水産研究・教育機構 機関リポジトリ
FRA Japan Fisheries Research and Education Agency Institutional Repository

クロマグロThunnus orientalisおよびスジアラPlectropomus leopardusの種苗生産でみられる成長差に関する研究

メタデータ	言語: Japanese
	出版者: 水産総合研究センター
	公開日: 2024-10-02
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 武部, 孝行
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2010935

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

水研センター研報，第41号，1－43，平成28年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 41, 1-43, 2016

博士論文

クロマグロ *Thunnus orientalis* およびスジアラ *Plectropomus leopardus* の種苗生産でみられる成長差に関する研究*1

武部　孝行*2

Study on the onset of individual growth difference in larviculture of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* and leopard coral grouper *Plectropomus leopardus*

Takayuki TAKEBE*2

目　次

第１章　緒言
　第１節　飼育環境下における成長差の発現に関する研究史
　第２節　本研究の対象となる魚類の研究史と問題点
　　第１項　クロマグロ *Thunnus orientalis*
　　第２項　スジアラ *Plectropomus leopardus*
　第３節　本研究の構成
第２章　クロマグロの成長差の発現
　第１節　雌親魚１個体から得られた受精卵を使用した種苗生産過程での成長差の発現
　第２節　複数雌親魚から得られた受精卵を使用した種苗生産過程での成長差の発現
第３章　スジアラの成長差の発現
　（複数雌親魚から得られた受精卵を使用した種苗生産過程での成長差の発現）
第４章　総合考察
　第１節　開口時の成長差発現
　第２節　飼餌料環境による成長差発現
　第３節　減耗現象を起因とする成長差発現
　第４節　発育段階移行後の成長差発現
　第５節　遺伝的影響による成長差発現
　第６節　総　　括
　　謝　　辞
　　引用文献

第１章　緒　言

第１節　飼育環境下における成長差の発現に関する研究史

我が国における魚類養殖の歴史は，1615年に淡水魚のコイ *Cyprinus carpio* で行われていたのが文献として残る最古のものであり，海産魚では1899年にクロダイ *Acanthopagrus schlegelii* などを用いたのが始まりとされている（大島 1994）。人工種苗生産技術については，1922年にアユ *Plecoglossus altivelis altivelis* でふ化仔魚から稚魚までの飼育成功例が本邦で初めてで（大島 1994），海産魚では1930年にマダイ *Pagrus major* とクロダイで試験的な成功をみたが（梶山，西岡 1936），本格的な人工種苗量産を目指して研究が行われるようになったのは，1960年以降のことであり（大島 1994），2008年現在，全国で31魚種の種苗生産技術の開発がなされている（藤田 2011）。

魚類の養殖および種苗生産の過程では同一水槽内で成長差が生じることが知られており，成長の優良な個体を「トビ」，逆に，成長の著しく劣る個体を「ビリ」と称している。このような成長差は，同一親魚から得られたふ化仔魚を同一環境，同一飼育技術によって飼育した場合にも見られる。この問題を扱った研究は古くから行われており，魚種の相違，飼育技術および餌料の良否等によって大きな差を生じさせることもある。しかし，単なる環境変異由来の体サイズの変

2016年１月29日受理（Received on January 29, 2016）
*1　長崎大学審査学位論文（掲載するに際し投稿規定に沿って一部修正した）
*2　水産総合研究センター研究推進部交流協力課　〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3 クイーンズタワーB棟15階（Collaborative Research Section, Research Management Department, Fisheries Research Agency 15F Queen's Tower B, 2-3-3 Minato Mirai, Nishi-ku, Yokohama, Kanagawa 220-6115, Japan）

化では説明できない場合があり，生物学的に興味深い現象である上，養殖魚の品種改良という見地からも考慮されるべき問題と捉えられてきた（吉田実習場 1936）。また，昭和20年代における食料問題により，養魚技術上有利になる優良品を選定すべきという見地から研究が行われ，得られた知見が産業上種苗選別について有効に利用され，将来，品種改良の基本となるものと位置づけられた（松井 1949 a，b）。さらに，養殖業においては生産性および採算性の向上が基本的課題となるため，飼育技術の改善と種苗特性の遺伝的改良について強い関心が向けられようになった。その結果，コイではトビ個体の形態的特徴，成長度および出現時期などについて調査が行われている（山田 1938，松井 1949 b，1950，中村ら 1955）。また，マダイ（谷口，岡田 1980，谷口ら 1988，1995），ニジマス *Oncorhynchus mykiss*（Danzmann et al. 1995）およびヒラメ *Paralichthys olivaceus*（Sekino et al. 2003）では遺伝的影響が，コイ（中村ら 1956）およびホッキョクイワナ *Salvelinus alpinus*（Petursdottir 2002）においては餌料による影響が，マダイ（Umino et al. 1993）では体成分の特徴について報告されている。さらには，大西洋サケ *Salmo salar*（Adams et al. 2000）およびブリ *Seriola quinqueradiata*（Sakakura et al. 1996）およびヒラマサ *S. lalandi*（Moran 2007）では，成長差および攻撃行動の発現状況，それに伴う発育状況が調査されている。また，シロチョウザメ *Acipenser trnsmontanus*（Georgiadis et al. 2000）では，ビリ個体だけを選抜飼育し，その後の死亡状況や成長の回復状況が調査されている。

第2節　本研究の対象となる魚類の研究史と問題点

第1項　クロマグロ *Thunnus orientalis*

クロマグロ *Thunnus orientalis* は日本近海をはじめ太平洋，大西洋，地中海など，全世界の熱帯から温帯海域に棲息する高度回遊魚でマグロ類7種（Fig. 1）の中では最も大型種である（Fig. 2，岩井ら 1965，藤田 1998）。日本では商品価値が非常に高く，世界各国から輸入され全漁獲量 55,000 トン（2007 年実績：大西洋 35,000 トン，太平洋 20,000 トン）の 50%以上を消費していると言われている（出村 2010）。さらに近年，天然クロマグロ幼魚（ヨコワ）を捕獲し，それらを利用した養殖が盛んとなっており，その国内生産量は約 4,000 トンにも及んでいる（出村 2010）。そのため，乱獲によるクロマグロの資源枯渇が懸念されており（FAO 2006），本種は漁業対象に加えて重要な増養殖対象種となり，種苗放流などによる天然資源の増大と安定化，さらには人工種苗による天然資源の代替が望まれている。このような背景を受け，現在，日本国内では独立行政法人水産総合研究センター（以下，水研センターと略す）を始め，都道府県の公設試験研究機関，大学などにおいてクロマグロ仔稚魚の量産技術の研究が積極的に実施されている（Masuma et al. 2011）。

クロマグロの増養殖については，1970 年より「大規模海中養殖実験事業」として，初めて取り組みが開始され，当時の遠洋海区水産研究所（現 水研センター国際水産資源研究所）を中心に「マグロ類養殖技術開発試験」に，静岡県，三重県，長崎県，鹿児島県，東海大学，近畿大学が参加し，マグロの収容および養成，人工授精等について試験が進められた。さらに，1971 年から高知県が単県事業として「沖合漁場養殖技術開発に関する研究（くろまぐろ養殖試験）」を実施し，1976 年から水産庁がこの試験を「沖合漁場利用養殖技術開発企業化試験」として継続させ，この成果を受けて，民間企業による事業も行われるようになった。このような事業を経て，1979 年に近畿大学において世界で初めて養成クロマグロ 5 歳魚が生簀網内で自然産卵を行い，その受精卵を用いて種苗生産試験を実施し，ふ化後 47 日目（稚魚，全長 59.4 mm）までの飼育を成功させた（Kumai 1997）。

クロマグロの種苗生産が不安定な原因として仔魚期における飼育初期の減耗が激しいことが挙げられており（宮下 2006，Tanaka et al. 2009），その対策を講じた飼育技術に関する研究が多い（Katoh et al. 2008，Masuma et al. 2011）。また，種苗生産期間における至適餌料環境（Sawada et al. 2000）や餌料種（宮下 2002, Seoka et al. 2007）について報告がなされている。さらに，本種は成長が速く，魚食性を示すため，成長に伴う攻撃行動の発現状況（Sabate et al. 2009 a）や共食い行動（Sawada et al. 2005，2010）についても知見が得られてきており，それに伴い，量産化に繋がる成果が挙げられている。

水研センターではクロマグロの親魚養成技術および種苗生産技術開発は，西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎（当時は社団法人 日本栽培漁業協会 八重山事業場）で 1985 年から開始されたものの，養成海面水温の高温化や天候条件に左右されやすい海域の環境条件により採卵が困難であると判断され，1994 年から技術開発の主体は水研センター奄美栽培漁業センター（当時は社団法人 日本栽培漁業協会 奄美事業場）に移された（日本栽培漁業協会 40 年史 2003）。

1997 年に自然産卵が成功したことから本格的に種

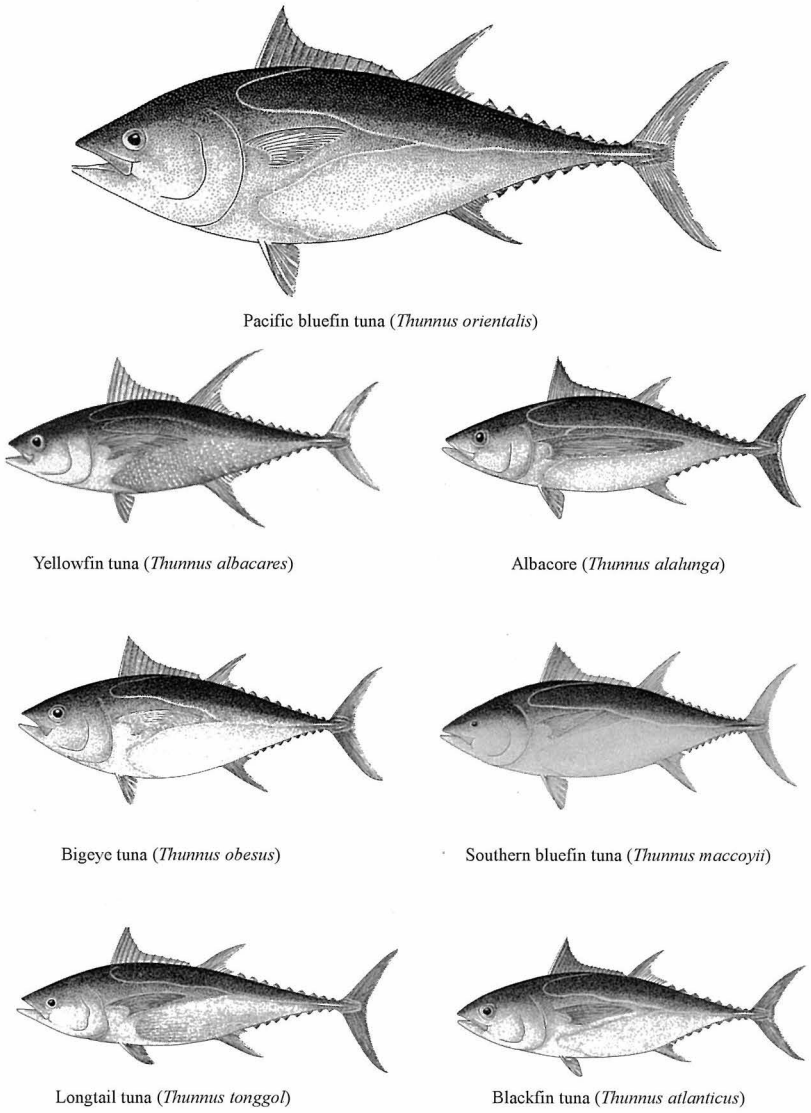

Fig. 1. Classification of the Genus *Thunnus* (from FAO 1984)

Fig. 2. A broodstock of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* (Total length 287 cm, body weight 454 kg)

