

近縁外来種の侵入が在来種に与える生態・遺伝的影響に関する実証的研究

(研究課題番号 17570018)

平成 17 年度～平成 18 年度科学研究費補助金（基盤研究（C））研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 河村功一

(三重大学大学院生物資源学研究科助教授)

目 次

はじめに	1
研究組織	3
研究経費	3
研究発表	3
ア. 学会発表	3
イ. 口頭発表	4
ウ. 出版物	5
エ. その他	6
研究成果	7
1. 配偶行動における生殖前隔離	7
1.1 亜種間の行動連鎖とコミュニケーション	7
1.2 亜種間におけるペア産卵の成功率	10
2. 亜種間における適応度の違い	13
3. 水槽実験による交雑の実態の解明	17
4. 野外人工池を用いた両亜種の混合飼育試験における遺伝子置換の実態	24
5. シミュレーションによる外来種の侵入による在来種の絶滅条件の推定	33
6. 総合論議	39
6.1 近縁外来種の侵入による在来種の絶滅要因	39
6.2 個体レベルで見た在来種の絶滅のメカニズム	40
6.3 遺伝子レベルで見た在来種の絶滅のメカニズム	42
7. 要約	44
謝辞	46
引用文献	47
業績別刷	51

はじめに

外来種問題は 21 世紀における大きな社会問題の一つであり、それは現在、日本に限らず国際的レベルで問題となっている (Allendorf & Lundquist, 2003; Olden *et al.*, 2004)。外来種が問題とされている理由の一つは生態系における在来種への影響であり、これは具体的には外来種による在来種の絶滅、在来種との置換、生態系を構成する動物相・植物相の単純化と言ったものである。これらはいずれも外来種との競争の結果によるものであり、特に日本の様な隔離性の高い島嶼域に生息する種は概して大陸からの侵入種に対し、競争において弱い傾向があることが知られている (プリマック・小堀, 1997)。しかしながら、外来種の侵入による在来種の絶滅は必ずしも競争だけによるものではなく、競争を伴わない場合も存在する。その一つが外来種との交雑による在来種の絶滅であり、有名な例として逃散したタイワンザルによるニホンザルとの交雑が挙げられる (村上・鷲谷, 2002)。

交雑は自然界においては動物、植物のほぼ全ての分類群において頻繁に見られる現象であり、植物では交雑が種形成の大きな要因の一つとされている (Avise, 2004)。しかしながら、動物においては交雑による種形成は稀であり、むしろ雑種退行、雑種致死と言った有害なケースの方が多いことが知られている (Allendorf & Luikart, 2006)。外来種と在来種が遺伝的に近縁な場合、分布のオーバーラップにおいて両者の雑種と思われる個体がしばしば見られることは、多くの分類群において知られている (Arnold, 1997)。しかしながらその、その雑種形成のメカニズムについては不明な点が多い (Sakai *et al.*, 2001)。また、外来種との交雑による在来種の絶滅は保全生物学における大きな問題となっている (村上・鷲谷, 2002)。

ニッポンバラタナゴ (*Rhodeus ocellatus kurumeus*) は日本固有種であり、かつては琵琶湖以西の瀬戸内周辺域ならびに九州中北部の平野部に広く生息していたとされる (中村, 1969)。タイリクバラタナゴ (*R. o. ocellatus*) はニッポンバラタナゴの亜種であり、朝鮮半島、台湾を含む東アジアの温帯域に広く分布する。タイリクバラタナゴは 1940 年代に中国四大家魚の種苗に混じり偶発的に利根川に持ち込まれ (中村, 1955)、1950~60 年代に分布を全国的に拡大した。そのためタイリクバラタナゴは、今日では沖縄を除く全都道府県に生息する (自然環境研究センター, 2002)。タイリクバラタナゴの侵入により、ニッポンバラタナゴは本州と四国においては大阪と香川の溜池に生息する僅かな個体群を除き、全て絶滅した (Kawamura, 2005)。かつてのニッポンバラタナゴの生息地においてはニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの雑種が高頻度で見られることから、ニッポンバラタナゴ絶滅の最大の理由として、両者の交雑が指摘されている (Nagata *et al.*, 1996; Kawamura *et al.*, 2001a)。

しかしながら交雑によるニッポンバラタナゴ絶滅の具体的なメカニズムについてはほとんど判っていないことから、交雑以外の要因の存在も十分に考えられる。

近縁外来種の侵入に伴う在来種の絶滅は、決して、タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴの例に限られたものではない。タイワンザルとニホンザル、西洋タンポポと日本のタンポポの例に代表されるように、近年、近縁外来種の侵入による在来種の絶滅は多くの分類群において報告されている（村上・鷺谷，2002）。このため、現在、近縁外来種の侵入による在来種の絶滅は外来種問題における重要問題の 1 つとなっているが（村上・鷺谷，2002），実際に具体的な絶滅のメカニズムについては本研究で取り上げたタイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴ同様、ほとんど判っていないのが現状である。

バラタナゴは飼育・繁殖が比較的容易であり、世代交代も半年以内と早いことから実験動物として優れている（河村，1991）。このため、本研究ではタイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴを材料に用い、近縁外来種の侵入による在来種絶滅を実験的に再現し、行動・生態学的手法ならびに集団遺伝学的手法を用いることにより、そのメカニズムを明らかにする事を試みた。また、実験より得られたデータを基に数理モデルを構築し、コンピューターシュミレーションを行うことにより、絶滅条件の推定も併せて行った。本研究で得られた知見は、一希少性淡水魚の絶滅のメカニズムと言った特定種ならびに特定の分類群に限られたものではなく、広く他の分類群においても応用可能なものであると思われる。また、こうした地道な基礎研究の蓄積により、外来種問題が一刻も早く解決される事を期待する次第である。

研究組織

研究代表者：河村功一（三重大学大学院生物資源学研究科助教授）

研究分担者：加納義彦（大阪経済法科大学科学技術研究所非常勤講師）

研究分担者：原田泰志（三重大学大学院生物資源学研究科教授）

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 17 年度	2, 500, 000	0	2, 500, 000
平成 18 年度	1, 000, 000	0	1, 000, 000
総 計	3, 500, 000	0	3, 500, 000

研究発表

ア：学会誌等

- 1) Kawamura K. Low genetic variation and inbreeding depression in small isolated populations of the Japanese rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus*. *Zoological Science*, **22**, 517-524 (2005).
- 2) Kawamura K & Uehara K. Effects of temperature on free-embryonic diapause in autumn-spawning bitterling *Acheilognathus rhombeus* (Telesotei: Cyprinidae). *Journal of Fish Biology*, **67**, 684-695 (2005).
- 3) Kawamura K, Yonekura R, Katano O, Taniguchi Y & Saitoh K. Origin and dispersal of bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. *Molecular Ecology*, **16**, 613-621 (2006).
- 4) 鬼倉徳雄・中島 淳・江口勝久・乾 隆帝・比嘉枝利子・三宅琢也・河村功一・松井 誠一・及川 信. 多々良川水系におけるタナゴ類の分布域の推移とタナゴ類・二枚貝の生息に及ぼす都市化の影響. *水環境学会誌*, **48**, 837-842 (2006).
- 5) Obata M, Kamiya C, Kawamura K & Komaru A. Sperm mitochondrial DNA transmission to both male and female offspring in the blue mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Development Growth Differentiation*, **48**, 253-261 (2006).
- 6) 鬼倉徳雄・中島 淳・江口勝久・三宅琢也・西田高志・乾 隆帝・剣持 剛・杉山芳子・河村功一・及川 信. 有明海沿岸域のクリークにおける淡水魚類の出現・個体数とクリークの護岸形状との関係. *水環境学会誌*, 受理済.
- 7) Kawamura K, Kubota M, Furukawa M & Harada Y. The genetic structure of endangered indigenous populations of the amago salmon, *Oncorhynchus masou ishikawae*, in Japan.

Conservation Genetics, 受理済 (DOI: 10.1007/s10592-006-9271-1).

- 8) Yonekura R, Kawamura K & Uchii K. A peculiar relationship between genetic diversity and stability in invasive exotic species: bluegill sunfish as a model species. *Ecological Research*, 受理済 (DOI: 10.1007/s11284-007-0357-0).
- 9) Obata M, Sano N, Kawamura K & Komaru A. Inheritance of two M type mitochondrial DNA from sperm and unfertilized eggs to offspring in *Mytilus galloprovincialis*. *Development Growth and Differentiation*, 受理済.
- 10) Sakai S & Harada Y. (2007) Optimal size and number of seeds when seeds suffer predispersal predation. *Evolutionary Ecology Research* (in press).
- 11) Kikko T, Harada Y, Takeuchi D & Kai Y. Interpopulation variation in egg size of fluvial white-spotted charr, *Salvelinus leucomaenis*. *Fisheries Science* (in press).
- 12) 亀甲武志・佐藤拓哉・鹿野雄一・原田泰志・甲斐嘉晃. 琵琶湖流入河川姉川水系支流に生息する特殊斑紋イワナ(ナガレモンイワナ)の出現率と流程分布. 魚類学雑誌 (印刷中) .

イ：口頭発表

- 1) 原田泰志. 変動に対して頑健な管理方策. 日本水産学会春期大会シンポジウム(2005.4.1).
- 2) 河村功一・加納義彦・原田泰志. タイリクバラタナゴの侵入によるニッポンバラタナゴ絶滅の実験的検証. 2005年度日本魚類学会年会 (2005.9.24).
- 3) 三宅琢也・河村功一・細谷和海・北川忠生. 奈良県内におけるニッポンバラタナゴの生息確認. 2005年度日本魚類学会年会 (2005.9.24).
- 4) 原田泰志. On the optimal fish length at opening of sand lance fishery in Ise Bay. 平成18年度三重大学生物資源学部・上海水産大学シンポジウム (06.7.25) .
- 5) Kanaiwa M & Harada Y. Genetic risk of stocking on fishes having environmentally influenced sex-determination, Third international symposium on stock enhancement and sea ranching (2006.9) .
- 6) 三宅琢也・中島 淳・鬼倉徳雄・池本茂豊・河村功一. 日本産スイゲンゼニタナゴの遺伝的特徴. 2006年度日本魚類学会年会 (2006.10.9).
- 7) 片山雅人・河村功一・原田泰志・加納義彦. ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの交雑集団における遺伝子置換の方向性. 2006年度日本魚類学会年会 (2006.10.9) .
- 8) 有蘭正弘・佐藤拓哉・曾根亮太・原田泰志. 在来イワナ「キリクチ」の実践的な個体群管理:同所的に生息するアマゴの試験的移動. 2006年度日本魚類学会年会(2006.10.9).

- 9) 曾根亮太・佐藤拓哉・有菌正弘・原田泰志．在来イワナ「キリクチ」の個体群管理：淵造成の継続的な評価．2006 年度日本魚類学会年会 (2006.10.9)．
- 10) 佐藤拓哉・原田泰志．隔離された在来イワナ個体群「キリクチ」の遺伝的有効集団サイズと遺伝的管理の効果予測．2006 年度日本魚類学会年会 (2006.10.9) ．
- 11) 原田泰志．親の保護と卵サイズ - その理論背景．2006 年度日本動物行動学会シンポジウム (2006.11) ．
- 12) 原田泰志．海水・汽水・陸水を往来する魚類相．水産海洋学会地域研究集会 (2007.01)．
- 13) 三宅琢也・河村功一・中島 淳・鬼倉徳雄．九州におけるニッポンバラタナゴの現状．平成 19 年度日本水産学会春期大会 (2007.3.30)．
- 14) 金岩 稔・原田泰志・木下貴裕．ズワイガニ日本海系群 A 海域における ABC の精度評価と改善可能性．平成 19 年度日本水産学会春期大会 (2007.3.30)．
- 15) 原田泰志・森山彰久・阿部信一郎・内田和男．成長の密度依存性と縄張りアユの定員を考慮したアユ漁場管理モデル．平成 19 年度日本水産学会春期大会 (2007.3.30)．
- 16) 三股智子・原田泰志・藤田弘一・富山 実．伊勢湾産イカナゴの資源管理方策：自然死亡の影響と休漁の効果．平成 19 年度日本水産学会春期大会 (2007.3.30)．
- 17) 加藤雅之・原田泰志．宮川流域におけるアジメドジョウの支流間スケールでの分布を決める要因．平成 19 年度日本生態学会大会 (2007.03) ．

ウ：出版物

- 1) 加納義彦・原田泰志・河村功一．ニッポンバラタナゴ — 隔離と外来種がもたらしたもの —．希少淡水魚の現在と未来 — 積極的保全のシナリオ — (片野・森編)，信山社，pp. 416 (2005)．
- 2) 河村功一．スイゲンゼニタナゴの価値．希少淡水魚の現在と未来 — 積極的保全のシナリオ — (片野・森編)，信山社，pp. 416 (2005)．
- 3) 原田泰志・西山雅人．変動に対して頑健な管理方策．レジームシフトと水産資源管理 (青木・仁平・谷津・山川編)，恒星社厚生閣，pp. 143 (2005)．
- 4) 河村功一．交雑育種．水産大百科 (水産総合研究センター編)，朝倉書店，pp. 787 (2006)．
- 5) 河村功一．ヤリタナゴ，アブラボテ，イチモンジタナゴ他．三重県版レッドデータブック 2005 動物 (三重県環境森林部自然環境研究室編)，三重県環境保全事業団，pp. 498 (2006)．

エ：その他

- 1) 片山雅人. タイリクバラタナゴ (*Rhodeus ocellatus ocellatus*) の侵入によるニッポンバラタナゴ (*R. o. kurumeus*) 絶滅のメカニズム. 三重大学生物資源学部卒業論文 (2005).

研究結果

1. 配偶行動における生殖前隔離

近縁種間における生殖的隔離は生理生態的特徴から大きく2つに分けることができる。1つは配偶行動時の個体認識に基づく生殖前隔離であり、もう1つはF₁個体の致死、不妊と言った雑種個体の不継続性による生殖後隔離である (Futuyma, 2005)。生物の種分化において、生殖前隔離は生殖後隔離よりもウエイトが大きいとされており (Coyne & Orr, 2004)、近縁種の種間関係の解明において配偶行動の調査は必須である。本研究では実験水槽を用いてニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの混生飼育実験を行い、配偶行動における両亜種の生殖前隔離の有無を明らかにする事を試みた。

1.1 亜種間の行動連鎖とコミュニケーション

材料と方法

材料

ニッポンバラタナゴ (Rok) は大阪府八尾市郊外の1溜池 (大和川水系) において採集したものを、タイリクバラタナゴ (Roo) は栃木県那須郡小川町の農業用水路 (那珂川水系) において採集したものをそれぞれ実験に用いた。

方法

1) 亜種間の行動連鎖

2005年5月14日から6月8日にかけて同亜種あるいは異亜種のペア産卵の行動連鎖を観察した。45×30×30cmの水槽にドブガイを1個体設置し、産卵管が伸びている雌と婚姻色が強く出ている雄を選び、水槽に導入して産卵行動が開始されるまで待ち、産卵行動が開始されてから1時間、VTRで行動を記録した。Rok (♂) × Rok (♀), Roo (♂) × Roo (♀), Rok (♂) × Roo (♀), Roo (♂) × Rok (♀) それぞれのペアを4回ずつ、合計16時間記録した。実験には連続して同じ個体を用いないようにした。またドブガイも毎回交換した。行動連鎖において雌の産卵行動を産卵成功 (Touching+) と産卵不成功 (Touching-) に分け、雄の放精行動をスキミング (Skimming) と名づけた (図1)。

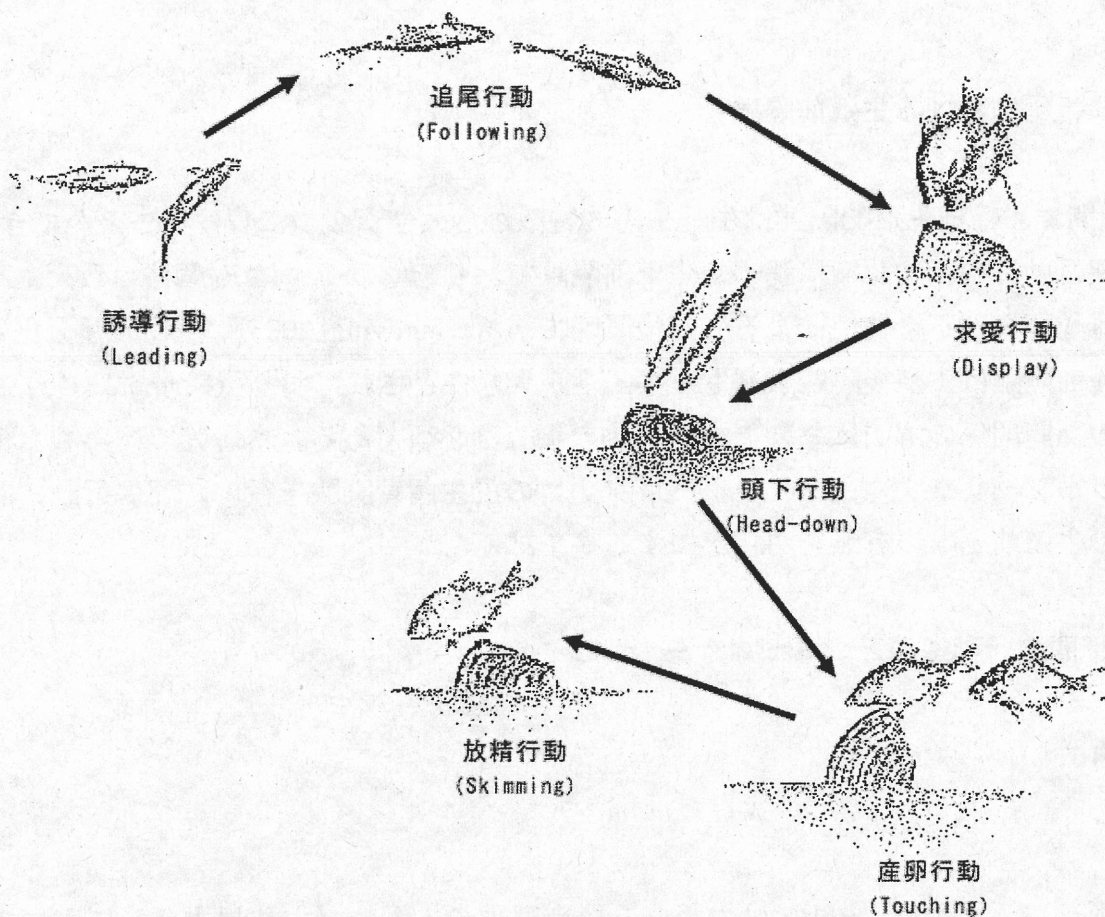


図1. パラタナゴの繁殖行動（ペア産卵）.

