

登川におけるイワナ (*Salvelinus leucomaenis*) の遺伝的集団構造

樋口 正仁・野上 泰宏・兵藤 則行

Genetic population structure of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*)  
in Nobori river

Masahito HIGUCHI, Yasuhiro NOGAMI and Noriyuki HYODO

キーワード：イワナ，ミトコンドリア DNA，マイクロサテライト DNA

イワナ (*Salvelinus leucomaenis*) の生息域および個体数は、近年、急速に減少している。そのため、各地で資源の維持・増殖活動が行われている。

一方、遺伝学的な研究の進展により、日本には遺伝的な分化を遂げた集団が各地に存在することが明らかになっている<sup>1) - 4)</sup>。しかし、種苗放流や移植に伴う遺伝的な攪乱によって、地域固有の遺伝的特徴の喪失が危惧されている。これらのことから、イワナにおいても遺伝的多様性に配慮した資源の維持・増殖が求められている。新潟県においてもイワナが生息しているが、県内のイワナに関する遺伝学的な研究はごく一部に過ぎず<sup>1)</sup>、在来イワナの生息に配慮した資源管理方策は十分行われていない。

これらの状況に対し、中村<sup>5)</sup> は、過去の放流履歴や生息地の状況、ミトコンドリア DNA (mtDNA) 分析によって、人為的な攪乱が起こされていない在来イワナの生息地を判別し、イワナの自然分布地の保全を提唱している。

信濃川水系魚野川の支流の登川の上流には、種苗放流や移植が行われていないイワナの生息地が存在するとされている。しかし、遺伝学的な調査は行われていない。そこで、本研究では、登川におけるイワナの資源管理方策の構築に資するための知見の収集を目的として、DNA 分析による遺伝的集団構造を把握した。

## 材料と方法

DNA 分析には、信濃川水系魚野川の支流、登

川の上流域と下流域の2地点、信濃川水系破間川および笠堀川の上流域から採集された野生イワナ、そして、新潟県内に放流されるイワナを生産している養殖場の個体を用いた (図1、表1)。登川におけるイワナの放流状況を魚沼漁業協同組合から聞き取った結果、登川上流域の採集地点 (S5) では、イワナの放流は行われていないとの情報が得られた。それに対し、下流の採集地点 (S4) の上流側ではイワナの放流が行われていた。

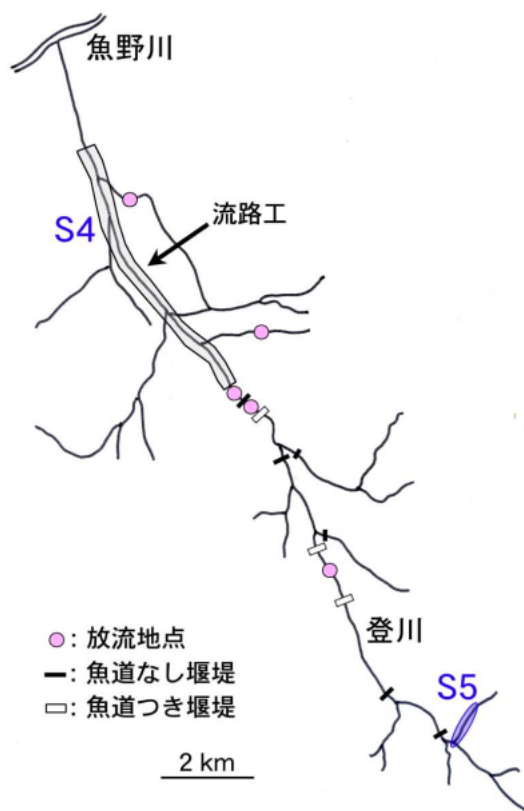


図1 登川における標本の採集地点

表1 標本の採集地、採集時期および全長

集団名	採集地	採集年月	全長(cm)
S5	登川	2004年6~9月	7.5~35.5
S4	登川	2004年6~9月	10.2~25.0
S2	破間川	1999年6月	-
S1	笠堀川	1999年9月	-
C1	養殖場	1998年5~11月	-

