

平成 21 年 5 月 27 日現在

|  |
|--|
| 研究種目：基盤研究（B）   |
| 研究期間：2006～2008   |
| 課題番号：18380114  |
| 研究課題名（和文） 外来遺伝子侵入のリスク評価と在来資源の保全管理手法の解明：アサリをモデルとして  |
| 研究課題名（英文） Evaluating genetic invasion of exotic species and conservation of native species: a case study of Japanese short-neck clam |
| 研究代表者<br>北田 修一（KITADA SHUICHI）<br>東京海洋大学・海洋科学部・教授<br>研究者番号：10262338  |

研究成果の概要：アサリ、マダイ、ニシンの遺伝的変異性を調べ、移植放流が在来集団に及ぼす遺伝的影響を評価した。現在大量に輸入されているのは日本に生息しない *Ruditapes bruguieri* であり、アサリと形態が酷似し遺伝的分化は大きくない。鹿児島湾のマダイでは大量放流によって希少アシルが消失したが、遺伝的影響は軽微かつ湾内にとどまる。ニシンでは種苗放流の遺伝的影響は見られない。また、遺伝的分化と混合率の解析手法とソフトウェアを開発した。

交付額

(金額単位：円)

|         | 直接経費       | 間接経費      | 合計         |
|---------|------------|-----------|------------|
| 2006 年度 | 7,700,000  | 2,310,000 | 10,010,000 |
| 2007 年度 | 3,600,000  | 1,080,000 | 4,680,000  |
| 2008 年度 | 1,800,000  | 540,000   | 2,340,000  |
| 年度      |            |           |            |
| 年度      |            |           |            |
| 総計      | 13,100,000 | 3,930,000 | 17,030,000 |

研究分野：水産資源増殖

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：遺伝的多様性、外来アサリ侵入、栽培漁業、資源管理

## 1. 研究開始当初の背景

研究開始の前年、政府は平成 17 年 6 月に特定外来種による生態系等に係る被害の防止に関する法律（外来生物法）を施行し、特定外来生物に指定された種の輸入、飼育、栽培、保管、運搬を原則禁止するとともに、野外への放逐、植え付けを禁止した。魚類では、オオクチバス、コクチバス、ブルーギル、チャネルキャットフィッシュなどが特定外来生物に指定された。しかし、外来生物法は、在来種と同種の輸入や、国内他地域からの移植については対象としておらず、これらに対するリスク管理は未着手の状態である。

在来種に対する同種の輸入は、特に水産資源で顕著である。タイリクスズギヤカンパチ

の安価な種苗が中国から輸入され、養殖されている。輸入量が最も多い種はアサリである。アサリは、昭和 50 年代には全国で 12 万～15 万トン程度安定して漁獲されていたが、昭和 60 年代以降減少が著しく、平成 10 年以降国内の生産量は 4 万トンを下回っている。この供給不足を補完するため 1980 年代の終りから輸入されるようになり、近年では中国や北朝鮮、韓国から国内生産を上回る年間約 5 万トンが輸入されている。アサリの場合、一般の消費に加え、潮干狩りや漁業資源増殖を目的として沿岸各地に放流されており、在来集団に与える生態的・遺伝的影響が懸念される。

アサリの遺伝的変異性については、日本のいくつかの地域集団のアロザイム変異が調

査されているが、海外のアサリについては不明である。このような同種の野外への移植放流の遺伝的影響は、いわゆる栽培漁業や養殖でも懸念されている。このような在来集団と異なる遺伝的特性を持つ個体の移植や放流が在来集団に及ぼす遺伝的影響については、殆んど知られていない。これらのリスク評価については、理論的可能性を述べるに止まっているかあるいはシミュレーション研究に終始しており、現実のデータに基づく実証的研究はほとんど例がなく、保全生物学の核心にあたる遺伝資源の保存育成に必要な理論基盤が既に整備されたとは言い難い。外来種侵入や栽培漁業のリスクを適切に評価するためには、実測データと理論を統合させた遺伝的影響評価と保全管理手法の開発が急務と考えられた。

