

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：82708

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2020

課題番号：16K07884

研究課題名(和文)複数遺伝子座の分析に基づくサケ科魚類5種の比較系統地理

研究課題名(英文)Comparative phylogeography of five salmonid fishes in Japan inferred from mitochondrial DNA and nuclear DNA markers

研究代表者

山本 祥一郎 (Yamamoto, Shoichiro)

国立研究開発法人水産研究・教育機構・水研機構(横浜)・主幹研究員

研究者番号：20392897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、サケ科魚類のうちイワナ、オシヨロコマ、サクラマス、サケ、カラフトマスを対象として、これまでに蓄積しているミトコンドリアDNA塩基配列データに核DNAによる分析を新規に加え、日本産サケ科魚類の集団構造の解明に迫ることを目的とした。サケ科魚類5種を対象とした大規模なサンプリングと複数遺伝子座による遺伝分析を通して、それぞれの種がもつ集団構造の詳細な把握と分布域形成プロセスについての理解を深めることができ、さらにそれらの種間比較により日本産サケ科魚類の集団遺伝構造における多様性と共通性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題では、分布域を網羅する大規模な遺伝子データセットを通して、各種がもつ集団構造の特徴、系統群の地理的分布や交雑帯の特定、遺伝的多様性などを明らかにし、それらを基にサケ科魚類各種の系統地理パターン、分布域形成プロセスに新しい考察を加えた。本研究で得られた成果は、淡水魚類の進化史の理解に役立つだけでなく、例えば在来・非在来個体の判別や保全上重要な集団・地域の特定など、サケ科魚類集団の遺伝保全や増殖を図る上で重要な貢献をもたらすものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Genetic characteristics of five salmonid fishes (white-spotted charr, Dolly Varden species-complex, masu salmon, chum salmon, pink salmon) were examined using mitochondrial DNA and nuclear DNA (microsatellite DNA or SNP) markers. Phylogeographic and phylogenetic analyses using the large DNA data set revealed the population genetic structure, hybrid zone structure, genetic diversity, and the evolutionary and demographic history of each species. Our study also have important implications for the genetic management and long-term conservation of Japanese salmonid fishes.

研究分野：生態遺伝学

キーワード：サケ科魚類 系統地理 イワナ オシヨロコマ サクラマス サケ カラフトマス

## 1. 研究開始当初の背景

河川性魚類の集団構造は、歴史的・地勢的要因や移動分散の程度により、局所個体群・メタ個体群・系統群など様々な階層構造をもつことが知られている。この階層構造の実態を明らかにし、その形成要因や存続メカニズムを科学的に把握することは、集団遺伝学において本質的な課題であるとともに、魚類集団の保全や管理施策の構築の上でも極めて重要である。サケ科魚類については、これまで申請者らによってミトコンドリア DNA 塩基配列分析を指標とした集団遺伝学・系統地理学研究が行われ、更新世の氷期 間氷期のサイクルに対応した「隔離（陸封）」と、その後の「海を通じた分散」が彼らの集団構造を形作る主要因であることを明らかにしている。また、サケ科魚類のある種では種内に「固有の DNA タイプを保つ集団」が数多く見出されており、保全対象として優先すべき集団(進化的に重要な単位)がいくつか特定されつつある。一方、これまでのミトコンドリア DNA データによる集団解析は、単一遺伝子座の挙動を示したに過ぎず、ゲノム全体におよぼす個体群動態の影響を完全にとらえることができていなかった。サケ科魚類集団の形成要因や動態についてのさらなる理解、そして意味のある集団単位の特定のためには、従来のミトコンドリア DNA 分析に加えて複数の遺伝子座を用いた新規の遺伝子解析が必要である。

## 2. 研究の目的

本研究では、サケ、カラフトマス、サクラマス、イワナ、オシヨロコマを対象として、これまでに蓄積しているミトコンドリア DNA 塩基配列データに核 DNA による分析を新規に加え、日本産サケ科魚類各種のよりリアルな集団構造の解明に迫ることを目的とする。

