

長良川で採集した仔アユ内における陸封型の混合率と交雑個体

松田宏典, 原 徹, 長瀬 崇*, 桑田知宣

Mixing rate and occurrence of the hybrid of landlocked form
on Ayu, *Plecoglossus altivelis*, larvae
collected from Nagara River

HIRONORI MATSUDA, TORU HARA, TAKASHI NAGASE* AND TOMONORI KUWADA

近年、アユ, *Plecoglossus altivelis*, 種苗の移植に関して様々なリスクが指摘されている。¹⁻⁶⁾ その中の一つとして、天然集団が遺伝的に遠縁な集団や多様性の消失した集団と交雑することにより、環境適応力等について、短期的、長期的影響を受けることが指摘されている。^{1,3)} 海産アユ（以下「両側回遊型」）から見た遺伝的に遠縁な集団とは主に琵琶湖産アユ（以下「陸封型」）を、多様性の消失した集団とは主に少数親魚により継代されたアユを指す。これまでに、管理環境下におけるこれらに関する知見^{3,7,8)} は集積されつつあるが、河川における実態については調査研究が不足している。特に、長良川規模の大河川では産卵場が広範囲にわたるため、両側回遊型と陸封型の交雑の実態については不明な点が多い。このため、本研究では、サンプル収集が容易で交雑について直接的証拠を得ることが可能な流下仔魚を用い、マイクロサテライトDNAマーカーを用いた分析を行うことにより、陸封型の混合率や陸封型との交雑個体の存在について検討した。

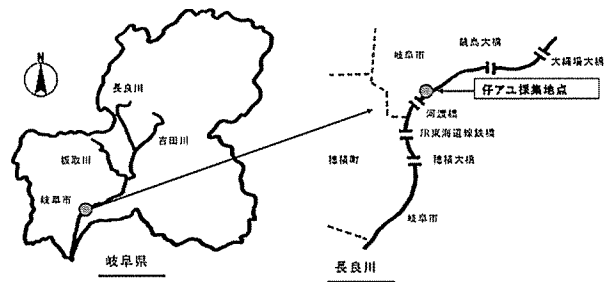
材料および方法

(供試魚)

供試魚は、岐阜市河渡地先の長良川（第1図）において、2001年9月27日から11月8日の間に合計4回採集した。採集は、サーバーネット（35×35cm）を用い、一定時間濾水することにより行った。採集した仔魚は分析を行うまでの間、80%アルコールで保存した。サンプルの番号、採集日等の詳細は第1表にまとめた。供試魚は、2分間吸水させた後、万能投影機により全長と塚本ら⁹⁾の卵黄指数を測定し、DNA分析に供した。

(仔魚の由来評価)

仔魚の由来評価は以下の流れで行った。仔魚の全長について各サンプル群間の隔たりを検定する（仔魚の全長



第1表 各採集群の採集尾数、採集時間および採集年月日

サンプルNo.	採集尾数	採集時間	採集年月日
S-27	578	21:45~22:10	2001年9月27日
O-11	81	20:25~21:05	2001年10月11日
O-31	423	20:20~20:46	2001年10月31日
N- 8	106	20:10~20:46	2001年11月8日

