

種 苗 生 産 技 術 開 発 試 験

Ⅱ バイオテクノロジー導入試験

増養殖対策科 小 松 章 博

1. 養殖用マダイの2系統及び交雑種の種苗 特性の検討

目 的

養殖用種苗として販売されているマダイの系統間で交配を行い、その特性を調べることで交雑種の養殖用種苗としての有用性を検討する。

材料及び方法

1) 供試魚

マダイの増養殖用系統を継代飼育している人工種

苗生産場から平成5年に受精卵の供与を受け当場で同一環境下で飼育していた5系統¹⁾のうちS2及びS5系統を用い、それぞれの雌雄間で交配を行った。親魚の魚体測定結果及び採卵量については表1に示した。

S2系統：山崎マダイ（近大産マダイ第4代目を起源とし独自に選抜育種した3代目）

S5系統：愛媛マダイ（瀬戸内海産マダイと韓国産マダイとの交雑種を起源とする選抜4代目）

表1 親魚の測定結果

親 魚	尾 叉 長	体 重	採卵量	親 魚	尾 叉 長	体 重	採卵量
S5系統	(cm)	(kg)	(g)	S2系統	(cm)	(kg)	(g)
E♀3	52.0	4.05	41.4	Y♀1	49.5	3.50	69.1
E♀4	55.0	4.40	55.7	Y♀2	60.0	4.40	57.9
E♀5	54.0	3.90	70.4				
E♂3	47.8	2.95		Y♂1	41.3	3.10	
E♂4	50.4	4.15		Y♂2	49.0	4.00	
E♂7	47.0	2.10		Y♂5	46.0	2.30	
E♂8	52.0	2.80		Y♂6	57.0	3.30	

2) 採卵・採精及び孵化率

試験魚の作出は、H9年4月23日（18.7℃）と4月29日（18.9℃）に実施した。試験に供した親魚は、第1回次はS5系統マダイ♀3尾♂2尾、とS2系統マダイ♂2尾で、第2回次はS2系統♀2尾♂2尾、とS5系統♂2尾を用いた。採卵及び採精は搾

出法により行い、それぞれを家系内及び家系間で交配した。孵化率は、人工授精した卵の一部を1リットルビーカーへ取り、全卵数に対するふ化仔魚数から算出した。親魚の組み合わせ及び孵化率は表2に示した。

表2 親魚の組み合わせ及び孵化率

1 回次 (4/23)	S 5 (♀) × S 2 (♂) 系統				S 5 (♀) × S 5 (♂) 系統			
	親魚組合せ	総卵数	ふ化数	孵化率(%)	親魚組合せ	総卵数	ふ化数	孵化率(%)
	E♀3×Y♂1	147	109	74	E♀3×E♂3	48	39	81
	E♀3×Y♂2	70	43	61	E♀3×E♂4	74	54	73
	E♀4×Y♂1	124	39	31	E♀4×E♂3	61	28	46
	E♀4×Y♂2	80	36	45	E♀4×E♂4	51	14	27
	E♀5×Y♂1	116	27	23	E♀5×E♂3	66	11	17
	E♀5×Y♂2	37	8	22	E♀5×E♂4	50	7	14
				45.6				43.7
2 回次 (4/29)	S 2 (♀) × S 5 (♂) 系統				S 2 (♀) × S 2 (♂) 系統			
	親魚組合せ	総卵数	ふ化数	孵化率(%)	親魚組合せ	総卵数	ふ化数	孵化率(%)
	Y♀1×E♂7	56	46	82	Y♀1×Y♂5	67	44	66
	Y♀1×E♂8	64	45	70	Y♀1×Y♂6	95	36	38
	Y♀2×E♂7	84	77	92	Y♀2×Y♂5	62	52	84
	Y♀2×E♂8	95	92	97	Y♀2×Y♂6	80	70	88
				87.0				66.4

3) 飼育試験

飼育は各回次ごとの仔魚を混合し、第1回次は1トン型水槽、第2回次は0.5トン型水槽を用い常法により実施した。飼育魚は、両回次とも84日令の時点で陸上水槽区と海面小割区(1.5m×1.5m×1.5m)に分けて引き続き成長比較試験を実施した。系統の判別は、マクロサテライトDNA法²⁾を用いて行った。

