計数形質の変異を用いた
サケ *Oncorhynchus keta* の集団評価に関する研究

安 藤 大 成

目次

第1章　序章・・・

結果・・・

材料と方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・110
結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・112
考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・116
第 6 章　脊椎骨数の変異に及ぼす遺伝的影響・・・・・・・・・・・・・・・・・・118
材料と方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・119
脊椎骨数の親と子の比較・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・119
漁川のサケを用いた脊椎骨数の比較・・・・・・・・・・・・・・・・・・・121
総当たり交配（千歳川）による脊椎骨数の遺伝率の推定・・・・・・・・・・121
脊椎骨の計数と親魚の年齢・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・122
結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・122
脊椎骨数の親と子の比較・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・122
漁川のサケを用いた脊椎骨数の比較・・・・・・・・・・・・・・・・・・・123
総当たり交配（千歳川）による脊椎骨数の遺伝率の推定・・・・・・・・・・128
考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・133
第 7 章　隣接する 2 河川に遡上するサケの集団判別・・・・・・・・・・・・・・136
材料と方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・137
調査時期・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・137
DNA マーカーを用いた遺伝的比較・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・137
計数形質の比較・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・138
結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・140
遺伝解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・140
計数形質の比較・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・142
計数形質を用いた判別分析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・150
考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・155
第 8 章　北海道の日本海側と太平洋側のサケ稚魚で見られた脊椎骨数の差異・・160

材料と方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・160
結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・162
考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・164
第 9 章　総合考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・167
要約・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・173
謝辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・177
引用文献・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・179

第 1 章　序章

サケ *Oncorhynchus keta*（本論文で用いた和名及び学名は中坊徹次編（2013）「日本産魚類検索」に従った）は, サケ属魚類 8 種（サケの他, サクラマス *O. masou masou*, ギンザケ *O. kisutch*, マスノスケ *O. tshawytscha*, ベニザケ *O. nerka*, ニジマス *O. mykiss*, カラフトマス *O. gorbuscha*, カットスロートトラウト *O. clarki*）のうちの一種であり，北太平洋に広く分布し，その分布域はサケ属魚類の中でもっとも広いとされている（Salo, 1991）。北米側では北はマッケンジー川から南はサクラメント川まで, アジア側では北はロシアのレナ川から南は日本及び韓国が分布の南限とされており，日本での生物学的な南限は九州までとされているが（木村, 1981；Iwatsuki *et al*., 1990；四宮ら，2003），2001 年以降にまとまった沿岸漁獲数（1,000 尾以上）が見られたのは，日本海側では京都府以北，太平洋側では福島県以北である（http://hnf.fra.affrc.go.jp/template/sakemasu.html，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，2014 年 10 月 6 日）。沿岸漁業としての主要な産地は東北以北であり，特に北海道では 2001～2013 年にかけて，沿岸来遊数（河川での捕獲尾数と沿岸での漁獲尾数との合計）は 3,753～6,057 万尾と変動があるものの，日本全体のサケ沿岸来遊数（4,344～7,672 万尾）の約 80 %を占めている（Fig. 1）。また，平成 24 年度の生産金額で見ても北海道の総漁業生産額 2,478 億円のうち 531 億円と生産額の 21.4 %を占めており北海道の重要な漁業対象種となっている（http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/sum/kcs/indexfiles/sui-toukei/suitoukei.htm, 北海道水産林務部，2014 年 10 月 6 日）。

生活史

サケは全ての稚魚が河川で浮上後，まもなく降海し，海洋生活期を経た後，産卵のため母川へ遡上し，産卵後に死亡する。同じサケ属であるサクラマスで見られるような残留型や湖沼陸封型は確認されていない。北海道で行われた降海時期の調査（孵化場から放流された稚魚を含む）では 1 月頃から稚魚の降海移動が見られ，6 月頃まで続き，北海道内での降海盛

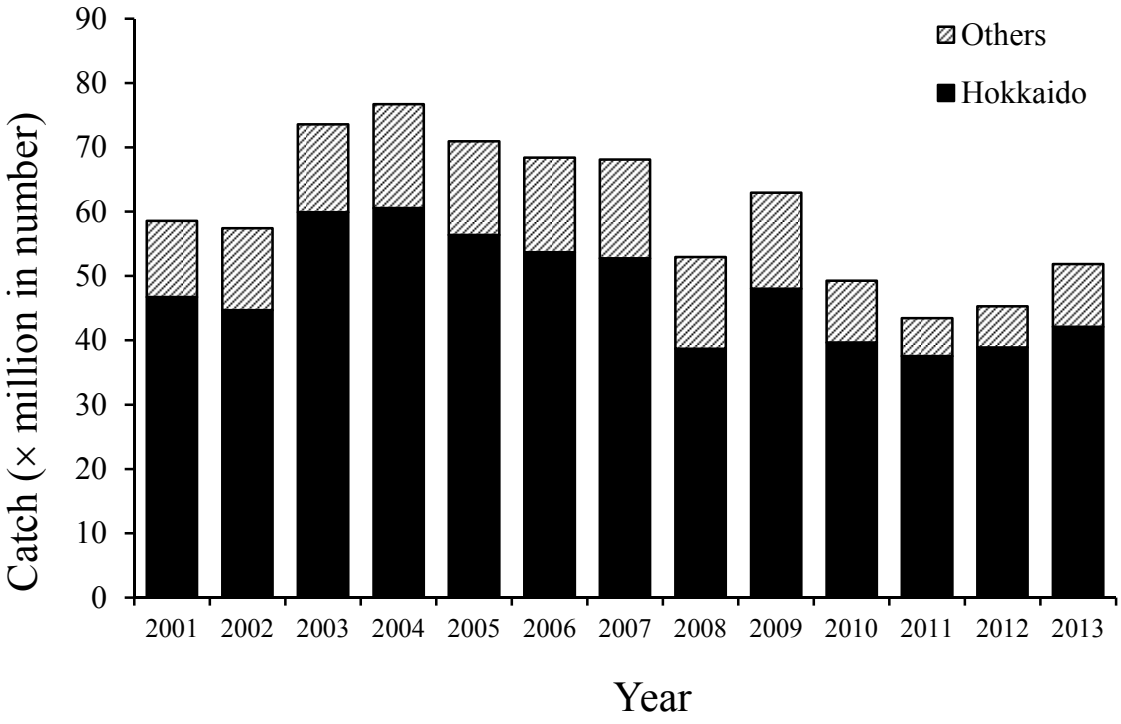


Fig. 1 Change in annual catch (commercial catch in the sea and escapement in the river) from 2001 to 2013 in Japan (Data from website of Hokkaido National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency).

期は地域により異なっているが，北海道西部の日本海側に注ぐ河川では 3 月下旬～4 月頃が盛期と考えられている（小林・石川，1964；小林ら，1965；小林・黒萩，1968）。降海後はごく沿岸の渚帯や港湾，距岸 1～1.8 km までの海域に多くが分布し，カイアシ類などの動物プランクトンを摂餌しながら，尾叉長約 70 mm，体重約 3 g になると沖合域へと移動する。移動パターンは表面水温の影響を強く受け，水温 8～13℃が稚魚の成育には適水温とされ，13～14 ℃を超えると沿岸域から沖合へと移動する（関，2005；Nagata *et al*., 2007）。稚魚は岸沿いに北海道沿岸を移動し，降海した海域により日本海側を岸沿いに北上する経路と太平洋側を道東沿岸沿いに移動する経路があるが，最終的にはオホーツク海に入ると考えられており（入江，1990），最初の夏をオホーツク海で過ごした後，秋に北太平洋西部へ移動し 12 月から翌年 5 月にかけて越冬する。その後，春季の水温上昇に伴い，ベーリング海へ移動し，6～11 月まで索餌しながら過ごした後，冬季の水温低下に伴い，越冬のため再び移動する。越冬のための移動先は，最初の越冬場所である北太平洋西部ではなく，アラスカ湾であり，12 月～翌年 5 月にかけてアラスカ湾で生活する。その後はベーリング海とアラスカ湾を季節ごとに移動する回遊を繰り返し，最後の年をベーリング海で過ごしたのち，成熟した個体から母川へと回帰する（浦和，2000）。北海道へ回帰するサケの年齢は 2～8 年魚の範囲であり，複数年級群が同時に回帰するが，主体となるのは 4 年魚である（北海道立水産孵化場, 2009）。回帰時期は地域により異なるが，早いところで河川遡上は 8 月中旬から始まり，翌年 1～2 月まで続く（佐野，1946; 1947；佐野・久保，1946; 1947；北海道さけ・ます増殖事業協会，2007）。近年は北海道に回帰するサケの年齢が高齢化し，体サイズが小型化していることも報告されている（Ishida *et al*., 1993；帰山，2002）。

資源の変遷と増殖の歴史

日本におけるサケの人工孵化放流の歴史は古く，1876 年（明治 9 年）に孵化試験が行われた記録があるが，北海道で本格的なサケの増殖事業が行われたのは 1888 年（明治 21 年）に官営の千歳中央孵化場（現水産総合研究センター北海道区水産研究所千歳さけます事業所）

が設置された以降である（小林, 2009）。明治時代初期のサケの資源水準は比較的高位であり，1893 年（明治 26 年）までの漁獲量は 500～700 万尾，多い年には 1,040 万尾（1889 年）の漁獲があったことが記録されており（永田，2009），孵化放流事業が本格化する以前のため，資源は全てが野生魚（自然繁殖）であったことが知られている。その後，1894 年を境に資源は減少し，1909 年には 100 万尾まで落ち込み，1970 年までは最高の漁獲数でも 540 万尾と低迷した。1970 年代以降, 北海道沿岸におけるサケの来遊資源は増大（最近 10 年の平均で約 4,800 万尾）したが，この背景として海洋環境の好適化の他（帰山，2002；川崎, 2009），孵化放流技術の向上が一因として考えられてきた。孵化放流技術向上の具体例としては，1967 年度に導入された乾燥配合飼料の使用により（野川・八木沢，2011），飼育期間の延長と稚魚の大型育成が可能になったことや，一部の海域で好適放流時期の探索が行われ，その時期に合わせた放流が行われるようになったことなどがあげられる（小林，2009）。

現在，サケの増殖事業は事前に作成される計画に沿って進められており，1980 年代以降，稚魚の放流は毎年約 10 億尾と一定であり、稚魚生産を行うための河川での親魚捕獲数は 127 万尾が必要とされる（永田・宮腰，2013）。2009 年は北海道の 139 水系及び 77 沿岸域から 1,038,210 千尾の稚魚が放流されている（水産総合研究センター，2012）。一般的には飼育池で 5 cm，1 g 程度になるまで飼育され，海の環境条件を考慮しながら放流される場合が多い（永田，2009）。近年，資源の地域間格差が広がっており，回帰親魚の小型化，成熟年齢の高齢化と共に新たな問題となっている（永田，2009）

系群

ミトコンドリア（mt）DNA の変異を調べた解析により，環太平洋のサケの集団構造が調べられており，アジア側と北米側には明瞭な遺伝的分化が生じており，さらにアジア内でも日本・韓国・ロシア沿海地方と沿海地方を除いたロシアの集団には遺伝的分化があることが確認されている（Sato *et al*., 2004; Yoon *et al*., 2008）。120 年以上の長い増殖事業の歴史を持つサケは，移殖放流を繰り返しながら資源の増大を図ってきた。他河川からの移殖の効果につい

ては，見解が分かれるものの（Okazaki, 1978; 木島ら，1980; 木島，1981; Okazaki, 1982），遡上不振の場合は，地場での種卵が入手できないため，やむを得ず他河川からの卵移殖によって稚魚生産，放流を行ってきた場合も多々あった（小林，2009 ; 帰山，2013）。しかし，マイクロサテライト（ms）DNA マーカー14 座を用いた解析の結果によると，日本には本州日本海側，本州太平洋側の集団の他に，北海道には遺伝的に異なる 5 つの集団があるとされており（Beacham *et al*., 2008），このことは，移殖により北海道の集団が均一になっているわけではないことを示している。また, 日本系サケの遺伝的多様性は北米やロシアの集団より高く，さらに北海道のサケは本州の集団より遺伝的多様性が高いことが報告されている（Sato *et al*., 2001; 2004; Beacham *et al*., 2008）。現在，北海道のサケ増殖事業は，5 つの海区（日本海，えりも以西，えりも以東，根室，オホーツク海区，Fig. 2）で行われており，漁獲量は 5 つの海区間で異なるパターンを示しているが（Nagata *et al*., 2012），種卵の不足が起こった場合でも他海区からの移殖は原則行われていない。この海区は人為的に設定されたものであるが，Beacham *et al*.（2008）が示した遺伝的に異なる北海道の 5 集団の区分けとほぼ一致している。

計数形質

前述のように，これまでにサケの集団評価は資源の増減や遡上時期の変遷を指標とした解析の他（小林，2009; Miyakoshi *et al*., 2013），分子マーカーを用いた遺伝的評価が行われてきた。しかし，サケの集団や資源の評価には外部形態の変異や鱗を利用した年齢査定の情報も利用されており（今井ら，2007 ; 宮腰ら，2011a），形質の変異も集団評価には重要な解析項目の一つとなっている。

形質のうち, 脊椎骨, 筋節, 鰭条, 鰓耙数などの体節的形質は計数形質（meristic characters）と呼ばれ，古くから系群の推定に用いられてきた（久保，1961）。計数形質は，高緯度もしくは冷水域に生息する集団の方が，低緯度もしくは暖水域に生息する集団より高値を示す生態地理学的な法則があることが知られ, この現象は Jordan’s rule と呼ばれている（Jordan, 1892）。Jordan’s rule は魚類の初期発生時の緯度による水温勾配と密接に関連していると考えられて

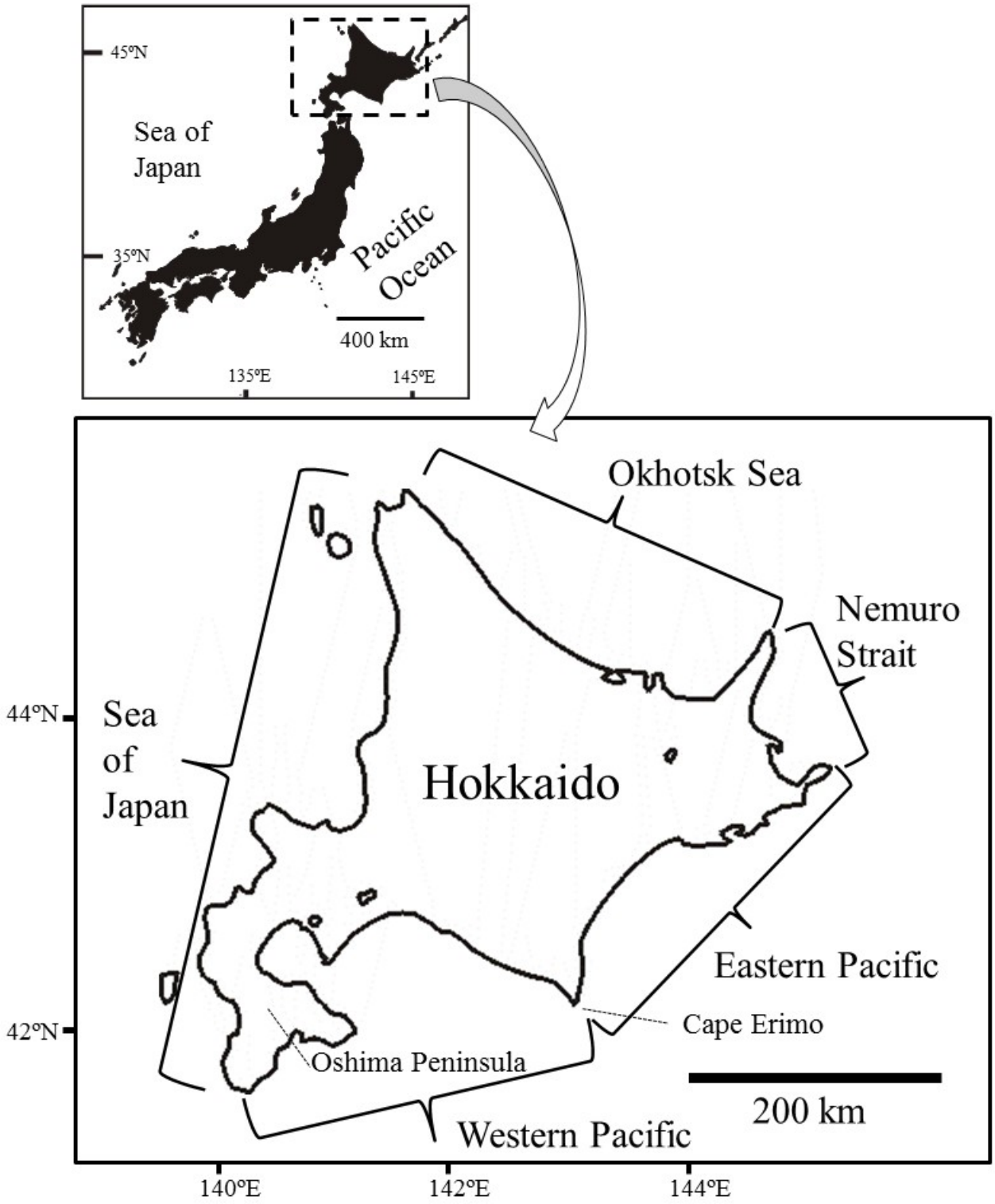


Fig. 2 Five sea areas (Sea of Japan, Western Pacific, Eastern Pacific, Nemuro Strait, and Okhotsk Sea) around Hokkaido Island, northern Japan.

いる（McDowall, 2008）。しかし，Jordan’s rule は水温差だけではなく，その背景には遺伝的要因や自然選択が関与していることも飼育実験により検証されている（Billerbeck *et al*., 1997）。また，実験的にも水温を変えて授精卵の発生を行うと，計数形質が変異する（表現型可塑性）ことがサケ科魚類を含む多くの魚種で知られている（Tåning, 1952; Lindsey, 1988）。もうひとつの特徴として，成熟サイズが大きい魚のほうが小さい魚より計数形質が多いことが知られており，この現象は pleomerism と呼ばれている（Lindsey, 1975）。これら一般的な法則の他，魚類の計数形質は高い遺伝率を示す一方，初期発生時における環境変化には敏感に反応し，計数形質に変異が生じることが知られている。環境変化にはこれまで主に水温，光，水質（溶存酸素，塩分）に焦点をあてて研究が行われてきたが，このうち最も多くの報告があるのは水温変化に対する計数形質の変異である（Lindsey, 1988）。サクラマスでは，脊椎骨数は親の表現型の影響を強く受け，遺伝率が理論値の 1.0 を超える値が推定された例がある（Ando *et al*., 2008a; 2008b）。一方で，鰓耙数や幽門垂数，鰭条数は雌雄一対の交配から得られた子供（家系）でも，発眼時期までの飼育水温により変異することが報告されている（Ando *et al*., 2010a）。このように計数形質は遺伝要因と環境要因の影響を受けて変異する。また，北海道日本海側の河川を対象に，サクラマスの胸鰭鰭条数を調べた結果では，平均値に地理的変異（クライン）が認められることが知られているが，平均値は高緯度の集団ほど低く，低緯度の集団ほど高くなっており（Ando *et al*., 2012），一般に知られている Jordan’s rule とは逆になっている。その他にも，北海道オホーツク海側に遡上するカラフトマスの鰓耙数を 2 年級（西暦奇数年と偶数年）にわたり時期別に調べた結果では，遡上時期により鰓耙数が変異し，西暦奇数年の調査では，鰓耙数の変異は遡上時期により最も強く影響された例も報告されている（Ando *et al*., 2010b）。サケ属魚類では計数形質の環境に対する反応は魚種ごとに異なっているが（Lindsey，1988），前述のように同一魚種であるサケでもアジア系のサケと北米系のサケでは遺伝的に差異があることが知られている。サケの計数形質の変異は，カナダのフレーザー川やその支流，バンクーバー島の河川に遡上するサケを対象に調べられており，遡上時期により鰓耙数が変異することや異なる水温でサケの授精卵を飼育すると脊椎骨数などの計数形

質が変異することがこれまでに報告されている（Beacham, 1984; Beacham and Murray, 1986a）。しかし, 北海道のサケは 120 年以上の長期にわたり人工孵化放流が行われてきた経緯があり, 他国で報告されている計数形質の特徴がそのまま北海道のサケに当てはまるかはわかっていない。また，北海道におけるサケの計数形質の変異に関する研究は過去にも行われており，脊椎骨数や側線鱗数の範囲が河川毎に示されているが（佐野・久保，1946; 1947 ; 久保・小林，1953; 久保，1956），環境に対する計数形質の応答（反応規格）（Schmalhausen, 1949; Schlichting and Pigliucci, 1998; Swain *et al*., 2005）や計数形質の長期的な変化に関する報告はされていない。これまでにサケ属魚類の計数形質は，初期発生時の環境変化に敏感に反応し，変異することが知られてきた。そのため計数形質を集団の変化や起源の推定などの集団評価に利用する場合には，その特性や変異の要因を事前に把握しておくことが必要となる。サクラマスでは，脊椎骨数が飼育水温により変異することが知られており，孵化場では自然環境下とは異なる水温下で卵管理が行われる場合が多いため，野生魚とは脊椎骨数の平均値が異なることが知られている（安藤ら, 2013a）。このように計数形質の飼育水温に対する反応規格や変異の特徴を把握しておくことは，サケの集団評価を行う際に有用かつ不可欠な情報になると考えられる。

論文の目的と構成

サケは北海道の重要な漁業対象種であり，河川での親魚捕獲，採卵，孵化場での稚魚の飼育，放流という一連の増殖事業により資源を支えてきた。増殖事業を行う際には，地域に適した系群を用いる必要があり，遺伝的な集団評価や判別には発生環境に左右されない DNA 解析が有用と考えられてきた。一方，計数形質は表現型可塑性を持つため，環境要因により値が左右されることが予想され，サケの集団判別や遺伝的な集団評価には適さないと考えられてきた。サケの計数形質が集団間で異なることや，同一集団においても個体間で変異を有することは 1950～1960 年代に報告されているものの（久保・小林，1953 ; 久保，1956 ; Sano, 1967），それ以降，計数形質を利用した集団評価は行われていない。サケの計数形質が表現型

可塑性を持ち，その表現型可塑性に規則性を見出すことができれば，計数形質の解析からサケの発生履歴（発生時の環境）を推定することが可能となる。また，計数形質に遺伝性が確認できれば，ほぼ同一環境下で飼育されている集団（孵化場で生産された稚魚など）であれば，集団間の遺伝的比較や計数形質を用いた集団判別が簡便に行えることを意味する。

本研究では計数形質の一つである脊椎骨数を主対象とし，これまで明らかにされてこなかった北海道におけるサケの脊椎骨数の特徴と変異の要因を調べ，計数形質を利用したサケの集団評価手法について検討した。第 1 章ではサケの一般的な生活史と増殖の歴史，計数形質の特徴をレビューした。第 2 章では脊椎骨数を対象として長期的な視点から見た計数形質の安定性を述べ，第 3 章では飼育水温に対する脊椎骨数の反応規格について議論した。第 4 章及び 5 章では脊椎骨数と幽門垂数を対象に遡上時期による計数形質の変異について示した。第 6 章では脊椎骨数の変異に及ぼす遺伝的要因について論じた。第 7 章では DNA 解析の結果を利用しつつ，計数形質の変異を利用したサケの集団判別の有効性について議論した。第 8 章では脊椎骨数が北海道の日本海側と太平洋側で異なることを示し，脊椎骨数に地域差が存在することを明らかにした。第 9 章では得られたデータを基に総合考察を行い，計数形質を用いた集団判別の有効性，遺伝的な集団評価手法の確立，及び発生環境推定への有用性について検討を行った。

第2章　長期的な視点から見た脊椎骨数の安定性

北海道においてサケの本格的な増殖事業が行われたのは 1888 年とされているが, 当時の増殖技術から判断して 1934 年までの沿岸漁獲量は自然繁殖によって維持されていた可能性が大きい（小林，2009）。北海道における孵化放流は 1934～1970 年まで稚魚放流数を増やしながら行われたが，資源の増大が見られたのは 1970 年代以降である（小林，2009）。この間，多くの種卵が孵化場から目的とする河川へ移殖され，稚魚放流が行われてきた。現在，北海道の河川に遡上する親魚には, 自然産卵しているサケが多く含まれる河川も存在するものの，全体としては孵化場からの放流魚の割合が 7～8 割以上と圧倒的に高く（森田ら，2013a），サケの回帰率は孵化放流事業の成否に左右されていると言える。また，120 年以上の長期にわたり，北海道内の各河川で卵の移殖が繰り返されながら増殖事業が行われてきたにも関わらず，北海道に生息するサケは集団として均一ではなく，遺伝的に異なる 5 つの地域集団が存在するとされている（Beacham *et al*., 2008）。このことは遺伝的な違いのみならず，地域に特有な生物学的特性が依然，存在していることを示唆している。これら生物学的特性を現在と過去で比較することは，サケの集団構造の変遷を調べるうえでも有用な手法となる。

サケの計数形質は各河川の遺伝的要因を反映した結果と考えられている（久保・小林, 1953; Tallman and Healey, 1991）。北海道南部に位置する知内川（Shiriuchi River, Fig. 3）の成熟体サイズは大型であり，また，計数形質の一つである側線鱗数や脊椎骨数が他河川のサケより多いことが久保（1956）により報告されている（pleomerism by Lindsey (1975)）。また, 久保（1956）は石狩川の支流のひとつである千歳川（Chitose River, Fig. 3）と知内川から得られた授精卵をほぼ同一環境下で飼育し，サケ稚魚の脊椎骨数を比較した結果，知内川のサケ稚魚の脊椎骨数は千歳川より有意に多かったことを報告している。この要因として知内川には 1950 年代まで他河川からの卵移植がされなかったため，知内川のサケに特有な形質が保持されてきたためと考えられている。その後，知内川や千歳川には近隣河川や遠方の河川から種卵の移殖が行われており（北海道さけ・ますふ化場，1960; 1964; 1967；小林，2009），また，知内川で

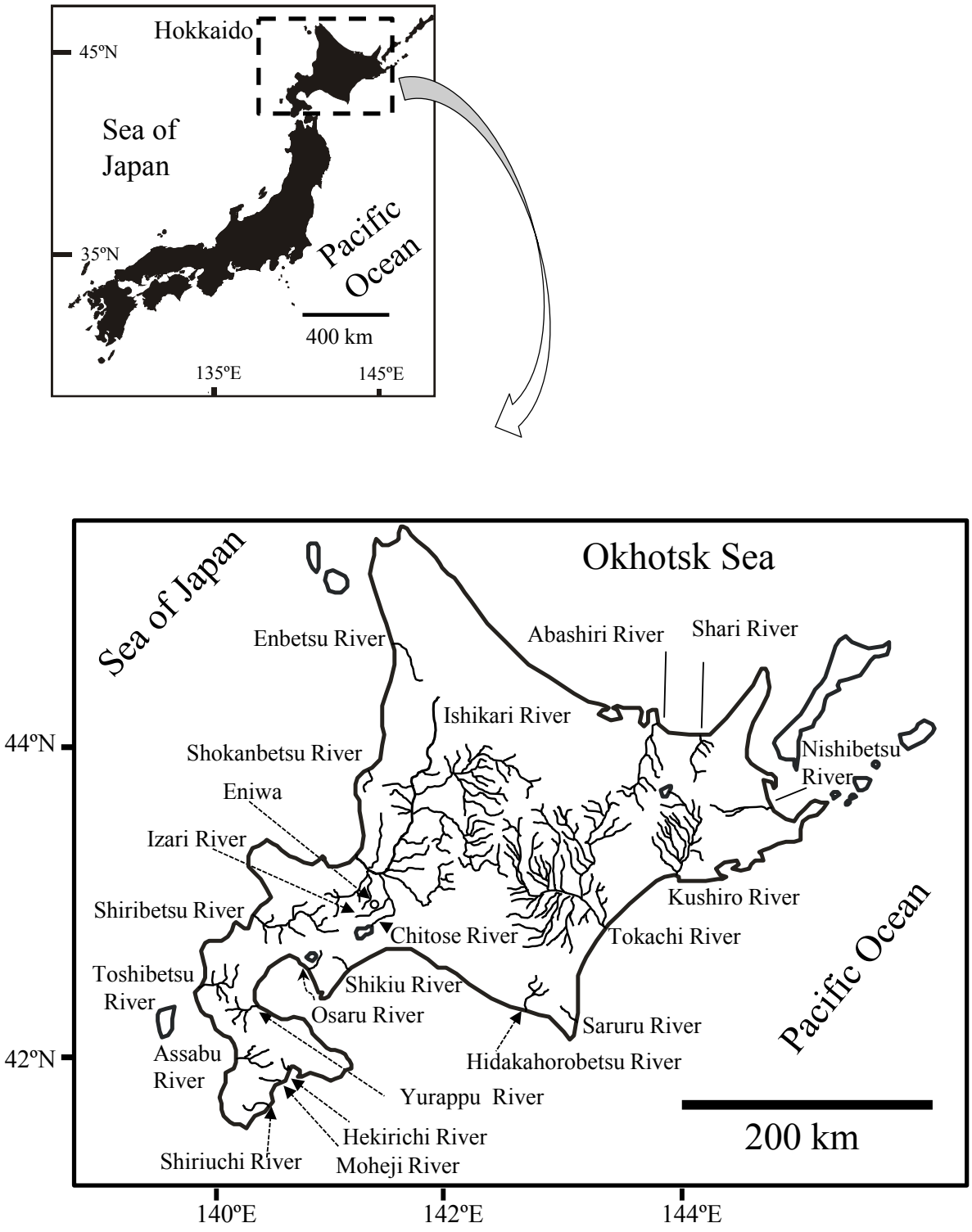


Fig. 3 Locations of the Shiriuchi River, Chitose River, Izari River, and other related rivers in Hokkaido. The Chitose River is a tributary of the Ishikari River and Izari River is a tributary of the Chitose River.

はその後，集団の変遷を調べる目的でサケ親魚の脊椎骨数を含む計数形質の変異が調べられている（北海道さけ・ますふ化場，1962）。しかし，サケ科魚類の脊椎骨数は発生初期の環境要因，特に水温の影響を受け変異し，低水温で発生したサケは脊椎骨数が多くなることが知られているため（久保，1950; Beacham, 1986a; Lindsey, 1988），発生履歴の情報が十分に得られない親魚の計数形質の比較だけでは，集団の変化を正確に把握することは難しい。計数形質は河川間や河川内の集団の違いを検出するのに利用されてきたが（久保・小林，1953；久保，1956；Vernon, 1957），これら計数形質の本来の特性が環境要因により変異し，また，変異したまま子孫へ引き継がれるのであれば，計数形質は集団判別の利用には適さないことになる。そのため，計数形質の集団判別への有用性について検討するためには，現在の計数形質の値と過去のデータとを比較し，年代による計数形質の変化の有無について検討することが必要である。また，比較のためには環境変動による誤差を除くため，同一環境下での飼育実験を行い，計数形質を比較する必要がある。

本研究は，50 年以上前に久保（1956）によって行われた同一環境下での飼育試験を再試し，計数形質の一つである脊椎骨数の変異を通じて，集団の生物学的特性を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

調査場所

1950 年代に久保（1956）が計数したデータと比較するために，千歳川と知内川（Fig. 3）を調査場所に選定した。千歳川では 1888 年に千歳中央孵化場が開設されて以降，本格的なサケの増殖事業が行われており（小林，2009），現在では，日本海さけ・ます増殖事業協会により捕獲及び採卵が行われ，水産総合研究センター北海道区水産研究所千歳さけます事業所により毎年，約 3,000 万尾のサケ稚魚が生産，放流されている（水産総合研究センター，2012）。1950 年代以前の千歳川には，おおむね 10 月中旬を盛期として遡上する前期遡上群（前期群）

と 12 月下旬～1 月上旬を盛期として遡上する後期遡上群(後期群)の 2 つの遡上群が存在し，11 月の遡上尾数は少なかったことが知られている（久保・小林，1953：小林，1961)。しかし，1970 代以降，後期群の遡上数は徐々に減少し，現在はわずかな遡上が見られるに過ぎない（Miyakoshi *et al*., 2013)。知内川は北海道南部に位置する河川であり，道南域で多量のサケの遡上河川として知られ，人工孵化も 1887 年（明治 20 年）に試みられた記録があるなど，道南域におけるサケ資源増殖河川として重要な位置を占めている（小林，2009)。近年の遡上盛期は 11 月中旬であることが多く，10 月及び 12 月の遡上尾数は少ないのが特徴である。

2 集団の脊椎骨数の比較

千歳川及び知内川のサケ親魚から授精卵をサンプリングし，同一条件下で飼育を行った。授精卵は 2007 年 10 月 24 日に千歳川のサケ親魚より，2007 年 11 月 5 日に知内川のサケ親魚から人工授精により採集した。これら授精卵は増殖事業のために多数の雌雄を用いてランダムに交配させて得られた卵より約 1,000 粒をサンプリングし，北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場（恵庭市，Fig. 3）の実験室へ直ちに輸送した。その後，卵をメッシュのバスケット内に収容し，解析まで 60ℓ水槽を用いて飼育した。浮上後は海産仔稚魚用配合餌料であるニューアルテック（日清丸紅飼料，東京）を適量与えながら，給餌飼育を行った。飼育水温は 1 時間毎に自記記録計（HOBO Pendant Logger; Onset Computer Corporation, Cape Cod, MA, USA）を用いて記録し，1 日の平均値を解析に用いた。卵の収容から浮上（123～128 日間，積算水温 987～1021℃日）までの飼育水温は 7.6～8.7℃の範囲であり（Table 1)，平均値±標準偏差は 8.0±0.27℃であった。浮上後，各群から 200 尾を抽出し，60ℓ水槽で給餌飼育を継続した。浮上後 73～75 日後に，各群から 100 尾をサンプリングした。

取り上げたサケ稚魚の尾叉長を 0.1 cm 単位で計測し，鍋で稚魚を蒸して余分な肉を取り除き，脊椎をアリザリンレッド S で染色後，顕微鏡下で椎骨の計数を行った。脊椎骨数の計数は久保・小林（1953）に従い，頭部直後の椎骨から第 1 尾鰭椎（藤田，1990）までを計数した（Fig. 4)。なお，以降の章でも脊椎骨数の計数方法は全て同様の方法で計数した。

Table 1 Comparison of the vertebral number in chum salmon between archival data and present study

River	Reference	Date of fertilization	Rearing water temperature (°C)	Number of individuals	Mean fork length (Range) (cm)	Vertebral number[*2]							Mean ± SD	Sampling site
						64	65	66	67	68	69	70		
Chitose R.	Kubo (1956)	10 Jan. 1953	7.5 – 8.5	75	No data	20	**28**	24	3	0	0	0	65.1 ± 0.86	Incubation experiment
	Present study	24 Oct. 2007	7.6 – 8.7 [*1]	100	6.7 (5.7–7.6)	2	36	**45**	15	1	1	0	65.8 ± 0.83	Incubation experiment
Shiriuchi R.	Kubo (1956)	15 Dec. 1952	7.5 – 8.5	100	No data	0	0	14	**52**	28	6	0	67.3 ± 0.77	Incubation experiment
	Present study	5 Nov. 2007	7.6 – 8.5 [*1]	100	7.1 (5.8–8.5)	0	4	18	**42**	31	4	1	67.2 ± 0.94	Incubation experiment
Chitose R.	Kubo (1956)	1951 (early)	8 (nearly)	68	No data	4	16	21	**22**	5	0	0	66.1 ± 1.04	Hatchery (Chitose)
	Kubo (1956)	1952 (early)	8 (nearly)	46	No data	2	15	**23**	6	0	0	0	65.7 ± 0.75	Hatchery (Chitose)
	Kubo (1956)	1950 (late)	8 (nearly)	45	No data	11	**23**	8	3	0	0	0	65.1 ± 0.84	Hatchery (Chitose)
	Kubo (1956)	1951 (late)	8 (nearly)	26	No data	4	**10**	6	4	1	1	0	65.7 ± 1.26	Hatchery (Chitose)

[*1] Daily average from egg placement to swim-up stage

[*2] Bold character indicates the modes of the distribution of vertebral number

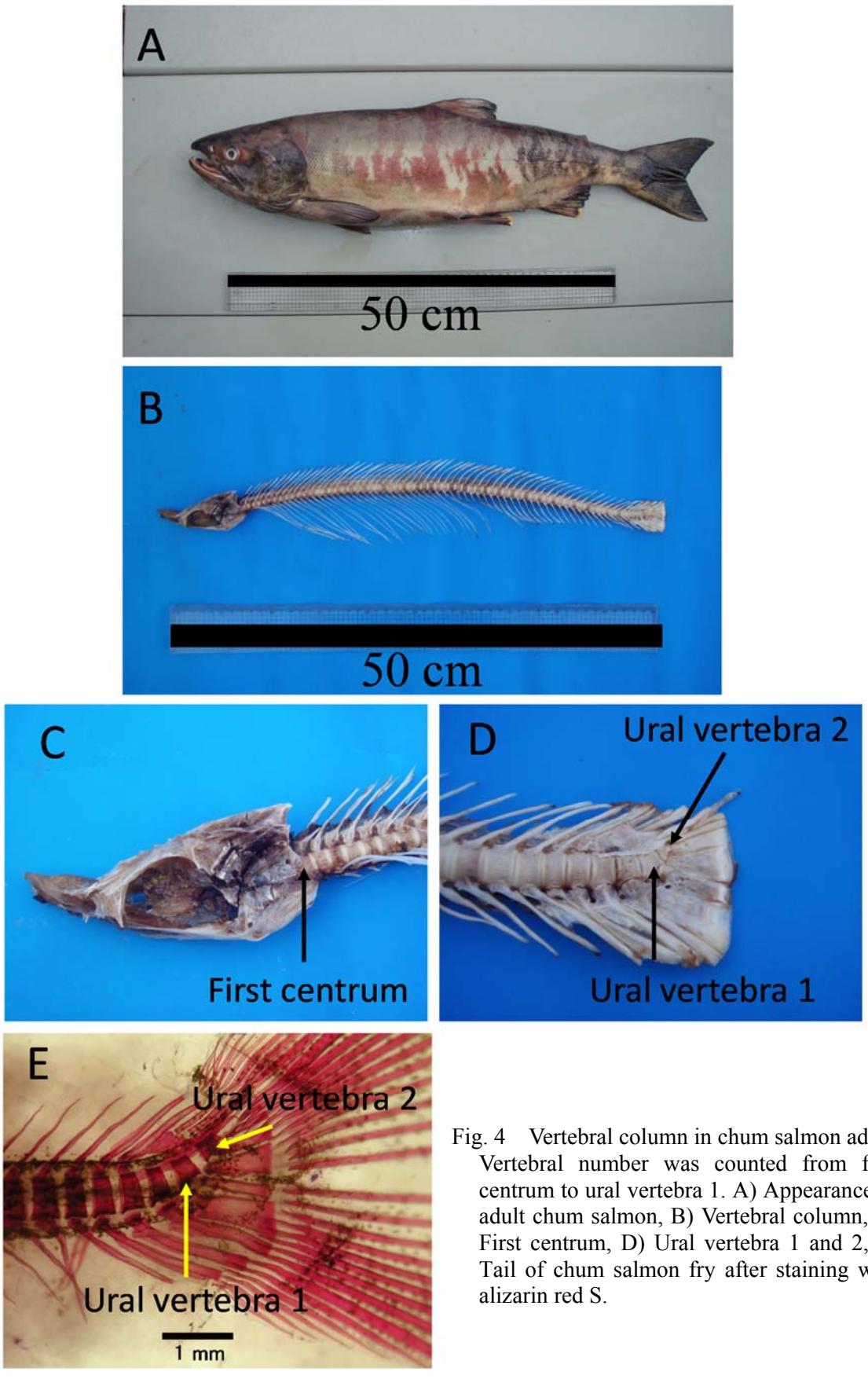


Fig. 4 Vertebral column in chum salmon adult. Vertebral number was counted from first centrum to ural vertebra 1. A) Appearance of adult chum salmon, B) Vertebral column, C) First centrum, D) Ural vertebra 1 and 2, E) Tail of chum salmon fry after staining with alizarin red S.

久保（1956）による千歳川と知内川のサケの脊椎骨数の比較では，千歳川では 1953 年 1 月 10 日に，知内川では 1952 年 12 月 15 日に人工授精により卵がサンプリングされ，ほぼ同じ条件下（7.5～8.5℃の飼育水温）で飼育が行われた。本試験では久保（1956）の論文から両河川のサケの脊椎骨数のデータを引用し，本試験との比較に用いた。過去の 2 集団の脊椎骨数（千歳川での 1953 年 1 月 10 日採卵群と知内川の 1952 年 12 月 15 日採卵群）と本試験で得られた 2 集団の脊椎骨数（千歳川の 2007 年 10 月 24 日採卵群と知内川の 2007 年 11 月 5 日採卵群）の脊椎骨数のデータを用い，それぞれの同一河川内で過去と現在の脊椎骨数の平均値の差の有無を 2 標本コルモゴロフスミルノフ検定にて比較した。有意水準は 5 %とした。

遡上時期による脊椎骨数の比較

久保（1956）の論文には当時の千歳川に遡上したサケから異なる時期に採卵され，増殖事業のために孵化場で飼育されていたサケの脊椎骨数のデータも報告されている。これら孵化場で生産されたサケ稚魚の正確な採卵月日は不明であるが，前期群と後期群の記載があり，遡上時期のおおよその判別は可能であるため，これら孵化場で生産されたサケ稚魚の脊椎骨数のデータも比較のために引用し, 前期と後期の遡上時期による脊椎骨数の違いを検定した。なお，前期群は 1951 年（N =68）と 1952 年（N =46）に採卵された 2 群であり，後期群は 1950 年（N =45）と 1951 年（N =26）に採卵された 2 群である。検定には統計ソフト R (ver. 2.14.0)（R Development Core Team, 2011）を用いた t 検定による多重比較を用い，P 値を Bonferroni 補正で調整し，補正後の有意水準 5 %のもとで群間の平均値の差の有無を判定した。

結果

2 集団の脊椎骨数の比較

取り上げ時のサケの尾叉長の平均値は千歳川で 6.7 cm（5.7～7.6 cm），知内川で 7.1 cm（5.8～8.5 cm）であった（Table 1）。千歳川のサケ稚魚の脊椎骨数は 64～69（モードは 66），知内

川のサケ稚魚の脊椎骨数は 65～70（モードは 67）の範囲であった。脊椎骨数の平均値±標準偏差（以下，同様）は千歳川のサケ稚魚で 65.8±0.83，知内川のサケ稚魚で 67.2±0.94 であり，同一条件下での飼育にも関わらず，知内川の集団の方が平均値で 1.36 高い値であった。久保（1956）の報告では，知内川のサケ稚魚の平均脊椎骨数（67.3±0.77）は千歳川のサケ稚魚の平均脊椎骨数（65.1±0.86）よりも 2.13 高かったとされている。本研究で行われた飼育試験では，知内川のサケ稚魚の脊椎骨数の平均値は久保（1956）の報告値よりも 0.10 低かったが，河川内で有意差は検出されず，脊椎骨数のモードも同じ 67 を示していた。一方，本試験における千歳川のサケ稚魚の脊椎骨数の平均値は，久保の報告した千歳川の平均値よりも 0.67 高く，有意差が検出された（$P < 0.01$）。また，久保（1956）の報告では脊椎骨数のモードは 65 であったのに対し，本試験では脊椎骨数 66 にモードが見られた。また，久保（1956）の報告でも本試験でも，知内川のサケ稚魚の脊椎骨数は千歳川よりも明らかに高い値を示していた (Fig. 5)。

遡上時期による脊椎骨数の比較

久保（1956）の報告した前期群の脊椎骨数は 64～68 の範囲であり，モードは 1951 年採卵群で 67，1952 年採卵群で 66 を示した（Table 1）。脊椎骨数の平均値±標準偏差は 1951 年の採卵群で 66.1±1.04，1952 年採卵群で 65.7±0.75 であった。一方，後期群の脊椎骨数の範囲は 64～69 であり，モードは 1950 年採卵群及び 1951 年採卵群の両群とも 65 であった。平均値±標準偏差は 1950 年の採卵群で 65.1±0.84，1951 年の採卵群で 65.7±1.26 であり，前期群よりも平均値で 0.06～1.05 低い値を示した。多重比較では 1950 年採卵の後期群は 1951 年採卵の前期群（$P < 0.001$）および 1952 年採卵の前期群（$P < 0.01$）より有意に平均値が低かったが, 1951 年採卵の後期群の平均値は, 前期の 2 群とは差が見られなかった（$P = 0.23$～1.00, Fig. 6）。

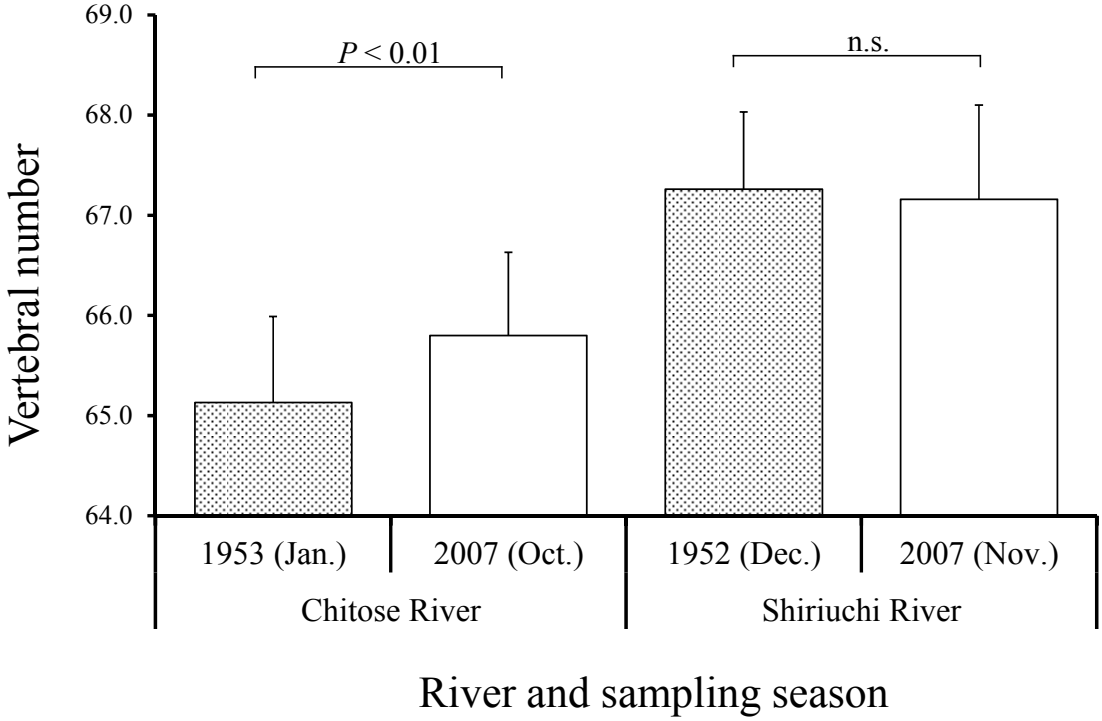


Fig. 5 Mean vertebral number ± standard deviation of chum salmon fry in the Shiriuchi and Chitose rivers. These populations were reared under similar conditions. The archival data from the 1950s are cited from Kubo (1956) (dotted bars). Month in parentheses after the year shows the season in which the eggs were collected. *P*-values on the bars indicate the results of the statistical analysis and "n.s." indicates that the difference was not significant according to a Kolmogorov-Smirnov two sample test at a $P = 0.05$ level.

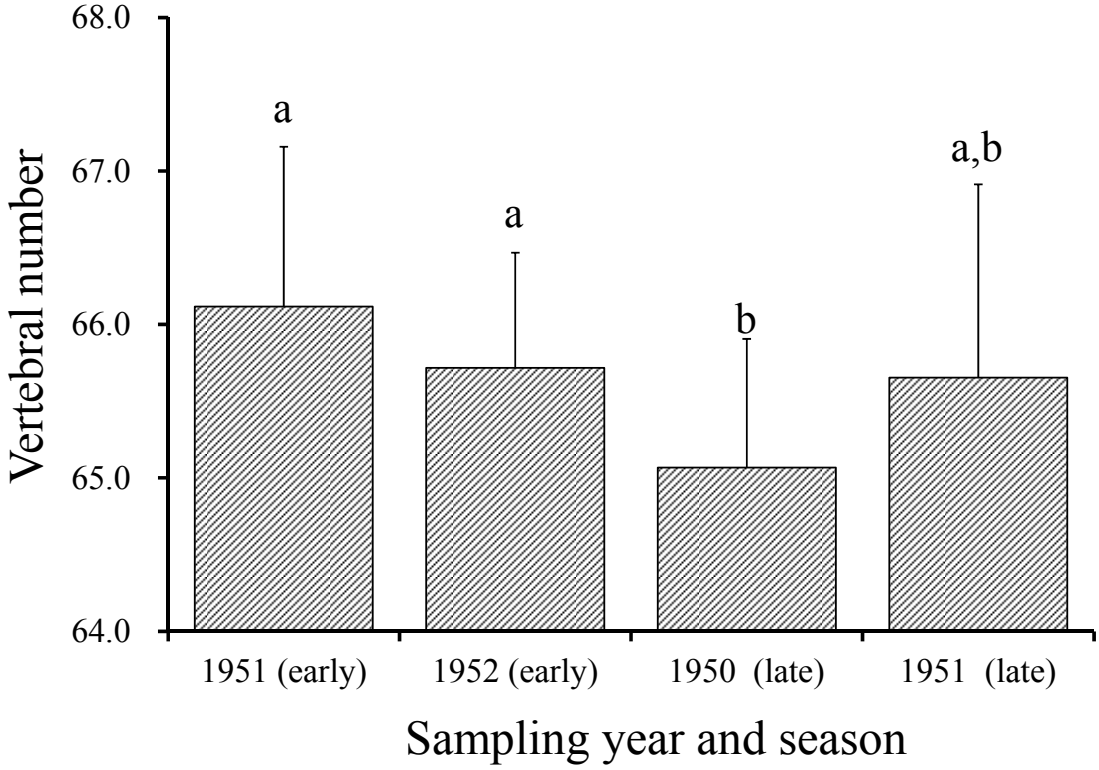


Fig. 6 Variation in mean vertebral number ± standard deviation of chum salmon fry in the Chitose River. The archival data are cited from Kubo (1956). Season (early/late) in parentheses below the year shows the season in which the eggs were collected. Letters on the bars indicate the results of statistical analysis and identical letters indicate that there is no significant difference according to multiple comparison *t*-test at a $P = 0.05$ level.

