（8）栽培漁業自立支援事業（ヒラメ放流効果調査）

前原 思惟・手賀 太郎

1　目的

ヒラメ（*Paralichthys olivaceus*）は沿岸漁業における水産重要種である。本種は栽培漁業対象種として日本各地で種苗放流が行われている。本県では、県や国からの支援を受けて漁業者自らが中間育成および種苗放流に取り組んでおり、近年では20万尾前後の種苗を放流している。漁業者が放流事業を自立して継続的に実施していくために、その放流効果について適切にモニタリングを行っていく必要がある。本事業では、市場調査、外部標識放流およびDNA分析を実施し、放流種苗の混入率の算出、放流魚の移動分散調査ならびに放流地の由来判別を行った。

2　方法

1）市場調査

ヒラメの混入率を算出するため、福井市漁協旧国見支所、県漁連敦賀支所市場、若狭高浜漁協の各市場（以下、それぞれ「福井市場」、「敦賀市場」、「高浜市場」とする。）に水揚げされたヒラメについて、無眼側黒化判定基準[1)]に基づき、無眼側の体色黒化により天然魚と放流魚を判別して、それぞれ全長を0.5 cm単位で測定した。1～3月、4～6月、7～9月および10～12月の期間ごとの天然魚と放流魚の全長組成から、金丸ら[2)]が作成したAge-Length Keyを用いて年齢分解を行った。全長体重関係式（体重（g）=2.5766×全長（cm）$^{3.217}$/10^{9}）[3)]により重量換算したものを県内の月別漁獲量で引き伸ばすことで年齢別漁獲尾数を推定した。また、放流魚の尾数は、放流時の黒化率で補正を行った。混入率は補正後の放流尾数を、推定された県内の総漁獲尾数で除して算出した。

2）外部標識放流

令和4年8月1日に平均全長125.8 mmのヒラメ種苗3,333尾に対して外部標識を施した。標識方法は尻鰭後部カットとし、標識作業は福井県栽培漁業センター（以下、栽培漁業センターと称す。）で実施した。標識後、ヒラメ種苗は栽培漁業センターにおいて3日間の養生を行ったのち、8月4日に南越前町の河野漁港へ活魚車で陸送後、同地において放流を行った。これら放流魚の再捕について、県内の漁業者へ再捕報告依頼を行うとともに、市場調査時に外部標識の有無について確認を行った。

3）DNA分析

水揚げされた黒化魚の放流地を調べるため、令和4年に敦賀市場で水揚げされた黒化魚の一部から鱗を採取して、DNAを抽出し、PCRによりmt-DNA D-loop前半領域を増幅した。DNA分析は原則として藤井[4)]の方法を用いたが、詳細なPCR条件やプライマーは既報[5)]の方法に従った。PCR産物は精製後、シーケンス解析に供してmt-DNA D-loop前半領域（371 bp）の塩基配列を解読した。解読した塩基配列は近隣結合法により、栽培漁業センター養成親魚と本年の黒化魚のDNAを併せて比較し、水揚げされた黒化魚が県内で放流されたものであるか判別した。また天然魚の鱗も採取し、黒化魚との塩基配列を比較した。

3　結果

1）市場調査

調査期間ごとの天然魚と放流魚の全長組成を図1に、混入率の結果を表1にそれぞれ示す。

福井市場では210尾、敦賀市場では1,742尾、高浜市場では1,266尾のヒラメを測定した。水揚げされた天然魚と放流魚の全長組成は年間を通して概ね似た傾向を示した。測定したヒラメのうち、放流魚は福井市場で13尾（混入率6.2%）、敦賀市場で100尾（混入率5.7%）、高浜市場で23尾（混入率1.8%）であった。

これらの結果を基に、県内の総漁獲尾数を算出したところ、総漁獲尾数は40,805尾、そのうち放流魚は2,018尾（混入率4.9%）と推定された。図2の通り、漁獲主体は1～2歳魚だった。

