



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	DNA親子鑑定法を用いた種苗放流魚の自然繁殖力に関する保全遺伝学的考察
Author(s)	荒木, 仁志
Citation	水産育種, 39(1), 31-35
Issue Date	2009-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65080
Type	journal article
File Information	Araki2009SuisanIkusyuReview.pdf



Invited speaker

DNA 親子鑑定法を用いた種苗放流魚の自然繁殖力に関する 保全遺伝学的考察

荒木仁志 (Eawag、スイス連邦水圏科学技術研究所・魚類生態進化学科)

A Review Essay of a Genetic Evaluation Program on the Natural Reproductive Success of Hatchery-born Fish using DNA-based Parentage Assignments

Hitoshi ARAKI

Eawag, Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, Department of Fish Ecology and Evolution

Abstract

In June 2009, I gave a talk about our recent studies on the Hood River steelhead trout at the ISGA X (the 10th International Symposium on Genetics in Aquaculture) in Bangkok, Thailand. In this project, I and group members of Blouin lab in Oregon State University conducted genetic evaluations of reproductive success in hatchery-born fish in the wild. This article is a review summary of my presentation. We used a DNA-based parentage assignment method, in which 8 highly polymorphic microsatellite makers were genotyped in order to reconstruct the pedigree of entire populations and estimate individual reproductive success (number of adult offspring returned to the river). We found (1) number of generations in which hatchery fish spent in captivity has a strong negative impact on their natural reproductive success, and that (2) there is a carry-over effect of captive breeding that reduces the reproductive success of *wild-born* fish, which had captive-reared parents spawned in the wild. These findings strongly suggest a possible negative effect of hatchery stocking on the conservation of the wild population. In addition, I demonstrate that modern molecular tools and methods can provide much more insights into fish genetics and breeding science than ever obtained or expected.

はじめに

2009年6月、タイのバンコクで開かれた第十回 ISGA (International Symposium on Genetics in Aquaculture) には数多くの日本人研究者が参加し、世界の研究者と交流を深める又とない機会となった。著者もその一人だが、自身は日本での魚類研究経験が無く、またこれまでの研究分野も水産育種からは隔たりのあったため、むしろ今回日本の研究水準の高さに

驚かされる側であった。著者の近年の魚類研究についてもこれまで日本で発表する機会は限られており、この機会に短編レビューエッセイという形で紹介させていただこうと思う。

まずは簡単な自己紹介から始めさせていただきたい。私は1995年に九州大学生物学科を卒業し、2001年に同大学大学院・山崎常行教授(当時)の下、分子集

連絡先: Hitoshi Araki, Eawag, Seestrasse 79, 6047 Kastanienbaum, Switzerland.

Tel: +41-(0)41-349-2130, Fax: +41-(0)41-349-2168, Email: hitoshi.araki@eawag.ch

団遺伝学を専攻して博士号を取得した。元々魚釣りを通じて生物学に関心を持ったのだが、この頃は「生物進化の実証」に夢中でショウジョウバエを使った遺伝子レベルの研究などを行っていた。その後ポスドクとして3年ほどを過ごしたシカゴ大学ではモデル植物、シロイヌナズナとその天然病原体の分子レベルでの共進化研究に携わり、いよいよ魚類研究から離れてしまった。それはそれで充実しており大変勉強にもなったのだが、所詮は人から与えられたテーマである。徐々に自分のテーマを模索するようになった。そこで原点に帰る意味も込めて一念発起、それまでの経験を活かしつつ魚類研究、殊に保全遺伝学研究ができるプロジェクトに携わるため2004年にオレゴン州立大学に移籍した。

