

北海道東部沿岸域に産卵するニシン*Clupea pallasii*の系群 判別

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
巻/号	654
掲載ページ	p. 655-660
発行年月	1999年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



北海道東部沿岸域に産卵するニシン *Clupea pallasii* の系群判別

堀田卓朗, 松石 隆, 坂野博之, 菅野泰次

(1998年6月22日受付)

Population Structure of Pacific Herring *Clupea pallasii* in the Eastern Hokkaido Waters

Takuro Hotta,*¹ Takashi Matsuishi,*²
Hiroyuki Sakano,*² and Yasuji Kanno*²

In order to clarify population structure of local herring in eastern Hokkaido, and to design an effective release program of seed fish artificially cultivated in aquariums, five samples of Pacific herring, *Clupea pallasii*, were caught from four spawning grounds. Six meristic characters were counted and statistically analyzed. Furthermore, allele frequencies of two enzymatic loci, *GPI* and *PGM*, were examined by using a starch gel electrophoresis. The sample from Yudo Lake had significantly fewer numbers in the upper and the lower gill rakers than in the others. A cluster analysis using the six meristic measurements on five samples showed that there are two local populations in the eastern Hokkaido, i.e. Yudo population and others, the former was a morphologically specific population different from the latter. In addition, Nei's genetic distances using allozyme data of the two loci also suggested that the Yudo sample is the farthest distances from all other samples. It is suggested that the singular characteristics of the Yudo population were connected with a later spawning time in this ground than in others.

キーワード：ニシン, 系群判別, アイソザイム, 計数形質, 種苗放流

北海道東部海域を含む北西太平洋に分布する太平洋ニシン *Clupea pallasii* は、産卵場を異にする複数の系群からなる。菅野¹⁾によれば、日本近海のニシンは汽水性の湖沼に産卵し大きな回遊を行わない湖沼型ニシンと、比較的塩分の高い沿岸水に産卵する海洋型ニシンが区別されるといわれる。海洋型ニシンの1種である北海道・サハリン系群は今世紀前期に80万トンを越える莫大な量の漁獲をあげたが、1950年代に激減し1960年以降は北海道全体で最大でも年7万トンの漁獲しかない。一方、湖沼型ニシンとしては厚岸湖、湧洞沼および風蓮湖などに産卵する個体群があり、中でも1960年代に2万トンに近い漁獲をあげ注目された厚岸湖および厚岸湾に産卵するニシンは、1971年以降ほとんど漁獲されていない。

このような北海道近海のニシン資源の劇的な減少により、近年、ニシンの種苗放流が積極的に進められるようになった。種苗の生産は1974年に北海道立栽培漁業総

合センターにおいて、ふ化から55日間飼育することに成功したことに始まり、その後日本栽培漁業協会厚岸事業場および宮古事業場において本格的な種苗生産が行なわれている。放流は1982年から行なわれ、1995年には北海道全域で93.6万尾、青森県で27.8万尾、岩手県で51.0万尾、宮城県で68.1万尾そして茨城県で3.1万尾が放流されている。²⁾

このような種苗放流事業に関連して、近年天然個体の遺伝的構造への影響が懸念されており、³⁾対象種が放流水域においていかなる遺伝的構造を示すかが緊急の課題として問われるようになった。これを知ることによって、天然の系群構造を破壊せずに、環境適応種としての特性を保持した種苗を放流することを可能にするためである。本研究はこのような問題を明らかにすることを目的として、現在、放流の対象地域となっている道東沿岸海域における、ニシンの系群構造について研究を行った。

*1 社団法人 日本栽培漁業協会 厚岸事業場 (Akkeshi Station of Japan Sea-Farming Association, Akkeshi, Hokkaido 088-1108, Japan).

*2 北海道大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Minato, Hakodate, Hokkaido 041-8611, Japan).

材料と方法

標本 研究に用いた標本は北海道東部沿岸域の3つの湖沼(風蓮湖, 厚岸湖, 湧洞沼), および1つの湾(野付湾)(Fig. 1)で定置網および刺網で漁獲された5標本である(Table 1)。標本個体数は原則として100個体からなるが, 形質により欠測値がある場合には形質のデータ数はこれよりも少なくなっている。用いた標本は産卵場に産卵のために回遊した2歳と3歳を中心とした成魚群である。なお, 明らかに同一系群である標本間における遺伝的・形態的形質の差の程度を調べるために, 厚岸湖では採集日が11日間異なる2標本を用いた。分析に供した標本個体は実験直前まで -10°C 以下の冷凍庫で凍結保存した。

