

耳石の微量元素組成と安定同位体比を用いたビワマスの回遊生態に関する研究

2014

東京大学 大学院 農学生命科学研究科 水圏生物科学専攻
天野 洋典

指導教員 東京大学 教授
大竹 二雄

目次

第1章 諸言

第1節	回遊生態の研究における耳石の微量元素組成と安定同位体比の導入	1
第2節	サケ科魚類の回遊生態	4
第3節	ビワマス你的生活史	5
第4節	ビワマスの資源と種苗放流	6
第5節	琵琶湖	6
第6節	研究の目的	7

第2章 耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比による母川判別

第1節	材料と方法	8
第1項	採集地点	8
第2項	稚魚の採集と耳石の摘出	9
第3項	環境水の採取	9
第4項	耳石の微量元素分析	12
第5項	耳石の Sr 安定同位体比分析	13
第6項	環境水の微量元素分析	13
第7項	環境水の Sr 安定同位体比分析	14
第8項	統計解析	14
第2節	結果	15
第1項	環境水の微量元素組成と Sr 安定同位体比	15
第2項	耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比	19
第3項	耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比の経年変化	19
第4項	耳石の微量元素組成および Sr 安定同位体比と環境水との関係	19
第5項	耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比による非線形判別分析	29
第3節	考察	29
第1項	微量元素組成と Sr 安定同位体比による母川判別の有用性	29

第2項	経年変化の影響	31
第3項	母川判別の空間的解像度	31
第4項	耳石の微量元素組成に影響を与える要因	32
第5項	母川判別結果の拡張	33

第3章 母川判別に基づいた湖内での回遊生態の検討

第1節	材料と方法	35
第1項	湖内回遊魚の採集と環境データの取得	35
第2項	標本処理	35
第3項	耳石の微量元素分析	38
第4項	耳石の Sr 安定同位体比分析	39
第5項	統計解析	39
第2節	結果	40
第1項	採集深度と採集水温	40
第2項	性別・体長組成・GSI・胃内容物組成	40
第3項	湖内回遊個体の母川判別	47
第3節	考察	53
第1項	湖内回遊個体に対する母川判別の有用性	53
第2項	湖内を回遊する個体群の構造	53
第3項	湖内での索餌回遊	54
第4項	湖内での回遊パターン	55

第4章 母川判別に基づいた母川回帰性の検討

第1節	材料と方法	57
第1項	産卵遡上魚の採集	57
第2項	標本処理	60
第3項	耳石の微量元素分析	60
第4項	耳石の Sr 安定同位体比分析	60
第5項	統計解析	60

第2節 結果	61
第1項 体長組成と性別	61
第2項 耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比	61
第3項 遡上個体の母川判別と母川回帰率	67
第3節 考察	72
第1項 遡上個体に対する母川判別の有用性	72
第2項 母川回帰性	73

第5章 耳石の炭素・酸素安定同位体比による放流魚の判別

第1節 材料と方法	75
第1項 稚魚と遡上個体の採集	75
第2項 環境水の採取と水温データの取得	79
第3項 餌物の採集	79
第4項 標本処理	79
第5項 耳石粉末試料の採取	81
第6項 耳石の炭素・酸素安定同位体比分析	81
第7項 稚魚の筋肉と餌物の炭素安定同位体比分析	82
第8項 環境水の酸素安定同位体比分析	83
第9項 統計解析	83
第2節 結果	84
第1項 稚魚耳石の炭素・酸素安定同位体比	84
第2項 酸素安定同位体比における環境水と稚魚耳石との関係	84
第3項 炭素安定同位体比における筋肉および餌物と稚魚耳石との関係	89
第4項 耳石の炭素・酸素安定同位体比による放流魚判別	89
第5項 遡上個体の放流魚判別	93
第3節 考察	93
第1項 酸素・炭素安定同位体比を用いた放流魚判別の有用性	93
第2項 判別結果の信頼性	98
第3項 耳石の酸素・炭素安定同位体比に影響する要因	99
第4項 放流効果	101

第6章 総合考察

第1節	ビワマス你的生活史	104
第2節	母川回帰性と回遊生態	105
第1項	ビワマスの母川回帰性	105
第2項	ビワマスの回遊生態	107
第3節	ビワマスにおける稚魚放流と資源の保全	108
第1項	稚魚放流のビワマス資源への貢献	108
第2項	ビワマスの保全	109
第4節	本研究の水産学への貢献	110
第5節	今後の展望	110
謝辞		112
引用文献		114
要旨		125

第1章 諸言

第1節 回遊生態の研究における耳石の微量元素組成と安定同位体比の導入

回遊とは、生物がその生活史における発育段階や環境変化に応じて生息域を定型的に移動する生物現象のことである(塚本 2010)。回遊は索餌や成長、繁殖などの生活史において重要なイベントに深く関わっており、回遊生態を解明することは生活史の理解に大きく貢献する。

これまでに魚類の回遊生態は、標識再捕法(Tsukamoto 1988, Tsukamoto et al. 1989, 小池ら 1992, 宮腰ら 2012)やバイオロギング(Tanaka et al. 2001, Yasuda et al. 2010)、遺伝学的集団解析(Sugaya et al. 2008, 根本ら 2008, Urawa et al. 2009)によって研究されてきた。その中でも標識再捕法は、古くから魚類の移動や分散、回遊経路を明らかにするために利用されている。標識は魚体の外部につける方法と内部につける方法がある。外部標識には、鰭の一部を切除するフィンクリップ法や、リボンタグや情報を記録した磁気性ステンレススチールなどの外部標識を魚体に装着する方法がある(中村ら 1993)。しかしながら、これらの方法は個体ごとに手作業で行われるため大量標識が難しく、再捕率が調査結果に与える影響が大きい。さらに外部標識の装着は、個体に損傷を与えることから標識放流後の生残や行動に影響を及ぼす可能性が指摘されている。また、外部標識を装着するためには魚体にある程度の大きさが必要である。内部標識としては、一般的に耳石が用いられる。耳石は魚類の内耳に存在する炭酸カルシウムの硬組織であり、胚発生の発眼初期に出現する。耳石はカルシウムなどの元素が同心円状に沈着することで成長し、体の成長が速い時期は耳石の成長も大きい(Campana & Neilson 1985)。耳石には成長と共に輪紋が形成される。この輪紋構造は多くの魚種で日周輪や年輪であることが確認されているため、耳石は生態研究に頻繁に用いられている。耳石に施す内部標識法は、アリザリンコンプレクソン(ALC)等の蛍光色素で耳石を標識する方法(蛍光標識法)と、発眼卵や仔魚に対して複数回にわたって短時間に飼育水温を変化させることにより耳石に一定の輪紋パターンを施す方法(温度標識法)がある(Tsukamoto 1988, Volk et al. 1999, 坂本ら 2009)。耳石による内部標識法では、採捕した個体から耳石を摘出して標識を確認する作業が必要ではあるが、耳石が形成される発育段階以降であれば一度に大量の標識が可能であり、魚体にも損傷を与えないという点で優れている。

る。

さらに近年では、GPS やデータロガーを生物に装着して放流し、詳細な回遊経路と経験した環境、回遊中の行動を明らかにするバイオロギングが、ウナギ(Manabe et al. 2011)やマンボウ(Watanabe & Sato 2008)、サメ(Nakamura et al. 2011)など大型の魚類を対象として盛んに行われている。しかしながら、データロガーの小型化・低価格化が進んでいるとはいえ、仔稚魚に装着できないことや、大量に使用できない点で、魚類の初期生活史の回遊生態研究に用いることは難しい。また、アイソザイムやマイクロサテライト DNA などの遺伝学的な形質を用いた集団解析も回遊経路の研究に用いられており(Sugaya et al. 2008, 根本ら 2008, Urawa et al. 2009)、Urawa et al. (2009)は、サケ *Oncorhynchus keta* の海洋における個体群構造と回遊経路を遺伝学的集団解析によって明らかにした。しかし遺伝学的手法では、対象とする個体群に検出できるレベルの遺伝的分化が生じていることが必要であり、個体レベルで回遊経路を明らかにすることはできない。

近年では、標識再捕法やバイオロギング、遺伝学的集団解析とは全く異なるアプローチとして、耳石の微量元素組成と安定同位体比を用いた回遊生態研究が注目されている。耳石にはカルシウム(Ca)とともに、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、マンガン(Mn)、ストロンチウム(Sr)、バリウム(Ba)などの様々な微量元素が含まれている(Campana 1999)。耳石は非細胞性の組織であり代謝回転が非常に小さく、一度沈着した元素は終生ほとんど変化しない。これら耳石に含まれる微量元素の組成は、生息環境水の水温や塩分、微量元素組成などの外的要因、個体の生理状態、成長率などの内的要因から影響を受け変化することが報告されている(e.g. Townsend et al. 1992, Fowler et al. 1995, Tsukamoto & Nakai 1998, Campana 1999, Elsdon et al. 2008)。耳石の微量元素組成の変化要因は必ずしも明確ではないものの、多くの魚類で耳石の微量元素組成を用いた出生地判別や、回遊経路の推定、産卵回帰性の検証などの研究が行われている(e.g. Thorrold et al. 1998, Thorrold et al. 2001, Patterson et al. 2004, Ashford et al. 2005, Veinott & Porter 2005, Perrier et al. 2011, Yamane et al. 2010, 2012)。

耳石に含まれる元素の安定同位体比は、微量元素組成に比べ個体の生理的な影響を受けることが少なく、精度の高い環境指標となる(Kennedy et al. 1997, Ingram & Weber 1999, Gao et al. 2013)。特に、耳石の Sr 安定同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)は生息河川水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と平衡関係にあることが多くの魚種で知られている(Ingram & Weber 1999, Hobbs et al. 2005, Amakawa et al. 2012)。 ^{87}Sr は ^{87}Rb の β 壊変(半減期 489 億年)によって生じるため、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は形成年代の古い地質や ^{87}Rb を多く含む地質で高く、又逆の場合は低くなる(Banner 2004, Bentley 2006)。

さらに Sr は水に溶解しやすい特性を有することから、河川水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ はそれぞれの地域の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の違いをよく反映して河川水の Sr の値が変化する(Bentley 2006)。以上の理由で、淡水に生息する魚類では、耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が過去に生息していた場所を推定する有効な指標となると考えられる。実際にサケ科魚類では、耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ によって、河川における支流間の移動や個体が孵化し成長した河川または支流(母川)が判別できることが報告されている(Kennedy et al. 2000, Hamann & Kennedy 2012, Zimmerman et al. 2013)。

近年、生態研究に用いられる耳石の安定同位体比には、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ に加えて、酸素安定同位体($\delta^{18}\text{O}$)や炭素安定同位体($\delta^{13}\text{C}$)がある。耳石の $\delta^{18}\text{O}$ は、環境水の水温を反映して変化することが知られている(Kalish 1991)。また耳石の $\delta^{18}\text{O}$ は、生息する環境水の $\delta^{18}\text{O}$ ととも平衡関係にあるため、天水(大気中の水蒸気を起源とする水)によって変化する河川水の $\delta^{18}\text{O}$ から影響を受けると考えられている(Kalish 1991, Mizota & Kusakabe 1994)。一方、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は、個体の代謝や餌物の $\delta^{13}\text{C}$ 、環境水の溶存態無機炭素(DIC)などの要因が影響して変化する(Kalish 1991, Schwarcz et al. 1998, Solomon et al. 2006, Nonogaki et al. 2007, Tohse & Mugiya 2008)。また、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ は、回遊経路や産卵集団の指標(Gao et al. 2001, Rooker et al. 2008, Kitagawa et al. 2013)としてだけでなく、野生魚と放流魚を判別する指標としても注目されている。実際に、タイセイヨウサケ *Salmo salar* (Gao & Bean 2008)とカラフトマス *O. gorbuscha* (Tomida et al. 2013)では、野生稚魚と放流稚魚が経験する水温や餌料の違いを反映して、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ が放流魚の判別指標として有効であることが報告されている。

以上論じたように、耳石の微量元素組成と安定同位体比の分析は、個体レベルで出生地を判別できる有効な手法である。これまで魚類の回遊研究に主に用いられてきた他の手法に比べ、耳石の微量元素組成と安定同位体比分析は、人為的な標識放流である必要はなく、採集された個体に自然に備わっている標識(自然指標)を用いることから、放流魚だけでなく野生魚の回遊履歴を探ることができるという利点がある。また、耳石の微量元素組成や安定同位体比分析は、遺伝学的手法では検出が困難な場合にも、個体群間の生態学的な違いを解析できる点で優れている(Perrier et al. 2011)。したがって、耳石の微量元素組成と安定同位体比による手法を導入することで、魚類の回遊生態に新たな知見を得ることができると考えられる。

第2節 サケ科魚類の回遊生態

本研究で対象としたビワマス *Oncorhynchus masou* subsp.を含むサケ科魚類 Salmonidaeは、河川を産卵場とし、海を成育場とする遡河回遊を行う。サケ科魚類の生活史は、種によってその細部は異なるものの、概ね以下のようにまとめられる(玉手・山本 2004, 帰山 2009)。河川の産卵床に産み付けられた卵は産卵床内で孵化し、孵化仔魚は卵黄を吸収すると浮上する。浮上した稚魚はしばらく河川で成長した後、降海する。種によっては、降海せずそのまま河川に残留して成長を続け繁殖する河川残留型も出現する。降海した個体は海洋で1年から数年間を過ごした後に、産卵のため生まれた河川(母川)へ回帰遡上する。

サケ科魚類の回遊生態の特徴として、同種内で回遊パターンが異なる生活史多型が出現することがあげられる。一部のサケ科魚類(例えば、サクラマス *O. masou masou*、ギンザケ *O. kisutch*、マスノスケ *O. tshawytsca*、ベニザケ *O. nerka*)では、成長のため海へ降る降海型と、一生を河川で送る河川残留型が出現する(帰山 2009)。サケ科魚類の中で系統的に古い分類群ではほとんどの個体が河川残留型であるのに対し、系統的に新しい分類群では降海型の生活史をもつ(McCormick et al. 2013)。この関係はサケ属において顕著で、系統的に古いサクラマスには河川残留型がみられ、一方、系統的に新しいサケやカラフトマスでは全ての個体が降海型となる(McCormick et al. 2013)。さらに、サクラマスやベニザケには降海型の個体群と河川型の個体群が併存する生活史多型がみられる(e.g. Hirata et al. 1988, 帰山 1994, Kaeriyama & Ueda 1998, Takami et al. 1998, Tamate & Maekawa 2000)。これらのことから、淡水起源であるサケ科魚類は、進化の過程で回遊生態と生活史を多様化させたことと(McCormick et al. 2013)、その生活史は海洋生活への依存度を高める方向に進化したことが考えられている(後藤ら 1994, McDowall 2001)。

母川回帰は、サケ科魚類の回遊生態を特徴づける現象である。サケ科魚類は、産卵回遊の際に、生まれた河川に遡上して産卵する特性、いわゆる母川回帰性を有する。母川回帰のメカニズムについては、これまでに多くの研究が行われてきた(Ueda 2004, Quinn 2005, Ueda 2012)。サケ類は、母川のなんらかの因子を感覚神経により刷り込む母川記憶を行うことで、母川の情報記憶し正確に母川に回帰すると考えられている(Hasler & Scholz 1983)。この母川の情報記憶が河川固有のニオイであるという嗅覚仮説が1950年代に提唱され(Wisby & Hasler 1954)、近年の研究では、母川記憶を生じさせる河川水中のニオイ成分はアミノ酸である可能性が示唆されている(Shoji et al. 2000)。また、母川記憶が行われるのは、稚魚が降海する直前の銀化変態の時期であることがベニザケやギンザケの研究から明らかとなって

いる(Hasler & Scholz 1983, Dittman et al. 1996)。母川回帰性の強さは種によって異なり、サクラマスは母川回帰性が強く(Okazaki 1986, 宮腰ら 2012)、一方、カラフトマスは弱いとされている(Hendry et al. 2004, 星野ら 2008)。

第3節 ビワマスの生活史

琵琶湖に生息するビワマス *O. masou subsp.* は、サクラマス *O. masou masou* の固有亜種である。ビワマスは半世紀前までは、サツキマス *O. masou ishikawae* が琵琶湖に陸封された個体群と考えられていた(大島 1957)。これは稚魚期(河川生活期)の形態がビワマスとサツキマスで酷似しており、さらに琵琶湖がサツキマスの分布域に属していたためである(大島 1957)。しかし加藤 (1973, 1975)により、ビワマスがサツキマスとは形態的にも生態的にも明瞭に異なることが明らかとなり、琵琶湖の固有亜種であるとみなされた。また遺伝学的にも、ビワマスはサクラマスとサツキマスとは分化した集団であることが示されている(Oohara & Okazaki 1996, Gwo et al. 2008)。

ビワマスの生活史は遡河回遊の湖沼陸封型であり、産卵場として河川を、成育場として琵琶湖を利用する。ビワマスは10月下旬から12月上旬に琵琶湖水系河川で産卵する(加藤 1978, 尾田 2010)。翌年の1月下旬から孵化・浮上が始まり、河川内で体長50-70 mmまで成長した稚魚はその年の5月から6月にかけてほとんどの個体が銀化し琵琶湖へ降る(藤岡 1991)。その後、琵琶湖の沖合 水深15-20 m以深で3年から5年かけて成長した後に成熟し、琵琶湖水系河川に産卵遡上する(藤岡 2009)。

ビワマスの回遊生態には、サクラマスやサツキマスとの相違がみられる(Kato 1991, 藤岡 2009)。サクラマスは1⁺ 齢あるいは2⁺ 齢の4月から6月に体長90-140 mmで、またサツキマスは0⁺ 齢の11月から1⁺ 齢の2月に体長120-150 mmで降海するのに対し、ビワマスは0⁺ 齢の5月から6月に体長50-70 mmで、すなわち、より若齢・小型で降湖する。またサクラマスとサツキマスの降海型の産卵遡上は3月から6月にあり河川内で約5ヶ月間かけて成熟し産卵するのに対し、ビワマスは多くが湖中で成熟し、10月から11月に河川へ遡上した後、すぐに産卵する。さらにビワマスには、琵琶湖に降湖しない河川残留型の早熟雄や、5月から7月に河川へ産卵遡上する早期遡上群の存在も確認されており、その生活史に多型がみられることが報告されている(桑原・井口 1994, 2007)。

サクラマスとサツキマスでは降河回遊型と河川残留型の割合に緯度ラインがみられ、サツキマスは主に雄が河川残留型となり降海しない。一方、ほぼ同緯度に分布するビワマ

スでは、雌雄ともに銀化し琵琶湖へ降る(藤岡 2009)。また、ビワマスのスモルトは、サクラマスやサツキマスと異なり完全に海水適応能力を失っていることから(藤岡 1991)、ビワマスは生理的にも琵琶湖水系での淡水生活に完全に適応していると考えられる。すなわちビワマスの回遊生態は、淡水適応と湖沼への依存性が高いことが特徴であると予想される。しかしながら、ビワマスの生態学的知見の多くは稚魚期や産卵遡上期に限られており、湖内での生態や、母川回帰性は明らかになっておらず、ビワマスの回遊生態の特徴を論じるには知見が不足している。

第4節 ビワマスの資源と種苗放流

ビワマスは琵琶湖における水産重要種として漁獲されている。1895年から1940年までは、年間約80t前後の漁獲量が維持されてきた。戦後の1949年以降は徐々に減少し、現在は20-40tで推移している。近年では目立った漁獲量の減少はみられないが、環境省によるレッドリストでは「準絶滅危惧種(NT)」に指定されている(環境省 2013, http://www.biodic.go.jp/rdb/rdb_f.html)。そのため資源保護を目的として禁漁サイズと禁漁期が設定されており、全長 250 mm 以下の個体は周年、産卵期である 10 月から 11 月ではすべての個体が、琵琶湖水系全域で禁漁となっている。

また、ビワマスの資源量維持と増殖を目的とした人工孵化放流事業が行われている。ビワマスの人工孵化による増殖事業の歴史はサケ同様に古く、1883年に知内川漁業協同組合で開始され、現在は滋賀県漁業協同組合連合会が行っている。ビワマスの放流用種卵は河川に遡上した親魚から採卵される。親魚の採捕は、遡上の盛期である10月から11月に琵琶湖へ流入する安曇川、知内川、天野川等の指定された河川で行われる。毎年約135万粒を目標に採卵され、11月上旬には目標に達する。受精卵は滋賀県漁業協同組合連合会高島事業所と滋賀県醒井養鱒場の2か所で孵化・養育される。稚魚は体長50mmまで養育され、3月に琵琶湖水系河川に放流される。近年の放流尾数は70-90万尾で推移しているが、放流種苗がどの程度ビワマス資源に寄与しているかについては十分な調査がなく、知見が少ないのが現状である。

第5節 琵琶湖

本研究の対象種であるビワマスが生息する琵琶湖は、滋賀県に位置する表面積 674 km² の日本最大の湖である。琵琶湖は東西方向の幅が最も狭い堅田 - 守山間を境として、北湖

と南湖に分けることができる。北湖は琵琶湖の面積の 91.5 % を占め、中央部では 70-100 m あまりの深さがあるのに対し、南湖の最大深度は約 6 m である(中島 1994)。琵琶湖北湖では 1 年を周期とする湖水の鉛直混合があり、夏季停滞(成層)期と冬季循環期が存在する(堀 2005)。夏季(5-11 月)には表層水は 20 °C 以上であるが深層水は周年 7.5 °C であり、水深 10 m から 20 m に水温躍層が形成される。冬季(12-4 月)には湖水の鉛直混合が起こるため、表層と深層の水温はともに約 7.5 °C で一定となる。

琵琶湖に流入する河川は小水路を含めると 500 を超え、一級河川は約 120 ある。琵琶湖水系河川で最も流程が長いのは野洲川(約 65 km)、次いで安曇川(約 50 km)である。琵琶湖水が流出する河川は南湖の下部に位置する瀬田川のみである。

第 6 節 研究の目的

本研究では、耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ による母川判別にに基づき、ビワマスの回遊生態を明らかにすることを目的とした。さらに、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ を用いた放流魚の判別法を確立し、その手法で得られた結果をもとに放流効果について考察することも目的とした。

本章に続く第 2 章では、耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ に基づいた母川指標を提示し、その母川指標が母川判別に有用であることを示した。第 3 章では、琵琶湖内で採集されたビワマスの生物学的基礎情報を調べるとともに、母川指標に基づく母川判別を行い、ビワマスの湖内での回遊生態を検討した。第 4 章では、産卵遡上個体の母川判別を行い、ビワマスの母川回帰性を明らかにした。第 5 章では、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ に基づいた放流魚の判別手法を確立するとともに、産卵遡上個体の放流魚判別を行い、放流効果について議論した。最後に第 6 章で、以上の結果をまとめ、ビワマスの回遊特性の生態学的な意義とその進化過程について考察した。さらに、ビワマスの生態学的特性を踏まえた、本種の資源保全のための方策を提案した。

第2章 耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比による母川判別

サケ科魚類において、耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)を用いて生息地利用と回遊履歴の違いを個体レベルで識別できることが報告されている。Kennedy et al. (1997, 2000)は耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を用いて、コネチカット川水系におけるタイセイヨウサケ *Salmo salar* 稚魚の支流間の移動を明らかにしている。また、Bacon et al. (2004)は耳石の Sr/Ca と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ がマスノスケ *Oncorhynchus tshawytscha* の生息地や回遊を探る指標として有効であるとしている。さらにタイセイヨウサケでは、耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は稚魚の出生場所の識別に有用であり、特に $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が河川水の値を反映することから最も強力な指標となることが示されている(Martin et al. 2013a)。

ビワマス稚魚が孵化し成長する琵琶湖水系河川では、微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が河川間で異なり、また流域ごとに類似した値を示すことが報告されている(Nakano et al. 2008)。そのためビワマス稚魚の耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、生息河川によって異なることが想定され、母川を判別する指標として活用できる可能性がある。

そこで本章では、琵琶湖水系河川に生息する稚魚の耳石と環境水の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を調べ、それらの値の河川間の差と年による違いを明らかにした。次に、得られた値に基づき判別分析を行い、母川指標を提示するとともに、母川判別における有用性を示した。

第1節 材料と方法

第1項 採集地点

琵琶湖の集水域は滋賀県の範囲とほぼ一致し、3,174 km²になる(中島 1994)。この集水域は、年代の新しい地質から古い地質まで地域によって複雑に構成されている(川辺 1994)。Nakano et al. (2008)は、琵琶湖水系河川水に含まれる微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は地質の影響を受け、河川によって特徴がみられることを報告している。これより、孵化してから降湖するまでの数ヶ月間を河川で生息するビワマスでは、耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が母川判別のための指標として有用であると考えられる。

ビワマスが産卵遡上する河川は、主に琵琶湖北湖の流入河川である(藤岡 1990, 尾田ら

2011)。そこで本章では、琵琶湖北湖の西部、北部、東部に位置する鵜川、安曇川、石田川、知内川、大川、天野川、犬上川の7河川を選び調査河川とした(Fig. 2-1)。これらの河川ではいずれもビワマスの産卵遡上が確認されている。また、鵜川のような小規模河川から(流路延長約2 km)、琵琶湖流入河川で2番目の流路延長を持つ安曇川(約50 km)のような大規模河川まで、様々な流程の河川が含まれている。

本章の調査河川では鵜川を除き、いずれの河川においても滋賀県漁業協同組合連合会高島事業所(以下、高島事業所)と滋賀県醒井養鱒場(以下、醒井養鱒場)で孵化・養育したビワマス稚魚が放流されている。そこで、上記2か所の養鱒場も本章の調査地点に加え、天然河川と同様に母川の一つとして扱った。

第2項 稚魚の採集と耳石の摘出

2010年3月と2011年2月に、前述の7河川と2ヶ所の養鱒場において、計288個体のビワマス稚魚を採集した(Table 2-1, Fig. 2-1)。野生稚魚は各調査河川で湖へ降河回遊する前の河川生活期の個体を、電気ショッカー(Model 12-A, Smith-Root Inc.)を用いて採集した。なお、稚魚耳石の値の経年変化を調べるため、鵜川では2010年と2011年の両年で採集した。放流稚魚は各養鱒場で、2009年10月から2010年3月まで養育された個体を採集した。供試魚はいずれも全長(TL)を測定した後(Table 2-1)、分析まで冷凍保存した。

耳石の微量元素分析とSr安定同位体比の分析に先立ち、冷凍保存していた供試魚から耳石(扁平石)を摘出した。耳石はMilli-Q水(Millipore)を用いて複数回洗浄し、十分に室温で乾燥させた後、清浄なプラスチック製ケースで保存した。

第3項 環境水の採取

稚魚を採集した7河川の河川水および養鱒場2地点の飼育水を分析に供した(Fig. 2-1)。河川での採水を河口から1 km以内で、かつ湖水の影響を受けないと考えられる場所で行った。養鱒場では、汲み上げた地下水を濾過循環せず、常時飼育槽へ直接注水していることから、飼育槽から直接採水した。河川と養鱒場での採水を行ったのは2009年11月、2010年3月、2011年3月である。2009年11月はビワマスが河川で産卵する時期と人工授精を行う時期であり、2010年3月と2011年3月は稚魚採集を行った時期である。河川水および飼育水(以下、両者を合わせて環境水と呼ぶ)は、酸洗浄済みのボトルに1000 mlを採水した後、0.45 μmメンブランフィルター(ADVANTEC®)と、あらかじめ酸洗浄をした濾過装置を用いて濾過処

Table 2-1 Biological characteristics of Biwa salmon collected from 9 locations in March 2010 and March 2011. Sampling location, location code, sampling year, total length (TL), otolith longest and shortest diameter are shown. TL and otolith diameter are presented as mean \pm standard deviation.

Location	code	Year	TL (mm)	Otolith diameter	
				Longest axis (μm)	Shortest axis (μm)
Ukawa River	UKW	2010	36.0 \pm 3.3	581 \pm 42	381 \pm 40
		2011	31.3 \pm 2.1	580 \pm 40	333 \pm 34
Ado River	ADO	2011	33.0 \pm 2.1	586 \pm 25	336 \pm 39
Ishida River	ISD	2010	35.2 \pm 2.0	590 \pm 36	350 \pm 28
Chinai River	CHN	2010	35.2 \pm 3.0	601 \pm 45	353 \pm 25
Okawa River	OKW	2010	35.0 \pm 1.5	579 \pm 43	346 \pm 20
Amano River	AMN	2011	32.9 \pm 3.4	595 \pm 30	349 \pm 32
Inukami River	INK	2010	36.9 \pm 4.1	585 \pm 40	361 \pm 41
Takashima Hachery	TKS	2010	50.6 \pm 7.2	855 \pm 89	599 \pm 47
Samegai Hachery	SMG	2010	60.4 \pm 5.9	867 \pm 70	550 \pm 50

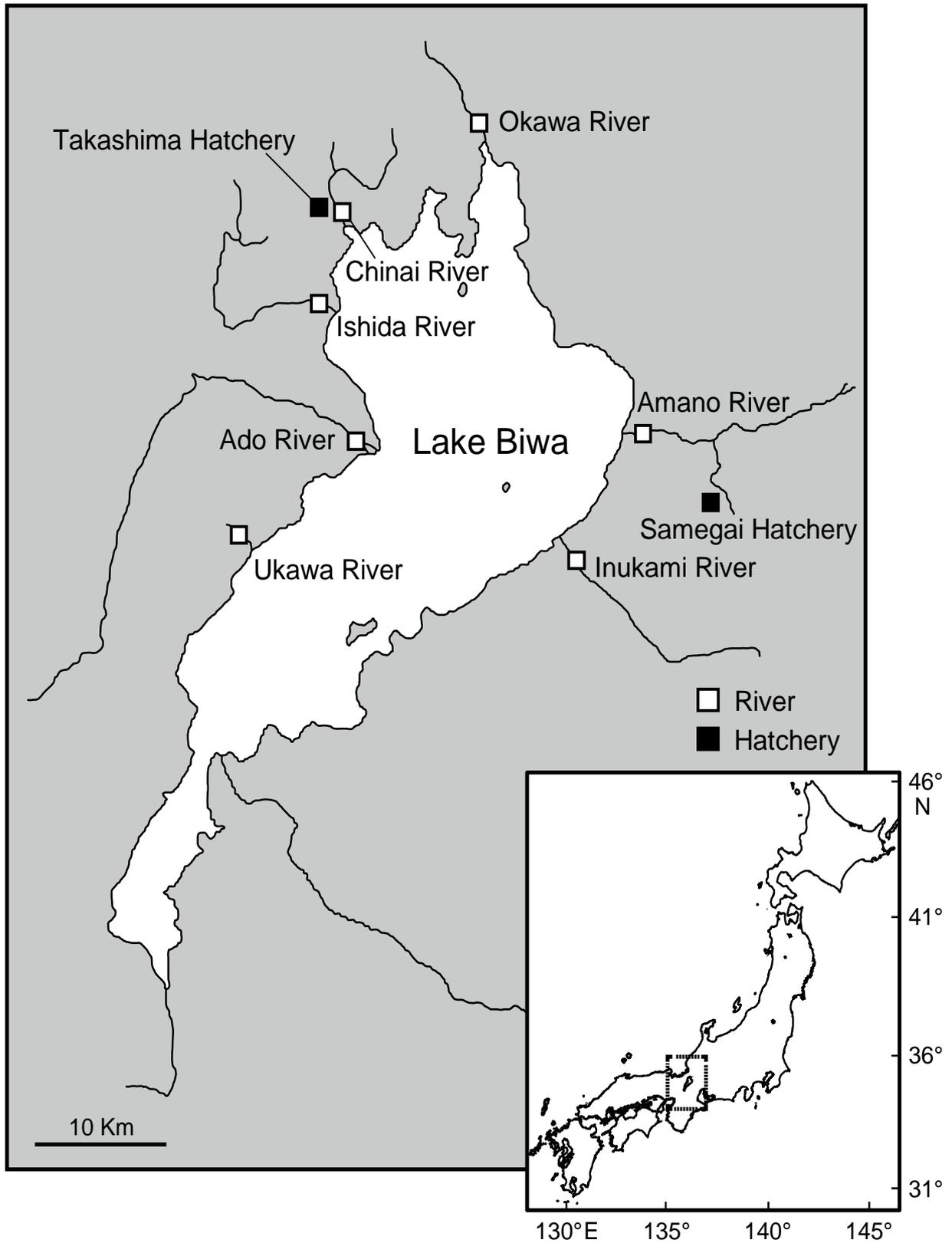


Fig. 2-1. Sampling locations of juvenile Biwa salmon and water samples in Lake Biwa water system.

理をした。濾過した水は酸洗浄処理をしたポリプロピレンボトルに入れ、6M HCl (Tamapure-AA-100, 多摩化学工業株式会社)を1%になるように滴下して保存した。

第4項 耳石の微量元素分析

耳石をエポキシ樹脂(Epofix, Struers)に包埋し、鉍物スライドガラスに接着した後、70 μm および13 μm のダイヤモンドカップホイールを装着した研磨装置(Discoplan-TS, Struers)を用いて、耳石核が表面に露出するまで研磨した。この後、耳石切片を Milli-Q 水で満たしたケースに入れて10分間超音波洗浄を行い、室温で十分に乾燥させた。分析を行う前に、耳石研磨面の顕微鏡写真を撮影し、耳石の長径と短径を測定した(Table 2-1)。

各採集地点から10-30個体を無作為に抽出して耳石の微量元素分析に供した。レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置(LA-ICP-MS)を用いて、耳石の ^{23}Na 、 ^{39}K 、 ^{43}Ca 、 ^{55}Mn 、 ^{88}Sr 、 ^{138}Ba を測定した。本章で用いたLA-ICP-MSは、東京大学大気海洋研究所附属国際沿岸海洋研究センター(岩手県大槌町)に設置されていた213-nm Nd-YAG laser ablation system (New Wave Research)とICP-MS (7500cs, Agilent)を結合させた装置と、東京大学大気海洋研究所(千葉県柏市)に設置された193-nm short pulse width (< 5ns) excimer-based laser ablation system (NWR 193, ESi)とICP-MS (7700, Agilent)を結合させた装置である。また、測定の精度を向上させるため、スタビライザーデバイスをLaser ablation systemとICP-MSのイオン化部の間に設置した(Tunheng & Hirata 2004)。Laser ablation systemによるレーザーの照射は、耳石の縁辺から核を経由して反対側の縁辺に至る線上で連続的に行った。照射したレーザーの径は65 μm 、周波数は10 Hz、移動速度は5 $\mu\text{m s}^{-1}$ に設定した。この照射領域は、稚魚の耳石の河川生活期全体を含んでいる。標本の分析の始めと終わりにバックグラウンド(アルゴンとヘリウムの混合ガスの分析値)を測定した。 ^{43}Ca を内標準として用い、全ての微量元素の値をカルシウムに対するmol比(mmol mol^{-1} , 以下、metal/Caで示す)で表わした。各元素の信号強度からmol比への換算は、NIST 612 (National Institute of Standards and Technology) (Pearce et al. 1997)、JCp-1、Jct-1 (産業技術総合研究所) (Shirai et al. 2008)の3種類の標準物質で作成した信号強度とmol比組成の検量線を用いて行った。標準物質の分析は耳石試料を15個測定するごとに行った。走査照射することで得られた耳石の微量元素のmol比の平均値を各個体の代表値として解析に用いた。本項の分析における検出限界値($\mu\text{mol mol}^{-1}$)は、Na/Ca: 101.7、K/Ca: 10.8、Mn/Ca: 0.50、Sr/Ca: 0.03、Ba/Ca: 0.001であった。検出限界は、各元素のバックグラウンド値の標準偏差を3倍し、mol比に変換した値である。

本項で分析した耳石の微量元素組成は、いずれも検出限界値を上回っていた。分析の繰り返し再現性を表す JCp-1 の相対標準偏差(% RSD)は、Na/Ca: 2.86、K/Ca: 9.67、Mn/Ca: 8.92、Sr/Ca: 2.35、Ba/Ca: 5.85 であり、十分な再現性である 10 % 以下を示した。

第 5 項 耳石の Sr 安定同位体比分析

耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 分析では、各地点から 5-6 個体を無作為に抽出し分析に供した。耳石の Sr 分離・抽出と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の分析の手法は Takahashi et al. (2006, 2009) に従った。

耳石の Sr 分離・抽出は、外部からの試料汚染を防ぐため独立行政法人海洋研究開発機構に設置してあるクリーンルーム内で行った。左右の耳石全体を酸洗浄済みの PTFE バイアルに入れ、7M HNO_3 (Tamapure-AA-100, 多摩化学工業株式会社) を 0.5 ml 滴下し、完全に溶解させた。溶解した試料溶液を乾固した後、乾固試料に 2M HNO_3 (Tamapure-AA-100, 多摩化学工業株式会社) を 0.05 ml 滴下して再び試料溶液とした。Sr selective extraction resin (EICHROM Technologies Inc.) を 0.05 ml 充填したカラムに、Milli-Q 水を 1.0 ml、0.05M HNO_3 (Tamapure-AA-100, 多摩化学工業株式会社) を 0.1 ml 順次注ぎ、その後試料溶液を流した。次に 2M HNO_3 を 0.15 ml、7M HNO_3 を 0.8 ml、2M HNO_3 を 0.15 ml 順次カラムに流し、 ^{87}Sr や ^{86}Sr と同重体イオンを形成し $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の分析の障害となる Ca、Rb 等の元素を溶離した。最後に、0.05M HNO_3 を 0.7 ml 注いで Sr のみを溶離させ、酸洗浄済みの PTFE バイアルで回収した。回収試料溶液を乾固した後、1.0 μl の 1M HNO_3 (Tamapure-AA-100, 多摩化学工業株式会社) で溶解した。

化学分離された Sr 試料はタンタルアクチベーターと共に、レニウムフィラメントに塗布し、独立行政法人海洋研究開発機構に設置してあるマルチコレクター型 TIMS (Triton TI, Thermo Finnigan) を用いて $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を測定した。全ての $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 測定値は $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が 8.375209 値になるように補正し標準化した。分析の信頼性および繰り返し再現性を表す NIST SRM 987 (保証値, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 0.710245$) の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、 0.710250 ± 0.000010 (2σ , $n = 20$) であった。

第 6 項 環境水の微量元素分析

ICP-MS を用いて環境水の ^{23}Na 、 ^{39}K 、 ^{43}Ca 、 ^{55}Mn 、 ^{88}Sr 、 ^{138}Ba の測定を行った。分析前の試料調整として、15 ml ポリプロピレン製遠沈管に内部標準溶液を 0.15 ml 加え、環境水試料で 15 ml にメスアップした。内部標準試料には ^9Be 、 ^{45}Sc 、 ^{115}In 、 ^{209}Bi の 4 元素を用い試料中の濃度がそれぞれ $4.5 \mu\text{g l}^{-1}$ になるように調整した。ブランク溶液には 1 % HNO_3 (EL, 関

東化学株式会社)を用いた。

環境水の微量元素の定量分析には、東京大学大気海洋研究所附属国際沿岸海洋研究センターに設置されていた ICP-MS (7500cs, Agilent)と、東京大学大気海洋研究所に設置された ICP-MS (7700, Agilent)を用いた。1 試料につき 4 回分析を繰り返し、その平均値を測定値として用いた。測定値の機器感度の経時変化を考慮し、得られた測定値を内部標準元素の測定値の変化から求めた補正式により補正した。信号強度から元素濃度(mg l^{-1} , $\mu\text{g l}^{-1}$)、および Ca に対する mol 比(mmol ml^{-1} , 以下、metal/Ca で示す)への換算は、JSAC 0301-3、JSAC 0302-3 (社団法人日本分析化学会)、ICP Multi Standard Solution X for Surface Water Testing (Merck Chemicals)の 3 種類の標準溶液で作成した信号強度と濃度および mol 比による検量線を用いて行った。標準溶液の分析は試料溶液を 8 試料測定することに行った。本項の分析における検出限界値(mg l^{-1})は、 ^{23}Na : 57.19、 ^{39}K : 8.77、 ^{43}Ca : 56.96、 ^{55}Mn : 0.03、 ^{88}Sr : 0.11、 ^{138}Ba : 0.04 であった。検出限界は、各々の元素のブランク溶液の標準偏差を 3 倍し、信号濃度に換算した値である。本項で分析した環境水の微量元素組成は、検出限界値を上回っていた。分析の繰り返し再現性を評価するため、河川水を用いて研究室内標準溶液を作成し測定した。本項における分析再現性を表す研究室内標準溶液の相対標準偏差(%、RSD)は、 ^{23}Na : 3.62、 ^{39}K : 1.42、 ^{43}Ca : 2.13、 ^{55}Mn : 3.44、 ^{88}Sr : 4.45、 ^{138}Ba : 3.99 であり、十分な再現性である 10 % 以下を示した。

第 7 項 環境水の Sr 安定同位体比分析

環境水試料約 980 ml を酸洗浄済みの PTFE バイアルに注入し、クリーンブース内の 90 °C に設定したホットプレート上で乾固した。乾固した試料に 7M HNO_3 (TamaPure-AA-100, 多摩化学工業株式会社)を 0.5 ml 滴下し溶液試料とした。Sr 分離・抽出実験と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の分析の手法は、本節第 5 項と同様である(Takahashi et al. 2006, 2009)。また、これらの実験・分析は全て独立行政法人海洋研究開発機構に設置してあるクリーンルーム実験室、表面電離型質量分析計(TIMs)を使用して行った。本項における NIST SRM 987 の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、0.710245 \pm 0.000015 (2σ , $n = 20$)であった。

第 8 項 統計解析

統計解析を行う前に、耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の正規性および等分散性を Shapiro-Wilk test と Bartlett test を用いて確認した。全データにおいて、正規性は示されたが

等分散性はみとめられなかった。そのため、耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の採集地点間(7 河川と養鱒場 2 ヶ所)での比較には Kruskal-Wallis test と Steel-Dwass test を、経年変化の比較には等分散を仮定しない場合の t-test を用いた。また、微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ における耳石と環境水の関係を Pearson の相関係数を用いて解析した。この解析には、各河川または養鱒場ごとの平均値を用いた。耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の母川指標としての有用性は、等分散を仮定しない統計解析である非線形判別分析(QDFA)によって評価した。なお、QDFA では解析に用いる例数を同数にする必要があるため、Walther & Thorrold (2008b)に従って耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の平均値と標準偏差を基に正規乱数を発生させ、各地点の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と微量元素組成の例数を同数にして QDFA を行った。QDFA による交差検定(Cross-validation)から得られた正判別率を採集地点(母川)の違いの程度を表す程度の指標として扱った。本項によって行った統計解析は R (ver. 3.0.1)と Excel 2010 (Microsoft)を用いて行った。なお、環境水の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は試料数が少ないため、採集地点間の差異については統計解析を行わなかった。

第 2 節 結果

第 1 項 環境水の微量元素組成と Sr 安定同位体比

環境水の微量元素濃度は、採集地点間(7 河川と養鱒場 2 ヶ所)で様々な値をとった(Fig. 2-2-1, 2-2-2)。天野川では、K が $1.057 \pm 0.132 \text{ mg l}^{-1}$ (平均値 \pm 標準偏差)、Sr が $59.3 \pm 0.01 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ 、Ba が $13.0 \pm 0.002 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ となり、他の地点より高い値を示した。Na は犬上川と天野川が 8.0 mg l^{-1} 以上と高い値を示した。Mn は知内川と大川が $6.0 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ 以上となり、他の地点よりも高い値を示した。また醒井養鱒場では、Na が $2.66 \pm 0.224 \text{ mg l}^{-1}$ 、K が $0.271 \pm 0.019 \text{ mg l}^{-1}$ 、Mn が $0.089 \pm 0.031 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ となり、他の地点と比較して最も低い値を示した。Sr と Ba では鶴川の値が最も低い値を示し、それぞれの値は $6.9 \pm 1.72 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ 、 $0.93 \pm 0.077 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ であった。

Ca に対する各元素の mol 比においても、各河川で特徴的な組成がみられた(Fig. 2-2-1, 2-2-2)。鶴川では、Na/Ca が $4714 \pm 907 \text{ mmol mol}^{-1}$ 、K/Ca が $239 \pm 37 \text{ mmol mol}^{-1}$ となり、他の地点より高い値を示した。Sr/Ca と Ba/Ca では安曇川の値が最も高く、それぞれの値は $3.98 \pm 0.575 \text{ mmol mol}^{-1}$ 、 $0.433 \pm 0.001 \text{ mmol mol}^{-1}$ であった。醒井養鱒場では、全ての元素で値が最も低かった。

環境水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、安曇川、石田川、高島事業所の値が 0.714 以上で高い値を示し、醒井養鱒場の 0.708286 ± 0.000030 (2SD)が最も低い値であった(Fig. 2-3)。

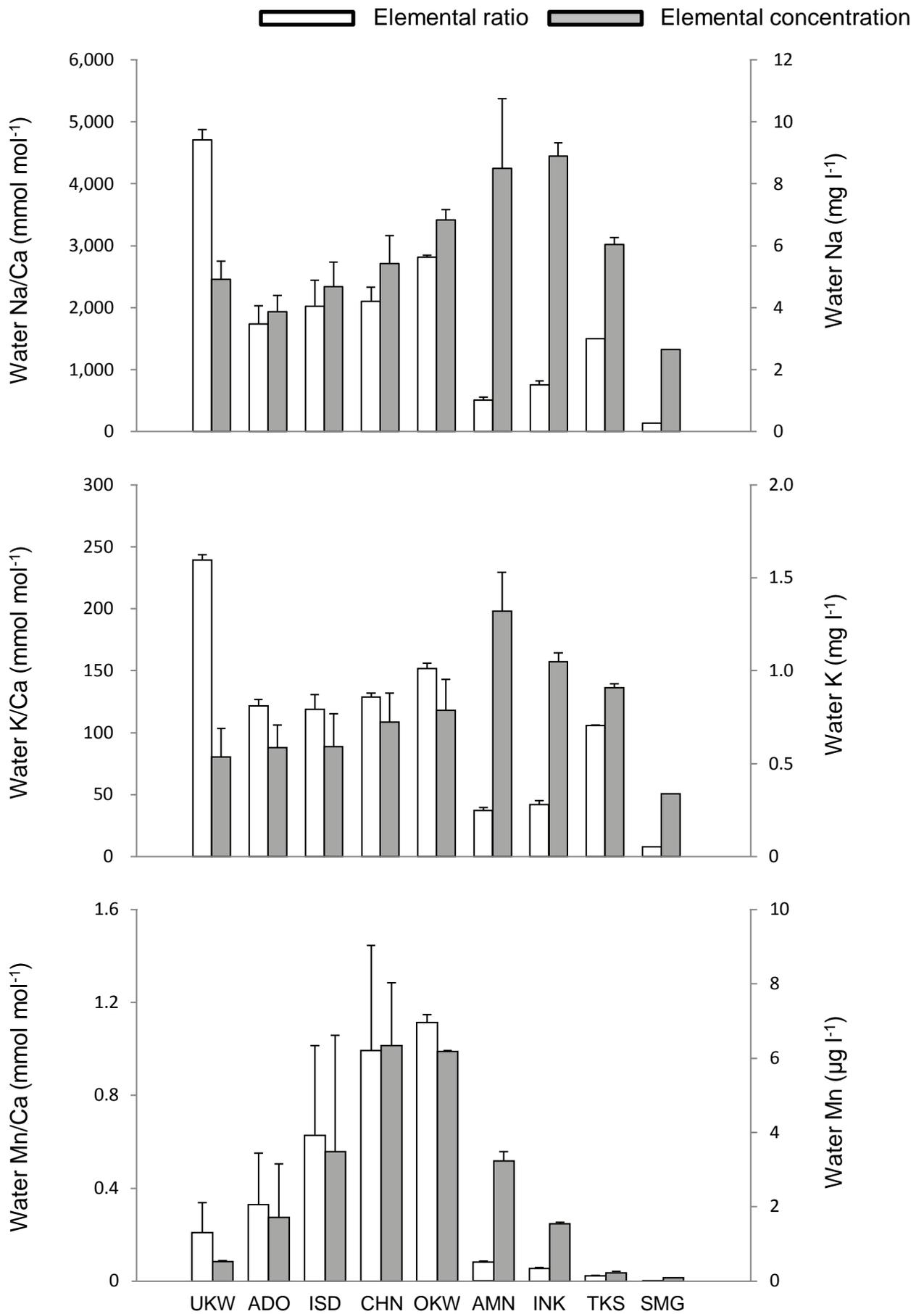


Fig. 2-2-1. Elemental ratios and concentrations (mean \pm analytical error) in water taken from sampling locations. Location codes are shown in Table 2-1.