種苗放流魚の次世代貢献度推定

当時同大学動物学科の Blouin 研究室ではオレゴン州フッドリバー（図1参照）を遡上するスチールヘッド

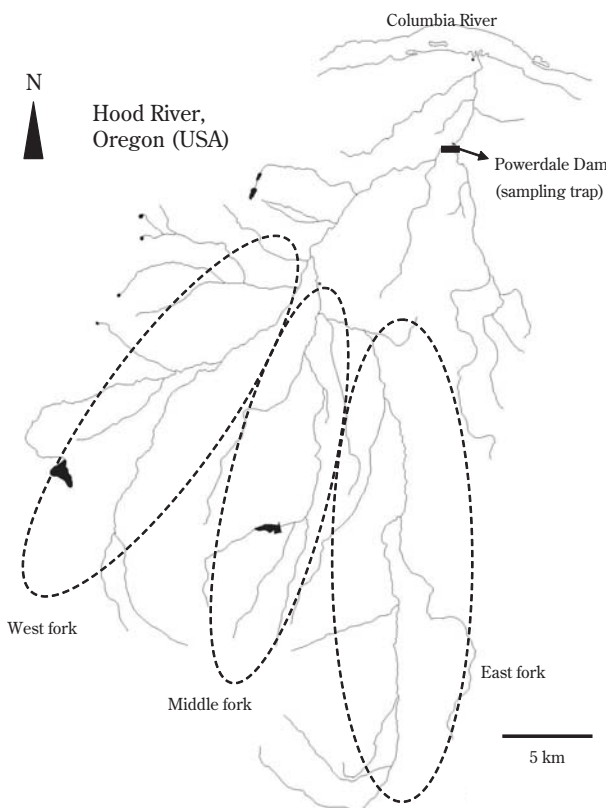


図1 オレゴン州・フッドリバー見取り図。フッドリバーはアメリカ・オレゴン州とワシントン州を隔てる大河、コロンビアリバーの支流。フッドリバー内には大きく分けて三つの支流があり、西側の支流（West fork）にはSummer-run スチールヘッドが、東側と中央の支流（East & Middle fork）には Winter-run スチールヘッドがそれぞれ遡上する。地図は ODFW のエリック・オルセン氏提供。

ド（*Oncorhynchus mykiss*）の鱗サンプルが蓄積していた。スチールヘッドはいわゆるニジマスの降海型で、太平洋サケ5種の近縁にあたる（図2）。フッドリバー・スチールヘッドの鱗サンプルは元々オレゴン州野生生物局（ODFW）が年齢構成を調査するために採取していたものだが、そこから DNA を抽出することが可能だった。そのサンプル数は膨大で、保全目的の種苗放流を始めた1991年から現在に至る全個体、1万7千個体以上のサンプルが揃うというから驚きである。実はこれは川の入り口に発電ダムがあるため、このダムには魚道も無いので産卵のため遡上するスチールヘッドは自力では産卵床までたどり着けない。そこで ODFW が自動リフト付きのトラップを仕掛け、調査も兼ねて魚の遡上を助けているのだ。この15年以上に及ぶ日々のサンプリングの結果、上記の貴重な DNA サンプルセットに至ったことになる。真に ODFW のスタッフには頭の下がる思いである。

ところでスチールヘッドを含むサケ科魚類では非常に多型的で情報量の多い DNA マーカー、マイクロサテライトが多く開発されている。上記の約三世代分の DNA サンプル（フッドリバー・スチールヘッドの一世代は約4、5年）と複数のマイクロサテライトマーカーを組み合わせれば、非常に精密な DNA 親子鑑定が可能となる。技術的に言えば、人間で DNA 鑑定や親子鑑定をするのとなんら変わらない。我々はこの技術を利用して一個体当たりの次世代貢献度、Adult-to-adult reproductive success を推定することに成功した。用いたマイクロサテライトの数は8つである。これを集団レベルで行うので大変な作業ではあるが、当時その研究規模といい得られる情報量といい他の同様な研究と比べて群を抜いていた。



図2 フッドリバー・スチールヘッド。パワーデール・ダムトラップにて。2005年4月、荒木撮影

そこでまず最初に注目したのが、種苗放流魚の次世代貢献度である。この川では遡上時期によって winter-run と summer-run の二集団のスチールヘッドが存在し、また歴史的に他の川由来で孵化場系代を繰り返した「traditional」型種苗放流魚 (winter-run → 1991まで、summer-run → 1997まで遡上) とフッドリバー由来で基本的に天然魚を種苗とする保全型、あるいは「supplementation」型と呼ばれる種苗放流魚が存在する (winter-run → 1995から、summer-run → 2001から遡上)。これらの魚と一世代後に戻ってくる子孫たちの親子鑑定をすることで、異なる種類の種苗放流魚間に次世代貢献度の差があるか調べた^{1), 2)}。その結果の要約を図3に示す。ここでは年毎の変化によるバイアスを除くため、同じ年に遡上した天然魚を基準に相対繁殖成功度 (Relative Reproductive Success, RRS) として表す。保全型種苗放流魚の方も、実際には二世代目の種苗を作る際、一部遡上した一世代目を種苗の片親として用いた (もう片親は天然魚)、本当の一世代目とは区別して二世代目として別記する。結果は図を見てのとおり、繁殖成功度は天然魚 (RRS = 1) が一番高く、次いで保全型種苗放流魚、「traditional」型種苗放流魚の順となっている。特筆すべきは保全型種苗放流魚内の差で、二世代目 (片親が種苗放流魚) の次世代貢献度が一世代目より明らかに劣る結果となった点である (一世代目平均の RRS = 0.848、二世代目平均 RRS = 0.379)。これは種苗放流魚が系代を繰り返すごとに急速に自然界での繁殖成功度

