

ミトコンドリアDNAによる愛媛県を中心としたドジョウの 遺伝的集団構造と攪乱

誌名	魚類學雜誌
ISSN	00215090
著者名	清水, 孝昭 高木, 基裕
発行元	日本魚學振興會
巻/号	57巻1号
掲載ページ	p. 13-26
発行年月	2010年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ミトコンドリアDNAによる愛媛県を中心とした ドジョウの遺伝的集団構造と攪乱

清水孝昭¹・高木基裕²

¹〒799-3125 愛媛県伊予市森甲121-3 愛媛県水産研究センター栽培資源研究所

²〒790-8566 愛媛県松山市樽味3-5-7 愛媛大学南予水産研究センター農学部分室

(2009年5月6日受付；2009年10月20日改訂；2009年11月14日受理)

キーワード：ドジョウ, mtDNA, 遺伝子攪乱, 人為移入

魚類学雑誌
Japanese Journal of
Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 2010

Takaaki Shimizu and Motohiro Takagi*. 2010. Genetic structure of natural populations of *Misgurnus anguillicaudatus* in Ehime Prefecture impacted by recent exotic introductions, inferred from mitochondrial DNA analysis. *Japan. J. Ichthyol.*, 57(1): 13–26.

Abstract The genetic structure of natural populations of *Misgurnus anguillicaudatus* in Ehime Prefecture and the impact of introduced specimens were investigated by partial mitochondrial DNA sequence analysis. A total of 452 specimens from 59 samples were analyzed, comprising 49 populations from eight Prefectures (including 38 from Ehime Prefecture), six populations from Korea, and four samples of food material and fish bait obtained in Ehime Prefecture. Fifty-one haplotypes were identified, falling into two large clades (B-1 and B-2; average nucleotide divergence: $4.2 \pm 0.6\%$), which formed a sister lineage of *Paramisgurnus dabrianus* (bootstrap value: 100%). Among clade B-1 members, the haplotypes from 25 populations representing 15 water systems in Ehime Prefecture revealed genetic divergence correlated with their geographic distribution (nucleotide divergence distance: 0.3–4.0%). The maximum parsimony network of these haplotypes suggested one major haplotype (89% of the clade's individuals in Ehime Prefecture) with genetically close satellites present in specific rivers or locations. Some divergent haplotypes, somewhat similar to haplotypes from other Prefectures or from Korea, may have resulted from artificial introductions into Ehime. In clade B-2, five of the 17 haplotypes were distributed in only four river systems in Ehime Prefecture, without any apparent relation to geographic features, and showed genetic identity or closeness to haplotypes of imported and commercial (food material, fish bait) lines. These results are strongly indicative of recent artificial introductions of alien individuals into natural waters in Ehime Prefecture, resulting in serious genetic disturbances.

* Corresponding author: Tarumi Branch, South Ehime Fisheries Research Center, Ehime University, Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan (e-mail: takagi@agr.ehime-u.ac.jp)

在 来生態系における生物多様性の保全にあたり、外来生物への対応は重要な事項である。侵入した生物が在来生物と同種や近縁種の間にある場合、異質な遺伝子集団との交雑や置き換わりを通して在来遺伝子資源が不可逆な改変を受けることが予測される (Cox, 2004; Guo, 2005)。外来生物の侵入過程の1つとして、産業利用のため

の人為導入が挙げられるが、この場合には侵入種と在来種の外観上の識別が困難な場合が多く、利用者が外来種との認識がないまま当該生物を野外で飼養することによって隠蔽的な侵入が進行する可能性をはらんでいる。こうした人為による隠蔽的な外来生物の侵入は、近年遺伝学的手法によりさまざまな分類群でその実態が明らかにされて

いる（たとえばアカガエル科, Holsbeek et al., 2008; スッポン科, Sato and Ota, 1999; ミジンコ科, Mergeay et al., 2005; イネ科, Saltonstall, 2002).

日本在来の純淡水魚ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* は他の純淡水魚類と比較して広範な分布域を持ち、同様に里地の魚であるメダカ *Oryzias latipes* やホトケドジョウ *Lefua echigonia* などのように (Saka et al., 2003; Takehana et al., 2003; Mihara et al., 2005), 分布域内の地域ごとに遺伝的に分化した複数の系統を内包することが明らかにされている (Khan and Arai, 2000; Morishima et al., 2008). 一方、本種では休耕田や池を利用した養殖の歴史が古く (石田, 1969), 日本各地で種苗の移植が繰り返されてきた。また、国内の養殖種苗や国外から輸入された活魚は、各地の鮮魚店や食材店を中心に広く流通しているほか、釣具店ではタチウオ *Trichiurus japonicus* 釣りなどの餌、観賞魚店では飼育魚の餌あるいは観賞用そのものとして販売されている。このように、自然水域に連絡する水塊やその周辺で多様な用途で飼育され、流通しているドジョウは、他の淡水魚と比べても流通種苗が自然界へ逸出しやすい状況にある。

本種はまた、腸でのガス交換による空気呼吸が可能で (McMahon and Burggren, 1987), 汚濁や一時的な干出に対して強い点で日本産純淡水魚類では特異的であり、このことが逸出種苗の生残性を高めていると推定できる。ドジョウの水田養殖では、養殖の成否がドジョウの逃亡に左右されると指摘されているほど (渡辺, 1975), 飼育場所からの逸散は実際に起こっており、種苗の由来によっては自然水域の個体群に遺伝汚染を引き起こす可能性がある。

北海道や琉球列島では、古くから本種個体群の在来性について疑義が呈されている (たとえば中村, 1963; 宮地ほか, 1976; 安間, 1982). また、栃木県では野生集団中に遺伝的に分化した異質な個体群の存在が、山口県では形態形質から外来の可能性のあるドジョウ個体が確認されている (董ほか, 1999; 吉郷, 2007). 小出水ほか (2009) はミトコンドリアDNAチトクローム*b*領域の解析により、日本国内全域にわたるドジョウ集団中に3つのクレードが存在することを明らかにしたが、このうち2つについては国内における分布と国外集団との類縁性から、人為移入の可能性を挙げている。近年では大陸由来の近縁種カラドジョウ *Paramisgurnus dabryanus* の定着が多くの都道府県

で確認されているが (加納・今井, 2008), こうしたこともドジョウ種苗の人為逸散が背景にある。

このように、日本のドジョウ自然集団は各地で遺伝的攪乱を受けていることが推察されるが、その起源となる生息域外由来の種苗 (以下、流通種苗とする) の産地や遺伝的特徴、それらが野外の集団中に含まれている実態などは明らかでなく、また、そうした攪乱を回避して自然集団の遺伝的集団構造をとどめている地域がどれほど存在するかも不明である。本研究では、愛媛県の自然水域を中心として、ドジョウの遺伝的集団構造を明らかにするとともに、県内に流通している種苗の遺伝的特徴との比較により、自然水域における攪乱の実態について検証した。

