

農村生態系保全に向けてのドジョウと カラドジョウの簡易な種判別式

小出水規行*・森 淳*・水谷正一**・渡部恵司*・竹村武士***・西田一也*

目次

I 緒言	167	IV 考察	171
II 材料と方法	168	1 判別式の特徴	171
1 計測サンプル	168	2 1部位による予備的判別	172
2 計測部位	168	3 固定による魚体収縮	172
3 データ解析	168	V 結言	172
III 結果	169	参考文献	173
1 部位比較	169	Summary	175
2 判別式	170		

I 緒言

我が国在来のドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* は、全国規模で行った農林水産省・環境省連携の「田んぼの生きもの調査 (2001 ~ 2009 年)」で最も多く確認され (地域環境資源センター農村環境部, 2011), 農村生態系における主要魚種となっている。しかし, 近年の生息環境の悪化に伴い, 例えば兵庫県, 徳島県, 宮崎県ではレッドデータリストに記載される等の生息量が減少している地域もある (野生生物調査協会・環境保全事務所, 2011)。一方, 一部の水田水域ではドジョウと比較して髭が長く, 体高が大きい等の魚体部位の特徴が異なるカラドジョウ *Paramisgurnus dabryanus* が同所的に確認されている。カラドジョウは中国大陸から台湾島, 朝鮮半島を原産とする外来種であり, その学名は分類学的に *M. mizolepis* と混乱している [藤田 (2007), 本研究では便宜的に *P. dabryanus* を適用した]。我が国では輸入ドジョウに混入し, 1960 年代には兵庫県, 香川県, 長崎県で生息していたとされる (Oliva and Hensel, 1961)。田んぼの生き物調査をはじめとする近年の調査研究によると (金尾・上野, 2005; 加納ら, 2007; 小出水ら, 2009, 2010; 清水・高木, 2010; 高木ら, 2010), 現在, カラ

ドジョウの分布は東北~四国地方にかけての 23 県にまで及んでいる。

このように全国的に広がる傾向を示すカラドジョウに対し, 環境省は共存によって生息場が奪われ, ドジョウの生息量が減少すること, または交雑によって遺伝子が汚染されること等の可能性を懸念し, 本種を要注意外来生物に指定している (環境省, 2011)。実際, 我が国におけるカラドジョウの生息環境特性やドジョウとの生態比較については断片的情報しかなく (金尾・上野, 2005; 加納ら, 2007), 農村生態系への被害の実態は明らかでない。さらに, ドジョウと体形が類似し, 個体間での変異も大きいことから (李・魯, 2006), ドジョウとカラドジョウの正確な区別には高度な技術を要する側線縦列鱗数や尾柄部縁辺上部の尾鰭前部鰭条数 (unbranched spinous fin ray of above caudal fin) 等の分類形質の計測が必要となる (Yang et al., 1994)。

近年, DNA 分析技術の進展により, 塩基配列の違いから両種の判別が可能となった (小出水ら, 2010; 清水・高木, 2010; 高木ら, 2010)。しかし, DNA 分析に用いる専用機器, 費用, 時間等を勘案するとまだ一般的ではない。そのような中, 清水・高木 (2010) は DNA で判別した個体について, 計測が容易な髭長や体高等の部位を比較した結果, 種間に見られる差は Vasil'eva (2001) で指摘されている特徴と一致することを確認した。この成果は分類形質や DNA 分析を利用しなくても, 各部位を組み合わせてることによって, 汎用的な両種の判別関数式を統計的に構築できることを示している。

これまで魚体部位を用いた魚類個体群の判別式は, マコガレイ *Limanda yokohamae* とマガレイ *L. herzensteini*

* 資源循環工学研究領域生態工学担当

** 宇都宮大学農学部

*** 農村基盤研究領域資源評価担当

平成 23 年 12 月 13 日受理

キーワード: 要注意外来生物, 多変量解析, エタノール固定, 水田水域

(加藤ら, 1974), マダイ *Pagrus major* の天然魚と人工放流魚 (松宮ら, 1984), チョウセンエツ *Coilia ectenes* の個体群 (Cheng and Han, 2004), ウグイ類 *Leuciscus leuciscus burdigalensis* の個体群 (Poulet et al., 2005), トゲウナギ類 *Mastacembelus mastacembelus* の個体群 (Çakmak and Alp, 2010), ハクレン *Hypophthalmichthys molitrix* とコクレン *Aristichthys nobilis* (Yu et al., 2010), 大西洋タラ *Gadus morhua* の天然魚と人工放流魚 (Uglem et al., 2011) 等でも適用され, これらの正判別率は 67.1% (松宮ら, 1984) ~ 100% (Uglem et al., 2011) と高い。一方, ドジョウとカラドジョウについては丸山 (未発表) による取り組みしかなく, 公表には至っていない。

著者らは, 我が国の健全な農村生態系を将来にわたって保全し続けるには, カラドジョウについても生態系に及ぼす被害の実態を明らかにし, それに応じた適切な対策を講じることが肝要と考える。しかし, 被害が明らかになってからでは, 対応が手遅れとなるものも推察され (例えば, 遺伝子汚染), 早急に, カラドジョウの生息状況を調査し, それ以上分布が拡大しないよう, 被害予防三原則「(カラドジョウを) 入れない, 捨てない, 拡げない (環境省, 2011)」を世間一般に実践させて行くことが必要と判断する。そのためには, ドジョウとカラドジョウを見分けるために, 大学や独法研究機関等の研究者だけでなく, 田んぼの生きもの調査等を実施している行政機関, 民間コンサルタント, NPO 団体, ひいては地元農家にとっても簡易に判別可能な手法を開発しなくてはならない。本研究では, DNA 分析により判別したドジョウとカラドジョウを用いて (小出水ら, 2010), 各個体の部位に基づく両種の判別式を作成した。計測した各部位について種間を統計的に比較し, 作成された判別式の特徴, 利用方法, エタノール固定による個体の収縮について考察を加えた。

