## 徳島県におけるオヤニラミの遺伝的集団構造と攪乱

### 清水孝昭<sup>1</sup>·佐藤陽一<sup>2</sup>·高木基裕<sup>3</sup>

- 『〒 799-3125 愛媛県伊予市森 121-3 愛媛県水産研究センター栽培資源研究所
- 2 〒 770-8070 徳島市八万町向寺山 文化の森総合公園 徳島県立博物館
- 3 〒 798-4292 愛媛県南宇和郡愛南町船越 1289-1 愛媛大学南予水産研究センター

(2019年1月30日受付; 2019年7月11改訂; 2019年7月16受理; 2019年9月14日 J-STAGE 早期公開)

キーワード:ケツギョ科,放流,固有性,遺伝的攪乱

# 魚類学雜誌 Japanese Journal of Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 2019

Takaaki Shimizu, Yoichi Sato and Motohiro Takagi\*. 2019. Genetic population structure and disturbance among *Coreoperca kawamebari* (Perciformes, Sinipercidae) populations in Tokushima Prefecture. Japan. J. Ichthyol., 66(2): 195–203. DOI: 10.11369/jji.19-007.

Abstract Genetic structure and disturbance among populations of the Japanese perch Coreoperca kawamebari in Tokushima Prefecture were surveyed by mitochondrial DNA (mtDNA) direct sequence analysis. Two sample series were taken during different sampling periods from three river systems (Kuwano, Fukui, and Tsubaki River systems): (1) 1999, samples from river populations free of any officially sanctioned artificial introduction of seeds; and (2) 2011-14, samples from the Tsubaki River population previously subjected to artificial introduction of seeds from the Kuwano River population. In the 1999 samples, perch in the above three river systems all exhibited the Tokushima clade (comprising haplotypes Hap 1 and Hap 2). Hap 1 was shared by the Fukui and Tsubaki River systems, whereas Hap 2 was endemic to the Kuwano River system. A few cases of an additional haplotype (Hap 10), included in a different clade (Western Setouchi clade), were found in the Fukui River population. In the 2011–14 samples, Hap 2 of the Kuwano River endemic haplotype was shared with Tsubaki River populations, at rates from 25% to 56% among individuals of different year classes, suggesting mtDNA intrusion from the Kuwano River population. Additionally, all individuals in a tributary of the Kuwano River system (a recently discovered habitat of the species), exhibited a haplotype (Hap 11) belonging to the Western Setouchi clade. These findings suggest artificial intraspecific introductions among river populations, resulting in serious irreversible disturbance to the natural perch populations. Further detailed nuclear DNA surveillance should be conducted to clarify the ongoing status of the perch.

\*Corresponding author: South Ehime Fisheries Research Center, Ehime University, 1289— I Funakoshi, Ainan, Ehime 798–4292, Japan (e-mail: takagi.motohiro.mc@ehime-u.ac.jp)

玉内において、本来の分布域を越えた、あるいは分布域内の地域集団間での移入により生じる国内外来魚は、種、亜種および地域集団といった様々なレベルで深刻な問題を引き起こすことが指摘されている(瀬能、2013)、特に、地域集団間での移植は、個体間交雑を生じて不可逆な遺伝的攪乱を引き起こすと考えられる(三宅・河村、2013;河村、2015)。

オヤニラミ Coreoperca kawamebari (スズキ目ケッギョ科) は淀川および由良川以西の本州,四国北部,九州北部および朝鮮半島南部に分布する純淡水魚で(香田・渡辺,2001),四国では香川県と徳島県の一部の水系に局所的に分布している(徳島淡水魚研究会,1987;須永ほか,1989).本種は,水質がよく,流れが緩やかで,隠れ場所や産卵基盤となる抽水植物の繁茂する場所を好むた

め,河川改修などにともなう生息環境の悪化により各地で集団が減少傾向にあり、国(環境省、2015:絶滅危惧 IB 類)のほか、自然分布するすべての県のレッドデータブックで絶滅危惧種に位置づけられている(野生生物調査協会・Envision環境保全事務所、2014). 本種は観賞魚として価値があるため、乱獲も減少要因になっている一方、無差別な人為放流が絶えず、本来の分布域外からの確認事例が続いている(例えば田中ほか、2010;浅香ほか、2014). このことは、分布域内でも人為移入が起こり、在来系統が遺伝的に攪乱されている可能性を示している.

