

## 池産サクラマスと天然のサクラマスの遺伝的変異の量

誌名	北海道立水産孵化場研究報告 = Scientific reports of the Hokkaido Fish Hatchery
ISSN	02866536
著者	大久保, 進一
巻/号	42号
掲載ページ	p. 37-44
発行年月	1987年12月

## 池産サクラマスと天然のサクラマスの遺伝的変異の量

大久保 進 一

(北海道立水産孵化場)

### Genetic variability in hatchery and natural populations of masu salmon, *Oncorhynchus masou*

Shin-ichi OHKUBO

(Hokkaido Fish Hatchery)

#### Abstract

Allelic frequencies and genetic variability based on 31 enzyme loci were compared between hatchery and natural populations of masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Significant differences of allelic frequencies were observed among natural populations of different rivers. The average heterozygosities of natural populations of rivers ranged from 0.037 to 0.072, while those of hatchery populations were 0.042 in Mori hatchery (Mori branch of Hokkaido Fish Hatchery), and 0.061 in Kumaishi hatchery (Kumaishi branch of Hokkaido Fish Hatchery). There was no evidence of reduction in genetic variation in hatchery populations.

北海道立水産孵化場では、森支場において1971年からサクラマスを池中で継代的に飼育して採卵し、生産した稚魚を河川に放流してサクラマス資源の増大をはかる増殖事業を行なっている。さらに1983年からは熊石支場においても同様の事業が行なわれ、両支場あわせて1800万粒の採卵が可能となり、天然の遡上親魚による採卵数を大きく上まわっている。森支場で継代的に飼育されたサクラマスは、その地中継代飼育過程において高い潜在成長能力、若年成熟雄の低い出現率およびスモルト出現時間の柔軟性を獲得するに至った系群（小島・喜多，1984）であり、河川で再生産している天然のサクラマスとは異なる特性を持つと考えられる。この様な観点から森支場で継代的に飼育されたサクラマスの生理学的、生態学的研究が行なわれている（杉若ら，1981；泉ら，1984；宮本ら，1986；坂本ら，1986）が、遺伝学的な研究は全く全くなされていない。孵化場で飼育されているサケ科魚類では、しばしばその遺伝的変異の量が天然の集団と比べて減少する傾向があることが報告されている（ALLENDORF and PHELPS, 1980；RYMAN and STÅHL, 1980；STÅHL, 1983）。集団の遺伝的変異性の減少はその集団の生存能力（ALLENDORF and UTTER, 1979）と新しい環境への適応能力（ALLENDORF and PHELPS, 1980）を減少させる。一方、養殖された集団の遺伝的変異を維持することは選抜育種を行なう上でも（ALLENDORF and UTTER, 1979）、また天然の集団の遺伝的変異を残しておくという遺伝資源の保存（ALLENDORF and PHELPS, 1980）という点からも重要である。森、熊石両支場で養成、再生産されているサクラマス（以下池産サクラマス）と天然のサクラマスの遺伝的組成と遺伝的変異の量を明らかにすることは、今後池産サクラマスを養成し、サクラマス資源増大のための種苗を生産するという事業の上から重要であると考えられる。

本研究では、池産サクラマスと天然のサクラマスのアイソザイムを分析し、その遺伝的組成と遺伝的変異の量を比較したのでここに報告する。

### 材料および方法

アイソザイムを分析したサクラマスは Fig. 1, Table 1 に示した河川、沿岸域、孵化場で採集した。暑寒別川を除く各河川のサンプルはサクラマス幼魚（ヤマベ）で、自然条件下で再生産している。なお利別川と遊楽部川のサンプルは、それぞれ支流のメップ川、砂蘭部川で採集した。また、暑寒別川のサンプルは産卵のために遡上した親魚である。森、熊石両支場の池産サクラマスはともに0+の未分化パーである。採集したサンプルはただちに凍結して実験室に持ち帰り、アイソザイムを分析するまで-20℃で凍結保存した。アイソザイムの分析は水平式のデンブングル電気泳動法によって行なった。分析した酵素、推定された遺伝子座、使用した臓器、泳動用の緩衝液は Table 2 に示した。なお Table 2 に示した緩衝液は以下の通りである。

(1)クエン酸-アミノプロピルディエタノール



Fig. 1 Map of the sampling sites. 1: Mori hatchery, 2: Kumaishi hatchery, 3: Syokanbetsu River, 4: Atsuta R., 5: Toshihitsu R., 6: Nodaio R., 7: Yurappu R., 8: Coastal waters of Rumoi, 9: Coastal waters of Otohe.

