

種苗生産技術開発試験

I クエ種苗生産技術開発試験

増殖科 池 卓也

目 的

クエ採卵用親魚を養成し、種苗生産技術を開発する。

材料及び方法

親魚と採卵

採卵用親魚は当場で海面小割網（3.5×3.5×3.5m）に収容し養成中の天然魚12尾（平均体重7.3kg、3.9～21.7kg）を使用した（表-1）。

これらの親魚は5月9、29日に雄候補2尾、雌候補10尾を海面小割網から取り上げ陸上90㎡円形コンクリート水槽及び40㎡円形コンクリート水槽に収容した。90㎡水槽の餌料はマッシュ1、冷凍魚0.2、冷凍イカ0.4及び冷凍オキアミ0.4に外割でフィードオイル5.0%、総合ビタミン剤2.0%、ビタミンEオイル0.4%、ビタミンC0.1%及びレシチン1.0%を

添加したモイスペレット（表-2）とし、40㎡水槽の餌料は生餌（冷凍サバ、冷凍マアジ、冷凍イカ）とし、週2～3回飽食量与えた。

表-2 モイスペレットの組成

種 類	配 合 割 合
マッシュ	1
冷凍魚 ^{*3}	0.2
冷凍イカ	0.4
冷凍オキアミ	0.4
フィードオイル	上記量の5.0%
総合ビタミン剤	2.0
ビタミンEオイル	0.4
ビタミンC	0.1
レシチン	1.0

*3：イワシ、アジ、サバ、イカナゴを適宜使用

表-1 魚体測定結果

親魚区分	全長（cm）	体重（kg）	備考
90㎡水槽	72.6	8.0	雄
	66.4	5.5	雌
	71.4	5.3	〃
	69.5	5.0	〃
	61.2	4.3	〃
	59.8	3.9	〃
40㎡水槽	115.0	21.7	雄候補 ^{*1}
	75.6	8.7	雌
	75.2	8.3	〃
	68.0	6.4	〃
	67.6	5.7	〃
	64.0	5.1	〃
雄候補 ^{*2}	86.8	10.7	
	89.6	10.4	
	77.0	7.7	
	65.2	4.8	

*1：放精は未確認

*2：平成6年度メチルテストステロン投与

種苗生産

種苗生産は日本栽培漁業協会から6月15日に孵化仔魚11.8万尾、6月30日に受精卵30.2万粒を譲り受け3例の飼育試験を行った。

飼育水槽は2㎡FRP水槽及び8㎡角型コンクリート水槽を使用した。

餌料はタイ産ワムシ（4～7日齢）、S型ワムシ（8日齢～）、アルテミア幼生（25日齢～）、配合餌料（13～25日齢）を投与した。生物餌料は淡水濃縮クロレラで培養後、油脂酵母または市販強化剤で二次強化し投餌した。

飼育水には3日齢から飼育1ではナンノクロロプシス、飼育2及び3では淡水濃縮クロレラを添加した。換水は7日齢から30%で開始し、15日齢で100%、20

日齢で200%とした。

飼育1では孵化仔魚収容後(22.6℃)から飼育水の加温を始め、1日1℃水温を上昇させ25℃とし、以後は25℃以上を維持するようにした。

結果及び考察

親魚と採卵

5月9日～7月28日(水温19.3～27.6℃)の陸上水槽収容中に産卵は確認されなかった。原因としては、冬から春にかけての養成技術に問題があり雌雄ともに成熟しなかったと考えられ、成熟期に投与する餌料の成分や成熟に適した環境の検討が今後の課題である。

人工採卵は腹部の膨満した雌固体が見られず本年度は行わなかった。

5月30日及び6月13日に、雄の確保を目的として昨年メチルテストストロンの投与を行った雄候補4尾(表-1)の腹部を圧迫し採精を試みたが精子は得られなかった。

種苗生産

飼育結果を表-3に示した。飼育1、2では3日齢で若干の浮上斃死が見られ、19日齢で異常遊泳魚が現れ始め25日齢から大量斃死が生じた。以後も斃死は続き35日齢でほぼ全滅した。飼育3では6日齢で大量の浮上斃死が見られ、10～15日齢で斃死が多くなり32日齢で全滅した。