徳島県では, 生息河川である那賀川水系桑野川 のオヤニラミが 1967 年に県の天然記念物に指定 されている. しかし, 近年本種の生息状況は悪化 しており、徳島県版レッドリストで絶滅危惧 IA 類に指定されていることに加えて(徳島県, 2014)、2007年に「徳島県希少野生生物の保護及 び継承に関する条例」における指定希少野生生物 に指定され、捕獲、採取などの禁止、所持、譲渡 の制限などが定められている(徳島県希少野生生 物保護検討委員会,2010). 本種は徳島県内にお いては、紀伊水道に流入する3水系5河川から記 録がある(那賀川水系:支川中山川、派川桑野川、 桑野川支川岡川;福井川;椿川). これらのうち 桑野川支川の岡川では既に絶滅しており, 那賀川 支川の中山川では絶滅した可能性が高いとされて いる (佐藤, 2010). 残る河川でも, ダムの建設 や河川改修, 水質の悪化, オオクチバスの導入な どにより生息個体数は減少し, 徳島県における本 種を取り巻く状況はきわめて厳しい状況にある. 加えて, 近年では一部の水系で増殖個体の放流に よる遺伝的な撹乱が生じている可能性が高いと考 えられており(徳島県希少野生生物保護検討委員 会, 2010), 地域集団が持つ遺伝的特徴が失われ るといった保全上の問題が懸念されている.

本研究では、移殖放流以前と以降のオヤニラミ集団について、ミトコンドリア DNA 調節領域の塩基配列解析をおこない、徳島県とその周辺地域のオヤニラミの集団遺伝構造を解明するとともに、人為移植が野生集団に及ぼす攪乱の影響について検証した。

### 材料と方法

徳島県においてオヤニラミは那賀川水系中山川 と桑野川,福井川水系,椿川水系から記録されて いるが, このうち中山川と, 桑野川の支流岡川で はすでに絶滅したと考えられている. 福井川では. 1995年に福井ダムが建設され、集団が分断され た後、上流域で集団の縮小が予想されたため、県 により水域内の集団の一部が上流の地点へ移植さ れている(徳島県希少野生生物保護検討委員会, 2010). また、椿川において 2000 年に地元市民グ ループにより桑野川産の増殖個体が初めて放流さ れ、その後も数年間継続されている(徳島新聞、 2000, 2003;朝日新聞, 2006, 2007).加えて、 桑野川および中山川において, 地元市民グループ や地元小学校により自然保護と環境教育の名目で 複数回増殖個体の放流が行われており, すでに千 尾以上の個体が放流されている(阿南市企画総務 部秘書広報課, 2008; 徳島新聞, 2009, 2012, 2017).

以上のことを考慮し、材料には人為放流の記録 が存在しない 1999 年に採集され、徳島県立博物 館に登録・保存されていた徳島県と周辺地域のオ ヤニラミ標本 (Table 1) を用いた. これらは 1999 年に徳島県の3水系5地点(Table 1, Fig. 1A: St. 1, 6,7,11,12), 香川県の1水系1地点, 兵庫県の1 水系1地点, 岡山県の1水系1地点, および広島 県の2水系3地点でタモ網により採集されたもの で、現地で、あるいは活魚として研究室に運搬後、 70% エタノールで固定し、体側筋を切り出して 99% エタノールで保存されている. この他, 香川 県土器川産の飼育個体も解析に加えた. これに加 えて、移植放流による遺伝的影響を検証するため、 徳島県の許可を得て 2011 年から 2014 年にかけて 県下3水系11地点でオヤニラミを採集した(Table 1, Fig. 1B: St. 1-6, 8-12. このうち, St. 2から St. 4までの区間内に本種の天然記念物指定地域が含 まれる). 採集個体は現地で全長および体長測定 を行った後、臀鰭の一部を切除して99%エタノー ルで固定し、個体は直ちに元の場所に放流した.

エタノール固定の組織から、Quick Gene DNA tissue kit(KURABO)を用いて DNA を抽出した.ミトコンドリア DNA 調節領域を対象としたプライマーセット [L15923(Iguchi et al., 1997): 5'-TTA AAG CAT CGG TCT TGT AA-3'; H1067(Martin et al., 1992): 5'-CCT GAA GTA GGA ACC AGA TG-3']を用いて PCR (94°C, 120 秒間の熱変性の後、94°C, 15 秒間、55°C、15 秒間、72°C、120 秒間を 30 サイクル、最終伸長を72°C、7 分間)をおこない、目的領域を増幅した.目的領域が増幅された PCR 産物については、ExoSAP-IT(GE ヘルスケア)を用いてプライマーの消化な

らびに dNTP の不活性化を行い、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用いてシーケンス反応 (96°C, 60 秒間の熱変性の後、96°C, 60 秒間, 50°C, 5 秒間, 60°C, 240 秒間を 25 サイクル)を行った。反応を終えたサンプルについては BigDye Xterminator Purification Kit (Applied Biosystems) により過剰な蛍光色素の除去を行った後、ABI 3130 (Applied Biosystems) によりシーケンスを行った。た。

外群として、DDBJ (DNA Data Bank of Japan) に登録されている同じケツギョ科のコウライケツギョ Siniperca scherzeri の塩基配列 (JQ010985: Chu et al., 2013)を用い、シーケンスにより得られた塩基配列とともに Clustal W (Thompson et al., 1994)による多重整列を行った。その後、近隣結合法(Neighbor-joining method)による樹形図を作成するとともに、分岐の信頼性について 1,000回のランダム・サンプリングによるブートストラップ確率(Efron, 1979)を求めた。なお、ハプロタイプ間の遺伝的距離は Kimura (1980)の 2 パラメータモデルにより、PHYLIP (Felsenstein, 1995)のプログラム DNADIST を用いて算出した。

