

知床半島ルシャ川におけるカラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* の産卵遡上動態評価

横山 雄哉,¹ 越野 陽介,¹ 宮本 幸太,²
工藤 秀明,³ 北田 修一,⁴ 帰山 雅秀^{3*}

(2009年11月25日受付, 2010年2月3日受理)

¹北海道大学大学院水産科学院, ²鮭水産総合研究センターさけますセンター,
³北海道大学大学院水産科学研究院, ⁴東京海洋大学

Estimating the spawning escapement of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha*
using the area-under-the-curve method in the Rusha River of the
Shiretoko Peninsula, Hokkaido Island

YUYA YOKOYAMA,¹ YOSUKE KOSHINO,¹ KOTA MIYAMOTO,²
HIDEAKI KUDO,³ SHUICHI KITADA⁴ AND MASAHIDE KAERIYAMA^{3*}

¹Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, ²Salmon Center, FRA, Sapporo, Hokkaido 062-0922, ³Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, ⁴ Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan

Pacific salmon *Oncorhynchus* spp. plays a role in sustaining the biodiversity and production of the terrestrial ecosystem. Accurate estimation of the escapement and spawning dynamics is important for the quantifying the effect of salmon on the riparian ecosystem. The objective of this paper is to estimate accurately the escapement and spawning dynamics of wild pink salmon *O. gorbuscha* at the Rusha River in the Shiretoko World Natural Heritage area in 2006–2008. The escapement of pink salmon was estimated by the area-under-the-curve method (AUC) with the standard error based on the bootstrap method. The estimated escapement indicated appropriate results. The carrying capacity of spawning redds, however, was far lower than escapements in the available spawning area.

キーワード: AUC法, カラフトマス, MLA法, ルシャ川, 産卵床数, 知床半島, 遡上数

サケ属魚類 (*Oncorhynchus* spp.) は, 産卵のため河川に遡上することで海洋起源物質 (MDN) を河川湖沼等の陸圏生態系へ運ぶことにより, その生産力や生物多様性を高めたり, 様々な影響を及ぼす。¹⁻⁶⁾ 陸圏生態系への MDN の影響を定量的に評価するためには, サケ属魚類の遡上数や産卵床数など産卵遡上生態に関する基礎的知見が不可欠である。¹⁾

サケ属魚類の遡上動態推定法には, 標識放流法 (Petersen 法)⁷⁾ や音響装置法⁸⁾ などの他, 最も基本的な手法として目視調査法⁹⁾ がある。研究初期の目視調査法では, 遡上ピーク期の親魚数を遡上数評価の指標としていたこともあり, 必ずしも正確な評価法とはみなされな

かった。¹⁰⁾ その後, 河川に遡上する全親魚数を把握するために台形近似法 (Area-Under-the-Curve: AUC) が開発され, 現在ではアラスカ州やカナダで最も普遍的に利用されるようになった。¹¹⁻¹³⁾ この方法では, 実際に河川に遡上した個体数を評価するのに有益である。しかし, 親魚の河川における生存日数 (滞在時間), 全遡上数に対する目視観察数の比 (カウント効率) および遡上開始時期など, 数多くのパラメータを必要とする。最近, それらのパラメータが比較的曖昧であっても遡上パターンを推定できる Maximum Likelihood Approach (MLA)¹⁴⁾ や Bayesian モデル¹⁵⁾ などの遡上評価モデルが開発された。しかし, これら遡上評価法の適用には長年に亘る膨

大な遡上カウント・データが必要であるばかりでなく、誤差推定ではなかなか収束することがむずかしく、推定値の変動も著しい。¹²⁻¹⁶⁾ 一方、標識魚の繰返し再捕法¹⁶⁾ およびデータロガーや超音波発信機によるサケ属魚類の産卵遡上行動に関する研究¹⁷⁻¹⁹⁾ は、正確な産卵場所の位置情報や河川滞在日数の推定などサケ属魚類の詳細な産卵遡上生態を明らかにするのに貢献している。サケ属魚類の個体群の正確な遡上パターンを知ることは、漁業や河川開発などの人為的インパクトによりダメージを受けた個体群を回復する上できわめて重要な情報となる。¹⁵⁾ しかし、野生魚の産卵遡上生態に関する情報が乏しいわが国において、これらの総合的な遡上評価法を確立するにはまだかなりの時間を要するものとみなされる。

わが国の河川生態系では、河道の直線化、河床の低下、ダムなどの人工工作物の構築などにより、魚類の移動障害や産卵場喪失が起り、野生サケ属魚類の再生産が不可能な場合がきわめて多い。^{20,21)} また、わが国ではシロザケ *O. keta* の産卵行動²²⁾ や産卵場の環境条件に関する研究²³⁾ や孵化場魚の遡上行動^{24,25)} に関する研究例はわずかにあるが、野生サケ属魚類の産卵遡上生態に関する研究はほとんど行われてこなかった。特に、カラフトマス *O. gorbuscha* 野生魚の産卵遡上生態に関する研究は、Morita *et al.* (2006)²⁶⁾ を除き、行われていない。

本研究では、わが国において初めて、北海道東部知床半島のルジャ川におけるカラフトマス野生魚の正確な遡上数の把握と産卵遡上動態の評価を試みた。知床半島は、海と陸の環境の相互作用およびその特徴的な生態系が評価され、2005年世界自然遺産に登録された。本研究の対象河川であるルジャ川は知床半島世界自然遺産地域内の中央部に位置し、比較的数量多くのカラフトマスとシロザケが自然に産卵遡上する。これらサケ属魚類はMDNをルジャ川に運搬する^{6,27)} が、その産卵遡上動態に関しては全く明らかにされていない。なお、本河川には簡易な孵化場が設置されているが、カラフトマスの再生産においてほとんど機能していない。

本報では、わが国における野生サケ属魚類の産卵遡上動態評価法の確立を究極の目標とし、知床半島ルジャ川に遡上するカラフトマスの遡上産卵動態を明らかにするために、AUC法による遡上数の算定とロジスティックモデルによる産卵環境収容力の推定を試みた。

材料および方法

ルジャ川におけるカラフトマスの遡上産卵動態 2006~2008年8月下旬~10月中旬に、北海道東部の知床半島ルジャ川においてカラフトマスの産卵遡上行動、産卵遡上数および産卵床数の実態評価に関する現地調査を行うとともに、河川環境および河川周辺環境のデータ

を収集した。

ルジャ川の降水量は気象庁ホームページ (<http://www.jma.go.jp/jma/index.html>) から引用したウトロ観測所の降水量データを使用した。2007年9月14日~11月17日および2008年8月31日~10月15日に、ルジャ川 (St. 4とSt. 5の間地点; Fig. 1) において水位計データロガー (HOBO U20 Water Level Logger, Onset社製) により水温と水位を2時間毎に連続測定した。

カラフトマス個体の河川内での行動を、超音波テレメトリーを用いて解析した。ルジャ川河口で捕獲したカラフトマス雄親魚計22個体 (2006年6個体, 2007年8個体, 2008年8個体) の胃内に超音波発信機コード化ピンガー (V13 Coded Transmitter, VEMCO社製) を挿入し、2006年8月29日と9月16日, 2007年9月14日, 2008年9月14日に河口に再放流した。超音波発信機の受信機VR2 (VEMCO社製) をルジャ川の河口域 (St. 1), 河口より上流330m (St. 2), 370m (St. 3), 420m (St. 4) および580m (St. 5) の淵に設置した (Fig. 1)。2008年には、追跡精度を高めるために移動式受信機 (VR100, VEMCO社製) も使用し、放流後7日間河口からカラフトマス遡上境界地点 (河口から約3km) まで標識魚を追跡した。また、受信機VR2およびVR100に記録されたコード化ピンガーの情報から、個体毎にカラフトマスの河川滞在日数 (S) を算出した。したがって、河川滞在日数は受信機でピンガー情報が得られている期間を表し、放流後、カラフトマスが降海したり、ヒグマなどに補食され陸域へ運搬されピンガー情報が得られなくなるまでの日数を意味する。

ルジャ川カウント定点 (Fig. 1) において、8時から16時まで2時間毎に20分間 (5回/日)、カラフトマス親魚の上流および下流への移動数を目視により計数し、両者の差を遡上数とした。計数日数は、それぞれ、2006年が8月24日~10月11日のうち19日間, 2007年が8月21日~10月14日のうち19日間, 2008年が8月22日~10月14日のうち16日間であった。

またルジャ川のカラフトマス遡上数カウントは、夜間のヒグマとの遭遇リスクから、昼間のみしか行わなかった。そのため、カラフトマスの遡上数の昼夜比およびカウント効率の算出を目的に、ルジャ川に地理的に比較的近い河川形状の類似したイワウベツ川のさけます孵化場においてカラフトマスの上流および下流への移動数を24時間計数した。計数は、それぞれ、2006年8月24日, 9月13日および9月30日, 2007年8月23日, 8月31日, 9月19日および10月2日, そして2008年8月26日, 9月20日および10月3日の10回行った。イワウベツ川24時間観測から、上流および下流への移動数の差を遡上数とカウントし、カウント効率をイワウ

