

# トウカイコガタスジシマドジョウの遺伝的集団構造

伊藤 玄<sup>1</sup>・古屋康則<sup>2</sup>・堀池徳祐<sup>3</sup>・向井貴彦<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 〒 501–1193 岐阜市柳戸 1–1 岐阜大学大学院連合農学研究科

<sup>2</sup> 〒 501–1193 岐阜市柳戸 1–1 岐阜大学教育学部

<sup>3</sup> 〒 422–8529 静岡市駿河区大谷 836 静岡大学農学部

<sup>4</sup> 〒 501–1193 岐阜市柳戸 1–1 岐阜大学地域科学部

(2019年8月29日受付；2020年1月10日改訂；2020年1月10日受理；2020年2月28日J-STAGE早期公開)

キーワード：シマドジョウ属, 系統地理, mtDNA, 伊勢湾周辺域, 西静岡地域, 保全

魚類学雑誌  
Japanese Journal of  
Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 2020

Gen Ito\*, Yasunori Koya, Tokumasa Horiike and Takahiko Mukai. 2020. Genetic population structure of *Cobitis minamorii tokaiensis*. Japan. J. Ichthyol., 67(1): 41–50. DOI: 10.11369/jji.19-028.

**Abstract** An examination of the genetic population structure of *Cobitis minamorii tokaiensis* in central Honshu Japan, based on mitochondrial DNA nucleotide sequences in the cytochrome *b* region, revealed that the subspecies is subdivided into three regions (West-Shizuoka, Mie, and Aichi-Gifu) on the evidence of haplotype distribution and pairwise  $\Phi_{st}$  among populations. However, the phylogenetic analyses indicated that the haplotypes in the three regions belong to the same haplotype group, suggesting that *C. m. tokaiensis* dispersed following the interconnection of paleo-river systems within relatively recent geological time, and subsequently differentiated in several areas. Because of its genetic characteristics, the three regions are important for conservation of the subspecies' genetic diversity.

\*Corresponding author: The United Graduate School of Agricultural Science, Gifu University, 1–1 Yanagido, Gifu 501–1193, Japan (e-mail: t6101001@edu.gifu-u.ac.jp)

淡水魚類の遺伝的集団構造は、一般的に古環境や地史と密接な関係がある (Awise, 2000, 2004)。愛知県・岐阜県・三重県にまたがる伊勢・三河湾周辺の地域 (伊勢湾周辺域) には、更新世に様々な山地の隆起や断層の活動が生じており (吉田・尾崎, 2000; 町田ほか, 2006), これらの地殻変動が淡水魚類の分布に大きな影響を与えたと考えられる。例えば鈴鹿山脈の隆起は、カワバタモロコ *Hemigrammocypripis neglectus*, オイカワ *Opsariichthys platypus*, カワヒガイ *Sarcocheilichthys variegatus variegatus*, カマツカ *Pseudogobio esocinus*, およびナガレカマツカ *P. agathonectris* などの多くの淡水魚を伊勢湾周辺域と近畿地方の系統群に分断したことが示唆されている (Tominaga et al., 2009, 2016; Komiya et al., 2014; Watanabe et al., 2014; Kitanishi et al., 2016)。また、

静岡県西部と愛知県東部の間にまたがる弓張山地の隆起は、カワバタモロコを伊勢湾周辺域と、浜名湖から藤枝市以西の地域 (西静岡地域) の系統群に分断したと考えられている (Watanabe and Mori, 2008)。そのほか、伊勢湾周辺域内では岐阜県西部における養老山地の隆起や岐阜県東部の赤河・権現山断層などの活動によって、分散力の低いホトケドジョウ *Lefua echigonia* の地理的分化が生じたと考えられている (Ito et al., 2019)。また、最終氷期最盛期には海面が 100 m 以上低下したため、水深の浅い伊勢湾は陸化し、伊勢湾周辺域の水系は単一の古水系を形成したと考えられている (森山, 2004)。この時期には、ウシモツゴ *Pseudorasbora pugnax*, ネコギギ *Tachysurus ichikawai*, カワバタモロコ, およびカワヒガイなどが、この古水系を介し

て伊勢湾流入河川間で遺伝的に交流したことが示唆されている (Watanabe and Nishida, 2003; Watanabe and Mori, 2008; 鈴木ほか, 2016). 以上のように, 伊勢湾周辺域では, 様々な地史的イベントが淡水魚の個体群の分断や分散を引き起こし, 遺伝的な集団構造の創出に重要な役割を担ってきたことが明らかにされつつある.

