

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292102

研究課題名(和文) 野生サケとは何か？ 河川遡上期を決める 遺伝的基盤と資源量 への貢献度の解明

研究課題名(英文) Understanding genetics and value of wild salmon run

研究代表者

荒木 仁志 (Araki, Hitoshi)

北海道大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：20707129

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：サケは日本人には身近な魚だが、その大半は人工飼育されたサケ稚魚の放流に頼っている。一方、川で生まれた野生魚についてはその実態がよく分かっていない。そこで本研究では、サケの産卵遡上に注目し、遡上時期と関わる遺伝子の違いを探った。その結果、サケ遡上河川の一部では前期遡上群と後期遡上群が明確に分かれており、これらの間に遺伝的な違いが生じていることが分かった。また、人工飼育魚を他の河川から移植している川では、現在は野生サケが繁殖しているものの遺伝的には移植元の河川とよく似た組成となっていた。これらの結果は、サケには遡上時期によって遺伝的に明確な差異があり、別々の管理・保全が必要であることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：Salmon is very popular in Japan. While majority of fish in a market is hatchery-reared, ecology of wild salmon is largely unknown. In this study, we investigated genetic basis of wild chum salmon, which returned to their mother rivers at different timings. We found that in some rivers in Japan, early-run population and late-run population are clearly distinct both in timing and the population genetic structure. In addition, the population genetic structure in a river where hatchery fish have been imported was similar to that in its source, despite the fact that the river holds large amount of wild population at this point of time. These results suggest that salmon populations with different run timings are genetically differentiated even within a same river, and that they should be managed differently.

研究分野：分子生態学

キーワード：野生サケ 遺伝子 遡上時期 保全

1. 研究開始当初の背景

(1) サケは日本の重要な漁業資源であり、文化的にも日本人の生活と深く結びついている。生物多様性国家戦略においても、「さけ・ます増殖事業についても、生物としてもつ種の特性と多様性を維持することに配慮して実施するとともに、天然魚との共存可能な人工種苗放流技術の高度化を図り、河川及びその周辺の生態系にも配慮する」と明記されている。

(2) 日本のサケマス事業は年間 18 億尾にも及ぶ大規模な稚魚放流により維持されてきた。一方、自然河川で産卵する野生魚については永くその存在意義を顧みられることがなかった。申請者らによる海外での先行研究においては、野生魚と放流魚の河川内自然交配によって適応度が低下し、個体群の遺伝的多様性や資源量に影響する可能性が指摘されている。

(3) 上記国家戦略にもある通り、現在では天然魚との共存可能な人工種苗放流技術が模索されているものの、日本においては野生魚の生態に関する知見が著しく欠如しており、その実態についての理解と対策が急がれている。

2. 研究の目的

本研究の主たる目的は、未だ謎の多い野生サケの生態・特性と、その遡上期を決める遺伝的基盤及びサケ資源量への貢献度を解明することにある。日本人にとってサケは漁業資源として身近な存在だが、自然産卵する野生サケの実態とその影響については不明な点が多い。一方で近年の申請者らの研究で、野生魚のふ化放流河川における遡上期の分化や潜在的資源量貢献度、野生魚・放流魚間自然交雑の影響が示唆されてきた。本研究により、同一河川に遡上するサケ個体群間の遺伝学的・生態学的差異を精査し、野生サケ個体群の特性を生態遺伝学的に解明すると共に、遡上期への影響が示唆される遺伝子の塩基多型解析により遡上期決定の遺伝的基盤を解明、野生・放流魚群の遺伝的交流度やその影響を多角的に解明することで、野生魚の資源量貢献度を評価する。

3. 研究の方法

(1) サケ遡上河川の前・後期系群の集団遺伝構造解析：北海道内の河川について、サケ遡上個体のサンプリングと DNA 解析に基づき集団遺伝構造を明らかにする。

(2) 遡上時期決定に関わるとされる Clock 遺伝子の多型解析、及び自然選択圧検出を行うと共に、生態地理情報に基づく DNA 多型の時空間解析を行う。

(3) 上記遺伝情報から遡上前期群・後期群間の遺伝子交流を定量化すると共に、遡上サケの資源量を推定する。両変数の相関解析により野生個体群の実態とサケ資源量への効果を生態・遺伝構造の両面から包括的に解明する。

