

# 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- II

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- II

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。<sup>2-7)</sup>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、長期的の影響を受けることが指摘されている。<sup>2-9)</sup>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<sup>4,8,9)</sup>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。前報<sup>1)</sup>では、9月27日のサンプルに関する解析結果を報告したが、それ以降のサンプルについても解析したので、併せて報告する。

## 材料および方法

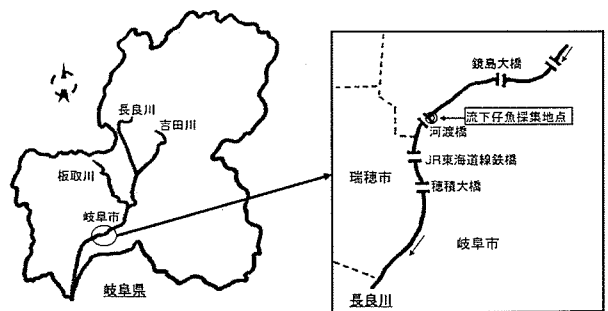
### (調査河川の概要)

調査は長良川で実施した。調査河川の概況図を第1図に示した。長良川は、郡上郡高鷲村に源を発し、白鳥町、大和町を流下し、八幡町で吉田川や亀尾島川、美濃市で板取川を合わせて南流し、伊勢湾に注ぐ流程160km、流域面積1,052km<sup>2</sup>の河川である。

### (調査河川の水況)

(独)水資源機構長良川河口堰管理事務所の観測データを基に、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。また、流下仔魚の採集地点は河



第1図 流下仔アユ採集地点概況図

口より45km上流付近である。

### (放流種苗の内訳)

長良川に放流された種苗について、岐阜県漁業協同組合連合会が調べた資料に基づいて聞き取り調査を行い、

\* 現在、宮川下流漁業協同組合

各種苗の放流尾数を算出した。

(仔魚の流下量)

岐阜県農林水産局水産振興室(以下「水産振興室」)が2001年11月2、3日に行った24時間調査結果から引き延ばし係数を求めて算出した。

(供試魚のサンプリング)

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、30%エタノールで保存した。サンプルの番号、採集日、採集時間、採集尾数は、第1表にまとめた。

第1表 各採集群の採集尾数、採集時間及び採集年月日

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

(仔魚の形態計測)

エタノール固定した供試魚は、2分間吸水させた後、万能投影機により全長と塚本ら<sup>10)</sup>の卵黄指数を測定し、DNA分析に供した。

(マイクロサテライト分析)

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<sup>11)</sup>に従った。PCR増幅産物はALFexpressII 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。マーカー座は高木<sup>11)</sup>のPa14とPa15を用いた。Pa14はアレル数が多いため、多様性の評価に適している。Pa15は両側回遊型と陸封型で特定のアレル(210)の優占割合が異なるため、両系群の混合や交雑の検出に適している。

(仔魚の由来推定)

陸封型の仔魚の全長は、両側回遊型に比べて相対的に小さいため、<sup>9)</sup>仔魚の全長について各サンプル群間の平均値の差を検定した。まず、Pa15(210)頻度と両側回遊型の頻度を検定し、有意差が認められた場合は、Pa15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った(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、Pa14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を加え、仔魚の由来を推定した。なお、Pa15(210)頻度の基準値として、両側回遊型は松田ら<sup>12)</sup>の長良川遡上稚アユの結果(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、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<sup>13)</sup>は、陸封型、両側回遊型および採捕魚のアレル頻度をそれぞれXi、Yi、Piとすると陸封型の混合率Qxは次式で算出される。

$$Qx = (Pi - Yi) / (Xi - Yi)$$

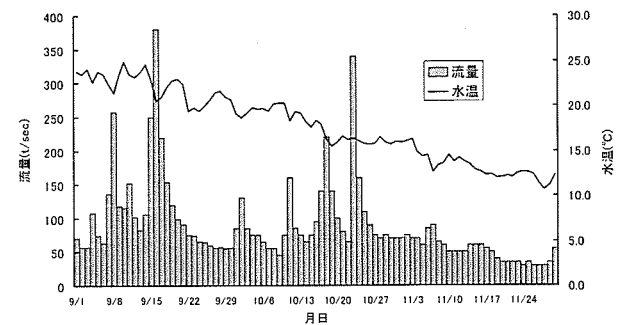
(統計解析)

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。

## 結 果

(調査河川の水況)

2001年9月~11月の長良川の水況を第2図に示した。9月16日と10月23日に日平均300t/sec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。



第2図 流下仔アユ採集地点付近の流量と水温の推移(2001年)

(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。

(仔魚の流下数)

