

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月12日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22380110

研究課題名（和文）最新のデータサイエンスに基づく養殖および種苗放流の遺伝的影響の実証的解明

研究課題名（英文）Empirical evaluation of genetic impacts of aquaculture and stock enhancement on wild populations based on the latest data science

研究代表者 北田 修一（KITADA SHUICHI）

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授

研究者番号：10262338

研究成果の概要（和文）：養殖や種苗放流が天然集団に及ぼす遺伝的影響を評価した。有明海では、外来種の中国アサリが在来アサリと交雑し、その遺伝子が約半分を占めた。サワラ放流魚の遺伝的多様性は低く、放流量が餌の供給量を超えた場合には、天然魚を置き換えた。養殖マダイは長年の選抜育種のため遺伝的多様性が低く、形態も変化していた。スチールヘッドの相対繁殖成功度は、交配や環境の影響を受けて変動が大きい。適応度低下の分子メカニズムを明らかにするため、遺伝子発現と形質のグラフィカルモデルを開発した。

研究成果の概要（英文）：The present study evaluated genetic impacts of aquaculture and hatchery-supplementation on wild populations. We found that the Chinese clam, an alien species, has hybridized with the native asari clam and that hybrids now represent ~50% of the clam population in the Ariake Sea. We showed that hatchery fish had low genetic diversity and displaced wild fish when stocking exceeded the food supply. We also found evidence of low genetic diversity and morphological changes in cultured red sea bream due to selection of fast growing individuals for many generations. Relative reproductive success of the steelhead largely varied due to different crosses and environmental conditions. To elucidate the mechanisms of the fitness reduction, we developed a directed graphical modeling of gene expression profiles and phenotypic traits.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	8,100,000	2,430,000	10,530,000
2011年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2012年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
総計	15,700,000	4,710,000	20,410,000

研究分野：水産増殖

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：遺伝的多様性、繁殖成功度、集団構造、遺伝子発現ネットワーク、グラフィカルモデル

1. 研究開始当初の背景

1980年代後半頃から、北西アメリカのサケ科魚類の放流とノルウェー等での大西洋サケの養殖を背景として、栽培漁業や養殖の生態系に対する負の影響が懸念されるようになった。問題は、人工繁殖によって生産さ

れた人工種苗が大量に野外に放された場合、天然集団との間で生態的・遺伝的に様々な交互作用が起きることにある。近年では、世界の漁業生産の約30%を占める魚類養殖に起因する病原菌や寄生虫の被害に加え、選抜育種魚の生簀網からの逃亡と生簀内での産卵による遺伝的影響についても

懸念が広がっている。

放流・養殖にかかわらず人工種苗の遺伝的影響問題の本質は、その遺伝子が再生産を通じて天然集団に広がることにより、集団の遺伝的様性が減少し、それが原因となって生残率や繁殖成功率などのフィットネス（適応度）の低下を引き起こすのではないかという懸念である。人工種苗が天然個体と遺伝的・形態的に異なることは 1980 年代から認識されていた。90 年代に入って遺伝子分析技術が普及したことから、サケのほか、アワビ、ヒラメ、マダイなどの海産種についても、人工種苗と天然集団の遺伝的差異が報告された。最近では、遺伝子親子鑑定により、サケ科魚類では人工種苗の自然環境下での繁殖成功率が天然魚より低いことがサイエンス誌等で報告され、水産増養殖や希少動物の保護増殖の分野に大きな影響を与えている。しかし、人工種苗の放流や養殖が天然集団に及ぼす生態的・遺伝的影響はほとんど明らかではない。

2. 研究の目的

天然集団への遺伝的影響は、天然個体と遺伝的に大きく異なる多くの人工種苗が生態系に広がることにより起きる。人工種苗と天然個体との遺伝的異質性および資源量に対するインパクトが大きいほど、その検出力は強くなる。人工種苗の遺伝的影響の実態を解明するためには、①天然個体との遺伝的差異が大きい、②長期間・大量に放流あるいは養殖されている、事例を対象とすることが鍵となる。遺伝的に異質性が大きいものが天然集団に導入された場合の影響を評価すれば、そこで得られた結果は、養殖、放流あるいは外来種侵入であれ、それらが天然集団に及ぼす影響の一般解となることが期待される。

本研究では、養殖・種苗放流のインパクトが大きい極端な事例を対象とし、遺伝子実験とフィールド生態調査・漁獲統計分析に基づき、形態、遺伝子の多様性、集団の遺伝的分化・混合、フィットネスの変化などに着目し、最新のデータサイエンスを駆使して人工繁殖の影響を実証的かつ定量的に評価・解明する。本研究の目的を達成するため、以下の研究課題に取り組んだ。

