

課題名 RF-0910 国内移殖による淡水魚類の遺伝子かく乱の現状把握および遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築

課題代表者名 鬼倉 徳雄（九州大学大学院農学研究院アクアフィールド科学研究室助教）

研究実施期間 平成21～23年度

累計予算額 13,583千円（うち23年度 4,653千円）
予算額は、間接経費を含む。

研究体制

- (1) 同一種内における遺伝子かく乱の現状把握（岐阜大学）
- (2) 遺伝子かく乱魚種の分布、生息条件の特定および遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築（九州大学）

研究概要

1. はじめに（研究背景等）

侵略的外来生物が及ぼす環境・生態系への負の影響は世界的な問題となっており、日本国内においても外来生物法の特定外来種に指定された種の取り扱いは厳しく制限されることとなった。生態的影響が著しい特定外来種については、在来生物への影響や移入先での生態、駆除方法などが研究され、その管理手法の構築が進みつつある。一方、国内移殖の問題は極めて軽視され、一般的認知にも乏しい。日本の淡水魚は、漁業・遊漁目的で琵琶湖産アユなどが全国の河川に放流されたことで、様々な魚種が生息域外に付随して移殖され定着する機会が非常に多かった。近年の著者らが行った国内移殖に関する研究により（平成19-20年地球環境研究総合推進費革新型RF-075）、九州内におけるそれらの分布の現状、生態的影響や遺伝的かく乱の現状が明らかになり始めた。

日本列島は複雑な地史を経て形成されたことから、比較的小さな地理的スケールの中にも多様な生物相が生じている。特に、日本の淡水魚は、移動範囲が河川水系内に限定されるという特性上、地理的分化が極めて進んでいる。例えば、メダカでは遺伝子レベルでは明瞭に区分される北日本集団と南日本集団に2区分され、両者はそれぞれ異なる遺伝的特性、形態的特性を持っていることが古くより知られていた。そして、近年、これらの2タイプのメダカが別亜種として区別されるようになった。しかしながら、先に述べた国内移殖に伴い、遺伝的に異なる特性を持った同一種が交雑するといった問題が近年報告され始めた。これが本課題で注目する遺伝子かく乱である。九州では、少なくともゼゼラという淡水魚で外来遺伝子の移殖・定着が確認されている。

このような問題は「日本国内における国産の」淡水魚の移殖であるために、生態系に影響を及ぼす重要な外来種問題であることが一般市民に認識されず、特に、同一種、近縁亜種間で起こる遺伝的かく乱については現状把握さえほとんどなされていない。このまま問題を放置すれば、日本列島が形成されてから数百万年の時間をかけて形成された各地域固有の淡水魚類相が、人為的移殖によって均質化し、遺伝的多様性が失われ続けていくと考えられる。したがって、淡水魚の国内移殖が、「生態系に影響を与え」、「希少魚の絶滅を引き起こし」、「何百万年もかけて形成された生物の地理的多様性を失わせている」ことを科学的データによって明示し、国内外来魚問題への対処に関する社会的合意を得ることが必要である。

こういった国内での移殖に伴う生態系・生物多様性かく乱の監視・管理の場で、遺伝子かく乱の最大の問題点は、分類学上、同一種として扱われているケースが大半であることにある。外観上の識別が難しいため、サンプルを収集して遺伝子を解析しない限り、その侵攻状況を把握できない。したがって、早急にその監視手法を構築する必要がある。

2. 研究開発目的

以上のことから、本研究ではこの遺伝子かく乱に着目し、その管理のためのツールを開発することを目的とする。そのプロセスとして、サブテーマ1では、アユ、ゲンゴロウブナ放流などに付随して移殖された可能性が高い魚種、観賞魚として各地に放流された可能性が高い魚種について、ミトコンドリアDNA解析を行い、遺伝子かく乱を受けている魚種を特定するとともに、そのかく乱の

程度を数値化する（遺伝子かく乱度）。サブテーマ2では、九州を対象として淡水魚類の分布情報を網羅的に調査し、分布情報、環境情報のデータベース化をはかり、そのデータベースを使い、各種の出現予測モデルを構築する。また、外来魚類の侵略性簡易評価キット（FISK）を用いて、遺伝子かく乱魚種の侵略性を評価する。そして、最終的には、遺伝子かく乱が侵攻し、FISKによって侵略性が高いと判断された魚種について、サブテーマ1で得られた遺伝子解析に基づく遺伝子かく乱データと各種の出現予測モデルを融合し、遺伝子かく乱の侵攻予測モデルを構築することを目標とする（図1）。

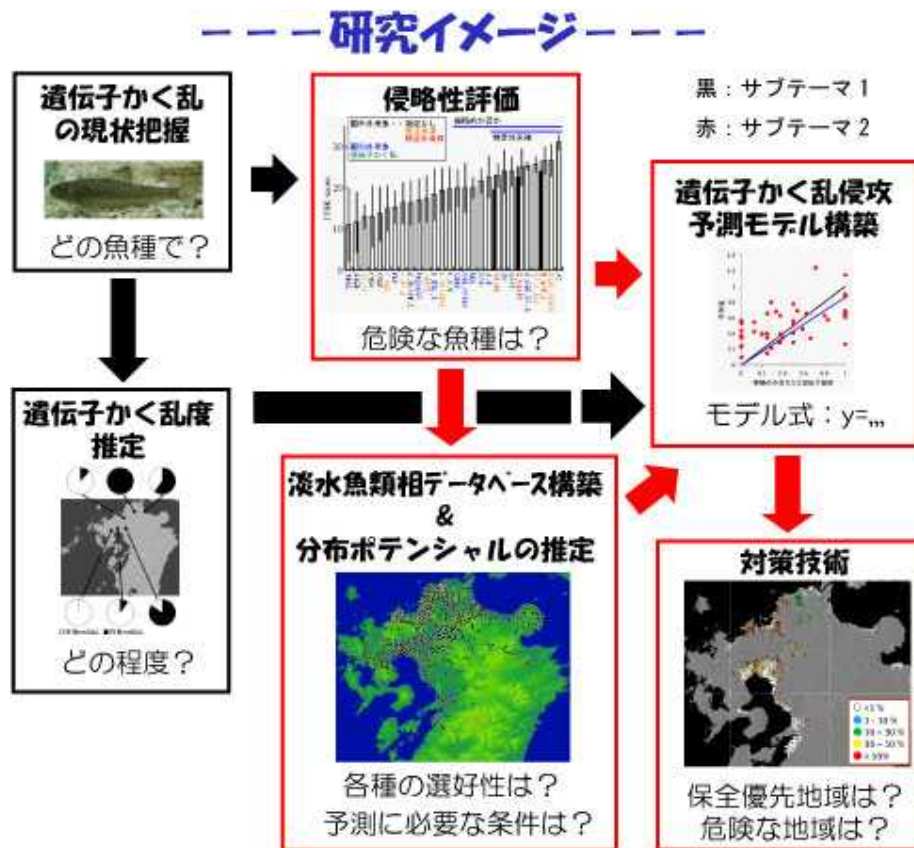


図1. 遺伝子かく乱侵攻予測モデル構築にあたっての研究計画と役割分担。

3. 研究開発の方法

(1) 同一種内における遺伝子かく乱の現状把握

九州産および比較用の日本各地の魚類標本は、たも網・投網等を用いて採集し、99.5%エタノールで保存した。入手した標本の中から、九州北部における国内移入魚の影響を解析するのに十分な産地数・個体数が確保できる種類を選定し、優先的にDNAの解析をおこなった。コイ科のオイカワ、モツゴ、ゼゼラ、メダカ科のメダカ、ハゼ科のトウヨシノボリ、カワヨシノボリ、ドンコ科ドンコを解析対象とした。

DNAの抽出はキアゲン社のDNeasy Blood & Tissue Kitを使用し、Ex Taq DNA polymerase(タカラバイオ株式会社)でミトコンドリアDNA(mtDNA)の部分塩基配列の増幅を行った。コイ科魚類については、平成19-20年度の地球環境研究総合推進費(RF-075)の研究で開発したコイ科用プライマーを用いて、Cyt b遺伝子の全長(1141bp)を含む遺伝子領域の増幅をおこなった。メダカについては既知の報告に基づいて、メダカ用プライマーを用いてCyt b遺伝子の全長を増幅した。トウヨシノボリについては、著者らは日本産ヨシノボリ属のmtDNAのND5遺伝子の部分塩基配列を既に決定しているため、本研究でも同様にND5遺伝子の部分塩基配列約1000塩基対を増幅した。ドンコとカワヨシノボリについては、Cyt b遺伝子の増幅用プライマーを新たに開発した。PCRで増幅した産物はExo-SAP ITキット(GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社)で精製し、Big Dye Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit ver. 3.1(アプライドバイオサイエンス株式会社)を用いてシーケンス反応をおこなった。反応産物はClean SEQ(株式会社バイオメディカルサイエンス)で精製した後、ABI3100(もしくは3130) Genetic Analyzerを用いて塩基配列の決定をおこなった。得られた塩基配列はABI社のフリーソフトEdit Viewで波形確認と修正をおこなった後、PAUP*4.0を用いて樹状図を作製した。

外来遺伝子の分布が確認された魚種について、分析検体数と外来系統検出個体数から、各外来系統による遺伝子かく乱度(検出個体数/分析数)を地点ごとに算出した。

(2) 遺伝子かく乱魚種の分布、生息条件の特定および遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築

遺伝子かく乱魚の分布情報に基づいて、それぞれの生息条件を特定するために、まず、九州北部純淡水魚類分布データベースを構築した。九州北部の広範囲での魚類相調査を実施するとともに、最近の魚類相に関する既知情報を集積し、データベースを構築した。また、サブテーマ1で特定された遺伝子かく乱魚種の侵略性を評価するために、外来魚種の侵略性評価簡易キッド（FISK）を用いてスコアを算出した。そして、遺伝子かく乱度の大小とFISKによる評価結果に基づいて、遺伝子かく乱侵攻予測モデル解析対象魚種（モツゴとバラタナゴ）を選定した。

遺伝子かく乱侵攻予測モデルは、目的変数をサブテーマ1のモツゴの遺伝子かく乱度とし、説明変数を各魚種の分布ポテンシャル、外来魚の種数、外来魚各種の在・不在、各魚種の分布の重心からの距離などを説明変数、生物地理区分をランダム切片とした一般化線形混合モデル（GLMM）を実施してモデル構築を行うパターンと、モツゴの遺伝子かく乱の原因である可能性が高いゲンゴロウブナについて、モツゴの在・不在、ゲンゴロウブナの在・不在の全組み合わせをモデル化し、そのポテンシャルを説明変数としたランダムフォレスト（RF）でモデルを構築するパターンの2つを実施した。

タイリクバラタナゴによる遺伝子かく乱については、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの分布予測モデルを構築し、その選好度の重複に着目したGLMMを行った。目的変数をニッポンバラタナゴの在／不在、説明変数を数値地図から得られる環境情報とし、生物地理区分をランダム切片としてGLMMを実施して、ニッポンバラタナゴの分布予測モデルを構築した。同様の作業をタイリクバラタナゴについても行い、それぞれ各魚種の環境選好度として出現確率を算出した。それに加えて、外来魚種の種数、外来各種の在／不在、ニッポンバラタナゴの分布の重心からの距離を説明変数として準備した。目的変数はタイリクバラタナゴのミトコンドリアDNA出現率（遺伝子かく乱度）とし、生物地理区分をランダム切片とした一般化線形混合モデル（GLMM）を実施してモデル構築を行った。なお、遺伝子かく乱度の算出は、日本水産学会誌に公表済みのデータを使用した。

4. 結果及び考察

(1) 同一種内における遺伝子かく乱の現状把握

本研究の中で、九州において外来遺伝子移入が確認されたのは、オイカワ、モツゴ、ゼゼラの3種であった。ゼゼラについては、その詳細を平成19-20年度の地球環境研究総合推進費（RF-075）の研究で報告しているので、オイカワとモツゴについて詳細を記す。

まず、オイカワは、国内では関東地方から九州まで広く分布する淡水魚だが、琵琶湖産アユ種苗への混入によって全国に分布を広げていることが知られている。本研究における琵琶湖由来のオイカワを含めたミトコンドリアDNA解析において、これまでに22都県61地点380個体から105ハプロタイプが検出された。それらは大きく3系統（西日本、東日本、九州）に区分され、さらに西日本系統内に山口・九州北部亜群が認められた。そして、九州北部からは九州系統、西日本系統、山口・九州北部亜群の3タイプが見つかった（図2）。これらは、九州北部で広域に認められる九州系統、筑前海側に流入する河川に見られる山口・九州北部亜群、そして、瀬戸内海流入河川に認められる西日本系統で整理できる。そして、大分県の地点を除けば、それらの多くは九州在来の系統であることが階層クレード分析によって裏付けられた。したがって、オイカワの遺伝子かく乱は九州北部地域ではほとんど認められないと結論付けられた。ただし、一昨年度と昨年度の研究結果では、九州南部地域において不自然な分布拡大が確認されており、九州全域を見たとき、南部地域では琵琶湖産アユ種苗に混入した移殖や九州内での地域間移殖が起こっていることを付記しておく。

モツゴについては、平成19-20年度の地球環境研究総合推進費（RF-075）でゲンゴロウブナの移殖に伴う形で遺伝子かく乱が侵攻している可能性が指摘されている。本研究におけるミトコンドリアDNA解析において、データベースから得られた中国大陸産を含めて33ハプロタイプが検出された。それらは大きく4系統（中国大陸、西日本、東日本、九州）に区分され、九州北部からは全タイプが見つかった（図3）。九州北部においては46地点318個体を解析したが、在来系統のみで構成されたのは10地点に満たず、大陸、西日本、東日本系統の侵入がそれぞれ23、10、14地点で見られた。また、複数系統の外来遺伝子移入が認められた地点は9地点あり、特に、佐賀県の塩田川水系、鹿島側水系からは外来3タイプ全ての移入が確認された。この地域には、フナを食す文化があり、年に1度、在来のギンブナだけでなく、国内外来魚ゲンゴロウブナが大量に生きのまま取引されることなどが関係しているのかもしれない。一級水系の筑後川、遠賀川水系には大陸系統のみの移入が確認され、両水系から西日本系統、東日本系統は確認されなかった。各系統ごとの遺伝子かく乱度は、大陸系統で0.125-0.800、

西日本系統と東日本でともに0.125-1.000であった。全外来系統を加算した全外来遺伝子かく乱度も0.125-1.000であった。熊本県内は西日本系統による遺伝子かく乱度が高いが、この地域は近年まで内水面養殖が盛んであったことと関係しているのかもしれない。なお、遺伝子かく乱度の計算式は次式の通りである。

$$\begin{aligned} \text{大陸系統による遺伝子かく乱度} &= \text{大陸系統検出個体数} / \text{分析検体数} \\ \text{東日本系統による遺伝子かく乱度} &= \text{東日本系統検出個体数} / \text{分析検体数} \\ \text{西日本系統による遺伝子かく乱度} &= \text{西日本系統検出個体数} / \text{分析検体数} \\ \text{全外来系統による遺伝子かく乱度} &= \\ & (\text{大陸系統検出個体数} + \text{東日本系統検出個体数} + \text{西日本系統検出個体数}) / \text{分析検体数} \end{aligned}$$

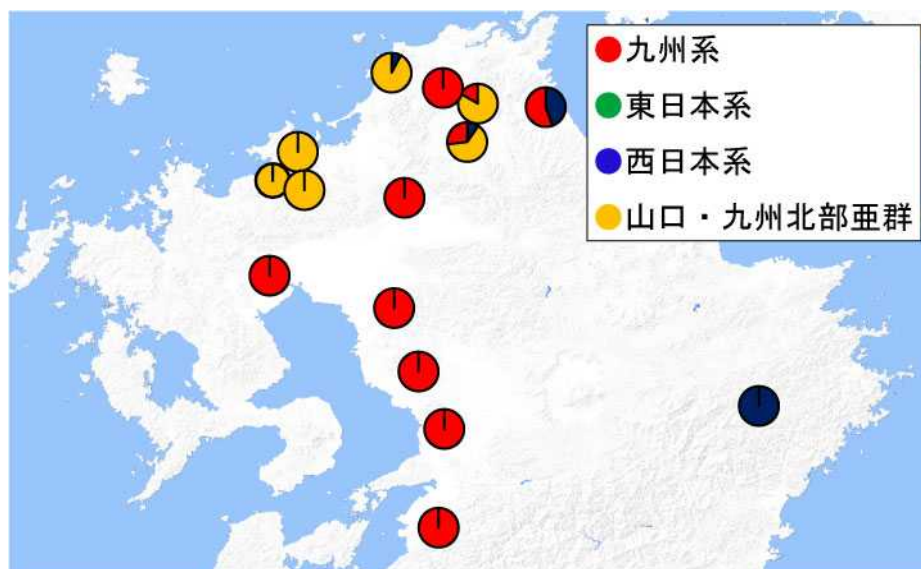


図2. 九州北部地域におけるオイカワのミトコンドリアDNA、4系統（九州、東日本、西日本、山口・九州北部亜群）の分布頻度。

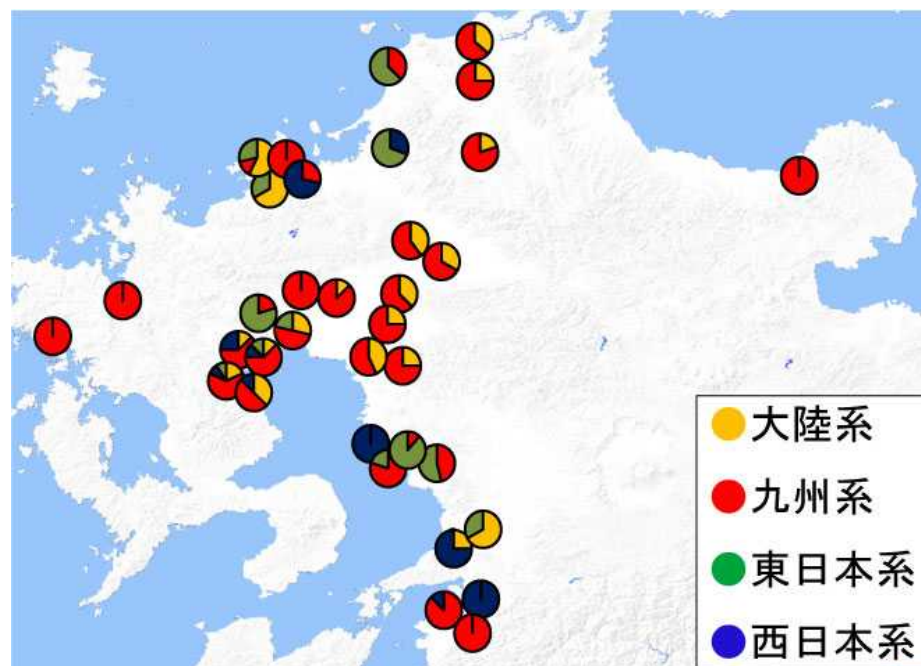


図3. 九州北部地域におけるモツゴのミトコンドリアDNA、4系統（大陸、九州、東日本、西日本）の分布頻度。

これらの魚種については、濃尾平野においてもその詳細を調査し、それぞれどの外来系統がどの程度、分布を拡大しているのか、そして、それらの遺伝子かく乱度についても算出済みであることを付

記しておく（図4）。

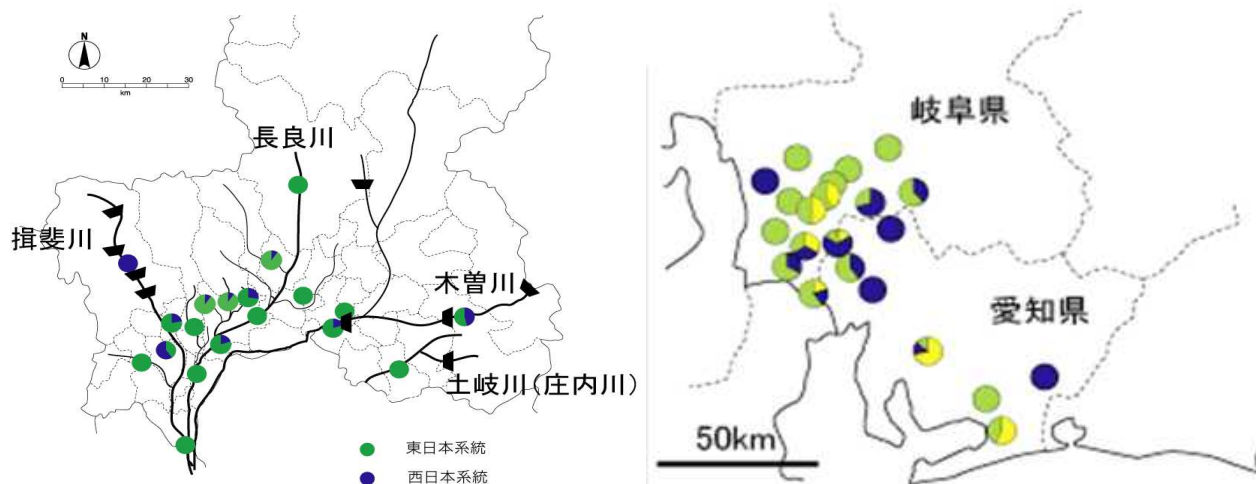


図4. 濃尾平野におけるオイカワ（左、緑：東日本、青：西日本）とモツゴ（右、黄：大陸、緑：東日本、青：西日本）のミトコンドリアDNAの分布頻度。共に東日本系統が在来系統。

（2）遺伝子かく乱魚種の分布、生息条件の特定および遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築

分布情報データベースについては、約1000地点の魚類相を取りまとめ、それを使った予備的な解析の中で、九州の淡水魚類の生物地理区分、河川長—種数曲線、数種の純淡水魚類に関する分布モデルの構築などを行った。また、FISKを使った外来魚類侵略性評価の中で、幾つかの国内・国外外来魚および遺伝子かく乱魚がオオクチバスなどの特定外来魚と同レベルのリスクを持つことなどを特定した。それらについては詳細報告の中で紹介したい。ここでは、本研究の最終目標である遺伝子かく乱侵攻予測モデルについて記述する。

サブテーマ1の結果から、九州北部で遺伝子かく乱の侵攻が著しい魚種としてモツゴとゼゼラが挙げられた。また、FISKによる評価でモツゴを含む数種の魚種が外来生物としての侵略性が高いと判断された。それらのうち、遺伝子かく乱や近縁種との交雑が問題視されているのは、先のモツゴとタイリクバラタナゴであった。したがって、両種を遺伝子かく乱侵攻予測モデル構築の対象魚種として取り扱った。

まず、モツゴについては、ケース1として、GLMMでモツゴの出現予測を行い、それに外来魚類の移殖に関する情報などを重ね、再度、GLMMを実施した。まず、出現予測モデルについては、目的変数をモツゴの在／不在、説明変数を数値地図上から得られた環境要因とし、北西部、北東部といった生物地理区分をランダム切片として解析したところ、ベストモデルには正の変数として河川長、水路網の多様さ、水田面積、都市用地面積が、負の変数として河川勾配と樹林面積が選択された。このベストモデルについて、ROC曲線を描いてAUCを算出したところ、その値は0.896であったことから、このモデルは極めて高い精度でモツゴの出現を予測できることが確認できた（モツゴの分布予測モデル）。

続いて、サブテーマ1で得られた外来各系統の遺伝子かく乱度を目的変数としたGLMMを実施した。説明変数には、上記のモデルで算出したモツゴ環境選好度（モデルで推定される出現確率）、移殖にかかわる情報として外来魚類種数を、また他の要因としてモツゴ分布の重心からの距離を説明変数とした。移殖情報に関しては、特定の外来魚類とのセット放流も想定されるため、外来魚類各種の在・不在も取り扱ったが、ゲンゴロウブナを始めとした多くは、外来魚類の種数との間に正の相関性を示したため、多重共線性に配慮して解析から除外した（ナイルティラピア、コイ、コウライモロコシの在・不在を使用）。解析の結果、それぞれの系統に対して次のベストモデルが選択された。

$$\text{大陸系統:侵入頻度} = 0.0283 + 0.0731 \times \text{外来魚種数}$$

$$\text{西日本系統:侵入頻度} = 0.02549 - 0.475 \times \text{モツゴの選好度} + \text{ランダム切片}$$

$$\text{東日本系統:侵入頻度} = 0.0852 + 0.6469 \times \text{ナイルティラピアの在}$$

分布データベースの約1000地点のうち、実際にモツゴが分布する地点、モツゴの分布予測モデルで出現と予測された地点について、それぞれの外来系統の侵入頻度を算出し、それを積算してマップに示した（図5）。遺伝子かく乱度が30%を越える地点が数多く認められ、その中にモツゴの遺伝子かく乱が侵攻せず、在来系統のみで構成される全地点が含まれた。つまり、この侵攻予測結果は、現在、在来系統のみで構成される全地点について今後、外来遺伝子が侵入し、かく乱が侵攻する可能性が高いと判断している。これらの地域では、外来生物が

移殖されないように監視を強化し、また、状況に応じてモツゴの在来系統の保存を行うべきである。また、遠賀川水系の下流域において予測かく乱頻度が10%を下回る地点が見られるが、これらの大半はコンクリートで固められた農業用水路であり、実際にモツゴが分布しているケースはほとんどないことを付記しておく。分布予測モデルが数値地図情報に基づいているため、護岸形状等の微環境構造の影響を反映していないためである。これらの結果から、九州のモツゴの生息域の大半について、外来系統の遺伝子かく乱の侵攻が起こる可能性があると判断できる。なお、予測値と観測値は正の相関性を示しており、予測は妥当であると判断する。

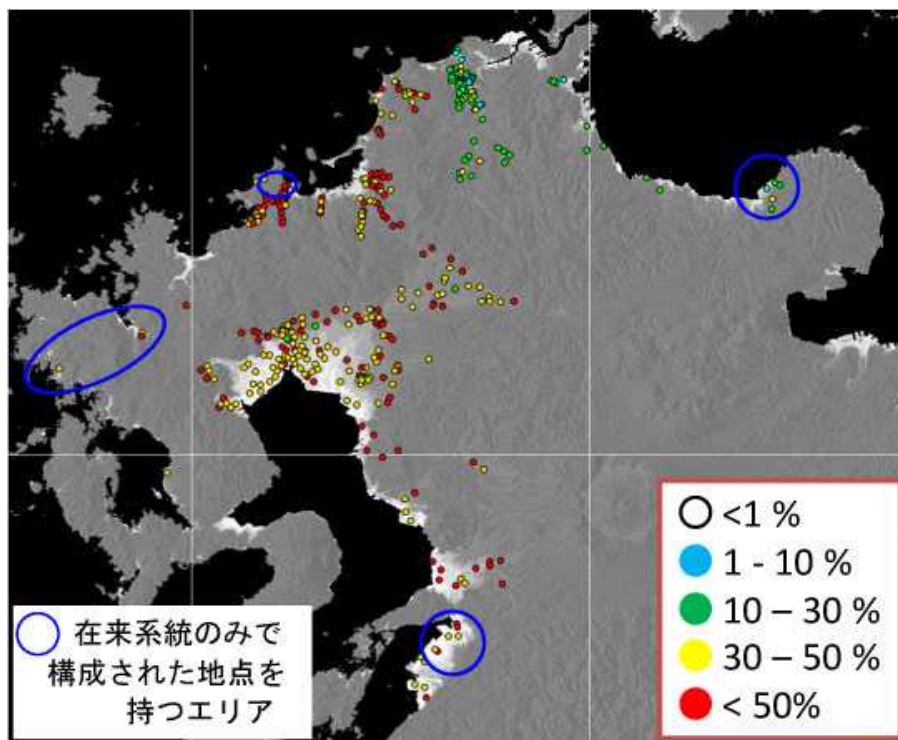


図5. 九州北部のモツゴにおける外来系統遺伝子侵入予測結果.