トウカイコガタスジシマドジョウ *Cobitis minamorii tokaiensis* は, コガタスジシマドジョウの1亜種であり, 東海地方の伊勢・三河湾, 遠州灘西部の流入河川 (愛知県・岐阜県・三重県・静岡県) にのみ分布する (中島・内山, 2017). 本亜種は, 河川下流域や, 平野部の農業用水路・水田・河川敷湿地帯などの氾濫原に主に生息し, 産卵の際に浅い水路や水田などに移動すると考えられている (中島・内山, 2017). これまで東海地方における詳細な遺伝的集団構造が調べられているドジョウ類として, アジメドジョウ *Niwaella delicata* (Kitagawa et al., 2001), ホトケドジョウ (Ito et al., 2019), およびトウカイナガレホトケドジョウ *Lefua tokaiensis* (Miyazaki et al., 2017) があるが, 本亜種の生息環境や生活史は, これらのドジョウ類とは大きく異なっており, 生態の違いと遺伝的集団構造の形成要因の関係を明らかにするには好材料であると考えられる. また, 本亜種は河川や農業用水路の改修工事によりその数を減らしており (中島・内山, 2017), 環境省のレッドリストには絶滅危惧IB類として掲載されている (環境省, 2019). しかし, 本亜種の遺伝的集団構造についての研究はこれまで行われていないことから, 今後の保全活動を推進するためには, 遺伝的集団構造に基づく適切な保全単位の検討が不可欠であると考えられる.

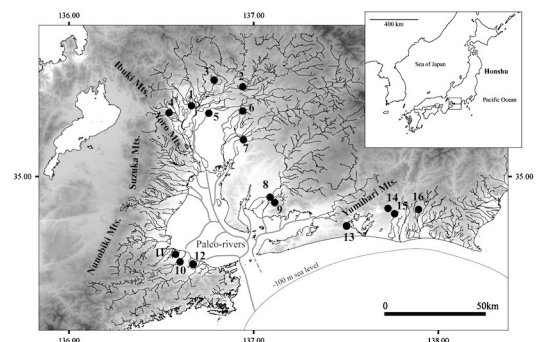
そこで本研究では, トウカイコガタスジシマドジョウの自然分布域をほぼ網羅した採集を行い, ミトコンドリアDNA (mtDNA) のシトクローム *b* (cyt *b*) 領域の塩基配列に基づく集団遺伝学的解析により, 本亜種の遺伝的集団構造を推定することを目的とした. 推定した集団構造をもとに, 生物地理学的な考察を行うとともに, 本亜種の保全単位についても検討した.

## 材料と方法

2014年から2019年にかけて, 合計16地点165個体 [瑞穂 (Mizuho) 6個体; 関 (Sekai) 16個体; 山県 (Yamagata) 24個体; 垂井 (Tarui) 19個体; 一宮 (Ichinomiya) 1個体; 大口 (Oguchi) 12個体;

名古屋 (Nagoya) 12個体; 西尾1 (Nishio1) 2個体; 西尾2 (Nishio2) 4個体; 松阪1 (Matsusaka1) 7個体; 松阪2 (Matsusaka2) 13個体; 伊勢 (Ise) 16個体; 湖西 (Kosai) 4個体; 浜松1 (Hamamatsu1) 10個体; 浜松2 (Hamamatsu2) 9個体; 森 (Mori) 10個体] のトウカイコガタスジシマドジョウを, タモ網を用いて採集した (Fig. 1; Table 1). 加えて, 比較用に岐阜県から1個体, 滋賀県から1個体のニシシマドジョウ *Cobitis* sp. BIWAE (type B) を同様の方法で採集した. 採集した魚体をそのまま, もしくは腹鰭の一部を99.5%エタノール中に浸漬し, DNAの抽出を行うまで $-80^{\circ}\text{C}$ の超低温フリーザ内で保管した.

DNA抽出には, DNeasy Blood & Tissue Kit (キアゲン社) を用いた. mtDNAのcyt *b*領域を対象としたPCR増幅と塩基配列の決定には, Glu-L (5'-GAA GAA CCA CCG TTG TTA TTC AA-3') と Thr-H (5'-ACC TCC RAT CTY CGG ATT ACA-3') のプライマー対 (Šlechtová et al., 2006) を用いた. PCRには, Ex Taq バッファーと Ex Taq DNA ポリメラーゼ (タカラバイオ株式会社) を使用し, 常法に従ってサーマルサイクラーで $95^{\circ}\text{C} \cdot 1$ 分,  $55^{\circ}\text{C} \cdot 1$ 分,  $72^{\circ}\text{C} \cdot 2$ 分の温度サイクルを30回繰り返して増幅を行った. PCR産物についてはExoSAP-ITキット (GEヘルスケアジャパン社) を用いて処理した後, 増幅した時と同じプライマーをそれぞれ用いて, BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit ver. 3.1 (アプライドバイオシステムズ社) によるシーケンシング反応をL鎖とH鎖について行い, ABI 3130 Genetic Analyzerで塩基配列を決定した. 得られた両鎖の塩基配列については個体ごとに結合させて, 両鎖



**Fig. 1.** Sampling localities of *Cobitis minamorii tokaiensis* (closed circles). The paleo-river system of the Ise Bay region is indicated by pale gray lines, following Moriyama (2004).

