遺伝育種が拓く水産の未来 ー グッピーを用いた高温耐性評価法の開発と遺伝様式の推定 ー

中嶋正道

東北大学大学院農学研究科

A role of “Fish genetics and breeding science” for the future in the Fisheries

Masamichi NAKAJIMA

Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University

1. はじめに

魚介類をはじめとする食料資源としての水産生物の生産は自然界からの採集（漁獲）が主となっていたが、近年、養殖による生産の伸びも著しい。FAO 漁獲統計 2006 年度版 (FishStat Plus 2006) から世界的な生産量で見た場合の 1950 年以降の水産物生産量を自然海域からの漁獲（以下漁獲）と養殖による生産（以下養殖）とに分けて比較してみた（図 1）。1950 年における漁獲量は約 1,900 万トンであったのに対し養殖は約 64 万トンと生産量全体の 3.2 % に過ぎなかった。漁獲量は 2005 年までの 55 年間で約 4.9 倍の 9,400 万トンとなってい

るが、ここ 20 年間はほぼ横ばいの状態が続いている。これに対し養殖は 2005 年で約 6,300 万トンと 55 年間で実に 98.6 倍になっている。漁獲量全体に占める養殖の割合も約 40 % となり、割合でみた場合で 1950 年の 10 倍以上になっている。特に 1980 年以降に養殖生産量が著しい伸びを示している。したがって、最近の 20 年間ににおける水産資源における生産量の伸びは養殖による生産の伸びによっている。このような伸びは特定の国や魚種によるところが大きい。近年養殖生産量の伸びが大きな国としては中国、東南アジア諸国、チリ、オーストラリア、ノルウェー、フランス、日本などで

図 1. 1950 年以降の水産物生産量の推移 (FAO 漁獲統計 2006 年度版より)

連絡先：中嶋正道、東北大学大学院農学研究科
〒 981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1
(e-mail: mnkjm@bios.tohoku.ac.jp)

ある。魚種としては中国のコイ科魚類(マゴイ、ハクレン、ソウギョ等)、東南アジア諸国のエビ・カニ類やナマズ類、テラピア、貝類、ヨーロッパ諸国では大西洋サケ、ヨーロッパスズキである。南米やオセアニアでは北米やヨーロッパから移入された大西洋サケやギンザケの生産量が伸びている。

漁獲量の停滞は世界的な漁獲圧の高まりによる水産資源の枯渇化していることによるとされ、Wormら(2006)は、適切な資源管理を行わなかった場合、2048年までに世界の主要水産資源は枯渇してしまうと予測している。これらの予測は、天然資源からの採集に頼った現在の水産資源利用が限界に近づきつつあることを示している。養殖の中には卵や稚仔魚を天然海域で採集する天然採苗や、卵や稚仔魚を天然から採捕された親魚に頼っている場合がある。ウナギの養殖はこの典型的な例で、ニホンウナギの場合、マリアナ海溝付近で生まれた稚魚が黒潮に乗り日本近海へ到達する。変態を繰り返し、シラスウナギとなり河川を遡上するが、その際に捕獲され養殖用種苗とされている。近年このシラスウナギの漁獲量が激減している。原因には諸説あるが、ヨーロッパウナギではこのシラスウナギの漁獲量が1980年代の1～5%に激減している。最近の報道でも話題になったが今年ワシントン条約締約国会議においてヨーロッパウナギの漁獲と取引が規制されることとなった。

天然の水産資源を持続的に利用するためには人為的に再生産をサポートする方法(種苗放流)や養殖による生産を増やし天然の水産資源に対する負荷を低減する方法がある。養殖による生産を行う場合、養殖水域の環境汚染や養殖施設建設による自然破壊等の漁獲の場合とは異なった問題を有している。この場合、如何に自然環境に負荷をかけない施設を作るか、また、効率的に生産できる系統を作出するかがポイントとなる。この系統の作出に育種は重要な役割を果たすことができると考えられ、期待されている。世界規模でみた場合、養殖による生産の伸びは著しいものがあり、より効率的な生産のためにも高成長系統や抗病性系統、環境適応能力に優れた系統当の作出が望まれており、EU諸国では組織的にヨーロッパスズキや大西洋サケの育種計画が進められている。ここではグッピーをモデル実験魚として用いた高温耐性形質の評価と高温耐性系統作出の試みについて述べてゆきたい。

