



## 福井県嶺北地方で発見されたナガレホトケドジョウの新たな地域集団

中島 淳<sup>1</sup>・西村俊明<sup>2</sup>・井藤大樹<sup>3</sup>・宮崎淳一<sup>4</sup>・大井和之<sup>5</sup>・平川周作<sup>1</sup>

### Author & Article Info

- <sup>1</sup> 福岡県保健環境研究所 (太宰府市)  
 nakajima@fhes.pref.fukuoka.jp (corresponding author)  
<sup>2</sup> 日本淡水魚類愛護会 (名古屋市)  
<sup>3</sup> 徳島県立博物館 (徳島市)  
<sup>4</sup> 山梨大学教育学部 (甲府市)  
<sup>5</sup> (一財)九州環境管理協会 (福岡市)

Received 02 March 2021  
 Revised 08 March 2021  
 Accepted 09 March 2021  
 Published 10 March 2021  
 DOI 10.34583/ichthy.6.0\_33

Jun Nakajima, Toshiaki Nishimura, Taiki Ito, Jun-Ichi Miyazaki, Kazuyuki Ooi and Shusaku Hirakawa. 2021. Report of a genetic population of *Lefua torrentis* (Nemacheilidae) from Reihoku District, Fukui Prefecture, Honshu, Japan. Ichthy, Natural History of Fishes of Japan, 6: 33–37.

### Abstract

A newly found genetic population, characterized by mtDNA *cytb* sequences, of Stream Eight-barbeled Loach, *Lefua torrentis* Hosoya, Ito and Miyazaki, 2018 (Cypriniformes: Nemacheilidae), was reported from Reihoku District, Fukui Prefecture, Honshu, Japan. The population is also characterized by the morphological characters, compared to two previously known genetic populations of the species in Japan. The present study provides meristic counts and color photographs of voucher specimens of the Reihoku population.

コイ目フクドジョウ科 (Cypriniformes: Nemacheilidae) のホトケドジョウ属 *Lefua* は東アジア固有の純淡水魚類のグループで、現在 7 有効種が知られている (Kottelat, 2012; 中島・内山, 2017; Hosoya et al., 2018; Ito et al., 2019b). このうちナガレホトケドジョウ *Lefua torrentis* Hosoya, Ito and Miyazaki, 2018 は、主に河川源流域に生息する日本固有種で、本州 (福井県, 滋賀県, 京都府, 大阪府, 兵庫県, 奈良県, 和歌山県, 鳥取県, 岡山県) と四国 (徳島県, 香川県, 愛媛県) に分布する (中島・内山, 2017; Hosoya et al., 2018; 細谷, 2019). 本種は砂防ダム建設や森林伐採の影響を受け、各地で個体数を減じていることから、環境省レッドリストにおいて絶滅危惧 IB 類に選定されている (環境省, 2020).

本種には遺伝的に異なる複数の集団の存在が知られ、主に紀伊半島から四国に紀伊・四国集団が、それ以外の地域に山陽集団が分布している (Mihara et al., 2005; 佐野ほか, 2016; Hosoya et al., 2018; 細谷, 2019). また、京都府北部と福井県嶺南地方からは、ナガレホトケドジョウ以外のホトケドジョウ属魚類からミトコンドリア DNA の遺伝子浸透を受けたと考えられる日本海集団が報告されている (Miyazaki et al., 2018). 形態的には体側および体背部と尾柄部に斑紋がない無斑型と、斑紋がある斑紋型が知られ、斑紋型は紀伊・四国集団に多く出現することが知られている (細谷, 2019).

著者らは 2018 年に福井県において採集されたホトケドジョウ属 2 個体について、その形態とミトコンドリア DNA cytochrome *b* 領域の塩基配列の特徴を調査した。その結果、これらの標本はナガレホトケドジョウに同定されるものの、これまでに知られていない形態的・遺伝的特徴をもつことを確認したのでここに報告する。

### 材料と方法

標本は 2018 年 9 月 1 日に、福井県嶺北地方の九頭竜川水系の渓流域で採集された。本種は希少種であり乱獲の恐れがあることから、本報では詳細な採集地点の記載は行わない。調査によって 10 個体が採集されたが、そのうちの 2 個体を以下の研究に用いた。なお、本標本は徳島県立博物館登録標本とした (TKPM-P 25896, 25897)。

