

アユ個体群の構造解析における進展とその今日的意義

井口恵一朗^{*1}・武島弘彦^{*2}

Progress in analyzing fish population structure in ayu with today's significance

Kei'ichiro IGUCHI^{*1} and Hirohiko TAKESHIMA^{*2}

Abstract Studies on population structure of ayu (*Plecoglossus altivelis*) were reviewed to evaluate the present status of our task concerning genetic structure of the species. More detailed description has been allowed according to the technical progress in analysis. At first, phenotypic markers including morphological, ecological and behavioural characteristics were successful in distinguishing landlocked Lake Biwa form from amphidromous form. Allozyme analysis was used to describe new subspecies as *P. a. ryukyensis*, and provided genetic basis on the divergence of landlocked Lake Biwa form. Mitochondrial DNA analysis observed metapopulation structure between insular and mainland local populations, while genetic structure within a Japan's amphidromous form was remained suggestive but unclear. Our study proved effectiveness of microsatellite DNA as a genetic marker, and successfully detected genetic structure within a Japan's amphidromous form. Application of microsatellite DNA can contribute to establish conservation unit and/or resource management unit.

Key words: amphidromy, phenotypic characteristics, allozyme analysis, mitochondrial analysis, microsatellite analysis, gene flow, metapopulation

アユは、遊漁や養殖の対象魚種として、内水面水産業界で根強い需要を堅持し続けている。一方で、付着藻類専食という特異なニッチ（生態的地位）から、河川生態系の中では重要な役割を担い、生物多様性の枠組みの中では鍵種としての位置を占めている。こうした事情を背景に、水産学を超えた広範な分野を巻き込みながら、本種を題材とした研究が、精力的に繰り広げられてきた。その甲斐あって、アユにまつわる知見は、いまや膨大な量となって蓄積されている。とりわけ、南北に長く延びる日本列島に分布の中心を持つ本種について、国内外の生息地を取り上げながら、そこに産するアユたちの類縁関係の解明に強い関心が払わ

れてきたことは、自然の成り行きと言える。実際に、生きた魚と直に接する遊漁者にとっては、各地のアユが醸し出す微妙な違いを認識している向きも多い。系統地理の領域においても、近年では分子レベルの分析手法の導入が加速され研究が深化しつつある（西田，1999）。新たに開発される新技術による手法で描かれた個体群像が、従来の手法で得られたものと同じであるとは限らない。さらに、新しい方法の活用は、ものの見方そのものに対しても従来にはない切り口を与えることがある。複数の研究結果を比較しようとするとき、ツールの適用限界が常に考慮されなければならない時代に入ったと言える。ツールの選択を誤ると、せっか

2005年11月30日受理 (Received: November 30, 2005)

*1 中央水産研究所 〒386-0031 長野県上田市小牧1088 (National Research Institute of Fisheries Science, Komaki 1088, Ueda, Nagano 386-0031, Japan)

*2 東京大学海洋研究所 〒164-8639 東京都中野区南台1-15-1 (Ocean Research Institute, University of Tokyo, Minamidai 1-15-1, Nakano, Tokyo 164-8639)

くの成果に、正しい評価が下されないという事態も起こりうる。

個体に備わった特徴のなかで、他者との識別に有効な形質をマーカー（標識）と呼ぶ。マーカーは、その性状に応じて、表現形質と遺伝形質に大別することができる。前者には、形態形質の他に、生態や行動に関わる形質が含まれている。しかし、ヒトが視覚に依存する生き物であるためか、形態形質を重用する傾向がこれまでは強かったというのが実情である。遺伝形質では、ミトコンドリアや核のゲノム情報が利用されるが、本稿では核ゲノムの情報に基づいて構成されるアロザイムについても遺伝形質の範疇に入れて扱うこととする。また、パソコンの普及による計算能力の向上が、煩雑な演算プロセスを要する統計量の使用を身近なものへと変えていった（根井，1990）。個々の計測値は、変数として取り込まれ、グループを代表する数量へと高次の意味付けが施される。さらに、個体の集まりを表現する時・空間的な階層性に対しても、その認識に変化が生じている。系統上は、属、種、亜種への流れが成立する。さらに下位に配置される生態上の単位には、個体群があった。しかし、メタ個体群の概念が持ち込まれるようになると、個体の集まりが、遺伝的交流の頻度を介してより動的に評価されるようになった（Hanski and Gilpin, 1997）。このように、現在では、利用可能なツールと解析対象とするべき単位の組み合わせが多岐に及ぶようになり、一見すると複雑な様相を呈している。

2001年（平成13年）から、独立行政法人水産総合研究センターを中核として、「生態系保全型増養殖システム確立のための種苗生産・放流技術の開発」研究がスタートし、2003年（平成15年）をもって第1期研究実施期間が終了した。遺伝的多様性の保全に配慮した放流手法の開発を目指して、中課題「放流対象魚の生態学的特性の解明」のなかに、実施課題「アユ仔・稚魚の海域を通じた分散過程の分子遺伝学的解析」（以下、プロジェクト研究）が設定された。背景には、日本産の両側回遊性のアユが単一の個体群を構成しているという従来の見解に対する反駁の意図があった。仔・稚魚期のアユは海域を通じて分散するために、母川以外の生息場所に定着する可能性がある。同様に再生産に成功した放流種苗についても、生息場所の拡大は起こりうる。放流個体群と在来個体群の交流は遺伝的な攪乱をもたらす、その影響が世代をまたがって伝播する事態も想定される。そこで、本プロジェクト研究では、地域間の遺伝的交流の推定を介して、アユ個体群内部の構造を解明することを目標としている。研究内容は、全国からの標本の収集、遺伝マーカーの検索と適用、

