

A close-up photograph of a frog's mouth, showing the tongue and the surrounding tissue. The frog appears to be infected with chytridiomycosis, a deadly fungal disease. The infection is visible as a white, fuzzy growth on the frog's mouthparts. The background is dark, and the frog's skin is a mottled brown color.

The Origin of Amphibian chytridiomycosis: Did it come from Japan?

カエルツボカビの起源

Koichi GOKA

National Institute for Environmental Studies

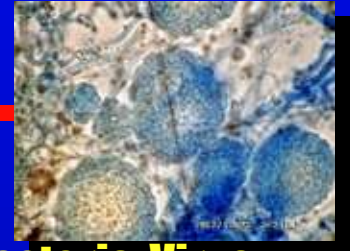


Globalization accelerate the spread of Invasive Alien Species

グローバル化は生物学的侵入を加速する



Spiders
クモ類



Fungi, Bacteria, Virus
カビ類



Ants
アリ類



Mollusks
軟体動物



Mites and Ticks
ダニ類

Many IAS enjoy the great journey over sea accompanied with world trade...
多くの外来生物が人間の物質移送に便乗して世界旅行を楽しんでいる..?



Insects



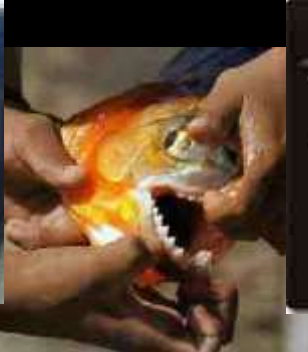
Amphibians

Japanese The Exotic Animal Maniac!



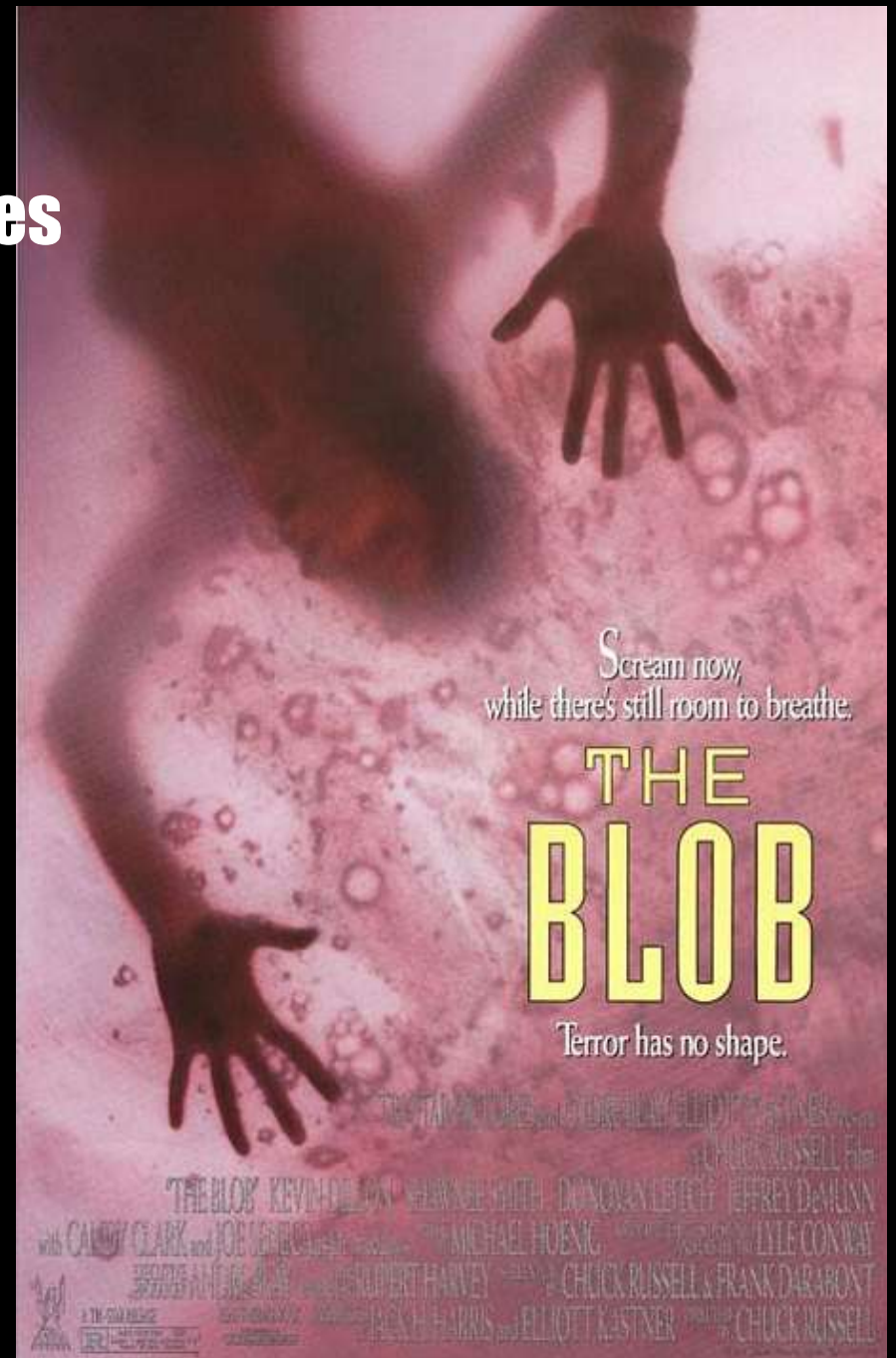
Reptiles





Invisible Invasive Alien Species

目に見えない外来種の恐怖！



カエルツボカビ上陸!!
Chytridiomycosis coming to Japan!

