

ニッポンバラタナゴの遺伝的変異性と 亜種間交雑に関する研究

なが た よし かず かた やま た べ まさ あき
長田 芳和・片山 めぐみ・田部 雅昭
ふく はら しゅういち か のう よし ひこ
福原 修一・加納 義彦

*理科教育講座・**理科専攻卒業・***梅花学園・****清風学園

(平成15年3月31日 受付)

八尾市内の溜池の1個体群と北九州佐賀県内の2河川および福岡県内の溜池の合計4個体群について、ニッポンバラタナゴの遺伝的差異を調べるためにアイソザイム分析を行った。北九州産では八尾市産より集団内の変異性が大きく、地域による差異も認められた。北九州産のうち川に生息する個体群は八尾市溜池産との間に遺伝的差異が大きいのにに対し、溜池の個体群は八尾市産との間に遺伝的に類似性が高かった。地域による遺伝的差異には地理的隔離が、他方溜池産の類似性には近親交配による遺伝的均一性が関与しているものと考えられた。さらに、八尾市内の18池についてニッポンバラタナゴの分布調査と腹鰭前縁の白色部と側線有孔鱗の観察及びアイソザイム分析を行った。八尾市におけるニッポンバラタナゴ個体群内の遺伝的変異性は著しく小さく、また溜池間の遺伝的な差異も極めて少なかった。アイソザイム分析と外部形態の観察の結果、少なくとも7池に八尾市型ニッポンバラタナゴ純系が生息し、少なくとも6池に雑種化が起きているものとみられた。また、5池については白色部あるいは有孔鱗をもつ若干の個体が存在していたため、さらに調査が必要である。ニッポンバラタナゴ個体群へのタイリクバラタナゴあるいは亜種間交雑個体の混入による遺伝的攪乱の程度の時間的変化は、混入する個体の数と雑種化の強さに影響されるものと考えられる。

キーワード：バラタナゴ、亜種間雑種、遺伝的攪乱、アイソザイム

I はじめに

現在、日本においてバラタナゴ(コイ科魚類)と称されているものに、西日本在来のニッポンバラタナゴ *Rhodeus ocellatus kurumeus* [1] と、1942年に中国から移入したとされるタイリクバラタナゴ *R. ocellatus ocellatus* の2亜種が生息する [2, 3]。この2亜種は容易に交雑するため [4]、亜種間雑種個体群が全国に散在するのみならず、雑種化が進行しているのが現状である [5, 6]。ニッポンバラタナゴの重要な生息域の1つである八尾市溜池群でも同様のことが言える。このように遺伝的攪乱によってニッポンバラタナゴの純系の維持が極めて困難になっており [7]、環境庁は本亜種を絶滅危惧I類、つまり絶滅の危機がもっとも高い種類の一つにランク付けをし、保護の必要性を訴えている [8]。

ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴおよびその雑種の特徴についてはこれまでにさまざまな研究がある。もっとも早くから注目されたのが、腹鰭前縁の白色部の有無と側線有孔鱗数で、ニッポンバラタナゴには前者が無く、後者が少ないとされた [3]。その後、アイソザイム分析により、2亜種およびそれらの雑種の識別の可能性あるいは北九州産と八尾産の個体群に遺伝的差異が存在することが示唆されたが [9]、測定個体数が少なく明

確さに欠けていた。その後も両亜種と雑種の特徴について、形態的研究や分子遺伝的研究が行われてきたが、それについては以下に順次述べるとしてここでは省略する。

本研究ではまず、ニッポンバラタナゴの地域による遺伝的差異を知るために、八尾市内の溜池の1個体群と北九州の3個体群についてアイソザイム分析を行った。次に、八尾市内の18池について、ニッポンバラタナゴ及び亜種間雑種個体群の分布調査と外部形態の観察、アイソザイム分析を行い、その結果からニッポンバラタナゴと雑種個体群の特徴を明らかにするとともに、雑種化のプロセスについて解析を試みた。

本研究を行うにあたって、八尾市役所及び地域の方々には温かい御配慮をいただいた。厚くお礼を申し上げる。

II 材料と方法

1. 採集地及び採集方法

本研究で用いたバラタナゴは、1991年および1993年に北九州の佐賀県塩屋川、馬場川および福岡県中山大池と大阪府八尾市内の18池（八尾市No.1～18池とする）から、1個体群30～50個体を目標にモンドリまたはたも網で採集した（図1）。溜池はいずれも灌漑用のもので、水域の閉鎖性が強い。

さらに1992年および1993年に東京都赤坂御用地内の心字池、吹田市万博公園内の池からも採集したが、これらは純系種保存のため、従来からニッポンバラタナゴが生息していた八尾市溜池から1983年赤坂御用地内の心字池に移殖し、その後繁殖した個体を1987年に吹田市万博公園の池に再移殖したものである [10]。

