

水槽内自然産卵により得られたマツカワふ化仔魚の 遺伝的多様性

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2025-06-25
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 鈴木, 重則, 森岡, 泰三, 錦, 昭夫
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014721

This work is licensed under a Creative Commons
Attribution 4.0 International License.



水槽内自然産卵により得られたマツカワふ化仔魚の遺伝的多様性

鈴木 重則^{*1}・森岡 泰三^{*2}・錦 昭夫

(^{*1} 南伊豆栽培漁業センター, ^{*2} 北海道区水産研究所 海区水産業研究部栽培技術研究室)

冷水性の大型異体類であるマツカワ *Verasper moseri* は、市場価値が高く、北日本における重要な水産生物である。しかし近年、国内で年間に捕獲されるマツカワ天然魚の数は二桁のオーダーと見積もられており、その資源水準は極めて低位である。また、水産庁の「日本の希少な野生水生生物に関するデータブック」において希少種に指定されるなど、このまま放置すれば近い将来のうちに絶滅する可能性が高いと考えられる¹⁾。また、1992年に開催された環境サミット以降、世界的に遺伝的多様性保全の観点が重要視されるようになり、栽培漁業における大量の種苗放流が天然集団に与える影響が懸念されるようになった。特に、人工種苗における遺伝的多様性の低下と、種苗放流による天然集団の遺伝的攪乱については、それらを回避するための新たな種苗生産手法および放流手法の開発が求められている。

そこで、厚岸栽培技術開発センターでは人工種苗を生産・放流することによる資源回復の試みを進める一方で、遺伝的多様性の維持を図るための栽培漁業技術についてもマツカワを対象として開発を進めている²⁾。

ここでは、陸上水槽で養成するマツカワ親魚が自然産卵することにより得られたふ化仔魚の両親由来を高感度マイクロサテライトDNAマーカーにより判別し、自然産卵由来ふ化仔魚の遺伝的多様性維持に向けた活用方法を検討した。

材料と方法

採卵およびふ化仔魚の確保 マツカワ天然親魚の雄4尾および雌7尾の合計11尾を2002年12月に厚岸栽培技術開発センターの容量50kℓコンクリート水槽1面に収容した(表1)。養成水温は2003年2月12日まで3℃を維持し、2月13日から3月14日にかけて10日に1℃の割合で昇温し、6℃まで上昇させた後は同水温を維持した。餌料としてチカ、キュウリウオのぶつ切りもしくはエビジャコを週1回与えた。産卵期間中の注水量は7 m³ (3回転)/時間とした。卵の回収はゴースネット製ネットへ飼育水の表層水をオーバーフローさせて毎日1回行った。卵が回収された場合には、飽和食塩水を35%となるように添加して浮上卵と沈下卵

表1 試験に供したマツカワ天然親魚のサイズ、由来およびマイクロサテライトDNAのアリル型

個体 番号	全長 (cm)	体重 (kg)	雌 雄	活け込み状況		msDNAのアリル型		
				搬入年	漁獲海域	Vmo2	Vmo17	Vva7
612	53.5	2.26	♂	1994	厚岸	259/270	196/222	172/172
150	58.0	2.87	♂	1997	厚岸	208/286	216/241	172/236
409	60.0	3.43	♂	1994年以前	広尾	283/301	203/224	224/270
101	53.0	2.09	♂	2000	根室	263/285	171/197	210/260
326	68.0	5.87	♀	1999	広尾	193/222	167/167	194/240
F40	75.0	8.16	♀	不明	不明	278/282	201/225	158/252
602	61.5	4.35	♀	2000	厚岸	199/272	211/234	184/264
408	58.5	3.99	♀	1999	厚岸	258/272	196/207	204/222
D33	62.0	3.82	♀	1999	厚岸	218/268	203/203	182/250
E0C	60.0	3.91	♀	2001	厚岸	270/294	179/179	180/240
474	75.0	7.00	♀	1994年以前	広尾	204/292	193/227	154/160

測定日：2002年12月16日

表2 マツカワふ化仔魚の親子鑑定に用いたマイクロサテライトDNAマーカーの概要

遺伝子座	プライマー配列(5'-3')	反復配列	検出アレル数	msDNAサイズ (bp)	日本DNA データバンク 登録番号
<i>Vmo2</i>	F: ATGCTTTTACTCACGGCTCAGT R: AGTGGCAGTTCATTTGGATTC	(CA) ₁₇	33	189-318	AB110617
<i>Vmo17</i>	F: GTGACCTGCCTCCGAATA R: ACTGTCGCTTCAAGATTTCAA	(GA) ₂₉	27	167-242	AB110623
<i>Vva7</i>	F: GGTGCTTGCGTTCTTGG R: ACAAAGGCTTCAATCAGGATG	(GT) ₁₂ TT(GT) ₂	24	148-286	AB110625

