

(Memoirs of the Faculty of Education and Human Studies)  
 Akita University (Natural Science)  
 68, 31 – 36 (2013)

## トミヨ保護池におけるトミヨ属 *Pungitius* 淡水型と雄物型の交雑

河又邦彦<sup>1</sup>, 杉山秀樹<sup>2</sup>, 丸山涼子<sup>1</sup>, 富田多美<sup>1</sup>, 江戸三恵子<sup>1</sup>, 武田舞<sup>1</sup>, 新田宏宇<sup>1</sup>

## Hybridization between two types (Fresh-water and Omono Types) of Genus *Pungitius* in the pond digging to protect ninespine sticklebacks

Kunihiko KAWAMATA\*, Hideki SUGIYAMA, Ryoko MARUYAMA, Tami TOMITA, Mieko EDO,  
 Mai TAKEDA, Takahiro NITTA

### Abstract

Abstract: Artificial pond was built for a substitute habitat of ninespine stickleback (Omono type) lose habitat for paddy fields rezoning on Yuzawa city Akita. In 2000, twenty Omono type fishes were released in the artificial pond with Fresh-water type unknown pathway of entry. In 2001, it was confirmed that there were first filial hybrid (F<sub>1</sub> hybrid) between Omono and Fresh-water types. We examined the proportions of each types, Omono type, Fresh-water type and hybrid, in the artificial pond by isozyme analysis from 2001 to 2006. Unlike the population of Hiraka, reproductive isolation between Omono and Fresh-water types was defective, so around 10% F<sub>1</sub> hybrids come out. It was suggested that these male F<sub>1</sub> hybrids were reciprocally sterile as in the case of Fresh-and Brackish-water types. Although it was possible that third filial generation was exist at least, it was unclear about forth and later filial generation by the limit of isozyme analysis. Although the artificial pond was built to preserve Omono type, mixing Fresh-water type resulted number of Omono type decreases and Fresh-water type increases. No such cases have been reported in the ponds coexisting Omono and Fresh-water types in Hiraka. It suggests that degree of completion in reproductive isolation is different among each populations.

**Keywords :** *Pungitius* Fresh water type Omono type reproductive isolation

### はじめに

本州北部および北海道に生息するトミヨ (*P. sinensis*) とイバラトミヨ (*P. pungitius*) は体側に発達する鱗板列の形態により分類されてきたが、中間型も多く見られ、その分類は混乱していた。

Takata et.al. (1987ab) は形態学的特徴によらない分類の方法としてアロザイムによる集団遺伝学的手法を導入し、トミヨとイバラトミヨはトミヨ属淡水型 (以下淡水型)、トミヨ属汽水型 (以下汽水型)、トミヨ属雄物型 (以下雄物型) の3型に分類されることを示した。鱗板列は種を分ける形態学的特徴ではなく、種内の形態的な多型であることが明らかになったのである。淡水型は北陸以北の日本海側および北海道の広い地域に分布している一方、汽水型は北海道東部の河口付近に、そして雄物型は

秋田県および山形県の内陸部の非常に限定された地域にのみ分布しており、北海道の東部河口付近では淡水型と汽水型の、秋田県の内陸部では淡水型と雄物型の同所的な生息が報告されている (Takata et. al. 1987ab, 高村ほか 2000)。Takata et. al. (1987ab) はこのような同所的に生息する淡水型と汽水型および淡水型と雄物型のアロザイム分析をおこない、それぞれ3遺伝子座と5遺伝子座で対立遺伝子の置換を確認している。しかし、淡水型と雄物型に関しては3%以下と頻度は低いものの、F<sub>2</sub>以降の雑種が存在し、生殖的隔離機構が完全でないことが明らかになっている。

トミヨ属は、同所的に生息しながら生殖的隔離機構が機能し、遺伝的交流が制限される一方、少ない頻度ながら交雑を行い、雑種を形成している。このため、まだ学名や標準和名がつけられておらず、多くの課題を抱えている (杉山・森, 2009)。一方、進化の途上にあるトミ

