

氏 名(本籍)            なか            じま            まさ            みち  
                                 中            嶋            正            道

学位の種類            博            士            (農            学)

学位記番号            農            第            403            号

学位授与年月日            平            成            2            年            11            月            8            日

学位授与の要件            学位規則第5条第2項該当

学位論文題目            サケ科魚類の養殖化と遺伝的変化

論文審査委員(主査)    教 授    藤 尾 芳 久  
                                 教 授    川 崎        健  
                                 教 授    竹 内 昌 昭

# 論文内容要旨

魚介類の養殖が盛んになりつつある現在、水産動物における遺伝育種学的研究の重要性はますます高くなっている。育種を行う上で、種の間、種内の分集団がどの程度分化しているかを知ることは育種素材の把握という点で重要である。また、養殖という人為操作が集団に対して遺伝的にどのような影響を与えるかを知ることは集団の育種管理を行う上で重要である。

アイソザイムは1959年に発見されて以来、集団の解析に有効であることから多くの種において集団の解析に用いられてきた。魚介類においてもその例外ではなく、多くの種の自然集団について種間や種内の分集団間の遺伝的分化に関する研究が成されてきた。しかし、各地で養殖、維持されている集団について、起源としての自然集団をどの様に反映しているか、養殖化といった人為操作が集団にどのような遺伝的影響を与えるか、などに関する研究は行われていない。

北方冷水性魚類であるサケ科魚類は北半球の多くの国で食され、重要な産業対象種であり、日本においても古くから増養殖が行われてきた歴史を持つ。

日本において養殖の対象となっている主な種は、イワナ属のイワナ、ニジマス属のニジマス、サケ属のサクラマス、ヤマメ、アマゴである。これらの中には、イワナのように養殖されるようになってから間もなく、起源の影響を大きく受けている種や、ニジマスのように北米原産の導入種で、古くから養殖され、起源の影響がほとんど無くなっている種、養殖化が進んでいるものの自然集団も存在しているサクラマスのような種がある。これらのことから養殖化における遺伝的变化を知る上でサケ科魚類は適当であると言える。

本研究はサケ科魚類においてアイソザイム遺伝子を指標とし、養殖集団がどのような自然集団を起源としているかを明らかにして行くと共に、人為操作が集団に対してどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。

## 第一章 サケ科魚類の種分化

サケ科魚類は生態的、形態的に類似した種が存在しており自然および人為交雑種が知られている。従って、養殖種、集団の遺伝的变化を調べるには近縁種との遺伝的差異を明らかにする必要がある。ここでは現在養殖されている魚種の、それぞれの属内における近縁種間の保有遺伝子の差異と遺伝的類縁関係を明らかにした。

その結果を図1に示す。イワナ属では各々の種を明確に分ける分岐遺伝子が存在し、個体毎に種を同定できた。また、類縁関係はイワナとオシヨロコマといった日本の在来種間、カワマスとオシヨロコマといった北米からの導入種間で遺伝

的に近かった。各々の魚種間の遺伝的分化レベルは、魚類における種間の値とほぼ同じであった。

ニジマス属ではニジマスと降海型ニジマスであるスチールヘッド間には分岐遺伝子がなく、分化レベルも地方品種レベルであった。これに対し、それらとブラウントラウトとは種レベルの分化程度を示した。

サケ属ではサクラマス、ヤマメ、アマゴを明確に区別する分岐遺伝子は無く、遺伝的分化レベルも地方品種レベルであった。ビワマスはそれらとは亜種レベルの分化をしていた。また、ギンザケ、シロサケはそれぞれ他の種と種レベルの分化程度を示した。

## 第二章 養殖イワナ集団の遺伝的分化

イワナはサケ科魚類の中で養殖化された歴史が最も新しく、起源としての自然集団の影響がまだ残っていると考えられる。そこで、日本における養殖イワナの起源を遺伝的に推定した。

イワナでは餌付や成長が良いことからカワマスとのF1交雑種の生産が成されたことがある。従って、現在養殖されているイワナ集団にカワマスなど他魚種の遺伝子が混入している可能性がある。そこで前章で明らかにしたイワナとイワナ属の他魚種との分岐遺伝子に注目し、他魚種の遺伝子の混入の有無を調べた。その結果、本実験に用いた養殖イワナ集団には他魚種の遺伝子が混入していないことが明らかになった。