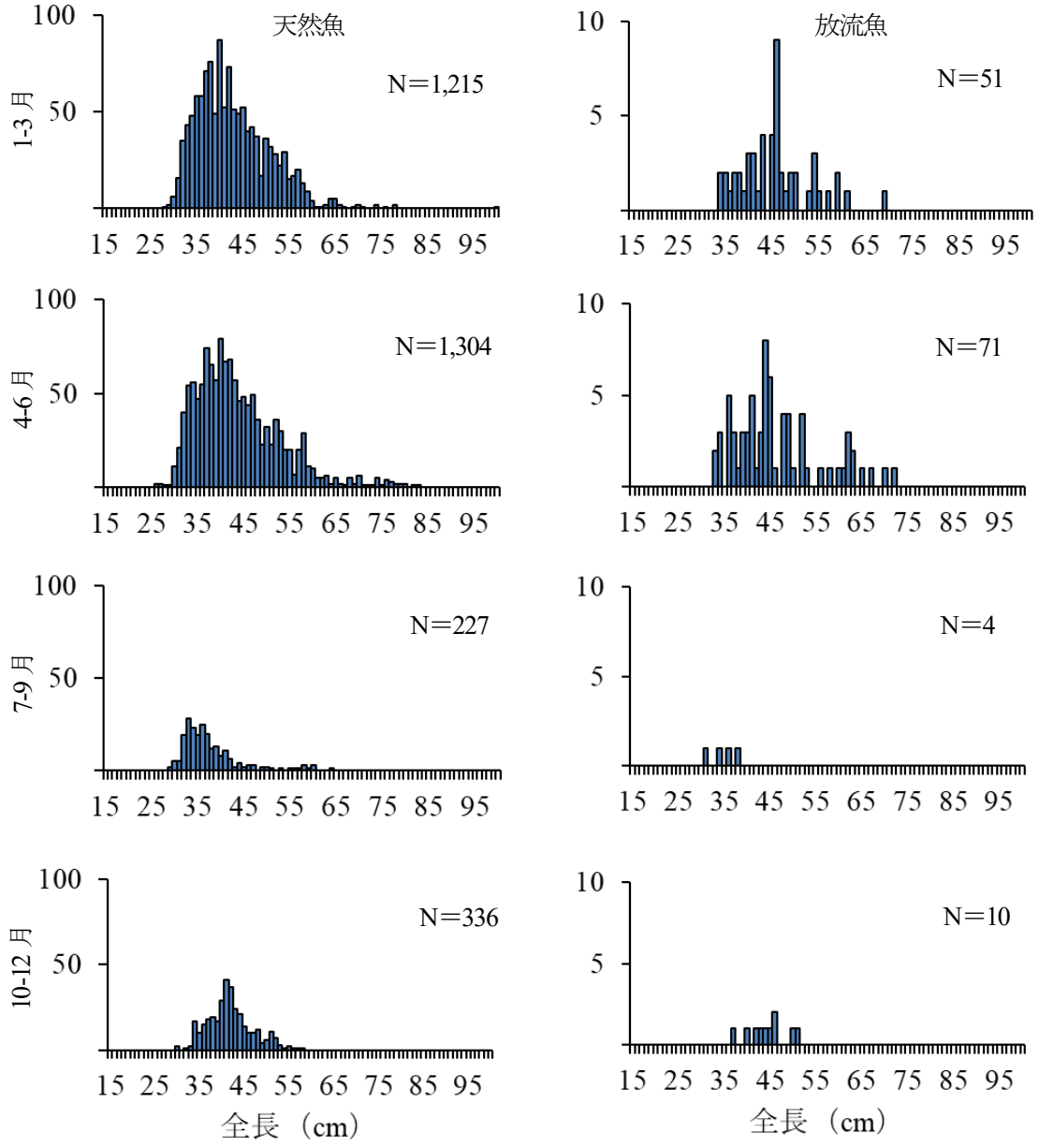

図 1　市場調査における測定魚の期間別

表1　市場調査結果および推定された漁獲尾数と放流魚数.

