

全雌アマゴの遺伝的特性及び産卵生態について

武藤 義範*・原 徹・斉藤 薫

Studies on Ecological Characteristics of All-Female Amago Salmon,
Onchorhynchus masou ishikawae-III

Genetic Characteristics and Spawning Behavior of All-Female Amago Salmon.

Yoshinori MUTO*・Toru HARA・Kaoru SAITO

全雌アマゴの生産には、雌性発生魚をホルモン処理によって作出した性転換雄を使用する方法が効率的である。しかし、この方法によって作出した全雌アマゴは「三倍体魚等の水産生物の利用要領」(平成4年7月2日付け 水産庁長官通達)でバイテク作出魚とされており、その利用には生態環境に与える遺伝的な影響等について調査する必要がある。そこで、当场で作出した全雌アマゴ、作出の母群となった系統及び河川採捕のサツキマスアイソザイム分析し、全雌アマゴの遺伝的な特性について明らかにした。

また、全雌アマゴは二倍体であることから、通常魚と同様に成熟するため、自然界に放流されれば産卵行動に加わる可能性がある。一般にアマゴは雄のほうが成熟が早く¹⁾、またスモルト化率は雌の方が高いことから、産卵行動に参加する雄個体は、河川残留型の満1年で成熟した小型の雄が多く存在すると考えられる。そのため、全雌アマゴと満2年成熟雄及び満1年成熟雄に対する産卵行動について調査を行った。

材料及び方法

1) 遺伝的特性調査

調査は、全雌アマゴ及び作出の母群となった当场飼育のスモルト系アマゴ、さらに木曽・長良の両河川で採捕されたサツキマス供試魚とした。各群の計量形質について第1表に示す。次に、作出経歴を第1図に示す。作出の母群は、木曽川水系の飛騨川で採捕された天然魚から継代飼育されたものである。また、サツキマスは木曽・長良両河川で流し刺し網漁で漁獲されたものであり、木曽川で採捕されたものを木曽川採捕群、長良川で採捕されたものを長良川採捕群とする。

アイソザイム分析には体側筋及び肝臓を使用し、各供試魚は取り上げ直後に分析に供する組織を摘出し、-20℃で凍結保存した。アイソザイム分析は沼知²⁾に従い、

第1表 供試魚の計量形質(遺伝的特性調査)

集 団	平均体長 (cm±SD)	平均体重 (g±SD)	個体数 (尾)
全 雌 ア マ ゴ	16.7±1.22	64.7±15.91	50
スモルト系アマゴ	17.6±1.47	75.5±18.53	50
サツキマス(木曽川採捕群)	32.1±3.46	561.6±204.08	29
サツキマス(長良川採捕群)	33.0±2.45	637.5±131.91	32

水平式デンブengel電気泳動法で行った。また、藤尾³⁾⁴⁾によるサクラマスの分析結果を参考に、肝臓で4酵素5遺伝子座、筋肉で8酵素23遺伝子座について検出を行った。

アイソザイム分析に使用した緩衝液は、C-APM (クエン酸-アミノプロピルモルフォリン緩衝液)である。

2) 産卵生態調査

* 現在 岐阜県農政部郡上土地改良事業所



第1図 供試魚の作出経歴
(供試魚は全雌アマゴ第6代及び平成4年産スモルト系アマゴ)

全雌アマゴの産卵生態について調査するために、水槽内に全雌アマゴと通常魚の成熟雄個体を投入し、その産卵生態について調査を行った。

試験は、FRP製で側面が透明アクリル張りの300ℓ水槽(140×58×48cm)を使用し、底に粒径1cm程度の砂利を10cm厚に敷き詰め、水温が約13℃の井戸水を使用して流水式で管理した。雌は満2年になる全雌アマゴから完熟個体を選別して使用した。また、雄は通常魚(当场飼育のスモルト系アマゴ)から満2年、満1年の完熟個体を選別して供試した。試験水槽には満2年雄の場合には1尾、満1年雄の場合には2尾投入した。各試験区を満2年雄区、満1年雄区とし、各試験区の供試魚の計量形質について第2表に示す。また、産卵行動の名称については、北海道立水産孵化場の報告⁵⁾を参考にした。

第2表 供試魚の計量形質(産卵生態)

