

## [報告書]

### 稗貫川におけるアユ種苗の遺伝分析による放流効果測定（2014年度）

照井沙友里、塚越英晴、阿部周一  
岩手大学 三陸水産研究センター

#### 1、目的

稗貫川漁業協同組合は、毎年、遊漁を目的に複数の種苗生産業者から購入した種苗の放流を行っている。2013年度、その放流効果の調査を行ったところ、北上川由来のアユ集団が釣獲に大きく貢献しているという結果が得られた。その結果を基に、2014年度では、北上川由来もしくは同水系と遺伝的に近縁であり遺伝子汚染の影響が少ないと考えられる地理的に近い岩手県産種苗が放流された。そこで、本研究ではその効果を調査するために、2014年度でも釣獲された稗貫川アユの遺伝分析を実施した。また、釣獲された個体の中で病気であった個体、産卵のために下流へ移動する個体（以下、落ちアユ）、および大型の個体にも注目して遺伝分析を行った。

#### 2、材料と方法

放流効果を調べるために、まず2014年度の放流に用いた放流用種苗サンプルを採集した（表1）。次に、北上川水系稗貫川の5地点（図1）から、2014年7月と10月の2回採集を行いサンプルを得た。また、その他に10月下旬に石鳥谷地区で採集された落ちアユ個体および同時期に亀ヶ森地区で採集された大型個体のサンプルも得た。

次に、昨年の調査に使用した遺伝マーカー5座では、個体レベルでの由来判別を行うことは困難であることから、新規に遺伝マーカーの開発を行った（Ayu4, Ayu7, Ayu8, Ayu10, Ayu33, Ayu35, Ayu44, Ayu55）。そして、開発された遺伝マーカーと昨年のも（Ple100, Ple39, Ple27, pag040, pag047; Iwata et al., 2006; Ha et al., 2007）を合わせて計13座の遺伝マーカーを用いて、由来判別を行った。

PCR法によって増幅された各マーカーについてジェネティックアナライザ 3130xl および 3500xl を用いて対立遺伝子型を決定した。決定した遺伝子型をもとに、解析ソフト PCAGEN (Goudet, 2005) により主成分分析を行い、解析ソフト ARLEQUINv3.1 (Excoffier et al., 2005) により遺伝子型の出現頻度（以下、遺伝子頻度）を算出した。

#### 3、結果と考察

種苗個体（計273個体）を用いた主成分分析の結果を図2に示す。北上川産の種苗個体と静岡産の種苗個体で一つのまとまり（赤線）を形成し、南部馬淵産と盛産の種苗個体でもう一つのまとまり（青線）を形成した。遺伝子頻度について、南部馬淵産および

盛産の種苗では両者間で固有な遺伝型は検出されなかった。対して、北上川産種苗および静岡産種苗についてみると、北上川産もしくは静岡産に固有な遺伝子型が複数検出された。このことから、主成分分析と個体の有する遺伝子型を組み合わせることで、各種苗集団を個体レベルで識別できると期待される。

#### [7月採集個体について]

7月に5地点で採集された個体（計210個体）の主成分分析の結果を図3（a）に示す。7月期のサンプルでは、南部馬淵・盛のまとまり（青線）に含まれる個体が67%で、北上・静岡のまとまり（赤線）に含まれる個体が33%であった。地点ごとに見てみると、稗貫川の下流域にあたる亀ヶ森地区や石鳥谷地区では北上・静岡のまとまり（赤線）に含まれる個体の割合が他地点に比べ高かった。次に、北上川産もしくは静岡産に固有な遺伝子型に着目して北上・静岡のまとまりに含まれる個体についてみると、北上川産由来の遺伝子型が45.7%、静岡産由来のものが6.5%、判別困難な遺伝子型が47.8%であった。この判別困難な遺伝子型を有する個体について、判別できた北上川産と静岡産の割合を予備的に適用すると、北上川産が91.3%、静岡産が8.7%であった。ただし、判別困難な遺伝子型を有する個体についての由来判別は、あくまで目安であることを述べておく。