2) 雄の求愛行動の差異

VTR を利用して、両亜種の求愛行動の差異を表すために、求愛行動における雌雄の背鰭震わせ速度を測定した。

結果

1) 亜種間の行動連鎖

亜種間の行動連鎖について、以下のことが判った（図2）。

①Rok のペア産卵では、誘導行動から産卵直前のヘッドダウン行動まで、ほぼスムーズに行動が連鎖しており、その後の産卵成功率は50%であった。

②Roo のペア産卵では、求愛行動から産卵直前のヘッドダウンまでは約50%しか連鎖していないが、その後の産卵成功率は75%と非常に高かった。

③Rok（♂）と Roo（♀）とのペアでは、誘導行動と追尾行動はほとんどなく、雌は何回

も産卵行動を繰り返すが、ほとんど産卵不成功（約 95%）に終わった。

④Roo（♂）と Rok（♀）のペアでも、誘導行動が少なく、雌は誘導されずに縄張りに侵入し、求愛行動から産卵不成功まで繰り返すことが多かった。また、ヘッドダウン行動からの産卵成功率（約 40%）も低かった。

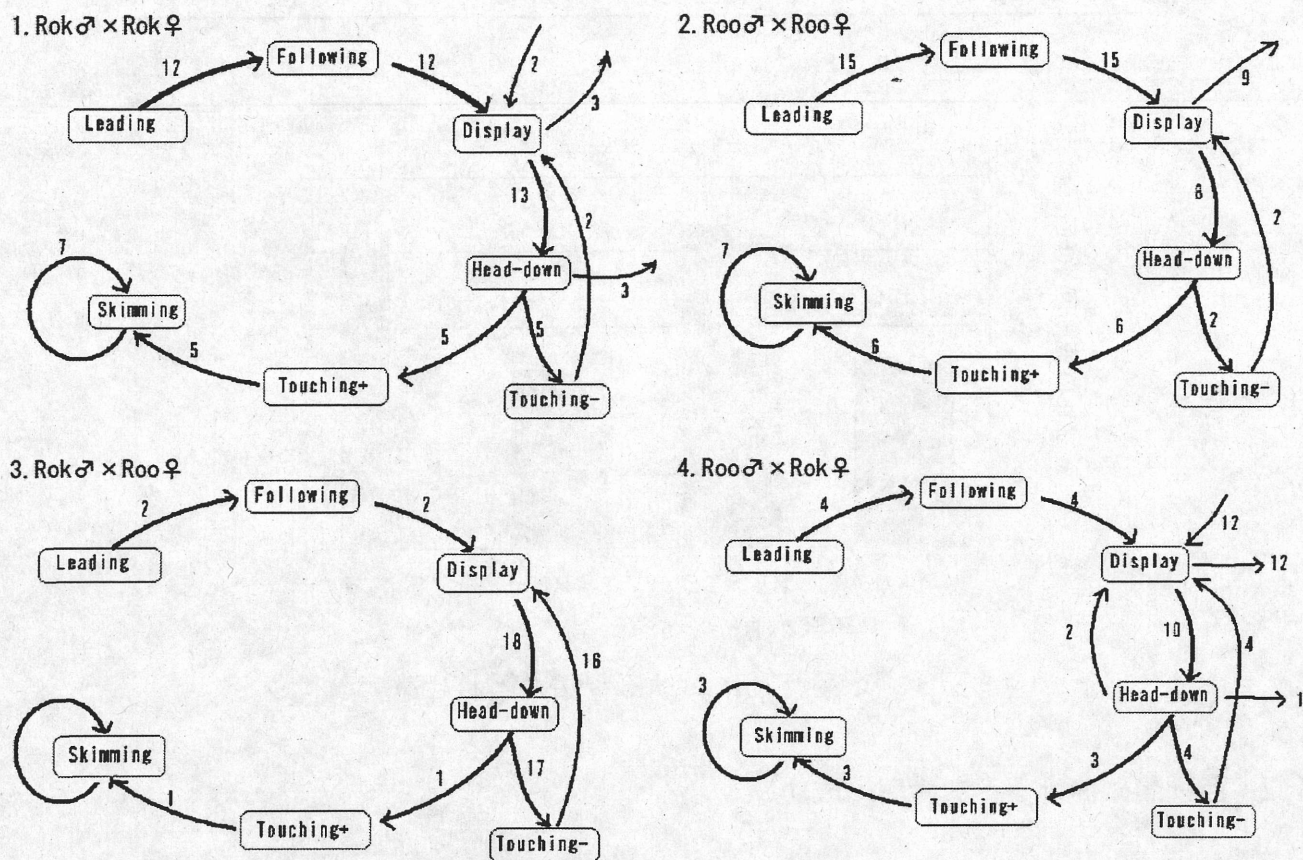


図2. ペア産卵における行動連鎖

2) 雄の求愛行動の差異

雄の誘導行動から求愛行動において亜種間での違いが示唆されたことから、雄の求愛行動の特徴を示す背鰭と尻鰭の震わせ回数を測定した。その結果、Roo の求愛行動では背鰭の震わせ回数は Roo（♂）×Roo（♀）で 8.7 ± 0.86 （回/sec）, Roo（♂）×Rok（♀）で 8.53 ± 0.92 （回/sec）となり、Rok の Rok（♂）×Rok（♀）で 5.1 ± 0.18 （回/sec）, Rok（♂）×Roo（♀）で 4.84 ± 0.36 （回/sec）よりはるかに速かった。雌においては、わずかに Rooの方が速かったが、有意差は認められなかった。

表1. 両亜種の求愛行動における背鰭振るわせ速度の違い

	♀ (回/sec) (mean±SD)	♂ (回/sec) (mean±SD)	n
Rok ♀ × Rok ♂	4.99±0.12	5.1±0.18	6
Rok ♀ × Roo ♂	5.37±0.27	8.7±0.86	5
Roo ♀ × Rok ♂	5.33±0.41	4.8±0.36	3
Roo ♀ × Roo ♂	5.69±0.14	8.5±0.92	6

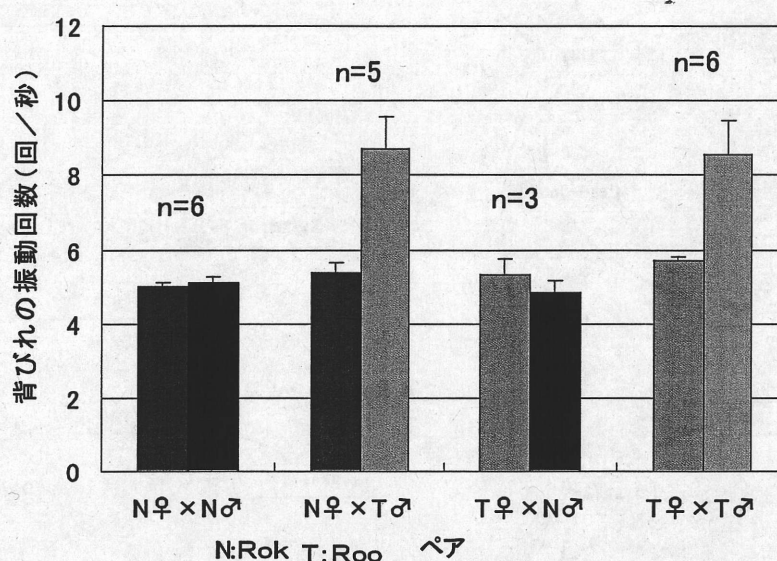


図3. 求愛行動における背鰭の震わせ速度

1.2 亜種間におけるペア産卵の成功率

材料と方法

材料

サンプルは1.1と同じ。

方法

バラタナゴの繁殖期である4月27日から8月29日までの間、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの混合飼育を行い、雌の排卵周期を観察した。水槽（160×60×50cm）にドブガイを2個体設置し、タイリクバラタナゴ雄2尾、雌3尾およびニッポンバラタナゴ雄4尾、雌6尾を導入し、繁殖期を4つのステージ（ステージ1：4/27～5/9, ステージ2：5/10～5/28, ステージ3：5/29～6/15, ステージ4：6/16～8/29）に分け、ステージ毎にドブガ

イを交換し、ドブガイに産卵された仔魚稚魚の親子判定を行った。また、全繁殖期を通して、雌の排卵周期を観察した。繁殖の最盛期であるステージ3の6月9日と6月11日にはバラタナゴの行動観察を行った。観察方法は、2個体の雄にドブガイの周囲に縄張りを形成させ、VTRで2ヶ所の縄張りを同時に記録するために、2個体の貝の間隔を40cmに接近させ、両貝の中央に不透明な衝立を設置した。その衝立によって縄張り雄は互いに他の縄張りで産卵が起こったかどうかを、直接視覚では確認できないように配置し、衝立の上部と後部では魚が自由に移動できるような空間を維持した。撮影時間は6月9日に4時間、6月11日に6時間行った。

結果

雌の産卵期間について見ると、タイリクバラタナゴは 102 ± 7.5 日 ($n=3$)、ニッポンバラタナゴは 44.6 ± 5.1 日 ($n=6$) となり、タイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの約2倍長く続いた。雌の排卵周期はタイリクバラタナゴでは 5.1 ± 0.8 日 ($n=3$)、ニッポンバラタナゴは 5.8 ± 0.6 日 ($n=6$) となり、タイリクバラタナゴは有意に短かった (図4)。

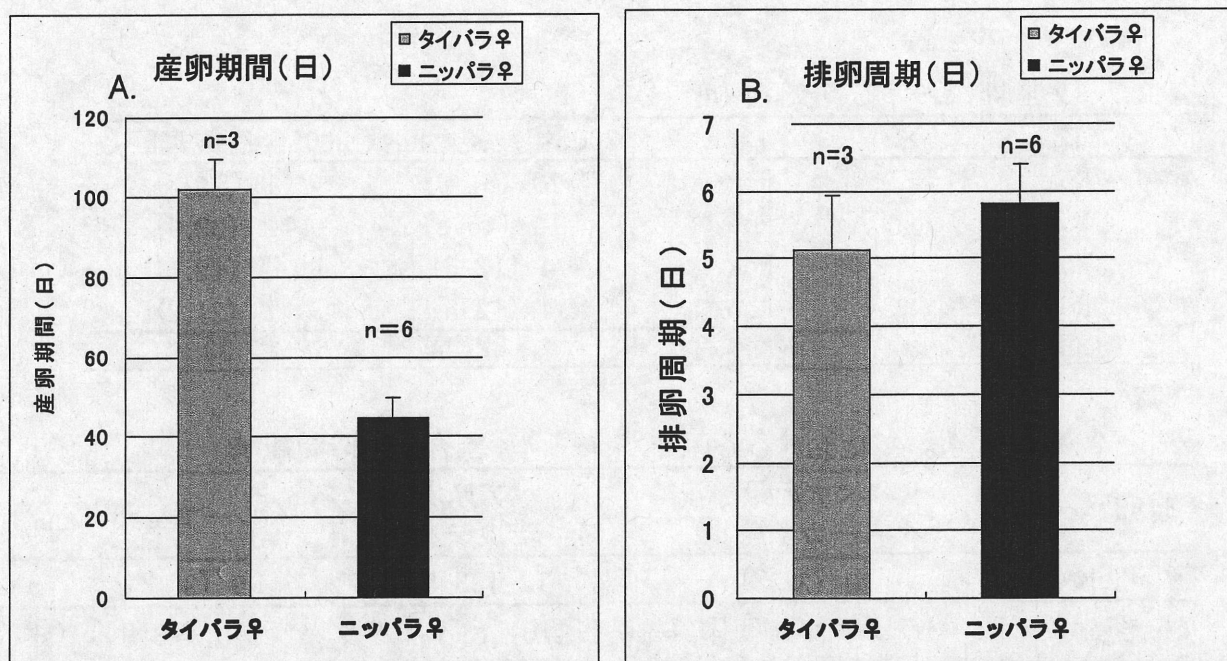


図4. 2005年の水槽実験における雌の産卵期間と排卵周期

行動観察期間に合計 33 回の産卵が観察された。そのうち、Rok♂×Rok♀のペア産卵が 11 回、Roo♂×Roo♀のペア産卵が 11 回、Rok♂×Roo♀のペア産卵が 7 回、Roo♂×Rok♀のペア産卵が 4 回観察された。Roo No1♂×Roo♀の 2 回ペア産卵に Roo No2♂が sneaker として縄張りに侵入し、放精した。この観察期間ではグループ産卵は観察されなかった。

考察

雌の産卵期間については、タイリクバラタナゴの方が長く、雌の排卵周期については、タイリクバラタナゴの方がかなり短かった。また、産卵期におけるペア産卵については、2003 年では Rok (♂×Rok♀のペア産卵が 10 回、Roo♂×Roo♀のペア産卵が 14 回、Rok♂×Roo♀のペア産卵が 4 回、Roo♂×Rok♀のペア産卵が 4 回と同様の傾向が観察された (表 2)。2003 年と 2005 年の両観察において、同亜種間のペア産卵が異亜種間のペア産卵よりも有意に多かったのは、二亜種間で、誘導行動や求愛行動におけるコミュニケーションが異なることを示唆している。特に、異亜種間のペア産卵では、求愛行動における雄の背鰭震わせ速度が異なることが、生得的な行動連鎖に影響を与えているように見える。したがって、二亜種間で繁殖行動の認知レベルで生殖的な隔離が進行していると思われる。

表2. ペア産卵における各交配頻度

雄	×	雌	2003年度観察回数	2005年度観察回数
Rok		Rok	10 (31.3)	11 (33.3)
Roo		Roo	14 (43.8)	11 (33.3)
Roo		Rok	4 (12.5)	4 (12.1)
Rok		Roo	4 (12.5)	7 (21.2)
合計			32	33

表3. 2003年水槽実験*における各産卵パターンの割合 (12時間観察)

産卵パターン	ペア産卵 (スニーカー無し) **	ペア産卵 (スニーカーあり) ***	グループ産卵****	合計
産卵回数 (%)	20 (39.2)	12 (23.5)	19 (37.2%)	51

*八尾産ニッポンバラタナゴ16個体 (雄6、雌10)、タイリクバラタナゴ8個体 (雄3、雌5) を用いて実験を行った (2003. 5. 1-2003. 7. 31)。