(1) 1980 年代から大量に輸入され、漁業資源増殖や潮干狩り用に放流されている中国アサリ（仮称）の遺伝的特性と遺伝的侵入を明らかにする。

(2) 魚食性が極めて強いサワラについて、遺伝的集団構造を明らかにするとともに、種苗放流が天然魚集団に及ぼす生態的・遺伝的影響を明らかにする。

(3) 人工種苗を使用する魚類養殖では第一位の生産量をあげるマダイ養殖の遺伝的影響を明らかにする。また、その影響の大き

さを長期大量種苗放流の影響と比較する。

(4) 人工種苗の繁殖能力を評価する相対繁殖成功率（RRS）の統計的性質を明らかにして、スチールヘッドのデータに適用し、その結果について理解を深める。

(5) 放流群の遺伝的混合率の推定方法を複数遺伝子座データの場合に拡張する。

(6) 人工種苗の適応度低下の有無、及び実際に適応度低下が起きている場合はそのメカニズムを明らかにするため、内分泌、遺伝子発現、形質の関連の全体像をとらえるグラフィカルモデル法を開発する。

3. 研究の方法

(1) 中国アサリとアサリの 12 集団について、アロザイム 8 遺伝子座 627 個体、マイクロサテライト DNA の 4 遺伝子座 1,186 個体、ミトコンドリア DNA COI 領域の塩基配列 485 個体の遺伝子分析に加え、外部形態 704 個体を計測した。また、中国アサリの分類学的位置を知るため、ヒメアサリ、ヨーロッパアサリ、ハマグリ、シナハマグリを外群として COI 領域の塩基配列を比較した。

(2) 1999 年から 2005 年の 7 月から 12 月に計測された 5,005 個体のサワラ 0 歳魚（内 551 個体は放流魚）の体長と体重を解析し、平均体重と資源尾数の関連、親子関係などを推定した。遺伝子実験については、日本周辺の 11 海域から合計 1,478 個体の天然魚と香川県で生産された人工種苗 235 個体を収集し、ミトコンドリア DNA 調節領域の塩基配列（861 個体）とマイクロサテライト DNA 5 遺伝子座（1,624 個体）の遺伝子型を決定した。

(3) 全国の 52%にあたる 3.5 万トンを生産する第一位の養殖生産をあげている愛媛県宇和海から養殖魚 100 個体と天然魚 116 個体、約 3 千トンを生産する和歌山・香川県に比較的近い養殖・放流が行われていない瀬戸内海東部の岡山県寄島から 98 個体を採集した。また、30 年以上にわたって大量放流が行われてきた鹿児島湾から、天然魚 60 個体、放流魚 36 個体を実験に供した。天然魚の対照群としては、養殖がなく放流の影響もほとんどない鹿児島県東シナ海側の江口から 93 個体を採集した。このうちの 5 標本 249 個体の外部形態 15 ヶ所を計測した。

(4) RRS に対数正規分布を仮定し、推定量の平均、分散、偏りを解析的に導出するとともに、ベイズ階層モデルの下で MCMC を用いて超集団におけ RRS の分布を推定した。

(5) 各遺伝子座は独立と仮定し、尤度を各遺伝子座の積として、EM アルゴリズムにより混合率を推定した。

(6) ステップワイズ法により得られた無向グラフを制約条件に基づき一部有向化したものを初期グラフとし、その制約下で遺伝的アルゴリズムにより、情報量規準を最小化した。グラフの推定精度は、ブートストラップ法により評価する。この方法により、ある遺伝子の発現が変化したとき、他の遺伝子の発現や関連する形質がどのように変化

するか、定量的な予測がはじめて可能となる。

4. 研究成果

(1) 中国アサリはアサリとは遺伝的・形態的に異なる外来種であるが、種は不明である。種の記載については、新種の可能性を含めて、今後の課題である。有明海では中国アサリ♂が侵入して交雑が起き、現在では両者の中間的形態を持つ個体が増えている(図1)。遺伝的混合率は $51.3 \pm 4.6\%$ と推定された。有明海では中国アサリの遺伝子が約半分を占め、全個体がハイブリッドであるいわゆる Hybrid swarm になっている。一方、東京湾では、混合率は2009年 $5.8 \pm 2.0\%$ 、2010年 $3.7 \pm 1.8\%$ と低く、形態の変化も見られなかった。



