アイソザイム遺伝標識による放流湖産アユの追跡

関 伸 吾, 谷 口 順 彦

(1987 年 8 月 28 日受付)

Tracking the Released Ayu of Landlocked Form by Isozyme Markers

Shingo Seki* and Nobuhiko Taniguchi*

The amphidromous form of ayu *Plecoglossus altivelis* is distributed in Japanese natural rivers flowing into the sea, and the landlocked form is restricted in the freshwater lakes. The latter form has a spawning season two months earlier than the former form. We investigated the ayu in Monobe river using isozyme markers, i.e. *Gpi-1* and *Mpi* loci, and gonado-somatic index (GSI). The *Gpi-1*¹⁰⁰ and *Mpi*¹⁰⁰ allele frequencies of amphidromous form were 0.626 and 0.874 respectively, and those of landlocked form 0.343 and 0.390 respectively, were examined as a control. The samples which were collected from three sites of Monobe river showed that the allele frequencies of *Gpi-1*¹⁰⁰ ranged from 0.525 to 0.652 and *Mpi*¹⁰⁰ from 0.600 to 0.957 respectively. The samples from two sites of lower reaches did not include the landlocked form, and showed the lower GSI value. The higher GSI groups of third site of upper reaches was identified as a landlocked form, and the lower GSI groups was identified as an amphidromous form based on the allele frequencies of *Gpi-1*¹⁰⁰ and *Mpi*¹⁰⁰.

We concluded that the released fish of landlocked form disappear on the lower reaches of Monobe river at the beginning of September (in the spawning season of landlocked form). This is evidence that the landlocked form released on the lower reaches may be almost caught or finished its spawning. It was discussed that the released landlocked form of lower reaches might scarcely take part for the reproduction in the area of amphidromous populations.

アユ *Plecoglossus altivelis* は仔魚期に一度海で生活する両側回遊型と一生を湖の中で過ごす陸封型の 2 型のあることが知られている。このうち琵琶湖の陸封型アユ(以下“湖産アユ”とする)は天然河川に放流すれば両側回遊型天然アユに比べて見劣りせぬ成長を示すため天然遡上のないダムの上流や天然遡上の少ない河川において大量に放流されるようになった。このため 2 型の遺伝子の混合が懸念されるが、一方では湖産アユの産卵期が両側回遊型アユの産卵期に比べ 1~2 ヶ月早いことから、両型は遺伝的に混合することはなく、またたとえ湖産アユが産卵したとしてもその仔魚の流下時期の海水温が高すぎるため生き残ることができず、¹⁾ 放流した湖産アユはその世代限りで消滅すると考えられている。²⁾ このことは電気泳動法によるアイソザイム遺伝子の分析において、両側回遊型アユと湖産アユの間で顕著な遺伝的差異が維持されていることによって裏付けられている。^{3,4)}

両側回遊型アユと湖産アユが遺伝的に分化しており、また、西南日本の両側回遊型アユが、湖産アユの放流の

多少にかかわらず遺伝的に均質である³⁾ という事実は、湖産アユが次代の再生産には関与しないとする説を支持していると思われるが、このことについて実際に調査した事例は見あたらない。そこで両側回遊型アユの分布域において放流された湖産アユをアイソザイム遺伝標識によって追跡調査し、河川における湖産アユ放流種苗の産卵期(9月上旬)における動向を調べた。

材 料 と 方 法

調査を行った物部川は高知県南国市の東側に位置する一級河川で、上流に杉田、吉野、永瀬の 3 つのダムがある。供試魚の採集地点は Fig. 1 に示した 3 地点である。St. 1 は最下流の瀬、St. 2 は下流域で湖産といわれる種苗の放流の行われた地点、St. 3 はダムの上流域で天然遡上がまったくなく、湖産といわれる種苗を放流した地点である。供試魚の採集日、個体数および大きさを Table 1 に示した。種苗の放流は 5 月に行われている。採集は 8 月下旬より 9 月中旬にかけて行った。この時期

* 高知大学農学部栽培漁業学科 (Department of Cultural Fisheries, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan).

Fig. 1. Sampling stations in Monobe river. Brack triangle is released site.

