

阿木川ダム湖に生息する陸封型アユの遺伝的多様性

(独) 国立高専機構 岐阜工業高等専門学校 学生会員 ○大江 悠
同上 正会員 和田 清

1. はじめに

木曽川水系の水資源開発の一環として建設された阿木川ダムは、洪水調節・河川環境の保全等を目的とした多目的ダムである。阿木川ダムは 1991 年に完成し、2004 年までの 14 年間に恵那漁業協同組合によるアユ種苗（琵琶湖産および岐阜県種苗センター）の放流が実施されてきた。その後、放流は中止されたが、阿木川貯砂ダムに設置された魚道では、毎年多量の陸封型アユの遡上が確認されている。この全国的にも珍しい陸封型アユの再生産は閉鎖的な水域のために通常のアユとは異なり遺伝子間交流が行なわれにくく、遺伝的多様性が劣化しやすいといわれている。新たな魚道が設置されるなど生態系保全策が施されているものの、その母集団の遺伝的特性は明らかにされていないのが現状である。

本研究では、世代を越えた移動の過去の履歴から魚類の遺伝的劣化、分化状況が把握できるマイクロサテライト DNA を陸封型アユに適用し、ダム湖集団の予備的な遺伝解析を行う。また、DNA 情報を活用して、世代ごとに対立遺伝子の任意抽出を考慮したヘテロ接合度の変動について簡易的なシミュレーションを行い、数十世代後の集団の存続性を検討する。

2. 現地調査および分析・解析方法

(1) 現地調査： 2012 年 5 月、ダム湖に設置された魚道 2 箇所において稚アユ 90 個体（平均体長 7.62 ± 標準偏差 1.03cm）を採捕した。採取サンプルは、その場で 95%以上のエタノールで固定・冷蔵保管し、尾鰭標本を DNA 分析に使用した。また、岐阜県河川環境研究所で保存されている琵琶湖産アユ 30 個体を比較対象に加えた。なお、水温データロガーを魚道 4 カ所に設置してモニタリングを実施した。

(2) 分析方法： アユのマイクロサテライト領域を含む塩基配列のうち、対立遺伝子数が比較的多く現れるプライマーを 6 遺伝子座に絞り込んで全体の分析を行った。本解析では、サンプル個体からの DNA 抽出に 5mm 四方の尾ヒレ切片を用いた。DNA 抽出には市販キット（Qiagen 製）を利用し、1 個体あたり 2~5 μg の DNA を抽出した。PCR 処理により増幅産物の塩基数の計測は、オートシーケンサーによって電気泳動した。塩基数の決定には、フラグメント解析ソフトを用いて塩基長を用い、得られた塩基数が解析個体の対立遺伝子となる。なお、PCR 処理以降の前処理、本分析は岐阜県河川環境研究所において実施した。

(3) 解析方法： 本研究では、簡便かつ汎用性の高いヘテロ接合度について、各採捕地点の値をプライマー別に算出した。ヘテロ接合度は、遺伝子座におけるヘテロ接合型の遺伝子型頻度に相当し、遺伝子多様度のひとつとして利用され 0~1 の値をとる。ヘテロ接合度には観察値 H_O と期待値 H_E の 2 種類がある。 H_O はすべての個体数 N において、実際にヘテロ接合している個体数 n の割合を式 (1) で算出したものである。一方、 H_E は対立遺伝子 i の頻度 p_i を計算し、式 (2) によって得られる。

$$H_O = \frac{n}{N} \quad \cdots(1) \quad H_E = \frac{2N(1 - \sum p_i^2)}{2N - 1} \quad \cdots(2)$$

H_E はすべての個体の対立遺伝子（2N 個）から、任意に 2 つを抽出した場合のヘテロ接合となる確率に等しい。この確率は集団における個体が偏りなく任意交配しているときの値となる。 H_O と H_E を比較して $H_O \approx H_E$ となる場合、その集団には「Hardy-Weinberg 平衡」にしたがって任意交配が仮定される。

さらに、集団内の世代交代において、繁殖にともない対立遺伝子が任意抽出され遺伝子型によってヘテロ接合度が異なることを考慮し、世代ごとに対立遺伝子の任意抽出を組み込んだ遺伝的多様性予測シミュレーションを行った。基本的な手順は表-1 のようであり¹⁾、個体数、対立遺伝子数を設定し、第 1 世代の個体と対立遺伝子を任意に割振る→乱数の発生→初代の対立遺伝子コピーを置換→第 2 世代の対立遺伝子→数 10