### 結 果

徳島県と周辺域におけるオヤニラミの遺伝的特 **徴** 多重整列を行ったオヤニラミの調節領域には 各所で欠損, 挿入が見られ, 配列長は847-851 bp と変異した. 得られた塩基配列データより 11種 類のハプロタイプが検出された(Table 1). これ らハプロタイプの塩基配列はすべて国際塩基配列 データベース (International Nucleotide Sequence Database Collaboration) に登録してある (DDBJ accession number: LC145595-145605). 得られたハ プロタイプのうち、Hap 1 は全解析個体数の 38.2%を占め、徳島県の3水系12地点中の2水 系(福井川および椿川水系)7地点(St. 6-12)で 出現したほか、香川県の金倉川水系においても出 現した. Hap 2 は全解析個体数の 32.4%を占め, 徳島県の2水系(桑野川水系および椿川水系)で 出現した (St. 1-4, 11, 12). 残りの Hap 3-11 の うち徳島県の水系に出現したものは Hap 10 (徳 島県外の水系にも出現)と Hap 11 (徳島県内の水 系のみ) であり、Hap 3-9 は徳島県外の水系にの み出現した (Table 1).

コウライケツギョを外群として近隣結合法により得られた有根系統樹(Fig. 2)において,ハプ

ロタイプグループは大きく二つのクレード (Clade 1, 2) に分かれ, Clade 2 の単系統性は高いブートストラップ確率 (100%) で支持された. Clade 1 はさらに二つのサブクレード (Subclade A, B) から成り, それぞれ高いブートストラップ確率 (86%, 98%) で単系統性が支持された.

Clade 1 のうち, Subclade A には, 徳島県の河川で見られた 4 ハプロタイプのうち 2 つ (Hap 1, 2) が含まれた (Table 1). Subclade B は兵庫県揖保川の 2 ハプロタイプ (Hap 4, 5) と, 香川県土器川産の 1 ハプロタイプ (Hap 3) から構成されていた (Table 1). また, Clade 2 には広島県, 岡山県のすべてのハプロタイプ (Hap 6-9) と, 香川県, 岡山県, 徳島県で共有されていた 1 ハプロタイプ

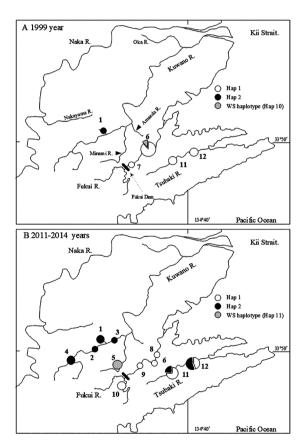


Fig. 1. Distributions and frequencies (percentages of individuals) of haplotypes among populations of *Coreoperca kawamebari* in different year periods in Tokushima Prefecture. A: 1999, B: 2011-2014. Open circles: original haplotype of populations in the Fukui and Tsubaki River systems; closed circles: original haplotype of the Kuwano River system population. Gray circles: haplotypes introduced from western Setouchi (WS) region (see text and Fig. 2). Size of each circle shows relative sample size (Table 1).

Table 1.	Sampling localities, numbers of specimen and haplotype distributions on each of localities of C	'oreoperca
kawameba	i. Stations (St.) correspond to Fig. 1	

TUDM D*	Prefecture	T1'4-	C4		Haplotype										
I KPM-P*	Prefecture	Locanty	St.	n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
7857	Hyogo	Ibo River		3				2	1						
7902	Okayama	Umeki River (Takahashi River system)		11						4				7	
7903	Hiroshima	Osada River (Gou River system)		7						7					
7905		Osada River (Gou River system)		5						3	1	1			
9257		Kyo-maru River (Ashida River system)		4						3			1		
9262	Kagawa	Kanekura River		3	1									2	
		Doki River		1			1								
9269	Tokushima	Kubotani River (Kuwano River system, 1999 year)	1	2		2									
-		Kuwano River (2012 year)	2	8		8									
-		Kuwano River (2012 year)	3	9		9									
-		Kuwano River (2014 year)	4	16		16									
-		Kubotani River (Kuwano River system, 2014 year)	1	15		15									
		Minami River (Kuwano River system, 2014 year)	5	16											16
9256		Fukui River (1999 year)	6	17	15									2	
9255		Tosadani River (Fukui River system, 1999 year)	7	5	5										
-		Fukui River (2012 year)	8	1	1										
-		Fukui River (2012 year)	9	6	6										
-		Fukui River (2012 year)	10	10	10										
_		Fukui River (2013 year)	6	4	4										
9254		Tsubaki River (1999 year)	11	10	10										
9261		Tsubaki River (1999 year)	12	7	7										
-		Tsubaki River (2011 year)	11	4	3	1									
-		Tsubaki River (2011 year)	12	9	4	5									

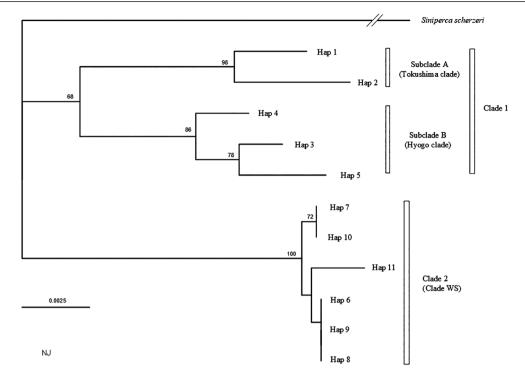
<sup>\*</sup> Numericals indicate collection numbers of Tokushima Prefectural museum fish specimens.

