

# 野生ヒラメの血縁推定における尤度比のパーミュテーション検定

大林武<sup>1</sup>、安藤大樹<sup>2</sup>、池田実<sup>2</sup>

1: 東北大学大学院情報科学研究科、2: 東北大学大学院農学研究科

**概要**：水産業は豊かな食文化の基盤であり、また地域経済を支える産業としても重要である。しかし漁獲対象種の資源量は減少傾向にあるため、漁業資源を適切に管理していくことが持続的な水産業には欠かせない。栽培漁業は人工繁殖させた稚魚を放流することで資源量を維持・増加させる方法である。例えばヒラメは、宮城県をはじめ日本各地で栽培漁業が行われており、年間の放流量は約2000万尾にのぼる。一方、栽培漁業では遺伝的多様性のレベルが低下した稚魚を大量に自然界に放流するため、対象魚種の遺伝的多様性を減少させてしまう懸念も指摘されている。野生集団の血縁度を正確に推定し、その年次変化を捉えることができれば、栽培漁業の適切な運用をデータから支えることができる。そこで本研究では、マイクロサテライトDNAプロファイリング法に基づくヒラメの野生集団の血縁推定において、偽陽性をコントロールする方法を検討した。一般にある個体ペアのDNAプロファイルが特定の血縁関係を支持するかは尤度比で評価できる。しかし、野生集団における血縁は一般に薄いため、偽陽性の扱いが問題になる。本研究ではDNAプロファイルのパーミュテーションにより尤度比が評価できることを示す。

**キーワード**：マイクロサテライトDNAプロファイリング、血縁推定、尤度、パーミュテーション

## 1. はじめに

水産資源の保全は、水産業の発展に必須であるだけでなく、地域独自の食文化や観光業も含めた地域経済の基盤でもある。しかし、世界的な需要の増加を受け、漁獲対象種の資源量は減少傾向にある。漁獲過多の魚種の割合は、1974年には10%だったのに対して、2017年は34%に増えており、水産業の持続性が脅かされている[1]。

水産資源を維持するための重要な取り組みの一つに栽培漁業がある。これは人工繁殖した稚魚（人工種苗）を自然環境に放流することで資源量を増加させる方法である。ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) は、宮城県をはじめ日本各地で栽培漁業が行われており、年間の放流量は約2000万尾にのぼる[2]。ヒラメの総漁獲量のおおよそ10%が放流した個体が成魚になったものと見積もられており[3-7]、ヒラメの資源量を下支えている。一方、遺伝的多様性のレベルが低下した稚魚を大量に自然界に放流することにより、対象魚種の遺伝的多様性が減少してしまう懸念も指摘されている。遺伝的多様性の減少した集団は、病気などの外因に対して脆弱になるため、資源の安定化ならびに生態学的観点から継続的なモニタリング事業が推奨されている。

近年、DNAマーカーを用いたヒラメの血縁推定の基盤が整いつつある[8-10]。血縁から得られる知見は多岐にわたる。人工繁殖プログラムにおける親魚と稚魚の関係が明らかになれば、より効果の高い繁殖法の開発につながる。野生集団の血縁からは個体群の動態を予測できる。さらに人工種苗と野生集団の血縁からは人工種苗の再生産効果を推定できる。ここで、野生集団には非常に多くの非血縁個体が含まれているため、血縁推定の偽陽性、偽陰性の扱いが重要になる。また解析個体数の増加に伴う計算時間の爆発といった技術的課題もあり、データ科学の観点から手法を検討していく意義は大きい。本研究では、血縁を検出する際の偽陰性率をパーミュテーションを用いて評価する手法

を検討したので報告する。

## 2. 手法

### 2.1. マイクロサテライトデータ

本研究では、安藤、池田らにより開発、解析されたヒラメのマイクロサテライトデータを用いる（表1,2）[9][10]。同データの例を図1に示す。12のマイクロサテライト座位の各々について、2倍体ゲノムに対応する塩基長（アレル）が得られている。着目する個体ペアにおいて、各座位で1種類のアレルが一致していれば緑で、2種類のアレルで一致していれば黄色と青でハイライトしている。図1Aは非血縁と想定される野生集団中の個体ペアのプロファイルである。いくつかの座位においてアレルの偶然の一致があるものの、多くの座位ではアレルが一致しない。図1Bは人工種苗を生産する際の人工孵化プログラムにおける親子（Pb166はAoSd3R94のメス親）であり、全ての座位に共通なアレルが存在する。図1A,Bを見比べると非血縁と親子関係を区別するのは容易なように思える。しかし問題はそう単純ではない。図1Cは図1Bの稚魚個体（AoSd3R94）を別の親魚と比較したものである。全ての座位でアレルの一致があるの