**縄張り形成あり。

***縄張り形成があり、スニーカーが侵入放精。

****縄張りが無い状態で、連続した産卵あり。

DNA 解析を用いた親子判定の結果は、雑種個体 (F₁) が 2005 年では 61%, 2006 年では 50%出現していた。ペア産卵の行動観察の結果と比較すると、雑種個体が予想以上に雑種個体が多く生まれていることになる。2003 年の観察においては、バラタナゴの 3 つの産卵様式の比率が、51 回の産卵中、ペア産卵が 20 回 (39.2%), スニーキングを伴う産卵が 12 回 (23.5%), グループ産卵が 19 回 (37.2%) 見られた (表 3)。ペア産卵は全体の約 40% であり、他の産卵はスニーカーが侵入するペア産卵か、グループ産卵である。グループ産卵においては、タイリクバラタナゴの雌が産卵したのは、19 回観察された産卵のうち 15 回 (79%) であり、雄の放精回数も 35 回のうち 26 回 (74%) でタイリクバラタナゴが多かった (表 4)。

したがって、ペア産卵の行動観察においては同亜種間のペア産卵が異亜種間のペア産卵よりも有意に多かったが、スニーキングやグループ産卵においては同亜種間の認知がはたらかず、交雑個体が増加したものと考えられる。

表4. グループ産卵における雌の産卵回数と雄の放精回数 (2003年)

	Rok	Roo
産卵回数 (♀)	4 (21%)	15 (79%)
放精回数 (♂)	9 (26%)	26 (74%)

2. 亜種間における適応度の違い

長田 (1980) は、タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴの間における繁殖形質の違いとして産卵期の長さや産卵数の違いを示唆している。しかしながら、両者における繁殖形質の違いについて調べた研究は存在しないのが現状である。このことから本研究では飼育実験により、繁殖形質を含めた亜種間での適応度の違いとして、産卵数、産卵期の長さ、孵化率、生存率、成長率について調査を行った。

材料と方法

材料

ニッポンバラタナゴは大阪府八尾市郊外の 1 溜池 (大和川水系) と福岡県柳川市矢部川水系において採集した個体を、タイリクバラタナゴは栃木県那須郡小川町の農業用水路 (那珂川水系) において採集した個体をそれぞれ実験に用いた。

方法

福岡産ニッポンバラタナゴ 120 個体、大阪産ニッポンバラタナゴ 97 個体、タイリクバラタナゴ 216 個体を用いて繁殖形質の違いについて調査した。実験方法は、それぞれの集団を 30l 水槽において飼育し、Kawamura & Hosoya (2000) の方法により人工授精を行い、産卵数と孵化率を調査し、孵化個体については孵化後 4 ヶ月飼育を行い生存率と成長について追跡した。

タナゴの雌における排卵周期は産卵管長の長さの変化から推定する事が可能である（河村, 1991）。160 mm（横）×60 mm（縦）×50 mm（高さ）の 0.5t 水槽に、ニッポンバラタナゴ成魚 16 個体（雌 10 個体, 36.2 ± 4.3 mm TL；雄 6 個体, 37.7 ± 9.8 mm TL）、タイリクバラタナゴ成魚 8 個体（雌 5 個体, 35.1 ± 4.6 mm TL；雄 3 個体, 39.3 ± 10.7 mm TL）、産卵様ドブガイ 4 個体（平均殻長 10 cm）を加えて飼育実験を行った。タイリクバラタナゴは予め実験前にエラストマー蛍光タグ（田中三次郎商店取扱）により個体標識した。水温は無調整（20-25℃）とし、毎日 1 回、浮上性配合飼料であるテトラフィン（ドイツ・テトラベルケ社）を適宜給餌した。平成 15 年 5 月 1 日から 7 月 31 日にかけて、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの各雌について、ほぼ毎日一回、産卵管長の計測を行うことによって、排卵周期ならびに排卵回数について調べた。尚、繁殖形質の違いにおける成長の影響を見るため、実験開始時と終了時に体長の計測を行い、成長率についても調べた。

結果

亜種間での生存率と成長率について調べたところ表 5 の結果が得られた、ニッポンバラタナゴの成魚のサイズはタイリクバラタナゴと比べ有意に小さかったが（ $p < 0.01$ ）、ニッポンバラタナゴにおいては福岡と大阪の集団間で有意差は見られなかった。産卵数についても同様の傾向が認められ、ニッポンバラタナゴはタイリクバラタナゴよりも少なく、約 2/3 であることが判ったが、ニッポンバラタナゴの集団間では有意差は認められなかった（ $p > 0.05$ ）。しかしながら、孵化率においては、福岡集団と大阪集団の間では大きな差が見られ、大阪は福岡の約 1/2 となり、ニッポンバラタナゴの福岡集団とタイリクバラタナゴの間では差が見られなかった。ニッポンバラタナゴの集団間での差違は、孵化後 120 日の生存率において顕著となり、大阪集団は福岡集団の 1/7 となり、ニッポンバラタナゴ福岡集団とタイリクバラタナゴの間に有意差は認められなかった。

表5. 飼育実験における亜種間での生存率と成長率の違い

	産地	親魚のサイズTL (mm)	個体当たりの産卵数	孵化率 (%) ^a	生存率：孵化後30日 (%) ^b	生存率：孵化後120日 (%) ^b	全長：孵化後120日 (mm)
Rok	福岡	41.3±9.7 (N=120)	9.7±5.1 (B=42)	60.2±37.9 (B=42)	32.8 (B=42)	6.2±1.5 (B=42)	3.5 (N=36)
	大阪	42.5±5.9 (N=97)	8.8±6.7 (B=69)	33.5±33.6 (B=69)	24.0 (B=69)	0.9±0.3 (B=69)	5.5 (N=6)
Roo	栃木	48.9±6.0 (N=216)	14.0±7.5 (B=32)	60.7±40.1 (B=32)	39.5 (B=32)	7.1±1.9 (B=32)	4.9 (N=32)

*Rok：ニッポンバラタナゴ；Roo：タイリクバラタナゴ；B，バッチサイズ；N，個体数

^a 孵化率 = (孵化仔魚の数)/(実験卵数)。

^b 生存率 = (正存した仔魚の数)/(孵化仔魚の数)。

雌の産卵管長の長さの変化を追跡することにより各亜種の雌の排卵周期，排卵回数，産卵期の長さについて調べたところ，表6の結果が得られた。ニッポンバラタナゴの排卵周期はタイリクバラタナゴと比べ長く（約2倍），1産卵期における排卵回数（排卵回数：約0.3倍）と産卵期の長さ（約0.3倍）はタイリクバラタナゴと比べ，著しく短いことが判った。

表6. 水槽実験における亜種間での産卵回数の違い

	個体数	排卵周期 (日)	産卵期当たりの排卵回数	産卵期の長さ (日)
Rok (a)	12	11.0±3.6	3.7±1.4	27.0±12.0
Roo (b)	4	5.9±0.5	15.0±1.3	85.0±6.7
比 (a/b)		1.86	0.25	0.32

Rok：ニッポンバラタナゴ；Roo：タイリクバラタナゴ

*産卵管の長さを追跡することにより産卵管の長さが最長の日を排卵日と推定。産卵期間は、第1回目の排卵日から最後の排卵日までの長さ。観察は2003年5月1日から7月31日にかけて行った。

各亜種の成長率について見ると，ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴはいずれも雄は雌より成長が優れていたが，いずれも雌雄間で統計的有意差（1%有意水準）は認められなかった。また亜種間では，雌雄共にタイリクバラタナゴの方がニッポンバラタナゴより成長が優れていたが，雌雄いずれにおいても亜種間で統計的有意差（1%有意水準）は認められなかった（表7）。

1回の排卵における産卵についてみると，タイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの

約 1.5 倍であり (表 5), また 1 産卵期における産卵回数は約 4 倍であったことから (表 6), 繁殖率においてタイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの約 6 倍となった。孵化率と生存率 (孵化後 120 日) において福岡産ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの間に差は見られなかったが, 大阪産ニッポンバラタナゴの孵化率×生存率 (孵化後 120 日) は両者の約 1/14 であったことから, 大阪産ニッポンバラタナゴ, 福岡産ニッポンバラタナゴ, タイリクバラタナゴの適応価の比率は, 1:14:84 と推定された。

表7. 水槽実験における各亜種の成長

ニッポンバラタナゴ (雄)					ニッポンバラタナゴ (雌)				
No.	実験開始 TL(mm) (a)	実験終了 TL(mm) (b)	差 b-a	成長率 (b-a)/a	No.	実験開始 TL(mm) (a)	実験終了 TL(mm) (b)	差 b-a	成長率 (b-a)/a
4	37.0	42.8	5.8	0.16	1	44.0	43.2	-0.8	-0.02
5	39.0	42.0	3.0	0.08	2	40.0	40.0	0.0	0.00
8	23.5	30.3	6.8	0.29	6	33.8	37.5	3.7	0.11
9	23.5	30.2	6.7	0.29	7	30.0	34.8	4.8	0.16
					10	32.0	35.1	3.1	0.10
平均 (±標準偏差)				0.20±0.10	平均 (±標準偏差)				0.07±0.08

タイリクバラタナゴ (雄)					タイリクバラタナゴ (雌)				
No.	実験開始 TL(mm) (a)	実験終了 TL(mm) (b)	差 b-a	成長率 (b-a)/a	No.	実験開始 TL(mm) (a)	実験終了 TL(mm) (b)	差 b-a	成長率 (b-a)/a
2	50.1	55.0	4.9	0.1	1	41.0	45.1	4.1	0.1
6	31.0	43.8	12.8	0.4	2	31.0	37.9	6.9	0.2
7	31.5	42.0	10.5	0.3	3	38.0	41.9	3.9	0.1
8	32.0	43.9	11.9	0.4	5	30.0	37.0	7.0	0.2
平均 (±標準偏差)				0.30±0.14	平均 (±標準偏差)				0.16±0.07

*2004年4月26日計測, **2004年7月4日計測

考察

1 産卵期における産卵数と排卵回数から繁殖率を求めるとタイリクバラタナゴは福岡産ニッポンバラタナゴの約 6 倍となり (表 7, 8), タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴは繁殖形質において長田 (1980) が述べているように大きく異なることが明らかとなった。また, ニッポンバラタナゴにおいて大阪産と福岡産の間では生存率 (孵化率を含めた広義の生存率) において約 14 倍の違いが見られたが, この理由として近交弱勢の存在の可能性が考えられる。福岡産ニッポンバラタナゴはクリークを主とする小規模河川に生息するのに対し, 大阪産は殆どが直径 10m 以下の溜池に生息する。後者は生息環境の収容力の

低さに加え、渇水、富栄養化と言った環境変動の影響により個体数が変動しやすい状況に置かれていることから、ボトルネックと言った極端な個体数変動により近親交配が生じている可能性は高い。実際、ミトコンドリア DNA (Kawamura *et al.*, 2001a), マイクロサテライト DNA (表 10) といった分子マーカーを用いた遺伝的多様性の調査において大阪産ニッポンバラタナゴは福岡産ニッポンバラタナゴと比べ遺伝的多様性が著しく低下している事が判っており、今回の大阪産ニッポンバラタナゴにおける結果は近交弱勢によるものと結論づけることが出来る。

混生飼育実験において統計的有意差は見られなかったものの (表 7), タイリクバラタナゴは雌雄共にニッポンバラタナゴよりも成長が優れている傾向が見られた。摂餌行動の観察においてタイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴよりも優位であり、この傾向はタイリクバラタナゴがニッポンバラタナゴよりも小型の場合においても見られた。この事から、両者の間に見られる成長差は、摂餌行動の違いに起因する可能性が高いと考えられる。

これらの事からニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴにおいて、産卵数の違いは環境要因による可能性が無視できないものの、繁殖サイクルにおける違いと孵化率・生存率は亜種間での遺伝要因の違いにより可能性が高いと考えられる。

3. 水槽実験による交雑の実態の解明

ニッポンバラタナゴ (Rok) とタイリクバラタナゴ (Roo) の混生環境において雑種を生じる生態的要因としてタイリクバラタナゴの雄によるスニーキングとグループ産卵が可能性として高いことが判った。しかしながら、生物の種間交雑においては交雑個体の致死、生存率の低下といった雑種退行現象がしばしば存在する事から (Allendorf & Luikart 2006), 異種間交配が必ずしも雑種形成とは限らない。そこで本研究ではニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴを水槽内で混生させ、出現した仔魚の遺伝子分析を行うことにより、交雑個体が生じる頻度を調べた。

材料と方法

材料

ニッポンバラタナゴは大阪府八尾市郊外の 1 溜池 (大和川水系) と福岡県柳川市の農業用水路 (筑後川水系) において採集した個体を、タイリクバラタナゴは栃木県那須郡小川町の農業用水路 (那珂川水系) において採集した個体を実験に用いた。

方法

1) 交配頻度

160 mm (横) × 60 mm (縦) × 50 mm (高さ) の 0.5t 水槽に、ニッポンバラタナゴ成魚 16 個体 (雌 10 個体, 36.2 ± 4.3 mm TL ; 雄 6 個体, 37.7 ± 9.8 mm TL), タイリクバラタナゴ成魚 8 個体 (雌 5 個体, 35.1 ± 4.6 mm TL ; 雄 3 個体, 39.3 ± 10.7 mm TL), 産卵様ドブガイ 4 個体 (平均殻長 10 cm) を加えて飼育実験を行った。タイリクバラタナゴは予め実験前にエラストマー蛍光タグ (田中三次郎商店取扱) により個体標識した。水温は無調整 (20-25°C) とし, 毎日 1 回, 浮上性配合飼料であるテトラフィン (ドイツ・テトラベルケ社) を適宜給餌した。産卵行動の観察は水槽前に設置したビデオカメラで撮影することによって行った。行動解析は撮影したビデオを再生する事により行い, ニッポンバラタナゴ, タイリクバラタナゴ, 亜種間での産卵回数をそれぞれ 12 時間のビデオを解析することにより調べた。なお, ニッポンバラタナゴについては 2003 年と 2005 年は大阪産を 2006 年は福岡産をそれぞれ実験に用いた。

2) 遺伝子分析

実験魚は事前にイラストマー蛍光タグにより個体識別を行うと共に, 尾鰭の一部を切除し 100%エタノールで固定した。行動観察は 2 章の配偶行動における生殖前隔離の解明と同様の方法により行い, 親魚の各組み合わせにおける配偶頻度を調べた。実験終了約 1 ヶ月後, 貝から出てきた浮出仔魚は全て採集し 100%エタノールで固定し, 親魚の鰭サンプルと共に遺伝子分析に供した。

DNA 抽出は親魚の鰭と仔魚についてフェノール・クロロホルム法 (Lansman *et al.* 1981) より行い, ミトコンドリア DNA (mtDNA) のハプロタイプ分析とマイクロサテライト (MS) 分析をそれぞれ行った。MtDNA のハプロタイプ分析は以下の方法で行った。CB3R-L (5'-CAYATYMARCCMGAATGRTATTT-3') と 12SARH (5'-ATARTRGGGTATCTAATCCYAGTT-3') のプライマーペア (Palumbi *et al.* 1991) を用いて D-loop 領域を含む約 2kbp を Kawamura *et al.* (2001a) の方法により増幅し, 制限酵素 *Eco* RI (Toyobo, 東京) により消化したものを, 3%アガロースゲル上で電気泳動を行った。電気泳動後, トランスイルミネーター上でゲルの写真撮影を行い, Kawamura *et al.* (2001b) の記載を基に mtDNA の切断パターンから亜種判定を行った。

MS 分析は, Dawson *et al.* (2003) により ヨーロッパタナゴ (*R. sericeus*) から報告されている 12 遺伝子座のうちバラタナゴにおいて MS 対立遺伝子が確認された 7 座について調べた (表 8)。MS 対立遺伝子は, 蛍光プライマーを用いた PCR を Sekino & Hara (2001) の方法により行った後, PCR 産物を Genetic Analyzer ABI Prism 310 (Applied Biosystems, CA)