考察

魚類の脊椎骨数は遺伝的要因に支配されているものの，発生初期の水温により容易に左右されることも知られている（Kirpichnikov, 1981）。例えば，サケの脊椎骨数は発生初期の水温が低くなると（0～5℃の低水温と 6.5～12℃の高水温との比較），増加する傾向にあることが知られている（久保，1950；Beacham and Murray, 1986a）。しかし，同一条件下での飼育は環境要因による影響を排除できるため，脊椎骨数の変異に及ぼす遺伝的要因を評価することが可能であり，交配実験及び一定環境下での飼育試験は集団の有する本来の特性を推定するのに有用な手法と考えられる。

本試験において，知内川のサケ稚魚の脊椎骨数は千歳川のサケ稚魚よりも顕著に脊椎骨数が多く，50 年以上前に久保（1956）が報告した値と差は見られなかった。1960 年代以降 2000 年以前までの知内川のサケの脊椎骨数の変化は不明であるが，この結果は知内川のサケが長期間にわたり河川特有の脊椎骨数を変化させず，維持してきたことを示唆している現象と思われる。久保（1956）が試験を行った 1950 年代～1960 年代以降には，資源の減少を補うため，多くの種卵が近隣河川や遠方の河川から知内川に移殖されたものの，資源の増加には結びつかず, 知内川のサケ資源は 1970 年代に孵化放流技術の改善などにより増加した経緯にある（小林，2009）。

知内川のサケの脊椎骨数が過去と現在で変化しなかった背景には，いくつかの原因が考えられる。ロシア極東では距離の離れた河川から移殖されたサケほど新たな環境への適応能力が低いために，資源造成の効果が薄いことが示唆されている（Altukhov and Salmenkova, 1990; Altukhov *et al*., 2000）。1960 年代には，多くの種卵が根室海峡に注ぐ西別川（Nishibetsu River, Fig. 3）から知内川へ移殖された（北海道さけ・ますふ化場，1964；小林，2009）。しかし，最近行われた msDNA 解析の結果では，知内川と西別川のサケは遺伝的に別の集団に分類されている（Beacham *et al.*, 2008）。このことは，西別川から移殖された種卵の多くは知内川では再生産に寄与しなかったことを示唆している。また，知内川のように多い脊椎骨数を持つ

集団は，北海道南部の集団に特有の現象である可能性も考えられる。知内川近隣河川のサケも脊椎骨数が多ければ，近隣河川から知内川へ移殖が行われても脊椎骨数の変動には影響しなかったのかもしれない。例えば，当時，知内川近隣の茂辺地川（Moheji River, Fig. 3）から知内川へ移殖が行われている（北海道さけ・ますふ化場，1960）。茂辺地川のサケの脊椎骨数は不明であるが，茂辺地川及びその沿岸のサケをアイソザイム解析で調べた結果によると，北海道内の他集団に比べて特異的な遺伝組成を示したことも報告されている（松岡ら, 1987）。msDNA 解析の結果では，北海道南部に位置する遊楽部川（Yurappu River, Fig. 3）は知内川と遺伝的に同じグループに属するとされており（Beacham *et al*., 2008），脊椎骨数の平均値も知内川同様に高く（67.4），モードも 67 であったことが報告されている（久保，1956）。これらのことから，北海道南西部のサケの脊椎骨数は他の地域のサケよりも多い可能性も考えられる。Kijima and Fujio （1982）はアイソザイムの多型分析を行い，サケの集団間の遺伝的距離は河川間の地理的距離と関連していることを明らかにした。そのため，知内川に移殖された近隣の集団は遺伝的にも知内川に近く，脊椎骨数の分布も知内川に類似していた可能性も考えられる。

本試験で調べられた千歳川のサケ稚魚の脊椎骨数は久保（1956）の報告したサケ稚魚の平均値より有意に高い値を示した。千歳川に遡上するサケは前期群と後期群の 2 群からなることが知られており，現在は後期群の遡上尾数は著しく少なくなっている（久保・小林，1953；小林，1961；Miyakoshi *et al*., 2013）。久保（1956）が知内川との比較のために用いた千歳川のサケ稚魚は 1 月に採卵された後期群の稚魚である。一方，本試験で用いられたサケは 10 月 24 日に採卵されたサケであり，当時の区分では前期群に相当するサケである。千歳川のサケに関して久保（1956）の飼育試験と本試験のデータを比べると，脊椎骨数の平均値は採集年や採卵時期により変動しているが，65.1～66.1 の範囲内に収束していた（Figs. 5 and 6）。しかし，千歳川における前期群のサケの脊椎骨数は，久保（1956）の報告でも本試験においても後期群より多い傾向を示した。2 集団における過去のデータとの比較試験では，千歳川のサケ稚魚の平均脊椎骨数は久保（1956）の報告では 65.1，2007 年に本試験で行われた結果では

65.8 と異なっていたが，この値は久保（1956）が報告した千歳川のサケ稚魚の脊椎骨数の平均値の範囲内（65.1～66.1, Fig. 6）に収まっていた。サケの計数形質である脊椎骨数や鰓耙数といった量的形質は，同一河川内での集団でも遡上時期により変異があることが知られている（Beacham, 1984; Tallman and Healey, 1991）。 久保（1956）の報告では，千歳川におけるサケ稚魚の脊椎骨数のモードは前期群で 66 もしくは 67 にあり, 後期群は 65 にモードがあったが, 本試験で調べられた千歳川のサケ稚魚は 66 にモードを示した。したがって, 久保（1956）の報告と本試験における千歳川のサケ稚魚の脊椎骨数の平均値の違いは，採卵時期の違いにより生じている可能性が考えられる。

1950～1960 年代には，十勝川（Tokachi River, Fig. 3）や西別川から千歳川に多くの卵が移殖されている（北海道さけ・ますふ化場，1967 ; 小林，2009）。しかし，これら河川の孵化場で約 8℃の水温で飼育されたサケ稚魚の脊椎骨数の平均値は 66.2～66.4 の範囲であり，千歳川の平均値 65.1～66.1 よりも高いことが報告されている（久保，1956）。多くの種卵が 1960 年代に十勝川から千歳川へ移殖されたにも関わらず，十勝川と千歳川のサケの集団の遺伝的距離は大きいことが報告されている（木島，1981）。千歳川のサケの地場資源は知内川同様，1970 年代から増加している（小林，2009）。本試験では，知内川のサケの脊椎骨数の平均値は 50 年間にわたり大きな変動はなく, 千歳川のサケの脊椎骨数は一定の範囲内（65.1～66.1）では変動が見られるものの，この変動要因として採卵時期による影響が考えられ，サケの本来の特性は変化していないと判断した。千歳川の平均脊椎骨数は長期にわたり知内川の脊椎骨数の平均値を超えなかったものと思われ，それぞれの脊椎骨数の平均値は河川に特有な値を示すと考えられる。したがって遠方の河川から千歳川へ移殖された卵は，知内川同様，脊椎骨数の平均値を変化させるほどの影響はなかったものと考えられた。しかし，サケの長い増殖の歴史の中で, 移殖によりサケの資源を作ってきた例も存在する（木島ら，1980 ; 木島，1981）。他河川からの卵の移殖により，本来見られた回帰親魚の遡上時期が変化したり，集団の遺伝的組成が変化した例も知られている（Okazaki, 1978）。なお，現在の北海道では遠方の河川からの移殖は行っておらず，原則として海区内（Fig. 2）で増殖事業が行われている。

本試験の結果から，知内川と千歳川のサケの脊椎骨数の平均値には統計的な有意差が見られる場合はあるものの，河川特有の値は長期間にわたり変化していないことが示唆された。脊椎骨数の変異の要因やその生物学的意義については，脊椎骨数が遺伝要因の他に環境要因の影響を容易に受けて変異することもあり，正確にはわかっていない（McDowall, 2008）。しかし，同一条件下で飼育されたサケ属魚類の脊椎骨数に関して高い遺伝率が報告されている（Nakajima *et al*., 1996; Ando *et al*., 2008a, b）。したがって，同一条件下で飼育された集団間の計数形質のデータを過去と現在で比較することは，集団の遺伝的構造を推定する有用な一手法になると考えられた。

第 3 章　脊椎骨数の変異に及ぼす発生水温の影響

脊椎骨数の変異に及ぼす環境要因は水温，塩分，光，溶存酸素などが挙げられるが，このうち水温は最も影響を与える因子であると考えられている（Lindsey, 1988）。特にサケ属魚類の場合，親魚は河川（淡水）内に産卵床を作り，産卵後は砂利で埋め戻すため，塩分や光の影響はほとんど排除することができる。そのため，発生初期の水温の影響による計数形質の変異に関して多くの室内実験が行われてきた（Tåning, 1952; Lindsey, 1988; Beacham 1990）。計数形質の変異は反応規格（反応基準）により推定されてきた。反応規格は或る一つの遺伝子型が種々の環境条件の下に生じ得る表現型の全部を意味しており（Schmalhausen, 1949; Schlichting and Pigliucci, 1998; Swain *et al*., 2005），複数の異なる環境下で計数形質の変異を調べることで推定される場合が多い。しかし，計数形質は環境だけで変異しているわけではなく，反応規格は同一魚種であっても家系間で異なる反応を示すことも示唆されている（Lindsey, 1988）。

魚類の計数形質のうち，脊椎骨数は他の計数形質（鰭条や鰓耙）に比べ，発生初期の段階（一般的には孵化以前）までに決定し，それ以降の発育段階では数が変化しないことが知られている（Tåning, 1952; Barlow, 1961; Fahy, 1976; Lindsey, 1988; Swain *et al*., 2005; McDowall, 2008）。

サケ属魚類の発生初期の飼育水温と脊椎骨数の変異には 2 つの反応規格のパターンが知られている。一つは飼育水温が高くなるにつれて脊椎骨数が減少するパターン（Negative 型）ともう一つは中間の飼育水温で脊椎骨数が最も少なく，それより低水温域および高水温域の水温で脊椎骨数が多くなるパターン（V 字型曲線）である（Lindsey, 1988）。例えば，ニジマスの脊椎骨数は水温変化に対して Negative 型の反応規格を示し，マスノスケでは V 字型曲線を示すことが知られている（Seymour, 1959; Kwain, 1975; Lindsey, 1988）。北米におけるサケでも発生初期に 4，8，12℃で飼育されたサケの脊椎骨数は飼育水温により変異し，Negative 型の反応をすることが報告されている（Beacham and Murray, 1986a）。

北海道のサケは 8 月から翌 1 月まで河川に遡上するが（Sano, 1967），同一河川内においても前期群と後期群が存在するため，異なる時期の遡上群間で生物学的特性が異なることが考えられる。例えば，北海道南部の遊楽部川（Fig. 3）に遡上する前期群と後期群を mtDNA 解析した結果では, 両群は遺伝的に異なる集団であることが知られている（Yokotani *et al*., 2009）。また，計数形質も異なる時期の遡上群間で変異していることが報告されている（Beacham and Murray, 1986a; Tallman and Healey, 1991）。計数形質の変異には遺伝要因と環境要因が影響していることが予想される。また，サケ属魚類の計数形質は高い遺伝率を持つものの，遺伝マーカーとは異なり環境要因により容易に変異することが知られている（Leary *et al*., 1985; Nakajima *et al*., 1996; Ando *et al*., 2008a, 2008b; Beacham, 1990）。

北海道に回帰するサケの脊椎骨数も遡上時期（産卵時期）や発生水温により変異するのであれば，河川内における遡上群間の生態や産卵時期を脊椎骨数の変異から推定できる可能性がある。近年，北海道の河川に遡上するサケには野生魚が多く含まれる河川もあることが分かってきたが，大部分は人工孵化放流に由来すると考えられている（森田ら，2013a）。孵化場での授精卵の飼育は一定水温の湧水を用いて行われる場合が多い。そのため，飼育水温が計数形質の変異に及ぼす影響についてはほとんど検討されてこなかった。サケの孵化放流事業は野生魚の生態を参考にして効果を挙げてきた部分もあるため（Kitada, 1999 ; 小林, 2009），野生魚を含むサケの計数形質が発生水温に対してどのような反応規格を持つのかを確かめておくことは重要である。本章では，飼育（発生）水温に対する脊椎骨数の反応規格について調査した。

材料と方法

調査場所

石狩川支流千歳川と千歳川支流である漁川（Izari River, 石狩川の 2 次支流）の 2 河川を調査河川とした（Fig. 3）。漁川では現在，サケの増殖事業は行われていないものの自然産卵す

るサケが多く見られる（Miyakoshi *et al*., 2012）。ただし，毎年 4 月に，子供たちへの教育を目的としたサケ稚魚体験放流がわずかに行われている。

試験 1ー飼育水温に対する脊椎骨数の反応規格（漁川）

千歳川支流の漁川において 2009 年 9 月 11 日にサケ親魚を捕獲した。捕獲した親魚は直ちに北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場に生かしたまま輸送し，雌雄一対の交配を 3 ペア作成した（家系#1, 家系#2, 家系#3）。授精卵は 9.1℃の湧水で 1 時間吸水後，家系毎に 5 つに分配し，バスケットに収容した。 なお，1 つのバスケットに収容した卵数は 190～249 粒であった。各家系 5 つのバスケットのうち 4 つは異なる水温の水槽へ入れ，50 %が孵化（積算水温 468～506℃日）するまでエアレーションをしながら止水で飼育した。水温は約 4℃，9℃，12℃及び 16℃に設定し，以後，これら飼育群をそれぞれ 4D，9D，12D，16D と呼ぶことにする。飼育水温は自記記録計を用いて 1 時間毎に測定し，1 日の平均値を解析データとして用いた。処理中の水温の平均値±標準偏差は 4D 群で 3.9±0.25℃，9D 群で 8.7±0.20℃，12D 群で 11.9±0.23℃，16D 群で 16.3±0.39℃であった（Table 2）。50 %以上が孵化した時点で，流水飼育へと切り替え，水温 7.7～9.4℃（平均 8.7℃）の水温で解析まで飼育を継続した（Fig. 7）。残りのバスケット（各家系 1 つ×3 家系）は授精及び吸水の作業後，直ちに漁川へと戻した。以後，この群を河川群（River group）と呼ぶこととする。バスケットをワイヤーで川底に固定し，河川水で飼育した。また， バスケット内には水温を記録するため自記記録計も入れて 1 時間毎に水温を記録し，水温の最大変動幅を把握するため 1 時間毎に測定した水温の上限値と下限値を記録した後，1 日（24 時間測定）の平均値を求め解析に用いた。河川群のバスケットは 50 %孵化直前の積算水温 468℃日で回収した。処理中，1 時間毎に記録した水温の最低は 8.2℃，最高は 16.3℃であり，1 日の平均値は 9.0～13.9℃で変動していた。処理中の水温の平均値±標準偏差は 12.0±1.61℃であった。河川群のバスケットを回収した際，2～19 尾（1.2～10.2 %）の仔魚がすでに孵化しており，河川から回収した翌日に 50 %以上が孵化した。河川群も他の 4D～16D 群と同様に河川から回収後は流水中で

Table 2 Rearing procedures and water temperatures in each thermal treatment group in the Izari River in 2009

Group	Thermal treatment*			Post-treatment			Number of rearing days from fertilization to analysis
	Number of rearing days	Water temperature (°C)		Number of rearing days	Water temperature (°C)		
		Mean ± SD	Range		Mean	Range	
4D	121	3.9 ± 0.25	3.4 – 4.7	165			286
9D	58	8.7 ± 0.20	8.0 – 9.1	169			227
12D	42	11.9 ± 0.23	11.4 – 12.6	148	8.7	7.7 – 9.4	190
16D	31	16.3 ± 0.39	15.0 – 16.8	150			181
River	39	12.0 ± 1.61	9.0 – 13.9	151			190

* Embryos in 4D, 9D, 12D, and 16D groups were reared using static water from fertilization to hatching. River group was incubated from fertilization to hatching using stream water. After 50% hatching, all the groups were transferred to running spring water until analysis.

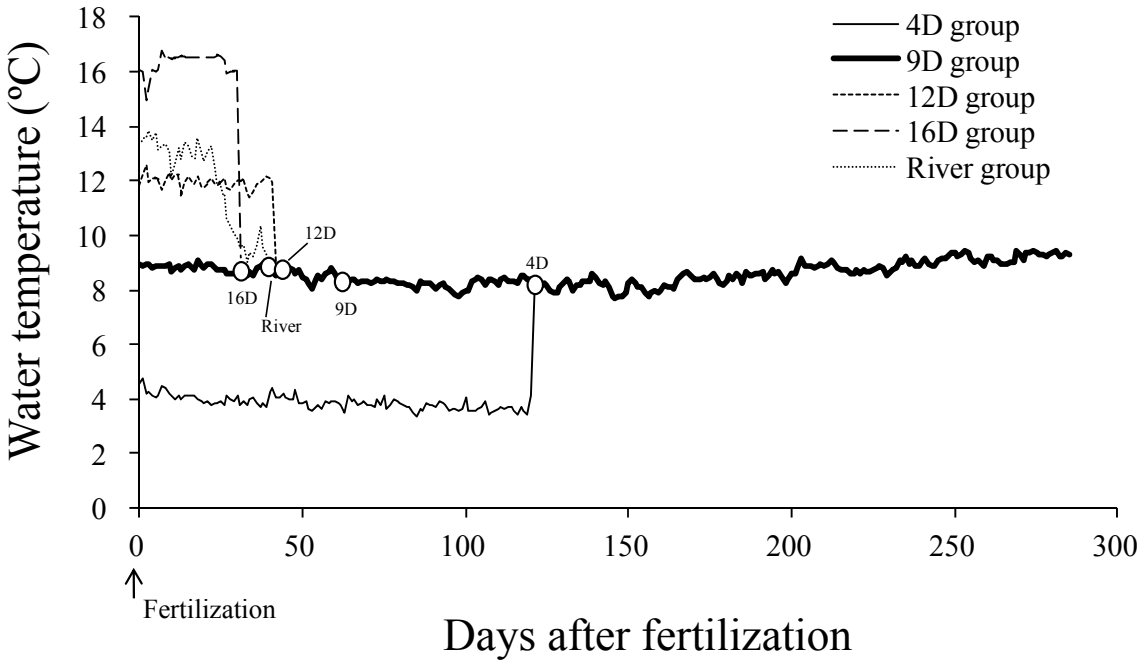


Fig. 7 Rearing process for three chum salmon families (families #1, #2, and #3) in the Izari River under five different incubation water temperatures. The 4D, 9D, 12D, and 16D groups were subjected to thermal treatments at 3.9, 8.7, 11.9, and 16.3 °C, respectively, from fertilization to 50% hatching. River groups were incubated under natural conditions from fertilization to just before hatching, and the mean water temperature was 12.0 °C. Circles indicate the hatching time in each group.

飼育した。異なる水温下での飼育は，31～121 日間継続し，浮上後は給餌を行いながら計数形質の測定が容易となるサイズ（尾叉長で約 7.2 cm）まで飼育を行った。授精から解析までの飼育日数は，飼育水温により変動し 181～286 日間であった（Table 2）。

水温処理後に孵化した仔魚を計数し，孵化までの生残率を求めた。また，飼育試験終了後に再度，生残した稚魚の尾数を計数した。水温処理中に死亡した卵数は，最初に収容した卵数と孵化した仔魚との数の差から推定した。飼育試験終了後，各水温区から無作為に 70 尾を抽出し，脊椎骨数の解析に供した。

試験 2－飼育水温に対する脊椎骨数の反応規格（千歳川）

千歳川において 2012 年 10 月 2 日にサケ親魚を捕獲し，直ちに北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験に生かしたまま輸送し，翌 10 月 3 日に雌雄一対の交配を 3 ペア作成した（家系#4, 家系#5, 家系#6)。授精卵は約 9℃の湧水で 1 時間吸水後，家系毎に 4 つに分配し，バスケットに収容した。 なお，1 つのバスケットに収容した卵数は 150 粒とした。各家系から得られた授精卵を異なる水温に調整した水槽へ入れ，50 %が孵化（積算水温 499～524℃日）するまでエアレーションをしながら止水で飼育した。水温は約 4℃，9℃，12℃及び 16℃に設定し，以後，これら飼育群を試験 1 と同様にそれぞれ 4D，9D，12D，16D と呼ぶことにする。飼育水温は自記記録計を用いて 1 時間毎に測定し，1 日（24 時間の測定値）の平均値を解析データとして用いた。処理中の水温の平均値±標準偏差は 4D 群で 4.6±0.13℃，9D 群で 8.6±0.28℃，12D 群で 12.2±0.29℃，16D 群で 16.5±0.10℃であった（Table 3）。50 %以上が孵化した時点で，流水飼育へと切り替え，水温 7.5～9.4℃（平均 8.4℃）の水温で解析まで飼育を継続した（Fig. 8）。ただし，50 %孵化した日は，家系により 1～4 日間ずれが見られたため，最も孵化が遅い家系に合わせて流水飼育への切り替えを同時に行った。異なる水温下での飼育は，31～110 日間継続し，浮上後は給餌飼育を行いながら尾叉長 7 cm 程度まで飼育を行った。授精から解析までの飼育日数は，飼育水温により変動し 193～267 日間であった（Table 3）。生残率は水温処理期間中のみ記録し比較を行った。最初に収容し

Table 3 Rearing procedures and water temperatures in each thermal treatment group in the Citose River in 2012

Group	Thermal treatment*			Post-treatment			Number of rearing days from fertilization to analysis
	Number of rearing days	Water temperature (°C)		Number of rearing days	Water temperature (°C)		
		Mean ± SD	Range		Mean	Range	
4D	110	4.6 ± 0.13	4.4 – 4.9	157	8.4	7.5 – 9.4	267
9D	58	8.6 ± 0.28	8.1 – 9.6	161			219
12D	43	12.2 ± 0.29	11.4 – 12.9	154			197
16D	31	16.5 ± 0.10	16.2 – 16.7	162			193

* Embryos in 4D, 9D, 12D, and 16D groups were reared using static water from fertilization to hatching. After 50% hatching, all the groups were transferred to running spring water until analysis.

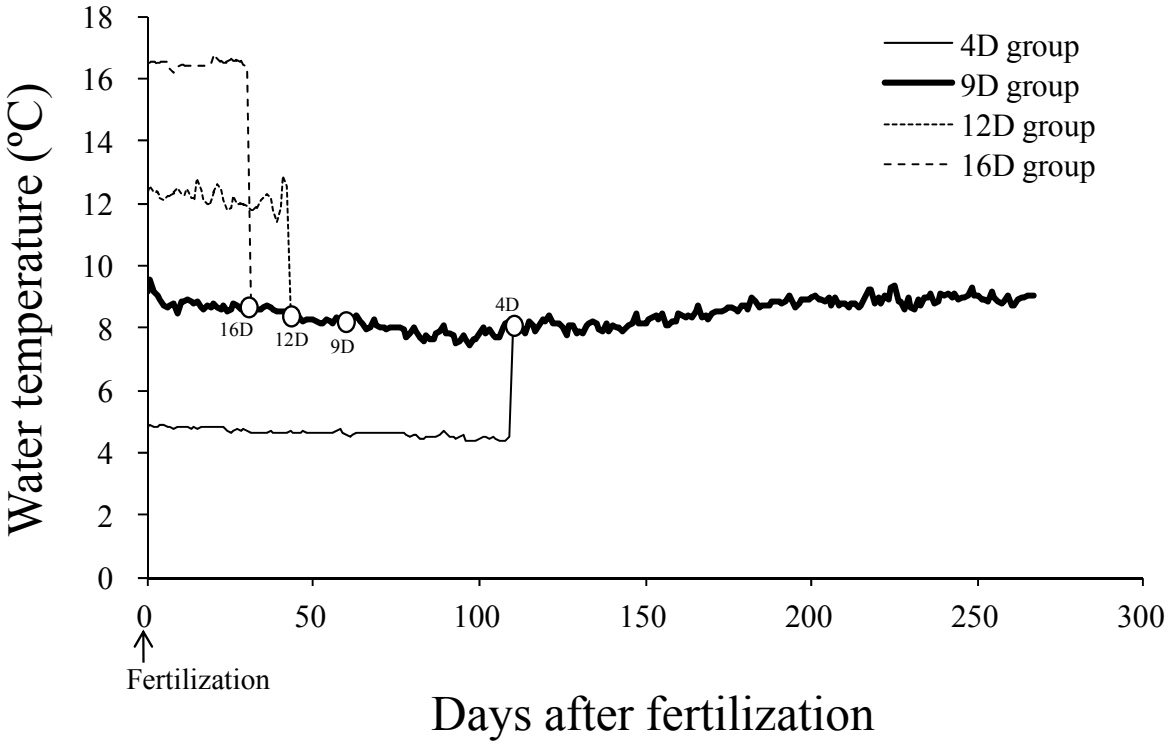


Fig. 8 Rearing process for three chum salmon families (families #4, #5, and #6) in the Chitose River using four different incubation water temperatures. The 4D, 9D, 12D, and 16D groups were subjected to thermal treatments at 4.6, 8.6, 12.2, and 16.5 °C, respectively, from fertilization to 50% hatching. Circles indicate the hatching time in each group.

た卵数と孵化した仔魚との数の差から，死亡した卵数と生残した個体を求め生残率を計算した。孵化した仔魚のうち 100 尾を上限としてランダムに抽出し，60ℓ水槽を用いて流水中で飼育を継続し，浮上後は給餌しながら飼育を行った。試験終了後，生残した個体のうち各水温区から 50 尾を無作為に抽出し，脊椎骨数の解析に供した。

試験 3－異なる採集年における脊椎骨数の反応規格（漁川）

漁川で異なる年に採集した親魚を用いて反応規格の再現性を検証した。2011 年 9 月 27 日（同日に授精）に捕獲した雌雄 1 尾ずつの親魚と 2012 年 9 月 20 日（授精は翌 21 日）に捕獲した雌雄 1 尾ずつの親魚を用いて雌雄一対の交配を行った。以後，2011 年に作出した群を家系#7，2012 年に作出した群を家系#8 と呼ぶ。これら親魚から得られた授精卵は約 9℃の湧水で 1 時間吸水後，家系毎に 4 つに分配し，バスケットに収容した。 なお，1 つのバスケットに収容した卵数は 200～214 粒であった。各家系から得られた授精卵を異なる水温に調整した水槽へ入れ，50 %が孵化（家系#7；積算水温 441～557℃日，家系#8；積算水温 464～524℃日）するまでエアレーションをしながら止水で飼育した。水温は約 4℃，9℃，12℃及び 16℃に設定し，以後，これら飼育群を前述の試験同様にそれぞれ 4D，9D，12D，16D と呼ぶことにする。飼育水温は自記記録計を用いて 1 時間毎に測定し，1 日（24 時間の測定値）の平均値を解析データとして用いた。ただし，2012 年に交配した家系#8 の試験では，9D 飼育群で授精から 12 日目までは自記記録の故障により水温を記録できなかったため，この期間の飼育水温は 9℃と仮定して解析を行った。処理中の水温の平均値±標準偏差は家系#7 の 4D 飼育群で 3.3±0.22℃，9D 飼育群で 8.8±0.21℃，12D 飼育群で 12.1±0.33℃，16D 飼育群で 16.4±0.51℃であり（Table 4），家系#8 では 4D 飼育群で 4.7±0.40℃，9D 飼育群で 8.8±0.23℃，12D 飼育群で 12.4±0.29℃，16D 飼育群で 16.4±0.14℃であった。50 %以上が孵化した時点で，流水飼育へと切り替え，水温 7.6～9.5℃の範囲の水温で解析まで飼育を継続した（Fig. 9）。異なる水温下での飼育は，33～131 日間継続した。授精から解析までの飼育日数は，飼育水温により変動し 186～293 日間であった（Table 4）。

Table 4 Rearing procedures and water temperatures in each thermal treatment group in the Izari River in 2011 and 2012.

Fertilization year	Group	Thermal treatment*			Post-treatment			Number of rearing days from fertilization to analysis
		Number of rearing days	Water temperature (°C)		Number of rearing days	Water temperature (°C)		
			Mean ± SD	Range		Mean	Range	
2011	4D	131	3.3 ± 0.22	3.0 – 5.5	162	8.5	7.6 – 9.5	293
(Family #7)	9D	57	8.8 ± 0.21	8.6 – 9.6	202			259
	12D	40	12.1 ± 0.33	11.1 – 13.0	213			253
	16D	33	16.4 ± 0.51	15.2 – 17.6	161			194
2012	4D	100	4.7 ± 0.40	2.5 – 6.4	180	8.4	7.6 – 9.4	280
(Family #8)	9D	59	8.8 ± 0.23	8.6 – 9.6	157			216
	12D	40	12.4 ± 0.29	11.8 – 12.4	154			194
	16D	33	16.4 ± 0.14	16.1 – 16.7	153			186

* Embryos in 4D, 9D, 12D, and 16D groups were reared using static water from fertilization to hatching. After 50% hatching, all the groups were transferred to running spring water until analysis.

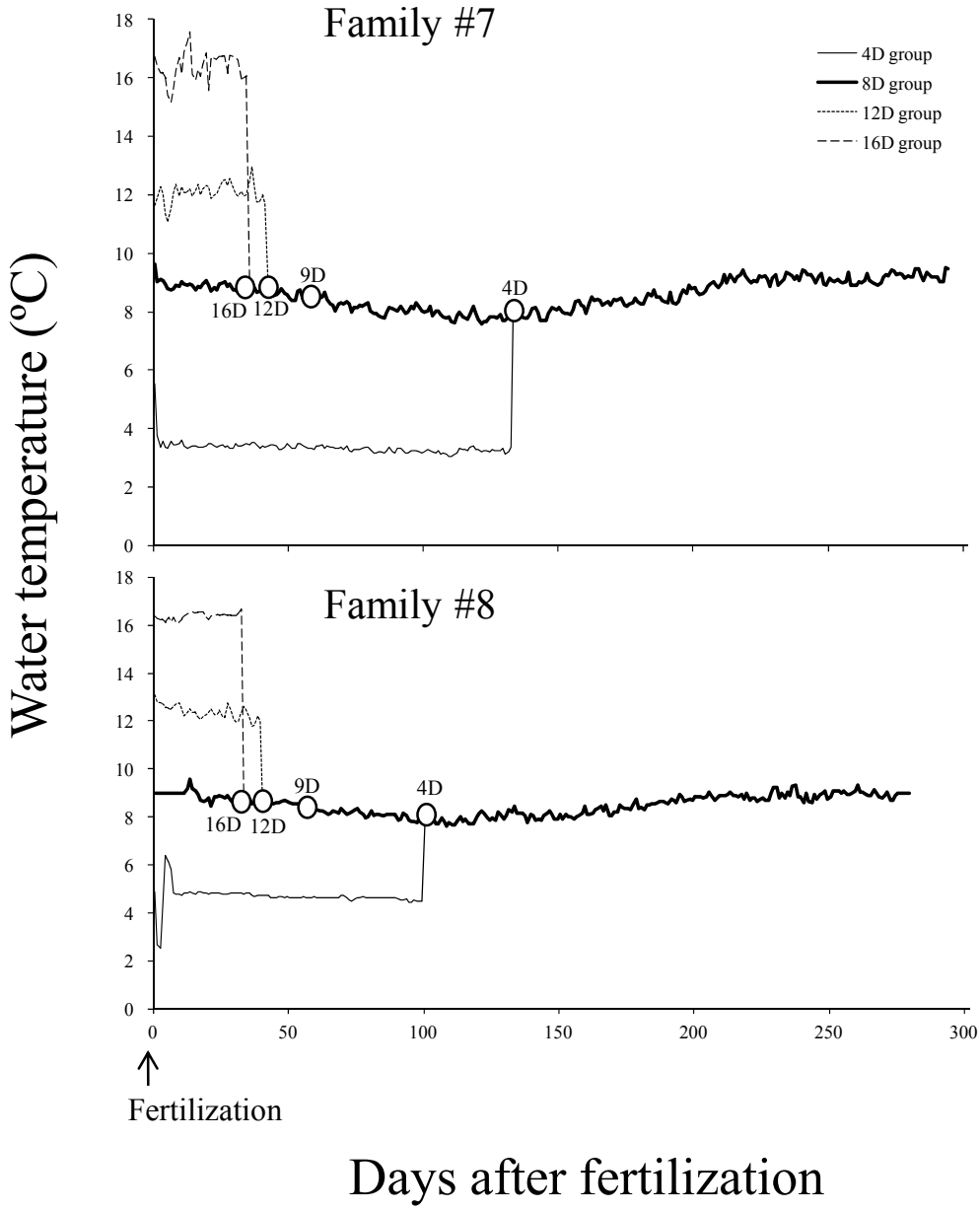


Fig. 9 Rearing process for two chum salmon families (upper is families #7 and lower is family #8) in the Izari River under four different incubation water temperatures. The 4D, 9D, 12D, and 16D groups were subjected to thermal treatments at 3.3, 8.8, 12.1, and 16.4 °C in family #7 and at 4.7, 8.8, 12.4, and 16.4 °C in family #8, respectively, from fertilization to 50% hatching. Circles indicate the hatching time in each group. Water temperature from fertilization to the 12th day in 9D group in family #8 was assumed to be 9 °C because water temperature was not recoeded.

生残率は水温処理期間中のみ比較した。最初に収容した卵数と孵化した仔魚との数の差から，死亡した個体と生残した個体数を求め生残率を計算した。孵化した仔魚のうち 100 尾を上限としてランダムに抽出し，60ℓ水槽を用いて流水中で飼育を継続し，浮上後は給餌しながら飼育を行った。試験終了後，生残した個体のうち 60 尾を各水温区から無作為に抽出し，脊椎骨数の解析に供した。

試験 4－集団としてのサケの脊椎骨数における飼育水温の影響（千歳川）

千歳川で採卵された増殖用の授精卵を用いて，脊椎骨数の飼育水温に対する変異を調べた。反応規格は或る一つの遺伝子型が種々の環境条件の下に生じ得る表現型の全部を意味しているため，複数の親魚に由来する集団の表現型は反応規格の定義には当てはまらない。そのため，以後，複数の親魚に由来する集団を用いる場合は，単に水温に対する変異という表記を用いる。2009 年 10 月 7 日に雌約 1,300 尾，雄約 440 尾から採卵，媒精された授精卵 3,501 千粒のうち，ランダムに 1,000 粒をサンプリングし，北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場へ輸送した。輸送後，直ちに 4 つのバスケットに 66 粒ずつを収容した。各家系から得られた授精卵を異なる水温に調整した水槽へ入れ，50 %が孵化（積算水温 457～513℃日）するまでエアレーションをしながら止水で飼育した。水温は約 4℃，9℃，12℃及び 16℃に設定し，以後，これら飼育群を前述の試験同様にそれぞれ 4D，9D，12D，16D と呼ぶことにする。飼育水温は自記記録計を用いて 1 時間毎に測定し，1 日の平均値を解析データとして用いた。処理中の水温の平均値±標準偏差は 4D 飼育群で 3.7±0.22℃，9D 飼育群で 8.5±0.22℃，12D 飼育群で 11.9±0.32℃，16D 飼育群で 16.0±0.10℃であった（Table 5）。50 %以上が孵化した時点で，流水飼育へと切り替え，水温 7.7～10.6℃の範囲の水温で解析まで飼育を継続した（Fig. 10）。異なる水温下での飼育は，33～123 日間継続し，浮上後は給餌飼育を行いながら飼育を行った。授精から解析までの飼育日数は，飼育水温により変動し 191～287 日間であった（Table 5）。

孵化した仔魚の全数を 60ℓ水槽を用いて流水中で飼育を継続し，浮上後は給餌しながら飼

Table 5 Rearing procedures and water temperatures in each thermal treatment group in the Chitose River in 2009.

Group	Thermal treatment*			Post-treatment			Number of rearing days from fertilization to analysis
	Number of rearing days	Water temperature (°C)		Number of rearing days	Water temperature (°C)		
		Mean ± SD	Range		Mean	Range	
4D	123	3.7 ± 0.22	3.4 – 4.4	164	8.7	7.7 – 10.6	287
9D	59	8.5 ± 0.22	8.0 – 8.9	161			220
12D	42	11.9 ± 0.32	11.4 – 13.3	161			203
16D	33	16.0 ± 0.10	15.9 – 16.4	158			191

* Embryos in 4D, 9D, 12D, and 16D groups were reared using static water from fertilization to hatching. After 50% hatching, all the groups were transferred to running spring water until analysis.

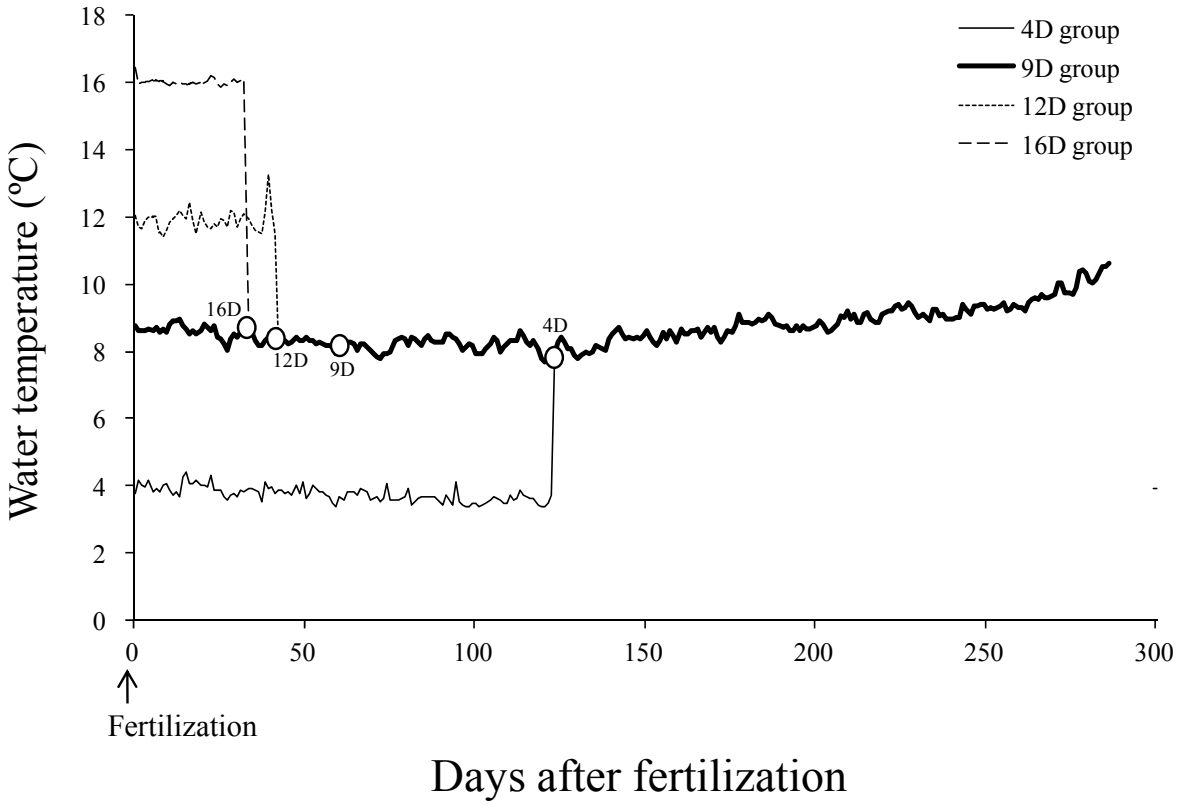


Fig. 10 Rearing process for chum salmon population in the Chitose River in 2009 under four different incubation water temperatures. The 4D, 9D, 12D, and 16D groups were subjected to thermal treatments at 3.7, 8.5, 11.9, and 16.0 °C, respectively, from fertilization to 50% hatching. Circles indicate the hatching time in each group.

育を行った。試験終了後，生残した個体全てを取り上げ脊椎骨数の解析に供した。生残率は取り上げ時にのみ比較した。最初に収容した卵数（66 粒）と試験終了後に取り上げた稚魚の数の差から，死亡した個体数を推定し，生残率を計算した。

生残率と脊椎骨数の解析

飼育群のうち 9D 飼育群は，いずれの試験でも対照区に設定した。試験 1 で 2009 年に作出した漁川の家系では水温処理中の死亡率と処理後の死亡率を分けて計算したが，試験 2 と試験 3 では，水温処理中のみの死亡率を算出した。また，試験 4 の千歳川の集団を用いた比較では，取り上げ時の生残率のみを比較した。生残個体数及び死亡個体数を用いて各家系毎に χ^2 検定で対照区と他の飼育群を比較し, 取り上げ時及び水温処理中の生残尾数に違いがあるかを検定した。有意水準は 5 %とした。

脊椎骨数の計数は久保・小林（1953）に従った。試験 1 及び試験 2 では漁川及び千歳川のサケの脊椎骨数に及ぼす家系及び飼育水温の影響を 2 元配置分散分析法で河川毎に検定した。試験 1 において設定した河川群の処理中の平均飼育水温は 12.0℃であり, 12D 飼育群（11.9℃, Table 2）とほぼ同じ水温を経験していた。そこで，漁川の飼育群については河川群と 12D 飼育群についても 2 元配置分散分析法を用いて家系と飼育方法の影響について解析した。試験 3 で得られた家系#7 と家系#8 の 2 群についても用いた家系及び飼育水温の影響を 2 元配置分散分析法で検定した。試験 4 では集団の脊椎骨数の変異に及ぼす飼育水温の影響を 1 元配置分散分析法で検定した。いずれの検定でも有意水準は 5%とした。

結果

試験 1ー漁川のサケにおける生残率及び脊椎骨数の変異

漁川のサケにおける 4D, 9D, 12D 及び 16D 飼育群の授精から取り上げまでの生残率は 78.8～96.1 %であった（Fig. 11）。水温処理中の斃死率は 1.0～11.0 %であり，処理後は 0.5～15.3 %

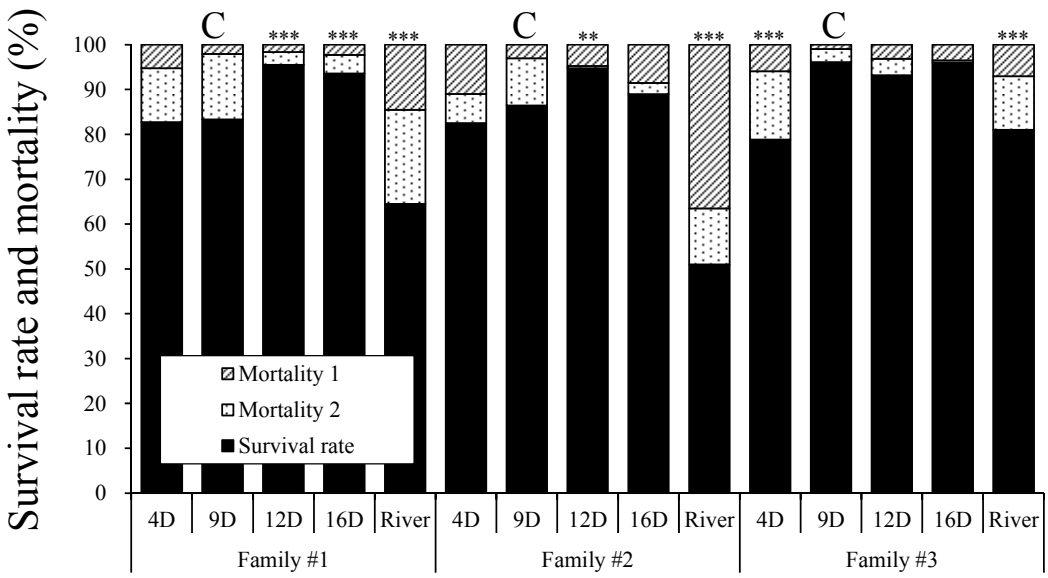


Fig. 11 Survival rate and mortality in three chum salmon families (families #1, #2, and #3). Mortality 1 indicates the rate during thermal treatment and mortality 2 indicates the rate after thermal treatment. The 4D, 9D, 12D, and 16D groups were subjected to thermal treatments at 3.9, 8.7, 11.9, and 16.3 °C, respectively, from fertilization to 50% hatching. River groups were incubated under natural conditions from fertilization to just before hatching, and the mean water temperature was 12.0 °C. C indicates the control group (9D), and asterisks on the bars indicate significant differences from 9D within a family ($P < 0.01^{**}$, and $P < 0.001^{***}$).

の斃死率が見られたが，家系により違いが見られた。取り上げ時の家系#1 及び家系#2 における 12D 飼育群の斃死率は対照区の 9D 飼育群より低く，また家系#1 における 16D 飼育群の斃死率も対照区より低かった。逆に家系#3 における 4D 飼育群の斃死率は対照区より高かった。一方，河川群の生残率は 3 家系とも対照区より有意に低く，対照区の生残率が 83.3～96.1 %なのに対し，河川群は 51.0～81.0 %の生残率であった。また，河川群の処理中（河川水での飼育中）の斃死率は 7.0～36.5 %であり，他の飼育群の処理中の斃死率（1.0～11.0 %）よりも総じて高い傾向を示した。

稚魚の脊椎骨数は 63～70 の範囲で変異していた。平均値±標準偏差は家系#1 の 9D 飼育群における 66.1±0.72 が最も低く，家系#3 の 4D 飼育群における 68.7±0.86 が最も高値を示し，家系及び飼育水温により変異が見られた（Fig. 12）。2 元配置分散分析の結果では，脊椎骨数の変異には家系（$df = 2, F = 218.3, P < 0.001$）及び飼育水温（$df = 3, F = 58.0, P < 0.001$）の影響が認められたが，両要因の交互作用も検出された（$df = 6, F = 10.9, P < 0.001$）。家系#3 の平均脊椎骨数は家系#1 及び家系#2 の平均値より，いずれの飼育水温においても高い値を示した。しかし，脊椎骨数の飼育水温に対する反応規格は 3 家系とも同じパターンを示し，9D 飼育群の平均脊椎骨数が最も低く，それより低水温（4D）もしくは高水温（12D 及び 16D）で飼育した群の方が脊椎骨数の平均値は高くなっていた。3 家系において，平均脊椎骨数は 12D 飼育群の方が対照区の 9D 飼育群より 0.46～0.70 多くなっており，16D 飼育群は対照区より 0.66～1.11 高くなっていた。また，4D 飼育群の平均脊椎骨数は対照区よりも 0.27～1.39 高い値を示した。

河川群の平均脊椎骨数は 66.4～67.8 の範囲を示した。12D 飼育群と河川群の脊椎骨数の比較では家系間に有意な差が検出されたが（$df = 2, F = 98.3, P < 0.001$），飼育水温の違いは検出されず（$df = 1, F = 2.4, P = 0.12$），また交互作用も検出されなかった（$df = 2, F = 1.0, P = 0.38$）（Fig. 13）。

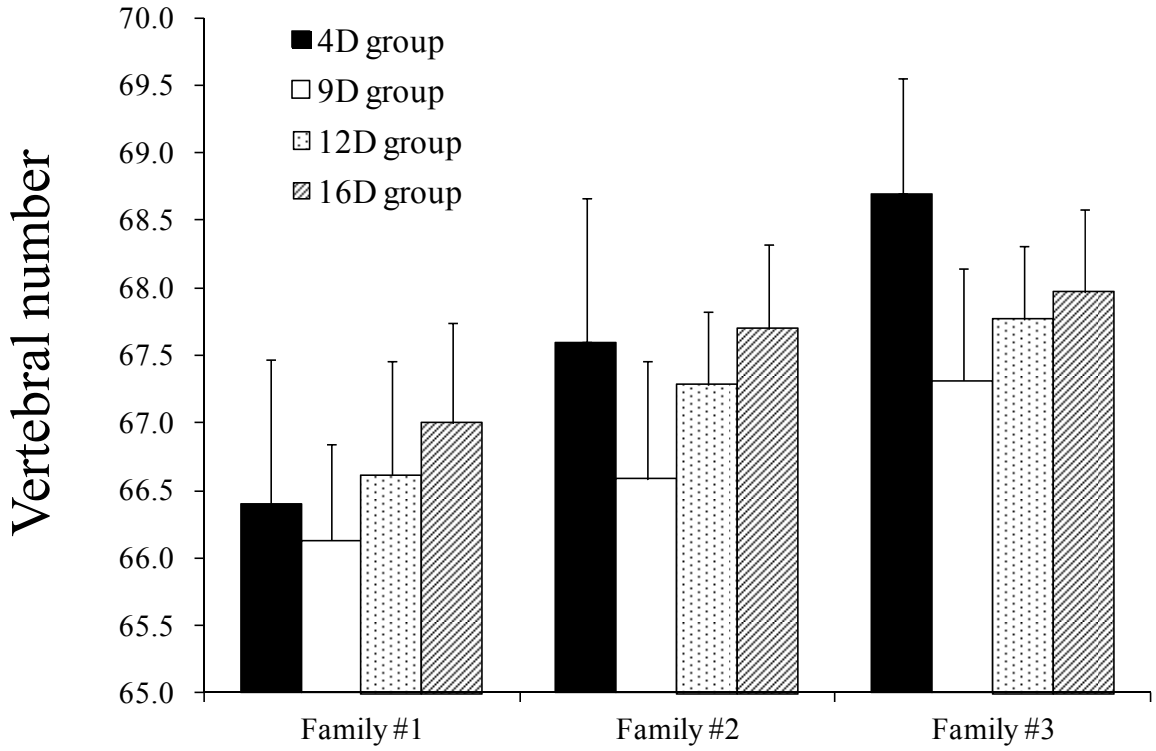


Fig. 12 Mean vertebral numbers in three chum salmon families in the Izari River in 2009 (families #1, #2, and #3) under different incubation water temperatures. Bars indicate the standard deviations.

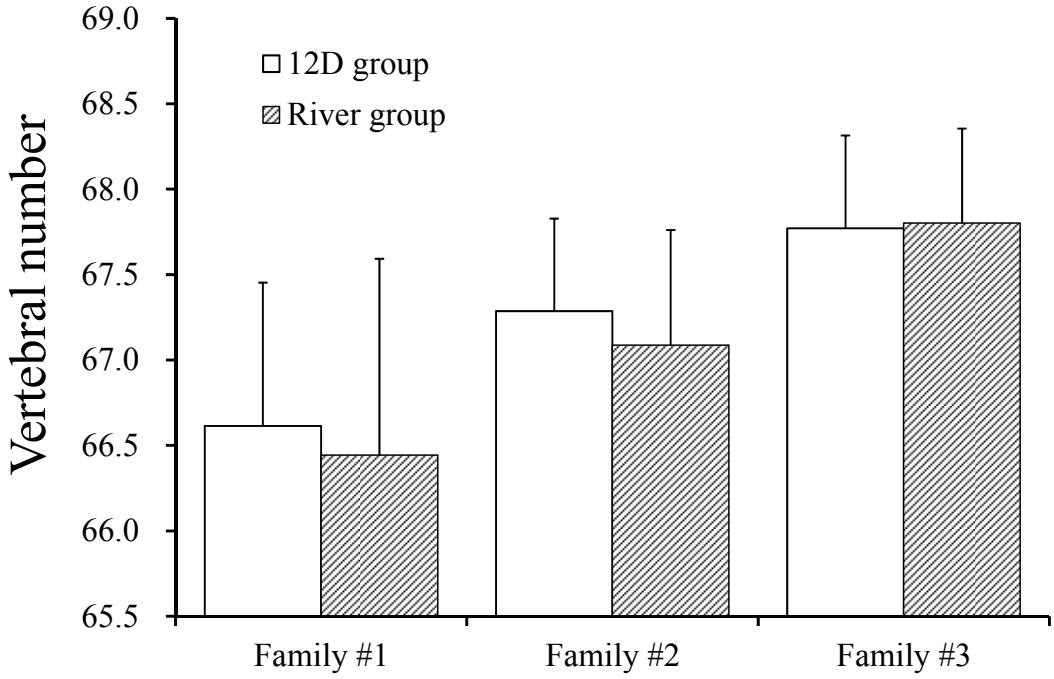


Fig. 13 Comparison of the mean vertebral numbers between two thermal treatment groups of three chum salmon families (families #1, #2, and #3). Bars indicate the standard deviations. The 12D groups were incubated from fertilization to 50 % hatching using controlled water temperature (11.9 °C) and the River groups were incubated under natural conditions until just before hatching (12.0 °C).

試験 2－千歳川のサケにおける生残率及び脊椎骨数の変異

千歳川のサケにおける 4D，9D，12D 及び 16D 飼育群の水温処理中の生残率は 56.0～95.3%であった。水温処理中の斃死率は 4.7～44.0 %であり，家系及び飼育水温により斃死率に違いが見られた（Fig. 14）。家系#4 では 9D 飼育群（対照区）と他の飼育群には斃死率に違いは見られなかったが，家系#5 及び家系#6 の 4D 飼育群の斃死率は対照区に比べ有意に高くなっていた。しかし，対照区より高水温で飼育された 12D 及び 16D 飼育群の斃死率は対照区と違いは見られなかった。

稚魚の脊椎骨数は 62～69 の範囲で変異していた。脊椎骨数の平均値±標準偏差は家系#5 の 9D 飼育群における 64.3±0.86 が最も低く，家系#6 の 16D 飼育群における 67.8±0.79 が最も高値を示し，家系及び飼育水温により変異が見られた（Fig. 15）。2 元配置分散分析の結果では，脊椎骨数の変異には家系（$df = 2, F = 451.9, P < 0.001$）及び飼育水温（$df = 3, F = 124.0, P < 0.001$）の影響が認められたが，両要因の交互作用も検出された（$df = 6, F = 17.7, P < 0.001$）。家系#5 の脊椎骨数の平均値は他の 2 家系より低く，同じ飼育水温で比較した場合，家系#4 及び家系#6 より低値を示した。脊椎骨数の飼育水温に対する反応規格は家系#4 及び家系#5 では漁川と同様，対照区の 9D 飼育群で脊椎骨数が最も少なくなり，対照区よりも低水温（4D）もしくは高水温（12D 及び 16D）で飼育した群の方が脊椎骨数の平均値が高くなる V 字型曲線を示した。しかし，家系#6 の反応規格は他の 2 家系及び試験 1 で得られた漁川の結果とは異なっていた。すなわち，12D 及び 16D の脊椎骨数が対照区よりも多くなるのは共通していたが，4D 飼育群の脊椎骨数の平均値±標準偏差は 66.0±0.87 であり，9D 飼育群の 66.4±0.57 よりも 0.40 少なくなっていた。3 家系において，平均脊椎骨数は 12D 飼育群が対照区の 9D 飼育群より 0.49～0.64 多くなっており，16D 飼育群は対照区より 0.67～0.99 高くなっていた。また，家系#4 及び家系#5 における 4D 飼育群の平均脊椎骨数は対照区よりもそれぞれ，0.41 及び 1.07 高い値を示した。

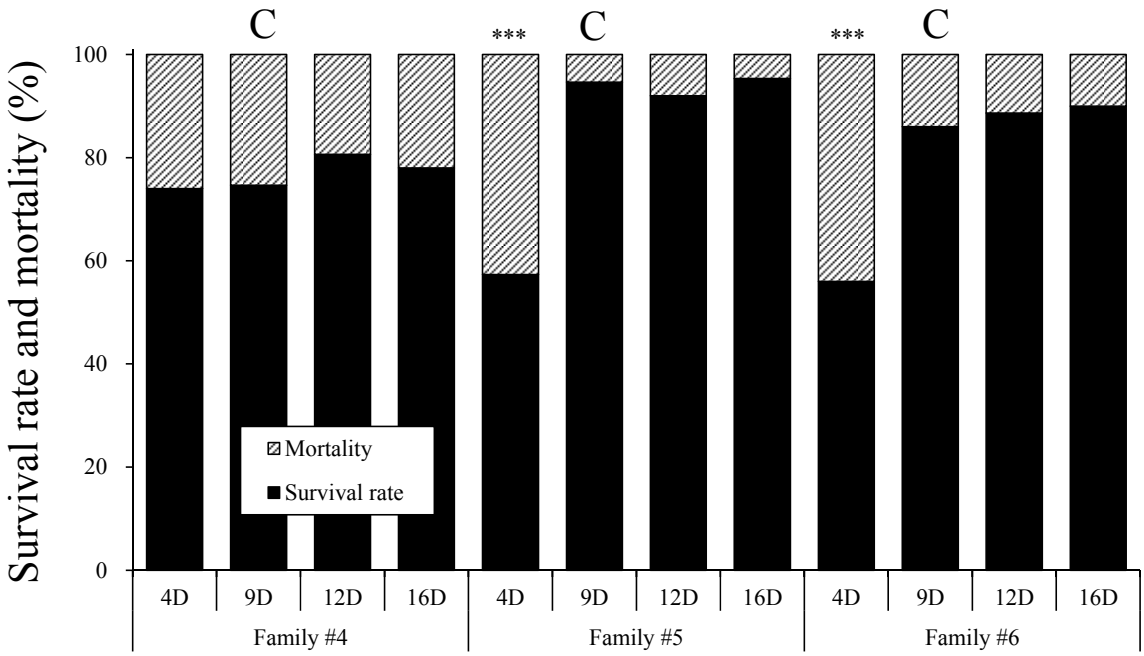


Fig. 14 Survival rate and mortality during thermal treatment in three chum salmon families in the Chitose River in 2012 (families #4, #5, and #6). The 4D, 9D, 12D, and 16D groups were subjected to thermal treatments at 4.6, 8.6, 12.2, and 16.5 °C, respectively, from fertilization to 50% hatching. C indicates the control group (9D), and asterisks on the bars indicate significant differences from 9D within a family ($P < 0.001^{***}$).

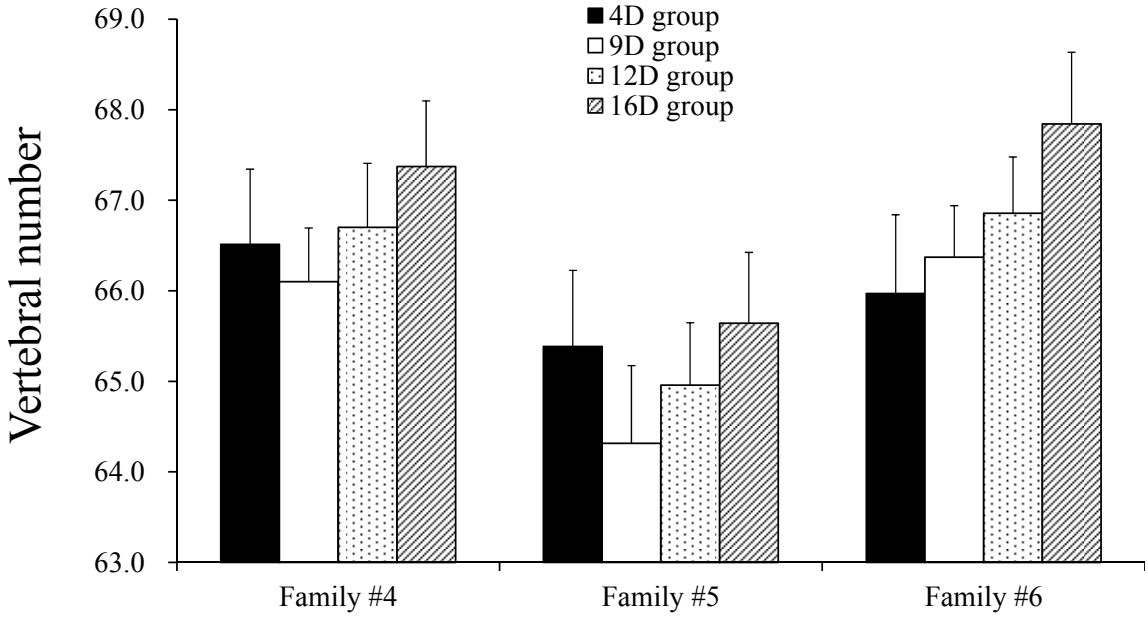


Fig. 15 Mean vertebral numbers in three chum salmon families in the Chitose River in 2012 (families #4, #5, and #6) under different incubation water temperatures. Bars indicate the standard deviations.

