

高知県鏡川の鏡ダム湖上流における人工アユの釣獲と繁殖貢献

占部 敦史,^{1a*} 長岩 理央,^{1b} 隅川 和,¹ 津行 篤士,^{2c} 海野 徹也²

(2024年7月26日受付, 2024年12月13日受理, 2025年3月5日J-STAGE早期公開)

¹高知県内水面漁業センター, ²広島大学大学院生物圏科学研究科Contribution to the catch and reproduction of hatchery-reared ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* in the upper reaches of Kagami Dam Lake in the Kagami River, Kochi PrefectureATSUSHI URABE,^{1a*} RIOU NAGAIWA,^{1b} KAZU SUMIKAWA,¹
ATSUSHI TSUYUKI^{2c} AND TETSUYA UMINO²¹Kochi Prefectural Freshwater Fisheries Center, Tosa-Yamada, Kochi 782-0016, ²Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, Higashi-hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan

We investigated the strain identification between hatchery-reared and landlocked ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* using meristic character (number of scales above the lateral line based on the dorsal fin ray) and otolith Sr:Ca ratios in the upper reaches of Kagami Dam Lake in the Kagami River. The percentages of landlocked and hatchery ayu in angling (*tomozuri*) caught fish in May–September in 2017 were 17–92% and 8–83%, respectively. Using microsatellite DNA markers, we examined the reproduction of landlocked and hatchery ayu in Kagami Dam Lake. The genetic origin of parent and upstream migrated populations in the landlocked form in Kagami Dam Lake was identified as hybrid fish between amphidromous and Lake Biwa strains using assignment tests. Moreover, among the spawning in November and December, 23–27% of individuals were identified as amphidromous strain, suggesting that hatchery-reared ayu contributed to the reproduction. These results indicated the contribution of hatchery-reared ayu to the reproduction and enhancement of resources in Kagami Dam Lake and its upper reaches. However, most individuals within the upstream migrated population were identified as hybrid fish. This indicates that most of the ayu in Kagami Dam Lake are hybrid fish, and their reproduction contributes to the persistence of the population.

キーワード: MS-DNA, アユ, 帰属性解析, 人工アユ, 由来判別, 陸封アユ

アユ *plecoglossus altivelis altivelis* は海と川で生育する両側回遊型と一生を淡水域で過ごす陸封型が存在し、陸封型は琵琶湖の他にダム湖でも生息が確認されている。両側回遊型は海産アユと呼ばれ、琵琶湖に生息している陸封型は琵琶湖産アユと呼ばれており、両者には遺伝的な違いがある。¹⁾

本種は日本の内水面漁業の重要種で、漁業、遊漁、観光などの資源として多面的に利用されている。²⁾ また、

アユの資源を維持するため、種苗放流が全国で実施されている。種苗放流は一世代回収と次世代回収を目的に行われ、一世代回収は放流したアユをその年の漁期内に回収するもので、次世代回収は放流したアユの繁殖貢献を期待し、その子孫を回収するものである。³⁾ 放流した地点から産卵場への移動が難しく繁殖貢献が見込めない河川では一世代回収を、産卵場への移動が可能で繁殖貢献が見込める河川では次世代回収を主体に、放流計画が立

©2025 公益社団法人日本水産学会/The Japanese Society of Fisheries Science

* Tel & Fax : 81-88-752-4231. Email : atsushi_urabe@ken4.pref.kochi.lg.jp

^a 現所属 : 高知県水産振興部漁業管理課 (Fisheries Management Division, Fisheries Promotion Department, Kochi Prefectural Government, Kochi, Kochi, 780-0850, Japan)^b 現所属 : 高知県水産振興部水産振興課 (Fisheries Promotion Division, Fisheries Promotion Department, Kochi Prefectural Government, Kochi, Kochi, 780-0850, Japan)^c 現所属 : 岡山県農林水産総合センター水産研究所 (Okayama Prefectural Technology Center for Agriculture, Forestry, Fisheries Research Institute for Fisheries Science, Setouchi, Okayama, 701-4303, Japan)

てられる。ただし、放流事業は内水面漁業協同組合の事業費から捻出されており、放流効果は組合経営に直結するため、⁴⁾ 組合は費用対効果の高い放流事業を実施する必要がある。

アユの放流事業は種苗性や放流時の体サイズの他、河川環境によってその効果が左右される。⁵⁻⁷⁾ そのため、河川ごとに適した放流手法を検討することを目的に、放流効果の調査が行われている。⁸⁾ しかしながら、その調査は一世代回収としての放流効果を明らかにする調査が多く、繁殖貢献に着目した次世代回収についての調査が非常に少ない。例えば、放流された海産系統の人工アユが成熟し、産卵群に加入するまでは追跡例があるが、^{9,10)} 繁殖後の次世代資源貢献の実態に到っては既報¹¹⁾を除き未知である。その理由として、放流種苗の次世代資源への貢献を推定する方法は遺伝標識に限られるものの、¹²⁾ 放流用の人工アユは数百から数千尾の親魚が使用されているため、¹³⁾ 多型性に富むマーカーを用いても遺伝標識が困難である。一方、DNAマーカーの遺伝子頻度に基づいて集団の混合率を算出すれば、放流アユの次世代資源への貢献を推定できる可能性は十分にある。実際、マイクロサテライトDNA (MS-DNA) の多型解析を用いて、兵庫県千種川で放流種苗の再生産調査が行われており、遡上魚の10%が人工アユの再生産によるものであるとの報告がある。¹¹⁾ しかし、近年は天然海産アユからの低継代の人工アユが多く放流されているため、^{3,14,15)} DNAマーカーの遺伝子頻度に基づく集団の混合率の算出は難しい。⁸⁾

他方、稀にダム湖に自生する陸封アユ（以下、ダム湖アユ）は、放流アユが創始集団として機能し、ダム湖アユと放流アユの繁殖集団によって再生産が継続され、資源が維持されていると考えられる。こうしたダム湖アユは阿武川ダム、神流湖、野村ダムなどに生息しており、遺伝学的解析で阿武川ダムのアユは海産系統、¹⁶⁾ 神流湖のアユは琵琶湖産系統、¹⁷⁾ 野村ダムのアユは海産系統と琵琶湖産系統の交雑¹⁸⁾ であることが分かっている。また、神流湖では放流種苗を琵琶湖産アユから海産系統の人工アユに切り替えたところ、資源全体の遺伝子組成が海産系統に傾倒したことが確認されている。¹⁹⁾ こうしたダム湖アユが自生し、かつ種苗放流が実施されている河川では、放流した人工アユの繁殖を介した次世代資源への貢献を明らかにできる可能性がある。

高知県中央部に位置する高知県鏡川ではダム湖アユが生息している。^{20,21)} 鏡川は浦戸湾に流れる2級河川であり、源流から河口までの延長が31 kmとなっている。本河川は河口から17 kmの中間地点に鏡ダム湖があり、ダム堰堤に魚道がないことから、ダム上流域には天然海産アユが遡上できない。しかし、鏡ダム湖にダム湖アユが生息し、ダム湖流入河川への遡上が2006年から継続

して確認されており、²⁰⁾ その推定生息尾数は2011-2017年で2.1-19.7万尾と報告されている。鏡川のアユ放流事業は鏡川漁業協同組合によって実施されており、ダム上流域の本流には例年、約400 kg (10 g換算で4万尾)の種苗が放流されている。放流種苗については、2011年以前は琵琶湖産アユが主に、2012年以降は高知県内水面漁業協同組合連合会によって生産された海産系統の人工アユが毎年、放流されている。ただし、2017年のみ、宮崎県産の海産系統の人工アユも放流されている。鏡ダム湖アユの創始集団は琵琶湖産系統で、その後の海産系統の放流と繁殖貢献により、近年の集団は遺伝子組成が海産系統に傾倒または入れ替わっている可能性がある。

