

名古屋市におけるドジョウのmtDNAの系統と分布

向井 貴彦⁽¹⁾ 浅香 智也⁽²⁾ 鳥居 亮一⁽²⁾ 宇地原 永吉⁽³⁾⁽¹⁾ 岐阜大学地域科学部 〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸1-1⁽²⁾ 三河淡水生物ネットワーク 〒447-0002 愛知県碧南市井口町2-56⁽³⁾ なごや生物多様性センター 〒468-0066 愛知県名古屋市天白区元八事5-230Mitochondrial DNA lineages of the loach *Misgurnus anguillicaudatus* in Nagoya, Aichi Prefecture, JapanTakahiko MUKAI⁽¹⁾ Tomonari ASAKA⁽²⁾
Ryoichi TORII⁽²⁾ Eikichi UCHIHARA⁽³⁾⁽¹⁾ Faculty of Regional Studies, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan⁽²⁾ Mikawa Freshwater Life Network, 2-56 iguchi-machi, Hekinan, Aichi 447-0002, Japan⁽³⁾ Nagoya Biodiversity Center, 5-230 Motoyagoto, Tenpaku-ku, Nagoya, Aichi 468-0066, Japan

Correspondence:

Takahiko MUKAI E-mail: mukai.takahiko.k0@f.gifu-u.ac.jp

要旨

愛知県名古屋市で採集されたドジョウのミトコンドリアDNAのCytb遺伝子の塩基配列を決定し、系統の判別を行った。2011年から2021年に採集された20個体の標本について解析を試みたところ、12個体について明瞭な塩基配列が決定され、1個体は北日本に分布する系統、2個体は日本列島の在来系統、9個体は中国系統だった。中国系統は人為的に持ち込まれた外来系統と考えられており、名古屋市内に広く分布する可能性が示された。北日本に分布する系統は東海地方初記録であり、キタドジョウもしくはドジョウ属の隠蔽種と考えられる。

序文

ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* は、北海道から琉球列島まで日本全国の河川や水路に広く分布する淡水魚とされてきた(宮地ほか, 1976; 川那部ほか, 2001)。しかし、近年の遺伝的解析と形態学的な比較の結果、これまでドジョウとされてきた種は、北海道から九州及び屋久島・種子島に分布する狭義のドジョウ *M. anguillicaudatus*、北海道から関東及び北陸地方以北に分布するキタドジョウ *M. sp.* (Clade A)、奄美大島等に分布するシノビドジョウ *M. amamianus*、沖縄島に分布するヒョウモンドジョウ *M. sp.* OK に分類されている(中島・内山, 2017; Nakajima and Hashiguchi, 2022)。さらに、日本列島のドジョウ(狭義のドジョウ)には日

本列島在来と中国大陸由来の2系統があり、どちらも日本国内に広く分布することが知られている(小出水ほか, 2009; 清水・高木, 2010; 向井ほか, 2011; 西田ほか, 2011; 林ほか, 2022)。また、それらは形態的にも区別できると考えられている(松井・中島, 2020)。それらに加えて、栃木県における多数個体のミトコンドリアDNA (mtDNA) の解析では韓国由来とされる系統も見つかっている(小出水ほか, 2010)。このように、日本列島には在来・外来の様々な系統のドジョウが分布しているが、名古屋市にどのようなドジョウが分布するのかは明らかにされていない。ドジョウはレッドリストいち2020(愛知県, 2020)及び名古屋市版レッドリスト2020(名古屋市, 2020)では絶滅危惧II類(VU)とさ

れており、河川や水路の改修による環境変化と、中国大陸原産の外来種カラドジョウ *M. dabryanus* の侵入による競争の影響が危惧されているが、今後のドジョウの保全のためには、愛知県内あるいは名古屋市内に在来系統のドジョウがどの程度残っているのかを明らかにすることが重要である。そこで本研究では2011年から2021年に名古屋市内で採集され、なごや生物多様性センターで保管されているドジョウの標本を用いて、mtDNAの部分塩基配列の解析を行ったので、報告する。