苗生産の技術開発に取り組むこととなり，1998年に約1.2万尾の種苗生産に成功し（升間 2008），2010年には2.9万尾を取り揚げるようになった。

しかし，それでもなお，クロマグロでは飼育初期の減耗率が高く，その減耗要因の解明と対策が望まれてきた。さらに，ウイルス性神経壊死症などの疾病問題（Nishioka et al. 2010），水槽壁などへの衝突による死亡（Sawada et al. 2005），種苗生産過程で生じる個体の成長差による共食い（Sabate et al. 2010）など，クロマグロ種苗生産および養殖技術開発においては数多くの問題点が残されており，依然として安定的な技術が確立されていないのが現状である。

第2項　スジアラ *Plectropomus leopardus*

ハタ科魚類（Fig. 3）は太平洋，インド洋，アラビア海，紅海および大西洋の温帯海域から熱帯・亜熱帯海域に広く分布しており，日本のみならず東南アジア諸国においても高値で取引されている（Liao 2001, Silva 2007）。そのため，養殖が盛んに行われている種もあり，これまでに計14種類のハタ科魚類で，採卵や初期飼育に関する研究が報告されている。しかし，これらのうちで種苗生産技術が確立されたものは非常に少ない。産業的に種苗が量産化されたものはマハタ *Epinephelus septemfasciatus*（照屋 2004），クエ *E. bruneus*（照屋，與世田 2006），キジハタ *E. akaara*（南部ら 2006）およびヤイトハタ *E. malabaricus*（金城，中村 2009）の4種にすぎず，ハタ科魚類は種苗生産技術の難易度が高い。スジアラ *Plectropomus leopardus* は，南日本からオーストラリアのグレートバリアリーフおよびインド洋まで広く分布するハタ科スジアラ属（Fig. 4）の魚類である（片山 1984, Randall and Hoese 1986）。日本近海に生息するスジアラ属は3種が確認されており，沖縄の方言名では，スジアラを「アカジン」または「マアカジン」と呼び，他の2種では，コクハンアラ *P. laevis* を「クルバニーアカジン」または「チンスアカジン」，オオアオノメアラ *P. areolatus* を「ヤーラアカジン」と呼び区別している（照屋 2009）。スジアラが「アカジン」と呼ばれるのには二つの説があり，一つ目は沖縄の方言で着物を意味する「チン」が変形して「ジン」となり「赤い衣を纏った魚」という説と，二つ目は沖縄の方言で「ジン」はお金を意味することから「赤い銭になる魚」という説である。スジアラは沖縄県では夜間の潜水による銛突き漁業と一本釣り等で漁獲されており，高級魚として取り引きされている重要な沿岸資源である（海老沢 1998, 1999）。しかし近年，漁業者の間では漁獲量の減少が懸念されており，南西諸島海域で本種に対して，種苗放流などによる天然資源の増大と安定化，さらには新規養殖対象種としての期待が大きい。

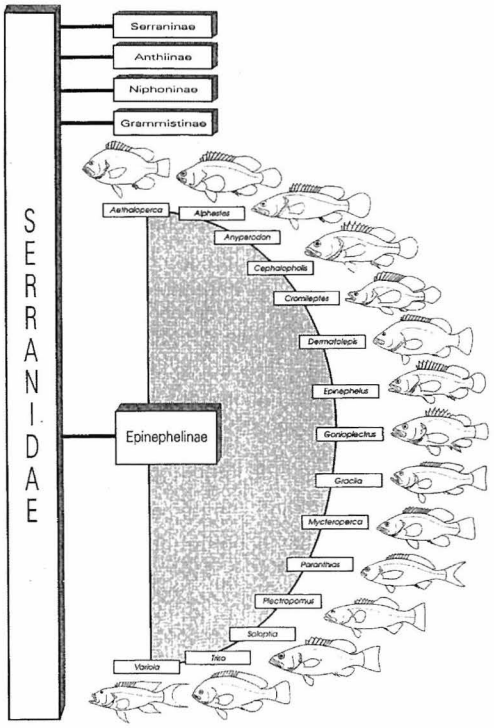

Fig. 3. Classification of the Family Serranidae (from FAO 1993)

ハタ科魚類の種苗生産が不安定な原因としては，クロマグロと同様に，飼育初期の減耗が激しいことが挙げられており（照屋 2006, Sakakura et al. 2006, 與世田 2008），これまでの報告も初期減耗を解決するための初期飼育に関する研究が多い（Kohno et al. 1997, Toledo et al. 2002, 土橋ら 2003, 照屋 2008）。特に，ハタ科魚類の仔魚は体表に粘液細胞が多く，エアーなどの物理的刺激により粘液の分泌が促進されるため，飼育水の表面張力に捕捉されやすい。そのため，いわゆる「浮上死」が発生しやすく，ハタ科魚類では大きな問題とされている（Yamaoka et al. 2000）。これらの諸問題を解決するために，飼育水槽の通気や注水方法（Sakakura et al. 2006, 2007 a），水槽の形状（Ruttanapornvareesakul et al. 2007），水面で波を形成する飼育方法（Sakakura et al. 2007 b），フィードオイルの添加（Yamaoka et al. 2000, 土橋ら 2003）などの効果が検討され，浮上死による大量減耗を軽減する試みがなされ，量産化に繋がる成果が上げられている。また，クロマグロと同様に，ハタ科魚類においても種苗生産過程で生じる成長差によって助長される共食いが大きな問題であり，チャイロマルハタ *E. coioides*（Hseu 2002, Hseu et al. 2003, Takeshitaand Soyano 2009），タマカイ *E. lanceolatus*（Hseu et al. 2004, 2007 a），アカマダラハタ *E. fuscoguttatus*（Hseu et al. 2007 b），マハタなどで（Sabate et al. 2009 b），その発生状況等について報告がなされている。

スジアラの種苗生産技術開発は，水研センター西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎（当時は社団法人 日本栽培漁業協会 八重山事業場）で1984年から実施され，1997年に約12万尾の生産に成功しているものの（照屋 2010），本種はマハタ属魚類よりも初期減耗が極めて大きく，安定的な種苗生産には至っていない。そのため，スジアラ仔魚の初期飼育における至適日周条件（與世田ら 2003 a）や照度条件（Yosedaet al. 2008），餌料サイズの検討（升間ら

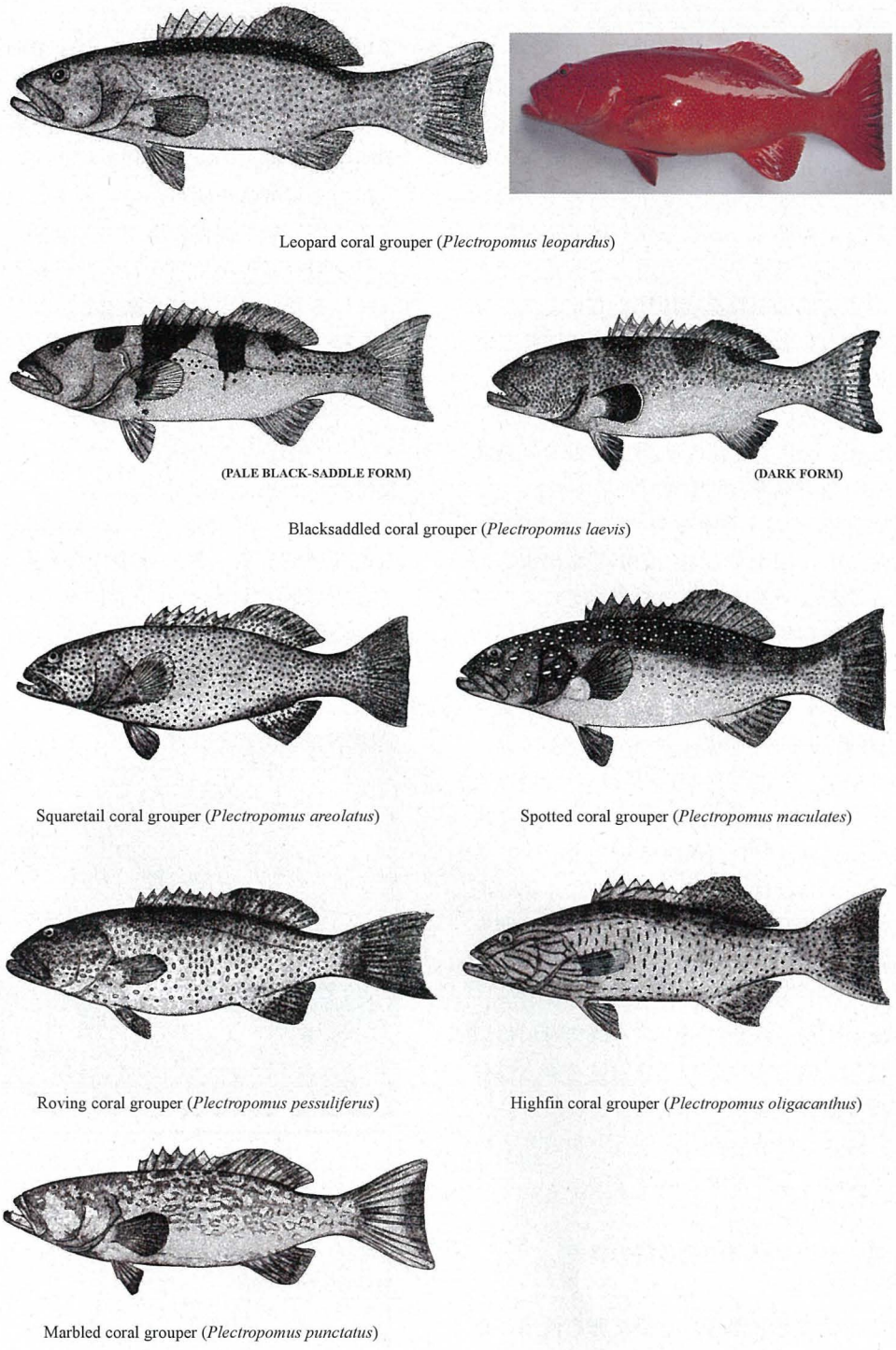

Fig. 4. Classification of the Genus *Plectropomus* (The illustrations from FAO 1993)

2001, 與世田ら 2003 b）とそれが生残に及ぼす影響（與世田ら 2003 a），さらには初回摂餌の成否による成長・生残への影響（與世田ら 2006）などについて様々な研究がなされ，知見も多く集積されてきている。しかし，それでもなお，スジアラを含めて多くのハタ類で未だに初期減耗率が高く，安定した種苗生産技術が確立されてはいないのが現状である。

第３節　本研究の構成

本研究で対象とした２魚種は，第２節に詳述した通り，いずれも飼育初期の減耗を軽減することに重きが置かれてきた。しかし，初期飼育技術が向上して仔魚の生残率が高くなれば，次の大きな減耗要因は共食いとなる。クロマグロとスジアラはいずれも，成長が進むと魚食性を示す魚種であり，種苗生産過程では共食

いがみられ，特にクロマグロでは共食いによって全滅に近い飼育事例も経験的に知られている。さらに，種苗生産過程でみられる共食いは，種苗の体サイズ差によってその強度が増すことが知られている（Sakakura and Tsukamoto 1996, Sabate et al. 2009 b）。そのため，成長差がいつ，どのようにして生じるのかを調べることは，生物学上の興味のみならず，種苗生産技術開発においても重要な意義を持つと考える。そこで本研究では，生活史初期に明瞭な変態期を有するスジアラと，魚類の中でも急激な成長を示す一方で明瞭な変態期を持たないクロマグロについて，その飼育過程において発生する成長差の発現機構を個体レベルで解明し，2魚種の比較を通じて魚類の初期生活史で見られる個体の成長差の発現機構の解明を目的とした。

魚類の「成長差」という現象を調べるにあたって，まず産卵雌親魚ごとに由来する遺伝的影響を出来るだけ排除することが必要である。そのため，クロマグロにおいて雌1個体の親魚から得られた受精卵を使用して種苗生産を行い，その成長差の著しい個体群における耳石日輪紋を観察し，その個体毎の成長過程を精査し，成長差の発現時期を明らかにした（第2章第1節）。

