

## 気候変動に適応する強靱な新養殖業－魚類養殖－Ⅱ

### マハタの親子判別用遺伝子マーカーの構築と評価

西村 溪・辻 将治・水野知巳・井分達郎

#### 目的

マハタ養殖の現場では、ウイルス病による死亡が多発し、漁業経営を圧迫している。これまでの試験で、マハタ種苗の耐病性は、由来するマハタ親魚によって異なることが明らかになった。耐病性の高いマハタ種苗を生産するための親子判別には高度な遺伝子解析が必要であり、費用が高額である。本試験では、廉価な解析手法であるPCR法を活用した親子判別のために、遺伝子マーカーの作成を目的とした。

#### 方法

マハタ全ゲノムから、4merかつ10-20リピートのSTR配列を抽出し、20部位に対して、NCBI-BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) を用いてプライマーを設計した。

三重県尾鷲栽培漁業センターが保有するマハタ親魚17尾から尾鱗を採取し、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) でDNAを抽出した。抽出したDNAを鋳型として、令和4年度および令和6年度に作成した遺伝子マーカーを使用して、QIAGEN Multiplex PCR Kit (QIAGEN) でPCRを行い、ABI 3730XL Genetic Analyzers (Thermo Fisher) でのフラグメント解析に供し、GeneMapper (Thermo Fisher) で解析した。得られたアリ

ル情報をPARFEX (水産研究・教育機構) で解析し、アレル数と多型情報含有値 (PIC) を求めた。高いPICを示したマーカーを選抜し、Multiplex Manager (<https://www.multiplexmanager.com>) を用いて、令和4年度および令和6年度に作成した遺伝子マーカーを複合して、16マーカーから成るマハタ親子判別用マイクロサテライトマーカーセットを構築した。

構築したマーカーセットを用いた際の、令和5年度のマハタ種苗生産における親子判別の累積成功率を、PARFEX (<http://cse.fra.affrc.go.jp/sekino/PARFEX/>) で推定した。

#### 結果及び考察

令和6年度に作成した遺伝子マーカーのうち、15のマーカーで5つ以上のアレルが見られた。遺伝子マーカーの平均アレル数は $8.2 \pm 2.0$  (5-11)、PICの平均は $0.75 \pm 0.10$  (0.44-0.87) であった。

作成したマーカーセットを用いて、令和5年度のマハタ種苗生産における親子判別の累積成功率をPARFEXで推定したところ、PICの高い8マーカーを選択して使用することで、親子判別の累積成功率が100%に達すると推定された。