

京都御苑の仙洞御所の池に生息するビワヨシノボリ *Rhinogobius biwaensis* とシマヒレヨシノボリ *Rhinogobius* sp. BF の野外交雑個体

明仁¹・藍澤正宏^{2,3}・池田祐二²・岸田宗範²・林 公義²・
中山耕至⁴・中坊徹次⁵

¹ 〒 100-0001 東京都千代田区千代田 1-1 御所

² 〒 100-8111 東京都千代田区千代田 1-1 宮内庁

³ 〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学総合研究博物館

⁴ 〒 606-8502 京都市左京区北白川追分町 京都大学大学院農学研究科

⁵ 〒 606-8501 京都市左京区吉田本町 京都大学総合博物館

(2018年12月4日受付；2019年1月18日改訂；2019年1月31日受理；2019年4月5日J-STAGE 早期公開)

キーワード：ビワヨシノボリ, シマヒレヨシノボリ, 京都御苑, 交雑, マイクロサテライト DNA, 背鰭前方鱗数

魚類学雑誌
Japanese Journal of
Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 2019

Akihito, Masahiro Aizawa, Yuji Ikeda*, Munenori Kishida, Masayoshi Hayashi, Kouji Nakayama and Tetsuji Nakabo. 2019. *Rhinogobius biwaensis* (“Biwayoshinobori”) × *Rhinogobius* sp. BF (“Shimahireyoshinobori”) hybrids from the ponds of Sento Imperial Palace, Kyoto City, Japan. Japan. J. Ichthyol., 66(1): 53–62. DOI: 10.11369/jji.18-044.

Abstract Hybrids of *Rhinogobius biwaensis* and *Rhinogobius* sp. BF were identified in the ponds of Sento Imperial Palace, Kyoto City, Japan, from microsatellite and mitochondrial DNA markers. Mitochondrial DNA analysis indicated that five of seven *Rhinogobius* specimens had *R. biwaensis* haplotypes, the remaining specimens having those of *Rhinogobius* sp. BF. In DAPC and STRUCTURE analyses based on microsatellite data, all specimens examined showed intermediate status between *R. biwaensis* and *Rhinogobius* sp. BF, the two species being considered to have formed a hybrid swarm in the ponds because genetically pure individuals of either were not found. This is the first report of recent hybridization under field conditions in *Rhinogobius* fishes from Japan, confirmed by nuclear and mitochondrial DNA data. Hybrid *Rhinogobius* specimens from the ponds had 5–17 predorsal scales, an intermediate range between those of non-hybrid *R. biwaensis* (0–6) and *Rhinogobius* sp. BF (11–20). However, in appearance they were more similar to *R. biwaensis* than *Rhinogobius* sp. BF, having bluish-white distal coloring anteriorly on the first and second dorsal fins, a reduced reddish longitudinal band on the anal fin, and lacking yellowish dorsal and posterior margins on the caudal fin. However, they differed from *R. biwaensis* in having a narrower white posterior caudal fin margin. Further morphological differentiation of the hybrid specimens was not apparent.

*Corresponding author: Imperial Household Agency, 1-1 Chiyoda, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8111, Japan (e-mail: seiken-ikeda@circus.ocn.ne.jp)

京都御苑の仙洞御所の池でヨシノボリ属魚類が生息しているのが確認された。それらは一見したところビワヨシノボリに類似しているが、背鰭前方鱗が多いことで異なっていた。平嶋(2018)は日本産ヨシノボリ属について15種と、種群とも呼ぶべきトウヨシノボリを示したが、多

くは両側回遊性(一部は湖と河川との回遊性)であり、回遊を行わず主に湖沼に生息するのはビワヨシノボリ、シマヒレヨシノボリ、トウカイヨシノボリ、クロダハゼ、トウヨシノボリ(小型で雄の第1背鰭が低い型)の5種・型である。仙洞御所の池は水路で連続した北池と南池からなるが、

現在は外部とは遮断されて閉鎖的環境となっている。従ってこの池に生息するヨシノボリ属魚類が回遊を行うことは考えられないが、上記の非回遊・湖沼性の5種・型のいずれにも形態的特徴が一致しない。

三重県や愛知県などでは、人為的移入に伴ってビワヨシノボリ、シマヒレヨシノボリ、トウヨシノボリの間で交雑が生じていることが示唆されている(鈴木・向井, 2010; 鈴木ほか, 2010; 向井ほか, 2012)。また、飼育下では、これら3種のうちいくつかの組み合わせでは交配可能であることが確認されている(辻本ほか, 2003; 鈴木・向井, 2010)。このため、仙洞御所の池に生息するヨシノボリ属魚類も、交雑に由来するという可能性が考えられた。

京都御苑が位置する京都盆地北東部とその近隣域に分布する非回遊・湖沼性のヨシノボリ属魚類としては、ビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリがある。ビワヨシノボリは琵琶湖固有であり、シマヒレヨシノボリは三重県、奈良県、和歌山県北部、大阪府、兵庫県から広島県と徳島県から愛媛県の瀬戸内海側、兵庫県円山川下流の周辺水域に分布し(平嶋, 2018)、京都盆地北東部からも採集記録がある(石田ほか, 2007; 環境省, 2013)。また、琵琶湖には湖沼と流入河川との間で回遊を行うトウヨシノボリ(大型で雄の第1背鰭が高くて烏帽子形の型)が生息している(平嶋, 2018)。

京都盆地北東部は淀川水系鴨川の流域であるが、1890年に完成した琵琶湖疏水によって琵琶湖南湖からの導水が行われている(織田・玉置, 1991)。琵琶湖疏水は仙洞御所の池をはじめ、平安神宮など京都市東部の多くの園池の水源としても利用されたため、一部では琵琶湖由来の魚種が移入し生息していることが確認されている(伊藤・森本, 2003)。このため、仙洞御所の池のヨシノボリ属魚類は、京都盆地北東部にもともと生息していた可能性のあるシマヒレヨシノボリと、琵琶湖疏水によって導入された可能性のあるビワヨシノボリまたはトウヨシノボリ(琵琶湖産)のいずれかが関わる交雑に由来するという仮説が考えられ、本研究ではそれを検証するためにミトコンドリアDNA(mtDNA)およびマイクロサテライトDNAを用いた遺伝学的分析を行った。さらに、背鰭前方鱗数と色彩を比較し、交雑の形態への影響を確認した。なお、明仁ほか(2000)でトウヨシノボリとされていたものからは、後にビワヨシノボリ、シマヒレヨシノボリ、トウカイヨシノボ