## 3. 研究の方法

調査期間を通して、サケ科魚類複数種を対象とした標本採集調査、ミトコンドリア DNA 塩基配列データを蓄積するとともに、イワナ、サケ、カラフトマスでは一塩基多型分析(SNP)、サクラマスとオシヨロコマではマイクロサテライト DNA マーカーを指標とした遺伝子分析を実施する。複数遺伝子座のデータをもとに、距離による隔離構造の有無、種内系統の地理的分布や系統間との関係などを調べるとともに、サケ科魚類 5 種の比較系統地理を考察する。

## 4. 研究成果

### [イワナ・サクラマス]

イワナについては、日本からロシアにかけての 139 河川から 5500 個体以上の遺伝標本を収集し、それらの標本についてミトコンドリア DNA cytochrome-b 部分塩基配列を分析した。その結果、イワナから合計 83 種類のハプロタイプを確認し(図 1)、それらの塩基配列データを蓄積した。ハプロタイプネットワーク、最尤法による系統解析の結果、本州西部太平洋側河川に特異的に見られるハプロタイプグループの存在が確認された。また、現在認識されているイワナ 4 亜種(アメマス、ゴギ、ヤマトイワナ、ニッコウイワナ)の地理的分布とミトコンドリア DNA が示す集団構造との間に明瞭な対応関係は認められなかった。これらのサンプルから 50 集団 380 個体を抽出し、Mig-seq による遺伝分析を行った。SNP704 遺伝子座を用いた Admixture 解析の結果、イワナはさらに北海道以北(ロシアを含む)集団、本州太平洋側河川集団、本州日本海側河川集団など地理的にまとまったいくつかの集団構造をもつことが明らかとされた。

サクラマスでは、ロシア、日本、台湾からの 55 集団 1520 個体の遺伝標本についてミトコンドリア DNA 塩基配列データ(cytochrome-b 部分塩基配列および ND-5 部分塩基配列)を分析し、合計 78 種類のハプロタイプを確認した。最尤法による系統解析の結果、琵琶湖集団(ピワマス:サクラマスの一亜種)に見出されたハプロタイプに高い特異性を認めたが、他の亜種間(サクラマス、アマゴ、サラマオマス)ではミトコンドリア DNA が示す集団構造に明瞭な関係性は認められなかった(図 2; Yamamoto et al., 2020)。これらのサンプルのうち 38 集団についてマイクロサテライト 13 遺伝子座を用いた遺伝分析を加えた。STRUCTURE 解析および近隣結合法による解析の結果、太平洋側河川に生息するアマゴ(亜種)と分布の北方に生息するサクラマス(亜種)において、それぞれ異なるクラスターを形成することが示された(図 3)。また、サクラマス(亜種)では距離による隔離(isolation by distance)の集団構造が確認されたが、アマゴ(亜種)ではそれが認められなかった。台湾に生息するサラマオマス(亜種)では、ミトコンドリア DNA、マイクロサテライト DNA とともに日本に生息するサクラマス亜種群との間に明瞭な遺伝的分化は確認されなかった。ベイジアン・スカイラインプロット解析の結果、サクラマス亜種群は約 10 万年前以降に分布域を拡大させたことが示された。

分布域が大きく重複するイワナとサクラマスの集団構造は、「日本海に流入する河川集団」と「太平洋に流入する河川集団」の大きく 2 つのグループに分けられた。また両種ともに、降海型が生じる集団では距離による隔離の集団構造が確認され、海を通じた他河川への移出入(迷い込み)が両種の集団構造や多様性の維持に大きな役割を果たしていることが示された。