個体は生かしたまま実験室に持ち帰り、クローブオイルを用いて麻酔をかけた後に右腹鰭を切除し、無水エタノール固定標本として後の遺伝子解析に用いた。また、本体は 10% 中性ホルマリン水溶液で固定後、保存液を 70% エタノール水溶液に置換して形態計測に用いた。標本の計数および計測方法は Hubbs and Lagler (2004) に従い、Hosoya et al. (2018) を参考にして、各鰭の鰭条を計数し、標準体長、頭長、体高、体幅、尾柄高、尾柄長、背鰭前長、肛門前長、腹鰭前長、臀鰭基底長、胸鰭長、吻長、眼径、眼間幅を、それぞれデジタルノギスを用いて 0.1 mm の単位で計測した。

ゲノム DNA の抽出は前述した右腹鰭から、DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) を用いて行った。その後、PCR 法によりミトコンドリア DNA (mtDNA) cytochrome *b* 遺伝子領域 (cytb) の 1,141 塩基対を増幅した。PCR に使用したプライマーは、Forward (loach\_cytb\_F1) : 5'-CAGTGAAGTGAAGAACCACCG-3' および Reverse (H15915) : 5'-CTCCGATCTTCGGATTACAAGAC-3' (Xiao et al., 2001) である。Forward Primer は Xiao et al. (2001) の L14724 をもとにシマドジョウ属 *Cobitis* およびドジョウ属 *Misgurnus* の mtDNA 登録配列の当該部分を、Reverse Primer と Tm が一致するように改変したものである。PCR は 94°C、10 秒間の加熱を行った後、98°C : 10 秒、55°C : 5 秒、68°C : 15 秒のサイクルを 35 回繰り返した。PCR における DNA ポリメラーゼには KOD One (TOYOBO) を使用した。PCR 増幅産物の精製には Exo-SAP IT (Thermo Fisher Scientific) を使用した。精製した各増幅産物について、PCR 時と同じプライマーおよび BigDye Terminator v3.1 (Thermo Fisher Scientific) を用いてサイクルシーケンシング反応を行い、ABI 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) により塩基配列を決定した。得られた塩基配列データは日本 DNA データバンク (DDBJ) に登録した (Table 1)。

次に本研究で塩基配列を決定した 2 個体、および公開されているナガレホトケドジョウの 2 系統、ホトケドジョウ *Lefua echigonia* Jordan and Richardson, 1907 の 6 系統、トウカイナガレホトケドジョウ *Lefua tokaiensis* Ito, Miyazaki and Hosoya, 2019, エゾホトケドジョウ *Lefua nikkonis* (Jordan and Fowler, 1903), ヒメドジョウ *Lefua costata* (Kessler, 1876), 外群としてフクドジョウ *Barbatula oreas* (Jordan and Fowler, 1903), アユモドキ *Parabotia curtus* (Temminck and Schlegel, 1846) の塩基配列データを用いて (Table 1), 遺伝子系統樹を作成した。系統推定には最尤法を使用した。まず、BIC (Bayesian Information Criterion) を基準に最適な塩基置換モデルを決定し、選択されたモデル (HKY+G+I

model) に基づき、最尤法による系統推定を実行した。系統樹の各分岐の信頼性は 1,000 回のブートストラップにより評価した。モデル選択および系統推定には MEGA X (Kumar et al., 2018) を使用した。

以上の形態的・遺伝的特徴に基づいて、中島・内山 (2017), Ito et al. (2019b) に従い種の同定を行った。

## *Lefua torrentis* Hosoya, Ito and Miyazaki, 2018

### ナガレホトケドジョウ

(Figs. 1, 2; Tables 1, 2)

**標本** TKPM-P 25896, 標準体長 35.5 mm, TKPM-P 25897, 標準体長 32.4 mm, 福井県嶺北地方 (九頭竜川水系), たも網, 2018 年 9 月 1 日, 西村俊明・佐々木賀治採集。

**記載** 調査標本の計数形質および各部の計測値を Table 2 に示す。体は細長く円筒形でやや縦扁し、尾柄部はやや側扁する。頭部は縦扁する。眼は頭部背側に位置し、小さく、頭長の約 12%。尾柄部の背面と腹面はキール状となり、キールを含む尾柄高は体高と同程度である。前鼻孔周辺の皮膚は 1 本の細長いひげ状となり、前鼻孔はひげ状突起の根本やや上方に開孔する。後鼻孔は前鼻孔よりも大きく、眼窩直前に開孔する。上口唇には 3 対の口ひげがある。いずれの口ひげも、眼径をはるかにこえる。体表は細かい鱗で覆われる。側線はない。胸鰭は第 3 分枝軟条が最も長い。背鰭は体の中央よりも後方に位置し、その起点は腹鰭基底後端よりも明らかに後方にある。尾鰭は楕円形で、側縁は丸い。