<sup>1</sup> 秋田大学教育文化学部

<sup>2</sup> 秋田県立大学生物資源科学部

ヨ属は種分化や生殖的隔離機構を研究する非常によくモデル動物となっている。しかし、淡水型と雄物型の交雑の詳細に関しては同所的に生息している地域が非常に限られていることもあり、ほとんど明らかになっていない。

秋田県雄勝町（現湯沢市）の寺沢地区では1998年にほ場整備工事が始まったが、トミヨ（雄物型）がレッドリストに記載されたこと、地元の小学校理科クラブによりトミヨが生息していることが報告されたことをきっかけに、実態調査が実施され、ほ場整備区域内に雄物型が生息していることが確認された。保護の方法が検討され、区域内に新たに保護池を造成することで合意された。保護池（Fig.1. A）は6×17 mの大ききで水深が一番深いところで1 mあり、湧水導水管、用水補給口を通して、常に水が流れ込み、水温の変化を抑えている。排水は越流式となっており、支線排水路に流れ込んでいる。この部分の栓を外すことにより、池の水を抜くことが可能で、2年に1度水を抜き、ヘドロの除去など掃除が行われている（Fig.1. B）。保護の対象となる雄物型は小学生により捕獲され、2000年10月に20個体が保護池に放流された。翌年、移入の経緯は不明だが、淡水型が混入していること、さらにF<sub>1</sub>雑種が生じていることが明らかになった。

本研究では淡水型と雄物型の交雑を明らかにすることを目的に、2001年から2006年までの6年間にわたり、淡水型、雄物型、雑種の個体数の変化をアロザイム分析により調べた。

#### 材料と方法

保護池からの魚の採集はその年に生まれた魚が十分に大きく成長した10月から12月の間に行われた。

2001, 2002, 2004, 2006年には保護池の水を抜き、個体数の調査と清掃を行なった。魚の外観で淡水型、雄物型、雑種に分類し、個体数を調べた。一部の個体を生きのまま研究室に持ち帰り、アロザイムにより淡水型、

雄物型、雑種（F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>以降）を判別した。2003, 2005年は保護池の水を抜かなかつたので、弓網を用いて魚を捕獲し、研究室でアロザイムによる判別を行った。

#### アロザイム分析

研究室に持ち帰った魚は実験に使用するまで、外観で判別した淡水型、雄物型、雑種を別々の水槽で飼育した。アロザイム分析は河又・杉山（2002）の方法に従った。簡潔に述べると、取り出した肝臓をマイクロチューブに入れ、20%グリセリン 50 mM Tris-HCl 緩衝液（pH6.8）を加えた後、水中でホモジナイズし、4℃、10000 gで20分遠心した後、上清を電気泳動の試料とした。電気泳動には5%アクリルアミドゲルを用い、酵素の染色は藤尾（1984）に従った。

解析には、淡水型と雄物型で遺伝子が置換していることが明らかになっている、4酵素5遺伝子座（ホスホグルコムターゼ（PGM）、 $\alpha$ -グリセロリン酸脱水素酵素（ $\alpha$ -GPD）、オクタノール脱水素酵素1, 3（ODH 1, 3）、エステラーゼ（EST））を用いた。酵素染色がうまく行かなかつた一部の魚は4遺伝子座で判別をおこなった。

#### 各タイプの推定

本論文で使う淡水型、雄物型、雑種とは、アロザイムのパターンから推定したものである。雑種の世代が進むと、たとえば、F<sub>1</sub>雑種から3世代にわたり淡水型の戻し交雑を受けた雑種では50%を超える魚が5遺伝子座すべてで淡水型の対立遺伝子をホモ型に持つと推定される。本論文では実際の型ではなく、アロザイムパターンから推定される型として記述した。以下にそのアロザイムパターンを示す。