個体群構造の解析に要約される。

私たちのプロジェクト研究には、特筆すべき点が二つある。一つは、解析に供した標本のサイズにあり、全国110を越す地域個体群から4,000をはるかに上回る検体が、分析に供された。これほどまでに規模の大きなアユのコレクションは、他に例をみない。もう一つは、高い分析感度が予測されるマイクロサテライトDNAが、マーカーとして利用されたことにある。膨大なサンプルを前に、手動では処理が間に合わず、ロボット技術の導入が不可欠であったことを付け加えておく。本稿では、アユの個体群構造の解析に関わるこれまでの研究成果を概観することにより、今回実施された研究における到達点の明確化を試みる。また、成果をもたらす意義や研究推進の過程で明るみになった新たな研究ニーズについても触れることにする。現在、プロジェクト課題は、第2期分として若干の改修を伴いながら、継続の最中にある。そのため、これまでの成果の多くは、未だ論文形式による公表には至っていない。未発表データに関しては、その性格上、詳述は不適切と判断した。未発表資料に基づいてプロジェクト成果の概略を記述する場合は、口頭（ポスター）発表時の出自を添付して、文献に準じて列挙した。

表現形質を使った解析

表現形質のなかでも形態形質はとりわけて、分類ならびに系統の分野において、中心的な役割を担ってきた。岩井（1980）の総説によると、アユは当初、*Salmo altivelis*として、サケ科の仲間として記載されていた。ところが1923年にはJordanにより、脊柱末端の脊椎骨の位置、幽門垂数、鰓条骨数などにおける差異を基に、アユ科としての独立が図られた。その後、脊椎や頭蓋の骨格系や初期発育様式を拠る所に、アユをキュウリウオ科に組み入れようとする考え方も勢いを増してきている。しかしながら、シラウオ科、キュウリウオ属、ワカサギ属、シシャモ属、カラフトシシャモ属、*Allosmerus*属、*Thaleichthys*属を巻き込んだ系統類縁関係の推定は、研究者の間で錯綜し、統一された見解には達していないのが現状である（Howes and Sanford, 1987; Wilson and Williams 1991; Begle, 1991; Johnson and Patterson, 1996）。収斂進化によって形態上の類似性をもたらされることもあり得るために、形態に準拠した解析では単一の解答を見出しにくいのかもしれない。これに対して分子レベルでは収斂進化がほとんど起こらず、分岐後の時間経過に応じて違いが蓄積されるために、客観的かつ検証可能な系統仮説の構築が可能である。現在は、アユを含む一連の

近縁種群について、ミトコンドリアDNA全塩基配列を用いた系統解析が精力的に進められており、その成果に期待したい(石黒・西田, 2004)。

形質の地理的な不連続性に着目して、種内に亜種が設定されることがある。日本列島に分布の中心を持つアユが、琉球列島にも生息することは古くから知られていた(Jordan and Tanaka, 1927)。Nishida (1988)は、形態分析とアロザイム分析を併用して、新亜種リュウキュウアユ *Plecoglossus altivelis ryukyuensis* を記載した。縦列鱗数、側線上・下方横列鱗数および胸鰭条数が、基亜種からリュウキュウアユを区別する形質として挙げられた。また、脊椎骨数、側線上・下方横列鱗数および上顎上の櫛状歯数において、沖縄島産ならびに奄美大島産リュウキュウアユの間に変異があることを見出している。1970年代に入ると沖縄島から本亜種は姿を消してしまい(澤志, 1997)、現在ではホルマリン固定標本を残すだけとなっている。残念ながら、沖縄島産リュウキュウアユに分子分析を適用する手立ては、今のところはない。アユは大陸側にも生息することが知られており、韓半島から中・越国境付近までの沿岸地方に不連続に分布する(西田, 1990)。この中国産アユについて、ごく最近になって、亜種 *Plecoglossus altivelis chinensis* として記載する報告が提出された(Xiujuan *et al.*, 2005)。分類形質として、櫛状歯数と脊椎骨数が取り上げられており、分子レベルの解析は行われていない。

両側回遊性のアユに比べると、琵琶湖に陸封されて生息するアユは小型で成熟するものが多く、かつては、前者を大鮎、後者を小鮎と呼んで区別することがあった。琵琶湖産アユを多摩川に放流して、それが大きく成長することを確認した石川千代松は、琵琶湖産アユが両側回遊性のアユと同質のものであると考えた(石川, 1930)。しかし、両者の関係が簡単に片付けられそうにはないことが、その後の漁業生産における経験的事実や調査研究を通して明らかになっていった(東, 1977)。琵琶湖産アユと両側回遊性アユの比較から、次の形質に差異が見出された。計数形質；上顎櫛状歯列数や縦列鱗数(Nishida and Sawashi, 1987；西田, 1988；Krittikar *et al.*, 2001)、計量形質；頭長や鰓耙長(駒田, 1977；Azuma, 1981；西田, 1988)、繁殖形質；卵数-卵サイズ、産卵期(Nishida, 1986；関ほか, 1984；Iguchi and Yamaguchi, 1994；辻村, 谷口, 1994)、行動形質；ナワバリ形成能(関ほか, 1984；澁谷ほか, 1995)。これらの形質の多くは、原産地を離れても維持されることから、遺伝的な基礎を備えているものと理解される。琵琶湖産のアユの生活様式は、河川に遡上して大きく成長するオオアユ型と湖