Table 1 Sampling site, collection date and number of specimens examined by starch gel electrophoresis

Sampling site	Collection date	Number of specimens
Hatchery population		
Mori hatchery	Jun., 1986	78
Kumaishi hatchery	Sep. 19, 1986	100
Natural population		
(River)		
Syokanbetsu River	Sep., 1985	49
Atsuta R.	Aug. 1, 1986	100
Toshihitsu R.	Jul. 24, Aug. 4, 1986	94
Nodaio R.	Jun. 18, 1987	50
Yurappu R.	Jun. 17, 1987	100
(Coastal waters)		
Rumoi	Jun. 3, 1986	51
Otohe	May-Jun., 1986	50

池産と天然サクラマスの遺伝的変異の量

アミン緩衝液 (APE) (CLAYTON and TRETIAK, 1972), (2) トリスークエン酸緩衝液 (TC) (藤尾, 1984), (3) トリスークエン酸ーホウ酸ー水酸化リチウム緩衝液 (RW) (RIDGWAY *et al.*, 1970), (4) トリスーEDTAーホウ酸緩衝液 (TEB) (MARKERT and FAULHABER, 1965)。

電気泳動の手順は大久保・工藤 (1986) に、ゲルの染色方法は藤尾 (1984) に従った。また電気泳動像の遺伝的解釈はマリックエンザイムとオクタノール脱水素酵素を除いて OKAZAKI (1986) に従った。遺伝子座の命名方法は ALLENDORF and UTTER (1979) に従った。対立遺伝子の名称は OKAZAKI (1986) で報告されているものはその名称を用い、それ以外のものについては ALLENDORF and UTTER (1979) の命名方法に従った。

結 果

**Table 2** Enzymes examined, loci identified, tissues, and buffer systems used for starch gel electrophoresis

Enzyme (Abbreviation)	E. C. Number	Locus	Tissue <sup>1</sup>	Buffer <sup>2</sup>
Adenylate kinase (AK)	2.7.4.3	<i>AK</i>	M	RW
Alcohol dehydrogenase (ADH)	1.1.1.1	<i>ADH</i>	L	RW
Creatine kinase (CK)	2.7.3.2	<i>CK-1</i>	M	RW
		<i>CK-2</i>	M	RW
Glucosephosphate isomerase (GPI)	5.3.1.9	<i>GPI-1</i>	M	RW
		<i>GPI-2</i>	M	RW
		<i>GPI-3</i>	M	RW
$\alpha$ -Glycerophosphate dehydrogenase ( $\alpha$ -GDH)	1.1.1.8	<i><math>\alpha</math>-GDH-1</i>	M	APM
		<i><math>\alpha</math>-GDH-2</i>	M	APM
Lactate dehydrogenase (LDH)	1.1.1.27	<i>LDH-1</i>	M	RW
		<i>LDH-2</i>	M	RW
		<i>LDH-3</i>	M	RW
		<i>LDH-4</i>	M	RW
		<i>LDH-5</i>	E	TEB
Malate dehydrogenase (MDH)	1.1.1.37	<i>MDH-1,2</i>	L	TC, APE
		<i>MDH-3,4</i>	M	APE
Malic enzyme (ME)	1.1.1.40	<i>ME-1</i>	M	TC, APE
		<i>ME-2</i>	M	TC, APE
		<i>ME-3</i>	M	TC, APE
Mannosephosphate isomerase (MPI)	5.3.1.8	<i>MPI</i>	E	TEB
Octanol dehydrogenase (ODH)	1.1.1.73	<i>ODH-2</i>	L	TC
		<i>ODH-3</i>	L	TC
Phosphoglucomutase (PGM)	2.7.5.1	<i>PGM-1</i>	M	APE
		<i>PGM-2</i>	M	APE
		<i>PGM-3</i>	L	TC
6-Phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD)	1.1.1.44	<i>6-PGD</i>	M	APE
Sorbitol dehydrogenase (SDH)	1.1.1.14	<i>SDH-1</i>	L	RW
		<i>SDH-2</i>	L	RW
Superoxide dismutase (SOD)	1.15.1.1	<i>SOD</i>	L	RW

<sup>1</sup>E; Eye, L; Liver, M; Muscle.

