

日本系サケの遺伝的個体群構造

佐藤 俊平*・浦和 茂彦*

Genetic structure of chum salmon populations in Japan

Shunpei SATO, and Shigehiko URAWA *

Abstract: We examined the genetic structure of Japanese chum salmon populations using 20 allozyme markers. A total of 2,447 individuals from 35 populations of Hokkaido and northern Honshu was used to estimate mean allelic richness, observed (H_O) and expected (H_E) heterozygosities, a neighbor-joining (N-J) phylogeny, average pairwise F_{ST} values, and to conduct analysis of molecular variance (AMOVA). Some of these parameters were compared with the average number of alleles (A), mean effective number of alleles (A_e), and H_E calculated based on allelic frequency data from microsatellite DNA marker analysis of Japanese chum salmon. In our allozyme study, H_O and H_E values of chum salmon populations in Honshu (H_O , 0.200; H_E , 0.199) were larger than those of Hokkaido (H_O , 0.186; H_E , 0.190). In contrast, the A , A_e , and H_E values calculated with the reported microsatellite data were larger in the populations of Hokkaido (A , 27.5; A_e , 15.7; H_E , 0.917) than those of Honshu (A , 24.2; A_e , 14.2; H_E , 0.908). Both the N-J tree and AMOVA analysis with the allozyme data suggested seven regional groups, five in Hokkaido and two in Honshu. Furthermore, F_{ST} estimates demonstrated genetic differentiation between Hokkaido and Honshu regions (0.014-0.034). Similar genetic population structure was suggested by the N-J tree and F_{ST} estimates with the microsatellite data. The historical genetic characteristics or the remnants of past population structure in Japanese chum salmon remain intact, despite the hatchery program operating more than 120 years.

Key words: chum salmon, genetic structure, genetic differentiation, allozyme, previous microsatellite data

日本系サケ *Oncorhynchus keta* の遡上・産卵は毎年8月-9月頃から始まり, 11-12月, 時には1月頃まで続くとされる (佐野, 1966)。冬から初春にかけてふ化・浮上した後, 淡水で越冬することなく全ての個体が河川を降り, おおむね2-7年 (中心は3-5年) の間, 夏から秋にかけてはベーリング海で索餌回遊を, 冬は北西北太平洋 (海洋生活1年目) もしくはアラスカ湾 (海洋生活2年目以降) で越冬を繰り返しながら成長する。そして成熟すると自分が生まれた川に回帰し産卵する遡河回遊型の生活史を持つことで知

られている (詳しくは浦和, 2000, 2015を参照)。サケを含む太平洋サケ属は高い母川回帰能力を持つことから, それぞれの母川あるいは地域環境に適応した特性を持ち, 遺伝的に異なる個体群が成立していると推測される (Quinn, 1993; Eliason *et al.*, 2011)。また, 個体群内でも個体間で高い遺伝的変異性が見られることから, サケは個体群間の遺伝的分化と個体群内の遺伝的変異性の二つにより種内の遺伝的多様性を高度に維持していると考えられる。

一方, サケは日本, とりわけ北日本における重要な

2014年11月14日受理 (Received on November 14, 2014)

* 独立行政法人水産総合研究センター北海道区水産研究所 〒062-0922 札幌市豊平区中の島2条2丁目 (Hokkaido National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, 2-2 Nakanoshima, Toyohira-ku, Sapporo 062-0922, Japan)

水産対象種である。北太平洋遡河性魚類委員会 (North Pacific Anadromous Fish Commission, NPAFC) 加盟5カ国 (カナダ・韓国・日本・ロシア・米国) で2010年に商業漁獲されたサケの総漁獲尾数は91,031千尾であるが、このうち日本における商業漁獲尾数は45,183千尾であり、全体の49.6%が日本で漁獲されたサケで占められている (NPAFC Statistical Yearbook, <http://www.npafc.org>)。日本のサケ資源の多くは、基本的にふ化放流をベースとする増殖事業により造成されてきた。1888年の千歳中央孵化場の開場以来、過去100年以上にわたりふ化放流事業が実施されてきたが、特に1970年代から始まった放流数の増加に合わせて、日本におけるサケの来遊数は右肩上がりに急伸した。例えば、1970年は放流数が約5億尾、来遊数が約600万尾であったが、10年後の1980年には放流数が約18億尾、来遊数は約2,000万尾と飛躍的に増加している (佐藤, 2011)。これ以降、1990年代半ばまで放流数は一定にもかかわらず来遊数が増加を続けるという現象が見られるが、少なくとも1970年代から1980年代のサケの来遊数増加には、ふ化放流技術の向上と放流数の増加が大きく貢献していると考えられている (Kobayashi, 1980; Mayama and Ishida, 2003)。

ふ化放流事業にともなう種苗放流が日本系サケの資源造成に一定の効果を示す一方で、大量の種苗を自然界に放流することで生態系に対し負の影響があることを指摘する声が以前より存在する (例えばHilborn, 1992)。特に遺伝的多様性や野生個体群への遺伝的影響が強く懸念されており、さけます類においてもふ化場魚が野生魚の個体群に遺伝的な悪影響を及ぼしているのではないかという議論は長く続いている (Kitada and Kishino, 2004)。また近年では、ふ化場魚と野生魚の競合がそれらの遺伝的特性・生態的特性および行動特性に影響する可能性が、サケ科魚類に関するいくつかの研究において示唆されている (Grant, 2012を参照)。現在、日本から放流されるサケ稚魚は毎年約18億尾で、北太平洋全体におけるサケ放流総数 (約31億尾) の約58%を占めている (NPAFC Statistical Yearbook)。毎年大量のふ化場由来のサケ稚魚を北太平洋の生態系に放出している以上、日本は生態系への影響に対して責任ある対応をしなければならない。この様な中、日本では2012年9月に「生物多様性国家戦略2012-2020」が閣議決定された。この中でさけます増殖事業は「北太平洋の生態系と調和を図り、生物として持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開発の高度化を図り、河川及びその周辺の生態系にも配慮した、さけます増殖事業を推進する」

と明記されている。つまり、生態系を保全し、さけます類の遺伝的多様性を維持するようなふ化放流事業 (増殖) を実行することが求められている。

生物多様性国家戦略で求められているふ化放流事業を展開するためには、現在の日本系サケの遺伝的個体群構造の状況を正確に把握する必要がある。海外におけるサケの遺伝的個体群構造に関する研究は、アロザイム (Phelps *et al.*, 1994; Winans *et al.*, 1994; Wilmot *et al.*, 1998; Seeb and Crane, 1999) やミトコンドリアDNA (Cronin *et al.*, 1993; Park *et al.*, 1993; Brykov *et al.*, 2000; Sato *et al.*, 2004; Yoon *et al.*, 2008), ミニサテライト (Taylor *et al.*, 1994), マイクロサテライト (Beacham *et al.*, 2008b; Beacham *et al.*, 2009), 一塩基多型 (Single nucleotide polymorphism, SNP) (Seeb *et al.*, 2011) といった様々な遺伝マーカーを用いて以前より取り組まれてきた。一方、日本系サケ個体群に注目して研究が行われた事例は、1980年代にアロザイム分析 (Kijima and Fujio, 1982; Okazaki, 1982, 1983) が行われて以降、ミトコンドリアDNA (Sato *et al.*, 2001) やマイクロサテライト (Beacham *et al.*, 2008a) による分析結果が出ているだけであり、国外と比較し情報が少ない。そこで本研究では、これまで北海道水産研究所 (当時、水産庁北海道さけ・ますふ化場および独立行政法人さけ・ます資源管理センター) がアロザイム20遺伝子座を用いて分析してきた日本系サケ個体群の遺伝データを元に、その遺伝的個体群構造について解析した。またBeacham *et al.* (2008a) がマイクロサテライト14遺伝子座を用いて日本系サケについて分析した結果の一つである遺伝子頻度データを利用し、いくつかの集団遺伝学的解析を行った。さらに、Beacham *et al.* (2008a) の既出データ (系統樹およびPairwise F_{ST}) の結果を引用し、今回のアロザイム分析の結果と比較することで、日本系サケの地域個体群を明らかにすることを目的とした。

試料と方法

アロザイム分析

分析個体群および標本処理 今回の分析に用いた日本系サケ個体群をFig. 1 およびTable 1に示す。アロザイム分析には25河川35個体群 (北海道17河川25個体群, 本州8河川10個体群) から採集したサケ2,447個体を用いた。採集したサケはいずれも母川に回帰した親魚であった。

各河川に遡上したサケ親魚より肝臓、心臓および筋肉を採集し、 -80°C で冷凍保存した。それぞれの組織標本はAbersold *et al.* (1987) に従い処理し、ス

ターチゲルを用いた電気泳動により遺伝子座の分離と遺伝子型の決定を行った。各遺伝子座および対立遺伝子の名称はShaklee *et al.* (1990) に従った。分析した遺伝子座は *sAAT-3**, *sAH**, *MAH-3**, *ALAT**, *ESTD**, *FH**, *bGALA**, *GAPDH-2**, *G3PDH-2**, *bHEX**, *IDDH-2**, *mIDHP-1**, *LDH-A1**, *sMDH-A1**, *mMEP-2**, *sMEP-1**, *MPI**, *PEP-LT**, *PEPB-1**, *PGDH**の20種類である。

統計処理 アロザイム分析に用いた各個体群のアレリックリッチネス (AR) をFSTAT version 2.9.3.2 (Goudet, 1995) を用いて、ヘテロ接合率の観察値 (H_0)

および期待値 (H_E) をGenepop version 4.0 (Rousset, 2008) を用いてそれぞれ計算した。また, AR, H_0 および H_E の統計的有意性についてもFSTAT version 2.9.3.2 を用いて算出した。各個体群におけるHardy-Weinberg平衡 (HWE) の適合検定をMarkov-chain法によるFisher's testを用いて行った。またアロザイム分析に用いた各遺伝子座あたりのAR, 平均 H_0 および H_E をそれぞれFSTAT version 2.9.3.2 で計算し, HWEの適合検定を Genepop version 4.0を用いて実施した。各個体群および各遺伝子座のHWEの検定時に求めた確率には, Bonferroni補正 (Rice, 1989) をほどこした。

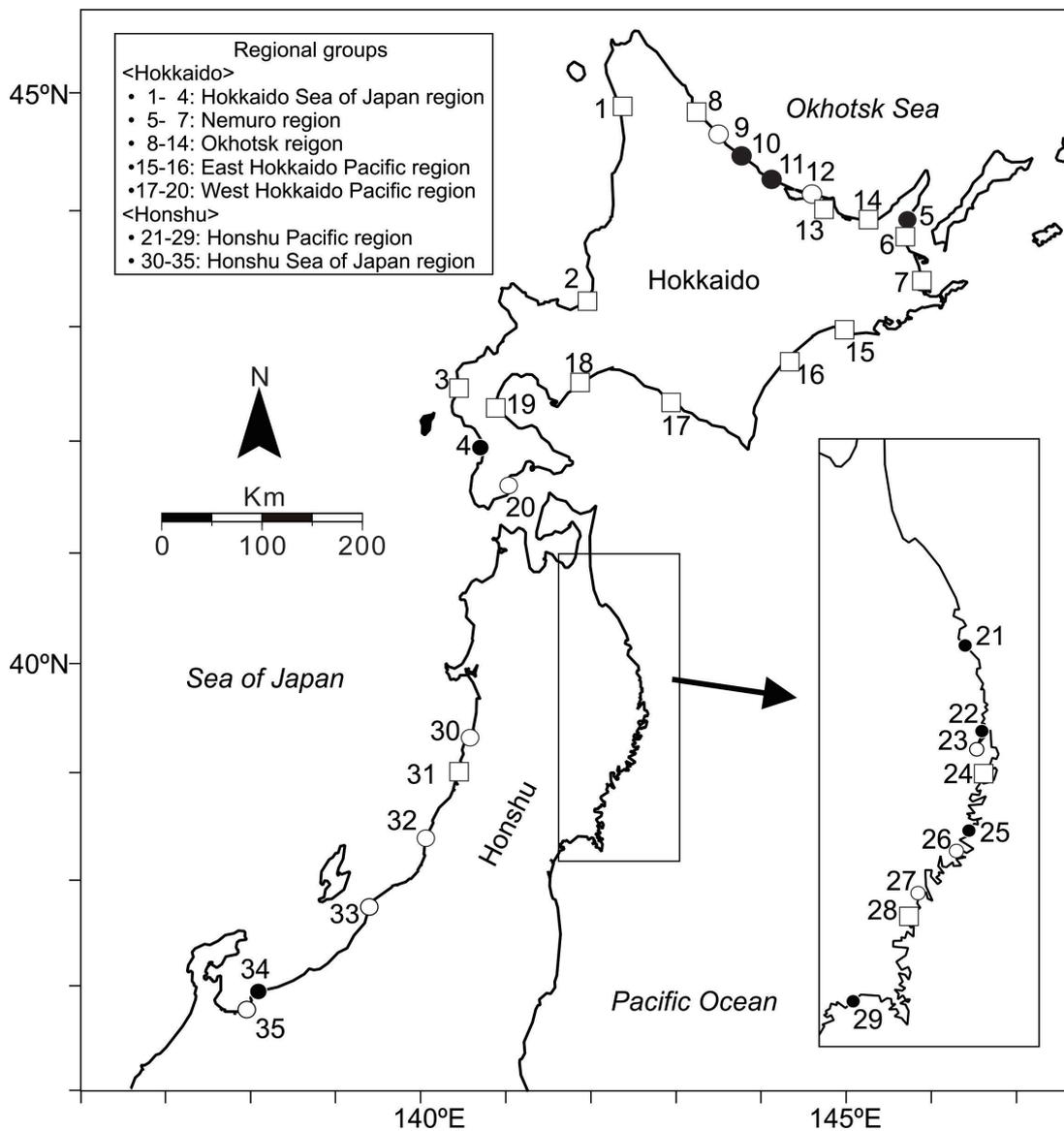


Fig. 1. Map of sampling locations for chum salmon populations examined using allozyme and microsatellite markers (open rectangles), only allozyme markers (closed circles), and only microsatellite markers (open circles) in Japan. Numbers of the sampling locations correspond to those named in Table 1.