淡水型：5遺伝子座すべてにおいて淡水型の対立遺伝子をホモ型に持つもの。

雄物型：5遺伝子座すべてにおいて雄物型の対立遺伝子をホモ型に持つもの。

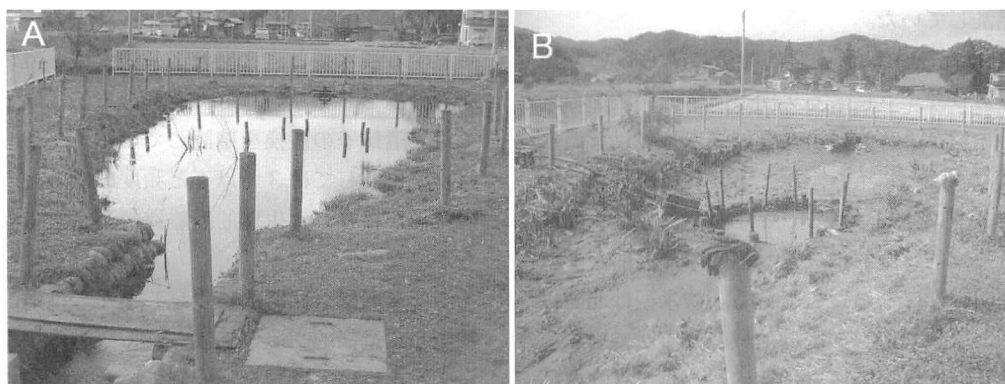


Fig. 1. The artificial pond built as a substitute habitat (A). The deposited mud was removed after the water of a pond was drained every two years (B).

F<sub>1</sub>雑種：5遺伝子座すべてにおいて淡水型と雄物型の対立遺伝子をヘテロ型に持つもの。

F<sub>2</sub>以降の雑種：本研究ではF<sub>1</sub>との交雑により生じる雑種をF<sub>2</sub>、F<sub>2</sub>との交雑で生じる雑種をF<sub>3</sub>と呼ぶことにする。

淡水型の戻し交雑：5遺伝子座に淡水型の対立遺伝子をホモ型で持つ遺伝子座と淡水型と雄物型の対立遺伝子をヘテロ型に持つも遺伝子座が混在するもの。

雄物型の戻し交雑：5遺伝子座に雄物型の対立遺伝子をホモ型で持つ遺伝子座と淡水型と雄物型の対立遺伝子をヘテロ型に持つも遺伝子座が混在するもの。

雑種 × 雑種：5遺伝子座に淡水型の対立遺伝子をホモ型で持つ遺伝子座と雄物型の対立遺伝子をホモ型に持つ遺伝子座が混在するもの。

## 結果

### 1) 2001年

2001年は保護池の水を抜き、魚の総数を調査した。その結果、総数779個体が確認された。前年に放流したのは20個体の雄物型のみであったが、多くの淡水型が確認された。そこで、外観から淡水型と雄物型（雑種を疑わせる個体は雄物型に分類した）に分類したところ、淡水型445個体、雄物型334個体であった。淡水型より13個体、雄物型より10個体を研究室に持ち帰り、アロザイムによりタイプを判別した。その結果、外観から淡水型に分類した13個体はすべて淡水型であり、雄物型

に分類した10個体は8個体が雄物型、2個体がF<sub>1</sub>雑種であることが明らかになった。Table 1には2001年から2006年までのアロザイムの結果から推定される淡水型、雄物型、F<sub>1</sub>雑種、F<sub>2</sub>以降の雑種の割合を示した。2001年では淡水型は保護池全体では445個体が生息すると推定され、全体に占める割合は52.8%であった。雄物型は267個体、F<sub>1</sub>雑種は67個体が生息すると推定され、全体に占める割合はそれぞれ34.3%、8.6%であった。

### 2) 2002年

2001年と同様に保護池の水を抜き、魚の総数を調査した。全個体数は3050個体であった。この内640個体を外観から淡水型、雄物型、雑種に分類したところ、それぞれ、367個体、186個体、87個体であった。淡水型に分類した367個体から38個体、雄物型に分類した186個体から29個体、雑種に分類した87個体から27個体を研究室に持ち帰り、実験に用いた。外観で淡水型に分類された38個体はアロザイムにより35個体の淡水型と3個体のF<sub>2</sub>雑種であると推定された。アロザイムではF<sub>2</sub>以降の雑種、例えばF<sub>2</sub>とF<sub>3</sub>は識別できない。しかし、前年の2001年にはF<sub>1</sub>雑種しか存在しなかったので、2002年のF<sub>2</sub>以降の雑種はすべてF<sub>2</sub>と判断した。外観で雄物型に分類された29個体は28個体が雄物型、1個体がF<sub>2</sub>雑種であった。同様に雑種に分類された27個体は22個体がF<sub>1</sub>雑種、5個体がF<sub>2</sub>雑種であった。これらの結果から保護池に生息すると推定される淡水型、

