バラタナゴ,*Rhodeus ocellatus*, の2亜種間における雑種化について

加納義彦

はじめに

琵琶湖、淀川水系において、在来種であるニッポンバラタナゴ, *Rhodeus ocellatus smithi*, と帰化種のタイリクバラタナゴ, *Rhodeus ocellatus ocellatus*, の間で雑種化が進み、ニッポンバラタナゴは八尾市溜池群と四国、九州の一部のみに生息するだけとなった。八尾市溜池群においても、1975年に西山と長田(1978)、紀平(1978)によって腹鰭前縁に白線をもつ個体が確認された。上野(1987)は、ニッポンバラタナゴの遺伝的性質に関する報告において、分子型多型をもつLDH、6PGDアイソザイムの分析は両バラタナゴの判定に利用できることを示した。この方法を用いて、八尾市溜池Cの個体群を調べたところ、1986年から1989年の間にわずかではあるが、タイリクバラタナゴの特有の遺伝子頻度が増加している傾向が見られた。一般に、閉鎖された個体群の遺伝子頻度が変動する要因は、1)遺伝子頻度の機会的浮動、2)自然選択、3)突然変異によるものとされている。現在のところ、この二亜種間の繁殖率や生存率の差異はまったく明らかにされていない。また、集団遺伝学的には、集団中のほとんどの分子型多型(アイソザイム)は、淘汰がまったくないか、ほとんどない中立突然変異によって生じたとされている(木村 1968)。そこで、この報告書では、遺伝子頻度の変動の要因を解析するために次の実験を行い、その結果をまとめた。1)LDHと6PGDの遺伝子頻度をアイソザイム分析によって求める。2)分子型多型をもつ2酵素と繁殖率に影響を与えると考えられる形質(体長)との相関を求める。3)体長の違いによって繁殖率が変わるかどうかを確かめる。

方　法

１、八尾市溜池における遺伝子頻度の推移

1994年8月に八尾市溜池Ａ、ＢおよびＣの個体群について、分子型多型をもつLDH、6PGDの遺伝子頻度を調べた。八尾市溜池Ａから40尾、溜池Ｂから23尾および溜池Ｃから98尾のバラタナゴを採集し、それぞれの体長と体高を0.1mmのレベルで測定した。その後、鰭の一部を切り取りアイソザイム分析の試料とした。アイソザイム分析法は、水平式デンプンゲル電気泳動法を用い、試料の展開と染色方法はShaw & Prasad（1970）に準じ、LDHと6PGDの緩衝液はClayton & Tretia（1972）を修正して用いた。

２、八尾市溜池Ｃにおけるバラタナゴの繁殖行動と産卵形態

1994年6月および7月に、溜池Ｃにおいてバラタナゴの繁殖行動を観察した。7月14日に、溜池の縁から観察しやすい位置にドブガイを配置し、水中ビデオカメラを用いて繁殖行動を撮影した。また、産卵形態の出現頻度を池の縁から観察し記録した。

３、雄の繁殖率とサイズ依存について

1994年の6月から7月に、雄の繁殖率がサイズ依存的かどうかを調べるために、水槽実験を行った。特に、7月12日には、ドブガイ５個体を配置した水槽（50cm×50cm×20cm）に、雄６尾と成熟卵を保有している雌３尾をいれ、テリトリーの形成過程や繁殖行動の頻度を記録した。

４、移植池における調査

1994年10月に、八尾市溜池Ｂから関東の保護池に移植した個体群の繁殖状態や形質を調査した。

結　果

１、八尾市溜池における遺伝子頻度の推移

八尾市溜池Ａ、ＢおよびＣの個体群について、LDHと6PGDのアイソザイム分析を行った結果、溜池ＡおよびＢでは、LDH、6PGDともにニッポンバラタナゴの表現型（RS）のみが出現した。しかし、溜池Ｃでは、ニッポンバラタナゴ型とタイリクバラタナゴ型（RO）および雑種型（H）の表現型が両アイソザイムにおいて出現した（表１）。

