

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440190

研究課題名(和文) 漁業活動による生活史形質と行動形質の進化：その遺伝的基盤の解明へ向けて

研究課題名(英文) The evolution of life-history and behavioral traits induced by fishing activities:
toward a better understanding of its genetic background

研究代表者

松村 秀一 (Matsumura, Shuichi)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：30273535

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：漁業を模した選抜試験をおこなったゼブラフィッシュ集団では、ゲノム全体に配置した371のSNPマーカーのうち8つにおいて、選抜系統間で有意差が生じていた。これらのマーカーは、セロトニン合成、イオン輸送、転写調節などに関与する遺伝子付近に位置していた。さらに、シミュレーションにより、選抜試験により生じた生活史の変化が高い「漁獲圧」に適応していることが示された。また、釣られ易さに違いのあるオオクチバス集団を対象に候補遺伝子に関して多型解析をおこなったところ、2遺伝子に集団間で有意な違いが検出された。また、RADシーケンシングの結果、集団間で違いがあるゲノム領域の候補がいくつか発見された。

研究成果の概要(英文)：The life histories and behavior of zebrafish have been altered after five generations of size-selective harvesting. In eight among 371 SNPs markers, significant differences in allele frequencies between the selection lines were detected. These SNPs occurred in or close to a gene or in a regulatory region of a gene that has a known function, such as serotonin synthesis, ion transport, and regulation of transcription. Numerical simulations showed that the evolved life histories are adaptive to high fishing pressures. Sequence analysis of two candidate genes in two largemouth populations which are known to differ in vulnerability to fishing showed that significant divergence has occurred between the two populations. A RAD sequencing analysis suggested several genomic regions which might differ between the two populations.

研究分野：進化生物学

キーワード：進化 ゲノム 漁業 生活史 攻撃性 代謝

1. 研究開始当初の背景

近年、集中的・選択的な漁業活動によって生じる魚の進化が、魚個体群における潜在的に重大な問題として、理論的にも実際的にも注目を集め始めている。例えば、個体群中で大型の魚を選択的に漁獲し続けるならば、遺伝的な変異のうちで小型のものが生き残りやすいので、世代を経るうちに個体群の平均サイズは小型化する。さらに、理論研究によれば、成熟年齢の低下、卵への投資量の増加なども起こることが予想される。

実際に、集中的な漁業活動を受けている魚個体群において、生活史の急速な進化が起きているという報告が続いていた。こうした生活史の変化は、小型化による産卵数の減少や、若齢での成熟による死亡率の上昇などを通じて、個体群の動態に深刻な影響をもたらす。例えば、北西大西洋のタイセイヨウダラの個体群が激減し、漁業活動を停止してもいっこうに回復しないのは、生活史の進化が起こったからだとも言われていた。

また、生活史形質と同様に進行する可能性があるので、行動形質の進化である。漁業活動の形態によっては、例えば臆病で釣られにくい個体ばかりになるという、行動面での進化が起こりうる。しかし、このような影響の方がより深刻である可能性もあるが、理論研究と実証研究ともに遅れていた。

その一方、進化は長い時間をかけてゆっくり進行するという考え方が広まっているせいか、急速な進化が実際に進行していることについて疑念を抱く人は多かった。野生の個体群では、種々の環境要因が影響しており、形質の変化が遺伝的なものであることを証明するのは難しい。これに対して、環境条件を統制した下で漁業を模した選択実験をおこなうことにより、生活史形質が比較的短時間で変化することが示された例は存在した。しかし、これらの実験でも、遺伝子頻度の変化が具体的に示されたり、関連遺伝子が特定されたりした例は無かった。

2. 研究の目的

本研究では、いくつかの魚種を対象に、生活史形質や行動形質の進化に関連するゲノム領域の特定と、そうした進化がもたらす影響を明らかにすることを目的とした。計画開始当初の目的としては、以下の2つを掲げた。

(1) ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) における生活史形質の進化に関連するゲノム領域を特定し、表現型変異を生みだした遺伝子の候補を見つける。

