

研究成果報告書（第 29 回学術研究助成）

2022年 4月 8日

公益財団法人 藤原ナチュラリスト振興財団
理 事 長 野 村 茂 樹 殿

所属機関名 神戸大学大学院理学研究科
職 名 博士課程後期課程3年

氏 名 上田 るい

1. 研究課題

アマゴ・サツキマスが多様な生活史が維持される仕組みの解明：
森と川の季節的な繋がりや降海多型の遺伝基盤に着目して

2. 共同研究者

田中達也・神戸大学大学院理学研究科・野外実験の遂行、解析
佐藤拓哉・京都大学生態学研究センター・研究指導

3. 研究報告

I. 研究の目的

生物種内に多様な生活史が維持されることは、生物資源の保全や持続的な利用において重要である (Schindler et al. 2015) . 水産重要魚種として知られるサケ科魚類のアマゴ・サツキマス (*Oncorhynchus masou ishikawae*) では、一生を河川で過ごす河川残留型 (アマゴ) と、成長のために海に降りる降海型 (サツキマス) が同一種内に出現する降海多型という現象が見られる。しかし近年、特にサツキマスが多く河川で激減している (環境省2019) . 河川残留型・降海型のどちらの生活史をとるのかは、遺伝的要因が影響するとされる一方で、孵化後1年目の秋までの成長状態が良く、閾値サイズを超えた個体の中から降海型が出現することから (Kuwada et al. 2016) , 個体の成長状態に影響する要因も降海多型の維持には重要な要素であると考えられるが、それらの要因の相対的な強さを評価した研究はない。ここで、申請者らが実施したアマゴ・サツキマスのゲノム解析から、降海多型と強く関連する遺伝基盤の存在を示すデータが得られてきた。また、サケ科魚類は成長期間に森林から河川に供給される陸生無脊椎動物に大きく依存して成長することが知られているが (Sato et al. 2016) , 近年日本各地で見られる過度の針葉樹人工林化は、本来の森林-河川の繋がりによって維持されていた陸生無脊椎動物の供給量を大きく低下させることで、降海型の出現を制限している可能性がある。そこで本研究では、森林-河川の季節的な繋がり (環境要因) と降海多型に関連した遺伝的変異 (遺伝的要因) のそれぞれが、相対的にどの程度強くアマゴ・サツキマスにおける降海多型の維持に寄与するのかを明らかにすることを目的として、森林から河川への陸生無脊椎動物供給の有無を操作する大規模な野外操作実験を実施した。

II. 研究の方法

■野外操作実験

和歌山県有田川水系上流の2支流において、2020年と2021年の7月から11月にかけて、森林から河川への陸生無脊椎動物供給の有無を操作する野外実験を実施した。実験では、潜在的に集団内に降海多型が維持されていることが分かっている養殖場集団2系統（T系統、S系統）を用いた。実験処理として、アマゴの成長期間にあたる7月から10月に人為的に陸生無脊椎動物供給を再現する実験処理区と、処理を行わない対照区をそれぞれ3繰り返しずつ設定した。その際、陸生無脊椎動物は、陸生昆虫のミールワームを使用し、先行研究にならって温帯地域の天然生林で見られる陸生無脊椎動物の供給量を再現した（Nakano et al. 1999; Kawaguchi & Nakano 2001）。各年の7月に個体数密度が同程度になるように、実験河川に0歳魚を放流し、その後8月、10月、11月に標識再捕調査を行った。調査では、尾叉長、体重を測定し、胃内容を採取した。また、11月には見た目から河川残留型と降海型が識別可能であることから、表現型を判別するとともに、サケ科魚類では性によって取り得る生活史の割合が大きく異なることから、解剖による生殖腺の確認、もしくはオス特異的な性判別マーカーを用いた遺伝的性判別（Ueda et al. 2021）により雌雄を判別した。

解析では、一般化線形混合モデルを用いて、尾叉長の日相対成長率と実験処理の有無、性、個体数密度との関連性について調べた。また、降海型になる確率と実験処理の有無、性との関連性についても調べ、各系統・性について降海型になる確率が50%になる尾叉長を推定し、閾値サイズとした。

