

## ミナミメダカ琉球型個体群における他個体群の放流による 遺伝的攪乱の初事例

今井 秀行<sup>1\*</sup>・米沢 俊彦<sup>2</sup>・立原 一憲<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 〒 903-0213 沖縄県西原町千原1 国立大学法人琉球大学理学部海洋自然科学科生物系

<sup>2</sup> 〒 891-0132 鹿児島県鹿児島市七ツ島 1-1-5  
一般財団法人鹿児島県環境技術協会環境生物部環境生物課

### First evidence from genetic markers for introgression of non-native genes into unique Ryukyu subpopulation of *Oryzias latipes*

Hideyuki Imai<sup>1\*</sup>, Toshihiko Yonezawa<sup>2</sup> and Katsunori Tachihara<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology and Marine Science, Faculty of Science, University of the Ryukyus,  
Nishihara, Okinawa 903-0213, Japan

<sup>2</sup> Division of Environmental Biology, Department of Research, Kagoshima Environmental Research and  
Service, Nanatsujima, Kagoshima city, Kagoshima 891-0132, Japan

**Abstract.** The current study examined the distribution of minami-medaka (*Oryzias latipes*) across the Ryukyu Archipelago in Japan to assess if the Ryukyu subpopulation as described by Sakaizumi *et al.* (1983) may be significantly divergent. Between 2003 and 2010, *O. latipes* were sampled from across Japan and populations compared using two genetic markers, an allozyme locus (aspartate aminotransferase; Aat) originally screened by Sakaizumi *et al.* (1983) and a new PCR-RFLP mtDNA marker based on the ND1 region. Laboratory trials showed that the Ryukyu subpopulation of *O. latipes* crossed with the Eastern subpopulation produced viable hybrids possessing both alleles *Aat<sup>b</sup>* and *Aat<sup>c</sup>* confirming that this marker will be effective for distinguishing natural hybrids between the Ryukyu subpopulation and other subpopulations. Populations distributed from the Amamioshima Islands to the Okinawa Islands all conformed to Ryukyu subpopulation genotypes and were fixed for allele *Aat<sup>c</sup>*. In addition, Okinawa islands populations were discriminated for the first time successfully from other subpopulations based on haplotype 5 (PCR-RFLP marker). A population at Chinen on Okinawajima Island possessed different genotypes to other Ryukyu subpopulations suggesting that it may have resulted from an introduction from a non-native source. Genetic introgression from other non-native subpopulations of *O. latipes* is the first case found in the Ryukyu Archipelago. It will be important in the future therefore, to apply the genetic markers used here to periodically monitor the Ryukyu subpopulation to conserve unique regional genetic diversity.

**Key words:** *Oryzias latipes*, Ryukyu subpopulation, genetic introgression, PCR-RFLP

---

\*連絡先 (Corresponding author): imai@sci.u-ryukyu.ac.jp

(要約)

2003年～2010年までに日本各地からミナミメダカ *Oryzias latipes* を採集し, Sakaizumi *et al.* (1983) が示した琉球型についてアロザイムマーカーの対立遺伝子 *Aat<sup>f</sup>* と新規に開発したPCR-RFLPマーカー(ミトコンドリアDNA・ND1領域)を用いて再確認をおこなった. また琉球型と東日本型から繁殖させた18個体は, すべて *Aat<sup>b</sup>* と *Aat<sup>f</sup>* の雑種バンドを形成した. よって雑種個体の判別に有効であることが示された. 琉球型の分布域である奄美大島から沖縄諸島までの各個体群についてアロザイム分析した結果, *Aat<sup>f</sup>* で固定されており琉球型の再確認が可能であった. 一方, PCR-RFLPマーカーのハプロタイプ5は, 沖縄諸島だけを他の地域個体群と判別することが初めて可能となった. 分析の結果, 与論島の個体群では移入の可能性が示唆され, 沖縄島知念の個体群では, 琉球型以外からの遺伝子浸透が明らかとなった. このたびの琉球列島における放流による移入と遺伝的攪乱は初めての事例である. 今後, 琉球型個体群の保全のためには, 遺伝的攪乱や開発などの影響について教育現場と社会への啓蒙とともに本研究で用いた遺伝的マーカーによる定期的モニタリングが必要である.

