

朱鞠内湖に生息するイトウ *Parahucho perryi* の遺伝的集団構造 (短報)

畑山 誠*, 下田和孝, 水野伸也, 川村洋司

北海道立総合研究機構さけ・ます内水面水産試験場

The genetic population structure of the Sakhalin taimen *Parahucho perryi* in Lake Shumarinai, Hokkaido, Japan (Short paper)

MAKOTO HATAKEYAMA*, KAZUTAKA SHIMODA, SHINYA MIZUNO and HILOSHI KAWAMULA

Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Eniwa, Hokkaido 061-1433, Japan

The genetic population structure of the Sakhalin taimen *Parahucho perryi* in Lake Shumarinai Hokkaido, Japan, and in the rivers draining into the lake was investigated by nucleotide sequencing of a part of the mitochondrial cytochrome b gene (695 bp). Based on the data of 211 Sakhalin taimen specimens, three haplotypes (A, B2 and C) were observed from three permutation sites. The haplotype frequency of Sakhalin taimen collected from the lake was constantly consisted of haplotypes A, B2 and C. The haplotype frequency of Sakhalin taimen collected from each river had the unique characteristic fixed over years. Those results indicate that the population of Sakhalin taimen in the lake was constructed by the distinct breeding groups of the rivers.

キーワード：遺伝的集団, イトウ, 朱鞠内湖, ミトコンドリアDNA

イトウ *Parahucho perryi* は北海道, 南千島, 沿海州に生息する太平洋西部域では最大となるサケ科魚類である (Fukushima, 1994)。本種は多回産卵魚で, 成熟年齢は北海道では雌が5歳以上, 雄が3歳以上とされており, 最高年齢は日本で10歳以上, ロシアでは16歳の記録がある (山代, 1965; Gritsenko *et al.*, 1974; Fukushima, 1994)。また, 環境省レッドリスト (2013年) で絶滅危惧1B類, 北海道レッドリスト (2001年) で絶滅危機種, 国際自然保護連合のレッドリスト (2006年) で最も絶滅の危険性が高い Critically Endangered の指定を受けている希少種である。日本におけるイトウの個体群について, 安定的な集団は7集団, 絶滅が危惧される集団は5集団, 東北地方を含む絶滅集団は36集団と推測されており, その中で北海道幌加内町の朱鞠内湖およびその流入河川に生息するイトウは安定的な集団の1つとされている (Fukushima *et al.*, 2011)。朱鞠内湖は石狩川水系最北部に位置し, 雨竜第1ダムおよび第2ダム (1943年完成) により形成された人工湖である。朱鞠内湖のイトウには地元の漁業協同組合

に漁業権が設定され, 主に遊漁用資源として利用されており, その管理, 保護については漁業関係者, 遊漁者の関心が高い。希少な安定的集団である朱鞠内湖およびその流入河川のイトウは, 遺伝的多様性を保持しながら管理, 保護することが重要と考えられる。そこで, 本研究では, ミトコンドリアDNAチトクロムb領域の一部を解析し, 遺伝的集団構造を推測した。

材料および方法

2004年, 2010年および2011年に湖内で定置網により未成魚および成魚を, 2010年および2011年に流入河川である陰の沢川でウライにより遡上親魚を, 2008年および2012年に流入河川の陰の沢川, ブトカマベツ川, 泥川, ウツナイ川で電気漁具 (Smith-root) により稚魚 (全長40mm前後) をそれぞれ捕獲した (Fig. 1)。現場で脂鱗を採取し, 99%エチルアルコール中で保存し, 後日, SepaGene (エーディア) を用いDNAを抽出した。塩基

Table 1 Relationships among sampling location, sampling date and haplotype data of captured fish