	0歳	1歳	2歳	3歳	4歳	5+歳	合計
市場調査で確認した総漁獲尾数	132	1,326	1,080	429	148	103	3,218
市場調査で確認した黒化魚尾数	2	38	55	23	11	7	136
						混入率：4.2%	（136/3,218）
県内の推定総漁獲尾数	1,420	16,155	14,040	5,797	1,984	1,410	40,805
県内の推定総黒化魚尾数	15	482	737	307	161	90	1,793
						混入率：4.4%（1,793/40,805）	
各年級の放流時の黒化率	100.0%	91.0%	85.0%	99.4%	84.7%	84.7%	
補正後の推定水揚げ放流魚尾数	15	530	867	309	190	107	2,018
						混入率：4.9%（2,018/40,805）	

※端数の関係で、合計が一致しないことがある。

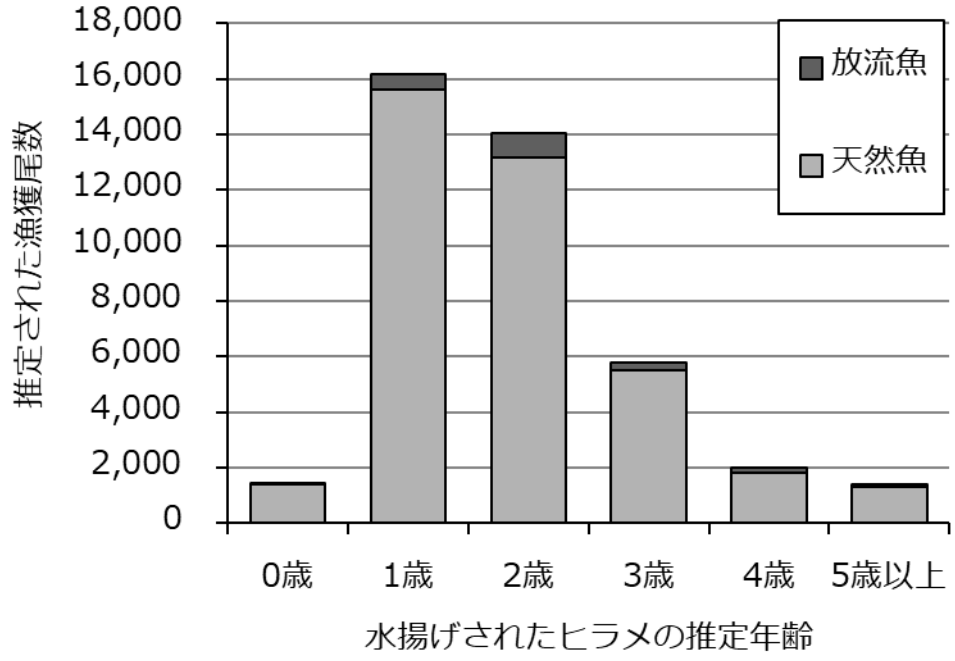

図2　推定漁獲尾数を年齢分解.

2）外部標識放流

各市場での調査時に外部標識魚の水揚げを確認したが、外部標識魚の水揚げは確認できなかった。また、漁業者からの再捕連絡もなかったため、今年度の調査では、外部標識魚の再捕を確認することができなかった。

３）DNA 分析

（１）水揚げされた放流魚の DNA 分析

令和 4 年に敦賀市場で水揚げされた黒化魚の DNA 分析結果を図 3 に示す。令和 4 年は 98 尾の分析を行い、そのうち 89 尾から DNA 断片が得られた。89 尾のうち、53 尾（59.6%）は栽培漁業センター養成親魚（福井県由来）と明確な親子関係が認められた。その他の 36 尾（40.4%）はいずれの養成親魚とも親子関係が認められなかった。由来不明であった黒化魚のうち、黒化魚同士で遺伝子集団を形成した 3 集団 6 尾（R5-10・R5-11、R4-13・R4-14、R4-26・R4-86）が認められた。

DNA 分析し塩基配列が得られた黒化魚 89 尾を年齢分解すると、図 4 の通り、福井県由来の個体の水揚げされた黒化魚に占める割合が減少する傾向が 3 歳魚以降でみられ、3 歳魚で 51.4%、4 歳魚で 48.5%だった。