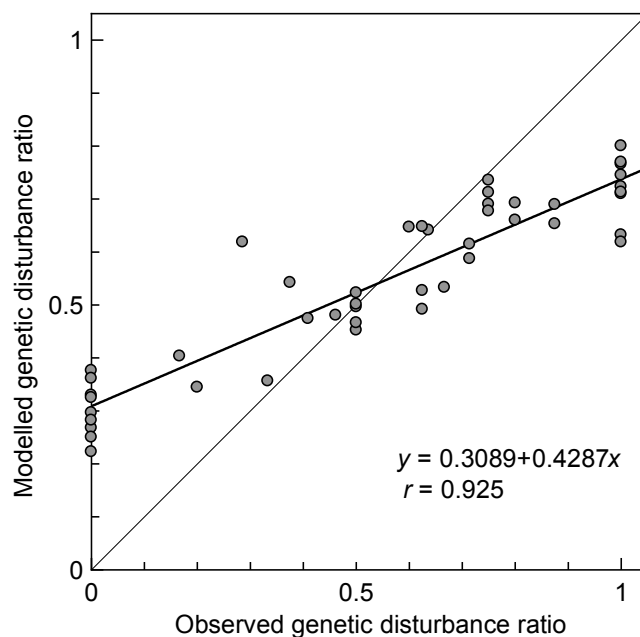


図6. RFモデルによるモツゴの遺伝子かく乱度と実際の観測結果.

ケース2は、モツゴとゲンゴロウブナとの関連性に着目したRF解析であり、モツゴの在・不在、ゲンゴロウブナの在・不在の全組み合わせについて、数値地図から得られる情報を説明変数としてモデル化したところ、1064地点の分布パターンを完璧に再現できた(正答率100%)。続いて、モデルによって4パターンに出力された①モツゴ・ゲンゴロウブナとも不在、②モツゴのみ在、③ゲンゴロウブナのみ在、④モツゴ・ゲンゴロウブナとも在について、それ

それぞれのパターンへの適合度を説明変数、モツゴの遺伝子かく乱度（全外来系統による遺伝子かく乱度）を目的変数として、再度、RF解析を実施したところ、②と④がモツゴの遺伝子かく乱度に関するRFモデルにとって重要な変数として評価された。元々、外来モツゴはゲンゴロウブナに付随して移殖された可能性が指摘されていることから、④が重要な変数として評価されたものと考えられる。また、ゲンゴロウブナは不在、モツゴは在である②についても重要な変数として評価されたが、これはゲンゴロウブナ以外の外来モツゴ分布拡散要因が存在する可能性を示している。そして、先のGLMMの東日本系統の予測モデルでナイルティラピアが選択されたことから、一部の外来モツゴはゲンゴロウブナ以外の外来魚類に付随して分布を拡大していることが示唆された。なお、RFモデルによって予測された遺伝子かく乱度と実際の遺伝子かく乱度との関係性を調べたところ（図6）、正の回帰性を示した。

次に、タイリクバラタナゴについては、まず、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの分布予測モデルを構築したところ、ニッポンバラタナゴのベストモデルには正の変数として河川長、水路の連結数、水田面積、都市用地面積が、負の変数として標高が選択された。このベストモデルについて、ROC曲線を描いてAUCを算出したところ、その値は0.872であったことから、このモデルは極めて高い精度でニッポンバラタナゴの出現を予測できることが確認できた（ニッポンバラタナゴ分布予測モデル）。同様に、タイリクバラタナゴについても解析したところ、そのベストモデルには正の変数として水田面積が、負の変数として河川長、標高、川幅が選択された。AUCは0.915であり、さらに高い精度で分布予測が行えることが確認された（タイリクバラタナゴ分布予測モデル）。ここで着目すべき点は、近縁亜種である両種の環境の選好性に違いがみられた点にあり、ニッポンバラタナゴは大水系を好むのに対し、タイリクバラタナゴは小水系を好む点が大きな相違であった。なお、ニッポンバラタナゴは絶滅危惧IA類に指定される希少種であり、その分布を高い精度で予測できるモデルを構築できた点は、その保全に極めて有用な知見を与えるものである。

次に、公表済みデータから得られたタイリクバラタナゴによる遺伝子かく乱度を目的変数としたGLMMを実施した。説明変数には、上記のモデルで算出した両種環境選好度（モデルで推定される出現確率）、移殖にかかわる情報として外来魚類種数を、また他の要因としてニッポンバラタナゴ分布の重心からの距離を説明変数とした。移殖情報に関しては、特定の外来魚類とのセット放流も想定されるため、外来魚類各種の在・不在も取り扱ったが、ゲンゴロウブナを始めとした多くは、外来魚類の種数との間に正の相関性を示したため、多重共線性に配慮して解析から除外した（ワカカ、コウライモロコ、カムルチー、オオクチバスの在・不在を使用）。解析の結果、次のベストモデルが選択された。

$$\begin{aligned} \text{侵入頻度} = & -0.398 + 0.346 \times \text{タイリクバラタナゴ選好度} \\ & + 0.168 \times \text{ニッポンバラタナゴ分布重心までの距離} + 0.275 \times \text{オオクチバスの在} + \text{ランダム切片} \end{aligned}$$

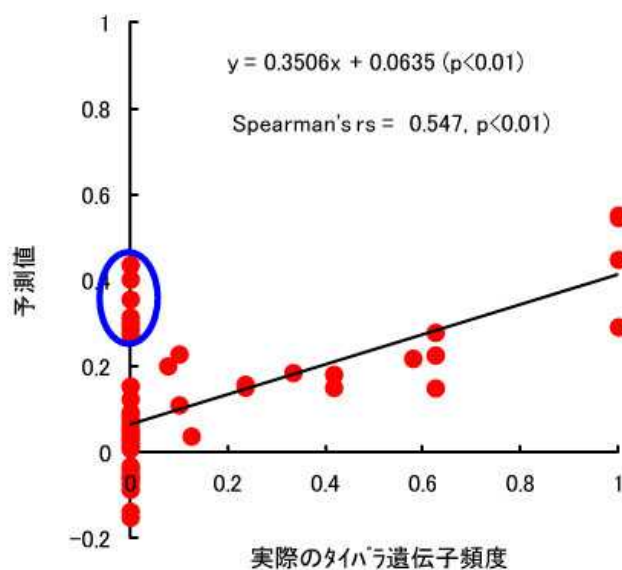


図7. GLMMによるタイリクバラタナゴ遺伝子かく乱度と実際の観測結果（青枠は、タイリクバラタナゴは観測されていないが、かく乱度の予測値が高いプロット）

この結果は、九州北部においてタイリクバラタナゴは本種の環境選好度の高い場所で、ニッポンバラタナゴの分布の縁辺部から侵入することを示している。本州地方で壊滅的に交雑が侵攻した両種であるが、九州で本州よ

りも交雑の侵攻が遅い理由の一つと言える。オオクチバスの在との関係性についてはタイリクバラタナゴとオオクチバスのセット放流の可能性を示しているが、これまでそういった知見は皆無に近く、現状はその理由について明らかではない。オオクチバスの在／不在と相関性を示す別の魚種の可能性も含めて検討の余地を残す。

本モデルによって予測されたタイリクバラタナゴ遺伝子かく乱度と実際の遺伝子かく乱度との関係性を調べたところ(図7)、正の回帰性を示し、モデルの正当性が支持された。そして、実測では遺伝子かく乱されていないにもかかわらず、予測値で高い値を示した地点が数地点存在した。これらの地点は、タイリクバラタナゴ遺伝子侵攻に対するポテンシャルを持つ場所であり、タイリクバラタナゴ侵入を防ぐために、厳重に監視しておく必要がある。

次に、分布データベースの約1000地点のうち、実際に両亜種が分布する地点、分布予測モデルで出現と予測された地点について、タイリクバラタナゴ侵入頻度を予測してマップに示したところ(図8)、遺伝子かく乱侵攻の可能性が低い地点が筑後川、矢部川、菊池川、遠賀川水系の下流域に集中することが明らかとなった。ニッポンバラタナゴの積極的な保全策を講じるのに、極めて適したエリアであることをここに付記しておく。

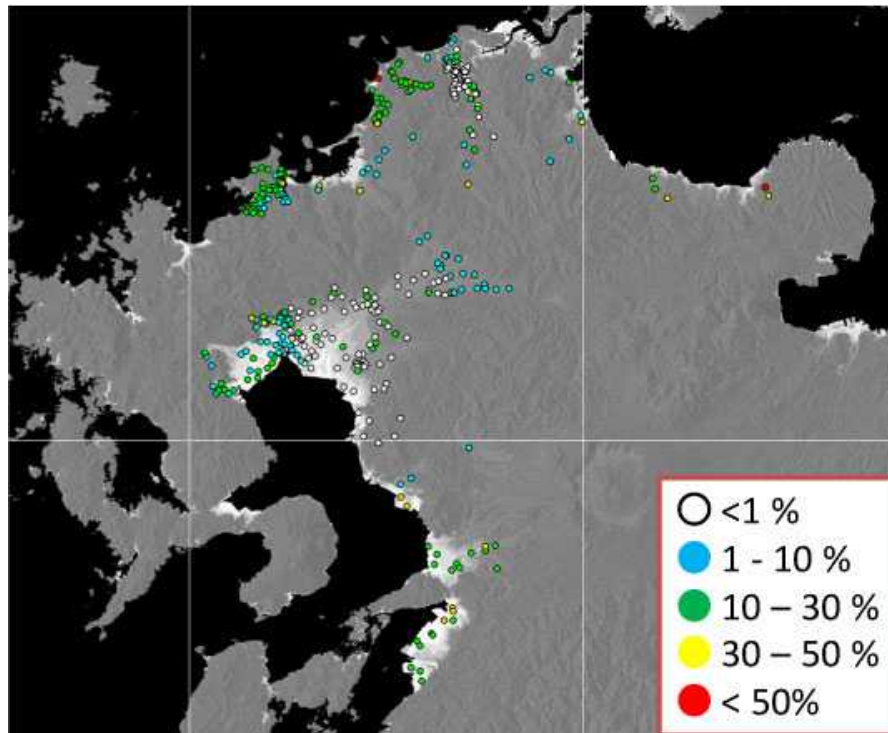


図8. 九州北部のタイリクバラタナゴによる遺伝子かく乱予測結果.

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

目に見えない形で侵攻する同一種の別個体群による遺伝子かく乱問題に関して、数種の魚種でその現状を解明した。特に、九州北部地域のモツゴに関しては、在来系統のみで構成されるエリアが極めて少なく、危機的状況にあることが明らかとなった。本種は、環境省や各県版のRDBで取り上げられない、いわゆる「普通種」であるが、そういった普通種に関しても個体群レベルで見たとき、保全的措置の必要性があり、今後の生態系保全施策に対して保全単位等を再検討する必要性を示すものと言える。また、本研究で解析された遺伝子情報に関しては、「淡水魚遺伝的多様性データベースGEDIMAP」に登録することで、保全分野のみならず、生態学を始めとする学問領域においても広く活用されることが期待される。

また、遺伝子かく乱に対してその侵攻を予測するモデルを構築できたことは極めて画期的である。遺伝子かく乱の問題は近年注目され始めたばかりの事象で、生物多様性を損なわせる要因として問題提起されることは多いが、その監視技術まで示した事例は皆無である。この侵攻予測モデルは、遺伝子かく乱が数値地図情報と移殖に関連する幾つかの情報の組み合わせによって評価でき、またモデル化することができることを示した点で、この問題解決に向けた技術を飛躍的に前進させたと言える。その他、本研究で構築した淡水魚類分布データベースは、現在、環境研究総合推進費・平成23年度新規採択課題S-9の中でも活用されていることを追記しておきたい。

(2) 環境政策への貢献

国内学会等での発表、学術論文ほかでの成果の公表、新聞報道を通して、国内移殖に関する種レベ

ルから遺伝子レベルまでの多様な問題を、主として九州を事例とした科学的知見に基づいて提示し、成果の普及に努めた。現在のところ、環境政策へ直接的に反映されていないが、環境省RDBの絶滅危惧IA類ニッポンバラタナゴが外来生物法要注意外来生物タイリクバラタナゴにどの程度遺伝子浸透されるかについて予測マップを示し、そのリスクを視覚的に示した結果は、今後の国レベルでの法施策に反映されるものと期待する。また、モツゴの地域レベルでの遺伝子かく乱侵攻予測についても、保全すべきエリア等の選定が容易に可能となる成果であり、現在、各地方行政で進められる生物多様性地域戦略等に反映されるものと考えられる。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) N. Onikura, J. Nakajima, T. Miyake, K. Kawamura, S. Fukuda: *Ichthyological Research*, 59, 124-133 (2012)
 "Predicting the distribution of seven bitterling species inhabiting northern Kyushu Island, Japan."
- 2) 大畑剛史、乾 隆帝、中島 淳、大浦晴彦、鬼倉徳雄：魚類学雑誌, 59, 1-10 (2012)
 「熊本県緑川水系におけるイチモンジタナゴ *Acheilognathus cyanostigma* の分布パターン」
- 3) 向井貴彦、池谷幸樹、大仲知樹、古屋康則、高木雅紀、塚原幸治、寺町 茂、吉村卓也：日本生物地理学会会報, 66, 203-209 (2011)
 「岐阜県におけるスナヤツメ北方種と南方種の分布」
- 4) 向井貴彦、梅村啓太郎、高木雅紀：日本生物地理学会会報, 66, 85-92 (2011)
 「岐阜県におけるカラドジョウの初記録と中国系ドジョウの侵入」
- 5) 井原高志、乾隆帝、大畑剛史、鬼倉徳雄：生物地理学会会報, 66, 41-48 (2011)
 「ダム湖流入河川における国内外来魚ハス *Opsariichthys uncirostris uncirostris* の産卵環境」
- 6) N. Onikura, J. Nakajima, R. Inui, H. Mizutani, M. Kobayakawa, S. Fukuda, T. Mukai:
Ichthyological Research, 58, 382-387 (2011)
 "Evaluating the potential of invasion by non-native freshwater fishes in northern Kyushu Island, Japan, using the Fish Invasiveness Scoring Kit"
- 7) S. Fukuda, B. De Baests, A. M. Mouton, W. Waegeman, J. Nakajima, T. Mukai, K. Hiramatsu, N. Onikura: *Ecological Modelling*, 222, 1401-1413 (2011)
 "Effect of model formulation on the optimization of a genetic Takagi-Sugeno fuzzy system for fish habitat suitability evaluation."

(2) 主な口頭発表 (学会等)

- 1) 向井貴彦、古田莉奈、古橋芽：日本生態学会・EAFES大会 (2012)
 「岐阜市のため池における魚類相」
- 2) S. Fukuda, B. De Best, Y. Nomiyama: International Workshop on Advanced Computational Intelligence and Intelligent Informatics, Suzhou, China (2011)
 "Comparing predictive accuracy of a genetic Takagi-Sugeno fuzzy model and random forests for fish habitat modelling."
- 3) 向井貴彦：日本魚類学会年会 (2011)
 「岐阜県長良川におけるヨシノボリ類のmtDNA系統と色斑的特徴の不一致」
- 4) S. Fukuda: 2011 IFSA World Congress and the 2011 AFSS, Surabaya, Indonesia (2011)
 "Application of a fuzzy neural network model to evaluate habitat preference of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)."
- 5) S. Fukuda: 2011 IEEE International Conference on Fuzzy Systems, Taipei, Taiwan (2011)
 "Assessing the effects of zero abundance data on habitat preference modelling using a genetic Takagi-Sugeno fuzzy model."
- 6) S. Fukuda, W. Waegeman, A. Mouton, B. De Baets: EUROFUSE 2011, Douro, Portugal (2011)
 "Modelling fish habitat preference with a genetic algorithm-optimized Takagi-Sugeno model based on pairwise comparisons"
- 7) S. Fukuda, W. Waegeman, A. M. Mouton, B. De Baets: European Conference on Ecological Modelling, Riva del Garda, Italia (2011)

- “Modelling spawning habitat for European grayling (*Thymallus thymallus* L.) using a support vector machine and a genetic Takagi-Sugeno fuzzy model.
- 8) S. Fukuda, B. De Baets, W. Waegeman, A.M. Mouton, J. Nakajima, T. Mukai, N. Onikura: IEEE SSCI 2011 GEFS, Paris, France (2011)
 “A Discussion on the accuracy-complexity relationship in modelling fish habitat preference using a genetic Takagi-Sugeno fuzzy system.”
- 9) 鬼倉徳雄, 中島 淳, 向井貴彦, 福田信二: 日本魚類学会年会 (2010)
 「九州北部の農業用水路にみられる純淡水魚類相」
- 10) 福田 信二, Bernard De Baets, 鬼倉 徳雄, 中島 淳, 向井 貴彦: 応用生態工学会 (2010)
 「ファジィ生息場選好性モデルを用いた九州北西部におけるモツゴの生息環境評価」
- 11) S. Fukuda, N. Onikura, B. De Baets, W. Waegeman, A.M. Mouton, J. Nakajima, T. Mukai: Second World Congress on Nature and Biologically Inspired Computing (NaBIC2010) (2010)
 “A Genetic Takagi-Sugeno Fuzzy System for Fish Habitat Preference Modelling”
- 12) 鬼倉徳雄, 中島淳, 杉本芳子, 河野宏美, 兼頭淳: 日本魚類学会 (2009)
 「九州北部におけるモツゴの分布と生活史」
- 13) 早川明里, 高村健二, 中島淳, 河口洋一, 鬼倉徳雄, 向井貴彦: 日本魚類学会 (2009)
 「日本列島におけるオイカワの系統地理」
- 14) 向井貴彦, 小西繭, 渡辺勝敏, 武内陽佑, 中島淳, 河口洋一, 鬼倉徳雄, 高田啓介: 日本魚類学会 (2009)
 「日本産モツゴにおけるmtDNAの地理的変異」
- 15) 鬼倉徳雄, 中島淳, 佐藤真弓, 河口洋一, 向井貴彦: 日本魚類学会 (2009)
 「国内外来種による生態系・群集の変化: 有明海沿岸域のクリーク地帯における国内外来魚の分布パターン」

7. 研究者略歴

課題代表者: 鬼倉 徳雄

1971生まれ、九州大学農学部卒業、農学博士、現在、九州大学大学院農学研究院助教

研究参画者

(1) : 向井 貴彦

1971生まれ、静岡大学理学部卒業、博士(理学)、現在、岐阜大学地域科学部准教授

(2) : 鬼倉徳雄 (同上)

: 福田信二

1978生まれ、九州大学農学部卒業、農学博士、現在、九州大学熱帯農学研究センター助教

RF-0910 国内移殖による淡水魚類の遺伝子かく乱の現状把握および遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築

(1) 同一種内における遺伝子かく乱の現状把握

岐阜大学地域科学部

向井 貴彦

平成21～23年度累計予算額：6,040千円

(うち、平成23年度予算額：2,100千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨] 九州北部と東海地方をモデル地域として、日本国内における淡水魚の地域間での移殖の影響と実態の解明を試みた。西日本に広く分布する淡水魚を主な対象として選定し、ミトコンドリアDNAの部分塩基配列の解析をおこなった結果、観賞魚由来の国内移殖が想定されるメダカ、ドンコ、カワヨシノボリについては、自然分布域内における遺伝的かく乱を示すデータは得られなかった。一方、琵琶湖産アユの放流に混入して国内移殖が生じていると考えられるオイカワとゼゼラ、コイやフナ類といった養殖魚の放流に混入して分布を拡大していると考えられるモツゴについては、他地域から持ち込まれた非在来ミトコンドリアDNAの分布が広範囲にわたって確認された。こうした外来遺伝子の分布は、種としての分布域が広く個体数の多い「普通種」においても、各地域固有の遺伝的特徴を持つ在来個体群が存続の危機にあることを示している。

また、岐阜県岐阜市の長良川水系と三重県鈴鹿市のため池におけるヨシノボリ類について、外部形態とミトコンドリアDNAの解析を行った。その結果、これらの地域では国内外来種と考えられるトウヨシノボリやシマヒレヨシノボリが、在来種のシマヨシノボリやトウカイヨシノボリと交雑していることが示唆された。特に、鈴鹿市においては東海地方固有のトウカイヨシノボリがトウヨシノボリと交雑しつつ分布が置き換えられ、危機的状況にあることが示唆された。こうした結果は、生物多様性保全における遺伝的解析の重要性と、遺伝的多様性を残すために早急な対策が必要なことを示している。

[キーワード] 遺伝的多様性、ミトコンドリアDNA、外来遺伝子、交雑、淡水魚

1. はじめに

日本列島は複雑な地史を経て形成されたことから、比較的小さな地理的スケールの中にも多様な生物相が生じている。特に、淡水魚は水系ごとに隔離される傾向にあるため、地域ごとに異なる種が分布し、あるいは同種であっても地域固有の遺伝的特徴を持つ個体群に分化している（渡辺ほか 2006）。しかし、国内での人為的な移殖によって、その地域に分布していなかった淡水魚の侵入・定着や、同種の地域個体群の遺伝的かく乱が引き起こされている（Sato et al. 2010）。

この問題は「日本国内における国産の」淡水魚の移殖であるために、生態系に影響を及ぼす重要な外来種問題であることが一般市民に認識されておらず、さらには遺伝的かく乱についての現状把握は、ほとんど行われていない。このまま問題を放置すれば、日本列島が形成されてから数百万年の時間をかけて形成された各地域固有の淡水魚類相が、人為的移殖によって均質化し、遺伝的多様性が失われ続けていくと考えられる。海外においても、アメリカ合衆国などでは魚類相の均質化の問題が主張されつつあるが（Rahe1 2000）、多くの国では自国内における淡水魚の移殖が、魚類の地理的多様性と遺伝的多様性の大きな損失を引き起こすことは、ほとんど問題視されていない。したがって、淡水魚の国内移殖が、「生態系に影響を与え」、「希少魚の絶滅を引き起こし」、「何百万年もかけて形成された生物の地理的多様性を失わせている」ことを科学的データによって明示し、国内外来魚問題への対処に関する社会的合意を得ることは、日本国内の問題としてのみならず、国際的な生物多様性の保全のためにも重要である。

2. 研究開発目的

本サブテーマ1では、豊富な淡水魚が分布し、希少魚種なども多く残っている九州北部を中心に、国内移入魚による遺伝的かく乱の現状を解明し、サブテーマ2における予測モデルと連携させることを目的とした。さらに、九州以外のモデル地域として、東海地方の淡水魚における遺伝的かく乱の現状について解明することを目的とした。東海地方は九州北部と同様に、多くの絶滅危惧種を含む豊富な淡水魚が分布している地域であり、複数地域の比較は国内移殖の問題の一般性を示す上で重要と考えられる。特に、日本における国内外来魚の拡散の主要なソースと考えられるのは琵琶湖産アユの種苗放流への様々な魚種の混入であり、琵琶湖から地理的に近い東海地方における遺伝的かく乱の現状を、地理的に遠い九州北部と比較することも重要である。したがって、こうしたモデル地域における国内外来魚の影響の現状を解明し、生物多様性保全のために社会的な啓発をおこなうことを研究開発目的とする。

3. 研究開発方法

国内外来魚による遺伝的かく乱の現状解明のために、次の4つの調査をおこなった。

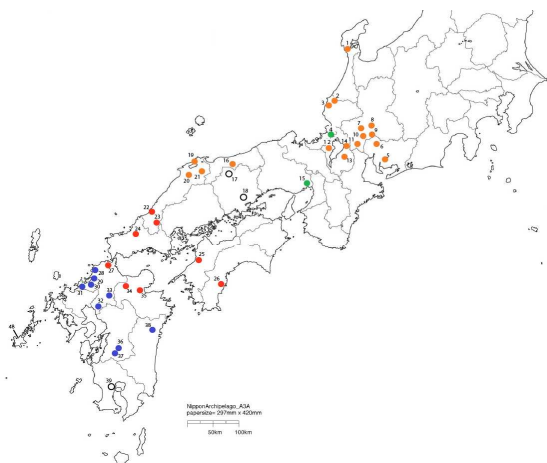
- (1) 基礎情報としての淡水魚の遺伝子データの取得
- (2) モデル地域における外来遺伝子侵入状況の調査
- (3) 系統地理学的解析による分布かく乱の解明
- (4) 外部形態の変異などを指標にした交雑の実態解明

