

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 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21710242

研究課題名（和文） 琵琶湖深層コイの保全に向けた生物学的基礎研究

研究課題名（英文） A basic study on the deep-dwelling common carp in Lake Biwa

研究代表者

馬淵 浩司（MABUCHI KOHJI）

東京大学・大気海洋研究所・助教

研究者番号：50401295

研究成果の概要（和文）：琵琶湖の 20m 以深の深層には、比較的純粋に近い日本在来系統のコイの集団が生息することを、核ゲノムの解析により明らかにした。解析にあたっては、日本在来の系統とユーラシア大陸からの導入系統を区別できるような一塩基変異 7 つを核ゲノム中から見出し、交雑の解析に用いた。この 7 つの DNA マーカーはさらに、湖岸のある地点に産着されていた卵の解析にも使用し、その結果、この場所の産着卵の大部分は在来・導入両系統の中間的な交雑状態のものであることが判明した。

研究成果の概要（英文）：A genetic survey using 7 nuclear DNA markers (SNPs) revealed that relatively pure Japanese-native population of common carp survives in the deep (>20m) off-shore waters of Lake Biwa. These 7 SNP markers were also used for the analysis of eggs laid on the plants along a shore, which demonstrated that most of the eggs collected from the study site were hybrids intermediate between the Japanese-native and Eurasian-introduced strains.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2009 年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2010 年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 2011 年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学、資源保全学

キーワード：コイ、琵琶湖、深層、在来系統、保全

1. 研究開始当初の背景

代表者らの研究により、本研究開始前までに以下のことが明らかとなっていた：1) 日本列島には、ユーラシア大陸のコイとはミトコンドリア DNA の塩基配列で明瞭に区別される「日本在来のコイ」が生息する 2) しかし、日本の自然水域に生息するコイの大半は、ユーラシア大陸型（導入型）のミトコンドリア DNA を持つ、3) ところが、琵琶湖の沖合の

20m 以深の「深層」から採集されるコイでは、例外的に高い率（80%）で日本在来型のミトコンドリア DNA が検出される。以上のことから、琵琶湖の深層には、比較的純粋に近い日本在来系統の個体群が例外的に残存している可能性が認識され、2007 年度版の環境省レッドリストでは初めて「絶滅のおそれのある地域個体群」として掲載された。

2. 研究の目的

琵琶湖の深層に生息するコイは、保全すべき重要な個体群である可能性があるが、その生物学的な基礎情報はほとんど得られていないなかった。そもそも、長年にわたって放流されてきたユーラシア大陸系統（導入系統）との交雑状況は全く調べられておらず（母親だけから受け継がれるミトコンドリア DNA の解析では、交雑の状況は把握できない）、また、深場に生息することから鰻の気道弁が発達しているなど普通のコイとは異なる形態的特徴が定性的に指摘されていたものの、この特徴も含め形態・生態的側面に関する実証的な研究は全く行われていなかった。そこで本研究では、この「琵琶湖深層コイ」の現状と実体を把握することを目的に、核 DNA のマーカーを開発して導入系統との交雑状況を把握するとともに、導入系統の標本と比較することにより、形態的特徴を実証的に調べることにした。

3. 研究の方法

まず、漁師から琵琶湖の 20m 以深より採集されたコイを数十尾購入する（冬の沖曳き網で混獲される）。ついで、神奈川県立生命の星・地球博物館において瀬能宏博士の指導の下、鱗立てをしたホルマリン固定標本作製し、これらの標本について、これまでに収集した「導入系統」の標本と比較して形態的な特徴を明らかにする。なお、比較に用いる深層あるいは「導入系統」の標本は全て核 DNA マーカーによる解析により交雑の程度を把握し、とくに深場の標本については日本在来系統に遺伝的に近い個体であるかどうかを確認する（「導入系統」であるかどうか核マーカーで判定）。さらに、判明した各個体の交雑の程度は、形態の比較をする際に考慮に入れる。核 DNA マーカーは、マイクロサテライト領域の内部あるいは隣接領域に存在する一塩基変異（Single Nucleotide Polymorphisms: SNPs）から探索する。日本在来・導入系統の判定には、ミトコンドリア DNA のデータも援用し、その型の判別には、既に開発済みの「アレル特異的プライマーを用いた PCR による判定法」を用いる。