表１．パラタナゴにおけるＬＤＨと６ＰＧＤのアイソザイムパターン出現頻度

		LDH			6PGD		
採集場所	年	RS	H	RO	RS	H	RO
淀川わんど	1986	0 (0)	7 (26)	20 (74)	0 (0)	5 (25)	15 (75)
八尾市溜池Ａ	1986	15 (100)	0 (0)	0 (0)	15 (100)	0 (0)	0 (0)
	1994	40 (100)	0 (0)	0 (0)	40 (100)	0 (0)	0 (0)
八尾市溜池Ｂ	1994	23 (100)	0 (0)	0 (0)	23 (100)	0 (0)	0 (0)
八尾市溜池Ｃ	1986	4 (13)	14 (45)	13 (42)	10 (32)	15 (48)	6 (19)
	1988	5 (10)	25 (48)	22 (42)	14 (27)	21 (40)	17 (33)
	1989	14 (11)	56 (46)	53 (43)	22 (18)	64 (52)	39 (32)
	1994	4 (4)	44 (45)	50 (51)	22 (22)	44 (45)	32 (33)

上段は個体数を、（　）は出現率（％）を示す。
ＲＳ：ニッポンバラタナゴ型
ＲＯ：タイリクバラタナゴ型
Ｈ　：雑種型

つぎに、八尾市溜池ＣにおけるLDH、6PGDの遺伝子頻度の推移を示した（表２）。LDHについて、1986年:a(ROの遺伝子)=0.6452,b(RSの遺伝子)=0.3548;1988年:a=0.6635,b=0.3365;1989年:a=0.6585,b=0.3415;1994年:a=0.7347,b=0.2653となり、6PGDについて、1986年:d(RO遺伝子)=0.4355,e(RSの遺伝子)=0.5645;1988年:d=0.5288,e=0.4712;1989年:d=0.5772,e=0.4228;1994年:d=0.5510,e=0.4490となり、ややタイリクバラタナゴの遺伝子頻度が増加する傾向を示した。しかし、もっとも遺伝子頻度の差が大きい1986年と1994年とを比較したが、その遺伝子頻度の差は有意ではなかった。(LDH:x^2=3.361,df=2,P>0.1;6PGD:x^2=2.388,df=2,P>0.1)。また、それぞれの世代間でも任意交配を行っていない証拠は見られなかった（x^2検定、,df=1, all P>0.1)。

２、八尾市溜池Ｂのニッポンバラタナゴ個体群と八尾市溜池Ｃの雑種化した個体群の形態比較

八尾市溜池Ｃの雑種個体群の平均体長（♂:$\bar{X}$±SD=45.7±6.8mm,N=46;♀:45.5±

4.0mm,N=36）は雌雄ともに八尾市溜池Bのニッポンバラタナゴ個体群の体長（♂38.9±2.3mm,N=11;♀:36.8±3.0mm,N=12）より有意に大きい（t検定、♂:t=3.228,P>0.01;♀:t=6.921,P>0.001)。しかし、10年前にB池から関東の大きな人工池に移住させたニッポンバラタナゴの個体群の体長（39.9±3.0mm,N=6）は、B池の個体群と比較しても有意差はなかった（t=0.7567, P>0.1)。雑種個体群の体高比（♂:Y=0.5141X-4.323,r=0.9673;♀:Y=0.4024X-1.712,r=0.8415）は、ニッポンバラタナゴの体高比（♂:Y=0.4024X-0.4755,r=0.6107;♀:Y=0.3118X＋2.132,r=0.8472）よりも大きい傾向を示した（図1 a,b)。つまり、タイリクバラタナゴとの雑種はニッポンバラタナゴより大型で円形であると言える。