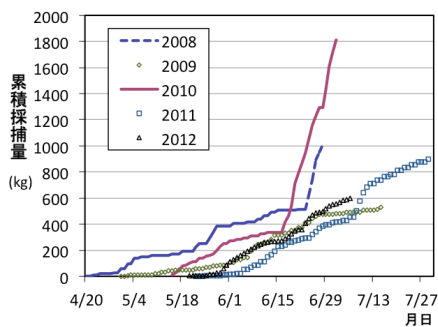


図-1 阿木川魚道における稚アユ採捕量

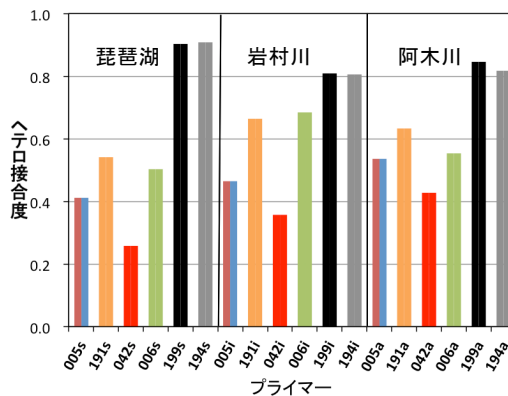


図-2 稚アユ個体群のヘテロ接合度

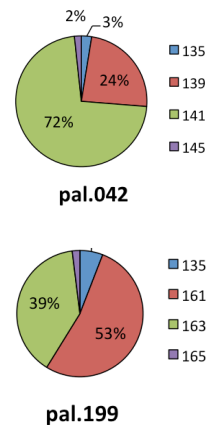


図-3 対立遺伝子数 (阿木川)

対立遺伝子	集団名 (P4N40)		
	A	B	C
a1	20	35	65
a2	20	35	5
a3	20	5	5
a4	20	5	5

- ・ step1: 第1世代の個体→対立遺伝子の割り振り
- ・ step2: 乱数発生→初代の対立遺伝子個体のコピー
- ・ step3: 第2世代の対立遺伝子が得られる
- ・ step4: 同じステップを数十世代まで繰り返す

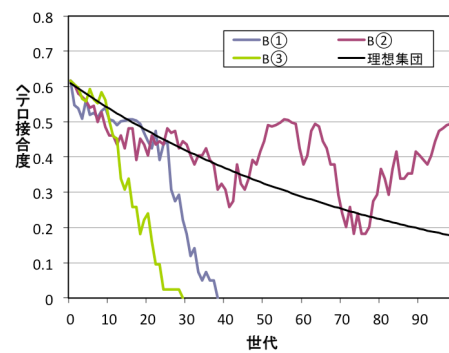
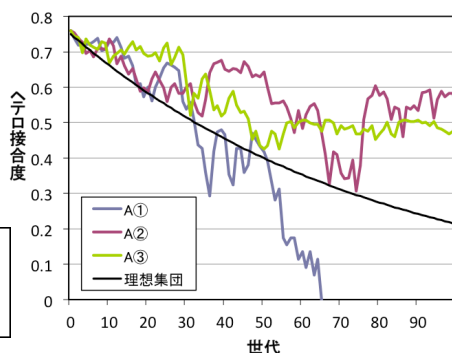


図-4 対立遺伝子を変動したヘテロ接合度の数値結果 (左: A集団, 右: B集団)

世代まで繰り返す。また、交流や変動がないという仮定を用い、対立遺伝子が減少すれば再び増加することはなく減少する。なお、母集団の個体数の推定は容易ではないので採捕数に比例すると考えた。

3. 結果および考察

図-1は阿木川魚道における稚アユの採捕量 (日累積) について過去5年の推移を示したものである。同図から、毎年5～7月にかけて遡上量が増加し、阿木川湖内において陸封型アユの再生産が行われていることが確認できる。図-2は阿木川および岩村川貯留ダム魚道で採捕された稚アユ個体群のヘテロ接合度を6マーカごとに示したものである。同図から、阿木川ダム湖内と琵琶湖の稚アユのヘテロ接合度は類似していることがわかる。一例として、マーカ (042と199) の対立遺伝子数の割合を示したものが図-3である。優占する塩基数がホモ、ヘテロ接合体として出現し、対立遺伝子数の分布に偏りがある場合には、ヘテロ接合度が小さい傾向がある。さらに、集団内の世代交代において対立遺伝子が任意抽出され遺伝子型によってヘテロ接合度が異なることを考慮した遺伝的多様性を予測するために、表-1の対立遺伝子の組合せで試算を行った。

図-4は対立遺伝子が均等に分布するA集団、対立遺伝子の分布に偏りがあるB集団の次世代の存続可能性を示したものである。図中、黒実線は理想集団 (個体数一定、個体移動無し) を示し、世代とともにヘテロ接合度が減少し遺伝的多様性が失われることになる。なお、ヘテロ接合度0は遺伝的に同一化していることを意味している。対立遺伝子の変動 (乱数発生) を考慮した同図から、対立遺伝子が均等に分布するA集団においても対立遺伝子数や個体数が低減する場合には、遺伝的な多様性が低下する可能性がある。また、対立遺伝子の分布に偏りがあるB集団では、A集団よりも早く同一化することがわかる。

4. おわりに

以上、陸封化された阿木川ダム湖内において再生産している稚アユの遺伝的多様性について予備的な分析を行い、阿木川ダム湖内の稚アユのヘテロ接合度は琵琶湖産と類似していることなどが明らかにされた。今後は、分析結果をもとに集団内の世代交代における遺伝的多様性を維持する方策を検討する予定である。

【謝辞】本研究の遂行に際して恵那漁協、岐阜県河川環境研究所、阿木川ダム管理所の協力を得た。最後に記して謝意を表す。

(参考文献) 1) 和田・藤井・小出水・寺町: 土木学会第38回環境システム研究論文発表会講演集, pp.181~186, 2010.10.