はじめに

メダカ, *Oryzias latipes* (Temminck and Schlegel, 1846) は, アロザイムマーカーによって北日本集団と南日本集団に大別され(Sakaizumi *et al.*, 1980), さらに後者は Sakaizumi *et al.* (1983) によって5地域集団(東日本型, 山陰型, 瀬戸内型, 九州型, 琉球型), 酒泉(1987)によって7地域集団(東日本型, 東瀬戸内型, 西瀬戸内型, 山陰型, 北九州型, 南西九州型, 琉球型)および酒泉(1990)によって9地域集団(東日本型, 東瀬戸内型, 西瀬戸内型, 山陰型, 北部九州型, 有明海型, 薩摩型, 大隅型, 琉球型)に細分されている. 北日本集団は, Asai *et al.* (2011) によってキタノメダカ *O. sakaizumii* Asai, Senou and Hosoya, 2012 として新種記載された. それを受けて南日本集団のメダカは, ミナミメダカ *O. latipes* として新たな標準和名が提唱された(瀬能, 2013). ミナミメダカの琉球型は, アスパラギン酸アミノ転移酵素(aspartate aminotransferase, 以下 *Aat*) に関するアロザイム対立遺伝子 *Aat<sup>f</sup>* によって固定されており, 他の地方集団と比較して特徴的である(Sakaizumi *et al.*, 1983; 酒泉, 1987; 太田2002). このように琉球型個体群は, *Aat<sup>f</sup>* によって九州の集団と区別することが可能であり, 九州から比較的古い時期に侵入したと考えられ

(酒泉, 1987), 九州の西南部集団の延長と考えられている(酒泉, 1990). 一方, Matsuda *et al.* (1997) と Takehana *et al.* (2003) は, それぞれミトコンドリアDNA(mtDNA)全領域の制限酵素切断片長多型(RFLP)分析およびmtDNAチトクロームb遺伝子のPCR-RFLP分析によって得られたmtDNA型(ハプロタイプまたはマイトタイプ)が有明型, 薩摩型および琉球型の型間で同じ(それぞれハプロタイプ#60とマイトタイプB24)であることを示し, 同一系統(サブクレードB-XI)と報告した. 後に竹花・酒泉(2004)は, サブクレードB-XIを有明-薩摩-琉球サブグループと称した. また, Katsumura *et al.* (2009) によっても九州と沖縄島の個体群は, 同じ系統であるとされている. すなわちアロザイム分析で見いだされた琉球型個体群は, 今までのmtDNA分析によって同じハプロタイプを示す有明型, 薩摩型と区別できないこと, きわめて最近の分布拡大が示唆されていること(竹花, 2010), さらに他個体群からの移植の可能性さえ言及されている(沖縄県, 1978; 林ほか, 1987; 太田, 2002; 立原, 2005).

隔離された純淡水魚の多くは, 地域ごとに異なる遺伝的特徴を有する傾向があることから(渡辺ほか, 2006), これらを考慮した個体群の保全を適切に行う必要がある. しかし, ミナミ

メダカを選抜育種して品種改良された“ヒメダカ”もしくは大量販売されている野生型体色(黒色)のいわゆる“クロメダカ”は全国の小学校で教材として使用され、遺棄や逸出だけでなく保全団体や個人による放流が行われており、その結果として在来個体群に遺伝的攪乱を引き起こすことが知られている(細谷, 2000; 瀬能, 2008; 竹花・北川, 2006; 北川, 2013). さらにメダカ類の減少と地域絶滅に関与する特定外来生物のカダヤシ *Gambusia affinis* は、ミナミメダカと激しい突きあいに勝って置き換わることが知られている(佐原・幸地, 1980). 以上のような要因によって全国的に地域絶滅する個体群が散見されるようになり、環境省版レッドデータブックでは絶滅危惧Ⅱ類の指定を受けた(林, 2003). 琉球型個体群の評価は、水質汚染や外来種の侵入により種の存続が厳しくなっていることから絶滅危惧種に指定されている(諸喜田・立原, 1998; 米沢・四宮, 2016). 本研究では、2つの遺伝的マーカーを用いてミナミメダカ琉球型個体群において遺伝的攪乱と移入を初めて確認したので報告する.

