

学 位 論 文 題 名

Population genetic structure and phylogeography of
masu salmon (*Oncorhynchus masou*) in
the Far East inferred from mitochondrial
and microsatellite DNA analyses

(極東におけるサクラマス/MITコンドリアおよびマイクロサテライト
DNA 分析に基づく遺伝的集団構造と系統地理学的研究)

学位論文内容の要旨

水産生物の遺伝的多様性や集団構造を把握することは、その資源保護と持続的な利用を図る上で不可欠である。サクラマスはシロザケやカラフトマスとならび日本における重要な水産対象種であり、その資源増大をはかるため河川間の移入や孵化放流を中心とした増殖事業が行われてきた。しかし、移入や放流が天然のサクラマス集団の多様性や遺伝構造にどのような影響をもたらすかは未だ不明である。そこで本研究では、天然集団の多様性の保全や養殖集団による天然集団の遺伝的な攪乱を防ぎ、サクラマス資源の再生産と持続的な利用に資するため、極東におけるサクラマス集団の遺伝的多様性と集団構造をミトコンドリア DNA (mtDNA) および核のマイクロサテライト DNA (msDNA) マーカーにより分析した。次いで、得られた集団の遺伝情報を用いて、集団構造の成立に関与する種々の要因について系統地理学的解析を行った。

主論文は英文で書かれ、GENERAL INTRODUCTION のほか、5 章からなる。まず、第 1 章では、サクラマスの mtDNA NADH dehydrogenase subunit 5 遺伝子 (ND5) 領域における塩基配列を解読し、観察された変異をもとに各集団の遺伝的多様性と遺伝構造、さらに系統地理学的解析を行った。日本、韓国、ロシアの河川に産卵遡上したサクラマス 24 標本集団、1,100 個体以上の mtDNA ND5 領域の 561 塩基対の塩基配列解読から 23 箇所の変異サイトがみつき、計 21 種類のハプロタイプが認められた。ハプロタイプ多様度や塩基多様度からロシアより韓国と日本の集団で高い遺伝的多様性がみられた。さらに固定指数 (F_{ST})

や分子分散分析 (AMOVA) から 3 つの地域グループのほか日本海、オホーツク海、太平洋の 3 海域集団間で明らかな遺伝的分化がみられた。そこで、これらの分析結果をもとに、サクラマス集団の歴史的な形成過程を階層クレード系統地理分析法 (NCPA) により推定した。その結果、ハプロタイプクレードは地域と密接に結びついていること、集団の成立には連続的な分布域の拡大の後に距離による遺伝子流動の制限が関与したこと、などが推定された。さらに、ハプロタイプ塩基配列のミスマッチ分析や中立性の検定などから、極東域のサクラマス集団はまずオホーツク海で更新世後期に集団の拡大があり、次いで最終氷期に日本海そして太平洋において集団の拡大が起きたことが示唆された。

第 2 章では、6 座の多型 msDNA マーカーを用いて、上記サクラマス 24 集団の遺伝的多様性と遺伝構造を分析した。観察された対立遺伝子 (アليل) 数は各座において 9 から 35 で、6 座で合計 115 であった。また、ヌルアليلによると思われるハーディーワインベルグ平衡 (HWE) からの逸脱が、一部の集団のいくつかの座で認められた。遺伝子多様度から、日本、ロシア、韓国の集団の遺伝的変異はほぼ同水準であることが示唆された。この結果は、mtDNA 分析による結果と異なっていた。また、AMOVA および F_{ST} 値から、mtDNA と同様に地域グループのほか海域集団グループ間における遺伝的分化が明らかになった。さらに msDNA の分析結果から、距離による集団間の遺伝子流動の制限が明らかになった。