リ、クロダハゼが分離されたが(明仁ほか, 2013)、それ以外にもさらに複数種が含まれている可能性があり、今後より詳細な研究が必要な状況と考えられる(平嶋, 2018)。このため、本報では平嶋(2018)に従って、トウヨシノボリを単独の種として扱わず、複数の型を含む種群として記した。

材料と方法

採集地 仙洞御所は京都御苑南東部に位置し、仙洞御所の池は周囲長が約354.8 mで最大水深が約1.1 mの北池と、周囲長が約399.5 mで最大水深が約1.6 mの南池に分かれ、幅が6.4–10.2(平均7.9) mで長さが44.5 m、水深が0.6–1.0(平均0.8) mの水路により連結している(Fig. 1)。明治以前には鴨川からの分水が供給されていたが、1891年完成の御所用水路および1912年に御所用水路が再整備されて完成した御所水道により、琵琶湖疏水からの水が導入されるようになった(小沢, 2009)。1992年には御所水道が廃止され、その後は現在まで汲み上げられた地下水のみが供給されている。

標本 仙洞御所の池で採集されたヨシノボリ属魚類と、京都盆地北東部に在来だった可能性があるシマヒレヨシノボリ、ビワヨシノボリとトウヨシノボリ(琵琶湖産)を用いた。MtDNAの塩基配列による系統樹分析の外群としてゴクラクハゼを用いた。各標本は右胸鰭の一部を切り取って99%エタノール中に保存し、魚体は一部の外部形態観察用のものは10%ホルマリンで固定し、大部分の標本は胸鰭と同様に99%エタノール固定し、最終的に70%エタノールに保存した。以下、無印は遺伝学的分析のみ、^{*1}は遺伝学的分析と背鰭前方鱗の計数、^{*2}は背鰭前方鱗の計数のみ、^{*3}は色彩の記述に用いた標本で、そのうち写真撮影用の標本は、標本の保存状態を重視して遺伝学的分析も背鰭前方鱗の計数も行っていない。^{*4}は色彩の記述と背鰭前方鱗の計数に用いた。仙洞御所産ヨシノボリ属魚類：京都府京都市上京区京都御苑・仙洞御所の池(南池), BLIP20130281^{*3}, 20130525^{*2}, 20130919^{*1}, 28.4–37.0 mm SL, 2013年6月24日, 明仁・目黒勝介採集; BLIP20130699^{*4}, 20130920^{*1}, 20140345–20140346^{*4}, 20140712^{*4}, 20141469–20141473^{*1}, 23.3–39.8 mm SL, 2013年9月26日, 小林 保・寺内俊之採集。ビワヨシノボリ：滋賀県高島市鶴川河口, BLIP20110651–

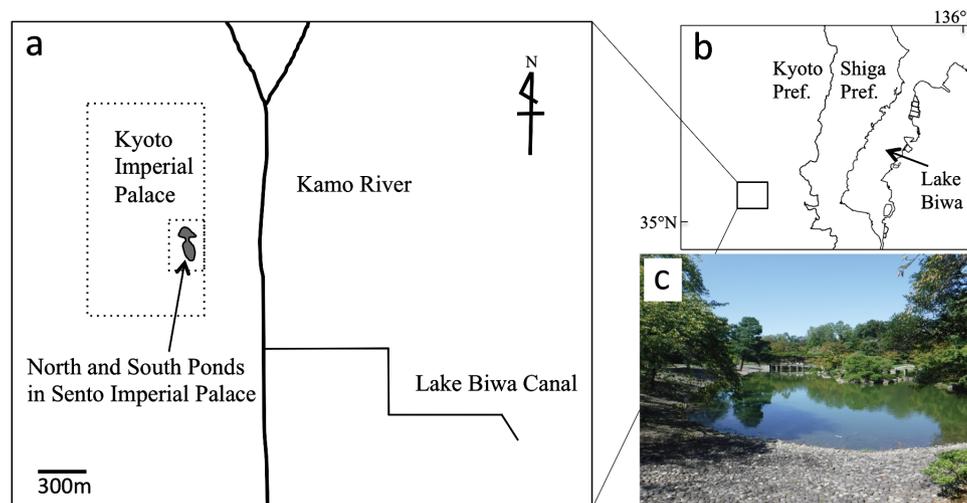


Fig. 1. Location of the ponds of Sento Imperial Palace, Kyoto City, Kyoto Prefecture, Japan (a, b). Collection site of *Rhinogobius* fishes in the ponds (c).

20110655^{*1}, 30.0–34.9 mm SL, 2010年6月11日, 長田智生・池田康秀採集; BLIP20130495–20130499^{*2}, 20130697–20130698^{*3}, 20130921–20130927^{*1}, 31.1–42.6 mm SL, 2013年7月9日, 池田康秀・山田圭祐採集; 滋賀県大津市和邇中浜・和邇漁港地先, BLIP20141256–20141272^{*1}, 29.1–35.8 mm SL, 2014年4月23日, 藍澤正宏・酒向貴子採集; 滋賀県高島市鶴川地先(琵琶湖), BLIP20140525^{*3}, 31.2 mm SL, 2014年6月17日, 藍澤正宏・酒向貴子採集; BLIP20140560^{*3}, 26.6 mm SL, 2014年6月20日, 藍澤正宏・酒向貴子採集; BLIP20140714^{*3}, 34.5 mm SL, 2014年4月21日, 藍澤正宏・酒向貴子採集. シマヒレヨシノボリ: 兵庫県豊岡市日高町西芝・円山川河川敷, BLIP20130928^{*1}, 20130930^{*1}, 28.4–37.9 mm SL, 2013年9月29日, 鈴木寿之採集; 兵庫県豊岡市加陽地先・円山川支流出石川再生湿地, BLIP20151001–20151005^{*1}, 34.6–41.7 mm SL, 2015年10月5–6日, 桐山剛採集; 兵庫県神戸市西区押部谷町近江・近江寺, BLIP20100370–20100372^{*2}, 20100377–20100378^{*2}, 29.1–35.8 mm SL, 2009年7月26日, 土井敏男採集; 奈良県奈良市高畑町・奈良公園内鷺池, BLIP20141062–20141063^{*3}, 20141941–20141945^{*1}, 20141946–20141953^{*2}, 22.2–38.3 mm SL, 2014年10月30日, 鈴木寿之・水谷伸彰採集. トウヨシノボリ(琵琶湖産): 滋賀県大津市伊香立上龍華町和邇川, BLIP20130911–20130913, 20130915–20130916, 35.7–44.1 mm SL, 2013年7月9日, 池田康秀・山田圭祐採集; 滋賀県高島市鶴川地先(琵琶湖), BLIP20141221–20141225, 20141227–

