

長野県水産試験場研究報告 第21号

(附 令和2年度 長野県水産試験場事業報告)

BULLETIN
OF
NAGANO PREFECTURAL
FISHERIES EXPERIMENTAL STATION
No.21

令和4年3月

長野県水産試験場

March 2022

NAGANO PREFECTURAL
FISHERIES EXPERIMENTAL STATION
NAGANO JAPAN

長野県水産試験場研究報告

第21号

目次

美鈴湖における小型発信器を用いたオオクチバス越冬場所の探査

川之辺素一・下山 諒・丸山瑠太 1

ブラウントラウトとイワナ間の自然交雑の方向性

下山 諒 7

美鈴湖における小型発信器を用いたオオクチバス越冬場所の探査

川之辺素一・下山 諒・丸山瑠太

Search for overwintering sites of largemouth bass using small transmitters in Lake Misuzu

Motokazu Kawanobe, Ryo Shimoyama, Ryuta Maruyama

長野県松本市三才山にある美鈴湖は、標高 1,000m、周囲 2km、最大水深約 13m の灌漑用ため池である (図 1)。私有水面であるため漁業権は設定されておらず、民間企業であるウテナ荘が釣り場を運営し、ヘラブナやワカサギが放流されている。¹⁾ 一方でオオクチバス及びブルーギルも生息していることから、従業員や釣り人の有志が駆除を行うことでワカサギ釣り場を維持している。産卵期である春には小型三枚網でオオクチバス親魚を、夏から秋には釣りやエビ籠でオオクチバス、ブルーギルを駆除している。一方で冬には駆除が行われていないことから、冬にも駆除を行えば、さらなる外来魚の減少が期待できる。

オオクチバスは水温の低下とともに群れを成して越冬することが知られており、²⁾ 越冬場所を探すことで効率的に捕獲できる可能性がある。そこで、小型発信器を用いてオオクチバスの越冬場所の探査を行い、装着魚が確認された場で刺網による捕獲を行ったので報告する。なお、2019 年に行った調査については、その概要を報告したが、³⁾ 2020 年も同様の調査を行ったので合わせて詳細を報告する。

材料と方法

越冬場所の探査 調査は2019年及び2020年に行った。オオクチバスに発信器を取り付けるため湖内全域において刺網による捕獲を行った。2019年は5尾(10月16日に3尾、10月30日に2尾)、2020年は3尾(10月22日)捕獲した。捕獲した個体にFA100で麻酔をかけ、全長、体重を測定した後、小型発信器(株)サーキットデザイン、LT-04-2;電池寿命約3ヶ月間)を装着した(表1、図2)。装着は、釣り糸ナイロン6号を布団針で魚体を貫通させ、左背面の発信機と右背面の大型ヨリモドシを結び付けて固定した。発信器を取り付けた後、ビクの中に入れ湖内に静置し、翌日に魚の状況や発信器の脱落が無いことを確認してから放流した。2019年は湖の東西の2箇所に3尾と2尾に分けて、2020年は湖の東1箇所

に3尾放流した。装着魚にはA~Hまで個体番号を付けた。

装着魚の位置は、指向性アンテナと受信機(八重洲無線株式会社、FT817ND/T)を用いて10月下旬~12月下旬に旬に1回の頻度で探査した。

位置が特定された場合には表層と底層の水温を測定した。また、調査日には湖心にて表層及び底層の水温を測定した。さらに2019年12月に装着魚3尾の定着が確認された入江I(図3)において底層の水温分布を調べた。

刺網による捕獲 2019年12月、2020年6、8、10、12月に湖内7箇所を「入江」と「岸」に区分し、刺網による捕獲を実施した(図3)。「入江」においては、出入口を塞ぐように刺網を仕掛け、「岸」では岸から沖に向かって10m程度張った後、岸と平行に約30m刺網を仕掛けた。なお、岸IIでは岸と並行に栈橋が設置されているため、栈橋沿いに刺網を仕掛けた。刺網設置後、寒冷紗を70×40cmに切り取ったものをカワウのデコイとし、棒の先端に取り付け、水中に入れて激しく上下させ、刺網方向に魚を追い込むようにした。刺網は目合60mm(15×1.8m)、75mm(10×1.8m)、105mm(25×2m)を適宜使用した。

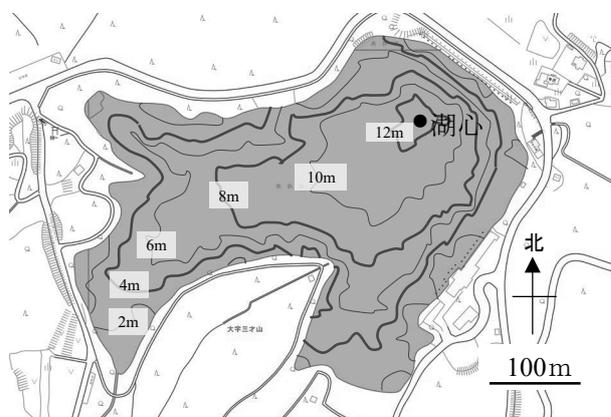


図1 美鈴湖の平面図及び水深分布

表1 オオクチバスへの標識状況

採捕日	全長 (cm)	体重 (g)	個体 番号	周波数 (MHz)	放流 地点
2019年 10/16	23.2	166	A	142.94	東
	25.7	225	B	142.95	
	24.0	183	C	142.96	
2019年 10/30	25.2	211	D	142.97	西
	42.4	1,152	E	142.98	
2020年 10/22	24.0	161	F	142.95	東
	26.1	247	G	142.96	
	29.3	330	H	142.97	

結果

越冬場所の探査 2019年の装着魚の移動状況を図4に示した。A及びCは11月上旬には放流地点周辺にいたが、11月中旬に入江Iに移動し、そのまま定着した。Dは11月上旬に入江IIIに移動し、そのまま定着した。Eは11月上旬に入江IIに移動した後、11月下旬に入江Iに移動し、定着した。定着したA、C、E及びDはそれぞれ探査のたびに数m～数十m移動していたが、それぞれの入江から出ることは無かった。一方、Bは調査期間中、放流地点から全く移動しなかったことから、放流後すぐに発信器が脱落した可能性がある。

2020年の装着魚の移動状況を図4に示した。F、Gは10月下旬に入江Iに、Hは入江IIに移動した。その後F、Hはそれぞれその入江に定着した。一方、Gは11月上旬以降、電波が全く受信できない状態となったことから、カワウ等の野生鳥獣に捕食された可能性がある。

2019年、2020年に装着魚の定着が確認された入江と湖心の底層の水温推移を図5に示した。入江と湖心は11月から12月に向けて水温はどの地点も同じように下がり、他と異なる水温変動が観測される地点は無かった。