## 材料と方法

### 標本

本研究で用いた標本は2003年から2010年に採集した. 東日本型として埼玉県岩槻市(n=10), 千葉県江戸川水系(n=10), 静岡県雄踏町(n=10), 愛知県春日井市(n=20), 東瀬戸内型として岡山県旭川水系(n=10), 西瀬戸内型として大分県(n=15), 北部九州型として対馬(n=6), 有明型として長崎県諫早市(n=7), 薩摩型として鹿児島県上甕島欽崎池(n=19), 鹿児島県鹿児島市永田川水系(n=36), 大隅型として鹿児島県大隅半島肝属川水系(n=18), 琉球型として鹿児島県奄美大島龍郷町(n=20), 鹿児島県与論島(n=15), 沖縄県伊平屋島(n=15), 沖縄県伊是名島(n=20), 沖縄県宜名真ダム(n=15), 沖縄県大宜味村(n=15), 沖縄県福地ダム(n=20), 沖縄県漢那ダム(n=13), 沖縄県沖縄市内の嘉手納弾薬庫地区(旧東恩納弾薬庫地区, n=19), “ヒメダカ”2個体が確認された沖縄県知念市(n=52)(Fig. 1)を採集後、実験室に持ち帰り氷水で即死させて筋肉組

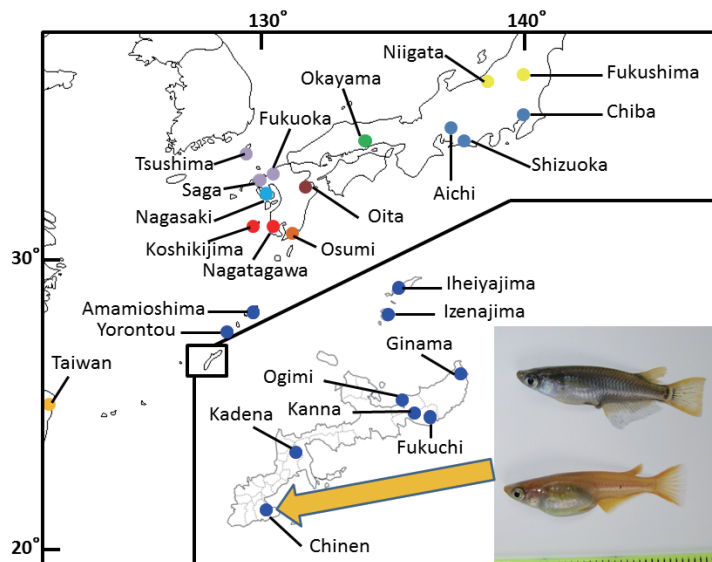


Fig. 1. Sampling locations for *Oryzias latipes*, *O. sakaizumii* and *O. sinensis*. Photograph of hi-medaka from Chinen locality, Okinawajima Island.

織を生鮮または凍結した試料をアロザイム分析および mtDNA 分析に供した. さらに新潟県長岡市 (n=10) と福島県猪苗代湖 (n=10) のキタノメダカおよび台湾宜蘭縣のチュウゴクメダカ *O. sinensis* Chen, Uwa and Chu, 1989 (n=5) も実験に供した. 琉球型 (嘉手納) の雄成魚 1 個体と東日本型 (埼玉) の雌成魚 2 個体を人工飼育下で繁殖させた 18 個体についても氷水で即死させて生鮮状態の筋肉組織を試料として分析した. 粗全 DNA 抽出は, TNES-8M Urea 緩衝液 500  $\mu$ l の入った 1.5ml チューブに保存し, プロテイナーゼ K・SDS / フェノール・クロロフォルム, ジエチルエーテルとエタノール沈殿を用いた (Imai *et al.*, 2004).

#### アロザイムマーカー

アロザイム分析は Sakaizumi *et al* (1983) と

同様に, 0.5 % アガロースゲル Agarose LO3 (Takara Bio) を用いた. 電気泳動の試料は -60°C で冷凍保存した筋肉組織に滅菌蒸留水を適宜加え, 滅菌済ベッスルでホモジュネートし, 10,000g 遠心後の上澄み 3  $\mu$ l と同量の  $\times 10$  Loading buffer (Takara Bio) を混合して試料とした. 緩衝液には Shaw and Prasad (1970) のバッファー III (TBE-8.0) を用い, 定電圧 150V, 0°C, 約 3 時間通電し,  $\times 10$  Loading buffer の青色色素が原点から陽極側へ約 5cm 移動するまで実施した. アスパラギン酸アミノ転移酵素 (aspartate aminotransferase, E.C.: 2.6.1.1) (以後 Aat とする) に関する遺伝子座の染色は, Taniguchi and Numachi (1978) を改良しておこなった. 対立遺伝子の同定は, Sakaizumi *et al* (1983) に従い,  $Aat^a$ ,  $Aat^b$  および  $Aat^c$  とした.

