

大阪府におけるドジョウの在来および外来系統の分布と 形態的特徴にもとづく系統判別法の検討

松井彰子¹・中島 淳²

Distribution of native and non-native lineages of *Misgurnus anguillicaudatus* in Osaka Prefecture, Japan, and development of morphological identification for each lineage

Shoko MATSUI¹ and Jun NAKAJIMA²

Abstract: The weather loach *Misgurnus anguillicaudatus* in Japanese water is composed of three major clades based on mitochondrial and nuclear DNA, and Clade A and B-1 are known as Japanese natives while Clade B-2 is known as a non-native lineage introduced from the Chinese continent. In this study, we investigated distribution of genetic lineages in Osaka Prefecture and determined morphological differences between clades. Based on morphological differences, we also judged the lineage of specimens collected previously and then inferred previous change of distribution of lineages. We showed that Clade B-1 and B-2 are distributed in Osaka Prefecture and that individuals of Clade B-1 were found locally, while those of Clade B-2 were distributed widely. It is likely that pure native populations composed of only B-1 individuals survive in a very limited area of northern Osaka and that they are endangered, although they were originally distributed widely in the Prefecture.

抄録: 日本に分布するドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* にはミトコンドリア DNA および核 DNA 領域にもとづく3つの遺伝的系統が存在し、A および B-1 は在来系統、B-2 は中国大陸からの外来系統であることが知られている。本研究では、大阪府内で採集されたドジョウの遺伝的系統を調べ、遺伝的系統間で形態的特徴を比較した。さらに、系統間の形態的差異に基づいて過去の標本の遺伝的系統を推定し、大阪府内における遺伝的系統の分布とその変化を追った。その結果、大阪府には B-1 および B-2 系統が分布しており、在来系統である B-1 系統の分布は局所的である一方で、中国大陸系統である B-2 系統は広範に分布していること、さらに、両系統間での交雑が進み在来系統のみで構成される純粋な集団は大阪府北部の非常に限られた水域にしか分布していない可能性があることが分かった。また、もともとは府内に広く分布していた在来系統は、ここ数十年のうちに急激に分布域を狭めた可能性が高く、存続が脅かされている状況であると考えられる。

Key words: *Misgurnus anguillicaudatus*; native lineage; Chinese lineage; Osaka Prefecture; geographic distribution; morphological identification

はじめに

ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* はコイ目ドジョウ科の淡水魚で、日本国内では北海道から琉球列島のほぼ全域、国外では朝鮮半島、中国中南部からベトナム北部、台湾などに広く分布する (中島, 2018)。本種は、河川中～下流域、湖沼のほか、水田やその用排水路、ため池などに生息しており、食用として利用されるなど、古くから人々の生活に身近な生物として親しまれてきた (中島・内山, 2017)。分子遺伝学的解析の結果から、日本に分布するドジョウには遺伝的に異なる複数集団が含まれることが知られている (董ほか, 1999; Morishima et al., 2008; 小出水ほか, 2009; Kitagawa et al., 2011; Yamada et al., 2015; Fujimoto et al., 2017)。ミトコ

※大阪市立自然史博物館業績第480号 (2019年12月4日受理)

¹ 大阪市立自然史博物館 〒546-0034 大阪市東住吉区長居公園1-23

Osaka Museum of Natural History, Nagai Park 1-23, Higashisumiyoshi-ku, Osaka 546-0034, Japan

² 福岡県保健環境研究所 〒818-0135 福岡県太宰府市向佐野39

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, Mukaizano 39, Dazaifu 818-0135, Japan

Corresponding author: S. Matsui, shom@mus-nh.city.osaka.jp

ンドリアDNAおよび核DNA領域にもとづく系統には大きく分けて3系統（A, B-1, B-2）が存在し、このうちA系統およびB-1系統は在来の系統であり、B-2系統は中国大陸から移入した外来系統であると考えられている（小出水ほか, 2009; 清水・高木, 2010; 向井ほか, 2011）。これら3つの遺伝的系統の日本列島における分布状況についてはよく調べられており、A系統は北海道から関東地方・北陸地方にかけて点在、B-1系統は北海道から九州まで広く分布、B-2系統は北海道および福島県以西から山口県までの本州、四国に点々と分布することが報告されている（Morishima et al., 2008; 小出水ほか, 2009; Fujimoto et al., 2017）。また、一部の地域では、系統間の交雑個体が見つかっており（Fujimoto et al., 2017）、特に在来系統と外来系統との交雑が在来系統の存続に与える影響が懸念されている（環境省, 2018）。

在来系統と中国大陸からの外来系統とでは、形態的にも異なる傾向があることが知られている（吉郷, 2007; 中島・内山, 2017）。吉郷（2007）は、日本産の個体（大阪府産を含まない）と中国産の個体（購入した10個体）との形態的差異を調べ、特に尾柄部の長さ、眼の大きさ、背鰭の分枝軟条数と基底長、胸鰭上の側線の状態などにおいて、日本産と中国大陸産で異なる特徴が認められることを報告している。しかし、これらの形態的特徴の個体変異の範囲は地域間で異なっており、吉郷（2007）で扱われている日本産、中国産の個体の遺伝的系統については不明であることから、実際に在来のB-1系統と外来のB-2系統が形態的に区別できるかについては不明なままとなっている。

大阪市立自然史博物館では、大阪・近畿地方を中心に、外来生物の分布状況を市民参加で調査するプロジェクト「外来生物調査プロジェクト Project A」を実施している（大阪市立自然史博物館, 2019）。これまで大阪府からは外来のB-2系統の分布は報告されていないことから、このプロジェクトの一環として著者らは大阪府におけるドジョウの遺伝的系統の分布、特に外来系統の分布状況を明らかにすることを目的として、ドジョウの分布情報の収集を市民に呼びかけてきた。しかしながら、分布が確認されたドジョウが在来系統であるか外来系統であるのかは外見的特徴からでは判断できず、その場で同定できないこと、分子遺伝学的判別を行うためには調査者に魚体（の組織）を採集してもらい、それを持参・送付してもらわなければならないことなどから、一般市民の調査参加には高い障壁が生じている可能性がある。そのため、もし形態観察での簡便な系統判別が可能になれば、調査参加への障壁が低くなることに加え、調査参加へのモチベーションが上がるという効果が期待される。

また、外来生物を扱う研究においては、いつ頃から、どこに生息していたか、どのように分布を変化させてきたかという過去の情報は、その外来生物の導入要因や在来生態系への影響を明らかにし、対策を講じる上で非常に重要である。形態からの系統判別が可能となれば、過去の標本の遺伝的系統を推定することができるようになり、遺伝的系統の過去の分布やその変遷を追うことが可能となる。

そこで本研究では、大阪府内におけるドジョウの遺伝的系統の分布とその変化を明らかにすること、および形態的特徴にもとづいて遺伝的系統を簡便に判別する方法について検討することを目的とした。そのために、大阪府内で採集されたドジョウの遺伝的系統を調べ、遺伝的系統間で形態的特徴を比較し、その結果に基づいて過去の標本の遺伝的系統を推定したので報告する。

材料と方法

標本

2018年5月から2019年9月に大阪府内の野外の水域から採集されたドジョウ77個体を解析に供した（付表1）。これらの標本は、大阪市立自然史博物館が行う「外来生物調査プロジェクト Project A」に参加した市民により採集、寄贈されたものである。また、大阪府内の釣具店2店舗で「ドジョウ」として生きた状態で販売されていたドジョウ計11個体、カラドジョウ *M. dabryanus* 1個体を購入し、補足的に一部の解析に供した。標本は、右体側の腹鰭または筋肉組織を99%エタノールで固定・保存し、大阪市立自然史博物館の魚類組織標本コレクションとして登録した（OMNH-P-T）。その他の魚体は10%ホルマリンにて固定した後、70%エタノールで置換・保存し、魚類標本コレクション（OMNH-P）として登録した。

核遺伝子マーカーを用いた系統判別

DNAの抽出は、エタノールで固定・保存された組織標本から、Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit (Promega) を用いて行った。遺伝的系統の判別は、Fujimoto et al. (2017) によって開発された遺伝子マーカーによる簡易判別法を用いた。この判別法では、ゲノムDNAの不特定の領域を対象とした2種類のPCR、および核DNAのRAG1領域を対象とした1種類のPCR-RFLPを行い、これらのPCR産物あるいはPCR-RFLPの産物を電気泳動することによって、ドジョウの種内3系統 (A, B-1, B-2) の判別、および一部の系統間の交雑個体の判別が可能である。PCRおよびPCR-RFLP法、および電気泳動のプロトコルは全てFujimoto et al. (2017) に従った。

