

# マナマコ放流用種苗生産指針 (2013年)



北海道立総合研究機構栽培水産試験場  
東北大学大学院農学研究科

## はじめに

近年の中国における需要増大によるマナマコ単価高騰に伴い、種苗放流による資源添加への期待が高まっています。道内各地域においてはアワビ・ウニ等の既存の種苗生産施設或いは漁港の荷捌き所等簡易な施設を利用したマナマコの種苗生産・放流に対する試みが盛んになり、平成 24 年現在、道内では下図に示した 27 機関が種苗生産に取り組んでいます。北海道の「第 6 次栽培漁業基本計画(平成 22 年度～平成 26 年度)、(以下、「基本計画」)」において、マナマコは事業推進種に位置づけられ、種苗放流数量 350 万個体を目標に種苗の生産と放流が推進されています。

一方、平成 4 年に生物多様性保全条約が採択され、放流種苗の親魚集団および放流域の天然集団に関する遺伝的特性の把握を行うことや天然集団の遺伝的多様性保全を行うことを、FAO が勧告しています。国の「水産動物の種苗の生産および放流並びに水産動物の育成に関する基本方針(平成 22 年 12 月)」の中に、生態系や遺伝的多様性に配慮した『責任ある栽培漁業の推進』が明記されています。北海道の「基本計画」においても同様に、生物多様性に配慮した人工種苗生産および放流を実施することが謳われています。

このような背景から、道総研栽培水産試験場では、平成 21 年度から平成 24 年度まで、東北大学大学院農学研究科と共同で「DNA 解析によるマナマコの放流効果推定技術の開発と系群構造の解明」試験を実施し、道産マナマコの遺伝的特徴の把握等を行って来ました。本指針は、その成果品の一つとして作成されたものです。道内におけるマナマコ種苗生産関係の皆様にご利用頂くことで、本道のマナマコ栽培漁業の健全な推進に活用して頂ければ幸いです。

平成 25 年 3 月

道総研 栽培水産試験場  
東北大学大学院農学研究科

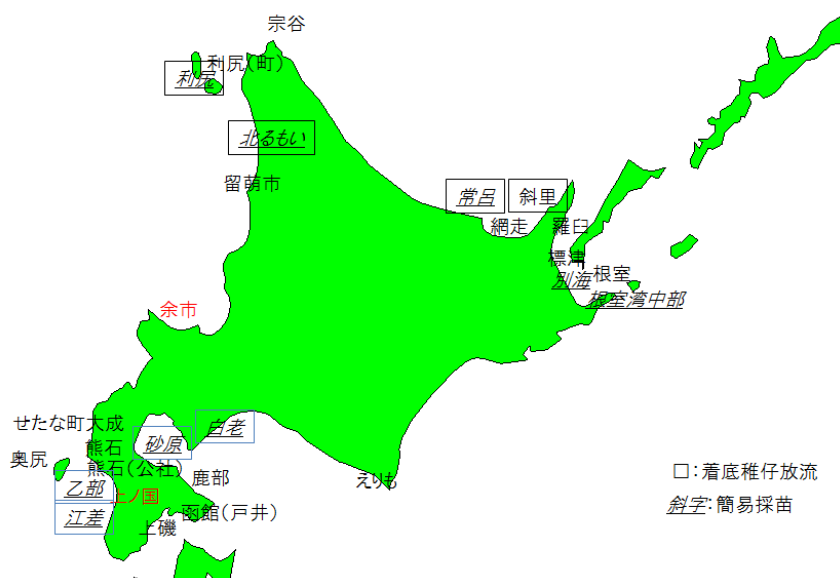


図 北海道内の種苗生産実施機関(H24年度)

## 目次

1. 北海道産マナマコの放流用種苗生産指針	1
2. マナマコ人工種苗の遺伝的多様性について	
① 天然個体の遺伝的多様性	3
② 人工種苗の遺伝的多様性	4
3. 北海道産マナマコの系群構造について	
① ミトコンドリア DNA を用いた集団構造解析	5
② マイクロサテライト DNA を用いた集団構造解析	7
③ 中立的なマーカーで明らかにできない形質と 放流に関わる懸念について	9
4. 放流後のモニタリング	
① マナマコの放流追跡事例	11
② サンプルの確保と遺伝的マーカーの分析条件について	
②-1 標本の摘出・保存	13
②-2 マイクロサテライト DNA 分析条件	14
5. 付録及び文献	16

# 1. 北海道産マナマコの放流用種苗生産指針

人工種苗は天然個体に比べ少ない親から育てるために、遺伝的多様性が低下しやすくなります。人工種苗を放流するに当たり、「遺伝的リスク」ができるだけ小さくなるように、以下の目安を守るように心がけて下さい。

## ① 用いるべき親の数

人工種苗の生産・放流を行う場合は、天然集団の遺伝的多様性を維持し、希少な遺伝子の喪失を防ぐことが重要です。少ない親を用いた種苗生産においては、遺伝的多様性の低下が見られています(3～4 ページ参照)。このために、FAO<sup>1)</sup>の勧告に準じて、**実際に放卵・放精した個体の数で、それぞれ 50 個体以上を目安に**種苗生産を行うように心がけて下さい。

## ② 親の入手先と種苗の放流先

道産マナマコと道外産マナマコとでは、疣足の数異なることが報告されています。また、親ナマコの産卵期や加温育成による成熟促進への応答、ふ化した幼生の浮遊期間などは、道内でも地域により異なります。このことは、国内あるいは道内に複数の系群(独立性の高い地域集団)が存在する可能性を示唆しています。

こうした背景から、集団構造を調べるために用いられる遺伝子マーカー(ミトコンドリア DNA マーカーとマイクロサテライト DNA マーカー)による解析を行った結果では、道内に明確な系群は認められませんでした(5～8 ページ参照)。

ただし、このことは北海道のマナマコについて、遺伝的な資源管理は必要でないということを示すものではありません。

現在解析に用いられている遺伝子マーカー(中立的遺伝子マーカー)では、資源管理上重要な産卵期、幼生の浮遊期間、疣足の数などの違いが、明らかにできないためです(9~10 ページ参照)。

そこで、現時点では、種苗放流による「天然集団の遺伝的攪乱」等のリスクを回避するために、放流地先から入手した親を用いて種苗を生産するよう心がけて下さい。また、周辺海域の個体を用いざるを得ない場合は、親の入手先と放流先の地理的な距離の他、海流も考慮するようにして下さい(10 ページ参照)。

### ③ 放流後のモニタリング

種苗放流による遺伝的リスクを低減する上で、放流種苗の動態を把握することは非常に重要です。外部標識の困難なマナマコの放流種苗を追跡する上で、マイクロサテライト DNA マーカーを用いた親子鑑定は、非常に有効な方法です(11~12 ページ参照)。さらにこの親子鑑定の技術は、回収率を調べ種苗放流という「投資」の効果を確認する手段にも利用できます。

現時点で、この方法には大きなコストと労力が必要ですが、この分野は日進月歩で、コストも作業量も年々低下しています。

今後こうした調査を予定する地域では、あらかじめ放流前の天然個体、放流する種苗の親と放流種苗の触手をアルコールに固定しておくといでしょう。

こうした標本は半永久的に保存できますので、将来、調査が必要になったときに役立ちます(13~16 ページ参照)。

## 2. マナマコ人工種苗の遺伝的多様性について

### ① 天然個体の遺伝的多様性

道内の15地点で採取した天然個体について、マナマコのマイクロサテライトDNA(msDNA)のうち、8マイクロ座のアリル型(遺伝子型)を基に、多様性の指標となる平均ヘテロ接合体率と平均アリル数を比べました。

msDNAによる遺伝的な違いを見ると、多様性の目安となる平均ヘテロ接合体率の観察値は0.473~0.572(期待値では0.542~0.591)、平均アリル数は6.9~8.0であり、各地域とも同程度の遺伝的変異性を示しました(図1)。サンプル数の影響を考慮したアリルリッチネスは、7.0~8.3でした。

これらはすでに報告されている石川県・富山県の事例(Soliman, T. *et al.*, 2012)<sup>2)</sup>や大分県、宮城県、青森県の事例(Kanno, M. *et al.*, 2006)<sup>3)</sup>と同様に高いものでした(表1)。

