

学位論文題名

Genetic structure of masu salmon
(*Oncorhynchus masou*) populations in Hokkaido

(北海道におけるサクラマス個体群の遺伝構造)

学位論文内容の要旨

サケ科魚類サクラマス (*Oncorhynchus masou*) は、アジア極東地域のみにも生息し、その生活史は降海型、河川残留型、湖沼型と多様なことが知られている。北海道においては、河川残留型個体は雄のみとなるため、降海型個体は雌の割合が多い。他種のサケ科魚類と同様に母川回帰性を有していることから、河川もしくは支流毎にある程度独立した個体群を形成していることが示唆されている。また、母川とは異なる河川に回帰する迷入が稀に起こり、個体群間の遺伝的交流が生じている。つまり、サクラマス個体群の遺伝構造は、母川回帰と迷入との平衡の上に成り立っていると考えられる。しかし、正確な母川回帰率の算出が困難であることや、同じ種でも母川回帰率が地域もしくは個体群毎に異なるという報告があること、河川間の交流には降海型個体のみが寄与するが、降海型個体の比率が地域毎に異なることなどから、サクラマスの個体群間構造の把握が困難となっている。近年、遺伝学的手法が生態学に導入されるにつれ、遺伝マーカーを用いて個体群構造の把握を行う研究が行われるようになってきた。そこで本研究でも、遺伝マーカーを用い、サクラマスの個体群構造を把握することを目的とした。

本研究では、北海道におけるサクラマス個体群の遺伝構造の解明を目的とし、ミトコンドリア DNA (mtDNA) およびマイクロサテライト DNA を用いて解析を行った。MtDNA 解析では、北海道全域における個体群間の遺伝構造の把握を目的とし、過去に放流実績の無い 12 河川から 382 個体を採集した。サンプリングは 2001 年から 2004 年にかけて行った。採集個体から DNA を抽出し、NADH 脱水素酵素サブユニット 5 遺伝子の前半部分 561 塩基対の塩基配列の解読を行った。その結果、13 箇所の塩基置換および 13 ハプロタイプが検出された。12 個体群を日本海、太平洋、オホーツク海の 3 地域に分け、AMOVA 解析を行った結果、地域間および各地域内の個体群間に有意な遺伝的差異が認められた。各個体群間の遺伝的差異 (F_{ST}) および各個体群間の遺伝距離 (D_A) を求めた結果、北海道南西部に位置する 4 個体群間および知来別を除くオホーツク海に流入する個体群間において遺伝的差異および遺伝距離が小さいことが明らかとなった。Mantel 検定を行い地理的距離と遺伝的差異との関係を調べた結果、両者の間に有意な相関関係が認められた (F_{ST} : $r^2 = 0.19$, $P = 0.003$, D_A : $r^2 = 0.16$, $P = 0.01$)。近隣結合法を用いて無根系統樹を作成した結果、北海道南西部に位置する 4 個体群が 1 つのグループを形成したが、その他の個体群は明瞭なグループを形成しなかった。Mismatch distribution test、Fu's F_s および Tajima's D を用いて、個体群サイズの変動を求めた結果、北海道全体および知来別におい

て過去に個体群サイズの急激な増加が起こったことが認められたが、その他の個体群や北海道南西部のグループでは認められなかった。個体群サイズの増加が起こった時期を推定した結果、知来別では 5,000 から 23,000 年前、北海道全体では、26,000 から 116,000 年前となった。この時期は最終氷期から最終間氷期であり、サクラマス個体群の遺伝構造の形成要因として氷河期の海進や海退、水温の低下などが寄与していると考えられる。

マイクロサテライト DNA 解析では、北海道中西部に位置する厚田川個体群を対象とし、支流単位といったより小さなスケールでも遺伝構造が形成されているかどうかを、また、遺伝構造の形成に雌雄および生活史の違いがどのように寄与しているかを明らかにすることを目的とした。サンプリングは 2003 年から 2006 年にかけて行い、降海型 231 個体、残留型 118 個体を厚田川の 6 支流から採集し、マイクロサテライト DNA マーカーとして 7 遺伝子座を用いた。AMOVA を行った結果、遺伝的変異の大部分は個体群内に存在していた。各支流個体群間の遺伝的な差異 (F_{ST}) を求めた結果、-0.0002 から 0.0157 であった。Fisher's exact test の結果、距離の離れた個体群間で有意な差異が認められた。Mantel 検定を行い地理的距離と遺伝的な差異との関係を調べた結果、両者の間に有意な相関関係が認められた ($r^2 = 0.39, P = 0.019$)。これらの結果から、同一河川内の支流個体群間においても、遺伝構造の形成が認められたが、近隣個体群間では迷入がある程度の頻度で生じていることが示唆された。