表2．八尾市溜池Cにおける2種類のアイソザイムの遺伝子座の表現頻度とハーディー・ワインベルグ平衡

遺伝子座	年	遺伝子頻度	表現型	観察値	期待値	結果
LDH	1986	a:0.6452	AA	13	12.90	χ^2=0.0059
		b:0.3548	AB	14	14.19	P>0.9
			BB	4	3.90	
	1988	a:0.6635	AA	22	22.89	χ^2=0.2946
		b:0.3365	AB	25	23.29	P>0.5
			BB	5	5.89	
	1989	a:0.6585	AA	53	53.34	χ^2=0.0186
		b:0.3415	AB	56	55.32	P>0.8
			BB	14	14.34	
	1994	a:0.7347	AA	50	52.90	χ^2=2.258
		b:0.2653	AB	44	38.20	P>0.1
			BB	4	6.90	
6PGD	1986	d:0.4355	DD	6	5.88	χ^2=0.0077
		e:0.5645	DE	15	15.24	P>0.9
			EE	10	9.88	
	1988	d:0.5288	DD	17	14.54	χ^2=1.8663
		e:0.4712	DE	21	25.91	P>0.1
			EE	14	11.55	
	1989	d:0.5772	DD	39	40.98	χ^2=0.5384
		e:0.4228	DE	64	60.03	P>0.3
			EE	22	21.99	
	1994	d:0.5510	DD	32	29.75	χ^2=0.6780
		e:0.4490	DE	44	48.51	P>0.3
			EE	22	19.76	

