

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06813

研究課題名(和文) 国内外来種の侵入による在来種群の消滅のメカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism of extinction of indigenous species community by the invasion of domestic alien species

研究代表者

河村 功一 (Kawamura, Kouichi)

三重大学・生物資源学研究所・教授

研究者番号：80372035

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：国内外来種の侵入が在来種の種間関係に与える遺伝・生態的影響を見るため、アブラハヤとタカハヤに注目し、調査を行った。分子マーカーを用いて集団解析において、伊勢湾周辺域に生息する両種の複数の集団から外来ゲノムが検出された。外来ゲノムの頻度が高い生息地において種間関係を調べた所、両種の交雑率は高かった。雑種はF1だけでなくBCも存在し、核DNAとmtDNAで種が一致しない個体も見られたが、雌と異なりF1雄は不妊の可能性が高く、これが種の存続を保障していると考えられた。交雑個体における外来ゲノムの割合は高かったものの、外来ゲノムと交雑率の間に直接的な関係は見いだせず、生息環境の改変の影響が覗かれた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ブラハヤとタカハヤの混生域における交雑個体の比率の高さの理由として、配偶行動における交配前隔離の不在が原因であり、こうした乱婚とも言える状況下で両種の存続を可能としている要因として、交雑個体の雄における不妊の可能性が明らかとなった。DNA分析の結果から調査地点においては両種共に移入の可能性の高い個体が多く見られた事から、交配前隔離の不在は外来個体における交配前隔離の不在の可能性も覗かれたが、野外調査の結果から堰堤等の河川構築物による移動障害が両種の交雑を促進している可能性が高い事が示唆された。これらの結果は、同所的に生息する近縁種の存続においては生態系の連続性が重要性であることを意味している。

研究成果の概要(英文)：Genetic and ecological effects of domestic alien species on interspecific relationship of indigenous species were examined, focusing on the relationship of *Rhynchocypris lagowskii* and *R. oxycephala*. Molecular analyses revealed that exotic genome, probably of domestic alien species origin, was detected in populations of the two species in the Ise Bay basin. In one of the populations, with exotic genome introgressed at high frequency, the ratio of hybrid between the two species was high. In this population, not only F1 but also BC were observed, together with individuals with mismatch between nuclear and mitochondrial genomes. Contrary to females, infertility was suggested in F1 males, likely warranting the persistence of both the species, irrespective of high hybridization. Although introgression of exotic genome was high in hybrids, direct relationship between the genome and hybridization was not detected, with the sign of effects of man-made habitat change on hybridization.

研究分野：分子生態学

キーワード：国内外来種 遺伝的攪乱 種間関係 生殖的隔離 系統地理 種間交雑 遺伝子浸透 棲み分け

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

- (1) 国内外来種は年々増加傾向にあるものの在来種であることから国外外来種とは異なり、一般的に外部形態のみによる検出は難しく、対応が遅れている。
- (2) 淡水魚は国内外来種の数において他の分類群を席卷しており、この理由として水産有用種の放流に付随した非意図的導入が理由として挙げられる。
- (3) 国内外来種の侵入は、在来種の種間関係に悪影響を及ぼす事が考えられるものの、具体的に調べた例は殆ど存在しない。
- (4) 種は近縁種との関係において自然分布における混生では、過去における種間競争の産物として確立された生息空間、餌等のニッチ分割により共存が可能とされている。しなしながら、人為的に移入された近縁種との混生状況においては競合種の認識が確立していないことから共存が成立しないとされ、在来種が絶滅したケースが知られている。
- (5) 近縁種間の交雑は分類群を問わず増加傾向にあり、その要因は人間による環境変化が原因とされているものの具体的な仕組みを明らかにした研究は少ない。

### 2. 研究の目的

- (1) 中部地方において自然分布として混生しているアブラハヤとタカハヤを対象に両種の棲み分けを可能としている要因を探る。
- (2) 野外調査と DNA 分析によりアブラハヤとタカハヤの外来個体の侵入状況ならびに在来個体との交雑状況を明らかにする。
- (3) アブラハヤとタカハヤの雑種の遺伝的特徴と繁殖特性を調べる事により、雑種の形成様式を明らかにする。
- (4) アブラハヤとタカハヤの雑種形成における外来個体の影響を調べる。
- (5) アブラハヤとタカハヤの混生域における生殖的隔離の崩壊の要因を外来個体存在との関連において探る。