上で電気泳動する事によって確認した。対立遺伝子の解析には Gene Scan 3.12 (Applied Biosystems, CA) を用いた。

表8. マイクロサテライト分析に用いたプライマー

Locus	プライマー配列(5'-3')	アニーリング温度 (°C)
<i>Rser01</i>	F: GACAGCGGTGAAAGTCACTTATGC R: ATCCTCCGCTAGTGAGCGCC	55
<i>Rser02</i>	F: GATCTGCACCTCAGGCAAGC R: AGGACGCCCCATTCTGATGC	55
<i>Rser03</i>	F: TGACAGGCAGGAAACAGCCA R: CAGTGCAACTCTTCCATTATGTCCC	55
<i>Rser07</i>	F: CTGACCTCTGACCTGCACCG R: ATCCCGCTAAAGCACGGACC	55
<i>Rser09</i>	F: CGGGCGAGTCGAACATAAATTG R: TGCCATAAAGCTCCGCTTCAC	55
<i>Rser10</i>	F: TGC GTAATCGTGAAGCGGTG R: GCCACTAAAGCGCAGAAGCC	55
<i>Rser12</i>	F: CATCTGGTGGTTTGCATGTC R: TTTAGCCGTCTCTCAGCCTC	55

結果

1) 交配頻度

ペア産卵における各交配頻度を調べたところ表9の結果が得られ、2003年、2005年のいずれの実験においても、タイリクバラタナゴ間の交配回数はランダム交配を想定した場合の期待値より高く、逆にタイリクバラタナゴの雄とニッポンバラタナゴの雌の間の交配回

表9. ペア産卵における各交配頻度 (%)

雄	×	雌	ランダム交配を想定した場合の期待頻度	2003年度 観察回数 (頻度) *	2005年度 観察回数 (頻度)
Rok		Rok	44.5	11 (34.4)	11 (33.3)
Roo		Roo	11.1	14 (43.8)	11 (33.3)
Roo		Rok	22.2	4 (12.5)	4 (12.1)
Rok		Roo	22.2	3 (9.4)	7 (21.2)
合計				32	33

* $P < 0.05$ (期待値との有意差)

Rok : ニッポンバラタナゴ ; Roo : タイリクバラタナゴ

数は期待値より低い結果となった。正確確立検定により期待値と観察値の間の有意差の有無について調べたところ、2005年度の結果については有意差が見られなかったものの ($P = 0.195$)、2003年度については有意水準5%で有意差が認められた ($P = 0.04$)。性別に見た場合、繁殖行動の期待値と観察値の間の有意差は2003年、2005年の何れの結果においても認められ、タイリクバラタナゴの繁殖行動の頻度は雌雄共にニッポンバラタナゴより高いことが判った (表10)。

表10. 性別に見た配偶行動の回数と期待値

2003年

	ランダム交配を想定した場合の 期待値 (頻度)	雄の交配行動の回数 (頻度) *	雌の交配行動の回数 (頻度) *
Rok	29 (90.9)	14 (43.8)	15 (46.9)
Roo	3 (9.1)	18 (56.2)	17 (53.1)
合計	32		

2005年

	ランダム交配を想定した場合の 期待値 (頻度)	雄の交配行動の回数 (頻度) *	雌の交配行動の回数 (頻度) *
Rok	30 (90.9)	18 (54.5)	15 (45.5)
Roo	3 (9.1)	15 (45.5)	18 (54.5)
合計	33		

Rok : ニッポンバラタナゴ, Roo : タイリクバラタナゴ

* $P < 0.001$ (期待値との有意差)

2) 遺伝子分析

大阪産ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴについてMS7座について分析を行ったところ、表11の結果が得られた。タイリクバラタナゴは分析した全ての座において多型が認められた。これに対し、ニッポンバラタナゴの場合、4座 (Rser01, Rser03, Rser07, Rser10) は単型的であり、多型的であった残りの3座についてもRser05は対立遺伝子は4つであったものの、残りの2座においては2つであり、遺伝的多様性は極めて低いことが判った。

表11. マイクロサテライト7座におけるニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの対立遺伝子の出現状況

Mark No. sex	Rser01										Rser03										Rser05										Rser09										Rser10									
	168	173	212	214	216	218	220	222	240	251	216	218	224	236	238	242	248	260	262	268	274	284	118	120	122	124	126	128	130	132	142	190	193	198	200	202	204	206												
Roo	1 ♂	•									•					•											•	•					•																	
	2 ♂	•									•					•			•								•						•																	
	3 ♂	•														•												•																						
	4 ♀	•																										•																						
	5 ♀	•								•												•						•																						
	6 ♀	•																										•																						
	7 ♀	•																																																
	8 ♂	•																																																
	9 ♂	•																																																
	10 ♂	•																											•																					
Rok	1 ♂	•	•																										•																					
	2 ♂	•	•																•										•	•																				
	3 ♂	•	•																										•	•																				
	4 ♂	•	•																										•																					
	5 ♂	•	•																										•																					
	6 ♂	•	•																										•																					
	7 ♂	•	•																										•																					
	8 ♀	•	•																										•																					
	9 ♀	•	•																										•																					
	10 ♀	•	•																										•																					
	11 ♀	•	•																										•																					
	12 ♀	•	•																										•																					
	13 ♀	N.A.																											N.A.																					
	14 ♀	•	•																										•																					
	15 ♀	•	•																										•																					
	16 ♀	•	•																																															

*Rok:ニッポンバラタナゴ,Roo:タイリクバラタナゴ

各交配実験において得られた浮出仔魚について遺伝子分析を行ったところ、表 12 の結果が得られた。年度間の比較において雑種の頻度は何れの年においても高く、全体の 50-60% を占めた。また、雑種の組成についてみると全ての年において全体の約 7 割がタイリクバラタナゴ (♀) ×ニッポンバラタナゴ (♂) であった。また、2003 年はタイリクバラタナゴの頻度が高かったのに対し、2005 年と 2006 年はニッポンバラタナゴの頻度が高かった。年度間で各交配パターンにおける出現頻度について正確確立検定を行った所、2003 年と 2004 年の間では有意差 ($P = 0.003$) が認められたが他の年度間では有意差は認められなかった ($P > 0.05$)。ランダム交配を想定した場合の仔魚の期待頻度と交配頻度 (表 9) から求めた期待値について遺伝子分析の結果との間でそれぞれ比較を行ったところ、両者は 2003 年と 2005 年のいずれにおいても、 $P < 0.01$ で有意差が認められた。2003 年と 2005 年の双方

において雑種個体の出現頻度は亜種間での交配頻度の約2倍となり。特にニッポンバラタナゴ（雌）とタイリクバラタナゴ（雄）の交配により生じた雑種の頻度は配偶行動の頻度の3-4倍近い値となった。繁殖貢献度の違いを性別に見た場合、2003年は雌雄何れとも配偶頻度から求めた期待値との間に有意差は見られなかったが、2005年は、雌雄共に有意差（ $P < 0.05$ ）が認められた（表13）。

表12. 水槽実験における浮出仔魚の遺伝子鑑定の結果

サンプリング 日	純系		Hybrid(mtDNA)				遺伝子分 析の結果 との有意 差
	n	Rok n (%)	Roo n (%)	F1 (Rok) n (%)	F1 (Roo) n (%)	F1合計 n (%)	
2003.6.10*	8	0 (0.0)	3 (37.5)	2 (25.0)	3 (37.5)	5 (62.5)	
2003.7.10*	31	4 (12.9)	13 (41.9)	12 (38.7)	2 (6.5)	14 (45.2)	
合計	39	4 (10.3)	16 (41.0)	14 (35.9)	5 (12.8)	19 (48.7)	
交配頻度*から 求めた期待値	39	13 (34.3)	17 (43.8)	5 (12.5)	4 (9.4)	9 (21.9)	$P = 0.027$
ランダム交配 を想定した場 合の期待値	39	17 (44.5)	4 (11.1)	9 (22.2)	9 (22.2)	17 (44.4)	$P = 0.001$
2005.4.27- 6.15**	102	26 (25.5)	14 (13.7)	47 (46.1)	15 (14.7)	62 (60.8)	
交配頻度*から 求めた期待値	102	34 (33.3)	34 (33.3)	12 (12.1)	22 (21.2)	34 (33.3)	$P < 0.001$
ランダム交配 を想定した場 合の期待値	102	45 (44.5)	11 (11.1)	23 (22.2)	23 (22.2)	46 (44.4)	$P = 0.002$
2006.4.24- 5.12***	30	8 (26.7)	7 (23.3)	12 (40.0)	3 (10.0)	15 (50.0)	

Rok:ニッポンバラタナゴ;Roo:タイリクバラタナゴ

*表9, *大阪産ニッポンバラタナゴを使用, ***福岡産ニッポンバラタナゴを使用。

考察

配偶頻度においてタイリクバラタナゴ（♀×♂）は実験に用いた個体数から推定される頻度よりも高く、全組み合わせにおいても一番高い割合を占めたのに対し、亜種間での組み合わせ（交雑）は期待値よりも低かった（表9）。これに対し、浮出仔魚の頻度は全ての実験年度（2003, 2005, 2006）において、ニッポンバラタナゴ（♀）×タイリクバラタナ

ゴ (♂) が最も高く、浮出仔魚全体の約 40% を占め、逆にタイリクバラタナゴ (♀) × ニッポンバラタナゴ (♂) の仔魚の頻度は低く約 10% であった。

表13. 性別に見た各亜種の繁殖貢献度

2003年

	雄の配偶頻度から 求めた繁殖貢献度 の期待値 (%)	雄由来の仔魚の 個体数 (頻度)	雌の配偶頻度から 求めた繁殖貢献度 の期待値 (%)	雌由来の仔魚の 個体数 (頻度)
Rok	17 (43.7)	9 (23.1)	18 (46.8)	18 (46.2)
Roo	22 (56.3)	30 (76.9)	21 (53.2)	21 (53.8)
期待値との 有意差 (P)		0.05		1

2005年

	雄の配偶頻度から 求めた繁殖貢献度 の期待値 (%)	雄由来の仔魚の 個体数 (頻度)	雌の配偶頻度から 求めた繁殖貢献度 の期待値 (%)	雌由来の仔魚の 個体数 (頻度)
Rok	56 (54.5)	41 (40.2)	46 (45.4)	73 (53.5)
Roo	46 (45.4)	61 (59.8)	56 (54.5)	29 (46.5)
期待値との 有意差 (P)		0.035		0.0001

Rok : ニッポンバラタナゴ, Roo : タイリクバラタナゴ

ニッポンバラタナゴ (♀) × タイリクバラタナゴ (♂) の交配により生じた仔魚の頻度が期待値よりも著しく高かった理由としては、1) スニーカー雄の存在 (表 3)、2) グループ産卵 (表 3)、3) タイリクバラタナゴの繁殖における優位性 (表 6)、4) 亜種間交配による仔魚における雑種強勢 (Kawamura, 2005) の 4 つが挙げられる。亜種間での繁殖貢献度の違いを性別に見てみると、2003 年の結果においては、雌については期待値との間に差は見られないものの雄については若干の差が見られ (表 13)、この理由としてはスニーカーの存在ないしはグループ産卵におけるタイリクバラタナゴの雄の貢献度の高さが考えられる。2005 年は 2003 年度と同様、雄についてはタイリクバラタナゴの貢献度が期待値よりも高かったのに対し、雌については逆の結果となったが、この理由については不明である。タイリクバラタナゴ (♀) × ニッポンバラタナゴ (♂) の仔魚の出現頻度はいずれの実験においても低かったが (表 12)、この理由としては繁殖行動におけるニッポンバラタナゴの雄とタイリクバラタナゴの雌の間における生殖前隔離が考えられる (図 2)。

繁殖行動の頻度においてタイリクバラタナゴのニッポンバラタナゴに対する優位性は雌雄共に同程度であることが表 10 の結果から示唆されたが、表 12, 13 の結果はこれとは異

なり、タイリクバラタナゴの雄の方が雌よりも繁殖貢献度において勝っている事を示している。この繁殖行動の頻度と繁殖貢献度の間の相違を生じる要因としては、スニーカー雄の存在とグループ産卵における雄の繁殖貢献が考えられる。

本実験の結果から、ニッポンバラタナゴ集団においてタイリクバラタナゴが侵入した場合、ニッポンバラタナゴの頻度の低下はランダム交配を想定したよりも早いことが予想される。これはタイリクバラタナゴの繁殖率と雑種[ニッポンバラタナゴ(♀)×タイリクバラタナゴ(♂)]の出現頻度の高さに因る物であり、特にスニーカー、グループ産卵におけるタイリクバラタナゴの雄の繁殖貢献度を挙げる事が出来る。

4. 野外人工池を用いた両亜種の混合飼育試験による遺伝子置換の実態

Kawamura *et al.* (2001b)は日本各地におけるバラタナゴの野外集団における RAPD-PCR とミトコンドリア DNA 分析の結果から、交雑集団においてはニッポンバラタナゴ固有対立遺伝子の多くはタイリクバラタナゴ固有対立遺伝子によって置換される傾向が高いとしている。交雑集団において外部からの個体移入と遺伝的浮動が存在しない状況下で、方向性のある遺伝子置換が生じると言うことは、任意交配が行われていないか、あるいは遺伝子型の違いによる適応度の違いが生じている可能性を示唆している。本研究では、交雑集団における遺伝子置換の程度ならびにその方向性の有無を確かめるため、野外人工池を用いた飼育試験を行い、その実態について調査解析を行った。

材料と方法

材料

実験には、大阪府八尾市郊外の1溜池（大和川水系）において採集したニッポンバラタナゴと栃木県那須郡小川町の農業用水路（那珂川水系）において採集したタイリクバラタナゴをそれぞれ用いた。

方法

実験は大阪府八尾市水道局の人工池（長径 15m×短径 5m×最大水深 1m）（図 5）において行った。実験は平成 15 年 4 月 6 日にニッポンバラタナゴ 100 個体（雌 50 個体, 34.8±2.7 mm TL；雄 50 個体, 35.5±3.6 mm TL）とタイリクバラタナゴ 10 個体（雌 5 個体, 36.7±4.1 mm TL；雄 5 個体, 44.9±2.7 mm TL）を池に放流し、更に産卵用のドブガイ 30 個体

(平均殻長 10cm ; 各 6 個体を 5 本のプランターに設置) を加えることによって開始した。なお、タイリクバラタナゴについては予めエラストマー蛍光タグ (田中三次郎商店取扱い) を用いた標識により個体識別を行い、またドブガイについては定期的に個体数のチェックを行い、斃死個体が見られた時は、ほぼ同サイズの生貝と交換を行った。

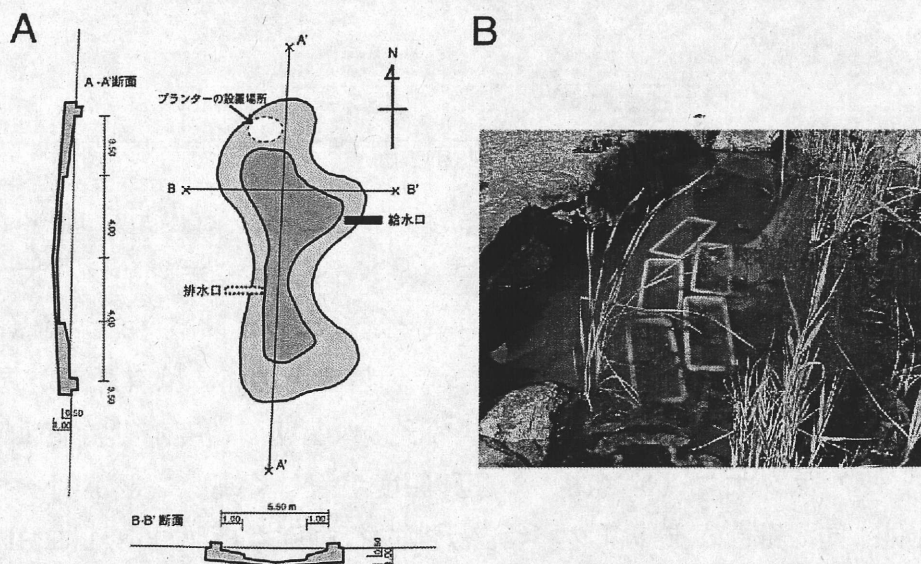


図 5. 野外実験池
A:池の概要; B:ドブガイの入ったプランターを設置したところ。

実験を開始した 2003 年には、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの間における硬派員頻度を調べるため繁殖行動の観察を行った。繁殖行動の観察は池の縁からの直接目視観察と水中カメラ (カラーマリンアイ, 広和株式会社) を用いたビデオ撮影により行った。ビデオ撮影は平成 15 年 4 月 13 日から 6 月 30 までの間において、毎週 2 回行った。