以下に、それぞれの方法の詳細を述べる。

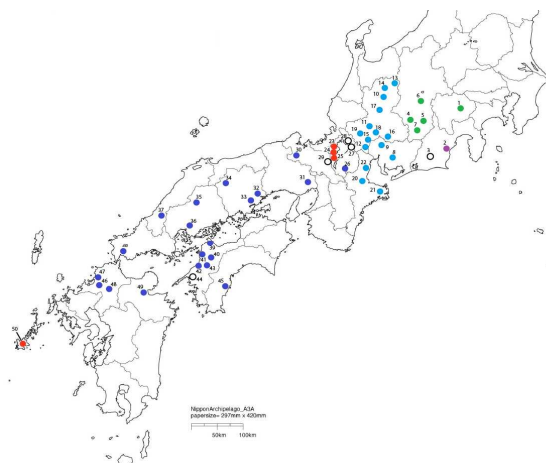
- (1) 基礎情報としての淡水魚の遺伝子データの取得

国内外来魚による種内の遺伝子かく乱の現状把握のためには、対象とする種の地理的変異を明

らかにする必要がある。国内のさまざまな地域の遺伝子データがなければ、国内移殖による外来遺伝子の侵入を検出することはできない。そこで、本研究では、西日本に広く分布し、国内移殖による影響が予想される魚種としてコイ科のモツゴ、オイカワ、ゼゼラ、メダカ科のメダカ南日本集団、ドンコ科のドンコ、ハゼ科のカワヨシノボリを主な対象として選定し、遺伝子データを収集した。ゼゼラとメダカ南日本集団は、公表されている既存のミトコンドリアDNAの塩基配列データ (Takehara et al. 2003 ; 堀川ほか 2007) を利用した。モツゴとオイカワは、平成19-20年度の地球環境研究総合推進費「国内移入魚による生態系攪乱メカニズム究明とその監視手法の構築」(課題番号RF-075) においておこなったミトコンドリアDNAの解析データを使用した。ドンコとカワヨシノボリは、アロザイム分析によって推定された地理的グループ (Sakai et al. 1998 ; Shimizu et al. 1998) を網羅するように西日本各地で採集し (図(1)-1、(1)-2) 、ミトコンドリアDNAの部分塩基配列の決定を行った。



図(1)-1 ドンコの採集地点。
色の違いはアロザイム分析で分けられた地域グループ⁶⁾ に対応している。



図(1)-2 カワヨシノボリの採集地点。
色の違いはアロザイム分析で分けられた地域グループ⁷⁾ に対応している。

ただし、ミトコンドリアDNAの解析だけでは、採集した個体が他地域から移殖された個体と交雑しているかどうか (遺伝子かく乱が生じているかどうか) 判断できないという問題がある。しかし、既存の研究によって蓄積されたデータが利用可能であり、地理的分化が明瞭で、外部形態では判別できない外来遺伝子の当該地域への侵入の検出が可能という点で、極めて有用なマーカーである。今後の応用を前提とした場合、予算や人員、技術に制限のある研究機関や教育機関においても、比較的簡易に実験可能で、当該地域の個体から得たデータをデータベース上の他地域産データと照合するだけで外来遺伝子の侵入がモニタリングできるという点もミトコンドリアDNAの著しい利点である。そこで、本研究課題では、遺伝子かく乱の前提となる同一種の国内移殖の現状を広くモニタリングするために、主として外来のミトコンドリアDNAの侵入状況を明らかにすることとした。

DNAの抽出はキアゲン社のDNeasy Blood & Tissue Kitを使用し、Ex Taq DNA polymerase (タカ

ラバイオ株式会社)でミトコンドリアDNA(mtDNA)の部分塩基配列の増幅を行った。ドンコとカワヨシノボリについては、Cyt *b*遺伝子の増幅用プライマーを新たに開発し、Cyt *b*遺伝子のほぼ全長である約1000塩基対を増幅した。PCRで増幅した産物はExo-SAP ITキット(GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社)で精製し、Big Dye Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit ver. 3.1(アプライドバイオサイエンス株式会社)を用いてシーケンス反応をおこなった。反応産物はClean SEQ(株式会社バイオメディカルサイエンス)で精製した後、ABI3100(もしくは3130) Genetic Analyzerを用いて塩基配列の決定をおこなった。得られた塩基配列はABI社のフリーソフトEdit Viewで波形確認と修正をおこなった後、PAUP*4.0を用いて樹状図を作製し、各種のミトコンドリアDNAの地理的分化を調べた。

(2) モデル地域における外来遺伝子侵入状況の調査

上述の対象魚種については、同様の手法でミトコンドリアDNAの部分塩基配列を九州および東海地方(主として岐阜県の濃尾平野地域)で採集した個体について決定し、解析した。コイ科魚類のPCRおよびシーケンスには、平成19-20年度の地球環境研究総合推進費(RF-075)で開発したコイ科用プライマーを用いてCyt *b*遺伝子の全長(1141bp)を含む遺伝子領域の増幅をおこなった。メダカはTakehana et al. (2003)のメダカ用プライマーを用いて同様にCyt *b*遺伝子の全長を増幅した。得られた塩基配列については、上述の方法で得られた日本各地の同種の塩基配列データとともにPAUP*4.0を用いて樹状図を作製し、どの地域集団に由来するものかを判断した。

その他の淡水魚についても、随時サンプル採集とミトコンドリアDNAの解析を行い、情報を集めた。

(3) 系統地理学的解析による分布かく乱の解明

日本国内において明瞭な地理的分化が見られる種においても、九州内での移殖などの遺伝的に類似した集団間での分布かく乱の特定は容易ではない。しかし、野生生物の遺伝的変異から過去の分布変遷を推定する手法が考案されており、そうした手法を応用することで不自然な遺伝的変異の分布が検出可能と考えられる。そこで、九州産モツゴのミトコンドリアDNAの在来系統を対象にフリーソフトTCS1.21を用いてハプロタイプネットワークを推定し、採集地点の緯度経度とハプロタイプネットワークからフリーソフトGeoDis2.6で階層クレード分析(Nested clade phylogeographical analysis)をおこなった。

(4) 外部形態の変異などを指標にした交雑の実態解明

遺伝子かく乱の解明のためには、国内移殖によって他地域由来の個体との交雑が生じていることも示す必要がある。本研究課題では、さまざまな魚種を対象とすることから外来遺伝子の個体群への侵入の概要を知るためにミトコンドリアDNAを指標として現状把握をおこなったが、ヨシノボリ類については各地域固有の近似種間での色斑の相違とミトコンドリアDNAの系統をもとにして交雑の推定をおこなった。交雑についての調査は、岐阜県岐阜市の長良川と、三重県鈴鹿市のため池におけるヨシノボリ類を対象に行った。

東海地方には、琵琶湖からアユなどの種苗放流に混入して侵入したと考えられるトウヨシノボリ、瀬戸内海周辺地域からヘラブナ(ゲンゴロウブナの改良品種)などの放流に混入したと考え

られるシマヒレヨシノボリ、伊勢湾周辺の平野部に固有の在来種のトウカイヨシノボリといった止水性の近縁なヨシノボリ類が分布しており、それらは外部形態の色斑で識別されている（鈴木ほか 2010）。これらの分布概要は、岐阜市については「岐阜市自然環境基礎調査」、鈴鹿市については鈴鹿市の「重要生態系地域の自然環境調査」で調べられていることから、それぞれの地域内での代表的な生息地を選定し、採集を行った。採集した個体の色斑の特徴はデジタルカメラで記録し、ミトコンドリアDNAの部分塩基配列を決定した。これらのヨシノボリ類については、Mukai et al. (2005)で公表済みの日本産ヨシノボリ属のND5遺伝子の部分塩基配列と比較するため、本研究でもミトコンドリアDNAのND5遺伝子の部分塩基配列約1000塩基対を解析した。

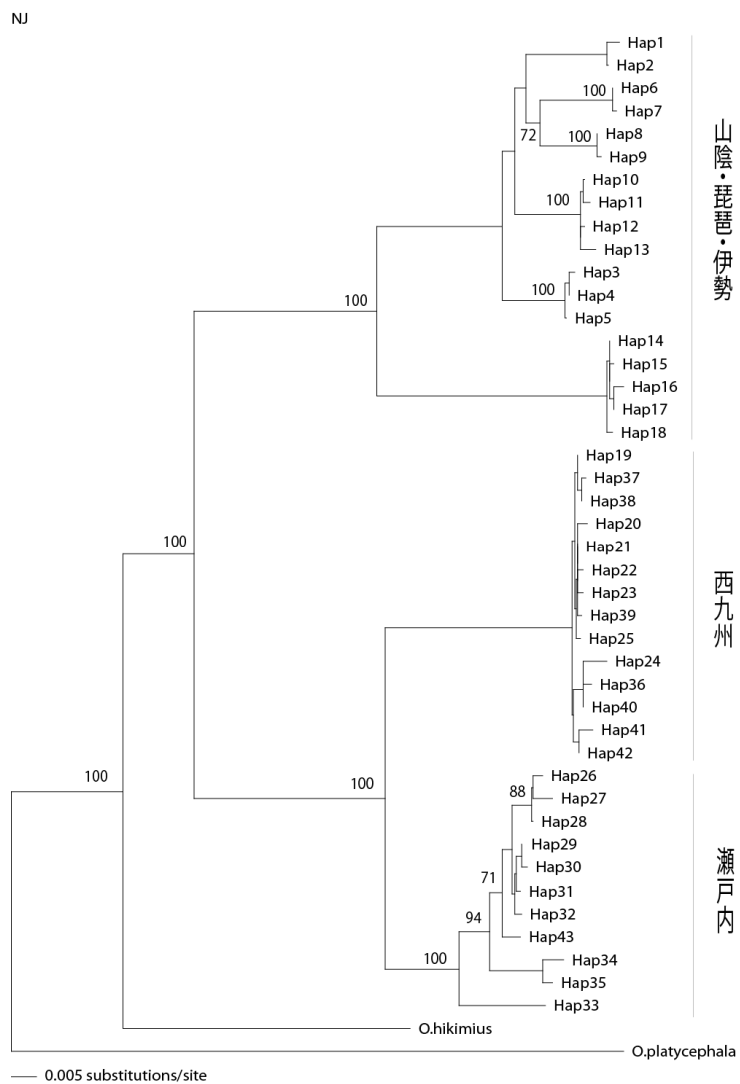
4. 結果及び考察

(1) 基礎情報としての淡水魚の遺伝子データの取得

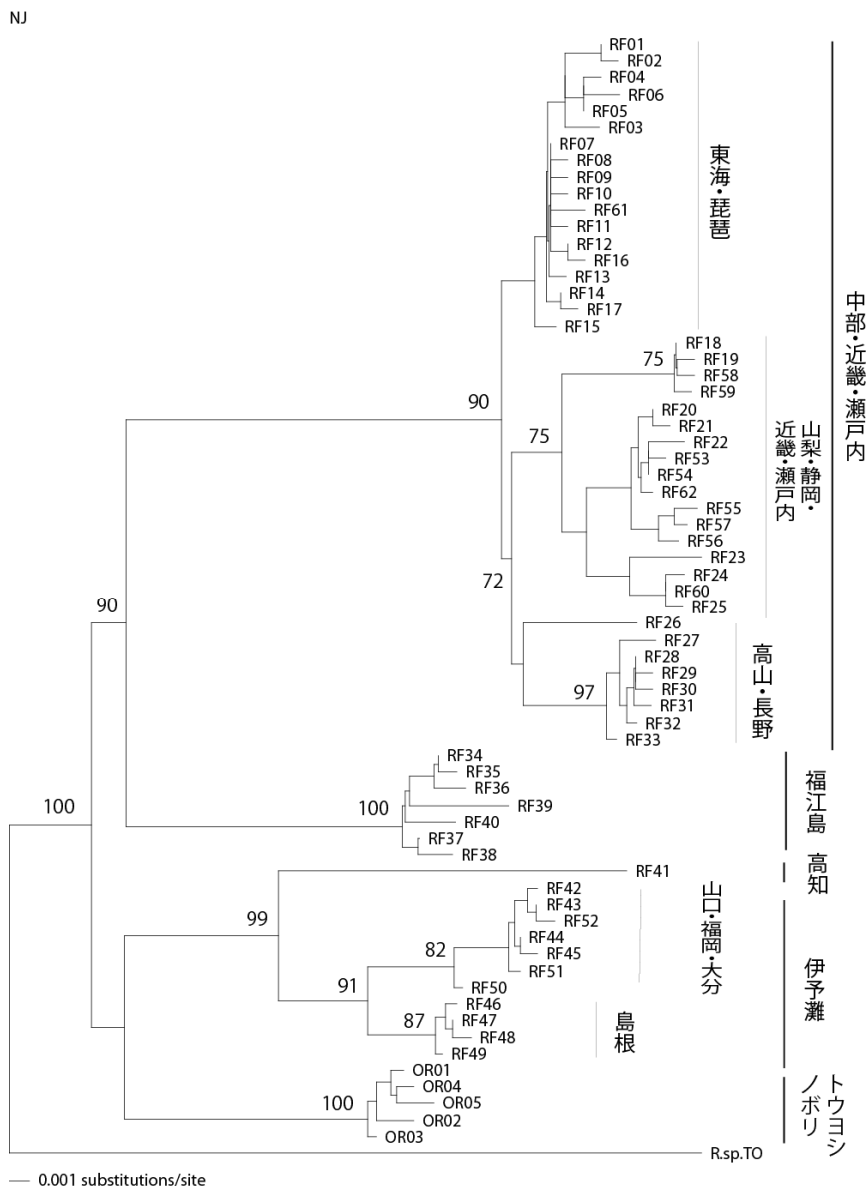
モツゴ、オイカワ、ゼゼラ、メダカの4種については、データベース上に公表されているデータや、本研究課題に先立って行った研究のデータを利用したが、ドンコとカワヨシノボリについては、本研究課題で新たにミトコンドリアDNAの地理的変異の概要を明らかにした。

ドンコは西日本の39地点から採集した129個体についてCyt *b*遺伝子1107塩基対の塩基配列を決定した。その結果、43種類のハプロタイプが見いだされ、それらは地理的にまとまりのあるグループを形成した（図(1)-3）。Sakai et al. (1998)のアロザイム分析では、「山陰・琵琶・伊勢」「東瀬戸」「西瀬戸」「西九州」の4グループに分けられていたが、ミトコンドリアDNAの系統樹もほぼ同様の地理的分化を示していた。ただし、アロザイム分析でまとめられていた「山陰・琵琶・伊勢」のミトコンドリアDNAは山陰地方（ハプロタイプ14-18）とそれ以外の地域（ハプロタイプ1-13）で大きく遺伝的に分化しており、「東瀬戸」と「西瀬戸」のミトコンドリアDNAは明確に分化していなかった。ドンコは関東地方に国内外来種として侵入定着した水系があることが知られているが（向井・西田 2003）、今回の調査範囲ではすべての個体が地理的にまとまりのある系統に含まれており、外来遺伝子の侵入は見いだされなかった。

カワヨシノボリは50地点から採集した268個体についてCyt *b*遺伝子1115塩基対の塩基配列を決定した。その結果、62種類のハプロタイプが見いだされ、それらは地理的にまとまりのあるグループを形成した（図(1)-4）。中部地方から瀬戸内地方においては、Shimizu et al. (1993)のアロザイム分析の結果と比較的よく一致したが、中国地方西部から九州、四国太平洋側の個体のミトコンドリアDNAは著しく分化しており、アロザイム分析によって推定された集団構造とは大きく異なっていた。ただし、アロザイム分析の結果とは異なるものの、ミトコンドリアDNAの系統の地理的まとまりは非常に明確であり、移殖による外来遺伝子の侵入は見られなかった。カワヨシノボリにおいても関東地方に国内外来種として侵入定着した水系があることが知られているが（樋口・福嶋 2007；斎藤ほか 2010）、今回の調査地点における外来遺伝子の侵入は見いだされなかった。



図(1)-3 ドンコのミトコンドリアDNAハプロタイプ間の近隣結合法による系統樹。外群はインドンコ (*Odontobutis hikimius*) とKim et al. (2008)によるコウライドンコ (*O. platycephala*)。



図(1)-4 カワヨシノボリのミトコンドリアDNAハプロタイプ間の近隣結合法による系統樹。外群はトウヨシノボリ (*Rhinogobius kurodai*) とトウカイヨシノボリ (*R. sp. T0*)。

(2) モデル地域における外来遺伝子侵入状況の調査

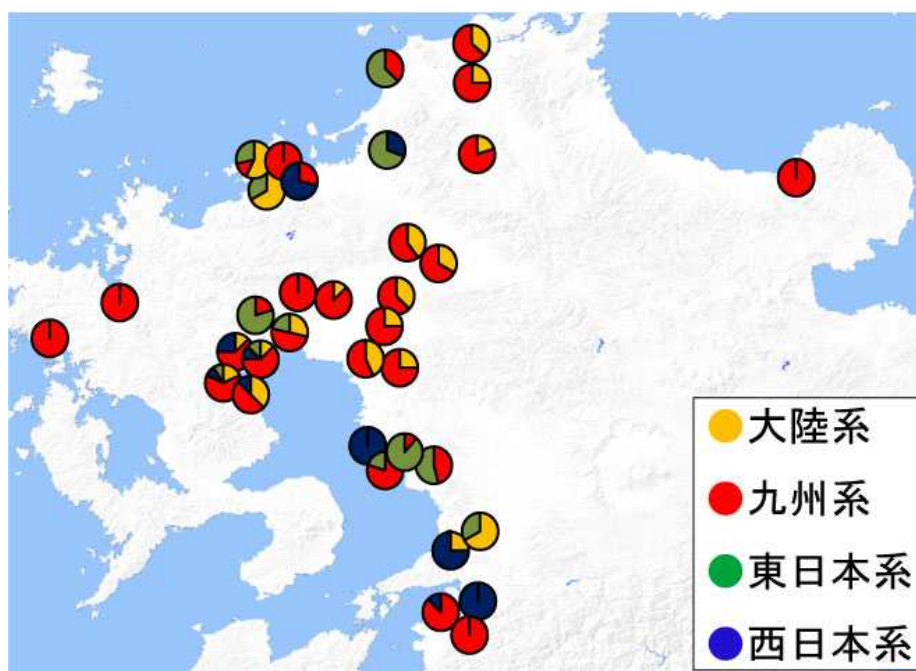
主な調査対象とした6魚種(モツゴ、オイカワ、ゼゼラ、メダカ南日本集団、ドンコ、カワヨシノボリ)のうち、ドンコとカワヨシノボリについては、国内移殖と考えられるものは見出されなかった。メダカ南日本集団は、Takehana et al. (2003)において九州本島から40地点153個体のミトコンドリアDNAが調査されており、本研究でも6地点36個体追加解析したものの、国内移殖に由来すると思われるミトコンドリアDNAは発見されなかった。これら3魚種の国内移殖は観賞魚店等で販売された個体に由来すると考えられているが(向井・西田 2003; 樋口・福嶋 2007; 斎藤ほか 2010; 竹花・北川 2010)、自然分布域内での遺伝的かく乱は、今のところ限定的であ

ると考えられる。

一方、コイやフナ類、アユなどの水産有用魚種への混入による国内移殖が生じていると考えられるモツゴ、オイカワ、ゼゼラについては、自然分布域においても広域にわたって外来遺伝子の侵入が見られた。各魚種の結果を以下に示す。

1) モツゴ

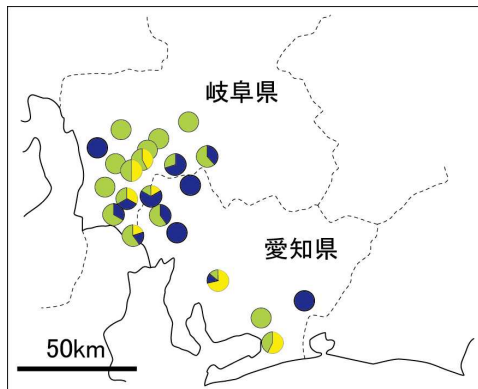
平成19-20年度の地球環境研究総合推進費（課題番号RF-075）において、東北地方から九州まで日本各地のモツゴを採集してミトコンドリアDNAの解析を行った結果、日本産モツゴには「東日本」「西日本」「九州」「大陸」の4系統があることが明らかとなった。本研究課題では、九州北部における現状を詳細に把握するため、新たに46地点から採集した318個体についてCytochrome *b*遺伝子の塩基配列を決定した（図(1)-5）。その結果、37地点に九州系統のミトコンドリアDNAが分布していたが、九州系統のみ確認されたのは9地点だけであり、残りの28地点（九州系統の分布地点の76%）には外来遺伝子が侵入していることが明らかになった。モツゴはモデル地域である九州北部での十分なサンプリングと解析ができたため、サブテーマ2において遺伝子かく乱侵攻予測モデルに使用した。外来遺伝子の分布についての考察はサブテーマ2で詳述する。



図(1)-5 九州北部におけるモツゴの4系統のミトコンドリアDNAの分布。円グラフで各系統の割合を示している。

九州北部において著しい外来遺伝子の侵入が見られたため、東海地方（岐阜県と愛知県）における現状の調査も行った。29地点230個体のミトコンドリアDNAの系統判別を行った結果、在来と考えられる東日本系統が24地点に分布しており、そのうちの13地点（東日本系統の分布地点の54%）で外来遺伝子の侵入が確認できた（図(1)-6）。東海地方のモツゴの外来遺伝子の分布を図示する

と愛知県において外来遺伝子の頻度が高く、岐阜県では東日本系統のみが分布する地点が多いと考えられた。このことから、東海地方のモツゴの外来遺伝子侵入状況は、九州と比較すると相対的に軽微であり、特に岐阜県においては在来個体群が比較的多く残されている可能性が示された。



図(1)-6 岐阜県と愛知県におけるモツゴの3系統のミトコンドリアDNAの分布。円グラフで各系統の割合を示しており、緑は在来と考えられる東日本系統、青は西日本系統、黄は大陸系統。

2) オイカワ

オイカワについても、平成19-20年度の地球環境研究総合推進費（課題番号RF-075）において日本各地で採集を行い、ミトコンドリアDNAに「東日本」「西日本」「九州」の3系統があることが明らかとなっている。本研究課題では、九州北部と東海地方における現状を調査した。その結果、九州北部と東海地方では、琵琶湖産アユの種苗放流に混入したと考えられる琵琶湖由来の外来ミトコンドリアDNAの侵入率に大きな違いがあった。九州北部における琵琶湖由来の外来遺伝子はわずかであり、国内移殖が生じているのは明らかだが、その頻度は少ないと考えられた（表(1)-1）。

表(1)-1 九州北部におけるオイカワの在来および外来ミトコンドリアDNAの分布

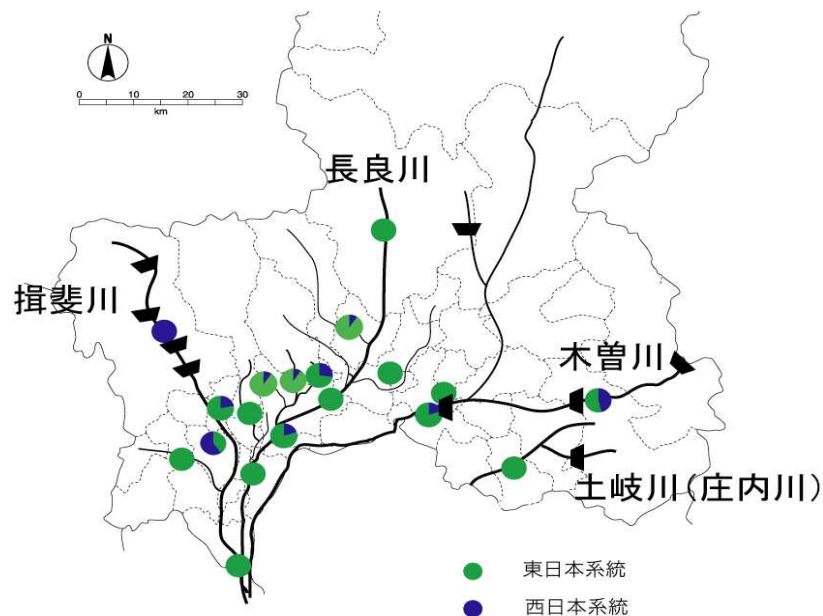
	琵琶湖系統	九州在来	合計個体数	侵入率(%)
福岡一貴山川		14	14	0.0
福岡遠賀川	1	10	11	9.1
福岡黒川		12	12	0.0
福岡ずいばし		1	1	0.0
福岡太刀洗川		2	2	0.0
福岡釣川	1	12	13	7.7
福岡長野川		6	6	0.0
福岡西川		1	1	0.0
福岡祓川	4	5	9	44.4
福岡二ツ川		7	7	0.0
佐賀牛津川		15	15	0.0
熊本菊池川		2	2	0.0
熊本緑川		11	11	0.0
熊本明辰川		13	13	0.0
大分山南		2	2	0.0
大分湯布院		5	5	0.0

一方、東海地方においては多くの地点で琵琶湖由来の外来遺伝子の侵入が確認されており、水

系ごとにまとめた場合、庄内川水系以外の主要な河川で琵琶湖産のオイカワのミトコンドリアDNAが確認された（表(1)-2）。また、同一水系内でも地点ごとに差があり、ダム湖において外来遺伝子の頻度が高いことが示された（図(1)-7）。

表(1)-2 東海地方におけるオイカワの在来および外来ミトコンドリアDNAの分布

	琵琶湖系統	在来	合計個体数	侵入率(%)
木曾川水系	7	11	18	38.9
長良川水系	11	97	108	10.2
揖斐川水系	7	17	24	29.2
庄内川水系		51	51	0.0
矢作川水系	2	7	9	22.2
豊川水系	1	14	15	6.7



図(1)-7 岐阜県におけるオイカワの在来（東日本系統）および外来（西日本系統：琵琶湖由来）ミトコンドリアDNAの分布

3) ゼゼラ

ゼゼラについては、オイカワと同様に琵琶湖産アユの種苗放流に混入して分布を拡大したと考えられており、九州北部（堀川ほか 2007）と東海地方（堀川・向井 2007）における琵琶湖由来の外来ミトコンドリアDNAの侵入が報告されている。本研究課題では佐賀市の北山ダムの個体群（6個体）と自然分布かどうか不明だった山陽地方の個体群（18個体）のデータを追加して解析した。その結果、佐賀市の北山ダムは1個体のみ琵琶湖由来のmtDNAであり、残り5個体は九州在来型mtDNAであった。北山ダムにおける在来／非在来mtDNAの比率は佐賀平野の個体群（堀川ほか 2007）と同様であり、国内移殖された琵琶湖型mtDNAが優占することはなかった。山陽地方のゼゼラについては、琵琶湖産と非常に近縁だが、固有のハプロタイプのみ分布していたため、ゼゼラ

