

長野県におけるホトケドジョウの分布・生息環境 およびミトコンドリア DNA ハプロタイプ

北野 聡¹・山形哲也²・柳生将之³・
小林 尚⁴・上原武則⁵・市川 寛⁶・美馬純一⁷・小林建介⁸

絶滅危惧種ホトケドジョウの県内における生息状況を明らかにする目的で、各地の生息地の現地調査を行い、あわせて採集標本を用いてミトコンドリア DNA ハプロタイプを分析した。本種の生息環境は小規模な湧水のある河川敷や水田周辺の素堀や自然の細流がほとんどであり、夏季の水温はおおむね 10～20℃の範囲であった。ミトコンドリア DNA の Cytochrome *b* 領域 573bp の塩基配列分析によって、既報の南関東型に相当する 2 種類のハプロタイプが確認された。

キーワード：ホトケドジョウ、生息環境、ミトコンドリア DNA、ハプロタイプ

1. はじめに

ホトケドジョウ *Lefua echigonia* は本州の関西・近畿地域から東北にかけての平野部や低山の河川や湧水域に生息する小型のドジョウ科魚類の一種であるが、日本各地で生息地が消失し、環境省のレッドデータブック¹⁾では絶滅危惧 IB 類とされている。

県内ではかつて東北信地域や中信地域に広く分布し、「オカメ」、「オカメドジョウ」、「オタンドジョウ」の地方名で親しまれたが近年では生息地が急減し²⁾、長野県レッドデータブック³⁾でも絶滅危惧 IB 類とされている。ホトケドジョウは、伏流水のある河川敷の浅い水たまりや、湧水があって水草が生える小川や水田の側溝など、きれいな水がゆるやかに流れる砂泥底にすみ⁴⁾・⁵⁾、水辺環境の自然度を計るバロメータと言われている²⁾。しかし、分布や生息環境、また生態それぞれの詳細には未解明な点が多く、本種の保全にはこれらの知見の蓄積が急務とされる。

この研究では県内各地に残されているホトケドジョウの生息状況を明らかにする目的で現地調査を行い生息環境の特徴と遺伝子特性を明らかにした。

2. 調査地と方法

2.1 調査地

今回調査した場所は、千曲川水系 19 地点、犀川水系 4 地点、天竜川水系 1 地点の合計 24 地点で、その多くは研究者や地域住民からの情報提供によってホトケドジョウの生息可能性が高いと判断された場所である(表 1)。ホトケドジョウは水系内にパッチ状に分布することが知られているため⁵⁾、同一水系内であっても直線距離で 100m 以上離れた地点は異なった生息地として扱った。これらの生息地情報は、長野県版レッドデータブック作成事業³⁾によって得られた情報に、その後 2007 年までに得られた情報を追加してとりまとめた。

2.2 現地調査の方法

県内各地での生息確認及び生息環境調査を 2003 年から 2007 年までの間に行った。魚類の捕獲には 5mm メッシュのタモ網を用いた。調査地では 1 地点につき 1～4 名で 5～30 分採捕を行い、捕獲された魚種と個体数を記録した。ホトケドジョウが捕獲された場合には、各地点の 1～3 個体から鱭の