(1) 成長

S 5 × S 2 系統及び S 5 × S 5 系統の1トン水槽飼育試験区は48日令と166日令にサンプリングし、S 2 × S 5 系統及び S 2 × S 2 系統の0.5トン水槽飼育区は48日令、75日令、132日令、166日令にサンプリングした。サンプリングは1回に120~150尾取り上げて体長及び体重測定を行った。84日令までは全長を測定し、それ以後は尾叉長を測定した。

(2) 日間成長

84日令より S 5 × S 2 及び S 5 × S 5 系統745尾、S 2 × S 5 及び S 2 × S 2 系統411尾を沖合小割生簀に沖だしし、陸上水槽飼育試験区と沖合小割試験区で成長比較を行った。なお、日間成長率は、次式により算出した。

$$\text{日間成長率} = [(W_n - W_0) / \{n \times (W_0 + W_n) / 2\}]$$

×100(%) [W_n: 飼育終了時値 W₀: 初期値 n: 飼育日数]

(3) 生残率

生残率の推定は、46日令と166日令で家系判別が可能であった個体数と家系内及び家系間交配系統の個体数から算出した。

結 果

(1) 孵化率

4月23日に実施した交配試験では、S 5 × S 2 系統のふ化率の最高値はE ♀ 3 × Y ♂ 1 で74%、最小値はE ♀ 5 × Y ♂ 2 の22%で、S 5 × S 5 系統のふ化率の最高値はE ♀ 3 × E ♂ 3 で81%、最小値はE ♀ 5 × E ♂ 4 の14%であった。4月29日の交配試験では、S 2 × S 5 系統のふ化率の最高値はY ♀ 2 × E ♂ 8 で97%、最小値はY ♀ 1 × E ♂ 8 の70%であり、S 2 × S 2 系統のふ化率の最高値はY ♀ 2 × Y ♂ 6 で88%、最小値はY ♀ 1 × Y ♂ 6 の38%であった。第1回次のふ化率をみるとS 5 × S 2 系統では、E ♀ 3 が高く、E ♀ 5 が低く、S 5 × S 5 系統でも同様の結果であった。また、第2回次のふ化率は、S 2 × S 5 系統ではY ♀ 2 が高く、Y ♀ 1 が低く、S 5 × S 5 系統でも同様の結果であったことから、

ふ化率は精子よりもむしろ卵質に影響される可能性が高いことが示唆された。系統間及び系統内交配した4系統についてふ化率をみると、第1回次はS5×S5系統(42.7%)とS5×S2系統(45.6%)とほぼ同じで、第2回次ではS2×S5系統(87.0%)のほうがS2×S2系統(66.4%)よりもよい結果であった。

(2) 成長

第1回次飼育魚及び第2回次飼育魚の48日令の測定結果では、体長ではS5系統の系統内で交配したほうがやや大きく、反対に166日令では体長・体重ともにS2系統を♀親魚としたほうがS5系統を♀親にしたときよりもやや大きかった。この結果は表3に示した。

表3 系統ごとの成長状況

回 次	系 統	項 目	48日令	75日令	132日令	166日令	備 考
1 (4/23)	S5×S2	n TL, FL(mm) BW (g)	33 19.8±2.7 0.11±0.05			42 126.6±10.6 49.5±10.9	1ト水槽 飼育魚
	S5×S5	n TL, FL(mm) BW (g)	59 20.7±3.0 0.12±0.05			76 125.9±10.9 47.8±10.9	
2 (4/29)	S2×S5	n TL, FL(mm) BW (g)	87 19.9±2.99 0.1±0.07	21 49.6±8.32 2.2±1.2	22 102.7±6.8 27.9±5.45	72 129.9±7.7 51.8±10.8	0.5ト水槽 飼育魚
	S2×S2	n TL, FL(mm) BW (g)	21 19.0±2.9 0.1±0.1	66 45.6±6.3 2.0±1.2	28 101.4±6.0 27.6±6.3	26 127.8±8.4 53.0±9.0	

