

多摩川で回復したカジカ个体群の系統分類に関する研究

2008年

系井 史朗
日本大学 生物資源科学部 助手

緒 言

日本では 1950 年代から 1970 年代初頭の高度経済成長期に伴う開発により環境が破壊され、生物の多様性が失われた。河川では、生活排水や工業排水の流入に加え大規模な河川工事による水質の悪化、生息場所の改変や水量の減少などにより多くの水生生物が減少した。この現象は人口の集中する都市を流れる河川で顕著にあらわれた。多摩川においても例にもれず、それどころか日本国内の他の河川と比較して汚染の度合いは著しいものがあつた。このような背景の下、生物の多様性が重視されるようになってきた。生物多様性には、「遺伝子レベルの多様性」、「種レベルの多様性」および「生態系レベルの多様性」の 3 つのレベルに大別することが提唱されている（小池・松井、2003）。一般的に論じられる生物多様性は、「種レベルの多様性」および「生態系レベルの多様性」であることが多い。この「種レベルの多様性」あるいは「生態系レベルの多様性」を回復する手段として、河川では、減少あるいは絶滅した種の放流事業が行われてきた。中でも河川環境修復・改善で象徴的存在のシロザケ *Oncorhynchus keta* やアユ *Plecoglossus altivelis* の放流は、本来の分布域とは無関係に全国規模で盛んに行われた。近年、環境省による生物多様性国家戦略の公布等もあり、同一種内での遺伝的多様性にも目が向けられるようになり、その重要性が注目を浴びている。同時に、本来の分布域とは無関係に放流したことにより地域集団の持つ遺伝的多様性や集団構造が変化することに対して警鐘が鳴らされるようになり（谷口、1993；原田、1993；Thorpe *et al.*, 1995；Schramm and Piper, 1995）、

地域や各河川における在来個体群の遺伝的多様性を把握維持することが重要視されるようになってきた。しかしながら、今日、先述の人為的な生物の移動により、本来の分布域や遺伝的多様性、地域個体群の保持されている生物種は極めて少なくなっている。

大都市圏を流れる多摩川は、「死の川」とよばれるまでに汚染され、その環境修復に力が注がれてきた。その中で、コイ *Cyprinus carpio* やフナ *Carassius sp.* の放流、サケやアユの稚魚の放流も盛んに行われ、現在では、アユやマルタウガイ *Tribolodon brandtii* の遡上が多数報告され、河川環境の改善は目を見張るものがある。この多摩川で、近年、清流に生息するカジカ *Cottus pollux* の個体数が回復傾向にあるとされる。カジカはカサゴ目カジカ科カジカ属に分類される日本固有の淡水魚で、体長は最大で 150 mm 程度まで成長し、沖縄県、千葉県、九州の一部および四国の一部を除く日本全国の河川、特に清流に生息するとされる (Goto, 2001)。また、底生生活をし、肉食性で付着性の水生昆虫を主として摂餌するほか、流化昆虫や底生昆虫、小魚も摂餌し (Goto, 2001)、生活史および卵の大きさにより、両側回遊性の小卵型および中卵型と河川陸封性の大卵型の 3 型が存在することが知られている。カジカに関する集団遺伝学的研究は少ないが、琵琶湖固有の湖沼陸封型であるウツセミカジカと小卵型に差異のないことが確認され、小卵型をウツセミカジカ *Cottus reinii*、大卵型をカジカ *Cottus pollux* とすることが提案されている (岡崎、小林、1992)。さらに、両側回遊型の中卵型の存在が確認され (岡崎ら、1994)、形態学的にそれぞれが識別可能で

あることも報告されている（藤井ら、1997）。この3型は明らかに別種とされているものの、学名の決定は遅れている。また、全国的に調査された例はなく、その分布域も不明な点が多く残されている。

一方で、カジカは商業的価値が低く養殖や放流の履歴が少ないことから、日本各地における在来個体群の遺伝的集団構造が維持されている可能性が高い。また、河川改修工事や水質汚染などにより、生息数が全国的に著しく減少している。環境省発行のレッドデータブックには掲載されていないが、各県で発行されているレッドデータブックには、絶滅危惧種や絶滅種として掲載されるなど、早急な保全が必要とされている。今後カジカの保全を考える上で、地域個体群の遺伝的集団構造を把握することは重要である。

我々は、mitochondrial DNA (mtDNA) の部分調節領域を対象とした丹沢酒匂川水系のカジカ個体群に関する研究で、同一水系内での遺伝的多様度が極めて低いことを見出した（鷲尾ら、2006）。これは当該調節領域が、水系の違いによるカジカ個体群のハプロタイプの違いを検出するのに適していることを示唆するものである。そこで本研究では、近年、多摩川で個体群の生息状況が改善しているとされるカジカについて、その個体群の増加が在来個体群の回復によるものなのか、あるいは人為的に放流されたものによるのかを明らかとするため、多摩川水系で採取されたカジカ試料および日本各地の他水系で採取された試料の遺伝型を比較した。また、本研究を進行する過程で、いわゆるカジカとよばれる種には、先述の3型が存在し、その地理的分布が明確に異なることが明らか

かとなったため、本報告書にその詳細を記述する。

なお、本研究により得られた成果の一部は、平成 19 年度日本水産学会秋季大会にて発表済みである（添付資料 1 参照）。また、現在、学術雑誌への投稿論文を作成中である。