従って、7月における5地点の各種苗の貢献度は、北上川産30.0%（63個体）、静岡産2.9%（6個体）、南部馬淵・盛産64.8%（136個体）、不明2.4%（5個体）であった。

#### [10月採集個体について]

10月に5地点で採集された個体（計224個体）の主成分分析の結果を図3（b）に示す。10月期のサンプルでは、南部馬淵・盛のまとまり（青線）に含まれる個体が40%で、北上・静岡のまとまり（赤線）に含まれる個体が60%であった。地点ごとに見てみると、亀ヶ森地区、外川目地区、内川目地区、大迫地区では北上・静岡のまとまり（赤線）に含まれる個体が7月に比べ大きく増加し、南部馬淵・盛のまとまり（青線）に含まれる個体は減少していた。また、石鳥谷地区ではあまり変化が見られなかった。次に、北上川もしくは静岡に固有な遺伝子型に着目して北上・静岡のまとまりに含まれる個体についてみると、北上川産が53.8%、静岡産が5.3%、判別困難な遺伝子型が40.9%であった。この判別困難な遺伝子型を有する個体について、判別できた北上川産と静岡産の割合を予備的に適用すると、北上川産が92.4%、静岡産由来が7.6%であった。この結果も7月と同様にあくまで目安であることに注意する必要がある。

以上から10月における5地点の各種苗の貢献度をまとめると、北上川産54.5%（122個体）、静岡産4.5%（10個体）、南部馬淵・盛産38.8%（87個体）、不明2.2%（5個体）であった。

#### [病気個体、落ちアユ個体、大型個体について]

7月に亀ヶ森地区で採集された病気の個体、10月下旬に石鳥谷地区で採集された落ちアユ個体、および同時期に亀ヶ森地区で採集された大型個体の主成分分析の結果を図4に示す。

まず、病気の個体はすべて南部馬淵・盛のまとまりに含まれた。一般的に人工種苗では、継代飼育により遺伝的多様性が低下し、環境への抵抗力が低下する(谷口・池田, 2009)。実際に南部馬淵・盛の種苗は人工的に維持されたものであり、両種苗集団の遺伝的多様性は他集団に比べ非常に低いことから(表2)、環境への抵抗力の低下により病気個体が出現したものと思われる。

次に、落ちアユ個体については10個体中9個体が、また、大型の個体はすべての個体が北上・静岡のまとまりに含まれた。北上川もしくは静岡に固有な遺伝子型に着目して北上・静岡のまとまりに含まれる個体についてみると、これらの落ちアユ個体の9個体中4個体が北上川産由来、1個体が静岡産由来であった。また、大型個体は6個体中2個体が北上川産由来であった。釣獲個体の遺伝子頻度による解析で、北上・静岡のまとまりに含まれる個体の多くは北上川産由来であることが示唆されたことから、残りの北上・静岡のまとまりに含まれる落ちアユ個体と大型個体についても静岡産由来というより北上川産由来が多いと考える方が妥当である。

#### [まとめ]

7月の釣獲個体では南部馬淵・盛産種苗の貢献度が最も高く、次いで北上川種苗の貢献度が高い事が推測された。また、10月の釣獲個体では北上川種苗の貢献度が最も高く、次に南部馬淵・盛産種苗が高い事が推測された。そして、病気個体はすべて南部馬淵・盛産(人工種苗)由来である事、および落ちアユ個体と大型個体は大半が北上川産由来である事が示唆された。

#### 4、引用文献

Goudet, J. (2005). PCAGEN. Website last modified on August 23, 2005.

Available at ; <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/pcagen.htm>

Iguchi, K., Watnabe, K., Nishida, M. (1999), "Reduced mitochondrial DNA variation in hatchery populations of ayu (*Plecoglossus altivelis*) cultured for multiple generations.". *Aquaculture*, 178, 235-243.