1 長野県環境保全研究所 自然環境部 〒381-0075 長野県長野市北郷 2054-120

2 三水第二小学校 〒389-1203 長野県上水内郡飯綱町三水大字赤塩 2489

3 信州大学農学部農学研究科 〒399-4598 長野県上伊那郡南箕輪村 8304

4 長野県立木曾峰高等学校 〒397-8567 長野県木曾郡木曾町新開 4236

5 長野女子短期大学(名誉教授) 〒380-0803 長野県須坂市本上町 1387

6 山梨学院大学附属小学校 〒400-0805 山梨県甲府市酒折 1-11-1

7 環境アセスメントセンター 北信越支社 〒390-1701 長野県松本市梓川優 3708-1

8 信州大学理学部 〒390-8621 長野県松本市旭 3-1-1

表1 長野県におけるホトケドジョウの生息状況

生息地番	水系名	支流名	市町村	地区名	調査年月日	周辺環境	水路タイプ	川幅(cm)	底質	水温(°C)	ホトケドジョウ個体数	その他の確認魚種及び個体数※	mDNAハプロタイプ(解析個体数)
1	千曲川	無名沢	野沢温泉村	虫生	2-May-04	休耕地	素堀水路	50	泥	未測定	8	ドジョウ4, スナヤツメ2	Hap-A (1)
2	:	無名沢	野沢温泉村	虫生	2-May-04	水田	素堀水路	70	泥	未測定	3	なし	Hap-A (2)
3	:	広井川	飯山市	太田	22-Nov-03	休耕地	自然流路	20	泥	8.9	2	ドジョウ2	Hap-A (2)
4	:	広井川	飯山市	緑	22-Nov-03	水田	コンクリート水路	20	泥	10.3	2	ドジョウ10	Hap-A (2)
5	:	樽川	木島平村	木島平	29-Nov-03	水田	素堀り一部コンクリート	50	砂泥	未測定	なし	ドジョウ	未解析
6	:	:	:	:	31-Jul-06	:	:	50	砂泥	18.2	2	ドジョウ10	未解析
7	:	樽川	木島平村	上木島	31-Jul-06	水田	石積水路	30	砂利	17.9	2	ドジョウ10	Hap-A (1)
8	:	篠井川	小布施町	雁田	30-Oct-04	湧水池	コンクリート水路	30	泥	11.3	3	なし	Hap-A (2)
9	:	鮎川	須坂市	井上	17-Jul-04	果樹園, 人家	コンクリート水路	30	砂	13.9	10	なし	未解析
10	:	鮎川	須坂市	井上	17-Jul-04	果樹園, 人家	コンクリート水路	75	砂	15.1	2	ドジョウ4, カジカ1	未解析
11	:	鮎川	須坂市	井上	17-Jul-04	畑地	コンクリート水路	50	砂	17.5	1	タモロコ3	未解析
12	:	鮎川	須坂市	中島	17-Jul-04	水田, 畑地	コンクリート水路	200	泥	18.1	2	ウグイ, タモロコ, ギンブナ, ドジョウ	未解析
13	:	鳥居川	信濃町	古間	27-Jul-04	人家	石積水路	50	砂	未測定	4	なし	未解析
14	:	蛭川	長野市	松代東条	30-Oct-04	水田	素堀水路	40	砂泥	23.0	4	ドジョウ50, アブラハヤ1	Hap-A (3)
15	:	武石川	武石村	沖	29-Apr-04	河川敷	自然流路	100	砂, 礫	13.7	5	メダカ30, ドジョウ, ギンブナ	Hap-A (2)
16	:	中沢川	小諸市	小姓	17-Sep-04	水田水路	素堀水路(ぬるめ)	30	泥	13.1	8	イナズメ, アブラハヤ4, シマドジョウ1, カジカ1, ウグイ	Hap-A (3)
17	:	湯川	軽井沢町	中崎井沢	23-Oct-03	河川敷	自然流路	60	砂泥	未測定	5	ドジョウ3	Hap-A (3)
18	:	湯川	軽井沢町	発地	21-Nov-03	農地(草地)	自然流路	50	泥	10.9	10	なし	Hap-A (2)
19	:	滑津川	佐久市	常和	11-Oct-03	休耕地	素堀水路, 湧水たまり	50	泥	14.3	11	なし	Hap-A (2)
20	犀川	万水川	明科町	中川手	15-Mar-06	河川敷	自然流路, 湧水たまり	100	砂泥	12.8	1	スナヤツメ3	Hap-B (3)
21	:	梓川	松本市	旧梓川村	16-Oct-03	河川敷	自然流路	50	砂泥	13.0	7	メダカ(移植)10, スナヤツメ2	未解析
22	:	梓川	波田町	波田	16-Oct-03	河川敷	自然流路	50	砂泥	14.1	15	メダカ(移植)	Hap-A (2)
23	:	奈良井川	松本市	島立	30-Jul-04	河川敷	自然流路	50	砂泥	18.3	20	なし	未解析
24	:	田川	塩尻市	片丘	11-Feb-07	河川敷	自然流路	170	砂, レキ	13.0	1	ウグイ, オイカワ, アブラハヤ	未解析
25	天竜川(諏訪湖)	上川	茅野市	湖東	27-Jun-06	休耕地, 畑地	素堀水路	40	泥	16.2	7	ドジョウ2	Hap-A (1)
					29-Apr-04	休耕地	素堀水路	15	泥	9.5	15	なし	Hap-A (3)