試験 3ー異なる採集年における脊椎骨数の反応規格

2011 年に採卵した家系#7 の 4D，9D，12D 及び 16D 飼育群の水温処理中の生残率は 77.5（4D 飼育群）～96.5 %（9D 飼育群）であった（Fig. 16, upper)。水温処理中の斃死率は対照区よりも 12D 飼育群で最も低く 3.5 %であったが, 対照区とは死亡率に差は見られなかった。一方，4D 飼育群の死亡率は 22.5 %，16D 飼育群の死亡率は 11.5 %であり対照区よりも高い死亡率を示した。2012 年に採卵した家系#8 の水温処理中の生残率は, 89.7（4D）～98.6 %（9D）であり，4D 飼育群のみ対照区よりも高い死亡率が見られたが，12D 及び 16D 飼育群では対照区と差は見られなかった（Fig. 16, lower)。

稚魚の脊椎骨数は 62～69 の範囲で変異していた。脊椎骨数（平均値±標準偏差）は，家系#7 では対照区の 9D 飼育群で最も低く 66.4±0.77 であり，4D 飼育群（66.7±1.12）及び 12D 飼育群（67.1±0.63）ではそれぞれ，0.32 及び 0.65 高い値を示した（Fig. 17)。16D 飼育群は対照区よりも 0.52 高い値を示したものの 12D 飼育群と比較すると，0.13 低い値を示した。家系#8 では対照区の脊椎骨数が 66.9±0.89 と最も低く，4D 飼育群（68.2±0.76)，12D 飼育群（67.5±0.62）及び 16D 飼育群（67.5±0.81）では対照区より 0.53～1.23 脊椎骨数が多くなっていた。12D 飼育群と 16D 飼育群の平均脊椎骨数は 67.5 であり，ほぼ同じ値であった。2 元配置分散分析の結果では，脊椎骨数の変異には家系（$df = 1, F = 94.6, P < 0.001$）及び飼育水温（$df = 3, F = 20.7, P < 0.001$）の影響が認められたが，両要因の交互作用も検出された（$df = 3, F = 10.5\ P < 0.001$)。

試験 4ー集団としてのサケの脊椎骨数における飼育水温の影響

2009 年に採卵された千歳川（集団）のサケは，取り上げ時に 34.8～87.9 %の生残率を示した。4D 飼育群の生残率は 34.8 %であり対照区の生残率 87.9 %と比べ有意に死亡率が高かった。他の 12D 及び 16D 飼育群では対照区と死亡率に違いは見られなかった（Fig. 18)。

取り上げ時の生残個体数は 4D 飼育群で 23 尾，9D 飼育群で 58 尾，12D 飼育群で 52 尾，16D 飼育群は 54 尾であり，計 187 尾を解析した。脊椎骨数は 63～69 の範囲を示し，平均値

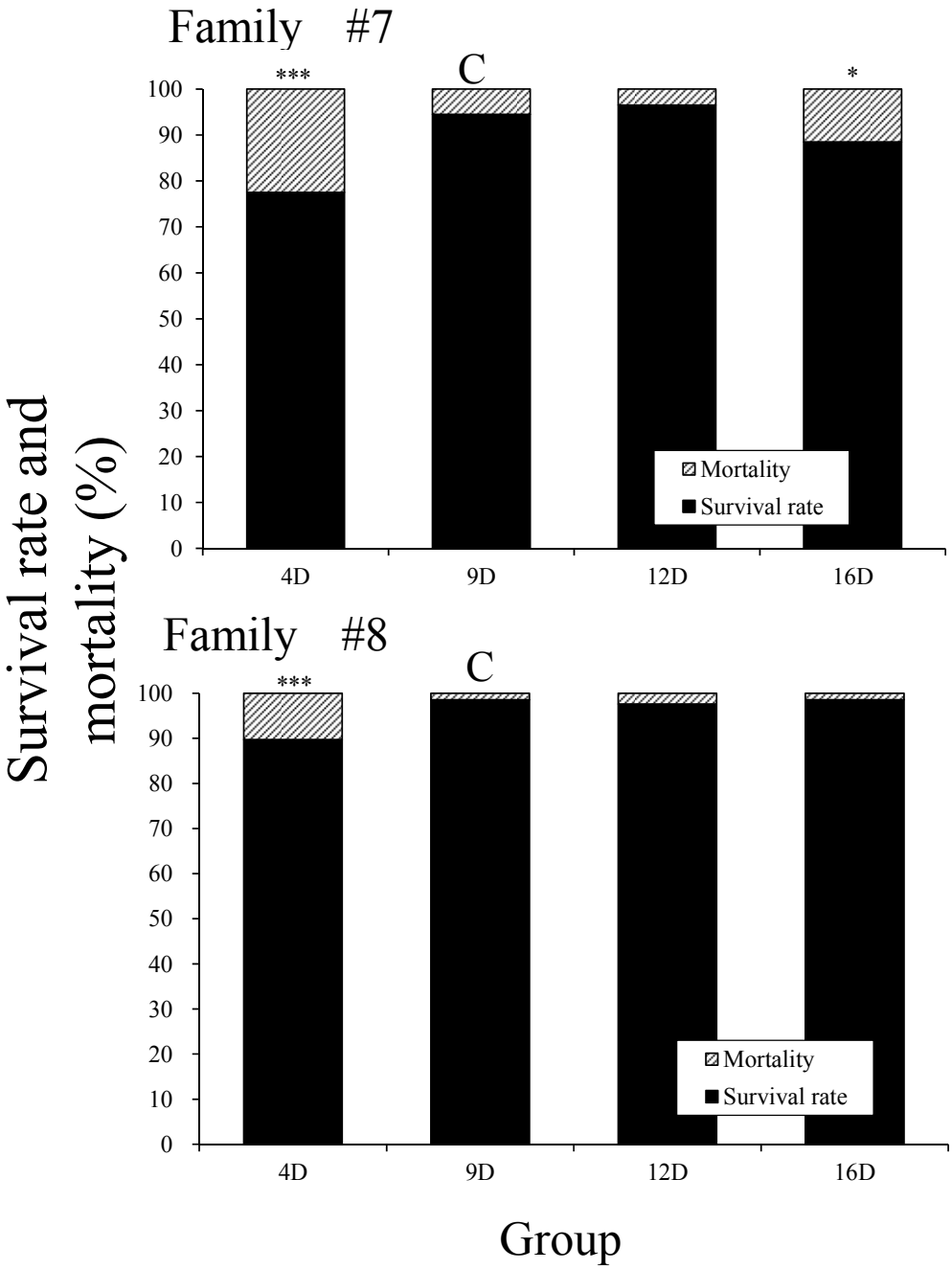


Fig. 16 Survival rate and mortality during thermal treatment in two chum salmon families in the Izari River in 2011 (family #7) and 2012 (family #8). The 4D, 9D, 12D, and 16D groups were subjected to thermal treatments at 3.3, 8.8, 12.1, and 16.4 °C in family #7 and at 4.7, 8.8, 12.4, and 16.4 °C in family #8, respectively, from fertilization to 50% hatching. C indicates the control group (9D), and asterisks on the bars indicate significant differences from 9D within a family ($P < 0.05^{*}$ and $P < 0.001^{***}$).

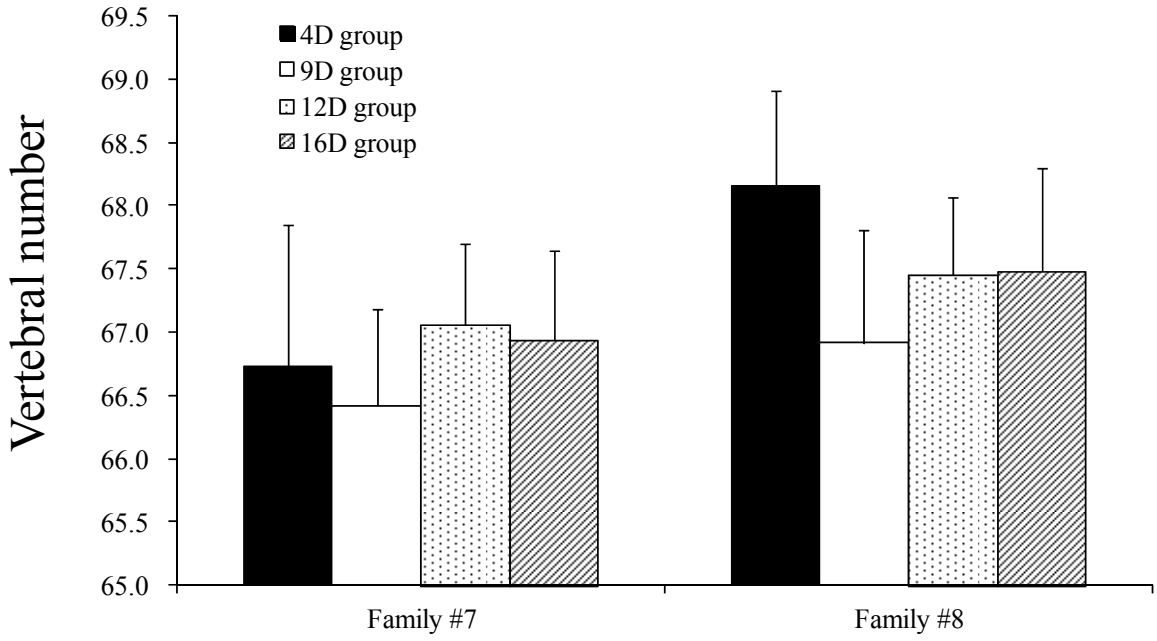


Fig. 17 Mean vertebral numbers in two chum salmon families in the Izari River in 2011 and 2012 (families #7 and #8) under different incubation water temperatures. Bars indicate the standard deviations.

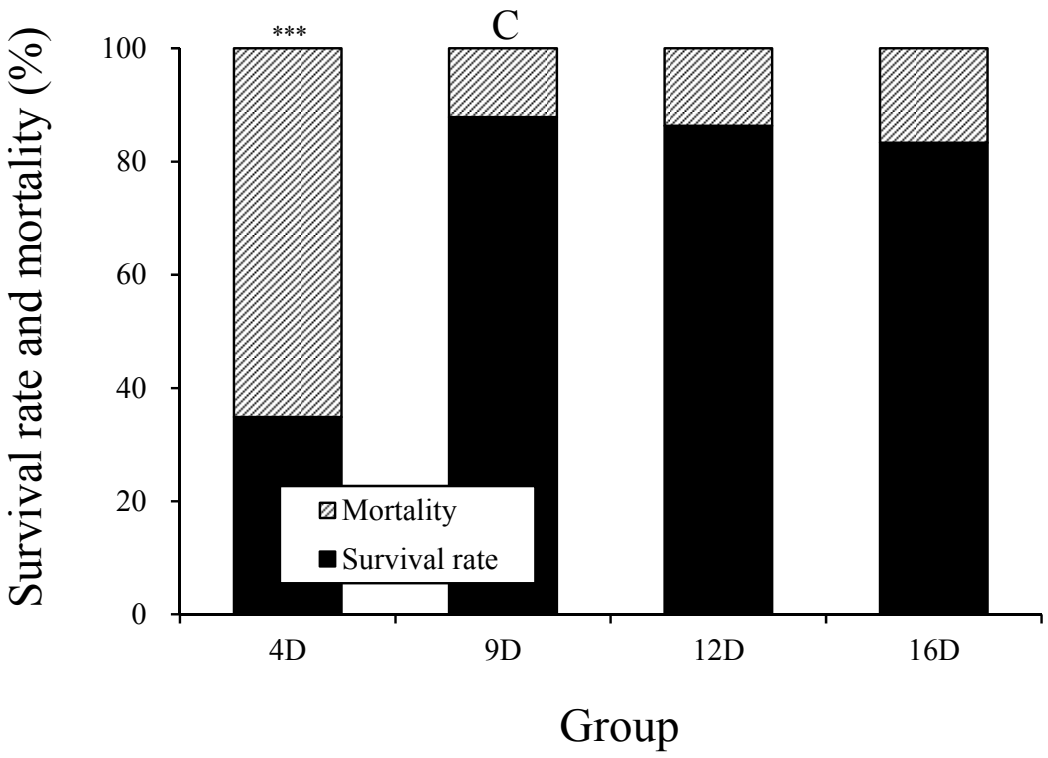


Fig. 18 Survival rate and mortality at the time of sampling in chum salmon population in the Chitose River in 2009. The 4D, 9D, 12D, and 16D groups were subjected to thermal treatments at 3.7, 8.5, 11.9, and 16.0 °C, respectively, from fertilization to 50% hatching. C indicates the control group (9D), and asterisks on the bars indicate significant differences from 9D ($P < 0.001^{***}$).

±標準偏差は 4D 飼育群で 66.8±1.37, 9D 飼育群で 66.0±0.91, 12D 飼育群で 66.2±0.77, 16D 飼育群で 66.6±1.19 であり，対照区の 9D 飼育群が最も低値を示す V 字型曲線を示した（Fig. 19）。また，1 元配置分散分析では，飼育水温により脊椎骨数に有意な差異が認められた（$df = 3, F = 5.7, P < 0.01$）。

試験 1～4 で得られたデータを用い，各家系の反応規格及び千歳川の集団の脊椎骨数の変異を比較したところ，千歳川の家系#6 以外は全て，9D 飼育群の平均脊椎骨数が最も低くなっていた（Fig. 20）。また，漁川の家系#7 では 16D 飼育群の脊椎骨数が 12D 飼育群より低く，V 字型曲線にはならなかったが，家系#1，#2，#3，#4，#5，#8 の 6 家系では 9D 飼育群の脊椎骨数が少なく，4D 及び 12D と 16D で平均値が高くなる V 字型曲線を示した。一方，千歳川の家系#6 は高水温ほど脊椎骨数が多くなる positive 型（Lindsey, 1988）の反応を示した。

考察

サケ属魚類における脊椎骨数は遺伝的支配を受けることが知られており（Leary *et al*., 1985; Nakajima *et al*., 1996; Ando *et al*., 2008a, 2008b），脊椎骨数は同一環境下であれば長期間にわたり一定の範囲内の値を示すことが示唆されている（Ando *et al*., 2010c）。本研究からサケ稚魚の脊椎骨数は孵化までの飼育水温により変異し，多くの家系において 9℃の飼育水温で最も低い平均値を示し，それより低水温及び高水温域で平均値が高くなる V 字型曲線の反応規格を示すことが明らかとなった。しかし，脊椎骨数は飼育水温だけでは決定されず，同一水温で飼育しても家系により脊椎骨数の平均値には違いが見られた。試験 1 で用いた漁川の 3 家系（#1, #2, #3）と試験 2 で用いた千歳川の 3 家系（#4, #5, #6）では交互作用が検出されたが，飼育水温及び家系の影響も有意に検出された。また，試験 3 で用いた 2 家系（#7, #8）も同様の結果を示した。交互作用が見られたため，飼育水温及び家系の影響を単純に評価することはできないが，同一水温でも家系間で脊椎骨数が異なることは，脊椎骨数の決定には遺伝的要因が関与していることを示唆している。メダカ *Oryzias latipes* の脊椎骨数も同一水温下で

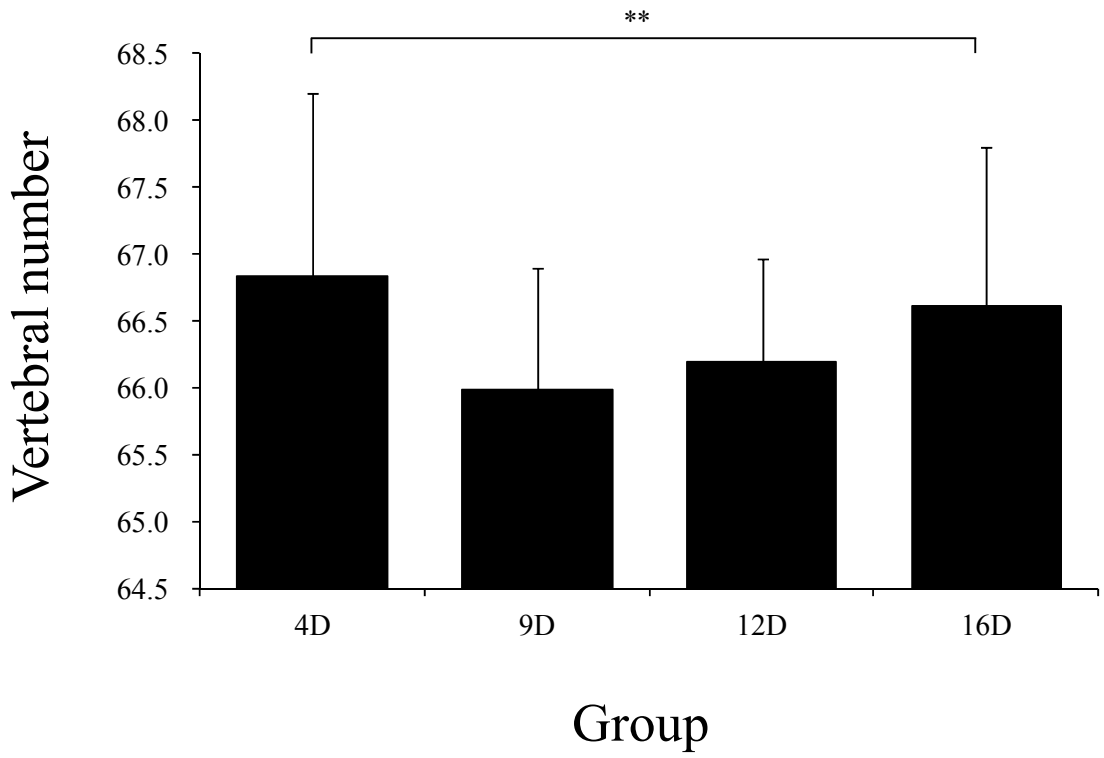


Fig. 19 Mean vertebral numbers in chum salmon population in the Chitose River in 2009 under different incubation water temperatures. Bars indicate the standard deviations. Significant difference in mean vertebral numbers was detected among groups ($P < 0.01^{**}$).

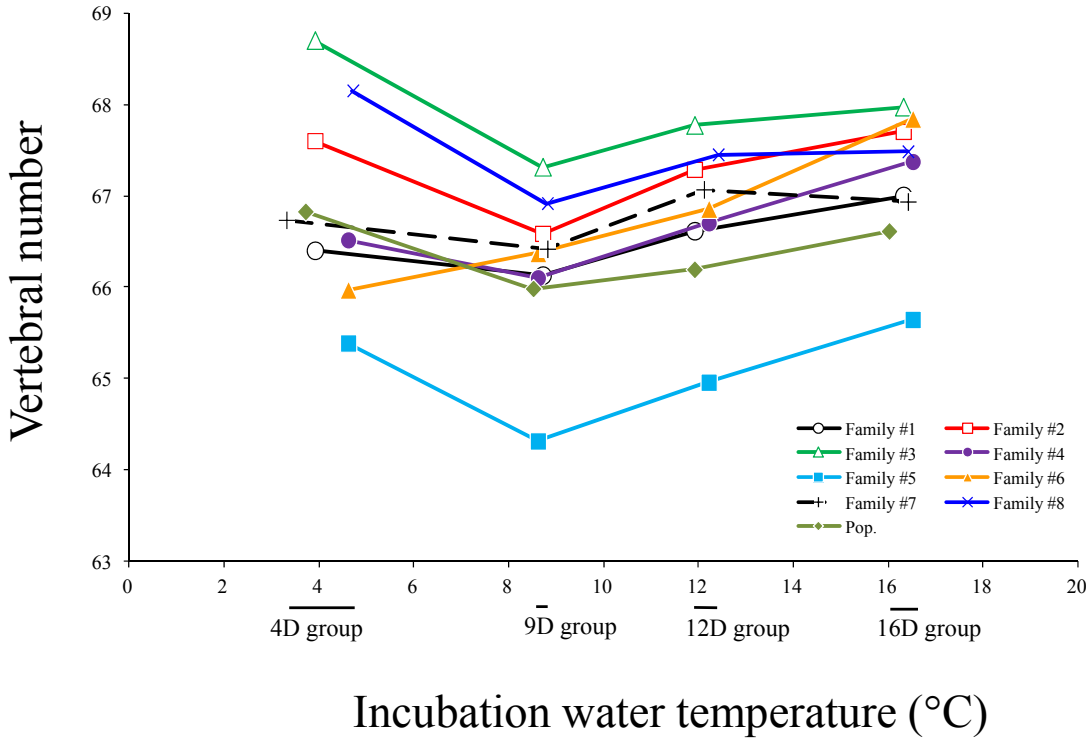


Fig. 20 Mean vertebral numbers in chum salmon fry in the Izari and Chitose rivers under different incubation water temperatures, from fertilization to 50 % hatching. Families #1, #2, #3, #7, and #8 belong to the Izari River, and families #4, #5, and #6 belong to the Chitose River. "Pop." indicates population originated using many chum salmon adults for stock enhancement programs in the Chitose River.

の飼育において，家系間で平均値が異なることが観察されている（Ali and Lindsey, 1974）。また，サクラマスの脊椎骨数の表現型は同一環境下での飼育であれば，両親の中間値に影響されることも知られている（Ando *et al*., 2008a, 2008b）。そのため，漁川及び千歳川のサケの脊椎骨数は特定の水温下では，用いた家系（遺伝的要因）によって決定され，次に飼育水温という環境要因により左右されると考えられた。

サケの飼育水温に対する脊椎骨数の変異は北米のサケでも調べられている（Beacham and Murray, 1986a; Beacham, 1990）。Beacham and Murray (1986a)は前期遡上群（10 月）と後期遡上群（12 月）のサケを用いて，4℃，8℃，12℃でサケの授精卵を飼育し，脊椎骨数の変異を調べた。その結果，遡上群間の脊椎骨数の変異よりも飼育水温による影響の方が大きく，4℃で飼育した群の脊椎骨数が最も多く，12℃で飼育したサケの平均脊椎骨数が 8℃で飼育したサケの平均脊椎骨数より低くなる negative 型（Lindsey, 1988）の変異を示すことがことが報告されている。この傾向は本研究で得られた結果とは異なっており，漁川及び千歳川のサケでは全ての家系で，12℃飼育群の方が 9℃飼育群よりも脊椎骨数の平均値が高くなっていた。また, 低水温で発生させたサケの脊椎骨数が多くなることが過去の研究でも確認されている（久保，1950）。この傾向は Beacham and Murray (1986a)の実験でも確認されている。しかし，本研究では千歳川の家系#6 のように 4℃から 16℃にかけて，脊椎骨数の平均値が高水温域ほど高くなっていく positive 型（Lindsey, 1988）の反応も見られ，Beacham and Murray (1986a)の示した反応とは逆の反応を示す家系も見られた。これらのことは，反応規格は家系により異なり，また，8～9℃よりも高水温域における脊椎骨数の反応規格が北米と北海道の集団により異なることを示唆している。ただし, 千歳川における増殖事業用の授精卵を用いた試験でも，脊椎骨数の変異は 9℃を底値とした V 字型曲線を描いたことから（Fig 19），多くの家系では共通した V 字型曲線の反応を示しているものと考えられた。

試験 1 では漁川の 12D 飼育群と河川群には脊椎骨数に有意な違いは見られなかった（Fig. 13）。河川群の飼育水温には変動があるものの，飼育水温の平均値は河川群で 12.0℃，12D 飼育群で 11.9℃とほぼ同じであった。この現象は 2 つの要因が考えられる。一つは飼育水温が

一定でなくても脊椎骨数は孵化までの平均飼育水温により決定されている可能性である。計数形質は授精から形質の最終決定時期まで，連続的に環境要因により左右され続けることが示唆されている（Lindsey, 1988; Swain *et al*., 2005）。もう一つは，12D 飼育群と河川群の脊椎骨数の決定時期における水温が，両群で偶然，同じであった可能性である。脊椎骨数の決定には感受期（sensitive period）と呼ばれる時期が存在し，初期発生時の比較的短期間に決定されることが報告されている（Tåning, 1952）。河川群の飼育水温（漁川の河川水温）は授精から 23 日目（2009 年 10 月 4 日）までは 12D 飼育群より高く，その後は 12D 飼育群の飼育水温より低下した（Fig. 7）。この時期の河川群の積算水温は 300℃日近くであり，仮に，サケの脊椎骨数に感受期が存在するのなら，発眼時期の発育段階に相当する積算水温 300℃日前後に存在している可能性が考えられる。

試験 1 では一定水温下の飼育群では高い斃死率は見られず，比較的高い生残率（78.8 %以上）を示した。しかし，家系#3 における 4D 飼育群の生残率は対照区に比べ有意に低くなっていた。一般にサケの授精卵は 2～12℃の水温下で飼育を行った場合，8℃で最も高い生残率を示すとされているが，授精卵の生残率は同じ系群でも家系間で顕著に異なることも知られている（Beacham and Murray, 1985; 1986b; 1987）。試験 1 では 12D 及び 16D 飼育群の生残率は対照区とほどんど変わらないか，むしろ高い値を示した。この 3 家系（#1, #2, #3）の反応規格は同じ V 字型曲線を示したことから，特定の脊椎骨数に選択的な死亡が働いたとは考えにくい。しかし，河川群は 3 家系とも対照区より高い死亡率を示した。特に水温処理中（河川内での飼育中）の死亡率が 7.0～36.5 %と高かった。1 時間ごとに記録した漁川の水温は 8.2～16.3℃であったものの，高水温は一時的であり，12D 飼育群や 16D 飼育群の死亡率が対照区より高くならなかったことを考えると，水温が直接の死亡要因になったとは考えにくい。河川からバスケットを回収した際，ヨコエビ類など多くの水棲昆虫が卵に付着しているのが確認された。また，降雨により河川水が濁ったことも何度かあり，細かい沈殿物がバスケットに堆積していた。これらの要因により自然界での授精卵の生残率は実験室より低いのかもしれない。

他の試験群では 4D 飼育群の生残率が対照区よりも低くなる家系が多く，千歳川の集団を用いた試験 4 では生残率が 34.8 %と特に低くなっていた。試験 1 でも家系#3 で 4D 飼育群の生残率が低かったことから，4℃前後の低水温で長期間の飼育を行うことは，サケにとって発生に不適な条件とも考えられる。逆に高水温の 16D 飼育群では対照区よりも生残率が低かったのは家系#7 のみであり，16℃の高水温でもサケの生残率は大きく低下しないことが明らかとなった。ただし，本試験で用いたサケは 9 月中旬～10 月上旬に捕獲された，いわゆる前期遡上群であるため, 高水温に耐性があり低水温に弱い特性を持っていた可能性も考えられた。

椎骨の発達は魚類の胚体における体節出現の次に起こり，通常，脊椎骨数は孵化前には決定される（Lindsey, 1988）。サケの脊椎骨数における V 字型曲線の反応規格は他のサケでも起こることが知られている（Lindsey, 1988）。マスノスケでも約 4～16℃の水温を用いて飼育実験を行ったところ，脊椎骨数の最低平均値と胚体の最大成長率は約 10℃の中間水温で得られたことが報告されている（Seymour, 1959; Barlow, 1961）。発生速度は計数形質の形成に密接に関連していると考えられてきた。一般に，発生速度が遅いと体節数が増加し，逆に発生速度が速いと体節数が減少する（Lindsey, 1988）。Barlow（1961）によれば，体節は成長と分化の関係を利用しながら環境に反応する特徴を持つと述べている。すなわち，低水温下で計数形質が増加する時，体節の分化は成長ほど環境に対して敏感には反応しない（低水温下では成長は鈍化するが椎骨の形成速度は減少せず，長期間にわたり椎骨が形成され，その多くが骨化すると考えられる。逆に，低水温下で体節数が減少する場合，体節の分化は成長よりもより敏感に環境に反応していることとなる）。サケの脊椎骨数が飼育水温に対して V 字型曲線の反応を示すのは，体節の分化速度と成長速度のバランスの変化により生じた結果と考えられ，9℃で脊椎骨数が最も少なくなることから，サケの胚体の成長は 9℃前後で最も早かった可能性が考えられる。したがって，9℃という水温はサケの胚体の成長を考えると飼育に最も適した水温であるとも考えられた。

サケの脊椎骨数は初期発生時の飼育水温により変化し，12℃の高水温で発生させたサケの脊椎骨数は千歳川及び漁川のいずれの家系でも 9℃で飼育したサケよりも増加していた。北

海道における孵化場でのサケの授精卵管理には 8～9℃前後の湧水が用いられる場合が多い。それに対して自然産卵するサケは多様な水温のもと，発生していることが予想される（卜部ら，2013）。従って，脊椎骨数の変異を利用することで，同一の河川内における遺伝的に差異のない集団であっても，孵化場由来のサケと自然産卵由来のサケを判別できる可能性も考えられ，脊椎骨数はサケの集団評価に有用な形質の一つであると考えられた。

第 4 章　脊椎骨数の変異に及ぼす遡上時期の影響

北海道におけるサケの増殖事業は長い歴史を有しており, その中で石狩川支流の千歳川は, 北海道で最も早く本格的な増殖事業が始まった河川として知られている（小林, 2009）。1888～1929 年には 12 月～翌 1 月に遡上するサケを対象に増殖事業が行われていたが（佐野, 1982）, 現在の千歳川におけるサケ親魚の捕獲時期は 8 月中旬～12 月上旬と 1900 年前後の捕獲時期に比べて変わっているものの，北海道におけるサケの増殖河川の中では最も長期間にわたり親魚捕獲が行われている河川の一つとなっている（北海道さけ・ます増殖事業協会，2007）。千歳川におけるサケの遡上時期は長期に及ぶが，回帰する親魚の特徴は一様ではなく，遡上時期により成熟年齢や成熟体サイズが異なることが知られている（長谷川ら，2013）。また，サケは卵が授精した時期により，その稚魚が親になって回帰し，河川で成熟する時期がほぼ遺伝的に決まっていると考えられており（小林，1985; 高橋，2009; 高橋，2013），現在の増殖事業における親魚の捕獲や採卵は，事前に作成された計画に従い前期，中期，後期の 3 つの時期（期別）に分けて行われている（北海道さけ・ます増殖事業協会，2007）。

これまでにも同一河川内に遡上するサケの前期遡上群と後期遡上群には鰓耙数，鰭条数などの形態形質，年齢，体長といった生態学的形質および遺伝的な形質に差異があることが報告されており（川上，1934；Beacham, 1984; Yokotani *et al*., 2009），形質の変異はサケの集団を評価する際の一指標となっている。期別における形質の変異は，増殖事業が長期間行われている河川でも見られる可能性があり，その変異を把握することは遡上してくる集団間の生物学的な違いを検討する上でも有用であると考えられる。

サケの脊椎骨数は古くから調べられている形質の一つであり，河川により特有の値を有し，同一環境下であれば長期間にわたり安定した値を示す（Ando *et al*., 2010c）。また，千歳川のサケの脊椎骨数を 1950 年代と 2000 年代で比較した試験では，差異が認められたことが報告されているが，その差異は年代を経たことによる集団の変化ではなく，採卵時期の違いにより生じた可能性も示唆されている（Ando *et al*., 2010c）。このような変異は自然産卵している

サケでも見られる可能性があるが，自然環境下では採集年や採集時期による環境要因の変動が大きいことが考えられ，産卵時期（遡上時期）の違いによる脊椎骨数の変異を評価することは難しい。また，これら産卵時期の違いによる脊椎骨数の変異が，長期間増殖事業が行われている他河川でも見られる現象なのかは明らかにされておらず，稚魚の脊椎骨数が親の産卵時期の影響を受けて変異するのかも確認されていない。

これまでに，サケの脊椎骨数は孵化までの飼育水温により変異することが知られているが（Beacham and Murray, 1986a; Ando *et al*., 2011），一般に増殖事業が行われている河川ではサケの授精卵管理にほぼ一定水温（8℃前後）の湧水が使用されてきたため（久保，1956；戸叶，2008），初期発生時における環境変動は自然産卵魚に比べると少なく，増殖事業が行われている河川に遡上するサケの脊椎骨数の変異を把握することは，期別の集団間の遺伝的な違いを把握することにもつながる。同時に，自然再生産が行われている河川において，遡上した親魚と翌年発生した稚魚の脊椎骨数を時期別に調べ，環境変動の少ない条件で発生した河川のサケと比べることで，産卵時期の違いによる脊椎骨数の変異とその要因を明らかにできることが期待される。

本研究は，長期間にわたりサケの人工孵化放流が行われてきた河川と自然産卵が行われている河川に遡上するサケ親魚の脊椎骨数を時期別に比較し，また，稚魚の脊椎骨数を調査することで，産卵時期の違いによる親魚と稚魚の脊椎骨数の変異とその要因を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

調査場所

北海道の日本海側に注ぐ石狩川支流千歳川と千歳川支流である漁川，島松川（Shimamatsu River）及び長都川（Osatsu River），豊平川（Toyohira River）支流である厚別川（Atsubetsu River; Fig. 21），北海道東部のオホーツク海に注ぐ網走川（Abashiri River, Fig. 3）の 6 河川を調査対

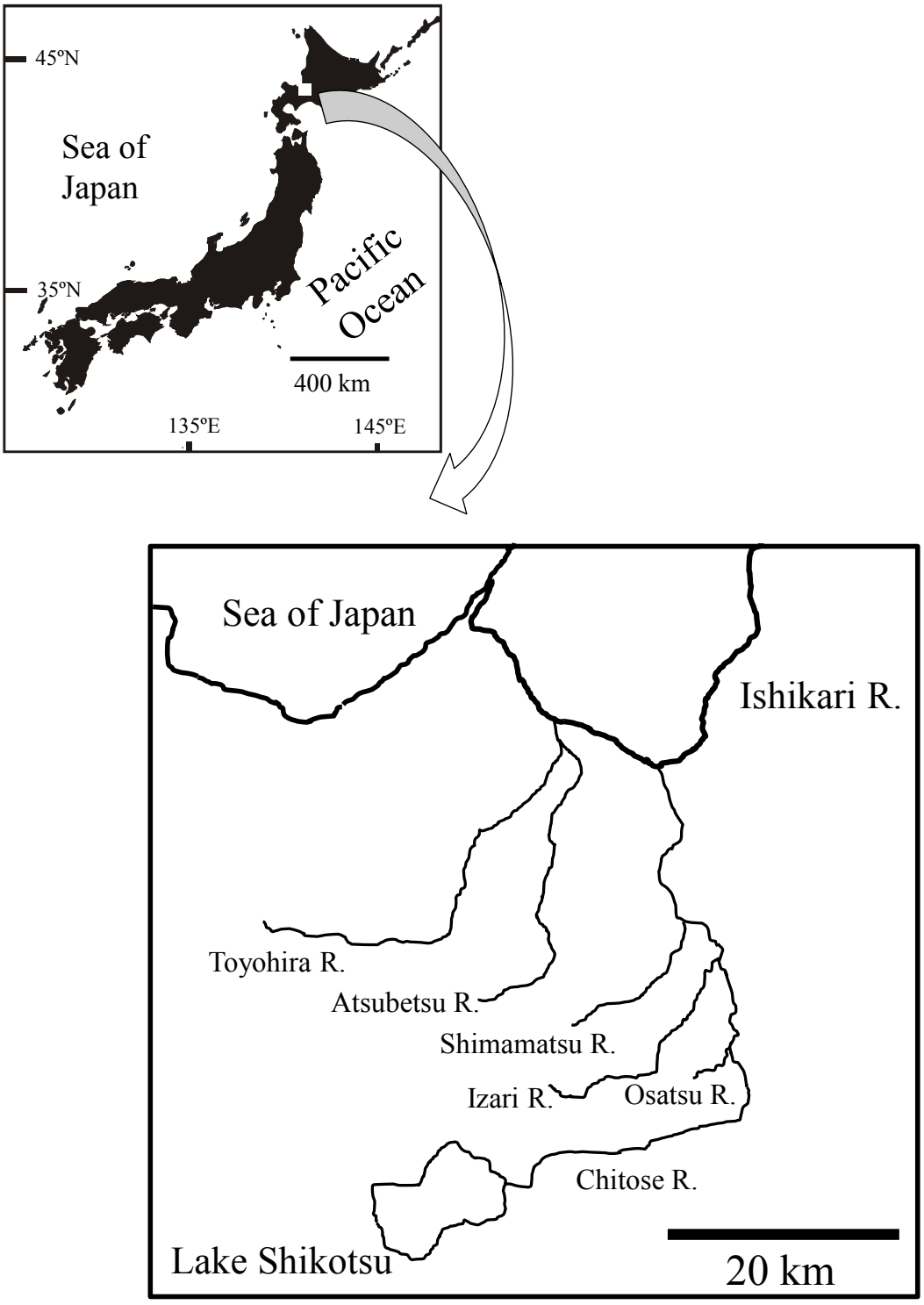


Fig. 21 Location of the Atsubetsu River, Izari River, Shimamatsu River, Osatsu River, and Chitose River in Hokkaido. The Atsubetsu River is a tributary of the Toyohira River and Izari, Shimamatsu, and Osatsu rivers are tributary of the Chitose River.

象とした。漁川，長都川，島松川では現在，サケの増殖事業は行われていないものの自然産卵するサケが見られる（宮腰ら，2011b，2012；Miyakoshi *et al*., 2012）。ただし，漁川では毎年 4 月に，子供達への教育を目的としたサケ稚魚体験放流がわずかに行われている。厚別川でもサケの増殖事業は行われていないが，自然産卵するサケが確認されている（http://www.sapporo-park.or.jp/sake/，札幌市豊平川さけ科学館，2014 年 11 月 1 日）。網走川は古くからオホーツク海区における重要な増殖河川であり，北見管内さけ・ます増殖事業協会により捕獲，採卵，稚魚の飼育が行われており，毎年約 3,000 万尾のサケ稚魚が放流されている。長都川，島松川，厚別川では親魚を対象に，網走川では稚魚を対象に，千歳川と漁川では親魚と稚魚の両方を対象に調査を行った。

サケ親魚の採集

千歳川では 2006 年，2007 年，2010 年，2011 年の 4 カ年にわたり，9～12 月に遡上したサケ親魚をサンプリングした。サンプリングは時期をずらしながら年 3 回行い，4 カ年で計 12 回行った（Table 6）。1 回のサンプリングでは 51～63 尾の親魚を採集し，4 カ年で計 703 尾を採集した。採集尾数は雌雄でほぼ同数であり，4 カ年の合計では雌 332 尾，雄 371 尾の内訳であった。漁川では 2010 年及び 2011 年の 2 カ年調査を行った。2010 年は 9 月 1 日～翌年 1 月 18 日にかけて中流域の約 8 km の区間のうち，サケの死骸が溜まりそうな場所を数か所，車で巡回し，死後時間があまり経過していないと思われる鮮度の良い死骸を回収し，産卵後の死骸を採集した日を産卵日と仮定した。サンプリングは期間中 72 回行ったが，このうち解析精度の観点から 5 尾以上の個体を回収できた 41 日を解析に用いた（Table 7）。期間中に回収したサケ親魚は 434 尾であり，雌 240 尾，雄 194 尾の内訳であった。また，調査開始時に水温計で河川水温を記録し，解析に使用した。2011 年は 8 月 29 日から 12 月 22 日にかけて 2010 年と同様の方法で産卵後の死骸を回収した。サンプリングは期間中，43 回行ったが，このうち解析精度の観点から 2010 年のサンプリングと同様に 5 尾以上の尾数を回収できた 35 日を解析に用いた（Table 8）。期間中に回収したサケ親魚は計 1145 尾であり，雌 528 尾，雄

Table 6 Number of individuals and distribution of vertebral number for chum salmon adults in the Chitose River for four years.

Sampling year	Sampling date	Number of individuals							
		Vertebral number*							Total
		63	64	65	66	67	68	69	
2006	Sep. 6	0	3	17	**21**	8	2	0	51
	Oct. 25	1	3	17	**21**	15	0	0	57
	Nov. 27	0	2	**27**	24	4	1	0	58
	Subtotal	1	8	61	**66**	27	3	0	166
2007	Sep. 28	0	5	14	**25**	12	3	0	59
	Oct. 27	0	2	16	**35**	10	0	0	63
	Nov. 19	0	6	23	**25**	6	1	0	61
	Subtotal	0	13	53	**85**	28	4	0	183
2010	Oct. 1	0	2	10	**28**	12	7	0	59
	Nov. 5	0	3	14	**33**	7	2	0	59
	Dec. 6	0	7	**23**	22	9	0	0	61
	Subtotal	0	12	47	**83**	28	9	0	179
2011	Sep. 14	0	4	9	**30**	8	5	1	57
	Oct. 11	0	4	14	**32**	9	1	0	60
	Nov. 28	0	3	18	**28**	7	2	0	58
	Subtotal	0	11	41	**90**	24	8	1	175
Total		1	44	202	**324**	107	24	1	703

*Bold characters indicate modes of the distribution of vertebral number

Table 7 Number of individuals and distribution of vertebral number for chum salmon adults in the Izari River in 2010-2011.

Sampling year	Sampling date	Water temperature (ºC)	Number of individuals								Total
			Vertebral number*								
			63	64	65	66	67	68	69	70	
2010	Sep. 13	15.6	0	0	3	5	**7**	4	1	0	20
	Sep. 14	15.7	0	0	1	1	**5**	1	0	0	8
	Sep. 15	15.9	0	0	0	1	**10**	0	1	0	12
	Sep. 16	15.6	0	1	0	**3**	1	2	0	0	7
	Sep. 17	15.7	0	0	3	6	4	6	0	0	19
	Sep. 21	14.7	0	0	1	6	**13**	0	0	1	21
	Sep. 24	12.7	0	0	1	1	**7**	2	0	0	11
	Sep. 27	12.5	0	1	0	2	**3**	1	0	0	7
	Oct. 7	11.9	0	0	**4**	1	0	2	1	0	8
	Oct. 8	11.7	0	0	0	3	**7**	4	0	0	14
	Oct. 9	11.6	0	0	0	2	**3**	1	0	0	6
	Oct. 12	12.3	0	0	1	0	**4**	0	0	0	5
	Oct. 15	11.1	1	0	0	2	**4**	0	0	0	7
	Oct. 18	10.0	0	0	2	4	4	1	0	0	11
	Oct. 21	9.7	0	0	0	**4**	0	1	0	0	5
	Oct. 22	9.2	0	1	2	**4**	0	0	0	0	7
	Oct. 25	9.6	0	1	2	**3**	0	0	0	0	6
	Oct. 28	8.0	1	1	**4**	1	0	1	0	0	8
	Oct. 31	7.1	0	0	**3**	1	2	1	0	0	7
	Nov. 1	6.9	0	0	3	3	1	1	0	0	8
	Nov. 2	7.1	0	3	4	**6**	2	1	0	0	16
	Nov. 4	6.9	1	0	0	2	**3**	0	0	0	6
	Nov. 5	7.1	0	0	2	3	3	0	0	0	8
	Nov. 11	6.5	0	1	**4**	2	1	1	0	0	9
	Nov. 12	6.5	0	2	4	**10**	2	0	0	0	18
	Nov. 15	6.4	0	0	**4**	2	1	1	0	0	8
	Nov. 19	5.8	0	0	2	**4**	2	1	0	0	9
	Nov. 22	6.6	0	2	2	6	**8**	1	0	0	19
	Nov. 24	5.1	0	1	2	1	1	1	0	0	6
	Nov. 26	6.0	0	1	5	**12**	5	1	0	0	24
	Nov. 29	4.2	0	0	2	**6**	3	0	0	0	11
	Dec. 2	4.1	0	2	7	**8**	3	1	0	0	21
	Dec. 9	4.6	0	0	0	**4**	1	0	0	0	5
	Dec. 10	4.6	0	1	2	**9**	2	1	0	0	15
	Dec. 13	3.7	0	0	3	2	3	0	0	0	8
	Dec. 21	3.4	0	0	0	**3**	2	1	0	0	6
	Dec. 22	3.2	0	0	1	**3**	1	1	0	0	6
	Dec. 26	2.8	0	3	3	1	**4**	0	0	0	11
	Dec. 30	3.4	0	0	1	**2**	1	1	0	0	5
	Dec. 31	2.8	0	0	0	**3**	1	2	0	0	6
2011	Jan. 6	2.4	0	2	6	6	6	0	0	0	20
Total			3	23	84	**148**	130	42	3	1	434

*Bold characters indicate modes of the distribution of vertebral number

Table 8 Number of individuals and distribution of vertebral number for chum salmon adults in the Izari River in 2011.

Sampling year	Sampling date	Water temperature (°C)	Number of individuals								
			Vertebral number*								Total
			63	64	65	66	67	68	69	70	
2011	Sep. 15	14.4	0	0	0	3	**4**	3	0	0	10
	Sep. 16	15.7	0	0	2	2	**3**	0	0	0	7
	Sep. 18	14.8	0	0	2	6	**11**	3	2	0	24
	Sep. 21	12.7	0	0	2	5	**10**	1	0	0	18
	Sep. 23	12.8	0	0	1	7	**10**	2	1	0	21
	Sep. 24	12.5	0	0	2	5	**12**	1	2	0	22
	Sep. 26	13.0	0	0	1	6	**7**	4	1	0	19
	Sep. 27	13.0	0	4	11	18	**29**	14	0	2	78
	Sep. 29	13.3	0	1	0	**4**	2	3	0	0	10
	Oct. 3	10.9	0	0	4	22	**23**	12	0	0	61
	Oct. 4	10.6	0	0	5	**11**	4	1	0	0	21
	Oct. 5	10.7	0	0	1	4	**6**	3	1	0	15
	Oct. 6	10.5	0	1	0	**4**	1	0	0	0	6
	Oct. 12	10.2	0	0	0	**4**	2	1	0	0	7
	Oct. 13	10.2	0	1	7	**10**	9	1	1	0	29
	Oct. 14	10.2	0	0	4	9	9	1	1	0	24
	Oct. 20	9.4	0	1	11	**21**	15	3	0	0	51
	Oct. 24	10.6	0	0	2	3	**7**	0	0	0	12
	Oct. 25	10.6	0	0	1	**6**	2	2	0	0	11
	Oct. 28	9.1	1	0	8	**20**	14	2	0	0	45
	Oct. 31	9.1	0	0	4	**9**	7	2	0	0	22
	Nov. 1	8.7	0	2	4	**18**	14	1	1	0	40
	Nov. 2	8.8	0	1	7	**12**	3	1	0	0	24
	Nov. 4	8.2	0	0	5	6	**7**	0	0	0	18
	Nov. 7	8.4	0	4	7	**15**	11	0	0	0	37
	Nov. 11	7.2	0	1	5	**15**	13	2	0	0	36
	Nov. 14	7.0	0	1	6	**9**	5	1	0	0	22
	Nov. 15	6.6	0	4	10	**16**	10	4	1	0	45
	Nov. 21	4.9	0	3	17	**42**	27	9	1	0	99
	Nov. 22	4.9	0	1	5	**8**	0	0	0	0	14
	Dec. 1	3.9	0	3	18	**40**	26	4	0	0	91
	Dec. 5	3.8	0	1	4	4	**5**	2	0	0	16
	Dec. 12	3.2	0	5	28	**41**	22	6	1	0	103
	Dec. 21	1.8	0	1	18	**22**	14	3	0	0	58
	Dec. 22	2.3	0	1	9	**12**	6	1	0	0	29
Total			1	36	211	**439**	350	93	13	2	1145

*Bold characters indicate modes of the distribution of vertebral number

617 尾の内訳であった。

厚別川，島松川，長都川では 2011 年 9 月 28 日～12 月 21 日にかけて約 1.5～1.8 km の区間を歩いて死骸を回収した。長都川では 7 回，島松川では 6 回，厚別川では 6 回の調査を行ったが，回収できた死骸は長都川で 21 尾，島松川で 19 尾，厚別川で 9 尾であった（Table 9）。また，2011 年は漁川，長都川，島松川，厚別川に自記記録計を設置し，9 月 1 日から 12 月中旬もしくは 12 月下旬まで 1 時間毎に河川の水温を記録し, 1 日の平均水温を解析に使用した。

採集した産卵後の死骸は北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場の実験室へ持ち込み，魚体を三枚におろし，脊椎を含む部分を熱湯で煮沸して肉を取り除き，脊椎だけを取り出して椎骨の数を肉眼で計数した。

千歳川と網走川におけるサケの採卵と同一条件下での飼育

千歳川に遡上したサケ親魚から 2006 年および 2010 年に月を変えて，年に 3 回ずつ授精卵のサンプリングを行った。サンプリングは 2006 年 9 月 6 日（9 月採卵群），10 月 25 日（10 月採卵群），11 月 27 日（11 月採卵群）及び 2010 年 10 月 1 日（10 月採卵群），11 月 5 日（11 月採卵群），12 月 6 日（12 月採卵群）に行い，増殖事業用に採卵された卵から約 1,000 粒ずつをサンプリングした。また，同様のサンプリングを網走川でも行った。網走川では 2010 年 9 月 30 日（9 月採卵群），11 月 1 日（11 月採卵群），12 月 3 日（12 月採卵群）の採卵時に授精卵 1,000 粒ずつをサンプリングした。授精卵は採卵された場所で約 1 時間の吸水後，直ちに北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場へ運ばれ湧水で飼育管理された。飼育水温は自記記録計を用いて授精から飼育終了まで 1 時間ごとに記録し，1 日の平均値を解析に用いた。ただし，2006 年の千歳川の採卵群は授精から浮上までの水温のみを記録し，解析に使用した。浮上後は 60ℓ水槽に 400 尾を収容し，適宜，飼育尾数を減らしながら給餌飼育を行った。脊椎骨数の計数を容易にするため，授精から 207～280 日間飼育した後，各群から 58～100 尾をランダムに取り上げた。その後，尾叉長を 1 mm 単位で測定し，脊椎を取り出してアリザリンレッド S を用いて染色し，顕微鏡下で椎骨を計数した。飼育期間中の水温

Table 9 Number of individuals and distribution of vertebral number for chum salmon adults in the Osatsu, Shimamatsu, and Atsubetsu rivers in 2011.

River	Sampling date	Sampling season	Number of individuals				
			Vertebral number				Total
			65	66	67	68	
Osatsu R.	Sep. 28	Early	0	0	1	0	1
	Oct. 4	Early	0	1	0	1	2
	Oct. 12	Early	0	2	1	0	3
	Oct. 25	Early	0	1	1	0	2
	Nov. 7	Late	5	3	0	0	8
	Nov. 15	Late	1	2	0	1	4
	Dec. 14	Late	1	0	0	0	1
	Total		7	9	3	2	21
Shimamatsu R.	Oct. 4	Early	0	0	2	0	2
	Oct. 27	Early	1	2	1	0	4
	Nov. 7	Late	2	0	0	0	2
	Nov. 15	Late	1	3	0	0	4
	Dec. 14	Late	1	3	0	0	4
	Dec. 21	Late	0	2	1	0	3
	Total		5	10	4	0	19
Atsubetsu R.	Sep. 6	Early	0	0	1	0	1
	Oct. 6	Early	0	0	1	2	3
	Oct. 14	Early	0	1	0	0	1
	Oct. 28	Early	1	0	0	0	1
	Nov. 4	Late	0	0	1	0	1
	Nov. 18	Late	1	0	1	0	2
	Total		2	1	4	2	9

の平均値は千歳川，網走川のサケで 8.0～8.6 ℃，1 日の水温の変動は 7.5～9.6 ℃の範囲であり，各採卵群の平均飼育水温はほぼ同じであった（Table 10）。

漁川におけるサケ稚魚の浮上サイズ

漁川において異なる時期に出現してくるサケ稚魚の脊椎骨数の変動を把握するためには，複数の採卵時期に由来する個体ができるだけ混じらないように，浮上間もない稚魚を体サイズから選別し，解析する必要がある。しかし，自然環境下において浮上後の正確な体サイズを調べるのは難しいため，飼育実験により稚魚の浮上サイズを推定することとした。

漁川におけるサケ稚魚の浮上サイズを把握するため，サケ親魚を捕獲，交配させ授精卵から浮上稚魚まで実験室内で飼育した。サケ親魚の捕獲は 2009 年から 2013 年にかけて行い，捕獲したサケを北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場へ運び，同日，授精を行った。ただし，2010 年 11 月 22 日に採卵した群は河川敷での採卵を行い，雌 1 尾に対して雄 2 尾の精子を混ぜて媒精した後，授精卵のみを実験室へ持ち帰り飼育を行った。それ以外は全て雌雄一対の交配を行い，5 カ年で計 15 群を作出した（Table 11）。また，2010 年 9 月 17 日の採卵では雌 2 尾と雄 3 尾を用いて総当たり交配を行い 6 群を作出し，2011 年 9 月 27 日の採卵では雌 1 尾から得られた卵を半分にし，異なる雄 2 尾の精子をそれぞれの卵に媒精することで 2 群を作出した。また，用いた親魚の眼の後端から尾鰭基部までの長さ（POH 長; post-orbital hypural length）を測定した。得られた卵は水温約 8.4～9.5℃の湧水を用いて浮上まで 101～111 日間，積算水温 894～960℃日まで飼育を行った。浮上後，50～188 尾の稚魚の尾叉長をデジタルノギスを用いて 0.01 mm 単位で測定し，浮上サイズとした。

漁川におけるサケ稚魚の採集

自然環境下で発生しているサケ稚魚の脊椎骨数の時期的な変動を把握するために，2011 年 1 月 7 日～6 月 23 日（以下，2011 年調査と称する）にかけてと 2011 年 12 月 16 日～2012 年 5 月 23 日（以下，2012 年調査と称する）にかけての 2 カ年にわたり，漁川でサケ稚魚の採集

Table 10 Rearing conditions and distribution of vertebral number for chum salmon fry for different fertilization periods in the Chitose and Abashiri rivers.