**色彩** 生時は体全体が黄色みの強い褐色で、眼から吻端に向かう明瞭な黒褐色の縦帯を有する。体背部から体側部、尾柄部にかけて全体に暗褐色の小斑点が散在する。それら小斑点は最大のものでも眼径よりやや大きい程度である。胸鰭は黄褐色で、基部および前半部に暗色斑紋を有する。背鰭は黄褐色で、基部に近い部分に暗色斑紋を有する。尾鰭は基部から中央やや先端に近い部分が黄褐色で暗色斑

Table 1. Localities and GenBank accession numbers for material analyzed in this study.

Species	Locality	Accession No.	Reference
<i>Lefua torrentis</i> (Reihoku population)	Japan: Reihoku, Fukui, Honshu	LC605831	present study
<i>Lefua torrentis</i> (Sanyo population)	Japan: Kobe, Hyogo, Honshu	AB080182	Saka et al. (2003)
<i>Lefua torrentis</i> (Kii-Shikoku population)	Japan: Kawano, Ehime, Shikoku	AB080183	Saka et al. (2003)
<i>Lefua echigonia</i> (Hokuriku population)	Japan: Nagaoka, Niigata, Honshu	AB080147	Saka et al. (2003)
<i>Lefua echigonia</i> (Tohoku population)	Japan: Sendai, Miyagi, Honshu	AB080155	Saka et al. (2003)
<i>Lefua echigonia</i> (Kita-kanto population)	Japan: Imaichi, Tochigi, Honshu	AB080154	Saka et al. (2003)
<i>Lefua echigonia</i> (Minami-kanto population)	Japan: Hachioji, Tokyo, Honshu	AB080159	Saka et al. (2003)
<i>Lefua echigonia</i> (Tokai population)	Japan: Isobe, Mie, Honshu	AB080179	Saka et al. (2003)
<i>Lefua echigonia</i> (Kinki population)	Japan: Kanadu, Fukui, Honshu	AB080176	Saka et al. (2003)
<i>Lefua tokaiensis</i>	Japan: Shinshiro, Aichi, Honshu	LC079031	Ito et al. (2019a)
<i>Lefua nikkonis</i>	Japan: Ono, Hokkaido	AB100919	Saka et al. (2003)
<i>Lefua costata</i>	China: Kaiyuan, Liaoning	DQ105196	Tang et al. (2006)
<i>Barbatula oreas</i>	Japan: Kamiiso, Hokkaido	AB100917	Saka et al. (2003)
<i>Parabotia curtus</i>	Japan: Kameoka, Kyoto, Honshu	AB496667	Watanabe et al. (2009)



