同一環境下で継代飼育されたアユ *Plecoglossus altivelis* 3 品種間における温度適応力の差異

岡部正也,^{1*} 関伸吾,² 西山勝,³
桑原秀俊,⁴ 佐伯昭,¹ 山岡耕作²

(2002年8月1日受付, 2003年3月24日受理)

¹高知県内水面漁業センター, ²高知大学農学部栽培漁業学科,
³高知県宿毛漁業指導所, ⁴高知県水産試験場

Differences in temperature adaptability among three races of ayu
Plecoglossus altivelis under the same raising condition.

MASAYA OKABE,^{1*} SINGO SEKI,² MASARU NISHIYAMA,³
HIDETOSHI KUWAHARA,⁴ AKIRA SAHEKI^{1b} AND KOSAKU YAMAOKA²

¹Kochi Prefectural Freshwater Fisheries Center, Tosayamada, Kochi 785-0016, ²Department of Aquaculture, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783-8502, ³Kochi Prefectural Sukumo Fisheries Guidance Office, Sukumo, Kochi 788-0265, ⁴Kochi Prefectural Fisheries Experimental Station, Susaki, Kochi 785-0167, Japan

Temperature adaptability was compared among three different races of ayu *Plecoglossus altivelis* at 205–220 days of age by recording changes in their tolerance temperatures after acclimation to various temperatures. These races were raised under the same conditions from hatching up to the performance of temperature-tolerance tests to make environment factors uniform. Tolerance temperatures of the fish changed depending on the acclimation temperature within the race and there were significant differences in the indices of temperature tolerance among the races. Average critical thermal maximum and minimum acclimated to 15–23°C and ranged from 29.7–32.2°C, 2.5–6.0°C in amphidromous form, 28.7–31.7°C, 2.3–5.3°C in landlocked form and 29.7–33.0°C, 1.7–5.0°C in Setogawa artificial landlocked form. The magnitude of thermal tolerance zones for each race calculated from the upper and lower incipient lethal temperatures against acclimation temperatures were 481°C², 415°C² and 517°C² respectively. These results suggested that a difference may exist in the temperature adaptability among the ayu races.

キーワード：アユ, 温度適応力, 品種差, 人工陸封型, 海系, 琵琶湖系

アユ *Plecoglossus altivelis* は、内水面における重要な産業種であり、日本全国の主要河川には年間 1,200 t ものアユ種苗が放流されている。¹⁾ 本種の増養殖に用いられる種苗の多くは、両側回遊型である海系または陸封型である琵琶湖系のいずれかの野生集団に由来しているが、これらは互いに遺伝的に分化した地理的品種であり、多くの異なる生理生態的特徴を有することが知られている。そのうち、これらの温度に対する耐性や適応性に関しては、²⁻⁴⁾ 受精卵の水温感受性、^{5,6)} 水温別の縄張り形成能力の比較⁷⁾ についての報告があり、琵琶湖系は海

系に比べて低水温適応型であることなどが示されている。しかし、これまでに両品種の種苗サイズにおける温度適応力が具体的な指標を用いて示された例は無く、品種間で比較された例も見当たらない。このことは、放流地域や養殖場の温度環境が用いられる種苗に対して適切でない場合があることを示唆している。したがって、本種の温度適応力における品種差を明らかにすることは、放流効果や生産効率の向上、ひいては近年全国の河川や養鮎場で深刻化している冷水病被害⁸⁾ の軽減を図るうえでも重要であると考えられる。

* Tel : 81-887-52-4231. Fax : 81-887-52-4224. Email : Masaya_Okabe@ken2.pref.kochi.jp

一方, 野生2品種のほかに, 天然湖や人工湖に放流された種苗が自然繁殖して定着した人工陸封アユ集団が全国各地で確認されている。^{9,10)} これらの遺伝的特性がアロザイム標識,¹⁰⁻¹²⁾ mtDNA¹¹⁾ およびDNAフィンガープリント¹²⁾ を用いて調べられており, 海系, 琵琶湖系, それらの中間型などの遺伝子型パターンを示すものや, その遺伝変異保有量が天然集団と異なるものがあることが報告されている。つまり, これらはアユ本来の生息環境と異なる環境に適応した特殊な集団であると考えられることから,⁹⁾ その温度適応力を評価することは, 今後新たな遺伝子資源としての可能性を探るうえでも有意義であると思われる。現在, 高知県内水面漁業センターでは, 高知県北部の吉野川上流に位置する早明浦ダム湖で確認された人工陸封化アユが継代飼育されており, その温度適応力を評価することが可能である。