(Hap 10) および, 徳島県のみに出現した 1 ハプロタイプ (Hap 11) が含まれた (Fig. 2, Table 1). すべてのハプロタイプ間の塩基置換率は 0.0-2.5% (平均 1.5%), 各クレード, サブクレード間では 1.7-2.4% であった (Subclade A vs. B: 0.0165 ± 0.0009, Clade 2 vs. Subclade A: 0.0236 ± 0.0014, Clade 2 vs. Subclade B: 0.0216 ± 0.0017) (Table 2).

1999 年における徳島県内のハプロタイプ分布 徳島県内では、公式な放流開始以前の 1999 年の サンプル 41 個体のうち 37 個体 (90.2%) が Hap 1 であり、福井川 (St. 6, 7) と椿川 (St. 11, 12) に出現した、残りは 2 個体が Hap 2 として桑野川 水系 (St. 1) に、他 2 個体が Hap 10 として福井 川水系 (St. 6) に出現した (それぞれ 4.9%). 1999 年の時点では Subclade A に含まれる福井川— 椿川水系と桑野川水系の間で共通するハプロタイ プは見られなかった (Table 1, Fig. 1A). なお、前 述したように福井川のサンプル中に見られた Hap 10 は、岡山県高梁川および香川県金倉川のものと共通である (Table 1).

2000 年以降の徳島県内のハプロタイプ分布2000 年以降の徳島県内のサンプル 98 個体のうち56 個体 (57.1%) は Hap 2 であり、48 個体 (49.0%) は 1999 年と同じ桑野川水系に出現した. しかし、6 個体 (6.1%) は 1999 年には見られなかった椿川の 2 地点 (St. 11, 12) から出現し、25–56%の割合で混在していた (Table 1, Fig. 1B). 次いで28 個体 (28.6%) は Hap 1 であり、1999 年と同様、福井川一椿川水系に出現した. 福井川水系では、ダム上流の地点 (St. 10: ダム建設に伴い、移植放流された地点)の個体を含め21 個体のすべてが Hap 1 であり、1999 年に低頻度で出現した Hap 10 は見られなかった. 桑野川水系で新たに調査を行った支川南川 (St. 5) から得られた16 個体

<sup>-:</sup> no specimen is deposited to the museum (DNA samples were taken from small tip of the anal fin, and the individuals were released alive into their habitat)

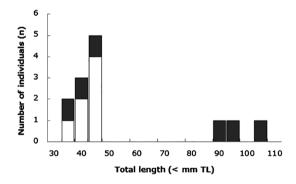


**Fig. 2.** Phylogenetic relationships based on the neighbor-joining method among haplotypes of *Coreoperca kawamebari* in the present study. Numerals on each node indicate bootstrap probabilities.

(16.3%) はすべてクレード 2の Hap 11 であり、このハプロタイプは今回他の調査地点においては全く見られなかった。また、2011 年の椿川において各ハプロタイプを示す個体の体サイズは、少なくとも Hap 2 において明瞭な二群を示していた(Fig. 3).

### 考察

# 徳島県と周辺域におけるオヤニラミの遺伝的特徴 今回検出されたクレードおよびサブクレードに含まれる各ハプロタイプの地理的分布を見ると、Clade 1 のハプロタイプは最終氷期における古瀬戸内海に存在した東西水系(桑代、1959)の分水嶺より東側に出現していた。このうち、Subclade Aのハプロタイプ(Hap 1, 2)は東四国地域のみに出現した。Hap 1 は徳島県の2 水系(福井川および椿川)で優占的に出現し、かつ Hap 2 は徳島県固有(1999 年時点では桑野川水系固有)であったことから、Subclade Aの各ハプロタイプは徳島県在来のものと考えられる(以降、Subclade AをTokushima cladeと記す)。一方、Subclade Bのハプロタイプは兵庫県と香川県で出現し、それらの単系統性は高い確率で支持され(Bp: 86%)、後述



**Fig. 3.** Body size distributions of each haplotype among populations of *Coreoperca kawamebari* in the Tubaki River system in 2011 (see Table 1). Open bars: Hap 1, closed bars: Hap 2.