Table 1. Sampling location, reporting region, date of collection, and numbers of Japanese chum salmon samples (*n*) used for allozyme and microsatellite genotyping. Sampling location of microsatellite are referred from Beacham *et al.* (2008a).

Sampling location	Allozyme		Microsatellite	
	Date of collection	<i>n</i>	Date of collection	<i>n</i>
Hokkaido Island				
Hokkaido Sea of Japan region				
1. Teshio River	Oct. 17, 2005	40	1991	20
			Oct. 7, 2003	80
2. Chitose River	Sep. 17, 1997	80	1990	70
	Oct. 17, 1997	40	1991	50
	Nov. 10, 1997	80	Oct. 7 & Dec. 5, 2003	160
3. Teshibetsu River	Sep. 27, 1990	80	Sep. 27, 1990	60
4. Assabu River	Sep. 28, 1990	79		
Nemuro region				
5. Ichani River	Oct. 6, 2005	40		
6. Shibetsu River	Oct. 10, 2003	80	Oct. 9, 1988	10
			1991	20
			Oct. 10, 2003	80
7. Nishibetsu River	Sep. 25, 1997	80	Oct. 22, 1997	80
	Nov. 17, 1997	80		
Okhotsk region				
8. Tokushibetsu River	Sep. 23, 1997	80	Oct. 27, 1997	80
	Nov. 14, 1997	40	October, 2004	80
9. Horonai River			Oct. 22, 1992	50
10. Shokotsu River	Sep. 22, 1992	80		
11. Yubetsu River	November, 1992	80		
12. Tokoro River			Nov. 11, 1988	9
			Oct. 2, 2005	110
13. Abashiri River	Oct. 19, 1998	80	Oct. 21, 1992	50
			Oct. 19, 1998	80
14. Shari River	Oct. 11, 2001	38	Oct. 11, 2001	80
	Oct. 31, 2001	40		

Table 1. Continued.

Sampling location	Allozyme		Microsatellite	
	Date of collection	<i>n</i>	Date of collection	<i>n</i>
East Hokkaido Pacific region				
15. Kushiro River	Oct. 22, 1998	80	Oct. 22, 1998	80
16. Tokachi River	Sep. 26, 1997	80	Oct. 16, 1991	50
	Nov. 20, 1997	80	Oct. 22, 2002	80
West Hokkaido Pacific region				
17. Shizunai River	October, 1991	80	Oct. 17, 2002	80
18. Shikyu River	October, 1991	80	Nov. 25, 1998	80
19. Yurappu River	Sep. 24, 1997	80	Sep. 24, 1997	80
	Oct. 15, 1997	80	Nov. 17, 1997	80
	Nov. 17, 1997	80		
20. Shiriuchi River			Sep. 29, 1990	80
			Nov. 4, 1998	80
Honshu Island				
Honshu Pacific region				
21. Akka River	Oct. 25, 1995	80		
22. Hei River	Oct. 25, 1996	45		
23. Tsugaruishi River			Dec. 8, 1999	80
24. Orikasa River	Oct. 24, 1996	80	Oct. 24, 1996	80
25. Katagishi River	Nov. 22, 1995	79		
26. Sakari River			Nov. 19, 1997	80
27. Oh River			Dec. 6, 1989	19
28. Koizumi River	Nov. 21, 1996	80	Nov. 21, 1996	80
29. Naruse River	November, 1995	80		
Honshu Sea of Japan region				
30. Kawabukuro River			Nov. 13, 1990	70
			Nov. 18, 1997	50
31. Gakko River	Oct. 21, 1997	40	Oct. 25 & Dec. 16, 2003	160
	Dec. 3, 1997	46		
	Dec. 7, 2000	80		

Table 1. Continued.

Sampling location	Allozyme		Microsatellite	
	Date of collection	<i>n</i>	Date of collection	<i>n</i>
32. Miomote River			Nov. 6, 1989	76
			1991	19
33. Uono River			Oct. 23-24, 1996	80
34. Kurobe River	Oct. 31, 1996	80		
35. Hayatsuki River			Nov. 10, 1990	76

さらに各個体群におけるアロザイム20遺伝子座の遺伝子頻度についてもGenepop version 4.0を用いて計算した。

個体群間の遺伝構造を明らかにするため、Populations 1.2.30 (Langella, 1999) を用いてCavalli-Sforza and Edwards' の遺伝距離 (Cavalli-Sforza and Edwards, 1967) を求め、NJPLOT (Perriere and Gouy, 1996) を使用して近隣結合法 (Saitou and Nei, 1987) による系統樹作成を行った。作成した系統樹の結果に従い個体群をグループ分けするとともに、それをもとに分子分散分析 (Analysis of Molecular Variance, AMOVA) を行い、個体群の地理的階層性を明らかにした。AMOVAにより示された地域間の遺伝的分化の程度を明らかにするため、個体群間のPairwise F_{ST} を求め、それを地域間で平均し比較した。AMOVAの計算にはArlequin version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010) を、Pairwise F_{ST} の計算にはGenepop version 4.0をそれぞれ用いた。

マイクロサテライト

Beacham *et al.* (2008a) がマイクロサテライト分析を行った26河川39個体群 (北海道16河川27個体群, 本州10河川12個体群) についてFig. 1およびTable 1に再掲する。合計2,729個体のサケ親魚が分析に使用され、このうち13河川で採集時期の異なる標本が含まれている。採集時期の異なる標本は、Waples (1990) に従い全ての採集時期をまとめて1つの河川個体群と見なして分析されている。

本研究では、Beacham *et al.* (2008a) および Beacham *et al.* (2009) で示されたマイクロサテライト14遺伝子座の遺伝子頻度データを利用し、各個体群の平均アレル数 (A), 有効対立遺伝子数 (A_e), および H_E をそれぞれ以下の式に従い計算した。

$$A = al/L$$

$$A_e = 1/\sum pi^2$$

$$H_E = 1-\sum pi^2$$

(ただし、 al は解析した全遺伝子座の対立遺伝子数、 L は解析した遺伝子座数、 pi は対立遺伝子 i の頻度をそれぞれ示す)。用いた遺伝子頻度データはカナダ水産海洋省 (Fisheries and Ocean Canada) の Pacific Biological Stationが運営するウェブサイト内にあるMolecular Genetic Lab Online Dataから取得した (<http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/science/facilities-installations/pbs-sbp/mgl-lgm/data-donnees/index-eng.html>)。また個体群間の系統樹および地域間の Pairwise F_{ST} は、Beacham *et al.* (2008a) 内で示されたデータを著者および出版社の許可を得た上で改変・引用した。

結果

アロザイムマーカーの遺伝的変異性 分析に用いたアロザイム20遺伝子座のARの平均、 H_E と H_0 の平均、ならびにHWE検定の p 値をTable 2に、遺伝子頻度をAppendixに示す。ARは全体で1.988 (範囲は1.499–2.698, 以下同じ) を示し、20遺伝子座全てで多型性を示した。 H_E の平均は0.192 (0.030–0.476), H_0 の平均は0.190 (0.031–0.520) を示した。HWEの適合検定の結果、全ての遺伝子座で逸脱は見られなかった (Table 2)。

個体群間の遺伝的変異性 アロザイム20遺伝子座を用いて分析した日本系サケ35個体群において、HWEの適合検定を行ったところ、斜里川01年10月個体群を除く全ての個体群で逸脱は見られなかった (Table 3)。各個体群のARの平均の範囲は1.856-2.217で、北海

道の個体群では 1.995 ± 0.446 (平均 \pm 標準偏差, 以下同じ), 本州の個体群では 1.972 ± 0.489 , 日本全体では 1.988 ± 0.455 であった。また, 北海道の個体群と本州の個体群におけるARの平均に有意差は見られなかった ($p=0.461$)。一方, 各個体群における H_E および H_O の平均の範囲は $0.116 - 0.226$ および $0.087 - 0.216$ で, 北海道の個体群では 0.190 ± 0.165 および 0.186 ± 0.164 , 本州の個体群では 0.199 ± 0.170 および 0.200 ± 0.178 , 日本全体では 0.193 ± 0.166 および 0.190 ± 0.168 であった (Table 3)。また北海道の個体群と本州の個体群における H_E の

平均に有意差は見られなかったが ($p=0.127$), H_O の平均では有意差が見られた ($p < 0.05$)。

一方, マイクロサテライト14遺伝子座の遺伝子頻度データを利用して計算した, 各個体群におけるAの平均の範囲は $14.6 - 31.9$ を示し, 北海道の個体群の平均は 27.5 ± 2.6 , 本州の個体群の平均は 24.2 ± 3.2 , 日本全体の平均は 26.3 ± 2.8 であった (Table 4)。各個体群における A_e の範囲は $9.7 - 16.9$ を示し, 北海道の個体群では 15.7 ± 8.1 , 本州の個体群では 14.2 ± 6.3 , 日本全体では 15.1 ± 7.4 であった。また北海道の個体群および本

Table 2. 20 allozyme loci examined in the populations of Japanese chum salmon. The mean allelic richness (AR), expected (H_E) and observed (H_O) heterozygosities, and P value of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) test over all populations for each allozyme are provided. Critical significance levels ($0.05/35=0.0014$) for HWE tests were evaluated using Bonferroni adjustment (Rice 1989).

Locus	AR	Mean H_E	Mean H_O	HWE- p value
<i>sAAT-3*</i>	2.149	0.476	0.453	0.694
<i>sAH*</i>	1.499	0.030	0.031	1.000
<i>mAH-3*</i>	2.000	0.486	0.520	0.006
<i>ALAT*</i>	2.000	0.307	0.296	0.330
<i>ESTD*</i>	2.036	0.419	0.425	0.639
<i>FH*</i>	2.267	0.088	0.091	1.000
<i>bGALA*</i>	2.059	0.106	0.095	0.050
<i>GAPDH-2*</i>	1.634	0.039	0.039	1.000
<i>G3PDH-2*</i>	1.664	0.046	0.046	1.000
<i>bHEX*</i>	1.999	0.225	0.224	0.969
<i>IDDH-2*</i>	1.841	0.043	0.044	1.000
<i>mDHP-1*</i>	2.053	0.192	0.185	0.914
<i>LDH-A1*</i>	2.000	0.271	0.248	0.378
<i>sMDH-A1*</i>	1.999	0.209	0.201	0.971
<i>mMEP-2*</i>	2.027	0.199	0.199	0.999
<i>sMEP-1*</i>	1.621	0.040	0.038	0.999
<i>MPI*</i>	1.851	0.078	0.074	1.000
<i>PEP-LT*</i>	2.666	0.172	0.169	1.000
<i>PEPB-1*</i>	2.698	0.386	0.381	0.240
<i>PGDH*</i>	1.704	0.037	0.039	1.000
Overall	1.988	0.193	0.190	

Table 3. Diversity indices for the 35 Japanese populations of chum salmon using 20 allozyme markers. Measures of genetic diversity within each population are the mean allelic richness (AR), expected (H_E) and observed (H_o) heterozygosities, and p value of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) test. Standard deviation of mean AR, H_E , and H_o of Hokkaido, Honshu, and Japan in parentheses. Critical significance levels ($0.05/20=0.0025$) for HWE tests were evaluated using Bonferroni adjustment (Rice 1989).