魚類は変温動物であるため, その体温は環境温度に応じて変化する。しかし, 体外の温度が長期間一定レベルに保たれた場合にはその温度に馴化し, 致死の限界温度に補償的变化が生じることが多くの魚種¹³⁻¹⁵⁾ で示されている。魚類の致死の限界温度を示す指標としては, 臨界最高・最低温度 (Critical thermal maximum・minimum 以下 CTMax, CTMin),¹⁶⁻¹⁹⁾ 高温側致死温度 (Upper lethal temperature 以下 ULT),¹⁷⁻²⁰⁾ 初期致死温度,¹⁷⁻²⁰⁾ 最終致死温度¹⁷⁻²⁰⁾ が用いられている。CTMax, CTMin は, 馴化温度から一定の速度で昇温または降温したとき, 魚体が完全に平衡を喪失する温度および ULT は, 高温側における死亡温度として定義され, 個体ごとに測定された耐性温度の平均値で表される。また, 初期致死温度は, 魚体を馴化温度から高・低温系列に速やかに移したとき, 無制限の時間内に半数が死亡する温度 (Upper・lower incipient lethal temperature 以下 UILT, LILT), 最終致死温度は UILT, LILT が馴化温度と一致する温度 (Upper・lower ultimate lethal temperature 以下 UULT, LULT) として定義されている。¹⁷⁻²⁰⁾ さらに, UILT, LILT, UULT および LULT で囲まれる領域は, 温度耐忍領域 (Thermal tolerance zone)¹⁷⁻²⁰⁾ と呼ばれ, その面積を °C² で表すことにより魚種レベルでの温度耐性範囲の推定値が示されている。これらの指標は, 環境要因の違いによる影響を除去したうえで用いることにより, 異なる品種間の温度適応力を比較する場合において有効な手段となりうる。⁵⁻⁷⁾ そこで, 本研究では, 海系, 琵琶湖系および高知県早明浦ダム湖産人工陸封型の3品種を同一環境下で継代飼育し, 異なる馴化温度に対する CTMax, CTMin, ULT, UILT, LILT, UULT, LULT および温度耐認領域の各指標を用いてアユ品種間における温度適応力の比較を試みた。

材料および方法

供試魚 実験に用いた各品種の由来および飼育条件は以下のとおりである。

1. 海系アユ F1 1996年7月に高知県中部の物部川下流域で友釣りにより採捕した天然海系アユを親魚養成し, 同年11月6日に♀6尾 (平均体長±S.D. 19.3 cm ±1.1, 平均体重±S.D. 84.7 g ±18.1), ♂3尾 (平均体長±S.D. 19.5 cm ±1.1, 平均体重±S.D. 103.3 g ±12.0) を用いて無作為交配により作出した。

2. 琵琶湖系アユ F1 1996年春期に琵琶湖で採捕され, 高知県東部のアユ養殖業者により飼育されていた琵琶湖系アユを同年5月に買い受けて親魚養成し, 同年11月13日に♀3尾 (平均体長±S.D. 20.2 cm ±0.3, 平均体重±S.D. 141.6 g ±17.2), ♂4尾 (平均体長±S.D. 20.5 cm ±0.9, 体重±S.D. 125.9 g ±18.3) を用いて無作為交配により作出した。

3. 人工陸封型 F2 高知県北部吉野川上流に位置する早明浦ダム湖に流入する瀬戸川で, 1995年6月に投網により採捕し, 1995年10月5日に♀5尾, ♂6尾を用いて無作為交配により作出したものを初代親魚とし, 1996年10月1日に♂108尾, ♀118尾を用いて生産した種苗の一部を供試魚として用いた。本研究では, 採捕された河川名から便宜上「瀬戸川産アユ」とした。

飼育環境 各品種の種苗生産は, 高知県内水面漁業センターの屋内2tFRP水槽を用いて行った。いずれも孵化から40日間は淡水クロレラにより培養した海産ワムシ, その後は市販のアユ用配合飼料を順次与えて実験まで飼育した。仔魚期にはアレン処方的人工海水 (塩分濃度約18‰) による循環濾過飼育を行い, 孵化後約150日目の稚魚期に達してから徐々に淡水を注入して流水飼育に切り替えた。温度馴化飼育に供するまでの各品種の飼育密度は約1000尾/tとし, ボイラーに接続した熱交換器により飼育水を約19°Cに保った。

温度馴化飼育 各供試魚は, 温度耐性試験に先立ち15°C, 20°C および23°Cの3水温で温度馴化飼育を行った。馴化飼育開始時の日令は, 瀬戸川産220日, 海系215日, 琵琶湖系205日であった。各供試魚はスリット式選別器のスリット径6mmを通らず, 8mmを通過した個体群の中から無作為に抽出し, FA100による麻酔後体長, 体重を測定した。馴化温度を識別するため, 各供試魚の背鰭基部にはイラストマータグを装着し, 20°Cに保った200Lポリカーボネート円形水槽3基に各110尾を収容した (Table 1)。これらの水槽は半循環濾過方式とし, 水槽底部に設置した塩ビ管より通気を行い, 約2日間環境馴化を行った。各馴化温度への移行には, 23°C区では約1日, 15°C区では約2日をかけて行い, 以後20 (海系, 琵琶湖系) ~21 (瀬戸川産) 日間,

Table 1 Standard length, body weight and condition factor of ayu races examined

Race	Acclimation period (date, 1997)	Acclimation temperature (°C)	Standard length (mm)	Body weight (g)	Condition factor
Amphidromous	7 Jun.–28 Jun.	15	74.3±3.2	4.9±0.7	11.8±0.8
		20	74.1±3.5	4.8±0.8	11.8±0.6
		23	73.4±2.9	4.7±0.7	11.7±0.6
Landlocked	7 Jun.–28 Jun.	15	73.4±3.4	4.5±0.7	11.4±0.7
		20	73.8±2.8	4.6±0.5	11.5±0.6
		23	73.3±3.0	4.6±0.7	11.7±0.8
Setogawa	19 May–9 Jun.	15	72.4±2.4	4.6±0.6	12.1±0.9
		20	72.6±2.6	4.6±0.6	11.9±0.8
		23	73.0±2.4	4.7±0.6	12.1±0.8

Mean ± S.D. (n = 110)

温度馴致飼育を行った。また、各供試魚には魚体重の3%に相当する量の配合飼料を1日2回に分けて投与した。

CTMax・CTMin 試験 試験方法は、Becker ら¹⁶⁾および土田ら^{18,19)}に準じた。本試験に用いた試験装置は、30 L 円形パンライト水槽内の水温をプログラムサーモコントローラにより定率勾配で上昇、下降させるものである。この水槽中に各温度馴致群から無作為に抽出した供試魚5尾を収容し、馴致温度と同じ温度で1時間環境馴致後、それぞれの温度耐性試験に供し、以下に示す判定基準により各指標の値を測定した。