を下げてしまうことを示唆しており、その減少率は世代当たり40%近くになることが示された²⁾。

天然魚に見られる種苗放流祖先の残留効果

次に我々が注目したのが天然魚間の相対繁殖成功度である。フッドリバー・スチールヘッドでは上記の方法で親子鑑定が可能な魚が三世代に及ぶため、一世代目は (保全型) 種苗放流魚、次世代と次次世代は天然魚、という組み合わせになるパターンが得られることがある (図4)。我々が問題にしたのはこの天然二世代目の次世代貢献度である。もし種苗放流魚の繁殖成功度減少が遺伝的なものであるとすると、その劣性な形質が次世代に伝わる可能性は高い。だが、二世代目が天然魚の場合 (種苗放流魚が少ないながらも自然界に残した子孫の場合)、彼ら自身は川で生まれ自然界でその一生を全うするので、自然選択によって種苗放流の影響は除かれてしまうかもしれない。しかしながら、我々が近年行った研究では必ずしもそうではない、ということが示された³⁾。天然魚でも、その両親が種苗放流魚だった場合、両親が天然魚だった場合と比べ相対繁殖成功度が有意に低かったのである (37%、図4)。この結果は天然魚の性別に関わりがなく、また「片親が種苗放流魚・もう片親が天然魚」だった場合は両者の中間的繁殖成功度となった (図4、5)。これは単に種苗放流の遺伝的影響を確認するのみならず、その影響が天然魚である子孫に残留し、種苗放流事業終了後でも天然魚集団に負の後遺症を残し得る

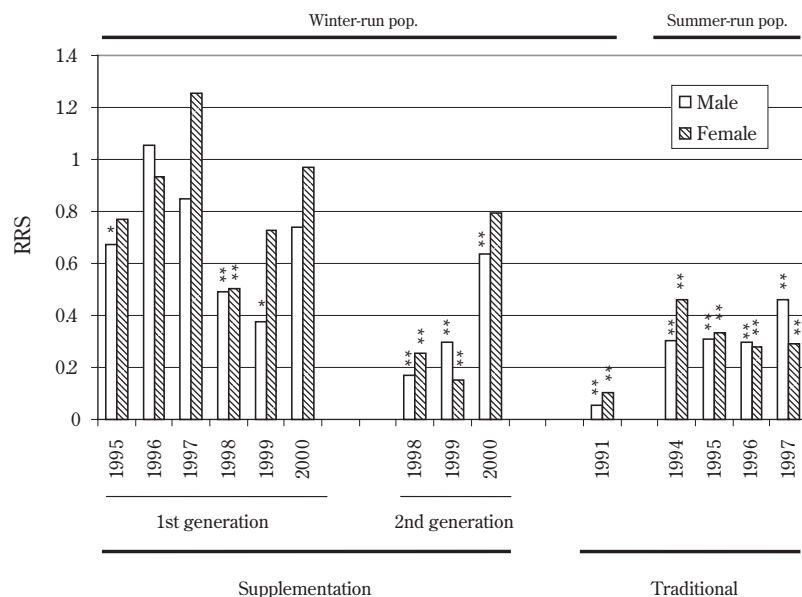


図3 フッドリバー・スチールヘッドの相対繁殖成功度 (RRS)^{1), 2), 7)}。RRS = 1 は天然魚と同一レベルの繁殖成功度を意味する。Winter-run population では一世代目の保全型種苗放流魚の平均相対繁殖成功度は0.848、二世代目は 0.379 であった。「traditional」型種苗放流魚の RRS は0.079) Summer run population では保全型種苗放流が遅かったためデータがまだ得られていないが、「traditional」型種苗放流魚の RRS は0.334であった(上記全てのケースについて RRS = 1 からの乖離は統計的に1%レベルで有意)。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

