

紀の川中上流域におけるシマドジョウ類の分布特性



実施担当者 和歌山県立橋本高等学校
教諭 山田 大貴

1 はじめに

和歌山県といえば「クロマグロ」や「タチウオ」などの海水魚のイメージが強く、実際、生徒たちが和歌山県の魚としてイメージするのは海水魚が多い。橋本高校は和歌山県の中でも特に内陸に位置しており海まで直線距離にして 60 km もあるため、ほとんどの生徒が海とは無縁の生活を送っている。それにもかかわらず、やはり橋本高校の生徒も和歌山県のイメージする魚は海水魚である。

橋本高校は、南側に県内でも特に淡水魚の種数が多い「紀の川」が走っており、近くには多数の紀の川支流河川もあるため淡水魚の採取・観察環境としては良好な条件を有している。そこで、淡水魚を身近に感じてもらうために本校科学部では数年前から月に 2～3 回程度淡水魚調査を行ってきた。あまり知られていなかった橋本市近辺の魚類相を明らかにするとともに、多くの生徒が淡水魚を身近に感じることができた。採取した魚類の中で特に関心をもった種がシマドジョウ類であり、現在では科学部の研究のメインテーマの 1 つとなっている。

シマドジョウ類は体の中央線上に暗褐色の斑紋が並び、その背や尾ビレには不規則な黒色斑が散在している。また、水の澄んだ川や浅い湖の砂または砂礫底に生息しており、いわゆる一般的なドジョウとは見た目や好適環境が異なっている。和歌山県に生息するシマドジョウ類として、オオシマドジョウ(*Cobitis* sp. BIWAE type A)とチュウガタスジシマドジョウ(*Cobitis striata striata*)が知られている(図 1)。この 2 種は橋本市近辺でも確認されているが、体側の斑紋やオスの胸鰭の骨質盤の形が異なるため見分けは容易であり、チュウガタスジシマドジョウにおいては和歌山県に生息していない他のシマドジョウ類との見分けも比較的容易である。

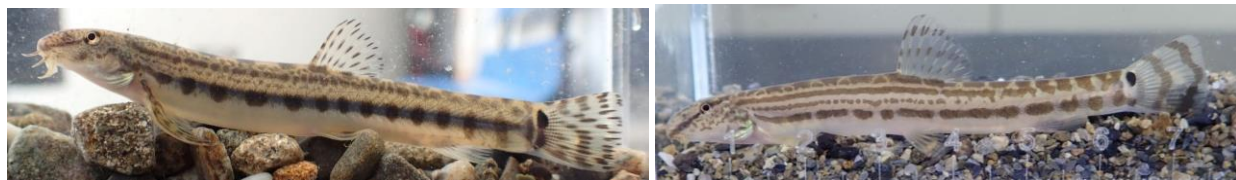


図 1 オオシマドジョウ(左)とチュウガタスジシマドジョウ(右)

しかし、オオシマドジョウに外部形態がよく似た種としてニシシマドジョウ(*Cobitis* sp. BIWAE type B)が知られている(図 2)。見た目からの区別は難しく、尾ビレ基部の斑紋の特徴から傾向的な判別はできるとされているものの、正確に判別す



図 2 ニシシマドジョウ 引用:雑魚の水辺

るためには赤血球径やミトコンドリア DNA の比較が必要である。ニシシマドジョウは本来和歌山県では生息していないとされている。

オオシマドジョウは紀の川だけでなく、橋本高校近辺の多数の支流河川でも確認されているが、紀の川水系のシマドジョウ類の調査する中で、支流河川によって体側や尾ビレの模様が異なっていることや、オオシマドジョウとニシシマドジョウの見分けポイントである尾ビレ基部の斑紋の特徴がニシシマドジョウに似た個体が複数の河川で採取されることに気づいた。先輩による調査で赤血球径をもとにした種の判別を試みた結果、ニシシマドジョウに分類される赤血球径を持つ個体が複数の河川で確認されたが、尾ビレ基部の斑紋の特徴がニシシマドジョウと一致しない個体があったり、ニシシマドジョウのような尾ビレ基部の斑紋の特徴を持っていないながら赤血球径はオオシマドジョウと一致したりと、尾柄部の斑紋の特徴だけからは判別が難しいことが明らかとなった。