なお, 本研究をまとめるにあたり, メダカ里親の会事務局の中茎元一氏にはサンプル採捕に, 韓国農漁村公社の朴明洙氏にはサンプル計測に, 水利工学研究領域の李盛源氏には韓国語の日本語翻訳に, 韓国農漁村研究院の金榮得氏には韓国におけるドジョウの文献収集に, それぞれご協力いただいた。デンバー大学の T. W. Quinn 博士には英文要旨をご校閲いただいた。本研究の

一部は科学研究費助成事業 (研究課題番号 20580270, 22380133, 23580340) の支援を受けて実施した。ここに記して深謝の意を表します。

II 材料と方法

1 計測サンプル

小出水ら (2010) の DNA 分析により判別されたドジョウ 312 個体とカラドジョウ 72 個体を計測サンプルとして用いた。各個体は 2008 年 7~9 月にかけて, 栃木県内 45 地点の農業水路や河川でタモ網等により採捕され, 無水 (99.5%) エタノールで固定後, -30°C で保管された。DNA 分析ではミトコンドリア DNA のシトクローム *b* 遺伝子を利用し (小出水ら, 2010), さらに両種の交雑個体はないことを核 DNA の protein kinase C substrate 80K-H と ribosomal protein S2 の 2 遺伝子により確認した (小出水ら, 未発表)。

2 計測部位

各個体の (標準) 体長, 頭長, 体高, 尾柄高, 尾柄長, 髭長の計 6 部位について, デジタルノギスを用いて 0.1mm 単位で計測した (Fig.1)。各部位は既報 (Yang et al., 1994; Park et al., 2006; 清水・高木, 2010) を参考に, ドジョウとカラドジョウの特徴や計測の容易さ等を考慮して設定された。髭長については最長の上顎第 3 髭を計測した。

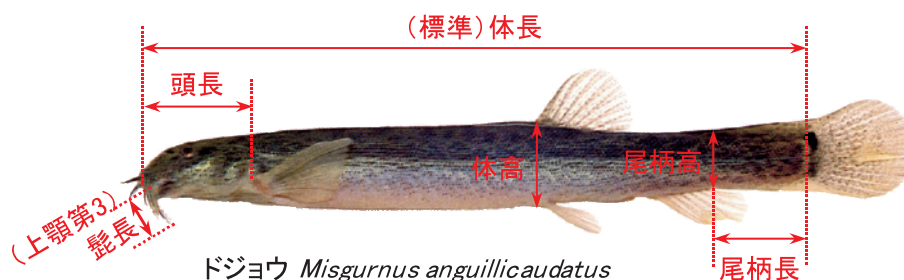
3 データ解析

a 計測データと標準化データ

解析では各部位の計測 (生) データと体長に占める割合%に換算した標準化データを用いた。標準化データは体長の大きさに伴う偏りを取り除き, 各部位における種間の差を明瞭化させるために算出した。本研究では標準化データを小数第 2 位で四捨五入して用い, 各部位に体長%を添え字して表記した (例: 頭長_{体長%}, 体高_{体長%})。

b 部位比較

計測データと標準化データを用いて, ドジョウとカラドジョウについての各部位のヒストグラムを作成すると同時に, 基礎統計量 (平均, 標準偏差, 最小~最大) を



ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus*

Fig.1 計測 6 部位

Six parts measured in this study

求めた。種間の差について平均の差の検定 (*t* 検定) を行い、部位間の相関分析を行った。

c 判別式作成

ドジョウとカラドジョウを外的基準 *Y* (それぞれ, 0 と 1), 各部位を独立変数 *X* とする 4 種類の判別式 A ~ D を作成した。判別式 A, B では計測データを用い, 判別式 A は全部位, 判別式 B はステップワイズ法により選択された部位を変数とした。判別式 C, D では標準化データを適用し, 判別式 C は全部位, 判別式 D は選択された部位を変数にもつ。得られた各判別式の妥当性について, 有意確率, 相関比, 正判別率, 変数等を比較した。上述の部位比較も含めて, 統計解析ソフトにはエクセル統計 2010 (社会情報サービス) を用いた。

III 結果

1 部位比較

a 計測データ

計測データによるドジョウ 312 個体とカラドジョウ 72 個体についての各部位のヒストグラム, 基礎統計量, *t* 検定結果を取りまとめて Fig.2 に示す。ヒストグラムでは, 髭長を除く各部位の種による違いが見られず, 髭長はドジョウよりカラドジョウの方が長い傾向にある。ドジョウとカラドジョウのそれぞれの平均±標準偏差 (mm) は, 体長で 60.0 ± 19.7 と 55.2 ± 14.0, 頭長で 10.6 ± 2.9 と 10.2 ± 1.8, 体高で 7.7 ± 2.9 と 8.7 ± 2.5,

尾柄高で 6.1 ± 2.2 と 6.8 ± 2.3, 尾柄長で 8.3 ± 3.4 と 8.1 ± 2.7, 髭長で 3.4 ± 1.3 と 5.3 ± 1.3 となった (Fig.2)。平均の差は髭長で有意に認められた他, 体長, 体高, 尾柄高でも有意となった (*p* < 0.01)。

