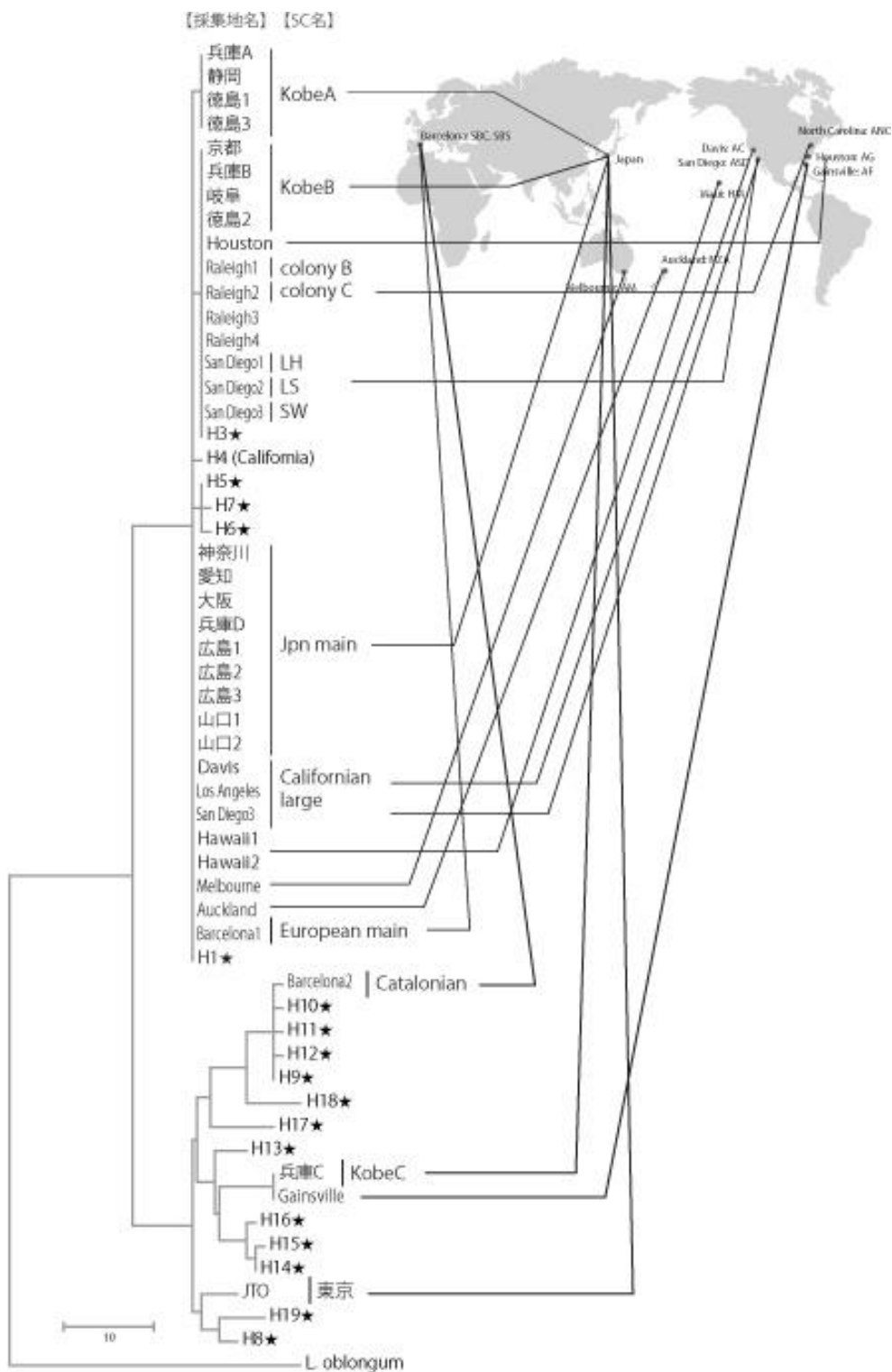


図3. アルゼンチンアリのミトコンドリアDNAにおける最節約系統樹 (サンプルHは、Vogel et al. (2010)の塩基配列情報、★は原産地を示す)

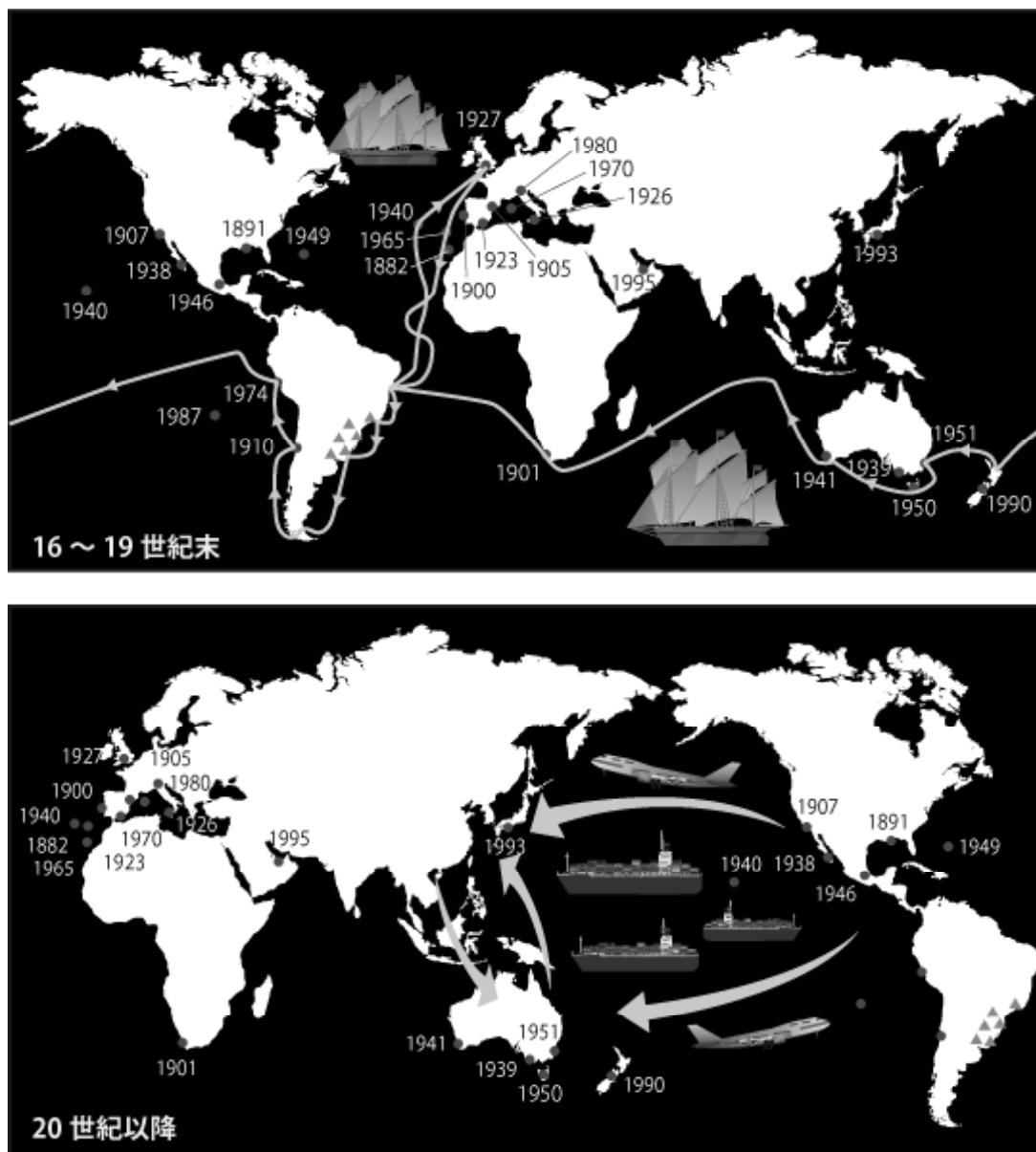


図4. アルゼンチンアリの分布と20世紀前後の世界経済構造の変化

△は原産地、○は侵入地を示す。上図における航路は、1831年から1836年にかけてチャールズ・ダーウィンが乗船したビーグル号の航路を示している。

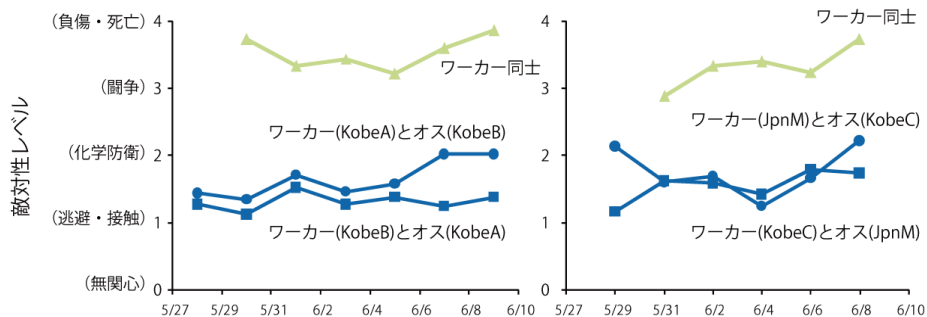


図5. アルゼンチンアリ神戸個体群におけるスーパーコロニー間の敵対性レベル

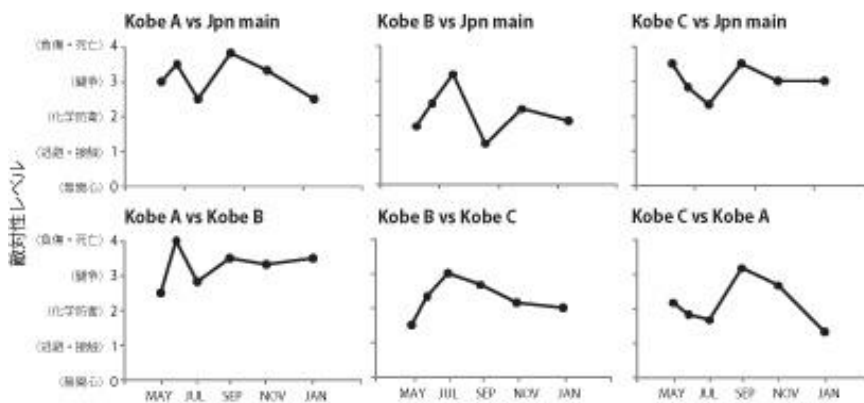


図6 ワーカー間の敵対性レベルの季節変動

各スーパーコロニーから任意に採集したワーカーを6ペア、5分間観察を行った得点の最大値の平均値を示す。

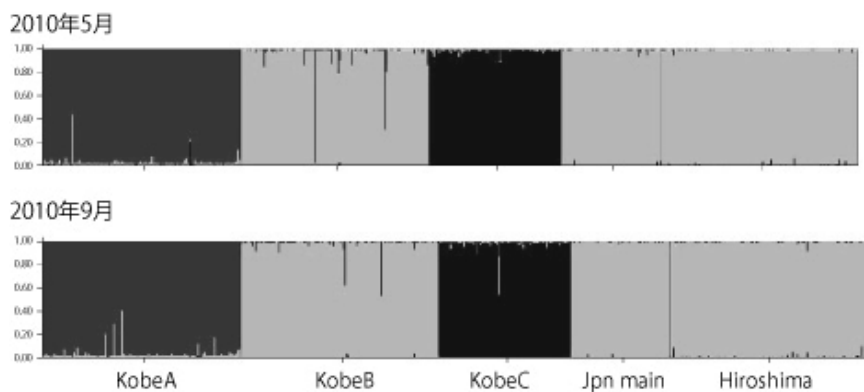


図7 マイクロサテライト7遺伝子座を用いたSTRUCTURE解析 (K=3)

また防除剤生態リスク評価では、室内毒性試験によりフィプロニルは在来アリ類と比較してアルゼンチンアリに対して非常に高い殺虫活性を有することが示され (図8)、同所的に生息する在来アリ類に対する影響を相対的に低く抑えることができると考えられた。また、ベイト式薬剤を用いた野外実験からは薬剤設置1週間後に処理区の地表徘徊性節足動物の群集構造が無処理区と比較して有意に変化した。4週間後には処理区と無処理区の間で群集構造に有意な差は認められなくなった。このことから薬剤による地表徘徊性昆虫類に対する影響は短期間であり、周辺環境からの地表徘徊性節足動物の再移入が開始されるものと予測された。以上の結果から、防除剤の