Cytbハプロタイプの塩基配列決定と系統関係推定

核遺伝子マーカーによる系統判別結果の妥当性を確認し、府内のドジョウの在来性についてより厳密に評価するため、系統判別を行った個体の一部 (野外から採集したドジョウ14個体、購入した1個体、および購入したカラドジョウ1個体の計16個体) について、補足的にミトコンドリアDNAのcytb (cytochrome b) 遺伝子のハプロタイプの塩基配列を決定した。PCRのプロトコルはŠlechtová et al. (2008) に従った。PCR産物をillustra ExoProStar (GE Healthcare) を用いて精製し、精製済みのPCR産物にシーケンス用プライマー (PCRと同じプライマーセット) を混合した。これをタカラバイオのシーケンス受託サービス (<http://catalog.takara-bio.co.jp/jutaku/>) に送付して配列データを受け取った。

大阪府のドジョウの系統的な位置づけを大まかに調べるため、国立遺伝学研究所のDNA塩基配列データベース (DDBJ) から、小出水ほか (2009) が日本全国のドジョウ (大阪府を含まない40都道府県の444個体) から決定したcytb遺伝子の147ハプロタイプの配列データ (DDBJ accession number AB473261-AB473407) を取得した。また、Perdices et al. (2012) の報告でドジョウB-1系統と姉妹群を形成することが示された*M. mohoity*の配列データ (DDBJ accession number JN858850) を取得した。配列データはBioEdit Sequence Alignment Editor (Hall, 1999) でClustal W (Larkin et al., 2007) を用いて整理した。ハプロタイプの系統関係の推定のため、MEGA7 (Kumar et al., 2016) を用いて近隣結合法による系統樹を作成した。ハプロタイプ間の遺伝的距離はTamura-Neiモデルにより算出し、各クレードの支持率は1,000回のブートストラップ法によって求めた。

遺伝的系統間の形態比較

吉郷 (2007) では、日本産ドジョウと中国大陸産ドジョウとの間で異なる形質として、尾柄部の長さ、眼の大きさ、背鰭の分枝軟条数と基底長、胸鰭上の側線の状態等が挙げられている。本研究では、市民参加調査での実用化を念頭に置き、計数・計測部位が明瞭で写真からでも比較的高い精度で判別できる測定方法という観点から、上記の形質のうち「尾柄部の長さ」と「背鰭分枝軟条数」に着目した。

大阪府内の野外の水域から採集されたドジョウ77個体および釣具店2店舗で購入したドジョウ11個体の標本について、標準体長を計測し、背鰭の分枝軟条数を計数した。また、標本の左側を真横から写真撮影し、パソコン画面上で写真画像を実物の6倍に拡大した上で、腹鰭基部-臀鰭起部の投影長 (X)、および臀鰭基底後端部-尾鰭基底部 (下尾骨の後端の中央) の投影長 (Y) を計測した (図1)。なお、投影長とは、標本の正中線に水平な線に対して2つの測点から垂線を下ろした際の垂線間の距離である。写真を用いて投影長を測定した理由は、標本の体幅や体高の影響を極力排除して尾柄部の長さを測定したかったことと、市民参加調査での写真からの系統判別を視野に入れたことによる。このX, Yを用い、「尾柄部の長さ (臀鰭

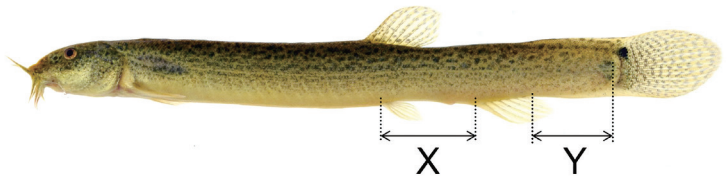


図1. 本研究におけるドジョウの腹鰭基部-臀鰭起部の投影長 (X) と臀鰭基底後端部-尾鰭基底部の投影長 (Y) の計測箇所。

Fig. 1. The parts of measurement of X (the projected length from the insertion point of the pelvic fin to the anterior edge of the anal fin base) and Y (the projected length from the posterior edge of the anal fin base to the base of the caudal fin) for *M. anguillicaudatus* in this study.

の位置)」の指標としてY/Xを算出した。計測・計数はホルマリン固定前の標本を用い、計測はノギスを用いて0.1 mmの精度で行った。このように計数・算出した「背鰭分枝軟条数」および「尾柄部の長さの指標 (Y/X)」について、核遺伝子マーカーにもとづいて判別した遺伝的系統間で比較した。

また、「背鰭分枝軟条数」および「尾柄部の長さの指標 (Y/X)」が遺伝的系統の判別にどの程度有効であるかを調べるため、核遺伝子マーカーに基づく遺伝的系統を目的変数、「背鰭分枝軟条数」および「尾柄部の長さの指標 (Y/X)」を説明変数とした判別分析を行った。分析には、野外の水域で採集された個体のうち交雑個体 (F1) を除いた標本を用い、背鰭分枝軟条数が整数型の離散量であることからマハラノビス距離に基づく非線形関数による判別をR (version 3.4.4) を用いて行った。

過去の標本の形態的特徴にもとづく系統判別

遺伝的系統の過去の分布状況を明らかにするため、大阪市立自然史博物館に収蔵されているドジョウの標本調査を行った。調査した標本は、1959年から2013年に大阪府内で採集された77標本である (付表2)。これらの標本について「背鰭分枝軟条数」を計数し、写真を撮影して「尾柄部の長さの指標 (Y/X)」を算出し、上項で検討した形態的判別方法を用いて遺伝的系統を判別した。

結果

遺伝的系統の分布

核遺伝子マーカーを用いた系統判別の結果、野外の水域から採集された全77個体のうち、16個体がドジョウ B-1系統、58個体が B-2系統、3個体が B-1/B-2の交雑個体 F1であると判別された (付表1)。B-1系統、B-2系統の代表的な個体を図2に示した。釣具店で購入したドジョウ11個体は、全て B-2系統であると判別された。核遺伝子マーカーを用いた系統判別に基づく遺伝的系統の大阪府における分布を図3に示す。B-1系統が検出された水域は豊能郡能勢町の水路、豊能郡豊能町の水路、茨木市北西部のため池、枚方市の河川 (淀川水系穂谷川)、堺市堺区の河川 (大和川水系大和川)、河内長野市の水路であった。B-1系統のみが検出された水域は大阪府北部の3地点 (能勢町、豊能町、茨木市) のみで、採集地点はいずれも水田脇の細い水路や小さなため池であった。B-2系統は大阪府北部を除く地域から広く見つかっており、淀川水系、大和川水系、石津川水系、大津川水系、壱井川水系、男里川水系で分布が確認された。両系統の交雑個体 F1は、両系統の個体が検出された河内長野市の水路と、淀川水系の支流の2地点で見つかった。



図2. 核遺伝子マーカーにもとづく大阪府産ドジョウのB-1系統の個体 (上: OMNH-P47688, 60.6 mm SL) とB-2系統の個体 (下: OMNH-P47564, 77.1 mm SL)。

Fig. 2. A specimen of Clade B-1 (above: OMNH-P47688, 60.6 mm SL) and that of Clade B-2 (below: OMNH-P47564, 77.1 mm SL) of *M. anguillicaudatus* based on nuclear DNA markers collected in Osaka Prefecture, Japan.

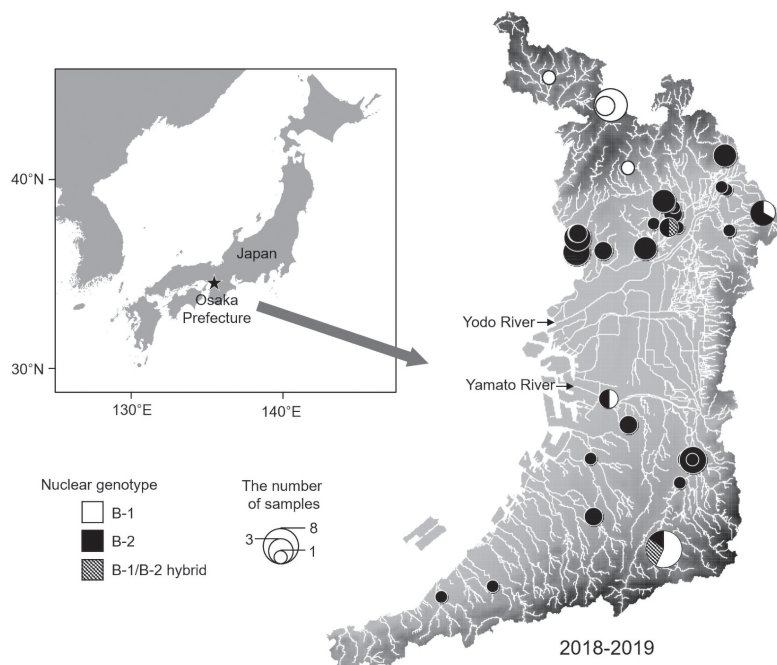


図3. 2018年～2019年に大阪府で採集されたドジョウの核遺伝子マーカーにもとづく遺伝的系統の分布. 円の塗りつぶしは、白がB-1系統（在来系統）、黒がB-2系統（中国大陸系統）、網掛けが両系統の交雑個体を示す. 円の大きさは個体数を反映.