※: 数字のないものは個体数不明

一部(約5mm角)を採取し99%エタノールに保存して実験室に持ち帰った。

生息環境については、水路の幅と構造の概要、底質を記録し、同時に水温を測定した(測定時刻は10~18時)。

2.3 DNA分析

遺伝分析についてはSaka *et al.*⁶⁾に従い、ミトコンドリアDNAのCytochrome *b*領域の塩基配列を分析対象とした。DNA抽出にはQiagen社のDNeasy Tissue Kitを用い、Yamamoto *et al.*⁷⁾のプライマーセットでミトコンドリアDNAのCytochrome *b*領域後半部分の約600bpをPCR増幅し、ABI3700シーケンサー(Applied Biosystem社製)により塩基配列を決定した。塩基配列型(ハプロタイプ)は遺伝子解析ソフトウェアClustalW⁸⁾によって整列し、Saka *et al.*⁶⁾で確認された国内産ホトケドジョウの塩基配列(とくに、長野県小布施町産のハプロタイプ:DDBJ登録番号AB080163)と比較して変異の有無を検討した。

なお、全国のホトケドジョウを対象としたDNAレベルの地理変異については最近になって複数の研究成果^{6),9),10)}が公表されており、いずれも国内に

大きく5つ(東海近畿型、越後型、東北型、北関東型、南関東型)の明瞭なグループが存在すること、長野県のいくつかの集団(小布施町産、野沢村産、須坂市産、旧梓川村産、松本市産、塩尻市産)はそのうちの南関東型に分類される等の知見が得られている。

3. 結果および考察

3.1 分布と生息環境

今回の調査により、千曲川・犀川水系の24地点のほか、天竜川水系にあたる諏訪湖流入河川の1地点でホトケドジョウの生息が確認された(表1)。なお、県内の他の主要水系である木曾川、釜無川の各水系からは分布は知られていない²⁾。中村¹¹⁾によれば、姫川、木崎湖には記録があるとされるが、これら地域からも生息情報は得られなかった。

マクロな生息環境としては、伏流水のある河川敷の浅いたまりや湧水のある水田周辺の小規模な細流がほとんどであった。代表的な景観を図1に示した。水域の特徴としては水路幅はおおむね60cm以下で、底質は泥や砂泥、魚種としてはホトケドジョウ単独あるいはドジョウと混生している場合が多