の不一致が無いことを確認した上で DDBJ, EMBL, GenBank のデータベースに登録した (登録番号 LC464984–LC465017, LC487327)。また, 集団遺伝データについては遺伝的多様性データベース GEDIMAP (Watanabe et al., 2010) に登録した (登録番号 P2307–2320, 2352, 2353)。

比較のための多重整列には, CLUSTAL X ver. 1.83 (Thompson et al., 1997) を用い, 系統樹の推定には, 最尤法とベイズ法を用いた。最尤法には, raxmlGUI ver. 1.3 (Silvestro and Michalak, 2012) を用いた。塩基配列におけるコドンの 1 番目, 2 番目, 3 番目の進化速度の違いを考慮し, それぞれにパーティションを設定し, GTR+G モデルを適用した。各枝の信頼性については 1000 回のブートストラップ確率を求めた。ベイズ法には, MrBayes ver. 3.2.6 (Ronquist et al., 2012) を用いた。Kakusan4 (Tanabe, 2011) を用いてベイズ情報量規準 (BIC) に基づいたモデルテストを行い, 1 番目, 2 番目, 3 番目のコドンに, K80, F81, GTR の各モデルを適用した。解析にあたっては, マルコフ連鎖モンテカルロ (MCMC) 法によってマルコフ連鎖を 10000000 世代繰り返し, 100 世代ごとにサンプリングを行い, burnin を 25000 世代に設定した。その際に, Average Standard Deviation of Split

Frequencies (ASDSF) が 0.01 未満になったことで MCMC が定常状態に達したと判断した。系統樹の外群には, ビワコガタスジシマドジョウ *C. m. oumiensis* (AP010782, Saitoh et al., 2010), 岐阜県産と滋賀県産のニシシマドジョウ (LC465018–LC465019, 本研究), ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* (AP011291, Miya et al., 2015) の相同配列を用いた。加えて, ハプロタイプネットワークを TCS 1.2.1 (Clement et al., 2000) を用いて作成した。MEGA6 (Tamura et al., 2013) を用いて,  $p$ -distance による遺伝距離を求め, 1000 回のブートストラップ検定により標準誤差を求めた。採集地点間の遺伝的分化について調べるため, Arlequin ver. 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010) を用いて  $\Phi_{st}$  (Excoffier et al., 1992) を算出し, sequential Bonferroni 補正 (Rice, 1989) を行った。ハプロタイプ多様度 ( $h$ ) および塩基多様度 ( $\pi$ ) の算出には Arlequin ver. 3.5 を用いた。採集を行った 9 つの水系ごとについて, Arlequin ver. 3.5 を用いて分子分散分析 (AMOVA) を行った。ただし,  $\Phi_{st}$ , AMOVA,  $h$ , および  $\pi$  の各分析では, 個体数が 2 以下の地点 (一宮, 西尾 1) については解析に含めなかった。