* 現在、宮川下流漁業協同組合

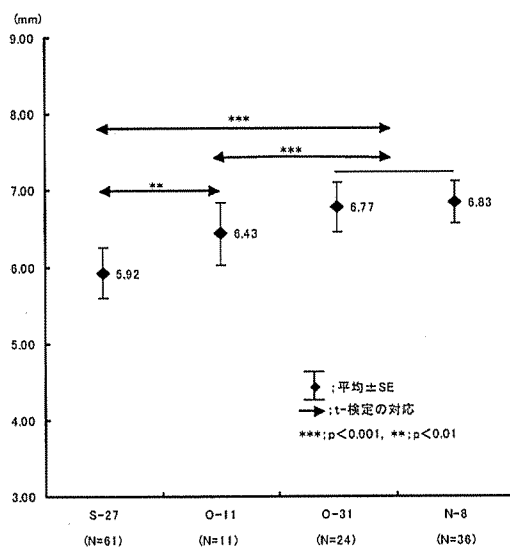
は陸封型の方が両側回遊型に比べて相対的に小さい。⁹⁾。有意差の認められる組み合わせが1つでもある場合は、マイクロサテライトDNA分析を行う。マーカー座は高木¹⁰⁾のPal 4とPal 5を用いる(Pal 4はアレル数が多いため多様性の評価に適している。Pal 5は両側回遊型と陸封型で優占するアレルが異なるため、両系群の混合や交雑の検出に適している。)。まず、Pal 5 (210) 頻度により両側回遊型との隔たりを検定する。有意差が認められた場合は、Pal 5におけるハーディー・ワインベルグ比からのズレを検定し、その要因について振り分けを行う(両系群の混合、遺伝的浮動、交雑等)。そして、その結果について、Pal 4のアレル数及び総流下仔魚数(親魚数の推定)、仔魚の全長、アユ種苗の放流割合から考察し、仔魚の由来を推定する。

(マイクロサテライトDNA分析)

DNAの抽出はフェノール・クロロフォルム法により行った。プライマーセット、PCRの条件は高木¹⁰⁾に従った。PCR増幅産物はALFexpress II DNA Sequencer (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて泳動し、増幅断片のサイズを決定した。

(統計解析)

平均値の差の検定はt-検定により行った。アレル頻度の差、ハーディー・ワインベルグ比からのズレの検定はウィリアムズの修正を加えたG-検定により行った。なお、Pal 5 (210) 頻度の基準値として、両側回遊型は松田¹¹⁾の長良川上稚アユの結果(0.755)を用い、陸封型は滋賀県マキノ町地先でエリにより採捕されたものについて、本報で解析した結果(0.330)を用いた。陸封型の混合率の算出は $Q_x = (P_i - Y_i) / (X_i - Y_i)$ ¹²⁾式により



第2図 各採集日における卵黄指数3の仔アユの全長とt-検定の結果

行った。

(放流種苗の内訳)

岐阜県農林商工部水産振興室(以下「水産振興室」)が調べた資料に基づき、聞き取り調査を行って算出した。

(調査河川の状況)

(独)水資源機構長良川河口堰管理事務所の観測データを元に水産振興室が集計した結果を用いた。

観測地点は、水温が河口より31km上流付近、流量が河口より39km上流付近である。なお、流下仔魚の採集地点は河口より45km上流付近である。

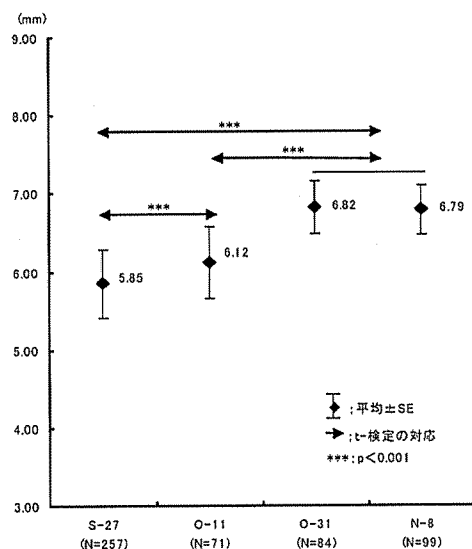
結 果

(形態計測の結果)

各サンプル群の卵黄指数を第2表に示した。各サンプル群内には様々な卵黄指数の個体が存在し、群ごとに各ステージの割合が異なっていた。このため、卵黄指数が3のものについて、その平均全長を比較したところ、O-31とN-8の組み合わせを除き、相互で有意差が認められた

第2表 各採集群の卵黄指数別割合(%)

卵黄指数	S-27 (N=257)	O-11 (N=71)	O-31 (N=84)	N-8 (N=99)
4	28.8	80.3	7.2	22.3
3	23.7	15.5	28.6	36.4
2	43.2	4.2	61.9	38.4
1	3.1	0.0	2.4	2.0
0	1.2	0.0	0.0	1.0