4. 研究成果

(1) 日本在来系統と導入系統を区別する核 DNA マーカーとして、7つのマイクロサテライト領域から 21 個の一塩基変異 (SNPs) を見出し、これらの領域のプライマーデータとともに論文として発表した (雑誌論文①)。この成果は、日本在来系統と導入系統とが核 DNA でも区別できることを初めて明示的に示した点で重要であり、さらに、これにより初めて両者の交雑状況を調べることが可能になったという点で、日本の在来系統を保全

遺伝学的に研究するためのブレイクスルーとなったと評価できる。

(2) 初年度に、琵琶湖深層から約 60 個体のコイの魚体標本を入手した。これらについてミトコンドリア DNA を調べたところ、9 割以上の個体が日本在来型のハプロタイプを保有していた。さらに、本研究で開発した SNPs のうち、互いに隣接しない 7 つを用いて交雑状況を調べたところ、8 割の個体が純粋の日本在来系統に近い個体だった。この結果は、琵琶湖深層には純粋に近い日本の在来系統が残されていることを実証しており、本個体群を保全する大前提を確認した成果としてたいへん意義深い。

(3) 初年度の 2009 年度には、琵琶湖の深層部に近接するある沿岸域で、コイの産卵を観察する機会に恵まれた。調査を進めるうちに、この場所では毎年、産卵に集まったコイを一網打尽にする漁が行われていることを知った。在来系統の保全上好ましくない可能性が高いと判断したので、急遽当初の研究計画を変更し、次年度からは、この場所で産み付けられている卵が日本在来系統のものなのか導入系統のものなのかを調べることにした。

2010 年度には、産着卵の採集方法を確立し、さらに、フナ類の卵（コイと同じ場所に同じタイミングで産み付けられることが多く、外見上コイ卵と区別できない）との遺伝的な簡易識別法（アレル特異的プライマーを用いた PCR による判定法）を開発した。

最終年度の 2011 年度には 4 月から 7 月までの産卵シーズンを通して産着卵を採集することができ、400 個近くの卵についてミトコンドリア DNA マーカーによる解析を行った。その結果、半分以上はフナの卵で、残りの 1/4 が導入型の、3/4 が日本在来型のコイのミトコンドリア DNA を持つことが判明した。コイの卵についてさらに核 DNA マーカーによる解析を行ったところ、ほとんどの卵では日本在来系統と導入系統との中間的な交雑状態であることが判明した。

このような調査結果は、一見、この場所は在来系統の再生産の場としては重要でないことを示しているように見える。しかし、産卵の盛期（5 月）ではない 7 月に採集された卵では、純粋に近い在来系統の卵の割合が非常に高かった。このことは、少なくともこの調査地では、日本在来コイは、導入型のコイやフナが盛んに産卵する時期を避けて産卵していることを示しているのかもしれない。

在来系統コイの産卵傾向や、問題の調査場所の産卵における重要性について結論を下すには、まだ観察の例や観察シーズンの数が不十分であり、別の地点での調査も必要である。そこで、本研究の終了後に、産着卵の解

析に焦点を絞った発展的な研究を新たな科研費により始めることとした。この研究は本研究の後3年にわたって行われることとなったが、その成果は、導入型との交雑が主要な驚異と推察される在来系統の保全策を考える上で、非常に重要な知見をもたらすと期待される。

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6件)