アユの由来判別は計数形質、履歴形質が有効であることが報告されている。¹⁵⁾ 人工アユと天然アユの識別には計数形質の側線上方横列鱗数の計数が有効で、人工アユは天然アユに比べて明らかに鱗数が少ない。¹⁵⁾ また、陸封アユの識別には履歴形質の耳石中Sr:Ca比分析が有効で、この分析により仔稚魚期の海水生活履歴の有無が分かり、海水生活履歴がない個体は陸封アユに識別できる。¹⁵⁾

本研究では放流アユの釣獲および繁殖貢献を解明するために、ダム湖アユが自生する高知県鏡川の鏡ダム湖上流域において、人工種苗の放流後から産卵期、翌年の遡上期に到るまでのアユを採集し、計数形質、履歴形質およびDNAマーカーを用いて調査した。具体的には、側線上方横列鱗数と耳石中Sr:Ca比の併用により人工アユとダム湖アユの由来判別を行い、¹⁵⁾ 人工アユの釣獲貢献と産卵親魚群への加入状況を明らかにした。さらに、遡上魚の孵化日組成、産卵親魚と遡上魚の遺伝的特性を照合することで、人工アユの繁殖子孫が次世代資源に寄与したかを推察した。

材料と方法

採集 研究対象となった鏡ダム湖流入河川 (Fig. 1) への放流実績について、2016年は高知県産の海産系統の人工アユ390 kgが、2017年は高知県産と宮崎県産の海産系統の人工アユの計380 kgが放流された。放流は2016年4月10日から5月23日までの間に計4回、2017年4月11日から6月5日までの間に計5回実施され、St. 2からSt. 4までの区間の7箇所におおむね同量を分散して放流された。鏡川の鏡ダム湖上流域におけるアユ漁業の解禁期間は、高知県漁業調整規則に基づき鏡川漁業協同組合の漁業権行使規則及び遊漁規則で7月1日から12月31日までと定められている。

アユの友釣りによる釣獲を鏡ダム湖の流入河川の下流地点 (St. 1)、中下流地点 (St. 2)、中上流地点 (St. 3) および上流地点 (St. 4) の計4地点で行った (Fig. 1)。

各地点のダム堰堤からの距離はSt. 1が約4 km, St. 2が約5 km, St. 3が約7 km, St. 4が約9 kmで, St. 1からSt. 4までの区間は流路幅が10–20 mであった。釣獲は2017年5月22日, 6月12日, 7月11–15日, 8月9–12日および9月5–9日に行われ, 計438尾のアユ (以下, 2017年釣獲群, 2017KD-A) が採集された (Table 1)。

産卵親魚はSt. 1の瀬で産卵していた魚を投網で採集した。産卵親魚は2016年10月25日および11月20日に

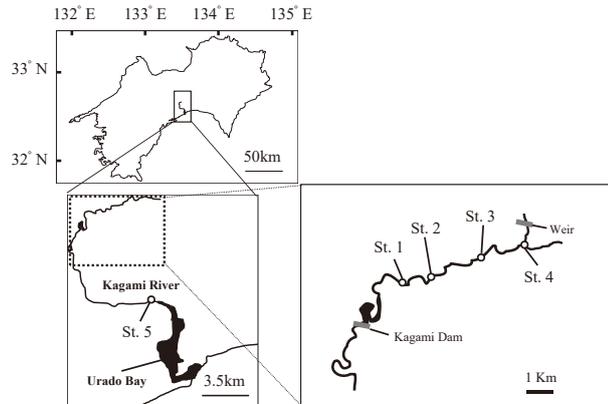


Fig. 1 Map showing sampling locations (St. 1–4) of ayu in the Kagami River. The landlocked ayu inhabits the upper reaches of Kagami Dam Lake. Hatchery-reared ayu had been stocked in all areas of the Kagami River.

それぞれ48尾および34尾の計82尾 (以下, 2016年親魚群, 2016KD-P), 2017年10月10日および11月7日にそれぞれ33尾および17尾の計50尾 (以下, 2017年親魚群, 2017KD-P) を採集した (Table 1)。

ダム湖から遡上してきた稚アユ (以下, 2017年遡上群, 2017KD-R) はSt. 1で電気ショッカー (Smith-Root社製) を用い, 2017年3月3日, 5月1日および5月19日にそれぞれ37尾, 31尾および26尾を採集した。採集日ごとの遡上群の平均魚体重は0.6–3.1 gであり, 2017年4–6月にダム湖の流入河川に放流された人工アユの平均魚体重 (7.3および9.1 g) の1/2以下であったため, 採捕した遡上魚は全てダム湖アユとして供試した (Table 1)。

人工アユとダム湖アユの由来判別のための基準集団には, 2016年に放流された高知県産海産系統人工種苗 (以下, 2016年高知人工, 2016K-H), 2017年に放流された高知県産海産系統人工種苗 (以下, 2017年高知人工, 2017K-H) および宮崎県産海産系統人工種苗 (以下, 2017年宮崎人工, 2017M-H) を用いた (Table 1)。

遺伝解析によるダム湖アユの起源集団の推定には, 2016年の天然琵琶湖産稚アユ (以下, 2016年琵琶湖産, 2016B-L), 2016年に鏡川河口近くの堰堤 (St. 5, 浦戸湾から6 km上流; Fig. 1) で採集した高知県天然海産の遡上稚アユ (以下, 2016年高知天然海産, 2016K-A) および2016年高知人工を用いた (Table 1)。

Table 1 Biological information of ayu examined in this study

Population ID	Date of collection	Location	Origin		Catching method	<i>n</i>	SL (cm)	BW (g)
Reference								
2016B-L	2016 Dec.	Lake Biwa	Landlocked	Wild	net	43	3.8 ± 0.1 (3.2–4.9)	—
2016K-A	2016 Mar.–May	Kochi Pref. (St. 5)	Amphidromous	Wild	electroshock	47	5.4 ± 0.5 (4.0–6.3)	1.6 ± 0.5 (0.6–2.7)
2016K-H	2016 Apr.–May	Kochi Pref.	Amphidromous	Hatch.	—	30–90	9.3 ± 1.0 (7.7–11.3)	12.6 ± 4.3 (5.7–21.6)
2017K-H	2017 Apr.–Jun.	Kochi Pref.	Amphidromous	Hatch.	—	90	8.4 ± 1.0 (6.9–10.7)	9.1 ± 2.8 (4.6–18.7)
2017M-H	2017 Apr.–Jun.	Miyazaki Pref.	Amphidromous	Hatch.	—	30	7.7 ± 0.9 (6.2–9.3)	7.3 ± 2.7 (3.6–12.7)
Non-reference								
2016KD-P	2016 Oct.–Nov.	St. 1	Landlocked Hatch.	Parent	cast net	82	14.5 ± 1.7 (10.0–18.6)	40.2 ± 15.3 (13.0–90.3)
2017KD-R	2017 Mar. 3	St. 1	Landlocked	Running	electroshock	37	45.8 ± 4.9 (33.6–53.0)	0.6 ± 0.3 (0.1–1.2)
"	2017 May 1	"	"	"	"	31	50.4 ± 2.0 (47.6–56.4)	1.4 ± 0.2 (1.0–2.0)
"	2017 May 19	"	"	"	"	26	59.1 ± 12.9 (41.1–86.2)	3.1 ± 2.1 (0.6–9.1)
2017KD-A	2017 May–Sep.	St. 1–4	Landlocked Hatch.	Adult	angling (tomozuri)	438	814.0 ± 1.5 (7.4–17.8)	46.9 ± 16.1 (5.7–110.6)
2017KD-P	2017 Oct.–Nov.	St. 1	Landlocked Hatch.	Parent	cast net	50	13.1 ± 1.7 (10.4–16.7)	28.1 ± 11.9 (10.7–56.8)

Hatch., hatchery-reared; *n*, number of fish; SL, standard length; BW, body weight; Running, upstream migrated.

