

健全な内水面生態系復元等推進委託事業

アユの遺伝的多様性保全指針作成調査

谷本 剛

放流種苗による在来集団への遺伝的影響については、琵琶湖産アユで調べられており、海産アユとの交雑による大規模な遺伝子浸透を示す証拠はこれまでのところ見つかっていない。一方、人工産アユがどのような影響を及ぼすかについては不明な点が多く未だ明らかにされてはいない。本県産の人工アユは、海産アユ由来であることから生理的観点からみて琵琶湖産アユよりも容易に交雑する可能性がある。このため本調査では、昨年に引き続き人工産アユのみ放流されている海部川を対象河川として、アユの遺伝的特性についてモニタリングを継続すると共に、遺伝的変異性が大きく減退している人工産アユ放流による遺伝的影響を明らかとすることを目的とした。本年度は本事業の最終年度であることから、これまでのアユの遺伝的特性についてのモニタリング結果をまとめて天然アユ集団の遺伝的多様性と放流による影響について検討した。

なお、本調査は独立行政法人水産総合研究センターの委託事業である健全な内水面生態系復元等推進委託事業「アユの遺伝的多様性保全指針作成調査」に基づき実施した。

材料と方法

1. 供試魚

本調査で調べたアユ標本の採集データを表1に示した。海産アユの標本は、海部川において2002年4月、2003年10、11月、2004年5月から8月にかけて、たも網や釣り等により漁獲したアユおよび2003年11月に稚魚ネットにより採集した流下仔アユを用いた。また、人工産アユは、2002～2004年に海部川に放流用として導入された徳島県産人工種苗(吉野川系継代12～14代目)を用いた。なお、2003、2004年は海産アユの遡上が少なく、必要量の遡上稚魚が得られなかつたため、漁獲したアユ中の側線上方横列鱗数が18以上の個体(人工産アユは15以下)を便宜上、遡上アユ標本として用いた。

2. マイクロサテライトDNA(MS-DNA)分析

各標本からDNAを抽出し、Takagi *et al.*(1999)により報告された $Pal-1$ ～ $Pal7$ プライマーを用いて、東北大学によるアユのマイクロサテライトDNA多型検出マニュアルに従い分析をおこなった。検出されたアリル型頻度をもとにアリル数、ヘテロ接合体率などの遺伝的変異性に関する指數を算出するとともに、マルコフ連鎖法によるハー

ディ・ワインベルグ平衡からのずれ、標本群間の遺伝的異質性の検討およびPairwise-Fstによる各標本間の遺伝的分化指数の検定をおこなった。また、遡上アユと人工産アユのアリル型頻度の差異を基礎として、MS-DNAマークによる尤度分析により検討対象となるアユの尤度を計算し、人工産アユの海産アユへの遺伝子浸透の有無について検討した。

結果と考察

1. MS-DNA分析

マイクロサテライト7ローカスにおける海部川アユ標本群の遺伝的変異性を表2に示した。3年間にわたる遺伝的モニタリングの結果、海産アユ標本群の平均アリル数、平均ヘテロ接合体率は毎年高水準で推移したことから、現在のところ人工産アユが関与したことによる遺伝的劣化の傾向はみられず、遺伝的に健全な状態を維持していることが示唆された。一方、人工産アユは海産アユと比較して遺伝的変異性が著しく低下していることが改めて示される結果となった。さらに継代数が増加するに従い、平均ヘテロ接合体率の観測値が顕著に低下していく、ハーディ・ワインベルグ平衡下における期待値から大きくずれていくことから、近親交配が進行していることが示唆された。

海部川アユ標本群におけるAMOVA分析および各標本群間の分化指数(Fst)の検定をおこなった結果を表3、4に示した。AMOVA分析では海産アユの標本群間で異質性が認められなかったことから、海部川の海産アユ4標本群の遺伝的組成は年級群や生活期の違いによる差異がみられず、遺伝的にはほぼ均質であると考えられた。一方、人工産アユにおいては同一系統の継代間で異質性が認められたことから、既に遺伝的変異性が著しく低下している種苗においても継代交配を繰り返すことにより遺伝的組成が異なることが明らかとなった。また、Fst分析では海産アユと人工産アユの両標本群間に大きな遺伝的分化が生じていることが再確認された。さらに、継代を重ねた人工種苗ほど海産アユとの遺伝的分化が拡大していく傾向が示された。

昨年度、MS-DNAマークを用いた尤度法により高確率で海産アユと人工産アユの個体判別ができたことから、今年度も本手法を用いて遺伝的モニタリングをおこなった。その結果、分析したほとんどの個体は遺伝的に

