

■報告書■ 2005 年度神奈川大学総合理学研究所助成共同研究

## 微量 DNA からの塩基配列決定法を用いたホタテ母貝個体群の推定

鈴木 祥弘<sup>1,2</sup> 井出 功一<sup>1</sup>

### Estimation of Parental Populations of Scallop with Sequencing Method from Total DNA in Individual Larva

Yoshihiro Suzuki<sup>1,2</sup> and Koichi Ide<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biological Sciences School of Science Kanagawa university  
2946 Tsuchiya, Hiratsuka, 259-1205, Japan

<sup>2</sup> To whom correspondence should be addressed. E. mail: syoshi@bio.kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** Total DNA was extracted from each individual larva of scallop (*Patinopecten yessoensis*) collected at Saromako Lagoon Hokkaido Japan in May and June 2005 and sequence of NcRII in mitochondrial DNA of each individual was determined with a small scale sequencing method. We could classify 146 individuals to 4 groups with NcRII sequence. Population of AHG12 increased particularly during recent 5 years corresponding to the high temperature in Saromako Lagoon in Summer.

**Keywords:** mitochondrial DNA, NcRII, Saromako Lagoon, scallop

#### 序論

養殖漁業において、母貝・母魚の保全は優良な稚貝・稚魚を採苗し、効率よく養殖を行うために不可欠である。しかし多くの魚介類では、海中を広範囲に浮遊する微少なプランクトン幼生を種苗に用いるため、母貝・母魚の特定が困難であった。プランクトン幼生を種苗に用いる養殖漁業の一つにホタテ貝 (*Patinopecten yessoensis*) がある。これまでの研究でプランクトン幼生の個体群間の違いを DNA 塩基配列を指標に検出する方法を開発し、その結果に基づく母貝集団の変化を追跡してきた。本研究では、2005 年 5~6 月に出現したプランクトン幼生の個体群構成を詳細に解析し、過去の結果と比較した。

#### 材料と方法

北海道サロマ湖では 5~6 月にプランクトン幼生が出現する。本年は 5/30、6/2、6/6 と 6/9 の 4 回、サロマ湖内の 2 海域で採水を行いプランクトン幼生を採集した。試水中のプランクトン幼生を顕微鏡下でマイクロマニピュレーションにより単離し、岩谷らの Chelex100 法により個体毎に全 DNA を抽出した。抽出した全 DNA を鋳型として、ホタテ個体群の識別にしばしば用いられるミトコンドリア DNA 上の NcRII 領域を PCR 法によって増幅し、ABI PRISM310Genetic Analyzer を用いて、塩基配列を

決定した。ソフトウェア ClastalW ver.1.83 を用いて塩基配列を整理し、系統群に分類した。

#### 結果

湖口付近の採水海域では 6/2、湖内奥の採水海域では 6/6 にプランクトン幼生の密度が最大となった。4 回の採水で計 1536 個体を単離し、全 DNA を抽出した。抽出 DNA の全てにホタテ貝に特異的に反応するプライマーを用いて PCR を行ったところ、780 試料で DNA が増幅した。この時期、外見が非常に類似したイガいの幼生がホタテ貝の幼生と共存するため、単離個体に多くのイガいの幼生が混入したことが、低い収率の原因と考えられる。このうち無作為に選んだ 200 試料について、塩基配列を解析し、146 試料について NcRII 領域の塩基配列を決定した。塩基配列より試水中の個体群に 33 種のハプロタイプを確認できた。これを長島らの系統群で分類すると、4 系統が確認された。

#### 討論

本研究で検出されたハプロタイプを過去に北海道全域のホタテガイについて行われた解析結果と比較すると、33 ハプロタイプの内 14 が新規なハプロタイプであった。この結果は、NcRII 領域には極めて多

くの変異があり、個体群の識別に充分な多様性を持つことを示している。また、より詳細な解析を行うためには、さらに多くの個体の解析が必要であることが明らかになった。これらのハプロタイプをNcRII領域の中の指標塩基を用いて系統群に分類すると、HG01、HG04、HG12とHG21の4系統群が確認できた。4系統群の割合は1980、1998および2000年の解析結果とほぼ一致したものの、HG12系統群が急激に増加する傾向が認められた。この個体群はホタテ貝分布の南限付近で特徴的に優先する

ことが知られている。近年の下記海水温の上昇との関連も疑われる。今後の継続した解析が極めて重要であることが改めて示された。

#### 謝辞

本研究を行うにあたり、多大なご支援をいただきました、サロマ湖養殖漁業協同組合・サロマ湖養殖調査研究センター・研究部長・前川公彦氏に深く感謝いたします。