釣獲群および親魚群の由来判別 放流された人工アユとダム湖アユが混入する2016年親魚群, 2017年釣獲群および2017年親魚群の由来判別は, 背鰭第5条側線上方横列鱗数(以下, 側線上方横列鱗数)の計数¹⁵⁾および耳石Sr:Ca比分析¹⁵⁾で行った。

側線上方横列鱗数は, 2016年高知人工(30尾), 2017年高知人工(90尾)および2017年宮崎人工(30尾)の計数結果を基に由来判別を行った。具体的には, 既報¹⁵⁾を参考に背鰭第5条基部から側線にかけての鱗数を計数した。人工アユの側線上方横列鱗数は天然アユであるダム湖アユに比べて少なく, ほとんど重複しないため,¹⁵⁾それを基準に人工アユとダム湖アユを判別した。一部の検体には耳石Sr:Ca比分析による由来判別も併せて実施することで, 側線上方横列鱗数による由来判別結果を補完した。放流種苗の飼育履歴から, 高知県と宮崎県で生産された人工アユは仔稚魚期に海水飼育履歴があるのに対して, ダム湖アユは一生を淡水で生活している。したがって, 耳石Sr:Ca比のチャートパターンによって仔稚魚期の海水履歴の有無を確認することができ, 両者の判別が可能となる。なお, 2017年釣獲群および2017年親魚群において, 側線上方横列鱗数の計数および耳石Sr:Ca比分析で高知人工と宮崎人工を判別するのは困難なため,¹⁵⁾両者を判別せず人工アユとして扱った。耳石Sr:Ca比分析について, 2016年親魚群では全82尾のうち, 耳石Sr:Ca比分析による由来判別ができない左右の耳石が結晶化^{8,22)}した個体を除く33尾を分析対象とした。また, 2017年釣獲群および2017年親魚群においては, 無作為抽出した100尾のうち, 耳石結晶化の個体を除く91尾を分析対象とした。基準集団として, 2016年高知人工, 2017年高知人工, 2017年宮崎人工および2017年遼上群についても5尾ずつ耳石Sr:Ca比分析を行った。耳石Sr:Ca比分析について, 耳石前処理方法や分析方法は既報¹⁵⁾に従い, 波長分散型電子線マイクロアナライザー(日本電子, JXA8200)を用いて, 線分析により1ポイント当たりの分析時間10秒, ビーム径5 μm , 加速電圧および照射電流値をそれぞれ15kVおよび10nAで, 耳石核から耳石体軸後方への最大半径上で行った。

人工アユおよびダム湖アユの割合を解析した。2017年釣獲群は, 5-9月の割合および各月の採集地点間の割合をフィッシャーの正確確率検定(Fisher's exact test)により有意差を確認した。2016年および2017年親魚群も, 10月と11月それぞれの割合を同様の検定法によって有意差を確認した。2017年釣獲群について, 人工およびダム湖アユの魚体重を比較するために, 各月の両者の平均魚体重を t 検定で比較した。

遼上群の日齢査定 2017年遼上群を検体とし, 日輪計測システム(ラトックシステムエンジニアリング社)

を用いて, 左側の扁平石の輪紋数を計数し, 孵化日を推定した。²³⁾また, 受精から孵化に要した日数については水温との関係式で求めた。²⁴⁾

$$\log(y) = 2.8623 - 1.4068 \log(x)$$

ここで, y は孵化に要した日数, x は水温を示す。次に, 遼上魚の孵化日から, この関係式で求めた孵化に要した日数を差し引き, 遼上魚が産卵された月を推定した。関係式に用いた水温は, 2016-2017年に西日本科学技術研究所が鏡川ダム湖上流で観測した河川水温²⁰⁾を使用した。

起源集団の推定 2016年親魚群のうちダム湖アユ(2016KD-PL)と人工アユ(2016KD-PH)に判別された個体, および2017年遼上群の鱗組織からDNeasy Blood & Tissue Kit(QIAGEN社)を用いてDNA抽出を行った。また, 起源集団の推定に必要な基準集団として, 2016年琵琶湖産(43尾), 2016年高知天然海産(47尾)および2016年高知人工(90尾)の鱗組織からも同様にDNAを抽出した。起源集団の推定には, MS-DNAマーカー座, Pal1, Pal2, Pal3, Pal4, Pal5, Pal6, Pal7,²⁵⁾ PalAyu194, PalAyu199²⁶⁾の9座による帰属性分析を行った。これらの遺伝子座はフラグメントの出現位置を考慮して, Pal1, Pal2, Pal6をMix1, Pal3, Pal4, PalAyu194をMix2およびPal5, Pal7, PalAyu199をMix3とし, 各3座ずつでそれぞれマルチプレックスPCR反応を行った。各遺伝子座の一方のプライマーには同一反応系で蛍光色が異なるように蛍光標識(BECKMAN COULTER dye: D2, D3, D4)を修飾した。各MixのマルチプレックスPCRの組成と反応は既報²⁷⁾に従った。得られたPCR産物を10倍希釈し, Sample Loading Solution(SLS; BECKMAN COULTER inc.) 30 μL , サイズスタンダード400bp(BECKMAN COULTER inc.)0.05 μL , PCR産物1 μL を加えて電気泳動を行った。電気泳動はDNAシーケンサー(Genome LabTM GeXP, BECKMAN COULTER inc.)を用い, フラグメント解析を行った。得られたフラグメントは解析ソフト(Genome LabTM Genetic Analysis System, BECKMAN COULTER inc.)によってアレルサイズを決定した。

起源集団の推定に際して, それぞれの集団の遺伝的な特性を解析した。アレル数(N_A), アレルリッチネス(A_R)をFSTAT 2.9.4,²⁸⁾平均ヘテロ接合度の観察値(H_O)および期待値(H_E)をArlequin 3.5.2.2²⁹⁾で算出した。Hardy-Weinberg平衡($H-W$)の検定はArlequin 3.5.2.2²⁹⁾によりexact test(Markov chain 1,000,000 step, dememorization 100,000 step)で行った。また, 各マーカーにおけるヌルアレル頻度と連鎖不平衡の検定

は GENEPOP 4.7.5³⁰⁾により行った。連鎖不平衡の検定は probability test (dememorization 1,000, baches 100, iterations per batch 1,000) で行い、多重比較検定における有意水準の補正は Sequential Bonferroni 補正³¹⁾で行った。集団間の遺伝的異質性の検討では集団間の分子分散分析 (AMOVA) およびペアワイズ F_{ST} 値を Arlequin 3.5.2.2²⁹⁾により算出した。ペアワイズ F_{ST} 値の多重比較検定における有意水準の補正は Sequential Bonferroni の補正³¹⁾で行った。全集団間の遺伝的類縁関係について、遺伝系統樹は POPULATIONS 1.2.30 (<https://bioinformatics.org/populations/>) を用いて遺伝的距離 D_a ³²⁾を計算し、UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) 法により系統樹を作成した後、MEGA 10.05³³⁾で表示した。帰属性分析は GeneClass2³⁴⁾を用いてダム湖アユの起源を推定した。ダム湖アユの起源集団は、過去放流していた琵琶湖産系統、もしくは、現在放流している海産系統であると考えられる。そのため、帰属性分析では琵琶湖産アユおよび高知天然海産アユを基準集団として、両集団のアリル頻度に基づく尤度をそれぞれ算出した。2016年親魚群および2017年遡上群については、基準集団の対数尤度比に基づき琵琶湖産系統および海産系統に帰属する確率を個体ごとに算出し、起源集団を推定した。ただし、各々の集団に帰属する確率の差が0.05未満の個体は両系統に帰属しない中間系統とした。

なお、各標本、由来判別結果、起源集団に用いた略記を Fig. 2 にまとめ、以下は略記で記載する。

結 果

親魚群および釣獲群の由来判別 基準集団の人工アユの側線上方横列鱗数は2016K-H (2016年高知人工)、

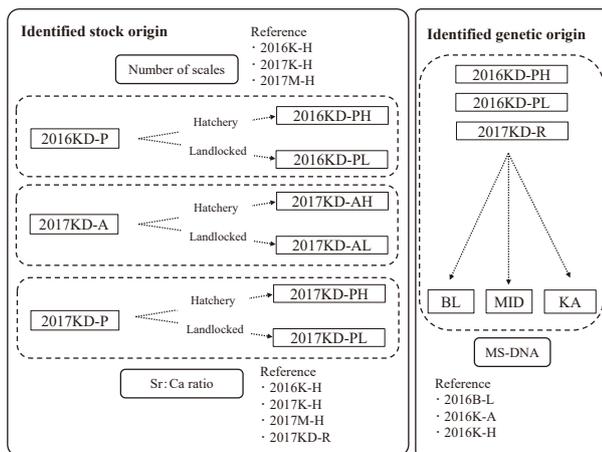


Fig. 2 Figure showing abbreviations of specimens, identified stock and genetic origins. See Table 1 for abbreviations of specimens.

