

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05781

研究課題名(和文) 種苗放流の効果及び野生集団への影響のグローバル客観評価

研究課題名(英文) Systematic assessment of worldwide marine stock enhancement and sea ranching programs

研究代表者

北田 修一 (Shuichi, Kitada)

東京海洋大学・学術研究院・名誉教授

研究者番号：10262338

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：世界及び日本の種苗放流効果と野生集団への影響を定量評価した。固定指数(FST)の推定量を整理し、シミュレーションおよびヒト、タラ、ポプラの実データ解析により有効性を実証した。2段階サンプリングによる放流効果の不偏推定法の推定法を整理し、Rプログラムを公開した。鹿児島湾のマダイの種苗放流効果と野生集団への遺伝的影響を長年蓄積されたデータを解析して総括した。サケの公開遺伝子データを解析し、日本の集団は進化的に最も新しいと推測するとともに、中立集団構造から大きく乖離して日本を特徴づけるSNPsを検出した。アユの公開遺伝子データを解析し、湖産アユの全国の河川集団での交雑率を $24 \pm 8\%$ と推定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、種苗放流の効果及び遺伝的影響を世界規模で客観的に評価した。これまで、放流効果を世界横断的に俯瞰した研究は無く、種苗放流の遺伝的影響を種間及び事例間で比較した研究はない。本研究により、種苗放流の効果及び遺伝的影響の顛末が、世界規模のレビュー及び個別の大量放流事例解析で初めて解明された。種苗放流の有効性について本質的な知見を提供する本研究の学術的価値は高く、社会への波及効果も大きい

研究成果の概要(英文)：We evaluated the effects of world and Japanese hatchery release programs and their impacts on wild populations. We summarized estimators of fixation index (FST), and demonstrated its validity by colonization simulation and empirical data analysis of human, cod, wild poplar. We summarized our method for unbiased estimation of stocking effectiveness by a two-stage sampling and made the R program publicly available. We organized data of the red sea bream hatchery release in Kagoshima Bay accumulated over many years and evaluated the stocking effectiveness and genetic impact. We analyzed published genetic data of salmon and inferred that the Japanese population is the most recent evolutionarily, and detected SNPs that characterize Japan populations with a significant deviation from the neutral population structure. We analyzed published genetic data of Ayu and estimated the hybridization rate of land-locked Ayu in anadromous populations in Japan to be  $24 \pm 8\%$ .

研究分野：水産増殖

キーワード：種苗放流 遺伝的影響 集団構造 進化 サケ アユ マダイ

## 1. 研究開始当初の背景

種苗放流の歴史は 1800 年代の終わりに始まる。現在、世界では多くの国で種苗放流によって資源量を増殖する取り組みが行われており、近年、魚類養殖がアジアや地中海で拡大している。

世界では人工種苗の大量放流に加え、タイセイヨウサケなど人為選抜のかかった養殖魚の生け簀等からの逃亡・流失が野生集団に与える負の影響が大きな問題となっている。人工種苗が野生魚と交配してその遺伝子が野外に広がると、野生集団の遺伝的多様性や適応度を下げ、極端な場合には絶滅につながる懸念されているのである。実際、サケ科魚類の親子判定を用いたフィールド実験は、人工種苗の自然環境下での生残率や繁殖成功度が野生魚と比べて低いことを明らかにしている。一方、放流後のモニタリング調査は一般に不足しており、放流効果や野生集団への影響は明らかではない場合が多い。種苗放流技術が資源の増殖や保全のゴール達成に有効かどうかはわからないまま、多くの事業が実施されているのが現状といえる。「種苗放流は有効な技術か?」、「野生集団への影響はどの程度深刻か?」本研究課題の核心をなすこの学術的問いは、水産にとどまらず、人工繁殖が広く適用されている保全生物の分野にも共通するものである。

## 2. 研究の目的

本研究では、種苗放流の効果及び遺伝的影響を世界規模で客観的に評価することを目的とした。放流効果及び遺伝的影響に関する統一尺度を用い、様々な種・地域で得られたデータからこれらを推定する。これまで、放流効果を世界横断的に俯瞰した研究は無く、種苗放流の遺伝的影響を種間及び事例間で比較した研究はない。本研究により、種苗放流の効果及び遺伝的影響の程度が世界規模で初めて客観的に解明され、集団の持続と種苗放流の関係について核心的な知見が得られることが期待された。