の自然分布域に山陽地方も含まれることが明らかになった (Watanabe et al. 2010)。

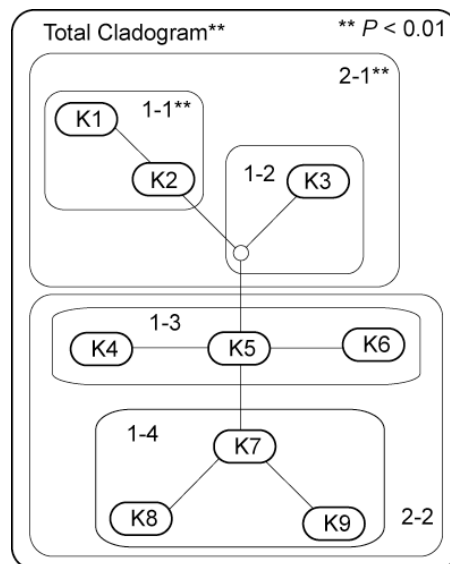
(3) 系統地理学的解析による分布かく乱の解明

九州北部において国内移殖の影響が顕著なモツゴについて、8地点から得られた9種類の九州在来系統のハプロタイプ (表(1)-3) について、ハプロタイプネットワークを推定し (図(1)-8)、階層クレード分析を行った (図(1)-9)。その結果、一部のmtDNAハプロタイプが不自然な分布をしており、それらを除くと地形に対応した地理的隔離と分布拡大を示す結果が得られた。このことは、九州内部での移殖による遺伝的かく乱が生じていることを示唆しており、過去の歴史を示す遺伝的証拠が、九州内での国内移殖によって失われつつあるものと考えられる。

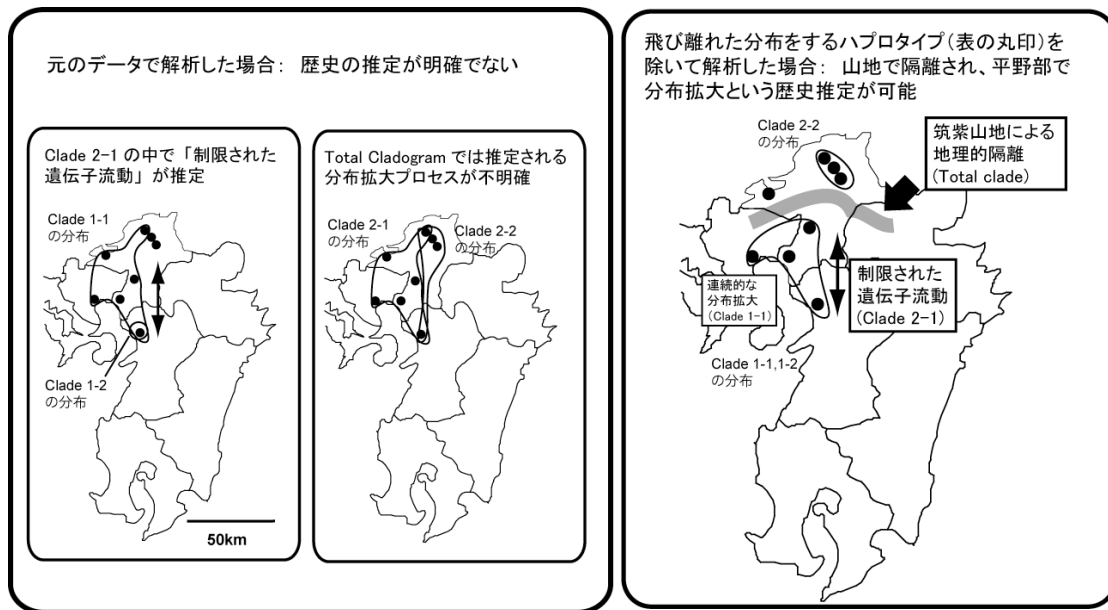
表(1)-3 階層クレード分析に用いたモツゴ九州在来系統のミトコンドリアDNAハプロタイプの分布。

九州系統ハプロタイプの分布	N	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9
福岡県 水崎川	5		5							
福岡県 遠賀川水系穂波川	4	1			3					
福岡県 遠賀川水系遠賀川	7				2	2		2	1	
福岡県 遠賀川水系山田川	3						1	1		1
福岡県 筑後川水系大刀洗川	4	4								
福岡県 二矢部川水系二ツ川	9	2	7							
佐賀県 牛津川	3	3								
熊本県 菊地川	6	1		3					2	

丸で囲ったものは地理的に離れた場所に分布している



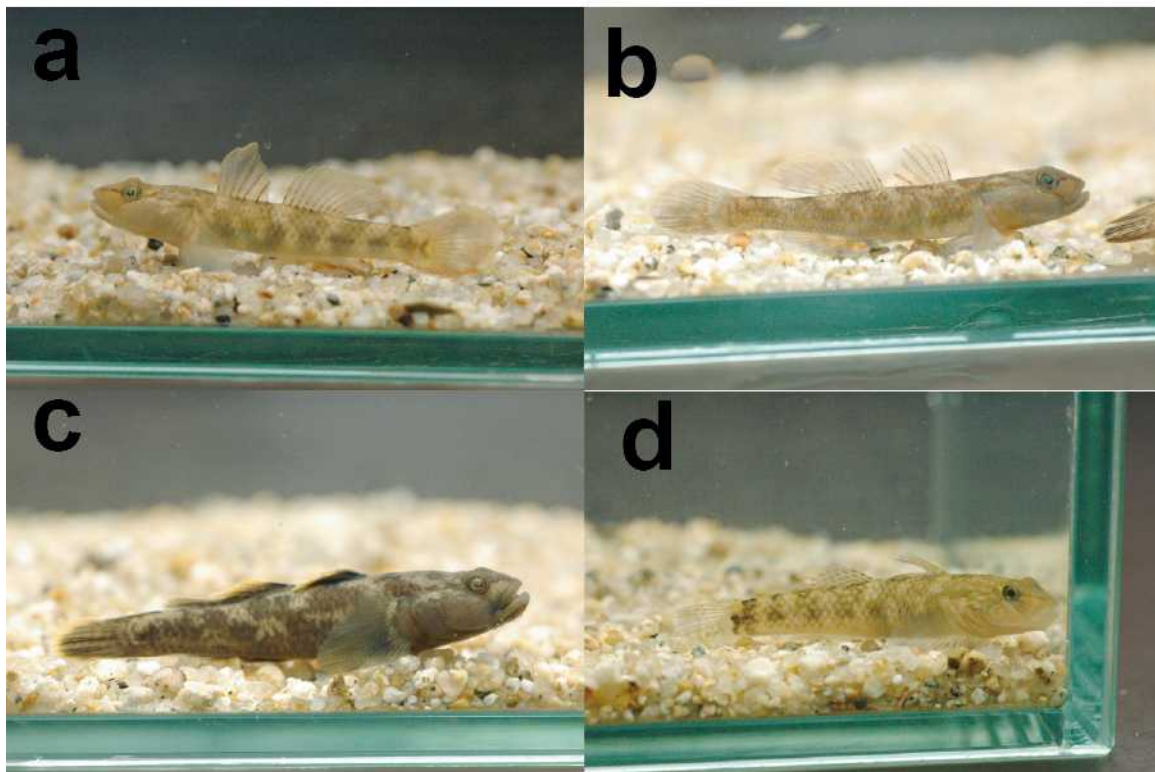
図(1)-8 モツゴの九州在来系統のmtDNAハプロタイプ間のネットワーク。各ハプロタイプは3段階の階層 (1, 2, Total1) にまとめられる。地理的分布に有意な偏りのあるクレードは*で示した。



図(1)-9 モツゴの九州在来系統のmtDNAハプロタイプにおける階層クレード分析の結果。各ハプロタイプ(クレード)の分布に地理的な偏りが検出されたもの(図2の*)について、「推論の鍵」に従って分布形成プロセスを推定した。得られた全データに基づくと明確な推論はできないが(左)、一部のハプロタイプを除くと地形や魚類相の地域差に完全に一致する推論となる。そのため、これら一部のハプロタイプは九州内での国内移殖による可能性がある。

(4) 外部形態の変異などを指標にした交雑の実態解明

岐阜県岐阜市の長良川と三重県鈴鹿市のため池において、ヨシノボリ類の色斑とミトコンドリアDNAの系統を指標に国内外来種との交雑の状況を検証した。日本産ヨシノボリ属魚類は15種が知られており、その中のゴクラクハゼ *Rhinogobius giurinus* を除く14種を一般に「ヨシノボリ類」と呼ぶ(鈴木ほか 2010)。ヨシノボリ類各種は外部形態と体の色斑で区別されるが、本研究においてシマヨシノボリ、トウヨシノボリ、トウカイヨシノボリ、シマヒレヨシノボリの4種(図1-(10))の間で色斑とミトコンドリアDNAの系統に一致しない事例が見られ、遺伝的かく乱によるものと推定された。



図(1)-10 岐阜市で採集したヨシノボリ類。a) トウヨシノボリ、b) シマヒレヨシノボリ、c) トウカイヨシノボリ、d) シマヨシノボリ。

岐阜市の長良川では、長良川本流で採集したヨシノボリ類41個体を、生時に色斑型をもとに同定した後、塩基配列を決定した。比較のために、岐阜市内のため池で採集されたトウヨシノボリ（1個体）、シマヒレヨシノボリ（4地点14個体）、トウカイヨシノボリ（2地点9個体）と、市内の小河川（新堀川）で採集されたトウヨシノボリ（1個体）の塩基配列も決定し、Mukai et al.（2005）で公表した日本産ヨシノボリ類の塩基配列を含めて解析した。長良川本流で採集されたヨシノボリ類は色斑および形態的特徴から、カワヨシノボリ、シマヨシノボリ、トウヨシノボリの3種に同定されたが、形態的特徴とミトコンドリアDNAの系統が一致しない個体が9個体見られた（表4-(4)-1）。形態的特徴は各種の間ではなく、トウヨシノボリと一致することから雑種第一代ではなく交雑を通じた遺伝子浸透が生じたものと推測できる（表(1)-4、図(1)-11）。

形態的にトウヨシノボリであるが、ミトコンドリアDNAが他種に由来する個体については、トウヨシノボリを父種とする交雑の結果と考えられる。東海地方のトウヨシノボリとシマヒレヨシノボリについては在来か外来か明確な結論は得られていないが、いずれの種も東海地方ではダム湖や市街地のため池といったさまざまな魚種が放流されている環境が主たる分布域である。さらに、トウヨシノボリのミトコンドリアDNAは常に琵琶湖産と同じハプロタイプ、シマヒレヨシノボリは常に瀬戸内地方と同じハプロタイプであり、東海地方固有の遺伝的特徴が見られないことから（向井 未発表）、両種とも国内外来種の可能性が高い。したがって、長良川において、国内外来種のトウヨシノボリが在来種のシマヨシノボリやトウカイヨシノボリ、国内外来種のシマヒレヨシノボリと交雑していることが示唆される。

表(1)-4 長良川で採集されたヨシノボリ類の色斑・外部形態とミトコンドリアDNA型

色斑・外部形態	mtDNA		
カワヨシノボリ	カワ	9個体	
シマヨシノボリ	シマ	7個体	
トウヨシノボリ	トウ	16個体	
トウヨシノボリ	シマ	6個体	*
トウヨシノボリ	トウカイ	1個体	*
トウヨシノボリ	シマヒレ	2個体	*
*色斑・形態とミトコンドリアDNAの系統が一致しない個体			



図(1)-11 長良川で採集された外部形態からトウヨシノボリと同定される個体。ミトコンドリアDNAはそれぞれa) シマヨシノボリ、b) シマヒレヨシノボリ、c) トウカイヨシノボリ。

三重県の鈴鹿市では「重要生態系地域の自然環境調査」として南部丘陵のため池81カ所の調査が行われ、そのうちの11カ所でヨシノボリ類が記録されていたことから、各ため池におけるヨシノボリ類の色斑とミトコンドリアDNAを調査した。その結果、色斑とミトコンドリアDNAの系統からトウヨシノボリ、シマヒレヨシノボリ、トウカイヨシノボリの3種が分布することが明らかになった(表(1)-5)。しかし、調査地点のうち2地点では色斑的特徴がトウヨシノボリであるが、個体によってミトコンドリアDNAがトウヨシノボリかトウカイヨシノボリのものが混在していた(図(1)-12)。また、色斑と形態はシマヒレヨシノボリであるが、個体によってミトコンドリアDNAがトウヨシノボリかトウカイヨシノボリという池もあった。

前述のように、東海地方においてはトウヨシノボリとシマヒレヨシノボリは国内外来種の可能性がある。鈴鹿市のため池の場合、トウカイヨシノボリのミトコンドリアDNAは11調査地点のうちの5地点で確認されているが、形態もトウカイヨシノボリと同定できるのは1地点しかない。このことは、本来トウカイヨシノボリが分布していた地域に他の国内移入のヨシノボリ類が侵入することで交雑し、置き換えられつつあることを示唆する。

表(1)-5 鈴鹿市のため池におけるヨシノボリ類の色斑・外部形態とミトコンドリアDNA

色斑・外部形態	mtDNA		
トウヨシノボリ	トウ	5地点	
シマヒレヨシノボリ	シマヒレ	1地点	
トウカイヨシノボリ	トウカイ	1地点	
トウヨシノボリ	トウ&トウカイ	2地点	*
シマヒレヨシノボリ	トウ&トウカイ	1地点	*
シマヒレヨシノボリ	トウカイ	1地点	*
*雑種群の可能性のある個体群			



図(1)-12 鈴鹿市のため池で採集された雑種群と推定される個体。a) 形態的にはトウヨシノボリだがmtDNAはトウカイヨシノボリ、b) 形態的にはシマヒレヨシノボリだがmtDNAはトウヨシノボリ、c) 形態的にはシマヒレヨシノボリだがmtDNAはトウカイヨシノボリ。後二者は同じため池で採集された個体。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本サブテーマの一連の研究を通じて、これまで明確に示されてこなかった同種の淡水魚の地域間での移殖の実態と影響を明らかにすることができた。

淡水魚の国内移殖については、これまでから琵琶湖固有種その他地域への侵入定着や、西日本の魚種がそれまで分布しなかった東日本に侵入するなどといったことが知られてきた。それらの国内外来種の生態的影響の解明と対策も重要な問題であるが、分布域外への侵入という点で海外から持ち込まれる外来種と同じ問題であり、啓発も比較的しやすい。実際、滋賀県や愛知県ではそれぞれの地域に分布しなかったオヤニラミなどの日本産淡水魚を、外来種として条例で飼育・放流等禁止としている。しかし、分類学的に同種とされるものの地域間の移殖は、遺伝的解析が必要なためにほとんど実態が把握されてこなかった。本サブテーマでは、複数の魚種について大規模な遺伝的解析を行い、現状の概要を明らかにすることができたと考えられる。特に、アユやコイ・フナなどの水産有用魚種の放流に伴ったと考えられるオイカワ、ゼゼラ、モツゴの外来遺伝子の分布拡大が著しく進んでいることが明らかになった。各地域固有の遺伝的特徴を持つ在来

個体群を、将来存続させるべき遺伝子資源（もしくは保全すべき生物多様性）とするならば、国内移殖によって攪乱されているこれら「普通種」の遺伝的多様性の方が、レッドデータブックなどで啓発されて保全が講じられている絶滅危惧種よりも危機的な状況にあるといえるだろう。

また、岐阜市と鈴鹿市のヨシノボリ類については、すでに国内移殖による異種間の遺伝的かく乱が大きく進行している可能性が示された。調査対象としたトウカイヨシノボリとシマヒレヨシノボリは近年になってトウヨシノボリから分離して分類された種だが（鈴木・向井 2010）、発見された時点ですでにトウカイヨシノボリは近似種の国内移殖による危機的状況にある。こうしたことから、本サブテーマの成果は生物多様性保全における遺伝的解析を広く行うことの重要性を示し、分類学などの自然史研究を早急に進めなければ多くのものが未知のまま失われてしまうことを提示できたといえる。

（2）環境政策への貢献

国内学会等での発表やシンポジウムの開催、新聞報道等を通じて、本研究で明らかとなった国内移殖による魚類の遺伝的かく乱の現状を提示し、成果の普及に努めた。国内外来魚問題についての認識を広げることは、各地方自治体における条例制定にも貢献する。本研究課題に関して平成21年度に向井・鬼倉らが開催したシンポジウム「国内外来魚問題の現状と課題」は、朝日新聞による愛知県条例に関する記事（2009年11月19日、全国版夕刊）の元になり、国内外来種の規制に貢献したと考えられる。さらに、平成22年度は岐阜県で「豊かな海づくり大会」が開催され、名古屋で生物多様性条約の「COP10」が開催されたため、岐阜県周辺の新聞・テレビが生物多様性に関する報道を数多く行ったため、本研究に関する成果も新聞等で複数回報道された。

また、平成22年に岐阜県と岐阜大学が連携しておこなった「岐阜から生物多様性を考える研究会」において、本研究成果である岐阜県のオイカワなどの遺伝子解析の結果を提示し、平成23年に岐阜県が策定した「生物多様性ぎふ戦略」では、国内外来魚による遺伝的かく乱の問題を明記することに貢献した（「生物多様性ぎふ戦略の構築」pp. 12-13）。

三重県鈴鹿市が2012年3月に作成した「重要生態系地域の自然環境調査報告書」では、本研究成果であるヨシノボリ類の形態的同定と遺伝子解析の結果を提示し、在来種の残る地点の重要性を示すことに貢献した（報告書p. 120）。

今後は、英語論文や国際学会等を含めて海外へも成果の広報、普及を行うことで国際的な環境政策への貢献も図る予定である。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

（1）誌上発表

〈論文（査読あり）〉

- 1) K. Watanabe, Y. Kano, H. Takahashi, T. Mukai, R. Kakioka, K. Tominaga : Ichthyol. Res,

- 57, 107-109 (2010) "GEDIMAP: a database of genetic diversity for Japanese freshwater fishes."
- 2) M. Hirayama, T. Mukai, M. Miya, Y. Murata, Y. Sekiya, T. Yamashita, M. Nishida, S. Watabe, S. Oda, H. Mitani : Gene, 457, 13-24 (2010) "Intraspecific variation in the mitochondrial genome among local populations of Medaka *Oryzias latipes*."
 - 3) K. Watanabe, S. Kawase, T. Mukai, R. Kakioka, J. Miyazaki, K. Hosoya : Zool. Sci, 27, 647-655 (2010) "Population divergence of *Biwia zezera* (Cyprinidae: Gobioninae) and the discovery of a cryptic species, based on mitochondrial and nuclear DNA sequence analyses."
 - 4) 向井貴彦、梅村啓太郎、高木雅紀：日本生物地理学会会報, 66, 85-92 (2011) 「岐阜県におけるカラドジョウの初記録と中国系ドジョウの侵入」
 - 5) 向井貴彦、池谷幸樹、大仲知樹、古屋康則、高木雅紀、塚原幸治、寺町 茂、吉村卓也：日本生物地理学会会報, 66, 203-209 (2011) 「岐阜県におけるスナヤツメ北方種と南方種の分布」

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 向井貴彦：自治研ぎふ, 91, 39-47 (2009) 「岐阜県版レッドリストの改訂：自然環境を適切に評価するためには？」
- 2) 鈴木寿之、向井貴彦、吉郷英範、大迫尚晴、鄭 達壽：大阪市立自然史博物館業績, 418, 1-14 (2010) 「トウヨシノボリ縞鱗型の再定義と新標準和名の提唱」
- 3) 古屋康則・高崎文世・伊藤 亮・向井貴彦：(財)自然保護助成基金助成研究 長良川河口堰運用10年後の環境変化とそれが地域社会に及ぼした影響の解析（長良川河口堰事業モニタリング調査グループ 編）、9-16 (2010) 「河口堰湛水域の魚類群集一揖斐川下流域との比較一」
- 4) 向井貴彦・瀬能 宏：魚類学雑誌, 57, 75-76 (2010) 「国内外来魚問題とは？」
- 5) 向井貴彦・古屋康則：長良川下流域生物相調査報告書2010 河口堰運用15年後の長良川、長良川下流域生物相調査団, 38-53 (2010) 「長良川河口堰による魚類群集の変化 一汽水域生態系の消滅一」
- 6) 向井貴彦：自然保護、2010年9・10月号 (No. 517) , 20 (2010) 「河口堰運用前後の長良川の生きものについての調査報告書公開中！」
- 7) 向井貴彦：自然保護、2010年9・10月号 (No. 517) , 27 (2010) 「「オイカワ」 国内産でも外来種！ 遺伝子の多様性が減少」
- 8) 鈴木寿之・向井貴彦：魚類学雑誌, 57, 176-179 (2010) 「シマヒレヨシノボリとトウカイヨシノボリ：池沼性ヨシノボリ類の特徴と生息状況」
- 9) 小見山 章 監修：岐阜から生物多様性を考える、岐阜新聞社, 42-57 (2012) 「長良川の魚たちは今？：河川における生物多様性の現状（執筆担当：向井貴彦）」

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 早川明里、高村健二、中島淳、河口洋一、鬼倉徳雄、向井貴彦：2009年度日本魚類学会年

- 会（2009）「日本列島におけるオイカワの系統地理」
- 2) 向井貴彦、小西繭、渡辺勝敏、武内陽佑、中島淳、河口洋一、鬼倉徳雄、高田啓介：2009年度日本魚類学会年会（2009）「日本産モツゴにおけるmtDNAの地理的変異」
 - 3) 向井貴彦、古屋康則：日本生態学会第58回大会（2011）「長良川河口堰の稼働による魚類群集の変化」
 - 4) 向井貴彦：日本魚類学会年会（2011）「岐阜県長良川におけるヨシノボリ類のmtDNA系統と色斑的特徴の不一致」
 - 5) 梅村啓太郎、高木雅紀、向井貴彦：日本魚類学会年会（2011）「岐阜県におけるカラドジョウの初記録と大陸産マドジョウの侵入について」
 - 6) 向井貴彦、古田莉奈、古橋芽：日本生態学会・EAFES大会（2012）「岐阜市のため池における魚類相」

（3）出願特許

特に記載すべき事項はない

（4）シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

- 1) 国内外来魚問題の現状と課題（2009年10月12日、東京海洋大学大講義室、観客250名）

（5）マスコミ等への公表・報道等

- 1) 週刊SPA!「外来種 [駆除派／共存派] が大激突」（2009年10月20日号、扶桑社）
- 2) 岐阜新聞「ぎふ海流 第7章 地域力の再生 8 地域固有性の保存」（2010年5月9日）
- 3) 中日新聞「木曾三川に“外来種”西日本型 オイカワすみ分けピンチ」（2010年5月14日、全国版夕刊）
- 4) 中日新聞「分断の代償 5 国内 外来種」（2010年5月26日、岐阜県版）
- 5) 岐阜新聞「トウヨシノボリ 4種 の遺伝子解析 「縞鱗型」実は新種」（2010年7月30日）
- 6) NHK総合（中部）ナビゲーション「広がる“国内外来種” ～どう守る地域の生態系～」(2010年7月9日、コメンテータとして出演)
- 7) 岐阜新聞「「カラドジョウ」県 内で初確認」（平成23年12月30日）
- 8) 読売新聞「要注意外来生物カラドジョウ 県内で生息確認」（平成24年1月7日、岐阜県版）
- 9) 岐阜新聞「研究室から 大学はいま 「生物DNA、地域ごとに違い」」（2012年4月10日）

（6）その他

特に記載すべき事項はない

8. 引用文献

- 樋口文夫、福嶋 悟：鶴見川水系における谷戸水路と河川の人工構造物と魚類流程分布との関係．横須賀市環境科学研究所報 31：40-55（2007）
- 堀川まりな、向井貴彦：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（2007）

- 堀川まりな, 中島淳, 向井貴彦: 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 (2007)
- Kim JS, Jung SO, Hwang DS, Lee YM, Lee JS: Unusual mitochondrial genome structure of the freshwater goby *Odontobutis platycephala*: rearrangement of tRNAs and an additional non-coding region. *Journal of Fish Biology* **73**: 414-428 (2008)
- Mukai T, Nakamura S, Suzuki T, Nishida M: Mitochondrial DNA divergence in yoshinobori gobies (*Rhinogobius* species complex) between the Bonin Islands and the Japan - Ryukyu Archipelago. *Ichthyological Research* **52**: 410-413 (2005)
- 向井貴彦, 西田 睦: 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 (2003)
- Rahel FJ: Homogenization of fish faunas across the United States. *Science* **288**: 854-856 (2000)
- 斎藤和久, 金子裕明, 勝呂尚之: 相模川水系の魚類相. 神奈川自然誌史料 **31**: 59-68 (2010)
- Sakai H, Yamamoto C, Iwata A: Genetic divergence, variation and zoogeography of a freshwater goby, *Odontobutis obscura*. *Ichthyological Research* **45**: 363-376 (1998)
- Sato M, Kawaguchi Y, Nakajima J, Mukai T, Shimatani Y, Onikura N: A review of the research on introduced freshwater fishes: new perspectives, the need for research, and management implications. *Landscape Ecology and Engineering* **6**: 99-108 (2010)
- Shimizu T, Taniguchi N, Mizuno N: An electrophoretic study of genetic differentiation of a Japanese freshwater goby, *Rhinogobius flumineus*. *Japanese Journal of Ichthyology* **39**: 329-343 (1993)
- 鈴木寿之, 向井貴彦: シマヒレヨシノボリとトウカイヨシノボリ: 池沼性ヨシノボリ類の特徴と生息状況. 魚類学雑誌 **57**: 176-179 (2010)
- 鈴木寿之, 向井貴彦, 吉郷英範, 大迫尚晴, 鄭 達壽: トウヨシノボリ縞鱮型の再定義と新標準和名の提唱. 大阪市立自然史博物館研究報告, **64**: 1-14 (2010)
- 竹花佑介, 北川忠生: メダカ: 人為的な放流による遺伝的攪乱. 魚類学雑誌 **57**: 76-79 (2010)
- Takehana Y, Nagai N, Matsuda M, Tsuchiya K, Sakaizumi M: Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in Japanese wild populations of medaka, *Oryzias latipes*. *Zoological science* **20**: 1279-1291 (2003)
- Watanabe K, Kawase S, Mukai T, Kakioka R, Miyazaki J, Hosoya K: Population divergence of *Biwia zezera* (Cyprinidae: Gobioninae) and the discovery of a cryptic species, based on mitochondrial and nuclear DNA sequence analyses. *Zoological Science* **27**: 647-655 (2010)
- 渡辺勝敏, 高橋 洋, 北村晃寿, 横山良太, 北川忠生, 武島弘彦, 佐藤俊平, 山本祥一郎, 竹花佑介, 向井貴彦, 大原健一, 井口恵一朗: 日本産淡水魚類の分布域形成史: 系統地理的アプローチとその展望. 魚類学雑誌 **53**: 1-38 (2006)

(2) 遺伝子かく乱魚種の分布、生息条件の特定および遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築