次に複数のクロマグロ雌親魚から得られた受精卵を使用した種苗生産を行い，雌1個体での事例との発現状況の違いについて検証した（第2章第2節）

さらに，クロマグロとは成長様式および生息環境も異なるスジアラで，複数雌親魚から得られた受精卵を用いて仔稚魚飼育を行い，同様な調査を実施した（第3章）。

最後に，本研究で得られた結果から本研究対象魚類の成長差発現機構を明らかにし，その知見をもとに種苗生産現場での成長差の発現の抑制および軽減手法について提言し，残された課題を整理し，今後取り組むべき研究について言及した（第4章）。

第2章　クロマグロの成長差の発現

第1節　雌親魚1個体から得られた受精卵を使用した種苗生産過程での成長差の発現

コイでは「トビ」個体の形態的特徴，成長度および出現時期などについて調査が行われている（松井 1949b, 1950, 中村ら 1955）。また，マダイ（谷口，岡田 1980, 谷口ら 1988, 1995），ニジマス（Danzmann et al. 1995）およびヒラメ（Sekino et al. 2003）では成長差の発現について遺伝的影響が議論されている。コイでは同腹仔の成長差について報告があるが（松井 1950），海産魚を用いた同腹仔の成長差については検討されていない。そこでクロマグロの「成長差」という現象を調べるにあたって，まず産卵雌親魚ごとに由来する遺伝的影響を極力排除できる，雌1個体の親魚から得られた受精卵を使って仔稚魚飼育を行い，飼育期間中の仔稚魚の成長過程を精査することにより，成長差の発現機構を明らかにできると思われる。そこで本章では，雌1個体のクロマグロ親魚から得られた受精卵を用いて種苗生産を行い，成長差の著しい個体群における耳石日周輪紋を観察し，その個体毎の成長過程を精査し，成長差の発現時期を特定することとした。

材料と方法

受精卵　2006年5月27日に水研センター奄美栽培漁業センター（現 水研センター西海区水産研究所まぐろ増養殖研究センター奄美庁舎）仕切網内（Fig. 5）で養成されていたクロマグロ親魚（7, 10および13歳混合親魚群，n= 25個体）から自然産卵で得られた受精卵（卵径1.0 ± 0.02 mm，平均±標準偏差，n=

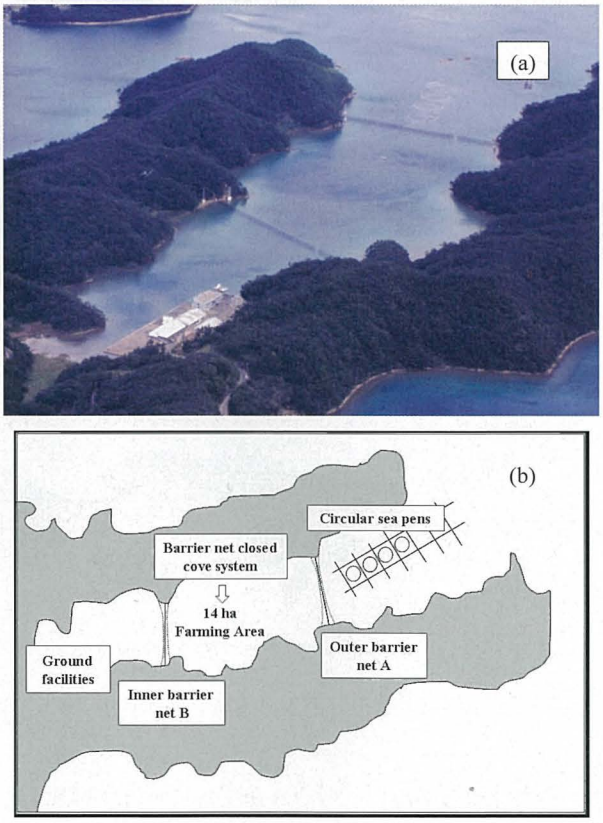

Fig. 5. Photograph (a) and Schematic drawings (b) of the barrier-net closed cove for Pacific bluefin tuna broodstock at the Research Center for Tuna Aquaculture (RCTA), Seikai National Fisheries Research Institute (SNF), Fisheries Research Agency (FRA), Japan.

100）を採卵し，種苗生産試験に供した。

種苗生産　飼育には八角形50kLコンクリート水槽（底面積：19 m^2，水深：266 cm）を使用し，仔魚（1日齢）を1.1万個体/kLの密度で収容した。クロマグロ仔魚は10日齢までの間に沈降現象を起こしやすいことが知られているが（Takashi et al. 2006），これを防除するために飼育水槽内に水中ポンプ（CSL-100，寺田ポンプ製作所）を設置し，飼育水の流動を調整する飼育手法で飼育を行った（Fig. 6，7）。開口直後（3日齢）の仔魚にシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* L型近大株（以下，ワムシ）の給餌を開始すると共に，水質を安定させるために市販の冷蔵濃縮ナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata*（マリンフレッシュ，メルシャン株式会社）を200万細胞/mLになるように添加した。4日齢まで止水飼育を行い，5日齢よりウイルス性神経壊死症（VNN）防除対策のため電解殺菌処理海水のみを注水し，注水量は仔稚魚の成長に合わせて適宜増加した。餌料の給餌方法については，ワムシは5～10個体/mLを維持するよう給餌を行い，水槽内のクロマグロ仔魚の最小個体が12～13 mmに達するまで与え続けた。また，アルテミア *Artemia franciscana* 幼生は，クロマグロ仔魚の平均全長が7～8 mmに達した時点で0.2～0.5個体/mLを維持するように給餌を開始し，ワムシと同様にクロマグロ稚魚の最小個体が17～19 mmに達するまで給餌を行った。ワムシは，先ず冷凍濃縮ナンノクロロプシス（マリンクロレラ，メルシャン株式会社）で6時間，栄養強化を施した。その後，DHA強化剤（ハイパーグロス，日清マリンテック株式会社）で16時間栄養強化した後に給餌した。アルテミアの栄養強化には，すじこ乳化油（日清マリンテック株式会社）を使用し，給餌の2時間前に栄養強化した。

なお，飼育水温は自然水温とした（25.4 ± 0.9℃，平均±標準偏差，23.2～27.2℃，$n = 40$）。仔魚の生残尾数を推定するため，直径50 mmの塩化ビニル製パイプを用いて，夜間（20:00～21:00）に飼育水槽の7定点から20～30Lの飼育水を採取した。採水した飼

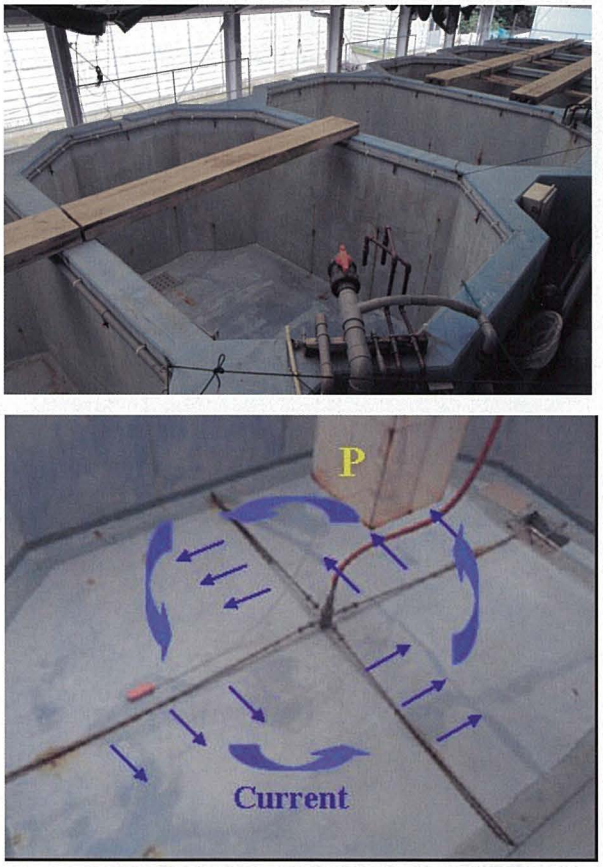

Fig. 6. The rearing tank for mass-culture of Pacific bluefin tuna I n the Amami Station, RCTA, SNF, FRA using the water pump system. "P" indicates water pump.

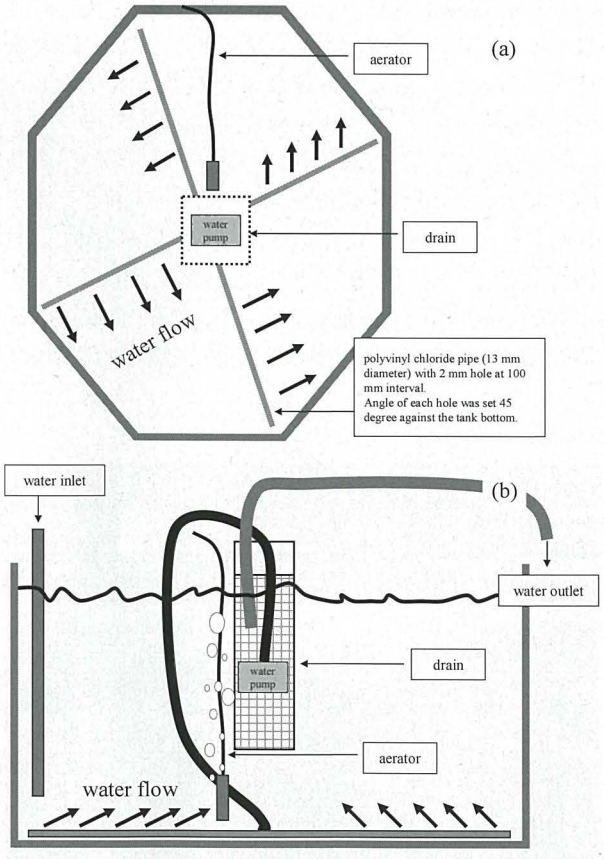

Fig. 7. Horizontal (a) and lateral views (b) of the rearing tank for mass-culture of Pacific bluefin tuna in the Amami Station, RCTA, SNF, FRA using the water pump system.

育水中の仔魚数から容積法で水槽全体の生残尾数を算出した。また，10 日齢まで全長とワムシ摂餌数を測定するために，クロマグロ仔魚を毎日 14:00 に飼育水槽から 30 個体採取した。仔魚を 5 ppm に調整した m-アミノ安息香酸エチルメタンスルホネート（ナカライテスク株式会社）で麻酔後，スライドグラスに乗せ，万能投影機（V12-A，Nikon）で 20 ～ 50 倍に拡大し，デジタルノギス（Absolute DIGIMATIC，Mitutoyo）を用いて全長を 0.1 mm 単位で測定した。ワムシ摂餌数を確認するために，スライドグラス上で仔魚を軽く押し潰し，仔魚の消化管内のワムシの口器（咀嚼器）の数を光学顕微鏡（YS2-H，Nikon）下で計数した。