材料と方法

解析には2011年5月24日から2021年10月19日までに名古屋市内の10地点で採集された20個体のドジョウを用いた(表1)。採集されたドジョウはただちに100%エタノール中に保存されており、鱗の一部を用いてDNAの抽出を行った。DNAの抽出から塩基配列の決定は向井ほか(2011)に従い、mtDNAのCytb遺伝子の部分塩基配列を決定した。得られた塩基配列は、Clustal W (Larkin et al., 2007) でアライメントし、MEGA7 (Kumar

et al., 2016) で塩基配列差異の計算を行うことでハプロタイプ(塩基配列型)を判別した。各個体の塩基配列は国際塩基配列データベース(INSDC)に登録した(登録番号LC726169-LC726180)。得られた塩基配列は、カラドジョウ(登録番号AB674742:向井ほか, 2011)を操作上の外群として、小出水ほか(2009)の147種類(登録番号AB473261-AB473407)及び向井ほか(2011)の6種類のハプロタイプ(登録番号AB674743-AB674748)とともにアライメントし、近隣結合法(Saitou and Nei, 1987)による系統樹の推定を行った。遺伝距離の推定は木村の2変数モデル(Kimura, 1980)を用いて行った。樹形の信頼性は1,000回のブーツストラップ反復によって推定した。

結果

DNAの抽出を行った20個体のドジョウのうち、2012年に矢田川で採集された1個体(NBC-FI.0002)と2015年以降に採集された12個体のうち11個体についてPCRでの良好な増幅が確認され、1120塩基対の塩基配列を決定

表1. 解析に用いた名古屋市産ドジョウ標本.

標本番号	採集年月日	採集地	解析結果
NBC-FI.0001	2011年8月24日	市民水田(名古屋市港区西福田)	×
NBC-FI.0002	2012年5月6日	矢田川(名古屋市東区矢田町寺畑)	中国系統
NBC-FI.0003	2013年6月1日	戸笠池(名古屋市緑区鳴海町螺貝)	×
NBC-FI.0004	2015年5月6日	矢田川(名古屋市東区矢田町寺畑)	中国系統
NBC-FI.0005	2021年6月26日	戸田川生態園(名古屋市港区西蟹田)	在来系統
NBC-FI.0006	2020年3月28日	才井戸流(名古屋市守山区中志段味才井戸流)	×
NBC-FI.0007	2020年3月28日	才井戸流(名古屋市守山区中志段味才井戸流)	在来系統
NBC-FI.0008	2013年9月15日	東ノ池(名古屋市緑区桶狭間)	×
NBC-FI.0009	2020年3月28日	才井戸流(名古屋市守山区中志段味才井戸流)	A系統
NBC-FI.0010	2012年6月4日	ピオでん(名古屋市港区西福田3丁目)	×
NBC-FI.0011	2014年3月7日	矢田川(名古屋市東区矢田町寺畑)	×
NBC-FI.0012	2012年6月4日	矢田川(名古屋市東区矢田町寺畑)	×
NBC-FI.0013	2021年10月19日	山崎川(名古屋市瑞穂区師長町)	中国系統
NBC-FI.0014	2021年10月19日	山崎川(名古屋市瑞穂区師長町)	中国系統
NBC-FI.0015	2021年10月19日	山崎川(名古屋市瑞穂区師長町)	中国系統
NBC-FI.0016	2021年10月19日	山崎川(名古屋市瑞穂区師長町)	中国系統
NBC-FI.0017	2021年10月19日	山崎川(名古屋市瑞穂区師長町)	中国系統
NBC-FI.0018	2015年4月16日	植田川(名古屋市天白区植田南1丁目)	中国系統
NBC-FI.0019	2013年9月15日	大根池(名古屋市天白区天白町大字島田山ノ杈)	×
NBC-FI.0020	2015年5月15日	矢田川(名古屋市東区矢田町寺畑)	中国系統

することができた。2011年から2014年に採集された7個体と、2020年に才井戸流で採集された1個体(NBC-FI.0006)はPCRによる増幅が見られず、塩基配列は決定できなかった。得られた塩基配列を小出水ほか(2009)及び向井ほか(2011)の153種類のハプロタイプとともにアライメントし、系統樹を推定した結果、名古屋市産のドジョウは小出水ほか(2009)におけるA、B、Cの3系統にそれぞれ含まれた。図1には、小出水ほか(2009)の147種類のハプロタイプのうち、A系統の11ハプロタイプと愛知県で見つかった18ハプロタイプ、小出水ほか(2009)では愛知県で見つからないが本研究で得られた塩基配列と同一の1ハプロタイプ(H047)、向井ほか(2011)の岐阜県産7ハプロタイプ(外群のカラドジョウ含む)を選定して、本研究で決定した12個体の塩基配列とともに推定した近隣結合樹を示した。本研究の12個体のうち、標本番号NBC-FI.0013とNBC-FI.0014及びNBC-FI.0016とNBC-FI.0017は、それぞれ同一のハプロタイプだった。A系統は1個体、B系統は9個体、C系統は2個体であった。