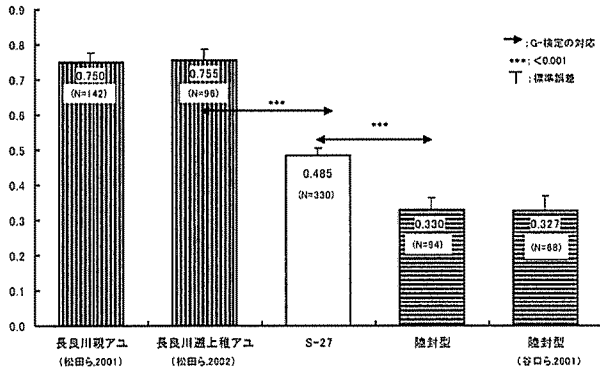


第3図 各採集日における無作為抽出の仔アユの全長とt-検定の結果

(t-検定、第2図)。なお、この結果は、無作為抽出による結果(第3図)と同様の傾向を示した。

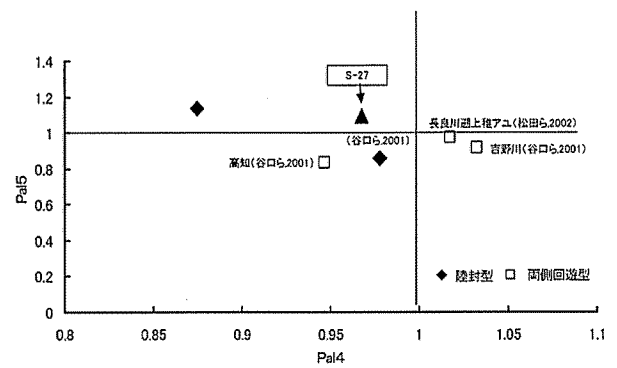
(多型解析の結果)

本年度はS-27のサンプルおよび陸封型についてのみ解析を行った。第4図にPal 5 (210) 頻度について解析した結果を示した。S-27のサンプルの頻度(0.485)は両系群の頻度と有意に異なっていた(G-検定、df=1、p <

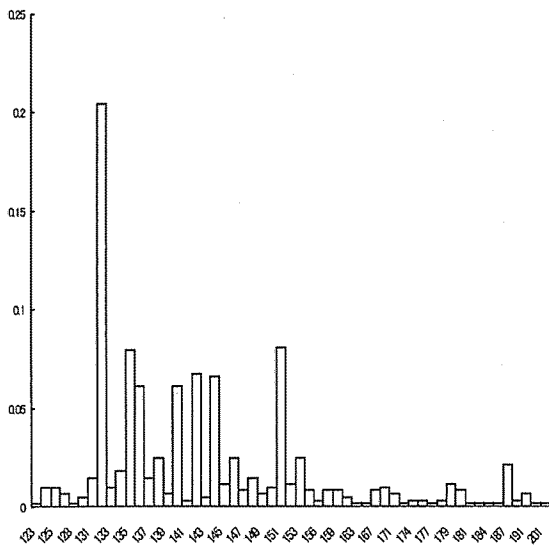


第4図 Pal 5 (210) 頻度とG-検定の結果(鯉魚及び谷口らのbpはシーケンサーの検出値に補正)

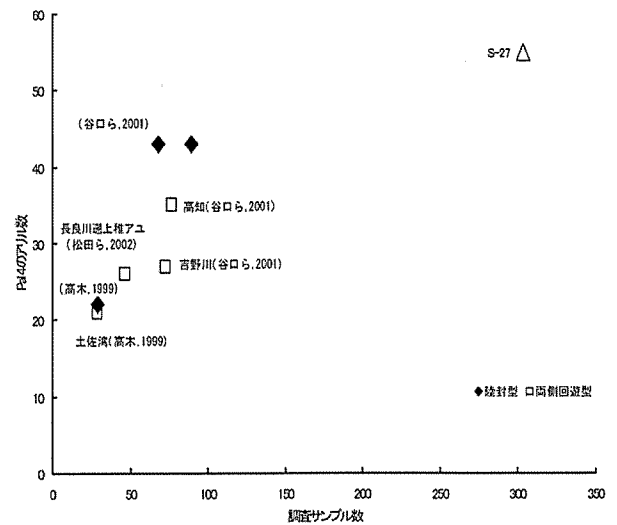
0.001)。そこで陸封型の混合率を算出したところ0.635であった。Pal 4 (N=303) とPal 5 (N=330) のヘテロ接合体率の観察値と期待値の比(ho/he)を第5図に示した。Pal 5のマーカー型頻度についてハーディー・ワインベルグ比からのズレを検定した結果、有意差は認められなかった(G-検定、df=1、p=0.818)。Pal 4には55のアリル(123~201)が認められた(第6、7図)。