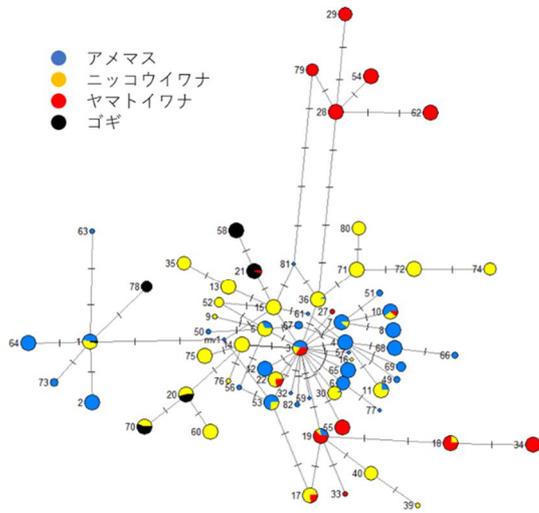


図1 日本、ロシアの139河川から得られたイワナのミトコンドリア DNAcytochrome-b部分塩基配列のハプロタイプネットワーク。

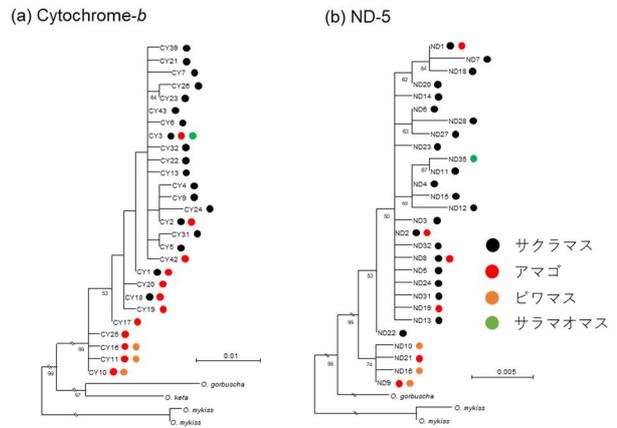


図2 ロシア、日本、台湾からの55集団から得られたサクラマスのミトコンドリア DNA(a)cytochrome-b部分塩基配列、および(b)ND-5部分塩基配列の最尤法系統樹。

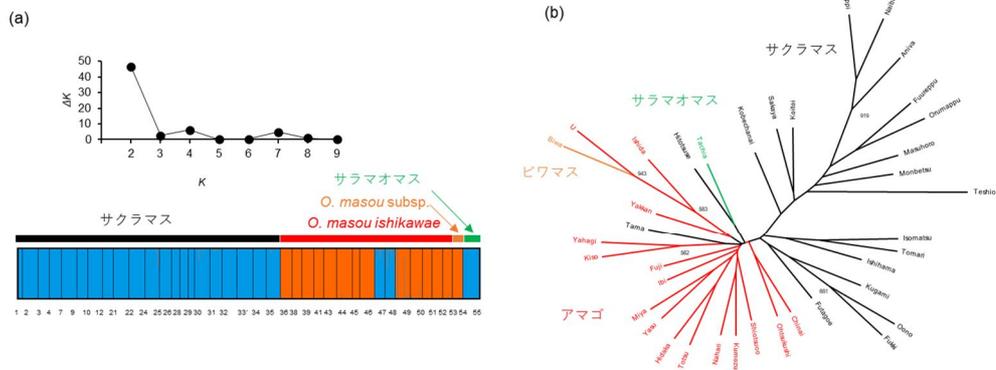


図3 ロシア、日本、台湾からの38集団から得られたサクラマスのマイクロサテライトDNA13遺伝子座の分析に基づく (a)STRUCTUREによるベイズクラスタリング、および(b)Cavalli-Sforza and Edwards コード距離による近隣結合系統樹。

### [オシヨロコマ・サケ・カラフトマス]

オシヨロコマでは、北海道からロシア・オホーツク海沿岸にかけての集団(western lineage)とそれ以北の集団(central lineage)とでミトコンドリア DNA が示す集団構造が大きく異なることが知られている(図4; Yamamoto et al., 2014, 2021)。近年では、北海道およびロシア・オホーツク海沿岸河川集団(western lineage)は、北米・ロシア極東部に広く分布するオシヨロコマ(英名 Dolly Varden, 学名 *Salvelinus malma*)とは別種(英名 southern Asian Dolly Varden, 学名 *Salvelinus curilus*)として扱われることが多い。ここでは、ミトコンドリア DNA により識別できる2系統が同所的に見られる集団(サハリン)において、マイクロサテライト DNA8 遺伝子座による遺伝分析を実施した。その結果、Western lineage と Central lineage の個体間で明瞭な遺伝的分化は認められず、両者は一つの繁殖集団を形成していると考えられた(図5)。このことは、両系統の間で過去に種間浸透交雑が生じていたことを示す。