表3 陸上水槽におけるマツカワ自然産卵結果および得られたふ化仔魚の親子鑑定結果

採卵日	総採卵数 (粒)	浮上卵数 (粒)	受精卵数 (粒)	受精率 (粒)	分析した ふ化仔魚数 (尾)	ふ化仔魚の親魚由来											
						♂ (ID)				♀ (ID)*3							
						● 612	▲ 150	○ 409	△ 101	326	F40	602	408	D33	E0C	474	
3月11日	11,700	10,800	0	-	-												
3月12日	61,200	61,200	20,065	32.8	18	18				●18							
3月13日	43,200	28,800	0	-	-												
3月14日	7,200	2,700	0	-	-												
3月15日	331,200	230,400	125,564	54.5	18	18					●18						
3月16日	230,400	147,600	114,144	77.3	3			3	○3								
3月17日	72,000	36,000	0	-	-												
3月18日	201,600	180,000	153,852	85.5	16		16				▲16						
3月19日	347,400	277,200	206,878	74.6	18	16	2			●16	▲2						
3月20日	133,200	86,400	49,950	57.8	14	14				●9		●5					
3月21日	129,600	93,600	75,600	80.8	20			20							○20		
3月22日	223,200	198,000	62,873	31.8	19			19							○19		
3月23日	257,400	216,000	180,727	83.7	9			9	○9								
3月24日	144,000	118,800	56,470	47.5	11			11				○11					
3月25日	100,800	64,800	0	-	-												
3月26日	46,800	32,400	0	-	-												
3月27日	115,200	108,000	73,053	67.6	※1												
3月28日	495,000	424,800	127,035	29.9	20			20	○20								
3月29日	226,800	198,000	60,791	30.7	19		15	4	○4			▲15					
3月30日	46,800	28,800	0	-	-												
3月31日	295,200	252,000	58,531	23.2	19			19	○11							○8	
4月1日	370,800	363,600	135,371	37.2	8			8	○2			○6					
4月2日	79,200	68,400	0	-	-												
4月3日	165,600	162,000	17,330	10.7	※1												
4月4日	147,600	140,400	49,687	35.4	18			18				○18					
4月5日	64,800	32,400	0	-	-												
4月6日	100,800	82,800	0	-	-												
4月7日	109,800	108,000	0	-	-												
4月8日	0	0	0	-	-												
4月9日	72,000	68,400	16,800	24.6	18		18									▲18	
4月10日	115,200	108,000	25,043	23.2	18		10	8			▲10	○8					
4月11日	0	0	0	-	-												
4月12日	90,000	68,400	27,735	40.5	15				15			△15					
4月13日	136,800	118,800	10,058	8.5	※2												
4月14日	39,600	14,400	0	-	-												
4月15日	122,400	108,000	35,172	32.6	20		20									▲20	
4月16日	86,400	68,400	6,235	9.1	18		14		4					△4		▲14	
4月17日	12,600	1,800	0	-	-												
4月18日	32,400	28,800	7,476	26.0	19			19								○19	
4月19日	0	0	0	-	-												
4月20日	7,200	0	0	-	-												
合計	5,273,100	4,338,900	1,696,440		338												

※1 卵管理中の事故でサンプルが得られなかった

※2 受精率が低かったために卵管理を中止した

※3 数値左の図形は雄親魚由来を示す

表4 マツカワふ化仔魚の親子鑑定結果から推定された
親魚別の自然産卵由来受精卵に対する貢献度

項 目	♂ (ID)	♀ (ID)							合 計
		326	F40	602	408	E0C	D33	474	
受精卵数 (粒)	409	502,433		218,815	138,473	32,121			891,842
	612	236,068	125,564	17,839					379,471
	150		190,751	47,993		40,021	16,800		295,565
	101			27,735			1,386		29,121
	合計	738,501	316,315	312,382	138,473	72,142	18,186	0	1,595,999
貢献度 ^{※1} (%)	409	31.5		13.7	8.7	2.0			55.9
	612	14.8	7.9	1.1					23.8
	150		12.0	3.0		2.5	1.1		18.5
	101			1.7			0.1		1.8
	合計	46.3	19.8	19.6	8.7	4.5	1.1	0	100.0

※1 貢献度：シーズンを通して得られた受精卵総数に対するその親が関わった受精卵総数の割合
受精卵の発生率およびふ化率は親魚由来により差がないものとした

を分離し、容量法でそれぞれの卵数を求めた。なお、卵数を求める際、1 ml当たり卵数は180粒と仮定した。浮上卵が得られた場合には、浮上卵約200粒の発生状況を万能投影機により観察し受精率を求めた。受精卵が観察された場合には、浮上卵の一部を容量1 lの容器でふ化まで管理した。卵管理においては、水温はウォーターバス方式により8℃とした。容器内の受精卵が全てふ化した後、無作為に200尾程度のふ化仔魚を採取し分析用の標本としてアルコール固定した。