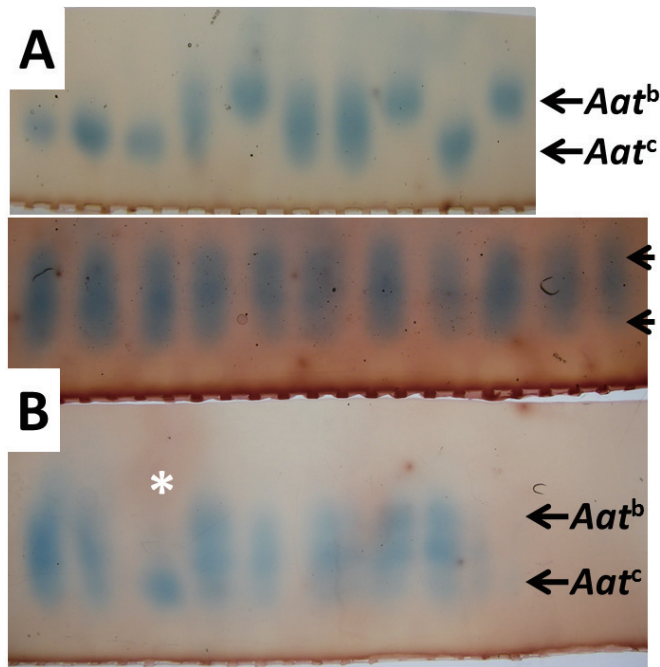


Fig. 2. Electrophoretic patterns of aspartate aminotransferase (Aat) locus in muscle tissue of minami-medaka. Example of  $Aat^b$ ,  $Aat^c$  and their hybrids (A) and 18 offspring from Ryukyu subpopulation (male parent\*) and Eastern subpopulation (female parent) under the laboratory (B).

### ミトコンドリア DNA マーカー

琉球型個体群と他個体群を個体レベルで判別可能な分子マーカーを開発した。mtDNA の NADH dehydrogenase subunit 1 (以後 ND1) 領域に新規プライマー madaka-nd1-ff (5'-TAAGGTGGCAGAGCCCCGATATTGC-3') と medaka-nd1-rr (5'-AGTCAGGTGGCTTCTTGTGCGGTGC-3') を設計して PCR 法により約 610bp を増幅した。PCR は Emerald Amp® PCR Master Mix (Takara Bio) 12.5  $\mu$ l, 12.5pmol/ $\mu$ l の各プライマー 1  $\mu$ l, 1  $\mu$ l の鋳型 DNA, 3.5  $\mu$ l の滅菌蒸留水を含む全量 25  $\mu$ l で行った。反応条件は、94°C 2 分間の変性後、94°C 30 秒の変性、65°C 30 秒のアニーリング反応、72°C 60 秒の伸長反応を 30 サイクル行い、最後に 72°C 7 分の伸長反応であった。制限酵素切断片長多型分析 (RFLP) は、10unit/ $\mu$ l の制限酵素 *Hha* I と *Mbo* II (Takara Bio) を各 0.5  $\mu$ l によって PCR 産物を 37°C で 2 時間消化した。切断片の検出は、1.5% アガロース TreviGen™ 500 (Trevigen) で電気泳動後、臭化エチジウムで染色してトランスイルミネーター (Advance) 上でデジタルカメラ撮影した。得られた切断片の塩基対数は、KiloACE2.0 (<http://www0.nih.go.jp/~jun/cgi-bin/liloace.pl>) によって推定した。