海産アユ型と判別された(図1)。昨年、海部川の産卵期における人工産アユの混獲率が1割程度であったことも踏ま

えると、現時点において人工産アユが海産アユに与える遺伝的影響は低いものと推察された。

表1 海部川アユ標本の採集データ

供試アユ	採集日	個体数	標準体長 (mm±SD)
2004年			
遡上アユ	2004.5.25-8.10	45	150.1±24.5
人工産アユ(継代14代目)	2004.4.6	46	85.3±9.4
2003年			
遡上アユ	2003.10.5, 11.25	42	187.8±18.4
流下仔アユ	2003.11.1	45	—
人工産アユ(継代13代目)	2003.5.1	45	78.6±6.1
2002年			
遡上アユ	2002.4.2, 4.9	50	110.2±11.3
人工産アユ(継代12代目)	2002.5.1	50	70.9±8.5

表2 マイクロサテライトローカスにおける海部川アユ標本群の遺伝的変異性

	2002		2003		2004			
	遡上アユ	人工産アユ (継代12代目)	遡上アユ	流下仔アユ	人工産アユ (継代13代目)	遡上アユ	人工産アユ (継代14代目)	
<i>Pal-1</i>	アリル数 範囲(bp)	16 96-130	4 112-126	18 98-162	17 94-136	4 112-126	19 100-134	4 112-126
	n	50	50	42	45	45	45	45
	ho	0.880	0.700	0.976	0.889	0.556	1.000	0.444
	he	0.910	0.675	0.921	0.910	0.601	0.932	0.505
	ho/he	0.967	1.037	1.060	0.976	0.925	1.073	0.879
<i>Pal-2</i>	アリル数 範囲(bp)	17 160-198	5 166-188	15 160-190	16 160-204	3 166-188	16 160-194	3 166-188
	n	50	48	41	44	45	45	46
	ho	0.800	0.375	0.854	0.818	0.333	0.822	0.152
	he	0.878	0.514	0.883	0.896	0.358	0.872	0.364
	ho/he	0.911*	0.730**	0.967	0.913	0.930	0.943	0.418**
<i>Pal-3</i>	アリル数 範囲(bp)	17 216-252	7 220-250	18 208-250	19 214-252	6 220-250	18 218-252	9 220-250
	n	50	49	40	45	41	42	41
	ho	0.900	0.735	0.900	0.933	0.512	0.976	0.463
	he	0.929	0.804	0.941	0.928	0.803	0.925	0.856
	ho/he	0.969*	0.914	0.956	1.005	0.638**	1.055	0.541**
<i>Pal-4</i>	アリル数 範囲(bp)	28 135-183	9 140-192	25 136-188	26 130-200	9 138-180	29 132-190	8 140-182
	n	50	50	40	45	41	44	44
	ho	0.920	0.640	0.900	0.911	0.537	0.909	0.250
	he	0.946	0.695	0.947	0.932	0.784	0.940	0.549
	ho/he	0.973	0.921	0.950	0.977	0.685**	0.967	0.455**
<i>Pal-5</i>	アリル数 範囲(bp)	3 211-217	3 211-217	3 211-213	3 211-213	3 211-213	3 211-213	3 211-213
	n	50	50	36	45	44	42	43
	ho	0.380	0.20	0.417	0.378	0.227	0.357	0.233
	he	0.346	0.184	0.468	0.379	0.308	0.304	0.355
	ho/he	1.098	1.087	0.891	0.997	0.737	1.174	0.656*
<i>Pal-6</i>	アリル数 範囲(bp)	8 213-227	3 217-221	8 211-229	8 213-229	5 213-221	8 213-227	4 215-221
	n	50	50	40	41	39	43	37
	ho	0.780	0.480	0.625	0.732	0.538	0.605	0.324
	he	0.779	0.509	0.760	0.781	0.604	0.807	0.536
	ho/he	1.001	0.943	0.822	0.937	0.891	0.750*	0.604**
<i>Pal-7</i>	アリル数 範囲(bp)	8 139-155	5 139-149	7 141-155	7 141-155	5 141-149	8 139-153	5 141-149
	n	50	50	35	44	38	44	45
	ho	0.740	0.580	0.714	0.705	0.605	0.705	0.422
	he	0.745	0.616	0.722	0.729	0.634	0.736	0.651
	ho/he	0.993	0.942	0.989	0.967	0.954	0.958**	0.648**
	Ho	0.771	0.530	0.769	0.767	0.473	0.768	0.327
	He	0.790	0.571	0.806	0.794	0.585	0.788	0.545
	Ho/He	0.987*	0.939	0.948	0.967	0.887**	0.974	0.600**
	平均アリル数	13.9	5.1	13.4	13.7	5.0	14.4	5.1