外部形態の測定 測定した形態学的形質は, 脊椎骨数(VN), 背鰭軟条数(DFR), 胸鰭軟条数(PFR), 臀鰭軟条数(AFR), 左体側第1鰓弓の上枝鰓耙数(UGR)および下枝鰓耙数(LGR)の体節の6形質である。脊椎骨数については腹椎骨, 尾椎骨を区別せず, 尾部棒状骨を含む全部の脊椎骨数を, 各鰭軟条数は基底部で明確に分離しているものを, 鰓耙数は剣状あるいは葉状の鰓

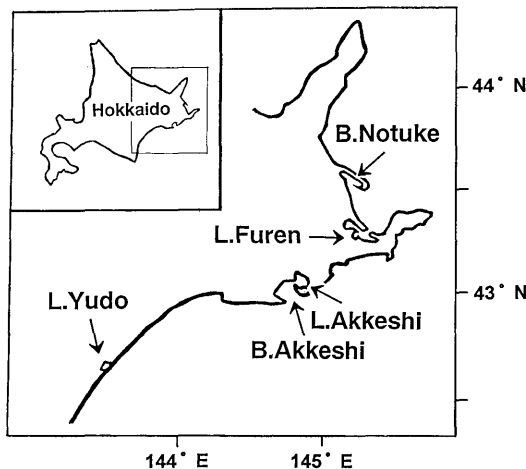


Fig. 1. Sampling area of herring in the eastern Hokkaido.

耙を形成しているものだけを計数した。雌雄の識別は目視によったが, 不明瞭なものは検鏡して性の判定を行った。また, 年齢は鱗の隆起線の粗密のパターンから年輪を識別し, これを数えることにより年齢を決定した。測定したデータは, 標本間の形質変異を検討するために分散分析をし, さらに, 標本間の形態距離としてマハラノビスの汎距離を求め, その距離を用いて Sokal and Sneath⁴⁾のUPGMA(平均連結クラスター分析)により樹形図を作成した。

アイソザイム分析 小林,⁵⁾ Grant and Utter⁶⁾および Grant and Zhang⁷⁾の研究において多型的であった GPI(グルコースリン酸イソメラーゼ), PGM(ホスフォグルコムターゼ)の2酵素2遺伝子座を用いた。筋肉の解凍時に得られるドリップ液を用いて小林⁵⁾に準拠したデンブengel電気泳動を行ってザイモグラムを得た。対立遺伝子頻度はザイモグラムから直接求め, 1つの対立遺伝子頻度が95%以下である時, 多型遺伝子座であると判断した。さらに標本間の遺伝的距離として Nei⁸⁾の遺伝距離を計算し, 前述のUPGMAにより樹形図を描いた。

結果

形態学的形質 標本間の形態変異を解析するのに先立ち, 標本内の雌雄群間の差を t 検定, 年齢群間の差を分散分析によって検討した。その結果, 雌雄, 年齢ともに5%レベルで有意差が見られなかったため, 雌雄および年齢をまとめて以下の解析を進めることとした。

解析した6形質の組成を Table 2 に示す。まず脊椎骨数の変異は50から56まで見られ, モードは全ての標本で54にあった。平均値は54.0(厚岸A)から54.2(風蓮湖)の間にあり, 全標本間の差異は極めて小さかった。標本平均値の均一性の検定結果, 全標本間の平均値に有意差は認められなかった(ANOVA, $P > 0.05$, Table 3)。

背鰭軟条数では変異の両端が16と19にあり, モードは厚岸Aが17, その他の5標本は18であった(Table 2)。平均値は17.4(厚岸A)から18.2(野付湾)の間にあった。標本平均値の均一性の検定結果有意差が

Table 1. Samples of Pacific herring examined in the study

Sample	Date	Number of fish	Fork-length	Age	Maturity
Notuke	Mar. 30. 1993	100	207-282	2-4	mature
Furen	Mar. 29. 1993	100	193-264	2-4	mature
Akkeshi-A	Mar. 23. 1993	103	209-263	2-4	mature
Akkeshi-B	Apr. 4. 1993	107	198-245	2-4	mature
Yudo	May 15. 1993	100	181-255	2-4	mature

認められた ($P < 0.001$)。Scheffe⁹⁾の方法により有意水準 5% で事後検定を行ったところ、厚岸 A と B の間をはじめ 5 組の標本間で有意差が検出された (Table 4)。