試験区	全雌アマゴ		雄	
	体重(g)	被鱗体長(cm)	体重(g)	被鱗体長(cm)
満2年雄区	378.0	26.1	425.5	28.8
満1年雄区	504.0	32.8	70.0	18.0
			55.3	16.6

産卵確認後は、産卵床に生み付けられた卵を翌型孵化槽に收容して孵化まで管理し、受精していることを確認した。

結果及び考察

1) 遺伝的特性調査

各群のアイソザイム分析結果より得られた、遺伝子頻度を第3表に示す。全雌アマゴ及びスモルト系アマゴではGpi-3、Idh-3,4、Ldh-1,2、Mdh-1、Odh、Pgm-3の6酵素8遺伝子座で多型が検出された。サツキマスの木曽川採捕群ではGpi-3、Idh-3,4、Ldh-1,2、Mdh-1、Me-2、Pgm-1、Pgm-3の6酵素9遺伝子座に多型が検出され、長良川採捕群では、Gpi-3、Idh-3,4、Ldh-1,2、Mdh-1、Pgm-3の5酵素7遺伝子座に多型が検出された。各群の遺伝子頻度について、藤尾⁶⁾に従い χ^2 -検定を行って比較したところ、全雌アマゴとスモルト系アマゴでは、どの遺伝子座においても有意差は認められなかった。一方、全雌アマゴとサツキマスの木曽川採捕群と比較するとIdh-3,4、Pgm-3で5%水準で有意差が認められ、長良川採捕群とではIdh-3,4、Gpi-3で5%水準で有意差が認められた。全雌アマゴはサツキマス2群と比較して少なくとも1遺伝子座以上で頻度に有意差が認められたことから、遺伝的に独立していると考えられた。しかし、作出の母群であるスモルト系アマゴとでは頻度に有意差の認められた遺伝子座がなく、全雌化によって遺伝的に変化した形跡はないと推察された。また、各群において多型が認められた遺伝子座(Idh-3,4、Ldh-1,2を除く)について藤尾⁶⁾に従い χ^2 -検定を行った結果を第4表に示した。いずれの遺伝子座においてもHardy・Weinbergの法則からのずれは認められず、各群は正常なメンデル集団であると考えられた。

次に、各群の平均ヘテロ接合体率の観察値(Ho)及び理論値(He)について第5表に示す。算出に用いた遺伝子座は、Idh-3,4、Ldh-1,2を除く10酵素24遺伝子座である。平均ヘテロ接合体率の観察値と理論値の比(Ho/He)は1よりも低ければホモ過剰の傾向を示し、1

第3表 全雌アマゴ、スモルト系アマゴ、サツキマスの遺伝子頻度

酵 素	遺伝子座	対立遺伝子	組織*	全雌アマゴ	スモルト系アマゴ	サツキマス	
						木曽川採捕群	長良川採捕群
α GPD	α Gpd-1	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	α Gpd-2	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	α Gpd-3	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	α Gpd-4	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
GPI	Gpi-1	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	Gpi-2	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	Gpi-3	A	M	0.340	0.300	0.241	0.203
		B	M	0.660	0.700	0.759	0.797
	Gpi-4	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
IDH	Idh-1	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	Idh-2	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	Idh-3,4	A	L	0.720	0.690	0.621	0.602
		B	L	0.280	0.310	0.371	0.398
		C	L	0	0	0.008	0
LDH	Ldh-1,2	A	M	0.355	0.355	0.138	0.109
		B	M	0.645	0.645	0.862	0.891
	Ldh-3	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	Ldh-4	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	MDH	Mdg-1	A	M	0.130	0.080	0.103
B			M	0.870	0.920	0.897	0.921
C			M	0	0	0	0.016
Mdh-2		A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
Mdh-3		A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
Mdh-4		A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
ME		Me-1	A	M	1.000	1.000	1.000
	Me-2	A	M	0	0	0.017	0
		B	M	1.000	1.000	0.983	1.000
		Me-3	A	M	1.000	1.000	1.000
ODH	Odh	A	L	0.020	0.040	0	0
		B	L	0.980	0.960	1.000	1.000
6 PGD	6Pgd	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
PGM	Pgm-1	A	L	1.000	1.000	0.914	1.000
		B	L	0	0	0.086	0
	Pgm-2	A	M	1.000	1.000	1.000	1.000
	Pgm-3	A	M	0.940	0.970	0.776	0.844
		B	M	0.060	0.030	0.190	0.156
		C	M	0	0	0.034	0
SOD	Sod	A	L	1.000	1.000	1.000	1.000
個 体 数				50	50	29	32

