

ニッポンバラタナゴ *Rhodeus ocellatus kurumeus* の遺伝子解析(1)

—香川県のニッポンバラタナゴの mtDNA の PCR-RFLP 分析結果—

Genetic Analysis of Japanese Rose Bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus* (1)

—PCR - RFLP Analysis of mtDNA of *R. o. kurumeus* in Kagawa Prefecture—

白井康子 藤野恵美 *池田滋
Yasuko SHIRAI Megumi FUJINO Shigeru IKEDA

要旨

環境省レッドデータブックで絶滅危惧 IA 類に指定されているニッポンバラタナゴは、現在では大阪府、香川県の一部に残るのみで、香川県は重要な生息地である。本種を保護するためには、交雑の恐れのある亜種タイリクバラタナゴとの正確な判別が不可欠であり、環境保健研究センターでは、香川大学の協力を得て、香川県に生息するニッポンバラタナゴの遺伝的特徴を明らかにする研究を進めている。本報はこの研究の一部である。

ミトコンドリア DNA の PCR-RFLP 分析により香川県のニッポンバラタナゴに 2 つのハプロタイプの存在が明らかにされているが、これをもとに香川県内のニッポンバラタナゴの分布について考察した。

キーワード：ニッポンバラタナゴ ミトコンドリア DNA PCR-RFLP 分析

I はじめに

ニッポンバラタナゴ *Rhodeus ocellatus kurumeus* は、コイ科タナゴ亜科に属する日本固有の小型淡水魚で、名の由来どおり、繁殖期のオスはバラ色の婚姻色を示す。図 1 にニッポンバラタナゴ(♂)を示す。かつては、琵琶湖淀川水系以西、北九州地方に至る瀬戸内海沿岸など西日本の淡水域に広く分布していたと考えられている^{1) 2) 3)}が、池の改修工事などによる生息環境の劣化、ブルーギルやオオクチバス等の外来種による捕食等のほか、亜種タイリクバラタナゴ *Rhodeus ocellatus ocellatus* との交雑などが生息数を減少させている^{3) 4) 5) 6)}。

現在、遺伝的に純粋なニッポンバラタナゴは、香川県の東讃地区や大阪府の一部などで確認されるのみで、環境省のレッドデータブックでも絶滅危惧 IA 類(CR)に指定⁵⁾されており、香川県はニッポンバラタナゴの貴重な生息地である。

タイリクバラタナゴは 1940 年代に中国大陸からソウギョ等の種苗に混じって偶発的に移入された外来種⁷⁾で、「日本の侵略的外来種ワースト 100」^{6) 8)}に記載されている。タイリクバラタナゴは、アユの放流事業や観賞魚としての流通に伴い全国に分布を拡げたと推測^{4) 6)}されて



図 1 ニッポンバラタナゴ (♂)



図 2 香川県におけるニッポンバラタナゴの分布

*香川大学総合生命科学実験センター

表1 これまでの亜種判別法

判別方法	測定形質	香川県のニッポンバラタナゴ	問題点など
形態学的分析 ^{4) 5) 13) 14)} (外観上)	腹ヒレの白色部の有無, 有孔鱗の有無, 婚姻色など	腹ヒレの白色帯がない。 有孔鱗は少数の個体で見つかるが, タイ リクバラタナゴに比べ少数 ¹³⁾ 。	雑種個体では両亜種の中間的な形質を示 す ^{4) 6)} ため, 確実な同定方法ではない ⁵⁾ 。
アイソザイム分析 ^{14) 15) 16)} (たん白質の変異を検出)	乳酸脱水素酵素 (LDH), 6-フォスフォグルコネート 脱水素酵素 (PGDH)	LDH, PGDH ともにニッポンバラタナゴ型 (県未発表)。	雑種個体群を識別できるが, 感度が低い。 マーカーとなる酵素数が少ない。
ミトコンドリア DNA の PCR-RFLP 分析 ^{17) 18)} (塩基配列の差異を検出)	ND1 領域やD-loop 領域の PCR 産物の制限酵素断片長 多型	香川県特有のハプロタイプが 2 種類存 在し, それらが共存するため池は見つか らなかつた ¹⁷⁾ 。	多型の検出感度を上げるために制限酵素 数を増やさなければならぬので実験操 作が煩雑で時間がかかる。mtDNA 分析では 雑種を区別できない。
RAPD 分析 ¹⁸⁾ (塩基配列の差異を検出)	ゲノム領域の亜種特異的な 多型	ニッポンバラタナゴ特有のバンドパタ ーンを示した ¹⁸⁾ 。	ニッポンバラタナゴ亜種内の多型を検出 できるマーカーが見つかっていない。