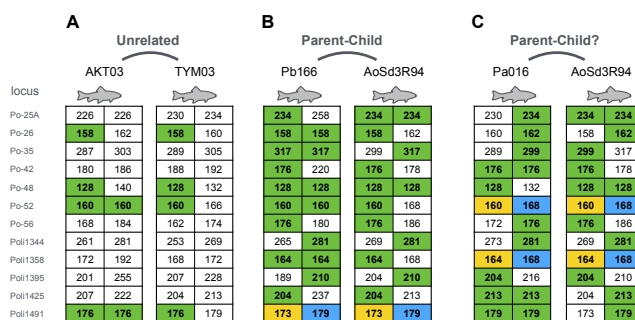


図1 マイクロサテライトデータの例

表1 サンプルセット

	個体数	個体ペア数
親魚集団1	58	1653
親魚集団2	62	1891
稚魚集団 (人工種苗) 1	96	4560
稚魚集団 (人工種苗) 2	96	4560
野生集団	431	92665

表2 マイクロサテライト座位

座位名	アレル数	平均情報量H	重複率I
Po-25A	17	2.90	0.054
Po-26	6	1.55	0.231
Po-35	32	3.10	0.063
Po-42	30	3.93	0.016
Po-48	13	1.31	0.349
Po-52	6	1.14	0.404
Po-56	32	4.30	0.008
Poli1344	27	3.84	0.014
Poli1358	10	2.21	0.111
Poli1395	30	4.05	0.012
Poli1425	29	3.64	0.022
Poli1491	11	2.32	0.095

で、これも親子関係であると推定したくなる。しかし、この親魚は別集団の個体 (表1の親魚集団2) であり、稚魚のオス親は別にいる。この例は、アレルの偶然の一致が、ときに無視できないほどの一致レベルに達し得ることを意味している。このような偶然の一致はどの程度起きるのかを定量的に検討するには、シミュレーションが有効である [11]。本研究では安藤らのマイクロサテライトシステム [9] を用いた血縁推定の特性を、池田ら [10] のデータ (表1) とシミュレーションを組み合わせることで検討する。表1の野生集団は北海道、青森、秋田、山形、富山、宮城で漁獲された431個体から構成されている。この集団における、各マイクロサテライト座位のアレル数、平均情報量H、重複率I (Probability of Identity) を表2に示す。

$$H = \sum_i p_i \log_2 p_i$$

$$I = \sum_i p_i^4 + \sum_{i < j} (2p_i p_j)^2$$

平均情報量Hはアレル数とそれらの割合の均一さを反映し、値が大きいほどプロファイリングの能力が高いことを示す。重複率Iは、非血縁の個体ペアにおいて、2倍体の遺伝子型が偶然に重複する確率であり、小さい方が個体分別力が高いことを示す。右辺第1項がホモ型で重複、第2項がヘテロ型で重複する確率である。各座位が独立だとすると、12座位全体の重複率は各座位の重複率の総積であり、その値は5.4e-16となる。この逆数、すなわち識別可能な個体数は約1900兆個体である。日本近海のヒラメの最近年の資源尾数は、太平洋北部、瀬戸内海、日本海北部、日本海

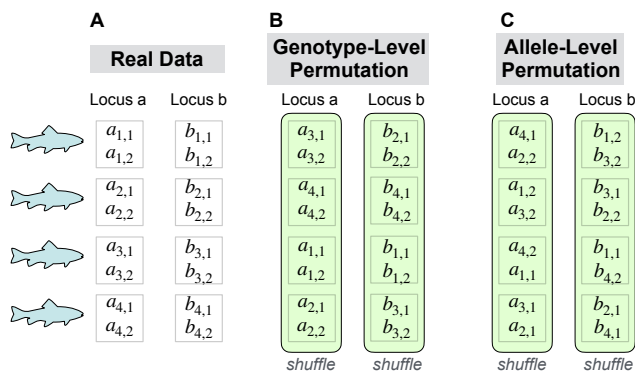


図2 遺伝子型のパーミュテーション

中西部・東シナ海の各地域において5221千尾、4682千尾、5753千尾、2124千尾と推定されており [4-7]、本マイクロサテライト座位には、全ての野生ヒラメを区別できる個体識別力がある [9,10]。

