

マイクロサテライトDNA解析による希少種イトウの遺伝的構造の 解明及び遺伝的指標を用いた保全策の提言

イトウ生態保全研究ネットワーク

江戸 謙顕¹⁾・北西 滋²⁾・秋葉 健司³⁾・大光明 宏武³⁾

野本 和宏⁴⁾・小泉 逸朗⁵⁾

Genetic population structure of the endangered salmonid, Sakhalin taimen in Japan inferred from microsatellite loci: implications for conservation

Sakhalin taimen Ecology and Conservation Research Network
Kaneaki Edo, Shigeru Kitanishi, Kenji Akiba, Hirotake Oomiya,
Kazuhiro Nomoto and Itsuro Koizumi

サケ科魚類イトウは国内最大級の淡水魚であり、各種レッドリストで絶滅危惧種として記載されている。本研究では、イトウの遺伝的構造をマイクロサテライトDNA解析により明らかにし、保全遺伝学的観点から、より適切な保全策の立案に寄与することを目的とした。解析は、主要分布域を網羅する北海道内の14個体群350個体について実施した。解析の結果、多くの個体群間で有意な遺伝的分化が検出され、近隣水系間（河口間10km以下）や水系内支流間といった、局所的なスケールにおける遺伝的分化も進んでいることが示唆された。個体群内の遺伝的多様性は全体的に低かったが、道東地方の個体群は比較的高い多様性を示した。これらの結果から、遺伝的観点からイトウを適切に保全するためには、各水系、場合によっては支流を個別の保護管理単位として捉え、個別に保全策を立案・実施する必要があると考えられた。また、遺伝的多様性を保全するためには、比較的多様性が高いものの個体群単位の絶滅が相次いでいる、道東地方の個体群を優先的に保全する必要があると考えられた。

1. はじめに

イトウ (*Hucho perryi*) はサケ科イトウ属に属する国内最大級の淡水魚であり、日本を含めサハリンや千島列島南部、沿海州にも生息している (木村 1966、グリツェンコら 1974)。国内では、かつては青森県と岩手県の一部の水域にも生息していたが、これらの個体群は既に絶滅し、現在は道南の一部および日高地方を除く北海道に分布が限定されている (青柳 1957、宮地ら 1976)。イトウ属はユーラシア大陸に広く分布し、本種以外に、シベリアに生息するアム

ールイトウ (*H. taimen*)、鴨緑江上流のコウライイトウ (チャチ) (*H. ishikawai*)、揚子江上流の虎魚 (*H. bleekeri*)、ドナウ川のHuchen (*H. hucho*) の4種が知られている (Holcik *et al.* 1988)。日本に生息するイトウは、他の4種と異なり、唯一降海性を有する (川村ら 1983、Edo *et al.* 2005)。また、他4種より鱗が大きく、側線鱗数が少ない (イトウ：110~125枚、他種：150~200枚) (木村1966、Holcik *et al.* 1988)。他の日本産サケ科魚類が全て秋に産卵するのに対し、イトウは唯一春に産卵する (Fukushima 1994、Edo *et al.* 2000)。

1) 文化庁記念物課 2) 立命館大学生命科学部 3) HuchoWorks 4) 北海道大学大学院環境科学院
5) 北海道大学大学院地球環境科学研究院

また、シロザケ等は一度の産卵で生涯を終える一回産卵型として知られるが、イトウは典型的な長寿多数回産卵魚で、20年近く生き、数回に渡り産卵を繰り返す(Edo 2001)。イトウは魚食性が強いことでも有名で、体長も1mを超えることから、釣魚としても人気が高い。

イトウは、本州では既に絶滅したが、北海道においてもその個体数を年々減少させている(江戸・東2002)。現在、イトウは環境省レッドリストで絶滅危惧IB類(環境省 2007)、北海道レッドリストでは絶滅危機種に選定されている(北海道 2000)。さらに2006年には、国際自然保護連合(IUCN)レッドリストで、最も絶滅の危険性が高いとされるCR(Critically Endangered)に選定された。絶滅が憂慮されるイトウだが、近年の北海道における生息状況等に関する調査から、実際に地域によっては個体群の絶滅が相次ぎ、また、残存する個体群の多くにおいても、繁殖個体の数が激減していることが明らかとなっている(江戸ら 未発表データ)。

