

厚岸産トゲウオ科魚類 5 種の生殖的隔離と共存機構
(平成 16 年度 厚岸湖・別寒辺牛湿原学術奨励補助金実績報告書)

町田善康・北村武文・久米学 (北海道大学大学院水産科学研究科)
〒041-8611 北海道函館市港町 3-1-1 北海道大学水産学部育種生物学講座
TEL: 0138-40-5614, FAX: 0138-40-5537
E-mail: yosiyasu@fish.hokudai.ac.jp

はじめに

トゲウオ科(Gasterosteidae)魚類は北半球の温帯から寒帯域に広く分布し、沿岸域および河川中下流域を主な生息域にしている。その生活史は多彩に富んでおり、一生を淡水域で過ごすものから、海と川を行き来する遡河回遊性の個体群などがある。そのため、それぞれの地域や個体群間には行動、生態、形態、遺伝的構造に著しい変異が生じている。また、その研究の歴史は古く、行動連鎖モデルで知られるティンバーゲンの研究から始まり、現在では、進化生態学の主要な研究対象になっている。

厚岸湖・別寒辺牛川水系には、イトヨ属 2 種(イトヨ太平洋型および日本海型)、トミヨ属 3 種(トミヨ属汽水型、淡水型およびエゾトミヨ)の合計 5 種のトゲウオ科魚類が共存しており、単一水系にこれほど多くのトゲウオ種が共存している地域は世界でも他に例を見ない。一般に、このような近縁種の共存は、種間の遺伝子流動を防ぎ(生殖的隔離機構)、その結果として分化した種が異なる形態、生態、行動を持つにいたり、独自の生活資源を利用するようになること(共存機構)で可能になる。つまり、同所的に生息する近縁種間の生殖的隔離機構および共存機構は、生物多様性を創出する機構といえる。

これまで申請者らによって、本水系におけるトゲウオ科 5 種的生活史特性や集団遺伝学的研究が行われてきた(高橋, 2000; 2001; 山田ら, 2002; 北村ら, 2003; 久米ら, 2004)。その結果、5 種間に繁殖に利用する環境や時期に差異が認められた。しかしながら、各々の種は、完全に繁殖資源を分け合って利用するわけではなかった。また、幾つかの組み合わせでは低頻度の雑種個体が出現していることから、これら種間の生殖的隔離機構は不完全なものであることが示唆されている。それにもかかわらず、それぞれの種は、独自の遺伝的特徴を維持していることから、5 種間には繁殖資源を分けること以外の隔離機構も働いていると考えられる。そこで、本研究では、雌雄 1 対 1 の「お見合い実験」によりトミヨ属 3 種間の同類交配について明らかにし、本水系に分布するトゲウオ科魚類の多様性やその維持機構に関する知見を得ることを目的とした。

材料と方法

材料の採集および飼育

実験魚であるトミヨ属魚類(汽水型、淡水型およびエゾトミヨ)は、同所的生息地である北海道東部汐見川より2004年3月20-23日、4月12-14日、5月14-16日、6月15-16日に三角網を用いて採集し、外部形態よりそれぞれの種を鑑別して10と15の恒温室ならびに野外の池にて飼育した。特に、汽水型は淡水域で成熟しないことから(Takata et al., 1987)、約15%の汽水で飼育し成熟させた。また、実験魚の繁殖行動活性は、飼育水温を10から15に変化させることによって促された。さらに、日長周期は繁殖期と同様の明期16時間、暗期8時間とし、餌には市販の冷凍アカムシを朝夕の1日2回与えた。

成熟した個体はそれぞれ雌雄に分けて実験環境である水温15、塩分濃度0.7%、明期16時間、暗期8時間で飼育し実験環境に馴致した。塩分濃度の調整には(株)マリン・テックの「SEA LIFE」を用いた。

お見合い実験

2004年4月22日から7月28日にかけて、3種について正逆あわせて9通りの組み合わせで計192試行の実験を行った。実験に使用した雌192個体、雄140個体は、実験終了後直ちに-20で冷凍保存し、後日、Takata et al. (1987), Niwa(1987)に従いアロザイム解析により種判別および雑種個体の検出を行った。雑種個体と判定された場合には全ての解析より除外した。また、雄個体は1回または2回使用し、2回使用する場合には、試行の間隔を少なくとも半日間以上あけた。