## 2.2. 遺伝子型のパーミュテーション

個体識別力が極めて高いマイクロサテライト座位を用いても、血縁推定における偽陽性を完全に抑えることは難しい (図1C)。そのため、偽陽性をどのように見積り、あるいはコントロールするかが問題となる。血縁推定の偽陽性を評価するために、パーミュテーションによる仮想的なネガティブデータを作成する。パーミュテーションを行うことで、各個体のマイクロサテライト座位は独立になるため、血縁推定における帰無分布の導出に利用できる。パーミュテーションとしては、図2Aで示すデータに対して、座位を単位としてパーミュテーションを行う方法 (図2B) と、アレルを単位としてパーミュテーションを行う方法 (図2C) が考えられる。野生集団には何らかの集団構造があることが多く、ハーディ・ワインベルグ平衡が成り立たないことも珍しくない。そのような場合にアレル単位でパーミュテーションを行うと、隠れた集団構造を壊してしまう。そのため本研究では座位ごとのパーミュテーションを用いた。パーミュテーションによるネガティブデータの生成を繰り返し、本研究では1000セットのネガティブデータを作成した。それらのネガティブデータから得られた統計値 (本研究では対数尤度比) の分布に対して、真のデータから得られた統計値がどの程度大きいかを評価した。

## 2.3. 尤度比

血縁推定では、ある特定の血縁関係 (例えば親子) をモデルと非血縁モデルの尤度比を用いて、どちらもモデルが尤もらしいかを評価するのが一般的である。あるマイクロサテライト座位について、ある個体ペアにおけるアレルの組み合わせは、組み合わせの対称性を考慮すると7通りしかない。親子、完全同胞、半同胞、非血縁の各々の場合に生じるアレルの組み合わせの確率を表3に示す [12,13]。血縁推定を行う個体ペアの各マイクロサテライト座位について、遺伝子型ペアを構成するアレル頻度を用いて尤度比

表3 各血縁モデルにおける遺伝子ペアの出現確率

遺伝子型ペア	親子	完全同胞	半同胞	非血縁
AA AA	$p_A^3$	$p_A^2(p_A + 1)^2 / 4$	$p_A^3(p_A + 1) / 2$	$p_A^4$
AB AB	$p_A p_B (p_A + p_B)$	$p_A p_B (2p_A p_B + p_A + p_B + 1) / 2$	$p_A p_B (4p_A p_B + p_A + p_B) / 2$	$4p_A^2 p_B^2$
AA AB	$2p_A^2 p_B$	$p_A^2 p_B (p_A + 1)$	$p_A^2 p_B (2p_A + 1)$	$4p_A^3 p_B$
AB AC	$2p_A p_B p_C$	$p_A p_B p_C (2p_A + 1)$	$p_A p_B p_C (4p_A + 1)$	$8p_A^2 p_B p_C$
AA BB	$e$	$p_A^2 p_B^2 / 2$	$p_A^2 p_B^2$	$2p_A^2 p_B^2$
AA BC	$e$	$p_A^2 p_B p_C$	$2p_A^2 p_B p_C$	$4p_A^2 p_B p_C$
AB CD	$e$	$2p_A p_B p_C p_D$	$4p_A p_B p_C p_D$	$8p_A p_B p_C p_D$

表4 各血縁モデルの非血縁に対する対数尤度比

遺伝子型ペア	親子	完全同胞	半同胞
AA AA	$-\log p_A$	$2 \log(p_A + 1) - 2 \log(2p_A)$	$\log(p_A + 1) - \log(2p_A)$
AB AB	$\log(p_A + p_B) - \log(4p_A p_B)$	$\log(2p_A p_B + p_A + p_B + 1) - \log(8p_A p_B)$	$\log(4p_A p_B + p_A + p_B) - \log(8p_A p_B)$
AA AB	$-\log(2p_A)$	$\log(p_A + 1) - \log(4p_A)$	$\log(2p_A + 1) - \log(4p_A)$
AB AC	$-\log(4p_A)$	$\log(2p_A + 1) - \log(8p_A)$	$\log(4p_A + 1) - \log(8p_A)$
AA BB	$\log(e) - \log(2p_A^2 p_B^2)$	$-\log(4)$	$-\log(2)$
AA BC	$\log(e) - \log(4p_A^2 p_B p_C)$	$-\log(4)$	$-\log(2)$
AB CD	$\log(e) - \log(8p_A p_B p_C p_D)$	$-\log(4)$	$-\log(2)$

