

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580280

研究課題名(和文) 価格を大きく左右するナマコ疣足(イボアシ)形質の選抜育種に関する研究

研究課題名(英文) Study of selective breeding for papilla characteristics, which influence the market price of Japanese common sea cucumber

研究代表者

奥村 誠一 (Okumura, Sei-ichi)

北里大学・海洋生命科学部・教授

研究者番号：60224169

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)： マナモコの疣足は数が多く長いものの価値が高い。本研究は、その選抜育種技術の開発に資することを目的とした。各産地野生集団の疣足数は緯度との間にクラインを示し、北方のものほど多かった。このことは優良な選抜育種素材を探索する上で重要である。またマイクロサテライト座のアリル頻度でもクラインが見られ、本種が段階的に分布を広げ、遺伝的に異なる集団となるのに伴い、疣足形質も変化したことが示唆された。年齢(個体サイズ)と疣足数の関係を検討したところ、明確に目視できる疣足の数は、北方産地では年齢(個体サイズ)と共に増加するが、南(西)の産地では成長しても疣足数が変化しないことが示唆された。

研究成果の概要(英文)： Japanese common sea cucumber *Apostichopus japonicus* with numerous and long papillae have a high market value. The present study aimed to contribute to the development of selective breeding for enhancing papilla characteristics in this species. The number of papillae in different habitats is related to latitude, with more northerly distributed populations possessing more numerous papillae. This knowledge is important in terms of searching for excellent materials for selective breeding. Allele frequencies of microsatellite DNA markers are also related to latitude. This suggests that the species has gradually expanded its distribution, and that genetically different populations with different papilla characteristics have evolved. The relationship between body size and the number of papillae, which is clearly visible, showed a positive correlation in northern populations. In southern populations, however, there was no clear correlation between growth and the number of papillae.

研究分野：水族遺伝育種学

キーワード：ナマコ 疣足 選抜育種 DNAマーカー マイクロサテライトDNA 種苗生産 養殖 遺伝的集団構造

1. 研究開始当初の背景

マナマコには、体表上に疣足(イボアシ)と呼ばれる突起が存在する(図1)。乾燥マナマコの品質を大きく左右するものとして、いわゆる「疣立ち」(いかに疣足が長く立ち目立つか)および変形個体の有無が挙げられ、このことは干しナマコの品質基準として日本農林規格で規定されていたほどである。変形個体の有無については、加工の過程で内臓除去のための切開部分が目立つことや、干す過程で個体が屈曲してしまうなど、むしろ加工技術によるところが多く、生物学的なことは無関係であるが、疣立ちについては、上記した疣足の長さが大きく関わり、またその数が多いことは疣足がより良く目立つことを示すので、数もまた重要な要素である。申請者らは、これらの生物学的な形質が市場価値を左右することに着目し、予備実験および平成21~23年度科学研究費補助金基盤研究Cにおいて以下の結果を得た。

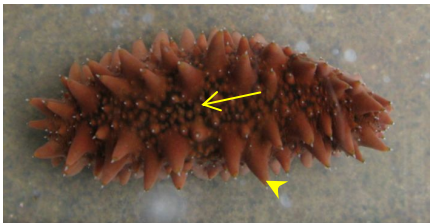


図1. マナマコの疣足(矢尻)および極小の疣(矢印)

(1)疣足の長さ・数は個体のサイズと共に長く・多くなることを見出し、これらの形質を評価する体長・体重を常に考慮に入れ、個体サイズに対する疣足の長さ・数を指標とする必要性が明らかとなった。(2)6産地から得られた野生集団のマナマコの疣足長・数を計測したところ、何れも極めて幅広い個体差を示し、平均疣足長に大きな差は見られなかったものの、個体サイズに対する疣足数は千葉、兵庫、大分のものに比べて東北・北海道のものが多く、さらに北海道>岩手>青森の順に有意に多いことを見出した。(3)青森産同士および岩手産同士の掛け合わせにより得られた稚マナマコを同一条件下で約1年間飼育し、幼マナマコとなった時点での疣足長・数を計測したところ、環境要因が同一であるにも関わらず、(2)で記した産地間で差の見られた親集団の疣足数の特徴を子供集団が引き継いでいることを見出した。これらのことは個体サイズに対する疣足数が遺伝形質である可能性を示唆する。しかしながら、東日本大震災に起因する津波の影響で北日本水産(株)(研究協力者)の施設が崩壊したこと、申請者所属の北里大学海洋生命科学部が神奈川県相模原キャンパスに移転したことなどの影響により、当初の計画どおりに研究を実施できなくなり、以下の課題が残った。またこれまでの研究成果に基づき、以下のような発展的な検討事項が抽出された。(1)疣足形質を検討した野生集団の産地数が不十分