お見合い実験は、石川・森(2003)、久米ら(2004)に従い、Park et al. (2001)を参考にしてトミヨ属魚類用に改変して行った。実験には60水槽(60×30×34cm; 図1参照)を用い、外部からの視覚的影響を無くすために観察面以外をこげ茶色の厚紙で覆った。水槽の底面には4kgの砂利(径3-5mm)を敷き、営巣基質となるプラスチック製の水草(*Cabomba caroliniana*の模型)を水槽片側に置いた。また、営巣に十分な量の巣材(腐食したイネ科植物)を用意した。さらに、営巣基質と相対する水槽壁面に透明なプラスチック製のボックスを設置し、このボックスより雌を水槽内に導入した。実験環境条件は久米ら(2003)を参考に、水温15、塩分濃度0.7%、明期16時間、暗期8時間とした。また、塩分濃度の調整には(株)マリン・テックの「SEA LIFE」を用いた。

雄を水槽内に入れ営巣が完了したことを確認した後、次の手順で実験を行った。まず、排卵し、また雄に対してヘッドアップまたは雄の求愛にポジティブに反応した雌を水槽壁面に取り付けたボックスに入れ、5分間馴致した。その後、試験者が糸を引きボックスに取り付けた扉を開け、水槽内に雌を導入した。そして、雌が雄に接触した時点より行動観察を開始した。記録は最大45分間行い(実験前5分、実験後10分含む)、実験時間を最長30分とした。30分以内に雌が吻端を巣につっこむ行動をした場合、配偶成功と判定し実験を

終了した。一方、30分以内に雌が吻端を巣につっこまなかった場合は配偶失敗とみなした。全ての実験における配偶行動は水槽の前に設置したビデオカメラで記録された。

実験終了後、実験魚の標準体長を測定し、種間の標準体長を比較した。また、各種について正逆あわせて9通りの組み合わせで、それぞれの配偶成功率を比較した。さらに、交雑した場合、種間の体サイズの差が配偶の成否に影響しているか否かを検討するため、配偶に成功した場合と失敗した場合で種間の体サイズ差を比較した。

結果と考察

実験魚の種判別の結果、汽水型と淡水型、汽水型とエゾトミヨ、および淡水型とエゾトミヨの間のF1の子孫がそれぞれ検出された。これらの雑種個体を除いた177試行について以下の解析を行った。

実験群は雌雄によって対象群の設定が異なるため、雄から見た場合と雌から見た場合の配偶成功率について2通りの解析を行った。雄から見た場合、いずれの種の雄でも同種の雌に対するのと同様に異種の雌に対しても積極的に求愛行動を示した。したがって、トミヨ属3種でも異なる種間での交雑の成否は、雌による雄の選択に依存していると考えられる。

雌から見た場合の結果を表1に示す。いずれの種においても同種同士で高い配偶成功率(汽水型:94.7%, 淡水型:90.0%, エゾトミヨ:95.0%)を示し、異種間の配偶成功率と比べて有意な差が認められた(Fisher's exact test, $P < 0.05$)。この結果は、トミヨ属3種に強い同類交配が存在し、これらの種間に行動的な特性を基にした生殖的隔離機構の発達を示唆する。また、エゾトミヨの雌は、異種の雄との間の配偶成功率が低く(0-4.5%)、異種の雄の求愛に全く反応を示さなかった。つまり、エゾトミヨの雌は、雌雄1対1という雌にとって雄を選択することのできない状態にもかかわらず、異種の雄に対して強い不適合性を示すことが明らかになった。一方、淡水型の雌と汽水型の雄との配偶成功率(38.9%)は、淡水型同士の配偶成功率(90.0%)と比べて有意な差が認められなかった(Fisher's exact test, $P > 0.05$)。つまり、汽水型と淡水型は潜在的に交配する行動的基盤を持つと推測される。また、淡水型と汽水型の雌は、エゾトミヨの雄の求愛に敏速に反応し、しばしば巣の手前まで行くことが観察され、配偶成功率もそれぞれ35.1%, 31.8%と高い値を示した。つまり、エゾトミヨの雄と他の2種の雌の組み合わせで交雑が生じる可能性があるかと推測される。このような交雑はいったい何が原因になって起こるのであろうか。イトヨ(*G. aculeatus*)においては体サイズに基づく同類交配が生殖的隔離の主要因として考えられている(Nagel and Schluter, 1998; Ishikawa and Mori, 2000)。