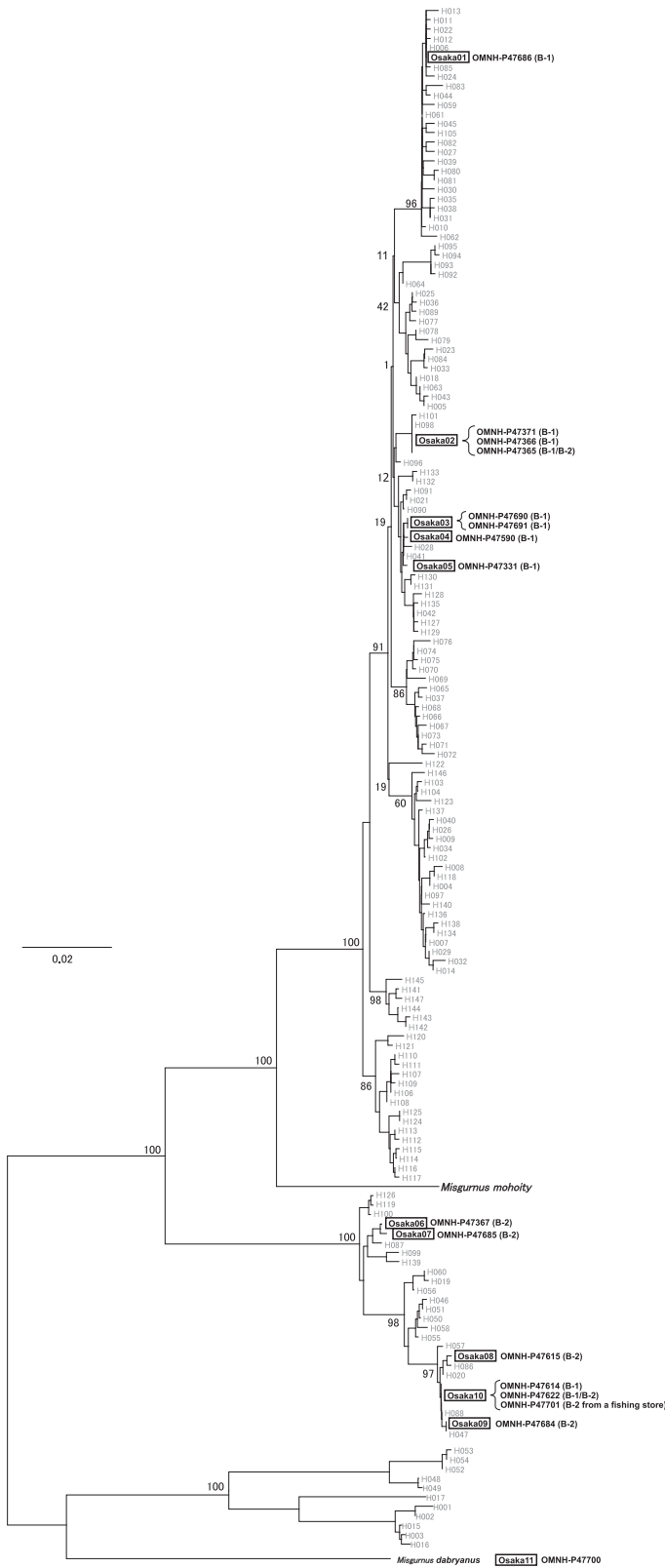
Fig. 3. Distribution of genotypes of *M. anguillicaudatus* categorized by nuclear DNA markers collected in Osaka Prefecture between 2018–2019. Colors and patterns of circles represent genotypes: white, Clade B-1 (Japanese lineage); black, Clade B-2 (Chinese lineage); shaded, hybridization of Clade B-1 and B-2. The area of the circles is proportional to the frequency of the genotypes.

Cytb ハプロタイプの系統関係

大阪府の野外のドジョウ14個体と大阪府内の釣具店で購入したドジョウ1個体、カラドジョウ1個体について、*cytb*領域のハプロタイプ1108 bpを決定し、ドジョウのハプロタイプ10種類（Osaka01–10）とカラドジョウのハプロタイプ1種類（Osaka011）を得た。これらのハプロタイプの塩基配列は、国立遺伝学研究所のDNA塩基配列データベース（DDBJ）に登録した（accession number LC507106–LC507116）。これらの配列データとDDBJから取得した配列データ（相同な1108 bp）にもとづく近隣系統樹を図4に示す。ドジョウのハプロタイプは大きく3系統（A, B-1, B-2）に分かれた。*M. mohoity*のハプロタイプはB-1系統と姉妹関係にあり、B-1系統内に*M. mohoity*のハプロタイプが混在することはなかった。大阪府のドジョウ14個体のうち、核遺伝子マーカーでB-1系統と判別された8個体中7個体は*cytb*領域のハプロタイプもB-1系統に含まれたが、枚方市の1個体はB-2系統に含まれた。核遺伝子マーカーでB-2系統と判別された4個体の*cytb*ハプロタイプは全てB-2系統に含まれた。核遺伝子マーカーでB-1/B-2系統の交雑個体と判別された2個体のうち1個体の*cytb*ハプロタイプはB-1系統、残りの1個体はB-2系統に含まれた。

大阪府産のB-1系統の個体からは5つのハプロタイプ（Osaka01–05）が検出され、これらは小出水ほか（2009）で日本全国に広く分布することが示された2クレード（クレードC5およびC6）に含まれていた。小出水ほか（2009）のクレードC5に含まれていたハプロタイプOsaka01は堺市堺区の大和川で採集された個体のものであり、その配列は、小出水ほか（2009）で東北地方を中心に北海道から愛知県まで広く検出されているハプロタイプH006と同一であった。一方、小出水ほか（2009）のクレードC6に含まれた4ハプロタイプ（Osaka02–05）のうち、Osaka02は河内長野市で採集された個体のもので、その配列は小出水ほか（2009）で奈良県奈良市および和歌山県かつらぎ市で検出されたハプロタイプH098と同一であった。残りの3ハプロタイプOsaka03–05は、能勢町・豊能町・茨木市の個体のみから検出され、小出水ほか（2009）では検出されていないハプロタイプであった。

大阪府の野外の水域から採集されたB-2系統の6個体からは5つのハプロタイプ（Osaka06–Osaka10）が検出された。このうち3つ（Osaka06–08）は小出水ほか（2009）で検出されていないハプロタイプであった。Osaka09は小出水ほか（2009）で福島県須賀川市、埼玉県飯能市、嵐山町および千葉県匝瑳市から検出されたハプロタイプH047と同一、Osaka10は愛知県弥富市や和歌山県和歌山市から検出されたハプロタイプH088と同一で、さらにOsaka10は大阪府内の釣具屋で購入した1個体のハプロタイプとも同一であった。



Clade B-1
(Japanese lineage)

Clade B-2
(Chinese lineage)

Clade A
(Japanese lineage)

遺伝的系統間の形態的差異

使用した標本の標準体長は、B-1系統で標準体長41.4–111.4 mm (平均値±標準偏差: 64.9±17.3 mm, 16個体), B-2系統で19.9–139.7 mm (58.1±21.8 mm, 58個体), B-1/B-2交雑個体で28.5–72.1 mm (54.8±18.9 mm, 3個体)で、三者間で差異は認められなかった (Tukey-Kramer test; $p>0.05$).

核遺伝子マーカーにもとづいて判別した各系統の個体間で「背鰭分枝軟条数」および「尾柄部の長さの指標 (Y/X)」を比較した結果を表1および図5に示す。

背鰭分枝軟条数は、B-1系統の個体では1個体を除き6本であったが、B-2の *cytb* ハプロタイプを持つ枚方市の1個体 (OMNH-P47614) のみ7本であった。B-1/B-2交雑個体では全個体が7本であった。B-2系統では、釣具店で購入した個体も含め、約9割の個体で7本または8本であったが、約1割の個体で6本であった。Y/Xの値は、B-1系統の個体では1.00–1.51 (1.23±0.13)、B-2ハプロタイプを持つ枚方

表1. 大阪府で採集されたドジョウの遺伝的系統ごとの背鰭分枝軟条数。核遺伝子マーカーにもとづいて判別したB-1系統、B-1/B-2系統の交雑個体、B-2系統、そして釣具屋で購入したB-2系統の個体の値を示した。

Table 1. The number of dorsal-fin branched soft rays of genotypes categorized using nuclear DNA markers for specimens of *M. anguillicaudatus* collected in Osaka. Values for Clade B-1, B-2, B-1/B-2 hybrid, and B-2 from fishing stores are indicated respectively.