有効利用による低リスクでの防除手法の確立が可能と考えられた。

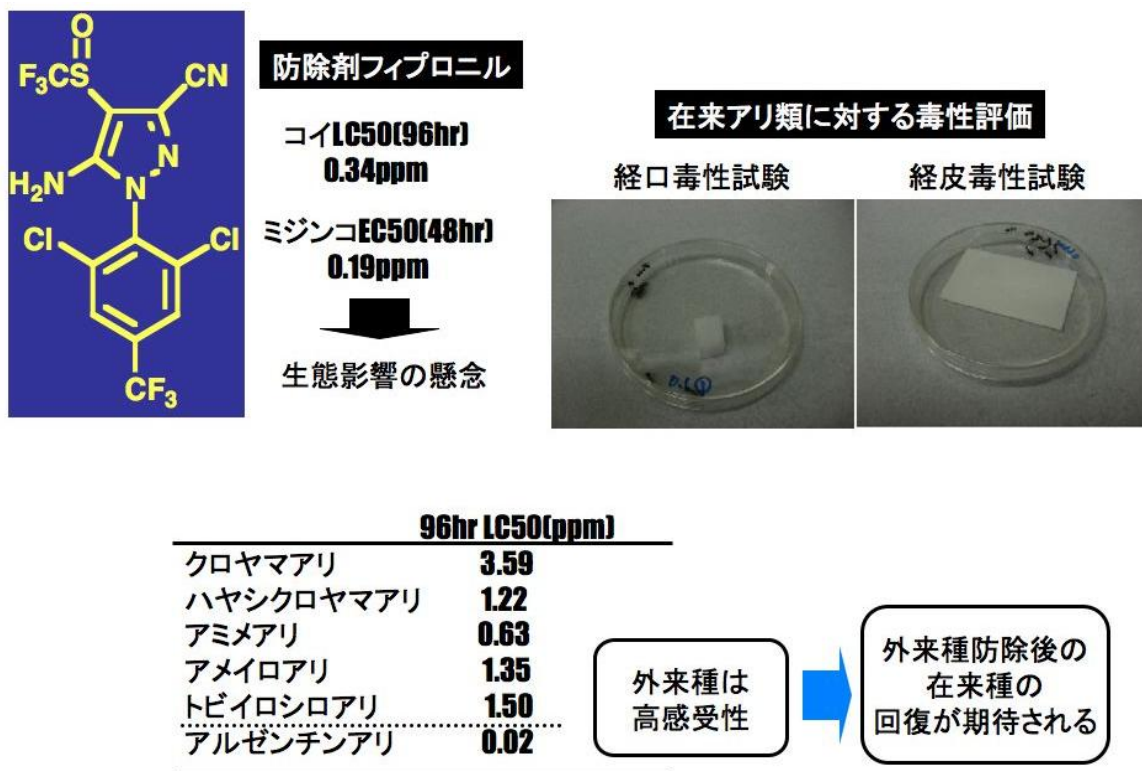


図8. 在来アリ類・アルゼンチンアリに対する防除剤フィプロニルの室内毒性試験

以上の研究成果を公表し、情報の共有化を図るために、国内のアルゼンチンアリ防除事業関係者を参集して、「アルゼンチンアリ研究会」を発足した。参加団体は、国立環境研究所、東京大学、香川大学、岡山大学、自然環境研究センター、アース製薬株式会社、フマキラー株式会社、および環境省自然環境局外来種対策室である。2008年12月19日に東京大学にて第1回、2010年1月25日に国立環境研究所にて第2回、2011年1月18日に香川大学にて第3回の研究集会を開催し、情報交換と防除戦略に関する議論を行った。これらの研究成果と議論をふまえて、2011年度より開始する環境研究総合推進費課題D-1101「外来動物の根絶を目指した総合的防除手法の開発」（課題代表：五箇公一）にて、防除手法の開発研究を実践することとなった。

カワヒバリガイ

国内26地点の264個体と韓国、中国と、日本と同じく侵入地の台湾、アルゼンチンの合計6地点より90標本を得て遺伝解析を行った。その結果、合計33個のハプロタイプが検出された（表1）。

まず、日本国内に限ると、日本に見られる20個のハプロタイプのうち、1つ（H2）は大塩湖を除く残りの5地方に共通して見られ、13個（H1, 3-12, 14-16）は関東地域集団のみにのみ見られるハプロタイプであった（表1、図9）。残りの5つのハプロタイプ（H13, 17-20）は関東地域集団（利根川下流域）には全く見られず、琵琶湖淀川水系、木曾三川、矢作川、天竜川、利根川上流域（大塩湖）の各地方に共通して見られた（表1、図9）。

次に原産地の中国の12ハプロタイプのうち4個のハプロタイプ（H2, 4, 10, 16）が日本にも見

られ、そのうち2つ (H2, 4) は中国、韓国、日本に共通で、他の1つ (H16) は中国、日本とアルゼンチンに共通だった (表1、図9)。H2は日本、中国、韓国、台湾、アルゼンチンのいずれにも見られるハプロタイプで日本でも全国的に見られるハプロタイプだったが、H4, 10、16の2つは国内では関東地域集団 (利根川下流域) にのみ見られた (表1、図9)。

分子系統解析の結果、関東地域集団 (利根川下流域) と中国に見られる9ハプロタイプ (H1-8, 33) の単系統性が強く支持されたほかは、ハプロタイプの類縁性と、地理的分布パターンに明瞭な関係は認められなかった (図10)。

個体群間の純塩基置換率 (DA) を計算し、近隣接合法により個体群間の類縁関係を調査した結果、関東平野部の侵入個体群は今回調査した中国、韓国の個体群を起源の一部とする可能性が示された (図11)。一方で、関西、中部、東海、関東内陸部に広域分布する集団の起源は別であることが示唆された。日本とアルゼンチンの個体群は遺伝的組成が大きく異なり、起源が異なる可能性が示唆された (表1、図9)。台湾のハプロタイプ (H2, 16) はいずれも関東地域集団 (利根川下流域) にも見られ類縁性が示唆された。

カワヒバリガイは主に輸入シジミ類などに付着して海外から侵入しているとされ、実態調査が必要とされる。今後の分布拡大を防止するためには、利水施設の建設計画段階での影響評価、水産物の検疫強化が不可欠だと考えられる。

表1. 本研究で調査したカワヒバリガイの地域集団名、個体群番号、個体群名、サンプル数、ハプロタイプ数、ハプロタイプの頻度。

	サンプル数	ハプロタイプ数	H01	H02	H03	H04	H05	H06	H07	H08	H09	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	H31	H32	H33				
関東地域集団																																							
1:霞ヶ浦	10	5		2	2											1	1	4																					
2:黒部川-1	13	7	1	5	2	1		1				1	2																										
3:黒部川-2	10	7			1	2	1		1	1								2																					
4:利根川-1	10	5	1	4	1	3							1																										
5:利根川-2	10	5		2	4								2		1		1																						
6:利根川-3	10	3		4	5								1																										
7:長門川	10	3		6	3																																		
8:前川	9	3		3	4																																		
9:返田機場	9	3	1	4	4																																		
10:鹿島用水	10	5		5	1		1			2																													
11:江戸川	10	4		5	2								2																										
12:小貝川-1	10	5		2	4					1				2		1																							
13:小貝川-2	9	5		3	3					1		1		1																									
大塩湖地域集団																																							
14:大塩湖-1	19	3																				11						3	5										
15:大塩湖-2	10	4													1							5	1		3														
矢作川地域集団																																							
16:矢作川	11	4		1											3							5	2																
天竜川地域集団																																							
17:天竜川	10	5		3																		1	2	3	1														
木曾三川地域集団																																							
18:長良川	9	4		1																		3		4	1														
19:揖斐川	11	4													2							1	5	3															
琵琶湖-淀川地域集団																																							
20:琵琶湖今浜	9	4		1																		3	1	4															
21:浜大津	10	3																				6		3	1														
22:瀬田川	10	4		2											5							1	2																
23:宇治川	6	2																				4	2																
24:淀川-1	10	4		4																		2	3	1															
25:淀川-2	9	4		1																		2	1	5															
26:木津川	10	2																				9		1															
中国																																							
27:崇明島	21	9		1	11														3						1	1	1								1	1			
28:上海	12	4		1	7							1							2																	1			
29:太湖	7	2			5																															2			
韓国																																							
30: Paldang Dam	16	2		2	14																																		
台湾																																							
31: Shueili River	21	2																									1												
アルゼンチン																																							
32: La plata River	13	5																																		1	4	1	2

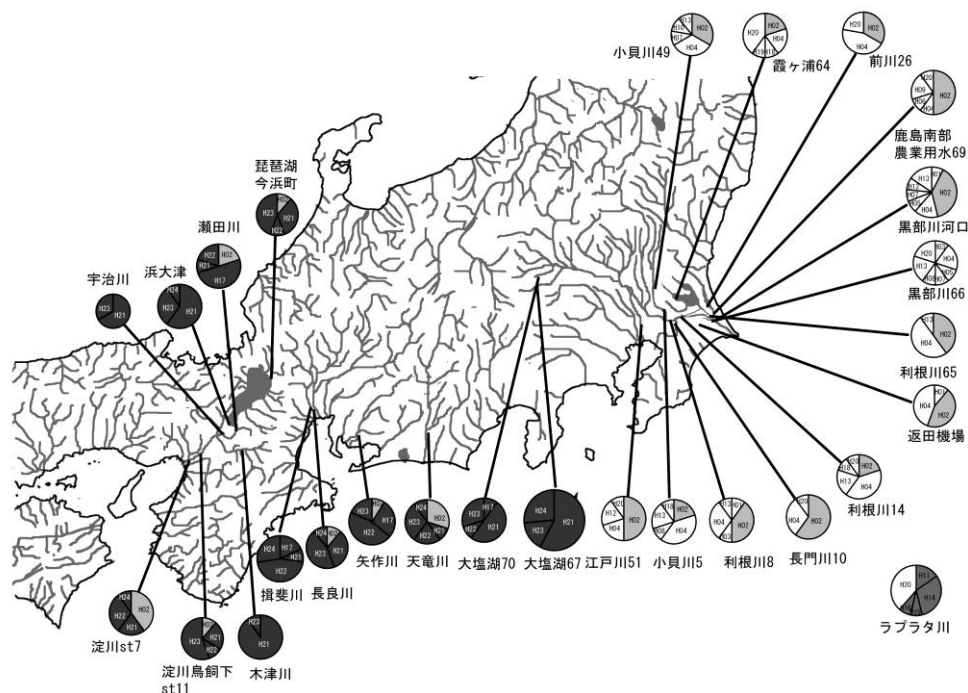


図9. 標本の採集地点と各地域個体群のハプロタイプ頻度。

白色：国内では利根川下流域地方にのみ見られるハプロタイプ；黒色：利根川上流域（大塩湖）、天竜川、矢作川、木曾三川、琵琶湖淀川水系の5地方に共通して見られるハプロタイプ；薄い灰色：全国的に分布するハプロタイプ；濃い灰色：アルゼンチンのサンプルのみで見られたハプロタイプ。円の大きさは標本数を示す。

