

クエ *Epinephelus bruneus* × タマカイ *E. lanceolatus* の種間交雑と交雑仔稚魚の成長

誌名	水産増殖
ISSN	03714217
著者名	村田,修 板倉,壮太 山本,真司 服部,巨宏 倉田,道雄 太田,博巳 升間,主計
発行元	水産増殖談話会
巻/号	65巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 93-95
発行年月	2017年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



短 報

クエ *Epinephelus bruneus* × タマカイ *E. lanceolatus* の種間交雑と 交雑仔稚魚の成長

村田 修¹・板倉壮太^{1,3}・山本眞司¹・服部亘宏¹・
倉田道雄¹・太田博巳²・升間主計^{1,*}

Interspecific hybridization of longtooth grouper *Epinephelus bruneus* × giant grouper *E. lanceolatus* and growth of hybrid larvae and juveniles

Osamu MURATA¹, Shota ITAKURA^{1,3},
Shinji YAMAMOTO¹, Nobuhiro HATTORI¹,
Michio KURATA¹, Hiromi OHTA²
and Shukei MASUMA^{1,*}

Abstract: In order to breed a faster-growing grouper, the longtooth grouper, *Epinephelus bruneus* (LG), was hybridized with the giant grouper, *E. lanceolatus* (GG). Eggs from a female LG that was injected with HCG were inseminated by the fresh sperm of LG and cryopreserved sperm of GG obtained from a fish in Malaysia. Normal hatching rate was 8.8% (LGGG) and 18.6% (LG), respectively. The LGGG and LG larvae were raised for 61 days after hatching; the survival and mean size were 17.5, 42.0% and 63.6 ± 11.3, 36.2 ± 8.7 mm, respectively. This new hybrid grouper would be a promising-breed for aquaculture.

Key words: *Epinephelus bruneus*; *Epinephelus lanceolatus*; Hybridization

クエ (*Epinephelus bruneus*) は市場価値の高い養殖対象種であるが、低水温期 (20°C以下) の成長停滞により出荷サイズ (体重: 1 kg 以上) になるまでに3~4年を要する。一方、タマカイ (*E. lanceolatus*) はハタ類の中で最も大型となる種であり、体長は2 m 以上、体重400 kg にまで成長する (Heemstra and Randall 1993)。成長が早く (金城ら 2003)、台湾、香港や東南アジアで人気が高い (Pomeroy 2002)。

養殖魚類の生産効率を高めるためには、より良い養殖特性を持つ品種の作出が必要であり、品種改良手段の一つとして、交雑による品種改良が雑種強勢の発現を期待して古くから試みられている (村田・家戸 2012)。国内におけるハタ類の交雑ではヤイトハタ *E. marabarius* × クエ、ヤイトハタ × マハタ *Hyporthodus septemfasciatus* の交雑種の作出に成功している (村田・家戸 2012)。しかし、タマカイとクエの交雑についての報告はない。

そこで、本研究では成長の早いハタの作出を目的としてクエとタマカイの交雑を行った。また、作出した交雑種の生残、成長の特徴を明らかにするために、交雑試験に用いたクエ卵と通常のクエ精子とを交配し、同様な条件の下で飼育し比較した。

2011年6月12日にクエ (♀) × タマカイ (♂) (以下、交雑種) およびクエ純粋種の人工授精を実施した。タマカイの精子は、2011年5月にマレーシア国 Sabah 州, Silam の Enrich Marine 社で養成された3尾 (魚体重20.4 ± 1.1 kg, 平均 ± 不偏標準偏差, 以下同様) から搾出した。精子の凍結は Koh et al. (2013) に準じ、凍害防御剤には DMSO (dimethyl sulfoxide: 和光純薬) を使用し凍結保存して日本に持ち帰った。クエは近畿大学水産研究所大島実験場において養成されていた人工種苗由来の12歳 (体重15.7 kg) の雌1尾と天然由来の20歳 (体重19.4 kg) の雄1尾を試験に供した。試験の2日前に土橋ら (2007) に準じて HCG (胎盤性性腺刺激ホルモン, あすか製薬(株)) を打注し、43時間後に卵および精液を搾出した。