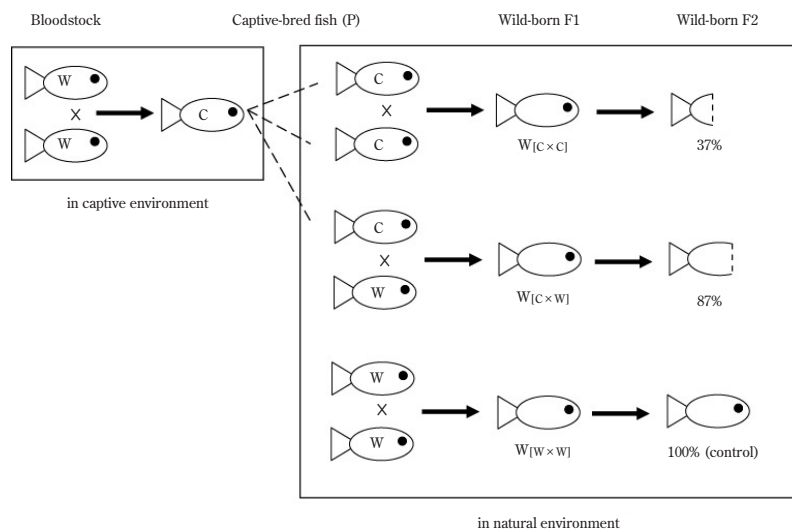


図4 親の由来に伴う天然魚 (F1) の分類とその繁殖成功度への影響。ここでは両親とも天然育ちの F1(W[W×W])を基準として親が種苗放流魚の場合 (W[C×C]: 両親とも種苗放流魚、W[C×W]: 片親が種苗放流魚、もう片親が天然育ち) の繁殖成功度を測る。繁殖成功度は成魚となってフッドリバーに戻ってきた子孫の数を基に測られ、W[W×W]との相対繁殖成功度 (RRS) として比べられる。その結果、W[C×C] は平均W[W×W] の37%しか子孫を残しておらず (1%レベルで有意)、W[C×W] は RRSが87%と両者の中間的な値であった (有意差無し)。これら F1 は皆その一生を完全に自然界で過ごすため、これらの差は種苗放流の残留効果 (Carry-over effect) と考えられる³⁾。

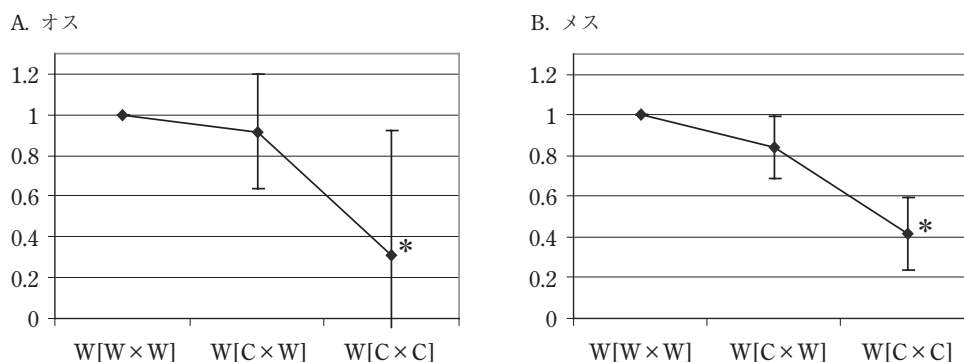


図5 性別ごとの天然魚 (F1) の相対繁殖成功度 (RRS)。データは1998–2000に遡上した天然魚を基に示し、エラーバーは1標準偏差を表す³⁾。W[W×W]: 両親ともが天然育ちの天然魚、W[C×C]: 両親ともが種苗放流魚の天然魚、W[C×W]: 片親が種苗放流魚、もう片親が天然育ちの天然魚 (図4参照)。

ことを示した初めての研究結果である。実際、フッドリバーでは本研究の調査対象となった3年間 (1998–2000) で種苗放流による遺伝的劣化が天然魚の再生産能力を8%押し下げた、と試算された³⁾。