に留まって小型のままで成熟するコアユ型に大別されることが知られている。東(1970, 1973a, 1973b, 1973c)はその一連の研究の中で、発育様式、体形変異、成熟過程に着目して、オオアユ型とコアユ型を中心とした琵琶湖産アユ個体群に、さらに下位の構造を見出そうとした。しかし、耳石に刻まれる日周輪の解析からスイッチ説が提唱され、コアユ型からオオアユ型へ、あるいはオオアユ型からコアユ型への相互転換に基づく両者の連続性が示唆された(Tsukamoto *et al.*, 1987)。ミトコンドリアDNA調節領域の塩基配列をマーカーに用いたプロジェクト研究による成果は、オオアユ型とコアユ型を隔てる緩やかな分化を支持している(Iguchi *et al.*, 2002)。

両側回遊性のアユでは、産卵期や卵数-卵サイズなどの繁殖形質の変異様式に地理的な勾配が成立することが知られている(白石, 鈴木, 1962；Nishida, 1985；Iguchi, 1993)。繁殖形質の多くは、仔魚の生残を左右することから、適応の産物であると理解される(井口, 2000)。進化的に有利な形質が淘汰を経て固定され、なおかつ適応形質の取る値が地理的に変異するとき、種内の個体の集まりに空間的な構造が存在することが期待される。しかしながら、アユの示す繁殖形質は、緯度によって連続的に変化することから、地域個体群間の境界を特定することはない。プロジェクト研究では、膨大な標本を活用して、遡上魚の脊椎骨数が河川ごとに変異することを見出している(口頭発表：井口, 小西, 2005)。脊椎骨数が緯度あるいは水温に応じて変化するという法則に則って考えれば(Jordan, 1891)、海中生活を終えた稚魚の多くが、母川に回帰してくることを意味している。ただし、魚類の脊椎骨数の変異に対して積極的に適応的な意義を読み取ろうとする意見もあるが(MaDowall, 2003)、産卵場と初期成育場所の異なるアユの場合、適応論の適用には無理がある。そして、アユでは、脊椎骨が孵化水温によって機械的に変異することが実験的に確かめられている(Komada, 1977)。可塑的に変化するという性質を備えた形質では、個体群構造の検出の用にはなじまない。

形態形質をはじめとする表現形質を対象に異同を解析するという作業は、背後で働く遺伝子の異同あるいは差異の程度を推測していることに通じている(西田, 1999)。しかしながら、実験条件下で交配させることが可能な飼育動物と異なり、野生動物では表現形質を遺伝マーカーとして用いることに実証的な裏づけを与えることは難しい。マーカーに対してより強固な遺伝的基礎を求めようとする傾向のなかで、形態形質を主体とする表現形質から分子形質を中心とする遺伝形質を重視する方向へ移行していくこと自体は自然の成り行

きであろう。ただし、個体群の構造解析における表現形質の存在意義が、既に色褪せてしまったわけではない。むしろ、有用な手法として威力を発揮する局面は、まだまだ残されていると言っておくべきかもしれない。たとえば、化石になってしまった過去の遺物から遺伝情報を読み取ることは困難であり、それらの個体群構造について調べようとすれば、形態情報に頼らざるを得ない。また、多くの場合、表現形質は適応の産物である。適応形質を司る遺伝情報を読み解いて、ツールとして利用することが叶うようになれば、個体群構造の弾力的な描写に道が開かれる。

分子形質を使った解析

個体内部で遺伝子からタンパク質、さらに形態的表現型へと続く情報の流れを考慮する限り、個体群の構造解析における分子形質の有効性は明快である。遺伝情報そのものであるDNA、あるいはDNAの直接の産物であるタンパク質がツールとして脚光を浴びるのは時代の趨勢を反映している。まずはタンパク質が、アロザイム分析と呼ばれる方法を通じて利用されるようになった。アロザイム分析はコストパフォーマンスに優れるため、多くの研究で活用され、それに呼応して知見も蓄積していった。やがてPCR法が開発されると、任意のDNA領域の増幅が可能になり、DNAそのものに遺伝標識としての用途が与えられた。DNAは核ゲノムとミトコンドリアゲノムの双方に含まれるが、ミトコンドリアゲノムを対象とした研究が先行していた。また、初期の研究では制限酵素多型分析が主流を占めた。DNAシーケンサーの普及に伴い、塩基配列分析が増加していった。アユを含めた魚類全般の個体群研究にあっても、新技術の導入がブレークスルーを促してきた（口頭発表：渡辺，2003）。アロザイム分析が必要とする大量の試料は対象動物の殺傷を前提としていたのに対し、PCR法の適用により少量の試料で事足りるDNA分析は、対象動物の存続を可能にする。これにより、リュウキュウアユのような希少生物の解析にも門戸が開かれた。