* M: 筋肉 L: 肝臓

第4表 各群で多型が検出された遺伝子座における χ^2 値

遺伝子座	全雌アマゴ	スモルト系 アマゴ	サツキマス	
			木曽川採捕群	長良川採捕群
<i>Gpi-3</i>	0.019	1.020	2.942	0.122
<i>Mdh-1</i>	1.116	0.378	0.389	2.059
<i>Me-2</i>	—	—	0.009	—
<i>Odh</i>	0.040	1.042	—	—
<i>Pgm-1</i>	—	—	3.435	—
<i>Pgm-3</i>	0.268	0.048	0.590	2.678

第5表 各群の平均ヘテロ接合体率の観察値(H_o)と理論値(H_e)

集 団	H_o	H_e	H_o/H_e
全 雌 ア マ ゴ	0.0328	0.0331	0.9909
ス モ ル ト 系 ア マ ゴ	0.0272	0.0281	0.9680
サツキマス(木曽川採捕群)	0.0483	0.0441	1.0952
サツキマス(長良川採捕群)	0.0275	0.0294	0.9354

よりも高ければヘテロ過剰の傾向を示す。ホモ過剰の現象は、最も単純には遺伝子頻度が全く異なった2集団が混在していれば生じる。また、ヘテロ過剰はヘテロ接合体の適応度がホモ接合体より高い場合等に生じることが知られている²⁾。サツキマスについては、近年、その資源増殖を目的とした銀毛アマゴ(スモルト型アマゴ)の放流が行われており、岐阜県内でも毎年、30,000~40,000尾の銀毛アマゴが放流されている⁷⁾。さらに、上流でもアマゴの成魚及び稚魚放流が行われており、木曽・長良の両河川で採捕されたサツキマスにはこれら養殖種苗と天然魚が混在していると考えられる。今回検出を行った遺伝子座では、木曽・長良両河川採捕群の H_o/H_e はホモ過剰又はヘテロ過剰の傾向は認められず、両河川では放流により遺伝的に大きく異なった2集団以上の群が混合している可能性は低いと考えられた。また、全雌アマゴ及びスモルト系アマゴの H_o/H_e でも、ホモ過剰、ヘテロ過剰の傾向は認められなかった。

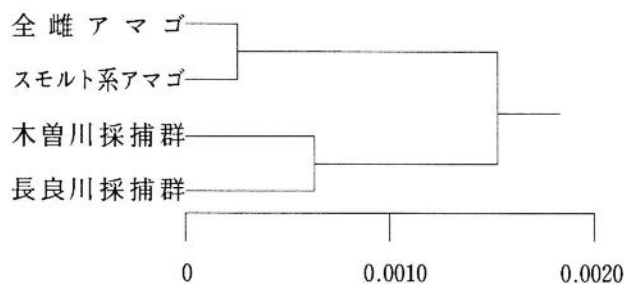
本調査の結果では平均ヘテロ接合体率(H_e)の最大値は木曽川採捕群の0.0441で、最小値はスモルト系アマゴの0.0281であった。養殖集団である全雌アマゴとスモルト系アマゴの H_e の平均は0.0306で、サツキマスの木曽・長良両河川採捕群の平均は0.0368と、養殖集団の方が河川採捕群に比べ低い値を示した。Okazaki⁸⁾によれば、サクラマスの天然河川集団における平均ヘテロ接

合体率は0.041~0.071で、平均0.052、藤尾⁴⁾によれば、サクラマス類(アマゴを含む)の養殖集団では0.023~0.074で、平均0.050であると報告されており、本調査の結果はこれらの結果に比べやや低い値であったが、全雌アマゴ及びスモルト系アマゴの両養殖集団の平均ヘテロ接合体率は、サクラマス養殖集団の範囲に含まれており、遺伝的にはそれほど変異水準が低下した集団ではないことが示唆された。また、全雌アマゴの平均ヘテロ接合体率はスモルト系アマゴよりやや高い値を示しており、全雌化によって変異水準が低下する傾向は認められなかった。また、河川採捕のサツキマスの平均ヘテロ接合体率は、サクラマス天然集団のものと比較して低い傾向が認められたが、毎年大量の銀毛アマゴの放流が行われており、これら養殖種苗の影響により群としての変異水準が低下した可能性がある。