Table 1. The proportions of each types, Omono type, Fresh-water type and hybrid, in the artificial pond classified according to isozyme analysis from 2001 to 2006

	Percentage of each type in the population (%)					
	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Total number	779	3050	-	1369	-	4969
Fresh-water type	57.1	52.7	62.8	75.8	76.7	92.6
Omono type	34.3	28.1	14.0	6.2	3.0	0.4
F <sub>1</sub>	8.6	11.1	7.0	3.0	0.0	1.0
F <sub>2</sub> or later	-	8.0	16.3	15.2	20.3	6.0

Table 2. Percentage of each type, backcrosses by Fresh-water type or Omono type and offspring of hybrids, in F<sub>2</sub> or later.

Year	2002	2003	2004	2005	2006
Percentage of F <sub>2</sub> or later	8.0	16.3	15.2	20.3	6.0
Backcross by Fresh-water type	8.0	8.1	10.2	18.2	5.7
Backcross by Omono type	0.0	4.7	2.7	1.0	0.3
Hybrid × Hybrid	0.0	3.5	2.2	1.0	0.0

雄物型,  $F_1$  雑種,  $F_2$  雑種の個体数と割合は, 淡水型が 1607.2 個体 (52.7%), 雄物型が 858.5 個体 (28.1%),  $F_1$  雑種が 338.9 個体 (11.1%),  $F_2$  雑種が 245.4 個体 (8.0%) であった (Table 1)。アロザイム分析により  $F_2$  雑種と推定された個体は全部で 9 個体であったが, そのすべてが淡水型の戻し交雑であり, 雄物型の戻し交雑, 雑種同士の掛け合わせと推定される個体はいなかった。

### 3) 2003 年

2003 年は池の水を抜いていないので, 全体の個体数はわからない。弓網でできるだけ池の色々な場所で採集を試み, 86 個体を研究室に持ち帰った。

アロザイムの結果, 淡水型が 54 個体 (62.8%), 雄物型 12 個体 (14.0%),  $F_1$  雑種 6 個体 (7.0%),  $F_2$  以降の雑種 14 個体 (16.3%) であった (Table 1)。 $F_2$  以降の雑種は  $F_2$  と  $F_3$  で構成されると思われる。 $F_2$  以降の雑種の内訳は, 淡水型の戻し交雑 7 個体 (8.1%), 雄物型の戻し交雑 4 個体 (4.7%), 雑種同士の交雑 3 個体 (3.5%) であった (Table 2)。

### 4) 2004 年

この年は池の水を抜き, 個体数の調査を行った。総数は 1369 個体ですべての魚を外観で淡水型とそれ以外(雄物型と雑種)に分類した。外観から淡水型に分類された個体は 1147 個体, 雄物型と雑種に分類された個体はあわせて 222 個体であった。淡水型に分類された 1147 個体から 76 個体, 雄物型と雑種に分類された 222 個体から 71 個体を研究室に持ち帰り実験に用いた。アロザイム分析の結果, 淡水型に分類された 76 個体は淡水型 68 個体,  $F_2$  以降の雑種 8 個体であった。雄物型および雑種に分類された 71 個体は, 淡水型 3 個体, 雄物型 27 個体,  $F_1$  雑種 13 個体,  $F_2$  以降の雑種 28 個体であった。これらの結果から, 保護池に生息する淡水型, 雄物型,  $F_1$  雑種,  $F_2$  以降の雑種の割合を推定した。淡水型が 1035.7 個体 (75.7%), 雄物型 84.2 個体 (6.2%),  $F_1$  雑種 40.6 個体 (3.0%),  $F_2$  以降の雑種 194 個体 (15.2%) であった (Table 1)。