### 3. 研究の方法

- (1) 紀伊半島に生息するアブラハヤとタカハヤを対象に mtDNA 分析により外来個体の移入状況を調べると共に起源を探る。
- (2) アブラハヤとタカハヤの混生域に置いてマイクロハビタットレベルで両種の生息状況の違いを調べる。
- (3) アブラハヤとタカハヤの棲み分けを可能としている要因を分布調査、食性調査、行動観察により明らかにする。
- (4) 両種の混生域において、形態分析と DNA 分析により両種の交雑状況を明らかにすると共に、雑種の形成様式を推定する。
- (5) 生殖腺の組織観察を行い、雑種の繁殖特性を明らかにする。また、交雑に伴う異質倍数化の可能性を見るため、フローサイトメーターを用いて雑種の倍数性を調べる。
- (6) DNA 分析により、外来個体由来のゲノムの浸透度を調べると共に、雑種形成との関係を見る。
- (7) 得られたデータを総合する事によりアブラハヤとタカハヤの生殖的隔離の崩壊要因を探ると共に混生集団の現状を明らかにする。

### 4. 研究成果

- (1) 紀伊半島の各水系に生息するアブラハヤとタカハヤについて mtDNA *Cytb* 領域 (1,141bp) の解読を行った所、両種共に鈴鹿山脈・高見山地を境に有意な遺伝的分化が認められ、各地域に固有のクレード（琵琶湖クレードと伊勢湾クレード）が存在することが判った（図 1）。mtDNA の

ハプロタイプを指標として外来個体の移入状況について見るとアブラハヤは伊勢湾流入河川のほとんどにおいて見られたのに対し、タカハヤは鈴鹿川と三滝川においてのみ確認された。また、これらの移入個体は両種共に琵琶湖型のハプロタイプを有していた。移入個体由来の mtDNA ハプロタイプが確認された河川は何れも過去に琵琶湖産コアユの放流履歴があることから、コアユの放流に付随した非意図的導入が移入の要因として考えられた。

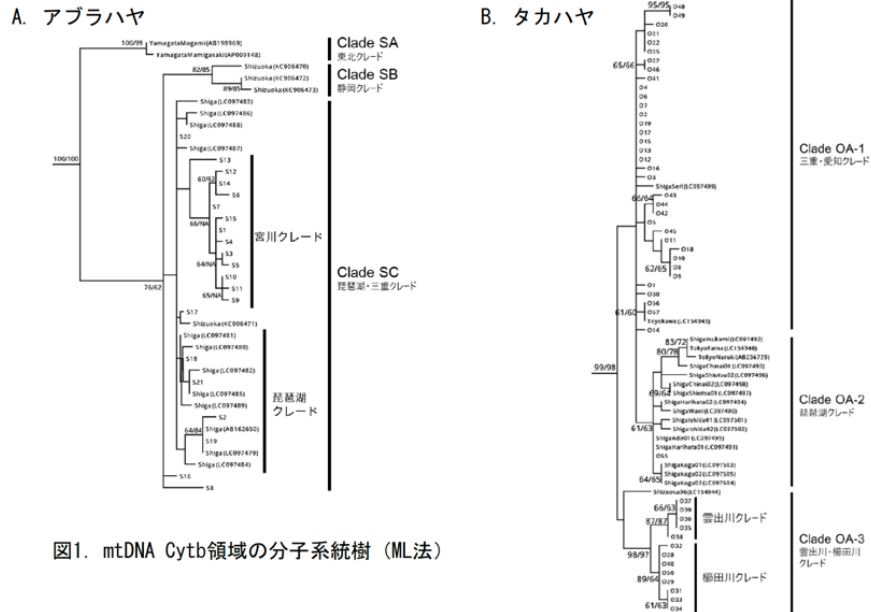


図1. mtDNA Cytb領域の分子系統樹 (ML法)