図1 左からアサリ、有明海ハイブリッド、中国アサリ (Kitada et al. 2013 を改変)

(2) サワラの放流魚は天然魚より成長率が良かった。平均体重と資源尾数の間の有意な負の相関は強い密度依存成長を示し、0歳魚のバイオマスの変動の約35%は餌魚であるカタクチイワシシラスのそれで説明された。これらから、サワラは近年低位で変動する環境収容量を限度まで利用しており、放流量が環境収容量を超えた場合にはバイオマスでみて放流魚は天然魚を置き換えたことを明らかにした。放流種苗では人工授精に使用する親魚の数が少ないため遺伝的多様性の低下がみられたが、天然魚は多様性に富んでおり、放流による遺伝的多様性の低下は認められなかった。また、日本周辺のサワラは、遺伝的に均一であることもわかった。

(3) マダイ養殖魚は、長年の選抜育種により、形態に変化がみられた。養殖魚と放流魚の遺伝的多様性は天然魚に比べて低く、多くの対立遺伝子やハプロタイプが消失していた。鹿児島湾では、天然集団の多様性の低下がみられた。

(4) RRS の推定量の平均、分散及び偏りを導出し、これまで不偏推定量といわれていた RRS は常に上側への偏りをもつことを明らかにした。これは RRS の推定値よりも真の値が小さいことを意味するが、この偏りは放流魚と天然魚の繁殖成功率(対数値)の相関が大きいほど小さい。相関係数=1のときは、不偏推定量である。実際には放流魚と天然魚の繁殖成功率は共通の環境に影響されるため相関係数は大きく(~ 0.9)、偏りは小さい。米国フッド川のスチールヘッドの孵化場生産

魚(F1と呼ぶ)と孵化場魚の仔(F2)の8交配グループ(それぞれ雌雄各3年分のデータ)のRRSの推定値の変動を考慮し、サンプリング誤差を差し引いて真のRRSの分布を推定した。F1(図2(b))、F2(図2(c))とも平均RRSの事後分布は大きく裾を引いており、明確なピークは見られなかった。F1、F2のデータを合わせて解析した場合は情報量が増え、0.6あたりにピークが出てくる(図2(a))。RRSの点推定値は1より小さく、放流魚の繁殖成功率が天然魚に比べて低いことを暗示するが、RRSは交配や環境によって大きく変動することを示している。

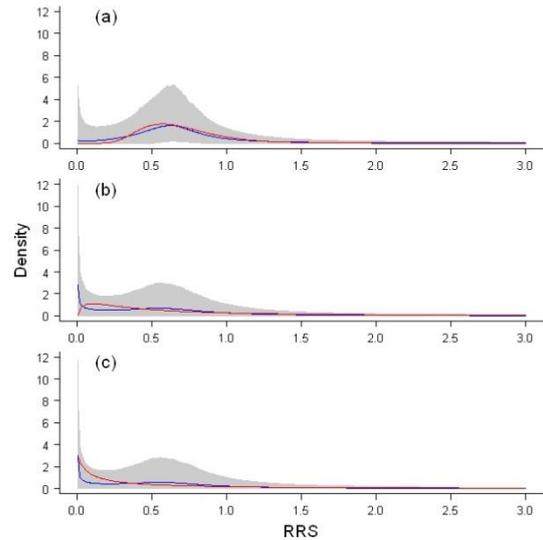


図2 スチールヘッドの平均RRSの事後分布。赤：メディアン、青：平均 (Kitada et al. 2011)

(5) 複数遺伝子座の対立遺伝子データから基準群の混合率を推定する GUI ソフトウェア POPMIX2.0 を開発し、ホームページから自由にダウンロードできるようにした。

(6) 遺伝子の発現と形質の関連を尤度ベースのグラフィカルモデルで表現し、形質の背後にある細胞内の分子レベルでのメカニズムの全体像をとらえる手法を開発した。計算は遺伝アルゴリズムを用い、ベニザケを産卵期の河川遡上行動とともに追跡した公開データを解析した。その結果、内分泌が遺伝子発現を促し、それが行動を決定づける様子が明確に描かれた。本グラフィカルモデルを人工種苗と天然魚のデータに適用・比較することにより、適応度低下の分子メカニズムを明らかにすることが可能となる。本課題は東京海洋大学の中道礼一郎特任助教が研究協力者として担当した。

この他、種苗放流の代表種であるクルマエビとシロザケについて、種苗放流効果と資源変動についてレビュー・考察した。なお、サワラ・マダイの遺伝的影響及び混合率推定、グラフィカルモデルの成果については今後速やかに原著論文を国際誌に投稿して行く。