1. CTMax 馴致温度から5°C/hの速度で昇温させ、供試魚が鰓蓋運動を継続しているが、完全に平衡を喪失して水槽底部に横たわり、元の体位に復帰できなくなった時点の温度。

2. ULT 供試魚がCTMaxに達した後、さらに昇温を継続した時、その個体が鰓蓋運動を完全に停止する温度。

3. CTMin 馴致温度から5°C/hの速度で降温させ、供試魚が鰓蓋運動を継続しているが、完全に平衡を喪失して水槽底部に横たわり、元の体位に復帰できなくなった時点の温度。

なお、低温側の死亡温度については、供試魚がCTMin以下で仮死状態となり、正確な死亡判定が困難であることから、CTMinのみを低温耐性の評価に用いた。試験は高温側ではすべての供試魚がULTに達するまで、低温側ではすべての供試魚がCTMinに達するまで継続した。これらの試験を各品種のすべての温度馴致区について実施し、各試験区の5個体から得られたデータについて、品種および馴致温度を独立変数とする2元配置の分散分析により等分散性を確認後、Tukeyの多重比較検定を行った。

UILT・LILT 試験 UILT, LILT^{15,17)}は無制限の時間内に半数が死亡する温度として定義されているが、実

際には24~96時間以内の50%致死温度がこれに代用されている。そこで、本研究では、土田^{18,19)}およびBrett²⁰⁾の方法に準じ、高、低温側の72時間50%致死温度をUILT, LILTの推定値として用いた。試験温度系列には半循環濾過方式の50 L アクリル水槽を用い、高温区では試験温度を26~30°C、低温区では3~10°Cの範囲で1°C刻みで設定した (Table 3)。UILT・LILT 試験は品種ごとに行い、各温度馴致区より10尾を無作為に抽出して速やかに試験温度系列に移槽した。ハンドリングの影響を無作為化するため、移槽の順序は乱数表により決定した。温度耐性試験中は無給餌とし、各試験温度区において72時間以内に鰓蓋活動を完全に停止し、ピンセットの先端による物理的刺激に反応を示さなくなった個体を死亡個体として取り上げ、イラストマータグにより馴致温度を識別して試験温度区ごとの死亡率を算出した。本試験には、各馴致温度に対して高温側で40~50尾、低温側で20~40尾、各品種について合計210~220尾を用いた。

UULT・LULTの推定 各品種のUULTを以下の方法により推定した。グラフ上で馴致温度23°Cに対するUILTを結ぶ直線を延長し、原点を通り、横軸に対して仰角45°の直線(初期致死温度と馴致温度が一致する点を結ぶ直線)と交わる点の温度を求めた (Fig. 2)¹⁹⁾ また、LULTについては、本実験で用いた最低の馴致温度である15°Cに対するLILTと仮定した¹⁸⁾

アロザイム分析 各品種より無作為に抽出した50尾についてアロザイム分析を行い、品種差を比較した。各サンプルは、分析に供するまで-80°Cに保ったディープフリーザ中で凍結保存し、室温で解凍後体側筋、心臓および肝臓より採取したドリップを粗酵素液として用い、水平式デンブング電気泳動法により検出した。泳動条件および染色法は谷口ら²⁾および関ら³⁾の方法に準じ、AAT-1*, AAT-2*, GPI-1*, GPI-2*, MPI*, IDHP-1*, IDHP-2*, LDH-1*, DH-2*, MDH-1*, MDH-3*,

MEP-1*, MEP-2*, PGM-2*, PGDH*, ACP*, ADH*, G3PDH-1*, G3PDH-2*, IDDH*, SOD*の14酵素21遺伝子座について得られた泳動像から, 各品種の変異レベルの指標として平均対立遺伝子数, 多型的遺伝子座率および平均ヘテロ接合体率を算出した。さらに, 各品種間の遺伝的距離をNeiの式により算出した。各指標の算出には, Popgene version.1.31を用いた。²¹⁾

結 果

馴致飼育期間中における飼育水のpH, DOの平均値±S.D.はそれぞれ $7.6 \pm 0.3 \sim 7.7 \pm 0.3$, $81.3\% \pm 3.2 \sim 88.4\% \pm 3.0$ の範囲であり, 馴致温度区間, 品種間のいずれにおいてもその差はごくわずかであった。また, 海系の20°C区で1尾, 23°C区で4尾, 琵琶湖系の20°C区で1尾, 23°C区で3尾の斃死が見られたが, その他の区では, 斃死は認められなかった。

CTMax・CTMin試験 試験開始から終了までの昇・降温速度には, $5^\circ\text{C} (\pm 0.02^\circ\text{C S.D.})/\text{h}$ の定率勾配が保たれた。各品種のCTMax, CTMinおよびULTは馴致温度によって大きく異なった (Fig. 1, Table 2)。高温側では, 馴致温度が15°Cから20°Cに上昇すると, 品種内におけるCTMaxおよびULTの平均値には, 2.0 (琵琶湖系)~2.8 (瀬戸川産)°Cおよび1.8 (海系)~2.8 (瀬戸川産)°Cの有意 ($p < 0.05$)な上昇が認められたが, 23°Cではその差は縮小し, 琵琶湖系では20°Cとほぼ同じ値を示した。また, 瀬戸川産の馴致温度23°Cに対するULTの平均値±S.D.は $33.5^\circ\text{C} \pm 1.0$ と, 琵琶湖系の $30.0^\circ\text{C} \pm 0.7$ に比べて有意 ($p < 0.05$)に高い値を示した。一方, 低温側では, 馴致温度が23°Cから15°Cに低下すると, 品種内におけるCTMinの平均値には, 2.3 (瀬戸川産)~3.5 (海系)°Cの直線的な低下が認められた。さらに, 23°Cに馴致した場合の瀬戸川産のCTMinの平均値±S.D.は, $4.3^\circ\text{C} \pm 0.5$ と海系の $6.0^\circ\text{C} \pm 0.7$ に比べて有意 ($p < 0.05$)に低い値を示した。

