HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	茂辺地川とその沿岸域に回帰するシロサケ集団の遺伝的組成の特徴
Author(s)	松岡, 誠; 吉田, 敦; 山崎, 文雄
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 38(4), 343-348
Issue Date	1987-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23969
Type	departmental bulletin paper
File Information	38(4)_P343-348.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
38(4), 343-348. 1987.

茂辺地川とその沿岸域に回帰するシロサケ集団の遺伝的組成の特徴

松岡　誠*・吉田　敦*・山崎　文雄*

Genetic Characteristics of Chum Salmon Populations in Moheji River and its Adjacent Sea Waters

Makoto MATSUOKA*, Atsushi YOSHIDA*
and Fumio YAMAZAKI*

Abstract

Genetic characteristics of chum salmon populations in Moheji River and its adjacent sea waters were compared with those of other populations in eastern Hokkaido using starch gel electrophoresis.

Allelic frequencies of two loci, *Ldh-1* and *Idh-2* indicated that the genetic structure of Moheji population was different from these of other populations in Hokkaido.

This difference was discussed from the view point of the function of local private hatchery of the Moheji River in which artificial releasing of chum salmon has been done since 1880.

母川回帰の性質が強いシロサケ (*Oncorhynchus keta*) では，人為的な移入がなければ河川毎にそれぞれ独立した河川集団を形成し，その集団は異なった遺伝的組成を持つことが予想される。集団の遺伝的構成を解析する手段としては，集団を構成する個体の形態的，生態的特徴を分析する方法があるが，これらの特徴と遺伝性との関係が不明なため有効な方法とは成り得ない。1960年以後発達した電気泳動法を用いたアイソザイム解析は，容易に遺伝子型を推測できるので，この方法のよる集団遺伝学的研究は現在までに数多く行われている。

日本の河川に遡上するシロサケ集団についても，木島・藤尾 (1979; 1981), Okazaki (1982) の報告があり，彼らは特に乳酸脱水素酵素 (LDH)，イソクエン酸脱水素酵素 (IDH) アイソザイムによって集団が特徴づけられると報告している。前述の3報告では，北海道の河川に遡上する幾つか集団についても解析しているが，道東方面で地域的差異が認められるという報告 (Okazaki, 1982) があるものの，北海道全体としては明瞭な差異はなく1つの集団と考えられるとしている (木島・藤尾，1981; Okazaki, 1982)。しかしこれらの報告では，道南地方のシロサケ集団については，利別川，ユーラップ川，厚沢部川の3河川しか調べられておらず，また津軽海峡に注ぐ河川についてはその報告がない。特に函館近郊の茂辺地川は，人工孵化放流が明治13年 (1880) から民間の手で始められ，独自のシロサケ資源が保持されてきたが，その特徴は未だ明らかにされていない。

そこで本研究は，茂辺地川及びその沿岸で捕獲されたシロサケ集団の遺伝的特徴を明らかにすることを目的として，LDH, IDH アイソザイムの泳動パターンを調べ，道東集団及び過去の報告

* 北海道大学水産学部発生学遺伝学講座
(*Laboratory of Embryology and Genetics, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

による北海道の各河川集団と比較した。

材料および方法

本研究に用いたシロサケ集団は，函館湾に注ぐ茂辺地川に遡上した個体及び茂辺地沿岸函館湾内の定置網で捕獲された個体の中から採集し，各々，茂辺地川集団 (Moheji River) 及び茂辺地沿岸集団 (Moheji Coastal Water) とした。これらの集団と比較するため，道東の雄武，網走，標津，別海，白糠沿岸の定置網で捕獲された個体及び標津川，ユーラップ川に遡上した個体を，各々の地域集団として用いた。シロサケ集団を採集した地点は Fig. 1 に，採集した時期，尾数は Table 1 に示した。

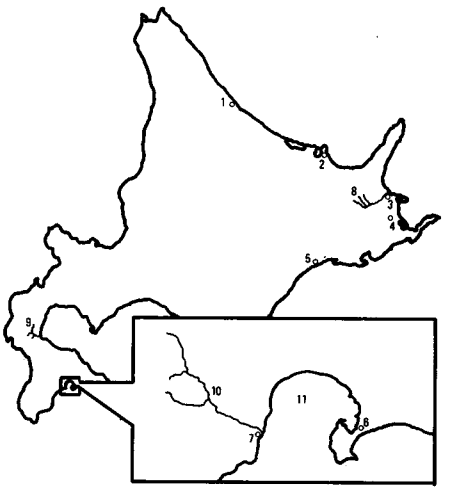

Fig. 1. Map of Hokkaido showing the sampling sites.
(1) Ohmu, (2) Abashiri, (3) Shibetsu, (4) Bekkai, (5) Shiranuka, (6) Hakodate, (7) Moheji, (8) Shibetsu River, (9) Yurap R., (10) Moheji R., (11) Hakodate Bay. Chum salmon were collected at the coastal waters of (1), (2), (3), (4), (5) and (7), and 3 rivers of (8), (9) and (10).