仔魚の成長を図-1に示した。各飼育事例とも3～7日齢の期間はほとんど成長が見られなかった。飼育1、2における仔魚の成長は5日齢で2.5～3.2mm、8日齢で2.7～3.6mm、13日齢で2.9～5.5mm、16日齢で3.3～6.0mm、20日齢で3.8～6.5mmの範囲にあっ

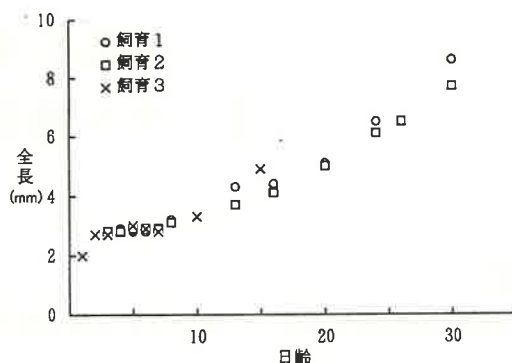


図-1 全長の推移

た。平均全長では飼育期間を通して飼育1が2より大きく推移し、成長差が見られた。しかし、飼育期間が短いことからこの成長差が加温によるものかは明らかでない。飼育3においては、孵化仔魚は1.9～2.1mmの範囲で、以後2日齢で2.4～3.1mm、5日齢で2.7～3.2mm、7日齢で2.4～3.0mm、10日齢で2.6～4.0mm、15日齢で2.9～6.6mmの範囲となった。

飼育3における仔魚のワムシ摂餌状況を表-4に示した。3日齢の群摂餌率は25.1%、消化管内のワムシ数は0～4個体の範囲にあり、平均で2.0個体であった。以後は摂餌量も徐々に増加し6日齢で群摂餌率は100%となった。6日齢の大量斃死魚と生残魚では摂餌率、摂餌範囲、平均摂餌数の全てで大きな差が見られた。

表-4 飼育3における仔魚の摂餌状況

日齢	群摂餌率 (%)	摂餌範囲 (個体)	平均摂餌数 (個体)	備考
3	25.1	0～4	2.0	
4	85.7	0～15	6.8	
5	94.1	0～32	9.4	
6-1	100	12～33	18.3	生残魚
6-2	52.9	0～5	2.3	斃死魚
7	100	10～29	21.7	
10	100	1～30	8.1	

表-3 種苗生産結果の概要

飼育事例	収容			飼育		備考
	水槽 (㎡)	月 日	尾 数 (万尾・万粒)	飼育日数	水温 (℃)	
1	2	6.15	5.8	35	22.6～27.1	加温区
2	2	6.15	5.8	47	22.2～28.4	
3	8	6.30	30.2	32	24.6～28.4	

仔魚の生残率を図-2に示した。生残率は各事例とも開口前後の減耗が大きく、以後は比較的安定していたが、15日齢前後から再び生残率は低下した。飼育1と2では3～13日齢の期間に生残率の差が見られるが加温によるものかどうかは明らかでない。

飼育1、2の25日齢における斃死状況が水面を狂奔または遊泳することや、底に静止または横転し最終的には斃死することから、ウイルス性神経壊死症が疑われ、日本栽培漁業協会古満目事業場に検査を依頼したが、結果は全てウイルス陰性であった。この時期は水温、D.O等の急変もなく斃死魚の殆どが空胃であり、痩せていたことから、斃死の原因としては生物餌料の栄養価に問題があったのではないかと考えられる。各飼育事例ともに13～25日齢の期間に配合餌料の投与を試みたが、投与