(2) アブラハヤとタカハヤの混生域である雲出川支流の八手俣川において、mtDNA とマイクロサテライト DNA (MS) 分析により両種の分布ならびに雑種の出現状況を調べた所、タカハヤはアブラハヤよりも上流に生息する傾向が認められたが、調査地点の約 5 割で両種の混在が認められ、また雑種はその内の約 7 割の地点で確認された。雑種は F<sub>1</sub> (雑種第 1 代) だけでなく BC (戻し交雑) も認められたが、F<sub>2</sub> (雑種第 2 代) は確認出来なかった (図 2)。mtDNA と核 DNA で種が異なる個体も認められ (図 3)、当地においては大規模な交雑が生じている事が明らかとなった。また、雑種の遺伝的特徴として、F<sub>1</sub> はタカハヤの優占域においてよく見られ、またアブラハヤの mtDNA を有する個体が多く見られたことから、雑種形成の要因としてタカハヤの雄によるアブラハヤの雌への繁殖干渉が考えられた。

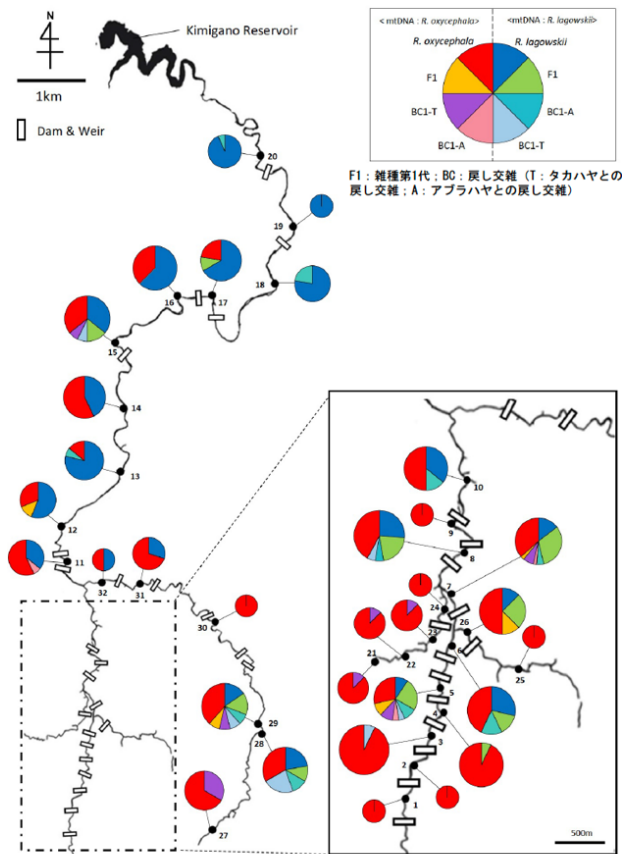


図2. アブラハヤとタカハヤの混生域における生息状況

(3) アブラハヤとタカハヤの棲み分けを可能にしている要因を明らかにするため、2022 年の各季節 (2 月、4 月、8 月、11 月) に複数地点において安定同位体を用いた食性調査を行った。両種共に水生昆虫と付着珪藻を摂餌する雑食性が判ったことが判ったが、両種が混在する水

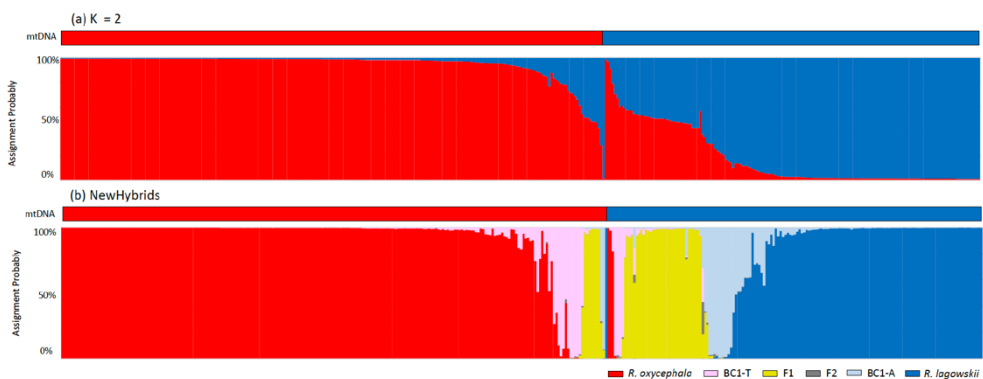


図3. アサイメントテストによる交雑解析の結果 (a) K = 2 におけるSTRUCTUREの結果, (b) はNewHybridsの結果.