材料と方法

愛媛県内15水系25地点において、手網によりドジョウを採集した (Fig. 1, Table 1). 国内の比較サンプルとして近隣では四国内の高知県、徳島県、香川県で、また四国外では山口県、長崎県、岐阜県、神奈川県、千葉県、新潟県で、国外の比較サンプルとして韓国で、それぞれ採集した (Table 1). さらに、流通種苗のサンプルとして、愛媛県松山市内の釣具店および食料品販売店で販売されているドジョウ、宇和島市で休耕田養殖されているドジョウを収集した (Table 1). 流通種苗のうち、食材店のものには中国産のラベルがあった。釣具店のものについては同じ店舗で2007年と2008年の2回サンプルを収集し、後者について聞き取りにより中国産との情報を得た。前者および休耕田養殖のサンプルについては不明である。個体は採集、収集後直ちに99.9%エタノールで固定した。

エタノール固定したドジョウ各試料より尾鰭の一部を切り出し、Quick Gene DNA tissue kit (FUJIFILM Co.) を用いてDNAを抽出した。Morishima et al. (2008) の解析領域の内側に位置するミトコンドリアDNA調節領域前半を対象としたプライマーセット (Forward: L15923 5'-TTA AAG CAT CGG TCT TGT AA-3', Reverse: H16498 5'-CCT GAA GTA GGA ACC AGA TG-3', Iguchi et al., 1997) を用いてPCR (94°C, 120秒間の熱変性の後, 94°C 15秒間, 55°C 15秒間, 72°C 120秒間を30サイクル, 最終伸長を72°C, 7分間) をおこない、目的領域を増幅した。目的領域が増幅されたPCR産物については、ExoSAP-IT (GEヘルスケア バイオサイエンス Co.) を用いて不純物の除去等をおこない、BigDye® Terminator v3.1 Cycle Se-

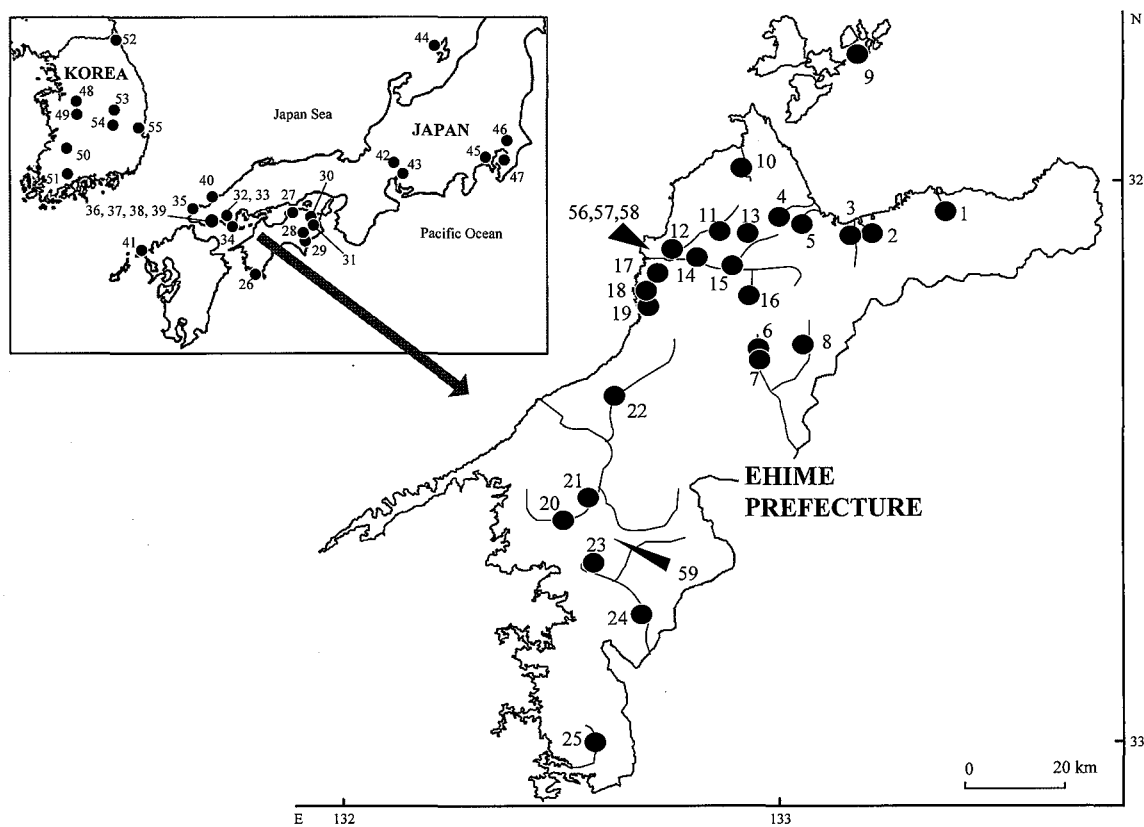


Fig. 1. Map showing sampling sites. Numbers (locality) correspond to those in Table 1. Arrows indicate areas of artificially introduced or farmed specimens.

quencing Kit (Applied Biosystems Co.) を用いてダイ・ターミネーター反応 (96°C, 60秒間の熱変性の後, 96°C 60秒間, 50°C 5秒間, 60°C 240秒間を25サイクル) をおこなった。反応を終えたサンプルについてはBigDye® Xterminator Purification Kit (Applied Biosystems Co.) により過剰な蛍光色素の除去をおこなった後, ABI 3130 (Applied Biosystems Co.) によるシーケンシングをおこなった。

シーケンスにより得られた塩基配列データに加えて, DDBJ (DNA Data Bank of Japan) のウェブサイトに登録されている本研究領域を含んだドジョウの塩基配列のうち, Morishima et al. (2008) の検出した3つのクレードメンバー (Clade A, Subclade B-1, B-2) に属するハプロタイプと, 近縁種 *Misgurnus nikolskyi*, *Misgurnus mizolepis*, *Paramisgurnus dabryanus*, *Cobitis striata* および外群として *Barbatura toni* の塩基配列を取得し (Table 2), プログラム Clustal W (Thompson et al., 1994) により多重整列をおこなった。なお, *M. mizolepis* と *P. dabryanus* はいずれも日本においてカラドジョウの

学名として用いられており, 種の同一性や学名の使用をめぐるさまざまな意見があるが (たとえば Šlechtová et al., 2008; Vasil'eva, 2001; 藤田, 2007), ここでは配列登録者の採用した学名を用いた。これらの塩基配列データをもとに, 上述のプログラム上で近隣接合法 neighbor joining method による系統樹を作成するとともに, 各枝の結びつきについて1,000回のランダム・サンプリングによるブートストラップ確率 (Efron, 1979) を求めた。ハプロタイプ間の遺伝的距離はKimura (1980) の2パラメータモデルにより, PHYLIP (Felsenstein, 1995) のプログラム DNADIST を用いて算出した。また, 愛媛県内におけるハプロタイプ同士の系統関係を把握するため, 県下で出現したハプロタイプ間の類縁関係を最節約法 Maximum parsimony method によって求めてネットワークを TCS1.21 (Clement et al., 2000) により作成し, Templeton and Sing (1993) の nesting rule に従って階層クレード構造を構築した。

Table 1. Localities, abbreviations, sampling dates and numbers of specimens of *Misgurnus anguillicaudatus* in this study