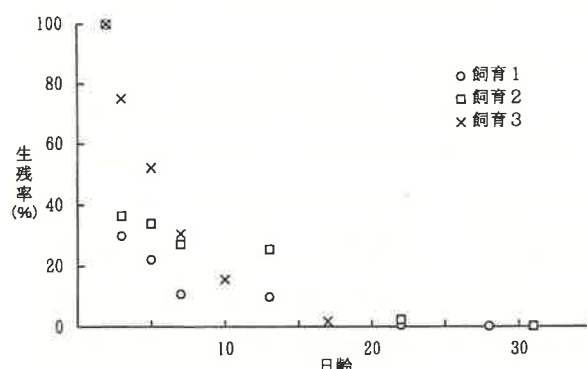


図-2 生残率の推移

期間中の消化管内には餌料が確認されなかった。

今後の生残率の向上のためには、飼育初期の大量減耗対策及び餌料生物の強化と飼育初期から配合餌料に餌付けることが必要であると考えられる。

II バイオテクノロジー導入試験

1. 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。

2. 平成7年度事業内容

- 1) 極体放出阻止型雌性発生2倍体第1、2、3世代(GA1、2、3)の作出試験
- 2) 卵割阻止型雌性発生2倍体の作出試験

3. 事業の概要

- 1) 極体放出阻止型雌性発生2倍体第1、2、3世代(GA1、2、3)の作出試験

材料及び方法

採卵用親魚は当場で養成中の通常2倍体及びGA1、GA2を用いた。GA1、GA2の親魚は自然条件下では成熟・産卵が確認されなかったためホルモン処理(ゴナトロピン500IU/kg)を行い、採卵は48時間後に搾出法で行った。

得られた卵は紫外線照射により不活性化(3,500 erg/mm²、40～45sec)したクロダイ精子で媒精し、低水温処理法(媒精3分後に0℃の海水に12分間浸漬)で作出した。

対照区として正常なマダイ精子で媒精した通常2倍体区(Nor-2n)、正常なクロダイ精子で媒精した交雑2倍体区(Hyb-2n)及び不活性化したクロダイ精子で媒精後に極体放出処理をしない区(UV-cont)を設定した。各試験区の孵化率、半数体孵化率は1ℓビーカー試験により求めた。

処理した卵は0.5トン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た。孵化仔魚は0.5トンの陸上水槽に移し通常の飼育をを行った。

結果及び考察

採卵の結果、通常2倍体(GA1作出用)は12尾、GA1(GA2作出用)は20尾、GA2(GA3作出用)は6尾の親魚から卵が得られた(表1)。

結果は表1に示した。GA1の孵化率の範囲は0～89.0%で、通常2倍体の親魚から良質卵が十分得

られたことから、孵化率の平均も33.7%と高い値を示した。GA 2の孵化率の範囲は0~15.5%、平均は2.1%と低い値であった。特にホルモン剤を使用した1~6・11~20の試験区では受精が全く見られない試験区が半数以上を占め、これらの試験区の平均孵化率は0.9%と極端に低い値を示した。GA 3における孵化率の範囲は2.6~53.2%で、平均は14.6%であった。GA 3はホルモン剤を使用した1~3の試験区のすべてから受精卵が得られ、その孵化率の範囲は2.7~53.2%であった。GA 3の採卵ではホルモン剤を使用したにもかかわらず、GA 2の様な孵化率の低下は見られなかった。対照区におけるNor-2nの孵化率の平均値はGA 1が45.7%、GA 2は0.6%であった。Hyb-2nの孵化率の平均値はGA 1が16.4%、GA 2が0.9%、GA 3が1.4%であった。UV-contの孵化率の平均値はGA 1が23.7%、GA 2が0.6%、GA 3が6.0%であった。対照区の場合もホルモン剤を使用したGA 2・3の孵化率は低い値を示した。

孵化率の高かったGA 1では、仔魚期に原因不明の斃死が多く生残率が非常に低かった。GA 2でホルモン剤を使用して得られた卵の孵化率は低く、孵化仔魚も全て飼育初期に全滅した。しかし、ホルモン処理をせずに得られた卵の場合は、孵化率は高くないが孵化仔魚は活力も十分にあり、生残率は良好であった。GA 3ではホルモン処理の影響は見られず、6試験区とも斃死は少なく生残率は非常に高かった。