採集した魚は生かしたまま研究室に持ち帰り、外部形態の観察後アイソザイム分析まで冷凍庫（-85℃）で保管した。

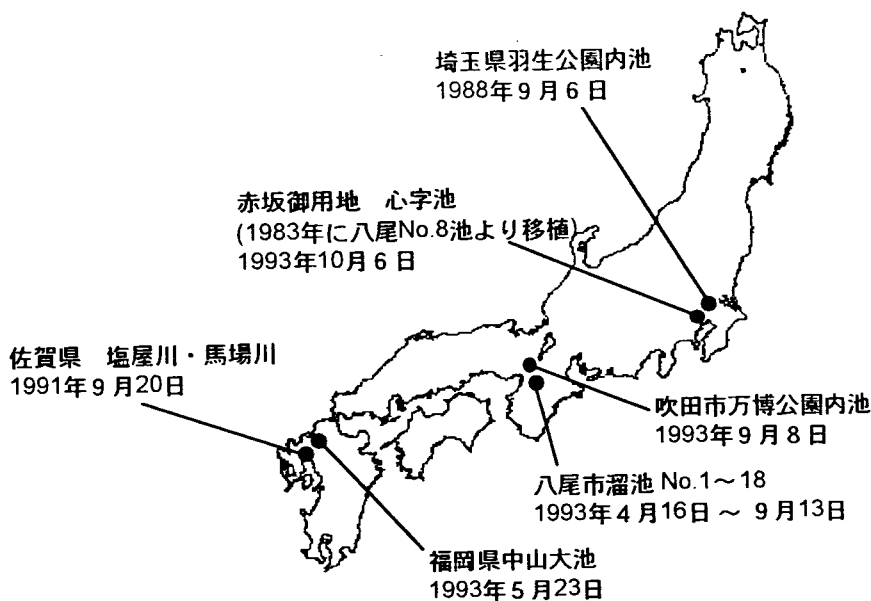


図1 バラタナゴの標本採集地点および採集日

また、本研究では、タイリクバラタナゴが生息していることが明らかになっている埼玉県羽生公園内池の個体群について、筆者らが得た電気泳動のデータを比較のために用いた[11, 12]。

2. 外部形態の観察

外部形態として体長、腹鰭前縁の白色部と側線有孔鱗を観察した。腹鰭前縁の白色部、側線有孔鱗は双眼実体顕微鏡（10～16倍）で左右それぞれ観察した。

3. デンプンゲル電気泳動法

アイソザイム分析には水平式デンプンゲル電気泳動法を用いた。デンプンゲルはゲル緩衝液に加水分解デンプンを12%濃度で加え適当な粘度になるまで加熱して作成した。厚さ6mmのゲル枠に流し込みゲルをさました後、サララップで表面を覆い室温で一晩放置した。試料には臓器と同体積の水を加えてホモジナイズした後、遠心分離機にかけた上清液を用いた。上清液をろ紙にしみこませ試料を付着した。ゲルの両端にはマーカーとしてアミドブラックを用いた。試料の付着後ゲル枠をはめ、泳動装置に組み立てた。ゲルの発熱による泳動像のゆがみを防ぐために、ガラス製の冷却箱に氷を入れたものをゲルにサララップをかけた上にのせた。マーカーが陽極側に約5 cm移動した後、泳動を終了した。

分析した酵素とその略名を表1に示し、以下この略名を使用した。緩衝液はその欄外に示した。泳動終了後、ゲルを厚さ1 mmにスライスした。ゲルはスライス面を上にしてパットまたはガラス枠にうつし染色した。染色時間は酵素により異なるので、恒温器内40℃で反応させながら染色の具合を観察し、泳動像が十分に現れたら酢酸で固定した。染色後のゲルは乾燥フィルムにし保存した。

表1 分析した酵素、酵素略号、遺伝子略名および使用組織、緩衝液

酵素名	酵素略号	遺伝子略名	組織	緩衝液
アスパラギン酸アミノ転移酵素	AAT	<i>Aat</i>	筋肉	RW
アルコール脱水素酵素	ADH	<i>Adh</i>	肝臓	MF
アルドラーゼ	ALD	<i>Ald</i>	脳	AC
クレアチンキナーゼ	CK	<i>Ck</i>	筋肉	RW
ディアホラーゼ	DIA	<i>Dia</i>	肝臓	RW
グルコースリン酸イソメラーゼ	GPI	<i>Gpi-1, Gpi-2</i>	筋肉	AC, RW
イソクエン酸脱水素酵素	IDH	<i>Idh-1, Idh-2</i>	眼	AC
乳酸脱水素酵素	LDH	<i>Ldh-1, Ldh-2</i>	眼	AC
ペプチダーゼ	PEP GL	<i>Gl</i>	筋肉	RW
	PEP LT	<i>Lt-1, Lt-2</i>	筋肉	RW
リンゴ酸脱水素酵素	MDH	<i>Mdh-1, Mdh-2, Mdh-3</i>	眼, 脳, 筋肉	AC
マリックエンザイム	ME	<i>Me</i>	筋肉	RW
6フォスフォグルコン酸脱水素酵素	PGDH	<i>Pgdh</i>	眼	AC
スーパーオキシサイドディスムターゼ	SOD	<i>Sod</i>	肝臓	MF

AC：緩衝原液 N-(3-アミノプロピル)モルフォリン-クエン酸(0.04M) (pH6.5)

電解槽用：緩衝原液を使用 ゲル用：緩衝原液を20倍に希釈

RW：電解槽用：水酸化リチウム(0.06M)-ホウ酸(0.3M)