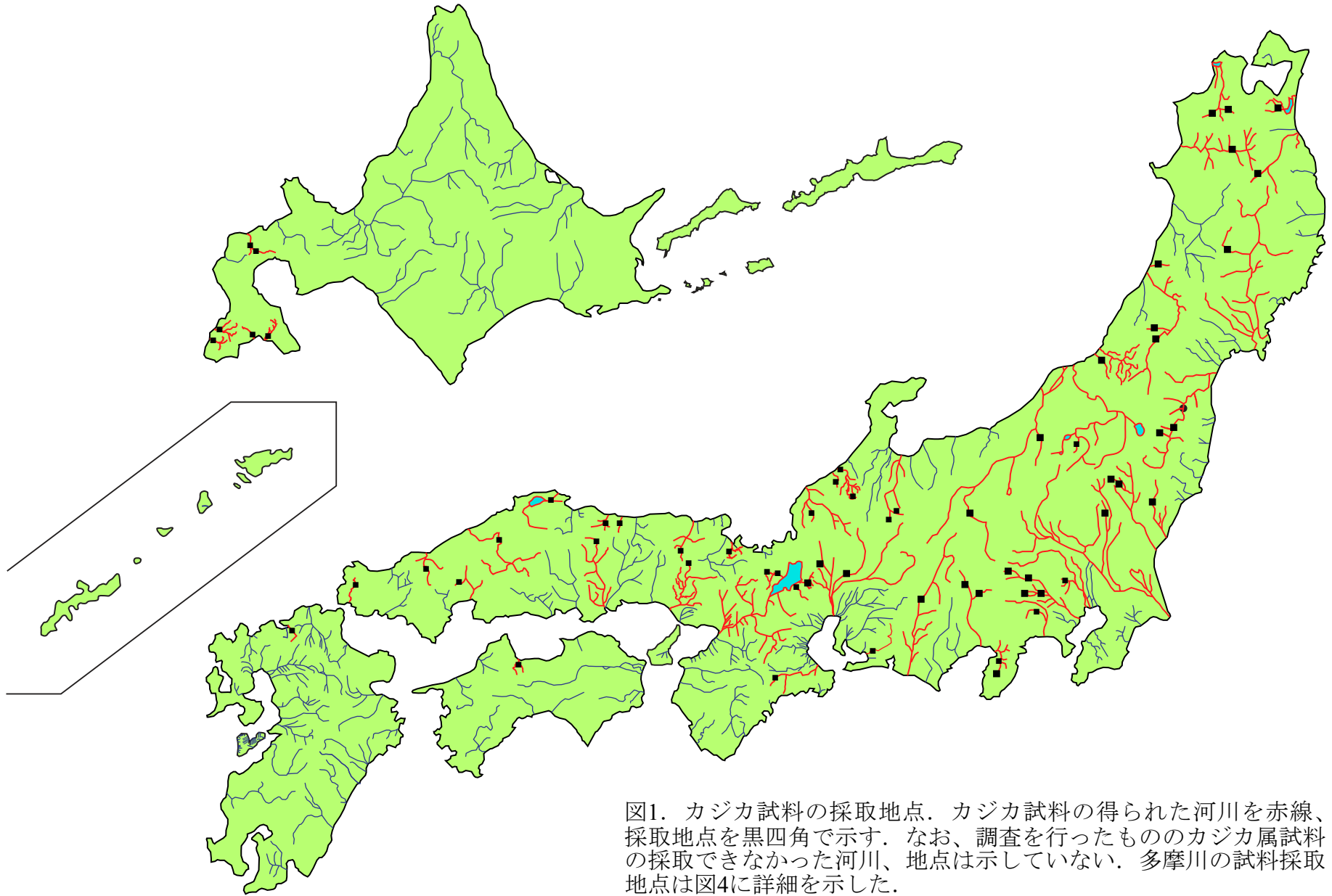
試料および方法

1. 試料

カジカ試料は、2006 および 2007 年にかけて、北海道では、松倉川水系松倉川で 25 尾、大野川水系大野川で 22 尾、厚沢部川水系鶉川で 24 尾、天野川水系天野川で 12 尾、朱太川水系朱太川中流域で 17 尾および朱太川下流域で 10 尾、合計 110 尾を採取した（表 1、図 1）。東北地方では、岩木川水系岩木川で 13 尾および浅瀬石川で 19 尾、高瀬川水系高瀬川で 20 尾、馬淵川水系熊原川で 14 尾、米代川水系米代川で 29 尾、北上川水系和賀川で 21 尾、最上川水系寒河江川で 20 尾および月布川で 20 尾、日向川水系日向川で 8 尾、阿武隈川水系杉田川で 1 尾および逢瀬川で 17 尾、阿賀野川水系黒谷川で 27 尾、合計 209 尾を採取した（表 1、図 1）。甲信越・北陸地方では、信濃川水系魚野川で 42 尾、千曲川で 22 尾、伊佐津川水系伊佐津川で 7 尾、神通川水系荒城川で 1 尾、江名子川で 1 尾および宮川で 12 尾、手取川水系手取川下流域で 5 尾および大道谷川で 15 尾、九頭竜川水系魚見川で 26 尾、梯川水系大杉谷川で 15 尾、合計 146 尾を入手し

表 1. カジカ試料を採取した水系および河川

水系	河川	個体数	水系	河川	個体数
松倉川	松倉川	25	荒川	荒川	11
大野川	大野川	22	荒川	高麗川	22
厚沢部川	鶉川	24	相模川	中津川（半原）	26
天野川	天野川	12	境川	境川	20
朱太川	朱太川（中流）	17	多摩川	本流（6地点）	47
朱太川	朱太川（下流）	10	多摩川	北浅川	13
岩木川	岩木川	13	多摩川	南浅川	9
岩木川	浅瀬石川	19	多摩川	丹波川	13
高瀬川	高瀬川	20	多摩川	秋川	15
馬淵川	熊原川	14	多摩川	小菅川	16
米代川	米代川	29	狩野川	狩野川（上流）	7
北上川	和賀川	21	狩野川	狩野川（下流）	11
最上川	寒河江川	20	富士川	笛吹川	12
最上川	月布川	20	富士川	釜無川	6
日向川	日向川	8	天竜川	大田切川	23
阿武隈川	杉田川	1	淀川	丹生川	31
阿武隈川	逢瀬川	17	淀川	犬上川	2
阿賀野川	黒谷川	27	淀川	安曇川	5
信濃川	魚野川	42	淀川	麻生川	24
信濃川	千曲川	22	揖斐川	根尾川	15
手取川	手取川（下流）	5	長良川	長良川	18
手取川	大道谷川	15	宮川	宮川	10
九頭竜川	魚見川	26	加古川	佐地川	23
梯川	大杉谷川	15	円山川	与布土川	25
伊佐津川水系	伊佐津川	7	天神川	三徳川	14
神通川	荒城川	1	甲川	甲川	20
神通川	江名子川	1	太田川	水内川	1
神通川	宮川	12	江の川	田草川	2
久慈川	久隆川	12	旭川	下和川	3
那珂川	箒川(ダム下)	41	斐伊川	斐伊川	22
那珂川	箒川(ダム上)	25	高津川	高津川	21
鬼怒川	大谷川	11	木屋川	安田川	5
鬼怒川	湯西川	5	加茂川	加茂川	22
利根川	渡良瀬川	6	室見川	室見川	18
合	計				1,097



た（表 1、図 1）。関東地方では、久慈川水系久隆川で 12 尾、那珂川水系箒川で 66 尾、鬼怒川水系大谷川で 11 尾、湯西川で 5 尾および渡良瀬川で 6 尾、荒川水系高麗川で 22 尾、荒川で 11 尾、相模川水系中津川で 26 尾、境川水系境川で 20 尾、合計 179 尾採取した。また、多摩川水系では、多摩川本流で 47 尾、北浅川で 13 尾、南浅川で 9 尾、丹波川で 13 尾、秋川で 15 尾、小菅川で 16 尾、合計 113 尾を採取した（表 1、図 1）。東海地方では、狩野川水系狩野川で 18 尾、富士川水系笛吹川で 12 尾、釜無川で 6 尾、天竜川水系大田切川で 23 尾、合計 59 尾を採取した（表 1、図 1）。近畿地方では、淀川水系丹生川で 31 尾、犬上川で 2 尾、安曇川で 5 尾および麻生川で 24 尾、木曾川水系根尾川で 15 尾および長良川で 18 尾、加古川水系佐地川で 23 尾、宮川水系宮川で 10 尾、合計 128 尾を採取した。中国地方では、円山川水系与布土川で 25 尾、天神川水系三徳川で 14 尾、甲川水系甲川で 20 尾、太田川水系水内川で 1 尾、江の川水系田草川で 2 尾、旭川水系下和川で 3 尾、斐伊川水系斐伊川で 22 尾、高津川水系高津川で 21 尾、木屋川水系安田川で 5 尾、合計 113 尾を採取した（表 1、図 1）。四国地方では、加茂川水系加茂川で 22 尾、九州地方では、室見川水系室見川で 18 尾を採取した（表 1、図 1）。

