

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 18 日現在

機関番号：23401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580278

研究課題名(和文) タケノコメバルの放流が及ぼす遺伝的影響評価と多様性保全の為に精子凍結保存法の確立

研究課題名(英文) Evaluating genetic impact of the release of captive *Sebastes oblongus* and the development of the cryopreservation technique of spermatozoa

研究代表者

富永 修 (TOMINAGA, Osamu)

福井県立大学・海洋生物資源学部・教授

研究者番号：90264689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：資源水準が極めて低いタケノコメバルを放流する事により遺伝的影響を評価し、多様性を保全するために凍結精子を用いた人工授精技術の開発を目的とした。タケノコメバル人工種苗集団を放流することで、瀬戸内海東部の野生集団の年級群間のFst値に有意差は認められなかったものの、2005年以前年級群から2009年級群の間で7.4%の低下が認められた。また、凍結精子保存と解凍方法に関して実験を行い、凍結防止剤の選定および冷却速度、到達温度、ならびに解凍速度および凍結防止剤除去方法を確立できた。しかし、凍結精子を用いた人工授精は一部成功したものの事業化には受精率の改善が必要である。

研究成果の概要(英文)：This study evaluated the genetic impact of the release of captive *Sebastes oblongus* and developed the cryopreservation method of spermatozoa to conserve the genetic diversity of the native population. The genetic diversity was determined based on nucleotide sequence data from the mtDNA control region and msDNA analysis of five year classes (before 2005 to 2009) of *S. oblongus*. Although the estimated pairwise Fst did not show the significant difference among year classes, the estimated haplotype diversity was recognized 7.4% decrease between before 2005 and 2009 year class. We examined the method for cryopreserving spermatozoa judging from the mortality of thawed sperm. The best results were obtained when the spermatozoa were cryopreserved with diluents comprising 10% DMSO and fetal bovine serum (FBS). For freezing sperm samples, straws were placed at 10.0 cm above the surface of liquid nitrogen (LN) and plunged in LN. The straws were thawed in water bath at 20 °C for 7 sec.

研究分野：水産資源生物学

キーワード：タケノコメバル 遺伝的多様性 胎生魚 栽培漁業 精子凍結保存 人工授精 瀬戸内海 *Sebastes oblongus*

1. 研究開始当初の背景

本申請で対象にしているフサカサゴ科メバル属のタケノコメバルは、交尾を行って体内受精し、稚魚を出産する卵胎生魚である。研究対象海域の瀬戸内海では資源水準が著しく低下し、2003年から香川県により資源回復を目的とした試験放流が進められている。本種は、屋内水槽での自然交尾が難しいため、親魚候補として野生あるいは海上網生簀内で自然交尾した妊娠魚が用いられている。しかし、野生魚では安定して親魚を確保することが難しく、また網生簀内でも妊娠率が低いために、種苗生産は少数の雌魚に依存しなくてはならない。また、申請者が香川県水産試験場の協力を得て行った、H20-H22科学研究費基盤研究(C)「種苗放流対象メバル属の遺伝的多様性評価と多様性維持をめざした人工授精技術の確立」では、タケノコメバルの雌1尾と交尾する雄の数は、野生魚および飼育魚でそれぞれ平均1.2個体および1.5個体と、ほとんど1対1でしか交配していないことが明らかになった(佐藤・富永他2009:日本水産学会大会講演要旨)。以上のことに加えて、親魚の出産日を同調させることが難しく、実際に放流稚魚に貢献する親魚の数は非常に少ないのが現状である(数個体程度)。他方、香川県水産試験場が実施している追跡調査では、漁獲物中に占める放流魚の割合が、播磨灘の津田漁協で87~99%、鶴羽漁協では33~83%を占めていた(H18年度香川水試事業報告)。また、申請者が行った福井、岩手、愛知および播磨灘の標本を用いた集団遺伝解析でも、本種の遺伝子流動の地理的範囲は、非常に限られていることが示唆された(富永他2009:日本魚類学会大会講演要旨)。このように、本種の種苗放流は、定着性が強い魚種において、集団サイズが非常に小さい在来集団に、相対的に集団サイズが大きく、遺伝的多様性が極めて低い放流集団を添加するという特性を持っている。そのため、放流により在来集団の遺伝的多様性が低下していると予想されるが、これまで遺伝的インパクトがどの程度生じているかはまったく調べられていない。種苗放流に用いられる稚魚の遺伝的多様性がどの程度維持されているかを把握し、すでに進められている種苗放流が在来集団にどの程度の遺伝的影響を与えているかを科学的に検証することは、責任ある放流を实践するうえで欠かすことができない課題である。