(3) 日間成長率

陸上水槽試験区、海面小割試験区ともに、日間成長率はS2×S5・S2×S2系統区のほうがS5×S2・S5×S5系統区よりも高い値を示した。

また、陸上水槽飼育試験区と海面小割試験区の比較では、体長の成長率では差がみられないものの体重の成長率で、陸上水槽飼育試験区のほうがよい結果が得られた。試験結果については表4に示した。

表4 日間成長率

飼育区分	系 統	S5(♀)×S2(♂)・S5(♀)×S5(♂)			S2(♀)×S5(♂)・S2(♀)×S2(♂)		
	日 令	84	166	日間成長率	84	162	日間成長率
陸上飼育	尾叉長	58.0	127.0	0.909	53.1	129.0	1.017
	体 重	3.79	48.9	2.088	3.1	51.4	2.162
海面飼育	尾叉長	58.0	118.9	0.839	53.1	116.5	0.912
	体 重	3.79	46.6	2.072	3.1	45.7	2.129

(4) 生残率

46日令の生残率では、S5×S5系統が32.6%と最も高く、S2×S2系統は5.2%と最小値であった。166日令の生残率でも、46日令と同様にS5×

S5系統が17.1%と最も高く、S2×S2系統が4.3%と最小値を示した。これらについては、表5に示した。

表5 各系統ごとの生残率

系 統	推定ふ化仔魚数	生 残 数 (尾)		生 残 率 (%)	
		46日令	166日令	46日令	166日令
(♀×♂)					
S5×S2	3,454	558	278	16.2	8.0
S5×S5	3,063	999	523	32.6	17.1
S2×S5	4,604	808	438	17.5	9.5
S2×S2	3,726	192	159	5.2	4.3

考 察

本試験は、養殖用マダイとして販売されている人工種苗間で交配を行うことで、より優良な人工種苗の系統を確立するための手法を検討するために実施した。試験に供した養殖系統は、卵の発生段階から当场で同一環境下で養成したもので、その形質等については谷口等³⁾により詳細な報告がなされている。試験結果から、ふ化率については第1回次のS5(♀)×S2(♂)・S5(♀)×S5(♂)では、系統内交配と系統間交配に差異はなく、第2回次のS2(♀)×S5(♂)・S2(♀)×S2(♂)では系統内交配よりも系統間交配のほうが高い値を示した。第2回次のS2(♀)×S5(♂)の交配ではふ化率が高い値を示しているが、第1回次のS5(♀)×S2(♂)とS5(♀)×S5(♂)では差がないことから、本試験で得られたふ化率については、卵質の影響によるものではないと思われる。成長については、48日令でS5(♀)×S5(♂)の成長が優れていたが、166日令ではS5(♀)×S2(♂)とS5(♀)×S5(♂)間で差が認められなかった。また、166日令では、S2(♀)×S5(♂)、S2(♀)×S2(♂)系統の成長が優れており、両者間では交配系統のS2(♀)×S5(♂)の成長が優れていたことから、S2系統

に成長に有利な形質が保持されていることが示唆された。生残率については、雄親S5が関与する系統の生残性が高かったことから、S5の系統には生残性に有利な遺伝因子が保持されているのではないかと考えられた。今回の試験では、系統間の交配が養殖用人工種苗として優良な形質が発現する事を証明するまでには至らなかったが、今後、種々の養殖用種苗間で系統間交配を行うことでこのような品種改良の可能性は十分にあるのではないと思われる。

参考文献

- 1) 小松章博、1995、バイオテクノロジー導入試験、平成5年度高知県水産試験場事業報告書 465-483
- 2) Ricard Peres-Enriquez et al. (1998). Genetic differences in quantitative traits of cultured strains and gynogenetic lines of red sea bream *Pagrus major* 日本水産増殖学会誌
- 3) 谷口順彦、松本聖治、小松章博、山中弘雄、1995、同一条件下で飼育された由来の異なるマダイ5系統の質的および量的形質にみられた差異。日本水産学会誌、61(5)、717-726