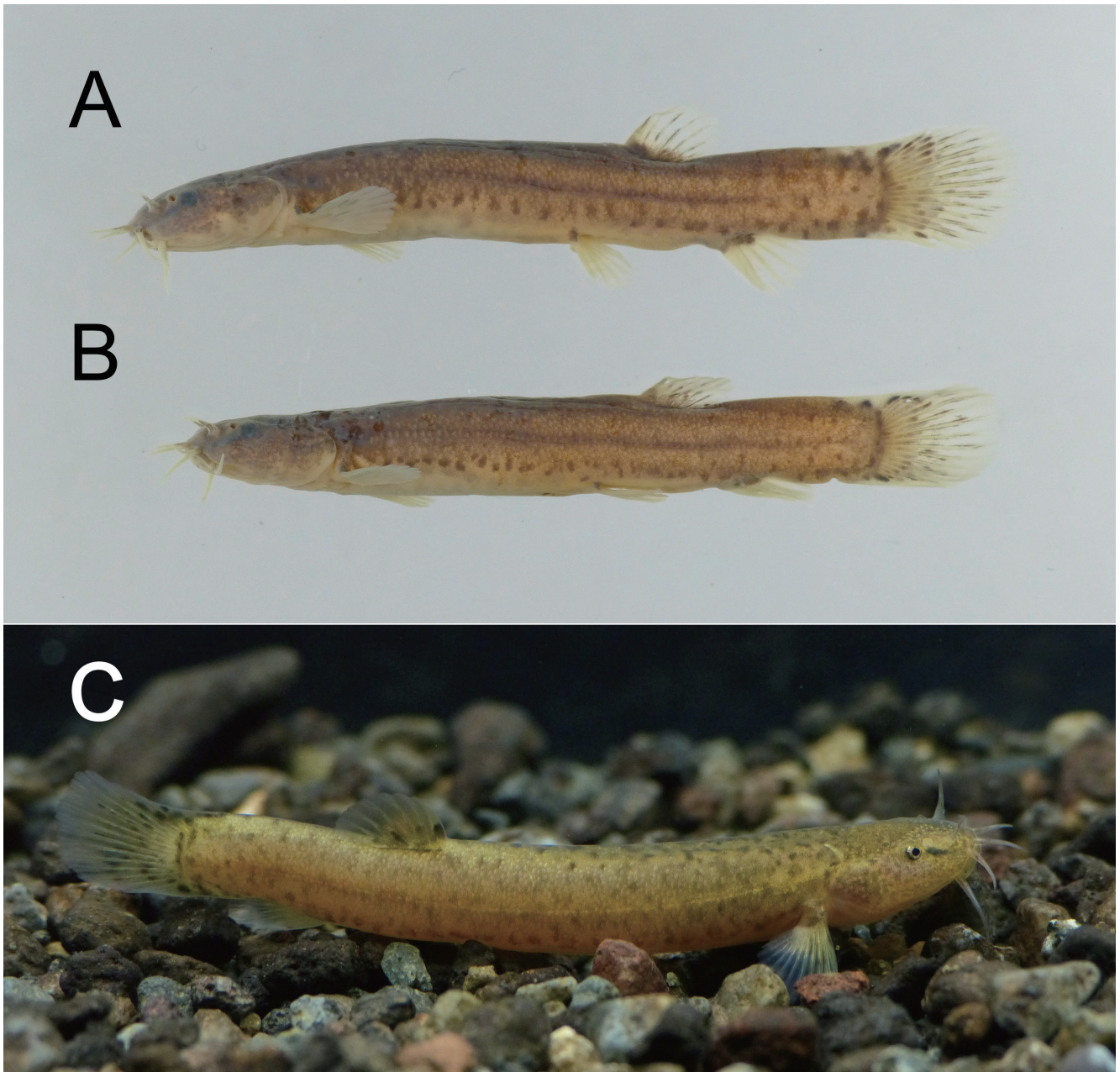


Fig. 1. *Lefua torrentis* from Reihoku District, Fukui Prefecture, Japan. A, C, TKPM-P 25896, 35.5 mm SL; B, TKPM-P 25897, 32.4 mm SL [preserved (A and B) and live (C) specimens].

があるが、周縁部は半透明で斑紋はない。腹鰭と臀鰭には斑紋はない。

**遺伝的特徴** 作成した遺伝子系統樹を Fig. 2 に示す。調査標本の mtDNA<sub>cytb</sub> 領域 1,134 塩基対の配列は、今回分析を行った 2 個体間で完全に一致した。その部分塩基配列の特徴は、ナガレホトケドジョウの配列ともっとも類似し、アラインメントされた領域の 1,026 塩基対では、山陽集団である兵庫県神戸市産個体 (AB080182) との塩基配列の一致度は 89.4%、紀伊・四国集団である愛媛県四国中央市 (旧川之江市) 産個体 (AB080183) との塩基配列の一致度は 89.9% であった。

## 考 察

現在、国内ではホトケドジョウ属として外来種のヒメ

ドジョウ、在来種のエゾホトケドジョウ、ホトケドジョウ、ナガレホトケドジョウ、トウカイナガレホトケドジョウの合計 5 種が確認されている (中島・内山, 2017; 細谷, 2019)。本研究の調査標本は、眼前部の暗色縦帯が明瞭であること (エゾホトケドジョウ、ホトケドジョウでは不明瞭)、尾鰭基底中央に暗色斑がないこと (エゾホトケドジョウ、ヒメドジョウでは三角形の暗色斑がある)、眼が頭部背面にあること (エゾホトケドジョウ、ヒメドジョウ、ホトケドジョウでは側面にある)、尾鰭基部の深層部に暗色横帯がないこと (トウカイナガレホトケドジョウでは暗色の細かい横帯がある)、尾鰭後縁が丸いこと (トウカイナガレホトケドジョウではやや角ばる) などの特徴をもち、これらは中島・内山 (2017)、Ito et al. (2019b) に従うとナガレホトケドジョウに一致する。また、mtDNA<sub>cytb</sub> 領域