River	Fertilization date	Number of rearing days (fertilization to analysis)	Mean water temperature (Range) (ºC)	Fork length (mm)	Number of individuals						
					Vertebral number[*1]						Total
				Mean ± SD	63	64	65	66	67	68	
Chitose River	Sep. 6, 2006	213	8.5 (7.7-9.2)[*2]	65.3 ± 3.66	0	1	20	**49**	24	6	100
	Oct. 25, 2006	207	8.1 (7.6-8.8)[*2]	68.3 ± 6.47	1	14	35	**37**	13	0	100
	Nov. 27, 2006	226	8.0 (7.6-8.5)[*2]	83.5 ± 11.52	0	12	38	**44**	6	0	100
	Total			72.4 ± 11.23	1	27	93	**130**	43	6	300
	Oct. 1, 2010	262	8.5 (7.5−9.3)	101.4 ± 5.45	0	4	22	**26**	7	1	60
	Nov. 5, 2010	269	8.5 (7.5−9.6)	112.9 ± 5.00	0	4	22	**27**	5	2	60
	Dec. 6, 2010	257	8.6 (7.5−9.6)	107.1 ± 4.93	4	9	**25**	14	7	1	60
	Total			107.1 ± 6.93	4	17	**69**	67	19	4	180
Abashiri River	Sep. 30, 2010	265	8.6 (7.5−9.3)	113.7 ± 7.48	0	1	18	**20**	18	1	58
	Nov. 1, 2010	280	8.6 (7.5−9.6)	116.2 ± 4.61	0	4	17	**20**	16	3	60
	Dec. 3, 2010	248	8.5 (7.5−9.6)	109.2 ± 4.99	0	6	18	**26**	7	3	60
	Total			113.0 ± 6.46	0	11	53	**66**	41	7	178

[*1]Bold characters indicate modes of the distribution of vertebral number

[*2]Daily average from egg placement to swim-up stage

Table 11 Postorbital-hypural length (POH) in adults and fork lengths of chum salmon fry reared in the laboratory.

Lot No.	Parent			Offspring			
	Sampling date	POH (cm)		Days after fertilization (Degree-days)	Mean water temperature (ºC)	Number of individuals	Fork length (mm)
		Female	Male				Min. - Max.
#1	Sep. 11, 2009	56.0	52.5	108 (918)	8.5	50	36.0 - 38.8
#2		54.0	43.0	108 (918)	8.5	50	35.5 - 37.6
#3		50.0	51.0	108 (918)	8.5	50	33.9 - 37.6
#4	Sep. 17, 2010	54.0	54.5[*1]	101 (960)	9.5	50	32.7 - 37.5
#5			58.0[*2]	101 (960)	9.5	50	35.6 - 39.4
#6			57.0[*3]	101 (960)	9.5	50	33.5 - 38.8
#7		54.5	54.5[*1]	101 (960)	9.5	50	34.5 - 38.1
#8			58.0[*2]	101 (960)	9.5	50	35.2 - 39.6
#9			57.0[*3]	101 (960)	9.5	50	35.4 - 39.7
#10	Nov. 22, 2010	No data	No data	108 (936)	8.7	50	33.7 - 36.4
#11	Sep. 27, 2011	54.0	47.0	105 (894)	8.5	50	33.1 - 37.4
#12			50.0	105 (894)	8.5	50	33.8 - 36.5
#13	Sep. 21, 2012	54.0	55.5	111 (939)	8.5	50	29.7 - 36.2
#14		47.0	50.0	111 (939)	8.5	50	34.1 - 37.1
#15	Oct. 2, 2013	51.5	50.0	108(901)	8.4	188	29.0 - 36.1
Total						888	29.0 - 39.7

[*1,*2,*3] Same males were used for fertilization

を行った。2011 年の調査では漁川の岸側に幅約 2 m×長さ約 107 m の調査定点を設定し，電気漁具を用いてサケ稚魚を採集した。なお，この年の調査定点は小学生の体験放流が行われた場所より下流域も含まれているため，体験放流が行われた 4 月 22 日以降は放流された稚魚がわずかながら混入している可能性も考えられる。2012 年の調査では定点を放流地点の上流域に再設定し，幅約 2 m×長さ約 60 m の調査定点を設けて，サケ稚魚の採集を行った。調査は 2011 年調査では 6〜12 日間隔で計 22 回行い，2012 年調査では 6〜12 日間隔で計 21 回行い，調査開始時に水温を記録した。

採集した稚魚は，北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場に生かしたまま輸送し，2-フェノキシエタノールで麻酔を弱くかけた後，尾叉長をデジタルノギスで 0.01 mm 単位で測定した。採集した稚魚は，産卵時期の異なる親から生まれた魚が混合している可能性が考えられるため，条件をできるだけ同じにするため，2011 年調査では尾叉長 40 mm 未満の魚を，2012 年調査では尾叉長 38 mm 未満の稚魚を抽出し，60ℓ水槽を用いて給餌しながら飼育した。2011 年調査では採集日から平均 145 日間の飼育を行ったが，途中で斃死した個体においても可能な限り脊椎骨数の計数を行った。

2012 年調査では，採集日から 145〜206 日間給餌しながら飼育し，最後まで生残した個体のみ脊椎骨数の計数を行った。両年とも飼育は湧水を用いて行い，飼育中の水温は約 7.6〜10.4 ℃の範囲であった。試験終了後に生残した魚を全数取り上げ，尾叉長を 1 mm 単位で測定後，脊椎骨数を計数した。なお，解析精度の観点から飼育試験は 40 mm 未満（2011 年調査）及び 38 mm 未満（2012 年調査）の魚が 5 尾以上採集された場合のみ実施した。

産卵時期と脊椎骨数の関係

千歳川で 4 カ年にわたり採集した親魚における脊椎骨数の年変動の有無を調べるために，$m \times n$ 分割表を用いた χ^2 検定を行った。分割表の検定では，期待度数 5 以下のセルを減らすために（Cochran, 1954），出現個体数が 1 個体のみの脊椎骨数は隣接する脊椎骨数のカテゴリーにまとめた後，検定を行った。なお，サケの脊椎骨数には雌雄差が見られないことが知ら

れているため（久保・小林，1953；安藤ら，2014a），解析は雌雄をまとめて行った。

千歳川，漁川，および網走川で得られた親魚及び稚魚の脊椎骨数のデータを採集月ごとにまとめ，月ごとの脊椎骨数の平均値を多重比較で検定した。多重比較は統計ソフト R (ver. 2.14.0)（R Development Core Team, 2011）を用いた *t* 検定により行い，*P* 値を Bonferroni 補正で調整し，補正後の有意水準 5 %のもとで差の有無を判定した。長都川，島松川，厚別川で得られた親魚は 9～21 個体と少なかったため，統計解析は行わず，便宜的に 9～10 月に採集した親魚を前期群，11 月～12 月に採集した親魚を後期群とし（Table 9），脊椎骨数の平均値を前期群と後期群で比較するのみにとどめた。

結果

千歳川における採集年の違いによる脊椎骨数の比較

千歳川の親魚において 4 カ年で得られたサケの脊椎骨数は 63～69 の範囲であり，全採集魚をあわせた時のモードは 66 であった（Table 6）。脊椎骨数の平均値は 65.5～66.2 の範囲であり，同一採集年で最初と最後のサンプリング時期には脊椎骨数の平均値に 0.22～0.66 の違いが見られ，前半の採集月（9 月もしくは 10 月）のほうが後半の採集月（11 月もしくは 12 月）よりも高い値を示した（Fig. 22）。採集年毎の脊椎骨数の平均値は 65.7～65.9 の範囲であり（Fig. 23），4 カ年全体の平均値±標準偏差は 65.8±0.90 であった。脊椎骨数の分布では脊椎骨数 63 の個体は 2006 年 10 月採集群で 1 個体，脊椎骨数 69 の個体は 2011 年 9 月採集群で 1 個体ずつしか出現しておらず（Table 6），それぞれ 64 以下及び 68 以上のカテゴリーとしてまとめ，4 カ年における脊椎骨数別の出現頻度を採集年毎に比較すると，脊椎骨数 64 以下が 0.05～0.07，脊椎骨数 65 が 0.23～0.37，脊椎骨数 66 が 0.40～0.51，脊椎骨数 67 が 0.14～0.16，脊椎骨数 68 以上が 0.02～0.05 であり，採集年により脊椎骨数の出現頻度に違いは認められなかった（$df = 12, \chi^2 = 13.9, P = 0.31$; Fig. 24）。したがって，以降の解析は 4 カ年のデータを合わせて行った。

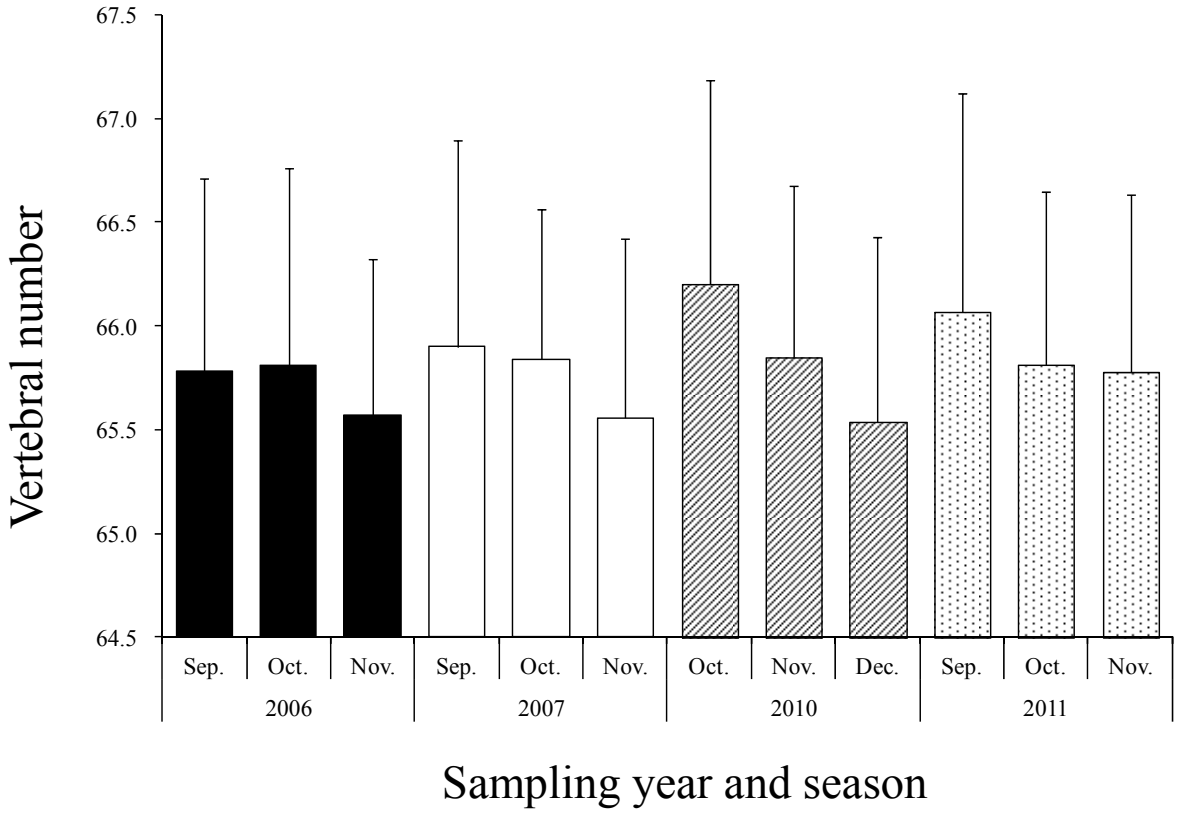


Fig. 22 Mean vertebral numbers in chum salmon adults in the Chitose River for four years. Chum salmon were collected three times within a year. Bars indicate the standard deviations.

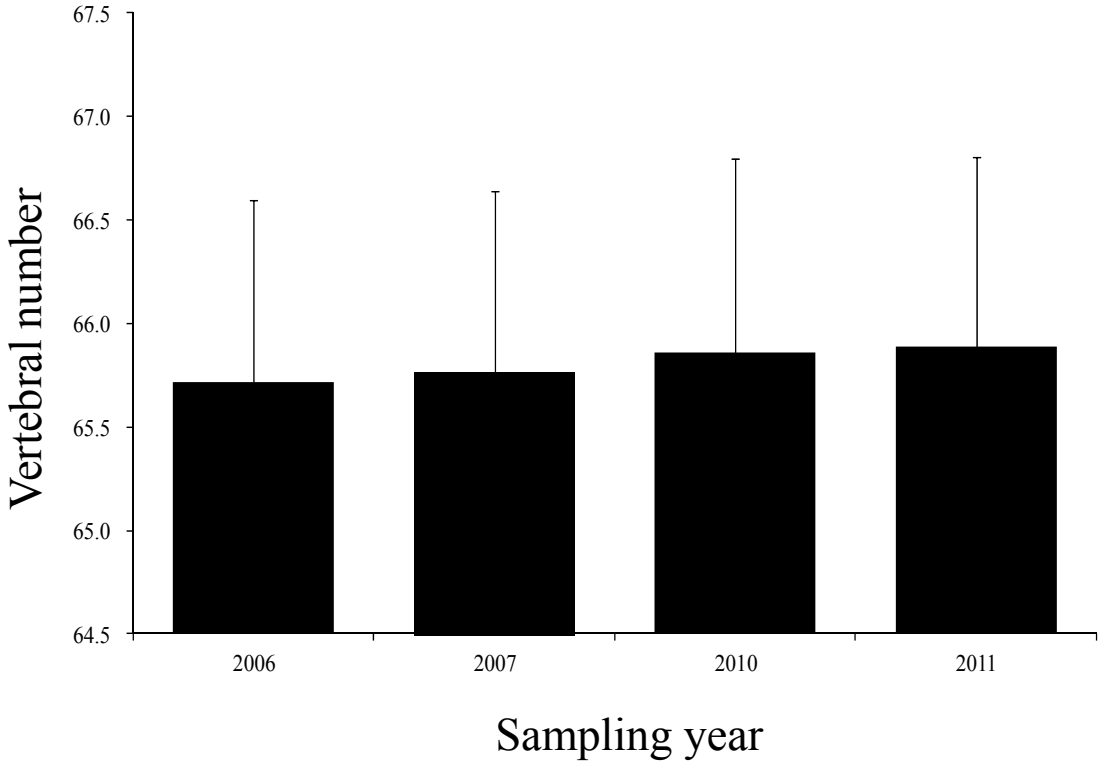


Fig. 23 Mean vertebral numbers in chum salmon adults in the Chitose River for four years. Bars indicate the standard deviations.

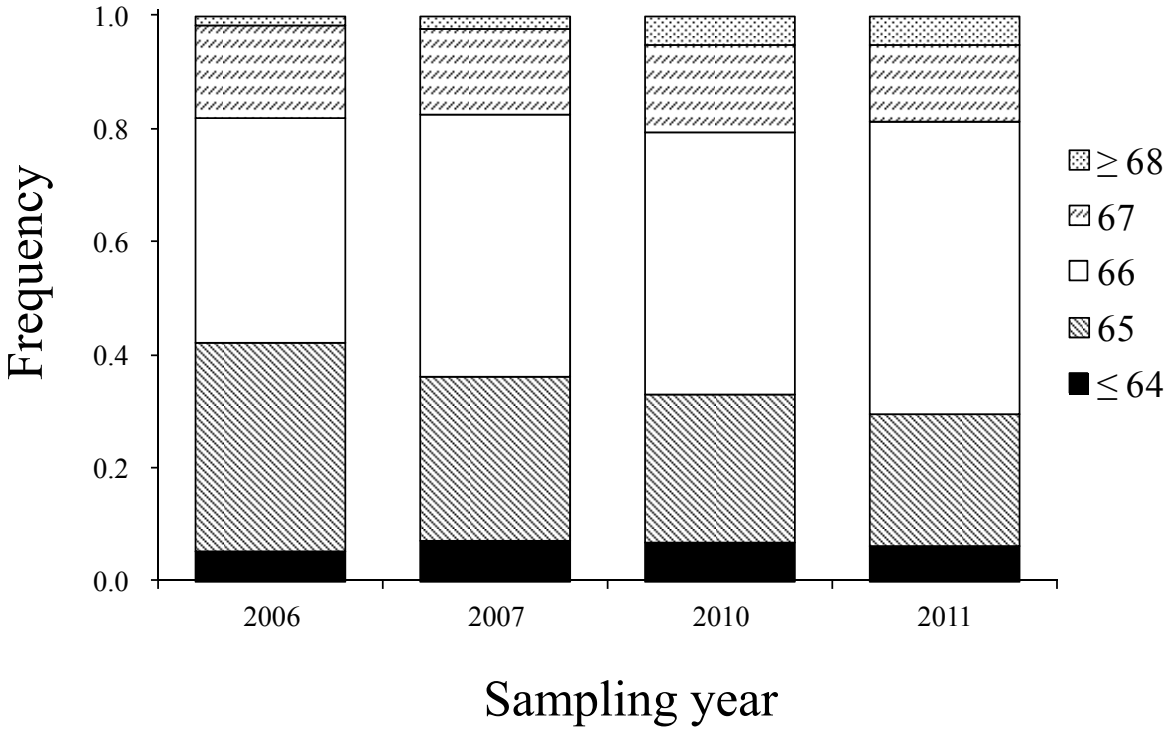


Fig. 24 Frequency compositions of vertebral number in chum salmon adults for four sampling years in the Chitose River.

千歳川における親魚の産卵時期と脊椎骨数の関係

採集された親魚の脊椎骨数の平均値±標準偏差を月ごとに見ると，9 月採集群で 65.9±0.99（N = 167），10 月採集群で 65.9±0.88（N = 239），11 月採集群で 65.7±0.83（N = 236），12 月採集群で 65.5±0.89（N = 61）であり，採集月が遅くなるほど脊椎骨数の平均値も少なくなっていた（Fig. 25）。脊椎骨数のモードは 9 月～11 月採集群では 66 であり，脊椎骨数 67 の出現頻度は 9 月に 0.17 であったが，11 月には 0.10 と低下していた。逆に脊椎骨数 65 の出現頻度は 9 月に 0.24 であったが，11 月には 0.35 と高くなっていた。12 月採集群のモードは 65 であり他の月とはモードが異なっていた。平均値の多重比較では 9 月-12 月採集群間（P = 0.03），10 月-11 月採集群間（P = 0.03）及び 10 月-12 月採集群間（P = 0.02）に有意差が見られたが，9 月-10 月採集群，9 月-11 月採集群及び 11 月-12 月採集群間では有意差は見られなかった（P = 0.06～1.00, Table 12）。

長都川，島松川，厚別川の前期群と後期群の脊椎骨数

長都川では前期に 8 個体，後期に 13 個体，島松川では前期に 6 個体，後期に 13 個体，厚別川では前期に 6 個体，後期に 3 個体の親魚が回収された。脊椎骨数の範囲は長都川，厚別川では 65～68，島松川では 65～67 の範囲であった（Table 9）。それぞれ河川別，時期別の脊椎骨数の平均値±標準偏差は長都川の前期群で 66.6±0.74，後期群で 65.6±0.87，島松川の前期群で 66.3±0.82，後期群で 65.8±0.60，厚別川の前期群で 66.8±1.17，後期群で 66.3±1.15 であり，いずれの河川でも前期群が後期群よりも 0.50～1.01 高い値を示していた（Fig. 26）。

漁川における親魚の産卵時期と脊椎骨数の関係

調査期間中の漁川の水温は 2010 年調査で 2.4～15.9℃，2011 年調査で 1.8～15.7 ℃で推移していた（Tables 7 and 8）。採集された親魚全体の脊椎骨数の平均値±標準偏差は 2010 年調査で 66.2±1.10，2011 年調査で 66.3±1.01 であり，千歳川の親魚の値（65.8±0.90）より高値を示した。脊椎骨数は両年共に 63～70 の範囲であり，全体としてのモードは 66 であった。

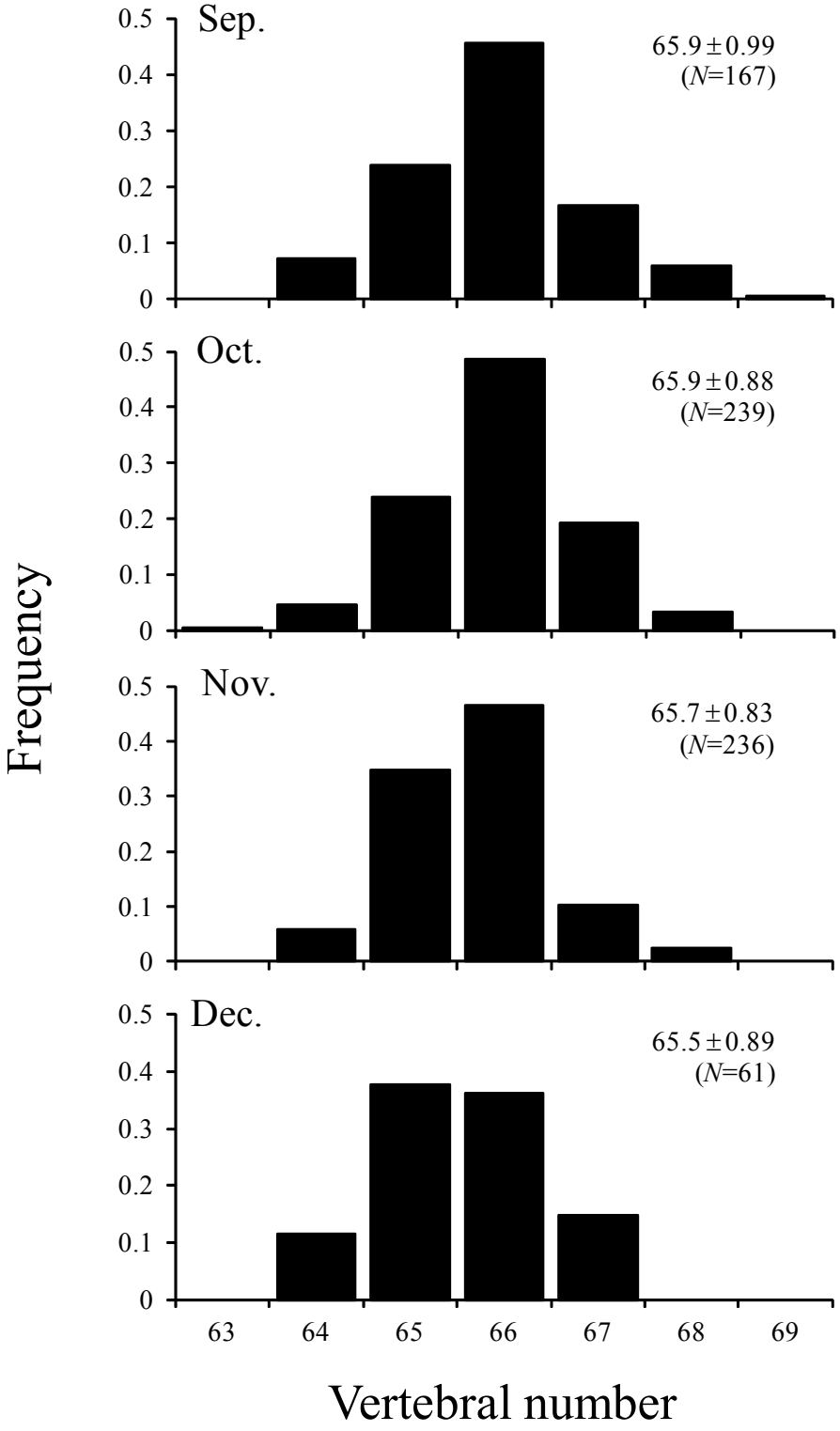


Fig. 25 Frequency compositions of vertebral number in chum salmon adults from September to December in the Chitose River. The figures in the top right corner of each graph indicate mean ± standard deviation of vertebral number and sample size (*N*).

Table 12 Results for statistical analyses (P-values) using multiple comparison in mean vertebral number of chum salmon adults in the Chitose River. P-values are calibrated using Bonferroni correction.

	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
Sep.	-			
Oct.	1.00	-	-	
Nov.	0.06	0.03^{*}	-	
Dec.	0.03^{*}	0.02^{*}	1.00	-

$P < 0.05^{*}$

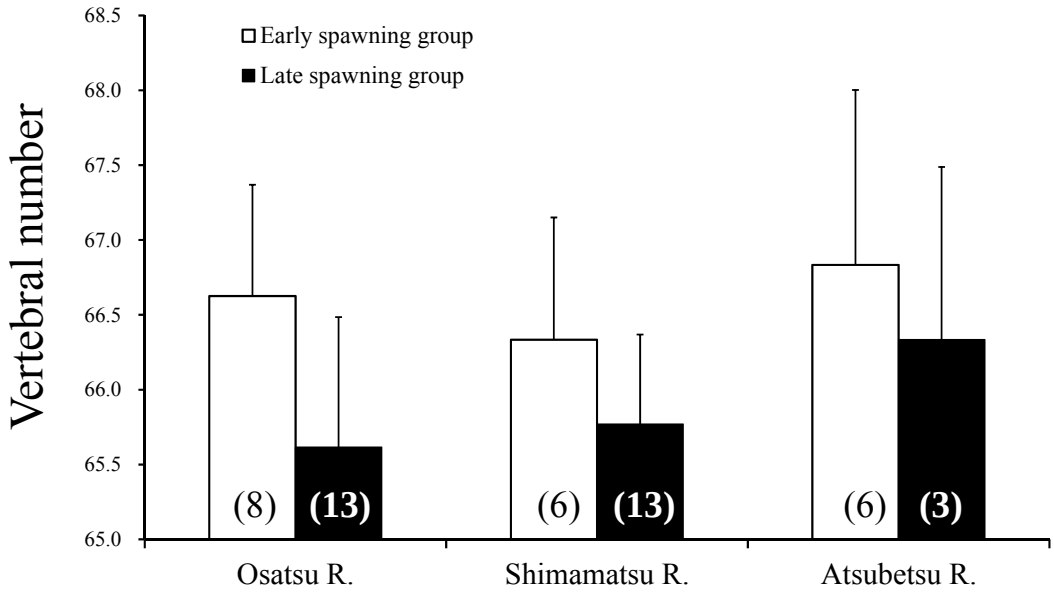


Fig. 26 Mean vertebral numbers of chum salmon adults in the Osatsu, Shimamatsu, and Atsubetsu rivers. Bars indicate the standard deviations. Figures in the parentheses indicate sample size. Early spawning group means fish collected in September and October, and late spawning group means fish collected in November and December.

採集日別の脊椎骨数の平均値は 2010 年調査で 65.1～67.1 であり，9 月から 10 月にかけて平均値は徐々に低下し，10 月 28 日に最低値を示した後，平均値は再び増加する傾向を示した（Fig. 27）。2011 年調査では平均値は 65.5～67.0 の範囲で変動し，調査を開始した 9 月 15 日が最も高い平均値 67.0 を示し，その後 12 月にかけて平均値が徐々に低下する傾向を示した（Fig. 28）。

漁川で採集したサケ親魚における月別の脊椎骨数の平均値±標準偏差は，2010 年調査の 9 月採集群（$N = 105$）で 66.8±1.01，10 月採集群（$N = 84$）で 66.2±1.21，11 月採集群（$N = 142$）で 65.9±1.02，12 月採集群（$N = 83$）で 66.0±1.03， 1 月採集群（$N = 20$）で 65.8±1.01 と採集時期が遅くなるにつれて平均値は徐々に低くなっていた（Fig. 29）。脊椎骨数のモードは 9 月採集群で 67 を示したが，10 月～12 月採集群では 66 にモードを示した。また，1 月採集群は個体数が 20 尾と少なかったため，脊椎骨数 65，66，67 の出現頻度は同じであった。平均値の多重比較では 9 月採集群は他のいずれの採集月とも有意な差が見られたが（$P < 0.01$），他の採集群間には有意差は見られなかった（Table 13）。2011 年調査では，採集した月別の脊椎骨数の平均値±標準偏差は，9 月採集群（$N = 209$）で 66.7±1.07，10 月採集群（$N = 304$）で 66.4±0.94，11 月採集群（$N = 335$）で 66.1±0.98，12 月採集群（$N = 297$）で 66.0±0.95 と 2010 年同様，採集時期が遅くなるにつれて平均値は徐々に低くなっていた（Fig. 30）。脊椎骨数のモードは 9 月採集群で 67 を示したが，他の採集月では 66 にモードを示した。しかし，千歳川とは異なり脊椎骨数 65 にモードを示した採集月は見られなかった。平均値の多重比較では 9 月採集群は他のいずれの採集月とも有意な差が見られ（$P < 0.001$），10 月-11 月採集群（$P < 0.01$）及び 10 月-12 月採集群間（$P < 0.001$）にも有意差が検出された（Table 14）。一方，11 月-12 月採集群間には有意差は見られなかった（$P = 1.00$）。漁川の 2010 年調査及び 2011 年調査で 9～12 月までに得られたサケ親魚の脊椎骨数の平均値の推移を比較したところ，両年とも似た傾向を示し，調査前半の 9～10 月のサケの脊椎骨数が調査後半の 11～12 月の脊椎骨数よりも多い傾向を示していた（Fig. 31）。

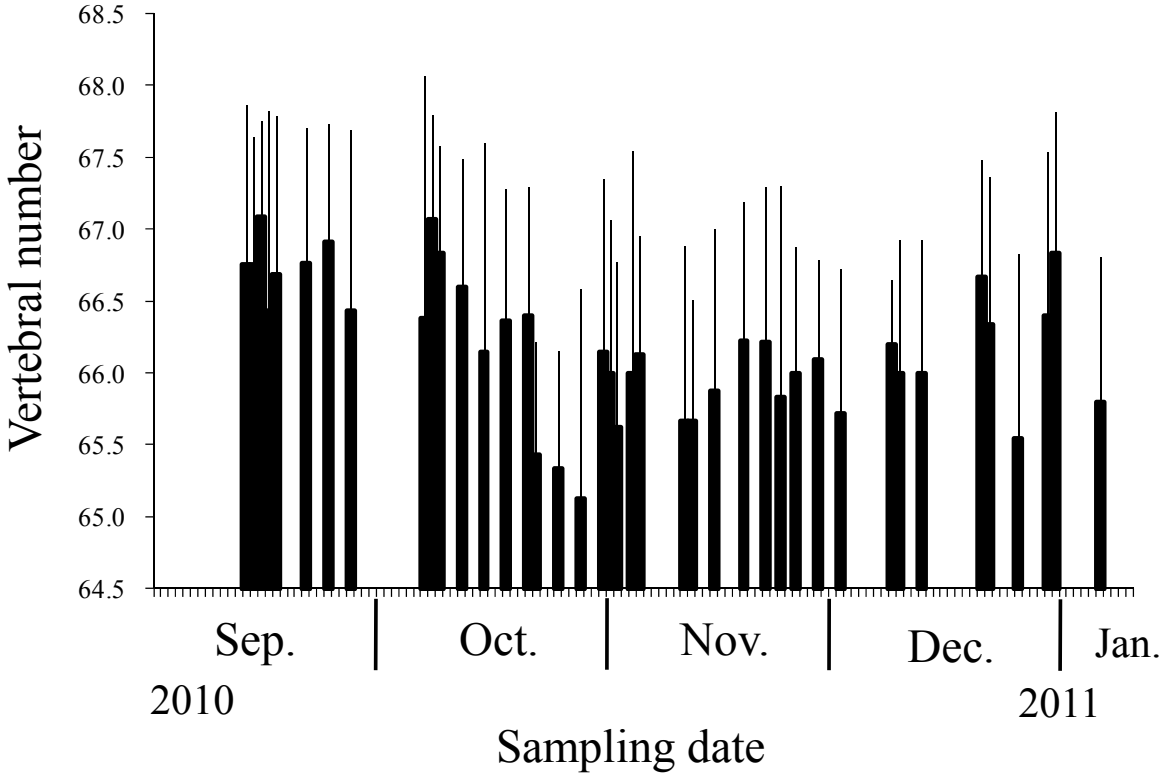


Fig. 27 Daily variation of mean vertebral number of chum salmon adults in the Izari River in 2010-2011. Sample size is shown in Table 7. Bars indicate the standard deviations.

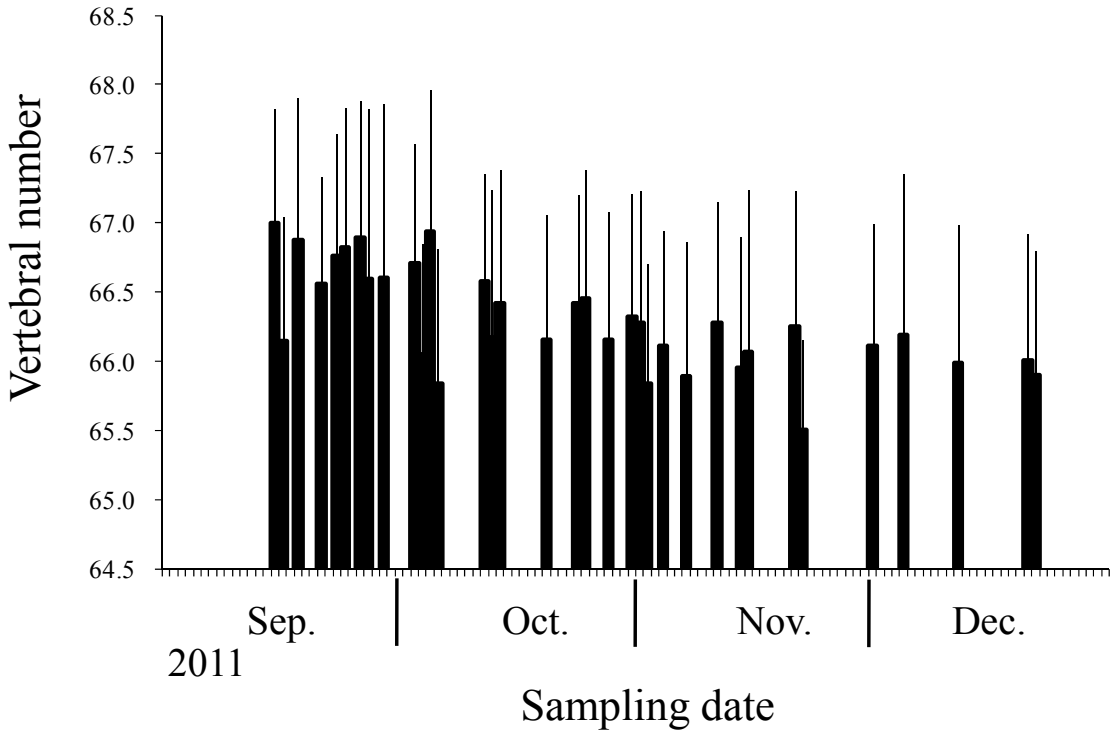


Fig. 28 Daily variation of mean vertebral number of chum salmon adults in the Izari River from September to December in 2011. Sample size is shown in Table 8. Bars indicate the standard deviations.

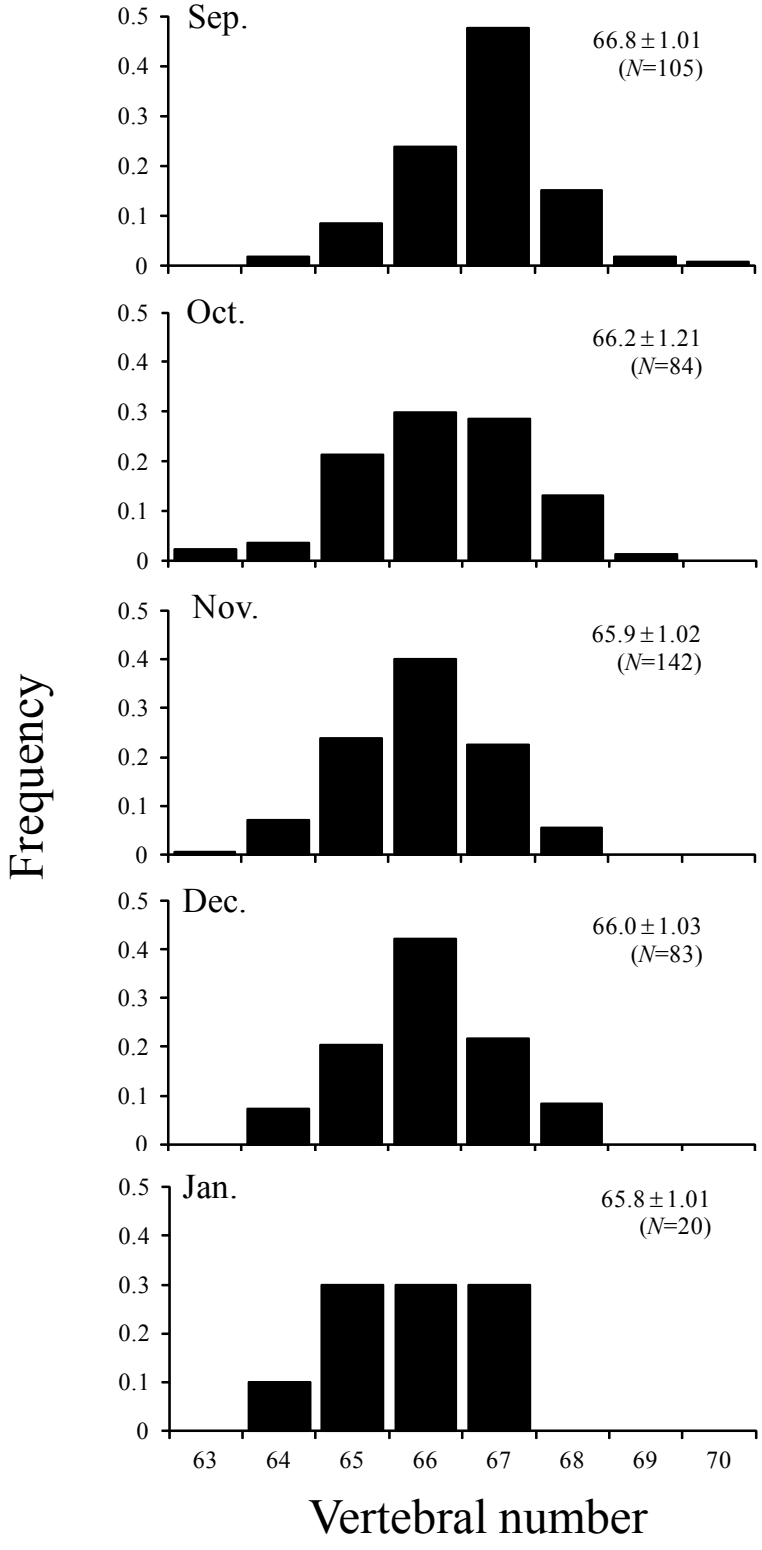


Fig. 29 Frequency compositions of vertebral number in chum salmon adults from September to January in the Izari River in 2010-2011. The figures in the top right corner of each graph indicate mean ± standard deviation of vertebral number and sample size (*N*).

Table 13 Results for statistical analyses (P-values) using multiple comparison in mean vertebral number of chum salmon adults in the Izari River for 2010-2011 survey. P-values are calibrated using Bonferroni correction.

	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.
Sep.	-				
Oct.	$< 0.01^{**}$	-			
Nov.	$< 0.001^{***}$	0.47	-		
Dec.	$< 0.001^{***}$	1.00	1.00	-	
Jan.	$< 0.01^{**}$	1.00	1.00	1.00	-

$P < 0.01^{**}, P < 0.001^{***}$

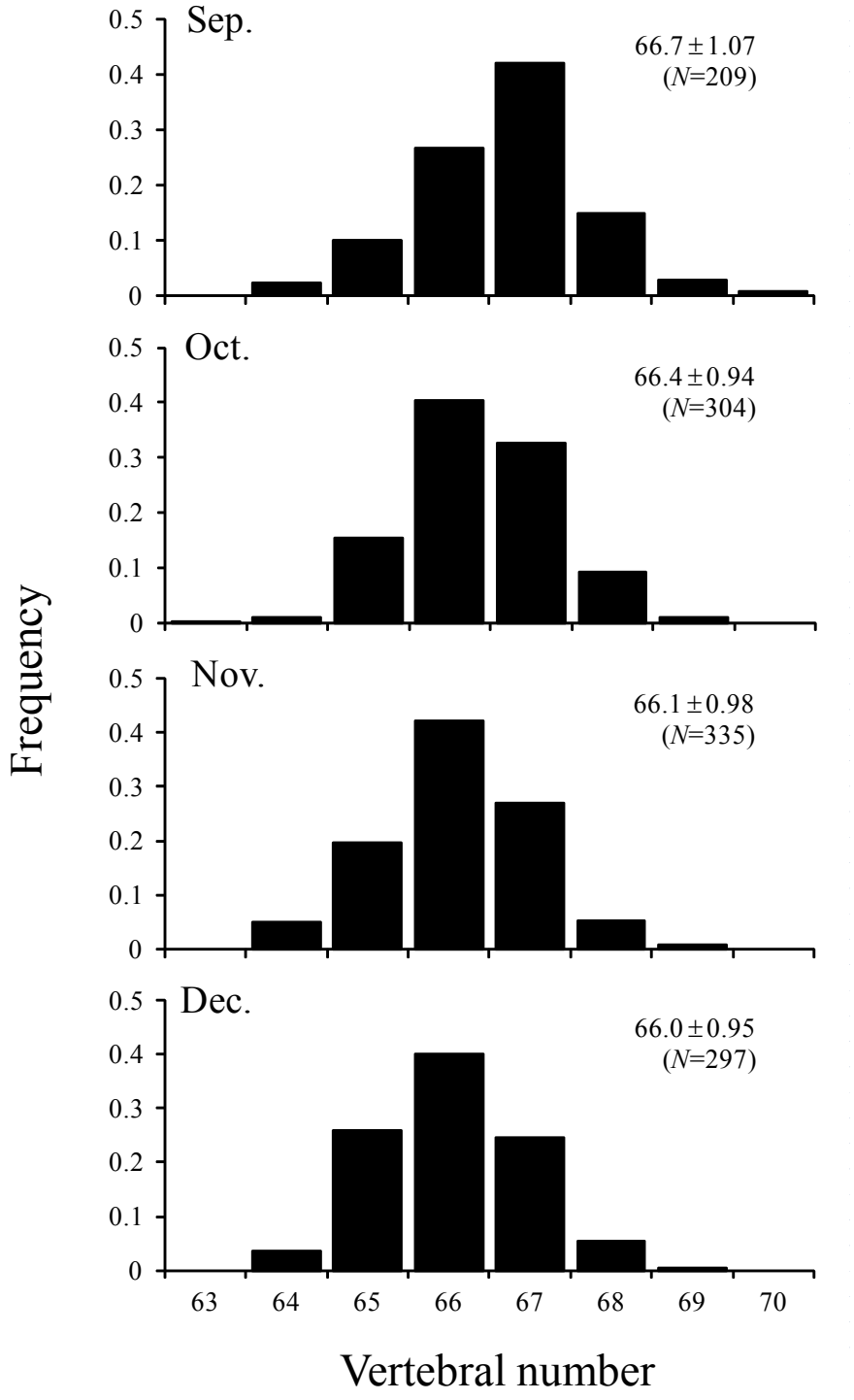


Fig. 30 Frequency compositions of vertebral number in chum salmon adults from September to December in the Izari River in 2011. The figures in the top right corner of each graph indicate mean ± standard deviation of vertebral number and sample size (*N*).

Table 14 Results for statistical analyses (P-values) using multiple comparison in mean vertebral number of chum salmon adults in the Izari River for 2011 survey. P-values are calibrated using Bonferroni correction.

	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
Sep.	-			
Oct.	$< 0.001^{***}$	-		
Nov.	$< 0.001^{***}$	$< 0.01^{**}$	-	
Dec.	$< 0.001^{***}$	$< 0.001^{***}$	1.00	-

$P < 0.01$**, $P < 0.001^{***}$

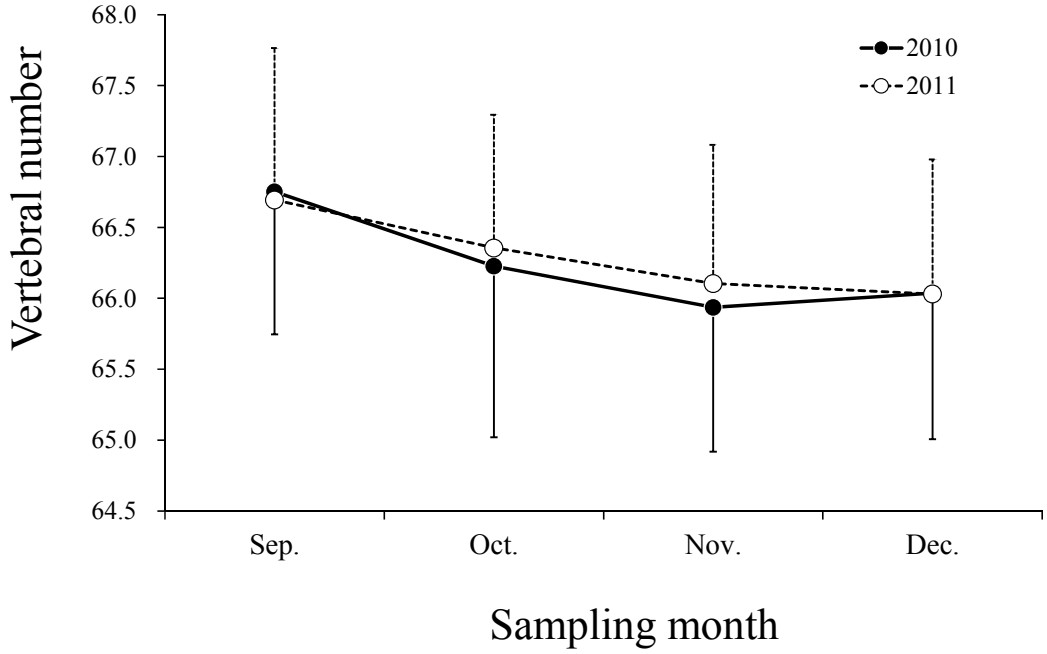


Fig. 31 Comparisons for monthly mean vertebral number of chum salmon adults between two sampling years in the Izari River. Bars indicate the standard deviations.

河川水温

長都川の 9 月の河川水温は他の漁川，島松川，厚別川より 1.2～6.9℃低い値を示した。しかし，11 月下旬以降は逆に 0.9～3.3℃高い水温を示しており（Fig. 32），他の河川とは異なる水温変化を示した。なお，一般的な孵化場で用いられるサケの飼育水温は 8℃前後の湧水が多いが（久保，1956），いずれの河川も 11 月上旬には 8℃以下の水温まで低下していた。

千歳川と網走川における稚魚の採卵日と脊椎骨数の関係

実験室にて同一条件下で飼育されたサケ稚魚における取り上げ時の尾叉長の平均値は千歳川で 65.3～112.9 mm，網走川で 109.2～116.2 mm であった（Table 10）。脊椎骨数の範囲は千歳川で 63～68 であり，モードは 2010 年 12 月採卵群では 65 であったが，他の採卵群ではいずれも 66 であった。網走川のサケ稚魚の脊椎骨数の範囲は 64～68 であり，モードは全て 66 であった。千歳川におけるサケ稚魚の脊椎骨数の平均値±標準偏差は 2006 年採卵群の全体で 65.7±0.91，2010 年採卵群の全体で 65.5±0.96 であった。これを月別に見ると，2006 年 9 月採卵群で 66.1±0.84，10 月採卵群で 65.5±0.93，11 月採卵群で 65.4±0.78 であり，2010 年 10 月採卵群では 65.7±0.84，11 月採卵群では 65.7±0.86，12 月採卵群では 65.2 ± 1.11 と調査の後半になるにつれ，平均値は低下していた（Fig. 33）。2006 年の 11 月採卵群は 9 月採卵群に比べ 0.70 低く，2010 年 12 月採卵群は 10 月採卵群に比べて 0.42 低い値を示していた。平均値の多重比較では 2006 年採卵の 3 群に有意差が認められ，9 月採卵群は 10 月および 11 月採卵群より有意に高い平均値を示した（$P < 0.001$，Table 15）。一方，2010 年採卵群では 3 群間で差異は検出されず，10 月採卵群と 12 月採卵群（$P = 0.05$）及び 11 月採卵群と 12 月採卵群（$P = 0.05$）に有意差は検出されなかった。しかし，脊椎骨数の分布を見ると，2006 年の 9～11 月の採卵群，および 2010 年の 10 月と 11 月採卵群では脊椎骨数 66 にモードを示したのに対し，2010 年 12 月採卵群だけは脊椎骨数 65 にモードを示した（Table 10）。網走川におけるサケ稚魚の脊椎骨数の平均値±標準偏差は全体で 65.9±0.96 であり，9 月採卵群では 66.0±0.88，11 月採卵群では 66.0±1.02，12 月採卵群では 65.7 ± 0.98 であり，12 月採卵群は 9 月

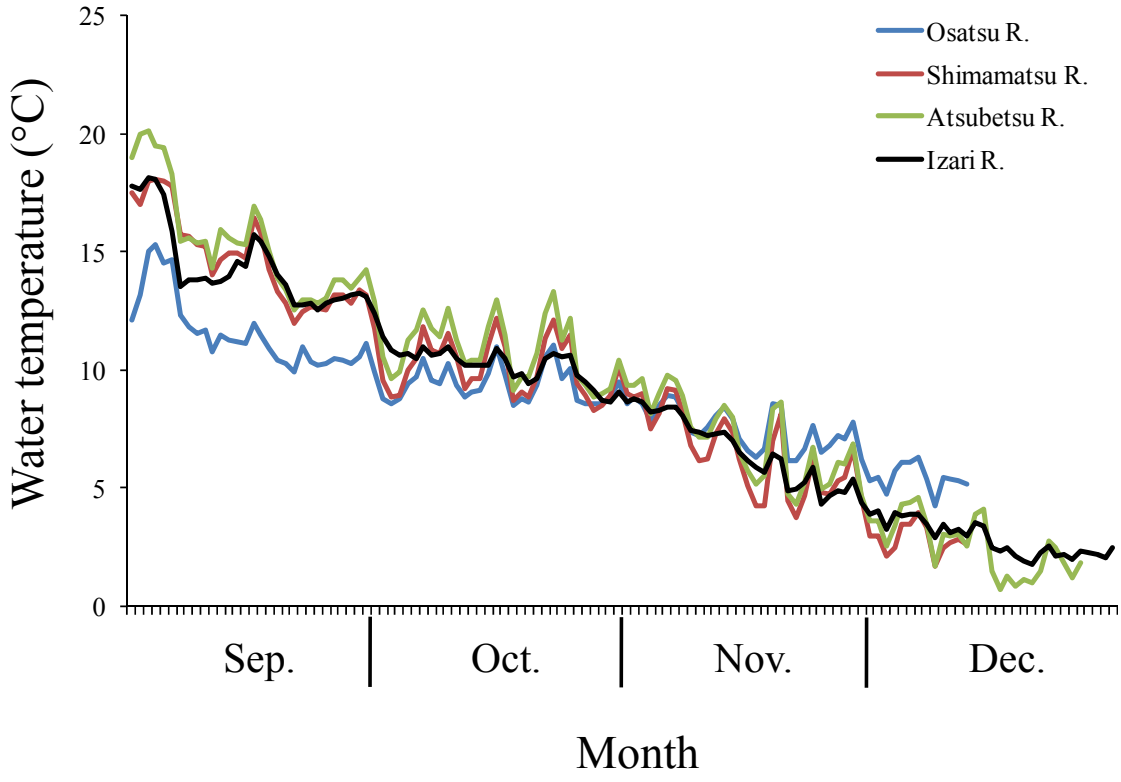


Fig. 32 Water temperatures in the Osatsu, Shimamatsu, Atsubetsu, and Izari rivers from September to December in 2011.

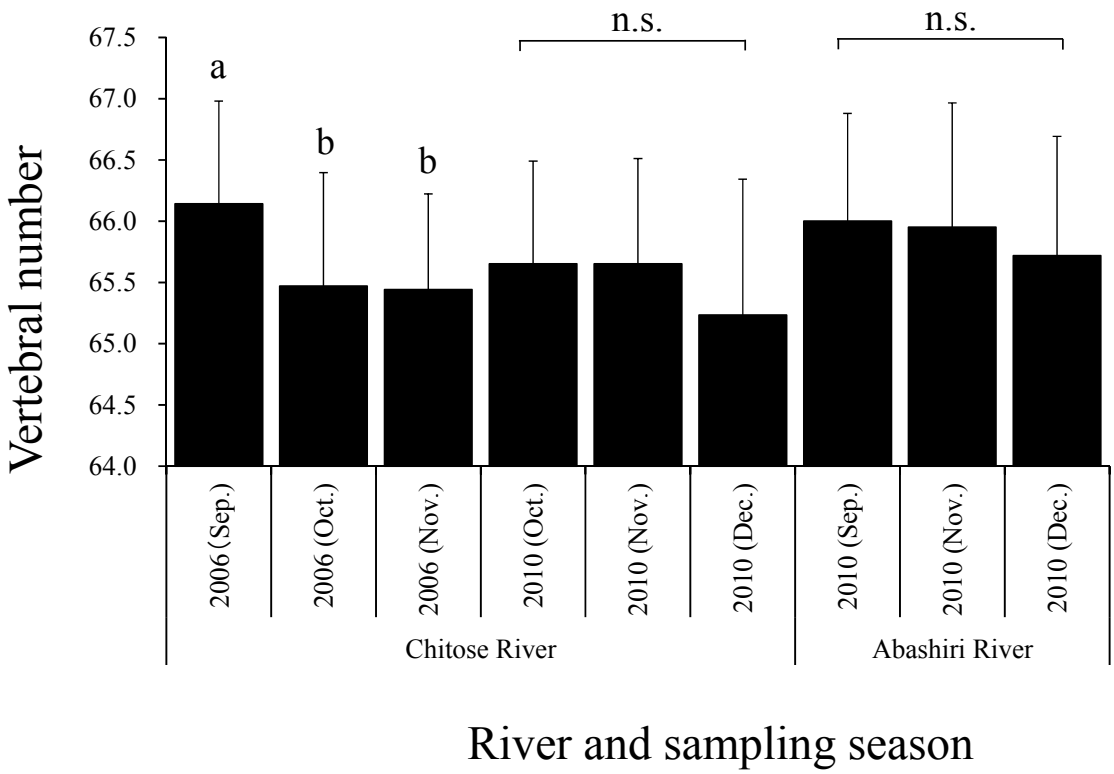


Fig. 33 Mean vertebral numbers of chum salmon fry in the Chitose and Abashiri rivers. Chum salmon were reared under similar conditions from egg placement to analysis in the laboratory. Month indicate the sampling season in each river. Bars indicate the standard deviations. Letters on the bars indicate the results of statistical analysis and different alphabets indicate significant difference within a river in the same sampling year.

Table 15 Results for statistical analyses (P-values) using multiple comparison in mean vertebral number of chum salmon fry in the Chitose and Abashiri rivers. P-values are calibrated using Bonferroni correction.