近年の調査により分布や繁殖の状況等が明らかになる一方、個体群内の遺伝的多様性の程度や個体群間の遺伝的交流の有無など、イトウの遺伝的構造に関する情報は、これまでほとんど明らかにされてこなかった。北海道内の一部の水系では、イトウの遺伝的構造についての調査や検討が十分になされないまま、増殖を目的として、別水系由来の個体の移植放流が実施されている。イトウと同じサケ科に属するサクラマスにおいては、異なる水系間では仔魚が孵化するまでの積算水温に大きな差があり、交雑個体の積算水温はその中間の値をとることや、スマルト(銀毛化した幼魚)の降海時期も水系間で異なること等が報告されている(小林ら 1994)。また、異なる水系間でサクラマスの交換放流実験をおこなったところ、いずれの水系においても移植された個体の産卵回帰率が非常に低いこと等が報告されており、その要因の一つとして、生活史全体を通じての遺伝的不適合が示唆されている(真山ら 1989)。イトウについても同様に、移植個体の放流河川への遺伝的不適合や、水系間交雑による異型交配弱勢などが懸念される。野生生物の保全を実行する際には、

遺伝学的観点からの調査に基づいた保全策を立案することが重要であり、遺伝的構造を無視した保護・保全策は原則行うべきではない(Pullin 2002)。イトウの遺伝的構造の解明は、本種個体群における遺伝的観点からの保全指標を得るうえで、急務である。

著者らは、平成18年度PRO NATURA FUNDの助成を受けて、イトウのミトコンドリアDNAを解析し、本種の低い個体群内の遺伝的多様性と、高い個体群間の遺伝的固有性等を明らかにした(江戸ら 2008)。そして、それらの結果に基づき、本種の保全策として、各水系(個体群)を個別の保護管理単位とし、水系ごとに保全策を立案・実施する必要があること、遺伝的構造を考慮しない水系間の個体の移植放流を原則禁止とすること、遺伝的多様性を維持するため、絶滅の恐れのある個体群については、人工増殖を含む生息域外保全等を実施する必要があることなどを提言した(江戸ら 2008)。しかし、ミトコンドリアDNAは母系遺伝であり、その解析結果に父系は反映されない(小池・松井 2003)。サケ科魚類のいくつかの種では雌雄で分散パターンが異なる例が報告されており、特にオス分散の傾向が報告されている(Bekkevold *et al.* 2004, Kitanishi 2007)。父系も反映する核DNAの解析を行うことで、ミトコンドリアDNAの解析結果とは異なるイトウの遺伝的構造が検出されるかもしれない。また、ミトコンドリアDNAと比べ多型性が高い遺伝マーカーを用いることにより、同一地域内の隣接した水系間(河口間距離10km以下)や、同一水系内の異なる支流間といった、より局所的なスケールでの遺伝的差異を検出できる可能性もある。さらに、ミトコンドリアDNAだけではなく、複数の遺伝的指標を用いることで、遺伝的構造・特性に関するより多くの情報を得ることができ、より正確性・信頼性の高い保全策の提言が可能となることが期待される。

これらの点に鑑み、本研究では、父系を反映し、より多型性の高いマイクロサテライトDNAの解析を行い、その結果を用いて、北海道全域におけるイトウ個体群の遺伝的構造をより詳細に把握し、遺伝的多様性保全の観点から、より適切なイトウ保全策の立案に寄与することを目的とした。

2. 研究方法

解析は、イトウの主要分布域を網羅する、北海道内の14個体群(空知川、雨竜川、問寒別川、サロベツ川、声間川、尻別川、知来別川、鬼志別川、猿骨川、猿払川、斜里川、風連川、別寒辺牛川、釧路川)350個体及び外群2個体群(サハリン、コッピ川)10個体を対象に実施した。サンプル収集のために個体(成魚、稚魚)を捕獲した際には、脂鱗の一部のみを採取し、個体は速やかに捕獲した場所に放流した。発眼卵を採集する場合には、1つの産卵床から数粒のみとし、同一支流内の産卵床からは明らかに卵径の異なる卵のみを別個体由来のサンプルとして扱った。採集したサンプルは99%エタノールで保存し、DNA抽出を行うまで3°Cで保存した。DNA抽出は、プロテナーゼKとキレックス(Chelex 100、Bio-Rad社)を用いて行った。抽出したDNAは300 μ LのTEバッファーに溶かし3°Cで保存した。

