

## 北海道東部の湧別川に分布するエゾトミヨ

町田善康<sup>1,2</sup>・高橋 洋<sup>3</sup>

## Author &amp; Article Info

<sup>1</sup> 美幌博物館（網走郡美幌町）

machida.yoshiyasu@town.bihoro.hokkaido.jp (corresponding author)

<sup>2</sup> オホーツク魚類研究会（美幌町）<sup>3</sup> 水産大学校生物生産学科（下関市）

hiroshi@fish-u.ac.jp

Received 14 November 2024

Revised 04 December 2024

Accepted 05 December 2024

Published 06 November 2024

DOI 10.34583/ichthy.50.0\_6

Yoshiyasu Machida and Hiroshi Takahashi. 2024. Sakhalin ninespine stickleback *Pungitius tymensis* distributed in the Yubetsu River, eastern Hokkaido, Japan. Ichthy, Natural History of Fishes of Japan, 50: 6–10.

## Abstract

Two specimens of Sakhalin ninespine stickleback *Pungitius tymensis* were collected from the Yubetsu River system in eastern Hokkaido, Japan. Morphological analysis showed that the lateral plates of *P. tymensis* in the Yubetsu River were significantly different from those of sympatric *P. sinensis*. Molecular phylogenetic analysis of mitochondrial cytochrome *b* gene sequences revealed that *P. tymensis* from the Yubetsu River had unique mtDNA haplotypes, differing from a previous study. The haplotype of *P. tymensis* and that of sympatric *P. sinensis* differed by nine nucleotide substitutions, suggesting reproductive isolation between the two species. However, the haplotype of *P. tymensis* constituted the same clade with haplotypes of widely distributed *P. sinensis*, indicating that the haplotype was introgressed from *P. sinensis*. The haplotype of *P. tymensis* in the Yubetsu River was closely related to two haplotypes of *P. tymensis* in the Teshio River, suggesting that *P. tymensis* in the Yubetsu River spread from the northern part of Hokkaido and evolved independently since then. As this is the first report with voucher specimens of *P. tymensis* from the Yubetsu River system, it provides a basis for the species conservation in the area.

トゲウオ科トミヨ属の一種であるエゾトミヨ *Pungitius tymensis* (Nikolsky, 1889) は、日本およびサハリンに自然分布する（高田ほか, 1984; Takahashi et al., 2016; Dyldin et al., 2021）。日本国内で本種は、北海道の石狩川水系および道北地域の天北原野、道東地域の根釧原野に局所分布する（石城, 1967; 高田ほか, 1984）。これら3地域のエゾトミヨ

については、形態（高田ほか, 1984）や行動（町田ほか, 2022）、集団遺伝（Niwa, 1987; Takahashi and Takata, 2000; Takahashi et al., 2016）などの様々な調査が行われてきた。一方、環境庁（1982）や財団法人 リバーフロント整備センター（2001）では、北海道東部オホーツク海側にそそぐ湧別川水系でも、エゾトミヨを採集した記録があるが、証拠標本は存在せず、その詳細は不明であった。そこで、本研究では、エゾトミヨの保全のため、湧別川で採集調査および湧別川産エゾトミヨ標本の形態観察と分子系統解析を行ったので、ここに詳細を報告する。なお、本種は、環境省レッドリストでは絶滅危惧Ⅱ類（VU）に、北海道レッドデータブックでは準絶滅危惧種（NT）に選定されているため（後藤, 2015; 北海道, 2018; 環境省, 2020）、具体的な採集地点については記述しない。

## 材料と方法

2016年6月14日、湧別川で40 cm以下のたも網を用いてトミヨ属魚類4個体を採集した。採集した個体は、グローブオイルを用いた過度麻酔によって安楽死させ、10%中和ホルマリンで固定後、70%エタノールに置換して美幌博物館（BIHM）に収蔵した。細谷（2013）および町田ほか（2022）を参考に、背棘数と鱗板数、体色に基づき種同定した。鱗板は、0.5%水酸化カリウム溶液で体表を透明化した後、アリザリンレッドSを用いて染色し、双眼実体顕微鏡（Nikon: SMZ-2T）で観察した。腹棘長、臀棘長、最前列の背棘長、背鰭軟条直前の背棘長（DSL）については、ダイヤルノギス（株式会社ミットヨ）を用いて、0.01 mmの単位まで計測し、その他の形態形質の計測方法は、中坊・中山（2013）に従った。なお、標本の作製、写真撮影および固定方法は本村（2009）に準拠した。また、本研究で使用するトミヨ属魚類の学名については、Takahashi et al. (2016) に従い、エゾトミヨに *Pungitius tymensis*、トミヨ属淡水型に *Pungitius sinensis* (Guichenot, 1869)、トミヨ属汽水型に *Pungitius pungitius* (Linnaeus, 1758) をそれぞれ用いた。

採集したトミヨ属魚類（エゾトミヨとトミヨ属淡水型）

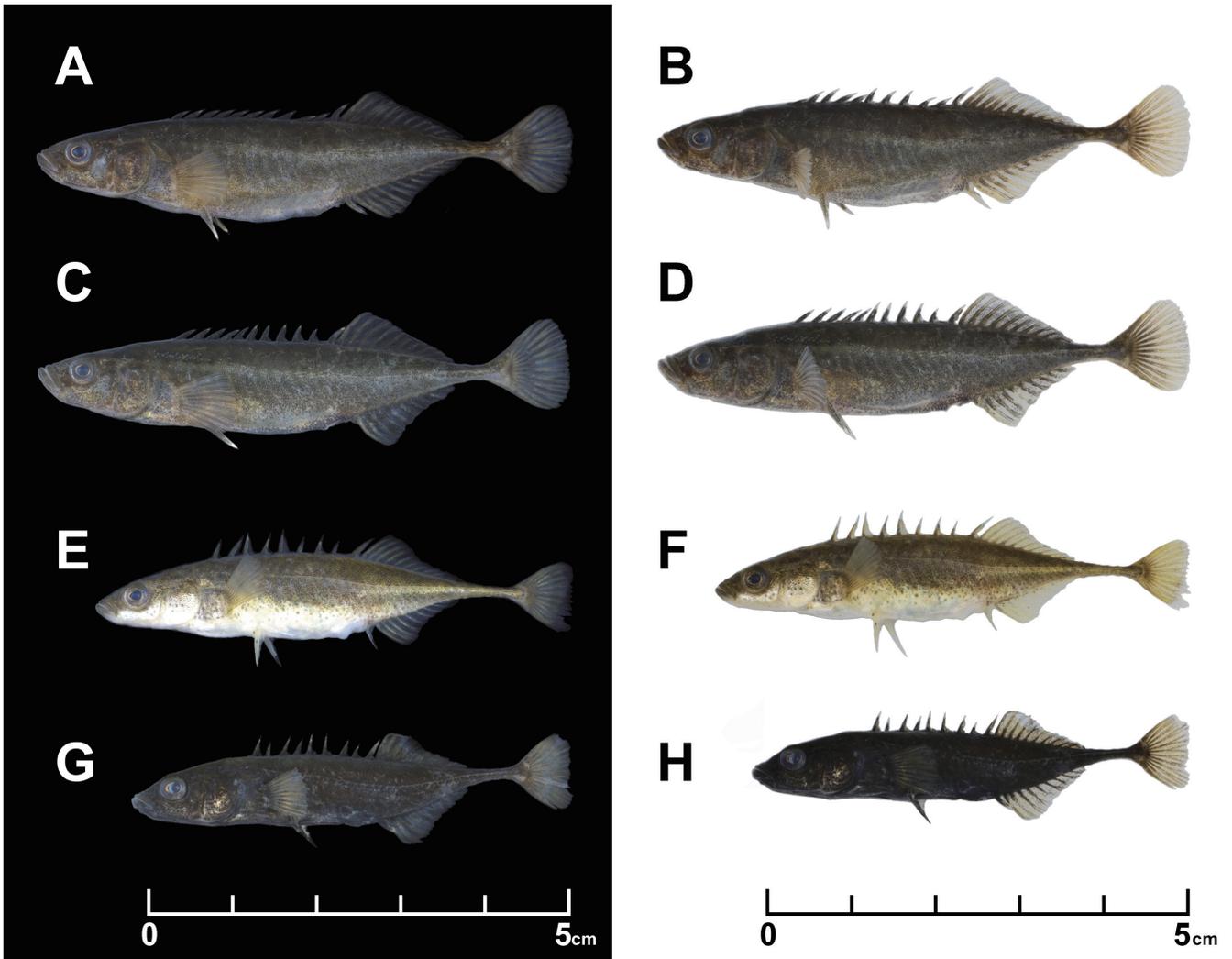


Fig. 1. Fresh specimens collected from the Yubetsu River, eastern Hokkaido, Japan. A–B: female *Pungitius tymensis* (BIHM0100981, 55.73 mm SL); C–D: male *P. tymensis* (BIHM0100982, 55.46 mm SL); E–F: female *P. sinensis* (BIHM0100980, 51.30 mm SL); G–H: male *P. sinensis* (BIHM0100979, 47.42 mm SL). A, C, E, and G were taken on a black background, while B, D, F, and H were taken on a white background.

の雌雄各2個体 (BIHM0100979–0100982), 計4個体の右半身の筋肉は, ホルマリン固定前に分子系統解析用サンプルとして, 99.5%エタノールに保存した. 99.5%エタノールに保存した4個体の体組織片から AquaPure Genomic DNA Isolation kit (Bio-Rad Laboratories 社) を用いて, DNAを抽出した. 抽出したDNAは, Takahashi et al. (2016) に従ってミトコンドリアDNA (mtDNA) のチトクローム*b* (cyt *b*) の全長配列 1141bp を決定し, 4個体から信頼性の高い配列が得られた. 得られた cyt *b* 配列は, Takahashi et al. (2016) によって決定された30地点, 86個体のトミヨ属魚類の cyt *b* 配列とともに, MEGA 7 ver. 7.0.14 (Kumar et al., 2016) を用いて, 近隣接合樹 (NJ) の推定を行った. 系統樹内のノード推定は, 各分岐の信頼性を確定するために, 1000回の反復によるブートストラップ (BP) 分析を行った. なお, 本研究で得られた mtDNA 配列は, GenBank/EMBL/DDBJ に登録した (LC853221–LC853224).

### *Pungitius tymensis* (Nikolsky, 1889)

#### エゾトミヨ

(Figs. 1A–D, 2; Table 1)

**標本** 2標本: BIHM0100981, 体長 55.73 mm, 雌, BIHM0100982, 体長 55.46 mm, 雄, 北海道紋別郡 湧別川, たも網, 2016年6月14日, 町田善康・菅野貴久.

**記載** 計測値を Table 1 に示した. 体は, 細長い円筒形で, 口は上向き. 下顎先端は吻端よりも突出する. 尾柄は, 同所的に生息する湧別川のトミヨ属淡水型と比べて太く短い. 尾鰭は円形. 腹棘, 臀棘は長く, 背棘は短い. 腹棘は, 同所的に生息するトミヨ属淡水型と比べて短く, 先端は尖らない.

**色彩** 生鮮時の色彩 (Fig. 1A–D) 一体の背面は茶褐色で, 体側から腹面にかけて徐々に淡くなり, 腹面は灰褐色を呈する. 体側中央から腹面には, 茶褐色の顆粒が散在する. 胸鰭の基部周辺は黄色がかかる. 各鰭は褐色半透明で, 軟条部は黄色, 基部に近づくにつれて茶褐色が強くなる.

背棘は茶褐色で、一部は先端が白い。腹棘と臀棘は黄色で、茶褐色の顆粒が散在する。腹棘先端は白色。体色は、雌に比べて雄の方が濃い。

**分布** 日本およびサハリンに自然分布する（高田ほか，1984；Takahashi et al., 2016；Dyldin et al., 2021）。日本国内では、北海道の石狩川、天塩川、勇知川、クトネベツ川、声間川、増幌川、猿払川、頓別川、古多糠川、伊茶仁川、標津川、当幌川、春別川、床丹川、西別川、別当賀川、琵琶瀬川、別寒辺牛川、釧路川に局所分布する（石城，1967；高田ほか，1984）。湧別川水系では、環境庁（1982）や財団法人 リバーフロント整備センター（2001）の記録があるが、証拠標本は示されていないため、本研究は湧別川水系における証拠標本を伴う初めての記録となる。

**備考** 北海道に分布するトミヨ属魚類は、エゾトミヨの他にトミヨ属淡水型とトミヨ属汽水型が知られている。これら3種のトミヨ属魚類は、繁殖場所（Tsuruta et al., 2008）や求愛行動（Meguro et al., 2016；町田ほか，2022）、巣作り行動（Machida et al., 2022）、雑種オスの不妊（Takahashi et al., 2005）などによって生殖的に隔離されている。3種のトミヨ属魚類は、形態が酷似するが、後述するいくつかの形質を組み合わせることで明確に識別す

ることができる。エゾトミヨは、背棘が短く9–13（モードは10）本とトミヨ属淡水型の8–10（モードは9）本やトミヨ属汽水型9–11（モードは10）本と比べて多く、鱗板は不連続で3–12枚となりトミヨ属淡水型の7–33（モードは22）枚やトミヨ属汽水型15–25（モードは19）枚と比べて、3種の中で最も退化的である（Takata et al., 1987；細谷，2013；後藤，2015）。また、トミヨ属淡水型の鱗板は変異に富むが、頭部から尾柄部まで連続する場合のみ、他の2種と識別できる（Takata et al., 1987）。同所的に生息する河川では、エゾトミヨが上流域に、トミヨ属淡水型が中流域に、トミヨ属汽水型が汽水域に分布する（Tsuruta et al., 2008）。体色は、エゾトミヨとトミヨ属淡水型が茶褐色で、トミヨ属汽水型が銀白色である（Takata et al., 1987；町田ほか，2022）。特に、トミヨ属汽水型の雄の婚姻色は、下腹部のみが黒色化し腹棘内側が白く、他の2種の雄は全身が黒くなる点で識別できる（Takata et al., 1987；町田ほか，2022）。

北海道東部オホーツク海側の湧別川から得られた2標本（BIHM0100981, 0100982）は、背棘数が11本であり、鱗板列が9–12枚で不連続かつ退格的であったこと（Fig. 1A–D; Table 1）によりエゾトミヨと同定された。一方、同

Table 1. Morphological characteristics of the two species of ninespine stickleback (genus *Pungitius*) used in the study. The mtDNA haplotypes of BIHM0100979 and BIHM0100980 in *P. tymensis* were identical. Similarly, the haplotypes of BIHM0100981 and BIHM0100982 in *P. sinensis* were identical.

Species No.	<i>P. sinensis</i>		<i>P. tymensis</i>	
	BIHM0100979	BIHM0100980	BIHM0100982	BIHM0100981
Sex	Male	Female	Male	Female
Standard length (SL; mm)	47.42	51.30	55.46	55.73
Body color	Black	Yellowish brown	Dark brown	Dark brown
Counts				
Number of dorsal spines	9	9	11	11
Number of lateral plates	35	33	6+6	3+6
Morphology of lateral plate	Complete	Complete	Incomplete	Incomplete
Measurements				
Eye diameter (ED)	3.88	3.90	4.22	4.55
Dorsal spine length nearest to the dorsal fin (DSL)	3.33	3.46	2.95	2.94
ED/DSL (%)	85.8	88.7	69.9	64.6
Measurements (as % of SL)				
Head length	27.8	24.6	24.7	25.2
Head width	12.9	10.9	13.9	14.3
Eye diameter	8.2	7.6	7.6	8.2
Snout length	6.9	5.9	5.9	5.7
Interorbital width	2.7	3.3	3.5	3.6
Dorsal-fin base length	54.0	57.4	62.4	64.9
Dorsal-fin base length without dorsal-spines	24.3	22.6	26.0	27.1
Anal-fin base length	23.9	22.4	23.1	26.6
Anal-fin base length without anal-spine	21.8	20.4	22.2	24.5
Pectoral-fin length	5.7	5.1	5.4	5.2
Caudal peduncle length	14.4	14.4	9.3	8.3
Caudal peduncle depth	2.2	1.9	3.0	2.9
First dorsal spine length	5.2	4.7	5.3	4.6
Dorsal-spine length nearest to the dorsal-fin	7.0	6.7	5.3	5.3
Pelvic-spine length	9.9	10.0	8.3	8.7
Anal-spine length	5.9	6.3	7.6	6.3
DDBJ accession number	LC853221	LC853222	LC853224	LC853223

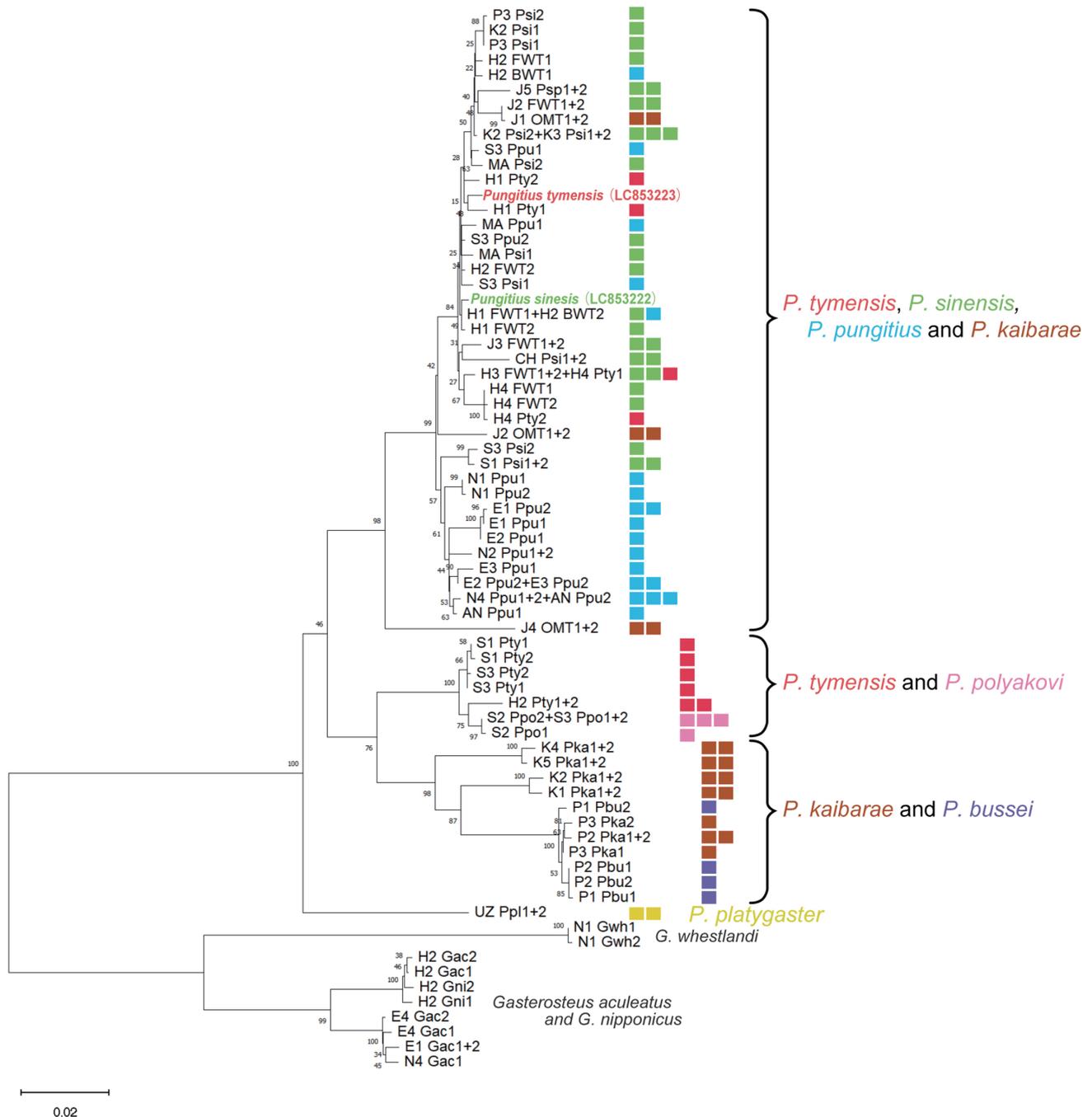


Fig. 2. A neighbor joining (NJ) tree based on whole mtDNA cytochrome *b* gene sequences. Vermilion and green bolded tips are haplotypes from the samples used this study, while the others are those reported in Takahashi et al. (2016). Bootstrap probabilities (BPs) for major lineages in NJ tree are shown above the nodes. Different color symbols indicate the seven species of *Pungitius* and the number of individuals. Locality codes and species abbreviations correspond to Takahashi et al. (2016).

所で得られた2標本 (BIHM0100980, 0100979) は、背棘数が9本で、雌は黄褐色の体色で、雄の婚姻色は全身が黒く、鱗板列が33–35枚で頭部から尾柄部まで連続していること (Fig. 1E–H; Table 1) によりトミヨ属淡水型に同定された。町田ほか (2010) も、湧別川水系において鱗板が連続するトミヨ属淡水型を採集しており、また本研究で採集されたトミヨ属淡水型も鱗板が連続したことから、湧別川水系においては鱗板列の形状によってエゾトミヨとトミヨ属淡水型を識別できると考えられる。さらに、湧別川のエゾトミヨは、尾柄が太く短いことや、尾鰭が円

形であること、腹棘が短く先端が白くなることも、同所的に生息するトミヨ属淡水型との識別に有効であると考えられる。しかし、細谷 (2013) が示した背鰭軟条直前の背棘長が眼径の58%以下がエゾトミヨで、60%以上がトミヨ属淡水型という形質は、湧別川水系のトミヨ属魚類の識別において有用ではなかった。

本研究で決定されたエゾトミヨとトミヨ属淡水型の *cyt b* 領域のハプロタイプは、Takahashi et al. (2016) において決定されたトミヨ属魚類のいずれのハプロタイプとも異なっていた。また、湧別川のエゾトミヨは、同所的に生息

するトミヨ属淡水型と9塩基が異なるハプロタイプを有していた。このことは、湧別川に生息するエゾトミヨとトミヨ属淡水型との間に明確な生殖的隔離が存在することを示唆する。しかし、分子系統解析の結果、湧別川のエゾトミヨのハプロタイプは、同所的生息地を含む広範囲に分布するトミヨ属淡水型のハプロタイプと同クレードを構成していた (Fig. 2)。トミヨ属淡水型からエゾトミヨへの mtDNA の異種間浸透は、石狩川水系や天塩川水系でも生じており (Takahashi and Takata, 2000; Takahashi et al., 2016)、湧別川のエゾトミヨも同様にトミヨ属淡水型からの異種間浸透を受けていると考えられる。ただし、湧別川に生息するエゾトミヨが有する *cyt b* 領域のハプロタイプは、天塩川水系に生息する個体のもつハプロタイプ (H1-Pty1 および H1-Pty2) と近縁であった (Fig. 2)。このことから、湧別川のエゾトミヨは、道北地方から分布拡大し、その後独自の進化を遂げたと考えられる。

以上のことから、湧別川のエゾトミヨは、これまで知られてきたいずれの生息地の個体とも異なる遺伝的特徴を持ち、限定された特異な自然分布パターンを示すため、生物地理学的にも貴重な個体群である。湧別川周辺河川では、固有の mtDNA のハプロタイプを持つエゾホトケドジョウ *Lefua nikkonis* Jordan and Fowler, 1903 の個体群も存在することから (Ooyagi et al., 2018)、本地域は北海道の淡水魚相形成史を明らかにするためには、非常に重要な地域と言える。そのため、今後は湧別川周辺の河川についても、エゾトミヨの分布について調査を行う必要がある。また、本研究では、核遺伝子について調査することができなかった。今後、一塩基多型を用いたゲノムワイドな解析などによって、より詳細な調査が進むことを期待したい。

## 謝 辞

菅野貴久氏には、現地において標本採集に協力頂いた。また、沖村未和子氏には、DNA 分析を手伝って頂いた。加えて、東京農業大学の東典子氏、福井翔氏には有益な助言を頂いた。論文の投稿にあたり、Ichthy 編集委員長の本村浩之氏ならびに Ichthy 担当編集委員の中村潤平氏と1名の査読者には、本稿について、建設的かつ多くの有益な指摘を頂いた。以上の方々に深く御礼申し上げる。

## 引用文献

Dyldin, V. Y., R. Fricke, L. Hanel, D. S. Vorobiev, E. A. Interesove, V. I. Romanov and A. M. Orlov. 2021. Freshwater and brackish water fishes of Sakhalin Island (Russia) in inland and coastal waters: an annotated checklist with taxonomic comments. *Zootaxa*, 5065: 1–92.

後藤 晃. 2015. エゾトミヨ, pp. 292–293. 環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室 (編) レッドデータブック 2014 –日本の絶滅のおそれがある野生生物– 4 汽水・淡水魚類. ぎょうせい, 東京.

北海道. 2018. 北海道の希少野生生物 北海道レッドデータブック 2018. [URL](#) (3 Mar. 2024)

細谷和海. 2013. トゲウオ科, pp. 606–607. 中坊徹次 (編) 日本産魚類検索 全種の同定. 第3版. 東海大学出版会, 秦野.

石城謙吉. 1967. 北海道根釧地域におけるトミヨ属魚類の分布と形態. *動物学雑誌*, 76: 249–254. [URL](#)

環境省. 2020. 環境省レッドリスト 2020. [URL](#) (3 Mar. 2024)

環境庁. 1982. 日本の重要な淡水魚類(北海道版). 大蔵省印刷局, 東京. 122 pp.

Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870–1874.

町田善康・桑原禎知・鬼丸和幸. 2010. 北海道東部におけるヤチウグイ *Rhynchocypris perenurus* (Pallas) の分布. *美幌博物館研究報告*, 17: 51–63.

Machida, Y., H. Takahashi, T. Tsuruta and A. Goto. 2022. Effect of salinity on nest building behaviour in the nine-spined stickleback *Pungitius sinensis*. *Journal of Fish Biology*, 102: 516–519.

町田善康・鶴田哲也・後藤 晃. 2022. 同属近縁2種との無選択配偶実験で検出されたエゾトミヨ *Pungitius tymensis* の強固な同類交配. *魚類学雑誌*, doi: 10.11369/jji.21-028 (Aug. 2022), 62: 195–202 (Nov. 2022). [URL](#)

Meguro, Y., H. Takahashi, Y. Machida, H. Shirakawa, M. R. Gaither and A. Goto. 2016. Assortative mating and divergent male courtship behaviours between two cryptic species of nine-spined sticklebacks (genus *Pungitius*). *Behaviour*, 153: 1879–1911.

本村浩之. 2009. 魚類標本の作製と管理マニュアル. 鹿児島大学総合研究博物館, 鹿児島. 70 pp. [URL](#)

中坊徹次・中山耕至. 2013. 魚類概説, pp. 3–30. 中坊徹次 (編) 日本産魚類検索 全種の同定. 第3版. 東海大学出版会, 秦野.

Niwa, T. 1987. Comparison of the gene frequency between sympatric populations of ninespine sticklebacks, genus *Pungitius*, in Hokkaido, Japan. *Japanese Journal of Ichthyology*, 34:184–190. [URL](#)

Ooyagi, A., D. F. Mokodongan, J. Montenegro, I. F. Mandagi, N. Koizumi, Y. Machida, N. Inomata, S. V. Shedko, A. A. Hutama, R. K. Hadiaty and K. Yamahira. 2018. Phylogeography of the eight-barbel loach *Lefua nikkonis* (Cypriniformes: Nemacheilidae): how important are straits in northern Japan as biogeographical barriers? *Ichthyological Research*, doi: 10.1007/s10228-017-0597-0 (Sept. 2017), 65: 115–126 (Jan. 2018).

Takahashi, H., P. R. Møller, S. V. Shedko, T. Ramatulla, S. Joen, C. Zhang, V. G. Sideleva, K. Takata, H. Sakai, A. Goto and M. Nishida. 2016. Species phylogeny and diversification process of Northeast Asian *Pungitius* revealed by AFLP and mtDNA markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 99: 44–52.

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). *Zoological Science*, 22: 35–40. [URL](#)

Takahashi, H. and K. Takata. 2000. Multiple lineages of the mitochondrial DNA introgression from *Pungitius pungitius* (L.) to *Pungitius tymensis* (Nikolsky). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57: 1814–1833.

高田啓介・後藤 晃・濱田啓吉. 1984. 北海道におけるトミヨ属魚類3種の地理的分布と形態変異. *魚類学雑誌*, 31: 312–326. [URL](#)

Takata, K., A. Goto and F. Yamazaki. 1987. Biochemical identification of a brackish water type of *Pungitius pungitius*, and its morphological and ecological features in Hokkaido, Japan. *Japanese Journal of Ichthyology*, 34: 176–183. [URL](#)

Tsuruta, T., Y. Machida and A. Goto. 2008. Nesting habitat use and partitioning of three sympatric ninespine sticklebacks (genus *Pungitius*): implications for reproductive isolation. *Environmental Biology of Fishes*, 82: 143–150.

財団法人リバーフロント整備センター. 2001. 平成11年度 (BOOK & CD-ROM) 河川水辺の国勢調査年鑑 (河川版) 魚介類調査, 底生動物調査編. 山海堂, 東京. 69 pp.