

26. バイオテクノロジー導入試験

バイオテクノロジー導入試験（マダイ）

増殖科 小松 章博

I. 事業目的

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の系統を確立する。また、市販されている養殖用種苗の遺伝特性を比較して優良養殖種苗の条件を検討する。

II. 事業項目

1. 極体放出阻止型雌性発生 2 倍体第 3 世代の作出試験
2. 卵割阻止型雌性発生 2 倍体の作出条件解明試験
3. 養殖用種苗の系統間遺伝特性の比較試験

III. 事業概要

1. 極体放出阻止型雌性発生 2 倍体第 3 世代（G A (3)）の作出試験

1) 目 的

極体放出阻止型雌性発生 2 倍体第 2 世代（G A (2)）から同第 3 世代（G A (3)）の作出及び飼育特性の把握

2) 材料及び方法

(1) 採卵親魚

昭和63年4月に低温処理法¹⁾（媒精3分後に0℃の海水に12分間浸漬）で作出した第2極体放出阻止型雌性発生2倍体第1世代（以下G A (1)と言う）を親魚として平成3年4月に同方法により作出し当場の海面小割で飼育したG A (2)を採卵用親魚として用いた。なお、採卵親魚は2才魚（約400g）であったことから大部分が未成熟個体であり、十分な採卵ができたのは1尾のみであった。

(2) 採卵及び作出方法

平成5年4月30日に当場の海面小割で飼育中のG A (2)から搾出法で採卵（20g）し、これを紫外線照射により不活性化（3,500erg/mm²、40～45sec）したクロダイの精子で媒精した後、低温処理を行い作出した。処理した卵は、1トンの陸上水槽に設置した容量約30ℓのふ化ネットに移してふ化させた。ふ化仔魚は、500ℓの陸上水槽に移して通常の飼育を行った。採卵した親魚は、即殺してアイソザイム分析を行った。なお、作出率並びにふ化率については、処理した卵の一部を用いて1ℓビーカーによる試験で求めた。また、当該試験区の対照区として不活性化したクロダイ精子で媒精した後に低温処理による極体放出阻止処理をしない区（UVcont区）と正常なマダイ精子で媒精した通常2倍体（NOR 2 N）区を設定した。

3) 結 果

(1) 作出試験

作出処理2日後の5月2日までに全ての卵がふ化し、これらのピーカー試験での正常体(GA(3))作出率は約60%であった。また、対照区のNOR2N区のふ化率は約77%で、UVcont区の正常個体発生率は0.5%であった(表-1)。

表-1 平成5年4月30日に採卵したGA(3)のふ化試験結果(H5.5.2判定)

処理区	処理卵数	死卵数	半数体発生数	正常体発生数	生残率(%) n+2n/全卵	正常生残率 2n/全卵(%)
2n-cont	116	27	0	89	76.7	76.7
UV-cont	204	140	63	1	31.4	0.5
GA(3)	138	32	24	82	76.8	59.4

(2) 飼育試験

GA(3)の飼育は、陸上水槽(500ℓ)で通常の方法により実施した。飼育開始時のふ化仔魚数は約1万尾であったが、これらは飼育中に原因不明の斃死が続き6月12日には約200尾にまで減少した後、6月12日から13日にかけて全滅した。

4) 考 察

採卵が可能であった親魚は1尾のみであったが、今回の試験でふ化仔魚が得られたことから全個体が成熟する平成6年には複数親魚からGA(3)作出が可能であると考えられる。

本年度のふ化仔魚の飼育結果については、飼育途中の減耗が激しく連日斃死が続いた。

この事は、飼育途中に餌料のワムシの確保が困難となり急速配合餌料に切り換えるという飼育技術上のトラブルが生じた事も無関係とはいえないが、それよりもふ化仔魚自体の活力の低さによるものではないかと考えられる。この原因は明らかでないが、親魚が初産で十分に成熟していなかったことや遺伝的に近交が進んだことによる影響などが考えられる。平成6年度の試験項目としては、複数の親魚から採卵しGA(3)の飼育特性と遺伝特性を明らかにし、養殖用種苗としての可能性を検討する。

2. 卵割阻止型雌性発生2倍体の作出条件解明

1) 目 的

染色体操作技術を応用した養殖用種苗の優良品種を作出する手法として、極体放出阻止型雌性発生法及び卵割阻止型雌性発生法の技術が開発されているが、前者は品種を固定するのに同様の処理を数世代継続することが必要であると考えられ多くの人手と経費が必要である。後者は、雌性核が半数体発生を開始するときに倍数処理を実施することで形質の固定を図るものであり、前者に比べて技術的な困難性を伴うが短期間に品種の固定が達成されることが考えられることから極体放出阻止法と併せて当該法による作出技術開発を実施した。

2) 材料及び方法

(1) 採卵親魚及び作出方法

採卵用親魚は、高知県栽培漁業センターで養成中の通常2倍体を用い、採卵は搾出法により行っ

た。卵は直ちに紫外線照射により不活性化したクロダイの精子で媒精し、予め設定した水温で発生させたのち高水圧処理法により作出を試みた。卵は処理後、500ℓ水槽に設置した30ℓふ化ネットに移してふ化させた。また、作出率は1ℓビーカー試験で求めた。マダイの卵割阻止法による雌性発生技術開発試験は、平成元年から開始しており昨年までの試験結果から高水圧処理法が有効²⁾であると考えられるが、まだ安定的に作出を行う条件を見出せないことから本年度は媒精後の発生水温と加圧処理開始時間を変えて試験を実施した。なお、発生水温・処理開始時間等については、表2、3、4、5に示した。

3) 結 果

1ℓビーカーで行ったふ化試験では媒精後18℃で発生を行った場合には40分後に5分間冷海水に浸漬した後700kg/cm²で5分間加圧した区で9.7%の正常発生個体がえられ、また、媒精後16℃で発生を行った場合には55分後に5分間冷海水に浸漬した後700kg/cm²で5分間加圧した区で35.4%、12.3%の正常発生個体をえた。正常に発生したふ化仔魚は、飼育中に共食いやその他原因不明の斃死が多く、稚魚期までの生存した個体がごく少数で組織移植法やアイソザイム分析法を用いた卵割阻止型雌性発生2倍体の作出証明が行えなかった。

なお、5月14日に作出したもののうち12月中旬まで3尾が生存し、このうち1尾は3月2日まで生残していたが事故死をした。これらの作出条件及びふ化試験結果は、表2、3、4、5に示した。

4) 考 察

本年度は、作出率の向上を目的として媒精後の発生水温を従前よりも下げてゆっくりと発生させた後、卵割を抑止した状態で加圧処理を行い従来よりもよい結果を得たが、安定した作出条件の解明には至らなかった。試験区ごとに作出条件を一定に設定しても作出率がことなり、このことが親魚の状態に起因するものか倍数化処理に起因するものかが不明である。また、仔魚から稚魚への変態期以降の飼育についても通常の飼育方法では減耗が著しいことからこれについても再検討する必要がある。今後は、天然の優良な親魚を多数確保してさらにきめ細かく作出条件を検討する予定である。