### 5) 2005 年

2003 年同様池の水を抜かなかったので, 全体の個体数はわからない。

弓網で 199 個体を採集し, 淡水型と雄物型・雑種に分類した結果, 淡水型は 180 個体であり, 雄物型および雑種に分類されたのは 19 個体であった。淡水型に分類された 180 個体から 23 個体を, 雄物型および雑種に分類された 19 個体はすべての個体を研究室に持ち帰り, 実験に使用した。アロザイムの結果, 淡水型に分類された

23 個体は 19 個体が淡水型, 4 個体が  $F_2$  であることがわかった。雄物型および雑種に分類された 19 個体は淡水型 4 個体, 雄物型 6 個体,  $F_1$  雑種 0 個体,  $F_2$  以降の雑種 9 個体であった。これらの結果から保護池に生息する各型の割合を推定すると, 淡水型 76.7%, 雄物型 3.0%,  $F_1$  雑種 0%,  $F_2$  雑種 20.3% であることがわかった (Table 1)。

### 6) 2006 年

2006 年は池の水を抜き, 個体数の調査を行った。全個体数は 4969 個体で, 外観から淡水型に分類された個体は 4809 個体, 雄物型に分類された個体は 19 個体, 雑種に分類された個体は 141 個体であった。淡水型に分類された 4809 個体から 56 個体, 雄物型に分類された 19 個体はすべて, 雑種に分類された 141 個体から 41 個体を持ち帰り実験に用いた。

アロザイム分析の結果, 淡水型に分類された 56 個体は 53 個体が淡水型, 3 個体が  $F_2$  以降の雑種であった。雄物型に分類された 19 個体はすべて雄物型であった。雑種に分類された 41 個体は, 淡水型 14 個体,  $F_1$  雑種 15 個体,  $F_2$  以降の雑種 12 個体 (淡水戻し 8 個体, 雄物戻し 4 個体) であった。これらの結果から保護池に生息する各型の割合を推定すると, 淡水型は 4599.5 個体生息すると推定され, その割合は 92.6% になった。同様に雄物型は 19 個体で 0.4%,  $F_1$  雑種は 48.1 個体で 1.0%,  $F_2$  以降の雑種は 298.9 個体で 6.0% と推定された (Table 1)。

## 考察

2000 年に 20 個体の雄物型を放流した翌年の池には淡水型 445 個体, 雄物型 267 個体そして  $F_1$  雑種 67 個体が生息すると推定された。淡水型の侵入の経緯は不明だが, 雄物型と淡水型が同じ割合で増加したと仮定すると, 保護池には 33 個体程度の淡水型が侵入したと考えられる。このようなまとまった数の淡水型が用水補給口から侵入したとは考えにくいので, 誰かが保護目的で淡水型を放流したものと思われる (一般の人には淡水型と雄物型の区別はつかない)。2001 年の全個体数は 779 個体だったので, 淡水型と雄物型あわせて 50-60 個体が 1 年で 10 倍以上に増えたことになる。保護池はトミヨ属魚類の生息にとって良好な環境であったと思われる。その後の個体数は, 2002 年が 3050 個体, 2004 年が 1369 個体, 2006 年が 4973 個体と多少の増減はあるものの, かなり高密度な状態で推移している。

この保護池はほ場整備で失われる雄物型の生息場所の代替地として造成されたが, 淡水型が混生し, 雑種を生じるとともに, 雄物型が減少し, 2006 年には約 5000 個体の魚が生息する中, 推定される雄物型の個体数は

23 個体だけとなった。そのうち 20 個体を実験材料として研究室に持ち帰ったので、保護池の雄物型は雑種に判別した中に数個体が混じるのみと思われる。雄物型を保護する目的で造成された人工池であるが、淡水型が混入したことにより、雄物型がほとんどいなくなるという結果になった。