4. 研究成果

(1) 千歳川におけるサケ前期群・後期群の集団遺伝構造

千歳川のサケは9月をピークとする前期遡上群と、12月をピークとする後期遡上群に大きく分けられている(図1)。

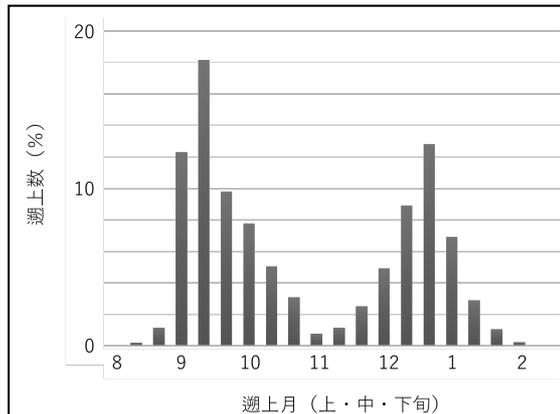


図1. 千歳川推定サケ遡上数の時間分布 (1998-2011の遡上データを基に各遡上年内の割合を平均。データ提供：千歳水族館)

これらの遡上群がどの程度遺伝的に分化しているかを調べるため、国立研究開発法人・水産研究・教育機構・北海道区水産研究所千歳さけます事業所で種苗として用いられたサケ親魚からの遺伝子解析用組織標本の収集と併せ、2年にわたり千歳川上流での自然産卵魚のホッチャレ(遺骸)計354個体からも遺伝子解析用組織標本を収集した。

これらの組織標本からDNA抽出を行い、DNA抽出に成功した計105個体分のサンプルについて、13遺伝子座のマイクロサテライトマーカーを用いた多型解析を行った。

その結果、前期群・後期群共に遺伝的多様性の指標であるヘテロ接合体頻度は0.8以上と十分高く、またアレリックリッチネスも10以上と大きかったことから、どちらの系群も近年、ボトルネックといった遺伝的多様性の大幅な減少は経験していないことが明らかとなった。(Araki et al. in prep.)

一方、これらの系群間における集団遺伝構造には統計的に有意な差が検出され(P<0.01)、ゲノム全体では前期群、後期群間に分化の兆しが見られることも明らかになった。現在千歳川においては主に前期群を用いた人工種苗放流が実施されているため、この系群間分化の一因は放流魚、野生魚間での独立した再生産が確立していることに由

来するものと考えられる。ただし、ペアワイズ Fst で集団分化のレベルを評価した場合 0.007 とその水準は低く、千歳系群間での一定の遺伝子交流は継続して生じているものと考えられる。

(2) 豊平川におけるサケ前期群・後期群の集団遺伝構造

上記千歳川サケ系群との比較のため、同じ石狩川水系に属し、過去に一度はサケ遡上が途絶えたものの、1978年に千歳川のサケ種苗放流を用いて遡上群の再導入を行った歴史を持つ豊平川のサケ系群について、千歳川同様の解析を行った。(Kawai et al. *in prep.*)



図2. 札幌近郊の石狩川水系概略図

現在豊平川ではウライ設置などのサケ遡上管理が行われていないため、豊平川サケについては全尾ホッチャレ組織標本からのDNA抽出となり、腐敗したサンプルも多く含まれたことからその抽出効率に懸念もあったものの、最終的に87個体からのDNA抽出を行い、遺伝子解析に供した。

豊平川サケ系群については千歳川前期群からの再導入からわずか10世代ほどしか経っていないため、創始者効果や遺伝的多様性の減少が懸念されている。しかし、本研究の結果、中立マーカーを見る限り遺伝的多様性は移入元の千歳川前期群と同程度で、集団間の遺伝的分化も全く見られなかった ($F_{st} = -0.001$)。千歳川後期群とは有意な遺伝的分化が検出されたことから、豊平川の再導入系群は基本的に千歳川前期群由来の遺伝子プールを基に再構築されていることが確認された。現在の豊平川サケ系群の大多数は自然産卵により維持されていることから、これは大都市河川の人間活動による野生サケの絶滅後、種苗放流によって自律的な野生集団が再構築された希少な成功例の一つと言えるかもしれない。