一方、在来集団の遺伝的多様性を保つことは、短期的には繁殖適応度の維持、長期的には適応進化を保障する意味をもっており、保全遺伝学的観点からも重要な課題である。申請者と香川水試は、H20-H22科学研究費基盤研究(C)で、放流集団の遺伝的多様性を確保するため、海産胎生魚で初めて人工授精技術を開発し、ほぼすべての雌魚で妊娠を可能にするとともに、複数の雄の精子を混合することにより、雌1尾当たりの家系数を飛躍

的に増加させることに成功した(富永他2009)。しかし、メバル属魚類では腹部圧迫による搾出法で精液を採取できないため、申請者等の人工授精技術では精巢精子を用いなければならず作業性が悪い。また、交尾可能期間中に精子の質が変動することから、高い活性を持つ精子を常に利用できるとは限らない。精子凍結保存技術は、多数の雄親から得た質の高い精子を保存することで、常に活性の高い精子を用いた人工授精を可能にし、さらに人工授精時に解剖作業が伴わないことから事業規模での作業効率を改善することができる。凍結精子を用いた人工授精技術を確立することにより、放流対象になっている胎生魚の遺伝的多様性保全へのさらなる貢献が期待できる。

2. 研究の目的

(1) タケノコメバル稚魚の放流が在来集団に与える遺伝的影響の評価

2003年級群から保存している本種の鱗標本(在来と放流)を用いてmtDNAおよびmsDNA情報から遺伝的多様性の変化過程を解析し、放流による遺伝的影響を評価する。

(2) 精子凍結保存技術および凍結精子による人工授精技術の開発

適正な凍害防御剤、凍結および解凍条件を検討し、精子凍結保存技術を確立する。さらに、正常な稚魚生産のための凍結精子を用いた人工授精法(凍結防止剤の除去法など)を確立する。

(3) 凍結精子バンクの立ち上げ

父親別に精子活性度と生産された稚魚の生残・成長を調べて精子の質評価を行い、遺伝子型とともに記録した精子バンクを作成する。

3. 研究の方法

(1) 香川集団と他地域集団の遺伝的異質性の検討

解析に用いたタケノコメバル

2006年4月から2008年12月の期間に、瀬戸内海東部の香川県小豆島周辺海域においてされたタケノコメバルの鱗を解析に用いた。また、愛知県(2008年)、岩手県(2008年)、福井県(2006-2008年)で採集されたタケノコメバルの鱗を解析に用いた。なお、香川集団は2005年級群までの在来タケノコメバルのみを解析に用いた。

ミトコンドリアDNA調節領域のハプロタイプ解析

抽出したDNAのミトコンドリアDNA調節領域を増幅するために、L15924(5'-AGC TCA GCG CCA GAG CGC CGG TCT TGT AAA-3')(Kocher et al.1993)とH16498(5'-CCT GAA GTA GGA ACC AGA TG-3')(Meyer et al.1990)を用いた。決定した塩基配列はアライメントし、ARLEQUIN ver3.1によりハプロタイプ多様度、塩基多様度を算出した。また、pairwiseFst検定により集団間の比較を行い、ハプロタイ

