

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 18 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21570093

研究課題名（和文）

希少生物の保護と環境保全

研究課題名（英文）

Conservation of endangered animals and their habitats

研究代表者

宮崎 淳一 (MIYAZAKI JUNICHI)

山梨大学・教育人間科学部・教授

研究者番号：80229830

研究成果の概要（和文）：遺伝学的な解析によって、東海ナガレは形態学的・生態学的に類似するナガレホトケドジョウではなく、ホトケドジョウに近縁であることを示し、東海ナガレがナガレホトケドジョウと同様に奥山の細流に生息するために、形態学的に平行進化したことを明らかにした。東海ナガレは、ホトケドジョウの7地域集団とナガレホトケドジョウの2地域集団とともに保護すべき重要な保全単位であることを示した。ダム建設予定地付近の移植先候補地で、生態学的調査と遺伝学的解析を行い、この移植候補地が移植先として適していることを示した。

研究成果の概要（英文）：Three of five *Lefua* (eight-barbel loach) species are assigned to endangered species. We showed, by mitochondrial and nuclear DNA sequencing, that a possibly new species inhabiting the Tokai district was more closely related to *Lefua echigonia* than to *Lefua* sp., although the species is morphologically and ecologically similar to *Lefua* sp. These results indicated parallel evolution between the species and *Lefua* sp. due to adaptation to montane streams. The species, as well as 7 populations of *Lefua echigonia* and 2 populations of *Lefua* sp., should be protected as evolutionary significant units. The species is threatened by dam construction. To save the species, we studied the species and its habitats ecologically and genetically and prepared for transfer of the species from quenching habitats due to dam construction to appropriate sites for protecting the species.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：絶滅危惧種・生物多様性・系統保存・ミトコンドリア・調節領域

1. 研究開始当初の背景

近年生物の絶滅はますます加速していると言われており、現に多くの生物が絶滅に瀕

している。自然の豊かさを享受するためにも、また子孫により良い環境を残すためにも、生物多様性の維持と希少生物の保護は極めて

重要な課題である。希少生物の系統保存は、研究機関などで希少生物を継代飼育して保護することをねらう“保存(Preservation)”と、希少生物を生息環境と共にその地域で管理し、それによって生物多様性を回復させてさらに希少生物に適した環境を作り、保護することをねらう“保全(Conservation)”という2つの概念からなる。ホトケドジョウ類の生息する里山や山間部の細流は人間の活動の影響を受けやすく、近年環境破壊がはなはだしい。ホトケドジョウ類の生息数は激減し、絶滅危惧種に指定され、その保護が求められている。それゆえホトケドジョウ類は絶滅に瀕している希少生物の代表として研究対象とするのにふさわしい。これまでに日本各地および韓国から得られたホトケドジョウ類4種に関して、ミトコンドリア調節領域の塩基配列を比較することによって広範に遺伝的解析を行い、その内1種は6地方集団に、もう1種は2地方集団に分けられることを示し、Sakai et al. (Zool. Sci., 2003) 及びMihara et al. (Zool. Sci., 2005)で研究成果を発表した。これらの論文で示したホトケドジョウ類の種間、集団間の類縁関係はホトケドジョウ類の進化史を示すだけでなく、日本における淡水魚類相の形成過程や日本列島の地史を明らかにする上でも大きく貢献すると考えられる。また、これらの地方集団はホトケドジョウ類の保護のための保全単位となることを提唱してきた。希少生物の保護は、種という枠組みで捉えられることが多い。しかし、近親交配による遺伝的な劣化を防ぎ、固有の歴史的な背景を維持するために、遺伝的に近縁な種内の集団を系統としてまとめ、保全単位として設定して保護活動を推進していくことが重要である。

本研究で調査を行う開発事業予定地周辺のホトケドジョウ類(東海ナガレ)については、これまでに十分な調査が行われておらず、保護の指針を提案できる状況に至っていない。開発予定地の調査研究は、元国土交通省土木研究所の依頼を受け2003・2004年度に現地調査を行ったことを契機に進めている。その結果、形態学的・生態学的な類似性からナガレホトケドジョウ(*L. sp.*)とされていた東海ナガレは、別種のホトケドジョウ(*L. echigonia*)に類似するミトコンドリアDNAをもつことが明らかとなり、Miyazaki et al. (Zool. Sci., 2007)で報告した。このことは東海ナガレが、西日本に分布する本来のナガレホトケドジョウと同様に奥山の細流に生息するため形態学的に平行進化したのか、あるいは過去にホトケドジョウと異種間交雑した結果、遺伝子浸透によってホトケドジョウのミトコンドリアDNAをもつに至ったのか、生物学的に解明すべき非常に興味深い現象を示している。つまり、開発事業予定地周辺

に生息する東海ナガレは、他の集団とは異なる歴史をもつ独特の集団である可能性がある。このことはこの集団が新たな保全単位となりうることを示し、早急に何らかの保護対策を講じる必要があることを示唆している。