### 結 果

#### アロザイムマーカー

Sakaizumi *et al.* (1983) の結果と同様に *Aat*<sup>a</sup>, *Aat*<sup>b</sup> および *Aat*<sup>c</sup> の 3 つの対立遺伝子が検出された (Fig. 2, A)。*Aat*<sup>a</sup> は千葉と静岡の各 1 個体だけに確認された。*Aat*<sup>b</sup> は千葉、静岡、大隅、永田川、甌島を除いて本州地域、九州地域の個体群で固定されていた。一方、*Aat*<sup>c</sup> は永田川と大隅それぞれ 50% と 40% の頻度で検出された。琉球列島では奄美大島と沖縄諸島 (“ヒメダカ” が混入していた沖縄島知念を除く) の各個体群において *Aat*<sup>c</sup> で固定されていた。飼育下において *Aat*<sup>c</sup> で固定されていた琉球型 (嘉手納)

と *Aat*<sup>b</sup> で固定されていた東日本型 (埼玉) を用いて繁殖させた 18 個体は、2 量体の分離様式に基づいて *Aat*<sup>b</sup> と *Aat*<sup>c</sup> の雑種 (ヘテロ) バンドを示した (Fig. 2, B)。アロザイムマーカーは、琉球型と他個体群との雑種の検出に有効であった。

#### ミトコンドリア DNA マーカー

ND1 領域の PCR-RFLP の結果、制限酵素 *Hha* I の切断片が A (480bp, 130bp), B (350bp, 260bp), C (160bp, 130bp), *Mbo* II の切断片が A (610bp), B (550bp, 110bp), C (440bp, 110bp) のそれぞれ 3 種類が検出された (Fig. 3)。この切断型を個体ごとに整理するとハプロタイプは、1 ~ 5 までの合計 5 種類が得られた (Table 1)。このうち、対立遺伝子 *Aat*<sup>c</sup> で固定されていた琉球型個体群のハプロタイプは、奄美大島で 4、沖縄諸島で 5 を示した。このハプロタイプ 5 は、琉球型内の沖縄諸島の各個体群だけにみられた。奄美大島のハプロタイプ 4 は九州南部の個体群と区別することができなかった。一

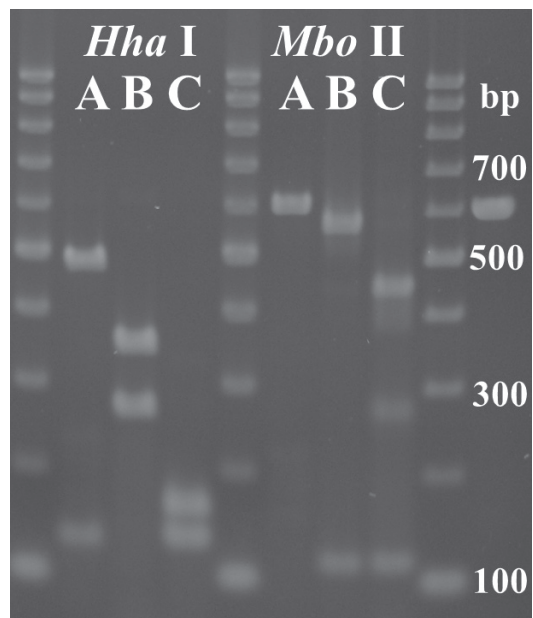


Fig. 3. Electrophoretic fragment patterns of mtDNA ND1 region produced by digestion with *Hha* I and *Mbo* II.

ミナミメダカ琉球型個体群における他個体群の放流による遺伝的攪乱の初事例

Table 1. Distribution of Aat alleles and haplotypes of 26 locations of minami-medaka. \*Composite genotypes reflect digestions with *Hha* I and *Mbo* II (left to right).

Location	Niigata	Fukushima	Saitama	Chiba	Shizuoka	Aichi	Okayama	Tsushima	Fukuoka	Saga	Nagasaki	Oita	Osumi
Aat allele	b	-	b	a, b	a, b	b	b	-	-	-	b	b	b, c
Haplotype													
1	CA*	7	10	10	8	1	10	6	10	10	10	15	18
2	BC*	3	10										
3	CB*					19							
4	AA*												
5	AB*												
<i>Continue</i>													
Nagatagawa	Koshikijima	Amamioshima	Yoron	Iheiyajima	Izenajima	Ginama	Ogimi	Fukuchi	Kanna	Kadena	Chinen	Taiwan	
b, c	b, c	c	-	c	c	c	c	c	c	c	b, c	b	
5			15									51	
31	19	20											5
					15	20	15	11	12	13	19	1	