2017K-H (2017年高知人工)、2017 M-H (2017年宮崎人工) が12-15枚 (モード13枚または14枚) であった (Fig. 3a)。人工アユの側線上方横列鱗数は天然アユであるダム湖アユに比べて少なく、ほとんど重複しないため、¹⁵⁾ 2016KD-P (2016年親魚群)、2017KD-A (2017年釣獲群) および2017KD-P (2017年親魚群) について側線上方横列鱗数15枚以下の個体を人工アユ、16枚以上の個体をダム湖アユとして判別した (Fig. 2)。

仔魚期に海水飼育された2016K-H、2017K-Hおよび2017M-Hの耳石 Sr:Ca 比チャートパターンは、中心から約300-400 μm 付近まで5-8前後を推移した後、減少に転じ、約500 μm から縁辺部にかけて平均2-3前後を推移した (Fig. 4a)。¹⁵⁾ ダム湖で再生産された2017KD-R (2017年遡上群) のパターンは、耳石中心から縁辺部まで、終始1-2前後を推移した (Fig. 4a)。¹⁵⁾ これらのチャートパターンの分析結果を基に、2016KD-P、2017KD-A および2017KD-Pから人工アユとダム湖アユを判別した (Fig. 4b-c)。

耳石 Sr:Ca 比分析に供した正常な耳石を有していた2016KD-Pの33尾は、側線上方横列鱗数と耳石 Sr:Ca 比分析により人工アユが17尾、ダム湖アユが16尾と判別され、両手法による判別で矛盾はなかった。2016KD-Pのうち左右とも結晶化した耳石を有した49尾は、側線上方横列鱗数のみで由来判別し、人工アユが47尾、ダム湖アユが2尾と判別された。最終的に2016KD-Pの82尾は人工アユ (2016KD-PH) が64尾、ダム湖アユ (2016KD-PL) が18尾と判別された (Fig. 3b)。2017KD-Aおよび2017KD-Pから耳石 Sr:Ca 比分析に供した無作為抽出の91尾は、側線上方横列鱗数と耳石 Sr:Ca 比分析により人工アユが20尾、ダム湖アユが71尾と判別された。ただし、両手法による判別で矛盾が2尾に生じた。それらの2個体の判別結果は耳石 Sr:Ca 比分析の結果を優先することにし、鱗数16枚であった1個体を人工アユ、鱗数14枚であった1個体をダム湖アユとした。残りの397尾は側線上方横列鱗数のみで判別を行い、人工アユが129尾、ダム湖アユが268尾と判別された。最終的に、2017KD-Aおよび2017KD-Pの488尾は、人工アユ (2017KD-AHおよび2017KD-PH) が149尾、ダム湖アユが339尾 (2017KD-ALおよび2017KD-PL) と判別された (Fig. 3c)。

釣獲群の由来ごとの割合と魚体重 2017KD-Aにおける人工アユ (2017KD-AH) の割合は5月で83%、6月で31%、7月で9%、8月で8%、9月で14%であり、5-9月の人工アユとダム湖アユの割合には有意差があり (Fisher's exact test, 5-9月 $p < 0.001$)、人工アユの割合は5月で高く、6月以降で低くなった (Fig. 5a)。採集地点について解析したところ、人工アユの割合はダム湖に近い St. 1, 2 よりも、さらに上流の St. 3, 4 で高く、

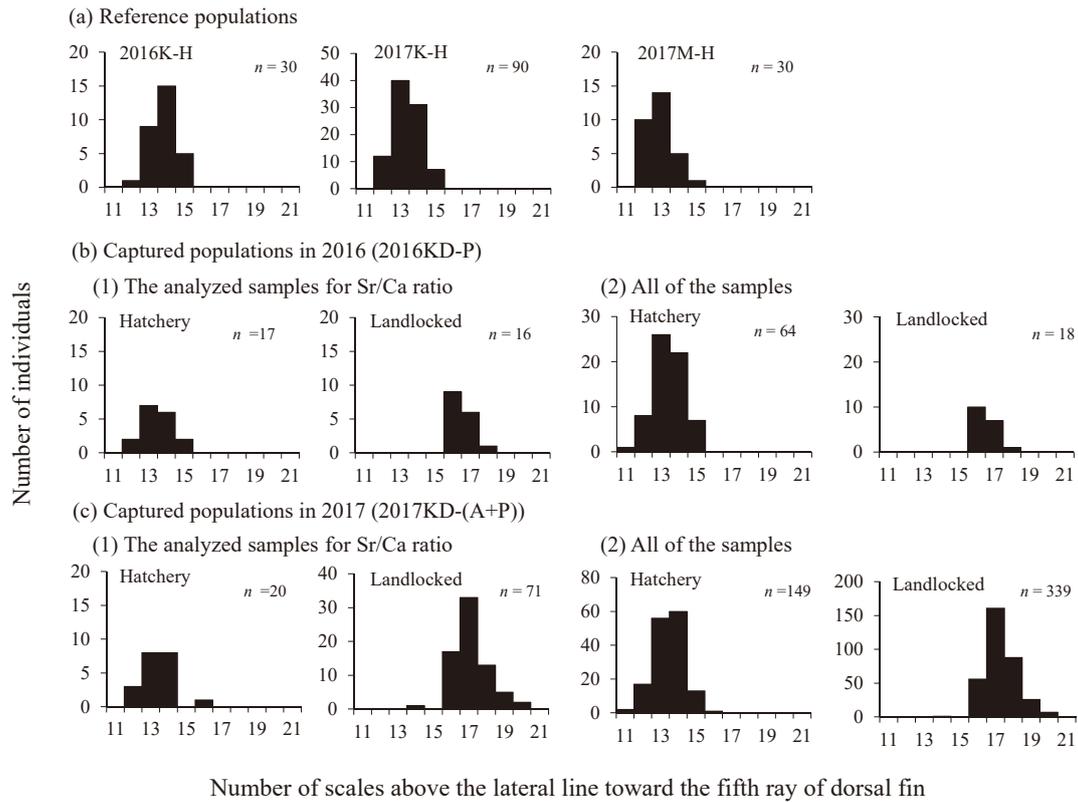


Fig. 3 Histogram of the number of scales above the lateral line toward the fifth ray of the dorsal fin in reference (a), and captured individuals in 2016 (b) and 2017 (c).