プ頻度組成を用いた MCMC 正確確率検定により、集団の遺伝的な異質性を検討した。

(2) 香川県在来集団の遺伝的多様性の経年変化

解析に用いたタケノコメバル

2006年5月から2011年3月の期間に、瀬戸内海東部の香川県小豆島周辺海域において採集されたタケノコメバルの鱗を解析に用いた。

マイクロサテライト DNA 解析

抽出した DNA を QIAGEN Multiplex PCR KIT と村上ら 2008 により開発されたマイクロサテライト用プライマー (Seob8, Seob9, Seob11, Seob12) を用いて、マイクロサテライト領域を増幅した。PCR 条件は 95 5分/ 94 30秒 56 1~1.5分 72 1分を 30 サイクル/ 72 5分とした。サーマルサイクラーは Takara Thermal Cycler GP を使用した。PCR 産物を ABI PRISM 3100Genetic Analyzer を使用してフラグメント解析を行った。PCR 産物のピーク解読を行い、個体のアリル型を決定した。個体のアリル型より、コンピュータソフトウェア Genepop、Fstat2.9.3 を使用してアリル種類数、アリル豊富さ、ヘテロ接合体率観測値、ヘテロ接合体率期待値の算出し、pairwiseFst 検定を行い、集団の遺伝的多様性の経年変化を検討した。

(3) 精子凍結保存技術および凍結精子による人工授精技術の開発

供試魚

試験には、香川県播磨灘産の天然個体を親に持つ完全養殖個体の成熟魚を供した。供試魚は、香川県高松市にある香川県水産試験場で数年養成された後、福井県立大学臨海研究センターに輸送され、500 l 水槽に雌雄別に収容し、オキアミを給餌して飼育した。凍結防止剤の種類を検討した試験は、2010年11月16日に雄5尾、凍結防止剤の濃度の検討試験は2010年11月16日に5尾および2010年11月25日に3尾、冷却速度の検討試験は2010年11月16日に3尾および2010年11月25日に2尾、到達温度の検討試験は、2010年11月25日に5尾を用いた。

精液および尿の採取

成熟した雄魚の全長・体長・体重を測定し、開腹して精巢および輸精管を摘出し生殖腺重量を測定した後、輸精管に切れ目を入れ輸精管から流れ出た精液をピペット (マイクロマン M25, GILSON) を用いて採取した (Fig. 1)。そして、生殖腺重量から生殖腺体指数 (GSI) を下記の式から算出した。また、シリンジを用いて膀胱から尿を採取し、尿重量を測定した。これらは、試験開始まで氷を入れた発泡スチロール内で保管した。その後、各個体の尿を全て混合し (ミックス尿とする) エッペンチューブに入れて冷凍保存した。

$GSI (\%) = \text{生殖腺重量} / \text{体重} \times 100$

精子運動活性の測定

精子運動活性は位相差顕微鏡 (ECLIPSE E800, Nikon) に接続した3CCD カメラ (Nikon) で撮影し、その映像をDVD レコーダー (DV-ACV32, SHARP) に録画した。12 穴式高撥水性印刷スライドガラス上に希釈液として尿5 μl を滴下し、そこに採取した精液少量を柄付き針で懸濁し40 倍で15 秒程度DVD に録画した。2010年11月16日の個体は個体番号1の尿で希釈し、2010年11月25日の個体は5尾のミックス尿を希釈液として用いた。測定はそれぞれ3 回行い、その平均値を測定値とした。録画した映像をDVD ディスクに焼き、フリーソフトのDVD Decrypter でパソコンのHD 上のファイルに移した。フリーソフトのAvidemux でHD 上の映像記録から運動精子率を測定した。画面上にサラップを貼り、画面上から無作為に精子を50 個抽出しマジックで印を付け、コマ送り再生しながら前進運動をしている精子と静止している精子を肉眼で確認し、前進運動をしている精子数を計測した。計測した全精子数に対する運動精子の割合で運動精子率を求めた。 $\text{運動精子率} (\%) = \text{運動精子数} / \text{計測した全精子数} \times 100$