表－2 平成5年4月23日採卵し加圧処理した卵のふ化率（4.24及び4.25測定）

親魚	発生 水温	処理開始時間	加圧 時間	処理 卵数	死卵数	半数体 発生数	正常体 発生数	卵発生率 n+2n/全卵	正常生残率 2n/全卵	
♀ 1	℃ 18	分 40:15	分 5	粒 861	粒 828	尾 4	尾 29	% 3.83	% 3.37	
		45:00	5	1987	1737	113	137	12.58	6.89	
		47:37	5	7378	6615	486	277	10.34	3.75	
		52:30	5	2147	2116	11	20	1.44	0.93	
		55:20	5	2676	2605	20	51	2.65	1.91	
		60:00	5	2094	2052	7	35	2.01	1.67	
	16	65:00	5	361	324	12	25	10.25	6.93	
		70:00	5	599	594	2	3	0.83	0.50	
		75:10	5	846	835	2	9	1.30	1.06	
		80:00	5	174	172	1	1	1.15	0.57	
		85:00	5	617	611	2	4	0.97	0.65	
		UV cont		536	443	92	1	17.35	0.19	
	♀ 2	18	※ 45/53	3/5 5	3508 226	3508 222	0 2	0 2	0.00 1.77	0.00 0.88
			16	71:30/78:40 75/82	5 5	962 592	958 592	2 0	2 0	0.42 0.00
			UV cont		359	335	24	0	6.69	0.00
♀ 3		16	65/72	5	1181	1181	0	0	0.00	0.00
			UV cont		430	322	104	4	25.12	0.93
♀ 4	18	45	5	819	804	10	5	1.83	0.61	
		17	55:40	5	471	440	31	0	6.58	0.00
	16	60	5	931	888	39	4	4.62	0.43	
		70	5	646	646	0	0	0.00	0.00	
		UV cont		273	267	6	0	2.20	0.00	
		Hb cont		985	768	0	217	22.03	22.03	
	Hb cont		1721	1582	0	139	8.08	8.08		
※処理開始時間欠測（300/700(kg/cm ²)の2段階処理実施）、Hb-cont: Hybrid control 処理圧力(700kg/cm ²)										

表ー 3 平成 5 年 4 月 30 日採卵し加圧処理した卵のふ化率（ 5 . 1 及び 5 . 2 測定）

親魚	試験 区分	発生 水温	低温 処理	処理開始 時 間	処理 卵数	死卵数	半数体 発生数	正常体 発生数	卵 発 生 率 n+2n/全卵	正常生残率 2n/全卵
♀ 2	2n-C UV	℃ 18	℃	分	粒 439 383	粒 115 230	尾 0 153	尾 324 0	% 73.80 39.95	% 73.80 0.00
	GB	18	0 0	40-45-50 35-45-50	134 304	121 304	0 0	13 0	9.70 0.00	9.70 0.00
♀ 3	2n-C UV	18			249 480	94 431	0 49	155 0	62.25 10.21	62.25 0.00
	GB	16		45-50	552	551	1	0	0.18	0.00
				50-55	457	457	0	0	0.00	0.00
				55-60	748	748	0	0	0.00	0.00
				60-65	274	244	24	6	10.95	2.19
				65-70	352	352	0	0	0.00	0.00
				70-75	161	161	0	0	0.00	0.00
				75-80	41	41	0	0	0.00	0.00
♀ 4	2n-C UV	18			97 121	53 100	0 21	44 0	45.36 17.36	45.36 0.00
	GB	18	0 0	{ 43.5-45 45-50 42-45-50	118	115	0	3	2.54	2.54
					92	92	0	0	0.00	0.00
♀ 5	2n-C UV	18			592 130	67 85	0 44	525 1	88.68 34.62	88.68 0.77
	GB	18	5 5 16	40-45-50	145	138	3	4	4.83	2.76
				35-45-50	122	122	0	0	0.00	0.00
65				99	97	2	0	2.02	0.00	
♀ 6	2n-C UV	18			109 506	59 495	0 10	50 1	45.87 2.17	45.87 0.20
	GB	18	5 5	{ 43.5-45 45-50 42-45-50	353	353	0	0	0.00	0.00
					226	225	1	0	0.44	0.00
※ ♀ 2 及び ♀ 456 の発生水温18℃のものは低水温処理後、高水圧処理を行う二段階処理を実施 処理圧力 (700kg/cm ²)、加圧時間 (5min)										

表-4 平成5年5月7日採卵し加圧処理した卵のふ化率(5.8及び5.9測定)

親魚	試験区	発生 水温	処理開始 時 間	処理 卵数	死卵数	半数体 発生数	正常体 発生数	卵 発 生 率 n+2n/全卵	正常生存率 2n/全卵
♀ 1	2n-C UV-C	℃	分	粒 261 286	粒 18 167	尾 0 117	尾 243 2	% 93.10 41.61	% 93.10 0.70
		19	30-35-40 35-40-45	619 65	619 65	0 0	0 0	0.00 0.00	0.00 0.00
		18	40-45-50	962	960	2	0	0.21	0.00
		16	50-55-60 55-60-65 60-65-70	129 241 725	128 203 673	1 20 45	0 18 7	0.78 15.77 7.17	0.00 7.47 0.97
♀ 2	2n-C			244	28	0	216	88.52	88.52
		18	40-45-50 (39-44 45-50	304 143	304 143	0 0	0 0	0.00 0.00	0.00 0.00
♀ 3	2n-C UV-C			207 266	27 182	0 80	180 4	86.96 31.58	86.96 1.50
		18	35-45-50 40-45-50	445 300	445 300	0 0	0 0	0.00 0.00	0.00 0.00
♀ 4	2n-C UV-C			100 524	19 356	0 167	81 1	81.00 32.06	81.00 0.19
		18	41.5-45-50 43-45-50	390 259	365 241	18 18	7 0	6.41 6.95	1.79 0.00
♀ 5	2n-C UV-C			130 174	66 170	0 4	64 0	49.23 2.30	49.23 0.00
		16	45-50	418	418	0	0	0.00	0.00
			50-55	189	183	2	4	3.17	2.12
			55-60	429	394	31	4	8.16	0.93
60-65	398		393	4	1	1.26	0.25		
65-70	542		538	4	0	0.74	0.00		
70-75	217		217	0	0	0.00	0.00		
75-80	285		285	0	0	0.00	0.00		
80-85	313	311	2	0	0.64	0.00			
♀ 6	2n-C UV-C			141 294	25 278	0 16	116 0	82.27 5.44	82.27 0.00
		18	(39-44 45-50	437	437	0	0	0.00	0.00
			40-45-50	173	173	0	0	0.00	0.00
			(57.5-62.5 62.5-69.5	179	178	0	1	0.56	0.56
* 処理圧力(700kg/cm ²)、低水温処理はいつでも0℃									

表ー 5 平成 5 年 5 月 14 日採卵し加圧処理した卵のふ化率 (5 . 15 及び 5 . 16 測定)