20141228, 27.8–41.6 mm SL, 2013年8月18日, 鈴木寿之採集; 滋賀県高島市鶴川, BLIP20141229–20141230, 34.7–42.5 mm SL, 2014年4月20日, 藍澤正宏・酒向貴子採集; 滋賀県大津市和邇南浜和邇川, BLIP20141237–20141246, 27.9–40.2 mm SL, 2014年4月22日, 藍澤正宏・酒向貴子採集. ゴクラクハゼ: 和歌山県東牟婁郡串本町くじの川, BLIP20121201–20121203, 26.4–32.2 mm SL, 2012年6月2日, 藍澤正宏・酒向貴子・小寺昌彦採集.

遺伝学的分析 仙洞御所産ヨシノボリ属魚類7個体, ビワヨシノボリ29個体, シマヒレヨシノボリ12個体, トウヨシノボリ(琵琶湖産)24個体について遺伝学的分析を行った. 99%エタノール中に保存した胸鰭の一部から Wizard Genomic DNA Purification Kit (プロメガ社)を用いてDNAを抽出した. L15924 (5'-AGCTCAGCGCCAGAGCGCCGGTCTTGTA-3') (Kocher et al., 1993) と H16498 (5'-CCTGAAGTAGGAACCAGATG-3') (Meyer et al., 1990) のプライマーセットを用いて mtDNA トランスファー RNA^{pro} から調節領域前半を PCR 増幅した. 得られた PCR 産物を ExoSAP-IT PCR Product Cleanup Reagent (サーモフィッシャー社)によって精製した後, BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit ver. 1.1 (サーモフィッシャー社)を用いてシーケンズ反応を行い, ABI 310 Genetic Analyzer (サーモフィッシャー社)により塩基配列を決定した. 得られた配列に基づき, MEGA7 (Kumar et al., 2016)を用いて近隣結合法および最尤法によって系統樹を推定した. 外群としてゴクラクハゼを用いた. 近隣結合法では Kimura

2-parameter モデル, 最尤法では HKY モデルを用い, ギャップは Complete-Deletion とした. 各クレードの支持率はブートストラップ法 (10,000 回) によって示した.

ヨシノボリ属魚類で報告されているマイクロサテライト DNA 座位から, Rhi-2, Rhi-3, Rhi-7, Rhi-8, Rhi-9, Rhi-10, Rhi-11, Rhi-12, Rhi-13 (Ohara et al., 2004), kibara05 (Koizumi et al., 2015) の 10 座位を用いた. Type-it Microsatellite Kit (キアゲン社) によりマルチプレックス PCR を行い, ABI 310 Genetic Analyzer (サーモフィッシャー社) により遺伝子型を確認した. 得られた遺伝子型に基づき, MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004) を用いて各座位でのヌルアリの有無を調べ, ARLEQUIN 3.5 (Excoffier et al., 2005) を用いて各座位のアリル数, ヘテロ接合度の期待値と観察値, 座位間の連鎖不平衡を調べた. 連鎖不平衡については, Rhi-2, Rhi-3, Rhi-7, Rhi-8, Rhi-9, Rhi-10, Rhi-11, Rhi-12, Rhi-13 の各座位間では検出されないことが報告されている (Ohara et al., 2004) ため, kibara05 と上記の各座位との間でのみ調べた. その後, 統計言語 R (R core team, 2017) 上で adegenet 2.1.1 パッケージ (Jombart, 2008) により Discriminant analysis of principal components (DAPC) 分析 (Jombart et al., 2010) を行って, 対象個体がいくつのクラスターに分かれるかを調べた. 次に, STRUCTURE 2.3.4 ソフトウェア (Pritchard et al., 2000) を用いて各個体の各クラスターへの帰属確率を求め, 交雑個体の検出を行った. 分析には Admixture Model を用い, Burn-in と MCMC をそれぞれ 300,000 回とした. 10 回のランを行い, 結果を CLUMPP ver. 1.1.2 (Jakobsson and Rosenberg, 2007) によってまとめてから DISTRICT ver. 1.1 (Rosenberg, 2004) で描画した. 交雑個体の基準は Vähä and Primmer (2006) に従い, どの種への帰属確率も 0.9 を超えない場合に交雑個体とした. さらに, NEWHYBRIDS ver. 1.0 ソフトウェア (Anderson and Thompson, 2002) により, 交雑個体が交雑第 1 世代であるか, 交雑第 2 世代以降または戻し交雑であるかを調べた.

形態学的分析 ビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリとの間で差異があると報告されている背鰭前方鱗の計数は Takahashi and Okazaki (2002, 2017) に従って, アリザリン染色後, 必要に応じてグリセリンアルコールに浸漬し, 実体顕微鏡下で行った. 計数には仙洞御所産ヨシノボリ属魚類を 12 個体, ビワヨシノボリを 34 個体, シマヒレヨシノボリを 25 個体用いた. 色彩の比較につい

ては, 仙洞御所産ヨシノボリ属魚類 (5 個体) とビワヨシノボリ (5 個体) および奈良公園産シマヒレヨシノボリ (2 個体) について, 雄の生鮮時の色彩を比較した.