実験魚の標準体長を比較した結果、汽水型と淡水型はエゾトミヨよりも体サイズが大きかった(Scheffe's test: $P < 0.05$)。また、汽水型では雌雄間の体サイズに有意差が認められ、

雌のほうが大きかった(Scheffe's test: $P < 0.05$)。一方、他の2種では雌雄間の体サイズに有意差は認められなかった(Scheffe's test: $P > 0.05$)。また、汽水型の雌と淡水型の雌ならびに汽水型の雄と淡水型の雄との間の体サイズに有意な差は認められなかった(Scheffe's test: $P > 0.05$)。一方、エゾトミヨ雄は3種のなかで最も体サイズが小さかった。このように、今回調査したトミヨ属3種においても体サイズが異なっている。

そこで、次に配偶成功率の高かった異種間の組み合わせについて、交雑した場合に種間の体サイズの差が交雑に寄与しているか否かを検討した。その結果、淡水型の雌と汽水型の雄(Mann-Whitney U test, $Z = -1.223$, $P > 0.05$)、汽水型の雌と淡水型の雄 ($Z = -0.609$, $P > 0.05$)、汽水型の雌とエゾトミヨの雄($Z = -0.905$, $P > 0.05$)、淡水型の雌とエゾトミヨの雄($Z = -1.234$, $P > 0.05$)との間で配偶成功した場合の体サイズの差と失敗した場合の体サイズの差に有意な差は認められなかった。つまり、トミヨ属3種ではイトヨの場合と異なり体サイズに依存した交雑は認められないことが示された(図2参照)。

トゲウオ科魚類の配偶者認知については、雄の婚姻色や求愛行動、雄のなわばりサイズやその質、雄の巣に卵があること、匂い刺激などの要因が作用していることが知られている(Jamieson and Colgan, 1989; Goldschmidt and Bakker, 1990; Sargent, 1982; McPhail, 1994; 石川・森, 2003; McLennan, 2003)。本研究で取り扱ったトミヨ属3種では、雄の婚姻色(Takata et al., 1987)、巣の形状および雄の求愛行動(町田未発表)が異なっていることから、これらの要素が行動的隔離に関与している可能性が高いと考えられる。今後、さらなる水槽実験や野外観察を行うことで、トミヨ属3種の同類交配やその進化過程が解き明かされるだろう。

おわりに

生殖的隔離機構は、精子と卵子が受精する前と後で交配前隔離機構と交配後隔離機構の2つに大別される。交配前隔離機構には、潜在的に交配相手が出会わない時間的隔離・場所的隔離、潜在的に交配相手に出会うが配偶行動が異なるために交配しない行動的隔離、および交配するが精子の輸送が起こらない機械的隔離がある。一方、交配後隔離機構には、配偶子の死亡、接合子死亡、雑種不妊、雑種崩壊がある(Mayr, 1963)。

昨年度の調査結果から、3種は同時期に営巣しているため繁殖期の違いといった時間的隔離は重要でないと考えられる。また、3種を用いて正逆交配するとすべての組み合わせで良好な受精率を示すこと(町田未発表)から精子の輸送は正常に起こると考えられ、機械的隔離は機能していないと考えられる。したがって、久米ら(2004)の調査結果と併せて考えると、汽水型と他の2種の間では、塩分濃度および水温によって繁殖場所を分けることが生殖的隔離機構として最も重要であり、繁殖場所が重なってきた場合は行動的隔離が働いていると考えられる。一方、繁殖場所が広く重複している淡水型とエゾトミヨの間では、行

動学的特性による同類交配が隔離機構として最も重要であると考えられる。これらの交配隔離機構が働くことによって、トミヨ属 3 種の共存が可能になっていると考えられる。