そこで、本研究では、資源増殖学、増殖生態学、数理統計学、集団遺伝学などを主たる研究領域とする研究者が協力して、データの収集から解析手法の開発まで一貫して行うことにより、外来遺伝子（在来と異なるという意味において）の侵入が在来集団に及ぼす影響を適切に評価し、在来集団の保全方策を解明することを目指すこととした。

## 2. 研究の目的

(1) 外来種侵入のモデル魚種としてアサリを取り上げ、輸入アサリの日本沿岸への遺伝子侵入の有無と程度を明らかにする。

(2) 栽培漁業については、長期にわたる大量放流が行われているマダイとニシンを事例として、天然資源に対する遺伝的影響を比較解析し、その実態を解明する。

(3) 上の影響評価で必要となる集団間の遺伝的分化および混合率の推定手法を見直し、精度のよい推定方法を開発する。

## 3. 研究の方法

(1) 輸出国である中国、北朝鮮、韓国のほか、輸入種苗を受け入れ各地へ移植している熊本県有明海などからアサリのサンプルを取得した。比較対象として日本国内のいくつかの地域集団からもサンプリングを行った。これらをアイソザイムおよび高感度遺伝子マーカーで分析し、多様性および遺伝子侵入の可能性を評価した。

(2) マダイでは、鹿児島湾とその周辺、ニシンについては、北海道と本州太平洋側の数か所から取得したサンプルを高感度遺伝子マーカーで分析し、多様性および在来資源に対する種苗放流の遺伝的影響を様々な解析法とシミュレーションを用いて評価した。また、放流魚の回収率の経年変化と漁獲統計資料により、天然資源のフィットネス低下の可能性を検討した。

(3) 連続的な無限個の分集団からなるメタ

集団を想定し、それぞれの分集団の対立遺伝子頻度がディリクレ分布に従って分化しているモデルを考えた。まず、ランダムに抽出された分集団の標本対立遺伝子頻度からディリクレ分布に関する超パラメータを遺伝子座毎に推定し、次に、この超パラメータの推定値と標本遺伝子頻度を用いて遺伝子頻度の事後分布を計算機で生成する。これに基づいて個々の集団間の  $F_{st}$  の事後分布を推定した。また、 $F_{st}$  のゲノム内分布を推定する方法を提案し、進化のゲノム内分布について考察した。

## 4. 研究成果

(1) アサリについては、中国 3、韓国 1、北朝鮮 3 および国内 8 の合計 15 か所から得た標本について、それぞれ 92 から 105 個体のアイソザイム変異を 8 遺伝子座で調べた。各標本の平均アレル数は 4.50-6.75、平均ヘテロ接合体率は 0.267-0.342 で多様性は高くない。本研究で開発した経験ベイズ法で推定した集団全体の遺伝的分化すなわち global  $F_{st}$  は  $0.0446 \pm 0.0059$  であった。ペアワイズ  $F_{st}$  のベイズ推定値に基づくデンドログラムは、2 つの大きなクラスターを形成した (図 1)。これをまたぐ集団間のペアワイズ  $F_{st}$  の値が 0.1 程度あったことから別種である可能性が考えられたため、これを形態学者の協力を得て外部形態による分類に従って分けたところと、2 つの大きなクラスターはアサリ *Ruditapes philippinarum* と *R. bruguieri* に分かれていることが判明した。*R. bruguieri* はアサリと外部形態が酷似するため、同種と考えていたが、日本には生息しない外来種であることから、ここでは中国アサリと仮称する。なお、中国や北朝鮮にも *R. philippinarum* は生息しているが (図 1 の元山、金州)、近年大量に輸入されているのは *R. bruguieri* である。