**Table 1.** List of sampling localities for *Cobitis minamorii tokaiensis*

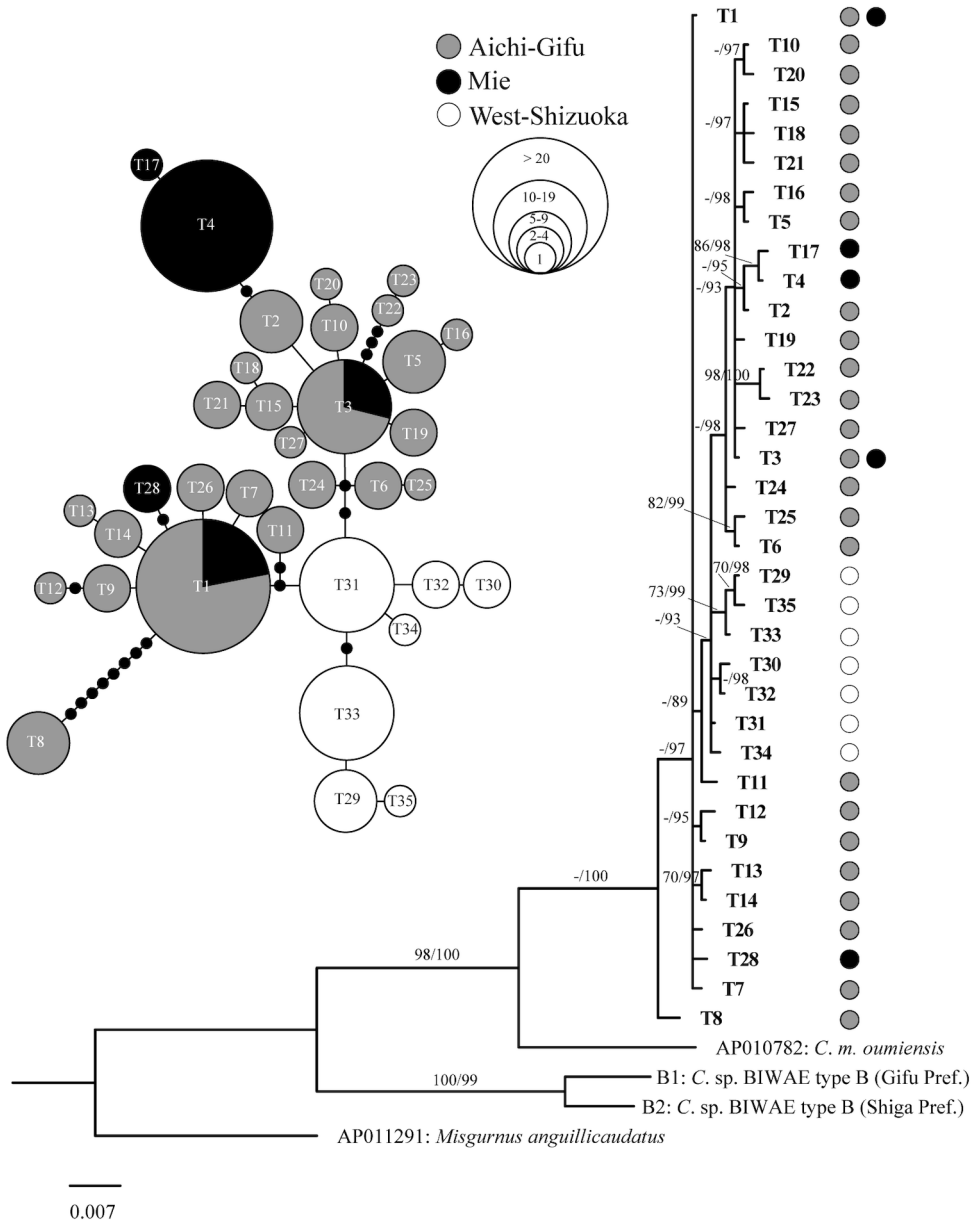
site no.	Sampling site	River system	$n$	$nh^*$	$h^{**}$	$\pi^{***}$
Aichi-Gifu Region****						
1	Mizuho, Gifu	Nagara River	6	4	0.867	0.0024
2	Seki, Gifu	Nagara R.	16	5	0.667	0.0024
3	Yamagata, Gifu	Nagara R.	24	9	0.859	0.0034
4	Tarui, Gifu	Ibi R.	19	8	0.871	0.0028
5	Ichinomiya, Aichi	Kiso R.	1	1	-	-
6	Oguchi, Aichi	Syonai R.	12	5	0.788	0.0049
7	Nagoya, Aichi	Syonai R.	12	6	0.849	0.0071
8	Nishio1, Aichi	Yahagi R.	2	2	-	-
9	Nishio2, Aichi	Yahagi R.	4	3	0.833	0.0051
Mie Region****						
10	Matsusaka1, Mie	Kushida R.	7	3	0.667	0.0036
11	Matsusaka2, Mie	Kushida R.	13	2	0.385	0.0022
12	Ise, Mie	Egawa R.	16	4	0.642	0.0031
West-Shizuoka Region****						
13	Kosai, Shizuoka	Miyakoda R.	4	2	0.667	0.0012
14	Hamamatsu1, Shizuoka	Miyakoda R.	10	2	0.467	0.0009
15	Hamamatsu2, Shizuoka	Magome R.	9	5	0.833	0.0017
16	Mori, Shizuoka	Ota R.	10	5	0.822	0.0026

\*number of haplotypes; \*\*gene diversity; \*\*\*nucleotide diversity; \*\*\*\* Grounds for regional division described in Results

## 結 果

165 個体のトウカイコガタスジシマドジョウの mtDNA の *cyt b* 領域 1045 bp の塩基配列を決定した結果, 35 種類のハプロタイプ (T1-T35) が得られた (Table 2). 各地点における  $h$  と  $\pi$  は, それぞれ 0.385–0.871 と 0.0009–0.0071 であった (Table

1). 得られたハプロタイプの塩基配列を用いて最尤法とベイズ法により系統樹を推定したところ, ほとんど同じ樹形を示し, 系統的に明瞭に区別できるクレードはみられなかった (Fig. 2). しかし, ハプロタイプの分布には地域的な偏りがみられ, 28 ハプロタイプ (T1-T28) が伊勢湾周辺域 (長良川, 揖斐川, 木曾川, 庄内川, 矢作川, 櫛田川,



**Fig. 2.** Bayesian tree of the 1045 bp cytochrome *b* gene sequences of *Cobitis minamorii tokaiensis* individuals from the Aichi-Gifu (gray circles), Mie (black circles), and West-Shizuoka (white circles) regions. Numbers at nodes indicate maximum likelihood bootstrap probabilities (left) and Bayesian posterior probabilities (right) > 70% (both parameters). The statistical parsimony network of *C. m. tokaiensis* is shown to the left of the tree. Pie charts indicate relative frequencies of haplotypes found in the three regions.