2019年に装着魚3尾の定着が確認された入江Iの12月における湖底の水温分布を図6に示した。入江全体の湖底水温は均一であり湖心の湖底水温と比べてもほとんど変わらず、湧水が疑われるような高い温度帯の存在は確認出来なかった。

刺網による捕獲 2019年12月の捕獲結果を表2に示



図2 発信機を装着したオオクチバス

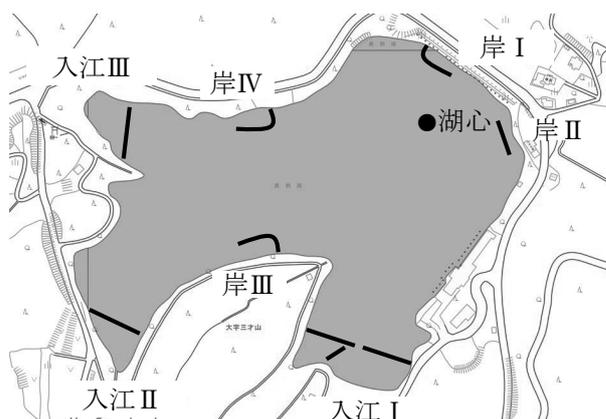


図3 刺網設置場所 (太い線が刺網)

した。A、C、Eが定着した入江Iのみでオオクチバスを2日間で37尾捕獲した。Dが定着した入江III、入江II、岸I～IVにおいては、オオクチバスは捕獲できなかった。なお、装着魚は捕獲できなかった。湖心において刺網を仕掛けることは困難であることから、水中カメラを用いて湖底付近を15分間観察した。その結果、フナ6尾、ワカサギ1尾を確認したが、オオクチバスは確認できなかった。

2020年6～10月の捕獲結果を表3に示した。6月では岸IIで1尾、10月では入江Iで2尾捕獲された。入江Iは通年で蟻集している場所ではないと考えられた。

2020年12月の捕獲結果を表4に示した。入江Iにおいて7日には捕獲されなかったものの、23日にはオオクチバス5尾が捕獲された。うち1尾は装着魚Fであった。

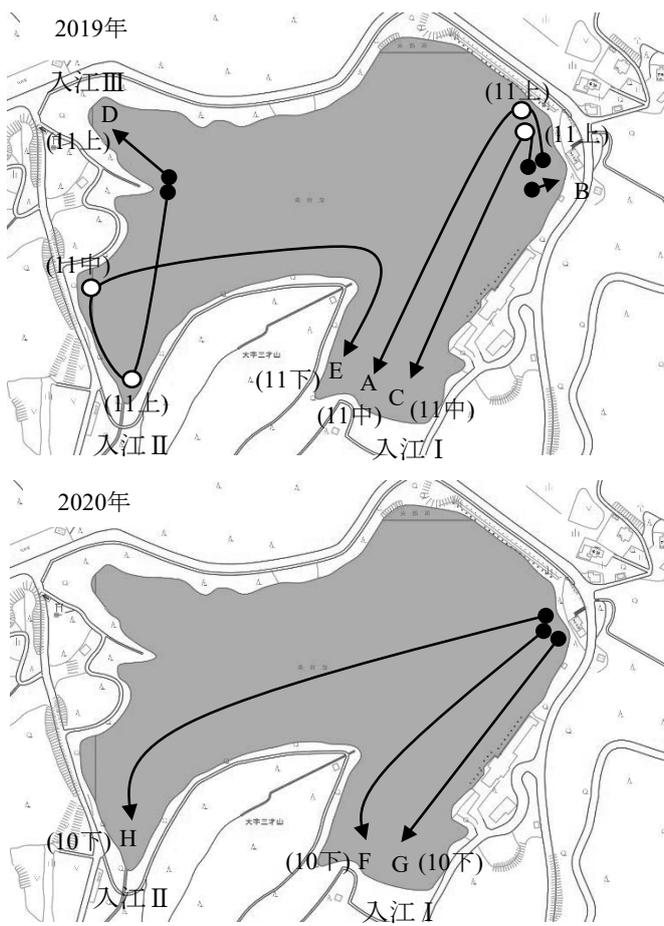


図4 装着魚の移動状況

●は放流地点、○は移動途中、矢印の先は定着地点
 カッコ内の数字は月、上：上旬、中：中旬、下：下旬

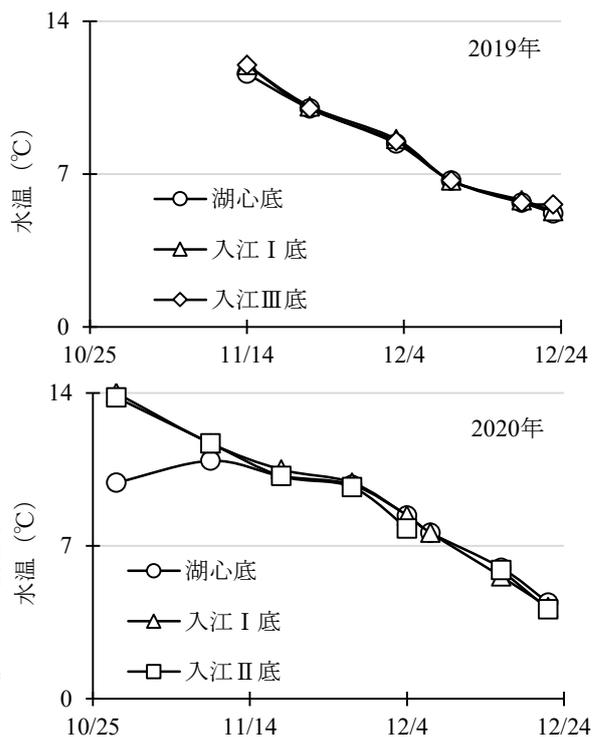


図5 湖心及び装着魚が定着した入江の水温推移

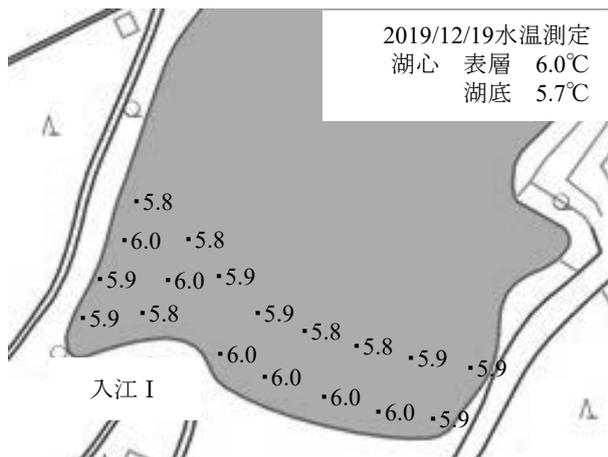


図6 入江Iの湖底水温(°C)分布

表2 刺網によるオオクチバス捕獲結果 (2019年12月)