胸鰭軟条数は 14 と 19 の間にあり、モードは全ての標本が 16 であった。平均値は 15.6 (風蓮湖) から 16.1 (厚岸 B) にあった。標本平均値の均一性の検定結果有意差が認められた ($P < 0.01$)。Scheffe⁹⁾の方法により有意水準 5% で事後検定を行ったところ、厚岸 B と野付湾、風蓮湖の標本間で有意差が検出された。

臀鰭軟条数は 14 と 19 の間にあり、モードは風蓮湖、湧洞沼が 16、その他の 3 標本は 17 であった。平均値は 16.3 (風蓮湖) から 17.1 (厚岸 B) であった。標本平均値の均一性の検定結果、有意差が認められた ($P < 0.001$)。Scheffe⁹⁾の方法により有意水準 5% で事後検定を行ったところ、厚岸 A と B 間を含め、6 組の標本間に有意差が検出された。

上枝鰓耙数は 16 と 24 の間にあり、モードは湧洞沼が 19、その他の 4 標本は 21 であった。湧洞沼の標本が他より低いことが注目される。平均値は 19.3 (湧洞

沼) から 21.1 (風蓮湖) であった。標本平均値の均一性の検定結果、有意差が認められた ($P < 0.001$)。Scheffe⁹⁾の方法により有意水準 5% で事後検定を行ったところ、厚岸 A と風蓮湖および湧洞沼と他の 4 標本間の 5 標本間で有意差が検出された。

下枝鰓耙数は 41 から 50 の範囲にあり、変異幅が大きかった。モードは湧洞沼が 44、野付湾、厚岸 B が 45、風蓮湖、厚岸 A が 46 と標本ごとに大きな違いがあった。平均値の最小値は 43.8 (湧洞沼)、最大値は 46.4 (風蓮湖) で最大値と最小値の差は 2.6 である。標本平均値の均一性の検定結果、有意差が認められた ($P < 0.001$)。Scheffe⁹⁾の方法により有意水準 5% で事後検定を行ったところ、風蓮湖と厚岸 A、野付湾および湧洞沼と他の 4 標本間の 7 標本間で有意差が検出された (Table 4)。

以上の検討の結果、標本間に形態学的な差異があることは明らかであった。また、同じ系群に属すると考えられる厚岸 A と厚岸 B 間にも有意差が認められた。そのため、産卵場の異なる各標本間の差違が厚岸 A と厚岸 B 間の差違に対してどの程度の大きさなのかを調べるために、マハラノビスの汎距離を計算した。この際、標本間に有意差を認めることができなかった脊椎骨数も含めて計算した。これは仮説検定には扱えられないにしても、標本間の差異がこの形質にも含まれるであろうと想定したからである。

解析の結果を Table 5 に示す。厚岸 A, B 間はマハラノビスの汎距離が 1.1 であった。野付湾、風蓮湖、厚岸間の距離は 1.0~2.0 であるのに対し、湧洞沼と他標本間の距離は 4 以上であった。重複率も湧洞沼と他の標本間の値が 30% 以下と小さかった。マハラノビスの汎距離を用いて描かれた樹形図 (Fig. 2) は、野付湾、風蓮湖、厚岸 A、厚岸 B の 4 標本は互いに近い関係にあり、それとは大きく離れた標本として湧洞沼が位置する結果となった。

アイソザイム形質 分析した遺伝子座は GPI と PGM を産生する 2 遺伝子座である。

まず、GPI 遺伝子座に関しては 5 つの対立遺伝子が検出された (Table 6)。対立遺伝子に関し全ての標本で

Table 2. Frequency distribution of six meristic characters

Sample	Vertebrae						Dorsal fin rays					
	50	51	52	53	54	55	56	16	17	18	19	
Notuke	0	0	0	11	47	22	1	0	8	66	23	
Furen	0	1	0	11	46	31	2	1	38	55	5	
Akkeshi-A	0	0	0	19	57	19	2	4	58	42	3	
Akkeshi-B	0	0	1	12	56	21	4	0	25	63	14	
Yudo	1	0	1	9	58	22	0	1	32	52	15	

Sample	Pectoral fin rays						Anal fin rays					
	14	15	16	17	18	19	14	15	16	17	18	19
Notuke	6	39	43	9	2	0	0	6	36	38	20	0
Furen	9	35	40	14	0	0	1	10	48	36	4	0
Akkeshi-A	6	24	56	17	1	0	0	1	38	59	9	0
Akkeshi-B	9	3	37	20	1	1	0	0	20	52	30	1
Yudo	9	26	42	11	3	0	1	8	43	40	8	0