計測データによる部位間の相関マトリックスを Fig.3 に示す。両種共に全ての部位間で強い正の相関が有意に認められた (*p* < 0.01)。相関係数も同程度であり, ドジョウで 0.732 (尾柄長-髭長) ~ 0.974 (体長-頭長), カラドジョウで 0.798 (尾柄長-髭長) ~ 0.976 (体高-尾柄高) となった (Fig.3)。

b 標準化データ

各部位の標準化データ (体長に占める割合%) によるドジョウとカラドジョウのヒストグラム, 基礎統計量, *t* 検定結果を Fig.4 に取りまとめて示す。計測データによるヒストグラムと比較して (Fig.2), 体高_{体長%}, 尾柄高_{体長%}, 髭長_{体長%} では種による違いを確認できる。これらの部位_{体長%} はドジョウの方がカラドジョウよりも有意に小さく (*p* < 0.01), 既報 (Yang et al., 1994; 李・魯, 2006; Park et al., 2006) における見解と一致した。ドジョウとカラドジョウのそれぞれの平均±標準偏差は, 体高_{体長%} で 12.7 ± 1.4 と 15.6 ± 1.3, 尾柄高_{体長%} で 10.0 ± 1.0 と 12.1 ± 1.5, 髭長_{体長%} で 5.6 ± 1.2 と 9.7 ± 1.2 となった (Fig.4)。頭長_{体長%} と尾柄長_{体長%} に明瞭な種間差は見られないが, 検定結果は両者ともに平均の差が有意なことを示した (*p* < 0.01)。

標準化データによる部位間の相関マトリックスを

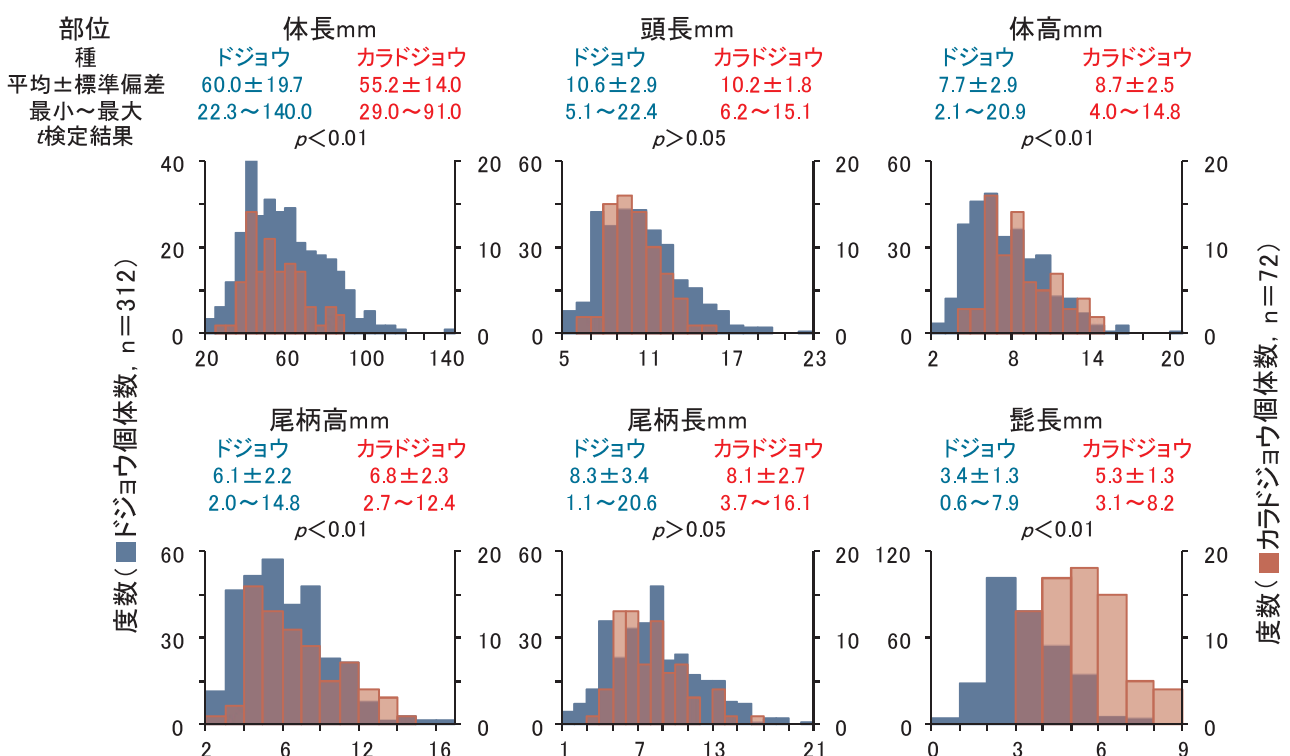


Fig.2 計測データによるドジョウとカラドジョウについての各部位のヒストグラム, 基礎統計量, *t* 検定結果
Histograms, basic statistics and results of *t*-tests for six parts of Dojo and Kara-dojo loaches based on raw measurement data