Population	AR	Mean H_E	Mean H_o	HWE- p value
Teshio05	2.053	0.205	0.188	0.983
Chitose97-Sep	2.073	0.201	0.205	0.989
Chitose97-Oct	2.052	0.204	0.197	0.975
Chitose97-Nov	2.044	0.190	0.186	0.990
Toshibetsu90	2.217	0.226	0.212	0.807
Assabu90	2.045	0.200	0.196	0.886
Shibetsu03	2.046	0.191	0.187	0.948
Nishibetsu97-Sep	1.907	0.185	0.184	1.000
Nishibetsu97-Nov	1.957	0.186	0.195	0.504
Ichani05	2.050	0.187	0.185	0.815
Tokushibetsu97-Sep	1.963	0.194	0.176	0.318
Tokushibetsu97-Nov	1.964	0.206	0.214	0.963
Yubetsu92	1.911	0.187	0.188	0.976
Shokotsu92	1.899	0.194	0.186	0.925
Abashiri98	1.996	0.197	0.183	0.976
Shari01-Oct	1.856	0.116	0.087	<0.001
Shari01-Nov	1.963	0.185	0.179	0.995
Kushiro98	1.965	0.179	0.181	0.999
Tokachi97-Sep	1.954	0.181	0.178	0.941
Tokachi97-Nov	2.003	0.192	0.188	0.924
Shikyu91	1.982	0.189	0.204	0.858
Shizunai91	2.057	0.181	0.172	0.955
Yurappu97-Sep	1.914	0.192	0.188	0.997
Yurappu97-Oct	2.061	0.183	0.189	0.997
Yurappu97-Nov	1.938	0.196	0.194	0.542
Akka95	1.992	0.202	0.202	0.996

Table 3. Continued.

Population	AR	Mean H_E	Mean H_O	HWE- p value
Hei96	1.899	0.182	0.187	0.943
Orikasa96	1.982	0.194	0.199	1.000
Katagishi95	1.865	0.204	0.222	0.018
Naruse95	1.975	0.196	0.196	0.998
Koizumi96	1.989	0.216	0.215	0.738
Gakko97-Oct	2.003	0.191	0.183	0.979
Gakko97-Dec	1.934	0.198	0.188	0.848
Gakko00-Dec	1.921	0.199	0.204	0.911
Kurobe96	2.160	0.209	0.206	0.941
Hokkaido	1.995 (0.446)	0.190 (0.165)	0.186 (0.164)	
Honshu	1.972 (0.489)	0.199 (0.170)	0.200 (0.178)	
Japan	1.988 (0.455)	0.193 (0.166)	0.190 (0.168)	

州の個体群におけるAおよびAeで統計的な有意差が見られた (Mann-Whitney U検定, A: $p < 0.05$, Ae: $p < 0.05$)。一方, 各個体群における H_E の平均の範囲は0.865–0.924で, 北海道の個体群では 0.917 ± 0.048 , 本州の個体群では 0.908 ± 0.058 , 日本全体では 0.913 ± 0.052 であった。また北海道の個体群および本州の個体群における H_E の平均に統計的な有意差は見られなかった (Mann-Whitney U検定, $p = 0.263$)。

日本系サケの遺伝的個体群構造 アロザイム分析に用いた35個体群について近隣結合法による系統樹を作成したところ, 基本的に北海道地域と本州地域に明確に分かれた (Fig. 2)。北海道では, 厚沢部川個体群を除く北海道日本海地域の個体群と本州日本海地域の個体群である月光川97年10月個体群および黒部川個体群が同じクラスターを形成し, それらは北海道の他地域と明確に分かれた。オホーツク地域の個体群は東部地域 (斜里川・網走川) および西部地域 (徳志別川・湧別川・渚滑川) でそれぞれクラスターを形成し, 根室地域の個体群は遊楽部川97年9月個体群とともにまとまった。一方, 太平洋地域ではえりも以東地域にある釧路川個体群と十勝川97年11月個体群およびえりも以

西地域にある静内川個体群と遊楽部川97年10月個体群がそれぞれクラスターを形成したが, 十勝川97年9月個体群 (えりも以東地域) および敷生川個体群 (えりも以西地域) はまとまらなかった。本州太平洋地域では閉伊川個体群を除く全ての個体群が同じクラスターを形成したのに対し, 本州日本海地域では月光川97年12月個体群と00年12月個体群が遊楽部川97年11月個体群とまとまった。

Beacham *et al.* (2008a) で示された近隣結合法による30個体群 (日本26個体群, ロシア1個体群, 北米3個体群) の系統樹をFig. 3に改変・再掲する。日本系サケ26個体群とロシア・北米系サケ4個体群は別々のクラスターを形成した。さらに日本系サケは, 北海道5地域個体群 (北海道日本海・オホーツク・根室・えりも以東・えりも以西) および本州2地域個体群 (本州太平洋と本州日本海) の合計7地域個体群にまとまったが, 北海道オホーツク地域に位置する幌内川個体群, 本州日本海地域に位置する川袋川個体群および早月川個体群はそれぞれ本来の地域個体群とクラスターを形成しなかった。また, アロザイム分析で見られたような北海道地域と本州地域の明確な分離は確認されなかった。

Table 4. Diversity indices for the 26 Japanese populations of chum salmon using allelic frequency data from previous study of microsatellite analyses (Beacham *et al.*, 2008a). Measures of genetic diversity within each population are the average number of alleles (A), mean effective number of alleles (A_e), and expected heterozygosity (H_E). Standard deviation of mean A, A_e, and H_E of Hokkaido, Honshu, and Japan in parentheses.

Population	A	Mean A _e	Mean H _E
Teshio River	26.4	16.3	0.920
Chitose River	31.9	15.4	0.922
Toshibetsu River	23.8	14.4	0.903
Shibetsu River	28.9	15.3	0.922
Nishibetsu River	26.7	16.7	0.915
Tokushibetsu River	29.4	15.5	0.916
Horonai River	21.3	14.1	0.909
Tokoro River	29.0	16.7	0.921
Abashiri River	29.5	16.4	0.916
Shari River	23.9	13.0	0.906
Kushiro River	25.2	14.8	0.915
Tokachi River	29.1	16.3	0.921
Shizunai River	28.4	16.8	0.924
Shikyu River	26.4	16.0	0.916
Yurappu River	30.4	16.9	0.922
Shirouchi River	30.1	16.8	0.918
Tsugaruishi River	23.8	14.0	0.905
Orikasa River	25.2	14.8	0.916
Sakari River	24.1	13.2	0.902
Oh River	14.6	9.7	0.865
Koizumi River	23.7	14.0	0.907
Kawabukuro River	28.4	16.2	0.921
Gakko River	28.9	15.6	0.921
Miomote River	27.5	16.8	0.922
Uono River	21.9	12.9	0.906
Hayatsuki River	24.4	14.7	0.917
Hokkaido	27.5 (2.6)	15.7 (8.1)	0.917 (0.048)
Honshu	24.2 (3.2)	14.2 (6.3)	0.908 (0.058)
Japan	26.3 (2.8)	15.1 (7.4)	0.913 (0.052)

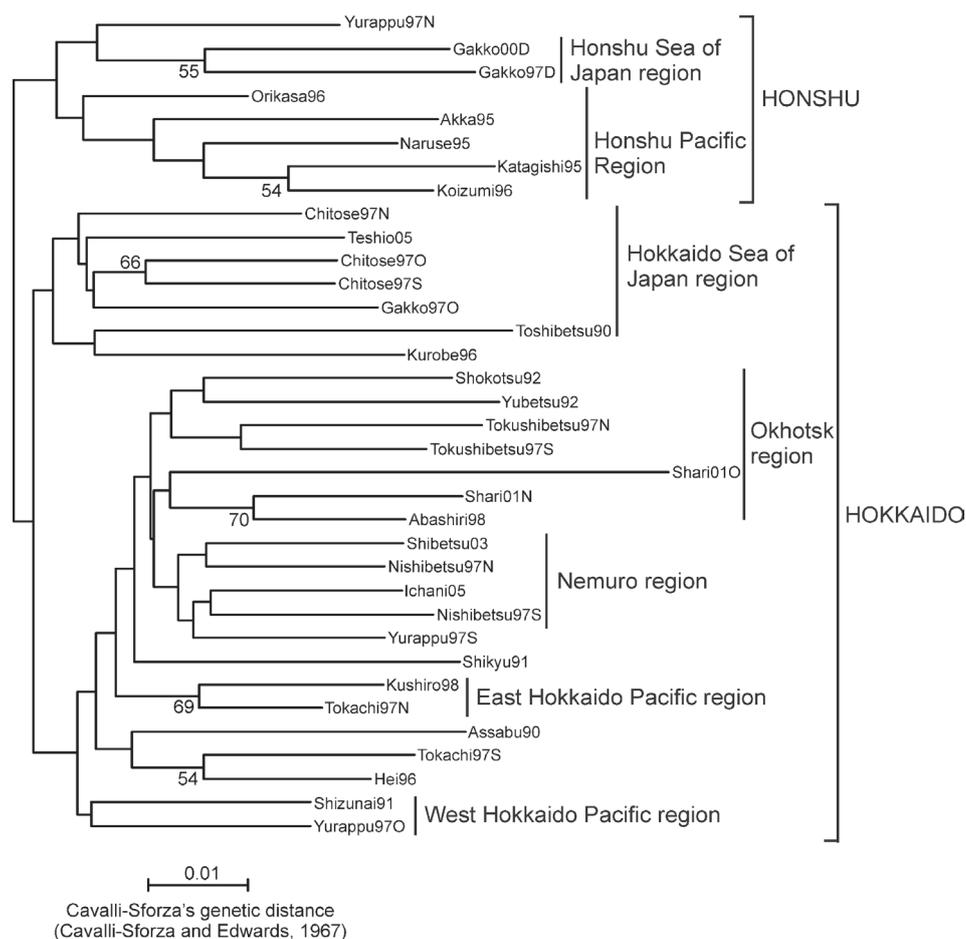


Fig. 2. Neighbor-joining tree based on Cavalli-Sforza's genetic distance for 35 populations of chum salmon surveyed at 20 allozyme loci. Bootstrap values greater than 50% are shown. The sampling year and month (S, September; O, October; N, November; D, December) are coded after river name.

日本系サケの地域個体群間における遺伝的差異 アロザイム分析を行った35個体群について、その地理的階層性を明らかにするためAMOVAを行った (Table 5)。その結果、個体群内での遺伝的変異性が最も高かったものの (98.28%, $p < 0.001$)、系統樹分析で示された7地域個体群間においても弱いながらも有意な遺伝的分化が確認された (0.95%, $p < 0.001$)。Pairwise F_{ST} の平均を求め、7地域個体群内および個体群間の遺伝的分化の程度を調べたところ、地域個体群内の値 (平均0.009, 範囲0.002–0.019) よりも地域個体群間の値 (平均0.019, 範囲0.006–0.034) が大きかった (Table 6A)。特に、北海道地域と本州太平洋地域の間でより強い遺伝的分化が確認された (平均0.021, 範囲0.014–0.034)。

Beacham *et al.* (2008a) で示された7地域個体群内

および個体群間のPairwise F_{ST} の平均値をTable 6Bに改変・掲載する。アロザイム分析と同様に、地域個体群内の値 (平均0.005, 範囲0.002–0.007) よりも地域個体群間の値 (平均0.010, 範囲0.004–0.016) が大きかった。また北海道地域と本州太平洋地域の間における強い遺伝的分化も、アロザイム分析と同様に確認された (平均0.015, 範囲0.011–0.016, Table 6B)。

考察

本研究では日本系サケ個体群について、アロザイム20遺伝子座を遺伝マーカーに用いて遺伝的変異性を求めるとともに、系統樹作成やAMOVA分析などを行い、その遺伝的個体群構造を調べた。また、Beacham *et al.* (2008a) が日本系サケについてマイクロサテラ