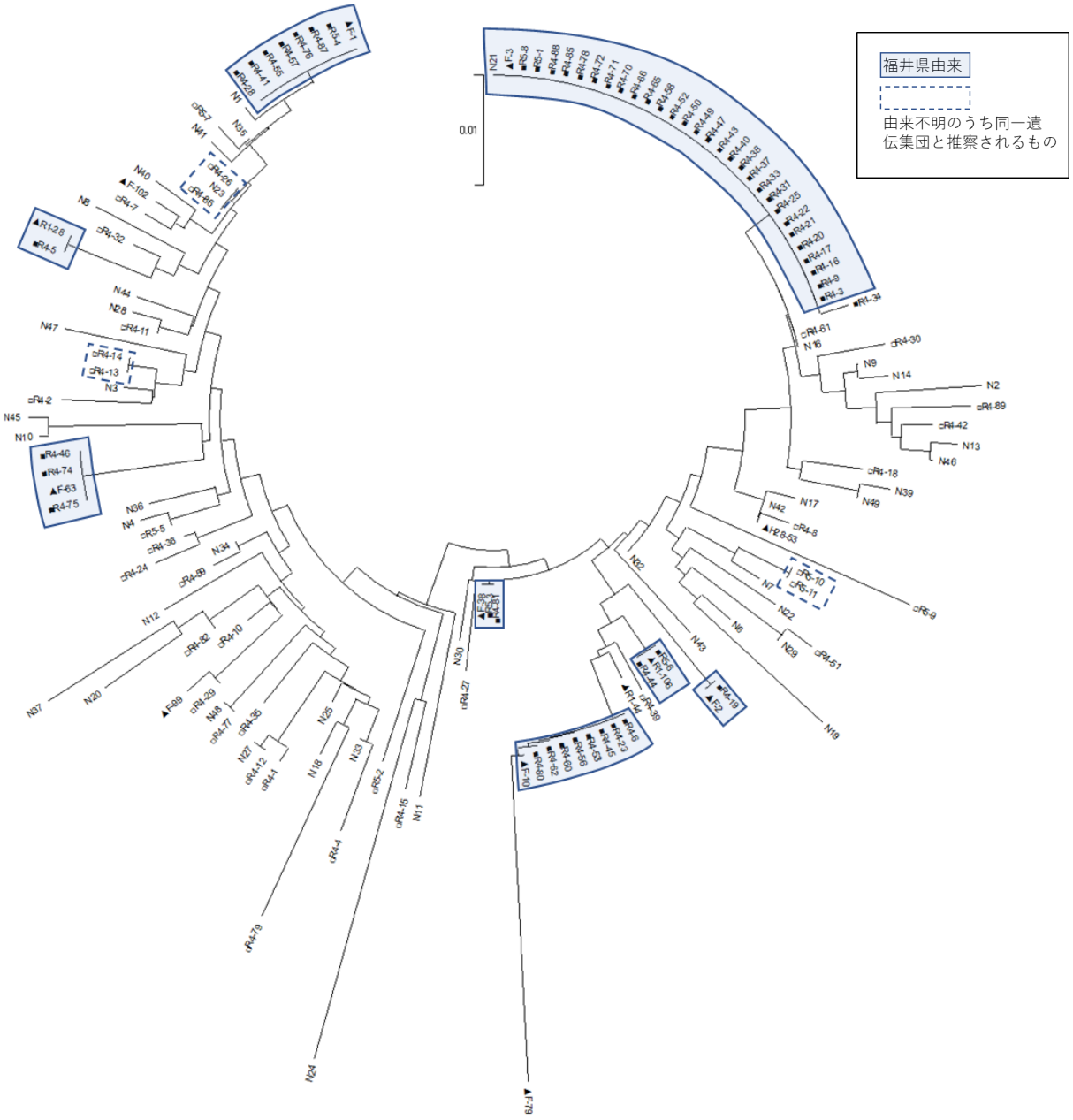

図 3　DNA 分析による敦賀市場に水揚げされた黒化魚の由来判別結果.
R4・R5 は分析に供した黒化魚、N は天然魚、▲は栽培漁業センター養成親魚（福井県由来）をそれぞれ表す.