Sample	Upper gill rakers									Lower gill rakers									
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
Notuke	0	0	0	4	32	45	9	4	2	0	0	2	13	27	26	15	9	1	0
Furen	0	0	0	4	13	50	15	7	0	0	0	2	7	16	27	21	19	3	2
Akkeshi-A	0	0	0	7	41	40	11	0	0	0	0	6	17	27	30	11	12	1	0
Akkeshi-B	0	0	0	8	26	42	14	2	2	0	1	1	11	31	24	20	9	4	0
Yudo	1	7	0	31	26	4	0	0	0	1	14	24	26	23	6	1	0	0	0

Table 3. Variance analysis in the means of five populations for six meristic characters

Meristic Characters	Between samples		Within Samples		F	P
	Variance	df	Variance	df		
Vertebrae	0.525	4	0.526	449	1.00	0.4077
Dosal fin rays	7.824	4	0.377	500	20.76	0.0000
Pectoral fin rays	2.889	4	0.764	458	3.78	0.0049
Anal fin rays	9.318	4	0.566	504	16.46	0.0000
Upper gill rakers	39.113	4	0.880	442	44.43	0.0000
Lower gill rakers	92.962	4	1.828	485	50.85	0.0000

Table 4. sheffe's post hoc test in five samples for six meristic characters

Vertebrae

Sample	Notuke	Furen	Akkeshi A	Akkeshi B	Yudo
Notuke	—	—	—	—	—
Furen		—	—	—	—
Akkeshi A			—	—	—
Akkeshi B				—	—
Yudo					—

Dosal Fin Rays

Sample	Notuke	Furen	Akkeshi A	Akkeshi B	Yudo
Notuke	—	**	**	—	*
Furen		—	—	—	—
Akkeshi A			—	**	**
Akkeshi B				—	—
Yudo					—

Pectral Fin Rays

Sample	Notuke	Furen	Akkeshi A	Akkeshi B	Yudo
Notuke	—	—	—	—	—
Furen		—	—	—	—
Akkeshi A			—	—	—
Akkeshi B				—	—
Yudo					—

多型であった。*GPI-100*について最も高い割合を示したのは風蓮湖で0.84, 最も低い湧洞沼は0.70であった。野付湾の標本では出現した全ての対立遺伝子が見られた。

次に, *PGM*では4つの対立遺伝子が検出され, 対立遺伝子に関し全ての標本で多型であった。*PGM-100*について最も高い割合を示した標本は湧洞沼の0.68, 逆に低いのは風蓮湖の0.54であった。全ての対立遺伝子を含んだ湧洞沼の標本には, 対立遺伝子123の頻度が0.025と他の標本には見られない高頻度で出現した (Table 6)。

用いた5標本で検出された遺伝子型頻度がハーディーワインベルグの平衡に一致するかどうかを χ^2 検定した。その結果は2つの遺伝子座 (*GPI*, *PGM*) の全ての

Anal Fin Rays

Sample	Notuke	Furen	Akkeshi A	Akkeshi B	Yudo
Notuke	—	**	—	**	—
Furen		—	**	**	—
Akkeshi A			—	**	—
Akkeshi B				—	**
Yudo					—

Upper Gill Rakers

Sample	Notuke	Furen	Akkeshi A	Akkeshi B	Yudo
Notuke	—	—	—	—	**
Furen		—	**	—	**
Akkeshi A			—	—	**
Akkeshi B				—	**
Yudo					—

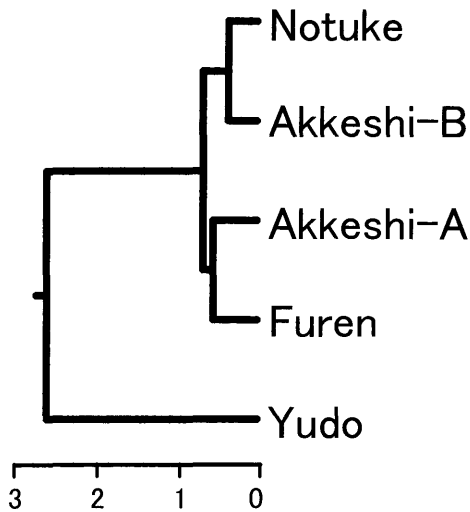
Lower Gill Rakers

Sample	Notuke	Furen	Akkeshi A	Akkeshi B	Yudo
Notuke	—	*	—	—	**
Furen		—	**	—	**
Akkeshi A			—	—	**
Akkeshi B				—	**
Yudo					—

