アイソザイム遺伝子で標識されたマダイきょうだい群の成長 および生残率における親間差

谷口 順彦, 東 健作, 榎田 晋

(1987 年 9 月 14 日受付)

Significant Difference in Growth and Survival Rate among Sib-groups of Red Sea Bream Marked by Isozyme Gene

Nobuhiko Taniguchi,*¹ Kensaku Azuma,*² and Susumu Umeda*³

Four progeny groups of red sea bream marked by isozyme gene were mixed with each other on the day of the hatching, and reared consistently in the same tank and same net-cage in order to adjust environmental effects on the growth of progeny groups. These progenies were sampled on 65th, 142nd, 232nd, 528th days after hatching, and then the parents of progenies were identified by isozyme markers. The significant differences were observed in growth and survival rate among the progeny groups on each sampling day. It was discussed that the difference among progeny groups might be caused by the maternal effects as well as genetic factors.

魚類育種の分野における量的形質の研究はその重要性にもかかわらず、淡水魚を中心としてデータの集積がなされており、海産魚における研究は遅れている。海産魚の育種学的研究を遅らせた要因は種苗生産が未確立であったことや飼育管理上の経済的、時間的、スペース的負担が極めて大きいことが挙げられる。このため、水産生物の育種研究上の種々の負担を軽減するため、適応的に中立といわれるアイソザイム型を遺伝標識として利用する量的形質の実験モデルが提案された。^{1,2)} 最近では、アイソザイム遺伝子できょうだい群を標識し、互いに識別可能なきょうだい群を混合飼育した後、各きょうだい群の量的諸形質の遺伝的特性を相対的に評価する試みがなされている。³⁻⁶⁾

著者らは成長などの量的形質における遺伝的変異を分析するための研究の一環として、アイソザイム遺伝子できょうだい群の標識として利用することを試み、既に、マダイの椎体異常の発生原因の一部に遺伝的要因が絡んでいることを示唆する結果を得ている。⁶⁾ 本研究ではアイソザイム遺伝子で標識した親を異にする4組のきょうだい群をふ化直後から同一水槽、同一生簀で飼育することにより、各群が受ける環境条件の差を除去した上で、各群の成長や生残率における親魚間の差の有意性を統計

学的に判定し、将来の品種改良の可能性について考察した。

材 料 と 方 法

親魚 人工採苗には天然種苗養成親魚(推定6~8才)20尾を用いた。採卵は1981年4月24日に行い、その1週間前に親魚を海面小割生簀から陸上タンクに移し、採卵日の前日にゴナトロピン(帝国臓器製)を200マウス単位/kg あて背側骨格筋に注射した。

採卵 搾出法により雌親から個体別に採卵した後、2つの容器に分け、それぞれ別の雄魚の精子で媒精した。使用した雌親は7尾、雄親は10尾である。受精卵は親魚のアイソザイム遺伝子型が判定されるまで別々のふ化ネットに収容した。

生化学的標識 採卵に用いた親魚は即殺し、アイソザイム検出用試料として肝臓、骨格筋などを採取した。アイソザイムの検出は既報のデンブングル電気泳動法⁷⁾および薄層ポリアクリルアミドゲル電気泳動法⁸⁾によった。親魚のアイソザイム遺伝子型を判定した後、相互に識別可能と判定された全きょうだい群(第I~IV群)を選び、ふ化直後から同一の飼育水槽に収容した。選ばれた全きょうだい群のうち、IとIIおよびIIIとIVはそ

*¹ 高知大学農学部栽培漁業学科 (Department of Cultural Fisheries, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan).

*² 西日本科学技術研究所 (Nishinihon Institute of Technology, Wakamatsu-cho, Kochi 780, Japan).

*³ 高知大学海洋生物教育研究センター (Usa Marine Biological Institute, Kochi University, Tosa, Kochi 781-04, Japan).

れぞれ雌親共通の半きょうだいの関係にある。第 I~IV 群に出現することが予想されるアイソザイム遺伝子型による各群の判別率の期待値は I 群が 62.5%, II 群が 75.0%, III 群および IV 群が 100% であった。なお, 各アイソザイムの対立遺伝子および検出に用いた組織は既報^{7,8)}のとおりである。

飼育 第 I~IV 群の仔稚魚は, ふ化後の飼育環境条件由来の群間変異を除去するため, 一貫して同一の飼育水槽または生簀内で混合飼育した。餌料として, 仔魚期にはクロレラで培養したシオミズボワムシや海産コペーダを, 稚魚期にはイワシシラスおよびアミを与えた。ふ化後 55 日に, 全個体を海面小割生簀に移した。