考察

本研究で塩基配列が決定できた5地点12個体のドジョウのmtDNAは3系統に分けられた。小出水ほか(2009)はCytb遺伝子の塩基配列に基づいて、それぞれヨーロッパドジョウ系のクレードA、中国ドジョウ系のクレードB、在来ドジョウ系のクレードCとしているが、同様の結果はmtDNAの調節領域の解析でも得られており、Morishima et al. (2008)は北日本のものをクレードA、在来系をクレードB1、中国系をクレードB2としている。さらに、Okada et al. (2017)はA系統をType I、B(B-2)+C(B-1)系統をType IIとしている。このように、ドジョウのmtDNAの系統名には混乱があるが、本論文では同じCytb遺伝子の塩基配列を用いた小出水ほか(2009)を元に、それぞれA系統、中国系統(B系統)、在来系統(C系統)とする。

本研究で塩基配列が得られた12個体のうち9個体は中国系統のmtDNAであり、在来系統は2個体しか見つからなかった。向井ほか(2011)では岐阜県岐阜市(5個体)、羽島市(6個体)、土岐市(8個体)の計19個体のうち、在来系統のmtDNAの個体は16個体、中国系統は

岐阜市産の3個体のみだった。小出水ほか(2009)で用いられている岐阜県産5地点19個体もすべて在来系統であり、岐阜県は中国系統のドジョウの侵入が少ない可能性がある。それに対して小出水ほか(2009)での愛知県産3地点10個体については、1地点(尾張旭市5個体)が在来系統であり、田原市(1個体)と弥富市(4個体)はすべて中国系統であった。清水・高木(2010)においても庄内川水系の中切川(論文中では岐阜県とされているが、愛知県の春日井市から名古屋市北区と思われる)のドジョウ5個体中4個体は在来系統だったが、1個体は中国系統のハプロタイプであった。他の地方の場合、栃木県においては広くドジョウのmtDNAが解析されており、在来系統のドジョウの分布が少ないことが示されている(小出水ほか, 2010)。大阪府においても在来系統のドジョウに置き換わる形で中国系統のドジョウが広がっており(松井・中島, 2020)、愛知県内においても同様に中国系統のドジョウに置き換わりつつあることが考えられる。

名古屋市産のドジョウについては、A系統のmtDNAを持つ個体(NBC-FI.0009)が才井戸流に分布することが本研究で示された。A系統のドジョウは、これまで太平洋側は神奈川県以東、日本海側は福井県以北でのみ知られており(中島・内山, 2017; Okada et al., 2017)、東海地方や関西以西の西日本においては見つからない。今後の研究が必要ではあるが、本研究では既知の分布域から大きく離れた名古屋市内において局所的に見つかったことから、人為的な移入の可能性があると考えられる。

A系統のドジョウについては、中島・内山(2017)によって、雄の胸鰭の骨質板の形状が他のドジョウとは異なるとしてキタドジョウの新称が提唱されている。また、Okada et al. (2017)は、福井県中池見湿地においてType I(A系統)とType II(B+C系統)の間に生殖隔離が見られるとして、ドジョウ隠蔽種Type IとType IIとしている。A系統のドジョウの雄の骨質板の形状には変異が多く、キタドジョウ以外のドジョウ属の隠蔽種も含む可能性も考えられるため(旗ほか, 2020)、A系統のドジョウの分類学的検討は今後の課題とされている。さらに、2022年にサハリン産のA系統のドジョウが*M. chipisaniensis*として記載されたが(Shedko and