(2) コイ (*Cyprinus carpio*) における行動形質の違いに関連する遺伝子とその多型を特定する。

さらに、研究の進行にともない、コイを対象とした研究の遂行が困難になったため、以下の目的を追加した。

(3) オオクチバス (*Micropterus salmoides*) の釣られ易さに関連する遺伝子とその多型を特定する。

3. 研究の方法

(1) ゼブラフィッシュについては、漁業活動を模したサイズ依存的選択を数世代にわたって受けた3集団を対象に、ゲノムワイドの SNP (一塩基多型) 解析をおこない、生活史形質の進化に関連する遺伝子を発見する。

(2) オオクチバスについては、長い年月にわたって異なる選択圧を受けてきた2系統のゲノムを比較することにより、行動形質特に釣られ易さの進化に関連するゲノム領域を特定する。オオクチバスのゲノムはまだ解読されていないため、具体的には、RAD シークエンス解析をおこなう。また、神経伝達物質やその受容体遺伝子、代謝に関わる遺伝子の多型解析をおこない、釣られ易さの違いに関連する遺伝的多型を見つける。

なお、当初はコイについて候補遺伝子の多型解析および行動実験 (釣り実験) を実施することを予定していた。しかし、行動実験をおこなうことを計画していた施設が閉鎖されたため、やむを得ず、本研究の対象から除いた。

4. 研究成果

(1) 野生由来のゼブラフィッシュ世代を基に F1 世代から F6 世代まで漁業を模した選抜試験をおこない、その後、F10 世代まで観察を継続した集団を対象とした。選抜試験は、小型魚選抜 (大型魚を捕獲・淘汰)、ランダム選抜、大型魚選抜の3タイプの選抜を各2系統ずつおこなった。全体の25%をそれぞれ選抜して次世代の繁殖に用いた。以下の図では、小型魚選抜、ランダム選抜、大型魚選抜をそれぞれ赤色、灰色、青色で表した。

選抜の結果、それぞれの系統の生活史形質は変化した。例えば、小型魚選抜 (図の赤色) の系統では、成熟年齢が早く、生態魚のサイズが小さくなった (図1)。

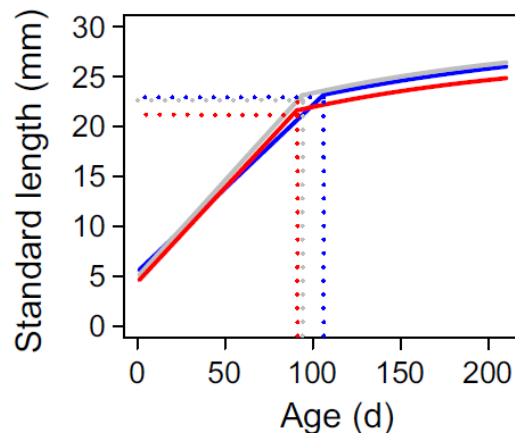


図1. 各系統の成長曲線

小型魚選抜の系統は、生活史形質に生じた進化の結果、強い漁獲圧に適応していると考えられた。そこで、実際の漁業を模した選抜をかけるシミュレーションをおこなったところ、高い漁獲圧下での個体群密度の低下は小型魚選抜（図の赤色）の系統でもっとも小さかったが、漁獲停止後に回復した密度は3系統の中で最も低かった（図2）。

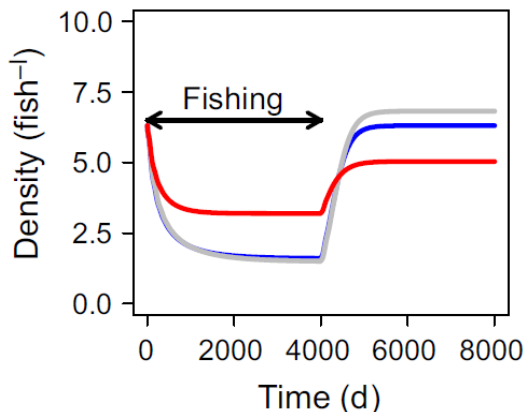


図2. 漁業を模した高死亡率下での密度低下および漁獲圧停止後の回復。各系統の生活史形質に基づいたシミュレーション結果。

ゲノム全体に配置した371のSNPマーカーのうち8つにおいて、選抜系統間で有意な違いが生じていた。これらのマーカーは、セロトニン合成、イオン輸送、転写調節などに関与する遺伝子の中もしくはその近傍に位置していた。