Sampling location	Sampling date	Captured fish (Range of fork length in mm)	Haplotype frequency			Haplotype diversity (h \pm SD)
			A	B2	C	
Set net in the lake	1-25 May 2004	Juvenile or adult (542-882)	10	11	4	0.647 \pm 0.047
	15 Nov. 2010	Juvenile or adult (504-895)	9	9	8	0.692 \pm 0.027
	18 Oct. 2011 - 11 Nov. 2011	Juvenile or adult (522-885)	8	8	7	0.696 \pm 0.031
Kagenosawa R.	21 Aug. 2008	Fry (ND*)	6			0.000 \pm 0.000
	24-29 May 2010	Returning adult (523-860)	29			0.000 \pm 0.000
	13-19 May 2011	Returning adult (530-881)	29		1	0.067 \pm 0.061
Butokamabethu R.	22 Aug. 2008	Fry (ND)	2	2	5	0.667 \pm 0.132
	11 Aug. 2012	Fry (ND)	14	8	9	0.667 \pm 0.038
Uthunai R.	22 Aug. 2008	Fry (ND)			9	0.000 \pm 0.000
	11 Aug. 2012	Fry (ND)			10	0.000 \pm 0.000
Doro R.	21 Aug. 2008	Fry (ND)			2	0.000 \pm 0.000
	11 Aug. 2012	Fry (ND)			11	0.000 \pm 0.000

*Not determined

結果

配列決定の鋳型としてPCR産物を利用した。PCR反応液は総量50 μ Lとし、試料DNAを50 ng, AmpliTaq Gold[®] 360 PCR Master Mix (Thermo fisher scientific)を25 μ L, 既知のイトウのチトクロムb領域の塩基配列 (Accession: D58396) をもとに作成したプライマー、5'-aaaccacccctcctaataaa-3'および5'-ctggccgatgataataatg-3'を最終濃度4 μ Mとなるよう加えた。反応液はGeneAmp 2400 system (Thermo fisher scientific)を用い、95°Cで10分間加熱した後に、94°Cで30秒間、55°Cで30秒間、72°Cで45秒間を40サイクル繰り返し、最後に72°C、7分間加熱した。得られたPCR産物はPCR purification kit (Qiagen)により精製し、塩基配列決定用の鋳型とした。塩基配列は既知の塩基配列情報(前出)より作成したプライマー、5'-atctcccagccacctctaata-3'および5'-ttgatactgtcttccatga-3'を用い、BigDye terminator v.3.1 (Thermo fisher scientific)の反応後、ABI PRISM Genetic Analyzer 3100 (Thermo fisher scientific)により決定した。得られた塩基配列はMEGA5 (Tamura et al., 2011)により多重アライメントを行い、一部の標本間ではArlequin ver. 3.1 (Excoffier et al., 2006)を用い、分化程度を示すペアワイズ F_{st} 値の算出および検定を行った。

イトウ211個体のミトコンドリアDNAチトクロムb領域の一部695塩基配列(D58396における100番-794番)から確認できたハプロタイプは3種で、その内訳は他の2種の派生元と考えられるハプロタイプA (Accession: AB982229)、ハプロタイプAの466番がGからAに1塩基置換したハプロタイプC (Accession: AB982232)、ハプロタイプAの366番がCからA、784番がTからCに2塩基置換したハプロタイプB2 (Accession: AB982231)であった。捕獲されたイトウのハプロタイプデータをTable 1に示す。湖内で2004年、2010年および2011年に捕獲されたイトウは各年においてハプロタイプA、B2、Cが混在しており、ハプロタイプ多様度は0.647から0.696であった。陰の沢川では、2008年に捕獲された稚魚の全て、2010年および2011年に捕獲された遡上親魚合計59個体のうち58個体がハプロタイプAであった。ブトカマベツ川で2008年、2012年に捕獲された稚魚は各年、ハプロタイプA、B2、Cが混在しており、ハプロタイプ多様度は両年とも0.667であった。また、ウツナイ川および泥川で2008、2012年に捕獲された稚魚は全てがハプロタイプB2であった。稚魚のデータのみを対象に河川間でのペアワイズ F_{st} の計算および検定を行ったところ、2008年捕獲分ではウツナイ川と陰の沢川間およびウツナイ川とブトカマベツ川間に有意な分化が認められた。2012年捕獲分ではブトカマベツ川とウツナイ川間およびブトカマベツ川と泥川間に有意な分化が認められた (Table 2)。

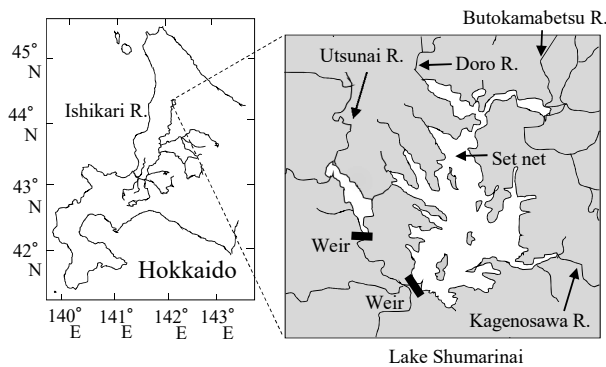


Fig. 1 Maps of Lake Shumarinai in the Ishikari river system in Hokkaido, Japan. Arrows indicate the sampling localities (rivers draining into the lake and the set net in the lake).