<sup>2</sup>See materials and methods.

**Table 3** Allelic frequencies in hatchery and natural populations of masu salmon. The loci fixed for the same allele are not listed

Locus	Allele	Hachtery		River					Coastal waters	
		Mori hatchery	Kumaishi hatchery	Syokan-betsu R.	Atsuta R.	Toshi-betsu R.	Noda-oi R.	Yurappu R.	Rumoi	Otobe
<i>ADH</i>	- 40	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.020	0.005	0.000	0.000
	-100	1.000	1.000	1.000	1.000	0.994	0.980	0.995	1.000	1.000
<i>MDH-1,2</i>	130	0.000	0.093	0.015	0.035	0.000	0.025	0.000	0.000	0.015
	100	0.913	0.902	0.985	0.965	0.997	0.890	1.000	0.985	0.960
	50	0.087	0.005	0.000	0.000	0.000	0.085	0.000	0.015	0.025
	10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>MDH-3,4</i>	115	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015
	100	0.935	0.874	0.959	0.927	0.949	0.905	0.987	0.979	0.955
	80	0.052	0.053	0.026	0.030	0.016	0.030	0.000	0.021	0.030
	70	0.013	0.070	0.000	0.035	0.035	0.065	0.013	0.000	0.010
	50	0.000	0.003	0.015	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>ME-1</i>	100	1.000	0.965	0.960	0.939	0.984	0.960	1.000	1.000	1.000
	65	0.000	0.035	0.040	0.061	0.016	0.040	0.000	0.000	0.000
<i>ME-3</i>	100	1.000	0.965	0.990	0.989	0.951	0.940	0.995	0.958	0.957
	80	0.000	0.035	0.010	0.011	0.049	0.060	0.005	0.042	0.043
<i>MPI</i>	110	0.000	0.045	0.010	0.000	0.130	0.000	0.000	0.010	0.010
	100	1.000	0.955	0.990	1.000	0.870	1.000	1.000	0.990	0.990
<i>ODH-3</i>	110	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	100	1.000	1.000	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>PGM-1</i>	-100	0.758	0.516	0.575	0.708	0.666	0.625	0.479	0.637	0.622
	-120	0.007	0.051	0.053	0.052	0.078	0.031	0.047	0.088	0.092
	-160	0.235	0.423	0.372	0.240	0.189	0.229	0.474	0.275	0.286
	-200	0.000	0.010	0.000	0.000	0.067	0.115	0.000	0.000	0.000
<i>PGM-2</i>	700	0.039	0.015	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000
	100	0.961	0.985	0.980	1.000	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000
<i>PGM-3</i>	115	0.071	0.121	0.245	0.058	0.033	0.180	0.081	0.070	0.010
	100	0.922	0.879	0.755	0.942	0.967	0.820	0.919	0.910	0.990
	85	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000
<i>SDH-1</i>	210	0.079	0.032	0.092	0.185	0.116	0.159	0.199	0.120	0.105
	100	0.921	0.968	0.908	0.815	0.884	0.841	0.801	0.880	0.895
<i>SOD</i>	100	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	0.920	1.000	0.971	1.000
	60	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.080	0.000	0.029	0.000

池産と天然サクラマスの変異の量

遺伝子頻度

サクラマスの各集団で分析したアイソザイムは14酵素、推定された遺伝子座は31遺伝子座であった (Table 2)。このうち変異の認められた遺伝子座は、ADH, MDH-1, 2, MDH-3, 4, ME-1, ME-3, MPI, ODH-3, PGM-1, PGM-2, PGH-3, SDH-1, SOD の14遺伝子座であった。これら14遺伝子座の遺伝子頻度は Table 3 に示した。河川の天然サクラマスでは、上記の変異の認められた遺伝子座の遺伝子頻度にいくつかの河川間で違いが認められた。留萌、乙部の沿岸域で採集されたサクラマスでは特徴的な遺伝子頻度は認められなかった。また、森、熊石両支場の池産サクラマスにおいても特にその集団を特徴づけるような遺伝子頻度は認められなかった。