2. DNA 抽出

Sezaki *et al.* (1999) の方法に従って、鱈または筋肉の組織片から全 DNA を抽出した。すなわち、約 40 mg の組織をマイクロチューブに採取し、10 mM EDTA、100 mM NaCl、0.1% SDS、10 mM β -mercaptoethanol および 8 M 尿素を含む DNA

抽出バッファー500 μl 中でホモジナイザーを用いて組織を破碎した。その後 10 mg/ml Proteinase K 溶液 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) を 20 μl 加え、55°C で 2 時間保温した。フェーノール/クロロホルム溶液を 500 μl 加え、5 分間程度攪拌し、15,000 $\times g$ で 5 分間遠心分離した。得られた水層を別のマイクロチューブに移し、クロロホルム溶液を 500 μl 加えた。5 分間程度攪拌し、15,000 $\times g$ で 5 分間遠心分離した後、別のマイクロチューブに水層を移した。これに水層の 1/10 量の 3M 酢酸ナトリウム溶液 (pH 5.3) および上清の 2.5 倍量のエタノールを加え、4°C、15,000 $\times g$ で 15 分間遠心分離した。上清を除去後、-30°C に冷却した 70% エタノール 200 μl を加え、4°C、15,000 $\times g$ で 10 分間遠心分離した。その後、上清を除去して沈殿物を乾燥させ、滅菌超純水を加えて抽出 DNA 溶液とした。

3. PCR 増幅

プライマーセット fDloop_F (5'-TTCCTGGCATTGTTTCCTACTTCAG-3') (Itoi *et al.*, 2007a) および ftRPhe_R (5'-CCATCTTAACATCTTCAGTGTTATGC-3') (Itoi *et al.*, 2007b) を用いる PCR により mtDNA の部分調節領域を増幅した。PCR 反応はサーマルサイクラーを用い、以下の反応条件で行った。25 mM MgCl_2 溶液 2 μl 、5 \times PCR 用緩衝液 4 μl 、2.5 mM dNTP 混合液 1.6 μl 、5 μM プライマー各 2.6 μl 、抽出 DNA 溶液 2 μl 、5 units/ μl GoTaq DNA ポリメラーゼ (Promega, Madison, WI, USA) 0.125 μl に滅菌超純水 5.075 μl を加えて計 20 μl とした。PCR チューブ中 95°C で 1 分間保温した後、95°C で 10 秒間の熱変性、55°C で 20 秒間のアニーリング、72°C で 45 秒間の伸長反応のサイクルを 35 回行い、最後に 4°C

に冷却した。

4. PCR 産物の確認、精製およびラベリング

PCR 産物 5 μl に色素液 (0.25% xylene cyanol、0.25% bromophenol blue および 0.25% orange G を含む 50% グリセロール溶液) 1 μl を混合し、TAE buffer 中 Agarose S (Nippongene, Tokyo, Japan) を含む 2% アガロースゲルを用いて電気泳動した。450 bp 付近の増幅バンドを確認した後、当該増幅産物の精製およびラベリングを行った。新しいマイクロチューブに PCR 産物 15 μl を移し、滅菌超純水 35 μl とクロロホルム 50 μl を加え、10 分間振とう攪拌した。12,000 $\times g$ で 5 分間遠心分離した後、得られた水層を別のマイクロチューブに移した。3 M 酢酸ナトリウム溶液 (pH 5.3) 12 μl 、および 40% polyethylene glycol (PEG) 8000 および 100 mM MgCl_2 を含む PEG 溶液 30 μl を加えて十分に混合し、10 分間振とう攪拌した。10 分間静置し、4°C、12,000 $\times g$ で 15 分間遠心分離した後、上清を取り除いた。-20°C 以下に冷却した 70% エタノールを 500 μl 加え、4°C、12,000 $\times g$ で 15 分間遠心分離した。その後、上清を除去し、遠心式濃縮機で 10 分間程度乾燥させ、滅菌超純水 10 μl を加えて、完全に溶解させたものを精製 PCR 産物とした。

精製 PCR 産物を鋳型として、プライマー fDloop_F および ftRPhe_R を用いてラベリング反応を行った。サーマルサイクラーを用い、以下の反応条件で行った。5 μM プライマー 0.3 μl 、精製 PCR 産物 2 μl 、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 1 μl 、希

積 buffer 1.5 μl に滅菌超純水 5.2 μl を加えて計 10 μl とし、PCR チューブ中 96°C で 1 分間保温した後、96°C で 10 秒間の熱変性、50°C で 5 秒間のアニーリング、60°C で 2 分間の伸長反応のサイクルを 25 回行い、最後に 4°C に冷却したものをラベリング反応産物とした。

ラベリング反応産物 10 μl をマイクロチューブに移し、3 M 酢酸ナトリウム (pH 5.3) 1 μl およびエタノール 40 μl を加えた。4°C、14,000 $\times g$ で 20 分間遠心分離し、上清を取り除いた。その後、70%エタノールを 500 μl 加え、4°C、14,000 $\times g$ で 20 分間遠心分離した。上清を取り除いて遠心式濃縮機で 10~15 分間乾燥させ、DNA 分析に供した。分析には、Applied Biosystems 社製 3130xl genetic analyzer を用いた。

5. 塩基配列の解析、卵型および種判別

得られた mtDNA の部分調節領域の塩基配列は、コンピューターソフト SeqEd を用いて整理した。配列の比較は CLUSTAL W (Thompson *et al.*, 1994) を用いて行った。本研究で採取した個体の卵型および種を調べるために、mtDNA の部分調節領域 450 bp を対象に、遺伝子データベース (DDBJ/EMBL/GenBank databases) 上の既知の配列との比較を行った。

6. 系統解析

本研究で採取した個体群間の系統関係を調べるために、mtDNA の部分調節領域 450 bp を対象に系統解析を行った。採取した試料より決定された mtDNA の部分調節領域の塩基配列とともに、遺伝子データベースから得た鬼怒川水系の