(あるいはその対数値である対数尤度比)を計算する。非血縁に対する親子、完全同胞、半同胞の対数尤度比を表4に示す。血縁に関する事前知識がない場合には、対数尤度比が0よりも大きければ各血縁モデルが支持され、0よりも小さければ非血縁が支持される。

#### 2.4. グループ尤度を用いた血縁推定

ある個体ペアの血縁推定と別の個体ペアの血縁推定は厳密には独立でない。例えば、個体Aと個体Bが完全同胞であり、個体Bと個体Cも完全同胞であれば、個体Aと個体Cは必ず完全同胞である。また、子は1体のオス親と1体のメス親から生じるため、個々の個体の性別をパラメータに含めることで、ある個体ペアの関係を別の個体ペアの推定に活用できる。このような非独立である情報の利用は、集団の血縁が濃い時に、また集団のサンプリングレート(母集団サイズに対するサンプルサイズ)が高い時に重要になる。血縁推定ソフトウェアのCOLONY2[14]は2個体間の血縁関係の尤度(ペアワイズ尤度)ではなく、所与の個体集団における全ての個体間の血縁を尤度(グループ尤度)として評価する。COLONY2の入力データは各個体の遺伝子型と各アレルの頻度である。これに加えて推定エラー率、既知の血縁関係、親世代、子世代などの情報をオプションで指定できるなど、血縁に関する多様なデータを活用できる。本研究では、母集団における各アレル頻度の推定値として、野生集団431個体(表1)から求めたアレル頻度を用い

た。また、ジェノタイピングエラー率の初期値は0%とした。

### 3. 結果

#### 3.1. 尤度比に基づく血縁推定のシミュレーション

まずシミュレーションデータを用いて、本マイクロサテライト座位に基づく尤度比検定の偽陽性率を推定する。親子、完全同胞、半同胞、従兄弟、非血縁の関係を作るため、図3の仮想的な家系を作成する。まず図3のオレンジで示す5個体の遺伝子型を、野生集団431個体(表1)のアレル頻度に基づきランダムに作成する。そこから血縁関係に従って子個体の遺伝子型をランダムに作成した。このように作成した血縁関係が、親子、完全同胞、半同胞の対数尤度比(表4)を用いてどのように分類できるかを調べた。10000回の施行の結果、親子関係は、親子関係の尤度比を用いることで100%検出できる一方で、完全同胞の71.5%、半同胞の23.7%、従兄弟関係の4.3%、非血縁の0.2%も親子と判定してしまう偽陽性が生じる(図4A)。同様に、完全同胞の尤度比を用いると、完全同胞の97.8%を検出できる一方で、非血縁の1.7%を完全同胞と検出してしまう偽陽性が生じる(図4B)。半同胞の検出は親子や完全同胞よりも難しく、半同胞の尤度比を用いると、半同胞の86.6%を検出できる一方で、非血縁の10.7%を半同胞と検出してしまう偽陽性が生じる(図4C)。親子や完全同胞と比較して半同胞の血縁は薄いため、非血縁との区別が難しくなり、必然的