のように香川県のみに出現した Hap 3 は移入起源の可能性があることから、これらはいずれも兵庫県周辺に在来のハプロタイプと考えられる(以降、Subclade 2 を Hyogo clade と記す). Clade 2 については、一部徳島県で見られたハプロタイプ (Hap 10、11)を含むものの、徳島県の他のハプロタイプとの類縁関係から見てこれらはいずれも徳島県在来のハプロタイプである可能性は低く、広島県、岡山県、香川県のハプロタイプ群と高い確率で単系統をなすことから(Bp:100%), Clade 2 に含ま

				+					-							
	Hapl															
	Clade1						Cl. 1. 2 (Cl. 1. WG)									
	Subclade A		Subclade B				Clade 2 (Clade WS)									
	Hap 1	Hap 2	Hap 3	Hap 4	Hap 5		Hap 6	Hap 7	Hap 8	Hap 9	Hap 10	Hap 11				
Hap 1		0.0071	0.0155	0.0168	0.0155		0.0228	0.0216	0.0229	0.0228	0.0216	0.0228				
Hap 2	0.0071		0.0167	0.0179	0.0167		0.0252	0.0240	0.0253	0.0253	0.0240	0.0253				
Hap 3				0.0059	0.0047		0.0216	0.0204	0.0217	0.0216	0.0204	0.0216				
Hap 4	0.0165 ±	€ 0.0009			0.0059		0.0204	0.0192	0.0204	0.0204	0.0192	0.0204				
Hap 5			0.0055	± 0.0007			0.0241	0.0229	0.0241	0.0241	0.0229	0.0241				
Hap 6								0.0012	0.0000	0.0000	0.0012	0.0024				
Hap 7	$0.0236 \pm 0.0014$								0.0012	0.0012	0.0000	0.0035				
Hap 8			0.0	216 + 0.0	017					0.0000	0.0012	0.0024				
Hap 9			0.0	$0.0216 \pm 0.0017$			0.0	$014 \pm 0.0$	012		0.0012	0.0024				
Hap 10											0.0035					
Han 11																

**Table 2.** Nucleotide divergence with Kimura's two parameter model among haplotypes (above diagonals) and those among clades (below diagonals, avarage ± standard deviation) of *Coreoperca kawamebari*. Names of each clade follow Fig. 2.

れるハプロタイプはいずれも前述の分水嶺より西側に在来のハプロタイプ群であると考えられる [以降, Clade 2を Western Setouchi clade (Clade WS) と記す].

各クレードおよびサブクレード間の塩基置換率からそれらの分岐年代を求めると、塩基置換率2%/百万年(スズキ目ペルカ科:Faber and Stepien, 1997)の場合に80-120万年となり、更新世初頭から中期の間に含まれる[13-258万年前、地質年代は日本地質学会(2017)に準拠する].したがって、本種各クレード、サブクレードの遺伝的分化は最終氷期を含んだ更新世後期(1-13万年前)までには起こっていたと推定される.

Clade WS に含まれるオヤニラミの採集地点は、日本海および瀬戸内海斜面流入河川にまたがっている.このうち、Hap 6 は日本海(江の川)および瀬戸内海山陽斜面(芦田川、高梁川)に流入する水系で出現した.最終氷期の古水系では、高梁川と、その西側に位置する芦田川は、それ以西の水系と共に豊後水道へ流れる古豊予川水系に属していたとされる(新見、1995;平山ほか、2003).このため、高梁川、芦田川水系のオヤニラミにおいてハプロタイプが共有されているのは、こうした最終氷期の河川の連絡が深く関わっていると考えられる.また、日本海斜面に流入する江の川と瀬戸内海斜面へ流れる芦田川では、支流間で河川争奪地形が見られ(後者が前者を争奪:Kimizuka and Kobayashi、1983)、こうした地史的変遷が本種

の遺伝的背景に影響した可能性がある.

香川県金倉川は高梁川のほぼ対岸に位置し、共 に古豊予川に属していたとされる. 両水系間では Hap 10 の共有が見られたが、日本海 - 瀬戸内海 斜面集団に共通する Hap 6 は金倉川集団からは出 現しなかった. また, 徳島県河川の主要なハプロ タイプである Hap 1 が金倉川集団から検出されて いる. 金倉川に隣接する土器川(共に同一氾濫原 である丸亀平野を流れ,河口間距離は約2km) で出現した Hap 3 は, 兵庫県揖保川の Hap 4, 5 と高い類縁関係を示した. 香川県においてこれら ごく近い距離にある2水系間でハプロタイプが共 有されておらず、出現した全てのハプロタイプが 異なるクレードに含まれることは、少なくとも集 団の一部に非在来の遺伝子が侵入していることを 示唆する. すなわち、香川県の絶滅危惧種である オヤニラミは現在地域固有の遺伝的特徴を消失し ている可能性があるため、周辺域を含めさらに解 析地点及びサンプル数を追加して検証する必要が ある.