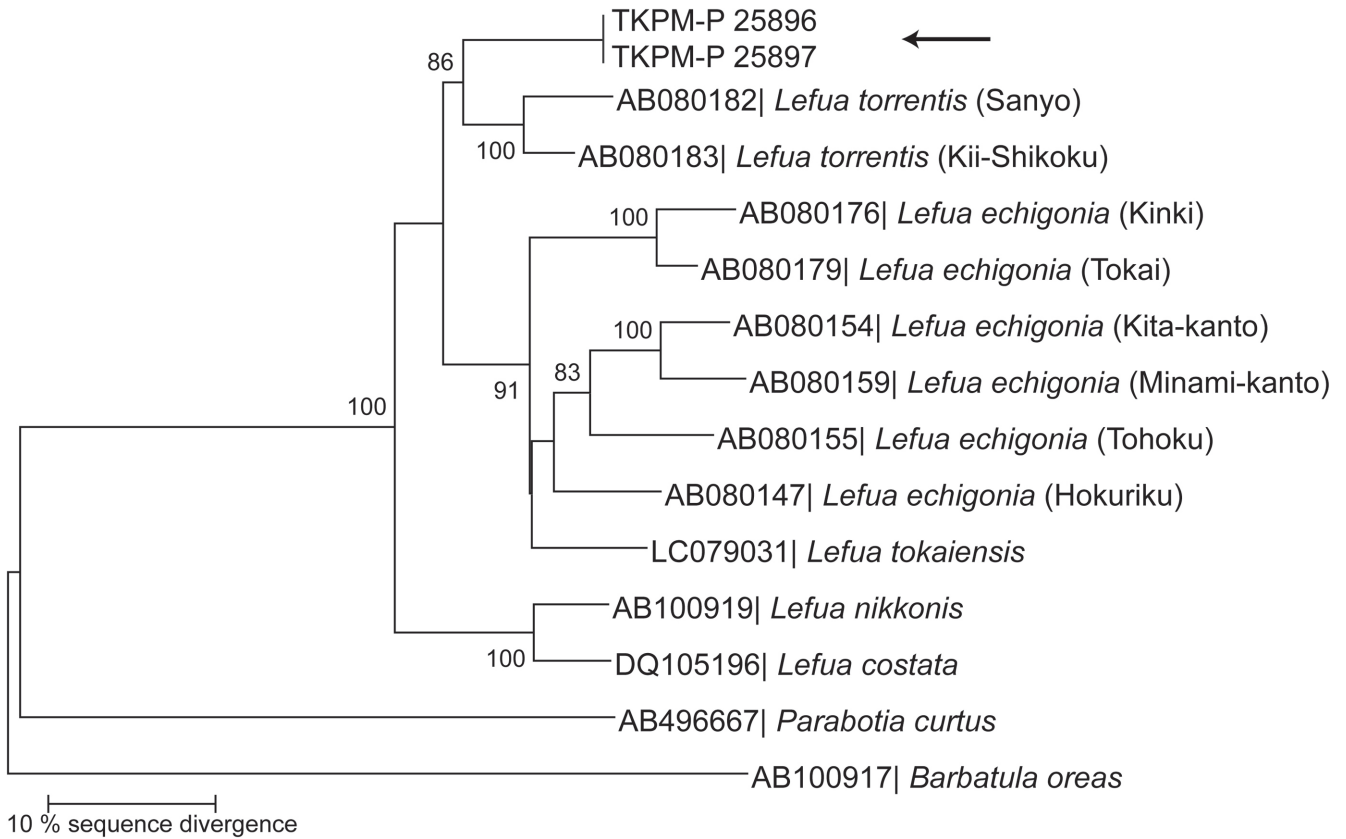


Fig. 2. Maximum likelihood phylogram based on mtDNA *cytb* sequences of species of *Lefua* and two outgroups. Arrow indicates Reihoku District population of *Lefua torrentis*. Numbers on each branch indicate bootstrap values with 1,000 replicates.