親魚	試験区	発生 水温	処理開始 時 間	処理 卵数	死卵数	半数体 発生数	正常体 発生数	卵 発 生 率 n+2n/全卵	正常生残率 2n/全卵
♀ 1	2ncont UVcont GA	℃	分 3:00	粒 587	粒 94	尾 0	尾 493	% 83.99	% 83.99
				607	364	240	3	40.03	0.49
				400	16	0	384	96.00	96.00
	GB	16	55-60-65	110	66	5	39	40.00	35.45
♀ 2	2ncont UVcont GA		3:00	384	257	0	127	33.07	33.07
				202	191	11	0	5.45	0.00
				127	61	66	0	51.97	0.00
	GB	16	55-60-65	134	134	0	0	0.00	0.00
♀ 3	2ncont UVcont GA		3:00	251	18	0	233	92.83	92.83
				243	118	125	0	51.44	0.00
				271	17	27	227	93.73	83.76
	GB	16	55-60-65	334	287	6	41	14.07	12.28
♀ 4	2ncont UVcont			162	40	0	122	75.31	75.31
				147	45	102	0	69.39	0.00
	GB	16	55-59-64	59	59	0	0	0.00	0.00
♀ 5	2ncont UVcont			154	56	55	43	63.64	27.92
				291	289	2	0	0.69	0.00
	GB	18	45-50-55	354	354	0	0	0.00	0.00
♀ 6	2ncont UVcont			176	25	74	77	85.80	43.75
				477	459	0	18	3.77	3.77
	GB	18	40-45-50	188	188	0	0	0.00	0.00
♀ 7	2ncont UVcont			213	14	0	199	93.43	93.43
				350	212	95	43	39.43	12.29
	GB	16	55-60-65	199	170	4	25	14.57	12.56
* 処理圧力 (700kg/cm ²)、低水温処理はいずれも 0℃									

3. 養殖用種苗の系統間遺伝特性比較試験

1) 目 的

市販されている養殖用種苗と放流用種苗を同一条件下で飼育しその系統間特性について比較検討を行い養殖用種苗として有用な形質について検討する。

2) 材料及び方法

(1) 供試魚

本試験は、高知県内で放流用種苗の生産に用いるため養成したマダイ(A系統)、県内の種苗生産業者が継代して育種、養成したマダイ(B系統)、近畿地方で種苗生産用に数代に渡り選択育種されたマダイ(C系統)、九州の種苗生産業者が玄海灘で採捕した天然マダイを育種し養成したマダイ(D系統)及び四国内の種苗生産業者が日本産マダイと韓国産マダイとの間で交雑育種をしたのち養成したマダイ(E系統)を親魚として、これらから平成5年4月10日早朝に採卵されたものを空輸等により同日内に当場に搬入して室内1トン水槽で卵量を統一して同一の条件下でふ化、飼育した種苗を供試魚として用いた。このうち、B系統はC系統から選択育種をした系統であり、ともに同一親魚グループから数世代選択育種がなされた系統であることが解っている。以後、飼育方法及び飼育環境は各系統とも同一条件で実施した。飼育は通常の方法で行い、餌料は仔魚期にはシオミズツボワムシを与え、以後成長にともなって順次配合飼料、オレゴンタイプのモイストペレットを投餌した。

(2) 試験方法

ア. 成長比較試験

5系統の成長形質を比較するために飼育密度を調整して、陸上水槽、海面小割を用いて長期間の飼育を試みた。

a) 陸上水槽飼育試験

飼育は、飼育実験室内に設置した1トン水槽で実施した。初期収容尾数は、各系統とも同数とし、以後成長段階に応じてサンプリング等を行いながら個体数を調整して成長比較を実施した。また、換水量等の飼育環境は可能な限り同一条件とした。投餌量については、150日令までは各区とも等量としたが、以後は一日一回の飽食給餌とした。(表-6)

b) 海面小割飼育試験

60日令から室内水槽と比較するため海面小割に試験区を設定した。小割の大きさは、1.5m×1.5m×1.5m(水中容量約3m³)のものを用了。給餌は、一尾当たりの給餌量を陸上水槽と等量とした。(表-6)

表-6 成長比較試験区収容尾数(陸上水槽、海面小割への収容尾数)

ふ化後日令		60	80	90	110	120	170	200
尾 数	陸上水槽 密度(尾/トン)	600 (750)	500 (625)		250 (310)			100 (125)
	海面小割 密度(尾/トン)	2,400 (800)		1,500 (500)		250 (83)	140 (47)	

イ. 生理形質比較試験

養殖用種苗として有利な生理特性を見るために各系統間の特性比較を実施した。

a) 空中乾出試験

供試魚には、120日令のほぼ同様の大きさの個体（FL70～90mm）を選別して用いた。試験は、海水で湿らせたペーパータオル上に10個体のマダイを一定時間（4分、8分）放置した後、海水中に戻して復帰個体数、半数復帰時間を調査した。なお、放置時間は予備調査して求めた。

b) 塩分耐性試験

一定の濃度の人工海水に、10個体のマダイを投入して鼻上げ開始時間、半数致死時間を求めた。致死判定は、底に横たわり鰓蓋の運動を中止したときとした。また、供試魚は120日令の大きさのほぼ揃った個体（FL：80～100mm）を用いた。なお、人工海水^{註1)}は2倍濃度（64‰）のものを予め作成しておきこれを水道水で希釈して試験濃度海水（64, 32, 16, 8, 0‰）を作成して用いた。

〔注1：人工海水組成：NaCl 29.2kg, MgSO₄ 3.5kg, MgCl₂ 2.5kg, KCl 1.2kg, CaCl₂ 0.77kg, NaHCO₃ 0.22kg, 水道水500ℓ〕

c) 高密度飼育試験

稚魚期に高密度飼育を行った場合、成長や生残率にどのような影響を及ぼすか見るために実施した。試験は、30ℓのパンライト水槽に20ℓの海水を注水して、これに各系統とも50日令魚100尾を収容（5尾／ℓ）して18日間飼育した。なお、換水量は0.5～0.7ℓ／minとした。

d) 混合飼育試験

各系統を混合飼育した場合の成長率や生残率等の違いを見るため、海面小割と陸上水槽を用いて飼育試験を実施した。供試魚は、100日令（FL70～80mm）のものを各系統とも50尾ずつ用いた。なお、これらはアクリル塗料を用いて標識を施して系統区分を行った。飼育試験は、100日令から77日間とした。