最終氷期の兵庫県揖保川と徳島県の河川は,瀬戸内海東部(現在の播磨灘と大阪湾,紀伊水道)に流入する他水系と共に太平洋へ流れる古紀淡川水系(平山ほか,2003)に含まれていたとされる。両地域集団のハプロタイプは,徳島県で他地域からの移入と考えられたハプロタイプ(Hap 10,11:後述)をのぞき、1つのクレードを形成した。また,両地域間では明瞭な遺伝的分化が見られて

おり、それぞれ異なるサブクレードを形成した. 徳島県では椿川と福井川の集団で共通のハプロタ イプ (Hap 1) が見られたが、それらと那賀川水 系桑野川集団とではハプロタイプの共有は見られ なかった. 桑野川においては、支流廿枝川が後期 更新世の比較的早い段階に福井川により争奪を受 けたと推定されている (国土地理院, 2010). こ うしたことから、四国においてオヤニラミ集団は 単系統的に徳島方面へ分布を拡げた後、河川争奪 等により桑野川から福井川 - 椿川水系へ分布を拡 げたが, 最終氷期であっても古紀淡川に属する他 地域集団との間で積極的な遺伝子交流は起こらな かったものと推定される. 本種が分布する徳島県 の水域は,純淡水魚の固有分布によって識別され る地理区分に属しており(Watanabe and Nishida, 2003; Watanabe, 2012), 古紀淡川に属する地域 集団の中で徳島県集団は独自の遺伝的分化を遂げ た固有グループといえる. なお、徳島県集団の中 で桑野川と福井川・椿川水系の集団が異なるハプ ロタイプを有することは、それらの集団が独自の 遺伝的分化を遂げた可能性がある一方で、ボトル ネックにより二次的にハプロタイプの消失を経て いることも考えられる. 徳島県においてオヤニラ ミは絶滅危惧種と位置づけられており(徳島県. 2014)、保全にあたっては水系毎の固有性を保持 していくことが重要であるが、桑野川と福井川・ 椿川水系の集団をそれぞれ進化的に固有の保全単 位と見なしうるかどうかについては、核 DNA マー カーなどによる高感度遺伝子解析や, 同じ水域に 分布する他の純淡水魚における遺伝情報との比較 など, 更なる検証が必要である.

徳島県におけるオヤニラミの遺伝的撹乱 本研 究により、現在、徳島県内でオヤニラミが生息す る3水系すべてにおいて遺伝的な攪乱が見られ, とくに桑野川と椿川においては深刻な状況にある ことが判明した. 桑野川水系では,2010年以降 に初めて調査をおこなった支流南川で、調査した いずれの地点からも出現しなかったハプロタイプ (Hap 11) が出現した. このハプロタイプは瀬戸 内海西部周辺域の Clade WS に属し, 桑野川在来 と見られる Hap 2 が全く出現しなかったことなど から, 徳島県以外から人為的に持ち込まれた個体 を起源とすることが推定される. 本支流に以前よ りオヤニラミが生息していたかどうかは不明であ るが、少なくとも現在の集団には大規模に他地域 由来の遺伝子が浸透していることが予測される. 桑野川本流では少なくとも, 天然記念物指定地域 周辺では現在も在来系統の遺伝子型が維持されていると推定されるが、今後支流を通じて非在来の遺伝子を持つ個体が桑野川本流へ侵入する可能性は高く、在来集団の遺伝的特徴の保全の観点からは、早急にこうした遺伝子の水系内の集団における浸透状況を調査し、その状況に応じて個体の除去をおこなっていくなどの対応が必要であろう.

福井川では、ダム建設に伴い、ダム湖の上流に おいて水系内移植が実施され、2014年時点にお いても移植個体由来と思われる集団が存続してお り、かつ遺伝的な撹乱は検出されなかった. 下流 域では1999年にわずかながら瀬戸内海斜面由来 と推定されるハプロタイプ(Hap 10)が出現し, 在来集団への遺伝的撹乱が懸念された. 近年の調 査ではそうした個体が確認されなかったが、在来 集団との交雑の有無については明らかでない. 本 水系においては、ダムにより集団が分断された状 態にあり、上流の集団は今後小集団化による近親 交配が進行する恐れがある. 本研究のミトコンド リア領域では両集団内に多型を見いだせなかった が、今後、核 DNA マーカーを用いた高感度遺伝 子解析による調査が必要と思われる. また, 将来 的にダム上流と下流の個体を人為的に混合するこ とで、近親交配を防ぐ必要が生じると予測される が、その場合、各集団内に他地域由来の遺伝子が 侵入していないことを予め充分に確認しておく必 要があろう.

椿川においては、桑野川産オヤニラミが移植放 流される以前に採集された個体はいずれも Hap 1 を有していた. このハプロタイプは隣接する福井 川のものと同一である。2000年以降の桑野川産 オヤニラミの椿川への放流開始以前には,椿川, 福井川ともにオヤニラミの放流がおこなわれた記 録はなく、椿川で優占していた Hap 1 は在来のハ プロタイプであると考えられる. 放流開始後の 2011年に椿川から得られた個体は、約半数が桑 野川固有のハプロタイプである Hap 2 を有してお り、放流により椿川の集団内に桑野川由来の遺伝 子が侵入したことを示している. また, 桑野川固 有の Hap 2 は椿川において複数の年級群と思われ る個体から出現しており、近年においても人為放 流が継続されている可能性があるとともに、放流 個体が再生産し、また在来の個体と自然交配して いる可能性もある. 椿川において調査が行われた 地点は本種の個体数が多い地点を選定しており, 生息域上限までには数 km の区間が存在するが, 川幅,流量はより少なく,各所で堰堤により分断 されていることから、本種の生息数は少ないと考えられる.人為放流の実施された正確な地点は判っていないが、調査地点より上流側に放流の影響を受けていない在来系統が残存する可能性はあるため、今後在来系統のみからなる集団が確認された場合には、域外保全によりその系統を維持、保全することも視野に入れる必要があろう.また、すでに外来の遺伝子が侵入している集団であっても、不可逆な程度にまで個体間交雑が進行しているのか、核 DNA マーカーなどを併用し、集団の交雑段階(Allendorf et al., 2001)を明らかにする必要があろう.