## 3. 研究の方法

### (1) 世界及び日本の種苗放流の歴史と現状評価

関連する文献や公開データベースから種苗放流が行われている海産魚介類及びサケ属魚類に関して情報を収集し、種苗放流の歴史を整理するとともに、メタ解析を含むシステムティックレビューによって種苗放流効果と遺伝的影響の実態を客観的に把握した。統一尺度として回収率、YPR (yield per release、放流 1 個体当たり回収重量)、経済効率を用い、様々な種・地域で得られたデータからこれらを推定、比較した。

YPR は

$$YPR = r \times w$$

で定義される。 $r$  は放流種苗の回収率、 $w$  は再捕された種苗の平均体重 (グラム) である。経済効率  $E$  は

$$E = YPR \times v/c$$

と算定される。ここで、 $v$  は漁獲された魚 1 グラム当たりの価格、 $c$  は放流種苗 1 尾当たりのコスト (種苗単価) である。したがって、 $v/c$  は種苗のコストパフォーマンスである。

### (2) 日本の大量放流事例の遺伝的影響評価

マダイ、シロザケ (以下、サケ)、アユを長期にわたる大量放流事例として取り上げ、種苗放流が野生集団に及ぼした遺伝的影響を推定した。そこでは、遺伝集団構造の推定が重要な役割を果たす。これには、集団遺伝学で中心的なパラメータの一つである  $F_{ST}$  を用いた。2 つの集団間の対  $F_{ST}$  と集団固有  $F_{ST}$  の理論を整理し、シミュレーションと公開遺伝子データの解析により、その有効性を評価した。集団の遺伝的多様性の指標としては、期待ヘテロ接合度を用いた。

## 4. 研究成果

### (1) 世界の種苗放流の歴史と現状

世界の種苗放流の歴史を整理するとともに、この分野で初めてシステムティックレビューを行い、現状を評価した (Kitada 2018)。2011 年から 2016 年までの間に、20 以上の国でサケ科魚類を含め 187 種の海産魚介類が放流されていることが分かった。

放流効果の計算に必要なデータが得られた 12 事例について、YPR と  $v/c$  に対する経済効率  $E$  の等値線を描いた。 $E$  が 1 の場合は、収支が均衡し、1 以上で利益がでることを示している。多くの事例で  $E$  は 1 を超えている。ただ、ここでの種苗単価は生産直接経費で、施設償却費、人件費は含まず、野生集団への影響コストも考慮していない。いくつかの事例では経済的に成功して

いるが、多くの事例では成功していない、あるいは評価されていない。

1990年以降に出版された放流集団に対する遺伝的影響を評価した論文を検索し、28の論文を見つけた。ここでは、タイセイヨウサケの養殖魚の流出を取り扱った論文は除いている。28事例のうち、11事例(39%)は放流集団への遺伝的影響が観測され、4事例は遺伝的影響が疑われ(14%)、13事例(47%)は遺伝的影響は観測されないか、または集団サイズの増加が観測された。遺伝的影響は具体的には、放流集団における対立遺伝子(アレル)頻度の変化、放流集団の遺伝的侵入、集団構造の変化、サケ科魚類の回帰時期の変化、遺伝的多様性及び有効集団サイズの低下(Ryman-Laikre Effectを含む)であった。この時点(2018年)までは放流集団の適応度(生残率や繁殖成功率)が低下した論文は見つからなかった。一方、放流種苗そのものの適応度低下は、欧米のサケ科魚類で事例が積み重ねられており、相対繁殖成功率の事後分布は、適応度の低下は種苗性に依存することを示唆した。

北太平洋におけるサケの事例解析は、餌の競合による密度依存成長は顕著で、放流量が環境収容力を超えた場合には、放流魚と野生魚及び他の競合種の成長が同時に減少し得ることを示した。また、1996年以降の日本のサケの回帰数減少は、沿岸の平均水温上昇とロシアの漁獲量増加で有意に説明された。

## (2) 日本の種苗放流の歴史と現状

日本の種苗放流の歴史を整理し、メタ解析を用いて現状を評価した(Kitada 2020)。サケ孵化場は北日本の11道県に262か所あり、うち242は民間孵化場で、道県立孵化場7カ所と国の孵化場13か所は主として試験研究を担っている。