2. 研究の目的

本研究では日本各地から多くのサンプルを収集し、ホトケドジョウの類縁関係を遺伝学的ならびに形態学的に解析して保全単位を設定するとともに、生息地とその周囲の環境の調査および情報収集を行い、ホトケドジョウ類の生息状況の概要を把握する。

次に、保護と環境保全を実践するために、東海地方のダム建設の予定されている地域に生息している東海ナガレの詳細な遺伝学的解析ならびに生態学的調査を行う。この開発予定地の近隣で既に建設されたダム湖の周辺には、東海ナガレはまったくみられない。既存のダムの建設前には生物調査が行われなかったために、東海ナガレがもともと生息したか否かは現在となつては不明であるが、このことはダム建設によって東海ナガレが絶滅する可能性のあることを物語っている。ダム建設が着工されるとなれば、東海ナガレを保護するための施策を講じなければならない。

これまで、開発によって環境の変動が起こってから、希少生物の生息状況や生態調査が行われる場合がほとんどであった。しかし、最近ようやく、開発事業に伴い事前に生物調査を行い、希少生物が生息する場合には保護対策を講じることが要求されるようになった。本研究では、ダム建設予定地周辺の東海ナガレの分布・生息状況を詳細に調べ、遺伝子汚染を回避して移植などを行うために遺伝的解析を行い、また、ダム建設予定地周辺で建設の影響を受けにくい移植先を選定するために、綿密な生態学的調査を行う。さらに、移植先の東海ナガレとその生息環境が保全されていることを評価する。

3. 研究の方法

(1)ホトケドジョウ類の進化史と日本列島における淡水魚類相の形成過程ならびに日本列島の地史との関連を明らかにするため、これまでの研究をさらに進展させ、日本各地から多くのサンプルを収集し、ホトケドジョウ類の類縁関係を遺伝学的ならびに形態学的に網羅的に解析する。これに基づき、新たな保全単位の存在を明らかにし、さらに細分化した保全単位を設定する必要があるか否か検討する。特に東海ナガレについては、ナガレホトケドジョウに一致する形態学的・生態学的特性を示しながら、ホトケドジョウに類似するミトコンドリアDNAをもつという生物学的問題を、形態学的・生態学的平行進化によるものなのか、ミトコンドリアDNAの遺

伝子浸透によるものなのかに焦点をあてて、核 DNA の塩基配列を比較することによって解決する。

(2) 保全 (Conservation) を実践するために、東海地方のダム建設予定地周辺の東海ナガレの分布を詳細に調べ、遺伝子汚染を回避して移植などを行うための遺伝的な解析を行う。ダム建設予定地周辺で建設の影響を受けにくい移植先を選定するために、水質・水量・勾配・底質・隠蔽物の質や頻度などの環境要因と共に餌動物の種類とその生息密度などを生態学的に綿密に調査する。また、移植地がダム建設の影響を受けずに良好に保たれ、移植先で東海ナガレが健全に繁殖しているか否かを調査し、東海ナガレとその生息環境が保全されていることを評価する。開発事業に伴う事前調査から事後アセスメントまでの研究をモデルケースをとして位置づけ、ホトケドジョウ類をはじめとする希少生物の保護、生物多様性の保存、環境保全のための科学的な指針を社会に発信していく。

4. 研究成果

(1) 日本各地から得られた多数のサンプルの遺伝学的解析を行った。ミトコンドリア調節領域の塩基配列を基にした樹形図から、ヒメドジョウ (*L. costata*)、エゾホトケドジョウ (*L. nikkonis*)、*L. pleskei* の 3 種が単系統群を形成し (このうちエゾホトケドジョウと *L. pleskei* が最も近縁)、ホトケドジョウ (*L. echigonina*) とナガレホトケドジョウ (*L. sp.*) が単系統群を形成すること、ホトケドジョウは 7 地方集団に、ナガレホトケドジョウは 2 地方集団に分けられることが明らかとなった。また、東海ナガレは形態学的・生態学的に類似するナガレホトケドジョウではなく、遺伝学的にはホトケドジョウに近縁であることが明確に示された。しかし、ミトコンドリアは近縁な種の間での交配によって伝播 (遺伝子浸透) しやすいため知られているので、この結果のみでは核と独立して DNA をもつミトコンドリアがホトケドジョウから (本来はナガレホトケドジョウに近縁である) 東海ナガレに遺伝子浸透し、見かけ上ホトケドジョウと東海ナガレが近縁に見える可能性を否定できなかった。そこで、核のリボソーム S7 サブユニット 1st イントロンの塩基配列に基づく樹形図を作製したところ、ミトコンドリア D-loop 領域の場合と同様の結果が得られた。したがって、東海ナガレはミトコンドリアの遺伝子浸透によってホトケドジョウに近縁に見えるのではなく、遺伝学的に (核でもミトコンドリアでも) 明確にホトケドジョウに近縁であることが示された。このことは東海ナガレが西日本に分布するナガレホトケドジョウと同様に奥山の細流に生息する (すなわち同様の生態学的