2. マダイのホモクローン及びヘテロクローン系統の種苗特性の検討

目 的

クローン系統内及び系統間で交配した種苗の特性を調べることで、優れた形質をもつ養殖用種苗を生産する手法を確立する。

材料及び方法

1) 供試魚

採卵用親魚は、当场で作出して継代飼育してきた雌性発生魚のうちから'94年に作出した極体放出阻止型雌性発生2倍体第2代目（以下、94GA2とい

う）、及び'94年及び'95年に作出した極体放出阻止型雌性発生2倍体第3代目（以下、94GA3、95GA3という）を用い、これから搾出した95GA3の卵（以下GA4-1、GA4-2という）、94GA3の卵（GA4-3）、94GA2の卵（以下GA3）の4種類を試験に供した。採精用親魚は、'94年に作出した極体放出阻止型雌性発生2倍体第2代目（以下、94GA2♂とする）とクロダイ精子を用いた。なお、採卵にあたっては、水温の急速な上昇のため自然産卵が止まり採卵ができなかったため、ゴナトロピンを1,500unit/kgの濃度で腹腔内に注射して催熟を行った。試験に供した親魚と作出魚等については表1に示した。

表1 親魚と作出魚

親 魚（年齢）	作出魚	作出方法	ふ化率（ビーカー試験）		
			卵 数	正常ふ化数(尾)	正常ふ化率(%)
94GA2(3)	GA3	低水温処理法による第二極体放出阻止 ¹⁾	191	30	15.7
95GA3(2)	GA4-1		105	16	15.2
95GA3(2)	GA4-2		170	57	33.5
94GA3(3)	GA4-3		496	3	0.6
94GA3♀×94GA2♂	ヘテロクローン	人工受精	68	35	51.5

2) 作 出

(1) ホモクロンの作出

供試魚から採卵した卵は、事前に採精して紫外線照射により不活性化（3,500～4,000er g/mm²、40～50sec）したクロダイの精子で媒精し低温処理法により作出¹⁾した。正常な形態をした個体のふ化率については1²⁾のビーカー試験で求めた。

(2) ヘテロクロンの作出

ヘテロクローンは、ホモクローン雌94GA3の卵と同雄94GA2の精子を人工授精させて作出した。

(3) 対照区

栽培漁業センターで養成した種苗生産用マダイが自然産卵した受精卵を対照区として飼育した。

3) 飼 育

ホモクロンの飼育試験区は、GA3とGA4-1の混合飼育区（Tank-a）及びGA3とGA4-2の混合飼育区（Tank-b）を設定し、併せてホモクローン（GA4-3）とヘテロクローン（94GA3×94GA2）の混合飼育区（Tank-c）も設定した。各試験区の飼育は、通常の方法により0.5トン水槽で実施した。陸上水槽での飼育は78日令（7/17）まで実施し、Tank-cを除いて79日令に沖だしして、200日令（11/16）まで海面小割網で飼育を継続した。混合飼育区の系統判別は、魚体測定したのちマクロサテライトDNA法²⁾により行った。

(1) 成長

飼育魚は、沖だした79日令、109日令、141日令、

169日令、200日令にサンプリングを行い、成長状況等について測定を行った。

(2) 生残率

対照区を除いた4系統について、ふ化率から算出した予想ふ化個体数から169日令までのサンプリングで除いたものをふ化個体数とし、200日令のサンプリング時に残ったものを生残数とした。生残率は、次式により算出した。生残率＝[生残数／(予想ふ化個体数－サンプリング数)]×100(%)

結 果

1) ふ化率

94GA2と95GA3から作出したGA3とGA4-1が、15.7%、15.2%とほぼ同様のふ化率であった。95GA3から作出したGA4-2は33.5%と雌性発生魚の中では最も高い値を示したが、94GA3から作出したGA4-3は0.6%と最も低かった。また、ヘテロクローン94GA3♀×94GA2♂のふ化率は

51.5%であった。GA4-3とヘテロクローンに用いた94GA3♀の卵は同じものの分割して用いたにもかかわらず、ホモクローンとヘテロクローンでふ化率が大きく異なった。ふ化率は表1に示した。

2) 成 長

尾叉長では、GA4-1が天然魚を上回る成長をし、GA4-2も天然魚とほぼ同様の成長であったが、GA4-3とヘテロクロンの成長は天然魚よりもやや劣った。体重の測定結果からも同様の傾向がみられた。測定結果を変動計数でみると、尾叉長ではGA4-1、GA4-2がそれぞれ0.05、0.03と小さく、特にGA4-2において顕著であった。しかし、同じ雌性発生4代目であるGA4-3は、体長、体重ともに0.10と天然魚よりも変異が大きくGA4-1、GA4-2とは異なる結果であった。体長と体重の測定結果を表2及び表3に示した。