GA 2・3の採卵ではホルモン剤を使用した、ホルモン剤を使用した19個体の中で孵化仔魚が得られたのはGA 3の3個体のみで、GA 2の16個体は全て未受精卵もしくは少量の孵化仔魚しか得られなかった。このようにホルモン剤を使用した採卵は、卵は得られるものの、孵化率は非常に悪い場合が多い。また、親魚に与えるストレスも大きく、斃死に至る場合もあることから、採卵には自然状態で成熟した親魚の使用が望ましい。しかし、当場で飼育しているGA 1・2の親魚数が少なく、採卵にはホルモン剤に頼らざるを得ないのが現状である。

GA 3の遺伝的特性はDNAフィンガープリント法による分析で、使用した制限酵素(*Hinf*I、*Hae* III)とプローブ(M13、YNZ22)の組み合わせすべてでBSI(遺伝的類似度)は1.00となり、検出遺伝子領域の均質性を示す結果が得られた。また、シングルローカス法による分析では、部分的にヘテロ接合体を有する遺伝的にほぼ均質な集団であることが推定された。

2) 卵割阻止型雌性発生2倍体の作出試験

材料及び方法

採卵用親魚は、高知県栽培漁業センター及び当場で養成中の通常2倍体を用い、採卵は搾出法で行った。得られた卵は紫外線照射で不活性化(3,500erg/mm²、40~45sec)したマダイ精子あるいはクロダイ精子で媒精後に処理を行った。処理の条件は、媒精55分後に低水温処理(0℃・5分)→高水压処理(700kg/cm²・5分)→低水温処理(0℃・5分)とした。また、対照区として正常なマダイ精子で媒精した通常2倍体区(Nor-2n)、正常なクロダイ精子で媒精した交雑2倍体区(Hyb-2n)及び不活性化したクロダイ精子で媒精した区(UV-cont)を設定した。各試験区の孵化率、2倍体孵化率、半数体孵化率は1ℓビーカー試験により求めた。

結果及び考察

結果は表2に示した。本年度の試験結果は、最高で27.2%(平均4.1%)の孵化率が得られたが約半数の試験区で孵化が確認されなかった。また、得られた孵化仔魚も原因不明の斃死が多く、60日齢で数尾の生残となり、90日齢で全滅した。

今年度の試験では条件設定が一例のみであり、孵化仔魚はある程度得られるものの、同一条件下の処理でも孵化率にバラツキがあり、今後は安定して作出が可能となる条件の解明が必要である。また、孵化仔魚が一度に大量に斃死することはないが飼育期間を通して斃死が継続して見られることから、飼育技術の再検討も必要である。

表1 極体放出阻止型雌性発生2倍体作出試験結果

試験区	処理区			対照区				
		半数体 孵化率 (%)	正常体 発生率 (%)	Nor-2N 孵化率 (%)	Hyb-2N 孵化率 (%)	UV-cont		
						孵化率 (%)	半数体孵化率 (%)	半数体発生率 (%)
GA1	1	27.3	0.0	100	42.7	8.3		
	2	5.5	0.0	100	0.4	0.0	2.9	100
	3	6.3	0.6	91.2	16.8	16.2	14.3	83.3
	4	86.2	0.0	100	83.0	30.7	34.8	97.4
	5	0.0	0.0		0.0	0.0	0.0	
	6	39.6	8.5	78.5	7.4	8.5	7.8	100
	7	86.7	4.9	94.3	91.2	29.9	49.6	100
	8	1.0	0.0	100	49.5	32.2	50.0	97.1
	9	34.5	4.6	86.8	95.6	46.2	15.4	100
	10	20.4	0.5	97.6	59.8	0.0	14.0	61.5
	11	89.6	2.6	97.1	68.4	20.9	72.3	94.5
	12	8.9	1.5	83.4	33.1	3.6	0.0	
	平均	33.8	1.9	94.3	45.7	16.4	23.7	94.6
GA2	1	*	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	
	2	*	2.8	0.0	100	1.9	2.6	100
	3	*	0.0	0.0		2.5	8.1	100
	4	*	0.8	0.0	100	0.0	0.6	100
	5	*	2.9	0.0	100	2.7	1.0	0.0
	6	*	2.6	0.0	100	0.9	2.0	100
	7		1.0	1.0	0.0	0.5	0.9	100
	8		5.9	0.0	100	0.0	0.0	
	9		5.3	0.5	90.0	6.3	1.6	61.7
	10		15.5	3.9	75.0	4.1	4.8	83.3
	11	*	3.3	0.0	100	0.0	0.0	
	12	*	0.0	0.0		3.0	0.0	
	13	*	0.0	0.0		0.0	0.0	
	14	*	0.0	0.0		0.0	0.0	
	15	*	0.0	0.0		0.0	0.0	
	16	*	0.0	0.0		0.0	0.0	
	17	*	0.0	0.0		0.0	0.5	
	18	*	0.0	0.0		0.0	0.0	
	19	*	1.2	0.0	100	0.0	0.7	
	20	*	0.0	0.0		2.6	0.0	
	平均	2.3	0.4	84.4	0.6	0.9	0.6	84.6
GA3	1	*	53.2	4.2	92.1	0.7	20.8	87.1
	2	*	6.8	2.3	66.7	2.7	4.6	100
	3	*	2.7	0.3	88.8	3.1	0.9	0.0
	4		12.1	0.0	100	1.5	8.2	100
	5		1.7	0.0	100	0.0	0.0	
	6		11.5	0.0	100	0.0	1.3	100
	平均	14.7	1.1	92.3		1.4	6.0	90.1

