

イカナゴ等重要資源調査・種苗生産事業－I

イカナゴ等重要資源調査

畑 直亜・岡田 誠・岩出将英

目的

近年、資源が激減し、生存の確認が困難になった伊勢湾のイカナゴについて、環境 DNA 調査及び魚類の胃内容物調査による探索を行う。また、資源が増加傾向にあるハマグリについて、遺伝子を用いた集団構造解析により、伊勢湾内の漁場間における遺伝的関係性を明らかにする。

方法

1 環境 DNA 調査によるイカナゴ探索

令和 6 年 1 月 14 日及び 2 月 15 日に、伊勢湾観測 16 測点 (図 1) と志摩半島沖の 1 測点 (緯度 34.4094, 経度 136.9799) でそれぞれ底層水 (海底直上 1m) 4L を採水した。伊勢湾観測点の海水は、10%塩化ベンザルコニウム溶液 4mL を添加後、冷蔵かつ遮光した状態で研究室に搬送し、翌日、グラスフィルター (GF/F) でろ過して懸濁物を回収した。志摩半島沖の海水については、船上にて採水直後にグラスフィルターでろ過した。懸濁物を回収したグラスフィルターは、直ちに凍結保存し、後日、リアルタイム PCR を用いた種特異的解析に供した。プライマーとプローブの配列は表 1 のとおりとした。なお、伊勢湾観測点については、湾奥 (St.1,2,4,5,6,8), 湾中央 (St.9,10,11,12,A,B), 湾口 (St.13,15,16,18) の 3 つにグループ化し、6 測点もしくは 4 測点をまとめて 1 検体として分析した。陰性対照サンプルは伊勢湾観測点の海水と同様に処理した蒸留水、陽性対照サンプルはイカナゴのミトコンドリア DNA のチトクローム b 領域の一部の配列を合成した人工遺伝子とした (図 2)。なお、1 月 14 日観測分の分析では、湾奥の検体に代えて、尾鷲水産研究室が管理するイカナゴ陸上水槽の飼育水を分析し、サンプル処理過程の陽性対照とした。

2 魚類の胃内容物調査によるイカナゴの探索

令和 7 年 1~2 月に伊勢湾口の離島周辺で水揚げされたマダイ 27 個体 (平均 1.9kg), ワラサ 15 個体 (平均 5.7 kg), ヒラメ 14 個体 (平均 2.7 kg), スズキ 6 個体 (1.8 kg), サワラ 4 個体 (平均 2.8 kg), 計 66 個体の胃内容物を調査した。胃内容物の観察は、臓器全体を一旦凍結保存した後、臓器を解凍しつつ胃内容物を取り出し、肉眼及び実体顕微鏡下で行った。

3 ハマグリ漁場間における遺伝的関係性の解析

伊勢湾内の 4 地区 (桑名, 津, 松阪, 伊勢) においてハマグリ稚貝 (殻長 4~11mm) を採取し、各地区につき 24 個体、計 96 個体を GRAS-Di®技術によるハマグリ集団構造解析に供した。検体は、貝肉全体もしくは足部の一部のアルコール浸漬物とし、DNA 抽出まで冷蔵状態で保存した。DNA 抽出は、Nakalai 社 Tail Lysis Buffer の実施例 1 の方法を用いた。シーケンシングライブラリーの作製は、トヨタ自動車株式会社の GRAS-Di®解析プロトコルに従った。検体ごとに約 500 万リードを取得し、系統解析及びストラクチャー解析を行った。

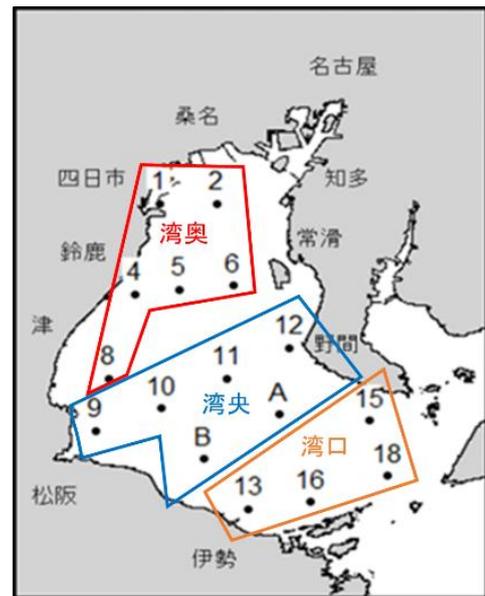


図 1. 伊勢湾観測測点

表 1. プライマーとプローブの配列

対象生物	配列(5'→3')
(Forward)	CCTAACCTCCTAGGAGATCCG
イカナゴ (Reverse)	TGAAGAATGGGGACAACCAGTAA
(Probe)	[FAM] TAAACTGGRRGGAGTTCTGGC [TAM]

```
TCTTTCTTCCTCGCCCTTTTCAGCCCTAACCTCCTAGGAGA  
TCCGGACAACCTCATTCCCGCCAACCCGCTTGTGACTCCCC  
CACACATTAAGCCTGAGTGATACTTCTCTTTGCTTACGCCA  
TTCTCCGCTCAATCCCAATAAACTGGGAGGAGTTCTGGCC  
CTTCTCTTCTCGATCCTTGTGTACTGTTGTCCCATTCT  
TCACACTTCAAACAACGAGGTCT-3'
```

図 2. 陽性対照サンプルの配列