LDH　；　a:ニッポンバラタナゴの遺伝子　b:タイリクバラタナゴの遺伝子
6PGD；　d:ニッポンバラタナゴの遺伝子　e:タイリクバラタナゴの遺伝子

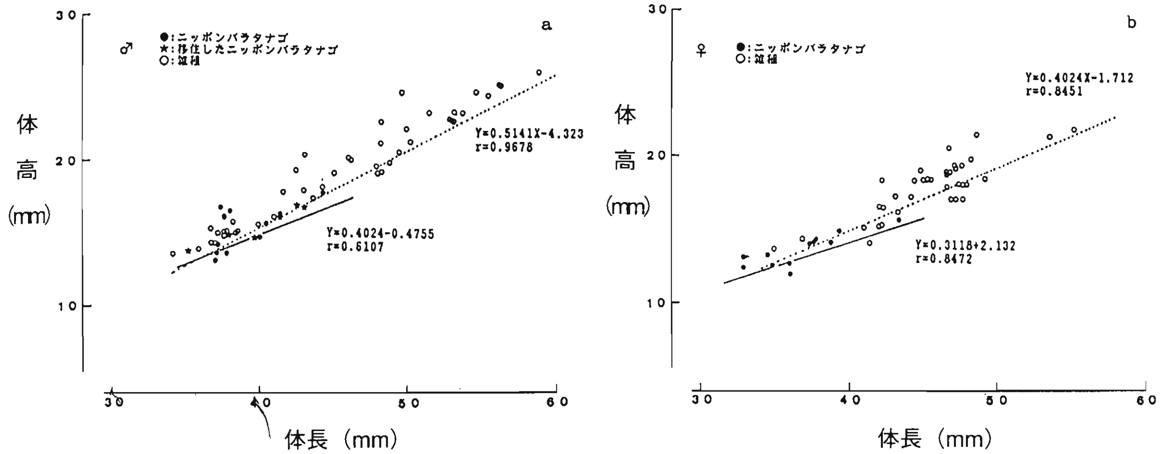


図１．八尾市溜池Ｂのニッポンバラタナゴ個体群と溜池Ｃの雑種個体群における体長と体高の相関関係。(a)雄の相関関係を(b)雌の相関関係を示す。

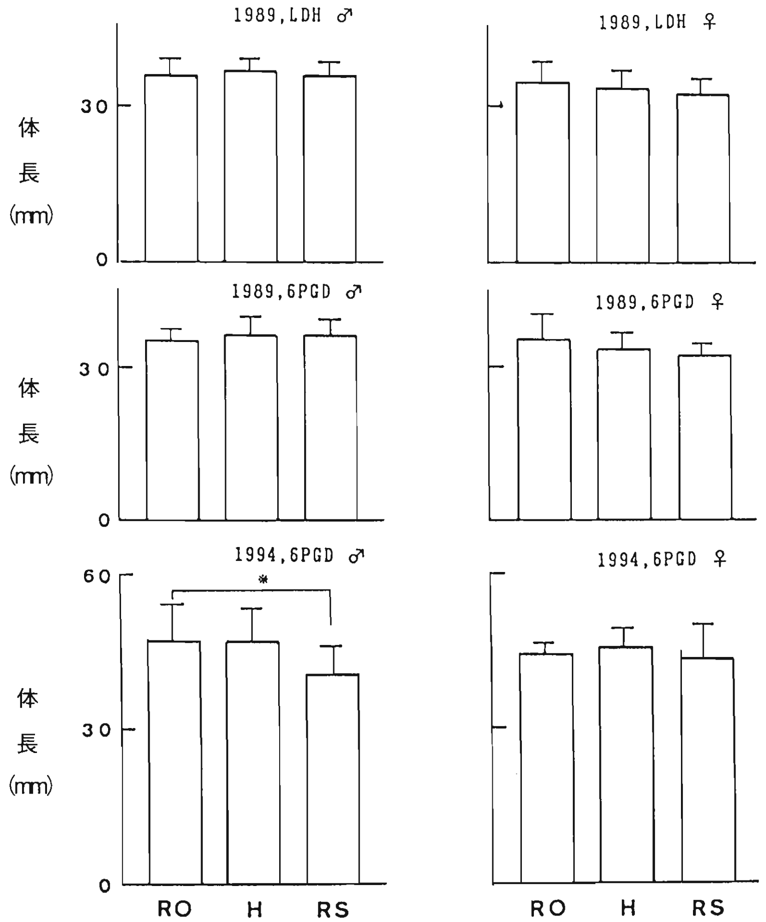


図２．ＬＤＨ、６ＰＧＤのアイソザイムにおける表現型と体長との関係
1994年の雄の６ＰＧＤ表現型において、ＲＯ（タイリクバラタナゴ型）の体長はＲＳ（ニッポンバラタナゴ型）の体長よりも有意に大きかった（＊；ｔ検定、P<0.05）。その他すべての関係において、有意義を示さなかった（ｔ検定、all P>0.05）。

3、バラタナゴの体長とLDH、6PGDアイソザイムとの相関について

もし体長差が繁殖率に影響し、加えてLDHおよび6PGDアイソザイムの表現型と体長との間に相関があるとすれば、LDHや6PGDの遺伝子頻度をシフトさせる要因として自然選択圧を考慮しなければならない。そこで、LDHおよび6PGDのアイソザイムのそれぞれについて、表現型の違いによって有意な体長差があるかどうか検定した（図2）。1989年については、雌雄のLDH、6PGDともにRO型とRS型の間で有意差はなかった（t検定，LDH;♂:t=0.2081,P>0.1,♀:t=1.174,P>0.1,6PGD;♂:t=1.455,P>0.1,♀:t=1.551,P>0.1）。しかし1994年の個体群では、雄の6PGDにおいてRO型を示した個体の平均体長はRS型よりも有意に大きかった（♂:t=3.058,P<0.05）。他の場合は有意差を示さなかった。

4、雄の体長と産卵形態について

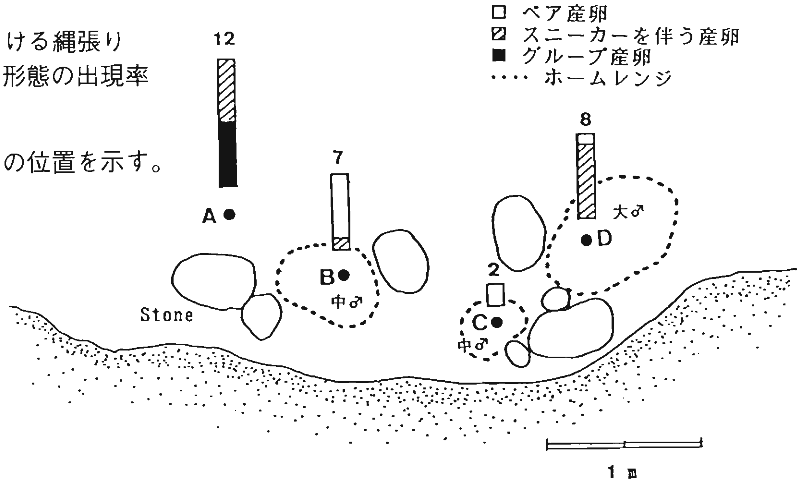
1994年7月14日に、雄の繁殖率にもっとも影響を与えると考えられる形質（体長）と産卵形態の関係について野外観察を行った。その結果、29回の産卵のうち、ペア産卵（縄張り雄と雌のみ）が9回（31.0%）、ペアにスニーカー雄（侵入雄）が加わった産卵が14回（48.3%）、グループ産卵（テリトリーが崩壊した集団の産卵）が6回（20.7%）観察された（図3、表3）。ペア産卵をもっとも多く行った貝Bの雄は中型の雄であり、貝Dの大型の雄のテリトリーには頻繁に小型のスニーカー雄が侵入し、ペア産卵は一度しか観察されなかった。