方、与論島と沖縄島知念は、本州と九州地方の個体群で見られるハプロタイプ1がそれぞれ100%と98%で占められていた。

考 察

大隅型と薩摩型には対立遺伝子 *Aat<sup>c</sup>* を保有する個体が発見され、前者では酒泉 (1990) が示した結果と異なった。また、琉球型の個体群は *Aat<sup>c</sup>* で固定されており (与論島と知念を除く)、Sakaizumi *et al.* (1983) と同様の結果が裏付けられた。一方、mtDNA のND1 領域のPCR-RFLP 分析では、琉球型 (奄美大島、与論島、沖縄島知念を除いた沖縄諸島の各個体群) と他の個体群の間で共通するハプロタイプがなく、完全に区別できることが明らかとなった。つまり、ハプロタイプ5を示した沖縄諸島の個体群は人為的移植ではなく在来個体群であり、Takehana *et al.* (2003) と竹花・酒泉 (2004) の九州西部-琉球地域 (マイトタイプB24, サブクレードB-XI) もしくは有明-薩摩-琉球サブグループ (亜群) とはせずに、琉球型として独立した地域個体群として扱うべきである。奄美

大島個体群は、*Aat<sup>c</sup>* で固定された琉球型に属するが、ハプロタイプ4が九州南部の個体群と同じであった。同様の事象としてフナ *Carassius auratus* のmtDNA 分析においても奄美諸島と九州地方間で区別できないことから (Takada *et al.*, 2010)、奄美諸島の個体群は沖縄諸島とは分化した琉球型の一集団として扱い、今後精査する必要がある。与論島個体群は、エタノール固定サンプルだったために琉球型の遺伝的特徴を示す *Aat<sup>c</sup>* を明らかにできなかったが、本州と九州地方で検出されるハプロタイプ1 (100%) を示したことから、移入と考えられた。さらに、沖縄島知念の個体群は、アロザイムマーカでは *Aat<sup>b</sup>* (42%)、*Aat<sup>c</sup>* (24%) および雑種バンド (34%) が検出され、mtDNA では本州のミナミメダカ個体群で卓越するハプロタイプ1 (98%) を占めていた。今回、沖縄島知念で発見された黄色い色素をもつ“ヒメダカ”は、わずか2個体 (3.8%) だけであった。この黄色い色素は、色素遺伝子である *b* 遺伝子が関与するとされ、メンデル遺伝する劣性形質であり (Fukamachi *et al.*, 2001)、“クロメダカ”や在来のメダカと交雑した場合には表現型として現れることが少

ない。そのため、放流された“クロメダカ”に *b* 遺伝子が混在しており、たまたま表現型として現れたと考えられた。アロザイム遺伝子座による雑種の検出は有効であったが、魚体を殺さなければ試料を得ることができない。鱗サンプリングは、絶滅危惧種の魚体に致命傷を与えずに DNA 分析が可能であるため（富田ほか, 2016）、アロザイムマーカーに代わる核 DNA マーカーによる雑種の検出方法の開発が今後の課題である。

このような他個体群の放流による遺伝的攪乱の事例は、利根川・荒川水系において瀬戸内海や九州北部地方に分布する mtDNA 型が検出され（竹花・酒泉, 2002; Takehana *et al.*, 2003）、近畿地方の大和川水系において養殖場から“ヒメダカ”の逸散によって遺伝的攪乱が生じたことが報告されている（小山・北川, 2009; 北川, 2013）。今回の与論島の移入個体群の検出と沖縄島知念における遺伝的攪乱は、琉球列島における初事例となった。また、琉球型として再確認された個体群は、生息地とともに将来にわたって地理的隔離によって維持されてきた遺伝的多様性の保全が急務である。生息地破壊から系統保存するためには、個体群の遺伝的多様性の把握、個体群間の遺伝的差異について明らかにする必要がある。この研究で琉球型と判明した個体群の 1 生息地である嘉手納弾薬庫地区は、米軍泡瀬ゴルフ場の移設先に決定された。そのため、75 個体を沖縄美ら海水族館に緊急移送し、系統が維持されている（松崎, 私信）。放流や再導入を計画する場合は、日本魚類学会の「放流ガイドライン」を考慮すべきである（森, 2005）。近年、採集事例がない久米島と渡嘉敷島の個体群は、野生絶滅した可能性が高い（今井, 私信）。また大隅ほか（2014）は、名護市内 48 地点で調査した結果、ミナミメダカを 1 地点だけで発見したが、放流の可能性があるので分子レベルでの検討が必要であることを報告している。このように琉球型個体群は、今後さらなる“ヒメダカ”や“クロメダ