結 果

MtDNA 分析 各個体について, 調節領域前半を中心とした 474-475 塩基対の配列が決定された. 得られた塩基配列は日本 DNA データバンク (DDBJ) に登録した (登録番号 LC435271-LC435345). 系統樹の樹形は, 近隣結合法と最尤法とで大きく異ならなかったため, 以下では主に近隣結合法での結果について述べる. 近隣結合法による系統樹は, 大きく 2 つのクレード A, B に分かれた (Fig. 2). クレード A (近隣結合法および最尤法でのブートストラップ確率はそれぞれ 96%, 98%. 以下同様に記述する) はトウヨシノボリ (琵琶湖産) とシマヒレヨシノボリの全個体, クレード B (ブートストラップ確率 99%, 99%) はビワヨシノボリの全個体を含んでいた. クレード A はサブクレード A1 (ブートストラップ確率 61%, 64%) と A2 (ブートストラップ確率 71%, 62%) に分かれ, A1 はトウヨシノボリの全個体, A2 はシマヒレヨシノボリの全個体を含んでいた. A2 はさらに, 奈良公園産シマヒレヨシノボリ (A2a) (ブートストラップ確率 99%, 99%) と兵庫県丹川水系産シマヒレヨシノボリ (A2b) (ブートストラップ確率 94%, 97%) のサブクレードに分かれた. 仙洞御所産ヨシノボリ属魚類は, 7 個体中の 2 個体がクレード A2a に, 5 個体がクレード B に含まれた.

マイクロサテライト DNA 分析 トウヨシノボリ (琵琶湖産) の Rhi-12 のみでヌルアリの存在が示唆されたが, 他の個体群・座位では認められなかったため, 以後の分析には全ての座位を使用した. kibara05 と, Rhi-2, Rhi-3, Rhi-7, Rhi-8, Rhi-9, Rhi-10, Rhi-11, Rhi-12, Rhi-13 の各座位との間に連鎖不平衡は検出されなかった. 仙洞御所産ヨシノボリ属魚類の平均アリル数 a は 4 (2.11) (括弧内は標準偏差. 以下同じ), 平均ヘテロ接合度の観察値 H_o は 0.643 (0.280), 平均ヘテロ接合度の期待値 H_e は 0.581 (0.243) であった. トウヨシノボリ (琵琶湖産) の a , H_o , H_e はそれぞれ 10.3 (8.72), 0.601 (0.246), 0.608 (0.315), ビワヨシノボリの a , H_o , H_e はそれぞれ 7.1 (5.90), 0.637 (0.280), 0.503 (0.372), シマヒレヨシノボ

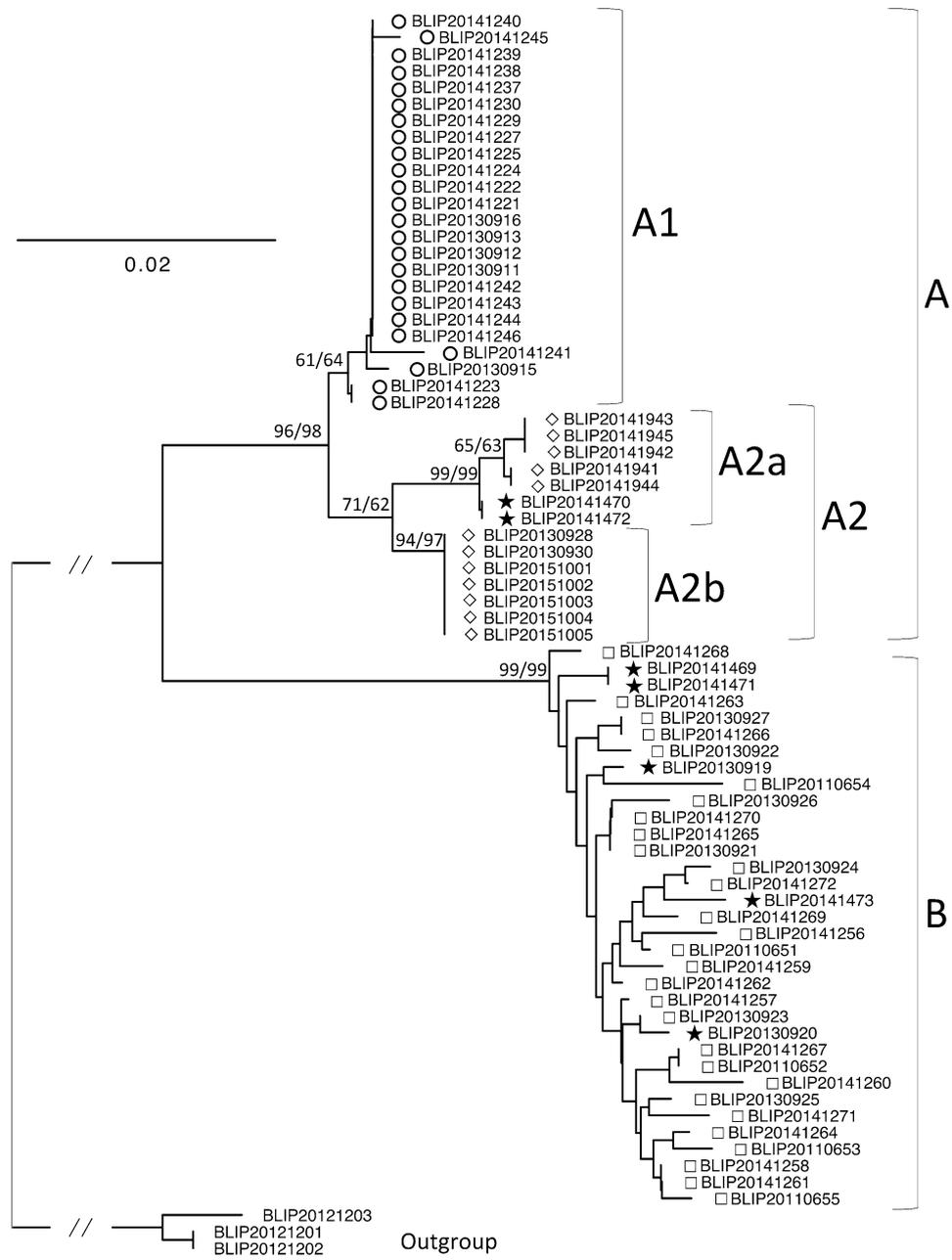


Fig. 2. Neighbor-joining (NJ) tree of *Rhinogobius* fishes from the ponds of Sento Imperial Palace (expressed as *Rhinogobius* SIP in subsequent figures), *R. biwaensis*, *Rhinogobius* sp. BF and *Rhinogobius* sp. OR “Toyoshinobori” (from Lake Biwa), based on partial nucleotide sequences of the mitochondrial control region (474 or 475 base pairs). The NJ tree was constructed with MEGA7 software using the Kimura 2-parameter model. Stars, open squares, open diamonds and open circles indicate *Rhinogobius* SIP, *R. biwaensis*, *Rhinogobius* sp. BF and *Rhinogobius* sp. OR (Lake Biwa), respectively. Bootstrap support values of NJ and maximum likelihood (ML) analysis are shown for major clades (left: NJ, right: ML).