ゲル用：Tris(0.03M)-クエン酸(0.5M) + 電解槽用緩衝液を体積で10%加える

MF：緩衝原液 Tris(0.9M)-ホウ酸(0.5M) + EDTA・4H(0.02M)

電解槽用：緩衝原液を5倍に希釈 ゲル用：緩衝原液を20倍に希釈

III 結果

1. 地域による遺伝的差異について

八尾市No.8池と北九州の佐賀県塩屋川・馬場川、福岡県中山大池の計4個体群について、アイソザイム分析により4組織12酵素16遺伝子座について調べた。遺伝子頻度を表2に示した。この4水域での対立遺伝子頻度表は、いずれも筆者ら[12]が得たニッポンバラタナゴ(ROK)の遺伝子頻度の特徴と一致し、これら4個体群は八尾市型(八尾No.8池)及び北九州型(他の3個体群)のニッポンバラタナゴであることがわかった。

変異が認められなかった遺伝子座：大阪府八尾市産の個体群については、分析したすべての遺伝子座で変異は認められなかった。また、*Aat*, *Ald*, *Dia*, *Idh-2*, *Ldj-1*, *Ldh-2*, *Mdh-3*, *Me*, *Pgdh*, *Sod*の11遺伝子座については4個体群ともに同じ泳動パターンを示し、変異は認められなかった。

変異が認められた遺伝子座：*Adh* 遺伝子座は北九州3個体群に、*Pgi-1*, *Pgi-2*の遺伝子座は佐賀県産の2個体群に、*Mdh-2*, *Ck*の遺伝子座は中山大池の個体群にのみに変異が認められた。また、中山大池の遺伝子組成は八尾市産に類似していた。

以上のことから八尾市産の遺伝的変異性は小さく、北九州産ではより変異性が大きく地域による差異が存在することがわかった。

表2 バラタナゴ北九州産3個体群16遺伝子座および八尾市産18個体群15遺伝子座における遺伝子頻度 ※1998年はアイソザイムパターンから雑種と判定された。

Locus	Allele	ROK			ROK		H?※		H			ROO 羽生公園
		塩屋川	馬場川	中山大池	1-6,8-12	7	13-14	15	16	17	18	
<i>Aat</i>	120	0	0	0	0	0	0	0.13	0.09	0	0	-
	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.87	0.91	1.00	1.00	-
<i>Adh</i>	130	0.25	0.09	0.11	-	-	-	-	-	-	-	0
	100	0.75	0.91	0.89	-	-	-	-	-	-	-	1.00
<i>Ck</i>	110	0	0	0.04	0	0	0	0	0	0	0	-
	100	1.00	1.00	0.96	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	-
<i>Gl</i>	100	-	-	-	1.00	1.00	1.00	0.92	1.00	1.00	1.00	-
	85	-	-	-	0	0	0	0.08	0	0	0	-
<i>Idh-1</i>	125	-	-	-	0	0	0	0.93	0	0	0	-
	100	-	-	-	1.00	1.00	1.00	0.07	1.00	1.00	1.00	-
<i>Idh-2</i>	170	0	0	0	0	0	0	0.42	0.02	0	0	-
	-100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.58	0.98	1.00	1.00	-
<i>Ldh-1</i>	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.92	0.81	0.95	0.98	0.78
	60	0	0	0	0	0	0	0.08	0.19	0.05	0.02	0.22
<i>Ldh-2</i>	150	0	0	0	0	0	0	0.83	0.18	0.23	0.03	1.00
	-100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.17	0.82	0.77	0.97	0
<i>Mdh-1</i>	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97	1.00	1.00	1.00	0.88
	75	0	0	0	0	0	0	0.03	0	0	0	0.12
<i>Mdh-2</i>	130	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.12
	100	1.00	1.00	0.93	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.86
	80	0	0	0.07	0	0	0	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02
<i>Pgdh</i>	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.47	0.95	0.80	0.99	0
	85	0	0	0	0	0	0	0.53	0.05	0.20	0.01	0.94
	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02
	55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04
<i>Pgi-1</i>	140	0	0	0	0	0	0	0.53	0	0.17	0	0.86
	100	0.38	0.59	1.00	1.00	1.00	1.00	0.47	1.00	0.83	1.00	0.14
	60	0.62	0.41	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pgi-2</i>	130	0	0	0	0	0	0	0.67	0.38	0.13	0.04	-
	65	0.72	0.95	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	-100	0.28	0.05	1.00	1.00	0.85	1.00	0.33	0.62	0.87	0.96	-
	-120	0	0	0	0	0.15	0	0	0	0	0	-

北九州の個体群で、変異が認められなかった遺伝子座：*Ald*, *Dia*, *Mdh-3*, *Me*, *Sod*

八尾市の個体群で、変異が認められなかった遺伝子座：*Mdh-3*, *Lt-1*, *Lt-2*

遺伝的類縁図：16遺伝子座の遺伝子頻度に基づいて4個体群におけるNeiの遺伝的距離を算出し、これを用いてUPG法による遺伝的類縁図を作成した（図2）。八尾市No.8池と福岡県中山大池は遺伝的距離が0.001と極めて類似性が高くなった。佐賀県産の塩屋川と馬場川の個体群では0.008の距離が存在し、この2個体群は前者の2個体群とは0.068とへだたりが大きくなった。