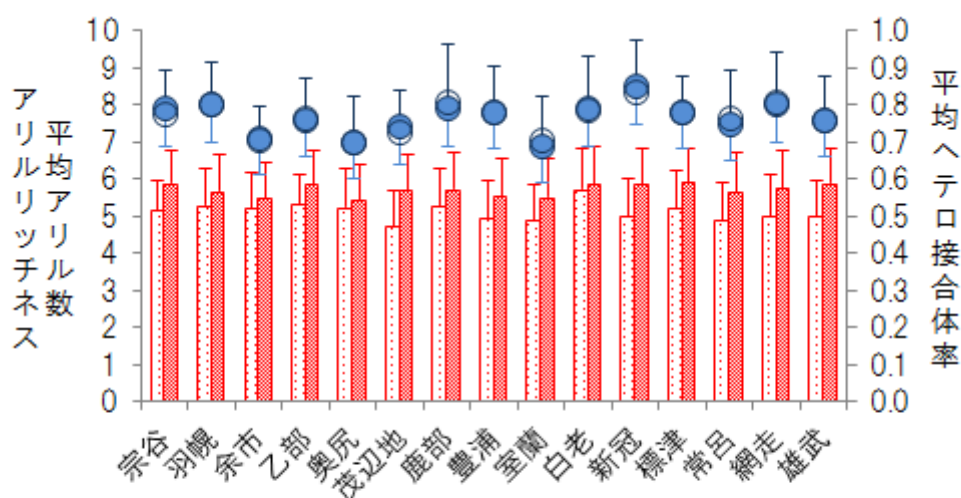


図1 道内15集団間の平均アリル数、アリルリッチネスおよびヘテロ接合体率の観察値(Ho)と期待値(He)

□Ho ■He ●平均アリル数 ○アリルリッチネス

表1 マナマコの多様性に関する他の事例との比較(8マイクロ座の比較)

他の報告事例	平均ヘテロ接合体率		平均対立遺伝子頻度
	観察値	理論値	
今回の道内の調査結果	0.473-0.572	0.542-0.591	6.9-8.5
石川県・富山県の事例 <sup>2)</sup>	0.355-0.422	0.532-0.557	7.62-7.87
大分、宮城、青森での事例 <sup>3)</sup>	0.456-0.515	0.551-0.610	8.5-12.0

2): Soliman, T. *et al.* (2012)より

3): Kanno, M. *et al.* (2006)より



## ② 人工種苗の遺伝的多様性

豊浦の天然海域で採取した♀7 個体♂13 個体から、栽培水試で生産した人工種苗(A)の平均ヘテロ接合体率は、天然個体と同等の高い値を示しました。一方、平均アレル数は、親の平均アレル数を反映して、明らかに低下していました(図 2)。

同様に♀7 個体♂5 個体から生産した人工種苗(B)の結果を図 3 に示しました。人工種苗(B)は、図 2 に示した人工種苗(A)よりも用いた♂の数が 8 個体少なかったことが影響して、平均アレル数が大幅に少なくなっています。

さらに、道内の某施設で♀10 個体♂10 個体から生産した人工種苗 1 回生ならびに♀12 個体、♂10 個体から生産した人工種苗 2 回生の平均アレル数と平均ヘテロ接合体率を図 4 に示しました。この場合、親のアレル型を把握していませんが、親を入手した海域での天然個体に比べ、やはり平均アレル数が明らかに少なくなっています。また、用いた親の数が多いい 2 回生の方が、1 回生に比べ平均アレル数は多くなっています。

天然集団の遺伝的な多様性を維持し、希少アレル(対立遺伝子)を失うリスクを回避するためには、天然個体の多様性を反映できるように、できるだけ多くの天然個体を親ナマコとして用いることが重要であることが確認できました。

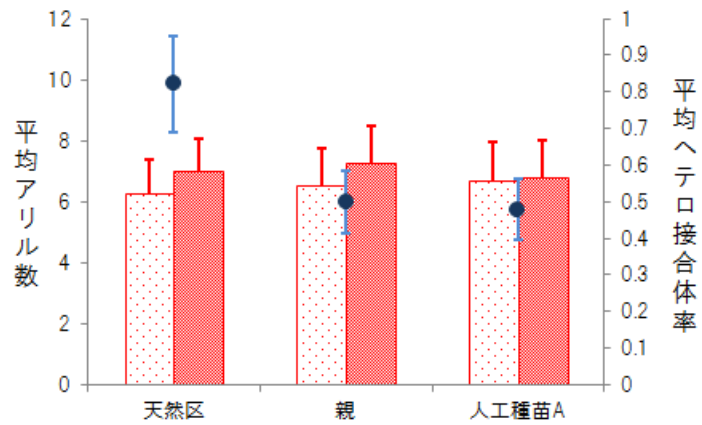


図2 天然個体と放流種苗の平均アレル数と平均ヘテロ接合体率の観察値(Ho)と期待値(He)

□Ho ■He ●平均アレル数

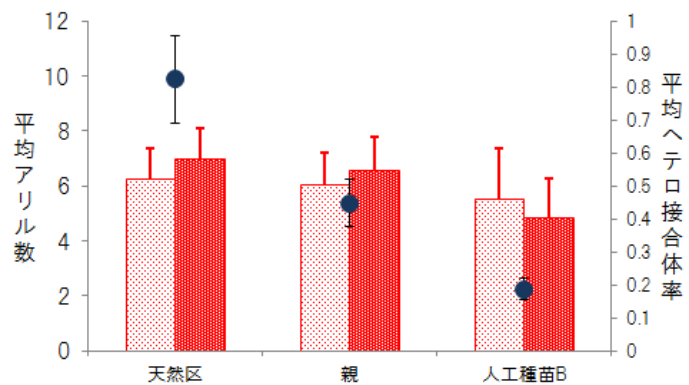


図3 天然個体と放流種苗の平均アレル数と平均ヘテロ接合体率の観察値(Ho)と理論値(He)

□Ho ■He ●平均アレル数

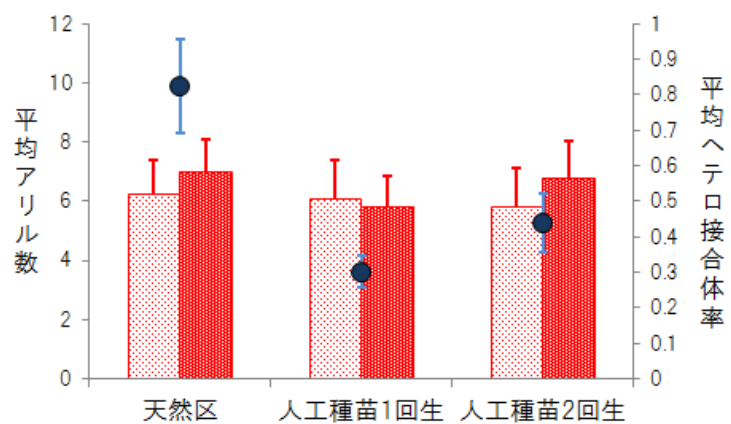


図4 某種苗生産施設で生産された種苗の平均アレル数と平均ヘテロ接合体率の観察値(Ho)と理論値(He)

□Ho ■He ●平均アレル数

### 3. 北海道産マナマコの系群構造について

マナマコのミトコンドリア DNA(mtDNA)と msDNA 分析により道内のそれぞれ 12 地点及び 15 地点(図 5)のマナマコの遺伝的特性を調べました。

#### ① mtDNA を用いた集団構造解析

今後道内で種苗生産と放流が活発に実施される可能性がある 12 地区(図 5)で入手したマナマコの天然個体の触手又は縦走筋から DNA を抽出して、mtDNA の 16SrRNA 領域および COI 領域の 866kbp の塩基配列を調べ、ハプロタイプ多様度、塩基多様度ならびに遺伝的分化の指標である  $F_{ST}$  値を算出しました。

#### <結果及び考察>

調べた 291 個体に 126 のハプロタイプが確認できました(付表 2-1、付表 2-2)。

調査した 12 地区のサンプルのハプロタイプ多様度は 0.906 以上と高く、塩基配列だけでも 90.6%の個体を識別できるほどでした。また塩基多様度は 0.0040~0.0055 で、地域間に顕著な違いは認められませんでした(表 2)。なお、塩基多様度は、分化した集団がいると高くなるため、多くの地域を比べる場合、地域間に差があるかどうかの指標となります。