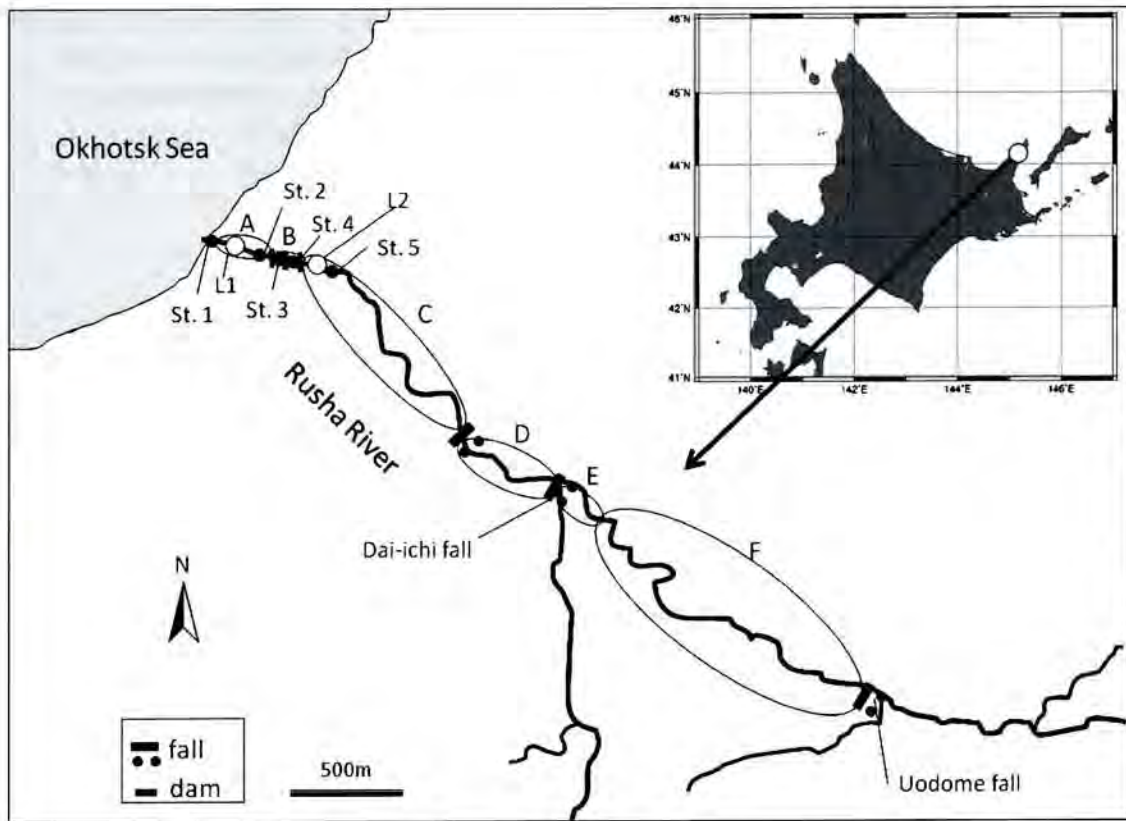


Fig. 1 Location of the study site in the Rurua River. A-F: Spawning area codes, L1: Counting station for pink salmon escapement, L2: Station for measuring water temperature and level.

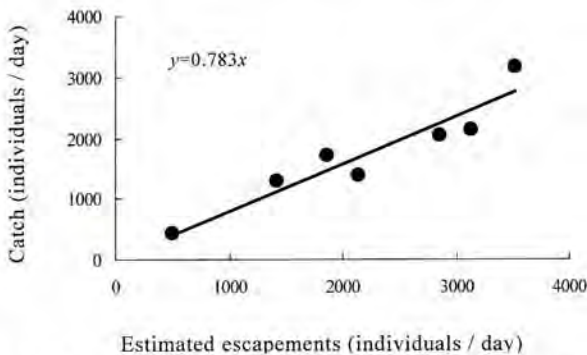


Fig. 2 Relationship between daily estimated escapement and catch of pink salmon at the Iwaubetsu Salmon Hatchery.

ベツ川日間遡上数 y と孵化場における日間捕獲数 x との補正関数 ($y=0.783x$; $R^2=0.89$, $p<0.01$) より求めた (Fig. 2)。

ルシャ川におけるカラフトマスの産卵流域を6区間に区分した (Fig. 1)。区間区分は、3基のダムよりも下流域 (区間A)、ダム間の河川域 (区間B)、第3ダムから峡谷までの流域 (区間C)、峡谷から支流ポンルシャ川合流点までの流域 (区間D)、支流ポンルシャ川合

流点から第一の滝までの流域 (区間E)、滝から魚止めの滝までの流域 (区間F) とした (Fig. 1)。各区間内に河川長 100 m の調査域を設け、1週間に1回程度の頻度で、カラフトマスの産卵床数を計数した。同時に、流速計 AEM1-D (アレック電子社製) を使用し、産卵床直上における流速を計測した。産卵床密度を、最終カウント時の単位面積当たり (m^2) の産卵床数と定義した。また、産卵床密度とルシャ川における流域面積から総産卵床数を推定した。

カラフトマス遡上数および産卵環境収容力の推定方法
ルシャ川におけるカラフトマスの遡上数は、目視カウント結果を基礎に Area-Under-the-Curve (AUC) 法⁹⁾により推定した。ルシャ川におけるカラフトマスの産卵場所は限られており、早期の産卵床は後期に遡上するカラフトマスにより掘り返されることが多々観察された。そのため、本報ではカラフトマスの産卵床数の評価としてロジスティック・モデルを基礎に産卵環境収容力を推定した。

AUC法 本法は、最も一般的な遡上数推定方法であり、主に北アメリカのオレゴン州、ワシントン州、アラスカ州およびカナダ西海岸で用いられている。¹¹⁻¹³⁾ 本法は遡上数の実測値を図上にプロットし、その下側の面

積を下式に基づき, 台形近似して遡上数を推定する方法である。

$$AUC_d = \sum_{r=2}^5 \frac{(t_r - t_{r-1})(c_r + c_{r-1})}{2}$$

$$x_i = AUC_d \frac{C}{C_d} \times O_e$$

$$AUC = \sum_{i=2}^n \frac{(t_i - t_{i-1})(x_i + x_{i-1})}{2} \quad (1)$$

ここで, AUC_d はルシャ川における昼間の遡上数, 5 は 1 日あたりの計測回数, r は計数調査日における計数回次 ($r=2, \dots, 5$), t_r は計数を行った時刻, c_r は計数調査日の r 回目の計数結果, x_i は調査日 t_i ($i=2, \dots, n$) の日間遡上数, C はイワウベツ川における日間遡上数, C_d はイワウベツ川における昼間の遡上数, O_e はイワウベツ川における推定日間遡上数とイワウベツ孵化場における日間捕獲数との関係式として求めた補正関数 ($y=0.783x$; Fig. 2), AUC はルシャ川における総遡上数である。AUC 法により推定した遡上数の誤差は日間遡上数 x_i ($i=2, \dots, n$) のくり返しを許して i 個リサンプリングし, AUC を推定することを B 回くり返して, ブートストラップ法の次式により算定した。²⁸⁾

$$SE(AUC) = \sqrt{\frac{\sum_{b=1}^B (AUC_b - AUC_{hm})^2}{B-1}} \quad (2)$$

ここで, $SE(AUC)$ は AUC 法により推定したルシャ川における総遡上数の推定値の標準誤差, AUC_b は反復回数 b 回目における AUC のブートストラップ推定値, AUC_{hm} はブートストラップ推定値の平均値を表す。ブートストラップのサンプルは, 繰返しを許してデータと同じ数の観測個体数をリサンプリングした。ブートストラップ反復は 10000 回行った。パーセンタイル法による 95% 信頼区間の算定方法は, ブートストラップ・サンプルの αB 番目を下側信頼限界, $(1-\alpha)B$ 番目を上側信頼限界とした。ただし, αB および $(1-\alpha)B$ は自然数であり, $\alpha=0.025$ である。²⁸⁾

ルシャ川におけるカラフトマスの産卵環境収容力の算定 一般的に, カラフトマスは河口域を中心とする河川下流域に産卵し,^{23,30)} その産卵床密度は産卵床 1 個体あたり 1 m^2 と言われている。³³⁾ ここでは, ルシャ川におけるカラフトマスの産卵場における潜在的な産卵床数を産卵環境収容力とし, ルシャ川におけるカラフトマスの遡上数データおよび産卵床数データを用いて単位面積当たりの産卵環境収容力を推定した。Fukushima *et al.* (1998)²⁹⁾ は, カラフトマスの遡上密度が高く, 産卵環境が限定されているとき産卵床の重複頻度が高くなることを明らかにしている。そのため, ルシャ川においても, 産卵遡上親魚数が産卵環境収容力を大幅に超えてしまった場合, 産卵床数は産卵遡上親魚数の増加に伴って

一定値に漸近すると予想される。今回, 産卵遡上親魚数は, 死亡のパターンに正規分布 $N(m, \sigma_s^2)$ を仮定した Hilborn *et al.* (1999)¹⁴⁾ の累積死亡数 D_t を用いて次式より求めた。

$$D_t = AUC \int_{i=0}^t \left[\frac{1}{\sigma_s \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(i-m)^2}{2\sigma_s^2}\right) \right] di$$

$$N_t = \sum_{i=0}^t x_i - D_t \quad (3)$$

ここで, D_t は計数調査 t 日目までのカラフトマスの累積死亡数, N_t は t 日に河川内に生存している産卵親魚数を表す。なお, m はルシャ川におけるカラフトマスの平均河川滞在日数で, VR2 に記録されたコード化ビンガー情報から得られたカラフトマスが河川に滞在した時間の平均値とした。 σ_s はその標準偏差を表す。

