

研究成果情報

DNA から見た日本系サケの遺伝的集団構造とその多様性

さとう しゅんぺい

佐藤 俊平 (北海道区水産研究所 さけます資源部)

はじめに

サケ (シロザケ) *Oncorhynchus keta* は北太平洋一帯に広く分布しており, 日本をはじめ韓国・ロシア・カナダ・米国において重要な水産資源の一つとなっています。その資源量は太平洋サケ属ではカラフトマス *O. gorbuscha* について多く, またその商業漁獲量も 2010 年では沿岸 5 カ国で約 31 万 3000 トンとなっています (NPAFC Statistical Yearbook, <http://www.npafc.org/>)。サケはその水産資源としての重要性から, 古くよりふ化放流事業による資源造成が行われてきました。2010 年の北太平洋におけるサケの総放流数は約 31 億尾で, そのうち日本からの放流数は約 18 億尾と総放流数の約 58% を占めています (NPAFC Statistical Yearbook)。

一方, ふ化放流事業により放流された種苗が生態系に負の影響を与えるのではないかと指摘が以前よりされています (例えば Hilborn 1992)。また近年では, 「遺伝的多様性の保全」が強く叫ばれるようになってきました。遺伝的多様性とは種多様性・生態系多様性と共に生物多様性の構成要素の一つとされるもので, 個体や集団内で見られる遺伝的な変異の大きさのことであり, 生物多様性の根幹をなすものと考えられていますが, ふ化放流事業が遺伝的多様性に与える影響も懸念

されています。日本では, 2012 年 9 月に「生物多様性国家戦略 2012-2020」が閣議決定されており, その中でさけます増殖事業は「北太平洋の生態系との調和を図り, 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」と明記されています。つまり, さけます類の生物多様性や遺伝的多様性を持続的に守るような増殖 (ふ化放流) と資源管理を実行することが求められているといえます。そのためには, まず日本系サケがどのような遺伝的集団構造や遺伝的特徴を持ち, また遺伝的多様性は現在どのような状況であるのかを正確に把握することが重要となります。

ここでは, これまで行われてきた日本系サケおよび北太平洋サケの遺伝的集団構造や遺伝的多様性に関する研究を紹介するとともに, 今後の課題について考えてみたいと思います。

DNA を用いて日本系サケと北太平洋サケの遺伝的集団構造を明らかにする

2000 年以降, 日本系サケおよび北太平洋サケの遺伝的集団構造解析は, ミトコンドリア DNA やマイクロサテライト, 一塩基多型 (SNP) とい

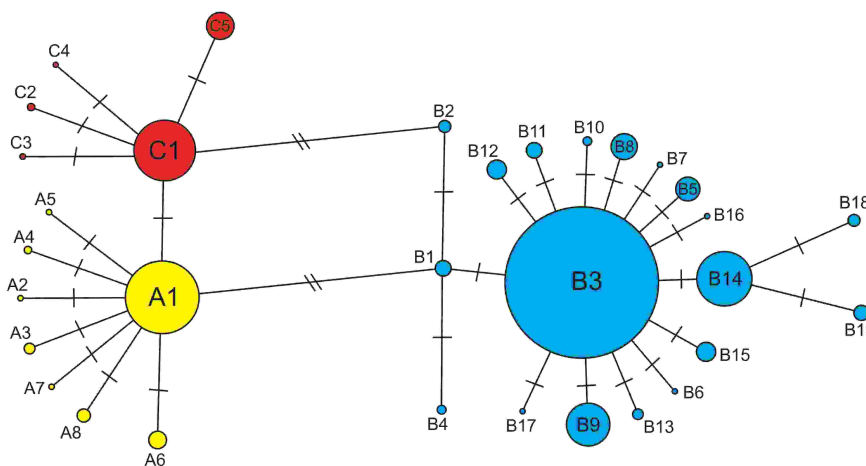


図 1. サケミトコンドリア DNA ハプロタイプのネットワーク図. (Yoon et al. 2008 を改変). スラッシュは 1 塩基の変異を, 数字はハプロタイプ番号を示す. 円の大きさは当該ハプロタイプの出現頻度に比例する.

った複数の DNA レベルの遺伝マーカーを用いて行われてきました。ミトコンドリア DNA は細胞質内にあるミトコンドリアという器官に含まれる DNA で、核 DNA とは異なります。また変異性が高いことから、多くの生物において、遺伝的集団構造の解析に使われています。日本 17 集団、韓国 1 集団、ロシア 30 集団、カナダ・米国 48 集団の合計 96 集団から採集した 4,200 個体以上の標本について、ミトコンドリア DNA を用いた分析を行ったところ、全部で 32 種類の異なった塩基配列（ハプロタイプ）が見つかりました（Yoon et al. 2008）。これらの関係をネットワーク図で示すと図 1 のようになります。32 種類のハプロタイプは A・B・C という 3 つのグループ（クレード）に分かれ、各クレードには中心となる出現頻度の高いハプロタイプが存在しました。ハプロタイプの分布パターンを調べてみると日本と韓国の集団では全てのクレードに属するハプロタイプが分布しており、中でもクレード A が高い割合を示しました（図 2）。ロシア地域では、沿海州の集団では日本・韓国同様全てのクレードに属するハプロタイプが分布していましたが、それ以外の集団ではクレード B と C のハプロタイプだけが分布していました。一方、カナダ・米国の集団では分布しているハプロタイプの 99%以上がクレード B に属するものであり、アジア地域と比べ明らかに分布パターンが異なっていました。日本・ロシア・

北米（カナダと米国）の 3 地域で固有のハプロタイプ数を調べてみると、日本地域で最も多く、ロシア地域、北米地域の順で少なくなっていました。またハプロタイプ多様度（遺伝的多様性の指標の一つ）も日本地域で最も高い値を示しました。さらに近隣結合法による系統樹を作成したところ、日本・韓国・ロシア沿海州地域、沿海州を除くロシア地域、北西アラスカ地域、北西アラスカを除く北米地域の 4 地域に分かれました（Sato et al. 2004）。分子分散分析という統計解析を行ったところ、この 4 地域間では明瞭な遺伝的分化が生じていることが明らかとなり、さらに日本においては、北海道地域・本州太平洋地域・本州日本海地域の 3 地域間で弱いながらも遺伝的に分化した「地域集団」が存在することが示されました（Sato et al. 2004; Yoon et al. 2008）。

ではマイクロサテライトによる分析ではどうなのでしょう。マイクロサテライトは核 DNA 上に存在する塩基の繰り返し配列のことで、変異性が非常に高く、犯罪捜査での個人特定や親子鑑定などにも使われる遺伝マーカーです。このマイクロサテライト 14 遺伝子座を使って、日本系サケ 26 集団（北海道 16 集団、本州太平洋 5 集団、本州日本海 5 集団）にロシア 1 集団と北米 3 集団を加えた合計 30 集団について近隣結合法による系統樹を作成しました（図 3）。その結果、日本集団とロシア・北米集団は明確に異なっており、さ

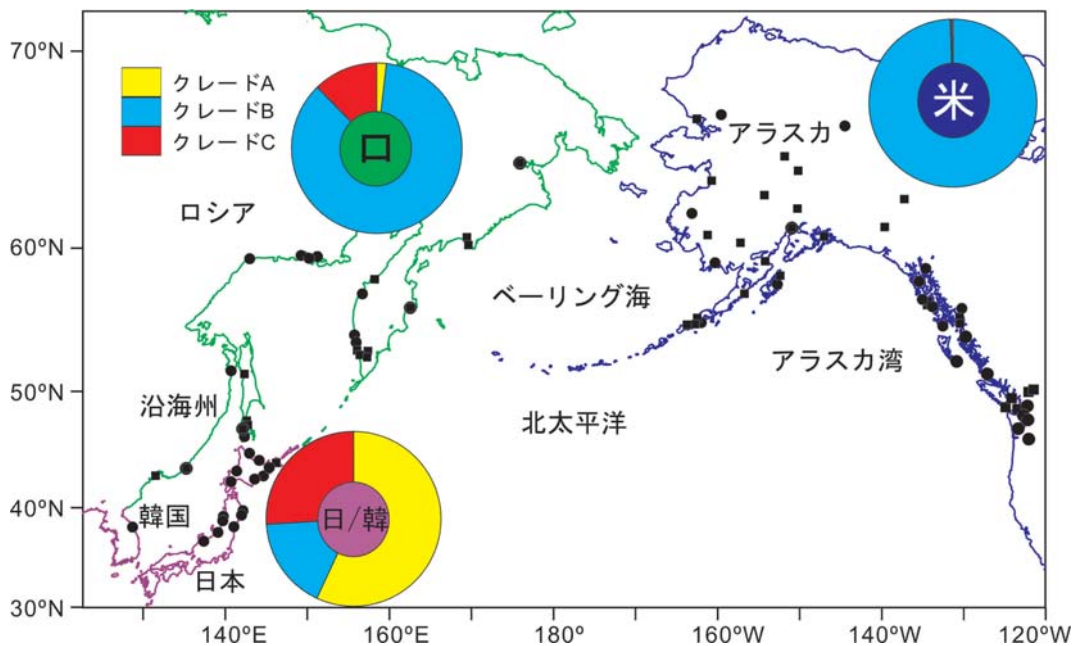


図 2. 北太平洋におけるサケミトコンドリア DNA ハプロタイプの分布パターン (Sato et al. 2004 および Yoon et al. 2008 のデータから作図)。各クレードを示すアルファベットと色は図 1 と対応。地図上の黒丸は Sato et al. (2004) の標本採集地点を、黒正方形は Yoon et al. (2008) の標本採集地点を示す。それぞれの円グラフの中心の色は海岸線の色と対応し、各海岸線の標本採集地点のデータが含まれていることを示す。

らに日本集団は北海道 5 地域(日本海・根室海峡・オホーツク海・太平洋東部・太平洋西部), 本州太平洋, 本州日本海の合計 7 つの地域集団に分かれることが示されました (Beacham et al. 2008). またマイクロサテライト 14 遺伝子座の対立遺伝子の平均値と合計数はロシア・北米集団よりも日本集団で高く, 遺伝的多様性が日本系サケで大きいことが示されました. 同様に, 北太平洋全体の

サケ 381 集団 (日本 26 集団, 韓国 1 集団, ロシア 34 集団, カナダ 185 集団, 米国 135 集団) を対象に, 同じマイクロサテライト 14 遺伝子座を使って分析した結果でも, やはり日本系サケ集団はロシア・北米集団と比較して対立遺伝子の平均値と合計数が高く, その遺伝的多様性は北太平洋サケ集団全体の中でも大きいことが示唆されました. また近隣結合法による系統樹でも, 日本集団はその他の集団と明確に分かれていることが示されました (Beacham et al. 2009a).

一方, 一塩基多型 (SNP) による研究では, ミトコンドリア DNA やマイクロサテライトとは若干違った結果が示されています. SNP とは, 塩基配列上の一塩基に見られる変異のうち, 一定以上の頻度 (概ね 1% 以上) で観察されるものを指し, 近年遺伝マーカーとして利用されるようになってきました. 北太平洋のサケ 114 集団 (日本 16 集団, 韓国 1 集団, ロシア 10 集団, カナダ・北米 87 集団) について, SNP53 遺伝子座を遺伝マーカーに用いて主成分分析を行ったところ, これまでの二つの遺伝マーカーによる結果同様, 日本系サケ集団は外国集団と大きく異なっていました (図 4). しかし, 遺伝的多様性の指標の一つである平均ヘテロ接合度やアليلリッチネスは, これまでと異なり外国集団よりも若干低い値を示しました (Seeb et al. 2011). 日本系サケ集団の遺伝的多様性について, SNP 分析の結果が他の二つの遺伝マーカーによる結果と異なる理由は現在のところ不明です. 現在サケで使用されている SNP マーカーは, 北米系サケ集団間で比較的変異性の高いものが優先して選択されているので, 日本系集団と北米系集団間で遺伝的多様性を比較するには不向きなのかもしれません. SNP を用いたサケの遺伝的集団構造に関する研究はまだ始まったばかりですので, 今後の進展に期待するところです.

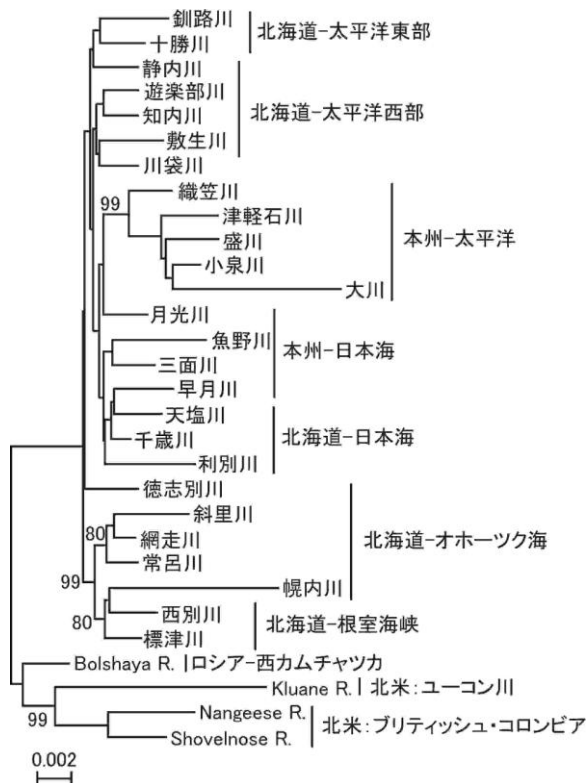
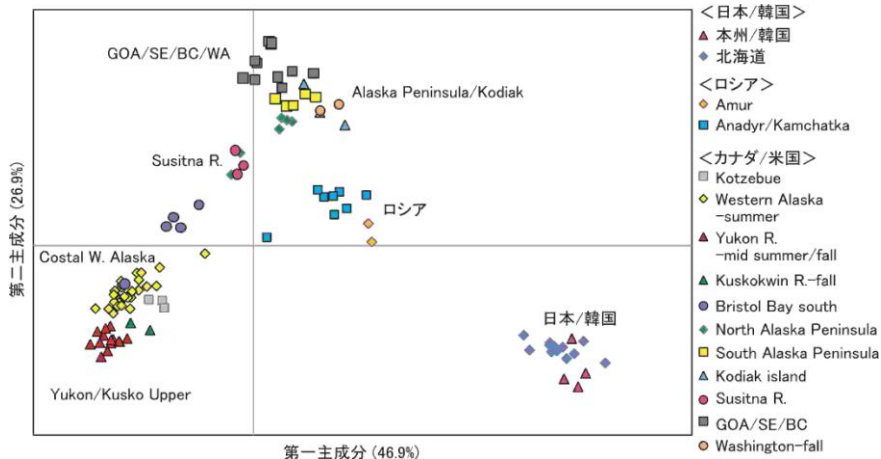


図 3. マイクロサテライト 14 遺伝子座のデータを元にした, 日本系サケ 26 集団および外国系サケ 4 集団の近隣結合法による系統樹. Beacham et al. (2008) を改変. 数値は 1000 回繰り返しによるブートストラップ値を示す.

図 4. SNP53 遺伝子座の解析データを元にした, 北太平洋サケ 114 集団の主成分分析結果. Seeb et al. (2011) を改変. 図は分析したサケ集団間の遺伝的距離を視覚化したもの.



以上3つの研究結果は、アジア側、特に日本系サケの遺伝的集団構造が、北太平洋全体を見渡しても特徴的であることを基本的に示しています。過去に行われた研究においても、アジア側（特に日本系）のサケ集団は北米側の集団と比較して遺伝的にかなり異なることが示されています（例えば Taylor et al. 1994; Seeb and Crane 1999）。そして、アジア側のサケ集団がこのような遺伝的集団構造や遺伝的多様性を持つ背景として、更新世の時代に氷河の後退などでアジア側にできたレフュジア（refuge, 退避場所）の存在が影響していると推察されています（Taylor et al. 1994; Beacham et al. 2009a）。日本系サケ集団はアジアの中でもその分布域の南限に位置していることから、その遺伝的集団構造や遺伝的多様性には、過去に起こった地質学的な環境変動が大きく影響しているのかもしれない。

遺伝マーカーによる遺伝的集団構造解析結果の応用と今後の課題

遺伝マーカーを用いた研究により、日本系サケの遺伝的集団構造や遺伝的多様性が明らかになってきました。これらのデータは、日本系サケの保全単位の設定など、今後遺伝的多様性に配慮したふ化放流事業を展開していく上で基礎的な情報になると考えられます。また、日本系サケを含めた北太平洋サケの遺伝的集団構造の解析データは、沿岸域あるいは沖合域におけるサケ混合集団の地理的起源を推定する際に、基準データとして利用可能です（例えば Beacham et al. 2009b ; Sato et al. 2007 ; Seeb et al. 2011）。現在、日本では夏のベーリング海でさけます類の資源生態調査を行っていますが、その調査内容の一つに、ベーリング海で採集されたサケの地理的起源について遺伝的手法による推定があります。ミトコンドリア DNA を基準データに用いてサケの地理的起源の推定を行った研究では、日本系サケはベーリング海全体に広く分布すること、その分布様式には偏りがあることなどが明らかになってきました（例えば Sato et al. 2009）。この結果は、沖合海域における日本系サケの資源動態の把握や詳細な回遊経路の推定などに役立つものと考えられます。

一方、いくつかの課題もあります。例えば、サケの遡上時期は一つの河川で数ヶ月にわたり続きますが、そのため同じ河川や地域であっても、遡上時期により遺伝的特性や遺伝的集団構造が違っている可能性があり、これは保全単位を設定する上で重要な要素となります。実際に、北米のユーコン川では遡上時期が異なる夏ザケと秋ザケで遺伝的集団構造が異なり、その一つの要因として遡上のタイミングが影響しているという報告があ

ります（Olsen et al. 2008）。また北海道南部の遊楽部川では、サケの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います（中原 2004 ; Yokotani et al. 2009）。太平洋さけます類（サケ・ギンザケ *O. kisutch*・マスノスケ *O. tshawytscha*・カラフトマス）の遡上時期や産卵行動には「時計遺伝子」と呼ばれる遺伝子が関与していることが示唆されていますが、時計遺伝子には種間および種内で変異（多様性）が存在すること、その多様性はサケおよびマスノスケで強い緯度クライン*を示すこと、そしてその多様性が適応的に働き遡上時期や産卵行動を調節している可能性があることを示した研究結果もあります（O'Malley et al. 2010）。日本においても、増殖河川に帰ってきたサケ親魚の遡上時期と採卵時期の関係を調べたところ、サケ親魚はそれらが採卵された時期とほぼ同じタイミングで遡上し、この傾向は年齢にかかわらず同じであることが示されました（高橋 2013）。この結果は、日本系サケの遡上時期も上記で示した「時計遺伝子」などの働きにより、遺伝的に決定されている可能性があることを示唆しています。このようなサケの遡上時期と遺伝構造・遺伝的多様性に関する研究は、これから実施すべき重要な課題の一つと考えており、北海道区水産研究所でも現在進行中の第三期中期計画の中で取り組みを開始したところです。

おわりに

はじめに述べたように、サケは日本の水産業にとって重要な魚種であり、その安定供給のためには、ふ化放流事業を実施することは不可欠です。一方、北太平洋の中でも特徴的な遺伝的集団構造を示す日本系サケの遺伝的多様性を高く保つことは、地球温暖化やそれに伴う水温上昇といった海洋環境の変化に対し、日本系サケが上手く適応し生き残るために重要な要素であり、ひいては将来にわたり日本系サケを水産資源として利用していくための基盤となります。そのため、日本系サケについて適切な保全単位を設定し、その遺伝的集団構造や遺伝的多様性に変化がないか常にモニターしていくことは大切です。同時に、日本系サケの遺伝的集団構造について未解明の部分明らかにし、遺伝的多様性を保全するための新たな知見を蓄積していくことも重要です。今後も日本系サケ資源を持続的に利用していくために、その遺伝的多様性を守りながらふ化放流事業を実施していくことが強く求められています。

* 緯度クライン：低緯度から高緯度にかけて生じる、ある形質の連続的な変化。

引用文献

- Beacham, T. D., J. R. Candy, K. D. Le, and M. Wetklo. 2009a. Population structure of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) across the Pacific Rim, determined from microsatellite analysis. *Fish. Bull.*, 107: 244-260.
- Beacham, T. D., J. R. Candy, C. Wallace, S. Sato, S. Urawa, N. V. Varnavskaya, K. D. Le, and M. Wetklo. 2009b. Microsatellite stock identification of chum salmon on a Pacific Rim basis. *N. Am. J. Fish. Manage.*, 29:1757-1776.
- Beacham, T. D., S. Sato, S. Urawa, K. D. Le, and M. Wetklo. 2008. Population structure and stock identification of chum salmon *Oncorhynchus keta* from Japan determined by microsatellite DNA variation. *Fish. Sci.*, 74: 983-994.
- Hilborn, R. 1992. Hatcheries and the future of salmon in the Northwest. *Fisheries*, 17: 5-8.
- 中原立喜. 2004. シロザケ (*Oncorhynchus keta*) のオス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. 25p.
- Olsen, J. B., B. G. Flannery, T. D. Beacham, J. F. Bromaghin, P. A. Crane, C. F. Lean, K. M. Dunmall, and J. K. Wenburg. 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.
- O'Malley, K. G., M. J. Ford, and J. J. Hard. 2010. Clock polymorphism in Pacific salmon: evidence for variable selection along a latitudinal gradient. *Proc. R. Soc., B* 277: 3703-3714.
- Sato, S., M. Yoon, S. Abe, and S. Urawa. 2007. Update of mitochondrial DNA baseline for stock identification of chum salmon. NPAFC Doc. 1019. 26p.
- Sato, S., S. Moriya, T. Azumaya, H. Nagoya, S. Abe, and S. Urawa. 2009. Stock distribution patterns of chum salmon in the Bering Sea and North Pacific Ocean during the summer and fall of 2002–2004. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.*, 5: 29-37.
- Sato, S., H. Kojima, J. Ando, H. Ando, R. L. Wilmot, L. W. Seeb, V. Efremov, L. LeClair, W. Buchholz, D.-H. Jin, S. Urawa, M. Kaeriyama, A. Urano, and S. Abe. 2004. Genetic population structure of chum salmon in the Pacific Rim inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Env. Biol. Fish.*, 69: 37-50.
- Seeb, L. W., and P. A. Crane. 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., W. D. Templin, S. Sato, S. Abe, K. Warheit, J. Y. Park, and J. E. Seeb. 2011. Single nucleotide polymorphisms across a species' range: implications for conservation studies of Pacific salmon. *Mol. Ecol. Res.* 11: 195-217.
- 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: 16-18.
- Taylor, E. B., T. D. Beacham, and M. Kaeriyama. 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.
- Yokotani, R., N. Azuma, H. Kudo, S. Abe, and M. Kaeriyama. 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., S. Sato, J. E. Seeb, V. Brykov, L. W. Seeb, N. V. Varnavskaya, R. L. Wilmot, D. H. Jin, S. Urawa, A. Urano, and S. Abe. 2008. Mitochondrial DNA variation and genetic population structure of chum salmon *Oncorhynchus keta* around the Pacific Rim. *J. Fish. Biol.*, 73: 1256-1266.