遺伝的変異の量

遺伝的変異の量を示す尺度となる遺伝子座あたりの対立遺伝子数、多型的遺伝子座の割合 (最も頻度の高い対立遺伝子の頻度が0.99以下の遺伝子座)、平均ヘテロ接合体率を Table 4 に示した。河川の天然サクラマスの遺伝的変異の量は、多型的遺伝子座の割合で0.194から0.387、遺伝子座あたりの対立遺伝子数で1.26から1.55、平均ヘテロ接合体率 (Fig. 2) で0.037から0.072の範囲にあった。森池産サクラマスの遺伝的変異の量は、河川の天然サクラマス

Table 4 Estimates of genetic variability in hatchery and natural populations of masu salmon

Population	Number of alleles per locus	Proportion of polymorphic loci	Heterozygosity (expected)
Hatchery population			
Mori hatchery	1.39	0.258	0.042
Kumaishi hatchery	1.61	0.355	0.061
Natural population (River)			
Syokanbetsu River	1.48	0.387	0.047
Atsuta R.	1.45	0.323	0.045
Toshibetsu R.	1.52	0.258	0.044
Nodaoi R.	1.55	0.355	0.072
Yurappu R.	1.26	0.194	0.037
Mean	1.45	0.303	0.049
(Coastal waters)			
Rumoi	1.42	0.290	0.039
Otobe	1.52	0.290	0.037
Mean	1.47	0.290	0.038

Table 5 Number of parents used for artificial propagation in Mori hatchery and effective population size (Ne)

Year	Age	Female	Male	Ne
1981	1 <sup>+</sup>	12652	1602	5688
1982	1 <sup>+</sup>	13574	1491	5373
1983	1 <sup>+</sup> , 2 <sup>+</sup>	4454	1185	3744
1984	1 <sup>+</sup>	4788	865	2931
	1 <sup>+</sup> , 2 <sup>+</sup>	9940	1222	4353
1985	1 <sup>+</sup>	15866	2712	9264

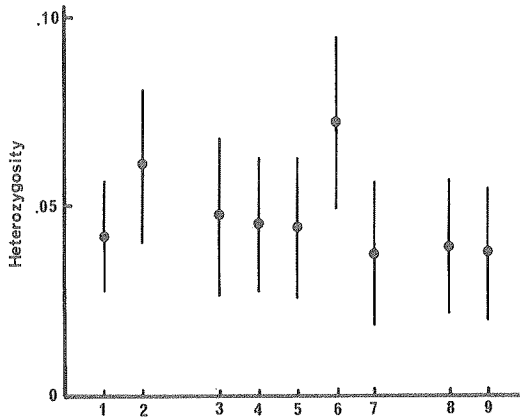


Fig. 2 Average heterozygosities of hatchery and natural populations of masu salmon. Bars indicate standard errors of average heterozygosities. 1: Mori hatchery, 2: Kumaishi hatchery, 3: Syokanbetsu River, 4: Atsuta R., 5: Toshibetsu R., 6: Nodaai R., 7: Yurappu R., 8: Coastal waters of Rumoi, 9: Coastal waters of Otohe.

の範囲に含まれるが、その平均を比べると河川の天然サクラマスのもよりもやや小さい値だった。熊石池産サクラマスの遺伝的変異の量は、いずれの値も天然サクラマスのそれよりも大きい値を示した。沿岸域で採集されたサクラマスの遺伝的変異の量のうち多型的遺伝子座の割合と平均ヘテロ接合体率は、河川の天然サクラマスの平均よりも小さい値を示した。