捕獲地点	水深	捕獲日	使用刺網	捕獲尾数	平均全長 (cm)	最小～最大 (cm)	その他魚種
入江 I	≤4m	12/24	60 mm 6 枚、75 mm 3 枚、 105 mm 1 枚	20	25.1	22.3～33.2	
		12/26	60 mm 6 枚、105 mm 1 枚	17	25.4	23.3～31.4	ブルーギル 2 尾
入江 II	≤3m	12/25	60 mm 2 枚、75 mm 1 枚	0			
入江 III	≤5m	12/25	60 mm 2 枚、75 mm 2 枚	0			
岸 I	≤4m	12/25	60 mm 2 枚、75 mm 1 枚	0			
岸 II	≤3m	12/26	60 mm 1 枚、75 mm 1 枚	0			
岸 III	≤5m	12/25	60 mm 2 枚、75 mm 1 枚	0			
岸 IV	≤4m	12/25	60 mm 2 枚、75 mm 1 枚	0			ニゴイ 1 尾

表3 刺網によるオオクチバス捕獲結果 (2020年6～10月)

捕獲地点	使用刺網	捕獲日					
		6/24、6/26		8/19		10/21、10/22	
		捕獲尾数	全長 (cm)	捕獲尾数	その他魚種	捕獲尾数	全長 (cm)
入江 I	60 mm 6 枚	0		0	フナ 1 尾	2	22.9、24.0
入江 II	60 mm 3 枚	0		0		0	
入江 III	60 mm 3 枚	0		0	コイ 1 尾	0	
岸 I	60 mm 3 枚	0		0		0	
岸 II	60 mm 2 枚	1	21.9	0	ニゴイ 1 尾	0	
岸 III	60 mm 3 枚	0		0		0	
岸 IV	60 mm 3 枚	0		0		0	

表4 刺網によるオオクチバス捕獲結果 (2020年12月)

捕獲地点	使用刺網	捕獲日				
		12/7		12/23		
		捕獲尾数	その他魚種	捕獲尾数	平均全長 (cm)	最小～最大 (cm)
入江 I	60 mm 6 枚、 105 mm 2 枚	0	フナ 2 尾、 コイ 1 尾	5	27.7	23.3～35.2
入江 II	60 mm 3 枚	0		0		
入江 III	60 mm 3 枚	0		0		
岸 I	60 mm 3 枚	0		0		
岸 II	60 mm 2 枚	0		0		
岸 III	60 mm 3 枚	0		0		
岸 IV	60 mm 3 枚	0		0		

考 察

美鈴湖において、10月に発信器を装着したオオクチバスの一部が冬期に入江Ⅰに移動・定着することが、2年続けて確認された。さらに入江Ⅰは、6～10月には刺網で捕獲されずに、12月に刺網で多くのオオクチバスが捕獲されたことから越冬場所として利用されていると考えられる。

諏訪湖では冬期に約10℃の地下水が流れ込む排水路にオオクチバスやブルーギルが集まることが知られている。⁴⁾ また、アメリカにおいても冬期に発電所の温排水に集まることが知られている。⁵⁾ 今回の調査ではオオクチバスが定着した入江Ⅰは、湖心に比べ高い温度水域ではなかった。さらに、入江Ⅰの湖底を広範囲に調べたが、湧水が噴出しているような場所は確認できなかった。

オオクチバスは、冬期に気温の低下とともに障害物の間で群れを成し、生息層も2.5～3m以深と深くなると報告されている。²⁾ 定着、蟄集を確認した入江Ⅰには湖底に沈水植物(種不明)が確認されたが、それ以外の入江や岸にも沈水植物は生えていた。また、最深部である湖心の中カメラにはオオクチバスの姿は確認できなかった。今回の調査では、水温や障害物等に特徴がなく、オオクチバスが越冬するための要因解明は出来なかった。

2020年の入江Ⅰにおける刺網捕獲について12月7日ではオオクチバスが捕れずに12月23日では5尾捕れた。吉澤らはオオクチバスの活動が衰える水温は7℃以下であろうと推察している。⁶⁾ また、Paul *et al.*は、オオクチバスは水温が7℃に上昇したときに活動が活発になることを報告している。⁷⁾ よって、オオクチバスの本格的な越冬のきっかけとなる水温は7℃以下が目安と考えられる。2020年12月7日の入江Ⅰの底の水温は7.6℃で、同年12月23日の水温は4.2℃であった(図5)。よって、12月7日は、装着魚は移動していたものの、まだ十分に越冬のためにオオクチバスが集まっていなかったと考えられた。なお、2019年12月24日の入江Ⅰの水温は5.0℃であった。

2019年12月のオオクチバスの捕獲数は、2日で37尾、2020年12月のそれは5尾と減少している。春から秋にかけて実施している外来魚駆除数は年々減少しており(ウテナ荘従業員私信)、毎年実施している駆除の効果の表れと考えられる。

秋田県の角間川では氷の張ったワンドで越冬するオオクチバスを網漁具で捕獲している。これは対策の実施者がオオクチバスの季節移動を知っており、越冬場所を特定できたことを理由としている。⁸⁾ これまで美鈴湖にお

ける駆除活動の中でオオクチバスの越冬場所が特定されたことは無く、温排水等が流れ込む場所もないため、越冬場所が不明であった。そういった水域においては、小型発信器を用いて、越冬場所を特定することは有効である。さらに、一度、越冬場所が分かれば、翌年以降も越冬場所として利用される可能性が高く、小型発信器による越冬場所の特定は、駆除の効率化に貢献すると考えられる。

要 約

- 1 2019年、2020年の10月から12月にかけて美鈴湖において小型発信器を用いたオオクチバスの越冬場所の探査を行った。
- 2 2019年の装着魚5尾中3尾、2020年の装着魚3尾中2尾は入江Ⅰに移動した。
- 3 2019年12月、2020年12月に入江Ⅰ及びその他の場所で刺網による捕獲を実施した結果、入江Ⅰのみで多くのオオクチバスが捕獲された。一方、2020年6、8、10月に同じ場所で刺網による捕獲を試みたが、入江Ⅰでは10月に2尾捕獲されたのみであった。よって、入江Ⅰは越冬場所として利用されていると考える。
- 4 越冬場所の予測ができない水域においては、小型発信器による越冬場所の特定は、駆除の効率化に貢献する。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、美鈴湖の外来魚の捕獲情報の提供及び船の借用を快諾していただいたウテナ荘の皆様にご感謝申し上げます。

本研究は水産庁委託事業「効果的な外来魚抑制管理技術開発事業」の一部として行われた。事業の運営にあたった関係機関の皆様にご感謝する。

文 献

- 1) 上島 剛, 星河廣樹, 松澤 峻, 山本 聡, 沢本良宏. アンケート調査からみた美鈴湖におけるワカサギ釣りの実態と経済波及効果. 日水試 2018;84:711-719.
- 2) 環境省自然環境局野生生物課. ブラックバス・ブルーギルの生物学的特徴. 「ブラックバス・ブルーギルが在来生物群集及び生態系に与える影響と対策」財団法人自然環境研究センター, 東京. 2004;4.
- 3) 川之辺素一, 山本 聡, 下山 諒, 伏見雄貴. 美鈴湖における発信器を用いたオオクチバス越冬場所