No.	River system	River	Locality	abbreviation	n	Date
Ehime Prefecture						
1	Higashi R.		Niihama	HGS	1	June 2, 2007
2	Uzui R.	Muro R.		UZI	4	July 16, 2008
3	Kamo R.		Nishida-shinkai	KAM	15	July 7, 2007
4	Shinkawa R.		Tanbara-gojinya	SKW	6	Oct. 16, 2007
5	Hitotsuhashi R.		Komatsu-ishida	HTH	12	Oct. 16, 2007
6	Niyodo R.	Kuma R.	Koudono	NYK-K	1	June 13, 2007
7	Niyodo R.	Kuma R.	Higashi-myoujin	NYK-H	8	Nov. 6, 2008
8	Niyodo R.	Wari-ishi R.	Nakayama	NYW	14	May 4, 2008
9	small creek		Iwagi (Akahone Island)	AKI	3	Feb. 24, 2008
10	Yamanouchi R.		Yamanouchi	YMN	16	Sep. 7, 2008
11	Shigenobu R.	Ishite R.	Hokota reservoir	SGI-H	17	Apr. 28, 2007
12	Shigenobu R.	Ishite R.	Yogo	SGI-Y	4	June 4, 2007
13	Shigenobu R.	Ono R.	Hirai	SGO	16	June 1, 2007
14	Shigenobu R.	Uchi R.	Minami-takai	SGU	11	Oct. 5, 2007
15	Shigenobu R.	Kubono	Douko	SGK	11	Sep. 6, 2008
16	Shigenobu R.	Iuchi R.	O-hira	SGI	3	Aug. 15, 2007
17	Nagaodani R.		Tsuruyoshi	NGD	15	Aug. 9, 2008
18	Tenjin R.		Hongun	TJN	10	Oct. 4, 2007
19	Mori R.		Hon-mura	MOR	1	June 21, 2008
20	Hiji R.	Uwa R.	Nomura Dam reservoir	HJU-D	18	July 23, 2007
21	Hiji R.	Uwa R.	Katakawa-ota reservoir	HJU-K	8	June 19, 2008
22	Hiji R.	Nakayama R.	Uchiko town	HJN	7	Oct. 28, 2007
23	Shimanto R.	Mima R.	Futsuzaki	SMM	18	July 8, 2007
24	Shimanto R.	Hiroimi R.	Nobi-nono	SMH	16	June 16, 2007
25	Sodu R.		Yamaidashi	SDU	16	June 22, 2007
Kochi Prefecture						
26	Shimanto R.	Nakasuji R.	Sukumo	SMN	16	Oct. 10, 2007
Kagawa Prefecture						
27	Koutou R.		Shionoc	KOT	1	Aug. 1, 2007
Tokushima Prefecture						
28	Naka R.		Tani-uchi	NAK	13	Apr. 18, 2008
29	Mugi R.		Ootsubo	MUG	16	Aug. 6, 2008
30	Yoshino R.	O-tani R.	O-tsu	YSO	4	Oct. 11, 2008
31	Yoshino R.	Fukuroi R.	Myoudou	YSF	4	Oct. 8, 2008
Yamaguchi Prefecture						
32	Fushino R.		Kinen reservoir	KNI	2	Dec. 5, 2007
33	Saba R.	Koukubo R.	O-saki	SBK	8	Nov. 17, 2007
34	Saba R.		Hirao	SBH	2	June 2, 2008
35	Kawadana R.		Toyoura	KDN	1	Aug. 31, 2008
36	Nan-jaku R.	Hyakutani R.	Tougou	HYT	2	Oct. 2, 2008
37	Kanda R.		Kiyosue-daimon	KND	2	Aug. 31, 2008
38	Nagasawa R.		Minami-gata	NGS	1	Sep. 18, 2008
39	Atsusa R.		Takadomari	ATS	2	Aug. 2, 2008
40	Ooi R.		Fukuga	OOI	2	July 31, 2008
Nagasaki Prefecture						
41	Sakase R.		Nebiki reservoir	SNB	1	Mar. 14, 2008
Gifu Prefecture						
42	Nagara R.	Houe R.	Mizuho	NGH	2	Oct. 26, 2007
43	Shounai R.	Nakagiri R.	Nakagiri	SNI	5	Oct. 24, 2007
Niigata Prefecture						
44	Kuchi R.		Sado	SAD	16	June 25, 2007

Table 1. Continued

No.	River system	River	Locality	abbreviation	n	Date
Kanagawa Prefecture						
45	Sakai R.	Maioka R.	Maioka	SKI	8	Oct. 10, 2007
Chiba Prefecture						
46	Tone R.	Kamenari R.	Omori	TON	8	Aug. 2, 2008
47	Obitus R.		Kawatani	OBT	8	Jan. 10, 2008
Korea						
48	Genm R.	Chopyong R.	Ogap ri	GEC	3	Mar. 14, 1999
49	Genm R.	Mushim R.	Goeun ri	GEM	1	Nov. 16, 1998
50	Seomjin R.		Gangjeong ri	SJG	1	Mar. 6, 1999
51	Seomjin R.	Boseong R.	Yeonhwa ri	SJY	4	Apr. 17, 1999
52	Jasan R.		Songgang ri	JSN	4	July 20, 1999
53	Nakdong R.	Naesong R.	Dochon ri	NDD	7	Nov. 15, 1998
54	Nakdong R.	Naesong R.	Ocheon ri	NDO	2	Nov. 15, 1998
55	Chuksan R.		Giam ri	CKS	2	Mar. 13, 1999
Artificial seeds (Ehime Prefecture)						
56	Food market		labeled "China"	FMC	6	Sep. 12, 2007
57	Fishing store (2007 year)		unknown	FS07	10	June 11, 2007
58	Fishing store (2008 year)		unknown (from China ?)*	FS08	13	June 22, 2008
59	Aquaculture		unknown (introduced seeds)	AQM	3	Feb. 1, 2007

* see text

Table 2. Species and DDBJ accession numbers of DNA sequences used in this study

Species (haplotype code)	Accession number	Literature
<i>Barbatula toni</i> (outgroup)	AB177653	Mihara et al. (2005)
<i>Cobitis striata</i>	AB054125	Saitoh et al. (2003)
<i>Misgurnus nikolskyi</i>	AB242171	Saitoh et al. (2006)
<i>Misgurnus mizolepis</i>	AB306793	Morishima et al. (2008)
<i>Paramisgurnus dabryanus</i>	AY017145	Liu et al. (2002)
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i> *		
Clade A		
Haplotype I-1	AB306717	Morishima et al. (2008)
Haplotype III-1	AB306729	Morishima et al. (2008)
Subclade B-1		
Haplotype V-1	AB306733	Morishima et al. (2008)
Subclade B-2		
Haplotype VI-1	AB306760	Morishima et al. (2008)

* Clade A, subclade B-1, B-2 and haplotypes I-1, III-1, V-1, VI-1 followed Morishima et al. (2008).