ウ. 組織適合性試験による遺伝特性評価

各系統内の近交度合い、遺伝変異の大きさを調べるため組織移植による組織適合性試験を実施した。

a) 組織片移植方法^{3) 4)}

180日令の5系統からそれぞれの家系ごとに24個体を選び供試魚とした。移植は、供試魚4尾を1組として1家系につき6組24個体を用いた。移植には鰓蓋片を用い、各鰓蓋片を4分割して1片を自家移植し3片を他の個体に移植した。移植部位は背面とし各体側に2片ずつ挿入した。飼育は500ℓ陸上水槽で各系統ごとに実施し、個体識別は鰓蓋片の切除側・左右腹鰭切除・背鰭棘条切除により行った。

b) 組織移植の判定^{3) 4)}

移植片の観察は、移植後2日ごとに目視により50日間行った。判定は、移植片の黒色細胞が壊死または、移植片の脱落をもって拒絶したとした。

3) 結 果

(1) 成長比較試験

陸上飼育区及び海面飼育区ともに同様の成長傾向を示した。特に同祖系と考えられるB系統とC系統が成長が良く、次いで、韓国産マダイとの交雑種であるE系統もこれらと同様の成長を示した。これらに、天然産マダイを親魚として育種したD系統、天然産マダイを親魚とするA系統が続いた。今回の試験結果から体長や体重の増加については、育種を行った系統が優れていることが確認された。(表-7、8、図-1、2)

表-7 陸上水槽での成長比較試験結果

ふ化後日令		60	80	100	150	200
A系	FLmm	26.1±3.2	54.4±4.5	70.4±7.3	120.8±22.2	149.8±10.3
	BW g	0.3±0.1	3.4±1.0	9.0±3.0	45.9±11.6	81.9±18.8
B系	FLmm	25.9±4.2	57.9±6.1	80.6±6.9	134.2±8.5	170.7±9.6
	BW g	0.3±0.2	4.6±1.4	12.8±3.5	57.3±11.5	128.3±21.5
C系	FLmm	24.9±5.8	57.6±4.9	81.3±6.5	134.6±7.4	169.5±7.7
	BW g	0.3±0.3	4.5±1.2	13.3±3.0	58.5±10.1	123.7±16.1
D系	FLmm	29.3±5.2	55.4±6.9	71.8±8.8	131.3±10.9	160.2±8.9
	BW g	0.5±0.3	4.4±1.7	10.3±3.9	57.0±13.3	107.6±16.3
E系	FLmm	31.7±4.4	57.2±7.4	80.5±7.7	134.1±7.9	171.5±8.1
	BW g	0.6±0.3	4.5±1.8	13.8±3.9	57.3±10.1	127.4±17.2

表-8 海面小割での成長比較試験結果

ふ化後日令		72	80	100	150	177
A系	FLmm	42.5±5.3	51.6±5.5	69.9±8.0	112.0±6.3	13.0±0.6 ^{cm}
	BW g	1.7±0.7	3.0±0.9	8.0±2.8	36.7±5.6	53.5±7.4
B系	FLmm	43.2±5.9	52.9±6.4	71.2±8.6	127.8±7.6	14.5±0.8
	BW g	1.7±0.6	3.5±1.2	8.6±3.0	55.2±9.2	78.9±12.9
C系	FLmm	43.0±6.3	51.9±4.8	75.4±4.9	122.5±8.2	14.4±0.7
	BW g	1.7±0.6	3.0±0.8	10.1±1.9	47.7±8.6	77.4±10.9
D系	FLmm	44.1±5.5	55.0±4.5	71.5±5.9	116.3±10.4	13.6±0.7
	BW g	1.9±0.6	3.9±1.0	9.0±2.3	44.2±11.9	63.5±10.0
E系	FLmm	43.2±4.1	53.0±4.2	75.8±5.2	123.2±8.6	14.3±0.7
	BW g	1.6±0.4	3.4±0.9	10.1±2.3	51.2±9.4	73.3±11.6