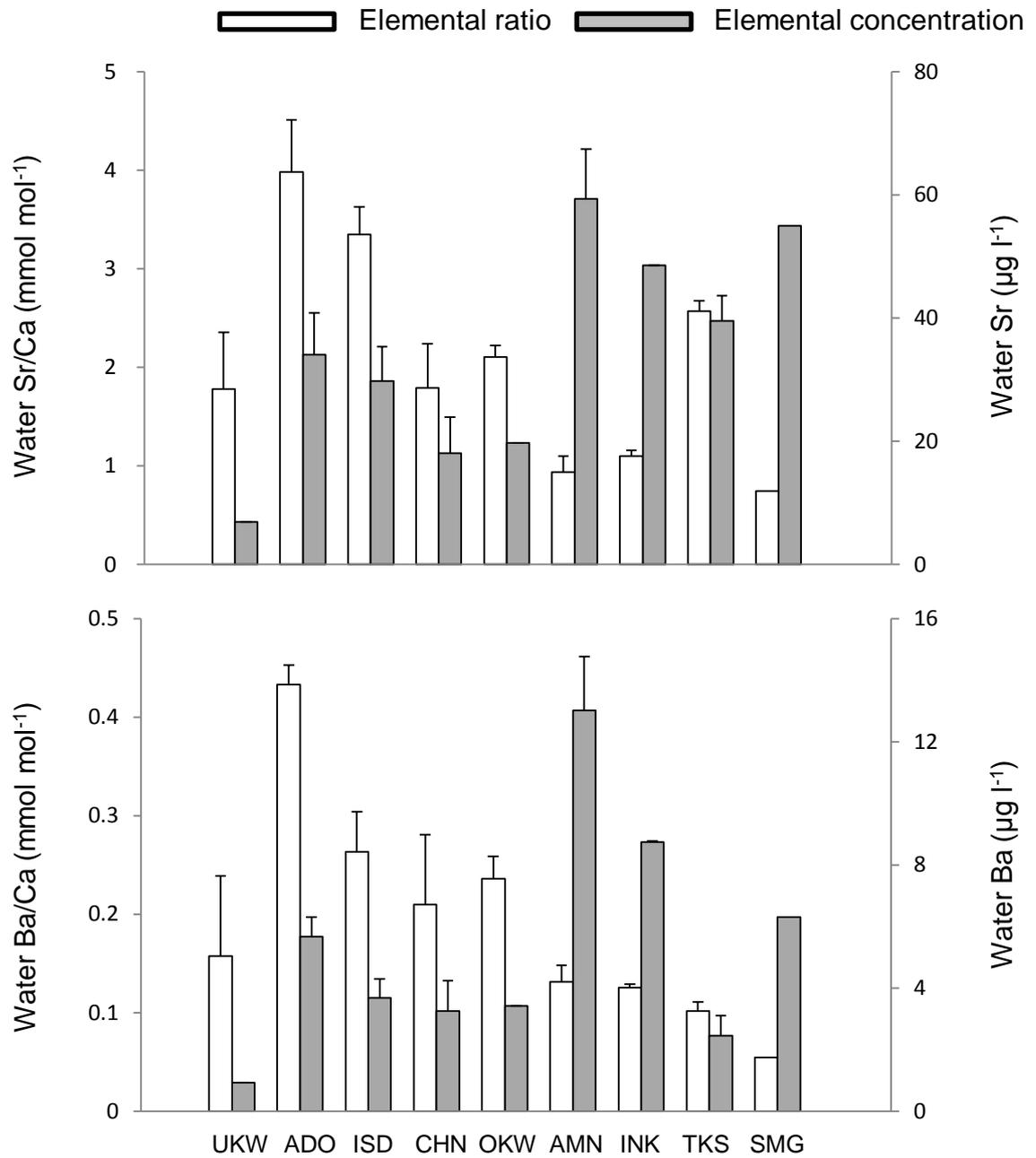


Fig. 2-2-2. Elemental ratios and concentrations (mean \pm analytical error) in water taken from sampling locations. Location codes are shown in Table 2-1.

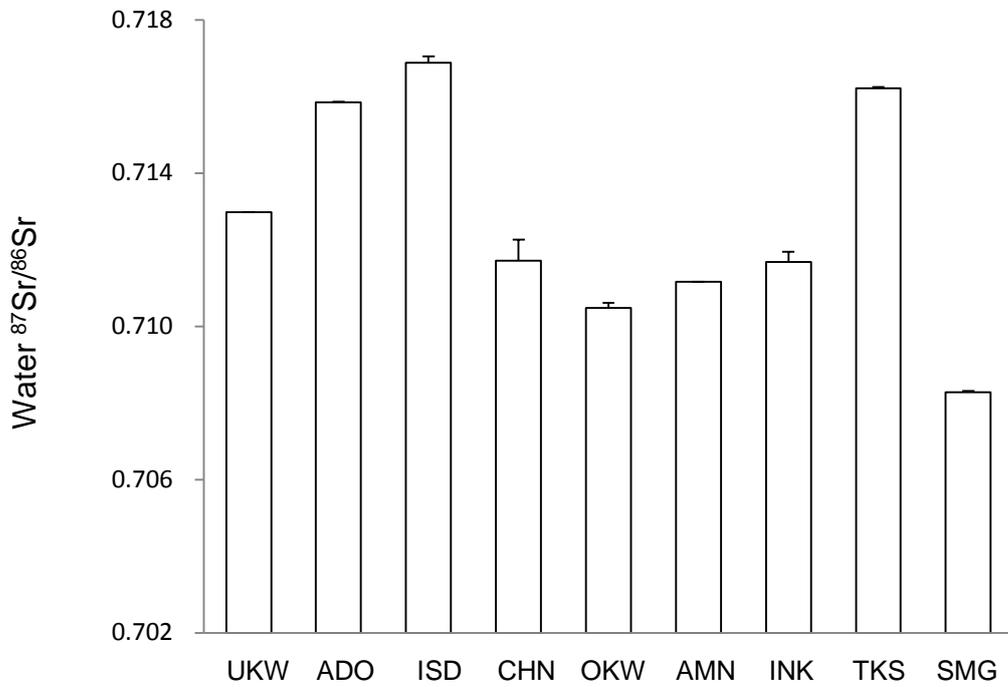


Fig. 2-3. Sr isotopic ratios (mean \pm analytical error) of water samples from sampling locations. Location codes are shown in Table 2-1.

第2項 耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比

耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、採集地点間で有意差がみられた(Kruskal-Wallis test, $p < 0.001$; Fig. 2-4-1, 2-4-2, 2-5)。また、Steel-Dwass test による多重比較検定において、Na/Ca、K/Ca、Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ で地点間に有意差がみられた($p < 0.05$; Fig. 2-4-1, 2-4-2, 2-5)。なお、鵜川で採集した稚魚の耳石の微量元素組成の年による違いは第3項で評価し、本項では年をまとめて解析に用いた。知内川、大川、犬上川、醒井養鱒場では、Na/Ca が $19.0 \text{ mmol mol}^{-1}$ 以上、K/Ca が $2.0 \text{ mmol mol}^{-1}$ 以上と高い値を示した。Sr/Ca では、安曇川、石田川、高島事業所が $0.6 \text{ mmol mol}^{-1}$ 以上と高い値を示した。Ba/Ca は安曇川の $0.005 \pm 0.002 \text{ mmol mol}^{-1}$ で最も高い値であった。一方、Mn/Ca は多重比較検定による採集地点間の有意差がみられなかった($p > 0.05$; Fig. 2-4-1)。 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、安曇川、石田川、高島事業所の値が 0.714 以上で高い値を示し、醒井養鱒場の 0.709078 ± 0.000179 (2SD) が最も低い値であった(Fig. 2-5)。

第3項 耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比の経年変化

鵜川で採集した稚魚の耳石の Na/Ca は、2010 年に採集した個体の値が $16.3 \pm 1.05 \text{ mmol mol}^{-1}$ 、2011 年では $17.3 \pm 1.05 \text{ mmol mol}^{-1}$ となり、2010 年と 2011 年の間に有意な差がみられた(t-test, $p < 0.05$; Fig. 2-6-1)。同様に K/Ca においても、2010 年が $1.736 \pm 0.585 \text{ mmol mol}^{-1}$ 、2011 年では $0.813 \pm 0.214 \text{ mmol mol}^{-1}$ となり、2010 年と 2011 年の間に有意な差がみられた(t-test, $p < 0.05$; Fig. 2-6-1)。一方、Mn/Ca (2010 年: $0.018 \pm 0.017 \text{ mmol mol}^{-1}$, 2011 年: $0.019 \pm 0.017 \text{ mmol mol}^{-1}$)、Sr/Ca (2010 年: 0.391 ± 0.035 , 2011 年: 0.389 ± 0.052)、Ba/Ca (2010 年: 0.0023 ± 0.0006 , 2011 年: 0.0022 ± 0.0007)、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ (2010 年: 0.712787 ± 0.000090 , 2011 年: 0.715777 ± 0.000064 ; $\pm 2\text{SD}$) では 2010 年と 2011 年の値に有意な差はみられなかった(t-test, $p > 0.05$; Fig. 2-6-1, 2-6-2, 2-7)。 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では、相対標準偏差(%、RSD)はそれぞれ、11 % (Sr/Ca)、27 % (Ba/Ca)、10 % ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) となった(Fig. 2-6-2, 2-7)。

第4項 耳石の微量元素組成および Sr 安定同位体比と環境水との関係

Na/Ca、K/Ca、Mn/Ca では、耳石での値と環境水での値との間に相関関係はみられなかった($r^2 = 0.01-0.07$, $p = 0.49-0.83$) (Fig. 2-8-1)。耳石と環境水の間には Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では有意な相関関係がみられ、環境水での値が上昇するに従って耳石での値も上昇することが示された(Sr/Ca: $r^2 = 0.93$, $p < 0.001$; Ba/Ca: $r^2 = 0.66$, $p < 0.01$; $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$: $r^2 = 0.95$, $p < 0.001$) (Fig. 2-8-2, 2-9)。各河川で採集した稚魚の耳石の微量元素組成と河川におけるそれぞれの微量元

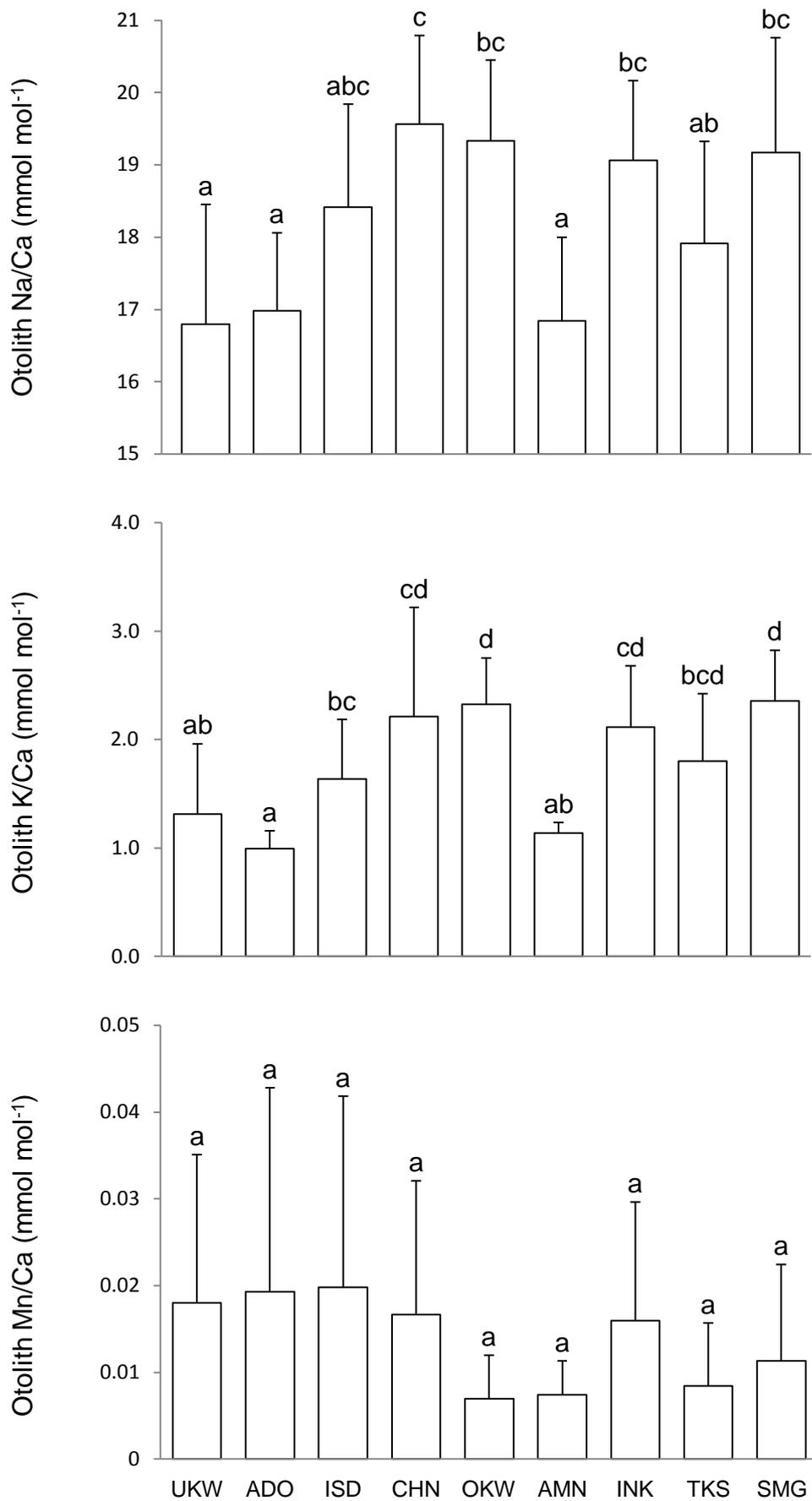


Fig.2-4-1. Elemental ratios (mean \pm standard deviation) of otoliths of fish collected from 9 sampling locations. Statistical differences are shown with different letters. Post-hoc multiple comparisons were performed using Steel-Dwass tests ($P < 0.05$). Location codes are shown in Table 2-1.

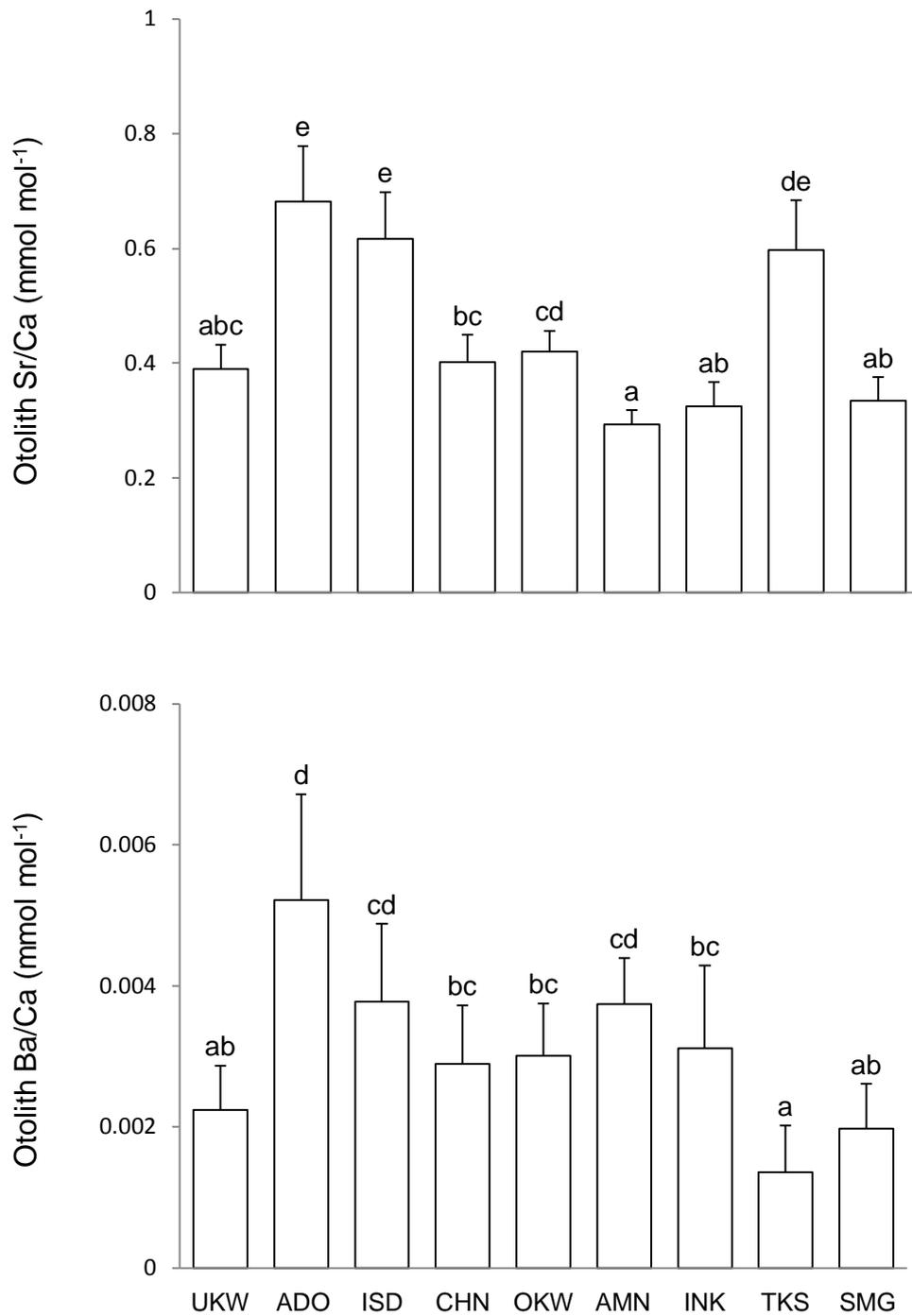


Fig.2-4-2. Elemental ratios (mean \pm standard deviation) of otoliths of fishes collected from 9 sampling locations. Statistical differences are shown with different letters. Post-hoc multiple comparisons were performed using Steel-Dwass tests ($P < 0.05$). Location codes are shown in Table 2-1.

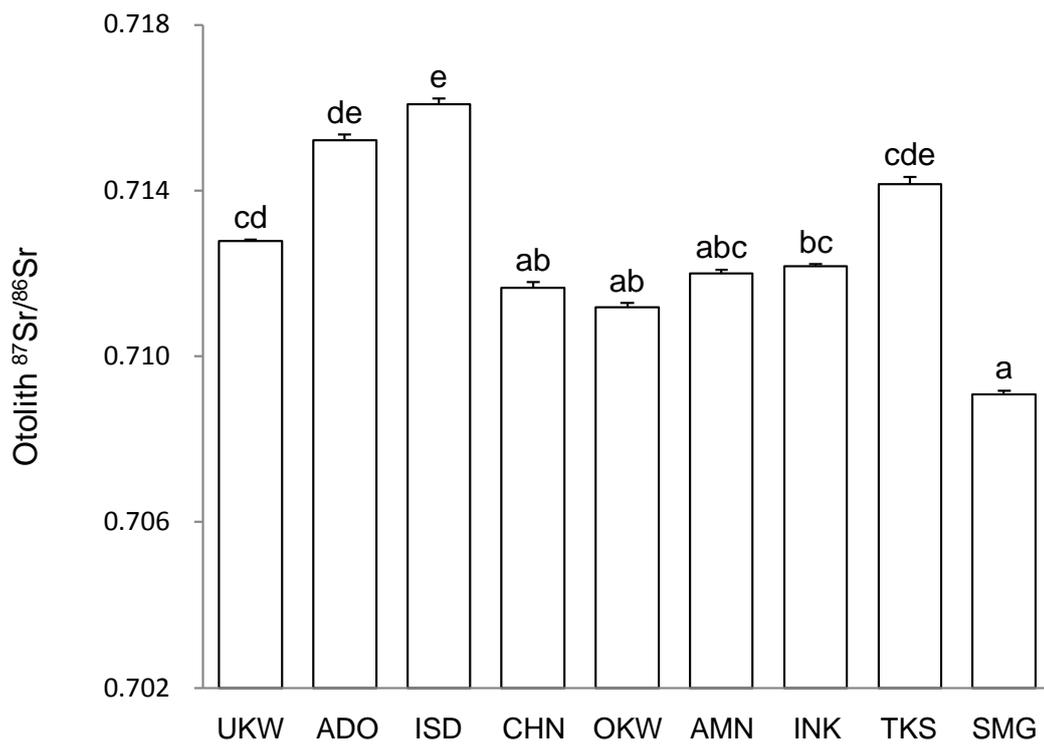


Fig.2-5. Sr isotopic ratios (mean \pm standard deviation) of otoliths of fish collected from 9 sampling locations. Statistical differences are shown with different letters. Post-hoc multiple comparisons were performed using Steel-Dwass tests ($P < 0.05$). Location codes are shown in Table 2-1.

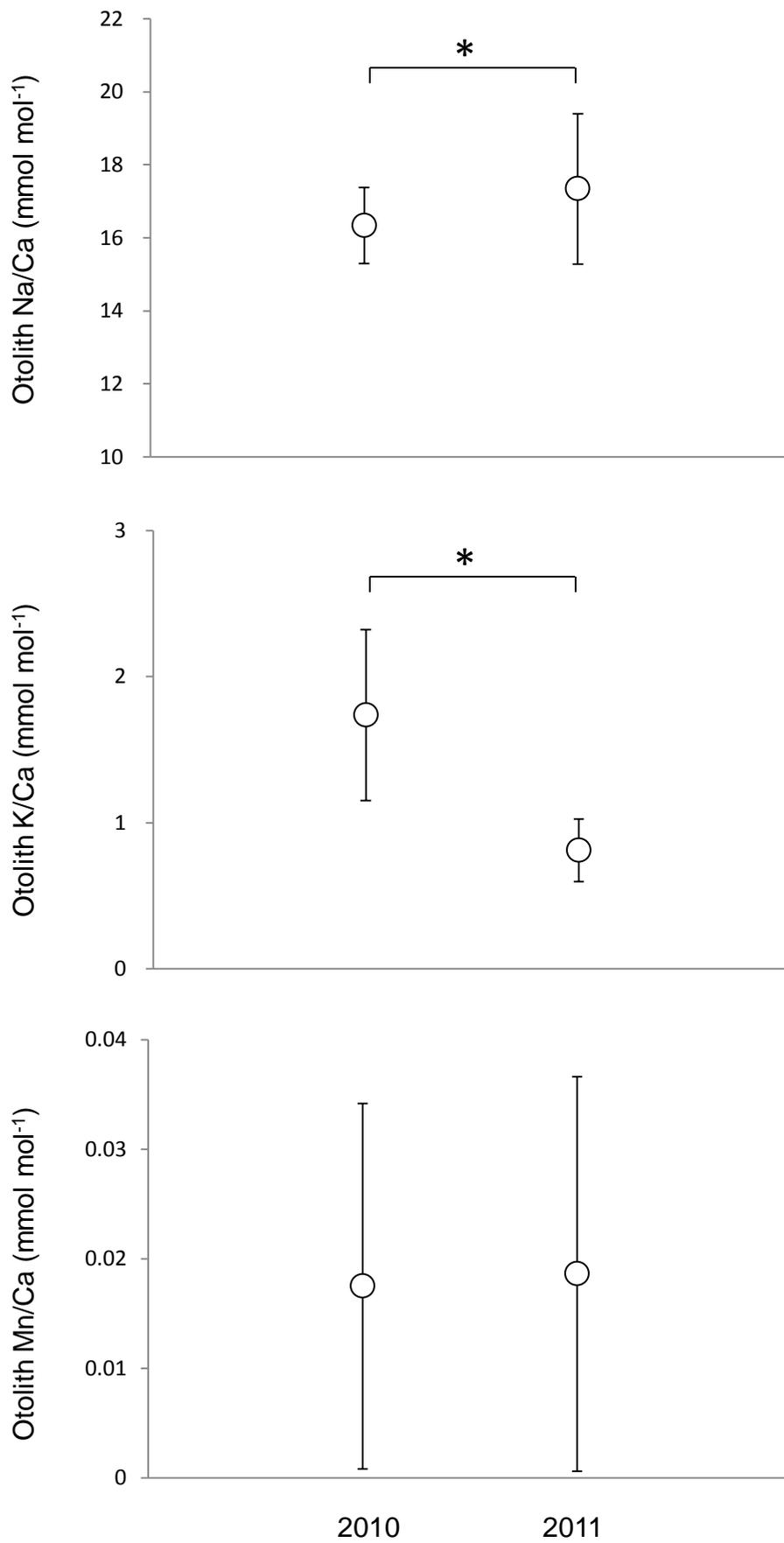


Fig. 2-6-1. Elemental ratios (mean \pm standard deviation) of otoliths of the Biwa salmon in the Ukawa River collected in 2010 and 2011.

* Indicates significant difference at $p < 0.05$ level.

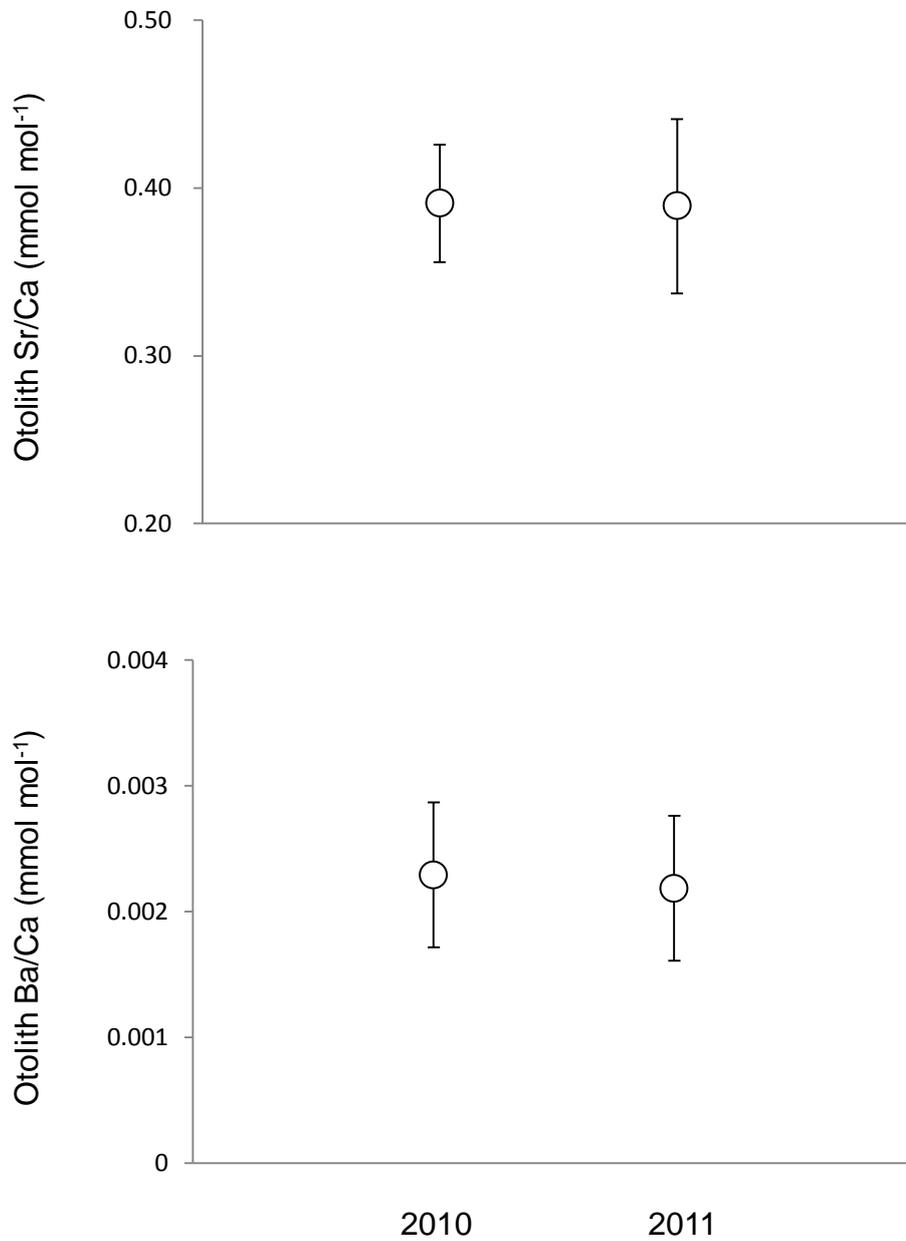


Fig. 2-6-2. Elemental ratios (mean \pm standard deviation) of otoliths of the Biwa salmon in the Ukawa River in 2010 and 2011.

* Indicates significant difference at $p < 0.05$ level.

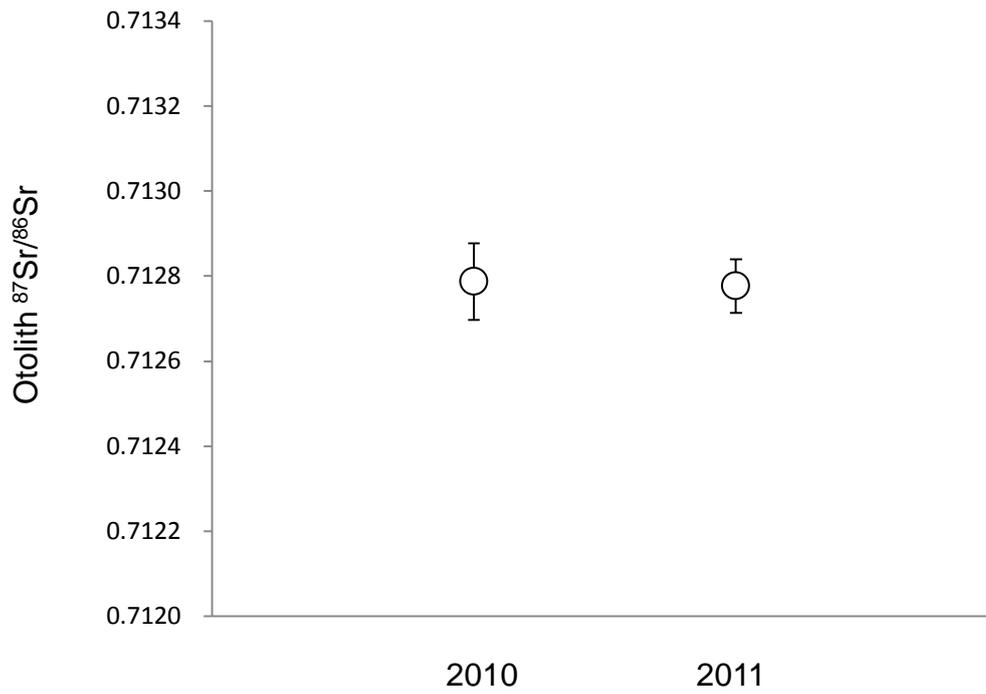


Fig. 2-7. Sr isotopic ratios (mean \pm standard deviation) of otoliths of the Biwa salmon in the Ukawa River in 2010 and 2011.

* Indicates significant difference at $p < 0.05$ level.

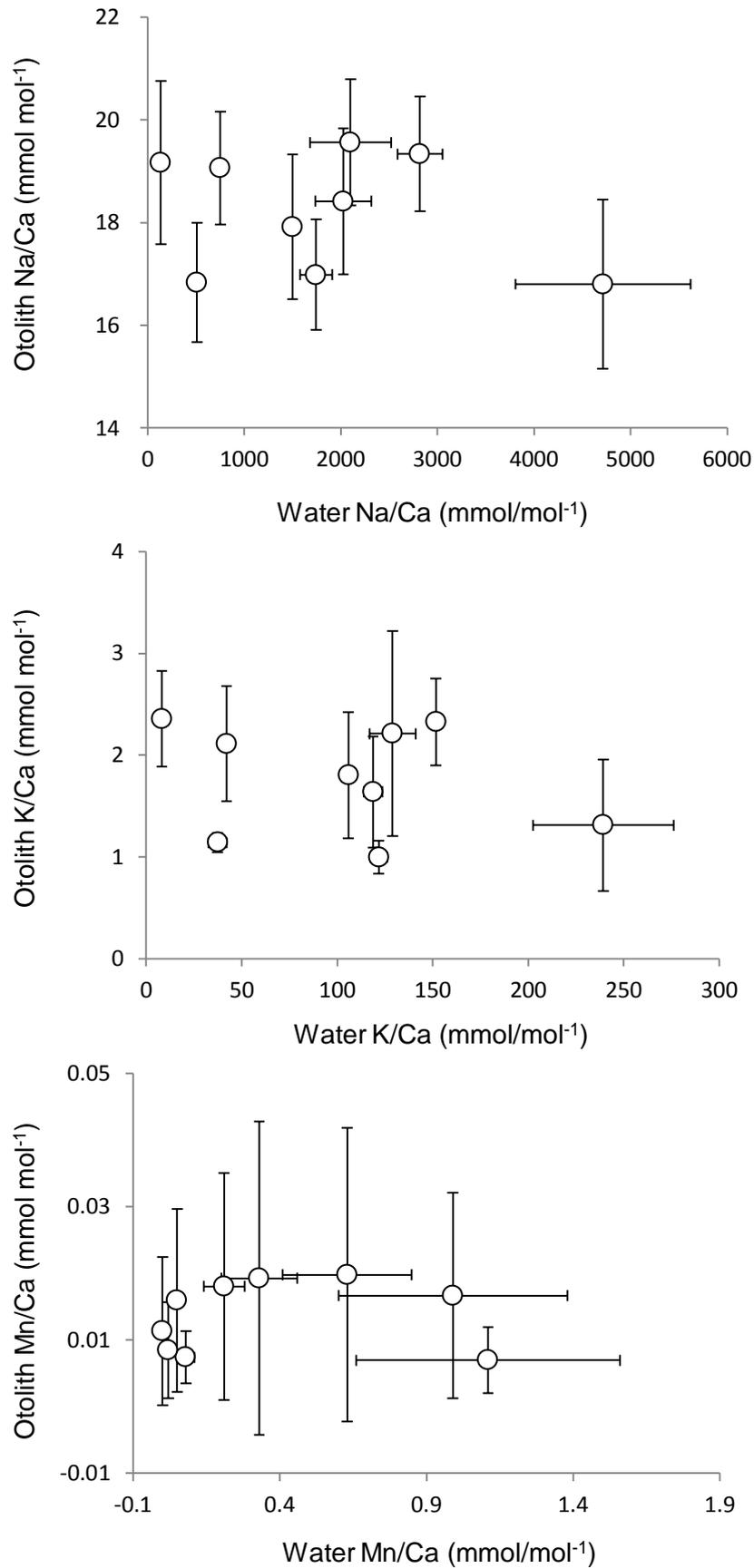


Fig. 2-8-1. Relationships between otoliths and ambient water samples with respect to elemental ratios. Values are for the 9 sampling locations from which the otoliths and water samples were collected. Regression equations were calculated using mean values. The vertical and horizontal lines at each point represent the standard deviation and analytical error, respectively.

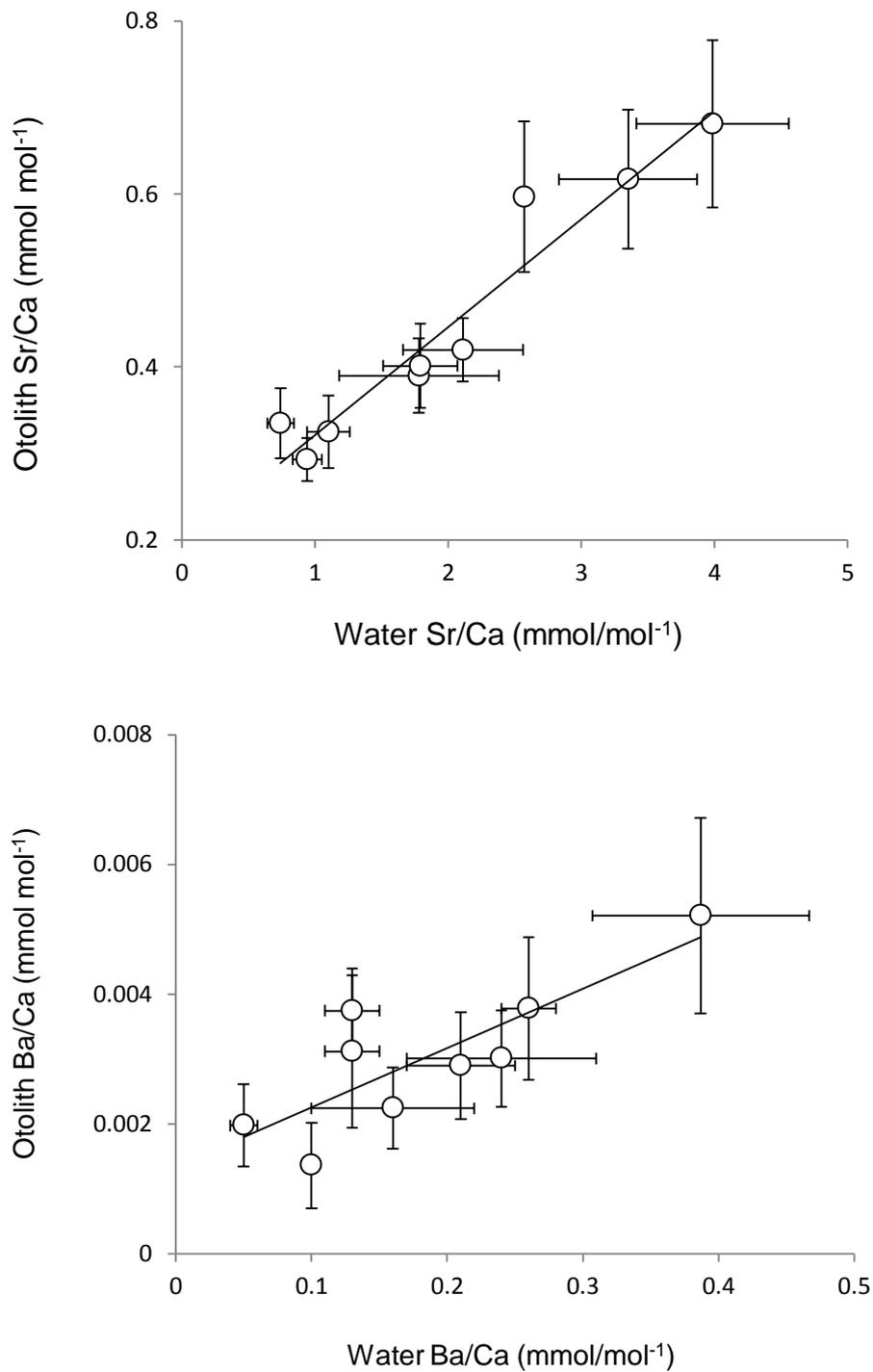


Fig. 2-8-2. Relationships between otoliths and ambient water samples with respect to elemental ratios. Values are for the 9 sampling locations from which the otoliths and water samples were collected. Regression equations were calculated using mean values. The vertical and horizontal lines at each point represent the standard deviation and analytical error, respectively. The slopes for the Sr/Ca, Ba/Ca are statistically significant.

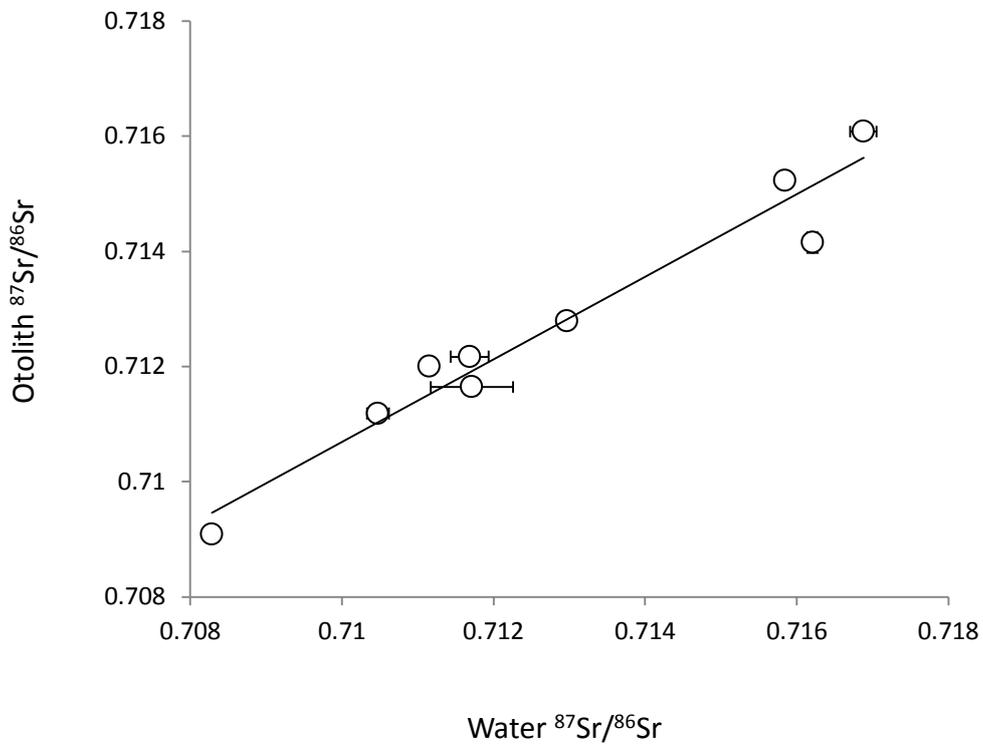


Fig. 2-9. Relationships between otolith and ambient water samples with respect to Sr isotopic ratios. Values are for the 9 sampling locations from which the otoliths and water samples were collected. Regression equations were calculated using mean values. The vertical and horizontal lines at each point represent the standard deviation and analytical error, respectively. The slopes for the ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr ratio are statistically significant.