第5図 Pal 4及びPal 5のヘテロ接合体率の観察値と期待値の比(ho/he)の分布



第6図 S-27のPal 4アリル頻度(N=303)



第7図 調査サンプル数とPal 4のアリル数との関係

(放流種苗の内訳)

2001年の種苗放流実績は、両側回遊型（非継代）が約200万尾、同（継代）が約30万尾、陸封型（非継代）が約245万尾、同（継代）が約7万尾、不明（両側回遊型と陸封型の交雑種の可能性が指摘されているものを含む）なものが14万尾であった。

(調査河川の水況)

2001年9月～11月の長良川の水況を第8図に示した。9月16日と10月23日に日平均300t/sを上回る出水がある等比較的降雨量の多い年であった。また、平均水温が初めて20℃を下回ったのは9月22日であった。

考 察

現在までに産卵親魚の由来に関するいくつかの調査^{13,15)}が行われており、陸封型の混入が指摘されている^{13,15)}。一方、流下仔魚の段階における調査はほとんど行われていない。本研究のPal 5 (210) 頻度結果は両側回遊型とも陸封型とも有意に異なっていた。これら頻度を乱す要因として、両系群の混合、遺伝的浮動、交雑が考えられる。しかし、両系群が混合した場合、ハーディー・ワインベルグの法則が崩れ、マーカー型頻度はホモ過剰を示すが、S-27のPal 5の結果にその傾向はない。また、Pal 4のアリル頻度には極端な偏りが認められず、遺伝的浮動を引き起こすほどの少数親魚により生まれた仔魚とは考えにくい。一方、長良川には由来不明の種苗が約2.8%放流されている。これら種苗の多くが両系群の交雑個体であったと仮定し、S-27がそれらの子孫であれば本報の結果になる可能性がある。しかし、それら少数の種苗のみが選択的に生残する可能性はきわめて低いと考えられる。このことから、S-27には両系群の交雑個体が存在し、また、マーカー型頻度にヘテロ過剰が認められないことから、産卵場に混入した陸封型と両側回遊型は無作為に交雑している可能性が高いと考えられる。

松田ら¹²⁾は長良川産卵場の親魚を同じ方法で解析したが、親魚中に陸封型混入の痕跡は確認されなかった。一方、原らはアロザイム分析により産卵期の長良川産卵場の親魚の由来を調査し、9月の出水後には一時的に陸封型の混入があったが、調査期間全般を通じて両側回遊型が主体であったことを報告している¹⁶⁾。このように、流下仔魚についての本調査結果は、産卵親魚について調査した過去の結果と異なっていた。長良川の産卵場は河口から上流40km付近～80km付近まで広範囲にわたる¹⁶⁾こと

が確認されており、本調査および過去の調査はその最下流部で行われている。したがって、産卵親魚の調査には、調査地点より上流の陸封型の混入は反映はされないが、流下仔魚を用いた場合にはそれが反映される。サンプルに関するこのような相違が過去の調査結果との相違の原因とも考えられる。原ら¹⁷⁾は漁期後半（8月中下旬）の長良川上流域における陸封型の混合率を0.302と推定しており、S-27の分析結果は、上～中流域に残ったこれらの陸封型が産卵に参加している可能性を示している。

本報の結果により両系群の河川内での交雑の可能性が高まった。しかし、そのリスク評価にはその量や減耗についての把握も必要となる。このため、今後は流下仔魚に的を絞った調査の充実が必要と考えられる。