耳石輪紋観察および成長履歴調査　飼育試験期間中，1，3，5，10 および 15 日齢に無作為に各 30 個体を飼育水槽から採取した。また，15 日齢（全長 6.6 ± 0.8 mm，平均 ± 標準偏差，5.55 ～ 8.50 mm）からつつき合い行動および共食い行動が観察され，さらに 19 日齢に個体の成長差が目視によっても明確となったため仔稚魚を 100 個体採取した（Fig. 8）。採取したサンプルは，99.5％エタノールで保存し，後日，耳石輪紋観察に供した。共食いにおける被食魚（Prey：PR）と捕食魚（Cannibal：CA）との全長の関係式が，様々な海産魚（カタクチイワシの一種 *Engraulis capensis*; Brownell 1985，バラマンディ *Lates calcarifer; Parazo* et al. 1991，ヒラマサ，カサゴ *Sebastiscus marmoratus*; 蛭子，立原 1993，スケトウダラ *Theragra chalcogramma*; Sogard and Olla 1994，ブリ；Sakakura and Tsukamoto 1996，チャイロマルハタ；Hseu et al. 2003，タマカイ；Hseu et al. 2004，アカマダラハタ；Hseu et al. 2007）で算出されている。特に，ヒラマサでは【$TL_{PR} = 0.54\ TL_{CA} - 2.45$】（蛭子，立原 1993），ブリで【$TL_{PR} = 0.49\ TL_{CA} + 0.30$】（Sakakura and Tsukamoto 1996）という関係式が得られている。そのため，本研究におけるクロマグロでは，回遊魚であり，その食性が比較的似ているヒラマサおよびブリの値を参考にして，19 日齢のクロマグロ供試魚において最小全長個体の 2 倍以上の全長を有する個体をトビ」（LARGE）とした。また，全サンプル中の小型個体の 20％を「ビリ」とし，供試魚全体を「LARGE：トビ」「INTERMEDIATE：モード（最頻値）」「SMALL：ビリ」の 3 群に分けた。各個体の耳石（扁平石）を摘出し，耳石日輪紋測定システム（RATOC 社）を用いて各日齢の輪紋の増加幅および耳石径（OR）を測定した（Fig. 9）。推定全長は，得られた各耳石測定値から Back-calculation 法を用いて求めた。全長を推定するための Back-calculation には，実測値との残差が最も少ない Campana 法（Campana 1990）を用いた。なお，Campana 法は下記の式で表される。

$$Li = \{(Lc - La) \times (Oi - Oc) / (Oc - Oa)\} + Lc$$

Li：i 日令の推定全長（自然対数）
　　Oi：i 日令 0.3 mm）の耳石長径
Lc：飼育終了時の全長（自然対数）
　　Oc：飼育終了時の耳石長径
La：ある時点 a での全長（自然対数）
　　Oa：ある時点 a での耳石長径 DNA

mtDNA 分析　Niwa et al.（2003）の方法を改変し，クロマグロのミトコンドリア DNA の RFLP による多型解析を実施し，産卵に関与した雌クロマグロ親魚が 1 個

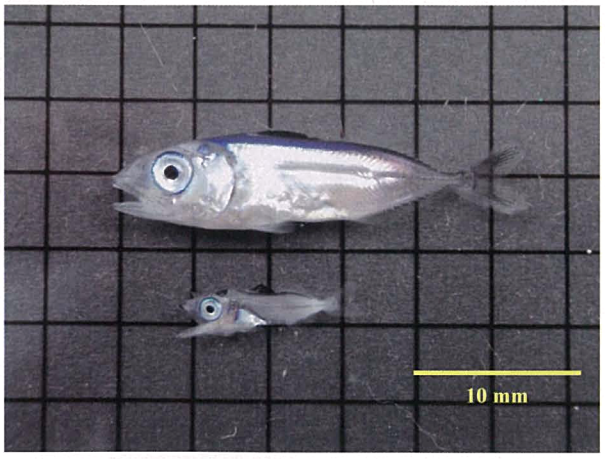

Fig. 8. Pacific bluefin tuna larvae at 19 dph (Upper: LARGE [TL 27.2 mm], lower: SMALL [TL 11.6 mm]).

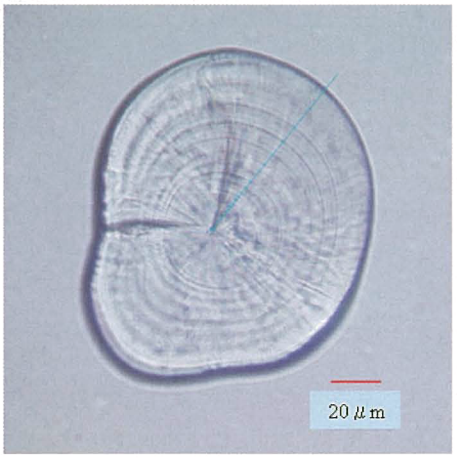

Fig. 9. Sagittal otolith of Pacific bluefin tuna larva (19 dph, TL10.3 mm).

体である確認を行った。クロマグロ受精卵からのDNA抽出は市販のキット（SepaGene，三光純薬株式会社）を用いて行い，抽出したDNAは40μLのTE bufferで溶解し，PCRまで冷蔵保存した。抽出したDNAからmtDNAのD-loop領域を増幅するためnested PCR法を用いた。なお，DNAの増幅にはサーマルサイクラー GeneAmp PCR system 9700（Applied Biosystems Inc., U.S.A）を用いた。1st PCRで用いたプライマーは5'-TAGCACTATTCTCCCCTAAC-3'（CB3R-LL，タカラバイオ株式会社）と5'-TCTAGAACAGGCTCCTCTAG-3'（12SAR-HL，タカラバイオ株式会社）である（升間ら 2003）。PCR反応液は，10 × PCR buffer 0.5μL，Tap polymerase（Applied Biosystems Inc., U.S.A）0.025μL，dNTP（Amersham Biosciences., U.S.A），0.1μL，12SAR-HL 0.1μL，CB3R-LL 2.4μL，抽出DNAサンプル0.5μLを混合し，そして蒸留水で総量5.5μLにしたものである。この反応液を95℃で3分間初期加熱変性し，その後30サイクルの増幅反応（50℃ 30秒，72℃ 1分，95℃ 1分）後，72℃ 5分で最後のDNA鎖の伸長反応を行った。2nd PCR反応に用いたプライマーは5'-CACATTAAACCTGAATGATA-3'（CB3R-LT，タカラバイオ株式会社，Niwa et al. 2003）と5'-ATAGTGGGGTATCTAATCCC-3'（12SAR-H3L，タカラバイオ株式会社，Palumbi et al. 1991を改変）であり，最後の伸長反応時間を6分間に変更した以外のPCR反応は1st PCRと同様に行った。1st PCRのPCR産物を蒸留水50μL加え希釈し，そのうち1.5μLが2nd PCRに供された。PCR反応液は，10 × PCR buffer 2μL，Tap polymerase 0.1μL，dNTP 0.4μL，CB3R-LT 0.4μL，12SAR-H3L 0.4μL，1st PCR DNAサンプル希釈液 1.5μLを混合し，そして蒸留水で総量21.5μLまでにしたものである。PCRサンプルを2.5%アガロースゲル（Biogel, BIO101 Inc., U.S.A）で電気泳動，臭化エチジウム染色によりDNAの増幅を確認した。増幅が確認されたサンプルについて10種類の制限酵素（*Alu* I, *BsaJ* I, *Dde* I, *Msp* I, *Dpn* II, *Hha* I, *Rsa* I, *Tsp*509 I［NEW ENGLAND Biolads Inc., U.S.A］, *Mse* III［Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, F. Hoffmann-La Roche Ltd., Germany］, *Tai* I［FERMENTAS INTERNATIONAL Inc., CANADA］）を用いて，添付されている処方に従い処理したPCRサンプルを，2.5%アガロースゲル電気泳動を1～2.5時間程度施した後，臭化エチジウム染色を行い，泳動像を撮影し切断片長多型を調べた。

統計処理　19日齢で3グループに分けられたサンプルについて，19日齢の全長の実測値および逆算推定された同一日齢の全長にKruskal Wallis testにより有意差が検出された場合（$p<0.05$），Steel-Dwass testで検定した。

結　果

mtDNA分析　PCR法で増幅したD-Loop領域は，Niwa et al.(2003)の報告と同様に約2000 bpであった。RFLP分析の結果，クロマグロ種苗飼育実験のために使用された受精卵は，雌1個体に由来するものと確認された（Table 1，Fig. 10）。

種苗生産　クロマグロ仔魚は，収容翌日から個体数の減少を示し，5日齢からワムシを摂餌しているにも関わらず死亡する個体が観察され始めた。10日齢までの生残率は26.9%であった（Fig. 11a）。3日齢の仔魚の全長は4.0 ± 0.1 mm（3.6～4.2）であり，6日齢から指数関数的な成長を示し（Fig. 11b），19日齢には7.8 ± 2.1 mm（5.2～18.7）となった。3日齢でクロマグロ仔魚のワムシ摂餌個体率は100%であった。しかし，摂餌された消化管内のワムシ数は仔魚によっては10個体以上の差があり，その後，最小摂餌数と最大摂餌数の差は，より大きくなる傾向を示した（Fig. 11c）。

成長履歴と逆算推定　19日齢に採集したクロマグロ供試魚の全長組成をFig. 12に示した（n=100, 7.8 ± 1.8 mm，5.2～18.7）。【最小個体の全長の2倍以上の全長を有する個体をトビ（LARGE）】と定義し，これを基に3群に分けた結果，19日齢において最小全長個体は5.2mmであったことから，「トビ」は21個体（10.9 ± 1.9mm），「ビリ」は15個体（5.7 ± 0.3mm），これ

Table 1. Composition of genotypes among the eggs spawned by Pacific bluefin tuna broodstock

Genotypes									
Alu	*BsaJ*	*Dde*	*Dpn II*	*Hha I*	*Mae III*	*Msp I*	*Rsa*	*Tai I*	*Tsp509 I*
A	B	E	A	A	A	A	B	A	B

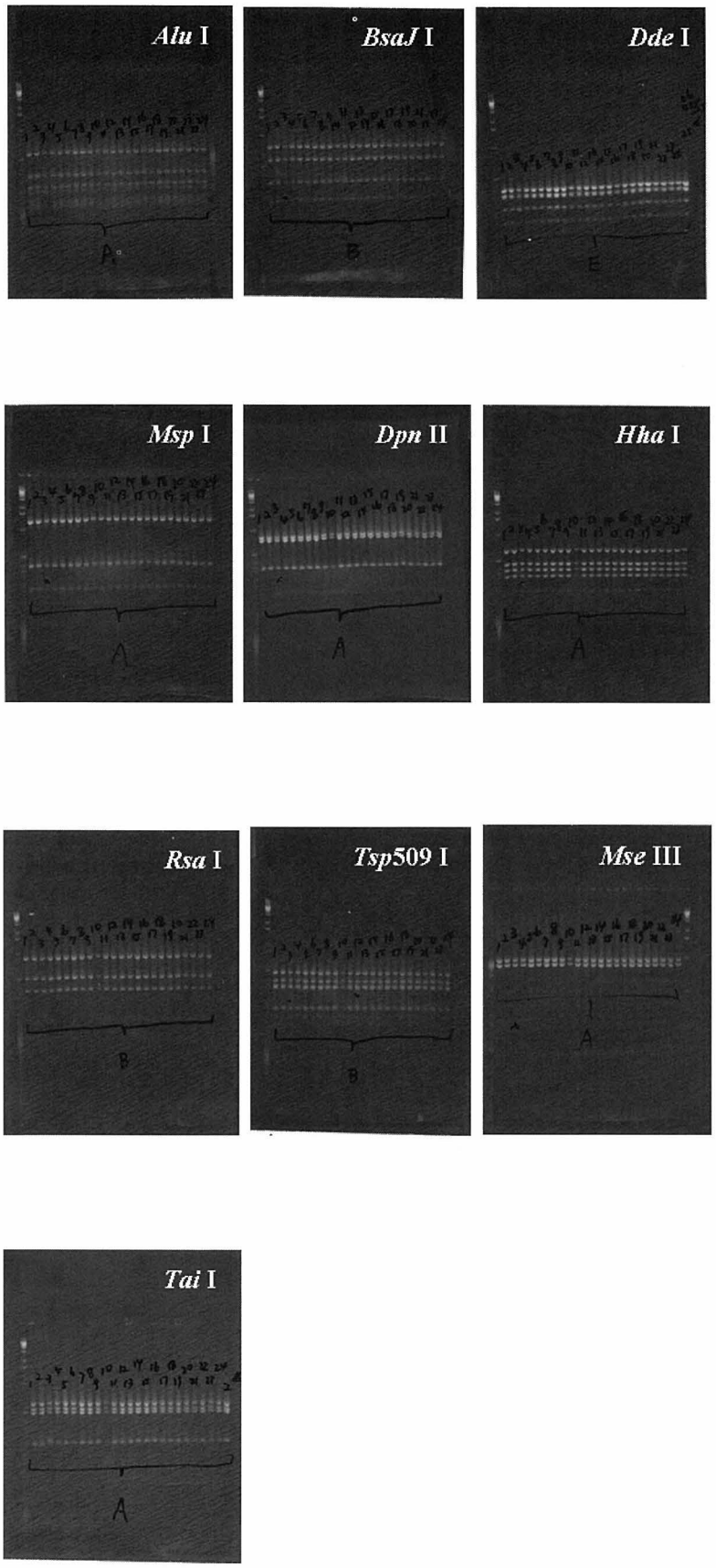

Fig. 10. RFLP profiles of mtDNA D-loop region of Pacific bluefin tuna digested by ten restrictionendonucleases.

