

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24510323

研究課題名(和文) 卵ゲノム解析による琵琶湖の日本在来コイ個体群の維持機構の解明

研究課題名(英文) Reproductive ecology of native Japanese common carp revealed by genotyping of eggs attached to vegetation in Lake Biwa, Japan

研究代表者

馬淵 浩司 (Kohji, Mabuchi)

東京大学・大気海洋研究所・助教

研究者番号：50401295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、絶滅の危機にある琵琶湖の日本在来コイについて、沿岸の水草帯に生み付けられた卵の調査を通して彼らの繁殖生態を知ることが目的とする。放流コイ(大陸から導入された系統)と比べて産卵の時期や場所の違いがあるかを調べるため、長浜市湖北町尾上周辺において4～8月の産卵期に卵を採集し、卵毎にDNAマーカーによる系統判別(在来と導入の判別)を行った。調査を行った4シーズンの結果を総合すると、コイの産卵は、人工的に水位が低く抑えられる6月16日以降(7月や8月)にもかなり行われており、在来系統の卵の割合は、シーズン後半のこの時期に比較的高い傾向が認められた。

研究成果の概要(英文)：The native Japanese strain of common carp has been dramatically affected by invasion of conspecific domesticated strains from Eurasia (introduced strains). Meanwhile, Lake Biwa, the largest freshwater body in Japan, harbors a relatively pure native population of common carp. In this study, reproductive ecology of the native population in Lake Biwa was investigated by genotyping of eggs attached to the vegetation in shallow coastal areas. The eggs were collected at a coastal area in Nagahama City during the reproductive season (from April to August). In the lake, water level is artificially controlled, being kept low after 16 June. Although the low water level reduces the shallow coastal areas in the lake, not a few eggs were obtained even in the low water level period (July and August). Four years (2012-2015) survey indicated that frequency of native strain egg in egg population tended to be higher in July and August than in April and May.

研究分野：魚類系統分類学

キーワード：在来種保全 コイ 琵琶湖 産卵

1. 研究開始当初の背景

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 (mt) 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ことが、研究代表者らによるこれまでの研究により判明している (引用文献、)。しかし、国内の水系では、このようなコイは少数派であり、どこの湖沼・河川でも 50% 以上の個体は、大陸系統の mtDNA ハプロタイプを持っている (引用文献)。大陸から導入されたコイに由来する「導入系統」の養殖コイが盛んに放流されてきた (引用文献) ことを考えると当然の結果だが、日本在来のコイは世界的にも貴重な自然遺産・遺伝資源であることを考えると、この事態は大いに憂慮すべき事態である。

一方、研究代表者らが琵琶湖の全域から 850 個体以上のコイを収集し、mtDNA を調べたところ、20m より浅い領域のコイでは、国内の他の地域と同様に 50% 以上の個体から大陸由来の導入系統のハプロタイプが検出された一方で、沖合 20m 以深の深場のコイでは、80% 以上の個体が日本在来のハプロタイプを保有していた (引用文献)。さらに、5 個 (5 ローカス) の核 DNA マーカーで予備的に導入系統との交雑状況を調べたところ、浅場のコイはほとんどが導入系統かそれに近い交雑個体だったのに対し、深場のコイの多くは、比較的純粋に近い在来系統の個体であった (2011 年度日本魚類学会年会で発表)。以上の結果から、琵琶湖の 20m 以深の個体群は、国内でも非常に貴重な在来系統の個体群であるといえる。研究代表者が中心となって進めた以上の研究の経過を受けて、2007 年版の環境省のレッドリストにおいて初めて、琵琶湖の在来コイ (野生型コイ) の集団は「絶滅のおそれのある地域個体群」として掲載された。

琵琶湖におけるコイの放流は、明治 24 年 (西暦 1891) に始まり (引用文献)、コイヘルペスの蔓延で大量斃死が起こった 2004 年まで行われていた。100 年以上にわたる放流の歴史がありながら、現在でも純粋に近い在来コイの個体群が琵琶湖の深場に存在する事実は注目に値する。放流されたコイに比べて在来コイの個体数が圧倒的に多かった可能性も考えられるが、これとは別に、両者の交雑が急速に進行しないような何らかのメカニズムがあることも考えられる。実は、琵琶湖の漁師や釣り人の中には、在来コイ (琵琶湖ではトンボあるいはゴンボと呼ばれ、細長い体型が特徴とされている) と導入コイ (ヤマトと呼ばれ、体高の高い体型が特徴とされている) とでは、産卵の場所や時期が異なるという話がある。事実とすれば在来コイの保全に積極的に生かすべき知見だが、これまで科学的に検証されたことはない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、琵琶湖の在来コイと導入コイとの間で産卵の場所・時期等の産卵生態に差があるかどうかを産着卵の解析を通して明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