2. 魚介類における育種の現状

魚類ではキンギョやニシキゴイ、ドイツゴイが選

択や交雑により作出されてきたことが知られているが、育種の記録が残されている事例で最も古いのはドナルドソン系ニジマスである。ワシントン大学のDonaldson博士が1942年から1967年にかけての25年にわたり選択を繰り返すことにより、当初より卵数で5倍、体長で1.5倍の系統を作出することに成功した(Donaldson 1968)。この系統は日本にも導入され、現在でも各地で養殖されている。日本で開発された例として近畿大学のマダイの例がある。この選抜育種により開発されたマダイは「近大ブランドマダイ」として日本のマダイ養殖業界に大きく貢献している。この系統は当初商品サイズである1kgに達するのに3～4年かかっていたものを選抜を繰り返すことにより、選抜3代目から4代目(一世代は3年～4年)には2年で同様のサイズに達するようになった。ギンザケではDOMSEA社が開発し商業的に生産されている高成長系のDOMSEA系やSKYKOMISH系などが知られている。これらの系統は成長に関して選択された系統である。魚介類において育種目標となる形質はこのほかに耐病性や環境適応能力(高温や低温に対する抵抗性等)があるが、これらの形質を売り物にした商業品種(系統)はまだ作出されていない。

3. 魚類における高温耐性の遺伝様式

3-1) 高温耐性系統育成の必要性

魚類は変温動物であることから生息水域の水温は成長や成熟、生残に大きく影響する。海面養殖を行う場合、水温変化に合わせた養殖水面の移動を行うことは困難であるため、魚自身により広範囲な温度適応能力(環境適応能力)が備わっていることが求められる。冷水性の魚で高水温が問題となり生残や成長に問題が生じる例として冷水性の魚種であるマツカワだけでなく温水性の魚種であるトラフグやイサキなどでも報告されている。

環境水温が温度耐性に与える影響についてはいくつかの魚種で報告されている。飼育水温の履歴が耐性温度に影響することや環境水温の変動性が影響することなどが報告されている(FeminellaとMatthews 1984; ProcarioneとKing 1996)。また、馴致温度への上昇速度が耐性へ影響を与えることや種間雑種雑種第一代の水温耐性が高いことなどの報告がある(Scott 1964; AllenとStrawn 1971)。サケ科魚類では種間や系統間差が観察されることから高水温に対する耐性には遺伝的要因が関与していることが指摘されている(中嶋ら1986)。

高温耐性の遺伝率はニジマスの選択実験から 0.48 (Ihssen 1986)、グッピーでは分集団間の比較から 0.183 (Fujio ら 1995) と比較的高い値が得られている。

3-2) 高温耐性の評価法

高温耐性系統作出のためには高温に対する抵抗性をどのように評価するか、その評価手法を確立する必要がある。高温耐性の評価方法としては個体そのものを用いる方法と個体から取り出した細胞を用いる方法がある。

個体そのものを用いる方法では個体を一定温度に晒し一定時間後の生残率を指標とする場合と死亡する、あるいは耐えられなくなったと判断される特徴的な行動をとるまでの時間を指標とする場合とがある。24 時間後の生残率を測定する場合、実験を開始した後は 24 時間後に生死判定を行えばよいので簡便な方法といえる。Kanda ら (1991; 1992) はこの方法でグッピーの成魚を用い、系統間比較から高温耐性を調べ、系統間での生残率の系統差を示している。一方、生存時間を測定する方法は全ての個体が死亡するまで実験が継続されるため個々の個体データが取れる反面、結果を出すためには長時間の実験が必要となる。藤沢ら (1998) はこちらの方法を用いている。これら評価法で得られた値を比較すると両者の間には有意な正の相関が観察される (図 2)。また、35℃ 24 時間処理で生き残った個

体の水温 37℃ 中での生存時間を測定すると生存時間が 5 時間以下の個体の割合が低下していることがわかる (図 3)。生存時間 5 時間以下の個体の割合と水温 35℃ における 24 時間後の生残率とには有意な正の相関が観察された (図 4)。このことから水温 35℃ における 24 時間後の生残率と水温 37 度における生存時間は共に同様の形質を反映しているといえる。