Nuclear genotype	Number of branched soft rays of dorsal fin		
	6	7	8
B-1	15	1	
B-1/B-2 hybrid		3	
B-2	8	47	3
B-2 (from fishing stores)	1	10	

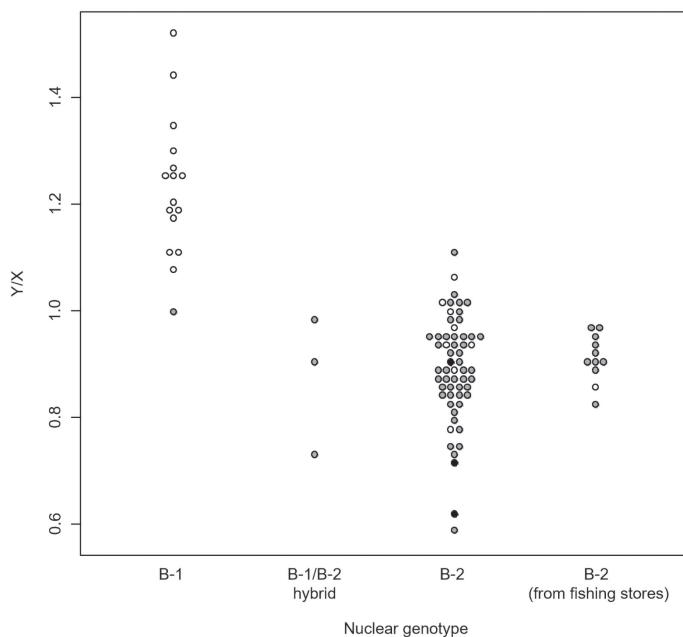


図5. 大阪府で採集されたドジョウの遺伝的系統ごとの尾柄部の長さの指標 (Y/X)。核遺伝子マーカーにもとづいて判別したB-1系統、B-1/B-2系統の交雑個体、B-2系統、そして釣具屋で購入したB-2系統の個体の値をプロットした。プロットの色は各個体の背鰭分枝軟条数を示しており、白は6、灰色は7、黒は8を示す。

Fig. 5. The index of caudal peduncle length (Y/X) of genotypes categorized using nuclear DNA markers for specimens of *M. anguillicaudatus* collected in Osaka. Values for individuals of Clade B-1, B-2, B-1/B-2 hybrid, and B-2 from fishing stores plotted in different lines respectively. Colors of circles represent the number of branched soft rays of the dorsal-fin: white, 6; gray, 7; black, 8.

図4 (左ページ). *Cytb* 領域のハプロタイプ1108 bpにもとづくドジョウ *M. anguillicaudatus* およびその近縁2種 (*M. mohoity* および *M. dabryanus*) の近隣結合樹。ハプロタイプ間の遺伝的距離は Tamura-Nei モデルにより算出した。樹状図の枝に付した数字はブートストラップ確率を示し、主要なクレードについてのみ付した。黒色のバーは、ドジョウの主要な3クレード (A, B-1, B-2) を示す。Osaka01–11は本研究で決定した大阪府産ドジョウのハプロタイプ、H001–H147は小出水ほか (2009) で決定されたハプロタイプ。OMNH-Pは大阪市立自然史博物館の標本番号を、その後の括弧内は核遺伝子マーカーにもとづく系統 (B-1, B-2, B-1/B-1) を示す。

Fig. 4 (left). Neighbor-joining tree (based on Tamura-Nei model) for *cytb* gene sequences (1108 bp) of *M. anguillicaudatus* and the closely related species (*M. mohoity* and *M. dabryanus*). Scores as percentages out of 1000 bootstraps is indicated on associated nodes for major clades. Black bars represent three major clades (A, B-1, B-2). Osaka01–11 are haplotypes sequenced in this study for specimens found in Osaka and H001–H147 are those sequenced in Koizumi et al. (2009) for specimens collected widely across Japan. OMNH-P is the catalog number of fish collection of Osaka Museum of Natural History, letters in parentheses after the number represent the genotype (B-1, B-2, B-1/B-1) categorized by nuclear DNA markers.

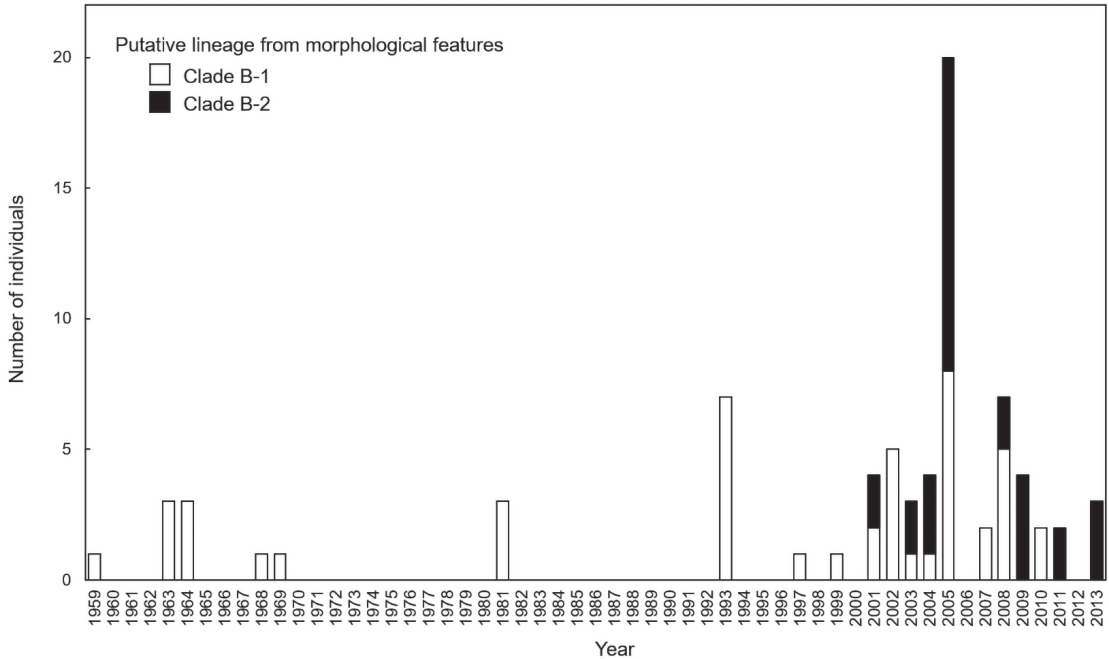


図6. 大阪府におけるドジョウの遺伝的系統の出現状況の推移. 大阪市立自然史博物館に収蔵されている1959年～2013年の標本について、形態にもとづいて遺伝的系統を判別した結果を示す。棒の色は遺伝的系統を示しており、白はB-1系統（在来系統）、黒はB-2系統（中国大陸系統）または両系統の交雑個体を示す。

Fig. 6. Change of the numbers of putative lineages of *M. anguillicaudatus* collected in Osaka between 1959–2013, based on morphological features of specimens stored in OMNH. Colors of bars represent lineages: white, Clade B-1 (Japanese lineage); black, Clade B-2 (Chinese lineage) or hybridization of Clade B-1 and B-2.

市の1個体を除くと1.08–1.51 (1.24 ± 0.12)であった。B-1/B-2交雑個体では、0.72–0.99 (0.87 ± 0.11)であった。B-2系統の個体では、野外の個体で0.59–1.11 (0.89 ± 0.10)、釣具店で購入した個体を含めても0.59–1.11 (0.90 ± 0.09)であり、上限付近の値がB-1系統と重複していた。

また、核遺伝子マーカーに基づく遺伝的系統を目的変数、「背鰭分枝軟条数」および「尾柄部の長さの指標(Y/X)」を説明変数とした判別分析を行った結果、的中率はB-1系統と判別された個体で83.3% (15個体/18個体)、B-2系統で98.2% (55/56)、全体で94.6% (70/74)であった。このとき、B-1系統とB-2系統を判別するY/Xの値は、背鰭分枝軟条数が6の場合1.00 (B-1系統: $Y/X > 1.00$, B-2系統: $Y/X < 1.00$)、背鰭分枝軟条数が7の場合1.32 (B-1系統: $Y/X > 1.32$, B-2系統: $Y/X < 1.32$)、背鰭分枝軟条数が8の場合2.05となった (B-1系統: $Y/X > 2.05$, B-2系統: $Y/X < 2.05$)となった。

過去の遺伝的系統の分布

1959年から2013年に採集された標本について、上記の判別分析の結果にもとづき、背鰭分枝軟条数とY/Xの値を用いて系統判別を行った。形態から判別した遺伝的系統の各年の出現状況および1959～1999年・2001～2013年の採集地点をそれぞれ図6、図7に示した。1959～1999年に府内各地で採集された21標本は全て在来系統(B-1系統)と判別された。一方、2001～2013年に採集された56標本のうち、在来系統と判別されたのは26標本、中国大陸系統(B-2系統)と判別されたのは30個体で、府の最北部と最南部では在来系統のみが採集されているものの、淀川水系および大和川水系ではほぼ全地点で中国大陸系統と判別される個体が採集されていた。調査した標本のうち、中国大陸系統と判別された最も古い標本は2001年に楠葉周辺の淀川で採集されたものであり、大和川水系で最も古かったのは2004年に羽曳野市駒ヶ谷の飛鳥川で採集されたものであった。