域では餌資源が豊富な季節には何れも水生昆虫を主食とするのに対し、餌資源が少ない夏期では、タカハヤは水生昆虫を主食としたのに対し、アブラハヤは植物食へのシフトが認められた(図4)。アブラハヤの食性がタカハヤよりも植物食寄りであることは摂餌器官である鰓耙の観察に置いて、アブラハヤの方がタカハヤよりも鰓耙数が多く、鰓耙が長い事からも裏付けられた(図5)。これらの結果は、餌を巡る競争においてタカハヤの方がアブラハヤよりも優位であることを意味するものと言える。また、アブラハヤがタカハヤよりも下流側に生息する理由として、1) 上流における付着藻類の少なさ、2) 餌生物を巡る競争におけるタカハヤの優位性の2つの要因が考えられた。

(4) アブラハヤとタカハヤの繁殖行動における生殖的隔離の有無をみるため、2022年6月に雑種の出現頻度の高い3地点において水中カメラを用いた行動観察を行った。複数回の観察において繁殖は2種が混在する水域では種に認識が存在しないと思われるような乱婚に近い状態で行われ、交配前隔離がほとんど存在しない事が判った。

(5) 雑種の繁殖特性を見るため、交雑個体の各タイプについてHE染色による生殖腺の組織観察を行った。F<sub>1</sub>の雌では正常な卵形成が確認されたものの、雄では精子が認められず、F<sub>1</sub>雄は不妊の可能性が高い事が明らかとなった。これに対し、BCでは雌雄共に配偶子の形成が確認され、またmtDNAと核DNAが不一致の雌個体においても正常な卵形成が確認された(図6)。これらのことから、アブラハヤとタカハヤの雑種の継代は、F<sub>1</sub>雌とアブラハヤないしはタカハヤの雄との戻し交雑により生じ、戻し交雑個体の雄においては妊性が回復していることが視われた(図7)。なお、フローサイトメーターを用いてF<sub>1</sub>とBCの倍数性を調べた所、何れの個体においてもアブラハヤとタカハヤの近縁種である *Phoxinus eos* と *P. neogaeus* の雑種に見られる様な異質3倍体は確認できなかった<sup>1)</sup>。

(6) 外来個体由来のゲノムの浸透度を見るためMS情報を用い、八手俣川の集団ならびに紀伊半島伊勢湾流入河川の集団についてアサイメントテストを行った。八手俣川の集団についてクラスター数(K)を3と仮定して解析したところ、タカハヤは在来と外来の2クラスターに分離し、外来のクラスターは源流域の集団を除く多くの集団において見られた。また、紀伊半島伊勢湾流

