

サケ亜目魚類の生化学的系統分類

松岡 教理¹・北野 誉²

¹弘前大学農学生命科学部生物学科分子進化学研究室

²茨城大学工学部生体分子機能工学科

(2010年9月29日受付)

序論

日本列島に生息するサケ目・サケ亜目魚類は、キュウリウオ科・シラウオ科・サケ科、および未だ系統分類学的位置が不明なアユ (Ayu) の4分類群から構成されている。

アユは1属1種2亜種で、日本の本州中央部を中心に分布するアユ (*Plecoglossus altivelis altivelis*) (Fig. 1) と、琉球列島の沖縄本島と奄美大島に生息するリュウキュウアユ (*Plecoglossus altivelis ryukyuensis*) の2亜種が知られている。現在、このリュウキュウアユは絶滅危惧種で、沖縄本島では一時完全に絶滅したが、その後、移殖され現在に至っている。アユは他のサケ亜目魚類と異なり、海と河川の両方を回遊する回側魚としての特徴を持つ。またアユは生まれてから1年で成熟・産卵し死亡する年魚である。一方、滋賀県・琵琶湖産のアユは、淡水域のみで過ごす陸封タイプである。この琵琶湖産のアユと他の両側回遊するアユとの遺伝的分化の程度は、アロザイム分析により調査された (Nishida and Takahashi, 1978; Taniguchi et al., 1983; Nishida, 1985; Seki et al., 1988)。その結果、これら2集団は別種あるいは別亜種程度の、かなり大きな遺伝的分化を遂げていることが判明した。

従来の分類体系では、アユは野菜のキュウリのような香りがすることからワカサギ・チカ・キュウリウオなどを含むキュウリウオ科に分類されてきた。しかし詳細な形態および生態学的研究からアユを系統分類学的に独立の分類群と考えアユを1種のみでアユ科・アユ属とする分類体系が提唱されている (Chapman, 1941; Klyukanav, 1975; Nelson, 1994)。



Fig. 1: The Japanese endemic species Ayu (*Plecoglossus altivelis altivelis*).

シラウオ科は北方種でアジア大陸の極東域にのみ分布しており日本近海にはシラウオ属のシラウオ (*Salangichthys microdon*) が生息している。特に、青森県の小川原湖は最も漁獲量が多い。シラウオは幼形成熟型の魚類で、他のサケ亜目魚類と比較して体表に色素が少なく透明で、雄の尻鰭基底部の鱗以外の鱗は存在しない。また消化管は直線状であり、盲嚢状の胃は存在しない。全体的に骨格系の化石化の度合いが低く、多くの稚魚的形質を有している。

キュウリウオ科は、野菜のキュウリのような香りがすることからキュウリウオ科と呼称されている分類群である。この科は北半球の淡水・汽水・海水域に広く分布し、生活史も淡水または海水域に留まる種から、河川と海水域を回遊する種まで多様性に富んでいる。これらの分類群は集団サイズが大きいため、従来から漁獲量が多く、日本では重要な水産資源である。特に近年、ワカサギは日本各地の湖沼で盛んに養殖されており、食用魚または釣りの対象魚として広く知られている。

サケ科は多くの種からなり、ベニザケ・ニジマス・ヤマメ・イワナ・イトウなどの中型および大型魚類からなる大きな分類群で食用魚として重要な水産資源である。なかでも特異な種はイトウ (*Hucho perryi*) で、日本最大の淡水魚で体長は1mから大きいものでは1.5mに達す

*¹ Corresponding author : Tel. +81-172-39-3590
Fax. +81-172-39-3590
E-mail : matsuoaka@cc.hirosaki-u.ac.jp

る。記録上最大のものでは、1937年に十勝川で、およそ2.1mのイトウが捕獲された。現在、イトウは絶滅危惧種で、生息するのは北海道の尻別川のみである。

上述したように、従来、サケ亜目の中でアユは系統分類学的にキュウリウオ科と近縁であるとされてきた。しかし、アユの系統進化的位置付けについては研究者間で見解が異なっている。つまり、アユを1種のみで独立したアユ科 (Plecoglossidae) とするか、あるいはキュウリウオ科の1種とするか、現在でも統一見解は得られていない。

著者らは以前、アロザイム分析によるキュウリウオ科の分子系統学的研究 (松岡・北野, 2003)、およびアロザイム分析とミトコンドリアDNA解析による、サケ科・サケ属 (genus *Oncorhynchus*) の分子系統学的研究 (Kitano et al., 1997) について報告した。