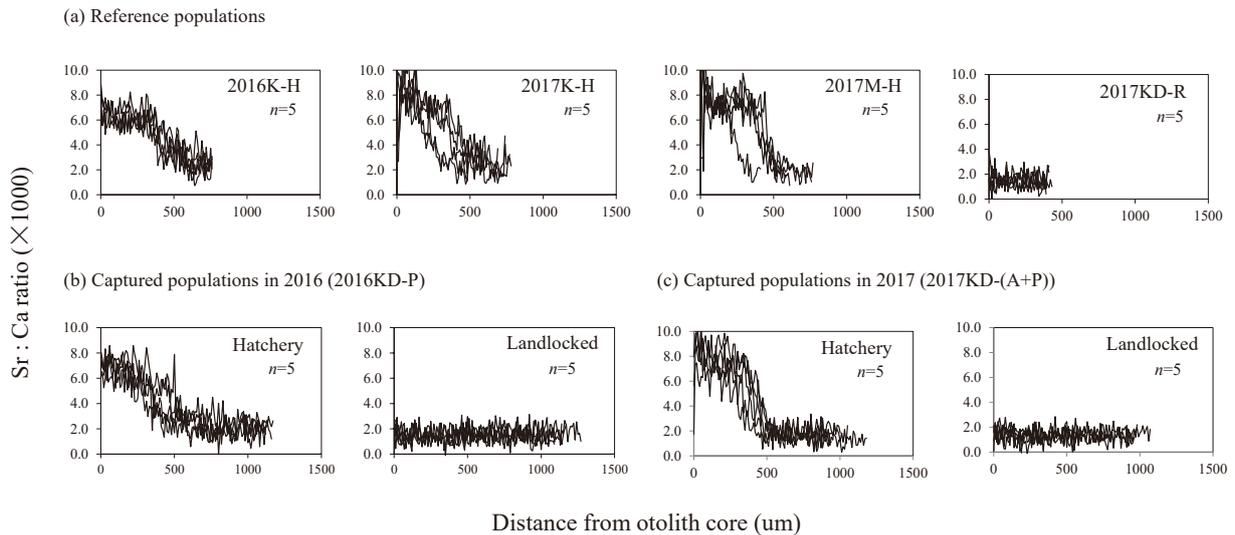


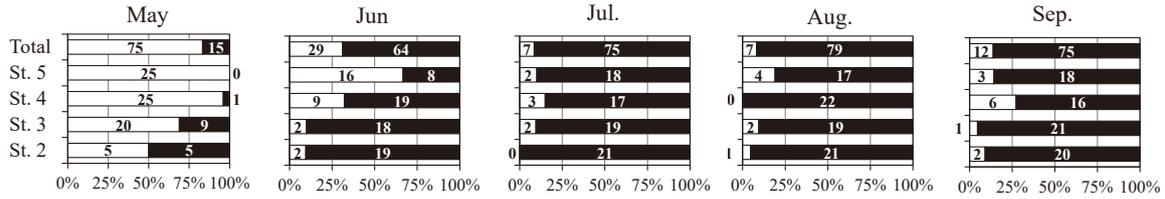
Fig. 4 Profiles of ayu otolith Sr/Ca ratio. The concentration ratios were multiplied by 10^3 . Chart patterns are hatchery-reared and landlocked strains in reference (a), and captured individuals in 2016 (b) and 2017 (c).

特に5月および6月では有意差が認められた (Fisher's exact test, 5月 $p < 0.001$, 6月 $p < 0.001$; Fig. 5a)。2017KD-Aにおける平均魚体重について、7月および8月は人工アユとダム湖アユで有意差が確認されなかった

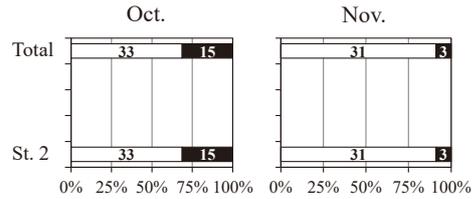
が³ (t 検定, $p > 0.05$), 5月および6月は人工アユが, 9月はダム湖アユが有意に重かった (t 検定, $p < 0.05$; Fig. 6)。

産卵親魚群の由来ごとの割合 2016KD-Pにおける人

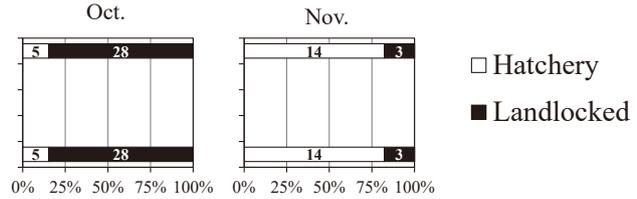
(a) Adult fishes caught by Tomozuri in 2017 (2017KD-A)



(b) Parental fishes in 2016 (2016KD-P)



(c) Parental fishes in 2017 (2017KD-P)



Frequency

Fig. 5 Percentage of hatchery-reared and landlocked ayu captured in 2016 and 2017. Adult fish were caught by *tomozuri* angling from May to September in 2017 (a). Parental fish were caught by cast net from October to November in 2016 (b) and 2017 (c).

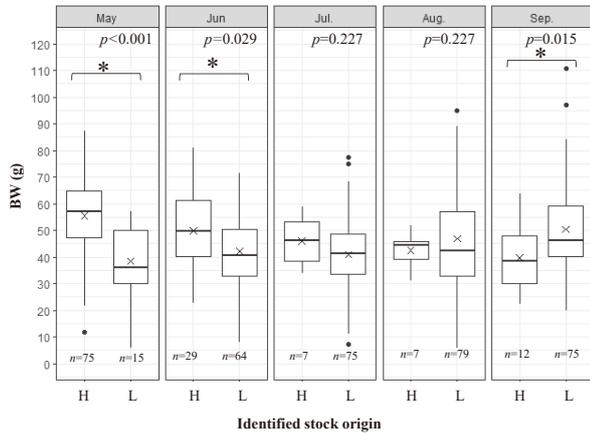


Fig. 6 Comparison of body weight between hatchery-reared (H) and landlocked (L) ayu captured by *tomozuri* angling in each month (from May to September) in 2017. Boxplot values are the median (*center line*), the mean (*cross*), 25% and 75% percentiles (*top and bottom of the box*), and maximum and minimum values (*whiskers*). Circles indicate outliers. Asterisk (*) indicates statistical significance between hatchery and landlocked ayu (*t*-test, $p < 0.05$).

工アユ (2016KD-PH) の割合は10月で69%, 11月で91%であった。人工アユとダム湖アユの割合は10月と11月で有意差が認められ, 人工アユの割合が10月より11月で高かった (Fisher's exact test, 10-11月 $p = 0.017$; Fig. 5b)。2017KD-Pにおける人工アユ (2017KD-PH) の割合は10月で15%, 11月で82%であった。両者の

割合は10月と11月で2016KD-Pと同様に有意差が認められ, 人工アユの割合が10月より11月で高かった (Fisher's exact test, 10-11月 $p < 0.001$; Fig. 5c)。

遡上群の日齢査定 2017KD-Rの孵化日は, 3月3日採集群が2016年10月24日~12月7日, 5月1日採集群が2016年12月9日~2017年1月12日, 5月19日採集群が2016年12月11日~2017年2月2日の範囲にあった (Fig. 7)。ダム湖流入河川の水温は, 既報²⁰⁾によると2016年9月1日から2017年2月15日までで6.9-21.5°Cの範囲にあった。この水温データを用いて, 遡上魚が産卵された月を推定したところ, 3月3日採集群は10月産卵が65%, 11月産卵が35%, 5月1日採集群は11月産卵が35%, 12月産卵が65%, 5月19日採集群は11月産卵が8%, 12月産卵が92%であった。

起源集団の推定 遺伝解析を実施した全集団のアリル数は9.0-14.1, アリルリッチネスは7.6-9.3, ヘテロ接合体率の観察値と期待値はそれぞれ0.633-0.732と0.717-0.752, Hardy-Weinberg平衡の逸脱は1-5座で確認された ($p < 0.05$; Table 2)。全集団における9マーカーのヌルアリル頻度は0.009-0.055であった。連鎖不平衡は2016KD-PLのPal4で解析ができなかったが, 他は2016K-HのPal1とPal6, Pal7とPalAyu194の2組で認められただけであった ($p < 0.05$, Sequential Bonferro-ni 補正後)。