本研究により, 徳島県では現在オヤニラミの生 息が確認されている3水系すべてで、幾ばくかの 非在来遺伝子の侵入が確認された. このうち1水 系(椿川)ではそれが水系の広範囲に拡がってお り,他1水系(桑野川)では一部支流に大きな攪 乱要素を内在していると考えられた. また. 移植 放流は報道などで公表されている以外に, 他県産 の個体に由来するものが複数回起こっていると考 えられた、こうした実態を考慮すると、徳島県産 オヤニラミの在来遺伝子資源保全のためには,各 水系で攪乱の進んだ地域と在来系統の残る地域を 抽出し、水系内の個体の分散可能性からみた今後 の攪乱予測をおこなった上で, 非在来遺伝子を持 つ個体の除去をおこなって在来系統を保全する(保 全しうる) エリアを明確にし、集団の保全に取り 組んでいく必要があるとともに, 現在以上に外来 の遺伝子を持つ個体が生息水域に添加されること のないよう, 積極的な広報と啓発活動が必要であ る. なお、既に攪乱が不可逆な程度まで進行した 水系であっても, 水域生態系における本種の役割 という観点からみれば、直ちに保全の対象から除 外できるものではない. 固有性を失った集団で あっても、その遺伝的事実を関係者間で共有、継 承した上で, 生物種としてオヤニラミを内包する 水域生態系保全の観点から集団の維持, 保全につ いてあらためて検討する必要があると思われる.

### 謝辞

現地調査ならびに標本の採集と入手にあたり、 鈴木寿之、洲澤 譲、高橋弘明、岸渕隆一、岡本 充、橋本健一、河口佑紀、末國仙理、藤井明日香、 青木新吾、氏部崇之、田代 優秋の各氏にご助力 いただいた.記して厚くお礼を申し上げる.本研 究は徳島県の受託研究経費並びに日亜化学工業株 式会社の共同研究経費によりおこなわれた.

### 引 用 文 献

- Allendorf, F. W., R. F. Leary, P. Spruell and J. K. Wenburg. 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. Trends Ecol. Evol., 16: 613–622.
- 阿南市企画総務部秘書広報課(編). 2008. ひと 輝く阿南人-. 広報あなん, (602):13.
- 朝日新聞. 2006.「仲間増やし戻ってね」オヤニラミ稚魚椿小児童が放流. 朝日新聞朝刊(2006年7月8日).
- 朝日新聞. 2007. オヤニラミの稚魚 42 尾放流 阿南の椿小,椿川に. 朝日新聞朝刊(2007年6月27日).
- 浅香智也・鳥居亮一・中川雅博. 2014. 愛知県矢作古川で採集した外来魚(オオクチバス,カムルチー,オヤニラミ)の胃内容物. 伊豆沼・内沼研究報告,(8):17-21.
- Chu, W., D. Chen, K. Wang, Y. Li, S. Du and J. Zhang. 2013. Analysis of the variable sites and phylogenetic studies of complete mitochondrial DNA based on the *Siniperca scherzeri* (Perciformes: Sinipercidae) from four different areas. Mitochondr. DNA, 24: 288–289.
- Efron, B. 1979. Bootstrap method: Another look at the jackknife. Ann. Stat., 7: 1–26.
- Faber, J. E. and C. A. Stepien. 1997. The utility of mitochondrial DNA control region sequences for analyzing phylogenetic relationships among populations, species, and genera of the Percidae. Pages 199–218 in T. D. Kocher and C. A. Stepien, eds. Molecular systematics of fishes. Academic Press, San Diego, California.
- Felsenstein, J. 1995. PHYLIP (Phylogeny Inference Package, Ver.3.57). Seattle, WA: Department of Genetics, SK-50, University of Washington.
- 平山琢朗・中越信和・頭山昌郁. 2003. 中四国地方における広島県の淡水魚類相の位置づけ. 日本生物地理学会会報, 58:21-34.
- Iguchi, K., Y. Tanimura and M. Nishida. 1997. Sequence divergence in the mtDNA control region of amphidromous and landlocked forms of ayu. Fisheries Sci., 63: 901–905.
- 環境省. 2015. レッドデータブック 2014 日本 の絶滅のおそれのある野生生物- 4 汽水・淡 水魚類. ぎょうせい, 東京. 415 pp.
- 河村功一. 2015. 交雑がもたらす遺伝子汚染の実態-雑種に隠された危険性. 遺伝, 69:116-122.
- Kimizuka, Y. and H. Kobayashi. 1983. Geographic distributions of karyological races of *Cobitis biwae* (Cobitidae). Japan. J. Ichthyol., 30: 308–312.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol., 16: 111–120.