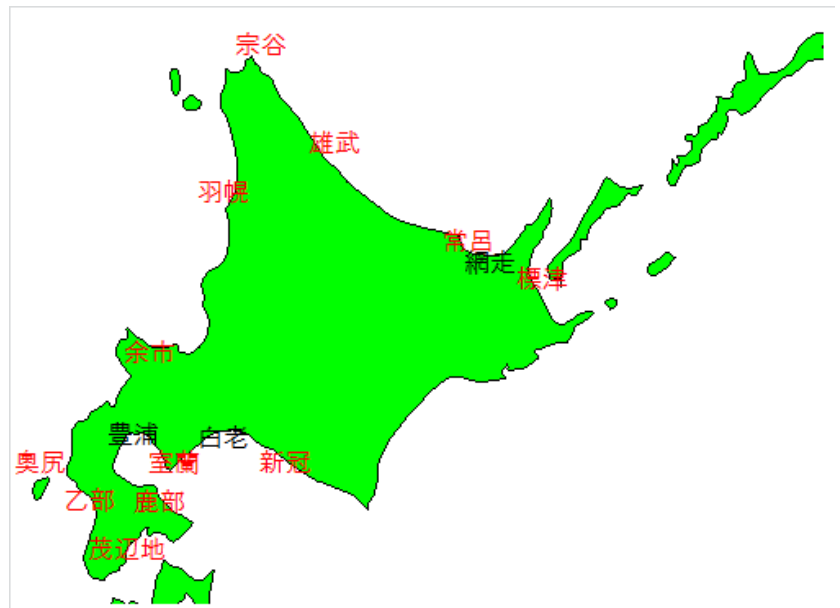


図5 mtDNA(赤字)とmsDNA(赤字と黒字)分析に用いた個体の採取場所

調べた 12 標本集団全体の  $F_{ST}$  値(Global  $F_{ST}$  値)は -0.0041( $P=0.73021$ )とほぼ 0 に近い値を示し、遺伝的にほぼ均一である(差がない)と考えられました。

また各集団間で比較したペアワイズ  $F_{ST}$  値においても、余市-奥尻間および余市-室蘭間でそれぞれ 0.0572、0.0485 と有意な値でしたが、その他の地域間では差は認められませんでした(表 3)。

本道全体の Global  $F_{ST}$  値がほぼ 0 であったことと、有意差が出た地点とその他の地域との間に地理的な距離の影響が認められないことから、道内には mtDNA で判別できる系群は確認できませんでした。

なお、 $F_{ST}$  値の 0.0572 という数値は、分析したサンプルに観察された変異のうち、5.72%が地域間(100 - 5.72 = 94.28%が同一地域内)で観察されたことを示します。

表2 mtDNA 16SrRNA-COI領域のシーケンス分析によるマナマコ12集団の遺伝的変異性

	ハプロタイプ多様度	塩基多様度
宗谷	0.963	0.0041
羽幌	0.966	0.0040
余市	0.949	0.0050
乙部	0.906	0.0040
奥尻	0.980	0.0044
茂辺地	0.967	0.0055
室蘭	0.960	0.0045
白老	0.961	0.0043
新冠	0.984	0.0047
標津	0.988	0.0051
常呂	0.980	0.0055
雄武	0.976	0.0054



表3 mtDNA 16SrRNA-CO1領域のシークエンス分析によるマナマコ12集団間のペアワイズ $F_{ST}$ 値(下段)と $P$ 値(上段)

	宗谷	羽幌	余市	乙部	奥尻	茂辺地	室蘭	白老	新冠	標津	常呂	雄武
宗谷	(30)	0.604	0.099	0.838	0.730	0.450	0.874	0.342	0.748	0.550	0.766	0.856
羽幌	-	(30)	0.144	0.198	0.514	0.108	0.423	0.135	0.486	0.234	0.234	0.568
余市	0.0243	0.0253	(13)	0.072	<b>0.036</b>	0.198	<b>0.045</b>	0.126	0.099	0.351	0.324	0.703
乙部	-0.0140	0.0115	0.0371	-	0.387	0.622	0.802	0.802	0.928	0.847	0.847	0.856
奥尻	-0.0118	-0.0032	<b>0.0572</b>	0.0028	-	0.252	0.928	0.144	0.541	0.171	0.523	0.342
茂辺地	-0.0032	0.0211	0.0115	-0.0100	0.0087	-	0.333	0.604	0.351	0.730	0.901	0.748
室蘭	-0.0168	-0.0021	<b>0.0485</b>	-0.0149	-0.0165	0.0038	-	0.279	0.964	0.468	0.622	0.640
白老	0.0029	0.0253	0.0319	-0.0179	0.0154	-0.0112	0.0102	-	0.532	0.775	0.658	0.676
新冠	-0.0166	-0.0045	0.0268	-0.0237	-0.0067	0.0017	-0.0227	-0.0086	-	0.721	0.622	0.874
標津	-0.0063	0.0073	0.0000	-0.0188	0.0085	-0.0151	-0.0035	-0.0171	-0.0174	-	0.766	0.964
常呂	-0.0145	0.0044	0.0076	-0.0159	-0.0029	-0.0261	-0.0052	-0.0141	-0.0123	-0.0143	-	0.838
雄武	-0.0159	-0.0066	-0.0168	-0.0179	-0.0015	-0.0159	-0.0092	-0.0134	-0.0217	-0.0239	-0.0200	-

赤字:  $P < 0.05$

( )は調査個体数

## ② msDNA を用いた集団構造解析

mtDNA 解析を行った 12 地区に 3 地区を加えた道内 15 地区(図 5)で採取した天然マナマコの、触手又は縦走筋から DNA を抽出して、8 マイクロ座のアリル型(遺伝子型)をもとに、産地間の集団構造を検討しました。

### <結果と考察>

8 マイクロ座を用いた、15 標本集団における Global  $F_{ST}$  値(AMOVA 分析による標本集団全体での  $F_{ST}$  値)は 0.00209( $P=0.13196$ )と低く、調べた標本集団の中には、msDNA で明確に分けられる集団は認められませんでした。

集団間でのアリル頻度の差の検定(population differentiation test)を行ったところ、室蘭と乙部で他地域に比べ低い  $P$  値( $P=0.0595$ )を示したものの、有意な値ではなく、いずれの地域間でも明確な違いは認められませんでした(表 4)。

続いてペアワイズ  $F_{ST}$  値をみると、有意水準 5%で宗谷と羽幌、奥尻、鹿部、新冠、雄武、網走間、余市と奥尻、鹿部、豊浦、白老、網走間、さらに奥尻と乙部、鹿部、豊浦間、鹿部と豊浦、白老間、ならびに白老と雄武間で有意差が認められました(表 5)。ただし、地理的距離や海域による違いなどを反映したものではありませんでした。

ペアワイズ  $F_{ST}$  値を今回のように多群間で比較すると、差が出やすい傾向があること、さらにアリル頻度に地域間の差がなかったことを考えると、msDNA で明確に分離できる系群はないと考えられました。

表4 msDNA 8座によるマナマコ15集団間のアリル頻度の差の検定(P値)

	宗谷	羽幌	余市	乙部	奥尻	茂辺地	鹿部	豊浦	室蘭	白老	新冠	標津	常呂	網走	雄武
宗谷	-														
羽幌	1.0000	-													
余市	1.0000	1.0000	-												
乙部	0.5051	0.4869	0.4959	-											
奥尻	1.0000	1.0000	1.0000	0.5036	-										
茂辺地	1.0000	1.0000	1.0000	0.4932	1.0000	-									
鹿部	1.0000	1.0000	1.0000	0.5104	1.0000	1.0000	-								
豊浦	1.0000	1.0000	1.0000	0.4730	1.0000	1.0000	1.0000	-							
室蘭	0.1140	0.1109	0.1219	0.0595	0.1215	0.1438	0.1255	0.1227	-						
白老	1.0000	1.0000	1.0000	0.4782	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1207	-					
新冠	1.0000	1.0000	1.0000	0.5301	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1303	1.0000	-				
標津	1.0000	1.0000	1.0000	0.4766	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1264	1.0000	1.0000	-			
常呂	1.0000	1.0000	1.0000	0.4906	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1360	1.0000	1.0000	1.0000	-		
網走	1.0000	1.0000	1.0000	0.4726	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1325	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	-	
雄武	1.0000	1.0000	1.0000	0.5022	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1032	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	-