結 果

近縁種を含めて多重整列をおこなったすべての個体における目的領域の塩基配列中には各所で欠損と挿入が見られ、配列長は360–364 bpと変異した。それら塩基配列データより、愛媛県産ドジョウ個体群に21種類、他県産ドジョウに26種類、

韓国産ドジョウに9種類、釣具店、食料品販売店および養殖場の流通種苗に8種類のハプロタイプが出現した。それらは互いに一部ハプロタイプを共有し、総計51種類のハプロタイプに整理された (Table 3)。各標本群において1–6種類のハプロタイプが出現した。このうち、ハプロタイプ1 (Hap 1, 以下同) は全59標本群 (総計452個体) のう

Table 3. Distribution of haplotypes in *Misgurnus anguillicaudatus*

No.	River system	abbreviation	n	haplotype																																																		
				Clade B-1													Group A								Clade B-2																													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51
Ehime Prefecture																																																						
1	Higashi R.	HGS	1	-----1-----																																																		
2	Uzui R.	UZI	4	-----1-----																																																		
3	Kamo R.	KAM	15	12	-----3-----																																																	
4	Shinkawa R.	SKW	6	-----6-----																																																		
5	Hitsuhashi R.	HTH	12	-----1 2-----																																																		
6	Niyodo R.	NYK-K	1	-----1-----																																																		
7	Niyodo R.	NYK-H	8	-----8-----																																																		
8	Niyodo R.	NYW	14	13	-----1-----																																																	
9	Akahone I.	AKI	3	-----3-----																																																		
10	Yamanouchi R.	YMN	16	-----9 1-----																																																		
11	Shigenobu R.	SGI-H	17	-----7-----																																																		
12	Shigenobu R.	SGI-Y	4	-----1 1 2-----																																																		
13	Shigenobu R.	SGO	16	12	-----4-----																																																	
14	Shigenobu R.	SGU	11	-----5 1-----																																																		
15	Shigenobu R.	SGK	11	-----8 3-----																																																		
16	Shigenobu R.	SGI	3	-----3-----																																																		
17	Nagaodani R.	NGD	15	-----1 1 6 2 1 4-----																																																		
18	Tenjin R.	TJN	10	-----8 1 1-----																																																		
19	Mori R.	MOR	1	-----1-----																																																		
20	Hiji R.	HJU-D	18	14	-----3 1-----																																																	
21	Hiji R.	HJU-K	8	-----8-----																																																		
22	Hiji R.	HJN	7	-----7-----																																																		
23	Shimanto R.	SMM	18	-----16 1-----																																																		
24	Shimanto R.	SMH	16	-----16 10-----																																																		
25	Sodu R.	SDU	16	-----6-----																																																		
Kochi Prefecture																																																						
26	Shimanto R.	SMN	16	-----16-----																																																		

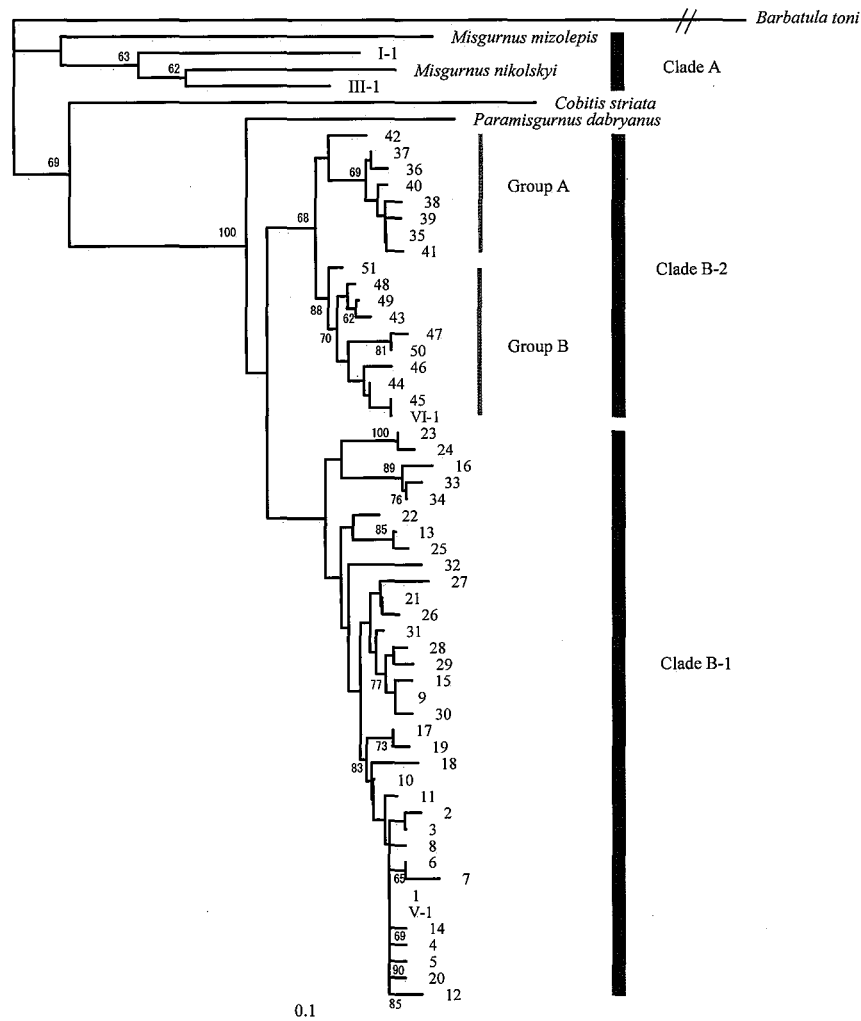


Fig. 2. Phylogenetic relationships of mtDNA haplotypes of *Misgurnus anguillicaudatus* based on the neighbor joining method. Tree rooted with *Barbatula toni*. Bootstrap values (above 60%) of 1000 replications are indicated on each branch (small numerals). OTU labels 1–51 and I-1, III-1, V-1 and VI-1 indicate haplotypes of *M. anguillicaudatus*. Haplotypes 1–51 correspond to those in Table 3. Clade A, subclade B-1, B-2 (clade B-1 and B-2 in this study) and haplotypes I-1, III-1, V-1 and VI-1 are mitochondrial lineages and representative components of *M. anguillicaudatus* detected by Morishima et al. (2008).