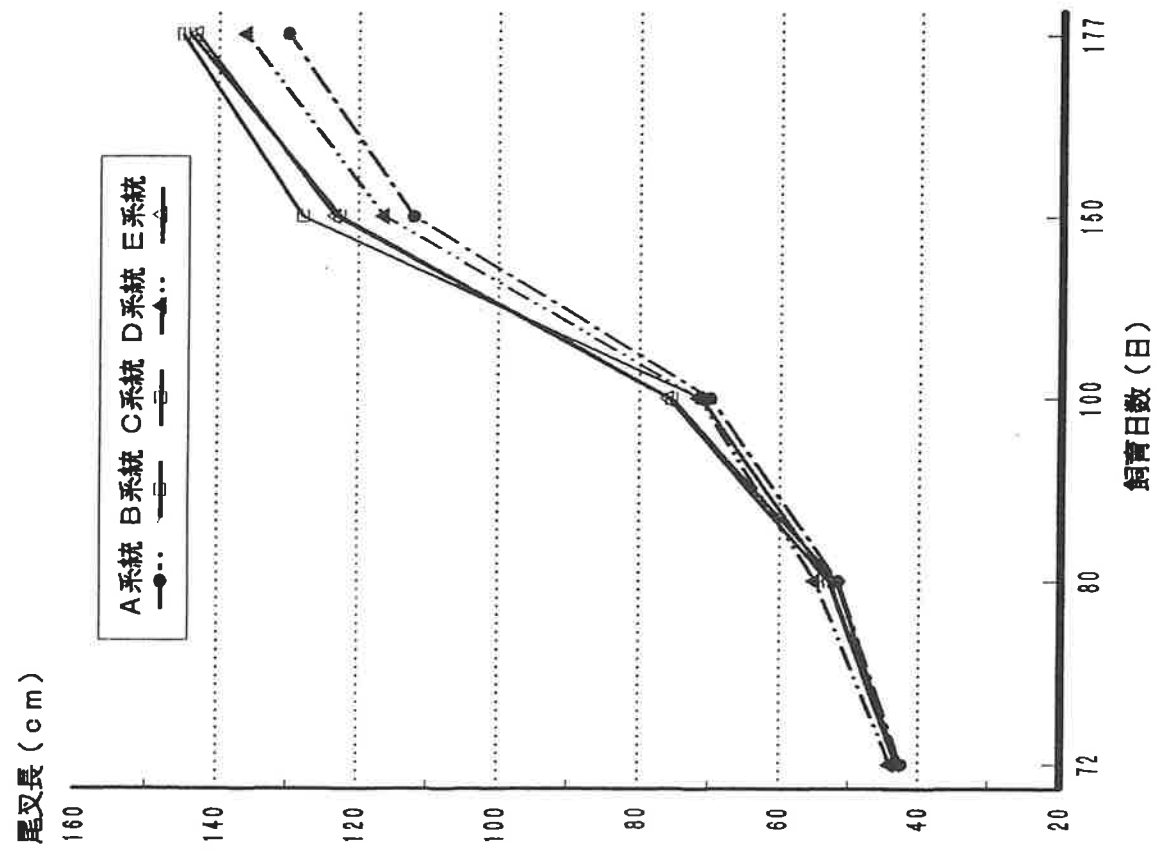


図-1 陸上水槽での成長比較試験結果

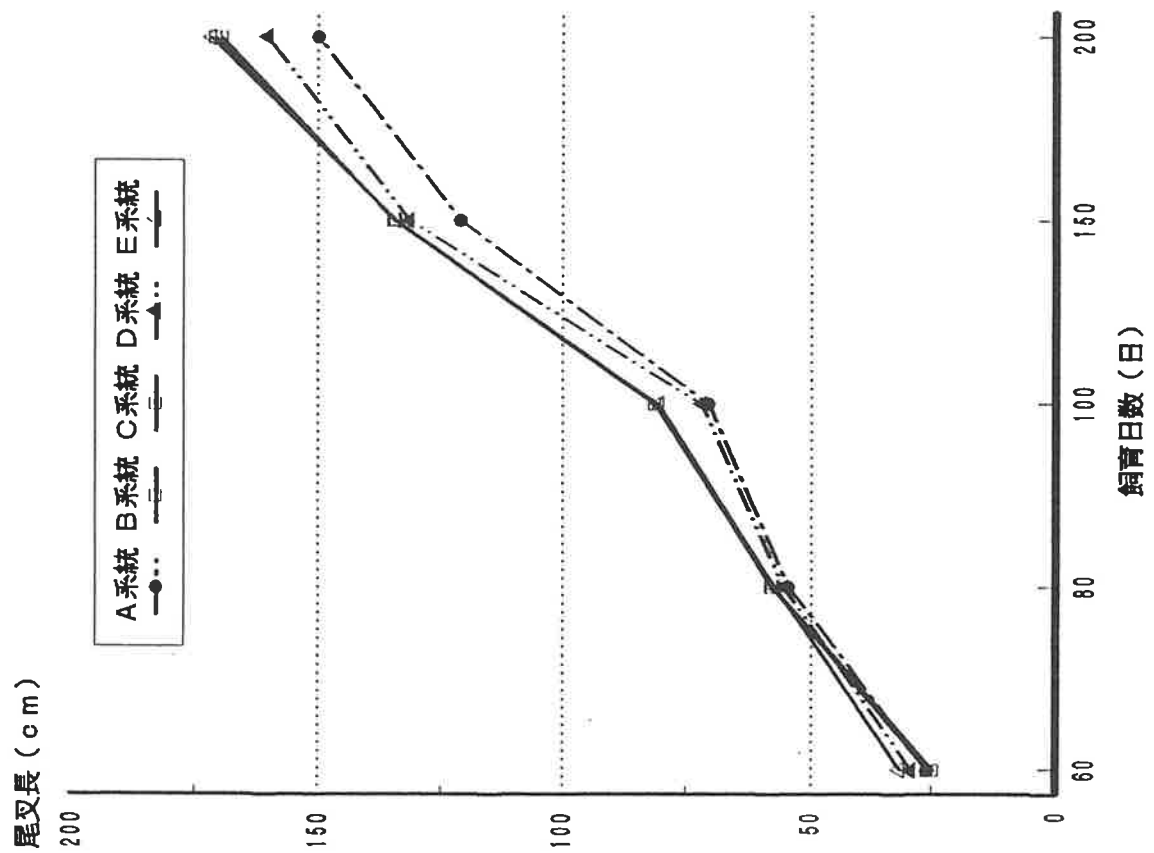


図-2 海面小割での成長比較試験結果

(2) 生理形質比較試験

ア. 空中乾出試験

4 分間の空中乾出試験では、C 系統、E 系統ともに全数復帰し、半数復帰時間も 1 分以内であった。他の 3 系統は、半数復帰に 2 分前後要し明らかに前 2 系統よりも復帰に長時間を要した。8 分間の乾出でも C 系統、E 系統が耐性を示し、半数復帰時間も 2 分前後であった。D 系統は、供試魚の半数が死亡し半数復帰も 5.5 分を要した。(表-9)

表-9 空中乾出試験結果

時間	項目	系 統 区 分					備 考
		A 系統	B 系統	C 系統	D 系統	E 系統	
4 分乾出	平均体重 (g)	24.7	23.1	23.9	22.5	24.3	WT25.8℃ () 値は対 E 比值
	復帰個体数	8	9	10	9	10	
	死亡個体数	2	1	0	1	0	
	半数復帰時間 (秒)	131 (5.5)	106 (4.4)	40 (1.7)	133 (5.5)	24 (1.0)	
8 分乾出	平均体重 (g)	28.0	28.6	28.3	28.3	28.4	WT26.2℃ () 値は対 E 比值
	復帰個体数	7	6	7	5	8	
	死亡個体数	3	4	3	5	2	
	半数復帰時間 (秒)	205 (2.0)	170 (1.6)	138 (1.3)	332 (3.2)	105 (1.0)	

イ. 塩分耐性試験

64‰と 0‰の試験区において鼻上げ並びに死亡が確認されたが、それ以外の濃度区 (32、16、8‰) では、2～3 時間放置しても鼻上げ、死亡等が見られなかった。淡水区、2 倍海水区において C 系統が最も高い塩分耐性を示した。また、2 倍海水区で A、D、E 系統はほぼ同様の半数死亡傾向となり、淡水区では C 系統以外の 4 系統がほぼ等しい死亡傾向を示した。(図-3、4)

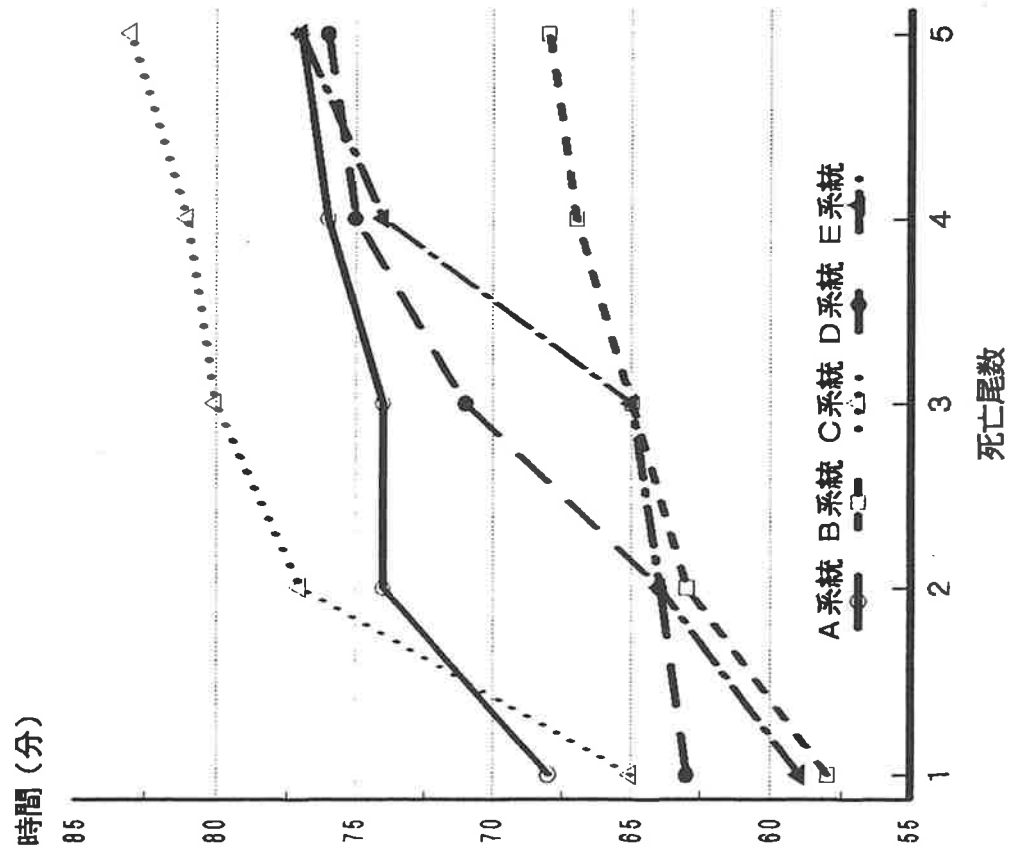


図-4 塩分耐性試験結果 (2倍濃度海水区)