全体のP値 = 0.7688

調査個体数はすべて46

表5 msDNA 8座によるマナマコ15集団間のペアワイズF<sub>ST</sub>値(下段)とP値(上段)

	宗谷	羽幌	余市	乙部	奥尻	茂辺地	鹿部	豊浦	室蘭	白老	新冠	標津	常呂	網走	雄武
宗谷	-														
羽幌	<u>0.0074</u>	-													
余市	0.0053	0.0031	-												
乙部	-0.0013	0.0002	0.0049	-											
奥尻	<u>0.0131</u>	-0.0016	<u>0.0098</u>	<u>0.0069</u>	-										
茂辺地	0.0046	0.0007	0.0042	-0.0010	0.0055	-0.0030	-								
鹿部	<u>0.0118</u>	-0.0007	<u>0.0079</u>	0.0039	<u>0.0070</u>	0.0000	<u>0.0050</u>	-							
豊浦	0.0039	0.0025	<u>0.0082</u>	0.0014	<u>0.0070</u>	0.0000	0.0012	0.0036	-						
室蘭	0.0023	-0.0030	0.0047	-0.0021	0.0029	-0.0015	0.0012	0.0030	0.0006	-					
白老	0.0041	-0.0007	<u>0.0071</u>	0.0041	0.0050	0.0007	<u>0.0091</u>	-0.0030	0.0006	0.559	-				
新冠	<u>0.0081</u>	-0.0037	0.0073	0.0033	0.0003	-0.0030	-0.0004	-0.0003	-0.0024	-0.0021	-0.0004	-			
標津	-0.0015	-0.0029	0.0046	0.0004	0.0010	0.0016	0.0061	-0.0003	-0.0016	-0.0016	-0.0006	-0.0006	-		
常呂	0.0040	-0.0016	0.0064	0.0009	0.0035	-0.0044	0.0012	0.0004	-0.0024	0.0005	-0.0004	-0.0015	-		
網走	<u>0.0123</u>	-0.0027	<u>0.0085</u>	0.0030	0.0043	-0.0019	-0.0027	0.0051	-0.0032	0.0019	-0.0060	0.0052	0.0026	-	
雄武	<u>0.0073</u>	0.0020	0.0072	0.0020	0.0049	-0.0034	-0.0013	0.0038	-0.0022	<u>0.0066</u>	-0.0002	0.0016	-0.0045	0.0009	-

調査個体数はすべて46

赤字: P < 0.05

### ③ 中立的なマーカーで明らかにできない形質と放流に関わる懸念について

中立的なマーカーである mtDNA および msDNA を用いた系群解析では、道内に明確な地域集団構造(系群)は見いだせませんでした。いずれのマーカーとも、地域間での変異は大きく、地域集団を分離する検出力は十分に高いと考えられます。

東北大学では、マナマコの msDNA<sup>3)</sup>及び mtDNA による解析を本道産マナマコと青森、大分など道外産とで比較検討を行っています(表 6、図 6)。この結果、大分県産のマナマコと雄武、余市、鹿部産のマナマコに差が認められましたが、中国(青島)、韓国(ソウル)、女川(宮城県)、陸奥湾(青森県)のものと道産マナマコには差は認められませんでした。

一方で、松尾ら(2010年)<sup>4)</sup>は、北海道産のマナマコ(宗谷、雄武、室蘭)と青森県産のマナマコの棘の数に差があることを報告しています。大西ら(2010年)<sup>5)</sup>も同様に、北海道、青森、岩手県産の疣足の数が多いことを報告しています。また、小林(2010年)<sup>6)</sup>と大西ら(2010年)<sup>4)</sup>は親の疣足の数が子(種苗)に遺伝する可能性があることを報告しています。

表6 マナマコ各地域間の遺伝的差異 (Pairwise  $F_{ST}$ 値)

	室蘭	雄武	余市	鹿部	陸奥湾	女川	大分	ソウル	青島
室蘭	-								
雄武	-0.009	-							
余市	0.001	0.010	-						
鹿部	0.006	-0.012	-0.001	-					
陸奥湾	-0.007	0.011	0.000	0.029	-				
女川	0.009	0.001	0.009	-0.014	0.017	-			
大分	0.008	<b>0.041</b>	<b>0.047</b>	<b>0.090</b>	0.013	<b>0.070</b>	-		
ソウル	0.005	-0.001	0.008	0.000	0.016	0.001	<b>0.049</b>	-	
青島	-0.012	-0.006	-0.004	0.003	-0.002	0.004	0.025	-0.007	-

赤で示した部分で有意差が認められた( $P < 0.05$ )

$F_{ST}=0$ のとき遺伝的分化はなく、1に近いほど分化が進んでいることを示す値

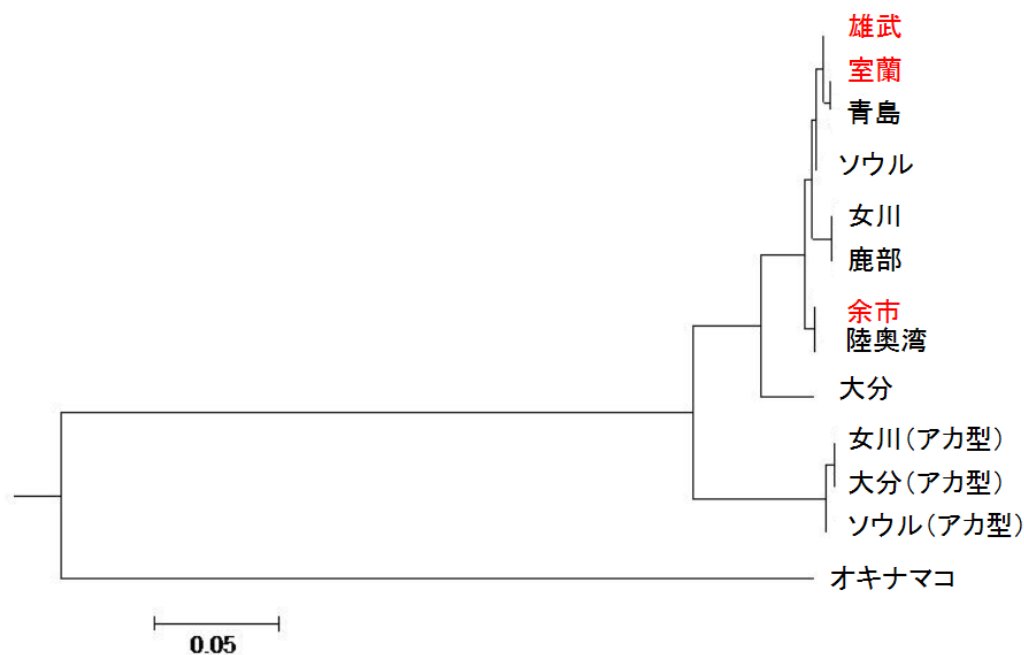


図6. mtDNAシーケンス分析による各地域のマナマコの遺伝的類縁関係 (16SrRNA領域・CO1領域,  $F_{ST}$ 値によるUPGMA樹)

mtDNA の解析結果から違いが認められなかった青森県と北海道産マナマコの間で、疣足の数には差が認められています。このように、遺伝的に中立な DNA マーカーによる解析の結果では差が検出されない場合でも、その他の遺伝形質には差が認められるというケースもあります。

エゾバフンウニの場合、日本海の個体を道東太平洋や噴火湾に移植した場合、移植先の産卵期と異なり、移植元である日本海の産卵期を維持することが報告されています(富田他、1986)<sup>7)</sup>、(吾妻他、1994)<sup>8)</sup>。マナマコでは温度刺激で放卵・放精するため、こうした産卵期のズレが生じた場合、卵や精子が出会うことができず、再生産に深刻な影響を与える心配があります。

道内のマナマコでは、日本海南部の個体と日本海北部、噴火湾の個体で幼生の浮遊期間が異なる傾向が認められます。飼育試験では飽食条件で9日から16日の浮遊期間を持つマナマコですが、18日程度の絶食でも生き残ることが確認できています(酒井、2012)<sup>9)</sup>。この浮遊期間の長さは、分布範囲に影響する可能性がある重要なファクターです。