そこで、今年度は個体の DNA 解析と環境 DNA 解析を行うことによってニシシマドジョウが分布しているかどうかを明らかにすることと、オオシマドジョウの斑紋の多様性について考察することを目的として研究を行った。

2 ニシシマドジョウの存在の有無について

2-1 方法

シマドジョウ類は9つの支流河川から採取を行った(図3)。採取は1地点につき、2～5名で行った(図4)。



図3 シマドジョウ類の採取地点



図4 採取の様子

2-1-1 個体の DNA 解析

採取した9河川のうち、ニシシマドジョウの赤血球径を持つ個体が採取された穴伏川、落合谷川、真国川から各5個体ずつ、合計15個体のDNAを次の方法で解析した。

- ① 採取した個体の鱗の一部を切除し、ゲノムDNAを抽出した。
- ② 抽出したゲノムDNAをテンプレートに、Kitagawa et al., 2003と同様に、Forward(5'-TGACTTGAARAACCAAYCGTTG-3')およびReverse(5'-RGCRAAKARRAARTAYCATTC-3')の2つのプライマーを用いてミトコンドリアDNAのcytochrome b遺伝子の一部(約1kbp)をPCRにより増幅した。
- ③ PCRの反応条件は、94°C 1分 ×1回 → [94°C 1分 → 54°C 1分 → 72°C 1分] ×35回 → 72°C 10分 ×1回のサイクルとし、目的断片を増幅した。
- ④ PCR産物を精製した後、PCRと同じプライマーを用いてサイクルシーケンス反応を行った。
- ⑤ 反応物を精製した後、3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems)により得られた波形データをSEQUENCHER(Gene Codes)を用いて目視で確認し、cytochrome b遺伝子の部分領域(720bp)の塩基配列を決定した。
- ⑥ 近縁種との類縁関係を推定するために、GenBankに登録されているシマドジョウ属の塩基配列を加えた上で、近隣接合法により分子系統樹を構築した。系統樹の構築はMEGA7 (Kumar et al., 2016)により行った

2-1-2 環境DNA解析

橋本川、穴伏川、落合谷川の3河川で採水し、生物技研に依頼して環境DNAの網羅的解析を行った(図5)。



図5 採水の様子

2-2 結果

2-2-1 個体のDNA解析結果

解析から得られた系統樹を右図に示す。すべての個体がオオシマドジョウに該当した(図6)。同じ河川から採取されたオオシマドジョウは互いに同じグループに属することが示唆される中、落合谷川2および4の個体は大分県から得られている遺伝子パターンと一致した。