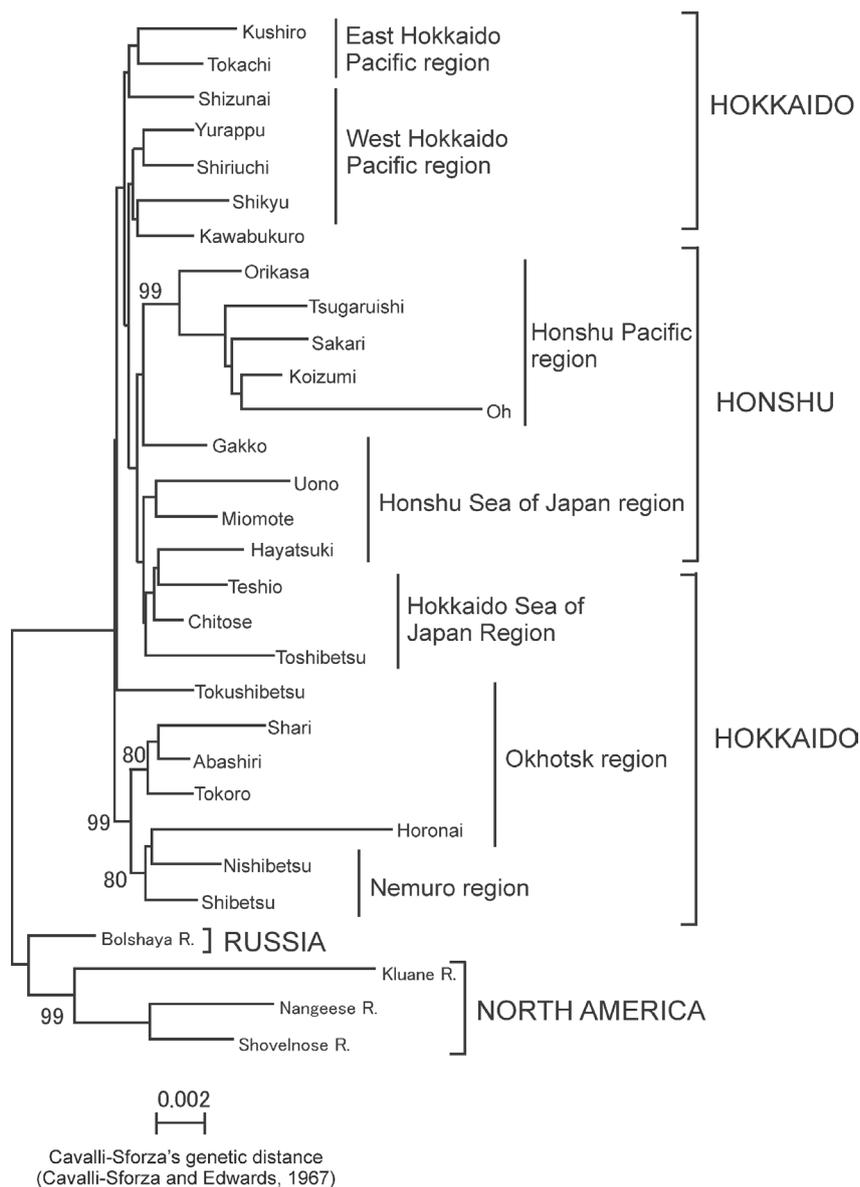


Fig. 3. Neighbor-joining tree based on Cavalli-Sforza's genetic distance for 27 populations of chum salmon surveyed at 14 microsatellite loci. Figure referred and modified to Beacham *et al.* (2008). Bootstrap values greater than 50% are shown.

イト14遺伝子座を用いて示した遺伝子頻度データを元に、日本系サケ個体群の遺伝的変異性を求め、既出データである系統樹やPairwise F_{ST} を引用し、アロザイム分析の結果と比較した。

遺伝マーカーの変異性 今回用いたアロザイム20遺伝子座では、全ての遺伝子座で多型性が確認され、HWEからの逸脱も見られなかった。また、アロザイム20遺伝子座を用いて分析した日本系サケ35個体群においても斜里川01年10月個体群を除いてHWEからの

逸脱は見られなかった。斜里川01年10月個体群のヘテロ接合度の期待値および観察値は0.116および0.087であり、同じ斜里川01年の11月個体群（ヘテロ接合度の期待値：0.185、同観察値：0.179）と比較して明らかに小さかった。また斜里川01年10月個体群ではアロザイム20遺伝子座中5遺伝子座でもそれぞれHWEからの逸脱が観察されている（データ未掲載）。一方、斜里川01年10月個体群について、マイクロサテライト14遺伝子座を用いた分析も行われている（Beacham *et al.* 2008a）。そこから得られた遺伝子頻度データより

Table 5. Results of standard AMOVA for seven regions of Japanese chum salmon using 20 allozyme loci. Seven regional groups are adopted from the N-J trees shown in Figs. 2 and 3.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage variation
Among groups	6	100.81	0.0182	0.95***
Among populations within groups	28	110.36	0.0147	0.77***
Within populations	4939	9266.16	1.8761	98.28***
Total	4973	9477.32	1.9090	

Average overall loci: $F_{ST} = 0.0172$, $F_{SC} = 0.0078$, $F_{CT} = 0.0095$. *** $P < 0.001$.

Table 6. Mean pairwise F_{ST} values averaged (A) over 20 allozyme loci and (B) 14 microsatellite loci from seven regions of Japanese chum salmon. Comparisons were conducted between individual populations in each region. Mean pairwise F_{ST} data of microsatellite referred to Beacham *et al.* (2008a). Abbreviations of reporting regions are as follows: SJ = Hokkaido Sea of Japan Sea region, NE = Nemuro region, OH = Okhotsk region, EP = East Hokkaido Pacific region, WP = West Hokkaido Pacific region, HP = Honshu Pacific region, HSJ = Honshu Sea of Japan.

	SJ	NE	OH	EP	WP	HP	HSJ
(A) Allozyme							
SJ	0.010						
NE	0.025	0.002					
OH	0.028	0.016	0.019				
EP	0.020	0.009	0.014	0.003			
WP	0.017	0.011	0.017	0.011	0.009		
HP	0.016	0.028	0.028	0.018	0.014	0.011	
HSJ	0.014	0.030	0.034	0.023	0.014	0.006	0.013
(B) Microsatellite							
SJ	0.006						
NE	0.009	0.002					
OH	0.010	0.006	0.006				
EP	0.010	0.006	0.009	0.005			
WP	0.007	0.004	0.006	0.005	0.002		
HP	0.016	0.015	0.016	0.015	0.011	0.006	
HSJ	0.007	0.009	0.010	0.009	0.007	0.014	0.007

求めた A , A_e , および H_E はそれぞれ23.9, 13.0, および0.906であり, 同様に求めて他個体群の値と比較して同程度であった。また, 斜里川01年10月個体群はSNP53遺伝子座でも分析されているが, その結果ではHWEは成立している (Seeb *et al.*, 2011)。アロザイム分析と他の遺伝マーカーの結果が食い違った理由として一つ考えられるのは, 使用した分析個体数の違いである。マイクロサテライト分析およびSNP分析で使用した個体数はそれぞれ80個体, 77個体であったのに対し, 今回のアロザイム分析で用いた個体数は38個体と他の遺伝マーカーの半分程度であった。そのため, 使用したサンプルに何らかの偏り (性比等) が生じており, その結果が反映された可能性がある。

北太平洋における日本系サケ個体群の遺伝的多様性 日本系サケ35個体群の H_E の平均は0.192 (範囲は0.116–0.216) であった。一方, 過去のアロザイム分析結果から求めた外国系サケ個体群の H_E の平均 (および分析に用いられた遺伝子座数) は, ロシア系サケ0.081 (Winans *et al.*, 1994; 61遺伝子座) および北アラスカ0.127 (Seeb and Crane, 1999; 40遺伝子座) となった。分析に用いた遺伝子座およびその数に違いはあるものの, 基本的に日本系サケ個体群の平均 H_E は外国系サケ個体群と比べ高い傾向を示し, 統計的にも有意であった (Mann-Whitney U検定, $p < 0.001$)。また, マイクロサテライト14遺伝子座による日本系サケの H_E の平均は0.913で, ロシア系サケ (0.893) および北米系サケ (0.864) よりも有意に高い値を示した (Mann-Whitney U検定, $p < 0.001$; ロシア系および北米系サケのヘテロ接合度の平均は, Molecular Genetic Lab Online Data <http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/science/facilities-installations/pbs-sbp/mgl-lgm/data-donnees/index-eng.html> から取得した遺伝子頻度データを用いて算出)。これらの結果は, 日本系サケの遺伝的多様性が他の地域のサケと比較し高いことを意味する。日本系サケの高い遺伝的多様性は, ミトコンドリアDNAによる分析でも示されており (Sato *et al.*, 2004; Yoon *et al.*, 2008), その理由として日本系サケ個体群はロシア系および北米系サケ個体群よりも長い歴史を有しているためではないかと推測されている (Sato *et al.*, 2004)。また, 日本系サケ個体群は分布の南限に位置しており, その遺伝的個体群構造や遺伝的多様性は地質学的な環境変動の影響を受けやすかったとも考えられている (佐藤, 2013)。以上のことより, 日本系サケはその長い歴史の中で様々な地質学的イベントを経験することにより, 他地域のサケ個体群には無い高い遺伝的多様性を獲得したのかもしれない。一

方, 北太平洋のサケ個体群についてSNP53遺伝子座を用いて分析した研究では, 日本系サケのヘテロ接合度の平均はロシア系および北米系サケよりも若干低い値を示した (Seeb *et al.*, 2011)。SNPと他のマーカーの結果が異なる詳しい要因は不明であるが, SNPマーカーのascertainment bias (確認バイアス) による影響が指摘されている (Seeb *et al.*, 2011)。また, この研究で使用されたSNPマーカーは, 北米系サケ個体群間で比較的高い変異性が見られるものが選択されているため, 日本系個体群と北米系個体群で遺伝的多様性を比較するのに不向きである可能性も考えられる。

日本地域におけるサケ個体群の遺伝的変異性 北海道地域と本州地域のサケ個体群の遺伝的変異性については, その傾向がアロザイムとマイクロサテライトで異なっていた。アロザイム分析では, ARは北海道地域と本州地域で有意差は見られなかった ($p=0.461$)。また H_E の平均も有意差は無いものの ($p=0.127$), 北海道地域0.190, 本州地域0.199となり, 本州地域のサケ個体群で高くなる傾向が見られた。一方マイクロサテライトでは, 北海道地域と本州地域における A の平均および A_e の平均はいずれも北海道地域で高く, 統計的な有意差が生じていた ($A: p < 0.05$, $A_e: p < 0.05$)。また H_E の平均も北海道地域で0.917, 本州地域で0.908となり, 有意差はなかったものの北海道地域で高い傾向を示した ($p=0.263$)。今回のアロザイム分析で用いた35個体群の内訳は北海道25個体群 (17河川), 本州10個体群 (8河川) で, また本州日本海側の4個体群のうち3個体群は月光川由来であった。一方, Beacham *et al.* (2008a) のマイクロサテライト分析で用いられたのは北海道27個体群 (16河川), 本州12個体群 (9河川) で, そのうち本州日本海側の分析個体群は5個体群 (5河川) と全て異なる河川由来であった。もしかしたら, この分析河川数の違いが, 二つの遺伝マーカーで異なる結果を示す要因の一つなのかもしれない。今後は, それぞれの地域全体を網羅するように河川を選択し, 分析を実施していく必要がある。

日本系サケ個体群の遺伝構造 アロザイム分析および過去のマイクロサテライト分析により作成した系統樹から, 日本系サケは7地域個体群 (北海道日本海, 根室, オホーツク, えりも以東, えりも以西, 本州太平洋, 本州日本海) に分かれることが明らかとなった。またアロザイム分析データに基づくAMOVAの結果から, この7地域個体群間では弱いながらも有意な遺伝的分化が生じていること (0.95%, $p < 0.001$), Pairwise F_{ST} の結果から遺伝的分化は地域個体群内よりも地域

個体群間で大きく、特に北海道と本州の地域個体群間で値が大きくなる傾向にあることが認められた。北海道地域と本州地域間における遺伝的分化は、過去のミトコンドリアDNAによる研究でも示されており (Sato *et al.*, 2001, 2004), 今回の結果はこれを支持している。一方、日本系サケの遺伝的個体群構造はこれまでの研究ではあまりはっきりしてこなかった。Okazaki (1983) によるアロザイム分析では、日本系サケの地域個体群は北海道、本州太平洋北部、本州太平洋南部、本州日本海北部、本州日本海南部の5つに分かれる。またミトコンドリアDNAによる分析では、北海道、本州太平洋、本州日本海の3地域個体群が示されている (Sato *et al.*, 2001, 2004)。今回行ったアロザイム分析およびマイクロサテライト分析では北海道5地域個体群、本州2地域個体群となり、異なる遺伝マーカーを使用しているにもかかわらず同じ結果となった。また日本系サケ57個体群についてSNPマーカー52遺伝子座を用いて行った分析でも、北海道6地域個体群、本