ち27標本群に出現し、調査個体の43.2%を占めた。次いで、Hap 35が10標本群に共有され、個体数の13.3%を占めた。残るハプロタイプはそれぞれ個体数の0.2–4.3%に出現した。

*Barbatula toni*を外群として近隣接合法によって得られた系統樹から、ドジョウの調査標本群に出現したハプロタイプは34種類のハプロタイプからなるグループと、17種類からなるグループに分けられ、それらの間の純塩基置換率は2.8–5.6% (平均値±標準偏差: $4.2 \pm 0.6\%$)であった (Fig. 2)。これらはそれぞれMorishima et al. (2008)のSub-clade B-1 (日本各地に広域分布するハプロタイプ

群)とB-2 (本州中央部と九州に出現するハプロタイプ群)に該当した (以降、それぞれをClade B-1, B-2とする)。また、Morishima et al. (2008)のClade A (主に北海道に分布)に該当するハプロタイプは出現せず、Clade B-1, B-2は*Paramisgurnus dabryanus*とともに、*Cobitis striata*に対して姉妹群関係を示した (ブートストラップ確率 $Bp=69\%$)。また、Clade B-1+B-2と*P. dabryanus*の姉妹群関係は高い確率で支持された ($Bp=100\%$)。Clade B-1内の純塩基置換率は0.3–4.0% (平均値±標準偏差: $1.8 \pm 0.9\%$)、Clade B-2内の純塩基置換率は0.3–2.5% (平均値±標準偏

差： $1.5 \pm 0.6\%$)であった。

Clade B-1におけるハプロタイプの出現と遺伝的類縁関係 Clade B-1には44標本群の317個体(調査個体の70.1%)が含まれた(Table 3)。愛媛県では、調査した29標本群(Fig. 1)のうち23標本群の210個体(個体数の69.1%)が含まれた。これらはいずれも自然水域から得られ、15水系25地点中、14水系23地点から16ハプロタイプ(Hap 1-Hap 16)が検出された。このうち、Hap 1は158個体(個体数の62.9%)に共有されていた。

愛媛県の自然水域に出現したClade B-1ハプロタイプのネットワーク(Fig. 3)は、1カ所環状構造を示した。環状構造はHap 10がHap 1、およびHap 8、11にそれぞれ近縁な(かつ、Hap 1に対してより分化した)2つのミッシング・ハプロタイプとつながることによって生じていたが、本研究ではメジャーハプロタイプであるHap 1との近似性を重視し、他は切断した。階層クレードはミッシング・ハプロタイプを除くと僧都川(SDU)のHap 16のみからなるClade 3-1、野村ダム湖(HJU-D)と加茂川(KAM)の各1ハプロタイプ(Hap 11, 13)を含むClade 3-2、およびそれ以外の県下全域のハプロタイプを含んだClade 3-3の3つの3ステップクレードから構成された。このうち、Clade 3-1の僧都川のハプロタイプ(Hap 16)は韓国の2地点(GEC, CKS)でも出現した(Table 3)。また、Clade 3-2の野村ダム湖のハプロタイプ(Hap 13)は長崎県(SNB)から得られたハプロタイプ(Hap 25)と遺伝的に近かった(Table 3, Fig. 2)。

優占的に出現したHap 1を中心としたClade 3-3の3ステップクレードでは、クレードメンバーである13ハプロタイプのうち10までが1つの2ステップクレードに(Clade 2-7)、そのうち6までが1つの1ステップクレードに含められた。また、2ステップクレード内では、Hap 2-Hap 5が松山平野流入河川、Hap 8、10、11が燧灘流入河川、Hap 12が仁淀川水系、Hap 13、14が肱川水系、Hap 15が四万十川水系のみに出現した(Fig. 3, Table 3)。

Clade B-2におけるハプロタイプの出現と遺伝的類縁関係 Clade B-2には20標本群の135個体から得られた17ハプロタイプ(Hap 35-Hap 51)が含まれた(Table 3)。このうち、Hap 35は10標本群で共有され、個体数の45.5%を占めた。これらハプロタイプはClade B-2内で2つのグループ(Group A, B; Fig. 2)を形成した。岐阜、神奈川、千葉県の標本群から得られたハプロタイプと、愛媛県内の食材点および釣具店から得られたハプロ

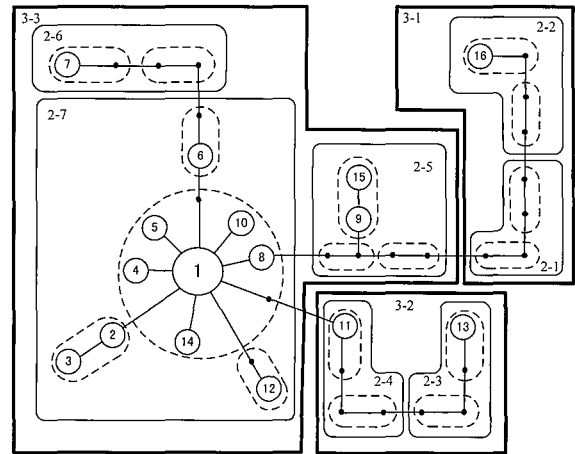


Fig. 3. Maximum parsimony network and nested clade design for 16 haplotypes of *Misgurnus anguillicaudatus* distributed in Ehime Prefecture. Each line segment indicates a single mutation between haplotypes and small solid circles indicate missing haplotypes.

タイプはそれぞれ異なるグループに含まれた。愛媛県内の29調査標本群から得られた26ハプロタイプのうち、Clade B-2には10が含まれた。この中には、自然水域から得られた5ハプロタイプおよび、流通種苗標本群から得られた8ハプロタイプ(一部重複)が含まれた。自然水域から得られたClade B-2ハプロタイプのうち、愛媛県のは松山平野流入水系と今治市山ノ内川、および新居浜市東川水系に出現した。松山平野では調査した4水系9地点中4地点(SGI-H, SGI-Y, SGU, NGD)で出現し、調査個体の38.6%を占めた。山ノ内川では調査した1地点(YMN)16個体中6個体(個体数の37.5%)、東川では1地点(HGS)の1個体が該当した(Table 3)。

松山平野流入水系の1つである重信川では、水系と連絡する野池(鉾田池: SGI-H)より得られた調査個体のすべてがClade B-2のハプロタイプを有していた。他の1つである長尾谷川(NGD)では、河川に連絡する灌漑用水路で得られた15個体中13個体が該当した。愛媛県の自然水域で得られたClade B-2の5ハプロタイプのうち2つ(Hap 44, 45)は岐阜、神奈川、千葉県のハプロタイプが含まれるGroup Bに、他の3つ(Hap 35, 37, 38)は食材点と釣具店のハプロタイプが含まれるGroup Aに属し、重信川水系鉾田池と長尾谷川の2地点では、異なるグループのハプロタイプが同所的に出現した。また、それらハプロタイプのうち2つ

(Hap 35, 37) は、流通種苗および韓国集団に出現したハプロタイプと同一であった (Table 3).

