

Ⅱ バイオテクノロジー導入試験

増殖科 杉本昌彦

目 的

海面養殖業の主要魚種であるマダイに染色体操作技術等を応用して育種を行い、優れた形質を持つ品種を確立する。

平成8年度事業内容

養殖用系統間のハイブリッド作出による交雑育種試験

材料及び方法

親魚は、平成5年に人工種苗生産場から受精卵で供与を受け系統間の特性を比較し¹⁾、当水産試験場で同一環境下で飼育していた5系統(A~E)の内の2系統(B:紀伊水道産マダイ選択育種系4代目を起源とする選択育種系3代目を親に持つ受精卵から育てた系統、E:瀬戸内海産マダイと韓国産マダイのF1を選択した4代目(交雑育種系)を親に持つ受精卵から育てた系統)である。

採卵は、いずれも平成8年5月2日に行い、各系統の親魚を無作為に取り出して人工的に1対1の媒精を行った。親魚の組み合わせは、B×B及びB×Eを4家系、E×B及びE×Eの5家系を抽出した(表1)。

得られた卵は0.5klの陸上水槽中に設置した容量30ℓのネットに移して孵化させ、ふ化率は、各家系ごとに受精卵約200個をとり、20.0℃で1ℓビーカー試験により算出した。

種苗生産は、B×B、B×E、E×B、E×Eの4系統に分けて室内0.5kl水槽にほぼ同一密度に収容し、ふ化仔魚の段階よりほぼ同一環境条件下で飼育した。74日齢からは小割り網で海上飼育を行った。なお、小割り網での収容尾数は、B×E、E×B、E×Eにおいてそれぞれ330尾に調節し、B×Bにおいては144個体とした。

給餌は、シオミズツボムシを3日齢から45日齢

まで成長にあわせて1ml当たり4個体から10個体になるように栄養強化して与え、15日齢からは、人工配合飼料を併用して与えた。沖だし後、110日齢からはオレゴンタイプのモイストペレットを飽食給餌した。

換水は、7日齢から始め毎分1~3ℓの範囲で沖出しまで行った。

飼育水温は、当初18℃を保ち、換水開始後は自然水温とした。水温は、50、100、150、200、250日齢でそれぞれおおよそ24、29、25、19、15℃であった。

成長の比較は、既述の4系統について10、15、20、50、60、70、100、150、200、250日齢において各20~30個体を無作為に採集し、全長または尾叉長を計測し、70日齢からは体重も併せて測定した。なお、100日齢からは外部形態から明らかに奇形と認められある個体は計算から除外した。

空中乾出試験は、150日齢において各家系のマダイを海水で湿らせたペーパータオル上で7、4、5分放置した後海水に戻す方法で3回行った。

また、成長について家系間、親魚間で成長が異なる可能性があるため、DNA上のマイクロサテライト領域多型を遺伝標識にもちいて子魚の遺伝子型から親魚の判別を試みた。DNAは、200日齢魚の凍結(-80℃)サンプル(鰭の一部)を用いて抽出し、マイクロサテライト遺伝子産はPma72及びPma248を用いたPCR法により増幅しラジオアイソトープ法により検出した。

結果及び考察

親魚の組み合わせにおいて、特に高いふ化率がみられたのは、E系統の雌からの卵を使用した場合であった(表1)。しかし、いずれの系統においても親魚の組み合わせにより0~90%まで種々のふ化率がみられ、各個体の精子や卵子によるものと考えられた。

4系統の各日齢による成長は、飼育期間を通じていくつかの組み合わせで各系統間に有意な差が認められた(表2、3、図1、2)。全長または尾叉長においては、B×E、E×Bのハイブリッド系統がB×B系統に対して早い段階から成長が優れ、100日齢からは系統差がみられる様になった。E×E系統は、70日齢までは優れた成長を示したものの、その後は次第に成長が鈍り、250日齢ではハイブリッド系統との間に成長差がみられ、B×B系統と同程度の成長になった。体重においては、B×E、E×Bのハイブリッド系統及びE×E系統がB×B系統に対して優れた成長を示したものの、その後E×E系統は次第に成長が鈍り250日齢ではハイブリッド系統との間に成長差がみられた。250日齢には代わってB×B系統が高い成長を見せたもののハイブリッド系統には及ばなかった。