River	Sampling year	Sampling month	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.
Chitose R.	2006	Sep.	-	-	-	-
		Oct.	$< 0.001^{***}$	-	-	-
		Nov.	$< 0.001^{***}$	1.00	-	-
	2010	Oct.	-	-	-	-
		Nov.	-	1.00	-	-
		Dec.	-	0.05	0.05	-
Abashiri R.	2010	Sep.	-	-	-	-
		Nov.	1.00	-	-	-
		Dec.	0.33	-	0.55	-

$P < 0.001$***

採卵群に比べて 0.28 低い値を示していた（Fig. 33）。しかし，平均値の多重比較では，3 群間で差異は検出されず，9 月採卵群と 12 月採卵群（P = 0.33）及び 11 月採卵群と 12 月採卵群（P = 0.55）に有意差は検出されなかった（Table 15）。

漁川における稚魚の浮上サイズ

漁川で採卵に用いた親魚の POH 長は 43.0～58.0 cm であった。サケ稚魚の浮上サイズは 29.0～39.7 mm の範囲であり，最大のサイズでも 40 mm 以下であった（Table 11）。浮上稚魚の尾叉長の平均値±標準偏差は家系#13 の 33.0±1.46 mm が最小で家系#8 の 38.0±0.96 mm が最大であった（Fig. 34）。作出した 15 群全体では 36.2±1.49 mm であった。

漁川における稚魚の採集時期と脊椎骨数との関係

2011 年調査における水温は 1.9～18.2℃であり，調査期間中に 2,907 尾のサケ稚魚を採集した（Table 16）。調査終了間際の 6 月 16 日と 6 月 23 日には 40 mm 未満の稚魚はそれぞれ 4 尾及び 3 尾とほとんど採集されなかった。採集尾数が最も多かったのは 4 月 12 日の 347 尾であったが，40 mm 未満の稚魚が最も多く採集されたのは 1 週間前の 4 月 5 日であり，248 尾が採集された。40 mm 未満の稚魚の出現割合は 3 月 23 日までは 90 %以上を占めていたが，その後，徐々に低下し 4 月 20 日には 39.3 %まで低下した。しかし，4 月 20 日以降は再度，出現割合が上昇し，5 月 6 日に 87.7 %まで増えた後，再び低下した（Fig. 35）。脊椎骨数の解析には 2,144 尾を用いた（Table 16）。脊椎骨数は 61～70 の範囲であり，全体の平均値±標準偏差は 66.3±1.11 であった。採集日ごとの平均値は 65.9～67.0 の範囲であり，平均値は 1 月から 4 月の採集群にかけて徐々に低下する傾向を示した（Fig. 36）。しかし，平均値は 5 月 6 日に 65.9 と最低値を示した後，5 月 13 日以降は 66.0～66.3 とわずかに増加していた。脊椎骨数のモードは 1 月 27 日，3 月 8 日，6 月 9 日のみ脊椎骨数 67 にモードを示したが，他の採集群では脊椎骨数 66 にモードを示し，全体としてのモードも脊椎骨数 66 であった（Table 16）。

採集月別の脊椎骨数の平均値±標準偏差は 1 月採集群で 66.8±1.02（N = 222），2 月採集群

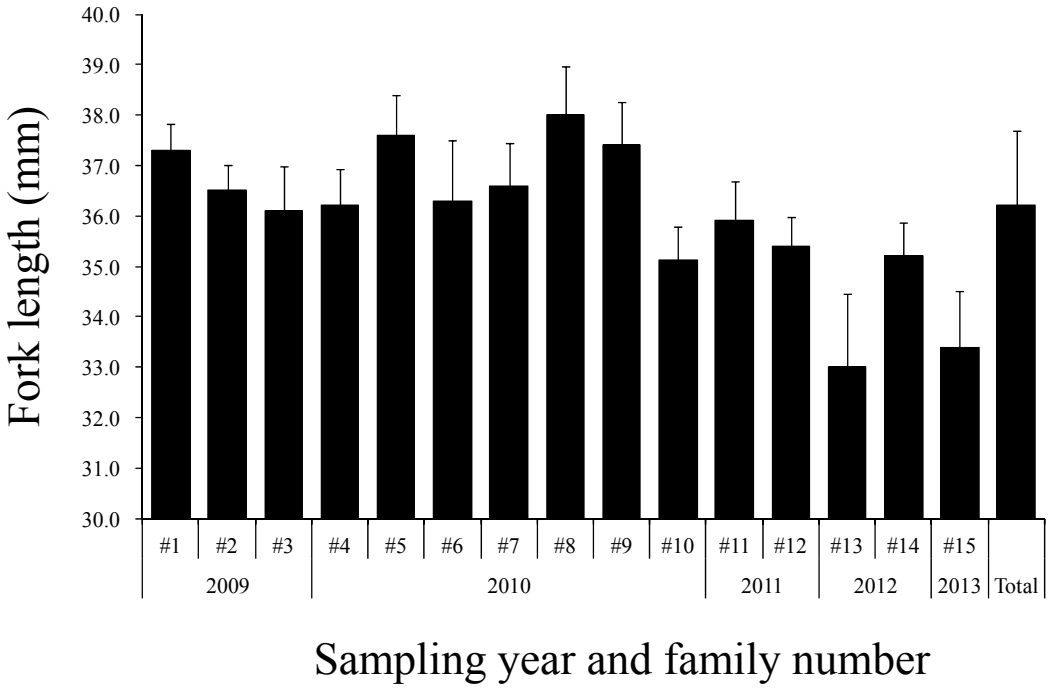


Fig. 34 Mean fork lengths of emergent fry in the Izari River. Eggs were taken by artificial fertilization and were reared under similar conditions in the laboratory until analysis. Bars indicate the standard deviations.

Table 16 Number of individuals at the time of sampling and fork lengths, and distribution of vertebral number of chum salmon fry in the Izari River in 2011

Sampling year	Sampling date	Water temperature (°C)	Sampling		Analysis											
			Number of individuals		Number of individuals	Mean fork length (mm)	Vertebral number*									
			Total	Less than FL 40 mm			61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
2011	Jan. 7	No data	44	44	44	103.8	0	0	0	0	0	**23**	14	5	2	0
	Jan. 18	1.9	94	92	89	103.0	0	0	0	1	7	**34**	31	13	3	0
	Jan. 27	2.5	93	89	89	96.2	0	0	0	1	6	23	**34**	17	7	1
	Feb. 8	2.6	144	139	139	105.6	0	0	0	6	18	**50**	37	21	6	1
	Feb. 17	2.8	147	144	78	100.7	0	0	0	4	15	**22**	19	14	4	0
	Feb. 28	3.1	77	71	71	98.1	0	0	0	1	13	25	25	7	0	0
	Mar. 8	3.2	175	167	157	106.1	0	0	1	3	30	46	**58**	19	0	0
	Mar. 15	4.7	198	183	175	102.9	0	0	3	8	31	**57**	49	21	5	1
	Mar. 23	4.6	237	221	220	108.2	0	0	1	4	43	68	68	31	5	0
	Mar. 29	4.8	219	183	178	101.6	0	0	1	3	36	**68**	41	28	1	0
	Apr. 5	6.6	296	248	243	112.2	1	1	2	4	39	**98**	68	24	6	0
	Apr. 12	6.8	347	216	215	107.0	0	0	1	7	40	**77**	72	14	4	0
	Apr. 20	8.5	247	97	96	86.9	0	0	0	4	27	**38**	22	4	1	0
	Apr. 27	8.3	151	72	69	87.7	0	0	1	4	14	**32**	16	2	0	0
	May 6	10.2	65	57	55	88.0	0	0	0	4	12	**29**	8	1	1	0
	May 13	8.7	119	100	99	94.0	0	0	1	6	20	**41**	27	2	2	0
	May 19	9.8	51	41	41	89.2	0	1	0	2	8	**16**	12	2	0	0
	May 26	14.7	46	33	32	97.2	0	0	0	1	7	**13**	9	2	0	0
	Jun. 2	13.5	71	46	42	96.1	0	0	1	3	10	**14**	11	2	0	1
	Jun. 9	15.5	47	13	12	83.7	0	1	1	0	1	2	**4**	2	1	0
	Jun. 16	18.2	31	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Jun. 23	14.6	8	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total			2907	2263	2144	102.1	1	3	13	66	377	**776**	625	231	48	4

*Bold characters indicate modes of the distribution of vertebral number

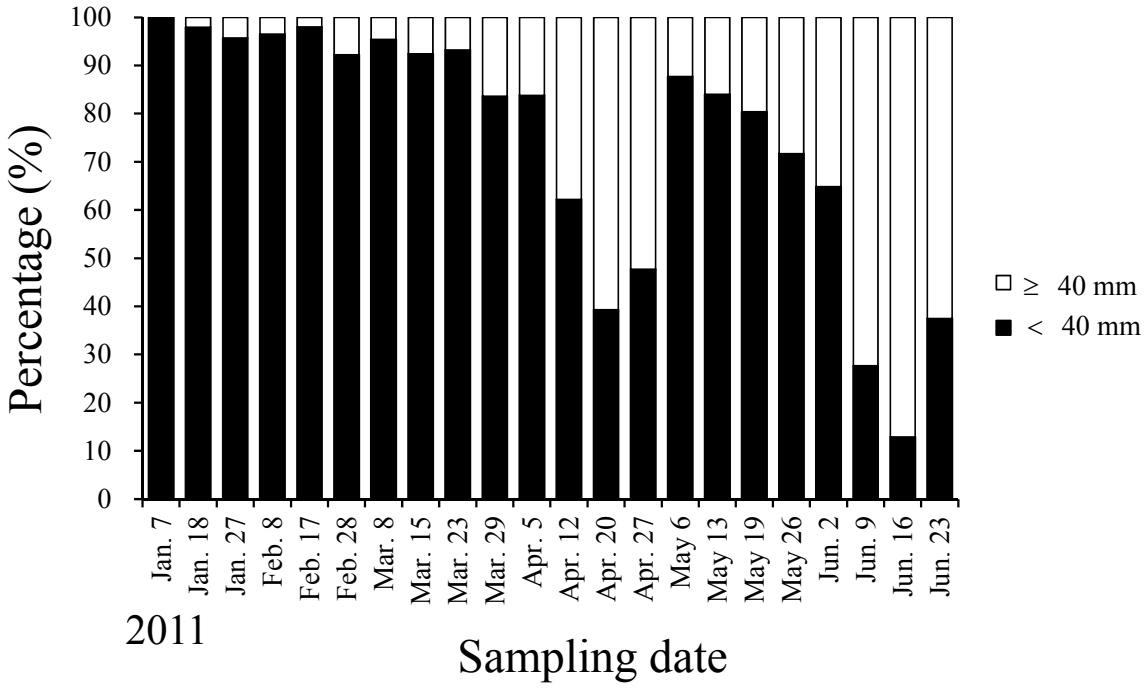


Fig. 35 Frequencey of large (40 mm over in fork length) and small (less than 40 mm in fork length) chum salmon fry caught in the Izari River in 2011.

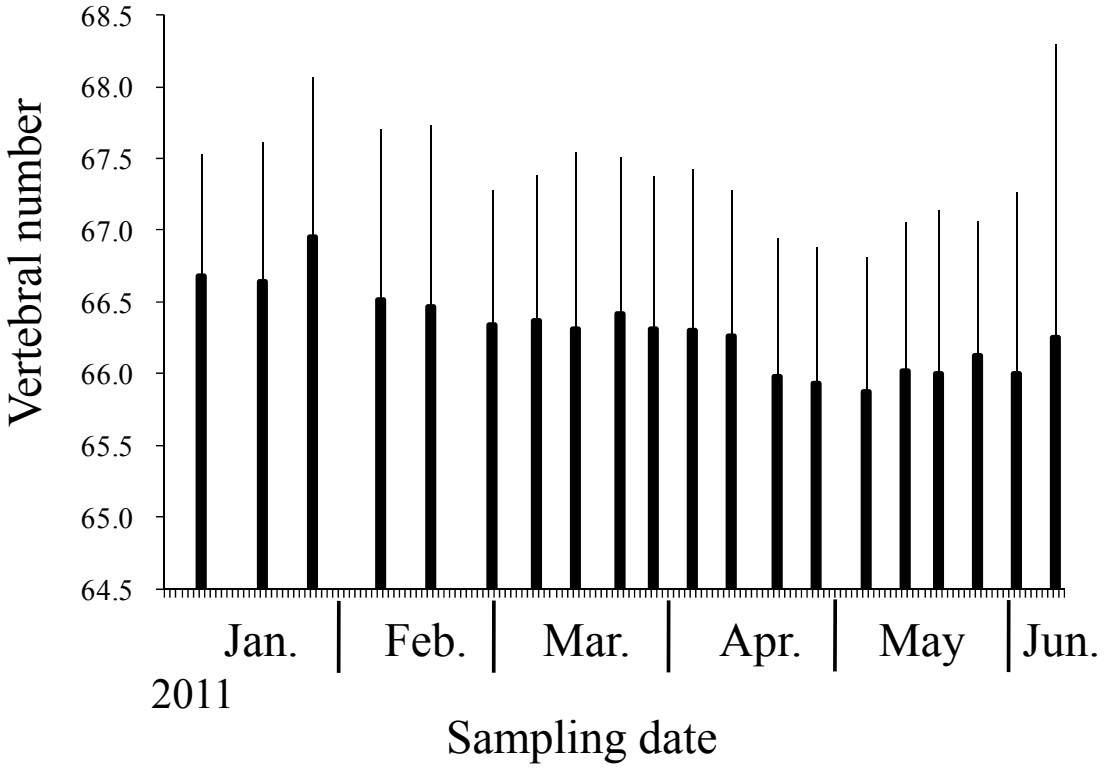


Fig. 36 Mean vertebral numbers of chum salmon fry in the Izari River in each sampling day of 2011. Bars indicate the standard deviations.

で 66.5±1.16（N = 288），3 月採集群で 66.4±1.11（N = 730），4 月採集群で 66.2±1.06（N = 623），5 月採集群で 66.0±1.02（N = 227），6 月採集群で 66.1±1.46（N = 54）であり調査前半の採集月の方が後半の採集月より高い平均値を示していた（Fig. 37）。脊椎骨数のモードはいずれの採集月も 66 であり，脊椎骨数 65 や 67 にモードを示した採集月は見られなかった。平均値の多重比較では 1 月に採集された稚魚の脊椎骨数は他のいずれの月の採集群と比べても有意な違いが見られた（Table 17）。また，2 月採集群は 4 月，5 月採集群と有意差が認められ，3 月採集群は 5 月採集群と有意差が見られた。すなわち，1 月，2 月の調査前半の時期に採集された稚魚の脊椎骨数は 4 月，5 月の調査後半の時期に採集された稚魚の脊椎骨数より多い傾向を示した。

2012 年調査では，水温は 1.1～12.4℃の範囲を示し，調査期間中に 5,615 尾のサケ稚魚を採集した（Table 18）。調査開始時の 2011 年 12 月 16 日及び終了間際の 2012 年 5 月 9 日，5 月 16 日，5 月 23 日は尾叉長 38 mm 未満の個体は 2～4 尾とほとんど採集されなかった。稚魚が最も多く採集されたのは 3 月 30 日の 1,782 尾であったが，この調査日のみ全数の尾叉長測定は行わず，一部の稚魚（508 尾）を抽出後，測定することで全採集尾数における尾叉長 38 mm 未満の稚魚の比率を推定した。なお，508 尾中，尾叉長 38 mm 未満の個体は 384 尾であり，その割合は 75.6 %であった。採集された稚魚に占める尾叉長 38 mm 未満のサケの割合は採集時期により変動し，2011 年 12 月に採集された稚魚では 100 %であったが，その後，徐々に減少し，2012 年 5 月 2 日の調査では 22.9 %になっていた（Fig. 38）。飼育終了後，生残した個体計 2,416 尾を脊椎骨数の解析に用いた（Table 18）。脊椎骨数は 62～70 の範囲であり，全採集日をあわせた稚魚の脊椎骨数の平均値±標準偏差は 66.1±1.09 であり，千歳川の稚魚の値（2006 年の 65.7±0.91 および 2010 年の 65.5±0.96）より高値を示した。採集日ごとの平均値は 65.9～66.6 の範囲であり，平均値の変動は 2011 年の稚魚調査ほど明瞭な傾向は見られなかったものの，1 月と 2 月に採集された稚魚の脊椎骨数の平均値は 66.1～66.6 であり，3 月以降に採集した稚魚の平均値 65.9～66.3 よりも高い値を示した（Fig. 39）。採集月別の脊椎骨数の平均値±標準偏差は 12 月採集群で 66.6±0.98（N = 7），1 月採集群で 66.4±0.91（N = 179），

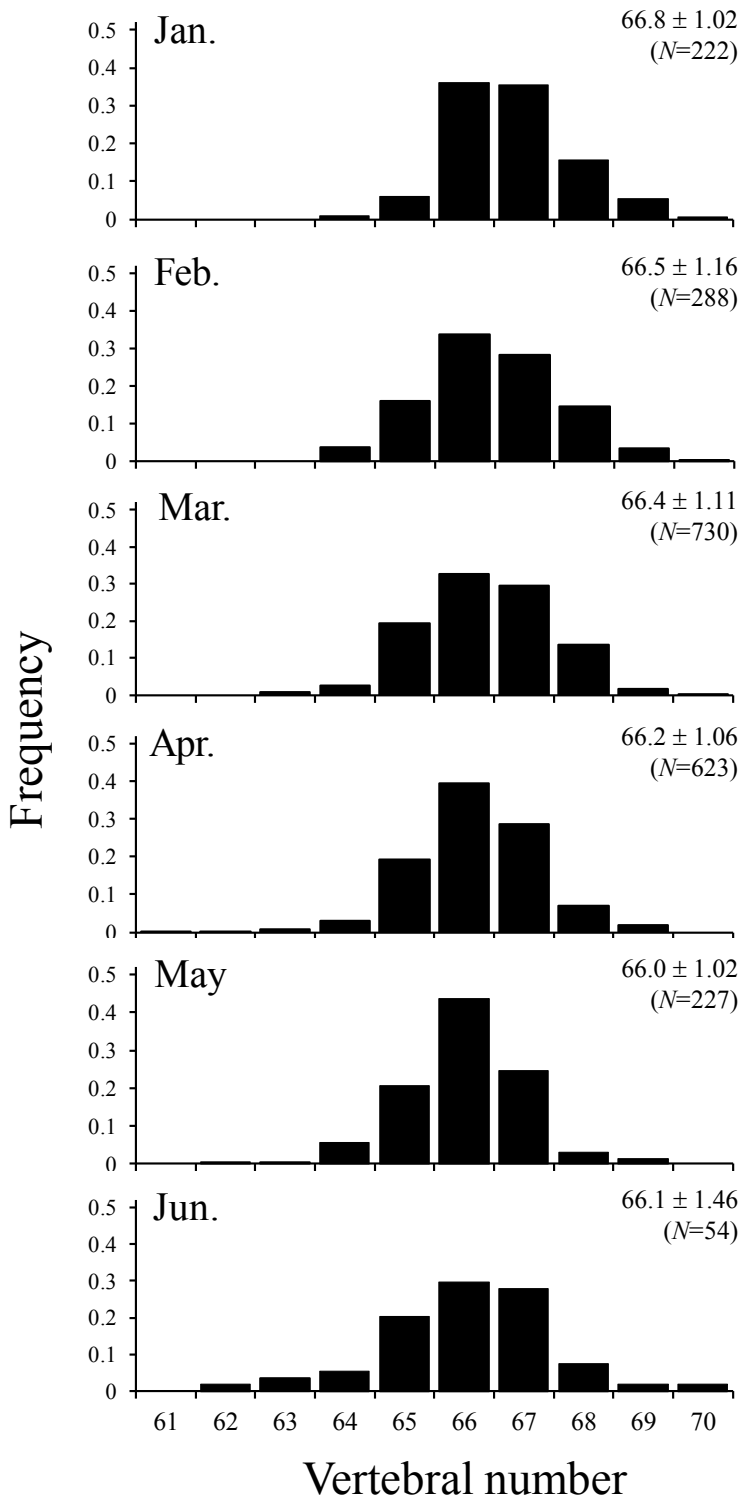


Fig. 37 Frequency compositions of vertebral number in chum salmon fry from January to June in the Izari River in 2011. The figures in the top right corner of each graph indicate mean ± standard deviation of vertebral number and sample size (*N*).

Table 17 Results for statistical analyses (P-values) using multiple comparison in mean vertebral number of chum salmon fry in the Izari River in 2011. P-values are calibrated using Bonferroni correction.

	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.
Jan.	-					
Feb.	0.02^{*}	-				
Mar.	$< 0.001^{***}$	1.00	-			
Apr.	$< 0.001^{***}$	0.01^{*}	0.12	-		
May	$< 0.001^{***}$	$< 0.001^{***}$	$< 0.001^{***}$	0.31	-	
Jun.	$< 0.001^{***}$	0.21	0.83	1.00	1.00	-

$P < 0.05^{*}$, $P < 0.001^{***}$

Table 18 Number of individuals at the time of sampling and mean fork lengths, and distribution of vertebral number of chum salmon fry in the Izari River in 2011-2012.

Sampling year	Sampling date	Water temperature (ºC)	Sampling		Analysis										
			Number of individuals		Number of individuals	Mean fork length (mm)	Vertebral number[*2]								
			Total	Less than FL 38 mm			62	63	64	65	66	67	68	69	70
2011	Dec. 16	2.7	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dec. 28	2.1	12	12	7	96.9	0	0	0	1	2	**3**	1	0	0
2012	Jan. 6	2.8	43	37	36	111.6	0	0	0	3	**21**	10	1	1	0
	Jan. 16	1.1	92	76	71	103.1	0	1	0	9	**37**	17	7	0	0
	Jan. 26	1.3	84	76	72	108.1	0	0	0	7	**32**	25	5	2	1
	Feb. 3	1.2	177	156	143	106.8	0	1	2	25	**57**	43	13	1	1
	Feb. 9	1.4	149	133	127	113.5	0	0	2	29	**57**	28	8	1	2
	Feb. 17	1.5	97	82	74	121.2	0	2	2	18	**27**	18	6	0	1
	Feb. 24	2.4	168	149	130	103.7	0	2	4	29	**49**	32	10	4	0
	Mar. 2	3.1	167	149	138	106.5	0	4	16	31	**45**	28	14	0	0
	Mar. 9	3.8	259	230	197	109.3	1	2	10	39	**80**	57	6	1	1
	Mar. 16	3.9	423	360	265	106.9	0	0	6	37	**111**	87	19	4	1
	Mar. 23	4.2	454	366	325	93.7	0	3	19	73	**136**	74	18	2	0
	Mar. 30	7.8	1782	1347[*1]	211	100.1	0	5	20	48	**75**	45	17	1	0
	Apr. 6	4.4	266	135	116	117.0	0	0	9	24	**49**	29	5	0	0
	Apr. 12	5.7	407	201	137	101.3	0	2	10	29	**55**	29	10	2	0
	Apr. 18	7.7	410	223	185	102.5	0	5	11	41	**75**	37	11	5	0
	Apr. 26	8.5	362	149	129	103.7	0	1	13	29	**47**	29	9	1	0
	May 2	10.7	236	54	53	87.2	0	1	5	7	**18**	16	5	1	0
	May 9	10.4	17	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	May 16	10.1	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	May 23	12.4	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total			5615	3947	2416	104.5	1	29	129	479	**973**	607	165	26	7

[*1] 508 fry of total 1782 fish were measured and percentage of fish with FL < 38 mm was estimated using this actual rate (384 fish with FL < 38 mm/508 fish)

[*2] Bold characters indicate modes of the distribution of vertebral number

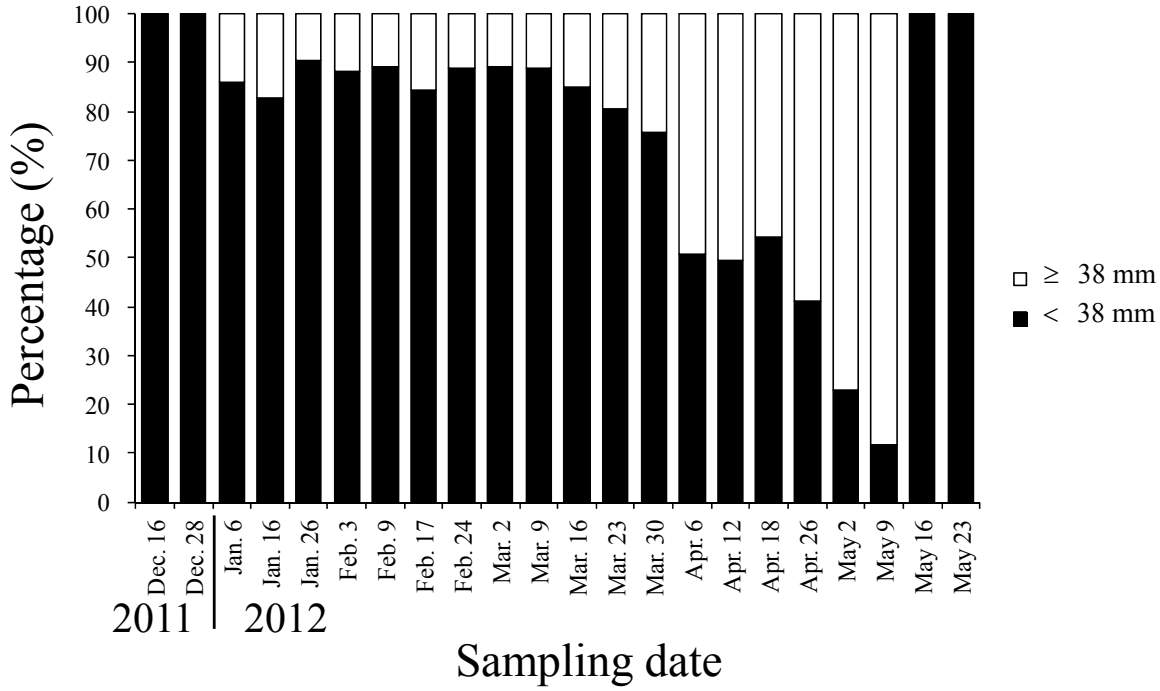


Fig. 38 Frequencey of large (38 mm over in fork length) and small (less than 38 mm in fork length) chum salmon fry in the Izari River in 2011-2012.

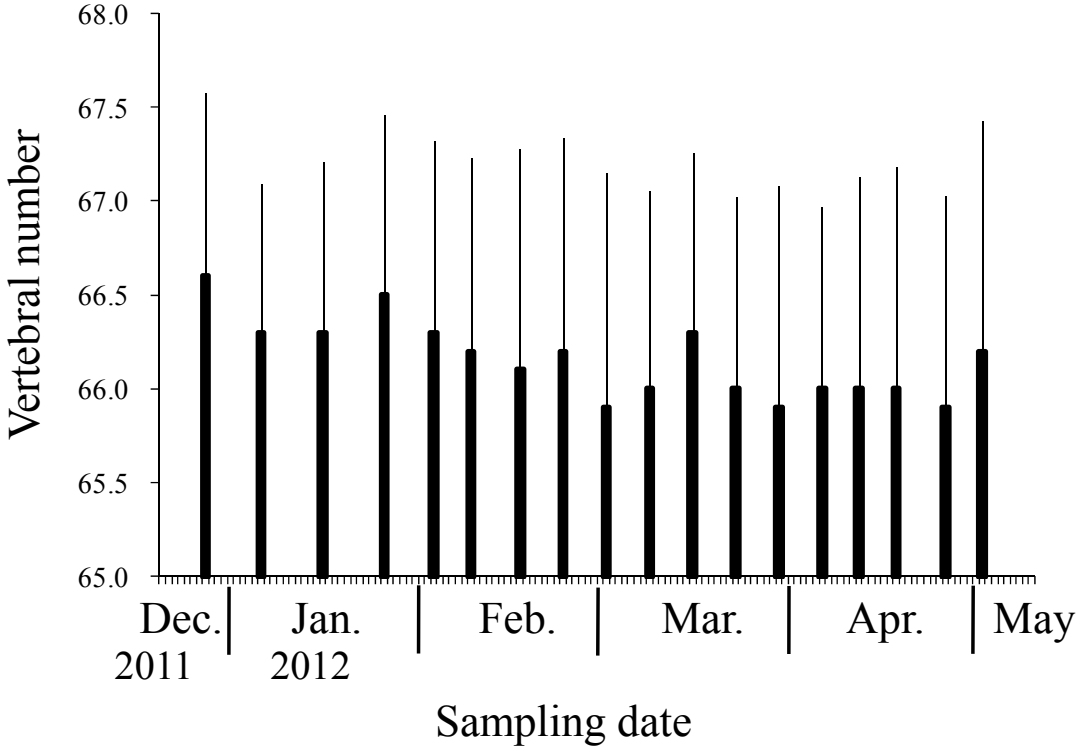


Fig. 39 Mean vertebral numbers of chum salmon fry in the Izari River in each sampling day from December, 2011 to May, 2012. Bars indicate the standard deviations.

2 月採集群で 66.2±1.08（$N = 474$），3 月採集群で 66.0±1.09（$N = 1136$），4 月採集群で 66.0±1.11（$N = 567$），5 月採集群で 66.2±1.24（$N = 53$）であり調査前半の採集月の方が後半の採集月より高い平均値を示した（Fig. 40）。脊椎骨数のモードは 12 月採集群では 67 であったが，他の採集月では 66 であり，脊椎骨数 65 にモードを示した採集月や採集日は見られなかった（Fig. 40 and Table 18）。平均値の多重比較では 1 月-3 月採集群間（$P < 0.01$），1 月-4 月採集群間（$P < 0.001$）及び 2 月-4 月採集群間（$P < 0.05$）に有意差が見られ，4 月に採集された稚魚の脊椎骨数の平均値は 1 月，2 月に採集された稚魚の脊椎骨数の平均値よりも有意に低い値となっていた（Table 19）。

考察

本研究では人工孵化放流が長期にわたって行われてきた千歳川と自然産卵が行われている漁川を主体に，遡上するサケ親魚の脊椎骨数の平均値が産卵時期の影響を受けて変化していることを明らかにした。また，採集尾数が少なく統計解析には至らなかったものの，自然産卵が行われている長都川，島松川，厚別川においても前期遡上群と後期遡上群では前期遡上群の脊椎骨数の方が多い傾向を示した。稚魚では，漁川で採集された浮上間もないと思われるサケの脊椎骨数も採集時期により変異があることを明らかにした。さらに，千歳川及び網走川のサケから得られた授精卵を同一条件下で飼育した結果では，脊椎骨数の平均値に有意差は検出されない年もあったものの，早い時期（9 月，10 月）に採卵された稚魚の脊椎骨数は遅い時期（11 月，12 月）に採卵された稚魚の脊椎骨数よりも多い傾向が見られた。これらの結果は，サケ親魚の脊椎骨数は産卵時期に影響され，遡上時期が遅くなるほど脊椎骨数が少なくなることを示している。また，稚魚においても遅い時期に産まれた稚魚は早い時期に産まれた稚魚より脊椎骨数が少なく，親魚と同様の傾向を示していると考えられた。

久保・小林（1953）は過去に千歳川に遡上するサケの脊椎骨数を調べ，体サイズ，性別，採集年や年齢，遡上時期で明確な違いが見られなかったことを報告している。本研究では産

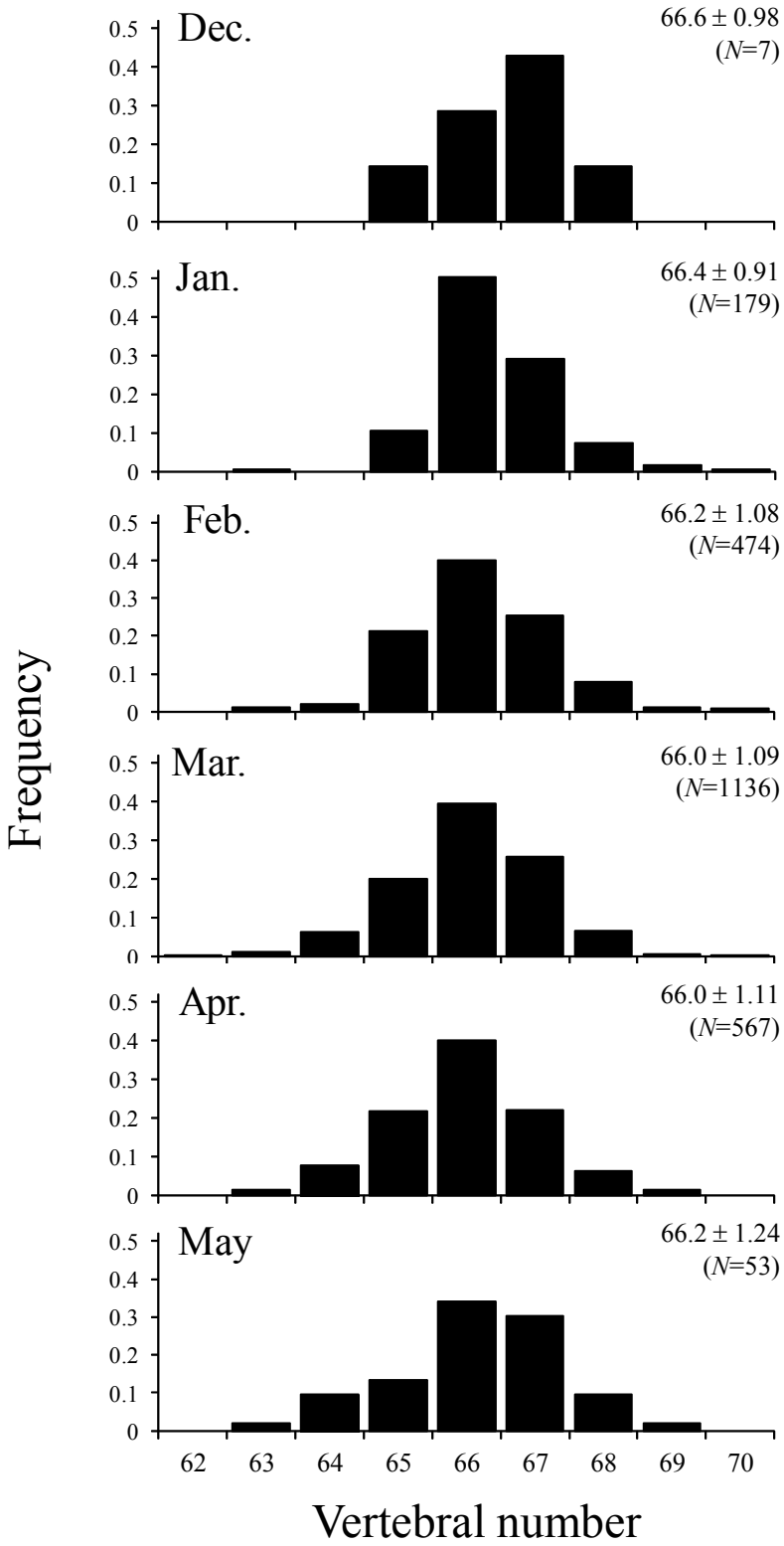


Fig. 40 Frequency compositions of vertebral number in chum salmon fry from December, 2011 to May, 2012 in the Izari River. The figures in the top right corner of each graph indicate mean ± standard deviation of vertebral number and sample size (*N*).

Table 19 Results for statistical analyses (P-values) using multiple comparison in mean vertebral number of chum salmon fry in the Izari River in 2011-2012. P-values are calibrated using Bonferroni correction.

	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May
Dec.	-					
Jan.	1.00	-				
Feb.	1.00	0.71	-			
Mar.	1.00	$< 0.01^{**}$	0.19	-		
Apr.	1.00	$< 0.001^{***}$	0.01^{*}	1.00	-	
May	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	-

$P < 0.05^{*}, P < 0.01^{**}, P < 0.001^{***}$

卵時期と脊椎骨数の変異の関連を明らかにすることを目的としたが，千歳川では 4 カ年の採集年で脊椎骨数の組成に差は見られなかった。千歳川で放流されているサケは，毎年ほぼ一定の環境下で卵の飼育が行われていることから，環境変動による影響は少なく，サケの脊椎骨数は調査年による違いはないものと考えられた。したがって，採集年における脊椎骨数の違いに関しては久保・小林（1953）の報告と同様の結果が得られたが，遡上時期に関しては異なる結果が得られた。ただし，久保・小林（1953）が調べた遡上時期は 10 月と 11 月であり，詳細な捕獲月日は不明であるが，調査間隔が短かったため差異が検出できなかった可能性も考えられる。本調査でも千歳川の親魚で 9 月と 10 月に採集された群の脊椎骨数の平均値はいずれも 65.9 であり，有意差は検出されなかった（Fig. 25 and Table 12）。したがって，調査間隔が短い場合には採集月が異なっていても脊椎骨数の分布が類似していた可能性も考えられた。また，9 月から 12 月にかけて千歳川に遡上する群の脊椎骨数の平均値は徐々に低くなっていることから，サケの形質は同一ではなく，遡上時期によって少しずつ変異していることが示された。

網走川のサケは稚魚だけのデータであり，12 月採卵群の平均脊椎骨数は少なくなる傾向を示した。ただし，平均値の多重比較では $P = 0.33$〜1.00 の範囲であり，有意差が見られなかった。したがって，脊椎骨数は千歳川同様，後期の群ほど低い傾向を示すが，石狩川水系（千歳，漁，長都，島松，厚別川）のサケほど顕著な差異を示さず，地域による違いがあるのかもしれない。

サケ属魚類の年齢や体サイズなどの形質や，鰓耙数や脊椎骨数などの計数形質は遡上時期により変異する場合があることが知られており（Beacham and Murray, 1987; Tallman and Healey, 1991; 北海道立水産孵化場，2009；北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場，2013），カラフトマスでは遡上時期の違いが計数形質の変異に強く影響している例も知られている（Ando *et al*., 2010b）。これまでに，サケの脊椎骨数は発生水温により変異することが知られているが（Beacham and Murray, 1986a; Ando *et al*., 2011），本研究では授精直後からほぼ同じ水温で飼育された千歳川のサケ稚魚においても，採卵時期により脊椎骨数の平均値や

分布に違いが見られた。2006 年の採卵群では 9 月採卵群の脊椎骨数は 10 月及び 11 月採卵群よりも有意に多く，2010 年の採卵群においては有意差が見られなかったものの，脊椎骨数のモードは 10 月及び 11 月採卵群では 66 に対し，12 月採卵群では 65 と異なっており，平均値も 12 月採卵群の方が早い時期の採卵群（10 月，11 月）よりも低い傾向を示していた。これらの結果は親魚の脊椎骨数の変異の傾向と同じであり，同一条件下の飼育でも脊椎骨数の平均値やモードは採卵時期により変化することを示唆している。同一環境下で飼育されたにも関わらず, 遅い時期の採卵群のほうが早い時期の採卵群よりも脊椎骨数が少なくなることは, 久保（1956）の報告でも示唆されている（Figs. 5 and 6）。サケは 1 回産卵で死亡するため，1 尾が時期を変えて産卵することはできず, 時期による脊椎骨数の違いは親の脊椎骨数の違い, すなわち遺伝が影響した結果と考えることができる。したがって，前期遡上群と後期遡上群の脊椎骨数の変異はもともと遺伝的要因により生じている可能性が考えられ，親魚も稚魚もその傾向は変わらないものと考えられた。

漁川で自然産卵するサケ親魚を対象に行われた脊椎骨数の調査では，9 月から 10 月に遡上する群の脊椎骨数は 66.2～66.8 と高く，11 月以降に遡上する群の脊椎骨数の平均値は 65.8～66.1 と低くなっていた。脊椎骨数は 9 月採集群で特に多く，9 月採集群のサケの脊椎骨数のモードは両年の調査ともに 67 であり, 平均値は他のいずれの採集月とも有意に異なっていた（Tables 13 and 14）。この要因として，遺伝的要因の他に前期と後期に生まれた卵の発生水温の違いが影響した可能性が考えられる。これまでに授精卵を 12～16℃の高水温で飼育すると 9℃の飼育群に比べ脊椎骨数が多くなることが飼育実験により確認されている（Ando *et al.*, 2011）。しかし，漁川のサケは自然産卵している魚であり，遺伝的要因の他に環境変動の影響も強く受けることが予想され，異なる産卵時期の親魚の脊椎骨数の変異にどちらの要因が主に関与しているのかを明らかにするのは難しい。一方で，千歳川におけるサケ親魚の脊椎骨数の平均値は 9 月から 12 月にかけて徐々に低下しており, 漁川でも同様に遅い時期の遡上群ほど脊椎骨数は少なくなっていた。すなわち，遅い時期の遡上群が早い時期の遡上群に比べて少ない脊椎骨数を持つことは, 両河川とも共通しており, また, 断片的な結果ではあるが,

他の石狩川水系（長都川，島松川，厚別川）のサケでも同様の結果が見られた（Fig. 26）。さらに，千歳川では同一条件下の飼育試験でも，採卵日が遅い群が早い時期の採卵群に比べて脊椎骨数のモードや平均値が少なくなる傾向を示し，網走川でも千歳川ほど顕著でないが，遅い時期の採卵群の方が脊椎骨数の平均値が低下する傾向を示した。また，千歳川の 9 月に採集された群が脊椎骨数 66 にモードを示したのに対し, 漁川で 9 月に採集されたサケは脊椎骨数 67 にモードを示し，千歳川に比べ脊椎骨数の多い個体が見られた。形質の変異が遺伝と環境要因により同じ方向に強めあう現象は cogradient variation として知られている（Swain *et al*., 2005）。千歳川のサケ親魚で，遅い時期の遡上群ほど脊椎骨数の平均値が少なくなり，モードも 66 から 65 へと変化する現象は，同一環境下の飼育実験でもほぼ同様の結果が得られたことから遺伝的要因による可能性が考えられた。一方，漁川において 9 月に産卵する群の脊椎骨数のモードが 67 を示したことに加え, 平均値も他の採集月よりも高い値を示したのは, もともとの遺伝的な違いの他にも，前期に産まれた卵の発生水温が高かったため，脊椎骨数がより多くなる方向に変異する cogradient variation の結果である可能性も考えられた。

漁川で採集された稚魚の脊椎骨数も採集した月が遅くなるほど平均値が少なくなる傾向を示し，2011 年調査では特にその傾向が強く，1 月に採集した稚魚の脊椎骨数は他のいずれの月の採集群とも異なっていた（Table 17）。2012 年調査では 12 月採集群は個体数が 7 個体と少なく他の月とは有意差が検出されなかったものの，1 月や 2 月に採集された稚魚の脊椎骨数の平均値は 4 月に採集された稚魚の平均値よりも高かった（Table 19）。漁川では早い時期に遡上した親魚の脊椎骨数は多かったことから，稚魚調査においても早い時期に採集されたサケ稚魚ほど, 前年の早い時期に遡上した親魚に由来している可能性も考えられた。しかし，漁川の親魚では 9 月採集群の脊椎骨数のモードは 67 にあったのに対し，稚魚では脊椎骨数 67 にモードが見られた採集日は 2011 年調査では 1 月 27 日，3 月 8 日など幾日か見られたものの，早い採集日の稚魚の脊椎骨数が常に脊椎骨数 67 のモードを示したわけではなかった。また，2012 年調査では脊椎骨数 67 にモードを示したのは 2011 年 12 月 28 日の 1 回だけであり，親魚の脊椎骨数の分布とは傾向が異なっていた。本調査では，浮上したサケ稚魚の尾叉

長を飼育試験の結果（Fig. 34）から 2011 年調査では 40 mm 未満，2012 年調査では 38 mm 未満と仮定したが，稚魚の浮上サイズは発生水温により変異することが知られており，高水温や低水温（12℃や 4℃）で発生させた稚魚は 8℃で発生させた稚魚とはサイズが異なるとされている（Beacham and Murray, 1987）。平均水温 8.4～9.5℃の湧水を用いて，漁川のサケの浮上サイズを調べた本研究では，家系としての平均尾叉長は 33.0～38.0 mm であり，個体別の最大サイズは 39.7 mm であった（Fig. 34 and Table 11）。そのため本研究では，浮上直後の体サイズとして尾叉長 40 mm 未満もしくは 38 mm 未満を設定し稚魚を抽出したが，漁川の稚魚は複雑な発生環境を経験していることが予想され，浮上サイズがもっと小さかった可能性も考えられる。漁川におけるサケの産卵床内の水温は親魚の産卵時期により異なり，早い時期（9 月）に作られた産卵床内の水温は冬期間，河川水温とほぼ同等であるが，遅い時期（11 月）に作られた産卵床内の水温は湧水の影響を受けるため河川水温とは異なり，1～2 月において河川水温が 0℃近くになるのに対し，4℃までしか下がらないことが知られている（卜部ら，2013）。そのため異なる時期に遡上する親魚から発生した稚魚の浮上サイズは一律ではなく，複雑な発生環境を経験するために変化していることも考えられる。また，稚魚では親魚の 9 月遡上群と 10 月以降の遡上群で見られたような明瞭な脊椎骨数のモードの変化が見られなかったことより，早い時期に遡上した親魚に由来する稚魚の浮上時期は複雑な環境を経験することにより，長期間にわたり分散している可能性も考えられる。さらに，2011 年と 2012 年に行った小型稚魚の出現パターンは異なっており，2011 年稚魚では最初 40 mm 未満の稚魚の比率が高く，4 月 20 日に約 40 %と低下した後，再び小型稚魚の割合が増加する二峰型の出現パターンを示したのに対し（Fig. 35），2012 年の稚魚は 38 mm 未満の稚魚の出現割合が徐々に低下していくパターンを示した（Fig. 38）。上流域で早い時期に浮上したものの，あまり成長しないで降下してきた小型の稚魚を長期間にわたり採集していたため，複数の産卵時期に由来するサケ稚魚が混合し，脊椎骨数のモードが明瞭に分かれなかった可能性も考えられる。

漁川における稚魚の脊椎骨数の平均値は 1 月，2 月には 66.2～66.8 と高く，2011 年 5 月に

は 66.0，2012 年 4 月には 66.0 と最低値を示したものの，翌月にはわずかではあるが脊椎骨数が増加に転じた（Figs. 37 and 40）。飼育水温を変えてサケの授精卵を飼育した結果では 9℃の飼育水温で脊椎骨数が最も少なくなり，4℃や 12℃以上の飼育水温では脊椎骨数が増加する V 字型曲線を示すことが知られている（Ando *et al*., 2011）。5 月に採集された稚魚は遅い時期（11 月や 12 月）に遡上した親魚から発生している可能性が考えられ，11 月に漁川で作られた産卵床内の水温が冬期間 4℃まで下がっていることと併せて考えると（卜部ら，2013），5 月や 6 月に採集された稚魚は 3 月や 4 月に採集された稚魚に比べ，発生初期の段階に低水温を経験した結果，脊椎骨数が多くなった可能性も考えられる。

千歳川で 1950 年代に調べられたサケの後期遡上群の脊椎骨数のモードは 65 にあったのに対し，前期遡上群の脊椎骨数のモードは 66 もしくは 67 にあったことが知られている（久保，1956；Ando *et al*., 2010c）。本研究で調べられた採集日では，千歳川のサケで脊椎骨数のモードが 65 にあったのは親魚では 2006 年 11 月 27 日と 2010 年 12 月 6 日に採集した群（Table 6）と稚魚では 2010 年に得られた 12 月採卵群（Table 10）であり，脊椎骨数 65 にモードを持つ群は 11 月下旬以降の遡上もしくは採卵に由来していた。千歳川の増殖事業は 1888 年から約 40 年間，12 月～1 月に遡上する群を対象にして行われ，その後，9 月～10 月に遡上する群を対象に増殖事業が行われたが，11 月には遡上尾数が著しく少なかったとされている（佐野，1982）。本研究の脊椎骨数のモードを見ると，11 月下旬に採集した親魚でも，2006 年のように脊椎骨数 65 にモードを持つ群も見られるが，2011 年のように脊椎骨数のモードが 66 である年も見られ，同じ 11 月下旬の採集魚でもモードは一定ではない（Table 6）。千歳川では，増殖事業での捕獲が終了した 12 月以降にもサケ親魚が遡上することが確認されており，そのピークは 1 月であることが報告されている（森田ら，2013b）。したがって，千歳川における生物学的な後期群がまとまって遡上するのは本調査で対象とした後期群よりさらに後である可能性も考えられる。サケの遡上は連続的であり，明確な境界があるわけではないが，1953 年 1 月に採卵したサケ稚魚の脊椎骨数のモードも 65 であったことが報告されており（久保，1956），現在，千歳川に遡上するサケ親魚の脊椎骨数のモードも前期遡上群と 1 月に遡上する

後期遡上群で異なる可能性も考えられる。一方，漁川のサケ親魚では脊椎骨数 65 にモードを持つ採集日は 2011 年の調査では見られず，2010 年の調査で何群か見られたが（Table 7），調査個体数が 10 個体以下の日であり，サンプルサイズに影響された可能性も考えられる。サケ科魚類では同じ水系内であっても支流間で遺伝的な差異があることや水温適応に差があることが知られており，支流間で異なる繁殖単位の存在が示唆されている（Kitanishi *et al*., 2009; Eliason *et al*., 2011）。漁川と千歳川は同じ石狩川の支流であるが，脊椎骨数のモードの違いには単純な発生環境の相違の他に，支流間で遺伝的に異なる繁殖単位が存在している可能性も考えられる。

本研究からサケの脊椎骨数の変異は遡上時期により変異しており，その変異はもともと遺伝的要因によって生じている可能性を示した。しかし，変異は遺伝的要因だけでは説明できず，脊椎骨数には表現型可塑性があり遡上時期（水温）の影響を受けて変異する場合もある（Ando *et al*., 2011）。サケの前期遡上群と後期遡上群では計数形質の差異だけでなく，異なる遡上時期の群から生まれた卵や稚仔魚は，低水温に対する感受性が異なっていたり，発生（発育）速度が異なることも報告されており（Tallman, 1986; Beacham and Murray, 1986b, 1987; Beacham, 1988），前期遡上群と後期遡上群は形質の差異だけでなく異なる環境に適応している可能性が考えられる。現在の増殖事業では前期，中期，後期と人為的に 3 区分した期別の下でサケの捕獲や採卵を行っており（北海道さけ・ます増殖事業協会，2007），生物学的特性に基づいた区分が存在するわけではない。しかし，サケの脊椎骨数が遡上時期により少しずつ変異しており，その背景に遺伝的要因が関与していることは，異なる時期に遡上したサケ親魚及びそれより発生した稚魚が遺伝的に異なることを示唆している。同様の傾向は自然産卵魚が見られる漁川，長都川，島松川，厚別川でも確認され，漁川の稚魚でも採集時期により形質に変異があることが確認された。これより，産卵時期の異なる稚魚の性質は一様なものではなく，増殖事業上，重要とされる成長などの他形質でも産卵時期（遡上時期）で差異が見られる可能性も考えられた。

第 5 章　自然産卵したサケにおける幽門垂数の遡上時期による変異

サケ科魚類の計数形質は，産卵時期の異なる遡上群間において変異する場合があることが知られている（Beacham and Murray, 1986a; Tallman and Healey, 1991; Ando *et al*., 2011）。サケ科魚類のうちサケの産卵時期は特に長く，8 月から翌年 2 月に及ぶ（佐野，1946; 1947; Beacham and Murray, 1987）。これまでに，自然産卵するサケの脊椎骨数は同一河川内で前期遡上群と後期遡上群で平均値が異なっていることが知られており，この原因として遺伝的要因の他に発生水温の違いが関与していることが示唆されている（Ando *et al*., 2011）。自然産卵するサケにおいて脊椎骨数以外にも，遡上時期により変異している形質を見つけることができ，かつ複数年で同様の傾向が認められれば，前期遡上群と後期遡上群の集団の違いや発生水温などの環境の違いをより正確に評価することができる。

幽門垂は硬骨魚類に特有の器官であり，食物の消化，吸収の役割を担っており，同一種内における幽門垂数の変異は多くの研究者の興味をひいてきた（Bergot *et al*., 1981a, 1981b; Ulla and Gjedrem, 1985; Choubert *et al*., 1991; Blanc and Poisson, 2006）。帰山・浦和（1990）は サケの幽門垂数は尾叉長 80 mm でほぼ定数に達することを観察し，北日本の河川に遡上した成熟魚と沿岸で採集した未成熟魚のサケの幽門垂数を調べ, その変異幅は 110～248 であったことを報告している。自然産卵するサケの脊椎骨数の変異幅が 10 以下であることに比べると（Ando *et al*., 2011），幽門垂数の変異幅は大きく，自然産卵しているサケの遡上群間の比較にも有効な形質であることが期待される。本研究は，自然産卵しているサケの幽門垂数を遡上時期ごとに調べ，遡上時期間の変異の有無を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

自然産卵の行われている河川として，千歳川支流の漁川を調査場所に選定した（Fig. 3）。

漁川は流路延長 44.8 km であり，このうち中流部の約 8 km を調査の対象区域とした。2010 年及び 2011 年の 2 ヵ年にかけて採集したサケ親魚より，幽門垂を採集した。解析は 9 月上旬から 12 月下旬までに回収した親魚を対象とし，1 カ月を 10～11 日毎に区分した旬毎（上旬，中旬，下旬）に分けて行った。期間中に解析したサケは 1 旬あたり 2～105 尾であり，2010 年は 409 尾，2011 年は 871 尾の計 1280 尾の魚を解析対象にした。

サケの死骸は産卵行動により尾鰭に損傷を受けている場合が多いため，親魚の眼の後端から尾鰭基部までの長さ（POH 長; post-orbital hypural length）を 0.1 cm 単位で測定した。また，年齢を査定するため採鱗したのち，幽門垂を慎重に胃及び腸から切り離し，10 %ホルマリンで固定した。年齢査定は小林（1961）に従い，鱗紋における休止帯の数に 1 を加えた数を年齢とした。幽門垂の計数は Zimmerman *et al*.（2005）に従い，個々の幽門垂を先端のとがったピンセットで根元から切り離し，幽門垂の長さがその直径よりも小さな突起は計数に含めなかった。定数に達した後のサケの幽門垂数には性別や体サイズの影響が認められないことが知られているため（帰山・浦和 1990），解析は雌雄を合わせて行った。

本研究では鱗から査定した年齢を用いて，2010 年に採集された 5 年魚および 2011 年に採集された 6 年魚を 2005 年級，2010 年に採集された 4 年魚および 2011 年に採集された 5 年魚を 2006 年級，2010 年に採集された 3 年魚および 2011 年に採集された 4 年魚を 2007 年級とし，幽門垂数の平均値を年級別に算出した。次に，幽門垂の平均値を旬毎に算出し，年級毎に比較した。また，漁川に遡上するサケは 9 月に遡上する前期遡上群の脊椎骨数が特に多いことが知られている（安藤ら，2014b）。前期遡上群と後期遡上群の境界時期は厳密には区別できないが，幽門垂数も便宜的に 9～10 月に遡上する前期群と 11 月以降に遡上する後期群で年級ごとに算出し，年級と遡上時期の違いが幽門垂数に与える影響を 2 元配置分散分析法で検定した。有意水準は 5 %とした。

結果

年級別に解析できた個体数は 2005 年級が 277 個体, 2006 年級が 212 個体, 2007 年級が 657 個体であり，計 1146 個体であった（Table 20）。旬別の個体数は 9 月上旬が 3 年級合計で 13 個体と少なかったものの，他の旬は 83～141 個体を解析した。POH 長は雌（N=668）が 42.5～66.5 cm，雄（N=478）が 40.5～66.5 cm の範囲であった。

幽門垂数は 112～237 の範囲であり，全期間における平均値±標準偏差は 2005 年級及び 2006 年級が同じ値を示し 162.9±22.72，2007 年級が 162.3±20.43 であり，3 年級ともにほぼ同じ値を示した。しかし，旬毎の平均値は 3 年級とも遡上時期により変化していた。すなわち，9 月から 10 月上旬にかけて 147～157 の低い平均値を示した幽門垂数は，10 月中旬から 11 月上旬にかけて 152～174 の平均値を示し，いずれの年級も高値を示した（Fig. 41）。11 月以降は 164～186 の高い平均値を示し，9 月に遡上する同年級の前期遡上群よりも平均値で 8～39 本多くなっていた。

3 年級における前期遡上群と後期遡上群の幽門垂数を比較すると，前期遡上群の平均値±標準偏差は 2005 年級が 157.7±21.28（N=180），2006 年級が 154.2±18.00（N=101），2007 年級が 156.2±18.91（N=272）であるのに対し，後期遡上群は 2005 年級が 172.6±22.19（N=97），2006 年級が 170.9±23.71（N=111），2007 年級が 166.6±20.39（N=385）であり，後期遡上群の平均値が 10.4～16.7 高くなっていた（Fig. 42）。

2 元配置分散分析法では年級間の差は見られなかったが（df=2，F = 0.11，P = 0.90），遡上時期間では有意な差が検出された（df=1，F = 104.8，P < 0.001）。また年級×遡上時期の交互作用は観察されなかった（df=2，F = 2.4，P = 0.09）。

Table 20 Number of individuals in year classes of 2005, 2006, and 2007 in the Izari River.