これら6集団についてAMOVA分析を行ったところ, 標本間に由来する変異が全変異の2.4%に達した ($F_{ST} = 0.0241$, $p < 0.001$)。6集団間のペアワイズ F_{ST} 値は-0.004から0.070であり, 有意差が認められた集団間は2016B-L

が全集団間, 2016K-Aおよび2016K-Hが2016B-L, 2016KD-PL, 2017KD-Rとの集団間, 2016KD-PLが2016B-L, 2016K-A, 2016K-Hとの集団間, 2016KD-PHが2016B-L, 2017KD-Rとの集団間, 2017KD-Rが2016KD-PLを除く全集団間であった ($p < 0.05$, Se-

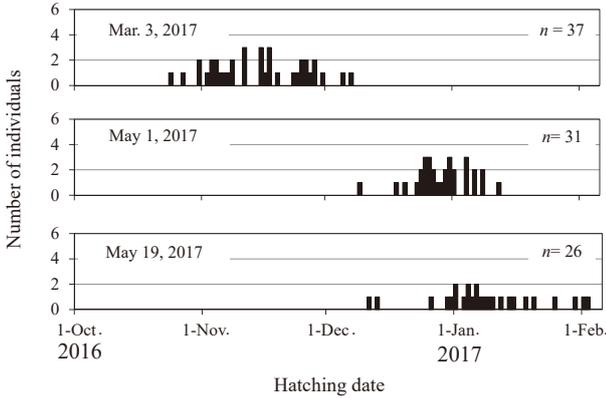


Fig. 7 Estimated hatching dates using otolith daily increments of upstream-migrated juveniles from Kagami Dam Lake, caught by electroshock at St. 1 on Mar. 3, May 1 and May 19 in 2017.

Table 2 Genetic variability of reference and non-reference populations

	<i>n</i>	<i>N_A</i>	<i>A_R</i>	<i>H_O</i>	<i>H_E</i>	<i>H-W</i>
Reference population						
2016B-L	43	9.9	7.6	0.633	0.717	1/9
2016K-A	47	12.3	9.2	0.719	0.723	1/9
2016K-H	90	14.1	9.3	0.732	0.745	2/9
Non-reference population						
2016KD-PL	18	9.0	9.0	0.685	0.752	1/9
2016KD-PH	64	12.8	9.0	0.634	0.735	5/9
2017KD-R	94	12.9	8.6	0.727	0.744	5/9

n, sample size; *N_A*, number of alleles; *A_R*, allelic richness; *H_O*, observed heterozygosity; *H_E*, expected heterozygosity; *H-W*, significance of tests for deviations from Hardy-Weinberg equilibrium ($p < 0.05$)

Table 3 Pairwise F_{ST} values (below diagonal) and *p* values (above diagonal) between six populations based on nine microsatellite DNA loci

	Reference populations			Non-reference populations		
	2016B-L	2016K-A	2016K-H	2016KD-PL	2016KD-PH	2017KD-R
2016B-L	—	*	*	*	*	*
2016K-A	0.070	—	<i>ns</i>	*	<i>ns</i>	*
2016K-H	0.066	0.000	—	*	<i>ns</i>	*
2016KD-PL	0.019	0.018	0.016	—	<i>ns</i>	<i>ns</i>
2016KD-PH	0.056	0.003	0.001	0.013	—	*
2017KD-R	0.017	0.028	0.029	-0.004	0.022	—

ns, not significant; * $p < 0.05$ ($k = 15$, k is the number of tests) following sequential Bonferroni correction.

quential Bonferroni補正後, $k = 15$; Table 3)。

集団間の遺伝的類似性を評価するため, 9マーカー座のアリル頻度を基に系統樹を作成したところ, 2016K-A, 2016K-Hおよび2016KD-PHの3集団で, 2016KD-PLおよび2017KD-Rの2集団で, さらに2016B-Lの1集団でクラスターが形成された (Fig. 8)。

帰属性解析では, 基準集団とした2016B-Lは琵琶湖産系統 (以下, BLとする) と中間系統 (以下, MIDとする) に振り分けられ, その割合はBLが高かった。2016K-Aと2016K-Hは海産系統 (以下, KAとする) とMIDに振り分けられ, その割合はKAが高かった。2016KD-PL, 2016KD-PHおよび2017KD-RはBL, KA, MIDに振り分けられ, その割合は2016KD-PLと2017KD-RでMIDが高く, 2016KD-PHでKAが高かった。なお, 2017KD-Rについて, 帰属性解析結果を産卵月の由来ごとに整理したところ, 全体に占めるKAの割合は10月産卵由来に比べて, 11月と12月産卵由来で高かった (Fig. 9)。

考 察

人工アユの釣獲貢献 本研究では放流された人工アユと鏡ダム湖で陸封されたダム湖アユを, 側線上方横列鱗数と耳石 Sr:Ca 比を併用し, 判別することができた。両手法の判定結果の矛盾は2016KD-P (2016年親魚群) が0.0%, 2017KD-A (2017年釣獲群) および2017KD-P

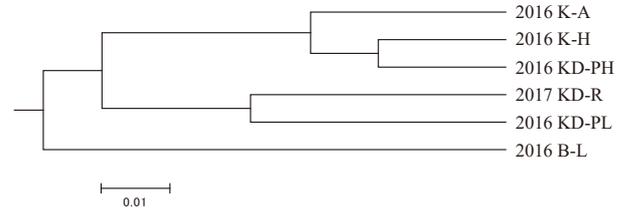


Fig. 8 UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) dendrogram based on Nei's genetic distance between each pair populations using nine microsatellite DNA loci.

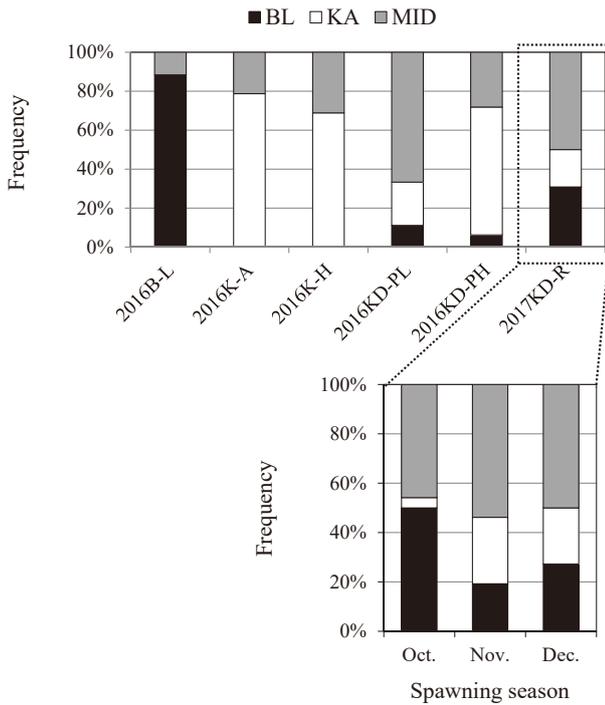


Fig. 9 Frequency of identified stock origin in each population by assignment tests using nine microsatellite DNA loci. BL, Lake Biwa; KA, amphidromous in the Kagami River; MID, individuals not discriminated by either BL or KA.