カジカ大卵型の当該塩基配列 (AB188158)、カジカ中卵型 (AB188159) およびカジカ小卵型 (AB188160) を使用した。アウトグループにはヤマノカミ属のヤマノカミ *Trachidermus fasciatus* (AB188172)、カジカ属魚類であるカンキョウカジカ *Cottus hangiongensis* (AB188163)、ハナカジカ *Cottus nozawae* (AB059339)、エゾハナカジカ *Cottus amblystomopsis* (AB188162)、ウツセミカジカ *Cottus reinii* (AB188161) を用いて、近隣結合法により系統樹を構築した。

各水系の個体群間の遺伝的差異を統計処理するため、コンピュータソフト Arlequin ver. 3.11 (Excoffier *et al.*, 2005) により遺伝的分化係数 (F_{ST}) およびハプロタイプ多様度を算出した。また、決定した塩基配列を基に、コンピュータプログラム TCS program (Clement *et al.*, 2000) を用いてネットワーク系統樹を構築し、構築したネットワーク系統樹は、Templeton and Sing (1993) および Ciofi *et al.* (2006) の方法に従い、クレードを分けた。

結果および考察

1. 多摩川水系および日本各地から得られたカジカ個体群の系統関係

本研究では、多摩川水系の 12 地点、113 尾を含む日本全国で採取したカジカ 1,097 尾について、mtDNA の部分調節領域 450 bp を対象に解析を行った。部分調節領域の塩基配列分析を行った結果、450 bp の塩基配列が決定された。これら配列を比較したところ、採取した 1,097 個体中、関西地方西部の河川を西端に大卵型が検出され、665 個体から 100 のハプロタイプが確認された。この他の個

体は、小卵型あるいは中卵型、カンキョウカジカ、ハナカジカに分類されるものが認められた。多摩川水系で採取された試料は全て大卵型のクラスタに含まれた（図 2）。各水系の個体群間の遺伝的分化指数を調べた結果、山形集団内や丹沢集団内で低い値が観察されたものの、各水系間で 0.9~1.0 の非常に高い値が認められ、各水系間の個体群が独自の集団を構成していることが明らかとなった。また、各集団のハプロタイプ多様度や塩基多様度を調べた結果、一部例外はあるものの、いずれの集団もハプロタイプ多様度が高く、塩基多様度が低かった。この結果は、カジカの個体群がボトルネック効果を受けた後、急速に個体群が成長したことを示唆する（Grant and Bowen, 1998）。続いて、各ハプロタイプの系統関係について TCS ネットワーク樹を構築して調べるとともに、採取地点との関係を明らかにした。その結果、図 3 に示すように、カジカ大卵型は、北東北集団を中心に 10 の地域集団に大別されることが明らかとなった。北東北集団から山形集団、南東北・北関東集団、中部集団、関西集団および南関東集団が分岐し、さらに南関東集団から北陸集団や先の関西集団とは系統の異なる関西集団が分岐していた。南関東集団のハプロタイプネットワークは、星形状に放散し、急速な個体群の増大があったことを示唆する。また、南関東集団とは多少距離をおいて、利根川および鬼怒川水系からなる南関東集団 2 が分岐していた。この中で、多摩川のカジカ個体群は、北東北集団から分岐する南関東集団のハプロタイプの大部分をその構成要員として有していることから、ある程度多様性が保持されていることが示唆される。この多様性を論じる場合、

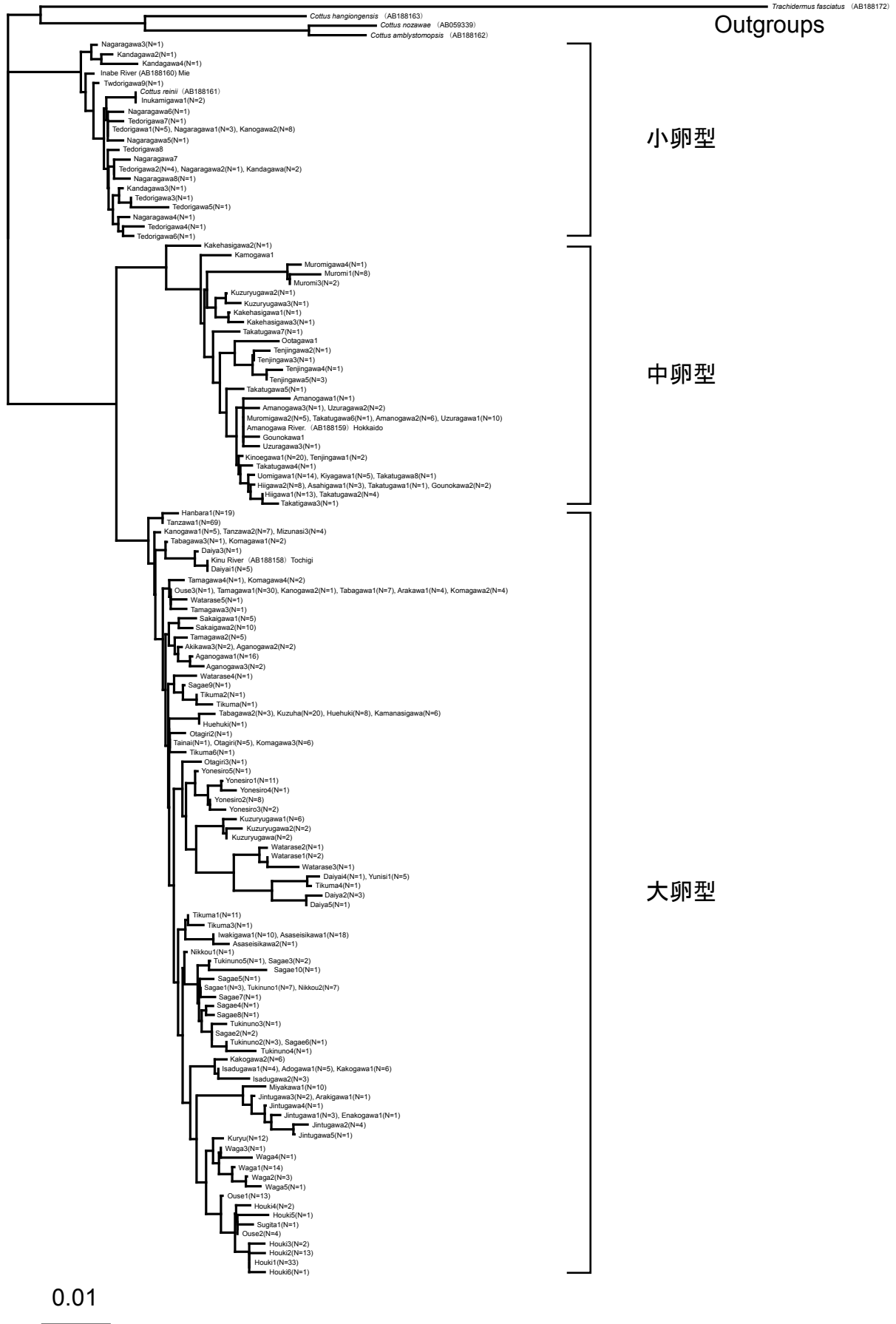


図2. ミトコンドリアDNA調節領域の部分配列をもとに近隣結合法により構築したカジカ属の系統樹. 本研究で採取したカジカ試料は、小卵型、中卵型および大卵型に大きく分類された. AB188160、AB188159およびAB188158はそれぞれカジカ小卵型、中卵型および大卵型として登録されている配列.