搾出卵から交雑種用に約90 g, クエ純粋種用に約40 gを2つのアクリル製ボウル容器 (2 l 容, 以下ボウル) に採り、それぞれに解凍タマカイ精子とクエの新鮮精子を加え、両魚種同時にろ過海水を加えて媒精した。媒精後に海水を満たしたビニール袋に浮上卵を収容し、白浜実験場に輸送した。搬入後30 l PC 水槽に収容し、容量法により計数した。クエは87,000粒、交雑種187,000粒と推定された。浮上卵40~60粒を実体顕微鏡 (SZX12, オリパス (株)) 下で観察し、受精率を求めた。翌日、胚体形成期に達した卵を、クエは500 l 水槽1面に16,000粒、交雑種は34,000粒を2面に等分に収容し、ふ化まで微流水で換水した。卵収容時の水温は26.3°Cであった。ふ化率は浮上卵38~50粒を海水で満たしたボウル各3つ (クエ3つ、交雑種は計6つ) に収容し、無通気でふ化させた。ふ化後に正常ふ化仔魚、奇形仔魚および死卵を計数し、胚体形成期からのふ化率、正常ふ化率および奇形率を求めた。飼育水槽内の正常ふ化仔魚数は、収容卵数にボウルのふ化試験で得られた正常ふ化率を掛けて算出した。また、受精からの正常ふ化率は、搬入時の卵

2016年11月2日受付; 2017年1月30日受理。

¹ 近畿大学水産研究所 (Aquaculture Research Institute, Kindai University, Shirahama, Wakayama 649-2211, Japan)。

² 近畿大学農学部水産学科 (Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kindai University, Nara 631-8505, Japan)。

³ 現所属: 株式会社アシスト (K. K. Ashisuto, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8109, Japan)。

* 連絡先 (Corresponding author): Tel, (+81) 739-42-2625; Fax, (+81) 739-42-2634; Email, shmasuma@kindaisuiken.jp (S. Masuma)。

数に受精率を掛けた受精卵数で正常ふ化仔魚数を除して求めた。

6月14日にふ化したクエ15,100尾、交雑種5,700尾（2水槽合計）を飼育試験に供した。飼育水温は自然水温が26°C以上になるまでチタン製ヒーター（RZ-250Y, (株)レイシー）を用いて調温した。飼育期間中の水温は26.1～29.6°Cであった（Fig. 1）。餌には2～40 DAH までシオミズツボムシ（*Brachionus plicatilis* sp. complex; 以下、ワムシ）を飼育水中に10個体/ml, 13～55 DAH までアルテミア幼生（*Artemia* sp.）を1個体/mlの密度を維持するように給餌した。38 DAH から試験終了まで午前と午後の1日2回ずつ市販の配合飼料（ニューアルテック、日清丸紅飼料(株)）を飽食するまで与えた。また、ワムシとアルテミア幼生は、給餌前にマリングロス EX（マリンテック(株)）により栄養強化した。飼育はろ過海水の流水式とし、成長に応じて流量を増加させた。生クロレラ V-12（クロレラ工業(株)）を毎日1回添加した。10 DAH に飼育密度を下げるためにクエ、交雑種共4水槽に分槽し、クエは43 DAH に5水槽に分槽した。交雑種は共食いによる生残魚の減耗を防ぐために45 DAH に目視により4サイズに選別し、試験終了日には、交雑種で5サイズ、クエでは3サイズに選別した。飼育水槽（サイズ選別前は代表とした水槽1面）から無作為に5～12尾をサンプリングし、麻酔（FA100, 田辺三菱製薬(株)）後、クエでは25 DAH, 交雑種では20 DAH までは、実体顕微鏡に接続した顕微鏡デジタルカメラ（DP70, オリンパス株式会社）を用いて全長を計測した。また、クエでは33 DAH, 交雑種では25 DAH からデジタルノギス（CD-15PSX, (株)ミットヨ）を用いて0.01 mm の単位で測定した。サイズ選別後は、各水槽から無作為に4～6尾をサンプリングして計測し、各魚種の全長を推定した。生残尾数は、クエで43 DAH, 交雑種で45 DAH および試験終了日に両魚種の全数を数えて求めた。