また、ハタハタの事例では、地理的な距離が近いものの、日本海沿岸流の影響を受ける根室湾産卵群と太平洋の昆布森産卵群では、遺伝的に異なることが報告されています(柳本、2004)<sup>10)</sup>。

後述するように、msDNA を利用して放流効果を推定できるようになったものの、放流した種苗は広く分散してしまい、正確に把握するのはまだまだ時間がかかる模様です。人工種苗放流による「遺伝的リスク」は、主に放流個体が生き残り、再生産に寄与した場合に、より具体的になります。

産卵期や浮遊期などの中立的遺伝子では明らかにできない「量的形質」について、調べるためにはさらに時間がかかるでしょう。

これらの情報を総合すると、マナマコの人工種苗放流を行う場合は、遺伝的なリスクを最小限に食い止めるために、できるだけ地場の親を用いるようにすることが、最も重要と考えられます。その上で、周辺海域の個体を用いざるを得ない場合は、親入手先と放流先の地理的な距離が近く、海流の上流側からの親を用いるのが良いと考えられます。

マナマコの産卵期に当たる6月下旬～8月下旬の本道沿岸の海流は、概ね図7のようになります<sup>11),12)</sup>ので、こうした流れを考慮して親を入手して下さい。

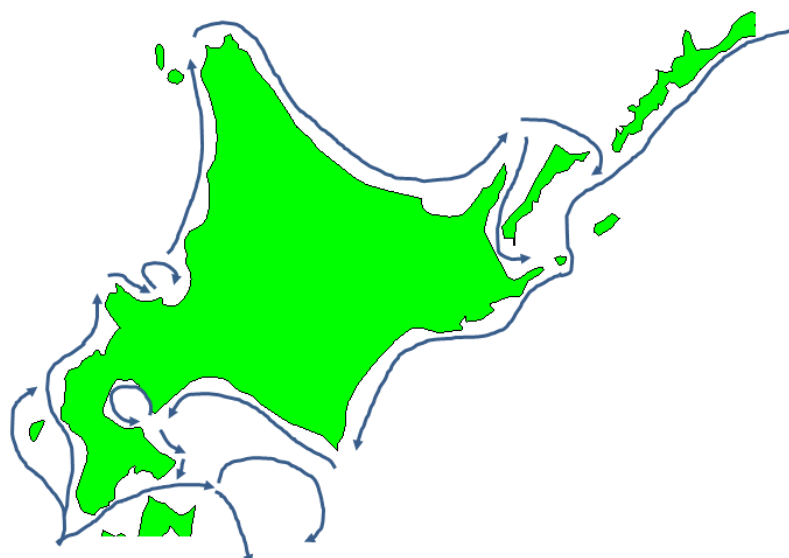


図7 マナマコの産卵期に当たる6月～8月の北海道沿岸流(概略図)

## 4. 放流後のモニタリング

### ① マナマコの放流追跡事例

8つのmsDNAマーカーを用いた親子鑑定を利用して、放流種苗の動態が明らかになってきました。ここでは、栽培水試が実施した小型種苗の放流・追跡調査事例を基に種苗の移動・分散能力を紹介します。

#### <T地先での放流事例>

平均体長8.2mmの種苗3.9万個体を放流した後、4年間継続している追跡調査で、合計11個体の人工種苗を確認できました。これらの人工種苗の確認場所から、以下のようなことが明らかになりました。

- ① 放流種苗は3年目で少なくとも放流地点から140m離れた地点までは移動していました(図7)。  
4年目に放流した離岸堤に最も近い漁場(⑤から東側に連なる岩礁地帯)からの漁獲物100個体を調べたところ2個体の人工種苗が確認されました(混獲率2%)。離岸堤からこの漁場までは少なくとも直線距離にして147m程度砂浜により隔てられていますが、この距離の移動は可能であることが明らかになりました。
- ② 放流から4.2年後に181gまで成長している個体も認められました(図8)。
- ③ 放流した離岸堤周辺での推定残留率は3.9%(推定残留個体数1,390個体)でした(表7)。
- ④ 放流区から3.5km離れた地先で回収した天然個体の遺伝的多様性を放流種苗と比べて付図3に示しました。この結果、平均ヘテロ接合体率はいずれも高かったものの、用いた親の遺伝子を反映して、放流種苗の対立遺伝子数が少なくなっていました。これは、親の選択によって希少アリルが喪失しやすいことを示しています。



図8 放流種苗の追跡調査位置(上)と回収場所

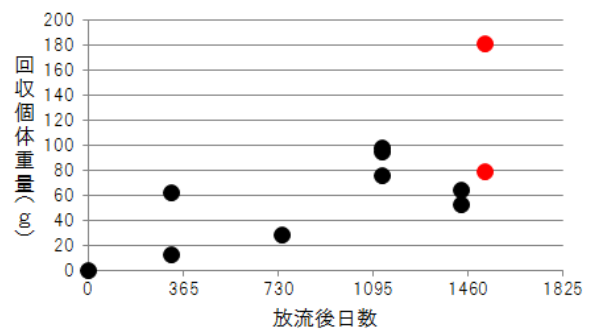


図9 人工種苗の成長

●:潜水回収個体 ●:漁獲物調査



⑤ 放流種苗が生殖に参加する  
50g以上に成長したと考えられる  
放流3年目および4年目の、放流  
地域の遺伝的多様性を見ると、放流  
種苗が広く分散したことを反映して  
か、人工種苗を放流していない天然  
区と同等の変異性を示していま  
した(図9)。

表7 放流区域内のマナマコ推定個体数

放流区域	離岸堤礎石部 周辺転石部		合計
	面積		
面積	3,650	2,920	6,570
平均密度(個体/m <sup>2</sup> )	3.0	3.7	3.3
在来個体			
推定個体数 <sup>1)</sup>	91,250	15,681	106,931
外部標識個体の再捕率(%)	12.0	68.9	
放流種苗			
混獲率(%) <sup>2)</sup>			1.3
推定残留個体数 <sup>3)</sup>			1,390
残留率(%) <sup>4)</sup>			3.9

1) 推定個体数は外部標識した個体の再捕率を基に推定

2) 放流域で回収した個体のうち人工種苗の占める割合

3) 混獲率から推定した放流域内の残留個体数

4) 放流種苗のうちmsDNAを元に人工種苗と判別できる3.6万個体に対する値

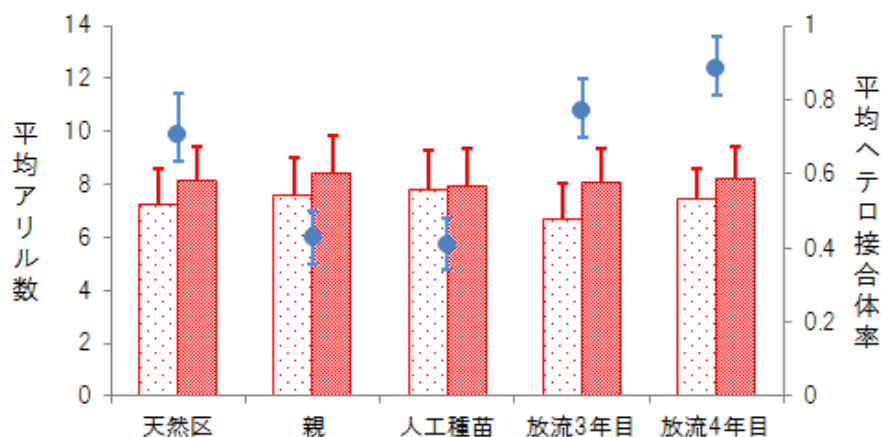


図10 天然個体と放流種苗および放流区周辺での平均アレル数と平均ヘテロ接合体率の観察値(Ho)と期待値(He)

□Ho ■He ●平均アレル数

## ② サンプルの確保と遺伝的マーカーの分析条件について

msDNAは放流効果の推定や遺伝的多様性の把握に有効です。まず組織から全DNAを抽出することが基本になりますので、こうした調査に必要な情報を記載します。

### ②-1 標本の摘出・保存

マナマコの場合、このDNA抽出を妨げる物質の含有量が多いため、触手か縦走筋が必要になります(図10, 図11)。触手の場合は、商品価値を損なうことなく採取できるため、サンプルの買い上げを必要としません(コストが安上がりになります)。