- ① Mabuchi, K., H. Song, H. Takeshima, and M. Nishida. 2012. A set of SNPs near or within STR regions useful for discriminating native Lake Biwa and introduced "Eurasian" strains of common carp. *Conservation Genetics Resources*, (in press). (査読有)
DOI:10.1007/s12686-012-9613-x
- ② Nakatani, M., M. Miya, K. Mabuchi, K. Saitoh, and M. Nishida. 2011. Evolutionary history of Otophysi (Teleostei), a major clade of the modern freshwater fishes: Pangaean origin and Mesozoic radiation. *BMC Evolutionary Biology*, **11**: 177. (査読有)
DOI:10.1186/1471-2148-11-177
- ③ Yamanoue, Y., M. Miya, H. Doi, K. Mabuchi, H. Sakai, and M. Nishida. 2011. Multiple invasions into freshwater by pufferfishes (Teleostei: Tetraodontidae): a mitogenomic perspective. *PLoS ONE*, **6**: e17410. (査読有) DOI:10.1371/journal.pone.0017410
- ④ Matsuzaki, S. S., K. Mabuchi, N. Takamura, B.J. Hicks, M. Nishida, and I. Washitani. 2010. Stable isotope and molecular analyses indicate that hybridization with non-native domesticated common carp influence habitat use of native carp. *Oikos*, **119**: 964-971. (査読有)
DOI:10.1111/j.1600-0706.2009.18076.x
- ⑤ 馬淵浩司・瀬能 宏・武島弘彦・中井克樹・西田 睦. 2010. 琵琶湖におけるコイの日本在来 mtDNA ハプロタイプの分布. *魚類学雑誌*, **57**: 1-12. (査読有)
www.wdc-jp.biz/pdf_store/isj/publication/pdf/57/5701-01.pdf
- ⑥ Matsuzaki, S. S., K. Mabuchi, N. Takamura, M. Nishida, and I. Washitani. 2009. Behavioral and morphological differences between feral and domesticated strains of common carp. *Journal of Fish Biology*, **75**: 1206-1220.

(査読有)

DOI:10.1111/j.1095-8649.2009.02345.x

[学会発表] (計5件)

- ① 馬淵浩司・ソン ハヨン・武島弘彦・中井克樹・瀬能 宏・西田 睦. マイクロサテライト隣接領域の一塩基多型を用いたコイの在来系統の識別(ポスター発表). 日本魚類学会年会. 弘前大学文京町キャンパス. 2011年9月30日-10月1日.
- ② 馬淵浩司. 南太平洋の温帯魚類相との関係(口頭招待講演). 2010年度日本魚類学会シンポジウム「黒潮と日本の魚類相: ベルトコンベアーか障壁か」. 三重県文化会館. 2010年9月26日.
- ③ 馬淵浩司・Thomas Fraser・東 陽一郎・西田 睦. テンジクダイ科の分子系統と"テンジクダイ属"の非単系統性(ポスター発表). 日本魚類学会年会. 三重県文化会館. 2010年9月24-25日.
- ④ 馬淵浩司. 分子系統解析による東アジア魚類相形成史への新たな問題提起: ササノハベラ属と在来コイの研究から(日本魚類学会奨励賞 受賞講演). 日本魚類学会年会. 東京海洋大学品川キャンパス. 2009年10月11日.
- ⑤ 瀬能 宏・馬淵浩司・西田 睦. シーボルトとビュルゲル収集の日本産コイの標本(口頭発表). 日本魚類学会年会. 東京海洋大学品川キャンパス. 2009年10月10日.

[図書] (計1件)

- ① 馬淵浩司. 2010. 外来魚の保全遺伝学的解析・評価法. 鷲谷いづみ・宮下直・西廣 淳・角谷 拓(編). pp. 83-100. 保全生態学の技法. 東京大学出版会, 東京.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
報道関係

- ① 京都新聞・滋賀版の2011年12月10日の遅版、早版の一面で研究が紹介された。「琵琶湖の深さを在来コイを守る」、三好吉彦記者
- ② 月刊アクアライフ 2011年8月号の94-97ページで研究が紹介された。「太古からの使者 古代ゴイを追い 其の二 翻筋斗網」、写真と文、直井秀幸
- ③ 月刊アクアライフ 2009年12月号の156-159ページおよび162-165ページで研究が紹介された。「太古からの使者 古代ゴイを追い」、写真と文、直井秀幸

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬淵 浩司 (MABUCHI KOHJI)
東京大学・大気海洋研究所・助教
研究者番号：50401295

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：