UILT・LILT試験 いずれの品種においても, 同一の温度に馴致した場合の死亡率は, 高温側では試験温度が高くなるに従い, 低温側では低くなるに従い上昇する傾向が見られた (Table 3)。そこで, 各品種のUILTおよびLILTを以下の方法により推定した。各試験温度の死亡率を独立変数, 試験温度を従属変数として求めた回帰直線から, 死亡率50%に相当する温度を算出した。さらに, 有意な回帰直線が得られなかったものについては, 死亡率50%を挟んだ2試験温度から求めた。¹⁸⁾なお, 瀬戸川産では, 低温側の温度設定の不備から, 直接馴致温度23°Cに対するLILTの推定ができなかったため, 他の2品種において認められた馴致温度とLILTの直線回帰性に基づき, 馴致温度15°Cと20°Cに対するLILTを結ぶ直線より 8.7°C と推定した。各品

Fig. 1 Average of critical thermal maximum, minimum and upper lethal temperature against acclimation temperature for each of the three races of ayu. ●, amphidromous; □, landlocked; △, Setogawa. Vertical line in the figure indicates the standard deviation.

種のUILTおよびLILTは, CTMax, CTMinと同様, 馴致温度により大きく変化した。高温側では, いずれの馴致温度においても瀬戸川産が $27.8 \sim 28.9^\circ\text{C}$ と最も高いUILTを示し, 海系がこれに次いだ。また, 琵琶湖系のUILTはこれら2品種に比べて低い値をとり, そ

Table 2 Critical thermal maximum, upper lethal temperature and critical thermal minimum for three races of ayu acclimated to different temperature

Acclimation temperature (°C)	Race	Critical thermal maximum (°C)* ¹	Upper lethal temperature (°C)* ¹	Critical thermal minimum (°C)* ¹
15	Amphidromous	29.7 ± 0.6 ^a	30.3 ± 0.4 ^a	2.5 ± 0.2 ^a
	Landlocked	28.7 ± 1.3 ^a	29.4 ± 1.4 ^a	2.3 ± 0.1 ^a
	Stetogawa	29.7 ± 0.7 ^a	30.0 ± 0.7 ^a	1.7 ± 0.2 ^a
20	Amphidromous	31.9 ± 0.5 ^{b**}	32.1 ± 0.5 ^{b**}	4.5 ± 0.7 ^{b**}
	Landlocked	31.7 ± 0.7 ^{b**}	31.8 ± 0.7 ^{b**}	2.7 ± 0.3 ^{b**}
	Stetogawa	32.5 ± 0.4 ^{b**}	32.8 ± 0.5 ^{b**}	4.3 ± 0.5 ^{b**}
23	Amphidromous	32.2 ± 0.6 ^{b**}	32.8 ± 0.4 ^{b**,AB}	6.0 ± 0.7 ^{c**,A}
	Landlocked	31.7 ± 0.4 ^{b**}	32.0 ± 0.5 ^{b**,A}	5.3 ± 0.4 ^{b**,AB}
	Stetogawa	33.0 ± 0.8 ^{b**}	33.5 ± 1.0 ^{b**,B*}	4.3 ± 0.5 ^{b**,B*}

¹ Mean ± S.D. (n=5)Vertical (a, b) values between different acclimation temperature within same race and vertical (A, B) values between races within same acclimation temperature not sharing the same superscript letters are significantly different ($p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

の差は馴致温度 23°C において、瀬戸川産より 2.2°C、海系より 1.4°C 低い値であった。いずれの品種においても、馴致温度が 15°C から 20°C に上昇すると、UILT の値は顕著に上昇したが、23°C では 20°C の場合とほぼ同じ値を示した。一方、低温側では、瀬戸川産の LILT が最も低い傾向を示し、ついで琵琶湖系、海系の順に高い値を示したが、琵琶湖系と海系の差はごくわずかであった。

温度耐忍領域 各品種の UULT は、それぞれ海系 28.1°C 琵琶湖系 26.7°C、瀬戸川産 28.7°C と推定された。これらと、LULT, UILT および LILT で囲まれた面積から求めた各品種の温度耐忍領域は、それぞれ瀬戸川産 517°C²、海系 481°C² および琵琶湖系 415°C² となった (Fig. 2)。

アロザイム分析 各品種について検出した 14 酵素 21 遺伝子座のうち、海系では *AAT-1**, *GPI-1**, *MPI**, *MEP-1**, *PGDH** の 5 酵素 5 遺伝子座で、琵琶湖系では *GPI-1**, *MPI**, *PGDH** の 3 酵素 3 遺伝子座で、瀬戸川産では *AAT-1**, *GPI-1**, *MPI** の 3 酵素 3 遺伝子座で多型が認められた (Table 4)。いずれの品種にも、各遺伝子座における遺伝子型の観察値と、Hardy-Weinberg の平衡式に基づく遺伝子型の期待値の間に有意差は認められなかった (χ^2 検定, $p > 0.05$)。各品種の *GPI-1** および *MPI** 遺伝子座について遺伝子頻度の異質性の検定を行った結果、海系—瀬戸川産の *MPI** 遺伝子座をのぞくすべての組み合わせについて有意差が認められた (χ^2 検定, $p < 0.05$)。また、根井の公式による品種間の遺伝的距離 (D) は、海系—琵琶湖系間で 0.0357、海系—瀬戸川産間で 0.0021 および琵琶湖系—瀬戸川産間で 0.0231 となった。

