

# 7. 遺伝標識技術による閉鎖性海域資源増殖推進事業

鈴木洋行・村瀬慎司・戸澤隆

遺伝標識 (DNA) による親子判別技術を導入し、標識が困難なナマコの放流技術開発と資源水準が危機的なホシガレイの放流魚による再生産効果の把握により、種苗放流と資源管理を組み合わせた効率的な資源増殖手法を検討する。

## I. ナマコ

### 1. ミトコンドリア DNA (mtDNA) 分析

#### 方法

ナマコの親子判別技術を検討するため、一対交配により種苗生産した 3 組の種苗と両親の mtDNA 内 16Sar+Coler 領域の塩基配列を分析した。

#### 結果

塩基配列が特定できた 16Sar 領域の 613-616 塩基と Coler 領域 730 塩基の配列 (合計 1343-1346 塩基) を活用して分析を進めた結果、16Sar 領域に 3 箇所、Coler 領域に 12 箇所に変異場所があることが確認された (表 1)。

表 1. mtDNA 各領域内の塩基配列変異箇所一覧

分類	変異場所	16Sar領域		Coler領域													
		3	5	5	6	6	9	9	9	9	0	1	1	1	1	1	1
♀ 27-1	hap1	G	-	-	T	T	G	C	C	A	G	G	C	T	T	A	
♂ 27-2	hap2	A	A	-	C	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
♀ 27-3	hap3	.	A	A	.	.	A	T	T	.	A	A	.	.	C	.	.
♂ 27-4	hap4	.	-	-	.	.	.	T	.	G	A	A	T	.	C	G	.
♀ BS-01	hap5	.	A	A	.	.	C	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.
♂ BS-02	hap6	.	-	-	C	.	.	T	.	.	A	A	T	G	C	.	.

また、塩基配列が確認出来た種苗 (合計 119 尾) は各雌親と塩基配列 (ハプロタイプ : hap) が一致していたことから、分析に使用した mtDNA 領域は母系遺伝していると考えて問題ないと考えられた (表 2)。

表 2 親と種苗の hap 一致状況

	交配組1		交配組2		交配組3	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
親	27-1	27-2	27-3	27-4	BS-01	BS-02
	hap1	hap2	hap3	hap4	hap5	hap6
種苗	65	0	35	0	19	0

### 2. マイクロサテライト DNA 分析

#### 方法

ナマコの親子判別技術を検討するため、一対交配の両親とその子供 26 個体を用いた。DNA マーカーには、Psj1828, Psj 2031, Psj 2368, Psj 2463, Psj 2889, Psj 3072, Psj 3088 を用い、メンデルの法則に従って分離しているかどうかの確認を行った。

#### 結果

Psj1828 におけるメス親とオス親の遺伝子型はそれぞれ 184/184, 196/200 で、その子供たちの遺伝子型と個体数は 184/196 が 12 個体, 184/200 が 14 個体であった。Psj2031 におけるメス親とオス親の遺伝子型はそれぞれ 193/198, 193/198 で、その子供たちの遺伝子型と個体数は 193/193 が 4 個体, 193/198 が 14 個体, 198/198 が 8 個体であった。Psj2368 におけるメス親とオス親の遺伝子型はそれぞれ 203/207, 206/208 で、その子供たちの遺伝子型と個体数は 203/206 が 7 個体, 203/208 が 5 個体, 206/207 が 7 個体, 207/208 が 7 個体であった。Psj2463 におけるメス親とオス親の遺伝子型はそれぞれ 257/257, 263/null で、その子供たちの遺伝子型と個体数は 257/null が 14 個体, 257/263 が 12 個体であった。Psj2889 におけるメス親とオス親の遺伝子型はそれぞれ 220/220, 218/223 で、その子供たちの遺伝子型と個体数は 218/220 が 14 個体, 220/223 が 12 個体であった。Psj3072 におけるメス親とオス親の遺伝子型はそれぞれ 170/180, 172/180 で、その子供たちの遺伝子型と個体数は 170/172 が 9 個体, 170/180 が 4 個体, 172/180 が 6 個体, 180/180 が 7 個体であった。Psj3088 におけるメス親とオス親の遺伝子型はそれぞれ 165/171, 171/171 で、その子供たちの遺伝子型と個体数は 165/171 が 13 個体, 171/171 が 13 個体であった。

すべてのマーカーにおいて独立性の検定を行った結果、いずれもメンデルの法則から期待される分離比からの逸脱は認められなかった。

### 3. 標識放流・追跡調査

#### 方法

mtDNA 分析により雌親と種苗の母系遺伝が確認された種苗を大村市地先 2 箇所(釜川内地先, 東浦沖防)へ表 3 のとおり放流した。放流は牡蠣殻を詰めた籠を海底に 3 籠沈め, その籠内にナマコ種苗を静置した。

表 3 標識放流概要

放流日	生産親	放流場所	全長(mm)	放流尾数	放流水深
H27.11.28	♀ 27-1	釜川内地先	17.4	3100尾	1.8m
	♂ 27-2			(1033尾/籠)	
	♀ 27-3	東浦沖防	16.5	4485尾	4.1m
	♂ 27-4			(1495尾/籠)	

放流後は追跡調査として、各地先 1 籠のみを取り上げ、籠内に生息するナマコを計数したのち、測定及び DNA 分析用サンプルとして 10-30 尾分のみを持ち帰り、残りは再度海底に沈めた籠内に静置した。また、放流場所周辺海底の枠取り調査も併せて行った。

#### 結果

籠内に生息したナマコ数は図 1 のように減少した。ただ枠取り調査でのナマコ採捕数は増える傾向が見られたため、籠内から周辺海域へ放流種苗が移動したとも考えられる。

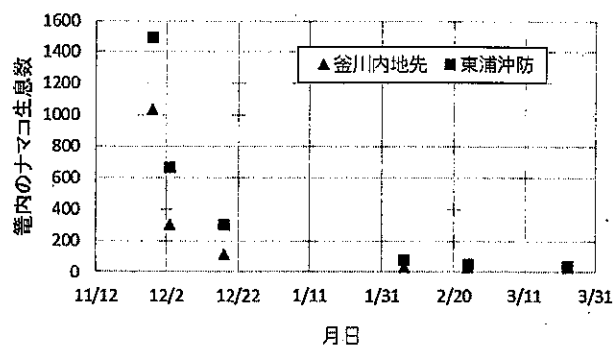


図1 追跡調査における籠内ナマコ生息数の推移

籠内のナマコでも天然個体が混ざっている可能性があるため、遺伝標識 (DNA) による親子判別技術が確立した後に、枠取り調査により採捕したサンプルも含め天然個体を分離し、放流ナマコの成長・生残状況等を調査していく。

(担当：鈴木)

## II. ホシガレイ

### 1. DNA 分析用試料の収集

長崎県漁業公社において、ホシガレイの種苗生産に用いられた親魚 102 個体 (メス 70 個体, オス 32 個体) の鰭の一部をエタノール固定した。

今後、それらの子供たちの試料収集も行い、放流魚の再生産効果を把握するための基礎技術として、DNA による両親と子の個体の特定を行うとともに、種苗生産に用いられた親魚のデータベース化を行う。

(担当：村瀬)