Ha, T., Okabe, M., Morishima, K., Nakayama, I., Nagasawa, K., and Umino, T. (2007), "Development and multiplex PCR amplification of new microsatellite markers for the freshwater fish, ayu (*Plecoglossus altivelis*)"., *Mol. Ecol. Notes*, 7, 635-637.

Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2005), "Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis.", *Evol. Bioinform. Online*, 1, 47-50.

谷口順彦、池田実.(2009). アユ学; アユの遺伝的多様性の利用と保全. 築地書館

表 1、解析に供したサンプル

集団名	個体数
・種苗	
宮城県北上川産（海産）：北上 1	56
宮城県北上川産（海産）：北上 2	75
岩手県南部馬淵産（人工産）：南部馬淵	44
岩手県盛産（人工産）：盛	62
静岡県沼津産（海産）：静岡	36
・7月採集	
亀ヶ森	48
外川目	33
内川目	40
石鳥谷	47
大迫	42
・10月採集	
亀ヶ森	49
外川目	38
内川目	30
石鳥谷	41
大迫	66
・その他	
病気個体（亀ヶ森 7月）	3
遡下個体（石鳥谷 10月下旬）	10
大型個体（亀ヶ森 10月下旬）	6

表3、各座・各集団の遺伝子多様度（値が小さいと多様度が低い事を示す）。

座	7月										10月				
	北上1	北上2	南部馬淵	盛	静岡沼津	亀ヶ森	外川目	内川目	石鳥谷	大迫	亀ヶ森	外川目	内川目	石鳥谷	大迫
Ple39	9.865	9.107	3.997	3.998	9.872	8.36	4.818	7.222	6.495	8.751	8.766	7.739	7.000	7.623	8.423
Ple100	25.157	23.558	7.917	9.303	21.72	16.444	14.266	16.733	19.348	13.778	24.05	22.17	19.000	20.287	22.031
pag040	13.958	13.003	6.016	5.404	13.503	12.265	8.629	7.676	12.391	7.835	14.439	13.308	13.000	14.177	10.896
pag047	18.196	15.485	5.673	6.699	17.333	14.512	7.811	11.509	15.529	11.273	13.587	16.105	15.000	15.87	14.059
Ple27	8.866	10.753	4.000	4.000	11.093	6.437	5.818	9.437	8.701	5.428	10.703	9.896	9.000	10.372	8.664
Ayu4	14.051	15.999	6.673	7.912	13.281	12.725	8.727	13.113	11.167	10.191	13.566	13.26	11.000	11.319	11.924
Ayu7	15.649	14.356	5.899	5.951	17.12	11.881	8.72	11.67	13.905	10	12.513	15.797	10.000	13.98	14.965
Ayu8	12.848	13.235	6.863	6.45	14.591	12.762	9.804	11.838	11.263	10.487	12.97	10.737	13.000	12.268	12.245
Ayu10	26.86	23.811	6.892	7.644	22.583	16.061	11.628	15.732	21.625	13.628	22.417	22.354	18.000	20.466	20.109
Ayu33	14.548	14.621	7.793	7.347	14.771	10.531	9.72	11.009	13.631	9.062	13.861	14.105	12.000	13.705	13.457
Ayu35	11.751	13.504	8.895	8.672	14.014	13.559	11.635	12.312	13.125	10.548	13.096	12.678	10.000	12.631	12.699
Ayu44	13.247	13.262	8.548	9.541	16.221	11.518	8.986	11.405	13.383	10.529	14.235	13.524	12.000	12.287	12.666
Ayu55	13.298	12.927	8.356	8.719	13.252	10.679	8.895	10.553	13.392	9.528	12.435	13.444	12.000	11.634	11.886