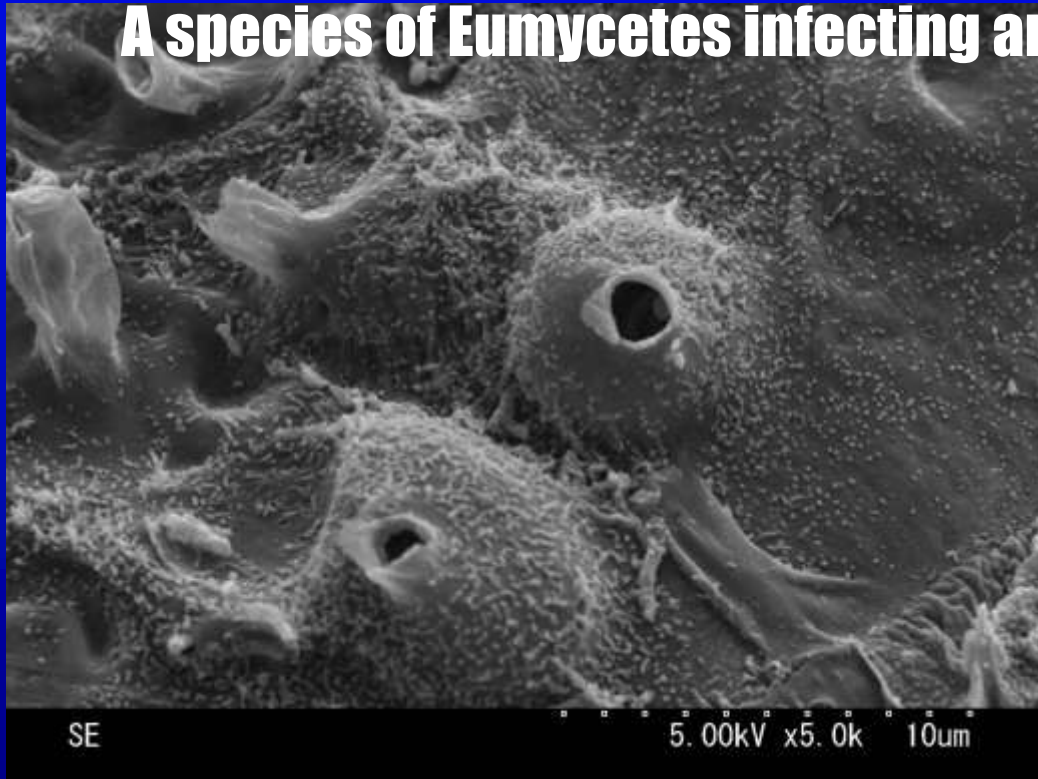


K. GOKA

カエルツボカビとは？

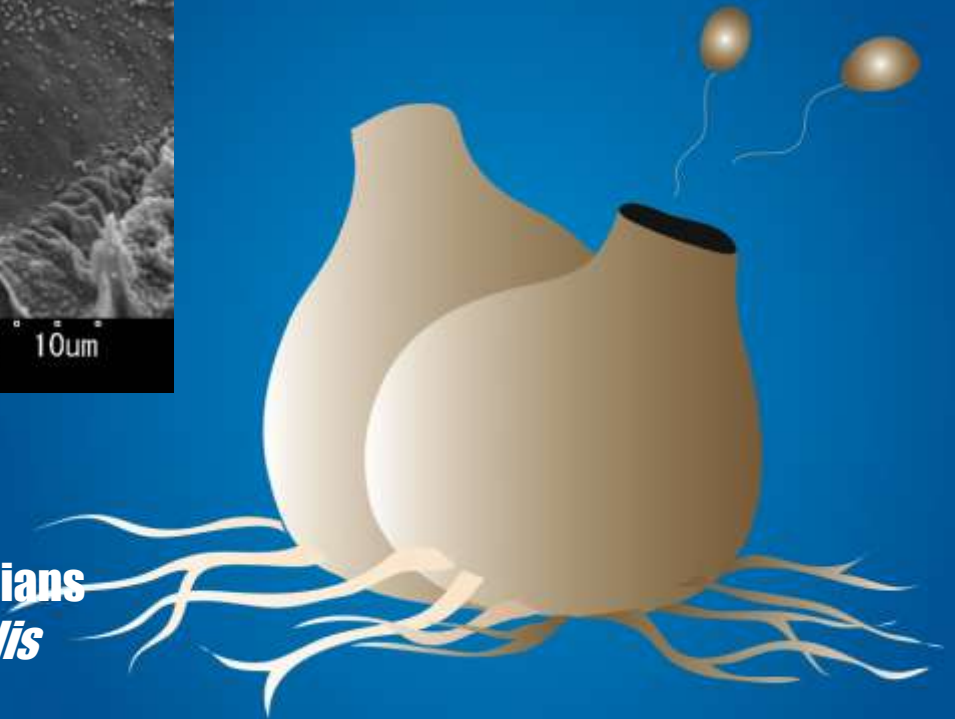
What is chytrid fungus?

A species of Eumycetes infecting amphibian skins specifically



両生類特有の感染症病原体

The infectious disease specific to amphibians
Caused by *Batrachomyxium dendrobatidis*



カエルツボカビの世界的分布

World wide distribution of chytrid fungus

Never reported in Asia until 2006

Panama

90 % of amphibian individuals in El Cope disappeared within a few month after the fungus invasion

Australia

The fungus spread its distribution at a speed of 100km a year along Queensland coast

**The Chytridiomycosis has been found from imported frogs in JAPAN !
December, 2006.**

**The prelude of extinction
of Japanese frogs ?**

Infecte



South American frog



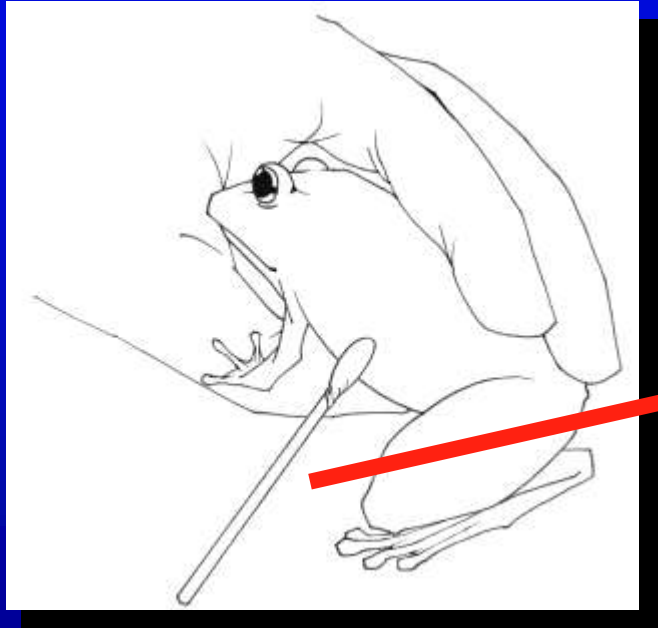
What to do for conserving the Japanese amphibians

検査体制の確立
Check-up system

リスク評価
Risk assessment



PCR test process



綿棒でカエル体表面
をぬぐう(Swab)

Swabbing the surface of
amphibian using a swab



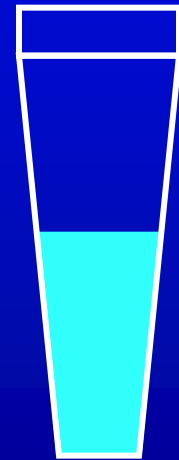
DNA extraction

国立環境研 Standard方式
(Goka.et al. 2001)