九州大学農学部 鬼倉 徳雄・福田 信二

平成21～23年度累計予算額：7,543千円

(うち、平成23年度予算額：2,553千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨] 近年新たな外来魚問題として注目される遺伝子かく乱にスポットを当て、遺伝子かく乱魚の分布、生息条件を特定し、そのかく乱予測モデルを構築した。九州内1200地点の魚類分布データベース(DB)を構築し、群集解析を実施して、モデル構築に必要な条件設定を行った後、遺伝子かく乱魚の環境の選好性を解析し、予測モデル構築の可能性を検討した。続いて、外来魚の侵略性評価キットを使って、リスク評価を行い、対象魚種を選定した。最終的に、侵略的魚種と評価された種のうち、遺伝子かく乱が侵攻しているモツゴと近縁在来種との交雑問題を抱えるタイリクバラタナゴを解析した。モツゴについては、一般化線形混合モデル(GLMM)で分布モデルを構築後、サブテーマ1の遺伝子かく乱度を目的変数、モツゴの環境選好度、外来魚の種数、外来魚各種の在・不在、モツゴの分布重心からの距離などを説明変数としてGLMMを実施する解析パターンと、モツゴの遺伝子かく乱の主原因と推定されるゲンゴロウブナを考慮し、モツゴの在・不在、ゲンゴロウブナの在・不在の全組み合わせをモデル化し、各パターンへの適合度を説明変数としたランダムフォレスト(RF)を構築する解析パターンを実施した。いずれの手法においても予測値と観測値は正の相関性を示し、予測の正当性が得られたため、予測値を地図上に描写し、在来モツゴの生息地で遺伝子かく乱リスクが高い場所を特定した。タイリクバラタナゴについては、GLMMでニッポンバラタナゴ、タイリクバラタナゴの分布モデルを構築後、両種の交雑頻度を目的変数、各種の環境選好度、外来魚種の種数、外来各種の在／不在、ニッポンバラタナゴの分布重心からの距離を説明変数としたGLMMを実施した。モツゴと同様、予測値と観測値は正の相関性を示したため、地図上に描写して、純系ニッポンバラタナゴ生息地の幾つかで高いリスクを伴う場所を特定した。本研究により、目に見えない形で侵攻する遺伝子かく乱に対する監視が実施可能となり、純淡水魚類の保全上、飛躍的に技術が発展したと判断する。

[キーワード] モツゴ、タイリクバラタナゴ、外来魚の侵略性評価キット、一般化線形混合モデル、ランダムフォレスト

1. はじめに

侵略的外来生物が及ぼす環境・生態系への負の影響は世界的な問題である。そして、生態的影響が著しい特定外来種については、在来生物への影響や移入先での生態、駆除方法などが研究され(淀・木村 1998; Maezono and Miyashita 2003; Katano et al. 2005)、その管理手法の構築が進みつつある。一方、国内の在来種が本来の生息域外である国内の他地域に移入さ

れる国内移殖の問題は極めて軽視され、一般的認知にも乏しい。そして、その中でも同一種であるにもかかわらず、異なる集団の移殖に伴って起こる遺伝子かく乱については十分な研究すらなされていないのが原状である。

日本の淡水魚は本来、移動範囲が河川水系内に限定されるという特性上、地理的分化が極めて進んでいる（向井 2001；渡辺ほか 2006）。例えば、メダカでは遺伝子レベルでは明瞭に区分される北日本集団と南日本集団に2区分され（Nakabo 2002）、両者はそれぞれ異なる遺伝的特性、形態的特性を持ち、そして、つい先日、その一方が別亜種として記載された（Asai et al. 2011）。しかしながら、先に述べた国内移殖に伴い、遺伝的に異なる特性を持った同一種が交雑するといった問題が近年報告され始めた。これが本課題で注目する遺伝子かく乱である。九州では、少なくともゼゼラという淡水魚で外来遺伝子の移殖・定着が確認されている（堀川ほか 2007）。こういった移殖に伴う生態系・生物多様性かく乱の監視・管理の場で、遺伝子かく乱の最大の問題点は、分類学上は同一種として扱われていることである。外観上の識別が難しいため、サンプルを収集して遺伝子を解析しない限り、その侵攻状況を把握できない。したがって、早急にその監視手法を構築しなければならない。

2. 研究開発目的

以上のことから、本研究ではこの遺伝子かく乱に着目し、その管理のためのツールを開発することを目的とする。そのプロセスとして、サブテーマ1では、アユ、ゲンゴロウブナ放流などに付随して移殖された可能性が高い魚種、観賞魚として各地に放流された可能性が高い魚種について、ミトコンドリアDNA解析を行い、遺伝子かく乱を受けている魚種を特定するとともに、そのかく乱の程度を数値化する（遺伝子かく乱度）。サブテーマ2では、九州を対象として淡水魚類の分布情報を網羅的に調査し、分布情報、環境情報のデータベース化をはかり、そのデータベースを使い、各種の出現予測モデルを構築する。また、外来魚類の侵略性簡易評価キット（FISK；Copp et al. 2005a, 2005b, 2009；Tricarico et al. 2010）を用いて、遺伝子かく乱魚種の侵略性を評価する。そして、最終的には、遺伝子かく乱が侵攻し、FISKによって侵略性が高いと判断された魚種について、サブテーマ1で得られた遺伝子解析に基づく遺伝子かく乱データと各種の出現予測モデルを融合し、遺伝子かく乱の侵攻予測モデルを構築することを目標とする。

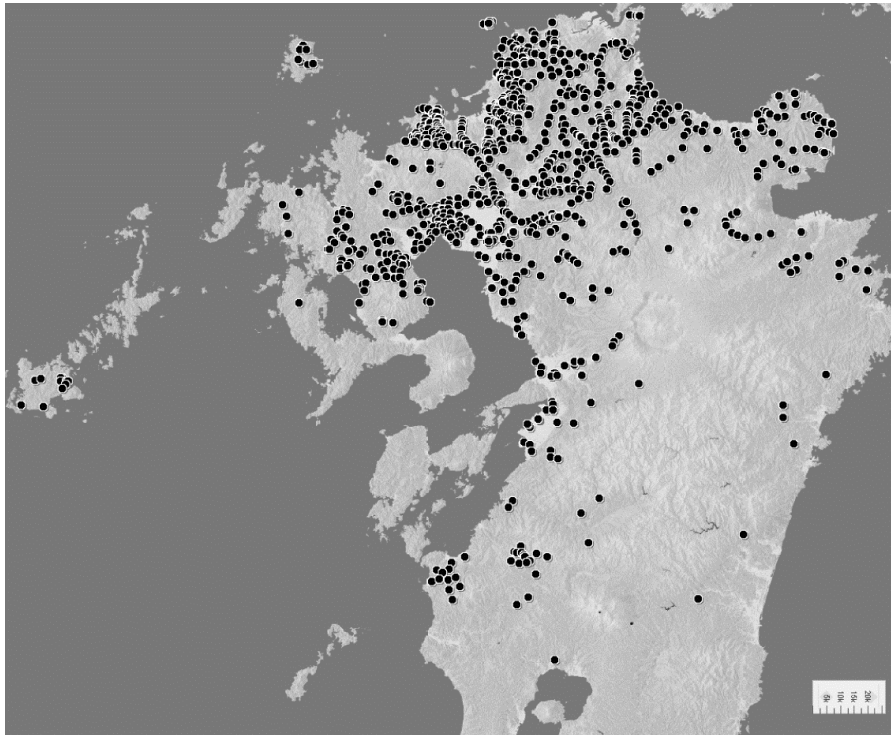
ここでは、サブテーマ2の中で取り扱った、九州を対象とした淡水魚類の分布情報、環境情報のデータベース化、そのデータベースを使った遺伝子かく乱魚種の出現予測モデルの構築、外来魚類の侵略性簡易評価キット（FISK）による外来魚類と遺伝子かく乱魚の侵略性評価、およびハイリスクな遺伝子かく乱魚に関する遺伝子かく乱予測モデル構築結果について報告する。

3. 研究開発方法

（1）データベースの構築

九州の主要な河川で魚類の採集を行った。採集方法は主に投網で、調査場所の環境に応じて適宜、サデ網、タモ網、潜水観察等を実施した。また、過去10年以内に著者らが行った魚類相調査結果等のデータ整理を行った。両者を総計すると約1200地点であり（図(2)-1）、調査地点名、緯

度経度、採集年月日、採集者、各魚種の出現情報を表計算ソフト（EXCEL 2007）上に取りまとめ、検索できるようにした。また、その緯度経度情報を国土地理院25000分の1数値地図上に地図解析ソフト（カシミール3D）で表示させ、標高、川幅、河床勾配、調査地周辺半径1km内の水田面積、都市用地面積、河川の合流数、河川と水路との連結数、水路の複雑度、針葉樹林、広葉樹林、果樹林等の地図記号数などを計測・計数した。それらの環境情報についても表計算ソフト（EXCEL 2007）上に取りまとめ、検索できるようにした。



図(2)-1 魚類相データベース構築地点

遺伝子かく乱の状況を正確に把握するためには、九州内の純淡水魚類の生物地理を正確に把握する必要がある。また、モデル構築とその精度検証において、適切なデータセットを設定する上で、生物地理情報は必須となる。一般に流域面積と河川内の魚類の種数は正の相関関係にあるとされ（Allan 1995）、九州では福岡県内の主要河川において河川長と純淡水魚類の種数の間に正の関係性があるとされる（中島ほか 2006）。すなわち、小規模な河川では幾種かの純淡水魚が欠落する可能性があり、正確な生物地理を把握するためには大水系のみを使って解析する必要がある。九州内の1級河川の魚類相データを用いて、二元指標種分析法（TWINSpan法；Hill 1979）を用いて、純淡水魚類の生物地理を解析した（解析ソフト：PC-ORD5）。また、その結果に基づいた地理区分ごとに、河川長と純淡水魚類の種数の関係性を解析した（解析ソフト：SPSS ver. 17）。

（2）各魚種の分布モデルの構築

サブテーマ1の結果に基づき、遺伝子かく乱が実際に起こっている可能性がある魚種のうち、出現地点数が多いオイカワとモツゴについて、出現予測モデルを構築した。先に述べた生物地理区分の解析により、九州北西部と北東部は区分けされたこと、オイカワ・モツゴの両種とも

北西部と北東部の両方に出現することから、北西部の約700地点のデータに基づいてモデルを構築し、北東部の360地点のデータを構築されたベストモデルに当てはめて、モデルの精度を検証した。各魚種の出現を1、非出現を0とした目的変数、総当たりの相関解析結果に基づいて多重共線性の可能性がないことを確認した地図情報（環境変数）を説明変数として、一般化線形モデル（GLM; McCullagh and Nelder 1989）を構築した（解析ソフト: R program; R Development Core Team 2008）。モデル選択には赤池情報量規準（AIC; Akaike 1974）を用いた。

また、遺伝子かく乱を加味したモデルは初めての試みであり、一般的な線形モデルでは十分に評価できない可能性もあるため、既存の知識をモデルの構造に反映することが可能なファジィ生息場選好性モデルの適用を試みた。同モデルは、近年ソフトコンピューティング分野で注目されている遺伝的ファジィシステム（Cordón et al. 2001; Herreira 2008）と呼ばれる先進的な数理モデルの一種であり、生態学分野における適用は非常に先駆的であるとともに（Fukuda and Hiramatsu 2008）、今後の発展が期待されるモデリング手法である。

モデルの精度検証には、Receiver operating characteristic (ROC) curveを描き、その曲線下面積（AUC）を算出して判定した（Akobeng 2007）。北東部のオイカワ、モツゴの在／不在を1／0の二分変数、GLMおよびファジィモデルに環境情報を入力して予測された予測値を連続変数として、ROC曲線を描き、AUCの値を算出した。ROC曲線はSPSS ver. 17を使って描かれた。

（3）遺伝子かく乱魚種、外来魚種の侵略性評価

ゼゼラ、オイカワ、モツゴなどの遺伝子かく乱魚種についてFISK（Copp et al. 2005a, 2005b, 2009; Tricarico et al. 2010）を用いてスコアを算出した。FISKはYES／NO判定結果の累積点数によって算出されるため（Copp et al. 2005a）、九州の淡水魚類に詳しい5人の科学者にその判定を依頼し、最大値、最小値を除外して、残りの3スコアを平均し、各魚種のFISKスコアとした。日本国内でFISKが用いられるのは初めてのことであり、その比較対象が存在しないため、九州からの報告（中島ほか 2008; 鬼倉ほか 2008）が存在する国外外来魚、国内外来魚についても解析対象とした。そして、環境省外来生物法の特定外来魚類（松沢・瀬能 2008）を1、その他の魚種を0としてそれを二分変数、FISKスコアを連続変数として、ROC曲線を描き、AUCの値を算出するとともに、カットオフ値を算出することで、遺伝子かく乱魚種が特定外来生物並みの影響を及ぼす可能性を持つか否かについて評価した。また、文献情報（松沢・瀬能 2008; 中島ほか 2008）を活用して侵略的か否かを1／0とした二分変数を準備し、同様の分析を実施して、侵略性の高い魚種に関する閾値を算出した。その結果を踏まえて、リスクが高く、遺伝子かく乱等の問題を抱える魚種を選定し、後の遺伝子かく乱予測モデル構築の対象魚種とした。

（4）遺伝子かく乱予測モデルの構築

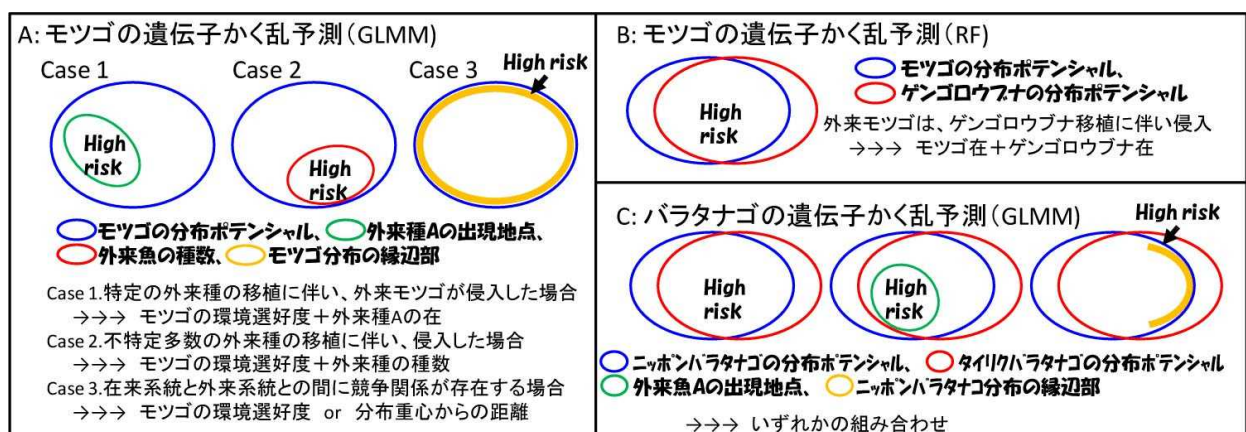
サブテーマ1の遺伝子かく乱侵攻に関する数値情報（遺伝子かく乱度）およびFISKによる侵略性評価結果に基づいて解析対象魚種（選定された魚種はモツゴとタイリクバラタナゴ）を選定し、それらについて出現予測モデル、サブテーマ1から得られた遺伝子かく乱度、外来魚の移殖状況等を組み合わせて、遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築を試みた。

モツゴの遺伝子かく乱予測モデルは、2つのアプローチによって構築された。まず、1つ目の

アプローチは一般化線形混合モデル (GLMM; Bolker et al. 2009) を用いる方法で (図(2)-2A)、最初に、モツゴの在/不在を1/0の目的変数、数値地図から得られた環境情報を説明変数、生物地理の相違をランダム効果として、モツゴの分布モデルを構築した後、そのモデルから各地点におけるモツゴの環境の選好度 (モデルから計算される出現確率) を算出した。そして、サブテーマ1より得られた外来系統ごとの遺伝子かく乱度を目的変数、モツゴの環境の選好度、外来魚の種数、外来各種の在/不在、モツゴの分布重心からの距離を説明変数として、再度、GLMM解析を実施し、系統ごとの遺伝子かく乱予測モデルを構築した。そして、その予測値の積算を、各地点における外来モツゴによる遺伝子かく乱度とした。

2つ目のアプローチはランダムフォレスト (RF; Breiman 2001) を用いる方法で (図(2)-2B)、モツゴがゲンゴロウブナの移殖に伴って移動・定着した可能性が高いことに着目した。まず、モツゴの在・不在、ゲンゴロウブナの在・不在の全組み合わせについて、数値地図上から得られた環境情報に基づいて、2種ともに在、モツゴは在・ゲンゴロウブナは不在、モツゴは不在・ゲンゴロウブナは在、2種ともに不在の4パターンを説明するモデルを構築した。そして、それぞれのパターンへの適合度を説明変数、サブテーマ1から得られたモツゴの遺伝子かく乱度を目的変数として、再度、RF解析を実施した (図(2)-2B)。

タイリクバラタナゴの遺伝子かく乱予測モデルについては、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの分布の重複部でかく乱が侵攻することに着目した (図(2)-2C)。まず、目的変数をニッポンバラタナゴの在/不在、説明変数を数値地図から得られる環境情報とし、生物地理区分をランダム切片としてGLMMを実施して、ニッポンバラタナゴの分布予測モデルを構築した。同様の作業をタイリクバラタナゴについても行い、それぞれの種の環境選好度として出現確率を算出した。それに加えて、外来魚類の種数、外来各種の在/不在、ニッポンバラタナゴの分布の重心からの距離を説明変数として準備した。目的変数はタイリクバラタナゴのミトコンドリアDNA出現率 (遺伝子かく乱度) とし、生物地理区分をランダム切片とした一般化線形混合モデル (GLMM) を使用してモデル構築を行った。なお、遺伝子かく乱度の算出は、日本水産学会誌に公表済みのデータを使用した (三宅ほか, 2008)。



図(2)-2 遺伝子かく乱予測モデルに関するアプローチ。モツゴについては2通り (A、B)、バラタナゴについては1通り (C) のアプローチによってモデルを構築した。

4. 結果及び考察

(1) データベースの構築

1) 分布情報の網羅的調査と分布・環境情報のデータベース化

魚類分布情報および調査地環境情報データベースは、EXCELのフィルタ機能を用いて特定の条件のみの抽出などを可能とした。以下にその一例として、九州北西部の710地点における出現地点数上位10種とそれらの出現地点の特徴を表(2)-1に整理した。河川と水路の出現確率を見ることで河川性魚類か氾濫原性魚類かが、標高や河床勾配を見ることで下流の魚種か上中流の魚種かが、水路の複雑さや水田面積を見ることで、水田依存種か否か、容易に判断できる。本データベースを利用することで、表(2)-1のような情報を容易に整理することが可能となり、遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築はもちろん、その他の様々な分野での活用が可能であると判断される。

表(2)-1. 九州北西部における出現上位10種に関する各種情報

種名	学名	出現地点数	出現確率	
			河川	水路
オイカワ	<i>Zacco platypus</i>	427	58.8	63.2
カワムツ	<i>Nipponocypris temminckii</i>	420	75.7	22.5
ギンブナ	<i>Carassius</i> sp.	381	42.5	81.8
ドンコ	<i>Odontobutis obscura</i>	348	60.9	23
カマツカ	<i>Pseudogobio esocinus esocinus</i>	307	49.1	31.1
メダカ	<i>Oryzias latipes</i>	198	23.5	39.2
モツゴ	<i>Pseudorasbora parva</i>	190	13.2	59.8
コイ	<i>Cyprinus carpio</i>	188	21.1	40.2
ムギツク	<i>Pungtungia herzi</i>	177	32.3	8.6
イトモロコ	<i>Squalidus gracilis gracilis</i>	176	24.3	26.8

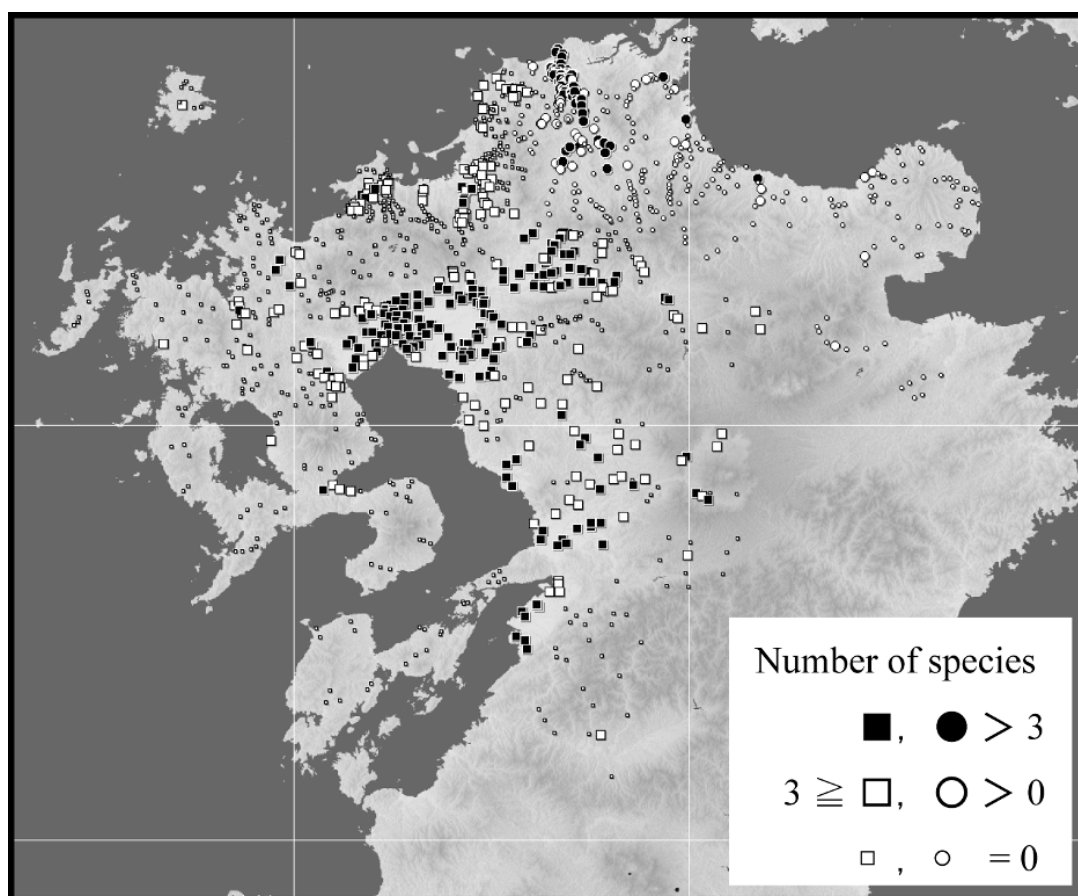
	標高(m)	河床勾配(1/X,m)	半径1km内の		
			水路の複雑さ	水田面積(km ²)	針葉樹林記号
オイカワ	33.6 ± 61.4	589 ± 642	3.7 ± 7.1	0.880 ± 0.652	8.9 ± 13.4
カワムツ	73.4 ± 92.8	271 ± 421	1.2 ± 3.8	0.608 ± 0.542	17.2 ± 18.5
ギンブナ	13.5 ± 16.8	851 ± 754	6.3 ± 9.1	1.118 ± 0.687	4.5 ± 7.6
ドンコ	58.9 ± 81.7	327 ± 479	1.3 ± 4.1	0.686 ± 0.564	1.3 ± 4.1
カマツカ	44.1 ± 66.1	486 ± 560	2.7 ± 6.1	0.782 ± 0.621	11.0 ± 15.4
メダカ	10.1 ± 11.1	801 ± 693	4.9 ± 7.2	1.115 ± 0.656	3.7 ± 5.8
モツゴ	6.5 ± 9.2	1239 ± 740	10.9 ± 10.7	1.354 ± 0.710	1.6 ± 4.0
コイ	13.9 ± 22.5	870 ± 753	5.3 ± 8.1	1.053 ± 0.701	5.1 ± 9.1
ムギツク	67.7 ± 88.7	324 ± 434	1.6 ± 4.6	0.588 ± 0.495	14.7 ± 16.9
イトモロコ	23.2 ± 36.9	668 ± 662	5.5 ± 8.6	0.938 ± 0.637	6.0 ± 10.4

また、同様のデータベースを使って希少な淡水魚類の分布モデルの構築を試験的に試みた。全国的に希少な種が多く、九州にも全国版のレッドリスト（環境省 2007）に掲載される種・亜種が分布するタナゴ亜科魚類を対象とした。九州には在来魚種・亜種としてニッポンバラタナゴ（絶滅危惧IA類）、カゼトゲタナゴ（絶滅危惧IB類）、セボシタビラ（絶滅危惧IA類）、カネヒラ、ヤリタナゴ（準絶滅危惧種）、アブラボテ（準絶滅危惧種）が生息している（川那部ほか 2005）。これら6種について九州北西部710地点のデータを使って、先に説明したモツゴやオイカワと同様の方法で分布モデルを構築したところ、4-6つの説明変数で構成されるモデルが構築され、そのAUCは0.753-0.927であった（表(2)-2）。

表(2)-2. 九州在来タナゴ亜科6種におけるベストモデルに選択された説明変数の一覧およびAUC

種・亜種	切片	係数(標準誤差)						AUC
		河川長	勾配	川幅	河川・水路連結数	水路網の複雑さ	農地面積	
ニッポンバラタナゴ	-2.04	0.95	-13.44		0.45	0.51		0.872
カゼトゲタナゴ	-7.55	1.10	-4.10		0.43	0.46	2.80	0.825
セホシタビラ	-10.87	0.58	-7.61	1.96			3.70	0.852
カネヒラ	-8.50	0.75			0.58	0.76	3.25	0.804
ヤリタナゴ	-3.16	0.75	-14.83			0.40	1.81	0.861
アブラボテ	-4.90	1.07	-6.81	-0.50		-0.83	1.74	0.753

モデルの精度が高かった種・亜種（アブラボテを除く5種）について予測を広域に拡張することで、在来タナゴ亜科魚類のホットスポットを予測することが可能となった（図(2)-3）。このように、本データベースは生物多様性保全に資する多様な用途に応用可能であると判断できる。



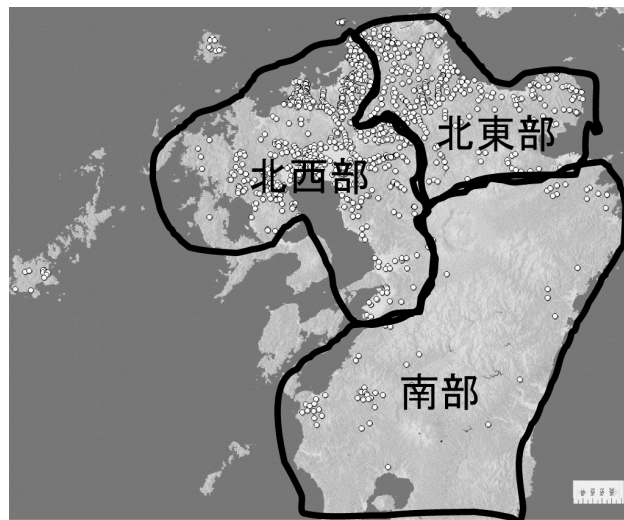
図(2)-3. 九州北部における在来タナゴ亜科魚類のホットスポット. 5種のタナゴ亜科魚類の分布モデルを使って予測を行い、種数の多さをプロットした.