調査は、地元機関 (湖北野鳥センター) の協力が得られる長浜市湖北町の尾上周辺で行った。4-8 月の産卵期に、湖岸の植物体に生み付けられた卵 (産着卵) を毎月 2-3 回、採集した。卵はアルコール固定して研究室に持ち帰り、卵毎に DNA マーカーによる在来・導入系統の判別を行った。mtDNA の系統判別は、アリル特異的プライマーによる簡易識別法 (引用文献) により行い、核ゲノムの在来度判定は、7 つの SNP マーカーのダイレクトシーケンス (引用文献) により行った。なお、琵琶湖の沿岸では、フナ属魚類がコイと同様の卵を同様の時期・場所に産むことが知られているので、卵の mtDNA 判別の際には、フナ属のアリル特異的プライマーも併用した。

コイ・フナ類の産卵は沿岸のごく浅い水域で行われるので、琵琶湖の水位から大きな影響を受ける。1992 年以降の琵琶湖では、コイの産卵期の後期にあたる梅雨・台風シーズンには、水害対策のために人工的に低い水位 (-20cm) に抑えられているが、これによりコイ・フナ類の産卵が抑制されていることが指摘されている (引用文献)。本報告ではこの点に注目し、人工的な水位抑制の基準日である 6 月 15 日以前とその後の時期をそれぞれ産卵期の前期・後期とし、両期間の間でデータの比較を行った。

4. 研究成果

調査地点を固定した 2013 年以降の 3 年間 (2013-2015 年) の結果をまとめると以下ようになる。本報告書の作成時点での全解析卵数は約 1300 個であり、3 年間の前後期別に分けると 1 期あたり約 150-250 個である。このうち約 15-35% がコイ卵であった。産卵期の前・後期の間で mtDNA ハプロタイプの頻度比較をすると、コイ卵の中で在来型ハプロタイプをもつものの割合は、2013 年と 2014 年ではともに、前期で約 50%、後期で約 70-80% であった。2015 年では、前後期共に 90% 以上の卵が在来型ハプロタイプを保有していたが、核 DNA の解析を一部について行ったところ、在来度の平均は前期の卵で約 45%、後期の卵で約 70% であった。以上を総合すると、在来系統の卵の割合は、産卵期の後期の方が高い傾向にあると言えそうである。

この結果は、在来系統の繁殖を促進するためには、人工的な水位調節が行われるようになった 1992 年より前のように、産卵後期 (梅

雨台風シーズン)の水位を不自然に下げ過ぎないことが有効である可能性を示唆していると考えられ、今後の水位管理を再検討する上で非常に重要な結果であるといえる。

なお、本研究を始めた当初は、採集卵の中にはコイとフナ属の卵しか含まないという前提で mtDNA の簡易識別法を使用していたが、本来の最終年度(2014年度)の後半になって、念のために行った塩基配列解析によって、タモロコ属も含まれることが判明した。このため、研究期間を延長し、新たに開発したタモロコ属も識別できる簡易判別法(引用文献)を用いて、全ての判別解析をやり直した。

<引用文献>

- Mabuchi, K., H. Senou, T. Suzuki, and M. Nishida. 2005. Discovery of an ancient lineage of *Cyprinus carpio* from Lake Biwa, central Japan, based on mtDNA sequence data, with reference to possible multiple origins of koi. *Journal of Fish Biology*, 66: 1516-1528. □
- Mabuchi, K., M. Miya, H. Senou, T. Suzuki and M. Nishida. 2006. Complete mitochondrial DNA sequence of the Lake Biwa wild strain of common carp (*Cyprinus carpio* L.): further evidence for an ancient origin. *Aquaculture*, 257: 68-77.
- Mabuchi, K., H. Senou, and M. Nishida. 2008. Mitochondrial DNA analysis reveals cryptic large-scale invasion of non-native genotypes of common carp *Cyprinus carpio* in Japan. *Molecular Ecology*, 17: 796-809.
- 丸山為蔵・藤井一則・木島利通・前田弘也. 1987. 外国産新魚種の導入経過. 水産庁研究部資源課. 東京. 157pp.
- 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.
- 滋賀県水産試験場. 1915. 琵琶湖水産調査報告 第3巻. 196 pp.
- 馬淵浩司・西田 睦. 2006. PCR法を用いた琵琶湖産野生型コイのミトコンドリアDNAの簡易識別法. *水産育種*, 35: 19-23.
- 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*, 4: 649-652.
- 山本敏哉・遊磨正秀. 1999. 琵琶湖におけるコイ科仔魚の初期生態—水位調節に翻弄された生息環境. pp. 193-203. 森誠一(編)淡水生物の保全生態学—復元生態学に向けて—. 信山社サイテック.
- Mabuchi, K. 2016. A method for PCR-based identification of fish eggs attached to vegetation in Lake Biwa, Japan.