Table 1. Source of ayu samples used in electrophoretic analysis

Location	Date of collection	No. of fish	Fork length (cm)	Body weight (g)
St. 1. (reaches lowermost)	Sep. 27, 1985	23	15.5 (13.6–19.0)	47.2 (34.6–83.9)
St. 2. (lower reaches)	Aug. 25– Sep. 15, 1985	38	18.7 (13.7–21.2)	79.3 (28.5–128.3)
St. 3. (upper reaches of dam)	Aug. 29– Sep. 1, 1985	40	18.4 (16.3–21.5)	79.2 (50.8–134.6)
Amphidromous form of Monobe river (Kochi Pref.)	Nov. 5– Nov. 26, 1986	103	17.1 (13.6–21.3)	47.7 (21.9–105.7)
Landlocked form of Inukami river (Shiga Pref.)	Sep. 11– Sep. 30, 1986	150	8.0 (6.3–9.6)	4.2 (2.5–13.9)

は湖産アユの産卵期にあたる。⁸⁾ 両側回遊型アユおよび湖産アユを代表する試料として、それぞれ 1986 年に採集した物部川および琵琶湖に流入する犬上川の天然種苗を用いた。

酵素の検出は水平式デンブングル電気泳動法を用いた。方法は既報^{8,9)}に従った。両型の判別指標として検出した glucosephosphate isomerase (EC. 5.3.1.9), mannosephosphate isomerase (EC. 5.3.1.8) の 2 酵素に関与する 3 遺伝子座のうち *Gpi-1*, *Mpi* の 2 遺伝子座を用いた。ゲル濃度は通常 12% であるが、*Mpi* 遺伝子座についてはヘテロ型バンドの分離を良くするため 9% のゲル濃度で泳動を行った。

各地点の供試魚について成熟度を調べるため生殖腺指数 (GSI) を次式により求めた。

$$GSI = (GW \times 10^4) / (FL)^3$$

ただし、GW は生殖腺重量、FL は尾叉長である。

また、両側回遊型アユと湖産アユの GSI 値を比較する指標として 1983 年に両型を同一タンク内で 5 ヶ月にわたって飼育した実験データを用いた。

結 果

Gpi-1, Mpi 両遺伝子座の遺伝子頻度 3 地点の試料の遺伝子頻度と両側回遊型および湖産アユの遺伝子頻度を Table 2 に示した。両側回遊型アユと湖産アユでは *Gpi-1*, *Mpi* の両遺伝子座の遺伝子頻度に明らかな違いが認められた。3 地点の供試魚のうち St. 1 と St. 2 では *Gpi-1*, *Mpi* 両遺伝子座ともほぼ両側回遊型アユの遺伝子頻度を示した。しかし、St. 3 の供試魚の遺伝子頻度組成は他の 2 地点とは明らかに異なり、*Gpi-1*, *Mpi* 両遺伝子座の 100 対立遺伝子頻度が両側回遊型アユと湖産アユのほぼ中間の値であった。従って、St. 3 のサンプルには湖産アユの他に両側回遊型アユが高い割合で含まれ

Table 2. Allele frequencies of two locus, *Gpi-1* and *Mpi*, in each location

Location	<i>Gpi-1</i>				<i>Mpi</i>		
	100	90	80	60	105	100	95
St. 1.	0.652	0.000	0.326	0.022	0.000	0.957	0.043
St. 2.	0.632	0.000	0.368	0.000	0.000	0.868	0.132
St. 3.	0.525	0.000	0.475	0.000	0.000	0.600	0.400
Amphidromous form	0.626	0.000	0.369	0.005	0.000	0.874	0.126
Landlocked form	0.343	0.003	0.650	0.003	0.047	0.390	0.563

Fig. 2. Relationship between fork length and gonado-somatic index (GSI) in each station. ●, male; ○, female.

Fig. 3. Fluctuation of gonado-somatic index (GSI) of amphidromous form (open circle) and landlocked form (close circle) of ayu reared culture pond.

Table 3. Gene frequencies of allele 100 at the *Gpi-1* and *Mpi* loci by each GSI level in St. 3.