奇形率は、いずれの場合も数%から十数%みられたが、B×B系統で長期間にわたって特に高い値を示した(表4)。

肥満度は、4系統で特に顕著な系統較差はなかったものの、B×B系統でやや高い値を示した(表5)。

乾出試験では、B×B、E×Bの2系統が50%以上の生残率で、他の2系統よりも生残率が高い値を示した(表6)。しかし、各系統ともに生残個体の平均尾叉長が死亡個体のそれに比べ大きいことから、大きい個体で乾出に対する耐性が高いと考えられた。

以上の250日齢までの結果では、B×E、E×Bのハイブリッド系統の成長が他2系統の成長を上回り、優れた成長を示したと考えられた。

本年度の試験では、各家系に属する個体数が少ないため、成長における平均値の家系間差は認められなかったが、一般的に、長期間系統を維持した場合近交弱勢が起こるといわれており、今回の試験で得られた成長差においてもハイブリッド系統の雑種強勢か同一系統維持による近交弱勢の可能性が高い。

交雑育種では、両親の性質を組み合わせた優良品種のみならず、両親よりも勝った優良品種が得られる可能性もある。今後は、養殖用種苗として、雑種強勢や近交弱勢についての知見も求められるよう。

なお、家系判別を試みた結果、対立遺伝子の組み合わせにより約52%の家系判別が可能であった。このようなマイクロサテライトDNA遺伝標識の利用は雑種強勢の解明や家系判別に役立つと考えられた。

謝 辞

本試験は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であり、事業推進にあたって谷口教授、関助教授、水族生態学教室の学生、吉田氏、坪内氏の他皆様方に多くのご協力を頂いたことに深く感謝します。

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。

表1 用いた親魚の組み合わせ及び推定ふ化仔魚数

系統	家系	ふ化率 (%)	推定ふ化仔魚数 (尾)
B×B	♀1×♂1	23.0	20000
	♀2×♂2	0.0	0
	♀3×♂3	30.3	6000
	♀1×♂4	43.1	10000
B×E	♀1×♂1	33.6	30000
	♀2×♂2	0.0	0
	♀3×♂3	47.1	10000
	♀1×♂4	56.9	13000
E×B	♀1×♂1	88.1	49000
	♀2×♂2	35.5	31000
	♀3×♂3	54.2	76000
	♀4×♂4	3.3	3000
	♀5×♂5	0.0	0
E×E	♀1×♂1	90.1	49000
	♀2×♂2	46.6	40000
	♀3×♂3	31.3	45000
	♀4×♂4	1.0	1000
	♀5×♂5	0.0	0

表2 4系統の各日齢における平均全長および平均尾叉長 (mm)