放流効果の計算に必要なデータが得られた20事例について、回収率及び、YPRと経済効率Eを計算した(図1)。回収率は、0.9-34.5%まで変動が大きかった。魚種別には、ホタテガイが $34.5 \pm 10.2\%$ (平均 ± 標準偏差)で最も高く、ウニ類が $18.2 \pm 17.5\%$ 、アワビ類 $12.2 \pm 8.1\%$ 、ババガレイ、クロソイ、ヒラメ、サワラ、キジハタ、ホシガレイは11~15%、マダイは7~8%であった。甲殻類の回収率は5%より低く変動が大きい。クルマエビでは $2.8 \pm 4.5\%$ 、ノコギリガザミでは $0.9 \pm 0.7\%$ であった。サケは、北海道で $3.6 \pm 1.1\%$ 、本州で $1.6 \pm 0.6\%$ であった。新たに導出した回収率のベイズ事後平均は $8.3 \pm 4.7\%$ であり、その信頼領域(図1左オレンジで表示)は、種を問わず回収率は0-18%の間に確率95%で入ることを示している。

ほとんどの事例で経済効率Eは1を超えているが(図1右)、上でも述べたようにここでの種苗単価は生産直接経費で、施設償却費、人件費は含まず、野生集団への影響コストも考慮していない。経済効率の推定値は、サケとホタテガイでは経済的に成功しているが、多くの事例では放流コストを回収できていないことを示唆した。

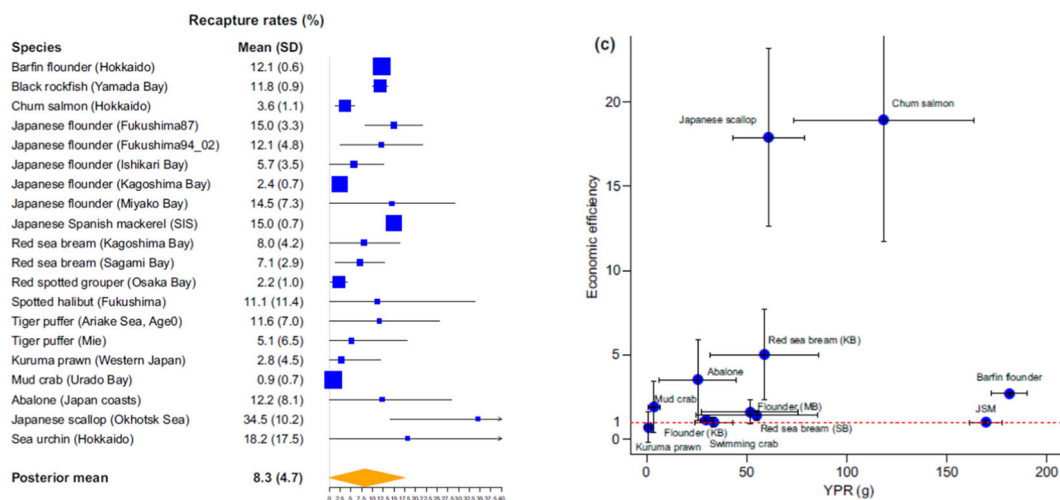


図1 日本の主要放流対象種の回収率と経済効果 (Kitada 2020)。

YPRと放流尾数から算定したマクロスケールで見た漁獲に占める放流個体の貢献率は、ホタテガイが最大で $76 \pm 20\%$ 、次いでアワビ $28 \pm 10\%$ 、ガザミ $20 \pm 5\%$ 、クルマエビ $13 \pm 5\%$ 、ヒラメ $11 \pm 4\%$ 、マダイ $7 \pm 2\%$ 、サワラ $2 \pm 2\%$ であった。この結果は、野生個体の加入量が放流数を大きく超える場合には、放流効果はその変動に埋もれ得ること、また、野生個体の加入量は、産卵・育成場(ナーサリー)の環境収容力に依存していることを示唆した。さらに、北海道のサケとホタテガイ及び鹿児島湾のマダイの事例解析を行った。これらの結果から、種苗放流は短期的には漁獲量を増加させ得るが、長期的には産卵・育成場の回復と漁獲努力量の減少が重要であるとの結論が得られた。

### (3) 集団構造と分布拡大の履歴

祖先集団からの集団植民を模したシミュレーションと、ヒト、大西洋タラ、野生ポプラの公開遺伝子データの解析により、集団固有  $F_{ST}$  が祖先集団を特定し、集団対  $F_{ST}$  は祖先集団から集団が派生する集団構造を追跡できることを実証した (Kitada *et al.* 2021)。また、これらの解析が行える R プログラムを公開した。