全長の平均値の差の検定には Welch の t 検定 (t test 関数)を用いた。サイズ選別後の平均値の差の検定は層別（サ

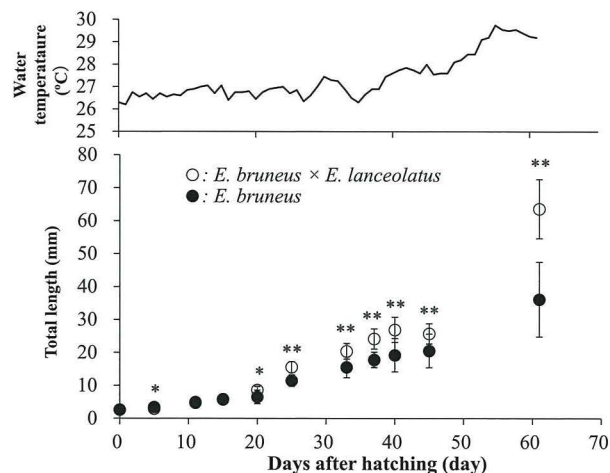


Fig. 1. Mean ($\pm$ SE) total lengths of *Epinephelus bruneus* and the hybrid of *E. bruneus* × *E. lanceolatus* (lower figure) (*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$) and change of water temperature in tank (upper figure) during larval rearing.

イズ別) サンプルから母平均と母分散を求め（山田・北田 1997), Welch の t 検定を行った。有意水準は0.05とした。なお、帰無仮説「クエの成長と交雑種の成長が同じである」を検証するために検定を10回反復したことで多重性の問題が起こるため、Holm (1979) 法によって P 値を調整 [P 値を $(K-r+1)$ 倍して調整 P 値を求めた。K は検定の反復回数, r は P 値を小さい順に並べたときの順位であり, 以下 $P_{adjusted}$ と表記] した。

クエの受精率は92.7%（観察卵数55粒）、交雑種95.3%（観察卵数43粒）であったが、受精からの正常ふ化率はクエで18.6%, 交雑種で8.8%と著しく低下した。ボウル内での胚体形成期からの正常ふ化率はクエで $93.8 \pm 1.5\%$ ($n = 3$), 交雑種で $46.0 \pm 19.6\%$ ($n = 6$) と交雑種の方が低かった。奇形率