野生イワナの採集は、電気ショッカーおよび釣りによって行われ、採集後は、鱗もしくは個体全てを100%エタノールで固定・保存し、試験場に持ち帰った。

粗DNAの抽出は、フェノール・クロロホルム法<sup>6)</sup>もしくはPuregene (QIAGEN社製)を用いて行った。mtDNA分析は、チトクロームb領域の557bpの塩基配列を指標として行った。分析は、Yamamoto *et al.*<sup>1)</sup>に準拠し、直接塩基配列決定法によりPCR産物の塩基配列を決定した。観察された配列は、Yamamoto *et al.*<sup>1)</sup>に報告されている配列と照合し、ハプロタイプを判別した。集団内の塩基多様度はMEGA4.1<sup>7)</sup>を使用して算出し、ハプロタイプ間の塩基置換数の推定には木村の2変数法<sup>8)</sup>を用いた。また、集団間の $F_{ST}$ 値の算出、Raymond and Rousset<sup>10)</sup>の方法によるハプロタイプ頻度の異質性の検定、および遺伝的分散分析(AMOVA)はArlequin ver. 3.5<sup>9)</sup>を用いて行った。

マイクロサテライトDNA(msDNA)分析は、*Sfo-12\**、*Sfo-18\**、*FGT-3\**の3つの領域を指標に行った。マイクロサテライト領域の増幅には、AmpliTaq Gold (Applied Biosystems社製)を用い、*Sfo-12\**および*Sfo-18\**領域の増幅には、Angers *et al.*<sup>11)</sup>に報告されているプライマーを、*FGT-3\**では、Sakamoto *et al.*<sup>12)</sup>のプライマーを使用した。増幅反応は、95°C10分を1サイクルを行ったあと、94°C40秒、60°C1分、72°C1分の反応を40サイクル行う設定にした。増幅されたPCR産物は、Applied Biosystems社製の377DNAシーケンサーを用いて電気泳動を行い、DNA断片の長さを選定した。得られたDNA断片長データから各個体のアレル型を決定し、集団ごとにアレル頻度を算出した。

集団間の遺伝的組成の類似度は $(\delta\mu)^2$ 値<sup>13)</sup>を

指標にUPGMA法<sup>14)</sup>によってデンドログラムを作成することにより推定した。また、それぞれのアレル座におけるHardy-Weinberg平衡からの逸脱の検定、集団間の $F_{ST}$ 値の算出、アレル頻度の異質性の検定、および遺伝的分散分析(AMOVA)は、Arlequin ver. 3.5<sup>9)</sup>を用いて行った。

## 結果

mtDNA分析の結果、本調査で観察された全てのハプロタイプは、Yamamoto *et al.*<sup>1)</sup>で報告されているものであった。分析した地点のうち、登川の個体からは4つのハプロタイプが観察された(表2)。登川の2つの集団(S4およびS5)では、Hap5の頻度が共に卓越し、同じハプロタイプが観察された。集団内の遺伝的変異の程度を表すハプロタイプ多様度( $h$ )および塩基多様度( $\pi$ )では、下流のS4集団より上流のS5集団の値が大きい傾向が認められた(表2)。

S2集団のハプロタイプ頻度、 $h$ および $\pi$ は、S4およびS5集団と類似していた。一方、C1集団では、Hap19やHap22など、他の3集団では観察されないハプロタイプが観察され、 $h$ の値が高かった(表2)。

集団間の遺伝的分化の程度を表す $F_{ST}$ 値を算出した結果、S2、S4およびS5集団間の値は-0.023~0.010となり(表3)、マイナスもしくはゼロに近い値であった。C1集団と他の3つの集団間の $F_{ST}$ 値は、0.095~0.177と算出され、中程度の遺伝的分化を遂げていることが示された。また、ハプロタイプ組成が集団間で異なるか否かを検定した結果、S2、S4およびS5集団では異質性は認められなかった(表3)。それに対し、C1集団と他の3つの集団間では、ハプロタイプ組成が有意に異なることが示された。

野生の4集団全体の $F_{ST}$ 値は、0.403と高い値を示し、AMOVAにより、検出された遺伝的変異のうち41.44%が河川間での変異であった(表4)。一方、登川と破間川の3つの集団における $F_{ST}$ 値は0.001となり、河川間の遺伝的分化の程度は極めて小さいと推定された(表4)。