おり, 現在では日本全国に分布している⁹⁾。香川県にお
ける最も古いタイリクバラタナゴの文献的記載は 1982
年財田川本流において採集されたものについて¹⁰⁾であり,
財田川へのアユの稚魚放流の確実な記録(1981 年以降毎
年 200~500kg, 1980 年以前も放流は行われていたらし
い; 県水産課)とも一致する。最近では, 県中央部を南北
に流れる新川でもタイリクバラタナゴが確認されている^{11) 12)}。県下では財田川のほか, 綾川, 香東川, 湊川等
でもアユの放流が行われており, 種苗生産地は滋賀県, 宮
崎県, 徳島県である。このうち財田川には滋賀県産アユ
が放流されており, 最初に香川県で確認されたタイリク
バラタナゴは琵琶湖産のタイリクバラタナゴに由来する
と思われる。他の河川には宮崎県, 徳島県産のアユが放
流されているが, これらの種苗生産地でもタイリクバラ
タナゴが分布することから, 県下の分布の拡大が財田川
に移入された個体の分布拡大によるのか, 新たに他県か
ら侵入したのかは明らかでない。図2に香川県における
ニッポンバラタナゴの分布とタイリクバラタナゴの推定
侵入経路を示す。

香川県は, 平成6年度から開始した希少野生動植物保
護対策事業で最初にニッポンバラタナゴを取り上げ, 平
成6, 7年度の2ヵ年で生息調査を実施した。平成8年度
以降も, モニタリング調査と生息地周辺の生息調査を継
続しており, 平成14年には『ニッポンバラタナゴ保護管
理マニュアル』¹³⁾を作成するなど保護増殖に努めている
ところである。また, 平成17年7月, 香川県希少野生生
物の保護に関する条例を制定し, 条例で指定する指定希
少野生生物としてニッポンバラタナゴを含む8種の動植
物を指定(平成18年5月), 生きている個体の捕獲等が原

則禁止された。

ニッポンバラタナゴの保護対策を実施するためには,
交雑のおそれのあるタイリクバラタナゴとの正確な判別
が不可欠であるが, 両亜種は形態に差異が少なく, 外見
では判別が困難^{5) 14)}であることから, これまでアイソザ
イム分析^{14) 15) 16)}, DNA を対象に PCR-RFLP (制限酵素断片
長多型) 分析^{17) 18)}や RAPD 分析¹⁸⁾ などによる亜種判別が
行われてきた。表1にこれまでの亜種判別法について示
す。

PCR-RFLP 分析とは, DNA の特定領域を PCR によって増
幅し, 増幅産物を制限酵素で切断したときに生じる切断
片の長さの違いにより個体間の差異を検出する方法であ
る。PCR-RFLP 分析では, 使用した制限酵素による切断物
の電気泳動パターンがすべて同じであれば, 同じ遺伝子
型で, ひとつでもパターンの違う制限酵素があれば, 違
う遺伝子型と判断される。

河村ら¹⁷⁾は, ニッポンバラタナゴのミトコンドリア
DNA (mtDNA) の ND1 領域及び D-loop 領域の約 2kbp を特異
的に増幅するプライマーを用い PCR を行い, これを 4 塩
基認識の 16 種類の制限酵素で切断し, 切断物の電気泳動
パターンの変化を調べている。その結果から, 香川県に
は大阪の個体群とは異なるハプロタイプが 2 種類存在し,
各ため池はどちらか一方のハプロタイプに限られること
を示した。しかしながら, 香川県特有の 2 種類のハプロ
タイプの分布がため池の水系とは無関係であるという実
験結果は, さらに確認が必要であろうと考えられる。

本報告では, 香川県のニッポンバラタナゴをサンプル
として mtDNA の ND1 領域の PCR-RFLP 分析を行い, ニッポ
ンバラタナゴのハプロタイプとその分布を考察した。