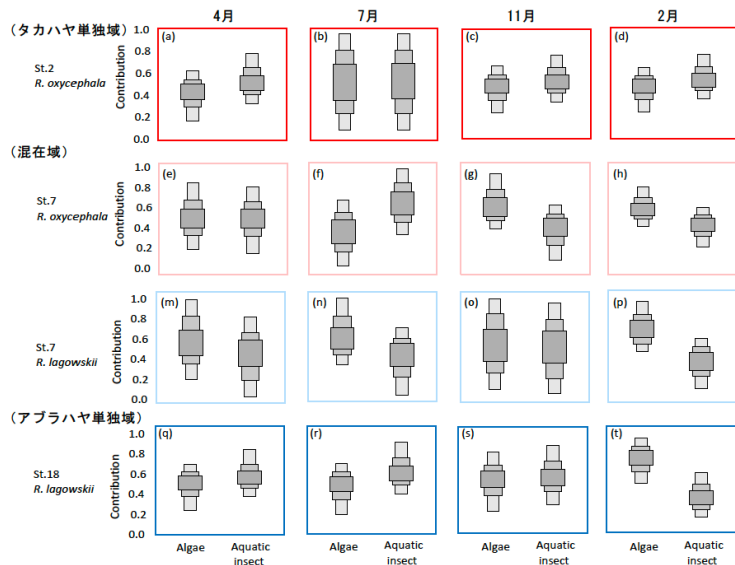


図4. アブラハヤとタカハヤにおける各餌生物の寄与率

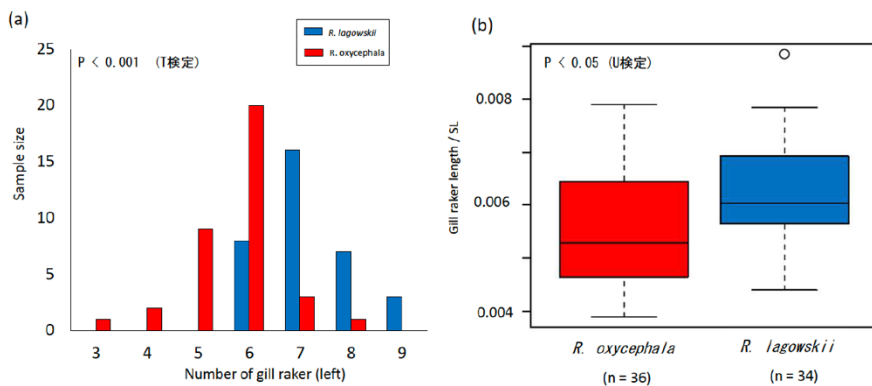


図5. 鰓耙数の鰓耙の長さにおけるアブラハヤとタカハヤの違い  
a) 鰓耙数, b) 鰓耙の長さ

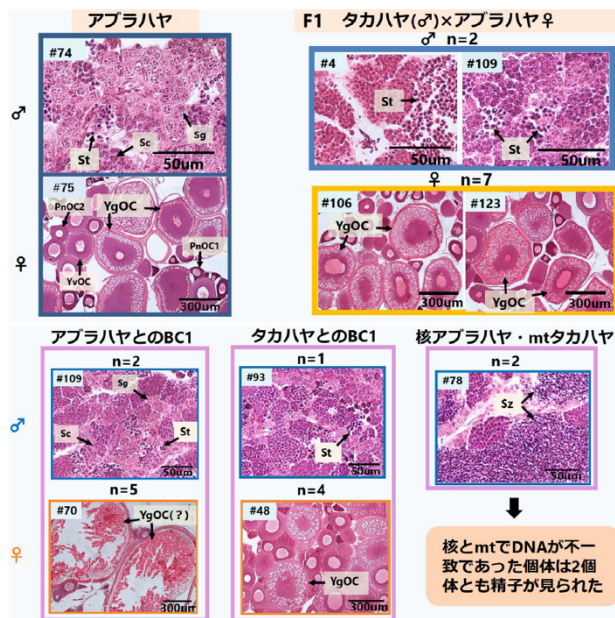


図6. アブラハヤとタカハヤの雑種の各タイプにおける生殖腺の組織像  
Sg: 精原細胞; Sc: 精母細胞; St: 精細胞; Sz: 精子; PnOC(1,2): 周辺仁期(全期, 後期); YvOC: 卵黄胞期; YgOC: 卵黄球期

(6) 外来個体由来のゲノムの浸透度を見るためMS情報を用い、八手俣川の集団ならびに紀伊半島伊勢湾流入河川の集団についてアサイメントテストを行った。八手俣川の集団についてクラスター数(K)を3と仮定して解析したところ、タカハヤは在来と外来の2クラスターに分離し、外来のクラスターは源流域の集団を除く多くの集団において見られた。また、紀伊半島伊勢湾流



入河川の集団についても K=3 で解析したところ、八手俣川の集団と同様の傾向が認められた(図8)。なお、アブラハヤについては外来(琵琶湖産)の mtDNA は検出されたもののタカハヤとは異なり、外来個体由来と思われる核ゲノムは検出できなかった。八手俣川の集団においてアブラハヤとタカハヤの交雑個体におけるタカハヤの外来ゲノムの浸透度はかなり高い事がわかったが、タカハヤと比べて浸透度に大きな違いは見られなかった。