浮出仔魚のサンプリングは毎年 5 月末から 8 月上旬にかけて毎月 1 回行った。毎回 20-30 個体を採集し、100%エタノールで固定した後、遺伝子分析に供した。遺伝子分析はミトコンドリア DNA とマイクロサテライト 7 座について行った。実験は、水槽実験による両亜種の交雑の実体解明と同様の方法で行い、時間の経過に伴う遺伝子型頻度ならびに遺伝子頻度の変化について調べた。

仔魚のタイプ判定は、MS 7 座の分析結果を基に行い、7 座全てにおいてニッポンバラタナゴの固有対立遺伝子しか見られず、またニッポンバラタナゴの mtDNA を持つ個体をニッポンバラタナゴ、MS7 座においてニッポンバラタナゴの固有遺伝子が全く見られず、またタイリクバラタナゴの mtDNA を持つ個体をタイリクバラタナゴとした。MS においてニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの固有対立遺伝子が見られる個体のうち、全ての座において両亜種の固有対立遺伝子がヘテロの状態で見られる個体を F_1 、それ以外を F_2

以降とした。なお、実験2年目と4年目は産卵母貝の大量斃死により、仔魚の採集個体数は30個体以下に留めた。また、3年目には親魚の遺伝子組成と仔魚の遺伝子組成の関係を調べるため、4月上旬に成魚約30個体について鰭組織のサンプリングを行い、仔魚と同様、mtDNAとMSについて遺伝子分析を行った。

結果

1) 野外人工池における配偶頻度と仔魚の出現頻度

2003年の実験において各交配頻度について調べたところ、交配頻度は高い順に、ニッポンバラタナゴ（♀×♂）、タイリクバラタナゴ（♀×♂）、ニッポンバラタナゴ（♀）×タイリクバラタナゴ（♂）、タイリクバラタナゴ（♀）×ニッポンバラタナゴ（♂）の順となった（表14）。ランダム交配を仮定した場合の予想頻度との間には有意差が見られ（正確確立検定： $P=0.00$ ）、ニッポンバラタナゴ（♀×♂）の産卵の頻度が期待値よりも著しく低く、逆にタイリクバラタナゴ（♀×♂）の産卵頻度が著しく高いことが判った。各亜種の繁殖行動を性別に見た場合、タイリクバラタナゴの行動回数は雌雄何れにおいてもニッポンバラタナゴよりも高く、特に雄の繁殖行動が高いことが判った（ $P<0.001$ ）（表15）。

表14. 野外実験（人工池）における交配パターンと頻度*

メス	縄張り オス	観察日									Total (%)	ランダム交配 における期待 頻度 (%) **
		4/29	5/3	5/10	5/24	5/25	5/31	6/7	6/14	6/15		
ROK	ROK	2	4	4	2	6		4			22 (51.2)	82.6
R00	ROK					1					1 (2.33)	8.3
ROK	R00		2		2		1	1	1	1	8 (18.6)	8.3
R00	R00			1	6				2	3	12 (27.9)	0.8
Total		2	6	5	10	7	1	5	3	4	43	

ROK：ニッポンバラタナゴ；R00：タイリクバラタナゴ

*2003年実施

**期待頻度と観察頻度の間に有意差有（正確確立検定； $P=0.00$ ）

表15. 性別に見た配偶行動の回数と期待値

	期待値（頻度）		雄の交配行動の回数（頻度）*		雌の交配行動の回数（頻度）*	
Rok	39	(90.9)	23	(53.5)	30	(69.8)
Roo	4	(9.1)	20	(46.5)	13	(30.2)

Rok：ニッポンバラタナゴ，Roo：タイリクバラタナゴ

* $P<0.001$ （期待値との有意差）

2003 年に採集した浮出仔魚 111 匹について mtDNA 分析と MS 分析により仔魚のタイプ別出現個体数を調べたところ表 16 の結果が得られた。遺伝子分析による出現個体数とランダム交配を想定した場合の期待値との間で比較を行ったところ、5 月から 7 月までの全ての結果において、1 ニッポンバラタナゴの出現頻度は期待値の 1/2 以下であるのに対し、タイリクバラタナゴと雑種（正逆共）の出現頻度は期待値の 2 倍以上であることが判った。交配頻度から求めた期待値と遺伝子分析の結果を比較したところ、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの出現頻度は期待値よりも低かったのに対し、雑種の出現頻度は高く、特にタイリクバラタナゴ（♀）×ニッポンバラタナゴ（♂）は期待値の 9 倍の結果となった。また、繁殖貢献度の違いを性別に見た場合、遺伝子分析の結果とランダム交配から推定される期待値との間で有意差（ $P = 0.000$ ）が認められたが、配偶頻度から推定される期待値との間では有意差は見られなかった（ $P > 0.05$ ）（表 17）。

表16. 遺伝子分析による浮出仔魚の各タイプの出現頻度（2003年）

サンプリング日	n	Rok (%)	Roo (%)	hybrid (mtDNA)			遺伝子分析の結果との有意差 (P)
				Roo (%)	Rok (%)	Total (%)	
5. 25	29	11 (37. 9)	7 (24. 1)	7 (20. 7)	4 (13. 8)	11 (37. 9)	0. 002
ランダム交配を想定した場合の期待値		24 (82. 6)	0 (0. 8)	2 (8. 3)	2 (8. 3)	5 (16. 5)	
6. 28	31	9 (29. 0)	3 (9. 7)	8 (25. 8)	11 (35. 5)	19 (61. 3)	0. 000
ランダム交配を想定した場合の期待値		26 (82. 6)	0 (0. 8)	3 (8. 3)	3 (8. 3)	5 (16. 5)	
7. 28	51	12 (23. 5)	11 (21. 6)	9 (17. 6)	19 (37. 3)	28 (54. 9)	0. 000
ランダム交配を想定した場合の期待値		42 (82. 6)	0 (0. 8)	4 (8. 3)	4 (8. 3)	8 (16. 5)	
合計（5. 25-7. 28）	111	32 (28. 8)	21 (18. 9)	24 (21. 6)	34 (30. 6)	58 (52. 3)	0. 000
ランダム交配を想定した場合の期待値		92 (82. 6)	1 (0. 8)	9 (8. 3)	9 (8. 3)	18 (16. 5)	
配偶頻度*から求めた期待値		57 (51. 2)	31 (27. 9)	3 (2. 3)	21 (18. 6)	23 (20. 9)	

2) MtDNA のハプロタイプ頻度の年変化

野外実験池において浮出仔魚におけるニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの mtDNA のハプロタイプ頻度を調べたところ図 6 の結果となった。ニッポンバラタナゴのハプロタ

イブ頻度は実験開始時（親魚）には90%であったが、初年度に生まれた仔魚における頻度は60%と約30%低かった。ニッポンバラタナゴのハプロタイプ頻度の低下はその後も続き、3年目には22%となり、4年目は前年と比べ、低下率は低かったものの18%となった。

表17. 性別に見た亜種間での繁殖貢献度の違い（2003. 5. 25-2003. 7. 28）

1. 雄の場合

	遺伝子分析の結果 (%)	ランダム交配から推定 される期待値 (%)	配偶頻度から推定さ れる期待値 (%)
Rok	56 (50.0)	101 (90.9)	60 (53.5)
Roo	55 (50.0)	10 (9.1)	52 (46.5)
合計		111	
遺伝子分析の結果 との有意差 (P)		0.000	0.641

2. 雌の場合

	遺伝子分析の結果 (%)	ランダム交配から推定 される期待値 (%)	配偶頻度から推定さ れる期待値 (%)
Rok	66 (59.5)	101 (90.9)	78 (69.8)
Roo	45 (40.5)	10 (9.1)	34 (30.2)
合計		111	
遺伝子分析の結果 との有意差 (P)		0.000	0.112

Rok : ニッポンバラタナゴ, Roo : タイリクバラタナゴ

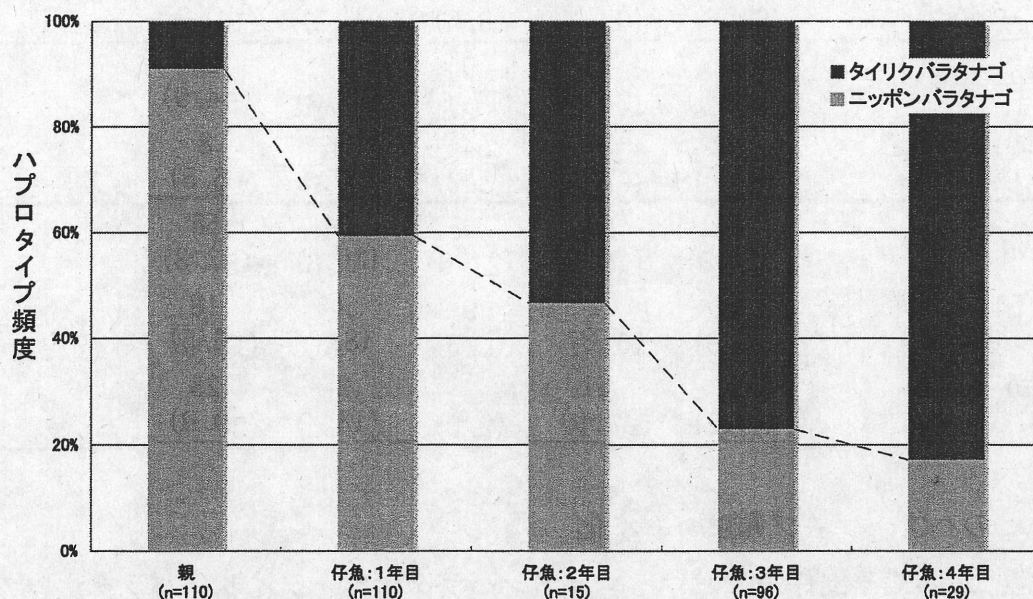


図6. 野外実験池におけるミトコンドリアDNAのハプロタイプ組成

3) MS の対立遺伝子の頻度の年変化

MS7 座におけるニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの固有対立遺伝子の変化を調べたところ、図 7 の結果が得られた。Rser01, Rser02, Rser03, Rser9, Rser10 の何れの財においてもニッポンバラタナゴ固有対立遺伝子頻度は年々低下し、実験 3 年目には Rser01, Rser02, Rser03, Rser10 の 4 座においては約 30% まで低下した。

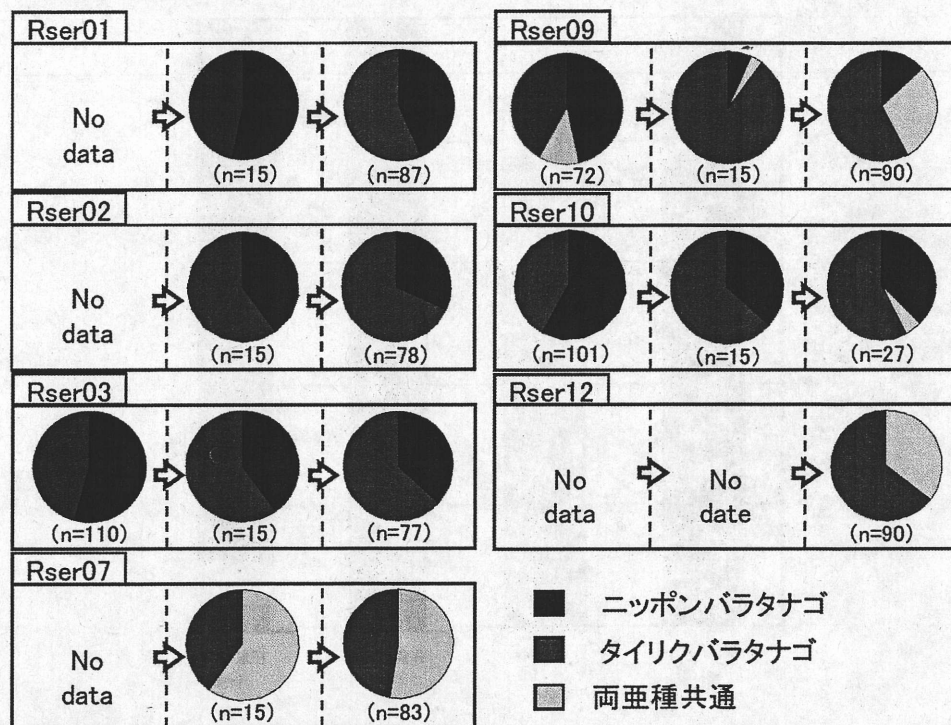


図7. 野外人工池におけるマイクロサテライト7座における対立遺伝子頻度の変化

4) 仔魚における遺伝子型頻度の変化

mtDNA と MS 分析の結果から、仔魚の各タイプの頻度変化を調べたところ、図 8 の結果が得られた。ニッポンバラタナゴは実験初年度においては 28.8% の頻度で見られたが、2 年目以降は確認する事ができなかった。タイリクバラタナゴの頻度は初年度には 10% から 20% と約 2 倍に増加したが、2 年目以降は減少となり、3 年目には 5% となった。F₁ は 1 年目には浮出仔魚全体の 50% を占めたが、2 年目以降は 20% 以下にまで減少し、3 年目は 5% にまで低下した。F₂ は 2 年目から確認され、3 年目には全体の 90% を占めるに至った。

遺伝子型頻度の経年変化は、図 9 の結果となった。初年度に出現した F₁ はニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの mtDNA を持つ個体の割合がほぼ 1:1 であった (図 9A)。2 年目は F₂ 以降の個体が雑種の 85% を占め、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの mtDNA を持つ雑種個体の割合は前年度と同じくほぼ 1:1 であった (図 9B)。実験 3 年目に

おける親個体の遺伝子型組成は、2年目の仔魚の結果とほぼ同様であった（図9D）。実験3年目の仔魚においては96%が雑種となり、F₁は全体の7%、F₂は89%を占めた。F₁はニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴのmtDNAを持つ個体の割合は2:1であったが、F₂においては7:2となり、F₂の80%以上においてニッポンバラタナゴの対立遺伝子の割合は50%以下となり、モードは約30%となった。

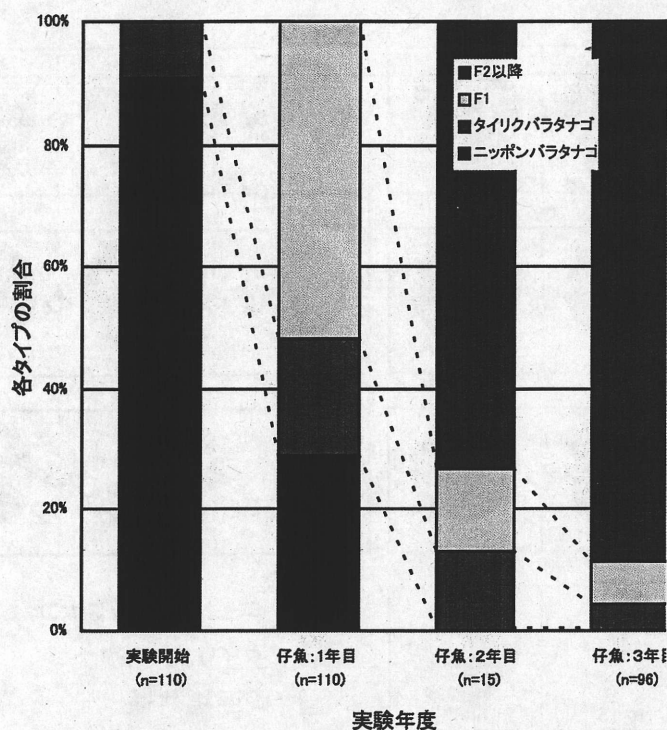


図8. 野外人工池における各タイプの頻度組成
*雑種のタイプ判定には図7の7座を使用

考察

繁殖行動の観察において、タイリクバラタナゴ（♀×♂）の配偶頻度はランダム交配において予想される頻度よりも著しく高く、また、ニッポンバラタナゴ（♀）×タイリクバラタナゴ（♂）も同様の傾向を示した（表14）。逆にタイリクバラタナゴ（♀）×ニッポンバラタナゴ（♂）の頻度は著しく低く、1回しか観察されなかった。性別に繁殖頻度を見た場合、タイリクバラタナゴは雌雄共にニッポンバラタナゴよりも繁殖頻度が高かった（表15）。これらの事は、繁殖におけるタイリクバラタナゴの優位性とタイリクバラタナゴ（♀）×ニッポンバラタナゴ（♂）の間における生殖前隔離の存在を示すものと考えられる（図2）。