## 考 察

河川の天然サクラマスの集団遺伝学的研究は OAKAZAKI (1986) の報告があるだけにすぎない。OKAZAKI (1986) は、サクラマスの河川集団では地理的に近接した集団間でもその遺伝的組成に大きな相違がみられる例が多いことを報告している。本研究においてもこれと同様なことが認められた。特に野田追川と遊楽部川では、河口の距離がおよそ 10 km と近接しているが、MDH-1,2, PGM-1, PGM-3, SOD の遺伝子頻度に違いが認められた。また、河川の天然サクラマスの遺伝的変異の量を示す値は比較的広い範囲にわたっており、なかでも野田追川では大きく、遊楽部川では小さい値を示す。これらのことからサクラマスが河川ごとに遺伝的地位性を持っていることがうかがえる。

森池産サクラマスは、1965年の千走川産の種卵7500粒と1966年の当幌川産の種卵15000粒を基にしている。その再生産の過程は阿刀田 (1974) が詳しく報告している。森池産サクラマスは完全に継代飼育されているわけではなく、過去にかなりの回数で他の河川や孵化場から種卵や稚魚を導入している。したがって現在の森池産サクラマスは様々な集団のサクラマスが混合したものから由来し、その飼育過程で人為的な選抜を受けて現在の特徴のある様々な性質を持つようになったものと考えられる。このようなことから森池産サクラマスの遺伝的組成と遺伝的変異の量については、ある特定の河川に由来する特徴は認められないと考えられる。また、卵や稚魚を移植する場合におこる可能性のある「びん首効果」を含む遺伝的浮動が森池産サクラマスの遺伝的組成と遺伝的変異の量にどのような影響を与えたかについては明らかにすることはできない。しかし、現時点でみれば、森池産サクラマスの遺伝的変異の量は、天然の河川のサクラマスと比較してやや少ない傾向が認められるものの、顕著な減少はおこっていないと考えられる。1981年から1985年までの5年間の森池産サクラマスの採卵に使われた親魚数とそれから算出した集団の

## 池産と天然サクラマスの変異の量

有効な大きさを Table 5 に示した。北海道内で比較的サクラマスの親魚の遡上量の多い河川の捕獲数を過去10年間に限ってみれば、最も多い河川で約3900尾である。サクラマスはサケとは異なり遡上した親魚をすべて捕獲できるわけではないが、それを考慮に入れても森池産サクラマスの親魚数はかなり多い。したがって森池産サクラマスが継代飼育を続けても親魚が少ないことによっておこる遺伝子の機会的浮動 (ALLENDORF and PHELPS, 1980) や集団の大きさが限定されることによっておこる近親交配 (ALLENDORF and UTTER, 1979) に起因する遺伝的変異の量の減少はないといえる。しかし、森支場では800万粒から900万粒採卵して、そのうち40万粒から50万粒を次回の親魚候補として残すので、親魚候補の数は採卵に使用した親魚数より少ないこと、人工的な飼育条件下において0+ スモルト魚だけを選抜してきたこと等が遺伝的変異の量になんらかの影響を与えている可能性はある。

熊石支場の池産サクラマスは1983年と1984年に暑寒別川産（一部信砂川産も含む）のサクラマスの種卵又は稚魚を移植したものである。本研究のサンプルは1983年から熊石支場で養成した暑寒別川産サクラマスを1985年に採卵し孵化したものである。これを暑寒別川の遡上親魚と比較すると、遺伝的組成と遺伝的変異の量は異なっており、また、遺伝的変異の量の減少は認められず、それより大きい値を示した。これについては卵、稚魚を移植する際におこる可能性のある遺伝的浮動、人工的な飼育環境下における選抜の影響等が考えられる。熊石池産サクラマスでは年級群によって遺伝的組成が異なる傾向が認められる（大久保、未発表）ので、このこととあわせて今後さらに詳しく調べる必要がある。

森、熊石両支場の池産サクラマスは、移植された種卵、稚魚の由来が異なることから予想されるように、遺伝的組成と遺伝的変異の量が異なっていることが明らかとなった。このように遺伝的に異なる2系統の池産サクラマスを保有していることは、サクラマス資源増大のための池産サクラマスの効果的な放流を行なう上で適切であると考えられる。