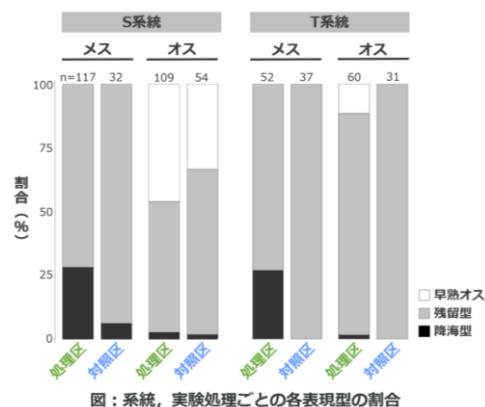
■ゲノム解析

当初の計画では、降海多型と強く関連するゲノム領域について個体ごとに遺伝子型を決定し、野外操作実験における実験処理の有無と個体の表現型との関連性について解析する予定であった。しかし、事前に複数の水域に生息する集団を対象に実施したゲノムワイド関連解析から、集団によって異なるゲノム領域が降海多型と関連している可能性がでてきた。そこで、今回野外操作実験に用いた養殖場集団について、それぞれ降海多型の遺伝基盤の有無を調べることにした。2021年10月から2022年1月にかけて0歳魚を野外に設置した大型プールで飼育し、1月下旬に表現型の確認を行うとともに、脂鱗を採取した。高密度なSNP（一塩基多型）を抽出して表現型間で全ゲノム比較を行うため、Pool-seq法（Fuentes - Pardo & Ruzzante 2017）を用い、個体ごとに脂鱗から抽出したDNAについて系統・表現型ごとに数十個体ずつプールしてライブラリーを作製し、全ゲノムシーケンス解析を行った。

III. 研究結果

■野外操作実験

実験処理区における日相対成長率は、対照区と比較して平均53%大きかった。実験処理区においては、特にメスで閾値サイズに達する個体が多く現れたが（系統S=18%，系統T=16%），対照区では閾値サイズに達するメス個体は見られなかった。その結果、各系統、実験処理ごとの各表現型の割合は右図のようになり、各実験処理区間では19–55%のメスが降海型になった一方で、各対照区間では0–14%に留まった。オスでは、



閾値サイズを超える成長を達した個体は系統Tのみでしか見られず、また、降海型になった個体もわずか5個体のみであった。

■ゲノム解析

全ゲノムシーケンス解析の結果、河川残留型と降海型それぞれで約60GBの配列データを取得することができた。現在、この取得データの解析を進めており、野外実験に用いた養殖場集団における降海多型の遺伝基盤の有無を調べている。

IV. 考察

本研究で実施した大規模な野外操作実験により、森林から河川への陸生無脊椎動物供給がアマゴ・サツキマスの降海多型の維持に寄与していることが初めて明らかになった。これは、夏期の成長が促進されたことによって、より多くの個体が秋に閾値サイズを超える成長を達成することができたためだと考えられる。

本研究で対象としたのは養殖場集団であるため、今回得られた結果を安易に野生集団にも当てはめることはできない。しかし、今回対象とした2系統は、降海型を選抜育種している集団ではないため、ある程度は一般性のある現象として解釈することはできると考えている。また、陸生無脊椎動物供給がある場合により多くの個体が閾値サイズに達することができた他の説明としては、実験開始時点での初期体サイズが大きかった可能性が考えられる。しかし、予備的な解析から、秋の再捕獲率と初期体サイズとの間に関連性は見られなかったため、この可能性は棄却することができる。

近年、日本各地で見られる人工林化は、森林と河川の季節的なつながりを弱め得る。したがって、本研究の結果は、生物資源の持続的な利用や保全のためには、景観レベルで流域を管理していく必要性があることを示唆している。

V. 成果発表

■野外操作実験の結果について

1. 上田るい, 金岩稔, 照井慧, 瀧本岳, 武島弘彦, 勝村啓史, 橋口康之, 山崎曜, 佐藤拓哉
「森と川のつながりが維持するアマゴの生活史多様性：野外操作実験とゲノム解析の融合へ」
第69回日本生態学会大会, S01-5, 福岡（オンライン）, 2022年3月
(シンポジウム フィールド生態学の挑戦：陸域・水域研究のフロンティアを求めて)
2. Tatsuya Tanaka, Rui Ueda, Takuya Sato. Seasonal ecosystem linkages contribute to the maintenance of migratory polymorphism in a salmonid population. (投稿中)

■ゲノム解析の結果について

今後解析が進み次第、学会発表や学術誌への投稿を行う予定である。

VI. 今後の課題

本研究によって、森林－河川という生態系の季節的なつながりがアマゴ・サツキマスの降海多型の維持に寄与していることが明らかになった。一方、当初計画していた、森林－河川の季節的な繋がり（環境要因）と降海多型に関連した遺伝的変異（遺伝的要因）のそれぞれが、相対的にどの程度強くアマゴ・サツキマスにおける降海多型の維持に寄与するのかまでは分からなかった。したがって、現在進めているゲノム解析結果をもとに、降海多型に関連するゲノム領域について遺伝子型を決定できる実験系を構築し、降海多型が維持される仕組みについて遺伝子レベルから景観レベルでの理解に繋げることが次の課題である。