カ”および他個体群の放流や逸散による遺伝的攪乱や開発などによって数十万年の歴史（遺伝的多様性や適応度）が失われる危険性が增大している。このため、琉球型個体群を保全するためには、生息地の乱開発、外来魚の駆除、遺伝的攪乱についての教育や社会への啓蒙活動だけでなく、本研究で用いた遺伝的マーカーによる遺伝的攪乱の有無について定期的モニタリングが必要である。

## 謝 辞

当時、材料の収集にご協力いただいた琉球大学の諸喜田茂充博士と伊澤雅子博士および故・山口正士博士、国立澎湖科技大學の施志昉博士、国立台湾海洋大學の陳天任博士、新潟県内水面水産試験場の樋口正仁博士、琉球大学大学院理工学研究科海洋環境学専攻の高田未来美氏、環境調査技術研究所の安永裕氏、建設技術研究所の野田渉氏、沖縄県環境保全研究所の山本拓良氏、那覇防衛施設局の藤井裕二氏、岐阜県アユ種苗センターの大仲知樹氏および東海大学の北野忠博士に深く感謝申し上げます。沖縄美ら海水族館における系統維持について情報提供していただいた松崎章平氏に感謝申し上げます。英文要旨を校閲していただいた廣内かおり氏とオーストラリア工科大学の Dr. Peter B. Mather に感謝申し上げます。実験補助していただいた今井研究室所属 4 年次の伊藤優氏と岩本健輔氏および安里聖貴氏に感謝申し上げます。

## 引用文献

- Asai, T., Senou, H. & Hosoya, K. 2011. *Oryzias sakaizumii*, a new ricefish from northern Japan (Teleostei: Adrianichthyidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters*, **22**: 289-299.
- Fukamachi, S., Shimada, A. & Shima, A. 2001. Mutations in the gene encoding B, a novel transporter protein, reduce melanin content in