Table 3. Pairwise  $\Phi_{st}$  among local populations of *Cobitis minamorii tokatensis*

Site no.	Collection site	Region*	1	2	3	4	6	7	9	10	11	12	13	14	15	16
1	Mizuho	Aichi-Gifu														
2	Seki	Aichi-Gifu	0.132													
3	Yamagata	Aichi-Gifu	0.087	0.139**												
4	Tarui	Aichi-Gifu	-0.089	0.099	0.083											
6	Oguchi	Aichi-Gifu	0.116	0.052	0.112	0.084										
7	Nagoya	Aichi-Gifu	0.066	0.065	0.096	0.061	-0.025									
9	Nishio2	Aichi-Gifu	0.148	0.277	0.150	0.142	0.195	0.121								
10	Matsusaka1	Mie	0.157	0.018	0.139	0.110	0.040	0.056	0.265							
11	Matsusaka2	Mie	0.405	0.387**	0.322**	0.319**	0.356	0.337**	0.477	0.217						
12	Isse	Mie	0.191	0.311**	0.219**	0.176	0.270**	0.245**	0.295	0.188	0.067					
13	Kosai	West-Shizuoka	0.221	0.333	0.206	0.199	0.256	0.218	0.250	0.333	0.532	0.350				
14	Hamamatsu1	West-Shizuoka	0.363	0.421**	0.303**	0.304**	0.365**	0.334**	0.405	0.445**	0.578**	0.434**	-0.108			
15	Hamamatsu2	West-Shizuoka	0.151	0.260**	0.152**	0.146**	0.191**	0.159**	0.167	0.245**	0.414**	0.274**	-0.139	0.029		
16	Mori	West-Shizuoka	0.158	0.265**	0.157**	0.151**	0.196**	0.164**	0.173	0.249	0.413**	0.277**	0.154	0.314	0.057	

\* Grounds for regional division described in Results; \*\* $P < 0.01$ 

重県の3地点のうち2地点(松阪2, 伊勢)も, 多くの組み合わせにおいて有意に分化していた( $\Phi_{st} = 0.219-0.578: P < 0.01$ ) (Table 3). ただし松阪1は, 伊勢湾周辺域のどの地点とも有意な遺伝的分化を示さなかった.

水系間での遺伝的分化については, 個体群を9つの水系 (Table 1) に分けて AMOVA 分析を行った. その結果, 水系間での遺伝的変異がトウカイコガタスジシマドジョウの遺伝的変異の 21.35% ( $P < 0.01$ ), 水系内の地点間の遺伝的変異が 12.67% ( $P < 0.01$ ), 地点内の遺伝的変異が 65.98% ( $P < 0.00$ ) であり, いずれも有意にゼロから離れていた (Table 4).

## 考 察

**トウカイコガタスジシマドジョウの遺伝的集団構造** トウカイコガタスジシマドジョウの mtDNA ハプロタイプの系統樹を推定した結果, 系統的に明瞭に区別できるクレードは得られなかった. しかし, ペアワイズ  $\Phi_{st}$  の比較をした結果, 西静岡地域と伊勢湾周辺域間, および三重県と伊勢湾周辺の他地域 (愛知県, 岐阜県) の間では, 多くの地点の組み合わせで有意な分化が見出されたことから, 遺伝的に3つの地域 (西静岡地域, 三重地域, 愛知岐阜地域) に分化していると考えられた (Table 2).

特に西静岡地域の4地点は, 固有のハプロタイプのみが分布することとペアワイズ  $\Phi_{st}$  に基づく集団分化の検定結果から, 伊勢湾周辺域 (三重地域と愛知岐阜地域) のトウカイコガタスジシマドジョウとは明確に分化していると考えられた. ただし, これらのハプロタイプは系統的に伊勢湾周辺域から得られたハプロタイプグループに内包され,  $\Phi_{st}$  では湖西がどの地点とも有意な遺伝的分化を示さなかった. 湖西ではサンプル数が4個体と少ないことから,  $\Phi_{st}$  に有意差がみられなかったことも考えられるが, いずれにせよ本亜種は地質年代的なスケールで比較的最近まで伊勢湾周辺域と西静岡地域間で遺伝的に交流しており, 遺伝的分化が生じたのは比較的新しい時代であると考えられる. 本亜種と同様に東海地方に分布する淡水魚類の中では, 河川源流域に生息する山地性のトウカイナガレホトケドジョウの系統地理的パターン (Miyazaki et al., 2017) が, トウカイコガタスジシマドジョウの系統地理パターンとやや類似している. Miyazaki et al. (2017) によると, トウカ

**Table 4.** Hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) among regions of *Cobitis minamorii tokaiensis*

Source of variation	d. f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
Among groups	8	115.900	0.534	21.35*
Among populations within groups	5	25.343	0.317	12.67*
Within populations	148	244.214	1.650	65.98**