考察

大阪府における遺伝的系統の分布

2018～2019年の大阪府内において、日本の在来系統と考えられるB-1系統の個体は局所的に分布しており、特にB-2系統や交雑個体を含まないB-1系統のみの純粋な個体群は、大阪府北部のごく限られた地域の水路やため池でしか見つからなかった。1世代前にB-2系統と交雑したF1個体もわずか2地点からしか検出されず、潜在的にB-1系統が存在していると考えられる水域やB-2系統と混在している水域を合わせても、B-1系統は大阪府内で局所的にしか分布していないと考えられる。また、大阪府のB-1系統の個体から検出されたC6クレード（小出水ほか，2009）に属する4ハプロタイプ（Osaka02-05）のうち、能勢町、豊能町、茨木市北西部の個体から検出された3ハプロタイプ（Osaka03, 04, 05）は、これまで知られていないハプロタイプであることから、これらは大阪府北部に固有のハプロタイプであると推察され、本地域の個体群は在来である可能性が高い。また、河内長野市で見つかった1ハプロタイプOsaka02は小出水ほか（2009）において和歌山県かつらぎ市および奈良県奈良市のみで検出されたもので、このハプロタイプも大阪府・和歌山県・奈良県の和泉山脈～金剛山脈周辺地域に固有のハプロタイプであると推察される。

一方、B-2系統の個体は、大阪府北部を除いた広い地域で検出され、淀川水系、大和川水系および泉州の4水系の計6水系に及んでいた。B-2系統は中国大陸から移入した外来系統とされており（小出水ほか，2009；清水・高木，2010；向井ほか，2011）、また水系を超えて自然分散したとは考えにくいから、各水系でB-2系統個体の人為的な導入があったと考えるのが妥当である。移入の経緯については明らかではないが、大阪府周辺では主にタチウオ釣りの餌として生きたドジョウがよく用いられるため（つり人社書籍編集部，2018）、大阪湾沿岸でタチウオ釣りが盛んな秋頃、大阪府内の釣具店では生きたドジョウが販売されている。府内の釣

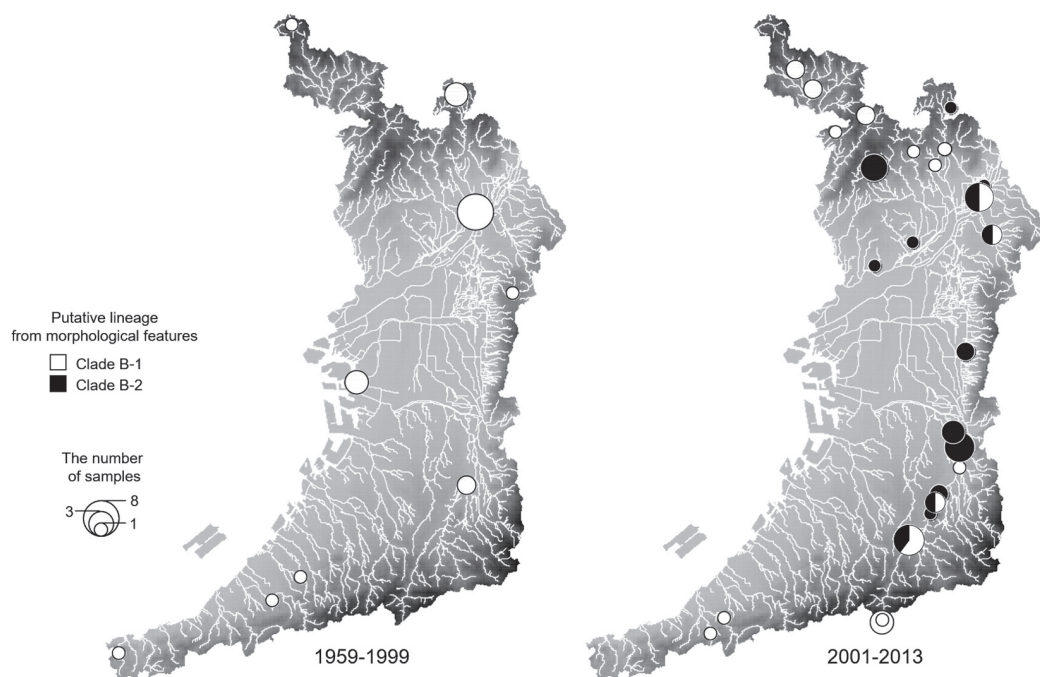


図7. 1959～1999年および2001～2013年に大阪府で採集されたドジョウの遺伝的系統の分布。大阪市立自然史博物館に収蔵されている1959～2013年の標本について、形態にもとづいて遺伝的系統を判別した結果を示す。円の色は遺伝的系統を示しており、白がB-1系統（在来系統）、黒がB-2系統（中国大陸系統）または両系統の交雑個体を示す。円の大きさは個体数を反映。

Fig. 7. Distribution maps of putative lineages of *M. anguillicaudatus* of 1959–1999 and 2001–2013 based on morphological features of specimens stored in OMNH. Colors of circles represent lineages: white, Clade B-1 (Japanese lineage); black, Clade B-2 (Chinese lineage) or hybridization of Clade B-1 and B-2. The area of the circles is proportional to the frequency of the lineages.

具店2店舗から購入した生きたドジョウ11個体のうちの1個体のcytbハプロタイプOsaka10はB-2系統に含まれており、このハプロタイプは本研究において府内の野外の水域（枚方市および茨木市南部）で検出されているほか、愛知県弥富市や和歌山県和歌山市でも見つかっている（小出水ほか、2009）。また残りの10個体についても、核遺伝子マーカーによって、全てB-2系統であると判別された。また、「ドジョウ」として販売されていたものの中には、B-2系統だけではなく、カラドジョウが含まれていた。これらのことから、府内で釣り餌として販売されている「ドジョウ」は、ほとんどが中国大陸系統をはじめとした外来のドジョウ類であり、これらが野外に放流され、定着している可能性が考えられる。その他にも、大阪府では、一部の寺院で病気平癒等の祈願のためにドジョウを流す信仰があったり（中島・内山、2017）、遊休農地対策としてのドジョウ養殖を検証するプロジェクトにおいて他地域の養殖ドジョウが放流された例があり（大阪府、2018）、これらも外来ドジョウ類が野外の水域で広がる要因の一端となっている可能性がある。

核遺伝子マーカーを用いた系統判別とcytb領域のハプロタイプの塩基配列決定の両方を行った個体14個体のうち、枚方市の1個体で系統の不一致があり、核遺伝子マーカーではB-1系統、cytbハプロタイプではB-2系統に含まれた。この不一致は、B-1系統とB-2系統間の過去の交雑による遺伝子浸透にもとづくと考えられる。

遺伝的系統の形態的判別

野外で採集された個体のうち、核遺伝子マーカーにもとづくB-1系統16個体で、背鰭分枝軟条数は1個体を除き6（93.8%）、Y/Xは全個体で1.00より大きい値（100%）であったのに対し、B-2系統58個体では、背鰭分枝軟条数は6（13.8%）、7（81.0%）、8（5.2%）であり、Y/Xの値は49個体（84.4%）で1.00以下であった。核遺伝子マーカーによってB-1系統と判別された個体のうち、B-2系統の遺伝子浸透を受けたと推測される枚方市の1個体のみ、背鰭分枝軟条数が7で、Y/Xの値も他の個体から大きく外れていたことから、これらの形質においては、2世代以上前の交雑の影響が反映されることが示唆される。吉郷（2007）は、日本産の個体と中国大陸産の個体との形態的差異を調べ、尾柄部の長さや背鰭分枝軟条数について、日本産の個体では尾柄部が頭部よりも長く、背鰭分枝軟条数が通常6であるのに対し、中国産では尾柄部が頭部よりも短く、背鰭分枝軟条数が比較的多い傾向にあることを報告している。大阪府産の2系統間の比較を行った本研究の結果は、吉郷（2007）の報告と矛盾せず、在来系統の個体は中国大陸系統と比べて背鰭分枝軟条数が少なく、尾柄部が長い（臀鰭の位置が前寄り）傾向があることが示された。