細胞を用いる方法としては Sakamoto ら (2004) がフナノ尾鰭由来培養細胞を用いる方法を開発している。この用法は生体から鰭を切り出し培養する手間はかかるが、個体を殺すことなく耐性を調べることができる

図 2. グッピーの各系統における 35℃ 処理における 24 時間後の生残率 (%) と 37℃ 処理における平均死亡時間の関係

図 3. 35℃ 24 時間処理による選択効果

図4. 35℃高温処理時の24時間後の生残率(%)と37℃高温処理において5時間以上の生存時間を示す個体の割合の関係
*危険率5%での有意な相関を示す。

ので判別方法として今後有力な方法となることが期待される。

3-3) 系統差、雌雄差、成長に伴う高温耐性の変化

高温耐性を我々の研究室でクローズドコロニーとして継代飼育されている5系統間で比較した(表1)。系統間で有意な生残率の差異を示す組み合わせがあるほか、同じ系統内において雌雄間で有意な差異が観察された。しかし、雌が強い系統は雄も強い傾向を示していることから、高温耐性に関与する遺伝要因は共通と考えられた。

高温耐性は成長に伴い変化することが報告されている(中嶋ら2001)。誕生直後は高い耐性を示し、成長と共に耐性は低下してくる(図5)。誕生直後(生後0日目)の37℃水温中での平均生存時間が約12時間であったのが成長に伴い低下し、成熟日齢である生後60日目体長である雌の20mm以上、雄の15mm以上ではほぼ安定した値を示すようになる。このときの平均生存時間はそれぞれ5.1時間と4.4時間であった。成魚

を用いれば成長に伴う変化の影響を受けずに高温耐性を測定できることを示している。

3-4) 高温耐性の遺伝様式

高温耐性の遺伝様式を明らかにするために交配実験を行い親子間での耐性の有無を比較した。親魚は産子2週間後に35℃24時間の高温処理を行った。子魚は生後120日目に同様の高温処理を行った。両親の高温処理後の生死とその子魚の生残率を雌雄別に表2に示す。雌親、雄親共に生残(高温耐性)である場合の雌子魚の生残率が0.972であるのに対して雄はやや低く0.667であった。雌親が生残で、雄親が死亡(高温感受性)の場合、雌子魚、雄子魚ともの生残率はやや低下しそれぞれ0.776と0.569であった。これに対して雌親が死亡で雄親が生残の場合、雌子魚、雄子魚共に生残率は大きく低下し、それぞれ0.438と0.118であった。雄子魚における生残率の低下が顕著であった。雌親・雄親共に死亡の場合雌子魚・雄子魚とも生残率は低くそれぞれ0.167と0.154であった。雌親か雄親の一方が死亡の場合、雌親の生死が雄子魚の生残率に大き

図5. 高温耐性の成長に伴う変化

表1. グッピー5系統における雌雄間での水温35℃24時間処理後の生残率の比較

系統名	雌			雄			p 値
	生残率	標準誤差	N	生残率	標準誤差	N	
B	0.500	± 0.039	84	0.367	± 0.036	90	0.052
C	0.613	± 0.044	62	0.397	± 0.045	58	0.014*
D	0.727	± 0.042	55	0.552	± 0.046	58	0.040*
S3	0.667	± 0.045	54	0.391	± 0.041	69	0.002*
S3-23	0.756	± 0.045	45	0.559	± 0.046	59	0.030*

N: 実験個体数

p 値: Fisher の正確確立検定による検定結果

表 2. 両親における水温 35℃ 24 時間後の生死の組み合わせごとの子魚の生存率

両親の組み合わせ		組み合わせの数	子魚			
			雌		雄	
雌親	雄親		生存率	N	生存率	N
生存	生存	14	0.972	72	0.667	63
生存	死亡	10	0.776	49	0.569	58
死亡	生存	4	0.438	16	0.118	17
死亡	死亡	5	0.167	30	0.154	26