Table 2 Pairwise estimates of F_{st} based on cytochrome b sequence data

	1	2	3	4
1: Kagenosawa R.	-	-	-	-
2: Butokamabetu R.	0.263	-	0.553*	0.545*
3: Uthunai R.	1.000*	0.684*	-	0.000
4: Doro R.	1.000	0.494	0.000	-

Upper and lower triangles indicate pairwise estimates of F_{st} among the fish captured in 2012 and 2008, respectively.

*Significant difference from zero ($P < 0.05$, after Bonferroni correction)

考 察

朱鞠内湖はダム湖であるため、生息するイトウは道東の厚岸湖（川村ら, 1983; Honda *et al.*, 2010）や道北沿岸（Edo *et al.*, 2005; Suzuki *et al.*, 2011）の個体群で報告されているような降海生態は持たないものと推測される。イトウは多回産卵魚であるが、過去に陰の沢川にて行われた遡上親魚に対する標識放流試験の結果から、産卵のための河川遡上は数年に1回と推測されている（北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場, 2013）。また、同河川にて行われたイトウの生息状況調査では、5月に親魚の遡上と産卵床が認められ、8月には当歳魚が多く出現するが、10月にはその密度が大きく減少することから、多くは1⁺幼魚までの間に湖内に移動すると推測されている（北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場, 2011, 2012）。これらの調査から、この水域のイトウは流入河川で孵化したのち、1⁺幼魚までの間に湖内に移動し、成熟まで湖内にとどまり、数年に一度、産卵のために流入河川に遡上し、産卵後は再び湖に戻ると考えられる。本研究において、2008年8月および2012年8月にブトカマベツ川、泥川、ウツナイ川で捕獲されたイトウ稚魚は湖に移動する前の当歳魚と考えられ、そのハプロタイプ頻度は河川毎に両年に共通する特徴があった。また、陰の沢川においては、2008年8月に捕獲された稚魚、2010年5月および2011年5月に捕獲された遡上親魚のほぼ全てがハプロタイプAであった。これらのことから、朱鞠内湖に生息するイトウは母川回帰性が強く、流入河川毎に分化した遺伝的集団から構成されていると考えられる。

畑山・川村（2013）は北海道内で捕獲されたイトウを対象に本研究と同様の解析を行っており、大きくは日本海側の河川で構成されハプロタイプAの出現率が高いグループ、太平洋側の河川で構成されハプロタイプB2の出現率が高いグループ、および北海道北部のオホーツク海側の河川で構成され、朱鞠内湖では出現しなかったハプロタイプD（Accession: AB982233）の出現率が高いグループの3つに分化していると推測している。朱鞠内湖のイトウはハプロタイプA、ハプロタイプB2に加え、他の水域では発見されていないハプロタイプCが出現するなど北海道内にあっては特に遺伝的多様度の高い集団と考えられる。

イトウの生息域を制限している要因の一つとして河川の樹木による被覆等本種の生息に適した環境を消失させる農地の広がり指摘されている（Fukushima *et al.*, 2011）。山田ら（2008）は森林の開発により河川に堆積する細粒土砂がイトウの産卵環境に与える影響について

調査し、産卵床が細粒土砂で形成された場合、河川水温が卵に伝導しにくくなり、発育に障害をもたらす可能性があることを示唆している。福島ら（2008）は河川毎にイトウの捕獲が記録された最新年度を各種文献で調査し、その生息河川数は1960年代から減少し始め、80年代に激減したと推測している。鷹見・川村（2008）も北海道のイトウに関して遊魚雑誌の記述をもとに、土地改良事業が急速に進み始めた1970年前後から約10年後にイトウが激減したと推測している。これらの報告から、北海道においては1960年代から続く各種開発に伴う河川環境の変化がイトウの生息域を狭めた可能性があり、朱鞠内湖も1940年代に形成されたダム湖であるため、この流域に生息するイトウは湖下流への移動が不可能になる等の分布の制限を受けてきた。一方、本湖について、その流域の多くが北海道大学の演習林であることや、漁業権の設定に伴い漁業関係者の環境保全に対する関心が高まったことにより、イトウにとって比較的好適な環境が維持されてきた可能性がある。その結果、朱鞠内湖の各流入河川では個体群の再生産が維持され、湖内では現在でも高い遺伝的多様度が保たれていると考えられる。