Sampling season		Sampling year						Year class			
		2010			2011						
		Age			Age			2005	2006	2007	Total
		3	4	5	4	5	6				
Sep.	early	0	5	6	0	2	0	6	7	0	13
	middle	0	11	54	23	6	1	55	17	23	95
	late	0	7	30	63	28	13	43	35	63	141
Oct.	early	2	3	16	63	17	5	21	20	65	106
	middle	1	5	16	59	8	13	29	13	60	102
	late	1	4	22	60	5	4	26	9	61	96
Nov.	early	4	8	26	79	9	1	27	17	83	127
	middle	8	16	14	52	1	1	15	17	60	92
	late	12	9	16	50	6	1	17	15	62	94
Dec.	early	9	13	17	55	4	0	17	17	64	98
	middle	3	11	8	56	4	1	9	15	59	83
	late	4	21	11	53	9	1	12	30	57	99
Subtotal (Sep. and Oct.)		4	35	144	268	66	36	180	101	272	553
Subtotal (Nov. and Dec.)		40	78	92	345	33	5	97	111	385	593
Total		44	113	236	613	99	41	277	212	657	1146

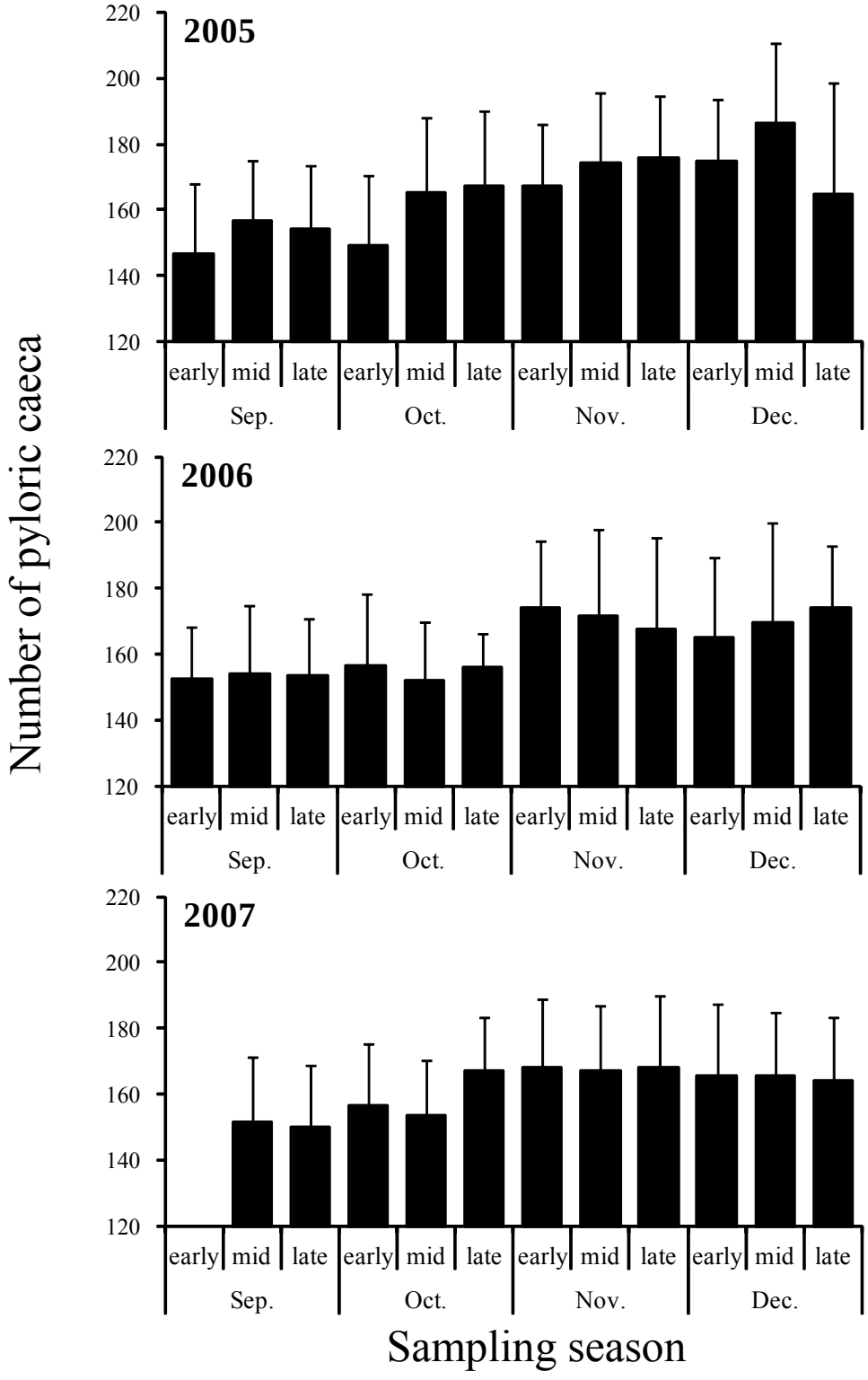


Fig. 41 Variations in the mean number of pyloric caeca of chum salmon adults collected from the Izari River for three year classes (2005–2007). Vertical bars indicate the standard deviations.



Fig. 42 Comparison in the mean number of pyloric caeca of chum salmon adults between two sampling periods for three years. Early spawning group indicates the adults collected in September and October, and late spawning group indicates the adults collected in November and December, respectively. Vertical bars indicate the standard deviations.

考察

北海道の河川に遡上するサケの幽門垂数は，これまで斜里川（Shari River, Fig. 3），十勝川，石狩川支流千歳川，遊楽部川，知内川で調べられ，その平均値は 160～164 であり，ほぼ類似した値を示している（帰山・浦和，1990）。これら河川では古くからサケの人工孵化放流が行われており，調べられたサケもその多くが孵化場で生産されたサケであったと考えられる。一方，漁川で自然産卵しているサケの幽門垂数は 9～12 月の全期間における平均値では 162～163 であり，年級間の差異はほとんど見られず，人工孵化放流が行われている河川のサケの平均値とほぼ同様であった。しかし，漁川のサケの幽門垂数は遡上時期により変異を示し，9～10 月に遡上する前期遡上群と 11 月以降に遡上する後期遡上群では幽門垂数の平均値に 10.4～16.7 本の差が見られ，後期遡上群の幽門垂数の方が多くなっていた。漁川ではこれまでに，遡上時期ごとの脊椎骨数の変異が調べられており，前期遡上群では平均値が高く，後期遡上群では低い平均値を示すことが報告されており，飼育実験の結果，脊椎骨数の変異には遺伝的要因と発生水温が影響していることが示唆されている（Ando *et al*., 2011; 安藤ら，2014b）。幽門垂数の遡上時期による変異は過去に石狩川支流の千歳川に遡上するサケで調べられ，遡上時期による違いは認められなかったと報告されている（帰山・浦和 1990）。しかし，調査時期は 9～10 月の短期間であり，本研究の調査区分ではいずれも前期遡上群に相当していることから，人工孵化放流が行われている河川に遡上するサケについても調査時期を大きく変えた検証が必要と思われる。

サケの幽門垂数の平均値は日本南部で低い値を示し，北部で高い値を示す北高南低の傾向を示すことが示されており（帰山・浦和，1990 ; 加藤，2006），この結果は高水温で発育したサケの幽門垂数は少なくなる可能性を示している。石狩川支流の豊平川で自然産卵するサケの産卵床内の水温を調べた結果によると，前期に産卵するサケの産卵床内の水温は河川水とほぼ同等の高い値を示したのに対し，後期に産卵するサケの産卵床内の水温は，河川水の水温とは同等とはならず湧水の影響を受けることが報告されている（Suzuki *et al*., 2005）。漁川

のサケでも同様の傾向が報告されていることから（卜部ら，2013），前期遡上群と後期遡上群の産卵床内の水温が異なっているのであれば，前期遡上群の幽門垂数が低い値を示し，後期遡上群が高い値を示すのは，既報の北高南低の現象とも合致すると思われる。一方，ニジマスの幽門垂数の変異には遺伝的要因が関与していることも報告されており，幽門垂数の多い雄親から作出した子供は，幽門垂数が多くなる傾向が見られることが報告されている（Bergot *et al*., 1981b）。漁川で前期と後期に遡上するサケも遺伝的に異なる集団である可能性も考えられ，サケの幽門垂数の変異にも遺伝的要因が関与している可能性も考えられる。サケの幽門垂数が決定されるのは孵化後 120 日頃であることから（帰山・浦和，1990），飼育実験による検証も必要であろう。

本研究より漁川で自然産卵しているサケの幽門垂数には遡上時期により変異があることが明らかになった。このような幽門垂数の違いを利用することで，前期遡上群と後期遡上群の集団としての違いやサケの産卵生態を明らかにできる可能性が考えられるが，遡上時期による変異が人工孵化放流魚を含めた北海道のサケに普遍的に見られる現象なのか，自然産卵しているサケに特有な現象なのかは判明しておらず，今後，検討する必要がある。

第 6 章　脊椎骨数の変異に及ぼす遺伝的影響

サケ科魚類の計数形質は水温などの環境要因により容易に変異し，遡上時期間でも変異することが知られているが（Ando *et al*., 2011；安藤ら，2013a, 2013b, 2014b），集団によりほぼ一定の値を示すことも報告されている（Ando *et al*., 2010c）。これより同一環境下での飼育が行われた場合や，自然環境下でも毎年，ほぼ一定の環境下で自然産卵が繰り返される集団において，計数形質の平均値の変動は少なく安定した形質であることが予想される。

サケ科魚類ではこれまでにギンザケ, サクラマス, ニジマス, ブラウントラウト *Salmo trutta* などで脊椎骨数の遺伝率が報告されており，0.64～0.90 の高い値を示すことが報告されている（Kirpichnikov, 1981; Leary *et al*., 1985; Nakajima *et al*., 1994; Ando *et al*., 2008a; Alho *et al*., 2011）。また，サクラマスの脊椎骨数では 1.09～1.38 と遺伝率の上限値である 1.0 を超えた値も推定された例がある（Ando *et al*., 2008b）。サケでは胸鰭鰭条数や腹鰭鰭条数，パーマークの数の計数形質の遺伝率が調べられた例があり，このうち胸鰭鰭条数の遺伝率が 1.20 と推定された例もある（Beacham, 1990）。このことは，同一環境下であればサケ科魚類の計数形質の遺伝率は高く，親から子へ遺伝している形質であることが考えられる。

脊椎骨数は遡上時期により変異する場合や，環境要因により変異する場合があるものの，同一時期に産卵する集団であれば，その地域の特性を表す形質の一つと考えることもでき，集団判別や遺伝的な集団評価にも利用できると考えられる。また，雌雄一対の交配から作出したサケの家系を同一環境下で飼育した場合でも，脊椎骨数の平均値には家系間で差異があることが報告されている（Ando *et al*., 2011）。このことは同一河川から得られた集団においても，用いる雌雄の組み合わせにより脊椎骨数が変異することを示唆しており，脊椎骨数の決定には遺伝的な影響があることを意味している。しかし，サケにおける脊椎骨数の遺伝的な評価や遺伝様式についてはこれまで明らかにされていない。

遺伝率は量的形質の変異がどの程度遺伝的要因によって決定されるかを示す指標であり，量的形質を遺伝的に評価する上で有用であり，いくつかの推定方法があることが知られてい

る（和田，1979）。ニジマスでは成長の遺伝率を異なる方法で推定し比較した例があり（工藤ら，2001），例え異なる集団であっても，いくつかの方法で同一形質の遺伝率を算出し比較することは有用であると考えられる。

本研究では，サケの計数形質の一つである脊椎骨数の遺伝率を推定し，脊椎骨数の変異に及ぼす遺伝的影響を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

脊椎骨数の親と子の比較

第 3 章で反応規格を調べた際の家系について（Fig. 20），親の脊椎骨数を取り出し計数した。計数を行ったのは家系#1～#8 の 8 家系であり，漁川が 5 家系（家系#1, #2, #3, #7, #8），千歳川が 3 家系（#4, #5, #6）である。この他に，2012 年 9 月 21 日に漁川のサケを用いて交配した家系#9 と 2012 年 10 月 23 日に千歳川のサケを用いて交配した家系#10 を作出し，合計 10 家系で親と子の脊椎骨数を比較した。なお，反応規格を調べた際には 4～16℃の水温を用いて卵の飼育を行ったが（第 3 章），子の脊椎骨数は約 9℃の水温を用いて飼育を行った群（第 3 章における 9D 飼育群に相当）のみを用いてその親と子の脊椎骨数を比較した。なお，漁川の家系#9 は家系#8 の 9D 飼育群と同条件で，また，千歳川の家系#10 は家系#4，#5，#6 の 9D 飼育群と同条件で飼育されたものである。家系#1～3 は各家系 70 尾ずつ，家系#4～6 は各家系 50 尾ずつ，家系#7 と家系#8 は 60 尾ずつの脊椎骨数のデータを用いた。漁川における家系#9 は 94 尾を，千歳川における家系#10 は 100 尾の脊椎骨数を計数し，その平均値を解析に用いた（Table 21）。

親魚の脊椎骨数（雌，雄，及び両親の中間値）と稚魚で得られた平均脊椎骨数を用いて回帰分析を行い，それぞれの相関関係を調べた。有意水準は 5 %とした。

Table 21 Comparison of vertebral number between parent and offspring in chum salmon in the Izari and Chitose rivers

Family	River	Fertilization date	Vertebral number			Offspring		
			Female	Male	Mid-parent	Number of individuals	Vertebral number	
							Mean	SD
#1	Izari R.	Sep. 11, 2009	67	68	67.5	70	66.1	0.72
#2	Izari R.	Sep. 11, 2009	68	67	67.5	70	66.6	0.88
#3	Izari R.	Sep. 11, 2009	68	66	67.0	70	67.3	0.83
#4	Chitose R.	Oct. 23, 2012	67	65	66.0	50	66.1	0.59
#5	Chitose R.	Oct. 23, 2012	65	65	65.0	50	64.3	0.86
#6	Chitose R.	Oct. 23, 2012	67	65	66.0	50	66.4	0.57
#7	Izari R.	Sep. 20, 2011	66	66	66.0	60	66.4	0.77
#8	Izari R.	Sep. 21, 2012	68	67	67.5	60	66.9	0.89
#9	Izari R.	Sep. 21, 2012	67	65	66.0	94	65.4	0.64
#10	Chitose R.	Oct. 23, 2012	66	66	66.0	100	64.8	1.23

漁川のサケを用いた脊椎骨数の比較

2010 年 9 月 17 日に千歳川支流漁川（Fig. 3）でサケの雌 2 尾（D1, D2）と雄 3 尾（S3, S4, S5）の計 5 尾を捕獲した。親魚は生かしたまま北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場へ輸送し，尾叉長と POH 長を 0.1 cm 単位で，体重を 0.01 kg 単位で測定した後，年齢査定するために，鱗を数枚採集した。その後，ただちに採卵を行った。採卵は雌 2 尾と雄 3 尾を用いた総当たり交配を行い，計 6 家系を作出した。得られた卵から 200 粒ずつを抽出し，バスケットに入れて 60ℓ水槽で湧水を用いて飼育を行った。また，採卵及び媒精に用いた親魚の脊椎を取り出して計数した。

卵は授精後 51～52 日（積算水温 503～512℃日）で 50 %が孵化し，授精後 101～105 日目（積算水温 960～995℃日）で浮上した。飼育中の水温は，データロガーで 1 時間毎に記録し 1 日の平均水温を解析に使用した。水温は 8.4～10.4℃で変動し，飼育期間中の平均は 9.5℃であった。浮上後は給餌しながら飼育を継続し，101～122 日間の飼育を行った後，無作為に 100 尾を取り上げ，尾叉長を 0.1 mm 単位で測定後，脊椎を取り出して計数した。脊椎骨数の比較は，2 元配置分散分析法（雌×雄）で行い，雌雄の影響について比較した。なお，有意水準は 5 %とした。

総当たり交配（千歳川）による脊椎骨数の遺伝率の推定

2013 年 10 月 21 日に北海道の石狩川支流千歳川に遡上した親魚から雌 5 尾，雄 5 尾をサンプリングした。親魚は前日に千歳川に遡上してきた魚であり，捕獲後直ちに北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場へ生かしたまま輸送し，室内に設置されている容積 3,000 ℓの水槽で蓄養した。10 月 23 日に，蓄養されている親魚を取り上げ，尾叉長（0.1 cm 単位）と体重（0.01 kg 単位）を測定し，雌 5 尾（F1～F）と雄 5 尾（M1～M5）の総当たり交配により 25 家系を作出した（安藤ら，2015）。交配は雌で得られた卵の総重量を秤量したのち，重量計算で約 200 粒ずつを抽出し，その卵に 0.5 cc の精子をかけることで行った。その後，9.0 ℃の湧水で 1 時間静置して吸水させた後，授精させた卵をバスケットに収容し，25 個の

60ℓ水槽に個別に収容し，流水を用いて飼育を行った。また，採卵及び媒精の終わった親魚から鱗を数枚採集し，年齢査定を行った。その後，使用した親魚の脊椎を取りだし，脊椎骨数の計数を行った。

授精から 117 日目の 2014 年 2 月 17 日（積算水温 944℃）に，浮上した各家系の稚魚のうち外見が正常な個体 100 尾を抽出して給餌飼育を開始した。飼育は浮上後 99 日間行い（2014 年 5 月 28 日まで），その後，25 家系について全ての生残尾数の尾叉長を 0.1 mm 単位で測定した後，脊椎を取りだして計数した。飼育中の水温は，自記記録計で 1 時間毎に記録し 1 日の平均水温を解析に使用した。授精から飼育終了時までの飼育水温は 7.4～9.6 ℃の範囲であり平均 8.4℃であった。

脊椎骨数の測定値を用いて，狭義の遺伝率の推定を行った。遺伝率の推定には雄成分と雌成分及び両成分の交互作用を仮定した 2 元配置分散分析法（Kirpichinikov, 1981）を用い，雌間の分散成分，雄間の分散成分，相互作用による分散成分，確率的に起こる分散成分及び全分散の 5 つの方程式を連立させて，それぞれの分散を算出して求めた（工藤ら，2001）。遺伝率は雄成分（h^2_S），雌成分（h^2_D），及び雌雄両成分（$h^2_{S,D}$）の値を推定した。また，親魚の脊椎骨数（雌，雄，及び両親の中間値）と稚魚で得られた脊椎骨数の平均値を用いて回帰分析を行い，相関の有無を検定した。有意水準は 5 %とした。

脊椎骨の計数と親魚の年齢

脊椎骨の計数は，久保・小林（1953）に従い，頭部直後の椎骨から第 1 尾鰭椎までを計数した。また，親魚の年齢は小林（1961）に従い，鱗紋の休止帯に 1 を加えた値を年齢とした。

結果

脊椎骨数の親と子の比較

親の脊椎骨数は雌で 65～68, 雄でも 65～68 の範囲であり，中間値は 65.0～67.5 であった。

しかし，漁川の中間値は千歳川より高く，中間値が 67.0 及び 67.5 を示したのはすべて漁川の個体であった（Table 21）。親子回帰による解析では，親の中間値と子の脊椎骨数の平均値には有意な正の相関関係が見られ（$r = 0.73$, $P = 0.018$），中間親の脊椎骨数が多くなるほど子の平均値も多くなっていた（Fig. 43, upper）。雌雄別に相関関係を見たところ，雌では有意な相関関係が見られ（$r = 0.84$, $P = 0.003$），雌の脊椎骨数が多くなるほど子の平均値も高くなっていた（Fig. 43, middle）。一方，雄親と子の平均値には有意な関係は見られなかった（$r = 0.40$, $P = 0.253$, Fig. 43, lower）。また，漁川と千歳川の親の中間値と子の平均値を比較すると，同じ中間値である 66.0 の子供では，漁川の平均値は 65.4（家系#9）及び 66.4（家系#7）であったのに対し，千歳川では 64.8（家系#10），66.1（家系#4），66.4（家系#6）であり，必ずしも漁川のほうが高い値を示すとは限らなかった。

漁川のサケを用いた脊椎骨数の比較

用いた親魚の尾叉長は 65.5～71.5 cm，POH 長は 54.0～58.0 cm，体重は 2.76～3.34 kg であった（Table 22）。年齢は雌の D1 のみが 4 年魚であったが，他の 4 尾は 5 年魚であった。脊椎骨数は雌 2 尾が 66, 雄 3 尾が 68 であり , 雌雄の中間値はどの組み合わせでも 67 であった。調査終了時点で，生残していた稚魚は 138～192 尾であり，生残率は 69.0～96.0 %であった。平均尾叉長は 84.7 mm（D1 × S3）から 92.0 mm（D1 × S5）の範囲であった（Table 23）。稚魚の脊椎骨数の範囲は 64～69 であり，モードはどの家系も 67 であった。平均値は 66.5～67.1 の範囲を示し（Fig. 44），全家系の平均値±標準偏差は 66.8±0.71 であった。D1 及び D2 の雌内での傾向を見ると，D1 及び D2 の雌では S5 の雄と交配した家系の平均値が低くなっているのは共通していた。しかし，D1 雌では S3 を交配させて作出した家系の平均値±標準偏差が 66.9±0.74 に対し，S4 を交配させて作出した家系では 66.8±0.74 と低くなっていたのに対し，D2 雌では S3 を交配して作出した家系の平均値が 66.9±0.76 に対し，S4 を交配して作出した家系の平均値は 67.1±0.61 であり，S4 と交配した家系の方が高い平均値を示した。2 元配置分散分析では雌間に有意差が見られ（$df = 1$, $F = 6.2$, $P = 0.013$），雄間でも雌より強い有

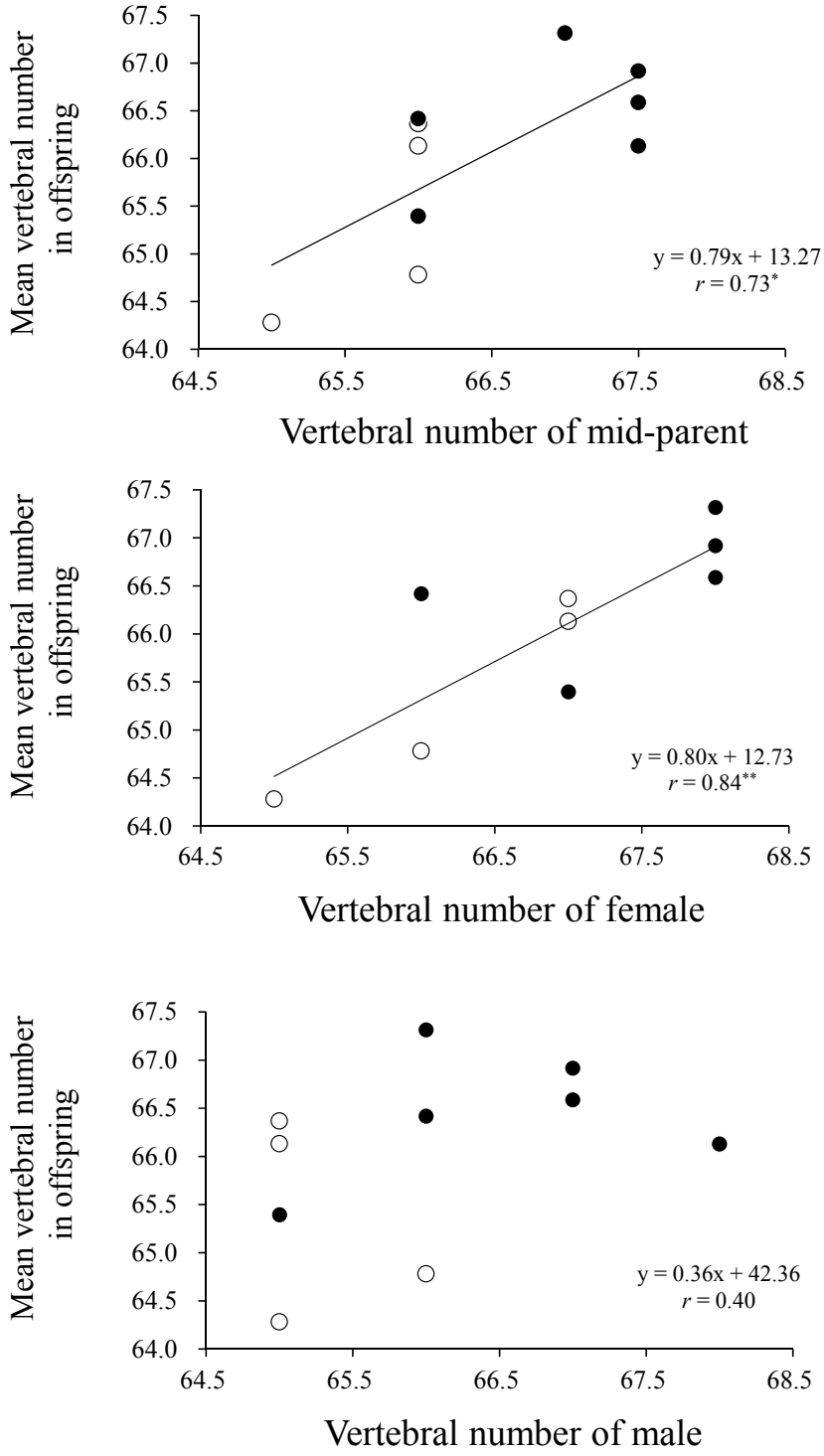


Fig. 43 Parent-offspring regression on vertebral number of chum salmon in the Izari (closed circles) and Chitose rivers (open circles). Upper; regression between mid-parent and offspring. Middle; regression between females and offspring. Lower; regression between males and offspring. Asterisks indicate significant relationship ($P < 0.05^{*}$, $P < 0.01^{**}$).

Table 22 Biological data and vertebral number of adult chum salmon used for 2 × 3 diallel cross mating design in the Izari River.

Gender	Code	Fork length (cm)	Postorbital hypural length (cm)	Body weight (kg)	Age	Vertebral number
Female	D1	65.5	54.0	2.76	4	66
	D2	68.5	54.5	3.20	5	66
Male	S3	68.0	54.5	3.18	5	68
	S4	71.5	58.0	3.20	5	68
	S5	71.5	57.0	3.34	5	68

Table 23 Fork length and distribution of vertebral number for chum salmon families in the Izari River in 2010.

Family		Number of individuals	Mean fork length ± SD (mm)	Distribution of vertebral number*					
Female ×	Male			64	65	66	67	68	69
D1	S3	100	84.7 ± 5.13	0	2	24	**54**	19	1
	S4	100	86.4 ± 4.06	0	3	28	**52**	17	0
	S5	100	92.0 ± 5.03	1	4	41	**51**	3	0
D2	S3	100	86.0 ± 3.80	0	1	30	**45**	24	0
	S4	100	85.5 ± 4.06	0	0	14	**62**	24	0
	S5	100	86.4 ± 4.40	0	0	40	**53**	7	0
Total		600	86.9 ± 4.40	1	10	177	**317**	94	1

*Bold chcracters indicate modes of the distribution of vertebral number

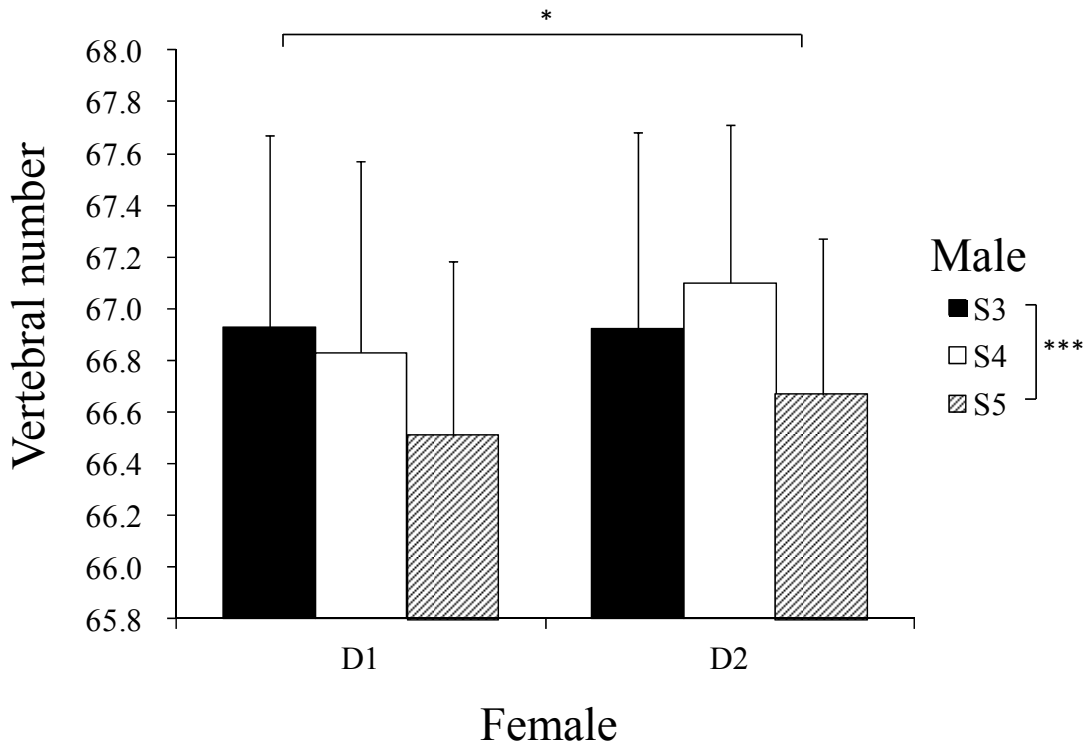


Fig. 44 Mean vertebral numbers of chum salmon fry in the Izari River. Chum salmon fry were produced using two females (D1 and D2) and three males (S3, S4, and S5) in 2010, and reared under similar conditions in the laboratory. Bars indicate the standard deviations. Asterisks indicate significant differences in mean vertebral number between females and among males according to two-way ANOVA at a $P = 0.05$ level ($P < 0.05^{*}$, $P < 0.001^{***}$).

意差が検出されたが（$df = 2, F = 17.7, P < 0.001$），雌雄間の交互作用は見られなかった（$df = 2, F = 2.1, P = 0.126$）。

総当たり交配（千歳川）による脊椎骨数の遺伝率の推定

試験に用いたサケの尾叉長は雌で 64.0～70.0 cm，雄で 64.6～70.9 cm であり，年齢は雌では 4 年魚 (F1, F4) と 5 年魚 (F2, F3, F5) が混在したが，雄では 5 尾とも 5 年魚であった (Table 24)。脊椎骨数は雌で 64～67，雄で 64～66 の範囲であった。

25 家系における 99 日目の取り上げ尾数は 89 尾 (F5 × M5) から 100 尾 (F2 × M2, F3 × M3, F4 × M4 及び F5 × M2) であり，生残率は 89～100 %であった（Table 25)。全体としては 2433 尾が生残し，生残率は 97.3 %であり良好な生残を示した。取り上げ時の尾叉長は 72.4～85.7 mm の範囲であり，25 家系全体の尾叉長の平均値±標準偏差は 78.9±5.17 cm であった。脊椎骨数は 63～69 の範囲を示し，25 家系全体でのモードは 65 であったが，家系毎に見るとモードは異なっており，雌 F1 から作出された家系（以下，関与家系と称す）のモードは全て脊椎骨数 66 であり，また，家系 F3 × M5 も脊椎骨数 66 にモードを示した。他の家系は全て脊椎骨数 65 にモードを示していた。25 家系における脊椎骨数の平均値は 64.6～66.1 の範囲を示した（Fig. 45)。このうち F1 関与家系の平均値は 65.8～66.1 の範囲であり，他の家系の平均値 64.6～65.7 よりも高値を示した。また，雄にも共通した傾向が見られ，M3 関与家系の脊椎骨数は，64.6～65.8 と同じ雌内で比較すると低い平均値を示し，M1 及び M5 の関与した家系の平均値は 64.9～66.1 であり同じ雌内で比較すると高い平均値を示していた。

親の脊椎骨数と子の脊椎骨数の平均値を比較すると，親の中間値と子の平均値を用いた解析では有意な相関関係が見られ（$r = 0.84, P < 0.001$），親の脊椎骨数が多くなるほど子の脊椎骨数も多くなる傾向が見られた（Fig. 46, upper)。雌雄別の解析では，雌親の脊椎骨数と子の平均値を用いた回帰分析では，有意な正の相関関係が見られたものの（$r = 0.84, P < 0.001$, Fig. 46, middle)，雄親の脊椎骨数と子の平均値には有意な関係は見られなった（$r = 0.27, P = 0.19$，Fig. 46, lower)。

Table 24 Biological data and vertebral number of adult chum salmon used for 5 × 5 diallel cross mating design in the Chitose River in 2013.

Gender	Code	Fork length (cm)	Age	Vertebral number
Female	F1	64.0	4	67
	F2	67.0	5	64
	F3	67.0	5	66
	F4	69.0	4	65
	F5	70.0	5	65
Male	M1	70.9	5	66
	M2	64.6	5	64
	M3	70.8	5	65
	M4	68.2	5	65
	M5	68.1	5	66

Table 25 Mean fork lengths and distribution of vertebral number for 25 chum salmon families produced using 5 × 5 type diallel cross mating design in the Chitose River in 2013.

Family		Number of individuals	Mean fork length ± SD (mm)	Distribution of vertebral number*						
Female ×	Male			63	64	65	66	67	68	69
F1	M1	97	85.7 ± 3.62	0	0	11	**63**	23	0	0
	M2	97	84.7 ± 4.04	0	0	15	**66**	16	0	0
	M3	92	82.0 ± 3.74	0	0	32	**51**	8	1	0
	M4	99	82.3 ± 4.27	0	0	23	**62**	13	1	0
	M5	97	78.3 ± 4.65	0	2	12	**59**	22	1	1
F2	M1	99	78.3 ± 4.06	1	32	**52**	12	2	0	0
	M2	100	79.0 ± 3.60	0	42	**46**	12	0	0	0
	M3	94	76.8 ± 2.91	4	37	**44**	8	1	0	0
	M4	98	75.8 ± 2.93	2	31	**56**	9	0	0	0
	M5	97	73.9 ± 3.66	2	19	**59**	17	0	0	0
F3	M1	98	82.5 ± 3.57	0	12	**54**	32	0	0	0
	M2	99	80.9 ± 3.90	0	16	**69**	13	1	0	0
	M3	100	80.8 ± 3.69	1	20	**58**	21	0	0	0
	M4	95	79.0 ± 3.80	0	12	**63**	19	1	0	0
	M5	99	74.4 ± 4.88	0	3	33	**55**	8	0	0
F4	M1	97	80.9 ± 3.31	0	5	**64**	28	0	0	0
	M2	99	80.5 ± 3.55	0	9	**70**	20	0	0	0
	M3	97	82.3 ± 4.09	0	23	**64**	10	0	0	0
	M4	100	80.7 ± 4.12	0	20	**64**	16	0	0	0
	M5	96	77.9 ± 4.22	0	5	**55**	36	0	0	0
F5	M1	99	76.6 ± 3.44	1	5	**50**	41	2	0	0
	M2	100	79.7 ± 3.61	0	15	**61**	24	0	0	0
	M3	98	72.9 ± 3.26	0	19	**61**	17	1	0	0
	M4	97	73.6 ± 3.24	0	9	**64**	23	1	0	0
	M5	89	72.4 ± 3.72	0	3	**44**	32	8	1	1
Total		2433	78.9 ± 5.17	11	339	**1224**	746	107	4	2

*Bold chcracters indicate modes of the distribution of vertebral number

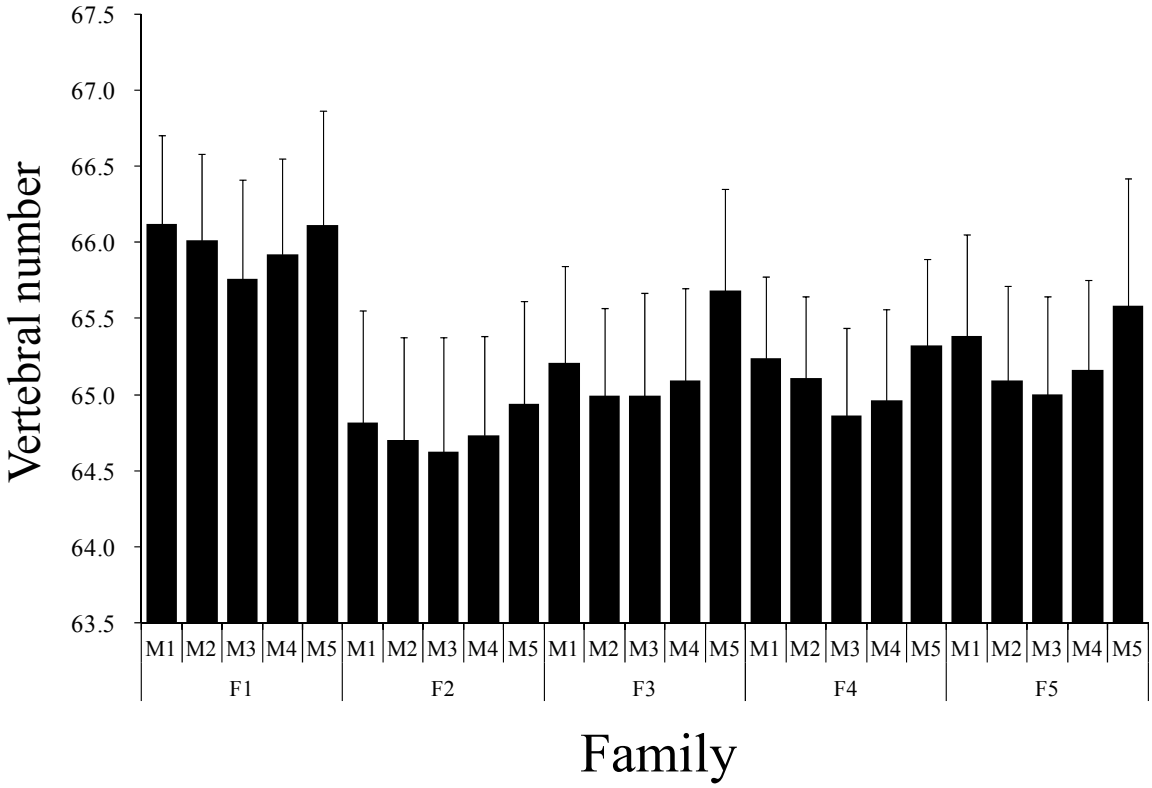


Fig. 45 Comparison in mean vertebral numbers among 25 chum salmon families produced using 5×5 type diallel cross mating design. Bars indicate the standard deviations.

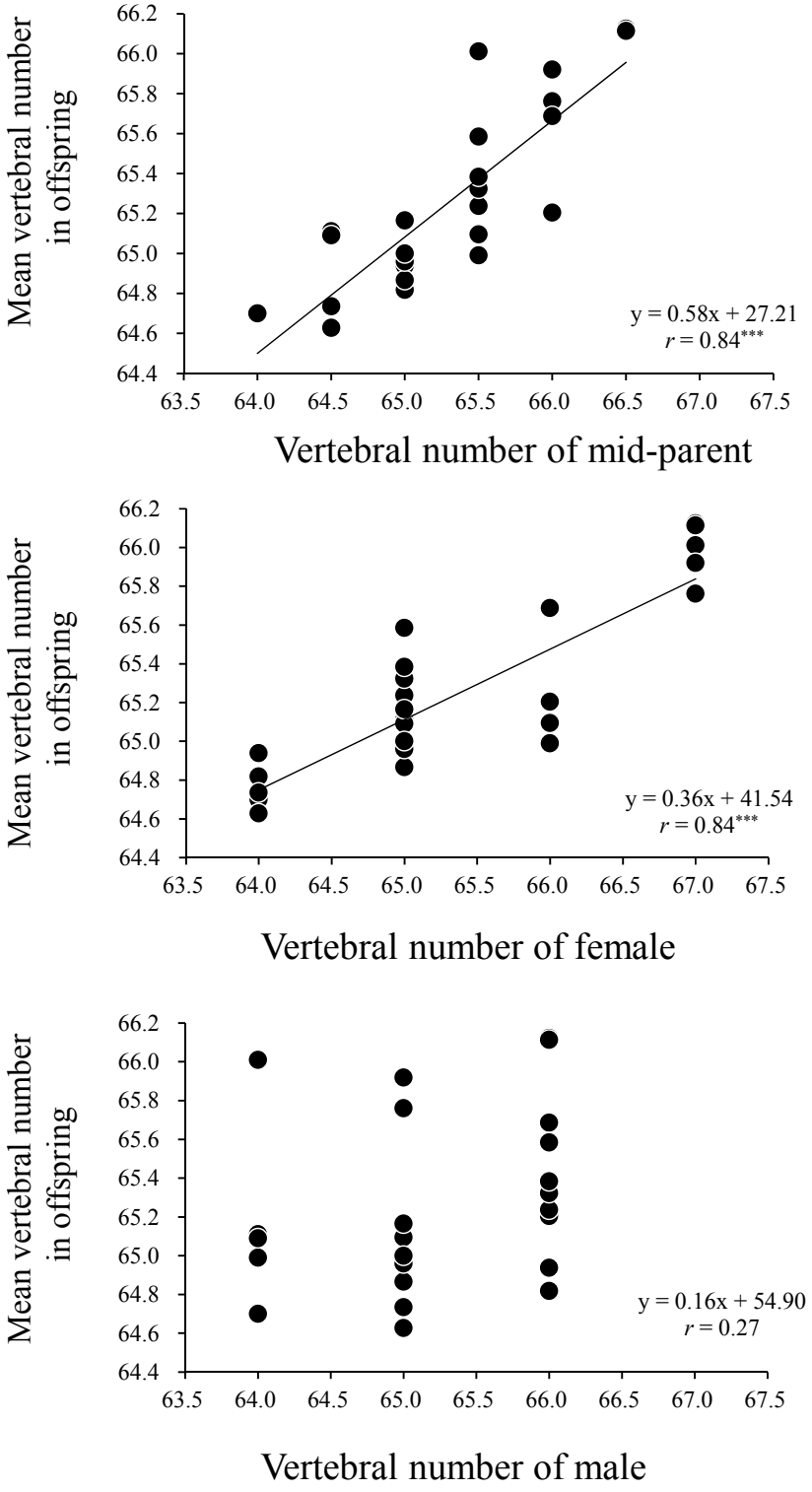


Fig. 46 Parent-offspring regression on vertebral number of chum salmon in the Chitose River. Chum salmon 25 families were produced using 5×5 type diallel cross mating design. Upper; regression between mid-parent and offspring. Middle; regression between females and offspring. Lower; regression between males and offspring. Asterisks indicate significant relationship ($P < 0.001^{***}$).

子の脊椎骨数の分散分析から求めた遺伝率は雄成分由来（h^2_S）で 0.22，雌成分由来（h^2_D）で 1.32，雌雄両成分から求めた $h^2_{S,D}$ は 0.77 と推定された（Table 26）。

考察

本研究では漁川と千歳川に遡上するサケを用いて親子回帰分析と総当たり交配から，脊椎骨数の変異に及ぼす遺伝的影響について検討した。量的形質を用いて親子回帰分析を行った場合，回帰係数を利用した遺伝率の推定が可能であることが知られている（Lynch and Walsh, 1998）。しかし，千歳川と漁川の両集団を用いた親子解析では 2 つの集団が混合していることと，交配した年が異なることから，発生環境や集団の由来が明らかに異なるため，遺伝率の推定は行わなかった。本研究では親の中間値と子の脊椎骨数の平均値には有意な正の相関がみられ，親の脊椎骨数が多いほど，子の脊椎骨数も多くなることが観察された。また，雌雄を分けた解析では雌親の影響が強く観察されたことから，子の脊椎骨数は雌により左右されることが考えられる。一方，漁川のサケの 2×3 タイプの総当たり交配では，雌雄の交互作用は見られず, 雌の影響及び雄の影響が検出された。漁川の交配実験では, 雌の脊椎骨数が 66, 雄の脊椎骨数が 68 であり，いずれの組み合わせでも中間値は 67 と同じであったにも関わらず，子の脊椎骨数の平均値は異なっていた。また，この交配では雌よりも雄の影響が強く観察された。これよりサケの脊椎骨数は両親の表現型が同じであっても，子の脊椎骨数は変異することが明らかとなった。ただし，全家系を合わせた集団の平均値は 66.8 であり，いずれの家系でもモードが 67 であったことから, 稚魚の脊椎骨数は両親の中間値に近くなる可能性も考えられた。

総当たり交配から求めた遺伝率は，雌雄両成分から求めた遺伝率は 0.77 に対し，雌及び雄単独の成分から求めた遺伝率はそれぞれ 1.32 及び 0.22 であり, 雌雄間で大きく異なっていた。これより，サケの脊椎骨数の遺伝率は 0.7 以上の値を示し，遺伝率が高い形質であることが示されたものの，雌の影響が極めて強い形質であることが示唆された。これまでに，サケ

Table 26 Complete bifactorial dispersion complex for vertebral number in chum salmon fry resulting from diallel cross of the 5 × 5 type.

Source of deviations	Sum total of the square deviation	d.f.	Mean square deviation	Ingredients of mean square deviation
Dam component	392.23	4	98.06	$\delta^2_{\omega}+n\,\delta^2_{S,D}+nb\,\delta^2_{D}$
Sire component	68.93	4	17.23	$\delta^2_{\omega}+n\,\delta^2_{S,D}+na\,\delta^2_{S}$
Interaction	15.14	16	0.95	$\delta^2_{\omega}+n\,\delta^2_{S,D}$
Random	995.11	2408	0.41	δ^2_{ω}
Total	1467.52	2432	0.60	δ^2_{ph}

n : number of indivisuals in a given offspring (harmonic mean) = 97.32

a : number of females = 5

b : number of males = 5

δ^2_{ph}: variance for all decendants = 0.60

δ^2_{w}: variance of differences within separate offspring = 0.41

$\delta^2_{S,D}$: variance of interaction between female and male = 0.01

δ^2_{S}: variance of sire component = 0.03

δ^2_{D}: variance of dam component = 0.20

h^2_{S}: heritability of sire component = $4\times\delta^2_{S}/\delta^2_{ph}$ = 0.22

h^2_{D}: heritability of dam component = $4\times\delta^2_{D}/\delta^2_{ph}$ = 1.32

$h^2_{S,D}$: heritability of sire and dam component = $2\times(\delta^2_{S}+\delta^2_{D})/\delta^2_{ph}$ = 0.77

科魚類では数種で脊椎骨数の遺伝率が推定されており，その推定方法は異なるものの，サクラマスで 0.65 及び 1.09～1.38（Ando *et al*., 2008a, 2008b），ギンザケで 0.64（Nakajima *et al*., 1996），ニジマスで 0.66（Leary *et al*., 1985）の推定値が知られている。Alho *et al*. (2011)は魚類の他に，爬虫類や哺乳類の脊椎骨数の遺伝率をレビューし，その遺伝率の平均値は 0.65 であり非常に高い値を示すことを述べている。同時にトゲウオ *Gasterosteus aculeatus* の脊椎骨数の遺伝率は 0.36 と高いものの，母性効果は関与しないことを報告している。本試験で得られた結果を見ると，遺伝率の推定値の結果からサケの脊椎骨数の決定には雌親の影響が大きいことが考えられる。しかし，漁川の 2×3 の総当たり交配の結果では，雄親が子の脊椎骨数に有意な影響を及ぼすことが確認されていることから（Fig. 44），雄についても有意な相関関係がみられなかったからと言って影響が無いわけではなく，子の脊椎骨数の決定にある程度の影響を及ぼしていると考えられた。

5×5 の総当り交配で用いた親と子の脊椎骨数の比較でも，雌親の脊椎骨数が多いほど，子の脊椎骨数も多くなる傾向が見られた。本研究は，雌 5 尾と雄 5 尾の交配であり，同じ親を用いた交配により 25 家系を作出しているため, 厳密には親子回帰による遺伝率の推定はできない。しかし，子の脊椎骨数の分散分析から求めた遺伝率の結果でも，雌 5 尾と子の脊椎骨数の回帰分析の結果においても，雌親の影響が強いことが示唆された。したがって，サケ稚魚の脊椎骨数は両親の中間値と近い値を示すことが予想されるが，雌雄別に見ると雄親との相関は認められない場合もあり，片親だけとの比較を行う場合は注意が必要である。

サクラマスでは脊椎骨数の前半（腹椎骨）と後半（尾椎骨）に負の遺伝相関があることが報告されており（Ando *et al*., 2008a），脊椎骨数を一定の範囲内に保つメカニズムの存在も示唆されている。サケではこのようなメカニズムは不明であるが，集団として見た場合，サケの脊椎骨数はほぼ一定の範囲内に収まっていることも知られているため（Ando *et al*., 2010c），サケにおいても脊椎骨数をある範囲内に保つ機能が存在している可能性も考えられた。

第 7 章　隣接する 2 河川に遡上するサケの集団判別

北海道沿岸に回帰するサケは長い増殖事業の歴史を有するため，そのほとんどが人工孵化放流に由来すると考えられてきた。しかし，近年の調査により多くの河川で自然産卵を行うサケの存在が確認されている（宮腰ら，2011b, 2012；Miyakoshi *et al*., 2012；森田ら，2013a, 2013b）。これまでに北海道のサケの集団評価には形態比較の他にタンパク質の酵素解析や DNA 解析による遺伝的比較が用いられてきたが, サケの増殖事業（親魚の捕獲や稚魚の放流）が行われている河川（以下，放流河川）を中心に調べられており（木島・藤尾，1979；Sato *et al*., 2001; 今井ら，2007；Beacham *et al*., 2008, Yokotani *et al*., 2009），増殖事業を行っていない河川（以下，非放流河川）に遡上し，自然産卵しているサケの由来はわかっていない。これまでにサケの脊椎骨数や幽門垂などの計数形質が水温のような環境要因により影響を受けるとともに，遡上時期により変異していることが明らかとなっている（Ando *et al*., 2011; 安藤ら，2013b, 2014b）。また，これら計数形質の他に，同じサケ属魚類であるサクラマスやカラフトマスでは鰓条数や鰓耙数のような計数形質も発生水温による影響を受けると共に，遡上時期により変異する場合があることも報告されている（Ando *et al*., 2010a, 2010b）。したがって，サケの計数形質を河川間の比較や集団判別に用いる場合，同時期に遡上する集団を用いて比較を行うことが重要となる。

一方, DNA マーカーを用いた集団評価は計数形質のように環境による影響を受けない利点を有している。しかし，これまでにサケの遡上（回帰）時期は遺伝的に支配されていると考えられており，サケは卵が授精した時期により，その稚魚が親になって回帰し，河川で成熟する時期がほぼ決まっていることが知られている（小林，1985; 高橋，2009; 高橋，2013）。したがって，同じ時期に遡上する集団は世代が変わっても，遺伝的特性を引き継いでいることが考えられ，DNA マーカーを用いた集団比較においても，同一時期に遡上した集団を用いた解析を行うことが望ましい。

本研究では、サケの稚魚放流が事業規模で行われていない非放流河川と大規模に行われて

いる放流河川を対象とし，ほぼ同じ時期に遡上したサケ親魚を形態及び遺伝的手法を用いて比較し，計数形質の有用性と利用価値について検討を行った。

材料と方法

調査時期

北海道の日本海側中央部に位置する石狩川支流の千歳川と千歳川の支流である漁川の 2 河川を調査の対象とした（Fig. 3）。漁川については，戦前から戦後にかけて（1941～1954 年）サケの増殖事業が行われた記録がある（北海道鮭鱒ふ化放流百年記念事業協賛会，1988）。現在，増殖事業は行われていないが，自然産卵しているサケが確認されており、その盛期は 9 月であることが報告されている（Miyakoshi *et al.*, 2012）。一方，千歳川には毎年約 3,000 万尾の稚魚が放流されており，増殖事業に用いる親魚の捕獲は通称インディアン水車と呼ばれる捕獲トラップを用いて 8 月から 12 月まで行われている（北海道さけ･ます増殖事業協会, 2007）。北海道さけ・ます増殖事業協会の集計から最近 10 年（2004～2013 年）の捕獲状況をまとめると，遡上盛期は捕獲の状況に左右され，9 月上旬から 11 月上旬と変動があるが，10 月に遡上のピークを持つことが多い。しかし，本研究では漁川で多くの自然産卵している個体を確保するため，漁川の遡上盛期に合わせ，千歳川においても 9 月～10 月上旬に捕獲された魚を解析対象とした。親魚の採集は漁川では刺網を用いて生きている親魚を捕獲するとともに，産卵後の死骸を回収した。千歳川においては増殖事業のための採卵，媒精に用いた死骸（採卵ガラ）をサンプルとして用いた。

DNA マーカーを用いた遺伝的比較

2008 年 9 月中～下旬（$N = 37$），2009 年 9 月中旬（$N = 40$），2010 年 9 月中～下旬（$N = 35$）に漁川に遡上したサケ親魚を捕獲し，生きている個体から一部の鰭を切除した。なお，これら期間において一度のサンプリングで十分な個体数を得られない場合もあり，サンプリング

は期間中に何度か行った。千歳川では日本海さけ・ます増殖事業協会から捕獲した親魚の供与を受け，魚体を北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場に持ち帰り，その一部から鰭を切除した。千歳川のサンプリングは 2008 年 9 月 29 日（$N = 42$），2009 年 10 月 7 日（$N = 38$），2010 年 10 月 1 日（$N = 37$）に行った。千歳川のサンプリングを行った日は増殖事業のために，採卵が行われた時であり，実際に河川に遡上しトラップで捕獲された日はこれより数日前である。得られた鰭から DNA を抽出し，漁川と千歳川の集団の遺伝組成を比較するため，*Oke4*, *Oke11*, *One101*, *One102*, *One114*, *Oki2*（Smith *et al*., 1998; Olsen *et al*., 2000; Buchholts *et al*., 2001）の 6 座の msDNA 領域を分析に用いた。各座位におけるアリルリッチネス，ヘテロ接合体の観察値（H_o）と期待値（H_e）を求めたのち，Hardy-Weinberg 平衡（HWE）から有意に逸脱しているかを検定した。また，漁川と千歳川の 3 カ年のデータを合わせて，AMOVA 分析で集団間及び採集年のアリル出現頻度の差異を比較した。なお，解析にはオンライン上の統計ソフトを利用し，HWE の検定には GENEPOP ver. 3.4 （Raymond and Rousset, 1995），アリルリッチネスの計算には F-stat ver. 2.9.3.2 （Goudet, 1995, 2001），AMOVA 分析には Alrequin ver. 3.11 （Excoffier *et al*., 2005）を用いて解析を行った。

計数形質の比較

計数形質のうち，背鰭鰭条数，胸鰭鰭条数，尻鰭鰭条数，幽門垂数，鰓耙数，脊椎骨数の 6 形質を解析対象とした。2008～2010 年にはこれら 6 形質全ての解析を行った。解析に使用したサケは msDNA 解析に用いたサンプルの他に，漁川においては産卵後の死骸を集めて解析に加え，千歳川では msDNA 解析に用いなかった親魚も計数形質の解析対象に加えた。また，2007 年には幽門垂数を除いた 5 形質の解析を行い，2011 年及び 2012 年には鰓耙数と脊椎骨数の 2 形質のみ解析を行った（Table 27）。漁川では産卵後の死骸を解析に用いたため，全ての形質を利用できない場合もあった。したがって，解析に用いた個体数は採集年及び各形質により異なっており，漁川で各年 33～215 個体，千歳川で各年 50～61 個体を解析した。

鰓耙数の計数は痕跡的な突起も一つとして計数し，幽門垂数の計数は Zimmerman *et al*.