考 察

自然水域に侵入した外来系統の遺伝子 愛媛県松山市の食材店と釣具店で販売されているドジョウのハプロタイプはすべてClade B-2に含まれ、その中でもHap 35とHap 37は食材店の標本群であわせて個体数の81.8%、釣具店では2標本群ともに100%と優占した。釣具店の2007年の標本群の由来は不明であったが、こうしたハプロタイプの優占関係から見て、2008年の標本群や食材店のドジョウと同様の中国か、その周辺地域からと思われる。

愛媛県の自然水域から得られたドジョウ集団のうち、松山平野の4地点と山ノ内川、東川にのみClade B-2のハプロタイプをもつ個体が見られたが、そのハプロタイプは同様にHap 35とHap 37で個体数の47.5%、食材店や釣具店の標本群に出現しなかったHap 44とHap 45がそれぞれ35.0%と15.0%で、全体の大部分を占めた。また、Hap 35とHap 37は山口県の一部地域に出現するとともに、Hap 44は県内の養殖場からも得られた。さらに、Hap 35, 37とHap 44は系統樹上で互いに異なるグループに含まれるが、松山平野の2地点 (SGI-H, NGD) ではそれらが同所的に出現した。こうしたハプロタイプの出現状況とそれらのサブクレード上の位置、および松山平野内のClade B-1ハプロタイプ (Hap 1-Hap 5) との遺伝的分化の大きさ (平均値±標準偏差: $4.4 \pm 0.2\%$) からみて、愛媛県に出現したClade B-2のハプロタイプはすべて流通種苗を由来とする移入ハプロタイプと推定される。したがって、愛媛県では主に松山平野において食材や釣り餌として県下に持ち込まれた国外産ドジョウの遺伝子がすでに侵入していると結論づけられる。なお、山ノ内川のHap 45や、ドジョウ養殖場のHap 41, 42は、今回調査したどの自然水域、どの流通種苗からも出現しなかったことから、その由来については不明であり、少なくとも今回調査した食材や釣り餌種苗と異なる産地の可能性がある。

Khan and Arai (2000) はアロザイム分析において、愛媛県宇和町 (現西予市) 内の約2 km離れた2地点で得られた個体群がそれぞれ別のグループに含まれ、グループの地理的分布が不連続であることを報告している。このうち1地点をミトコンドリアDNA分析により解析したMorishima et al.

(2008) では、1地点内に2つのサブクレードメンバー (Subclade B-1, B-2, 本研究のClade B-1とB-2) が含まれている。こうした結果も今回と同様、野外における流通種苗遺伝子の侵入の影響を示していると思われる。

本研究において、愛媛県の自然水域に出現したClade B-2ハプロタイプは人為移入と判断した。近県では、Clade B-2ハプロタイプの出現した山口県の2地点のうち、少なくとも1地点 (KDN) は上流にドジョウの養殖場があることから (畑間, 私信), その由来が種苗の逸散であることが示唆される。その他の地点については詳細な情報が得られなかったが、関東地方の3地点 (SOM, TON, KHT) ではClade B-2のハプロタイプを有する割合が高く (個体数割合50-100%, Table 3), それらハプロタイプはすべてGroup Bに含まれる (Fig. 2)。また、これら地点を含んだ関東, 甲信越地方は純淡水魚の固有分布によって特徴づけられる地域であり (Watanabe, 1998), なんらかの地史的背景をもつ可能性も否定できない。同様に、韓国ではClade B-2のハプロタイプはすべて太白, 小白山脈より東部, および蘆嶺山脈より南部の東韓・南韓亜地域 (田, 1987), いわゆる日本海斜面流入河川からのみ見つかっており (Fig. 1, Table 3), メダカにおける遺伝子系統の分布パターンと類似することからも (Takehana et al., 2004a, b), なんらかの地史的背景が関わっている可能性がある。今後本種の分布域全体にわたる広範な遺伝子系統の解析が必要であろう。

在来遺伝子系統の集団構造 愛媛県の自然水域に出現した2つの大きなハプロタイプ・クレードのうち、Clade B-1では、大部分の地点でメジャーハプロタイプ (Hap 1) と、それより数塩基の変異による分化の程度が小さいマイナーハプロタイプの組み合わせになっており、また、マイナーハプロタイプの多くは水系や地域ごとに固有であった。また、他地域のハプロタイプのうち、Hap 17-Hap 19は徳島県, Hap 20およびHap 22-Hap 24は山口県, Hap 25, 26は岐阜県, Hap 27は新潟県佐渡島, Hap 31-Hap 33は韓国に固有であった (Table 3)。こうしたことから、Clade B-1に含まれるハプロタイプの多くは地理的固有性があり、ドジョウの分布域形成にともなう遺伝的分化をある程度反映していると思われる。小出水ほか (2009) も、検出された3つのクレード (Clade A-C) のうち、Morishima et al. (2008) のSubclade B-1に該当するクレードCには少なくとも一部地理的固有

性が見られること、多様度の高さや広範なハプロタイプ分布を示すことなどから在来系統であると見なしている。ただし、一部では地理的連関が不明瞭で、人為移動や放流の影響も考えられると述べており、本研究においても僧都川や野村ダム湖のハプロタイプのように、同所的に出現する他のハプロタイプよりも、他県や韓国との関連性が示唆される場合があることから、同様に一部地域では人為による攪乱が起こっている可能性がある。

こうした例外的なハプロタイプを除けば、愛媛県下で見られた地域固有のハプロタイプ変異は、本種個体群が現在地理的に隔離され、それぞれに遺伝的分化が進行していることを示している。愛媛県下各地の固有ハプロタイプ間の塩基置換率からそれらの分化年数を求めると、もっとも近縁なハプロタイプ同士の間でも、塩基置換率1%/百万年（ギギ科：Watanabe and Nishida, 2003）の場合に27万年、2.5–2.8%/百万年（メダカ、ホトケドジョウ：Takehana et al., 2003; Saka et al., 2003）の場合10.7–12万年となる。これらの値はいずれも最終氷期（ヴェルム氷期）前の間氷期（リスーヴェルム間氷期）か、それ以前に遡る（町田, 2003）。したがって、現在の地域ごとに見られる固有なハプロタイプの分化は、現在のような形で個体群が水系ごとに隔離された最終氷期以降ではなく、最終氷期以前に開始されていたと思われる。

一方、県下全域で優占するHap 1は、高知県南部、香川県、および山口県瀬戸内海斜面と徳島県の一部など、西日本を中心に広く出現する（Table 3）。愛媛県の調査標本群の多くが含まれる瀬戸内海斜面の河川は、第四期の最終氷期には広く下流部で連絡して大水系を形成していたことが知られている（新見, 1995）。本種と同様に平地流に生息するシマドジョウ種群 *Cobitis biwae complex* においては、もっとも新しい遺伝子系統に含まれる同質四倍体グループが瀬戸内海斜面の流入河川に広く分布し（Kitagawa et al., 2003; 北川ほか, 2009）、それらは最終氷期の大きな水系が形成されていた時代の広域な個体群間の交流が関与していると考えられている（君塚, 1987; 北川ほか, 2009）。ドジョウは低地の氾濫源を主な生息地としており、一時的水域にもよく侵入する。また、そうした環境があれば山間部にも見られることがあり、個体の移動能力は純淡水魚のなかで比較的高いと考えられる。こうしたことから、大水系が形成されていた時代には個体群間で広域な移動、交流が起

こっていたことが予測される。現在におけるHap 1の地理的分布は、そうした個体群間の交流を反映していると考えられる。

なお、今回の調査地点では東日本で唯一、佐渡島（SAD）においてHap 1が優占的に出現していた。本地点の集団はまた、愛媛県にのみ出現したハプロタイプ（Hap 9）を有することに加えて、他地点に見られない固有のハプロタイプ（Hap 29）も有している（Table 3）。こうした出現状況が本地点の地史的背景を反映したものか、人為による攪乱であるかは明らかでないが、チトクロームb領域の解析結果から、佐渡島に出現するハプロタイプは地理的傾向が不明瞭で、遺伝汚染の生じている可能性があるグループに属しており（小出水ほか, 2009）、なんらかの人為による攪乱の影響を反映しているのかもしれない。