アロザイム分析では、諸酵素の電気泳動の移動度の違いに基づき、それら酵素を支配する遺伝子の差異を推定する。これにより、個体群内の遺伝的変異性や個体群間の遺伝的差異を定量的に推測することができるようになった。初期の研究では、アユ白筋中の*Mdh*等を材料に、遺伝的変異の存在することを確かめてから、放流効果試験の指標としての汎用性が検討されている（Sato and Ishida, 1977）。その後、地理的に隔たった地域から採取したサンプルにアロザイム分析を適用す

る研究が展開されていった。奄美大島産のアユと他産地のアユを比較して、前者が亜種レベルの分化を遂げていることが明らかにされ、遺伝距離に基づいて両者の分化が100万年前にさかのぼることが推定された（Nishida, 1985, 1986, 1988；関，1988）。基亜種の内部においては、琵琶湖に陸封されている個体群が特異であることが多くの研究において報告され、琵琶湖産アユ（以下、湖産アユ）が両側回遊性アユ（以下、海産アユ）個体群と交流を絶ってから10万年レベルの分化が生じていることが推定されている（Nishida and Takahashi, 1978；Nishida, 1986；谷口，関，1983；谷口ほか，1983；谷口ほか，1988；谷口，1994）。基亜種両側回遊性アユのなかでは、韓国産個体群と日本産個体群の間の交流が途絶えてから地質学的な時間が経過していること示されている（関ほか，1988）。また、屋久島ならびに対馬暖流島嶼域に生息する両側回遊性のアユの中には、特定の遺伝子座において本土産のアユにはないアレルを有する個体群があることが報告されている（澤志ほか，1993；澤志ほか，1998）。アロザイムレベルでは、本土両側回遊産アユの中に遺伝的な構造を読み取ることができないが、奄美大島および屋久島では島嶼内の河川間で地域個体群への分化が生じていることが示唆されている（澤志ほか，1993；Sawashi and Nishida, 1994）。一方で、湖産・海産間における*Gpi-1*や*Mpi*等の遺伝子頻度の違いに着目して、種苗添加後の個体群構造の変遷が検討されることがしばしばある。こうしたマーカーは、天然遡上アユの由来判定（原ほか，1996a, 1996b；布川ほか，2000）や河川に放流された湖産種苗の足取りの追跡に利用される（関，谷口，1988b；Azuma *et al.*, 1989；Seki *et al.*, 1994）。また、移植を契機としてダム湖等に定着した新規個体群の由来の推定にも利用されている（関，谷口，1988a；小西ほか，1993；高木ほか，2003）。

核DNAに比べて、はるかにコンパクトなサイズでまとまっているミトコンドリアDNAは、超遠心による分離・抽出が比較的簡便なことから、当初は分析対象として選ばれることが多かった。その後のPCR法の登場は、コンパクトであることに起因するメリットを払拭してしまった。しかし、ミトコンドリアDNAは、遺伝暗号がやや変則的、進化速度が全体として一桁ほど速い、組み換えなしに母系遺伝する、細胞当たりのコピー数が多いなどの点で、核DNAにはない特徴を持つため分子形質解析には有用である（西田ほか，1998）。初期の研究成果から、汎用性の高いプライマーの設計も容易である（たとえば、Kocher *et al.*, 1989）。そして、アユについても、ミトコンドリアDNAの特徴を活用した研究が積み重ねられていった。湖産および海産個体

群の塩基配列分析を通じて、両者に塩基置換頻度の有意に異なるサイトが複数箇所確認された (Iguchi *et al.*, 1997)。変異性が高いという理由から調節領域が対象とされたが、湖産と海産を完全に仕分ける塩基サイトは見出されなかった。各地の海産個体群に調節領域の塩基配列分析を適用したところ、国内の特定の地域個体群間で、塩基置換頻度に有意差が検出されることがあるという結果に留まった (Iguchi *et al.*, 1999)。ただし、韓国産と日本産の個体群の間では有意な遺伝的分化が検出された。ここまでは、すでにアロザイム分析で明らかにされた個体群像を再確認していたに過ぎない (井口, 2001)。島嶼個体群と本土産個体群を解析から、島嶼個体群の遺伝的多様性が動的平衡状態にあり、大陸-島モデルに準じたメタ個体群構造が成立していることが明らかにされた (Iguchi and Nishida, 2000)。湖産アユについて、同一河川に遡上しているオオアユ型とコアユ型の間、あるいはコアユ河川集団間に緩やかな隔離の徴候が見出されている (Iguchi *et al.*, 2002)。以上は調節領域の塩基配列に基づく解析結果であるが、Takeshima *et al.* (2005a) は、アユのミトコンドリアDNAのコード領域と調節領域の変異様式を比較し、調節領域のマーカースとしての性能を検討している。また、種苗に特異なミトコンドリアDNAハプロタイプを基にPCR-RFLP分析を用いて、放流された