日齢	平均値±標準偏差 (個体数)							
	B×B		B×E		E×B		E×E	
10日齢TL	3.6	±0.1a (20)	3.4	±0.1ab (20)	4.5	±0.1ac (20)	3.7	±0.1bc (20)
15日齢TL	4.7	±0.5ab (30)	4.8	±0.5c (30)	5.1	±0.5a (30)	5.3	±0.9bc (30)
20日齢TL	8.3	±1.0ab (30)	9.8	±1.2a (30)	10.1	±1.3a (30)	10.0	±0.9b (30)
50日齢FL	13.9	±1.0a (30)	15.7	±1.6ab (30)	15.8	±1.3ac (30)	17.8	±2.0bc (30)
60日齢FL	17.3	±1.7a (30)	21.0	±3.5a (30)	22.2	±3.5ab (30)	24.0	±2.0bc (30)
70日齢FL	34.2	±3.9 (30)	36.2	±3.6a (30)	32.5	±4.7a (30)	33.5	±7.5 (30)
100日齢FL	59.4	±13.3abc (29)	72.0	±8.5a (28)	68.7	±6.7b (27)	71.8	±8.1c (30)
150日齢FL	113.7	±12.8 (20)	116.9	±9.9 (25)	117.3	±7.8 (25)	116.5	±9.6 (28)
200日齢FL	147.8	±11.1a (9)	156.5	±6.1a (17)	154.6	±8.1 (18)	153.4	±6.6 (18)
250日齢FL	154.1	±12.5a (9)	162.9	±7.1b (17)	164.4	±8.1ac (13)	154.3	±10.0bc (13)

TL: 全長 (10~20日齢) FL: 尾叉長 (50日齢~)

100日齢以上は奇形個体をのぞいた値。

a, b, c: それぞれの組み合わせにおいて ($p > 0.05$) で有意。

表3 4系統の各日齢における平均体重 (g)

日齢	平均値±標準偏差 (個体数)							
	B×B		B×E		E×B		E×E	
70日齢	0.83	±0.26 (30)	0.85	±0.25a (30)	0.67	±0.34a (30)	0.76	±0.29 (30)
100日齢	5.12	±3.36abc (29)	8.49	±2.56a (28)	7.33	±2.49b (27)	8.46	±2.63c (30)
150日齢	33.95	±10.48 (20)	38.50	±7.05 (25)	39.07	±7.51 (25)	37.89	±7.67 (28)
200日齢	83.12	±15.90 (9)	94.25	±9.65a (17)	93.73	±13.53b (18)	82.24	±11.69ab (18)
250日齢	94.93	±15.84 (9)	101.38	±15.89 (17)	99.12	±11.89 (13)	86.22	±21.18 (13)

100日齢以上は奇形個体をのぞいた値。

a, b, c: それぞれの組み合わせにおいて ($p > 0.05$) で有意。

表4 4系統の各日齢における奇形率 (%)

日齢	平均値 (奇形個体数/サンプリング個体数)			
	B×B	B×E	E×B	E×E
100日齢	3.3 (1/30)	6.7 (2/30)	10.0 (3/30)	0.0 (0/30)
150日齢	33.3 (10/30)	16.7 (5/30)	16.7 (5/30)	6.7 (2/30)
200日齢	55.0 (11/20)	15.0 (3/20)	10.0 (2/20)	10.0 (2/20)
250日齢	55.0 (11/20)	15.0 (3/20)	35.0 (7/20)	35.0 (7/20)

表5 4系統の各日齢における肥満度

日齢	平均値±標準偏差 (個体数)							
	B×B		B×E		E×B		E×E	
70日齢	20.78	±7.11 (30)	17.60	±2.18 (30)a	18.60	±2.72 (30)a	21.10	±7.48 (30)
100日齢	21.61	±1.36 (30)ab	22.06	±1.54 (30)a	22.69	±1.76 (30)ac	22.22	±1.44 (30)bc
150日齢	25.29	±2.25 (30)abc	23.85	±1.53 (30)a	24.28	±1.35 (30)b	23.78	±1.62 (30)c
200日齢	27.89	±2.72 (20)ab	25.08	±1.94 (20)a	25.44	±1.46 (20)b	23.32	±1.65 (20)c
250日齢	25.94	±3.23 (20)ab	23.05	±0.94 (20)ac	23.41	±1.52 (20)b	25.52	±7.64 (20)c

a, b, c: それぞれの組み合わせにおいて ($p > 0.05$) で有意。

表6 4系統の乾出試験結果

日齢	生残率 (%)	平均尾叉長 (mm) ± 標準偏差 (個体数)			
		生残個体		死亡個体	
B×B	50.0	113.4±5.5 (9)		91.9±8.6 (9)	
B×E	16.7	121.3±11.4 (3)		113.5±8.3 (15)	
E×B	57.9	118.5±7.3 (10)		113.9±6.8 (8)	
E×E	27.8	117.5±5.7 (5)		111.2±7.9 (13)	