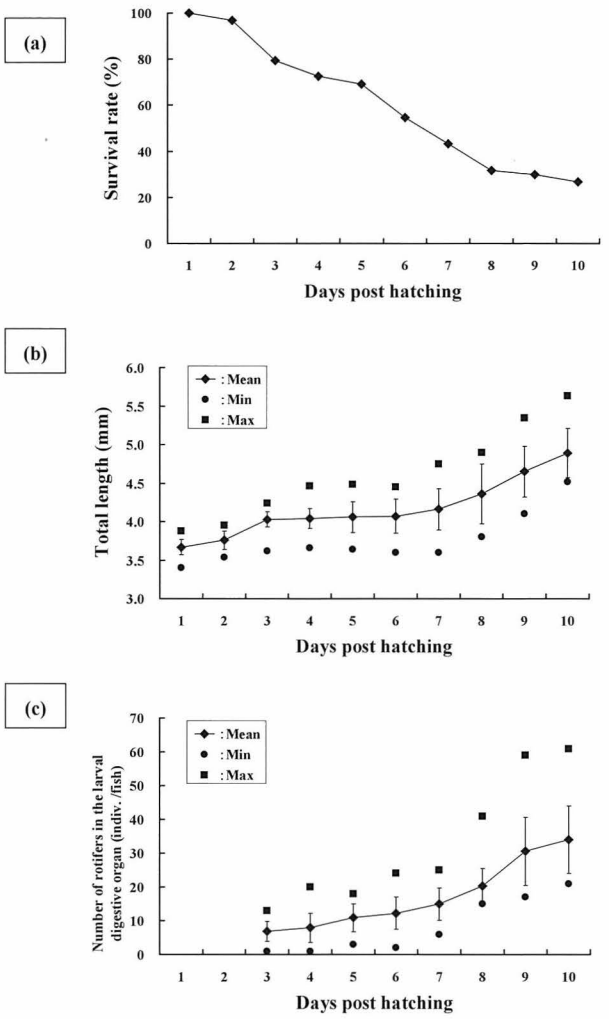

Fig. 11. Changes in (a) survival rate, (b) total length, and (c) the number of rotifers in the gut of Pacific bluefin tuna larvae (n=30) in the rearing experiment. Bar indicates standard deviation

ら以外は「モード」とし，64 個体（7.4 ± 1.1 mm）に分けられた。なお，これら 3 グループの全長は互いに有意に異なっていた（p<0.01）。

飼育水槽から 1 ～ 5 日おきに採取したクロマグロ仔魚 250 個体から，Fig. 13 のような全長（TL）と耳石径（OR）の関係が観測された。耳石径が 12.5，20 および 45 μm 付近で変曲点が存在した。全長から体長（SL）への変換式 TL = 1.15 SL - 0.23（Y. Tanaka, unpublished data, 2011）を基に，クロマグロの発育について Miyashitaet al.（2001）および Tanaka et al.（2006）の報告と照らし合わせた結果，耳石径が 12.5 μm の場合，preflexion 期から flexion 期へ移行する時期に一致していた。また，耳石径が 20 μm の場合，flexion 期から postflexion 期へ移行する時期に一致していた。さらに，耳石径が 45 μm の場合，鰭条数が成魚と同じになる時期と一致していた。

全長を推定するために，3 日齢では単回帰式 TL =0.075 OR + 3.26（r^2=0.23）を，そして成長曲線が指数関数的になった 6 日齢以降は，Campana 法（1990）を用いた。Campana 法ではふ化時における全長と耳石径を La および Oa として用いる。しかし，耳石径と全長との関係に変曲点が 3 ヵ所存在したため（Fig.13），本研究では，以下の 4 区間における最小の耳石径および全長の値を La および Oa に用いた。

① 耳石径が 12.5 μm 未満の場合
　La =ln（3.6 mm），Oa = 9.8 μm
② 耳石径が 12.5 μm 以上 20 μm 未満の場合
　La =ln（4.0 mm），Oa = 12.6 μm
③ 耳石径が 20 μm 以上 45 μm 未満の場合
　La =ln（4.9 mm），Oa = 20.0 μm
④ 耳石径が 45 μm 以上の場合

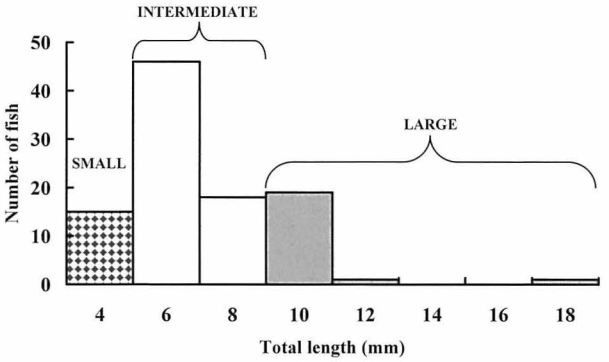

Fig. 12. Frequency distribution of total length of Pacific bluefin tuna sampled at 19 dph (n=100, 7.8 ± 1.8 mm, mean ± SD).

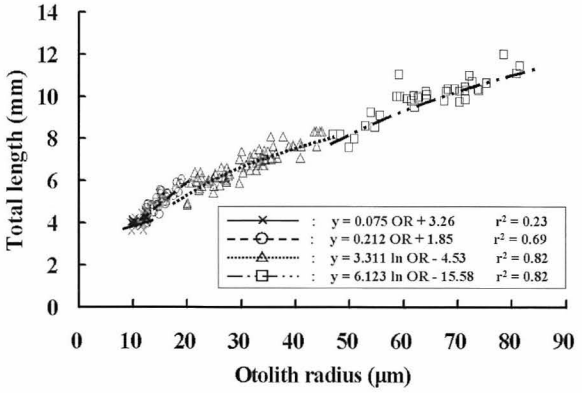

Fig. 13. Relationship between sagittal otolith radius and total length of Pacific bluefin tuna larvae.

La =ln（8.2 mm），Oa = 47.0 μm

その結果，逆算推定された全長を基に，Fig. 14の通り3グループに分けられた19日齢の供試魚の成長履歴が得られた。「ビリ」の全長は3日齢から飼育期間を通して他の2グループより3日齢から有意に小さく（$p<0.01$），同様に「トビ」の全長は他の2グループよりも大きかった（$p<0.01$ for SMALL, $p<0.05$ at 3 dph and $p<0.01$ between 6～19 dph for INTERMEDIATE）。そして，「トビ」は8日齢以降急激に成長速度が速くなった（$p<0.01$）。

考　察

今回供試したクロマグロ仔魚は遺伝マーカー調査によって，雌1個体のクロマグロ親魚から得られたものであることが明らかになった。そのため，本研究においては成長差の発現に関して産卵雌親魚に由来する遺伝的影響の少ない条件であるといえる。

中村（1955）は同一の池に同サイズのコイとギンブナ *Carassius auratus langsdorfi* を同個体数収容して，1ヶ月間飼育し，その成長を比較した。その結果，ギンブナにはトビは生じず，コイにはトビが生じていた。これは，コイとギンブナの食性上の相違によるものであり，ギンブナの餌料となる植物プランクトンが潤沢であったのに対して，コイの主餌料が少なかったためとされている。Shoji et al.（1999）はサワラ *Scomberomorus niphonius* について天然海域の餌生物の発生状況により仔魚の成長速度に違いが出ること，また，Masuda et al.（2002）はマサバ *Scomber japonicus* において異なる餌料条件下で飼育した場合に稚魚の遊泳能力に違いが出ることを指摘している。Sawada et al.（2000）は，種苗生産現場においてクロマグロ仔魚へのワムシの　最適給餌密度は10～30個体/mLと報告しており，今回の飼育期間中の飼育水のワムシ密度は10個体/mL以上を維持していたことから，本研究における種苗生産過程において成長差の発現に対して餌料密度および餌料種類に関する影響は無かったものと考えられた。また，飼育クロマグロの開口は水温24℃の飼育条件下で2～3日齢であり，摂餌開始は3日齢であることが知られており（宮下ら 2000 a），さらに，耳石日輪紋の第1輪の形成は飼育水温23～28℃では3日齢であることが報告されている（Itoh et al. 2000）。今回の飼育試験での飼育水温は23～27℃で，耳石日輪紋の形成および摂餌開始は3日齢であり，3日齢での摂餌個体率は100%あった。

耳石径から全長を逆算推定できることが知られているが（Campana 1990, Campana and Jones 1992），本実験の標本の場合，逆算推定された全長と実際の測定全長値は合致していた。その結果，19日齢において3グループに分けられた供試魚は，15日齢からつつき合いまたは共食い行動，成長差が明らかに観察されたが，成長差は3日齢（開口時）から生じ，以降は拡大する傾向を示した（Fig. 14）。Tanaka et al.（2006）は，天然水域のクロマグロは6日齢の体長が4 mm以下の個体は成長が遅れること，さらに，形態および生態的変化が約5mmで生じ，それに対応して摂餌内容の変化に成功した個体が早く成長し，postflexion期まで達することを報告している。また，中村ら（1955）は，コイを用いてトビの出現時期を調査しており，卵，ふ化仔魚および8日間無給餌条件で飼育された仔魚では，いわゆる，トビ現象の兆候は見られず，外部栄養を摂るようになって，しかも，摂餌後の初期に決定されると報告している。マダイは10～30日齢の間に好成長を示した場合，その後の成長も著しい成長を示す（横川，谷口 1988）。さらに，キジハタにおいて初期摂餌の可否で成長および生残に影響が出ることが報告されている（與世田ら 2006）。クロマグロの場合，「トビ」の成長が「モード」と比較して8日齢から急激に増しているが，この段階で「トビ」はpreflexion期からflexion期へ移行していた。また，3～8日齢の仔魚のワムシ摂餌個体率は100%であったが，消化管内のワムシ摂餌数については，3日齢の段階で最大摂餌数と最小摂餌数の差が10個体以上となり，4～7日齢には15～20個体までに広がり，8日齢以降は，そ

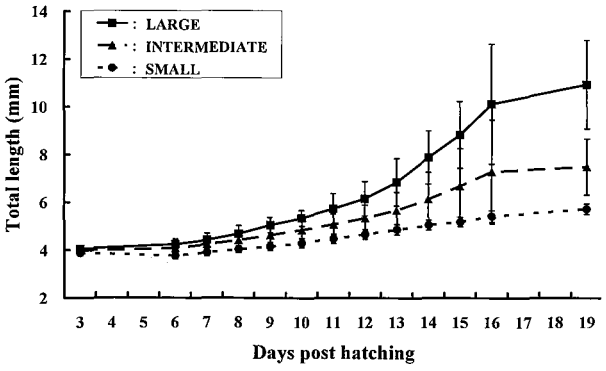

Fig. 14. Growth history of Pacific bluefin tuna from 3 dph (mouth opening) to 19 dph (juvenile stage) determined by the otolith back-calculation. Plots and vertical bars indicate average and standard deviations, respectively. Total length of three size groups divided at 19 dph were significantly different among each other in the same age ($p<0.05$, Steel-Dwass test). Data indicate mean ± SD.