州2地域個体群に分かれ、これらの地域個体群間で弱いながら遺伝的分化が生じていることが分かっている (Sato *et al.*, 2014)。以上のことより、日本系サケ個体群は北海道が少なくとも5地域個体群、本州が2地域個体群程度に分かれるものと推察される (Fig. 4)。これまで日本では、過去120年以上にわたりサケのふ化放流事業が実施されており、1960年代-1980年代にかけては北海道内を中心に地域個体群を越えた種卵の移殖放流も多く行われていた (北海道さけ・ますふ化場, 1965-1988)。しかし今回の分析から、日本系サケでは他地域と比較し高い遺伝的多様性が保たれ、また一定の遺伝的個体群構造が存在することが確認された。これらの結果は現時点において日本系サケ個体群では移殖の影響をそれほど受けておらず、遺伝的な枠組みがある程度残されていることを示唆している。その理由として、サケはそれぞれの地域環境に適応した特性を持っていることから (Quinn, 1993; Eliason *et al.*, 2011), 移殖されたサケ個体群は移殖先の異なる環

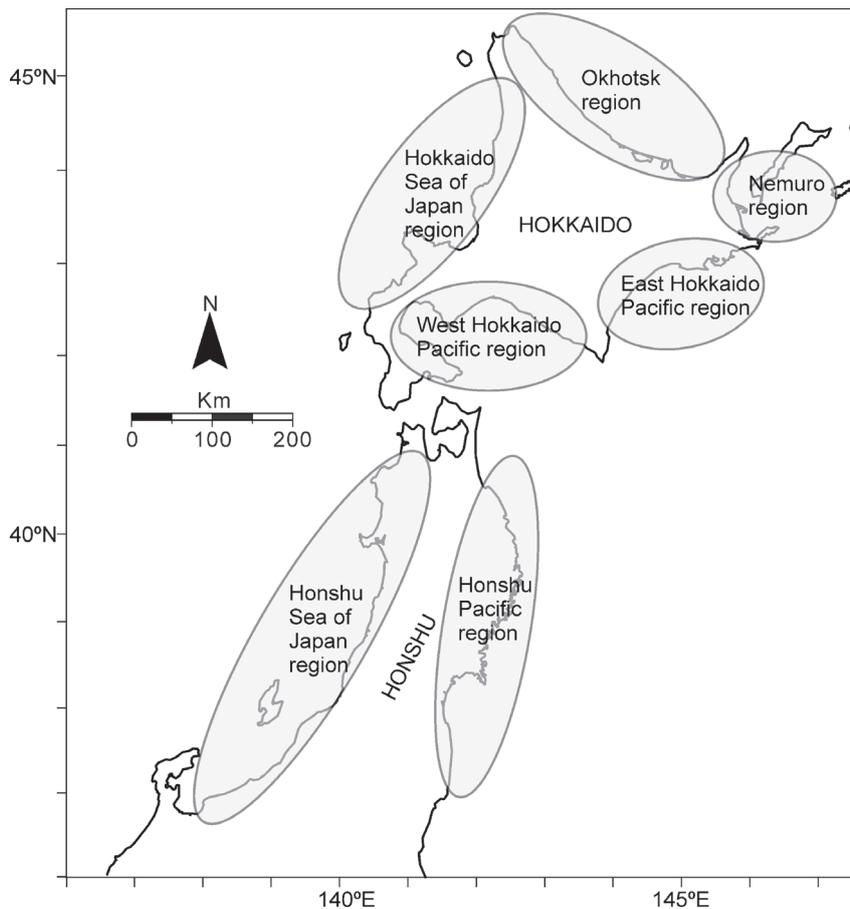


Fig. 4. Schematic diagram of regional populations of chum salmon in Japan estimated by the present allozymes and the previous microsatellite data (Beacham *et al.*, 2008a).

境（例えば水温等）に上手く適応できず、その多くが生存できなかったためではないかと推察される。今後は、日本系サケ個体群について遺伝的なモニタリングを実施し、この遺伝的枠組みに変化が生じないかを注視していく必要がある。

一方で、いくつかの河川個体群については地理的な位置と遺伝的な地域個体群が一致せず、その要因として移殖による影響が強く示唆される事例も見られた。例えば本州日本海地域の河川である月光川97年10月個体群は北海道日本海地域と一つのクラスターを形成した。月光川に回帰するサケ資源は元々12月遡上群を主群とする一峰型の資源構造だったが、1978年から1993年の約15年間にわたり、前期群造成のため10月遡上群を主群とする北海道日本海地域の千歳川から発眼卵の移殖が継続的に行われた。その結果、月光川では1980年には存在しなかった10月遡上群（前期群）が徐々に現れはじめ、約20年後の2003年には10月と12月をピークとする二峰型の資源構造となった。アロザイム分析から月光川前期群は北海道日本海の個体群、特に千歳川と近いことから、過去の千歳川からの移殖群が月光川に定着したと考えられる（Urawa, 2002）。このように、過去の移殖の影響が現在も続いていると考えられる河川もあることから、遺伝的個体群構造を考える際にはその可能性についても考慮する必要がある。

また近年は、遡上時期の違いがサケ個体群の遺伝構造に影響を与えている可能性も指摘されている。佐藤（2013）はサケではその遡上時期が一つの河川で数ヶ月にわたり続くことから、同じ河川や地域でも遡上時期により遺伝的特性や遺伝的個体群構造が異なる可能性があるとして北米ユーコン川の報告（Olsen *et al.*, 2008）を挙げている。この報告では、ユーコン川に存在する夏ザケ個体群と秋ザケ個体群について遺伝分析を行い、その遺伝的個体群構造が異なることを明らかにするとともに、それが遡上時期の違いに起因する可能性を指摘している。本研究でもえりも以西地域に位置する遊楽部川において、遡上時期の異なる9月遡上群・10月遡上群・11月遡上群をアロザイム分析したが、9月遡上群は根室地域、10月遡上群はえりも以西地域、11月群遡上は本州日本海地域の河川個体群とそれぞれ別々にクラスターを形成した。これまでの研究において、遊楽部川のサケでは前期遡上群と後期遡上群で遺伝的分化が生じていることが示唆されており（中原, 2004; Yokotani *et al.*, 2009）、今回の結果もそれを反映している可能性がある。一方で、千歳川や徳志別川、西別川でも同様の分析を行ったが、遊楽部川で示されたような違いは見られなかった。しかし、これらの河川を含む北海道内の増殖河川に回帰

したサケ親魚の遡上時期は、それらが採卵された時期とほぼ同一であり、さらにその傾向は年齢とは無関係であることが示されている（高橋, 2013）。また近年、さけます類の遡上時期や産卵行動には「時計遺伝子」が関与していること、この時計遺伝子に種間や種内で多型が存在し、それが適応的に働いて遡上時期や産卵行動を調節している可能性があることなどが示唆されており（O'Malley *et al.*, 2010）、日本系サケの遡上時期の調節にもこの時計遺伝子の関与が考えられる（佐藤, 2013）。以上のことから、今後は地理的な要因だけでなく時間的な要因にも着目した、より詳細な日本系サケの「時空間的」個体群構造を明らかにしていく必要がある。

今回の結果より、日本系サケの遺伝的個体群構造の一端が明らかとなった。また、国外の他地域と比較しても高い遺伝的多様性を保っていることも示唆された。これらは現在急速に変化している海洋環境に対し、日本系サケがうまく適応するための重要な要素になるとともに、将来にわたり水産資源として持続的に利用するための基盤となることから（佐藤, 2013）、遺伝的モニタリング等を通じて保全していくことが重要である。また今回得られた結果は、遺伝的多様性に配慮したふ化放流事業に必要な、適切な保全単位の設定や遺伝的多様性管理方策ガイドラインの作成などに際し基礎的な情報になる。一方で、遡上時期別の遺伝的個体群構造といった、現時点では未解明の部分についても徐々に明らかにし、遺伝的多様性を保全するための新たな知見を集積することも必要である（佐藤, 2013）。今後も日本系サケ資源の遺伝的多様性を守りつつ持続的に利用するため、遺伝学的知見に基づいた研究・分析・モニタリング等を継続的に実施することが重要である。

謝辞

本研究の遂行にあたり、サンプル採集に協力していただいた北海道さけ・ますふ化場（当時）およびさけ・ます資源管理センター（当時）の各事業所職員各位に深く感謝申し上げます。また、本論文の作成にあたり、有益なコメントをくださった北海道大学の荒木仁志教授、英文要旨の校閲の労をとっていただいたPacific Biological Station（カナダ）のTerry D. Beacham博士に深く感謝申し上げます。

引用文献

Aebersold P. B., Winans G. A., Teel D. J., Milner G.

- B., and Utter F., 1987: Manual for starch gel electrophoresis: a method for the detection of genetic variation. U.S. Dept. Commerce, NOAA Tech. Rep., **61**, 1-19
- Beacham T. D., Candy J. R., Le K. D., and Wetklo M., 2009: Population structure of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) across the Pacific Rim, determined from microsatellite analysis. *Fish. Bull.*, **107**, 244-260.
- Beacham T. D., Sato S., Urawa S., Le K. D., and Wetklo M., 2008a: Population structure and stock identification of chum salmon *Oncorhynchus keta* from Japan determined by microsatellite DNA variation. *Fish. Sci.*, **74**, 983-994.
- Beacham T. D., Spilsted B., Le K. D., and Wetklo M., 2008b: Population structure and stock identification of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) from British Columbia determined with microsatellite DNA variation. *Can. J. Zool.*, **86**, 1002-1014.
- Brykov V. A., Kirillova O. N., Kukhlevskii A. D., Polyakova N. E., and Skurikhina L. A., 2000: A study of mitochondrial DNA variation in populations of chum salmon *Oncorhynchus keta* Walbaum from rivers of Primorye and the Sakhalin Island. *Russ. J. Genet.*, **36**, 1166-1170.
- Cavalli-Sforza, L. L., and Edwards, A. W., 1967: Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Genet.*, **19**, 233-257.
- Cronin M. A., Spearman W. J., Wilmot R. L., Patton J. C., and Bickham J. W., 1993: Mitochondrial DNA variation in Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) and chum salmon (*O. keta*) detected by restriction enzyme analysis of polymerase chain reaction (PCR) products. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **50**, 708-715.
- Eliason E. J., Clark T. D., Hague M. J., Hanson L. M., Gallagher Z. S., Jeffries K. M., Gale M. K., Patterson D. A., Hinch S. G., and Farrell A. P., 2011: Differences in thermal tolerance among sockeye salmon populations. *Science*, **332**, 109-112.
- Excoffier L., and Lischer H. E. L., 2010: Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.*, **10**, 564-567.
- Goudet J., 1995: FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.*, **86**, 485-486.
- Grant W. S., 2012: Understanding the adaptive consequences of hatchery-wild interactions in Alaska salmon. *Environ. Biol. Fishes*, **94**, 325-342.
- Hilborn R., 1992: Hatcheries and the future of salmon in the Northwest. *Fisheries*, **17**, 5-8.
- 北海道さけ・ますふ化場, 1965-1988: 昭和40年度 - 昭和63年度水産庁北海道さけ・ますふ化場事業成績書.
- Kijima A., and Fujio Y., 1982: Correlation between geographic distance and genetic distance in populations of chum salmon *Oncorhynchus keta*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1703-1709.
- Kitada S., and Kishino H., 2004: Examining genetic effect hypotheses of hatchery fish on wild populations: A bayesian approach. In Stock Enhancement and Sea Ranching. Edited by Leber K. M., Kitada S., Blankenship H. L., and Svasand T. Blackwell Publishing, Oxford. pp. 153-167.
- Kobayashi T., 1980: Salmon propagation in Japan. In Salmon Ranching. Edited by J. E. Thorpe Academic Press, London. pp. 91-107.
- Langella O., 1999: Population 1.2.30: population genetic software. Available from <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>.
- Mayama H., and Ishida Y., 2003: Japanese studies on the early ocean life of juvenile salmon. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.*, **3**, 41-67.
- 中原立喜, 2004: シロザケ (*Oncorhynchus keta*) の雄の繁殖形質にはたらく人工孵化放流の影響, 北海道大学大学院農学研究科環境資源学専攻修士課程論文, 札幌, 25 p.
- O'Malley K. G., Ford M. J., and Hard J. J., 2010: Clock polymorphism in Pacific salmon: evidence for variable selection along a latitudinal gradient. *P. Roy. Soc. B.*, **277**, 3703-3714.
- Okazaki T., 1982: Geographical distribution of allelic variations of enzymes in chum salmon *Oncorhynchus keta*, river populations of Japan and the effects of transplantation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1525-1535.
- Okazaki T., 1983: Genetic structure of chum salmon *Oncorhynchus keta* river populations. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **49**, 189-196.