なお、この研究は、香川大学の指導・協力のもと同大学遺伝子実験施設において平成13年度より実施している、ニッポンバラタナゴの遺伝子解析に関する研究の一部である。ニッポンバラタナゴの保護対策の実施は緊急の課題であり、研究の成果を保護の現場で役立てることが本研究の最終目標である。

II 方法

1 検体の採取

ニッポンバラタナゴは、平成14年10月及び平成15年4月に、モンドリまたは玉網を用い採取した。検体はバケツで持ち帰るか、あるいは現場で氷で絞め、DNAの抽出まで冷凍保存(-40°C)した。

表2 調査地点の概要

水系	グループ数	調査地点数	分析個体数
高松地区	1	1	7
春日川水系	1	1	10
新川水系	3	3	30
志度地区	1	1	10
鴨部川水系	3	5	49
津田川水系	2	4	38
	11	15	144

操作手順

サンプル約50mgをとり、1.5mlエッペンドルフチューブに入れる
↓
抽出バッファ1ml*1を加え、ペッスルですり潰す
↓
60°C, 10min加温後、室温まで冷ます
↓
10M 酢酸アンモニウム250μlを添加、直ちに混合する
↓
15min氷冷後、10,000G, 10min遠心
↓
上澄みを新しいチューブに移し、0.6容の2-プロパノールを加える
↓
遠心し、ペレットを回収
↓
70%エタノールでペレットを洗った後、乾燥
↓
ペレットを0.1×TEバッファに溶解する

図3 改変SDS法によるDNAの抽出

*1 500mM Tris-HCl(pH8.0), 8%SDS, 50mM EDTA, 10μg RNase A

表2に調査地点の概要を示す。表では調査地点を水系と地理的分布からグループに分けた。なお、ニッポンバラタナゴ保護の観点から、調査地点の詳細は明らかにできない。原則として1調査地点あたり10個体を目安に分析に供した。

2 DNAの抽出

DNAの抽出は改変SDS法で行った。抽出したDNA溶液は吸光度計で濃度を測定、併せて純度を確認した。図3にDNAの抽出法を示す。

3 mtDNA増幅断片のPCR-RFLP分析

動物のmtDNAは16~16.5kbpと比較的小さな環状DNAであり、ゲノムDNAと比べて変異のスピードが速く、また組換えが起こらないため、系統解析に適しているとされている。このため、種間の類縁関係や種内の地理的変異の検出を目的に、PCR-RFLP分析や塩基配列の直接比較などが行われ、また、様々な生物種について全塩基配列の決定が完了するなど研究が進められている。

図4にアトランティック・サーモン *Salmo salar* の遺伝子配列図を示す。本研究では矢印に示したND1領域(約2kbp)を分析の対象とした。

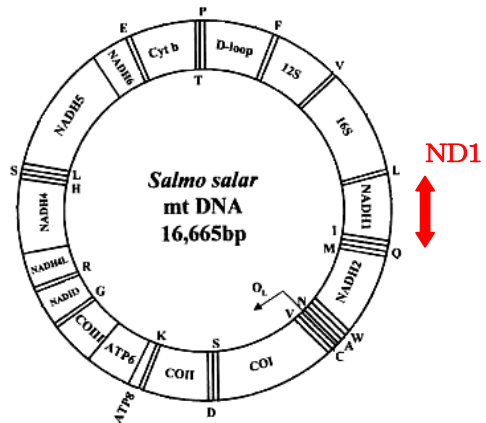


図4 アトランティック・サーモンのmtDNA遺伝子配列図

Hurst et al. (1999)¹⁹⁾ Fig1より作成

(1) ND1領域の増幅

mtDNAのND1領域用プライマー(5'-ACCCCGTTTACCAAAA ACAT-3', 5'-GGYATGAGCCCGATAGCTTA-3')^{17) 20)}を用いて、PCRを行った。0.2ml PCR用サンプルチューブに、PCR反応液10μlあたり、1μlテンプレートDNA、0.2units Taq DNA Polymerase(NEB)、各250μM dNTP、各0.4μM PCR

