

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07273

研究課題名（和文）シマドジョウ種群の繁殖干渉：農環境の変化による稀少種間の同所的繁殖と絶滅リスク

研究課題名（英文）Reproductive interference between endemic *Cobitis roach* fishes: sympatric spawning and extinction risk triggered by changes of agricultural environments

研究代表者

高倉 耕一（Koh-Ichi, Takakura）

滋賀県立大学・環境科学部・准教授

研究者番号：50332440

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、琵琶湖固有・絶滅危惧種であるピワコガタスジシマドジョウ（コガタ）の減少要因を明らかにし、保全策に応用することである。まず、野外調査により、近縁種のオオガタスジシマドジョウ（オオガタ）成魚の密度が高いと、コガタの産卵が妨げられることを示した。次に、分子生物学的解析により、オオガタ雄がコガタ雌に求愛していることを示した。これらの事実は、この2種間に繁殖干渉が生じていることを示している。最後に、保全策の一つとして、繁殖地内にコガタだけが繁殖することを期待した水田様環境を創出した。この環境創出後の2回（2018年と2019年）の繁殖期でコガタの稚魚が実際に増加したことを確かめた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

異なる種の間での配偶（求愛や送粉）が繁殖を阻害する現象である繁殖干渉は、近年になって実証研究が増加してきたものの、実際の保全に応用された例はなかった。本研究は、琵琶湖固有な絶滅危惧種のピワコガタスジシマドジョウについて、その減少要因が繁殖干渉であることをいくつかの調査・分析から明らかにし、さらにこの知見を応用した本種の保全策を提案・実施した。繁殖干渉というメカニズムを明らかにしたことから、具体的かつ検証可能な保全策を策定することができ、現在知られる唯一の繁殖地においてその有効性を確かめることができた。

研究成果の概要（英文）：The aims of this study were to understand the mechanism that has drove *Cobitis minamorii oumiensis*, an endemic roach fish, into the threat of extinction and to submit some feasible plans to conserve the species. First, we showed that the juveniles were produced less in the years when the adults of the related species, *C. magnostriata*, were abundant at a spawning site. Second, our molecular biological study demonstrated that the *C. magnostriata* males courted *C. minamorii oumiensis* females and they hybridized. These facts supported that the reproductive interference, interspecific sexual interaction with female reproductive cost, existed between the two related species. In final, we made some modification of the spawning environment to create some paddy field-like pools that works as *C. minamorii oumiensis* specific spawning sites. The modification was made prior to the spawning season of 2018 and the densities of *C. minamorii oumiensis* juveniles increased at newly-created pools.

研究分野：個体群生態学

キーワード：固有種 絶滅危惧種 保全生態学 生物間相互作用 種間求愛

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、理論的および実証的研究の蓄積により、近縁種間における性的な相互作用、すなわち繁殖干渉が生態現象にきわめて大きな役割を果たしていることが知られるようになってきた。この現象は、異種間で生じる求愛や交尾がメスの繁殖成功率を低下させることにより、異種の影響を受けやすい少数派の種がより大きな影響を受け、さらに少数派となることを指す。繁殖干渉はこのような正のフィードバックを伴うため、容易に一方の種の排除をもたらす。このことを示す実証例も近年は蓄積されつつあるものの、それらの多くは外来種による在来種の排除が繁殖干渉によるものであることを明らかにしたものだ。在来の近縁種間でも繁殖干渉が生じた可能性はあるものの、繁殖干渉のように敵対的で一方の種の排除をもたらす相互作用は、安定的に持続し得ないと理論的に予測され、在来種間で現在生じている繁殖干渉の実証的研究は困難と考えられ、その例もなかった。

一方で、絶滅が危惧されながらも、その要因が明らかでない在来種も相当数存在する。日本最大の淡水湖である琵琶湖の固有種もその例である。琵琶湖は世界的にも有数の古代湖であり、その水系は多くの固有水生生物を擁する。しかし、魚類に限っても固有な 16 種のうち 12 種について絶滅が危惧され、本水域の生物相は危機的状況にあると言ってよい。その要因として水辺環境の開発や捕食性外来魚の侵入などが考えられているものの、その多くは状況証拠に基づくもので、必ずしも実証的に検証されたものではない。現状で未解明の絶滅危惧要因として、在来種同士の繁殖干渉はその可能性を検討することすらされてこなかった。