の塩基配列の特徴は、ナガレホトケドジョウにもっとも類似した。以上より、今回調査した標本をナガレホトケドジョ

ウと同定した。

Table 2. Counts and morphometric measurements of *Lefua torrentis* collected from Reihoku District, Fukui Prefecture, Japan.

	TKPM-P 25896	TKPM-P 25897
Standard length (SL; mm)	35.5	32.4
Counts		
Dorsal fin rays	iv+6	iii+6
Anal fin rays	iii+5	iii+5
Pectoral fin rays	i+11	i+11
Pelvic fin rays	i+5	i+5
Caudal fin rays*	6+7	5+7
Measurements (as %SL)		
Head length (HL)	22.4	23.6
Body depth	13.3	13.5
Body width	13.0	13.4
Depth of caudal peduncle	12.5	13.1
Length of caudal peduncle	16.9	16.2
Predorsal length	65.7	64.2
Preanal length	71.6	74.4
Prepelvic length	56.8	59.4
Height of dorsal fin	12.8	13.9
Length of anal fin base	7.4	7.8
Pectoral fin length	16.4	14.8
Measurements (as %HL)		
Snout length	35.7	36.3
Orbit diameter	11.7	11.7
Interorbital width	40.1	40.5

\* Counted only branched rays.

しかしながら、調査標本は体側から尾柄に小斑点が広く存在すること、背鰭・尾鰭に明瞭な斑紋があること、背鰭がやや小さいことなど、これまで知られているナガレホトケドジョウの形態的特徴とは異なる点も認められる。mtDNA *cytb* 領域の塩基配列の特徴も、本種の山陽集団および紀伊・四国集団との違いはかなり大きい。また今回直接比較していないが、日本海集団は遺伝子浸透によりナガレホトケドジョウ以外のホトケドジョウ属魚類の mtDNA の特徴を有していることから (Miyazaki et al., 2018), この集団とも遺伝的に異なる可能性が高い。したがって、今回調査した標本はその形態と遺伝子の特徴から、これまでに未発見であったナガレホトケドジョウの地域集団と考えられ、その分布範囲については不明な点が残るが、ひとまず嶺北集団と呼称することを提案する。今後は mtDNA の他の領域や核 DNA を含めたより詳細な遺伝子解析を行うと同時に、骨格形態も含めたより詳細な形態解析を行うことで、その系統学的・分類学的な位置づけを明らかにしていく必要がある。

福井県内のナガレホトケドジョウについては、嶺南地方の南川水系から山陽集団と日本海集団の分布が報告されている (Mihara et al., 2005; Miyazaki et al., 2018). 福井県内の淡水魚類相は嶺北地方と嶺南地方の間で、特に丹生山地を境にして大きく異なることが知られており (加藤,



1998; 松宮ほか, 2007), アジメドジョウ *Niwaella delicata* (Niwa, 1937) においてもこの山地を境にその遺伝的・形態的特徴が異なることが報告されている (Kitagawa et al., 2001). したがって, 嶺南地方のナガレホトケドジョウと異なる特徴をもつ集団が嶺北地方に分布することに矛盾はなく, 嶺北集団はそうした地史を反映した生物地理学的に重要な個体群と考えられる. また, ナガレホトケドジョウは福井県レッドデータブックにおいて絶滅危惧 I 類に選定されているが (福井県安全環境部自然環境課, 2016), 特に嶺北地方における生息状況には不明な点が多く, 著者らの現地調査の結果からもその産地・生息数が少ないことが予想される. ナガレホトケドジョウ嶺北集団が生物多様性を保全する上で特に重要な個体群であることは明らかことから, 嶺北地方の河川源流域において環境改変などが行われる場合には, その存続に悪影響を与えることがないように細心の注意が必要である. 今後も当地域における嶺北集団に関する情報を集積し, 積極的にその保全を図っていく必要があるだろう.

## 謝 辞

調査にご同行いただいた佐々木賀治氏, 文献入手にご協力いただいた保科英人博士 (福井大学) にこの場を借りてお礼申し上げます. なお, 本研究の一部は JSPS 科研費 JP19K04682 によって実施された.

## 引用文献

福井県安全環境部自然環境課. 2016. 改訂版 福井県の絶滅のおそれのある野生動植物. [https://www.pref.fukui.lg.jp/doc/shizen/rdb/rdb\\_d/fil/reddatabook.pdf](https://www.pref.fukui.lg.jp/doc/shizen/rdb/rdb_d/fil/reddatabook.pdf) (11 Feb. 2021).