生きた個体から採取する際は、まず海水中に静置して触手を伸ばすのを待ち、その後素早く切り取る必要があるため、多少時間と手間がかかります。一方、縦走筋は体を切開する必要があるため殺してしまうことになり、買い上げのコストがかかりますが、採取は容易です。

摘出した組織は99.5%エタノールに保存しておけば、半永久的にDNAを抽出できます。なお、組織片は3mm角もあれば十分ですが、予備的に触手であれば3本以上、縦走筋であれば10ミリ角程度を確保しておくといでしょう(図12)。

着底稚仔や20mm以下の稚ナマコの場合、こうした組織を摘出することが困難ですので、個体丸ごとサンプル瓶に固定します。

着底稚仔を除き、個体識別できるようにそれぞれ瓶に保存しておく必要があります。また、瓶の中には、鉛筆で紙に個体の情報(採集日、採取場所、個体番号)を紙に書き込んで保存します。アルコールを扱うため、ペン類での記録は溶解して消えてしまうので、瓶の蓋などへの記録は予備的に行っても、メインは瓶内部への紙の記録にします。

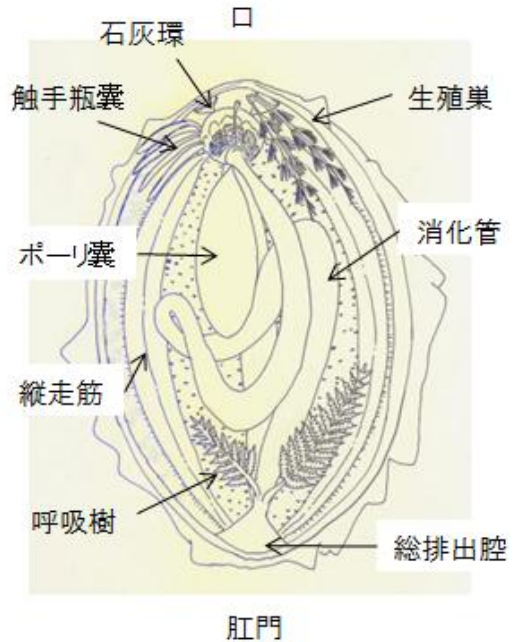


図11 ナマコ解剖図

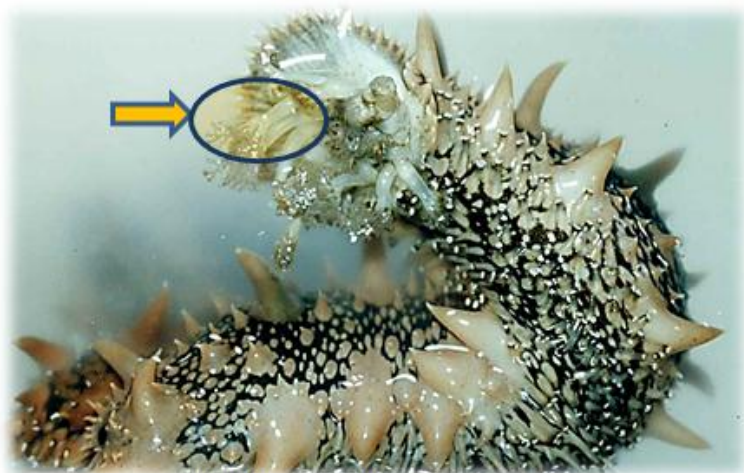


図12 マナマコの触手



図13 99.5%エタノールに固定した触手と縦走筋

## ②-2 マイクロサテライトDNAの分析条件

99.5%エタノールに保存しておいたサンプルからDNAを抽出し、マイクロサテライト部位の増幅・読み取りを行います。

これらを外注する場合、分析依頼する個体数が多いほど安くなります。分析依頼時に必要なプライマーとPCR条件を表8に、外注時の経費の目安を表9に示しました。

なお、分析個体数は、11ページに示した事例を参考に、回収個体数をおよそ300個体/年、3カ年で計900個体、他に放流種苗の親100個体、種苗100個体、放流先の天然個体(放流前の個体)100個体の計1,200個体を分析するとして検討しています。

注)外注のコストはサンプルの数、業者などにより大きく変わります。

表8 親子鑑定に用いたmsDNA用プライマー

マーカー座	プライマーシーケンス(5'-3')	アレルサイズ	Ta	ラベル
<i>Psj1828</i>	F: CGATCGATAGTCCTCAATC R: CAACGCATACAATTACACA	171-206	55	青
<i>Psj2172</i>	F: TTAGAATATGATGCAACAGAA R: GATACCGTGATAATTGTTTT	164-179	55	黄
<i>Psj2463</i>	F: GCTGAAGGCAAAGGAATCT R: GTAGCAAATGTGGCAAGGAT	233-271	55	赤
<i>Psj2575</i>	F: GCCTCGAGAGCTTATTCAATG R: GCTCGCTTGGAGAGTAAACAC	89-107	55	緑
<i>Psj2844</i>	F: CAAAACGATAGGGACCATCTA R: TTAACATTTTCTGCCCACTTC	158-167	55	緑
<i>Psj2889</i>	F: CGAGACGTTTACTTCCACTG R: AGAGGTTGCTGGCTTTACTC	194-234	55	黄
<i>Psj2969</i>	F: TTCCTGCCCTTACAAAATAG R: GCAGCAGAATGATGAGTGTG	130-152	55	青
<i>Psj3088</i>	F: CGTATTTACAAGCCCCAACA R: GGCGTAGAAAGCAAGGGAAAG	161-183	55	赤

注)プライマーを指定する場合はgtttcttテイリングを施すとピークがクリアーになり読みやすくなります

表9 msDNA解析の外注経費(某社見積もり)

	円/個	解析個体数 <sup>1)</sup>	小計
DNA抽出	1,000	1,200	1,200,000
msDNA <sup>2)</sup>	4,000	1,200	4,800,000
小計			6,000,000

1)1200個体分析時の目安ですが、個体数が少ないと割高になります

2)この経費は8座分析する場合の値で、マイクロ座が少なければ安くなります

上記の分析を行う場合、特にサンプル数が多くなることが見込まれる場合は、DNA 抽出だけでも自分で行った方が安くなる場合があります。そこで、栽培水試で現在行っている DNA 抽出キットを用いた方法の概要と経費を以下に示します。

## 1: DNA 抽出

分析する個体の全 DNA を触手や縦走筋から取り出すために行います。

A) 1 ミリ角程度のごく少量を切り出し、きれいなペーパータオルの上で余分なアルコールを拭き取ります。

B) このサンプルをマイクロチューブに入れます。

C) キットを使う場合は、このキットに付随してあるマニュアルの指示通りに措置します(図 13)。



図14 DNA抽出装置(A)とキット(B)

※今回示したキットを使わない方法もあります。この場合、薬品代などは安く済みますが、精製などの手間がかかります。詳細は栽培水試などに連絡下さい。

キットを使って DNA 抽出を行う場合の必要な備品、キットと消耗品の経費を表 12 に示しました。なお、このキットを使った DNA 抽出に要する時間は 100 個体で概ね 8 時間程度です。

表12 簡易核酸抽出キットを使ったDNA抽出

機材名	規格	金額	入数	個体当たり経費
核酸抽出機	Quickgene-mini80	98,000		
簡易核酸抽出キット	KURABO DT-S	35,480	100個体分	355
マイクロチューブ	トレフ滅菌チューブ(1.5ml)	3,000	1000本	6
マイクロチューブラック	フリーザーラック	8,800	10入り	9
マイクロピペットチップ	1000 $\mu$ 用	2,600	1000本	0
	100 $\mu$ 用	2,600	1000本	0
	10 $\mu$ 用	2,600	1000本	0
小計(抽出機除く消耗品費用)				370

注)これらの他に70°Cのインキュベータと遠心分離機が必要です

## 5. 付録及び文献

### 【付録】

#### (1) 用語の解説

##### <ハプロタイプ>

・mtDNA の遺伝子型のことを示します。

##### <16SrRNA 領域と CO1(シトクロームオキシターゼサブユニット I)領域>

・mtDNA は 16–19kbp というコンパクトなサイズの中に 13 種類のタンパク質遺伝子と 2 種類のリボソーム RNA 遺伝子、22 種類の tRNA 遺伝子がコードされています。マナマコではこの2つの領域は隣接しており、組み換えなどもなく、また棘皮動物では「中程度の変異」を含む領域として系統群判別によく利用される領域です。