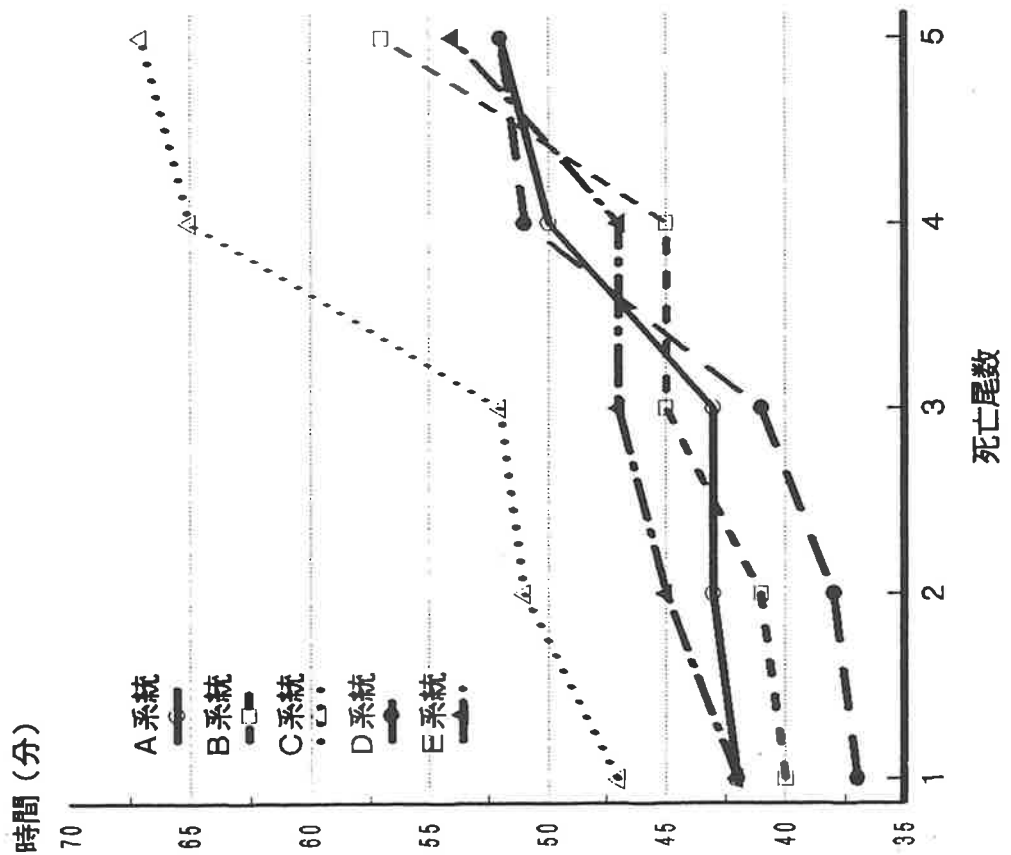


図-3 塩分耐性試験結果 (淡水区)

ウ. 高密度飼育試験

短期間の高密度での飼育（5尾/ℓ）は、日間成長率を尾叉長で見ると全系統ともほぼ同程度の成長であったが、体重では差が見られた。これを、尾叉長の変動係数（68日令）でみると、A系統が最も高い値を示し、以下C、E、D、B系統であった。体重では、A系統はその成長が小さいため標準偏差は低い値であるが、変動係数では他の系統に比べて大きい値を示した。また、生残率でもA系統は他系統に比べて低い値を示した。（表-10、図-5）

表-10 高密度飼育試験結果

系 統	50日 令測定		68日 令測定						日間成長量		生 残 率 %
	FL	BW	FL			BW			FL	BW	
	mm	mg	mm	STD	CV	g	STD	CV	mm	mg	
A 系統	17.6	96	35.7	6.25	17.5	0.79	0.37	47.0	1.01	38.6	69
B //	20.0	156	40.1	4.11	10.3	1.34	0.44	32.5	1.12	65.8	91
C //	19.9	144	37.7	5.31	14.1	1.13	0.42	37.0	0.99	54.8	89
D //	21.0	172	38.9	4.30	11.1	1.28	0.47	37.2	0.99	61.6	79
E //	23.4	218	41.3	4.85	11.7	1.50	0.57	37.3	0.99	71.2	92

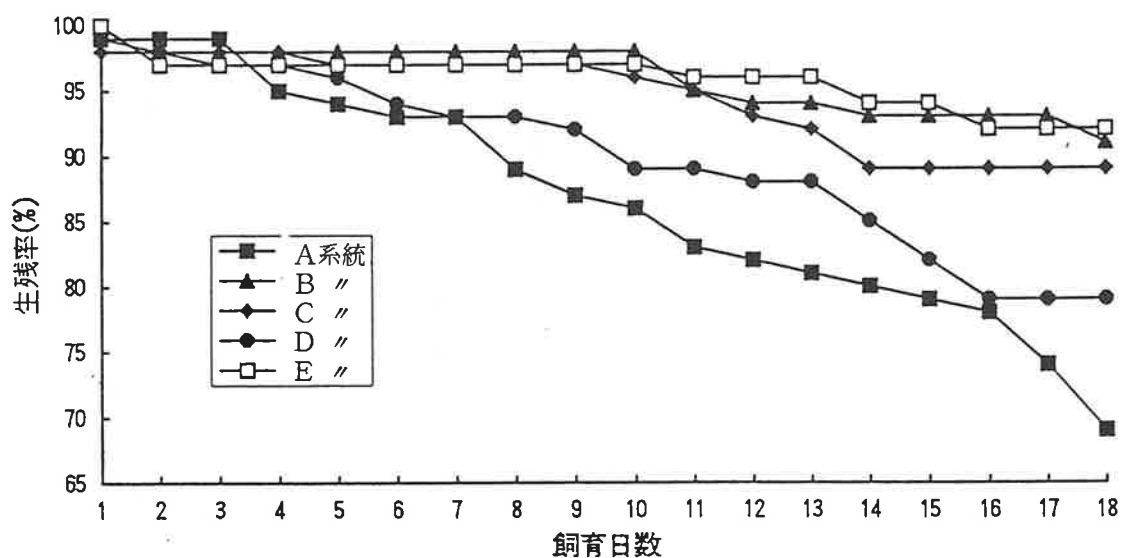


図-5 高密度飼育試験における各系統の生残率（%）

エ. 混合飼育試験

海面小割で飼育したものは、60日令で沖出ししたのち40日間飼育してから混合試験区を設定した。この時の陸上水槽試験魚と海面小割試験魚を比較すると、A系統以外は何れも海面小割飼育魚が小型であった。飼育開始時の尾叉長、体重はともにC系統魚が陸上、海面何れにおいても変動係数が