N: 実験個体数

表 3. 両親における生死の組み合わせと推定される遺伝子型、及び子魚で推定される遺伝子型

Pattern No.	両親における生死の組み合わせ		両親で推定される遺伝子型		子魚で推定される遺伝子型	
	雌親	雄親	雌親	雄親	雌子魚	雄子魚
1	生存	生存	X^RX^R	X^RY	X^RX^R	X^RY
2	生存	生存	X^RX^r	X^RY	X^RX^R	X^RY
					X^RX^r	X^rY
3	生存	死亡	X^RX^R	X^rY	X^RX^r	X^RY
4	生存	死亡	X^RX^r	X^rY	X^RX^r	X^RY
					X^rX^r	X^rY
5	死亡	生存	X^rX^r	X^RY	X^RX^r	X^rY
6	死亡	死亡	X^rX^r	X^rY	X^rX^r	X^rY

アンダーラインは表現型が死亡となる個体

く影響していた。

このような結果から X 染色体上に高温耐性に関与する遺伝子を推定することができる。高温耐性を優性 (R)、感受性を劣勢 (r) とすると表 3 に示すような親魚の組み合わせと子魚の遺伝子型の組み合わせが考えられる。

雌親、雄親共に生存の場合、2 種類の遺伝子型の組み合わせが考えられる。一つは雌親が X^RX^R で表現型が生存となる場合 (Pattern 1) と X^RX^r で生存の場合 (Pattern 2) である。雄は X 染色体を一つしか持たないので生存の場合の組み合わせは X^RY の一種類のみとなる。Pattern 1 の場合雌子魚の遺伝子型は X^RX^R のみで全て生存となり、雄子魚も X^RY の一種類で全て生存となる。Pattern 2 の場合雌子魚の遺伝子型は X^RX^R と X^RX^r の二種類となるが表現型は全て生存となる。一方、雄子魚は X^RY と X^rY の 2 種類となり半分が感受性の表

現型となる。

雌親が生存で雄親が死亡の表現型の場合も二種類の遺伝子型の組み合わせが考えられる。雌親が X^RX^R (Pattern 3) と X^RX^r (Pattern 4) の二種類であるのに対して雄親は X^rY の一種類のみである。Pattern 3 の場合、雌子魚の遺伝子型は全て X^RX^r 、雄子魚も全て X^RY と全て耐性の表現型となる。これに対して Pattern 4 の場合、雌子魚の遺伝子型は X^RX^r と X^rX^r の二種類が期待され、雄子魚では X^RY と X^rY の二種類の遺伝子型が期待される。いずれの場合も半分の個体が感受性の表現型となる。

雌親が死亡で雄親が生存の表現型の場合には雌親が X^rX^r 、雄親が X^RY の一種類の遺伝子型の組み合わせが考えられる。この場合、遺伝子型は雌子魚で X^RX^r の一種類が、雄子魚では X^rY の一種類が期待される (Pattern 5)。雌子魚は全て耐性の表現型を示し、雄子

魚は全て感受性の表現型を示すことになる。

雌親、雄親共に感受性の表現型を示す場合、一種類の遺伝子型の組み合わせが考えられる。この場合の遺伝子型の組み合わせは雌親が X^rX^r 、雄親が X^rY の組み合わせである (Pattern 6)。この組み合わせから期待される子魚の遺伝子型の組み合わせは雌子魚が X^rX^r の一種類、雄子魚が X^rY の一種類で、いずれも感受性の表現型となる。

これら 6 種類のパターンを交配実験で得られた親魚

と子魚に当てはめてみた (表 4)。高水温が雌雄比に影響を及ぼすことが報告されていることから、雌雄比が大きくずれている交配組は分析に用いなかった。交配実験に用いた親魚、子魚のうち両親、子魚共に分析可能だった 32 ペアについて 6 種類のパターンへの分類を試みた。子魚の個体数が少ないことからメンデルの法則に合っているかどうかの統計的な検定はできないので、子魚において期待される表現型の有無だけで分類してある。32 ペアのうち 26 ペアが 6 種類のいずれ