研究代表者らは、圃場整備や農事歴の変更等に代表される農業環境の変化が、在来種間の繁殖干渉を引き起こし、琵琶湖周辺域においてはそれが一部の固有種の存続を脅かしている可能性があると考えた。琵琶湖固有種の魚類の中には、繁殖期に水田および水田に接続する水路に遡上し、それらの環境で繁殖を行うものが多い。2 種の琵琶湖固有種を含むスジシマドジョウ種群もそのような繁殖生態を持ち、またいずれも絶滅が危惧されていることから、繁殖干渉が重要な要因である可能性が考えられた。また、繁殖干渉は誤った求愛行動、すなわち個体の行動によるものである。そのため、繁殖干渉が絶滅危惧の要因であることが実証されれば、個体の行動を変化させるような比較的小規模な操作により、事態の改善を図ることができる可能性が出てくると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、2 種の琵琶湖固有種、ピワコガタスジシマドジョウとオオガタスジシマドジョウを対象とした。2 種ともに絶滅が危惧されているが、特にピワコガタスジシマドジョウについては、既知の繁殖地が滋賀県高島市内の 1 箇所しかなく、そこでの再生産も極めて限定的で、近い将来の絶滅が特に危惧される。本研究はこの唯一の繁殖地を調査地とし、2 種間における繁殖干渉を実証するとともに、その緩和によりこれらの固有種、特にピワコガタスジシマドジョウの保全に資する実効的な対策を提案・検証することを目的とした。

(1) スジシマドジョウ類における繁殖状況の調査

野外調査によって、コガタとオオガタの繁殖が時空間的に重なっていることを明らかにするとともに、2 種の繁殖成功を稚魚の再生産、およびメス成魚の産卵成功を指標として評価した。形態形質では稚魚を同定することはできないので、ミトコンドリア DNA の部分配列の違いを利用した分子マーカーを利用した。

(2) スジシマドジョウ類における繁殖干渉の実証

2 種間での繁殖干渉を実証するため、屋外環境または水槽環境で繁殖行動を観察することを試みた。両種ともに夜間に繁殖行動を行うため、赤外線ビデオカメラ撮影により 2 種間での求愛が生じることを直接観察することとした。

また、直接観察が困難な場合に備え、2 種間における性的な相互作用の存在を、雑種の有無により検証する。野外調査で採集されたスジシマドジョウ類の稚魚について、ミトコンドリア DNA と核 DNA を分析し、種間交雑の痕跡を探索した。種間交雑は、種間求愛に始まる一連の性的な相互作用の中で最終段に位置する。そのため、種間雑種の稚魚がわずかな割合であっても見いだされるとすれば、その背後には膨大な種間相互作用が存在していることの実証となる。

(3) スジシマドジョウ類の繁殖干渉緩和・保全策の検証

2 種のスジシマドジョウ類、特にピワコガタスジシマドジョウの衰退要因が繁殖干渉であるならば、それぞれの種の行動や分布を変化させて 2 種の繁殖環境が重複しない状態を作り出すことにより、それぞれの種の繁殖状況が改善され、個体群を健全な状態に戻すことができると期待される。そこで、現在知られる唯一のピワコガタスジシマドジョウ繁殖地において、新たな小規模水域を数区画創出し、繁殖地内における環境勾配の幅を大きくすることを試みた。同時に、繁殖地内のそれぞれの区画において稚魚の調査を行い、新たに創出した区画でピワコガタスジシマドジョウが繁殖しているかどうかを検証した。

3. 研究の方法

(1) スジシマドジョウ類における繁殖状況の調査

調査地内の水路を小区画に分割したうえで、繁殖地内に通水される4月末から7月はじめの期間(年によって通水期間は前後した)に、1~2週間に一度の頻度で各区画ですぐい取り調査を行い、稚魚と親魚を採集した。また、このすぐい取り調査に合わせて、調査地内への取水口にトラップを設置し、調査地内に遡上する個体の頻度を調査した。また、調査地から水が落とされる日(繁殖期の実質的な終了日)に合わせて、排水口にトラップを設置し、繁殖期終了時まで繁殖地に残っていた個体を採集した。