である。(2)成長に伴う疣足形質の変化を同一個体を用いて継続的に検討されていない。(3)形質を集団レベルで比較したのみであり、個体レベルでの親子関係に基づいた検討が不十分であった。(4)疣足長の検討が不十分である。本研究ではこれらを解決し、疣足長・数が選抜育種に供せるような遺伝形質であるか否かを検証する。

2. 研究の目的

乾燥マナモは中華料理の高級食材である。中国の経済発展に伴いマナモの需要が高まり、輸出による我が国天然資源の枯渇が危惧されている。また、このことはマナモ種苗生産・養殖業のビジネスチャンスでもある。本種の疣足形質(数・長さ)は乾燥マナモの市場価値を大きく左右する重要な経済形質であり、数が多く長いものほど高値で取引される。本研究ではこの形質に着目し、経済価値の高い形質を有するマナモの選抜育種に資することを目的とする。

東日本大震災で崩壊した北日本水産(株)(研究協力者)の復興が遅れ、マナモの種苗生産を行うまでには至らなかった。また当初その代用として考えていた種苗生産会社においても業務の再編により種苗生産が充分に行われなかったため、個体レベルでの親子関係については調べることが困難であった。そのため、当初計画のうち主に野生集団を用いた検討に焦点を絞った。

3. 研究の方法

(1)育種素材の探索

これまでの研究により、疣足数は遺伝形質であることが示唆された。そこで、選抜育種に用いるため、優良な疣足形質を有する野生集団を育種素材として探索しておく必要がある。そこで本研究では、これまでに入手・分析した産地(北海道内浦湾、青森県陸奥湾、岩手県大船渡市、新潟県佐渡島、兵庫県浜坂町・同淡路島、香川県)についてデータの追加または個体の追加採集を行いつつ、新たに日本海側も含めて南北にわたり標本を採集した。本研究で新規に加えた野生集団の産地は、北海道積丹半島、岩手県山田町、秋田県男鹿市、神奈川県三浦市、石川県七尾市、愛知県田原市、三重県南勢町、および長崎県壱岐島である。これらの標本について、疣足形質(疣足数、疣足長)および体重の測定を行った。さらに、測定した各産地集団の遺伝的な特徴(集団遺伝学的バックグラウンド)を調べるため、マイクロサテライト(ms)DNA分析を併せて行い、集団毎にアリル頻度等を求めた。

(2)疣足形質の経時変化

疣足数が遺伝的に支配されるものだと仮定しても、この形質が量的形質であることを鑑みると、環境要因や個体サイズに起因して形質が変化する可能性があり、またこのこと

を把握することは実用化に対して重要である。生きたナマコの疣足は、ハンドリングにより大幅に収縮すること、および実験水槽内で成長させることが予想以上に困難であったことから、生かしたまま同一個体の成長に伴う疣足形質の変化を詳細かつ正確に測定したデータは得づらかった。したがって本研究では、同一産地内での個体サイズ（年齢）と疣足形質との関係について、極小の疣から産業上重要な大きさの疣足に至るまで、疣足の長さも詳細に測定することを踏まえ、個体を凍結などの手段により固定する方法も併用して検討した。

(3) 疣足の組織学的観察

本研究を進める過程で、以前ではほとんど考慮されていなかった体表面に多数ある極小の疣（図1矢印）が明らかな疣足（図1矢尻）と相同のものであるのか否かについての疑問が浮上した。このことは、これらの極小疣が、個体の成長過程で産業上重要な明らかな疣足へと発達するか否かという重要な現象の解明に資するものである。したがって、本研究では、当初計画には含まれていなかったが、その重要性を鑑み、疣足の組織学的な観察を行った。

4. 研究成果

(1) 育種素材の探索

太平洋および日本海側毎に、各産地の緯度と平均疣足数との間に有意な相関（地理的勾配、クライン）が見られ、北方の産地ほど疣足数が多くなるクライン（地理的勾配）を示した。またこのクラインを示す相関グラフは、太平洋と日本海とで分離・独立した状態を示した（図2）。