養殖イワナ集団は*Mdh-1\*2*遺伝子座の遺伝子頻度の違いから*B*対立遺伝子頻度の高い集団と*E*対立遺伝子頻度の高い集団が存在した。これら二つの集団を異なる二つの起源と仮定し、それぞれの集団がどちらの起源の影響を強く受けているかを雑種係数を用いて調べた(図2)。その結果、*B*対立遺伝子頻度の高いグループ、*E*対立遺伝子頻度の高いグループ、両者の中間のグループの三つのグループに分けられた。*E*対立遺伝子頻度の高いグループはエゾイワナ起源、*B*対立遺伝子頻度の高いグループがニッコウイワナ起源、両者の中間が両者の雑種起源のグループと推定された。

## 第三章 サクラマス群の起源による遺伝的差異

サクラマス群は日本とその周辺にのみ分布するサケ属でサクラマス、ヤマメ、アマゴ、ビワマスがこれに属する。サクラマスの養殖の歴史はイワナよりも古いものの、シロサケと比べると種苗の移殖の影響は少なく、イワナと同様に養殖集団からそれらの起源間の遺伝的差異が推定できると考えられる。ここでは各地で養殖されているサクラマス、ヤマメ、アマゴの類縁関係と遺伝的分化程度を明らかにし、それらの起源間の遺伝的差異を明らかにした。

サクラマス10集団、ヤマメ8集団、アマゴ2集団のアイソザイム分析の結果、サクラマス、ヤマメとアマゴは地方品種レベルの分化程度を示したが、サクラマスとヤマメとの間には遺伝的差異はみられなかった。これは、*Pgm-1*遺伝子座の4対立遺伝子頻度がアマゴで高く、サクラマス、ヤマメで低かったためである。また、遺伝的距離から枝別れ図を作成し類縁関係を見てみると、青森1のヤマメはアマゴと同じグループに属した。青森1はスギノコと呼ばれる大畑川上流に生息するヤマメで、形態的にアマゴに類似するとも言われている。青森1を除いてサクラマスとヤマメの遺伝的距離を比較したところ、ヤマメ内の遺伝的分化程度がサクラマス内よりも大きく、このことはヤマメ集団の方がより強く遺伝的に隔離されていることを示している。これらサクラマス、ヤマメの17養殖集団間の遺伝的距離を起源となる地域毎に分けて比較すると、太平洋側と日本海側との間でそれぞれの地域内よりも大きな差が認められた。これは起源の影響がまだ残っているためと考えられた(表1)。

#### 第四章 サクラマスの自然集団と養殖集団の遺伝的差異

サクラマスの養殖は1965年頃から始められたが、現在でも自然集団と養殖集団の両者が存在しており、それぞれの間での遺伝的差異の比較が可能である。そこでサクラマス21集団を自然集団と養殖集団とに分け、遺伝的変異性と遺伝的分化程度を比較し、人為操作の集団に及ぼす遺伝的影響を調べた。

その結果を表2に示す。遺伝的変異性を表す多型遺伝子座の割合、平均ヘテロ接合体率、1遺伝子座当りの平均対立遺伝子数のいずれにおいても養殖集団の方が自然集団よりも低い値を示し、遺伝的変異性が低い傾向を示した。養殖集団における集団全体の平均ヘテロ接合体率(H<sub>T</sub>)は自然集団と差は見られなかったが、集団毎の平均ヘテロ接合体率の平均(H<sub>S</sub>)は養殖集団の方が低い値を示した。養殖集団では特に変異性の低い集団が存在して養殖集団全体の遺伝的変異性を低下させている。遺伝的分化程度を示すG<sub>st</sub>、遺伝的距離は共に養殖集団の方が自然集団よりも高い値を示し、遺伝的分化程度が高いことを示した。このような遺伝的変異性の低下と遺伝的分化程度の増大は種苗生産時の親魚の抽出誤差から生ずる遺伝的浮動によるものと考えられる。

#### 第五章 養殖ニジマスにおける人為選択による遺伝的变化

ニジマスは北米原産の導入種で日本においてサケ科魚類の中では最も古くから養殖されている種である。長い養殖の歴史の中で種々の形質について選択が行われるなど、異なる人為選択圧を受けた集団が存在している。従って、ニジマスでは人為選択圧の異なる養殖集団間で遺伝的变化が比較できる。ここではニジマス養殖集団を人為選択圧の強い順にドナルドソン系を選択したグループ、在来系を

選択したグループ、在来系のグループ、養殖集団から野生化したグループの四つに分け、遺伝的変異性と遺伝的分化程度を比較し、人為選択圧の養殖集団に及ぼす遺伝的影響を明らかにした。