Lysis Buffer + Protenase K

50°C120min

95°C20min



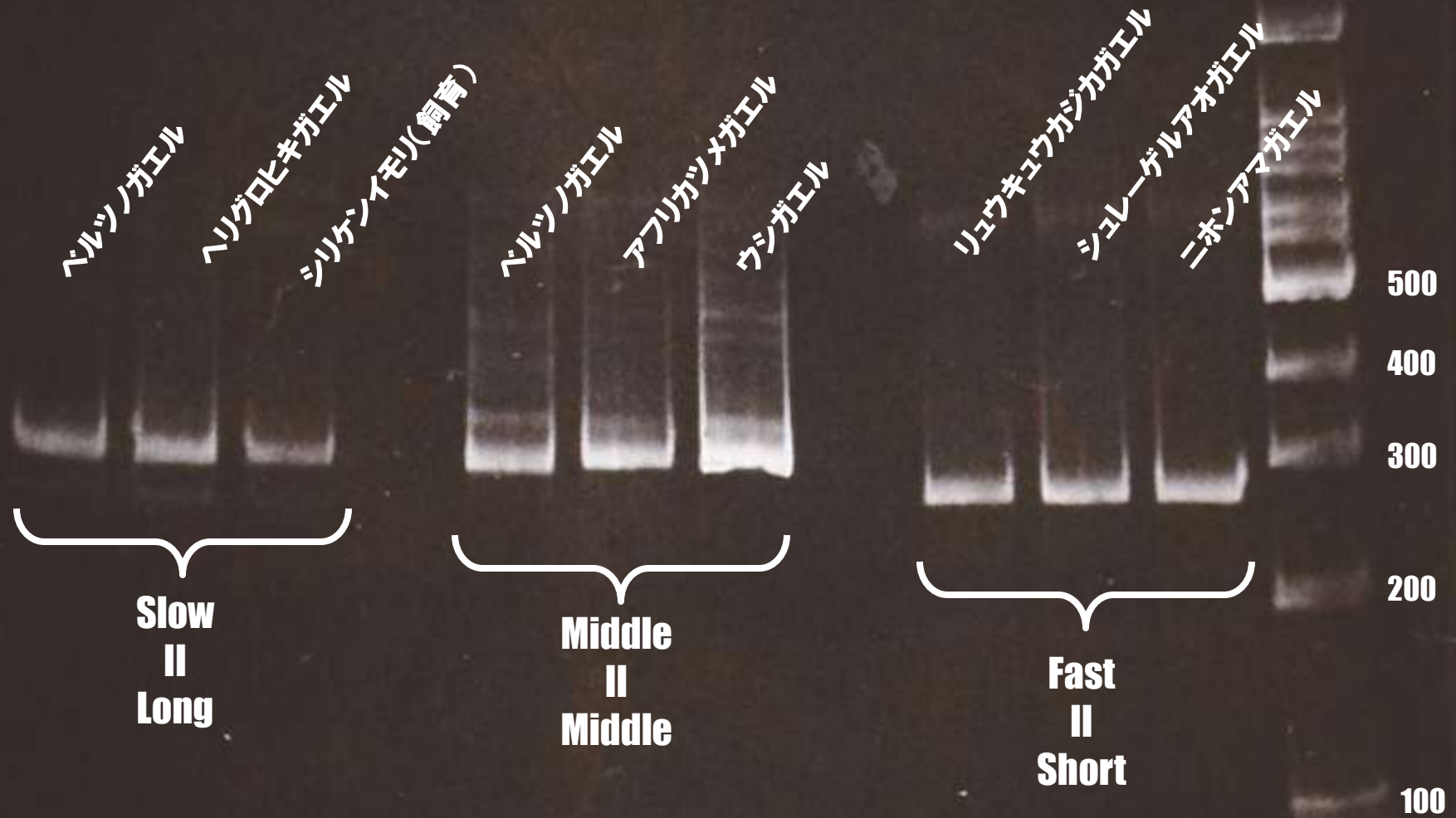
DNA solution



Chytrid fungus ITS-DNA

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
N N N N N P N N PC NC M

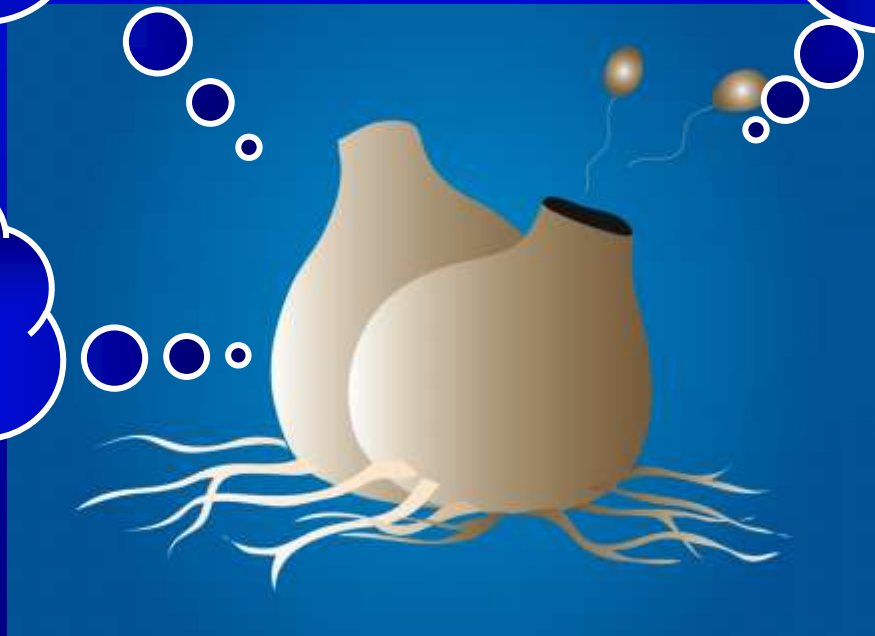
The length variation in ITS-DNA fragments



A

C

41



Since here, DNA haplotypes of *Bd* fungus will be expressed in alphabet or number.....

野性個体調査 Field Survey 2007-2009

Alien Species

Endemic Species

オオサンショウウオ 38%

ヌマガエル 0.8%

アマガエル 0.2%

ノサマガエル 0.2%

ツチガエル 0.5%

アフリカツメガエル 18%

リュウキュウカジカガエル 14%

シリケンイモリ 4.5%

ハナサキガエル 4.9%

シリケンイモリ 64%

Native Species

TOTAL
5,565

INFECTED
159

PREVALENCE
3.0%

A E I N O T U W
32 33 34 41 43 44 47

K

A

C

Z

A

E

A

E

C

48

C

A

D

E

F

H

L

O

S

Y

A

39

C

48

C

48

<i>Anaxipha japonica</i>	4711	K (4)
<i>Bufo japonicus</i>	515	
<i>Bufo japonicus</i>	85	
<i>Bufo sibiricus</i>	471	
<i>Cynopoda pythagorae</i>	581	
<i>Felaryx limocharis</i>	3329	(2), Z (1)
<i>Hyla japonica</i>	1547	A (1)

Kyushu Is.		
<i>Cynopoda pythagorae</i>	2218	
<i>Bufo japonicus</i>	93	
<i>Bufo japonicus</i>	965	
<i>Bufo japonicus</i>	95	
<i>Bufo ardensis</i>	513	
<i>Bufo schlegelii</i>	554	
<i>Bufo sp.</i>	91	
<i>Bufo japonicus</i>	524	A (3)
<i>Bufo japonicus</i>	524	A (3)
<i>Bufo japonicus</i>	524	A (3)

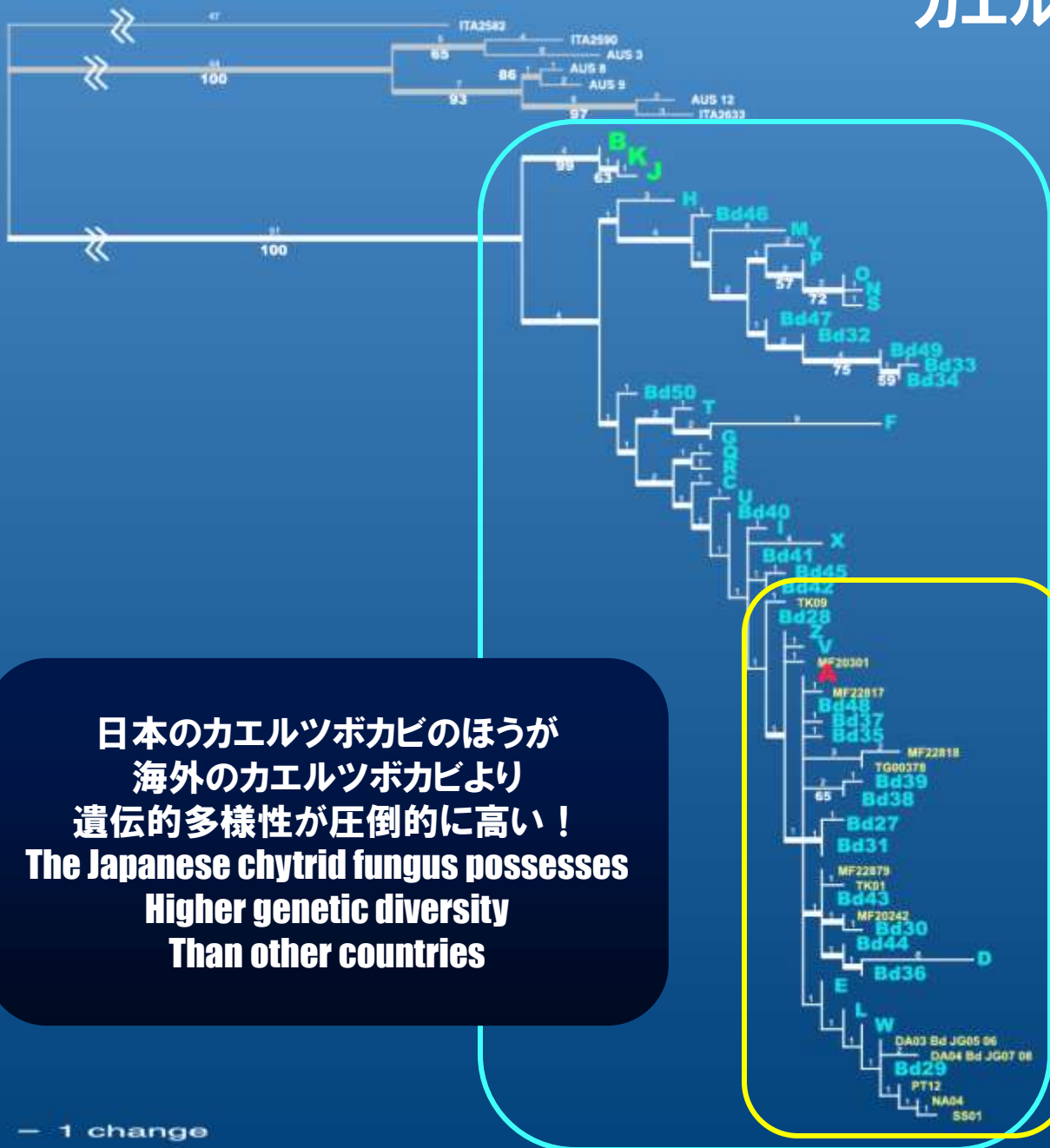
Ryukyu Is.		
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	
<i>Bufo japonicus</i>	14	

<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Bufo japonicus</i>	48	

Iriomote Is.		
<i>Bufo japonicus</i>	64	
<i>Felaryx sp.</i>	64	
<i>Microhyla okinawensis</i>	64	

Okinawa		
<i>Bufo japonicus</i>	48	
<i>Cynopoda pythagorae</i>	48	
<i>Felaryx sp.</i>	48	
<i>Hyla japonica</i>	48	
<i>Microhyla okinawensis</i>	48	
<i>Rana okinawensis</i>	48	
<i>Rhacophorus</i>	48	