図3a,bは、そのうちの例を示す。マーカーrs40907508では、大型魚選抜と小型魚選抜との間でアリル頻度に有意差が見られた（図3a）。このマーカーは、*LysM* 遺伝子の非翻訳領域に位置する。

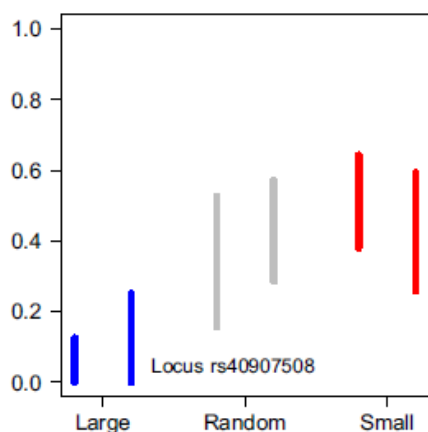


図3a. 系統間で有意差が見られた例その1。

マーカーrs40688310では、大型魚選抜+ランダム選抜と小型魚選抜との間でアリル頻度に有意差が見られた（図3b）。このマーカーは、*Tryptophan hydroxylase 2* 遺伝子の非翻訳領域に位置する。

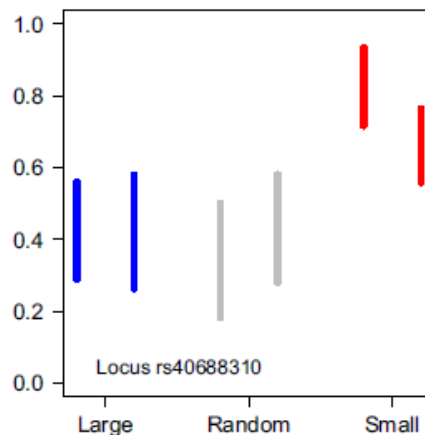


図3b. 系統間で有意差が見られた例その2。

(2) Philippら(2009)により釣られ易さに違いのあることが示されているオオクチバスの2集団合計59個体からDNAを抽出し、候補遺伝子について多型解析をおこなった。候補遺伝子としては、ヒトを含む様々な種において新奇性追求や攻撃性などに関連していることが報告されている *Drd4* 遺伝子と、オオクチバスにおいて成長形質に関連していることが報告されている *Igf2* 遺伝子に注目した。

Drd4 遺伝子については、ゲノム情報が利用可能なスズキ目数種の塩基配列に基づいてプライマーを設計し、PCR増幅した。その結果、エクソン3とエクソン4の大部分の領域について全59個体の塩基配列を、また、エクソン1の一部領域について52個体の塩基配列を、それぞれ決定することができた。エクソン3と4ではそれぞれ1カ所と2カ所のSNPが見つかり、アリル頻度に集団間で有意差がみられた（表1）。一方、エクソン1には多型が見つからなかった。

| exon3 A100G | | | | |
|-------------|----|----|----------|---------|
| | A | G | χ^2 | P |
| HV | 56 | 12 | 7.986 | 0.00471 |
| LV | 50 | 0 | | |

| exon4 A209C | | |
|-------------|----|---|
| | A | C |
| HV | 59 | 9 |
| LV | 50 | 0 |

| exon4 A27G | | |
|------------|----|---|
| | A | G |
| HV | 59 | 9 |
| LV | 50 | 0 |

表1. *Drd4* 遺伝子に見つかった多型座位における集団間でのアリル頻度の違い。P値はカイ二乗検定もしくはフィッシャーの正確確率検定に基づく。

Igf2 遺伝子に関しては、多型が報告されて

いる4カ所の塩基を決定した。そのうち2カ所で多型が見られ、集団間で有意差がみられた(表2)。全部で4つのハプロタイプが見つかり、その頻度には集団間で有意差がみられた(表3)。

| T1012G | | | | |
|--------|----|----|----------|---------|
| | T | G | χ^2 | P |
| HV | 0 | 68 | 44.6 | <0.0001 |
| LV | 27 | 23 | | |

| C1836T | | | | |
|--------|----|----|----------|---------|
| | C | T | χ^2 | P |
| HV | 40 | 28 | 12.4 | 0.00042 |
| LV | 45 | 5 | | |

表2. *Igf2* 遺伝子に見つかった多型座位における集団間でのアリル頻度の違い。P値はカイ二乗検定に基づく。

| | HV | LV | P |
|---------|----|----|-----------|
| ハプロタイプ1 | 40 | 23 | 0.0005395 |
| ハプロタイプ2 | 28 | 5 | |
| ハプロタイプ3 | 0 | 23 | |
| ハプロタイプ4 | 0 | 1 | |

表3. *Igf2* 遺伝子におけるハプロタイプ。P値はフィッシャーの正確確率検定に基づく。

さらに、釣られ易さに関連する遺伝子をゲノム全体から広く探索することを目的として、RADシーケンシング解析に取り組んだ。SNPマーカーを作成し、ナイルティラピア(*Oreochromis niloticus*)の連鎖地図を参考にしてマッピングした結果、集団間で違いがある可能性のあるゲノム領域がいくつか発見された。今後、オオクチバスのゲノム情報が整備されるにともない、釣られ易さに関連する候補遺伝子のリスト化へと進むことができると考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

Uusi-Heikkilä S, Whiteley AR, Kuparinen A, Matsumura S, Venturelli PA, Wolter C, Slate J, Primmer CR, Meinelt T, Killen SS, Bierbach D, Polverino G, Ludwig A, Arlinghaus R (2015) The evolutionary legacy of size-selective harvesting extends from genes to populations. *Evolutionary Applications* 8:597-620. 査読有
DOI: 10.1111/eva.12268

Laugen AT, Engelhard G, Whitlock R, Arlinghaus R, Dankel D, Dunlop E, Eikeset AM, Enberg K, Jørgensen C, Matsumura S, Nusslé S, Urbach D, Baulier L, Boukal D, Ernande B, Johnston F, Mollet F, Pardoe H, Therkildsen N, Uusi-Heikkilä S, Vainikka A, Heino M, Rijnsdorp A, Dieckmann U (2014)

Evolutionary impact assessment: Accounting for evolutionary consequences of fishing in an ecosystem approach to fisheries management. *Fish and Fisheries* 15:65-96. 査読有
DOI: 10.1111/faf.12007

Heino M, Baulier L, Boukal DS, Ernande B, Johnston FD, Mollet F, Pardoe H, Therkildsen NO, Uusi-Heikkilä S, Vainikka A, Arlinghaus R, Dankel D, Dunlop E, Eikeset AM, Enberg K, Engelhard GH, Jørgensen C, Laugen A. T, Matsumura S, Nusslé S, Urbach D, Whitlock R, Rijnsdorp AD, Dieckmann U (2013) Can fisheries-induced evolution shift reference points for fisheries management? *ICES Journal of Marine Science* 70:707-721. 査読有
DOI: 10.1093/icesjms/fst077

[学会発表](計3件)

宮野谷杏, Robert Arlinghaus, David P. Philipp, Cory D. Suski, 松村秀一: オオクチバスにおける釣られやすさに関連する遺伝子の探索. 第16回日本動物遺伝育種学会, 2015年11月7-8日, 神戸大学(兵庫県・神戸市)

Mikko Heino, Bruno Ernande, Shuichi Matsumura, Adriaan Rijnsdorp, Ulf Dieckmann, and the WGEVO participants: How strong is fisheries-induced selection? A general framework for estimating fisheries-induced selection differentials. *ICES Annual Science Conference 2014*, 15-17 September 2014, A Coruña, Spain

松村秀一: Studies on genomic diversity at Gifu University. Kyoto University and Bogor Agricultural University International Symposium "Diversity and Conservation of Asian Primates", 18-21 August 2014, Bogor, Indonesia.

[その他]

ホームページ等

<http://www1.gifu-u.ac.jp/~genetics/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

松村 秀一 (MATSUMURA, Shuichi)
岐阜大学・応用生物科学部・教授
研究者番号: 30273535

(2)研究分担者

無し

(3)連携研究者

無し