- Olsen J. B., Flannery B. G., Beacham T. D., Bromaghin J. F., Crane P. A., Lean C. F., Dunmall K. M., and Wenburg J. K., 2008: The influence of hydrographic structure and seasonal run timing on genetic diversity and isolation-by-distance in chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **65**, 2026-2042.
- Park L. K., Brainard M. A., Dightman D. A., and Winans G. A., 1993: Low levels of intraspecific variation in the mitochondrial DNA of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **2**, 362-370.
- Perriere G., and Gouy M., 1996: WWW-Query: An on-line retrieval system for biological sequence banks. *Biochimie*, **78**, 364-369.
- Phelps S. R., Leclair L. L., Young S., and Blankenship H. L., 1994: Genetic diversity patterns of chum salmon in the Pacific Northwest. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **51**, 65-83.
- Quinn T. P., 1993: A review of homing and straying of wild and hatchery-produced salmon. *Fish. Res.*, **18**, 29-44.
- Rice W. R., 1989: Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, **43**, 223-225.
- Rousset F., 2008: GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resour.*, **8**, 103-106.
- Saitou N., and Nei M., 1987: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, **4**, 406-425.
- 佐野誠三, 1966: 北太平洋のさけます—第3部, 北太平洋さけます生活史の検討3. 極東産しろざけ. 北太平洋漁業国際委員会研報, **18**, 33-46.
- 佐藤俊平, 2011: 天然さけます資源はなぜ必要か. ていち, **119**, 43-53.
- 佐藤俊平, 2013: DNAから見た日本系サケの遺伝的集団構造とその多様性. Salmon 情報, **7**, 3-7.
- Sato S., Ando J., Ando H., Urawa S., Urano A., and Abe S., 2001: Genetic variation among Japanese populations of chum salmon inferred from the nucleotide sequences of the mitochondrial DNA control region. *Zool. Sci.*, **18**, 99-106.
- Sato S., Templin W. D., Seeb L. W., Seeb J. E., and Urawa S., 2014: Genetic structure and diversity of Japanese chum salmon populations inferred by single nucleotide polymorphism markers. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **143**, 1231-1246.
- Sato S., Kojima H., Ando J., Ando H., Wilmot R. L., Seeb L. W., Efremov V., LeClair L., Buchholz W., Jin D. H., Urawa S., Kaeriyama M., Urano A., and Abe S., 2004: Genetic population structure of chum salmon in the Pacific Rim inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Environ. Biol. Fishes*, **69**, 37-50.
- Seeb L. W., and Crane P. A., 1999: High genetic heterogeneity in chum salmon in western Alaska, the contact zone between northern and southern lineages. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **128**, 58-87.
- Seeb L. W., Templin W. D., Sato S., Abe S., Warheit K., Park J. Y., and Seeb J. E., 2011: Single nucleotide polymorphisms across a species' range: implications for conservation studies of Pacific salmon. *Mol. Ecol. Resour.*, **11**, 195-217.
- Shaklee J. B., Allendorf F. W., Morizot D. C., and Whitt G. S., 1990: Gene Nomenclature for Protein-Coding Loci in Fish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **119**, 2-15.
- 高橋 悟, 2013: サケの採卵時期の違いによる親魚の回帰時期と回帰年齢. Salmon 情報, **7**, 16-19.
- Taylor E. B., Beacham T. D., and Kaeriyama M., 1994: Population structure and identification of North Pacific ocean chum salmon (*Oncorhynchus keta*) revealed by an analysis of minisatellite DNA variation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **51**, 1430-1442.
- Urawa S., 2002: Genetic conservation of salmon in Japan: a case study. Proceedings of 2nd International Symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching, Kobe. p. 73.
- 浦和茂彦, 2000: 日本系サケの回遊経路と今後の研究課題. さけ・ます資源管理センターニュース, **5**, 3-9.
- 浦和茂彦, 2015: 日本系サケの海洋における分布と回遊. 水研センター研報, **39**, 9-19.
- Waples R. S., 1990: Temporal changes of allele frequency in Pacific salmon - implications for mixed-stock fishery analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **47**, 968-976.
- Wilmot R. L., Kondzela C. M., Guthrie C. M., and Masuda M. M., 1998: Genetic stock identification of chum salmon harvested incidentally in the 1994 and 1995 Bering Sea trawl fishery. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.*, **1**, 285-299.
- Winans G. A., Aebersold P. B., Urawa S., and Varnavskaya N. V., 1994: Determining continent

- of origin of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) using genetic stock identification techniques: status of allozyme baseline in Asia. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **51**, 95-113.
- Yokotani R., Azuma N., Kudo H., Abe S., and Kaeriyama M., 2009: Genetic differentiation between early- and late-run populations of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) naturally spawned in the Yurappu River inferred from mitochondrial DNA analysis. *Fish Genet. Breed. Sci.*, **39**, 9-16.
- Yoon M., Sato S., Seeb J. E., Brykova V., Seeb L. W., Varnavskaya N. V., Wilmot R. L., Jin D. H., Urawa S., Urano A., and Abe S., 2008: Mitochondrial DNA variation and genetic population structure of chum salmon *Oncorhynchus keta* around the Pacific Rim. *J. Fish Biol.*, **73**, 1256-1266.

Appendix. Allele frequencies at 20 allozyme loci in 35 populations of Japanese chum salmon.

Population	<i>sAAT-3*</i>					<i>mAH-3*</i>			<i>sAH*</i>			
	N	100	90	110	70	N	100	124	N	100	90	106
Teshio05	39	0.577	0.410	0.000	0.013	33	0.621	0.379	40	1.000	0.000	0.000
Chitose97-Sep	80	0.531	0.469	0.000	0.000	80	0.575	0.425	80	0.994	0.006	0.000
Chitose97-Oct	79	0.563	0.430	0.000	0.006	76	0.533	0.467	80	0.994	0.006	0.000
Chitose97-Nov	79	0.538	0.456	0.000	0.006	77	0.552	0.448	80	0.994	0.000	0.006
Toshibetsu90	77	0.494	0.506	0.000	0.000	76	0.539	0.461	79	0.930	0.063	0.006
Assabu90	72	0.542	0.458	0.000	0.000	37	0.459	0.541	79	0.905	0.076	0.019
Shibetsu03	80	0.500	0.500	0.000	0.000	80	0.556	0.444	80	0.988	0.000	0.013
Nishibetsu97-Sep	76	0.579	0.421	0.000	0.000	78	0.538	0.462	80	0.969	0.000	0.031
Nishibetsu97-Nov	78	0.603	0.397	0.000	0.000	80	0.525	0.475	80	0.994	0.000	0.006
Ichani05	40	0.675	0.325	0.000	0.000	40	0.563	0.438	40	0.975	0.000	0.025
Tokushibetsu97-Sep	79	0.570	0.430	0.000	0.000	79	0.570	0.430	79	0.968	0.025	0.006
Tokushibetsu97-Nov	38	0.645	0.355	0.000	0.000	40	0.525	0.475	40	0.950	0.050	0.000
Yubetsu92	36	0.681	0.319	0.000	0.000	67	0.500	0.500	80	1.000	0.000	0.000
Shokotsu92	77	0.662	0.338	0.000	0.000	80	0.500	0.500	78	0.994	0.000	0.006
Abashiri98	73	0.582	0.418	0.000	0.000	77	0.494	0.506	80	1.000	0.000	0.000
Shari01-Oct	36	0.611	0.389	0.000	0.000	38	0.434	0.566	38	0.934	0.053	0.013
Shari01-Nov	40	0.613	0.388	0.000	0.000	40	0.463	0.538	40	1.000	0.000	0.000
Kushiro98	80	0.613	0.388	0.000	0.000	80	0.513	0.488	79	1.000	0.000	0.000
Tokachi97-Sep	80	0.550	0.450	0.000	0.000	80	0.538	0.463	80	1.000	0.000	0.000
Tokachi97-Nov	80	0.581	0.419	0.000	0.000	78	0.532	0.468	80	1.000	0.000	0.000
Shikyu91	76	0.586	0.414	0.000	0.000	54	0.630	0.370	80	0.981	0.000	0.019
Shizunai91	79	0.646	0.348	0.000	0.006	79	0.620	0.380	80	0.994	0.006	0.000
Yurappu97-Sep	78	0.538	0.462	0.000	0.000	75	0.573	0.427	80	0.956	0.000	0.044
Yurappu97-Oct	80	0.600	0.394	0.000	0.006	77	0.604	0.396	80	0.969	0.000	0.031
Yurappu97-Nov	79	0.696	0.304	0.000	0.000	79	0.620	0.380	80	1.000	0.000	0.000
Akka95	79	0.582	0.392	0.000	0.025	79	0.658	0.342	80	1.000	0.000	0.000
Hei96	45	0.667	0.333	0.000	0.000	42	0.560	0.440	45	1.000	0.000	0.000
Orikasa96	79	0.551	0.443	0.000	0.006	80	0.563	0.438	80	1.000	0.000	0.000
Katagishi95	79	0.589	0.411	0.000	0.000	79	0.665	0.335	79	1.000	0.000	0.000
Naruse95	80	0.738	0.256	0.000	0.006	80	0.544	0.456	80	0.981	0.006	0.013
Koizumi96	80	0.606	0.394	0.000	0.000	80	0.625	0.375	80	0.975	0.000	0.025
Gakko97-Oct	36	0.639	0.361	0.000	0.000	39	0.551	0.449	40	1.000	0.000	0.000
Gakko97-Dec	46	0.576	0.424	0.000	0.000	46	0.674	0.326	46	1.000	0.000	0.000
Gakko00-Dec	79	0.652	0.348	0.000	0.000	79	0.665	0.335	78	1.000	0.000	0.000
Kurobe96	40	0.513	0.463	0.000	0.025	40	0.588	0.413	40	0.975	0.025	0.000

Appendix. Continued.

Population	<i>ALAT</i> *					<i>ESTD</i> *				<i>FH</i> *		
	N	100	93	105	78	N	100	91	110	N	100	75
Teshio05	40	0.688	0.313	0.000	0.000	40	0.613	0.388	0.000	40	0.988	0.013
Chitose97-Sep	80	0.794	0.206	0.000	0.000	80	0.581	0.419	0.000	80	0.988	0.006
Chitose97-Oct	80	0.794	0.206	0.000	0.000	80	0.613	0.388	0.000	80	0.963	0.038
Chitose97-Nov	80	0.888	0.113	0.000	0.000	80	0.631	0.369	0.000	80	0.969	0.019
Toshibetsu90	78	0.788	0.212	0.000	0.000	79	0.620	0.380	0.000	80	0.963	0.025
Assabu90	78	0.718	0.282	0.000	0.000	73	0.699	0.301	0.000	79	0.911	0.082
Shibetsu03	80	0.856	0.144	0.000	0.000	80	0.694	0.306	0.000	80	0.963	0.031
Nishibetsu97-Sep	80	0.800	0.200	0.000	0.000	80	0.700	0.300	0.000	80	0.969	0.031
Nishibetsu97-Nov	80	0.756	0.244	0.000	0.000	80	0.744	0.256	0.000	80	0.938	0.056
Ichani05	40	0.825	0.175	0.000	0.000	40	0.750	0.250	0.000	40	0.975	0.025
Tokushibetsu97-Sep	80	0.800	0.200	0.000	0.000	80	0.731	0.269	0.000	80	0.994	0.006
Tokushibetsu97-Nov	40	0.750	0.250	0.000	0.000	40	0.663	0.338	0.000	40	0.988	0.013
Yubetsu92	78	0.686	0.314	0.000	0.000	76	0.691	0.303	0.007	80	0.975	0.025
Shokotsu92	79	0.684	0.316	0.000	0.000	78	0.750	0.250	0.000	80	0.956	0.044
Abashiri98	80	0.775	0.225	0.000	0.000	80	0.769	0.231	0.000	80	0.969	0.019
Shari01-Oct	38	0.697	0.303	0.000	0.000	38	0.776	0.211	0.013	38	1.000	0.000
Shari01-Nov	40	0.800	0.200	0.000	0.000	40	0.825	0.175	0.000	40	0.988	0.000
Kushiro98	80	0.819	0.181	0.000	0.000	80	0.788	0.213	0.000	80	0.938	0.044
Tokachi97-Sep	80	0.788	0.213	0.000	0.000	80	0.856	0.138	0.006	80	0.913	0.044
Tokachi97-Nov	80	0.850	0.150	0.000	0.000	80	0.731	0.269	0.000	80	0.925	0.044
Shikyu91	80	0.863	0.138	0.000	0.000	78	0.667	0.333	0.000	80	0.994	0.006
Shizunai91	80	0.869	0.131	0.000	0.000	76	0.704	0.296	0.000	80	0.956	0.044
Yurappu97-Sep	80	0.794	0.206	0.000	0.000	80	0.669	0.331	0.000	80	0.988	0.006
Yurappu97-Oct	80	0.850	0.150	0.000	0.000	80	0.681	0.319	0.000	80	0.956	0.019
Yurappu97-Nov	68	0.794	0.206	0.000	0.000	80	0.675	0.325	0.000	80	0.925	0.038
Akka95	80	0.800	0.200	0.000	0.000	80	0.600	0.400	0.000	80	0.919	0.013
Hei96	45	0.811	0.189	0.000	0.000	45	0.767	0.233	0.000	45	0.933	0.056
Orikasa96	80	0.788	0.213	0.000	0.000	80	0.663	0.338	0.000	80	0.963	0.013
Katagishi95	79	0.886	0.114	0.000	0.000	79	0.646	0.354	0.000	79	0.880	0.044
Naruse95	80	0.856	0.144	0.000	0.000	80	0.619	0.381	0.000	80	0.906	0.038
Koizumi96	80	0.863	0.138	0.000	0.000	80	0.688	0.313	0.000	80	0.900	0.044
Gakko97-Oct	40	0.838	0.163	0.000	0.000	40	0.613	0.388	0.000	40	1.000	0.000
Gakko97-Dec	46	0.880	0.120	0.000	0.000	46	0.674	0.326	0.000	46	0.870	0.120
Gakko00-Dec	80	0.888	0.113	0.000	0.000	80	0.619	0.381	0.000	80	0.969	0.019
Kurobe96	40	0.763	0.238	0.000	0.000	40	0.563	0.438	0.000	40	0.950	0.038