表2 各日令における尾叉長の平均と標準偏差

日 令	GA4-1	GA4-2	GA4-3	ヘテロクローン	天然
79	42.29±6.58 (0.16)	44.26±5.35 (0.12)	39.32±6.22 (0.16)	40.97±5.46 (0.13)	48.27±7.05 (0.15)
109	70.93±6.78 (0.10)	66.90±7.23 (0.11)	63.69±8.74 (0.14)	64.64±12.04 (0.19)	71.04±5.26 (0.07)
141	90.79±4.16 (0.05)	91.91±4.40 (0.05)	93.54±10.39 (0.11)	90.62±11.94 (0.13)	93.44±5.13 (0.05)
169	107.82±4.13 (0.04)	105.15±4.84 (0.05)	101.89±11.18 (0.11)	98.40±13.16 (0.13)	108.23±7.28 (0.07)
200	121.27±6.06 (0.05)	114.63±3.84 (0.03)	107.93±8.61 (0.08)	108.95±11.08 (0.10)	116.89±6.70 (0.06)

注：()は変動計数

表3 各日令における体重の平均と標準偏差

日令	GA4-1	GA4-2	GA4-3	ヘテロクロン	天然
79	1.83±0.83 (0.46)	2.00±0.68 (0.34)	1.35±0.72 (0.54)	1.51±0.62 (0.41)	2.53±1.08 (0.43)
109	9.38±2.86 (0.31)	7.90±2.11 (0.27)	6.56±2.97 (0.45)	7.09±4.21 (0.59)	8.70±1.98 (0.23)
141	21.42±2.90 (0.14)	18.80±2.35 (0.12)	21.34±7.56 (0.35)	18.70±7.05 (0.38)	21.34±3.57 (0.17)
169	32.08±3.90 (0.12)	29.30±3.80 (0.13)	27.71±8.99 (0.32)	25.65±10.16 (0.40)	31.76±6.81 (0.21)
200	44.38±6.07 (0.14)	35.95±4.15 (0.12)	31.38±7.85 (0.25)	32.99±10.26 (0.31)	39.93±6.81 (0.17)

注：()は変動計数

(3) 生残率

天然魚を除いた4系統とヘテロクロンの生残率は、GA4-1は1.06%、GA4-2は0.70%、GA4-3は200日令で0.0%となった。GA4-3については、ピーカー試験によるふ化率の推定値が非常に

低く、予想ふ化尾数からの処理が不能であった。ヘテロクロン系統は、生残率が1.78%と雌性発生系統に比べて最も高かった。生残率の推定値を表4に示した。

表4 各系統の200日令における生残率

親 魚 (年齢)	作出魚	総卵数 ^{注1)}	予想ふ化数	正常ふ化率(%)	生残率(%)
94GA2(3)	GA3	25,200	3,900	15.7	0.0
95GA3(2)	GA4-1	12,600	1,920	15.2	1.06
95GA3(2)	GA4-2	12,600	4,230	33.5	0.70
94GA3(3)	GA4-3	12,600	80	0.6	— ^{注2)}
94GA3♀×94GA2♂	ヘテロクロン	6,300	3,240	51.5	1.78

注1：1800粒/gとして算出、注2：ピーカー試験によるふ化率が低く算出不能

考 察

作出魚のふ化率は、雌性発生魚間の交雑種（ヘテロクロン）が極体放出阻止型の雌性発生系統に比べて高い値が示された。これは極体放出阻止型は雌性発生を誘導するために0℃で低水温処理を行うことによる影響だと考えられた。このことから形質が評価されたホモクロン系統を保有した場合には、同じ系統を雌性発生して種苗を生産するのではなく系統間での交雑により養殖用種苗を生産することが

効率的であると思われる。なお、雌性発生魚のなかにもGA4-2のように、高いふ化率を示す系統もあることから、これらについては家系内の雌雄間で交配することで有用な系統が作出されるかもしれない。生残率からは、94GA2（3才）魚から作出したGA3は、2飼育試験区へ分養しておりどちらの飼育区でも生残が確認されず、環境要因よりもむしろ卵質又は環境適応力に影響されたのではないかと考えられ、親魚からの遺伝的要因による可能性もあ