の差が急激に増加した（Fig. 10c）。これらのことから，3日齢（開口時）の段階で成長差が発現する可能性が秘められており，成長差は外部栄養の摂取状況によって助長されることが推察された。宮下ら（2000 a）は受精卵のふ化水温が24～29℃の間では，ふ化開始からふ化完了までの所要時間が30分から2時間30分の範囲であったことを報告しており，本研究においても，その状況が観察された。そのため，ふ化が同調していないことにより，開口までの発育速度にもタイムラグが生じ，その結果，開口段階で成長差が発現したことが考えられた。

また，Tanaka et al.（2009）は沈降現象が2日齢より観察されることを報告している。本研究でも2日齢から8日齢まで次第に生残率が低下していることから（Fig. 11a），沈降現象が発生したものと推察された。仔魚の沈降現象と死亡について，直接的な因果関係は解明されていないが，水槽底との接触で生じる外傷や病原細菌の感染（照屋 2003，宮下 2006）あるいは水槽底の水流が弱い環境で仔魚のガス交換の効率が著しく劣ること（萱場ら 2003）などが原因として考えられている。また，仔魚は沈降状態から回復するために遊泳行動をとることになるが，その頻繁な上下移動が過剰な運動となって個体のエネルギー消費をもたらすこととなり，これが初期減耗の大きな要因になっているとも考えられている（坂本ら 2005）。これらのことから，本研究における8日齢以降のワムシ摂餌数の最大値と最小値の差が20個以上に拡大した要因の一つとして沈降現象が関与したものと考えられた。

また，Tanaka et al.（2006）が逆算推定した天然魚と本研究のトビの成長を比較すると，6日齢までほぼ同等もしくはそれ以上の成長を示しているものの，7日齢以降の成長は人工種苗の高い成長を示した個体でさえ，天然における成長の低い個体と同じ成長を示しており，全体的に天然魚よりも成長が遅い結果となった（Fig. 12）。ブリ（Sakakura et al. 1997，荒川ら 2001）やサワラ（Shoji et al. 1999）では，人工種苗の方が天然魚より成長が優れるという報告があるが，これについては飼育環境下で与えられる餌の量が天然海域よりも潤沢であることによる影響と考えられる。

一方，Itoh et al.（2000）はクロマグロ仔稚魚の成長は人工飼育下よりも天然の方が，成長が速いことを示唆している。Uotani et al.（1990）は，全長2.28～14.60 mmの天然クロマグロ仔魚の食性について調査を行っているが，カイアシ類および枝角類などが主餌料生物であると報告している。種苗生産現場で使用されている餌はワムシおよびアルテミアであり，栄養強化レベルなど含めて天然のカイアシ類と比べて栄養的に劣っていることや（Toledo et al. 1999），至適なものでないこと（Seoka et al. 2007）も成長が劣る要因であると考えられる。しかし，Fujimoto et al.（2008）は異なる水温条件での飼育試験において，クロマグロは飼育水温によって成長速度が著しく変化すること，そして飼育水温27℃で飼育した場合，20日齢で体長が20 mm以上に達することを報告している。この成長速度は天然魚に匹敵することから，本研究で実施した飼育方法，栄養強化方法および餌料系列等について，今後，再考する必要があると思われる。さらに，天然水域では成長の悪いクロマグロ仔魚は淘汰されることが示唆されているが（Itoh et al. 2000, Tanaka et al. 2006），種苗生産ではこういった個体も生き残ることが考えられ，そのため，相対的に人工魚の成長が劣るといった結果となったと思われた。

以上のことから，クロマグロの成長差は摂餌が始まる3日齢（開口時）の段階で発現する可能性があり，成長差はクロマグロ仔魚の外部栄養の摂餌状況によって助長されることが考えられた。

本研究では，遺伝的影響を最小限少なくするために一腹子での成長差の発現機構について調査を行った。しかし，3倍体ギンブナにおいて一腹子でもアイソザイムパターンの相違が観察されており，遺伝的変異が報告されている（大沢ら 1984，Zhang et al. 1992）。また，クロマグロの産卵には，雌1個体に対して複数の雄個体が関与すること（宮下ら 2000 b）が報告されているが，本研究で使用した受精卵の父系側の関与について調査を実施していない。そのため，今後は成長差の発現における卵質および父・母系の遺伝的影響について検討を行うとともに，複数親魚群から得られた受精卵を用いた種苗生産過程における成長差の発現状況を調査することとしたい。

第2節　複数雌親魚から得られた受精卵を使用した種苗生産過程での成長差の発現

第2章第1節で雌1個体から得られた受精卵を使用して仔稚魚飼育を行い，そこで発生する成長差の発現機構を明らかにした。一方，成長および生残における遺伝的影響については，マダイ（谷口，岡田 1980，谷口ら 1988，1995），ニジマス（Danzmann et al. 1995）およびヒラメ（Sekino et al. 2003），甲殻類ではクルマエビ *Marsupenaeus japonicus*（虫明 2010）で議論がなされ，少なからず影響していることが報告されている。そこで本章では，複数雌クロマグロ親魚から得られた受精卵を用いて種苗生産を行い，雌1個体で種苗生産を実施した場合の事例との成長差の発現

状況について比較するとともに，雌親魚に由来する成長への遺伝的影響について検証した。

材料と方法

受精卵　2006年7月6日および19日に㈲奄美養魚で養成されていたクロマグロ親魚から自然産卵で得られた受精卵を採卵し，水研センター奄美栽培漁業センター（現 水研センター西海区水産研究所マグロ増養殖研究センター奄美庁舎）に搬入し，それぞれを飼育試験（以下，試験1［卵径1.0 ± 0.02 mm，n = 100］，試験2［卵径1.0 ± 0.03 mm，n = 100］）に供試した。なお，これら2回の飼育試験に供した親魚は同一親魚群であり，2002年に高知県沖で漁獲されたクロマグロ幼魚を，鹿児島県奄美大島久根津湾内に設置した48m × 32mの長円形浮子式生簀に収容し，親魚まで育成した5年魚群である。また，生簀網内の親魚数は約100個体であり，性比は不明であった。

種苗生産　飼育水槽へのクロマグロ仔魚（1日齢）の収容密度は，試験1では0.6万個体/kL，試験2で1.0万個体/kLとした。なお，飼育水温は自然水温（試験1:28.5 ± 0.4℃，27.6 ～ 29.6℃，試験2:28.8 ± 0.5℃，27.9 ～ 29.8℃）とした以外，前節の方法に同じである。

耳石輪紋観察および成長履歴調査　2回の飼育試験共に，飼育試験期間中，3，5，10および15日齢に無作為に各15個体を採取した。また，それぞれ12日齢（試験1：全長6.5 ± 0.5 mm［5.1 ～ 7.3］，試験2：全長7.0 ± 0.6 mm［5.7 ～ 7.9］）からつつき合い行動および共食い行動が観察され，さらに21日齢に個体の成長差が明確となったため仔稚魚を各100個体採取した。採取したサンプルは，99.5%エタノールで保存後，後日，耳石日輪紋観察およびmtDNA分析用に供した。なお，21日齢の供試魚における「トビ」「ビリ」「モード」の3群の定義とグループ分け，耳石観察方法，全長の推定方法は前節の方法と同じである。

mtDNA分析　前節と同様の方法で受精卵に加えて，1，3，5，10および21日齢のクロマグロ仔稚魚のmtDNA分析によって，各々の個体の母系列別を行った。

統計処理　21日齢で3グループに分けられたサンプルにおいて，21日齢の全長の実測値および逆算推定された同一日齢の全長はKruskal Wallis testで有意差が検出された場合（$p<0.05$），Steel-Dwass testで多重比較した。また，ハプロタイプ頻度組成の統計的有意差は，モンテカルロシミュレーションの10万回試行によるχ^2検定で検討した（Roff and Bentzen 1989）。さらに，ハプロタイプ別に分けた後，逆算推定された同一日齢の全長についてもKruskal Wallis test（$p<0.05$）の後，Steel-Dwass testで検定した。

結　果

mtDNA分析　PCR法で増幅したD-Loop領域は，Niwa et al.（2003）の報告と同様に約2000 bpであった。また，RFLP分析の結果，試験1では12種類（ハプロタイプNo.1 ～ 12），試験2では22種類（ハプロタイプNo.1 ～ 22）の家系が観察され，試験1および試験2で観察された共通の家系は12種類（ハプロタイプNo.1 ～ 12）であった（Table 2）。

試験1においてサンプリングが行われた日齢全てに観察されたハプロタイプは「1」,「5」,「9」および「10」の4種類であり，試験2では「4」,「5」,「6」,「7」,「8」および「9」の6種類で，その他のハプロタイプは日齢によっては観察されなかった（Table 3，4）。

Table 2. Composition of genotypes in the eggs spawned by Pacific bluefin tuna broodstock in EXP 1 & 2

Composite genotype	Genotypes										Remarks
	Alu I	*BsaJ I*	*Dde I*	*Dpn II*	*Hha I*	*Mae III*	*Msp I*	*Rsa I*	*Tai I*	*Tsp509 I*	
1	B	B	A	B	A	D	C	C	A	A	
2	B	H	I	J	C	F	D	I	E	B	
3	B	H	I	M	C	F	D	I	E	B	
4	B	L	I	M	C	B	D	I	E	B	
5	C	A	A	B	A	A	A	C	A	B	
6	C	A	E	A	A	A	A	C	A	A	EXP1, 2
7	C	A	E	A	A	A	A	C	A	F	
8	C	A	E	B	A	A	A	C	A	B	
9	C	B	A	A	A	A	C	C	A	B	
10	C	B	E	B	A	D'	A	B	A	A	
11	C	B	E	A	A	A	A	B	A	B	
12	C	A	E	A	A	A	C	C	A	A	
13	C	A	E	A	A	A	C	C	A	A	
14	C	A	E	A	A	A	C	C	A	B	
15	C	B	E	A	A	A	A	C	A	F	
16	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	
17	A	D	E	A	A	A	A	B	A	B	EXP 2
18	C	B	E	A	A	A	A	C	A	B	
19	C	B	E	A	A	A	C	C	A	B	
20	C	A	E	A	A	F	A	C	A	A	
21	C	B	A	A	A	A	A	B	A	A	
22	C	B	E	A	A	D	C	C	A	B	

Table 3. Occurence of the mtDNA haplotypes among Pacific bluefin tuna at each sampling date in EXP 1

Composite genotype	Genotypes	Fertilized egg	1dph	3dph	5dph	10dph	21dph
1	BBABADCCAA	20	17	14	15	17	7
2	BHIJCFDIEB			2		1	1
3	BHIMCFDIEB	6	3		2		12
4	BLIMCBDIEB	10	4	5	2		23
5	CAABAAACAB	2	2	3	2	1	3
6	CAEAAAACAA		2	3	2		3
7	CAEAAAACAF			1	16	4	1
8	CAEBAAACAB	3	8	4			12
9	CBAAAACCAB	3	4	3	2	14	28
10	CBEBAD'ABAA	2	4	11	2	2	8
11	CBEAAAABAB	1	4	2		5	2
12	CBAAAAACAB	1			4	1	

Table 4. Occurence of the mtDNA haplotypes among Pacific bluefin tuna at each sampling date in EXP 2

Composite genotype	Genotypes	Fertilized egg	1dph	3dph	5dph	10dph	21dph
1	BBABADCCAA	8	1			4	3
2	BHIJCFDIEB		1	2	3		10
3	BHIMCFDIEB		2	2	7	5	5
4	BLIMCBDIEB	1	1	4	6	4	5
5	CAABAAACAB	2	3	5	4	1	1
6	CAEAAAACAA	2	4	2	4	3	8
7	CAEAAAACAF	10	10	14	13	20	26
8	CAEBAAACAB	4	3	2	3	4	5
9	CBAAAACCAB	3	6	2	2	1	4
10	CBEBAD'ABAA	7	5	5	4		28
11	CBEAAAABAB	2	2			1	
12	CBAAAAACAB		1	1			
13	CAEAAACCAA	2	2	1			3
14	CAEAAACCAB						1
15	CBEAAAACAF						1
16	AAAAAAABAB	2	4			3	
17	ADEAAAABAB	1	1	1		1	
18	CBEAAAACAB		1	2	1		
19	CBEAAACCAB	3		1			
20	CAEAAFACAA			3			
21	CBAAAAABAA	1					
22	CBEAADCCAB		1				

種苗生産　試験1におけるクロマグロ仔魚は5日齢までの減耗が著しく，生残率が20%まで落ち込み，10日齢までには2.8%となった（Fig. 15a）。3日齢の仔魚の全長は3.8 ± 0.1 mm（平均±標準偏差，3.6～4.0）であり，5日齢から指数関数的な成長を示し（Fig. 15b），21日齢には14.8 ± 4.4 mm（9.3～26.2）となった。ワムシの摂餌状況については，3日齢でのクロマグロ仔魚のワムシ Table 2 Composition of genotypes in the eggs spawned by Pacific bluefin tuna broodstock in EXP 1 & 2 摂餌個体率は100%であった。しかし，摂餌された消化管内のワムシ個体数は仔魚によっては10個体以上の差があり，4日齢には20個体以上，5日齢には30個体以上と，その差はより大きくなり，消化管内のワムシ摂餌数が最も多い個体と最も少ない個体の差が顕著になった（Fig. 15c）。