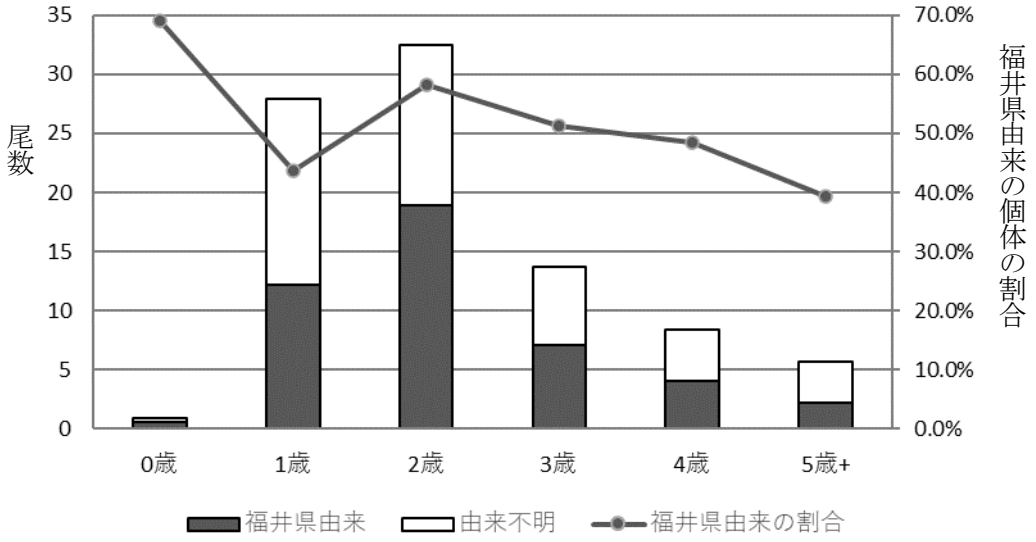

図4　DNA 分析に供した黒化魚 89 尾の由来結果を年齢分解.
折れ線は、福井県由来の個体の割合.

表2　市場調査で得られた黒化魚および非黒化魚の遺伝的多様度の結果

	サンプル数	ハプロタイプ数	ハプロタイプ多様度	塩基多様度
天然魚	44	44	1.000	0.033
福井県由来	53	8	0.666	0.023

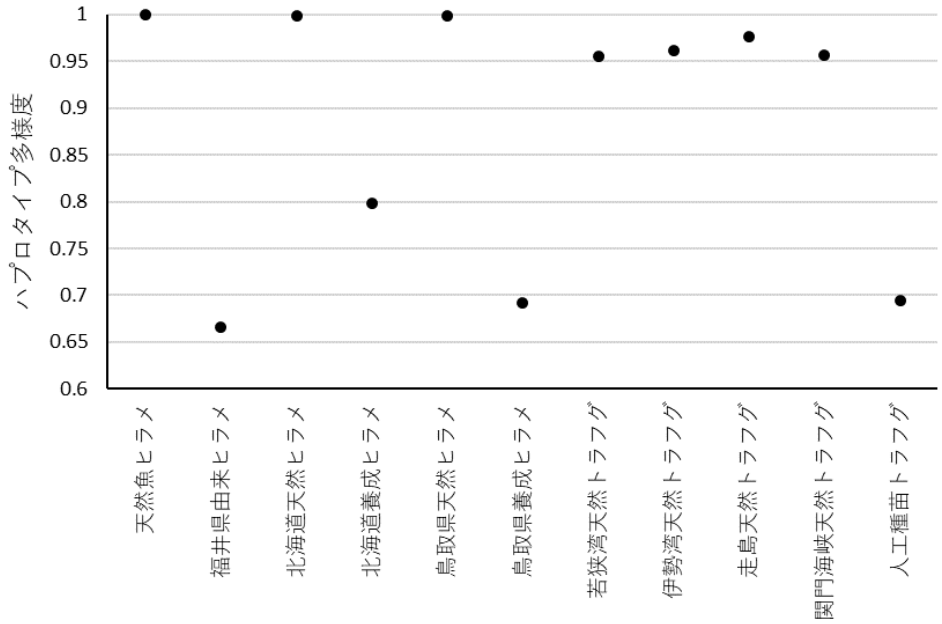

図5　各魚種のハプロタイプ多様度の比較[11)・13)]