採集された親魚はその性と体長を記録し、繁殖期終了時に採集されたメスについては卵巣内に残存している卵の有無、すなわち産卵に成功したかどうかについても調べた。

採集された稚魚については、DNAを抽出し、ミトコンドリアDNAの部分配列の違いを検出するPCRマーカーを用いて、ビワコガタスジシマドジョウであるかオオガタスジシマドジョウであるか識別した。

(2) スジシマドジョウ類における繁殖干渉の実証

飼育環境での求愛行動を観察するためにはそのための個体を準備する必要があるが、特に絶滅が危惧されるビワコガタスジシマドジョウについて十分な数の野生個体を採集することは困難と考えられた。そのため、ドジョウを専門とする種苗生産業者に委託して、少数の野外採集個体から観察用の個体を育成し、これを観察に用いることとした。

野外でも求愛行動を観察することを目指したが、そのために水上からの目視観察と、水中でのビデオ撮影を併用することとした。

直接的な行動の観察が困難な場合に備え、核DNAの配列情報をもとに、野外で採集された稚魚の中から交雑個体を探索することを目指した。そのため、既知の核DNAの部分配列をもとに10数個のPCRマーカーを開発し、その中から種判別・雑種判別に用いることができるものを選抜した。そして、ミトコンドリアDNAマーカーにより、母親がビワコガタスジシマドジョウであることが確認された稚魚を対象として、雑種の有無を探索した。ここで、母親がビワコガタスジシマドジョウである稚魚を対象に限ったのは、種間求愛によりメスの適応度が低下する場合に繁殖干渉の影響が大きくなるためである。

(3) スジシマドジョウ類の繁殖干渉緩和・保全策の検証

2018年の繁殖期の前に、調査地の陸地の一部を掘り下げ、水深が浅く水の交換が生じにくい、つまり水温が上昇しやすい水域を創出した。ビワコガタスジシマドジョウの本来の繁殖地であるとされる水田環境に似た水域を創出することで、オオガタスジシマドジョウが侵入しにくく、ビワコガタスジシマドジョウ単独で繁殖する環境となることを期待したものである。2018年および2019年では、引き続き調査地内を区画分けした上ですぐい取り調査を実施し、捕獲されるビワコガタスジシマドジョウの稚魚が増加するかどうか、また捕獲された場合に新たに創出した水域やその近傍の区画であるかどうかを調べた。

4. 研究成果

(1) スジシマドジョウ類における繁殖状況の調査

オオガタスジシマドジョウの稚魚は1年間に200個体以上捕獲された一方で、ビワコガタスジシマドジョウの稚魚は少ない年には1個体、多い年でも35個体しか捕獲されなかった。いずれの年でも、ビワコガタスジシマドジョウの成魚は調査地に遡上していたことに合わせて、繁殖期の終わり(調査地から水がなくなる日)でも産卵を終えないまま琵琶湖に戻るビワコガタスジシマドジョウのメスが多かったことから、本種で再生産が行われない理由は、親魚がいないからではなく、遡上した親魚が何らかの要因により産卵できないことによることが示された。

調査地内におけるビワコガタスジシマドジョウの頻度が小さかった年では、繁殖期の終わりに捕獲された本種メス成魚の繁殖成功率(繁殖期間中に産卵することができた個体の割合)が特に小さかった(図1)。このことは、オオガタスジシマドジョウによるビワコガタスジシマドジョウへの繁殖干渉が存在することを示唆している。

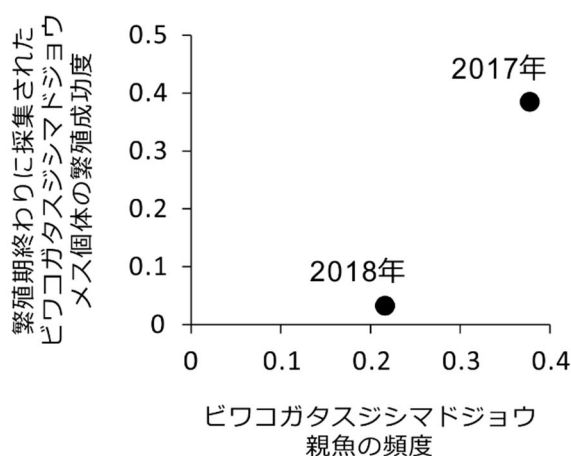


図1 2017年および2018年の調査地内におけるビワコガタスジシマドジョウの頻度とその繁殖成功率(繁殖期終了までに産卵を終えることができたメスの割合)

