

# 遺伝情報に基づいたニッコウイワナの交雑履歴の推定と移殖

村岡敬子\* 三輪準二\*\* 高橋政則\*\*\*

## 1. はじめに

一生を河川で過ごす純淡水魚には、外部形態などが他の地域や水系に生息するものとは異なる地域固有の集団＝在来集団が存在することが知られている。このうち釣りの対象魚として人気のある溪流魚は、昭和40年代から日本各地で積極的に放流が行われた結果、他地域由来の個体＝移入種による在来集団への遺伝的かく乱の問題が指摘されている。このような移入個体による遺伝的かく乱は、放流魚や養殖用の餌などに混入した他の魚種や観賞魚の野外放流などによって、全ての在来魚において起こり得る問題でもある。

一方で、移入種の侵入履歴がある河川においても、砂防堰堤等の河川横断工作物がこれら移入種の侵入を阻み、その上流域に貴重な在来集団が残されている場合がある。近年、河川の生態系保全の視点から魚の移動環境の整備が積極的に行われているが、堰堤などの上流側に貴重な在来集団が残されており、連続性を回復させることによって遺伝的かく乱の危険性が生じるような場合には、移動阻害はそのままに、むしろ上流の環境改善を行うことが重要な場合もある。本報文では、滝や砂防堰堤上流に生息している溪流魚が、下流に放流された移殖個体との交雑を免れた集団か否かを調査し、ダムの保全事業に反映した事例を報告する。

## 2. ニッコウイワナの生息地と湯西川ダム

ニッコウイワナ (*Salvelinus leucomaenis pluvius*) は、サケ目サケ科イワナ属に属する陸封性の溪流魚で、環境省のレッドリストに情報不足(DD)として挙げられているほか、山形県から鳥取県にわたる広い範囲において県のレッドリストに記載されている。釣りを目的とした放流の種苗として他地域由来のイワナや外来種との交配種などが用いられた結果、もともとその地域に生息していた在来

のイワナ＝ニッコウイワナが移入個体と交雑する遺伝的かく乱の問題が発生している。

湯西川ダムは利根川水系鬼怒川上流の湯西川に建設中の堤高119m、集水面積102km<sup>2</sup>の多目的ダムである。本水系においても漁業関係者らによる移入個体を種苗とした放流履歴がある一方で、“地域のイワナの保全”を目的に、ダム周辺の複数の沢へのイワナの放流が自粛されてきた歴史を持つ。このような沢の上流域には、砂防堰堤や滝により本川の交雑集団とは隔離されたニッコウイワナが残されている可能性があり、湯西川ダム貯水池予定地に流入する2沢(図-1中のA沢およびB沢)においても上流域にニッコウイワナが残されていると考えられた。これらの沢では湯西川ダムの建設後、洪水調節等に伴う貯水位の上昇により、沢の下流域の砂防堰堤が一時的に水没し、下流域の交雑個体が上流域に侵入することによる遺伝的交雑の危険が想定されるため(図-1)、交雑の危険が無い上流域に移殖する計画が検討された。

しかしながら、漁業関係者による放流履歴が無い地域においても、釣り人などによる下流域の交雑個体の持ち込み等により既に遺伝的かく乱が生じている可能性もある。その場合、保全を目的とした下流域の交雑個体の上流域への移殖が新たな遺伝的かく乱を引き起こすこととなる。安全な移殖のためには、保全しようとする集団において遺伝的かく乱の履歴の有無をあらかじめ確認した上で、保全対象とする集団を選定することが必要であることから、ニッコウイワナが残されているとされる2つの沢における

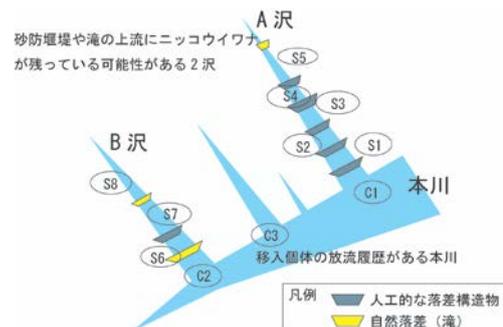


図-1 調査地点の概要

Translocation of white-spotted charr – Identification of hybrid population from its molecular record.