2) 生物地理的要素を加味した遺伝子侵入予測モデル構築のためのモデル地域の選定

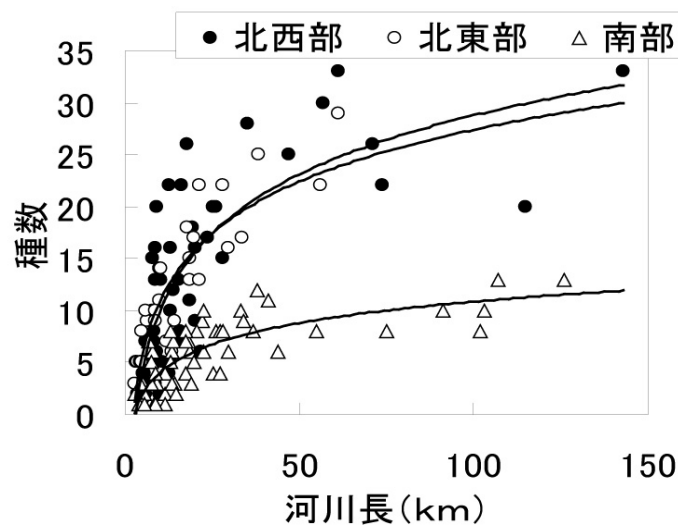
九州内の1級河川の魚類相データをのみを抽出し、TWINSpan法を用いて解析したところ、九州の純淡水魚類相は概ね3区分されることが明らかとなった。渡辺・高橋（2010）の全国データに基づく生物地理的な解析結果では、九州は4区分されるものの、そのうちの2地域が極めて類似することを示しており、それを考慮すると、本結果と一致していると言える。便宜的に、それらを

九州北西部、北東部、南部とした（図(2)-4）。

続いて、生物地理区分ごとに河川長と純淡水魚類の種数の関係性を解析したところ、いずれの地域についても河川長－種数曲線を示すことが明瞭となった（図(2)-5）。この結果は、流域面積と河川内の魚類の種数は正の相関関係にあるとしたAllan（1995）や福岡県内の主要河川において河川長と純淡水魚類の種数の間に正の関係性があるとした中島ほか（2006）を裏付ける結果と言える。しかしながら、その河川長－種数曲線を地域ごとに見比べたとき、北西部と北東部は極めて類似し、南部だけが大きく異なる傾向を示した。具体的には、南部の種数は10種に満たない段階で横ばいとなった（図(2)-5）。これらの結果から、遺伝子かく乱侵攻予測モデルは九州北部のデータに基づいて行うのが適切である一方、北西部、北東部といった生物地理区分に一定の配慮が必要である可能性が示唆された。



図(2)-4. TWINSPAN法によって区分された九州の純淡水魚類の生物地理.



図(2)-5. 九州の生物地理区分ごとの河川長－純淡水魚類出現種数の関係

(2) 各魚種の分布モデルの構築

1) GLMによる解析

オイカワ、モツゴとも河川、農業用水路ともに出現することから、北西部の全データで解析するケース1と、北西部の農業用水路と河川を別々に解析するケース2の2通りを実施した。まず、オイカワの全データ解析であるが(ケース1)、河川長、標高、川幅、川と水路の接続数、水路網の多様さ、水田面積、都市用地の面積、樹林記号数の組み合わせがAICの最も低いベストモデルとして選択された(表(2)-3A)。河川のデータと水路のデータを別々に解析したケース2では、河川データで、河川長、標高、河床勾配、川幅、川と水路の接続数、水田面積、都市用地の面積の組み合わせがAICの最も低いベストモデルとして(表(2)-3A)、農業用水路データで、河床勾配、川と川の合流点数、水路網の多様さ、都市用地の面積の組み合わせがAICの最も低いベストモデルとして選択された(表(2)-3A)。ケース2において、河川、水路ともに河床勾配を選択しているにもかかわらず、前者では負に、後者では正に効いていることから、本種の場合は河川、水路を別々に解析する方がよいことが分かる。なお、出現確率50%以上を出現、50%未満を非出現場所として予測されたと仮定して的中率を算出したところ、全データの場合で75.4%、河川、水路を個別に解析した場合で77.9%であった(表(2)-4)。

モツゴの場合は、全データ解析(ケース1)では、標高、川か水路か、河床勾配、川と川の合流点数、水路網の多様さ、樹林記号数の組み合わせが(表(2)-3B)、ケース2の河川データのみの解析では標高、河床勾配、川と川の合流点数、樹林記号数の組み合わせが(表(2)-3B)、農業用水路のデータのみでの解析では標高、川幅、川と川の合流点数、川と水路の接続数、水路網の多様さの組み合わせが(表(2)-3B)、AICの最も低いベストモデルとして選択された。河川と水路を別々に解析した場合に選択される変数が異なるものの、的中率に関しては全データの場合で85.3%、河川、水路を個別に解析した場合で85.8%であり(表(2)-4)、オイカワに比べると両者の差が見られなかった。つまり、モツゴの解析については、河川と農業用水路をまとめて解析できる可能性があると考えられる。

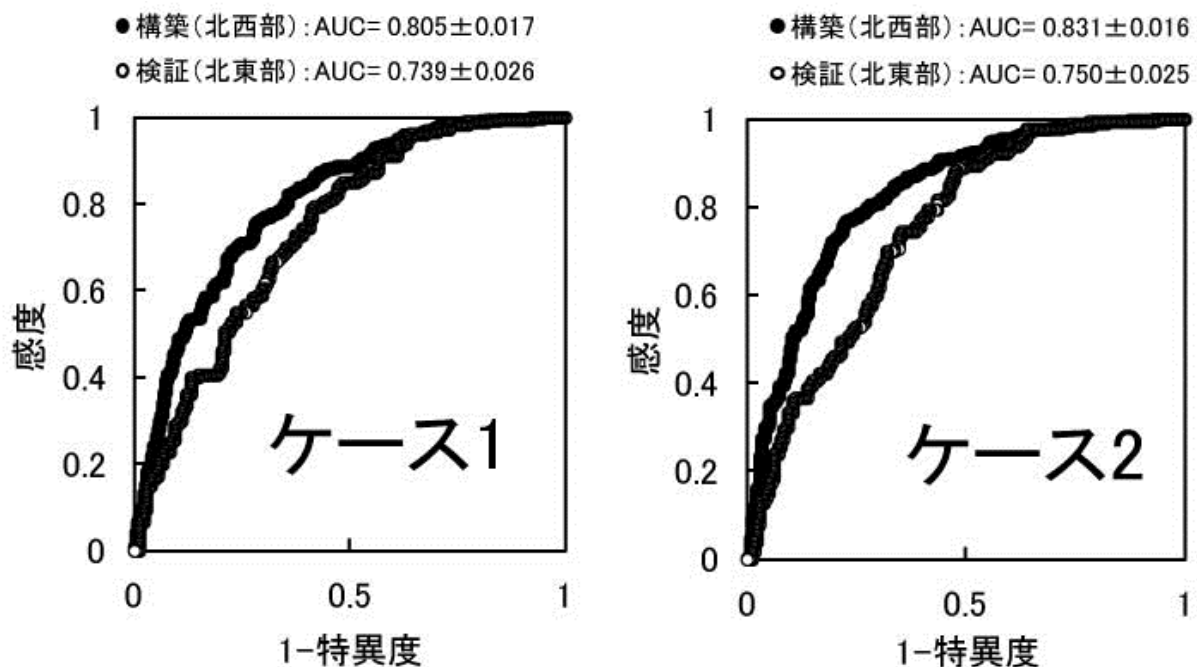
表(2)-3. AICが最も低い値を示したモデルにおける説明変数の一覧(A:オイカワ、B:モツゴ)。全データで解析したケースと河川・農業用水路を別々に解析したケースを示した。

全データ			農業用水路			河川		
AICで選択した説明変数	B	有意水準	AICで選択した説明変数	B	有意水準	AICで選択した説明変数	B	有意水準
A. オイカワ								
河川長	0.487	0.006	河床勾配	-0.413	0.029	河川長	0.549	0.024
標高	-0.412	0.013	川の合流点数	-0.955	0.065	標高	-0.393	0.103
川幅	0.78	0.001	水路網の複雑さ	-0.592	0.066	河床勾配	0.57	0.008
川と水路の合流点数	0.643	<0.0001	都市用地面積	3.941	0.001	川幅	0.667	0.048
水路網の複雑さ	-0.504	0.015	定数	0.7	0.625	川と水路の合流点数	0.395	0.1
水田面積	1.314	0.012				水田面積	1.376	0.061
都市用地面積	3.963	<0.001				都市用地面積	2.455	<0.0001
樹林記号数	0.263	0.052				定数	-5.886	<0.0001
定数	-6.072	<0.0001						
B. モツゴ								
標高	-1.016	<0.0001	標高	-1.132	0.005	標高	-1.009	0.004
川か水路か	0.672	0.05	水路幅	0.736	0.107	河床勾配	0.543	0.002
河床勾配	0.398	0.003	川の合流点数	-1.476	0.016	川の合流点数	-0.956	0.002
川の合流点数	-1.032	<0.0001	川と水路の合流点数	0.403	0.156	樹林記号数	-0.757	<0.0001
水路網の複雑さ	0.338	0.096	水路網の複雑さ	1.683	<0.0001	定数	0.152	0.905
都市用地面積	-0.533	<0.0001	定数	-2.024	0.09			
樹林記号数	-0.397	0.707						

表(2)-4. モデルの予測値と実測値から算出したモデルの的中率. 出現確率50%以上を出現、50%未満を非出現と仮定した.

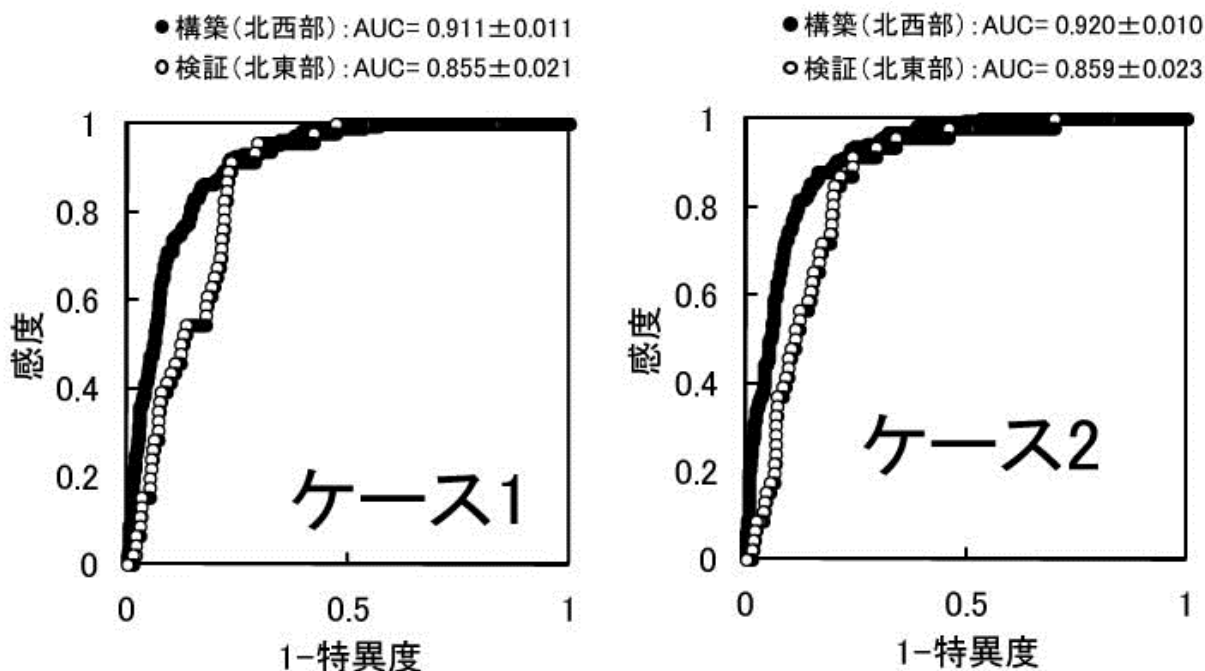
	的中率		
	出現	非出現	合計
A. オイカワ			
全データ斉解析	86.4	58.2	75.4
河川・水路の個別解析の合計	85.2	66.5	77.9
B. モツゴ			
全データ斉解析	67.9	91.8	85.3
河川・水路の個別解析の合計	72.6	90.6	85.8

これらのモデルについて、北東部のデータに当てはめてその精度を検証したところ、オイカワの場合、全データ解析（ケース1）においてモデルを構築した北西部のAUCは 0.805 ± 0.017 ($p < 0.01$)、精度を検証した北東部で 0.739 ± 0.026 ($p < 0.01$)、河川・農業用水路を別々に解析（ケース2）した場合の北西部のAUCは 0.831 ± 0.016 ($p < 0.01$)、北東部で 0.750 ± 0.025 ($p < 0.01$)となった（図(2)-6）。一般に、AUCの値は0.9を超えると高い正当性、0.7を超えると適度な正当性を示すとされており（Akobeng 2007）、今回のオイカワに関する予測・検証は適度な当てはまりであると言える。また、河川と農業用水路を別々に解析したケースの方が予測・検証ともAUC値が高いことから、オイカワについては水路・河川を別々に解析する方が、GLMでの当てはまりが良いことが明らかとなった。



図(2)-6. ケース1（全データ斉解析）とケース2（河川と農業用水路を別々に解析）でのモデル構築（北西部）と検証（北東部）におけるオイカワ分布の予測値と実測値データに基づいたROC曲線.

モツゴの場合、ケース1の北西部での予測でAUCは 0.911 ± 0.011 ($p < 0.01$)、北東部の検証で 0.920 ± 0.010 ($p < 0.01$)、ケース2における北西部の予測でAUCは 0.831 ± 0.016 ($p < 0.01$)、北東部の検証で 0.859 ± 0.023 ($p < 0.01$)となった(図(2)-7)。モツゴの場合、全データ解析、水路・河川別々の解析とも当てはまりが極めて優れることが明らかである。そして、パターン1の方でAUCが高く、全データ解析の方がよりの確に分布パターンをモデル化できていると判断できた。



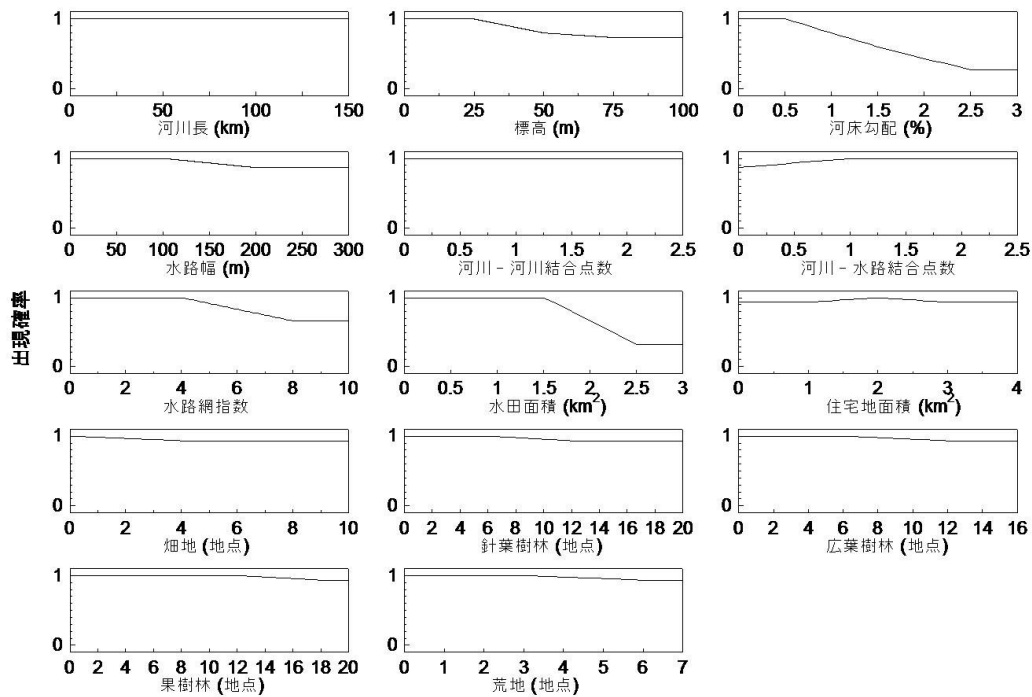
図(2)-7. ケース1 (全データ一斉解析) とケース2 (河川と農業用水路を別々に解析) でのモデル構築 (北西部) と検証 (北東部) におけるオイカワ分布の予測値と実測値データに基づいたROC曲線.

2) ファジィモデルによる解析

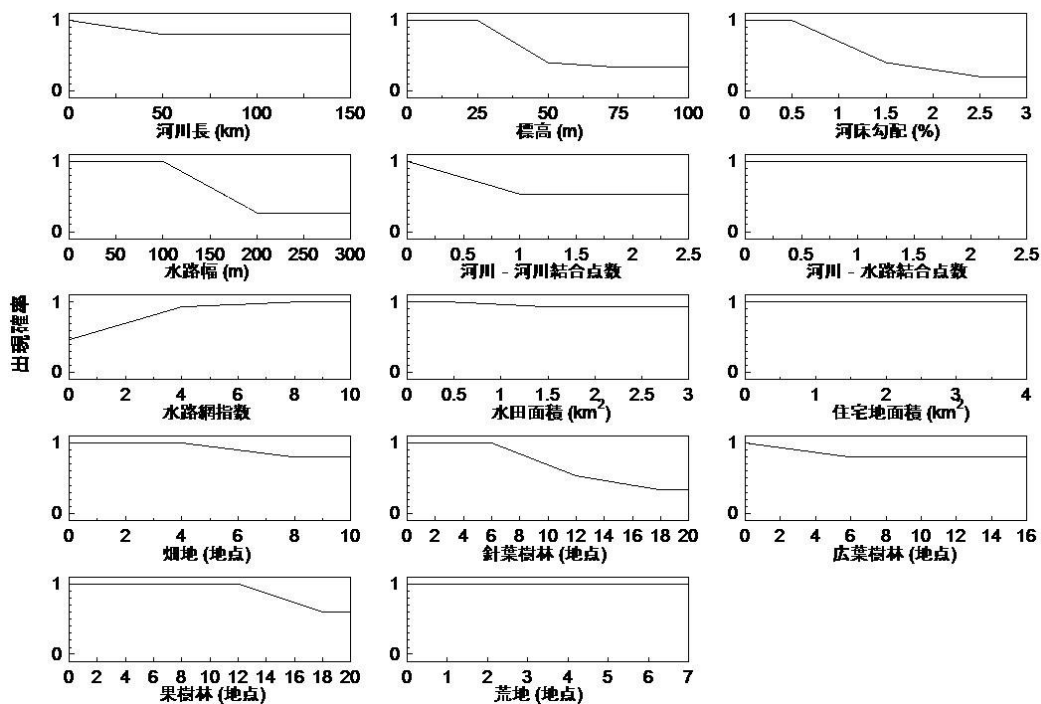
上記解析と同じデータを利用して(全データを使用)、ファジィ生息場選好性モデルによりオイカワおよびモツゴの生息環境条件を解析した結果、オイカワでは5変数(標高、河床勾配、流路幅、水路網指数、水田面積)の組み合わせが重要であることが示唆された(図(2)-8)。また、予測における閾値により予測精度が異なることが明らかになった(表(2)-5)。

モツゴでは9変数(河川長、標高、河床勾配、流路幅、河川-河川結合点、水路網指数、針葉樹林、広葉樹林、果樹園)の組み合わせが重要であることが示唆された(図(2)-9)。また、オイカワと同様、予測における閾値により予測精度の評価結果が異なることが明らかになった(表(2)-5)。その際、図中の出現確率が常に1に近い値をとる環境変数は対象魚種の出現・非出現にほとんど影響を及ぼさないものとして評価した。ここで、先述の解析とは、異なる環境変数が得られている場合があるが、これはモデルの基本構造が異なることやファジィルール作成上のカテゴリー区分の基準値に起因しているものと考えられる。なお、図(2)-8, 9のような選好曲線を利

用することにより、在来魚と国外外来種および国内外来種との生息場の競合関係を明らかにすることができる。さらに、同情報を地図上に表示することにより、外来種および移入種によるかく乱ポテンシャルの面的評価を通して、ハザードマップの作成が可能となる。



図(2)-8. オイカワの生息環境条件：30試行中のベストモデルのみ表示。



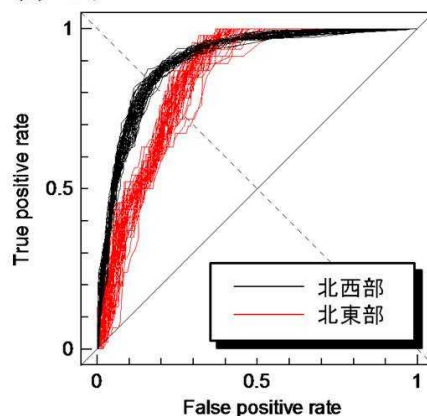
図(2)-9. モツゴの生息環境条件：30試行中のベストモデルのみ表示。

表(2)-5. ファジィ生息場選好性モデルにおける評価結果

対象魚種	出現頻度(%)	閾値0.5で出現予測		Kappaが最大となるモデルで出現予測		
		正答率	Kappa	正答率	Kappa	閾値
モツゴ	27.1	0.829	0.536	0.842	0.628	0.35
オイカワ	60.8	0.757	0.462	—	—	—

続いて、以上で構築されたモデルを九州北東部のデータに適用し、検証した結果を図(2)-10に示す。同図から、GLMの結果同様に、モツゴとオイカワの両種について、ファジィモデルでも良好な精度が得られていることが分かる。本解析では、北西部のデータ上の環境特性を考慮してモデルを構築した。結果として一般性の高いモデルが得られたが、各対象種の生態学的特徴や河川のセグメント区分などを基準にモデルをチューニングすることにより、予測精度がさらに向上するとともに信頼性や妥当性のあるモデルへの改良が可能であると考えられる。

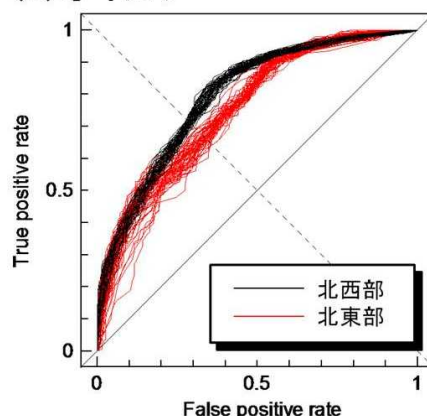
(i)モツゴ



北西部	MSE	AUC
最大値	0.1217	0.9101
平均値	0.1109	0.9009
最小値	0.1060	0.8880
標準偏差	0.0037	0.0052

北東部	MSE	AUC
最大値	0.1349	0.8603
平均値	0.1145	0.8478
最小値	0.0988	0.8183
標準偏差	0.0094	0.0082

(ii)オイカワ



北西部	MSE	AUC
最大値	0.1859	0.8011
平均値	0.1807	0.7936
最小値	0.1778	0.7845
標準偏差	0.0017	0.0046

北東部	MSE	AUC
最大値	0.2333	0.7794
平均値	0.2137	0.7562
最小値	0.2029	0.7252
標準偏差	0.0069	0.0129

図(2)-10. 構築されたモデルの評価結果：(i)モツゴ、(ii)オイカワ。北西部のデータでモデルを構築し、北東部のデータで構築モデルを検証した。評価指標は、平均二乗誤差(MSE)およびAUCである。前者は値が小さいほど、後者は値が大きいほど、モデルの再現性が高いことを示す。

(3) 遺伝子かく乱魚種、外来魚種の侵略性評価

九州で過去に記録がある国外外来魚14種、国内外来魚10種、遺伝子かく乱魚4種を対象とし、FISKスコアの平均を算出したところ（表(2)-6）、コイが最大値31.0を示した。環境省の外来生物法で特定外来生物に指定されるブルーギルとオオクチバス、要注意生物に指定されるカラドジョウとタイリクバラタナゴ、国内外来魚のゲンゴロウブナが25を超え、本課題の対象魚種であるオイカワとモツゴのスコアは20を越えた。ヨーロッパの先行研究で侵略性の有無のひとつの基準として、16あるいは19というスコアが示されており（Copp et al. 2009; Tricarico et al. 2010）、それらに基づけば、オイカワ、モツゴの侵略性は高いと判断できる。また、特定外来生物に指定されるカダヤシは23.0であり、外来生物法で規制下でない幾つかの魚種が規制対象種とほとんど変わらないスコアを示した点も注視すべきである。