Fig. 2 Magnitude of thermal tolerance zones for each of the three races of ayu. The polygons enclosed with solid lines represent the thermal tolerance zones of amphidromous (●), landlocked (□), and Stetogawa (△), respectively. The magnitude of these is expressed as “degrees Centigrade squared (°C²)”. The broken diagonal line represents the line for which lethal temperature equals acclimation temperature. UILT, LILT, UULT and LULT represent upper incipient lethal temperature, lower incipient lethal temperature, upper ultimate lethal temperature and lower ultimate temperature, respectively.

考 察

温度適応力の品種差 CTMax・CTMin 試験において、瀬戸川産の温度適応力は、高温側では琵琶湖系より有意に高く、低温側では海系より有意に高い傾向を示した (Fig. 1, Table 2)。これに対して、琵琶湖系の温度

Table 3 Comparison of upper and lower incipient lethal temperatures for each of the three races of ayu acclimated to different temperature

Amphidromous							
Acclimation temperature (°C) (S.D.)	Upper			Acclimation temperature (°C) (S.D.)	Lower		
	Tested temperature (°C)	72 h-mortality (%)	UILT (°C)		Tested temperature (°C)	72 h-mortality (%)	UILT (°C)
14.8(0.10)	29.9	100	27.2	14.7(0.10)	5.2	10	4.3
	29.3	100			3.2	100	
	28.1	80					
	27.1	60					
	25.8	0					
19.7(0.28)	29.9	100	28.1	19.8(0.11)	9.1	10	8.0
	29.3	70			7.5	70	
	28.1	40			6.1	100	
	27.1	30					
	25.8	0					
22.8(0.11)	29.9	100	27.9	22.8(0.09)	10.3	0	9.5
	29.3	90			9.1	70	
	28.1	50			7.5	100	
	27.1	30					
Landlocked							
Acclimation temperature (°C) (S.D.)	Upper			Acclimation temperature (°C) (S.D.)	Lower		
	Tested temperature (°C)	72 h-mortality (%)	UILT (°C)		Tested temperature (°C)	72 h-mortality (%)	UILT (°C)
14.7(0.10)	29.2	100	25.1	14.7(0.10)	5.2	10	4.3
	28.1	100			3.2	100	
	27.1	100					
	25.8	70					
	25.1	50					
19.8(0.08)	29.2	100	26.7	19.9(0.08)	9.1	10	7.8
	28.1	100			7.3	70	
	27.1	60			6.1	100	
	25.1	10					
22.8(0.09)	29.2	100	26.7	22.8(0.09)	10.3	0	9.4
	28.1	100			9.2	60	
	27.1	70			7.3	100	
	25.8	10					
Setogawa							
Acclimation temperature (°C) (S.D.)	Upper			Acclimation temperature (°C) (S.D.)	Lower		
	Tested temperature (°C)	72 h-mortality (%)	UILT (°C)		Tested temperature (°C)	72 h-mortality (%)	UILT (°C)
14.7(0.13)	29.2	100	27.8	14.7(0.14)	5.8	0	4.4
	28.1	60			4.7	30	
	27.0	10			3.7	100	
	26.1	10					
19.8(0.11)	30.2	100	28.7	19.8(0.10)	9.1	0	7.0
	29.2	40			6.8	60	
	28.1	20			5.8	100	
	27.0	20			4.7	100	
	26.1	0					
22.7(0.09)	30.2	100	28.9				
	29.2	50					
	28.1	20					
	27.0	0					
	26.1	0					

* UILT and LILT Total temperature within 72 hours.

Table 4 Allele frequencies of polymorphic loci in the three races of ayu

Loci	Allele	Race		
		Amphidromous	Landlocked	Setogawa
AAT-1*	A	0.976	1.000	0.986
	B	0.024	0.000	0.014
GPI-1*	A	0.580	0.410	0.570
	C	0.420	0.590	0.430
MRI*	A	0.064	0.000	0.000
	B	0.926	0.190	0.800
	C	0.011	0.810	0.200
MEP-1*	A	0.878	1.000	1.000
	B	0.092	0.000	0.000
	C	0.031	0.000	0.000
PGDH*	A	0.000	0.060	0.000
	B	0.980	0.800	1.000
	C	0.020	0.140	0.000

耐熱領域は3品種中最も狭く、他の2品種に比べて高温側への適応力が明らかに低い傾向を示した (Fig. 2)。さらに、高温側における生存の理論上の限界点を示す^{15,18,19)}とされる UULT の推定値には、品種間で 0.6~2.0°C の差が認められた。これらの結果は、アユの温度適応力には品種差が存在することを示唆している。また、いずれの品種においても、馴致温度が 15°C から 20°C に上昇すると、UILT は顕著に上昇したが、23°C では、ほとんど変化が認められなくなった (Table 3)。このことから、アユ未成魚において、高温側の致死限界温度を向上させる馴致温度の上限は 20°C~23°C の間にあると推察される。一方、検討した馴致温度の範囲内では、各品種の LILT は直線的に低下したことから、低温側における生存の理論上の限界点を示す^{15,18,19)}とされる LULT は、少なくとも馴致温度 15°C に対する LILT である 4.3°C 以下であると推察される (Fig. 2, Table 3)。したがって、アユの低温側への適応力については、さらに低い馴致温度についても検討する必要がある。