表 4. 両親の生死のパターンで分けた子魚における生残と死亡の組み合わせ

Pattern No.	Pair No.	親魚		子魚			
		雌親	雄親	雌		雄	
				生残個体	死亡個体	生残個体	死亡個体
1	28	○	○	4	0	2	0
	30	○	○	3	0	2	0
	32	○	○	7	0	5	0
	36	○	○	2	0	2	0
	42	○	○	4	0	4	0
	44	○	○	4	0	3	0
2	25	○	○	5	0	6	1
	35	○	○	3	0	1	1
	18	○	○	2	0	2	2
	23	○	○	3	0	5	3
	43	○	○	2	0	1	3
	3	○	○	8	0	0	4
	10	○	○	10	0	6	5
3	12	○	×	7	0	4	0
	17	○	×	2	0	2	2
	24	○	×	2	0	3	2
	49	○	×	3	0	1	2
	14	○	×	4	0	6	3
4	48	○	×	5	2	4	2
	41	○	×	3	2	3	2
	1	○	×	4	3	7	5
	31	○	×	6	3	1	5
	9	○	×	2	1	2	2
5	47	×	○	2	0	0	2
6	15	×	×	0	2	0	2
	21	×	×	0	3	0	4
不明	6	×	○	1	4	0	2
	11	×	○	2	2	2	9
	33	×	○	2	3	0	2
	4	×	×	2	5	0	2
	16	×	×	1	6	1	7
	45	×	×	2	9	3	7

○: 水温 35℃ 24 時間処理で生き残った個体
×: 水温 35℃ 24 時間処理で死亡した個体

かのパターンに分類され、いずれのパターンにも分類されなかったのは6ペア(18.8%)であった。

死亡個体をX染色体上の劣勢感受性対立遺伝子(r)の発現によると仮定した場合、雄の死亡率はそのまま雄における r の頻度となる。一方、雌では死亡率の平方根が雌における r の頻度となる。各系統で死亡率から雌雄それぞれにおける r の頻度を算出した(表5)。 r の頻度は雌雄間でほぼ等しく、生残率で観察された雌雄差はここでは観察されなかった。このことから、高温耐性の雌雄差は伴性遺伝する形質の雌雄間での表現型頻度の差異であると考えられる。

これらの結果は高温耐性に関与する遺伝子のいくつかはX染色体上に存在している可能性が高いことを示している。魚類では明確に性染色体を区別できる例は少なく、グッピーでも外見からの区別はできていない。WingeとDitlevsen(1947)はグッピーにおけるX染色体とY染色体との違いはY染色体にX染色体とは相同ではない雄決定遺伝子を含む部位を有しているだけとしている。また、そのことからX染色体とY染色体間では組換えが生じていることを、グッピーにおける色彩の遺伝様式の研究から導き出している。同様にグッピーの体側部に現れる不規則な模様(コブラ斑)はY染色体上に存在し雄決定遺伝子と強く連鎖しているがX染色体との組換えが生じることにより無斑の雄が生じ、その際コブラ斑遺伝子を有するX染色体を持つ雌には性ホルモンの影響でコブラ斑が観察されないことが報告されている(中嶋ら1995)。いずれのパターンにも当てはまらないペアが観察されたことは組換えや環境の影響が作用したことが考えられる。Fujioら(1990)はグッピーの交配実験から低温耐性に関与する主動遺伝子がX染色体上に存在する可能性を報告している。一方、Nakajimaら(1992)は系統間で比較した

時、高温耐性と低温耐性との間に相関が無いことから高温耐性と低温耐性は異なる遺伝子に支配されているとしている。このことは、X染色体上でも離れた位置関係にあると考えられる。同様に高温耐性遺伝子が伴性遺伝する可能性についてはニジマスでQTL解析から性と連鎖しているマーカーのいくつかが高温耐性とも連鎖関係を示したことが報告されている(Perryら2005)。いずれにしても、これらの結果は高温耐性に関与する遺伝子のうちの一つがX染色体上に存在する可能性が高いことを示している。また、高温耐性や低温耐性など環境適応能力に関与する遺伝子がX染色体上に存在する可能性を示している。

グッピーにおいてもDNAマーカーを用いた連鎖地図の作成が試みられている(Watanabeら2005)。この中で性との連鎖を示すマーカーが見つけられていることから、連鎖解析による高温耐性に関与する遺伝子の特定が期待される。

3-5) 高温耐性に関与する遺伝子

では、実際にはどのような遺伝子が高温耐性に関わっているのだろうか?しかし、サブトラクション法により高温処理時に発現量が増加する遺伝子としてHsp70、Vitellogenin、Liver-basic fatty acid binding protain、Cytochrome P450 1A、Transferin、Growth hormon receptor、Insulin-like growth factor binding protain、HMG-CoA reductase等の遺伝子と相同性を示す遺伝子断片が得られている(中嶋 未発表)。これらの遺伝子が高温条件下で具体的にどのような働きをしているのか、また、耐性とどのように関わっているのかに関しては不明である。Hsp70は高温処理時に発現量が増加する遺伝子として多くの動植物で知られている。ショウジョウバエではHsp70のコピー数やプロモ