以上の研究により、外来種の導入や種苗放流及び養殖が天然集団に及ぼす遺伝的影響の実態を明らかにするとともに、必要となるデータ解析手法を開発することができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Miyakoshi Y, Nagata M, Kitada S, Kaeriyama M (2013) Current hatchery programs and management of chum salmon in Hokkaido, northern Japan. *Reviews in Fisheries Science* 21 (3) (in press)、査読有
- ② Hamasaki K, Kitada S (2013) Catch fluctuation of Kuruma prawn *Penaeus japonicus* in Japan relative to ocean climate variability and a stock enhancement programme. *Reviews in Fisheries Science* 21 (3). DOI: 10.1080/10641262.2013.800781 (in press)、査読有
- ③ Nakajima K, Kitada S, Yamazaki H, Takemori H, Obata Y, Iwamoto A, Hamasaki K (2013) Ecological interactions between hatchery and wild fish: A case study based on the highly piscivorous Japanese Spanish mackerel. *Aquaculture Environment Interactions* 3 (4), 231–243. DOI10.3354/aei00065.、査読有
- ④ Kitada S, Fujikake C, Asakura Y, Yuki H, Nakajima K, Vargas K M, Kawashima S, Hamasaki K, Kishino H (2013) Molecular and morphological evidence of hybridization between native *Ruditapes philippinarum* and the introduced *Ruditapes* form in Japan. *Conservation Genetics* 14: 717–733, DOI 10.1007/s10592-013-0467-x. in press.、査読有
- ⑤ Kitada S, Kishino H, Hamasaki K (2011) Bias and significance of relative reproductive success estimates based on steelhead data: A Bayesian meta-analysis. 68: 1827–1835. Doi:10.1139/F2011-087、査読有
- ⑥ Vargas K, Hamasaki K, Asakura Y, Ikeda M, Tsuchiya K, Taniguchi N, Kitada S (2010) Genetic diversity and differentiation in allozyme and shell sculpture of the clams *Ruditapes* spp. in natural populations of Japan and China. *Fish Genetics and Breeding Science*, 40: 37–46.、査読有
- ⑦ Hamasaki K, Kitada S, Shishidou H, Toriya S, Sugaya T, Kishino H (2010) Genetic impacts of hatchery fish on wild populations in red sea bream *Pagrus major* (Perciformes, Sparidae) inferred from

partial sequence of the control region in mitochondrial DNA. *Journal of Fish Biology*, 77: 2123–2136. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2010.02826.x、査読有

[学会発表] (計 20 件)

- ① 中道礼一郎, 岸野洋久, 北田修一 (2013) タイセイヨウサケの初期発生における遺伝子発現の連鎖構造の推定. 平成 25 年度日本水産学会春季大会, 2013 年 3 月 26–30 日, 東京海洋大学, 東京
- ② 中道礼一郎, 岸野洋久, 北田修一 (2012) グラフィカルモデリングによる遺伝子と内分泌の発現ネットワーク推定: ペニザケの産卵回帰メカニズム. サケ学研究会, 2012 年 12 月 8 日, 北海道大学水産学部, 函館
- ③ Nakamichi R, Kishino H, Kitada S (2012) Directed graphical modeling of gene expression profile underlying salmonids reproductive behavior. Norway-Japan workshop on evaluating impacts of aquaculture, 5 October 2012, Friday Seminar, Center for Ecological and Evolutionary Synthesis, University of Oslo, Oslo, Norway
- ④ 中道礼一郎, 岸野洋久, 北田修一 (2012) グラフィカルモデリングによる遺伝子と内分泌の発現ネットワーク推定. 平成 24 年度日本水産学会秋季大会, 2012 年 9 月 15 日, 水産大学校, 下関
- ⑤ 中道礼一郎, 岸野洋久, 北田修一 (2012) 質的付加情報を利用した遺伝子発現有向グラフの定量的推定. 2012 年度統計関連学会連合大会, 2012 年 9 月 10 日, 北海道大学, 札幌
- ⑥ Kitakado T (2012) Estimation of spatial and temporal population mixture using genetics and morphometric data. 26th International Biometric Society Meeting, 26–31 August 2012, Kobe, Japan
- ⑦ Nakamichi R, Kishino H, Kitada S (2012) Inference of direct effect and module structure of transcriptome behind phenotype via graphical modeling. 26th International Biometric Society Meeting, 26–31 August 2012 Kobe, Japan
- ⑧ 北門利英 (2012) 遺伝情報と形態測定情報を利用した集団構造の推測と水産資源への応用. 日本計量生物学会年会, 2012 年 5 月 26 日, 統計数理研究所, 立川
- ⑨ 中道礼一郎, 岸野洋久, 北田修一 (2012) 遺伝的アルゴリズムとグラフィカルモデリングによる遺伝子ネットワークのモジュール構造と発現形質への影響の推定. 日本計量生物学会年会, 2012 年 5 月 26 日, 統計数理研究所, 立川
- ⑩ 北田修一, 岸野洋久, 浜崎活幸 (2012) 母集団相対繁殖成功度のベイズ評価: 米国 Hood River のスチールヘッド. 2012 年 3 月 26–29 日, 東京海洋大学, 東京