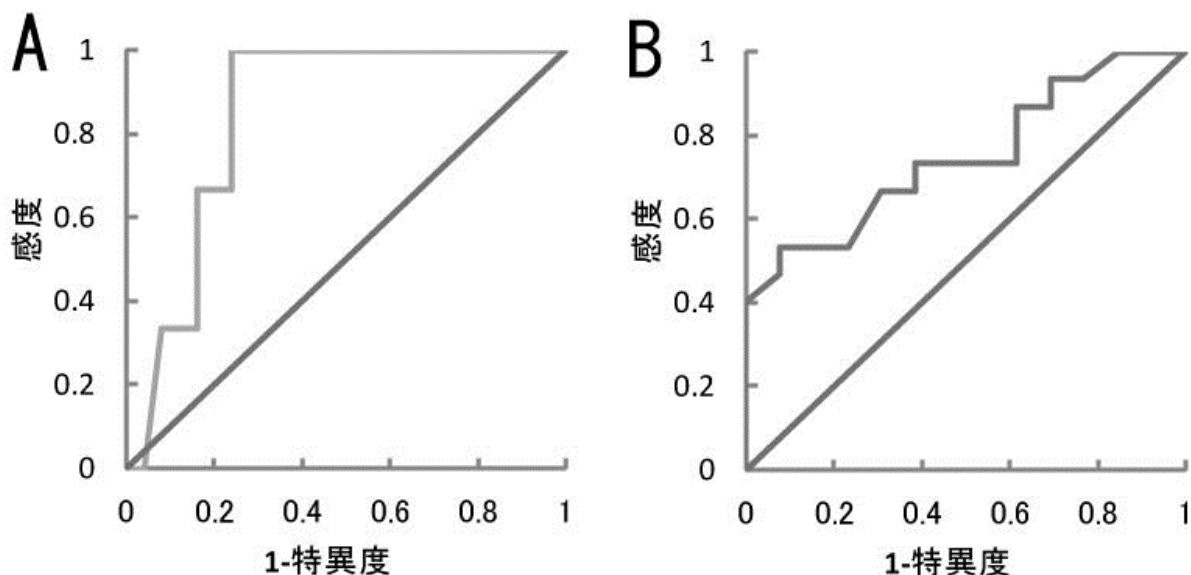
表(2)-6. 九州を対象としたFISKを使った外来魚類侵略性評価結果

種名	FISK score	備考	種名	FISK score	備考
カダヤシ	23.0	特定外来	イチモンジタナゴ	20.0	国内外来種
ブルーギル	26.7	特定外来	ゲンゴロウブナ	25.3	国内外来種
オオクチバス	25.0	特定外来	タモロコ	20.0	国内外来種
カムルチー	17.3	要注意	ワカサギ	11.0	国内外来種
ソウギョ	15.0	要注意	ワタカ	20.0	国内外来種
ニジマス	13.0	要注意	ハス	24.0	国内外来種
ナイルティラピア	19.3	要注意	ギギ	22.7	国内外来種
カラドジョウ	25.7	要注意	イワナ	15.3	国内外来種
グッピー	16.3	要注意	ビワヒガイ	18.3	国内外来種
タイリクバラタナゴ	26.7	要注意	コウライモロコ	17.0	国内外来種
コクレン	13.7	未指定国外外来種	コイ	31.0	遺伝子かく乱魚種
ハクレン	13.0	未指定国外外来種	ゼゼラ	19.7	遺伝子かく乱魚種
タウナギ	11.7	未指定国外外来種	モツゴ	21.7	遺伝子かく乱魚種
ジルティラピア	16.3	未指定国外外来種	オイカワ	24.0	遺伝子かく乱魚種

特定外来生物とその他の魚種との間で二分変数を設定し、ROC曲線を描いたところ、そのAUCは0.847であった（図(2)-11）。この結果は、FISKスコアを用いて特定外来生物とその他の生物を適度に区別できることを意味している。そして、そのカットオフ値は22.8であり、FISKスコアがそれ以上の魚種は環境省外来生物法の特定外来生物法に指定される魚種と同等かそれ以上の侵略性を伴う魚種であると評価することができる。それに該当するのは、特定外来種3種（オオクチバス、ブルーギル、カダヤシ）、要注意種の中でカラドジョウとタイリクバラタナゴ、国内外来種の中でゲンゴロウブナとハス、そして、遺伝子かく乱魚種の中でコイとオイカワであった（表(2)-5）。この結果は、国外外来魚だけでなく、国内外来魚や遺伝子かく乱魚種においても高い侵略性を伴う高リスクな魚種が存在することを示している。外来生物法は国外から持ち込まれた魚種のみを対象としているが、その枠組みを国内外来魚種や遺伝子かく乱魚種へと広げていく必要があるものと考えられる。

また、侵略性に関する閾値については、同様の解析により、AUC0.749、カットオフ値19.8という結果が得られた（図(2)-11）。遺伝子かく乱や近縁種との交雑などの外来遺伝子移入の問題を抱える魚種のうち、FISKスコアが19.8を超え、侵略的と判断されたのは、モツゴ、オイカワ、タイリクバラタナゴ、ハスの4種となった（表(2)-5）。ただし、オイカワの遺伝子かく乱

の侵攻の程度は、九州北部では小さいことがサブテーマ1の結果から明確である。また、ハスは在来魚ヌマムツと交雑する可能性が指摘されているが、その頻度は少ない。したがって、後の遺伝子かく乱侵攻予測モデル解析対象魚種は、モツゴとタイリクバラタナゴの2種とした。



図(2)-11. 特定外来生物 (A)、侵略的魚類 (B) の情報に基づいた2値変数とFISKスコアに基づくROC曲線

(4) 遺伝子かく乱予測モデルの構築

1) GLMMによるモツゴの遺伝子かく乱モデル構築

モツゴの遺伝子かく乱予測モデルのケース1は、GLMMでモツゴの出現予測モデルを構築し、そこから得られた環境選好度と外来魚類の移殖に関する各種情報を重ね合わせて、遺伝子かく乱の予測モデルを構築するといったプロセスをたどる。まず、モツゴ出現予測に関するGLMMについては、農業用水路、河川を別々に解析する必要性がないことを確認済みであり、両データをまとめて解析したところ、AICの最小値を示したモデルにおいて正の変数として河川長、水路網の多様さ、水田面積、都市用地面積を、負の変数として河川勾配と樹林面積を選択した(表(2)-7)。そのベストモデルについてROC曲線を描いてAUCを算出したところ、その値は0.896であったことから(表(2)-7)、このモデルは極めて高い精度でモツゴの出現を予測できることが確認できた。

表(2)-7. モツゴの分布予測におけるAICが最も低い値を示したモデルにおける説明変数の一覧

変数	係数	標準誤差	変数	係数	標準誤差	ランダム切片	
						北西部	北東部
河川長	-0.310	0.186	水田面積	0.994	0.590	0.385	-0.380
勾配	-11.760	1.990	都市用地面積	1.652	0.666		
川幅	選択せず		樹林記号数	-0.466	0.116		
河川・水路連結数	選択せず		定数項	0.00823	1.333	(AUC=0.896)	
水路網の多様さ	0.558	0.168					

続いて、サブテーマ1で得られた外来各系統の遺伝子かく乱度を目的変数としたGLMMを実施した。外来モツゴは3系統あり、それぞれのGLMMにおけるベストモデルは以下のとおりとなった。

$$\text{大陸系統：侵入頻度} = 0.0283 + 0.0731 \times \text{外来魚種数}$$

$$\text{西日本系統：侵入頻度} = 0.02549 - 0.475 \times \text{モツゴの選好度} + \text{ranef (ランダム切片)}$$

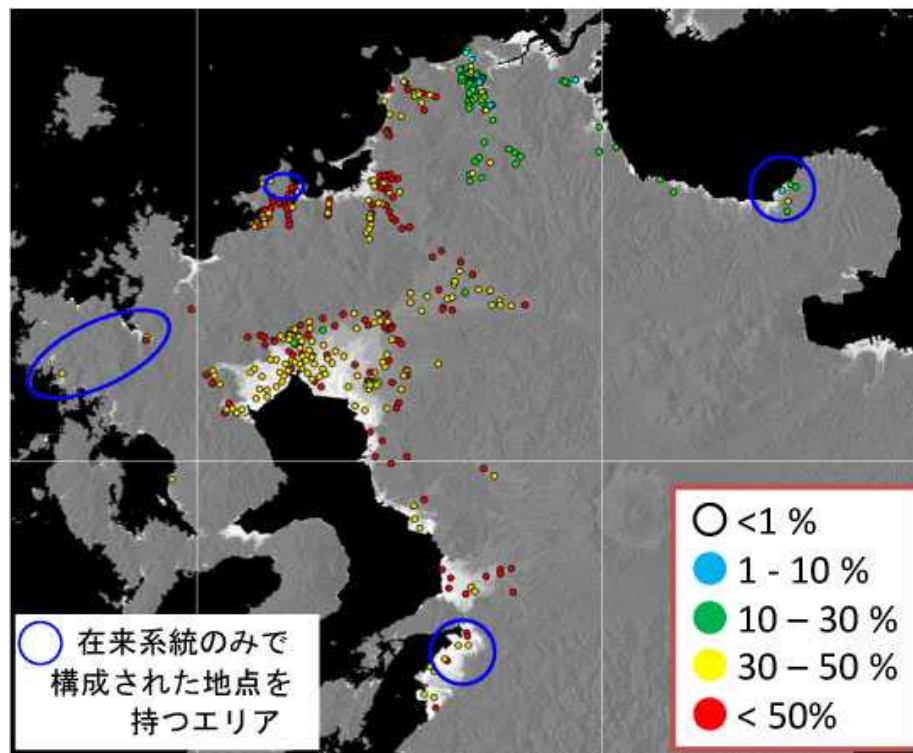
$$\text{東日本系統：侵入頻度} = 0.0852 + 0.6469 \times \text{ナイルティラピアの在}$$

大陸系統は外来魚類の種数を正の説明変数として選択したことから、この系統のモツゴは不特定多数の外来魚類の移殖に伴って侵入した可能性がある。ただし、ゲンゴロウブナの在・不在と外来魚類の種数は正の相関関係にあることから、ゲンゴロウブナ移殖との関係性も視野に入れておく必要があることを付記しておく。西日本系統はモツゴの環境選好度を負の説明変数として選択しており、九州の在来個体群との間にもしかしたら競争関係が存在するのかもしれない。東日本系統については、ナイルティラピアの在に対して正の関係性を示したことから、ナイルティラピアの移殖に伴って侵入した可能性が高い。沖縄県内においてナイルティラピア、モツゴの定着が確認されており、本研究結果から、沖縄県内のモツゴは東日本系統が定着している可能性が想定される。今後、遺伝的な確認が必要である。

分布データベースの約1000地点のうち、実際にモツゴが分布する地点、モツゴの分布予測モデルで出現と予測された地点について、それぞれの外来系統の侵入頻度を算出し、それを積算してマップに示した(図(2)-12)。遺伝子かく乱度が30%を越える地点が数多く認められ、その中にモツゴの遺伝子かく乱が侵攻せず、在来系統のみで構成される全地点が含まれた。つまり、この侵攻予測結果は、現在、在来系統のみで構成される全地点について今後、外来遺伝子が侵入し、かく乱が侵攻する可能性が高いと判断している。これらの地域では、外来生物が移殖されないように監視を強化し、また、状況に応じてモツゴの在来系統の保存を行うべきである。また、遠賀川水系の下流域において予測かく乱頻度が10%を下回る地点が見られるが、これらの大半はコンクリートで固められた農業用水路であり、実際にモツゴが分布しているケースはほとんどないことを付記しておく。分布予測モデルが数値地図情報に基づいているため、護岸形状等の微環境構造の影響を反映していないためである。これらの結果から、九州のモツゴの生息域の大半について、外来系統の遺伝子かく乱の侵攻が起こる可能性があるかと判断できる。なお、予測値と観測値は正の相関性を示しており、予測は妥当であると判断する(表(2)-8)。

表(2)-8 GLMMによるモツゴの遺伝子かく乱度と実際の観測結果.

系統	スピアマンの順位相関解析		直線回帰(ピアソン)	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
大陸系統モデル	0.433	<0.01	0.438	<0.01
西日本系統モデル	0.313	<0.05	0.218	<0.01
東日本系統モデル	0.450	<0.01	0.227	<0.01
③モデルの合算	0.526	<0.01	0.330	<0.01

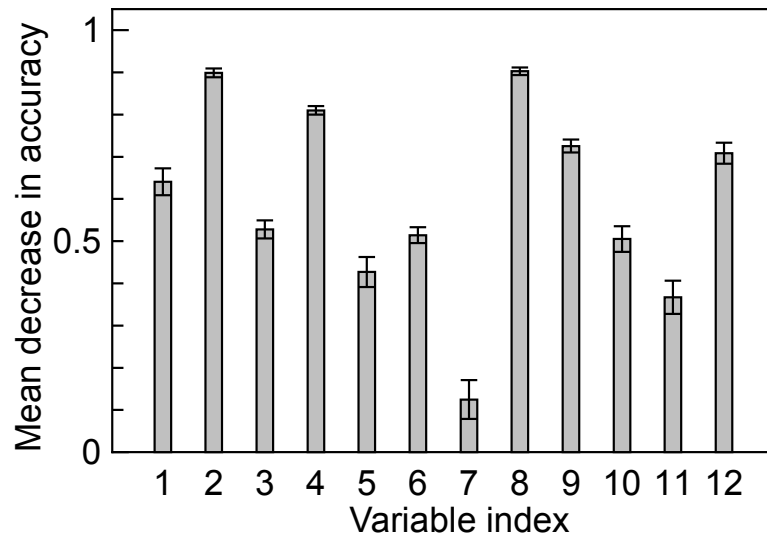


図(2)-12 九州北部のモツゴにおける外来系統遺伝子侵入予測結果.

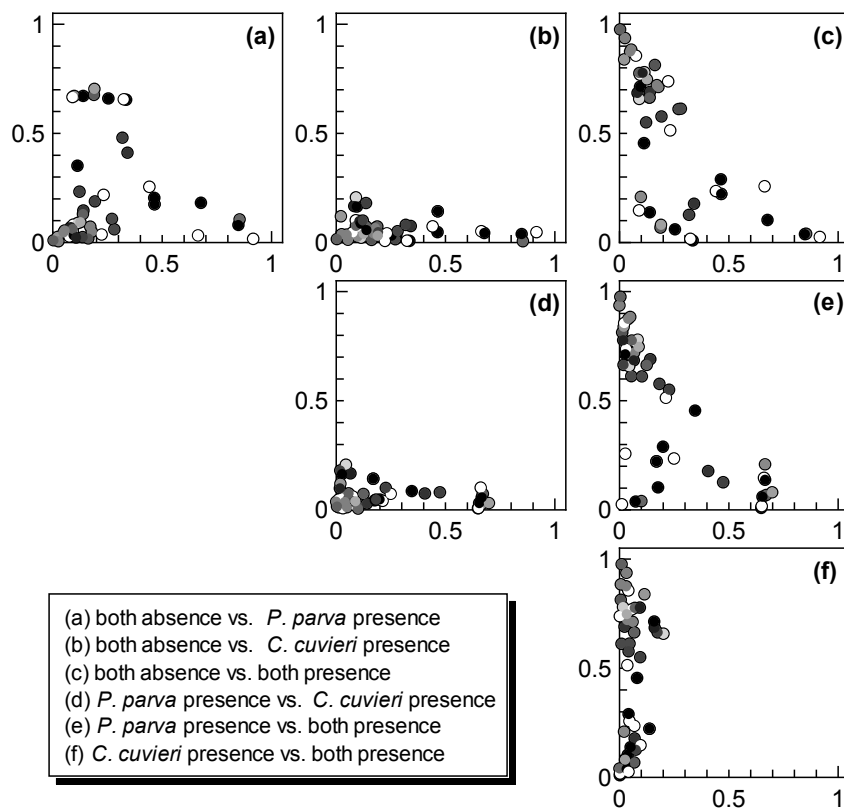
2) RFによるモツゴの遺伝子かく乱モデル構築

ケース2は、モツゴとゲンゴロウブナとの共存関係に着目したRF解析であり、モツゴの在・不在、ゲンゴロウブナの在・不在の全組み合わせ（4パターン）について、数値地図から得られる情報を説明変数としてモデル化した後、各パターンへの適合度を説明変数として、再度、RF解析を行うプロセスである。まず、モツゴの在・不在、ゲンゴロウブナの在・不在の全組み合わせについてRFによる生息分布モデルを構築したところ、1064地点の分布パターンを完璧に再現できた（正答率100%）。その際、RF解析において、標高、河床勾配、水路網指数、水田面積、森林・果樹地点数の5変数が重要であることが示唆された（図(2)-13）。これらの変数は、全てモツゴの生息分布の予測にも重要な変数であることが先述の解析でも確認されている。続いて、モデルによって出力された①モツゴ・ゲンゴロウブナとも不在、②モツゴのみ在、③ゲンゴロウブナのみ在、④モツゴ・ゲンゴロウブナとも在の4パターンのそれぞれへの適合度を説明変数、モツゴの遺伝子かく乱度（全外来系統による遺伝子かく乱度）を目的変数として、RF解析による定量評価を試みた。図(2)-14のように、各パターンごとの相関関係とそれに付随する遺伝子かく乱度には、定量的にも定性的にも関係性が見られない。しかしながら、4パターンへの適合度のみによってRF解析を行った結果、予測された遺伝子かく乱度と実際の遺伝子かく乱度との関係性に正の回帰性が観察された（図(2)-15）。また、②と④がモツゴの遺伝子かく乱度に関するRFモデルで重要な変数として評価された。元々、外来モツゴはゲンゴロウブナに付随して移殖された可能性が指摘されていることから、④が重要な変数として評価されたものと考えられる。また、ゲンゴロウブナは不在、モツゴは在である②についても重要な変数として評価されたが、これはゲンゴロウブナ以外の外来モツゴ分布拡散要因が存在する可能性を強く支持している。そして、先のGLMMの東日本

系統の予測モデルでナイルティラピアが選択されたことから、一部の外来モツゴはゲンゴロウブナ以外の外来魚類に付随して分布を拡大していることが示唆された。以上から、他の外来魚類の在・不在情報を付加することにより、RF解析によるモツゴの遺伝子かく乱度の予測精度を向上できることが期待できる。

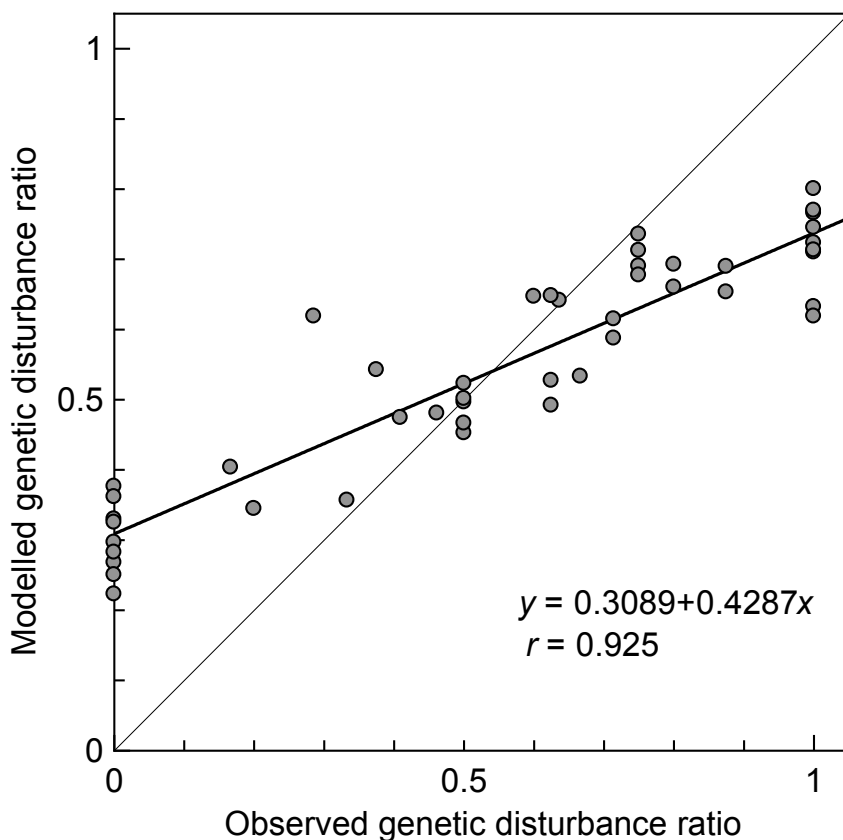


図(2)-13 RFモデルによるモツゴとゲンゴロウブナの共存関係の解析における変数の重要性：
 (1)河川長；(2)標高；(3)河川or水路；(4)河床勾配；(5)流路幅；(6)河川-河川連結数；(7)河川-水路連結数；(8)水路網指数；(9)水田面積；(10)宅地面積；(11)畑地地点数；(12)森林・果樹地点数。



図(2)-14 RFモデルによるモツゴとゲンゴロウブナの共存パターンへの適合度の相関性とモツゴ

の遺伝子かく乱度の関係（記号の色が白に近いほど遺伝子かく乱を受けていることを示す）



図(2)-15 RFモデルによるモツゴの遺伝子かく乱度と実際の観測結果。

③3) バラタナゴに関しては、タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴの分布モデルを構築し、それぞれの環境選好度と移殖に関する各種情報を使って遺伝子かく乱予測を行うプロセスである。

まず、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの分布予測モデルを構築したところ、ニッポンバラタナゴのベストモデルには正の変数として河川長、水路の連結数、水田面積、都市用地面積が、負の変数として標高が選択された。このベストモデルについて、ROC曲線を描いてAUCを算出したところ、その値は0.872であったことから、このモデルは極めて高い精度でニッポンバラタナゴの出現を予測できることが確認できた（表(2)-9）。同様に、タイリクバラタナゴについても解析したところ、そのベストモデルには正の変数として水田面積が、負の変数として河川長、標高、川幅が選択された。AUCは0.915であり、さらに高い精度で分布予測が行えることが確認された（表(2)-9）。ここで着目すべき点は、近縁亜種である両種の環境の選好性に違いがみられた点にあり、ニッポンバラタナゴは大水系を好むのに対し、タイリクバラタナゴは小水系を好む点が大きな相違であった。なお、ニッポンバラタナゴは絶滅危惧IA類に指定される希少種、タイリクバラタナゴは外来生物法下の要注外来生物であり、その分布を高い精度で予測できるモデルを構築できた点は、希少種の保全や外来種の監視に極めて有用な知見を与えるものであることを付記しておく。

表(2)-9. ニッポンバラタナゴ、タイリクバラタナゴの分布予測におけるAICが最も低い値を示したモデルにおける説明変数の一覧

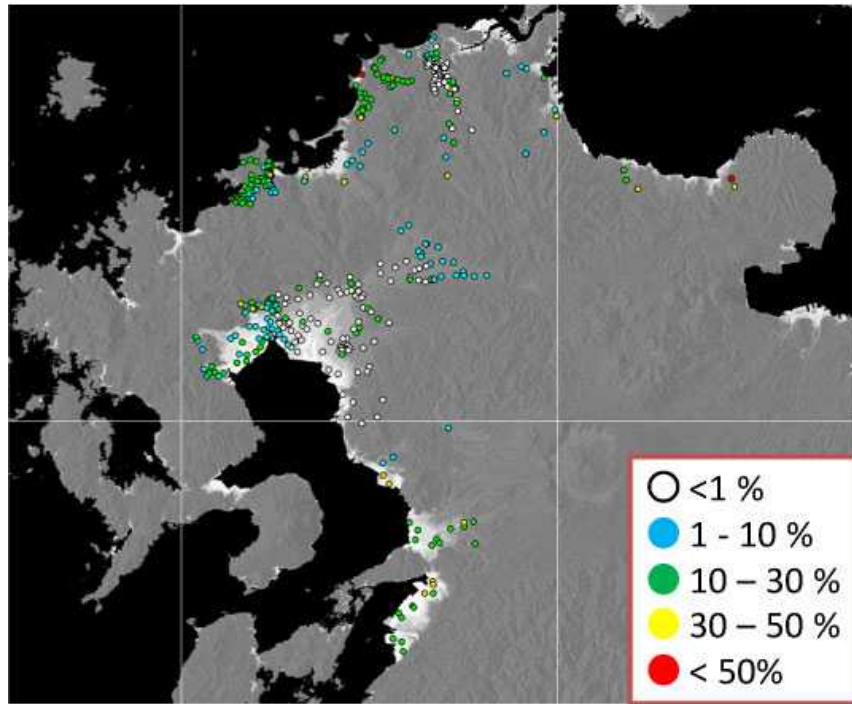
変数	ニッポンバラタナゴ		タイリクバラタナゴ	
	係数	標準誤差	係数	標準誤差
河川長	1.086	0.194	-1.575	0.303
標高	-1.493	0.189	-1.629	0.310
川幅			-0.734	0.381
河川・水路連結数	0.331	0.161		
水田面積	2.359	0.685	3.593	1.236
都市用地面積	1.428	0.714		
川までの最短距離				
切片	-5.478	1.300	0.819	1.814
ランダム切片				
北西部:北東部	0.0805:-0.0793		0.904:-0.828	
AUC	0.871		0.901	

次に、公表済みデータから得られたタイリクバラタナゴによる遺伝子かく乱度を目的変数としたGLMMを実施した。解析の結果、次のベストモデルが選択された。

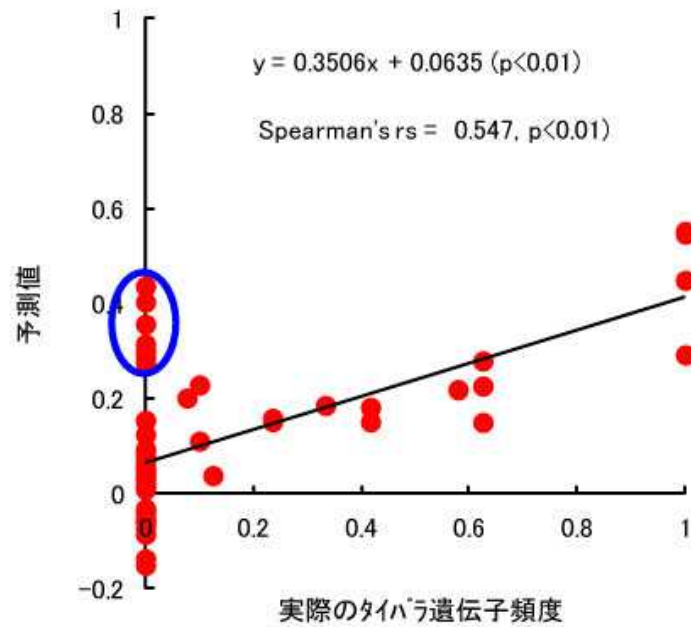
$$\begin{aligned} \text{侵入頻度} = & -0.398 + 0.346 \times \text{タイリクバラタナゴ選好度} \\ & + 0.168 \times \text{ニッポンバラタナゴ分布重心までの距離} \\ & + 0.275 \times \text{オオクチバスの在} + \text{ranef (ランダム切片)} \end{aligned}$$

この結果は、九州北部地域においてタイリクバラタナゴは、同種の環境選好度の高い場所で、ニッポンバラタナゴの分布の縁辺部から侵入することを示している。実際に、遺伝子かく乱予測をマップに示してみたところ、遠賀川・筑後川下流域とその周辺の低平地に遺伝子かく乱の侵攻度が小さい値を示す地点が集中した（図(2)-16）。本州地方で壊滅的に交雑が侵攻した両種であるが（川那部ほか 2005）、九州地方では有明海沿岸域の低平地などに比較的広い純系ニッポンバラタナゴの生息地が残る（三宅ほか 2008）。九州の場合、個体数密度の高さと生息環境の状態の良さによって、ニッポンバラタナゴの遺伝的多様性が高いことが知られている（Kawamura et al. 2005）。九州の場合、分布の中心地域でのその個体数密度と遺伝的多様性が高いため、分布の縁辺部からタイリクバラタナゴが侵入しているのかもしれない。オオクチバスの在との関係性についてはタイリクバラタナゴとオオクチバスのセット放流の可能性を示しているが、これまでそういった知見はなく、現状はその理由について明らかではない。オオクチバスの在／不在と相関性を示す別の魚種との可能性も含めて検討の余地を残す。

本モデルによって予測されたタイリクバラタナゴ遺伝子かく乱度と実際の遺伝子かく乱度との関係性を調べたところ、正の回帰性を示し（図(2)-17）、モデルの正当性が支持された。そして、実測には遺伝子かく乱されていないにもかかわらず、予測値で高い値を示した地点が数地点存在した。これらの地点は、タイリクバラタナゴ遺伝子侵攻に対するポテンシャルを持つ場所であり、タイリクバラタナゴ侵入を防ぐために、厳重に監視しておく必要がある。



図(2)-16 九州北部のタイリクバラタナゴによるニッポンバラタナゴの遺伝子かく乱予測結果.



