

# 高品質ほたてがいの安定生産技術開発研究－Ⅱ

小坂善信・川村 要

## 1. 目 的

ホタテガイの種苗はホモ過剰を示し、成長とともにホモ接合体が減少していくことが報告されている<sup>1), 2), 3)</sup>。さらに、地まき貝が垂下養殖貝よりも大きなホモ過剰を示し、養殖方法によって養殖された個体の生存性の異なる可能性が示唆されている<sup>1)</sup>。ホタテガイの育種管理を行うためには、垂下養殖が遺伝的組成に与える影響および遺伝子型と生存性等の関係を捉えることが必要である。

本研究ではアイソザイム遺伝子を標識として、種苗の遺伝的特徴を明かにし、アイソザイム遺伝子と生存性との関係について調べることを目的とした。

## 2. 材料及び方法

試験に用いたほたてがいは青森市久栗坂沖に垂下していた採苗器から1996年8月19日と8月20日に採取した。8月19日に採取したほたてがい稚貝は、目合3分のフルイにかけてフルイに残ったものと目合2分5厘のフルイから落ちて目合1分8厘のフルイに残ったものの2種類に選別した。さらに、8月20日に採取したほたてがいも、同様の方法で2種類に分けた。

それら2種類の稚貝は、パールネットに50枚づつ収容して、8月19日に採取した稚貝は水産増殖センター前の筏で水深1m層に垂下し、8月20日に採取したほたてがいは、青森市久栗坂沖の水深15m層の垂下養殖施設に垂下した。8月19日と8月20日に垂下した稚貝は、それぞれ42日間飼育して9月30日と10月1日に取り上げた。

アイソザイムの検出には、採苗した稚貝では軟体部全体を、分散時の稚貝では閉殻筋(貝柱)を用いて、藤尾<sup>4)</sup>の方法に従い、デンプンゲル電気泳動法で行った。なお、ホタテガイの稚貝はPhosphoglucumutase (PGM) アイソザイム遺伝子しか安定的に活性を示さないことがわかっているので<sup>1)</sup>、ここでは、Phosphoglucumutase (PGM) の*Pgm-1*アイソザイム遺伝子のみを調べた。

採取ロット間の遺伝子頻度のばらつきの程度は、Wright<sup>5)</sup>によって提唱された固定指数(Fst)によって求めた。ホモ接合体過剰の程度を知るためにd値<sup>6)</sup>を求めた。 $d = (H_o - H_e) / H_e$ で、 $H_o$ は観察値から求めたヘテロ接合体率である。 $H_e$ はハーディ・ワインベルグ平衡を仮定して遺伝子頻度から求めたヘテロ接合体率である。

表1 実験に用いたホタテガイの種苗

種 類	ロット	採集年月日	個体数	年齢	殻長(mm)
					平均±標準偏差
稚貝採取時	センター(L)	1996.8.19	150	0+	14.19±1.06
	センター(S)	1996.8.19	150	0+	8.83±0.62
	久栗坂-(L)	1996.8.20	150	0+	13.34±1.14
	久栗坂-(L)	1996.8.20	150	0+	8.55±0.69
分 散 時	センター(L)	1996.9.30	143	0+	27.65±2.04
	センター(S)	1996.9.30	150	0+	21.64±2.05
	久栗坂-(L)	1996.10.1	150	0+	24.97±2.28
	久栗坂-(L)	1996.10.1	150	0+	18.73±1.66

### 3. 結果及び考察

採取ロット別の遺伝子頻度を表2に示した。採苗時にはB、C、D、Eの4対立遺伝子が観察され、分散時にはB、C、D、E、Fの5対立遺伝子が観察されたが、すべての採取ロットでみられたのはB、C、D、Eの4対立遺伝子である。そのうちD対立遺伝子は常に遺伝子頻度が最も高い値を示し、採苗時で0.554から0.589、分散では0.497から0.580の範囲にあった。C対立遺伝子はどの種苗も2番目に高い遺伝子頻度を示した。D、C遺伝子で約80~90%を占めていた。ロット間の遺伝子頻度のふれを表わすFstは採苗時で0.0008で、分散時では0.0054となり、分散時のほうが高かった。

表3、表4には採苗時、分散時ごとに各ロット間の遺伝子頻度の有為差検定を行った結果を示した。採苗時には各ロット間で有為差は見られなかったが、分散時にはセンター（L）及び久栗坂（L）と久栗坂（S）の間に有為差が認められた。

表2 ホタテガイ種苗のPgm-1遺伝子座における遺伝子頻度

種類	ロット	A	B	C	D	E	F
稚貝採苗時	センター(L)	0.000	0.097	0.320	0.570	0.014	0.000
	センター(S)	0.000	0.090	0.307	0.589	0.014	0.000
	久栗坂(L)	0.000	0.137	0.292	0.554	0.017	0.000
	久栗坂(S)	0.000	0.082	0.343	0.568	0.007	0.000
	Fst	0.0008					
分散時	センター(L)	0.000	0.108	0.308	0.580	0.004	0.000
	センター(S)	0.000	0.097	0.347	0.543	0.013	0.000
	久栗坂(L)	0.000	0.103	0.380	0.513	0.003	0.000
	久栗坂(S)	0.000	0.080	0.410	0.497	0.010	0.003
	Fst	0.0054					