サケでは、日本から北米に至る環太平洋一帯の広い範囲においてミトコンドリア DNA による分析が行われており、日本地域における高いハプロタイプ多様度と日本・ロシア・北米地域における遺伝構造の存在が示されている(Sato et al. 2004)。ここではまず SNP52 遺伝子座を用いて北米系サケ8集団の遺伝分析を行い、SNP 分析データの蓄積を行った。さらにこれまで蓄積してきた日本系およびロシア系サケ32集団のSNP 分析データと公表済みの環太平洋サケ154集団のSNP 分析データ(Seeb et al. 2011, Sato et al. 2014)を合わせ、合計194集団のSNP データセットを用いて近隣結合法による集団系統解析を行った。

その結果、環太平洋サケ集団は大きく日本、ロシアの沿海州・サハリン、ロシアのマガダン・カムチャツカ、北米の4地域に分かれ(図6)、ミトコンドリアDNAによる分析結果と概ね一致した。また日本地域と北米地域では、それぞれ複数の集団が地理的にまとまった遺伝構造を持つことも示唆された。

カラフトマスでは、連続する2年間(偶数年と奇数年)に北海道東部の9河川に回帰した合計1539個体について、ミトコンドリアDNA調節領域前半部分約500bpの塩基配列を解析した。その結果、合計67種類のハプロタイプを確認し、このうち25種類が偶数年級群にのみ、30種類が奇数年級群にのみそれぞれ出現し、12種類が両年級群に共通するものであった(図7)。また、偶数年級群固有のハプロタイプのうち5タイプ、奇数年級群固有のハプロタイプのうち3タイプが、通常のハプロタイプとは塩基配列数が異なっていた。集団遺伝学的解析から遺伝的変異性は奇数年級群よりも偶数年級群で高いことが示された。集団の遺伝的分化は年級群間で明確であったが、同一年級内の集団間では確認されなかった。中立性検定およびミスマッチ分析から、偶数年級群では全ての集団で過去に急激な集団サイズの拡大が生じたと推定されたが、奇数年級群では集団サイズの急拡大が生じた集団と生じなかった集団が混在しており、偶数年級群よりも複雑な集団成立過程を経験している可能性が考えられた。さらにミトコンドリアDNA分析を行った集団のうち8河川16集団について、SNP12遺伝子座を用いて遺伝分析を行ったところ、その遺伝的変異性は奇数年級群が偶数年級群よりも大きく、ミトコンドリアDNA分析の結果とは異なっていた。一方、集団の遺伝的分化はミトコンドリアDNAによる分析と同様に、年級群間で大きいと同一年級内の集団間では見られなかった。

北太平洋沿岸に広い分布をもつオショロコマとサケでは、地理的に共通して分布する大きな系統群(北米系、ロシア系、日本系)の存在が認められ、氷河期におけるリフージア(隔離場所)の存在とそこでの隔離にともなう分化が示唆された。また、それぞれの種において、系統群の分布域拡大に伴う二次的交流の痕跡をいくつか見出すことができた。一方、カラフトマスの集団構造は、集団間の遺伝的分化よりも年級群間の遺伝的分化の方が大きいという、極めて特徴的な構造を有するものであった。