素濃度の間には全ての元素で相関関係がみられなかった($r^2 = 0.00-0.15$, $p = 0.31-0.99$)。

第 5 項 耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比による非線形判別分析

耳石の微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を用いて、QDFA を行った(Table 2-2)。微量元素組成のみによる解析では、QDFA から得られた各地点の正判別率は 22-94 %で、平均正判別率は 69 %であった。微量元素組成に $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を加えて解析を行ったところ、正判別率は天野川を除くすべての河川で上昇し、57-100 % (平均: 86 %)と大幅に上昇した。特に、醒井養鱒場では 55 %から 100 %へ、知内川では 22 %から 57 %へ上昇した。

本節第 2 項の結果において採集地点間に有意差がみられなかった Mn/Ca と、第 3 項の結果において年による違いが認められた Na/Ca、K/Ca を除外し、Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ のみで解析を行ったところ、各地点の正判別率は 70-100 %となり、平均は 88 %であった(Table 2-2)。この値は、全微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ による正判別率とほぼ同じだった。さらに知内川では、解析に使用した元素(解析における群数)を減らしたにもかかわらず正判別率が 57 %から 70 %へ上昇し、他の地点でも正判別率は同水準かもしくは若干の上昇がみられた。

第 3 節 考察

第 1 項 微量元素組成と Sr 安定同位体比による母川判別の有用性

本研究において、ビワマス稚魚の耳石に含まれる微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ に基づいて母川を判別した結果、高い正判別率を得ることができた。特に Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ については、それらのみを判別に用いた場合でも高い正判別率を示した(70-100 %、平均 88 %)。この正判別率は、アメリカ合衆国カリフォルニアのマスノスケ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ による判別: 正判別率 94 %: Barnett-Johnson & Pearson 2008)、オーストリアのブラウントラウト *Salmo trutta* とニジマス *Oncorhynchus mykiss* (Na/Ca, Sr/Ca, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ による判別: 正判別率 100 %: Zitek et al. 2010)など過去のサケ科魚類の判別率と同程度に高く、耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比がビワマスにおいても母川判別に有用であるものと考えられた。さらに Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、河川ごとに異なり、環境水中の値と耳石での値に相関がみられ、経年変化も小さかったことから、母川を判別する指標として有用であると考えられた。Martin et al. (2013a) も Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ がタイセイヨウサケの出生場所の違いを最もよく反映する指標として評価し、稚魚耳石の Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ に基づいて支流間における遡上魚の回帰性を検討している。したがって、これら 3 つの値は、個体レベルでビワマスの母川を明らか

Table 2-2. Cross-validated classification rates (%) for quadratic discriminant function analysis assigned to sampling locations using otolith elemental data only as well as both elemental and Sr isotopic data.

Location	elemental only	All elemental and Sr isotopic data	Sr/Ca, Ba/Ca and Sr isotopic data
UKW	73	97	100
ADO	89	93	93
ISD	73	100	97
CHN	22	57	70
OKW	70	80	80
AMN	94	75	81
INK	57	77	77
TKS	90	97	97
SMG	55	100	100
Average	69	86	88

(%)

にするための指標として妥当性が認められる。以降、本研究では、Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を母川指標として総称する。

第2項 経年変化の影響

耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比による母川判別では、これらの値が経年変化する可能性を考慮しなければならない(Campana 1999, Elsdon et al. 2008)。本研究では、耳石の Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では 2010 年と 2011 年の間で有意な差はみられなかった。陽イオン元素である Ca、Sr、Ba は主に流域の地質によって影響を受けるため、河川水中の組成の変動が小さい(川幡 2008)。そのため、環境水の影響を受ける耳石の微量元素組成の中でも、年変動が小さかったものと考えられた。また、河川水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は流域の地質との関係性が主要な変動要因であるため、耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は季節変動や経年変化を起こしにくい(Faure & Mensing 2005, Nakano et al. 2005, 2008)。

本研究で測定した 2009 年から 2011 年の Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と、Nakano et al. (2008) による 2003 年の河川水の値に基づき、経年変化を相対標準偏差(%、RSD)で表わしたところ、Sr/Ca と Ba/Ca では 20 %以下、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では 3 %以下であった。つまり、琵琶湖水系河川の Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の値は、2003 年と 2009 年から 2011 年の間の比較ではあるものの、長期にわたって安定しており、その結果として、環境水中の組成と強い相関関係のある耳石の Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ も経年的な変動が小さいと考えられる。よって、耳石の Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、異なる年級群間でも安定した指標としてみなすことができる。

第3項 母川判別の空間的解像度

本研究において、安曇川、石田川、高島事業所は相互の地理的距離が 10 km 以内であるにもかかわらず、耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は異なった値を示し、QDFA による正判別率は 93 %以上と高かった(Table 2-2, Fig. 2-1)。このように距離的に近い地点間における耳石の微量元素組成や安定同位体比の際立った差異は、カナダのニューファンドランド島の Rainbow smelt *Osmerus mordax* で報告されている。Rainbow smelt では生息河川間の距離が 20 km 以内にある個体群間で耳石の微量元素組成と安定同位体比に有意な差がみられ、耳石による生息地の判別が高精度で可能であった($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ による判別: 正判別率 87 %) (Bradbury et al. 2011)。この報告では、耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の差異が正判別率に最も影響していた。本研究においても、耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は採集地点間で有意な差がみられ、QDFA による解析において

微量元素組成に $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を加えた正判別率は、微量元素組成のみの検定に比べて平均値が 17 % 高い 86 % となった。

耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は同一河川の個体間の値のばらつきが小さいため、河川間の差異を高精度で表わすことができる(Kennedy et al. 1997, 2000, Ingram & Weber 1999, Amakawa et al. 2012)。耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、流域の地質年代によって変化する河川水の値と強い正の相関関係を示すため、生息河川水の地理的な違いが耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の差異につながる可能性が大きい(Kennedy et al. 1997, 2000, Ingram & Weber 1999, Amakawa et al. 2012)。Nakano et al. (2008)は琵琶湖水系河川の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が河川間で異なることを報告しており、本研究でも同様の結果を得た。琵琶湖水系の河川は互いに近い距離にあるといえるが、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を判別に用いることで、近隣の河川であっても詳細な母川判別が可能になるものと考えられた。

第 4 項 耳石の微量元素組成に影響を与える要因

多くの魚種で耳石の微量元素組成により生息場所が判別できたことが報告されている(American shad *Alosa sapidissima*: Thorrold et al. 1998, Yellow perch *Perca flavescens*: Brazner et al. 2004, Pangle et al. 2010, ニシン *Clupea pallasii*: Yamane et al. 2010)。本研究で、稚魚耳石の微量元素組成には採集地点間で有意な差がみられたものの、微量元素組成のみを用いた QDFA による平均正判別率は 69 % であった。また、その正判別率は母川ごとに大きくばらつき、安曇川、天野川、高島事業所で約 90 % の正判別率を得たものの、知内川と犬上川、醒井養鱒場では正判別率は 22-57 % の範囲にあった。このことは、耳石の微量元素組成のみでは、ビワマスの母川を判別する指標としては不十分であることと、適切な指標の選択が判別の成功率を高めるために重要であることを意味している。

耳石の微量元素組成は、水温、塩分、環境水中の微量元素組成等の環境的要因(Elsdon & Gillanders 2002, Martin & Thorrold 2005, Elsdon et al. 2008)と、成長率、成熟、食性等の生物学的要因(Kalish 1989, Chittaro et al. 2006)に影響を受けて変化する。ビワマス耳石の Sr/Ca と Ba/Ca は、それらの環境水での値との間に有意な相関関係がみられたことから、環境水の Sr/Ca と Ba/Ca が耳石に強い影響を及ぼし採集地点間の有意差をもたらしたと考えられる。また、河川の水温の違いが稚魚耳石の微量元素組成に影響していることも考えられる。沿岸性魚類では、塩分が同等で水温が異なる環境で飼育されたとき、耳石の Sr/Ca と Ba/Ca に差異がみられることが報告されている(Barnes & Gillanders 2013, Reis-Santos et al. 2013)。本研究に供した稚魚の河川生活期である 10 月から 3 月までの各月の平均水温は、最低水温が安

曇川の 8.7℃、最高水温が犬上川の 12.0℃であり、その差は 3.3℃であった(水温データ; 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター, www.lberi.jp/root/jp/bkjindex.htm)。このような経験水温の違いが、ビワマス稚魚の耳石の微量元素組成における採集地点間の差異を生み出す要因の一つとして挙げられる。しかしながら、環境水中の微量元素組成が耳石に取り込まれる過程や、その過程で微量元素組成の沈着に影響する要因については未だ不明な点が多い。本研究においては、ビワマス稚魚の耳石の微量元素組成の一部で環境水との相関関係が示された。今後、耳石の微量元素組成による母川判別を多くの魚種で適用し、その有用性を高めるためには、環境あるいは生物学的な要因が耳石の個々の微量元素組成に与える影響を明らかにする必要がある。

第 5 項 母川判別結果の拡張

本章では、ビワマス稚魚の耳石で母川指標を調べることで、調査河川である 7 河川と 2 ヶ所の養鱒場を高い精度で判別できることが示された。しかし、河川によっては正判別率が低く、環境水の水温や微量元素組成の経年変化、成長率などの要因により母川指標が変化することも考えられる。さらに、降湖後の湖内回遊個体や産卵遡上個体を判別する際には、本章で母川指標を得た調査河川以外を母川に持つ個体も存在する可能性がある。そのため、本章で得た母川指標のみの母川判別では、結果に誤判別が含まれる可能性が否定できない。しかしながら本章で、母川判別において正判別率に最も貢献する耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の値は河川水の値と相関し、明瞭な差はないものの地域ごとに異なる値を示したことから、本章の調査河川とその近隣河川では母川指標も類似した値を示すものと推察される。Nakano et al. (2008)は琵琶湖に流入する 41 河川の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の値を測定し、河川水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は地域によってまとめ、西部の河川の値の範囲は 0.7126-0.7175、北部では 0.7100-0.7111、東部では 0.7100-0.7131 であると報告した。これは琵琶湖水系の地質の形成年代が琵琶湖西部と東部で異なり、西部が第四紀更新世、東部が新第三紀鮮新世に形成された岩石が構成の中心となっていることに起因する。

以上のことから、耳石の微量元素分析と Sr 安定同位体比分析に基づいた母川判別においては、ビワマスの母川は、判別結果に誤判別が含まれる可能性があるものの、判別された母川、もしくは類似した $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を示す近隣河川が母川である可能性が高いと考えられる。以降の章においては、母川指標を Nakano et al. (2008)の結果に基づいて西部(鶴川、安曇川、石田川)、北部(知内川、大川)、東部(天野川、犬上川)とまとめ、母川判別の結果では、各地

域への回帰率も示した。

また、放流稚魚の耳石 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の値は、高島事業所で養育された個体で西部の河川の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ に、醒井養鱒場で養育された個体で東部の河川のものに類似している(Nakano et al. 2008)。さらに、高島事業所で養育された稚魚は主に西部の河川へ、醒ヶ井事業所で養育された稚魚は主に東部の河川に放流される。ビワマスの母川記銘の時期についての情報は無いが、ビワマスの基亜種のサクラマスでは銀化変態時に母川が記銘されると考えられている(Kudo et al. 1994, Dittman et al. 1996)。サクラマス *Oncorhynchus. masou masou* と同様であると仮定すると、放流されるビワマス稚魚は体長 50 mm 程度まで各養鱒場で養育され、銀化変態する前の 3 月下旬に河川へ放流されているため、放流稚魚が母川として記銘するのは養鱒場でなく放流河川であると考えられる。以上のことから、養鱒場に判別された個体は、高島事業所が西部、醒ヶ井事業所が東部の河川に由来した個体であるとみなすことが妥当であろう。

第3章 母川判別に基づいた湖内での回遊生態の検討

ビワマスは、サケ科魚類が降河し海で成長するように、琵琶湖内で成長する。しかし、ビワマスの湖内での回遊生態に関する知見は少ない。そこで本章では、ビワマスの湖内での回遊生態を明らかにすることを目的とした。まず、第2章で得た母川指標(Sr/Ca, Ba/Ca, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)に基づき、湖内回遊個体の母川を判別し、湖内に生息するビワマスの生態について考察する。さらに湖内回遊個体の体長、成熟度、胃内容物、採集された水深・水温を調べ、琵琶湖内での回遊や分布に関する知見を蓄積した。

第1節 材料と方法

第1項 湖内回遊魚の採集と環境データの取得

琵琶湖内のなるべく広い範囲を網羅するように、琵琶湖北湖の鵜川沖(西部)、今津沖(北部)、長浜沖(東部)を採集地点とした。湖内を回遊する銀化したビワマス計51個体を、引縄釣りによって採集した(Fig. 3-1)。採集は、2009年12月1日と2010年7月26日に鵜川沖、2009年8月18日と2010年1月25日に今津沖、2010年4月25日に長浜沖で行った。ビワマスを採集する深度は魚群探知機によって選定した。漁具による採集可能深度は約40mであった。同時に、疑似餌付近のハリスに装着したデータロガーで、ビワマスが針にかかった深度(採集深度)と水温(採集水温)を記録した。さらに採集日毎に採集地点の鉛直水温をデータロガーによって測定した。採集魚は全て冷凍し研究室に持ち帰った。

第2項 標本処理

全供試魚について体長(BL)、体重(BW)を計測し、サケ科魚類の成熟雄特有の形態的特徴である鼻曲りの有無と生殖腺の形態から肉眼で性判別を行い、生殖腺重量(GW)を計測した(Table 3-1)。成熟度を調べるために、体重(BW)と生殖腺重量(GW)より生殖腺指数(GSI)を式3-1に従って算出した。

$$\text{GSI} = (\text{GW}/\text{BW}) \times 100 \quad (3-1)$$

Table 3-1 Biological characteristics of 3 sampling locations collected between 2009 and 2010. Sampling No., sampling location, sex, sampling data, body length (BL), bode weight (BW), gonad somatic index (GSI), stomach contents, sample for otolith elemental and Sr isotopic analysis (analysis) are shown.

Sample No.	Location	Date	Sex	Sampling Data		BL (mm)	BW (g)	GSI	Stomach contents (g)	analysis	
				method	depth (m)						Temperature (°C)
1243	Ukawa Offshore	1 Dec, 2009	-	Trolling	22	14.0	275	297	-	Species of fish (10.1)	○
1244	Ukawa Offshore	1 Dec, 2009	-	Trolling	10	14.0	280	291	-	Species of fish (0.6)	○
1245	Ukawa Offshore	1 Dec, 2009	♀	Trolling	5	14.0	430	1196	0.42	empty	○
1246	Ukawa Offshore	1 Dec, 2009	-	Trolling	13	14.0	255	200	-	empty	○
1247	Ukawa Offshore	1 Dec, 2009	♀	Trolling	11	14.0	420	1047	0.19	Species of fish (5.3)	○
1248	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	-	Trolling	18	12.0	289	331	-	empty	-
1249	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	♀	Trolling	24	10.1	332	657	0.18	empty	-
1250	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	♀	Trolling	16	13.3	353	815	0.06	empty	-
1251	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	-	Trolling	14	13.8	295	437	-	empty	-
1252	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	-	Trolling	15	12.7	252	208	-	empty	○
1253	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	♀	Trolling	12	12.5	389	1110	3.58	empty	○
1254	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	♀	Trolling	22	10.9	455	1984	3.56	Species of fish (0.1)	○
1255	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	♂	Trolling	18	11.8	374	1166	2.27	empty	○
1256	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	-	Trolling	17	13.5	347	711	-	Species of fish (2.9)	○
1257	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	♀	Trolling	13	14.4	343	757	0.25	empty	-
1258	Ukawa Offshore	26 Jul, 2010	-	Trolling	14	13.8	269	310	-	empty	-
71	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	-	Trolling	16	15.0	217	140	-	empty	-
72	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♂	Trolling	19	14.0	240	228	3.91	empty	○
73	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♀	Trolling	18	13.0	272	348	0.17	empty	-
74	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♀	Trolling	19	12.0	236	198	0.20	empty	-
75	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♂	Trolling	22	14.0	272	330	0.83	<i>Jesogammarus annandalei</i> (0.1)	-
76	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♀	Trolling	16	14.0	310	446	3.59	<i>Jesogammarus annandalei</i> (2.05)	○
77	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♀	Trolling	22	12.0	320	477	2.83	<i>Jesogammarus annandalei</i> (3.47)	○
78	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♂	Trolling	20	14.0	335	584	0.47	empty	-
79	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♀	Trolling	19	11.0	443	1443	0.36	Species of fish (2.27)	○
80	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♂	Trolling	25	13.0	425	1328	2.56	empty	○
81	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♀	Trolling	26	12.0	341	684	5.92	<i>Jesogammarus annandalei</i> (0.09)	-
82	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♀	Trolling	20	15.0	377	899	5.43	Species of fish (0.09)	-
83	Imadu Offshore	18 Aug, 2009	♀	Trolling	21	13.0	402	1124	4.46	Species of fish (0.06)	-
1238	Imadu Offshore	25 Jan, 2010	-	Trolling	15	8.0	362	845	-	<i>Jesogammarus annandalei</i> (0.9)	○
1239	Imadu Offshore	25 Jan, 2010	-	Trolling	10	8.0	313	520	-	empty	○
1240	Imadu Offshore	25 Jan, 2010	-	Trolling	15	8.0	288	362	-	<i>Jesogammarus annandalei</i> (0.9)	○
1241	Imadu Offshore	25 Jan, 2010	♂	Trolling	16	8.0	424	1157	0.67	<i>Jesogammarus annandalei</i> (0.8)	○
1242	Imadu Offshore	25 Jan, 2010	♀	Trolling	10	8.0	352	587	0.37	Species of fish (1.7) <i>Jesogammarus annandalei</i> (0.1)	○
1259	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	♀	Trolling	11	9.0	385	644	0.48	<i>Jesogammarus annandalei</i> (0.9)	○
1260	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	♀	Trolling	33	8.6	358	631	0.62	empty	○
1261	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	31	8.8	425	993	-	empty	○
1262	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	31	8.8	350	496	-	empty	-
1263	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	22	9.0	325	463	-	empty	-
1264	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	15	9.1	357	542	-	empty	-
1265	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	32	8.8	302	353	-	empty	-
1266	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	24	9.0	235	152	-	empty	○
1267	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	14	9.0	290	327	-	empty	-
1268	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	22	9.0	373	673	-	empty	-
1269	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	♀	Trolling	24	9.0	335	482	0.54	empty	-
1270	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	♀	Trolling	20	9.0	335	464	0.32	empty	-
1271	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	35	8.6	350	523	-	empty	-
1272	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	25	8.9	285	280	-	empty	-
1273	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	♀	Trolling	10	9.0	295	315	0.32	empty	-
1274	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	33	8.7	340	478	-	empty	-
1275	Nagahama Offshore	25 Apr, 2010	-	Trolling	25	9.0	360	628	-	empty	-

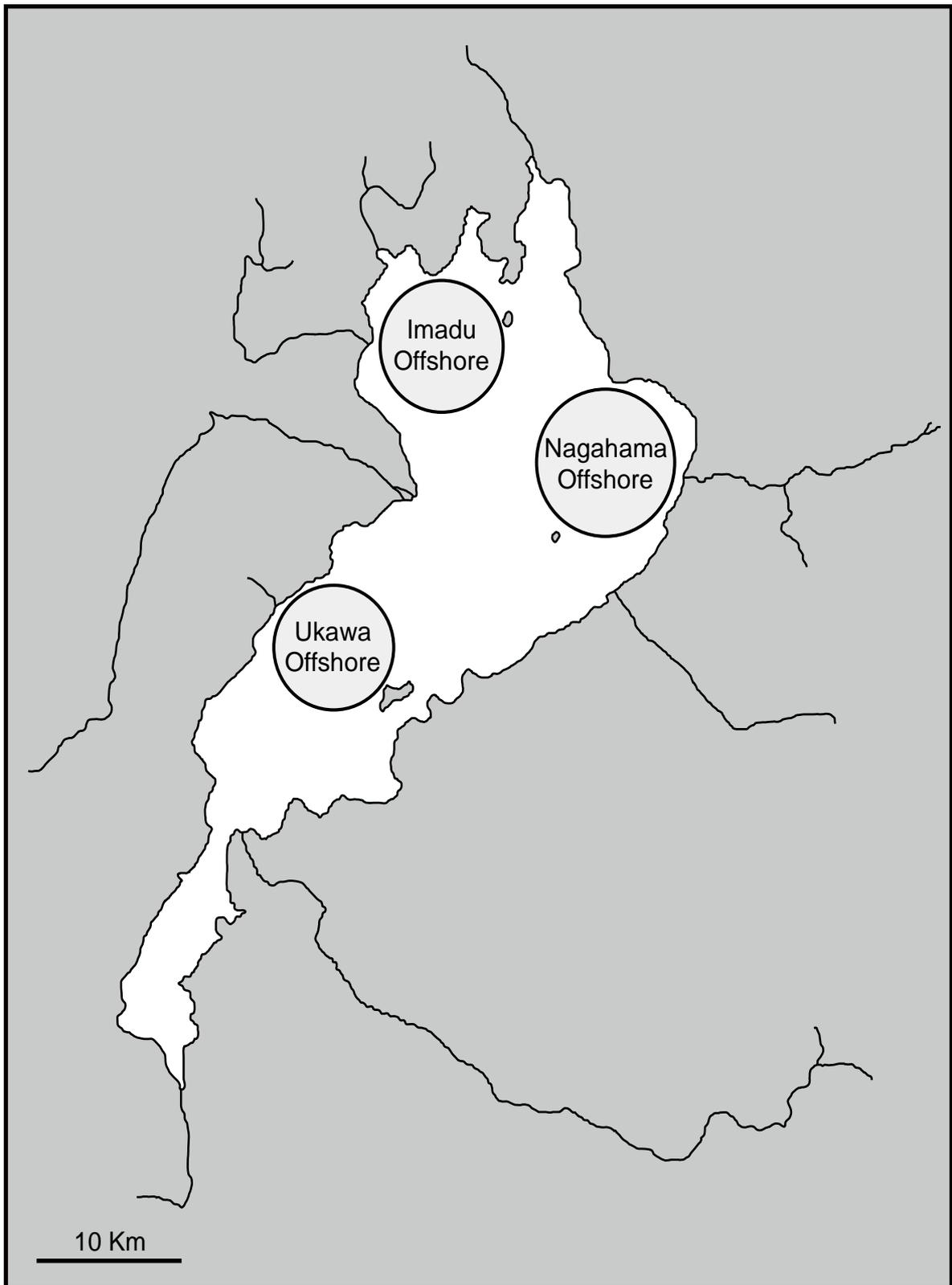


Fig. 3-1 Sampling sites of Biwa salmon in Lake Biwa.

また、ピワマスの食性を明らかにするために、胃内容物を調べた。胃内容物はできる限りの種査定を行い、その重量を計測した。その後、耳石を摘出し Milli-Q 水(Millipore)を用いて複数回洗浄し、十分に室温で乾燥させた。耳石は、清浄なプラスチック製ケースに保存した。

摘出した耳石の河川生活期にあたる核周辺(河川生活期部分)を分析するため、耳石切片を第2章の第1節第5項と同様の方法で作製した。分析を行ったサンプルは、2009年12月と2010年7月に鶴川沖で採集した各5個体(平均体長±標準偏差: 348 ± 60 mm)、2009年8月と2010年1月に今津沖で採集した各5個体(348 ± 80 mm)、2010年4月に長浜沖で採集した4個体(351 ± 42 mm)である(Table 3-1)。これらのサンプルは全採集魚から無作為に抽出し、微量元素分析には左側の耳石を、Sr 安定同位体比分析($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)には微量元素分析に用いた耳石に加えて右側の耳石も用いた。

第3項 耳石の微量元素分析

耳石の河川生活期部分の微量元素組成を LA-ICP-MS を用いて、第2章の第1節第5項と同様の方法で測定した。測定元素は母川指標として設定した ^{43}Ca 、 ^{88}Sr 、 ^{138}Ba とした。このとき分析範囲は河川生活期に形成された耳石部分、すなわち耳石の核を中心に $400 \mu\text{m}$ の範囲を短径方向へ連続的にレーザーを走査照射した。この照射範囲は、降湖前の稚魚耳石の短径が $333\text{-}599 \mu\text{m}$ (平均 $395 \mu\text{m}$)であったことから、なるべく降湖後に形成された耳石の部分の分析に含まないように設定した(第2章, Table 2-1)。照射したレーザー径は $65 \mu\text{m}$ 、周波数は 10 Hz 、移動速度は $5 \mu\text{m s}^{-1}$ に設定した。なお、微量元素組成の分析後、同じ耳石切片を $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 分析に用いることから、河川生活期部分をなるべく多く残すためレーザーによる照射は長径ではなく短径で行うこととした。LA-ICP-MS による分析方法および各標準物質は第2章の第1節、第4項に記したものと同様である。走査照射することで得られた耳石の微量元素の ^{43}Ca との mol 比の平均値を各個体の代表値として解析に用いた。本項における分析において、各元素は検出限界値より高い値を示した。また、分析の繰り返し再現性を表す JCp-1 の相対標準偏差(%、RSD)は Sr/Ca: 1.80、Ba/Ca: 3.35 であり、十分な再現性を示した。

第4項 耳石の Sr 安定同位体比分析

耳石の河川生活期部分の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を分析するために、Takahashi et al. (2006, 2009) に従い Micro-Drilling 法による掘削を行った。また、本実験は独立行政法人海洋研究開発機構のマイクロサンプリング装置(MicroMill, New wave Research)を使用した。この装置は顕微鏡とマイクロドリルからなる本体部分と、それを制御するコンピューターから構成されており、本体部分はクリーンブース内に設置されている。

耳石の掘削範囲は、本節第4項と同様に稚魚耳石の大きさを基に決定した(Table 2-1)。稚魚の耳石は長径と短径の平均がそれぞれ約 600 μm 、約 400 μm であったため、核から長軸は 600 μm 以内、短軸は 400 μm 以内を掘削範囲とした。また、稚魚の耳石の厚さが約 100 μm であったため、掘削深度は 40 μm に設定した。掘削点は直径約 100 μm で、掘削範囲内に約 10 点行った。掘削によって得られる粉末試料を効率よく回収するために、掘削は耳石切片の掘削点上に Milli-Q 水を一滴たらし、その水滴中で行った。その後、予め酸洗浄しておいた PTFE バイアルに耳石粉末試料を Milli-Q 水ごと回収し保存した。左右の耳石切片で同様に掘削した粉末試料を合わせ、1 個体の分析試料とした。

Micro-Drilling 法で得られた粉末試料は閉鎖型クリーンエバポレーターを用いて乾燥させた後、7M HNO_3 を 0.5 ml 滴下し、完全に溶解させた。第2章の第1節第5項と同様の方法で、耳石の Sr 分離・抽出実験および TIMS による $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の分析を行った。本項の分析における NIST SRM 987 の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の測定値は、 0.710248 ± 0.000015 (2σ , $n = 12$) であった。

第5項 統計解析

母川指標を用いて非線形判別分析(QDFA)を行い、湖内回遊個体の母川を判別した。本研究では琵琶湖流入河川のうち一部でしか母川指標を得ておらず、湖内回遊個体の母川判別を行うに当たっては、対象河川以外を母川に持つ個体も存在する可能性が高く、誤判別を含む可能性がある。しかし、第2章で考察したように(第2章第3節第5項)、河川レベルではなくとも、地域レベルでは正確に判別できると考えられる。そこで本章では、地域毎にまとまりがみられる $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の値と Nakano et al. (2008) の結果を参考に、母川指標を西部(鶴川, 安曇川, 石田川, 高島事業所)、北部(知内川, 大川)、東部(天野川, 犬上川, 醒井養鱒場)に分け、湖内回遊個体がどの地域から由来したかを示した。解析は、R (ver. 3.0.1)を用いて行った。

第2節 結果

第1項 採集深度と採集水温

採集地点の鉛直水温は季節によって変化した(Fig. 3-2)。1月と4月は表層から水深50 mまで約8°Cで一定の値を示した。7月と8月は水温躍層が形成され、表層(27°C)から20 m(10°C)まで徐々に下降し、20 m以下からは約8°Cで安定した。12月では、表層から30 mまで14°Cで一定となり、30 mから10°C以下に下降した。

採集水温は、全個体でいずれも15°C以下(範囲 8-15°C)であった(Table 3-1, Fig. 3-3)。採集深度は、水温躍層が形成されていた8月では16-26 m(平均20 m)、7月では12-24 m(平均17 m)であり、弱く成層している1月(10-16 m: 平均13 m)、躍層が消えた4月(10-35 m: 平均24 m)と12月(5-21 m: 平均12 m)では比較的浅い深度で採集される個体が多かった(Table 3-1, Fig. 3-3)。鵜川沖と今津沖に限って比較すると、冬季と夏期の採集深度にはほとんど重複がみられなかった。ビワマスが採集された深度と水温の関係を比較すると、表層水温が15°C以下であった12月から4月の採集では5-35 mで採集されたが、表層水温が25°Cを超える7月と8月の採集では水温が15°C以下になるそれぞれ12 m、16 m以深で採集された。

第2項 性別・体長組成・GSI・胃内容物組成

採集されたビワマス51個体の体長は217-455 mm(平均値±標準偏差: 333 ± 59 mm)であった(Table 3-1, Fig. 3-4)。2009年12月に鵜川沖で採集された5個体の体長の範囲は255-430 mm(332 ± 85 mm)、2010年7月に同地点で採集された11個体では252-455 mm(336 ± 59 mm)、2009年8月に今津沖で採集された13個体の体長の範囲は217-443 mm(322 ± 74 mm)、2010年1月に同地点で採集された5個体では288-424 mm(348 ± 52 mm)、2010年4月に長浜沖で採集された17個体の体長の範囲は235-425 mm(335 ± 44 mm)であった(Table 3-1, Fig. 3-5)。時期または採集場所が異なっても、体長組成は同様だった。

採集された湖内回遊個体について性判別を行った結果、全51個体中、雌が21個体(41%)、雄が6個体(12%)、肉眼では性判別できない個体が24個体(47%)出現した(Table 3-1)。性別による体長の範囲は、雌で236-455 mm(356 ± 56 mm)、雄で240-425 mm(345 ± 77 mm)、判別できなかった個体では217-425 mm(310 ± 50 mm)であった(Fig. 3-6)。雌雄とも体長組成は同様だった。雌21個体と雄6個体のGSIの範囲は雌で0.06-5.92(1.61 ± 1.97)、雄で0.47-3.91(1.79 ± 1.36)であった(Table 3-1)。雌では体長300 mm以上でGSIの上昇がみられた(Fig. 3-7)。

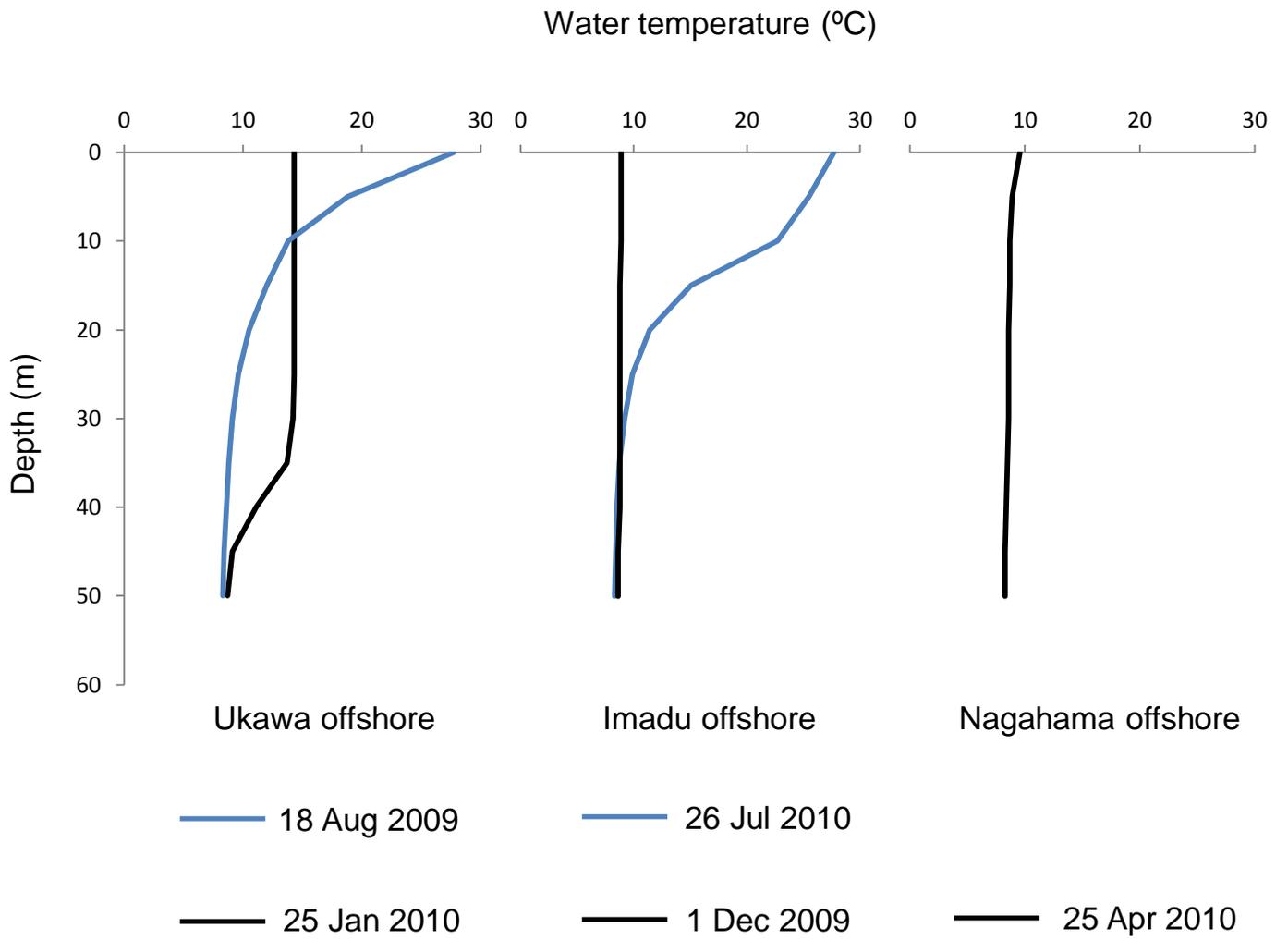


Fig. 3-2. Water temperature of vertical direction at sampling sites in Lake Biwa

- △ 2010.4.25 Nagahama offshore
- 2010.7.26 Ukawa offshore
- 2009.12.1 Ukawa offshore
- 2009.8.18 Imadu offshore
- 2010.1.25 Imadu offshore

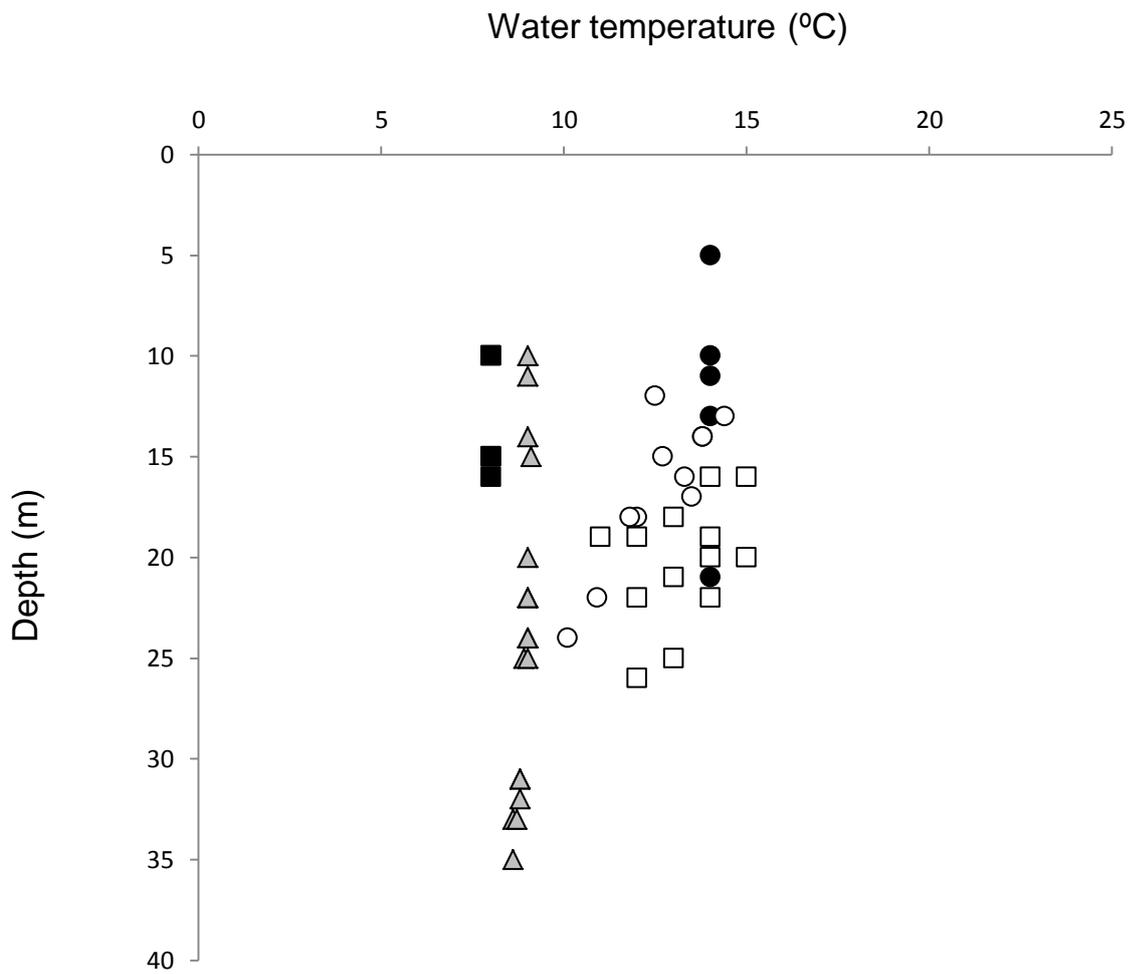


Fig. 3-3. Depth and water temperature when Biwa salmon hook at sampling sites of Lake Biwa

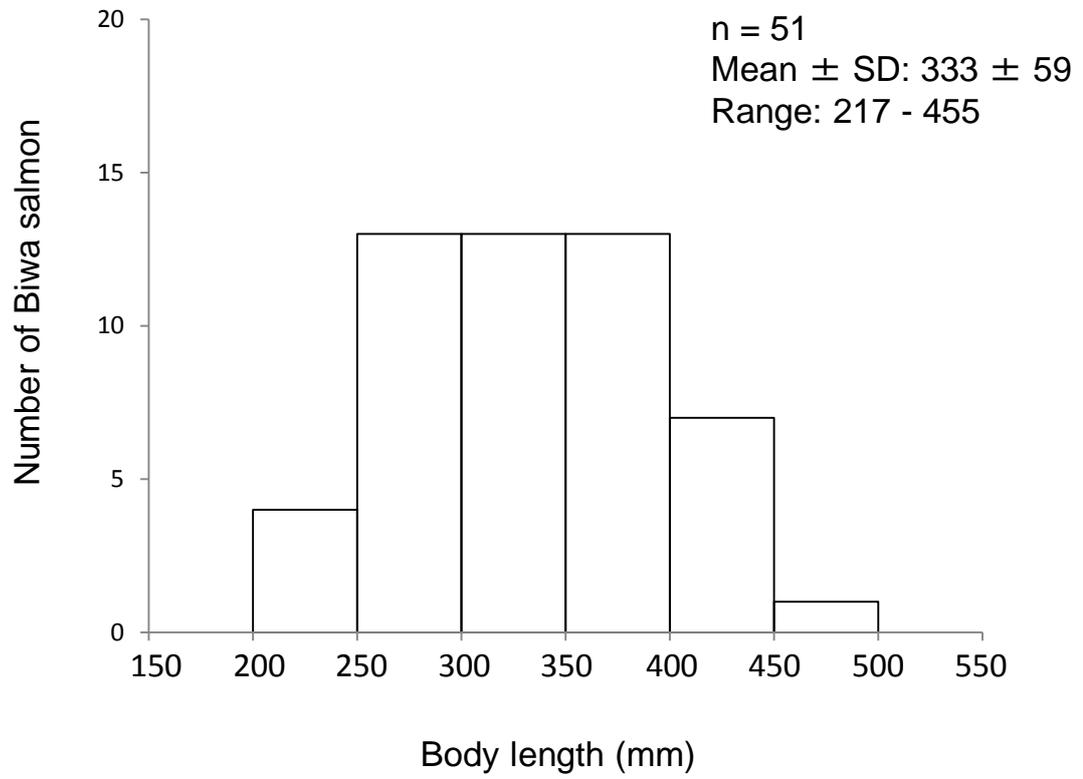


Fig. 3-4. Size distribution of Biwa salmon in Lake Biwa.

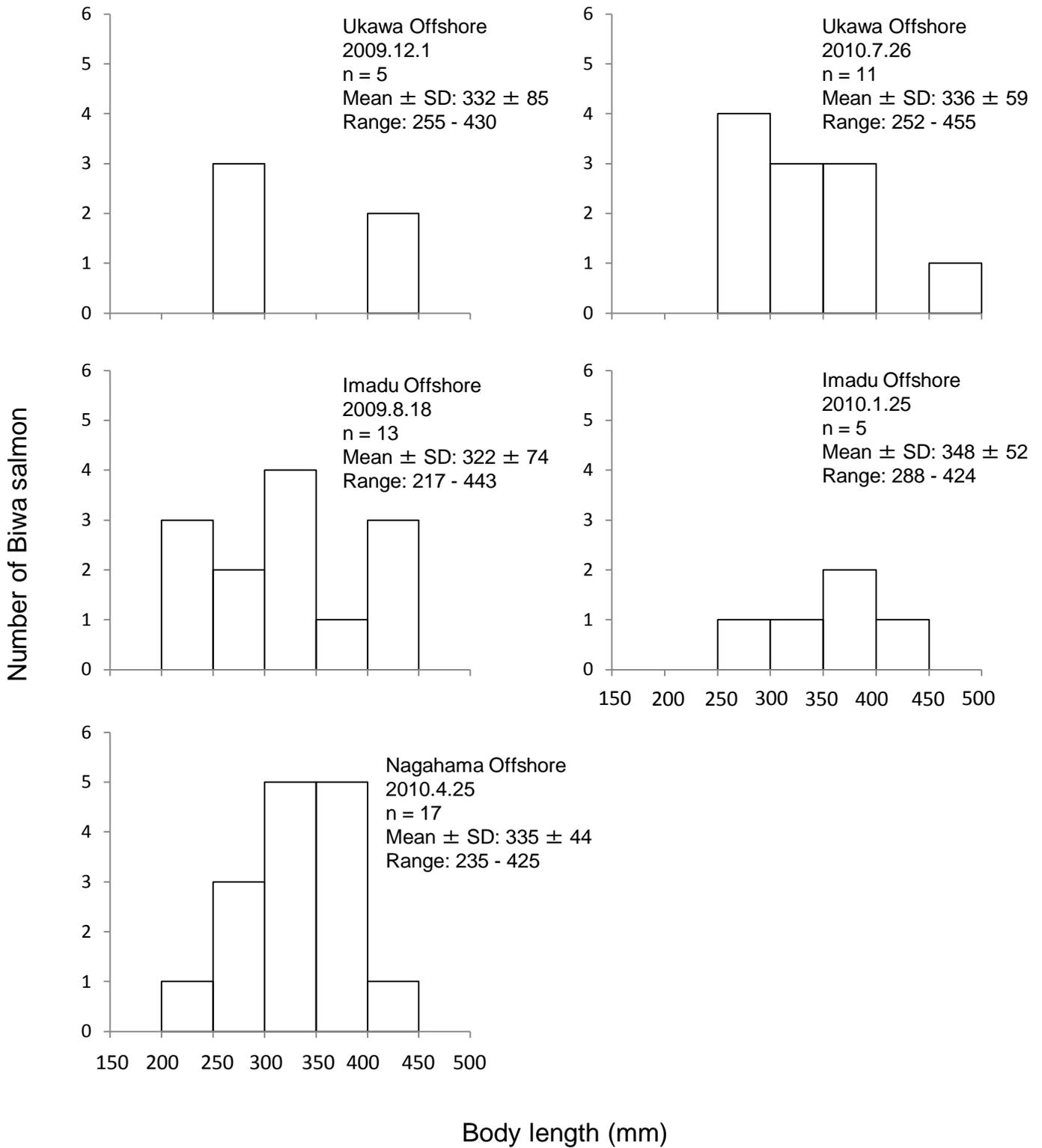


Fig. 3-5. Size distribution of Biwa salmon in each sampling site of Lake Biwa.