その結果、遺伝的変異性は多型遺伝子座の割合、平均ヘテロ接合体率、1遺伝子座当りの平均対立遺伝子数のいずれにおいても野生化集団のグループで最も高く、ドナルドソン系を選択したグループで最も低く、人為選択圧が強いほど遺伝的変異性が低下する傾向を示した。野生化集団のグループの遺伝的変異性は北米の自然集団で報告されている値とほぼ同じ値を示した。遺伝的分化程度は野生化集団のグループで最も低く、ドナルドソン系を選択したグループで最も高く、遺伝的変異性の時とは逆に人為選択圧が強いほど遺伝的分化程度が増大する傾向を示した(図3)。このことはサクラマス<sup>3</sup>の自然集団と養殖集団との関係を養殖集団内で更に発展させたものと考えることができる。

## 第六章 総合考察

現在、養殖化が進められている魚種、ヒラメ、マダイ、クロソイなどでは遺伝的変異性の低下が調べられている。この要因に関して体系的な研究は成されていない。サケ科魚類の養殖化と遺伝的变化を体系的にまとめると以下ようになる。養殖化のプロセスは

- ①各地に存在する自然集団を起源とした系統の作出。
- ②異なった起源間の雑種からの新しい系統の作出。
- ③特定の形質を選択することによる系統の作出。

などによって始めは起源集団を反映させているが次第に親魚に対する選択が強まって起源とは異なった集団となって行く過程と考えられる。これに伴い親魚の選択による遺伝子の抽出誤差を原因とした

- ①各々の集団内の遺伝的変異性の低下。
- ②各々の集団間の遺伝的分化程度が増大。

と言った遺伝的变化が生じることが明らかになった。

表1 地域別遺伝的距離の比較

北海道内 (n=10)	0.0022 ± 0.0013
本州内 (n=66)	0.0059 ± 0.0041
本州太平洋側内 (n=37)	0.0052 ± 0.0036
本州日本海側内 (n=3)	0.0040 ± 0.0020
本州太平洋側 - 本州日本海側 (n=27)	0.0070 ± 0.0047
北海道 - 本州間 (n=87)	0.0052 ± 0.0037

表2 サクラマスの自然集団と養殖集団における遺伝的変異性と遺伝的分化程度

	自然集団	養殖集団
集団数	11	10
P *	0.163	0.137
A / L	1.3	1.2
HT	0.064	0.064
HS	0.059	0.049
GST	0.078	0.238
遺伝的距離	0.0060 ± 0.0000	0.0170 ± 0.0020