4　考察

1）市場調査

市場調査の結果から、令和4年の混入率は4.9%と算出され、過去3年間の値（6.3～7.8%）より低くなった。平成24年度までは放流尾数が30万尾を超えていたが、平成28年度から令和2年度は20万尾前後で推移するまでに減少した。さらに直近年では、令和2年の16.5万尾から令和3年の7.5万尾へ放流尾数が半減した。放流尾数の減少が令和4年の混入率の低下に影響を及ぼしたと考えられる。本県のヒラメの漁獲主体は1～2歳魚であり、令和3年の放流尾数が前年から半減したため、漁獲主体である1歳魚の混入率が低下し、全体の混入率の低下を招いたと推察される。近年ヒラメの漁獲量は減少傾向にあり、令和3年度の資源評価[3)]では、日本海中西部・東シナ海系群のヒラメ資源は低位水準であるとされている。一方、直近年の放流尾数が減少しているものの過去3年間の混入率は6.3～7.8%で推移しており、ヒラメの種苗放流による資源量および漁獲量の下支え効果は認められた。

2）外部標識放流

今年度に放流した標識魚の再捕は確認できなかった。このことは、昨年度までの外部標識放流では無眼側胸鰭抜去が実施されているが、外部標識の視認が困難な部位であるため、見逃しが発生している可能性がある。本県では自主規制により全長25 cm未満のヒラメの漁獲を制限している。今年度に放流した標識魚が漁獲対象になるのは来年度以降であると思われるため、引き続き市場調査と漁業者への周知をし、追跡を行っていく必要がある。

3）DNA分析

令和4年に分析を行えた89個体のうち、53個体（59.6%）が本県栽培漁業センターの養成親魚と親子関係が認められたことから、これらは県内で放流されたものである。その他の36個体（40.4%）はいずれも放流由来不明であり、本県養成親魚と親子関係が認められた黒化魚の割合は過去3年間で最も低かった（R1年：66.1%、R2年：72.9%、R3年：68.5%）[6)・7)]。このことは上述の通り、令和3年の放流尾数の減少（令和2年16.5万尾 → 令和3年7.5万尾）が影響したものと考えられる。放流由来不明の36個体のうち、3集団6尾（R5-10・R5-11、R4-13・R4-14、R4-26・R4-86）の同一遺伝集団がみられた。3集団6尾が配列未知の本県養成親魚と親子関係にあるか、あるいは他府県の養成親魚由来の個体であるかは不明である。しかし、天然魚のハプロタイプ多様度は高い値になることが知られており[8)]、水揚げされた天然魚が同一遺伝集団を形成するとは考えにくい。そのため同一遺伝子集団であるということは、いずれかの種苗由来であると思われる。過去の調査[9)]では、敦賀市場における黒化魚のうち他府県放流由来の個体の割合は10%（石川県由来8%、京都府由来2%）であったため、この3集団6尾が他府県放流由来である可能性があるが、親子関係を確定させるためには他府県養成親魚との塩基配列の比較が必要である。

DNA分析に供し塩基配列が得られた黒化魚89尾の由来結果を年齢別にみると、3歳魚以降で高齢魚になるほど福井県由来の個体の割合が低下（3歳魚51.4%、4歳魚48.5%）していることから、年経過とともに広域に移動するヒラメの特性[10)]を支持する結果となった。

表2の通り、今回分析を行った天然魚44尾のハプロタイプ多様度は1.000であったことから、既報[11)]の天然ヒラメのハプロタイプ多様度0.998とほとんど差はなかった。一方、福井県由来の放流魚であると推定された個体53尾のハプロタイプ多様度は0.666であり、天然魚より放流魚の方がハプロタイプ多様度は低かった。同様に塩基多様度を比較すると、天然魚で0.033、福井県由来の放流魚で0.023であったため、天然魚より放流魚の方が塩基多様度も低かった。これは、人工種苗は天然魚と比較して、限られた親魚由来であること、さらに継代飼育をすることによって近交係数が高まるためである[12)]。図5の通り、種苗放流が行われている他県ヒラメおよび他魚種のハプロタイプ多様度は、他県産天然ヒラメで0.998[11)]、天然トラフグで0.939～0.974[13)]であった。一方、人工種苗は福井県由来のヒラメが0.666で最も低かったが、トラフグについても0.695[13)]で同程度であった。