人工種苗集団ではどの遺伝子座においても、他の種苗集団に比べ遺伝子多様度が非常に低くなっている。

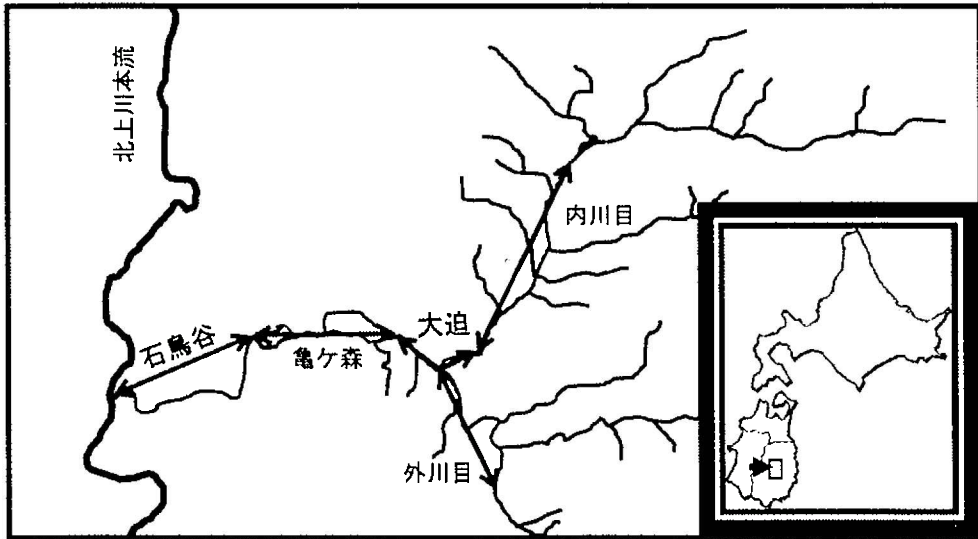


図1、本研究で用いたサンプルの採集区間（ $\longleftrightarrow$ ）。