りの a, Ho, Heはそれぞれ4.4 (1.17), 0.508 (0.206), 0.637 (0.202)であった。DAPC分析では各個体が4つのクラスターに分けられ、それぞれビワヨシノボリ、シマヒレヨシノボリ(奈良公

園産)、シマヒレヨシノボリ(兵庫県円山川水系産)、トウヨシノボリ(琵琶湖産)が中心となっていた(Fig. 3)。Fig. 3に赤色で示した仙洞御所産ヨシノボリ属魚類の各個体は、独自のクラスター

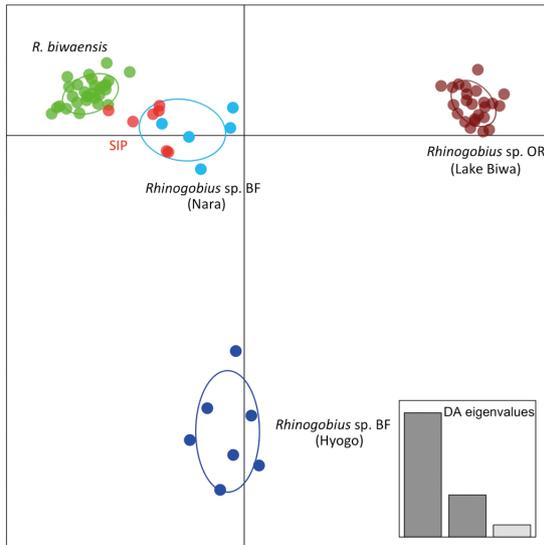


Fig. 3. Scatter plots of discriminant analysis of principal components (DAPC) based on microsatellite (10 loci) data for *Rhinogobius* SIP, *R. biwaensis*, *Rhinogobius* sp. BF and *Rhinogobius* sp. OR (Lake Biwa). Discriminant analysis (DA) eigenvalues are shown at the bottom right.

をつくることはなく、ビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリ（奈良公園産）との間に位置した。STRUCTURE ソフトウェアによる分析では、DAPC 分析の結果に従ってクラスター数を 4 としたところ、トウヨシノボリ（琵琶湖産）、ビワヨシノボリ、シマヒレヨシノボリ（奈良公園産）、シマヒレヨシノボリ（兵庫県円山川水系産）がそれぞれ異なるクラスターとなった。仙洞御所産ヨシノボリ属魚類の各個体は、ビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリとの中間的な帰属確率を示した (Fig. 4)。仙洞御所産ヨシノボリ属魚類の各個体に見られたシマヒレヨシノボリの遺伝的要素は、主にシマヒレヨシノボリ（奈良公園産）と一致するものだった。STRUCTURE 分析では仙洞御所においてビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリ（奈良公園産）との間で交雑が生じていることが示唆されたため、それらを対象として NEWHYBRIDS ソフトウェアによる分析を行った。その結果、仙洞御所産ヨシノボリ属魚類の 7 個体は全て、ビワ

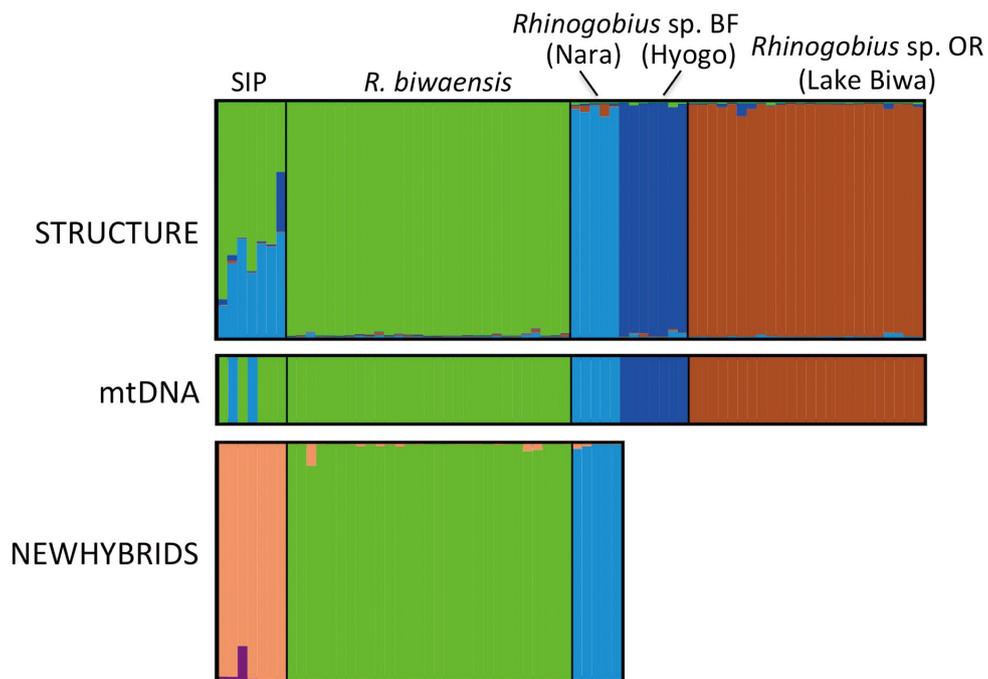


Fig. 4. STRUCTURE analysis (upper panel) based on microsatellite data (10 loci). Vertical bars represent individuals and probability of assignment to each cluster. Green, blue, dark blue and brown indicate *R. biwaensis*, *Rhinogobius* sp. BF (Nara), *Rhinogobius* sp. BF (Hyogo) and *Rhinogobius* sp. OR (Lake Biwa), respectively. Mitochondrial DNA haplotype (middle panel). Colors as for upper panel. NEWHYBRIDS analysis (lower panel) based on microsatellite data (10 loci). Vertical bars represent individuals and probability of assignment to each hybrid class. Green, blue, purple and orange indicate pure *R. biwaensis*, pure *Rhinogobius* sp. BF (Nara), their F_1 hybrid and F_2 hybrid / backcross, respectively.