次に、各個体を降海型雌、降海型雄、残留型の 3 つのグループに分け、生活史および雌雄が遺伝構造の形成にどの様に寄与しているかを調べた。遺伝構造の形成には個体の移動が重要であるため、Assignment index (mean AIC, variance AIC)、 F_{ST} 、 F_{IS} の 4 つの指標を用いて、移動に雌雄差があるかどうかを求めた。その結果、雄個体群として雄全体を用いた場合、mean AIC、variance AIC、 F_{ST} の 3 つの指標において雌雄間に有意差が認められた (mean AIC: $P = 0.0003$, variance AIC: $P = 0.0015$, F_{ST} : $P = 0.0206$)。降海型雄のみを用いた場合は、mean AIC、variance AIC の 2 つにおいて (mean AIC: $P = 0.027$, variance AIC: $P = 0.015$) 有意差が認められた。降海型雄と残留型との間には有意差は認められなかった。各グループで地理的距離と遺伝的な差異との関係を求めた結果、降海型雌においてのみ有意な相関関係が認められた ($r^2 = 0.32, P = 0.033$)。各個体群間の F_{ST} を求めた結果、降海型雄では全ての組み合わせにおいて有意な遺伝的差異は認められなかった。しかし、降海型雌および残留型では、いくつかの個体群間に遺伝的差異が見いだされた。これらの結果から、個体群間の遺伝子交流には雄の方がより寄与しており、雌の方がより母川帰帰性が高いことが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 東 正 剛
副 査 教 授 岩 熊 敏 夫
副 査 教 授 上 田 宏
副 査 助 教 授 鈴 木 仁

学 位 論 文 題 名

Genetic structure of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) populations in Hokkaido

(北海道におけるサクラマス個体群の遺伝構造)

サクラマスは、日本海とオホーツクおよびその周辺域の河川に生息する典型的な極東分布のサケ科であり、サケ属の中で最も祖先形質を残す種とされている。サハリン以北の河川では雌雄ともにほとんど降海型、九州、台湾などの南方河川では雌雄ともに残留型のみであるのに対し、北海道では二つの生活史型が混在している。ただし、同じように生活史二型が混在するニジマスやベニザケでは降海型・残留型ともに雌雄がいるのに対し、サクラマスの残留型はほとんど雄のみである。このように、サクラマスは系統的にも生態的にも興味深いサケ科魚類であるにも拘らず、これまで研究例が少なかった。

申請者は、サクラマスの生活史二型に着目し、北海道 12 河川を対象とした大スケール遺伝構造解析 (mtDNA を使用) と、厚田川の 6 支流を対象とした小スケール遺伝構造解析 (マイクロサテライト DNA を使用) を行っている。12 河川の選定にあたっては、各地のサケ・マス孵化場や水産試験場に残された資料を丹念に調査し、過去に人工放流がなされていないことを確認している。水産資源としての価値が高いサケ科魚類では過去に様々な人為的攪乱がなされており、事前の資料調査は自然の遺伝構造を明らかにする上で重要な作業として評価できる。

大スケール遺伝構造解析では、12 河川で捕獲した稚魚のうち 382 個体について mtDNA ND5 遺伝子 (561bp) の塩基配列を判読し、13 ハプロタイプを得ている。この結果をもとに、多様度分析、ハプロタイプ間系統解析、AMOVA 分析、遺伝距離分析 (F_{ST} , D_A)、個体群間系統解析、個体群変動推定 (F_S , D 、ミスマッチ分布分析) を行い、以下の結果を得ている。1) 個体群間の遺伝距離と地理的距離の間には有意な相関関係が認められる。2) 道南の 4 河川間の遺伝的分化はほとんど認められない。オホーツクの河川も遺伝的分化の程度は低い、最北に位置する知来別川はオホーツクよりも道南 4 河川に近かった。3) 個体群間系統解析においても、道南 4 河川が 1 つのグループを形成した。4) 個体群変動

時期の推定は、道南の河川がこの数万年間、比較的安定した個体群を維持してきたことを示唆した。以上のように、本研究は、これまで行われた北海道産サケ科魚類の遺伝構造解析に比べると、明瞭な遺伝構造の検出に成功しており、有効集団サイズが小さく、過去の個体群変動の検出力に優れている mtDNA の使用と人為的放流河川の回避が優れた成果に繋がったと思われる。

資源保護河川である厚田川における小スケール遺伝構造解析では、6 支流においてサクラマス親魚 349 個体（降海型雌 124 個体、降海型雄 107 個体、残留型雄 118 個体）から脂鱗を採取して DNA を抽出し、マイクロサテライト DNA の 7 遺伝子座について対立遺伝子頻度をもとめた。その結果をもとに、遺伝距離分析 (F_{ST} 、正確確率テスト)、主成分分析、性（雄・雌）と生活史型（降海型・残留型）が遺伝構造に及ぼす影響の解析、などを行い、次のような結果を得ている。1) 遺伝距離と地理的距離の間に有意な相関関係がある。2) 主成分分析において、第一主成分は支流間の距離、第二主成分は河口からの距離と有意な相関関係を示した。3) アサインメントテストにより、降海型と残留型を比較すると降海型の方が定着性が高く、雄と雌を比較すると雌の方が高い定着性を示した。これらの結果から、サクラマスの遺伝構造には雌の定着性、雄の分散性が大きな影響を及ぼしていると結論付けている。これまで、標識個体の回帰率から母川回帰を研究した例は多いが、雌と雄の遺伝構造比較から解析した例はほとんどなく、優れた成果と評価できる。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせて、申請者が博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。