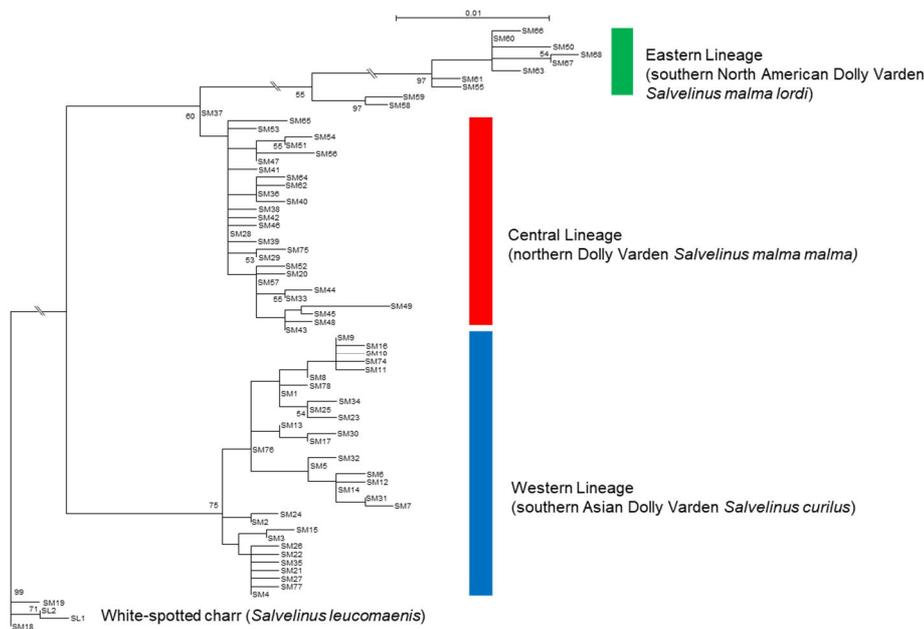


図4 ロシア、日本、北米から得られたオショロコマ種群のミトコンドリアDNA調節領域部分塩基配列の最尤法系統樹。

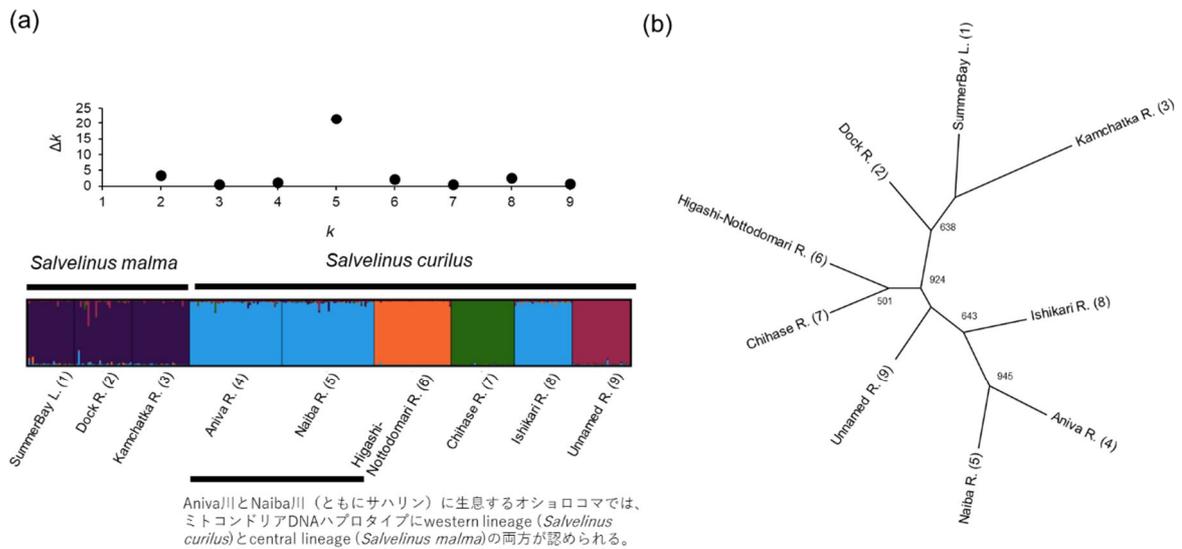


図5 ロシア、北海道、北米からの9集団から得られたオショロコマ種群のマイクロサテライトDNA8遺伝子座の分析に基づく (a)STRUCTUREによるベイズクラスタリング、および(b)Cavalli-Sforza and Edwards コード距離による近隣結合系統樹。