また、判別分析の結果、B-1系統とB-2系統の判別境界は、背鰭分枝軟条数が6の場合1.00、7の場合1.32、8の場合2.05となった。実際のY/Xの値は、B-1系統の個体で1.00–1.51、B-2系統の個体で0.59–1.11であることから、Y/Xの値が背鰭分枝軟条数8の場合の境界値（2.05）より大きい個体が見つかる可能性はほとんどない。したがって、大阪府産のドジョウについては、判別基準を「背鰭分枝軟条数が6の場合、 $Y/X > 1.00$ ならB-1系統、 $Y/X < 1.00$ ならB-2系統」、「背鰭分枝軟条数が7の場合、 $Y/X > 1.32$ ならB-1系統、 $Y/X < 1.32$ ならB-2系統」、「背鰭分枝軟条数が8の場合はB-2系統」として差し支えないと考えられる。ただし、判別分析における的中率はB-2系統と判別された個体が高かったものの（98.2%）、B-1系統と判別された個体で比較的低く（83.3%）、形態からB-1系統と判別した個体の中に核遺伝子マーカーでB-2系統と判別されるものが16.7%程度含まれる結果になった。したがって、本研究の形態的判別手法のみを用いた系統判別では多少の誤判別が生じることが想定され、厳密な判別の際には、遺伝的判別も併せて行う必要があると思われる。B-1系統と判別された個体での中率が比較的低かった原因は、判別関数が核遺伝子マーカーに基づくB-1系統のうちB-2系統のcytbハプロタイプが検出された1個体の影響を強く受けたためであると思われる。したがって、過去の交雑が形態に与える影響を排除して分析することが望ましいが、本研究で用いた遺伝的手法は、2世代以上前の交雑を検出できるものではない。今後、特に在来系統の探索や保全を進める上で、さらに形態データを蓄積していくとともに、より厳密な遺伝子解析を行い、過去の交雑が形態に与える影響についても明らかにしていく必要がある。

本研究は、標本写真の測定値を用いて形態的判別を検討していることから、市民参加調査において撮影された写真や、過去の文献に掲載された写真からの系統判別にも適用できると考えられる。このような簡便な系統判別手法が開発されたことによって、系統判別できる人が増え、分布情報の効率的な集積に役立つばか

りでなく、調査参加への意欲向上につながり、普及・教育の効果が高まることが期待される。ただし実用化の際には、上述したとおり、外部形態だけに基づく判別では誤判別が含まれる可能性に留意し、形態から在来系統と判別された個体については特に、遺伝的判別も併せて行っていく必要があるだろう。

遺伝的系統の過去から現在の分布状況の変化

調査した標本数は十分ではないものの、1959年から1999年に府内各地で採集された標本は全て在来系統と判別された。しかしながら、2001年に楠葉周辺の淀川で採集された個体は中国大陸系統に同定され、2004年に大和川水系飛鳥川でも同様の個体が採集されていた。それ以降、2013年までに淀川水系と大和川水系の多くの地点で中国大陸系統と思われる標本が採集されていることがわかった。さらに2018年から2019年に淀川・大和川を含めた6水系で採集された個体の多くは、中国大陸系統に同定されることが確認された。したがって、大阪府において、中国大陸系統のドジョウは、1959年から1999年頃には全く（あるいはほとんど）分布していなかったが、2001年以前に淀川水系に、2004年以前に大和川水系に導入され、その後大阪府内の各水系で定着・増加し、2018年頃までに大阪府南部の4水系にも侵入したと推察される。一方、在来系統のドジョウは、1959年から1999年頃には大阪府内に広く分布していたが、2001年から2013年頃には在来系統の純粋な集団は大阪府の最北部と最南部に分布を狭めたと推察され、現在では最北部にしか残っていない可能性がある。現在の在来系統の生息地については、より詳細な探索を行うことで多少増える可能性はあるが、もともとは大阪府内に広く分布していた在来系統が、一部の地域に分布を狭めてしまった、あるいは一部の地域を除いて個体数が激減・絶滅してしまったことは間違いない。在来系統の分布域や個体数が減少した原因ははっきりとは分らないが、在来系統の分布していた地域に在来系統に置き換わるように中国大陸系統が定着している現状から、中国大陸系統ドジョウの侵入が在来系統ドジョウの生息に何らかの悪影響を及ぼした可能性が考えられる。また、圃場整備や河川改修などの影響によって、ドジョウの生息に適した環境は減少していると考えられ（清水，2014）、このことも在来系統の減少に影響している可能性がある。中国大陸系統ドジョウと在来系統ドジョウの生態的特性の違いや両系統間の相互作用、交雑の影響などについては全く明らかになっておらず、今後の課題である。

まとめ

本研究により、大阪府におけるドジョウの在来系統の分布は局所的である一方で、中国大陸系統は広範に分布していること、さらに、両系統間での交雑が進み、在来系統のみで構成される純粋な集団は非常に限られた水域にしか分布していないことが明らかとなった。在来系統はここ2,30年のうちに急激に分布域を狭めた可能性が高く、存続が脅かされている状況であると考えられ、純粋な在来集団の保護が急務であると思われる。また本研究で用いた標本は主に市民調査で採集されたものであり、採集地点は調査への参加者が任意に決めたため大阪府内を網羅するものではない。今後、B-1系統の純粋な集団を保護する上でも、大阪府内で網羅的な採集調査を行い、大阪府内におけるB-1系統の分布状況をより詳細に明らかにする必要がある。さらに、在来集団の探索・保護を進めると同時に、中国大陸系統の分布拡大を防止するため、ドジョウの放流が在来生態系に与える影響等について普及・啓発を行っていくことも重要である。

謝辞

本研究を行うにあたり、標本採集や寄贈、情報提供において、次の方々にご協力いただきました。秋山諭氏、大概理氏、荻田育雄氏、河添純子氏、小林温氏、谷壽一氏、佃十純氏、中尾茂氏、中尾健太郎氏、花崎勝司氏、林朋輝氏、和田岳氏、および非営利活動法人シニア自然大学校、枚方いきもの調査会の皆様（順不同）。この場をお借りして、心より感謝申し上げます。また、本論文の執筆にあたり、大阪市立自然史博物館の学芸員の皆様、および査読をしてくださった方々には、建設的なご意見を多数いただきました。厚くお礼申し上げます。本研究はJSPS 科研費（17H02027）の助成を受けたものです。

引用文献

- 董 仕・谷口順彦・石田力三 1999. 茨城県東連津川で見られたドジョウの2型. 魚類学雑誌 46 (2) : 83-90.
- Fujimoto, T., Yamada, A., Kodo, Y., Nakaya, K., Okubo-Murata, M., Saito, T., Ninomiya, K., Inaba, M., Kuroda, M., Arai, K. and Murakami, M. 2017. Development of nuclear DNA markers to characterize genetically diverse groups of *Misgurnus anguillicaudatus* and its closely related species. Fisheries Science 83 (5) : 743-756.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids symposium series 41: 95-98.
- 環境省2018. 環境省レッドリスト2018補遺資料. 環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室, 東京.
- Kitagawa, T., Fujii, Y. and Koizumi, N. 2011. Origin of the two major distinct mtDNA clades of the Japanese population of the oriental weather loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Teleostei: Cobitidae). Folia Zoologica 60 (4) : 343-349.
- 小出水規行・竹村武士・渡部恵司・森 淳 2009. ミトコンドリアDNAによるドジョウの遺伝特性—チトクロームb遺伝子の塩基配列による系統解析—. 農業農村工学会論文集, 259: 7-16.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Molecular Biology and Evolution 33: 1870-1874.
- Larkin, M.A., Blackshields G., Brown, N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin, F., Wallace, I., Wilm, A. and Lopez, R. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics 23: 2947-2948.
- Morishima, K., Nakamura-Shiokawa, Y., Bando, E., Li, Y.J., Boron, A., Khan, M.M. and Arai, K. 2008. Cryptic clonal lineages and genetic diversity in the loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Teleostei: Cobitidae) inferred from nuclear and mitochondrial DNA analyses. Genetica 132: 159-171.
- 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, 224pp.
- 中島 淳 2018. ドジョウ科. 中坊徹次編, 小学館の図鑑Z日本魚類館. 小学館, 東京, pp. 110-111.
- 向井貴彦・梅村啓太郎・高木雅紀 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. 日本生物地理学会会報 66: 85-92.
- 大阪府 2018. 農空間リアル・レポート (どじょうプロジェクト) http://www.pref.osaka.lg.jp/minamikawachinm/m_index/k_dojoup.html (最終閲覧日: 2019年10月16日)
- 大阪市立自然史博物館 2019. 外来生物調査プロジェクト Project A. http://www.mus-nh.city.osaka.jp/Project_A/ (最終閲覧日: 2019年10月16日)
- Perdices, A., Vasil' ev, V. and Vasil' eva, E. 2012. Molecular phylogeny and intraspecific structure of loaches (genera *Cobitis* and *Misgurnus*) from the Far East region of Russia and some conclusions on their systematics. Ichthyological Research 59: 113-123.
- 清水孝昭・高木基裕 2010. ミトコンドリアDNAによる愛媛県を中心としたドジョウの遺伝的集団構造と攪乱. 魚類学雑誌 57: 13-26.
- 清水孝昭 2014. ドジョウ: 資源利用と攪乱. 魚類学雑誌 61 (1) : 36-40.
- Šlechtová, V., Bohlen, J. and Perdices, A. 2008. Molecular phylogeny of the freshwater fish family Cobitidae (Cypriniformes: Teleostei) : Delimitation of genera, mitochondrial introgression and evolution of sexual dimorphism. Molecular Phylogenetics and Evolution 47: 812-831.
- つり人社書籍編集部 2018. タチウオ釣り全部わかるBOOK. つり人社, 東京, 128pp.
- Yamada, A., Kodo, Y., Murakami, M., Kuroda, M., Aoki, T., Fujimoto, T. and Arai, K. 2015. Hybrid origin of gynogenetic clones and the introgression of their mitochondrial genome into sexual diploids through meiotic hybridization in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology, 323(9): 593-606.
- 吉郷英範 2007. 山口県東部で採集された外来の可能性のあるドジョウ属 (コイ目ドジョウ科). 比婆科学 223: 7-20.