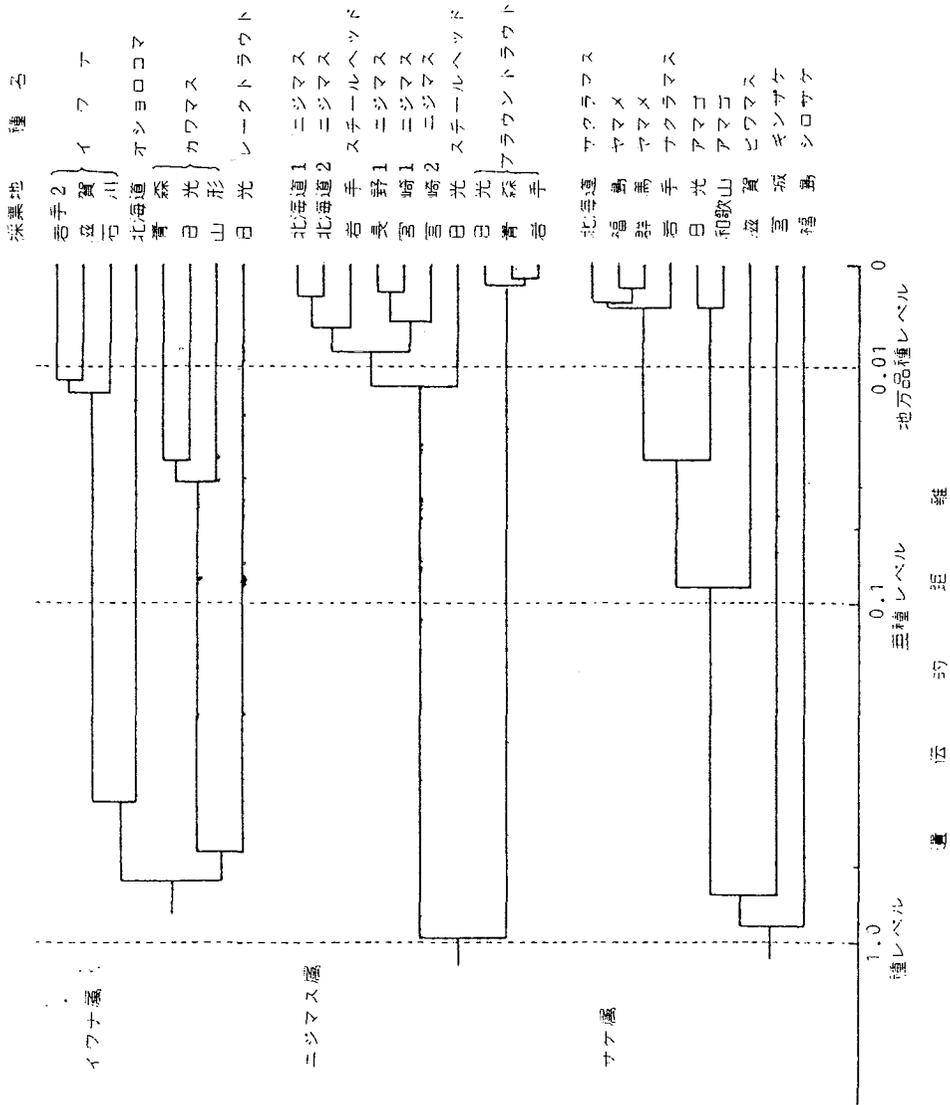


図1 イワテ属、ニジマス属、サケ属のそれぞれの属内における種間の系統関係

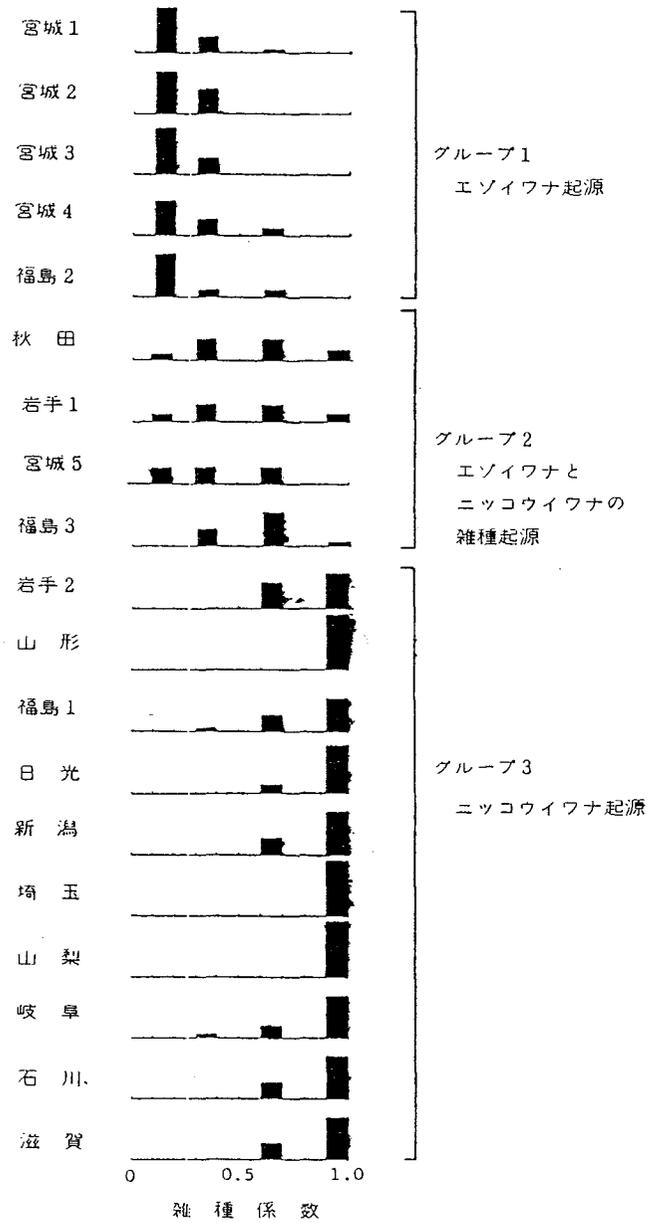


図2 *Mdh-1,2* 遺伝子座を用いて算出した 雑種係数  
によるグループ分け

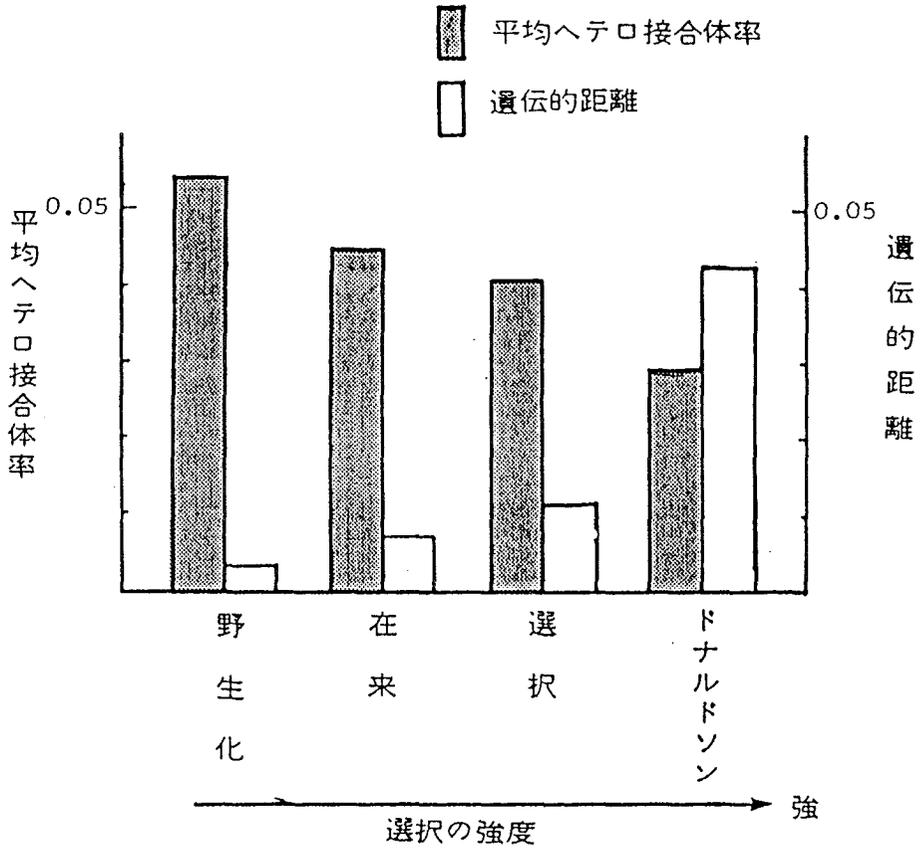


図3 遺伝的分化の程度と変異性の比較

## 審査結果の要旨

近年、淡水魚を中心として魚類の養殖が盛んに行われるようになった。養殖化とは自然集団の一部を取り、人為的に飼育することから始まり、繁殖をコントロールし、最終的には人間に都合の良い形質を持つ個体（品種）を作成するという一連の過程としてとらえられる。従って、この過程は意識的、無意識的人為選択の圧力が増していく過程としてとらえ、それに伴う遺伝的变化が起こると予測される。この様な人為選択の程度と遺伝的变化を養殖対象種で定量的にとらえるには、近縁種で種々の養殖の過程にある魚類を対象にしなければならない。サケ科魚類は北半球において重要な養殖対象種であり、その歴史が長い種から最近養殖されはじめた種もある。