- 国土地理院. 2010. 「1:25,000 土地条件図」解説書. 国土地理院, つくば. 15 pp.
- 香田康年・渡辺宗孝. 2001. オヤニラミ. 川那部 浩哉・水野信彦・細谷和海(編), pp. 486-489. 日本の淡水魚, 第3版. 山と渓谷社, 東京.
- 桑代 勲. 1959. 瀬戸内海の海底地形. 地理学評論, 32: 24-35.
- Martin, A., R. Humpreys and S. R. Palumbi. 1992. Population genetic structure of the armorhead, *Pseudpentaceros wheeleri*, in the North Pacific Ocean: application of the polymerase chain reaction to fisheries problem. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 49: 2386–2391.
- 三宅琢也・河村功一. 2013. タナゴ類における遺伝子浸透-見えない外来種一. 日本魚類学会自然保護委員会(編), pp. 67-84. 見えない脅威"国内外来魚"-どう守る地域の生物多様性. 東海大学出版会, 東京.
- 日本地質学会. 2017. 地質系統・年代の日本語記述 ガイドライン. 2017年2月改訂版: http://www. geosociety.jp/name/content0062.html (参照 2018-5-9).
- Saka, R., Y. Takehana, N. Suguro and M. Sakaizumi. 2003. Genetic population structure of *Lefua echigonia* inferred from allozymic and mitochondrial cytochrome b variations. Ichthyol. Res., 50: 301–309.
- 佐藤陽一. 2010. オヤニラミ Coreoperca kawamebari (平成19年9月7日指定). 徳島県自然環境課・ 徳島県立博物館(編), pp. 13-14. 徳島県希少野 生生物保護管理マニュアル 2010. 徳島.
- 瀬能 宏. 2013. 国内外来魚とは何か. 日本魚類 学会自然保護委員会(編), pp. 3-18. 見えない脅 威"国内外来魚"-どう守る地域の生物多様性. 東海大学出版会,東京.
- 新見 治. 1995. 多島海の自然景観 瀬戸内海. 中村和郎・安藤久次・宮田賢二・堀 信行・海 津正倫・新見 治(編), pp. 114–124. 日本の自 然 地域編 6 中国四国. 岩波書店, 東京.
- 須永哲雄・植松辰美・川田英則. 1989. 香川県に おける淡水魚研究の現状について. 香川生物, (15/16): 95-113.
- Takehana, Y., N. Nagai, M. Matsuda, K. Tsuchiya and M. Sakaizumi. 2003. Geographic variation and diversity of the cytochrome b gene in Japanese wild populations of

- Medaka, Oryzias latipes. Zool. Sci., 20: 1279-1291.
- 田中大介・鈴木誉士・中川雅博. 2010. 滋賀県大石川における国内外来魚オヤニラミの定着. 南紀生物, 52:58-60.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins and T. J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res., 22: 4673–4680.
- 徳島県. 2014. 汽水・淡水魚類リスト<改訂:平成 26 年>: http://www.pref.tokushima.jp/\_files/00608695/fish.pdf (参照 2016-3-14).
- 徳島県希少野生生物保護検討委員会. 2010. 徳島 県希少野生生物保護管理マニュアル. 徳島県自 然環境課・徳島県立博物館, 徳島. 31 pp.
- 徳島県淡水魚研究会. 1987. 徳島県魚貝図鑑. 徳島新聞社, 徳島. 271 pp.
- 徳島新聞. 2000. すくすく育ってネ 椿小児童オヤニラミ椿川に放流. 徳島新聞朝刊 (2000年5月21日).
- 徳島新聞. 2003. オヤニラミの幼魚など 50 尾「早く大きく」と放流 阿南の椿小生. 徳島新聞朝刊 (2003 年 6 月 3 日).
- 徳島新聞. 2009. 阿南市新野西小 オヤニラミ育成 水辺環境改善に努力. 徳島新聞朝刊 (2009年1月20日).
- 徳島新聞. 2012. オヤニラミの生息を調べる 阿 南の住民グループ. 徳島新聞朝刊 (2012年7月 15日).
- 徳島新聞. 2017. オヤニラミ稚魚放流本格化 阿 南の住民団体が保護活動. 徳島新聞朝刊 (2017 年7月8日).
- Watanabe, K. 2012. Faunal structure of Japanese freshwater fishes and its artificial disturbance. Environ. Biol. Fish., 94: 533–547.
- Watanabe, K. and M. Nishida. 2003. Genetic population structure of Japanese bagrid catfishes. Ichthyol. Res., 50: 140–148.
- 野生生物調査協会・Envision環境保全事務所. 2014. 日本のレッドデータ検索システム: http:// www.jpnrdb.com/(参照 2016-3-14).