### (4) サンプリングによる放流効果の不偏推定法の実用化

種苗放流事業をレビューする過程で、海産魚貝類の放流効果のモニタリング例は世界でも多くないことが分かった。また、推定精度を評価した例はさらに限られていた。そこで、放流事業の有効性の評価を改善することを目的として、これまでに開発したクラスターサンプリングと 2 段サンプリングの場合について、放流効果の推定法を整理した。前者では比推定法を (北田 2020)。後者では不偏推定による総数推定法を整理し、R プログラムを公開した (Kitada and Kishino 2022)。例として、放流ヒラメの水揚げ量、水揚げ全体に対する放流種の寄与、及び再捕獲率を推定した。水揚げの予測標準誤差の等高線及び最適な調査日数が推定された。本手法は、あらゆる種・ケースに適用できる。

### (5) 日本の大量放流事例の結果

#### (5)-1 マダイ

世界の中でも代表的な長期大量放流事例である鹿児島湾のマダイ放流事業を取り上げ、放流効果と野生集団への遺伝的影響を明らかにした (Kitada *et al.* 2019)。2002 年から 2011 年までに収集した魚体標本 642 個体のマイクロサテライト及びミトコンドリア DNA の遺伝子型を実験で取得するとともに、40 年にわたる漁獲、放流、環境データを解析した。

種苗放流は湾内の野生集団の遺伝的多様性を減少させたが、それは野生集団の個体数の増加とともに回復に転じた。一方、放流種苗の回収率は世代あたり 14% 低下し、1990 年には 84% を記録した湾内での放流魚の割合は 1% に減少した。野生集団の増加は、漁獲努力量の減少と藻場の増加によるものであり、養殖場からの遺伝的影響は種苗放流のそれより小さかった。継代飼育親魚を使用する鹿児島湾のマダイでは、放流開始後 15 年ほどは順調に放流魚の漁獲量が増加したが、その後は種苗の生残率が低下し、放流効果は消失した。本研究により、孵化場による個体数の増加と保全は、漁獲量の削減と自然生息地の回復のための十分な努力がなされない限り、長期的には成功しないことを示す重要な証拠が得られた。

#### (5)-2 サケ

世界最大の放流プログラムであるシロザケ (サケ) を取り上げ、100 年を超えて実施されてきた孵化放流の遺伝的影響の検証を試みた。北太平洋のサケの分布域を網羅するマイクロサテライト 10 遺伝子座 (381 か所、51,355 個体) 及び一塩基多型 (SNP) 54 遺伝子座 (114 か所、10,458 個体) の公開データセットを解析した (Kitada and Kishino 2021)。

サケの集団構造と進化の歴史を推測した。アメリカ及びロシアの標本は緯度傾斜とともに南北に分化しており、日本・韓国の標本はそこから分離していた。TreeMix 解析は、南東アラスカ・ブリティッシュコロンビア・ワシントンの近傍の祖先集団から、アラスカ半島、ロシア、西アラスカ、ユーコンに分布を拡大したと推測した。日本・韓国の集団は進化的に最も新しく、そこからロシア及びアラスカ半島への 2 つの admixture イベント (遺伝的混合) が過去に起きたことが推測された。

SNPs から推測された集団構造をマイクロサテライトの集団構造に回帰することにより、予測された中立集団構造と有意に乖離する SNP 遺伝子座が検出された。上位 5 つの外れ値を示す SNPs は、mtDNA3、U502241 (機能不明)、GnRH373、ras1362、TCP178 であり、これらは SNP アレル頻度の主成分分析でも一致して見出された。これらの外れ値 SNPs のアレル頻度は、日本・韓国の標本が他と明瞭に異なっていた (図 2 左、中)。mtDNA3 のアレル頻度は、アメリカとロシアの標本では 1.0 に近い値ではほぼ固定されているのに対し、日本・韓国の標本では著しく低い。一方、U502241 のアレル頻度は、日本・韓国とワシントンの標本が大きな値を示した。GnRH373、ras1362、TCP178 のアレル頻度の地理的分布は似ており、日本・韓国の標本が他と異なっていた。また、遺伝的多様性 (期待ヘテロ接合度) は SNP によって異なっていた (図 2 右)。データベースと文献から解析した SNPs の機能について整理し、外れ値 SNPs のアレル頻度の変化が日本のサケ孵化場魚の適応度に与える影響を提案した。