- の探査. 令和元年度長野県水産試験場事業報告, 2021;40.
- 4) 水産庁, 国立研究開発法人水産研究・教育機構, 全国内水面漁業協同組合連合会. だれでもできる外来魚駆除 2. 2018;25.
 - 5) Roy C Heidinger. Life history and biology of the largemouth bass. Black bass biology and management. Sport Fishing Institute Washington, D.C., 1975;14
 - 6) 吉沢和俱, 堀賢平, 茂木実, 高柳芳夫, 小林茂, 手島千里, 信沢邦宏, 佐藤敦彦. 温水性魚食魚(オオクチバス)の資源生態学的研究-I. 昭和54年度群馬県水産試験場報告, 1981;28:62.
 - 7) Paul T Raibley, Kevin S Irons, Timothy M O'Hara, K Douglas Blodgett. Winter habitats used by largemouth bass in the Illinois River, a large river-floodplain ecosystem. North American Journal of Fisheries Management 1997;17:401-412.
 - 8) 外来種影響・対策研究会. 河川における外来種対策の考え方とその事例【改訂版】財団法人リバーフロント整備センター, 東京. 2008;84-85.

ブラントラウトとイワナ間の自然交雑の方向性

下山 諒

Direction of natural hybridization between Brown trout (*Salmo trutta*) and White-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*)

Ryo Shimoyama

ブラントラウト (*Salmo trutta*) は、ヨーロッパ北部から北アフリカに自然分布するサケ科魚類であり、¹⁾ 国際自然保護連合 (IUCN) により「世界の侵略的外来種ワースト 100」²⁾ および日本生態学会により「日本の侵略的外来種ワースト 100」³⁾ に選定されている。本種は、日本各地に定着しており、⁴⁾ 長野県内でも繁殖が確認されている。⁵⁻⁷⁾ ブラントラウトが在来魚に与える影響については、捕食、^{8,9)} 競争、¹⁰⁾ 置換、^{11,12)} 交雑などが知られている。その中でも自然交雑については、国外の事例としてカワマス (*Salvelinus fontinalis*) との間で報告されている。¹³⁾ 日本国内では在来魚であるイワナ (*Salvelinus leucomaenis*) との交雑が報告されている。¹⁴⁻¹⁷⁾ 山梨県のブラントラウト駆除河川ではイワナと交雑した雑種の出現率が高く、在来資源への影響が顕在化している。¹⁷⁾ 外来魚との交雑により在来魚が減少もしくは絶滅した事例が知られており、¹⁸⁾ 交雑による在来資源への影響は無視できない。

交雑は両種にとって繁殖資源の浪費となるが、一方向性の交雑では母種の方が影響を受けやすい。¹⁸⁾ 例えば、在来のシナイモツゴ (*Pseudorasbora pumila*) 個体群に外来のモツゴ (*Pseudorasbora parva*) が移入した事例では、シナイモツゴを母種とする交雑が起きる。¹⁹⁾ モツゴは生産コストの低い精子のみを費やすのに対し、シナイモツゴは生産に多くのエネルギーを要する卵を浪費し、同種間の繁殖成功を極端に低下させる。¹⁹⁾ そのため、交雑した魚種の方向性を調べることは、在来資源への影響を評価する上で重要である。国内に生息するブラントラウトに係る雑種の方向性については、*Kitano et al.*¹⁴⁾ が北海道で採集された雑種の DNA 分析を行い、イワナ雌×ブラントラウト雄という交雑の方向性を明らかにしているのみである。

長野県水産試験場ではイワナ等在来溪流魚の生息河川でブラントラウトの駆除を行っている。その際に体側模様が虫食い状で雑種とみられるサケ科魚類を採捕した。本研究では、雑種とみられる個体を対象に MS-DNA マー

カー法と母系遺伝するミトコンドリア DNA の PCR-RFLP 法を用いて、親魚種と交雑の方向性を確認する。

材料と方法

調査河川と生息魚

調査は、奈良井川水系の ^{みまきわがわ} 三間沢川 と木曾川水系の ^{すなかわ} 末川 で行った。三間沢川は東筑摩郡山形村 (36°10'07.0"N 137°52'36.5"E)、末川は木曾郡木曾町開田高原 (35°56'40.3"N 137°38'33.2"E) を流れる河川である (図 1)。

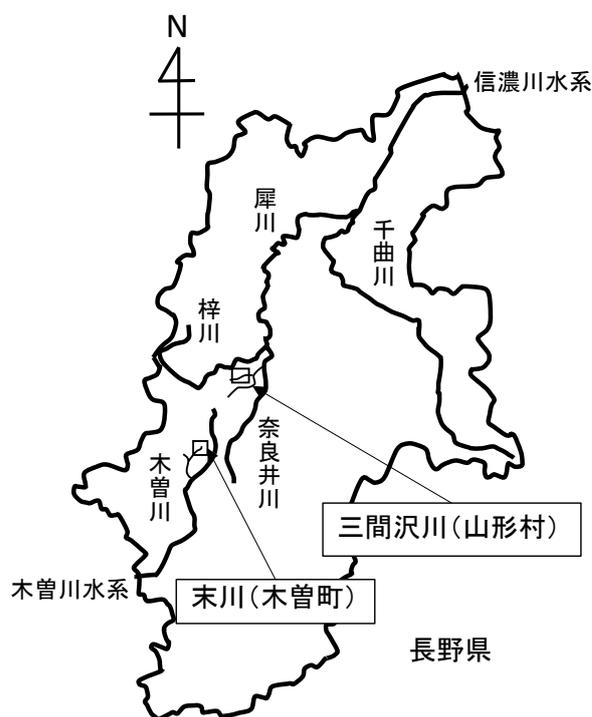


図 1 調査河川の位置

魚類の採捕には電気ショッカー (SMITH-ROOT 社、ELECTRICFISHER MODEL12) を用いた。三間沢川ではブラントラウト、イワナ、フナ類 (*Carassius* sp.)、ウグイ (*Pseudaspius hakonensis*)、アブラハヤ (*Rhynchocypris lagowskii steindachneri*)、モツゴ、ドジョウ類 (*Misgurnus* sp.)、ブルーギル (*Lepomis macrochirus*)、オオクチバス

(*Micropterus salmoides*)、カジカ (*Cottus pollux*) および雑種とみられるサケ科魚類 (図 2、n=8) が採捕された。末川ではブラウントラウト、イワナ、アマゴ (*Oncorhynchus masou ishikawae*)、カジカおよび雑種とみられるサケ科魚類 (図 3、n=3) が採捕された。