孵化率：(半数体+2倍体)/全卵数×100 *：ホルモン剤使用

半数体孵化率：半数体/全卵数×100

正常体発生率：2倍体/(半数体+2倍体)×100

半数体発生率：半数体/(半数体+2倍体)×100

表2 卵割阻止型雌性発生2倍体作出試験結果

試験区	処理区			対照区				
	孵化率 (%)	半数体 孵化率 (%)	正常体 発生率 (%)	Nor-2N 孵化率 (%)	Hyb-2N 孵化率 (%)	UV-cont		
						孵化率 (%)	半数体孵化率 (%)	半数体発生率 (%)
GB 1-1	7.0	4.4	37.1	90.5	68.2	61.5	61.0	99.2
1-2	0.0	0.0						
1-3	4.9	2.4	51.0					
2-1	3.7	2.8	24.3	65.5	53.6	4.5	4.2	92.3
2-2	0.0	0.0						
2-3	0.0	0.0						
3-1	0.0	0.0		9.0	0.3	23.5	23.5	100
3-2	0.0	0.0						
3-3	0.0	0.0						
4	0.0	0.0		86.9	26.8	3.6	2.7	75.1
5-1	0.0	0.0		81.6	22.7	3.6	2.7	75.1
5-2	0.0	0.0						
6	18.1	1.1	93.9	37.0		8.1	8.1	100
7-1	8.0	0.3	96.3	48.6	13.9	39.3	38.6	98.2
7-2	10.4	0.0	100					
8	3.5	0.0	100	84.3	48.9	75.0	75.0	100
9	2.3	0.0	100	94.2	71.3	52.0	0.0	0.0
10-1	0.0	0.0		66.0	47.1	0.0	0.0	
10-2	0.0	0.0						
11	27.2	0.0	100	90.2	28.2	50.5	50.5	100
12-1	1.9	0.0	100	0.0	34.0	64.5	64.0	99.2
12-2	0.0	0.5		0.0	0.0			
13	1.7	1.1	35.3	56.9	5.0	44.0	44.0	100
14	0.0	0.0		3.6	1.0	0.0	0.0	
15	0.0	0.0		72.1	11.5	32.6	32.6	100
16	22.2	15.3	30.8	87.6	14.3	7.4	7.4	100
17	0.9	0.9	0.0	15.9	6.6	65.8	50.0	76.0
平均	4.1	1.1	74.2	55.0	26.7	31.5	27.3	86.6

孵化率：(半数体+2倍体)/全卵数×100

半数体孵化率：半数体/全卵数×100

正常体発生率：2倍体/(半数体+2倍体)×100

半数体発生率：半数体/(半数体+2倍体)×100

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、事業推進に当たって谷口教授、関助教授以下水族生態学教室の皆様方に多くのご協力を頂いたことを感謝します。