付表1. 分子遺伝学的解析に供した大阪府産ドジョウ類（2018～2019年に採集・購入）の標本情報（標本番号・組織標本番号・採集日・採集地点）と、核遺伝子マーカーおよび *cytb* 塩基配列にもとづく遺伝的系統。

Appendix 1. Specimen data (catalog number of OMNH-P, catalog number of tissue collection of OMNH-P, collection date, collection site, genotypes based on nuclear DNA markers and mtDNA lineages based on *cytb* gene sequences) of specimens collected between 2018–2019 and used for genetic analyses in this study.

標本番号 OMNH-P	組織標本番号 OMNH-P-T	採集日	住所	地点	緯度経度 (°N, °E)	核遺伝子マーカー にもとづく系統	Cytb 塩基配列 にもとづく系統 (ハプロタイプ番号)
47303	T09-09	2018/10/13	豊中市利倉西	猪名川	34.7660, 135.4503	B-2	-
47304	T09-10	2018/10/13	豊中市利倉西	猪名川	34.7660, 135.4503	B-2	-
47305	T09-11	2018/10/13	豊中市利倉西	淀川水系 猪名川	34.7660, 135.4503	B-2	-
47306	T09-12	2018/10/13	豊中市利倉西	淀川水系 猪名川	34.7660, 135.4503	B-2	-
47307	T09-13	2018/10/21	豊中市箕輪	淀川水系 千里川	34.7884, 135.4534	B-2	-
47308	T09-14	2018/09/02	三島郡島本町桜井	水路	34.8808, 135.6621	B-2	-
47309	T09-15	2018/09/02	三島郡島本町桜井	水路	34.8808, 135.6621	B-2	-
47310	T09-16	2018/09/02	三島郡島本町桜井	水路	34.8808, 135.6621	B-2	-
47311	T09-17	2018/05/06	富田林市西条町	大和川水系 石川	34.5211, 135.6173	B-2	-
47312	T09-18	2018/05/06	富田林市西条町	大和川水系 石川	34.5211, 135.6173	B-2	-
47313	T09-19	2018/05/06	富田林市西条町	大和川水系 石川	34.5213, 135.6173	B-2	-
47314	T09-20	2018/05/06	富田林市西条町	大和川水系 石川	34.5213, 135.6173	B-2	-
47315	T09-21	2018/05/06	富田林市西条町	大和川水系 石川	34.5213, 135.6173	B-2	-
47317	T09-23	2018/05/06	富田林市西条町	大和川水系 石川	34.5213, 135.6173	B-2	-
47318	T09-24	2018/05/06	富田林市西条町	大和川水系 石川	34.5214, 135.6173	B-2	-
47328	T09-34	2018/10/19	枚方市釈尊寺町	淀川水系 天野川	34.7917, 135.6689	B-2	-
47329	T09-35	2018/11/01	茨木市学園町	水路	34.8185, 135.5911	B-2	-
47330	T09-36	2018/05/29	茨木市平田台	水路	34.8055, 135.5855	B-2	-
47331	T09-37	2018/08/28	茨木市粟生岩阪	ため池	34.8657, 135.5238	B-1	B-1 (Osaka05)
47333	T09-39	2018/09/15	吹田市南正雀	淀川水系 正雀川	34.7715, 135.5484	B-2	-
47334	T09-40	2018/09/15	吹田市南正雀	淀川水系 正雀川	34.7715, 135.5484	B-2	-
47335	T09-41	2018/09/15	吹田市南正雀	淀川水系 正雀川	34.7715, 135.5484	B-2	-
47336	T09-42	2018/09/15	摂津市正雀本町	淀川水系 正雀川	34.7701, 135.5500	B-2	-
47365	T09-44	2018/11/06	河内長野市清水	水路	34.4162, 135.5758	B-1/B-2 hybrid	B-1 (Osaka02)
47366	T09-45	2018/11/06	河内長野市清水	水路	34.4162, 135.5758	B-1	B-1 (Osaka02)
47367	T09-46	2018/11/06	河内長野市清水	水路	34.4162, 135.5758	B-2	B-2 (Osaka06)
47368	T09-47	2018/11/06	河内長野市清水	水路	34.4162, 135.5758	B-1	-
47369	T09-48	2018/11/06	河内長野市清水	水路	34.4162, 135.5758	B-1	-
47370	T09-49	2018/11/06	河内長野市清水	水路	34.4162, 135.5758	B-1/B-2 hybrid	-
47371	T09-50	2018/11/06	河内長野市清水	水路	34.4162, 135.5758	B-1	B-1 (Osaka02)
47373	T09-52	2018/11/06	富田林市甲田	大和川水系 石川	34.4936, 135.5981	B-2	-
47374	T09-53	2018/07/13	和泉市三林町	大津川水系 横尾川	34.4535, 135.4755	B-2	-
47375	T09-54	2018/07/13	和泉市三林町	大津川水系 横尾川	34.4535, 135.4755	B-2	-
47376	T09-55	2018/07/26	泉南市男里	男里川水系 金熊寺川	34.3589, 135.2574	B-2	-
47377	T09-56	2018/12/02	泉佐野市上之郷	水路	34.3717, 135.3311	B-2	-
47563	T10-03	2019/05/12	堺市北区金岡町	大泉緑地 加呂登池	34.5626, 135.5247	B-2	-
47564	T10-04	2019/05/12	堺市北区金岡町	大泉緑地 加呂登池	34.5626, 135.5247	B-2	-
47565	T10-05	2019/05/03	茨木市橋の内	淀川水系 安威川	34.8212, 135.5839	B-2	-
47566	T10-06	2019/05/02	豊中市箕輪	淀川水系 千里川	34.7884, 135.4534	B-2	-
47567	T10-07	2019/05/11	枚方市西牧野	水路	34.8431, 135.6588	B-2	-
47568	T10-08	2019/05/11	枚方市西牧野	水路	34.8400, 135.6657	B-2	-
47590	T10-75	2019/05/25	豊能郡能勢町大里	水路	34.9723, 135.4117	B-1	B-1 (Osaka04)
47592	T10-77	2019/06/19	三島郡島本町桜井	水路	34.8788, 135.6612	B-2	-
47598	T11-01	2019/07/06	豊中市走井	水路	34.7839, 135.4510	B-2	-
47599	T11-02	2019/07/06	豊中市走井	水路	34.7839, 135.4510	B-2	-
47600	T11-03	2019/07/06	豊中市走井	水路	34.7839, 135.4510	B-2	-
47601	T11-04	2019/07/06	豊中市走井	水路	34.7839, 135.4510	B-2	-
47605	T11-08	2018/10/02	摂津市鳥飼上	水路	34.7949, 135.5957	B-2	-
47606	T11-09	2018/10/10	茨木市天王	淀川水系 大正川	34.7999, 135.5614	B-2	-
47608	T11-11	2019/07/10	茨木市西河原	大阪府	34.8272, 135.5746	B-2	-