瀬戸川産アユの由来と生理生態的特性 早明浦ダムでは、人工陸封化を目的とした放流事業が 1985 年より行われており、1988 年までに、産卵用親魚として琵琶湖系 3 万尾、海系由来である鶴田ダム湖産¹⁰⁾ 1.4 万尾が放流され、それ以降海系由来の発眼卵、海系人工種苗がそれぞれ年間 400 万粒~1500 万粒、1.2 万尾~6 万尾および琵琶湖系種苗が毎年 150 kg 程度放流されている。²³⁾ また、1992 年に行われた調査では、ダム湖内で発生したと見られる若令魚は琵琶湖系由来であったことが報告されている。²³⁾ 本研究で用いた瀬戸川産について、関ら²⁴⁾の方法に従い、GPI-1*、MPI* 両遺伝子座の主対立遺伝子頻度をこれまでに報告されている天然集団のもの

と比較した結果、海系とほぼ同じ頻度を示したことから、瀬戸川産は海系由来であると判断された。このことは、瀬戸川産が鶴田ダム湖産、海系由来の発眼卵および海系人工種苗のいずれかに由来することを示唆している。瀬戸川産の生理生態的特性については、これまでに、産卵開始時期が高知県内の主要河川における天然海系アユ (10 月下旬) よりも 1 ヶ月程度早いこと、²²⁾ 低水温で飼育した場合、体内に蓄積する脂肪に PUFA の割合が高くなること²⁵⁾などが明らかとなっている。これらの特性は、本来の海系アユと異なり、低水温での生息に適したものであると考えられることから、²⁶⁾ 瀬戸川産は、年間を通じて天然河川より低水温であるダム湖の環境に適応した特異な集団であると推察される。

アユの温度耐熱領域 Brett^{17,20)}は、淡水魚 8 科 23 種について温度耐熱領域を比較している。このうち、サケ科魚類の温度耐熱領域は 450 (カラフトマス *Oncorhynchus gorbusha*)~625°C² (カワマス *Salvelinus fontinalis*) の範囲であったことが報告されている。²⁰⁾ 本研究では、アユの LULT を馴致温度 15°C に対する LILT と仮定しており、サケ科魚類の LULT を淡水の氷点である 0°C と仮定した Brett の場合とは異なっている。しかし、両者の算出法の違いを考慮しても、アユの温度耐熱領域はサケ科魚類とほぼ同等の範囲であると見られることから、アユは、適応できる温度範囲の比較的狭い、狭温性 (Stenotherms) 魚種に属するものと考えられる。また、これまで、温度耐熱領域は、種レベルでの温度耐熱範囲の推定に用いられてきたが、本研究の結果、アユの品種間における温度適応力の違いを検出する場合にも十分な指標となることが明らかとなった。したがって、今後、放流事業や養殖現場において、用いられる種苗の温度適応力を評価する指標としても活用できると考えられる。

温度適応力における遺伝的要因 本研究で用いたアユ 3 品種間には、アロザイム遺伝子頻度に関して明らかな遺伝的差異が認められた。したがって、環境要因の影響を最小限に制御した上で検出されたアユの温度適応力の品種差には、遺伝的要因が関与していると推察される。²⁷⁾ 各品種のアロザイム遺伝子頻度には、Hardy-Weinberg 平衡からの逸脱は認められず、いずれも単一のメンデル集団に由来すると判断された。また、各品種の平均ヘテロ接合体率は、海系 0.045、琵琶湖系 0.056、瀬戸川産 0.041 となり、そのレベルは、既報の天然集団のもの^{2,3,24)} とほぼ同等とみなされる水準であった (Table 5)。しかしながら、平均対立遺伝子数では 1.190 (瀬戸川産)~1.381 (海系) および多型の遺伝子座率では 0.150 (瀬戸川産)~0.238 (海系) と、いずれの品種においても既報^{2,3,24)} の天然のものと同程度や低い値を示しており、特に瀬戸川産の遺伝的変異性

Table 5 Estimates of genetic variability in the three races of ayu

Race	Number of alleles per locus	Proportion of polymorphic loci		Observed Heterozygosity	Expected Heterozygosity	
		P1* ¹	P2* ²	Ho	He	Ho/He
Amphidromous	1.381	0.238	0.190	0.040	0.045	0.897
Landlocked	1.286	0.143	0.143	0.060	0.056	1.071
Setogawa	1.190	0.150	0.100	0.049	0.041	1.210

*¹ Polymorphic with major alleles less than 0.995.

*² Polymorphic with major alleles less than 0.950.

は、総じて他の2品種に比べて低い傾向を示した。さらに、本研究における海系—琵琶湖系間のNeiの遺伝的距離は0.0357と、既報^{2,3,24)}よりかなり高い値を示した。これらのことは、本研究に用いた各品種が少ない親魚から作出されたことに起因する、機会的遺伝的浮動の影響を受けている可能性があることを示している。²⁸⁾したがって、本研究の結果を、天然集団に適用するためには、同一品種内の他集団を用いた繰り返し実験により、推定精度を高める必要があると考えられる。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、終始有益なご助言をいただいた、広島大学生物生産学部水産増殖研究室の海野徹也助教授、ならびに実験魚の飼育、管理にご尽力いただいた、高知県内水面漁業センター職員 大坪瞳、田中ひとみ両氏に深謝いたします。本研究は、独立行政法人水産総合研究センター委託事業、先端技術開発研究 水産生物育種の効率化基礎技術開発事業の一環として実施された。