シロサケは捕獲後冷蔵状態で本学部に輸送され，試料として筋肉と肝臓の一部を魚体から取り出し，泳動を行なうまで凍結保存した。泳動には加水分解デンプン (常光産業 Amylan) を用いた。泳動用ゲルはデンプン濃度を 12% とし，緩衝液と混合し，加熱して作った。緩衝液には，筋肉 LDH 用として Ridgway et al. (1970) の緩衝液，肝臓 IDH 用として 0.1 M c-APE pH 6.9 (Clayton and Tretiak, 1972) を用いた。泳動用試料は，凍結保存していた組織の一部に少量の脱イオン水を加え，ピンセットでホモジェナイズした後，再度凍結して，再解凍後に得られる粗抽出液を濾紙片に吸収させ，これをゲルに挿入した。泳動は，0°C, 4 mA/cm² の電流で 3 時間行なった。

LDH と IDH アイソザイムの染色液は，Shaw and Prasad (1970) を改良して用いた。

遺伝子座及び対立遺伝子の命名は Okazaki (1982) にならい，遺伝子頻度は表現型から直接求めた。

結　　果

筋肉の LDH の泳動像は Fig. 2 に示した。LDH アイソザイムは 2 遺伝子座 *Ldh-1*, *-2* に支配され，原点側の *Ldh-1* に 2 つの対立遺伝子 a, b が確認された。肝臓の IDH の泳動像は Fig. 3 に示した。これらの IDH アイソザイムパターンは 2 遺伝子座 *Idh-1*, *-2* に支配され，更に *Idh-2* に 5 つの対立遺伝子 a, b, c, d, e を想定することによって説明できた。

Table 1. Details of sampling sites and date of chum salmon used.

Sampling sites	Station	Date	No. of fish
Moheji R.		Nov. 8, 85	17
		Sep. 29, 86	21
		Oct. 16, 86	19
		Nov. 12, 86	24
		13, 86	21
		Total	102
Moheji C.		Oct. 11, 85	22
		Nov. 6, 85	16
		Sep. 25, 86	20
		Oct. 1, 86	30
		21, 86	17
		25, 86	31
		Nov. 11, 86	21
		Total	157
Okhotsk	Ohmu C.	Sep. 29, 85	6
		Nov. 20, 85	6
	Abashiri C.	Sep. 25, 85	6
		Nov. 14, 85	6
Nemuro	Shibetsu R.	Oct. 6, 85	12
		Nov. 14, 85	6
	Shibetsu C.	Sep. 22, 85	12
		Oct. 6, 85	6
	Bekkai C.	Sep. 16, 85	6
		Oct. 4, 85	6
		Nov. 11, 85	6
		Total	54
Shiranuka C.		Sep. 24, 85	6
		Oct. 30, 85	6
		Nov. 11, 85	6
		Total	18
Yurap R.		Nov. 25, 84	92

R=River, C=Coastal water

集団間の比較は次に述べる集団で行なった。茂辺地の採集個体は85, 86両年捕獲のものを合わせて，茂辺地川遡上集団，沿岸定置網で捕獲した茂辺地沿岸集団，両者を合わせた集団の3集団とした。道東の個体は，雄武・網走を合わせたオホーツク集団，標津・別海を合わせた根室集団，それに白糠集団の3集団とした。これらにユーラップ川集団を加えた計7集団で遺伝的構成の比較を行なった。いずれの集団も観察値は，Hardy-Weinbergの平衡式による期待値とよく近似した。85, 86年の異なる年次間で1集団にまとめた茂辺地についても，年次間で遺伝子頻度に差異があるか否かも検定を行なった結果，有意差はなかった。また，1集団にまとめたオホーツク集団，

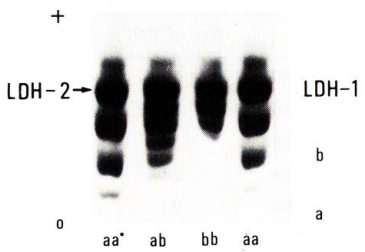

Fig. 2. LDH isozyme patterns of skeletal muscle in chum salmon.
* indicates genotypes of *Ldh-1* locus.

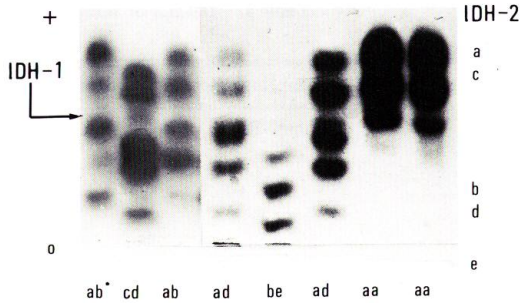

Fig. 3. IDH isozyme patterns of liver of chum salmon.
* indicates genotypes of *Idh-2* locus.