図(2)-17 GLMMによるタイリクバラタナゴ遺伝子かく乱度と実際の観測結果. 青枠はタイリクバラタナゴは観測されていないが、かく乱度の予測値が高いプロット.

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

目に見えない形で侵攻する同一種の別個体群による遺伝子かく乱に関して、予測モデルを構築できたことは極めて画期的である。遺伝子かく乱の問題は近年注目され始めたばかりの事象で、生物多様性を損なわせる要因として問題提起されることは多いが、その監視技術まで示した事例は皆無である。この侵攻予測モデルは、遺伝子かく乱が数値地図情報と移殖に関連する幾つかの情報の組み合わせによって評価でき、またモデル化することができることを示した点で、この問題解決に向けた技術を飛躍的に前進させたと言える。また、環境省RDBの絶滅危惧IA類ニッポンバラタナゴと外来生物法要注意生物タイリクバラタナゴの交雑に関して、予測モデルを構築できた点も、その監視技術を飛躍的に向上させたと言える。その他、予備解析の段階で構築した各種の出現モデルは、各魚種の保全策の提言や外来魚類としての定着の可能性の予測などに応用可能である。本研究で構築した淡水魚類分布データベースは、生物多様性データベースとして生態学、環境学、河川工学など、多方面に活用可能であり、現在、実際に環境研究総合推進費・平成23年度新規採択課題S-9の中でも活用されている。

(2) 環境政策への貢献

国内学会等での発表、シンポジウムの主催、学術論文ほかでの成果の公表、新聞報道を通して、国内移殖に関する種レベルから遺伝子レベルまでの多様な問題を、主として九州を事例とした科学的知見に基づいて提示し、成果の普及に努めた。現在のところ、環境政策へ直接的に反映されていないが、環境省RDBの絶滅危惧IA類ニッポンバラタナゴが外来生物法要注意外来生物タイリクバラタナゴにどの程度遺伝子浸透されるかについて予測マップを示し、そのリスクを視覚的に示した結果は、今後の国レベルでの法施策に反映されるものと期待する。また、モツゴの地域レベルでの遺伝子かく乱侵攻予測についても、保全すべきエリア等の選定が容易に可能となる成果であり、現在、各地方行政で進められる生物多様性地域戦略等に反映されるものと考えている。

6. 国際共同研究等の状況

カウンターパート：ベルギー王国ゲント大学バイオサイエンス工学部 教授 Bernard De Baets
博士研究員 Willem Waegeman
ベルギー王国Research Institute for Nature and Forest (INBO)
博士研究員 Ans M. Mouton
イギリス・ボーンマス大学保全生態学センター 教授 Gordon H. Copp

本研究の中核をなす対象魚種の出現予測モデルの開発および遺伝子かく乱予測モデルに関する数理的検討について協力している。平成22年3月31日から複数回にわたり、共同研究者福田が同大学に訪問研究員として滞在し、特に人工知能や機械学習などの先進的技術の生態モデリング分野への応用に関する共同研究を展開している。ファジィシステムを中心とする人工知能や機械学習などの先進的技術の生態モデリング分野への応用に関する共同研究を展開している。以上の国際共同研究の結果として、複数の共著論文や学会発表として学術的な成果が得られている。本課題の対象魚種モツゴは、ヨーロッパにおいて侵略的な外来生物として問題視されていることから、本課題の成果および将来的な研究活動は国際的にも大きな意義を有する。また、FISKを用いた魚

類の侵略性評価に関連して、FISK開発者のCopp博士の呼びかけにより、国際的なデータセットに対するキャリブレーションを実施中であり、本研究で得られたデータを提供し、共同研究者（鬼倉）として協力している。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

< 論文（査読あり） >

- 1) S. Fukuda, N. Onikura, B. De Baets, W. Waegeman, A.M. Mouton, J. Nakajima, T. Mukai :
Proceeding of the NaBIC2010, 281-286. (2010)
"A Genetic Takagi-Sugeno Fuzzy System for Fish Habitat Preference Modelling"
- 2) 大畑剛史, 乾 隆帝, 井原高志, 中島 淳, 鬼倉徳雄: 日本生物地理学会会報, 65, 21-28 (2010)
「遠賀川水系で確認された国内外来魚ワタカ *Ischikauia steenackeri* の産卵場」
- 3) M. Sato, Y. Kawaguchi, J. Nakajima, T. Mukai, Y. Shimatani, N. Onikura: Landscape and Ecological Engineering, 6, 99-108 (2010)
"A review of the research on introduced freshwater fishes: new perspectives, the need for research, and management implications"
- 4) M. Sato, Y. Kawaguchi, H. Yamanaka, T. Okumura, J. Nakajima, Y. Mitani, Y. Shimatani, T. Mukai, N. Onikura : Biological Invasions, 12, 3677-3686 (2010)
"Predicting the spatial distribution of the invasive piscivorous chub (*Opsariichthys uncirostris uncirostris*) in the irrigation ditches of Kyushu, Japan: a tool for the risk management of biological invasions"
- 5) S. Fukuda, B. De Baests, A.M. Mouton, W. Waegeman, J. Nakajima, T. Mukai, K. Hiramatsu, N. Onikura: Ecological Modelling, 222, 1401-1413 (2011)
"Effect of model formulation on the optimization of a genetic Takagi-Sugeno fuzzy system for fish habitat suitability evaluation.
- 6) S. Fukuda, B. De Baets, W. Waegeman, A.M. Mouton, J. Nakajima, T. Mukai, N. Onikura: Proceeding of the IEEE SSCI 2011 GEFS, 81-86 (2011)
"A Discussion on the accuracy-complexity relationship in modelling fish habitat preference using a genetic Takagi-Sugeno fuzzy system."
- 7) 井原高志, 乾 隆帝, 大畑剛史, 鬼倉徳雄: 生物地理学会会報, 66, 41-48 (2011)
「ダム湖流入河川における国内外来魚ハス *Opsariichthys uncirostris uncirostris* の産卵環境」
- 8) N. Onikura, J. Nakajima, R. Inui, H. Mizutani, M. Kobayakawa, S. Fukuda, T. Mukai: Ichthyological Research, 58, 382-387 (2011)
"Evaluating the potential of invasion by non-native freshwater fishes in northern Kyushu Island, Japan, using the Fish Invasiveness Scoring Kit"
- 9) N. Onikura, J. Nakajima, T. Miyake, K. Kawamura, S. Fukuda: Ichthyological Research, 59, 124-133 (2012)
"Predicting the distribution of seven bitterling species inhabiting northern Kyushu

Island, Japan.”

- 10) 大畑剛史, 乾 隆帝, 中島 淳, 大浦晴彦, 鬼倉徳雄: 魚類学雑誌, **59**, 1-10 (2012).
「熊本県緑川水系におけるイチモンジタナゴ *Acheilognathus cyanostigma* の分布パターン」

<その他誌上発表 (査読なし) >

- 1) 鬼倉徳雄, 中島 淳, 江口勝久, 中谷裕也, 兼頭 淳, 乾 隆帝, 川岸基能, 富山雄太: 九大農学芸雑誌, **65**, 47-55 (2010)
「福岡県内の溜池における外来魚の池干しによる駆除」
- 2) 鬼倉徳雄: かわ, **207**, 9-10 (2011)
「未来の生物多様性を考える」
- 3) 鬼倉徳雄, 乾 隆帝: 環境管理, **40**, 20-28 (2011)
「河川生態系保全のための淡水魚類の分布予測の試み」

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 鬼倉徳雄, 中島 淳, 杉本芳子, 河野宏美, 兼頭 淳: 日本魚類学会 (2009)
「九州北部におけるモツゴの分布と生活史」
- 2) 早川明里, 高村健二, 中島 淳, 河口洋一, 鬼倉徳雄, 向井貴彦: 日本魚類学会 (2009)
「日本列島におけるオイカワの系統地理」
- 3) 大畑剛史, 乾 隆帝, 井原高志, 中島 淳, 鬼倉徳雄: 日本魚類学会 (2009)
「北部九州に移入されたワタカの分布と産卵場所」
- 4) 向井貴彦, 小西 繭, 渡辺勝敏, 武内陽佑, 中島 淳, 河口洋一, 鬼倉徳雄, 高田啓介: 日本魚類学会 (2009)
「日本産モツゴにおけるmtDNAの地理的変異」
- 5) 鬼倉徳雄, 中島 淳, 佐藤真弓, 河口洋一, 向井貴彦: 日本魚類学会市民公開シンポジウム (2009)
「有明海沿岸域のクリーク地帯における国内外来魚の分布パターン」 (基調講演)
- 6) 鬼倉徳雄, 中島 淳, 向井貴彦, 福田信二: 日本魚類学会年会 (2010)
「九州北部の農業用水路にみられる純淡水魚類相」
- 7) 大畑剛史, 大浦晴彦, 乾 隆帝, 中島 淳, 鬼倉徳雄: 日本魚類学会年会 (2010)
「緑川水系におけるイチモンジタナゴの分布パターン」
- 8) 井原高志, 乾 隆帝, 大畑剛史, 鬼倉徳雄: 日本魚類学会年会 (2010)
「九州のダムに生息するハスの出現パターンと産卵環境」
- 9) 井原高志, 乾 隆帝, 大畑剛史, 鬼倉徳雄: 水産増殖学会年会 (2010)
「九州のダムに生息するハスの出現パターンと好適産卵環境」
- 10) 鬼倉徳雄, 中島 淳: 応用生態工学会九州支部会 (2010)
「純淡水魚類の流程分布とセグメント区分—九大水実・河川魚類相DBを使った分布解析事例—」
- 11) 大畑 剛史, 井原高志, 乾 隆帝, 大浦晴彦, 中島 淳, 鬼倉徳雄: 応用生態工学会九州支部会 (2010)
「希少種・外来種の二面性をもつ魚類「ワタカ」の研究」

- 12) 福田信二, Bernard De Baets, 鬼倉徳雄, 中島 淳, 向井貴彦: 応用生態工学会九州支部会 (2010)
「生息環境評価におけるモデルの複雑性と再現性に関する一考察—ファジィ生息場選好性モデルを例にして—」
- 13) 福田 信二, Bernard De Baets, 鬼倉 徳雄, 中島 淳, 向井 貴彦: 農業農村工学会九州支部講演会 (2010)
「遺伝的ファジィシステムを援用したモツゴの生息環境情報の抽出」
- 14) 福田 信二, Bernard De Baets, 鬼倉 徳雄, 中島 淳, 向井 貴彦: 応用生態工学会 (2010)
「ファジィ生息場選好性モデルを用いた九州北西部におけるモツゴの生息環境評価」
- 15) S. Fukuda, N. Onikura, B. De Baets, W. Waegeman, A. M. Mouton, J. Nakajima, T. Mukai: Second World Congress on Nature and Biologically Inspired Computing (NaBIC2010), Kitakyushu, Japan, 2010
"A Genetic Takagi-Sugeno Fuzzy System for Fish Habitat Preference Modelling"
- 16) S. Fukuda, B. De Best, Y. Nomiya: International Workshop on Advanced Computational Intelligence and Intelligent Informatics, Suzhou, China, 2011
"Comparing predictive accuracy of a genetic Takagi-Sugeno fuzzy model and random forests for fish habitat modelling."
- 17) 石橋俊一郎, 福田信二, 平松和昭, 原田昌佳: 農業農村工学会九州支部会 (2011)
「メダカの選好強度パターンのパラメータ最適化における不確実性の評価」
- 18) 福田信二: 農業農村工学会九州支部会 (2011)
「ファジィニューラルネットワークモデルによるメダカの生息場選好性の評価」
- 19) 福田信二, 清田真帆, 増田慎也, 石橋俊一郎, 平松和昭, 原田昌佳: 農業農村工学会大会 (2011)
「メダカの生息場選好性の日周性に関する基礎的実験」
- 20) 増田慎也, 福田信二, 平松和昭, 原田昌佳: 農業農村工学会大会 (2011)
「HSIモデルを用いたメダカの生息場選好性評価における多変量モデルおよび単変量モデルの比較」
- 21) 福田信二, 鬼倉徳雄, 中島 淳, 向井貴彦: 応用生態工学会 (2011)
「九州北部におけるモツゴの生息場選好性モデルの検証と空間汎化能力の評価」
- 22) 井原高志, 乾 隆帝, 大畑剛史, 鬼倉徳雄: 応用生態工学会 (2011)
「ダム湖における国内外来魚ハスの出現予測—公開情報による出現予測と実調査データでの補正—」
- 23) S. Fukuda: 2011 IFSA World Congress and the 2011 AFSS, Surabaya, Indonesia, 2011
"Application of a fuzzy neural network model to evaluate habitat preference of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)."
- 24) S. Fukuda: 2011 IEEE International Conference on Fuzzy Systems, Taipei, Taiwan, 2011
"Assessing the effects of zero abundance data on habitat preference modelling using a genetic Takagi-Sugeno fuzzy model."
- 25) S. Fukuda, W. Waegeman, A. Mouton, B. De Baets: EUROFUSE 2011, Douro, Portugal, 2011
"Modelling fish habitat preference with a genetic algorithm-optimized Takagi-Sugeno model"

based on pairwise comparisons”

- 26) S. Fukuda, W. Waegeman, A.M. Mouton, B. De Baets: European Conference on Ecological Modelling, Riva del Garda, Italia, 2011

”Modelling spawning habitat for European grayling (*Thymallus thymallus* L.) using a support vector machine and a genetic Takagi-Sugeno fuzzy model.”

- 27) S. Fukuda, B. De Baets, W. Waegeman, A.M. Mouton, J. Nakajima, T. Mukai, N. Onikura: IEEE SSCI 2011 GEFS, Paris, France, 2011

”A Discussion on the accuracy-complexity relationship in modelling fish habitat preference using a genetic Takagi-Sugeno fuzzy system.”

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

- 1) 市民公開シンポジウム「国内外来魚問題の現状と課題」（2009）

日本魚類学会自然保護委員会主催

（コンビナー：向井貴彦，淀 大我，河村功一，鬼倉徳雄，瀬能 宏）

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない

8. 引用文献

Akaike H: A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans Automat Control* **19**: 716-723 (1974)

Akobeng, AK: Understanding diagnostic tests 3: receiver operating characteristic curves. *Acta Paediatrica* **96**: 644-647 (2007)

Asai T, Senou H, Hosoya K: *Oryzias sakaizumii*, a new ricefish from northern Japan (Teleostei: Adrianichthyidae). *Ichthyol Explor Freshwaters* **22**: 289-299 (2011)

Bolker B M, Brooks ME, Clark CJ, Geange SW, Poulsen JR, Stevens MHH White JSS: Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol Evol* **24**: 127-135 (2009)

Breiman L: Random forests. *Mach Learn*, **45**, 5-32 (2001)

Copp GH, Garthwaite R, Gozlan RE: Risk identification and assessment of non-native freshwater fishes: Concepts and perspectives on protocols for the UK. Cefas Science Technical Report. Cefes, Lowestoft (2005) (<http://www.cefas.co.uk/publications/techrep/tech129.pdf>.)

Copp GH, Garthwaite R, Gozlan RE: Risk identification and assessment of non-native freshwater fishes: A summary of concepts and perspectives on protocols for the UK. *J Appl Ichthyol* **21**: 371-373 (2005)

- Copp GH, Vilizzi L, Mumford J, Fenwick GV, Godard MJ, Gozlan RE : Calibration of FISK, an invasiveness screening tool for non-native freshwater fishes. *Risk Analysis* **29**:457-467 (2009)
- Cordón O, Herrera F, Hoffmann F, Magdalena L: Genetic Fuzzy Systems. Evolutionary Tuning and Learning of Fuzzy Knowledge Bases. World Scientific, Singapore (2001)
- Fukuda S, Hiramatsu K: Prediction ability and sensitivity of artificial intelligence-based habitat preference models for predicting spatial distribution of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Ecol Model* **215**: 301-313 (2008)
- Herreira F: Genetic fuzzy systems: taxonomy, current research trends and prospects. *Evolutionary Intelligence* **1**: 27-46 (2008)
- Hill MO: A FORTRAN program for arranging multivariate data in an ordered two-way table by classification of the individuals and attributes. Cornell Univ press, Ithaca, New York (1979)
- 堀川まりな, 中島淳, 向井貴彦 : 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 (2007)
- Katano O, Nakamura T, Yamamoto S : Prey fish selection by Far Eastern catfish *Silurus asotus* and largemouth bass *Micropterus salmoides*. *Fish Sci* **71**: 862-868 (2005)
- Kawamura K: Low genetic variation and inbreeding depression in small isolated populations of the Japanese rosy bitterling, *Rhodeus ocellatus kurumeus*. *Zool Sci* **22**: 517-524 (2005)
- 川那部浩哉, 水野信彦, 細谷和海 : 改訂版 日本の淡水魚. 山と溪谷社, 東京 (2005)
- Maezono Y, Miyashita T: Community-level impacts induced by introduced largemouth bass and bluegill in farm ponds in Japan. *Biol Conser* **109**: 111-121 (2003)
- 松沢陽士, 瀬能宏 : 日本の外来魚ガイド. 文一出版, 東京 (2008)
- McCullagh P, Nelder J: Generalized linear models, 2nd edn. Chapman & Hall, London (1989)
- 向井貴彦 : 魚類の種分化プロセスにおける交雑と遺伝子浸透. *魚類学雑誌* **48**: 1-18 (2001)
- 三宅琢也, 中島淳, 鬼倉徳雄, 古丸明, 河村功一:九州地方におけるニッポンバラタナゴの分布の現状. *日水誌* **74**: 1060-1067 (2008)
- Nakabo T: Fishes of Japan with pictorial keys to the species, English edition. Tokai University Press, Tokyo (2002)
- 中島淳, 鬼倉徳雄, 兼頭淳, 乾隆帝, 栗田喜久, 中谷祐也, 向井貴彦, 河口洋一 : 九州北部における外来魚類の分布状況. *日本生物地理学会報* **63**: 177-188 (2008)
- 鬼倉徳雄, 中島淳, 江口勝久, 三宅琢也, 河村功一, 栗田喜久, 西田高志, 乾隆帝, 向井貴彦, 河口洋一 : 九州北西部, 有明海・八代海沿岸域のクリークにおける移入魚類の分布の現状. *水環境学会誌* **31**: 395-401 (2008)
- R Development Core Team : R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical Computing, Vienna, Austria (2008) (<http://www.R-project.org>)
- Tricarico E, Vilizzi L, Gherardi F, Copp GH : Calibration of FI-ISK, an invasiveness screening

- tool for nonnative freshwater invertebrates. *Risk Analysis* **30**:285-292 (2010)
- 渡辺勝敏, 高橋 洋: 淡水魚類地理の自然史「多様性と文化をめぐって」. 北海道大学出版会, 札幌市 (2010)
- 渡辺勝敏, 高橋 洋, 北村晃寿, 横山良太, 北川忠生, 武島弘彦, 佐藤俊平, 山本祥一郎, 竹花佑介, 向井貴彦, 大原健一, 井口恵一: 日本産淡水魚類の分布域形成史: 系統地理的アプローチとその展望. *魚類学雑誌* **53**: 1-38 (2006)
- 淀 大我, 木村清志: 三重県青蓮寺湖と滋賀県西の湖におけるオオクチバスの食性. *日本水産学会誌* **64**: 26-38 (1998)

Study on Genetic Disturbance of Freshwater Fish Species: Genetic Invasions to Native Population by Non-native Population and Predicting the Invasions

Principal Investigator: Norio ONIKURA

Institution: Fishery Research Laboratory, Kyushu University

Tsuyazaki 4-46-24, Fukutsu, Fukuoka, 811-3304 Japan

Tel: +81-940-52-0163

Fax: +81-940-52-0190

E-mail: onikura@agr.kyushu-u.ac.jp

Cooperated by: Gifu University

[Abstract]

Key Words: Domestic alien, Genetic disturbance, MtDNA, Distribution pattern

In Japan, genetic disturbance by non-native population have attracted attention as negative effects to native fish population in these days. It needs the development of monitoring methods on genetic invasions. The purpose of this project is to develop the monitoring methods on genetic disturbance of native population by non-native population.

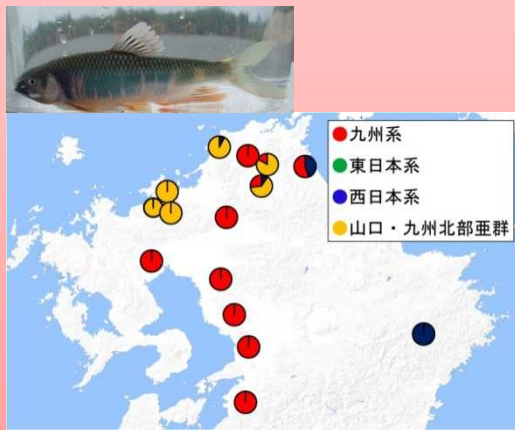
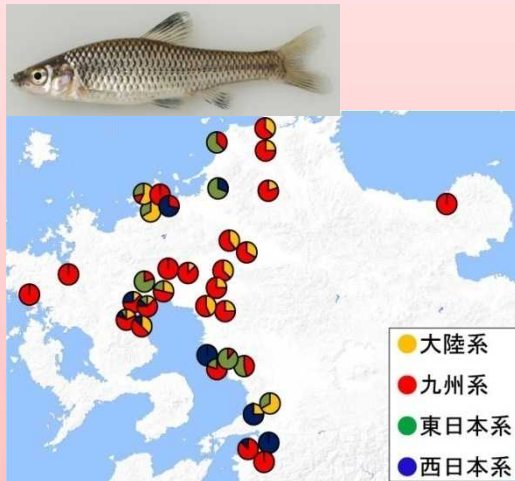
Molecular analyses of mtDNA were conducted using several freshwater fishes captured from Lake Biwa, Kyushu Island, and other regions, presence/absence of nonnative populations were confirmed in each species, and frequency of non-native populations in each species was quantified as the value for genetic disturbance. In addition, the potential invasiveness of 28 freshwater fishes in northern Kyushu Island, Japan, was evaluated using the Fish Invasiveness Scoring Kit (FISK), and the species with high value for genetic disturbance and with invasiveness on FISK were selected as the targets for model development on predicting genetic invasion.

The molecular analyses of mtDNA determined genetic disturbances of *Zacco platypus*, *Pseudorasbora parva*, and *Biwia zezera* inhabiting Kyushu Island, and these results indicated that native *Z. platypus* and *B. zezera* populations were affected by the genetic invasions by non-native population inhabiting Lake Biwa and native *P. parva* population was affected by the invasions by non-native populations inhabiting mainland China and Kanto region in Japan. In particular, *Z. platypus* and *P. parva* indicated high values for genetic disturbances. In case of invasiveness evaluation by FISK, *P. parva* indicated high FISK score, whereas *Z. platypus* evaluated as non-invasiveness fish with low FISK score. In other species, *Rhodeus ocellatus ocellatus* with hybridization between native *R. ocellatus kurumeus* indicated high FISK score. Therefore, we selected *P. parva* and *R. ocellatus ocellatus* as the targets for model development on predicting genetic invasion.

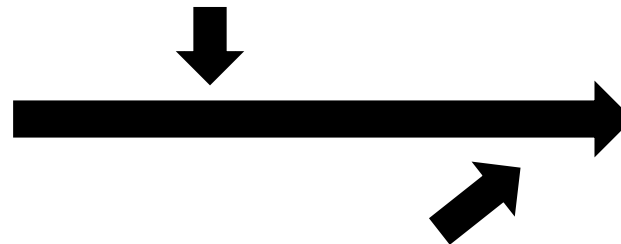
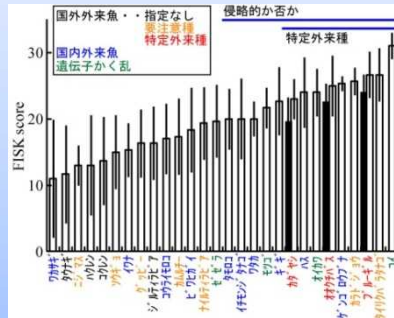
In this project, two kinds of genetic invasion prediction models were developed: GLMM-based and RF-based models. The both models evaluated the genetic disturbance on the basis of habitat preference of target species (*P. parva* or *R. ocellatus ocellatus*) and its related non-native species, which indicated possible processes of genetic invasions by the non-native population of target species. The two approaches successfully estimated the risk of genetic invasion of non-native population. The results were projected on the map, from which the hotspots for conservation of native populations can be visually identified. Building on this project, further study should be needed for a better management and strict monitoring against the genetic invasions by non-native fish populations.

国内移殖による淡水魚類の遺伝子かく乱の現状把握 および 遺伝子かく乱侵攻予測モデルの構築

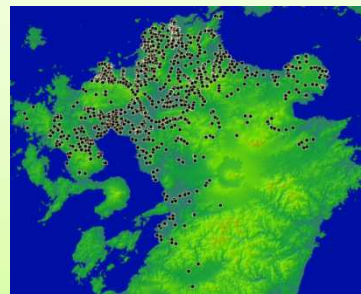
現状把握



リスク評価



データベース構築



予測モデル構築 (対策技術構築)