引用文献

- 1) 全国内水面漁業協同組合連合会. 平成13年度アユ種苗河川放流実績. 広報ないすいめん 2002; 27: 54-55.
- 2) 谷口順彦, 関 伸吾, 稲田喜和. 両側回遊型, 陸封型および人工採苗アユ集団の遺伝的保有量と集団間の分化について. 日水誌 1983; 49: 1655-1663.
- 3) 関 伸吾, 谷口順彦, 田 祥麟. 日本および韓国の天然アユ集団間の遺伝的分化. 日水誌 1988; 54: 559-568.
- 4) Iguchi K, Ohkawa T, Nishida M. Genetic structure of land-locked ayu within the Biwa lake system. *Fish. Sci.* 2002; 68: 138-143.
- 5) 関 伸吾, 浅井康弘, 佐藤健人, 谷口順彦. 継代飼育したアユ親魚由来の卵の水温感受性における地理的品種間の差異. 水産増殖 1994; 42: 459-463.
- 6) 辻村明夫, 谷口順彦. 生殖形質に見られた湖産および海産アユ間の遺伝的差異. 日水誌 1995; 61: 165-169.
- 7) 澁谷竜太郎, 関 伸吾, 谷口順彦. 海系アユおよび琵琶湖系アユのなわばり行動の水温別比較. 水産増殖 1995; 43: 415-421.
- 8) 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: 193-197.
- 9) 立原一憲, 木村清明. 池田湖における陸封アユの成熟と

- 産卵. 日水誌 1991; 57: 2187-2192.
- 10) 関 伸吾, 谷口順彦. 天然湖および人工湖の移植陸封アユおよび人工種苗アユの由来について. 水産育種 1988; 13: 39-44.
- 11) Pastene LA, Numachi K, Tsukamoto K. Examination of reproductive success of transplanted stocks in an amphidromous fish, *Plecoglossus altivelis* using mitochondrial DNA and isozyme markers. *J. Fish. Biol.* 1991; 39: 93-100.
- 12) 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.
- 13) 板沢靖男. 温度. 「魚類生理学概論」(田村 保編) 恒星社厚生閣, 東京. 1991; 63-83.
- 14) 水産生物と温排水研究協議会. 水産生物と温排水. 水産研究叢書, 日本水産資源保護協会, 東京. 1973; 31-61.
- 15) Elliott JM. Some aspects of thermal stress on freshwater teleosts. In: Pickering AD (ed) *Stress and fish*. Academic Press, New York. 1981; 209-245.
- 16) Becker CD, Genoway RG. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. *Env. Biol. Fish.* 1979; 4: 245-256.
- 17) Brett JR. Some principles in the thermal requirements of fishes. *Quart. Rev. Biol.* 1956; 31: 75-87.
- 18) 土田修二, 田端重夫, 永井 彰. 宮城県万石浦産ニシン幼魚の温度選好と温度耐性. 東海大学海洋学部紀要 1997; 43: 117-129.
- 19) 土田修二, 瀬戸熊卓見. クロソイ幼魚の温度反応. 日水誌 1997; 63: 317-325.
- 20) Brett JR. Temperature tolerance in young pacific salmon, genus *Oncorhynchus*. *J. Fish. Res. Board Can.* 1952; 9: 265-323.
- 21) Yeh FC, Yang RC, Boyle T. Microsoft window based free-ware for population genetic analysis, *Popgene Ver. 1. 31*. Univ. of Albarta, Edmonton, Canada. 1999.
- 22) 森山貴光, 小松章弘, 佐伯 昭. 人工湖におけるアユ資源増殖試験. 平成4, 5, 6年度高知県内水面漁業センター事報 1996; 143-161, 208-220.
- 23) 谷口順彦. ダム湖におけるアユ陸封化. ダムによる環境変化と地域活性化. 平成4年度河川整備基金助成事業研究成果報告書, 高知大学, 高知. 1993; 30-34.
- 24) 関 伸吾, 谷口順彦. アイソザイムによる魚介類の集団解析. 昭和61-63年度海洋生物集団の識別等に関する先導的評価手法の開発事業報告書, 日本水産資源保護協会, 東京. 1998; 352-370.
- 25) 斎藤洋昭, 岡部正也. 低温耐性種における高度不飽和脂肪酸の蓄積, アユ *Plecoglossus altivelis* 3品種でのDHA蓄積量の相違. 平成12年度日本農芸化学会講演要旨集, 日本農芸化学会, 東京. 2000; 30.
- 26) Tiku PE, Gracy AY, Cossins AR. Cold-inducible gene transcription: Δ^9 -desaturases and the adaptive control of

- membrane lipid composition. In: Ennion SJ, Goldspink G (eds) *Gene expression and manipulation in aquatic organisms*. Cambridge univ. press, New York. 1996; 21-42.
- 27) 谷口順彦, 松本聖治, 小松章博, 山中弘雄. 同一条件で

- 飼育された由来の異なるマダイ 5 系統の質的および量的形質に見られた差異. 日本誌 1995; **61**: 717-726.
- 28) Falconer DS. 小集団. 「量的遺伝学入門」蒼樹書房, 東京. 1993; 77-96.