供試魚の取揚げと両親の判定 供試魚として, ふ化後 65 日, 142 日, 232 日および 528 日経過後の計 4 回, それぞれ 422 個体, 361 個体, 342 個体および 200 個体の合計 1325 個体を採取した。供試魚は, 尾叉長, 体重などを計測した後, 電気泳動法により検出したアイソザイム遺伝子型から下記の検索表にもとづいて第 I~IV 群に鑑別分類した。

なお, 親魚の遺伝子型は前報に示した。⁹⁾ また, 供試魚に含まれていた脊椎骨異常個体は骨格発育不全による

成長遅滞が見られたため除外した。

検索表

- a1 Pgd^B/Pgd^B b1 Idh^A/Idh^B , Est^E/Est^E ...子魚 I
 b2 Me^A/Me^C , Est^D/Est^X ...子魚 II
 b3 Others子魚 I
 または子魚 II
 a2 Pgd^A/Pgd^B c1 Adh^A/Adh^B子魚 III
 c2 Adh^B/Adh^B子魚 IV

結 果

成長度の親間比較 各採集日の第 I~IV 群の尾叉長, 体重の平均値および標準偏差を Table 1 にまとめた。ふ化後 65 日目の成長は第 IV 群が最も良く, 以下, III>II>I の順になっている。さらに, 体重の全平均値からの各群の平均値の偏差を求めると, その率は -19.0~19.8% の範囲にあった (Fig. 1)。各群の平均体重の群間差について t 検定を試みたところ, I と III, I と IV, II と III および II と IV の各群間で顕著な有意差が認められた (Table 2)。

ふ化後 142 日目における成長は第 III 群が最もよく以下, II>I>IV の順になった。また, 各群の平均値の全平

Table 1. Comparison of averages of fork length and body weight of the progeny groups I-IV

Day after hatching	Progeny	Number of fish examined*	Fork length in cm Mean and S. D.	Body weight in g Mean and S. D.
65	I	61	4.80±0.60	2.17±1.09
	II	69	4.95±0.72	2.27±1.10
	III	78	5.30±0.58	3.07±1.04
	IV	55	5.52±0.58	3.21±1.06
	I+II	130	4.88±0.66	2.22±1.10
	III+IV	133	5.39±0.58	3.13±1.05
142	I	32	9.94±0.54	22.3±3.2
	II	35	10.29±0.67	24.5±4.5
	III	103	10.33±0.61	25.0±4.1
	IV	48	10.01±0.55	22.2±3.4
	I+II	67	10.15±0.60	23.4±3.9
	III+IV	151	10.23±0.59	24.1±3.9
232	I	37	13.08±0.70	47.3±7.0
	II	25	13.49±0.61	51.8±6.4
	III	124	13.23±0.89	49.8±9.5
	IV	51	12.81±0.81	45.2±8.1
	I+II	62	13.24±0.66	49.1±6.8
	III+IV	175	13.11±0.87	48.5±9.1
528	I	13	17.14±1.12	112±22
	II	13	17.64±0.96	122±21
	III	83	17.09±1.30	110±26
	IV	51	16.27±1.03	97±19
	I+II	26	17.39±1.04	117±22
	III+IV	134	16.77±1.20	105±23

* The deformed fish were excluded from the samples.

Table 2. The result of t-test for difference among the progeny groups in averages of body weight listed in Table 1

Combination of progeny	Days after hatching			
	65	142	232	528
I : II	0.52	2.30 ^{*1}	1.62	1.19
I : III	4.96 ^{*2}	3.41 ^{*2}	1.00	0.26
I : IV	5.20 ^{*2}	0.13	1.75	2.46 ^{*1}
II : III	4.53 ^{*2}	0.61	0.48	1.58
II : IV	4.80 ^{*2}	2.65 ^{*2}	2.90 ^{*2}	4.15 ^{*2}
III : IV	0.76	4.14 ^{*2}	2.46 ^{*1}	3.10 ^{*2}

^{*1} Significant at $p < 0.05$, ^{*2} $p < 0.01$.

Fig. 1. Percent deviation of body weight from overall mean for each full-sib groups I-IV identified by isozyme markers.