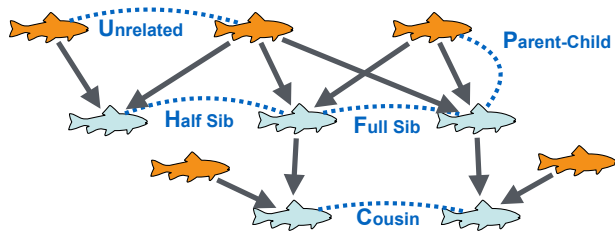


図3 シミュレーションデータの作成

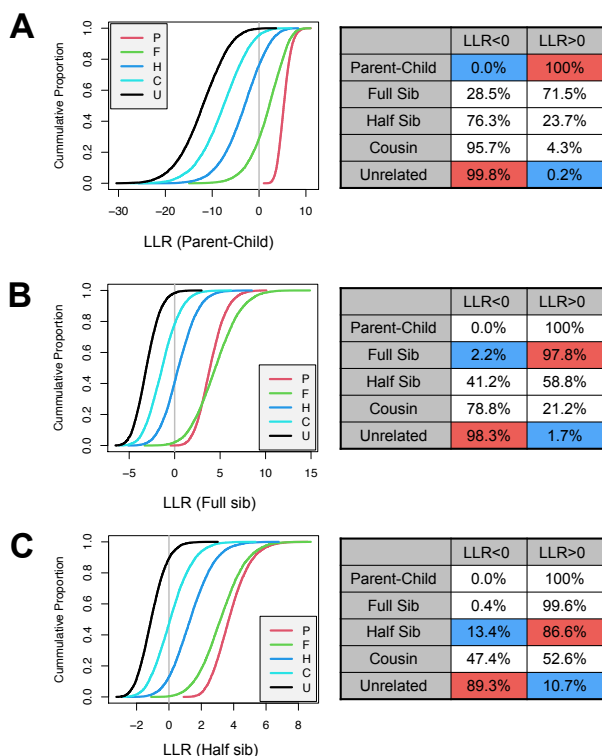


図4 尤度比を用いた血縁推定の偽陽性率の見積り

に偽陽性率が高くなってしまふ。

ヒラメをはじめとする多くの魚種においては、複数のメスとオスが水中に卵と精子を放出することで受精が行われるため、子の集団においては、片方の親のみ共有する半同胞の関係が、両方の親を共有する完全同胞よりも多く観察される。実際、196個体からなる稚魚集団1,2 (表1) の場合は、完全同胞率は2%、半同胞率は12%であり[10]、稚魚集団の主な血縁は半同胞である。

さて、野生集団から半同胞を検出する際、偽陽性率が大きな問題となる。仮に非血縁と半同胞が1対1である集団ならば、非血縁の10.7%を半同胞と判断してしまう偽陽性はそこまで問題にならないかもしれない。しかし野生集団の血縁度はかなり低いことが想定され、半同胞の個体ペアよりもはるかに多くの非血縁ペアがいる。仮に非血縁1000ペアに対して半同胞1ペアの割合だった場合、検出された半同胞の99%は偽陽性になる。そのため、何かしらの工夫により、この偽陽性をコントロールする必要がある。

表5 COLONY2用シミュレーションデータ

データ名	非血縁個体	半同胞ペア	全個体
S1	400	0	400
S2	396	2	400
S3	360	20	400

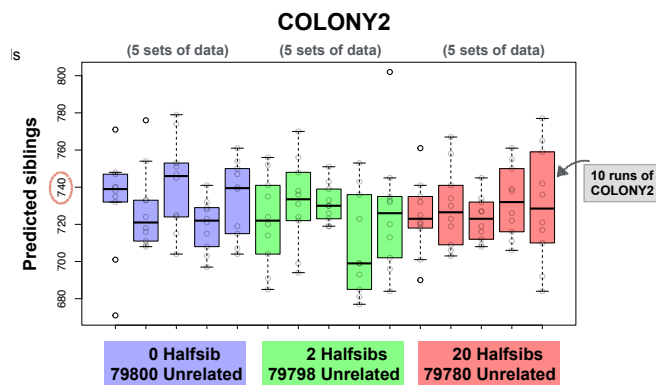


図5 血縁の薄い集団に対するCOLONY2の偽陽性率

### 3.2. COLONY2による血縁推定

COLONY2[14]はグループ尤度を指標に、最も尤度が高い血縁関係を推定するプログラムである。グループ尤度の特長上、血縁の濃い集団について高いサンプリングレートで得られた場合に特に有効である。実際、複数の稚魚集団を混ぜた192匹の集団に対して、COLONY2で血縁推定を行った場合には偽陽性率、偽陰性率の低い極めて優れた予測が達成されている[10]。

さて、野生集団のようなサンプリングレートが低いデータに対して、COLONY2はどのような予測を行うだろうか。シミュレーションデータを用いて検証を行った。400個体からなるシミュレーションデータを3種類作成した

(表5)。本研究で用いているマイクロサテライトデータの12座位を対象に、一部の個体ペアを除いてほとんどの個体ペアは非血縁であるようなデータを、表5のS1、S2、S3の各々について5セット作成した。COLONY2は尤度最大の血縁構造を推定するが、それは厳密解ではなく焼きなまし法による近似解であるため、実行毎に結果が変わる。そのため、各データセットについて10回ずつCOLONY2を実行し、予測された完全同胞と半同胞の合計値の分布求めた(図5)。意外なことに、どのデータセットに対しても、大方740ペアの同胞関係が予測された。これは各セット200個体、79800個体ペアの1%弱に相当する。一方、真の値はS1は0(0%)、S2は2(0.007%)、S3は20(0.07%)なので、予測された同胞関係のほぼ全てが偽陽性ということになる。この結果は、グループ尤度最大化のアプローチに基づくCOLONY2を、血縁度が低い集団の血縁推定に用いるのは難しいことを示している。