以上のことより、北九州産の個体群のうち川に生息する個体群は八尾市溜池産との間に遺伝的差異が大きく、溜池の中山大池産と八尾市産とは類似性が高いことがわかった。

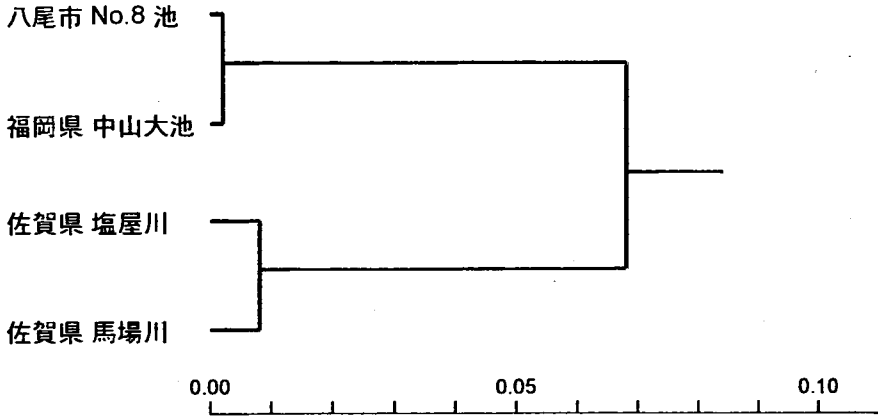


図2 UPG法による遺伝的類縁図

2. 八尾市内溜池における雑種化について

アイソザイム分析：八尾市内の18池の個体群について、2組織8酵素15遺伝子座を1個体群につき50個体調べた。遺伝子頻度を表2に示した。表ではニッポンバラタナゴの主対立遺伝子を100及び-100遺伝子座とした。

No.1～6池及びNo.8～12池については、分析したすべての遺伝子座でニッポンバラタナゴ(ROK)の主対立遺伝子に固定されており、これらの個体群は八尾市型ニッポンバラタナゴであることがわかった。No.7池については *Pgi-2* にのみ変異が認められたが、この変異はタイリクバラタナゴ(ROO)には存在せず、また他の遺伝子座においてはニッポンバラタナゴの主対立遺伝子に固定されていた。従って、この変異は八尾市ニッポンバラタナゴ個体群においてこの池独自のものと考えられた。

これまでの分析で、2垂種において *Ldh-2*、*Pgdh* で完全な置換が生じていることが明らかである[11, 12]。そこで、これらの遺伝子座に注目すると、No.13池は1987年に、No.14池は1988年に雑種(H)パターンが存在したにもかかわらず、今回検出できなかった。

No.15池では2酵素でそれぞれ0.83、0.53とタイリクバラタナゴの遺伝子の浸透が認められ、タイリクバラタナゴに似た遺伝子頻度になっていた。No.16、17、18池については *Ldh-2* に注目すると、それぞれ0.18、0.23、0.03とNo.15池ほどではないがタイリクバラタナゴの遺伝子への置きかわりがみられ、雑種化が起きていることが明らかであった。

対立遺伝子頻度の変化：過去（1987, 1988年）において雑種化が明らかなNo.13, 14, 15池について遺伝子頻度の変化に95%の信頼度でt検定を行った。No.13, 14池では過去において若干のタイリクバラタナゴの遺伝子への置換が認められたが、ニッポンバラタナゴのパターンしか得られなかった今回の結果とは有意差は認められず、過去・現在ともに少

ない割合でタイリクバラタナゴの遺伝子が保たれていると考えられた。No.15池では6年間で*Ldh-2*においては有意差が認められるほど、明らかなニッポンバラタナゴからタイリクバラタナゴの遺伝子への置きかわっていく傾向があり、さらに雑種化が進んでいる様子がかがえた。

腹鰭前縁の白色部：白色部が発現していた個体(片方の鰭に白色部が発現している場合でも1個体と数えて)の1987年または1988年の出現率 [12]と今回における出現率を比べた(図3)。