仔魚採集時間内の流量当たりの流下数(尾/t)は、9月27日(6.87)が最も多く、以下10月31日(6.68)、11月8日(1.16)、10月11日(0.73)の順であった。仔魚採集日(16:00~翌9:00)の総流下数は、10月31日(10,790千尾)が最も多く、以下、9月27日(9,301千尾)、10月11日(2,713千尾)、11月8日(1,736千尾)の順であった。

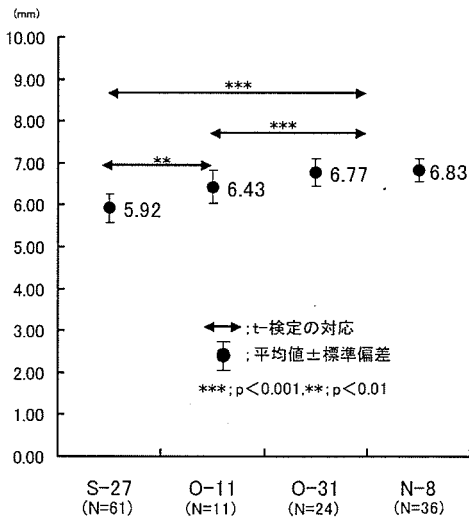
(形態計測の結果)

各サンプル群内には様々な卵黄指数の個体が存在し

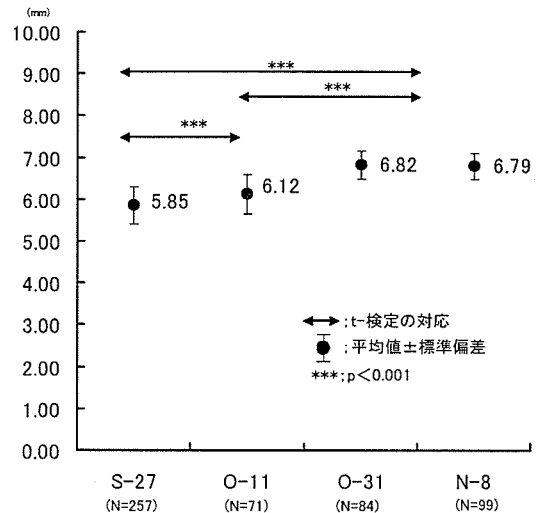
(第2表)、群ごとに各ステージの割合が異なっていた。このため、卵黄指数が3のものについて、その平均全長を比較したところ、0-31とN-8の組み合わせを除き、相互で有意差が認められた(第3図)。なお、この結果は、無作為抽出による結果(第4図)と同様の傾向を示した。

第2表 各採集群の卵黄指数別割合(%)

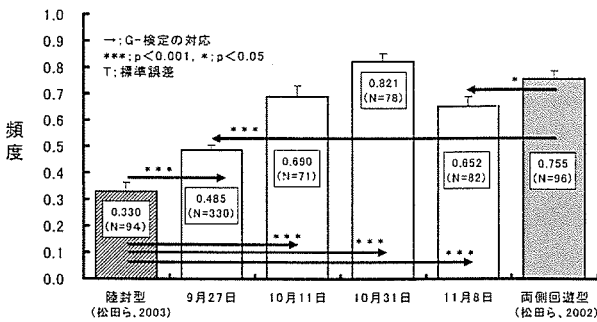
卵黄指数	S-27 (N=257)	0-11 (N=71)	0-31 (N=84)	N-8 (N=99)
4	28.8	80.3	7.2	22.3
3	23.7	15.5	28.6	36.4
2	43.2	4.2	61.9	38.4
1	3.1	0	2.4	2.0
0	1.2	0	0	1.0



第3図 各サンプル群の仔アユの平均全長±SE(卵黄指数3)



第4図 各サンプル群の平均全長±SE(無作為抽出)



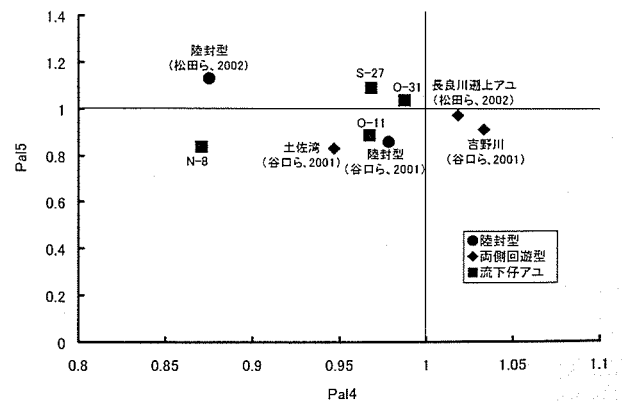
第5図 各サンプルのPa15(210)頻度と両側回遊型および陸封型とのG-検定の結果(多型解析の結果)