均値に対する偏差は $-5.5 \sim +6.4\%$ となり、ふ化後 65 日目の偏差に比べ小さくなった (Fig. 1)。平均体重の群間差は I と II および III, II および III と IV の間で統計的に有意であった (Table 2)。

ふ化後 232 日目の成長は第 II 群が最もよくなり、以下、 $III > I > IV$ の順になった。各群の体重の平均値の全平均に対する偏差は $-8.7 \sim +6.7$ の範囲で、ふ化後 142 日目に比べわずかに大きくなっている。平均体重の群間差については II と IV および III と IV の間でそれぞれ有意であった (Table 2)。

ふ化後 528 日目の成長は第 II 群が最も優れており、以下、 $I > III > IV$ の順であった。この順位は前回の測定

時と良く似た傾向を示している (Fig. 1)。この時点で、II 群と IV 群の平均体重差は 25 g (25.8%) に及んだ。各群の平均体重の全平均からの偏差は $-22.7 \sim +10.9\%$ で、ふ化後 232 日目に比べ、やや大きくなった (Fig. 1)。また、体重の平均値において、I と IV, II と IV, および III と IV の間で有意差が認められた (Table 2)。

生残率の親間差 ふ化仔魚の放養尾数は第 I 群が 27,475 個体、II 群が 27,300 個体、III 群が 33,775 個体、IV 群が 24,675 個体、合計 113,225 個体であった。受精率については親魚間差は小さかった (I: 76.8%, II: 60.6%, III: 82.8%, IV: 89.9%) が、ふ化率については親魚による顕著な差がみとめられた (I: 46.0%, II: 79.3%, III: 24.1%, IV: 11.6%)。ふ化後 55 日目に、稚魚を海面小割生簀へ移動した時点で、生残個体数は 3,921 個体、生残率は 3.46% であった。海面小割生簀への移動後の減耗率は小さく、ふ化後 232 日目は約 1,000 個体が生き残っていた。各群の生残状態を比較するため、各採集時点における 4 群の観察値を相対比で示した (Table 3)。

I 群および II 群それぞれの相対比は飼育日数の経過とともに減少し、IV 群は大きい変化はなく、III 群は上昇した。さらに、生残率の推移を明らかにするため、ふ化日の相対比を各群の基準値 (100%) とし、1 回目の採集日以後は減耗率の最も小さい群の数値を基準として他の群の相対的生残率を求め、これらをプロットした (Fig. 2)。この結果、65 日目以降は I 群と II 群 (♀1 の子魚) の減耗が顕著であり、III 群および IV 群 (♀2 の子魚) の減耗が小さかったことが判明した。

特に、I 群と II 群は 142 日目以降、脊椎骨に前湾症が多発し、III 群および IV 群は 65 日目に既に脊椎骨に短椎症が多発していた。これらは椎体異常のタイプと生残率の間に何等かの相関があることを示唆している。

Fig. 2. Relative survival rate of full-sib groups I to IV for each sampling day. The estimation of relative survival rate are shown in Table 3.

Table 3. Percentage composition of full-sib groups I to IV. The values in parenthesis are the indices of survivals standardized by the relative abundance of progeny III for each sampling day

Progeny	Days after hatching				
	1	65	142	232	528
I*	24.3 (0.82)	27.3 (1.04)	18.3 (0.42)	15.2 (0.30)	14.0 (0.29)
II*	24.1 (0.81)	27.2 (1.03)	17.5 (0.40)	9.4 (0.19)	10.0 (0.21)
III	29.8 (1.00)	26.3 (1.00)	44.0 (1.00)	50.6 (1.00)	48.0 (1.00)
IV	21.8 (0.73)	19.2 (0.73)	20.2 (0.46)	24.8 (0.49)	28.0 (0.58)

* These values were corrected by following formula.

$$I = \frac{(I_i + (T - N)) \times (I_i / (I_i + II_i))}{T} \times 100$$

$$II = \frac{(II_i + (T - N)) \times (II_i / (I_i + II_i))}{T} \times 100$$

(T: Total number of fish examined; N: Total number of fish identified; I_i , II_i : The identified number of progeny I or II)