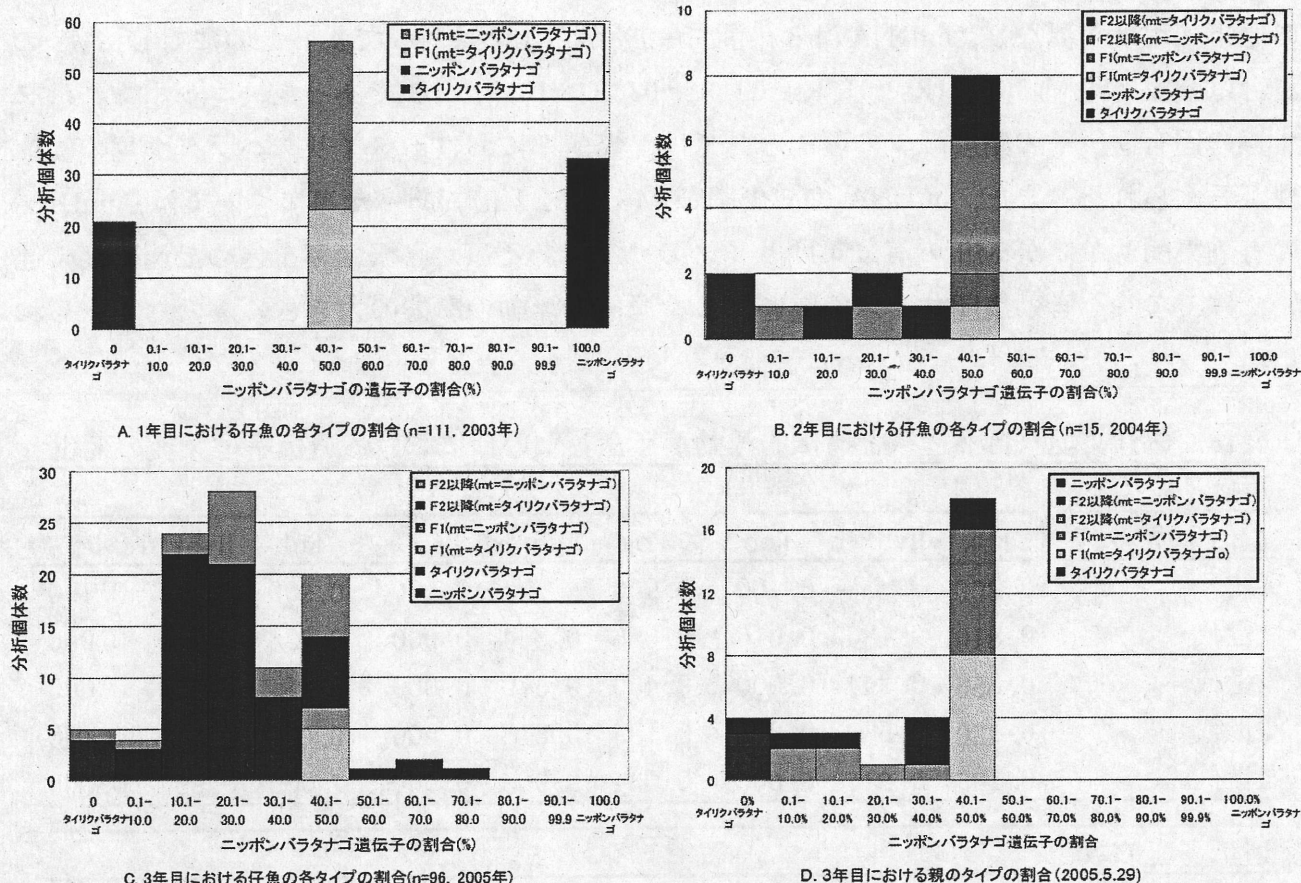


図9. 野外実験池におけるバラタナゴのタイプ組成の変化
*交雑度の判定には図7の7座を使用

浮出仔魚の遺伝子分析による各タイプの出現個体数とランダム交配ならびに配偶頻度から予想される個体数についてそれぞれ比較を行ったところ、何れの場合においても有意差が認められた ($P = 0.000$)。しかしながら、繁殖貢献度の亜種間での違いを性毎に見た場合、雌雄共に遺伝子分析の結果とランダム交配から想定される結果の間に顕著な有意差 ($P = 0.000$) が見られたものの配偶頻度から想定される結果との間には全く有意差が認められなかった ($P > 0.05$) (表 17)。この事は、配偶頻度と仔魚の出現頻度との間に正の相関があるものの、配偶が必ずしもランダムではなく、タイリクバラタナゴを介した交配に偏って行われていることを意味する。雑種について見た場合、交配頻度から予想される個体数よりも実際の個体数の方が多く、特に行動実験の結果 (図 2) から生殖前隔離の存在が示唆されたタイリクバラタナゴ (♀) × ニッポンバラタナゴ (♂) の組み合わせにおいて顕著に見られた事は、スニーカー雄ないしはグループ産卵による可能性が考えられる。

ニッポンバラタナゴの mtDNA の頻度は年と共に減少し (図 6)、MS においても分析した 7 座全てにおいて同様の傾向が見られた (図 7)。しかしながら mtDNA と MS では頻度

の低下の程度が異なり、mtDNA は3年間で90%から18%と1/5であったのに対し、MSの場合は90%から約30% (Rser01, Rser02, Rser03, Rser10) と1/3であった。ニッポンバラタナゴの固有遺伝子の頻度減少の理由としては、繁殖率におけるタイリクバラタナゴの優位性が考えられる、また、mtDNAの減少率がMSの約2倍であった事については、mtDNAの有効集団サイズがMSの有効集団サイズの1/4である事から繁殖率を含めた適応度の違いだけでなく、有効集団サイズの違いによる遺伝的浮動の影響の大きさの違いも考えられる。

表18. 任意交配（自然選択と遺伝的浮動が存在しない）における遺伝子型頻度の変化

遺伝子座の数	1			2			3		
遺伝子型	Rok	Hybrid	Roo	Rok	Hybrid	Roo	Rok	Hybrid	Roo
親	0.900		0.100	0.900		0.100	0.900		0.100
1世代	0.810	0.180	0.010	0.656	0.344	0.000	0.531	0.469	0.000
2世代	0.656	0.344	0.000	0.430	0.570	0.000	0.282	0.718	0.000
3世代	0.430	0.570	0.000	0.185	0.815	0.000	0.080	0.920	0.000
4世代	0.185	0.815	0.000	0.034	0.966	0.000	0.006	0.994	0.000

遺伝子座の数	4			5			6		
遺伝子型	Rok	Hybrid	Roo	Rok	Hybrid	Roo	Rok	Hybrid	Roo
親	0.900		0.100	0.900		0.100	0.900		0.100
1世代	0.430	0.570	0.000	0.349	0.651	0.000	0.282	0.718	0.000
2世代	0.185	0.815	0.000	0.122	0.878	0.000	0.080	0.920	0.000
3世代	0.034	0.966	0.000	0.015	0.985	0.000	0.006	0.994	0.000
4世代	0.001	0.999	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000

遺伝子座の数	7			8			9		
遺伝子型	Rok	Hybrid	Roo	Rok	Hybrid	Roo	Rok	Hybrid	Roo
親	0.900		0.100	0.900		0.100	0.900		0.100
1世代	0.229	0.771	0.000	0.185	0.815	0.000	0.150	0.850	0.000
2世代	0.052	0.948	0.000	0.034	0.966	0.000	0.023	0.977	0.000
3世代	0.003	0.997	0.000	0.001	0.999	0.000	0.001	0.999	0.000
4世代	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000

仔魚のタイプ組成の変化について見るとニッポンバラタナゴは実験2年目から見られなくなり、実験3年目は雑種が全体の95%近くを占め、更にそのうち約90%がF₂以降の個体であった（図8）。自然選択と遺伝的浮動が全く存在しない場合、各遺伝子型頻度の世代

毎の変化を複数の遺伝子座について見ると表 18 の結果となり、ニッポンバラタナゴの遺伝子型頻度の変化は 7 座の推定値の結果とよく一致した。しかしながらタイリクバラタナゴについては表 18 の推定値と大きな差が見られ、この理由として繁殖率におけるタイリクバラタナゴの繁殖率の優位性が考えられる。

雑種においてニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの対立遺伝子の組成について見ると、F₂以降はニッポンバラタナゴ由来の対立遺伝子の割合が 50%以下の個体が大半を占め、ニッポンバラタナゴの対立遺伝子の割合の平均値は年と共に低下した（図 9）。また mtDNA について見ると F1 個体におけるニッポンバラタナゴの mtDNA は常にほぼ 50%であったのに対し、F₂以降の個体は実験 2 年目は 50%であったものの、3 年目は 24%に低下した。これらの事は、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの交雑を遺伝子レベルで見た場合、交雑集団においては核ゲノムだけでなくミトコンドリアゲノムにおいても遺伝子の置換が起きることを明らかに示している。この遺伝子置換における方向性の存在の理由として、まずタイリクバラタナゴの繁殖貢献度の高さが考えられる。しかしながら実験 3 年目において親魚におけるタイリクバラタナゴの割合が 10%であったのに対し、F₂以降の仔魚においてタイリクバラタナゴへの遺伝子置換が著しく進んだ理由としては、1) 遺伝子型の違いによる雑種の適応度の違い、2) 雑種におけるタイリクバラタナゴとの選択的交配も考える事ができる。特に雑種におけるミトコンドリア DNA の顕著な置換は、1) の可能性の存在を強く示唆している

5. シミュレーションによる外来種の侵入による在来種の絶滅条件の推定

3 章までの水槽内での飼育個体を用いた研究から、ニッポンバラタナゴおよびタイリクバラタナゴについて、卵の孵化率、孵化後の生存率、一回の産卵数、産卵期の長さ、および一繁殖期中の産卵回数についての違いが求められた。また、配偶者選択における亜種認識の程度についても情報が得られた。また、4 章では、野外実験池において、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの放流試験を行い、その後の遺伝子頻度および遺伝子型頻度の変化が追跡された。本章では、これらの結果を踏まえ、以下の 2 項目に注目したシミュレーションの結果を報告する。

ア：水槽内飼育で得られたパラメータから、実験池で起こった遺伝子頻度および遺伝子型頻度の変動を再現できるか

イ：タイリクバラタナゴの mtDNA がニッポンバラタナゴの mtDNA に置換した集団が、野外から知られている。これはどのように説明されるか。特に、ニッポンバラタナゴとタイ

リクバラタナゴの mtDNA の間で適応度に差があると考えらるべきか。

方法

ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴを特徴づける mtDNA (n, t) および一つの核遺伝子座の 2 対立遺伝子 (N, T) とを想定し、それらの動態を記述するモデルにより解析する。N, n はニッポンバラタナゴ由来のものであり、T, t はタイリクバラタナゴ由来のものである。単純化のため、離散世代のモデルを用いる。

ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴ、それぞれの適応度の比については、本研究における結果をもとに、以下を基本設定とする。

ア：孵化率	1 : 2	(ニッポン：タイリク：以下、同様)
イ：孵化後繁殖までの生存率	1 : 8	
ウ：一回産卵数	1 : 1.5	
エ：繁殖期の長さ	3 : 10	
オ：排卵周期	1 : 0.5	

ア、イより受精卵が繁殖まで生存する確率においてタイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの 16 倍となる。またウ、エ、オより一繁殖期当たりの産卵数においてタイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの 10 倍となる。また、ニッポンバラタナゴの繁殖期間が短いことから、産卵期後半の 7/10 では、ニッポンバラタナゴの繁殖は見られず、タイリクバラタナゴおよび雑種個体の繁殖のみとなる。

また、配偶者選択においては、ニッポンバラタナゴの雌はその繁殖期間に活動している雄とランダムに交配するが、タイリクバラタナゴの雌は、ニッポンバラタナゴ雄との交配を避ける傾向があり、たとえばタイリクバラタナゴの雄とニッポンバラタナゴの雄が同数いる状況では、タイリクバラタナゴとの交配確率がニッポンバラタナゴの 6 倍になるとする。

基本設定では、純系個体以外の個体は雑種とし、適応度に係わる形質について、タイリクバラタナゴと同等とする。この基本設定では、雑種個体において核遺伝子にかかる自然選択がないものとするため、モデルから得られた核遺伝子の頻度は、本研究で用いられた適応度的に中立と考えられるマーカー遺伝子の頻度に対応すると考えられる。

また、実験池に放流した初期の繁殖個体数（ニッポンバラタナゴ：タイリクバラタナゴ = 100 : 10、いずれも性比は 1 : 1）に併せ、シミュレーションの初期状態を設定する。

基本設定による解析後、雑種個体とタイリクバラタナゴとの適応度差、雑種個体におけ

る核遺伝子座の遺伝子の相違による適応度差, mtDNA の相違による適応度差, の3要素をとりこみ, それらが, mtDNA の置換に及ぼす影響を検討する。

これらの要因を考慮するときには, タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴの適応度比は基本設定と変更しない。そして, 交雑個体はタイリクバラタナゴより一定割合適応度が低かったり(雑種個体の孵化後繁殖までの生存率をタイリクバラタナゴの u 倍とする。 u は1以下の定数), ニッポンバラタナゴ由来の遺伝子 N を持つことにより適応度が低下したり(ミトコンドリアの遺伝子型が同じであるとき, 核遺伝子型がそれぞれ TT , TN , NN の個体の孵化後繁殖までの生存率の比が, $1:v:v^2$ であるとする。 v は1以下の定数), またこれら両方の影響を考慮する(核の遺伝子型が TN の雑種個体の孵化後繁殖までの生存率がタイリクバラタナゴの uv 倍である等)。また, ミトコンドリア遺伝子が n である個体の, 孵化後繁殖までの生存率は, t の個体の w 倍であるとする(w は1以下の定数)。孵化後の生存率以外にはこれらの要因は影響しないとする。

これらのことから, たとえば, 核の遺伝子型が NT でミトコンドリアの遺伝子型が t の雑種個体の孵化後繁殖までの生存率は, タイリクバラタナゴ純系個体の uvw 倍。ニッポンバラタナゴ純系個体の $16uvw$ 倍等とすることになる。

結果

基本設定のもとでの, 雑種 (F_1 と F_2 以降を区別) および 各亜種個体の割合の変化およ

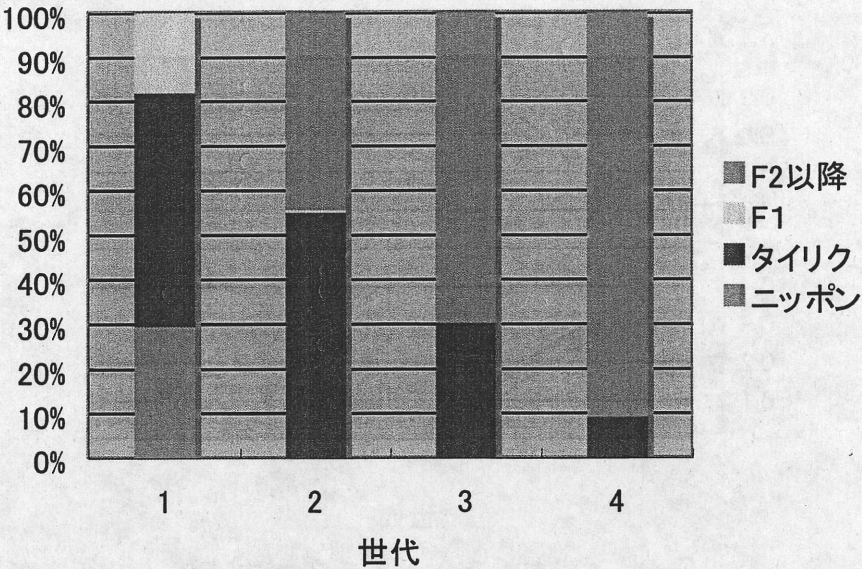


図10. 基本設定における各タイプの頻度変化

び、各遺伝子および mtDNA の頻度変化を示す (図 10, 11)。実際には 1 年以上生き残る個体が含まれる個体群を、離散世代モデルでシミュレートしているため、F₁ 個体の消失が現実より早く、またタイリクバラタナゴの消失が遅い傾向が見られるがおおまかに実験池での結果を再現できている。

ニッポンバラタナゴは第 2 世代でほぼ消失する。タイリクバラタナゴと日本バラタナゴの適応度比が 160 倍 (16×10 倍) である上に、ニッポンバラタナゴはタイリクバラタナゴや雑種との交雑を拒まないという設定からの予想に違わない。ミトコンドリアおよび核遺伝子の頻度は第 2 世代以降ほとんど変化しない。基本設定では、ニッポンバラタナゴの適応度が低い以外は適応度がどのタイプでも同じであると仮定しているため、ニッポンバラタナゴが集団からほぼ消失した段階で、各遺伝子にかかる自然選択がほぼ消失するためである。