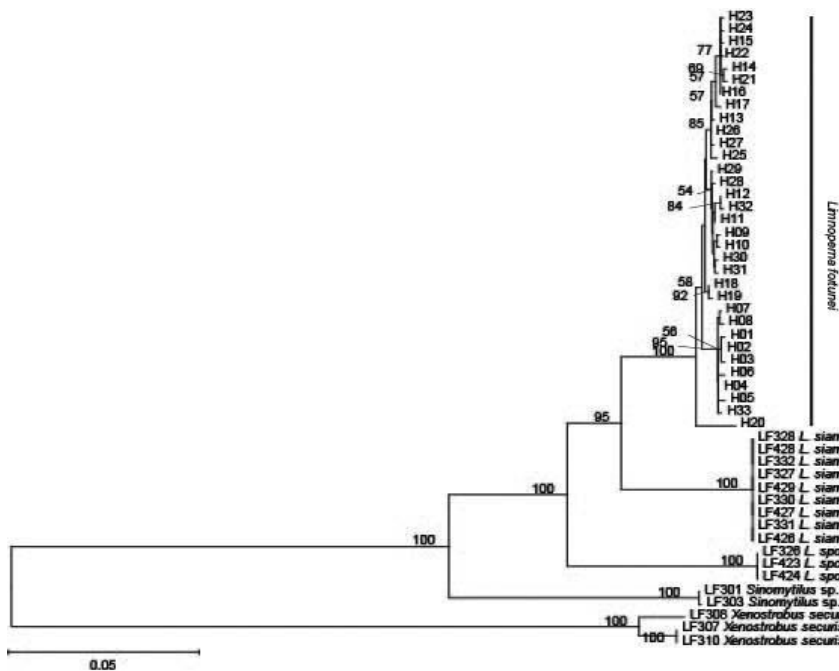


図10. 国内外のカワヒバリガイ見つかった33ハプロタイプの系統関係と同じく特定外来生物に指定される同属2種の遺伝的関係

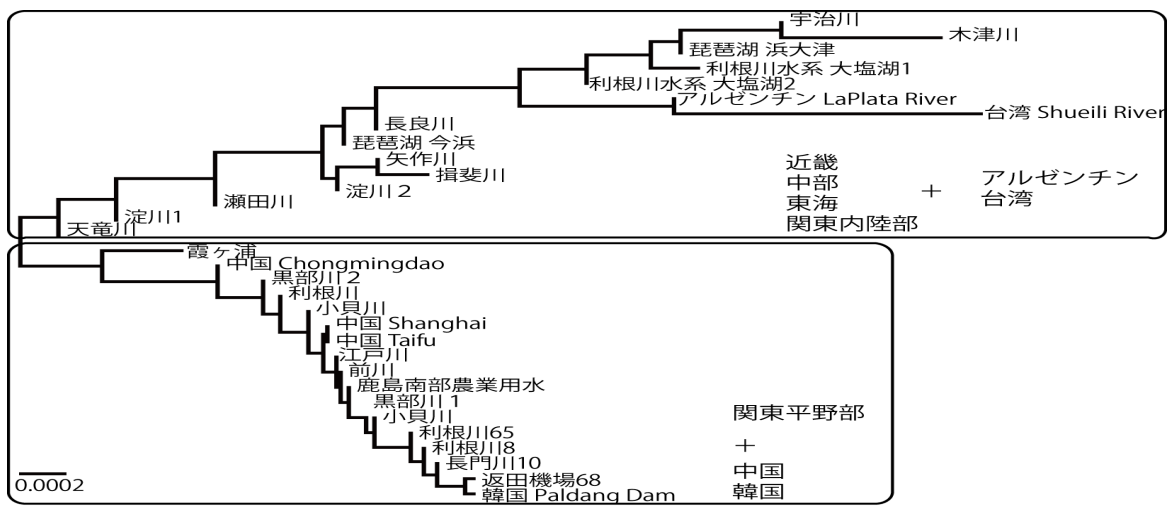


図11. 純塩基置換率 (DA) に基づく地域個体群間の近隣結合樹。

カエルツボカビ

サブテーマ4の課題代表の麻布大学と共同で、日本全国の獣医師、社団法人日本動物園水族館協会、博物館、自治体、および環境省自然環境局との情報ネットワークを構築し、検査体制を構築した(図12)。さらに、韓国ソウル大学、オーストラリア・グリフィス大学、オーストラリアCSIRO、アメリカ・リー大学、Arkansas Game & Fish Commissionと共同研究体制を構築し、各国のサンプル採集ルートを確認した。

得られた両生類スワブサンプルをNested-PCR法により分析した結果、カエルツボカビITS-DNA領域において塩基配列に変異が認められ、ハプロタイプが50タイプ検出された。それぞれのハプロタイプに検出された順にアルファベットA~Zでコードし、途中よりアルファベットではコードが足りなくなったので、Zよりあとに検出されたハプロタイプについてはBd27~Bd50と標記した。各ハプロタイプはすべてホモ接合体で、ヘテロ接合体は検出されなかった。ハプロタイプ間の変異の特徴は、特にITS1領域における塩基の挿入・欠失による塩基長の変異が生じていることであった(ハプロタイプの塩基配列情報の一部は投稿中未公開データのためここでは示さない)。

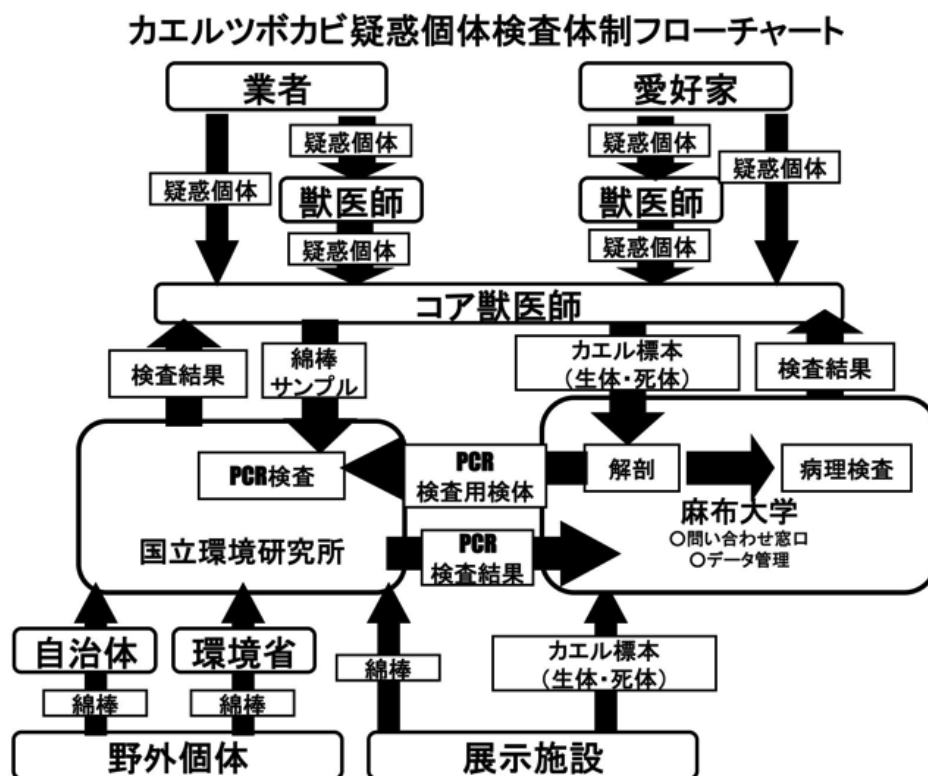


図12. 全国カエルツボカビ検査体制の構築

ペットショップで販売されている両生類265個体を検査した結果、58個体に感染が認められた（感染率22%）（表2）。種によって感染率に差があり、特に感染率が高い種は南米原産種で、北米産ウシガエル *Rana castabeiana* およびアフリカ原産アフリカツメガエル *Xenopus laevis* という実験用個体も感染率が高かった。ウシガエルをのぞき、感染個体におけるカエルツボカビのハプロタイプはAタイプもしくはCタイプがほとんどであった。ウシガエルのみ、非常に多様なタイプのカエルツボカビが検出された。

展示施設における両生類294個体を検査した結果では、12個体の感染が認められた（感染率4%）（図13）。感染が認められたのはわずかな種で、アフリカ原産のバナナガエル *Afraxalus fornasinii* sp.、メキシコ原産のウーパールーパー *Ambystoma* sp.、在来種のヤマアカガエル *Rana ornativentris*、オオサンショウウオ *Andrias japonicus*、野生化外来種のウシガエル *Rana catesbeiana* から検出された。検出されたカエルツボカビのタイプは、A、B、E、F、J、K、およびMなど変異に富んでいた。

野生個体については5,565個体のうち159個体で感染が確認された（感染率3%）。感染が認められたのは、在来種8種（オオサンショウウオ *A. japonicus*、シリケンイモリ *Cynops ensicauda*、ヌマガエル *Fejervarya limnocharis*、アマガエル *Hyla japonica*、トノサマガエル *Rana nigromaculata*、ツチガエル *Rana rugosa*、ハナサキガエル *Rana (Eburana) narina*、リュウキュウカジカガエル *Buergeria japonica*）、および外来種2種（ウシガエル *R. catesbeiana* およびアフリカツメガエル *X. laevis*）のみであった。その他の在来種39種については、感染は認められなかった。日本固有種オオサンショウウオから高い確率で特異的なカエルツボカビ（B、J、K）が検出された（感染率37%）。また

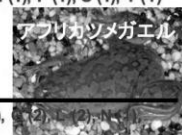
沖縄固有種シリケンイモリは64%という高い感染率を示した。その他の感染在来種については、感染率は1%未満の極めて低い値を示した。外来種ウシガエルとアフリカツメガエルの感染率は、約20%と比較的高かった。最も多様なカエルツボカビに感染していたのはシリケンイモリで、28タイプ保有していた（図14）。

パナマから採集した73個体、オーストラリアから採集した252個体、およびUSAから採集した54個体の野生両生類については、それぞれ19個体、94個体および21個体から感染が確認された。検出されたカエルツボカビのハプロタイプはいずれも90%以上がAタイプで、残りはわずか数タイプのA近似型のみであった。アメリカ原産ウシガエルは、アメリカ本国内では感染率が0であった。

得られたカエルツボカビITS-DNA塩基配列情報に、既に海外で報告されている情報を加えて、最節約法により、ハプロタイプ系統樹を構築した結果、日本で発見されたカエルツボカビ（50タイプ）は海外で発見されているもの（17タイプ）よりも遺伝的多様性が圧倒的に高く、海外産カエルツボカビは日本の系統から派生したものと推定された（図15）。

表2 両生類のペットショップ販売個体におけるカエルツボカビ感染状況とカエルツボカビITS-DNAハプロタイプの分布

Species	Origin	Prevalence	Fungus haplotypes (number of infected amphibians)
<i>Ambystoma mavortium</i>	USA	0/2	
<i>Ambystoma mexicanum</i>	Mexico	0/13	
<i>Bombina orientalis</i>	Democratic People's republic of Korea	0/2	
<i>Breviceps adspersus</i>	South Africa	0/2	
<i>Bufo japonicus formosus</i>	Japan	0/3	
<i>Dendrobates auratus</i>	Panama	0/1	
<i>Dendrobates leucomelas</i>	Brazil	0/1	
<i>Ceratophrys cornuta</i>	Suriname	2/3	A (1), C (1)
<i>Ceratophrys cranwelli</i>	Argentina	0/8	
<i>Ceratophrys ornata</i>	Argentina, Brazil	32/89	A (22), C (10)
<i>Cynops ensicauda</i>	Islands	0/1	
<i>Cynops pyrrhogaster</i>		0/1	
<i>Lepidobatrachus laevis</i>	Argentina	1/4	A (1)
<i>Litoria caerulea</i>	Papua New Guinea	0/3	
<i>Phyllomedusa sauvagii</i>	Argentina	0/3	
<i>Rana catesbeiana</i>	Japan (Naturalized alien species)	17/17	D (1), E (4), F (5), G (2), L (1), N (1), P (1), S (1), T (1)
<i>Rhacophorus maximus</i>	Thailand	0/1	
<i>Xenopus laevis</i>	South Africa	26/128	A (1), C (23), L (1), V (1)
Tota l		78/282	A (25), C (34), D (1), E (4), F (5), P (1), S (1), T (1), V (1)