47609	T11-12	2019/07/10	茨木市西河原	大阪府		34.8272, 135.5746	B-2	-
47610	T11-13	2019/07/10	茨木市西河原	大阪府		34.8272, 135.5746	B-2	-
47614	T11-17	2019/07/14	枚方市杉	淀川水系	穂谷川	34.8132, 135.7173	B-1	B-2 (Osaka10)
47615	T11-18	2019/07/14	枚方市杉	淀川水系	穂谷川	34.8132, 135.7173	B-2	B-2 (Osaka08)
47616	T11-19	2019/07/14	枚方市杉	淀川水系	穂谷川	34.8132, 135.7173	B-2	-
47617	T11-20	2019/07/13	豊中市北条町	水路		34.7682, 135.4885	B-2	-
47619	T11-22	2019/07/13	豊中市北条町	水路		34.7682, 135.4885	B-2	-
47620	T11-23	2019/07/20	枚方市釈尊寺町	淀川水系	天野川	34.7907, 135.6694	B-2	-
47621	T11-24	2019/07/28	茨木市星見町	水路		34.8107, 135.5888	B-2	-
47622	T11-25	2019/07/28	茨木市星見町	水路		34.8107, 135.5888	B-1/B-2 hybrid	B-2 (Osaka10)
47624	T11-26	2019/07/28	茨木市星見町	水路		34.7962, 135.5824	B-2	-
47625	T11-27	2019/07/28	茨木市星見町	水路		34.7962, 135.5824	B-2	-
47627	T11-28	2019/06/01	豊中市箕輪	淀川水系	千里川	34.7882, 135.4520	B-2	-
47628	T11-29	2019/06/01	豊中市箕輪	淀川水系	千里川	34.7882, 135.4520	B-2	-
47677	T11-65	2019/08/16	富田林市桜井町	水路		34.5212, 135.6084	B-2	-
47678	T11-66	2019/08/16	富田林市桜井町	水路		34.5212, 135.6084	B-2	-
47680	T11-68	2019/08/14	豊能郡豊能町牧	水路		34.9373, 135.4918	B-1	-
47681	T11-69	2019/08/14	豊能郡豊能町牧	水路		34.9373, 135.4918	B-1	-
47684	T11-70	2019/02/07	堺市西区草部	石津川水系	和田川	34.5219, 135.4711	B-2	B-2 (Osaka09)
47685	T11-71	2019/09/01	堺市堺区香ヶ丘町	大和川水系	大和川	34.5932, 135.4954	B-2	B-2 (Osaka07)
47686	T11-72	2019/09/01	堺市堺区香ヶ丘町	大和川水系	大和川	34.5932, 135.4954	B-1	B-1 (Osaka01)
47687	T11-73	2019/08/25	豊能郡豊能町牧	水路		34.9396, 135.4983	B-1	-
47688	T11-74	2019/08/25	豊能郡豊能町牧	水路		34.9396, 135.4983	B-1	-
47690	T11-76	2019/08/25	豊能郡豊能町牧	水路		34.9396, 135.4983	B-1	B-1 (Osaka03)
47691	T11-77	2019/08/25	豊能郡豊能町牧	水路		34.9396, 135.4983	B-1	B-1 (Osaka03)
47692	T11-78	2019/08/25	豊能郡豊能町牧	水路		34.9396, 135.4983	B-1	-
47693	T11-79	2019/08/25	豊能郡豊能町牧	水路		34.9396, 135.4983	B-1	-
47694	T11-80	2019/09/09	岸和田市下松町	釣具店			B-2	-
47695	T11-81	2019/09/09	岸和田市下松町	釣具店			B-2	-
47696	T12-01	2019/09/09	岸和田市下松町	釣具店			B-2	-
47697	T12-02	2019/09/09	岸和田市下松町	釣具店			B-2	-
47698	T12-03	2019/09/09	岸和田市下松町	釣具店			B-2	-
47699	T12-04	2019/09/09	岸和田市下松町	釣具店			B-2	-
47700	T12-05	2019/09/09	和泉市葛の葉町	釣具店			(<i>Misgurnus dabryanus</i>)	(Osaka11)
47701	T12-06	2019/09/09	和泉市葛の葉町	釣具店			B-2	B-2 (Osaka10)
47702	T12-07	2019/09/09	和泉市葛の葉町	釣具店			B-2	-
47703	T12-08	2019/09/09	和泉市葛の葉町	釣具店			B-2	-
47704	T12-09	2019/09/09	和泉市葛の葉町	釣具店			B-2	-
47705	T12-10	2019/09/09	和泉市葛の葉町	釣具店			B-2	-

付表2. 本研究に供した大阪府産ドジョウ（2013年以前に採集）の標本情報（標本番号・採集日・採集地点）と、形態にもとづいて判別された遺伝的系統。標本番号（OMNH-P）および形態にもとづく系統の個体数は、1個体の場合は省略し、2個体以上の場合のみ示した。

Appendix 2. Specimen data (catalog number of OMNH-P, collection date, collection site, putative lineages based on morphological features) of specimens collected before 2013. The number of specimens of each catalog number and lineage is indicated except the number is one.

標本番号 OMNH-P (個体数)	採集日	住所	地点名	形態にもとづく 系統判別 (個体数)
504-506 (3)	1963/05/07	高槻市田能飛田	淀川水系 田能川	B-1 (3)
1037	1964/05/12	泉南郡岬町多奈川谷川	東川水系 落合川	B-1
9567 (3)	1981/11/05	大阪市住之江区		B-1 (3)
11169	1997/07/04	豊能郡能勢町天王		B-1
14711	1999/06/18	泉南郡熊取町久保	別所池そばの水田	B-1
14738	2002/08/23	高槻市塚脇	淀川水系 芥川	B-1
16526 (7)	1993/09/16	高槻市番田	淀川水系 芥川	B-1 (7)
17005	2002/09/21	泉南市信達六尾	男里川水系 金熊寺川	B-1
17171	1959/09/17	四條畷市南野	室池	B-1
17281 (2)	1964/04/03	富田林市富田林町・川向町	大和川水系 石川	B-1 (2)
17467 (2)	2002/10/15	豊能郡能勢町余野・野間口	淀川水系 余野川	B-1 (2)
17820	2002/11/22	高槻市原	芥川, 大森橋上手, 神峰山口付近	B-1
19066	1968/04/04	富田林市	大和川水系 金剛大橋上流の石川支流	B-1
19070	1969/04/26	泉佐野市上之郷	樫井川水系 支流, 滝の池と上之郷の間	B-1
22431	2001/07/20	枚方市楠葉周辺	淀川水系 淀川	B-1
22722	2001/09/29	枚方市楠葉周辺	淀川水系 淀川, たまり	B-2
22771	2001/09/18	枚方市楠葉周辺	淀川水系 淀川, たまり	B-2
22894	2001/07/25	枚方市楠葉周辺	淀川水系 淀川, たまり	B-1
26889	2004/10/31	羽曳野市駒ヶ谷	石川水系 飛鳥川	B-2
26895	2004/10/31	羽曳野市駒ヶ谷	石川水系 飛鳥川	B-2
27017	2004/11/18	河内長野市高向	大和川水系 石川	B-2
28538 (2)	2003/09/18	枚方市釈尊寺町・交野市松塚	淀川水系 天野川	B-1 (1), B-2 (1)
28550	2003/10/27	吹田市広芝町・南金田	淀川水系 糸田川	B-2
29994	2005/05/28	河内長野市滝畑	大和川水系 石川	B-1
29998 (2)	2005/05/28	河内長野市滝畑	大和川水系 石川	B-1 (2)
30579	2005/02/24	富田林市横山	大和川水系 石川	B-1
30655	2005/05/04	富田林市西板持	大和川水系 石川	B-2
30656	2005/05/04	富田林市西板持	大和川水系 石川	B-2
30958	2005/07/16	河内長野市高向	大和川水系 石川	B-1
31130	2005/07/16	河内長野市高向	大和川水系 石川	B-1
31148	2005/07/16	河内長野市高向	大和川水系 石川	B-2
31448 (2)	2005/07/22	富田林市彼方	大和川水系 石川	B-1 (1), B-2 (1)
31488	2005/08/27	富田林市横山	大和川水系 石川	B-2
31502	2005/08/29	河内長野市高向	大和川水系 石川	B-1
31632 (3)	2005/10/20	羽曳野市駒ヶ谷	大和川水系 石川	B-2 (3)
31644 (3)	2005/10/20	羽曳野市駒ヶ谷	大和川水系 石川	B-2 (3)
35688	2008/11/06	高槻市原		B-1
35723	2007/07/25	茨木市車作	淀川水系 安威川	B-1
35733	2007/06/02	豊能郡能勢町吉川	溝	B-1
35791 (2)	2008/08/25	東大阪市新池島町	淀川水系 長門川	B-2 (2)
35797	2008/06/20	茨木市泉原	淀川水系 勝尾寺川	B-1
35813 (4)	2009/09/09	茨木市泉原	淀川水系 勝尾寺川	B-2 (4)
35864	2008/05/25	枚方市下島	淀川水系 穂谷川	B-2
36091 (2)	2008/03/27	能勢町栢原	水たまり	B-1 (2)
36092 (2)	2010/03/24	能勢町山辺	棚田	B-1 (2)
39130 (3)	2013/08/28	羽曳野市誉田		B-2 (3)
41662	2004/11/23	阪南市山中溪	男里川水系 山中川	B-1
41676	2011/08/19	高槻市出灰	淀川水系 芥川	B-2
41741	2011/09/23	摂津市	淀川水系 大正川	B-2