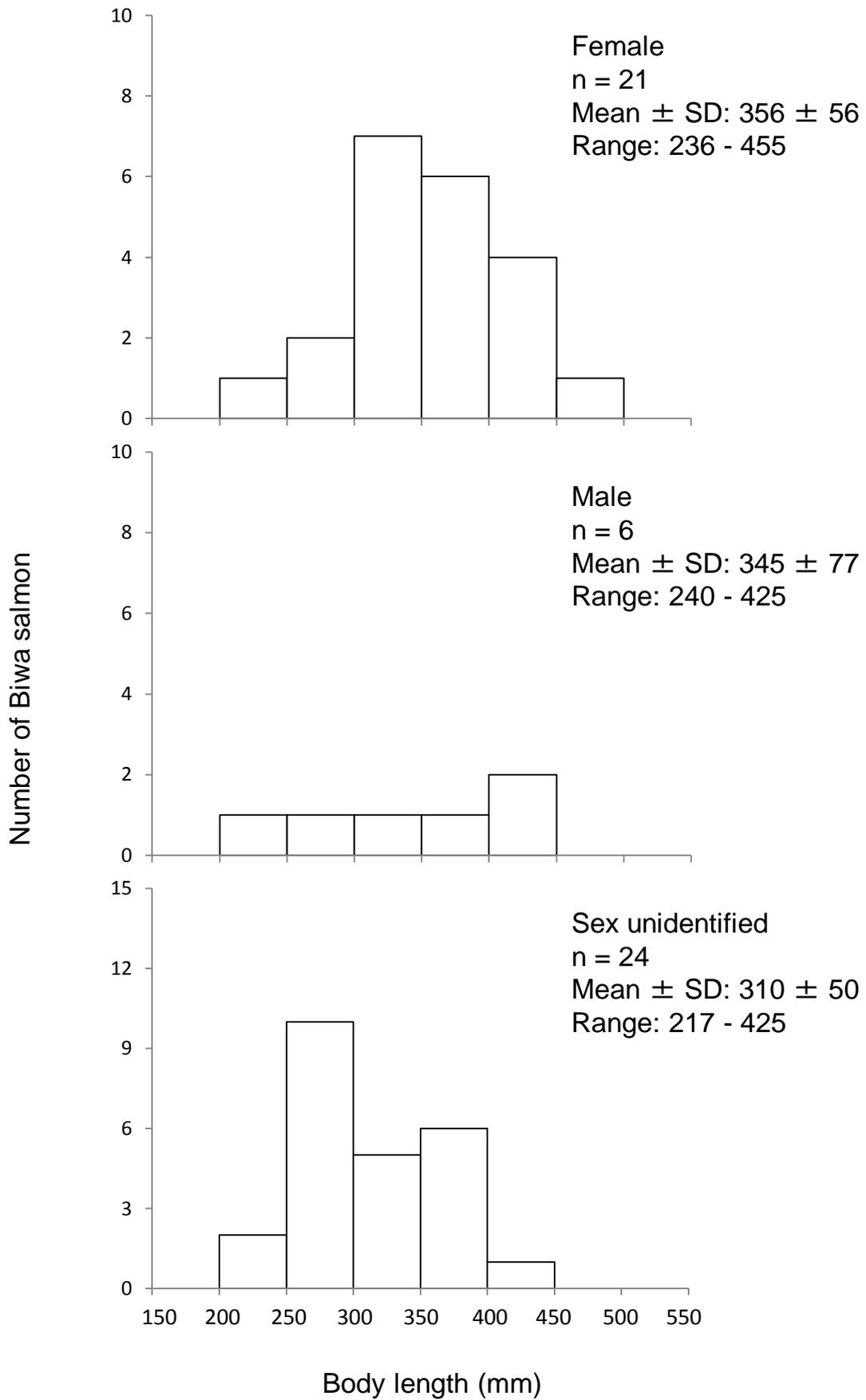


Fig. 3-6. Size distribution of females, males and sex-unidentified fishes of Biwa salmon in Lake Biwa.

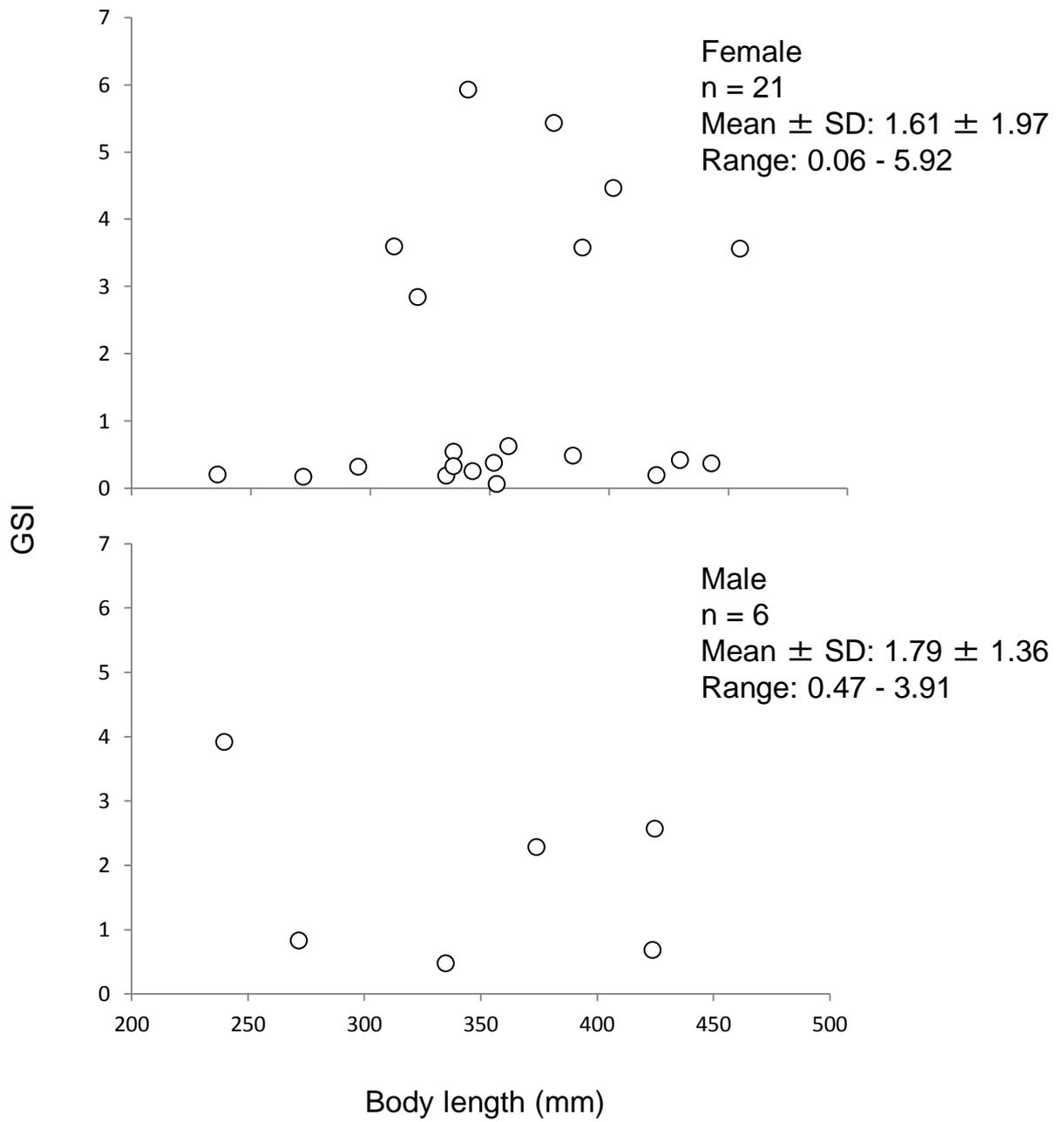


Fig. 3-7. Relationship between body length and GSI of Biwa salmon in Lake Biwa.

胃内容物が確認されたのは全 51 個体中 17 個体で、その他 34 個体は空胃であった(Table 3-1)。17 個体の胃内容物の重量の範囲は 0.06-10.1 g (1.91 ± 2.56 g)であった。確認された胃内容物は、消化された魚類(17 個体中 9 個体)とアナンデールヨコエビ *Jesogammarus annandalei* (17 個体中 9 個体)のみであった。

第 3 項 湖内回遊個体の母川判別

各採集地点で得られた湖内回遊個体の耳石の母川指標(Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)は、3ヶ所ともその範囲が重なっていた。また、どの採集地点においても、他の地域の母川指標と一致する個体が出現した(Fig. 3-8, 3-9)。例えば $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では、西部の河川のみにもみられる 0.714 以上の値を示す個体が、北部に対応する今津沖では 5 個体、東部に対応する長浜沖では 2 個体出現していた(Fig. 3-9)。また、西部に対応する鵜川沖でも北部や東部の河川でみられた 0.712 以下の値を示す個体が出現した。同様に、Sr/Ca と Ba/Ca でも、各採集地点で、採集地点とは地理的に離れた河川の母川指標と一致する個体が複数採集されていた。

また、どの母川指標にも対応しない値をとる個体も出現した。Sr/Ca では 4 個体(17%)が、Ba/Ca では 2 個体(8%)が、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では 2 個体(8%)が第 2 章で得た母川指標の範囲から外れた値を示した。

QDFA を用いて湖内回遊個体の母川判別を行ったところ、西部の河川に判別された個体が全 24 個体中 15 個体と最も多く、北部は 5 個体、東部は 4 個体であった(Table 3-2, Fig. 3-10)。出現地点には出生地域による偏りはなく、3ヶ所の採集地点いずれでも西部、北部、東部の河川が母川とみられる個体が出現した(Fig. 3-10)。分析した個体数が少ないものの、採集時期にも出生地域による偏りはみられず、春季、夏季、冬季のいずれにおいても、西部、北部、東部の河川が母川とみられる個体が各採集地点に出現した(Table 3-2, Fig. 3-10)。

夏季に採集された 7 個体は、GSI が 2 以上で産卵親魚の形態的特徴がみられ、その年の秋に繁殖すると判断された(Sample No. 1253, 1254, 1255, 72, 76, 77, 80, Table 3-1, Fig. 3-11)。これら 7 個体中 6 個体は、採集地点に対応する地域の河川が母川と判別されたが、今津沖(北部)で採集された 1 個体(Sample No. 80, Table 3-1)の母川は東部の河川と判別された。この個体は体長 425 mm、GSI は 2.6 の雄で、サケ科雄に特有の産卵回遊親魚の形態的特徴である「鼻曲り」が生じていた。

Table 3-2. Results of quadratic discriminat function analysis assigned to natal river or site inferred from otolith Sr/Ca, Ba/Ca, 87Sr/86Sr. Values are number of individuals assigned to each site.

Location										
Sample location	Assigned location									total
	West				North		East			
	UKW	ADO	ISD	TKS	CHN	OKW	AMN	INK	SMG	
Ukawa offshore	1	4	2	-	-	1	-	2	-	10
Imadu Offshore	1	2	3	-	3	-	-	1	-	10
Nagahama Offshore	-	2	-	-	1	-	-	-	1	4
										(n)
Summer										
Sample location	Assigned location									total
	West				North		East			
	UKW	ADO	ISD	TKS	CHN	OKW	AMN	INK	SMG	
Ukawa offshore	1	3	-	-	-	-	-	1	-	5
Imadu offshore	1	1	1	-	1	-	-	1	-	5
										(n)
Winter										
Sample location	Assigned location									total
	West				North		East			
	UKW	ADO	ISD	TKS	CHN	OKW	AMN	INK	SMG	
Ukawa offshore	-	1	2	-	-	1	-	1	-	5
Imadu offshore	-	1	2	-	2	-	-	-	-	5
										(n)

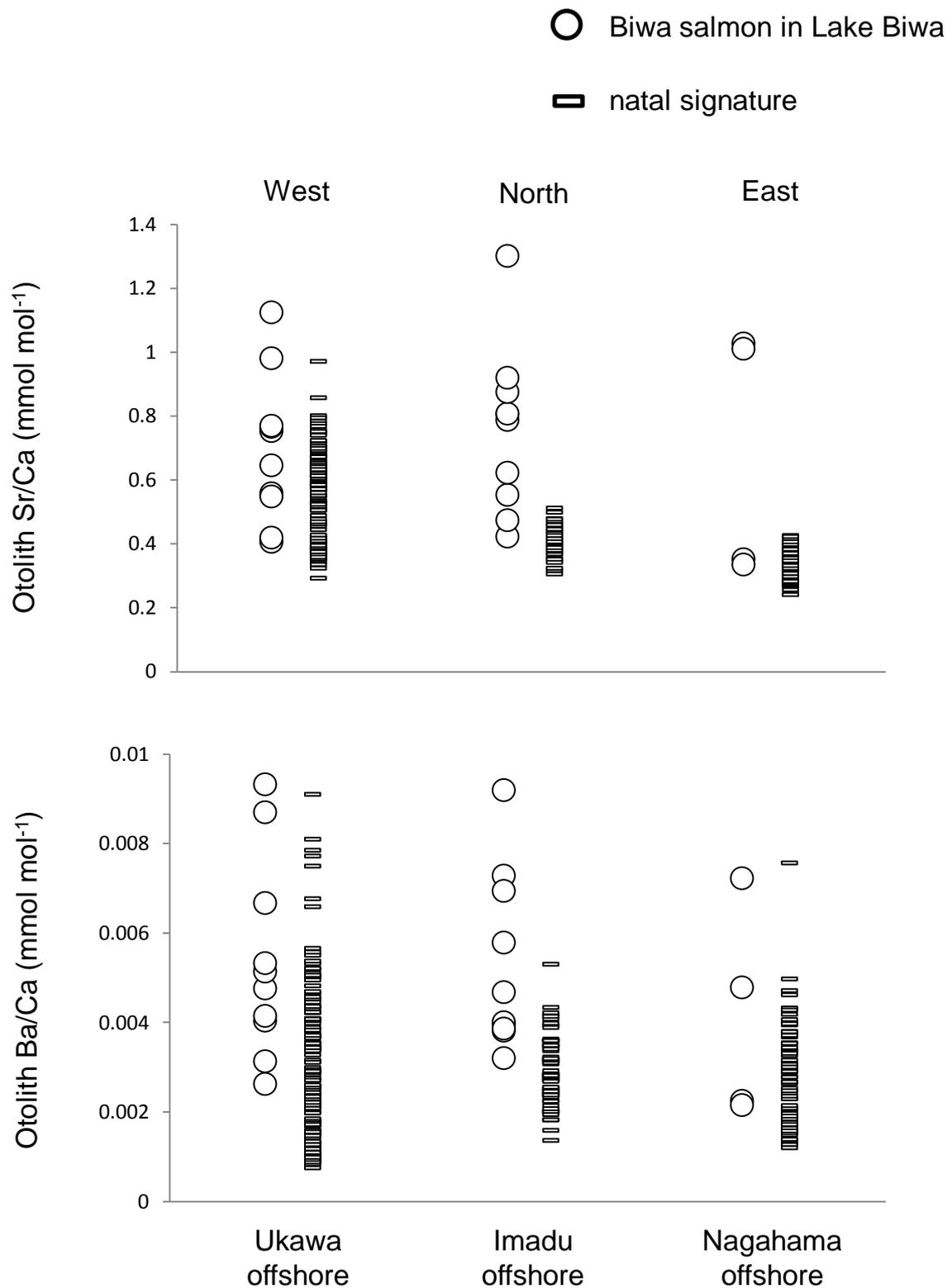


Fig. 3-8. Elemental ratios of the otoliths of Biwa salmon collected from the 3 sampling sites in Lake Biwa. Each natal signature of sampling site shows elemental ratios of individual juvenile otoliths collected from rivers located near each sampling site. River groups of Ukawa offshore, Imadu offshore, Nagahama offshore include Ukawa R, Ado R, Ishida R, Takashima H; Chinai R, Okawa R; Amano R, Inukami R, Samegai H, respectively.

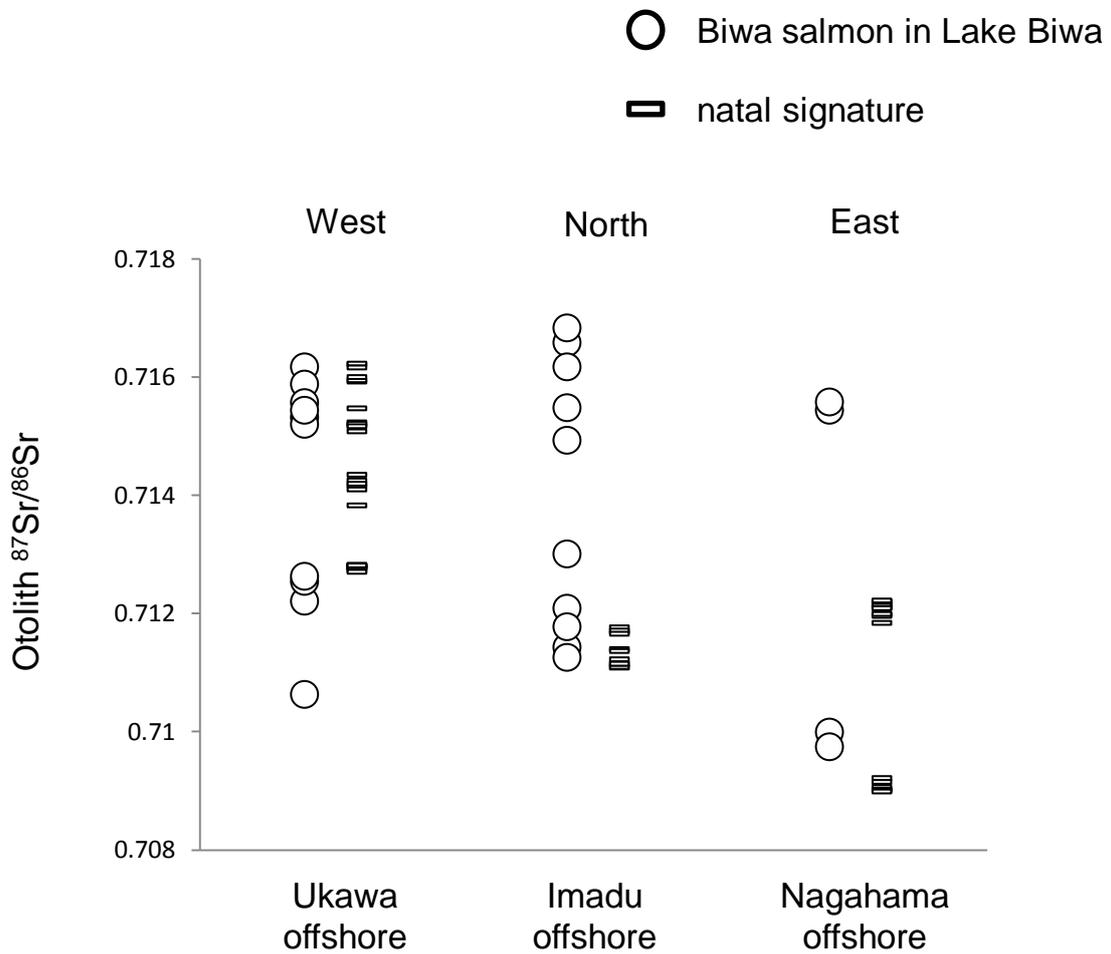


Fig. 3-9. Sr isotopic ratios of the otoliths of Biwa salmon collected from the 3 sampling sites in Lake Biwa. Each natal signature of sampling site shows Sr isotopic ratios of individual juvenile otoliths collected from rivers located near each sampling site. River groups of Ukawa offshore, Imadu offshore, Nagahama offshore include Ukawa R, Ado R, Ishida R, Takashima H; Chinai R, Okawa R; Amano R, Inukami R, and Samegai H, respectively.

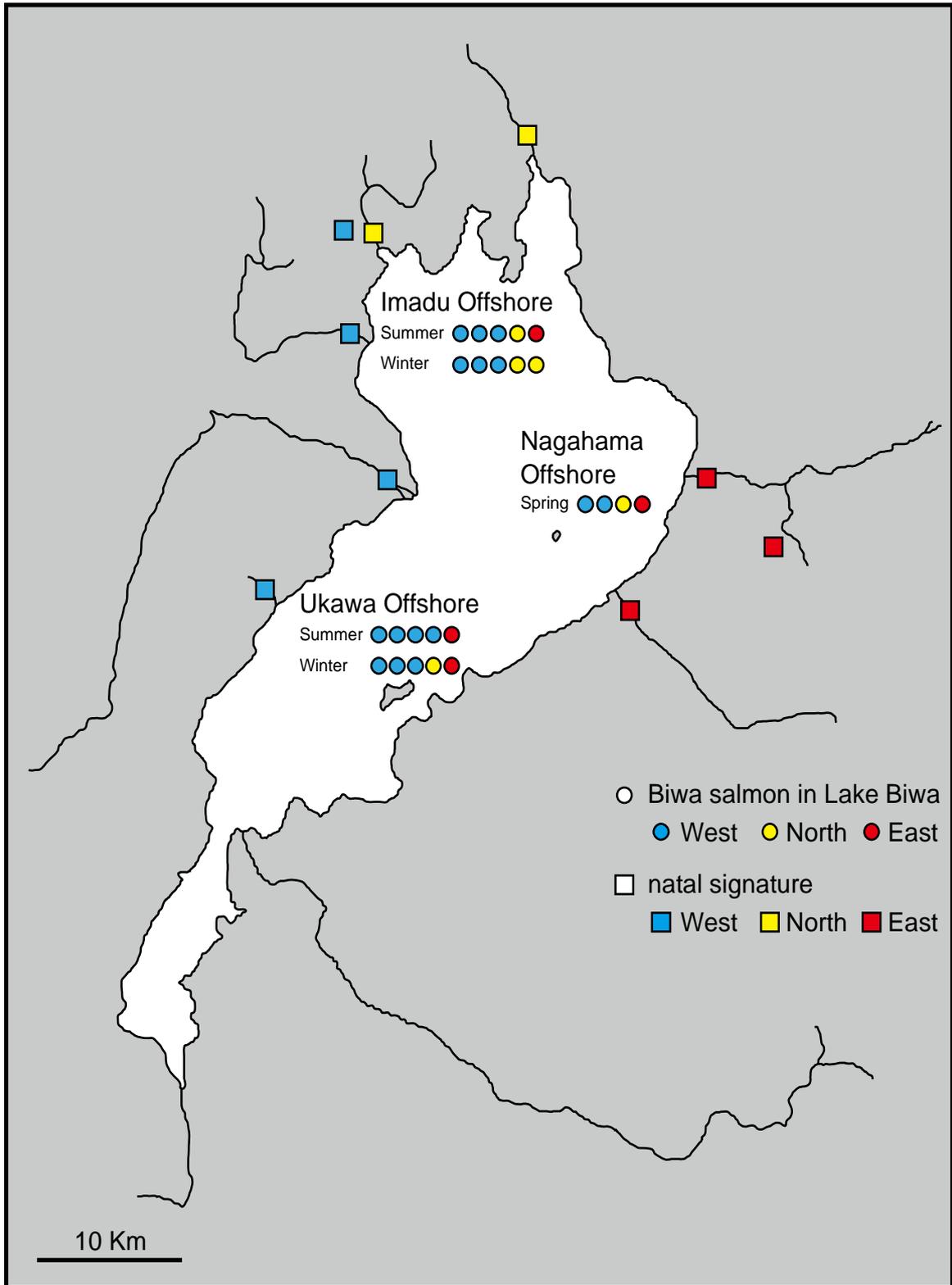


Fig. 3-10. Possible natal site of Biwa salmon in the lake assigned by the QDFA analysis.

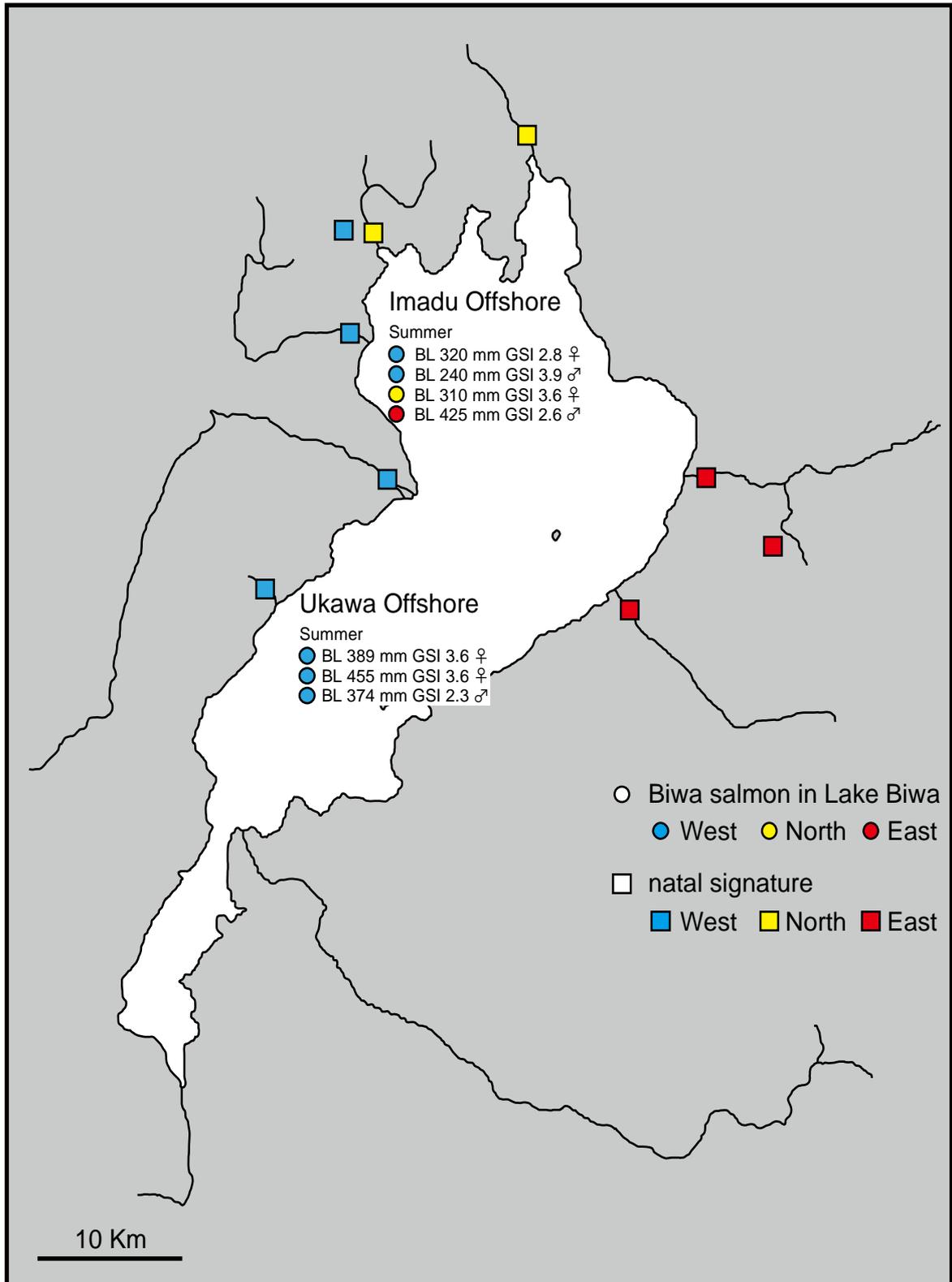


Fig. 3-11. Possible natal sites of matured Biwa salmon in the lake assigned by the QDFA analysis.

第3節 考察

第1項 湖内回遊個体に対する母川判別の有用性

ほとんどの湖内回遊個体の耳石の母川指標は、第2章で得た7河川および2ヶ所の養鱒場のどれかの母川指標と一致しており、本研究で得た母川指標は琵琶湖内に出現する値をほぼ網羅していると考えられた。しかしながら、第2章で得た母川指標と一致しない値を示す個体も出現した。本研究で得た母川指標は9地点のみの値であるため、このような外れ値をとった個体は、本研究で調査しなかった河川で産まれた可能性がある。しかしながら QDFA による解析では、母川指標から外れた値を示す個体であっても値が類似した河川に判別してしまうため、母川指標がない河川で産まれた個体を既知の河川へ誤判別する可能性が考えられる。湖内回遊個体を対象とした正確な母川判別法を確立するためには、より多くの河川で母川指標を作成する必要がある。

そこで本章では、河川レベルの判別で起きる誤判別をもとに議論する危険性を下げるため、出生地域への回帰率に基づいてビワマスの回遊生態を考察する。第2章において母川判別で最も強力な判別指標と考えられた $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では、湖内回遊個体の耳石で得られた値が母川指標の範囲にほぼ一致した。第2章で論じたように、環境水中の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は河川が流れる場所の地質によってほぼ決まり、環境水中の値は耳石の値によく反映される。また琵琶湖水系では、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は地域ごとにやや異なる値を示し、その値に基づいて地域を区分することができる(Nakano et al. 2008)。すなわち、耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が類似していれば、その母川指標が得られた河川でなくとも、少なくとも近隣の、または同じ地域を流れる河川で産まれた個体だとみなすことができる。よって、本章で得られた判別結果は Sr/Ca や Ba/Ca の外れ値に起因する誤判別が含まれている可能性はあるものの、地域への回帰率を考える際には、信頼性が高い結果であると考えられた。

第2項 湖内を回遊する個体群の構造

湖内回遊個体の耳石で得られた母川指標は、どの採集地点においても湖内の広い範囲に亘る河川の母川指標との一致がみられた。QDFA による母川判別の結果、どの採集地点、時期においても西部、北部、東部に母川があるとみられる個体が混在した。また、各採集地点で採集した個体の体長範囲はどの地域でもほぼ同様であり、性別の偏りもみられず、さらに性判別できない個体から産卵遡上を開始し始める GSI が2以上の個体まで同所的に採集された。これらのことは、ビワマスは湖内において、様々な河川を母川とする複数の年

級の個体が、性別や成熟度に関わりなく混在して生活していることを示している。近年、分子遺伝学的集団解析と耳石の温度標識法により、サケ *Oncorhynchus keta* の海洋における回遊経路と集団組成が明らかとなった(Moriya et al. 2007, 2009, Urawa et al. 2009)。日本系サケは日本沿岸を離れた後、オホーツク海から北太平洋へ移動する。そしてベーリング海へ北上し他の年級群と合流して成長する。この回遊の際、各海域でロシア、アラスカ、カナダ系サケとも合流し、一つの集団を形成して回遊を行う。以上のことから、ビワマスの回遊パターンとして、サケと同様に、様々な出生地、年級群の個体から成る群れを作り、琵琶湖北湖全体に広く分布して成長していると考えられた。

サケではさらに、その混合集団は系群によって組成が異なっていることが示唆されている(Moriya et al. 2007, 2009)。夏季のベーリング海において、180°経線の北緯 54°以北ではロシア系や北米系に比べ日本系の割合が高い傾向にあり、その分布に偏りが生じている(Moriya et al. 2007, 2009)。ビワマスの回遊はサケの回遊と比べるとごく小さい規模ではあるが、ビワマスも母川によって回遊経路や混合集団の割合が異なるかもしれない。本研究では、採集数が少ないことや、擬似餌を用いた引き縄釣りによる採集個体のサイズ選択の影響が考えられたため、詳細な個体群構造は明らかにできなかった。今後は、定量的なサイズバイアスの少ない採集を行い、年齢も加えたより詳細な生物学的基礎情報を蓄積するとともに、遺伝学的集団解析やより広範な河川の母川指標を加えた母川判別をおこなうことで、湖内を回遊する個体群の詳細な構造を明らかにする必要がある。

第3項 湖内での索餌回遊

琵琶湖で採集されたビワマスの採集深度は 5 m から 35 m までと幅広かったが、その採集水温は全て 15 °C 以下であった。水温躍層が形成される夏季の採集では、採集深度は水温が 15 °C 以下となる深さ(2009 年 8 月採集: 15 m 以深, 2010 年 7 月採集, 10 m 以深)に限られた。これは、サケ科魚類であるビワマスが冷水を好むという報告(藤岡 1990)と一致しており、水温がビワマスの生息水深を制限しているものと考えられた。一方、表層の水温が 15 °C 以下となる冬季においても、深度 5 m とごく浅い深度で採集された個体がいるものの(Table 3-1, Fig. 3-2)、大部分の個体はやや深い深度 10-25 m で採集されている。すなわち、ビワマスは水温が 15 °C 以下であれば、季節に関係なく深度 20 m 付近を好んで生息しているといえる。この要因の 1 つとして餌生物の分布が考えられる。本研究において、ビワマスの胃内容物は、魚類とアナンデルヨコエビで構成されていた。湖内のビワマスは、一般的に小型魚

類に似せたスプーンと呼ばれる擬似餌を使った引き縄釣りで採集されているため、ビワマスは魚類を主要な餌の一つとしているものと推察される。ビワマスが好んで摂餌する魚種としてはアユ *Plecoglossus altivelis* が挙げられる(藤岡 2009)。アユは6月から8月にかけて琵琶湖の表層から10 m付近を遊泳しており(東 1973)、冬季にはアユの仔魚(シラス)が10-20 mに分布している(東 1970)。アナンデールヨコエビは琵琶湖北湖全域に分布しており、冬季は深底部(15 m以深)や沿岸部、夏季には中層から底層(15-75 m)を日周鉛直移動している(Ishikawa & Urabe 2002)。これらのことから、ビワマスは水温による制約を受けつつも、索餌に適した水深を選択しながら回遊していると考えられる。

ビワマスの分布する水深を決定する要因として水温による基礎代謝の変化も考えられる。一般的に魚類では、同じ遊泳速度であれば高い水温の方がエネルギー代謝速度の指標となる酸素消費量は増加する(Beddow et al. 1998)。サクラマス *Oncorhynchus masou masou* では、12 °Cでの遊泳に比べて18 °Cでの遊泳で酸素消費量が約2倍になることが報告されている(Leonard et al. 2000)。そのため、ビワマスは低水温域でエネルギーの消費を節約しながら遊泳し、効率的に索餌回遊していることが推察される。

第4項 湖内での回遊パターン

湖内を回遊するビワマスは、いずれの採集地点、採集月においても採集個体の体長範囲は類似しており、季節的な生息地変化はみとめられなかった。本章で採集した最小の個体は体長217 mmであり、小型個体の生息地や回遊パターンの詳細は明らかでないものの、ビワマスは200 mm程度に成長するまでに湖内全域に分散している可能性がある。また、採集個体のGSIは0から5.92だった。ビワマスは体長250 mm付近から生殖腺の発達がみられ、産卵遡上群に加入するといわれている(藤岡 1991, 尾田ら 2011)。実際に本研究でも雌では体長が300 mmを超えるとGSIの上昇がみられた。また、GSIは1以下と低かったものの、産卵遡上個体と同等の体サイズである400 mm以上の個体も5個体(Sample No. 1245, 1247, 79, 1241, 1261)採集された。以上のことから、ビワマスは、未成熟の段階から産卵遡上群に加入可能な段階まで、顕著な回遊パターンの変化を示さず、湖内で同所的に生息しているものと考えられた。

サクラマスの産卵親魚は河川への遡上が近づくと索餌を停止し、母川を探索する行動を開始することが知られている(Kato 1991)。洞爺湖の降湖型サクラマスは産卵遡上する20日前に母川探索行動を開始することがデータロガーによる研究で報告されている(松下 2001)。

洞爺湖のサクラマスは沿岸において河川を識別しながら回遊し、視覚と嗅覚から母川を識別しているものとされている(Ueda 2004)。サクラマスの亜種であるビワマスについても、産卵遡上前の回遊パターンは同様である可能性が考えられる。湖内回遊個体の成熟度を調べたところ、採集した年に産卵遡上した可能性が高い個体も採集されていた。2010年7月に鶴川沖で採集した3個体(Sample No. 1253, 1254, 1255, Table 3-1)と、2011年8月に今津沖で採集した4個体(Sample No. 72, 76, 77, 80, Table 3-1)は、体長が大きく GSI も高かった(Fig. 3-11)。また、これらのうち今津沖で採集された1個体(Sample No. 80, Table 3-1)は、産卵親魚の雄特有の形態的特徴である「鼻曲り」も生じていた。しかし、これらの個体は引縄釣りによって採集されたため、未だ摂餌を続けていたと考えられる。また、「鼻曲り」の雄は、遡上直前とみられるにも関わらず、母川と判別された東部の河川から離れた今津沖で採集された。これらのことから、ビワマスはサクラマスの回遊パターンとはやや異なり、繁殖に参加する直前まで湖内に留まっている可能性も否定できない。

季節繁殖する魚類の成熟は、魚類の生理要因と日長や水温などの環境要因によって進行する(会田 2011)。サクラマスの雄では、外的環境要因の一つである日長が成熟を制御していることが報告されている(Amano et al. 1995)。成熟の進行が産卵遡上の開始を引き起こすメカニズムを明らかにすることは母川回帰行動の解明にもつながり、ビワマスのみならず、サケ科魚類の回遊生態の理解を深める上で重要である。

第4章 母川判別に基づいた母川回帰性の検討

サクラマス *Oncorhynchus masou masou* は、これまでの標識放流の結果と分子遺伝的研究から、母川回帰性が強いといわれている(Okazaki 1986, 鈴木ら 2000, 宮腰ら 2012)。また、同一水系内の支流へも正確に母川回帰することが指摘されている(Kitanishi et al. 2009, 宮腰ら 2012)。ビワマスも標識放流実験により、母川回帰性を有することが確認されているが(田中 2011)、母川回帰性の強さや母川以外の河川への迷入の実態については明らかになっていない。そこで本章では、ビワマスの母川回帰性を耳石による母川判別に基づいて明らかにすることを目的とした。まず、第2章で得た母川指標(Sr/Ca, Ba/Ca, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)に基づき、産卵遡上個体の母川を判別し、母川回帰率と迷入の実態を明らかにする。その結果を踏まえ、母川回帰性がビワマスの生活史に与える生態学的影響を考察する。

第1節 材料と方法

第1項 産卵遡上魚の採集

産卵のため琵琶湖水系の流入河川に遡上したビワマスを、2006年10月、11月に鵜川、安曇川、知内川、天野川、犬上川において計43個体、2009年10月、11月には安曇川、石田川、知内川、天野川において計37個体採集した(Table 4-1, Fig. 4-1)。滋賀県ではビワマスの人工孵化放流事業のために、河川に遡上した個体の採捕を行っている。安曇川では河口での梁漁で、石田川、知内川、天野川では投網漁やかご網漁などでビワマスを集めている。そのため、これらの河川では人工採卵された後のビワマスを滋賀県漁業協同組合連合会から購入した。購入したサンプルは冷凍し研究室へ持ち帰った。鵜川、犬上川では、自然産卵後に死亡した個体を集めてサンプルとした。自然産卵個体は現場で体長(BL)を測定し、耳石のみを摘出し研究室へ持ち帰った。なお、2009年の安曇川では、購入したビワマス計150尾から本章で材料とする個体を無作為に抽出した。その他の河川の購入個体は、全ての個体を材料とした。

また、2009年に採集したサンプルについては、東日本大震災時にデータを紛失したため、性比と体長組成に関しては、2006年採集のサンプルで得られた結果のみ記述した。

Table 4-1 Body length (BL, mean \pm standard deviation) and number of individuals in each sex collected in rivers of Lake Biwa. BL data for 2009 were missed by the Great East Japan Disaster.

Location	code	Year	BL (mm)	
			Female	Male
			Mean \pm SD (n)	
Ukawa River	UKW	2006	400 \pm 50 (8)	376 \pm 42 (2)
Ado River	ADO	2006	400 \pm 21 (9)	330 \pm 15 (2)
		2009	-	-
Ishida River	ISD	2009	-	-
Chinai River	CHN	2006	402 \pm 58 (4)	346 \pm 26 (4)
		2009	-	-
Amano River	AMN	2006	392 \pm 26 (7)	383 \pm 21 (3)
	AMN	2009	-	-
Inukami River	INK	2006	397 \pm 30 (4)	(0)

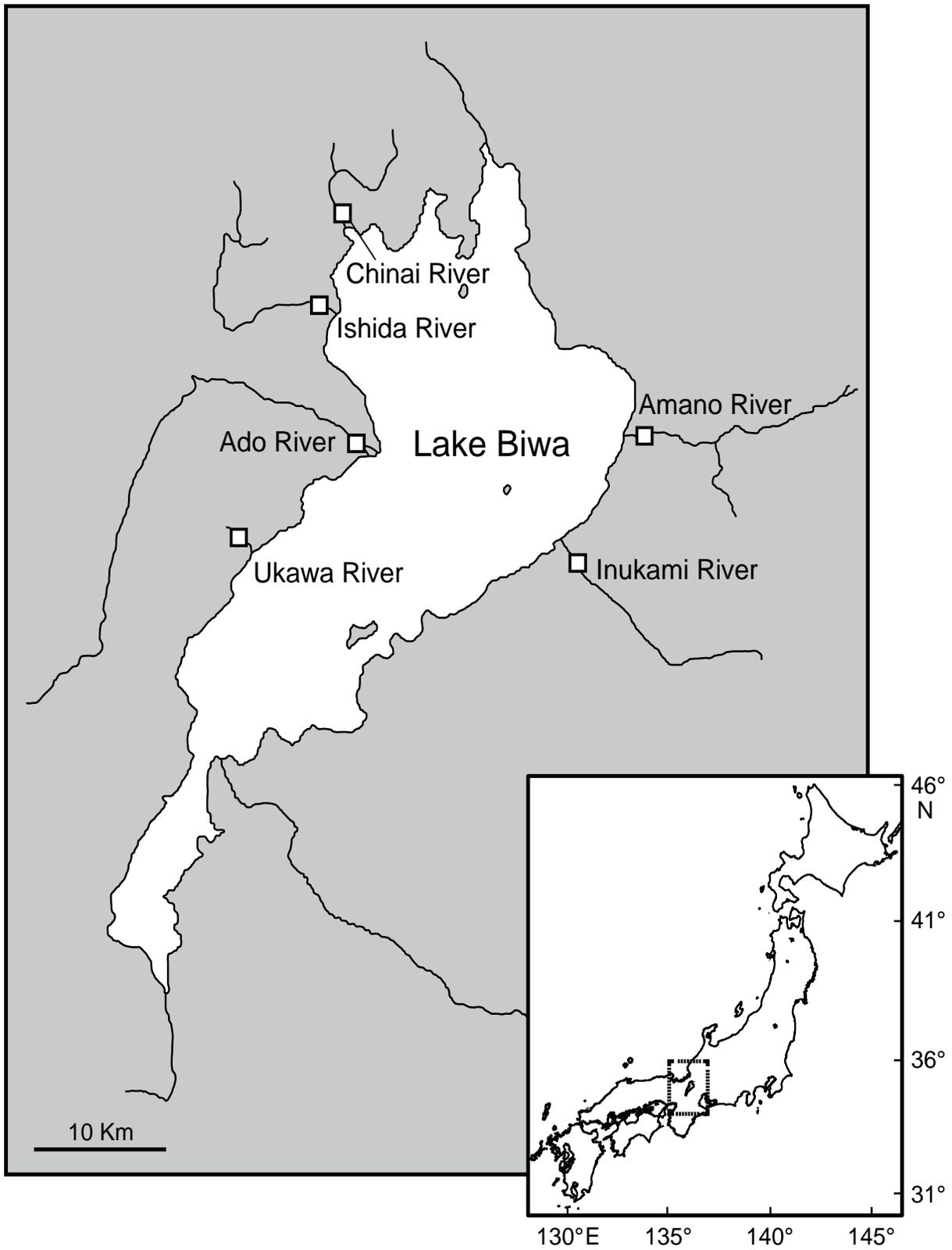


Fig. 4-1. Sampling sites of adult Biwa salmon in rivers of Lake Biwa.