表2 mtDNA チトクロームb領域におけるハプロタイプ頻度および集団内の遺伝的変異性

Population	N	Clade 2-1				Clade 2-2				Clade 2-4		$\pi$ (%)
		Hap1	Hap3	Hap5	Hap7	Hap10	Hap11	Hap14	Hap22	Hap19	$h$	
S5	17	0.059	-	0.647	0.235	0.059	-	-	-	-	0.55	0.23
S4	20	0.050	-	0.750	0.100	0.100	-	-	-	-	0.44	0.24
S2	14	-	-	0.643	0.071	0.286	-	-	-	-	0.54	0.26
S1	14	-	-	0.071	0.929	-	-	-	-	-	0.14	0.05
C1	12	-	0.167	0.250	0.167		0.083	0.083	0.083	0.167	0.91	0.36

$h$ : ハプロタイプ多様度、 $\pi$ : 塩基多様度、  
Clade 番号は、Yamamoto *et al.*<sup>1)</sup> に従った

表3 mtDNA 分析における集団間の異質性検定の  $P$  値 (左下段) および  $F_{ST}$  値 (右上段)

Population	S5	S4	S2	S1	C1
S5	-	-0.024	0.010	0.511	0.095
S4	0.718±0.009	-	-0.009	0.638	0.177
S2	0.198±0.010	0.518±0.012	-	0.616	0.130
S1	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	-	0.383
C1	0.013±0.003	0.001±0.001	0.007±0.003	0.000±0.000	-

異質性検定におけるマルコフ連鎖長: 10,000 step

表4 mtDNA を指標とした野生集団における遺伝的分散分析 (AMOVA) の結果

	Percentage of variation				$F_{ST}$	$p$
	Among rivers	Among populations within rivers	Within populations			
3 populations *	2.50	-2.39	99.88	0.001	$p=0.506$	
4 populations	41.44	-0.10	59.66	0.403	$p<0.001$	

\*: 登川および破間川集団

次に、msDNA マーカーを指標に遺伝的組成の比較を行った。*Sfo-12\**についてみると、S4およびS5集団では、\*207のアリル頻度が最も高かった(表5)。それに対し、S2およびC1集団では、\*208の頻度が卓越していた。*FGT-3\**では、最も頻度の高いアリルは集団によって異なり、*Sfo-18\**では、全ての集団で\*154が卓越していた。

集団内の遺伝的変異の程度を把握するため、1マーカー座あたりのアリル数 (A)、1マーカー座あたりの有効アリル数 (E. N. A) および平均ヘテロ接合体率 ( $H_o$ ,  $H_e$ ) を算出し、表5に示した。4つの野生集団間で比較した結果、S4集団の値が他の3つの集団より高い値を示した。ま

た、C1集団の値は、S4集団と同程度であった(表5)。また、ヘテロ接合体率の観察値 ( $H_o$ ) と期待値 ( $H_e$ ) の比を算出した結果、全ての集団でマイナスの値を示し(表5)、ホモ接合体数が Hardy-Weinberg 平衡からの期待値より多く存在すると推定された。そして、Hardy-Weinberg 平衡からの逸脱の検定を行った結果、*Sfo-12\**および *FGT-3\**では3つの集団で、*Sfo-18\**では1つの集団で、有意な逸脱が認められた(表5)。

各集団間の遺伝的組成の類似度を推定するため ( $\delta \mu$ )<sup>2</sup> 値を算出した(表6)。その結果、S2とS4集団間の値が最も小さく、遺伝的組成が類似し