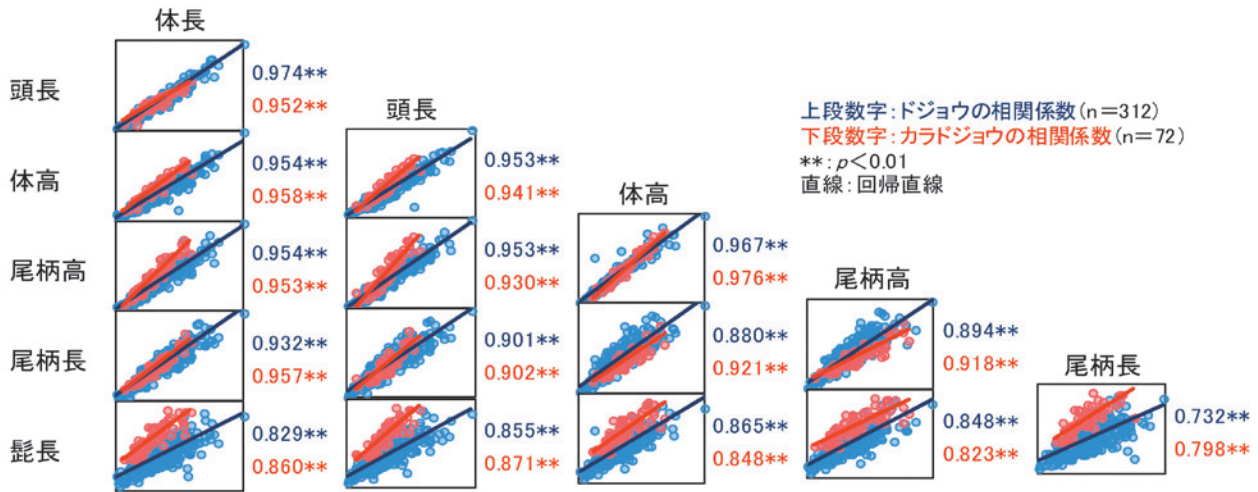


Fig.3 計測データによるドジョウとカラドジョウについての部位間の相関マトリックス
Correlation matrix among six parts of Dojo and Kara-dojo loaches based on raw measurement data

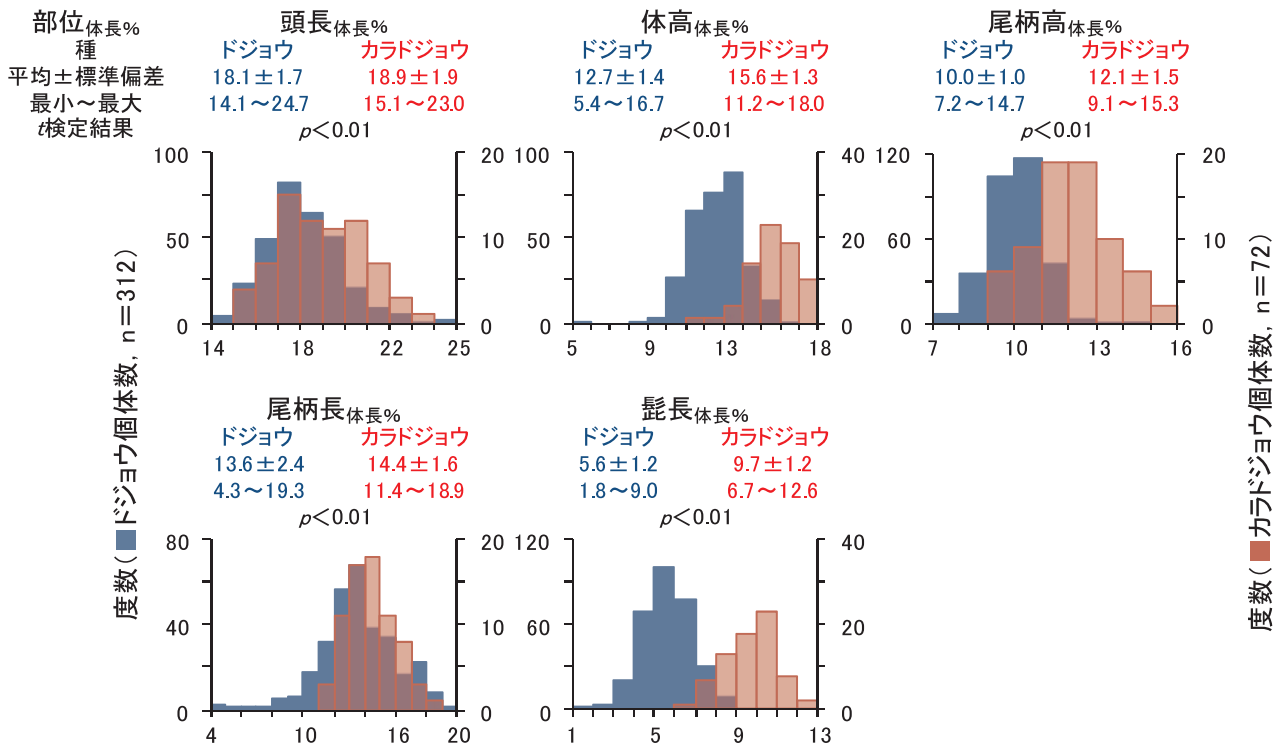


Fig.4 標準化データによるドジョウとカラドジョウについての各部位のヒストグラム, 基礎統計量, t検定結果

Histograms, basic statistics and results of t-tests for six parts of Dojo and Kara-dojo loaches based on measurement data standardized by standard length

Fig.5 に示す。相関関係は部位間や種間で異なり, 計測データにおいて見られたような (Fig.3), 統一した傾向は確認されなかった。相関係数も全体的に低い, 両種に共通して体高_{体長%} - 尾柄高_{体長%} で最も強い正の相関 (相関係数: ドジョウ 0.706, カラドジョウ 0.733), 頭長_{体長%} - 尾柄長_{体長%} で最も強い負の相関 (相関係数: ドジョウ -0.419, カラドジョウ -0.479) が同程度に示された (Fig.5)。