第 3 章では、同一河川における遡上サクラマスの年級群間および降海型と河川残留型の間の遺伝的関係を明らかにするため mtDNA と msDNA を用いて 北海道の 3 河川 (尻別川、斜里川、標津川)、ロシアの 2 河川 (サハリン 2 河川) から、計 632 尾の個体標本を採集して集団遺伝学的分析を行った。 F_{ST} 分析の結果、尻別川における 4 年間の年級群標本間では、mtDNA と msDNA のいずれによっても遺伝的異質性は観察されなかった。一方、調べた河川内の降海型と残留型の遺伝的分化が msDNA により示唆されたが、mtDNA では示されなかった。このような違いは、母系遺伝の mtDNA と両性遺伝の msDNA の特性の違いを反映している可能性があるほか、河川ごとの遺伝的特性が主に残留型の大部分を占める雄により維持され、河川間の遺伝的交流が主に降海型の大部分を占める雌により担われていることを示しているのかも知れない。

第 4 章では、旧北海道立水産孵化場森支場において維持されていた 3 グループのサクラマス放流種苗集団を前章までと同様に解析した。分析した材料は 1980 年代後半の異なる年度に尻別川から導入した遡上サクラマスを起源とするもので、第一グループは大型の卵を

生む雌を選抜交配した 4 世代目、第二グループは選抜なしのランダム交配 5 世代目、第 3 グループは大型個体の選抜継代 2 世代目を標識放流し産卵遡上魚を再捕後に体サイズにより選抜交配した 2 世代目である。比較のため、1997 年から 2000 年の 4 年間に尻別川に遡上したサクラマス 315 個体および北海道オホーツク海の 3 集団も加えて分析した。その結果、河川集団と放流種苗集団間では明らかな遺伝的分化が認められた。さらに、母集団である尻別川集団と放流種苗集団間でも遺伝的違いがあることが示唆され、3 グループの放流種苗集団のいずれにおいても遺伝的変異の低下が認められたため、河川集団とは遺伝的に異なる集団へと分化しているものと考えられた。

第 5 章では、GENERAL CONCLUSIONS として 1 章から 4 章で得られた結果について総合的考察を加えた。用いた mtDNA *ND5* 領域や 6 座の msDNA は十分な多型を示し、日本、韓国、ロシアの 3 地域グループのほか新たに日本海、オホーツク海、太平洋の 3 海域集団グループの存在を示唆した。mtDNA と msDNA による遺伝的集団構造の分析結果はよく一致し、両者はサクラマス資源の遺伝的管理のための有用な分子遺伝マーカーになることが分かった。さらに、降海型と河川残留型の分析から、両マーカーを併用することで集団形成における雌雄の貢献の違いを評価できることも示唆された。本研究の成果は、日本、ロシア、韓国を含む極東域におけるサクラマスの保全と資源の維持管理に役立つものと期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 阿 部 周 一
副 査 教 授 荒 井 克 俊
副 査 教 授 帰 山 雅 秀
副 査 教 授 都 木 靖 彰

学 位 論 文 題 名

Population genetic structure and phylogeography of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) in the Far East inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses

(極東におけるサクラマス/MITコンドリアおよびマイクロサテライト
DNA 分析に基づく遺伝的集団構造と系統地理学的研究)

水産生物の遺伝的多様性や集団構造を把握することは、その資源保護と持続的な利用を図る上で不可欠である。サクラマスはシロザケやカラフトマスとならび日本における重要な水産対象種であり、その資源増大をはかるため河川間の移入や孵化放流を中心とした増殖事業が行われてきた。しかし、移入や放流が天然のサクラマス集団の多様性や遺伝構造にどのような影響をもたらすかは未だ不明である。そこで本研究では、天然集団の多様性の保全や養殖集団による天然集団の遺伝的な攪乱を防ぎ、サクラマス資源の再生産と持続的な利用に資するため、極東におけるサクラマス集団の遺伝的多様性と集団構造をミトコンドリア DNA (mtDNA) および核のマイクロサテライト DNA (msDNA) マーカーにより分析した。次いで、得られた集団の遺伝情報を用いて、集団構造の成立に関与する種々の要因について系統地理学的解析を行った。

主論文は英文で書かれ、GENERAL INTRODUCTION のほか、5 章からなる。第 1 章では、日本、韓国、ロシアの母川に回帰したサクラマス 24 標本集団、1,190 個体の mtDNA NADH dehydrogenase subunit 5 遺伝子 (*ND5*) 領域の 561 塩基対塩基配列の解読から 23 箇所の変異サイトを明らかにし、21 個のハプロタイプを同定した。ハプロタイプ多様度や塩基多様度からロシアより韓国と日本の集団で高い遺伝的多様性がみられた。さらに固定指数 (F_{ST}) や分子分散分析 (AMOVA) から、3 つの地域グループのほか日本海、オホーツク海、太平