根室集団内の2地点間についても同様にt-検定を行なった結果，標津・別海間の *Idh-2-a* で僅かに差異が認められたが，これは個体数が少ないために偏りがでた影響と思われる。本研究と過去の報告（木島・藤尾，1981, Okazaki, 1982）におけるオホーツク，根室両集団の，*Ldh-1*-a, *Idh-2*-a, *-2*-b の遺伝子頻度を Table 2 に示した（上記の報告におけるオホーツクとは宗谷岬から知床岬，根室とは知床岬から納沙布岬の地域をさす)。本研究による遺伝子頻度の値が，全ての場合で既報の研究結果と大巾には異なってはいないので，この地域を代表させる遺伝子頻度の値として妥当な値と考えた。

以上7集団について，*Ldh-1*, *Idh-2* の各対立遺伝子の遺伝子頻度は Table 3 に示した。*Ldh-1* の対立遺伝子 a の頻度は，道東3集団では，0.833-0.917 であるのに対し，茂辺地集団は 0.632-0.659 と低く，ユーラップ川集団はその中間の値を示した。*Idh-2* の対立遺伝子 a, b の頻度でみてみると，a では道東で 0.417-0.582 に対し，茂辺地では 0.675-0.730 と高く，また b では道東で 0.313-0.472 に対し，茂辺地で 0.245-0.255 と低い値を示した。ユーラップ川集団は両者の間の値を示した。

このように，茂辺地集団と道東集団ではその遺伝子頻度に大きな違いがあると思われるので，*Ldh-1*-a, *Idh-2*-a, *-2*-b の3対立遺伝子頻度を用いて，更に各集団間でt-検定を行なった。検定方法は，藤尾（1985）を参考にした。各集団間のt-検定の結果をまとめて Table 4 に示した。茂辺地3集団は他の4集団と，3対立遺伝子のうち少なくともどれか1つで有意差があり，特に根室，白

Table 2. Comparison of allelic frequencies at the *Ldh-1*-a, *Idh-2*-a and *Idh-2*-b of Okhotsk and Nemuro populations.

	Ldh-1-a	*Idh-2*-a	*Idh-2*-b	reference
Okhotsk	0.833	0.582	0.313	Present
Nemuro	0.843	0.499	0.389	study
Okhotsk	0.726-0.929	0.429-0.516	0.331-0.550	Kijima et al.
Nemuro	0.806-0.831	0.468-0.613	0.355-0.468	(1981)
Okhotsk	0.854-0.949	0.433-0.527	0.287-0.408	Okazaki
Nemuro	0.843-0.849	0.469-0.505	0.388-0.414	(1982)

Table 3. Gene frequencies at the *Ldh-1* and *Idh-2* loci of 7 populathons.

population	N	*Ldh-1*-a	*Idh-2*-a	Idh-2-b	*Idh-2*-c	*Idh-2*-d	*Idh-2*-e
Moheji	259	0.649 ±0.021*	0.697 ±0.020	0.251 ±0.019	0.004 ±0.003	0.044 ±0.009	0.004 ±0.003
Moheji R.	102	0.632 ±0.034	0.730 ±0.031	0.245 ±0.030	0.005 ±0.005	0.015 ±0.009	0.005 ±0.005
Moheji C.	157	0.659 ±0.027	0.675 ±0.026	0.255 ±0.025	0.003 ±0.003	0.064 ±0.014	0.003 ±0.003
Okhotsk	24	0.833 ±0.054	0.582 ±0.071	0.313 ±0.067	0.063 ±0.035	0.042 ±0.029	——
Nemuro	54	0.843 ±0.035	0.499 ±0.048	0.389 ±0.047	0.028 ±0.016	0.065 ±0.024	0.019 ±0.013
Shiranuka	18	0.917 ±0.046	0.417 ±0.082	0.472 ±0.083	——	0.111 ±0.052	——
Yurap R.	92	0.75 ±0.032	0.651 ±0.036	0.315 ±0.035	——	0.034 ±0.014	——

* Standard error
R＝River, C＝Coastal water

Table 4. Matrix of t-test among 7 populations.

	population	1	2	3	4	5	6	7
1.	Moheji							
2.	Moheji R.	−						
3.	Moheji C.	−	−					
4.	Okhotsk	+	+	+				
5.	Nemuro	##	##	##	−			
6.	Shiranuka	##	##	##	−	−		
7.	Yurap R.	+	+	+	−	##	##	

＋: Number of alleles that show the significant difference.
−: No difference.
R＝River, C＝Coastal water