プライマー, 20mM Tris-HCl (pH8.8), 10mM (NH₄)₂SO₄, 10mM KCl, 2mM MgSO₄, 0.1% Triton X-100 を調製した。表3にPCR条件を示す。8%ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動(LKB- MULTIPHOR II)後, 銀染色により約 2kbp の増幅産物を確認し, 制限酵素処理用の検体とした。

表3 PCR条件

PCR 装置	Touchgene Gradient (TECHNE) Palm Cycler (CORBETT RESERCH)
温度条件	95°C-5分 95°C-10秒, 50°C-1分, 72°C-2分, 30 サイクル 72°C-7分

(2) 制限酵素処理

河村らはND1領域及びD-loop領域について16種類の制限酵素で処理を行っているが, 香川の個体で2つのバンドパターンが検出されたのは, ND1領域では *Hae*IIIと *Mbo*Iであった¹⁷⁾。今回はPCRによる増幅産物を精製せずに制限酵素処理を行うために, 河村らの用いた制限酵素のうち *Taq* DNA Polymerase 用のバッファー中で, 十分な活性がある制限酵素, あるいはイソシゾマー(同じ塩基

配列を認識する酵素)を選定した。選定した酵素の反応温度は37°Cであるが, この温度では *Taq* DNA Polymerase 活性は十分低いと考え, PCRによって得られた増幅産物をそのまま用いることができると考えた。

PCRによって得られた増幅産物を含む反応液4μlに, 反応液中の濃度が指定濃度となるよう *Taq* DNA Polymerase 用バッファーで希釈した制限酵素1μlを加え, 37°C, 2時間反応させた後, 制限酵素を不活化した。

バンドパターンを検出するため, DNA シークエンサー(島津製作所, DSQ-1000)を用い, 予めサイバークリーン(Invitrogen)を加え作成した6%ポリアクリルアミドゲル電気泳動し, バンドを蛍光検出した。

図5にB池のND1増幅産物を用いた予備試験の結果を示す。未精製のPCR増幅産物であっても制限酵素により分解されること, また, 制限酵素の種類によって異なるバンドパターンが得られることが明らかである。予備試験で用いた *Aci*I及び *Dde*Iは河村らの分析で多型の認められなかった制限酵素であるため, 本試験では使用しなかった。本試験では香川県の個体で多型の認められた, *Mbo*Iのイソシゾマー *Sau*3A Iを加えて実施している。表4に選定した酵素を示す。

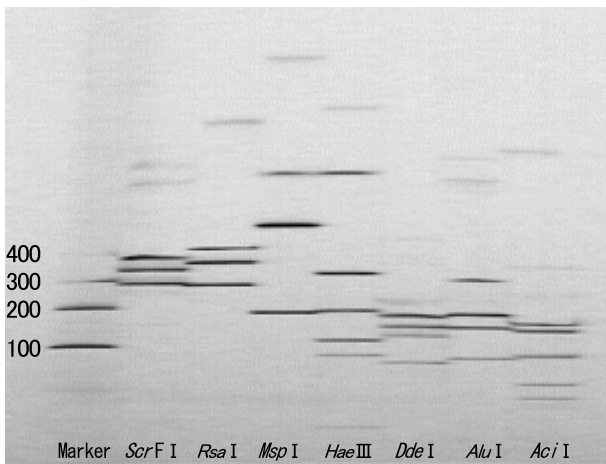


図5 B池の制限酵素処理後の電気泳動

Marker; 100bp DNA Ladder (NEB)

III 結果

1 PCRによる増幅結果

15ヶ所の調査地点より採取した144個体のニッポンバラタナゴからDNAを抽出し, ND1領域の増幅用テンプレートとした。PCRによる増幅後, アクリルアミド電気泳動により約2kbpのバンドを確認し, そのまま制限酵素処理を行った。

表4 制限酵素及び認識部位配列

制限酵素 (イソシゾマー)	<i>Alu</i> I	<i>Hae</i> III	<i>Msp</i> I	<i>Rsa</i> I (<i>Afa</i> I)	<i>Sau</i> 3A I (<i>Mbo</i> I)	<i>Scr</i> F I
認識部位	AG CT TC GA	GG CC CC GG	C CGG GGC C	GT AC CT AG	GATC CTAG	CC NGG GGN CC
反応温度(°C)	37	37	37	37	37	37
不活化温度(°C)	65	80	65	65	65	65
香川の個体の バンドパターン	a	a b	a	a	a b	a