各群のNeiの遺伝的距離⁹⁾を第6表に、また遺伝的距離から作成したデンドログラムを第2図に示す。遺伝的距離を算出するのに用いた遺伝子座は、*Idh-3,4*、*Ldh-1,2*を除く10酵素24遺伝子座である。Neiの遺伝的距離からでは、0.01で地方品種レベルの遺伝的分化が生じていることを示している。全雌アマゴとスモルト系アマゴの遺伝的距離は0.000229であり地方品種レベルの距離のおよそ1/44の値でしかなく、遺伝的にほとんど分化していないと考えられた。Okazaki⁹⁾によれば、天然サクラマスのアイソザイム分析結果から算出した、各河川間の遺伝的距離は0.0003から0.0091であり、平均で0.0028で

第6表 Neiの遺伝的距離

集 団	全雌アマゴ	スモルト系 アマゴ	木 曽 川 採 捕 群
スモルト系アマゴ	0.000229	—	—
木曽川採捕群	0.001768	0.001934	—
長良川採捕群	0.001274	0.001167	0.000567

第2図 各群の遺伝的類縁関係(*Idh-3,4*、*Ldh-1,2*を除く24遺伝子座から算出)

あると報告されており、また藤尾⁴⁾によれば、サクラマス養殖集団間の遺伝的距離の平均は、0.0050であると報告されている。全雌アマゴ及びスモルト系アマゴと、河川採捕のサツキマスとの遺伝的距離は0.001562であり、天然サクラマスの河川間の遺伝的距離に近い値であり、河川採捕のサツキマスと比べ全雌アマゴ及びスモルト系アマゴはやや遺伝的に差異があると考えられた。また、サツキマスの木曽・長良の両河川採捕群の間の遺伝距離は0.000567であることから河川系群の存在は認められなかったが、サンプル数が少なく、放流魚が影響している可能性もあるため、断定はできない。

以上の結果から、当場の全雌アマゴは河川採捕のサツキマスと平均ヘテロ接合体率(He)は大差なく、遺伝的距離もそれほど離れていないと考えられたが、全雌アマゴと河川採捕のサツキマスの間では、いくつかの遺伝子頻度に有意差が認められたことから、長期間継代することにより遺伝的にやや変化した可能性が認められた。しかし、全雌アマゴと作出母群とでは、遺伝的距離から非常に近い存在であることが認められた。また、本調査で検出を行った全ての遺伝子頻度で有意差が認められなかったことから、全雌化することでは、遺伝的变化はほとんど生じないと考えられた。

2) 産卵生態調査

満2年雄区、満1年雄区の産卵行動を観察した結果を以下に示す。

①満2年雄区

1994/10/20 15:00 全雌アマゴ完熟個体と通常魚の満2年成熟雄個体を各1尾ずつ、水槽に収容した。

16:30 雄が水槽中央の底層に定位し、雌が水槽の排水部付近の表層で定位していた。産卵行動らしき行動は観察されなかった。

17:30 位置関係に変化はなく、産卵行動は観察されなかった。

夜間欠測

10/21 8:30 既に底面の砂利が深く掘られており、産卵床が形成されていた。雌は産卵床上に位置しており、頻繁にディギング^{*1}を行っているのが観察された。雄は雌の斜め後方に位置しており、雌のディギングの合間に、クイバリング^{*2}を盛んに行っていた。また、時々大きく口を開き“あくび”の様な行動を示した。