また, カラフトマスは河口域を中心とする河川下流域に産卵する。^{23,30)} そのため, 今回はルシャ川における産卵場の中心であり, 産卵床の重複が起こっている可能性の高いルシャ川下流域 (A~C 区間) における産卵床密度データを用いて, 産卵環境収容力を求めた。遡上数の異なる複数年のデータを使用するため, 2006~2008 年 3 年間分の産卵床データをプールして用いた。また, 2006 年 11 月 (カラフトマス産卵遡上後), ルシャ川における治山ダム中央部に切れ込みを入れるダ工事が行われた。この治山ダムの切れ込みにより, カラフトマスの遡上が容易になった可能性がある。ダムの影響を考慮するため, C 区間において, 2006 年のデータのみを用いた時と 2007 および 2008 年 2 年間の産卵床数データを使用した時との違いを検討した。

カラフトマスの産卵環境収容力の算定方法として, 以下のロジスティックモデルを使用した。

$$S_t = \frac{K}{1 + a \exp(-bN_t)} \quad (4)$$

ここで, S_t はルシャ川内における t 日のカラフトマスの産卵遡上親魚数が N_t である時の産卵床数, K はルシャ川における産卵環境収容力, a と b はモデルにおけるパラメータを表す。モデルにおけるパラメータ (a, b, K) は, S_t に正規分布を仮定して最尤法により推定した。数値的最適化には, マイクロソフトエクセルにおけるソルバー最小化アルゴリズムを使用した。

統計解析 今回, ルシャ川における河川水温および降水量の年間比較には, t 検定もしくは分散分析 (ANOVA) を使用した。また, 日間遡上数と河川水温および河川水位との関係をピアソンの相関係数を用いて検討した。

結 果

ルシャ川の河川環境 ルシャ川は知床半島世界自然遺産核地域, 国指定鳥獣保護地区, 特別保護地区および

特別保護指定区域が重複する地域に存在し、オホーツク海へ注ぐ、流域面積 20.5 km²、主流路長 10 km を有する河川である。河川勾配は平均 3.8% と急峻で、Aa-Ab 移行型³¹⁾の河川形態を示す山地溪流である (Fig. 1)。本河川には河口から 330 m、380 m および 430 m 上流に計 3 基の治山ダムが設けられており、上流 2,290 m 地点に峡谷、上流 3,000 m に第一の滝、6,000 m に魚止めの滝が存在する。また、上流 2,870 m 地点で支流ポソルシャ川が合流している。知床半島はヒグマの生息密度が高く、ヒグマがカラフトマスを捕食する行動も河川河口域を中心に観察されている。³²⁾

ルシャ川におけるカラフトマス産卵遡上期の水温は、2007 年 9 月が 12.1±1.4°C、10 月が 8.5±1.6°C であり、2008 年 9 月が 12.7±1.8°C、10 月が 9.9±1.4°C であった (Fig. 3)。2008 年の河川水温は 2007 年と比較して

有意に高かった (*t* 検定; $p < 0.05$)。ルシャ川の水位は、2007 年の変動が著しく、降雨の直後急激に増水し、短時間で減水する傾向を示した (Fig. 4)。2006~2008 年 9 月~10 月におけるルシャ川流域における降水量は、年間差に有意性は見られなかったが (ANOVA; $p = 0.14$)、2006 年が最も多く、2008 年が最も少なかった (Fig. 5)。

また、ルシャ川の日中 (8~16 時) における 1 日当たりのヒグマ出没頭数は、2006 年が 4.8±2.3 頭、2007 年が 5.1±2.2 頭、2008 年が 3.8±2.7 頭であり、ヒグマは例外なくカラフトマスを捕食していた。

カラフトマスの河川遡上行動および河川滞在日数 発信機装着カラフトマスの移動パターンを追跡した結果、供試魚 22 個体のうち、St. 2 よりも上流に遡上したカラフトマスは 13 個体であった (Table 1)。残り 9 個体は、放流場所である St. 1 では受信されていたものの、

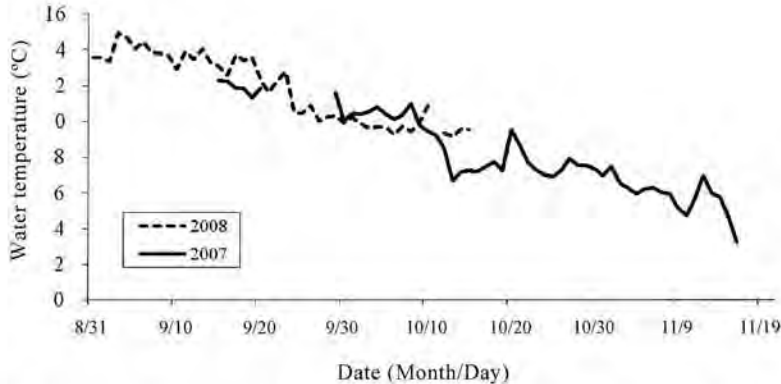


Fig. 3 Temporal change in water temperature in the Rusha River during the escapement period of pink salmon in 2007 and 2008.

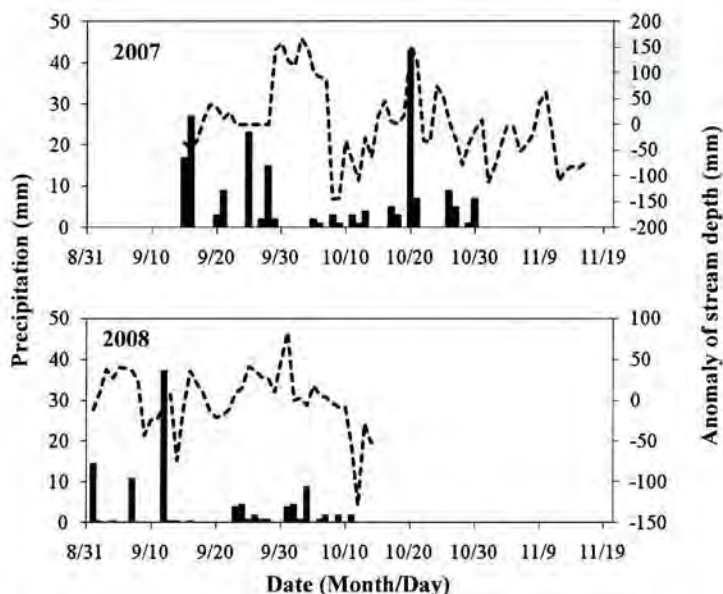


Fig. 4 Temporal change in anomaly of water level (lines) and precipitation (bars) in the Rusha River during the escapement period of pink salmon in 2007 and 2008.

その後の行方は明らかではなく、再び海へ降りた個体、ヒグマに捕食された個体の存在も考えられるが、今回それを特定することはできなかった。河川遡上カラフトマス 13 個体中、12 個体は St. 5 (河口から約 580 m) より上流に遡上せず、1 個体のみ放流 5 時間後に St. 5 より上流域に遡上し、その後降下しなかった。今回の超音波発信機を用いた追跡結果では、標識魚の遡上行動と河川環境要因 (水温、水位および捕食者の行動等) との関係を見出すことはできなかった。また、各年における河川滞在日数はそれぞれ、2006 年が 13.8 ± 12.3 日間、2007 年が 7.8 ± 3.8 日間、2008 年が 4.9 ± 4.0 日間と推定された。

イワウベツ川において 24 時間遡上数を計数した結果、カラフトマスは夜明け前後に遡上行動が活発となる傾向を示した (Fig. 6)。

カラフトマスの産卵遡上動態 AUC 法によるカラフトマスの遡上推定数は、それぞれ、2006 年が 58000 個体 (95% 信頼区間: 31000~82000 個体)、2007 年が 36000 個体 (同 19000~49000 個体)、そして 2008 年が 10000 個体 (同 7000~21000 個体) であった (Fig. 7)。このように、推定総遡上数は年により著しく異なり、2006 年が最も多く、2008 年が最も少なかった。

カラフトマスの遡上ピーク期は毎年 9 月 20 日前後であった。遡上ピーク時 (9 月 15~22 日) の河川水温は 2007 年 ($12.2 \pm 1.2^\circ\text{C}$) より 2008 年 ($12.8 \pm 1.7^\circ\text{C}$) の

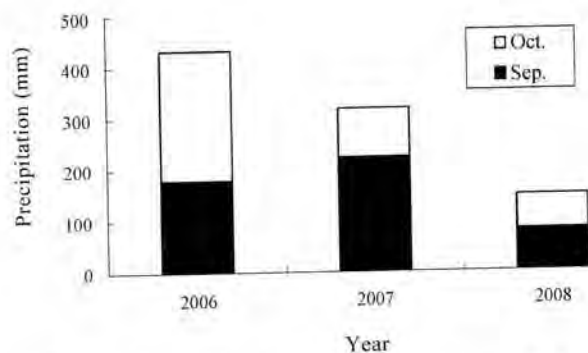


Fig. 5 The precipitation in Utoro (the base of the Shiretoko Peninsula) during September and October in 2006–2008.

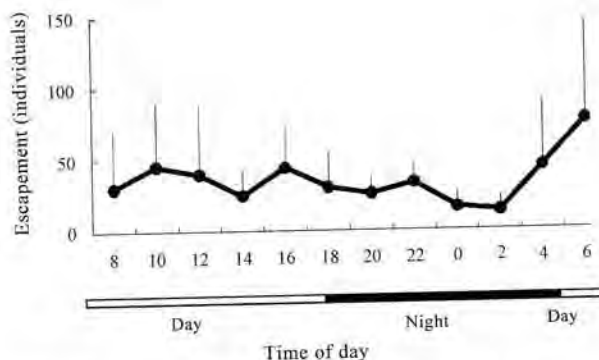


Fig. 6 Diurnal change in mean escapement of pink salmon in the Iwaubetsu River. Bars represent the standard division.