ヨシノボリとシマヒレヨシノボリ（奈良公園産）との交雑第2世代以降または戻し交雑と推定された（Fig. 4）。

形態学的分析 背鰭前方鱗数：仙洞御所産ヨシノボリ属魚類は5-17枚で、値は分散していた。ビワヨシノボリは0枚が31個体、1枚が2個体、6枚が1個体であった。シマヒレヨシノボリは11-20枚であった（Table 1）。

仙洞御所産ヨシノボリ属魚類の生鮮時の色彩（Fig. 5a, b）：鰓蓋下方は黄色で後縁は青白色。体側には7-8個の不明瞭な暗色斑がある。第1背鰭は前上方が青白色、棘に沿って不明瞭な暗色線があり、それらの間は淡黄色か淡褐色。第2背鰭は淡黄色とその下に青みがかった白色で縁どられ、中程から下方にかけては鰭条上に1-3列の暗色か

橙色の縦点列がある。胸鰭基底上端には青色点、基底には淡黄色域がある。臀鰭は赤みがかっておらず、基底にそって白色線、その下に橙色帯と淡褐色帯があり、縁辺は白色。尾鰭は赤みが弱く、上縁と後縁に黄みがなく、下方が橙黄色、中央に橙色点の横列が3-6列、縁辺は白色。

ビワヨシノボリの生鮮時の色彩（Fig. 5c, d）はTakahashi and Okazaki（2017）の記述と一致していた。同様に、奈良公園産シマヒレヨシノボリの生鮮時の色彩（Fig. 5e, f）は鈴木ほか（2017）の記述と一致していた。

考 察

MtDNA分析では、仙洞御所産ヨシノボリ属魚

Table 1. Frequency distributions of predorsal scales of *Rhinogobius* SIP*, *R. biwaensis*, and *Rhinogobius* sp. BF. Numbers in parentheses indicate individuals used for DNA analyses

| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|------------------------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|
| <i>Rhinogobius</i> SIP | | | | | | 3 (2) | | | 2 (1) | 1 (0) | 1 (1) | 1 (0) | 1 (1) |
| <i>Rhinogobius biwaensis</i> | 31 (26) | 2 (2) | | | | | 1 (1) | | | | | | |
| <i>Rhinogobius</i> sp. BF | | | | | | | | | | | | 2 (0) | 1 (0) |
| | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | Total | | | | |
| <i>Rhinogobius</i> SIP | | | 2 (1) | | 1 (1) | | | | 12 (7) | | | | |
| <i>Rhinogobius biwaensis</i> | | | | | | | | | 34 (29) | | | | |
| <i>Rhinogobius</i> sp. BF | 2 (1) | 1 (0) | 8 (4) | 5 (3) | 1 (1) | 2 (1) | 2 (1) | 1 (1) | 25 (12) | | | | |

* *Rhinogobius* specimens from the ponds of Sento Imperial Palace, Kyoto City, Kyoto Pref., Japan.

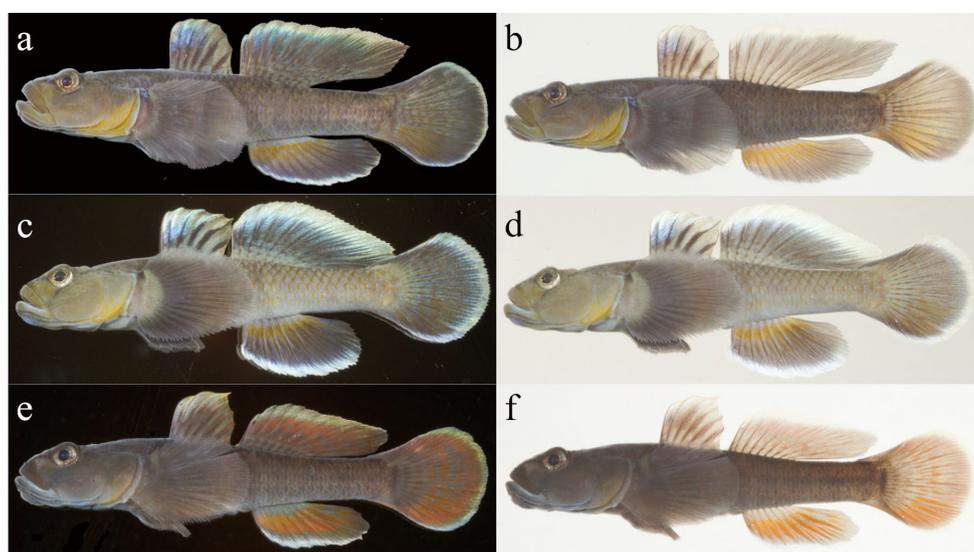


Fig. 5. Left lateral views of fresh *Rhinogobius* specimens. (a, b) *Rhinogobius* SIP (BLIP 20140346, male, 39.8 mm SL); (c, d) *R. biwaensis* (BLIP 20140714, male, 34.5 mm SL); (e, f) *Rhinogobius* sp. BF (BLIP 20141063, male, 34.3 mm SL).