マイクロサテライトDNA解析は、イトウ及び他のサケ科魚類を対象に開発された既知の18遺伝子座(Froufe *et al.* 2004, Hatakeyama *et al.* 2005)を用いて行った。まず、集団遺伝解析に適した遺伝子座を選定するため、ミトコンドリアDNA解析において多型性に富んでいた4個体群27個体を用いて対立遺伝子多型の有無を調べた。その結果、10遺伝子座においては、複数の対立遺伝子、もしくはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による遺伝子の増幅が確認されなかったため、本研究では残りの8遺伝子座を用いて解析を行った。PCRにはサーマルサイクラー(PCR Thermal Cycler SP; Takara)を用い、全遺伝子座とも、0.5unit Taq Polymerase(Ampli Taq Gold; ABI)、各プライマーを0.5 μ L、0.2mMのdNTP、50mMのKCl、20mMのTris-HCl(pH8.4)、1.5mMのMgCl₂、0.5-1.0 μ LのDNA溶液、超純水を加えた合計20 μ Lの条件で行った。温度条件は、まず92°Cで12分、次に94°C 30秒、アニーリング温度30秒、72°C30秒を37回繰り返し、最後に72°C7分とした。アニーリング温度は、Froufe *et al.* (2004)及びHatakeyama *et al.* (2005)に従った。PCR産物はABI PRISM 3100 Genetic Analyserを用いて解析し、対立遺伝子のフラグメントサイズの判別にはGENE SCAN Analysis ver.3.7(Applied Biosystems

社)を用いた。

各個体群の遺伝的多様性を比較するため、出現対立遺伝子数(A)、ヘテロ接合度(H_E)、Allelic richness(Ar; El Mousadik and Petit 1996)、固有対立遺伝子数(N_{PA})を算出した。これらの算出にはGENEPOP(Raymond and Rousset 1995)およびFSTAT ver.3.4(Goudet 2001)を用いた。ハーディ・ワインバーグ平衡からのずれと連鎖不平衡の有無、近交係数(F_{IS})はGENPOPを用いて求めた。

北海道におけるイトウ個体群の遺伝的構造を把握するため、各個体群間の遺伝的分化係数(F_{ST}; Weir and Cockerham 1984)をArlequin ver.2.000(Schneider *et al.* 2000)を用いて算出するとともに、GENEPOPを用いて遺伝的差異について有意性の検定(exact test)を行った。これらの解析では、サンプル数が25個体以上の8個体群のみを用い、有意性の有無は、繰り返し回数を10,000回としたリサンプリング法によって判別した。得られた結果にはシークエンシャルボンフェローニ補正(Rice 1989)を行った。次に、個体群間の遺伝的類似性を主成分分析により求めた。主成分分析にはPCAGEN(Goudet 1999)を用いた。地理的距離と遺伝的距離との関係を把握するために、距離による隔離の効果(isolation by distance, *e.g.* Wright 1943)を求めた。有意性の検定のためMantel test(Mantel 1967)を行い、繰り返し回数は10,000回とした。Mantel testにはGENPOPのプログラムISOLDEを用いた。

これまでの集団遺伝学における解析手法では、河川や地域(日本海側、オホーツク海側など)といった事前情報を用いて個体群を定義していた。しかし、近年、このような事前情報に基づき定義された個体群と遺伝情報に基づくクラスターが異なる場合があることが、様々な魚類において報告されている(例えばVaha *et al.* 2007, Geist *et al.* 2009)。さらに、本研究では個体数の少ない個体群があることから、上記の遺伝的構造解析手法(F_{ST}、主成分分析等)に加え、STRUCTURE ver.2.3.1(Pritchard *et al.* 2000)を用いて、個体の遺伝情報から北海道におけるイトウ個体群の遺伝的クラスター数(K)、及び各個体の帰属クラスターの推定を行った。この方法では、北海道

にはKクラスターが存在する、というモデルを仮定し、各個体の遺伝子型に基づき尤もらしい個体群数の推定と各個体の帰属クラスターの推定を行う。本研究では、 $K=1\sim 16$ とし(14個体群及び外群2個体群)、admixture model及びcorrelated frequencies modelを用いて、各Kの対数尤度($\ln \Pr(X/K)$)を推定した(マルコフ連鎖モンテカルロ法、繰り返し回数100,000回(burn-in: 50,000)を1セットとし、10セット行った)。Kの決定には、 ΔK 法を用いた(Evanno *et al.* 2005)。

3. 結果

マイクロサテライトDNA 8遺伝子座における各個体群の遺伝的多様性を求めた結果、対立遺伝子数(A)、Allelic richness(Ar)及びヘテロ接合度(H_E)は、それぞれ2.0~3.9、1.9~2.6及び0.27~0.45となり、北海道全域におけるイトウ個体群の特徴として、全体的に遺伝的多様性が低いことが明らかとなった(表1)。特に、個体群サイズが大きく安定していると考えられる空知川水系や問寒別川水系の個体群では、遺伝的多様性が低かった。一方、近年個体数が激減し絶滅が危惧されている道東地方の個体群(釧路川、風蓮川等)においては、個体群サイズが小さいにもかかわらず、比較的多数の対立遺伝子が