しかし、現実には、実験池では、ニッポンバラタナゴがほぼ絶滅した後も、ニッポンバラタナゴの mtDNA の頻度が減り続けている。このことは、雑種がすべてタイリクバラタナゴと同等の適応度をもつという条件のもとではありえない。このことから、雑種間あるいはタイリクバラタナゴとの間で何らかの選択が起こっていることが示唆される。

また、ニッポンバラタナゴ由来のミトコンドリアが失われた野生集団がみられるが、このことは、基本設定ではおこりえず、やはり、基本設定で考慮されていない自然選択が起こっていることを示唆している。

t による n の置換は、タイリクバラタナゴ型の mtDNA とニッポンバラタナゴ型の mtDNA (t と n) の間に適応度差があれば起こりうる事は容易に想像される。

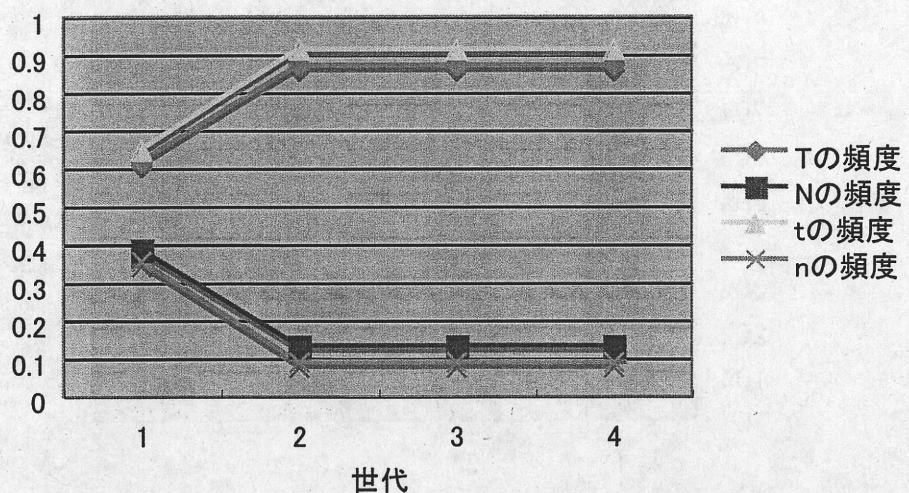


図11. 基本設定における各対立遺伝子の頻度変化

一方、mtDNA が自然選択を受けなくても、核遺伝子の形質に対して選択がかかる場合には、mtDNA と核遺伝子との連鎖不平衡を介して、メスの核遺伝子にかかった選択の影響がミトコンドリア遺伝子の頻度変化としてあらわれる可能性がある。このことから、メスの核遺伝子にかかる選択が強いほど、mtDNA の頻度は変化しやすいことが予想される。すなわち、タイリクバラタナゴ型の核遺伝子 (T) がニッポンバラタナゴ型の核遺伝子 (N) より高い適応度をもつなら ($v < 1$ なら)、 t と n に適応度差がなくても ($w = 1$ でも) n の頻度は基本設定にくらべて低下する。

また、雑種個体の適応度がタイリクバラタナゴの適応度より低いことも、結果的に t の有利さをもたらし、 t の頻度を高める効果をもつ。すなわち、 u が 1 より小さいなら、 t と n に適応度差がなくても ($w = 1$ でも)、 n の頻度は基本設定にくらべて低下する。

これらのことは、 n を絶滅させるほどの効果を持ちうるであろうか。

50 世代後に予想される n の頻度を示したのが図 12 である。

仮に 50 世代後の n 遺伝子の頻度が 1% 以下になることを規準に、 n 遺伝子の絶滅とすると、それはたとえば u が 0.55 以下では、 v が 1 でも起こり、また u が 1 でも v が 0.4 以下では生じる。そして一方が小さいほど、もう一方の値が大きくても絶滅がおこる。

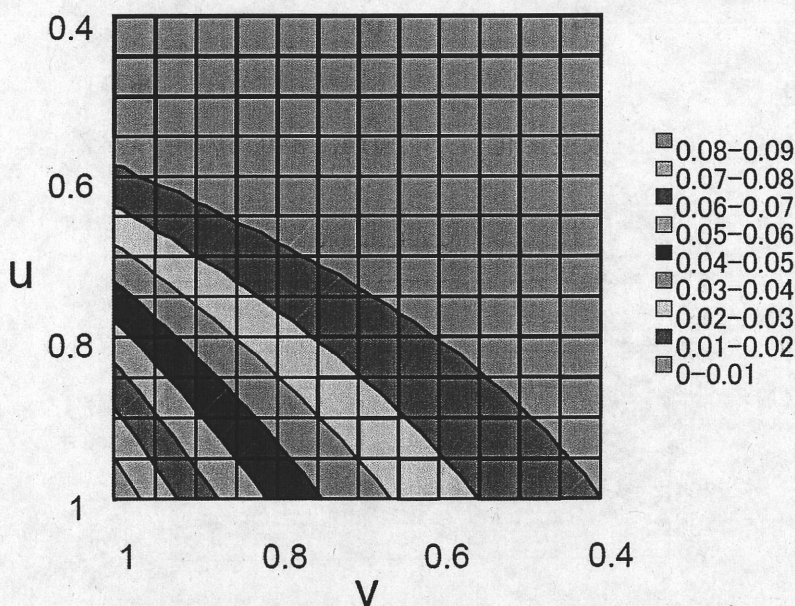


図12. 50世代時点でのタイリクバラタナゴ由来のミトコンドリアDNA (t) の頻度： u 、 v との関係

では、このようなパラメータの組み合わせのもとでは、導入後にどのような動態が予想されるであろうか。2つの場合を示す (図 13, 14)。いずれの場合も、導入後のタイリクバ

ラタナゴの頻度が、野外実験池にくらべ非常に高く保たれ、実験結果と整合しない。結果は示さないが、図 12 で n の頻度が 0.01 以下になる u と v の組み合わせでも同様である。

それに対し、タイリクバラタナゴ型の mtDNA t に 20% の有利さを与えた例 ($w=0.83$ の場合) を図 15 に示す。このとき 50 世代後の n 遺伝子の頻度はほぼ 0 となる。そして、 t の頻度は 2 世代以後も目立って減少を続け、実験結果と整合する。一方で、核のマーカー遺伝子の頻度は 2 世代以後ほとんど低下せず、実験結果と矛盾する。

これらのことを総合すると、核遺伝子、mtDNA の両方において、ニッポンバラタナゴ由来のものとタイリクバラタナゴ由来のものとの間に適応度差があるということが強く示唆される。

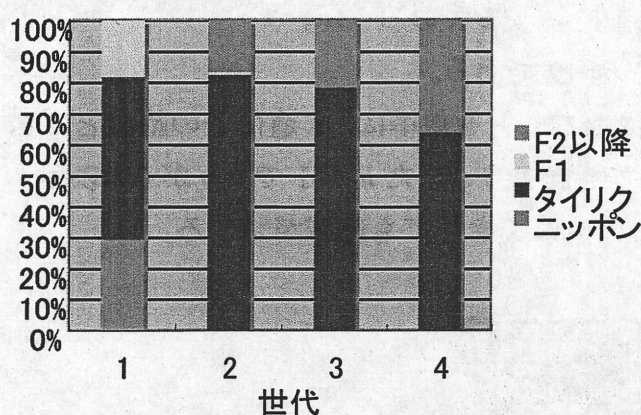


図13. $v=0.4$ の時の各タイプの頻度変化

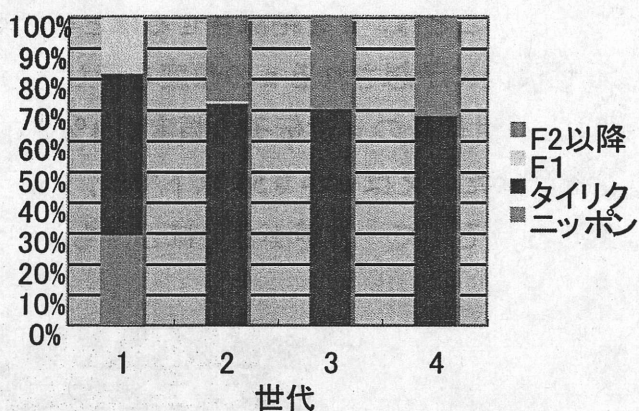


図14. $u=0.5$ の時の各タイプの頻度変化

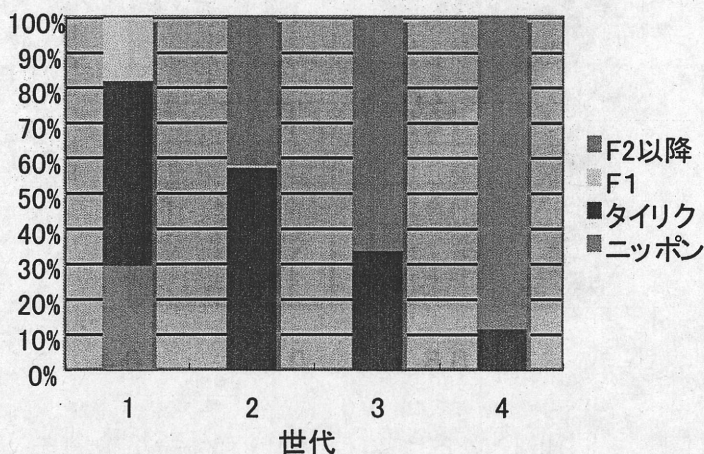


図15. $w=0.83$ の時の各タイプの頻度変化

6. 総合論議

6.1 近縁外来種の侵入による在来種の絶滅要因

タイリクバラタナゴの侵入によりニッポンバラタナゴの絶滅が生じる事は、実験水槽と野外人工池を用いた今回の一連の実験結果から、ほぼ確実であると言える。具体的な絶滅要因としては、繁殖率と生存率を含めた亜種間での適応度の違いと交雑の2つが大きく挙げられる。タイリクバラタナゴの侵入によるニッポンバラタナゴ絶滅の可能性については、既に長田（1980, 1997）により指摘されており、ニッポンバラタナゴのかつての生息地において高頻度で雑種が見られることから、これまで交雑が絶滅の最大要因であるとされてきた（Nagata *et al.*, 1996; Kawamura *et al.*, 2001b）。しかしながら今回の実験結果は、タイリクバラタナゴの侵入によるニッポンバラタナゴの絶滅には、交雑以上に亜種間での適応度の違いが関与している事を示唆している。1 繁殖期における1雌当たりの産卵数において、タイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの約10倍であり、更に卵から成魚までの生存率においてタイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの約16倍であることから、タイリクバラタナゴの適応度はニッポンバラタナゴの約160倍であると推定される。この事から摂餌を始めとするニッチェがオーバーラップする亜種間の関係において、ニッポンバラタナゴが生存競争でタイリクバラタナゴに不利である事は明白である。水槽実験においては繁殖行動だけでなく摂餌行動においてもタイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴよりも優位であり、成長も勝っていることが確認されたことから（表7）、こうした状況下においては仮に交雑がなくてもニッポンバラタナゴは絶滅する可能性は高いと考えられる。

繁殖行動において亜種間で若干の生殖的隔離が認められたにも関わらず（図2）、高頻度で雑種が出現し（表12, 16）、雑種において雑種退行が見られないことは（図9）、亜種間での適応度の違いに加え、交雑がニッポンバラタナゴの絶滅に拍車をかけている第2の要因であるということが出来る。大阪産ニッポンバラタナゴにおいては隔離された溜池と言った生息環境が原因とされる近交弱勢の存在が飼育実験と遺伝子分析の結果から指摘されており（Kawamura, 2005）、本研究は大阪産ニッポンバラタナゴを用いた実験結果に基づくものであることから近交弱勢の影響は無視できない。しかしながら、近交弱勢が存在しないとされる九州産ニッポンバラタナゴを用いた水槽実験においても大阪産ニッポンバラタナゴと同様、高頻度でタイリクバラタナゴとの雑種が見られた事は（表12）、ニッポンバラタナゴは生息地に関係なく、適応度においてタイリクバラタナゴに劣っていることを示すものと言える。

かつてニッポンバラタナゴの主生息地の一つであった琵琶湖淀川水系においては、溜池に生息する大阪の一部の集団を除き、ニッポンバラタナゴは2000年までに絶滅したとされている（河村，2003）。九州においてはタイリクバラタナゴの生息は1976年に確認されているものの、分布は拡大していないとされていた。しかしながら、遺伝子分析においては、タイリクバラタナゴの分布は九州においても予想以上に拡大しており、現在、ニッポンバラタナゴの絶滅が危惧されている（三宅ら，2007）。本研究の結果は、適応度に勝る近縁外来種が侵入した場合、在来種が短期間に絶滅する危険性が高いことを示しており、現状で行くと近い将来、九州産ニッポンバラタナゴは絶滅する事が予想されることから、ニッポンバラタナゴの保護に向けた早急な対策が必要であると考えられる。

6.2 個体レベルで見た在来種の絶滅のメカニズム

本研究における一連の実験結果から、タイリクバラタナゴの侵入によるニッポンバラタナゴの絶滅は次の様に生じると考えられる。タイリクバラタナゴのニッポンバラタナゴの生息地への侵入において、個体レベルでの亜種認識が不十分であることから亜種間で交配が生じ、雑種が出現する。この際、交配はほぼ任意交配に近いが、タイリクバラタナゴの繁殖率が雌雄共にニッポンバラタナゴより高く、ニッポンバラタナゴ（雄）×タイリクバラタナゴ（雌）の配偶行動の成功率が低いことから、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの頻度は共に低下するものの、後者の頻度の低下は前者ほど顕著ではない。雑種は雌雄共に妊性があり、繁殖率はタイリクバラタナゴに近く（河村，未発表）、ほぼ任意交配と考えられるから、 F_2 以降も出現し、雑種の頻度は更に増加する。こうした状況下で、最終的にニッポンバラタナゴは絶滅し、集団は雑種とタイリクバラタナゴのみの状態となる。ニッポンバラタナゴの絶滅時期はニッポンバラタナゴの初期個体数に対するタイリクバラタナゴの侵入個体の比率により決定され、この比率がどうであれ、ニッポンバラタナゴはほぼ常に絶滅する。

魚類における近縁外来種の侵入による在来種の絶滅の例として、タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴの交雑以外に、モツゴ (*Pseudorasbora parva*) とシナイモツゴ (*P. pumila pumila*) の交雑 (Konishi & Takata, 2004; 小西・高田, 2005) が挙げられる。この場合、モツゴの侵入によるシナイモツゴの絶滅の理由として、交雑の方向性と雑種不妊が挙げられている。モツゴの侵入によりモツゴ (♂) ×シナイモツゴ (♀) の雑種が出現するようになるが、この雑種は不妊であるため、継代できない。これに対し、理由は不明であるがシナイモツゴ (♂) ×モツゴ (♀) の交配は存在せず、またモツゴは雌雄共に繁殖力におい

てシナイモツゴに勝っている事から、モツゴの個体数は確実に増加する。その結果、時間の経過と共にシナイモツゴの個体数は減少し、最終的に絶滅する。このモツゴの侵入によるシナイモツゴの絶滅は数理モデルを用いると次の様に考察する事ができる。モツゴの頻度が p 、両種の間で性比が一定、適応度（生存力と繁殖力）において種間で差が無いとする。シナイモツゴの雌は任意交配を行うとして、モツゴ雄との交配によりできた子供は妊性がなく、妊性のある子供はシナイモツゴの雄との交配で生まれたシナイモツゴのみであるから、シナイモツゴの卵の頻度を $1-p$ とすると生まれてくるシナイモツゴの頻度は $(1-p)^2$ となる。これに対し、モツゴの雌はモツゴの雌としか交配しない事から、モツゴの卵の頻度を p とすると生まれてくるモツゴの頻度は卵と同じく p となる。この交配において妊性のある子供におけるモツゴの頻度 (p') は $p/(p^2+1-p)$ となり、 $p'-p$ は $p^2(1-p)/(p^2+1-p)$ である事から p の値に関係なく正となり、これはモツゴの初期個体数に関係なく、モツゴは常に増加しシナイモツゴが減少する事を意味する。また実際、野外においては $p^2 \approx 0$ に近いことから、世代間でのモツゴの増加率 (p'/p) は $1/(1-p)$ に近似され、これはシナイモツゴの頻度の逆数であることが判る。これらの計算はシナイモツゴとモツゴの間の適応度が等しいと仮定した場合であるが、実際にはモツゴはシナイモツゴよりも適応度が高い事から、モツゴの侵入においては初期個体数に関係なく、シナイモツゴの絶滅確率は極めて高いと考えられる。