糠集団とは検定に用いた全ての対立遺伝子で有意差があった。

考　　察

木島・藤尾 (1979) は，北海道の利別川，ユーラップ川，厚沢部川について *Ldh-1* と *Idh-2* の対立遺伝子頻度を示している。それによると，*Ldh-1*-a は 0.733-0.955，*Idh-2*-a は 0.500-0.649，*Idh-2*-b は 0.351-0.494 という値を示し，本研究で求められた茂辺地集団の遺伝子頻度との間に差異が認められた。更に木島・藤尾 (1981) は，北海道の 16 河川について同様の遺伝的解析を行なっている。その結果は，*Ldh-1*-a は 0.726-0.929，*Idh-2*-a は 0.429-0.635，*Idh-2*-b は 0.195-0.500 (別寒辺牛川で 0.195 と低く，これを除けば 0.327-0.500) で，茂辺地集団と一部差異が認められない場合もあるが，多くの場合で差異が認められた。一方 Okazaki (1982) は，北海道の 14 河川について同様の解析を行ない，*Ldh-1*-a は 0.829-0.949，*Idh-2*-a は 0.433-0.606，*Idh-2*-b は 0.272-0.435

と，これも多くの場合で茂辺地集団とは差異が認められた。これまでの報告と本研究の結果を総合してみると，茂辺地川及び茂辺地沿岸に回帰するシロサケ集団は，道東をはじめとして現在までに調べられた道内河川のシロサケ集団の多くとは遺伝的組成に差異があることがわかった。これらの報告においては，道南の幾つかの河川についても調べられているがその数は少ない。しかも，津軽海峡に注ぐ河川及びその沿岸に回帰するシロサケ集団の遺伝的組成についての報告は本研究が初めてである。

木島・藤尾 (1981) は，調べた北海道の河川は1つのグループにすることができると報告している。その理由として，移植放流が全道的に行われているため系統間の人為的な遺伝子交換がなされ，遺伝的組成に系統間の明瞭な特徴がみられなくなったことを挙げている。また Okazaki (1982) も，道東方面で根室半島を境に河川分集団間に特徴的差異が認められたとしつつも，北海道内全体としては遺伝的組成に地域による明瞭な差は認められないと報告している。しかし本研究で取り上げた茂辺地集団は，*Ldh-1*, *Idh-2* の2座から判断すると道東集団あるいは北海道の他の地域の集団とは異なった遺伝的組成を持つことは明らかである。この理由として，茂辺地川での人工孵化放流が北海道で最も早くから始められ，種苗を他河川に依存することなく独自の資源を保持してきたためと考えられる。

本研究では，茂辺地集団を採集時期に関係なく1集団として扱ったが，時期別にみると遺伝子頻度に多少の変動がみられる。これは，4年前から茂辺地川にも道東からの卵移植が行なわれておりその影響と考えられる。移植個体が回帰し再生産が行われるとすればこの先，茂辺地川集団の遺伝子頻度も道東集団のそれと差異がなくなっていくと考えられる。この点については，地域の特性を持つ有用な集団を育成する上から今後更に継続的な調査が必要である。

謝　　辞

本研究を行なうにあたって終始御助言を頂いた北海道大学水産学部助教授後藤晃博士，山羽悦郎助手に深謝の意を表します。また，材料の採集に協力していただいた同学部食品化学第一講座の羽田野六男教授をはじめとする研究室の皆様，雄武，網走，標津，白糠，茂辺地の各漁業協同組合の皆様，北海道さけます孵化場渡島支場の皆様，及び同学部発生学遺伝学講座の学生諸氏に心から感謝いたします。

文　　献

Clayton, J.W. and Tretiak, D.N. (1972). Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **29**, 1169-1172.

藤尾芳久 (1985). アイソザイム解析手法による魚介類の遺伝的特性の解明に関する研究. 昭和59年度農林水産業特別試験研究費補助金による研究報告書. 58p.

木島昭博・藤尾芳久 (1979). シロサケ集団における IDH 及び LDH アイソザイムの地理的分布. 日本水産学会誌 **45**, 287-295.

木島昭博・藤尾芳久 (1981). 北海道におけるシロサケの河川集団の遺伝的組成. 水産育種 **6**, 40-43.

Okazaki, T. (1982). Genetic study on population structure in chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Bull. Far. Seas Fish. Lab.* **19**, 25-116.

Ridgway, G.L., Sherburne, S.W. and Lewis, R.D. (1970). Polymorphism in the esterases of Atlantic herring. *Trans. Am. Fish. Soc.* **99**, 147-151.

Shaw, C.R. and Prasad, R. (1970). Starch gel electrophoresis of enzymes — A compilation of recipes. *Biochem. Genet.* **4**, 297-320.