\* $P < 0.01$ ; \*\* $P < 0.00$ 

イナガレホトケドジョウの mtDNA の CR 領域の解析では伊勢湾周辺域と西静岡地域間で遺伝的差異はほとんどなく、特に豊川水系（伊勢湾周辺域）と天竜川水系（西静岡地域）の個体群からは同一のハプロタイプが得られており、上流域で生じた河川争奪により、両水系の個体群が遺伝的に交流したことが示唆されている。しかし、トウカイコガタスジシマドジョウは主に河川下流域に生息する平地性の淡水魚類であることから、山地性のトウカイナガレホトケドジョウで推測された上流域の河川争奪が遺伝的交流の要因とは考えにくい。また、同じ平地性の淡水魚類であるカワバタモロコは、伊勢湾周辺域と西静岡地域に対応する明瞭な2つの系統に分かれることが *cyt b* 領域の遺伝的解析により明らかにされている（Watanabe and Mori, 2008；Watanabe et al., 2014）。カワバタモロコにみられた2系統は、弓張山地の隆起により分断されたと推測されている（Watanabe and Mori, 2008）。弓張山地は更新世前期（約180–80万年前）に隆起したと考えられており（森山, 1990）、カワバタモロコの2系統間で推定された分岐年代と矛盾しない（Watanabe et al., 2009, 2014）。しかし、トウカイコガタスジシマドジョウについては、伊勢湾周辺域と西静岡地域に対応する明瞭なクレードに分かれなかったことから、弓張山地の隆起以降に両地域間で遺伝的な交流があったと考えられる。約60万年前以降の時代は、約10万年のサイクルで氷期と間氷期が交互に到来したとされている（北村, 2010）。この過去60万年間における氷期の海水準は最終氷期と同程度であり、どの氷期でも海面が約100 m低下した（北村, 2010）。そのため、現在の遠州灘から渥美半島沿岸の河川が下流部で接続することで遺伝的な交流が行われた可能性が考えられる。ただし、伊勢湾周辺域と西静岡地域の河川が、海退期に下流域で接続していたという地形学的証拠は得られておらず、河川水系の接続は洪水など大規模な出水時の一時的なものであった可能性もある。なお、カワバタモロコでは、西静岡地域の複数地点から伊勢湾周辺域の

系統に属するハプロタイプが得られている（Watanabe et al., 2009）。もしこれらのハプロタイプが自然分布であれば、カワバタモロコもトウカイコガタスジシマドジョウと同様に、弓張山地の隆起以降の河川下流域の接続によって伊勢湾周辺域と西静岡地域間で遺伝的に交流した可能性が考えられる。

三重県の3地点（三重地域）も、伊勢湾周辺域の他の地点とは遺伝的に分化していることが、ハプロタイプの分布とペアワイズ  $\Phi_{st}$  の検定結果から考えられた。ただし、三重県の3地点から得られた5ハプロタイプ中2ハプロタイプ（T1とT3）は、長良川・揖斐川・庄内川・矢作川水系からも確認されている。伊勢湾周辺域では、氷期に海水面が低下したことで、湾内に流入する水系が合流して単一の古水系となったと考えられている（森山, 2004）。ウシモツゴやカワバタモロコ、カワヒガイなどでは、この単一の古水系を介した伊勢湾流入河川間での遺伝的交流が示唆されているため（Watanabe and Mori, 2008；鈴木ほか, 2016）、トウカイコガタスジシマドジョウの場合も、古水系を介した遺伝的交流によって共通のハプロタイプが分布していると考えられる。また、ペアワイズ  $\Phi_{st}$  の検定結果では、松阪1のみ伊勢湾周辺域のどの地点とも有意な遺伝的分化を示さなかったが、松阪1のサンプル数は7個体と少ないために有意差がみられなかった可能性がある。松阪1の個体群と他地域との間の遺伝的分化の有無については、今後個体数を増やして解析する必要がある。

三重県以外の伊勢湾周辺域（愛知岐阜地域）では、各水系でのみみられる固有のハプロタイプが多数得られた。しかし、地点間の  $\Phi_{st}$  の比較においては、山県と関（長良川水系）の間でのみ遺伝的分化が示されたにすぎず、明確な集団構造は見出せなかった。ただし、AMOVA分析によって、水系間の遺伝的変異が21.35%存在することが示された。本種の遺伝的変異の多く（65.98%）は各地点の個体群内にあることから、相対的に水系間の分化は小さいものの、今後各地点の解析個体

数を増やすことや、種内多型が多いとされるマイクロサテライトマーカーを利用するなどの解析を行うことで、愛知岐阜地域内での集団構造が明確にできる可能性がある。

**保全** 本研究では、ハプロタイプの分布とペアワイズ  $\Phi_{st}$  の検定結果から、西静岡地域・三重地域・愛知岐阜地域の間での遺伝的分化が示された。そのため、少なくとも各地域の個体群それぞれを保全単位とする必要がある。現状において、本亜種は、三重県、愛知県、および静岡県のレッドリストに絶滅危惧 IB 類として掲載されており（愛知県環境調査センター，2015；三重県農林水産部みどり共生推進課，2015；静岡県くらし・環境部環境局自然保護課，2019），各県が遺伝的に分化した保全単位と対応している。したがって、各県がそれぞれの地域において本亜種の保全を行うことが重要であると考えられる。