27.7%

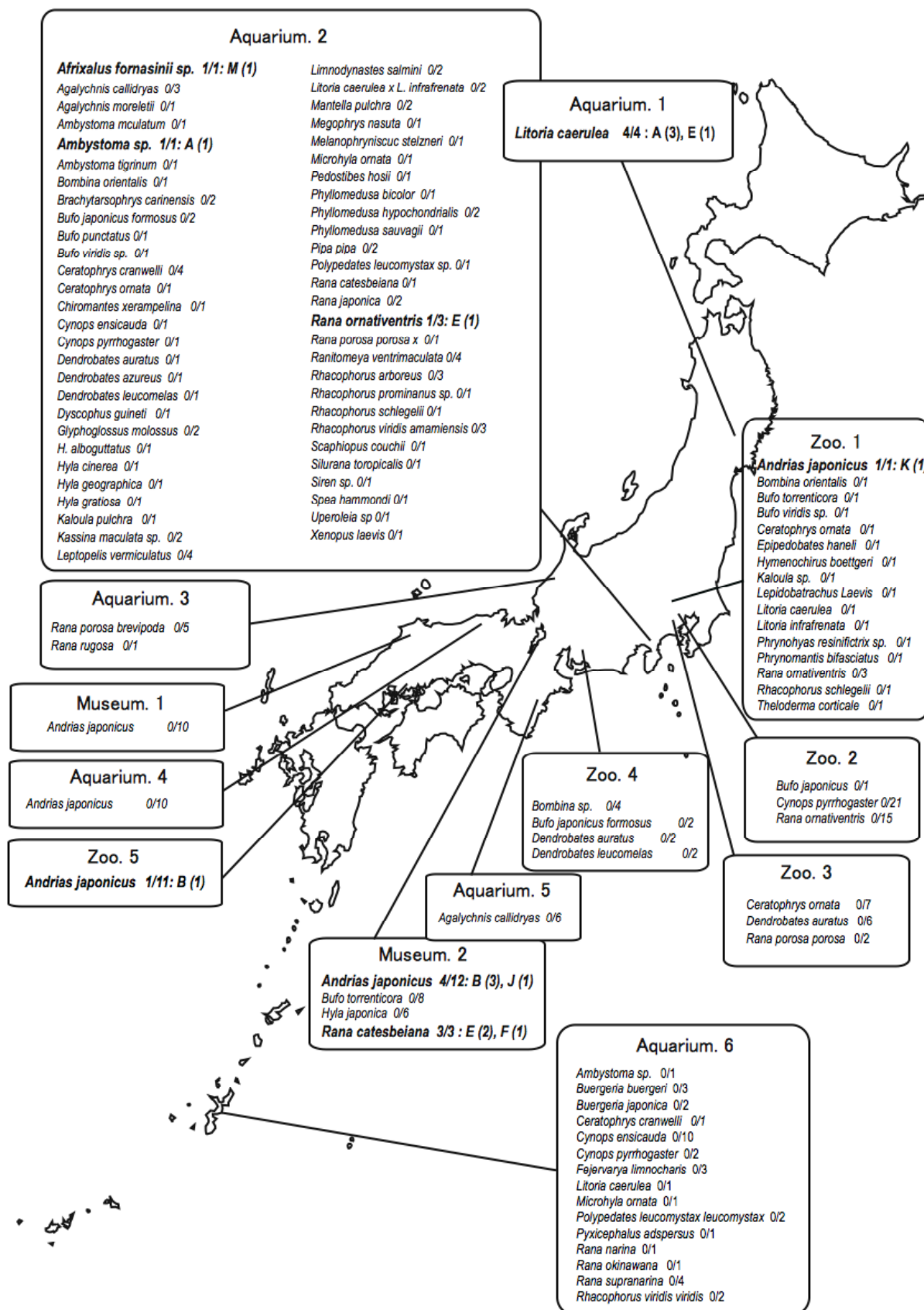


図13. 展示施設におけるカエルツボカビ感染率およびカエルツボカビDNAハプロタイプの分布

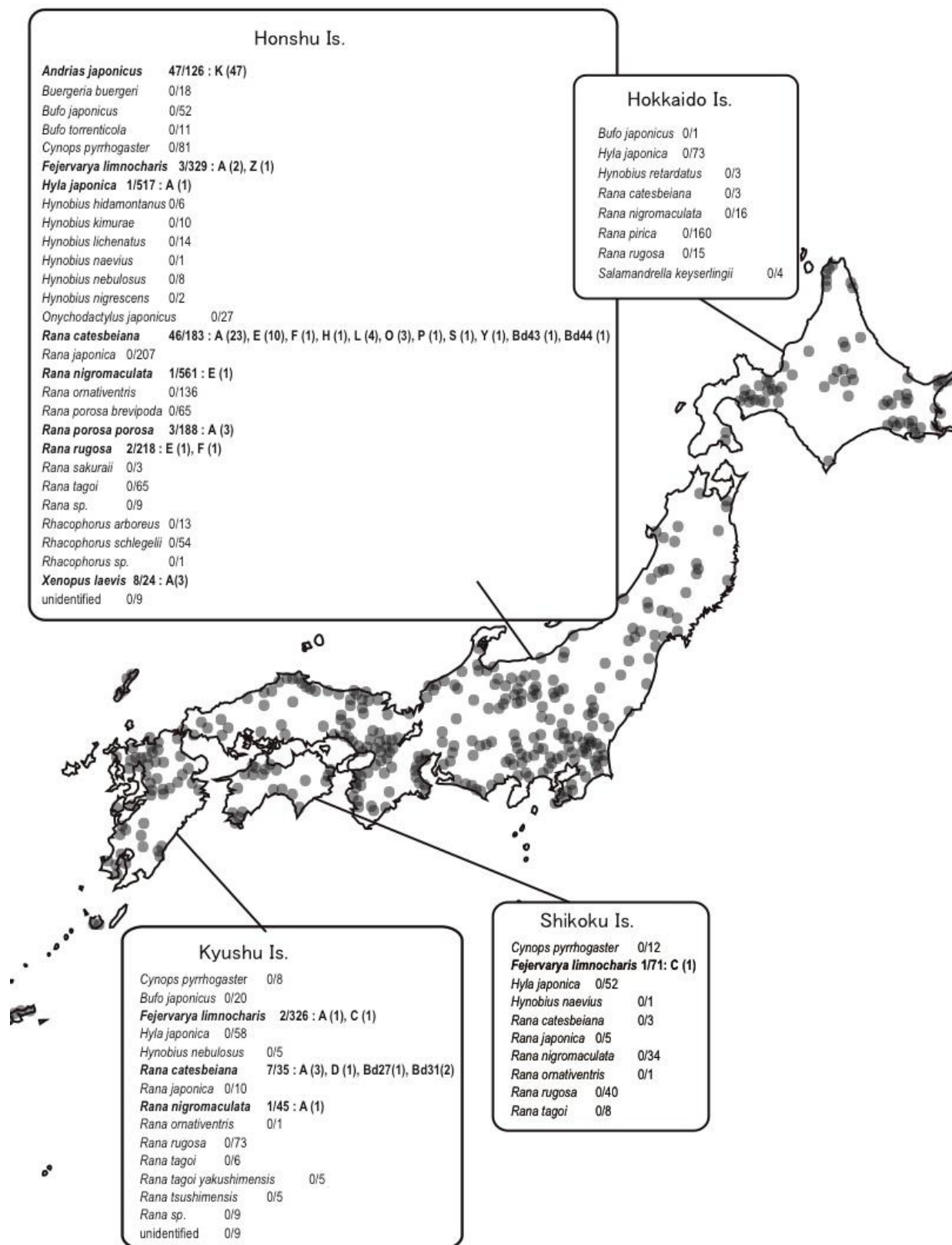


図14a 野生両生類個体におけるカエルツボカビ感染率およびカエルツボカビDNAハプロタイプの分布（本土）

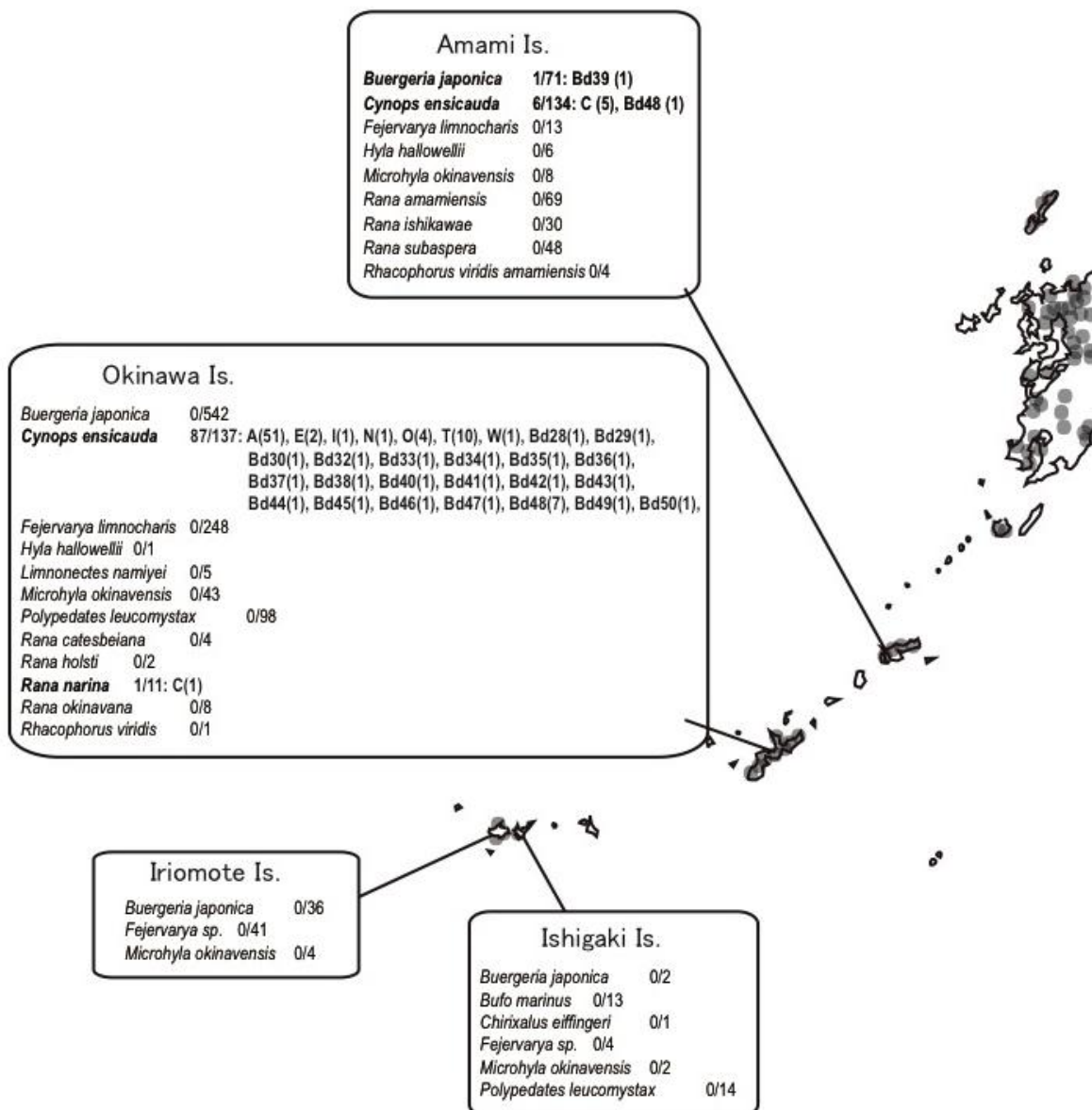


図14b 野生両生類個体におけるカエルツボカビ感染率およびカエルツボカビDNAハプロタイプの分布（南西諸島）

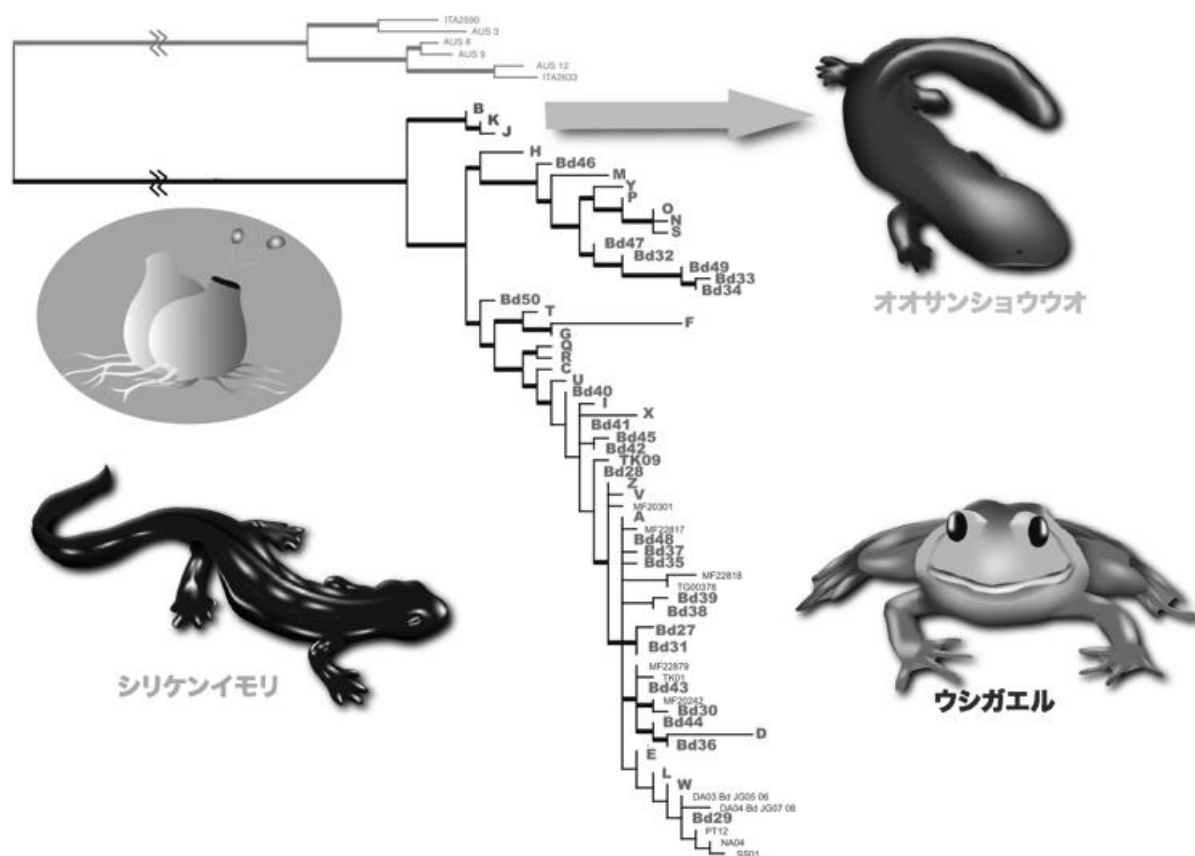


図15. カエルツボカビITS-DNAハプロタイプの最節約系統樹

大きいフォントで記されているOTUが日本国内で発見されたハプロタイプを示し、小さいフォントで記されているのがこれまでに海外で報告されているハプロタイプを示す。

次に在来種シリケンイモリの感染個体もしくは非感染個体と南米原産ベルツノガエルの同居飼育実験を行った結果、10日以内に100% (7/7) 感染していることがNested-PCR検査によって示された(図16)。140日間の飼育期間を通して、ベルツノガエルの感染率の低下は認められず、感染は継続していた。さらにベルツノガエル感染個体は非感染個体と比較して成長率が有意に低下していた(図17)。同様の実験を在来種ヌマガエルへの感染で実施した結果、感染は認められたが発症はしなかった。このことから、日本のカエルツボカビは海外の両生類に対して有害であるが、日本の両生類は抵抗性を有しており、発症しないことが示唆された。

さらに野外集団の感染率の季節変動を調査した。その結果、神奈川県のカエルツボカビの感染率には季節変動が見られ、冬季から春季(3月)に感染率が上がり(感染率:最大66%)、夏季(8-10月)には感染個体は見られなくなった(図18)。