しかし、これらの交配前隔離機構が働いているにも拘わらず、自然集団においてトミヨ 3 種間のいずれの組み合わせでも雑種個体が確認されている(Niwa, 1987; 町田, 2005)。F₁ 雑種やその子孫の適応度が親種のそれと等しいならば、たとえ交配前隔離機構によって雑種個体の産出が抑えられたとしても、理論的には種間融合が生じる(酒井, 1987)。しかし、トミヨ属 3 種の場合、雑種を産出しながらもそれぞれの種は独自の遺伝的特徴を維持している。したがって、雑種不妊や雑種崩壊といった交配後隔離機構も働いていると考えられる。今後の課題としては、先ず 3 種の交配後隔離機構について詳細に調査する必要がある。また、同所的生息地における雑種個体頻度の経年的変化の調査、他の同所的生息地や異所的生息地での生殖的隔離の発達度合いを比較調査することによって、トミヨ属 3 種の生殖的隔離の進化について、さらなる理解が深まると期待される。

河川、湖沼、干潟、海岸などの広く湿原と呼ばれている環境は、古来より飲み水や灌漑用水といった水資源や、魚介類をはじめとする豊富な生物資源を提供し人間生活を支えてきた。それだけに、今日の湿原生態系の破壊は世界的に懸念されている状況にある。湿原保全を目的としたラムサール条約は、2004 年 9 月現在、締約国数 141 か国、登録湿地数 1,375 か所、登録湿地の総面積は 122,662,094 ヘクタールとなっている。本水系もラムサール条約に登録されており、その保全対策が急務となっている。また、本水系には、トゲウオ科魚類 5 種をはじめ、イトウ(*Hucho perryi*)、カワシンジュガイ(*Margaritifera laevis*)などの貴重な水生生物が数多く生息している。さらに、下流部に位置する厚岸湖は、水産上の有用種の保育場として非常に重要なアマモ(*Zostera marina*)の群落が発達している。このように多種多様な生物が生息していることは、本水系の水辺環境が良好に保全されてきた証といえるだろう。厚岸町は、この貴重な自然環境を次世代に残すために、持続可能な利用施策を構築する必要があるのではなかろうか。

謝辞

本研究を進めるにあたり、北海道大学大学院水産科学研究科後藤晃助教授には、有益なご助言とご批判を頂きました。また、北海道大学大学院水産科学研究科鶴田哲也博士、野田隆之氏を始めとする育種生物学講座の大学院生、学生諸氏には種々ご助言を頂きました。

また、渋谷辰生氏を始めとする厚岸水鳥観察館のスタッフの皆様には現地での宿泊をはじめ様々な便宜をはかって頂きました。野外調査において、厚岸町カキ種苗センターの武山悟氏、加藤元一氏、シラウオ定置網漁を営まれている馬場洋氏、丹後谷耕一氏、水産総合研究センター厚岸栽培漁業センターの鈴木重則氏を始めとする職員の皆様にご協力頂きました。また、北海道大学北方生物圏フィールド科学センター厚岸臨海実験場の向井宏教