他河川からの移入が指摘される可能性もあるが、多摩川個体群は、ハプロタイプ CP29 を中心にほぼ 1 塩基差の中に納まっており（図 3、表 2）、在来の個体群である可能性が非常に高い。

2. 多摩川水系内での各支流間におけるカジカ個体群の系統関係

多摩川水系本流を含む 12 地点で採取したカジカ試料 113 個体について系統解析を行ったところ、いずれの河川からもハプロタイプ CP29 が主たるハプロタイプとして検出され、その割合は多摩川本流で最も高かった（図 4）。また、各支流には 1 塩基の違いと非常に近縁ではあるものの、それぞれ独自のハプロタイプも存在し、遺伝的な多様性が存在することが示唆された。小菅川では、近年、丹波川の個体群が移植されており、その中でも主要なハプロタイプである CP29 がその割合を高めている可能性が示唆される。

高度経済成長期に環境破壊の影響を大きく受け、カジカの個体群もその多くが絶滅に瀕したと考えられる多摩川本流では、近年の河川環境の改善により、CP29 を主要なハプロタイプとして回復したことが考えられる。また、その数は少ないながらもほかの支流には認められないが、主要なハプロタイプである CP29 とは 1 塩基差しかない独自のハプロタイプも観察され、多摩川本流独自のいは多摩川水系の個体群が回復している可能性を強く示唆している。しかし、上述の小菅川での個体群移植の例にもあるように、多摩川水系では、個体群の希薄な流域に CP29 を含む個体群を放流すると、CP29 の割合の割合が高まっていく可能性も考えられ、同一水系内でも安易な個体群の移植は在来個体群が持

表 2. 検出ハプロタイプおよびその分布

Haplotype no.	検出された河川	Haplotype no.	検出された河川
CP01	寒河江川、月布川、日向川	CP45	渡良瀬川
CP02	大谷川、湯西川	CP46	丹波川、葛葉川、富士川水系
CP03	寒河江川、月布川	CP47	丹波川、高麗川
CP04	寒河江川、月布川	CP48	狩野川、四十八瀬川、半原、水無川、酒匂川
CP05	米代川	CP49	笛吹川
CP06	米代川	CP50	千曲川
CP07	米代川	CP51	千曲川
CP08	米代川	CP52	千曲川
CP09	米代川	CP53	千曲川
CP10	和賀川	CP54	千曲川
CP11	和賀川	CP55	千曲川
CP12	和賀川	CP56	太田切川
CP13	和賀川	CP57	太田切川
CP14	和賀川	CP58	多摩川
CP15	日向川、根尾川、長良川	CP59	多摩川
CP16	月布川	CP60	多摩川、高麗川
CP17	月布川	CP62	黒谷川
CP18	太田切川、高麗川、手取川上流	CP74	葛葉川
CP19	寒河江川	CP75	葛葉川
CP20	寒河江川	CP76	水無川、半原
CP21	寒河江川	CP77	水無川、四十八瀬川、酒匂川
CP22	寒河江川	CP78	伊左津川、安曇川、佐治川、麻生川
CP23	寒河江川	CP79	伊左津川
CP24	寒河江川	CP80	宮川
CP25	寒河江川	CP81	神通川、江名子川
CP26	杉田川	CP82	神通川
CP27	逢瀬川	CP83	神通川、荒城川
CP28	逢瀬川	CP84	神通川
CP29	逢瀬川、狩野川、多摩川水系、荒川水系（埼玉）	CP85	神通川
CP30	九隆川	CP86	岩木川、浅瀬石川、高瀬川
CP31	箒川	CP87	浅瀬石川
CP32	箒川	CP88	佐治川
CP33	箒川	CP89	黒谷川
CP34	箒川	CP90	黒谷川
CP35	箒川	CP91	境川
CP36	箒川	CP92	境川
CP37	大谷川	CP93	九頭竜川
CP38	大谷川	CP94	九頭竜川
CP39	大谷川	CP95	九頭竜川
CP40	大谷川	CP96	丹生川
CP41	渡良瀬川	CP97	丹生川
CP42	渡良瀬川	CP98	丹生川
CP43	渡良瀬川	CP99	丹生川
CP44	渡良瀬川	CP100	丹生川