検出された(表1)。ハーディ・ワインバーグ平衡からのずれを求めた結果、全体としては有意なずれが認められ($P<0.001$)、2個体群(雨竜川、釧路川)においても有意なずれが認められた(データ未掲載)。また、3つの遺伝子ペアにおいて連鎖不平衡が生じている可能性が見られたが、先行研究からこれらの遺伝子座は連鎖していないことが報告されているため(Hatakeyama *et al.* 2005)、以降の解析はこれらの遺伝子座を含めて行った。近交係数(F_{IS})は-0.164~0.188となり、尻別川及び別寒辺牛川で有意な正の値を示した。

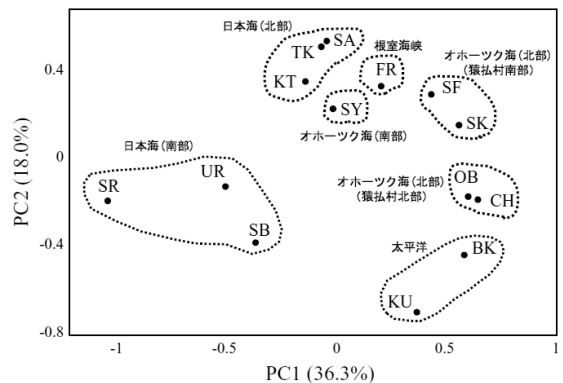


図1. 主成分分析の結果

表1. 各個体群内の遺伝的多様性

N:解析個体数、A:対立遺伝子数、
Ar: Allelic richness、 N_{PA} : 固有対立遺伝子数、
 H_E :ヘテロ接合度、 F_{IS} :近交係数 *: $P<0.05$

個体群 (abbreviation)	N	A	Ar	N_{PA}	H_E	F_{IS}
尻別川 (SB)	9	2.4	2.3	0	0.45	0.188*
空知川 (SR)	49	2.3	1.9	1	0.34	-0.033
雨竜川 (UR)	28	3.0	2.3	0	0.43	0.011
問寒別川 (TK)	29	2.6	1.9	2	0.27	-0.016
サロベツ川 (SA)	11	2.8	2.2	0	0.31	-0.029
声間川 (KT)	32	3.0	2.0	1	0.31	0.083
知来別川 (CH)	8	2.0	2.2	0	0.42	-0.164
鬼志別川 (OB)	8	2.3	2.1	0	0.36	-0.016
猿骨川 (SK)	10	2.4	2.1	1	0.39	-0.049
猿払川 (SF)	45	3.3	2.3	0	0.37	0.021
斜里川 (SY)	9	3.0	2.6	0	0.45	0.023
釧路川 (KU)	34	3.9	2.6	4	0.43	0.085
別寒辺牛川 (BK)	38	3.4	2.5	0	0.43	0.121*
風蓮川 (FR)	40	3.5	2.3	2	0.34	0.027
サハリン (NN)	5	2.1	2.1	0	0.38	0.207
コッピ川 (KP)	5	2.5	2.5	0	0.47	0.200

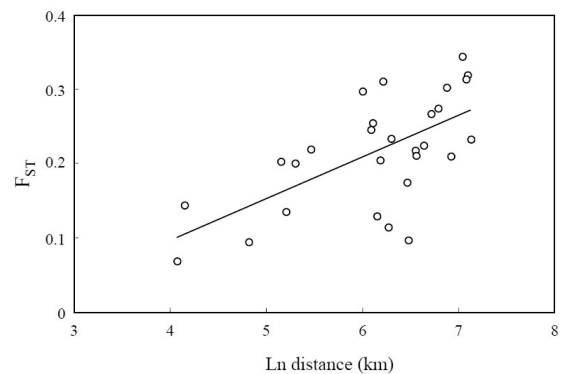


図2. 距離による隔離の効果
(Mantel test: $P=0.001$, $r^2=0.403$)

Exact testによって各個体群間の遺伝的な差異を求めた結果、全ての個体群間で有意な遺伝的差異が検出された。また、「空知川」と「雨竜川」といった同一水系(石狩川水系)内支流間においても、遺伝的な差異が検出された(表2)。個体群間の遺伝的分化係数(F_{ST})は0.0683~0.3433であり(Global F_{ST} =0.218)、exact testと同様、同一水系内の支流間も含めた、全ての個体群間で有意な差異が検出された(表2)。主成分分析の結果、個体群間の遺伝的類似性は、ミトコンドリアDNA解析において明らかとなった地理的クラスター構造(日本海側・オホーツク海側・根室海峡側・太平洋側の4グループ、江戸ら 2008)とある程度類似した構造を示したが、個体群間の遺伝的類似性の程度は、地理的クラスターにより異なっていた(図1)。第1主成分および第2主成分の寄与率は、それぞれ、36.3%および18.0%だった。地理的距離による隔離の効果(isolation by distance)を求めた結果、地理的距離と遺伝的距離(F_{ST})との間に有意な相関関係が認められた(図2; $y = 0.056x + 0.1287$, $r^2 = 0.403$, Mantel test: $P = 0.001$)。

STRUCTURE及び ΔK 法により遺伝情報からクラスター数(K)を推定した結果、北海道に生息するイトウは8つの遺伝的クラスターに分けられることが示唆された(図3)。各個体群における各個体が帰属する遺伝的クラスターを表3に示す。各遺伝的クラスター

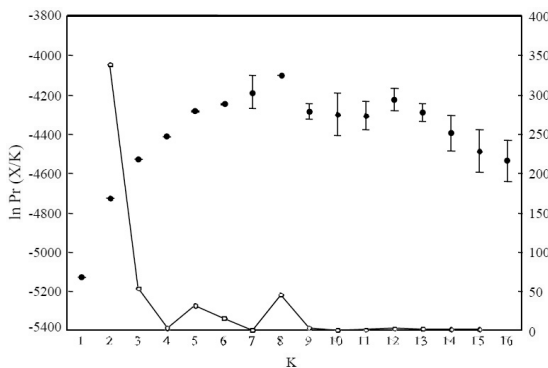


図3 STRUCTUREによって推定された個体群数(K)

左軸および黒丸は10セットの平均対数尤度を、右軸および白丸は ΔK 値を示す。

は2~8個体群により構成されていたが、各遺伝的クラスターの構成個体の割合はクラスター毎に異なり、遺伝的クラスター1~3は日本海側の個体群、クラスター4~5はオホーツク海というように、その最頻個体はある程度の地理的傾向を示した。さらに、「空知川(クラスター1)」と「雨竜川(クラスター2)」といった同一水系内の異なる支流間や、「知来別川・鬼志別川(クラスター4)」と「猿骨川・猿払川(クラスター5)」といった同一地域内の近隣水系間においても、割り当てられる遺伝的クラスターが異なっていた。

4. 考察

本研究における対立遺伝子の出現頻度や遺伝的分化係数、STRUCTUREの結果等から、北海道に生息するイトウは明瞭な遺伝的構造を形成しており、個体群間で遺伝的な分化がかなり進んでいることが明らかとなった。ミトコンドリアDNAを用いた先行研究では、北海道に生息するイトウ個体群が4つの地域クラスター(日本海、オホーツク海、太平洋、根室海峡)を形成していること、個体群間に有意な遺伝的分化が認められることが報告されているが(江戸ら 2008)、マイクロサテライトDNAを用いた本研究においても、同様の傾向が示された。さらに、「猿払川・猿骨川」と「鬼志別川・知来別川」といった同一地域内近隣水系間(河口間距離10km以下、道北地方猿払村内)における遺伝的差異や、「空知川」と「雨竜川」といった同一水系(石狩川水系)内支流間での遺伝的差異も認められたことから、イトウは同一地域内の近隣水系間もしくは同一水系内の異なる支流間といった、より局所的なスケールにおいても、遺伝的な分化が進んでいることが示唆された。他にも、主成分分析の結果から、個体群間の遺伝的類似性の程度が地域クラスターにより異なっていることが明らかとなり、遺伝的分化の程度が地域もしくは水系毎に異なっていることが示された。

一方で、Mantel testの結果、距離による隔離の効果も検出された(図2)。これは、水系間での遺伝的交流の程度は極めて低いものの、全く交流が無いわけではなく、近隣水系間ではわずかではあるが交流があることを示唆している。イトウは降海すること

が知られており (Edo *et al.* 2005)、そうした降海個体による海を介した別水系への侵入により遺伝子流動が生じている可能性が考えられる。なお、他種のサケ科魚類では、オス個体に因る分散が報告されている (Bekkevold *et al.* 2004、Kitanishi 2007)。イトウに関しては、標識個体の再捕獲率を用いた解析から、メスが同じ支流に何度も遡上して産卵することが明らかとなっており (支流レベルの母川回帰) (Edo 2001、江戸・東 2002)、また、ミトコンドリアDNA解析の結果から、水系間におけるメスの分散がかなり少ないことが示唆されている (江戸ら 2008)。したがって、イトウについても、こうした河川間の分散とそれに基づく遺伝子流動は、オス個体に因る傾向があるかもしれない。

個体群内の遺伝的多様性に関しては、全ての遺伝的多様性指標において、全体的に低い値を示した。

特に、日本海側及びオホーツク海側に位置する個体群において、遺伝的多様性の低さが顕著であり、空知川や問寒別川など個体数が多く安定した個体群においても、平均対立遺伝子数は3個未満であった。一方、太平洋側に位置する釧路川や根室海峡側に位置する風蓮川など道東地方に位置している個体群では、生息個体数が少ないにもかかわらず、比較的多数の対立遺伝子が検出され、日本海側やオホーツク海側と比べて、道東地方の個体群が高い遺伝的多様性を有していることが示唆された。こうした傾向はミトコンドリアDNAの解析結果と同様であり (江戸ら 2008)、北海道のイトウ個体群、特に日本海側及びオホーツク海側の個体群では、ミトコンドリアDNAとマイクロサテライトDNAの双方において遺伝的多様性が低く、道東地方の個体群では、逆に双方において遺伝的多様性が比較的高いことが明ら

表2. 遺伝的分化係数 (F_{ST} : 下段) 及び exact test (上段) の結果

F_{ST} 、exact test とともにシークエンシャルボンフェローニ補正を行い、いずれも全ての組み合わせで有意差が検出された ($P < 0.05$)。個体群の省略名は表1. を参照。

個体群	SR	UR	TK	KT	SF	KU	FR	BK
空知川		*	*	*	*	*	*	*
雨竜川	0.1997		*	*	*	*	*	*
問寒別川	0.2967	0.2539		*	*	*	*	*
声聞川	0.2450	0.2039	0.0940		*	*	*	*
猿払川	0.3100	0.2330	0.1345	0.0683		*	*	*
釧路川	0.3184	0.2320	0.2736	0.2238	0.2101		*	*
別寒辺牛川	0.3433	0.3128	0.2664	0.2172	0.1742	0.1433		*
風蓮川	0.3016	0.2093	0.0963	0.1137	0.1286	0.2187	0.2021	

*: $P < 0.05$

表3. STRUCTURE によって推定された北海道におけるイトウの遺伝的クラスターの構成

太字は各遺伝的クラスターに割り当てられた個体数の各個体群における最頻値。

個体群の省略名は表1. を参照。

遺伝的クラスター	個体群																N
	日本海						オホーツク海				根室海峡		太平洋		外群		
	SB	SR	UR	TK	SA	KT	CH	OB	SK	SF	SY	FR	BK	KU	NN	KP	
1	4	48	1			2					1	1		1	1		59
2	5	1	25			3					2	2		5		2	45
3			1	26	7	18			1	5	1	4					63
4						7	8	8		7		3		2	1	1	37
5			1	2	3	1			8	28		2		1	3		49
6													1	20			21
7				1	1				1	4	4	25		3		1	40
8						1				1	1	3	37	2		1	46

N: 各遺伝的クラスターに割り当てられた個体数

かとなった。江戸ら(2008)は、Mismatch distribution testの結果から、日本海側及びオホーツク海側の個体群において、最終氷期前(98,000~280,000年前)に個体数の急激な増加があったことを示唆している。個体数が現在比較的安定している日本海側及びオホーツク海側の個体群において遺伝的多様性が低いのは、個体数の急激な増加が生じる以前に、創始者効果やボトルネック効果のような遺伝的多様性を減少させる要因により多様性が著しく低下し、その後多様性が回復するほど十分な時間が経過していないためかもしれない。

マイクロサテライトDNAを用いた本研究から、北海道に生息するイトウの遺伝的特性として、高い個体群固有性と低い遺伝的多様性等が明らかとなった。これらの結果はミトコンドリアDNA解析から得られた結果と同様の傾向を示しており(江戸ら2008)、遺伝的観点を踏まえたイトウの保全策として、各水系を保護管理単位(Management Unit, Evolutionary Significant Unit: Waples 1991, Waples 1995)とすることや、異なる水系間での個体の移植放流を原則禁止とすること等が、重要かつ有効であることをあらためて示唆している。特に、本研究において、「空知川」と「雨竜川」といった同一水系内支流間での遺伝的差異や、「猿払川・猿骨川」と「鬼志別川・知来別川」といった同一地域内近隣水系間(河口間距離10km以下)における遺伝的差異も認められたことから、水系単位はもちろん、場合によっては支流を単一の保護管理単位として捉え、保全策も支流などの保護管理単位ごとに検討する必要があると考えられる。また、近隣水系間や支流間でも個体の移植放流が遺伝的攪乱に繋がる可能性があることから、事前に遺伝的構造等に関する詳細な知見やそれらに基づく遺伝学的観点からの影響評価に関する十分な検討などがない限り、そうした局所スケール内における個体の移植放流についても、原則禁止とすべきであろう。

さらに、本研究から、ミトコンドリアDNAだけでなくマイクロサテライトDNAの解析結果においても、道東地方の個体群(釧路川、風蓮川等)において比較的高い遺伝的多様性があらためて確認され、ま

た、複数の固有対立遺伝子も見られた。したがって、北海道内におけるイトウの遺伝的多様性を維持するためには、道東地方の個体群の保全を優先的に図っていくことが重要であると考えられる。特に、近年道東地方において生息個体数の減少が顕著であることから、絶滅が危惧されている個体群(保護管理単位)については、生息域外において個別に人工増殖を図るなど、保護管理単位(水系・支流)レベルで絶滅を回避するための直接的かつ具体的な保全策を立案し、実施することが急務であると考えられる。

謝辞

本研究を実施するにあたり、以下の方々から多大なご協力をいただきました。ここに深く感謝の意を表します。

北海道大学大学院地球環境科学研究科 東 正剛教授、岩熊 俊夫教授、北海道立水産孵化場 川村 洋司氏、故 鈴木 研一氏、南富良野町落合 永井 夫妻、三浦 夫妻、坂井 夫妻、どんころ野外学校 目黒 夫妻とスタッフの方々、八雲町 稗田 一俊氏、南富良野町長 池部 彰氏、南富良野町 波坂 洋一氏、小柴 昌弘氏、荒木 勲氏、田上 正典氏、日本獣医畜産大学 山本俊明 講師、北海道大学大学院地球環境科学研究科の大学院生の方々、同大学院フィールド科学センターの大学院生の方々、尻別川の未来を考える オビラメの会 会員の方々、ソラブチイトウの会 会員の方々、猿払イトウの会 会員の方々、朱鞠内湖淡水漁業共同組合 組合員の方々、斜里川を考える会 会員の方々、別寒辺牛川流域イトウ保護連絡協議会 会員の方々、道東のイトウを守る会 会員の方々、釧路自然保護協会 会員の方々、十勝のイトウを守る会 会員の方々、猿払村漁業協働組合 組合員の方々、斜里町立知床博物館及び職員の方々(順不同)。

引用文献

- 青柳兵司. 1957. 日本列島産淡水魚類総説: 272pp. 大修館.
- Bekkevold, D., Hansen, M. M. and Mensberg, K.-L. D. 2004. Genetic detection of sex-specific dispersal in