一方で在来種のシリケンイモリの感染率には明瞭な季節性は見られず1年を通して0-52%の間で推移した(図18)。シリケンイモリの感染率には生息環境の違いが感染率に影響するようで、水中に生息していた個体の感染率(14-63%)は陸上に生息していた個体の感染率(0-27.3%)に比べてほぼすべての季節で高かった。ウシガエルとシリケンイモリに見られる感染率の年変動の違いには、カエルツボカビの生理的な特性と生息地の水温の年変動の違いが影響している可能性がある。これまでの先行研究からカエルツボカビ

は低温を好むが高温に弱いことが知られている²³⁾ (Kriger and Hero, 2007)。また今回調査したウシガエルの生息地の水温は冬季は7℃近くまで低下するが夏季は22℃を超える。一方でシリケンイモリの生息地は沖縄の湧水池付近で一年を通して水温が15から20℃の範囲内で安定していた。おそらくウシガエルの生息地では冬季にカエルツボカビが爆発的に増殖し夏季には激減するのに対し、シリケンイモリの生息地では一年を通してカエルツボカビが安定して増殖しているものと考えられる。

最後にカエルツボカビの全世界リスクマップを作成した結果、日本以外でリスクが高かったオーストラリア、中南北米等の地域は、両生類が減少しているものの原因不明とされているそれらの地域²⁴⁾と一致した(図19)。これはカエルツボカビが生息地の減少や過剰採取と並ぶ世界的な両生類減少の要因であることの傍証となった。

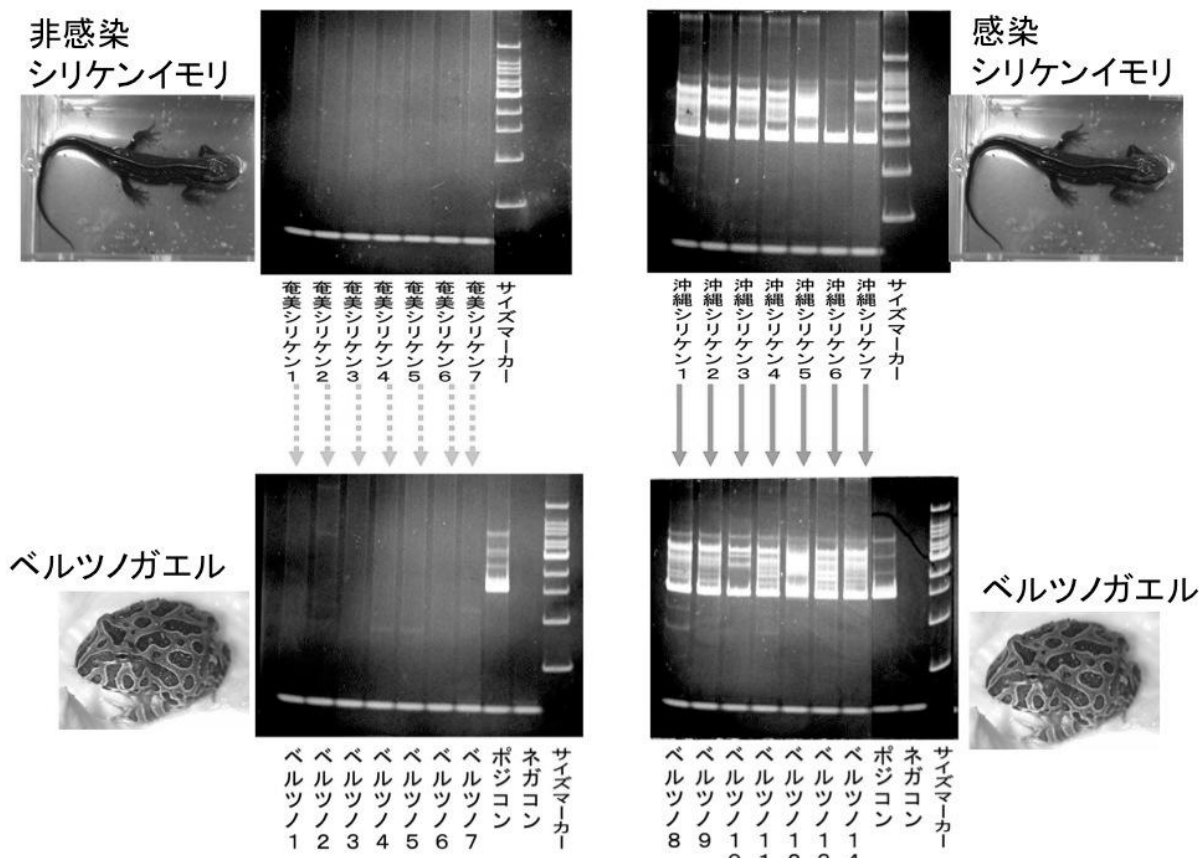


図16. シリケンイモリからベルツノガエルへのカエルツボカビ水平感染実験におけるPCR検査結果
 ベルツノガエルは全て、実験前は無菌状態であった。非感染のシリケンイモリと同居した区 (Control区) では試験7区全てにおいて、10日後になってもベルツノガエルからはカエルツボカビのITS-DNA (300bp) は検出されていない。一方、感染シリケンイモリと同居した区では試験7区全てにおいて、ベルツノガエルからもカエルツボカビITS-DNAが明確に検出された。