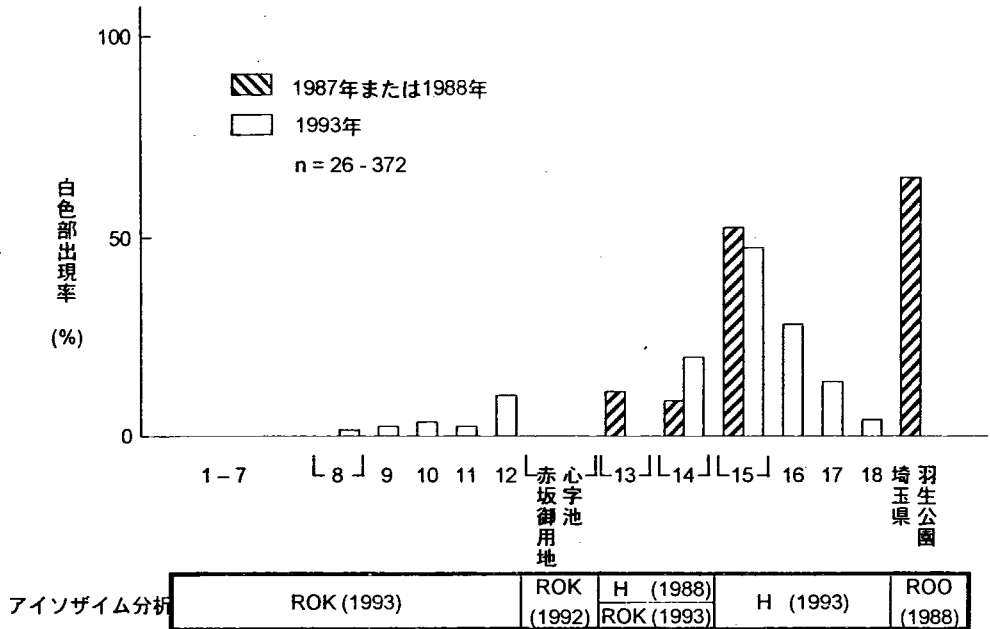


図3 腹鰭前縁の白線部保有個体出現率

アイソザイム分析の結果、ニッポンバラタナゴのパターンのみの池はNo.1~12池であった。そのうちNo.1~7池では白色部は全く認められず、No.9~11池には若干(1.3~3.1%)認められた。それらに比べるとNo.12池は10.3%とやや高い値を示していた。ただしNo.8~12池は白色部が発現していても不明瞭な点状の白色部が多かった。

1987年または1988年に雑種パターンが存在していたにもかかわらず今回は認められなかったNo.13, 14池に関しては、No.13池は1987年においてかなり出現(11.7%)していたにもかかわらず、今回全く認められず、No.14池では1988年(8.0%)より増加(19.6%)傾向であった。また、No.14池では発現した白色部のうちおよそ半分は肉眼で観察可能であった。

アイソザイム分析の結果、雑種パターンが存在したNo.15~18池のうち、かなり雑種化が進んでいると考えられるNo.15池では1987年(51.0%)と1993年(47.6%)とともによく出現し、タイリクバラタナゴ(64.0%)に匹敵する値を示した。出現ランクも肉眼で観察可能なものが多く、そのうち明瞭な線状の白色部をもつものも含んでいた。No.16, 17池はそれぞれ27.4%, 22.9%と白色部が発現していたが、これらと比べればNo.18池は3.4%と低い値を示していた。また、No.16, 17, 18とも不明瞭な点状の白色部が多かった。

側線有孔鱗：有孔鱗数の出現状況を1987年または1988年[10, 13]と今回を比較して示した

(図4)。アイソザイム分析でニッポンバラタナゴのパターンのみであったNo.1~12池のうち、No.1~11池については有孔鱗は全く認められず、No.12池のみにわずか1.7% (58尾のうち1尾に左右1鱗ずつ) であるが観察された。

過去において雑種化が明らかなNo.13, 14池については、No.13池ではわずか1.7% (68尾のうち1尾に右1鱗) であるのに対して、No.14池ではよく出現し1988年6.0% (0~2鱗) から1993年12.5% (0~3鱗) へと白色部と同様に増加傾向であった。

雑種化が明らかだったNo.15~18のうち、No.15池では1987年; 76.7% (0~7鱗) と1993年; 81.0% (0~6鱗) ともによく出現し、タイリクバラタナゴの100% (2~7鱗) に次ぐ高い出現率を示した。No.16~18池はそれぞれ9.6% (0~4鱗), 17.7% (0~3鱗), 5.3% (0~1鱗) の割合で出現していた。

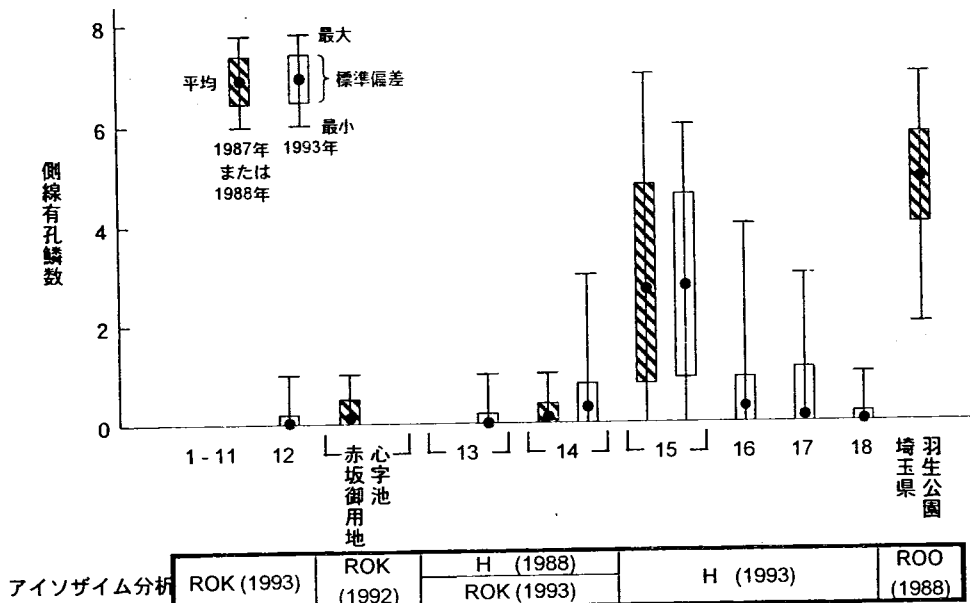


図4 側線有孔鱗出現状況

3. 移殖した個体群のその後

1983年に八尾市No.8池の個体を移殖した赤坂御用地内の心字池から吹田市万博公園内の池に1987年4月10日に再移殖された。本研究では1993年10月6日に心字池から採集した個体の外部形態を観察し、また1993年9月8日に万博公園内池から採集した個体のアイソザイム分析を行った。万博公園内池で採集した個体群は25mmと小さかったため、白色部及び有孔鱗の観察は行わなかった。