(2017年親魚群)で2.1%，全体で1.6%と低かった。側線上方横列鱗数のみで判別した446尾(2016KD-P: 49尾, 2017KD-Aおよび2017KD-P: 397尾)は1.6%が誤判別している可能性があるが、これは非常に低く、本研究の解析に影響しないと判断した。

放流された人工アユの釣獲割合は5月で83%と高く、人工アユが5月の早い時期に優先して釣獲され、ダム湖アユの代替資源となることが明らかになった。人工アユは4月放流時の魚体重が10g程度で、3-5月に遡上してきたダム湖アユ(魚体重: 0.6-3.1g)より大きかったため、魚体重が大きい人工アユが優先的に縄張りを持った可能性がある。

放流された人工アユの釣獲割合は6月以降に31%に減少した。ダム湖アユの釣獲割合は6月でSt. 1およびSt. 2の下流地点で高く、鏡ダム湖から遡上してきたダム湖アユが月の経過とともに縄張りを形成する個体が増え、それらが友釣りの釣獲資源として加入したことにより、人工アユの釣獲割合が減少したものと推察される。人工アユの釣獲割合は7月1日のアユ漁解禁前から低下しているため、この低下は漁業または遊漁の減耗によるものではない。

人工アユの釣獲割合は7月以降、8-14%を維持した。2017年のダム湖アユの生息尾数は約13.2万尾と推定さ

れている。²¹⁾ 2017年の人工アユの放流尾数は約3.8万尾(放流量380kgを1尾10gで換算)で、放流後の生残率を70%³⁵⁾と仮定すると、約2.7万尾が生残したことになる。先述の人工アユの生残尾数とダム湖アユの生息尾数から、人工アユの割合を推定すると17%となる。7月以降の釣獲割合の実測値は8-14%で、この推定値に近い値であった。

ダム湖アユの遺伝的起源 2016KD-PL(2016年親魚群のダム湖アユ)および2017KD-R(2017年遡上群)は基準集団の琵琶湖産系統および海産系統に対して遺伝的異質性を示し、尤度分析の散布図上でも対数尤度値が両系統の中間地点にプロットされた(Fig. 10)。これらの結果から、2016KD-PLおよび2017KD-Rは琵琶湖産系統および海産系統の交雑集団であることが示唆された。

ダム湖アユが海産および琵琶湖産系統の交雑集団である事例は、野村ダム湖¹⁸⁾および八田原ダム湖³⁶⁾で確認されている。鏡川漁業協同組合の聞き取り情報では、2011年以前の放流種苗は琵琶湖産アユが主体であったことから、鏡ダム湖アユの創始集団は琵琶湖産アユである可能性が高い。2012年以降は海産系統人工アユの放流が主体となり、人工アユが再生産に加わることで、琵琶湖産系統に海産系統の遺伝子が浸透し、再生産を繰り返すことにより、鏡ダム湖で両系統の交雑集団が形成された。事実、鏡ダム湖流入河川の下流域に蟄集した親魚群は、ダム湖アユと放流した人工アユで構成され、両集団が交配可能な状況にあった。これは両系統の交雑集団が発生できることを示している。このような琵琶湖産系統集団への海産系統遺伝子の浸透事例は群馬県神流川水系の久保ダム湖の陸封アユでも確認されている。¹⁹⁾

人工アユの繁殖貢献 2017KD-Rの尤度分析結果を産卵された月ごとで整理したところ、11月および12月産卵に由来するアユは10月産卵由来のアユに比べてBL(琵琶湖産系統)が少なく、KA(海産系統)が多かった。これは2016KD-P(2016年親魚群)の人工アユの割合が11月に高くなったことに起因しており、人工アユの再生産が少なからず寄与していることが示された。

しかしながら、2017KD-Rは遺伝子分析で、中間系統に帰属するダム湖アユが多く、再生産の主体はこの系統であった。人工アユとダム湖アユの産卵親魚の構成割合から、産卵盛期はダム湖アユが10月以前、人工アユが10月以降と推測され、2017KD-Rの11月および12月産卵に由来するアユは人工アユの再生産によるものが主体であると期待されたが、遺伝子分析では中間系統に帰属するダム湖アユの再生産が主体となっていた。この理由について、人工アユの子孫は鏡ダム湖での仔魚期の初期生残率が低いか、もしくはダム湖アユの産卵量が人工アユより多かったことがあげられる。前者では、一生を淡

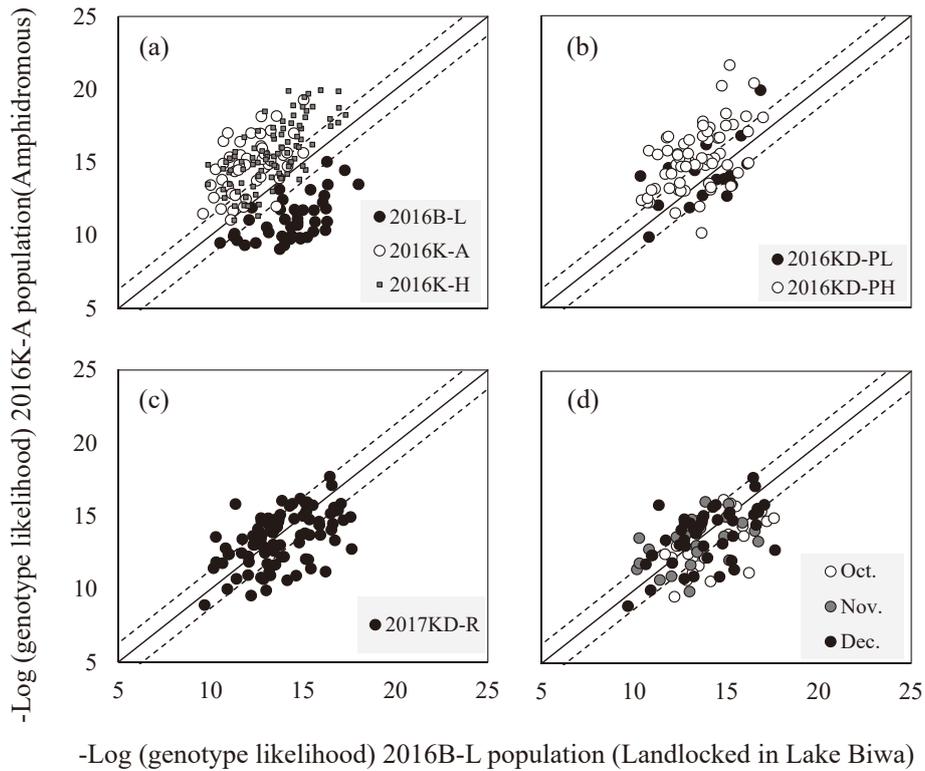


Fig. 10 Scatter diagram based on likelihood between landlocked Lake Biwa population (2016B-L) and amphidromous population (2016K-A) by assignment tests using nine microsatellite DNA loci. Each scatter diagram indicates reference populations (a), parent population in 2016 (b), and upstream-migrated juvenile population in 2017 (c). The upstream-migrated juvenile population indicated in the scatter diagram in each group originated from the spawning month (Oct.–Dec.) (d). The dotted lines indicate a 0.05% likelihood difference based on two reference populations.

水で生活することに特化した琵琶湖産の遺伝子を持つ交雑集団の方がダム湖では生残率が高いと推測される。後者については、一般にダム湖アユは流入河川の瀬に産卵場を形成するが、³⁷⁾ 湖内の沿岸部でも産卵することもある。³⁸⁾ そのため、鏡ダム湖においてもダム湖アユがダム湖流入河川の瀬に加え、11月以降にも湖内の沿岸部で産卵したため、産卵量が多かった可能性がある。今後は、ダム湖において、放流した人工アユの子孫の初期生残率やダム湖アユの産卵場についての詳細な調査が必要である。

本研究において、放流した人工アユは早い時期においてダム湖アユの友釣り代替資源となること、またダム湖アユの再生産に少なからず寄与していることを明らかにした。これらの結果は、人工アユの放流はダム湖アユの資源維持に一定効果をもたらしていることを示している。ダム湖上流域ではあるが、放流した人工アユの釣獲および繁殖貢献を明らかにしたことは意義深い。一方、天然海産アユが生息する河川でも、放流した人工アユが本研究のように資源干渉もしくは繁殖貢献している可能性は十分あり、今後はそのような河川でも人工アユの再生産を含めた資源寄与について精査する必要があるだ