*ハーディー-ワニエル平衡からの有意な逸脱あり *P<0.05, **P<0.01 (Fisher Exact Test)

表3 海部川アユ標本群におけるAMOVA分析

集団	階層	自由度	平方和	分散成分	変異の割合
海産アユ	標本間	3	8.169	0.00085	0.03
	標本内	360	952.581	2.64606	99.97
人工産アユ	絶代間	2	7.415	0.02954	3.07*
	絶代内	279	260.517	0.93375	96.93

*P < 0.00001

表4 海部川アユ標本間の遺伝的分化指数 (F_{ST})

	人工産アユ'04 (絶代14代目)	遡上アユ'04	人工産アユ'03 (絶代13代目)	遡上アユ'03	流下仔アユ'03	人工産アユ'02 (絶代12代目)	遡上アユ'02	人工産アユ'02 (絶代12代目)
人工産アユ'04 (絶代14代目)	0.1523**	-						
遡上アユ'03	0.0039	0.1521**	-					
流下仔アユ'03	0.0000	0.1489**	0.0000	-				
人工産アユ'03 (絶代13代目)	0.1254**	0.0275**	0.1161**	0.1070**	-			
遡上アユ'02	0.0000	0.1457**	0.0002	0.0000	0.0867**	-		
人工産アユ'02 (絶代12代目)	0.1125**	0.0413**	0.1142**	0.1012**	0.0138*	0.0853**	-	

* 標本群間に有意差あり *P < 0.05, **P < 0.01

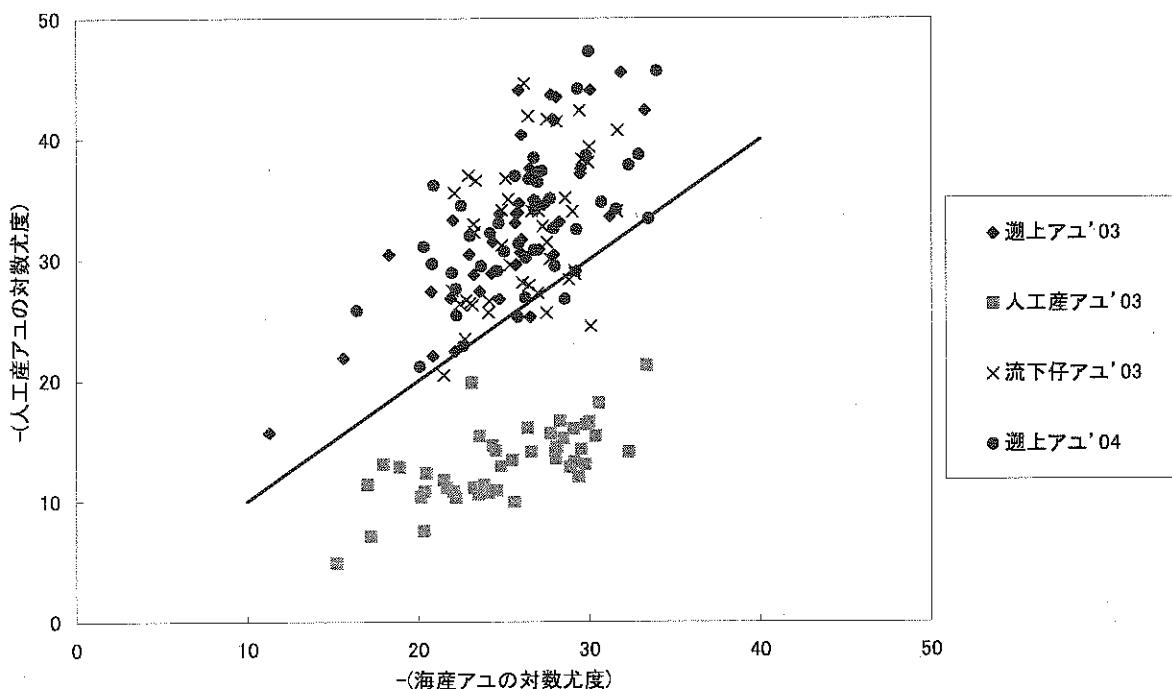


図1 各標本群のMS-DNAマーカーによる尤度判別