種苗の追跡が試みられることがある (Pastene *et al.*, 1991; 池田ほか, 2001; 後藤ほか, 2002)。

核ゲノムは、2倍体の生物の体内では組み替えが容易に起こり、その上に遺伝子重複や偽遺伝子の存在が相まって、複雑な様相を呈する。その分、ミトコンドリアDNAと比べて情報量が莫大で、その中にはより変異性の高い領域も含まれており、マーカースとしての利用に高い潜在性能を備えていると考えられる。より高い精度の分析へと要望が強まっていくなか、核DNAを取りこんだ研究は、その数を増やしていくことが予想される。当初は、DNAフィンガープリントのマーカースとしての性能が試され、地域個体群の遺伝的変異量の推定に利用された (高木ほか, 1994; 関ほか, 1995)。続いて、核全体の遺伝情報を検索するAFLP分析が登場し、多型検出に有効なマーカースであることが検証された (Seki *et al.*, 1999; Kakehi *et al.*, 2005)。マイクロサテライトDNAについては、多型検出に有効なマーカースであることが確認されているものの (Takagi *et al.*, 1999)、大規模な個体群構造の解析に適用された例はこれまでにない。特異なアリル頻度を示す種苗の動向追跡に利用されていたに過ぎない (池田ほか, 2001; 田畑, 2005)。本プロジェクト研究の副産物として、池田湖産陸封アユが、海産と湖産のハイブリッド集団に変貌していることが示唆された (口頭発表: 井口ほか,

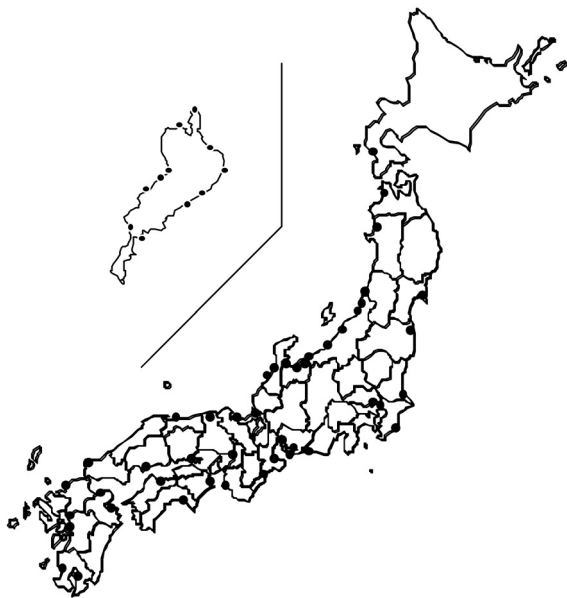


Fig. 1. Sampling locality.



Fig. 2. Genetic boundary inferred from allele frequency of *Pal-6*.

2004)。これまで個体群構造解析への発展を拒んでいる理由として、広範なレンジを網羅する地理的サンプル確保の困難さに加えて、大量分析に費やされる膨大なコスト等が考えられる。本プロジェクト研究では、全国の水産関係者の協力も得ながら、110を超える地域個体群からサンプルを集めることができた (Fig. 1)。また、ロボット技術の導入など、最新鋭の分析機器を使用する機会にも恵まれた。その甲斐あって、これまで遺伝的な構造が検出されることのなかった日本産の海産アユについて、地理的なパターンが浮かび上がりつつある。途中経過ながら、たとえば、Pal-6 遺伝子座におけるアレル頻度は、日本産海産アユを南北2つの地域個体群に大別することに成功している (Fig. 2)。地域個体群を隔てる境界には、仔・稚魚の輸送媒体となる海流等の変曲が関与していることが示唆されている (ポスター発表: Iguchi *et al.*, 2005)。現在、地域個体群数ならびに対象DNA領域を増やしているところであり、プロジェクト研究終了時には、さらに詳細な個体群像の獲得が期待される (口頭発表: 武島, 2003, ポスター発表: Takeshima *et al.*, 2005b)。

意義と展望

これまで平坦なもののみみなされてきた日本産アユの個体群像に構造を見出したわれわれの成果は、水産上でも重要な意味を持つと言える。現在のアユ産業は、種苗放流を抜きにしては成立が困難な状況にあり、より高い放流効果をねらって生息地を無視した種苗の移植が繰り返されている。一方、人工種苗については、地場産の親魚を導入することこそ可能ではあるが、継代飼育に伴って遺伝的多様性をたやすく消失してしまうという難点を抱えている (Iguchi *et al.*, 1999)。種苗放流に伴う遺伝的攪乱を軽減し、在来個体群の遺伝的多様性の保全ならびに持続的な有効利用を図るうえで、個体群の構造化に根拠を与える作業は不可欠なものとなる。

現行のマイクロサテライトDNAには、マーカーとしての高い性能が備わっていることが実証された。しかし同時に、自然選択に対して中立なマーカーのみに準拠したアプローチでは、保全あるいは資源管理の単位を地図上にプロットしていくうえで限界が存在することも認識しておかなければならない。卵数-卵サイズのような適応に関わる形質が地理的な勾配を持って変異することは先に記した通りある。適応形質に存在する地理的勾配を考慮すると、マイクロサテライトDNAが描く個体群構造では、依然として実態の反映からは隔たりがあることが伺われる。従来分子マーカーを使っ

た分析に加えて、適応に関わる遺伝的変異が分子レベルで分析されるならば、より詳細な個体群像の描写も可能になることが予想される。保全や資源管理を実行するためにも、適応マーカーの適用はまさに理にかなったものになると言える。本プロジェクト研究との関連において、アロザイムを支配する遺伝子のマーカー化が、既に推し進められている (口頭発表: 高橋ほか, 2004; 武島ほか, 2004)。アユを取り巻く研究体制が牽引となり、この分野にはますますの発展が望まれる。