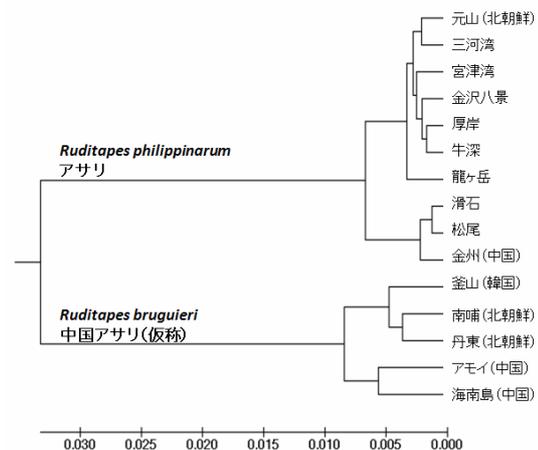


図 1 ペアワイズ  $F_{st}$  のベイズ推定値によるアサリの集団構造 (Vargas *et al.* 投稿中)

有明海の標本と同年に採取した北朝鮮南哨の中国アサリの混合率をアレル頻度データから推定した。滑石での混合率は0 [0, 0.0619]、松尾では0 [0, 0.0274]と推定され、中国アサリの遺伝子侵入はアイソザイムレベルで見ると、起きていないことが示唆された。

このことを確認するため、本研究着手翌年に関与されたマイクロサテライトマーカー (Yasuda *et al.* 2007) による遺伝子型分析 (9 集団、871 個体) およびミトコンドリア DNACOI 領域のダイレクトシーケンシング (同標本、511 個体) を行い、集団構造や遺伝子侵入についてさらに解析を進めている (投稿準備中)。

(2) 鹿児島湾奥、湾央、東シナ海、志布志湾で漁獲されたマダイ天然魚 368 尾と湾内で漁獲された放流魚 42 尾について、マイクロサテライト 3 遺伝子座で遺伝子型を決定した。ニシンについては、北海道厚岸湖、湧洞沼、噴火湾、青森県尾駮沼、岩手県宮古湾、宮城県松島湾で漁獲された成熟した天然魚 1871 尾と厚岸および宮古湾で漁獲された成熟した放流魚 184 尾を分析し、マイクロサテライト 5 遺伝子座における遺伝子型を決定した。

マダイでは希少アレルの消失によってアレル数が放流魚と湾奥天然魚で少なくなりアレル頻度も他の天然魚集団とは異なっていることが判った。同じ親魚を継続使用するシナリオでのシミュレーションにより、湾奥で見られた希少アレルの顕著な消失は、これまでの 30 年以上にわたる親魚継続使用による 2,000 万尾以上の人工種苗放流によって起きたものであることが強く示唆された。

希少アレルの消失は本州のニシンでも見られた。しかし、厚岸および宮古の放流強度のもとで毎年親魚を交換する場合のシミュレーションでは、希少アレルの消失確率はほぼ 0 であった。このことから、本州でのアレル数減少は種苗放流に起因しないことが示唆された。北海道に比べて本州の集団のアレル数が少なくヘテロ接合体率が小さいのは、本州がニシンの分布の南限にあるため個体群が縮小していることによると結論した。

鹿児島湾奥で観測されたマダイの大量放流による遺伝的影響を  $F_{st}$  で評価したところ、その程度は極めて小さくかつ湾内に留まっていることが明らかになった。図 2 の A と B では縦軸 ( $F_{st}$ ) のスケールを揃えてある。鹿児島湾奥での遺伝的影響は小さく、環境変化や漁獲の選択圧によって形成されたニシンの遺伝的分化より圧倒的に小さいことがわかった。このことは、遺伝的多様性に及ぼす種苗放流の影響のリスクは、乱獲よりも小さい可能性を示唆している。

マダイの放流魚については生残率の低下

が示唆されたが、天然資源のフィットネス低下の兆候はみられなかった。一方、毎年天然魚を親魚として用いているニシンの種苗放流では、20 年にわたる大量放流にもかかわらず、遺伝的多様性およびフィットネスの両者について遺伝的影響は検出されなかった。マダイ、ニシンとも、メタ集団構造と分集団間の大きな遺伝子流動が、放流の遺伝的影響を緩和し、天然集団の頑健性が保持されていると考えられた。