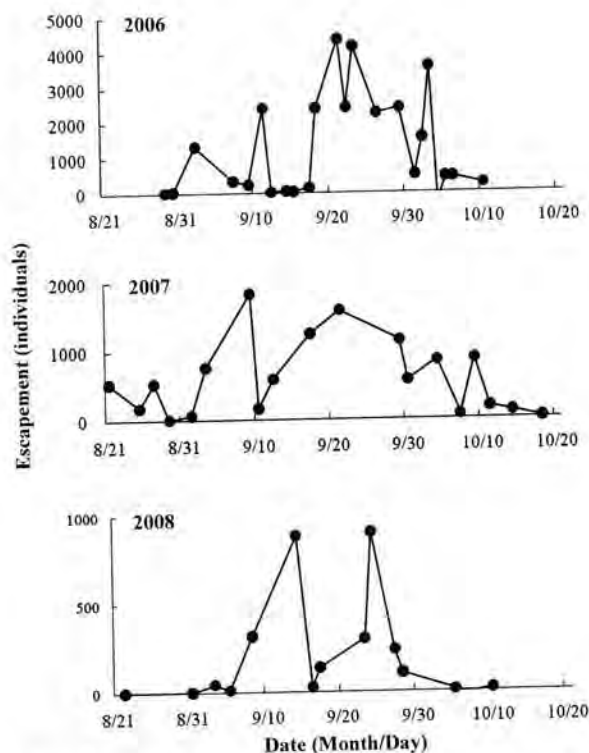


Fig. 7 Estimated escapements of pink salmon in the Rurua River in 2006–2008 by the AUC.

Table 1 Escapement behavior of pinger-tagged pink salmon in the Rurua River. Tagged: number of tagged fishes, Detected: number of fishes detected in the river, Disappeared: number of fishes disappeared, > St. 2: number of fishes running to the upstream of St. 2, > St. 5: number of fishes running to the upstream of St. 5, Staying days: mean days of tagged fishes staying in the river

Year	Tagged (N)	Sex	Detected (N)	Disappeared (N)	> St. 2 (N)	> St. 5 (N)	Staying days
2006	6	male	4	2	2	0	13.8
2007	8	male	4	4	3	0	7.8
2008	8	male	8	0	8	1	4.9

Table 2 Density (Nm^{-2}) and number (N) of spawning redds of pink salmon in the Rusha River

Area	A	B	C	D	E	F	Total
Basin area (m^2)	2,867	1,556	23,933	7,139	2,500	15,600	53,595
Survey area (m^2)	1,348	1,556	1,646	1,363	980	15,600	22,493
Density of spawning redds (Nm^{-2})							
2006	0.048	0.046	0.061	0.016	0.002	0	0.047
2007	0.046	0.027	0.120	0.029	0.007	0.007	0.063
2008	0.026	0.034	0.087	0.009	0.009	0	0.060
Estimated number of spawning redds (N)							
2006	138	71	1,469	115	5	0	1,798
2007	132	42	2,872	210	18	110	3,383
2008	74	53	2,081	63	23	0	2,294

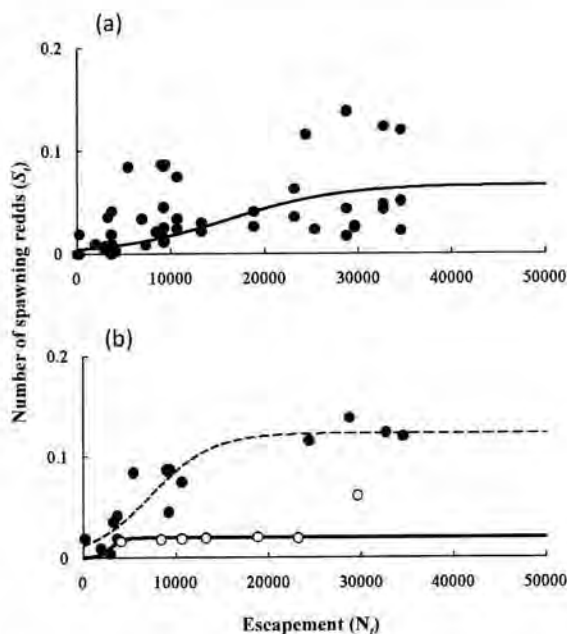


Fig. 8 Estimated spawning carrying capacity of pink salmon in the Rusha River using a logistic model. (a) Total estimation in the river in 2006–2008. (b) Estimation at the spawning area C in the river. Solid line and closed circles: 2006, broken line and open circles: 2007–2008.

方が有意に高かった (t 検定; $p < 0.01$)。また、日間遡上数と水温 ($r = 0.11$, $F = 0.19$, $P = 0.67$)、日間遡上数と水位 ($r = 0.19$, $F = 0.55$, $p = 0.47$) との間に顕著な関係は観察されなかった。

カラフトマスの産卵床密度および産卵環境収容力 カラフトマスの最終的な産卵床密度は、2006年が 0.047 床 m^{-2} 、2007年が 0.063 床 m^{-2} 、そして2008年が 0.060 床 m^{-2} で、アラスカ野生魚の産卵床密度 (1床 m^{-2})³³⁾ に比べて著しく低かった。2006年の産卵床密度は、2007年と2008年に比べて低く、特にC区間の産卵床密度が低かった (Table 2)。2006~2008年の産卵

床データと流域面積から求めたルシャ川における産卵環境収容力は、 0.066 床 m^{-2} (約3,600床) と推定された (Fig. 8a)。また、C区間の産卵環境収容力は、治山ダムの改修前 (0.02 床 m^{-2}) に比べて、改修後に著しく増加した (0.12 床 m^{-2} ; Fig. 8b)。ルシャ川における産卵環境収容力は、推定遡上数に比べ、きわめて少ない結果となった。また、ルシャ川における産卵床直上の流速 (0.16 ± 0.08 ms^{-1}) はアラスカのそれ ($0.05 \sim 0.07$ ms^{-1})³³⁾ に比べて著しく速かった。

考 察

ルシャ川におけるカラフトマス標識魚は、ほとんどの個体が河口域とその上流約580m以内に滞在した。カラフトマスは河口域を中心に河川下流域において産卵する。^{23,30)} 今回の結果も、ルシャ川におけるカラフトマスの主な産卵場は下流域に限定された。ルシャ川におけるカラフトマスの河川滞在日数は2006年が13.8日、2007年が7.8日、2008年が4.9日と推定され、遡上数の多い年ほど長い傾向を示した。近年、知床半島ではカラフトマスを餌として利用するヒグマの数が増加している。³²⁾ 本研究の調査期間中も毎日3.8~5.1頭のヒグマがルシャ川に出没し、カラフトマスを捕食していた。ヒグマによる捕食圧は河川へ産卵遡上した親魚の密度に依存し、遡上数が少ないときには被食率は100%近くに達するという報告例もある。³⁴⁻³⁵⁾ 今回、ルシャ川におけるヒグマによるカラフトマスの被食率は明らかでない。しかし、カラフトマスの河川滞在日数は、遡上数が少ない年ほど短いことから、遡上数とヒグマによる被食率の相乗効果により変化したものと考えられる。サケ属魚類に限らず変温動物の代謝、行動および成熟等は水温の影響を受け、³⁶⁾ 河川におけるサケ属魚類の死亡率も水温の影響を受けるといわれている。³⁷⁾ 河川流量の増加も産卵親魚の死亡率を上昇させる要因となり、³⁸⁾ 河川滞在日数に強く影響すると言われている。³⁹⁾ ルシャ川では、カラフトマス産卵遡上期の水温年較差がわずかであり、降雨

量も年較差が僅少であったことから、ルシャ川カラフトマスの河川滞在日数は河川環境（河川水温や流量）の影響を受けた可能性は低いものと考えられる。

サケ属魚類の目視による遡上数推定法の中でも、AUC法が最も一般的に使用されている。¹¹⁻¹³⁾しかし、これまでAUC法では誤差を求めることができず、観測日数が少ない場合、精度の高い遡上数の推定が難しいと言われてきた。¹⁴⁾本研究では、その短所を解消するために、ブートストラップ法を用いて推定遡上数の誤差および信頼区間を算定した。その結果、遡上数の推定誤差は22-30%を示した。この誤差はこれまでAUC法で求めた推定遡上数と実遡上数との誤差（4~59%）¹⁴⁾の範囲内であり、今回得られた推定遡上数は妥当なもの判断される。

2006~2008年における産卵床密度からルシャ川におけるカラフトマスの産卵床数（1800~3400床）は、推定遡上数（10000~58000個体）に比べてきわめて少なく、親魚遡上数とは関連しなかった。また結果に示したように、ルシャ川におけるカラフトマス産卵床直上の流速はアラスカのそれに比べて著しく速い。さらに、ルシャ川は水位変動が著しく、流量が安定していない。現に、2007年10月7日の降雨により河川水位が35cm増加した時、産卵床密度は0.097床 m^{-2} （10月4日）から0.086床 m^{-2} （10月11日）に減少した。流量が著しく多い場合、カラフトマス受精卵は河床の礫とともに流出することが知られており、⁴⁰⁻⁴¹⁾流量変動の激しいルシャ川でも同様の現象が起きた可能性が高い。