第2項 標本処理

供試魚は全て体長(BL)を計測し、サケ科の成熟雄特有の形態的特長である鼻曲がりの有無と生殖腺の形態から肉眼で性判別を行った後、耳石を摘出した。耳石は Milli-Q 水(Millipore)を用いて複数回洗浄し、十分に室温で乾燥させ、清浄なプラスチック製ケースに保存した。

摘出した耳石の河川生活期にあたる核周辺(河川生活期部分)を分析するため、耳石切片を第2章の第1節第1項と同様の方法で作製した。分析では第3章の湖内回遊個体と同様、微量元素分析には左側の耳石を、Sr 安定同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)分析には微量元素分析に用いた耳石に加えて右側の耳石も用いた。

第3項 耳石の微量元素分析

耳石の河川生活期部分の微量元素組成を、LA-ICP-MS を用いて、第2章の第1節第5項と同様の方法で測定した。レーザーの照射領域および設定は、第3章の第1節第4項に記した湖内回遊個体での耳石分析と同様とした。また測定元素は母川指標として設定した ^{43}Ca 、 ^{88}Sr 、 ^{138}Ba とした。本項における分析において、各元素は検出限界値より高い値を示した。また、分析の繰り返し再現性を表す JCp-1 の相対標準偏差(%、RSD)は、Sr/Ca: 2.80、Ba/Ca: 4.45 であり、十分な再現性を示した。

第4項 耳石の Sr 安定同位体比分析

耳石の河川生活期部分の Sr 安定同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)を分析するために、Micro-Drilling 法による掘削で粉末試料を作成し、Sr の分離・抽出をおこなった後に、TIMS による $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の分析を行った。耳石の掘削、Sr の分離・抽出実験、同位体比分析の方法は、第3章の第1節第5項と同様である。本項の分析における NIST SRM 987 の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の測定値は、 0.710252 ± 0.000011 (2σ , $n = 30$)であった。

第5項 統計解析

母川指標を用いて非線形判別分析(QDFA)を行い、湖内回遊個体の母川を判別した。解析は、R (ver. 3.0.1)を用いて行った。判別された母川と遡上河川が一致した場合に、その個体を母川回帰個体と判断した。一致しなかった場合はその個体を迷入個体とし、母川または母川地域以外に回帰した個体の割合を迷入率とした。また、本研究では「各河川の母川回帰率」を、調査河川の遡上群内における母川回帰個体の割合という意味で用いた。

第 3 章の湖内回遊個体の場合と同様に、本研究で母川指標を得た河川以外で産まれた個体が産卵遡上個体に含まれていることが考えられることから、河川レベルの判別結果は誤判別を含む可能性がある。そこで本章でも、第 3 章と同様、第 2 章の考察に基づき、母川指標を西部(鶉川, 安曇川, 石田川, 高島事業所)、北部(知内川, 大川)、東部(天野川, 犬上川, 醒井養鱒場)に分け、産卵遡上個体がどの地域から由来したかについての結果も示した。その際に、出生地域と回帰した地域が一致した場合に、その個体を回帰個体と判断した。また、「各地域への回帰率」を各地域内に遡上した群内における回帰個体の割合という意味で用いた。

第 2 節 結果

第 1 項 体長組成と性別

2006 年に採集された遡上個体の体長は 319-499 mm (平均値 \pm 標準偏差: 391 ± 39 mm)であった(Table 4-1, Fig. 4-2)。鶉川で採集された 10 個体の体長の範囲は 328-499 mm (402 ± 45 mm)、安曇川の 11 個体では 319-445 mm (390 ± 37 mm)、知内川の 8 個体では 330-472 mm (374 ± 51 mm)、天野川の 10 個体では 344-450 mm (390 ± 30 mm)、犬上川の 4 個体では 359-430 mm (397 ± 37 mm)であった。どの河川においても、遡上個体の体長組成の範囲は重複していた。

2006 年に採集した全 43 個体のうち、雌が 32 個体(74 %)、雄が 11 個体(26 %)であった(Table 4-1)。体長は雌で 330-499 mm (398 ± 37 mm)、雄で 319-420 mm (368 ± 38 mm)であり、体長組成の範囲は雌雄とも重複していた(Fig. 4-3)。

第 2 項 耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比

各河川で得られた遡上個体の耳石の母川指標(Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)は、どの河川においても大きくばらつき、遡上河川で採集した稚魚で得られた母川指標とは必ずしも一致しなかった(Fig. 4-4, 4-5, 4-6)。また、本研究で得たどの母川指標にも対応しない値を示す個体も出現した。遡上個体の Sr/Ca と Ba/Ca は、2006 年では既知の母川指標の範囲内におさまったものの、2009 年には Sr/Ca で既知の母川指標よりも高い 1 以上を示す個体が 3 個体(7 %)出現した。 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、ほぼすべての遡上個体で既知の範囲内におさまったものの、母川指標とは一致しない場合が多かった。

河川間で遡上個体の母川指標を比較したところ、複数の河川において、同様の母川指標を示す個体も出現し、その値の範囲は河川間で重複していた。この結果は、2006 年、2009

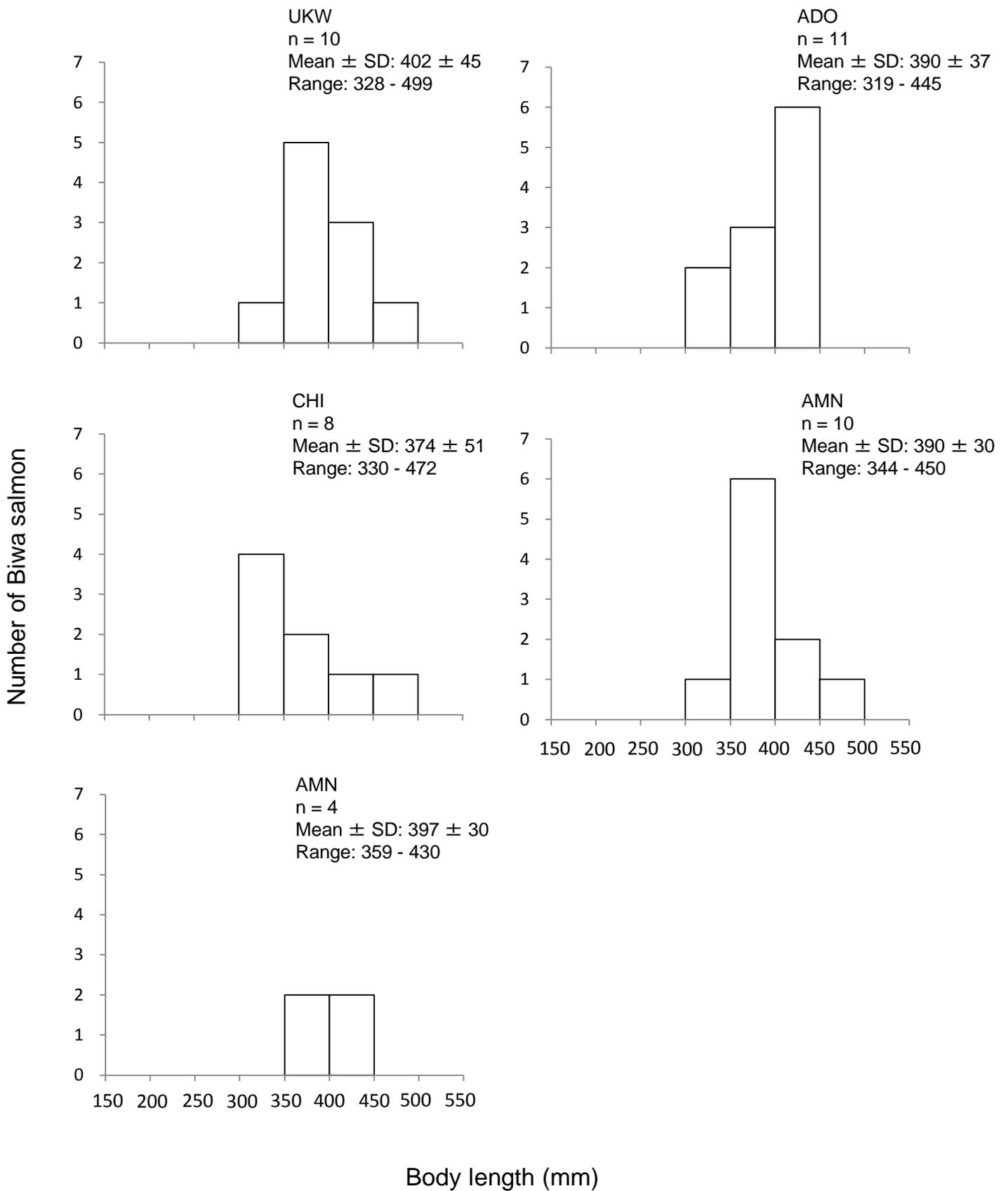


Fig. 4-2 Length frequency distributions of adult Biwa salmon in 5 rivers of Lake Biwa collected in 2006. Location codes are shown in Table 4-1.

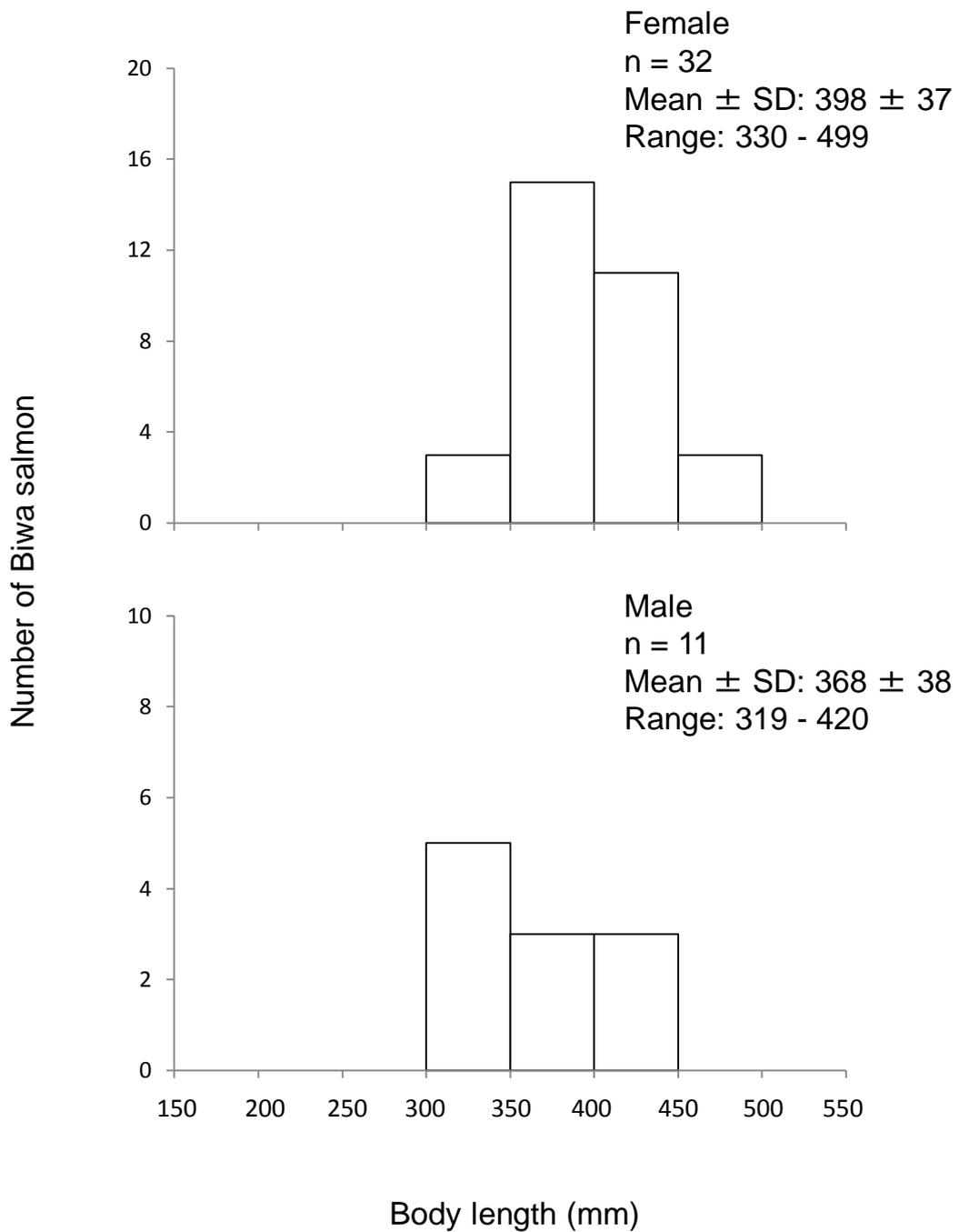


Fig. 4-3 Length frequency distributions of adult female and male Biwa salmon collected in 2006. Location codes are shown in Table 4-1.

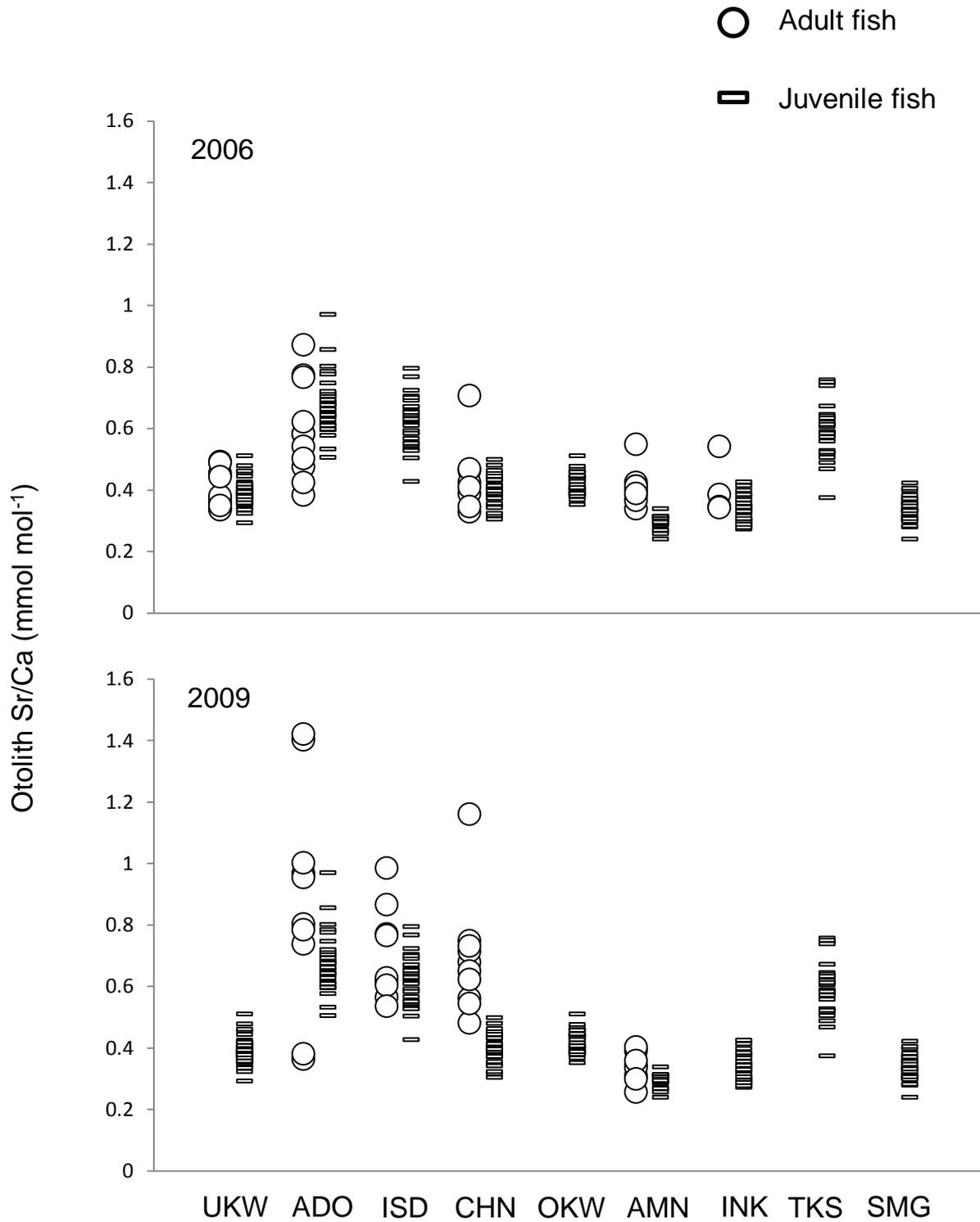


Fig. 4-4. Sr/Ca of the otoliths of adult Biwa salmon collected from the rivers in Lake Biwa water system and the otolith Sr/Ca of juveniles from the same rivers. Location codes are shown in Table 4-1.

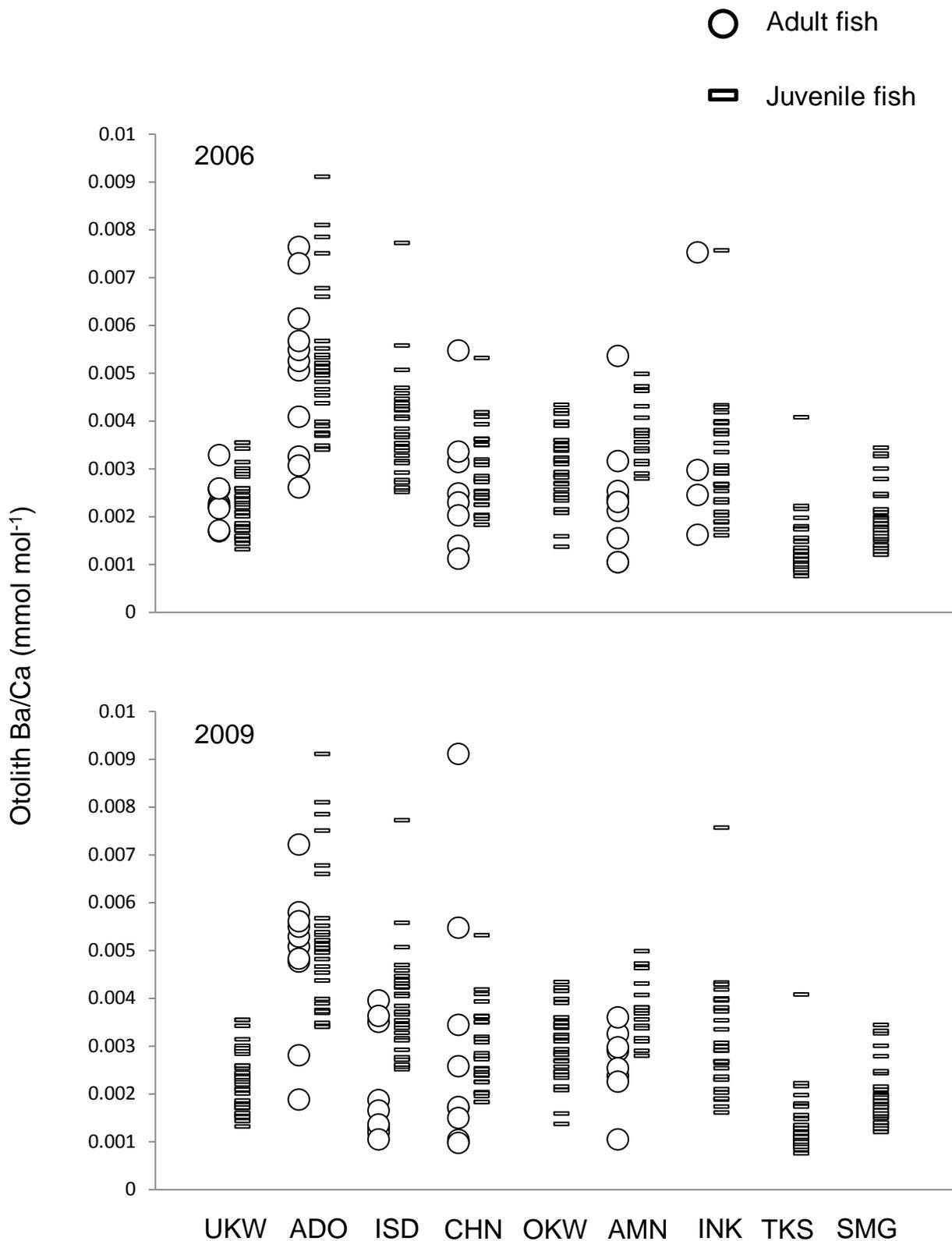


Fig. 4-5. Ba/Ca of the otoliths of adult Biwa salmon collected from the rivers in Lake Biwa water system and the otolith Ba/Ca of juveniles from the same river. Location codes are shown in Table 4-1.

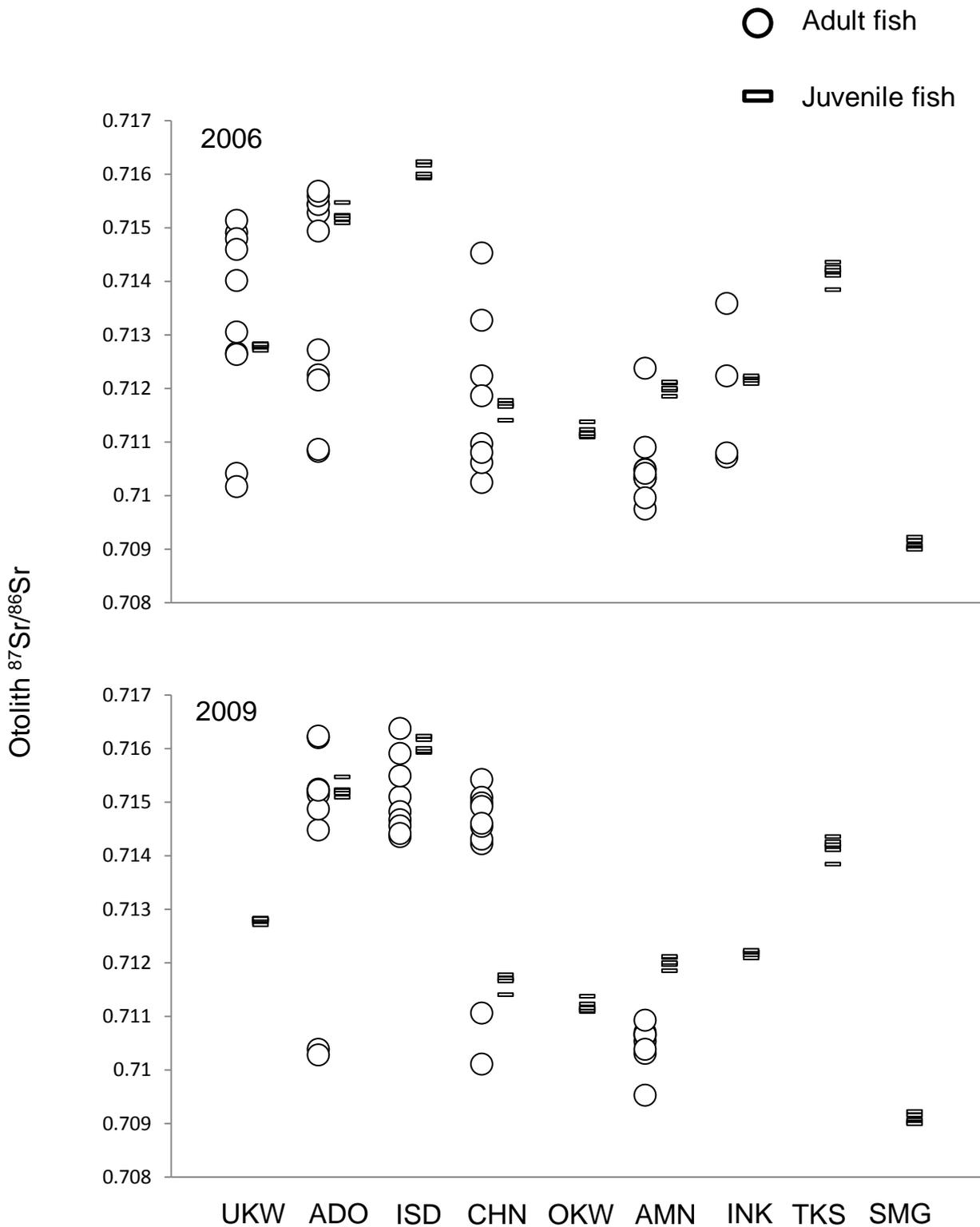


Fig. 4-6. Sr isotopic ratios of the otoliths of adult Biwa salmon collected from the rivers in Lake Biwa water system and the otolith Sr isotopic ratios of juveniles from the same river. Location codes are shown in Table 4-1.

年ともに同様だった。しかしながら、2009年に東部の天野川に遡上した個体では、西部、北部に属する他の河川に遡上した個体よりも Sr/Ca が低く、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の値が 0.714 以上の高い値を示す個体は出現しなかった。また、2006年に鶴川に遡上した個体では、近隣の安曇川とは異なり Ba/Ca が 0.004 以上の個体が出現しないなど、遡上個体が示す母川指標が年によってやや異なる場合もあった。

第3項 遡上個体の母川判別と母川回帰率

QDFA を用いて遡上個体の母川判別をおこなったところ、母川回帰個体は 2006 年で 26 % (43 個体中 11 個体)、2009 年で 19 % (37 個体中 7 個体)であり、割合は低いながらも、母川回帰性がみとめられた(Table 4-2, 4-3)。同一母川であると判別された個体のうち、実際に母川に回帰した個体の割合は、分析個体数が少なく詳細な比較はできないものの、13-100 % と河川ごとに大きく異なっていた。河川レベルでの誤判別の可能性を考慮し、出生地域に回帰した個体の割合を求めたところ、2006 年では 51 % (43 個体中 22 個体)、2009 年では 54 % (37 個体中 7 個体)が判別された出生地域に回帰していた(Table 4-3, 4-4)。同一地域に由来すると判別された個体のうち、実際にその地域へ回帰した個体の割合は、18-100 % の範囲であった。地域スケールでの比較においても、分析個体数が少ないものの、西部で回帰個体の割合が高かった(2006 年: 82 %, 2009 年: 68 %)。地域間で迷入率を求めたところ、西部産まれの迷入個体は隣接する北部の河川へ遡上する割合(2006 年: 12 %, 2009 年: 32 %)が高く、対岸の東部へ迷入した個体はごくわずかだった。北部産まれと判別された個体は、地域への回帰率が低く(2006 年: 24 %, 2009 年: 18 %)、西部(2006 年: 29 %, 2009 年: 18 %)、東部(2006 年: 48 %, 2009 年: 64 %)ともに比較的高い割合で迷入していた。

各河川の母川回帰率(各河川の遡上群内における母川回帰個体の割合)を求めたところ、0-50 % となり、遡上群のうち母川回帰個体は半数以下であり、大きな割合を迷入個体が占めることがわかった(Table 4-2)。最も河川の母川回帰率が高かったのは安曇川で 2006 年が 45 %、2009 年が 50 % だった。最も河川の母川回帰率が低かったのは天野川で 2006 年、2009 年ともに 0 % であった。なお、流程が長い河川ほど、河川の母川回帰率が高くなる傾向があった(Fig. 4-7)。

Table 4-2. Results of quadratic discriminant function analysis assigned to natal river or site inferred from otolith Sr/Ca, Ba/Ca and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Values are number of individuals assigned to each site. Location codes are shown in Table 4-1.

Sample location	Assigned location											total	Proportion of homing fish (%)
	West					North					East		
	UKW	ADO	ISD	TKS	CHN	OKW	AMN	INK	SMG				
UKW	3	2	0	3	2	0	0	0	0	0	0	10	30
ADO	0	5	1	0	3	1	0	0	1	0	0	11	45
ISD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TKS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHN	0	0	0	2	2	3	0	0	1	0	0	8	25
OKW	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMN	0	0	0	0	3	5	0	0	0	2	0	10	0
INK	0	0	0	1	0	2	0	0	1	0	0	4	25
SMG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	3	7	1	6	10	11	0	0	3	2	2	43	-
(n)													

Sample location	Assigned location											total	Proportion of homing fish (%)
	West					North					East		
	UKW	ADO	ISD	TKS	CHN	OKW	AMN	INK	SMG				
UKW	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ADO	0	5	3	0	2	0	0	0	0	0	0	10	50
ISD	0	2	1	6	0	0	0	0	0	0	0	9	11
TKS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHN	0	2	0	6	1	1	0	0	0	0	0	10	10
OKW	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMN	0	0	0	0	5	2	0	0	0	1	0	8	0
INK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SMG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	0	9	4	12	8	3	0	0	0	1	1	37	-
(n)													

Table 4-3. Homing number and rates of adult Biwa salmon by results of QDFA analysis.

Year	Homing number		Homing rate (%)	
	River	Site	River	Site
2006	11	22	26	51
2009	7	20	19	54

Table 4-4. Results of quadratic discriminant function analysis assigned to natal river or site inferred from otolith Sr/Ca, Ba/Ca and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Site groups of West (Ukawa offshore), North (Imadu offshore), East (Nagahama offshore) include Ukawa R, Ado R, Ishida R, Takashima H; Chinai R, Okawa R; Amano R, Inukami R, Samegai H, respectively. Values are number of individuals assigned to each area.

Year 2006

Sample site	Assigned site			total	Proportion of homing fish (%)
	West	North	East		
West	14	6	1	21	67
North	2	5	1	8	63
East	1	10	3	14	21
Total	17	21	5	43	-

(n)

Year 2009

Sample site	Assigned site			total	Proportion of homing fish (%)
	West	North	East		
West	17	2	0	19	89
North	8	2	0	10	20
East	0	7	1	8	13
Total	25	11	1	37	-

(n)

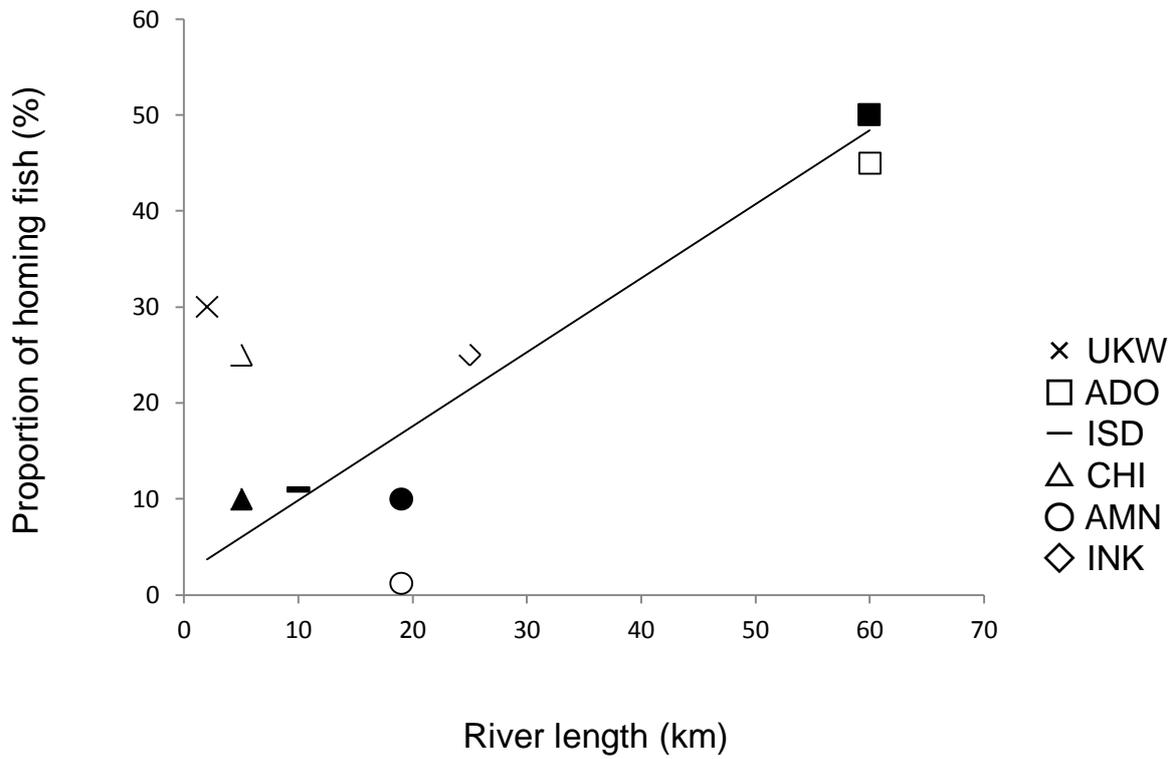


Fig. 4-7. Relationship between proportion of adult homing Biwa salmon and river length in 2006 (white) and 2009 (black). Location codes are shown in Table 4-1.

第3節 考察

第1項 遡上個体に対する母川判別の有用性

ほとんどの遡上個体で耳石の母川指標は、第2章で得た7河川および2ヶ所の養鱒場の母川指標と一致しており、第3章で得た湖内回遊個体だけでなく、母川指標は遡上個体に出現する値もほぼ網羅していると考えられた。すなわち、本研究で得た母川指標は、ビワマスの生涯にわたって有効な母川指標となり得る。

これまでビワマスの母川回帰性についての研究は標識再捕法によって行われてきた。田中(2011)は、フィンクリップ法による標識再捕法により、すべての標識魚が放流河川に回帰したことから、ビワマスにも他のサケ属魚類と同様に母川回帰性があると考察している。しかし、再捕された標識魚は20個体と少なく、迷入率に関しては調査されていない。さらに標識魚の採集を放流河川の河口付近の湖岸でも行っているため、必ずしも放流河川に遡上した個体ともいえない。標識再捕法では放流数や再捕率、再捕努力量などが回帰率に影響を及ぼすため正確な回帰率を評価するためには多大な労力を要する。また無標識魚や野生魚は解析に用いることができない。本研究では、耳石に記録された母川指標を用いることで、野生魚と放流魚に関係なく全採集個体の母川判別を行うことができた。

しかしながら、湖内回遊個体と同様に、第2章で得た母川指標の範囲から外れる値を示す個体も出現した。このような外れ値を示す個体は、本研究で調査しなかった河川で産まれたものと推察された。さらに、2006年と2009年の遡上個体での結果を比較すると、Sr/Caでは2009年のほうが2006年よりも高い値の個体が多かった。これは、母川指標の経年変化や遡上群における母川組成が年によって変化することを示している可能性がある。今後、耳石の微量元素組成とSr安定同位体比を用いた母川判別の有用性を高めるには、より多くの河川で母川指標を作成するとともに、経年変化を検証する必要がある。

本章では、第3章と同様に、QDFAにおいて誤判別が含まれる可能性は排除できない。しかし、母川判別で最も強力な判別指標と考えられた $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では、湖内回遊個体の耳石で得られた値が母川指標の範囲にほぼ一致しており、第3章で考察したように、本章で得られた判別結果は、地域への回帰率を考える際には、有用なものであると結論することには妥当性が認められる。

第2項 母川回帰性

QDFAによる母川判別の結果、遡上河川と判別された母川が一致する個体(母川回帰個体)が確認された。これは、田中(2011)が指摘し、またサクラマスの高い回帰性から予想された通り、ビワマスが母川回帰性を有することを示唆する。

サケ科魚類において、母川回帰率が明らかになっている例は多くはないものの、サツキマス *O. masou ishikawae* では標識放流によって95%の個体が正確に放流河川に遡上したことが報告されている(Kato 1991)。また、サクラマスにおいても、標識放流の結果、放流河川間で相互に迷入することはないと報告されている(真山ら 1988)。方法は異なるがこれらの結果と本研究を比較すると、ビワマスの母川回帰率は高いとはいえ、ビワマスの母川回帰性は弱いものと考えられた。一方、出生地域への回帰率は約50%であり、少なくとも母川に近い河川に遡上する傾向は認められた。

各河川の母川回帰率(各河川の遡上群内における母川回帰個体の割合)を調べたところ0-50%となり、遡上群は高い割合で迷入個体によって占められていることと、その割合は河川によって異なることがわかった。また、調査河川を琵琶湖の西部、北部、東部の地域別にまとめ、地域間の迷入率を算出したところ、西部と東部の間での迷入はほとんど起きていないものの、隣接する地域への迷入は、低い割合ではあるものの起きていることが示された。このことは、各河川の遡上群における母川回帰率が河川ごとに大きく違っていたことが、河川により迷入の程度が異なっていた結果であることを示唆している。これは例えば、大規模な河川では琵琶湖へ供給される稚魚の量が多いため結果として迷入率が低く、小規模な河川では他の大規模河川から迷入する個体によって迷入率が高くなることによって説明することができる(Fig. 4-7)。このようなビワマスの迷入パターンを仮定すると、ビワマス資源は、少数の大規模な河川から供給される稚魚が大きく貢献している可能性が考えられる。今後、母川判別に基づいてより詳細に迷入の実態を明らかにすることで、ビワマスの生態や資源変動を理解することが期待できる。

母川に近い地域の河川へ迷入する傾向はカラフトマス *O. gorbuscha* でも報告されている(Hendry et al. 2004, 星野ら 2008)。カラフトマスは母川回帰性が弱く、近隣の他河川へ遡上する個体が多い。そのため、広い範囲の河川間で遺伝子流動が行われ、河川間の遺伝的変異より、同一河川における遺伝的変異が大きいことが知られている(Beacham et al. 1988)。ビワマスの集団遺伝学的知見は存在しないが、ビワマスの産卵遡上魚の体サイズや卵サイズには河川間で差異がないことが報告されており(尾田 2009, 尾田ら 2011)、この要因として

尾田ら(2011)は、河川間で頻繁に遺伝子流動が生じていることを挙げている。実際に本章で採集した遡上個体でも、体長組成はどの河川でも同様であった。本章の結果は、弱い母川回帰性に起因する産卵遡上魚の迷入が河川間の遺伝子流動に影響を及ぼしている可能性を示唆しており、ビワマスの資源保全だけでなく、ビワマスの遺伝的多様性を明らかにする上でも貴重な基礎的知見となる。

第5章 耳石の炭素・酸素安定同位体比による放流魚の判別

古くからビワマス資源の増殖を目的として人工孵化放流が行われているが、その放流効果については意見が分かれている。澤田(1997)は標識放流による結果から、湖内のビワマス個体群は大部分が野生魚であり、放流魚の割合は 16.2 %であると推定している。一方で田中(2011)は、標識放流によりビワマス資源は完全に放流魚によって維持されていると推定している。ビワマスは野生魚と放流魚とで経験する水温や餌がまったく異なることから、両者の違いを反映する耳石の炭素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$)と酸素安定同位体比($\delta^{18}\text{O}$)では野生魚と放流魚の間で異なり、放流魚判別の指標となると考えられる。

そこで本章では、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を用いて放流魚判別をおこない、ビワマスにおける放流効果と資源量を考察することを目的とした。まず耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を用いた放流魚の判別手法を確立するため、野生稚魚と放流稚魚の耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を調べた。また、稚魚の耳石で得られた $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を、稚魚の筋肉、環境水、餌物で得られたそれらの値と比較し、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ に影響を与える要因を考察した。次に、産卵遡上個体について耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ に基づいた放流魚判別をおこない、放流効果を考察するとともに、資源量を推定した。

第1節 材料と方法

第1項 稚魚と遡上個体の採集

第2章と同様の方法で2010年3月に鶴川、知内川、犬上川と高島事業所、醒井養鱒場において計146個体のビワマス稚魚を、2011年2月に鶴川と安曇川において計40個体の稚魚を採集した(Table 5-1, Fig. 5-1)。野生稚魚の採集は、養鱒場で養育された稚魚が放流される直前の期間に行った。耳石安定同位体比について年による比較をおこなうために、鶴川では2年間にわたってビワマス稚魚を採集した。また、2009年11月に安曇川に産卵遡上したビワマス計50個体と、2011年10月から11月に安曇川、石田川、天野川、犬上川に産卵遡上したビワマス計56個体を、第4章と同様の方法で採集した(Table 5-2, Fig. 5-1)。2009年の安曇川については、購入個体数150尾から50個体を無作為に抽出し解析に供した。その他の河川の入川個体は全ての個体を材料とした。採集したすべての稚魚と、安曇川、石田川、

Table 5-1 Biological characteristics of juvenile Biwa salmon collected in March 2010 and March 2011. Sampling location, location code, sampling year, total length (TL), otolith longest and shortest diameter are shown. TL and otolith diameter are presented as mean \pm standard deviation.

Location	Code	Year	TL (mm)	Otolith diameter	
				Longest axis (μm)	Shorter axis (μm)
Ukawa River	UKW	2010	37.0 \pm 2.6	580 \pm 50	378 \pm 30
		2011	31.0 \pm 1.7	550 \pm 49	368 \pm 35
Ado River	ADO	2011	32.8 \pm 2.1	568 \pm 51	350 \pm 42
Chinai River	CHN	2010	35.8 \pm 3.5	598 \pm 39	348 \pm 44
Inukami R	INK	2010	36.7 \pm 3.8	590 \pm 44	368 \pm 50
Takashima Hachery	TKS	2010	51.6 \pm 7.5	820 \pm 70	600 \pm 69
Samegai Hachery	SMG	2010	61.6 \pm 6.4	870 \pm 75	578 \pm 55

Table 5-2 Body length (BL, mean \pm standard deviation) and number of adult samples collected in rivers of the Lake Biwa water system.

Location	code	Year	BL (mm)	
			Females	Males
			Mean \pm SD (Number)	
Ado River	ADO	2009	396 \pm 49 (23)	374 \pm 38 (27)
		2011	477 \pm 26 (9)	465 \pm 37 (7)
Ishida River	CHN	2011	451 \pm 39 (14)	414 \pm 26 (2)
Amano River	AMN	2011	405 \pm 64 (10)	358 \pm 43 (5)
Inukami River	INK	2011	426 \pm 34 (2)	386 \pm 46 (3)

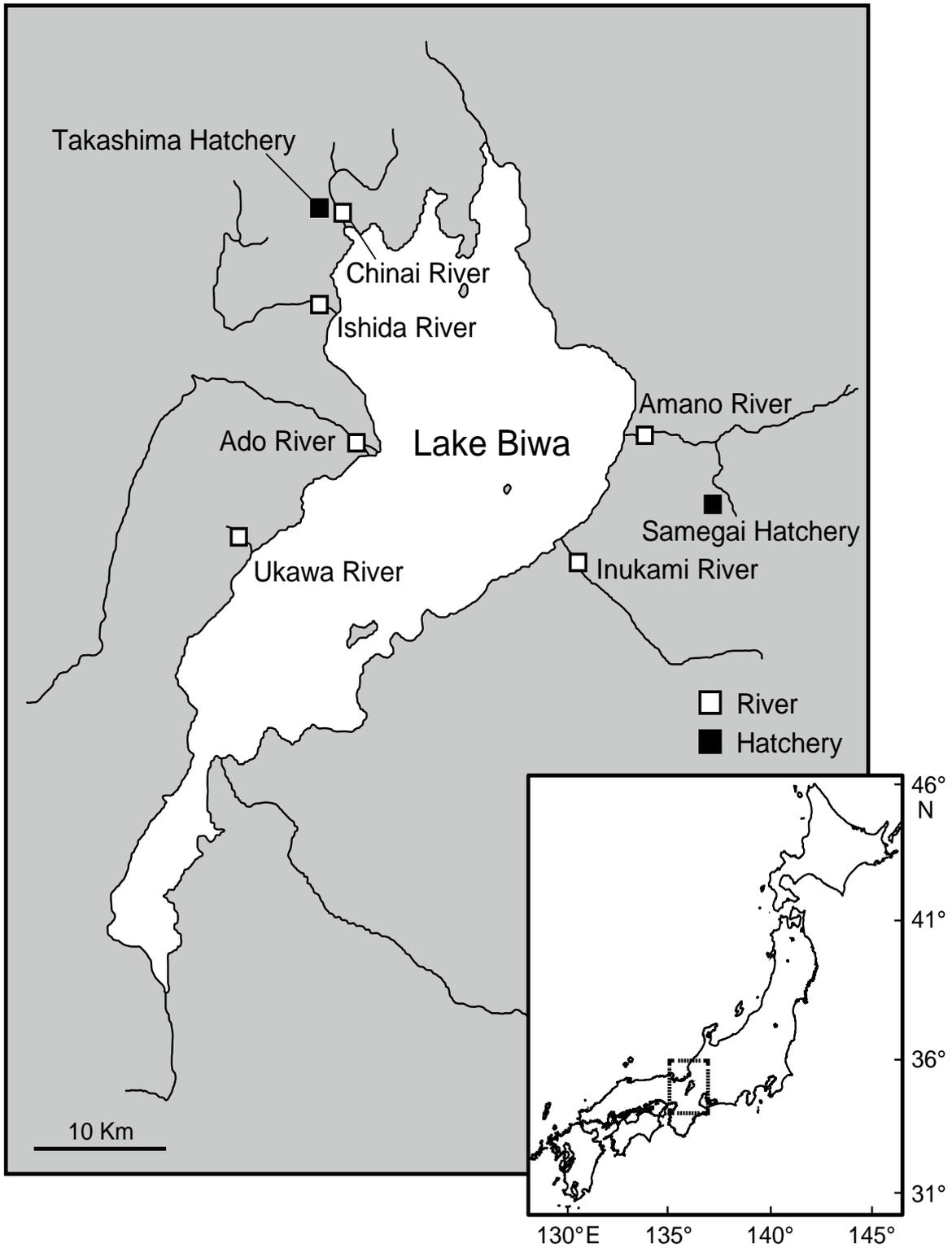


Fig. 5-1. Sampling locations of juvenile and adult Biwa salmon and water sample in the Lake Biwa water system.