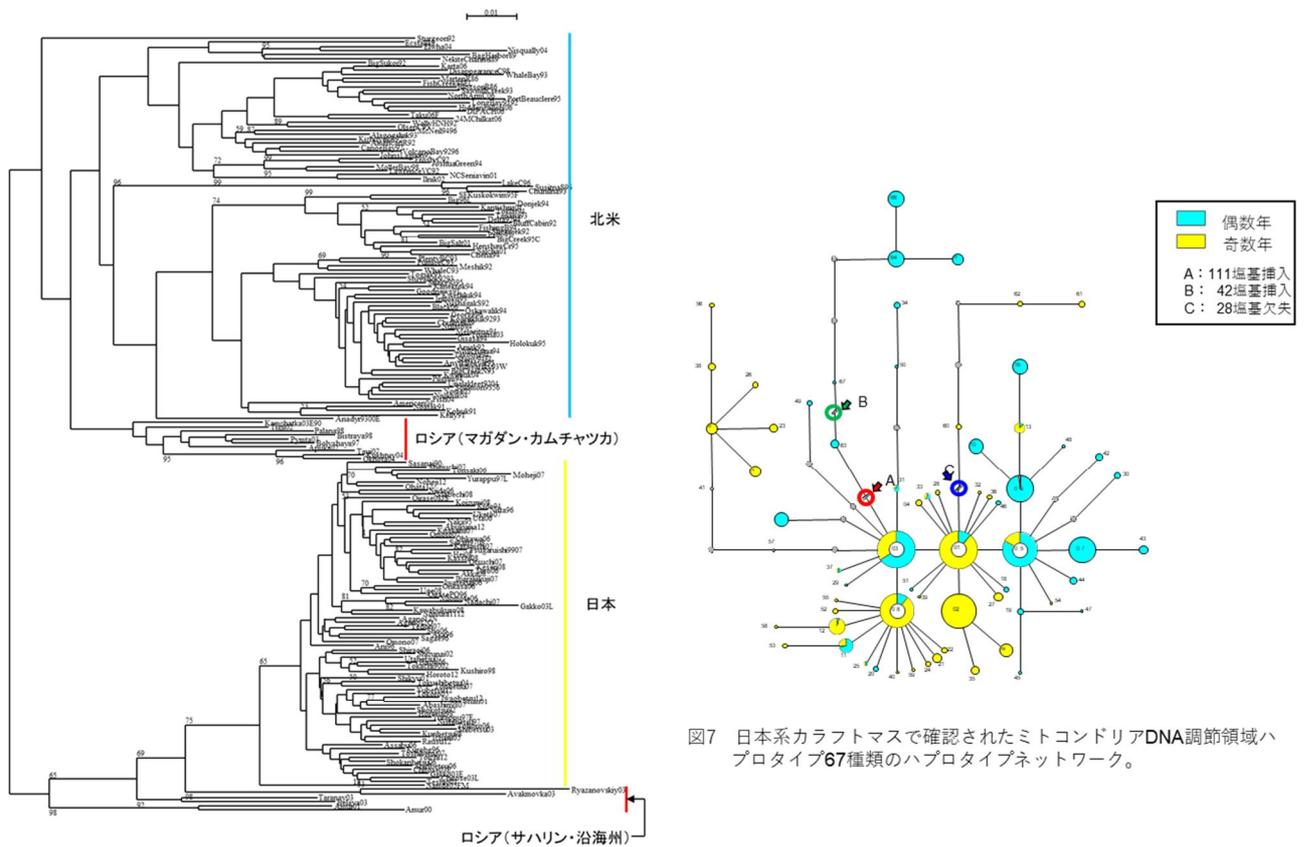


図6 近隣結合法により推定した環太平洋サケ194集団の系統樹。

サケ科魚類 5 種を対象とした大規模なサンプリングと複数遺伝子座による遺伝分析を通して、それぞれの種がもつ集団構造の詳細な把握と分布域形成プロセスについての理解を深めることができ、さらにそれらの種間比較を通して日本産サケ科魚類の集団構造における多様性と共通性を明らかにした。今回得られた膨大なデータセットはサケ科魚類天然集団の DNA データベースとしても活用可能であり、今後、サケ科魚類集団の遺伝保全や増殖を図る上で極めて重要な貢献をもたらすものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamamoto, S., Morita, K. & Sahashi, G.	4. 巻 840
2. 論文標題 Spatial and temporal changes in genetic structure and diversity of isolated white-spotted charr ( <i>Salvelinus leucomaenis</i> ) populations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hydrobiologia	6. 最初と最後の頁 35-48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10750-019-3924-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamamoto, S., Morita, K., Kikko, T., Kawamura, K., Sato, S. & Gwo, J.C.	4. 巻 65
2. 論文標題 Phylogeography of a salmonid fish, masu salmon <i>Oncorhynchus masou</i> subspecies complex, with disjunct distributions across the temperate northern Pacific	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Freshwater Biology	6. 最初と最後の頁 698-715
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/fwb.13460	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 佐藤俊平・森田健太郎	4. 巻 69
2. 論文標題 北海道におけるサケ野生魚の遺伝的特徴	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 209-217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18960/seitai.69.3_209	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 C. M. Tarpey, J. E. Seeb, G. J. McKinney, W. D. Templin, A. Bugaev, S. Sato, L. W. Seeb	4. 巻 75
2. 論文標題 SNP data describe contemporary population structure and diversity in allochronic lineages of pink salmon ( <i>Oncorhynchus gorbuscha</i> )	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences	6. 最初と最後の頁 987-997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/cjfas-2017-0023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 S. Yamamoto	4. 巻 94
2. 論文標題 Genetic population structure of Japanese river sculpin <i>Cottus pollux</i> (Cottidae) large egg type, inferred from mitochondrial DNA sequences	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Fish Biology	6. 最初と最後の頁 325-329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jfb.13890	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato S, Urawa S	4. 巻 100
2. 論文標題 Genetic variation of Japanese pink salmon populations inferred from nucleotide sequence analysis of the mitochondrial DNA control region	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Environmental Biology of Fishes	6. 最初と最後の頁 1355-1372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10641-017-0648-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukagoshi H, Terui S, Sato S, Abe S	4. 巻 33