本研究では、未だ系統関係が不明で議論が多い、日本近海に分布するサケ亜目の4分類群であるキュウリウオ科・シラウオ科・サケ科・アユの系統類縁関係、特にアユの系統分類学的位置について、アロザイム分析により調査したので、それらの結果について報告する。

材料と方法

本研究で調査したサケ亜目魚類は、キュウリウオ科のワカサギ (*Hypomesus trarspacificus nipponensis*)、シシヤモ (*Spirinchus lanceolatus*)、カラフトシシヤモ (*Molloytilus villosus*)、キュウリウオ (*Osmerus eperlanus mordax*)、シラウオ科のシラウオ (*Salangichthys microdon*)、サケ科のヤマメ (*Oncorhynchus masou masou*)、アユ (*Plecoglossus altivelis altivelis*) の7種である。7種の採集地と分析個体数を以下に記す。ワカサギ (小川原湖12個体)、シシヤモ (北海道・武川12個体)、カラフトシシヤモ (弘前市販品10個体)、キュウリウオ (弘前市販品7個体)、アユ (滋賀県琵琶湖12個体)、シラウオ (小川原湖12個体)、ヤマメ (栃木県10個体) である。採集した個体は-45℃で冷凍保存しておいた。タンパク電気泳動法によるアロザイム分析は、松岡・北野 (2003) と同様の方法で行った。分析した酵素は、*α*-glycerophosphate dehydrogenase (*α*-GPDH)、malic enzyme (ME)、isocitrate dehydrogenase (ICDH)、glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)、octanol dehydrogenase (ODH)、nothing dehydrogenase (NDH)、formaldehyde dehydrogenase (FDH)、peroxidase (PO)、superoxide dismutase (SOD)、aspartate aminotransferase (AAT)、phosphoglucomutase (PGM)、esterase (EST)、alkalin phosphatase (ALK)、leucine aminopeptidase (LAP)、fumarase (FUM) の合計15酵素であった。

結果と考察

(1) サケ亜目4科7種の集団における遺伝的変異

15酵素のアロザイム分析により、26遺伝子座が検出された。26遺伝子座における対立遺伝子頻度より、7種の集団における遺伝的変異の程度を算出した (Table 1)。多型の遺伝子座の割合 (P) は、ワカサギでP=4.2%と最も低く、カラフトシシヤモでP=25.0%と最も高い数値を示した。平均ヘテロ接合体率 (H) は、シラウオでH=0.5%と最も低く、カラフトシシヤモでH=10.4%と高い数値を示した。Hの遺伝子座間分散を算出した結果、観察値は0.001-0.039の値で、理論値は0.003-0.028の値を示し、7種でほぼ同等の値を示した。

アユ集団の遺伝的多型に関する研究は、数多く報告されている。Nishida and Takahashi (1978) は、日本各地のアユ9集団についてアロザイム分析を行った結果、両側回遊集団と陸封集団は、ともにHの値は著しく低く、平均H=0.6%という数値を報告した。一方、Taniguchi et al. (1983) は、両側回遊6集団、陸封2集団および養殖2集団についてアロザイム分析を行った結果、それぞれ、H=4.4%、3.6%、6.5%の数値を報告した。この研究結果から、アユの遺伝的変異の程度は他の魚類と比較して低い値ではないことが判明した。注目すべき点は陸封集団の方が淡水・海水両側回遊集団より、かなり低い数値を示したことであった。また、Nishida (1985) は、両側回遊集団および陸封集団について28遺伝子座を用いてアロザイム分析を行った結果、両側回遊集団ではH=3.7%、陸封集団ではH=4.0%と、Taniguchi et al. (1983) の結果と同様な値を報告している。さらに、Seki et al. (1988) は、日本の両側回遊5集団、陸封3集団および韓国4集団について、23遺伝子座を用いてアロザイム分析を行った結果、それぞれ、H=3.9-6.1%、4.5-6.1%、2.7-3.9%という値を報告した。これらの研究報告は、本研究で得られた、琵琶湖産のアユ集団のH=3.6%と同等のものであった。このように、アユ集団、特に陸封集

Table 1. Genetic variation in populations of seven species of the suborder Salmonoidea

Parameter	Ht	Sl	Mv	Oe	Pa	Sm	Om
P	4.2	14.3	25.0	14.3	9.5	6.7	20.0
H	0.9	5.0	10.4	7.6	3.6	0.5	8.4

P=proportion of polymorphic loci(%), H=average heterozygosity(%), Ht=*Hypomesus trarspacificus nipponensis*, Sl=*Spirinchus lanceolatus*, Mv=*Molloytilus villosus*, Oe=*Osmerus eperlanus mordax*, Pa=*Plecoglossus altivelis altivelis*, Sm=*Salangichthys microdon*, Om=*Oncorhynchus masou masou*.