Appendix. Continued.

Population	<i>bGALA*</i>					<i>GAPDH-2*</i>			<i>G3PDH-2*</i>			
	N	100	74	113	90	N	100	50	N	100	90	131
Teshio05	40	0.925	0.063	0.013	0.000	40	0.975	0.025	40	0.963	0.038	0.000
Chitose97-Sep	80	0.925	0.050	0.025	0.000	80	1.000	0.000	80	0.975	0.025	0.000
Chitose97-Oct	80	0.913	0.075	0.013	0.000	80	0.994	0.006	80	0.981	0.019	0.000
Chitose97-Nov	80	0.938	0.063	0.000	0.000	80	0.944	0.056	80	0.969	0.031	0.000
Toshibetsu90	77	0.942	0.058	0.000	0.000	80	0.969	0.031	80	0.975	0.025	0.000
Assabu90	79	0.962	0.038	0.000	0.000	79	0.987	0.013	79	0.975	0.025	0.000
Shibetsu03	80	0.913	0.081	0.006	0.000	80	0.988	0.013	80	0.938	0.063	0.000
Nishibetsu97-Sep	80	0.969	0.031	0.000	0.000	80	1.000	0.000	80	0.969	0.031	0.000
Nishibetsu97-Nov	80	0.950	0.050	0.000	0.000	80	0.975	0.025	80	0.956	0.044	0.000
Ichani05	40	0.900	0.100	0.000	0.000	40	0.988	0.013	40	0.900	0.100	0.000
Tokushibetsu97-Sep	80	0.913	0.088	0.000	0.000	80	0.994	0.006	80	0.938	0.063	0.000
Tokushibetsu97-Nov	40	0.888	0.113	0.000	0.000	40	0.963	0.038	40	0.988	0.013	0.000
Yubetsu92	80	0.938	0.063	0.000	0.000	80	0.975	0.025	40	0.975	0.025	0.000
Shokotsu92	79	0.937	0.063	0.000	0.000	80	1.000	0.000	80	1.000	0.000	0.000
Abashiri98	80	0.900	0.094	0.006	0.000	80	1.000	0.000	80	0.975	0.025	0.000
Shari01-Oct	38	0.908	0.092	0.000	0.000	38	1.000	0.000	38	0.974	0.026	0.000
Shari01-Nov	40	0.925	0.075	0.000	0.000	40	1.000	0.000	40	0.950	0.050	0.000
Kushiro98	79	0.962	0.038	0.000	0.000	80	0.969	0.031	80	0.988	0.013	0.000
Tokachi97-Sep	80	0.975	0.019	0.000	0.006	80	0.975	0.025	80	1.000	0.000	0.000
Tokachi97-Nov	80	0.938	0.063	0.000	0.000	80	0.981	0.019	79	0.962	0.038	0.000
Shikyu91	80	0.956	0.038	0.006	0.000	79	0.994	0.006	80	0.963	0.038	0.000
Shizunai91	79	0.962	0.038	0.000	0.000	80	0.988	0.013	80	0.963	0.038	0.000
Yurappu97-Sep	80	0.950	0.050	0.000	0.000	80	0.988	0.013	80	0.988	0.013	0.000
Yurappu97-Oct	80	0.938	0.063	0.000	0.000	80	0.950	0.050	80	0.975	0.025	0.000
Yurappu97-Nov	80	0.963	0.038	0.000	0.000	80	0.988	0.013	80	1.000	0.000	0.000
Akka95	80	0.938	0.063	0.000	0.000	80	0.931	0.069	80	0.963	0.038	0.000
Hei96	45	0.956	0.044	0.000	0.000	45	0.978	0.022	45	1.000	0.000	0.000
Orikasa96	80	0.931	0.063	0.000	0.006	80	0.963	0.038	80	0.988	0.013	0.000
Katagishi95	79	0.981	0.019	0.000	0.000	79	0.956	0.044	79	1.000	0.000	0.000
Naruse95	80	0.994	0.006	0.000	0.000	80	0.956	0.044	80	0.988	0.013	0.000
Koizumi96	80	0.956	0.044	0.000	0.000	80	0.956	0.044	80	0.994	0.006	0.000
Gakko97-Oct	40	0.963	0.038	0.000	0.000	40	0.988	0.013	40	1.000	0.000	0.000
Gakko97-Dec	46	1.000	0.000	0.000	0.000	46	0.978	0.022	46	1.000	0.000	0.000
Gakko00-Dec	80	0.938	0.063	0.000	0.000	80	1.000	0.000	80	1.000	0.000	0.000
Kurobe96	40	0.938	0.063	0.000	0.000	40	0.963	0.038	40	0.988	0.013	0.000

Appendix. Continued.

Population	<i>bHEX</i> *			<i>IDDH-2</i> *				<i>mDHP-1</i> *			
	N	100	15	N	100	125	10	N	100	60	85
Teshio05	40	0.775	0.225	40	1.000	0.000	0.000	40	0.938	0.063	0.000
Chitose97-Sep	80	0.863	0.138	80	1.000	0.000	0.000	80	0.913	0.075	0.013
Chitose97-Oct	80	0.819	0.181	80	0.994	0.006	0.000	80	0.938	0.056	0.006
Chitose97-Nov	80	0.850	0.150	80	0.994	0.000	0.006	80	0.950	0.050	0.000
Toshibetsu90	78	0.878	0.122	78	0.968	0.000	0.032	79	0.968	0.025	0.006
Assabu90	79	0.848	0.152	76	0.954	0.013	0.033	78	0.942	0.058	0.000
Shibetsu03	80	0.944	0.056	48	0.958	0.010	0.031	80	0.775	0.225	0.000
Nishibetsu97-Sep	80	0.950	0.050	80	0.981	0.000	0.019	80	0.725	0.275	0.000
Nishibetsu97-Nov	80	0.938	0.063	80	0.956	0.006	0.038	80	0.831	0.169	0.000
Ichani05	40	0.950	0.050	40	0.975	0.000	0.025	40	0.788	0.213	0.000
Tokushibetsu97-Sep	80	0.925	0.075	79	0.994	0.000	0.006	80	0.806	0.194	0.000
Tokushibetsu97-Nov	40	0.875	0.125	40	1.000	0.000	0.000	40	0.800	0.200	0.000
Yubetsu92	78	0.917	0.083	40	1.000	0.000	0.000	80	0.838	0.163	0.000
Shokotsu92	80	0.875	0.125	79	0.981	0.000	0.019	79	0.899	0.101	0.000
Abashiri98	80	0.906	0.094	80	0.981	0.000	0.019	80	0.831	0.169	0.000
Shari01-Oct	78	0.955	0.045	38	0.934	0.000	0.066	38	0.789	0.211	0.000
Shari01-Nov	40	0.950	0.050	40	0.938	0.000	0.063	40	0.875	0.125	0.000
Kushiro98	80	0.825	0.175	79	0.994	0.000	0.006	80	0.831	0.169	0.000
Tokachi97-Sep	80	0.844	0.156	80	0.981	0.006	0.013	80	0.919	0.081	0.000
Tokachi97-Nov	80	0.863	0.138	80	0.981	0.006	0.013	80	0.881	0.119	0.000
Shikyu91	80	0.725	0.275	80	0.981	0.006	0.013	80	0.850	0.150	0.000
Shizunai91	80	0.881	0.119	80	0.988	0.006	0.006	80	0.900	0.088	0.013
Yurappu97-Sep	80	0.919	0.081	80	0.988	0.000	0.013	80	0.750	0.250	0.000
Yurappu97-Oct	80	0.938	0.063	80	0.981	0.000	0.019	80	0.919	0.081	0.000
Yurappu97-Nov	80	0.906	0.094	80	0.981	0.013	0.006	80	0.931	0.069	0.000
Akka95	80	0.906	0.094	80	0.944	0.050	0.006	80	0.994	0.006	0.000
Hei96	45	0.844	0.156	45	0.967	0.022	0.011	45	0.811	0.189	0.000
Orikasa96	80	0.825	0.175	80	0.981	0.013	0.006	80	0.950	0.050	0.000
Katagishi95	79	0.753	0.247	79	0.975	0.025	0.000	79	0.987	0.013	0.000
Naruse95	80	0.875	0.125	80	0.956	0.044	0.000	80	0.956	0.044	0.000
Koizumi96	80	0.694	0.306	80	0.981	0.019	0.000	80	0.956	0.044	0.000
Gakko97-Oct	40	0.663	0.338	40	1.000	0.000	0.000	40	0.938	0.025	0.038
Gakko97-Dec	46	0.794	0.207	46	0.978	0.022	0.000	46	0.902	0.098	0.000
Gakko00-Dec	80	0.863	0.138	79	0.949	0.032	0.019	80	0.869	0.131	0.000
Kurobe96	40	0.925	0.075	40	0.988	0.013	0.000	40	0.963	0.038	0.000

Appendix. Continued.