凍結防止剤の検討

タケノコメバル精子に対する最適な凍結防止剤を検討するために、ジメチルスルフォキシド (DMSO X 13407-45, ナカライテスク (株))、メタノール (MeOH) (21915-35, ナカライテスク (株))、エタノール (EtOH) (14713-95, ナカライテスク (株))、グリセロール (G-7757, SIGMA) の4 種類を比較した。凍結防止剤を10%、その希釈液として90%のウシ胎児血清 (FBS) (F2442, SIGMA) からなる保存液で精液を約200 倍に希釈し、それぞれ色の異なる250 μl のストロー管内 (2.0 mm, 長さ12.0 mm, 富士平工業 (株)) に入れ、ストロー管の片方をストローパウダー (富士平工業 (株)) で封入した。精子の冷却は液体窒素法 (Yokoi et al, 2008) を参考に行った。発泡スチロール容器 (縦×横×高さ = 28 cm × 28 cm × 24.5 cm) に1/3 程度液体窒素を入れ、液体窒素の液面に高さ2 cm の発泡スチロール枠 (縦×横×高さ = 11 cm × 11 cm × 2 cm) を浮かべ、そこにストロー管を液体窒素液面と平行に置いた。直ちに発泡スチロール容器に蓋をして冷却を開始した。ストロー管内の温度変化は、保存液のみを入れたモニター用ストロー管に熱電対 (ET1, 被覆熱電対先端溶接付, チノー (株)) を挿入し、試験ごとに試料用ストロー管に並置して計測した。精子の凍結は、液体窒素液面からの高さを10 cm に固定しストロー管内部の温度が -50 に到達したところで直ちに液体窒素に浸漬し、凍結保存した。

凍結防止剤の濃度の検討

凍結防止剤の濃度の比較試験には、上記の試験において最も高い成績を示したDMSO を用いた。保存液量に対するDMSO 濃度を0%、5%、10%、15%、20%および30%に設定し、それに合わせてFBS の容量を調整した。

冷却速度の検討

保存液のみを入れたモニター用ストロー管の中央に熱電対を挿入し、ストロー管内部の温度変化をハイブリッド記録計 (AL-12-8P, チノー(株)) を用いて記録した。内部の温度が室温から -50 に降下するまでに要した時間を計測し、冷却速度を算出した。ストロー管を固定する発泡スチロール枠の高さを変化させることで冷却速度を調節した。精液を10% - 20% DMSO/FBS で約200 倍に希釈し、ストロー管に封入した。冷却速度を調節するため、ストロー管を固定する発泡スチロール枠の高さを6 cm、8 cm、10 cm、12 cm および14 cm の5 段階に設定し、各段階でストロー管内部の温度が -50 に到達するまで冷却した後、液体窒素に浸漬して凍結した。なお、平均速度は、到達温度が -50 の場合にはストロー管内部の温度が0 から -40 に達するまでの平均速度として算出した (Ohta et al, 2001; 太田, 1997)。

到達温度の検討

液体窒素液面からの高さ10 cm (-23.5 /min) でストロー管内部の温度が -20、-30、-40、-50 および -60 に到達するまで冷却した後、直ちに液体窒素に浸漬して凍結した。

解凍方法

凍結した精子の解凍は竹腰 (2001) の方法に従い、液体窒素で保存してあるストロー管を取り出し液体窒素が1/3 程度入った発泡スチロール容器に移し、ストロー管を20 に調整した水が入った発泡スチロール内に7 秒間浸漬することで行った。解凍終了後、直ちにストロー管の両端をはさみで切り落とし、1.5 ml エッペンチューブに解凍した精子を滴下した。1.5 ml エッペンチューブ内の精子0.5 μ l を12 穴式高撥水性印刷スライドガラス上に滴下、希釈して解凍後運動精子率を測定した。希釈液として、室温で解凍したミックス尿5 μ l を用いた。測定はそれぞれ5 回行い、その平均値を測定値とした。

(4) 賦活剤の検討と凍結精子による人工授精

賦活剤の検討：10月23日に雄魚1尾からシリンジで採取した尿と2012年から臨海研究センターで冷凍保存している尿のNa⁺、K⁺、Ca²⁺濃度を測定後、輸精管から漏出した精液を柄付針の先に付着させて賦活させ、直進運動をしている精子数を計測した。