アイソザイム分析：万博公園内池については八尾市産の個体群と同じく2組織8酵素15遺伝子座についてアイソザイム分析を行ったところ、すべての遺伝子座についてニッポンバラタナゴの主対立遺伝子に固定されていた。心字池については1992年に採集した個体群では同様に主対立遺伝子に固定されていた。

赤坂御用地内心字池の個体の白色部に関しては、1988年、1993年ともに全く認められなかった(図3)。有孔鱗に関しては1988年には12.0% (50尾のうち6尾に0~3鱗) と出現していたにもかかわらず、1993年には全く認められなかった(図4)。

IV 考察

1. ニッポンバラタナゴの遺伝的変異性

従来からニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの主要な形態的相違点として、腹鰭前縁の白色部の有無[2, 3, 4, 5]と側線有孔鱗[13]が知られている。また、アイソザイム分析により2亜種を識別することが可能であることが示唆された[9]。その後、八尾市内の4池と、その内の1池から保護のために移殖され[10]、6年または10年が経過した3池の個体群、さらに大阪府内の灌漑用溜池と佐賀県内の1河川および熊本県江津湖の個体群、合計10個体群のアイソザイム分析が行われた[11, 12]。その際に、外部形態からタイリクバラタナゴであろうと推定された埼玉県羽生公園内の池の個体群も分析された。その結果、2つの遺伝子座、つまり*Ldh-2*および*Pgdh*の対立遺伝子の完全な置換によって識別される2つのグループ、すなわちニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの存在が確認された(両亜種間の遺伝的距離 $D=0.233$)。と同時に、対立遺伝子頻度からそれらの間の亜種間雑種の存在も確認された。さらに八尾市溜池産のニッポンバラタナゴ3個体群には調べた遺伝子座のすべてに変異が無いことと佐賀県産のニッポンバラタナゴ個体群との間でわずかに遺伝的差異($D=0.056$)がみられた。

今回のアイソザイム分析においても、八尾市No.8池と北九州3個体群はいずれもニッポンバラタナゴとして判定されるものの、それらの間にも若干の遺伝的差異が存在した。そして八尾市と北九州の溜池の個体群間の方が、八尾市溜池と北九州の河川の個体群間より遺伝的類似性は高くなった。

最近、八尾市を含む大阪府と香川県、岡山県の溜池(群)や福岡県の筑後川水系のクリークのニッポンバラタナゴ個体群についてミトコンドリアDNAの塩基配列が分析された。その結果、アイソザイム分析で得られた結果と同様に[12]、溜池産の個体群は川やクリークのような開放水域の個体群に比べて遺伝的多様性が少ないことが示され、それが水域的に隔離された生息環境の影響による可能性が強く示唆された[14]。

以上のように、これまでの分子遺伝学的研究のすべてが、①ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴおよびそれらの雑種個体群が存在する、②ニッポンバラタナゴに遺伝的な地理的変異が存在するが、③川の個体群に比較して溜池の個体群は共通して遺伝的多様性が少なくなる、つまり遺伝的に均一化する、ことを示している。

①についてさらに補足すると、両亜種間の雑種化が現在も進行中であることが、最近のミトコンドリアDNAの塩基配列の分析により報告されている[15, 16]。なお、雑種個体群の特徴や雑種化の進行過程などについては後に考察する。②に関しては、これまでも、特に腹鰭前縁の白色部の発現のようすや側線有孔鱗数、婚姻色などの地理的変異が論じられてきた。すなわち、北九州の川など開放水系に生息するニッポンバラタナゴ個体群には腹鰭前縁にわずかに白色部が発現した個体が出現することがあるが[12, 17]、八尾市と香川県内の溜池の個体群では白色部は発現しない[14]。また側線有孔鱗は北九州の個体群には多く、八尾市内の溜池の個体群では無い個体が多い[13]。最近、八尾市と香川県の溜池の個体群が側線有孔鱗と脊椎骨の数と変異の幅が少なく(香川県の個体群がそれらが最も少ない)、北九州の順に多くなることが報告された。そしてこのことが、③溜池の個体群は共通して遺伝的多様性が少ないことと関連する可能性が示唆された[14]。河川に比べて孤立した小規模で閉鎖的な溜池のニッポンバラタナゴ個体群は、近親交配が起こりやすいことに原因があるのかもしれない[12]。一般に、近親交配が生じるとその集団は遺伝