細谷和海. 2019. 山溪ハンディ図鑑 増補改訂 日本の淡水魚. 山と溪谷社, 東京. 560 pp.

Hosoya, K., T. Ito and J. Miyazaki. 2018. *Lefua torrentis*, a new species of loach from western Japan (Teleostei: Nemacheilidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 28: 193–201.

Hubbs, C.L. and K. F. Lagler. 2004. *Fishes of the Great Lakes region*. Revised edition. University of Michigan Press, Bloomfield Hills. 250 pp.

Ito, G., Y. Koya, S. Kitanishi, T. Horiike and T. Mukai. 2019a. Genetic population structure of the eight-barbel loach *Lefua echigonia* in the Ise Bay region, a single paleo-river basin in central Honshu, Japan. *Ichthyological Research*, doi: 10.1007/s10228-019-00683-z (Feb. 2019), 66: 411–416 (July 2019).

Ito, T., K. Hosoya and J. Miyazaki. 2019b. *Lefua tokaiensis*, a new species of nemacheilid loach from central Japan (Teleostei: Nemacheilidae). *Ichthyological Research*, doi: 10.1007/s10228-019-00690-0 (Apr. 2019), 66: 479–487 (Nov. 2019).

環境省. 2020. 環境省レッドリスト 2020. <http://www.env.go.jp/press/files/jp/114457.pdf> (9 Jan. 2021).

加藤文男. 1998. 福井県の淡水魚類, pp. 125–203. 福井県自然環境保全調査研究会 陸水生物部会 (編) 福井県の陸水生物. 福井県, 福井.

Kitagawa, T., M. Yoshioka, M. Kashiwagi and T. Okazaki. 2001. Population structure and local differentiation in the delicate loach, *Niwaella delicata*, as revealed by mitochondrial DNA and morphological analyses. *Ichthyological Research*, 48: 127–135.

Kottelat, M. 2012. *Conspectus cobitidum: an inventory of the loaches of the world* (Teleostei: Cypriniformes: Cobitoidei). *The Raffles Bulletin of Zoology, Supplement*, 26: 1–199. ([https://lknhm.nus.edu.sg/app/uploads/2017/06/Conspectus\\_cobitidum.pdf](https://lknhm.nus.edu.sg/app/uploads/2017/06/Conspectus_cobitidum.pdf))

Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz and K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35:1547–1549. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5967553/>)

松宮由太佳・渡辺勝敏・井口恵一朗・岩田祐士・山本軍次・西田 睦. 2007. 福井県嶺南地方を流れる南川水系の淡水魚類. *魚類学雑誌*, 48: 93–107.

Mihara, M., T. Sakai, K. Nakao, L.O. Martins, K. Hosoya and J. Miyazaki. 2005. Phylogeography of loaches of the genus *Lefua* (Balitoridae, Cypriniformes) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Zoological Science*, 22: 157–168.

Miyazaki, J., T. Tamura, S. Hida and T. Sakai. 2018. Local introgression of mitochondrial DNA in Eight-Barbel Loaches of the genus *Lefua* (Balitoridae, Cypriniformes). *Zoological Science*, 35: 140–148.

中島 淳・内山りゅう. 2017. 日本のドジョウ 形態・生態・文化と図鑑. 山と溪谷社, 東京. 223 pp.

Saka, R., Y. Takehana, N. Suguro and M. Sakaizumi. 2003. Genetic population structure of *Lefua echigonia* inferred from allozymic and mitochondrial cytochrome *b* variations. *Ichthyological Research*, 50: 301–309.

佐野 勲・切金 南・緒形健太・小林健介・東城幸治・宮崎淳一. 2016. ミトコンドリアチトクローム *b* 遺伝子の塩基配列に基づくホトケドジョウ類の系統. *山梨大学教育学部紀要*, 25: 183–192.

Tang, Q., H. Liu, R. Mayden and B. Xiong. 2006. Comparison of evolutionary rates in the mitochondrial DNA cytochrome *b* gene and control region and their implications for phylogeny of the Cobitoidea (Teleostei: Cypriniformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39: 347–357.

Watanabe, K., T. Abe and A. Iwata. 2009. Phylogenetic position and generic status of the Japanese botiid loach. *Ichthyological Research*, 56: 421–425.

Xiao, W., Y. Zhang and H. Liu. 2001. Molecular systematics of Xenocyprinac (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18: 163–173.