* indicates $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and—no significant

Table 5. Maharanobis's generalized distance (lower triangle) and the percent overlap (upper triangle) for each pair among five populations calculated by employing six meristic characters

Sample	Notuke	Furen	Akkeshi A	Akkeshi B	Yudo
Notuke		62.42	86.50	67.14	25.02
Furen	0.978		59.96	56.32	20.06
Akkeshi A	2.022	1.110		60.44	30.46
Akkeshi B	0.725	1.336	1.076		26.06
Yudo	5.287	6.560	4.213	5.068	



Maharanobis's generalized distance

Fig. 2. Dendrogram based on Maharanobis's generalized distance calculated from six meristic characters between samples collected in the eastern Hokkaido.

Table 6. Allele frequencies at polymorphic loci in this study

Locus allele	Notuke	Furen	Akkeshi A	Akkeshi B	Yudo
<i>GPI</i> 175	0.005	0.000	0.000	0.000	0.010
139	0.210	0.160	0.280	0.240	0.280
100	0.775	0.840	0.715	0.760	0.700
48	0.005	0.000	0.005	0.000	0.010
20	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>PGM</i> 123	0.000	0.000	0.000	0.005	0.025
108	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010
100	0.630	0.540	0.555	0.595	0.675
82	0.370	0.460	0.445	0.400	0.290

標本で有意差が認められず ($P > 0.05$), 遺伝子型がハーディーワインベルグの平衡にあるものと判断された。このことはそれぞれの標本集団において、任意交配が行なわれていることを示唆している。

Nei⁸⁾の遺伝距離を用いて樹形図を描くと (Fig. 3), 形態学的形質における同様に湧洞沼が他個体群と最も遠い距離にあるのが認められた。

近隣個体群との混交の大きさを推定するため, 2つの遺伝子座に関し優勢な対立遺伝子 100 について固定指数 (F_{ST}) を計算した。 F_{ST} の推定値は GPI が 0.001, PGM が 0.010 であった。固定指数と突然変異率, 移出入率の間には, $F_{ST} = 1 / (4N(m + \mu) + 1)$ という関係がある。ここで N は有効個体数, m は移出入率, μ は突然変異率である。Wright¹⁰⁾に従えば, 観察された F_{ST} の値は境界値 0.2 よりかなり小さく, 将来, 移出入による遺伝子流動により個体群間の変異が拡大する可能性は小さいと思われた。

考 察

多数の計数形質について形質ごとに有意性検定を行うと, どの標本間にも何らかの形質で有意差が認められることがある。この原因には, 微視的な環境的・生態的要因による形質の差違や, 系群内の微細な遺伝的不均質性, 標本抽出の際の偏りなどが考えられる。本研究の結果, 厚岸 A と厚岸 B の間に 2 形態形質に関する有意差が認められた。この 2 標本は, 同一の採集場所で短い時間間隔で採集されたために異なる系群であるとは考え

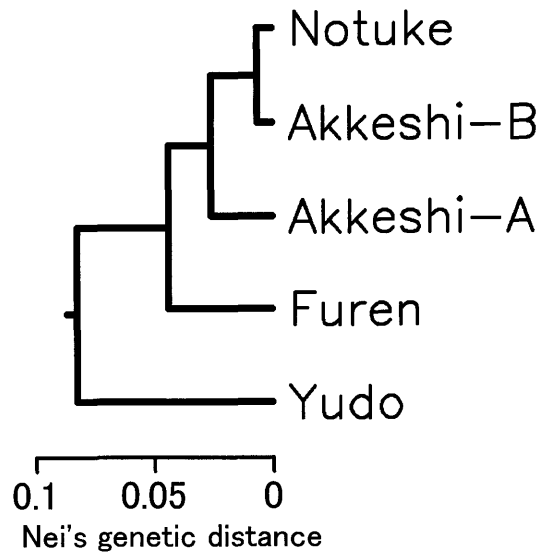


Fig. 3. Dendrogram based on the genetic distance calculated from two loci between samples collected in the eastern Hokkaido.