表3 稚貝採取時の採取ロット間における遺伝子頻度のt検定

	センター(L)	センター(S)	久栗坂(L)	久栗坂(S)
センター(L)				
センター(S)	-			
久栗坂(L)	-	-		
久栗坂(S)	-	-	-	

+は有為差が認められたもの。

表4 分散時の採取ロット間における遺伝子頻度のt検定

	センター(L)	センター(S)	久栗坂(L)	久栗坂(S)
センター(L)				
センター(S)	-			
久栗坂(L)	-	-		
久栗坂(S)	+	-	+	

+は有為差が認められたもの。

表5には観察値のヘテロ接合体率、期待値のヘテロ接合体率、ホモ接合体とヘテロ接合体の過剰の程度を表わすd値を各ロットごとに示した。採苗時と分散時における観察値のヘテロ接合体率(Ho)、期待値のヘテロ接合体率(He)を比較すると、採苗時における観察値の平均ヘテロ接合体率は0.509、期待値の平均ヘテロ接合体率は0.563であったが、分散時はそれぞれ0.540、0.573となり、観察値、期待値ともに分散時のほうがやや高かった。また、ハーディ・ワインベルグ平衡下での期待値からはずれてホモ過剰を示すロットは採苗時ではセンター(S)であったが、分散時では久栗坂(S)であった。

各ロットの遺伝子型組成を調べるために、それぞれのd値を求めたところ、採苗時、分散時ともに平均ではホモ過剰傾向を示した。また、採苗時にはセンター前と久栗坂沖で飼育した両区ともに、大きい区よりも小さい区でよりホモ過剰を示した。さらに、各区の採苗時と分散時を比較すると、センター(L)以外の3区は、分散時よりも採苗時でよりホモ過剰傾向を示した。

表5 ホタテガイ種苗のヘテロ接合体率とd値

種類	ロット	Ho	He	d
稚貝採苗時	センター(L)	0.573	0.563	0.018
	センター(S)	0.414	0.550	-0.248*
	久栗坂(L)	0.550	0.589	-0.066
	久栗坂(S)	0.497	0.553	-0.101
	平均	0.509	0.563	-0.099
分散時	センター(L)	0.485	0.557	-0.132
	センター(S)	0.553	0.575	-0.038
	久栗坂(L)	0.593	0.581	0.021
	久栗坂(S)	0.527	0.579	-0.090*
	平均	0.540	0.573	-0.060
全体	平均	0.524	0.568	-0.080

\*ハーディ・ワインベルグの平衡と有意に異なっているもの。

一般に海産二枚貝等はホモ過剰を示すことが知られている<sup>1)、7)、8)、9)、10)</sup>。本研究でも全体的にはホモ過剰が高い傾向が見られた。この原因の1つとして“Wahlund効果”が提起されている<sup>11)</sup>。

しかし、採苗時には全てのロット間で遺伝子頻度に有為差が認められず、ロット間の遺伝子頻度のふれの程度を表わすFstも0.0008と小さかったが、分散時には2組み合わせで遺伝子頻度に有為差が認められ、Fstも0.005に上昇した。さらに、採苗時よりも分散時に、ホモ接合体過剰の程度を示すd値も、-0.099から-0.060に上昇した。

このことは、陸奥湾のホタテガイにおいてもヘテロ接合体の生存性がホモ接合体よりも高いことを示唆している。

#### 4. 参考文献

- 1) 小坂善信(1997)青森県水産増殖センター研究報告, 第8号, 5-15.
- 2) Fujio, Y. and E. von Brand (1991) Nippon Suisan Gakkaishi, 57(1), 45-50.
- 3) Yotsutani, M., Y. Kosaka and Y. Fujio (1995) Tohoku J. Agri. Res., 46, 35-45.
- 4) 藤尾芳久(1984b)アイソザイム分析手法による魚介類の遺伝的特性の解明に関する研究. 昭和58年度農林水産業特別試験研究費補助金による研究報告書, pp. 65.
- 5) Wright, S. (1951) Ann. Eugen., 15, 323-354.

- 6) Sehander,R.K. (1970) Amer.Zool., **10**, 53–66.
- 7) Fujio,Y.,Y.Yamanaka and P.J.A.Smoth (1983) Bull.Japan Soc Sci Fish, **49**, 1909–1917.
- 8) Beaumont,A.R. (1991) Biol.Linn.Soc., **44**, 273–285.
- 9) Beaumont,A.R.and E.Zouros (1991) Elsevier,Netherlands, pp585–623.
- 10) Zours,E.and D.W.Foltz (1984) Malacologia, **25**, 583–591.
- 11) Wahlund,S. (1928) Hereditas, **14**, 56–63.