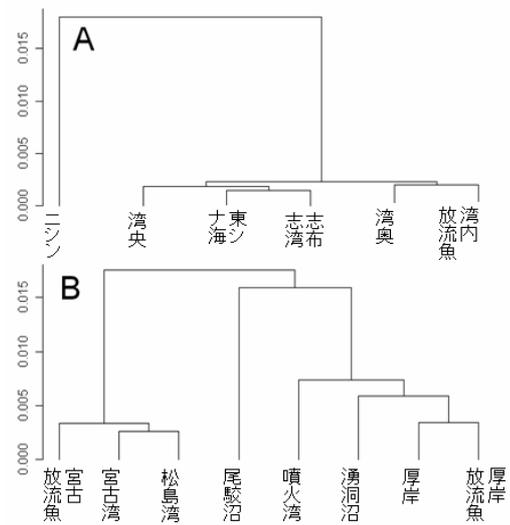


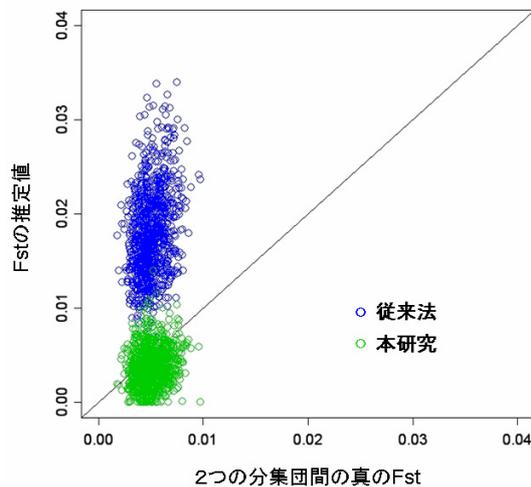
図 2 ペアワイズ  $F_{st}$  のベイズ推定値に基づくマダイとニシンの集団構造

(3) 様々な条件下で、本方法のパフォーマンスをシミュレーションにより評価した。一例として、集団全体の遺伝的分化が小さいとき ( $globalF_{st}=0.01$ )、5 つの場所からサンプリングした各 20 個体の遺伝子を分析した場合で、従来法と本研究の推定精度を比較した結果を示す (図 3)。従来法の推定値は真の値から大きく上に外れるのに比べ、本方法は精度を飛躍的に改善し、真の値をほぼ偏りなく推定できることがわかる。これ以外の様々な遺伝的分化の大きさやサンプリング条件でも、本方法が勝れていることを確認したが、特に、水産生物や鳥類のように遺伝的分化が小さい種で推定精度の向上効果が大きいことが特筆される。また、対立遺伝子頻度がディクレ分布から外れる場合にも頑健であることがシミュレーションによって確認された。

この方法を太平洋ニシンのマイクロサテライトデータに適用し、実際にも有用であることを示しました。  $F_{st}$  の事後分布を求めることで推定精度が評価でき、個々の集団間の遺伝的差異の確率評価が可能になった。太平洋ニシンの推定結果とヒトの全ゲノムデータの解析結果を併せて検討したところ、現在

ヒトの全ゲノム解析から提唱されている「Fstはゲノム内の変異サイト毎に異なっている」との仮説は支持されなかったが、「進化圧はゲノム内の5Mwindows間では一定ではないらしい」ことが示唆された。