9:30 雌はディギングを、雄はクイバリングを頻繁に行っているのが観察された。

10:30 雌が時々、ディギングを行うのが観察されたが、雄は後方に定位し、産卵行動は示さなかった。

11:30~13:30 産卵行動は観察されなかった。

14:30 低頻度ではあるが、雌が再びディギングを始めた。雄もクイバリングを時折行っているのが観察された。

15:30 雌は排水部付近で中層から表層を行き来しており、雄は水槽中央の産卵床上に定位し、産卵行動は観察されなかった。

16:30 産卵行動は観察されなかった。

17:30 雌はディギングを、雄はクイバリングを盛んに行っているのが観察された。

18:30 雌は産卵床中央に、雄はやや後方に位置し、頻繁にディギングとクイバリングを行っていた。雌の体色が著しく黒化している様子が認められた。

19:30 雌のディギングの頻度が低下し、水槽の表層へ移行する様子が観察されたが、雄の追尾行動^{*3}により産卵床へ呼び戻されると時々ディギングを行った。雄は雌が産卵床に戻るとクイバリングを頻繁に行った。

夜間欠測

* 1 ; ディギング : 産卵床を掘る行動。本調査では雌のみに見られた。

* 2 ; クイバリング : 雌に寄り添い、体を小刻みに震わせる行動。産卵誘発行動と考えられる。

* 3 ; 雄の追尾行動 : 遊泳している雌をゆっくりと後方から追い掛ける雄の求愛行動

* 4 ; クロウチ : 雌が卵を生み落とすための産室を尻鰭で確認する行動。

- 10/22 7:30 産卵はまだ行われていなかった。
産卵行動も観察されなかった。
- 8:30～10:30 雄は産卵床に定位しており、産卵行動は行わなかった。雌は排水部付近の表層に定位しており、時々産卵床に戻り、ディギングを行っているのが観察された。
- 11:30～12:30 雄は産卵床に定位しており、雌は排水部付近の表層に定位していたが、産卵行動は確認されなかった。
- 13:30 雌雄共に産卵床に定位し、盛んにディギングとクイバリングを繰り返した。また、雌が時々クロウチ¹⁾を行っているのも確認された。
- 14:30～19:30 雄は産卵床に定位し、雌は産卵床と排水部付近の表層を往復しているが、産卵行動は観察されなかった。
- 20:30 雌雄共に産卵床に定位し、雌はディギングとクロウチを盛んに行い、雄は雌に寄り添いクイバリングを行っていた。また、時々雌が表層へ移動すると追尾行動により雌を産卵床へ誘導するのが観察された。
- 21:30 雄は産卵床に、雌は排水部付近の表層に定位し、産卵行動は観察されなかった。

夜間欠測

- 10/28 8:30 雌の腹部が縮小していたことから産卵が行われたことが判明。雄は既に斃死していたが死因は不明。雌は開腹したところ、腹部に50粒の卵が残留していた。

②満1年雄区

- 1994/11/2 16:00 全雌アマゴの完熟個体1尾と、通常魚満1年成熟雄2尾を水槽に収容。
- 17:30 全個体、水槽内の環境に落ち着きを取り戻していたが、産卵行動は観察されなかった。

夜間欠測

- 11/3 8:30 既に産卵床が掘られていたが、

産卵行動は確認されなかった。

- 9:30～11:30 雌がディギングを行うのは観察されたが、雄の行動はなく、どちらの個体とペアリングしているのか不明であった。

- 12:30 雌が頻繁にディギングとクロウチを行っているのが確認された。雄は両者とも雌がクロウチしていると、寄り添いクイバリングを行っているのが観察された。

- 13:30～17:30 雌が時々ディギングを行う他には、産卵行動は観察されなかった。

夜間欠測

- 11/4 8:30 雌が頻繁にディギングとクロウチを行っているのが観察された。雄は大きい方の個体が、雌の斜め後方に定位しており、時々クイバリングしているのが観察された。小さい方の個体は、注水付近の石陰に定位しており、動きはなかったため、大きい方の個体がペアリングしたものと考えられた。

- 9:30 雌は頻繁にディギングとクロウチを繰り返し行っていた。小さい方の雄は水槽中の石陰に定位しており、大きい方の雄は雌がクロウチしていると、寄り添ってクイバリングを行っているのが観察された。

- 10:30 既に産卵は行われていた。雌の腹部には302粒の卵が残っていた。また、雄は両方とも生残していたが開腹したところ、両者とも放精した形跡が認められた。

以上の結果、全雌アマゴは満2年雄、満1年雄両方で産卵行動を行うことが確認された。また、この水槽内での産卵行動は、白石ら¹⁰⁾によって報告されている天然アマゴの産卵行動と類似しており、通常魚のものと大差ないと考えられた。産卵については直接確認できなかったため、産卵床から卵を取り出して管理したところ、満2年雄区、満1年雄区共に浮上個体が確認され、受精していたことが証明された。