(3) 野生個体群の遡上期分布

2014, 2015年における千歳川サケ調査の一環として、種苗放流魚の耳石温度標識を確認した。その結果、2月下旬以降の自然産卵魚の野生魚率(遡上親魚が河川でふ化し、耳石温度標識をされていない割合)は、ウライ設置による人工種苗用親魚捕獲の行われる9月から12月中旬にかけて遡上したサケの野生魚率と比較すると著しく高いことが示された(図3)。

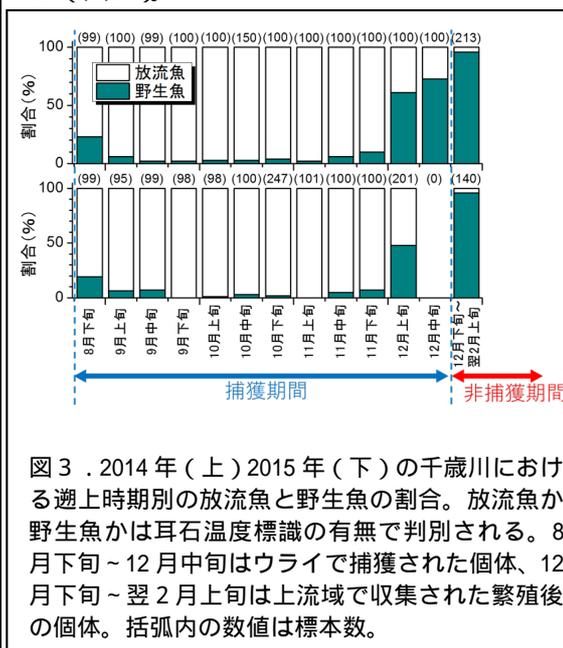


図3. 2014年(上)2015年(下)の千歳川における遡上時期別の放流魚と野生魚の割合。放流魚か野生魚かは耳石温度標識の有無で判別される。8月下旬~12月中旬はウライで捕獲された個体、12月下旬~翌2月上旬は上流域で収集された繁殖後の個体。括弧内の数値は標本数。

このことから、後期群のサケに野生魚が多いことが改めて確認された。遊楽部川などの他河川においても、後期群の遡上時期になるとふ化事業のためのウライが撤去され、河川での捕獲圧がほとんどなくなることから、一般的に後期群には野生魚が多いことが推察されている。そこで、斜里川と遊楽部川の2河川において、ふ化場支流およびふ化場から離れた自然産卵場の2地点において、それぞれ時期別にサケ親魚を収集し、耳石温度標識の有無を判別することで、繁殖時期別の野生魚割合を調べた。その結果、地点間では野生魚割合は有意に異なったが、繁殖時期間では野生魚割合に変化は見られず、千歳川のように後期になると野生魚割合が高まるという傾向は認められなかった(表1, 2)。

(4) 野生・放流個体間の性差

多くの動物では体サイズに雌雄差がある。この性的サイズ二型は、自然界においては繁殖時の雄間闘争などの性選択によって形成・維持されると考えられている。一方、人工種苗放流においては一般に、遺伝的多様性に配慮するため体サイズに関係なく、無作為に親魚が選ばれている。このような“無作為という作為”が作用すれば、サケに本来備わ

性的サイズ二型が失われる可能性がある。そこで、本研究では人工繁殖によって生まれた放流魚と、自然産卵によって生まれた野生魚について、成熟時の性的サイズ二型を比較した。調査は 2014～2016 年に北海道の斜里川と遊楽部川で行い、繁殖後の個体を収集し、耳石温度標識の有無により野生魚と放流魚を判別した。その結果、斜里川と遊楽部川の両河川において、野生魚も放流魚も雄の方が雌よりも大きく、性的サイズ二型が認められたが、野生魚と比べると放流魚の雌雄差は小さく、放流魚の性的サイズ二型に減少傾向が認められた (Morita et al. *in prep.* 図 4)