2. 論文標題 Development and characterization of 13 polymorphic microsatellite DNA markers for pink salmon ( <i>Oncorhynchus gorbuscha</i> ) using next-generation sequencing approach	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Applied Ichthyology	6. 最初と最後の頁 1204-1207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jai.13436	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tarpey CM, Seeb JE., Mckinney GJ, Templin WD, Bugaev A, Sato S, Seeb LW	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 SNP data describe contemporary population structure and diversity in allochronic lineages of pink salmon ( <i>Oncorhynchus gorbuscha</i> )	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/cjfas-2017-0023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shoichiro Yamamoto, Hitoshi Kubota, Koh Hasegawa, Tomoyuki Nakamura	4. 巻 25
2. 論文標題 Census and effective population sizes of white-spotted charr ( <i>Salvelinus leucomaenis</i> ) in a fragmented landscape	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Ecology of Freshwater Fish	6. 最初と最後の頁 612-621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/eff.12239	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Morita, K.
2. 発表標題 Trout and Charr of Japan
3. 学会等名 Advances in the Population Ecology of Stream Salmonids V (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamamoto, S., Morita, K., Kikko, T., Kawamura, K., Sato, S. & Gwo, J.C.
2. 発表標題 Phylogeography and population genetic structure of masu salmon <i>Oncorhynchus masou</i> subspecies-complex inferred from mitochondrial and microsatellite DNA markers
3. 学会等名 Advances in the Population Ecology of Stream Salmonids V (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本 祥一郎, 森田 健太郎, 佐橋 玄記
2. 発表標題 Spatial and temporal changes in genetic structure and diversity of isolated populations of white-spotted charr ( <i>Salvelinus leucomaenis</i> )
3. 学会等名 9th International Charr Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本祥一郎・森田健太郎・亀甲武志・河村功一・佐藤俊平・郭金泉
2. 発表標題 Genetic population structure of masu salmon subspecies-complex inferred from microsatellite and mitochondrial DNA markers
3. 学会等名 International Symposium on the Discovery of Formosa Landlocked Salmon's 100th Anniversary (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤俊平・浦和茂彦
2. 発表標題 ミトコンドリアDNAから推定した日本系カラフトマス集団の遺伝的変異性
3. 学会等名 第11回サケ学研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤俊平
2. 発表標題 日本におけるサケ野生魚の遺伝的集団構造
3. 学会等名 第65回日本生態学会自由集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Morita, K. (分担執筆)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 American Fisheries Society	5. 総ページ数 831
3. 書名 Trout and Char of Japan In: Trout and Char of the World	

1. 著者名 佐藤俊平	4. 発行年 2018年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 718
3. 書名 遼河回遊「魚類学の百科事典」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

台湾の国魚、サラマオマスを調べる <a href="http://hnf.fra.affrc.go.jp/kankoubutu/ki taumi/ki taumi.html">http://hnf.fra.affrc.go.jp/kankoubutu/ki taumi/ki taumi.html</a>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 俊平  (Sato Shunpei)  (70425461)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水研機構(札幌)・グループ長   (82708)	
研究分担者	森田 健太郎  (Morita Kentaro)  (30373468)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水研機構(札幌)・主任研究員   (82708)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------