(7) アブラハヤとタカハヤの交雑に対する環境改変の影響を見るため、堰堤・砂防ダムの人工構造物に挟まれた区間(St)における交雑個体の有無を目的変数、その St の流程距離を説明変数としてロジスティック回帰分析を行った。その結果、有意確率  $p < 0.001$  となり、堰堤間の流程距離と交雑個体の出現率の間に有意な負の相関があることが判った(図9)。また、MS データから推定された各 St における近親交配の有無について流程距離との相関を調べたところ有意確率  $p = 0.03$  となり、流程距離の短さが近親交配に有意な影響を与えている事が判った。

(8) アブラハヤとタカハヤの交雑個体において外来個体由来のゲノムの割合が高かったことから、外来個体の侵入が両種の交雑に与える影響は考えられるものの(図8)、人工構造物による生息環境の隔離が交雑率の増加を促している影響も無視できないことが判った(図9)。両種の混生域における交雑率の高さは交配前隔離がほとんど存在しないことによるものの、集団が交雑個体のみの Hybrid swarm の状態に達しない理由として、F<sub>1</sub> 雄における妊性の低さが一つの要因として考えられた。今後の課題として、外来個体が存在しないアブラハヤとタカハヤの混生域において同様の調査を行い、今回の結果の検証を行うことが必要と思われる。

<引用文献>

1) Goddard, K. A. and Dawley, R. M. 1990. Clonal inheritance of a diploid nuclear genome by a hybrid freshwater minnow (*Phoxinus eos-neogaeus*, Pisces: Cyprinidae). *Evolution* 44: 1052–1065.

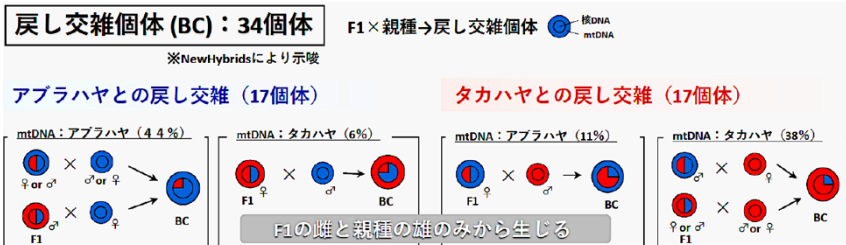


図7. アブラハヤとタカハヤの交雑個体におけるDNA分析と繁殖特性調査の結果から考えられる雑種の継代プロセス(仮説)