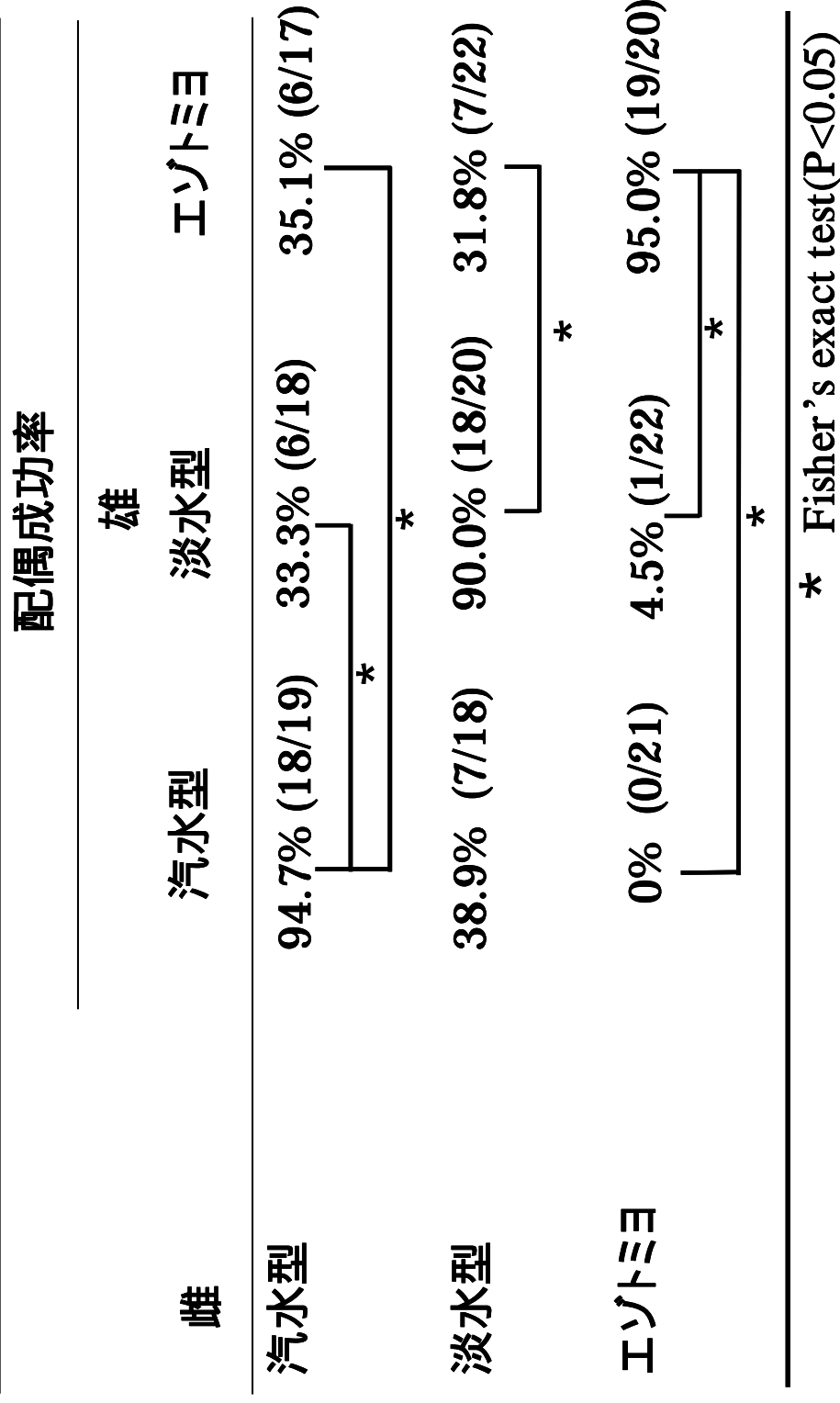
授を始めとする職員、学生の皆様には度々調査へのご協力、ご助言を頂きました。現地での宿泊では道立厚岸青少年自然の家(ネイパル厚岸)の職員の皆様にお世話になりました。ここに記して感謝の意を表します。

引用文献

- Goldschmidt, T and T. C. M. Bakker. 1990. Determinants of reproductive success of male sticklebacks in the field and the laboratory. *Neth. J. Zool.*, 40: 664-687.
- Ishikawa, M. and S. Mori. 2000. Mating success and male courtship behaviours in three populations of the threespine stickleback. *Behaviour*, 137: 1065-1080.
- 石川正樹・森誠一. 2003. イトヨ 2 型に見られる特異的配偶行動. 後藤晃・森誠一(編). pp.167-176. トゲウオの自然史: 多様性の謎とその保全. 北海道大学図書刊行会, 札幌.
- Jamieson, I. G. and P. W. Colgan. 1989. Eggs in the nests of males and their effect on mate choice in the three-spined stickleback. *Anim. Behav.*, 38: 859-865.
- 北村武文・久米学・山田美穂. 2003. 厚岸産トゲウオ類 5 種における生活史進化と多様性創出に関する研究. 平成 14 年度厚岸湖・別寒辺牛湿原学術奨励補助金実施報告書.
- 久米学・北村武文・町田善康. 2004. 厚岸産トゲウオ科魚類 5 種の生活史多様性. 平成 15 年度厚岸湖・別寒辺牛湿原学術奨励補助金実施報告書.
- 町田善康. 2005. 同所的生息地におけるトミヨ属魚類 3 種の生殖的隔離機構. 北海道大学大学院水産科学研究科修士論文. pp56
- Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. Harvard University Press, Cambridge. 797pp.
- McLennan, D. A. 2003. The importance of olfactory signals in the gasterosteid mating system: sticklebacks go multimodal. *Biol. J. Linn. Soc.*, 80: 555-572.
- McPhail, J. D. 1994. Speciation and the evolution of reproductive isolation in the sticklebacks (*Gasterosteus*) of south-western British Columbia. Pages 399-437. in M. A. Bell and S. A. Foster, eds. *The Evolutionary Biology of the Threespine Stickleback*. Oxford University Press, Oxford.
- Niwa, T. 1987. Comparison of the gene frequency between sympatric populations of ninespine sticklebacks, genus *Pungitius*, in Hokkaido, Japan. *Japan. J. Ichtyol.*, 34:184-190.
- Nagel, L. and D. Schluter. 1998. Body size, natural selection, and speciation in sticklebacks. *Evolution*, 52: 209-218.
- Park, S. R., J. H. Lee and S. Cheong. 2001. Comparison of reproductive behaviors between two species of eightspine sticklebacks (Genus: *Pungitius*). *Korean J. Biol.*

