

マイクロサテライト BG6X 座位の多型に基づく 深泥池ブルーギル集団の遺伝的構成

真鍋由紀、四反田武志（大府大・総科）、長澤哲也（大府大・理）、安部倉完（京都市大・理）、竹門康弘（京都市大・防災研）、谷田一三、加藤幹男（大府大・理）

【緒言】 ブルーギル *Leepomis macrochirus* は、地域生態系へ被害を及ぼすおそれがあることから特定外来生物に指定されており、法律に基づいて、飼育・保管・放流等が禁止されている[1]。近年、社会における環境保全意識の高まりとともに、地域生態系に悪影響を及ぼす外来生物を積極的に駆除しようとする活動もいくつか興ってきた。京都市の深泥池では、外部から侵入した（人為的に放流された）ブルーギルの繁殖が、固有の生物群集の存続に大きな脅威となっているという観点から、研究者・市民グループが公的支援の下で外来生物駆除事業を行い、着実にブルーギル生息数縮小の成果をあげている[2]。本研究では、ブルーギルゲノム DNA から単離したマイクロサテライト DNA 座位における繰り返し数多型に着目し、駆除事業によってブルーギル個体群が縮小から絶滅に至る過程について、多型遺伝子座位 BG6X の多様性を指標に追跡することを目的とした。このため、駆除事業の進む京都市深泥池と、日本各地のブルーギル集団の供給元であったと考えられる琵琶湖の個体群、およびその他地域からの採集試料との対立遺伝子構成の比較を行った。

【材料および方法】 材料には、琵琶湖で採集したブルーギルのゲノム DNA、京都市深泥池で駆除事業により採集したブルーギルのゲノム DNA、その他研究室保管試料（園池（大阪）、西長戸池（愛媛）、山田池（愛媛））を用いた。体長 10cm 以上を供試個体として用い、ゲノム DNA は肝臓組織または筋肉から抽出した。ブルーギルゲノム DNA 断片 BG6 配列[3]のうち CA 繰り返し配列を含む BG6X 座位を PCR 法によって増幅させ、変性ポリアクリルアミドゲルにて電気泳動し、それぞれの対立遺伝子を同定した。得られた結果より個体の遺伝子型を決定し、対立遺伝子頻度、遺伝子型頻度について集団内、集団間の比較を行った。

【結果および考察】 変性ポリアクリルアミドゲルにおいて電気泳動し、全部で 12 個の対立遺伝子型が得られた。それらを A～L と名付け、すべての個体についてその遺伝子型を同定し、集団間内および集団間の対立遺伝子頻度の差異について特徴を調べた（表 1）。琵琶湖の集団(Biwako, 52 個体)には、12 種すべての対立遺伝子が存在した。その一方で、深泥池の集団 2006M（2006 年 24 個体）および集団 2007M（2007 年 35 個体）では、対立遺伝子 E と I は存在せず、集団 2006M と集団 2007M の対立遺伝子数合計は 10 であった。ただし、これらの対立遺伝子（E と I）は、琵琶湖においてもまれな対立遺伝子であり、深泥池集団で検出されなかったのは解析した個体数が小さかったためとも考えられる。一方、園池集団（17 個体）や西長戸池集団（Nishinagatoike, 8 個体）、山田池集団（Yamadaike, 10 個体）では、調べた個体数が少ないために観察された対立遺伝子数が少ないにもかかわらず、琵琶湖におけるまれな対立遺伝子が複数個体で検出されている（園池では D, I、西長戸池では B, I、山田池では B, E が存在）。これらの結果は、琵琶湖のブルーギル集団が各地の集団の供給源であり、琵琶湖・深泥池以外のそれぞれの集団は比較的少数の移入個体に由来するこ

とを示唆している。

今回得られた結果では、それぞれの集団においてホモ接合体頻度のハーディ・ワインバーク平衡からのずれは有意ではなかった。一方、2007Mにおける遺伝子型頻度は対立遺伝子頻度から期待される値とは有意な差異を示した。また、BG6X 遺伝子座位における対立遺伝子頻度に関して、深泥池 2007M と Biwako は有意に異なることが示された。今回の結果は、2006 年から 2007 年にかけて、深泥池のブルーギル集団の遺伝的構成は変動しつつあることを示唆しているが、今回の供試個体はその体長から 2004 年以前に生まれたものと考えられる。深泥池における外来魚駆除事業は 1998 年にはじまり、当初は約 1 万尾と推定されていたブルーギル個体数は、2005 年までに大きく縮小し、繁殖するとされる 3 年魚以上に限れば 2004 年には 260 個体以下、2005 年には 160 個体以下と見積もられている。今後、駆除事業による集団サイズ縮小の遺伝的構成に及ぼす効果を評価するためには、年齢別集団毎に遺伝子解析を行い、個体数変動と対立遺伝子頻度の変動を観察し続けていく必要があると思われる。本研究は、単に駆除事業進展の程度を評価するだけでなく、人為的な集団サイズ縮小の過程にある個体群の遺伝的構成の変化を知ることによって、その消長や新規移入を推定・検証すること、および広く野生生物集団の絶滅確率の評価基準を遺伝的多様性と対応づけることを将来の成果として期待する。

表 1 各集団における BG6X 座位の対立遺伝子頻度

Alleles	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L			
Populations													total	hs*	ho*
Biwako	0.029	0.019	0.115	0.01	0.01	0.135	0.115	0.087	0.019	0.25	0.173	0.038	1	0.86	0.865
2006M	0	0	0.083	0.063	0	0.208	0.063	0.021	0	0.292	0.208	0.063	1	0.826	0.833
2007M	0.014	0.014	0.157	0.029	0	0.257	0.029	0	0	0.186	0.271	0.043	1	0.808	0.886
Sonoike	0	0.029	0.206	0.206	0	0	0.059	0.382	0.059	0	0.029	0.029	1	0.783	0.765
Nishinagatoike	0	0.125	0.25	0.063	0	0	0.063	0.313	0.188	0	0	0	1	0.839	0.75
Yamadaike	0	0.1	0	0	0.1	0.1	0	0.6	0	0.1	0	0	1	0.622	0.8
1999M	0	0	0	0.083	0	0.167	0.083	0	0	0.083	0.417	0.167	1	0.8	1

*hs, ヘテロ接合度期待値; ho, ヘテロ接合度観察値.

【参考文献】

- [1] 特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律 (平成16年法律第78号) .
- [2] 安部倉完、堀道雄、竹門康弘. 2006 年度深泥池外来魚駆除事業報告書, 京都市.
- [3] Takahashi T, Kawamura Y, Sakata N, Elmesiry GE, Takemon Y, Tanida K, Minoshima S, Shimizu N, Kato M.(2001) Nucleotide sequence of BamHI family satellite DNA and its unit length polymorphism in bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*. *Mol Biol Rep.* **28**, 119-122.