特性をもつ) ために、形態学的に平行進化したことを示唆している。それゆえ、東海ナガレは独特の進化的背景をもつホトケドジョウ類であり、ホトケドジョウの 7 地域集団とナガレホトケドジョウの 2 地域集団とともに保護すべき重要な保全単位であることが明らかとなった。

上記の結果をまとめ、Miyazaki et al. (Mol. Phylogenet. Evol., 2011) で発表した。

(2) 東海地方のダム建設予定地において東海ナガレの保全 (Conservation) を実践する調査研究は、2003 年度から行ってきており、既にその成果を奥山ら (山梨大学教育人間科学部紀要, 2007)、森澤ら (山梨大学教育人間科学部紀要, 2009) で報告した。2009 年度からは、これまでの事前調査によって移植先候補地として選定した愛知県新城市豊川水系音為川支流の鳳来寺の沢で主な調査を行った。

① 個体群動態調査

2008 年 4 月～2012 年 2 月において、20 匹以上 (3 人で 30 分間採集) の個体が捕獲できた月が多く、東海ナガレは鳳来寺の沢に豊富に生息していることがわかった。個体全長のヒストグラムから、8 月から全長 30mm 以下の個体が多くみられるようになることが示された。これらは 3 月から 6 月頃に孵化した個体が成長したものであると考えられた。東海ナガレの繁殖期はまだ明らかになっていないが、全長 30mm 以下の個体が 2 月までみられたことから、繁殖期はかなり長いと推定された。

② 個体数推定調査

既に生息している場所に移植する際には、移植によって総個体数が増加するため、棲み場所 (隠れ場所)、産卵基質、餌資源などに関する個体間の競争が多かれ少なかれ増加すると考えられる。移植先にどのくらいの個体数を養う許容力があるのかを知ることができれば、移植の可否やどのくらいの個体数を移植可能か判断することができる。許容力を推定するため、鳳来寺の沢で標識再捕法によって、個体数推定を行った。推定された個体数は、192～643 (平均は 371) 個体であった。推定個体数は 6 月から 12 月にかけて増加し、2 月に減少した。また、調査期間中に流下した個体は見られたが、遡上した個体は見られなかった。

遺伝的攪乱を防ぐための遺伝学的解析

③ ミトコンドリア調節領域の遺伝学的解析によって、鳳来寺の沢と設楽ダム建設予定地付近の東海ナガレの塩基配列には、大きな違いがないことが明らかになった。両者の間で D-loop 領域 844bp において 3～4 bp の相違 (平均 3.3bp) があつた。

上記の①～③の結果より、鳳来寺の沢は移植地として適していると判断され、移植の準備が整った。

④新移植候補地の探索

希少種を保護するためには、危険分散のため、複数の場所に移植することが望ましい。そこで、過去に東海ナガレが生息したと思われるが、現在は生息が確認されていない沢を3箇所選び、消滅した原因を探り、生息に適した環境に改善しうるか検討するために、環境調査を行った。調査地のうち2箇所では、設置した水位水温計が流されるほどの水圧で急激な水位変化が起こったので調査を打ち切った。一方、もう1箇所では急激な水位変化はみられず、今後底生生物相の調査などを継続する予定である。また、然るべき施設で継代飼育を行うこともこの希少なホトケドジョウ類を保護していく上で有効な方法なので、水族館などの機関に依頼した。

上記の結果をまとめ、小森ら（山梨大学教育人間科学部紀要、2012）で発表した。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計2件）

① 小森綾奈、松寄あかね、五味愛子、中沢公士、浅香智也、宮崎淳一、ホトケドジョウの保護のための3年間にわたる現地調査の報告（予報）、山梨大学教育人間科学部紀要、査読無、Vol. 13、2012、pp. 12-21

② J.-I. Miyazaki, M. Dobashi, T. Tamura, S. Beppu, T. Sakai, M. Mihara, and K. Hosoya, Parallel evolution in eight-barbel loaches of the genus *Lefua* (Balitoridae, Cypriniformes) revealed by mitochondrial and nuclear DNA phylogenies, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 査読有, Vol. 60, 2011, pp. 416-427

〔学会発表〕（計2件）

① 田村敏雄、望月茉莉、東城幸治、宮崎淳一、西日本におけるホトケドジョウ類の遺伝学的解析. 2009年度日本魚類学会年会、2009年10月10日、東京海洋大学

② 宮崎淳一、田村敏雄、土橋学、森澤貴之、ホトケドジョウ類の進化と保護、2009年度日本魚類学会年会、2009年10月11日、東京海洋大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮崎 淳一 (MIYAZAKI JUNICHI)
山梨大学・教育人間科学部・教授
研究者番号：80229830

(2) 研究分担者（2009年度）

東城 幸治 (TOJO KOJI)
信州大学・理学部・助手

研究者番号：30377618

(3) 連携研究者（2010、2011年度）

東城 幸治 (TOJO KOJI)
信州大学・理学部・助手
研究者番号：30377618