(2) スジシマドジョウ類における繁殖干渉の実証

野外および飼育環境下で、ピワコガタスジシマドジョウとオオガタスジシマドジョウの間で種間求愛が生じることを観察することを目指したものの、いくつかの要因により実現できなかった。野外では、求愛行動は調査地に水が入ったばかりで水が濁っている時期に、しかも夜間に行われ、観察が困難であった。さらに、調査地に遡上するピワコガタスジシマドジョウは個体数が限られていることから、種間での求愛を観察することはできなかった。その代替として、飼育環境下での観察を目指し、種苗生産を行ったが、十分な体サイズの個体を揃えるには時間が足りなかった。

そこで、野外で採集されたピワコガタスジシマドジョウを母親にもつ稚魚について核 DNA 分析を行い、そのゲノム中にオオガタスジシマドジョウ由来の遺伝子が存在するかどうか探索した。まず、既存の塩基配列情報から複数の候補プライマーを設計し、それをオオガタスジシマドジョウ・ピワコガタスジシマドジョウの同定済み個体を用いて、増幅の特異性を確認した。その結果、ロドプシン遺伝子のタンパク質コード領域に設計したプライマーが、オオガタスジシマドジョウに特異的に反応することを確認した。このプライマーを用いて 2015 年から 2019 年までに採集された稚魚を対象に雑種判別を行ったところ、58 個体のうち 3 個体が雑種（母親ピワコガタスジシマドジョウ×父親オオガタスジシマドジョウ）であったことがわかった（図 2）。

この雑種の発見は、この 2 種のスジシマドジョウの間に性的な種間相互作用が存在することを証明する初めての確実な証拠である。種間の配偶過程において、雑種形成はその最終段で生じることから、それ以前により高い頻度で種間配偶が生じていることが示唆された。

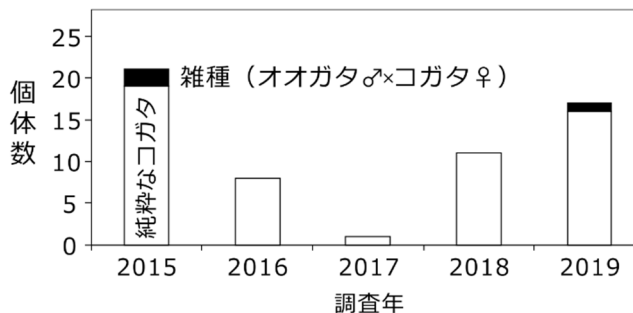


図 2 2015 年から 2019 年までの調査で採集された稚魚のうち、純粋なピワコガタスジシマドジョウ（白抜き）およびオオガタスジシマドジョウとの交雑個体（黒塗）の個体数

(3) スジシマドジョウ類の繁殖干渉緩和・保全策の検証

2018 年の繁殖期に先立って、ピワコガタスジシマドジョウのみが繁殖する環境になることを期待して、水温が上昇しやすい水域を創出したが、その後の 2018 年および 2019 年には、多くのピワコガタスジシマドジョウ稚魚が捕獲された。その数は、この数年間で本種稚魚が最も多く捕獲された 2015 年に匹敵するほどであった。また、2018 年と 2019 年に捕獲された稚魚の多くは、新しく創出された水域の区画やそれに隣接する区画で捕獲されていた（図 3）。これらの結果は、本研究で考案・実施した保全策（水温が上昇しやすい水域の創出）が、ピワコガタスジシマドジョウの再生産に貢献したことを示唆していた。今後の推移を引き続きモニタリングする必要があるものの、この傾向は 2 年連続して一貫しており、2 種間の繁殖干渉を緩和することを目的として行った繁殖環境の改変が、保全策として有効に機能したと考えられた。