図3 ペアワイズFstのベイズ推定値と従来



法での推定効率の比較

(4) 本研究で開発したFstの推定法および基準群の対立遺伝子頻度の不確実性を考慮した混合率の推定法について、ユーザーフレンドリーなGUI (Graphical User Interface) を備えたソフトウェアを開発した。現在、インターネットでウェブ上から自由にダウンロードできるようサイトを準備中であり、2009年夏には運用開始の見込みである ([http://www2.kaiyodai.ac.jp/~kitada/index\\_kitada.html](http://www2.kaiyodai.ac.jp/~kitada/index_kitada.html))。これらのソフトウェアにより、簡単に遺伝的分化や混合率が精度よく推定できるようになり、水産資源の増殖や管理、あるいは絶滅危惧種の保護増殖、さらに、ヒトを含む様々な生物の集団遺伝や進化の研究に貢献できることが期待される。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

- ① Kitada S., H. Shishidou, T. Sugaya, T. Kitakado, K. Hamasaki, H. Kishino (2009) Genetic effects of the long-term stock enhancement programs. *Aquaculture* 290, 69-79. 査読あり
- ② Vargas, K. Y. Asakura, M. Ikeda, N. Taniguchi Y. Obata, K. Hamasaki, K. Tsuchiya and S. Kitada (2008)

Allozyme variation of the littleneck clam *Ruditapes philippinarum* and genetic mixture analysis of foreign clams in Ariake and Shiranui Seas, Kyushu Island, Japan. *Fisheries Science* 73, 533-543. 査読あり

- ③ Sugaya, T., M. Sato, E. Yokoyama, Y. Nemoto, T. Fujita, H. Okouchi, K. Hamasaki, and S. Kitada (2008) Population genetic structure and variability of Pacific herring, *Clupea pallasii*, in the stocking area along the Pacific coast of northern Japan. *Fisheries Science* 74, 579-588. 査読あり
- ④ 根本雄太, 菅谷琢磨, 大河内裕之, 北門利英, 浜崎活幸, 北田修一 (2008) マイクロサテライト DNA 変異から推定した日本沿岸における太平洋ニシンの集団構造. *水産育種* 37, 51-59. 査読あり
- ⑤ 北田修一, 北門利英, 岸野洋久 (2008) 集団間の遺伝的分化の経験ベイズ推定. *水産育種* 38, 41-50. 査読あり
- ⑥ 宍道弘敏, 北田修一, 坂本崇 浜崎活幸 (2008) マイクロサテライト DNA による鹿児島湾のマダイ天然魚と放流魚の遺伝的変異性の評価. *日本水産学会誌* 74, 183-188. 査読あり
- ⑦ Kitada, S., T. Kitakado and H. Kishino (2007) Empirical Bayes inference of pairwise FST and its distribution in the genome. *Genetics* 177, 861-873. 査読あり
- ⑧ Kitakado, T., S. Kitada, Y. Obata and H. Kishino (2006) Simultaneous estimation of mixing rates and genetic drift under a successive sampling of genetic markers with application to mud crab (*Scylla paramamosain*) in Japan. *Genetics* 2006 173, 2063-2072. 査読あり
- ⑨ Kitakado, T., S. Kitada, H. Kishino and H. J. Skaug (2006) An integrated-likelihood method for estimating genetic differentiation between populations. *Genetics* 2006 173, 2073-2082. 査読あり

[学会発表] (計15件)

- ① Kitada, S., Y. Miyakoshi, K. Hamasaki, T. Kitakado and H. Kishino (2008) Does Captive Breeding Cause Fitness Decline in Wild Populations? : Case Studies from Japan. 5th World