表5 msDNA 分析におけるアレル頻度および集団内の遺伝的変異性

Locus	S5	S4	S2	S1	C1	Locus	S5	S4	S2	S1	C1
	N=14	N=31	N=17	N=21	N=35	<i>FGT-3</i>					
<i>Sfo-12*</i>						<i>*172</i>	-	0.016	-	-	-
<i>*201</i>	0.036	0.048	0.029	-	-	<i>*173</i>	-	0.032	-	-	0.244
<i>*202</i>	-	-	0.029	0.666	0.129	<i>*175</i>	-	0.016	-	-	-
<i>*204</i>	-	0.016	-	-	-	<i>*178</i>	-	-	-	-	0.014
<i>*205</i>	-	0.016	-	-	-	<i>*179</i>	0.036	-	-	-	-
<i>*207</i>	0.821	0.453	0.029	-	0.014	<i>*180</i>	-	-	-	-	0.071
<i>*208</i>	0.143	0.290	0.736	-	0.630	<i>*181</i>	-	-	0.147	-	0.014
<i>*209</i>	-	0.065	-	-	-	<i>*185</i>	-	-	-	-	0.014
<i>*210</i>	-	-	0.177	-	0.014	<i>*188</i>	-	0.065	-	-	-
<i>*224</i>	-	-	-	0.024	0.071	<i>*189</i>	0.071	0.016	-	-	-
<i>*226</i>	-	-	-	-	0.014	<i>*194</i>	-	0.016	-	-	0.100
<i>*229</i>	-	0.032	-	-	-	<i>*195</i>	-	0.032	-	-	-
<i>*230</i>	-	-	-	-	0.043	<i>*196</i>	-	-	-	-	0.014
<i>*232</i>	-	0.048	-	-	0.014	<i>*198</i>	-	0.032	-	-	0.014
<i>*234</i>	-	0.032	-	0.310	0.071	<i>*199</i>	-	0.032	-	-	-
<i>P†</i>	***	***	**	n. s.	n. s.	<i>*200</i>	-	0.016	0.118	-	-
						<i>*201</i>	-	-	-	-	-
<i>Sfo-18*</i>						<i>*203</i>	-	-	0.323	-	0.029
<i>*152</i>	-	0.194	0.294	0.048	0.186	<i>*205</i>	-	0.032	-	-	0.014
<i>*154</i>	1.000	0.806	0.706	0.952	0.814	<i>*206</i>	0.321	0.533	-	-	-
<i>P†</i>	-	n. s.	n. s.	n. s.	***	<i>*207</i>	-	0.016	0.294	0.785	0.330
						<i>*209</i>	0.036	0.065	-	0.024	-
						<i>*211</i>	0.536	0.065	0.118	0.024	0.014
						<i>*215</i>	-	0.016	-	-	0.057
<i>A</i>	3.0	9.0	4.0	3.3	8.7	<i>*216</i>	-	-	-	0.143	-
<i>E.N.A.</i>	1.4	2.3	2.1	1.4	2.3	<i>*234</i>	-	-	-	0.024	-
<i>Ho</i>	0.190	0.387	0.333	0.238	0.505	<i>*242</i>	-	-	-	-	0.057
<i>He</i>	0.302	0.570	0.533	0.303	0.562	<i>*247</i>	-	-	-	-	0.014
<i>Ho/He</i>	0.631	0.679	0.625	0.785	0.898	<i>P†</i>	n. s.	***	***	***	n. s.

E.N.A. : 1 マーカー座あたりの有効アレル数

† : Hardy-Weinberg 平衡から逸脱に関する検定結果 (n.s.: not significant、\*\*: $0.001 < p < 0.01$ )

\*\*\*:  $p < 0.001$ )

ていると推定された。それに対し、S1集団と他の4集団の値は31.004~54.525となり、他の集団間より大きな値を示す傾向が認められた。また、 $(\delta\mu)^2$ 値を基にデンドログラムを作成した結果、S2とS4集団が最初にクラスターを形成し、このクラスターにS5集団が結合した(図2)。一方、

S1集団は、他の4集団とは最も遺伝的類縁関係が遠いと推定された。

$F_{ST}$  値についてみると(表7)、S2とC1集団間の値が最も小さく(0.062)、マイナスもしくはゼロに近い値であった。S1とS5集団間の値が最も大きかった(0.525)。また、アレル組成が集

団間で異なるか否かを検定した結果、S4およびS5集団でのみ異質性は認められなかった(表7)。

msDNAを指標にAMOVAを行った結果、野生の4集団全体の $F_{ST}$ 値は0.307と高い値を示し、検出された遺伝的変異のうちの19.32%が河川

間での変異であった(表8)。また、登川と破間川の3集団の $F_{ST}$ 値は0.265と算出され、2つの河川間においても遺伝的な変異が存在すると推定された(表8)。

表6 msDNA分析における集団間の $(\delta\mu)^2$ 値

Population	S5	S4	S2	S1
S4	10.038	-		
S2	8.633	1.254	-	
S1	32.134	31.004	42.173	-
C1	38.160	9.236	11.923	54.525