表5. 死亡個体をX染色体上の劣勢の高温感受性対立遺伝子(r)のホモ化によると仮定した場合の各系統における r の頻度

系統名	対立遺伝子 r の頻度				P
	雌	N	雄	N	
B	0.707	84	0.633	92	0.145
C	0.622	62	0.603	58	0.488
D	0.528	55	0.448	58	0.521
S3	0.491	54	0.441	69	0.360
S3-23	0.578	45	0.609	59	0.447

P : Fisher の正確確率検定の p 値

ーター領域の変異が温度環境への適応に関与していることが報告されている (Feder 1996; Berreencourt *et al.* 2002) ことから何らかの関与が期待される。今後これらの遺伝子が耐性にどのように関わっているのかを明らかにしてゆく必要がある。

4. 魚介類育種の今後の展望

水産分野での育種の現状はまだ研究レベルの段階が多いと言わざるを得ない。これは現在の魚介類には多くの野生個体が存在し、それらを採集することで産業として成り立っていることによる。しかし、最初に述べたようにこのようなやり方は限界に来ている。これからは多くの野生個体が存在しているという魚介類の利点を生かした方法を考えてゆく必要がある。家畜においてウシの原種がすでに絶滅し、イネの原種を我々がほとんど見ることがないのに対し、魚介類では野生個体が未だに多数存在している。これら野生個体や野生集団は“遺伝資源の宝庫”であると言える。すなわち、これら野生集団の中に、様々な新しい品種の“タネ”が隠れているのであり、その観点から、水産生物の育種においては、まず実際にさまざまな形質について選択を試みることが重要であると考えられる。また、このような品種改良等を進めるのと並行して、野生集団の遺伝的多様性を保全することが極めて重要である。

現在、日本ではマイクロサテライト DNA マーカーを用いてアユやヒラメ、アワビ等で染色体地図の作成が進んでいる。しかし、形質特性のスクリーニングはまだほとんど行われていない。養殖対象となる水産生物は多岐にわたっている。FISHSTAT-PLUS (2006) において日本における養殖対象種として 43 種の魚介類が挙げられている。これらすべての種に対して育種する形質を定め、評価手法を開発するのは非常に手間のかかる方法である。今後いくつかの種においてどのような形質を育種するのか、その形質をどのように評価するのか、それぞれの手法を確立して行く必要がある。

また、一部の観賞魚を除き系統の登録制も無いことから、今後、作成された系統や品種を登録する際の基準等を定めてゆく必要がある。古典的な手法で開発されたドナルドソン系ニジマスや近畿大学のマダイのほかにヒラメにおいてマーカーアシスト選択による抗病性系統の作出が試みられている。そして、今後養殖による生産量の増大が期待されることから、様々な養殖環境下でより効率良く生産できる品種や系統の開発は

不可欠であると考えられる。今後、天然資源にインパクトを与えない完全養殖による生産の重要性は益々高まってくるだろう。育種を行う上で完全養殖は前提条件となるが完全養殖のできる産業対象魚介類の数は現在多いとは言えない。しかし、幸いなことにその数は増加しつつある。最近ではクロマグロやニホンウナギにおいて実験的ではあるが完全養殖が成功している。

日本では水産物に対して天然物であることを重要視する風潮がある。商品としての養殖物の評価は天然物に比べ一段落ちる傾向がある。増養殖が盛んになるためにもこの風潮が変わることが望まれる。現在の我々の食生活において水産物以外で野生の動植物を食することはほとんどなくなっている。仮に野生の牛や米を食する機会があったとしても多くの人々は育種された松阪牛やコシヒカリの方を美味しいと思うだろう。今後水産物においても同じような状況となってゆく可能性が考えられることから、自然に負荷をかけない安全・安心で美味しい食料としての魚介類生産のための手法として遺伝育種は今後ますます重要性を高めてゆくと考えられる。