カエルツボカビITS-DNA系統樹

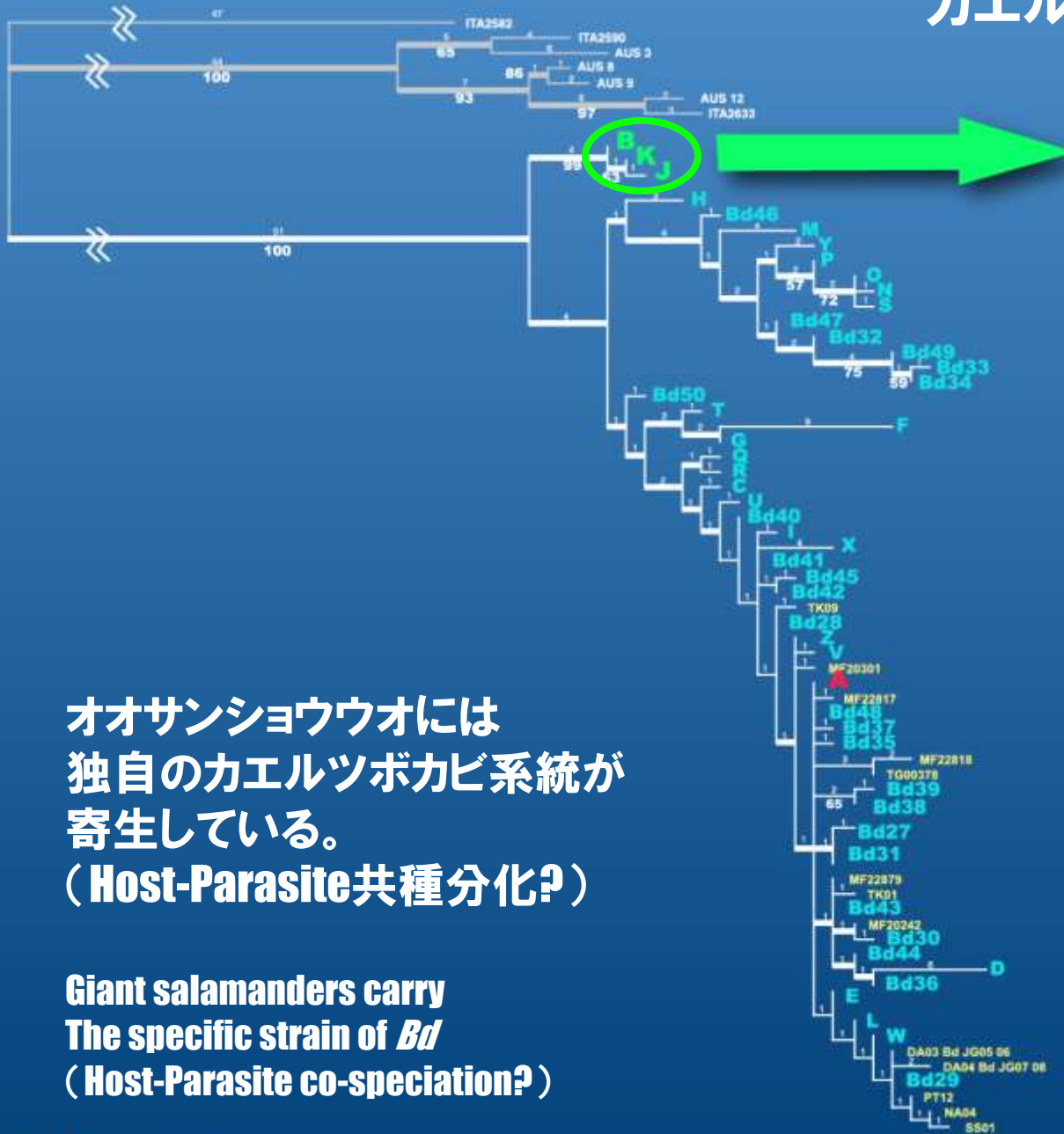


日本で発見された
カエルツボカビ **50 type**
50 types found in Japan

海外で報告されている
カエルツボカビ **17 type**
17 types found in other countries

日本のカエルツボカビのほうが
海外のカエルツボカビより
遺伝的多様性が圧倒的に高い！
The Japanese chytrid fungus possesses
Higher genetic diversity
Than other countries

カエルツボカビITS-DNA系統樹



オオサンショウウオ
Giant salamander



1902年の標本
からも組織検出！
Histological evidence
Could be detected
From the specimens
Collected in 1902

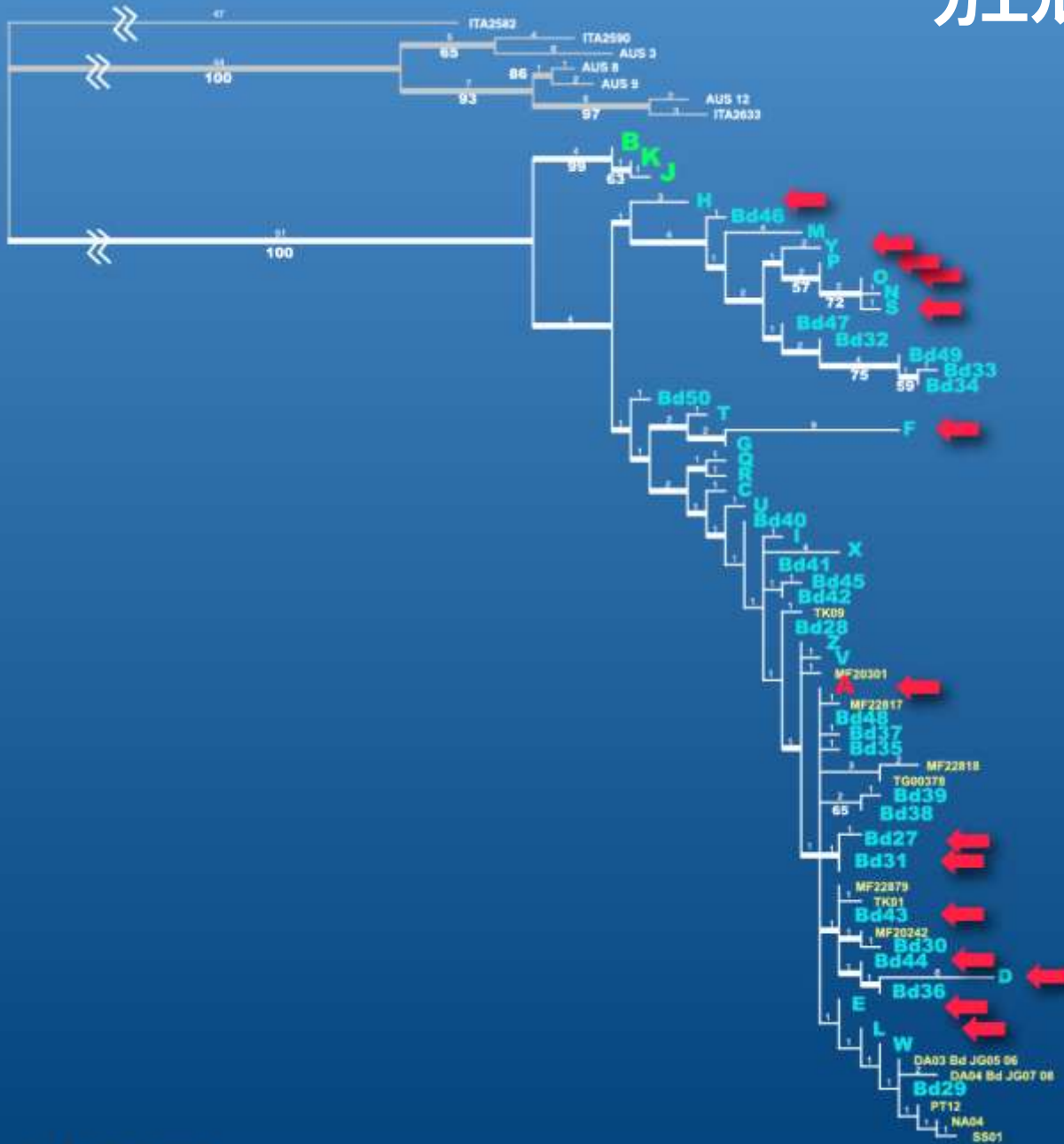
(Une et al. 未発表)

Goka et al. 2009 Molecular Ecology

オオサンショウウオには
独自のカエルツボカビ系統が
寄生している。
(Host-Parasite共種分化?)

Giant salamanders carry
The specific strain of *Bd*
(Host-Parasite co-speciation?)

カエルツボカビITS-DNA系統樹

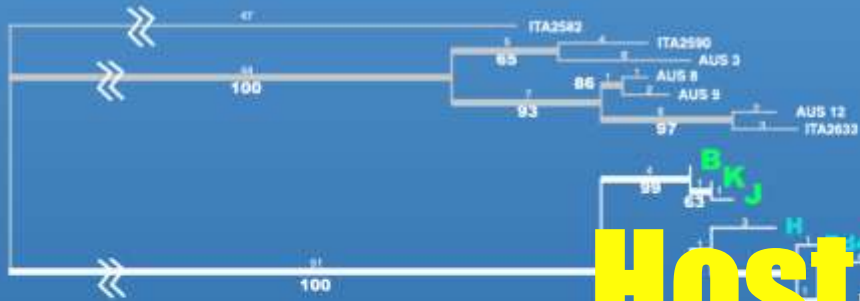


オオサンショウウオ
Giant salamander

14ハプロタイプ



ウシガエル
American bull frog



オオサンショウウオ
Giant salamander

Host Switch ?