- Sci., 5: 127-132.
- Sargent, R. C. 1982. Territory quality, male quality, courtship intrusions, and female nest-choice in the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. Anim. Behav., 30: 364-374.
- 酒井治己. 1987. ウグイ類 - 交雑の集団遺伝学. 水野信彦・後藤晃(編), pp.18-30. 日本の淡水魚: その分布, 変異, 種分化をめぐって. 東海大学出版会, 東京.
- 高橋洋. 2000. 厚岸湖・別寒辺牛川水系におけるトゲウオ科魚類の生物多様性と共存機構. 平成 11 年度厚岸湖・別寒辺牛湿原学術奨励補助金実施報告書.
- 高橋洋. 2001. 厚岸湖・別寒辺牛川水系におけるトゲウオ科魚類の繁殖生態. 平成 12 年度厚岸湖・別寒辺牛湿原学術奨励補助金実施報告書.
- Takata, K., A. Goto and F. Yamazaki. 1987. Biochemical identification of a brackish water type of *Pungitius pungitius*, and its morphological and ecological features in Hokkaido, Japan. Japan. J. Ichtyol., 34:176-183.
- 山田美穂・北村武文・久米学. 2002. 厚岸産トゲウオ科魚類 5 種の共存機構の進化 異所的生息地との比較 . 平成 13 年度厚岸湖・別寒辺牛湿原学術奨励補助金実施報告書.