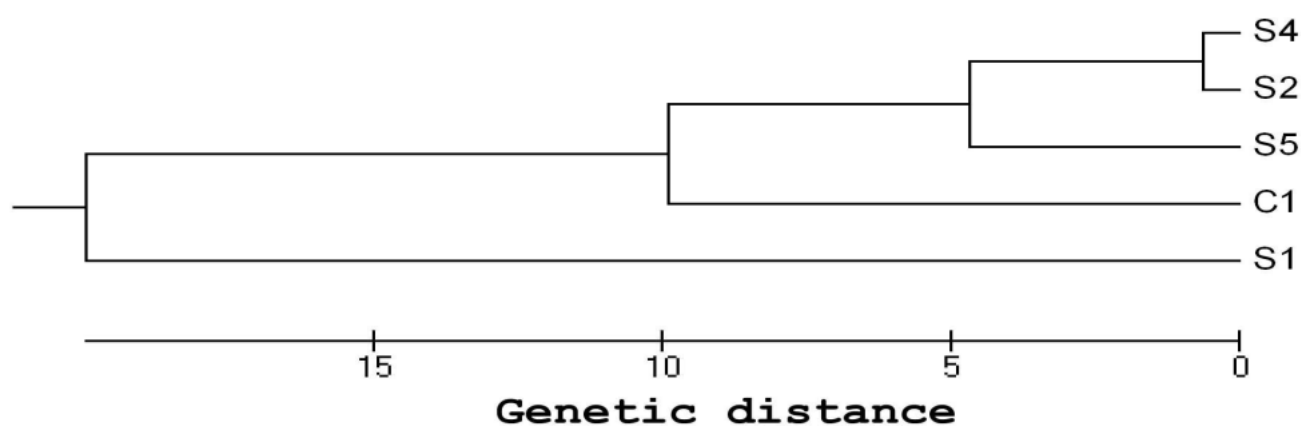


図2  $(\delta\mu)^2$ 値に基づくイワナ集団間の遺伝的類縁関係

表7 msDNA分析における集団間の異質性検定のP値(左下段)および $F_{ST}$ 値(右上段)

Population	S5	S4	S2	S1	C1
S5	-	0.130	0.377	0.525	0.332
S4	0.050±0.009	-	0.205	0.323	0.178
S2	0.002±0.001	0.002±0.001	-	0.192	0.062
S1	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000	-	0.116
C1	0.006±0.002	0.003±0.001	0.025±0.004	0.028±0.010	-

異質性検定におけるマルコフ連鎖長: 100,000 step

表8 msDNAを指標とした野生集団における遺伝的分散分析(AMOVA)の結果

	Percentage of variation			$F_{ST}$	
	Among rivers	Among populations within rivers	Within populations		
3 populations *	15.84	10.67	73.50	0.265	$p < 0.001$
4 populations	19.32	11.41	69.27	0.307	$p < 0.001$

\*: 登川および破間川集団

## 考 察

イワナの在来個体群は、生息環境の消失や、種苗放流や移植に伴う遺伝的な攪乱によって喪失しつつある。遺伝的な攪乱の有無に関する調査は、外部形態に基づくだけでなく、遺伝学的な調査によっても行われている<sup>15)</sup>。一方、登川の上流域には、種苗の放流が行われていない生息地があり、在来個体群の可能性はある。しかし、遺伝的な攪乱の有無は明らかにされていない。

Yamamoto *et al.*<sup>1)</sup> は、日本各地の天然イワナを本研究と同じ mtDNA 分析法で調査し、ハプロタイプによってその地理的な出現パターンが異なることを明らかにした。本調査で分析した4つの野生集団では、Hap5, 7および10のハプロタイプが比較的高い頻度で観察された(表2)。これらのハプロタイプは、新潟県以北の日本海側で観察されることから<sup>1)</sup>、登川など本研究で調査した野生集団は、新潟県以北の日本海側の集団と遺伝的に近縁であると推定された。