図 2 三間沢川で採集された雑種とみられるサケ科魚類



図 3 末川で採集された雑種とみられるサケ科魚類

供試魚

雑種とみられる個体は外部形態から、親種がサケ科魚類であると考え、分析に用いる魚種を設定した。すなわち、両河川で確認されたブラウントラウト、イワナに加え、犀川水系に生息するヤマメ (*Oncorhynchus masou masou*)、カワマス、末川に生息するアマゴの 5 種を分析に用いた。その他、分析の精度を確認するためブラウントラウト雌とカワマス雄を交配させた、いわゆるタイガートラウトも分析に加えた。供試魚の由来、全長、採材年月日を表 1 に示した。イワナとブラウントラウト及び雑種は各河川で採捕された個体を用い、ヤマメは犀川支流での採捕個体、アマゴは長野県水産試験場の飼育個体、カワマスとタイガートラウトは東京海洋大学大泉ステーション (山梨県北杜市) の飼育個体を用いた。サンプルは供試魚の右胸鰭もしくは右腹鰭を 99.5%エタノールで固定し、冷凍保存したものを用いた。

DNA 抽出

各鱗サンプルを 3mm 角に切り出し、PBS (-) 溶液 200 μ L 中にてホモジェネートし懸濁液を作成した。懸濁液 20 μ L を Instagene Matrix (Bio-Rad 社) 200 μ L 中へ分注し、56 $^{\circ}$ C で 30 分、100 $^{\circ}$ C で 8 分の熱抽出を行った。抽出物を 12,000rpm で 10 分間遠心し、上清をテンプレートとして用いた。

表 1 供試魚

魚種	由来	全長(mm)	採材日
雑種 m-1	奈良井川水系三間沢川	85	2018/8/21
雑種 m-2	奈良井川水系三間沢川	88	2018/8/21
雑種 m-3	奈良井川水系三間沢川	121	2018/9/18
雑種 m-4	奈良井川水系三間沢川	118	2018/9/18
雑種 m-5	奈良井川水系三間沢川	122	2018/10/24
雑種 m-6	奈良井川水系三間沢川	142	2018/12/5
雑種 m-7	奈良井川水系三間沢川	139	2018/12/5
雑種 m-8	奈良井川水系三間沢川	123	2018/12/5
雑種 s-1	木曾川水系末川	158	2018/11/21
雑種 s-2	木曾川水系末川	163	2018/11/21
雑種 s-3	木曾川水系末川	84	2018/11/21
イワナ m	奈良井川水系三間沢川	223	2018/10/24
イワナ s	木曾川水系末川	76	2018/11/21
ブラウントラウト m	奈良井川水系三間沢川	595	2018/12/5
ブラウントラウト s	木曾川水系末川	156	2018/11/21
ヤマメ	犀川水系	未計測	2020/3/20
アマゴ	長野県水産試験場飼育個体	未計測	2019/5/13
カワマス	東京海洋大学飼育個体	234	2020/12/20
タイガートラウト※	東京海洋大学飼育個体	299	2020/12/20

※ブラウントラウト雌×カワマス雄

MS-DNA マーカー法

小松ら²⁰⁾の方法を参考にマイクロサテライト領域を対象とした PCR を行い、親種判別を試みた。

1) イワナを確認する MS マーカー

イワナとカワマスを判別可能な Sfo-12 のプライマーを用いて判別を試みた。²¹⁾

PCR 反応液の組成は、1 試料あたり TaKaRa Ex Taq Hot Start Version (タカラバイオ株式会社) 0.1 μ L、10 \times Ex Taq Buffer 2 μ L、dNTP Mixture (各 2.5 mM) 1.6 μ L、Forward Primer (10 μ mol/L) 0.2 μ L、Reverse Primer (10 μ mol/L) 0.2 μ L、Water for Molecular Biology 14.9 μ L、テンプレート 1 μ L で全量 20 μ L とした。反応条件は 95 $^{\circ}$ C 10 分の変性の後、94 $^{\circ}$ C で 40 秒、60 $^{\circ}$ C で 1 分、72 $^{\circ}$ C で 1 分を 40 サイクル行った。PCR 反応後は、2.5%アガロースゲル (タカラバイオ株式会社、Nusieve3:1) による電気泳動 (135V、35~40 分) を行い、エチジウムブロマイドで染色し、トランスイルミネーターで PCR 増幅産物の DNA 断片長を確認した。以下の PCR でも、同条件で電気泳動を行った。

2) ブラウントラウトを確認する MS マーカー

ニジマスとブラウントラウトを判別可能な Str7INRA のプライマーを用いて判別を試みた。²⁰⁾

PCR 反応液の組成は、Sfo-12 と同様とした。反応条件は 95°C5 分の変性の後、95°C で 30 秒、58°C で 1 分、72°C で 1 分を 36 サイクル行い、72°C で 10 分の最終伸長反応を行った。PCR 増幅産物について電気泳動を行い、DNA 断片長を比較した。

PCR-RFLP 法

小松ら²⁰⁾の方法を参考にミトコンドリア DNA の cyt-b 領域 (Forward Primer: L14735、Reverse Primer: H15149ad) の PCR 反応後、制限酵素処理を行い、母種の判別を試みた。

PCR 反応液の組成は、1 試料あたり TaKaRa Ex Taq Hot Start Version (タカラバイオ株式会社) 0.2μL、×10 Extaq Buffer 4μL、dNTPs Mixture (各 2.5 mM) 3.2μL、Forward Primer (10μmol/L) 0.4μL、Reverse Primer (10μmol/L) 0.4μL、Water for Molecular Biology 10.8μL、テンプレート 1μL で全量 20μL とした。反応条件は 94°C5 分の変性の後、94°C で 40 秒、50°C で 80 秒、72°C で 80 秒を 40 サイクル行い、72°C で 7 分の最終伸長反応を行った。本条件での PCR 増幅産物を電気泳動で DNA 断片を確認し、バンドが薄いときは PCR 増幅産物を同条件で再度 PCR 反応させた。

制限酵素処理には、雌親種がイワナもしくはブラウントラウトの場合に判別可能な Hinf I (タカラバイオ株式会社)を用いた。²²⁾PCR 増幅産物 2μL、×10 H Buffer 2μL、制限酵素 Hinf I (10 U/μL) 1μL、Water for Molecular Biology 15μL で全量 20μL とした。反応条件は 37°C で 2 時間消化し、75°C30 分で失活させた。消化処理後電気泳動を行い、3%アガロースゲル(株式会社ニッポンジーン、Agarose HS)にて DNA 断片長を比較した。