小さな値を示しており、飼育終了時にも同様の傾向が見られた。生残率を見ると陸上、海面ともにE系統が高い値を示した。他の4系統は、ほぼ同じような生残率であった。全系統を併せた生残率では、海面小割飼育区がやや高い値を示した。日間成長率では、陸上水槽・海面小割ともにA系統が最も劣った。また、体長・体重ともに高い成長率を示したのは、B・C・E系統であった。(表-11、12)

表-11 陸上水槽内混合飼育試験

日 令	100			177			日間成長率		(*1) 生残率 %
系 統	FL (cm)	BW (g)	N	FL (cm)	BW (g)	N	FL	BW	
A 系統	70.4±7.3 (10.4)	9.0±3.0 (33.3)	29	12.6±0.7 (5.6)	55.8± 9.0 (16.1)	28	0.73	0.61	78.0
B //	80.6±6.9 (8.6)	12.8±3.5 (27.3)	28	14.5±0.7 (4.8)	84.8±10.6 (12.5)	30	0.83	0.94	74.0
C //	81.3±6.5 (8.0)	13.3±3.0 (22.6)	30	14.9±0.6 (4.0)	89.6±12.4 (13.8)	30	0.88	0.99	76.0
D //	71.8±8.8 (12.3)	10.3±3.9 (37.9)	27	13.8±0.8 (5.8)	71.2±12.6 (17.7)	30	0.86	0.79	74.0
E //	80.5±7.7 (9.6)	13.8±3.9 (28.3)	30	14.9±0.7 (4.7)	89.3±10.5 (11.8)	30	0.88	0.98	80.0

*1：全体生残率（76.4%、系統区分不能個体を削除した補正生残率）

注：（ ）内は、変動計数値

表-12 海面小割内混合飼育試験

日 令	100			177			日間成長率		(*2) 生残率 %
系 統	FL (mm)	BW (g)	N	FL (mm)	BW (g)	N	FL	BW	
A 系統	75.3±8.5 (11.3)	8.0±2.8 (35.0)	27	13.0±0.6 (4.6)	53.5± 7.4 (13.8)	30	0.71	0.59	80.0
B //	71.2±8.6 (12.1)	8.6±3.0 (34.9)	29	14.5±0.8 (5.5)	78.9±12.9 (16.3)	30	0.96	0.91	78.0
C //	75.4±4.9 (6.5)	10.1±1.9 (18.8)	28	14.4±0.7 (4.9)	77.4±10.9 (14.1)	30	0.90	0.87	82.0
D //	71.5±5.9 (8.3)	9.0±2.3 (25.6)	30	13.6±0.7 (5.1)	63.5±10.0 (15.7)	30	0.83	0.71	78.0
E //	75.8±5.2 (6.9)	10.1±2.3 (22.8)	27	14.3±0.7 (4.9)	73.3±11.6 (15.8)	30	0.87	0.82	94.0

*2：全体生残率（82.4%、系統区分不能個体を削除した補正生残率）

注：（ ）内は、変動計数値

(3) 組織適合性試験による遺伝特性評価

飼育180日令の各系統を系統内間で鰓蓋片を移植した結果では、移植後2週間以内にA系統、D系統、E系統ともに半数の個体が他個体の移植片を拒絶し最終判定を行った50日後には全ての個体が拒絶した。これらに対して同祖系であろうと考えられるB系統とC系統では、ほぼ同様の拒絶経過が確認され、半数の個体が移植組織片を拒絶したのは4週間後で、明らかに前者と異なった特性を示した。最終判定を行った50日後には、A系統、D系統、E系統ともに殆ど全ての個体が他の個体の組織片を拒絶したにも関わらず、B系統、C系統ともに20~30%の受容が確認された。また、移植後50日を過ぎても、非自己組織に対して全く拒絶反応が見られない個体がC系統で2個体、B系統で1個体確認された。(図-6)