表 1：斜里川水系の 2 地点における遡上時期別の放流魚と野生魚の割合。表内の数値は標本数。

| ふ化場支流 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 合計 |
|-------|------|-----|-----|------|-----|
| 放流魚 | 45 | 149 | 137 | 11 | 342 |
| 野生魚 | 2 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 野生魚割合 | 4% | 0% | 1% | 0% | 1% |
| 非放流支流 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 合計 |
| 放流魚 | 0 | 6 | 2 | 0 | 8 |
| 野生魚 | 47 | 137 | 49 | 0 | 233 |
| 野生魚割合 | 100% | 96% | 96% | n.a. | 97% |

表 2：遊楽部川水系の 2 地点における遡上時期別の放流魚と野生魚の割合。表内の数値は標本数。

| ふ化場支流 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 合計 |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 放流魚 | 42 | 70 | 44 | 6 | 162 |
| 野生魚 | 3 | 6 | 7 | 0 | 16 |
| 野生魚割合 | 7% | 8% | 14% | 0% | 9% |
| 本流域 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 合計 |
| 放流魚 | 6 | 18 | 20 | 4 | 48 |
| 野生魚 | 17 | 52 | 62 | 16 | 147 |
| 野生魚割合 | 74% | 74% | 76% | 80% | 75% |

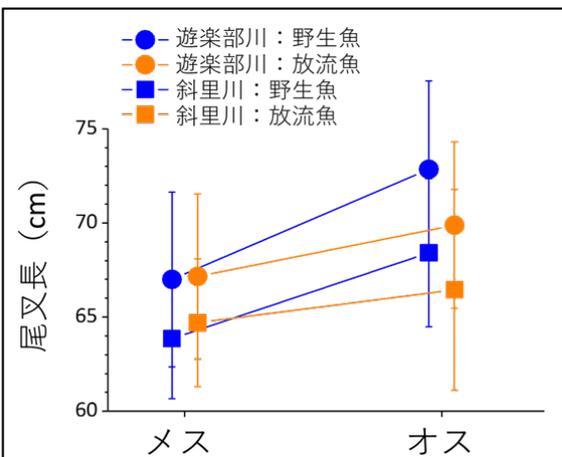


図 4 . 斜里川および遊楽部川におけるサケ野生魚 - 放流魚間の性的体サイズ二型の比較 (図のデータは 4 年魚)

(5) Clock 遺伝子の種内変異

研究協力者でオレゴン州立大学助教授の O' Malley らは、先行研究においてアメリカにおけるサケ科魚類集団の多くが Clock 遺伝子内に反復配列多型を有し、この反復数が親魚遡上時期と相関していることを示した。これらの種内多型は河川間の遡上時期の差異を説明するものだが、千歳川や遊楽部川に見られる河川内前期遡上群・後期遡上群の違いに Clock 遺伝子の多型が関わっている可能性もある。

このため、本研究では千歳川の 2014 年前期群・後期群の合計 287 個体に対する Clock 遺伝子の多型解析を行った。この結果、千歳川においても Clock 遺伝子に反復数の異なる 7 つの対立遺伝子 (a-g) が検出された。千歳川においては前期群・後期群共、対立遺伝子 d と c が高頻度に見られたが、後期群の方が反復数の多い対立遺伝子 c の割合が高く、遺伝子型 cc の個体の割合は約 2 倍にのぼった (cc 遺伝子型頻度：前期群 0.11, 後期群 0.21) (Araki et al. *in prep.* 図 5 , 6)

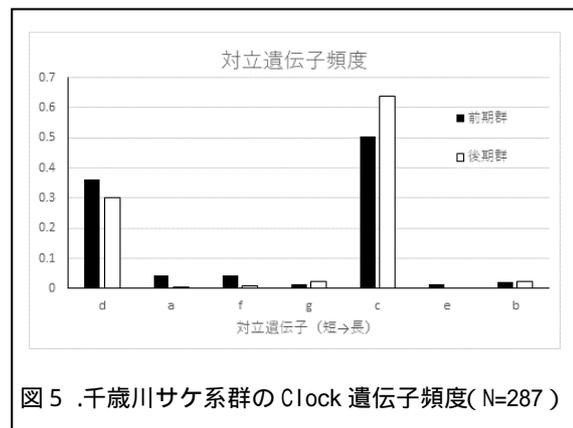


図 5 . 千歳川サケ系群の Clock 遺伝子頻度 (N=287)