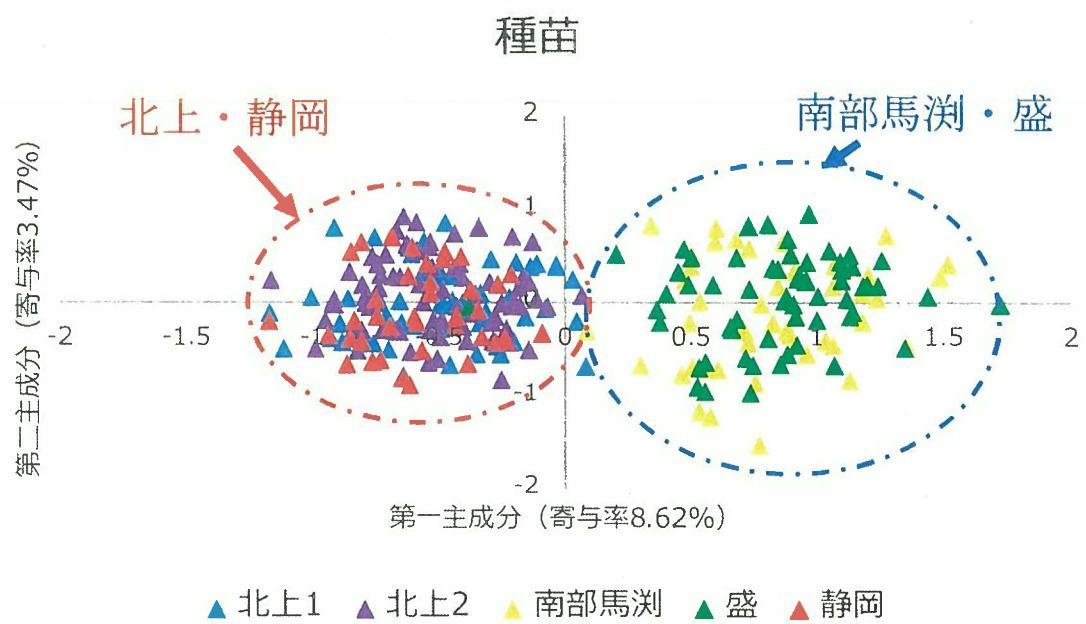
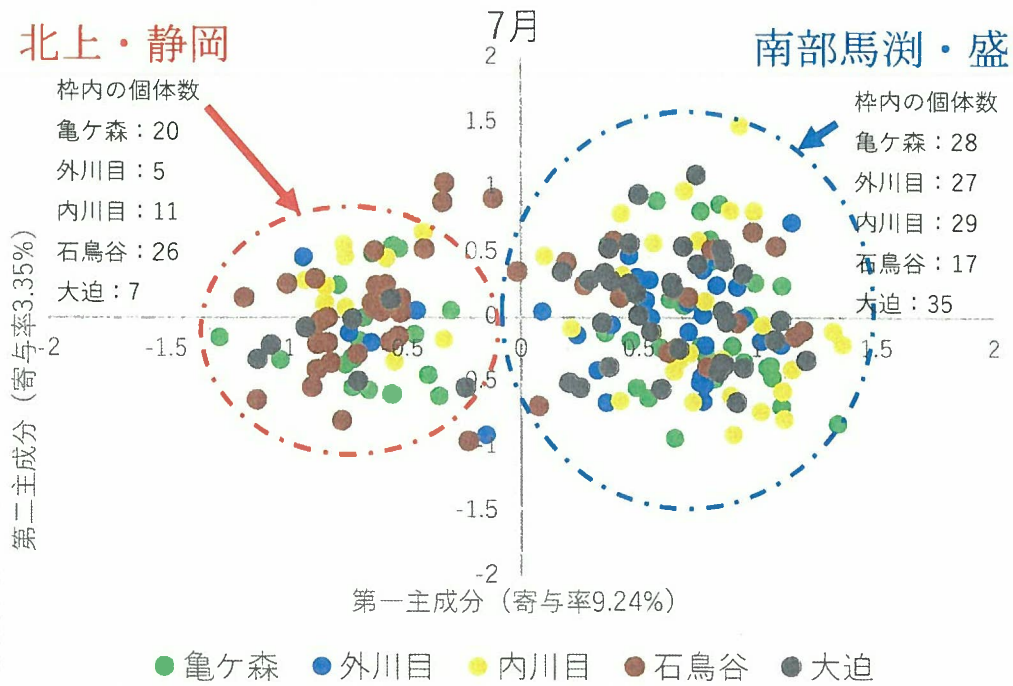


図2、種苗計273個体の主成分分析。赤点線の枠は北上・静岡のまとまり、青点線の枠は南部馬渕・盛のまとまりの範囲を示す。



(a)



(b)