一方、登川への放流イワナを生産している養殖場集団(C1)の遺伝的組成をみると、4つの野生集団では観察されなかったハプロタイプが検出された(表2)。養殖集団でのみ観察されたハプロタイプのうち、Hap19は琵琶湖周辺の地域の野生集団で観察されたハプロタイプである<sup>1)</sup>。これらのことから、養殖集団の遺伝的組成は、他地域からの個体の導入によって、新潟県の在来個体群の遺伝的組成とは異なっていると考えられた。それに対し、登川の上流集団(S5)では、mtDNA分析の結果から、本県以外の他地域から持ち込まれたと考えられるハプロタイプは観察されなかった。

また、地元漁協からの聞き取り調査の結果、登川におけるイワナの放流地点は、S5集団の採集地点より下流側に位置していた(図1)。漁協による放流地点とS5集団の採集地点の間には、魚道が設置されていない規模の大きな堰堤が複数存在している。これらのことから、放流されたイワナが、S5集団の採集地点にまで遡上することは困難であると考えられ、放流魚の遡上によって遺

伝的な攪乱が生じる可能性はほとんどないと考えられた。

以上のことから、登川の上流域に生息するイワナ集団は、遺伝的な攪乱を受けている可能性は極めて小さく、在来個体群であると推測された。

次に登川の下流集団(S4)における遺伝的な攪乱について考察してみた。

S4集団の採集地点の近くでは、断続的に放流が行われ、放流個体が採集地点に移動する可能性が考えられる。しかし、mtDNAのハプロタイプ組成をみると、S5集団との間での異質性は認められず(表3)、C1集団で観察されたような他地域からの持ち込まれたと考えられるハプロタイプは観察されなかった。また、msDNA分析においても、S4集団とS5集団の間では、アリル頻度に異質性は認められず、C1集団とは異質性が認められた(表7)。デンドログラムにおいても、S4集団は、C1集団より、S2およびS5集団に近いと推定された(図2)。

S4集団は放流の影響を受け、上流集団と異なる遺伝的組成を有していると予想していたが、本研究の結果から、登川下流のイワナ集団は、上流集団と遺伝的に極めて近く、放流による遺伝的攪乱の程度は小さいと推測された。

登川の上・下流集団の遺伝的組成が類似し、下流集団で遺伝的攪乱の程度が小さかった要因を考えてみる。先にも述べたように、登川では、数多くの堰堤が存在し、下流から上流へのイワナの移動は困難である。これらの状況から、放流イワナがS4地点から上流のS5地点へ移動したことによって2つの集団の遺伝的組成が類似した可能性は極めて小さい。

これらのことから、登川の下流で起きている可能性が考えられる現象を以下にあげる。1) 放流イワナは、放流後比較的短期間に釣獲され、再生産にあまり寄与していない。2) S4集団の採集地点周辺でイワナを放流しても、生息環境や個体間競争などの何らかの要因により登川下流域から逸脱してしまう。3) 上流から下流への移動個体数が、放流個体数より多く、遺伝的攪乱の影響を小さくしている。これらのような現象が推測されるが、本調査で得られた結果が生じた要因を特定

することはできなかった。

サケ科魚類では、野生魚と養殖魚の行動的および生理的な特徴に差異が存在することが報告されている<sup>16-18)</sup>。イワナにおいても、河川に設置されたエンクロージャーに野生魚と養殖魚を同居させた試験が近年行われ、成長率、攻撃行動や摂餌回数に差異が生じる場合があることが報告されている<sup>19,20)</sup>。これらのことから、登川で放流されている養殖魚と野生魚の生態的特徴も異なり、放流が行われている下流域では、生態的特徴の違いから、養殖魚の個体数が少なくなっている可能性も考えられる。

以上のことから、イワナの漁場の効率的で適正な漁場管理を行うには、今後、養殖イワナの放流後の移動パターンや河川での養殖魚と野生魚の割合を明らかにすることが重要であると考えられた。

## 要 約

イワナの資源管理方策の構築に資するための知見を得るために、登川の上・下流の2集団についてDNA分析による遺伝的集団構造の把握を行った。

mtDNAのチトクロームb領域の塩基配列を指標に分析を行った結果、登川の個体からは4つのハプロタイプが観察された。登川の上流および下流のいずれの集団においても、Hap5の頻度が共に卓越していた。

mtDNA分析の結果、放流が行われていないとされる上流集団では、遺伝的に攪乱された可能性は低く、在来個体群であると推測された。

放流が行われている下流集団は、放流個体を生産している養殖場集団より、上流集団と遺伝的に近い関係にあると推定された。

登川における集団内の遺伝的変異性は、mtDNAおよびmsDNAのいずれの指標においても、下流集団より上流集団の値が小さかったが、遺伝的組成に異質性は認められなかった。