在来遺伝子系統の保全 本研究により、愛媛県の自然水域に国外などの異質な遺伝子をもった流通種苗が侵入していることが明らかになった。また、そうした水系は少なくとも、愛媛県で調査した15水系中4水系に上った。本種の移動、分散能力を考慮すると、異質な種苗が水系の一部に添加されただけであっても、その影響は水系全体に及ぶことが推定される。重信川水系では、支流石手川に流入する水路の上流端付近にある鉢田池で混入率が100%（個体数割合）、石手川と重信川の合流点付近の水路（SGI-Y）で75%、重信川中流域の周辺水路（SGU）で約9%と違いが見られるが（Table 3）、混入率100%の野池が異質な遺伝子のストックとなり、下流へ、そして本流伝いに水域全体へ拡散していくことが予測される。また、今回解析対象としたミトコンドリアDNAは母系情報のみであるため、実際にはすでに在来系統との交雑が進行していることも考えられる。

ドジョウは近年、都市開発や圃場整備の影響により減少傾向にあり、一部の地域では絶滅の恐れがあると見なされているが（たとえば大阪府, 2000; 徳島県版レッドデータブック掲載種検討委員会編, 2001）、それに加えてこうした流通種苗による攪乱で、在来の遺伝子系統が失われつつあるといえる。近年では、ドジョウ種苗そのものの流通ばかりでなく、釣り餌として輸入されるエビ類にドジョウ類をはじめ多様な生物が混入し、自然水域への拡散が起こっていると指摘されている（平嶋, 2006）。ドジョウについては少なくとも、異質な遺伝子集団の外観上での識別は困難であり、いったん水域に侵入した個体や遺伝子を取り

除くことは事実上不可能である。日本国内において、こうした純淡水魚の種内地域間における人為的遺伝子攪乱は近年いくつも検出され、警鐘が鳴らされている（たとえばメダカ：Takehana et al., 2003, アブラボテ *Tanakia limbata*：Hashiguchi et al., 2006, ゼゼラ *Biwia zezera*：堀川・向井, 2007; 堀川ほか, 2007, ドンコ *Odontobutis obscura obscura*：向井・西田, 2003)。ドジョウについても、今後、流通種苗の野外での拡散を防ぐとともに、在来集団の残る水系を保護水域にするなど、なんらかの対応が必要と思われる。また、すでに異質な遺伝子系統の侵入している水系においては、そうした個体群を識別し、在来系統の残る水域を選択して新たな水系内ネットワークを構築するような試み（山下ほか, 2006）も重要と思われる。

謝 辞

サンプルの収集にご協力いただいた韓国祥明大学の田 祥麟名誉教授、徳島県立博物館の佐藤陽一氏、河川生物研究所の洲澤 譲氏、岐阜県河川環境研究所の大原健一氏、山口県水産研究センターの畑間俊弘氏、中外テクノスの吉郷英範氏、住鋳テクノリサーチの高橋弘明氏および渋谷雅紀氏、西日本科学技術研究所の平賀洋之氏、愛媛大学農学部の小川次郎氏、愛媛県立衛生環境研究所の村上 裕氏、愛南町の長田岩喜氏、上島町の宮脇 馨氏および、DNA分析にご協力いただいた愛媛大学農学部の大山昭代氏に感謝の意を表す。本研究の一部は環境省委託「自然環境保全基礎調査」として実施された。

引 用 文 献

- Clement, M., D. Posada and K. A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.*, 9: 1657-1660.
- Cox, G. W. 2004. Alien species and evolution. The evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes, and interacting native species. Island Press, Washington. xii+377 pp.
- 田 祥麟. 1987. 韓国の淡水魚類. 水野信彦・後藤晃 (編), pp. 199-213. 日本の淡水魚類 その分布, 変異, 種分化をめぐって. 東海大学出版会, 東京.
- 董 仕・谷口順彦・石田力三. 1999. 茨城県東連津川で見られたドジョウの2型. *魚類学雑誌*, 46: 83-90.
- Efron, B. 1979. Bootstrap method: another look at the jack-knife. *Ann. Stat.*, 7: 1-26.
- Felsenstein, J. 1995. PHYLIP (Phylogeny Inference Package, Ver.3.57). Seattle, WA: Department of Genetics, SK-50, University of Washington.
- 藤田朝彦. 2007. 本邦で確認されている“カラドジョウ”の学名について. *魚類学雑誌*, 54: 243-244.
- Guo, Q. 2005. Possible cryptic invasion through “back introduction?” *Front. Ecol. Environ.*, 3: 470-471.
- 平嶋健太郎. 2006. 釣り餌用生きエビに混入する外来魚. *南紀生物*, 48: 1-5.
- Hashiguchi, Y., T. Kado, S. Kimura and H. Tachida. 2006. Comparative phylogeography of two bitterlings, *Tanakia lanceolata* and *T. limbata* (Teleostei, Cyprinidae), in Kyushu and adjacent districts of western Japan, based on mitochondrial DNA analysis. *Zool. Sci.*, 23: 309-322.
- Holsbeek, G., J. Mergeay, H. Hotz, J. Plotner, F. A. M. Volckaert and L. de Meester. 2008. Cryptic invasion within an invasion and widespread introgression in the European water frog complex: consequences of uncontrolled commercial trade and weak international legislation. *Mol. Ecol.*, 17: 5023-5035.
- 堀川まりな・向井貴彦. 2007. 濃尾平野におけるゼゼラのミトコンドリアDNA二型の分布. *日本生物地理学会会報*, 62: 29-34.
- 堀川まりな・中島 淳・向井貴彦. 2007. 九州北部のゼゼラにおける在来および非在来ミトコンドリアDNAハプロタイプの分布. *魚類学雑誌*, 54: 149-159.
- Iguchi, K., Y. Tanimura and M. Nishida. 1997. Sequence divergence in the mtDNA control region of amphidromous and landlocked forms of Ayu. *Fish. Sci.*, 63: 901-905.
- 石田力三. 1969. ドジョウ. 川村厚生・大家正太郎・石田力三・梶 純夫・鈴木規夫, pp. 109-187. 養魚講座5ヘラブナ・ドジョウ・スッポン・ブラックバス. 緑書房, 東京.
- 加納光樹・今井 仁. 2008. 魚類. 多紀保彦 (監), pp. 121-176. 決定版 日本の外来生物. 平凡社, 東京.
- Khan, M. R. and K. Arai. 2000. Allozyme variation and genetic differentiation in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish. Sci.*, 66: 211-222.
- 君塚芳輝. 1987. シマドジョウ類—核学的種族の動物地理. 水野信彦・後藤 晃 (編), pp. 61-70. 日本の淡水魚類 その分布, 変異, 種分化をめぐって. 東海大学出版会, 東京.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, 16: 111-120.
- 北川えみ・中島 淳・星野和夫・北川忠夫. 2009. 九州北東部におけるシマドジョウ属魚類の分布パターンとその成立過程に関する考察. *魚類学雑誌*, 56: 7-19.
- Kitagawa, T., M. Watanabe, E. Kitagawa, M. Yoshioka, M. Kashiwagi and T. Okazaki. 2003. Phylogeography and maternal origin of the tetraploid form of the Japanese spined loach, *Cobitis biwae*, revealed by mitochondrial DNA analysis. *Ichthyol. Res.*, 50: 318-325.
- 小出水規行・竹村武士・渡部恵司・森 淳. 2009. ミトコンドリアDNAによるドジョウの遺伝特性—チトクロームb遺伝子の塩基配列による系統解析—. *農業農村工学会論文集*, 259: 7-16.
- Liu, H., C. S. Tzeng and H. Y. Teng. 2002. Sequence varia-