試験2の仔魚の生残率は，4日齢（66.9%）から5日齢（22.6%）の間に急落し，10日齢では10.9%にまで減少した。（Fig. 16a）。成長については，3日齢の

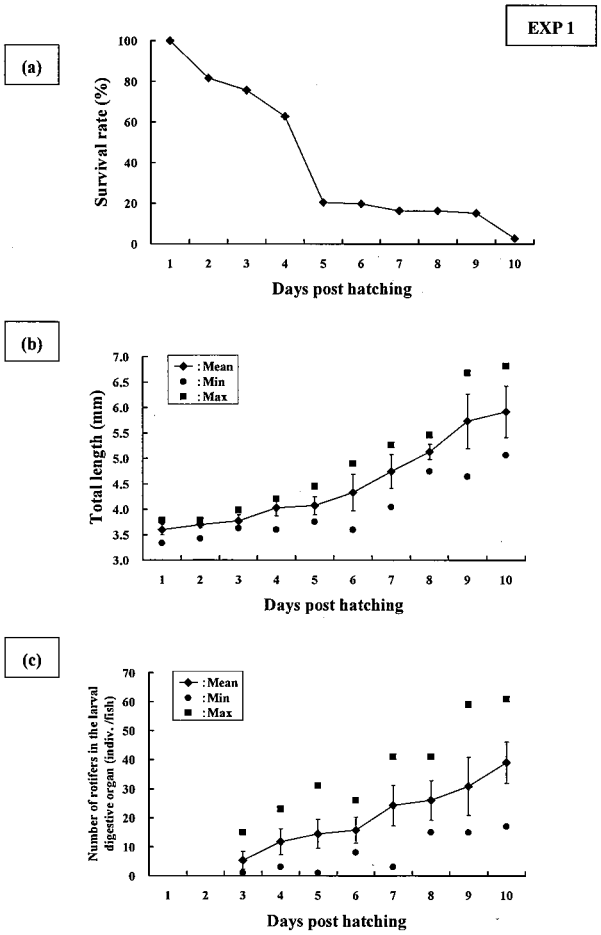

Fig. 15. Changes in (a) survival rate, (b) total length, and (c) the number of rotifers in the gut of Pacific bluefin tuna larvae (n=30) in EXP 1. Bar indicates standard deviation.

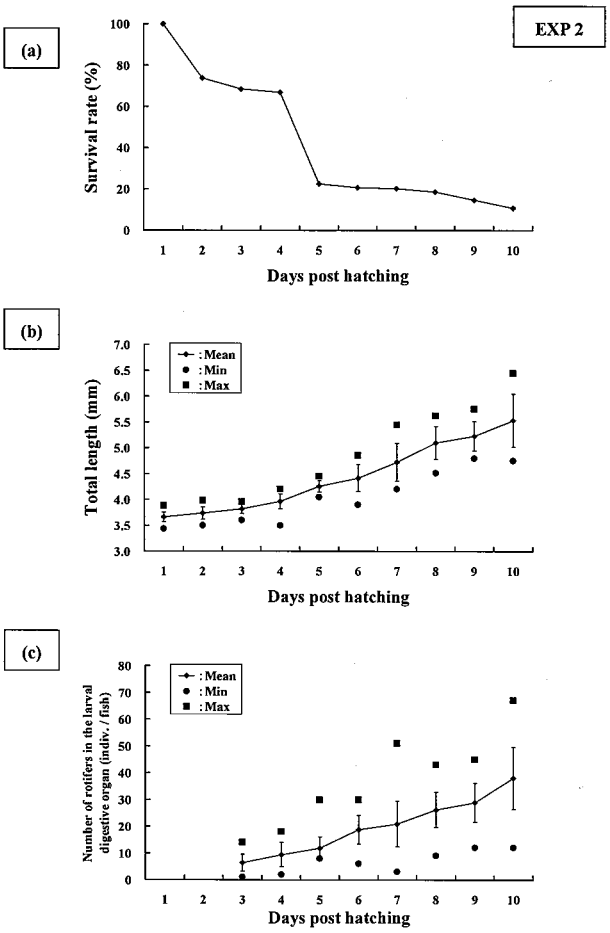

Fig. 16. Changes in (a) survival rate, (b) total length, and (c) the number of rotifers in the gut of Pacific bluefin tuna larvae (n=30) in EXP 2. Bar indicates standard deviation.

全長は 3.8 ± 0.1 mm（3.6 ～ 4.0）であり，以降，直線的な成長を示し，21 日齢には 21.3 ± 6.5 mm（13.1 ～ 42.0）となった（Fig. 16b）。3 日齢での仔魚のワムシ摂餌個体率は試験 1 と同様に 100%であった。摂餌された消化管内のワムシ個体数は試験 1 と同様に，仔魚によっては 10 個体以上の差があり，その後，その差はより大きくなる傾向を示した。また，ワムシ摂餌数の少ない仔魚は 8 日齢まで 10 個体以下であった（Fig. 16c）。

成長履歴と逆算推定　試験 1 および試験 2 の 21 日齢におけるクロマグロ供試魚の全長組成を，それぞれ Fig. 17（n=100，14.8 ± 4.4 mm，平均 ± 標準偏差，9.3 ～ 26.2）および Fig. 18（n = 100，21.3 ± 6.5 mm，13.1 ～ 42.0）に示した。【最小個体の全長の 2 倍以上の全長を有する個体をトビ（LARGE）】と定義し，これを基にそれぞれ 3 群に分けた。

試験 1 においては 21 日齢において最小全長個体は 9.3 mm であったことから，「トビ」は 22 個体（21.7 ± 2.2mm），「ビリ」は 18 個体（10.0 ± 0.4 mm），これら以外の「モード」は 60 個体（13.7 ± 2.2 mm）に分けられた（Fig. 17）。試験 2 においては 21 日齢において最小全長個体は 13.1 mm であったことから，「トビ」は 29 個体（30.0 ± 3.1 mm），「ビリ」は 14 個体（14.1 ± 0.6 mm），これら以外は「モード」とし，57 個体（18.6 ± 3.1 mm）に分けられた（Fig. 18）。なお，各々の試験において，これら 3 グループの全長は互いに有意に異なっていた 1 & 2（p<0.01）。飼育水槽から 1 ～ 5 日おきに採取したクロマグロ仔魚 160 個体から，各試験において Fig. 19 および Fig. 20 のような全長（TL）と耳石径（OR）の関係が観測された。なお，21 日齢の供試魚では耳石日周輪が明瞭に観察できたのは，試験 1 では全 100 個体であったが，試験 2 では 100 個体中 82 個体（82.0%）であった。全長と耳石径の関係において，試験 1 では耳石径が 12.5，20 および 65 μm 付近で変曲点が存在し，試験 2 では耳石径が 12.5，45

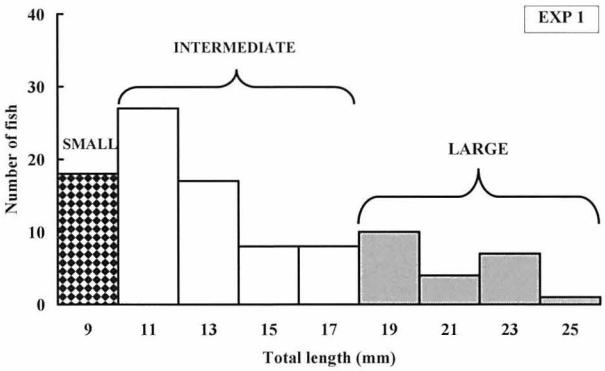

Fig. 17. Frequency distribution of total length of Pacific bluefin tuna sampled at 21 dph in EXP 1 (n=100, 14.8 ± 4.4 mm, mean ± SD).

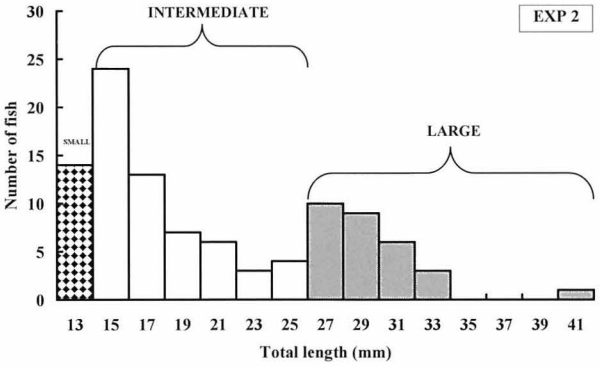

Fig. 18. Frequency distribution of total length of Pacific bluefin tuna sampled at 21 dph in EXP 2 (n=100, 21.3 ± 6.5 mm, mean ± SD).

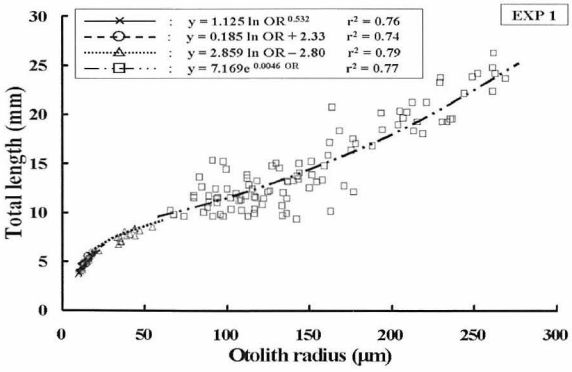

Fig. 19. Relationship between sagittal otolith radius and total length of Pacific bluefin tuna larvae

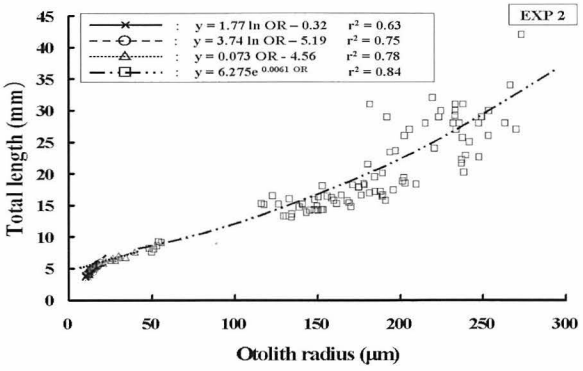

Fig. 20. Relationship between sagittal otolith radius and total length of Pacific bluefin tuna larvae in EXP 2.