今回算定したルシャ川の産卵環境収容力は遡上数に比較して著しく少なかった。ギンザケでは産卵床の重複により、20~28%の産卵床が掘り返されることがある。⁴²⁾カラフトマスにおいても産卵親魚数が集中分布した場合、産卵床の重複が起こり、1日に60%もの産卵床が掘り返されてしまうこともある。²⁹⁾ルシャ川ではカラフトマス遡上数が産卵環境収容力を超え、産卵床の重複が起こった可能性が考えられる。また、ルシャ川治山ダム上流域における産卵環境収容力は、ダム改修後増加した。ダムの存在がサケ属魚類の遡上行動を阻害し、産卵遡上に悪影響を及ぼすことは広く知られている。⁴³⁻⁴⁴⁾今回の結果も、ルシャ川におけるカラフトマスはダムによる遡上障害を受けている可能性を示唆している。

以上のことから、知床半島ルシャ川におけるカラフトマスの産卵遡上動態は、水温や流量などの河川環境、遡上数およびヒグマによる被食圧の他に、ダムなど人工工物による影響を受けているとみなすことができる。本研究は、わが国における野生サケ属魚類の産卵遡上動態評価の最初の適用事例であり、今後のサケ属魚類野生魚の再生と産卵遡上動態評価技術の向上に貢献することが期待される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、財団法人知床財団の山中正実氏および野別貴博氏をはじめ職員一同、社団法人北見管内さけ・ます増殖事業協会の増川則雄参事ほか職員一同に多大なる協力を賜った。ここに深く感謝する。

文 献

- 1) Gende SM, Edwards RT, Willson MF, Wipfli MS. Pacific salmon in aquatic and terrestrial ecosystems. *Bioscience* 2002; **52**: 917-928.
- 2) Naiman RJ, Bilby RE, Schindler DE, Helfield JM. Pacific salmon, nutrients, and the dynamics of freshwater and riparian ecosystems. *Ecosystems* 2002; **5**: 399-417.
- 3) Schindler DE, Scheuerell MD, Moore JW, Gende SM, Francis TB, Palen WJ. Pacific salmon and the ecology of coastal ecosystems. *Front. Ecol. Environ.* 2003; **1**: 31-37.
- 4) 帰山雅秀. 水辺生態系の物質輸送に果たす遡河回遊魚の役割. 日本生態学会誌 2005; **55**: 51-59.
- 5) Helfield JM, Naiman R. Keystone interactions: salmon and bear in riparian forests of Alaska. *Ecosystems* 2006; **9**: 167-180.
- 6) 帰山雅秀, 南川雅男. 溯河性魚類による陸域生態系への物質輸送. 「安定同位体スコープで覗く海洋生物の生態」(富永修・高井則之編) 恒星社厚生閣, 東京. 2008; 110-123.
- 7) Krebs CJ. *Ecological Methodology*. Harper & Row, New York. 1989.
- 8) Eggers DM, Skvora PA, Deborah LB. Abundance estimates of Chinook salmon in the Kenai River using dual-beam sonar. *Alaska Fish. Res. Bull.* 1995; **2**: 1-22.
- 9) Irvine JR, Bocking RC, English KK, Labelle M. Estimating coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) spawning escapements by conducting visual survey in areas selected using stratified random and stratified index sampling designs. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1992; **49**: 1972-1981.
- 10) Bevan DE. Variability in aerial counts of spawning salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 1961; **18**: 337-348.
- 11) English KK, Bocking RC, Irvine JR. A robust procedure for estimating salmon escapement based on the area-under-the-curve method. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1992; **49**: 1982-1989.
- 12) Hill RA. Optimizing aerial count frequency for the area-under-the-curve method of estimating escapement. *N. Am. J. Fish. Manage.* 1997; **17**: 461-466.
- 13) Bue BG, Freid SM, Sharr S, Sharp DG, Wilcock JA, Geiger HJ. Estimating salmon escapement using area-under-the-curve, aerial observer efficiency, and stream-life estimates: the Prince William Sound pink salmon example. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 1998; **1**: 240-250.
- 14) Hilborn R, Bue BG, Sharr S. Estimating spawning escapements from periodic counts: a comparison of methods. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1999; **56**: 888-896.
- 15) Su Z, Adkison MD, Van Alen BW. A hierarchical Bayesian model for estimating historical escapement and escapement timing. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2001; **58**: 1648-1662.
- 16) Korman J, Ahrens RNM, Higgins PS, Walters CJ. Effects of observer efficiency, arrival timing, and survey life on escapements for steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) derived from repeat mark-recapture experiment. *Can. J.*

- Fish. Aquat. Sci.* 2002; **59**: 1116-1131.
- 17) Keefer ML, Jepson CA, Stuehrenberg LC. Upstream migration rates of radio-tagged adult Chinook salmon in riverine habitats of Columbia River Basin. *J. Fish Biol.* 2004; **65**: 1126-1141.
 - 18) Tsuda Y, Kawabe R, Tanaka H, Mitsunaga Y, Hiraishi T, Yamamoto K, Nashimoto, K. Monitoring the spawning behaviour of chum salmon with an acceleration data logger. *Ecol. Freshwat. Fish* 2006; **15**: 264-274.
 - 19) Anderson JH, Quinn TP. Movements of adult coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during colonization of newly accessible habitat. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2007; **64**: 1143-1154.
 - 20) 梶山雅秀. 「最新のサケ学」成山堂書店, 東京. 2002.
 - 21) Kaeriyama M, Edpalina RR. Evaluation of the biological interaction between wild and hatchery population for sustainable fisheries management of Pacific salmon. In: Leber KM, Kitada S, Blankenship HL, Svasand T (eds). *Stock Enhancement and Sea Ranching*. Blackwell Publishing, Oxford. 2004; 247-259.
 - 22) 佐野誠三. 鮭の産卵に就いて (産卵環境). 北海道さけますふ研報 1955; **10**: 1-6.
 - 23) 小林哲夫. サケとカラフトマスの産卵環境. 北海道さけますふ研報 1968; **22**: 7-13.
 - 24) 真山紘. サケ・マス親魚の生態調査-II. 千歳川におけるサケ親魚のそ上活動の日周変動(2). 北海道さけ・ますふ研報 1978; **32**: 9-18.
 - 25) 真山 紘, 高橋敏正. サケ・マス親魚の生態調査-I. 千歳川におけるサケ親魚のそ上活動の日周変動(1). 北海道さけ・ますふ研報 1977; **31**: 21-28.
 - 26) Morita K, Morita HS, Fukuwaka M. Population dynamics of Japanese pink salmon (*Oncorhynchus gorbusha*): are recent increases explained by hatchery programs or climatic variations? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2006; **63**: 55-62.
 - 27) Nagasaka A, Nagasaka Y, Ito K, Mano T, Yamanaka M, Katayama A, Sato Y, Grankin AL, Zdorikov AI, Boronov GA. Contributions of salmon-derived nitrogen to riparian vegetation in the northwest Pacific region. *J. For. Res.* 2006; **11**: 377-382.
 - 28) Efron B, Tibshirani RJ. *An Introduction to the Bootstrap*. Chapman & Hall, New York. 1993.
 - 29) Fukushima M, Quinn TJ, Smoker WW. Estimation of eggs lost from superimposed pink salmon (*Oncorhynchus gorbusha*) redds. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1998; **55**: 618-625.
 - 30) McNeil WJ. Redd superimposition and egg capacity of pink salmon spawning beds. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 1964; **21**: 1385-1396.
 - 31) 可児藤吉. 「可児藤吉全集全一卷」新思索社, 東京. 1970.
 - 32) 山中正実. オオカミ不在の北海道のヒグマ. 哺乳類科学 1995; **35**: 65-70.
 - 33) Heard WR. Life history of pink salmon. In Groot C, Margolis L (eds) *Pacific Salmon Life Histories*. UBC Press, Vancouver. 1991; 119-230.
 - 34) Quinn TP, Wetzel L, Bishop S, Overberg K, Rogers ED. Influence of breeding habitat on bear predation and age at maturity and sexual dimorphism of sockeye salmon populations. *Can. J. Zool.* 2001; **79**: 1782-1793.
 - 35) Quinn TP, Gende SM, Ruggerone GT, Rogers DE. Density-dependent predation by brown bears (*Ursus arctos*) on sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2003; **60**: 553-562.
 - 36) Randall DJ, Burggren WW, French K, Eckert R. *Animal Physiology: Mechanisms and Adaptations*. W. H. Freeman & Co., New York. 2002.
 - 37) Rand PS, Hinch SG, Morrison J, Foreman MGG, Macnutt MJ, Macdonald JS, Healey MC, Farrell AP, Higgs DA. Effects of river discharge, temperature, and future climates on energetics and mortality of adult migrating Fraser River sockeye salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.* 2006; **135**: 655-667.
 - 38) Rand PS, Hinch SG. Swim speeds and energy use of up-river migrating sockeye salmon: simulating metabolic power and assessing risk of energy depletion. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1998; **55**: 1832-1841.
 - 39) Fukushima M, Smoker WW. Determinants of stream life, spawning efficiency, and spawning habitat in pink salmon in the Auke Lake system, Alaska. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1997; **54**: 96-104.
 - 40) Seegrist DW, Gard R. Effects of floods on trout in Sagehen Creek, California. *Trans. Am. Fish. Soc.* 1972; **101**: 478-482.
 - 41) Van den Berghe EP, Gross MR. Natural selection resulting from female breeding competition in a Pacific salmon (coho: *Oncorhynchus kisutch*). *Evolution* 1989; **43**: 125-140.
 - 42) Montgomery DR, Buffington JM, Peterson NP, Schuett-Hames D, Quinn TP. Stream-bed scour, egg burial depths, and the influence of salmonid spawning on bed surface mobility and embryo survival. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1996; **53**: 1061-1070.
 - 43) Boggs CT, Keefer ML, Peery CA, Bjornn TC, Stuehrenberg LC. Fallback and reascension and adjusted fishway escapement estimates for adult Chinook salmon and steelhead at Columbia and Snake River dams. *Trans. Am. Fish. Soc.* 2004; **133**: 932-949.
 - 44) Caudill CC, Daigle WR, Keefer ML, Boggs CT, Jepson MA, Bjornn TC, Peery CA. Slow dam passage in adult Columbia River salmonids associated with unsuccessful migration: delayed negative effects of passage obstacles or condition-dependent mortality? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2007; **64**: 979-995.