本亜種の遺伝的多様性を、同地域の同様な環境に生息する絶滅危惧種のカワバタモロコと比較すると、本亜種の  $h$  が 0.385–0.871， $\pi$  が 0.0009–0.0071 であったのに対し、カワバタモロコは  $h$  が 0.000–0.867， $\pi$  が 0.0000–0.0032 であり（Watanabe and Mori, 2008），本亜種の方が同程度からやや高い値であった。また、カワバタモロコは単一のハプロタイプに固定した個体群がみられるのに対し、本亜種はどの調査地点においても複数のハプロタイプがみられた。このことから、本亜種は絶滅危惧種とされているものの、現在のところ遺伝的多様性の深刻な低下は生じていないと考えられる。ただし、本亜種の生息地はいずれの地域でも、河川改修や圃場整備による流路の直線化、河床や護岸のコンクリートブロック化による砂泥底の悪化や消失によって減少していると考えられており（愛知県環境調査センター，2015；三重県農林水産部みどり共生推進課，2015；静岡県くらし・環境部環境局自然保護課，2019），今後は生息地の分断化・孤立化による集団サイズの減少と遺伝的多様性の低下が生じる可能性がある。一方で、一部の農業用水路では、多自然工法の施工（河村ほか，2015）や、コンクリート張り底面の一部を剥ぐ試み（井上，2017）など、本亜種の生息に配慮した環境創出の試みも行われている。こうした生息環境の復元が広く行われることで個体群の分断化を食い止めることができれば、本亜種の遺伝的多様性の低下を防ぎ、各地域固有のハプロタイプを維持した個体群の保全につながるものと考えられる。

## 謝 辞

試料の採集に際して、日本総研の森口宏明氏、北川 学氏、岐阜・美濃生態系研究会の松田道一氏、なごや生物多様性センターの寺本匡寛氏、三河淡水ネットワークの浅香智也氏、鶉飼 普氏、鳥居亮一氏、三重県総合博物館の北村淳一氏、三重県総合博物館ミュージアム・パートナーの樋口るり子氏、岐阜大学教育学研究科の近藤湧生氏、長屋美希氏、名古屋大学大学院の村瀬由伎氏、名城大学卒業生の新海由紀子氏、日本淡水魚類愛護会の西村俊明氏、琉球大学の伊藤克哉氏にご協力いただいた。また、大分大学理工学部の北西 滋准教授には、本稿を執筆するにあたり有益なご意見をいただいた。岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム分野の皆様には、DNA 解析にご協力いただいた。ここに記し、厚くお礼申し上げる。

## 引用文献

- 愛知県環境調査センター. 2015. レッドリストあいち 2015 汽水・淡水魚類掲載種の解説. <http://www.pref.aichi.jp/kankyo/sizen-ka/shizen/yasei/redlist/>. (参照 2019-08-09)
- Avise, J. C. 2000. Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge. 447 pp.
- Avise, J. C. 2004. Molecular markers, natural history, and evolution (2nd edn). Sinauer, Sunderland. 684 pp.
- Clement, M., D. Posada and K. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.*, 9: 1657–1660.
- Excoffier, L. and H. E. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.*, 10: 564–567.
- Excoffier, L., P. E. Smouse and J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479–491.
- 井上大輔. 2017. トウカイコガタスジシマドジョウも増えた！—愛知県・家下川リバーキーパーズの試み—。北九州・魚部 井上大輔・中島淳（編），pp. 112. 特盛どじょう本。北九州・魚部，北九州。
- Ito, G., Y. Koya, S. Kitanishi, T. Horiike and T. Mukai. 2019. Genetic population structure of the eight-barbel loach *Lefua echigonia* in the Ise Bay region, a single paleo-river basin in central Honshu, Japan. *Ichthyol. Res.*, 66: 411–416.
- 環境省. 2019. 環境省レッドリスト 2019. <https://>