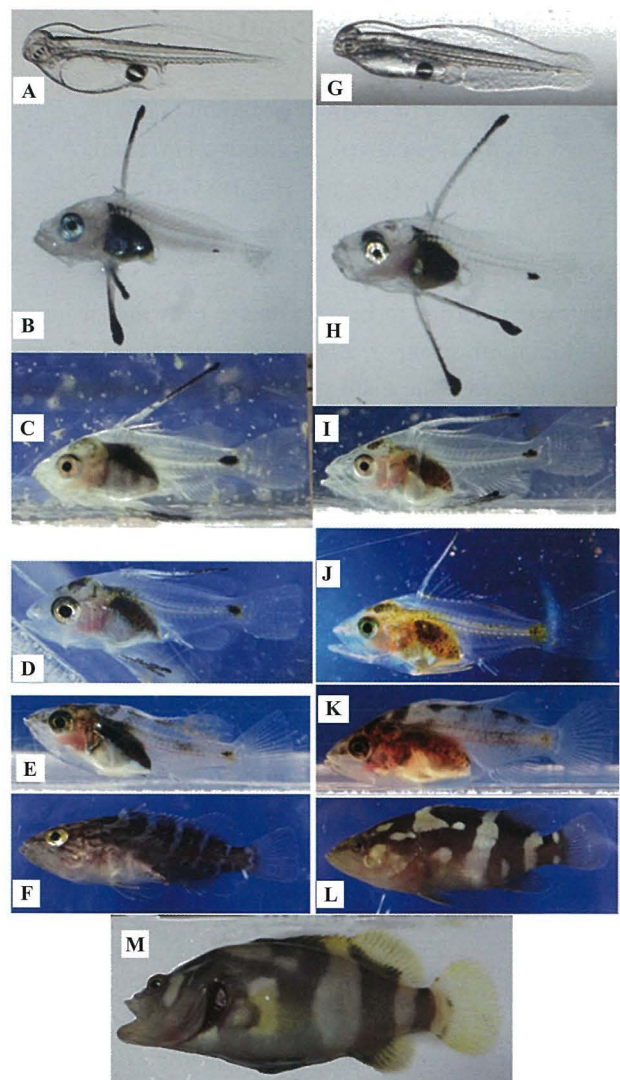


Fig. 2. Morphological development of *Epinephelus bruneus* (A–F) and hybrid of *E. bruneus* × *E. lanceolatus* (G–L) from larval to juvenile stages. A (2.75 mm in TL) and G (2.77 mm in TL) at 0 DAH; B (5.97 mm in TL) and H (7.20 mm in TL) at 15 DAH; C (12.9 mm in TL) and I (15.6 mm in TL) at 25 DAH; D (16.3 mm in TL) and J (21.1 mm in TL) at 33 DAH; E (22.2 mm in TL) and K (25.9 mm in TL) at 40 DAH; and E (41.0 mm in TL) and L (50.7 mm in TL) at 51 DAH. M, a hatchery-reared *E. lanceolatus* (76.0 mm in TL at 103 DAH) provided by Long Diann Marine Bio Technology Co., LTD. in Taiwan.

はクエで $2.4 \pm 2.4\%$ 、交雑種で $26.8 \pm 18.0\%$ と交雑種が高かった。交雑種では胚体形成期に発生を停止する卵が多く観察され、正常ふ化率の低下に影響したと考えられた。

一般に排卵から受精までの経過時間により、ふ化率が低下すること (Soyano et al. 2008) が指摘されている。本研究において新鮮精子を用いたクエの正常ふ化率が 18.6% と低かったことから、試験に用いたクエ卵の卵質にも問題があった可能性が考えられる。今後、さらにクエ×タマカイの交雑試験を重ね、ふ化率について検証する必要がある。

ふ化後からの仔魚の目視による生残状況は、クエに比べて3 DAH までの浮上死などの減耗が交雑種において激しかったが、その後に大きな減耗は認められなかった。試験終了時 (61 DAH) にはクエ6,347尾 (生残率 42.0%)、交雑種2,744尾 (生残率 17.5%) を取り上げた。ふ化からの生残率はクエに比べて交雑種が低い値となった。

交雑種の浮遊期の体形、棘の伸長などの形態的発達と尾柄部黒色素の発達は、クエと同様の形質を示した (Fig. 2A ~ 2E, 2G ~ 2K)。40 DAH には交雑種で背中側に沿って5ヶ所と尾柄中央に茶色の色素が発達し (Fig. 2K)、クエでは背中側に沿って色素が発達し始めた (Fig. 2E)。51 DAH にはクエでは6本の斜走帯が明瞭に認められたが、交雑種では頭部側から数えて2, 3および4, 5番目の帯が不規則に重なって広がり、両魚種の紋様は異なった (Fig. 2F, 2L)。本研究で得られた交雑種はタマカイの稚魚 (Fig. 2M) の紋様に類似していた。

0 DAH の全長はクエ 2.64 ± 0.069 mm ($n = 10$)、交雑種 2.62 ± 0.076 mm ($n = 9$) で両魚種のふ化仔魚に差は認められなかった ($t = 0.701$, $df = 16.3$, $P_{adjusted} = 0.986$) (Fig. 1)。20 DAH 以降はクエに比べて交雑種が有意に大きく、61 DAH にはクエ 36.2 ± 8.68 mm ($n = 15$)、交雑種 63.6 ± 11.3 mm ($n = 25$) と平均全長の差は 27.4 mmと大きく広がった ($t = 7.76$, $df = 38$, $P_{adjusted} < 0.001$) (Fig. 1)。