う。

謝 辞

本研究を行うにあたりサンプルのご提供を頂いた高知県内水面漁業協同組合連合会の皆様、滋賀県水産試験場および滋賀県水産課の竹上健太郎氏、採捕のご協力を頂いた鏡川漁業協同組合の皆様へ厚く御礼申し上げます。耳石 Sr:Ca 比分析は広島大学自然科学研究支援センターの波長分散型電子線マイクロアナライザーを用いた。分析に際してご協力頂いた同センターの柴田恭宏氏に謝意を表す。本研究は高知県内水面漁業試験研究事業「人工種苗「土佐のあゆ」による資源添加技術の確立及び種苗性の確保」により行われた。また、貴重なご助言を頂いた2名の査読者および担当編集員に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 谷口順彦, 池田 実. 「アユ学—アユの遺伝的多様性の利用と保全」. 築地書館, 東京, 2009.
- 2) 高橋勇夫, 東 健作. 「天然アユの本」. 築地書館, 東京, 2016.
- 3) 海野徹也. 人工種苗と放流. 「アユの科学と釣り—美しい川とアユを願って」(片野 修, 海野徹也, 谷口順彦編)

- 学報社, 東京, 2011; 17-28.
- 4) Nakamura T. Profitability of stocking to enhance populations of ayu and stream-dwelling salmonids for Japanese inland fishery cooperatives. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2018; **84**: 705-710 (in Japanese with English abstract).
 - 5) Miura M, Tsuboi J, Okazaki T, Oohama H, Ashizawa A. Assessment of the characteristic traits of hatchery-reared ayu as a recreational fishing target: coparison of two breeds subcultured under identical conditions. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2012; **78**: 1149-1158 (in Japanese with English abstract).
 - 6) Tsuboi J, Takagi Y. Essential characteristics of aquatic environment for ayu habitats. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2016; **82**: 12-17 (in Japanese with English abstract).
 - 7) 佐藤正人, 坪井潤一. アユ友釣り漁場管理における早期小型放流の有用性. *水産増殖* 2011; **66**: 227-233.
 - 8) Urabe A, Taniguchi N, Noguchi D, Umino T. Strain identification and stock composition of ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* collected at the Nariwa River in Hiroshima Prefecture, western Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2013; **79**: 840-850 (in Japanese with English abstract).
 - 9) 清家 暁, 二本木俊二, 海野徹也, 中川平介. 耳石 Sr/Ca 比による江の川の川アユ産卵親魚の由来判別. 広島大学大学院生物圏科学研究科紀要 2002; **41**: 23-29.
 - 10) 甲田和也, 玉森千晴, 合戸賢利, 山本雅樹, 高山 翔, 海野徹也. 広島県太田川におけるアユ親魚群の由来判別. 広島大学大学院生物圏科学研究科紀要 2015; **54**: 1-6.
 - 11) 田畑和男. 海産アユ遡上河川における人工産アユの混合率にもとづく再生産の確認. *水産育種* 2005; **34**: 117-122.
 - 12) Kitada S. Inferring the impacts of stock enhancement programs by genetic marking: present status and practical considerations. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2014; **80**: 890-899 (in Japanese with English abstract).
 - 13) 谷口順彦. 人工採苗アユの遺伝的多様性評価. 「アユの健苗性の促進に関する研究—人工種苗の遺伝的多様性と生態的特性の保全を目指して—」(谷口順彦, 中嶋正道, 池田 実, 谷口道子, 高木秀蔵著) 高知県内水面漁業協同組合連合会, 高知. 2005; 5-16.
 - 14) 占部敦史, 隅川 和. 人工種苗「土佐のあゆ」の種苗性評価. 令和元年度高知県内水面漁業センター事業報告書 2021; **30**: 34-36.
 - 15) Urabe A, Umino T. Comparisons of meristic characters between hatchery and wild ayu *Plecoglossus altivelis altivelis*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2018; **84**: 70-80 (in Japanese with English abstract).
 - 16) 高木基裕, 酒井治己, 今井千文, 鬼頭 均, 畑間俊弘, 藤村治夫, 大橋 裕. 阿武川ダム湖における海系放流アユの陸封化. *水産育種* 2001; **31**: 39-44.
 - 17) 小西浩司, 田中秀樹, 吉沢和俱. 神流湖の陸封アユの由来. 群馬農業研究 E 水産 1993; **9**: 45-49.
 - 18) 関 伸吾, 高木基裕, 谷口順彦. DNAフィンガープリントとアロザイム遺伝標識による野村ダム湖産アユの遺伝変異保有量の推定. *水産増殖* 1995; **43**: 97-102.
 - 19) 西塔正孝, 新井 肇, 山口光太郎. 神流川における陸封アユの起源と遺伝的多様性. *水産育種* 2018; **47**: 77-82.
 - 20) 西日本科学技術研究所. 「平成27-28年度鏡ダム貯水池保全生態調査委託業務報告書」 高知県土木部鏡ダム管理事務所, 高知. 2017.
 - 21) 西日本科学技術研究所. 「平成28-29年度鏡ダム貯水池保全生態調査委託業務報告書」 高知県土木部鏡ダム管理事務所, 高知. 2018.
 - 22) Ma T, Kuroki M, Miller MJ, Ishida R, Tsukamoto K. Morphology and microchemistry of abnormal otolith in th ayu *Plecoglossus altivelis*. *Environ. Biol. Fish.* 2008; **83**: 155-167.
 - 23) Tsukamoto K, Kajihara T. Age determination of ayu with otolith. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1987; **53**: 1985-1997.
 - 24) 伊藤 隆, 富田達也, 岩井寿夫. アユ種苗の人工生産に関する研究—LXX I. アユの人工受精卵のふ化に対する水温の影響. *アユの人工養殖研究* 1971; **1**: 57-98.
 - 25) Takagi M, Shoji E, Taniguchi N. Microsatellite DNA polymorphism to reveal genetic divergence in ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.* 1999; **64**: 507-512.
 - 26) Hara M, Sakamoto T, Sekino M, Ohara K, Matsuda H, Kobayashi M, Taniguchi N. Characterization of novel microsatellite DNA markers in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.* 2006; **72**: 208-210.
 - 27) 占部敦史, 長岩理央, 隅川 和, 石川 徹, 岡村雄吾, 野口大毅, 海野徹也. 高知県における天然海産アユの遺伝的集団構造. *水産増殖* 2021; **69**: 291-298.
 - 28) Goudet J. FSTAT(vers.1.2): a computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 1995; **86**: 485-486.
 - 29) Excoffier L, Lischer HEL. Arlequinsuite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 2010; **10**: 564-567.
 - 30) Raymond M, Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 1995; **86**: 248-249.
 - 31) Rice WR. Analyzing tables of statistical test. *Evolution* 1989; **43**: 223-225.
 - 32) Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J. Mol. Evol.* 1983; **19**: 153-170.
 - 33) Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; **35**: 1547-1549.
 - 34) Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A. GeneClass2: a software for genetic assignment and first generation migrations detection. *J. Hered.* 2004; **95**: 536-539.
 - 35) 松浦秀俊. すずむ調査研究. 「土佐のアユ—資源問題を考える」(谷口順彦, 依光良三, 西島敏隆, 松浦秀俊著) 高知県内水面漁業協同組合連合会, 高知. 1989; 179-207.
 - 36) 海野徹也, 柴 智久, 検崎仁美, 柴田恭宏, 長澤和也. 耳石 Sr/Ca 比による広島県芦田川水系における陸封アユの確認. 広島大学大学院生物圏科学研究科紀要 2007; **46**: 35-42.
 - 37) 小西浩司, 信沢邦宏. 神流川におけるアユの産卵. 群馬農業研究 E 水産 1994; **10**: 44-47.
 - 38) Tachihara K, Kimura S. Maturity and spawning of land locked ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* in Lake Ikeda, Kagoshima Prefecture. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 2187-2192 (in Japanese with English abstract).