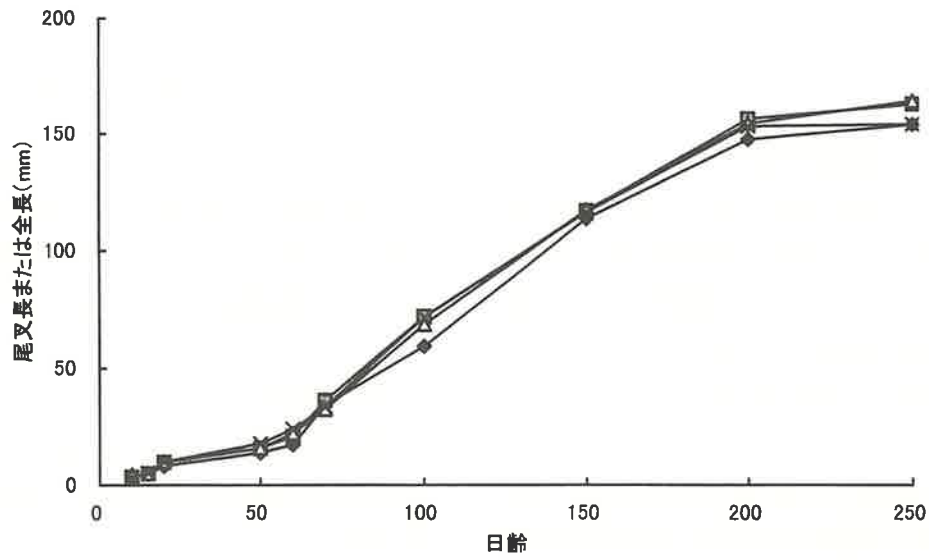


図1 4系統における尾叉長の推移
10～20日齢：TL、50日齢～：FL
◆ B×B ■ B×E ▲ ExB × ExE

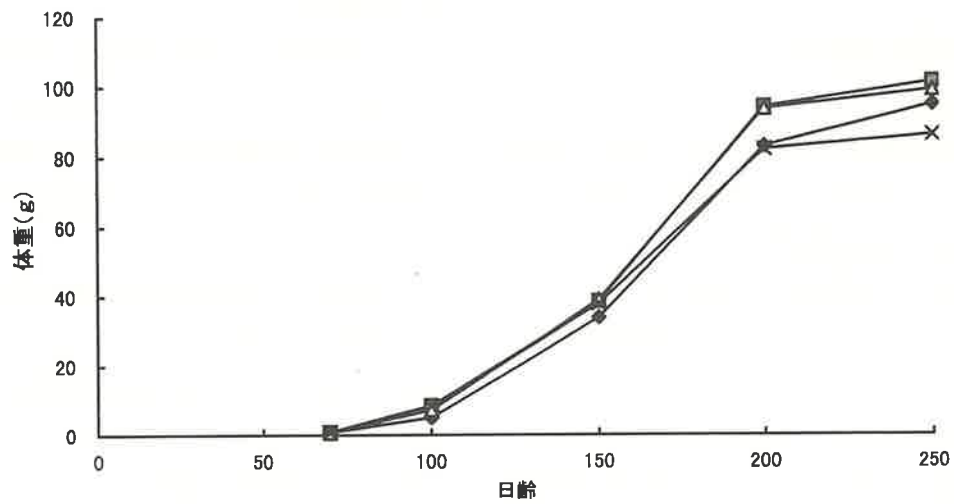


図2 4系統における体重の推移
◆ B×B ■ B×E ▲ ExB × ExE