要 約

1. 全雌アマゴの遺伝的特性について明らかにするために、スモルト系アマゴ及び木曽・長良両河川で採捕されたサツキマスと共に、アイソザイム分析を行った。アイソザイム分析は肝臓で4酵素5遺伝子座、筋肉で8酵素23遺伝子座について検出を行った。
2. アイソザイム分析を行った結果、全雌アマゴとサツキマスの間では有意差の認められる遺伝子座もあり、遺伝的に差異のある可能性が示唆された。しかし、スモルト系アマゴとの比較では多型の認められた全ての遺伝子座で有意差は認められず、全雌化による変化はないと考えられた。
3. 全雌アマゴの平均ヘテロ接合体率は木曽川採捕のサツキマスに比べやや低い値を示したが、作出の基となった系統であるスモルト系アマゴに比べ高い値を示しており、全雌化によって変異水準が低下する傾向はないと考えられた。また、平均ヘテロ接合体率の観察値と理論値の比は各群とも1に近い値を示しており、さらに χ^2 -検定の結果からもこれら4系統については、Hardy・Weinberg平衡からずれていないと考えられた。サツキマスについては銀毛アマゴなどの放流により天然魚と養殖魚が混在していると考えられたが、平均ヘテロ接合体率の観察値と理論値の結果から、遺伝的に著しく異なったアマゴは放流されていないと考えられた。
4. Neiの遺伝的距離を求めた結果、全雌アマゴはその作出の基になった系統であるスモルト系アマゴから大きく分化しておらず、全雌化の影響はないと考えられた。しかし、木曽・長良両河川で採捕されたサツキマスと比較すると、遺伝的にやや差異が認められた。
5. 全雌アマゴの産卵生態について調査を行うため、水槽中に全雌アマゴ及び通常魚の雄（満1年雄及び満2年雄）成熟個体を収容し観察を行った。
6. 満1年雄及び、満2年雄に対する全雌アマゴの産卵行動には差は見られなかった。さらに、産卵された卵を取り出して孵化槽内で管理したところ、両試験区で得られた卵は、どちらも受精していることが確認された。

文 献

- 1) 森川進,1972;アマゴ満1年魚の成熟期における死亡について,本誌, 17, 55-59.
- 2) 沼知健一,1989;アイソザイム分析による海洋生物集団の識別, 昭和61~63年度海洋生物集団の識別等に関する先導的評価手法の開発事業報告書, アイソザイムによる魚介類の集団解析, 社団法人日本水産資源保護協会, 28-47.
- 3) 藤尾芳久・中嶋正道,1989;昭和61~63年度海洋生物集団の識別等に関する先導的評価手法の開発事業報告書, アイソザイムによる魚介類の集団解析, 社団法人日本水産資源保護協会, 97-100.
- 4) 藤尾芳久・中嶋正道,1989;サクラマス類の遺伝的類縁関係, 昭和61~63年度海洋生物集団の識別等に関する先導的評価手法の開発事業報告書, アイソザイムによる魚介類の集団解析, 社団法人日本水産資源保護協会, 306-321.
- 5) 北海道立水産孵化場,1994;全雌三倍体サクラマス環境特性評価試験, 平成4年度水産バイオテクノロジー基盤整備事業報告書, 社団法人日本水産資源保護協会, 93-114.
- 6) 藤尾芳久,1986;アイソザイム分析手法による魚介類の遺伝的特性の解明に関する研究, 農林水産業特別試験研究費補助金による研究報告, 1-58.
- 7) 岐阜県農政部水産振興課,1994;水産業の概要, 岐阜県の水産業, 1-12.
- 8) Okazaki,T.,1984;Genetic Variation and population structur in masou salmon, *Oncorhynchus masou* of Japan. Bull.Japan. Soc. Sci.Fish.,52,1365-1376.
- 9) Nei,M.,1975;Molecular Population Genetics and Evolution,North-Holland, Amsterdam, 288.
- 10) 白石芳一・鈴木喜三郎・玉田五郎,1957;三重県馬野川のアマゴに関する研究, 第二報, 産卵習性に関する研究, 水産庁淡水区水産研究所, 1-17.