ミトコンドリアDNA分析から見た遊楽部川シロザケの 早期-後期遡上集団の遺伝的分化

横谷亮太・東 典子・工藤秀明・阿部周一・帰山雅秀 (北大・院水)

ミトコンドリア DNA (mtDNA) 分析に基づき、遊楽部川シロザケの集団構造の解析を行った。mtDNA 調節領域 5'末端前半部分 481bp の塩基配列を読み取った結果、遊楽部川シロザケには 8 種類のハプロタイプが検出された。Pairwise F_{ST} は、遊楽部川の12月産卵集団と10月産卵集団との間に有意な遺伝的差異を検出した。また、Neighbor-joining 法に基づき各集団の遺伝的類縁関係を調べた結果、遊楽部川10月産卵集団は千歳川、十勝川および西別川集団と遺伝的に近い類縁関係を示した。これらの結果は、遊楽部川シロザケが遡上時期により遺伝的分化をおこしており、後期産卵集団が固有の遺伝子を維持している一方、早期産卵集団が他河川からの移植集団によって遺伝的に攪乱されていることを示唆している。

Genetic Differentiation Between Early- and Late-run Populations of Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) Naturally Spawning in the Yurappu River Inferred from Mitochondrial DNA Analysis

Ryota YOKOTANI*¹, Noriko AZUMA*¹, Hideaki KUDO*²,
Syuiti ABE*² and Masahide KAERIYAMA*²

*¹ Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University

*² Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University

Abstract

Population structure of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in the Yurappu River was estimated by mitochondrial DNA (mtDNA) analysis. The Yurappu River chum salmon displayed 8 haplotypes (Ht1-Ht8) of the 481bp 5' variable portion of the mtDNA control region. Pairwise population F_{ST} estimates showed that the December-run population (YPD) significantly differed from October-run populations (YPO) in the Yurappu River. The YPO population was closely related to the other-river populations such as Chitose, Tokachi, and Nishibetsu river-populations on the neighbor-joining tree. These results suggest that the Yurappu River chum salmon was genetically different by run-period, in which the native stocks remain in the late-run but the early-run is intermingled with exogenous populations introduced from other rivers.

(accepted March 3, 2009)

Introduction

Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.) are well known to return their natal river for spawning¹. This behavioral character leads to reproductive isolation among populations due to temporal², spatial³, geographical⁴, and ecological barriers⁵. Reproductive isolation often promotes genetic differentiation among populations⁶. Recently, the genetic population structure of Pacific salmon has been clarified in various scales, using the sensitive DNA marker such as mitochondrial DNA (mtDNA) and microsatellite DNA⁷⁻¹⁰. DNA marker is one of the most useful methods to survey population structure even in the same river populations.

In Japan, the hatchery program has performed to enhance fisheries stocks of chum salmon (*O. keta*)¹¹⁻¹³. Many local populations were transplanted throughout Japan including the Hokkaido Island. Recently, introduction of non-native populations has

been concerned about the negative effects of hybridization between introduced and native fish, such as loss of interpopulational genetic differentiation or outbreeding depression due to the mixing of different gene pools¹⁴.

The Yurappu River, located in southern Hokkaido, is known as a natal river of wild chum salmon¹⁵. In this river, the hatchery enhancement program has been conducted for over a century, and a huge number of juvenile chum salmon have been introduced from other rivers in Hokkaido during 1952-1995. Therefore, the native populations might be genetically disturbed by these hatchery populations in the Yurappu River. Hatcheries, located at the upper site in the Yurappu River (Fig. 1) release huge flies of chum salmon from hatchery every spring. Inai et al. (2007) reported that the chum salmon had morphological differentiation between upper- and lower-reach populations in the Yurappu River¹³. In this

case, reproductive isolation would occur between the two populations owing to spatiotemporal barriers. For example, bimodal runs of Pacific salmon composed of early and late spawners are often genetically differentiated in the same river¹⁶. In Japan, the run-timing of chum salmon generally diversify from September to December by a region¹⁷. Southern populations including Yurappu River salmon return later than other populations in Hokkaido¹⁷. In general, run-timing of Pacific salmon is thought to be heritable traits¹⁸. Therefore, a transplanted population may return earlier than native population in the Yurappu River. If this is the case, genetic difference between early- and late-run populations could be present in the river due to repeated transplantation. The present study aims to clarify genetic population structure of chum salmon in the Yurappu River using mtDNA markers.

Materials and Methods

Sample collections

We sampled dorsal fins of adult chum salmon after spawning from October 2005 to January 2006 every ten days at sites 1-4 in the Yurappu River (Fig. 1, Table 1). The site 4 is located near the hatchery and about 15 km upper from the other sites located in the lower reach in the river. In this study, samples collected at the site 4 and other sites in the river were defined as upper-reach and lower-reach populations, respectively. The samples were stored at -30°C until DNA extraction. To clarify the spatiotemporal genetic

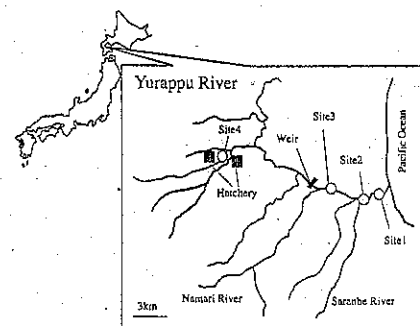


Fig. 1. Sampling locations of chum salmon homing to the Yurappu River.

variation, the sample were further divided into three groups; the October (YPO; upper-reach: YUO, lower reach: YLO), the November (YPN; upper-reach: YUN, lower-reach: YLN), and the December (YPD; upper-reach: YUD, lower-reach: YLD) run populations by spawning sites. Many eyed eggs of chum salmon introduced into Yurappu River were mainly from the hatchery-reared populations of Chitose (CHI), Tokachi (TOK), and Nishibetsu (NIS) Rivers. We referred to the genetic information of these three river populations from Sato et al. (2001)⁷ and compared to the data from Yurappu River populations.

DNA analysis

DNA was extracted from the stored samples following the PUREGENE kit (Gentra) protocol. Extracted DNA was dissolved into TE buffer (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0). Firstly, full-sized mtDNA control region was amplified by PCR as previously reported⁷. The primer pair used was as follows: forward primer (tRNA^{thr}-2), 5'-TCTT GTAATCCGGAAGTCGGA-3' and reverse primer (tRNA^{phe}-2), 5'-AACAGCTTCAGTGTATGCT-3'. The PCR products were used for sequencing reaction with a BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit ver. 3.1 (Applied Biosystems). Direct nucleotide sequence analysis of about 500bp of the mtDNA

Table 1. Sample information of chum salmon collected from Yurappu River. Genetic information of the Chitose, Tokachi and Nishibetsu river-populations were referred to Sato et al. (2001).

Population	Date	N
Yurappu River		
October run (YPO)		
YUO	16, 17, 24 Oct. 2005	36
YLO	16, 24, 27 Oct. 2005	16
November run (YPN)		
YUN	1, 11, 23 Nov. 2005	32
YLN	1, 11, 19, 23, 28 Nov. 2005	38
December run (YPD)		
YUD	2, 16 Dec. 2005	21
YLD	7, 16, 22 Dec. 2005	42
Other rivers		
CHI	14 Oct. 1996	51
TOK	17 Oct. 1996	46
NIS	25 Sep. 1997	41

Chum salmon populations were defined as YUO: October, YUN: November, and YUD: December at the upper-reach, YLO: October, YLN: November, and YLD: December at the lower-reach in the Yurappu River, CHI in the Chitose River, TOK in the Tokachi River, and NIS in the Nishibetsu River.

control region in chum salmon was performed with following primers: forward primer (rRNA_h-3), 5'-GGTTAAACCCCTCCCTAGTG-3' and reverse primer (OkdH-2), 5'-TGGGTAACGAGCAATAAGAT-3'. PCR for sequencing reaction was performed with the following condition: preheating at 96°C for 5 min, followed by 25 cycles of denaturation at 96°C for 30 sec, annealing at 50°C for 20 sec, and extension at 60°C for 4 min.

Statistic analysis

The part of mtDNA control region located about 500bp from the 5' end was variable. The sequence data were aligned by GLUSTALK 1.83 software package to detect nucleotide variation among individuals, and define haplotypes. Haplotype diversity (h), nucleotide diversity (π) and genetic differentiation index F_{ST} for pairwise populations were calculated with Arlequin version 2.000¹⁹. Statistical significance of haplotype frequencies was tested based on the exact test after Bonferroni correction²⁰. The neighbor-joining (NJ) tree based on the genetic distance between haplotypes estimated by Kimura's two-parameter method²¹ and haplotype frequencies was constructed by the NEIGHBOR program and consensus tree was drawn using CONSENSUS program in PHYLIP 3.6²². The stability of topology was tested by a bootstrap analysis of resampling haplotypes from each population.