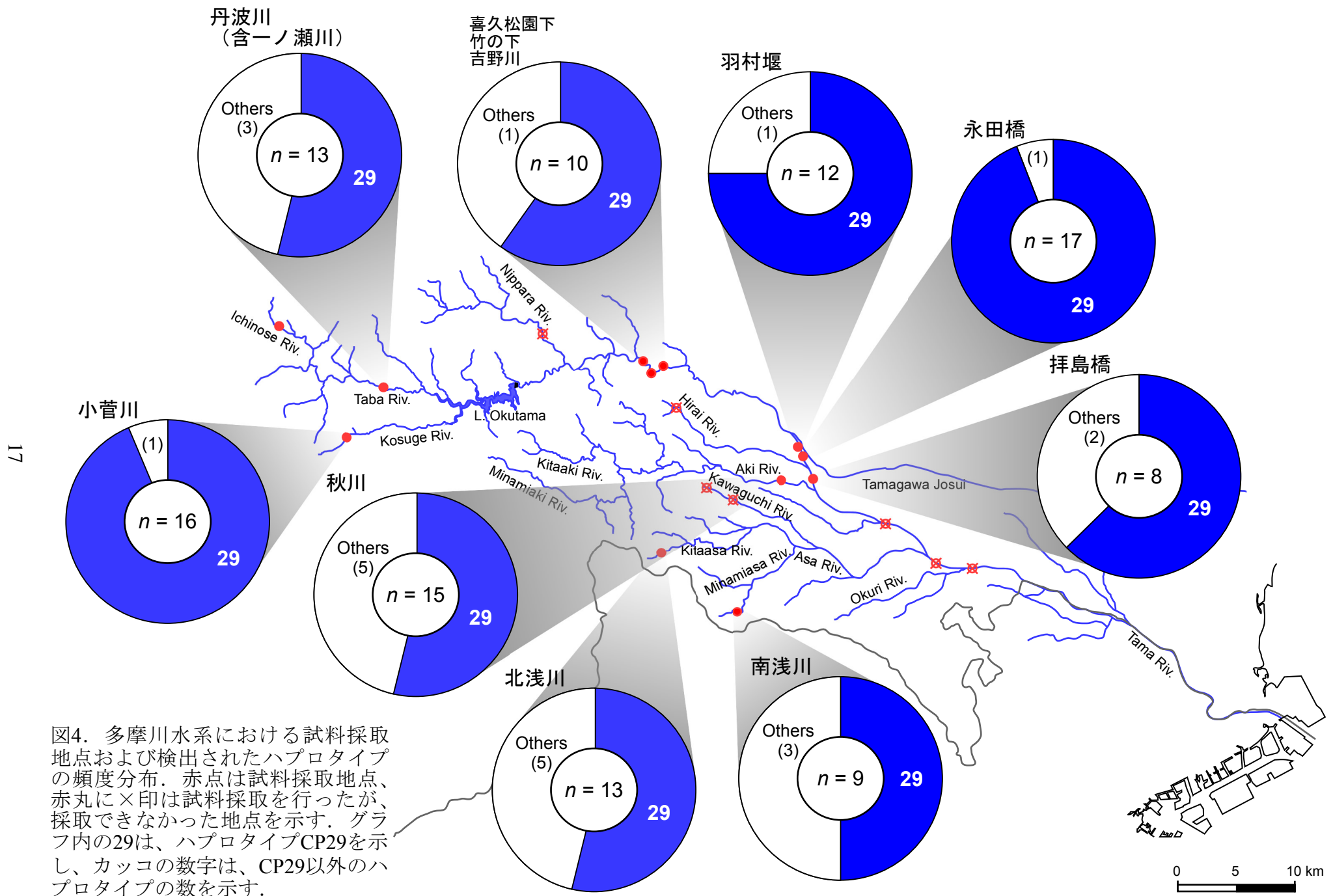


図4. 多摩川水系における試料採取地点および検出されたハプロタイプの頻度分布. 赤点は試料採取地点、赤丸に×印は試料採取を行ったが、採取できなかった地点を示す. グラフ内の29は、ハプロタイプCP29を示し、カッコの数字は、CP29以外のハプロタイプの数を示す.

つ遺伝的多様性を縮小させてしまう可能性をはらんでいる。以上、多摩川水系の個体群について詳細に検討したが、近年確認されているカジカ個体群の回復は、人為的な移植によるものではなく、河川環境の改善に伴い、在来の個体群が増殖していることによるものと結論付けられる。

3. カジカ *Cottus* spp.の全国分布

多摩川水系で回復した個体群の遺伝的位置付けを明らかにするために、本研究では、日本全国の河川でカジカ試料を採取し、部分調節領域の塩基配列を指標に系統解析を行ってきた。その結果、上述の通り、カジカには小卵型、中卵型および大卵型に大別されることが確認された（図 2）。さらにこのカジカ個体群の卵型による分布の違いは非常に興味深い。本研究の主たる分析対象である大卵型は、太平洋側は加古川水系を、日本海側は伊佐津川水系を西端にそれより西では採取されなかった（図 5）。これまで、日本列島の陸封型カジカである大卵型は、日本全国に分布するとされ、両側回遊型が小卵型あるいは中卵型とされてきた。しかし本研究を進める中で、太平洋側では、加古川水系より西側、日本海側では伊佐津川水系より西側には、四国・九州を含めて大卵型は存在せず、ほぼ全て中卵型であることが明らかとなった。これら地域に認められる陸封型の（これまで大卵型と考えられていた）個体群は、いずれも中卵型の陸封型で、大卵型とは系統的に明らかに異なっていた。この他、北海道南部の試料では中卵型が観察され、山形県などでも中卵型の分布に関する報告がなされていることなどから、中卵型の主たる分布域である中国地方から、両側回遊型の

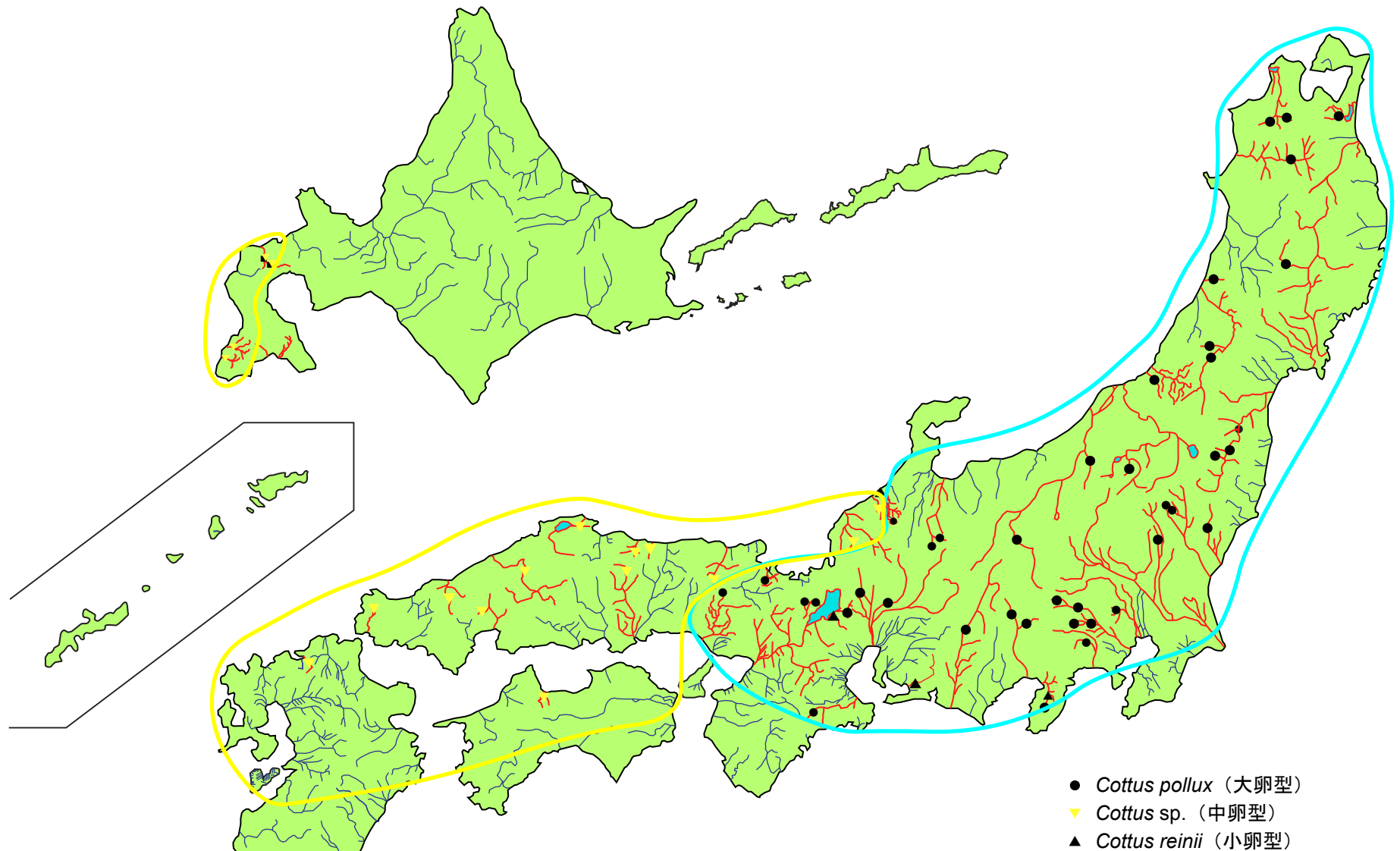


図5. 本研究で明らかとなったカジカの分布. 大卵型は関西以東、中卵型は関西以西および北海道南部の日本海側、小卵型は北陸・中部地方の一部河川および琵琶湖に流入する河川に分布していた. 淡青線および黄線は、それぞれ大卵型および中卵型の主たる分布域を示す. 小卵型については、試料数が少ないため図示しない.