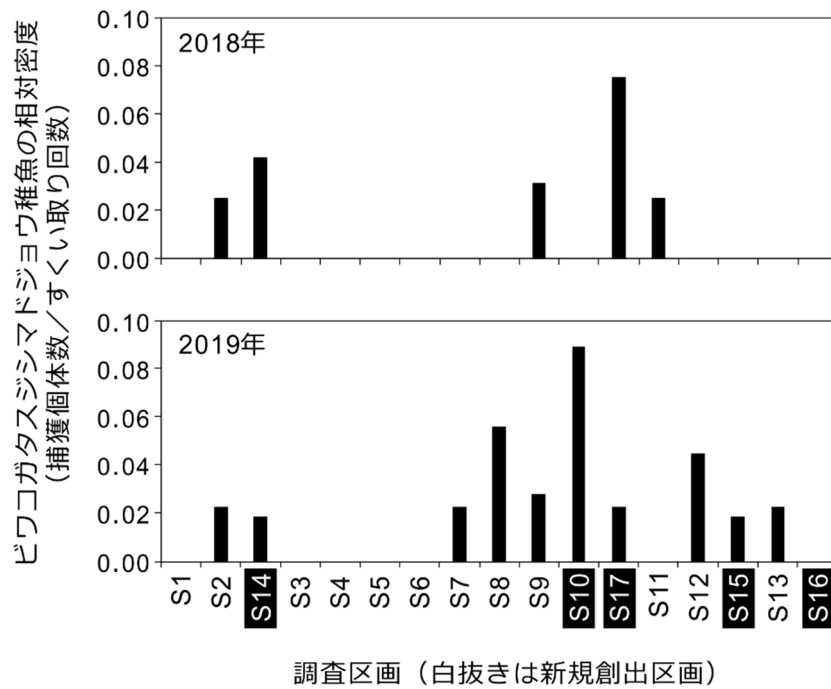


図 3 2018 年および 2019 年に採集されたピワコガタスジシマドジョウの相対密度(捕獲個体数/すくい取り回数). S1~S17 は調査地内水域の区画を示し、図中の並び順はおおよその位置関係を反映している。白抜き文字で示した S10 と S14~S17 は、2018 年の繁殖期に先立って創出した新たな水域の区画を示す。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Morii Kiyohito, Nakano Mitsunori, Takakura Koh-Ichi	4. 巻 101
2. 論文標題 Does simultaneous and sympatric reproduction between two native spined loaches lead to reproductive interference and local extinction?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Environmental Biology of Fishes	6. 最初と最後の頁 1407 ~ 1416
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10641-018-0787-2	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 Morii Kiyohito, Takakura Koh-Ichi	4. 巻 29
2. 論文標題 Age class structure of spawning populations of two endangered endemic striated spined loaches in Lake Biwa river system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn. J. Environm. Zool. Entomol.	6. 最初と最後の頁 135-141
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Morii Kiyohito, Mitsuaki Nakano, Takayoshi Nishida, Takakura Koh-Ichi	4. 巻 29
2. 論文標題 Growth patterns of juveniles observed at a shared spawning site in two closely related species of spined loaches endemic to the Lake Biwa riverine system; <i>Cobitis magnostrata</i> and <i>C. minamorii oumiensis</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn. J. Environm. Zool. Entomol.	6. 最初と最後の頁 49-56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森井清仁・高倉耕一
2. 発表標題 長寿は絶滅へのカウントダウン：絶滅が危惧されるスジシマドジョウ2種の年級群構成
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森井清仁・高倉耕一
2. 発表標題 ピワコガタスジシマドジョウにおける繁殖個体群の高齢化と絶滅のリスク
3. 学会等名 第30回日本環境動物昆虫学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森井清仁・中西康介・中野光議・高倉耕一
2. 発表標題 同所的に繁殖するスジシマドジョウ種群 2 種の対照的な繁殖成功
3. 学会等名 2017年度日本魚類学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kiyohito Morii, Mitsunori Nakano, Kosuke Nakanishi, Koh-Ichi Takakura
2. 発表標題 Extinction driven by reproductive interference between native species in field -a case study of two spined loaches-
3. 学会等名 第33回個体群生態学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森井清仁・中野光議・中西康介・高倉耕一
2. 発表標題 スジシマドジョウ 2 種の保全地における危機と順応的管理
3. 学会等名 第29回日本環境動物昆虫学会年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森井清仁・中西康介・中野光謙・高倉耕一
2. 発表標題 スジシマドジョウ 2 種の種間関係ー資源競争？見かけの競争？繁殖干涉？
3. 学会等名 第65回日本生態学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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	西田 隆義 (Nishida Takayoshi) (60208189)	滋賀県立大学・環境科学部・教授 (24201)	
研究分担者	中西 康介 (Nakanishi Kosuke) (90726746)	滋賀県立大学・環境科学部・研究員 (24201)	