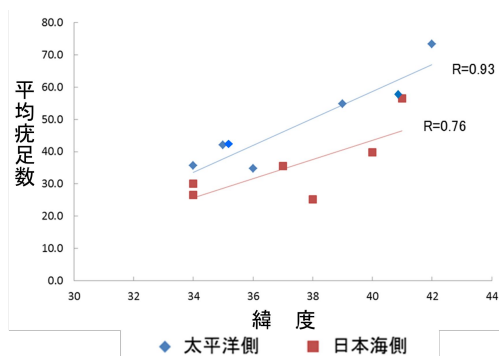


図2. マナマコ野生集団採集地点の緯度と平均疣足数との関係

産地毎に、mDNA アリル頻度に基づいてハーディー・ワインベルグ平衡との一致の有無を調べたところ、各産地とも統計的な一致が見られた座が多く存在したことから、これらの野生集団は、ハーディー・ワインベルグ平衡を保つ任意交配集団であることが分かった。さらに、これらのアリル頻度が、上記の疣足数の場合と同様に産地の緯度との間でクラインを示す ms 座が存在した（図3、4）。こ

のことは、日本列島における本種の分布が、典型的な段階的集団隔離を起こしていることを示すものである。msDNA 変異は、機能的遺伝子の変異ではなく、明らかに中立的であるため、このクライン現象は、環境適応・淘汰とは無関係な場合においても、本種が近隣の地域に徐々に分布を広げたことにより、それぞれの集団間で生殖隔離を起こし、段階的に異なる集団としての特徴を持つようになったことを強く示唆する。

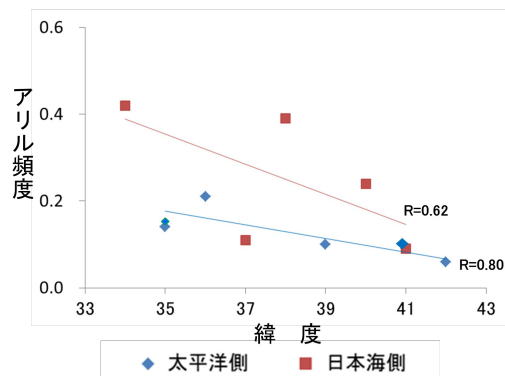


図3. マナマコ野生集団採集地点の緯度と Psj2031 ms 座のアリル頻度との関係

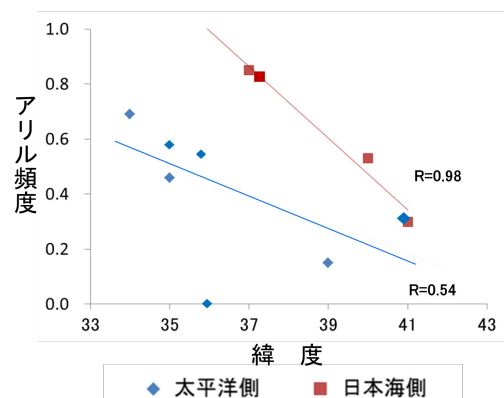


図4. マナマコ野生集団採集地点の緯度と Psj2463 ms 座のアリル頻度との関係

上記の遺伝的集団構造をバックグラウンドとして持つ本種において、上述したとおりに疣足数は明らかなクラインを示した。疣足数が、緯度と密接に関係する生息水温などに対して中立であるか否かは知見がなく不明であるが、疣足数が中立的な変異であると仮定した場合においても、この形質が遺伝形質であることを示唆した平成 23 年度までの研究結果および上記の msDNA 変異に基づく遺伝的集団構造の特徴を鑑みると、疣足数の変異が、msDNA 変異と同様に、本種が分布を広げる過程でクラインを形成し得たことが考えられる。疣足数は量的形質であるため、その変異は連続的で複数の遺伝子座に支配されている可能性が高く、遺伝機構は複雑であることが予測される。また環境要因に影響されることも否定できない。今後は、詳細な交配実験を繰り返して遺伝率を算出すると共に、ゲノ

Δ解析等を通じた遺伝子レベルでの研究が必要である。

疣足長の変異においても、クラインを示す傾向は見られたが、それらは統計的に有意でなかった。このように疣足長において有意なクラインが見られなかったことは、疣足は伸縮が激しく、その長さが形質として不安定であることに起因すると考えられる。

本研究では、疣足形質の遺伝的基盤を明らかにしたとともに、実際に検討した上記各産地の形質のみならず、未検討な産地野生集団においても、それらの形質の特徴を予測できる可能性を与えるものである。選抜育種を行う上で重要なことは、育種素材としての優良形質を持つ野生集団を多く探索すること、および目的形質の遺伝性を含む生物学的な特性を理解することであるが、本研究はそれらに資する点で有意義である。