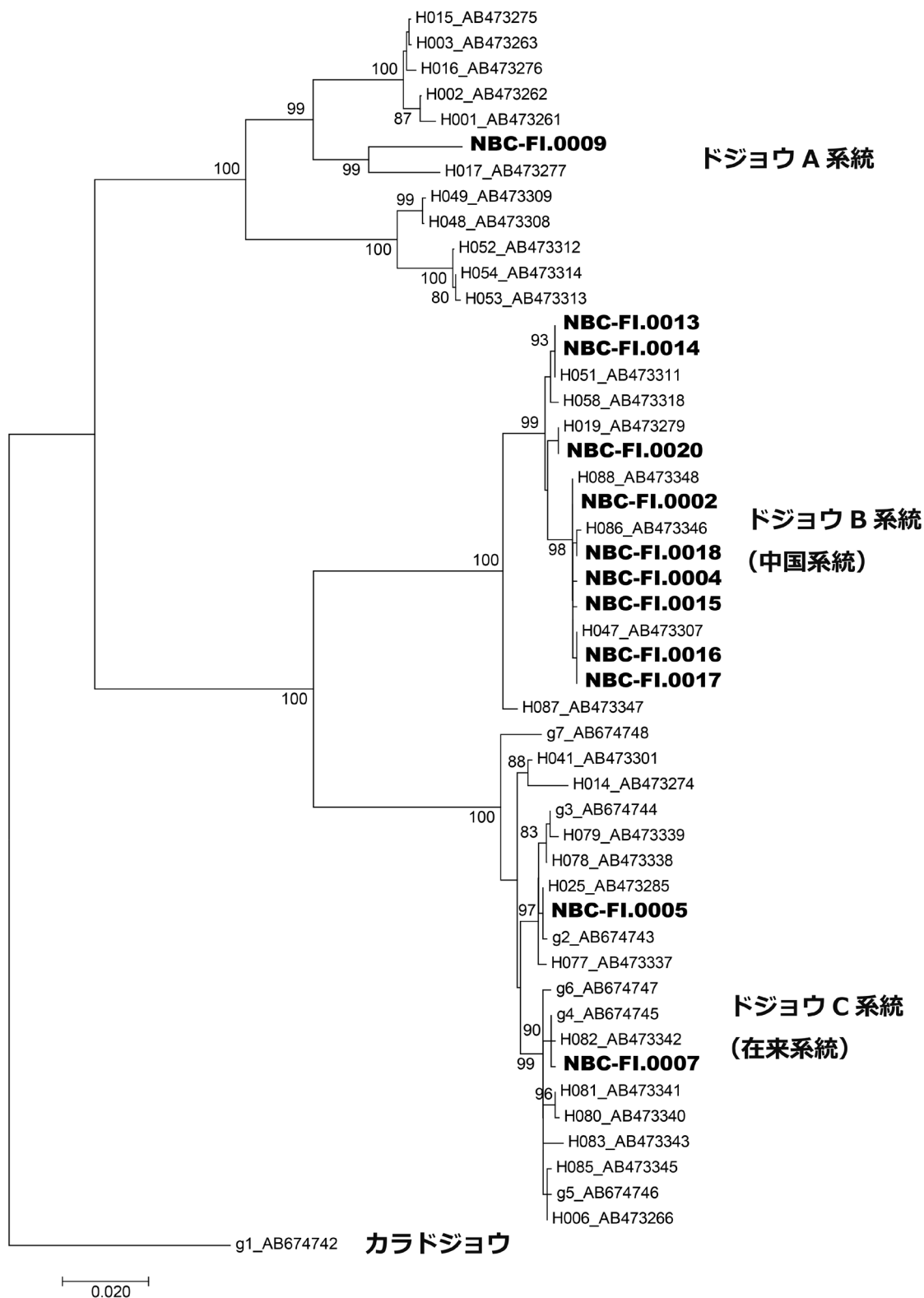


図1. 名古屋市産ドジョウ12個体 (NBC) と、小出水ほか (2009) のドジョウ A 系統の11ハプロタイプ及び愛知県産の B 系統と C 系統の19ハプロタイプ (H)、向井ほか (2011) の岐阜県産ドジョウとカラドジョウの7ハプロタイプ (g) を用いた近隣結合法による系統樹。既知のハプロタイプは「ハプロタイプ名_Accession No.」として示した。内部枝のブーストラップ確率は80%以上のもののみ表示した。スケールバーは遺伝距離。

Vasil'eva, 2022), 日本産の標本との形態的比較はされておらず, キタドジョウもしくはドジョウ隠蔽種と同種とすることが妥当かどうかは不明である. したがって, 本研究で見つかった個体 (NBC-FI.0009) についても, キタドジョウ *M. sp.* (Clade A), ドジョウ隠蔽種 Type I, もしくは *M. chipisaniensis* のいずれかと同種とするかどうかは, 今後の追加標本と形態形質等の比較検討が必要である.