Population	<i>LDH-AI*</i>				<i>sMDH-AI*</i>				<i>mMEP-2*</i>		
	N	100	130	110	N	100	200	57	N	100	120
Teshio05	40	0.850	0.150	0.000	40	0.813	0.188	0.000	40	0.925	0.075
Chitose97-Sep	80	0.831	0.169	0.000	80	0.838	0.163	0.000	80	0.888	0.113
Chitose97-Oct	80	0.850	0.150	0.000	80	0.875	0.125	0.000	80	0.906	0.094
Chitose97-Nov	80	0.869	0.131	0.000	80	0.850	0.150	0.000	80	0.938	0.063
Toshibetsu90	79	0.873	0.127	0.000	80	0.850	0.150	0.000	57.5	0.887	0.113
Assabu90	79	0.867	0.133	0.000	77	0.935	0.065	0.000	79	0.861	0.139
Shibetsu03	80	0.875	0.125	0.000	80	0.906	0.094	0.000	80	0.888	0.113
Nishibetsu97-Sep	80	0.825	0.175	0.000	80	0.931	0.069	0.000	80	0.813	0.188
Nishibetsu97-Nov	80	0.800	0.200	0.000	80	0.913	0.088	0.000	80	0.844	0.156
Ichani05	40	0.825	0.175	0.000	40	0.925	0.075	0.000	40	0.850	0.150
Tokushibetsu97-Sep	79	0.880	0.120	0.000	80	0.938	0.063	0.000	80	0.800	0.200
Tokushibetsu97-Nov	40	0.788	0.213	0.000	40	0.925	0.075	0.000	40	0.888	0.113
Yubetsu92	80	0.863	0.138	0.000	80	0.950	0.050	0.000	80	0.794	0.206
Shokotsu92	80	0.800	0.200	0.000	80	0.894	0.106	0.000	80	0.863	0.138
Abashiri98	80	0.706	0.294	0.000	80	0.869	0.131	0.000	80	0.869	0.131
Shari01-Oct	38	0.776	0.224	0.000	38	0.895	0.105	0.000	38	0.895	0.105
Shari01-Nov	40	0.775	0.225	0.000	40	0.863	0.138	0.000	40	0.925	0.075
Kushiro98	80	0.913	0.088	0.000	80	0.931	0.069	0.000	80	0.906	0.094
Tokachi97-Sep	80	0.775	0.225	0.000	80	0.913	0.088	0.000	80	0.888	0.113
Tokachi97-Nov	80	0.856	0.144	0.000	80	0.906	0.094	0.000	80	0.894	0.106
Shikyu91	80	0.875	0.125	0.000	80	0.875	0.125	0.000	80	0.875	0.125
Shizunai91	80	0.838	0.163	0.000	80	0.875	0.125	0.000	80	0.894	0.106
Yurappu97-Sep	80	0.819	0.181	0.000	80	0.875	0.125	0.000	80	0.881	0.119
Yurappu97-Oct	80	0.875	0.125	0.000	80	0.869	0.131	0.000	80	0.881	0.119
Yurappu97-Nov	80	0.769	0.231	0.000	80	0.794	0.206	0.000	80	0.950	0.050
Akka95	80	0.763	0.238	0.000	80	0.938	0.063	0.000	80	0.919	0.081
Hei96	45	0.844	0.156	0.000	45	0.933	0.067	0.000	45	0.889	0.111
Orikasa96	80	0.806	0.194	0.000	80	0.888	0.113	0.000	80	0.950	0.050
Katagishi95	79	0.810	0.190	0.000	79	0.861	0.139	0.000	79	0.930	0.070
Naruse95	80	0.794	0.206	0.000	80	0.863	0.138	0.000	80	0.919	0.081
Koizumi96	80	0.831	0.169	0.000	80	0.819	0.181	0.000	80	0.925	0.075
Gakko97-Oct	40	0.875	0.125	0.000	40	0.888	0.113	0.000	40	0.900	0.100
Gakko97-Dec	46	0.880	0.120	0.000	46	0.772	0.228	0.000	46	0.957	0.043
Gakko00-Dec	80	0.925	0.075	0.000	80	0.775	0.225	0.000	80	0.938	0.063
Kurobe96	40	0.863	0.138	0.000	40	0.763	0.238	0.000	40	0.850	0.150

Appendix. Continued.

Population	<i>sMEP-I*</i>			<i>MPI*</i>				
	N	100	90	N	100	94	110	80
Teshio05	40	0.988	0.013	40	0.950	0.050	0.000	0.000
Chitose97-Sep	80	0.981	0.019	80	0.975	0.025	0.000	0.000
Chitose97-Oct	80	0.994	0.006	80	0.994	0.006	0.000	0.000
Chitose97-Nov	80	0.981	0.019	80	0.963	0.038	0.000	0.000
Toshibetsu90	79	0.956	0.044	80	0.981	0.019	0.000	0.000
Assabu90	79	1.000	0.000	79	0.924	0.076	0.000	0.000
Shibetsu03	80	0.988	0.013	80	0.981	0.019	0.000	0.000
Nishibetsu97-Sep	80	0.988	0.013	80	0.963	0.038	0.000	0.000
Nishibetsu97-Nov	80	0.994	0.006	80	0.988	0.013	0.000	0.000
Ichani05	40	0.988	0.013	40	0.975	0.025	0.000	0.000
Tokushibetsu97-Sep	80	0.994	0.006	80	0.956	0.044	0.000	0.000
Tokushibetsu97-Nov	40	1.000	0.000	40	0.950	0.050	0.000	0.000
Yubetsu92	80	0.963	0.038	80	1.000	0.000	0.000	0.000
Shokotsu92	80	0.988	0.013	79	0.994	0.006	0.000	0.000
Abashiri98	80	0.981	0.019	80	0.963	0.038	0.000	0.000
Shari01-Oct	38	0.987	0.013	38	0.974	0.026	0.000	0.000
Shari01-Nov	40	0.988	0.013	40	0.975	0.025	0.000	0.000
Kushiro98	77.5	1.000	0.000	80	0.944	0.056	0.000	0.000
Tokachi97-Sep	80	1.000	0.000	80	0.944	0.056	0.000	0.000
Tokachi97-Nov	80	0.956	0.044	79	0.930	0.070	0.000	0.000
Shikyu91	80	0.963	0.038	80	1.000	0.000	0.000	0.000
Shizunai91	80	1.000	0.000	80	0.950	0.050	0.000	0.000
Yurappu97-Sep	80	0.988	0.013	80	0.988	0.013	0.000	0.000
Yurappu97-Oct	80	1.000	0.000	80	0.950	0.050	0.000	0.000
Yurappu97-Nov	80	1.000	0.000	80	0.919	0.081	0.000	0.000
Akka95	80	0.975	0.025	80	0.950	0.050	0.000	0.000
Hei96	45	1.000	0.000	45	0.978	0.022	0.000	0.000
Orikasa96	80	0.994	0.006	80	0.975	0.025	0.000	0.000
Katagishi95	79	0.930	0.070	79	0.911	0.089	0.000	0.000
Naruse95	80	0.988	0.013	80	0.938	0.063	0.000	0.000
Koizumi96	80	0.906	0.094	80	0.963	0.038	0.000	0.000
Gakko97-Oct	39.5	1.000	0.000	40	0.950	0.050	0.000	0.000
Gakko97-Dec	46	0.967	0.033	46	0.891	0.109	0.000	0.000
Gakko00-Dec	80	0.925	0.075	80	0.881	0.119	0.000	0.000
Kurobe96	40	0.963	0.038	40	0.975	0.025	0.000	0.000

Appendix. Continued.

Population	PEPB-1*						PEPLT*				
	N	-100	-146	-126	-127	-72	N	100	85	70	115
Teshio05	40	0.663	0.050	0.288	0.000	0.000	40	0.963	0.025	0.000	0.013
Chitose97-Sep	80	0.613	0.013	0.356	0.019	0.000	80	0.931	0.031	0.000	0.038
Chitose97-Oct	80	0.563	0.006	0.400	0.031	0.000	80	0.875	0.075	0.000	0.050
Chitose97-Nov	80	0.631	0.031	0.338	0.000	0.000	80	0.900	0.069	0.000	0.031
Toshibetsu90	79	0.696	0.000	0.291	0.013	0.000	80	0.850	0.088	0.000	0.063
Assabu90	78	0.718	0.019	0.263	0.000	0.000	79	0.930	0.057	0.013	0.000
Shibetsu03	80	0.756	0.000	0.238	0.006	0.000	80	0.913	0.031	0.000	0.056
Nishibetsu97-Sep	80	0.831	0.006	0.163	0.000	0.000	80	0.963	0.019	0.019	0.000
Nishibetsu97-Nov	80	0.825	0.000	0.169	0.006	0.000	80	0.975	0.006	0.000	0.019
Ichani05	40	0.863	0.000	0.125	0.013	0.000	40	0.938	0.050	0.000	0.013
Tokushibetsu97-Sep	80	0.700	0.019	0.281	0.000	0.000	80	0.938	0.050	0.000	0.013
Tokushibetsu97-Nov	40	0.738	0.013	0.250	0.000	0.000	40	0.950	0.038	0.000	0.013
Yubetsu92	78	0.744	0.000	0.244	0.013	0.000	80	0.975	0.019	0.000	0.006
Shokotsu92	79	0.753	0.006	0.234	0.006	0.000	80	0.869	0.100	0.000	0.031
Abashiri98	80	0.831	0.013	0.150	0.006	0.000	80	0.913	0.063	0.000	0.025
Shari01-Oct	38	0.855	0.000	0.145	0.000	0.000	38	0.895	0.066	0.000	0.039
Shari01-Nov	40	0.750	0.013	0.238	0.000	0.000	40	0.900	0.063	0.000	0.038
Kushiro98	80	0.838	0.000	0.156	0.006	0.000	80	0.906	0.019	0.000	0.075
Tokachi97-Sep	80	0.750	0.131	0.119	0.000	0.000	80	0.931	0.038	0.019	0.013
Tokachi97-Nov	80	0.794	0.000	0.206	0.000	0.000	80	0.913	0.031	0.000	0.056
Shikyu91	80	0.806	0.019	0.175	0.000	0.000	80	0.931	0.019	0.006	0.044
Shizunai91	79	0.766	0.032	0.190	0.013	0.000	80	0.931	0.050	0.000	0.019
Yurappu97-Sep	80	0.788	0.006	0.206	0.000	0.000	80	0.913	0.063	0.000	0.025
Yurappu97-Oct	80	0.813	0.025	0.163	0.000	0.000	80	0.888	0.088	0.000	0.025
Yurappu97-Nov	80	0.713	0.019	0.263	0.006	0.000	80	0.863	0.138	0.000	0.000
Akka95	80	0.700	0.000	0.300	0.000	0.000	80	0.806	0.181	0.000	0.013
Hei96	45	0.767	0.011	0.222	0.000	0.000	45	0.933	0.067	0.000	0.000
Orikasa96	80	0.663	0.000	0.338	0.000	0.000	80	0.869	0.119	0.000	0.013
Katagishi95	79	0.671	0.000	0.329	0.000	0.000	79	0.835	0.165	0.000	0.000
Naruse95	80	0.694	0.006	0.300	0.000	0.000	80	0.819	0.181	0.000	0.000
Koizumi96	80	0.625	0.200	0.175	0.000	0.000	80	0.831	0.169	0.000	0.000
Gakko97-Oct	40	0.675	0.025	0.288	0.013	0.000	40	0.888	0.075	0.000	0.038
Gakko97-Dec	46	0.815	0.000	0.185	0.000	0.000	46	0.826	0.152	0.011	0.011
Gakko00-Dec	80	0.681	0.000	0.319	0.000	0.000	79	0.854	0.120	0.019	0.006
Kurobe96	40	0.650	0.050	0.288	0.013	0.000	40	0.925	0.075	0.000	0.000

Appendix. Continued.

Population	<i>PGDH*</i>					
	N	100	88	106	95	84
Teshio05	40	0.975	0.025	0.000	0.000	0.000
Chitose97-Sep	80	0.950	0.025	0.025	0.000	0.000
Chitose97-Oct	80	0.938	0.056	0.006	0.000	0.000
Chitose97-Nov	80	0.938	0.050	0.013	0.000	0.000
Toshibetsu90	80	0.931	0.038	0.031	0.000	0.000
Assabu90	79	0.981	0.013	0.006	0.000	0.000
Shibetsu03	80	0.994	0.006	0.000	0.000	0.000
Nishibetsu97-Sep	80	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Nishibetsu97-Nov	80	0.994	0.006	0.000	0.000	0.000
Ichani05	40	0.988	0.013	0.000	0.000	0.000
Tokushibetsu97-Sep	80	0.975	0.025	0.000	0.000	0.000
Tokushibetsu97-Nov	40	0.963	0.038	0.000	0.000	0.000
Yubetsu92	80	0.975	0.019	0.006	0.000	0.000
Shokotsu92	80	0.969	0.031	0.000	0.000	0.000
Abashiri98	80	0.988	0.013	0.000	0.000	0.000
Shari01-Oct	38	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Shari01-Nov	40	0.988	0.013	0.000	0.000	0.000
Kushiro98	80	0.994	0.006	0.000	0.000	0.000
Tokachi97-Sep	80	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Tokachi97-Nov	80	0.994	0.006	0.000	0.000	0.000
Shikyu91	80	0.988	0.013	0.000	0.000	0.000
Shizunai91	80	0.975	0.025	0.000	0.000	0.000
Yurappu97-Sep	80	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Yurappu97-Oct	80	0.988	0.006	0.006	0.000	0.000
Yurappu97-Nov	80	0.963	0.038	0.000	0.000	0.000
Akka95	80	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Hei96	45	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Orikasa96	80	0.988	0.013	0.000	0.000	0.000
Katagishi95	79	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Naruse95	80	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Koizumi96	80	0.994	0.006	0.000	0.000	0.000
Gakko97-Oct	40	0.963	0.025	0.013	0.000	0.000
Gakko97-Dec	46	0.989	0.011	0.000	0.000	0.000
Gakko00-Dec	80	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Kurobe96	40	0.963	0.038	0.000	0.000	0.000