アカマダラハタ×タマカイ (タイガー GG) が30 DAH (飼育水温 $27.0 \sim 29.5^\circ\text{C}$) で全長 22.5 mm (Ch'ng and Senoo, 2008)、チャイロマルハタ×タマカイは50 DAH ($27.9 \sim 29.5^\circ\text{C}$) で全長 28.4 mm (Koh et al. 2010) に成長したことが報告されている。飼育水温が異なり、一概に比較はできないが、本交雑種が33 DAH で平均全長 20.4 mm、50 DAH で 43.6 mm に達していることから、タマカイを父親とする交雑種の中でも高成長形質を有する交雑種である可能性がある。

今後さらに本交雑の正常ふ化率、成長特性について検証を行う必要があるが、クエ×タマカイの新交雑種は、成長の優れたタマカイの形質を受け継いでいる可能性が期待される。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、タマカイ精子の入手にご協力いただいた瀬尾重治博士 (現近畿大学水産養殖種苗センター教授)、Dr. Koh I. C. C. (マレーシア国立トレンガヌ大学) に深く感謝の意を表したい。また、龍佃海洋生物科技有限公司の戴昆財社長にはタマカイ稚魚を快く提供して頂いたことに深甚の謝意を表する。Ms. Jeanne Wexler と Dr. Dan Margulies (Inter-American Tropical Tuna Commission) には丁寧に英文を校閲して頂き感謝します。

文 献

- Ch'ng, C. L. and S. Senoo (2008) Egg and larval development of a new hybrid grouper, tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus* × giant grouper *E. lanceolatus*. *Aquacult. Sci.*, **56**, 505-512.
- Heemstra, P. C. and J. E. Randall (1993). Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelidae): An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date. FAO Species catalogue. FAO Fish. Synop., **16**(125): 1-382.
- Holm, S. (1979) A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scan. J. Statist.*, **6**, 65-70.
- 金城清昭・井上 顕・木村基文・宮城美加代・本永文彦・鳩間用一・濱川 薫・仲原英盛・村本世利朝 (2003) タマカイの成長試験. 沖裁七事報, 平成15年度, 56-58.
- Koh, I. C. C., S. R. M. Shaleh, N. Akazawa, Y. Oota and S. Senoo (2010) Egg and larval development of a new hybrid grouper, orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* × giant grouper *E. lanceolatus*. *Aquacult. Sci.*, **58**, 1-10.
- Koh, I. C. C., D. Tanaka, T. Itagane, M. Tsuji, Y. Tsuchihashi and H. Ohta (2013) Dry shipper cryopreservation of seven-band grouper (*Epinephelus septemfasciatus* Thunberg) spermatozoa. *Aquacult. Res.*, **44**, 59-66.
- 村田 修・家戸敬太郎 (2012) 水産生物における交雑育種. 日水試, **78**, 265. [Murata, O. and K. Kato (2012) Crossbreeding in aquatic animals. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **78**, 265 (in Japanese).]
- Pomeroy, R. (2002) The status of grouper culture in Southeast Asia. *SPC Live Reef Fish info. Bull.*, **10**, 22-26.
- Soyano, K., Y. Sakakura and A. Hagiwara (2008) Reproduction and larviculture of Seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, in Japan. In "The Aquaculture of Groupers" (eds. by Liao IC. and Leño E. M.), *Asian Fish. Soc., World Aquacult. Soc., The Fish. Soc. of Taiwan and Nation. Taiwan Oc. Univ.*, 1-27.
- 土橋靖史・高島暢子・栗山 功・羽生和宏・辻 将治・津本欣吾 (2007) 水温および日長調整によるマハタの9月採卵. 水産増殖, **55**, 395-402. [Tsuchihashi, Y., Y. Takatori, I. Kuriyama, K. Hanyuu, M. Tsuji and K. Tsumoto (2007) Induced spawning of cultured sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, in September by manipulation of water temperature and photoperiod. *Aquacult. Sci.*, **55**, 395-402 (in Japanese with English abstract).]
- 山田作太郎・北田修一 (1997) 層別サンプリング. 生物資源統計学, 成山堂書店, 東京, pp. 165-167.