DNA 分析を行い塩基配列が得られた天然魚 44 尾うち 2 尾（N21、N42）は、栽培漁業センター養成親魚と同一遺伝子集団を形成し、この 2 尾が福井県由来の個体であると判断された。このことから、この 2 尾が黒化していない放流個体か、または放流魚が再生産して生まれた個体であると考えられる。この 2 尾の全長がどちらも 37cm であるため 1 歳魚と推定される。この 2 尾が放流魚であると仮定すると、放流年は令和 3 年であり、この年の放流魚の黒化率は 90.6%である。放流魚の黒化率は比較的高い水準であるが、この 2 尾が黒化していない放流魚である可能性は一概に否定できない。いずれにしても、真に親子関係を確定させるためには、核遺伝子であるマイクロサテライトマーカー等の DNA 分析が有効であるが、手間も費用も必要なためその実施には課題がある。

5　参考文献

1）水産総合研究センター宮津栽培漁業センター（2006）：日本海中西部ヒラメ連携調査における無眼側黒化判定基準.「平成 17 年度日本海中西部ヒラメ広域連携調査事業報告書, 石川県・福井県・京都府・兵庫県・鳥取県・島根県・山口県編」：1-6.

2）金丸 彦一郎・一丸 俊雄・伊藤 正博（2007）：九州北西部海域におけるヒラメの Age-Length Key. 佐賀県玄海水産振興センター研究報告. 4 号：75-78.

3）水産研究・教育機構　水産資源研究所　水産資源研究センター（2021）：令和 3（2021）年度ヒラメ日本海北・中部系群の資源評価.「令和 3 年度我が国周辺水域の漁業資源評価. 水産庁増殖推進部・水産研究・教育機構編」

4）藤井 徹生（2005）：開放性海域におけるヒラメ放流魚の移動および産卵群への加入過程の定量的評価. 水産総合研究センター研究報告. 別冊 5：143-146.

5）手賀 太郎・河野 展久（2012）：(5) 広域連携栽培漁業推進事業（ヒラメ放流効果調査). 福井県水産試験場報告　平成 23 年度：57-62.

6）元林 裕仁・手賀 太郎・瀬戸 久武（2020）：(10) 栽培漁業自立支援事業（ヒラメ放流効果調査). 福井県水産試験場報告　令和元年度：140-145.

7）元林 裕仁・手賀 太郎・瀬戸 久武（2021）：(9) 栽培漁業自立支援事業（ヒラメ放流効果調査). 福井県水産試験場報告　令和 2 年度：149-154.

8）菅谷 琢磨・池田 実・藤尾 芳久（1998）：ヒラメ mtDNA D ループ領域の RFLP 分析によるハプロタイプの検出. 水産育種. 26：33-40

9）福井県（2010）：日本海中西部海域ヒラメ調査結果（福井県).「平成 21 年度栽培漁業資源回復等対策事業報告書. 社団法人全国豊かな海づくり推進協会編」：246-251.

１０）藤井 徹生（2005）：日本海における放流ヒラメの移動 ～DNA 標識を用いた調査でわかったこと～. 日本海区水産試験研究連絡ニュース. No.408：1-4.

１１）Sekino M, Hara M, Taniguchi N. Loss of microsatellite and mitochondrial DNA variation in hatchery strains of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 2002; 213:101-122

１２）谷口 順彦・Ricardo PEREZ-ENRIQUEZ・松浦 秀俊・山口 光明（1998）：マイクロサテライト DNA マーカーによるマダイ放流用種苗における集団の有効な大きさ（N_e）と近交係数（F）の推定. 水産育種. 26：63-72

１３）片町 太輔・池田 実・安藤 大樹・菅谷 琢磨・與世田 兼三・藤井 徹生・小畑 泰弘（2017）：トラフグ放流用人工種苗の遺伝的特性. 水産育種. 46：105-110