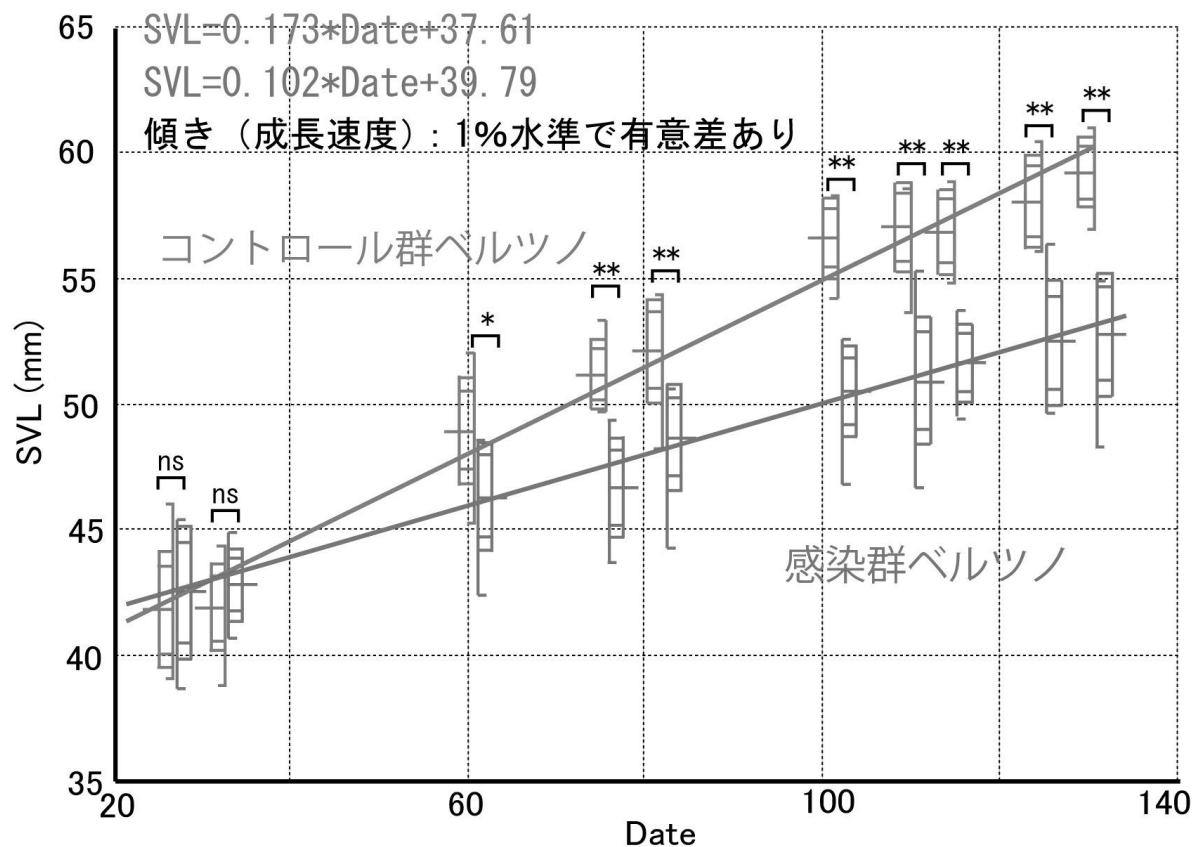


図17 カエルツボカビに感染したベルツノガエル試験個体群と非感染のベルツノガエル試験個体群の成長直線（体長ベース）

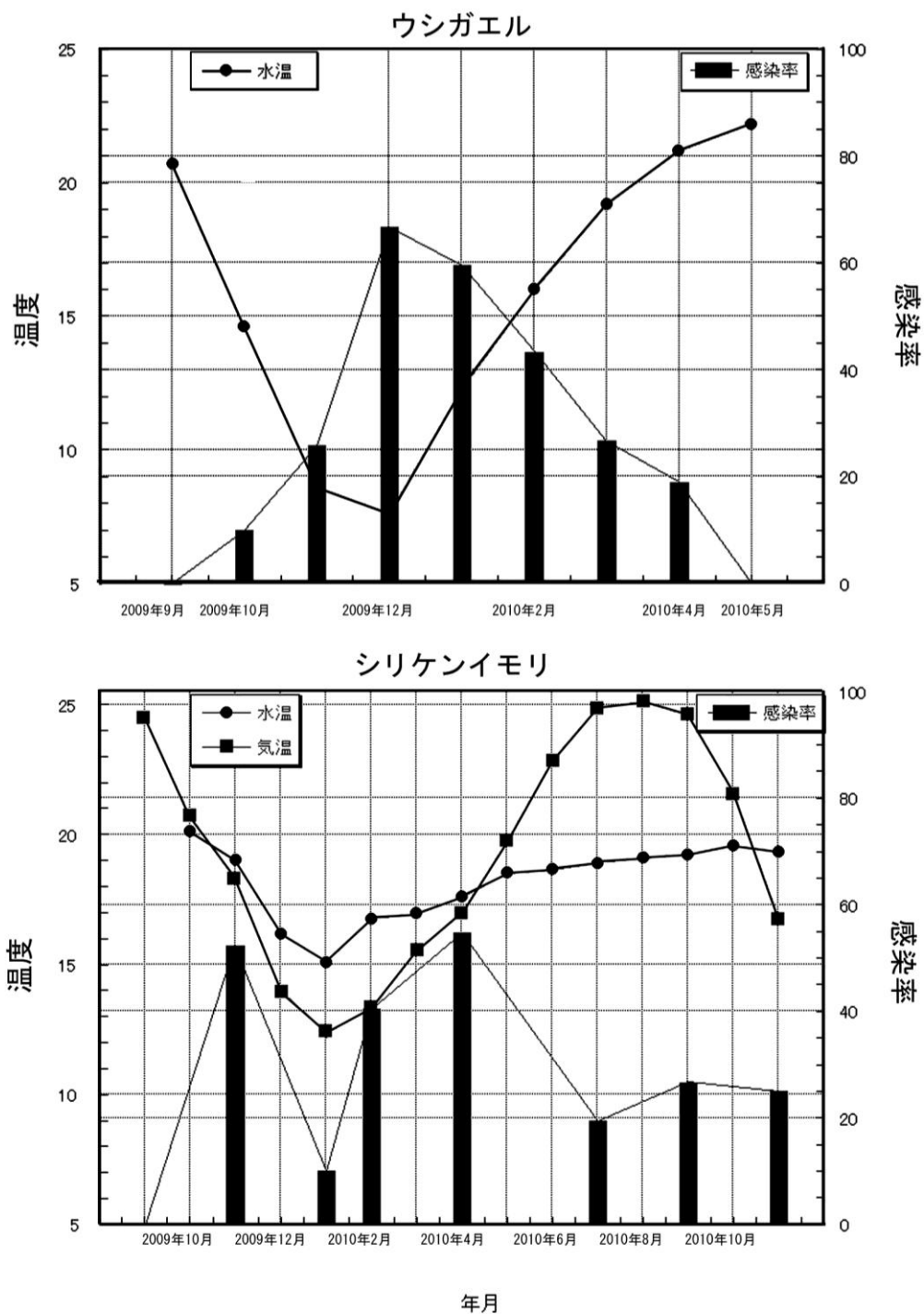


図18. 神奈川県産のウシガエル幼生（上）および沖縄県産のシリケンイモリ（下）の感染率と水温の年変動

ウシガエルの感染率には明瞭な季節変動が見られ、水温の低下する冬期に感染率が上昇し、夏季には感染率の低下が見られる。一方、シリケンイモリの感染率には季節変動が見られない。湧水の水温が15～20℃とカエルツボカビの好む温度が年中保たれているためか、一年を通してカエルツボカビの感染が見られる。

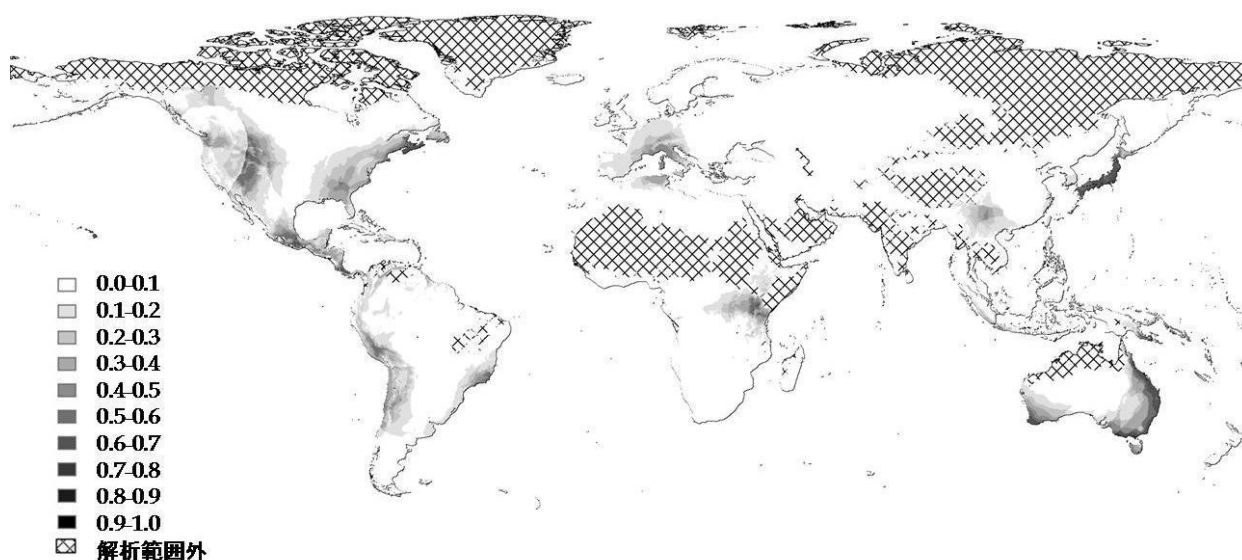


図19. カエルツボカビのリスクマップ

リスクは0～1で表し、1に近づくほどカエルツボカビの生息に適しているため感染リスクが高い地域を示す。

以上の結果から、日本国内には、野生個体および室内飼育個体を含めて、カエルツボカビ菌の感染が認められ、しかもその遺伝的多様性が海外と比較して圧倒的に高いことが示された。しかも、オオサンショウウオという日本固有種に特異的なカエルツボカビ菌が感染していたことから、かなり古くからカエルツボカビ菌が日本国内には生息していたことが示唆される。ちなみに、オオサンショウウオのスワブサンプルから検出されたDNAが、本当にカエルツボカビ菌由来であるか確かめるために、我々は皮膚組織の病理検査も実施し、カエルツボカビ菌特有の形態を確認している。さらに、国内に所蔵されているオオサンショウウオ標本の病理検査も実施した結果、1902年という古いサンプルからもカエルツボカビ菌形態を確認している。これは、従来の、カエルツボカビ発祥の自然宿主とされるアフリカツメガエルの最古感染標本（1938年）よりもさらに30年以上古くに遡る、世界最古のカエルツボカビ標本ということになる。その他のハプロタイプについてはスワブサンプルしかないため形態精査は行っていないが、リボソームRNA18S領域および28S領域もNested-PCRにより増幅し、それらの配列がDNAデータベースに登録されているカエルツボカビ菌DNA（ハーバード大・マサチューセッツ工科大によるカエルツボカビ菌全ゲノム解析プロジェクトデータ <http://www.broad.mit.edu>）と100%のホモロジーを示すことを確認している。国内で感染している在来種については、オオサンショウウオやシリケンイモリなど高感染率の種も含めて、一切、健康上には異常は認められなかった。逆に、野外で発見された異常死亡個体からは一切カエルツボカビ菌は検出されていない。このことは在来両生類がカエルツボカビ菌に対して抵抗性を有しており、両生類と菌の間に長い共進化をへて（片利）共生関係が生まれていることを示唆する。

一方、カエルツボカビの被害が世界でも最も著しい、中米パナマおよびオーストラリア東海岸では野生個体における感染率は日本に比べて高く、またカエルツボカビ菌の遺伝的多様性は極めて低かった。このことは、カエルツボカビ菌の起源は日本を含むアジアにあり、そこから世界各地に飛び火的に分布拡大して、猛威をふるっている、という、「カエルツボカビ・アジア起源説」

という新しい仮説が立てられる（図20）。日本国内ではウシガエルが最も多様なカエルツボカビ菌に感染していたが、これは北米原産のウシガエルは当初無菌状態で輸入され、アジアで養殖・野生化を繰り返す中で、日本国内にcrypticに生息している様々なカエルツボカビ菌が宿主転換した結果でないかと類推される。実際に野外における感染率をみると、同所的に生息する在来種よりもかなり高く、二次的感染が示唆される。



図20. カエルツボカビのアジア起源説概念図。ITS-DNA領域の塩基配列情報から、これまでに日本に多様性の中心があるという結果が出ている。

ペット用の両生類は海外から日本に輸入されるケースがほとんどであると考えられがちであるが、実際には、生きたオオサンショウウオを国外の博物館などに展示用に大量に輸出するケースがある。またウシガエルもかつては日本および中国で大量に養殖して、他国に販売していた時代がある。従って、カエルツボカビ菌がアジアから世界に拡散するルートも十分に想定される。いずれにしても、カエルツボカビという菌自体が発見されて間もなく、生物学的情報が不足している中では、全てが推測の域を出ず、日本、アジア、そして世界のカエルを取り巻く情勢は極めて混沌としている。今後、カエルツボカビの分布拡大プロセスについては、従来のアフリカツメガエル起源説を見直して、世界中のカエルツボカビ菌の遺伝学的・生態学的特性を調査し、詳細に解析する必要がある。

そもそも、アフリカツメガエルが起源だとしても、アジアのカエルが起源だとしても、どちらのカエルも人為的に移送される先は実験室内や展示施設や個人の家の中など人為的環境エリアと考えられる。では、カエルツボカビは、なぜそのような人為環境から中南米の奥地に侵入を果たしたのか？それは、やはり「人」が運んだとしか考えられない。中南米では林産資源としてのみならず、エコツーリズムなど観光資源として熱帯林地域を活用する動きが活発になっており、近年、様々な国から多くの人間が訪れて、熱帯林の奥地まで足を踏み入れている。これまで人間世

界から隔離されてひっそりと生きてきた両生類の生息空間に人が足を踏み入れたことによって、下界からカエルツボカビ菌が持ち込まれ、免疫のない両生類の間でこの菌は瞬く間に広がったのではないか。一方、アジア地域では、水田環境も含めてもともとカエルと人が接触する場面が多く、この地域に生息するカエルたちは、常に人為攪乱の脅威にさらされながら、生きてきたため、カエルツボカビに対しても既に抵抗性を獲得しており、大きな被害は生じないのかも知れない。人との付き合いの浅いカエルたちが、今、人が持ち込んだ病原体によって危機にさらされているというのが、カエルツボカビ大流行の経緯と推測される。

では、日本の両生類は、カエルツボカビ菌によって害を被ることはないかと断言できるであろうか？サブテーマ4課題代表の麻布大の調査によれば、輸入カエルから分離されたカエルツボカビ菌株（Cタイプ）を用いた室内感染実験において在来種の一部に感染と発症の事例があることが詳細報告にも記されている。海外から持ち込まれるカエルツボカビ菌の中には日本には生息していないタイプが含まれているかも知れず、その場合は、共進化を経ていない新型病原菌として日本の在来両生類に対して強毒性を示す可能性がある。また、パナマにおけるカエルツボカビ症の感染爆発にはバナナプランテーションなどの土地開発が密接に関係していることが統計的に示されており²⁵⁾、農業などの環境攪乱要因あるいは生理攪乱要因が両生類の免疫機能を低下させ、感染症の感染爆発を引き起こすことも想定される。つまり、常在菌として生息する菌も環境が変化することにより、有害な菌に変貌する恐れがある。今後、環境要因とカエルツボカビ症発症の関係について詳細に調査を進め、グローバル・リスクマップに反映させ、より確度の高いリスク管理に結びつける必要がある。

カエルツボカビの問題を通して得られる最大の教訓は、生物移送がもたらす新興感染症の感染爆発のリスクである。カエルツボカビ症は両生類固有の病気であるが、寄生生物問題の本質がそこにはっきりと示されている。いかなる寄生生物にも、長きにわたる共進化を経て、共生関係に至った自然宿主が存在し、宿主-寄生生物間の共進化が両者の多様性を育んできたと考えられる。恐らく、カエルツボカビにも付き合いの長い自然宿主となる両生類が存在し、カエルツボカビはその両生類の生息域でのみ生息していたのではないか。しかし、人間がその宿主両生類とともにこの菌を全く異なる環境に移送したことから、カエルツボカビはそれまで全く出会ったことのない、免疫のない両生類に対して重大な被害を及ぼすに至ったというシナリオが想定される。

そして、宿主-寄生生物間の共生関係の攪乱は、実は、われわれ人間にとって脅威となる新興感染症の流行にも密接に結びついている。例えばHIVやSARSなどの突発出現ウイルス（Emerging virus）と呼ばれる新興感染症病原体はいずれも自然宿主（キクガシラコウモリやチンパンジー等）に対しては無害であり、自然宿主と共生関係にある。しかし、近年の人間による生態系攪乱が、ウイルス-自然宿主間の共生関係を崩壊させ、人間自身がウイルスと接触する機会が増大したことで、様々な新興感染症が多発しているのではないかと考えられている²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾。問題なのは病原体自身ではなく、その共生関係を攪乱している人間活動にある。自然環境が破壊され、宿主生物が移送されることにより、寄生生物はその生息場所を失い、宿主転換を図り、人間を含む生態系に対して重大な被害を及ぼさざるを得なくなっている。自然共生という言葉が唱われて久しいが、寄生生物との共生をはかり、人間の安全で健康な生活を守るためにも、寄生生物の進化的重要単位ESUを守るという視点も必要だと考えられる。