Results

mtDNA control region haplotypes in the Yurappu River chum salmon

Yurappu River chum salmon displayed 8 haplotypes (Ht1-Ht8) in the 481bp 5' variable portion of

the mtDNA control region (Table 2). All of these haplotypes were identical with those in chum salmon previously reported²³. Ht1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8 in this study coincide with A-1, A-8, B-3, B-4, O-B4, C-1, C-3, and C-5 in the previous paper²³, respectively (the sequence data of these haplotypes are available in the DDBJ/EMBL/GenBank). The nucleotide sequence variations observed in this study included two base nucleotide insertions or deletions, three base transitions and three base transversions (Table 2).

Spatiotemporal genetic variation within the Yurappu River chum salmon

The Yurappu River chum salmon had five haplotypes in October, seven haplotypes in November, and four haplotypes in December, respectively. Most common haplotypes were Ht1, Ht3, and Ht6, while the frequency of Ht1 and Ht3 showed increasing and decreasing trends, respectively, with time (Table 3, Fig. 2). The haplotype diversity was highest (0.71 ± 0.02) in the October-run (YPO) and the lowest (0.43 ± 0.06) in the December-run (YPD) (Table 4). In pairwise F_{ST} estimates, the YPD population significantly differed from YPO populations ($F_{ST} = 0.168$, $P < 0.01$; Table 5). There were no significant genetic differences between upper- and lower-reach populations in the Yurappu River at the same period ($F_{ST} = 0.000 - 0.034$; $P > 0.05$; Table 5).

Genetic differentiation between the Yurappu and other river populations

The Yurappu River chum salmon had the highest haplotype and nucleotide diversities in October (YPO), followed by November (YPN) and December (YPD). On the other hand, other-river (CHI, TOK, NIS)

Table 2. Variable nucleotide sites in the 481bp 5' portion of the mtDNA control region of chum salmon collected in the Yurappu River.

Haplotype/Position	30	70	96	154	231	306	386	395
Ht1	T	T	-	C	T	T	G	C
Ht2	.	.	A
Ht3	.	.	-	G	.	.	.	A
Ht4	.	.	-	.	C	.	.	A
Ht5	.	.	-	G	.	G	.	A
Ht6	C	.	-
Ht7	C	C	-
Ht8	C	.	-	.	C	.	.	.

Dots indicate identity with haplotype Ht1, and dashes denote insertion-deletion events.

Table 3. Haplotype distribution of each population in Yurappu and other rivers. The CHI, TOK, and NIS data are modified from Sato et al. (2001). Abbreviations are referred to Table 1.

Population/Haplotype	Ht 1	Ht 2	Ht 3	Ht 4	Ht 5	Ht 6	Ht 7	Ht 8	Other haplotype	N
Yurappu River										
Upper-reach population										
YUO	12	2	12	0	0	9	1	0	-	36
YUN	12	0	5	1	0	12	1	1	-	32
YUD	16	0	0	0	0	5	0	0	-	21
Lower-reach population										
YLO	6	0	2	0	0	8	0	0	-	16
YLN	20	0	4	0	1	11	0	2	-	38
YLD	30	0	1	0	0	10	1	0	-	42
Other river										
CHI	22	0	14	2	0	10	0	2	1	51
TOK	18	4	12	0	0	8	0	0	4	46
NIS	12	0	18	0	0	11	0	0	0	41

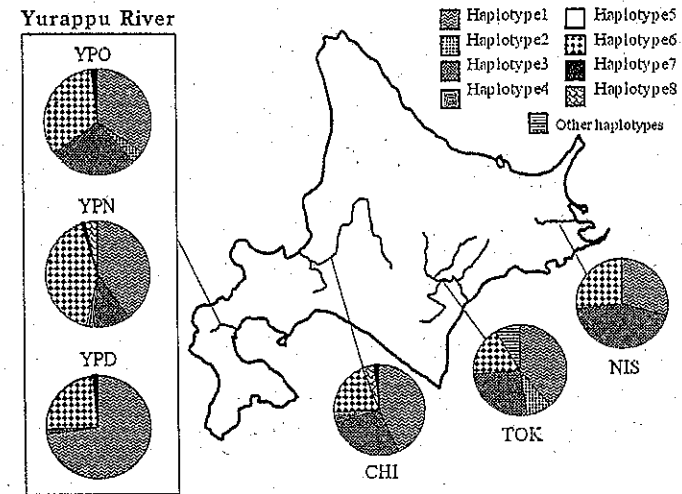


Fig. 2. Haplotype distribution of chum salmon populations in Hokkaido. The haplotype distribution data of chum salmon in the Chitose, Tokachi, and Nishibetsu Rivers was obtained from Sato et al. (2001). Abbreviations are referred to Table 1.

Table 4. Haplotype diversity ($h \pm SD$) and nucleotide diversity (π) of each population of chum salmon in Hokkaido Island. The CHI, TOK, and NIS data are modified from Sato et al. (2001). Abbreviations are referred to Table 1.

Population	h	π
CHI	0.71 ± 0.04	0.0038
TOK	0.75 ± 0.04	0.0039
NIS	0.67 ± 0.03	0.0040
YPO	0.71 ± 0.02	0.0024
YPN	0.67 ± 0.04	0.0020
YPD	0.43 ± 0.06	0.0010

and NIS) populations had higher haplotype and nucleotide diversities than YPN and YPD populations (Table 4). The F_{ST} value indicated that YPO populations were not significantly different from the other-river populations ($F_{ST} = 0.000 - 0.030$, $P > 0.05$; Table 5), while the YPN and YPD significantly differed from the other-river populations ($F_{ST} = 0.027 - 0.486$, $P < 0.05$; Table 5) except for between the YPN-CHI ($F_{ST} = 0.039$, $P > 0.05$; Table 5). The NJ tree showed that the YPO population distinctively differed from

the YPN and YPD populations, and closely related to other-river populations (Fig. 3).

Discussion

We couldn't indicate the genetic differentiation between upper- and lower-reach populations at the same period in the Yurappu River chum salmon, despite morphological difference between upper- and lower-reach populations. This result suggests that hybridization may occur between two populations

Table 5. Pairwise population F_{ST} estimates of chum salmon in Yurappu and other rivers (A), and between upper- and lower-reach populations at the same period within Yurappu River (B). Statistical significance of F_{ST} value was tested based on the exact test after sequential Bonferroni adjustments (** $P < 0.01$). Abbreviations are referred to Table 1.

(A)	CHI	TOK	NIS	YPO	YPN	YPD
CHI						
TOK	0.000					
NIS	0.013	0.034				
YPO	0.000	0.000	0.030			
YPN	0.039	0.027*	0.145*	0.013		
YPD	0.211**	0.160**	0.486**	0.168**	0.059	

(B)	YUO-YLO	YUN-YLN	YUD-YLD
Pairwise F_{ST}	0.034	0.000	0.000

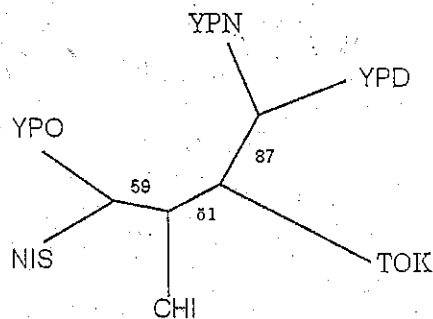


Fig. 3. Unrooted neighbor-joining (NJ) tree based on the haplotype frequencies and genetic distance between haplotypes of chum salmon in the Yurappu, the Chitose, the Tokachi, and the Nishibetsu Rivers. Nodal values are more than 50% bootstrap support of 1000 replicated trees. Abbreviations are referred to Table 1.

in the river. Sockeye salmon (*O. nerka*) showed the fine scale genetic differentiation among subpopulations due to the strict homing-migration²⁰. However, chum and pink salmon have relatively high straying compared with other Pacific salmon²⁵. Furthermore, hatchery-derived Atlantic salmon had higher straying rate than wild counterpart²⁶. Taking together, no genetic differentiation between upper- and lower-reach populations in this study signifies the occurrence of substantial introgression within the river. However, number of samples collected from six populations in the Yurappu River were not enough (e.g., YLO: $n = 16$, YUD: $n = 21$), and we used only one DNA marker in this study. It may be possible that analysis of more samples or DNA marker such as msDNA could indicate genetic differentiation between upper- and lower-reach populations in the Yurappu River.

In the secondary sexual characters of Pacific salmon, morphological differentiation between upper- and lower-reach populations is generally thought as a result of trade-off between escapement risk and breeding competition²⁷. For instance, body length of Pacific salmon is inversely related to escapement distance²⁸⁻²⁹. Populations homing to the upper river did not show significant secondary sexual-characters such as marked hump and kype compared with populations homing to the lower site³⁰. Pacific salmon shows the morphological differences at the spawning in slight distinction of physical condition or other cues that might allow biased site selection or competition. For example, the largest or first arriving salmon might tend to select the site that has better condition for spawning³¹. That is, the morphological difference between upper- and lower-reach populations in the Yurappu River chum salmon despite no genetic-differentiation on the mtDNA might result from trade-off between breeding competition and escapement risk^{1,25,32-33} including the polygene model^{29,34-36}.

In Yurappu River chum salmon, the early-run population was genetically differed from late-run population. In addition, the early-run population showed similar haplotype distribution to other-river populations. Pacific salmon have genetic differentiation within a river system related to the timing of spawning. In wild sockeye salmon, genetic differentiation among populations was related to the timing of

return and spawning³⁷. On the other hand, the intensive hatchery program forced frequent intermingled transplantation of local chum salmon among rivers throughout Hokkaido Island, including the Yurappu River³⁸. This will introduce negative effects of hybridization between introduced and native salmon, such as loss of interpopulational genetic differentiation or outbreeding depression due to the mixing of different gene pools. In fact, it was clarified by the microsatellite DNA analysis that wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) in southern European rivers lost regional population structure due to introduction of single population from a northern European river³⁹.