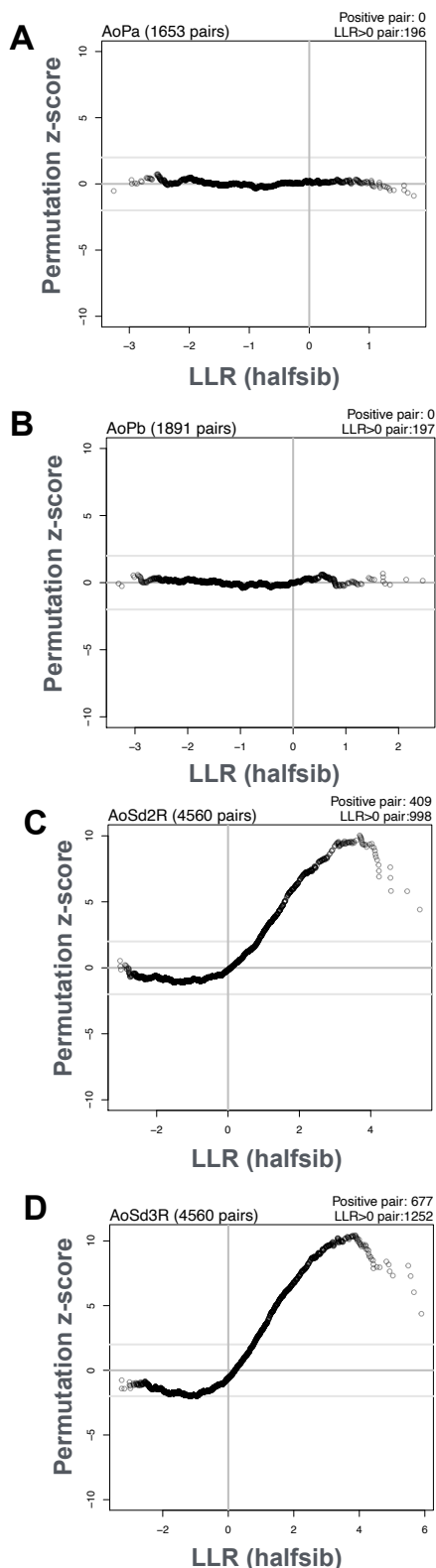


図6 パーミュテーション検定による血縁推定

### 3.3. パーミュテーションデータを用いた尤度比による血縁推定

ほとんどの個体ペアに血縁がない状況で半同胞を推定す

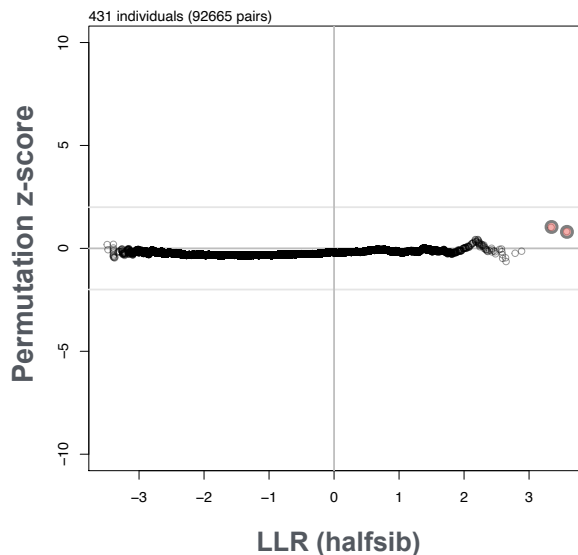


図7 野生集団全体での血縁推定

Log LR=3.6      Log LR=3.3

AKT03      AoN41      AoPa001      TYM03

Po-25A	226	226	226	230	230	234	234
Po-26	158	162	158	158	144	162	158
Po-35	287	303	303	321	299	305	289
Po-42	180	186	176	196	176	188	188
Po-48	128	140	128	128	128	132	128
Po-52	160	160	160	160	160	166	166
Po-56	168	184	168	178	162	164	162
Poli1344	261	281	249	261	253	273	253
Poli1358	172	192	172	172	168	172	168
Poli1395	201	255	198	255	213	213	207
Poli1425	207	222	207	213	213	213	204
Poli1491	176	176	173	176	176	179	176