謝 辞

本研究の実施にあたり、朱鞠内湖淡水漁業協同組合ならびにNPO法人シュマリナイ湖ワールドセンターの皆様にご多大なご協力を頂きました。ここに記して厚くお礼申し上げます。

引用文献

- Edo K, Kawaguchi Y, Nunokawa M, Kawamura H, Higashi S. Morphology, stomach contents and growth of the endangered salmonid, Sakhalin taimen *Hucho perryi*, captured in the Sea of Okhotsk, northern Japan: evidence of an anadromous form. *Environ. Biol. Fish.* 2005; 74: 1-7.
- Excoffier L, Lavel G, Schneider S, Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online* 2005; 1: 47-50.
- Fukushima M. Spawning migration and redd construction of Sakhalin taimen, *Hucho perryi* (Salmonidae) on northern Hokkaido island, Japan. *J. Fish Biol.* 1994; 44: 877-888.
- 福島路生, 畑山雅秀, 後藤 晃. イトウ: 巨大淡水魚をいかに守るか. *魚類学雑誌* 2008; 55: 49-53.
- Fukushima M, Shimazaki H, Rand PS, Kaeriyama M. Reconstructing Sakhalin taimen *Parahucho perryi* his-

- torical distribution and identifying causes for local extinctions. *Trans. Am. Fish. Soc.* 2011; 140: 1-13.
- Gritsenko OF, Malkin EM, Churikov AA. Sakhalinskii taimen' *Hucho perryi* (Brevoort) reki Bogatoi (vostochnoe pobrezh'e Sakhalina). *Izvestiya TINRO* 1974; 93: 91-100. (日本語訳 魚と卵1976; 143: 25-34.)
- 畑山誠, 川村洋司. 北海道に生息するイトウ*Hucho perryi* について. 北水試だより2013; 86: 19-21.
- 北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場. 漁業権設定湖沼におけるイトウ資源の利用と維持に関する研究. 「平成22年度道総研さけます・内水面水産試験場事業報告書」, 恵庭. 2011; 109.
- 北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場. 漁業権設定湖沼におけるイトウ資源の利用と維持に関する研究. 「平成23年度道総研さけます・内水面水産試験場事業報告書」, 恵庭. 2012; 100.
- 北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場. 漁業権設定湖沼におけるイトウ資源の利用と維持に関する研究. 「平成24年度道総研さけます・内水面水産試験場事業報告書」, 恵庭. 2013; 71-73.
- Honda K, Arai T, Takahashi N, Miyashita K. Life history and migration of Sakhalin taimen, *Hucho perryi*, caught from Lake Akkeshi in eastern Hokkaido, Japan, as revealed by Sr: Ca ratios of otoliths. *Ichthyol. Res.* 2010; 57: 416-421.
- 川村洋司,馬淵正裕,米川年三. 道東の汽水湖・厚岸湖で漁獲されたイトウ*Hucho perryi* (Brevoort). 北海道立水産孵化場研究報告1983; 38: 47-55.
- Suzuki K, Yoshimitomi T, Kawaguchi Y, Ichimura M, Edo K, Otake T. Migration history of Sakhalin taimen *Hucho perryi* captured in the Sea of Okhotsk, northern Japan, using otolith Sr: Ca ratios. *Fish. Sci.* 2011; 77: 313-320.
- 鷹見達也, 川村洋司. 北海道におけるサケ科魚イトウ (*Hucho perryi*) の減少過程. 野生生物保護2008; 11: 1-5.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. Mega5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28: 2731-2739.
- 山田裕之, 河口洋一, 江戸謙顕, 小宮山英重. 北海道北部山地河川における細粒土砂の堆積がイトウの産卵環境および発眼卵生残率に及ぼす影響. 応用生態工学 2008; 11: 29-40.
- 山代昭三. 北海道東北部におけるイトウ*Hucho perryi*の年齢と成長.日水誌1965; 31: 1-7.