In the present study, the observed haplotype diversity, pairwise F_{ST} estimates, and NJ tree of the Yurappu River chum salmon support the occurrence of substantial gene flow between the native early-run population and the introduced populations from

other rivers. Similar situation also was observed in the Tsugaruishi River of the Iwate Prefecture in northern Honshu Island, where the genetic differentiation occurred between the early-run populations probably mixed with those introduced mainly from eastern Hokkaido and the late-run populations including mostly native fish⁸.

In conclusion, the Yurappu River chum salmon has two populations: the late native-population spawning in December and the early mixed-population introduced from other river populations in October and November.

Acknowledgements

I am very thankful to Terry D. Beacham, Pacific Biological Station, B.C., Canada, for his comments and encouragement on earlier draft of the paper.

References

- 1) Quin, T. P., C. C. Wood, L. Margolis, B. E. Riddell and K. D. Hyatt (1987) Homing in wild sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) populations as inferred from differences in parasite prevalence and allozyme allele frequencies. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44: 1963-1971.
- 2) Fillatre, E. K., P. Etherton and D. D. Heath (2003) Bimodal run distribution in a northern population of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*): life history and genetic analysis on a temporal scale. *Mol. Ecol.*, 12: 1793-1805.
- 3) Garant, D., J. J. Dodson and L. Bernatchez (2000) Ecological determinants and temporal stability of the within-river population structure in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Mol. Ecol.*, 9: 615-628.
- 4) Beacham, T. D., B. McIntosh, C. Macconnachie, K. M. Miller and R. E. Withler (2006a) Pacific Rim population structure of sockeye salmon as determined from microsatellite analysis. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 135: 174-187.
- 5) Taylor, E. B., C. J. Foote and C. C. Wood (1996) Molecular genetic evidence for parallel life-history evolution within a Pacific salmon (sockeye salmon and kokanee, *Oncorhynchus nerka*). *Evolution*, 50: 401-416.
- 6) Habicht, C., L. W. Seeb and J. E. Seeb (2007) Genetic and ecological divergence defines population structure of sockeye salmon populations returning to Bristol Bay, Alaska, and provides a tool for admixture analysis. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 136: 82-94.
- 7) Sato, S., J. Ando, H. Ando, S. Urawa, A. Urano and S. Abe (2001) Genetic variation among Japanese populations of chum salmon inferred from the nucleotide sequences of the mitochondrial DNA control region. *Zool. Sci.*, 18: 99-106.
- 8) Sato, S., H. Kojima, J. Ando, H. Ando, R. L. Wilmot, L. W. Seeb, V. Efremov, L. LeClair, W. Buchholz, D. H. Jin, S. Urawa, M. Kaeriyama, A. Urano and S. Abe (2004) Genetic population structure of chum salmon in the Pacific Rim inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Environ. Biol. Fish.*, 69: 37-50.
- 9) Beacham, T. D., B. McIntosh and C. Macconnachie (2004) Population structure of lake-type and river-type sockeye salmon in transboundary rivers of northern British Columbia. *J. Fish. Biol.*, 65: 389-402.
- 10) Beacham, T. D., N. V. Varnavskaya, B. McIntosh and C. Macconnachie (2006b) Population structure of

- sockeye salmon from Russia determined with microsatellite DNA variation. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 135: 97-109.
- 11) Kobayashi, T. (1980) Salmon propagation in Japan. pp. 91-107 in Thorpe, J. E. [ed.] salmon ranching. Academic Press, London.
 - 12) Mayama, H. (1985) Technical innovations in chum salmon enhancement with special reference to fry condition and timing of release. NOAA Tech. Rep. NMFS, 27: 83-83.
 - 13) Kaeriyama, M. (1998) Dynamics of chum salmon, *Oncorhynchus keta*, populations released from Hokkaido, Japan. *N. Pac. Anadr. Fish. Comm. Bull.*, No. 1: 90-102.
 - 14) Waples, R. S. (1991) Genetic interactions between hatchery and wild salmonids: lessons from the Pacific Northwest. *Can. J. Aquat. Sci.*, 48 (suppl. 1): 124-133.
 - 15) Imai, N., H. Kudo and M. Kaeriyama (2007) Comparative morphology related to reproductive strategy in two chum salmon (*Oncorhynchus keta*) populations in the Yurappu River. *Japan. J. Ichthyol.*, 54: 121-128.
 - 16) Seeb, L. W., C. Habicht, W. D. Templin, K. E. Tarbox, R. Z. Davis, L. K. Brannian and J. E. Seeb (2000) Genetic diversity of sockeye salmon of Cook Inlet, Alaska, and its application to management of populations affected by the Exxon Valdez oil spill. *Trans. Am. Fish. Soc.* 129: 1223-1249.
 - 17) Nagata, M. and M. Kaeriyama (2004) Salmonid status and conservation in Japan. *Proceedings from the World Summit on Salmon* (ed. Fraser, J.) pp. 89-97.
 - 18) Quinn, T. P., M. J. Unwin and M. T. Kinnison (2000) Evolution of temporal isolation in the wild: genetic divergence in timing of migration and breeding by introduced Chinook salmon populations. *Evolution*, 54: 1372-1385.
 - 19) Schneider, S., D. Roessli and L. Excoffier (2000) ARLEQUIN: a software for population genetics data analysis. Version 2.000. University of Geneva, Geneva, Switzerland.
 - 20) Rice, W. R. (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43: 223-225.
 - 21) Kimura, M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, 16: 111-120.
 - 22) Felsenstein, J. (1993) PHYLIP: Phylogeny inference package, version 3.6: Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
 - 23) Moriya, S., S. Sato, T. Azumaya, O. Suzuki, S. Urawa, A. Urano and S. Abe (2007) Genetic stock identification of chum salmon in the Bering Sea and North Pacific Ocean using mitochondrial DNA microarray. *Mar. Biotechnol.*, 9: 179-191.
 - 24) Burger, C. V. and W. J. Spearman (1997) Genetic differentiation of sockeye salmon subpopulations from a geologically young Alaskan lake system. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 126: 926-938.
 - 25) Groot, C. and L. Margolis (1991) Pacific salmon life histories. xvi+564. UBC Press, Vancouver.
 - 26) Jonsson, B., N. Jonsson and L. P. Hansen (2003) Atlantic salmon straying from the River Imsa. *J. Fish. Biol.*, 62: 641-657.
 - 27) Quinn, T. P. and M. T. Kinnison (1999) Size-selective and sex-selective predation by brown bears on sockeye salmon. *Oecologia*, 121: 273-282.
 - 28) Beacham, T. D., and C. B. Murray (1987) Adaptive variation in body size, age, morphology, egg size, and developmental biology of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in British Columbia. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44: 244-261.
 - 29) Fleming, I. A., and Gross, M. R. (1989) Evolution of adult female life history and morphology in a Pacific salmon (coho: *Oncorhynchus kisutch*). *Evolution*, 43: 141-157.
 - 30) Crossin, G. T., S. G. Hinch, A. P. Farrell, D. A. Higgs, A. G. Lotto, J. D. Oakes, and M. C. Healey (2004) Energetics and morphology of sockeye salmon: effects of upriver migration distance and evaluation. *J. Fish. Biol.*, 65: 788-810.
 - 31) Hendry, A. P., F. E. Leonetti and T. P. Quinn (1995) Spatial and temporal isolating mechanisms: The formation of discrete breeding aggregations of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Can. J. Zool.*, 73:

- 339-352.
- 32) Quinn, T. P., A. P. Hendry and G. B. Buck (2001a) Balancing natural and sexual selection in sockeye salmon: interactions between body size, reproductive opportunity and vulnerability to predation by bears. *Evol. Ecol. Res.*, 3: 917-937.
- 33) Quinn, T. P., L. Wetzel, S. Bishop, K. Overberg and D. E. Rogers (2001b) Influence of breeding habitat on bear predation and age at maturity and sexual dimorphism of sockeye salmon populations. *Can. J. Zool.*, 79: 1782-1793.
- 34) Fleming, I. A. and M. R. Gross (1994) Breeding competition in a Pacific salmon (coho: *Oncorhynchus kisutch*); measures of natural and sexual selection. *Evolution*, 48: 637-657.
- 35) Funk, W. C., J. A. Tyburezy, K. L. Knudsen, K. R. Linder and F. W. Allendorf (2005) Genetic basis of variation morphological and life-history traits of wild population pink salmon. *J. Hered.*, 96: 24-31.
- 36) Hankin, D. G., J. W. Nicholas and T. W. Downey (1993) Evidence for inheritance of age of maturity in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50: 347-358.
- 37) Wilmot, R. L. and C. V. Burger (1985) Genetic differences among populations of Alaskan sockeye salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 114: 236-243.
- 38) Kaeriyama, M. and R. R. Edpalina (2004) Evaluation of the biological interaction between wild and hatchery population for sustainable fisheries management of Pacific salmon. *In Stock Enhancement and Sea Ranching, Second Edition: Developments, pitfalls and opportunities* (eds. Leber, K. M., Kitada, S., Blankenship, H. L., and Svasand, T.) pp. 247-259. Blackwell Publishing, Oxford.
- 39) Ayllon, F., J. L. Martinez and E. Garcia-Vazquez (2006) Loss of regional population structure in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., following stocking. *J. Mar. Sci.*, 63: 1269-1273.