文 献

- 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. 日生態会誌, **20**, 63-76.
- 東 幹夫, 1970a: 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. 日生態会誌, **23**, 126-139.
- 東 幹夫, 1970b: びわ湖における陸封型アユの変異性に関する研究 III. 各集団における成熟過程, 産卵習性および形態的特徴について. 日生態会誌, **23**: 147-159.
- 東 幹夫, 1970c: びわ湖における陸封型アユの変異性に関する研究 IV. 集団構造と変異性の特徴についての試論. 日生態会誌, **23**: 255-265.
- 東 幹夫, 1977: びわ湖のアユをめぐる種の問題. 淡水魚, **3**, 78-86.
- Azuma M., 1981: On the origin of Koayu, a land-locked form of amphidromous Ayu-fish, *Plecoglossus altivelis*. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **21**, 1291-1296.
- Azuma K., I. Kinoshita, S. Fujita and I. Takahashi, 1989: GPI isozyme and birth dates of larval ayu, *Plecoglossus altivelis* in the surf zone. *Jpn. J. Ichthyol.*, **35**, 493-496.
- Begle D. P., 1991: Relationships of the osmeroid fishes and the use of reductive characters in phylogenetic analysis. *Syst. Zool.*, **40**, 33-53.
- 後藤 宏, 池田 実, 布川 誠, 東 健作, 谷口順彦, 2002: ミトコンドリアDNA分析による和歌山県沿岸域におけるアユ仔稚魚の遺伝的組成の比較. 水産育種, **32**, 127-134.
- Hanski I. A. and Gilpin M. E. (eds), 1997: *Metapopulation Biology*, Academic Press, San Diego.
- 原 徹, 斉藤 薫, 武藤義範, 1996a: アユ資源の増殖に関する研究-I 長良川に天然遡上するアユの

- 種類について. 岐水試研報, **41**, 1-5.
- 原 徹, 斉藤 薫, 武藤義範, 1996b: アユ資源の増殖に関する研究 - II 長良川における産卵親魚の種類について. 岐水試研報, **41**, 7-11.
- Howes G. J. and C. P. J. Sanford, 1987: The phylogenetic position of the Plecoglossidae (Teleostei, Salmoniformis), with comments on the Osmeridae and Osmeroidae. *Proc. Congre. Eur. Ichthyol.*, 5th, Stockholm, pp. 33-53.
- Iguchi, K., 1993: Latitudinal variation in ayu egg size. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**, 2087.
- 井口恵一郎, 2000: 個体から集団レベルの適応: 「アユ, 水生動物の卵サイズ」(後藤 晃, 井口恵一郎編), 海游舎, 東京, pp. 43-64.
- 井口恵一郎, 2001: アユの地域個体群の遺伝的生物地理. 水産育種, **30**, 17-21.
- Iguchi K. and M. Yamaguchi, 1994: Adaptive significance of inter- and intrapopulational egg size variation in ayu *Plecoglossus altivelis* (Osmeridae). *Copeia*, **1994**, 184-190.
- Iguchi K. and M. Nishida, 2000: Genetic biogeography among insular populations of the amphidromous fish *Plecoglossus altivelis* assessed from mitochondrial DNA analysis. *Conserv. Genet.*, **1**, 147-156.
- 井口恵一郎, 小西 繭, 2005: アユ脊椎骨数の地理的変異: 初期海中分散は限定的かも. 2005年度日本魚類学会年会講演要旨, pp. 42.
- Iguchi K., T. Ohkawa and M. Nishida, 2004: Genetic structure of land-locked ayu within the Biwa Lake System. *Fish. Sci.*, **68**, 138-143.
- Iguchi K., H. Takeshima and M. Nishida, 2005: Genetic boundaries among local populations of an amphidromous fish, the ayu. The 7th Indo-Pacific Fish Conference, Abstract Book, pp. 141.
- Iguchi K., Y. Tanimura and M. Nishida, 1997: Sequence divergence in the mtDNA control region of amphidromous and landlocked forms of ayu. *Fish. Sci.*, **63**: 901-905.
- 井口恵一郎, 武島弘彦, 仁部玄通, 西田 睦, 2004: 池田湖産アユの形質特性. 2004(平成16)年度日本水産学会大会(日本農学大会水産部)講演要旨集, p. 39.
- Iguchi K., Y. Tanimura, H. Takeshima and M. Nishida, 1999: Genetic variation and geographic population structure of amphidromous ayu *Plecoglossus altivelis* as examined by mitochondrial DNA sequencing. *Fish. Sci.*, **65**, 63-67.
- Iguchi K., K. Watanabe and M. Nishida, 1999: Reduced mitochondrial DNA variation in hatchery populations of ayu (*Plecoglossus altivelis*) cultured for multiple generations. *Aquaculture*, **178**, 235-243.
- 池田 実, 立原一憲, 布川 誠, 谷口順彦, 2001: マイクロサテライトDNAおよびミトコンドリアDNA DループのPCR-RFLP分析によるリュウキュウアユ導入集団の遺伝的評価. 水産育種, **31**, 33-37.
- 石川千代松, 1930: 鮎の話. 農学研究, **14**, 61-76.
- 石黒直哉, 西田 睦, 2004: サケ・マス類の系統と進化, サケ・マスの生態と進化(前川光司編), 文一総合出版, 東京, pp. 15-41.
- 岩井 保, 1980: アユの仲間たち. 動物と自然, **10**, 18-22.
- Johnson G. D. and C. Patterson, 1996: Interrelationships of fishes, Relationships of lower euteleostean fishes (Stiassny, M. L. J., L. R. Parenti and G. D. Johnson eds.), Academic Press, London, pp. 251-332.
- Jordan M. S., 1891: Relations of temperature to vertebrae among fishes. *Proc. U. S. Natl. Mus.*, **14**, 107-120.
- Jordan D. S. and S. Tanaka, 1927: The fresh water fishes of the Riukiu Island, Japan. *Ann. Carnegie Mus.*, **17**, 259-280.
- Takehi Y., K. Nakayama, K. Watanabe and M. Nishida, 1999: Inheritance of amplified fragment length polymorphism makers and their utility in population genetic analysis of *Plecoglossus altivelis*. *J. Fish Biol.*, **66**, 1529-1544.
- Kocher T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Pääbo, F. X. Villablanca and A. C. Wilson: Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 6916-6200.
- 駒田格知, 1977: 海産・湖産・人工孵化アユにおける椎体の成長. 魚雑, **24**, 128-134.
- Komada N., 1977: Influence of temperature on the vertebral number of the ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Copeia*, **1977**, 572-573.
- 小西浩司, 田中英樹, 吉沢和俱, 1993: 神流湖の陸封アユの由来. 群馬農業研究 E水産, **9**, 45-49.
- Krittikar K., K. Hayashizaki, T. Asahina and H. Ida,