天野川で採集した遡上個体は冷凍して研究室へ持ち帰った。犬上川で採集した遡上魚は現場で体長(BL)を測定し、耳石のみを摘出して研究室へ持ち帰った。

第2項 環境水の採取と水温データの取得

第2章と同様の方法で、河川水および飼育水を採取した。河川水については、2010年3月に安曇川、知内川、犬上川、2011年3月に安曇川で採取した(Fig. 5-1)。河川での採水は、河口から1 km以内で、かつ琵琶湖の湖水の影響を受けないと考えられる場所で行った。飼育水は、2010年3月に高島事業所と醒井養鱒場で採取した(Fig. 5-1)。ここでは安定同位体比の分析を行うため、環境水は外部からの空気を完全に遮断するガラス瓶に保存した。環境水の採水はガラス瓶に空気が入らないように水中でゴム栓をした後、さらに金属製の栓で完全に密封することで空気との接触を断ち、空気中の酸素による同位体組成の二次的変化を防いだ。

稚魚の河川生活期にあたる10月から3月の河川の水温は、滋賀県琵琶湖環境科学研究センターによる測定結果を(www.lberi.jp/root/jp/bkjindex.htm)、養鱒場の飼育水の水温は各養鱒場から提供された測定結果を使用した(Fig. 5-2)。

第3項 餌物の採集

野生稚魚の餌物として、2011年2月に鶴川と安曇川で水生昆虫を採集した。河川生活期のビワマス稚魚は主にカゲロウ目やカワゲラ目の幼虫を摂餌している(加藤 1978)。そのため、水生昆虫をたも網(口径 300 mm, 目合 2.5 mm)で採集して肉眼で種査定し、カゲロウ目とカワゲラ目の幼虫(以下、両者を便宜的に水生昆虫と呼ぶ)のみ採集した。水生昆虫は冷凍して研究室へ持ち帰った。また、放流稚魚の餌物である人工餌料を各養鱒場から譲り受け、分析まで研究室で冷凍保存した。この人工餌料は、本章で採集した放流稚魚に与えていた餌料である。

第4項 標本処理

稚魚は全長(TL)を測定した後、耳石を摘出した。耳石は、Milli-Q水(Millipore)を用いて複数回洗浄し、十分に室温で乾燥させた後、清浄なプラスチック製ケースで保存した。耳石の摘出後、筋肉の $\delta^{13}\text{C}$ 測定のための体側筋試料を魚体から約0.5 mg採取し、分析まで冷凍保存(-30°C)した。

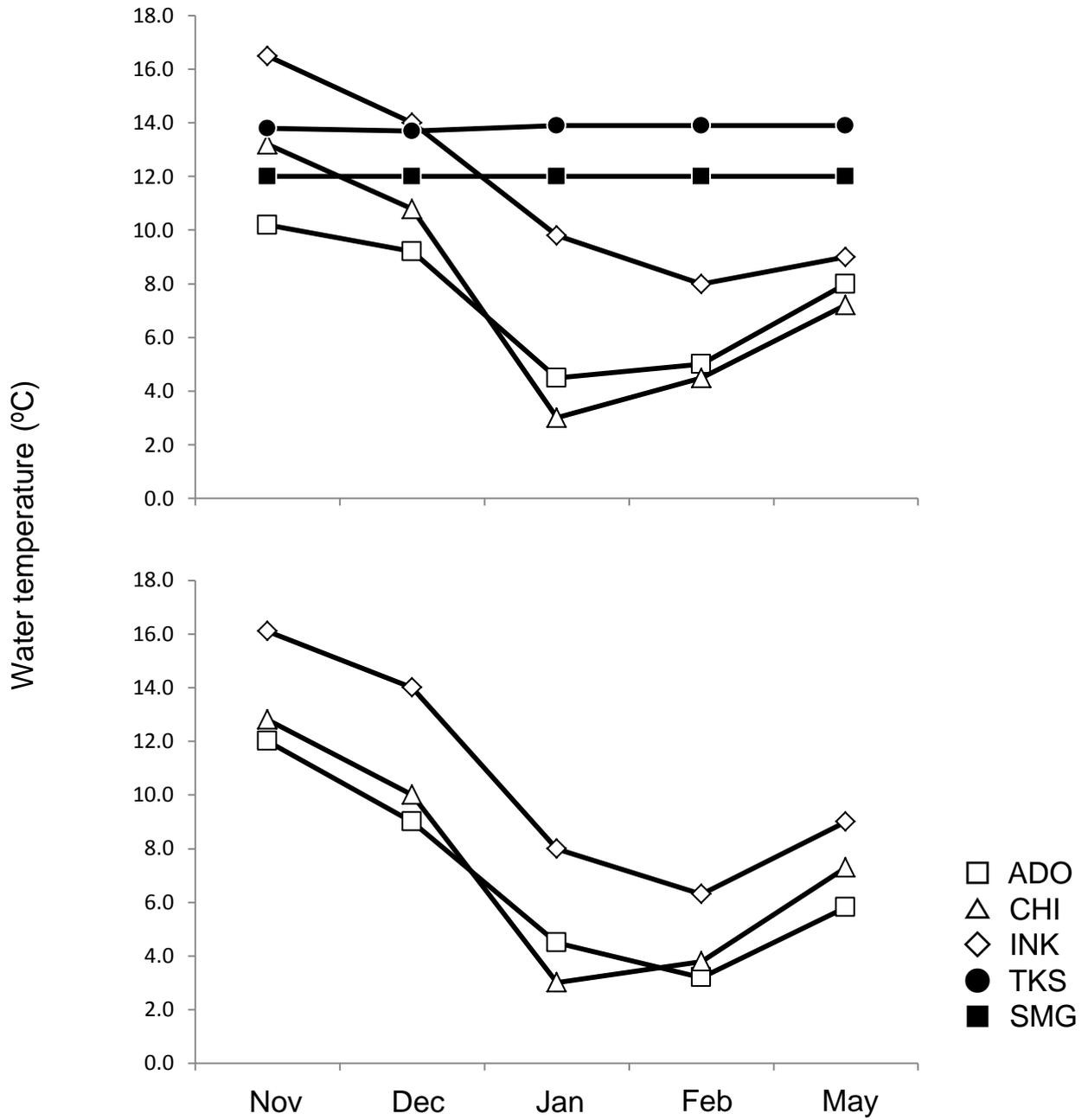


Fig. 5-2. Water temperature of sampling locations in rivers of the Lake Biwa water system. White and black symbols indicate rivers and hatcheries, respectively. Water temperature of rivers was obtained from records of the Lake Biwa Environmental Research Institute (www.lberi.jp/root/jp/bkjindex.htm). Location codes are shown in Table 5-1.

遡上個体は体長(BL)を測定し、サケ科の成熟雄特有の形態的特長である鼻曲がりの有無と生殖腺の形態から肉眼で性判別を行った。その後、耳石を摘出し Milli-Q 水(Millipore)を用いて複数回洗浄し、十分に室温で乾燥させた。耳石は、清浄なプラスチック製ケースに保存した。摘出した耳石の河川生活期にあたる核周辺(河川生活期部分)を分析するため、耳石切片を第 2 章の第 1 節第 5 項と同様の方法で作製した。

第 5 項 耳石粉末試料の採取

遡上個体の河川生活期部分で $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を分析するため、Micro-Drilling 法により粉末試料を採取した。本実験は東京大学大気海洋研究所に設置してあるマイクロサンプリング装置(Geomill326, 合資会社いずも Web)を使用した。この装置はマイクロドリルを固定した本体部分と、それを制御するコンピューターから構成されており、本体部分はクリーンブース内に設置されている。

耳石の掘削範囲は、第 3 章と同様に、河川生活期に相当する核から長径 600 μm 、短径 400 μm の範囲とし、掘削深度は 40 μm とした。マイクロサンプリング装置によりこの範囲内を 10 点以上掘削し、削出した粉末試料を炭素・酸素安定同位体比分析に供した。削出した粉末試料は、アルミホイルで作成した試料容器を用いて分析用バイアルに導入した。

第 6 項 耳石の炭素・酸素安定同位体比分析

稚魚は左右の耳石全体を、産卵遡上魚は Micro-Drilling 法によって得られた耳石粉末試料を $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の分析ために使用した。本項で用いた同位体比質量分析計は、高知大学海洋コア総合研究センターに設置された炭酸塩自動精製装置(Kiel III, Thermo Finnigan)と同位体比質量分析計(MAT253, Thermo Finnigan)を結合させた装置と、東京大学大気海洋研究所に設置されたガスベンチ(GasBench, Thermo Finnigan)と連続フロー型同位体比質量分析計(DELTA V advantage, Thermo Finnigan)を結合させた装置である。前者の装置では、試料をバイアルに導入した後、自動前処理装置により、サンプル容器を真空に引き、真空下でリン酸(H_3PO_4)を滴下し 70 $^{\circ}\text{C}$ でサンプルと反応させ、発生した CO_2 ガスを真空ラインに導入し、水などの不純物から精製した後に質量分析計に導入し $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を分析した。後者の装置では、試料をブチルゴムで密閉したバイアルに導入した後、自動前処理装置によりバイアル内の空気をヘリウムで置換し、注射器を用いてリン酸を注入し、サンプルをバイアル内で 70 $^{\circ}\text{C}$ で試料と反応させ CO_2 ガスを発生させた。そしてバイアル内の CO_2 ガスを、同位

体比質量分析計に自動前処理装置を介して導入し分析を行った。分析結果は式 5-1、5-2 に従って国際標準物質である Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB)同位体比からの差のパーミル(‰)値へ換算した。

$$\delta^{13}\text{C} = \left\{ \left[\frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{耳石試料}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}}} \right] - 1 \right\} \times 1000 \quad (5-1)$$

$$\delta^{18}\text{O} = \left\{ \left[\frac{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{耳石試料}}}{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{PDB}}} \right] - 1 \right\} \times 1000 \quad (5-2)$$

実際の分析に際しては、NBS-18 と NBS-19 (National Bureau of Standards)である。また、分析の繰り返し再現性を評価するため、研究室標準物質である Clear calcite をパウダー状に粉砕し分析に供した。測定期間中の分析の繰り返し再現性を示す Clear calcite の標準偏差(2σ)は $\delta^{13}\text{C}$ が ± 0.14 ‰, $\delta^{18}\text{O}$ が ± 0.20 ‰であった。

第7項 稚魚の筋肉と餌物の炭素安定同位体比分析

稚魚の筋肉を用いた $\delta^{13}\text{C}$ の分析には、2011年に鶴川と安曇川で採集した野生稚魚と、2010年に高島事業所と醒井養鱒場で採集した放流稚魚から採取した体側筋を供した。 $\delta^{13}\text{C}$ の分析には試料が 1 mg 以上必要であったため、2個体の筋肉を1試料とし、各河川5試料を作成して分析に供した。水生昆虫の $\delta^{13}\text{C}$ 分析には、鶴川で採集したカゲロウ目5個体とカワゲラ目3個体、および安曇川で採集したカゲロウ目5個体を供した。分析に十分な量を確保するため、水生昆虫は河川ごとに全個体をまとめ、重量を 1 mg 以上にして分析に供した。また、人工餌料は 1 mg 以上を分取して分析に用いた。

分析試料は 60 °C で 24 時間乾燥させ、乳鉢で粉末になるまですり潰した。その後、粉末試料をクロロホルムとメタノールを 2 : 1 で混合した溶液の入ったエッペンチューブ (Eppendorf Tubes, eppendorf)に入れ、手で振ってよく混合させて 24 時間置き、脱脂処理を行った。魚類は脂質が多いため、筋肉の脱脂処理は2回行った。脱脂後、遠心分離器により 3 分間分離させ、上澄みを除去した後、常温で 24 時間乾燥させた。その後、乾燥機に入れ、60 °C で 24 時間乾燥させた。粉末試料からウルトラマイクロ天秤(MP6U, Mettler Toledo)によって 1 mg を分取してスズカップ(Tin capsules solids 5×9 mm, SANTIS)に詰め、同位体比質量分析装置で $\delta^{13}\text{C}$ を測定した。本項で用いた同位体比質量分析計は、新潟大学農学部設置された燃焼型元素分析装置(Flash EA 1112)をオープンスプリットインターフェース(Conflo III)で直結させた安定同位体比質量分析計(DELTA V advantage, Thermo Finnigan)である。分析

結果から式 5-1 に従って $\delta^{13}\text{C}$ を算出した。また、分析の繰り返し再現性を評価するため、DL-Alanine をパウダー状に粉碎し標準物質として分析を行った。測定期間中の分析の繰り返し再現性を示す DL-Alanine の標準偏差(2σ)は $\delta^{13}\text{C}$ が $\pm 0.20\%$ であった。

第 8 項 環境水の酸素安定同位体比分析

環境水の $\delta^{18}\text{O}$ は、高知大学海洋コア総合研究センターに設置された前処理装置(MultiPrep)と同位体比質量分析計(IsoPrime, GV Instruments)を結合させた装置によって分析した。分析は $\text{CO}_2\text{-H}_2\text{O}$ の平衡法によるヘッドスペースガスの二酸化炭素の分析から酸素安定同位体比を測定した。分析結果は式 5-3 に従って研究室用標準海水(-0.27% , SMOW)の酸素同位体比からの差のパーミル(‰)値へ換算した。

$$\delta^{18}\text{O} = \left\{ \left[\frac{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{環境水}}}{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{SMOW}}} \right] - 1 \right\} \times 1000 \quad (5-3)$$

ここで使用した研究室用標準海水は、SMOW、GISP、SLAP の複数回測定により同位体比を正確に値付けした。測定期間中の分析の繰り返し再現性を示す研究室用標準海水の標準偏差(2σ)は 0.12% であった。

第 9 項 統計解析

統計解析を行う前に、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の正規性および等分散性を Shapiro-Wilk test と Bartlett test を用いて確認した。正規性は全データで示されたが、等分散性は示されなかった。そのため、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ における地点間(4 河川と養鱒場 2 地点)の比較には Kruskal-Wallis test と Steel-Dwass test を、採集年間の比較には等分散を仮定しない場合の t-test を用いた。放流魚の判別指標としての稚魚耳石 $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の有用性は、非線形判別分析(QDFA)によって評価した。QDFA による交差検定(Cross-validation)から得られた正判別率を、野生・放流の由来を推定する有用性の指標として扱った。さらに、稚魚耳石で作成した QDFA に遡上個体の耳石で得られた値を導入し、野生個体と放流個体を判別した。本項の統計解析は、R (ver. 3.0.1) と Excel 2010 (Microsoft)を用いて行った。

環境水の $\delta^{18}\text{O}$ および、稚魚の筋肉と餌物の $\delta^{13}\text{C}$ については、それぞれの分析結果を分析値(\pm 分析誤差)で示した。また、分析誤差は繰り返し再現性を評価した標準物質の標準偏差(2σ)を示す。なお、試料数が少なかったため、採集地点間および野生魚と放流魚の間で統計

検定を行わなかった。

第2節 結果

第1項 稚魚耳石の炭素・酸素安定同位体比

稚魚耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ には、採集地点間で有意な差がみられた(Kruskal-Wallis test, $p < 0.001$)。なお、鵜川で採集した稚魚の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ は2010年と2011年をまとめて解析に用い、年による違いは後述する。耳石 $\delta^{13}\text{C}$ は、多重比較検定で有意な差がみとめられたものの(Steel-Dwass test, $p < 0.05$; Fig. 5-3)、必ずしも野生稚魚と放流稚魚の間に有意差があったわけではなく、高島事業所は鵜川と、醒ヶ井事業所は安曇川および知内川との間では有意差がみられなかった(それぞれ $p = 1.00, 0.66, 1.00$)。耳石 $\delta^{18}\text{O}$ は、採集河川と養鱒場の間では有意な差がみとめられたが、採集河川同士、養鱒場同士の組み合わせで有意な差はなかった(Steel-Dwass test, $p > 0.05$; Fig. 5-3)。平均の耳石 $\delta^{18}\text{O}$ は、野生稚魚で $-6.3 \pm 0.29 \text{ ‰}$ 、放流稚魚で $-7.8 \pm 0.26 \text{ ‰}$ であり、両者の間には有意な差がみられた(t-test, $p < 0.05$; Fig. 5-3)。耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ による同位体マップを作成したところ、野生稚魚と放流稚魚で $\delta^{13}\text{C}$ の値は重なっていたものの、放流魚は $\delta^{18}\text{O}$ の値が -7 ‰ 以下であることで、野生稚魚から明瞭に区別できた(Fig. 5-4)。以降、本項で得られた野生稚魚と放流稚魚の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を判別指標と呼ぶ。

耳石 $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の経年変化を検討するため、2010年3月と2011年2月に鵜川で採集した稚魚の耳石の値を比較した(Fig. 5-5)。 $\delta^{13}\text{C}$ の値は2010年が $-15.1 \pm 0.86 \text{ ‰}$ (平均値 \pm 標準偏差)、2011年が $-15.0 \pm 1.01 \text{ ‰}$ であり、両者の間に有意差はみられなかった(t-test, $p > 0.05$)。一方、 $\delta^{18}\text{O}$ の値は2010年が $-6.56 \pm 0.25 \text{ ‰}$ だったのに対して、2011年が $-6.10 \pm 0.37 \text{ ‰}$ と 0.46 ‰ 高く、両者の間には有意差がみられ(t-test, $p < 0.05$)、年ごとに変化していることが示された。

第2項 酸素安定同位体比における環境水と稚魚耳石との関係

河川水の $\delta^{18}\text{O}$ は、安曇川で $-7.74 \pm 0.12 \text{ ‰}$ (分析値 \pm 分析誤差)、知内川で $-7.50 \pm 0.12 \text{ ‰}$ 、犬上川で $-7.82 \pm 0.12 \text{ ‰}$ であった(Fig. 5-6)。養鱒場の飼育水における $\delta^{18}\text{O}$ は、高島事業所で $-7.98 \pm 0.12 \text{ ‰}$ 、醒井養鱒場で $-8.26 \pm 0.12 \text{ ‰}$ であり、河川水よりも高い値を示した。それぞれの平均値は、河川水で $-7.79 \pm 0.26 \text{ ‰}$ (平均値 \pm 標準偏差)、養鱒場で $-8.17 \pm 0.21 \text{ ‰}$ であり、およそ 0.4 ‰ の差があった。

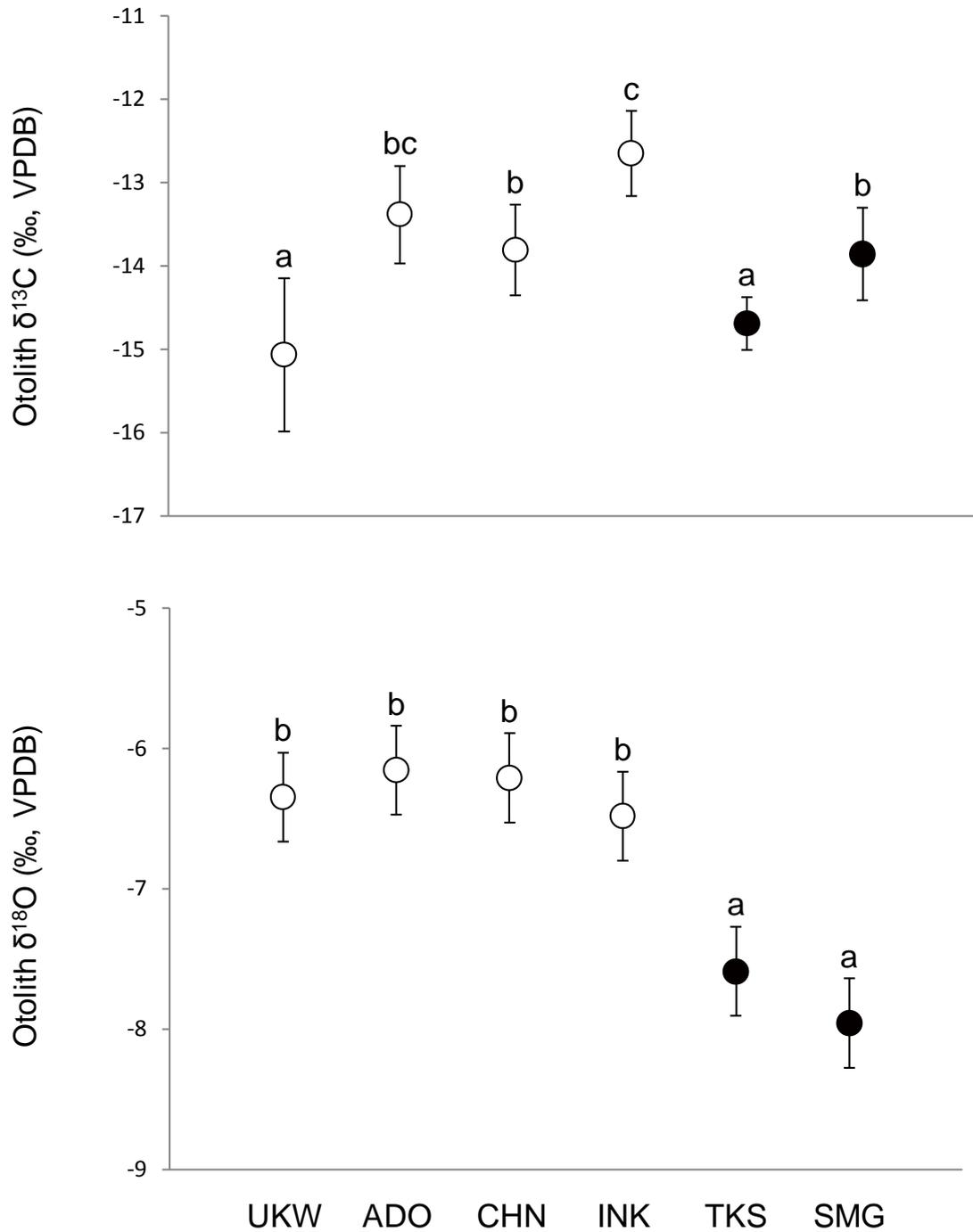


Fig.5-3. Carbon and Oxygen isotopic ratios (mean \pm standard deviation) of the otoliths of juvenile fish collected from the wild (○) and hatchery (●). Statistical differences are shown with different letters. Post-hoc multiple comparisons were performed using Steel-Dwass tests ($P < 0.05$). Location codes are shown in Table 5-1.

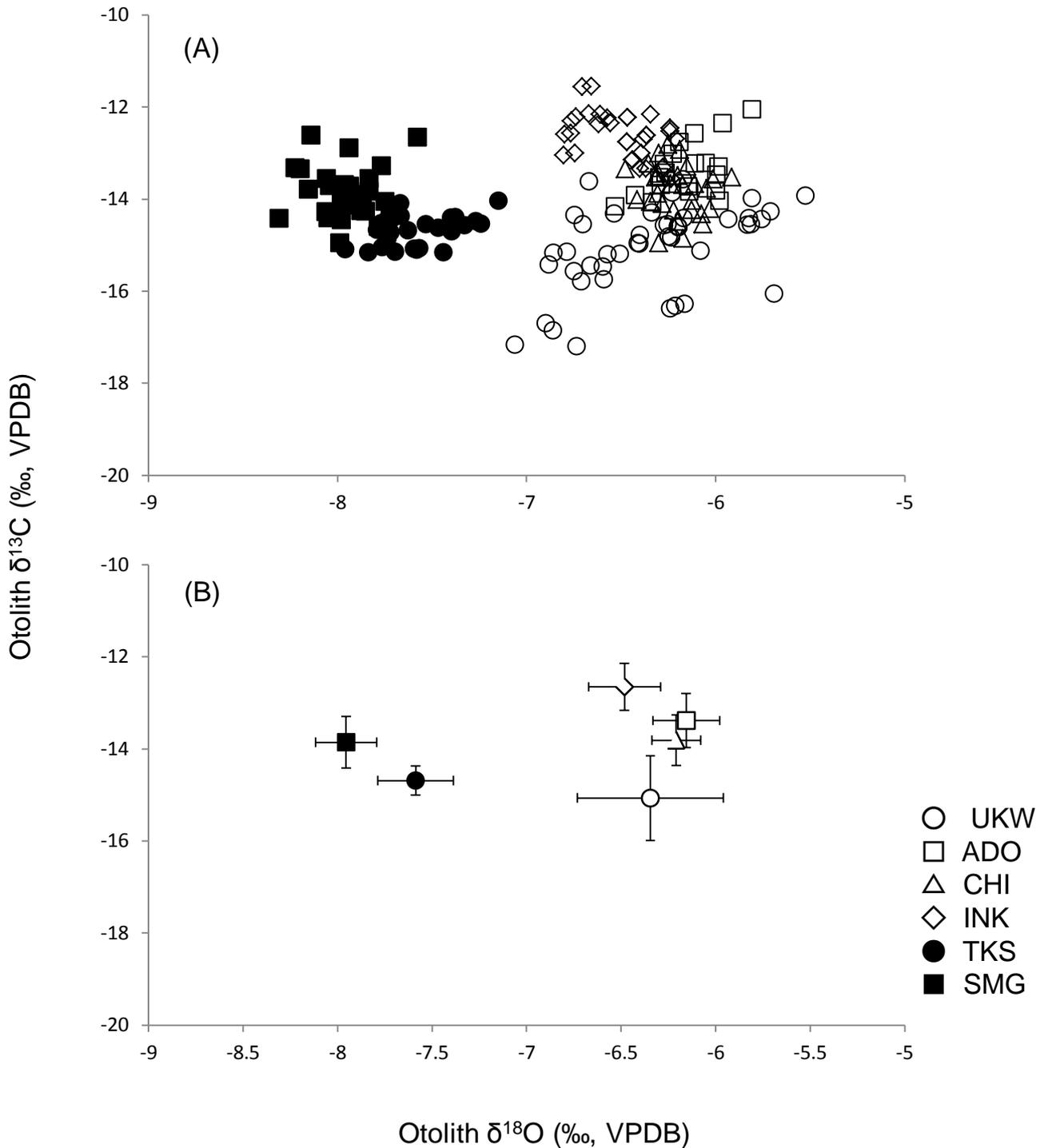


Fig. 5-4. The relationships between otolith $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ (A) and the mean isotopic ratios (\pm standard deviation) (B), showing distinct differences from the 4 rivers (white) and 2 hatcheries (black). Location codes are shown in Table 5-1.

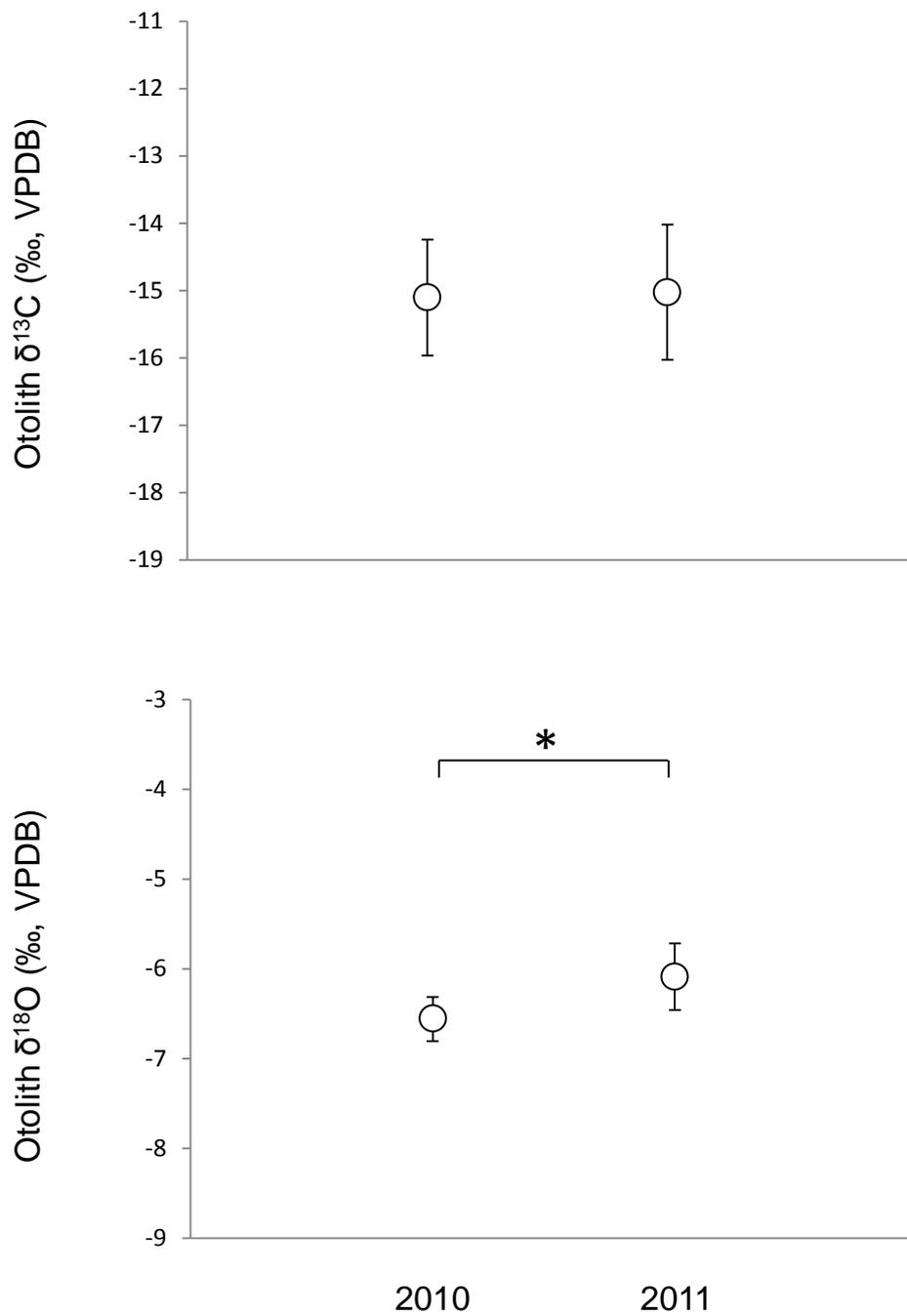


Fig. 5-5. Otolith Carbon and Oxygen isotopic ratios (mean \pm standard deviation) of juvenile Biwa salmon in the Ukawa River collected during 2010 and 2011.

* indicates significant difference at $p < 0.05$ level.

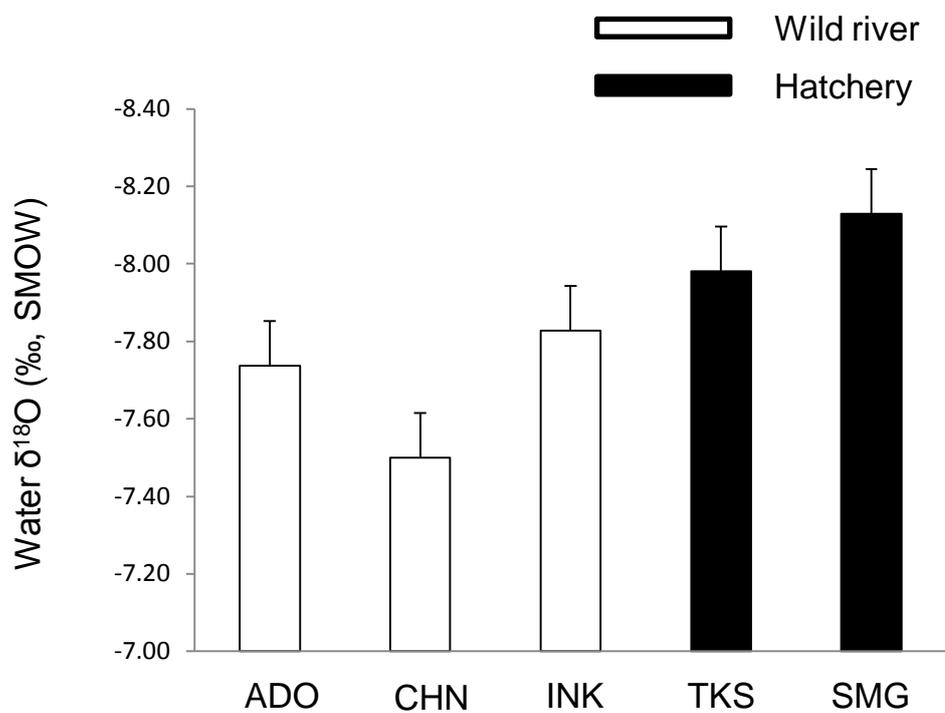


Fig. 5-6. Oxygen isotopic ratios (mean \pm analytical error) of water samples from the sampling locations. Location codes are shown in Table 5-1.

稚魚の耳石 $\delta^{18}\text{O}$ から環境水の $\delta^{18}\text{O}$ の影響を除くため、耳石 $\delta^{18}\text{O}$ からそれぞれの採集地点での環境水の $\delta^{18}\text{O}$ の値を減じ、その値を $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith, PDB-water, SMOW}}$ (‰, 以下、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith-water}}$ と示す)として示した(Fig. 5-7)。 $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith-water}}$ は、野生稚魚で 1.4 ± 0.2 ‰ (平均値 \pm 標準偏差)、放流稚魚で 0.3 ± 0.2 ‰となり、放流稚魚で約 1.1 ‰低くなった(t-test, $p < 0.05$)。

稚魚の経験水温を比較すると、野生稚魚は $3.0\text{-}16.5$ °C (平均値 \pm 標準偏差: 8.7 ± 2.5 °C)と幅広い水温を経験していたのに対し、放流稚魚は $12.0\text{-}13.9$ °C (12.9 ± 1.3 °C)とほぼ一定の水温を経験していた(Fig. 5-2)。平均経験水温は野生稚魚と放流稚魚の間で約 4 °C の差があった。平均経験水温がほぼ同じだった犬上川と醒ヶ井事業所(約 12 °C)の稚魚で、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith-water}}$ の値を比較したところ、有意差がみられ、犬上川の野生稚魚のほうが約 1.0 ‰高かった(t-test, $p < 0.05$)。

第3項 炭素安定同位体比における筋肉および餌物と稚魚耳石との関係

野生稚魚の筋肉で得られた $\delta^{13}\text{C}$ は、河川間で同様の値を示し、鵜川で -24.5 ± 0.2 ‰ (平均値 \pm 分析誤差)、安曇川で -24.0 ± 0.2 ‰であった(Table 5-3)。放流稚魚の筋肉で得られた $\delta^{13}\text{C}$ も事業所間で同様の値を示し、高島事業所で -17.8 ± 0.2 ‰、醒井養鱒場で -17.3 ± 0.2 ‰であった。筋肉の $\delta^{13}\text{C}$ は、野生稚魚よりも放流稚魚の方がおよそ 6-7 ‰高く、明瞭に分けられた。水生昆虫の $\delta^{13}\text{C}$ は、2011年の鵜川で -23.7 ± 0.2 ‰、安曇川で -18.9 ± 0.2 ‰であり、両者間で約 5 ‰の差があった。人工餌料の $\delta^{13}\text{C}$ は高島事業所のもので -19.7 ± 0.2 ‰、醒井養鱒場のもので -19.2 ± 0.2 ‰であり、安曇川で採集された水生昆虫の $\delta^{13}\text{C}$ と同様の値を示した。

野生稚魚においては、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は、筋肉および餌物の $\delta^{13}\text{C}$ と明瞭な関係はみとめられなかった。鵜川で採集された稚魚と水生昆虫の場合は、筋肉と水生昆虫の $\delta^{13}\text{C}$ はほぼ同じ値であり、耳石 $\delta^{13}\text{C}$ はそれらよりも約 9 ‰高かった。一方、安曇川で採集された稚魚と水生昆虫の場合は、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は筋肉の $\delta^{13}\text{C}$ より約 10 ‰、水生昆虫の $\delta^{13}\text{C}$ より約 5 ‰高かった。放流稚魚では一定の関係がみとめられ、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は筋肉の $\delta^{13}\text{C}$ より約 4 ‰、人工餌料の $\delta^{13}\text{C}$ より約 5 ‰高かった。

第4項 耳石の炭素・酸素安定同位体比による放流魚判別

稚魚耳石の判別指標($\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$)を用いて、QDFAを行った(Table 5-4)。各採集地点の正判別率は鵜川、犬上川、高島事業所、醒井養鱒場で 82-97 ‰となり高い判別率を示した。一方、安曇川と知内川の正判別率はそれぞれ 35 ‰と 59 ‰と低かった。しかしながら、野生稚魚お

Table 5-3. $\delta^{13}\text{C}$ of otolith, muscle, aquatic insect and artificial prey collected from sampling location.

Location	Code	Year	$\delta^{13}\text{C}$ (‰, VPDB)			
			otolith	muscle	aquatic insect	artificial prey
Ukawa River	UKW	2011	- 15.1 ± 1.0	- 24.5 ± 0.2	- 23.7 ± 0.2	-
Ado River	ADO	2011	- 13.4 ± 0.6	- 24.0 ± 0.2	- 18.9 ± 0.2	-
Chinai River	CHN	2010	- 13.8 ± 0.5	-	-	-
Inukami River	INK	2010	- 12.7 ± 0.5	-	-	-
Takashima Hatchery	TKS	2010	- 14.7 ± 0.3	- 17.8 ± 0.2	-	- 19.7 ± 0.2
Samegai Hatchery	SMG	2010	- 13.9 ± 0.6	- 17.3 ± 0.2	-	- 19.2 ± 0.2

Table 5-4. Results of cross-validated classification for quadratic discriminant function analysis assigned to sampling locations using otolith $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$. Values are number of samples and proportion of assigned location. Location codes are shown in Table 5-1.

Sample location	Assigned location						total	Rate of correct assignment (%)
	River				Hatchery			
	UKW	ADO	CHN	INK	TKS	SMG		
UKW	36	-	7	1	-	-	44	82
ADO	1	7	10	2	-	-	20	35
CHN	3	5	17	4	-	-	29	59
INK	-	-	5	29	-	-	34	85
TKS	-	-	-	-	29	1	30	97
SMG	-	-	-	-	2	27	29	93

(n)

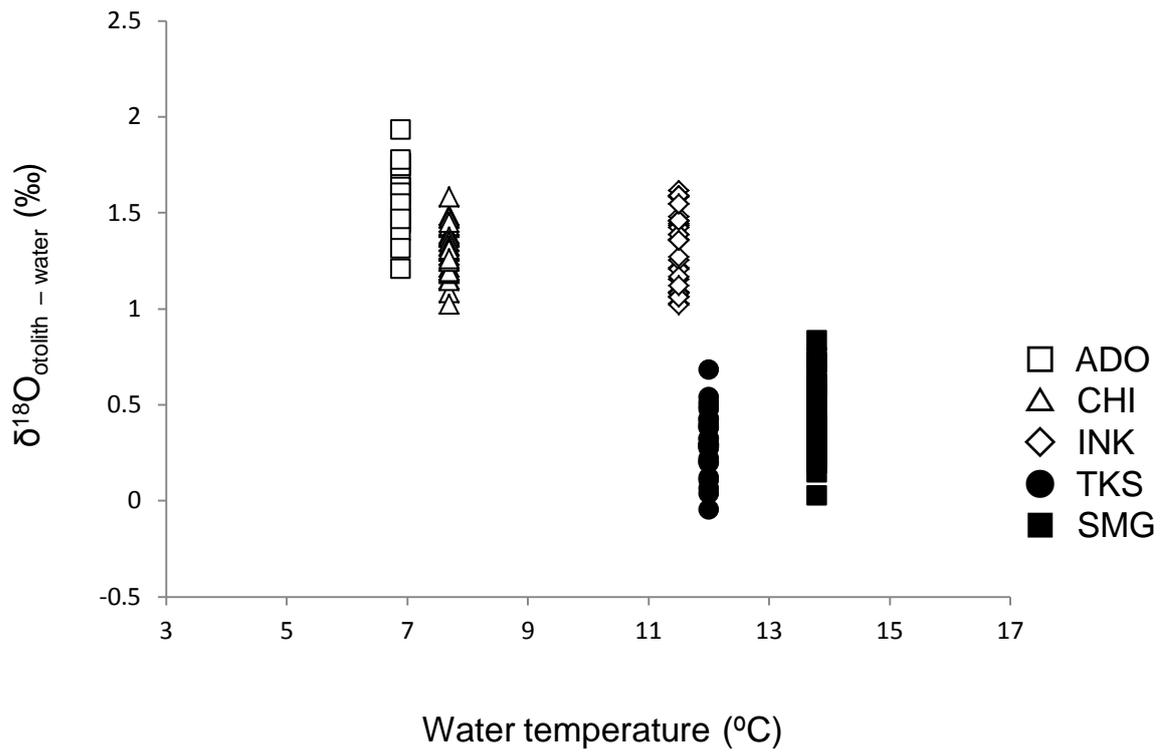


Fig. 5-7. Relationship between $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith-water}}$ of juvenile Biwa salmon and the ambient water temperature. Location codes are shown in Table 5-1.

よび放流稚魚の正判別率は 100 % であり、野生稚魚を放流稚魚へ、またはその逆へ誤判別することはなく、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を用いて正確な放流魚判別ができることがわかった。

第 5 項 遡上個体の放流魚判別

分析に供した遡上個体では、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は -10.4 - -14.5 ‰、 $\delta^{18}\text{O}$ は -5.7 - -7.7 ‰ であり、本節第 1 項で得られた稚魚耳石の範囲に $\delta^{13}\text{C}$ では 88 % が、 $\delta^{18}\text{O}$ では全ての個体が含まれた (Fig. 5-8, 5-9)。安曇川で 2009 年に採集された遡上個体では、耳石 $\delta^{13}\text{C}$ が -11 ‰ 以上を示す個体が出現し、これは第 1 項の稚魚耳石にも 2011 年の安曇川で採集された遡上個体にも出現しない特徴的な値だった。その他の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ は河川間および年間で類似していた。

遡上個体の耳石で得られた $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を用いて QDFA による放流魚判別を行った (Table 5-5)。2009 年に安曇川で採集された遡上個体は、その 12 % (50 個体中 6 個体) が放流魚と判別された。2011 年には複数河川で採集された遡上個体で放流魚判別を行い、その 29 % が放流魚と判別された (55 個体中 16 個体)。2011 年に採集された個体で河川ごとに遡上個体における放流魚の割合を比較すると、安曇川で 0 % (16 個体中 0 個体)、石田川で 6 % (16 個体中 1 個体)、天野川で 73 % (全 15 個体中 11 個体)、犬上川で 50 % (全 8 個体中 4 個体) となり、河川ごとに放流魚の割合は大きく異なっていた。

判別結果に基づき、野生稚魚だと判別された個体と放流魚だと判別された個体で $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の分布を比較したところ、 $\delta^{13}\text{C}$ は両方で重複していたものの、 $\delta^{18}\text{O}$ はおよそ -7.2 ‰ を境として分けられた (Fig. 5-10)。第 1 項で得られた判別指標と比較すると、野生魚だと判別された個体も放流魚だと判別された個体も、遡上魚においては $\delta^{13}\text{C}$ が -14 ‰ 以下の個体はほとんど出現しなかった。また、 $\delta^{18}\text{O}$ は -8 ‰ 以下、また -6.2 ‰ 以上を示した個体はほとんど出現しなかった。

第 3 節 考察

第 1 項 酸素・炭素安定同位体比を用いた放流魚判別の有用性

河川で採集した野生稚魚と養鱒場で採取した放流稚魚の間では、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ が明瞭に異なり、両者を区別することができた。同様に耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を用いた QDFA の結果でも野生稚魚と放流稚魚は完全に判別できた。本研究で過去にサケ科魚類で行われてきた耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を用いた放流魚判別では、北海道の伊茶仁川のカラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* で正判別率 95.8 % (Tomida et al. 2013)、北アメリカ大陸のオンタリ

Table 5-5. Number (n) and stocked rate (%) of the adult Biwa salmon in each assigned location inferred from QDFA analysis using oxygen and carbon isotopic ratios of otoliths. Location codes are shown in Table 5-1.

Year	Sample location	Assigned location						total	stocked rate
		River				Hatchery			
		UKW	ADO	CHN	INK	TKS	SMG		
					(n)			(%)	
2009	ADO	2	1	1	40	4	2	50	12
2011	ADO	0	0	1	15	0	0	16	0
	ISD	1	0	0	14	1	0	16	6
	AMN	0	0	0	4	0	11	15	73
	INK	1	0	0	3	0	4	8	50
	Total			39			16		55

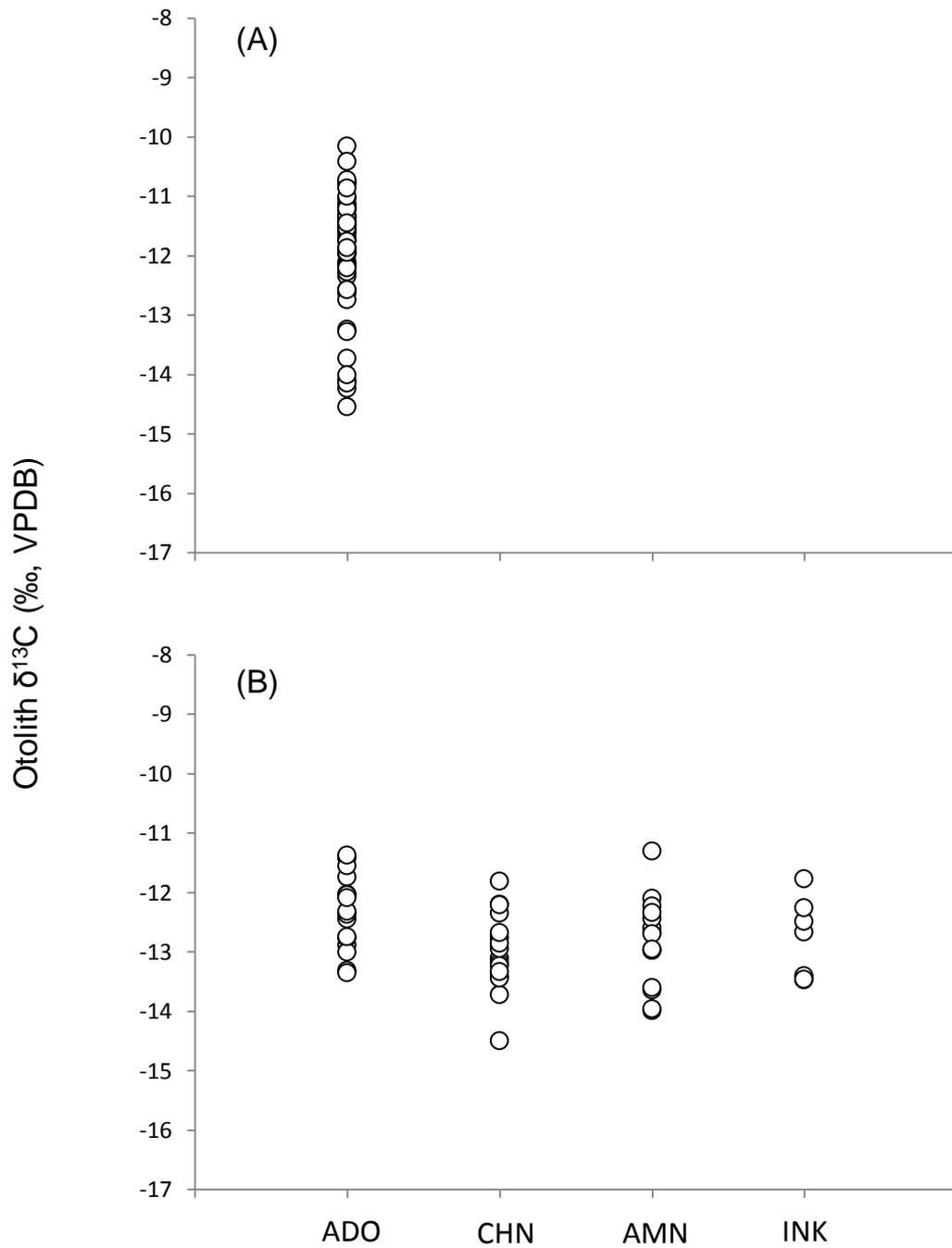


Fig.5-8. Carbon isotopic ratios of otoliths of adult Biwa salmon collected in 2009 (A) and 2011 (B) from the sampling rivers. Location codes are shown in Table 5-1.