第5図にPa15(210)頻度の解析結果を示した。各サンプル群の内、S-27の頻度(0.485)は両系群の頻度と有意に異なっていた(df=1, p<0.001)。そこで、陸封型の混合率を

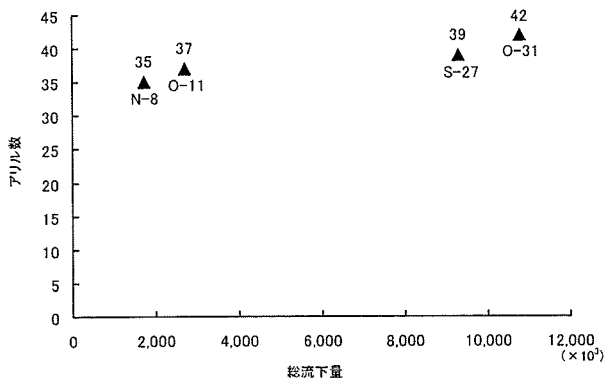
算出した結果0.635であった。0-11の頻度(0.690)、0-31の頻度(0.821)については、陸封型と有意に異なっていたものの(df=1, p<0.001)、両側回遊型との有意差は認められなかった(df=1, p=0.164(0-11), p=0.217(0-31))。N-8の頻度(0.652)は陸封型と有意に異なり(df=1, p<0.001)、両側回遊型とも有意に異なっていた(df=1, p=0.038)。

各サンプル群のPa14とPa15のヘテロ接合体率の観察値と期待値の比(ho/he)を第6図に示した。Pa15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、S-27~0-31に有意差は認められなかったが、N-8は有意差が認められた(G-検定, df=1, p=0.0437)。

無作為抽出(N=70)した各サンプル群の、Pa14のアリル数と仔魚採集日の総流下数との相関を第7図に示した。Pa14のアリル数は0-31が最も多く(42)、以下S-27(39)、



第6図 Pa14及びPa15のヘテロ接合体率の観察値と期待値の比(ho/he)の分布  
0-11(37)、N-8(35)の順で、総流下数の増加に伴い検出されるアリル数も増加した。



第7図 16:00から翌9:00までの流下仔アユ数とPa14のアイル数との相関(N=70)

## 考 察

これまでの産卵親魚の由来に関する調査<sup>14-16)</sup>では、陸封型の混入が指摘されている。<sup>14, 16)</sup>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。本研究におけるS-27のPa15(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、交雑等が考えられる。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Pa15の結果にその傾向はない。また、70サンプルの分析においてPa14に39のアイルが認められたことから、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ったとす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、マーカー型頻度にハーディー・ワインベルグ比からのズレ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。一方、N-8の分析結果に認められた統計的有意差(Pa15(210)頻度が両側回遊型と有意に異なり(p=0.038)、N-8のサンプルについては、マーカー型頻度のハーディー・ワインベルグ比からのズレについても有意差が認められた。この原因は定かではないが、p値が低く、サンプリング時の抽出誤差の可能性も否定できないことから、さらなる検討が必要と考えられる。なお、O-11とO-31には陸封型の混入を疑う要素が認められないことから、陸封型混入の可能性は低いと考えられる。

松田ら<sup>15)</sup>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。<sup>15)</sup>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<sup>17)</sup>ことが確認されており、本調査及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<sup>18)</sup>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。

陸封型と両側回遊型の産卵期に関わる報告は比較的多い。<sup>4, 19-23)</sup>それらによると、北日本ほど両系群の産卵期は接近し、河川内においても産卵期が重なっている。原らは、耳石の日齢査定により、4月4日から5月8日の間に長良川に遡上したアユのふ化日を9月14日から11月30日までであると推定し、<sup>21)</sup>また、原らは、1994年10月3日に長良川で採捕した完熟魚をアロザイム分析により調査し、それが両側回遊型に近い集団であったことを報告している。<sup>22)</sup>原らの報告は、伊勢湾に流入している河川では、9月の早い時期に産卵に加わっていることを示している。また、原らは、早期に生まれたものほど早期に遡上し、型も大きいことを報告している。<sup>23, 25)</sup>また、長良川において遡上稚魚の中に陸封型の子孫が混入していた証拠は見つかっていない。<sup>12, 27)</sup>本調査の結果から、長良川の早期産卵群において、両側回遊型と陸封型が交雑していることが示されたら、これらの結果は、早期大型遡上群消失の危険性を示唆するものである。