- Fisheries Congress, Oct. 24, 2008, Yokohama.
- ② 北門利英, 北田修一, 岸野洋久 (2008) 水産資源の集団構造解析に対する統計遺伝学のアプローチ. 科研費シンポジウム「高度情報抽出のための統計理論・方法論とその応用」, 2008年11月21日, 九州大学.
  - ③ 北田修一, 北門利英, 岸野洋久 (2007) 集団間の遺伝的分化の経験ベイズ推定. 第7回水産育種研究会シンポジウム, 水産育種研究の最前線, 2007年11月26日, 東京海洋大学.
  - ④ 北田修一 (2007) 種苗放流の遺伝的影響, 日本水産増殖学会第6回大会サテライトシンポジウム—生態系をベースとした水産資源の増殖. 2007年7月19日, 東京海洋大学大講義室.
  - ⑤ 北田修一 (2007) 海洋生物の集団構造と資源増殖の遺伝的モニタリング, アグリバイオインフォマティクス第3回シンポジウム—バイオインフォマティクスを利用したアグリバイオの新たな展開. 2007年3月19日, 東京大学弥生講堂.
  - ⑥ 北田修一, 北門利英, 岸野洋久 (2007) 遺伝子座に依存する集団構造の頑健推定. 平成18年度日本水産学会春季大会講演要旨集
  - ⑦ 北門利英, 北田修一, 岸野洋久 (2007) 積分尤度を利用した集団間の遺伝的差異の推定. 平成18年度日本水産学会春季大会講演要旨集
  - ⑧ Kitada, S., H. Shishidou, T. Kitakado and H. Kishino (2006) Genetic effects of hatchery releases on wild populations: case studies of marine fish. Third International Symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching, Seattle, USA.
  - ⑨ Kitakado, T., H. Kishino and S. Kitada (2006) Simultaneous estimation of mixing proportions of released populations and genetic drift based on individual genotypes. Third International Symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching, Seattle, USA.
  - ⑩ 北門利英, 北田修一, 岸野洋久, 小畑泰弘 (2006) 個別別遺伝子型情報の継時サンプリングによる混合率と遺伝的浮動の同時推定. 計量生物学会, 2006年9月7日, 東北大学.
  - ⑪ 北田修一 (2006) 遺伝的集団構造の推測: 仮説検定を超えて. 平成18年度日本水産学会大会講演要旨集, p. 125.
  - ⑫ 北門利英, 北田修一, 岸野洋久, 小畑

泰弘 (2006) 遺伝標識の継時サンプリングに基づく混合率と遺伝的浮動の同時推定. 平成18年度日本水産学会大会講演要旨集, p. 125.

- ⑬ Vargas, K., M. Ikeda, M. Toba, K. Hamasaki, N. Taniguchi, S. Kitada. (2006) Genetic differentiation among asari populations in China, North Korea and Japan. 平成18年度日本水産学会大会講演要旨集, p. 124.
- ⑭ 北田修一 (2006) 栽培漁業の現状と課題. 東京大学海洋研究所共同利用シンポジウム, 浅海資源の管理と増殖の現状と課題, 2006年12月7-8日, 東京大学海洋研究所.
- ⑮ 北田修一 (2006) 水産資源の管理と増殖における統計遺伝. 計量生物学会25周年記念企画セッション「生物統計学の社会的貢献: 四半世紀の経験と今後の展望」2006年9月6日, 東北大学.

[図書] (計 1 件)

- ① 北田修一, 埴山雅秀, 浜崎活幸, 谷口順彦 [編著] (2008) 「水産資源の増殖と保全」成山堂書店, 234pp.

[その他]

ホームページ (研究代表者)

[http://www2.kaiyodai.ac.jp/~kitada/index\\_kitada.html](http://www2.kaiyodai.ac.jp/~kitada/index_kitada.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

北田 修一 (KITADA SHUICHI)  
東京海洋大学・海洋科学部・教授  
研究者番号: 10262338

### (2) 研究分担者

岸野 洋久 (KISHINO HIROHISA)  
東京大学・農学生命科学研究科・教授  
研究者番号: 00141987  
浜崎 活幸 (HAMASAKI KATSUYUKI)  
東京海洋大学・海洋科学部・准教授  
研究者番号: 90377078  
北門 利英 (KITAKADO TOSHIHIDE)  
東京海洋大学・海洋科学部・助教  
研究者番号: 40281000

### (3) 連携研究者

Robin S. Waples  
Senior Scientist, Northwest Fisheries  
Science Center (NWFS), Seattle,  
USA