表3．1994年7月14日に八尾市溜池で観察された産卵形態の出現率

総産卵回数	ペア産卵回数	スニーカーを伴う産卵回数	グループ産卵回数
29	9 (31.0%)	14 (48.3%)	6 (20.7%)

図3．八尾市溜池Cにおける縄張り雄の大きさと産卵形態の出現率

A～Dの●印はドブガイの位置を示す。



5、水槽実験における雄の体長と繁殖率との関係について

闘争的にもっとも優位な雄5♂の体長（56.2mm）はもっとも大きく、観察開始75分後にもっとも大きいテリトリーを形成した。他にも貝Aに3♂（39.0mm）、貝Dに4♂（44.5mm）がテリトリーを形成した（図4）。しかし、これらのテリトリーは個体間の相互作用によって常に変動し、4時間後には一時的ではあるが、すべてのテリトリーが崩壊してしまった。また、テリトリーの占有の有無に伴って雄間の優劣関係も変化した。特に、2番目に大きい雄12雄♂（44.9mm）は、観察の初期にテリトリーを形成したが、5♂との闘争に負けテリトリーを放棄し、その結果、順位も低下した。産卵成功度（雌を産卵させた回数）は5♂が3回、12♂が2回、4♂が2回、2♂が3回、3♂が2回、6♂が0回で、体長と産卵成功度の間に有意な相関は見られなかった（表4；Kendallの順位相関tau=0.4667,P>0.1）。さらに、この産卵成功度は直接的には受精成功率や繁殖率とは繋がらない。何故ならば、5♂や4♂の産卵に小型の3♂や6♂が侵入者として参加しているため、受精成功率は小型雄が上記の値よりも高くなる可能性があるからである。

表4．5時間の水槽実験における放精回数と繁殖率

	体長(mm)	産卵成功度（雌を産卵させた回数）	なわばり雄としての放精回数	スニーカーとしての放精回数
5♂	56.2	3	7	0
12♂	44.9	2	9	5
4♂	44.5	2	6	2
2♂	43.9	3	7	1
3♂	39.0	2	5	4
6♂	35.5	0	2	2

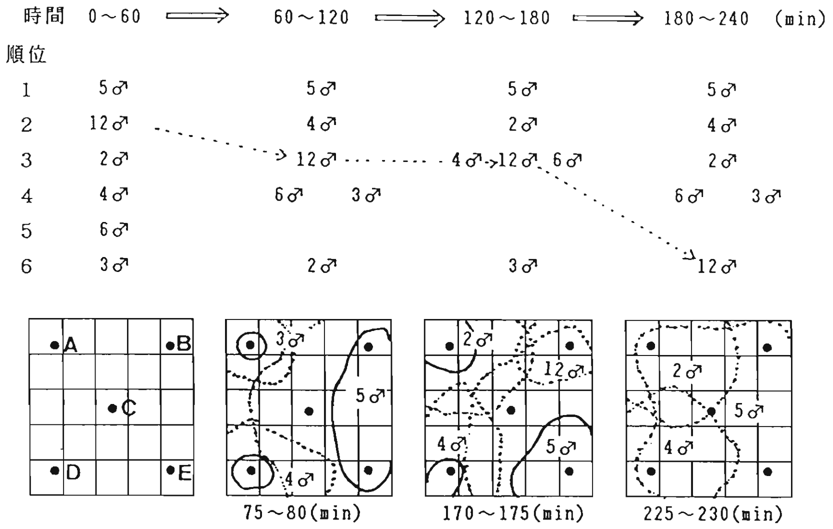


図4．
水槽実験における雄間の順位とテリトリーの時間的変動
水槽（50cm×50cm×20cm）中の●印（A～E）は貝の位置を示し、実線はテリトリーを、破線はホームレンジを示す。