- ⑪ 北田修一, 浜崎活幸, 藤掛千恵, 浅倉佳穂, 中島香織, 湯木瞳, 川島汐里, Kelly Vargas, 岸野洋久(2012) 外来アサリの在来集団への遺伝的侵入.平成 24 年度日本水産学会春季大会,2012年3月26-29日,東京海洋大学,東京
- ⑫ 中島香織, 羽原陽子, 佐野祥子, 横山恵美, 菅谷琢磨, 浜崎活幸, 北田修一(2012) 日本周辺海域におけるサワラの集団構造と種苗放流の遺伝的影響.平成24年度日本水産学会春季大会,2012年3月26-29日,東京海洋大学,東京
- ⑬ 北田修一(2011) 放流魚の繁殖成功率は天然魚より低いのか? : スチールヘッドデータのベイズ評価. 第5回サケ学研究会招待講演,2011年12月17日,北海道大学学術交流会館,札幌
- ⑭ 中島香織, 浜崎活幸, 小畑泰弘, 山崎秀樹, 北田修一(2011) 大型魚食性魚類の種苗放流が天然集団に及ぼす生態的影響: サワラを例として.平成23年度日本水産学会秋季大会,2011年9月29日,長崎大学,長崎
- ⑮ Nakajima K, Obata Y, Hamasaki K, Kitada S (2011) Ecological interaction between hatchery and wild fish: A case study of strongly piscivorous Japanese Spanish mackerel. Poster, The 4th International Symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching, April 20, 2011, Shanghai Ocean University, China
- ⑯ Hamasaki K, Kitada S (2011) Catch fluctuation of Kuruma prawns in Japan in relation to stock enhancement programs and climate change. Poster, The 4th International Symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching, April 20, 2011, Shanghai Ocean University, China
- ⑰ Kitada S, Hamasaki K, Nakajima K, Miyakoshi Y, Kishino H (2011) Rearing and genetic effects on fitness of artificially-produced animals in the wild: Empirical evaluation of large-scale fishery stock enhancement programs. Key note talk, The 4th International Symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching, April 24, 2011, Shanghai Ocean University, China
- ⑱ 北田修一(2010) 栽培漁業の遺伝的影響評価と多様性管理.平成22年度日本農学会シンポジウム「農林水産業を支える生物多様性の評価と課題」,2010年10月9日,東京大学弥生講堂,東京
- ⑲ 北門利英(2010) 水産資源の集団構造に対する統計的推測.2010年度統計関連学会連合大会,企画セッション「海洋生態・水産資源データの解析と統計モデリング」,2010年9月7日,早稲田大学,東京
- ⑳ 岸野洋久(2010) ベイズ統計手法の応用の現状と展望.計量生物学会年会,特別セッション,2010年5月22日,統計数理研究所,立川

〔図書〕(計2件)

- ① 北田修一(2013) シロザケ孵化場魚の遺伝的多様性と繁殖成功率.「サケ学大全(帰山雅秀,永田光博,中川大介編)」,123-128,北海道大学出版会
- ② 北田修一(2011) 種苗放流の遺伝的影響:実態と展望.シリーズ21世紀の農学「農林水産業を支える生物多様性の評価と課題(日本農学会編)」,83-112,養賢堂

〔その他〕

ホームページ等
研究室

http://www2.kaiyodai.ac.jp/~kitada/index_kitada.html

保全遺伝学研究グループ

<http://popgene.co-site.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北田 修一 (KITADA SHUICHI)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授

研究者番号:10262338

(2) 研究分担者

岸野 洋久 (KISHINO HIROHISA)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号:00141987

浜崎 活幸 (HAMASAKI KATSUYUKI)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・准教授

研究者番号:90377078

北門 利英 (KITAKADO TOSHIHIDE)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・准教授

研究者番号:40281000