人工授精：雄魚7尾を開腹して精巢を摘出し、輸精管から漏出した精液をピペットで採取雌魚7尾に打注した。

4. 研究成果

(1) 香川集団と他地域集団の遺伝的異質性の検討

集団の遺伝的多様性

香川集団と、放流の行われていない愛知、岩手、福井集団を比較した結果、ハプロタイプ多様度は愛知が0.891、岩手が0.850、福井が0.833、香川が0.884で、集団間で有意な差はみられなかった。香川集団と、放流の行われていない愛知、岩手、福井集団のハプロタイプ多様度を比較した結果、集団間に差はみられなかった。吉田(2009)はマイクロサテライトDNAの解析により、香川集団は他地域集団と比較して遺伝的多様性が低いことを示した。本研究の結果は吉田(2009)と一致しなかったが、その理由として、本研究において、香川集団および他地域集団の一部の標本の調節領域が増幅されず、十分な標本数が得られなかったことが影響していると考えられる。今後、新たなプライマーを開発し、詳細な検討を行う必要がある。

集団の遺伝的分化

4 集団間の Fst 値は、愛知と岩手の間、および福井と香川の間を除いて有意差が認められた。しかしながら、愛知と岩手の集団間で重複しているハプロタイプは3つ、福井と香川の集団間で重複しているハプロタイプは2つであり、これら以外はそれぞれの集団の固有のハプロタイプであった。ハプロタイ

表1 愛知、岩手、福井、香川集団のハプロタイプ頻度組成を用いたMCMC正確確率検定

	愛知	岩手	福井	香川
愛知		0.11803	0.01442	0.02109
岩手	NS		0.00099	0.00002
福井	*	***		0.01419
香川	*	***	*	

P<0.05 *, P<0.01 **, P<0.001 ***

プの頻度分布を用いた MCMC 正確確率検定では、愛知と岩手間を除いて集団間に有意差が認められた(表1)。

(2) 香川県在来集団の遺伝的多様性の経年変化

年級群別のハプロタイプ多様度と塩基多様度の経年変化を検討した(図1)。ハプロタイプ多様度は、2005年以前年級群では0.863、2006年級群では0.840、2007年級群では0.807、2008年級群では0.808、2009年級群では0.799を示したが、各年級群間のFst値に有意差は認められなかった。しかし、年級群の経過とともに減少する傾向がみられ、2005年以前年級群から2009年級群の間で7.4%の低下が認められた。

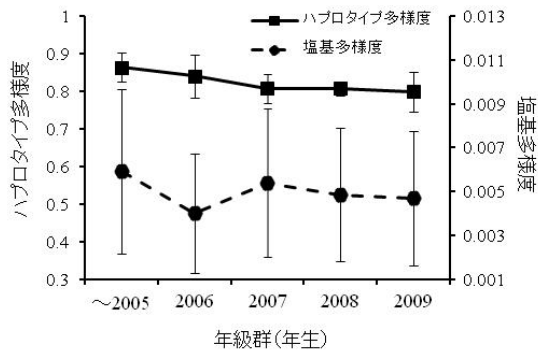


図1 香川集団の年級群別ハプロタイプ多様度と塩基多様度

マイクロサテライト DNA 解析による年級群別の多様性の経年変化を検討した。He は 4 遺伝子座の平均値が 0.611~0.676、An の 4 遺伝子座の平均値は 4.889~6.294 を示し、経年変化に減少傾向はみられなかった。また、全ての年級群間において Fst 値に有意差は認められなかった(図 2)。

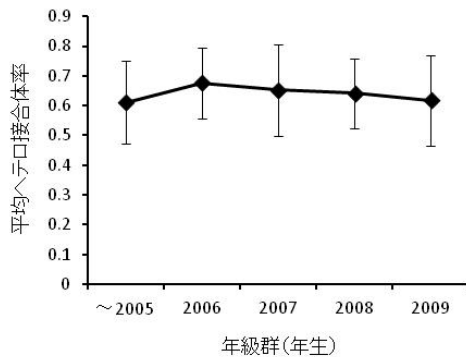


図2 香川集団の年級群別平均ヘテロ接合体率

本研究において、ハプロタイプ多様度に減少傾向が認められた。ミトコンドリア DNA のハプロタイプ解析は、変異の大きいマイクロサテライト DNA の解析に比べて、集団の遺伝的な変化が顕著に表れやすいと考えられる。したがって、このハプロタイプ多様度の傾向は、在来集団の遺伝的多様性の低下を示している可能性がある。成長した放流魚が大量に漁獲されており、放流効果が表れているように思えるが、その一方で放流集団が在来集団に定着し、遺伝的多様性に影響を与えることで将来的な資源の維持を阻害する可能性が