## 要 約

天然のサクラマスと森、熊石両支場の池産サクラマスのアイソザイムを分析して遺伝子頻度と遺伝子的変異の量を比較した。河川の天然サクラマスの遺伝子頻度は河川間で違いが認められた。集団の遺伝的変異の量をあらわす平均ヘテロ接合体率は、河川の天然サクラマスでは0.037から0.072の範囲にあり、その平均は0.049であった。一方、森池産サクラマスでは0.042、熊石池産サクラマスでは0.061で河川の天然サクラマスの範囲に含まれた。池産サクラマスでは遺伝的変異の量の顕著な減少はおこっていないと考えられた。森、熊石両支場の池産サクラマスは遺伝的に異なっていることが明らかになった。

## 謝 辞

サクラマスの採集に協力していただいた北海道立水産孵化場の各位とアイソザイムの分析に協力していただいた永田聡子氏に感謝する。



文 献

- ALLENDORF, F. W. and UTTER, F. M. (1979). Population genetics. In *Fish Physiology*, vol. 8. (W. S. HOAR, D. J. RANDALL and J. R. BRETT, ed.), pp. 407-454. Academic Press, New York.
- ALLENDORF, F. W. and PHELPS, S. R. (1980). Loss of genetic variation in a hatchery stock of cutthroat trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, **109**, 537-543.
- 阿刀田光紹(1974). 池中養殖サクラマス<sup>+</sup>の生態に関する知見. I. 種苗の初期生残率, 性比, 0年魚の分化及び親魚の孕卵数について. 水産孵化場研究報告(現:北海道立水産孵化場研究報告), **29**, 97-113.
- CLAYTON, J. W. and TRETIAK, D. N. (1972). Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. *Journal of the Fishery Research Board of Canada*, **29**, 1169-1172.
- 藤尾芳久(1984). アイソザイム分析手法による魚介類の遺伝的的特性の解明に関する研究. 昭和58年度 農林水産業特別試験研究補助金による研究報告書, 1-65. 水産庁.
- 泉 孝行・小島 博・笠原 昇・伴 真俊・山内皓平(1984). 池産サクラマス1<sup>+</sup>スモルトの降海行動と海水適応. 水産孵化場研究報告(現:北海道立水産孵化場報告), **39**, 39-46.
- 小島 博・喜多広行(1984). 池中継代飼育サクラマス零歳魚の銀毛変態と早畑雄の出現. 水産孵化場研究報告(現:北海道立水産孵化場研究報告), **39**, 113-121.
- MARKERT, C. L. and FAULHABER, L. (1965). Lactate dehydrogenase isozyme patterns of fish. *Journal of Experimental Zoology*, **159**, 319-332.
- 宮本真人・小島 博・黒川忠英(1986). 池中継代飼育サクラマス0<sup>+</sup>スモルトの放流種苗特性. 昭和60年度 アリランチング計画プログレスレポート サクラマス, **6**, 1-11. 水産庁さけ・ますふ化場.
- 大久保進一・工藤 智(1986). 電気泳動法によるワカサギとイシカリワカサギの雑種の判別と両種の遺伝的分化. 北海道立水産孵化場研究報告, **41**, 101-109.
- OAAZAKI, T. (1986). Genetic variation and population structure in masu salmon *Oncorhynchus masou* of Japan. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **52**, 1365-1376.
- RIDGWAY, G. J., SHERBURNE, S. W. and LEWIS, R. D. (1970). Polymorphism in the esterases of Atlantic herring. *Transactions of the American Fisheries Society*, **99**, 147-151.
- RYMAN, N. and STAHL, G. (1980). Genetic changes in hatchery stocks of brown trout (*Salmo trutta*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**, 82-87.
- 坂本博幸・河村 博・田中寿雄・永田光博(1986). 池産サクラマス標識魚の回帰. 北海道立水産孵化場研究報告, **41**, 71-78.
- STAHL, G. (1983). Differences in the amount and distribution of genetic variation between natural populations and hatchery stocks of Atlantic salmon. *Aquaculture*, **33**, 23-32.
- 杉若圭一・田中寿雄・笠原 昇・新谷康二(1981). 標識放流からみた1<sup>+</sup>池産サクラマススモルトの回遊. 水産孵化場研究報告(現:北海道立水産孵化場研究報告), **36**, 11-31.