結 果

MS-DNA マーカー法

Sfo-12 の PCR による DNA 断片の電気泳動結果を表 2 および図 4 に示した。イワナ、雑種とみられる個体 (m-1~m-8、s-1~s-3) は 210bp 付近に、カワマス、タイガートラウトは 280bp 付近に、ヤマメ、アマゴは 180bp 付近にそれぞれバンドが確認された。ブラウントラウトについてはバンドが確認されなかった。雑種みられる個体は、イワナと同長のバンドが確認された。

Str7INRA の PCR による DNA 断片の電気泳動結果を

表 3 および図 4 に示した。ブラウントラウト、雑種とみられる個体 (m-1~m-8、s-1~s-3)、タイガートラウトは 345bp 付近に、イワナは 240bp 付近、カワマスは 300bp 付近にバンドが確認された。ヤマメ、アマゴにはバンドが確認されなかった。雑種とみられる個体はブラウントラウトおよびタイガートラウトと同長のバンドが確認された。

PCR-RFLP 法

PCR による増幅産物を制限酵素 Hinf I で消化処理した DNA 断片の電気泳動結果を表 4 および図 5 に示した。ブラウントラウト、雑種とみられる個体 (m-1~m-8)、タイガートラウトは 180bp、90bp、80bp、50bp 付近、イワナおよび雑種とみられる個体 (s-1~s-3) は 340bp、140bp 付近に、ヤマメ、アマゴ、カワマスは 290bp、180bp 付近にバンドが確認された。そのため、三間沢川で採集された雑種とみられる個体の母種はブラウントラウト、末川で採集された雑種とみられる個体の母種はイワナであると判断した。

表 2 Sfo-12 の結果

No.	魚種	断片長(bp)	判定
1	雑種 m-1	210	イワナ
2	雑種 m-2	210	イワナ
3	雑種 m-3	210	イワナ
4	雑種 m-4	210	イワナ
5	雑種 m-5	210	イワナ
6	雑種 m-6	210	イワナ
7	雑種 m-7	210	イワナ
8	雑種 m-8	210	イワナ
9	雑種 s-1	210	イワナ
10	雑種 s-2	210	イワナ
11	雑種 s-3	210	イワナ
12	イワナ m	210	イワナ
13	イワナ s	210	イワナ
14	ブラウントラウト m		
15	ブラウントラウト s		
16	ヤマメ	180	
17	アマゴ	180	
18	カワマス	280	
19	タイガートラウト※	280	

※ブラウントラウト雌×カワマス雄

表3 Str7INRAの結果

No.	魚種	断片長(bp)	判定
1	雑種 m-1	345	ブラウントラウト
2	雑種 m-2	345	ブラウントラウト
3	雑種 m-3	345	ブラウントラウト
4	雑種 m-4	345	ブラウントラウト
5	雑種 m-5	345	ブラウントラウト
6	雑種 m-6	345	ブラウントラウト
7	雑種 m-7	345	ブラウントラウト
8	雑種 m-8	345	ブラウントラウト
9	雑種 s-1	345	ブラウントラウト
10	雑種 s-2	345	ブラウントラウト
11	雑種 s-3	345	ブラウントラウト
12	イワナ m	240	
13	イワナ s	240	
14	ブラウントラウト m	345	ブラウントラウト
15	ブラウントラウト s	345	ブラウントラウト
16	ヤマメ		
17	アマゴ		
18	カワマス	300	
19	タイガートラウト※	345	ブラウントラウト

※ブラウントラウト雌×カワマス雄

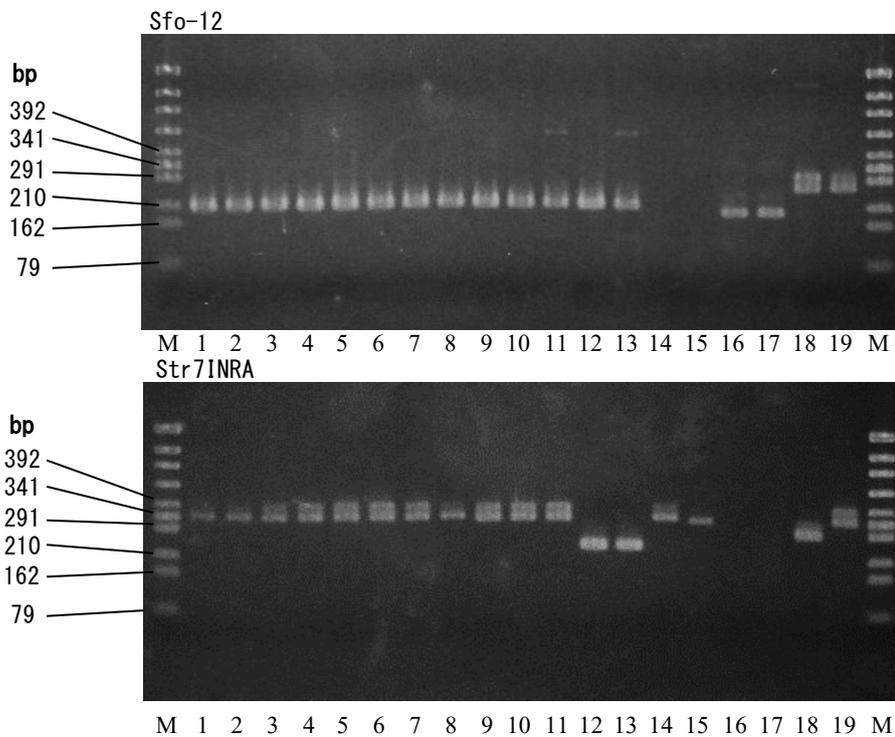


図4 MS-DNA マーカー法の電気泳動像(上図:Sfo-12、下図:Str7INRA)

1 : m-1、2 : m-2、3 : m-3、4 : m-4、5 : m-5、6 : m-6、7 : m-7、8 : m-8、9 : s-1、10 : s-2、11 : s-3、
12 : イワナ m (三間沢川)、13 : イワナ s (末川)、14 : ブラウントラウト m (三間沢川)、15 : ブラウントラウト s (末川)
16 : ヤマメ、17 : アマゴ、18 : カワマス、19 : タイガートラウト、M : ϕ x174 HincII Digest

表4 PCR-RFLPの結果

No.	魚種	断片長(bp)			判定
		180	90	80	
1	雑種 m-1	180	90	80	ブラウントラウト
2	雑種 m-2	180	90	80	ブラウントラウト
3	雑種 m-3	180	90	80	ブラウントラウト
4	雑種 m-4	180	90	80	ブラウントラウト
5	雑種 m-5	180	90	80	ブラウントラウト
6	雑種 m-6	180	90	80	ブラウントラウト
7	雑種 m-7	180	90	80	ブラウントラウト
8	雑種 m-8	180	90	80	ブラウントラウト
9	雑種 s-1	340	140		イワナ
10	雑種 s-2	340	140		イワナ
11	雑種 s-3	340	140		イワナ
12	イワナ m	340	140		イワナ
13	イワナ s	340	140		イワナ
14	ブラウントラウト m	180	90	80	ブラウントラウト
15	ブラウントラウト s	180	90	80	ブラウントラウト
16	ヤマメ	290	180		
17	アマゴ	290	180		
18	カワマス	290	180		
19	タイガートラウト※	180	90	80	ブラウントラウト