本研究はこの観点に立脚して、日本において、養殖化が始まって間もないイワナ、養殖化が進み一部では選択が行われ始めているが自然集団も存在しているサクラマス、さらに北米原産で養殖の歴史が長く、種々の形質に関して選択を受けているニジマスを対象魚種に選び、養殖集団の起源の推定、人為操作（養殖化の程度）が養殖集団に及ぼす影響をアイソザイム遺伝子組成の変化としてとらえている。

養殖の歴史の浅いイワナの起源が各地で養殖しているにも拘らず、2つの自然集団とそれらの雑種起源であることが明らかにされた。サクラマスの養殖集団は太平洋側と日本海側の起源の影響が残されていることを明らかにしている。

人為選択圧と遺伝的变化を定量的にとらえるために、サクラマスの自然集団と養殖集団、さらにニジマスの養殖集団について選択圧の違いによって分けた4つのグループの遺伝的変異性と遺伝的分化の程度を調べ、養殖化が進むにつれて遺伝的変異性の低下をもたらすとともに、養殖集団間の遺伝的分化の程度が大きくなることを明らかにしている。

本研究はサケ科魚類の養殖化の過程にともなう遺伝的变化を定量的に示し、人為操作の遺伝的組成に与える影響を明らかにした。よって、農学博士の学位に充分価値があるものと判定する。