2000 年に保護池が造成され、2001 年に初めて  $F_1$  雑種が確認された。雑種が普通に繁殖に関わったとすれば 2006 年には  $F_6$  雑種まで生じていることになる。しかし、5 遺伝子座で雑種を推定しているので、雑種が淡水型の戻し交雑として世代が重なると雑種であっても淡水型に判定される割合が高くなる。すべての雑種が淡水型の戻し交雑により生じたと仮定し計算すると、5 遺伝子座の場合、雑種であっても淡水型と判定される確率は、 $F_3$  雑種で 23.7%、 $F_4$  雑種で 51.3%、 $F_5$  雑種で 72.4%、 $F_6$  雑種で 85.3% となり、 $F_4$  雑種でも半分以上が間違っただけで判定がなされることになる。これらのことを考え合わせると、2006 年では 9 割を超える魚が淡水型と判定されているが、この中に淡水型の戻し交雑がかなりの数まざれている可能性がある。

$F_1$  雑種は 2001 年に 8.6%、2002 年には 11.1% と 10% 前後の  $F_1$  雑種が生じることが明らかになった。この値は、平鹿町で報告されているものよりかなり高い。Takata et al. (1987b) は淡水型と雄物型を 40 個体ずつ調べ、2 個体の  $F_2$  以降の雑種を報告しているが、 $F_1$  雑種は混じっていない。Tsuruta et al. (2002) は  $F_1$  雑種 1 個体を報告しているものの、淡水型と雄物型の栄養が接近していてもほとんど間違っただけの交雑は起きないことを報告しており、やはり  $F_1$  雑種の頻度はかなり低いものと推定される。保護池では 2002 年には総数で 3000 個体を超える高密度になっているが、魚を放流した最初の年には雄物型 20 個体と淡水型 30-40 個体と考えられるので、魚の密度が増したことにより  $F_1$  雑種が高頻度で生じたとは考えにくい。むしろ、2001 年と 2002 年で魚の総数が 10 倍に増えたにもかかわらず、 $F_1$  雑種は 8.6%、11.1% とあまり変化していないことは魚の密度に関わらず一定の割合で  $F_1$  雑種は生まれることを示唆している。平鹿町ではかなり厳密な交雑前隔離機構が機能していると思われるので、地域により交雑前隔離機構の程度が異なるものと思われる。

2002 年には  $F_1$  雑種に加えて  $F_2$  雑種が確認された。アロザイムで  $F_2$  雑種と判定された個体は 9 個体で、そのすべてが淡水型の戻し交雑であった (Table 2)。このことは  $F_1$  雑種は淡水型とのみ交雑したことを示している。なぜ、 $F_1 \times F_1$  や  $F_1$  雑種と雄物型の交雑がなかったのだろうか。相対的に  $F_1$  の数が少ないので、たまたま  $F_1$  同士の交雑が生じなかった可能性もあるが、2003 年以

降は毎年雑種同士の交雑が見つかっており、何らかの別の要因が関係していると思われる。淡水型と汽水型の間では  $F_1$  雑種のオスは不妊であることが報告されている (Takahashi et al. 2005)。淡水型と雄物型の  $F_1$  雑種でも同様に  $F_1$  雑種のオスが不妊だと仮定すると、2002 年の  $F_2$  に  $F_1$  同士の組み合わせがなかったことをうまく説明できる。今後、淡水型と雄物型の間でも  $F_1$  雑種オスの妊性を明らかにする必要があるだろう。

2003 年の  $F_2$  以降の雑種は  $F_2$  雑種と  $F_3$  雑種からなると思われる。実際に、2002 年の  $F_2$  雑種は 8% であったのに対し、2003 年では 18% となっており、 $F_3$  雑種が生じた可能性を強く示唆している。また、2002 年の  $F_2$  雑種には見られなかった、雄物型の戻し交雑 (6.0%) や雑種同士の交雑 (2.4%) も見られた。2002 年の  $F_2$  雑種では淡水戻しだけだったことを考えると、雄物型の戻し交雑や雑種同士の交雑は  $F_2$  と雄物型、 $F_2$  と  $F_2$  の交雑の結果生じた  $F_3$  雑種であるのかもしれない。 $F_4$  以降の雑種に関しては、アロザイムの限界もあり存在するのかもしれない。含めて個体数の把握は困難であった。