本研究で解析した公開 SNP データセットは、サケの系群識別を目的に、地理的変異が大きいサイトのデータを得ることを最優先して、ヒト・チンパンジーのゲノム比較から多型性が高いことがわかっているサイトに絞って得られている。こうした地理的変異が大きいサイトはその地域固有の環境に適応している可能性がある。しかし、その選び方は、世界全体で地点間の違いがあるようなサイトを選んではいないが、日本とその他を分けるようなサイトを恣意的に選ぶような操作はしていない。分析した SNP データセットは、集団と適応の推定を目的に生成されたデータではないため、サケの人口動態史、及び環境適応と人為選択についてより正確に知るために

は、ゲノム内からランダムに取られた多くの SNPs を用いた集団ゲノミクス研究が必要である。

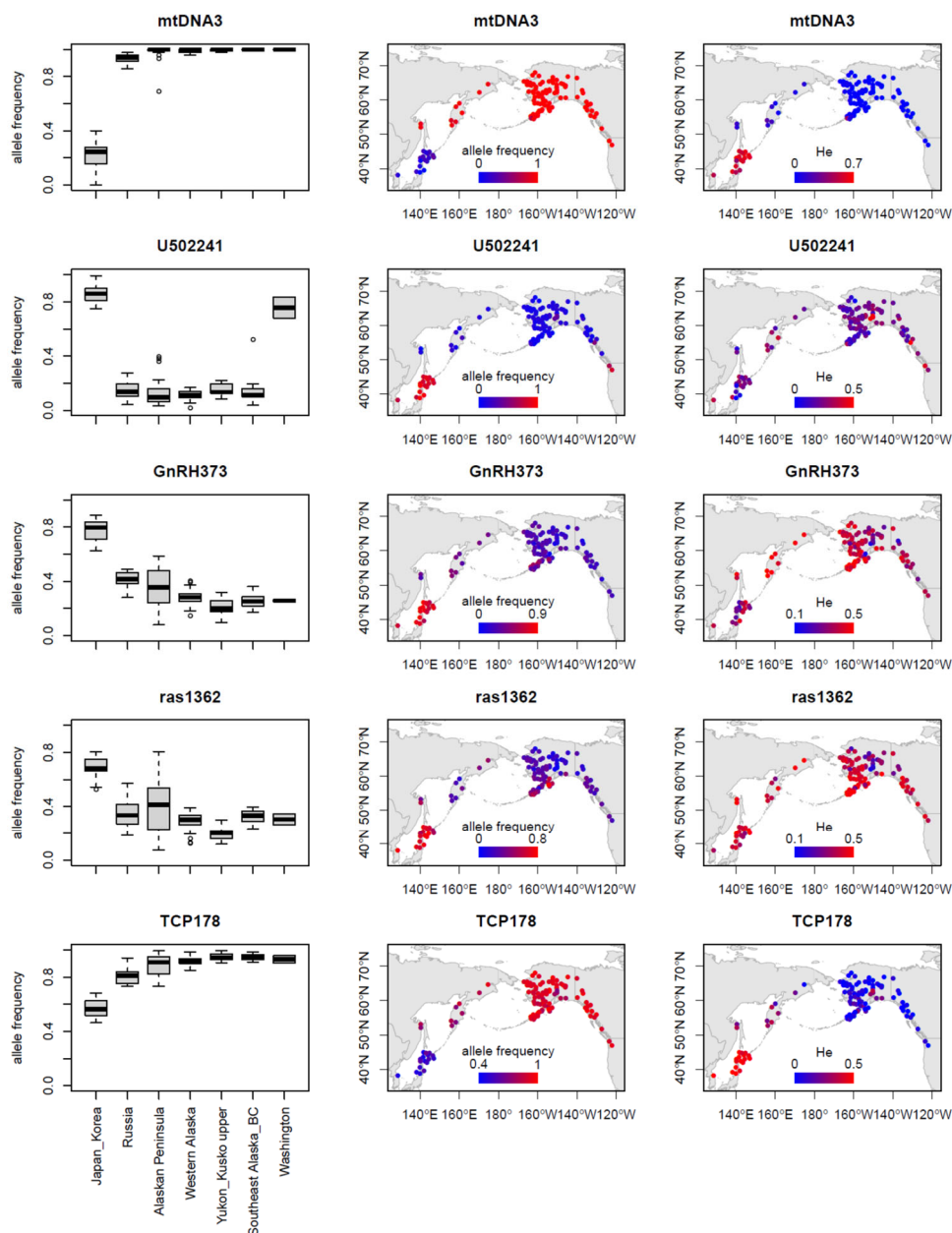


図 2 サケの中立集団構造から有意に乖離した上位 5 SNPs のアレル頻度 (左、中) とヘテロ接合度 (右) の地理的分布 (Kitada and Kishino 2021).