類には、個体によりビワヨシノボリ型のハプロタイプ (Fig. 2 のクレード B) を持つものと、シマヒレヨシノボリ型のハプロタイプ (Fig. 2 のクレード A2) を持つものがいた。マイクロサテライト DNA に基づく分析では、仙洞御所産ヨシノボリ属魚類の 7 個体はいずれも、ビワヨシノボリ由来の要素と、シマヒレヨシノボリ由来の要素との両方を示した。これらのことから、仙洞御所産ヨシノボリ属魚類の 7 個体は全て、ビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリとの交雑個体と考えられる。辻本ほか (2003) は、水槽内での実験によって、ビワヨシノボリ雄とシマヒレヨシノボリ雌 (トウヨシノボリ縞鱗型として) との間で交配が容易に成立し、得られた交雑個体の一部が成魚と考えられる全長まで成長したことを報告しているが、本研究の結果は、野外環境においてもビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリが交配可能であることを示している。また、母系遺伝である mtDNA においてビワヨシノボリ型のハプロタイプを持つ交雑個体も確認されたことから、辻本ほか (2003) が示したビワヨシノボリ雄とシマヒレヨシノボリ雌の組み合わせだけでなく、逆の組み合わせでの交配も生じていたことが確かめられた。

日本産のヨシノボリ属魚類では、更新世前期頃にほぼ全種が関与する大規模な種間交雑が起きていたことが示されている (Yamasaki et al., 2015)。また、形態的特徴や mtDNA の分析から、ビワヨシノボリ、シマヒレヨシノボリやトウカイヨシノボリなどの非回遊・湖沼性ヨシノボリ属魚類の間では、近年の人為的移植に伴い交雑が生じている可能性が示されている (鈴木・向井, 2010; 鈴木ほか, 2010; 向井ほか, 2012)。しかし、核 DNA と mtDNA 分析により、野外環境下でヨシノボリ属魚類の近年の種間交雑について確かな証拠を示したのは本研究が初めてである。

背鰭前方鱗数において、仙洞御所産ヨシノボリ属魚類は、ビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリの中間的な値を示した。これは、仙洞御所産ヨシノボリ属魚類が両種の交雑に由来するという遺伝学的分析の結果を支持している。ただし、交雑個体における背鰭前方鱗数の分布は、親種であるビワヨシノボリおよびシマヒレヨシノボリと一部重複していたため、この形質のみによって交雑個体を識別することはできないと考えられる。

仙洞御所産ヨシノボリ属魚類とビワヨシノボリおよびシマヒレヨシノボリ (奈良公園産) の雄は、鰓蓋下方に黄色域がある、背鰭上縁・臀鰭下縁・

尾鰭外縁が明色、第 2 背鰭下方に橙色点列がある、臀鰭に黄色か橙色の縦帯がある、尾鰭に橙色の横点列もしくは横線がある、尾鰭下方に黄色域か橙色域がある等で似ていた。仙洞御所産ヨシノボリ属魚類は第 1 背鰭と第 2 背鰭に青みがかった白色域があり、臀鰭の橙色帯は赤みが弱い、尾鰭は赤みが弱く、上縁と後縁は黄みが無いことで、特にビワヨシノボリと類似した。しかし、仙洞御所産ヨシノボリ属魚類は尾鰭外縁の白色帯の幅が狭い個体が多く、尾鰭外縁の白色帯が広い個体が多いビワヨシノボリと異なった。一方、シマヒレヨシノボリ (奈良公園産) は第 1 背鰭と第 2 背鰭に青みがかった白色域がなく、上縁を除き赤みがかった、臀鰭の橙色帯は赤みが強い、尾鰭も赤みが強く、尾鰭上縁と後縁は黄みがかった等である。仙洞御所産ヨシノボリ属魚類とビワヨシノボリから区別できた。しかし、交雑由来の場合、色彩などの形態学的特徴には個体変異が大きいことが予想され、本研究では観察に用いた個体数が少なかったため、色彩によってビワヨシノボリとシマヒレヨシノボリとの交雑個体を検出できるかどうかは、今後の課題である。

鈴木・向井 (2010)、鈴木ほか (2010) や平嶋 (2018) では、京都盆地はシマヒレヨシノボリの分布域に含められていない。しかし、石田ほか (2007) は鴨川で、環境省 (2013) では、京都御苑内の九條池等でそれぞれシマヒレヨシノボリを記録している (前者はトウヨシノボリ縞鱗型として)。これらのことを踏まえると、かつて京都盆地にシマヒレヨシノボリが在来魚として生息していたとすれば、琵琶湖疏水からの導水開始後に仙洞御所の池に琵琶湖からビワヨシノボリが移り住み、交雑が生じたという可能性が考えられる。本研究での STRUCTURE および NEWHYBRIDS 分析では仙洞御所の池において純粋なシマヒレヨシノボリ・ビワヨシノボリ・両種間の交雑第 1 世代のいずれも見出されなかった。仙洞御所の池は 1992 年以降には琵琶湖からの導水が停止され、地下水によってのみ灌水される閉鎖的な環境であるため、交雑個体のみで継代し、雑種群となっていることが推定される。ヨシノボリ属魚類において、野外環境下で核 DNA 分析によって交雑第 2 世代以降や雑種群の存在を示したのも、本研究が初めてである。

ただし、鈴木・向井 (2010) が指摘しているように、シマヒレヨシノボリとビワヨシノボリの分布が接する地域では、かつてより自然の交雑帯が

存在した可能性も考えられる。すなわち、琵琶湖・淀川水系においては、琵琶湖疏水のような人為的な影響が無くとも琵琶湖から流下したビワヨシノボリと、下流域のシマヒレヨシノボリとの間で交雑が生じていたことも考えられる。それを確認するためには、今後、琵琶湖疏水の影響を受けていない池沼も含め、京都盆地付近におけるシマヒレヨシノボリとビワヨシノボリの分布調査と遺伝学的分析を行う必要がある。

Ohara et al. (2009) は、シマヒレヨシノボリが他種より種内の遺伝的な地域差が大きいことを示している。本研究でも、シマヒレヨシノボリの兵庫県円山川水系産と奈良公園産との間には、mtDNA 分析においてもマイクロサテライト DNA 分析においても異質性が示された。仙洞御所産ヨシノボリ属魚類にみられるシマヒレヨシノボリの遺伝的要素は、mtDNA においてもマイクロサテライト DNA においても、円山川水系産よりも奈良公園産に近いことが示された。仙洞御所の池にかつてシマヒレヨシノボリが生息したとすれば、それは奈良公園産に近い遺伝的特徴を持っていた可能性がある。シマヒレヨシノボリでは地域により色彩に違いがあることも示されており（鈴木ほか, 2017）、種内に独立性の高い個体群が含まれていると予想されるが、種の認識や命名に向けては、分布域全体を網羅した包括的な調査を踏まえて慎重に行う必要があると考えられる。