2001 年から 2006 年まで全体を通してそれぞれの魚の割合の推移をながめると以下に述べるような傾向がある。まず、初めは雑種が増加した分、雄物型が減少している。雑種の総数は 2001 年に 8.6%、2002 年に 19.1%、2003 年に 23.3% と徐々に増加している。このことは 2001 年には  $F_1$  雑種のみだったが、次の年には  $F_2$  雑種が、そしてさらに翌年には  $F_3$  雑種が加わったことを示唆している。これらの雑種の増加により減少したのは雄物型で、淡水型はあまり影響を受けていない。 $F_1$  雑種形成には淡水型♂ × 雄物型♀、淡水型♀ × 雄物型♂ の 2 つの組み合わせがあるが、片方の組み合わせでしか雑種が形成されていないのかもしれない。次に当然のことではあるが、雄物型の割合が減少すると、それにともない  $F_1$  雑種の割合が減少する。さらに  $F_1$  雑種の減少は  $F_2$  雑種の減少を引き起こす。しかし、雑種崩壊が起こっていなければ、2004 年には  $F_4$  雑種が新たに加わり、2005 年には  $F_5$  雑種が、2006 年には  $F_6$  雑種が新たに加わることになるので、雑種全体の割合が減少するのかわからない。アロザイムにより推定される雑種の総数は 2006 年には 7% と極端に減少しているが、5 遺伝子座からの推定であり、代を重ねた雑種が多数淡水型の中に存在する可能性がある。最終的には保護する目的であった雄物型がほとんどいなくなり、大部分が淡水型に置き換わる結果となった。平鹿町には淡水型と雄物型が混生している湧水池が多く存在している。高村ら (2000) は、これらの湧水池に生息する型を 1992 年と 1998 年で比較した。ほとんどの混生地が混生のままであり、混生から淡水型の生息地に変化した場所は 1 つもなかった。人口

造成された池がかなり小さいという違いはあるが、雄勝町周辺に生息する淡水型と雄物型の交配前隔離機構は平鹿町周辺に生息する両型と比べその厳密さについてかなりの違いがあると思われる。

#### 謝辞

本研究を進めるにあたり、雄勝町教育委員会および雄勝町ハリザッコを守る会の皆様には大変お世話になりました。また、自然科学調査事務所の草薙利美氏には採集など色々とお世話になりました。心より感謝申し上げます。

#### 引用文献

- Takahashi H., T. Nagai and A. Goto. 2005. Hybrid male sterility between the fresh- and brackish-water types of ninespine stickleback *Pungitius pungitius* (Pisces, Gasterosteidae). Zool. sci. 22: 35-40
- Takata K., A. Goto and F. Yamazaki. 1987a. Biochemical identification of a brackish water type of *Pungitius pungitius*, and its morphological and ecological features in Hokkaido, Japan. Jan. J. Ichthyol. 34: 176-183

- Takata K., A. Goto and F. Yamazaki. 1987b. Genetic differences of *Pungitius pungitius* and *P. sinensis* in a small pond of the Pmono river system, Japan. Jan. J. Ichthyol. 34: 384-386
- Tsuruta T., H. Takahashi and A. Goto. 2002. Evidence for type assortative mating between the freshwater and Omono types of nine-spined stickleback in natural fresh water. J. Fish Biol. 61: 230-241
- 河又邦彦, 杉山秀樹 (2002) 淡水型と雄物型に固定したアロザイム遺伝子と形態学的特徴 秋田大学教育文化学部研究紀要 自然科学第 57 集別冊: 7-12
- 杉山秀樹, 森誠一 (2009) トミヨ雄物型: 極めて限定された生息地で湧水に支えられる遺存種の運命 魚類学雑誌 56 (2) : 171-175
- 高村明, 杉山秀樹, 河又邦彦 (2000) 平鹿町におけるトゲウオ類の生息環境の現状と保全 秋田大学教育文化学部教育実践研究紀要 22:107-113
- 藤尾芳久 (1984) アイソザイム分析手法による魚介類の遺伝的特性の解明に関する研究 昭和 58 年度農林水産業特別試験研究費補助金による研究報告書 65pp.