日本水産学会誌掲載報文要旨

鹿児島湾産アカカマスの年齢、成長および年級群組成

増田育司, 酒匂貴文, 松下 剛, 白石哲朗,
切通淳一郎, 神村祐司, 小澤貴和 (鹿大水)

鹿児島湾産アカカマス 1631 尾の耳石横断薄層切片をもとに、本種の年齢と成長を検討した結果、縁辺成長率の経月変化および優勢ないし劣勢年級群の経年出現状況から、用いた耳石輪紋（不透明帯内縁）は年輪であることが立証された。6月1日を誕生日と仮定して、輪紋数に応じて個体毎に年齢を割り振り、Bertalanffy の成長式を当てはめた結果、雄は $L_t = 304.6\{1 - \exp[-0.433(t + 3.385)]\}$ 、雌は $L_t = 337.5\{1 - \exp[-0.421(t + 2.972)]\}$ で表された。両式は有意に異なり、いずれの年齢においても雌は雄より大きい体サイズを示した。最高年齢は雄で 11 歳、雌で 8 歳であった。

日水誌, 69(5), 709-716 (2003)

同一環境下で継代飼育されたアユ *Plecoglossus altivelis* 3 品種間における温度適応力の差異

岡部正也 (高知内水漁セ), 関 伸吾 (高知大農),
西山 勝 (高知宿毛漁指), 桑原秀俊 (高知水試),
佐伯 昭 (高知内水漁セ), 山岡耕作 (高知大農)

由来の異なるアユ 3 品種 205~220 日齢魚を用い、異なる馴致温度に対する耐性温度を指標として温度適応力を比較した。耐性温度には品種間で明らかな差異が認められ、15~23°C に馴致した場合の臨界最高・最低温度の平均値は、海系 29.7~32.2°C, 2.5~6.0°C, 琵琶湖系 28.7~31.7°C, 2.3~5.3°C, 瀬戸川産人工陸封型 29.7~33.0°C, 1.7~5.0°C および初期致死温度から算出した温度耐忍領域は海系 481°C², 琵琶湖系 415°C², 瀬戸川産人工陸封型 517°C² となった。これら 3 品種は、孵化後同一環境下で飼育してきたことから、アユの温度適応力には品種差が存在することが示唆された。

日水誌, 69(5), 717-725 (2003)

日本産アイナメ科魚類 7 種の mtDNA の PCR-RFLP 分析による種判別

柳本 卓 (北水研)

日本周辺に分布するアイナメ科 7 種 (アイナメ, クジメ, スジアイナメ, ウサギアイナメ, エゾアイナメ, ホッケ, 及びキタノホッケ) の PCR-RFLP 分析による種判別法を検討した。成魚筋肉から DNA を抽出し、PCR 法にてミトコンドリア DNA の 12S rRNA-16Sr RNA コード領域を増幅して塩基配列分析を行った。7 種を判別できる制限酵素を検索し、PCR 産物を制限酵素消化し電気泳動を行った。DdeI, DpnII, MspI の 3 種類の酵素の切断型から得られたハプロタイプの違いから、7 魚種を遺伝子レベルで判別できることが示唆された。

日水誌, 69(5), 726-732 (2003)

実験水槽におけるブルーギルによるモツゴの捕食

片野 修, 中村智幸, 山本祥一郎 (中央水研)

水槽内でブルーギルに捕食されるモツゴの個体数および最大体長を調べた。初期標準体長が 2.5~7.9 cm の生きたモツゴ 15 個体と、標準体長 5.7~14.3 cm のブルーギル 1 個体を水槽に収容し、ブルーギルによるモツゴの捕食を 10 日間調べた。体長 5.7 cm の 1 個体を除くすべてのブルーギルがモツゴを捕食した。ブルーギルに捕食されたモツゴの最大体長および総重量はブルーギルの体長と相関し、1 個体のブルーギルは最大で 1 日あたり 5.8 g (ブルーギルの体重の 5.6%) のモツゴを捕食した。

日水誌, 69(5), 733-737 (2003)

第一卵割阻止処理によるサクラマスの四倍体誘起に伴う発生異常

阪尾寿々, 藤本貴史, 田中 稔 (北大院水),

山羽悦郎 (北大フィールド科セ), 荒井克俊 (北大院水)

染色体操作において第一卵割阻止処理胚の生残率は極端に低いことが知られている。本研究では四倍体誘起個体が死亡する原因を細胞学的に解明することを目的とした。通常受精後 10°C の水温条件下で培養し、第一卵割を阻止する目的で受精後 5 時間から 7 時間に、700 kg/cm², 7 分間の圧力処理を施した。処理胚では、初期卵割期に分裂異常、胞胚期に無核細胞、発眼期に異数体およびモザイク個体の出現が認められた。これらの異常胚出現が四倍体誘起胚の生残率を低下させる原因であると考えられた。

日水誌, 69(5), 728-748 (2003)

琵琶湖アユ沖すくい網漁業の漁船規模に階層性を考慮した場合の漁業管理に関する理論的研究

劉 穎, 桜本和美, 北原 武, 鈴木直樹 (東水大)

琵琶湖のアユ沖すくい網漁業を例とし、漁船規模に関し、馬力数の低い方から順に階層 1, 階層 2 および階層 3 の 3 階層が存在する場合の漁業管理問題を理論的に検討し、純利益を非協力動的ゲーム問題の解として求めた。シミュレーションにより上記解の挙動を調べた結果、①初期資源尾数が低いときは階層 1 の純利益が多く、初期資源尾数の増加に伴いより高い階層の純利益が増加する、②推定された 10 年間の初期資源尾数に対する総純利益は階層 2 が最も多い、③階層 3 の漁業者数が増加するにしたがい、全体の純利益は減少する、等がわかった。

日水誌, 69(5), 749-756 (2003)

人工種苗生産ブリ仔稚魚におけるタウリン含量の変化および天然稚魚との比較

松成宏之, 竹内俊郎 (東水大), 村田裕子 (中央水研),

高橋 誠, 石橋矩久 (日裁協),

中田 久, 荒川敏久 (長崎水試)

異なる餌料系列を用いた種苗生産過程におけるブリ仔稚魚お