Table 2. Genetic identities (above diagonal) and genetic distances (below diagonal) between seven species of the suborder Salmonoidea

Species	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>Ht</i>	-	0.488	0.677	0.448	0.267	0.456	0.321
2. <i>Sl</i>	0.717	-	0.622	0.456	0.341	0.308	0.224
3. <i>Mv</i>	0.391	0.475	-	0.542	0.438	0.390	0.238
4. <i>Oe</i>	0.804	0.785	0.613	-	0.443	0.353	0.259
5. <i>Pa</i>	1.319	1.077	0.826	0.814	-	0.632	0.211
6. <i>Sm</i>	0.785	1.178	0.942	1.041	0.459	-	0.322
7. <i>Om</i>	1.136	1.496	1.437	1.351	1.556	1.133	-

Ht=*Hypomesus traspacificus nipponensis*, *Sl*=*Sprinchus lanceolatus*, *Mv*=*Mallotus villosus*, *Oe*=*Osmerus eperlanus mordax*, *Pa*=*Plecoglossus altivelis altivelis*, *Sm*=*Salangichthys microdon*, *Om*=*Onchorhynchus masou masou*.

団の遺伝的変異が低く、遺伝的多様性が著しく減少している主な原因は、日本列島の湖や河川に生息するアユの集団サイズが、農業廃水（農薬）・工業廃水・生活廃水などによる極度の水質汚染により急激に減少しているためであると推察される。最近では、外来魚のブルーギルやブラックバスによる捕食も大きな原因となっている。

ワカサギとシラウオにおいて、Hは比較的低い値が得られた。この2種はいずれも青森県の太平洋側に位置する小川原湖で採集されたものである。小川原湖は汽水湖であるが、今から約5000年前に海から湖に変化した海跡湖であり、約3000年前に気候の急激な寒冷化により海との通路が遮断されたと考えられている（田高、1978）。そのため、この時期に小川原湖に生息する魚類が、ビン首効果（bottle neck effect）の影響により創始者効果（founder effect）が起り、集団の遺伝的変異が低くなったと推察される。この点は、今後、小川原湖に生息する他の水棲動物を含めたより詳細な調査が必要である。

(2) 7種の遺伝的分化

Table 2には、調査したサケ亜目7種に共通する11遺伝子座における対立遺伝子頻度から算出したNei (1972)の遺伝的類似度 (I) と遺伝距離 (D) が示してある。遺伝的類似度はワカザギーカラフトシシャモでI=0.677と最も高く、アユーヤマメでI=0.211と最も低い値を示した。別科間の遺伝距離はアユーカラフトシシャモのD=0.826から、アユーワカサギのD=1.319までの数値を示し、平均値はD=0.968であった。藤尾 (1985) は、多種の魚類の遺伝距離を解析し、その中で、サケ亜目の同科別属間ではD=0.88、また別科間ではD=1.59程度であると報告した。本研究で得た、アユと別科間の遺伝距離の平均値はD=0.968であり、今回の結果は、藤尾 (1985) の報告とよく一致しており、系統分類学的にアユを別科とする形態学的知見に基づく説を支持する。

(3) サケ亜目の分子系統樹

Fig. 2には、サケ亜目の7種に共通する11遺伝子座を用いて、それらの遺伝子座における対立遺伝子頻度から算出したNei (1972) の遺伝距離 (D) からUPGMA法により作成したサケ亜目7種の分子系統樹が示してある。この分子系統樹によると、まずサケ科・サケ属のヤマメが初期に分岐し、その後、アユ科とシラウオ科からなるクラスターが分岐し、最後にキュウリウオ科の4種（ワカサギ・カラフトシシャモ・シシャモ・キュウリウオ）からなるクラスターが分岐している。このようにアロザイム分析により作成した分子系統樹では、アユはキュウリウオ科には含まれず、キュウリウオ科とは系統学的に異なり、独立した科 (Family) を形成し、キュウリウオ科よりもシラウオ科に近縁であることが判明した。