以上、アルゼンチンアリ（外来アリ）、カワヒバリガイ（外来淡水生物）、およびカエルツボカビ（外来寄生生物）の研究成果については、国立環境研究所侵入生物データベースに反映させ、一般への最新情報の公開と普及啓発に活用した。本研究課題を通して、非意図的な随伴侵入生物は、人為輸送ルートの開拓および環境改変によって、その侵入ルートおよび分布拡大プロセスが大きく影響を受けることが予測され、生態学的調査にとどまらず、社会的・経済的背景にも注目してデータを収集し、総合的リスク評価を図ることが重要と考えられる。

また、特に、生態系を守る立場にある我々生態学者は、国内外で自分の「生息地」以外のフィールドに出掛けて調査する機会が多いが、生態系を守るという目的のためにも自分の体に付着する「目に見えない異物」に十分な注意を払う必要があることも示された。

5. 本研究により得られた成果

（1）科学的意義

アルゼンチンアリ、カワヒバリガイ、およびカエルツボカビという分類群の異なる非意図的随伴侵入生物を対象として、その遺伝的変異を詳細に解析するとともに、貿易や水路開発など人為的環境改変要因との関係を検討して、侵入ルートおよび分布拡大プロセスのシナリオ構築が行われた。

（2）地球環境政策への貢献

アルゼンチンアリおよびカワヒバリガイの研究成果は、生物多様性条約事務局CBD発行の科学論文特集BIODIVERSITYにおいて、日本の侵入生物トピックのReview論文として2009年に度掲載された。アルゼンチンアリ研究ネットワークを通じて、2008年度に環境省中国四国地方環境事務所が実施している防除事業に対して、2009年度には環境省中部地方環境事務所が実施している防除事業に対して防除手法およびそのリスク評価について提案を行った。カエルツボカビについての成果は、2009年度にMolecular Ecologyに、2010年度にOIE国際獣疫事務局会誌に掲載され、国際的に大きな反響を呼んだ。さらにこの問題を通じて、生態学と獣医学のインターフェースが構築され、課題代表の五箇は獣医学関係の研究集会においても招待講演を行った。また、2010年10月名古屋で開催されたCBD-COP10においても成果発表を行い、2011年2月スイス・ジュネーブで開催されたCBD外来種専門家会合にも招聘された。IUCN国際自然保護連合主催のAmphibian Arc Project両生類箱船計画の策定にも専門家として招聘され貢献した。カワヒバリガイの分布拡大プロセスの解明は、国土交通省が建設を進めている霞ヶ浦導水事業に対して侵入生物（特定外来生物）の分布拡大リスクを提示するとともに、その防除対策について具体的提言につながる。カエルツボカビの侵入ルート・分布拡大プロセスに関する研究成果は、国際的な両生類減少の要因解析に貢献するとともに、「生物多様性と感染症pandemic」という概念に実証例を提供する。

6. 引用文献

- 1) 田向健一・宇根有美（2007）第2章. カエルツボカビとは. 第4項. 臨床症状. カエルツボカビ. 爬虫類・両生類の臨床と病理に関するワークショップ事務局編.
- 2) Berger L, Speare R, Daszak P, Green D E, Cunningham A A, Goggin C L, Slocombe R, Ragan M A, Hyatt A D, McDonald K R, Hines H B, Lips K R, Marantelli G & Parkes H（1998）Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the

- rainforests of Australia and Central America. Proc. Natl. Acad. Sci. 95:9031-9036.
- 3) Lips K R (1999) Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in western Panama. Conserv. Biol. 13:117-125.
 - 4) Pessier A P, Nichols D K, Longcore J E & Fuller M S (1999) Cutaneous chytridiomycosis in poison dart frogs (*Dendrobates spp*) and Whites tree frogs (*Litoria caerulea*). J. Vet. Diag. Invest. 11:194-199.
 - 5) Bosch J, Martinez-Solano I & Garcia-Paris M (2001) Evidence of chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (*Alytes obstetricans*) in protected areas of central Spain. Biological Conservation 97:331-337.
 - 6) Bradley G A, Rosen P C, Sredl M J, Jones T R & Longcore J E (2002) Chytridiomycosis in native Arizona frogs. J. Wildlife Diseases 38:206-212.
 - 7) Green D E, Converse K A & Schrader A K (2002) Epizootiology of sixty-four amphibian morbidity and mortality events in the USA, 1996-2001. Annal. New York Acad. Sci. 969:323-339.
 - 8) Ron S R, Duellman W E, Coloma L A & Bustamante M A (2003) Population decline of the Jambato toad *Ateolopus ignescens* (Anura: Bufonidae) in the Andes of Ecuador. J. Herpetol. 37:116-126.
 - 9) Weldon C, Du Preez L H, Hyatt A D, Muller R & Speare R (2004) Origin of the amphibian chytrid fungus. Emerg. Infect. Dis. 10:2100-2105
 - 10) Lips K R, Brem F, Brenes R, Reeve J D, Alford R A, Voyles J, Carey C, Livo L, Pessier A P & Collins J P (2006) Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 102:3165-3170.
 - 11) Rachowicz L J, Hero J M, Alford R A, Taylor J W, Morgan J A T, Vredenburg V T, Collins J P & Briggs C J (2005) The novel and endemic pathogen hypothesis: competing explanations for the origin of emerging infectious diseases of wildlife. Conserv. Biol. 19:1441-1448.
 - 12) Une Y, Kadekaru S, Tamukai K, Goka K & Kuroki T (2009). First Asian report of spontaneous chytridiomycosis in frogs. *Diseases of Aquatic Organism* 82, 157-160.
 - 13) Pritchard J K, Stephens M & Donnelly P (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.
 - 14) Krieger M J B & Keller L (1999) Low polymorphism at 19 microsatellite loci in a French population of Argentine ants (*Linepithema humile*). Mol Ecol 8: 1078-1080
 - 15) Tsutsui N D, Suarez A V, Holway D A & Case T J (2000) Reduced genetic variation and the success of an invasive species. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97: 5948-5953
 - 16) Nei M & Li W H (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings National Academic Science USA 76:5269-5273
 - 17) Raymond M & Rousset F (1995) An exact test for population differentiation. Evolution 49:1280-1283.
 - 18) Goka K, Okabe K, Yoneda M & Niwa S (2001) Bumblebee commercialization will cause worldwide

- migration of parasitic mites. *Mol. Ecol.*, **10**, 2095-2099.
- 19) Goka K., Yokoyama J., Une Y., Kuroki T., Suzuki K., Nakahara M., Kobayashi A, Inaba S & Hyatt A D (2009) Amphibian chytridiomycosis in Japan: distribution, haplotypes and possible route of entry into Japan. *Mol. Ecol.*, **18**:4757-4774.
- 20) Annis S L, Dastoor F P, Ziel H, Daszak P & Longcore J E (2004) A DNA-based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians. *Journal of Wildlife Diseases*, **40**:420-428.
- 21) Ward D F, Beggs J R, Clout M N, Harris R J, & O' Connor S (2006) The diversity and origin of exotic ants arriving in New Zealand via human-mediated dispersal. *Diversity and Distributions*, **12**:601-609.
- 22) Suarez A V, Holway D A & Case T J (2001) Patterns of spread in biological invasions dominated by long-distance jump dispersal: Insights from Argentine ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**:1095-1100.
- 23) Kriger K M and Hero J M (2007) Large-scale seasonal variation in the prevalence and severity of chytridiomycosis. *Journal of Zoology* **271** :352-359
- 24) Stuart S N, Chanson J S, Cox N A, Young B E, Rodrigues A S L, Fischman D L & Waller R W (2004) Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* **306**: 1783-1786.
- 25) Rohr J R, Raffel T R, Romansic J M, McCallum H & Hudson P J (2008) Evaluating the links between climate, disease spread, and amphibian declines. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**: 17436 -17441.
- 26) Daszak P, Cunningham A A & Hyatt A D (2000) Emerging infectious diseases of wildlife - threats to biodiversity and human health. *Science* **287**:443-449.
- 27) Dobson A P (2005) What links bats to emerging infectious diseases? *Science* **310**:628-629.
- 28) Jones K E, Patel N G, Levy M A, Storeygard A, Balk D, Gittleman J L & Daszak P (2008) Global trends in emerging infectious diseases. *Science* **451**:990-994.

7. 国際共同研究等の状況

- 1) アルゼンチンアリ世界分布拡大プロセス研究計画について、オーストラリア・ヴィクトリア州 Monash UniversityのDennis O' Dowd教授およびその研究室と共同研究を開始している。
- 2) カエルツボカビの遺伝的変異および被害状況に関する国際共同研究計画をオーストラリア・クィーンズランド州立グリフィス大学・Jean Marc-Hero教授、オーストラリア・豪州連邦科学産業研究機構Alex Hyatt博士、および韓国国立ソウル大学・Hang Lee教授と連携を図り、サンプル提供を受けている。

8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) Goka K, Yokoyama J, Une Y, Kuroki T, Suzuki K, Nakahara M, Kobayashi A, Inaba S, Mizutani T, Hyatt

- A D (2009) Amphibian chytridiomycosis in Japan: distribution, haplotypes, and possible route of entry into Japan. *Molecular Ecology* 18(12):4757-4774.
- 2) Inoue MN & Goka K (2009) The invasion of the Argentine ant across continents with special reference to Argentine Ants and Red Imported Fire Ants. *Biodiversity* 10: 67-71.
 - 3) Tominaga A, Goka K, Kimura T & Ito K (2009) Genetic structure of Japanese introduced populations of the golden mussel, *Limpnerna fortune*, and the estimation of their range expansion process. *Biodiversity* 10: 61-66.
 - 4) Goka K (2010) How to prevent invasion, bio-security measures, and mitigation of impact. *OIE Scientific and Technical Review*. 29 (2): 299-310.
 - 5) Mizutani T & Goka K (2010) Japan's Invasive Alien Species Act. *Appl. Entomol. Zool.* 45(1): 65-69.

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 五箇公一（2008）温暖化と生物の絶滅。ここが知りたい温暖化37。地球環境研究センターニュース。
- 2) 五箇公一（2008）日本のカエルが危ない？～カエルツボカビ症の現状。グローバルネット215号、26-27p.
- 3) 五箇公一（2010）生物多様性と人間生活を脅かす目に見えない侵入生物。種生物学会編、外来生物の生態学。161-1180。（査読あり）
- 4) 五箇公一（2010）時代とともに変遷する外来昆虫類とその生態的・社会的影響。種生物学会編、外来生物の生態学。111-133。（査読あり）
- 5) 五箇公一（2010）昆虫の生物多様性を脅かす化学物質。石井実監修、日本の昆虫の衰亡と保護。北隆館。222-234.
- 6) 五箇公一（2010）外来生物が日本の昆虫の生物多様性に与える影響。石井実監修、日本の昆虫の衰亡と保護。北隆館。235-247.
- 7) 五箇公一（2010）クワガタムシが語る生物多様性。集英社

（2）口頭発表（学会）

- 1) 五箇公一：平成20年度第1回全国科学博物館協議会理事会総会記念講演（2008）「侵入生物にみる日本の生物多様性危機」
- 4) 五箇公一：グローバルCOE「アジア視点の国際生態リスクマネジメント」シンポジウムー環境問題における「不都合な真実」ー（2008）「カエルツボカビ症でカエルは減ぶのか？」
- 5) Goka, K. : Control Strategy of Invasive Alien Mammals 2008 (CSIAM2008) Committee. (2008) 「Exotic Pet Animals Influencing Biodiversity in Japan」
- 6) 井上真紀・五箇公一・砂村栄力・田付貞洋：日本昆虫学会第68回大会（2008）「アルゼンチンアリ *Linepithema humile* の侵入地域における遺伝的変異と侵入経路の推定」
- 7) 井上真紀・五箇公一・砂村栄力・田付貞洋：第51回日本蟻類研究会（2008）「ミトコンドリアDNA解析によるアルゼンチンアリの遺伝構造の解明と侵入