28ハプロタイプ

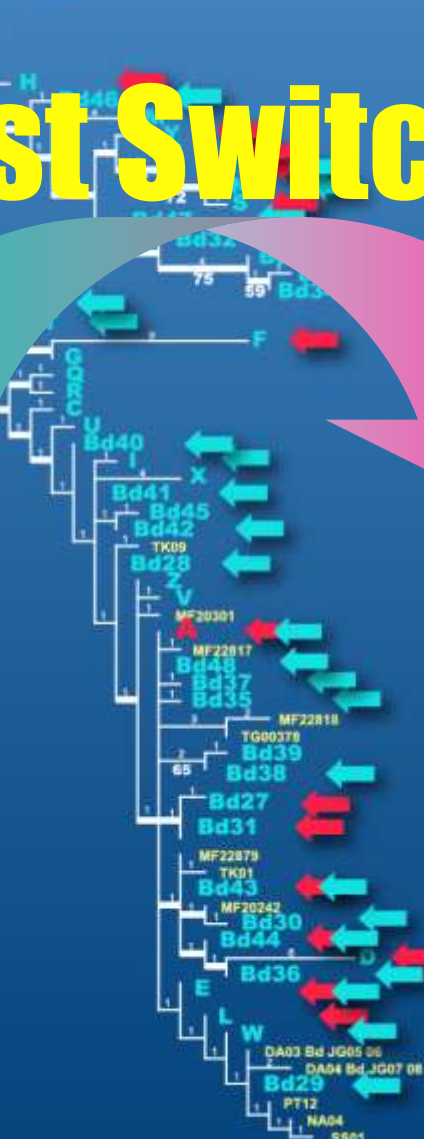


シリケンイモリ
Okinawa endemic newt

14ハプロタイプ



ウシガエル
American bull frog



パナマにおけるカエルツボカビDNA調査

Bd-DNA surveillance in Panama

Leptodactylus labialis 67%



Physalaemus pustulosus 67%



Hyla sp. 60%



Colostethus sp. 100%



Bufo alatus 14%



Rana warszewitschii 89%



Bufo haematicus 100%



平均感染率
19/73 = 26%

PREVALENCE
19/73 = 26%

オーストラリアにおけるカエルツボカビDNA調査

Bd-DNA surveillance in Australia

TOTAL
853

INFECTED
208

PREVALENCE
26%

A 198

A' 10



Litoria wilcoxii

- Coomera Stream
- Currumbin Stream
- Canungra Stream
- Austinville Stream
- Christmas Stream
- Daves Stream
- Nixon Stream

オーストラリアにおけるカエルツボカビDNA調査 Bd-DNA surveillance in USA

アメリカオオサンショウウオ
American giant salamander



American bull frog

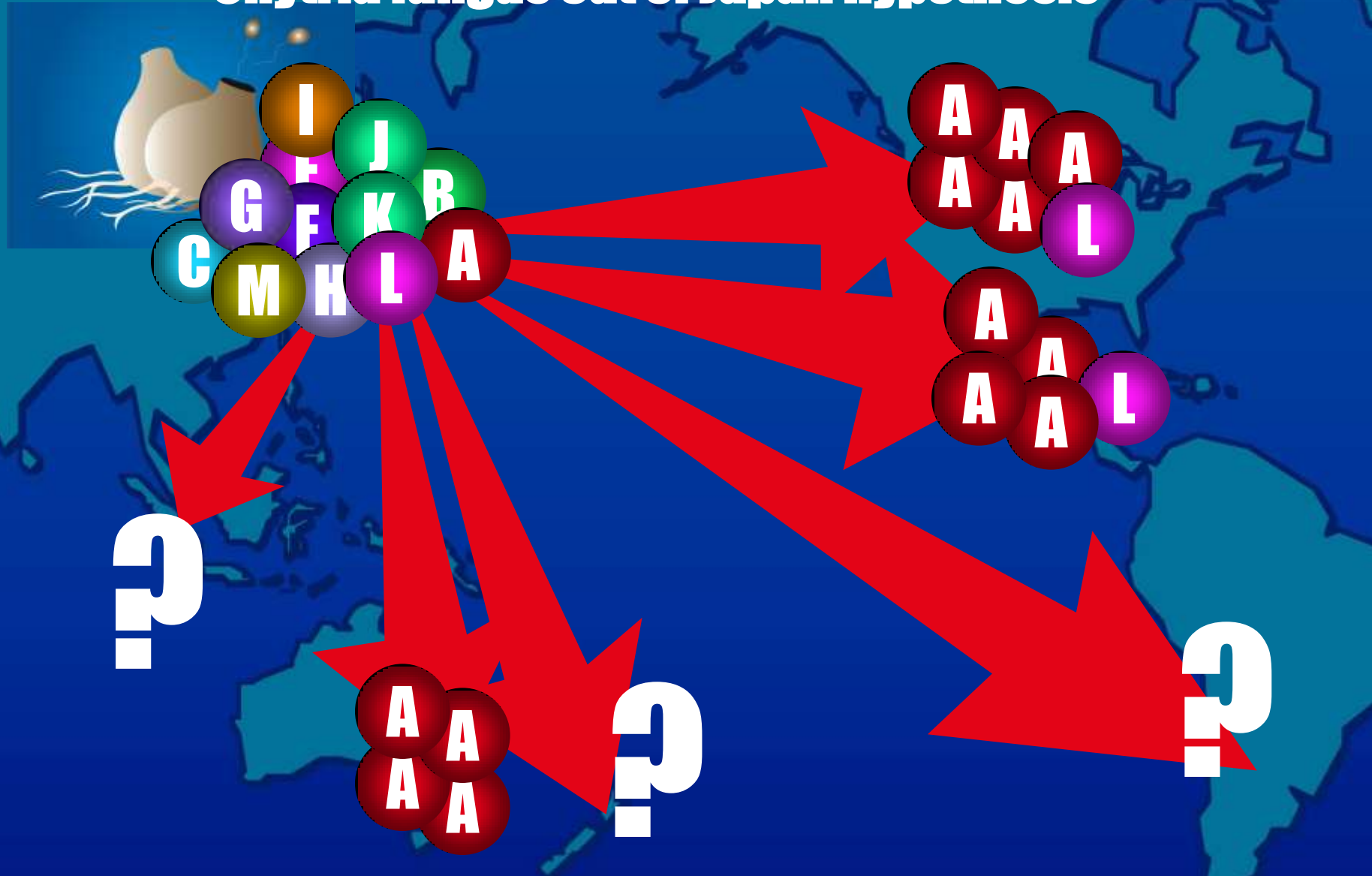
感染率 0%

TOTAL
54

INFECTED
21

PREVALENCE
39%

カエルツボカビアジア起源説！ Chytrid fungus out of Japan hypothesis



カエルツボカビHost-switch実験

Bd susceptibility No. 1!
Will I extinct?

Bd diversity No. 1!
Am I origin?

南米原産ベルツノガエル
Latin American Frog

沖縄産シリケンイモリ
Okinawa newt

無菌シリケンイモリ
Control newt

Control群7区
Control 7pairs



感染率0/7
Infection

感染シリケンイモリ
Infected newt

感染群7区
7pairs



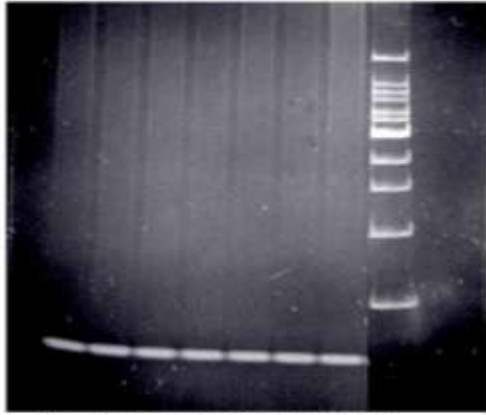
感染率7/7
infection 7/7

沖縄産シリケンイモリのカエルツボカビ
には病原性がある！！
Bd fungus on the Okinawa newt
was infectious!