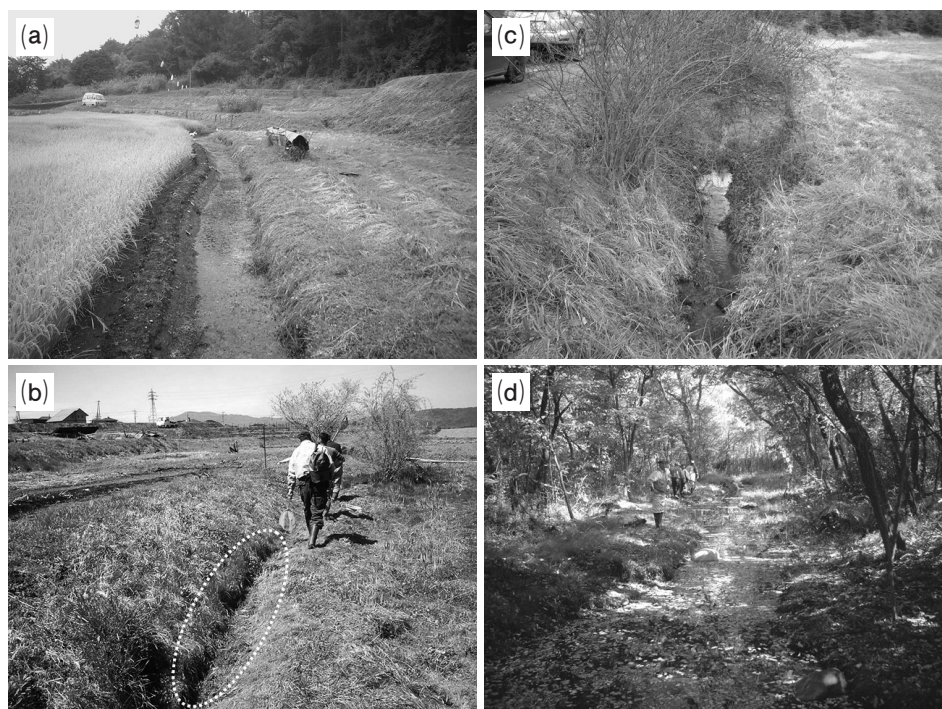


図1 生息場所の景観
 (a):小諸市の水田, (b):茅野市の休耕地(点線内が水路),
 (c):軽井沢町の農地脇水路, (d):波田町の梓川河川敷内流路。

かった(図2)。水路構造については、自然流路や素堀水路がほとんどであったが、コンクリート水路でも砂泥が堆積するような場所で確認されることがあった。また、生息地の多くは付近に小規模な湧水が認められ、水温は夏季でもおおむね20℃を超えない範囲であった。総体的には今回確認された生息環境の特徴はこれまでの報告^{4), 5), 12)}と一致している。

水温環境については飼育実験により、夏の極端な高水温(27℃以上)と冬の低水温(5℃以下)を避けることが重要であることが明らかとなっている⁵⁾。また野外調査でも冬季になると比較的水温の高い湧水付近に集合することが知られている¹²⁾。今回の調査は春から秋までに実施されたため冬期間の環境について言及できないが、長野県の各生息地においては夏の低水温よりむしろ冬の水温を維持する湧水がホトケドジョウの生息を可能にしているものと推測される。

本種は3月～6月にかけて産卵し、水草などの産卵基質が必要とされる^{4), 5)}。今回は水草に関しての詳細な記録を行っていないが、ほとんどの場所で湧水や湿地特有の水草(バイカモ類, オランダガラシ, セリ等)が生育していた。水草の中には、長野県の絶滅危惧生物^{13), 14)}に指定されているスギナモ(須坂市), ミズオオバコ(小諸市), サンショウモ(小諸市)なども確認された。

3.2 遺伝的特性

県内のホトケドジョウ36標本を解析した結果、2種類のハプロタイプが確認された(表2)。これら2種の塩基配列変異は573bp中のわずか1塩基であり、いずれも南関東型にグルーピングされるハプロタイプであった⁶⁾。1ヶ所を除いて他すべての調査地では既報と同一配列のHap-Aであり、天竜川水系および千曲川・犀川水系のそれぞれで確認された。一方、Hap-Bは千曲川上流部の佐久市の集団でのみ確認され、この集団の3標本は同一の塩基配列であった。以上の遺伝的変異に着目すると、佐久地域の集団だけは他とは一定の区別をして保全する必要があると考えられる。