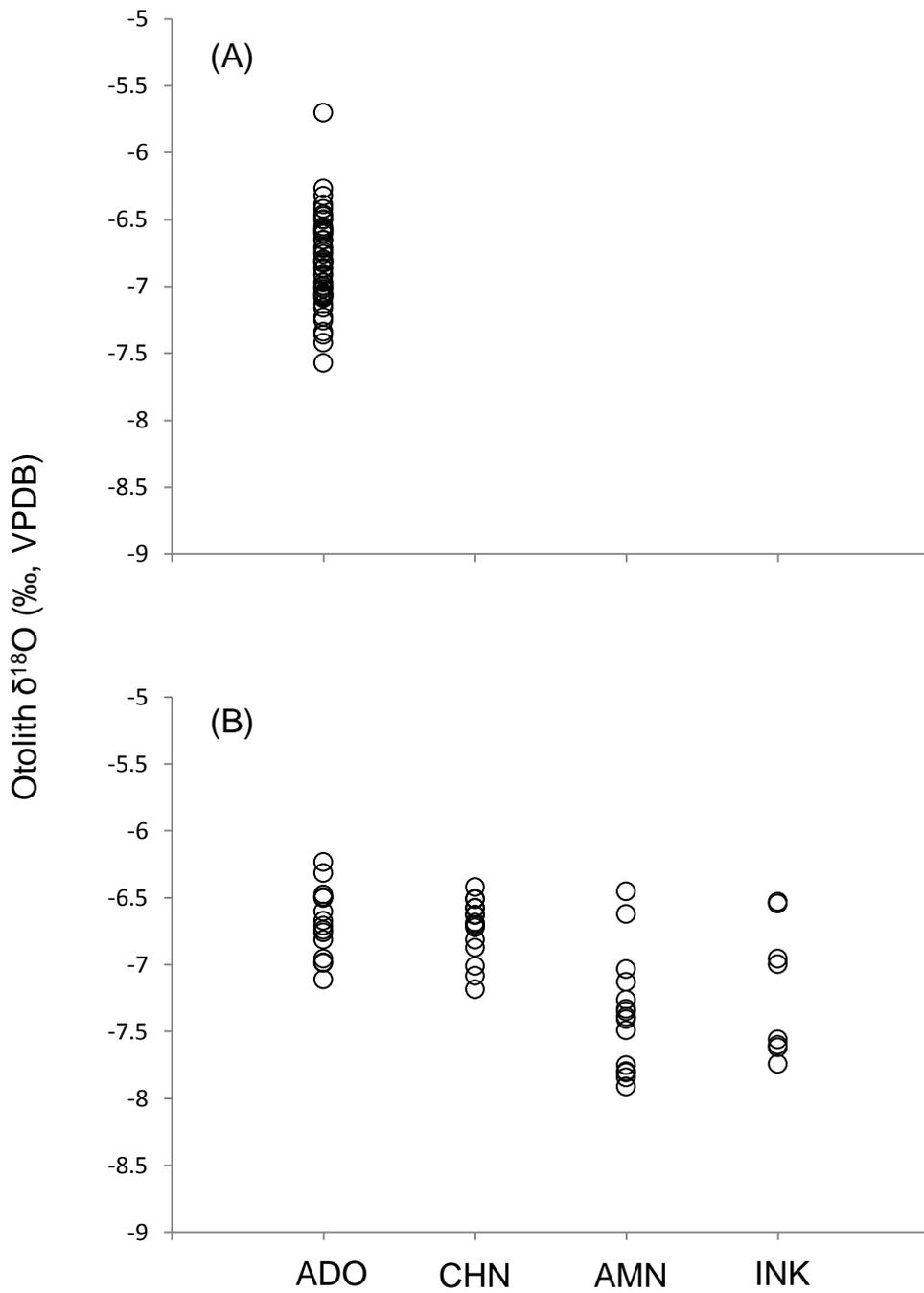


Fig.5-9. Oxygen isotopic ratios of otoliths of adult Biwa salmon collected in 2009 (A) and 2011 (B) from the sampling rivers. Location codes are shown in Table 5-1.

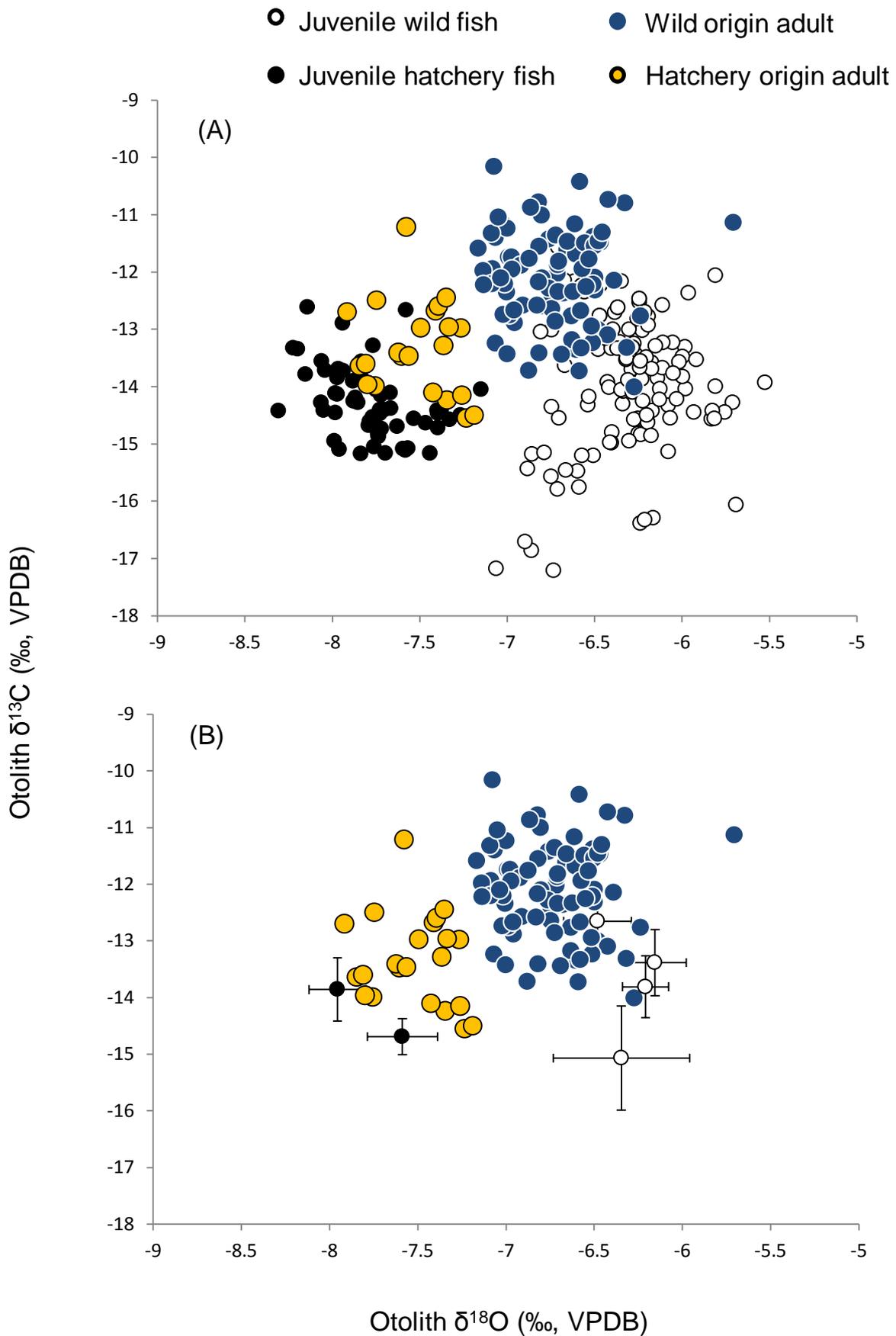


Fig. 5-10. $\delta^{13}\text{C}$ versus $\delta^{18}\text{O}$ from the otolith of juvenile and adult Biwa salmon (A) and the mean isotopic ratios (\pm standard deviation) (B), showing distinct differences from the 4 rivers and 2 hatcheries.

オ湖のレイクトラウト *Salvelinus namaycush* で正判別率 95 % (Schaner et al. 2007)、アメリカ合衆国メイン州の養鱒場のタイセイヨウサケ *Salmo salar* で正判別率 90 % (Gao & Bean 2008) という値が報告されている。今回ピワマスで得られた正判別率は 100 % であり、本研究で確立した判別手法はきわめて有用性が高いと考えられる。

魚類の由来判別の指標としては、耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比も有用であり、実際に本論の第 2 章では母川指標(Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)が母川だけでなく養鱒場由来の稚魚(高島事業所と醒井養鱒場)も高い正判別率で判別できることを示した。しかしながら、第 2 章で得られた放流稚魚の耳石微量元素組成と Sr 安定同位体比は野生稚魚の値と重複しており、また、調査に含まれていない河川の母川指標とも一致している可能性がある。例えば、高島事業所で養育された稚魚耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の値(平均値 \pm 標準偏差: 0.7142 ± 0.0035)は、本研究では調査していない西部の河川水 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ (八屋戸川: 0.7142, 野離子川: 0.7145, Nakano et al. 2008)と東部の河川水(姉川: 0.7136, Nakano et al. 2008)の値と類似している。そのため、耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比は河川レベルで由来を判別できるきわめて鋭敏な方法であるものの、野生魚と放流魚の判別においては誤判別する危険性を完全には排除できない。一方、本節で用いた耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ は、放流魚と野生魚で値の重複がなく、両者を明瞭に区別することができたため、放流魚判別に適した指標である。

第 2 項 判別結果の信頼性

本研究で対象とした河川は琵琶湖流入河川のごく一部であることから、遡上個体の判別において、調査していない河川に由来した個体が放流魚と同様の判別指標を示す可能性は残る。この問題を解決するためには、より多くの河川を対象として判別指標を調べることが望ましい。しかし本研究では、野生稚魚と放流稚魚が経験する環境が顕著に異なり、判別指標に明瞭な差が認められた。そのため、調査河川以外に由来した個体についても、明確な放流魚としての指標を基に、信頼できる判別結果を得ることができたものと思われる。

上記に加えて、誤判別を引き起こす原因としては、判別指標の年変動があげられる。野生稚魚の耳石の $\delta^{18}\text{O}$ には、1 河川のみ 2 年間の比較ではあるものの、経年変化がみとめられた。稚魚耳石の $\delta^{18}\text{O}$ に影響する要因としては、環境水の $\delta^{18}\text{O}$ と水温があげられる(Kalish 1991, Mizota & Kusakabe 1994)。採集年間で比較を行った鶴川では水温データが得られていないが、安曇川、知内川、犬上川では 2010 年と 2011 年の平均水温の間に $0.3\text{-}0.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ の差がみられた(Table 5-3)。さらに、2007 年と 2011 年での水温の変動幅は $2.1\text{-}3.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ であった(水

温データ；滋賀県琵琶湖環境科学研究センター、www.lberi.jp/root/jp/bkjindex.htm）。環境水の $\delta^{18}\text{O}$ についても経年データが得られていないものの、耳石と環境水の $\delta^{18}\text{O}$ は強い相関関係にあり(Walther & Thorrold 2008b)、河川水の $\delta^{18}\text{O}$ は、河川水の蒸発散量や流域の降水量によって経年変化が生じるため(Taniguchi et al. 1995)、観察された耳石 $\delta^{18}\text{O}$ の経年変化にこれらの要因が影響を与えた可能性のあることも推察される。以上のことから、本研究で観察された野生稚魚耳石の $\delta^{18}\text{O}$ の経年変化は、稚魚が成長した環境の変化に起因することが考えられる。

しかしながら、2010年と2011年に鶴川で採集された稚魚耳石の $\delta^{18}\text{O}$ は、放流稚魚の値と重複しておらず(Fig. 5-4)、採集年間でみられた $\delta^{18}\text{O}$ の変動(約0.5‰)は野生稚魚と放流稚魚の $\delta^{18}\text{O}$ の差(約1.5‰)よりも小さかったため、上述した耳石の $\delta^{18}\text{O}$ 経年変化も、本研究の結果の信頼性を大きく損なうものではない。放流稚魚が成長する環境は毎年あまり変化しないため、その判別指標は長期にわたって安定していると考えられる。すなわち、天然環境の変動に伴う判別指標の変化を考慮しても、放流魚と野生魚の判別指標からは信頼できる判別結果が得られたと考えられる。

稚魚と遡上個体で耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を比較したところ、値の分布がやや異なっていた。遡上個体では野生魚と判別された個体も放流魚と判別された個体も、稚魚で作成した判別指標よりも全体的に $\delta^{13}\text{C}$ が高く、 $\delta^{18}\text{O}$ は値の範囲が狭かった。これは、本研究で採集した稚魚(2010年と2011年に採集)と遡上個体(2009年と2011年に採集)の年級が一致していないため、判別指標の経年変化が反映されていることが考えられる。今後は放流魚判別の信頼性をより高めるために、より多くの河川で野生稚魚における判別指標のとり得る値の範囲、また、その経年的な安定性の検証を行う必要がある。

第3項 耳石の酸素・炭素安定同位体比に影響する要因

耳石の $\delta^{18}\text{O}$ は、生息する環境水の水温と $\delta^{18}\text{O}$ によって変化する(Kalish 1991, Mizota & Kusakabe 1994)。また、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は、餌物や環境水中の溶存態無機炭素(DIC)の $\delta^{13}\text{C}$ によって変化する、個体の代謝にも影響される(Kalish 1991, Schwarcz et al. 1998, Solomon et al. 2006, Nonogaki et al. 2007, Tohse & Mugiya 2008)。タイセイヨウサケ(Gao & Bean 2008)やカラフトマス(Tomida et al. 2013)では、野生魚と放流魚が経験する環境が河川と養鱒場で大きく異なることを利用し、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ による放流魚の高精度な判別が可能であると報告されている。ビワマスにおいても、放流魚を養育する養鱒場の飼育水は年を通して12-14℃で

あるのに対し、野生魚が河川で経験する水温は 3-16 °C と大きく変動していた。さらに放流魚は人工餌料で成長するのに対し、野生稚魚は水生昆虫を主に摂餌して成長する(加藤 1978)。このような経験水温や餌の違いがビワマスの耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ に反映し、 $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ による判別を可能にしているといえる。

魚類耳石の $\delta^{18}\text{O}$ は、環境水の水温に依存して変化する(Kim & O'Neil 1997, Gao 2002, Kitagawa et al, 2013)。多くの魚種では、飼育実験により水温が約 5 °C 高くなると、耳石の $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith-water}}$ の値は 0.8-1.3 ‰ 低くなることが知られている(Kalish 1991, Høie et al. 2004)。ビワマスでも同様に、河川より水温が 4 °C 高い養鱒場で養育された放流稚魚の耳石の $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith-water}}$ の値は野生稚魚と比べて 1.1 ‰ 低かった。しかしながら、平均経験水温がほぼ同じであっても、耳石 $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith-water}}$ は放流稚魚のほうが野生稚魚よりも約 1 ‰ 低い値を示し(犬上川と高島事業所, Fig. 5-7)、このような環境と耳石の間での $\delta^{18}\text{O}$ の関係性の違いが、野生稚魚と放流稚魚における顕著な差異を生じさせた可能性がある。また、本研究では稚魚の耳石全体を $\delta^{18}\text{O}$ 分析に用いたため、野生稚魚の耳石 $\delta^{18}\text{O}$ には河川において経験した様々な水温が反映されていると考えられる。耳石の成長は体成長と比例するため(Campana & Neilson 1985)、成長期間の水温によって耳石の成長量が異なる。従って、水温が高い時期に形成された耳石部分の体積は相対的に大きくなるため、河川生活期を通じての平均 $\delta^{18}\text{O}$ は、高水温下で形成された部分の値が強く反映されると考えられる。

$\delta^{18}\text{O}$ は耳石と環境水の間強い相関関係があるため(Walther & Thorrold 2008b)、野生稚魚と放流稚魚の耳石 $\delta^{18}\text{O}$ の差異を生じさせる要因としては、環境水の $\delta^{18}\text{O}$ の変化も考慮する必要がある。本章の結果では、 $\delta^{18}\text{O}$ は河川と養鱒場の間で異なったのみならず、河川ごとにも異なっていた。また、河川水の $\delta^{18}\text{O}$ は天水の影響を受けて変化することから(Mizota & Kusakabe 1994)、その $\delta^{18}\text{O}$ は同一河川内であっても稚魚の河川生活期(10月から2月)の間で変化していたと予想される。本研究で分析した環境水は3月に採取したもののみであり、算出した $\delta^{18}\text{O}_{\text{otolith-water}}$ では、実際に稚魚が経験した環境水の $\delta^{18}\text{O}$ の影響が正確に評価できていない可能性がある。天然稚魚の耳石 $\delta^{18}\text{O}$ に与える環境の影響をより正確に評価するためには、稚魚が経験する環境のデータを収集するとともに、飼育実験により水温や環境水中の $\delta^{18}\text{O}$ といった要因とビワマスの耳石 $\delta^{18}\text{O}$ との関係性を明らかにする必要がある。

耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は餌の $\delta^{13}\text{C}$ の影響を強く受ける(DeNiro & Epstein 1978, Fry 1988, Kalish 1991, Schwarcz et al. 1998, Franklin 2006)。また、筋肉など体組織の $\delta^{13}\text{C}$ は餌物の値より約 2 ‰ 高くなる(DeNiro & Epstein 1978)。本研究においては、野生稚魚と放流稚魚の耳石 $\delta^{13}\text{C}$ はほぼ

同様の値を示し、有意差はみられなかった。放流稚魚において、筋肉と餌物の $\delta^{13}\text{C}$ は一般的な関係性に従っていたものの、野生稚魚においては、上記の関係性がみられなかった。また、野生稚魚と放流稚魚は、筋肉と餌の $\delta^{13}\text{C}$ が異なっていたにも関わらず、それぞれの耳石 $\delta^{13}\text{C}$ は同様の値を示した。このことは、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ に生息環境水の $\delta^{13}\text{C}$ (DIC: 溶存態無機炭素)が強く影響を与えている可能性を示唆している(Kalish 1991, Schwarcz et al. 1998)。ニジマス *O. mykiss* の耳石では、 $\delta^{13}\text{C}$ の 80 %以上が環境水の DIC に由来することが報告されている(Solomon et al. 2006)。本研究では環境水の $\delta^{13}\text{C}$ 分析を行っていないため、DIC が耳石の判別指標に与えた影響は検証することができなかった。今後、ビワマス耳石の化学的組成を決める要因と、それらとの関係性を明らかにするために、より詳細な環境化学的研究が必要だろう。

第4項 放流効果

本研究で確立した耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の分析による判別を行った結果、遡上群における放流魚の割合は、2009年で12%、2010年で29%であり、2年間をまとめると21% (105個体中22個体)だった。放流魚の割合は河川間で、また、同一河川においても採集年間で大きく異なっていた。河川間で放流魚の割合が異なっていた理由として、ビワマスの母川回帰性が影響していたことが考えられる。放流魚は特定の河川にしか放流されないため、稚魚の放流が行われていない河川では、遡上する放流魚は迷入個体に限られ、放流魚の割合が低くなったと考えられる。また、天然稚魚の供給量が放流尾数に比べて多い河川でも遡上群における放流魚の割合は低くなりうる。経年変化には、湖内における放流魚の割合が影響していることが考えられる。遡上個体に加え、湖内回遊個体で放流魚の割合を明らかにすることもビワマスの放流効果を検証する上で重要だろう。なお、本研究で分析した個体数は、2009年は1河川で50個体と十分な数だったものの、2010年では1河川あたり8-16個体と少なかったため、放流魚を検出できなかった可能性もある。安曇川では、2009年の採集個体では12%が放流魚だったのに対し、2011年では0%だった理由のひとつとして、少ないサンプルでは放流魚を検出できなかったことが考えられる。本研究で観察された遡上群における放流魚の割合の河川間の違いは、サンプリングバイアスの影響が無視できないものの、本研究で得られた放流実態に関する知見は、今後の放流計画の策定やビワマスの回遊パターンの解明において貴重な基礎情報となる。

本研究で得られた放流魚の割合は、澤田(1997)が標識放流実験によって算出した16.2%と

同様である。一方、田中(2011)は、標識放流実験により初期資源尾数(ある年級群の降湖時点での個体数)を 629,000 尾と推定し、これが放流尾数とほぼ一致するため、ビワマス資源は放流種苗に依存していると考察している。もしビワマス資源が放流魚で占められるとすると、遡上群の大部分も放流魚が占めていることになるため、本研究の結果とは一致しない。ビワマスの産卵遡上の盛期は 10-11 月であり、この時期にはビワマスの採卵のため遡上魚が採集されている。しかし、採集するのは遡上魚の一部であり、採卵が終了する毎年 11 月上旬以降はビワマス漁が禁漁となるため、河川では相当数の自然産卵が行われている(尾田ら 2008a, 尾田 2010)。このような観察結果は本研究の結果と矛盾せず、ビワマスの資源は、かなりの部分が野生魚の産卵によって維持されていると考えるのが妥当である。

第 5 項 放流魚の判別結果に基づいた資源量推定

本研究で得た結果と、過去の知見を総合し、ビワマスの資源量を概算した。ビワマスの放流尾数は、長年にわたり毎年約 70 万尾と一定であるため、各年に遡上する放流魚の尾数は式 5-4 で表される。

$$\text{遡上する放流魚数} = \text{放流尾数(70 万尾)} \times \text{放流から遡上までの死亡率} \quad (5-4)$$

ここで、ビワマスの死亡率の知見がないことから、放流から降湖までの死亡率は 0、湖内での生残率は、太平洋サケ群の銀化から産卵遡上までの生残率の一般値である 3 % (Bradford, 1995)であると仮定すると、ビワマスの放流魚の推定遡上尾数は 21,000 尾と推定できる。本研究の結果から、遡上群における放流魚の割合を 21 % とすると、ある年における推定遡上尾数は 100,000 尾となる。これは、田中(2011)が過去の知見から資源モデルを用いて推定した 2000 年代における成熟死亡尾数(自然産卵した親魚数)である 128,328 尾とほぼ一致する。

次に、推定遡上尾数をもとに、降湖稚魚数を概算した。降湖稚魚数は式 5-5 で表される。

$$\text{降湖稚魚数} = \text{産卵親魚数} \times \text{産卵数} \times \text{孵化率} \times \text{孵化から降湖までの生残率} \quad (5-5)$$

ここで、遡上尾数を先ほど推定した 100,000 尾とし、遡上群における性比を 1:1 と仮定すると、産卵親魚数は 50,000 尾となる。ビワマス雌の産卵数は 1 個体あたり 1400 粒(藤岡 2009)と仮定する。また、ビワマスの野外での孵化率と、降湖までの生残率が不明であるため、

産卵されてから降湖までの生残率は、太平洋サケ群の卵から銀化までの生残率の一般値である7% (Bradford 1995)と仮定する。その結果、降湖稚魚尾数は4,900,000尾となる。すなわち、1年あたり約490万尾の野生稚魚が琵琶湖へ降っていると推定された。ビワマスの放流尾数は毎年約70万尾であるため、野生魚と放流魚の生残率が同じだと仮定すると、ビワマス資源における放流魚の割合は約13%となる。この値は概算ではあるが、本研究の結果および澤田(1997)の結果とほぼ一致する。

以上から、本研究で得られた遡上群における放流魚の割合は妥当な値であると考えられ、ビワマス資源の維持には近年においても野生魚の加入が大きく貢献していると結論できる。

第6章 総合考察

第1節 ビワマスの生活史

本研究で明らかとなった結果と過去の知見を併せて、琵琶湖水系におけるビワマスの生活史を以下にまとめる。

ビワマスは10月下旬から12月上旬にかけて川床に産卵する(加藤 1978, 尾田ら 2008a)。翌年1月頃から孵化・浮上が始まり、浮上から体長40 mm程度までは河川の淵や岸の植生の中を生息場所として成長する(藤岡 1991, 尾田ら 2008b)。稚魚は卵黄を吸収すると水生昆虫を捕食して成長し、体長40 mmを超えると河川の流れの速い瀬へ移動する(加藤 1978, 尾田ら 2008b)。河川で体長50-70 mm程度に成長した稚魚は銀化し、浮上した年の5月から6月にかけて降雨による増水をきっかけに降湖する(藤岡 1991)。ビワマスの河川残留型はごく一部の雄のみで、残留型の雄は0⁺齢で産卵行動に加入すると考えられている(桑原・井口 1994)。一方、降湖した個体は3-4年間湖内で成長した後、産卵のため河川を遡上する(藤岡 1990)。

降湖したビワマスは、夏季に形成される高い表層水温を避けて15℃以下の中深層域へ速やかに移動すると考えられている(藤岡 1990)。実際に、琵琶湖で生活するビワマスは主に水深15-20 m、水温15℃以下の水域で索餌回遊していた(第3章)。これは、ビワマスの適正水温が15℃以下であること、また重要な餌生物であるアナンデールヨコエビ *Jesogammarus annandalei* やアユ *Plecoglossus altivelis* 等の魚類を捕食しやすい水深を選び遊泳するためと考えられる(第3章)。湖内を回遊するビワマスは、2年から4年で300 mm以上に成長する(第3章, 第4章, 藤岡 1990)。降湖した直後のビワマスの分布や生態については未だに不明であるが、体長が200 mmを超え魚類を捕食できるようになると琵琶湖北湖全域を広く生息の場とすると考えられる(第3章)。その結果、湖内では様々な河川を母川とする個体が混合して生活している(第3章)。

ビワマスが産卵遡上する体長は350-450 mmであり、産卵遡上の盛期は10-11月である(第4章, 尾田 2010, 尾田ら 2011)。湖内では翌秋に産卵遡上するとみられる400 mm以上の銀化の未成熟魚が採集され、ビワマスは繁殖に参加する直前まで湖内に留まる可能性がある

(第4章)。ビワマスの成熟から河川遡上にいたる生理、生態についてはさらなる研究が必要である。回帰行動については、洞爺湖の湖沼型サクラマス *Oncorhynchus masou masou* は9月から10月に湖岸に沿って母川の探索行動を行い河川への遡上に至ると考えられており(Ueda 2004)、ビワマスでも同様である可能性がある。

第2節 母川回帰性と回遊生態

第1項 ビワマスの母川回帰性

ビワマスは基亜種であるサクラマスと同様に、母川回帰性が強いと考えられてきた。しかし本研究の結果から、ビワマスは母川回帰性を有するもののその回帰性は弱いこと、迷入する個体は母川に近い河川へ遡上する傾向が強いことが明らかとなった(第4章)。

迷入が起こる要因には、2つあると考えられている(Quinn & Fresh 1984, Quinn 2005, Hendry et al. 2004)。1つは母川記銘の失敗である。サケ類は幼稚魚が降河回遊する前に母川の何らかの因子を感覚神経系に刷り込み(母川記銘)、産卵回遊では記銘された母川因子を感覚神経系から感受して母川回帰すると考えられている(Hasler & Scholz 1983)。母川を識別する因子の一つとして嗅覚が関係する河川のニオイ成分であることが提唱されている(Wisby & Hasler 1954, Shoji et al. 2000, Ueda 2012)。

迷入が起こる2つ目の要因は遡上河川の環境状態である。サケ類の遡上は河川の流量、水温、水質、照度の変化によって誘発される(Banks 1969, 真山 1978)。そのため母川の産卵場としての環境悪化が、ビワマスの母川回帰に影響を与えることも考えられる。母川環境に何らかの壊滅的なイベントが生じ、その河川を母川とする個体群の再生産に大きな影響を及ぼす可能性がある場合には、母川以外の河川に遡上する個体はその個体群の資源の維持・回復に大きな役割を担うという生態的意義もある(Leider 1989, Quinn et al. 1991)。また、迷入個体が新たな産卵場を開拓し資源の増殖を支えるとも考えられる(Anderson & Quinn 2007, Milner et al. 2008, Pess et al. 2012)。ビワマスが産卵遡上する主な河川は琵琶湖北湖に流入する河川で、琵琶湖水が唯一流出する瀬田川へは産卵回遊しない。また、湖沼型のヒメマス *O. nerka* やクニマス *O. kawamurae* は湧水のある湖岸でも産卵を行うが(中坊 2011, 井田・奥山 2012)、ビワマスでは確認されていない。つまり、ビワマスの産卵場は琵琶湖に流入する河川のみであり、その河川環境はビワマスの再生産に大きく影響すると考えられる。母川回帰という行動は河川環境が長期的に安定していれば、産卵や稚魚の生息場として最も確実な場所で繁殖し、確実に再生産につながる効果的な生態的特性といえる。しか

し河川環境が不安定な場合、母川に帰ることで再生産が保障されるわけではなく、むしろ迷入個体の存在が資源維持につながると考えられる(Hendry et al. 2004)。琵琶湖水系のように空間が限られ、また歴史的にみても変動の大きい河川環境に生息するビワマスの場合には、迷入個体が再生産あるいは資源の維持に貢献していると考えられる。

近年の研究から、迷入率が生活史や性別(成熟度)によって異なることが報告されている。Westley et al. (2013)は、マスノスケ *O. tshawytscha* では、アメリカ合衆国コロンビア川の支流間において、支流間を回遊する河川型よりも降海型の生活史をもつ個体の方が迷入率が高く、生活史型によって母川回帰性が異なる可能性を指摘している。また、Sato et al. (1997)は支笏湖のヒメマスの母川回帰率が遡上時期と性別によって違いがみられることを報告している。すなわち、産卵期前半の雄は雌よりも早く正確に母川回帰し、後半は回帰率が半減する。一方、雌では産卵期を通して1-2割が母川以外の河川に遡上するとしている。本研究ではビワマスの遡上魚の採集を遡上盛期である10月から11月に行ったが、個体数が少ないため性別による迷入率の違いは検討できなかった。しかし、ビワマスには河川に残留する早熟雄と5月から7月の早期に産卵遡上する個体が存在することが確認されている(桑原・井口 1994, 2007)。これらの個体は資源全体のごく一部であると考えられているが、ビワマスにおいても遡上時期によって迷入率が異なる可能性は否定できない。現在の琵琶湖水系河川の多くは中下流域に多数の堰堤が設置され、さらには流量の減少による瀬切れが頻発しており、河川上流域へのビワマスの遡上が制限されている。このような河川環境がビワマスの生活史の多様性を低下させていることも(尾田ら 2008a, 桑原 2013)、ビワマスの迷入率に影響しているかもしれない。ビワマスの母川回帰性をさらに正しく理解するには、産卵遡上時期を通じた複数年にわたる定量的な採集を行い、河川環境との関係を考慮した解析が必要であろう。

母川回帰性の生物学的意義と進化

日本に生息するサケ属魚類の母川回帰性は、サクラマスでは強く、カラフトマス *O. gorbuscha* では弱いとされている。サクラマスは遡上河川間で個体群の遺伝的差異が大きいことから母川回帰性が強いと考えられており(Okazaki 1986, 鈴木ら 2000)、同一水系内の支流間でも母川回帰が認められている(Kitanishi et al. 2009, 宮腰ら 2012)。カラフトマスでは同一河川における偶数年級群と奇数年級群の間の遺伝的分化のほうが河川間の分化よりも

大きいことが知られている(Aspinwall 1974, Beacham 1985, Beacham et al. 1988)。そして、この遺伝的変異は弱い母川回帰性のため母川以外の河川に遡上する個体が多いことが要因とされている(Hendry et al. 2004, 星野ら 2008)。

サケ属魚類の母川回帰性は進化系統を反映していることが示唆されている。遺伝子の反復配列(SINE)を用いて得られた太平洋に生息するサケ科魚類の系統樹では、カラフトマスがより派生的な種、サクラマスが原始的な種であるとされている(Murata et al. 1996)。北太平洋における分布域と資源量を比較すると、カラフトマスが最も広く広範囲に分布し資源量が多く、サクラマスは最も狭く太平洋の西部沿岸にしか分布せず資源量も少ない(Kaeriyama & Ueda 1998)。全ての個体が正確に母川回帰すると、その種は分布域を広げることにはできず、個体数も増えず、遺伝的多様性が失われることになる(Quinn 1984, 2005)。つまり、サケ属魚類は進化の過程で母川回帰性が弱まることで分布域を拡大したのではないかと推論されている(上田 2009, Ueda 2012)。

ビワマスはサクラマスの亜種でありながら母川回帰性が弱く、どちらかといえばカラフトマスに類似した回帰性を有すると考えられた。亜種関係にありながらも母川回帰性が異なる要因は、生息環境によるもの、すなわちビワマスが琵琶湖という限られた水域に陸封されたという生態的な特徴によるものではないかと推察される。Westley et al. (2013)は、サケ属魚類の迷入率は種や生活史多型によって異なり、さらには種や生活史とは関係なく遡上河川の環境によっても左右されると考察している。琵琶湖に陸封されたビワマスが琵琶湖水系の環境に特化した生活史を獲得する過程において、母川回帰性も変化していったのかもしれない。

第2項 ビワマスの回遊生態

高緯度地域に生息する遡河回遊性のサケ科魚類は、高緯度地域では河川よりも海の生産性が高いため、その高い生産性を利用すべく海洋への依存度を高める方向で進化してきたと考えられている(Gross et al. 1988, McCormick et al. 2013)。系統的に古いサクラマスやベニザケ *O. nerka* は海洋への依存度が低いのに対し、系統的に新しいサケ *O. keta* やカラフトマスは浮上後短期間で降海し、海洋生活期間が長い。また、サケやカラフトマスは、海域における分布域が広く、成熟が進んだ段階で産卵遡上を行う。琵琶湖に陸封されたビワマスは稚魚や遡上親魚の河川生活の期間が基亜種のサクラマスに比べ短期化している。これらのことは、ビワマスは河川よりも琵琶湖により強く依存した生活史をもっていることを

示唆している。ビワマスの母川回帰性が基亜種であるサクラマスに比べて弱くなっていることも、河川依存性が低いことに関連しているかもしれない。しかし、ビワマスの回遊生態の進化を議論するためには、詳細な生活史や回遊型、集団遺伝学的な個体群構造などについての情報は未だ不十分であり、今後さらなる知見の集積が必要である。

第3節 ビワマスにおける稚魚放流と資源の保全

第1項 稚魚放流のビワマス資源への貢献

本研究でビワマスの放流魚が産卵遡上群に占める割合は20%程度であることが推定された(第5章)。これは、放流数よりも自然産卵された稚魚がはるかに多いことを意味する。放流用種卵を採取する親魚の採集は毎年琵琶湖の西部と東部の河川で行われるが、対象となるのは数河川のみでさらに目標採卵数の135万粒に必要な親魚数(約2,000尾)を採集した後はビワマスの漁獲は禁止される。そのため、多くの琵琶湖水系河川では現在も自然産卵が行われている(尾田ら 2008a, 尾田 2010)。本研究でも、放流が行われる前の2月から3月に琵琶湖水系7河川において野生のビワマス稚魚を確認している(第2章, 第5章)。

毎年約70万尾放流されるビワマス放流魚が、各河川の野生魚の生態にどのような影響を与えているかは未だ明らかではない。サクラマスやギンザケ *O. kisutch* では何世代も継代飼育された親魚から得られた稚魚の行動特性が野生稚魚と異なり、放流後における河川での生残率が低いことが知られている(Swain & Riddell 1990, Einum & Fleming 1997, Yamamoto & Reinhardt 2003)。一方、ビワマスでは天然遡上の親魚から採卵し、その仔稚魚は約5ヶ月間飼育された後に河川に放流される。このような放流魚では野生魚との間に行動特性の違いが認められないことが報告されている(Einum & Fleming 1997, Yamamoto & Reinhardt 2003)。さらには、ビワマスは河川よりも琵琶湖への依存性が高い生態をもち、ほとんどの個体が5月から6月に降湖して琵琶湖で成長する(藤岡 1991, 桑原・井口 1994)。毎年3月下旬に河川へ放流されたビワマスは1ヶ月から2ヶ月程度で野生魚とともに琵琶湖へ降ると考えられる。河川や湖中での野生魚と放流魚の行動特性の違いや生残率の違いについては、改めて検討する必要があるが、おそらく大きな違いはないものと推察される。

第5章において得られた遡上群における放流魚の割合から、野生稚魚の数は640万尾と推定することができた。第5章と同様の生残率を仮定すると(式5-3)、640万尾の稚魚のうち、約20万尾が遡上して繁殖に参加すると推定できる。概算ではあるが、これは田中(2011)が推定した1年の遡上尾数に相当する。したがって、ビワマス資源は放流事業よりもむしろ

る野生魚による自然再生産に依存する部分が大いと考えられる。

サケ科魚類の人工孵化放流事業は、減少した水産資源の漁獲量の回復、あるいは増大を目的に行われてきた。しかし、近年では種苗放流が天然資源や生態系に与える影響が懸念され議論されている(Lichatowich & McIntyre 1987, Hilborn & Eggers 2000, Levin et al. 2001)。特に、遺伝的多様性の低下を指摘する声は大い(Waples 1991, Hilborn 1992, Beacham et al. 2009)。ビワマスの遡上河川は母川あるいはその近隣河川であるとみられ(第 4 章)、放流魚による遺伝的な影響の検討はビワマスについても行う必要があるだろう。サケ科魚類について、人工孵化放流事業を見直し、野生魚による自然再生産の保全を推進することで、サケ科魚類が本来もつ生態と遺伝的多様性を維持する重要性が指摘されている(帰山 1996, Kaeriyama 1999, 北田 2001)。ビワマスは現在においても野生魚が多く遡上し自然再生産が資源の維持に貢献していると考えられるため(第 5 章)、天然遡上魚による再生産を基本とした資源管理がふさわしく、そのための手法の検討が必要であろう。

第 2 項 ビワマスの保全

帰山(1999)は、生物多様性の保全と水産事業の存続のためには自然産卵による資源維持を目的とする河川、漁業資源維持のため種苗放流を積極的に実施する河川、遊漁や観光など多目的に使用する河川等を分けて管理することを提案している。ビワマスの保全については、本研究で天然遡上魚による再生産の貢献が大いことが明らかとなったことから(第 5 章)、河川における自然産卵の保護を中心に対策を進めていくことが望ましいと考える。桑原(2013)はビワマスの保全に関していくつかの問題点を指摘している。一つは、琵琶湖水系河川の分断化である。琵琶湖水系河川には取水を目的とした堰堤が設置されている。堰堤のほとんどに魚道は設置されておらず、親魚の上流への遡上を阻んでいる。その結果、ビワマスの産卵場が下流域に限定される。それだけでなく、夏季の高い水温を避けるため河川の上流域まで遡上する必要がある早期遡上群や河川残留型を排除し、晩期遡上群のみが選択される傾向にある可能性があり、ビワマスの生態的多様性を低下させていることが懸念されている(桑原・井口 2007, 尾田ら 2008a, 尾田 2010)。このような生態的多様性の低下を防ぐには、河川の連続性の復元と河川流量の確保が必要不可欠であろう。しかし、琵琶湖水系河川の上流にはビワマスの近縁種であるアマゴ *O. masou ishikawae* が生息している。このアマゴは醒井養鱒場産の放流魚で、近年琵琶湖へ降湖する個体が現れ、ビワマスとの交雑によると考えられる個体も存在するようになっている(Kuwahara et al. 2012)。その

ため、現状のまま河川の連続性を復元するとビワマスとアマゴの交雑を促進させる可能性もあり、これに対する対策も必要となるであろう。また、琵琶湖におけるビワマスの漁獲や混獲、密漁の現状を明らかにすることも重要である。ビワマスの保全のためには、琵琶湖とその水系河川全体の環境の保全が必要不可欠であり、またビワマスの生態学的知見を他の魚種との関係性からも深めていくことが重要である。

第4節 本研究の水産学への貢献

魚類の回遊や生活史の正確な履歴推定は、生態学的知見のみならず水産資源学的にも重要な情報を提供する。耳石の微量元素組成と安定同位体比は様々な魚種で回遊や出生地判別の研究に有用であることが実証されている(Campana 1999, Elsdon et al. 2008, Perrier et al. 2011, Gao et al. 2013, Martin et al. 2013b)。特に、耳石の安定同位体比は個体の生理的な影響を受けることが少なく、精度の高い生息環境の指標となる(Kennedy et al. 1997, Ingram & Weber 1999, Gao et al. 2001, Hegg et al. 2013)。本研究により、ビワマスの耳石の微量元素組成と安定同位体比は母川判別や放流魚の判別に有用であることがわかった(第2章, 第5章)。そのため本研究で確立した研究手法は、ビワマスのみならず琵琶湖と琵琶湖水系河川を回遊する様々な魚種、さらにはサケ科魚類を中心とする水産上重要な通し回遊魚の生活史を解明し、資源の保全・増加策を策定する上で重要な知見を提供するものと考えられる。

第5節 今後の展望

本研究によりビワマスの耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)は母川判別の指標に、炭素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$)と酸素安定同位体比($\delta^{18}\text{O}$)は放流魚判別の指標に有用であることを示すことができた。加えて、得られた指標を用いることで、湖内回遊個体の分散、産卵遡上個体の母川回帰性、さらに産卵遡上群における放流魚の割合に関しての知見を得ることができた。しかしながら、母川判別と放流魚判別を 1 個体の耳石から同時に行うことは分析機器の検出分解能による制約により不可能であった。これら 2 つの判別を 1 個体の耳石から解析するには、微量元素組成と $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の分析を同時に分析することができるマルチコレクターICP-MS (MC-ICP-MS)を用いる必要がある。さらに MC-ICP-MS は直径約 100 μm のレーザーで分析ができるため、耳石の時系列に沿った解析が可能であり(Milton & Chenery 2003, Hamann & Kennedy 2012, Muhlfeld et al. 2013)、より詳細なビワマスの由来や履歴が推定できるものと期待される。経年的な採集とそれを用いた分析によるデータの蓄積

を行えば、湖中の分散や迷入に関するより詳細な検討を行うことが可能となる。

ビワマスの生態学的研究を行う上で、年齢査定法の確立は重要である。過去の研究(加藤 1978, 田中 2011)では他のサケ科魚類と同様に鱗から年齢査定を行っているが、ビワマスの鱗における輪相の出現には個体差がみられ、どの鱗にも全く輪紋がみられない産卵遡上個体があった。これは、湖沼型のサケ科魚類では環境の変化が小さく年輪が形成されないことが原因とみられる。同様に、耳石にも年輪は確認できなかった。今後、何らかの年齢形質を探索し、ビワマスの年齢査定法を確立することが成長速度や成長パターンといった生活史特性と回遊との関係を論じるために必要と考える。

以上より、MC-ICP-MS などのより新しい分析手法の導入を含めた耳石の微量元素・安定同位体比分析手法の開発と年齢査定法の確立により、ビワマスの生活史を通じた回遊履歴の詳細の解明が可能となると考える。それらの知見を他のサケ類の回遊生態と比較検討することにより、ビワマスが琵琶湖に陸封されたことによって獲得した生活史戦略、さらには、魚類の生活史多型の生態学的意義の理解をより深めることが可能になるものと考ええる。

謝辞

本研究の遂行にあたり、その機会を与えていただくとともに、終始温かいご指導を賜った東京大学大気海洋研究所の大竹二雄教授に深く感謝する。日本大学生物資源科学部海洋生物資源科学科の塚本勝巳教授、東京大学大気海洋研究所の渡邊良朗教授、東京大学大学院農学生命科学研究科の山川卓准教授、東京大学大気海洋研究所の北川貴士准教授には、論文審査に際して多くの貴重なご指摘を賜った。ここに厚く御礼申し上げます。

滋賀県立琵琶湖博物館の桑原雅之学芸員には、ビワマスの採集をはじめ、多くのご協力と有益なご助言を頂くとともに、本研究を行う機会を与えて頂いた。深く謝意を表す。

東京大学大気海洋研究所の白井厚太郎助教には、微量元素分析や安定同位体比分析について基礎から教えて頂いたのみならず、研究全般にわたって適切にご指導と激励を頂いた。独立行政法人海洋研究開発機構地球内部変動センターの高橋俊郎博士(現 新潟大学)には、Sr 安定同位体比分析や化学分析の場と丁寧にご指導を頂いた。東京大学大気海洋研究所の天川裕史博士(現 国立台湾大学)には、化学分析についてご指導を頂いた。同所の山根広大博士には微量元素分析など研究を進めるにあたって、有益なご助言とご支援を頂いた。同所の鈴木享子氏には炭素安定同位体比分析や琵琶湖での採集、論文の作成ほか諸事にわたり厚いご協力を頂いた。ここに深く感謝の意を表す。

滋賀県漁業協同組合連合会高島事業所の小林眞氏、滋賀県漁業協同組合連合会醒井養鱒場の各位にはビワマスの標本と情報を快く提供して頂いた。ここに心から御礼申し上げます。

東京大学大気海洋研究所の川上達也博士、長崎大学環東シナ海環境資源研究センターの横内一樹博士には、研究遂行と論文作成に有益なご助言、ご指導をいただいた。同所のMicheal J. Miller 博士、東京大学大学院農学生命科学研究科の海部健三特任助教には、投稿論文作成にあたって有益なご助言を頂いた。東京大学大気海洋研究所の畑正好氏、鬼塚公介氏には、琵琶湖におけるビワマス採集にご協力を頂くとともに、研究生活において多くのご支援を頂いた。同所の真鍋諒太郎博士、中村政裕氏には、論文作成と研究生活に多くのご協力を頂いた。心より感謝申し上げます。

東京大学大気海洋研究所の技術職員大矢真知子氏(現 技術補佐員)には温かい励ましと諸事にわたるご尽力を頂いた。同所の渡辺佑基博士(現 国立極地研究所)、檜崎友子博士(現 St.