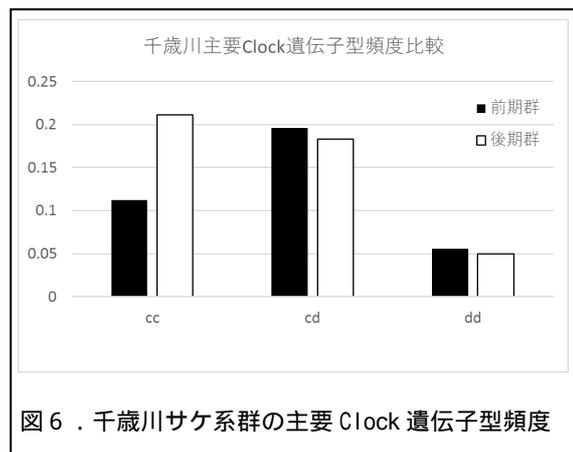


図 6 . 千歳川サケ系群の主要 Clock 遺伝子型頻度

これはアメリカ個体群で検出された傾向と一致しており、千歳川サケ系群の遡上期決定に Clock 遺伝子が関与する可能性を示唆する結果と言える。

(6) 野生・人工飼育魚間の遺伝子交雑

上記野生サケに見られる遺伝的特異性は、当初想定していた「野生サケの放流サケにはない特徴」を如実に示すと共に、野生・人工飼育魚間での自然交雑が起こった場合に、野生集団における遺伝的攪乱のリスクが生じることも示唆している。このリスクについての理論的評価をノルウェー・イギリス・オーストリアの研究者との国際共同研究の形で行い、サケと同じく人工飼育の盛んな大西洋サケについて、適応度の異なる一部の移入者が野生サケ集団全体に長期的に与える影響が示唆された (Castellani et al. 2015; Glover et al. 2017)。

更に、サケの種苗放流に限らず、広く農林水産業で多用される家畜化・栽培化が生態系に与える長期的な影響について、スイス・カナダ・アメリカなど研究者との国際共同研究として取りまとめを行った (Turcotte et al. 2016; Mimura et al. 2017)。

(7) 人工種苗放流魚への捕食圧

放流魚が自然界で真っ先に直面するのが捕食者による捕食圧であるが、その実態を科学的に精査した例は少ない。そこで、本研究では人工飼育したサクラマス稚魚と捕食者としてのアメマスを用いて捕食・被食実験を行い、放流時のサクラマス稚魚のサイズが捕食魚の4割を下回った場合、放流後のわずかな期間に50%を超える著しく高い捕食圧がかかっていることを示した (Miyamoto and Araki 2017)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

M. Mimura, T. Yahara, D.P. Faith, E. Vazquez-Dominguez, R.I. Colautti, H. Araki, F. Javadi, J. Nunez-Farfan, A.S. Mori, S. Zhou, P.M. Hollingsworth, L.E. Neaves, Y. Fukano, G.F. Smith, Y. Sato, H. Tachida, A.P. Hendry. Understanding and monitoring the consequences of human impacts on intraspecific variation. *Evol. Appl.* 10: 121-139. DOI: 10.1111/eva.12436 (2017)
K.A. Glover, M.F. Sloberg, P. McGinnity, K. Hindar, E. Verspoor, M.W. Coulson, M.M. Hansen, H. Araki, O. Skaala, T. Svasand. Half a century of genetic interaction between farmed and wild Atlantic salmon: Status of knowledge and unanswered questions. *Fish and Fisheries* 2017: 1-38. DOI:

10.1111/faf.12214 (2017)

K. Miyamoto, H. Araki. Differentiated predation risk on hatchery-reared juvenile masu salmon by white-spotted charr with different body sizes. *Fish. Sci.* 83:245-250. DOI:

10.1007/s12562-016-1059-8 (2017)

M.M. Turcotte, H. Araki, D.S. Karp, K. Poveda, S.R. Whitehead. The eco-evolutionary impacts of domestication and agricultural practices on wild species. *Phil. Trans. Roy. Soc. B.* 372: 20160033. DOI: 10.1098/rstb.2016.0033 (2016)