2 判別式

作成された判別式 A ~ D とその有意確率, 相関比,

正判別率を取りまとめて Table 1 に示す。これらの判別式は, 各変数に個体の計測または標準化データを入力し, 計算される判別値 Y が 0 以下の場合にはドジョウ, 0 より大きい場合はカラドジョウを意味する。判別式は全て統計的に有意であり ($p < 0.01$), 相関比は 0.790 (判別式 B) ~ 0.806 (判別式 C), 正判別率% は全体で 95.1 (判別式 C) ~ 95.8 (判別式 A) となった。判別式の違いはそれぞれの変数に反映され, 判別式 A ~ C は 5 ~ 6 変数, 判別式 D は 2 変数で構成されている (Table 1)。相関比や正判別率はどれも値が高く, 差が小さいため, 各式の

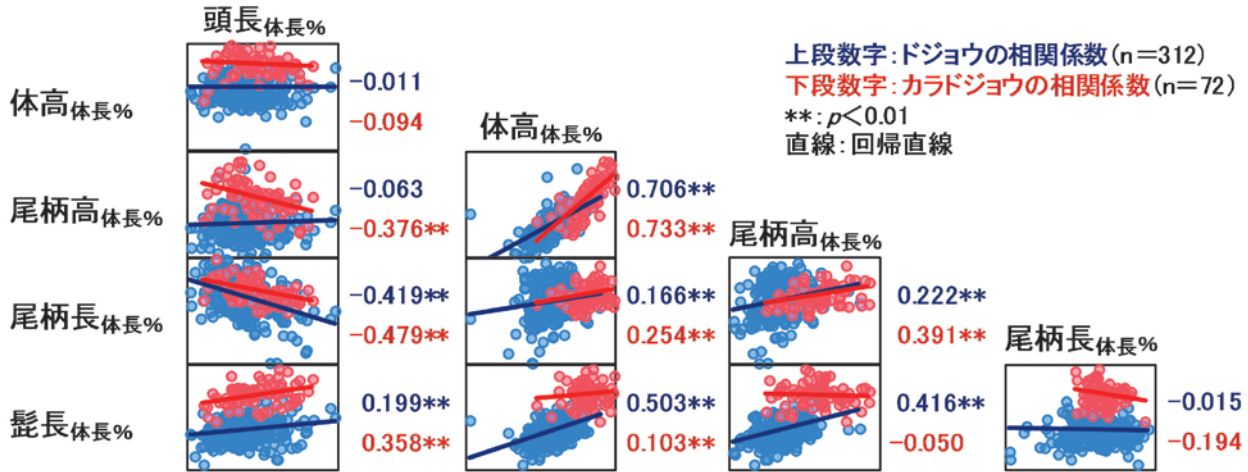


Fig.5 標準化データによるドジョウとカラドジョウについての部位間の相関マトリックス

Correlation matrix among six parts of Dojo and Kara-dojo loaches based on measurement data standardized by standard length

Table 1 部位データを用いたドジョウとカラドジョウの判別式 A ~ D
Discriminant function A ~ D between Dojo and Kara-dojo loaches with part measurement data

種類	データ	変数 選択	判別式 Y (ドジョウ ≤ 0 < カラドジョウ, カッコ内は標準化係数, * : p < 0.05, ** : p < 0.01)	有意確率	相関比	正判別率% 上: 全体 (n/384) 中: ドジョウ (n/312) 下: カラドジョウ (n/72)
A	計測	なし	$Y = -0.117 \text{ 体長}^{**} - 0.345 \text{ 頭長}^{**} + 0.221 \text{ 体高}^{*}$ (- 2.187) (- 0.941) (0.626) $+ 0.213 \text{ 尾柄高} + 0.220 \text{ 尾柄長}^{**} + 1.184 \text{ 髭長}^{**} + 0.189$ (0.467) (0.731) (1.574)	< 0.01	0.792	95.8 (368/384) 95.8 (299/312) 95.8 (69/72)
B	計測	あり	$Y = -0.115 \text{ 体長}^{**} - 0.337 \text{ 頭長}^{**} + 0.335 \text{ 体高}^{**}$ (- 2.153) (- 0.919) (0.945) $+ 0.239 \text{ 尾柄長}^{**} + 1.208 \text{ 髭長}^{**} + 0.192$ (0.792) (1.605)	< 0.01	0.790	95.3 (366/384) 95.2 (297/312) 95.8 (69/72)
C	標準化	なし	$Y = -0.017 \text{ 頭長}_{\text{体長}\%} + 0.059 \text{ 体高}_{\text{体長}\%} + 0.175 \text{ 尾柄高}_{\text{体長}\%}^{*}$ (- 0.030) (0.080) (0.199) $+ 0.030 \text{ 尾柄長}_{\text{体長}\%} + 0.714 \text{ 髭長}_{\text{体長}\%}^{**} - 8.288$ (0.067) (0.876)	< 0.01	0.806	95.1 (365/384) 95.2 (297/312) 94.4 (68/72)
D	標準化	あり	$Y = 0.241 \text{ 尾柄高}_{\text{体長}\%}^{**} + 0.721 \text{ 髭長}_{\text{体長}\%}^{**} - 8.140$ (0.273) (0.884)	< 0.01	0.804	95.3 (366/384) 95.5 (298/312) 94.4 (68/72)

優劣は付けられないが、このような多変量統計モデルは変数が冗長（過剰）になると偏りや誤差変動が大きくなることから、判別式の頑健性を保つためには2変数による判別式Dが4種類の中で最も妥当と判断される。

