

## 1.はじめに

琵琶湖にはウキゴリ類が 2 種生息し、一つは琵琶湖固有種のイサザ *Gymnogobius isaza*、もう一つは韓国ロシア日本にかけて分布するウキゴリ *G. urotaenia* である(中坊 2018)。イサザはウキゴリから種分化したと考えられている(高橋 1994)。酒井ら(2016)は 1996 年 7・8 月の昼間に琵琶湖で底引き網を用いてウキゴリ及びイサザの稚魚を採集した。その中に中間的な形態を持つ不明種を同定し、雑種と位置付けた。この雑種は水温躍層の存在する、イサザとウキゴリの中間的湖底付近にのみ分布した。捕獲割合はイサザ 93%、ウキゴリ 3.9%、雑種 3.1% であった。この雑種と思われる不明種については遺伝子解析はまだ行われていない。成魚については形態的観察から雑種の報告はされているおり、中間的な形質を持つ個体を雑種として写真を載せている魚類図鑑もあるが(森・内山 1997)、生息率の推定や、遺伝子解析はいまだなされていない。私たちは両種の核 DNA を用いた RFLP 法による F1 雑種の判別方法を開発し、成魚のイサザおよびウキゴリを形態的および遺伝子的に解析し、雑種の存在を確認し、生息割合を求めることを目的とした。

## 2.方法

イサザについては釣りおよびタモ網による採集を試みたが、ことごとく失敗したため、採集日、採集者、採集方法、採集地の明らかなサンプルを魚屋から購入した。当日朝に水揚げしたものをクール便で送ってもらい、固定・冷凍したものをを用いた。ウキゴリについては琵琶湖の漁業権の設定されていない水面において、釣りもしくはタモ網により採集した。

採集したサンプルは冷凍保存し、標本作成時に流水につけて解凍した。遺伝子解析用に右側尾丙筋肉をメス切り取り組織脱水液 A(富士フィルム和光純薬 85%エタノール、15%プロパノール混合液)中で固定した。形態観察用に、残りの部位は 5%ホルマリン溶液中で固定し、10 日後に流水で約 24 時間水洗した後、75%エタノール水溶液中で長期保管した。

エタノールに置換した標本 120 個体を用いて、標準体長(SL)、尾丙高(CPD)、肛門前長(PAL)を電子ノギスを用いて 1 個体について各値を 3 回測定し、平均を求めた。計測データはエクセルのアドインソフト Mulcel2 を用いて、判別分析を実施した。

標本からの DNA 抽出は Lysis Buffer for PCR(タ

カラバイオ)、DNA エキストラクター® FM キット(富士フィルム和光純薬)、DNeasy Blood & Tissue Kit(Qiagen)を用いて、プロトコル通りに実施した。PCR 法による DNA 増幅は Tks Gflex DNA Polymerase Low DNA を用いてプロトコル通り実施した。シーケンスはプレミックス用の溶液を調整し、北海道システムサイエンスに業者委託した。

## 3.結果

魚屋より購入した中からランダムに抽出した 94 個体はすべて先細りの口、細い体型、第一背鰭の後部に黒斑のみ存在した。これらはイサザと同定した。これに対し第一背鰭の後部白黒斑が両方あり、平たく大きな口、太い体型、体側に黒褐色の縦列斑点がみられるもの(28 個体)をウキゴリと判別した。雑種は判別できなかった。イサザおよびウキゴリの計 122 個体を計測データをもとにウキゴリ・イサザの判別分析を行った。今回の線形判別関数による判別は 2 群の分散共分散行列が等しいという仮定のもとに分散共分散行列の等分散性の検定の結果、危険率 1% で有意となった(表 1)。よって 2 つの群の分散共分散行列は異なると考えられた(表 1)。判別得点(z)は『 $Z = -0.00068S_L - 2.62796CPD - 0.06245PAL + 15.48434$ 』となった。性判別率はイサザは 0.98、ウキゴリは 0.76 であった。

表 1 分散共分散行列の等分散性の検定

$\chi^2$ 値	自由度	P 値	$\chi^2(0.05)$	$\chi^2(0.01)$
95.58091	6	2.09E-18	12.59159	16.81189

表 2 判別式の判別結果

	イサザ	ウキゴリ	正判別率
イサザ	81	2	0.975904
ウキゴリ	9	28	0.756757

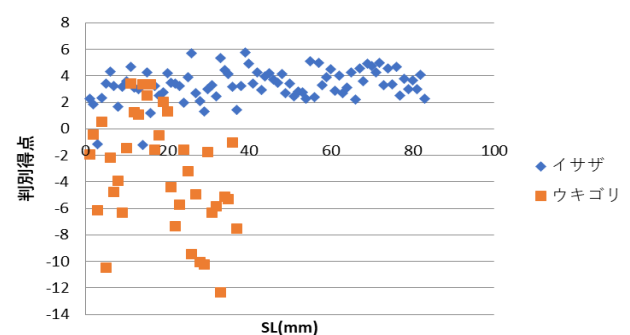


図 3 判別得点の分布

核 DNA ロドプシン領域を PCR 法により増幅し、制限酵素 Hpy99I により酵素処理を行った結果、両種は異なるバンドを示した(図 4)。イサザ(91 個体)とウキゴリ(26 個体)は判別されたが、F1 雑種は判別されなかった。形態観察・形態計測と遺伝子解析結果が矛盾するサンプルはなかった。

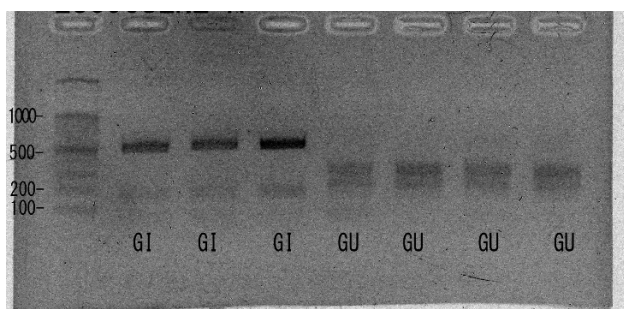


図 4 RFLP 法による種判別。イサザは GI、ウキゴリは GU。

#### 4. 考察

形態観察・遺伝子解析ともに雑種は確認できなかったことから先行研究で示された、稚魚の約3%存在した雑種が、成魚になることは難しい可能性が示された。

#### 5. 参考文献

- 森文俊, 内山りゆう(1997) 淡水魚, 山と溪谷社  
中坊徹次 (2013) 日本産魚類検索 全種の同定, 第三版. 東海大学出版会.  
酒井明久 ほか (1998) 47, 1-9 滋賀水試研報.  
酒井明久 ほか (2016) 64(2), 193-200 水産増殖  
高橋さち子(1994)pp.170-183 川と海を回遊する淡水魚生活史と進化, 東海大学出版会, 東京.

#### 6. 謝辞

本研究に取り組むに当たり, 滋賀県水産試験場 酒井明久氏および大前信輔氏にご指導を頂きました。厚くお礼を申し上げます。また遺伝子解析のご指導をいただいた兵庫教育大学 笠原恵氏に感謝します。