我々は以前、キュウリウオ科の5種（ワカサギ・チカ・シシャモ・カラフトシシャモ・キュウリウオ）の系統縁関係をアロザイム分析により調査した（松岡・北野、2003）。その結果、ワカサギとチカが最も近縁関係にあり、このクラスターに近縁な種はカラフトシシャモであり、次にこれらに近縁な種はシシャモで、キュウリウオは最も遠い系統関係にあった。今回の結果は、チカは分析しなかったが、松岡・北野 (2003) の結果と一致する。またキュウリウオ科の5種は、遺伝的に近縁な1つのクラスターを形成することも判明した。

(4) 分子系統学的知見と形態学的知見との比較

Howes and Sanford (1987) は、骨格系や筋肉系の形態形質に基づく分類学的研究から、アユはワカサギ属やキュウリウオ属に近縁であるとし、アユをキュウリウオ科に分類した。またBegle (1991) は、81の骨格系の形質に基づく形態分類学的研究から、アユはキュウリウオ属に近縁であるとし、Howes and Sanford (1987) と同様に、アユをキュウリウオ科に分類することを提唱した。さらにWilson and Williams (1991) は34の骨格系の形態分類学的研究から、やはりアユはキュウリウオ属に近縁

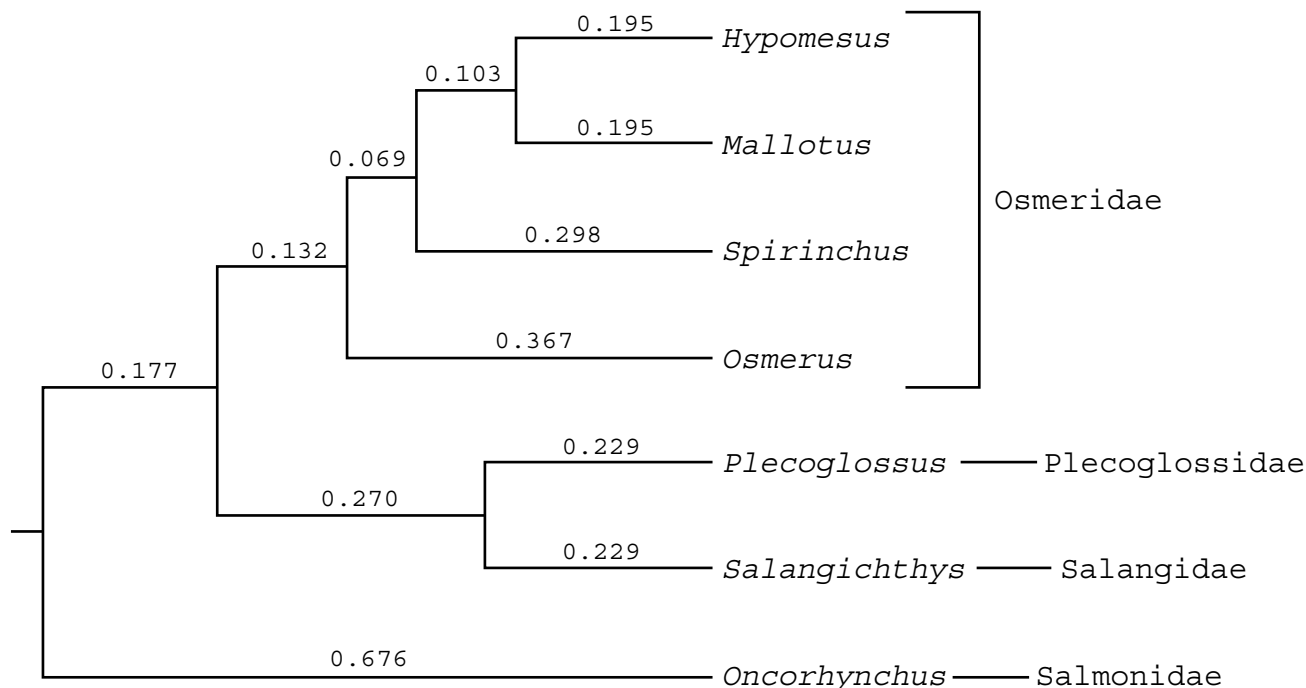


Fig. 2: Molecular phylogenetic tree of seven species of four families of the suborder Salmonoidea. It was constructed from Nei's genetic distances by UPGMA clustering method.