M. Castellani, M. Heino, J. Gilbey, H. Araki, T. Svasand, K.A. Glover. IBSEM: An Individual-Based Atlantic Salmon Population Model. *PLoS One* 10: e0138444. DOI:

10.1371/journal.pone.0138444 (2015)

森田健太郎, 大熊一正「サケ：ふ化事業の陰で生き長らえてきた野生魚の存在とその保全」*魚類学雑誌* 62: 189-195. (www.fish-isj.jp/iin/nature/article/pdf/6202_series.pdf) (2015)

[主要学会発表](計11件)

森田健太郎「サケの性的サイズ二型：野生魚と放流魚の違い」日本生態学会全国大会(2017.3/16, 早稲田大学(東京都))
Hitoshi Araki「Environmental DNA as an Ecological Tool for Salmonid Fish Distribution」日本生態学会全国大会(2017.3/15, 早稲田大学(東京都))

河合駿、佐藤俊平、森田健太郎、荒木仁志「マイクロサテライト解析を用いた豊平川におけるサケの遡上前期群と後期群の遺伝的差異の研究」日本生態学会北海道地区大会(2017.3/3, 北海道大学(北海道・札幌市))

荒木仁志「フィールドリサーチツールとしての環境DNA：現状と課題」*魚類系統研究会*(2016.12/11, 北海道大学(北海道・苫小牧市))

荒木仁志「環境DNAを用いた水圏動物研究：現状と課題」*ゲノム多様性ワークショップ*(2016.12/7, 北海道大学(北海道・札幌市))

荒木仁志「環境DNAを用いたサケ生態調査手法の確立」*サケ学研究会*(2015.12/20, 北海道大学(北海道・札幌市))

Hitoshi Araki「Fish stocking as a solution for 'local' stock enhancement?」*Applications of Evolutionary Biology in the Marine Environment*(2015.10/7 *イエテボリ大学*(シャルノ、スウェーデン))

Hitoshi Araki「Understanding run-time determination of wild chum salmon in Japan: Research plan」*North Pacific*

Anadromous Fish Commission
International Symposium (2015.5/18,
神戸国際会議場(兵庫県・神戸市))
佐藤俊平「北海道三河川に遡上するサケ
放流魚と野生魚の遺伝的特徴」日本水産
学会春季大会(2015.3/28, 東京海洋大学
(東京都))
佐藤俊平「日本系サケ資源におけるふ化
場魚と野生魚の現状把握」サケ学研究会
(2014.12/21, 北海道大学(北海道・函
館市))
荒木仁志「ふ化放流魚と野生魚の相互作用」魚類系統研究会(2014.11/29, 札幌
市保養センター駒岡(北海道・札幌市))

(4)研究協力者
Kathleen O'Malley (O'MALLEY,
Kathleen)
オレゴン州立大学・助教授

〔図書〕(計1件)

荒木仁志「遺伝子マーカーを用いた有効
集団サイズ推定について」月刊海洋、海
洋出版、48:334-339(2016)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

(1) 荒木仁志「小さくても力持ちな DNA の
話 遺伝子を透して見る世界」市民公開講
座・時計台サロン(2017.2/14, 札幌時計台
(北海道・札幌市))

(2) 荒木仁志「サケの環境 DNA 研究」市民
公開講座さーもん・かふえ(2016.7/1, エ
スポワールいわて(岩手県・盛岡市))

6. 研究組織

(1)研究代表者

荒木 仁志 (ARAKI, Hitoshi)
北海道大学大学院・農学研究院・教授
研究者番号:20707129

(2)研究分担者

森田 健太郎 (MORITA, Kentaro)
国立研究開発法人水産研究・教育機構・
北海道区水産研究所・主任研究員
研究者番号:30373468

(3)連携研究者

佐藤 俊平 (SATO, Shunpei)
国立研究開発法人水産研究・教育機構・
北海道区水産研究所・主任研究員
研究者番号:70425461

小泉 逸郎 (KOIZUMI, Itsuro)
北海道大学大学院・環境科学院・准教授
研究者番号:50572799