Control区ベルツノガエル皮膚
Control skin sample of alien frog

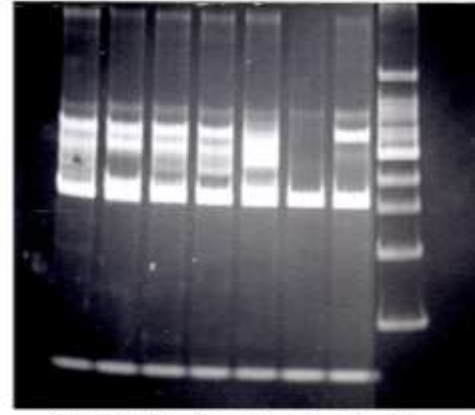
感染区ベルツノガエル皮膚
Infected skin samples of alien frog

非感染
シリケンイモリ
Clean newts



サイズマーカー
奄美シリケン1
奄美シリケン2
奄美シリケン3
奄美シリケン4
奄美シリケン5
奄美シリケン6
奄美シリケン7

感染
シリケンイモリ
Infected newts



サイズマーカー
沖繩シリケン1
沖繩シリケン2
沖繩シリケン3
沖繩シリケン4
沖繩シリケン5
沖繩シリケン6
沖繩シリケン7

PCR test results of water from the pond

ベルツノガエル
Latin American
frogs



No infection

サイズマーカー
ネガコン
ポジコン
ベルツノ1
ベルツノ2
ベルツノ3
ベルツノ4
ベルツノ5
ベルツノ6
ベルツノ7

ベルツノガエル
Latin American
Frogs



Infection

サイズマーカー
ネガコン
ポジコン
ベルツノ1
ベルツノ2
ベルツノ3
ベルツノ4
ベルツノ5
ベルツノ6
ベルツノ7
ベルツノ8
ベルツノ9
ベルツノ10
ベルツノ11
ベルツノ12
ベルツノ13
ベルツノ14

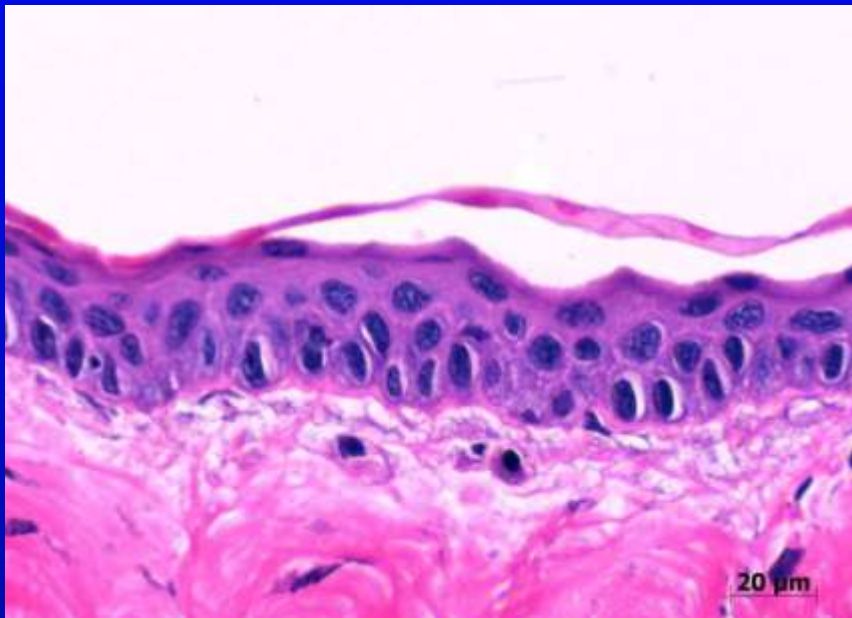
PCR検査の経過

Control

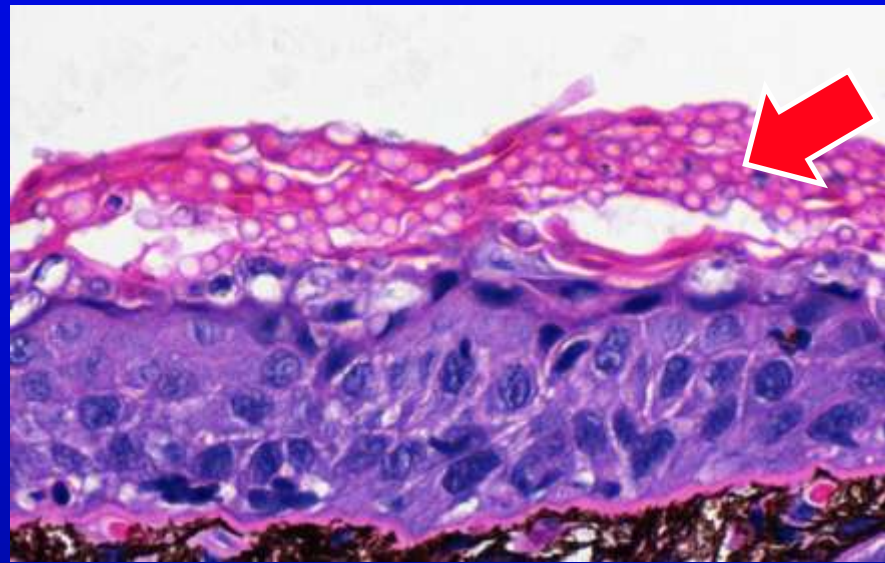
Infected

	ベル ツノ1	ベル ツノ2	ベル ツノ 3	ベル ツノ4	ベル ツノ5	ベル ツノ6	ベル ツノ7	ベル ツノ8	ベル ツノ9	ベル ツノ 10	ベル ツノ 11	ベル ツノ 12	ベル ツノ 13	ベル ツノ 14
2009.5.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2009.5.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2009.5.20	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.5.26	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.6.2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.6.9	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.6.14	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.6.19	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.6.24	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.6.30	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.7.8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.7.17	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.7.27	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.8.5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.8.14	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2009.8.24	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