要 約

1. 主にマイクロサテライトDNAを用いた手法により、長良川で採集した仔アユ内における陸封型の混合率と交雑個体の存在について評価した。
2. 仔アユは2001年9月27日から11月8日の間に合計4回採集したが、本報では9月27日のものについてのみ、その評価を行った。
3. 9月27日の仔アユには陸封型の混入（混合率0.635）が認められた。また、交雑個体が存在する可能性も認められ、その由来は河川における陸封型と両側回遊型の無作為交雑によるものと考えられた。

文 献

- 1) 谷口順彦, 董仕, 近藤桂太, 今井貞美. 遺伝マーカーによる吉野川における陸封型放流アユの混合率および両側回遊型アユの分布の推定. SUIZANZOSYOKU 2002;50(1):17-24.
- 2) 谷口順彦, 関 伸吾, 稲田善和. 両側回遊型、陸封型及び人工採苗アユ集団の遺伝的変異保有量と集団間の分化について. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 1983;49(11):1655-1663.
- 3) 内田和男. アユの種苗放流が河川の生物多様性に与える影響. 種苗放流が生物多様性に与える影響に関する研究成果393, 農林水産技術会議事務局, 東京, 2002;10-46.

- 4) 川合禎次, 川那部浩哉, 水野信彦. 「日本の淡水生物－侵略と攪乱の生態学」東海大学出版会, 東京. 1980.
- 5) 網田健次郎, 星野正邦, 本間智晴, 若林久嗣. 河川における *Flavobacterium psychrophilum* の分布調査. 魚病研究 2000;35(4):193-197.
- 6) Iguchi K, Tanimura Y, Nishida M. Sequence divergence in the MtDNA control region of amphidromous and landlocked form of ayu. Fisheries Science 1997;63:901-905.
- 7) Iguchi K, Itoh F. Occurrence of cross-mating in ayu: amphidromous × landlocked form, and diploid. Fisheries Science 1994;65:653-655.
- 8) 辻村明夫, 谷口順彦. 生殖形質に見られた湖産及び海産アユ間の遺伝的差異. 日本水産学会誌 1995;61(2):165-169.
- 9) 塚本勝巳. 長良川・木曾川・利根川を流下する仔アユの日齢. 日本水産学会誌 1991;57(11):2013-2022.
- 10) 高木基裕. DNA反復配列数多型による魚類の遺伝・育種に関する研究. 水産大学校研究報告 1999;47(4):151-252.
- 11) 松田宏典, 原 徹, 桑田知宣. 放流種苗の多様化が天然集団の再生産に及ぼす影響の解明. 平成13年度内水面重要種資源増大対策委託事業 (アユ遺伝的多様性保全指針作成調査) 報告書 2002;25-27.
- 12) 藤尾芳久. 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. 農林水産業特別試験研究費補助金による研究報告書 1986;419-435.
- 13) 松田宏典, 荻谷哲治, 桑田知宣. 放流種苗の多様化が天然集団の再生産に及ぼす影響の解明. 平成12年度内水面重要種資源増大対策委託事業 (アユ遺伝的多様性保全指針作成調査) 報告書 2001;21-23.
- 14) 高澤俊秀, 荒木康男. 海産アユ及び湖産アユの資源生態調査. 平成10年度山形県内水面水産試験場事業報告書 2000;30-35.
- 15) 原 徹, 斉藤 薫, 武藤義範. アユ資源の増殖に関する研究- II. 岐水試研報 1996;41:7-12.
- 16) 和田吉弘, 稲葉左馬吉. 長良川におけるアユの産卵から仔アユの降下まで. 木曾三川河口資源調査報告 1967;5-12.
- 17) 原 徹, 岡崎 稔, 一柳哲也. アユ資源の増殖に関する研究- IV. 岐水試研報 1998;43:1-7.
- 18) 谷口順彦, 池田 実. DNA多型マーカーを利用したアユの集団構造と遺伝的多様性評価に関する研究. 平成12年度内水面重要種資源増大対策委託事業 (アユ遺伝的多様性保全指針作成調査) 報告書 2001;29-31.