図8 野生集団におけるトップ2ペアのSTRプロファイル

るために、本研究ではパーミュテーションによりネガティブ集団を作成し、そこから得られる尤度比の値と実データから得られる尤度比の値を比較するアプローチを検討する。すなわち、尤度比を統計値としたパーミュテーション検定である。なお本稿では、座位単位のパーミュテーションの結果を報告するが、アレル単位のパーミュテーションでも結果はほぼ同じであった。

パーミュテーション検定による血縁推定の結果を図6に示す。図6Aは58個体からなる親魚集団1 (表1) の全ペアについて、横軸に半同胞の対数尤度比 (LLR)、縦軸に対数尤度比の各順位におけるパーミュテーションzスコアをプロットしたものである。横軸の対数尤度比が正である個体ペアは1653ペア中196ペアであるが、それらの値はパーミュテーションzスコアはほぼ0で、ランダムレベルの値であることを示しており、この集団における全ての個体ペアは血

縁関係がないと推定できる。親魚集団2に対しても同様であった(図6B)。一方、稚魚集団1,2における個体ペアの対数尤度比は、パーミュテーションデータの対数尤度比と比較して十分に大きい(図6CD)。当然、稚魚集団には多くの半同胞が含まれており、パーミュテーションにより対数尤度比を評価することで、偽陽性と真陽性を区別することができている。

最後に野生集団431個体について、血縁関係の検出を試みた。ほとんどの個体ペアはパーミュテーションデータと同レベルの対数尤度比であったが、92665個体ペアにおける最も対数尤度の強い2ペアについては、ランダムレベルよりもやや大きい結果となった(図7)。該当する個体ペアの遺伝子型を確認しても、これらの個体ペアが血縁関係にある可能性は十分にある(図8)。しかし稚魚集団におけるパーミュテーション評価の結果(図6C)と比較すると、この野生集団で見られた関係はそれほど明確でないため、この2ペアの血縁について確定的なことは言えない。

### 3.4. 事後オッズ

ベイズの定理は事後確率が尤度と事前確率の積であることを示す。

$$\Pr(H|D) = \frac{\Pr(D|H) \cdot \Pr(H)}{\Pr(D)}$$

$H$ はモデルであり、 $D$ はデータである。異なる2つのモデル $H_1$ 、 $H_0$ について立式して比を取ると次式となり、事後オッズは尤度比と事前オッズの積であることを示す。

$$\frac{\Pr(H_1|D)}{\Pr(H_0|D)} = \frac{\Pr(D|H_1)}{\Pr(D|H_0)} \cdot \frac{\Pr(H_1)}{\Pr(H_0)}$$

両辺常用対数を取り、 $H_1$ を半同胞モデル、 $H_0$ を非血縁モデルとすると図7に対応し、右辺第1項の対数尤度比(LLR)と第2項の事前オッズの対数値の和が、事後オッズの対数値となる。

$$\log \frac{\Pr(H_1|D)}{\Pr(H_0|D)} = \log \frac{\Pr(D|H_1)}{\Pr(D|H_0)} + \log \frac{\Pr(H_1)}{\Pr(H_0)}$$

ここで、事前オッズは野生集団における半同胞率をオッズにしたものである。野生集団の半同胞率は不明であるが、純粋な野生ヒラメの血縁は十分に薄いと仮定して、ここでは稚魚集団が野生集団に混じることの影響のみを考える。稚魚集団の半同胞率は12%と見積もられており[10]、同規模のヒラメの人工孵化施設 $a$ ヶ所から放流された個体群が野生集団に占める割合が $b$  ( $0 \leq b \leq 1$ )だとすると、野生集団における任意の2個体が同一の人工孵化施設に由来する確率は $b^2/a$ となる。すなわち、人工孵化施設ごとの半同胞率を $r$ とすると、野生集団の半同胞率 $R$ は次のようになる。

$$R = r \frac{b^2}{a}$$

本解析における野生集団が主に日本海北部系群に属することから、ヒラメの人工孵化施設数 $a = 10$ とし、放流個体の再捕獲率がおおよそ10%なので $b = 0.1$ とすれば、野生集団の半同胞率は0.012%と推定でき、対数オッズ値は-3.9である。