\*土木用語解説：遺伝子分析関連用語

イワナの遺伝的かく乱の履歴の有無を調査し、保全対象とする集団を選定した。

### 3. 遺伝情報の分析および結果

#### 3.1 サンプリングおよびDNAの抽出

調査のため、ニッコウイワナが分布している可能性がある2沢および本川の11地点（図-1 A沢S1～S5、B沢S6～7、本川C1～C3）において192個体のイワナが電気ショッカーを用いて採捕された。このうち、本川と堰堤で区切られた2沢での採捕数は126個体で、これは同沢においてピータセン法により算出した推定個体数の約45%にあたる。採捕したイワナは体長を計測後、アビラビレの先端を5mm程度切除した後、再放流した。採取されたヒレは95%エタノールに浸した状態で実験室内に持ち帰り、ProtenazeKによるたんぱく質分解処理の後、フェノール・クロロホルム法によりDNAを抽出した。

#### 3.2 ミトコンドリアの配列情報を用いた一次調査

移入種の侵入履歴を調査するために、まず、全サンプルを対象に、Yamamotoら<sup>2)</sup>の方法によりミトコンドリアDNAの配列情報(mitDNA-Cyt-b領域557bp)を得た。得られた配列情報は、山本ら<sup>3)</sup>が示す在来イワナ集団の配列情報および日本産淡水魚類データベース; GEDIMAP GEnetic DIversity and its DIstribution Map (<http://gedimap.zool.kyoto-u.ac.jp>)により取得した他地域のイワナの配列情報と比較し、利根川水系で報告されているミトコンドリアのタイプか否かを判断した。

表-1 ミトコンドリアタイプの出現状況

河川名	地点名	mtDNA Cyt-b のタイプと個体数
A沢	S1	N2 (6), N1 (4), <u>A1 (1)</u>
	S2	N1 (14)
	S3	N1 (11)
	S4	N1 (17)
	S5	N1 (20)
B沢	S6	N1 (13)
	S7	N1 (20)
	S8	N1 (20)
本川	C1	N1 (13), N2 (5), <u>A1 (3)</u>
	C2	N1 (29), N2 (2), <u>A2 (1)</u> , <u>B (1)</u>
	C3	N1 (10), <u>A3 (2)</u>

タイプのうちN1,2は利根川水系において既報告、A1～3およびB（下線のタイプ）は未報告であることを示す。（）内の数字は各タイプの個体数を示す。

比較の結果192個体の中に5つのミトコンドリアのタイプが確認され、そのうち85%の個体が利根川水系内の在来集団として報告されている2つのタイプと一致した（表-1）。この2タイプのうち、調査対象エリア全域に分布するタイプN1が、当該地域の在来集団である可能性が高いと考えられた。本川（C1, 2, 3）及びA沢の最下流端（S1）では、利根川水系での報告が無い4タイプが確認された。これらのタイプはもともと利根川に生息していなかった移入個体を起源とするものと推察され、移入個体の侵入による遺伝的攪乱の存在が示唆された（図-2）。

#### 3.3 核の遺伝情報を用いた詳細調査

ミトコンドリアは保全性が高く種や亜種レベルでの遺伝的な違いの検出に有効な手法である半面、母から子へのみ継承される遺伝情報であるため、父系の遺伝的かく乱は検出されない（図-3）。例えばニッコウイワナの母親と移入個体の父親を持つ子は在来種である母親のミトコンドリア情報を受け継ぎ、交雑個体でありながらもミトコンドリア情報上はニッコウイワナと判断される。さらに在来個体との交配を重ねたその子孫は、外部形態による交雑個体の判断も困難となる。そこで、核の遺伝情報を対象とす

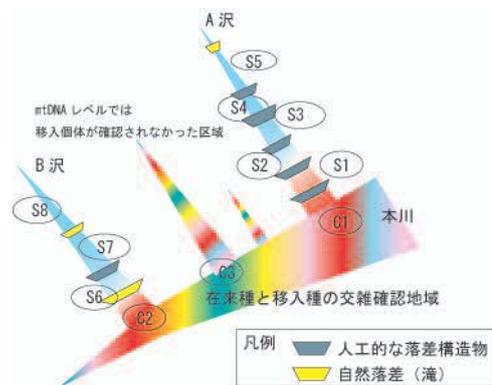


図-2 ミトコンドリアに基づく在来集団の分布域

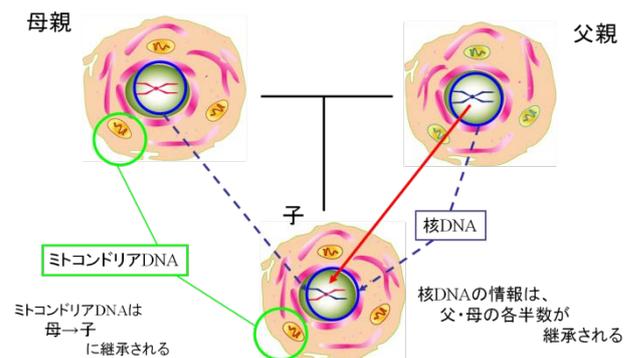


図-3 遺伝情報継承の流れ

るマイクロサテライト法(microsatellite method)および AFLP® 法 (Amplified Fragment Length Polymorphism method)を用いた詳細検討を行った。

マイクロサテライト法は、核遺伝子内の変異しやすい領域の長さを比較する方法で、小さな遺伝的差異を検出しやすく、分析の再現性も高いため、法医学や獣医学の分野では既に個体識別や親子鑑定などに実用化されている。一方で、変異しやすい領域の探索には、塩基配列に基づいた作業が必要となるため、分析方法を確立させるための負担が大きい。本件では、利根川水系のイワナを対象にマイクロサテライト分析をおこなったkubota<sup>4)</sup>らの方法を用いて、9領域を対象としたマイクロサテライト分析を実施した。

AFLP®法は、植物や微生物の分野での適用例が多い手法で、本件のような魚類等の集団解析への適用事例は少ないものの、塩基配列や変異箇所が未知の場合でも適用が可能である。さらに事前の条件設定による自動解析が可能で、サンプル数が多い場合の負担を軽減できる。本件では6組の試薬(プライマー)により得られた各遺伝子上の301箇所をターゲットに分析を実施した。

### 3.4 遺伝情報の要素解析

得られたマイクロサテライト法およびAFLP®法のデータは、Structure(Ver.2.3.1)<sup>5)</sup>を用いた要素解析を行った。StructureはChicago大学が無料で提供している遺伝統計解析ソフト (<http://pritch.bsd.uchicago.edu/software.html>)で、マイクロサテライト法やAFLP®法などの遺伝子型データを用いて集団の構造化を調べることができる。解析の結果、192個体の遺伝情報はマイクロサテライト法、AFLP®法共に、4つの遺伝的要素に分類された。これらの要素を色分けし、ミトコンドリアの結果と共に採取地点の順に並べたものが図-4である。図中、各帯グラフにみられる縦ライン1本は1個体を現し、色は遺伝要素の違いを、1個体内に占める色の割合は各個体における当該要素の強度を示す。尚、双方の分析手法が対象としているターゲットが異なるため、双方の手法における要素の構成比や検出レベルは一致しない。

マイクロサテライト法およびAFLP®法双方とも、A沢とB沢で異なる要素を示し(赤と黄)、このことは隣接した沢に生息しながらも、滝等の影響により互いに交流する頻度が少なかったことが考えられる。ミトコンドリアで遺伝的かく乱の存在が確認され

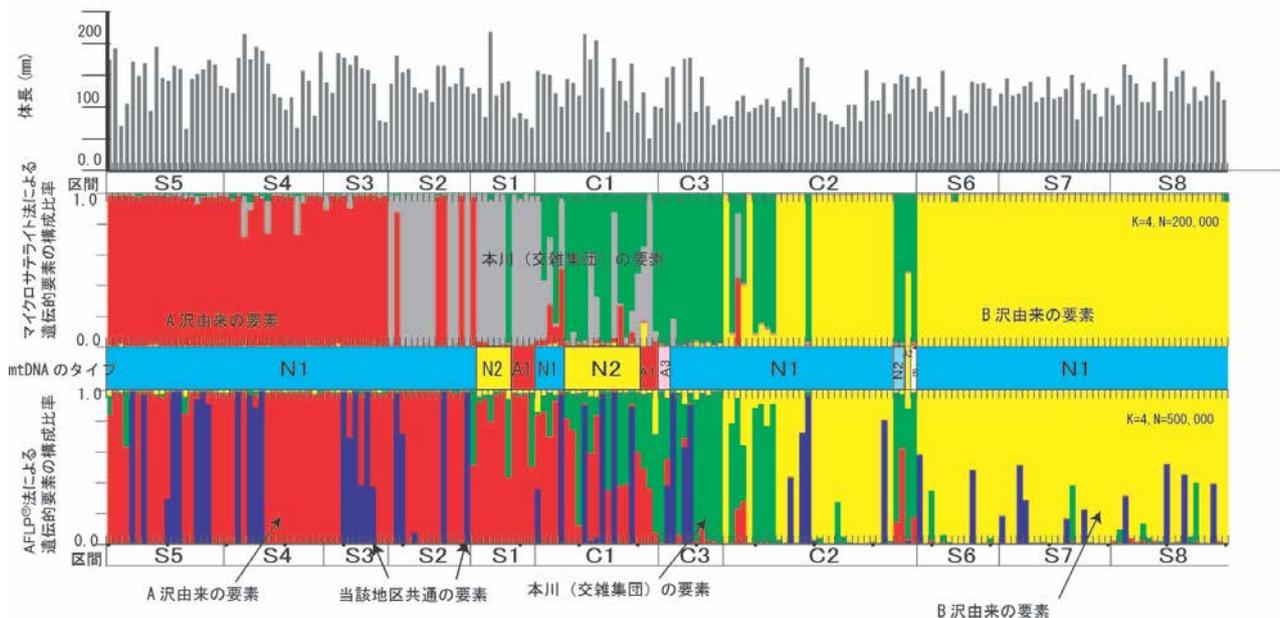


図-4 遺伝的要素(核DNA)の構成に基づいた遺伝的かく乱の検出

帯グラフ中の縦棒1本は1個体を示し、色は遺伝的要素を表す。ミトコンドリアの結果と照らし合わせると、本川の交雑集団に由来すると推察される要素(マイクロサテライトではグレー●と緑●、AFLP®法では緑●)が抽出された。同様に、両手法共に赤色●はA沢由来の要素、黄色●はB沢由来の要素と考えられる。また、AFLP®法にみられる紫色●の要素は、A沢、B沢共通の要素と考えられる。

た湯西川本川およびA沢下流域において、移入個体を起源とすると思われる要素が検出された（マイクロサテライト法：緑・グレー、AFLP®法：緑）。このうち、マイクロサテライト法にみられるグレーの要素は、ミトコンドリアでは移入種が検出されなかったS2においても強く検出され、さらにその上流にあたるS3、S4、S5においても一部の個体に検出された。同様に緑色の要素もまたわずかではあるがA沢の全域とB沢の上流端に観察された。AFLP®法の結果もまた、移入個体を起源とすると思われる緑色の要素がA沢の上流域およびB沢の全域に観察された。これらの結果から、両沢とも広い範囲において移入個体の侵入履歴があることが推察された。

### 3.5 保全対象エリアの選定

ミトコンドリア分析の結果とマイクロサテライト法・AFLP®法の結果から、A沢とB沢双方に移入個体の侵入履歴があることが示された。しかしながら、移入個体起源と思われる遺伝的要素の出現頻度はA沢の上流域とB沢の全域において低く、これらの地点においては沢に持ち込まれた移入個体による遺伝的かく乱の影響は小さいと判断された。また、移入個体起源と思われる遺伝的要素をもつ個体の体長分布から、既に交雑個体は複数世代に分布しており、交雑個体の選別・除去も困難であると考えられた。

これらの結果から、保全対象エリアとしてA沢最上流地点S5およびB沢のS6～8の3地点が選定され、これに基づいた、移殖を含む保全策が立案された。

## 4. まとめ

本ケースのように、遺伝的かく乱の頻度が低い集団においても、統計手法を用いた分析により、移入個体の侵入の履歴=遺伝的かく乱を検出することができた。また、検討の余地はあるものの、AFLP®法によりマイクロサテライト法に準じる結果を得た

ことは、マイクロサテライト法が確立していない種においてもAFLP®法により交雑の概況を検出することが可能であることを示し、今後の現地への応用も可能と考えられる。

さらに、隣接した地域でありながらも、個体間の遺伝的な差異を検出できる本手法は、遺伝的かく乱の検出だけでなく、河川横断工作物上下流における移動阻害の影響評価や、水系内に広く分布する在来魚集団の効果的な維持・保全に資することが期待できる。

## 謝 辞

本研究の実施にあたり、栃木県水産試験場の久保田仁志氏には多大なるご助言・ご協力を頂きました。又、分析の実施にあたっては尾野文昭氏に多くのアドバイスをいただきました。ここに謝意を表します。

## 参考文献

- 1) 中村智幸：イワナをもっと増やしたい！ 「幻の魚」を守り、育て、利用する新しい方法（フライの雑誌社新書）、2007
- 2) Shoichiro Yamamoto, Kentaro Morita, Satoshi Kitano, et al.: Phylogeography of White-Spotted Charr(*Salvelinus leucomaenis*) inferred from Mitochondrial DNA Sequences. *ZOOL.Sci.* .21:229-240, 2004
- 3) 山本祥一郎、中村智幸、久保田仁志、他：ミトコンドリアDNA分析に基づく関東地方産イワナの遺伝的集団構造、*日本水産学会誌* 74(5)、pp.861～863、2008
- 4) Hitosh KUBOTA, Takahide Doi, Shoichiro YAMAMOTO, et al.: Genetic identification on native population of fluvial white-spotted charr *salvelinus leucomaenis* in the upper Tone River drainage, *Fish Sci.*73:270-284, 2007
- 5) Laboratoire d'Ecologie végétale et Biogéochimie, ULB-Campus de la plaine CP244 C5 oulevard du Triomphe, B-1050 Bruxelles

村岡敬子\*



独立行政法人土木研究所つくば  
中央研究所水環境研究グループ  
河川生態チーム 主任研究員  
Keiko MURAOKA

三輪準二\*\*



独立行政法人土木研究所つくば  
中央研究所水環境研究グループ  
河川生態チーム 上席研究員  
Junji MIWA

高橋政則\*\*\*



国土交通省関東地方整備局湯西川ダム工事事務所長  
Masanori TAKAHASHI