- 2001: Difference in number of comb-like tooth plates in amphidromous and landlocked populations of the ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.*, **67**: 752-757.
- McDowall, R. M., 2003: Variation in vertebral number in galaxiid fishes, how fishes swim and possible reason for pleomism. *Rev. Fish Biol. Fisheries*, **13**, 247-263.
- 根井正利, 1990: 分子進化遺伝学 (五条堀孝・斉藤成也 訳), 培風館, 東京.
- Nishida M. 1985: Substantial genetic differentiation in ayu *Plecoglossus altivelis* of the Japan and Ryukyu Islands. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 1289-1274.
- Nishida M. 1986: Geographic variation in the molecular, morphological and reproductive characters of the ayu *Plecoglossus altivelis* (Plecoglossidae) in the Japan-Ryukyu Archipelago. *Jpn. J. Ichthyol.*, **33**, 232-248.
- 西田 睦, 1988: 同一河川環境化で育成した琵琶湖産および海産アユの繁殖形質ならびに形態の差異. 琉大理紀要, **46**, 69-75.
- Nishida M. 1988: A new subspecies of the ayu, *Plecoglossus altivelis*, (Plecoglossidae) from the Ryukyu Island. *Jpn. J. Ichthyol.*, **35**, 236-242.
- 西田 睦, 1990: アユの分布とリュウキュウアユ. 水産増殖, **38**, 200-203.
- 西田 睦, 1999: 自然史における分子のアプローチ, 「魚の自然史」(松浦啓一・宮 正樹編), 北海道大学図書刊行会, 札幌, pp. 99-116.
- Nishida M. and Y. Sawashi, 1987: Geographic differences in the number of longitudinal scales of the ayu *Plecoglossus altivelis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 2089.
- Nishida M. and Y. Takahashi, 1978: Enzyme variation in population of ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **44**, 1059-1064.
- 西田 睦, 大川俊之, 岩田祐士, 1998: ミトコンドリア DNA分析による集団構造解析法. 水産育種, **26**, 81-100.
- 布川 誠, 池田 実, 谷口順彦, 2000: アイソザイム分析による東日本におけるアユの集団構造. 水産育種, **29**, 61-68.
- Pastene L. A., K. Numachi and K. Tsukamoto, 1991: Examination of reproductive success of transplanted stocks in an amphidromous fish, *Plecoglossus altivelis* (Temminck et Schlegel) using mitochondrial DNA and isozyme markers. *J. Fish Biol.*, **39**, 93-100.
- Sato R. and R. Ishida, 1977: Genetic variation in malate dehydrogenase and other isozymes in white muscle of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Bull. Freshwat. Fish. Res. Lab.*, **27**, 75-84.
- 澤志泰正, 1997: 新聞記事に見るリュウキュウアユと地域住民の関わりの変化. 沖縄島嶼研究, **15**, 1-62.
- Sawashi Y. and M. Nishida, 1994: Genetic differentiation in populations of the Ryukyu-ayu *Plecoglossus altivelis ryukyuensis* on Amami-oshima Island. *Jpn. J. Ichthyol.*, **41**, 253-260.
- 澤志泰正, 東 幹夫, 藤本治彦, 西田 睦, 1998: 対馬暖流域の島嶼におけるアユの生息状況とその遺伝的特徴. 魚雑, **45**, 87-99.
- 澤志泰正, 藤本治彦, 東 幹夫, 西島信昇, 西田 睦, 1993: 琉球列島北部におけるアユの分布ならびにその遺伝的・形態的特徴. 日水誌, **59**, 191-199.
- 関 伸吾, 谷口順彦, 1988a: 天然湖および人工湖の移殖陸封アユおよび人工採苗アユの由来について. 水産育種, **13**, 39-44.
- 関 伸吾, 谷口順彦, 1988b: アイソザイム遺伝標識による放流湖産アユの追跡. 日水誌, **54**, 745-749.
- 関 伸吾, 高木基裕, 谷口順彦, 1995: DNAフィンガープリントとアロザイム遺伝標識による野村ダム湖産アユの遺伝変異保有量の推定. 水産増殖, **42**, 97-102.
- 関 伸吾, 谷口順彦, 田 祥麟, 1988: 日本及び韓国の天然アユ集団間の遺伝的分化. 日水誌, **54**, 559-568.
- 関 伸吾, 谷口順彦, 村上幸二, 米田 実, 1984: 湖産アユと海産アユの成長・成熟および行動の比較. 淡水魚, **10**, 101-104.
- Seki S., N. Taniguchi, N. Murakami, A. Takamichi and I Takahashi, 1994: Seasonal changes in the mixing rate of restocked ayu-juveniles and assessment of native stock using an allozyme marker. *Fish. Sci.*, **60**, 31-35.
- Seki S., J. J. Agresti, G. A. E. Gall, N. Taniguchi and B. May, 1999: AFLP analysis of genetic diversity in three populations of ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.*, **65**: 888-892.
- 澁谷竜太郎, 関 伸吾, 谷口順彦, 1995: 海系アユおよび琵琶湖系アユのなわばり行動の水温別比較. 水産増殖, **43**, 415-421.
- 白石芳一, 鈴木則夫, 1962: アユの産卵生態に関する研究. 淡水区水産研究所報告, **12**, 83-107.