られない。そのため、形態形質の有意差が必ずしも系群の差違を意味しないことが強く示唆された。

マハラノビス汎距離、および遺伝的距離によるデンドログラムから、厚岸湖、風蓮湖、野付湾の個体群間の差違は厚岸 A と厚岸 B の間の差違と同程度であり、湧洞沼と他標本間の差違は、厚岸 A と厚岸 B の間の差違に比して大きいことが示された。このことから、厚岸湖、風蓮湖、野付湾で標本された個体はほぼ同一の形質を持つ単一の系群に属し、湧洞沼標本群はこれらとは異なる系群に属するものと考えられる。

日本栽培漁業協会厚岸事業場における標識放流調査^{*3,*4}によれば、厚岸湾、風蓮湖、および野付湾から ALC 標識をつけて放流された稚魚が、それぞれで交流を持っていることが示唆されている。平成 8 年度には風蓮湖放流群の個体は、風蓮湖内で 14 尾、厚岸湾内で 15 尾再捕されている、また平成 6 年には風蓮湖放流群の個体が、風蓮湖で 58 尾、厚岸湾で 1 尾、野付湾で 7 尾が再捕されている。再捕された個体は再捕時期・年齢から産卵回遊したものと推測される。また、湧洞沼で採集した約 1530 個体からは標識魚は発見されなかった。このことは、本研究の結果を支持している。

湧洞沼が形態的にも遺伝的にも位置関係が最も離れた個体群であると判断された原因を考えてみよう。ニシンの産卵時期は、厚岸湾および野付湾では 3 月から 4 月である。風蓮湖においては湖の水が沖に去り、産卵親魚が湖内に入るのが 3 月下旬から 4 月上旬であるといわれる。これに対し湧洞沼は他の産卵場とは異なり、海につながる湖口が秋に漂砂で閉じられるため、産卵親魚が湖に侵入するのは融雪後の 4 月中旬から 5 月上旬である。産卵期もこの時期であると考えられ、他の産卵場よりもかなり遅い。この湖と他の産卵場の個体群との混交については今後に明らかにされるべき課題であるが、この産卵時期の違いが異質の個体群を産み出す原因として作用していたと思われる。

今後の放流に対し本研究の結果をどのように生かすことができるかを考察してみたい。本研究の結果からは、

野付湾、風蓮湖および厚岸の標本群は遺伝的にも形態的にも、同じ場所で短期間に捕獲された標本群間と同程度の差異しか無かった。そのため、これらの水域に放流する種苗は同一系群として扱うことのできるかもしれない。しかし、いったん系群構造に影響を及ぼすような大規模な放流を行うと、天然の系群構造を検証することは不可能になる。今後、さらに多くの形質について検証の実験を試み、実際に同一系群として放流して良いかどうかを慎重に検討する必要がある。

謝 辞

技術指導を賜った中央水産研究所小林時正博士、ならびに、本論文投稿後、有益なコメントを賜った査読者に感謝する。なお、本研究は、日本栽培漁業協会厚岸事業場との共同研究として遂行された。

文 献

- 1) 菅野泰次：極東水域のニシンの形態形質の個体群変異。日本誌, **55**, 431-439 (1989).
- 2) 水産庁・財団法人日本栽培漁業協会：平成 7 年度栽培漁業種苗生産、入手・放流実績 (全国)、水産庁、東京、1997, pp. 14-35.
- 3) 松石 隆、岸野洋久、沼知健一：種苗放流による遺伝子のおきかわりに関する数理モデル。日本誌, **61**, 326-330 (1995).
- 4) R. R. Sokal and P. H. A. Sneath: Principle of numerical taxonomy, W. H. Freeman and Company, San Francisco and London, 1963, pp. 147-151, 305-312.
- 5) 小林時正：太平洋ニシンの集団遺伝学的特性と種内分化に関する研究。Bull. Nation. Res. Inst. Far Seas Fish., **30**, 1-77 (1993).
- 6) W. S. Grant and F. M. Utter: Biochemical population genetics of pacific herring. Can. J. Fish. Aquat. Sci., **41**, 856-854 (1984).
- 7) W. S. Grant and C. I. Zhang: Electrophoretic examination of Korean herring. Bull. Fish. Res. Dev. Agency, **31**, 49-60 (1983).
- 8) M. Nei: Genetic distance between populations. Amer. Natur., **106**, 283-292 (1972).
- 9) H. Scheffe: The Analysis of Variances, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1959.
- 10) S. Wright: Evolution in Mendelian populations. Genetics, **16**, 97-159 (1931).

*3 日本栽培漁業協会：平成 6 年度日本栽培漁業協会事業年報、日本栽培漁業協会、東京、1996。

*4 日本栽培漁業協会：平成 8 年度日本栽培漁業協会事業年報、日本栽培漁業協会、東京、1998。