ルート予測」

- 8) Goka, K. and K. Okabe : Korea-Japan Acarology Symposium. (2009) 「The beetle commercialization in Japan will destroy the evolutionary history of mites.」
- 9) Goka, K., Y. Une, T. Kuroki, K. Suzuki, M. Nakahara, A. Kobayashi, J. Yokoyama, T. Mizutani and A. D Hyatt : SMASH 2009-- Second Meeting of Australasian Societies for Herpetology. (2009) 「Amphibian chytridiomycosis in Japan: distribution, haplotypes, and possible entry into Japan」
- 10) Goka, K. : 11th Pacific Science Inter-Congress. (2009) 「Exotic Pet Animals Influencing Biodiversity in the World.」
- 11) 五箇公一・宇根有美・鈴木一隆・中原美理・小林亜玲・横山潤・Alex D Hyatt : 第53回日本応用動物昆虫学会大会 (2009) 「カエルツボカビはカエルを滅ぼすのか？」
- 12) 井上真紀・五箇公一・砂村栄力・田付貞洋 : 第53回日本応用動物昆虫学会 (2009) 「ミトコンドリアDNA解析によるアルゼンチンアリの遺伝構造の解明と侵入経路の推定」
- 13) Maki N. Inoue & Koichi Goka: 11th Pacific Science Inter-Congress (2009) “Worldwide invasion of the Argentine ant imperial.”
- 14) 井上真紀・富永篤・岡本卓・所論史・諸岡史哉・五箇公一 : 日本昆虫学会第69回大会 (2009) 「侵略的外来種アルゼンチンアリのスーパーコロニー間における闘争関係の解明」
- 15) 五箇公一 : 第64回日本生物地理学会年次大会 (2009) 「両生類の新興感染症カエルツボカビの生物地理学 カエルツボカビはどこから来たのか？」
- 16) 五箇公一 : 国際生物多様性の日シンポジウム2009-外来種の来た道、行く道- (2009) 「なぜ外来種は生まれるのか？」
- 17) Maki N. Inoue & Koichi Goka : International Congress for Conservation Biology 23rd Annual Meeting of the Society for Conservation Biology, Beijing, China (2009) “The voyage of an invasive species across continents: genetic variation of worldwide Argentine ant population.”
- 18) Goka K: Int. Congr. Conserv. Biol. 23rd (2009) “Exotic pet animals influencing biodiversity in Asia.”
- 19) Maki N. Inoue & Koichi Goka : The 10th International Congress of Ecology, Brisbane, Australia (2009) “The voyage of an invasive species across continents: genetic variation of worldwide Argentine ant population.” .
- 20) 五箇公一 : 2009年度日本付着生物学会カワヒバリガイの侵入と対策に関するミニシンポジウム (2009) 「国立環境研究所における取り組み」
- 21) 五箇公一 : 第53回生活と環境全国大会 (2009) 「変わりゆく外来生物問題と人間社会」
- 22) 五箇公一 : 日本爬虫両棲類学会 第48回大会 (2009) 「カエルツボカビ・アジア起源説の検証 (その1) 日本におけるカエルツボカビ多様性」
- 23) 富永篤・五箇公一・鈴木一隆・田向健一 : 日本爬虫両棲類学会第48回大会 (2009) 「カエルツボカビ・アジア起源説の検証 (その2) シリケンイモリ由来カエルツボカビ菌の感染・発症ポテンシャル」

- 24) 五箇公一：第8回SCAPARAワークショップ（2009）「カエルツボカビの最新情報」
- 25) 五箇公一：第7回環境研究機関連絡会成果発表会（2009）「外来生物から環境を守る「侵略的外来生物のリスク評価と管理」」
- 26) 富永篤・五箇公一・木村妙子・伊藤健二：日本動物学会第80回大会（2009）「特定外来生物カワヒバリガイの分布拡大プロセスの推定」
- 27) 富永篤・五箇公一・木村妙子・伊藤健二：日本ベントス学会・プランクトン学会合同大会（2009）「mtDNAの塩基配列変異に基づく特定外来生物カワヒバリガイの分布拡大プロセスの推定」
- 28) 五箇公一：第149回日本獣医学会学術集会シンポジウム（2010）「両生類の新興感染症カエルツボカビの起源は日本か？」
- 29) 五箇公一・鈴木一隆・富永篤・横山潤・宇根有美・Jean-Marc Hero・Alex D Hyatt：第54回日本応用動物昆虫学会大会（2010）「両生類の新興感染症カエルツボカビの起源は日本か？」
- 30) 五箇公一：日本生態学会第57回全国大会（2010）「外来種問題に見るHost-parasite共進化系崩壊リスク」
- 31) 五箇公一・鈴木一隆：日本生態学会第57回全国大会（2010）「両生類の感染症カエルツボカビは日本から運ばれてしまった！」
- 32) 富永篤・伊藤健二・木村妙子：日本生態学会第57回全国大会（2010）「あなたの知らない付着性淡水二枚貝の脅威」
- 33) 井上真紀・五箇公一：第54回日本応用動物昆虫学会大会（2010）「外来アリ類の侵略的特性と防除対策～アルゼンチンアリとヒアリを例に～」
- 34) 井上真紀・五箇公一・伊藤文紀：第54回日本応用動物昆虫学会大会（2010）「侵略的外来種アルゼンチンアリのスーパーコロニー間における闘争関係」
- 35) 井上真紀・伊藤文紀：日本生態学会第57回全国大会（2010）「アルゼンチンアリ大航海：DNA解析による遺伝構造の解明と侵入経路の推定」
- 36) Maki N. Inoue & Koichi Goka. : Island Invasives: Eradication and Management Conference. Auckland, New Zealand, FEB (2010) “The invasion of the Argentine ant across continents and the eradication.”
- 37) Goka K., Yokoyama J., Une Y., Kuroki T., Suzuki K., Nakahara M., Kobayashi A., Inaba S., Mizutani T., Hyatt A. D. : Island Invasives: Erad. Manage. (2010) “The origin of amphibian chytridiomycosis: Did it come from Japan? ”
- 38) Goka K. : North Am. Bumble Bee Conserv. Plann. Workshop (2010) “Status of the European bumblebee, *Bombus terrestris*, in Japan as a beneficial pollinator and an invasive alien species.”
- 39) Goka K. & Okabe K. : 13th Int. Congr. Acarol (2010) “The collapse of host-parasite coevolutionary history caused by biological invasion.”
- 40) Okabe K., Kawazoe K., Masuya H., Makino S., Goka K. : 13th Int. Congr. Acarol (2010) “An unintentionally introduced mite associated with a bamboo nesting carpenter bee through international trade.”
- 41) 五箇公一：日本昆虫科学連合設立記念・日本学術会議公開シンポジウム「新時代の昆虫科学を拓く」（2010）「虫とダニの共進化関係と多様性」

- 42) 五箇公一：日本昆虫学会 第70回大会(2010) 「外来種問題に見るHost-parasite 共進化系崩壊リスク」
- 43) 五箇公一・岡本卓：日本昆虫学会 第70回大会(2010) 「地球時代の環境保全に必要とされる生物多様性情報」
- 44) 井上真紀・五箇公一・伊藤文紀：第70回日本昆虫学会大会 (2010) 「侵略的外来種アルゼンチンアリのスーパーコロニー間における闘争と遺伝構造」
- 45) 井上真紀・五箇公一・伊藤文紀：日本動物行動学会第29回大会 (2010) 「アルゼンチンアリのスーパーコロニー間における闘争と遺伝構造の関係」
- 46) 岡本卓・栗山武夫・五箇公一：日本爬虫両棲類学会 第49回大会(2010) 「八丈島の外来性爬虫両生類の現状」
- 47) 岡本卓・五箇公一：OECD国際共同プログラム後援・生物多様性条約COP10記念シンポジウム(2010) 「国立環境研究所侵入生物データベースの機能強化とその応用への展望」
- 48) 栗山武夫, 岡本卓, 長谷川雅美, 五箇公一：日本爬虫両棲類学会 第49回大会(2010) 「八丈島におけるニホントカゲ外来個体群のオカダトカゲ在来個体群への影響」
- 49) 森口紗千子・鈴木一隆・富永篤・五箇公一：日本生態学会第58回全国大会(2011) 「両生類の感染症カエルツボカビの生息適地モデリング」
- 50) 岡本卓・五箇公一：第58回日本生態学会大会(ESJ 58)(2011) 「インターネット上の外来生物情報の世界的傾向とその効率的共有への展望」
- 51) 井上真紀・五箇公一・伊藤文紀：第58回日本生態学会大会(ESJ 58)(2011) 「アルゼンチンアリのスーパーコロニー間における敵対行動の季節変化と遺伝子流動」
- 52) 井上真紀・五箇公一・伊藤文紀：第55回日本応用動物昆虫学会(2011) 「アルゼンチンアリのスーパーコロニー間における敵対行動と遺伝子流動」
- 53) 五箇公一：平成22年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会(2011) 「外来野生動物の現状と生態系に及ぼす影響」
- 54) 五箇公一・森口紗千子・鈴木一隆・富永篤・宇根有美：第55回日本応用動物昆虫学会大会(2011) 「両生類の新興感染症カエルツボカビはどこに行くのか？」

(3) 出願特許

特になし

(4) シンポジウム、セミナーの開催(主催のもの)

- 1) 国際生物多様性の日シンポジウム「外来種の来た道、行く道」(2009年5月22日、国連大学ウ・タント国際会議場、観客330名)
- 2) COP10公式サイドイベント「食べて考える、外来種ワークショップ」(2009年10月20日～21日、名古屋国際会議場、観客200名)
- 2) COP10公式サイドイベント「見て、聞いて、考えよう！外来種ワークショップ～紙芝居の上演と先生たちへの質問」(2010年10月23日、名古屋国際会議場、観客200名)
- 3) COP10フォローアップイベント「みんなで進める外来種対策」(2010年12月17日、国連大学、観客150名)

(5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) フジテレビ特ダネ (2009年4月14日、目に見えない侵入生物の成果について5分ほど紹介)
- 2) 毎日新聞 (2008年8月4日、全国版)
- 3) 読売新聞 (2008年12月28日、全国版)
- 4) 琉球新報社 (2008年4月、沖縄県版)
- 5) テレビ東京ワールドビジネスサテライト (2009年2月12日)
- 6) 毎日新聞 (2009年5月4日、全国版)
- 7) 毎日新聞 (2009年5月5日、全国版)
- 8) 東京新聞 (2009年6月9日) WEB記事もあわせて公開
- 9) 高校生新聞 (2009年7月10日)
- 10) NHKちょっと変だぞ! 日本の自然IV「日本の自然て何だっけSP」 (2009年8月19日)
- 11) 週刊SPA10 (2009年10月20日)
- 12) 朝日新聞 (2009年11月8日、全国版)
- 13) 読売新聞 (2010年3月8日関西版)
- 14) NHK名古屋なっとく! 内多学園 生物多様性って何? (2010年4月2日)
- 15) 毎日新聞 (2010年4月8日、全国版)
- 16) 読売新聞 (2010年5月6日、全国版)
- 17) 赤旗 (2010年5月10日、全国版)
- 18) 毎日新聞 (2010年6月1日、全国版)
- 19) NHK総合 SAVE THE FUTURE 生き物ピンチ! SOS生物多様性 (2010年6月4日)
- 20) TBS教科書に載せたい! (2010年6月24日)
- 21) NHKラジオ 私も一言! タクニュース「各地に広がる外来生物、固有種をどう守る?」
- 22) NHK-BS2 MISIA星空のライブ~音楽と生物多様性 (2010年8月21日)
- 23) 読売新聞 (2010年8月30日、全国版)
- 24) 東京新聞 (2010年8月23日)
- 25) テレビ東京たけしのニッポンのミカタ! 「動物保護は人間のエゴ?!」 (2010年9月10日)
- 26) TBS教科書に載せたい! 2 (2010年9月30日)
- 27) TBS地球SHOW学校 (2010年11月22日)
- 28) 赤旗 (2010年10月15日、全国版)
- 29) 朝日新聞 (2010年10月22日、全国版)
- 30) FM J-WAVE 東京REMIX族「ダニの極み」 (2010年10月27日)
- 31) 朝日新聞 (2010年11月17日、全国版)
- 32) 朝日小学生新聞 (2010年9月23日)
- 33) 宮古毎日新聞 (2011年1月23日)
- 34) 宮古新報 (2011年1月23日)
- 35) TBS教科書に載せたい! 3 (2011年1月27日)
- 36) 五箇公一 (2010) 中日新聞コラム「いろんないきもの話」2010年1月~2011年3月

(6) その他

特になし