## 謝 辞

本研究は、水産庁の健全な内水面生態系復元等推進委託事業によって実施された。また、本研究を実施するにあたり施設の借用を承諾いただいた新潟県水産海洋研究所に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Yamamoto S, Morita K, Kitano S, Watanabe K, Koizumi I, Maekawa K, Takamura K. Phylogeography of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Zool. Sci.* 2004; **21**: 229-240.
- 2) Kubota H, Doi T, Yamamoto S, Watanabe S. Genetic identification of native populations of fluvial white-spotted charr *Salvelinus leucomaenis* in the upper Tone river drain-age. *Fish. Sci.* 2007; **73**: 270-284.
- 3) Kikko T, Kuwahara M, Iguchi K, Kurumi S, Yamamoto S, Kai Y, Nakayama K. Mitochondrial DNA population structure of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) in the Lake Biwa water system. *Zool. Sci.* 2008; **25**: 146-153.
- 4) 山本祥一郎, 中村智幸, 久保田仁志, 土井隆秀, 北野 聡, 長谷川 功. ミトコンドリアDNA分析に基づく関東地方産イワナの遺伝的集団構造. 日本水産学会誌 2008; **74**: 861-863.
- 5) 中村智幸. 遺伝子解析によるイワナの原種探し. 広報ないすいめん 2005; **41**: 46-49.
- 6) 日本エヌ・ユー・エス(株). 平成7年度広域栽培資源放流管理手法開発調査に関わる業務(ミトコンドリアDNA分析に関わる業務)報告書, 日本エヌ・ユー・エス(株), 東京, 1996.
- 7) Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA4, Inte-grated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 2004; **5**: 150-163.
- 8) Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol.*

- Evol.* 1980; **16**: 111-120.
- 9) Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resources.* 2010; **10**: 564-567.
- 10) Raymond M, Rousset F. An exact test for population differentiation. *Evolution* 1995; **49**: 1280-1283.
- 11) Angers B, Bernatchez L. Usefulness of heterologous microsatellites obtained from brook charr, *Salvelinus fontinalis* Mitchell, in other *Salvelinus* species. *Mol. Ecol.* 1996; **5**: 317-319.
- 12) Sakamoto T, Okamoto N, Ikeda Y. Application of PCR primer pairs from rainbow trout to detect polymorphisms of CA repeat DNA loci in five confamilial species. *Fish. Sci.* 1996; **62**: 552-555.
- 13) Goldstein DB, Linares AR, Cavalli-Sforza LL, Feldman MW. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; **92**: 6723-6727.
- 14) Sokal RR, Michener CD. A statistical method for evaluating systematic relationship. 1958; *Univ. Kansas Sci. Bull.* **38**: 1409-1438.
- 15) 糸井史朗・杉田治男・勝呂尚之. 5. 溪流魚のDNA解析調査. 丹沢大山総合調査学術報告書 2007; 318-320.
- 16) Einum S, Fleming IA. Genetic divergence and interactions in the wild among native, farmed and hybrid Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* 1997; **50**: 634-651.
- 17) Huntingford FA. Implications of domestication and rearing conditions for behaviour of cultured fishes. *J. Fish Biol.* 2004; **65** (Suppl. A): 122-142.
- 18) Weber ED, Fausch KD. Interactions between hatchery and wild salmonids in streams: differences in biology and evidence for competition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2003; **60**: 1018-1036.
- 19) Yamamoto S, Nakamura H, Koga K. Interaction between hatchery and wild juvenile white-spotted charr *Salvelinus leucomaenis* in a stream enclosure experiment. *J. Fish Biol.* 2008; **73**: 861-869.
- 20) 中村智幸. イワナにおける放流された大型養殖稚魚が河川に生息する小型野生稚魚に及ぼす生態的影響の解明. 渓流域管理体制構築事業報告書 水産庁, 東京, 2008; 140-146.