謝 辞

本論文の作製にあたり以下の方々のご協力に関して深く謝意を表したい。標本の採集に関して、土井敏男、池田康秀、桐山 剛、桑原雅之、小林保、小寺昌彦、目黒勝介、水谷伸彰、長田智生、酒向貴子、鈴木寿之、寺内俊之、山田圭祐の諸氏にご協力いただき、仙洞御所関係について、資料は下 均氏、北池と南池の測量と写真撮影は寺内俊之氏・飯開邦夫氏らの手を煩わせた。また、ニュージーランドの G. S. Hardy 氏には英文を校閲していただいた。

引用文献

明仁・坂本勝一・池田祐二・藍澤正宏. 2013. ハゼ垂目. 中坊徹次(編), pp. 1347-1608, 2109-2211. 日本産魚類検索第三版, 東海大学出版会, 秦野.

明仁・坂本勝一・池田祐二・岩田明久. 2000. ハゼ垂目. 中坊徹次(編), pp. 1139-1310, 1606-1628. 日本産魚類検索第二版, 東海大学出版会, 東京.

Anderson, E. C. and E. A. Thompson. 2002. A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data. *Genetics*, 160: 1217-1229.

Excoffier, L., G. Laval and S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online*, 1: 47-50.

平嶋健太郎. 2018. ヨシノボリ属. 中坊徹次(編・監), pp. 412-417. 日本魚類館, 小学館, 東京.

石田裕子・中林真人・竹門康弘・池淵周一. 2007. 堰堤で仕切られた都市河川の魚類相と生息場の特性. 京大防災研年報, 50B: 781-788.

伊藤早介・森本幸裕. 2003. 野生魚類の生息環境としての園池. ランドスケープ研究, 66: 621-626.

Jakobsson, M. and N. A. Rosenberg. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23:1801-1806.

Jombart, T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24:1403-1405.

Jombart, T., S. Devillard and F. Balloux. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11:94.

環境省. 2013. 平成 25 年度京都御苑九條池等水生生物調査業務報告書. 1-110.

Kocher, T. D., J. A. Conroy, K. R. McKaye and J. R. Stauffer. 1993. Similar morphologies of cichlid fish in Lakes Tanganyika and Malawi are due to convergence. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2: 158-165.

Koizumi, N., T. Moriyama, T. Yoshino, K. Nishida, A. Mori, K. Watabe and T. Takemura. 2015. Development and characterization of microsatellite loci for *Rhinogobius* sp. YB (Gobiidae). *Conservation Genet. Resour.*, 7:137-141.

Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.*, 33: 1870-1874.

Meyer, A., T. D. Kocher, P. Basasibwaki and A. C. Wilson. 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature*, 347: 550-553.

向井貴彦・平嶋健太郎・古橋 芽・古田莉奈・淀太我・中西尚文. 2012. 三重県鈴鹿市南部のため池群におけるヨシノボリ類の分布と種間交雑. 日本生物地理学会会報, 67: 15-24.

Ohara, K., M. Hotta, D. Takahashi, T. Asahida, H. Ida and T. Umino. 2009. Use of microsatellite DNA and otolith Sr:Ca ratios to infer genetic relationships and migration

- history of four morphotypes of *Rhinogobius* sp. OR. Ichthyol. Res., 56: 373–379.
- Ohara, K., D. Takahashi and M. Takagi. 2004. Isolation of microsatellite loci in the freshwater goby, *Rhinogobius* sp. (Gobiidae). Mol. Ecol. Notes, 4: 449–451.
- 小沢晴司. 2009. 御所水道について. NPO 法人災害から文化財を守る会情報ネット, 21: 6–9.
- 織田直文・玉置伸伍. 1991. 第一琵琶湖疏水開発における立案要因—第一琵琶湖疏水開発成立過程の研究(その1). 日本建築学会計画系論文報告集, 426: 101–110.
- Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155: 945–959.
- R Core Team. 2017. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Core Team, Vienna, Austria.
- Rosenberg, N. A. 2004. Distruct: a program for the graphical display of population structure. Mol. Ecol. Notes, 4: 137–138.
- 鈴木寿之・藍澤正宏・渋川浩一. 2017. クロダハゼ—シマヒレヨシノボリとの識別点と“トウヨシノボリ偽橙色型”との関係—. 東海自然誌, 10: 57–66.
- 鈴木寿之・向井貴彦. 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. 魚類学雑誌, 57: 176–179.
- 鈴木寿之・向井貴彦・吉郷英範・大迫尚晴・鄭達壽. 2010. トウヨシノボリ縞鱗型の再定義と新標準和名の提唱. Bull. Osaka Mus. Natr. Hist., 64: 10–14.
- Takahashi, S. and T. Okazaki. 2002. A new lentic form of the “yoshinobori” species complex, *Rhinogobius* spp. from Lake Biwa, Japan, compared with lake-river migrating *Rhinogobius* sp. OR. Ichthyol. Res., 49: 333–339.
- Takahashi, S. and T. Okazaki. 2017. *Rhinogobius biwaensis*, a new gobiid fish of the “yoshinobori” species complex, *Rhinogobius* spp., endemic to Lake Biwa, Japan. Ichthyol. Res., 64: 444–457.
- 辻本 始・向井貴彦・幸田正典. 2003. トウヨシノボリ橙色型, 縞鱗型およびビワヨシノボリ(仮称)の各型間での交配実験. 関西自然保護機構会誌, 25: 17–22.
- Vähä, J. P. and C. R. Primmer. 2006. Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci. Mol. Ecol., 15:63–72.
- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills and P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Mol. Ecol. Note, 4: 535–538.
- Yamasaki, Y. Y., M. Nishida, T. Suzuki, T. Mukai and K. Watanabe. 2015. Phylogeny, hybridization, and life history evolution of *Rhinogobius* gobies in Japan, inferred from multiple nuclear gene sequences. Mol. Phylogenet. Evol., 90: 20–33.