的に均一化が生じて遺伝的多様性が低下することが知られているからである。

さらに個体群の遺伝的多様性が減少すると、生存率や成長率の低下や病気に対する抵抗性の低下をもたらすこともよく知られている [14, 18]。また隔離された小さな個体群は、遺伝的な要因、個体数、環境の変動などによって絶滅に瀕しやすいと言われている [19]。ニッポンバラタナゴの主要な生息域は、今や、溜池になっている可能性があり、したがって本亜種の保護のためには生息域の保全のみならず、適度な個体群サイズ(個体数)の維持が必要である [14]。

2. 亜種間交雑と雑種個体群の特徴

八尾市内の溜池のバラタナゴ個体群についてのこれまで [12, 13, 14, 15] と今回の外部形態の測定結果から、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの亜種間雑種個体群の特徴を論じたい。1988年に採集された個体のアイソザイム分析により、雑種化した個体群が生息するとされた池はNo.13~15池であった [13, 14]。No.15池では腹鳍前縁の白色部が明瞭に出現しているものが多く、側線有孔鱗数も0~7鱗と多かった。また、No.13池では不明瞭な白色部が観察され有孔鱗数は0、No.14池では不明瞭な白色部と有孔鱗数0~2鱗が観察された。今回の研究では、No.15池では白色部、有孔鱗ともに高い出現率を示し、タイリクバラタナゴに匹敵する値が得られた。No.13池では有孔鱗で若干の出現(58尾のうち1尾)が認められたものの、白色部においては1988年の11.7%の出現率から今回は全く認められないという、いわゆるタイリクバラタナゴに顕著な形質の減少傾向が認められた。一方、No.14池については両形質ともに増加しておりタイリクバラタナゴの形質が強められていた。この両個体群の違いについて、1988年における白色部の強さの違い(方法と結果は [20] を参照)に注目してみると、No.13池はNo.14池に比べて明らかに白色部の発現の程度が弱かった。つまり、過去における侵入個体の遺伝的違いが今回の形態的差異につながったと考えられた。

以上のように、タイリクバラタナゴの混入による遺伝的攪乱の程度は、混入する個体の雑種化の強さ(程度)に影響されるものと考えられ、雑種化のプロセスについて次のような場合が推測された。

- ① ニッポンバラタナゴの池に、タイリクバラタナゴあるいはそれに近い遺伝的構成をもつ雑種個体が、多数移入した場合。
- ② ニッポンバラタナゴの池に、タイリクバラタナゴあるいはそれに近い遺伝的構成をもつ雑種個体が、少数移入した場合。
- ③ ニッポンバラタナゴの池に、ニッポンバラタナゴに近い遺伝的構成をもつ雑種個体が、少数移入した場合。

①の場合は雑種化が進み、アイソザイム分析、白色部、側線有孔鱗数のいずれもタイリクバラタナゴに近い形質を示して、いわゆるニッポンバラタナゴの駆逐が起こる可能性がある。②・③の場合は過去の結果からみて、雑種化直後は白色部とアイソザイム分析で雑種のパターンが発現しやすいくもかかわらず、その後いずれの場合もアイソザイム分析で雑種のパターンが発現しにくくなる。しかし、②のように移入したタイリクバラタナゴの遺伝的性質が強い場合は白色部、有孔鱗ともに出現率は高くなり、③のようにそれが弱い場合は両形質ともに出現しにくくなると考えられた。

以上のことを今回調査した他の池についてあてはめてみると、アイソザイム分析でニッポンバラタナゴのパターンが存在していたが白色部あるいは有孔鱗が出現していたNo.8

～12池については注意を要する。すなわち、No.8～11池は白色部がわずか(出現率、強さともに)であり、このような点状の白色部が雑種化を表すものかどうかについて検討を要する。またNo.12池はすでに雑種化が起こっている可能性が大きい。

今回アイソザイム分析で雑種が存在したNo.16～18池については、No.13、14池で認められた様に、何年か先にアイソザイム分析で雑種個体群が判別ができなくなる、つまりニッポンバラタナゴのアイソザイムパターンが現れてしまう可能性も考えられる。

このように八尾市溜池に混入したタイリクバラタナゴ(あるいは雑種個体)の存在により、池の個体群の亜種の定義は非常に難しくなっている。雑種パターンが過去及び今回出現していた個体群をすべて交雑個体群とすると、調査した八尾市溜池のうち少なくともNo.1～7池にニッポンバラタナゴ純系が生息し、少なくとも6池に雑種化が起こり、また、残り5池についてはさらに調査が必要であるといえる。

赤坂御用地内の心字池と吹田市万博公園内池の個体群は八尾市No.8池から移殖されたもので遺伝的同一集団であるとみなすことができる。両池ともにアイソザイム分析でニッポンバラタナゴのパターンのみであったが、心字池では有孔鱗が12.0%、万博公園内池では白色部が37.5%の割合で観察された[11, 12]。本研究では万博公園内池は白色部、有孔鱗ともに観察は行っていないが、心字池では白色部、有孔鱗ともに全く認められなかった。心字池の有孔鱗数の変化は移殖によるストレスにより一時的に増えたことも考えられ、移殖された個体群について引き続き調査を行う必要がある。