集団遺伝学的手法の効用と今後の展望

我々のグループでは更に、DNA親子鑑定に基づく遺伝的に有効な集団サイズ (effective population size) の推定、種苗放流が天然魚集団に与える遺伝的影響の一般性や量的遺伝形質変化速度に関する理論的考察、更には種苗放流の個体群動態に与える長期的影響の予測を行い^{4)–8)}、謎の多い孵化場での急速な遺伝的変化の真相に理論、実証の両面から迫ろうと試み

ている。

Eawag、スイス連邦水圏科学技術研究所にグループリーダーとして移った現在では、フッドリバープロジェクトの推進に協力しつつ、ブラウントラウトの種苗放流をテーマとした新たなプロジェクトを立ち上げ、上記の遺伝的変化メカニズム解明に向けて取り組んでいる。スイスでは殊にブラウントラウトの種苗放流とスポーツフィッシングが盛んで、近年行われた推定ではスイスの河川1メートル当たり放流魚の数が1–2匹にもなる、と試算される一方、成魚となって釣り上げられる魚の数は1970年代以降減少の一途をたどっている。本プロジェクトが事態の改善に貢献することへの期待は少なくない。

このように、遺伝学的手法、殊に DNA 親子鑑定法は天然資源保全と水産育種に関する諸問題に切り込む大変有効な手段であることが分かる。マイクロサテライトや SNP といった DNA マーカーは主要な水産栽培種では数多く開発されつつあるし、DNA の多型測定法は日々コストダウンが図られている。これらの手法は水産栽培・育種に適した系統を選択するのに用いられるのみならず、放流魚の自然界での繁殖成功や天然魚への遺伝的影響など、広範な目的に応用可能なのである。多くの水産資源において天然資源の枯渇が叫ばれる昨今、種苗放流の需要と必然性は今後益々大きくなるものと考えられる。水産育種の研究にこれら遺伝的手法を取り入れることのメリットと必要性もそれ

に伴い今後飛躍的に大きくなっていくのではないだろうか。

謝 辞

本レビューの主要な内容であるフッドリバー・スチールヘッドの研究はオレゴン州立大学・ブローイン教授とそのグループメンバー、及びオレゴン州野生生物局との共同研究としてなされたものである。また、今回のレビューは東京海洋大学・岡本信明教授、三重大学・古丸明教授のご厚意により実現したものである。上記の皆様のご助力・ご協力に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Araki, H., W. R. Ardren, E. Olsen, B. Cooper and M. S. Blouin. (2007a) Reproductive success of captive-bred steelhead trout in the wild: Evaluation of three hatchery programs in the Hood River. *Conservation Biology*, 21: 181-190.
- 2) Araki, H., B. Cooper and M. S. Blouin. (2007b) Genetic effects of captive breeding cause a rapid, cumulative fitness decline in the wild. *Science*, 318: 100-103.
- 3) Araki, H., B. Cooper and M. S. Blouin. (2009) Carry-over effect of captive breeding reduces reproductive fitness of wild-born descendants in the wild. *Biology Letters*, (published online) doi: 10.1098/rsbl.2009.0315.
- 4) Araki, H., R. S. Waples, W. R. Ardren, B. Cooper and M. S. Blouin. (2007c) Effective population size of steelhead trout: influence of variance in reproductive success, hatchery programs, and genetic compensation between life-history forms. *Molecular Ecology*, 16: 953-966.
- 5) Araki, H., R. S. Waples and M. S. Blouin. (2007d) A potential bias in the temporal method for estimating N_e in admixed populations under natural selection. *Molecular Ecology*, 16: 2261-2271.
- 6) Araki, H., B. A. Berejikian, M. J. Ford and M. S. Blouin. (2008) Fitness of hatchery-reared salmonids in the wild. *Evolutionary Applications*, 1: 342-355.
- 7) Araki, H. (2008) Hatchery stocking for restoring wild populations: A genetic evaluation of the reproductive success of hatchery fish vs. wild fish. In *Fisheries for Global Welfare and Environment*, Tsukamoto, Kawamura, Takeuchi, Beard and Kaiser Eds., TERRAPUB, Tokyo, Japan.
- 8) Satake, A. and H. Araki. Stocking of captive-bred fish can cause long-term population decline and gene pool replacement: Predictions from a population dynamics model. *In submission*.