※ブラウントラウト雌×カワマス雄

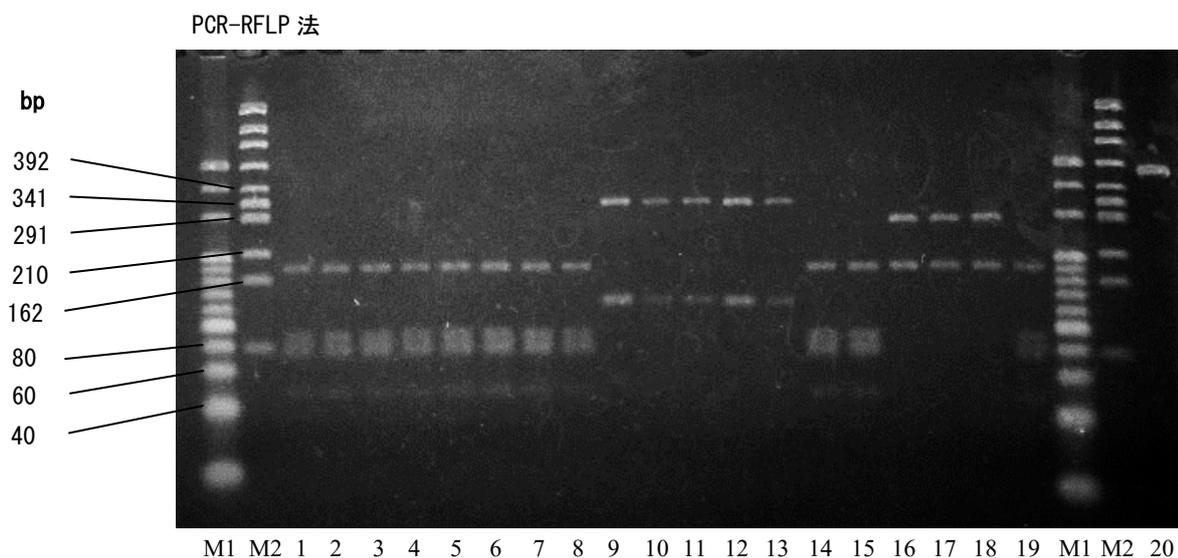


図5 PCR-RFLP法の電気泳動像

1 : m-1、2 : m-2、3 : m-3、4 : m-4、5 : m-5、6 : m-6、7 : m-7、8 : m-8、9 : s-1、10 : s-2、11 : s-3、
12 : イワナ m (三間沢川)、13 : イワナ s (末川)、14 : ブラウントラウト m (三間沢川)、
15 : ブラウントラウト s (末川)、16 : ヤマメ、17 : アマゴ、18 : カワマス、19 : タイガートラウト、
20 : 未消化物、M1 : 20bp DNA Ladder、M2 : ϕ x174 HincII Digest

考 察

MS-DNA マーカー法による判別から、三間沢川および末川の雑種とみられる個体は、いずれもイワナとブラウントラウト両魚種の遺伝子を有する雑種である。さらに、ミトコンドリア DNA の PCR-RFLP 法により、三間沢川の雑種はブラウントラウトが、末川の雑種はイワナがそれぞれ母種である。

本報の解析手法では、戻し交雑を含む F2 以降の検出はできない。交配実験からブラウントラウト雌×イワナ雄の F1 雑種は妊性を持たないことが示されている。²³⁾ F1 雑種が妊性を持たない場合、遺伝子浸透は起こらないため、三間沢川で採捕された雑種はブラウントラウト雌×イワナ雄という方向性の F1 雑種と考える。また、イワナ雌×ブラウントラウト雄の F1 雑種の妊性は明らかでないが、Kitano *et al.*¹⁴⁾ はイワナとブラウントラウトの人為交配時の生残率の低さから²⁴⁾、イワナを母種とする雑種について F1 雑種の可能性が高いと考察している。今回は、Kitano *et al.*と同様に末川で採捕された雑種をイワナ雌×ブラウントラウト雄の F1 雑種であるとして以下議論する。

末川で確認されたイワナ雌×ブラウントラウト雄という方向性は北海道の苫小牧川や千歳川、十勝川で採集された雑種¹⁴⁾と同じであったのに対し、三間沢川で確認されたブラウントラウト雌×イワナ雄という方向性は、本研究が本邦では初報告である。国外ではブラウントラウトとイワナ属であるカワマスが交雑した事例が知られているが、¹³⁾ それらの交雑の方向性に係る知見を見つけないことができなかった。

母種が在来魚であった場合、繁殖資源の浪費が懸念される。今回の場合、末川の方が三間沢川よりも在来資源への影響が大きいと考える。

Kitano *et al.*¹⁴⁾ はイワナを母種とする一方向性の交雑が起きた要因として、イワナの方がブラウントラウトよりも早期に成熟すること、一般にサケ科魚類の雄は雌よりも早く成熟することから、イワナ雌とブラウントラウト雄の繁殖期が一部重複した可能性があるかと考察している。一方、下田ら²⁵⁾ は、北海道の 10 河川でブラウントラウトとイワナの繁殖時期を調査したところ、雌雄や河川により成熟の開始時期が異なると報告している。例えば、濁川のブラウントラウトは 11 月下旬～2 月下旬が繁殖時期だと推察され、イワナは 10 月下旬に成熟雄と産卵後の雌が確認された。濁川においては繁殖時期が重複しないとしている。それに対し、紋別川や頃内川のブラウントラウトは、10 月下旬から雄の成熟が始まり、雌の

産卵は 11 月下旬以降に始まるとしている。イワナは雌雄ともに 10 月下旬から成熟が確認されており、ブラウントラウト雄の繁殖時期と重複していた。実際に頃内川ではイワナとブラウントラウトの雑種とみられる個体が採捕されている。¹⁵⁾ また、斎藤ら²⁶⁾ が行った北海道の幌内川の調査では、イワナとブラウントラウトの繁殖時期が大幅に重複し、1 例であるがブラウントラウト雌とイワナ雄による産卵行動を観察している。北海道以外では、栃木県の中禅寺湖流入河川でブラウントラウトとイワナの産卵ピークが同時期に観察されている。²⁷⁾

つまり、本邦では河川により両種の繁殖時期が異なるパターン①、イワナ雌とブラウントラウト雄の繁殖時期が重複するパターン②、両種の繁殖時期が重複するパターン③が存在する。Kitano *et al.*¹⁴⁾ は繁殖時期が一部重複するパターン②であったため、一方向性の交雑が起きたと推察される。今回、末川と三間沢川では繁殖時期と水温変化について調査できておらず、①～③のどのパターンに該当するかは明らかでない。両種の繁殖時期は河川により異なることから、交雑による影響は河川ごとに検討する必要があると考える。