##### <ハプロタイプ多様度>

・遺伝子多様度のことを示します。この値が1に近いほど多様性が高く、0 では多様性がないことを示します。

##### <塩基多様度>

・mtDNA を構成する塩基の多様度を示し、塩基置換頻度の平均値です。調べた総塩基のうち何%が置換しているのかを表します。

##### <遺伝的分化指数 $F_{ST}$ 値>

・遺伝的多様性が集団で均一なのか、特定の集団間で分化しているのかを示す指標です。  
それぞれの集団間で比較したものがペアワイズ  $F_{ST}$  値で、例えば 0.05 という数値は、検出されたすべての遺伝変異のうち、2集団間で異なっていたものが5%に当たることを示します。

##### <アレルリッチネス>

アレル(対立遺伝子)の数は標本数が増えるほど多くなるため、この標本数の影響を受けないように補正したアレル頻度の期待値です。

##### <Global $F_{ST}$ 値>

・標本集団全体での  $F_{ST}$  値を示します。この値が高いほど遺伝的に分化しており、一方0に近いほど群れ全体として差がない(固定化していない)ことを示します。北海道のマナマコ mtDNA の Global  $F_{ST}$  値は-0.0041 と遺伝的によく混ざり合い、地域差がないという結果でした。

##### <ヘテロ接合体率>

・雌雄両親から受け継ぐ相同染色体の同一遺伝子座(遺伝子のある場所)を異なる遺伝子で占める割合を指し、対立遺伝子(同じ遺伝子座にある遺伝子)の数が多し程ヘテロ接合体率の割合も大きくなり、多様性の重要な指標になります。



## (2) msDNA解析

道内 15 地域で採取したマナマコの 8 マイクロ座におけるアリル数( $N_A$ )と平均ヘテロ接合体率の観察値( $H_O$ )と期待値( $H_E$ )を付表 1 にまとめました。どの地域でも同程度の遺伝的変異性であることが分かります。

付表 1 15 地域の 8 マイクロ座におけるマナマコの遺伝的多様性

採集地域		MS座								平均
		<i>Psj1828</i>	<i>Psj2172</i>	<i>Psj2463</i>	<i>Psj2575</i>	<i>Psj2844</i>	<i>Psj2889</i>	<i>Psj2969</i>	<i>Psj3088</i>	
宗谷 (n=46)	$N_A$	11	5	8	6	4	14	10	5	7.9
	$H_O$	0.761	0.422	0.652	0.543	0.043	0.717	0.522	0.457	0.515
	$H_E$	0.803	0.519	0.760	0.566	0.085	0.816	0.750	0.408	0.589
	$H_O/H_E$	0.947	0.814	0.858	0.960	0.510	0.879	0.695	1.119	0.875
羽幌 (n=46)	$N_A$	11	5	9	7	4	14	8	6	8.0
	$H_O$	0.674	0.159	0.804	0.739	0.065	0.783	0.614	0.391	0.529
	$H_E$	0.817	0.286	0.772	0.676	0.065	0.842	0.688	0.389	0.567
	$H_O/H_E$	0.824	0.556	1.042	1.093	1.011	0.929	0.892	1.005	0.932
余市 (n=46)	$N_A$	9	5	9	6	3	11	7	7	7.1
	$H_O$	0.609	0.250	0.761	0.630	0.022	0.783	0.739	0.370	0.520
	$H_E$	0.689	0.286	0.741	0.647	0.066	0.813	0.733	0.423	0.550
	$H_O/H_E$	0.884	0.876	1.026	0.974	0.338	0.962	1.009	0.874	0.947
乙部 (n=46)	$N_A$	11	6	9	7	3	12	8	5	7.6
	$H_O$	0.711	0.386	0.739	0.674	0.087	0.622	0.696	0.326	0.530
	$H_E$	0.808	0.521	0.725	0.665	0.085	0.820	0.705	0.360	0.586
	$H_O/H_E$	0.880	0.741	1.019	1.014	1.025	0.759	0.986	0.907	0.904
奥尻 (n=46)	$N_A$	7	5	8	6	3	15	6	6	7.0
	$H_O$	0.739	0.200	0.826	0.761	0.022	0.739	0.578	0.326	0.524
	$H_E$	0.717	0.299	0.768	0.602	0.064	0.866	0.696	0.325	0.542
	$H_O/H_E$	1.031	0.668	1.076	1.265	0.338	0.853	0.831	1.004	0.966
茂辺地 (n=46)	$N_A$	10	6	10	5	3	12	9	4	7.4
	$H_O$	0.696	0.209	0.674	0.652	0.043	0.761	0.533	0.217	0.473
	$H_E$	0.814	0.379	0.711	0.663	0.064	0.853	0.756	0.307	0.568
	$H_O/H_E$	0.855	0.552	0.948	0.983	0.677	0.892	0.705	0.708	0.833
鹿部 (n=46)	$N_A$	12	3	12	7	3	14	8	4	7.9
	$H_O$	0.783	0.261	0.717	0.696	0.065	0.826	0.543	0.326	0.527
	$H_E$	0.827	0.353	0.724	0.650	0.105	0.854	0.771	0.291	0.572
	$H_O/H_E$	0.946	0.739	0.991	1.071	0.619	0.968	0.705	1.121	0.922
豊浦 (n=46)	$N_A$	11	4	10	9	3	12	9	4	7.8
	$H_O$	0.696	0.239	0.696	0.717	0.043	0.804	0.565	0.174	0.492
	$H_E$	0.807	0.351	0.717	0.686	0.085	0.850	0.723	0.203	0.553
	$H_O/H_E$	0.863	0.681	0.971	1.046	0.513	0.947	0.782	0.857	0.890
室蘭 (n=46)	$N_A$	11	4	7	5	3	12	7	6	6.9
	$H_O$	0.739	0.174	0.689	0.609	0.022	0.804	0.522	0.348	0.488
	$H_E$	0.816	0.239	0.694	0.697	0.064	0.840	0.713	0.342	0.551
	$H_O/H_E$	0.906	0.729	0.993	0.873	0.338	0.958	0.731	1.016	0.887
白老 (n=46)	$N_A$	12	6	10	7	2	13	9	4	7.9
	$H_O$	0.804	0.273	0.826	0.696	0.022	0.870	0.739	0.348	0.572
	$H_E$	0.822	0.438	0.754	0.674	0.022	0.844	0.769	0.371	0.587
	$H_O/H_E$	0.978	0.622	1.096	1.032	1.000	1.031	0.962	0.938	0.975
新冠 (n=46)	$N_A$	12	4	13	8	3	14	7	7	8.5
	$H_O$	0.761	0.295	0.822	0.587	0.022	0.739	0.500	0.283	0.501
	$H_E$	0.830	0.383	0.784	0.690	0.124	0.859	0.720	0.312	0.588
	$H_O/H_E$	0.917	0.770	1.049	0.850	0.175	0.861	0.694	0.907	0.853
標津 (n=46)	$N_A$	10	6	10	7	4	12	8	5	7.8
	$H_O$	0.778	0.295	0.705	0.630	0.087	0.870	0.600	0.217	0.523
	$H_E$	0.809	0.407	0.798	0.658	0.165	0.847	0.739	0.305	0.591
	$H_O/H_E$	0.962	0.725	0.883	0.958	0.526	1.027	0.812	0.712	0.884
常呂 (n=46)	$N_A$	11	4	10	6	3	13	9	4	7.5
	$H_O$	0.674	0.182	0.674	0.587	0.043	0.891	0.587	0.261	0.487
	$H_E$	0.838	0.285	0.784	0.672	0.043	0.867	0.729	0.285	0.563
	$H_O/H_E$	0.804	0.638	0.859	0.873	1.006	1.028	0.805	0.915	0.866
網走 (n=46)	$N_A$	12	4	11	7	4	13	9	4	8.0
	$H_O$	0.739	0.152	0.717	0.696	0.022	0.848	0.578	0.239	0.499
	$H_E$	0.831	0.292	0.787	0.721	0.145	0.858	0.700	0.253	0.573
	$H_O/H_E$	0.889	0.521	0.911	0.966	0.149	0.989	0.826	0.945	0.870
雄武 (n=46)	$N_A$	10	4	10	9	4	13	7	4	7.6
	$H_O$	0.733	0.261	0.717	0.609	0.065	0.848	0.478	0.283	0.499
	$H_E$	0.788	0.479	0.784	0.618	0.085	0.869	0.726	0.356	0.588
	$H_O/H_E$	0.931	0.545	0.915	0.985	0.765	0.976	0.658	0.794	0.849