マイクロサテライトDNA分析 ふ化仔魚1尾ずつをプロテナーゼKで処理した後、フェノール・クロロフォルム法によりDNAを抽出した。マイクロサテライトDNA領域は、下流域の5'末端にビオチン標識した3セットのプライマー (Vmo2, Vmo17, Vva7) を用いてPCR法によって検出した (表2)³⁾。PCRは94℃1分, 53℃1分, 72℃1分を7サイクル行った後、90℃1分, 53℃1分, 72℃1分を33サイクル行った。得られた増幅断片は、マニュアルシーケンサーによる電気泳動とケミルミネッセンス法によって検出した。アリルは増幅断片の断片長に従って決定した。得られたデータを供試親魚のマイクロサテライトDNA情報と照合して各ふ化仔魚が由来する両親を判別した。

結 果

産卵 (卵回収ネット内で確認) は2003年3月11日～4

月20日に見られ、総採卵数は527万粒、浮上卵の総数は434万粒であった。また、受精卵は3月12日～4月18日までの24採卵日 (以下、採卵日をロットと称する) で得られ、その総数は170万粒 (受精率44.3%, 対浮上卵数) であった (表3)。24ロットの受精卵のうち21ロットの受精卵について一部をふ化まで管理し、各ロット3～20尾のふ化仔魚合計338尾の両親をマイクロサテライトDNA分析により判別した。その結果、産卵期間全体を通じて雌1尾 (ID: 474) を除く10尾が繁殖に関わっていたことが明らかとなった。しかし、各親魚の次世代への貢献度 (シーズンを通して得られた受精卵総数に対するその親が関わった受精卵総数の割合) は、雄では1.8～55.9%, 雌では0～46.3%であり、個体間で顕著な差が見られた (表4)。また、各親魚が繁殖に関わっていた時期は偏っており、産卵期間の初期または末期のごく一部の日にのみ繁殖への関与が見られた親魚が多かった。

一方、親魚の交配様式としては雌雄一対交配が最も多く、21ロットのうち18ロットで観察された。またそのペア数は1ペアおよび2ペアであり、それぞれ14ロットおよび4ロットで観察された。残りの3ロットは雌雄1:2の交配が観察された。

考 察

本研究では、得られた338尾のふ化仔魚を分析したところ、ほぼ全ての親魚が繁殖に関わっていたことが

明らかとなった。しかし、各親魚の貢献度には大きな個体差が見られ、得られたふ化仔魚の由来は一部の親魚に偏っていた。さらに、各ロットのふ化仔魚が由来する親魚の数は雄雌ともに1～2尾と少なかった。

これまでマツカワの産卵行動については、産卵に先立って夜間に1尾の雄が雌の頭部を中心に円を数回描くようにゆっくりと遊泳すること⁴⁾、および複数の雄が1尾の雌を追尾する行動が観察されていないことから、雌雄一対交配である可能性が示唆されている。本研究においても、雌雄一対交配が最も多く観察され、その可能性が支持された。しかし、本研究における交配様式の分析においては、雌雄一対交配を行った一日当たりのペア数は少なく、1ロットのみながら雄一尾に複数の雌が関わる交配が確認された。この原因として、水槽内の環境がマツカワの自然産卵に適していなかったために雌雄一対交配が優先した可能性も否定できない。よって、マツカワの自然産卵での交配様式については、今後より大きな規模での確認試験が必要である。

以上のことから、マツカワが水槽内で自然産卵することにより得られるふ化仔魚の遺伝的多様性は低く、遺伝的多様性保全の観点からは、放流用マツカワ種苗

の量産には人工授精により繁殖に関与する親魚数を人為的に増やす努力が必要であると考えられる。

文 献

- 1) 南 卓志 (1994) 19. マツカワ, 日本の希少な野生生物に関する基礎資料 (I) II. 海産魚類. 水産庁, 284-288.
- 2) 鈴木 重則 (2006): 希少種マツカワの遺伝的多様性の維持に向けた交配技術. 日本水産学会誌, 72, 254-258.
- 3) Ortega-Villaiz Romo M., Nakajima M., and Taniguchi N. (2003) Microsatellite DNA markers isolation and characterization in the rare species barfin flounder (*Verasper moseri*) and its close related species spotted halibut (*Verasper variegatus*). *Mol. Ecol. Notes.*, 3, 629-631.
- 4) 鈴木重則 (2003) 冷水性異体類の自然産卵技術の開発 (マツカワ). 平成14年度日本栽培漁業協会事業年報, 13-14.