生活史を持つ中卵型が海流に流され、日本海側の両側回遊型として分布域を広げている可能性が示唆される。また、試料は少ないながらも、関西以西の太平洋側の数地点および北陸の手取川で小卵型が観察された。以上のことから、日本海側の主たる両側回遊型は中卵型、太平洋側では小卵型であり、大卵型は関西地方の西端から本州東側の内陸部を中心に分布している可能性が考えられる。

謝 辞

本研究の一部は、財団法人 とうきゅう環境浄化財団による助成を受けて行ったものである。

参考文献

- Ciofi, C., Wilson, G. A., Beheregaray, L. B., Marquez, C., Gibbs, J. P., Tapia, W., Snell, H. L., Caccone, A., Powell, J. R. (2006) Phylogeographic history and gene flow among giant Galápagos tortoises on southern Isabela Island. *Genetics* **172**, 1727–1744.
- Clement, M., Posada, D., Crandall, K. A. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.* **9**, 1657–1659.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online* **1**, 47–50.
- 藤井亮吏、矢部 衛、清水孝昭、金山 勉、尼岡邦夫 (1997) カジカ 4 型の分

類学的検討. 1997年度日本魚類学会年会講演要旨、p. 26.

Goto, A. (2001) *Cottus pollux*. In: Kawabe, H. Mizuno, N., and Hosoya, K. (eds),
Freshwater fishes of Japan (in Japanese). Yama-to-keikoku-sha, Tokyo, pp.
666–667.

Grant W. A. S., Bowen B. W. (1998) Shallow population histories in deep evolutionary
lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for
conservation. *Heredity* **89**, 415–426.

原田泰志 (1993) 放流効果に影響をおよぼす放流種苗の遺伝的要素. *水産工学* **30**,
69–74.

伊藤一十三、渡部秀之、高比良光治、横山博保、近藤 晴、石田力三 (2006)
多摩川における魚類生息環境の改善について. *リバーフロント研究所報告*
17, 68–75.

Itoi, S., Saito, T., Shimojo, M., Washio, S., Sugita, H. (2007b) Identification of *Girella*
punctata and *G. leonina* by PCR-RFLP analysis. *ICES J. Mar. Sci.* **64**, 328–331.

Itoi, S., Saito, T., Washio, S., Shimojo, M., Takai, N., Yoshihara, K., Sugita, H. (2007a)
Speciation of two sympatric coastal fish species, *Girella punctata* and *Girella*
leonina (Perciformes, Kyphosidae). *Org. Divers. Evol.* **7**, 12–19.

小池裕子、松井正文 (編) (2003) 保全遺伝学. 東京大学出版会、東京.

岡崎登志夫、小林敬典 (1992) カジカの遺伝的分化—種分化の様式をめぐって.
日本魚類学会年会講演要旨、p. 42.

- 岡崎登志夫、小林敬典、洲澤 譲、清水孝昭 (1994) 日本産カジカ両側回遊型
内で認められた 1 未記載種. 1994 年度日本魚類学会年会講演要旨、p. 20.
- Schramm, H. L., Piper, R. G. (eds.) (1995) Uses and effects of cultured fishes in aquatic
ecosystems. American Fisheries Society Symposium, 15. American Fisheries
Society, Bethesda.
- Sezaki, K., Begum R.A., Wongrat, P., Srivastava, M.P., SriKantha, S., Kikuchi, K.,
Ishihara, H., Tanaka, S., Taniuchi, T., Watabe, S. (1999) Molecular phylogeny of
Asian freshwater and marine stingrays based on the DNA nucleotide and deduced
amino acid sequences of the cytochrome b gene. *Fish. Sci.* **65**, 563–570.
- 谷口順彦 (1993) 遺伝学的諸問題. 北島 力編、放流魚の健病性と育成技術.
水産学シリーズ 93、恒星社厚生閣、東京、pp. 63–74.
- Templeton, A. R., Sing, C. F. (1993) A cladistic analysis of phenotypic associations with
haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Nested analyses
with cladogram uncertainty and recombination. *Genetics* **134**, 659–669.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. (1994) CLUSTAL W: improving the
sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence
weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids
Res.* **22**, 4673–4680.
- Thorpe, J., Gall, G., Lannan, J., Nash, C. (1995) Conservation of fish and shellfish
resources: Managing diversity. Academic Press, London.

鷺尾明佳、下條麻衣、齊藤高志、大力圭太郎、糸井史朗、金子裕明、勝呂尚之、
杉田治男（2006）D-loop 領域を指標とする神奈川県丹沢地域のカジカのハ
プロタイプ分析. 第9回マリンバイオテクノロジー学会大会要旨集、p. 102.
山本聡、沢本良宏、羽毛田則生（2000）山地溪流におけるカジカ *Cottus pollux*
稚魚の放流効果. 長野水試研報4, 10-13.

1109

LOPC を用いた知床周辺海域における
動物プランクトンの分布—2

○山下由起子・菊地広子・藤森康澄・向井 徹・三浦汀介(北大院水)

【目的】LOPC (Laser Optical Plankton Counter) はレーザー光を利用してプランクトン計測を行う機器である。LOPC によるプランクトンの計測には、ネットなどの採集具による採集計測と比べて短時間に広範囲のデータ収集が期待されている。そこで、LOPC を用いて知床周辺海域の動物プランクトンを計測し、ネットによる観測結果と比較して LOPC の有効性を検討した。

【方法】2006年6月29日から7月4日および、2007年6月25-28日の日中、北海道大学水産学部所属練習船うしお丸を用い、知床周辺海域の30地点において観測を行った。口径80cmのリングネット(使用網地:NGG32)の網口部分にLOPCを取り付け、水深30mから表層まで線速0.5m/secで鉛直曳きを行った。観測したLOPCデータを元に解析を行い、プランクトンのサイズ組成と数量を算出した。また、同時にネット採集された動物プランクトンについて、カイアシ類、ゼリー状生物とその他に分けて湿重量を測定し、LOPCの観測結果との比較を行った。

【結果】LOPCによって観測されたプランクトンのサイズ組成は、観測点ごとにモードや頻度が異なった。ネット採集されたカイアシ類、ゼリー状生物およびその他の動物プランクトンについてもLOPCと同様に観測点ごとに採集量が異なった。カイアシ類に関して、二つの計測結果は類似した傾向を示したが、ゼリー状生物に関してはそのような傾向は観察されなかった。

1110

多摩川におけるカジカ大卵型 *Cottus pollux*
の遺伝的集団構造

大力圭太郎・末永朱・納谷聖実・高岡祐・鷲尾明佳・○糸井史朗(日大生物資源)・勝呂尚之(神奈川水技センター内水試)・杉田治男(日大生物資源)

【目的】多摩川は高度成長期に、生活排水などの流入による水質の悪化により多くの生物が激減した。しかし80年代以降の下水道の整備や付近住民の環境意識の向上などによって水質が改善されたため、アユなどの生物が戻りつつある。カジカも例に漏れず、一時期激減したが、近年回復傾向にあるといわれている。そこで本研究では、多摩川で回復しているカジカ個体群の由来を明らかにするため、他河川の個体群と共にミトコンドリアDNAの部分D-loop領域の解析を行い、その遺伝的集団構造を明らかにすることを目的とした。

【方法】調査は、多摩川水系である奥多摩湖上流の丹波川、下流の多摩川本流、支流の秋川、北浅川に加え、米代川、北上川水系、最上川水系、阿武隈川水系、久慈川水系、那加川水系、利根水系、信濃川水系、荒川、酒匂川水系、狩野川など東日本の河川を中心に行った。各水系から4~53個体、計405個体を採取し、分析に供した。腹鰭から全DNAを抽出後、特異プライマーを用いて部分D-loop領域約450bpをPCR増幅した。ダイレクトシーケンス法により当該領域の塩基配列を決定した後、分子系統解析を行った。

【結果】各地で採取したカジカ試料の部分D-loop領域の塩基配列450bpを解読した結果、多摩川水系からは5つのハプロタイプが検出された。これらのハプロタイプは、一部例外はあるものの他河川から検出されたハプロタイプとの共通性は認められなかった。そのため、多摩川で回復しているといわれているカジカは、在来の個体群の可能性が高いことが示唆された。

1111

伊豆諸島周辺海域から得られたキンメダイ仔稚魚の
外部形態にもとづく発育段階

○前田洋志(都島しよ総セ)・茂木正人・小西雅人・田中祐志(海洋大)・山川正巳(都島しよ総セ)

【目的、方法】2004年9月、キンメダイ仔稚魚がボンゴネットやMTDネットにより伊豆諸島近海で採集され、初期生態を推定する目的で、体長2.65~14.8mm($n=59$)の仔稚魚について、詳細な外部形態の観察を行った。観察・測定を行ったのは、頭長、上顎長、腹鰭長など12計量形質、鰭条数など5計数形質、頭部棘の出現状況などである。

【結果、考察】仔稚魚の生活史は、相対成長の変曲点のみられる体長や各部の発達様式から以下の4期に分類された。1)未発達期2.5~3.5-4.0mm:未開口か開口直後で内部栄養期。遊泳・摂餌に関する機能はほとんど発達していない;2)発達開始期3.5-4.0~4.5-5.0mm:頭長、上顎長の相対成長が急速に増加(摂餌機能の発達)。背鰭、臀鰭、尾鰭鰭条の出現・増加、脊索末端の上屈が起こる(推進力の増大)。頭部棘の出現・増加および眼径の増大は、捕食に対する防御能力や、餌生物に対する視認性の向上など、この時期に生態的な変化が起こることを示唆している;3)発達期4.5-5.5~6.8-7.5mm:頭長、上顎長、肛門前長などで相対成長は緩やかとなるが、腹鰭と胸鰭を除く鰭条はほぼ完成(推進機能の完成);4)完成期6.5-7.0~>9.0mm:胸鰭、腹鰭の鰭条形成が完了(遊泳機能における操縦性の向上)。背鰭伸長鰭条の急速な成長は、この時期に何らかの生態的意義の発達があることを示唆している。MTDネットによる採集結果から(0~350mまでの8層で採集)、仔稚魚は表層から少なくとも深度250-350m層まで分布しており、45~60m層で最も多く採集された(234.7個体/1,000m³;0~30m:0~1.7;65~350m:17.7~89.4)。各発育段階の割合に深度帯間での大きな差異は無く、発育に伴う生息深度の変化は認められなかった。

1112

大西洋サケと日本産サケ科魚類間
の生存性雑種

○伴 真俊・名古屋博之・佐藤俊平(さけますセ)・市村政樹(標津サーモン科学館)

【目的】近年、遺伝子組み換え(GM)技術は目覚ましい進歩を遂げるとともに、GM作物の食品への応用範囲も広がってきた。水産分野では、短期間に高い成長をさせ得るGM大西洋サケが開発され、養殖魚として実用化される可能性が出ている。我国ではサケ科魚類の需要が高いため、優れた特性を有するGM大西洋サケが、将来日本で養殖されることも考えられる。しかし、それらが自然界に逃げ出した場合、生態系に影響を与えることが懸念される。本研究では、そのような事態に対処するための基礎資料を集積するため、まず非GM大西洋サケと在来サケ科魚類間に生存性雑種が生じる可能性を確かめた。

【方法】2006年10月~11月にかけて、北海道東部の標津サーモン科学館で継代飼育された大西洋サケと、標津川に遡上したシロザケ、カラフトマスおよびサクラマスの間で人為交配実験を行った。受精から浮上1ヶ月後までの稚魚をふ化水槽で管理し、その間の死亡個体を計数し、生存率を算出した。浮上1ヶ月後まで生残した雑種については、尾叉長、背鰭条数、尻鰭条数および鰓耙数を本来の種と比較した。

【結果】人為交配実験の結果、大西洋サケの雄とシロザケの雌間で、生残率は2%と低いものの生存性雑種を生じることが判った。浮上から1ヶ月後の交雑魚とシロザケ稚魚の尾叉長を比較したところ、交雑魚が有意に大きかった。また、交雑魚の外見的特徴、および鰓耙数、背鰭と尻鰭条数はシロザケの稚魚に類似していた。

「^{た ま がわ}多摩川で^{かいふく}回復した^{こたいぐん}カジカ^{けいとうぶんるい}个体群の^{かん}系統分類^{けんきゅう}に関する研究」

(研究助成・学術研究 VOL. 37-NO. 271)

著 者 ^{いとい}糸井 ^{しろう}史朗

発行日 2009年3月31日

発行者 財団法人 ^{とうきゅう}とうきゅう環境浄化財団

〒150-0002

東京都渋谷区渋谷1-16-14 (渋谷地下鉄ビル内)

TEL (03) 3400-9142

FAX (03) 3400-9141