Histological Evidence

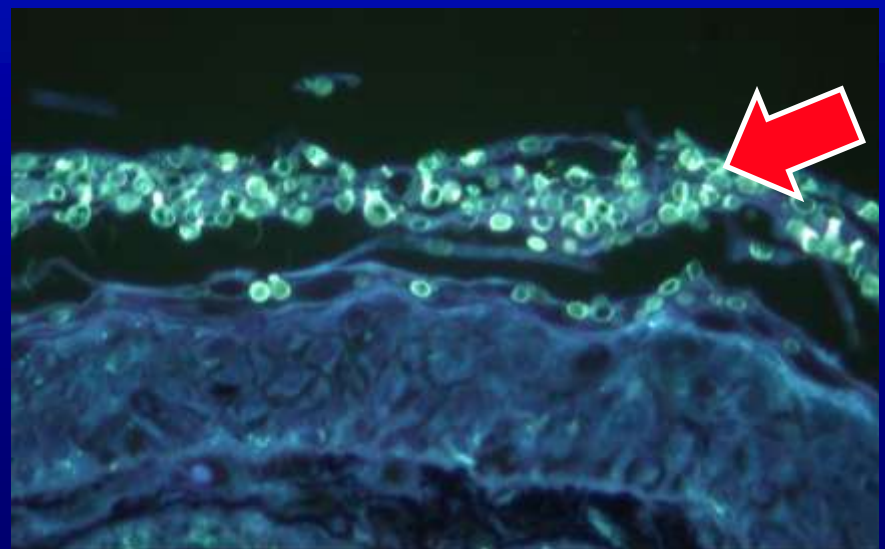


Skin tissue of control frog



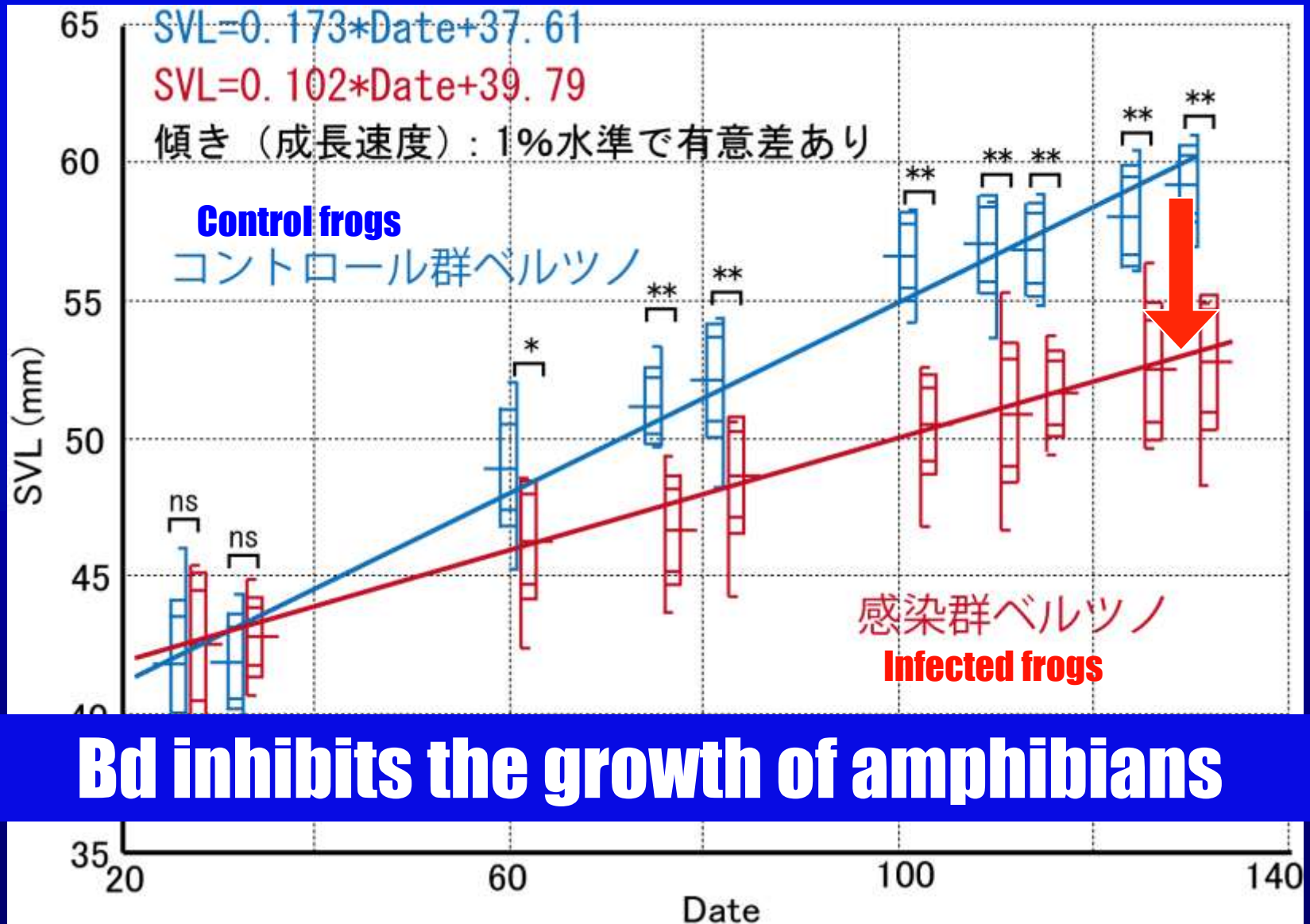
角質層に大量の遊走子嚢

**A lot of sporangia could be seen
in the skin layer of infected frog**



Skin tissue of infected frog

Comparison of growth rate between Control and Infected



Bd inhibits the growth of amphibians



在来種ヌマガエルに対する 感染実験

Infection from newt to Japanese native frog



感染はするが、発症はしない
No symptom



在来種は抵抗性を有する？
Native frogs possess resistance



オレはかびない！
I cannot get moldy!

ヌマガエル感染実験結果

Result of infection test from the sword-tailed newt to Japanese native frog

	シリケン Sword tailed newt	ウシガエル American bullfrog	シリケン Sword tailed newt	ヌマガエル1 Jap. Cricket frog	シリケン Sword tailed newt	ヌマガエル2 Jap. Cricket frog
開始日	2009/6/5		2009/6/19		2009/6/19	
採集後	+	-	+	-	+	-
実験前	+	+	+	-	+	+
2009/6/9	-	+	-	-	-	-
2009/6/14	-	+	-	-	-	-
2009/6/19	-	+	-	-	-	-
2009/6/24	-	+	-	-	-	-
2009/6/30	-	-	-	-	-	-
2009/7/4	Change of Sword tailed newt		陽性シリケンに交代		陽性シリケンに交代	
2009/7/8	+	+	+	-	-	-
2009/7/13	+	+	+	-	-	-
2009/7/17	-	+	+	+	-	-
2009/7/27	-	-	-	-	-	-
2009/7/31	-	+	-	-	-	-
2009/8/5	-	+	-	-	+	+
2009/8/10	-	-	-	-	-	+
2009/8/14	+	+	-	-	-	+
2009/8/20	-	-	-	-	-	-
2009/8/26	-	-	-	-	-	+
2009/9/2	-	-	-	-	-	-
2009/9/16	-	-	-	-	-	+

在来種は抗菌物質でも持っているのか？

Do native amphibians possess any anti-fungus peptide?

Implications from Japan Bd Surveillance

○日本のカエルツボカビには高い多様性が存在する。

High genetic diversity in Bd in Japan

○日本のカエルツボカビの一部には固有性がある。

Endemisms and host specificity in Bd in Japan (Giant salamander)

○日本の両生類においてカエルツボカビ症による大量死は未だ報告されていない。

No report of pandemic nor symptoms of Bd in Japan

○感染実験でも感染するも発症は認められず(抵抗性あり)

Resistance against Bd in the Japanese amphibian

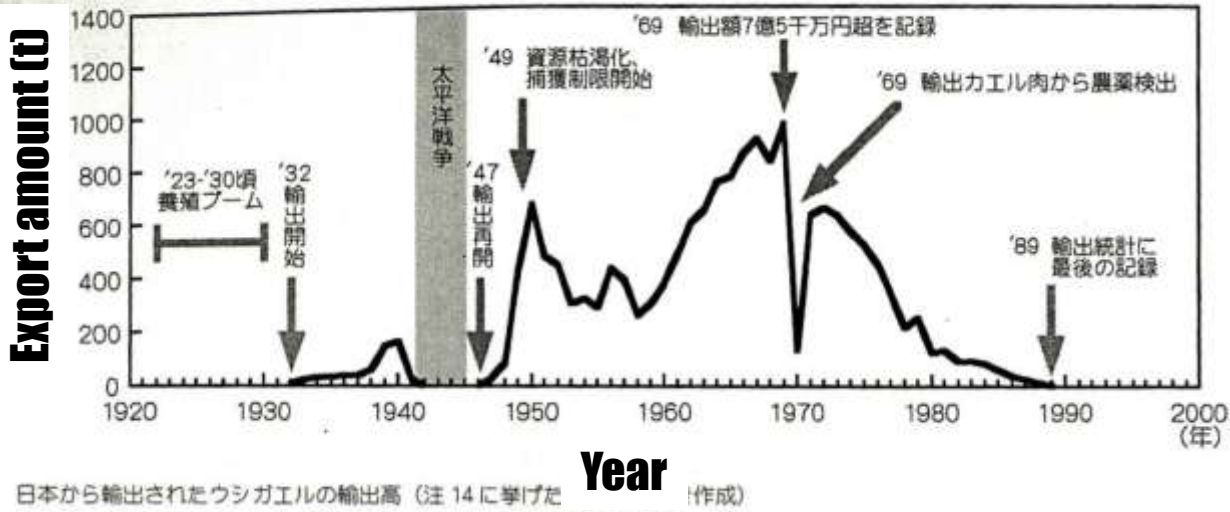
○カエルツボカビの起源は日本(アジア)

The origin of Bd came from Japan!?

なんで、うちの
ツボカビが
外国に渡った？
How did Japanese Bd
Spread all over the world?



Japan was once a great bull-frog exporting country !



The old newsletter for frog breeders and traders

**食用ガエルの養殖で
豊かな生活を！！**

Change “the trade for living”
to “the trade for good living”

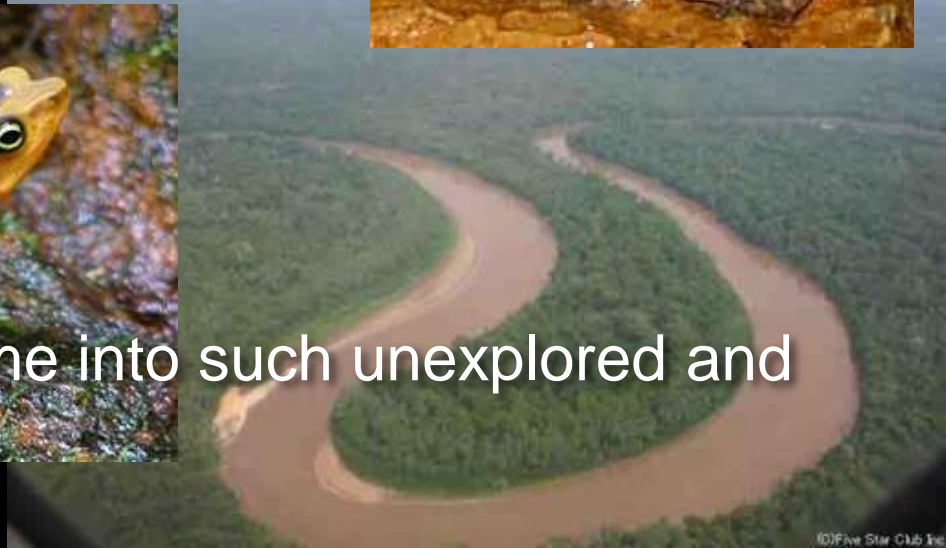
The process of pandemic of Bd fungus from Japan



Damages by the fungus have occurred mainly in Deep tropical rain forests in highland.