Table 27 Meristic characters and number of individuals of chum salmon adults analyzed for comparison between Izari and Chitose rivers. Fish were captured from September to early October in each sampling year.

Traits	Sampling year	Number of individuals		
		Izari River	Chitose River	Total
Dorsal fin rays	2007	72	59	131
	2008	48	59	107
	2009	100	61	161
	2010	121	58	179
	Total	341	237	578
Pectoral fin rays	2007	72	59	131
	2008	48	59	107
	2009	100	61	161
	2010	121	58	179
	Total	341	237	578
Anal fin rays	2007	72	59	131
	2008	48	59	107
	2009	100	61	161
	2010	118	58	176
	Total	338	237	575
Pyloric caeca	2008	47	58	105
	2009	73	56	129
	2010	117	58	175
	Total	237	172	409
Gill raker	2007	72	59	131
	2008	48	59	107
	2009	100	61	161
	2010	119	60	179
	2011	215	60	275
	2012	61	50	111
	Total	615	349	964
Vertebrae	2007	72	59	131
	2008	48	59	107
	2009	100	61	161
	2010	105	59	164
	2011	209	60	269
	2012	33	50	83
	Total	567	348	915

(2005) の計数方法に，脊椎骨数は久保・小林（1953）の計測方法に従った。鰭条数は各鰭を魚体から切り取ったのち，熱湯につけて余計な肉を取り除き肉眼で直接，鰭条数を計数した。その際，胸鰭は鰭条の全数を計数し，背鰭及び尻鰭鰭条数は最後の分岐した条数は一つとして計数した（Hikita, 1962）。得られた計数形質の値を 2 元配置分散分析法（採集年×河川）にて検定を行った。なお，有意水準は 5 %とした。次に，2 元配置分散分析で河川間に強い有意差（$P < 0.001$）が見られた形質のみを抽出し，そのうちの 2 形質を用いて，集団の平均値を用いて判別分析を行った（集団レベルでの判別分析）。また，集団レベルでの判別分析で用いた計数形質を用いて，個体判別を行った（個体レベルでの判別分析）。個体レベルでの判別分析では 2 形質の組み合わせの他，集団レベルでの判別分析の際に用いた形質全てを用いた解析も行った。判別得点を個体ごとに求め，漁川に遡上したサケ親魚を漁川由来と判定できた割合および千歳川に遡上したサケ親魚を千歳川由来と正しく判定できた割合を正判別率として計算し，比較した。なお，判別分析では分散共分散行列が等分散の場合には線形判別関数を，等分散でない場合には 2 次判別関数を用いた。

結果

遺伝解析

各座位で確認されたアリル数は *Oke11* の 3.6 個から *One114* の 22.4 個の範囲であり，6 座の平均では千歳川で 11.8～13.4 個，漁川で 11.3～12.8 個であった（Table 28）。これら 6 座におけるヘテロ接合体率の観察値の平均値は千歳川で 0.69～0.73，漁川で 0.68～0.71 の範囲であった。HWE からの逸脱を検定したところ，2008 年に採集した漁川における *One101* 及び 2009 年に採集した漁川における *One114* でのみ有意な逸脱が見られたが，全体としては HWE からの逸脱は見られなかった（$P = 0.13$～0.81）。

漁川と千歳川で異なる年に採集した集団をグループとして，河川間の遺伝子頻度を比較したところ，河川間に有意な差異は見られず（$P = 0.30$），また，同一河川内での採集年間にも

Table 28 Genetic variabilities in two chum salmon populations (Izari and Chitose rivers) for three years.

Locus		2008		2009		2010	
		Chitose R.	Izari R.	Chitose R.	Izari R.	Chitose R.	Izari R.
		N = 42	*N* = 37	*N* = 38	*N* = 40	*N* = 37	*N* = 35
Oke4	Allelic richness	5.7	5.0	6.9	4.0	5.3	4.1
	He	0.18	0.13	0.37	0.25	0.23	0.19
	Ho	0.17	0.14	0.42	0.25	0.22	0.20
	P-value	0.29	1.00	1.00	0.39	0.31	1.00
Oke11	Allelic richness	4.0	6.0	4.0	4.9	3.8	3.6
	He	0.46	0.60	0.54	0.47	0.53	0.45
	Ho	0.48	0.73	0.45	0.48	0.51	0.37
	P-value	1.00	0.09	0.39	0.58	0.96	0.47
Oki2	Allelic richness	15.3	15.9	15.9	16.0	13.8	15.3
	He	0.89	0.89	0.91	0.93	0.90	0.92
	Ho	0.86	0.92	0.89	0.93	0.92	0.91
	P-value	0.42	0.86	0.11	0.28	0.90	0.02
One101	Allelic richness	10.6	8.0	13.9	12.6	10.7	12.3
	He	0.75	0.70	0.82	0.82	0.80	0.81
	Ho	0.79	0.57	0.76	0.75	0.89	0.86
	P-value	0.16	0.049*	0.51	0.37	0.86	0.58
One102	Allelic richness	20.2	21.0	21.8	17.7	20.0	16.6
	He	0.93	0.94	0.94	0.93	0.95	0.93
	Ho	0.98	0.95	0.97	0.88	0.92	0.86
	P-value	0.83	0.07	1.00	0.28	0.32	0.08
One114	Allelic richness	22.4	19.0	17.9	21.5	17.3	16.1
	He	0.94	0.92	0.94	0.94	0.95	0.93
	Ho	0.90	0.95	0.89	0.85	0.89	0.86
	P-value	0.20	0.62	0.44	0.039*	0.29	0.67
Mean	Allelic richness	13.0	12.5	13.4	12.8	11.8	11.3
	He	0.69	0.70	0.75	0.72	0.72	0.71
	Ho	0.69	0.71	0.73	0.69	0.73	0.68
Total	*P*-value	0.49	0.13	0.67	0.17	0.81	0.18

$P < 0.05^{*}$: Significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium

有意な差異は見られなかった（$P = 0.07$）（Table 29）。

計数形質の比較

背鰭鰭条数の変異は 13～16 の範囲であり, 平均値は漁川で 14.1～14.5, 千歳川で 13.9～14.3 であった（Fig. 47）。全体としての平均値±標準偏差は漁川で 14.2±0.62（$N = 341$），千歳川で 14.1±0.67（$N = 237$）であり，平均値には河川間（$df = 1, F = 4.5, P = 0.04$）及び採集年間（$df = 3, F = 7.9$，$P < 0.001$）で有意な差異が認められた。ただし，河川×採集年の交互作用は認められなかった（$df = 3, F = 1.0$，$P = 0.39$）（Table 30）。

胸鰭鰭条数の変異は 13～17 の範囲であり, 平均値は漁川で 15.0～15.5, 千歳川で 15.2～15.5 であった（Fig. 48）。全体としての平均値±標準偏差は漁川で 15.3±0.69（$N = 341$），千歳川で 15.4±0.66（$N = 237$）であり，平均値には河川間（$df = 1, F = 0.8, P = 0.37$）に差が見られなかったが，採集年間（$df = 3, F = 7.6$，$P < 0.001$）で有意な差異が認められた。また，交互作用も認められた（$df = 3, F = 2.8$，$P = 0.04$）。

尻鰭鰭条数の変異は 15～20 の範囲であり, 平均値は漁川で 17.2～17.5, 千歳川で 17.3～17.5 であった（Fig.49）。全体としての平均値±標準偏差は漁川で 17.4±0.78（$N = 338$），千歳川で 17.4±0.74（$N = 237$）であり，平均値には河川間（$df = 1, F = 1.3, P = 0.26$）に差が見られなかったが，採集年間（$df = 3, F = 4.8$，$P < 0.01$）で有意な差異が認められた。また，交互作用は見られなかった（$df = 3, F = 0.3$，$P = 0.85$）。

幽門垂数の変異は 112～221 の範囲であり，平均値は漁川で 150.0～157.2，千歳川で 160.2～162.1 の範囲であった（Fig. 50）。全体としての平均値±標準偏差は漁川で 154.1±18.26（$N = 237$），千歳川で 161.1±18.11（$N = 172$）であり，千歳川の方が多い値を示した。平均値には河川間（$df = 1, F = 13.9, P < 0.001$）に差が見られたが，採集年間（$df = 2, F = 2.7$，$P = 0.07$）には有意差は見られなかった。また，交互作用も見られなかった（$df = 2, F = 0.8$，$P = 0.44$）。

鰓耙数の変異は 20～27 の範囲であり，平均値は漁川で 23.0～23.3，千歳川で 23.3～23.8 の範囲であり（Fig. 51），千歳川の方が高い値を示した。全体としての平均値±標準偏差は漁

Table 29 Analysis of molecular variance (AMOVA) between two groups (Chitose and Izari rivers) in chum salmon adults.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	*P*-value
Among groups	1	3.163	0.003	0.12	0.30
Among populations within groups	4	10.229	0.005	0.25	0.07
Individuals within populations	452	970.385	2.147	99.63	
Total	457	983.777	2.155		

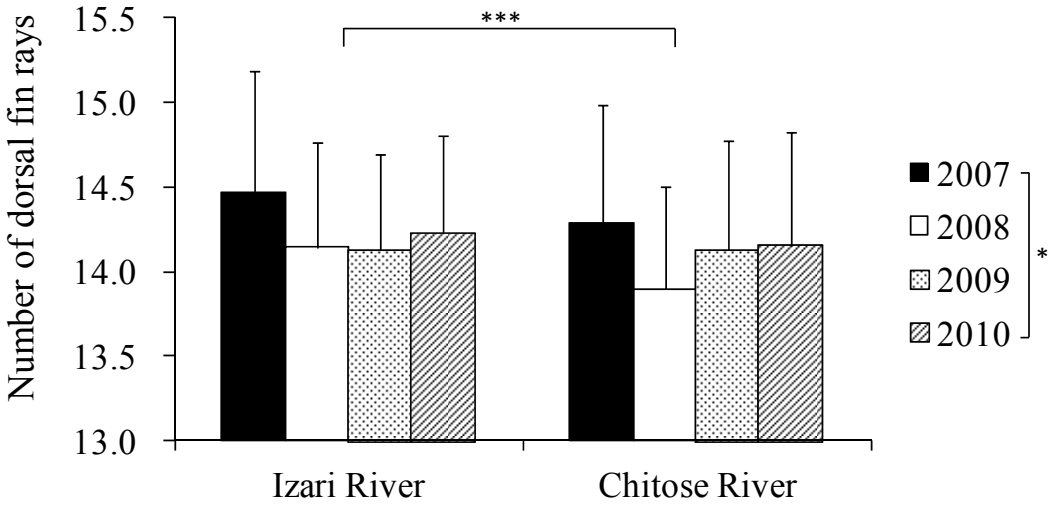


Fig. 47 Mean ± standard deviation of number of dorsal fin rays in chum salmon adults in the Izari- and Chitose rivers for four years. Asterisks indicate significant difference between rivers and among sampling years, respectively ($P < 0.05^{*}$, $P < 0.001^{***}$).

Table 30 Range of variations of each traits and *P* -values judged by two-way ANOVA in six meristic characters for chum salmon adults between Chitose- and Izari rivers.

Traits	Range	Number of variations	*P* - values		
			Between populations	Among sampling years	Interaction (population × sampling year)
Dorsal fin rays	13-16	4	0.04^{*}	$< 0.001^{***}$	0.39
Pectoral fin rays	13-17	5	0.37	$< 0.001^{***}$	0.04^{*}
Anal fin Rays	15-20	6	0.26	$< 0.01^{**}$	0.85
Pyloric caeca	112-221	110	$< 0.001^{***}$	0.07	0.44
Gill raker	20-27	8	$< 0.001^{***}$	$< 0.001^{***}$	0.05^{*}
Vertebrae	63-70	8	$< 0.001^{***}$	$< 0.01^{**}$	0.39

Asterisks indicate significant difference ($P < 0.05^{*}$, $P < 0.01^{*}$, and $P < 0.001^{***}$)

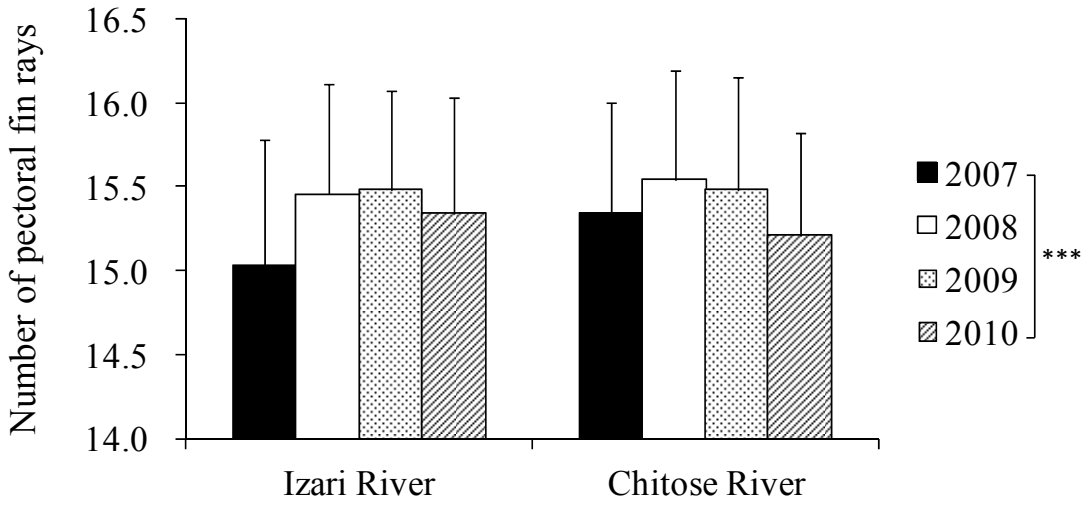


Fig. 48 Mean ± standard deviation of number of pectoral fin rays in chum salmon adults in the Izari- and Chitose rivers for four years. Asterisks indicate significant difference among sampling years ($P < 0.001^{***}$).

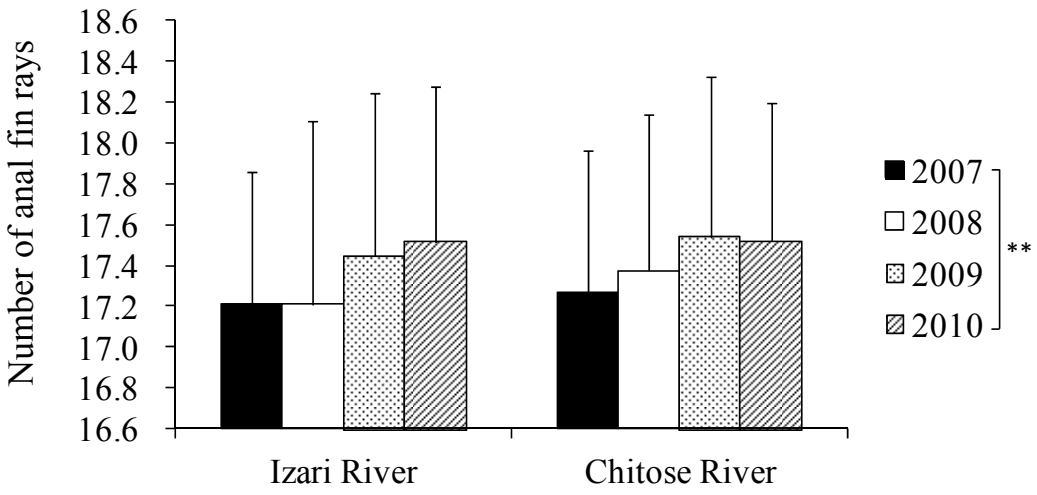


Fig. 49 Mean ± standard deviation of number of anal fin rays in chum salmon adults in the Izari- and Chitose rivers for four years. Asterisks indicate significant difference among sampling years ($P < 0.001^{***}$).

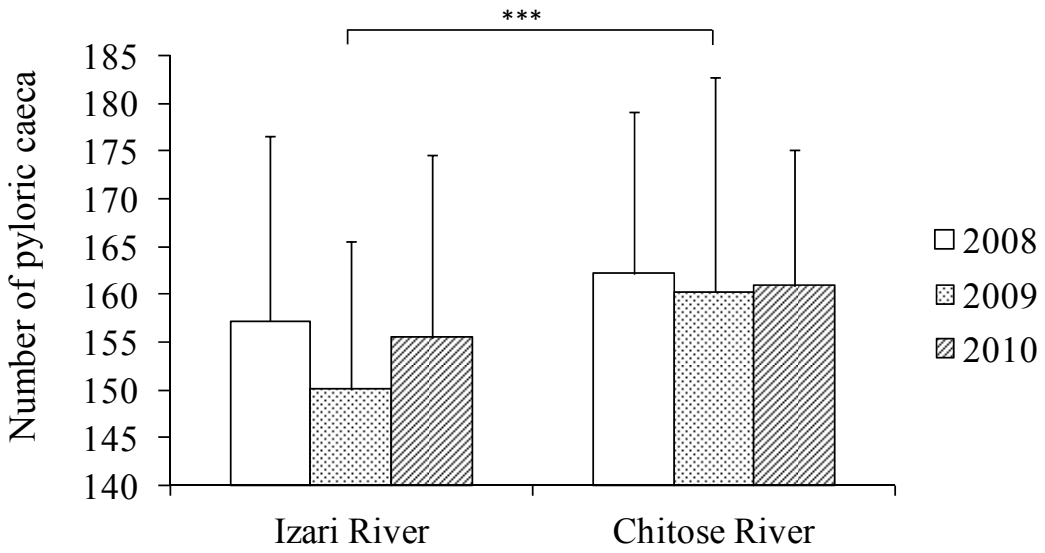


Fig. 50 Mean ± standard deviation of number of pyloric caeca in chum salmon adults in the Izari- and Chitose rivers for three years. Asterisks indicate significant difference between rivers ($P < 0.001^{***}$).

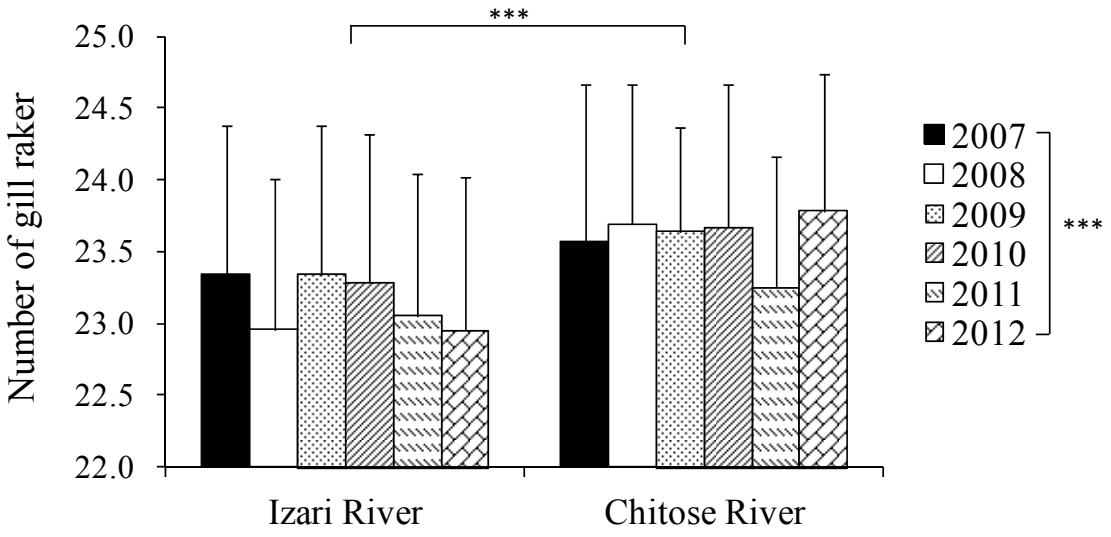


Fig. 51 Mean ± standard deviation of number of gill rakers in chum salmon adults in the Izari- and Chitose rivers for six years. Asterisks indicate significant difference between rivers and among sampling years, respectively ($P < 0.001^{***}$).

川で 23.2±1.03（$N = 615$），千歳川で 23.6±0.96（$N = 349$）であった。平均値には河川間（$df = 1, F = 34.8, P < 0.001$）及び採集年間（$df = 5, F = 4.2$，$P < 0.001$）に有意差が見られ，また，交互作用も認められた（$df = 5, F = 2.3$，$P = 0.05$）。

脊椎骨数の変異は 63～70 の範囲であり，平均値は漁川で 66.6～66.9，千歳川で 65.9～66.2 の範囲であり（Fig. 52），漁川の方が高い値を示した。全体としての平均値±標準偏差は漁川で 66.7±1.05（$N = 567$），千歳川で 66.0±0.92（$N = 348$）であった。平均値には河川間（$df = 1, F = 102.6, P < 0.001$）及び採集年間（$df = 5, F = 3.4$，$P < 0.01$）に有意差が見られたが，交互作用は見られなかった（$df = 5, F = 1.1$，$P = 0.39$）。

計数形質を用いた判別分析

計数形質の河川間での有意差は幽門垂数（PC），鰓耙数（GR），脊椎骨数（VN）の 3 形質で強く観察されたため（Table 30），これら 3 形質のうち 2 つの形質を用いて判別分析を行った。分散共分散分析の等分散性を求めたところ，いずれの 2 形質の組み合わせでも等分散であったため（$P = 0.19$～0.89），線形判別分析を行い，以下の判別関数が得られた。

$Z_1 = 45.14VN - 9.91GR - 2764.33$（Fig. 53）

$Z_2 = -60.08GR - 2.48PC + 1796.84$（Fig. 54）

$Z_3 = 50.47VN + 0.47PC - 3426.95$（Fig. 55）

脊椎骨数と鰓耙数を用いた判別式（Z_1）では，脊椎骨数の係数は有意であったが（$P < 0.001$），鰓耙数の計数は有意に集団判別に効いていなかった（$P = 0.39$）。鰓耙数と幽門垂数を用いた判別式（Z_2）では，鰓耙数の係数は有意であったが（$P = 0.03$），幽門垂数の係数は有意に集団判別に効いていなかった（$P = 0.10$）。脊椎骨数と幽門垂数を用いた判別式（Z_3）では，脊椎骨数の係数は有意であったが（$P = 0.05$），幽門垂数の係数は有意に集団判別に効いていなかった（$P = 0.77$）。しかし，いずれの 2 形質の組み合わせを用いても，集団間の正判別率は 1.00 であり，誤判別された集団は見られなかった。

また，幽門垂数，鰓耙数，脊椎骨数のうち 2 つの形質を用いて，個体レベルでの判別分析

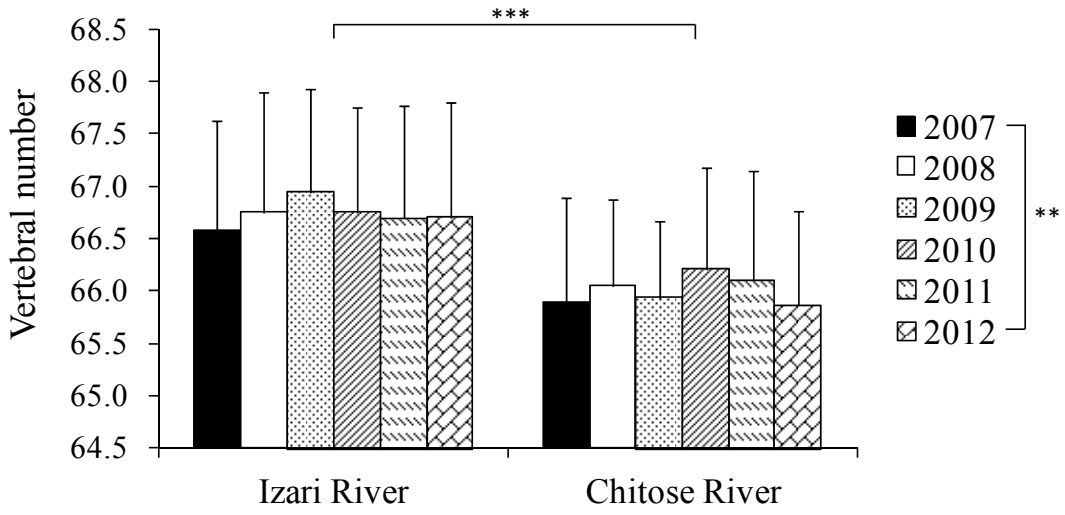


Fig. 52 Mean ± standard deviation of vertebral number in chum salmon adults in the Izari- and Chitose rivers for six years. Asterisks indicate significant difference between rivers and among sampling years, respectively ($P < 0.01^{**}$, $P < 0.001^{***}$).

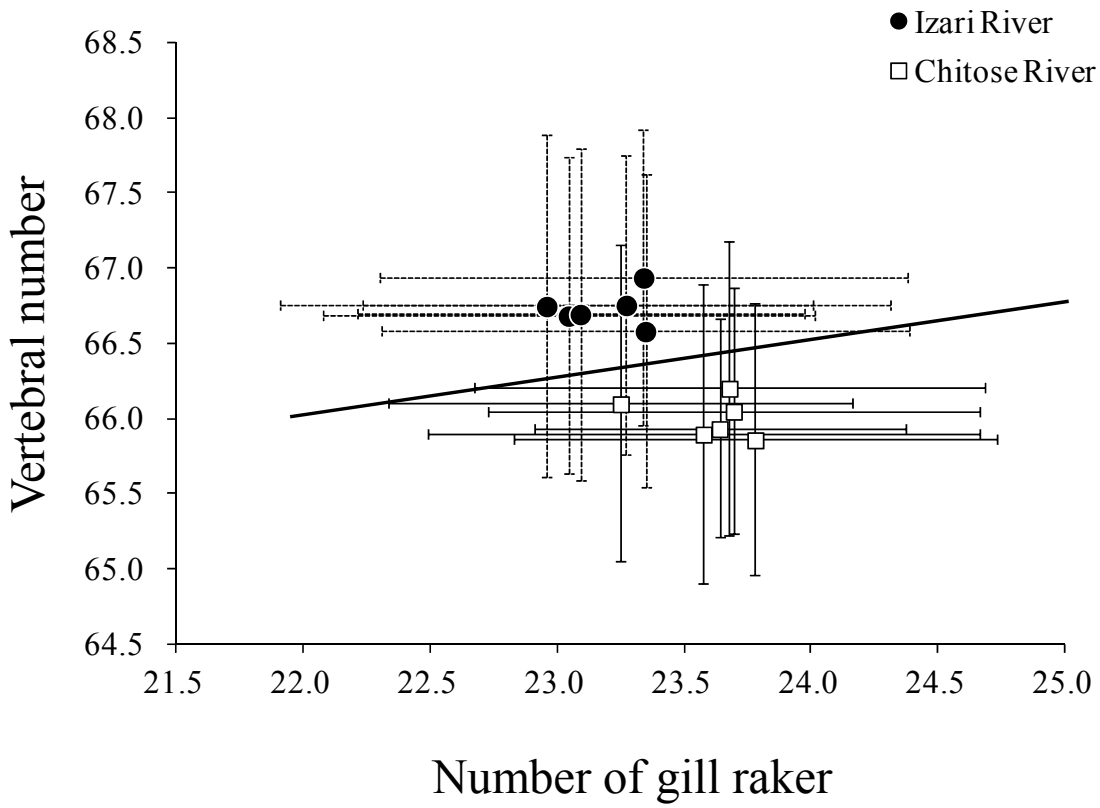


Fig. 53 Discriminant analysis using number of gill raker and vertebral number in chum salmon adults. Vertical and horizontal bars indicate the standard deviations.

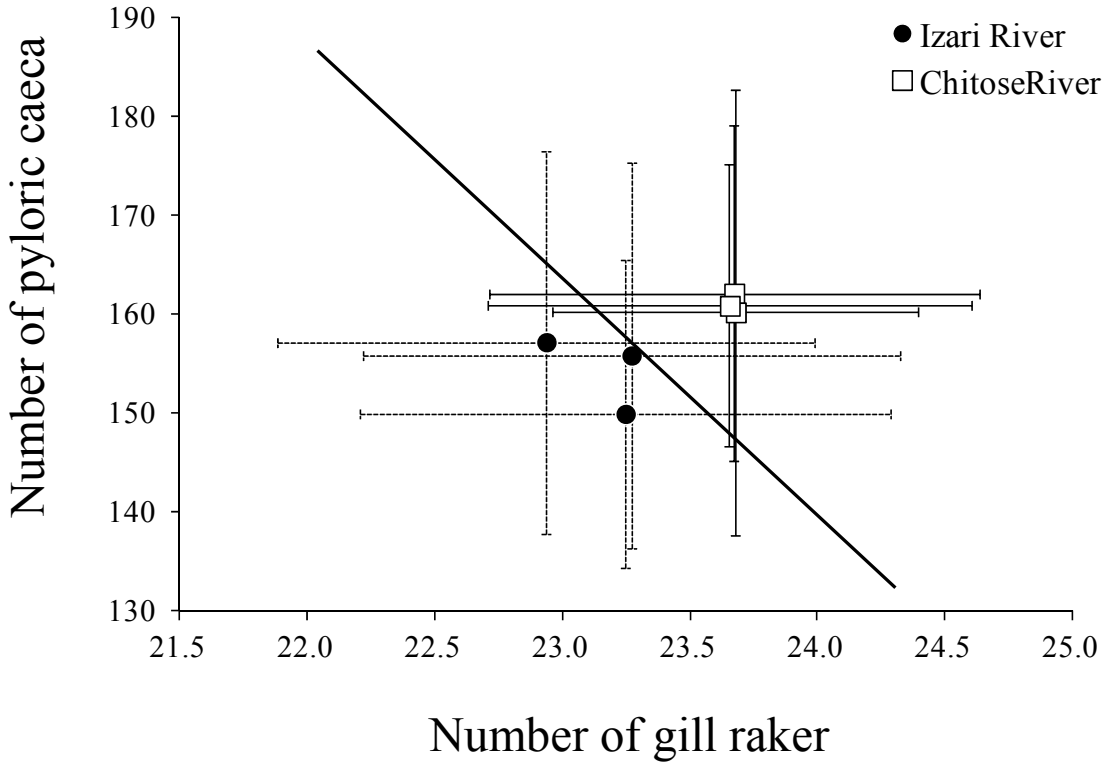


Fig. 54 Discriminant analysis using numbers of gill raker and pyloric caeca in chum salmon adults. Vertical and horizontal bars indicate the standard deviations.

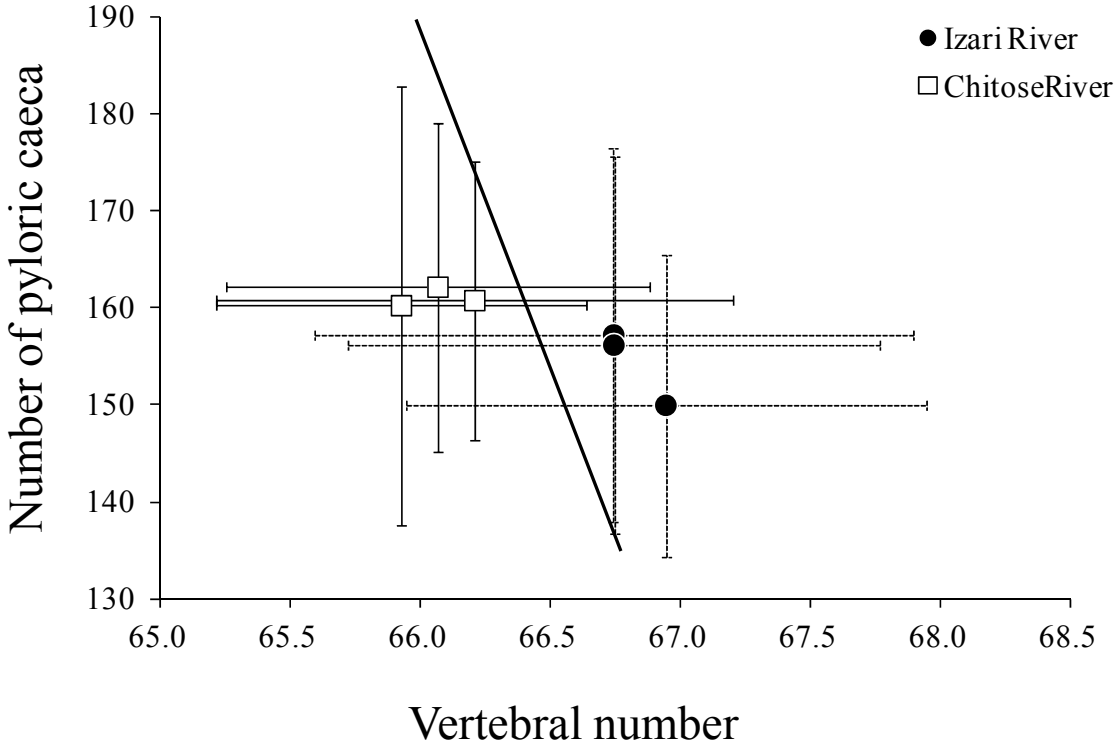


Fig. 55 Discriminant analysis using vertebral number and number of pyloric caeca in chum salmon adults. Vertical and horizontal bars indicate the standard deviations.

で分散共分散分析の等分散性を求めたところ，脊椎骨数と幽門垂数（$P = 0.03$）及び脊椎骨数と鰓耙数（$P = 0.05$）の間では等分散性が認められず，3 形質全てを用いた分散共分散分析でも等分散性は見られなかった（$P = 0.02$）。そのため，これらの判別分析には 2 次判別関数を用い，等分散性が見られた鰓耙数-幽門垂数（$P = 0.10$）を用いた判別分析には線形判別関数を用い，以下の判別式が得られた。

脊椎骨数と幽門垂数（Z_4）

$$Z_4 = 0.23VN^2 + 0.00004PC^2 + 0.007VN \cdot PC - 31.05VN - 0.52PC + 1045.79$$

脊椎骨数と鰓耙数（Z_5）

$$Z_5 = 0.13VN^2 + 0.06GR^2 + 0.034VN \cdot GR - 17.44VN - 5.44GR + 622.80$$

幽門垂数と鰓耙数（Z_6）

$$Z_6 = -0.46GR - 0.018PC + 13.56$$

脊椎骨数と鰓耙数と幽門垂数（Z_7）

$$Z_7 = 0.23VN^2 + 0.20GR^2 + 0.00005PC^2 + 0.05VN \cdot GR + 0.007VN \cdot PC$$
$$-0.002GR \cdot PC - 31.98VN - 13.15GR - 0.47PC + 1232.20$$

これら判別関数（Z_4～Z_7）を用いて個体ごとの判別得点を計算し，正判別率を求めたところ，脊椎骨数と幽門垂を用いた判別分析（Z_4）では漁川で 77 %，千歳川で 65 %，脊椎骨数と鰓耙数を用いた判別分析（Z_5）では漁川で 67 %，千歳川で 70 %，幽門垂数と鰓耙数を用いた判別分析（Z_6）では漁川及び千歳川ともに 61 %であった（Fig. 56）。また，脊椎骨数，鰓耙数，幽門垂数の 3 形質全てを用いた判別分析（Z_7）での正判別率は漁川で 81 %と 2 形質を用いた判別分析よりも高くなったが，千歳川の正判別率は 61 %であり，2 形質の場合と大きく変わらなかった。

考察

本研究ではほぼ同一時期に遡上した千歳川と漁川のサケを msDNA マーカーと計数形質を用いて比較した。遺伝解析では千歳川のサケと漁川のサケで観察されたアリル数は 11.3～

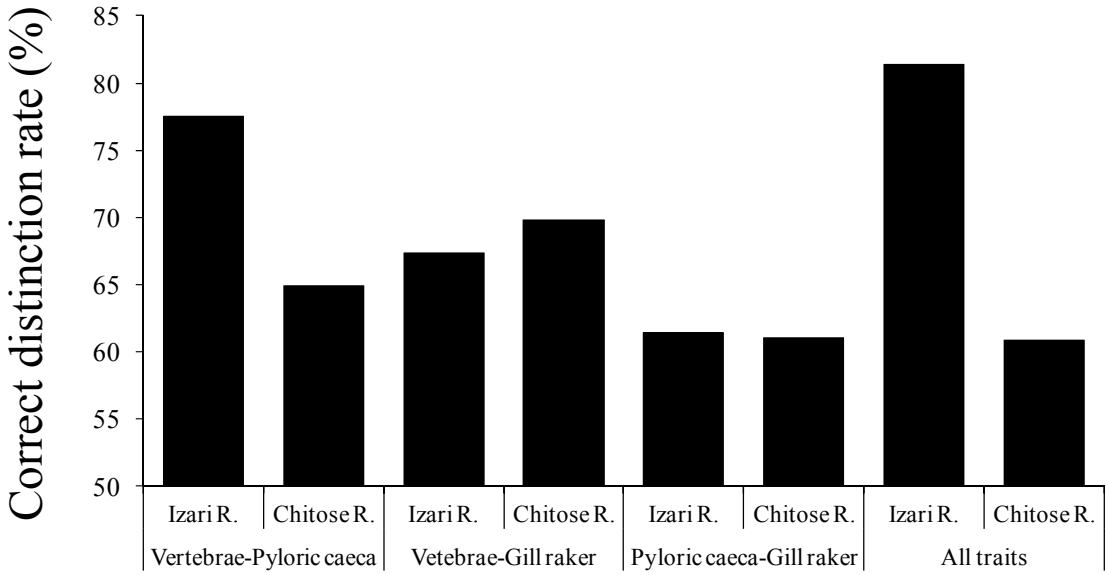


Fig. 56 Comparison of correct distinction rates in chum salmon adults. Correct distinction rate indicate that the ratio for fish collected in the Izari River is judged to belong to the Izari River or fish collected in the Chitose River is judged to belong to the Chitose River using discriminant analysis.

13.4 であり，ヘテロ接合体率の観察値も 0.68～0.73 と両集団とも大きな差は見られず，アリルの出現頻度にも統計的な差異は見られなかった。Beacham *et al.*（2008）は北海道のサケを 14 の msDNA マーカーを用いて解析し，5 つの地域集団に分かれたことを報告している。本研究で用いられたマーカーは 6 座と少なかったため，統計的差異が検出されなかった可能性もあり，本研究の結果からだけでは，千歳川と漁川を遺伝的に同一集団と結論付けるわけにはいかない。しかし，千歳川と漁川は同一水系に属しており，距離的にも近いことから，もともと遺伝的に類似している集団，もしくは均質である集団であった可能性も考えられる。

一方で，計数形質を用いた解析では背鰭鰭条数，幽門垂数，鰓耙数，脊椎骨数で千歳川と漁川の集団に差異が認められた。ただし，背鰭鰭条数，鰓耙数，脊椎骨数では採集年による差異も検出され，また鰓耙数では河川×採集年の交互作用も検出された（Table 30）。胸鰭鰭条数，尻鰭鰭条数では集団間の差異は検出されず，また，背鰭鰭条数では集団間の差異は見られたものの *P* 値は 0.04 であり，集団間の差は大きくなかったと考えられた。また，鰭条数の変異幅は 4～6 であり（Table 30），幽門垂数，鰓耙数，脊椎骨数に比べて小さかったことから，これら 3 鰭条数は集団の判別には有効でないと考えられた。それに対し，幽門垂数，鰓耙数, 脊椎骨数は集団間の差異がいずれも強く検出され（$P < 0.001$）, 変異の幅も 8 以上あり，集団判別に有効な形質であると判断された。特に，幽門垂数は変異幅が 110 と大きく，採集年による違いも検出されず，河川×採集年の交互作用も検出されなかったことから，集団判別に有効な形質である可能性も考えられた。鰓耙数，脊椎骨数については集団間の差異も検出されたものの，採集年による違いも見られた。これら 2 形質については 6 年間の調査を行っており，解析した個体数も他の形質に比べ多かったため，採集年間の違いが敏感に検出された可能性もある。ただし，鰓耙数の平均値は漁川で 23.0～23.3，千歳川で 23.3～23.8 の範囲であり，脊椎骨数の平均値は漁川で 66.6～66.9，千歳川で 65.9～66.2 の範囲であり，漁川と千歳川のサケの計数形質には明らかに違いが見られた。ほぼ一定の環境下で飼育された千歳川のサケの脊椎骨数を調べた結果では，採集年が違っても平均値や分布に大きな違いが見られないことが知られている（Ando *et al*., 2010c; 安藤ら，2014b）。そのため，脊椎骨数に関

しては採集年の違いよりも集団間の違いが大きいものと考えられた。

集団間の判別分析では，幽門垂数，鰓耙数，脊椎骨数のうち 2 形質を用いることで，千歳川と漁川の集団を判別することができた。特に脊椎骨数の係数は有意に集団判別に効いており，両集団を判別する際に有効であると考えられる。漁川と千歳川で 3 つの形質を比べると，漁川の幽門垂数の平均値（154.1）及び鰓耙数の平均値（23.2）は千歳川の値（161.1 および 23.6）より低く，脊椎骨数の平均値（66.7）は千歳川の値（66.0）より高い値を示した。これら 3 形質のうち，脊椎骨数は発生水温の影響を受けて変異し，12～16℃の高水温で発生した集団は 9℃で発生した集団よりも脊椎骨数が多くなることが知られている（Ando *et al*., 2011）。漁川で早い時期に産卵するサケの産卵床内の水温は河川水温とほぼ同じ変化をすることが報告されている（卜部ら，2013）。本研究で用いた漁川のサケは 9 月に採集された親魚であり，この時期の水温は高水温であることが予想される。一方で，千歳川のサケは卵期から放流まで人為的に管理されており，孵化場内で 8℃前後の水温で管理されるのが一般的である（久保・小林，1953；久保，1956；戸叶，2008）。本研究では，DNA 解析により遺伝的な違いは見られなかったが，形態的な差異は顕著に観察されたことから，両河川の発生環境による相違が，表現型の大きな差異を引き起こしているとも考えられる。このことは，漁川のサケは単なる千歳川からの迷入ではなく，漁川で再生産している集団であることを意味している。また，発生環境に左右される計数形質の利用法として，河川に遡上してきた集団のうち一部を孵化場での採卵，媒精に用い，残りを河川上流に遡上させた場合でも，集団判別ができる可能性があることを示している。

集団レベルでの判別分析では千歳川と漁川の集団は判別できたが，個体レベルでは幽門垂数，鰓耙数，脊椎骨数の 3 形質を用いても，正判別率は漁川の個体で 81 %，千歳川の個体で 61 %であった。千歳川の正判別率で最も高かったのは，脊椎骨数と鰓耙数を用いた 70 %であり，特に千歳川の個体判別で課題が残った。これは，個体間の計数形質の重なりが大きかったことが原因と考えられるが，サクラマスでは脊椎骨数を前半部分の腹椎骨数と後半部分の尾椎骨数に分けて解析したところ，両部位とも遺伝的要因を受けて変異しており，放流魚と

野生魚の判別に有用であることが報告されている（Ando *et al*., 2008a ; 安藤ら，2013a）。このような手法を用いることができれば，労力を増やさずに 1 つの形質から 2 つの情報を得ることができるため，サケについても検討する必要があろう。また，側線鱗数も集団に固有な値を示すことが知られており（佐野・久保，1946; 1947），有効な計数形質の一つかもしれない。

サケの集団を比較する際には，同一時期に遡上する集団を用いる必要があり，集団間で発生環境が異なる場合，表現型可塑性を持つ計数形質を利用することは，たとえ遺伝的な差異が小さい集団であっても有効な手法であると考えられた。

第 8 章　北海道の日本海側と太平洋側のサケ稚魚で見られた脊椎骨数の差異

北海道沿岸に回帰するサケ親魚には地域（海区）により遺伝的差異があることが知られており（Beacham *et al*., 2008），また，河川間においても側線鱗数などの形態的変異が観察されることが古くから知られてきた（佐野・久保，1946; 1947）。久保（1956）は形態的変異のうち脊椎骨数を詳細に調べ，北海道南部に位置する知内川（Fig. 3）のサケ稚魚の脊椎骨数は，日本海側に注ぐ石狩川支流千歳川 (Fig. 3) のサケ稚魚よりも多かったことを報告しているが，同時に遊楽部川や釧路川（Kushiro River, Fig.3）など太平洋に注ぐ河川に由来するサケ稚魚の脊椎骨数も多かったことを述べている。また，知内川のサケ稚魚の脊椎骨数は，現在でも千歳川のサケ稚魚よりも多いことが知られており，サケの脊椎骨数の特徴は長期間にわたり維持されていることが示唆されている（Ando *et al*., 2010c）。これより太平洋側の河川に由来するサケ稚魚の脊椎骨数は，日本海側の河川に由来するサケ稚魚よりも多い可能性が考えられるが，地域間の詳細な比較検討は行われていない。

本研究は北海道の日本海側と太平洋側の河川に遡上した親魚からサケの授精卵をサンプリングし，実験室内でほぼ同一条件下で飼育を行った後，サケ稚魚の脊椎骨数を比較することで，河川および地域による脊椎骨数の特徴を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

サケの授精卵は日本海側の遠別川 (Enbetsu River)，暑寒別川 (Shokanbetsu River)，千歳川，尻別川 (Shiribetsu River)，利別川 (Toshibetsu River) の 5 河川と太平洋側の戸切地川 (Hekirichi River)，長流川（Osaru River)，敷生川（Shikiu River)，日高幌別川（Hidakahorobetsu River)，猿留川（Saruru River)，十勝川，釧路川の 7 河川（Fig. 3）から 2009～2013 年にかけてサンプリングした（Table 31)。なお，同一河川において異なる年に採集した授精卵や同一年でも異なる月に採集した授精卵は 1 標本集団として扱い，計 19 標本集団を調査の対象とした。これ

Table 31 Sampling date, number of individuals, and fork lengths in chum salmon fry used in this study, and range of rearing water temperatures in the laboratory.

River	Fertilization date	Number of individuals	Mean fork length (cm)	Water temperature (ºC)[a]
				Min. - Max.
Enbetsu R.	Oct. 17, 2009	101	8.9	7.7 - 9.3
	Oct. 21, 2011	92	10.6	7.6 - 9.0
Shokanbetsu R.	Oct. 14, 2009	104	8.6	7.7 - 9.3
Chitose R.	Oct. 7, 2009	97	8.3	7.9 - 9.3
	Oct. 5, 2011	66	11.0	7.7 - 9.1
	Oct. 26, 2013	99	10.5	7.2 - 8.3[b] (6.5)
Shiribetsu R.	Oct. 6, 2009	88	9.1	7.9 - 9.3
	Oct. 14, 2011	74	11.6	7.6 - 9.1
Toshibetsu R.	Oct. 6, 2009	107	8.9	7.9 - 9.3
Hekirichi R.	Nov. 26, 2013	100	8.9	7.2 - 8.8
Osaru R.	Nov. 2, 2011	87	10.6	7.6 - 8.8
Shikiu R.	Oct. 3, 2013	100	11.3	7.6 - 9.2
	Dec. 2, 2013	98	11.5	7.2 - 8.7
Hidakahorobetsu R.	Nov. 9, 2011	78	10.8	7.6 - 8.8
	Sep. 25, 2013	101	11.1	7.6 - 9.2
	Nov. 22, 2013	76	10.9	7.2 - 8.8
Saruru R.	Sep. 19, 2012	212	8.8	7.6 - 9.4[b] (9.2)
Tokachi R.	Oct. 11, 2013	100	11.5	7.3 - 9.2
Kushiro R.	Sep. 28, 2013	100	11.3	7.2 - 8.8[b] (6.4)
Total		1880	10.1	7.2 - 9.4

[a] Water temperature until swim-up stage in the laboratory

[b] Water temperature after eye-pigmented egg stage in the laboratory. Figures in the parentheses are estimated mean water temperature in the hatchery before transplantation

ら授精卵は，河川に隣接する孵化場で増殖用のために多数の雌雄（雌 155～2,243 尾，雄 47～780 尾）を用いて採卵，媒精されたものであり，得られた卵の中から約 1,000 粒をランダムに抽出し，千歳川（2013 年採卵群），猿留川（2012 年採卵），および釧路川（2013 年採卵）の 3 集団以外は授精後直ちに北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場に輸送後，湧水を用いて解析まで飼育した。千歳川（2013 年採卵），猿留川，釧路川の授精卵は河川に隣接する孵化場，もしくは近隣の孵化場で発眼時期（積算水温 333～350℃日）まで飼育された後，北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場へ輸送され，他の群と同様に湧水で飼育された。現地の孵化場における飼育日数と卵輸送時の積算水温から算出した平均飼育水温は 2013 年採卵の千歳川の集団で 6.5℃，猿留川の集団で 9.2℃，釧路川の集団で 6.4℃と推定された。実験室に収容した後から浮上までの飼育水温（1 時間ごとに記録した水温の 1 日平均を使用）は 7.2～9.4℃の範囲であった（Table 31）。浮上後は給餌しながら飼育を継続し，脊椎骨数の計数が容易となる大きさまで飼育した。その後，取り上げて尾叉長を 0.1 cm 単位で測定し，脊椎を取り出してアリザリンレッド S で染色後，顕微鏡下で脊椎骨数の計数を行った。脊椎骨数の計数は久保・小林（1953）の方法に従った。その後，集団間の脊椎骨数の平均値の差を Kruskal-Wallis test で検定した（有意水準 5 %）。また，河川毎にデータをまとめ，河川間の類似性をユークリッド平方距離を用いたクラスター解析（Ward’s method）により比較した。

結果

サケ稚魚の平均尾叉長は 8.3～11.6 cm の範囲であり，1 集団 66～212 尾，計 1,880 尾を解析に供した。脊椎骨数の範囲は 61～70 の範囲であり，平均値（±標準偏差，以下同様）が最も低かったのは 2011 年に採卵した尻別川の集団の 65.5 ± 0.88 であり，最も高かったのは 2013 年に採卵した釧路川の集団の 67.1 ± 1.24 であり（Fig. 57），集団間には有意な差が検出された（$P < 0.001$）。地域ごとに脊椎骨数を比較すると，日本海側の河川では脊椎骨数の平均値は

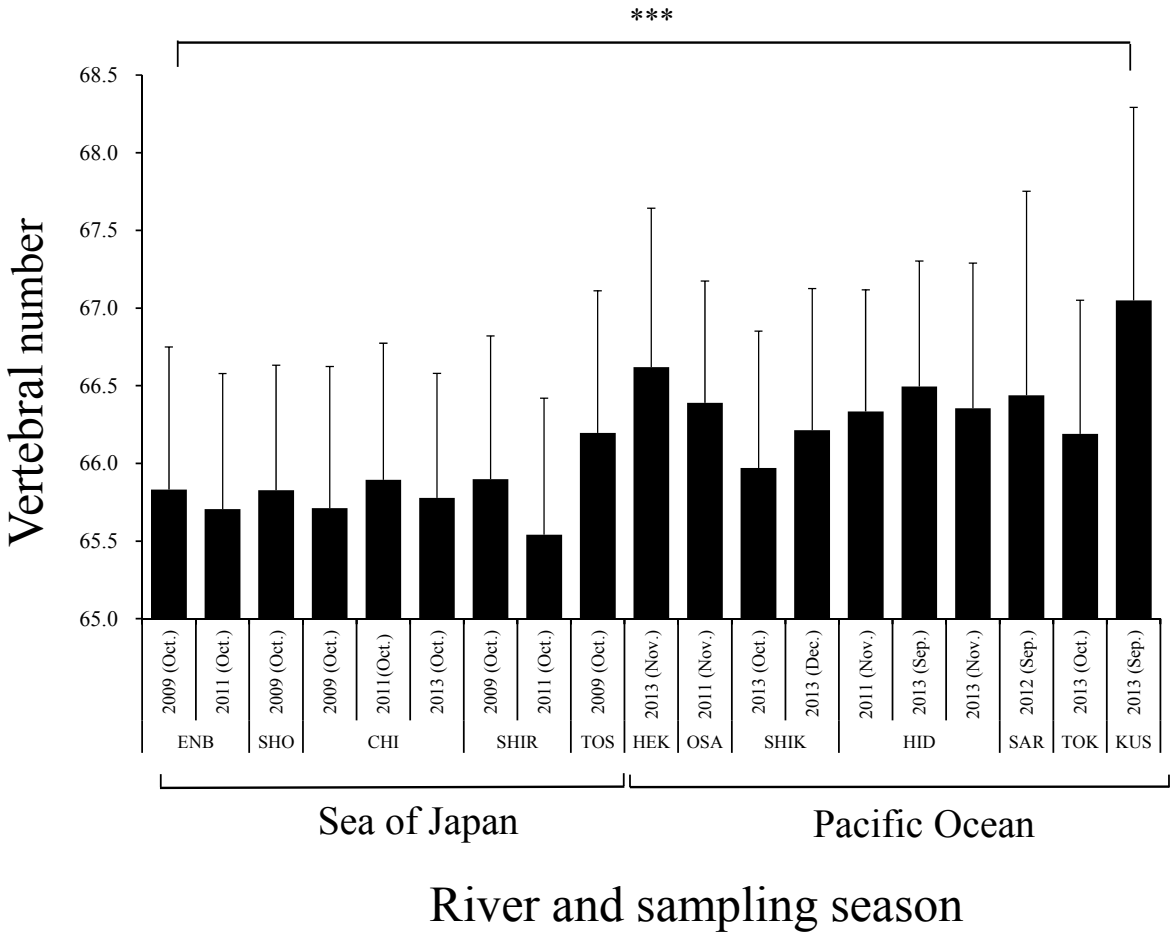


Fig. 57 Comparison in mean vertebral numbers of chum salmon fry among 12 rivers on Hokkaido. Bars indicate the standard deviations. Chum salmon fry were reared in the laboratory under the similar conditions using spring water. Abbreviations for rivers are following meanings, ENB; Enbetsu River, SHO; Shokanbetsu River, CHI; Chitose River, SHIR; Shiribetsu River, TOS; Toshibetsu River, HEK; Hekirichi River, OSA; Osaru River, SHIK; Shikiu River, HID; Hidakahorobetsu River, SAR; Saruru River, TOK; Tokachi River, and KUS; Kushiro River. Year and month in the parentheses indicate the sampling season in each river. Asterisks indicate significant difference (P <0.001) in mean vertebral number among population.