3.3 保全上の課題

近年における本種の減少要因として、農山村地域の開発や圃場整備、中・小河川の改修などが進められたこと、また毒性の強い農薬の影響などがあげ

表2 Cytochrome *b* 領域の部分配列に認められたシーケンス変異

小布施産個体(DDBJ登録番号AB080163)の後半部573bpと比較した場合の変異サイトのみ示した。

ハプロタイプ名	配列上の相対位置		出典
	220		
AB080163	G		Saka <i>et al</i> (2003)
Hap-A	G		本研究
Hap-B	A		本研究

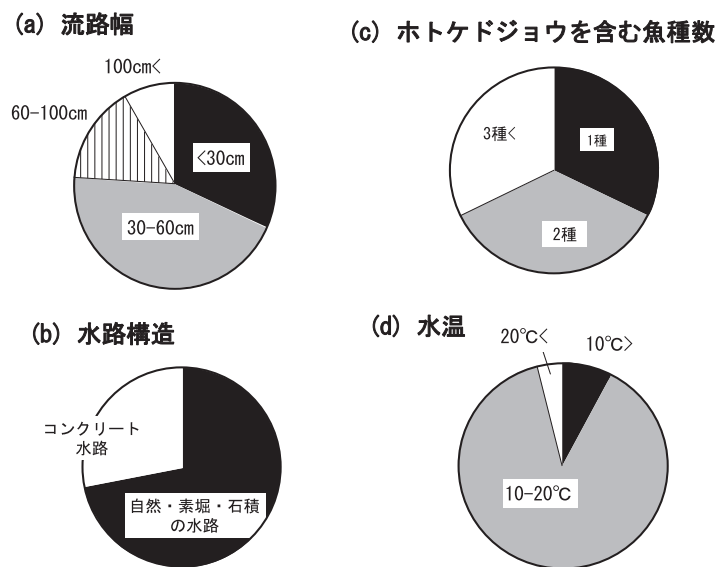


図2 各環境項目からみたホトケドジョウの生息環境

られている^{2), 3)}。現存するホトケドジョウはこれらの影響が比較的少なかった集団と考えられるものの、各地の集団はきわめて局所的で、各々の集団サイズも大きくなかった。このようなメタ個体群構造を持つ生物の保全には、個々の分集団を保全すると同時に、集団間の交流を保つことによって遺伝的な多様性を確保することが望まれる¹⁵⁾。

分集団の保全に関しては、生息地の多くが湧水に依存していると考えられることから、湧水が農業等で汚染されたり、枯渇しないような配慮が必要であろう。とくに冬季の地下水位低下や湧水枯渇は日本の各地で報告されている¹⁶⁾。また遺伝的多様性を維持してゆくためには、集団間の個体の移動などが確保されることが望まれる。しかし、例えば、梓川河川敷の生息地のように本流の河床低下のために分集団の孤立化が進んでいると考えられる事例も認められる。

本種の保全のためには、今後とも分布、個体数、遺伝的多様性の3要素について、継続的にモニタリングしてゆくことが望まれる。

謝 辞

本研究は「信州の里山の特性把握と環境保全のための総合研究(平成13~17年度)」および「長野県の希少野生動植物の保護保全に関する調査研究(平成18~20年度)」の一環として行われた。調査を行うにあたり分布情報を提供いただいた今城治子氏、小口達志氏、川之辺素一氏、木村紀穂氏、塩原敏也氏、故清水義雄氏、古川茂紀氏、逸見泰明氏、百瀬鉄蔵氏の各位に御礼を申し上げる。