表 1 雌から見た場合の配偶成功率



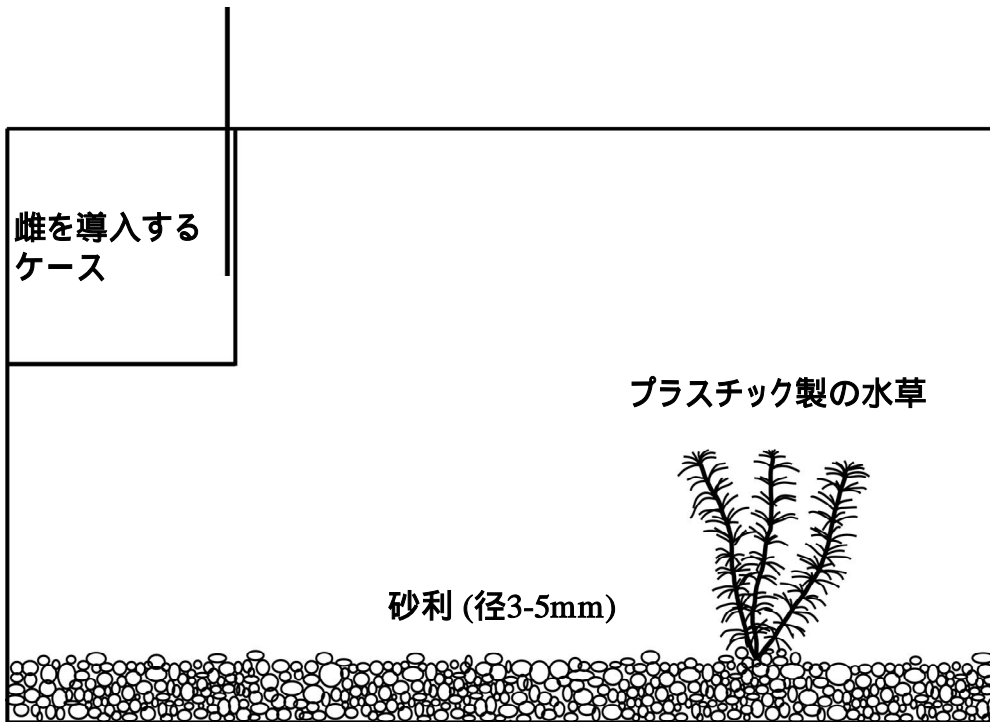


図 1 お見合い実験に用いた実験水槽

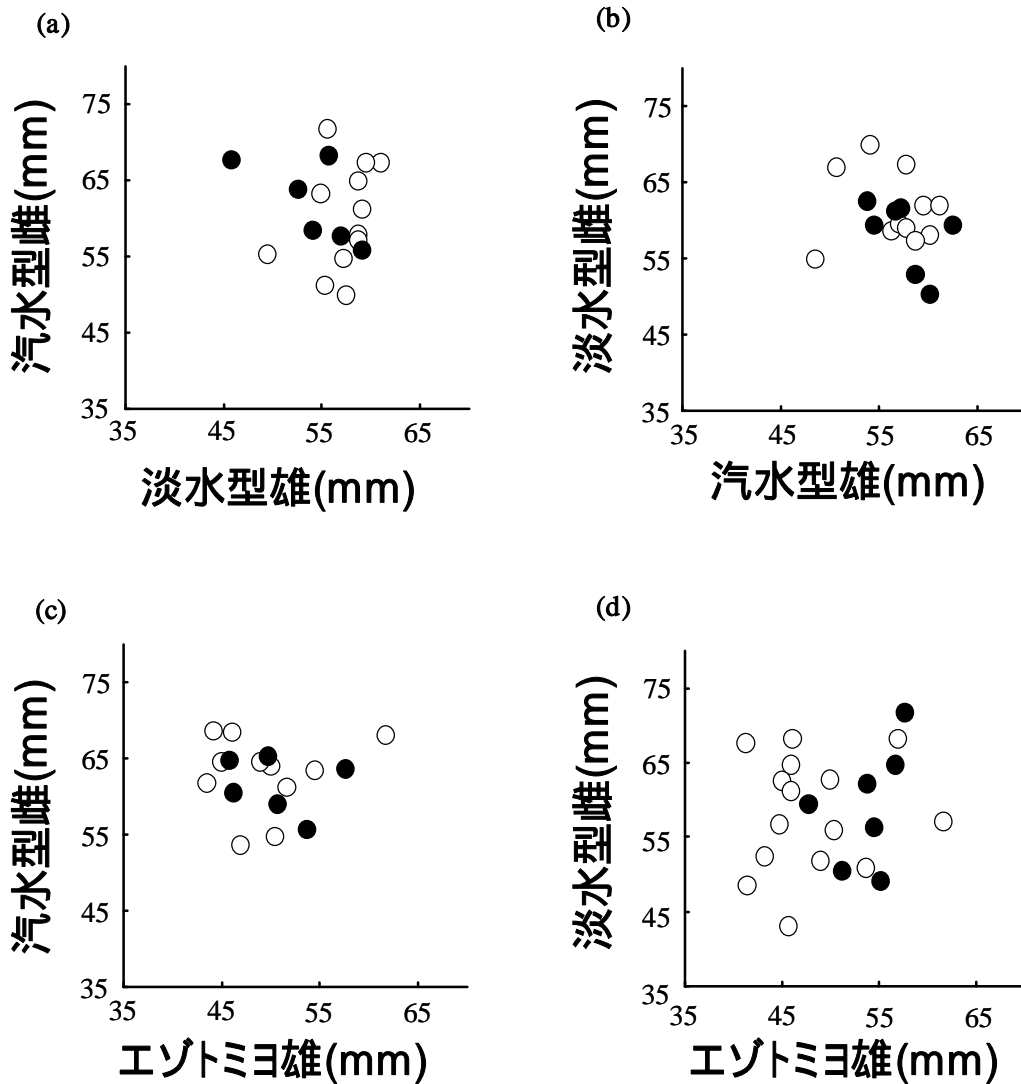


図 2 交雑した場合の雌雄の体サイズの関係

黒丸は配偶成功を、白丸は配偶失敗をそれぞれ示している。
 (a) 汽水型雌 × 淡水型雄, (b) 淡水型雌 × 汽水型雄, (c) 汽水型雌 × エゾトミヨ雄, (d) 淡水型雌 × エゾトミヨ雄。

すべての組み合わせで、配偶成功した場合と失敗した場合の体サイズの差に有意な差は認められなかった(Mann-Whitney U test, $P > 0.05$)。