Sex	GSI level	No. of fish	Frequency of allele 100 at		Sex	GSI level	No. of fish	Frequency of allele 100 at	
			<i>Gpi-1</i>	<i>Mpi</i>				<i>Gpi-1</i>	<i>Mpi</i>
Male	Total	18	0.583	0.611	Female	Total	22	0.477	0.591
	GSI $\geq$ 5	8	0.563	0.375		GSI $\geq$ 3	8	0.313	0.563
	GSI<5	10	0.600	0.800		GSI<3	14	0.571	0.607

ていたと考えられる。

GSI 値の分布 各地点の GSI 値の分布を Fig. 2 に示した。St. 1 では雌で 1 個体 GSI 値が 0.2 であった以外はすべて 0.1 以下であった。St. 2 では雄が平均 0.75 ± 0.68 , 雌が平均 1.05 ± 2.99 , St. 3 では雄が平均 5.45 ± 4.08 , 雌が平均 3.43 ± 3.83 となり, St. 1, St. 2 に比べて St. 3 では成熟個体が多く, また, 個体差が大きかった。St. 2 は St. 1 に比べれば GSI 値の平均値は雌雄ともに高いものの GSI 値が 0.1 以下の個体が半数近くの 17 個体 (44.7%) を占めていた。

同一飼育条件下での両型の GSI 値の比較 同一飼育条件下での両型の 8~10 月期の GSI 値の変化を Fig. 3 に示した。GSI 値は 8 月後半ですでに両型で雌雄共に違いが認められ, その差は 9 月以降も変わらなかった。特に雌でその傾向が強かった。9 月初旬で両型は GSI 値のレベルより, 雌では 3 の値で区別ができ, 雄では 5 の値で若干の重なりがあるかおおよそ区別することが可能であった。

Gpi-1, Mpi の 2 遺伝子座の遺伝子頻度と GSI 値の関係 Table 3 に St. 3 における GSI 値と *Gpi-1*, *Mpi* 両遺伝子座の 100 対立遺伝子頻度との関係を示した。雌について GSI 値 3 を境にして, それより低い集団の *Gpi-1*¹⁰⁰, *Mpi*¹⁰⁰ の遺伝子頻度は両側回遊型アユに, GSI 値の高い集団の遺伝子頻度は湖産アユに特徴的な遺伝子頻度になった。雄でも GSI 値が 5 の付近を境にして分けた場合, 同様に, 遺伝子頻度に差が見られ, 2 集団はそれぞれに対応した。特に GSI 値の低い集団について

は両側回遊型アユの遺伝子頻度により接近した。*Gpi-1*, *Mpi*, GSI の 3 つを指標として混合率を求めた (Table 4)。*Gpi-1*, *Mpi* の遺伝子頻度より混合率を求める方法は佐藤ら⁷⁾に従った。St. 1 は 3 指標とも湖産アユの混合率は 0% 以下で湖産アユは含まれていないものと判定された。St. 2 は平均 0.6% で St. 1 と同様に湖産アユはほとんど含まれていないと判定された。St. 3 は雌で平均 49.2%, 雄で平均 38.0%, 全体で平均 44.1%, 湖産アユが混合していると判定された。

考 察

放流種苗の由来について St. 3 はダムの上流にあり, 天然遡上はまったくない。従って, St. 3 において採捕された供試魚は放流種苗のみからなる。先の結果は St. 3 のサンプルにおいて湖産アユの他に両側回遊型アユが含まれていたということを示している。湖産アユ放流種苗には, 蓄養中に両側回遊型稚アユや人工種苗が補充される可能性があるといわれる。St. 3 で放流された種苗はまさにこのような人為的に両型が混合された種苗であった可能性が高い。St. 3 のサンプルに成熟度が顕著に異なる 2 集団が含まれており, *Gpi-1*¹⁰⁰ および *Mpi*¹⁰⁰ 遺伝子頻度から GSI の高い集団が湖産アユ, GSI の低い集団が両側回遊型アユに対応することも証明された (Table 3)。同時に, この研究によって湖産アユは放流された天然河川下においても両側回遊型アユより約 2 ヶ月早く成熟することが確かめられた。