2-2-2 環境DNA解析結果

3河川の解析の結果、ニシシマドジョウの遺伝子は検出されなかった。

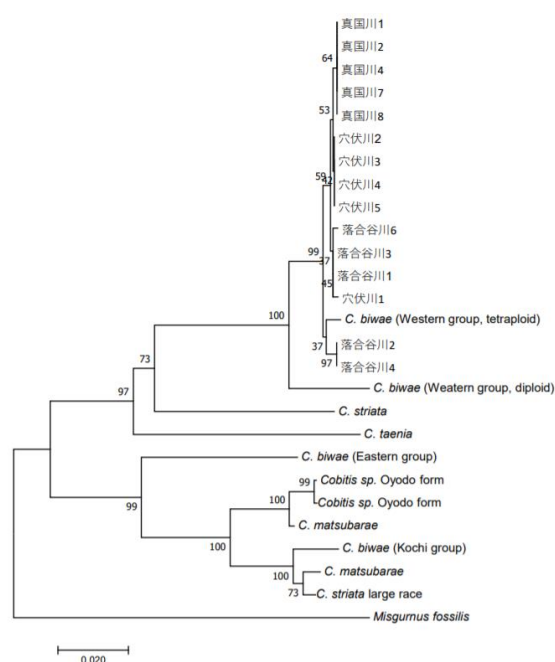


図6 本研究から得られた系統樹

2-3 考察

2つのDNA解析のどちらからもニシシマドジョウは検出されなかったため、従来どおりオオシマドジョウのみが生息していると結論付けられる。既往報告で解析された個体は紀の川本流から採取された2個体のみである。本研究では支流河川を中心に調査し解析に用いた個体数も増やしているため、この結論をさらに補強したことになる。また、現在のところニシシマドジョウのDNAが検出されていないので放流などによる移入もないものと思われる。ところが、落合谷川から採取された2個体からは大分県のオオシマドジョウと遺伝子パターンが一致するという結果が得られた。落合谷川は紀の川と間に段差などの物理的障壁がないため紀の川との交流が盛んに行われていると考えられる。紀の川では意図的な放流に加えてアユの放流などによるさまざまな移入種が報告されており、在来種の食害や遺伝子汚染など従来の生態系に影響を及ぼしている。オオシマドジョウについても同様の影響が生じ、落合谷川のこの結果につながったのかもしれない。今後はより詳細な遺伝子解析やほかの支流河川のオオシマドジョウを調査することによって、どの程度影響が起きているかを明らかにすることが必要である。

3 オオシマドジョウの河川間の比較

オオシマドジョウを上部と側面から写真で撮影し、体側に見られる全5列の斑紋(図7)と、尾ビレ、背ビレの斑紋の特徴を比較し河川間での斑紋の特徴を見出すことを試みた。橋本川では個体によって実に多様な斑紋がみられたのに対し、真国川、穴伏川、田原川から得られた個体は斑紋が似通っていることが多かった。また、尾ビレの斑紋や5列の斑紋などには、河川ごとに特徴づけられる模様がありそうである。斑紋が似ている理由としては支流河川内でボトルネックが起こったことが考えられるが詳細は不明である。

また、魚種によっては斑紋が成長段階や季節、繁殖期等でも変化することが知られている。

オオシマドジョウについては斑紋の変化についての報告はほとんどないが、そのあたりも含めて、斑紋についてより詳細に分析していくことが求められる。

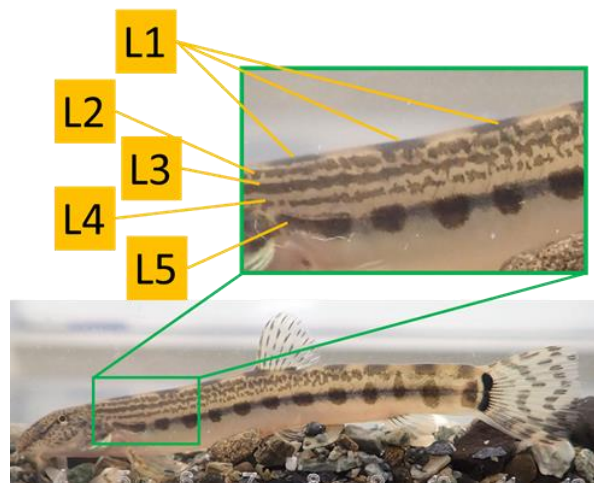


図7 比較対象とした体側斑紋

謝辞

本研究は、公益財団法人 中谷医工計測技術振興財団の助成をうけて実施することができました。特にDNA解析についてはその設備が本校に無いため外部委託となる関係上、助成なしには実施できませんでした。生徒たちはDNA解析や採取を通して、授業で習っているDNAについての理解が深まり、より身近に感じることができ、ドジョウへの興味も沸いたそうです。個体のDNA解析では、大阪市立環境科学研究センター 秋田 耕佑 様にご協力いただきました。この場を借りて心からの感謝を申し上げます。

参考文献

- Kitagawa, T., M. Watanabe, E. Kitagawa, M. Yoshioka, M.Kashiwagi and T. Okazaki. 2003. Phylogeography and the maternal origin of the tetraploid form of the Japanese spined loach, *Cobitis biwa*, revealed by mitochondrial DNA analysis. *Ichthyol. Res.*, 50: 318-325.
- 中島淳, 内山りゅう, 2017: 日本のドジョウ, pp.80-87. 山と溪谷社, 東京.
- 和歌山県立高等学校科学部, 2019: 和歌山県高等学校文化連盟自然科学部会 第7回県高総文祭発表論文集. pp. 26-27.