今回の野生集団431個体において、最も大きい対数尤度比をもつ2ペアの値は3.6と3.3なので(図8)、この2ペアの対数事後オッズは-0.3と-0.6になる。数値上は非血縁であることを示唆するが、事前オッズの導出が大雑把であることを考慮すると、この2ペアの血縁について決定的なことは言えない。ただ、ベイズの定理は複数の情報を組み合わせるのに適しており、今後、ミトコンドリアDNAの活用[8]や事前オッズの改善を行うことで、より信頼性の高い推定が可能になる。

### 4. まとめ

本研究では野生のヒラメ集団を対象に、マイクロサテライトDNAプロファイリングを用いた血縁推定手法を検討した。ヒラメは回遊範囲が広いと推定される。このような血縁密度の低いデータにおいては、単純な尤度比に基づく血縁推定では偽陽性が深刻な問題となる。グループ尤度に基づくCOLONY2は、血縁密度の高い集団に対しては高い予測性能を示すが、血縁密度の低い集団に対しては偽陽性の問題がある。一方、提案手法はパーミュテーションを用いることで、偽陽性率をコントロールする。稚魚集団で検出される対数尤度比はランダムレベル以上であったのに対し、野生集団の対数尤度比のほとんどはランダムレベルであった。ただし、最も対数尤度比の大きい2ペアについては、ランダムレベルよりも大きい値を示しており、野生集団における血縁ペアの候補である。この2ペアは半同胞率の事前オッズを考慮してもボーダーラインであった。今後、サンプル数を増やすとともに、解析を高度化することで、本マイクロサテライトシステムを軸とした、野生集団における人工種苗の遺伝的影響を評価することが可能であると考える。

### 参考文献

1. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) 2020. ISBN: 978-92-5-132692-3
2. 水産庁・日本栽培漁業協会(2012)栽培漁業種苗生産, 入手・放流実績(全国)
3. Kitada S and Kishino H. (2006) Lessons learned from Japanese marine finfish stock enhancement programmes. Fisheries Research 80: 101-112.
4. 水産研究・教育機構 水産資源研究所 水産資源研究センター「令和3(2021)年度ヒラメ太平洋北部系群の資源評価」
5. 水産研究・教育機構 水産資源研究所 水産資源研究センター「令和3(2021)年度ヒラメ瀬戸内海系群の資源評価」

6. 水産研究・教育機構 水産資源研究所 水産資源研究センター「令和3（2021）年度ヒラメ日本海北部系群の資源評価」
7. 水産研究・教育機構 水産資源研究所 水産資源研究センター「令和3（2021）年度ヒラメ日本海中西部・東シナ海系群の資源評価」
8. 安藤大樹, 池田 実, 關野正志, 菅谷琢磨, 片町太輔, 與世田兼三, 木島明博 (2016) 「ミトコンドリアDNAの調節領域とND2遺伝子のタイピングによるヒラメ集団のハプロタイプ鑑定精度の向上」日本水産学会誌, vol 82, p712-719.
9. 安藤大樹, 池田実, 關野正志, 菅谷琢磨, 片町太輔, 與世田兼三, 木島明博. (2017) 「ヒラメ集団における遺伝的多様性評価のためのマイクロサテライトDNAマルチプレックスPCRシステムの構築」, 水産育種, vol. 46, p.65-76.
10. 池田実, 安藤大樹, 菅谷琢磨, 片町太輔, 與世田兼三, 藤井徹生, 小畑泰弘. (2017) 「DNA血縁鑑定によるヒラメ栽培漁業の評価」, 水産育種, vol. 46, p99-104, ISSN:2188-8957.
11. Blouin MS, Parsons M, Lacaille V, Lotz S. (1996) Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness. *Mol Ecol.* 5: 393-401.
12. Aoki Y, Nakayama Y, Saigusa K, Nata M, and Hashiyada M. (2001) Comparison of the likelihood ratio and identity-by-state scoring methods for analyzing sib-pair test cases: a study using computer simulation. *Tohoku J. Exp. Med.* 194: 241-250.
13. Presciuttini S, Toni C, Tempestini E, Verdiani S, Casarino L, Spinetti I, De Stefano F, Domenici R, Bailey-Wilson JE. (2002) Inferring relationships between pairs of individuals from locus heterozygosities. *BMC Genet.* 3: 23.
14. Owen R Jones and Jinliang Wang. (2010) COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Mol Ecol Resour.* 10: 551-555.