$N_A$ : アリル数、 $H_O$ : 平均ヘテロ接合体率の観察値、 $H_E$ : 平均ヘテロ接合体率の期待値



### (3) mtDNA解析

mtDNAの中で、16SrRNAコード領域からCOIコード領域にわたる塩基配列分析を行い、ハプロタイプ頻度を付表2-1と付表2-2に示しました。非常に多様度が高いことが分かります。

付表2-1 mtDNA16SrRNA-COI領域のシーケンス分析によるマナマコ12集団のハプロタイプ頻度

ハプロタイプ No.	宗谷 (30)	羽幌 (30)	余市 (13)	乙部 (29)	奥尻 (29)	茂辺地 (21)	室蘭 (25)	白老 (23)	新冠 (20)	標津 (23)	常呂 (25)	雄武 (23)	Total (291)
Hpa001	4	2	0	8	1	3	4	4	1	1	1	2	31
Hpa002	2	5	1	2	3	0	1	0	3	1	2	3	23
Hpa003	3	2	2	4	1	0	1	2	1	2	2	1	21
Hpa004	1	2	0	3	2	0	3	2	1	1	2	2	19
Hpa005	3	1	0	1	2	0	3	2	0	2	2	0	16
Hpa006	1	2	3	0	2	0	0	0	0	0	0	0	8
Hpa007	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	2	0	7
Hpa008	1	0	0	0	0	1	1	0	0	2	1	1	7
Hpa009	1	0	1	0	0	2	0	1	0	0	0	2	7
Hpa010	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	5
Hpa011	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	1	0	5
Hpa012	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Hpa013	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	4
Hpa014	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	4
Hpa015	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3
Hpa016	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	3
Hpa017	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3
Hpa018	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	3
Hpa019	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
Hpa020	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
Hpa021	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2
Hpa022	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2
Hpa023	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
Hpa024	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
Hpa025	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
Hpa026	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
Hpa027	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	2
Hpa028	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2
Hpa029	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa030	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa031	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa032	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa033	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa034	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa035	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa036	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa037	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa038	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa039	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa040	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa041	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa042	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa043	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa044	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa045	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa046	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa047	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa048	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa049	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa050	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa051	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa052	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa053	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa054	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa055	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa056	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa057	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa058	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa059	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa060	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa061	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa062	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa063	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1

( )内は分析個体数

付表2-2 mtDNA16SrRNA-CO1領域のシーケンス分析によるマナマコ12集団のハプロタイプ頻度(続き)

ハプロタイプ No.	宗谷 (30)	羽幌 (30)	余市 (13)	乙部 (29)	奥尻 (29)	茂辺地 (21)	室蘭 (25)	白老 (23)	新冠 (20)	標津 (23)	常呂 (25)	雄武 (23)	Total (291)
Hpa064	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Hpa065	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Hpa066	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Hpa067	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Hpa068	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Hpa069	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Hpa070	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Hpa071	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa072	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa073	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa074	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa075	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa076	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa077	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa078	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa079	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa080	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Hpa081	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Hpa082	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Hpa083	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Hpa084	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Hpa085	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Hpa086	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Hpa087	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Hpa088	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa089	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa090	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa091	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa092	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa093	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa094	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa095	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa096	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa097	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa098	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hpa099	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hpa110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Hpa111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Hpa112	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Hpa113	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Hpa114	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Hpa115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Hpa116	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa117	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa118	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa119	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa122	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa123	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa124	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hpa126	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

( )内は分析個体数

## 【参考文献】

- 1) FAO/UNEP(1981) Conservation of the Genetic resources of fish : Problems and recommendations. Report of the expert consultation on the genetic resources of fish. FAO Fish. Tech. Paper., No.217: 1-43.
- 2) Soliman, T., Kanno, M., Kijima, A., Yamazaki, Y., (2012) Population genetic structure and gene flow in the Japanese sea cucumber *Apostichopus japonicus* across Toyama Bay, Japan. *Fish. Sci.*, 78: 775-7831)
- 3) Kanno, M., Suyama, Y., Li, Q., Kijima, A., (2006) Microsatellite analysis of Japanese sea cucumber, *Stichopus (Apostichopus) japonicus*, supports reproductive isolation in color variants. *Mar. Biotech.*, 8: 672-685
- 4) 松尾みどり、小坂善信(2010) 3-2 良質な種苗を確保するための成熟制御技術の開発 乾燥ナマコ輸出のための計画的生産技術の開発 平成 21 年度報告書 46-49.
- 5) 大西孝尚、藁谷崇史、奥村誠一、小田卓司、木村一磨、古川末広、林崎健一、高橋明義、山森邦夫(2010) 市場価値を左右するマナコの疣足形質の遺伝性 平成 22 年度日本水産学会春季大会講演要旨集 220.
- 6) 小林俊将(2008) マナコ等種苗安定量産技術開発 1)種苗生産技術開発 平成 20 年度岩手県水産技術センター年報 8-13.
- 7) 富田恭司、馬淵正裕、代田伸一、近田吉秋(1986) 北海道南部日本海沿岸から北海道東部太平洋沿岸域に移植したエゾバフンウニ 北水試月報 43(1-3)、9-19.
- 8) 吾妻行雄、川真田憲治、元谷 怜(1994) エゾバフンウニ人工種苗の生殖周期に及ぼす親ウニ産地の影響 水産増殖 42(1)、63-70.
- 9) 酒井勇一(2012) マナコ幼生への給餌開始時期について 試験研究は今 698 号
- 10) 柳本 卓(2004) mtDNA の PCR-RFLP 分析によって明らかになったハタハタ集団の地理的分化 日水誌 70(4) , 583-591.
- 11) 日本海洋学会 沿岸海洋研究部会編(1985) 日本全国沿岸海洋誌 pp1106. 東海大学出版会
- 12) 日本海洋学会 沿岸海洋研究部会編 (1990) 続・日本全国沿岸海洋誌〔総説編・増補編〕 pp839. 東海大学出版

## おわりに

マナマコの種苗生産の取り組みが我が国で始まりおよそ半世紀が経ちました。1980年代には量産化が進められたものの、大量減耗要因の解明とその対策技術が開発されたのは、ごく最近のことです。また、種苗放流の効果を明確に調べる方法は、今回初めて実用化されるに至りました。人工種苗を漁場に放流することは、もとより資源添加による資源の維持や増産を期待して行うものです。しかし、人為的な環境や条件で種苗を育成することで、遺伝的な多様性を低下させ、本来の遺伝的特性を損なうようなリスクの増加も懸念されます。

人工種苗生産・放流を行うことで、遺伝的な攪乱を招き、天然マナマコの生息に悪影響を及ぼすことがあっては、栽培漁業を行う意義が疑問視されかねません。これまで実に多くの魚介類を対象に栽培漁業の技術開発が試みられて来ました。しかし、各々の魚種において、種苗放流による天然集団への遺伝的インパクトについては、十分に解明されているとは言えないのが現状です。

現在の科学技術では解明出来ていない、現状では良く分からないことが多いのであれば、極力「リスク」を避ける措置を施し、将来の発展にとって取り返しの付かない事態を招く事の無い様にするのが重要です。遺伝学とその関連分野では、「次世代シーケンサー」に代表される様に、次々と新技術が開発され、新たな知見も続々と得られている状況にあります。今日分からない事が、明日には解明されることも有るかも知れません。

遺伝的リスクを極力回避するマナマコの種苗生産・放流を実施し、「北海キンコ」ブランドという貴重な海の資源を次の世代に繋げて行く事が、我々栽培漁業関係者の使命であると思います。本道におけるマナマコ栽培漁業の益々の発展を祈念いたします。

平成 25 年 3 月

道総研 栽培水産試験場  
東北大学大学院農学研究科

文責 道総研 栽培水産試験場 酒井勇一  
東北大学大学院農学研究科 菅野愛美