- www.env.go.jp/press/files/jp/110615.pdf. (参照 2019-07-19)
- 河村年広・鈴木正二・宇佐美公規・小室正人・河合成昭・渡部勉・横井久善. 2015. 農業用排水路におけるトウカイコガタスジシマドジョウの生息環境. 愛知県農業総合試験場研究報告, 47: 115–118.
- Kitagawa, T., M. Yoshida, M. Kashiwagi and T. Okazaki. 2001. Population structure and local differentiation in the delicate loach, *Niwaella delicata*, as revealed by mitochondrial DNA and morphological analyses. Ichthyol. Res., 48: 127–135.
- 北村晃寿. 2010. 日本列島の成立と古環境. 渡辺勝敏・高橋 洋 (編), pp. 13–28. 淡水魚類地理の自然史: 多様性と分化をめぐる. 北海道大学出版会, 札幌.
- Kitanishi, S., A. Hayakawa, K. Takamura, J. Nakajima, Y. Kawaguchi, N. Onikura and T. Mukai. 2016. Phylogeography of *Opsariichthys platypus* in Japan based on mitochondrial DNA sequences. Ichthyol. Res., 63: 506–518.
- Komiya, T., S. Fujita-Yanagibayashi and K. Watanabe. 2014. Multiple colonization of Lake Biwa by *Sarcocheilichthys* fishes and their population history. Environ. Biol. Fish., 97: 741–755.
- 町田 洋・松田時彦・海津正倫・小泉武栄. 2006. 日本の地形 5 中部. 東京大学出版会, 東京. 385 pp.
- 三重県農林水産部みどり共生推進課. 2015. 三重県レッドデータブック 2015～三重県の絶滅のおそれのある野生生物～. 三重県農林水産部みどり共生推進課, 津. 757 pp.
- Miya, M., Y. Sato, T. Fukunaga, T. Sado, J. Y. Poulsen, K. Sato, T. Minamoto, S. Yamamoto, H. Yamanaka, H. Araki, M. Kondoh and W. Iwasaki. 2015. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. R. Soc. Open Sci., 2: 150088. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.150088>.
- Miyazaki, J., S. Hida, T. Ozaki, Y. Tabata, M. Iwata, M. Nakagawa, Y. Fukasawa and T. Asaka. 2017. Intraspecific relationships and variation of two *Lefua* species (Balitoridae, Cypriniformes) in the Tokai region, Honshu, Japan. J. Water Resour. Prot., 9: 238–253.
- 森山昭雄. 1990. 中部山岳地域における山地形成の時代性—山はいつ高くなったか?—. 米倉伸之・岡田篤正・森山昭雄 (編), pp. 87–109. 変動地形とテクトニクス. 古今書院, 東京.
- 森山昭雄. 2004. 東海・三河湾の海底地形, とくに湾口部の海釜と砂堆地形. 愛知教育大学研究報告, 53: 39–56.
- 中島 淳・内山りゅう. 2017. 日本のドジョウ. 山と溪谷社, 東京. 223 pp.
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical test. Evolution, 46: 223–225.
- Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M. A. Suchard and J. P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Syst. Biol., 61: 539–542.
- Saitoh, K., W. J. Chen and R. L. Mayden. 2010. Extensive hybridization and tetraploidy in spined loach fish. Mol. Phyl. Evol., 56: 1001–1010.
- 静岡県くらし・環境部環境局自然保護課. 2019. まもりたい静岡県の野生生物 2019—静岡県レッドデータブック—動物編. 株式会社環境アセスメントセンター, 静岡. 540 pp.
- Silvestro, D. and I. Michalak. 2012. raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. Org. Divers. Evol., 12: 335–337.
- Šlechtová, V., J. Bohlen, J. Freyhof and P. Ráb. 2006. Molecular phylogeny of the Southeast Asian freshwater fish family Botiidae (Teleostei: Cobitoidea) and the origin of polyploidy in their evolution. Mol. Phyl. Evol., 39: 529–541.
- 鈴木美優・北西 滋・淀 太我・向井貴彦. 2016. 東海地方におけるヒガイ属魚類の遺伝的集団構造と攪乱. 魚類学雑誌, 63: 107–118.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol. Biol. Evol., 30: 2725–2729.
- Tanabe, A. S. 2011. Kakusan4 and Aminosan: two programs for comparing nonpartitioned, proportional, and separate models for combined molecular phylogenetic analyses of multilocus sequence data. Mol. Ecol. Resour., 11: 914–921.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin and D.G. Higgins. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality tools. Nucleic Acids Res., 24: 4876–4882.
- Tominaga, K., J. Nakajima and K. Watanabe. 2016. Cryptic divergence and phylogeography of the pike gudgeon *Pseudogobio esocinus* (Teleostei: Cyprinidae): a comprehensive case of freshwater phylogeography in Japan. Ichthyol. Res., 63: 79–93.
- Tominaga, K., K. Watanabe, R. Kakioka, S. Mori and S. R. Jeon. 2009. Two highly divergent mitochondrial DNA lineages within *Pseudogobio esocinus* populations in central Honshu, Japan. Ichthyol. Res., 56: 195–199.
- Watanabe, K., N. Kanagawa, R. Kakioka, T. Itai and S. Mori. 2009. Genetic diversity and conservation units in wild and captive populations of endangered freshwater fishes: a case of *Hemigrammocypripis rasborella* in Shizuoka, Japan. Ichthyol. Res., 56: 411–416.
- Watanabe, K., Y. Kano, H. Takahashi, T. Mukai, R. Kakioka and K. Tominaga. 2010. GEDIMAP: a database of genetic diversity for Japanese freshwater fishes. Ichthyol. Res., 57: 107–109.
- Watanabe, K. and S. Mori. 2008. Comparison of genetic

- population structure between two cyprinids. *Hemigrammocypris rasborella* and *Pseudorasbora pumila* subsp., in the Ise Bay basin, central Honshu, Japan. *Ichthyol. Res.*, 55: 309–320.
- Watanabe, K., S. Mori, T. Tanaka, N. Kanagawa, T. Itai, J. Kitamura, N. Suzuki, T. Tominaga, R. Kakioka, R. Tabata, T. Abe, Y. Tashiro, Y. Hashimoto, J. Nakajima and N. Onikura. 2014. Genetic population structure of *Hemigrammocypris rasborella* (Cyprinidae) inferred from mtDNA sequences. *Ichthyol. Res.*, 61: 352–360.
- Watanabe, K. and M. Nishida. 2003. Genetic population structure of Japanese bagrid catfishes. *Ichthyol. Res.*, 50: 140–148.
- 吉田史郎・尾崎正紀. 2000. 中部地方南部の古地理 — 2,200 万年前から現在まで—. *地質ニュース*, 546: 21–24.