2 PCR-RFLP 多型について

PCR で増幅された増幅産物それぞれについて、6 種類の制限酵素による処理を行い、8%ポリアクリルアミドゲル電気泳動により、バンドパターンを検出した。6 種類の制限酵素のうち、*Hae*III 及び *Sau*3A I (*Mbo* I のイソシゾマー) でそれぞれ 2 つのバンドパターンが得られたが、他の 4 種類の制限酵素では多型は認められず、香川県のニッポンバラタナゴは 2 つのハプロタイプに分けられることが確認できた。制限酵素による多型の検出結果は河村らのデータと一致したものの、バンドの長さについては、泳動方法、マーカーの違いによるためか、河村らのデータと必ずしも一致しなかった。

図 6 に mtDNA の ND1 領域増幅産物を *Hae*III で分解したときの、8%アクリルアミド電気泳動によるハプロタイプ検出事例を示す。N 池の 7 個体はすべて b パターン(ハプロタイプ B)の泳動像を示し、J 池の 10 個体はすべて a パターン(ハプロタイプ A)の泳動像を示した。また、L 池の 10 個体のうち 8 個体は a パターン、2 個体は b パターンの泳動像を示した。ハプロタイプ A にはバンド①に *Hae*III 認識部位が無いいため切断されず、ハプロタイプ B にはバンド①に相当する部分に *Hae*III 認識部位があるためバンド②とバンド③に切断され、パターンの違いが生じたものと推測される。

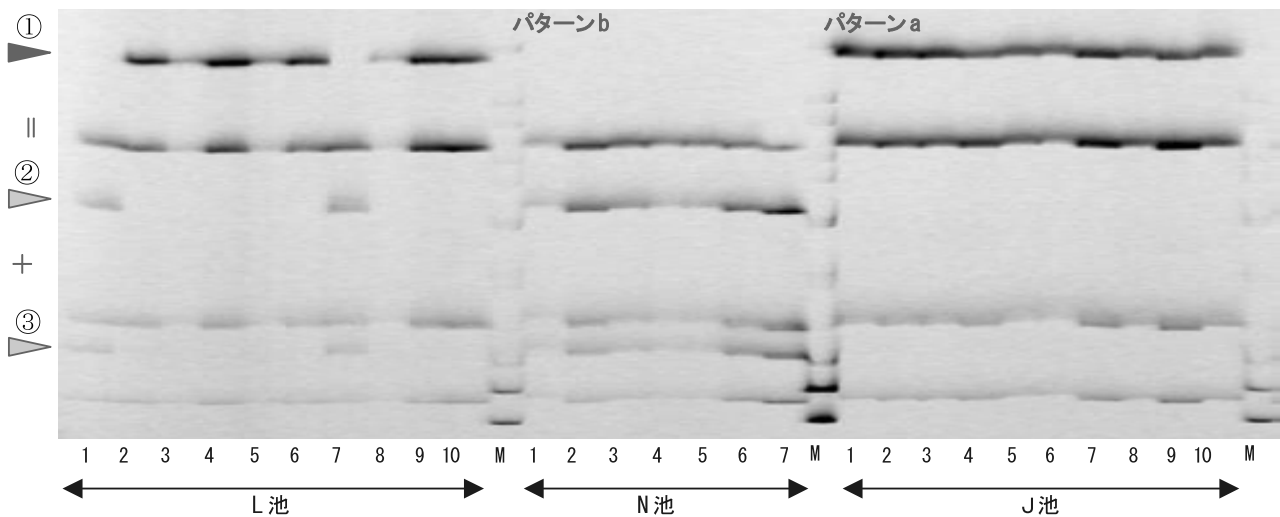


図 6 ハプロタイプ検出事例 (*Hae* III 分解物の 8%アクリルアミド電気泳動) M;Marker ;20bp DNA Ladder (Gibco BRL)