判別式Dでは尾柄高_{体長%}と髭長_{体長%}が変数に選択され、正判別率は全体で95.3%に達した (Table 1)。標準化係数の比較により、髭長_{体長%}(0.884)は判別式Dの主因子と見なすことができ、その重みは尾柄高_{体長%}(0.273)の3.2倍に相当する。さらに髭長_{体長%}は誤判別を招きにくい因子でもある。Fig.6に判別式Dにおける判別値と尾柄高_{体長%}及び髭長_{体長%}との関係を示す。判別式Dではドジョウ312個体のうち、14個体がカラドジョウ、カラドジョウ72個体のうち、4個体がドジョウに誤判別される。誤判定された個体の判別値(-0.467~1.217)に対し、それに対応する尾柄高_{体長%}と髭長_{体長%}の誤判別

区間(大きさ)を比較すると、尾柄高_{体長%}は両種合わせて9.1~12.5(3.4)、髭長_{体長%}は7.2~9.0(1.8)となり、髭長_{体長%}は誤判別の少ない因子として捉えることができる (Fig.6)。

IV 考察

1 判別式の特徴と利用

本研究では、ドジョウとカラドジョウの部位比較や判別式の変数選択等を盛り込み、両種の妥当な判別式として尾柄高_{体長%}と髭長_{体長%}を変数とする判別式D(正判別率95.3%)を提案した (Table 1)。計測6部位の比較では、ドジョウの方がカラドジョウよりも体高_{体長%}、尾柄高_{体長%}、髭長_{体長%}が有意に小さい等の既報 (Oliva and Hensel, 1961; Vasil'eva, 2001; 金尾・上野, 2005;

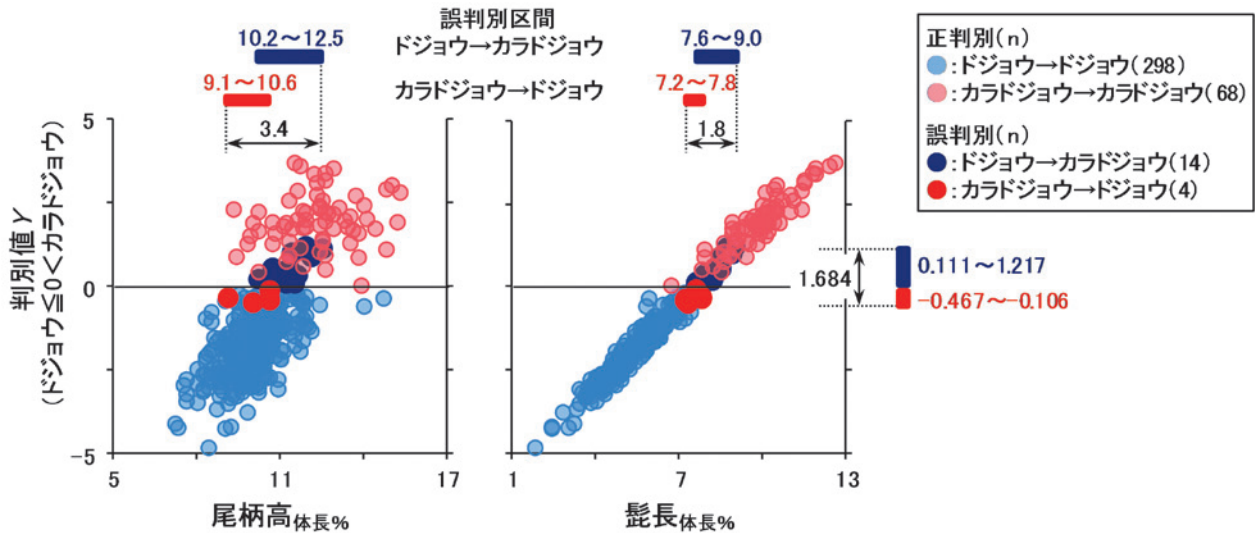


Fig.6 判別式 D における判別値と尾柄高_{体長%} (左) 及び髭長_{体長%} (右) との関係

Relationship between score of discriminant function D and caudal peduncle depth (left) and length of barbels (right) standardized by standard length

Park et al., 2006; 加納ら, 2007; 清水・高木, 2010) と共通するいくつかの特徴が確認されたが (Fig.4), 関数を用いた定量判別には3部位でも可能なことが統計的に示された。これまで難しいとされてきた両種の判別について, 判別式 D はそれを容易にできるツールとして, 今後の利用が期待される。

また, 判別式 D の利用においては, 計測個体の体長が 22.3 ~ 140.0, 尾柄高が 2.0 ~ 14.8, 髭長が 0.6 ~ 8.2 (それぞれ mm, Fig.2), 尾柄高_{体長%} が 7.2 ~ 15.3, 髭長_{体長%} が 1.8 ~ 12.6 (それぞれ %, Fig.4) の範囲にあること, 判別値 Y が $-0.467 \sim 1.217$ にある場合は誤判別の可能性があることに留意しなければならない (Fig.6)。

2 1 部位による予備的判別

本研究の判別式 D は2変数しかないが (Table 1), 判別値の算出にはパソコン等の計算機が必要となる。実際, 実験室等の計測現場は雑然としていることが多く, 計算機への計測データの入力には一通りの計測作業を終える必要がある。しかし, 判別式 D の特徴から体長と髭長を計測した段階で, その個体がどちらの種なのかある程度予察することもできる。

髭長_{体長%} は判別式 D の主要因子となり, そのヒストグラムと判別値との関係は Fig.2, 6 に示されている。髭長_{体長%} が 7.2 ~ 9.0 の時, 判別式 D は誤判別を招く可能性がある (Fig.6)。この特徴と計算の容易さを考慮して, 例えば体長と髭長を計測後, 髭長の計測値が体長の5%以下ならドジョウ, 10%以上ならカラドジョウと予備的な判別が可能と思われる。実際, このような簡易的判別は, 計測個体が大量な場合や DNA 分析に用いる供試個体のスクリーニングとして利用できる。本研究の計測個体数は数100に限られている。今後, 判別式や1部