- medaka. *Nat. Genet.*, **28**: 381-385.
- 林公義, 2003. メダカ. 環境省自然環境局野生生物課 (編), 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. 162-163. 自然環境研究センター, 東京.
- 林公義・後藤晃・長田芳和・西島信昇, 1987. 川那部浩哉 (監修), 淡水魚, フィールド図鑑. 186pp. 東海大学出版会, 神奈川.
- 細谷和海, 2000. メダカの生息状況と保護. 水環境学会誌, **23**: 135-139.
- Imai, H., Cheng, J.H., Hamasaki, K. & Numachi, K. 2004. Identification of four mud crab species (genus *Scylla*) using ITS-1 and 16S rDNA markers. *Aquat. Living Resour.*, **17**: 31-34.
- Katsunuma, T., Oda, S., Mano, S., Suguro, N., Watanabe, K., Mitani, H., Oota H. & Kawamura, S. 2009. Genetic differentiation among local populations of madake fish (*Oryzias latipes*) evaluated through grid- and deme-based sampling. *Gene*, **443**: 170-177.
- 北川忠生, 2013. 大和川水系で認められたヒメダカによる遺伝的攪乱. 日本魚類学会自然保護委員会 (編), 見えない脅威 “国内外来魚” — どう守る地域の生物多様性. 101-117. 東海大学出版会, 神奈川.
- 小山直人・北川忠生, 2009. 奈良県大和川水系のメダカ集団から確認されたヒメダカ由来のミトコンドリア DNA. 魚類学雑誌, **56**: 153-157.
- Matsuda, M., Yonekawa H., Hamaguchi S. & Sakaizumi M. 1997. Geographic variation and diversity in the mitochondrial DNA of the medaka, *Oryzias latipes*, as determined by restriction endonuclease analysis. *Zool. Sci.*, **14**: 517-526.
- 森誠一, 2005. 日本魚類学会による「生物多様性の保全をめざした魚類の放流ガイドライン」. 応用生態工学, **8**: 107-110.
- 沖縄県, 1978. 第2回自然環境保全基礎調査, 動物分布調査報告書 (淡水魚類). 環境庁 (編), 日本の重要な淡水魚類 (南九州・沖縄版). 1-13. 大蔵省印刷局, 東京.
- 大隅大・津波幹樹・樺澤七海・手登根真子, 2014. 沖縄県名護市におけるミナミメダカおよびメダカ様魚類の分布. 南紀生物, **56**: 56-61.
- 太田英利, 2002. 生物地理学, 分子生物学と出会う—特集にあたって—. 遺伝, **56**: 31-41.
- 酒泉満, 1987. メダカの分子生物地理学. 水野信彦・後藤晃 (編), 日本の淡水魚類. 81-90. 東海大学出版会, 東京.
- 酒泉満, 1990. 遺伝学的にみたメダカの種と種内変異. 江上信男・山上健次郎・嶋昭紘 (編), メダカの生物学. 143-161. 東京大学出版会, 東京.
- Sakaizumi, M., N. Egami & K. Morikawa. 1980. Allozymic variation in wild populations of the fish *Oryzias latipes*. *Proc. Japan Acad.*, **56B**: 448-451.
- Sakaizumi, M., K. Moriwaki & N. Egami. 1983. Allozymic variation and regional differentiation in wild populations of the fish *Oryzias latipes*. *Copeia*, **1983**: 311-318.
- 佐原雄二・幸地良仁, 1980. カダヤシーメダカダヤシ. 河合禎次・川那邊浩哉・水野信彦 (編), 日本の淡水生物—侵略と攪乱の生態学. 106-117. 東海大学出版会, 東京.
- 瀬能宏, 2008. 事例10 メダカ. 日本の外来魚ガイド. 146. 文一総合出版, 東京.
- 瀬能宏, 2013. ミナミメダカ. 中坊徹次 (編), 日本産魚類検索: 全種の同定, 第三版. 649. 東海大学出版会, 東京.
- 諸喜田茂充・立原一憲, 1998. メダカ. 日本の希少な野生水生生物に関するデータブック (水産庁編). 172-173. 日本水産資源保護協会, 東京.
- Takada, M., Tachihara, K., Kon, T., Yamamoto, G., Iguchi, K., Miya, M. & Nishida, M. 2010. Biogeography and evolution of the *Carassius auratus-complex* in East Asia. *BMC Evol. Biol.*



- 10: 7.  
立原一憲, 2005. メダカ. 沖縄県文化環境部自然保護課 (編), 改訂・沖縄県の絶滅のおそれのある野生生物 (動物編) —レッドデータおきなわ—. 147-148. 沖縄県文化環境部自然保護課, 那覇.
- 竹花祐介, 2010. メダカの高精度系統地理マップをつくる. 渡辺勝敏・高橋洋 (編), 淡水魚類地理の自然史. 105-122. 北海道大学出版会, 札幌.
- 竹花祐介・酒泉満, 2002. メダカの遺伝的多様性の危機. 遺伝, **56**: 66-71.
- 竹花祐介・酒泉満, 2004. 日本産野生メダカの地域集団. のぞけばそこにメダカたち. 54-60. 鳥根県立宍道湖自然館ゴビウス・ホシザキグリーン財団, 平田.
- Takehana, Y., Nagai N., Matsuda M., Tsuchiya K. & Sakaizumi M. 2003. Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in wild populations of medaka, *Oryzias latipes*. *Zool. Sci.*, **20**: 1279-1291.
- 竹花祐介・北川忠生, 2006. 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.
- Taniguchi, N. & Numachi, K. 1978. Genetic variation of 6-phosphogluconate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, and glutamic-oxaloacetic transaminase in the liver of Japanese eel. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **44**: 1351-1355.
- 富田峻平・松崎章平・岡慎一郎・戸田実・今井秀行. 2016. 絶滅危惧種タナゴモドキ集団の高い遺伝的多様性と遺伝的均一性. 魚類学雑誌, **63**: 27-32.
- 米沢俊彦・四宮明彦, 2016. ミナミメダカ (琉球型). 鹿児島県環境林務部自然保護課 (編), 改訂・鹿児島県の絶滅のおそれのある野生動物 動物編—鹿児島県レッドデータブック 2016—. 84. 鹿児島県環境技術協会, 鹿児島.
- 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・竹花祐介・向井貴彦・大原健一・井口恵一朗. 2006. 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.

(2016年10月8日受領, 2016年11月11日受理)