ある。北欧で導入されたブラントラウトが高い死亡率を示し、また天然魚と交配した次の世代も死亡率が高いということが分かっている(Borgstrom et al. 2002)。タケノコメバルの放流魚の特性については全く研究されていないため、放流魚による在来集団への生態的な影響は予測できない。しかし、本研究の結果が遺伝的多様の低下を示しているとしたら、近交弱勢により将来的な資源に影響する可能性がある。一方で、塩基多様度、平均ヘテロ接合体率、または他の指標に特別な傾向は認められなかった。この理由として、

放流魚の遺伝的多様性は低いものの、毎年親魚が異なることから、多様性への影響が少ないということが考えられる。また、放流魚が再生産に加わっていない可能性がある。放流魚が再生産に加わり、遺伝的多様性に影響が表れるのは 2007 年級群以降となり、これらが漁獲に加入するのが 2009 年以降となる。そのため、本研究の標本として用いられたタケノコメバルは在来集団由来のものがほとんどであったため、遺伝的多様性への影響が認められなかった可能性が考えられる。一方で、放流魚の再生産への関与は調査されていないため、放流魚と漁獲魚の遺伝子型の比較を行い、どの程度放流魚が再生産に関与しているのかを評価する必要がある。

(3) 精子凍結保存技術および凍結精子による人工授精技術の開発

本試験に供した 10 尾の平均体重は 176.7 ± 24.0 g、GSI は $0.4 \pm 0.1\%$ であった。また、雄 10 尾の凍結前運動精子率の平均は $48.7 \pm 22.5\%$ であった。そのうち、50%以上の運動精子率を示した個体は 10 尾中 4 尾のみであった。

凍結防止剤の検討

タケノコメバル精子に対する最適な凍結防止剤を検討した凍結前の運動精子率の平均は $56.7 \pm 22.2\%$ であったのに対して、凍結防止剤として DMSO を用いたところ $21.1 \pm 7.3\%$ と最も高く、次いで MeOH で $13.0 \pm 5.5\%$ を示した。しかし、EtOH および Glycerol の 2 種を用いた場合は、すべての個体において解凍後に運動型を示した精子は認められなかった。解凍後運動精子の減少率は DMSO、MeOH でそれぞれ 43.1%、27% となった。

凍結防止剤の濃度の検討

試験に供した雄 8 尾の凍結前の運動精子率の平均は $45.8 \pm 23.7\%$ であった。0~10% の範囲では DMSO 濃度が高くなるにつれ解凍後の運動精子率も高くなり、0% に比べて 10、15 および 20% で有意に高くなった。しかし、DMSO 濃度が 10%、15% および 20% の間に有意な差は認められなかった。すべての個体を合わせると、0% と 30% より 5、10 および 20% で有意に解凍後の運動精子率は高くなったが、5、10 および 20% の間で有意な差は見られなかった。また、30% ではすべての個体において解凍後運動精子率は 0% であった。

冷却速度の検討

液体窒素液面上でストロー管を固定する発泡スチロール枠の高さを 6 cm から 14 cm まで変化させたときの冷却速度は -54.8 /min から -11.8 /min の範囲となった。試験に供した雄 5 尾の凍結前の運動精子率の平均は $37.9 \pm 23.2\%$ であった。それぞれの高さで -50 まで冷却して液体窒素に浸漬し凍結した結果、液面からの高さが 6~10 cm の条件で 14 cm と比較して有意に高い解凍後運動精子率を示した。