洋の3海域集団間で明らかな遺伝的分化を見出した。また、階層クレード系統地理分析法(NCPA)により、集団の成立には連続的な分布域の拡大の後に距離による遺伝子流動の制限が関与したことが推定された。さらに、ハプロタイプ塩基配列のミスマッチ分析や中立性の検定などから、極東域のサクラマス集団はオホーツク海で更新世後期に集団の拡大があり、次いで最終氷期に日本海(太平洋)において集団の拡大が起きたことが示唆された。

第2章では、6座の多型msDNAマーカーを用いて、上記サクラマス24集団の遺伝的多様性と遺伝構造を分析した。ヌルアリルによると思われるハーディーワインベルグ平衡(HWE)からの逸脱が、一部の集団のいくつかの座で認められた。遺伝子多様度から、日本、ロシア、韓国の集団の遺伝的変異はほぼ同水準であることが示唆された。この結果は、mtDNA分析による結果と異なっていた。また、AMOVAおよび F_{ST} 値から、mtDNAと同様に地域グループのほか海域集団グループ間における遺伝的分化が明らかになった。さらにmsDNAの分析結果から、距離による集団間の遺伝子流動の制限が明らかになった。

第3章では、同一河川における遡上サクラマスの年級群間および降海型と河川残留型の間の遺伝的関係を明らかにするため、mtDNAとmsDNAを用いて北海道の3河川(尻別川、斜里川、標津川)、ロシアの2河川(サハリン2河川)から、計632尾の個体標本を採集して集団遺伝学的分析を行った。尻別川における4年間の年級群標本間では、mtDNAとmsDNAのいずれによっても遺伝的異質性は観察されなかった。一方、調べた河川内の降海型と残留型の遺伝的分化がmsDNAにより示唆されたが、mtDNAでは示されなかった。このような違いは、母系遺伝のmtDNAと両性遺伝のmsDNAの特性の違いを反映している可能性があるほか、河川ごとの遺伝的特性が主に残留型の大部分を占める雄により維持され、河川間の遺伝的交流が主に降海型の大部分を占める雌により担われていることを示しているのかも知れない。

第4章では、旧北海道立水産孵化場森支場において維持されていた3グループのサクラマス放流種苗集団を前章までと同様に解析した。分析した材料は1980年代後半の異なる年度に尻別川から導入した遡上サクラマスを起源とするものであった。比較のため、1997年から2000年の4年間に尻別川に遡上したサクラマス315個体および北海道オホーツク海の3集団も加えて分析した。その結果、河川集団と放流種苗集団間では明らかな遺伝的分化が認められた。さらに、母集団である尻別川集団と放流種苗集団間でも遺伝的違いがあることが示唆され、3グループの放流種苗集団のいずれにおいても遺伝的変異の低下が認められたため、河川集団とは遺伝的に異なる集団へと分化しているものと考えられた。

第5章では、GENERAL CONCLUSIONSとして1章から4章で得られた結果について総合的考察を加えた。用いたmtDNA ND5領域や6座のmsDNAは十分な多型を示し、日本、韓国、ロシアの3地域グループのほか日本海、オホーツク海、太平洋の3海域集団グルー

プの存在を示唆した。mtDNA と msDNA による遺伝的集団構造の分析結果はよく一致し、両者はサクラマス資源の遺伝的管理のための有用な分子遺伝マーカーになることが分かった。さらに、降海型と河川残留型の分析から、両マーカーを併用することで集団形成における雌雄の貢献度の違いを評価できることも示唆された。

申請者による以上の成果は、サクラマスの遺伝的多様性の現状と遺伝構造を DNA マーカーにより体系的に明らかにしたもので、我国を含む環太平洋地域における本種の保全と資源の維持管理に大きく寄与するものである。よって審査員一同は、申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。