であるとし、アユをキュウリウオ科に分類した。

一方、Chapman (1944) は骨格系を中心とする内部形態の詳細な分析、特に頭蓋骨・肩帯・尾骨などの形質の違いから系統学的にアユはサケ科よりもキュウリウオ科に近縁ではあるが、櫛状歯・舌唇・幽門垂数などの形態形質の分析からアユを系統分類学的に独立の科にするべきだと提唱した。またKlyukanov (1975) もアユとキュウリウオ科が共有しない17の形態学的形質を列挙し、アユとキュウリウオ科は系統学的に異なり、アユを独立の科にすべきであると主張した。さらにNelson (1994) はサケ亜目に関する多くの分類学的研究を総括しアユは1種のみでアユ属・アユ科とする分類体系を提唱した。

本研究で得られた、アロザイム分析による分子系統樹では、アユはキュウリウオ科には含まれず、独立した科を形成することが判明した。この結果は、Chapman (1944)、Klyukanov (1975)、Nelson (1994) のアユを系統分類学的に独立の科として分類すべきであるという分類体系と一致する。また本研究により、サケ亜目の中でサケ科が祖先型タイプであり、一方、キュウリウオ科は比較的近年に分岐した新しい分類群であることも判明した。

(5) アロザイム分析と系統分類学

従来、タンパク電気泳動法によるアロザイム分析は、生物集団に保有されている遺伝的変異・遺伝的多型の集団遺伝学的研究や、集団間や別種間の系統関係、および同胞種の区別などの系統分類学的研究など広範囲に用い

られてきた。

Ferguson (1980) によれば、アロザイム分析は、かなり高次の分類ランク（属間や科間）でも適用できることが判明している。さらにMurphy et al. (1996) は、系統分類学では、なるべく多くの遺伝的形質を用いるべきであり、その点、アロザイム分析は用いる酵素遺伝子座が多く、1遺伝子座が1遺伝的形質に相当するので、系統分類学には有効な手段であると主張している。

要約

サケ亜目魚類のキュウリウオ科（ワカサギ・シシャモ・カラフトシシヨモ・キュウリウオ）・シラウオ科（シラウオ）・サケ科（ヤマメ）、アユの4分類群7種の系統類縁関係、特に近縁とされているキュウリウオ科とアユの遺伝的関係を明確にするため、タンパク電気泳動法によるアロザイム分析を行った。その結果、(1) タンパク電気泳動法による15酵素のアロザイム分析により26遺伝子座が検出された。(2) サケ亜目4分類群7種の集団内の遺伝的変異を知るため、26遺伝子座における対立遺伝子頻度から、集団の遺伝的変異の程度を表わす主要なパラメータである平均ヘテロ接合体率(H)を算出した。その結果、シラウオでH=0.5%と最も低く、カラフトシシャモでH=10.4%と最も高い数値を示した。4分類群における遺伝的多型の程度は、これまでに報告された結果と一致した。(3) 4分類群の系統関係を明確にするため、7種に共通する11遺伝子座における対立遺伝子頻

度より、7種間のNei (1972) の遺伝距離を算出し、UPGMA法により7種の分子系統樹を作成した。その結果、(1)4分類群7種は3つのクラスターに分かれた。(2)その中でサケ科のクラスターが最も初期に分岐し、次にアユとシラウオ科のクラスターが分岐し、最後にキュウリウオ科のクラスターが分岐した。(3)この分子系統樹から、アユはキュウリウオ科の1種ではなく、キュウリウオ科とは系統分類学的に独立したアユ科を形成するという系統分類学的に重要な知見が得られた。(4)またサケ亜目の中で、進化学的にサケ科が祖先タイプで、キュウリウオ科が新しいグループであると推定された。