近縁外来種の侵入による在来種の絶滅においてニッポンバラタナゴとシナイモツゴで共通している事は、外来種との交雑による在来種の卵資源の損失と外来種の繁殖における優位性である。近縁外来種と在来種の間で繁殖率に差がなく任意交配が行われ、また雑種において雑種退行（生存率+繁殖率）が存在しない場合は、時間の経過に伴い外来種と在来種は共に絶滅すると考えることができ（表 18）、タイワンザルとニホンザルの交雑がこのケースに該当すると考えられる（村上・鷲谷, 2002）。これに対し、タイリクバラタナゴとモツゴは在来種（ニッポンバラタナゴとシナイモツゴ）よりも繁殖力において勝っていることから、雑種継代の有無に関係なく、在来種は時間の経過と共に絶滅し、最終的には外来種は生き残る。以上の事から近縁外来種の侵入による在来種の運命は、以下の様に要約される（在来種、近縁外来種、雑種の適応度をそれぞれ F_N , F_E , F_H と表記）。

1. 雑種形成を伴わない場合

1-1. $F_N < F_E$: 在来種は絶滅し、近縁外来種のみが残る。

1-2. $F_N = F_E$: 在来種の存続確率は近縁外来種の初期個体数と生態的浮動に左右される。

1-3. $F_N > F_E$: 近縁外来種は絶滅し、在来種は存続する。

2. 雑種形成を伴う場合

2-1. 雑種に妊性がある場合

2-1-1. $F_N < F_E$

2-1-1-1. $F_E > F_H$: 在来種と雑種は絶滅し、近縁外来種のみになる。

2-1-1-2. $F_E = F_H$: 在来種と近縁外来種は絶滅し、雑種のみになる可能性大。

2-1-1-3. $F_E < F_H$: 在来種と近縁外来種は絶滅し、雑種のみになる。

2-1-2. $F_N = F_E$

2-1-2-1. $F_N = F_E > F_H$: 在来種の存続確率は近縁外来種の初期個体数と生態的浮動に左右される。両種が存続する期間においてのみ雑種が出現。

2-1-2-2. $F_N = F_E = F_H$: 在来種と近縁外来種は絶滅し、雑種のみになる可能性大。

2-1-2-2. $F_N = F_E < F_H$: 雑種のみになる。

2-1-3. $F_N > F_E$

2-1-3-1. $F_N > F_H$: 近縁外来種と雑種は絶滅し、在来種が存続。

2-1-3-2. $F_N = F_H$: 在来種と近縁外来種は絶滅し、雑種のみになる可能性大。

2-1-3-3. $F_N < F_H$: 近縁外来種と在来種は絶滅し、雑種のみになる。

2-2. 雑種に妊性がない場合

2-2-1. $F_N < F_E$: 在来種は絶滅し、近縁外来種のみになる。

2-2-2. $F_N > F_E$: 近縁外来種は絶滅し、在来種が存続。

6.3 遺伝子レベルで見た在来種の絶滅のメカニズム

Kawamura *et al.* (2001b) は日本各地のバラタナゴ集団について mtDNA 分析と RAPD-PCR 分析を行い、以下の可能性を示唆している。

- 1) ニッポンバラタナゴ集団はタイリクバラタナゴの侵入により生じた交雑が原因で絶滅する
- 2) ニッポンバラタナゴの絶滅後も交雑個体においてはニッポンバラタナゴからタイリクバラタナゴへの遺伝子置換が継続する。
- 3) 雑種は最終的にタイリクバラタナゴの遺伝子組成に近くなる。

本研究において、Kawamura *et al.* (2001b) の示唆の真偽を確かめるため、野外人工池を用いてニッポンバラタナゴの個体ならびに固有遺伝子の頻度変化を追跡した。その結果、ニッポンバラタナゴの個体は消滅する事とニッポンバラタナゴの固有遺伝子の頻度は mtDNA, MS の何れにおいても継続して低下する事の 2 つが明らかとなり、Kawamura *et al.* (2001b) の指摘がほぼ正しい事が明らかとなった (図 8, 9)。

先の考察においてタイリクバラタナゴの侵入によるニッポンバラタナゴ個体の絶滅は、亜種間の適応度の違いによる可能性が高いことが指摘された。雑種において遺伝子置換を生じる要因として、タイリクバラタナゴとの戻し交配と遺伝子 (mtDNA を含む) レベルにおける雑種間での適応度の違いの2つが大きく挙げられるが、これらについては次のように考察する事ができる。野外人工池を用いた飼育実験において、実験3年目の親魚におけるタイリクバラタナゴの頻度は10% (図9D) であったのに対し、仔魚におけるはニッポンバラタナゴの遺伝子の割合が50%以上のF₂以降の個体の頻度は全体の70.8% (図9C) と極めて高かった。この場合、頻度の違いから見てF₂個体の多くがF₁個体とタイリクバラタナゴの戻し交配により生じた可能性は極めて低く、遺伝子レベルでの適応度の違いが可能性として高いと思われる。なぜならば、F₁個体におけるニッポンバラタナゴのmtDNAの頻度はほぼ50%近かったのに対し、F₂以降においてはその頻度は23.5%にまで低下しており (図9C)、タイリクバラタナゴと雑種の混生状況においては、ほぼ任意交配が行われていると考えられる事から、これは雑種においてmtDNAの違いにより適応度に差が生じている事を強く示唆する。人間のmtDNAにおいては、ミトコンドリア病と呼ばれる突然変異が原因でアルツハイマー病を始めとする複数の遺伝病が生じる事が知られており (ウォレス, 2000)、ショウジョウバエ (McRae & Anderson, 1988) においてはmtDNAが分子進化において必ずしも中立でないことが実験的に証明されている。また、ショウジョウバエ (Kilpatrick & Rand, 1995)、海産ケンミジンコ (Rawson & Burton, 2002) においては核ゲノムとmtDNAの間における相互適応の存在が指摘されている。これらの事から、バラタナゴ2亜種間において、mtDNAの違いによる適応度の差、mtDNAと核DNAの間における相互適応が存在する可能性は高いと言える。即ち、F₁においてタイリクバラタナゴのmtDNAを持つ個体はニッポンバラタナゴのmtDNAを持つ個体よりも適応度が高く、こうした個体はタイリクバラタナゴとの戻し交雑により適応度が改善され、世代を重ねていく毎に核ゲノムとmtDNAの組成がタイリクバラタナゴに近くなっていくと言うものである。雑種における遺伝子置換の方向性の問題については、今後、mtDNAの異なるF₁雑種のみを用いた混合飼育実験による再検討が必須であり、これは本研究の今後の課題の一つであると言える。

7. 要約

本研究において得られた知見は以下に要約される（注：ニッポンバラタナゴは大阪産個体を指すものとする）。

- 1) 水槽と野外人工池を用いた飼育実験により、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの間の生殖的隔離の有無と交雑の実態について、行動、生態、遺伝の3点から調査分析を行った。
- 2) ペア産卵においては、亜種認識の存在が示唆され、特にタイリクバラタナゴの雌とニッポンバラタナゴの雄の間において顕著であった。
- 3) スニーキング、グループ産卵においては、亜種認識は雌雄共に全く認められなかった。
- 4) タイリクバラタナゴの雌は繁殖期の長さ（ニッポンバラタナゴの3倍）と繁殖周期の長さ（ニッポンバラタナゴの0.5倍）から見て繁殖期における繁殖回数はニッポンバラタナゴの6倍であることがわかった。
- 5) 排卵時における排卵数においてタイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの1.6倍であり、繁殖期における繁殖回数を考慮すると1繁殖期におけるタイリクバラタナゴの雌の産卵数はニッポンバラタナゴの雌の約10倍であることが示唆された。
- 6) タイリクバラタナゴの孵化率はニッポンバラタナゴの2倍であり、孵化から成魚（孵化後120日）になるまでの生存率は8倍であった。このことから、卵から成魚になるまでの生存率においてタイリクバラタナゴはニッポンバラタナゴの16倍である事が判った。
- 7) 産卵数と生存率から見て、タイリクバラタナゴの適応度はニッポンバラタナゴの160倍であると考えられた。
- 8) 繁殖行動の観察において、タイリクバラタナゴの繁殖行動の頻度は雌雄共にニッポンバラタナゴに勝っていた。
- 9) ミトコンドリアDNAとマイクロサテライトDNAの分析により、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの識別が可能であることが判った。
- 10) 水槽実験、野外実験共にニッポンバラタナゴの出現頻度は任意交配を期待した場合の1/2以下であり、逆に雑種、タイリクバラタナゴの出現頻度は期待値よりも高かった。
- 11) 野外実験においてニッポンバラタナゴのmtDNAの頻度は4年間で90%から20%にまで低下した。
- 12) 野外実験において雑種の頻度は年々増加し、実験3年目には95%にまで達した。

ニッポンバラタナゴの仔魚は実験 2 年目から見られなくなったのに対し、タイリクバラタナゴは実験 4 年目においても確認された。

- 1 3) 雑種の遺伝子組成について見ると核ゲノムだけでなく mtDNA もニッポンバラタナゴからタイリクバラタナゴに置換される傾向が認められ、この理由として遺伝子レベルにおける亜種間での適応度の違いが考えられた。
- 1 4) 水槽や野外における観察の結果をもとに設定したパラメータを用いたモデルによるシミュレーションにより、野外実験池における遺伝子：遺伝子型頻度の変化をおおまかに再現できた。
- 1 5) シミュレーションからも、核遺伝子、mtDNA の両方において、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの間に適応度差があることが示唆された。

謝辞

本研究を進めるに当たり、終始有用なご助言ならびにご指導を賜った三重大学生物資源学研究科古丸 明教授に深く感謝の意を表す。三重大学生物資源学研究科の大学院生、三宅琢也（博士後期課程）、片山雅人（博士前期課程）には本研究の遂行に当たり、飼育実験、遺伝子分析等において協力いただき、心から御礼申し上げる。また、ニッポンバラタナゴの採集においては九州大学農学部鬼倉徳雄助手と中島淳博士に、タイリクバラタナゴの採集においては宇都宮大学教育学部上田高嘉教授、栃木県水産試験場久保田仁志主任、京都大学理学部北村淳一博士にご協力頂き、厚く御礼申し上げる。野外実験においては八尾市水道局に人工池の利用を快諾頂くと共に、NPO法人ニッポンバラタナゴ高安研究会の諸氏には池の維持管理において無償で協力して頂き、大変お世話になった。なお、水産総合研究センター中央水産研究所井口恵一郎主任研究官には本研究の遂行において長期に渡り必要な便宜を図って頂いた。これらの方々に記して深謝する。

引用文献

- Allendorf FW & Luikart G (2006) Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell Publishing, MA.
- Allendorf FW & Lundquist LI (2003) Introduction: Population Biology, Evolution, and Control of Invasive Species. *Conservation Biology*, **17**, 24-30.
- Arnold, ML (1997) Natural Hybridization and Evolution. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press, New York.
- Awise JC (2004) *Molecular Markers, Natural History and Evolution. Second edition*. Sinauer, MA.
- Coyne JA & Orr HA (2004) Speciation. Sinauer, Sunderland, MA.
- Dawson DA, Burland TM, Douglas A, LeComber SC & Bradshaw M (2003) Isolation of microsatellite loci in the freshwater fish, the bitterling *Rhodeus sericeus* (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Ecology Notes*, **3**, 199-202.
- Futuyama D (2005) Evolution. Sinauer, Sunderland, MA.
- 河村功一 (1991) 実験動物としてのバラタナゴ. 養殖研ニュース, **22**, 2-5
- 河村功一 (2003) ニッポンバラタナゴ. 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物 —レッドデータブック— (環境省編). 財団法人自然環境研究センター, pp. 44-45, 東京.
- Kawamura K (2005) Low genetic variation and inbreeding depression in small isolated populations of the Japanese rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus*. *Zoological Science*, **22**, 517-524.
- Kawamura K & Hosoya K (2000) Masculinization mechanism of hybrids in bitterlings (Teleostei: Cyprinidae). *Journal of Heredity*, **91**, 464-473.
- Kawamura K, Nagata Y, Ohtaka H & Kanoh Y (2001a) Genetic diversity in the Japanese rosy bitterling *Rhodeus ocellatus kurumeus* (Cyprinidae). *Ichthyological Research*, **48**, 369-378.
- Kawamura K, Ueda T, Arai R, Nagata Y, Saitoh K, Ohtaka H & Kanoh Y (2001b) Genetic introgression by the rose bitterling, *Rhodeus ocellatus ocellatus*, into the Japanese rosy bitterling, *R. o. kurumeus* (Teleostei: Cyprinidae). *Zoological Science*, **18**, 1027-1039.
- Kilpatrick ST & Rand DM (1995) Conditional hitchhiking of mitochondrial DNA: frequency shift of *Drosophila melanogaster* mtDNA variants depend on nuclear genetic background. *Genetics*, **141**, 1113-1124.
- Konishi M & Takata K (2004) Impact of asymmetrical hybridization followed by sterile F1 hybrids on species replacement in *Pseudorasbora*. *Conservation Genetics*, **5**, 463-474.
- 小西 繭・高田啓介 (2007) シナイモツゴからモツゴへ —交雑をとおした種の置き換え

り—。希少淡水魚の現在と未来 —積極的保全のシナリオ— (片野・森編), 信山社, pp. 99-110, 東京.

Lansman RA, Shade RO, Shapira JF & Avise JC (1981) The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequences relatedness in natural populations. III. Techniques and potential application. *Journal of Molecular Evolution*, **17**, 214-226.

McRae AF & Anderson WW (1988) Evidence for non-neutrality of mitochondrial DNA haplotypes in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, **120**, 485-494.

三宅琢也・河村功一・中島 淳・鬼倉徳雄. 九州におけるニッポンバラタナゴの現状. 平成 19 年度日本水産学会春期大会 (2007.3.30).

村上興正・鷲谷いずみ監修 (2002) 外来種ハンドブック. 地人書館, 東京.

長田芳和 (1980) タイリクバラタナゴ. 日本の淡水生物 —侵略と攪乱の生物学— (川合・川那部・水野編), 東海大学出版会, pp. 147-153, 東京.

長田芳和 (1997) ニッポンバラタナゴ. よみがえれ日本産淡水魚 —日本の希少淡水魚の現状と系統保存— (長田・細谷編), 緑書房, pp. 76-85, 東京.

Nagata Y, Tetsukawa T, Kobayashi T & Numachi K (1996) Genetic markers distinguishing between two subspecies of the rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus* (Cyprinidae). *Ichthyological Research*, **43**, 117-124.

中村守純 (1955) 関東地方に繁殖した移植魚. 日本生物地理学会報, 16-19, 333-337.

中村守純 (1969) 日本のコイ科魚類. 資源科学シリーズ 4, 資源科学研究所.

Olden JD, LeRoy Poff N, Douglas MR, Douglas ME, Fausch KD (2004) Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. *Trends in Ecology and Evolution*, **19**, 18-24.

Palumbi SR, Martin A, Remano S, Mcmillan WO, Stice L & Grabowski G (1991) The simple fool's guide to PCR, ver 2.0. Zoology Department, University of Hawaii, Honolulu.

プリマック RB・小堀洋美 (1997) 保全生物学のすすめ —生物多様性保全のためのニューサイエンス—. 文一総合出版, 東京.

Rawson PD & Burton RS (2002) Functional coadaptation between cytochrome c and cytochrome c oxidase within allopatric populations of a marine copepod. *Proceedings of National Academy of Sciences*, **99**, 12955-12958.

Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS, Lodge DM, Molofsky J, With KA, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC, McCauley DE, O'Neil P, Parker IM, Thompson JN & Weller SG (2001) The population biology of invasive species. *Annual Reviews in Ecology and Systematics*,

32, 305-332.

自然環境研究センター (2002) 生物多様性調査 動物分布調査報告書 (淡水魚類). 環境省
自然環境局生物多様性センター, 東京.

ウォレス DC (2000) 脳と筋肉を襲うミトコンドリア病. 別冊日経サイエンス 132 ゲノム
科学が開く医療 (日経サイエンス編集部編), 日経サイエンス社, pp. 134-143, 東京.