論 議

生化学的標識を用いた魚類の量的形質の遺伝分析の研究例は多くない。淡水魚ではヨーロッパゴイ (Dor-70) の2組の全同胞群からなる母系同胞間で成長度の差が10~30%に達しているという例があり、海産魚ではニベおよびマダイの稚魚の2組の全同胞からなる母系半同胞間の平均体重差がニベでは32%, マダイで28%となり比較的大きな値を示している。⁵⁾ 本研究は、アイソザイム遺伝子で標識された複数のマダイきょうだい群をふ化直後から同一飼育環境条件を与えることにより、それぞれのきょうだい群の成長や生残における親魚の影響を解明しようとしたものである。本研究では仔魚の成長率や生残率が半きょうだい間で明らかに異なることを示した。特に、ふ化後65日目までの稚魚期においては雌親間(I・II群とIII・IV群との間)の成長差が-17.2%~+16.8%とかなり大きいことをあらためて明らかにした。さらに雌内雄親間の差に比べて雌親間の差が著しい。これらの親魚の違いによる稚魚の成長の差は、ふ化後の飼育環境条件は全く同じなので、親魚なかでも雌親の遺伝的な違いによって生じたと考えられる。ここで、本研究で用いた雌親♀1と♀2は受精率では大差はなかったが、ふ化率では♀1(46.0~79.3%)に比べ♀2(11.6~24.1%)が劣っていた。この事実は、卵質*が雌親間で異なっていたことを示唆している。しかし、稚魚期における成長の良否は卵質⁹⁾の良否とむしろ逆の関係にあり、その原因を親魚の卵質以外のふ化以前の要因に求める必要がある。ふ化後142日目以降の若魚期における第I~IV群の成長は、稚魚期の傾向とは逆に雌親間の差は減少し、雌内雄親間での差が徐々に大きくなっている。第I~IV群の相対的成長度をふ化後142日目以降にしてみると、IV<III<I<II群の順で大きくなっていく。

この傾向は、142日目以降3回の調査結果とも同様である。特に、稚魚期において成長がよかったIII, IV群が142日目以降には逆にI, II群に比べて相対的成長度が低下している事実は注目すべき点である。このことは、第I~IV群のそれぞれの全きょうだい群の成長因子の発現は、稚魚期までとそれ以降とはその現われ方に差があり、若魚期以降においては親魚由来の成長に及ぼす遺伝的要因の発現がほぼ変らないものと考えられる。一方、供試魚の生残率の推移については相対比や相対生残率から、ふ化後65日目までは群間で大きな差はほとんどなかったが、65日目以降にI, II群とIII, IV群の間で顕著な差のあることが分かった。さらに、相対的成長度が大きくなったI, II群は生残比が小さくなっており、成長度が小さくなったIII, IV群は生残比が大きくなっていた。このことは、各きょうだい群の成長因子と生残因子とが相互に独立した関係にあることを示している。そして、生残率においても成長度と同様に卵質の良否に対して負の相関がみられた。特に、65日目以降、I, II群の生残率が急激に低下した原因はこの時期に多発した前湾症の発生と関係があるものと思われる。⁹⁾

マダイ人工種苗における飼育成績の良否については、現在まで仔稚魚の飼育環境条件や飼料など主としてふ化後の環境要因に注意が払われてきた。本研究の結果は、飼育成績の良否がふ化後の飼育環境条件によって大きく左右されることを前提としながらも、親間での成長や生残率の差はふ化以前の要因や用いた親間の遺伝的差異が潜在的に関与していることを示唆している。こうした家系別の成長因子の発現が後代にそのまま引き継がれるかどうかは後代検定による他ないが、一部淡水魚の増養殖分野では養殖品種の固定改良化に應用されている事例^{3,4)}を考慮すれば、海産魚類においてもこうした育種学的重要性は今後ますます大きくなっていくもの

* 通常、卵質の良否は受精率、ふ化率、奇形率などにより評価される。⁹⁾

と思われる。また、魚類増養殖の分野にアイソザイムの
ような生化学的形質を標識として利用することは、魚類
の育種学的研究の発展に大きく貢献するものと思われ
る。

謝 辞

本稿をまとめるにあたり、終始励ましとご助言を頂い
た高知大学名誉教授落合 明博士に深謝の意を表する。
本研究の一部は文部省科学研究費補助金（一般研究 C,
56560206）によった。ここに記して謝意を表する。

引 用 文 献

- 1) R. Moav, T. Brody, G. Wohlfarth, and G. Hulata: *Aquaculture*, **9**, 217-228 (1976).
- 2) 谷口順彦: 海洋科学, **13**, 10-16 (1981).
- 3) T. Brody, R. Moav, Z. V. Abramson, G. Hulata, and G. Wohlfarth: *Aquaculture*, **9**, 351-365 (1976).
- 4) T. Brody, N. Storch, D. Kirsht, G. Hulata, G. Wohlfarth, and R. Moav: *Aquaculture*, **20**, 371-379 (1980).
- 5) N. Taniguchi, R. Hamada, and H. Fujiwara: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **47**, 731-734 (1981).
- 6) 谷口順彦, 東 健作, 株田 晋: 日水誌, **50**, 787-792 (1984).
- 7) 谷口順彦, 岡田容典: 日水誌, **46**, 437-443 (1980).
- 8) 谷口順彦, 田島健司: 日水誌, **44**, 619-622 (1978).
- 9) 清野通康: 魚類の成熟と産卵(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 1974, pp. 113-119.