表 5 制限酵素分解パターン及び各池のハプロタイプ構成

地点名	制限酵素分解パターン						ハプロタイプ構成 (%)	
	<i>Alu</i> I	<i>Hae</i> III	<i>Msp</i> I	<i>Rsa</i> I	<i>Sau</i> 3A I	<i>Scr</i> F I	A	B
A池	a	a	a	a	a	a	100	—
B池	a	a	a	a	a	a	100	—
C池	a	a	a	a	a	a	100	—
D池	a	a	a	a	a	a	100	—
E池	a	a	a	a	a	a	100	—
F池	a	b	a	a	b	a	—	100
G池	a	b	a	a	b	a	—	100
H池	a	b	a	a	b	a	—	100
I池	a	a	a	a	a	a	100	—
J池	a	a	a	a	a	a	100	—
K池	a	b	a	a	b	a	—	100
L池	a	a	a	a	a	a	80	20
	a	b	a	a	b	a		
M池	a	b	a	a	b	a	—	100
N池	a	b	a	a	b	a	—	100
O池	a	b	a	a	b	a	—	100

同様に, *SauBA I* については, ハプロタイプ **A** には認識部位が1ヶ所多いとみられ, ハプロタイプ **B** で確認できるバンド1本が2本に切断されたと考えられる。

表5に各池の個体の制限酵素分解パターン及び池ごとのハプロタイプ構成を示す。制限酵素による分解のパターンは, *HaeIII* 及び *SauBA I* でそれぞれ2パターンがあるが, ハプロタイプは2つに限られている。ほとんどの池では, **A**, **B** どちらかのハプロタイプのみで構成されていたが, L池のみ2つのハプロタイプが確認された。

IV 考察

表6にわれわれの実験結果と河村らの結果¹⁷⁾の比較を示す。われわれと河村らのデータはよく一致していることから, 1995~2001年の間, 香川県内のニッポンバラタナゴは適切に保全されていたものと判断される。既に新川本流へのタイリクバラタナゴの侵入が報告¹¹⁾されて20年が経過したが, C, D, およびE池は新川上流域の小規模ため池であるためにタイリクバラタナゴがまだ侵入していないものと思われる。

新川水系のため池の個体はすべてハプロタイプ **A** であったが, 鴨部川水系ではハプロタイプ **A** のみの池とハプロタイプ **B** のみの池が混在していた。また, 新川以西の2つのため池の個体もすべてハプロタイプ **A** であった。これらは河村の結果と完全に一致していた。最も東に位置する津田川水系では, L池で2つのハプロタイプの個体が共存していたが, 聞取り等の結果, 人為的影響を受けたことが否定できない。しかし, 河村らの結果をあわせて考えると, 津田川水系のため池グループ1の池は, 所在範囲は極めて狭いにもかかわらず, ため池ごとにハプロタイプが異なるようである。先述のように, 河村らは, 2種類のハプロタイプが水系とは無関係にランダムに分布しているとし, この分布はファウンダー効果とボトルネック効果によってもたらされたと結論している。

開墾前の東讃地区では, ニッポンバラタナゴは河川とその氾濫原に分布する天然池に分布していたと思われる。当時の新川, 鴨部川, 志度川の流路は現在と異なり, 隣接する2河川の間では流路変更による合流が起こっていたかもしれない。旧長尾町井戸や旧寒川町神前周辺の現在の地形から判断すると, 新川と鴨部川が合流したり, あるいは鴨部川と津田川が合流していた可能性がある。そのような合流可能性と周辺地形を考えると, 金山(さぬき市寒川町石田西)を境にして, 東に津田川ハプロタ

イブ群(仮称), 西に新川・鴨部川ハプロタイプ群(仮称)が分布し, 金山の北には両方のハプロタイプ群が共存していたと考えることができる。農業が始まってからは, 河川・ため池改修による個体移動の遮断や, 池干しや渇水などによる個体数激減による遺伝的多様性の低下が, それぞれのハプロタイプ群にもたらされた。どの時点とは決めることはできないが, 新川水系を中心に西部ではハプロタイプ **A** が, 津田川水系を中心とする東部ではハプロタイプ **B** が優占するようになったのではないだろうか。鴨部川のグループ2, 3及び津田川のグループ1の所在地は, 東讃地区におけるニッポンバラタナゴの分布域の中心部にあたり, また, 新川水系, 津田川水系とも近接しているため, 両ハプロタイプが混在していたのかもしれない。表6から明らかな移植の行われた池を除外してみると, この仮定と矛盾がないことがわかる。この仮説の妥当性を評価するには, さらに詳細なDNA解析が求められる。