Conservation Genetics Resources, (in press). DOI: 10.1007/s12686-016-0536-9.

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5件)

- Mabuchi, K. 2016. A method for PCR-based identification of fish eggs attached to vegetation in Lake Biwa, Japan. *Conservation Genetics Resources*, (in press). DOI: 10.1007/s12686-016-0536-9(査読有)
- Mabuchi, K. 2016. Complete mitochondrial genomes of five introduced strains of common carp *Cyprinus carpio* in Japan with 29 diagnostic SNPs distinguishable by restriction enzyme analysis. *Mitochondrial DNA Part B: Resources*, (in press). DOI: 10.1080/23802359.2016.1159931(査読有)
- Mabuchi, K. and H. Song. 2014. The complete mitochondrial genome of the Japanese ornamental koi carp (*Cyprinus carpio*) and its implication for the history of koi. *Mitochondrial DNA*, 25: 35-36. DOI: 10.3109/19401736.2013.779261.(査読有)
- 馬淵浩司. 2014. 御代ヶ池のコイ: DNA解析からの知見. *Mikurensis -みくらしもの科学-*, 3: 17-26. (査読無)
- 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*, 4: 649-652. DOI: 10.1007/s12686-012-9613-x(査読有)

[学会発表](計10件)

- 琵琶湖内にみられるコイの体型の地域間変異(ポスター発表): 日本生態学会第63回大会. 仙台市国際センター、仙台市情報・産業プラザ(宮城県・仙台市). 2016年3月24日. 渥美圭佑・馬淵浩司・瀬能 宏・井上広滋.
- 明治10年代の琵琶湖のコイ: パリ国立自然史博物館標本にもとづく考察(口頭発表): 2015年度日本魚類学会. 近畿大学農学部キャンパス(奈良県・奈良市). 2015年9月5日. 渥美圭佑・馬淵浩司・瀬能 宏・井上広滋・滝川祐子.
- 日本のコイ: DNAデータが語るその起源(口頭招待講演): 在来家畜研究会・日本動物遺伝育種学会合同シンポジウム「在来生物の研究に対する系統、進化、生物多様性」. 宇都宮大学 峰キャンパス(栃木県・宇都宮市). 2015年3月27日. 馬淵浩司.
- 隠れた外来種問題: コイ日本在来系統と

導入系統の形態比較(ポスター発表): 日本生態学会第 62 回大会. 鹿児島大学 郡元キャンパス(鹿児島県・鹿児島市). 2015 年 3 月 19 日. 渥美圭佑・馬淵浩司・瀬能 宏・井上広滋.

Japanese native strain of common carp (*Cyprinus carpio*) and Lake Biwa as a refuge from biological invasion of introduced "Eurasian" strains (Invited talk). 2015 International Sancheoneo Symposium in Hwacheon, Hwacheon (Korea). January 18, 2015 (Abstracts pp. 21-24). Mabuchi, K.

御蔵島・御代が池のコイが語る外来系統の導入史(ポスター発表): 生き物文化誌学会第 12 回学術大会. 東京大学 弥生講堂(東京都・文京区). 2014 年 8 月 2-3 日. 馬淵浩司.

御蔵島・御代が池のコイ: 日本在来系統の生き残りか? (ポスター発表): 日本動物学会第 66 回関東支部大会. 東京大学 大気海洋研究所(千葉県・柏市). 2014 年 3 月 15 日. 馬淵浩司・井上広滋.

日本在来コイのリフュージアとしての琵琶湖(口頭発表): 2013 年度日本魚類学会セッション「日本の古代湖・琵琶湖における魚類進化と生態研究の現在とこれから」. 宮崎観光ホテル(宮崎県・宮崎市). 2013 年 10 月 4 日. 馬淵浩司・ソン ハヨン・武島弘彦・中井克樹・瀬能宏・西田 睦.

琵琶湖のコイの遺伝子型に応じた生息地利用の違い(口頭発表): 日本生態学会第 60 回大会. 静岡県コンベンションアーツセンター(静岡県・静岡市). 2013 年 3 月 9 日. 内井喜美子・奥田 昇・小北智之・馬淵浩司・西田 睦・川端善一郎.

Lake Biwa as a refuge of native Japanese common carp (Poster session): ALSO (the Association for the Sciences of Limnology and Oceanography) aquatic sciences meeting. Otsu, Shiga, Japan. July 10, 2012. Mabuchi, K., H. Y. Song, H. Takeshima, K. Nakai, H. Senou, and M. Nishida.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

マスコミ報道

つり人 2013 年 12 月号の 26-28 ページ「野ゴイの真実」で研究が紹介された。

NHK E テレ サイエンス ZERO「絶滅の危機! 日本のコイ」2013 年 6 月 2 日放送で、これまでの研究が紹介された。代表者はスタジオ出演

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

(3) 連携研究者

なし