放流種苗の動向 1985 年度物部川は天然アユ遡上が不漁で, ダムの上流だけでなく, 例年放流されることのない下流域においても湖産アユと称される種苗が放流された。*Gpi-1* および *Mpi* 両遺伝子座の遺伝子頻度と成熟度の関係から, ダム下流域では放流されたはずの湖産アユは採集された供試魚の中にほとんど含まれていなかった。この原因として 2 つが考えられる。1 つには, 湖産アユがこの時期すでに成熟し産卵場に近い別の場所に移動したかまたはすでに産卵を終え死んでしまったという可能性, もう 1 つは, 放流された湖産アユ種苗が強度の漁獲圧力によりとりつくされてしまったという可能性である。この年この場所 (St. 2) では, 友釣等で強度の漁獲

Table 4. Estimation of mixing rate of landlocked form in the collected samples about three stations in Monobe river. Estimation was made by the method of Sato⁷⁾

Marker	Mixing rate of landlocked form (%)				
	St. 1	St. 2	St. 3		
			Total	Female	Male
<i>Gpi-1</i>	— 9.2	— 2.1	35.7	52.7	15.2
<i>Mpi</i>	— 17.1	1.2	56.6	58.4	54.3
GSI	0	2.6	40.0	36.4	44.4
Average	— 8.8	0.6	44.1	49.2	38.0

が行われ、8月下旬に抱卵アユが多く漁獲されていたのが、9月に入ると採捕されなくなったことが確かめられている。このことは第2の可能性を裏付けている。湖産アユはなわばりをつくる性質が強く、⁸⁾ なわばり形成開始時期が早い⁹⁾ といわれ、また、湖産アユは両側回遊型アユに比べて放流後の移動距離が小さい傾向がある。¹⁰⁾ これは、湖産アユが特異的に強度の漁獲を受けやすい理由の一つと考えられる。

放流種苗の天然集団に対する遺伝子移入はニジマスなどで報告されており、¹¹⁾ 両側回遊型と陸封型の遺伝子の混合が示唆されている。また、ワカサギとイシカリワカサギの例にみられるように種間で雑種が形成されているという報告もある。¹²⁾ それに対してアユでは、産卵期の違いにより両者が交雑を起こさないだけでなく、漁獲されやすいという放流湖産アユの性質ゆえに、湖産アユの遺伝子移入が防止されたものと考えられる。また、たとえ湖産アユが河川で産卵したとしても、仔魚の流下時期の海水温が高すぎるため生き残ることができない¹³⁾ ことも大きな要因となっているだろう。つまり、両側回遊型アユの分布する天然河川において放流された湖産アユ種苗はその河川に定着できず、その年限りのものであると考えるのが妥当であろう。今後天然河川への湖産アユ種苗放流を行っていく場合、湖産アユが両側回遊型アユ分布域においては再生産にほとんど関与することがないことを放流指針設定の観点に含める必要があると思われる。

謝 辞

供試魚の採集にご協力いただいた高知県内水面漁業セ

ンターの松浦技官および内水面漁連の方々、滋賀県水産試験場の方々各位に深謝の意を表する。

文 献

- 1) 田畑和男, 東 幹夫: 兵庫水試研報, **24**, 29-34 (1986).
- 2) 東 幹夫: 日本の淡水生物 (川合禎次, 川那部浩哉, 水野信彦編), 東海大学出版会, 東京, 1980, pp. 154-161.
- 3) 関 伸吾, 谷口順彦: 高知大海洋生物研報, **7**, 39-48 (1985).
- 4) M. Nishida: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**, 1269-1274 (1985).
- 5) 東 幹夫: 日生態会誌, **23**, 255-265 (1973).
- 6) 谷口順彦, 岡田容典: 日水誌, **46**, 437-443 (1980).
- 7) 佐藤良三, 中賢治, 石田力三: 水産育種, **7**, 1-8 (1982).
- 8) 関 伸吾, 谷口順彦, 村上幸二, 米田 実: 淡水魚, **10**, 101-104 (1984).
- 9) 和田吉弘: アユ, アマゴ人工種苗報告書, **9**, 71-75 (1977).
- 10) 東 幹夫, 福田富男, 和田吉弘: 岡山水試昭 46 年度臨時報告, 44-59 (1971).
- 11) D. E. Campton and J. M. Johnston: *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **114**, 782-793 (1985).
- 12) 大久保進一, 工藤 智: 北海道水産孵化場研報, **41**, 101-109 (1986).