Why and how did the fungus come into such unexplored and undeveloped area?



ばら撒いたのは生物学者？

The men who carried the fungus were Ecologists?



寄生生物の多様性の危機とPandemic

The crisis of biodiversity in pathogens and pandemic as consequence

○近年の新興感染症Emerging Diseasesの感染爆発Pandemicの背景には生物多様性の崩壊がある。

The collapse of biodiversity has caused the pandemic of emerging diseases in these days

○野生生物と病原体の間には永きにわたる宿主-寄生生物共進化関係が存在する。

Wildlife and pathogen have constructed host-parasite relationships through a long co-evolution

○生物多様性は病原体微生物のゆりかごでもある。(Daszak, 2006)

Biodiversity is a cradle for pathogenic micrio-organisms

○野生生物の生息地の破壊と生物移送が、共進化の歴史を崩壊させ、病原体微生物は新たな住処を求めて宿主転換Host switchを繰り返している。

Natural habitat destruction and transportation of wild-life have caused collapse of history of Co-evolution between host and parasite.

クワガタムシと寄生性ダニの共種分化

Co-speciation between stag beetles and parasitic mites



クワガタナカセ

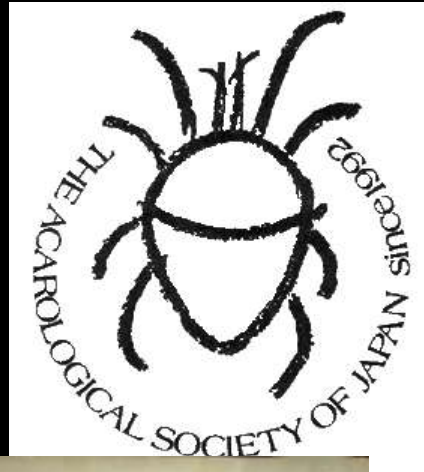
- クワガタ成虫の体表にのみ生息
- 体表のゴミやカビを食べる



***Canestrinia spectunda* (Astigmata, Canestriniidae)**

I am an Acarologist !

私の専門は実はダニ学です！



オレは実は
なにより
ダニが好き！

I love mites much more than
anything !!

丹馬鹿一代



Geographic distribution of the lucanid mite

クワガタナカセの世界分布

チュウゴクヒラタクワガタ
Dorcus titanus platymelus

クワガタナカセの遺伝的多様性は？

How about genetic diversity of the beetle mite?

クワガタムシとクワガタナカセの進化的関係は？

How about co-evolutionary relationship between beetle and mite?

日本のクワガタナカセのルーツは？

How about the routes of mite in Japan?

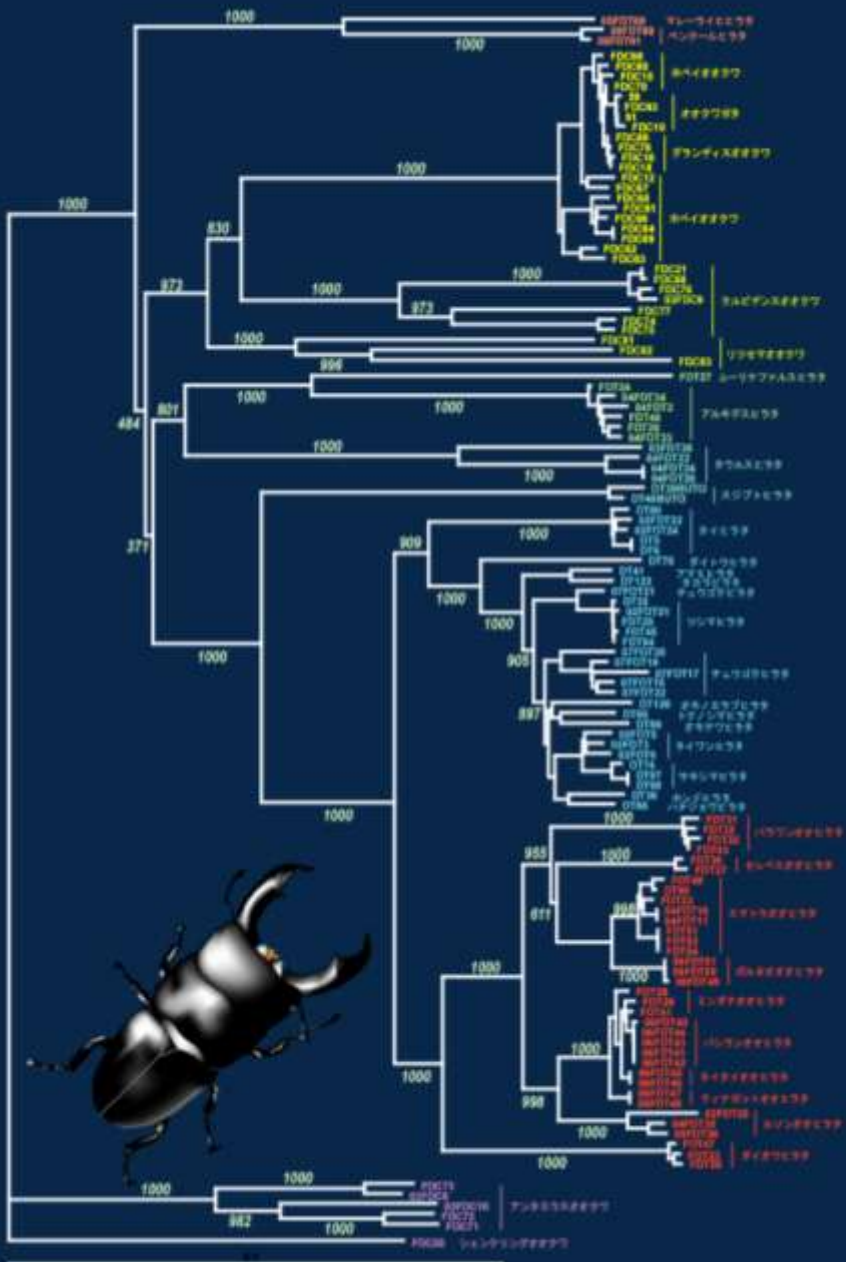
スマトラオオヒラタクワガタ
Dorcus titanus titanus

アルキデスヒラタクワガタ
Dorcus alcides

クワガタナカセを色々なクワガタムシから採集



Mt DNA phylogenetic tree of stag beetles





The great journey of 12,000,000yrs!!

1200万年の長旅



Co-Evolution of Host and Parasite

Co-evolution and co-adaptation between Host and Parasite

宿主-寄生生物間の共進化・共適応



Ecological base of symbiosis and immunity

共生や免疫機構の生態学的基礎

**The crisis of co-speciation history of Host-Parasite
caused by human activities**

生物学的侵入による宿主-寄生生物間の共種分化の歴史の崩壊



Outbreak of parasites and disease!

寄生生物と病害の感染爆発

Greater house shoe bat

Chimpanzee



新興感染症ウイルス

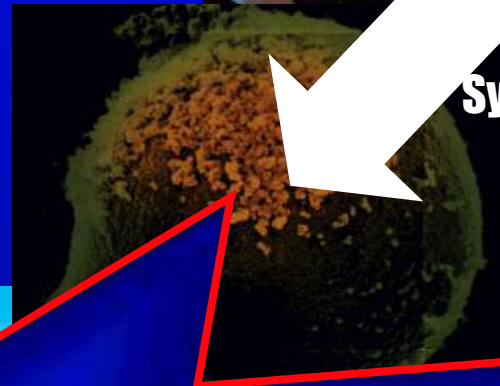
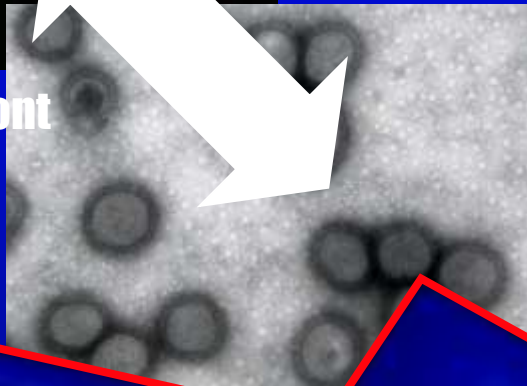
Emerging disease viruses

SARS

HIV

Symbiont

Symbiont



**The collapse of biodiversity
will cause pandemic of
emerging diseases !!**



目に見える美しい
生き物だけが
生物多様性ではない！
ダニにも愛の手を！

Biodiversity is composed by
not only beautiful life
but also invisible parasites!
Love to mites !

ダニ馬鹿一代!





THE END....