ることが示唆された。成長については、天然魚よりも均質でしかも成長の良い系統（GA 4-1、GA 4-2）が確認されたものの、同じ雌性発生4代目でも成長が悪く、分散も広い系統（GA 4-3）も見られた。ヘテロクローンではこの傾向がさらに顕著であったことから、今後、人工種苗を生産する場合には交配する系統の評価にとどまらず、生産したヘテロクローンの評価を十分に行うことが必要である。

参考文献

- 1) 鍋島 浩 (1990) : マダイの雌性発生2倍体作出試験 昭和63年度 高知水試事報
- 2) Ricard Peres-Enriquez, Shingo SEKI, Jun WATANABE, Ayaki MATSUMOTO, Nobuhiko TANIGUCHI, Akihiro KOMATSU, and Mamoru KITAGAWA (1998). Genetic differences in quantitative traits of cultured strains and gynogenetic lines of red sea bream *Pagrus major* 日本水産増殖学会誌

謝 辞

昭和50年代後半からマダイ養殖が盛んに行われるようになるとともに、成長などがすぐれた養殖用の系統を確立することが各地の種苗生産業者によってなされてきた。これらの系統は従前からの選択育種と人工交配によるものであり、多大の努力と経費が払われてきた。当該事業は、選択と交雑による育種を短時間で確実に実施するための手法として染色体操作技術を取り入れる研究を実施することとし、水産分野の遺伝学では先進の研究者である高知大学農学部栽培漁業学科谷口順彦教授との共同研究を昭和63年度から開始した。この事業で得られた多大な成果は、谷口順彦教授等により多くの論文として発表され、水産育種の分野では基礎的な知見として評価をえている。平成9年度をもって、基礎的な研究を終了することとなったことから、事業の推進にあたり研究の全般にわたり懇切なご指導をいただいた谷口順彦教授、関伸吾助教授以下水族生態学教室の皆

様方に深く感謝します。

なお、当該事業の成果で谷口順彦教授等から発表された論文及び当水試の研究員名で報告されたものの一覧を参考までに以下に添付した。

事業実績報告一覧

- 1) 高知県水産試験場事業報告書（昭和63年度～平成9年度）：バイオテクノロジー導入試験
執筆者：鍋島浩（S63, H元）、小松章博（H2～5, 9）、池卓也（H6～7）、杉本昌彦（H8）
- 2) Ketut sugama, Nobuhiko taniguchi, H. nabeshima 1990 : Frequency of second meiotic division segregation in induced gynogenetic diploid of red sea bream. The Second Asia Fisheries Forum, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines : 543-547
- 3) Ketut sugama, Nobuhiko taniguchi, Shingo seki, Hiroshi nabeshima, and Yoshio hasegawa 1990 : Gynogenetic Diploid Production in the Red Sea Bream using UV-irradiated Sperm of Black Sea Bream and Heat Shock, nippon suisan Gakkai-shi, 56(9), 1427-1433
- 4) 瀧川由宇登・森勇人・関伸吾・小松章博・谷口順彦(1994) : マダイにおける第1卵割阻止型雌性発生二倍体の誘導条件の検討、水産増殖、42(3), 477-483
- 5) 谷口順彦・松本聖治・小松章博・山中弘雄, 1995. 同一条件で飼育された由来の異なるマダイ5系統の質的および量的形質にみられた差異. 日水誌, 64:717-726.
- 6) 曾我部五郎・幹田和彦・関伸吾・谷口順彦・池卓也(1995) : 継代雌性発生マダイにおける遺伝変異の減少について、平成7年度日本水産学会春季大会要旨
- 7) Ricard Peres-Enriquez, Shingo SEKI, Jun WATANABE, Ayaki MATSUMOTO, Nobu-

hiko TANIGUCHI, Akihiro KOMATSU,
and Mamoru KITAGAWA (1998). Genetic
differences in quantitative traits of cul-
tured strains and gynogenetic lines of
red sea bream *Pagrus major* 日本水産増
殖学会誌