

利根川流域に定着したハクレン集団の遺伝的多様性の評価

○ 片町太輔・池田 実・谷口順彦（東北大学大学院）

キーワード：ハクレン・ミトコンドリア DNA・導入種・遺伝的多様性

【目的】 ハクレン (*Hypophthalmichthys molitrix*) は中国やシベリア東部の河川などに生息し、中国では重要な水産資源である。日本には 1800 年代の後半から 1900 年代の半ばにかけて食料増産を目的として各地に導入されたが、現在では利根川水系でのみ自然繁殖が確認され、定着に成功している。このような導入集団の遺伝的多様性を高変異性の遺伝マーカーを用いて調査することは、定着の過程における集団の有効サイズの変動の有無を検討することにつながり、集団の成立過程を推定する上で興味深い。さらに導入元の中国では生息数が減少しているため、利根川のハクレン集団が将来、ストック集団として重要になる可能性もある。そのため、利根川集団の遺伝的多様性について評価を行い、将来のストック集団としての利用に備える必要がある。本研究は、一般に変異が多く蓄積されているとされるミトコンドリア (mt) DNA の調節領域に着目し、利根川におけるハクレン集団の遺伝的多様性について評価を行った。

【材料と方法】 材料のハクレンは、2003 年 6 月に利根川の河口から 18km 地点で採集した成魚 16 個体 (体長 70~93cm) を用いた。DNA の抽出は各個体の背鰭を試料としたフェノール・クロロホルム法によって行った。mtDNA 調節領域の PCR には tRNA^{thr} 領域の L15923 と 12SrRNA 領域の H1067 のプライマーセットを用いて、調節領域全体を含む約 1.5kbp を増幅した。ダイレクトシーケンス法により塩基配列を読み取り、コイとフナの調節領域とその近傍配列の比較によって、ハクレンの調節領域の開始位置を決定した。解析の対象は、確実に読み取りが可能であった 471bp までとした。また、成魚の調査個体数の少なさを補うため、2003 年 7 月のハクレンの産卵期に利根川の河口から 120km 地点で採集した流下卵 22 個も分析対象とした。流下卵には、ハクレンと産卵期が重なるソウギョ、コクレン、アオウオの卵も混在している可能性があるため、12SrRNA 領域の PCR-RFLP 分析 (9 制限酵素) による魚種判別を行った上で、調節領域の分析を行った。

【結果と考察】 成魚の標本集団における調節領域の配列を比較した結果、471 サイト中 23 サイトの塩基置換と 4 サイトの挿入・欠失によって、12 種類のハプロタイプが決定できた。流下卵について 12SrRNA の PCR-RFLP 分析の魚種判別を試みた結果、コクレンとアオウオは含まれていないことが明らかとなった。しかし、ハクレンとソウギョでは同一の切断型を示し、2 種を判別することはできなかった。そこで、DNA データバンクに登録されていたソウギョの調節領域の配列とハクレン成魚の配列を比較の対象として、流下卵の調節領域の配列を比較した結果、調べた 22 個中、1 個はソウギョで、残りがハクレンであることが判明した。ハクレンの流下卵のハプロタイプの類別を行った結果、13 のハプロタイプが決定され、成魚も含めたハプロタイプ数は合計で 20 個となった。成魚と流下卵ではハプロタイプ頻度に有意な差異はみられず (Exact-test、 $P=0.052$)、2 標本集団をプールして算出したハプロタイプ多様度 (h) は 0.937 と高い遺伝的多様性を示した。このことは、定着に伴った集団サイズの減少が極端に大きなものではなかったことを示唆している。ハプロタイプの類縁関係をネットワーク図により検討したところ、二つのクラスターが形成された。このことは、利根川のハクレン集団の mtDNA は、少なくとも 2 つの系統より構成されていることを意味している。したがって、導入元である中国には遺伝的に異なる複数の集団が存在し、これらが利根川に導入され、現在混合されている可能性が考えられる。今後、このことを明らかにするためには、中国の各地域における集団の遺伝的多様性について調査する必要がある。