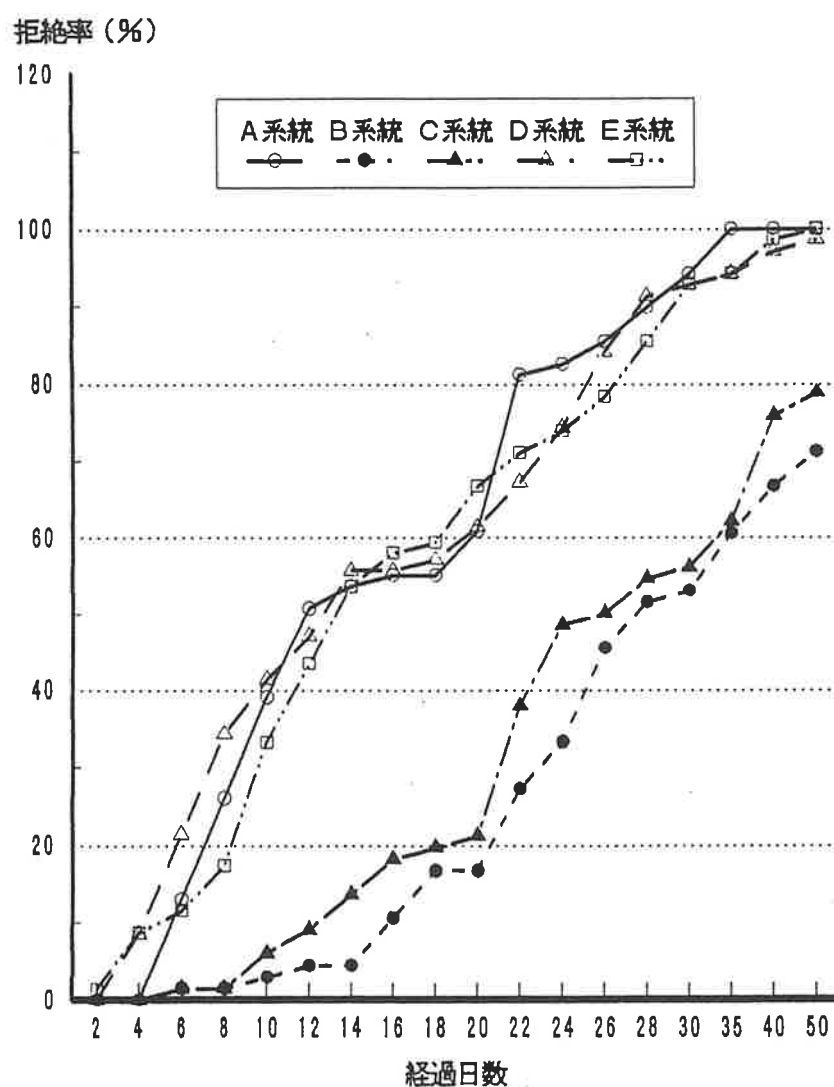


図-6 移植組織拒絶率の推移

4) 考 察

今回試験に供した5系統の内、A系統を除いた4系統は養殖用種苗として継代して選択育種がなされ養殖用種苗として実績を持つものである。特に、B系統、C系統は同祖の親魚グループから数世代(7~8世代)にわたり選択育種がなされている。B系統を販売している種苗生産業者からの聞き取りによると、B系統はC系統の4代目から確立したとのことであった。この両者は、成長特性や生理特性が良く似かよっており、このことからB系統が確立された時点(4代目)で、ほぼ固定された形質があったことが推察される。D系統は選択育種2代目であり、また天然魚の形質が反映されているためか個体間の形質に変異が認められた。E系統は、日本産マダイと韓国産マダイとの交配種を起源として選択育種された4代目である。成長状況はB系統・C系統とよく似た傾向を示し、特に仔魚期や稚魚期の成長が良いなどの特徴が認められた。A系統は、本県の放流用種苗であり仔魚期や稚魚期の生残率や成長についても他系統とは異なっている。この系統の稚魚期の特徴として、非常に警戒心が強いいため飼育がしにくい。反面、この性質は、放流後の環境適用力が高いのではないかと考えられる。

(1) 生理特性

養殖魚は、網換作業や選別作業中に空中に乾出されたり、その養魚場が内湾域であることが多いため赤潮や降雨による低鹹及び低酸素など環境の急激な変化を受け易い。このような環境変化への高い適応能力を持つことが養殖用種苗として有利であると考えられる。

空中乾出試験では、E系統、C系統、B系統、A系統、D系統の順で耐性を示し、E系統とC系統は網換え作業などの悪条件に有利ではないかと考えられる。

塩分耐性試験では、淡水区及び濃塩水区ともにC系統が強い耐性を示した。淡水区ではC系統以外の系統がほぼ同様の傾向を示し、濃塩水区ではB系統・C系統以外の3系統の半数死亡時間はほぼ類似した。B系統は、C系統と同祖であるが、濃塩水区での耐性に差が見られた。これは、B系統の飼育漁場が、内湾域で常に低鹹水にさらされている中で選抜育種がなされていることに由来する可能性が高いと考えられる。A系統も同じ水域で飼育されているが、この系統は、天然魚を親魚しており選択育種が行われていないことからこの差が出たのではないかと考えられる。

養殖用種苗は種苗生産時から高密度飼育が行われることが多くこのような環境下での生残率や成長状況を把握する目的から高密度飼育試験を実施したのであるが、飼育を開始して18日目に断水により全ての試験魚が死亡したため十分な成果が得られなかった。

混合飼育試験は、同一環境下で種苗を混養したときの成長率や生残率を見る目的で実施した。日間成長率をみると、陸上水槽での飼育、海面小割での飼育ともにA系統以外がほぼ同様の成長を示した。生残率では、E系統が他の4系統よりも陸上水槽、海面小割の両試験区とも良い結果が得られた。他の4系統はほぼ同様の生残率であった。

なお、海面小割での成長が陸上水槽よりもやや劣ったのは、飼育期間中に赤潮が発生したため投餌量を制限したことが原因であると考えられる。

各系統を生理特性から評価すると、養殖用種苗としてB系統、C系統の育種効果が見られた。E

系統についても成長や生残率で育種効果が確認された。また、D系統は、ふ化してから稚魚期までの成長が良いことに特徴があり、今後は稚魚期以降に成長の良い系統を確立すれば養殖用種苗として有用な種苗となろう。

他の4系統と異なった特性を持つA系統は、稚魚期までの生残率はよいが、その行動が非常に警戒心が強いので少しの物音にも敏感に反応して摂餌しなくなるなど養殖用種苗としては扱いにくいものと思われる。反面、前述したように放流後に害敵生物に対する警戒心が強いものと考えられることから海域での生存性が良いのではないかと考えられる。

(2) 組織適合性試験による遺伝特性評価

魚類の組織適合性遺伝子は、近年、橋本(1992)⁵⁾により存在が証明され、魚類の系統間や雌性発生魚の近交度の推定に有効であろうとされている。今回の試験では、それぞれが異なった系統であることから系統間の組織移植は実施せず、系統内での移植試験のみ実施した。結果は前述した通りであるが、同祖系と見られる、B系統、C系統で極めて類似した移植組織片に対する拒絶傾向を確認した。また、この系統の試験魚の中には移植後50日を経過した時点でも非自己組織片に全く拒絶反応を示さない個体が確認された。この事は、B系統、C系統ともに系統内の近交度が上昇しているものと考えられる。この2系統に比べて選択育種が行われていないA系統や育種の継代回数の少ないD系統は、強い拒絶反応を示し、その半数拒絶日数もB系統・C系統と大きな違いが確認された。

E系統は、全体としての拒絶反応の推移はA系統やD系統と同様の傾向を示したが、各個体間で拒絶反応に違いが見られ個体によって組織適合性遺伝子の近交度にばらつきがあることが推察された。また、図-5に示したように拒絶反応の推移を見ると、A、D、E系統では、移植直後から12日目まで拒絶反応が強く起き、6日ほど安定した後再び拒絶反応が強くなる傾向が確認された。この傾向は、B、C系統でもやや遅れてみられた。これは、飼育環境の変化に伴って起こっている可能性もあるが、主要組織適合性抗原と副組織適合性抗原の作用の違いを現しているのかも知れない。

なお、B系統とC系統の組織適合性については、当场で作出した極体放出阻止型雌性発生2倍体第2世代(GA(2))の組織移植結果²⁾と比較すると、その組織適合率の類似性が高くこの両者は、GA(2)に近い変異の縮小が起こっているのではないかと考えられる。今後への検討課題として、遺伝特性が明らかになっていないGA(2)、GA(3)と選択育種系統の養殖用種苗としての有効性についての研究が必要である。

(3) その他

今回、種苗特性試験に供した5系統についてのアイソザイム分析でも生理特性試験、組織適合性試験と同様の結果を得ており、選択育種によって養殖用種苗の系統を確立することが有効な手法であることが確認された。なお、アイソザイム分析結果から見た遺伝特性評価の詳細については、平成6年度日本水産学会春期大会において、高知大学農学部谷口順彦教授により報告されている。

IV. 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、関講師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に深く感謝します。

V. 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) 小松章博 (1994) : 平成4年度バイオテクノロジー導入試験、平成4年度高知水試事報
- 3) 日本水産資源保護協会 : 雌性発生法によるアユの有用形質の識別・評価に関する研究、水産物有用形質評価手法開発事業報告書、平成2年度、135-144
- 4) Hyon-Sob Han, Nobuhiko Taniguchi, and Akio Tsujimura : Nippon Suisan Gakkaishi, 57 (5), 825-832 (1991)
- 5) 橋本敬一郎 (1992) : 魚類MHC遺伝子の単離 細胞工学 Vol. 11 8 575-582 秀潤社