Andrews 大学)、青木かがり博士(現 St. Andrews 大学)、勝又信博氏(現 水産総合研究センター国際水産資源研究所)、塩見こずえ博士(現 Lunds 大学)、鈴木一平博士、茅野尚子氏には、研究生活において数多くのご支援をいただいた。東京大学大気海洋研究所附属国際沿岸海洋研究センターの教職員各位または学生の皆様には研究生活において多くのご支援と励ましを頂いた。さらに同所行動生態計測分野の皆様には、東日本大震災後の研究生活において温かい励ましを頂いた。ここに深く御礼申し上げます。

これまでの研究生活を見守ってくれた妻と義父母、義兄に感謝する。

最後に、研究生活の全てを支えてくれた父、母、兄に心から感謝する。

引用文献

- 会田勝美 (2011) 魚類生理学の基礎. 会田勝美 編. 恒星社厚生閣, 東京.
- Amakawa H, Suzuki T, Takahashi T, Tatsumi Y, Otake T (2012) Sr isotopic compositions of ayu otolith and its ambient water. *Fisheries Sci* 78: 1023-1029
- Amano M, Hyodo S, Kitamura S, Ikuta K, Suzuki Y, Urano A, Aida K (1995) Short photoperiod accelerates preoptic and ventral telencephalic salmon GnRH synthesis and precocious maturation in underyearling male masu salmon. *Gen Comp Endocr* 99: 22-27
- Anderson JH, Quinn TP (2007) Movements of adult coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during colonization of newly accessible habitat. *Can J Fish Aquat Sci* 64: 1143-1154
- Ashford JR, Jones CM, Hofmann E, Everson I, Moreno C, Duhamel G, Williams R (2005) Can otolith elemental signature record the capture site of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*), a fully marine fish in the Southern Ocean? *Can J Fish Aquat Sci* 62: 2832-2840
- Aspinwall N (1974) Genetic analysis of North American populations of the pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, possible evidence for the neutral mutation-random drift hypothesis. *Evolution*: 295-305
- 東幹夫 (1970) びわ湖における陸封型アユの変異性に関する研究: I. 発育初期の分布様式と体形変異について. *日本生態学会誌* 20: 63-76
- 東幹夫 (1973) びわ湖における陸封型アユの変異性に関する研究: II. 集団の分化と諸変異について. *日本生態学会誌* 23: 126-139
- Bacon CR, Weber PK, Larsen KA, Reisenbichler R, Fitzpatrick JA, Wooden JL (2004) Migration and rearing histories of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) determined by ion microprobe Sr isotope and Sr/Ca transects of otoliths. *Can J Fish Aquat Sci* 61: 2425-2439
- Banks JW (1969) A review of the literature on the upstream migration of adult salmonids. *J Fish Biol* 1: 85-136
- Banner JL (2004) Radiogenic isotopes: systematics and applications to earth surface processes and chemical stratigraphy. *Earth-Sci Rev* 65: 141-194
- Barnes TC, Gillanders BM (2013) Combined effects of extrinsic and intrinsic factors on otolith chemistry: implications for environmental reconstructions. *Can J Fish Aquat Sci* 70: 1159-1166
- Barnett-Johnson R, Pearson TE (2008) Tracking natal origins of salmon using isotopes, otoliths and landscape geology. *Limnol Oceanogr* 53: 1633-1642
- Beacham TD (1985) Meristic and morphometric variation in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) in southern British Columbia and Puget Sound. *Can J Zool* 63: 366-372
- Beacham TD, Withler RE, Murray CB, Barner LW (1988) Variation in body size, morphology, egg size,

- and biochemical genetics of pink salmon in British Columbia. *T Am Fish Soc* 117: 109-126
- Beacham TD, Candy JR, Le KD, Wetklo M (2009) Population structure of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) across the Pacific Rim, determined from microsatellite analysis. *Fish Bull* 107: 244-260
- Beddow TA, Deary C, Mckinley RS (1998) Migratory and reproductive activity of radio-tagged Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) in northern Labrador. *Hydrobiologia* 371/372: 249-262
- Bentley RA (2006) Strontium isotopes from the earth to the archaeological skeleton: a review. *Journal of Archaeological Method and Theory* 13: 135-187
- Bradbury IR, DiBacco C, Thorrold SR, Snelgrove PVR, Campana SE (2011) Resolving natal tags using otolith geochemistry in an estuarine fish, rainbow smelt *Osmerus mordax*. *Mar Ecol Prog Ser* 433: 195-204
- Bradford MJ (1995) Comparative review of Pacific salmon survival rates. *Can J Fish Aquat Sci* 52: 1327-1338
- Brazner JC, Campana SE, Tanner DK (2004) Habitat fingerprints for Lake Superior coastal wetland from elemental analysis of yellow perch otoliths. *T Am Fish Soc* 133: 692-704
- Campana SE, Neilson JD (1985) Microstructure of fish otoliths. *Can J Fish Aquat Sci* 42: 1014-1032
- Campana SE, Fowler AJ, Jones CM (1994) Otolith elemental fingerprinting for stock identification of Atlantic cod *Gadus morpha* using laser ablation ICP-MS. *Can J Fish Aquat Sci* 51: 1942-1950
- Campana SE (1999) Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Mar Ecol Prog Ser* 188: 263-297
- Chittaro PM, Hogan JD, Gagnon J, Fryer BJ, Sale PF (2006) In situ experiment of ontogenic variability in the otolith chemistry of *Stegastes partitus*. *Mar Biol* 149: 1227-1235
- DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 42: 495-506
- Dittman AH, Quinn, TP, Nevitt GA (1996) Timing of imprinting to natural and artificial odors by coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Can J Fish Aquat Sci* 53: 434-442
- Einum S, Fleming IA (1997) Genetic divergence and interactions in the wild among native, farmed and hybrid Atlantic salmon. *J Fish Biol* 50: 634-651
- Elsdon TS, Gillanders BM (2002) Interactive effects of temperature and salinity on otolith chemistry: challenges for determining environmental histories of fish. *Can J Fish Aquat Sci* 59: 1796-1808
- Elsdon TS, Wells BK, Campana SE, Gillanders BM, Jones CM, Limburg KE, Secor DH, Thorrold SR, Walther BD (2008) Otolith chemistry to describe movements and life-history parameters of fishes: hypotheses, assumptions, limitations and inferences. *Oceanogr Mar Biol* 46: 297-330
- Faure G, Mensing TM (2005) *Isotopes: Principles and applications*. 3rd ed. John & Wiley Sons, NY
- Fowler AJ, Campana SE, Jones CM, Thorrold SR (1995) Experimental assessment of the effect of temperature and salinity on elemental composition of otoliths using laser ablation ICPMS. *Can J Fish Aquat Sci* 52: 1431-1444

- Franklin RL (2006) Experimental determination of the sources of otolith carbon and associated isotopic fractionation. *Can J Fish Aquat Sci* 63: 79-89
- Fry SC (1988) *The growing plant cell wall: chemical and metabolic analysis*. Longman Group Limited, UK.
- 藤岡康弘 (1990) ビワマス—湖に生きるサケ—。魚と卵 159: 25-38
- 藤岡康弘 (1991) ビワマスの形態ならびに生理・生態に関する研究。醒井養鱒場研報 3: 1-112
- 藤岡康弘 (2009) 川と湖の回遊魚ビワマスの謎を探る。サンライズ出版, 滋賀。
- Gao YW, Joner SH, Bargmann GG (2001) Stable isotopic composition of otoliths in identification of spawning stocks of Pacific herring (*Clupea pallasii*) in Puget Sound. *Can J Fish Aquat Sci* 58: 2113-2120
- Gao YW (2002) Regime shift signatures from stable oxygen isotopic records of otoliths of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Isotopes Environ Health Stud* 38: 251-263
- Gao YW, Bean D (2008) Stable isotope analyses of otoliths in identification of hatchery origin of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Maine. *Environ Biol Fish* 83: 429-437
- Gao Y, Conrad R, Bean D, Noakes DL (2013) Statistical analysis on otolith data of anadromous fishes. *Environ Biol Fish* 96: 799-810
- 後藤晃, 塚本勝巳, 前川光司 (1994) 川と海を回遊する淡水魚—生活史と進化—。後藤晃, 塚本勝巳, 前川光司 編。東海大学出版, 東京。
- Gross MR, Coleman RM, McDowall RM (1988) Aquatic productivity and the evolution of diadromous fish migration. *Science* 239: 1291-1293
- Gwo JC, Hsu TH, Lin KH, Chou YC (2008) Genetic relationship among four subspecies of cherry salmon (*Oncorhynchus masou*) inferred using AFLP. *Mol Phylogenet Evol* 48: 776-781
- Hamann EJ, Kennedy BP (2012) Juvenile dispersal affects straying behaviors of adults in a migratory population. *Ecology* 93: 733-740
- Hasler AD, Scholz AT (1983). *Olfactory imprinting and homing in salmon: investigations into the mechanism of imprinting process*. Zoophysiology. Springer-Verlag, New York.
- Hegg JC, Kennedy BP, Fremier AK (2013) Predicting strontium isotope variation and fish location with bedrock geology: Understanding the effects of geologic heterogeneity. *Chem Geol* 360: 89-98
- Hendry AP, Castric V, Kinnison MT, Quinn TP (2004) The evolution of philopatry and dispersal: homing versus straying in salmonids. In *Evolution illuminated*. Oxford University Press, Oxford.
- Hilborn R (1992) Hatcheries and the future of salmon in the Northwest. *Fisheries* 17: 5-8
- Hilborn R, Eggers D (2000) A review of the hatchery programs for pink salmon in Prince William Sound and Kodiak Island, Alaska. *T Am Fish Soc* 129: 333-350
- Hirata T, Goto A, Yamazaki F (1988). Individual growth and smoltification of juvenile masu salmon, *Oncorhynchus masou Brevoort*, under rearing conditions. *J Fish Biol* 32: 77-84.
- Hobbs JA, Yin QZ, Burton J, Bennett WA (2005) Retrospective determination of natal habitats for an

- estuarine fish with otolith strontium isotope ratios. *Mar Freshwater Res* 56: 655-660
- Høie H, Otterlei E, Folkvord A (2004) Temperature-dependent fractionation of stable oxygen isotopes in otoliths of juvenile cod (*Gadus morhua* L.). *ICES J Mar Sci* 61: 243-251
- 星野昇, 藤原真, 春日井潔 (2008) 北海道におけるカラフトマスの集団構造--奇数年回帰群にみられる漁獲動向および形態的特徴の地域変異. 北海道立水産孵化場研究報告 62: 1-14
- 堀智孝 (2005) 湖の化学. 海と湖の化学—微量元素で探る. 宗林由樹, 一色健司 編. pp. 291-394. 京都大学学術出版, 京都.
- 井田齊, 奥山文弥 (2012) サケマス・イワナのわかる本. 山と溪谷社, 東京.
- Ingram BL, Weber PK (1999) Salmon origin in California's Sacramento – San Joaquin river system as determined by otolith strontium isotopic composition. *Geology* 27: 851-854
- Ishikawa T, Urabe J (2002) Population dynamics and production of *Jesogammarus annandalei*, an endemic amphipod, in Lake Biwa, Japan. *Freshwater Biol* 47: 1935-1943
- 帰山雅秀 (1994) ベニザケの生活史戦略—生活史パタンの多様性と固有性. 川と海を回遊する淡水魚—生活史と進化—. 後藤晃, 塚本勝巳, 前川光司 編. pp. 101-103. 東海大学出版会, 東京.
- 帰山雅秀 (1996) サケ属魚類の再生産と最適放流技術. *海洋* 28: 589-594
- Kaeriyama M, Ueda H (1998) Life history strategy and migration pattern of juvenile sockeye (*Oncorhynchus nerka*) and chum salmon (*O. keta*) in Japan: a review. *North Pac Fish Comm Bull*, 1: 163-171
- 帰山雅秀 (1999) サケ属魚類における野生魚と孵化場魚の生物学的相互作用. *水産育種*: 33-44
- Kaeriyama M (1999) Hatchery programmes and stock management of salmonid population in Japan. In stock enhancement and sea ranching. Howell BR, Moksness E, Svasand T. pp 153-167. Fishing New books. London.
- 帰山雅秀 (2009) サケは海からの贈りもの —サケ類の生活史戦略と生態系サービス. サケ学入門. 阿部周一 編. pp. 35-55. 北海道大学出版, 北海道.
- Kalish JM (1989) Otolith microchemistry: validation of the effects of physiology, age and environment on otolith composition. *J Exp Mar Biol Ecol* 132: 151-178
- Kalish JM (1991) ^{13}C and ^{18}O isotopic disequilibria in fish otoliths: Metabolic and kinetic effects. *Mar Ecol Prog Ser* 75: 191-203
- 加藤文雄 (1973) 伊勢湾へ降海するアマゴ(*Oncorhynchus rhodurus*)の生態について. *魚類学雑誌* 20: 225-234
- 加藤文雄 (1975) 降海型アマゴ *Oncorhynchus rhodurus* の分布について. *魚類学雑誌* 21: 191-197
- 加藤文男 (1978) 琵琶湖水系に生息するアマゴとビワマスについて. *魚類学雑誌* 25: 197-204
- Kato F (1991) Life histories of masu and amago salmon (*Oncorhynchus masou* and *Oncorhynchus rhodurus*). *Pacific salmon life histories*: 396-414
- 川幡穂高 (2008) 海洋地球環境学—生物地球化学循環から読む. 東京大学出版, 東京.

- 川辺孝幸 (1994) 琵琶湖のおいたち. 琵琶湖の自然史. 琵琶湖自然史研究会 編. pp. 25-72. 八坂書房, 東京.
- Kennedy BP, Folt CL, Blum JD, Chamberlain CP (1997) Natural isotope markers in salmon. *Nature* 387: 766-767
- Kennedy BP, Blum JD, Folt CL, Nislow KH (2000) Using natural strontium isotopic signatures as fish markers: methodology and application. *Can J Fish Aquat Sci* 57: 2280-2292
- Kim ST, O'Neil JR (1997) Equilibrium and nonequilibrium oxygen isotope effects in synthetic carbonates. *Geochim Cosmochim Acta* 61: 3461-3475
- 北田修一 (2001) 栽培漁業と統計モデル分析. 協立出版, 東京.
- Kitagawa T, Ishimura T, Uozato R, Shirai K, Amano Y, Shinoda A, Otake T, Tsunogai U, Kimura S (2013) Otolith $\delta^{18}\text{O}$ of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* as an indicator of ambient water temperature. *Mar Ecol Prog Ser* 481: 199-209
- Kitanishi S, Yamamoto T, Higashi S (2009) Microsatellite variation reveals fine-scale genetic structure of masu salmon, *Oncorhynchus masou*, within the Atsuta River. *Ecol Freshw Fish* 18: 65-71
- 小池利通, 塚本勝巳, 関泰夫, 大矢真知子, 星野正邦 (1992) 加治川における耳石標識サクラマス の回帰について. 新潟県内水面水産試験場調査研究報告 18: 38-44
- Kudo H, Ueda H, Kawamura H, Aida K, Yamauchi K (1994) Ultrastructural demonstration of salmon-type gonadotropin-releasing hormone (sGnRH) in the olfactory system of masu salmon (*Oncorhynchus masou*). *Neurosci Lett* 166: 187-190
- 桑原雅之, 井口恵一郎 (1994) ビワマスにおける河川残留型成熟雄の存在. *魚類学雑誌* 40: 495-497
- 桑原雅之, 井口恵一郎 (2007) ビワマスにおける早期遡上群の存在. *魚類学雑誌* 54: 15-10
- Kuwahara M, Takahashi H, Kikko T, Kurumi S, Iguchi K (2012) Introgression of *Oncorhynchus masou* subsp.(Biwa salmon) genome into lake-run *O. m. ishikawae* (Amago salmon) introduced into Lake Biwa, Japan. *Ichthyol Res* 59: 195-201
- 桑原雅之 (2013) ビワマス : その利用と保全. *魚類学雑誌* 60: 63-67
- Leider SA (1989) Increased straying by adult steelhead trout, *Salmo gairdneri*, following the 1980 eruption of Mount St. Helens. *Environ Biol Fish* 24: 219-229
- Leonard JBK, Leonard DR, Ueda H (2000) Active metabolic rate of masu salmon determined by respirometry. *Fisheries Sci* 66: 481-484
- Levin PS, Zabel R, Williams JG (2001) The road to extinction is paved with good intentions: negative association of fish hatcheries with threatened salmon. *Proc R Soc Lond B* 268:1153-1158
- Lichatowich JA, McIntyre JD (1987) Use of hatcheries in the management of Pacific anadromous salmonids. In *American Fisheries Society Symposium* (Vol. 1, No. 13, p. 11).
- Martin GB, Thorrold SR (2005) Temperature and salinity effect on magnesium, manganese, and barium incorporation in otoliths of larval and early juvenile spot *Leiostomus xanthurus*. *Mar Ecol Prog*

Ser 293: 223-232

- Martin J, Bareille G, Berail S, Pécheyrans C, Gueraud F, Lange F, Donard O (2013a) Persistence of a southern Atlantic salmon population: diversity of natal origins from otolith elemental and Sr isotopic signatures. *Can J Fish Aquat Sci* 70: 182-197
- Martin J, Bareille G, Berail S, Pecheyran C, Daverat F, Bru N, Donard O (2013b) Spatial and temporal variations in otolith chemistry and relationships with water chemistry: a useful tool to distinguish Atlantic salmon *Salmo salar* parr from different natal streams. *J Fish Biol* 82: 1556-1581
- 真山紘 (1978) サケ・マス親魚の生態調査-II 千歳川におけるサケ親魚のそ上活動の日周変動. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 32: 9-18
- 真山紘, 野村哲一, 大熊一正 (1988) 越冬前の秋季に放流されたサクラマス *Oncorhynchus masou* 標識魚のスマルト降海と親魚としての回帰. 北海道さけ・ますふ化場研究報告: 21-36
- 松下由紀子 (2001) マイクロデータロガーによる降湖型サクラマスの産卵回遊行動解析. 北海道大学修士論文.
- McCormick SD, Farrell AP, Brauner CJ (2013) Euryhaline fishes. Elsevier, Oxford
- McDowall RM (2001) Anadromy and homing: two life-history traits with adaptive synergies in salmonid fishes?. *Fish Fish* 2: 78-85
- Milner AM, Robertson AL, Monaghan KA, Veal AJ, Flory EA (2008) Colonization and development of an Alaskan stream community over 28 years. *Front Ecol Environ* 6: 413-419
- Milton DA, Chenery SR (2003) Movement patterns of the tropical shad hilsa (*Tenualosa ilisha*) inferred from transects of 87Sr/86Sr isotope ratios in their otoliths. *Can J Fish Aquat Sci* 60: 1376-1385
- 宮腰靖之, 高橋昌也, 大熊一正, 卜部浩一, 下田和孝, 川村洋司 (2012) 標識魚の遡上状況からみた北海道尻別川水系内でのサクラマスの母川回帰. 北海道水産試験場研究報告 81: 125-129
- Mizota C, Kusakabe M (1994) Spatial distribution of δD - $\delta^{18}O$ values of surface and shallow groundwater from Japan, south Korea and east China. *Geochem J* 28: 387-410
- Moriya S, Sato S, Azumaya T, Suzuki O, Urawa S, Urano A, Abe S (2007) Genetic stock identification of chum salmon in the Bering Sea and North Pacific Ocean using mitochondrial DNA microarray. *Mar Biotechnol* 9: 179-191
- Moriya S, Sato S, Yoon M, Azumaya T, Urawa S, Urano A, Abe S (2009) Nonrandom distribution of chum salmon stocks in the Bering Sea and the North Pacific Ocean estimated using mitochondrial DNA microarray. *Fisheries Sci* 75: 359-367
- Muhlfeld CC, Thorrold SR, McMahon TE, Marotz B (2012) Estimating westslope cutthroat trout (*Oncorhynchus clarkii lewisi*) movements in a river network using strontium isoscapes. *Can J Fish Aquat Sci* 69: 906-915
- Murata S, Takasaki N, Saitoh M, Tachida H, Okada N (1996) Details of retropositional genome dynamics

- that provide a rationale for a generic division: the distinct branching of all the Pacific salmon and trout (*Oncorhynchus*) from the Atlantic salmon and trout (*Salmo*). *Genetics* 142: 915-926
- 中坊徹次 (2011) クニマス *Oncorhynchus kawamurae* -絶滅から復活、そして今後-. *Nippon Suisan Gakk* 77: 469-472
- 中島経夫 (1994) 序章 琵琶湖. 琵琶湖の自然史. 琵琶湖自然史研究会 編. pp. 13-24. 八坂書房, 東京.
- 中村俊六 (1993) 効果の判定・評価. 河川生態環境工学 魚類生態と河川計画. 玉井信行, 水野信彦, 中村俊六 編. pp. 243-275. 東京大学出版. 東京.
- Nakano T, Tayasu I, Wada E, Igeta A, Hyodo F, Miura Y (2005) Sulfur and strontium isotope geochemistry of tributary rivers of Lake Biwa: implications for human impact on the decadal change of lake water quality. *Sci Total Environ* 345: 1-12
- Nakano T, Tayasu I, Yamada Y, Hosono T, Igeta A, Hyodo F, Ando A, Saitoh Y, Tanaka T, Wada E, Yachi S (2008) Effect of agriculture on water quality of Lake Biwa tributaries, Japan. *Sci Total Environ* 389: 132-148
- 根本雄太, 菅谷琢磨, 大河内裕之 (2008) マイクロサテライト DNA 変異から推定した日本沿岸における太平洋ニシンの集団構造. *水産育種* 37: 51-59
- Nonogaki H, Nelson JA, Patterson WP (2007) Dietary histories of herbivorous loriciid catfishes: evidence from $\delta^{13}\text{C}$ values of otoliths. *Environ Biol Fish* 78: 13-21
- 尾田昌紀, 秋葉健司, 山本俊昭 (2008a) 琵琶湖流入河川におけるビワマス *Oncorhynchus masou* subsp. の自然再生産について. *陸水生物学報* 23: 1-6
- 尾田昌紀, 秋葉健司, 山本俊昭 (2008b) ビワマス *Oncorhynchus masou* subsp. 稚魚の浮上期における生態について. *陸水生物学報* 23: 7-14
- 尾田昌紀 (2009) 琵琶湖流入二河川におけるビワマス卵サイズの河川間差異. *陸水生物学報* 24: 21-25
- 尾田昌紀 (2010) 琵琶湖流入河川におけるビワマスの産卵床分布. *Nippon Suisan Gakk* 76: 213-215
- 尾田昌紀, 岸野底, 原田泰志 (2011) 琵琶湖流入河川におけるビワマス遡上親魚の体サイズ. *魚類学雑誌* 58: 171-175
- Okazaki T (1986) Genetic variation and population structure in masu salmon *Oncorhynchus masou* of Japan. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 52: 1365-1376
- Oohara I & Okazaki T (1996) Genetic relationship among three subspecies of *Oncorhynchus masou* determined by mitochondrial DNA sequence analysis. *Zool Sci* 13: 189-198
- 大島正満 (1957) 桜鱒と琵琶鱒. 楡書房, 北海道.
- Pangle KL, Ludsin SA, Fryer BJ (2010) Otolith microchemistry as a stock identification tool for freshwater fishes: testing its limits in Lake Erie. *Can J Fish Aquat Sci* 67: 1475-1489
- Patterson HM, McBride RS, Julien N (2004) Population structure of red drum (*Sciaenops ocellatus*) as

- determined by otolith chemistry. *Mar Biol* 144: 855-862
- Pearce NJG, Perkins WT, Westgate JA, Gorton MP, Jackson SE, Neal CR, Chenery SP (1997) A compilation of new and published major and trace element data for NIST SRM 610 and NIST SRM 612 glass reference materials. *Geostand Newsl* 21: 115-144
- Perrier C, Daverat F, Evanno G, Pécheyran C, Bagliniere JL, Roussel JM (2011) Coupling genetic and otolith trace element analyses to identify river-born fish with hatchery pedigrees in stocked Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Can J Fish Aquat Sci* 68: 977-987
- Pess GR, Hilborn R, Kloehn K, Quinn TP (2012) The influence of population dynamics and environmental conditions on pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) recolonization after barrier removal in the Fraser River, British Columbia, Canada. *Can J Fish Aquat Sci* 69: 970-982
- Quinn TP, Fresh K (1984) Homing and straying in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) from Cowlitz River Hatchery, Washington. *Can J Fish Aquat Sci* 41: 1078-1082
- Quinn TP, Nemeth RS, McIsaac DO (1991) Homing and straying patterns of fall chinook salmon in the lower Columbia River. *Trans Am Fish Soc* 120: 150-156
- Quinn TP (2005) The behavior and ecology of Pacific salmon and trout Bethesda. Maryland: American Fisheries Society.
- Reis-Santos P, Tanner SE, Elsdon TS, Cabral HN, Gillanders BM (2013) Effects of temperature, salinity and water composition on otolith elemental incorporation of *Dicentrarchus labrax*. *J Exp Mar Biol Ecol* 446: 245-252
- Rooker JR, Secor DH, DeMetrio G, Kaufman AJ, Ríos AB, Ticina V (2008) Evidence of trans-Atlantic movement and natal homing of bluefin tuna from stable isotopes in otoliths. *Mar Ecol Prog Ser* 368: 231-239
- 坂本準, 桑木基靖, 江場岳史 (2009) サクラマスの子石バーコード標識パターン数を増やすための低水温飼育と昇温刺激を併用した標識方法. *水産技術* 2: 25-30
- Sato A, Ueda H, Fukaya M, Kaeriyama M, Zohar Y, Urano A, Yamauchi K (1997) Sexual differences in homing profiles and shortening of homing duration by gonadotropin-releasing hormone analog implantation in lacustrine sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in Lake Shikotsu. *Zool Sci* 14: 1009-1014
- 澤田宣雄 (1997) ビワマスの種苗放流効果. *滋賀県農林水産主要試験研究成果* 5: 109-110
- Schaner T, Patterson WP, Lantry BF, O'Gorman R (2007) Distinguishing wild vs. stocked lake trout (*Salvelinus namaycush*) in Lake Ontario: evidence from carbon and oxygen stable isotope values of otoliths. *J Great Lakes Res* 33: 912-916
- Schwarcz HP, Gao Y, Campana S, Browne D, Knyf M, Brand U (1998) Stable carbon isotope variations in otoliths of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can J Fish Aquat Sci* 55: 1798-1806
- Shirai K, Takahata N, Yamamoto H, Omata T, Sasaki T, Sano Y (2008) Novel analytical approach to

- bivalve shell biogeochemistry: A case study of hydrothermal mussel shell. *Geochem J* 42: 413-420
- Shoji T, Ueda H, Ohgami T, Sakamoto T, Katsuragi Y, Yamauchi K, Kurihara K (2000) Amino acids dissolved in stream water as possible home stream odorants for masu salmon. *Chem Senses* 25: 533-540
- Solomon CT, Weber PK, Cech Jr JJ, Ingram BL, Conrad ME, Machavaram MV Franklin RL (2006) Experimental determination of the sources of otolith carbon and associated isotopic fractionation. *Can J Fish Aquat Sci* 63: 79-89
- Sugaya T, Sato M, Yokoyama E, Nemoto Y, Fujita T, Okouchi H, Hamasaki K, Kitada S (2008) Population genetic structure and variability of Pacific herring *Clupea pallasii* in the stocking area along the Pacific coast of northern Japan. *Fisheries Sci* 74: 579-58
- 鈴木研一, 小林敬典, 松石隆, 沼知岳史 (2000) ミトコンドリア DNA の制限酵素切断型多型解析からみた北海道内におけるサクラマスの遺伝的変異性. *Nippon Suisan Gakk* 66: 639-646
- Swain DP, Riddell BE (1990) Variation in agonistic behavior between newly emerged juveniles from hatchery and wild populations of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Can J Fish Aquat Sci* 47: 566-571
- Takahashi T, Yoshikawa M, Shibata T, Tatsumi Y, Shimizu N (2006) Sr isotopic micro-analyses of plagioclase in an desites from Zao volcano, NE Japan. *Frontier Research on Earth Evolution* 2: 1-5
- Takahashi T, Hirahara Y, Miyazaki T, Vaglarov BS, Chang Q, Kimura J, Tatsumi Y (2009) Precise determination of Sr isotope ratios in igneous rock samples and application to micro-analysis of plagioclase phenocrysts. *JAMSTEC Report R&D S.I.*: 59-64
- Takami T, Aoyama T, Nagata M, Miyamoto M, Ohkubo SI, Kawamura H (1998) Individual growth and life-history divergence of juvenile masu salmon (*Oncorhynchus masou*) in a northern Japanese stream. *Scientific Reports of the Hokkaido Fish Hatchery* 52: 21-29
- Tamate T, Maekawa K (2000) Interpopulation variation in reproductive traits of female masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Oikos* 90: 209-218
- 玉手剛, 山本祥一郎 (2004) サケ科魚類における二つの生活史. サケ・マスの生態と進化. 前川光司 編. pp. 43-62. 文一総合出版, 東京.
- Tanaka H, Takagi Y, Naito Y (2001) Swimming speeds and buoyancy compensation of migrating adult chum salmon *Oncorhynchus keta* revealed by speed/depth/acceleration data logger. *J Exp Biol* 204: 3895-3904
- 田中秀具 (2011) 琵琶湖におけるビワマスの資源構造に関する研究. 滋賀県水産試験場研報. 54: 7-61
- Taniguchi M, Kaihotsu I, Kotoda K (1995) Isotope studies of precipitation, river water and groundwater in the HEIFE area, northwestern China. *J Meteorol Soc Jpn* 73: 1293-1299

- Thorrold SR, Jones CM, Campana SE, McLaren JW, Lam JWH (1998) Trace element signatures in otolith record natal river of juvenile American shad (*Alosa sapidissima*). *Limnol Oceanogr* 43: 1826-1835
- Thorrold SR, Latkoczy C, Swart PK, Jones CM (2001) Natal homing in marine fish metapopulation. *Science* 291: 297-299
- Tohse H, Mugiya Y (2008) Sources of otolith carbonate: experimental determination of carbon incorporation rates from water and metabolic CO₂, and their diel variations. *Aquat Biol* 1: 259-268
- Tomida Y, Suzuki T, Yamada T, Asami R, Yaegashi H, Iryu Y, Otake T (2013) Differences in oxygen and carbon isotope ratios between hatchery and wild pink salmon fly. *Fisheries Sci, in press*
- Townsend DW, Radtke RL, Corwin S, Libby DA (1992) Strontium:calcium ratios in juvenile Atlantic herring *Clupea harengus* L. otoliths as a function of water temperature. *J Exp Mar Biol Ecol* 160: 131-140
- Tsukamoto K (1988) Otolith tagging of ayu embryo with fluorescent substances. *Nippon Suisan Gakk* 54: 1289-1295
- Tsukamoto K, Kuwada H, Hirokawa J, Oya M, Sekiya S, Fujimoto H (1989) Size-dependent mortality of red sea bream, *Pagrus major*, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. *J Fish Biol* 35: 59-69
- Tsukamoto K, Nakai I (1998) Do all freshwater eels migrate?. *Nature* 396: 635-636
- 塚本勝巳 (2010) 回遊. 魚類生態学の基礎. 塚本勝巳編, pp. 57-68. 恒星社厚生閣. 東京.
- Tunheng A, Hirata T (2004) Development of signal smoothing device for precise elemental analysis using laser ablation-ICP-mass spectrometry. *J Anal At Spectrom* 19: 932-934
- Ueda H (2004) Mechanisms of salmon homing migration from molecules to behavior. In proceedings of the international symposium on SEASTAR2000 and Bio-logging science: 76-78
- 上田宏 (2009) サケ類の母川回帰メカニズム —行動から遺伝子までのアプローチ. サケ学入門. 阿部周一 編. pp. 71-82. 北海道大学出版, 北海道.
- Ueda H (2012) Physiological mechanisms of imprinting and homing migration in Pacific salmon *Oncorhynchus* spp. *J Fish Biol* 81: 543-55
- Urawa S, Sato S, Crane PA, Agler B, Josephson R, Azumaya T (2009) Stock-specific ocean distribution and migration of chum salmon in the Bering Sea and North Pacific Ocean. *North Pacific Anadromous Fish Commission Bulletin* 5: 131-146
- Veinott G, & Porter R (2005) Using otolith microchemistry to distinguish Atlantic salmon *Salmo salar* parr from different natal streams. *Fish Res* 71: 349-355
- Volk EC, Schroder SL, Grimm JJ (1999) Otolith thermal marking. *Fish Res* 43: 205-219
- Walther BD, Thorrold SR (2008a) Geochemical signatures in otoliths record natal origins of American shad. *T Am Fish Soc* 137: 57-59

- Walther BD, Thorrold SR (2008b) Continental-scale variation in otolith geochemistry of juvenile American shad (*Alosa sapidissima*). *Can J Fish Aquat Sci* 65: 2623-2635
- Waples RS (1991) Pacific salmon, *Oncorhynchus* spp., and the definition of "species" under the Endangered Species Act. *Marine Fisheries Review* 53: 11-22
- Westley P A, Quinn TP, Dittman AH (2013) Rates of straying by hatchery-produced Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.) and steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) differ among species, life history types, and populations. *Can J Fish Aquat Sci* 70: 735-746
- Wisby WJ, Hasler AD (1954) Effect of olfactory occlusion on migrating silver salmon (*O. kisutch*). *J Fish Res Board Can* 11: 472-478
- Yamamoto T, Reinhardt UG (2003) Dominance and predator avoidance in domesticated and wild masu salmon *Oncorhynchus masou*. *Fisheries Sci* 69: 88-94
- Yamane K, Shirai K, Nagakura Y, Yamaguchi M, Takiya A, Horii T, Tanaka N, Yamane S, Arai T, Otake T (2010) Spatial variation in otolith elemental compositions of Pacific herring *Clupea pallasii* in northern Japan. *Aquat Biol* 10: 283-290
- Yamane K, Shirai K, Nagakura Y, Otake T (2012) Assessing the usefulness of otolith elemental compositions for evaluating the population structure of the Pacific herring *Clupea pallasii* in northern Japan. *Fisheries Sci* 78: 295-307
- Yasuda T, Kawabe R, Takahashi T, Murata H, Kurita Y, Nakatsuka N, Arai N (2010) Habitat shifts in relation to the reproduction of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* revealed by a depth-temperature data logger. *J Exp Mar Biol Ecol* 385: 50-58
- Zimmerman CE, Swanson HK, Volk EC, Kent AJ (2013) Species and life history affect the utility of otolith chemical composition for determining natal stream of origin for Pacific salmon. *Trans Am Fish Soc* 142: 1370-1380
- Zitek A, Sturm M, Waidbacher H, Prohaska T (2010) Discrimination of wild and hatchery trout by natural chronological patterns of elements and isotopes in otoliths using LA-ICP-MS. *Fisheries Manag Ecol* 17: 435-445

要旨

ビワマス *Oncorhynchus masou* subsp. は、琵琶湖に生息するサクラマスの固有亜種である。その生活史は遡河回遊魚の湖沼陸封型であり、産卵場として河川を、生育場として琵琶湖を利用する。しかし、その生態学的知見の多くは稚魚期や産卵遡上期に限られ、湖内での生態や、サケ科魚類の回遊生態を特徴づける母川回帰性は明らかになっていない。また、ビワマスは水産重要種であり、資源の維持と種の保全を目的とした孵化放流事業が古くから行われているが、その効果は把握されていない。適切な資源管理法の策定には、回遊生態と放流効果に関する知見の蓄積が不可欠である。

近年、耳石の微量元素組成と安定同位体比が魚類の出生地判別に有用であることが明らかとなった。そこで本研究では、耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比による母川判別にに基づき、ビワマスの回遊生態を明らかにすることを目的とした。さらに、耳石の炭素・酸素安定同位体比を用いた放流魚の判別法から、放流効果を検討することも目的とした。

1. 耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比による母川判別

耳石の微量元素組成と Sr 安定同位体比を指標とした母川判別法の有用性を検討するため、2010年3月と2011年2月に琵琶湖水系河川である鶴川、安曇川、石田川、知内川、大川、天野川、犬上川とビワマスの養鱒場である滋賀県漁業協同組合連合会高島事業所(高島事業所)と滋賀県醒井養鱒場(醒井養鱒場)で計288個体のビワマス稚魚を採集し、その耳石を分析した。また、2009年11月、2010年3月、2011年3月に上記の9地点から河川水または飼育水(以下、両者を環境水と呼ぶ)を採取した。採集した稚魚の耳石の微量元素組成(Na/Ca, K/Ca, Mn/Ca, Sr/Ca, Ba/Ca)はレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置(LA-ICP-MS)を用いて、Sr 安定同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)は表面電離型質量分析計(TIMMS)を用いて分析した。環境水の微量元素組成はICP-MS、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ はTIMMSを用いて分析した。その結果、稚魚の耳石のNa/Ca、K/Ca、Sr/Ca、Ba/Caと $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ に9

地点間で有意な差がみられた(Kruskal-Wallis test, $p < 0.001$; Steel-Dwass test, $p < 0.05$)。同様に環境水の組成においても9地点間で違いがみられた。経年変化を調べるため、2010年と2011年に鶴川で採集した稚魚の耳石の組成を比較したところ、Na/CaとK/Caでは採集年の間に有意差がみられ(t-test, $p < 0.05$)、Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ では有意差はなかった(t-test, $p > 0.05$)。また耳石のSr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、環境水の値との間に有意な相関が認められた(Sr/Ca: $r^2 = 0.93$, $p < 0.001$; Ba/Ca: $r^2 = 0.66$, $p < 0.01$; $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$: $r^2 = 0.95$, $p < 0.001$)。そこで、採集地点間の差が大きく、経年変化が小さく、環境水の値を反映するSr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が母川判別の指標として有用であると考えた。これらの値を用いて非線形判別分析を行ったところ、各採集地点の正判別率は57-100% (平均86%)と非常に高い値を得た。以上より、稚魚の耳石のSr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は母川判別の指標として有用であり、高い割合でビワマスの母川を判別できることがわかった。以下、Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を母川指標と呼ぶ。

2. 母川判別に基づいた湖内での回遊生態の検討

ビワマスの琵琶湖内での生態を明らかにするため、湖内回遊個体の生物学的基礎情報を調べるとともに、母川指標(Sr/Ca, Ba/Ca, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)を用いた母川判別を行った。2009年8月から2010年7月にかけて、琵琶湖北湖の鶴川沖、今津沖、長浜沖で引縄釣りによって計51個体の銀化したビワマスを採集した。同時に、釣具に装着したデータロガーでビワマスが針にかかった際の水深と水温を記録した。ビワマスが採集された水深は5-35 mで、水温はいずれも15°C以下(8-15°C)だった。採集個体の体長は217-455 mm(平均±標準偏差: 333 ± 59 mm)で、その範囲はどの地域でもほぼ同様だった。採集個体のうち、雌が21個体、雄が6個体で、その他は性判別ができなかった。体長300 mm以上でGSIの上昇がみられた。胃内容物は魚類とヨコエビのみであった。次に、採集個体のうち24個体の耳石で、河川生活期にあたる部分(核周辺部)のSr/CaとBa/CaをLA-ICP-MSを用いて分析した。また、同様の部分をMicro-Drilling法によって掘削し、得られた試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ をTIMSで分析した。湖内回遊個体の耳石の母川指標は、どの採集地域においても湖内の広い範囲に亘る河川の母川指標との一致がみられた。非線形判別分析により湖内回遊個体の母川判別を試みたところ、西部の河川(鶴川、安曇川、石田川、

高島事業所)に判別された個体が 15 個体と最も多く、北部(知内川、大川)は 5 個体、東部(天野川、犬上川、醒井養鱒場)は 4 個体だった。また、どの採集地域、時期においても、西部、北部、東部に母川があるとみられる個体が混在した。以上より、湖内では様々な河川を母川とする個体が混合して生活しており、その生息域は水温や餌生物の分布が関係していると考えられた。

3. 母川判別に基づいた母川回帰性の検討

ビワマスの母川回帰性を検討するため、産卵遡上個体に対して耳石の母川指標による母川判別を試みた。産卵のため河川に遡上したビワマスを、2006 年 10 月と 11 月に鶉川、安曇川、知内川、天野川、犬上川で計 43 個体、2009 年 10 月と 11 月に安曇川、石田川、知内川、天野川で計 37 個体採集した。これら遡上個体の耳石について、河川生活期にあたる部分の母川指標を第 2 項と同様の方法で分析した。遡上個体の耳石の母川指標は、遡上河川のものとは必ずしも一致しなかった。非線形判別分析により産卵遡上個体の母川判別を行ったところ、母川に遡上したと判断された個体は 2006 年、2009 年ともに少なく、各河川の母川回帰率は 0-50 % だった。第 2 項と同様に河川を西部、北部、東部にまとめ、母川が属する地域の河川に遡上した個体の割合を求めたところ、その割合は各河川の母川回帰率よりも高くなった(13-90 %)。以上より、ビワマスの母川回帰性は弱いものの、少なくとも母川に近い河川へ遡上する傾向が強いものと考えられた。

4. 耳石の炭素・酸素安定同位体比による放流魚の判別

放流魚の判別手法を確立するため、野生稚魚と放流稚魚の耳石の炭素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$)と酸素安定同位体比($\delta^{18}\text{O}$)を調べた。2010 年 3 月と 2011 年 2 月に鶉川、安曇川、知内川、天野川、犬上川で計 127 個体の野生稚魚を、高島事業所、醒井養鱒場から計 59 個体の放流稚魚を採集した。稚魚の耳石全体を試料とし、安定同位体比質量分析計を用いて $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を分析した。また、環境水の $\delta^{18}\text{O}$ と、稚魚の筋肉および河川で採集した餌生物と飼育用人工餌料の $\delta^{13}\text{C}$ も同様に分析した。耳石の $\delta^{18}\text{O}$ は野生稚魚で $-6.3 \pm 0.29 \text{ ‰}$ (平均値 \pm 標準偏差)、放流稚魚で $-7.8 \pm 0.26 \text{ ‰}$ であり、両者の間に有意な差がみられ(Steel-Dwass test, $p < 0.05$)、 -7 ‰ を境に明瞭に区分された。耳石の $\delta^{13}\text{C}$ の値は両者に重なりがみられたものの、 $\delta^{13}\text{C}$

と $\delta^{18}\text{O}$ を組み合わせることで放流稚魚を明瞭に分離することができた。また、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を用いて非線形判別分析を行ったところ、野生稚魚と放流稚魚の正判別率は 100 % となり、両者を正確に判別することができた。野生稚魚と放流稚魚の間では、環境水の $\delta^{18}\text{O}$ と餌の $\delta^{13}\text{C}$ に差がみられ、経験した環境や餌の違いが耳石の安定同位体比に影響を及ぼしたものと考えられた。

次に、2009 年 11 月に安曇川に遡上したビワマス 50 個体と、2011 年 10 月から 11 月に安曇川、石田川、天野川、犬上川に遡上したビワマス計 55 個体の放流魚判別をおこなった。耳石の河川生活期にあたる部分を Micro-Drilling 法によって掘削して得られた試料の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を測定し、非線形判別分析により放流魚を判別した。その結果、2009 年では 6 個体(12 %)、2011 年では 16 個体(29 %)、全体では 22 個体(16 %)が放流魚であると判別された。以上より、2009 年と 2011 年に産卵遡上したビワマスの大部分は野生魚であり、ビワマス資源は近年においても自然産卵からの加入が大きく貢献していると考えられた。

本研究は、耳石の Sr/Ca、Ba/Ca、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ がビワマスの母川判別の指標として有用であることを示した。さらに湖内回遊個体と産卵遡上個体にこれらの指標に基づく母川判別法を適用することで、ビワマスの回遊生態の一端を明らかにした。ビワマスは湖内において、母川の地理的位置によらず広い範囲に分散しており、産卵遡上においては、母川回帰性は弱いものの母川に近い河川に遡上する傾向を示すことがわかった。また、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{18}\text{O}$ が放流魚の判別に有用であることを実証し、産卵遡上個体の大部分が野生魚であることを示した。本研究で得られた知見は、ビワマスの生態の理解を深め、ビワマス資源の増殖・保全策の立案のための基礎情報を提供するものと期待される。