引用文献

- Allen KO, Strawn K. 1971. Rate of acclimation of juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to high temperature. *Transaction of American Fisheries Society*, 100: 665–671.
- Bettencourt BR, Kim IY, Hoffman AA, Feder ME. 2002. Response to natural and laboratory selection at the *Drosophila* Hsp70 genes. *Evolution*, 56: 1796–1801.
- Donaldson LR. 1968. Selective breeding of salmonid fishes. *Marine Aquaculture*, Oregon State University Press, 65–74.
- Feder ME, Cartano NV, Milos L, Krebs RA. 1996. Effect of engineering Hsp70 copy number on Hsr70 expression and tolerance of ecologically relevant heat shock in larvae and pupae of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 199: 1837–1844.
- Feminella JW, Matthews WJ. 1984. Intraspecific differences in thermal tolerance of *Etheostoma spectabile* (Agassiz) in constant versus fluctuating environments. *Journal of Fish Biology*, 25: 455–461.
- FishStat Plus. 2007. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service (FIES) FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy (<http://www.fao.org/fi/website/FIRetrieveAction.do?dom=topic&fid=16073>).

- 藤沢公忠・中嶋正道・藤尾芳久. 1998. グッピーにおける高温耐性の系統差について. 水産育種, 26: 9–15.
- Fujio Y, Nakajima M, Nagahama Y. 1990. Detection of a low temperature-resistant gene in the guppy (*Poecilia reticulata*), with reference to sex-linked inheritance. Japanese Journal of Genetics, 65: 201–207.
- Fujio Y, Nakajima M, Nomura G. 1995. Selection response on thermal resistance of the guppy *Poecilia reticulata*. Fisheries Science, 61: 731–734.
- Ihssen. PE. 1986. Selection of fingerling rainbow trout for high and low tolerance to high temperature. Aquaculture, 57: 370.
- Kanda N, Nakajima M, Fujio Y. 1991. Strain differences at thermal resistance in the guppy, *Poecilia reticulata*. Tohoku Journal of Agricultural Research, 42: 25–31.
- Kanda N, Nakajima M, Fujio Y. 1992. Genetic variation for thermal resistance of the guppy, *Poecilia reticulata*. Tohoku Journal of Agricultural Research, 42: 67–72.
- Nakajima M, Kanda N, Fujio Y. 1992. Fluctuation of responses to the low and high temperatures in the sub-populations from one guppy population. Tohoku Journal of Agricultural Research, 43: 25–31.
- 中嶋正道・高橋伸明・藤尾芳久. 1998. グッピーにおけるコブラ斑の遺伝支配と発現. 水産育種, 26: 17–25.
- 中嶋正道・藤谷玉郎・藤谷貴子・藤尾芳久. 2001. グッピーにおける高温耐性の成長に伴う変化. 水産育種, 31: 45–50.
- Perry GML, Ferguson MM, Sakamoto T, Danzmann RG. 2005. Sex-linked quantitative trait loci for thermotolerance and length in the rainbow trout. Journal of Heredity, 96: 97–107.
- Procarione LS, King TI. 1993. Upper and lower temperature tolerance limits for juvenile red drums from Texas and South Carolina. Journal of Aquatic Animal Health, 5: 208–212.
- Sakamoto K, Koedprang W, Nakajima M, Taniguchi N. 2004. Thermal resistance traits in the clonal lines of silver crucian carp *Carassius langsdorfii* evaluated by caudal fin cells. Fish Genetics and Breeding Science, 33: 87–92.
- Scott DP. 1964. Thermal resistance of pike (*Esox lucius* L.), muskellunge (*E. masquinongy* Mitchell), and their F1 hybrid. Journal Fisheries Research Board of Canada, 21: 1043–1049.
- Watanabe T, Yoshida M, Nakajima M, Taniguchi N. 2005. Linkage mapping of AFLP and microsatellite DNA markers with the body color- and sex-determining loci in the guppy (*Poecilia reticulata*). Zoological Science, 22: 883–889.
- Winge Ø, Ditlevsen E. 1947. Color Inheritance and Sex Determination in Lebistes. Heredity, 1: 65–83.
- Worm B, Barbier EB, Beaumont N, Duffy JE, Folke C, Hapern BS, Jackson JB, Lotze HK, Micheli F, Palumbi SR, Sala E, Selkoe KA, Stachowicz JJ, Watson R. 2006. Impact of biodiversity loss on ocean ecosystem services. Science, 314: 787–790.