引用文献

- [1] Kimura, S. and Nagata, Y. 1992. Scientific name of Nippon-baratanago, a Japanese bitterling of the genus *Rhodeus*. Japan.J.Ichthyol., 38: 425-429.
- [2] 中村守純. 1955. 関東平野に繁殖した移殖魚. 日本地理学会会報, (16-19): 333-337.
- [3] 中村守純. 1969. 日本のコイ科魚類. 資源科学シリーズ4. 資源科学研究所.
- [4] Nagata Y. and Nishiyama, K. 1976. Remarks on the Characteristics of the Fins of Bitterling, *Rhodeus ocellatus ocellatus* (KNER) and *R. ocellatus smithi* (REGAN). Mem. Osaka Kyoiku Univ. Ser III, 25: 17-21.
- [5] 西山孝一・長田芳和. 1978. タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴ. 淡水魚, (4): 91-100.
- [6] 長田芳和. 1980. タイリクバラタナゴ純血の危機(川合禎次・川那部浩哉・水野信彦編)日本の淡水生物 侵略と攪乱の生態学, pp.147-153. 東海大学出版会.
- [7] 新井良一. 1982. 絶滅に瀕しているニッポンバラタナゴの系統と種族保存に関する基礎的研究. 文部省科学研究費研究成果報告書.
- [8] 小林 光. 1997. 種の保存法と自然保護行政.(長田芳和・細谷和海編著)日本の希少淡水魚の現状と系統保存, pp.280-288. 緑書房.
- [9] 上野紘一. 1985. ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの細胞遺伝学的・遺伝生化学的研究.(新井良一編)文部省科学研究費研究成果報告書, pp.14-29.
- [10] 長田芳和・加納義彦・紀平 肇・立脇康嗣・福原修一・前畑政善・秋山廣光・松田征也・桑原雅之・鉄川 精・木村英造.1988. ニッポンバラタナゴの研究と保護.(長田芳和編)ニッポンバラタナゴ研究と保護, pp.1-24. ニッポンバラタナゴ研究会.
- [11] 水口岳志・山岡里子. 1988. 外部形態およびアイソザイム分析によるバラタナゴ2亜種の分類学的研究(卒業論文).
- [12] Nagata, Y., Tetsukawa, T., Kobayashi, T. and Numachi, K. 1996. Genetic markers distinguishing between the two subspecies of the rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus* (Cyprinidae). Ichthyological Research, 43: 117-124.

- [13] 長田芳和・立脇康嗣. 1985. ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの側線有孔鱗数. (新井良一編)文部省科学研究費研究成果報告書, pp.10-13.
- [14] Kawamura, K., Nagata, Y., Ohtaka, H., Kanoh, Y. and Kitamura, J. 2001. Genetic diversity in the Japanese rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus* (Cyprinidae). Ichthyological Research, 48:369-378.
- [15] Miyake, K., Tachida, H., Oshima, Y., Arai, R., Kimura, S., Imada, N. and Honjo, T. 2001. Genetic variation of the cytochrome b gene in the rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus* (Cyprinidae) in Japan. Ichthyological Research. 48:105-110.
- [16] Kawamura, K., Ueda, T., Arai, R., Nagata, Y., Saitoh, K., Ohtaka, H., Kanoh, Y. 2001. Genetic Introgression by the Rose Bitterling, *Rhodeus ocellatus ocellatus*, into the Japanese Rose Bitterling, *R. o. kurumeus* (Teleostei: Cyprinidae). Zoological Science 18:1027-1039.
- [17] 木村清朗・松井誠一・早田浩文・立原一憲. 1986. 福岡県多々良川のバラタナゴ及びその生息環境. 九大農学芸誌, 40: 239-247.
- [18] Vrijenhoek RC. 1996. Conservation genetics of North American desert fishes. In: Avise JC, Hamrick JL (eds) Conservation genetics. Chapman & Hall, New York, pp.367-397.
- [19] Primack RB. 1995. A primer of conservation biology. Sinauer, Sunderland.
- [20] 片山めぐみ. 1993. ニッポンバラタナゴの遺伝的変異性と交雑に関する研究 (卒業論文).

Genetic Diversity and Hybridization in the Japanese Rosy Bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus* (Cyprinidae)

NAGATA Yoshikazu*, KATAYAMA Megumi**, TABE Masaaki***,
FUKUHARA Shuuichi***, KANOY Yoshihiko****

*Department of Biology, Osaka Kyoiku University, Kashiwara,
Osaka 582-8582, Japan

**Finished the Course of Science Education

***Baika Gakuen High School, 1-5-30 Uenonishi, Toyonaka City,
Osaka 560-0011, Japan

****Seifu Gakuen High School, 12-16 Ishigatuji, Tennoji-ku,
Osaka 543-0031, Japan

In Japan the rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus*, is represented by the exotic *R. ocellatus* Kner and the indigenous *R. ocellatus kurumeus* (Regan). The two subspecies have shown considerable hybridization over a wide range in Japan, so *R. ocellatus kurumeus* was listed as endangered in the Japanese Red Data Book in 1991. In this study, first, four populations of rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus*, collected from a pond in Yao City, Osaka, two rivers in Saga Prefecture and a pond in Fukuoka Prefecture, were genetically compared using starch-gel electrophoresis. Secondly, both electrophoretic and morphological (white coloration