- 田畑和男, 2005: 海産アユ湖上河川における人工産アユの混合率に基づく再生産の確認. 水産育種, **34**, 117-122.
- 高木基裕, 谷口順彦, 1994: DNAフィンガープリントにおけるリュウキュウアユの遺伝変異保有量と地理的分化. 水産育種, **20**, 29-37.
- Takagi M., E. Shoji and N. Taniguchi, 1999: Microsatellite DNA polymorphism to reveal genetic divergence in ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.*, **65**, 507-512.
- 高木基裕, 酒井治己, 今井千文, 鬼頭 均, 畑間俊弘, 藤村治夫, 大橋 裕, 2001: 阿武川ダム湖における海系放流アユの陸封化. 水産育種, **31**, 39-44.
- 高橋真紀子, 武島弘彦, 井口恵一郎, 西田 睦, 2004: DNAレベルからみたアロザイム多型の実態: アユGPIを例に. 2004(平成16)年度日本水産学会大会(日本農学大会水産部)講演要旨集, pp. 148.
- 武島弘彦, 2003: 両側回遊性の分散と分化—アユを例に—. シンポジウム「日本産淡水魚類の分布域形成史の新しい理解に向けて」, 2003年度日本魚類学会年会講演要旨, pp. 105.
- 武島弘彦, 高橋真紀子, 水谷裕輔, 大竹二雄, 井口恵一郎, 西田 睦, 2004: アユGpi遺伝子の単離および構造決定: アロザイム多型のDNA 標識化に向けて. 2004年度日本魚類学会年会講演要旨, pp. 27.
- Takeshima H., K. Iguchi and M. Nishida, 2005a: Unexpected ceiling of genetic differentiation in the control region of the mitochondrial DNA between different subspecies of the ayu *Plecoglossus altivelis*. *Zool. Sci.*, **22**, 401-410.
- Takeshima H., K. Iguchi and M. Nishida, 2005b: Extensive population sampling and intensive microsatellite analysis enable to uncover stable genetic structuring of populations. The 7th Indo-Pacific Fish Conference, Abstract Book, pp. 140.
- 谷口順彦, 1994: 湖産アユと海産アユの違いについて. 養殖, **11**, 76-79.
- 谷口順彦, 関 伸吾, 1983: 湖産アユと海アユの遺伝的分化. 淡水魚, **9**, 53-57.
- 谷口順彦, 関 伸吾, 稲田善和, 1983: 両側回遊性, 陸封型および人口採苗アユ集団の遺伝的変異保有量と集団間の分化について. 日水誌, **49**, 1655-1663.
- 辻村明夫, 谷口順彦, 1995: 生殖形質に見られた湖産および海産アユ間の遺伝的差異. 日水誌, **61**, 165-169.
- Tsukamoto K., R. Isihda, K. Naka and T. Kajihara, 1987: Switching of size and migratory pattern in successive generations of landlocked ayu. *Am. Fish. Soc. Symp.*, **1**: 492-506.
- Wilson M. V. H. and R. R. G. Williams, 1991: New Paleocene genus and species of smelt (Teleostei: Osmeridae) from freshwater deposits of the Paskapoo Formation, Alberta, Canada, and comments on osmerid phylogeny. *J. Vertebr. Paleontol.*, **11**, 434-451.
- Xiujuan S., W. Yunfei and K. Bin, 2005: Morphological Comparison between Chinese and Japanese ayu and establishment of *Plecoglossus altivelis chinensis* Wu & Shan subsp. nov. *J Ocean Univ. China*, **4**, 61-66.
- 渡辺勝敏, 2003: 日本の淡水魚類—その分布, 変異, 種分化を巡って. 魚類学会シンポジウム「系統地理学: 日本産淡水魚類の分布域形成の新しい理解に向けて」, 2003年度日本魚類学会年会講演要旨, pp. 100.