到達温度の検討

ストロー管を液体窒素液面から10 cmの高さに固定し、-20 から -60 までの各温度に達した時点で液体窒素に浸漬し、凍結および解凍したときの解凍後運動精子率を述べる。試験に供した雄5尾の凍結前の運動精子率は $40.7 \pm 22.2\%$ であった。-20 まで冷却したときの解凍後運動精子率は $2.6 \pm 2.7\%$ で、-30 から -60 で冷却したときと比べて有意に低かった。しかし、-30 から -60 で冷却したときの平均解凍後運動精子率は $16.1 \pm 0.6\%$ であり、これらの間で結果に有意な差は見られなかった。

凍結前と解凍後運動精子率の比較

8尾の凍結前の運動精子率の平均は $45.8 \pm 23.7\%$ であった。また、それらの精子を10%DMSO/FBSで約200倍希釈し、液体窒素液面からの高さ10 cmで-50 まで冷却し、凍結したときの平均解凍後運動精子率は $19.9 \pm 12.4\%$ であった。運動率の平均減少率は $52.6 \pm 42.7\%$ であった。

(4) 賦活剤の検討と凍結精子による人工授精

生鮮精子の運動活性は尿の種類により0~44.7%と差が大きく、活性の有無が明瞭に区別された。また、運動活性があった5つの尿のイオン濃度は、Na⁺濃度には大きな差は見られなかったが、K⁺濃度とCa²⁺濃度は、尿間で数値が大きく異なった。精子の運動活性が活発な尿のイオン濃度は、K⁺とCa²⁺で個体間の差が大きかったが、Na⁺濃度はほぼ共通していたことから、Na⁺濃度が精子賦活の条件である可能性が示唆された。今回、香川水試では雌魚が産仔したのに対し、臨海研究センターでは産仔しなかった。臨海研究センターでのカニキュレーション実験と卵巣観察の結果から、大部分の卵が排卵していなかった。卵母細胞の最終成熟がうまく進まず排卵できなかったことが、受精できなかった原因であると考えられる。一部の排卵された受精卵は発生が進み、仔魚まで発達していた。

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1件)

Yamamoto M, O. Tominaga Prey availability and daily growth rate of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* at a sandy beach in the central Seto Inland Sea, Japan, *Fisheries Science*, 80, 1285-1292, 2014.

〔学会発表〕(計4件)

水落裕貴・安部昌明・栩野元秀・三木勝洋・宮内大・富永修: "瀬戸内海におけるタケノコメバル人工種苗の放流が在来集団の遺伝的多様性に与える影響。" 平成24年度日本水産学会秋季大会。

(20120915-20120915). 山口県下関市 富永修・水落裕貴・小北智之・栩野元秀・三木勝洋・宮内大: "タケノコメバルの放流が在来集団の遺伝的多様性に及ぼす影響と多様性維持をめざした人工授精技術の確立。" 東京大学大気海洋研究所共同利用研究集会(招待講演)。 (20121031-20121031). 千葉県柏市 Mizuuchi Hirota, Daisuke Tahara, Masaaki Abe, Motohide Tochino, Katsuhiko Miki and Osamu Tominaga: "Affect of the release project of hatchery-reared bamboo rockfish *Sebastes oblongus* on the genetic diversity of the indigenous population in the Seto Inland Sea, Japan." 日中韓3国シンポジウム。 (20121130-20121130). 福井県小浜市 水落裕貴・田原大輔・安部昌明・羽野元秀・三木勝洋・富永修: "瀬戸内海タケノコメバルの遺伝的多様性に関する研究。" 平成24年度稚魚研究会。 (20121208-20121208). 福井県福井市

〔図書〕(計1件)

富永修・佐藤専寿: みえる水・みえない水がうみだす里地・里山・里海のつながりと生物多様性 ~水は"森と海"をつなぐキューピッド~, 福井県大学連携リーグ双書 里地里山里海の生きもの学(吉岡俊人編), 福井県大学連携リーグ, 福井, 169-188, 2014

〔その他〕

ホームページ等

<http://tomiytomiy.web.fc2.com/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富永修 (TOMINAGA Osamu)

公立大学法人福井県立大学・海洋生物資源学部・教授

研究者番号: 90264689

(2) 研究分担者

田原大輔 (TAHARA Daisuke)

公立大学法人福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授

研究者番号: 20295538

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号: