

氏名	ふじ い てつ お 藤 井 徹 生
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論農博第 2651 号
学位授与の日付	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	遺伝的多様性保全に向けたヒラメ増殖技術の開発に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 田中 克 教授 山下 洋 助教授 益田 玲 爾

### 論 文 内 容 の 要 旨

ヒラメは我が国沿岸に広く分布し、沿岸漁業の重要な対象となっている。また、栽培漁業の代表的な対象種でもあり、現在では全国で年間約2,500万尾の人工種苗(人工的に孵化・育成された稚魚)が放流されている。人工種苗は限られた数の親魚から生産されるため、その遺伝的多様性は天然魚よりも小さいことが予想され、放流された人工種苗が漁獲されずに成熟し、再生産に加わることで天然集団の遺伝的多様性に影響を与えることが懸念されている。本論文では、天然ヒラメの遺伝的多様性を明らかにし人工種苗のそれと比較するとともに、人工種苗の遺伝的多様性を改善する手法を検討した。また、DNAを標識として放流された人工種苗の移動を追跡する技術を開発し、移動の実態や産卵場への加入過程を明らかにした。さらに、DNAマーカーを用いて放流魚の再生産への貢献を検証した。その結果、以下の成果を得た。

ミトコンドリアDNA(mtDNA)調節領域の塩基配列分析の結果、天然ヒラメの遺伝的多様性は非常に高く、脊椎動物のなかでも最高レベルにあることが明らかになった。一方、人工種苗の遺伝的多様性は天然魚にくらべて低いうえにばらつきが大きく、特に継代飼育した親魚から生産された種苗において低かった。親魚の数と種苗の遺伝的多様性の間には有意な相関関係はなく、数多くの親魚を飼育しているだけでは種苗の遺伝的多様性向上にはつながらないことが明らかになった。ヒラメは約2ヶ月におよぶ産卵期間中に複数回の産卵を行うが、各施設では自然産卵された受精卵を集めて種苗生産に用いている。マイクロサテライトDNAマーカーとmtDNA塩基配列分析により親魚と種苗の親子鑑定を行ったところ、種苗の親として貢献している親魚の数は採卵日により異なり、その割合は全親魚の7.6~22.7%と低い値であった。受精卵を分析して母親を特定し、ヒラメの産卵周期を検討したが、明瞭な周期性は認められなかった。産卵を開始する時期は個体により異なり、いったん産卵を開始すると1週間程度連続して産卵する個体もいることから、より多くの母親に由来する受精卵を得るには、採卵間隔をあける必要があることが示唆された。また、多くの受精卵が得られた日には多くの雌魚が産卵していることが明らかになった。以上の結果から、人工種苗の遺伝的多様性を改善するためには、天然魚を親魚とすること、多くの受精卵が得られた日の卵を種苗生産に供すること、および1シーズンに3回以上の採卵を、3日以上の間隔をあけて行うこと、が重要であると結論した。

天然ヒラメ集団のmtDNA調節領域の塩基配列にはほとんど個体ごとに異なる大きな変異があることと放流ヒラメの無眼側には天然ヒラメにない黒化がみられることを利用して、DNA標識を開発した。この手法は、放流前に種苗のmtDNA調節領域の塩基配列を分析してデータベースを作成し、漁獲された放流魚の分析結果をデータベースに照合して、どこで生産・放流されたものであるかを明らかにするものである。各種苗生産機関は独自の親魚を保有しており、日本海中部においては100%の精度で漁獲された放流魚の由来を明らかにできると判断した。mtDNA標識を用いた放流ヒラメの追跡調査により、放流ヒラメの移動は1,2歳の水温低下期に活発になること、移動の方向は主に対馬暖流の上流側に向かってであること、多くの個体ではその移動範囲は数十km以内であること、能登半島が移動の障壁になっていること、が明らかになった。

若狭湾沖にはヒラメの産卵場があることが知られているが、その海域で漁獲された放流ヒラメの由来は、50%が福井産、24%が京都産、9%が石川産であった。この情報に基づいて、若狭湾沿岸の成育場に着底した天然稚魚の中からDNA分析

により放流ヒラメの子供の検出を試みた。その結果、2005年に京都府由良浜に着底した天然ヒラメ稚魚399個体のうち、福井産放流魚を母親とすると判断された稚魚は5個体（1.3%）であった。ヒラメは卵および仔魚期に約1ヶ月の浮遊生活を送るため、産卵場と着底場の関係が不明瞭であり、本研究では放流魚の再生産への貢献を確認することはできたが、その定量的評価には問題を残した。

これらの成果は日本海ブロック各府県の試験研究機関や種苗生産機関に周知され、遺伝的多様性に配慮し生態系と調和したヒラメ放流事業の推進に貢献している。

### 論文審査の結果の要旨

ヒラメはわが国の沿岸漁業の最も重要な対象種の一つであり、また栽培漁業の主要な対象種として、毎年全国各地で2,500万尾前後の稚魚が放流されている。このような状況が続く中、放流されている人工種苗の遺伝的多様性の低下や再生産への関与が大きな課題として浮上してきている。本論文は日本海中部海域を中心に、放流種苗の遺伝的多様性を確保する手法の開発、放流魚の移動、再生産への貢献などをミトコンドリアDNA（mtDNA）ならびにマイクロサテライトDNAを用いて詳しく調査したものである。評価すべき主な点は以下の通りである。

- 1) mtDNA 調節領域の塩基配列とマイクロサテライトDNA マーカーの分析により、天然ヒラメは極めて遺伝的多様性が高い（mtDNA 調節領域の塩基配列はほとんど個体ごとに異なる）のに対し、人工種苗の遺伝的多様性は天然魚に比べて著しく低く、特に継代飼育された親魚から生産された種苗で低いことを明らかにした。
- 2) 親魚の由来、親子鑑定、ヒラメの産卵周期などをDNA マーカーを用いて詳しく調べた結果、人工種苗の遺伝的多様性を改善し、FAO が推奨する規準を満たすためには、①100尾以上の天然魚を親魚とする、②親魚の飼育密度は1尾/m<sup>2</sup>以下とする、③できるだけ多くの自然産卵（受精卵）が得られた日の卵を種苗生産に用いる、④1シーズンに3回以上の採卵を、3日以上の間隔を空けて行う、ことが重要との結論を示した。
- 3) 日本海の各種苗生産施設が遺伝的に独自の親魚群を持つことを確認した後、放流前に種苗のmtDNA を分析してデータベースを作成し、漁獲された放流魚（無眼側に黒化部分あり）のmtDNA 塩基配列をデータベースと照合した結果、日本海中部では100%の精度でその由来（生産施設）を明らかにする手法を開発した。
- 4) mtDNA 標識により、漁獲された2,760個体の放流魚の由来を調査したところ、70%以上が放流された府県で漁獲されていることを明らかにした。また、能登半島を越えて東西に移動する放流魚はほとんどいないことやある程度の距離の移動は1～2歳の水温低下期に活発になることを示した。
- 5) 福井県西部や京都府東部の成育場に加入着底した天然稚魚を採捕し、DNA データベースを基に福井産放流魚の子供を探索したところ、2004年に福井県和田浜で採集した72個体のうち2個体（2.78%）が、2005年に京都府由良浜で採集した399個体のうち5個体（1.25%）が該当することを見出した。放流魚が再生産に関与することを初めて直接に示した例として特筆に値し、今後放流魚の再生産による資源増大の可能性や問題点の評価を可能とした。

以上のように、本論文は、海産魚類を対象とした栽培漁業では、わが国ばかりでなく、世界の先陣を切るヒラメを対象に遺伝的標識を有効に活用して、人工種苗の遺伝的多様性を保持する手法の改善、放流魚の由来や移動、放流魚の再生産への関与など多くの新知見を得たものであり、栽培漁業の実際ならびに水産増殖学や海洋保全生物学の発展に寄与するところ大である。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成19年2月13日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。