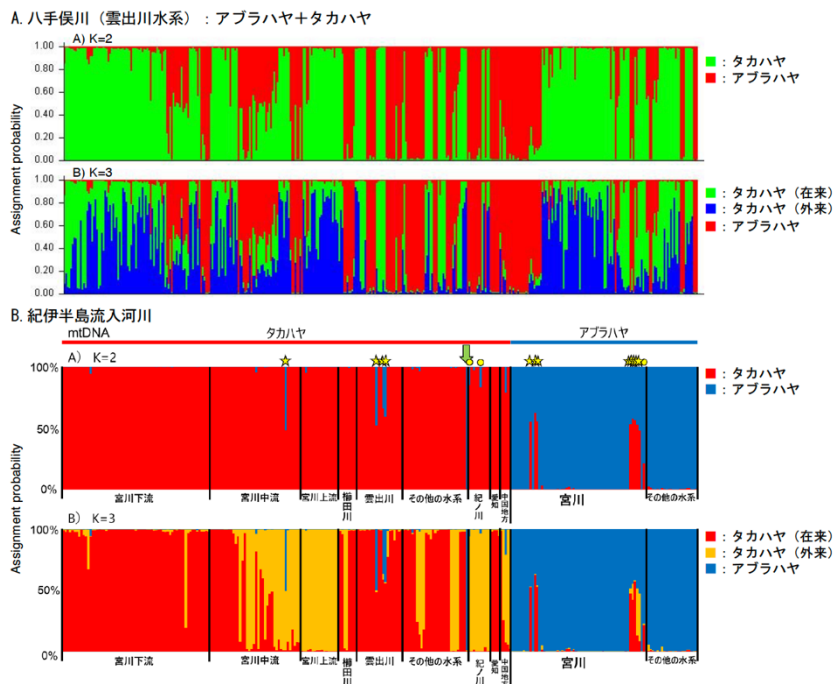


図8. MS情報を用いた交雑解析(アサイメントテスト)の結果

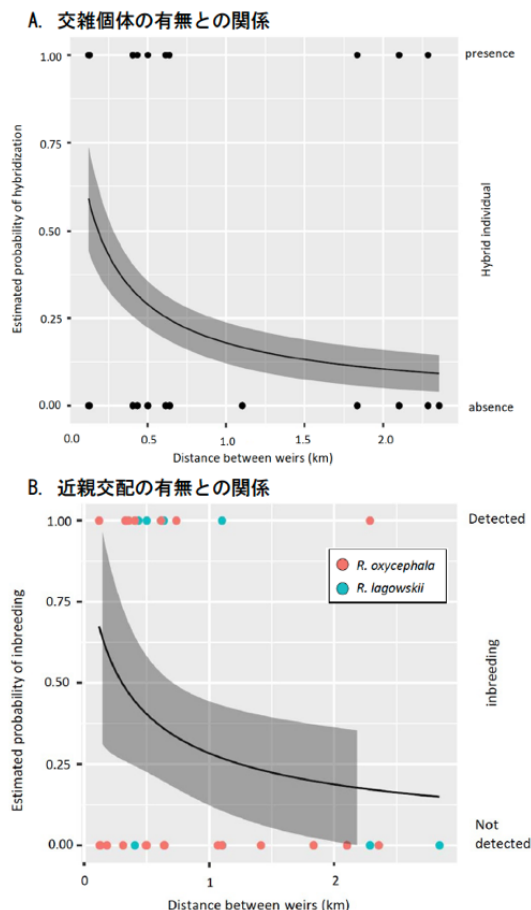


図9. ロジスティック回帰分析による生息水域の規模(流程距離)との関係 ( $p < 0.001$ )

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miyake Takuya, Nakajima Jun, Umemura Keitaro, Onikura Norio, Ueda Takayoshi, Smith Carl, Kawamura Kouichi	4. 巻 99
2. 論文標題 Genetic diversification of the Kanehira bitterling <i>Acheilognathus rhombeus</i> inferred from mitochondrial DNA, with comments on the phylogenetic relationship with its sister species <i>Acheilognathus barbatulus</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Fish Biology	6. 最初と最後の頁 1677 ~ 1695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jfb.14876	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kawamura Kouichi, Miyake Takuya, Smith Carl	4. 巻 23
2. 論文標題 Population genetic structure and demographic history of <i>Rhodeus atremius suigensis</i> , an endangered bitterling in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Conservation Genetics	6. 最初と最後の頁 885 ~ 901
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10592-022-01461-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 生駒 歩, 戸田 竜哉, 長崎 哲新, 河村 功一	4. 巻 69
2. 論文標題 三重県宮川水系ならびに近隣水系におけるアカザ <i>Liobagrus reinii</i> の遺伝的集団構造	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 魚類学雑誌	6. 最初と最後の頁 7 ~ 20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11369/jji.21-016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Li Fan, Smith Carl, Kawamura Kouichi, Vetesnik Lukas, Arai Ryoichi, Reichard Martin	4. 巻 103
2. 論文標題 Unusual egg shape diversity in bitterling fishes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ecology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ecy.3816	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小野花純・河村功一
2. 発表標題 雲出川の天然混生域におけるアブラハヤとタカハヤの遺伝的關係
3. 学会等名 日本魚類学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊東茶宥・戸田竜哉・河村功一
2. 発表標題 mtDNAから見た近畿・東海地方におけるタカハヤの遺伝的特徴
3. 学会等名 日本魚類学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河村功一
2. 発表標題 遺伝情報から見た国内外来種による遺伝的攪乱の実態
3. 学会等名 水産育種研究会シンポジウム：日本の希少な水圏生物を守るために遺伝学に何ができるのか？（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河村功一
2. 発表標題 遺伝情報から見たスイゲンゼニタナゴの歴史
3. 学会等名 スイゲンゼニタナゴの保全を考えるワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 河村功一（岩槻 邦男、太田 英利編）	4. 発行年 2022年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 350
3. 書名 環境省レッドリスト 日本の絶滅危惧生物図鑑（魚類）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	古丸 明  (Komaru Akira)  (10293804)	三重大学・生物資源学研究科・教授    (14101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------