今後、2 河川での両種の繁殖時期と水温との関係、資源動向の調査を行うことで、方向性の違いが生じた原因の解明や在来資源への影響を検討することが望まれる。

要 約

1. ブラウントラウトが生息する 2 河川で採集された雑種とみられる個体について、MS-DNA マーカーによる親種判別、ミトコンドリア DNA の PCR-RFLP 法による母種の判別を試みた。
2. MS-DNA マーカー分析の結果、イワナとブラウントラウトを親種とする雑種であった。
3. PCR-RFLP 法の結果、ブラウントラウトを母種とするパターンとイワナを母種とするパターンの 2 つが存在し、水系により母種が異なることがわかった。ブラウントラウトを母種とする雑種は本研究が初報告である。

謝 辞

本研究を行うにあたり、東京海洋大学大泉ステーションからは実験魚を提供いただいた。長野県環境保全研究所北野聡博士からは文献を提供いただいた。調査を実施するにあたり奈良井川漁業協同組合および木曾川漁業協同組合には理解と協力を賜った。深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 藤田朝彦, 武内啓明, 川瀬成吾. ブラウントラウト.
「山溪ハンディ図鑑 15 増補改訂版 日本の淡水魚」
(細谷和海編) 山と溪谷社, 東京. 2019; 276-277.
- 2) ISSG:Global invasive species database,
<http://www.iucngisd.org/gisd/speciesname/Salmo+trutta>
(2021年7月26日閲覧)
- 3) 村上興正, 鷲谷いずみ. 世界の侵略的外来種ワースト100. 「外来種ハンドブック」日本生態学会編 地人書館, 東京. 2002; 362-363.
- 4) Hasegawa K. Invasions of rainbow trout and brown trout in Japan. A comparison of invasiveness and impact on native species. Ecology of FRESHWATER FISH 2020; 29: 419-428.
- 5) 北野聡, 逸見泰明, 柳生将之, 美馬純一. 松本市梓川幹線水路で増加するブラウントラウト *Salmo trutta*. 長野県環境保全研究所研究報告 2013; 9: 67-70.
- 6) 河野成美, 松澤峻. 犀川水系におけるブラウントラウトの生息状況調査. 平成28年度長野県水産試験場事業報告 2018; 11.
- 7) 河野成美, 松澤峻, 沢本良宏. 犀川水系におけるブラウントラウトの生息状況調査-II. 平成29年度長野県水産試験場事業報告 2019; 16.
- 8) 三沢勝也, 菊池基弘, 野澤博幸, 梶山雅秀. 外来種ニジマスとブラウントラウトが支笏湖水系の生態系と在来種に及ぼす影響. 国立環境研究所研報 2001; 167: 125-132.
- 9) 長谷川功, アダムスロバート, 前川光司. 北海道で確認された外来種ブラウントラウトによるヤツメウナギ類の捕食. 水産増殖 2007; 55: 651-652.
- 10) 長谷川功. サケ科魚類のプロファイル-8 ブラウントラウト. SALMON 情報 No.4 2010; 27-29.
- 11) 鷹見達也, 吉原拓志, 宮腰靖之, 桑原連. 北海道千歳川支流におけるアメマスから移入種ブラウントラウトへの置き換わり. 日本水産学会誌 2002; 68: 24-28.
- 12) 長谷川功, 前川光司. 北海道千歳川支流紋別川で起きた在来種アメマス単独生息域への外来種ブラウントラウトの侵入. 日本水産学会誌 2008; 74: 432-434.
- 13) Westley, P.A.H., Ings, D.W. & Fleming, I.A. A review and annotated bibliography of the impacts of invasive brown trout (*Salmo trutta*) on native salmonids, with an emphasis on Newfoundland waters. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2924 2011; 1-81.
- 14) Kitano S, Hasegawa K, Maekawa K. Evidence for interspecific hybridization between native white-spotted charr *Salvelinus leucomaenis* and non-native brown trout *Salmo trutta* on Hokkaido Island, Japan. Journal of FISH BIOLOGY 2009; 74: 467-473.
- 15) 下田和孝. 北海道における外来魚問題(外来サケ科魚類). 日本水産学会誌 2012; 78: 754-757.
- 16) 杉山秀樹. タイガートラウト出現!?. 「淡水魚あきた読本」 無明出版, 秋田. 1997; 118-125.
- 17) 谷沢弘将, 大浜秀規, 小澤諒, 坪井潤一, 長谷川功. 富士川水系金川におけるブラウントラウト駆除の効果. 山梨県水産技術センター事業報告 2016; 43: 8-16.
- 18) 河村功一, 片山雅人, 三宅琢也, 大前吉広, 原田泰志, 加納義彦, 井口恵一朗. 近縁外来種との交雑による在来種絶滅のメカニズム. 日本生態学会誌 2009; 59: 131-143.
- 19) 小西繭, 高田啓介. シナイモツゴからモツゴへ交雑をとおした種の置き換わり. 「希少淡水魚の現在と未来-積極的保全のシナリオ-」(片野修・森誠一編) 信山社, 東京. 2005; 99-110.
- 20) 小松典彦, 上島剛, 降幡充, 尾崎照遵. PCR-RFLP法およびマイクロサテライトDNAマーカーを用いた信州サーモンの簡易魚種判別. 長野県水産試験場研究報告 2014; 15: 21-25.
- 21) 沢本良宏, 傳田郁夫, 小原昌和, 細江昭, 河野成美, 降幡充. ニジマス四倍体との交雑による異質三倍体の作出. 長野県水産試験場研究報告 2005; 7: 1-9.
- 22) 下山諒. PCR-RFLP法を用いたサケ科魚類雑種の母種判別方法. 令和3年度長野県水産試験場事業報告 2022; 30.
- 23) Suzuki R, Fukuda Y. Sexual maturity of F1 hybrids among salmonid fishes. Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory 1973; 23: 57-74.
- 24) Suzuki R, Fukuda Y. Survival potential of F1 hybrids among salmonid fishes. Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory 1971; 21: 69-83.
- 25) 下田和孝, 青山智哉, 坂本博幸, 大久保進一, 畑山誠, 竹内勝巳. 北海道の10河川におけるブラウントラウトの成長と性成熟. 北海道水産試験場研究報告 2017; 92: 65-77.

- 26) 斎藤寿彦. 幌内川におけるサケの自然繁殖: 他のサケ科魚類との産卵床形成の空間的隔離. さけ・ます資源管理センター研究報告 2000; 3: 15-24.
- 27) 若林輝, 中村智幸, 久保田仁志, 丸山隆. 中禅寺湖流入河川におけるサケ科魚類3種の産卵生態. 魚類学雑誌 2002; 49(2): 133-141.