議　　論

琵琶湖、淀川水系において、在来種であるニッポンバラタナゴが帰化種のタイリクバラタナゴと雑種化し、ニッポンバラタナゴは八尾市溜池群と四国、九州の一部に生息するだけである。一般に、種の絶滅の要因として、環境破壊やあるいは人為的による外来種の移動などが考えられる。ニッポンバラタナゴの絶滅の危機は、一般の問題に加えて、人為的な移動による異所的二亜種間の雑種化に起因するとされている。現在のところ、私は、ニッポンバラタナゴは地域変種なのか亜種なのか、また自然選択圧が加わっているかどうか、明らかではないと考えている。従って、ニッポンバラタナゴの場合、“絶滅の危機”と呼べる問題であるかどうか疑問視している。

集団遺伝学的には、集団中のほとんどの分子型多型（アイソザイム）は、淘汰がまったくないか、ほとんどない中立突然変異によって生じたとされている（木村 1968）。従って、アイソザイムの変異に対する直接的な選択圧が加わるとは考え難い。しかし、そのアイソザイムの遺伝子が、選択圧の加わる表現型と関連をもつ場合、間接的にアイソザイムの変異に選択圧がかかるかも知れない。1986年から1994年の９年間に、バラタナゴのLDHと6PGDアイソザイムの遺伝子頻度に関して、僅かながらタイリクバラタナゴの対立遺伝子が増加しているように見えるが、統計的な有意差は認められなかった。また、各世代においても、ハーディー・ワインベルグ平衡テストの結果は、任意交配を行っていない集団であるという証拠を示さなかった。しかし、一方では、1986年に淀川のわんどで採集した集団の遺伝子型頻度は、タイリクバラタナゴ型に極端に片寄っていた（加納 1989）。タイリクバラタナゴが淀川水系に移入されてから20～30年の間に、遺伝子型頻度がRO型にシフトしたとしか考えられない。このシフトが遺伝子頻度の機会的浮動によるものか、自然選択によるものかが重要な問題になる。今回の水槽実験では、データ不足ではあるが、バラタナゴの体長と繁殖率との間で有意な相関は見られなかった。また、バラタナゴの電気泳動法を用いた父性判定の結果からも雄の受精成功度がサイズ依存的であるという証拠は明らかではない（加納 1991）。さらに、LDHと6PGDアイソザイムの表現型の違いによる体長差は、ほとんどの場合で有意差を示さなかった。その他、LDHと6PGDアイゾザイムの表現型が生存率に何らかの相関があるかも知れないと考えられるが、各世代ごとにおいてハーディー・ワインベルグ平衡が常に成立しているということは、任意交配群であることを示すと共に、生存率に関しても雑種強勢などの証拠がないことを示唆する。従って、現在のところ、八尾市溜池群におけるバラタナゴのLDH、6PGDアイソ

ザイムに関する遺伝子頻度の変動は、選択圧がかかっているというよりは、遺伝子頻度の機会的浮動によるものか、あるいは、調査期間中に新たにタイリクバラタナゴの移入があったと判断するのが妥当である。今後、さらにこれらの個体群について遺伝子頻度を調査することが必要である。

引用文献

Clayton,J.W.&Tretiak,D.N.（1972）Aminecitrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. J.Fish Res. Bd Can.,29,1169-1172.

加納義彦（1989）アイソザイムによる生化学的検査法。清風学園紀要4,18-32

加納義彦（1991）淡水二枚貝に産卵するバラタナゴ*Rhodeus ocellatus*の雄の産卵前放精（Pre-skimming）と繁殖に伴う雄間の社会構造。清風学園紀要6,69-102

紀平 肇（1978）滅びゆくニッポンバラタナゴ。淡水魚,4,101-102

Kimura,M.（1968）Genetic variabily in a finite population due to mutational production of neutral and nealy neutral isoalleles. Genet.Res.,11,247-269

西山孝一、長田芳和（1978）タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴ。淡水魚,4,91-101

Shaw,C.R.&Prasad,R.（1970）Starch gel electrophoresis of enzymes-a compilation of recipes. Biochem. Genet.,4,297-320

上野紘一（1987）ニッポンバラタナゴの遺伝的性質。採集と飼育,49,291-294