(2) 疣足形質の経時変化

成長（個体サイズ）と疣足数の関係を疣足長も考慮して検討した。凍結等を行い疣足を固定する技法も用いて詳細に検討した結果、目視にて明確に認識できる長さの疣足数は、北方の産地（北海道、青森、岩手）では、年齢が高い（個体サイズが大きい）ものの方が多くなる傾向を示した（図5にて青森県産について示す。北海道、岩手においても同様の傾向を示した）。したがって、成長とともに疣足数も増加することが考えられたが、南（西）の産地（神奈川、愛知、三重）では、そのような傾向は見られなかった。図6に示す三重県産の場合、体重差が150倍以上あるにも関わらず疣足数に有意差が見られなかった。上述したように、同一個体の成長・縮みに伴う疣足を正確に計測することは困難であったが、これらの結果は、特に南（西）の産地では、疣足数が維持されたまま成長する（あるいは縮む）ことを示唆した。産地によるこのような差の存在は本研究によって初めて明らかになったことである。これは選抜育種形質の特性として重要であるが、このような大きな種内変異の存在を示した点で生物学的にも意義がある。

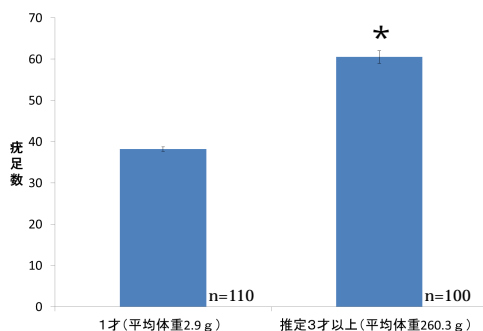


図5．青森県産マナマコの年齢と平均疣足数

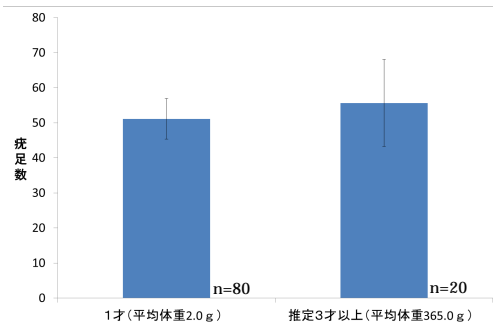


図6．三重県産マナマコの年齢と平均疣足数

(3) 疣足の組織学的観察

長さ5mmを越える疣足（明らかな疣足）の組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシんで染色したところ、疣足の内部は空洞になっており、その空洞は体腔へ開口していることがわかった（図7）。しかし、極小の疣との明確な違いを見出すまでには至らなかった。



図7．マナマコ疣足の組織切片像
赤丸は疣足内部の空洞が体腔へ開口している部分を示す

以上、本研究により、産業上重要である疣足形質の全国分布とそれらの遺伝的特徴、成長に伴う疣足数の変化、および疣足の組織学的な特徴について明らかにすることができた。このような系統だった研究は、国内外においても他に類を見ないものである。

疣足形質は、以前の研究および本研究が示す遺伝学的な特徴から、選抜育種に値するものであることは明白である。さらに本形質は、国内においても産地により個体変異に富んでおり、この変異性の高さが優良な育種素材の探索に対して極めて有利に働くことが考えられる。

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）

〔学会発表〕（計3件）

奥村誠一、井上良夢、大西孝尚、高宮城啓介、堀大貴、足立賢太．マナマコ疣足形質の地理的特性に関する研究．平成27年度日本水産学会春季大会，2015年3月

28日，東京海洋大学（東京）。
井上良夢，大西孝尚，奥村誠一：マナマコ各産地野生集団の疣足形質と遺伝的特性．平成25年度日本水産学会秋季大会，2013年9月21日，三重大学（津）。
井上良夢，大西孝尚，藁谷崇史，古川末広，奥村誠一：経済的に重要であるマナマコ疣足形質の各産地野生集団間比較．平成24年度日本水産学会秋季大会 2012年9月15日，水産大学校（下関）。

〔図書〕（計1件）

奥村誠一：第8章 ビジネスとしての陸上完全養殖，ナマコ学，成山堂書店，129-142，2012（7月）

6．研究組織

(1)研究代表者

奥村 誠一（OKUMURA, Sei-ichi）
北里大学・海洋生命科学部・教授
研究者番号：60224169