位による予備的判別の精緻化を図るには, 数1,000 ~ 数10,000 個体へと計測データを蓄積することが望まれる。

3 固定による魚体収縮

本研究では細胞内における DNA の分断化や劣化を防ぐために, 採捕直後に無水 (99.5%) エタノールで固定した個体を用いた。魚種や魚体の大きさによって異なるが, 固定後の魚体はエタノールの浸透によって3 ~ 10%程度収縮し, その収縮は約1ヵ月程度で安定することが確認されている (Hjörleifsson and Klein-MacPhee, 1992; Fox, 1996; Kristoffersen and Salvanes, 1998; Cunningham et al., 2000)。しかし, 判別式を作成した既報では (加藤ら, 1974; 松宮ら, 1984; Yu et al., 2010; Çakmak and Alp, 2010), 松宮ら (1984) でしか固定した個体の収縮について考察されていない。

本研究ではこのような魚体の収縮を考慮し, 固定後約6ヵ月経過したドジョウとカラドジョウを計測した。今後は固定後の収縮率についても観察し, その実態を明らかにすることも課題である。現在のところ, 判別式 D の正判別率 95.3% を期待するためには, 無水アルコールで固定後, 1ヵ月以上経過した個体を用い, 他の部位に比べて小さい髭長の計測を慎重に行うことが肝要である。

V 結言

本研究では, 我が国の健全な農村生態系の保全に向けて, 要注意外来生物に指定されているカラドジョウの分布が拡大しないよう, 世間一般にもその存在を認識させ, 予防に努めさせることを目標としている。カラドジョウはドジョウと体形が類似し, 両種の判別は困難とされて

いるが、本研究では研究者だけでなく、田んぼの生きもの調査等を実施する行政機関、民間コンサルタント、NPO 団体、地元農家等にとっても簡易に特定できる判別式を開発した。

開発においては、DNA 分析により判別したドジョウ 312 個体とカラドジョウ 72 個体を用いて、各個体の 6 部位（体長、頭長、体高、尾柄高、尾柄長、髭長）の計測データに基づく両種の部位比較と判別式作成を行った。計測（生）データによる部位比較では種間に明瞭な差は見られなかったが、体長に占める割合％に換算した標準化データでは、体高_{体長%}、尾柄高_{体長%}、髭長_{体長%}においてドジョウの方がカラドジョウよりも小さかった。

妥当な両種の判別式として、次の関数式が得られた：

$Y = 0.241 \text{ 尾柄高}_{\text{体長}\%} + 0.721 \text{ 髭長}_{\text{体長}\%} - 8.140$ ($Y \leq 0$: ドジョウ, $Y > 0$: カラドジョウ)

この式は、両変数に計測個体の標準化データを入力し、計算される判別値 Y が 0 以下の場合にはドジョウ、0 より大きい場合はカラドジョウを意味し、式の正判別率はドジョウで 95.5%、カラドジョウで 94.4%（全体で 95.3%）となる。式の利用においては、計測個体の体長が 22.3 ~ 140.0、尾柄高が 2.0 ~ 14.8、髭長が 0.6 ~ 8.2（それぞれ mm）、尾柄高_{体長%} が 7.2 ~ 15.3、髭長_{体長%} が 1.8 ~ 12.6（それぞれ %）の範囲にあること、 Y が -0.467 ~ 1.217 の場合は誤判別の可能性があることに留意しなくてはならない。判別式の精緻化を図るには、数 1,000 ~ 数 10,000 個体の計測データを蓄積すること、正判別率 95.3% を期待するには、無水アルコールで固定後、1 ヶ月以上経過した個体を用いることが望ましいと考察した。

参考文献

- Çakmak, E. and Alp, A. (2010): Morphological differences among the Mesopotamian spiny eel, *Mastacembelus mastacembelus* (Banks & Solander 1794), populations, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **10**, 87-92
- Cheng, Q. and Han, J. (2004): Morphological variations and discriminant analysis of two populations of *Coilia ectenes*, *Journal of Lake Science*, **16**, 356-364
- 地域環境資源センター農村環境部 (2011): 田んぼの生きもの調査, <http://www.acres.or.jp/Acres/chousa/main.htm> (確認日: 2011/11/14)
- Cunningham, M.K., Granberry, W.F. and Pope, K.L. (2000): Shrinkage of inland silverside larvae preserved in ethanol and formalin, *North American Journal of Fisheries Management*, **20**, 816-818
- Fox, C.J. (1996): Length changes in herring (*Clupea harengus*) larvae: effects of capture and storage in formaldehyde and alcohol, *Journal of Plankton Research*, **18**, 483-493
- 藤田朝彦 (2007): 本邦で確認されている“カラドジョウ”の学名について, *魚類学雑誌*, **54**, 243-244
- Hjörleifsson, E. and Klein-MacPhee, G. (1992): Estimation of live standard length of winter flounder *Pleuronectes americanus* larvae from formalin-preserved, ethanol-preserved and frozen specimens, *Marine Ecology Progress Series*, **82**, 13-19
- 金尾滋史・上野世司 (2005): 滋賀県におけるカラドジョウの初記録と定着について, *関西自然保護機構会誌*, **27**, 59-63
- 環境省 (2011): 外来生物法, <http://www.env.go.jp/nature/intro/index.html> (確認日: 2012/1/17)
- 加納光樹・斉藤秀生・淵上聡子・今村彰伸・今井 仁・多紀保彦 (2007): 渡良瀬川水系の農業水路におけるカラドジョウとドジョウの出現様式と食性, *水産増殖*, **55**, 109-114
- 加藤史彦・沖山宗雄・田島迪夫 (1974): 日本海産マコガレイ属 2 種 (マコガレイおよびマガレイ) の外部形態の比較と識別, *日本海区水産研究所研究報告*, **25**, 63-87
- 小出水規行・森 淳・中荃元一・水谷正一・西田一也・竹村武士・渡部恵司・朴 明洙 (2010): 栃木県におけるドジョウの遺伝的クレードの解明, 平成 22 年度農業農村工学会大会講演会講演要旨集, 860-861
- 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
- Kristoffersen, J.B. and Salvanes, A.G.V. (1998): Effects of formaldehyde and ethanol preservation on body and otoliths of *Maurolicus muelleri* and *Benthosema glaciale*, *Sarsia*, **83**, 95-102
- 李 完玉・魯 世潤 (2006): 原色図鑑 特徴で見る韓半島淡水魚, 知性社, ソウル, 192-197 (in Korean)
- 松宮義晴・金丸彦一郎・岡 正雄・立石 賢 (1984): 判別関数を用いた外部形態によるマダイ人工放流魚と天然当歳魚の識別, *日本水産学会誌*, **50**, 1179-1185
- Oliva, O. and Hensel, K. (1961): Some remarks on eastern Asiatic loaches of the genus *Misgurnus* (Cobitidae), *Japanese Journal of Ichthyology*, **8**, 86-91
- Park, I.S., Nam, Y.K. and Kim, D.S. (2006): Growth performance traits and gonad development of induced reciprocal diploid and triploid hybrids between the mud loach (*Misgurnus mizolepis* Gunther) and cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus* Cantor), *Aquaculture Research*, **37**, 1246-1253
- Poulet, N., Reyjol, Y., Collier, H. and Lek, S. (2005): Does

- fish scale morphology allow the identification of populations at a local scale? A case study for rostrum dace *Leuciscus leuciscus burdigalensis* in River Viaur (SWFrance), *Aquatic Sciences*, **67**, 122-127
- 清水孝昭・高木基裕 (2010) : 愛媛県に侵入したカラドジョウ集団内に見られた起源の異なる2つの遺伝子系統, 魚類学雑誌, **57**, 125-134
- 高木基裕・大山昭代・清水孝昭 (2010) : 愛媛県におけるドジョウの遺伝的多様性と攪乱, 水産増殖, **58**, 113-120
- Uglen, I., Berg, M., Varne, R., Nilsen, R., Mork, J. and Bjørn, P.A. (2011): Discrimination of wild and farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) based on morphology and scale-circuli pattern, *ICES Journal of Marine Science*, **68**: 1928-1936
- Vasil'eva, E.D. (2001): Loaches (genus *Misgurnus*, Cobitidae) of Russian Asia. I. the species composition in waters of Russia (with a description of a new species) and some nomenclature and taxonomic problems of related forms from adjacent countries, *Journal of Ichthyology*, **41**, 553-563
- Yang, S.Y., Yang, H.J., Jeon, S.R., Nam, M.M., Min, M.S. and Kim, J.H. (1994): Systematic study on the fishes of the family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes). 3. Taxonomic study on morphological variation of the *Misgurnus anguillicaudatus* and *M. mizolepis* from Korea, *Bulletin of the Institute for Basic Science, Inha University*, **15**, 79-86 (in Korean with English abstract)
- 野生生物調査協会・環境保全事務所 (2011) : 日本のレッドデータ, <http://www.jpnrdb.com/index.html> (確認日: 2011/11/14)
- Yu, H.X., Tang, W.Q. and Li, S.F. (2010): Morphological changes of silver and bighead carp in the Yangtze River over the past 50 years. *Zoological Research*, **31**, 169-176

Simple Species Identification between Dojo and Kara-dojo by Discriminant Function Analysis for Conserving Rural Ecosystem

KOIZUMI Noriyuki, MORI Atsushi, MIZUTANI Masakazu,
WATABE Keiji, TAKEMURA Takeshi and NISHIDA Kazuya

Summary

We performed simple species identification between the Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* and the Kara-dojo loach *Paramisgurnus dabryanus* by discriminant function analysis on body parts, to conserve rural ecosystem in Japan. Each of 312 Dojo and 72 Kara-dojo loaches were prospectively identified by DNA sequences, and six body parts were measured with a digital caliper. These measurements included standard length (SL), head length (HL), body depth (BD), caudal peduncle depth (CPD), caudal peduncle length (CPL) and length of barbell (LB). The means of CPD/SL%, CPL/SL% and LB/SL% in the Kara-dojo loach were significantly larger than those of the Dojo loach, while the means of HD/SL% and BD/SL% did not remarkably differ between these species. The following stepwise discriminant function was selected as the best model when considering significance, correlation ratio and discriminant ratio.

$$Y = 0.241 \text{ CPD/SL\%} + 0.721 \text{ LB/SL\%} - 8.140 \quad (Y \leq 0: \text{Dojo loach}, Y > 0: \text{Kara-dojo loach})$$

The discriminant function allows for the correct classification Dojo and Kara-dojo loaches 95.5% and 94.4% of the time, respectively (95.3% in total). It therefore provides a valuable alternative method for species identification that relies on just three part measurements, without the need for other morphological or DNA sequence analysis. Because of initial shrinkage of specimens stored in absolute (99.5%) ethanol, measurements should be taken after at least one month of storage.

Keywords: caution needed invasive species, multivariate statistics, ethanol preservation, rice paddy field