65.5～66.2 の範囲であり，利別川のサケ稚魚のみ平均値が 66.2 ± 0.92 と 66 を超える高い値となったものの，他の集団の平均値は 66 を下回っていた。一方，太平洋側の河川由来のサケ稚魚の平均値は 66.0～67.1 であり，平均値が 66 を超える集団が大部分であり，授精直後卵から同一条件下で飼育した戸切地川や日高幌別川の集団でも高値を示した。地域全体で見ると，日本海側の河川に由来するサケ稚魚の平均脊椎骨数は 65.8 ± 0.89（*N*=828）に対し，太平洋側の河川由来のサケ稚魚の平均脊椎骨数は 66.4 ± 1.05（*N*=1052）であり，有意に多くなっていた（$P < 0.001$）。また，クラスター解析では戸切地川，十勝川，敷生川，釧路川，猿留川，長流川，日高幌別川，利別川の集団が一つのグループにまとまり，遠別川，千歳川，尻別川，暑寒別川の集団が別のグループにまとまり，おおよそ太平洋側の河川と日本海側の河川とに二分されたが，利別川は日本海側に位置するにも関わらず，太平洋側のグループに識別された（Fig. 58）。

考察

本研究から，北海道のサケ稚魚の脊椎骨数には地域により違いが見られることが明らかになり，たとえ同一条件下で飼育を行っても，太平洋側の河川に由来するサケ稚魚のほうが日本海側の河川に由来するサケ稚魚より脊椎骨数が多いことが示された。サケの脊椎骨数は発生初期の水温や遡上時期により左右されることが知られており，特に発生水温の影響は大きいと考えられている（Beacham and Murray, 1986a; Ando *et al*., 2011）。釧路川の集団は 19 標本集団の中で最も高い平均値を示したが，発眼時期までは低水温で管理されていたため発生水温の影響も考えられ，正確な比較とはなり得ないものの，過去の報告でも釧路川のサケ稚魚の平均脊椎骨数は 66.8 と高い値が報告されている（久保，1956）。したがって，釧路川の集団の脊椎骨数は元々高い値を示す可能性も考えられた。また，利別川の集団の平均脊椎骨数は 66.2 と日本海側の集団の中では高い値を示し，クラスター解析でも太平洋側の集団に属すると考えられたが，過去の研究では利別川よりさらに南に位置する厚沢部川（Assabu River,

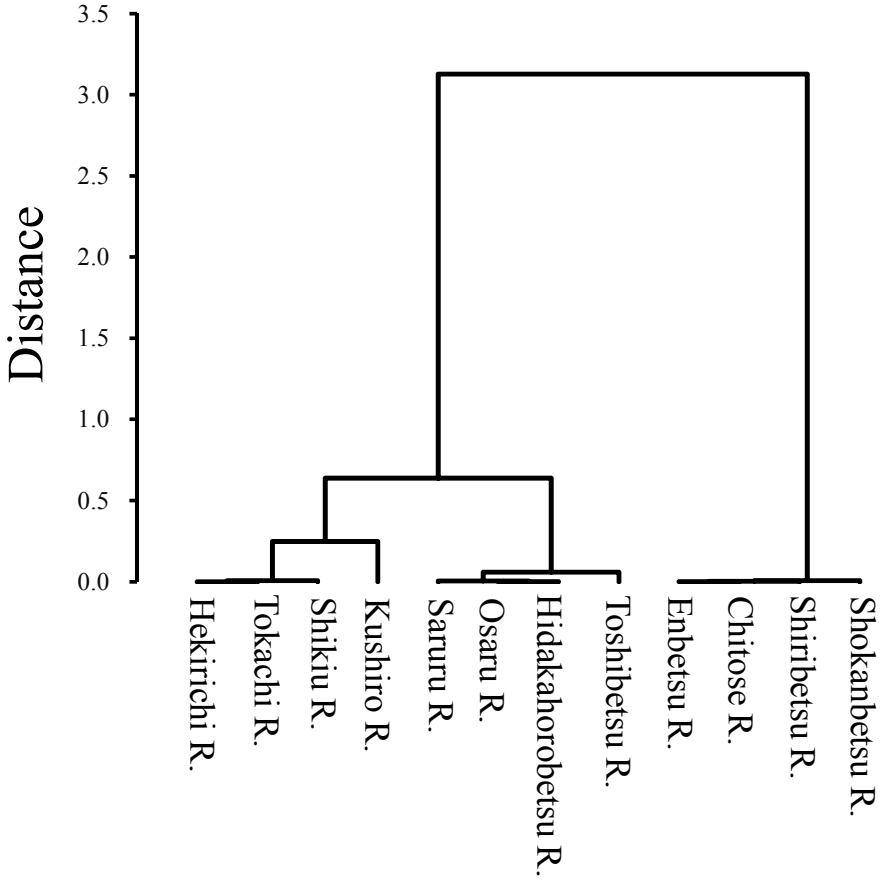


Fig. 58 Result of cluster analysis (Ward's method) for 12 population of chum salmon fry.

Fig. 3）のサケ稚魚の平均脊椎骨数は 66.5 と高い値が報告されている（久保，1956）。したがって，日本海側の集団に関しては低緯度（南方）の集団の方が多い脊椎骨数を持っている可能性も考えられる。

戸切地川のサケ稚魚の脊椎骨数は66.6と太平洋側の集団の中でも比較的高い値が観察されたが，近隣に位置する知内川のサケ稚魚の平均脊椎骨数は 1952 年の採卵群で 67.3，2007 年の採卵群でも 67.2 と高い値が観察されており（久保，1956；Ando *et al*., 2010c），さらに北海道南部に位置し太平洋に注ぎ込む遊楽部川のサケ稚魚の平均脊椎骨数も 67.4 と高い値が報告されている（久保，1956）。これらの結果から推定すると，北海道の渡島半島（Fig. 2）の河川に由来するサケ稚魚の脊椎骨数は全般的に多いことが考えられる。

北海道の日本海側と太平洋側のサケの集団は遺伝的にも異なるとされており，さらに太平洋の集団は襟裳岬（Fig. 2）を境界に東部と西部でも遺伝的に異なるとされている（Beacham *et al*., 2008）。同一条件下での飼育にも関わらずサケの脊椎骨数に河川差や地域差が見られたことから，サケの脊椎骨数は遺伝的要因により決定されていると考えられる。さらに，尻別川以北の日本海側の集団と利別川を含んだ太平洋側の集団の脊椎骨数には地域差が見られたことから，形態的特徴から見た集団判別は単に日本海，太平洋という地域区分とは一致しない可能性も示唆された。

脊椎骨数はサケの集団の特徴を示す一指標となると考えられるため，今後は，北海道の根室海峡やオホーツク海側の河川に由来するサケ稚魚の脊椎骨数についても明らかにする必要があろう。

第 9 章　総合考察

本研究ではサケの交配実験と飼育試験を主体とし，計数形質（主に脊椎骨数）の変異に及ぼす要因と集団評価への利用を検討した。サケの脊椎骨数には地域変異が見られることを第 8 章で示したが，この地域変異は一定の環境下で再生産が行われている場合，特に多数の親魚を用いて採卵が行われ，水温一定の湧水を用いて卵管理が行われているような場合には，平均値がほぼ決まった値を示すことを第 2 章の結果から示した。したがって，北海道で行われている増殖事業において，移殖放流の影響が少ない河川であれば，集団の遺伝的特性を簡便かつ安価に評価できる形質の一つと考えられる。

第 6 章で，遺伝的要因についての検討を行ったが，雌雄両成分から求めた遺伝率は 0.7 以上の値が推定されており，脊椎骨数の決定には遺伝的要因が強く関与していることが明らかとなった。したがって，同一環境下で，脊椎骨数がある範囲内に収まっている理由として，遺伝的要因の関与が第一に考えられる。また，脊椎骨数に関するデータは 1950 年代から報告されているため（久保，1950；久保・小林，1953；久保，1956）過去から現在までの集団の変化を知る上でも貴重な形質と考えられ，さらに現在の脊椎骨数の値をデータとして残しておくことは，将来，サケの集団の変化を検討する上でも有用なことと思われる。

知内川のサケの脊椎骨数は，千歳川よりも高い値を示しており，1950 年代と現在で大きな変化は見られなかったことから，1950 年代当時の集団としての特性を残しているものと考えられた。一方，千歳川の脊椎骨数は 1950 年代当時と比べ，高い値を示していたが，これは遡上時期の違いによることが第 4 章から示された。千歳川のサケの脊椎骨数は 1950 年代の報告（久保・小林，1953；久保，1956）と本研究のデータからその平均値は，65.1～66.2 の範囲に収まっており，採集年で比較した場合，平均値に統計的な有意差が認められる場合もあるものの（Fig. 52），生物学的にみると一定の範囲に収束しており，知内川のような高い平均値（67.2～67.3）を示すことはないものと考えられた。ただし，現在の北海道では海区（Fig. 2）をまたぐ卵の移殖は行われていないものの，近隣河川との移殖は頻繁に行われていることか

ら，近隣河川間の移殖の影響については考慮する必要がある。msDNA を用いた集団解析では，北海道のサケは地域間で遺伝的組成が異なり，5 つの地域集団が存在していることが報告されており（Beacham *et al*., 2008），過去に移殖の履歴があっても，北海道のサケは一律な集団ではないことが示されている。サケの脊椎骨数が千歳川と知内川のように地域で異なるように，第 8 章の結果から，サケ稚魚の脊椎骨数が尻別川以北の日本海側と利別川を含む太平洋側といった地域間で比較すると異なっており（Fig. 58），このことは，計数形質を集団判別にも利用できる可能性を示唆している。

漁川で行われた調査では，自然産卵しているサケの脊椎骨数は遡上時期により変異していることが確認された。また，調査個体数は少なかったものの，このような傾向は長都川，島松川，厚別川に遡上してくるサケでも見られた。稚魚の放流が事業規模で行われていない河川に遡上してくるサケの正確な由来は不明であるが，漁川のサケは千歳川のサケと脊椎骨数や鰓耙数，幽門垂数などの計数形質に差異が見られたことから，千歳川からの迷入個体が主でないことが示された。また，石狩川水系ではサケの脊椎骨数は前期群で多く，後期群で少ないことは共通している現象と考えられる。千歳川のサケを用いて行われた交配試験でも 11 月や 12 月に採卵されたサケの脊椎骨数の平均値は 9 月や 10 月に採卵された集団よりも低い値を示しており，有意差は検出されなかったものの網走川のサケでもこのような傾向が確認された。同一条件下での飼育にも関わらず，このような傾向が見られたことから，後期群のサケの脊椎骨数が低いことには遺伝的要因が関与していることが示唆された。また，漁川では，9 月に遡上してくるサケの脊椎骨数は後期群に比べて顕著に多く，また，同時期に千歳川に遡上するサケと比べても脊椎骨数は多くなっていた。これには遺伝的要因の他にも発生環境の相違も関与していると考えられた。自然産卵しているサケの卵は，湧水ではなく水温変動のある河川水を利用して発生が進むことが報告されている（Suzuki *et al*., 2005; 卜部ら，2013）。漁川で 9 月に遡上してくるサケは 13～18℃の高い水温で産卵を行うことが予想され（Fig. 32），この水温下での卵の発生は急速に進むことが予想される。実際に漁川で行われた稚魚調査では 12 月中に稚魚が浮上してくることが確認されており（安藤ら，2014b），稚魚調

査からも早期に産卵した卵の発生が非常に早いことが考えられる。漁川で産卵するサケの脊椎骨数は 2 カ年にわたる調査でもほぼ同様の平均値で推移していることから，毎年同じ傾向を示すと考えられ（Fig. 31），また，千歳川での複数年にわたる比較からも，常に千歳川よりも高値を示していると思われる（Fig. 52）。千歳川と漁川には msDNA マーカー6 座を用いた解析では集団間に差は検出されず，これをもって集団の遺伝的組成が同じであるとは言えないものの，漁川が千歳川の支流であり隣接していることを考えると集団間の遺伝的差異は小さいものと考えられる。漁川の 9 月に遡上するサケの脊椎骨数が顕著に多いのは，発生時の環境の相違の影響が大きかったと考えられた。

漁川と千歳川を 9℃の同一条件下で飼育した結果では，漁川のサケのほうが脊椎骨数の平均値が高くなる場合が多かった（Fig. 20）。これには，集団間の遺伝的な違いではなく，用いた親の個体差が影響している可能性が考えられた。第 6 章の研究から，千歳川と漁川の 2 集団を用いて，親の脊椎骨数と子の脊椎骨数を比較したところ，親の中間値が高いほど子の脊椎骨数も多くなっていたが，同じ中間値（66.0）を示す親から作出した家系の脊椎骨数を比較すると, 漁川のサケは千歳川よりも必ずしも脊椎骨数が多くないことが判明した (Fig. 43)。これより, 漁川のサケは千歳川のサケよりも発生水温の相違により脊椎骨数が多くなる他に，もともと漁川で高水温に適応したサケ親魚の脊椎骨数が多いため，それより発生した子の脊椎骨数も遺伝的に多くなっている可能性も考えられる。すなわち，千歳川と漁川で同じ表現型どうしの親を抽出した場合，両群の脊椎骨数には差がない可能性も考えられ，飼育実験により脊椎骨数の比較を行う場合には，遡上時期の違いに加え，今後は親魚の表現型も考慮する必要があろう。

発生時の環境の相違（発生水温）が脊椎骨数の変異に及ぼす影響を飼育実験により検証したところ，脊椎骨数は発生水温の影響を受け，容易に表現型が変異することが確認された。その反応規格は 9℃の飼育水温で脊椎骨数が最も低く，その前後の水温で脊椎骨数が多くなる V 字型曲線を示した。8～9℃前後の湧水は，増殖事業でも多用されている水温帯であり，この水温下で発生したサケの脊椎骨は自然環境下で発生しているサケに比べて少なくなるこ

とが予想された。また, 授精卵を水温変動のある河川水で孵化直前まで飼育（平均水温 12℃）したところ，12℃の一定水温で飼育した群と脊椎骨数の平均値が等しくなっていた。これより，脊椎骨数の決定には，発生のある時期に脊椎骨数が決定される感受期（Tåning，1952）が存在している可能性と発生中の全期間に経験した平均水温で脊椎骨数が決定されている可能性の 2 つが考えられた。仮に感受期が存在している場合，今後はどの時期の水温変化が脊椎骨数の変異に最も影響しているのかを把握することができれば，サケの生態や発生時期，発生環境を推定する上でもより有効な形質になると思われた。また，一部の時期（9～10 月に産卵する前期群）に限定されるものの，脊椎骨数の違いを調べることで，自然産卵しているサケと孵化場で飼育されたサケとの判別ができる可能性も考えられる。漁川と千歳川のサケの集団判別では，個体レベルの判別では完全な判別はできなかったものの，脊椎骨数が集団判別に有効な形質であることが示された。実際にこのような脊椎骨数の表現型可塑性を利用して，サクラマスでは孵化場で生産された魚と野生魚との判別が試みられており，比較的精度の高い判別が可能であることが報告されている（安藤ら，2013a）。このことから，遺伝的に同一の集団であっても，発生環境に敏感に反応，すなわち変化しうる計数形質を用いることで，集団判別が可能になることが考えられた。

サケの脊椎骨数の水温に対する変異は北米でも報告されているが，その反応は低水温ほど脊椎骨数が多くなり（Beacham and Murray, 1986b），千歳川や漁川で見られた反応規格とは異なっていた。したがって，北米の集団と北海道の集団では反応規格が異なる可能性が考えられた。また，北海道にも遺伝的に異なる地域集団が存在し（Beacham *et al*., 2008），地域により脊椎骨数の平均値も異なる傾向があることから（第 8 章），今後は地域集団ごとの反応規格を確かめておく必要があろう。

親の表現型が子の脊椎骨数に及ぼす影響について検証したところ，雌雄両成分からの遺伝率は 0.77 と高い値が推定された。しかし，雌雄別の遺伝率をみると雌の遺伝率が 1 を超えているのに対し，雄の遺伝率は 0.2 であり，雌雄間で大きな差が見られた。これよりサケの脊椎骨数の決定には雌の遺伝的影響が大きいことが考えられる。しかし，漁川のサケで行われ

た 2×3 の総当たり交配では雄の影響が強く観察され, さらに, 同じ表現型どうしの交配でも, 子の脊椎骨数の平均値は異なることが示された。サケの脊椎骨数決定に及ぼす影響は雄親よりも雌親の影響が強いと考えられたが，親の表現型により雄の影響も強く現れる場合もあると考えられる。

脊椎骨数の変異は，多くの個体数が調べられた千歳川や漁川の結果でもその変異幅は 10 以内であった。一方，漁川で調べられた幽門垂数の変異幅は，112～221 であり（Table 30），100 以上の変異幅が観察された。そのため，変異幅の多い形質である幽門垂数の解析を加えることで，集団判別の精度が向上することが期待される。しかし，幽門垂数の反応規格は本研究では行っておらず，変異を集団判別に利用するのには慎重を要する。幽門垂数と脊椎骨数はサケの遡上時期により変異しており，その変異のパターンは脊椎骨数は後期群のほうが少なく，幽門垂数は後期群のほうが多い値を示しており，逆の傾向となっていた。集団解析に有効と考えられる幽門垂数についても，サクラマスでは飼育水温により表現型が変異することが知られている（安藤ら，2010a）。したがって，サケでも脊椎骨数同様，幽門垂数も発生水温により変異している可能性があるため，幽門垂数の反応規格を確かめておくことは今後の集団解析にも必要である。特に脊椎骨数に関しては遡上時期間の変異に遺伝的要因が関与していることが確認された。したがって，前期群と後期群の集団の反応規格は異なっている可能性も考えられ，同一河川内における前期遡上群と後期遡上群の間でも脊椎骨数や幽門垂数の反応規格の検証が必要と思われた。計数形質の遡上時期による変異はカラフトマスの鰓耙数でも知られている（Ando *et al*., 2010b）。サケの鰓耙数については検証が行われていないが, 千歳川と漁川の比較では鰓耙数にも集団間の違いが観察されていることから（Fig. 51），集団判別に有効な形質の一つと考えられ，鰓耙数についても遡上時期による変異を検討する必要があろう。ただし，脊椎骨数が発生の初期に決定されるのに対し，鰓耙数や幽門垂数は発育段階の後期（標準体長で 6.5 cm，もしくは尾叉長で 8.0 cm）である稚魚の段階で決定されるため（Beacham and Murray, 1986a; 帰山・浦和，1990），発生環境への応答を検討する場

合，より長期間の飼育を行う必要がある。これらの結果より,サケの計数形質を用いて集団の比較を行う場合, 遡上時期を同時期に合わせてサンプリングを行うことが重要と考えられた。

脊椎骨数のような計数形質は DNA マーカーとは異なり，発生初期による環境の影響を受けて変異するため，一般には集団判別に適さないと考えられてきた。しかし，このような表現型可塑性を利用することで，逆に産卵生態や発生環境の相違を推定できることは計数形質の大きな利点と考えられる。しかし，そのためには対象とする計数形質の特徴を事前に把握し，環境への応答や遺伝的背景などの特徴を各計数形質ごとに確かめておくことが重要である。

要約

本研究はサケ *Oncorhynchus keta* の脊椎骨数を調べ，その変異がどのような要因によって生じているのかを明らかにし，また幽門垂数や鰓耙数といった計数形質の変異を利用して集団評価（遺伝的な評価，発生環境の推定，集団判別）を行うことを目的とした。

第 1 章ではサケの生活史と系群，移殖の歴史と北海道で行われているサケの増殖事業についてレビューするとともに，サケ属魚類の計数形質の特徴について述べ，序論とした。

第 2 章では長期的な視点から見た脊椎骨数の変異について検証した。千歳川と知内川のサケを同一条件下で授精卵から飼育し，50 年前に行われた飼育実験のデータ（久保，1956）と脊椎骨数を比較したところ，知内川のサケは過去と現在で平均値（67.2～67.3）に有意差は見られず，千歳川より高値を示した。一方，千歳川の脊椎骨数は過去の値に比べ有意に高い値となっていた。しかし，久保（1956）が報告した千歳川の平均値を比較したところ，千歳川のサケの平均脊椎骨数は一定の範囲内（65.1～66.1）に収まっており，さらに早い時期に採卵したサケ（前期群）は高い平均値を示すのに対し，遅い時期に採卵したサケ（後期群）の脊椎骨数は低い平均値を示す傾向があった。本試験では千歳川で 10 月に採卵した前期群のサケを対象としたが，久保（1956）は 1 月に採卵した後期群のサケ稚魚のデータを用いていたことから，採卵時期の違いにより脊椎骨数に有意差が生じていた可能性が考えられた。したがって，脊椎骨数は 50 年前の値と変化していないと判断した。これより，脊椎骨数は集団で安定した値を示しており，集団評価の一指標になると考えられた。

第 3 章では飼育水温が脊椎骨数の変異に及ぼす影響（反応規格）について千歳川と漁川から得た 8 家系を用いて検証した。これら 8 家系を 4～16℃の異なる 4 つの飼育水温で授精卵から孵化まで飼育したところ，多くの家系では，脊椎骨数の平均値は 9℃の飼育水温で最も低い値を示し，それより低い温度（4℃）や高い温度（12～16℃）で平均値が高くなる V 字型曲線の反応を示した。また，多くの雌雄を用いて得られた増殖事業用の卵を用いて，同様の実験を行っても V 字型曲線の反応規格が得られた。さらに，変動する河川水温（平均水温

12.0℃）を用いて授精卵の飼育を行ったところ，12℃の一定水温で飼育した授精卵と脊椎骨数に有意な違いは見られなかった。この要因として，1）サケの脊椎骨数は孵化までの平均水温により長期的に決定されている可能性，2）脊椎骨数決定の感受期が存在しており，偶然，感受期に経験した水温が同じであり，短期間のうちに脊椎骨数が決定されている可能性の 2 つが考えられた。

第 4 章ではサケの産卵時期が脊椎骨数の変異に及ぼす影響について検討した。石狩川水系の千歳川，漁川，島松川，長都川，厚別川では 9～10 月の前期に遡上してくるサケの脊椎骨数の平均値は 11 月以降に遡上する後期群よりも多い傾向が見られた。また，千歳川と網走川から得られた授精卵を同一環境下で飼育したところ，早い時期（9～10 月）に採卵したサケ稚魚のほうが遅い時期（11～12 月）に採卵した群よりも脊椎骨数が多い傾向を示した。自然産卵している個体が多い漁川で稚魚の脊椎骨数を月別に調べたところ，1～2 月に採集されたサケの脊椎骨数は 4 月に採集されたサケよりも脊椎骨数が多かった。これらのことより，サケの脊椎骨数は遡上時期（産卵時期）により変異しており，その背景には遺伝的要因の関与が考えられた。また，漁川で 9 月に自然産卵するサケ親魚の脊椎骨数は顕著に多く，脊椎骨数のモードも他の月とは異なっていた。この要因として，もともとの遺伝的な要因の他に，9 月に産卵された授精卵は発生時の水温が高いため，遺伝的要因が環境要因によって増幅された結果（cogradient variation）である可能性が考えられた。

第 5 章では漁川で自然産卵しているサケを対象に，幽門垂数の遡上時期による変異を調べた。幽門垂数を遡上時期ごとに比較すると，遡上の早い時期（9～10 月）では平均値が低く，遡上の遅い時期（11～12 月）では平均値が高くなっていた。この傾向は脊椎骨数の変化とは異なっており，調べた 3 年級ともに共通して観察された，幽門垂数の変異幅（100 以上）は脊椎骨数の変異幅（10 以下）に比べて大きいことから，集団解析には有効な形質になると考えられた。

第 6 章では脊椎骨数の変異に及ぼす遺伝的影響について検討した。漁川と千歳川のサケ 10 家系を用いて，両親の脊椎骨数の中間値と，子の脊椎骨数の平均値を比較したところ，正の

相関が認められた。しかし，雌雄別に見ると，雌親と子の脊椎骨数には有意な相関が見られたものの，雄親と子の脊椎骨数には有意な相関が見られなかった。次に，漁川のサケを用いて雌2尾×雄3尾の総当たり交配をしたところ, 親の中間値は全て同じであるにも関わらず, 子の脊椎骨数には雌親及び雄親の有意な影響が観察され, 特に雄親の影響が強く観察された。また，千歳川のサケ雌雄 5 尾ずつを用い，5×5 の総当たり交配から 25 家系を作出し，子の脊椎骨数の分散分析から遺伝率の推定を行った。雌雄両成分から求めた遺伝率は 0.7 以上と高い値が得られたが, 雌雄別に求めた遺伝率は, 雌が 1 以上の高い値で推定されたのに対し, 雄の遺伝率は 0.22 と低く推定された。これより子の脊椎骨数には雌親の影響が強く働くことが予想された。しかし，両親の中間値が同じ場合など，特定の条件下では雄親も強く影響する場合があることが示唆された。

第 7 章ではマイクロサテライト（ms）DNA マーカー6 座と 6 計数形質を用いて千歳川と漁川の親魚の集団判別を試みた。これまでの研究により計数形質は遡上時期により変異することが知られているため, 同一時期の 9 月～10 月上旬に採集した親魚を解析に用いた。msDNA マーカーの変異を用いた解析では両集団に有意差は認められなかった。一方，計数形質は鰓耙数，幽門垂数，脊椎骨数の変異幅が大きく，2 集団間に差異が認められた。これら 3 形質のうち 2 形質の平均値を用いて集団レベルでの判別分析を行ったところ，両集団を正確に判別することができた。しかし，個体レベルでの判別では 2 形質を用いた場合で正判別率が 61～77 %であり，3 形質全てを用いた場合では漁川で 81 %と精度の向上が見られたものの，千歳川で 61 %と低く，個体判別では課題が残った。

第 8 章では北海道の日本海側と太平洋川の河川に由来するサケ稚魚の脊椎骨数を比較した。これら 2 地域から得られた 19 標本集団のサケの授精卵をほぼ同一水温下で飼育したところ, 日本海側の河川に由来するサケ稚魚の平均脊椎骨数は 65.5～66.2，太平洋川の河川に由来するサケ稚魚の平均脊椎骨数は 66.0～67.1 と，太平洋側の河川の方が高い値を示した。クラスター解析の結果，日本海側と太平洋側の集団に分けることができたが，例外も見られ，日本海側に位置する河川（利別川）でも，太平洋側のグループに判別される場合も見られた。同

一水温下の飼育でも脊椎骨数には地域や河川により違いが見られることが明らかとなり，その背景には遺伝的要因の関与が考えられた。

第 9 章で総合考察を行った。本論文では計数形質のうち，脊椎骨数の特徴と変異の背景について多くの結果を記した。脊椎骨数の特徴として，河川もしくは地域に固有な値を有しており，その値は，一定の範囲内に収束しており長期間にわたって維持されていることが明らかとなった。固有値が維持されてきたことの一要因として，サケの脊椎骨数は遺伝的支配が強い形質であることが考えられる。飼育試験から推定した遺伝率は 0.7 以上の値を示し，特に雌親の影響が強いことが明らかとなった。一方で，脊椎骨数は発生初期の水温により左右され，8～9℃の増殖事業で多用されている水温帯で最も平均値が低くなり，12～16℃の高水温で平均値が高くなることが明らかとなった。この現象を利用することで，遺伝的に類似しているが発生環境の異なる 2 集団，たとえば自然産卵しているサケと孵化場で飼育されているサケの判別に利用できる可能性を示した。また，自然産卵している集団では 9～10 月の早い時期に，高水温の影響を受けやすいことが考えられ，このような集団を対象とした場合，脊椎骨数は集団判別に特に有効な形質と考えられる。表現型可塑性を持つ脊椎骨数は，これまで集団評価には向かない形質であると考えられてきたが，環境への応答やその特徴を事前に理解しておくことで，遺伝的に類似している集団の判別や発生環境の推定など有用な解析ができると考えられる。同様に幽門垂数も遡上時期により変異する形質であることが確認された。脊椎骨数同様の解析を行うことで，幽門垂数の変異の背景を理解することができると考えられ，いくつかの計数形質を併用することでより精度の高い集団評価を行うことができると考えられた。

謝辞

本試験で用いたサケ親魚及び授精卵は日本海さけ・ます増殖事業協会，胆振管内さけ・ます増殖事業協会，渡島管内さけ・ます増殖事業協会，北見管内さけ・ます増殖事業協会，日高管内さけ・ます増殖事業協会，釧路・十勝管内さけ・ます増殖事業協会，及び留萌管内さけ・ます増殖事業協会内のご厚意により分譲して頂きました。

北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場の神力義仁氏，安富亮平氏，宮腰靖之博士，永田光博博士，佐々木義隆博士，下田和孝氏，青山智哉氏，卜部一浩博士，伊澤敏穂氏，三坂尚行氏，水野伸也博士，隼野寛史博士，宮本真人氏，小林美樹氏には調査を進めるに当たり多大なご協力を頂きました。また，水産総合研究センター北海道区水産研究所の佐藤俊平博士，札幌市豊平川サケ科学館（当時）の有賀望氏には有益なご助言を頂くとともに，調査に便宜を図って頂きました。胆振管内さけ・ます増殖事業協会の田中一人局長，水産総合研究センター北海道区水産研究所の大熊一正氏および東北大学大学院農学研究科の中嶋（横沢）登代子氏には学位取得にあたり便宜を図って頂くと共に終始，激励の言葉を頂きました。

東北大学大学院農学研究科の中嶋正道准教授には 1993 年から 1997 年にかけて学生時代の研究の手ほどきから，卒業論文，修士論文のご指導を頂くとともに，2009 年から 2015 年の 6 年間にわたり学位論文執筆のご指導およびご助言を賜りました。同じく東北大学大学院農学研究科の磯貝恵美子教授，片山知史教授，高橋計介准教授，酒井義文准教授には本論文のご校閲と有益なご助言を賜りました。以上の皆様に厚くお礼申し上げます。

本論文に使用した図表の一部は“Fisheries Science”

（Ando *et al*., 2010c; http://link.springer.com/article/10.1007/s12562-010-0268-9,）

（Ando *et al*., 2011; http://link.springer.com/article/10.1007/s12562-011-0390-3），

「日本水産学会誌」

（安藤ら，2014b; https://www.jstage.jst.go.jp/article/suisan/80/2/80_13-00068/_article/-char/ja/），

及び「水産増殖」（安藤ら，2013b）においてすでに出版されたものです。転載を許可していただいた日本水産学会および日本水産増殖学会に感謝いたします。

最後に 6 年間にわたる東北大学大学院在籍中に常に私を支えて頂いた，妻の安藤幸子に感謝申し上げます。

引用文献

Alho JS, Leinonen T, Merilä J (2011). Inheritance of vertebral number in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). Plos ONE, **6**: 1–6.

Ali MY, Lindsey CC (1974). Heritable and temperature-induced meristic variation in the medaka, *Oryzias latipes*. Canadian Journal of Zoology, **52**: 959–976.

Altukhov YP, Salmenkova EA (1990). Introductions of distinct stocks of chum salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum), into natural populations of the species. Journal of Fish Biology, **37 (suppl A)**: 25–33.

Altukhov YP, Salmenkova EA, Omelchenko VT (2000). "Salmonid Fishes: Population Biology, Genetics and Management (translated by Carvalho GR and Thorpe JE)". Blackwell Science, Oxford, 354 pp.

Ando D, Mano S, Koide N, Nakajima M (2008a). Estimation of heritability and genetic correlation of number of abdominal and caudal vertebrae in masu salmon. Fisheries Science, **74**: 293–298.

Ando D, Mano S, Shimoda K, Shinriki Y, Koide N, Nakajima M (2008b). Heritability estimates by intra-sire regression of offspring on dam and half-sib analysis of the number of gill rakers and vertebrae in masu salmon, *Oncorhynchus masou masou*. Fish Genetics and Breeding Science, **38**: 87–96.

Ando D, Shimoda K, Shinriki Y, Mizuno S, Naito K, and Nakajima M (2010a). Effects of water temperature on embryonic survival rates and meristic characters of the juveniles in masu salmon (*Oncorhynchus masou masou*). Fish Genetics and Breeding Science, **39**: 95–107.

Ando D, Fujiwara M, Miyakoshi Y, Shinriki Y, Hayano H, Nakajima M (2010b). Evaluation of population differences using gill raker count in pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, in three rivers on Hokkaido Island. Fish Genetics and Breeding Science, **40**:19–28.

Ando D, Shimoda K, Shinriki Y, Urabe H, Aoyama T, Nakajima, M (2010c). Inflexibility of vertebral

number in chum salmon *Oncorhynchus keta*. Fisheries Science, **76**: 761–767.

Ando D, Shinriki Y, Miyakoshi Y, Urabe H, Yasutomi R, Aoyama T, Sasaki Y, Nakajima M (2011). Seasonal variations in and effect of incubation water temperature on vertebral number in naturally spawning chum salmon *Oncorhynchus keta*. Fisheries Science, **77**: 799–807.

Ando D, Urabe H, Saneyoshi H, Shimoda K, Shinriki Y, Aoyama T, Nakajima M (2012). Latitudinal variation in the number of pectoral fin rays in juvenile masu salmon *Oncorhynchus masou masou* on the Sea of Japan side of Hokkaido Island. Aquaculture Science, **60**: 143–145.

安藤大成，卜部浩一，下田和孝，青山智哉，飯嶋亜内，實吉隼人，楠田聡，村上豊，安富亮平，神力義仁（2013a）．サクラマスの計数形質の特徴とその利用．「平成 20～24 年度経常研究報告書　サクラマスの自然再生産資源の造成研究」，北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場，恵庭，pp. 52–63.

安藤大成, 安富亮平, 神力義仁, 宮腰靖之, 卜部浩一, 青山智哉, 佐々木義隆, 中嶋正道（2013b）．自然産卵したサケ *Oncorhynchus keta* における幽門垂数の遡上時期による変異．水産増殖, **61**: 311–314.

安藤大成，佐藤俊平，神力義仁，安富亮平，有賀望，中嶋正道（2014a）．琴似発寒川で自然産卵したサケの脊椎骨数と体サイズの関係．水産育種, **43**: 29–33.

安藤大成，神力義仁，下田和孝，安富亮平，佐々木義隆，宮腰靖之，中嶋正道（2014b）．サケの産卵時期が脊椎骨数の変異に及ぼす影響．日本水産学会誌，**80**: 191–200.

安藤大成，佐々木義隆，宮腰靖之，安富亮平，飯嶋亜内，下田和孝，中嶋正道（2015）．サケ稚魚における家系間の成長様式の違い．水産増殖，63，印刷中．

Barlow GW (1961). Causes and significance of morphological variation in fishes. Systematic Biology, **10**: 105–117.

Beacham TD (1984). Age and morphology of chum salmon in southern British Columbia. Transactions of the American Fisheries Society, **113**: 727–736.

Beacham TD (1988). A genetic analysis of early development in pink (O*ncorhynchus gorbuscha*) and

chum salmon (*Oncorhynchus keta*) at three different temperature. Genome, **30**: 89–96.

Beacham TD (1990). A genetic analysis of meristic and morphometric variation in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) at three different temperatures. Canadian Journal of Zoology, **68**: 225–229.

Beacham TD, Murray CB (1985). Effect of female size, egg size, and water temperature on developmental biology of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) from the Nitinat River, British Columbia. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, **42**: 1755–1765.

Beacham TD, Murray CB (1986a). The effect of spawning time and incubation temperature on meristic variation in chum salmon (*Oncorhynchus keta*). Canadian Journal of Zoology, **64**: 45–48.

Beacham TD, Murray CB (1986b). Comparative developmental biology of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) from the Fraser River, British Columbia. *C*anadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, **43**: 252–262.

Beacham TD, Murray CB (1987). Adaptive variation in body size, age, morphology, egg size, and developmental biology of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in British Columbia. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, **44**: 244–261.

Beacham TD, Sato S, Urawa S, Le KD, Wetklo M (2008). Population structure and stock identification of chum salmon *Oncorhynchus keta* from Japan determined by microsatellite DNA variation. Fisheries Science, **74**: 983–994.

Bergot P, Blank JM, Escaffre AM (1981a). Relationship between number of pyloric caeca and growth in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Aquaculture, **22**: 81–96.

Bergot P, Blank JM, Escaffre AM, Poisson H (1981b). Effect of selecting sires according to their number of pyloric caeca upon the growth of offspring in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Aquaculture, **25**: 207–215.

Billerbeck JM, Ortí G, Conover DO (1997). Latitudinal variation in vertebral number has a genetic basis in the Atlantic silverside, *Menidia menidia*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, **54**: 1796–1801.

Blanc JM, Poisson H (2006). Genetic variation of body size, condition and pyloric caeca number in juvenile brown trout, *Salmo trutta* L. Aquaculture Research, **37**: 637–642.

Buchholz WG, Miller SJ, Spearman WJ (2001). Isolation and characterization of chum salmon microsatellite loci and use across species. Animal Genetics, **32**: 162－167.

Choubert G, Noüe J, Blanc J (1991). Apparent digestibility of canthaxanthin in rainbow trout: effect of dietary fat level, antibiotics and number of pyloric caeca. Aquaculture, **99**: 323–329.

Cochran, WG (1954). Some methods for strengthening the common χ^2 tests. Biometrics, **10**: 417–451.

Eliason EJ, Clark TD, Hague MJ, Hanson LM, Gallagher ZS, Jeffries KM, Gale MK, Patterson DA, Hinch SG, Farrell AP (2011). Differences in thermal tolerance among sockeye salmon populations. Science, **332**: 109–112.

Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005). Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinfomatics Online, **1**:47–50.

Fahy WE (1976). The morphological time of fixation of the total number of vertebrae in *Fundulus majalis* (Walbaum). Journal du Conseil International Exploration de la Mer, **36**: 243–250.

藤田清（1990）.「魚類尾部骨格の比較形態図説」東海大学出版会，東京．897 pp.

Goudet J (1995). FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. Journal of Heredity, **86**: 485–486.

Goudet J (2001). FSTAT, a program to estimate and gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html.

長谷川功，森田健太郎，岡本康孝，大熊一正（2013）．人工ふ化放流河川におけるサケの成熟年齢・サイズの野生魚-放流魚間比較．日本水産学会誌，**79**: 657–665.

Hikita T (1962). Ecological and morphological studies of the genus *Oncorhynchus* (Salmonidae) with particular consideration on phylogeny. Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery, **17**: 1–97.

北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場（2013）．サケ資源動態・生物統計調査．「平成 23 年度道総研さけます・内水面水産試験場事業報告書」北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場，恵庭．pp. 25–28.

北海道立水産孵化場（2009）．サケ資源の動態・生物統計調査．「平成 19 年度事業成績書」，北海道立水産孵化場，恵庭，pp. 29–31.

北海道鮭鱒ふ化放流事業百年記念事業協賛会（1988）. 北海道鮭鱒ふ化放流事業百年史統計編，北海道さけ・ます増殖事業協会，札幌，432 pp.

北海道さけ・ますふ化場（1960）．「昭和 33 年度事業成績書」，北海道さけ・ますふ化場，札幌，69 pp.

北海道さけ・ますふ化場（1962）．「昭和 36 年度事業成績書」，北海道さけ・ますふ化場，札幌，81 pp.

北海道さけ・ますふ化場（1964）．「昭和 37 年度事業成績書」，北海道さけ・ますふ化場，札幌，112 pp.

北海道さけ・ますふ化場（1967）．「昭和 40 年度事業成績書」，北海道さけ・ますふ化場，札幌，147 pp.

北海道さけ・ます増殖事業協会（2007）．「さけ・ますふ化放流事業実施マニュアル」社団法人北海道さけ・ます増殖事業協会，札幌．102 pp.

今井尚隆，工藤秀明，帰山雅秀（2007）．サケ（*Oncorhynchus keta*）遊楽部川 2 個体群の繁殖戦略に関する外部形態比較．魚類学雑誌，**54**: 121–128.

入江隆彦（1990）．海洋生活初期のサケ稚魚の回遊に関する生態学的研究．西海区水産研究所研究報告，**68**: 1–142.

Ishida Y, Ito S, Kaeriyama M, McKinnell S, Nagasawa K (1993). Recent changes in age and size of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in the North Pacific Ocean and possible causes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, **50**: 290–295.

Iwatsuki Y, Kimura S, Yasumoto J, Akazaki M (1990). A record of chum salmon, *Oncorhynchus keta*

caught from most south-west border, Miyazaki Prefecture. Bulletin of Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, **37**: 115–118.

Jordan DS (1892). Relations of temperature to vertebrae among fishes. Proceedings of the United States National Museum, **14**: 107–120.

帰山雅秀（2002）.「最新のサケ学」成山堂書店，東京．128 pp.

帰山雅秀（2013）．シロザケ野生魚のリカバリー.「サケ学大全」（帰山雅秀，永田光博，中川大介編著）北海道大学出版会，札幌，pp. 77–82.

帰山雅秀，浦和茂彦（1990）．北日本におけるサケ科魚類の幽門垂数．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**44**: 1–9.

加藤文男（2006）．福井県河川に遡上するサケの形態と生態，資源の保全．福井市自然史博物館研究報告，**53**: 73–81.

川上四郎（1934）. 魚体計測学的方面より見たる本道産サケの系統的関係に就て. 北水試旬報，**244**: 1–8.

川崎健（2009）.「イワシと気候変動－漁業の未来を考える」岩波書店，東京．198 pp.

木島明博（1981）．シロサケの河川集団の遺伝的組成におよぼす移殖の効果．水産育種，**6**: 44–45.

木島明博，藤尾芳久（1979）．シロサケ集団における IDH および LDH アイソザイムの地理的変異．日本水産学会誌，**45**: 287－295.

Kijima A, Fujio Y (1982). Correlation between geographic distance and genetic distance in populations of chum salmon *Oncorhynchus keta*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, **48**: 1703–1709.

木島明博，網田健次郎，能勢幸雄（1980）．シロサケの移殖効果について．水産育種，**5**: 7–12.

木村清朗（1981）．九州北部におけるサケの捕獲例．魚類学雑誌，**28**: 193–196.

Kirpichnikov VS (1981). “Genetic Bases of Fish Selection (translated by Gause GG)”. Springer-Verlag, New York, 410 pp.

Kitada S (1999). Effectiveness of Japan's stock enhancement programmes: current perspective. In: Howell BR et al. (eds) "Stock Enhancement and Sea Ranching". Blackwell Science, Oxford, pp. 103–131.

Kitanishi S, Yamamoto T, Higashi S (2009). Microsatellite variation reveals fine-scale genetic structure of masu salmon, *Oncorhynchus masou*, within the Atsuta River. Ecology of Freshwater Fish, **18**: 65–71.

小林哲夫（1961）．サケ *Oncorhynchus keta* (Walbaum)の年齢，成長並びに系統に関する研究．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**16**: 1–102.

小林哲夫（1985）．回帰資源の管理．「秋サケの資源と利用」恒星社厚生閣，東京，pp. 9–22.

小林哲夫（2009）．「日本サケ・マス増殖史」北海道大学出版会，札幌．310 pp.

小林哲夫，石川嘉郎（1964）．サケ稚魚の生態調査-VIII，千歳川，石狩川のサケ稚魚の生長と食性について．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**18**: 7–15.

小林哲夫，黒萩尚（1968）．網走湖，網走川におけるサケ稚魚の生態とその保護について．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**22**: 37–71.

小林哲夫，原田滋，阿部進一（1965）．西別川におけるサケ・マスの生態調査 I．サケ稚魚の降海移動並びに成長について．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**19**: 1–10.

久保伊津男（1961）．「水産資源各論」恒星者厚生閣，東京，396 pp.

久保達郎（1950）．サケ魚群と体節の数について（予報）．北海道大学水産学部研究彙報，**1**: 1–11.

久保達郎（1956）．脊椎骨数に見られる知内川のサケ魚群の特異性．北海道大学水産学部研究彙報，**6**: 266–270.

久保達郎，小林哲夫（1953）．石狩川のサケの二三の魚群と脊椎骨数及びウロコの数について．日本水産学会誌，**19**: 297–302.

工藤飛雄馬，井ノ口伸幸，木島明博（2001）．総当たり交配によるニジマスの成長における遺伝率の推定．水産増殖，**49**: 243–251.

Kwain W (1975). Embryonic development, early growth, and meristic variation in rainbow trout

(*Salmo gairdneri*) exposed to combinations of light intensity and temperature. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, **32**: 397–402.

Leary RF, Allendorf FW, Knudsen KL (1985). Inheritance of meristic variation and the evolution of developmental stability in rainbow trout. Evolution, **39**: 308–314.

Lindsey CC (1975). Pleomerism, the widespread tendency among related fish species for vertebral number to be correlated with maximum body length. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, **32**: 2453–2469.

Lindsey CC (1988). Factors controlling meristic variation. In: Hoar WS, Randall DJ. (eds). "Fish Physiology (volume XI)" Academic Press Inc., San Diego, pp. 197–274.

Lynch M, Walsh B (1998). "Genetics and Analysis of Quantitative Characters". Sinauer, Sunderland, 980 pp.

松岡誠，吉田敦，山崎文雄（1987）．茂辺地川とその沿岸域に回帰するシロサケ集団の遺伝的組成の特徴．北海道大学水産学部研究彙報，**38**: 343–348.

McDowall RM (2008). Jordan's and other ecogeographical rules, and the vertebral number in fishes. Journal of Biogeography. **35**; 501–508.

宮腰靖之，青山智哉，藤原真，實吉隼人，楠田聡，川村洋司，小山達也，卜部浩一，安藤大成（2011a）．北海道日本海側の河川に遡上したサケの年齢組成．北海道水産試験場研究報告，**80**: 39–44.

宮腰靖之，卜部浩一，安藤大成，實吉隼人，青山智哉，坂本博幸，春日井潔，永田光博（2011b）．北海道におけるサケ自然産卵個体群の分布（資料）．北海道水産試験場研究報告，**80**: 51–64.

宮腰靖之，卜部浩一，安藤大成（2012）．都市近郊河川で観察されたサケとサクラマスの産卵床密度（短報）.北海道水産試験場研究報告，**81**: 141–143.

Miyakoshi Y, Urabe H, Saneyoshi H, Aoyama T, Sakamoto H, Ando D, Kasugai K, Mishima Y, Takada M, Nagata M (2012). The occurrence and run timing of naturally spawning chum salmon in northern Japan. Environmental Biology of Fishes, **94**: 197–206.

Miyakoshi Y, Nagata M, Kitada S, Kaeriyama M (2013). Historical and current hatchery programs and management of chum salmon in Hokkaido, northern Japan. Reviews in Fisheries Science, **21**: 469–479.

森田健太郎，高橋悟，大熊一正，永沢亨（2013a）．人工ふ化放流河川におけるサケ野生魚の割合推定．日本水産学会誌，**79**: 206–213.

森田健太郎，高橋美信，宮内康行，高橋悟，大貫努，大熊一正（2013b）．北海道千歳川におけるサケの自然再生産効率．日本水産学会誌，**79**: 718–720.

永田光博（2009）．サケ類増殖事業の歴史と将来展望.「サケ学入門」（阿部周一編著）北海道大学出版会，札幌，pp. 19–34.

永田光博，宮腰靖之（2013）．孵化事業の光と影，持続的資源管理に向けて.「サケ学大全」（帰山雅秀，永田光博，中川大介編著）北海道大学出版会，札幌，pp. 151–156.

Nagata M, Miyakoshi Y, Ando D, Fujiwara M, Sawada M, Shimada H, Asami H (2007). Influence of coastal seawater temperature on the distribution and growth of juvenile chum salmon, with recommendations for altered release strategies. North Pacific Anadromous Fish Commision Bulletin, **4**: 223-235.

Nagata M, Miyakoshi Y, Urabe H, Fujiwara M, Sasaki Y, Kasugai K, Torao M, Ando D, Kaeriyama M (2012). An overview of salmon enhancement and the need to manage and monitor natural spawning in Hokkaido, Japan. Environmental Biology of Fishes, **94**: 311–323.

中坊徹次（編）（2013）.「日本産魚類検索全種の同定第三版」（中坊徹次編）東海大学出版会，秦野，1747 pp.

Nakajima M, Ando D, Kijima A, Fujio Y (1996). Heritability of vertebral number in the coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. Tohoku Journal of Agricultural Research, **47**: 29–36.

野川秀樹，八木沢功（2011）．さけます類の人工ふ化放流に関する技術小史（飼育管理編）．水産技術，**3**: 67–89.

Okazaki T (1978). Genetic differences of two chum salmon (*Oncorhynchus keta*) populations

returning to the Tokachi River. Bulletin of Far Seas Fisheries Research Laboratory, **16**: 121–128.

Okazaki T (1982). Geographical distribution of allelic variations of enzymes in chum salmon *Oncorhynchus keta*, river populations of Japan and the effects of transplantation. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, **48**: 1525–1535.

Olsen JB, Wilson S, Kretschmer EJ, Jones KC, Seeb JM (2000). Characterization of 14 tetranucleotide microsatellite loci derived from sockeye salmon. Molecular Ecology, **9**: 2155－2234.

R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (ISBN 3-900051-07-0, Available from http://www.R-project.org/.)

Raymond M, Rousset F (1995). GENEPOP Version 1.2: Population genetics software for exact test and ecumensism. Journal of Heredity, **86**: 248–294.

Salo EO (1991). Life history of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). In: Groot C, Margolis L (eds). “Pacific Salmon Life Histories” UBC Press, Vancouver, pp. 233–309.

佐野誠三（1946）．遡河鮭中通称ギンケ鮭に関する調査（予報 1）．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**1**: 39–43.

佐野誠三（1947）．遡河鮭中通称ギンケ鮭に関する調査（2）．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**2**: 41–45.

Sano, S (1967). Salmon of the North Pacific Ocean-part IV, spawning populations of North Pacific salmon; 3. chum salmon in the Far East. International North Pacific Fisheries Commission Bulletin, **23**: 23–41.

佐野誠三（1982）.「サケ・マスの仲間」釣り人社，東京，148 pp.

佐野誠三・久保達郎（1946）．北海道各河川遡上鮭（*O. keta*）の生態調査 1．水産孵化場試験報告，**1**: 1–11.

佐野誠三・久保達郎（1947）．北海道各河川遡上鮭（*O. keta*）の生態調査 2．水産孵化場試験

報告，**2**: 51–58.

Sato S, Ando J, Ando H, Urawa S, Urano A, Abe S (2001). Genetic variation among Japanese populations of chum salmon inferred from the nucleotide sequences of the mitochondrial DNA control region. Zoological Science, **18**: 99–106.

Sato S, Kojima H, Ando J, Ando H, Wilmot RL, Seeb LW, Efremov V, LeClair L, Buchholz W, Jin DH, Urawa S, Kaeriyama M, Urano A, Abe S (2004). Genetic population structure of chum salmon in the Pacific Rim inferred from mitochondrial DNA sequence variation. Environmental Biology of Fishes, **69**: 37–50.

Schmalhausen II (1949). “Factors of Evolution: The Theory of Stabilizing Selection” Blakiston, Oxford, 327 pp.

Schlichting CD, Pigliucci M (1998). “Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective” Sinauser Associates, Sunderland, 387 pp.

関二郎（2005）. 北海道太平洋沿岸域におけるサケ幼稚魚の摂餌特性と餌料環境に関する研究. さけ・ます資源管理センター研究報告，**7**: 1–104.

Seymour A (1959). Effects of temperature upon the formation of vertebrae and fin rays in young Chinook salmon. Transactions of the American Fisheries Society, **88**: 58–69.

四宮明彦，真鍋尚也，櫻井真（2003）．鹿児島県西岸で捕獲された成熟サケ．魚類学雑誌，**50**: 147–151.

Smith CT, Koop BF, Nelson RJ (1998). Isolation and characterization of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) microsatellites and their use in other salmonids. Molecular Ecology, **7**: 1614－1616.

水産総合研究センター（2012）.「平成 22 年度，第二期中期目標期間さけますセンター業務報告書」独立行政法人水産総合研究センター，横浜．131 pp.

Suzuki T, Okamoto M, Aruga N (2005). Natural spawning of chum salmon in the Toyohira River, Hokkaido. North Pacific Anadoromous Fish Commission Technical Report, **6**: 121.

Swain DP, Hutchings JA, Foote CJ (2005). Environmental and genetic influences on stock

identification characters. In: Cadrin SX, Friedland KD, Waldman JR (eds). “Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science” Elsevier, San Diego, pp. 45–85.

高橋史久（2009）．これまでの耳石温度標識から得られた知見．SALMON 情報，**3**: 6–7.

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.

Tallman RF (1986). Genetic differentiation among seasonally distinct spawning populations of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. Aquaculture, **57**: 211–217.

Tallman RF, Healey MC (1991). Phenotypic differentiation in seasonal ecotypes of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, **48**: 661–671.

Tåning AV (1952). Experimental study of meristic characters in fishes. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, **271**: 169–193.

戸叶恒（2008）．サケ親魚の質が受精卵の発育過程に与える影響．SALMON 情報，**2**: 6–7.

Ulla O, Gjedrem T (1985). Number and length of pyloric caeca and their relationship to fat and protein digestibility in rainbow trout. Aquaculture, **47**, 105–111.

卜部浩一，三島啓雄，宮腰靖之（2013）．十勝川水系におけるサケ・サクラマスの産卵環境評価（資料）．北海道水産試験場研究報告，**84**: 47–56.

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.

Vernon EH (1957). Morphometric comparison of three races of Kokanee (*Oncorhynchus nerka*) within a large British Columbia lake. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, **14**: 573–598.

和田克彦（1979）．量的形質の遺伝.「水産生物の遺伝と育種」恒星社厚生閣，東京，pp. 7–26.

Yokotani R, Azuma N, Kudo H, Abe S, 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 Genetics and Breeding Science, **39**: 9–16.

Yoon M, Sato S, Seeb JE, Brykov V, Seeb LW, Varnavskaya NV, Wilmot RL, Jin DH, Urawa S, Urano A, Abe S (2008). Mitochondrial DNA variation and genetic population structure of chum salmon *Oncorhynchus keta* around the Pacific Rim. Journal of Fish Biology, **73**: 1256–1266.

Zimmerman AM, Wheeler PA, Ristow SS, Thorgaard GH (2005). Composite interval mapping reveals three QTL associated with pyloric caeca number in rainbow trowt, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, **247**: 85–95.