- historical and contemporary populations of anadromous brown trout *Salmo trutta*. *Molecular Ecology*, **13**: 1707-1712.
- Edo, K., Kawamura, H. and Higashi, S. (2000). The structure and dimensions of redds and egg pockets of the endangered salmonid, Sakhalin taimen. *Journal of Fish Biology* **56**, 890-904.
- Edo, K. 2001. Behavioral ecology and conservation of the endangered salmonid, Sakhalin taimen *Hucho perryi*. Ph.D. thesis. Hokkaido University, Sapporo.
- 江戸謙顕・東正剛. 2002. 生物と環境 地球環境サイエンスシリーズ第8巻. 三共出版. 東京.
- Edo, K., Kawaguchi, Y., Nunokawa, M., Kawamura, H. and Higashi, S. 2005. 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. *Environmental Biology of Fishes*, **74**: 1-7.
- 江戸謙顕・北西滋・小泉逸郎・野本和宏. 2008. 北海道に生息する希少サケ科魚類イトウの遺伝的構造と絶滅リスク評価. プロ・ナトゥーラ・ファンダ第17期助成成果報告書: 67-76.
- El Mousadik A. and Petit R.J. 1996. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics*, **92**: 832-839.
- Fukushima, M. 1994. Spawning migration and redd construction of Sakhalin taimen, *Hucho perryi* (Salmonidae) on northern Hokkaido Island, Japan. *Journal of Fish Biology* **44**(5), 877-888.
- Froufe, E., Sefc, K. M., Alexandrino, P. and Weiss, S. 2004. Isolation and characterization of Brachymystax lenok microsatellite loci and cross-species amplification in *Hucho* spp. And *Parahucho perryi*. *Molecular Ecology Notes*, **4**: 150-152.
- Goudet, J. 1999. PCAGEN: principal components analysis of gene frequency data (version 1.2). Lausanne, Switzerland: Population Genetics Laboratory, University of Lausanne.
- Goudet, J. 2001. FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Lausanne, Switzerland: Population Genetics Laboratory, University of Lausanne.
- グリツェンコ, O. E.・マルキン, E. M.・チウリコフ, A. A. 1974. =大屋善延訳, 1976. ボダガヤ川(サハリン東部)のサハリンイトウ *Hucho perryi* (Brevoort). 魚と卵, **143**: 25-34.
- Hatakeyama, M., Watanabe, T., Ikeda, M., Nakajima, M., Kawamura, H. and Taniguchi, N. 2005. Isolation and characterization of microsatellite DNA loci for endangered fish, Japanese huchen (*Hucho perryi*). *Molecular Ecology Notes*, **5**: 893-895.
- 北海道 2000. 北海道レッドリスト(絶滅の恐れのある野生生物リスト).
- Holcik, J., Hensel, K., Nieslanik, J. and Skacel, L. 1988. The Eurasian Huchen, *Hucho hucho*, largest salmon of the world. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht: 239pp.
- 川村洋司・馬淵正裕・米川年三. 1983. 道東の汽水湖・厚岸湖で漁獲されるイトウ *Hucho perryi* (Brevoort). 北海道立水産孵化場研究報告, **38**: 47-55.
- 環境省. 2007. 環境省レッドリスト 汽水・淡水魚類編.
- Kitanishi, S. 2007. Genetic structure of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) populations in Hokkaido. Ph.D. thesis. Hokkaido University, Sapporo.
- 木村清朗 1966. イトウ *Hucho perryi* (Brevoort) の生活史について. 魚類学雑誌, **14**: 17-25.
- 小林美樹・村上豊・河村博. 1994. 異系統交配サクラマス降海行動. 魚と水, **31**: 41-47.
- 小池裕子・松井正文 編2003. 保全遺伝学. 東京大学出版会. 東京.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, **27**: 209-220.
- 真山紘・野村哲一・大熊一正. 1989. サクラマス (*Oncorhynchus masou*) の交換移植試験2 地場産魚と移植魚の降海移動と親魚回帰の比較. 北海道さけ・ますふ化場研究報告, **43**: 99-113.

- 宮地伝三郎・川那部浩哉・水野信彦. 1976. 原色日本淡水魚図鑑: 462pp. 保育社.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. and Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**: 945-959.
- Pullon, A. S. 2002. *Conservation Biology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Raymond, M. and Rousset, F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**: 248-249.
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, **43**: 223-225.
- Schneider, S., Roessili, D. and Excoffier, L. 2000. ARLEQUIN: A software for population genetics data analysis, version 2.000. Geneva: Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva.
- Vaha, J.-P., Erkinaro, J., Niemela, E. and Primmer, C. R. 2007. Life-history and habitat features influence the within-river genetic structure of Atlantic salmon. *Molecular Ecology*, **16**: 2638-2654.
- Waples, R. S. 1991. Pacific salmon, *Oncorhynchus* spp., and the definition of “species” under the Endangered Species Act. *Marine Fisheries Review*, **53**: 11-22.
- Waples, R. S. 1995. Evolutionarily significant units and the conservation of biological diversity under the Endangered Species Act. *American Fisheries Society Symposium*, **17**: 8-27.
- Weir, B. S. and Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**: 1358-1370.

To describe in detail the population genetic structure of endangered salmonid, Sakhalin taimen (*Hucho perryi*), 350 individuals collected from 14 populations were investigated by analysis of eight polymorphic microsatellite loci. Exact test and genetic differentiation (F_{ST}) revealed that genetic divergence among populations was high (Global F_{ST} = 0.218). Significant correlation was observed between genetic differentiation and geographic distance (Mantel test: $P = 0.001$, $r^2 = 0.403$). Furthermore, eight genetic clusters were identified by model-based Bayesian clustering approach implemented in STRUCTURE. These results imply that Sakhalin taimen populations could be subdivided even between neighboring river-systems (< 10 km) and/or between tributaries within a river-system and that gene flow is likely to occur only between neighboring populations. While genetic diversity within each population was low on the whole (allelic richness = 1.9–2.6, average heterozygosity = 0.27–0.45), populations located in eastern Hokkaido showed comparatively high genetic diversity. Since the level of genetic differentiations among populations are high, each taimen population (river-system and/or tributary) should be treated as separate management unit, and artificial introduction of individuals among different management units should be prohibited in principle to conserve the unique genetic population structure. Furthermore, from the viewpoint of conserving genetic diversity of this species, populations located in eastern Hokkaido should be given high priority to conservation program and ex-situ conservation containing artificial breeding of endangered populations should be considered and conducted.