表6 過去のデータとの比較

水系	グループ *1	地点名	区分 *2	ハプロタイプ *3	
				1995	2001
高松地区	1	A池	天	A	A
春日川	1	B池	天	A	A
		C池	移		A
		—	天	A	
新川	1	—	移	A	
		D池	天		A
		E池	移	A	A
志度地区	1	—	移	A	
		F池	天	B	B
		G池	天		B
鴨部川	2	H池	天	B	B
		—	天	A	
		I池	天	A	A
津田川	1	J池	天	A	A
		—	天	A	
		K池	天	B	B
津田川	2	—	天	B	
		L池	天		A B
		M池	天		B
		N池	天	B	B
		—	天	A	
		—	移	A	
O池	移	B	B		

*1 ; 水系と地理的分布によるグループ

*2 ; 天=天然分布, 移=同一地区内での移植池

*3 ; 1995年は河村らデータ⁶⁾, 2001年は今回のデータ

現在では、ニッポンバラタナゴの分布は山間の小規模ため池に限られている。これらのため池が造営された際に、コイ・フナ等の有用生物が導入され、それとともに非意図的にニッポンバラタナゴが移動し、分布が人為的に攪乱されたものと思われる。また、地縁関係の深いため池間で、コイ・フナ等の魚類の移動が日常的に行われていたことが、現在の分布に影響を及ぼしており、東讃地区で山間の小規模ため池にニッポンバラタナゴが残されている要因のひとつと考えられる。現在、ニッポンバラタナゴが残っている小規模ため池ではファウンダー効果によって、ひとつのハプロタイプが優占するに至ったものと思われる。

V まとめ

ニッポンバラタナゴを含む淡水産タナゴ類は、ドブガイなどの大型の二枚貝の中に産卵する習性を持っている²¹⁾。一方、ドブガイが繁殖するには、幼生(グロキディウム)の寄主となるヨシノボリなどの底生魚類が必要であることから、ニッポンバラタナゴの保護のためには、水域の多様な生物種が保全されなければならない。香川県は雨の少ない県で、各地にため池が作られており、ため池は県下の自然の重要な構成要素のひとつであるにもかかわらず、小規模のため池であってもブルーギル、ブラックバスがかなりの場所で確認され、ニッポンバラタナゴなど外来種の存在を脅かしている。これら外来種は早急に駆除されるべきではあるが、現在のところ即効性のある対策はないため、外来種の生息地の拡大を防ぐため私的放流を抑止する啓発に取り組むとともに、ニッポンバラタナゴの保護池の設置も検討する必要がある。

河村は、RAPD分析による結果から大阪や香川の孤立した個体群の遺伝的多様性の低下を指摘、環境変化への適応性が低下しているのではないかと懸念している²²⁾。今後は、生息地、生息個体の保護とあわせて、既に低下しているニッポンバラタナゴの種内の遺伝的多様性の維持も考えていかなければならない。しかしながら、現状では、このような基礎的な情報が不足しており、ニッポンバラタナゴの保護を科学的(保全生物学的)に行うことは難しい。このため、ニッポンバラタナゴの生息地の保存や生息個体の保護と併せて、香川県に残されたニッポンバラタナゴの遺伝的特徴等について基礎的知見の収集に努めなければならない。

今回の分析では mtDNA を対象としたが、mtDNA を用い

て遺伝子の比較を行う場合、PCR産物の長さには差がでにくいいため、多型を検出するにはPCR増幅産物を複数の制限酵素で処理した後、電気泳動により多型を検出(PCR-RFLP分析)することになる。このため、操作が煩雑で多数の検体を精査することが難しい。また、ミトコンドリアは母系遺伝するため、mtDNAのPCR-RFLP分析は交雑個体の検出には十分ではないという問題点がある。ニッポンバラタナゴの保護を円滑に実施するためには、より精密で簡便なタイリクバラタナゴとの判別方法の確立が必要で、現在、亜種判別用のマイクロサテライトマーカーの開発に取り組んでいる。このマーカーによって、これまで困難であったニッポンバラタナゴの個体群あるいは個体の識別が可能になるかもしれない。また、マイクロサテライト多型では、増幅産物の長さが異なるため電気泳動のみで多型を検出することができ、雑種個体の検出も可能であるので、迅速な判別が期待できる。