### (5)-3 アユ

日本の河川で最も多くの種苗が放流されてきたアユを取り上げ、琵琶湖産アユの河川への移殖放流の遺伝的影響を推定した (Kitada 2022)。アユは人気の高い遊漁対象種で、毎年 1,300 万匹以上の琵琶湖産の稚魚が日本の河川に 100 世代にわたって移殖されてきた。これまでの研究によって、湖産アユと河川に生息する海産アユは容易に交雑することが報告されており、稚魚期を沿岸で過ごす雑種個体の適応力が低下することが懸念されている。しかし、移殖河川における湖産アユの繁殖成功率に関する情報は限られており、湖産アユの移殖放流が海産アユの集団構造に与える影響は明らかではなかった。

本研究では、アユの生物学的知見と個体群遺伝学的知見について文献検索を行い、その生物学的知見と集団遺伝学的データを整理した。これにより、日本の生息域を網羅する全国 98 河川と琵琶湖に注ぐ 20 河川で収集されたマイクロサテライト 120 遺伝子座遺伝子型 (4,809 個体) の公開データが見つかった。このデータから、集団構造、多様性及び各河川における湖産アユの交雑率を推定した。

サンプリング地点間の遺伝子流動は非常に高く、全国の海産アユの遺伝的多様性は均質であった。ベイズクラスタ分析は、琵琶湖を除く日本の河川における湖産アユの交雑率を  $24 \pm 8\%$  と推定し、混産アユの交雑が全国の河川に広がっていることを示唆した。TreeMix 解析は、琵琶湖から日本海側及び北海道の河川への 2 回の遺伝的混合を検出した。これらの結果に基づき、今後の研究課題と、必要な資源回復方策について議論した。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kitada, S. and Kishino H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Population structure of chum salmon and selection on the markers collected for stock identification	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 13972-13985
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ece3.8102	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kitada, S.	4. 巻 early view
2. 論文標題 Lessons from Japan marine stock enhancement and sea ranching programmes over 100 years	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reviews in Aquaculture	6. 最初と最後の頁 1944-1969
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/raq.12418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 北田修一	4. 巻 86
2. 論文標題 クラスターサンプリングによる 水揚げ量の比推定について	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本水産学会誌	6. 最初と最後の頁 335-337
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2331/suisan.19-00035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kitada, S.	4. 巻 19
2. 論文標題 Economic, ecological and genetic impacts of marine stock enhancement and sea ranching: A systematic review	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Fish and Fisheries	6. 最初と最後の頁 511-532
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/faf.12271	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kitada, S., Nakajima, K., Hamasaki, K., Shishidou, H., Waples, R. S., & Kishino, H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Rigorous monitoring of a large-scale marine stock enhancement program demonstrates the need for comprehensive management of fisheries and nursery habitat	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-39050-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kitada, S., Nakamichi R., Kishino H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Understanding population structure in an evolutionary context: population-specific FST and pairwise FST	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 G3: Genes Genomes Genetics	6. 最初と最後の頁 jkab316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/g3journal/jkab316	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kitada, S. and Kishino H.	4. 巻 250
2. 論文標題 An R script for unbiased estimation of stocking effectiveness using a two-stage sampling strategy based on fishery landings	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Fisheries Research	6. 最初と最後の頁 106266
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fishres.2022.106266	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitada, S.	4. 巻 2
2. 論文標題 Long-term translocation explains population genetic structure of a recreationally fished iconic species in Japan: Combining current knowledge with reanalysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Aquaculture, Fish and Fisheries	6. 最初と最後の頁 134-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/aff2.34	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北田修一
2. 発表標題 日本のサケはなぜ減っているのか？
3. 学会等名 サケ学研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北田修一
2. 発表標題 100年にわたる日本の種苗放流の教訓
3. 学会等名 日本水産学会2021年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北田修一、中道礼一郎、岸野洋久
2. 発表標題 集団固有FST と集団対FST：歴史と環境圧
3. 学会等名 日本水産学会2021年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中道礼一郎、北田修一、岸野洋久
2. 発表標題 集団の歴史と分化、環境適応の推測
3. 学会等名 日本水産学会2021年度春季大会
4. 発表年 2021年



〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	濱崎 活幸  (Katsuyuki Hamasaki)  (90377078)	東京海洋大学・学術研究院・教授    (12614)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------