文 献

- 1) 環境省(2003)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4, 汽水・淡水魚類. 環境省自然環境局, 東京. 230pp.
- 2) 上原武則(1997)すみかを失ったホトケドジョウ. 長野県自然教育研究会(編), pp.73-75. 信州の希少生物と絶滅危惧種. 信濃毎日新聞社, 長野.
- 3) 長野県(2004)長野県版レッドデータブック—動物編—. 長野. 321pp.
- 4) 澤田幸雄(1989)ホトケドジョウ. 川那部浩哉・水野信彦(編・監修), p.400. 山溪カラー名鑑日本の淡水魚. 山と溪谷社, 東京.
- 5) 勝呂尚之(2005)谷田の代表種ホトケドジョウ. 片野修・森誠一(編), pp.50-60. 希少淡水魚の現在と未来—積極的保全のシナリオ—. 信山社, 東京.
- 6) Saka, R., Takehana, Y., Suguro, N. and Sakaizumi, M.(2003) Genetic population structure of *Lefua echigonia* inferred from allozymic and mitochondrial cytochrome *b* variations. Ichthyological Research, 50: 301-309.
- 7) Yamamoto, S., Morita, K., Kitano, S., Watanabe, K., Koizumi, I., Maekawa, K. and Takamura, K. (2004) Phylogeography of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) inferred from mitochondrial DNA sequences. Zoological Science, 21: 229-240.
- 8) Thompson J. D., Higgins D. G. and Gibson T. J.(1994). Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research, 22: 4673-4680.
- 9) Sakai T., Mihara M., Shitara K., Yonekura H., Hosoya K., and Miyazaki J.(2003) Phylogenetic relationships and intraspecific variations of loaches of the genus *Lefua* (*Balitoridae*, Cypriniformes). Zoological Science, 20: 501-514.
- 10) Mihara, M., Sakai, T., Nakao, K., Martins, L.O., Hosoya, K., and Miyazaki, J.(2005) Phylogeography of Loaches of the Genus *Lefua* (*Balitoridae*, Cypriniformes) inferred from mitochondrial DNA sequences. Zoological Science 22: 157-168.
- 11) 中村一雄(監)(1980)長野県魚貝図鑑, 信濃毎日新聞社, 長野. 284pp.
- 12) 守山拓弥・水谷正一・後藤章(2007)栃木県西鬼怒川地区の湧水河川におけるホトケドジョウの季節移動. 魚類学雑誌, 54:161-171.
- 13) 長野県(2002)長野県版レッドデータブック—維管束植物編—. 長野. 297pp.
- 14) 長野県(2005)長野県版レッドデータブック—非維管束植物編・植物群落編—. 長野. 205pp.
- 15) 渡辺勝敏・西田 睦(2003)淡水魚類. 小池裕子・松井正文(編), pp.227-240. 保全遺伝学, 東京大学出版, 東京.
- 16) 国分邦紀・中山俊雄・飯田輝男・今井隆志・川島眞一(2003)水循環における地下水・湧水の保全. 信山社サイテック, 東京. 254pp.

Distribution, habitat characteristics, and mitochondrial DNA haplotypes of *Lefua echigonia*
in Nagano Pref., central Japan

Satoshi KITANO ¹, Tetsuya YAMAGATA ², Masayuki YAGYU ³, Sho KOBAYASHI ⁴, Takenori UEHARA ⁵,
Hiroshi ICHIKAWA ⁶, Jun-ichi MIMA ⁷ and Kensuke KOBAYASHI ⁸

1 Nagano Environmental Conservation Research Institute, Natural Environment Division,
2054-120 Kitago Nagano, 381-0075 Japan

2 Samizu Daini Elementary School, 2489 Akashio Iizuna, 389-1203 Japan

3 Faculty of Agriculture, Shinshu University, 8304 Minami-minowa Kami-ina, 399-4598 Japan

4 Nagano Kiso-sanrin High School, 4236 Shinkai Fukushima, 397-8567 Japan

5 Nagano Women's Junior College, 1387 Honkan-cho Suzaka, 380-0803 Japan

6 Yamanashi Gakuin Elementary School, 1-11-1 Sakaori Kofu, 400-0805 Japan

7 Environmental Assessment Center CO.,LTD, 3708-1 Azusagawa-Yamato Matsumoto, 390-1701 Japan

8 Faculty of Science, Shinshu University, 3-1-1 Asahi Matsumoto, 390-8621 Japan