謝辞

本研究は, なごや生物多様性保全活動協議会・水辺の生きもの部会による調査として行われた. 採集及び調査にあたっては, なごや生物多様性保全活動協議会・水辺の生きもの部会の皆様にご協力いただいた. DNA解析は岐阜大学科学研究基盤センターゲノム分野にご協力いただいた. ここに厚く御礼申し上げます.

引用文献

- 愛知県. 2020. 愛知県の絶滅のおそれのある野生生物レッドデータブックあいち2020-動物編-. 愛知県環境局環境政策部自然環境課, 名古屋. 768pp.
- 旗 薫・小池花苗・丹野夕輝・中島 淳. 2020. 宮城県で確認されたドジョウ (クレードA) (コイ目ドジョウ科) 雄個体の遺伝的・形態的特徴. 伊豆沼・内沼研究報告, 14: 15-32.
- 林 成多・大井和之・佐藤仁志. 2022. 島根県産ドジョウのミトコンドリアDNAハプロタイプ. ホシザキグリーン財団研究報告特別号, 30: 1-10.
- 川那部浩哉・水野信彦・細谷和海. 2001. 山溪カラー名鑑 日本の淡水魚 3版. 山と溪谷社, 東京. 720pp.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111-120.
- 小出水規行・竹村武士・渡部恵司・森 淳. 2009. ミトコンドリアDNAによるドジョウの遺伝特性—チトクロームb遺伝子の塩基配列による系統解析—. 農業農村工学会論文集, 77(1): 7-16.
- 小出水規行・森 淳・中茎元一・水谷正一・西田一也・竹村武士・渡部恵司・朴 明洙. 2010. 栃木県におけるドジョウの遺伝的クレードの解明. 農業農村工学会 (編). 農業農村工学会大会講演会講演要旨集 平成22年度, pp. 860-861. 農業農村工学会, 東京.
- Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA 7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870-1874.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. P. Brown, R. Chenna, P. A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I. M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J. D. Thompson, T. J. Gibson, and D. G. Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23: 2947-2948.
- 松井彰子・中島 淳. 2020. 大阪府におけるドジョウの在来および外来系統の分布と形態的特徴にもとづく系統判別法の検討. 大阪市立自然史博物館研究報告, 74: 1-15.
- 宮地傳三郎・川那部浩哉・水野信彦. 1976. 原色日本淡水魚類図鑑. 保育社, 東京. 462pp.
- Morishima, K., Y. Nakamura-Shiokawa, E. Bando, Y.-J. Li, A. Boron, Md. M. R. Khan, and K. Arai. 2008. Cryptic clonal lineages and genetic diversity in the loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Teleostei: Cobitidae) inferred from nuclear and mitochondrial DNA analyses. *Genetica*, 132: 159-171.
- 向井貴彦・梅村啓太郎・高木雅紀. 2011. 岐阜県におけるカラドジョウの初記録と中国系ドジョウの侵入. *日本生物地理学会会報*, 66: 85-92.
- 名古屋市. 2020. 名古屋市版レッドリスト2020. 名古屋. 26pp.
- Nakajima, J. and Y. Hashiguchi. 2022. A new species of the genus *Misgurnus* (Cypriniformes, Cobitidae) from Ryukyu Islands, Japan. *Zootaxa*, 5162: 525-540.
- 中島 淳・内山りゅう. 2017. 日本のドジョウ形態・生態・文化と図鑑. 山と溪谷社, 東京. 224pp.
- 西田一也・小出水規行・皆川明子・渡部恵司・竹村武士・森 淳. 2011. 多摩川流域におけるドジョウの遺伝的構造. 農業農村工学会 (編). 農業農村工学会大会講演会講演要旨集 平成23年度, pp. 150-151. 農業農村工学会, 東京.
- Okada, R., T. Inui, Y. Iguchi, T. Kitagawa, K. Takata and

- T. Kitagawa. 2017. Molecular and morphological analyses revealed a cryptic species of dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Cypriniformes: Cobitidae) in Japan. *Journal of Fish Biology.*, 91: 989-996.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution.*, 4: 406-425.
- Shedko, S.V. and E.D. Vasil'eva. 2022. A new species of the pond loaches *Misgurnus* (Cobitidae) from the south of Sakhalin Island. *Journal of Ichthyology.*, 62: 356-372.
- 清水孝昭・高木基裕. 2010. ミトコンドリアDNA による愛媛県を中心としたドジョウの遺伝的集団構造と攪乱. *魚類学雑誌*, 57: 13-26.