ニッポンバラタナゴ保護の取り組みによって、香川県下に存在する他の希少動植物の保護にも繋げていきたい。

謝辞

県下のニッポンバラタナゴには多くの専門家、県民が関心を寄せ、保護活動を展開している。香川県にニッポンバラタナゴが残されたことは、これらの方々の努力に負うところが多く、本研究に対しても多くの助言、補助をいただいている。関係の方々にまず御礼を申し上げます。そして、本報告に関する御意見等は些細なことでもお知らせいただけるよう、この場でお願ひしたい。

また、本研究は香川大学の指導・協力のもと進められている。研究への理解を示していただいた香川大学田島茂行農学部長に改めて謝意を表す。

文献

- 1) 中村守純:日本のコイ科魚類,資源科学シリーズ4,資源科学研究所(1969)
- 2) 植松辰美,安芸昌彦:香川県におけるバラタナゴ(別称ニッポンバラタナゴ)の分布,香川生物,12,7-14(1984)
- 3) 香川県レッドデータブック,p264(2004)
- 4) 長田芳和:タイリクバラタナゴー純潔の危機ー,日本の淡水生物,147-153,東海大学出版会(1980)
- 5) 生物多様性情報システム http://www.biodic.go.jp/rdb/rdb_f3.html
- 6) 外来種ハンドブック,日本生態学会編,110&362-363(2002)

- 7) 中村守純: 関東平野に繁殖した移植魚, 日本生物地理学会会報, **16/19**, 333-337 (1955)
- 8) 日本の外来種リスト, http://www003.upp.so-net.ne.jp/consecol/alien_web/index.html
- 9) 侵入生物データベース, タイリクバラタナゴ, 独立行政法人国立環境研究所, <http://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/detail/50080.html>
- 10) 植松辰美: 財田川(香川県)で採集されたタイリクバラタナゴ, 香川生物, **11**, 7-8 (1983)
- 11) 安芸昌彦: 外部形態からみたバラタナゴ2亜種の香川県内での分布, 香川生物, **21**, 15-21 (1994)
- 12) 香川県10河川における魚類の報告—スゴモロコ属の分布を中心として—, 香川県自然科学館研究報告, **21**, 17-26 (2002)
- 13) ニッポンバラタナゴ保護管理マニュアル, 香川県(2002)
- 14) 長田芳和: 日本の希少淡水魚の現状と系統保存, 76-85, 緑書房 (1997)
- 15) 上野幸一: ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの細胞遺伝学的・遺伝生化学的研究, 文部省科学研究費研究成果報告書, 14-29 (1985)
- 16) Nagata, Tetsukawa, Kobayashi, Numachi: Genetic markers distinguishing between the two subspecies of the rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus* (Cyprinidae). Ichthyol Res, **43**(2), 117-124 (1996)
- 17) Kawamura, Nagata, Ohtaka, Kanoh, Kitamura: Genetic diversity in the Japanese rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus* (Cyprinidae). Ichthyol Res, **48**, 369-378 (2001)
- 18) Kawamura, Ueda, Arai, Nagata, Ohtaka, Kanoh: Genetic introgression by the rose bitterling, *Rhodeus ocellatus ocellatus*, into the Japanese rose bitterling, *R. o. kurumeus* (Teleostei: Cyprinidae). Zool Sci, **18**, 1027-1039 (2001)
- 19) Hurst, Bartlett, Davidson, Bruce: The complete mitochondrial DNA sequence of the Atlantic salmon, *Salmo salar*: Gene, **239**, 237-242 (1999)
- 20) Hall, Nawrocki: A rapid method for detecting mitochondrial DNA variation in the brown trout, *Salmo trutta*. J Fish Biol, **46**, 360-364 (1995)
- 21) 福原修一: 貝に卵を産む魚, トンボ出版 (2000)
- 22) Kawamura: Low genetic variation and inbreeding depression in small isolated populations of the Japanese Rosy Bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus*. Zool Sci **22**, 517-524 (2005)