参考文献

- Begle, D.P. (1991) Relationships of the osmeroid fishes and use of reductive characters in phylogenetic analysis. *Syst.Zool.*, 40: 33-53.
- Chapman, W.M. (1941) The osteology and relationships of the osmerid fishes. *J.Morphology*, 69: 279-301.
- 藤尾芳久 (1985) アイソザイム分析手法による魚介類の遺伝的特性の解明に関する研究. 昭和59年度農林水産業特別試験研究補助金による研究報告書, 水産庁: 1-58.
- Furgason, A. (1980) *Biochemical Systematics and evolution*. Blackie, Glasgow.
- Howes, G.J. and Sanford, C.P.J. (1987) The phylogenetic position of the Plecoglossidae (Teleostei, Salmoniformes), with comments on the Osmeridae and Osmroidei. *Proc. V Congr. Eur.Ichthyol.Stokh.*, 1985: 17-30.
- Kitano, T., Matsuoka, N. and Saitoh, N. (1997) Phylogenetic relationships of the genus *Oncorhynchus* species inferred from nuclear and mitochondrial markers. *Genes Genet.Syst.*, 72: 25-43.
- Klyukanov, V.A. (1975) The systematic position of the Osmeridae in the order Salmoniformes. *J.Ichthyol.*, 15: 1-17.
- 松岡教理・北野 誉 (2003) アロザイム変異からみたキュウリウオ科の遺伝的分化. 弘前大学農学生命科学部学術報告, No.6: 40-48.
- Murphy, R.W., Sites, J.W., Buth, D.G. and Haufler, C.H. (1996) Proteins: Isozyme electrophoresis. In *Molecular Systematics*. (edited by Hills, D.W., Moritz, C. and Mable, B.K.), pp.51-120. Sinaur Associates, Sunderland.
- Nei, M. (1972) Genetic distance between populations. *Am.Nat.*, 106: 283-292.
- Nelson, J.S. (1994) *Fishes of world*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Nishida, M. (1985) Substantial genetic differentiation of Ayu *Plecoglossus altivelis* of the Japan and Ryukyu Islands. *Bull.Japan. Soc.Sci.Fish.*, 51: 1269-1274.
- Nishida, M. and Takahashi, Y. (1978) Enzyme variation in populations of Ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Bull. Japan. Soc.Sci.Fish.*, 44: 1059-1064.
- Seki, S., Taniguchi, N. and Jeon, S.R. (1988) Genetic divergence among natural populations of Ayu from Japan and Korean. *Bull.Japan.Soc.Fish.*, 54: 559-568.
- 田高昭二 (1978) 小川原湖の自然. 東奥日報社.
- Taniguchi, N., Seki, S. and Inada, Y. (1983) Genetic variability and differentiation of amphidromopus, landlocked, and hatchery populations of Ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bull.Japan.Soc.Sci.Fich.*, 49: 1656-1663.
- Wilson, M.V.H. and Williams, R.R.G. (1991) New paleocene genus and species of smelt (Teleostei: Osmeridae) from freshwater deposits of the Paskapoo formation, Alberta, Canada, and comments on osmerid phylogeny. *J.Verte.Paleo.*, 11: 434-451.

Biochemical systematics of the suborder Salmonoidea

Norimasa MATSUOKA^{*1} and Takashi KITANO^{*2}

^{*1} Division of Molecular Evolution, Department of Biology, Faculty of Agriculture & Life Science,
Hirosaki University, Hirosaki 036-8561, Japan

^{*2} Department of Biomolecular Functional Engineering, College of Engineering, Ibaragi University,
Nakanarusawa 4-12-1, Hitachi 316-8511, Japan

(Received for publication September 29, 2010)

Abstract

The phylogenetic relationships among seven species of four families of the suborder Salmonoidea were investigated by allozyme analysis. The seven species examined here were the followings: *Hypomesus traspacificus nipponensis*, *Sprinchus lanceolatus*, *Mallotus villosus*, *Osmerus eperlanus mordax* of the family Osmeridae; *Salangichthys microdon* of the family Salangidae; *Onchorhynchus masou masou* of the family Salmonidae and *Plecoglossus altivelis altivelis* (Ayu). From allozyme analysis of 15 different enzymes, total 26 enzyme genetic loci were detected. Based on allele frequencies data at 11 common genetic loci, the genetic distances (D) between seven species were calculated by the method of Nei (1972), and the molecular phylogenetic tree for seven species of four taxonomic groups was constructed from the UPGMA clustering method. The molecular phylogenetic tree indicated that seven species of the suborder Salmonoidea were divided into three large clusters: (1) The first cluster is the family Salmonidae; (2) The second cluster consists of the family Plecoglossidae (Ayu) and the family Salangidae. (3) The third cluster is the family Osmeridae. Among these three clusters, the family Salmonidae diverged at first time and it may be ancestor type, the cluster of Plecoglossidae (Ayu) and Salangidae diverged at next time, and lastly the family Osmeridae diverged at recent time. The molecular phylogenetic tree indicated that Ayu (*Plecoglossus altivelis altivelis*) is not included into the family Osmeridae, and that Ayu (*Plecoglossus altivelis altivelis*) composes the family Plecoglossidae. The present molecular results would provide useful information for elucidation of phylogeny and evolution of the suborder Salmonoidea.