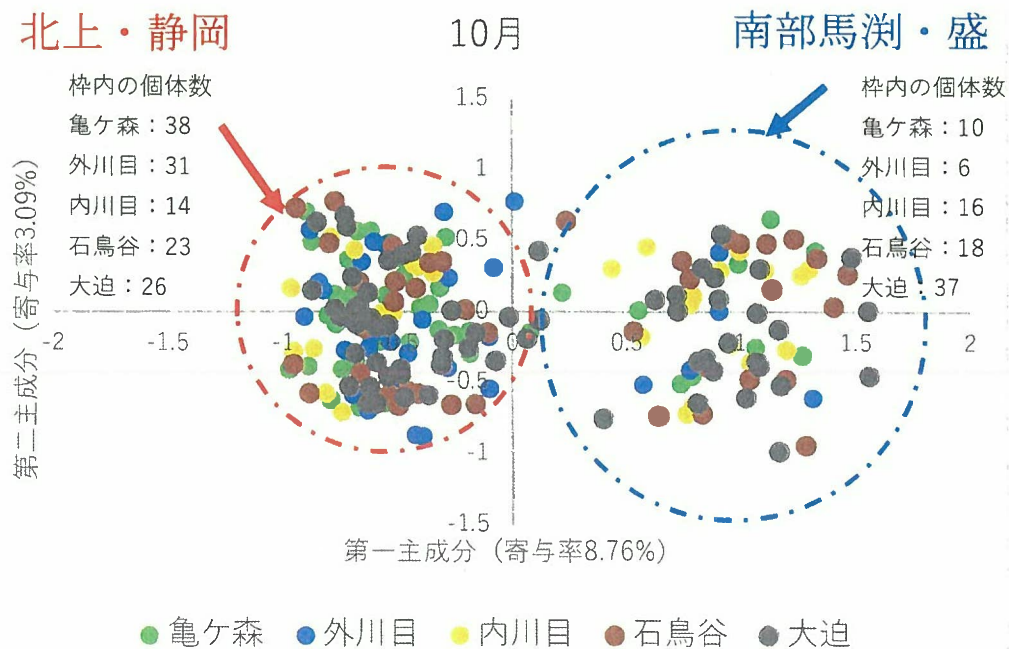


図3、(a) 7月に5地点で釣獲された計210個体の主成分分析。(b) 10月に5地点で釣獲された計224個体の主成分分析。赤点線の枠は北上・静岡のまとまり、青点線の枠は南部馬淵・盛産のまとまりの範囲を示す。

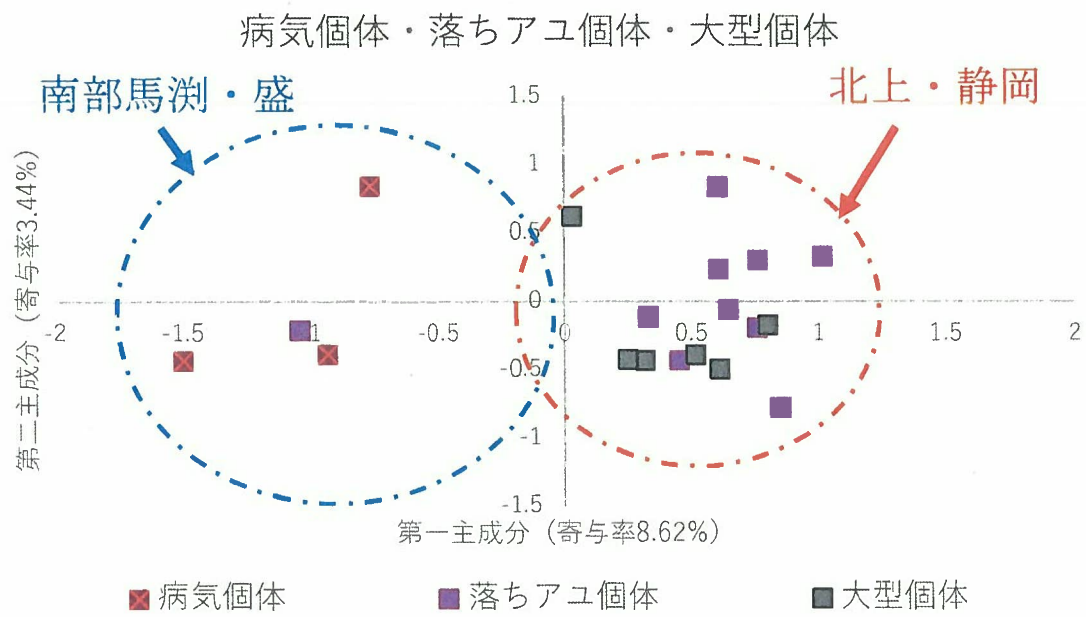


図4、病気個体、遡下個体、および大型個体の主成分分析。赤点線の枠は北上・静岡のまとめ、青点線の枠は南部馬淵・盛のまとめの範囲を示す。