一方、Otake *et al.* は、<sup>28)</sup>長良川の産卵親魚を用いた耳石のSr:Ca比の分析により、10月中旬から11月下旬においても放流魚由来のものが混入していたことを報告している。しかし、長良川には(財)岐阜県魚苗センター産の両側回遊型由来の人工産種苗が約200万尾放流されており、これは、Sr濃度が海水の約1/200の人工海水により育成されているため、Sr/Ca比の分析では、陸封型と区別できない。本調査結果より、Otake *et al.* <sup>28)</sup>が混入していたと報告している放流種苗は、このような(財)岐阜県魚苗センター

産の両側回遊型由来の人工産である可能性がある。

以上のことから、長良川においては少なくとも9月中下旬の間は両側回遊型と陸封型の産卵期が重なり、しかも、両系群の交雑個体が生まれている可能性が高い。今後は、本調査に類する調査を充実させることにより、陸封型の放流対策を検討する必要があると考えられる。

## 要 約

1. 主に、マイクロサテライトDNAを用いた手法により、2001年9月27日から11月8日の間に採集した仔アユについて、陸封型の混合率と交雑個体の存在について評価した。
2. 陸封型の混入は9月27日のものみに認められた(混合率0.635)。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。

## 謝 辞

本研究を行うに当たり、ご指導、ご協力を頂いた東北大学大学院応用集団遺伝学講座の谷口順彦教授、池田実助教授に深謝する。また、各種データの収集にご協力をいただいた、岐阜県農林水産局水産振興室の職員の方々に感謝する。

## 文 献

- 1) 松田宏典, 原 徹, 長瀬 崇, 桑田知宣. 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. 本誌 2004;49:1-6.
- 2) 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. 水産増殖 2002;50(1):17-24.
- 3) 谷口順彦, 関 伸吾, 稲田善和. 両側回遊型, 陸封型およ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. 日水誌 1983;49(11):1655-1663.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) Iguchi K, Tanimura Y, Nishida M. Sequence divergence in the MtDNA control region of amphidromous and landlocked form of ayu. *Fish.Sci.*1997;63:901-905.
- 8) Iguchi K, Itoh F. Occurrence of cross-mating in ayu: amphidromous $\times$ landlocked form, and diploid. *Fish.Sci.*1994;65:653-655.
- 9) 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. 日水誌 1995;61(2):165-169.
- 10) 塚本勝巳, 長良川・木曾川・利根川を流下する仔アユの日齢. 日水誌 1991;57(11):2013-2022.
- 11) 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. 水大校研報 1999;47(4):151-252.
- 12) 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14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, 日本水産資源保護協会, 東京. 2002;25-27.
- 13) 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, 東京. 1986;419-435.
- 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, 山形. 2000;30-35.
- 15) 松田宏典, 苅谷哲治, 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, 日本水産資源保護協会, 東京. 2001;21-23.
- 16) 原 徹, 芥藤 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.
- 17) 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, 長野. 1967;5-12.
- 18) 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.
- 19) Matsuyama M, Matuura S. On the ovarian maturation and spawning of the landlocked large type

- ayu *Plecoglossus altivelis* in Lake Biwa. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 1985;51 (5):691-698.
- 20) 田中秀具, 片岡佳孝, 澤田宣雄, 孝橋賢一, 酒井明久. 耳石日周輪から推定した1999年産アユのふ化日組成. 平成11年度滋賀県水産試験場事業報告, 滋賀. 2000;50-53.
- 21) Iguchi K, Yamaguti M. Adaptive significance of inter and intrapopulational egg size variation in ayu *Plecoglossus altivelis* (Osmeridae). *Copeia* 1994;184-190.
- 22) 関 伸吾, 谷口順彦. アイソザイム遺伝標識による放流湖産アユの追跡. *日水誌* 1998;54:745-749.
- 23) 田子泰彦. 庄川におけるアユ降河仔魚量の推定. *日水誌* 1999;65:718-727.
- 24) 原 徹, 齊藤 薫, 一柳哲也. アユ資源の増殖に関する研究- III. *岐水試研報* 1997;1-6.
- 25) 原 徹. 長良川における海産系アユの動向について. 平成6年度アユ増殖研究部会報告書, 東京. 1999.
- 26) Tsukamoto K, Masuda S, Endo M, Isshida R. Influences of fish stocks on recapture rate of the ayu released in Tsubusa River. *Nippon Suisan Gakkaisi* 1990;56:1169-1176.
- 27) 原 徹, 齊藤 薫, 武藤義範. アユ資源の増殖に関する研究- I. *岐水試研報* 1996;1-5.
- 28) Otake T, Yamada C, Uchida K. Contribution of stocked ayu (*Plecoglossus altivelis*) to reproduction in the Nagara River, Japan. *Fish. Sci.* 2002;68:948-950.
- 29) 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, 東京. 2001;29-31.