- tions in the mitochondrial DNA control region and their implications for the phylogeny of the Cypriniformes. *Can. J. Zool.*, 80: 569–581.
- 町田 洋. 2003. 大陸氷床の消長史. 町田 洋・大場忠道・小野 昭・山崎晴雄・河村善也・百原 新, pp. 140–147. 第四期学. 朝倉書店, 東京.
- Mergeay, J., D. Verschuren and L. D. Meester, 2005. Cryptic invasion and dispersal of American daphnia in East Africa. *Limnol. Oceanogr.*, 50: 1278–1283.
- McMahon, B. R., and W. W. Burggren. 1987. Respiratory physiology of intestinal air breathing in the teleost fish *Misgurnus anguillicaudatus*. *J. Exp. Biol.*, 133: 371–393.
- Mihara, M., T. Sakai, K. Nakao, J. de Oliveira Martins, K. Hosoya and J. Miyazaki. 2005. Phylogeography of loaches of the genus *Lefua* (Balitoridae, Cypriniformes) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Zool. Sci.*, 22: 157–168.
- 宮地傳三郎・川那部浩哉・水野信彦. 1976. 原色日本淡水魚類図鑑 全改訂新版. 保育社, 大阪. 462 pp.
- Morishima, K., Y. Nakamura-Shiokawa, E. Bando, Y. J. Li, A. Boroń, M. M. Khan and K. Arai. 2008. Cryptic clonal lineages and genetic diversity in the loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Teleostei: Cobitidae) inferred from nuclear and mitochondrial DNA analyses. *Genetica*, 132: 159–171.
- 向井貴彦・西田 睦. 2003. 日本産ドンコにおけるミトコンドリアDNAの系統と関東地方への人為移植の分子的証拠. *魚類学雑誌*, 50: 71–76.
- 中村守純. 1963. 原色日本淡水魚類検索図鑑. 北隆館, 東京. 260 pp.
- 大阪府. 2000. 大阪府における保護上重要な野生生物—大阪府レッドデータブック—. 大阪府環境農林水産部 緑の環境整備室. 443 pp.
- Saka, R., Y. Takehana, N. Suguro and M. Sakaizumi. 2003. Genetic population structure of *Lefua echigonia* inferred from allozymic and mitochondrial cytochrome b variations. *Ichthyol. Res.*, 50: 301–309.
- Saitoh, K., M. Miya, J. G. Inoue, N. B. Ishiguro and M. Nishida. 2003. Mitochondrial genomics of ostariophysan fishes: Perspectives on phylogeny and biogeography. *J. Mol. Evol.*, 56: 464–472.
- Saitoh, K., T. Sado, R. L. Mayden, N. Hanzawa, K. Nakamura, M. Nishida and M. Miya. 2006. Mitogenomic evolution and interrelationships of the Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi): The first evidence toward resolution of higher-level relationships of the world's largest freshwater fish clade based on 59 whole mitogenome sequences. *J. Mol. Evol.*, 63: 826–841.
- Saltonstall, K. 2002. Cryptic invasion by a non-native genotype of the common reed, *Phragmites australis*, into North America. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99: 2445–2449.
- Sato, H. and H. Ota. 1999. False biogeographical pattern derived from artificial animal transportations: a case of the soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*, in the Ryukyu Archipelago, Japan. Pages 317–334 in Ota, H. ed. *Tropical Island Herpetofuna: Origin, Current Diversity, and Conservation*. Elsevier, Amsterdam.
- 新見 治. 1995. 多島海の自然景観—瀬戸内海. 中村和郎・安藤久次・宮田賢二・堀 信行・海津正倫・新見 治 (編), pp. 114–130. 日本の自然 地域編 6 中国四国. 岩波書店, 東京.
- Šlechtová, V., J. Bohlen and A. Perdices. 2008. Molecular phylogeny of the freshwater fish family Cobitidae (Cypriniformes: Teleostei): Delimitation of genera, mitochondrial introgression and evolution of sexual dimorphism. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 47: 812–831.
- Takehana, Y., S.-R. Jeon and M. Sakaizumi. 2004a. Genetic structure of Korean wild populations of the Medaka *Oryzias latipes* inferred from allozymic variation. *Zool. Sci.*, 21: 977–988.
- Takehana, Y., N. Nagai, M. Matsuda, K. Tsuchiya and M. Sakaizumi. 2003. Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in Japanese wild populations of Medaka, *Oryzias latipes*. *Zool. Sci.*, 20: 1279–1291.
- Takehana, Y., S. Uchiyama, M. Matsuda, S.-R. Jeon and M. Sakaizumi. 2004b. Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in wild populations of Medaka (*Oryzias latipes*) from Korea and China. *Zool. Sci.*, 21: 483–491.
- Templeton, A. R. and C. F. Sing. 1993. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Nested analysis with cladogram uncertainty and recombination. *Genetics*, 134: 659–669.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins and T. J. Gibson. 1994. "CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice". *Nucl. Acids Res.*, 22: 4673–4680.
- 徳島県版レッドデータブック掲載種検討委員会編, 2001. 徳島県の絶滅のおそれのある野生生物—徳島県版レッドデータブック—. 徳島市. 440 pp.
- Vasil'eva, E. D. 2001. Loaches (genus *Misgurnus*, Cobitidae) of Russian Asia. I. the species composition in waters of Russia (with a description of a new species) and some nomenclature and taxonomic problems of related forms from adjacent countries. *J. Ichthyol.*, 41: 553–563.
- Watanabe, K. 1998. Parsimony analysis of the distribution pattern of Japanese primary freshwater fishes, and its application to the distribution of the bagrid catfishes. *Ichthyol. Res.*, 45: 259–270.
- Watanabe, K. and M. Nishida. 2003. Genetic population structure of Japanese bagrid catfishes. *Ichthyol. Res.*, 50: 140–148.
- 渡辺恵三. 1975. ドジョウ. 石田力三ほか (著), pp. 145–155. 淡水魚養殖相談. 農村漁村文化協会, 東京.
- 山下慎吾・村岡敬子・天野邦彦. 2006. 水域エコロジカルネットワーク計画における遺伝情報とコスト距離を活用した比較検討. *河川技術論文集*, 12: 449–454.
- 安間繁樹. 1982. 琉球列島 生物に見る成立の謎. 東海大学出版会, 東京. v+208 pp.
- 吉郷英範. 2007. 山口県東部で採集された外来の可能性のあるドジョウ属 (コイ目ドジョウ科). *比婆科学*, 223: 7–20.