および65μm付近で変曲点が存在した。

また，前節で用いた全長から体長（SL）への変換式 TL=1.15 SL-0.23（Y. Tanaka, unpublished data, 2011）を基に，同様にクロマグロの発育について Miyashita et al.（2001）および Tanaka et al.（2006）の報告と照らし合わせた結果，耳石径が12.5μmの場合，preflexion期からflexion期へ移行する時期に一致していた。また，耳石径が20μmの場合，flexion期からpostflexion期へ移行する時期に一致していた。さらに，耳石径が45μmの場合，鰭条数が成魚と同じになる時期と一致していた。

各試験ともに全長を推定するために，前節と同様にCampana法（1990）を用いた。Campana法では，ふ化時における全長と耳石径をLaおよびOaとして用いる。しかし，前節と同様に2回の試験ともに耳石径と全長との関係に変曲点が3ヵ所存在したため（Fig. 19, 20），変曲点ごとにLaおよびOaの値を代入したが，実測値との適合状況が悪かったため，実測値との適合状況を検討した結果，1では，耳石と全長の関係図（Fig. 19）で表された160個体中のクロマグロ供試魚中，最小全長個体魚の数値 La = ln（3.7 mm），Oa = 9.5μmを，耳石径の大きさに関わらず使用した。試験2では，試験1と同様に耳石と全長の関係図（Fig.20）で表された160個体中のクロマグロ供試魚中，

① 耳石径が45μm未満の場合は，La=ln（3.9 mm），Oa = 11.1μm（耳石径12.5μm未満区間の平均値）

② 耳石径が45μm以上の場合は，La=ln（8.5 mm）Oa = 52.0μm（耳石径が45μm以上60μm未満区間の平均値）を，それぞれ LaおよびOaに用いた。

その結果，逆算推定された全長を基に，Fig. 21およびFig. 22の通り3グループに分けられた21日齢の供試魚の成長履歴が得られた。試験1では，「ビリ」の全長は8日齢から飼育期間を通して，他の2グループよりも小さく（p<0.05 at 8 dph, p<0.01 after dph），同様に「トビ」の全長は8日齢から飼育期間を

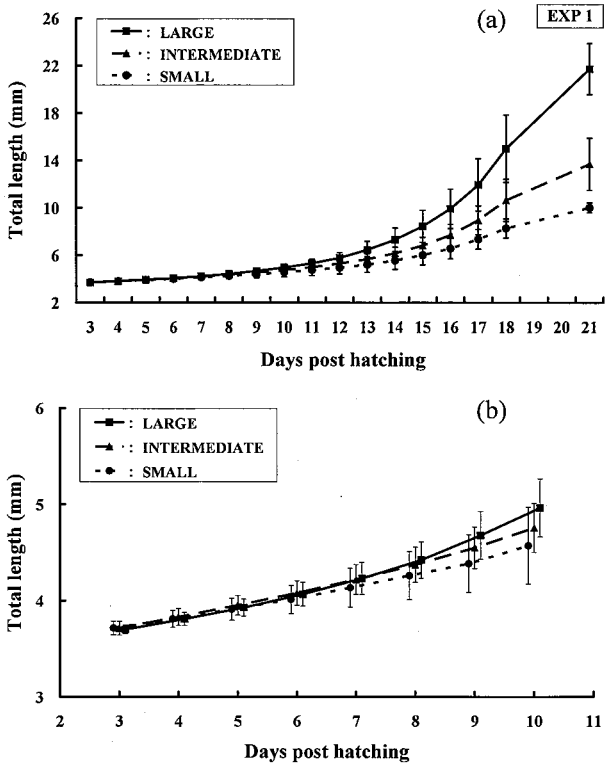

Fig. 21. Growth history of Pacific bluefin tuna in EXP 1, (a) from 3 dph (mouth opening) to 21 dph (juvenile stage), and (b) from 3 dph to 10 dph determined by the otolith back-calculation. Plots and vertical bars indicate average and standard deviations, respectively. Total length of three size groups divided at 21 dph were significantly different each other in the same age (p<0.05, Steel-Dwass test).

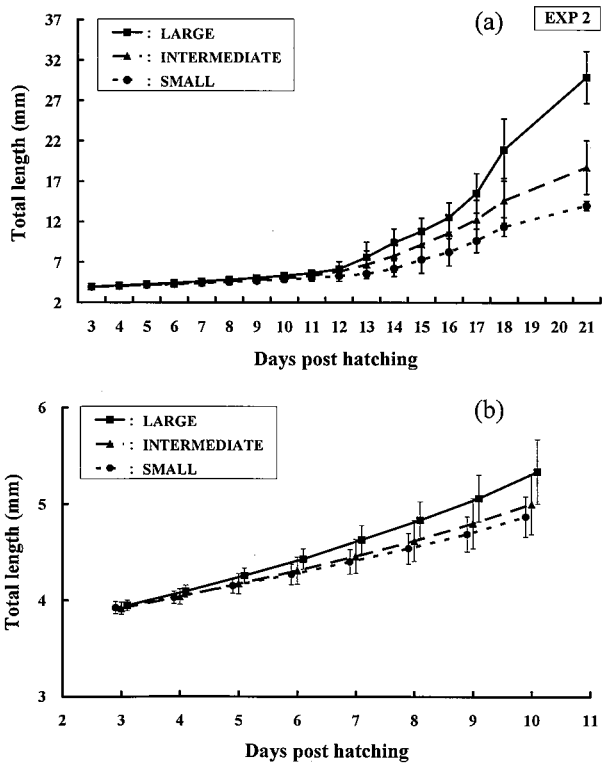

Fig. 22. Growth history of Pacific bluefin tuna in EXP 2, (a) from 3 dph (mouth opening) to 21 dph (juvenile stage), and (b) from 3 dph to 10 dph determined by the otolith back-calculation. Plots and vertical bars indicate average and standard deviations, respectively. Total length of three size groups divided at 21 dph were significantly different each other in the same age (p<0.05, Steel-Dwass test).

通して，他の2グループよりも大きかった（$p<0.05$ at 8dph and $p<0.01$ between 9～21 dph for SMALL, $p<0.05$ Between 8～9 dph and $p<0.01$ between 10～21 dph for INTERMEDIATE）。また，試験2では，「トビ」の全長は4日齢から飼育期間を通じて，他の2グループよりも大きかった（$p<0.05$ at 4 dph, $p<0.01$ after 5 dph）。また，「ビリ」と「モード」の全長は14日齢以降に有意差が生じた（$p<0.05$ at 14 dph, $p<0.01$ after 15 dph）。

成長への遺伝的影響　試験1および試験2の21日齢における供試魚を「トビ」「モード」「ビリ」の3群に分けたが（Fig. 17, 18），各々のグループに出現するハプロタイプの状況をFig. 23およびFig. 24に示した。試験1および試験2それぞれの供試魚について，ハプロタイプ頻度組成の均質性検定では，試験1はハプロタイプの出現は均等と判断されたのに対し（χ^2値=30.2, P = 0.055），試験2では出現に偏りが認められた（χ^2値=44.2, P=0.001）。また，各々のハプロタイプ毎の成長についてみると（Fig. 25, 26），試験ハプロタイプ間の明確な成長差は検出されなかった（Table 5）。試験2でも5日齢から成長差が検出されたが（$p<0.05$ between 5～6 and 11～16 dph, $p<0.01$ between 7～10 and 17～21 dph），ハプロタイプ間の明確な成長差は検出されなかった（Table 6）。

考　察

本節では，複数雌親魚から得られた受精卵を用いて，同一飼育環境下における種苗生産試験に供試し，その成長差の発現状況について検討を行った。飼育試験は2回実施し，供試したクロマグロ受精卵および仔稚魚の遺伝マーカー調査によって，試験1は12個体，試験2では22個体の雌親魚に由来する受精卵を用いて種苗生産試験を実施したことが分かった。

Sawada et al.（2000）は，クロマグロ種苗生産現場において飼育水中のワムシの最適給餌密度は10～30個体報告している。本研究にの2回の種苗生産試験において前節と同様に，飼育水中のワムシ密度は10個体/mL以上を維持しており，餌料密度による成長への影響は無かったものと考えられた。また，飼育水温は，試験1で27.6～29.6℃（28.5 ± 0.4，平均±標準偏差），試験2では27.9～29.8℃（28.8 ± 0.5）であり，耳石紋の形成（Itoh et al. 2000）および摂餌開始（宮下ら 2000 a）は，いずれも3日齢にみられ，3日齢での摂餌個体率は100%であった。

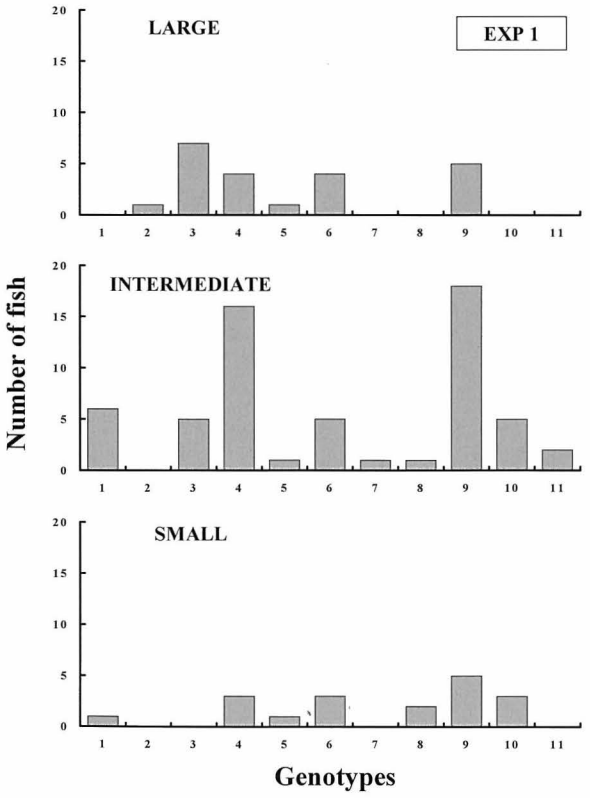

Fig. 23. Frequency distribution of haplotypes of Pacific bluefin tuna sampled at 21 dph of EXP 1 (n=100).

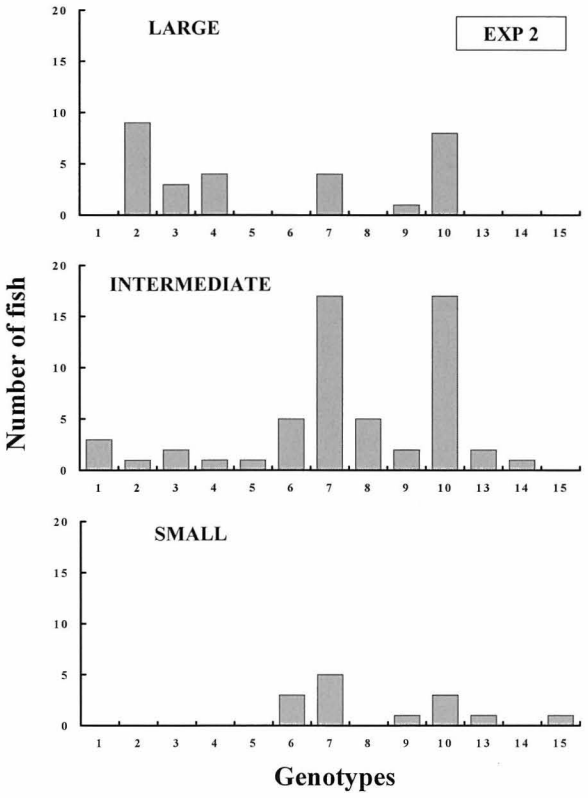

Fig. 24. requency distribution of haplotypes of Pacific bluefin tuna sampled at 21 dph of EXP 2 (n=100).

日輪耳石経から逆算推定した全長は，両試験ともに実測値のものと合致していた。21日齢において3グループに分けられた供試魚は，すでに12日齢からつつき合いまたは共食い行動が観察され，成長差も明らかに認められた。

逆算推定から見た成長履歴からは，成長差は試験1では8日齢から，試験2では4日齢から生じていた。これらの結果は，前節の雌親魚1尾由来の仔魚群に比べて1～5日遅れて成長差が発現したということを示している。しかし，3グループそれぞれに対して成長差が発現した後は，その差が拡大する傾向は前節の結果と同じであった。

試験1は，5日齢で仔魚の生残率が落ち込み，さらに消化管内のワムシ摂餌個体数の差が30個体以上に広がっている。翌日の6日齢には全長の大小差が大きくなり，7日齢にワムシ摂餌個体数の差も拡大する傾向をした。クロマグロ仔魚は夜間に水槽底に沈降することが知られている（宮下 2006，Takashi et al. 2006）。

その現象は2日齢から発生し5日齢にピークが認められ，また日の入り4時間後（午前0:00前後）から水槽底に沈んでいるクロマグロ仔魚が観察されることが報告されている（Tanaka et al. 2009）。試験1では，4日齢に甚大な沈降現象が起こり，そのため，翌日の日齢には仔魚の活力に支障を来す結果になったものと推察された。仔魚の沈降現象と死亡について，直接的な因果関係は解明されていないが，水槽底との接触で生じる外傷や病原細菌の感染（照屋 2003，宮下 2006）あるいは水槽底の水流が弱い環境で仔魚のガス交換の効率が著しく劣ること（萱場ら 2003）などが原因として考えられている。また，仔魚は沈降状態から回復するために遊泳行動をとることになるが，その頻繁な上下移動が過剰な運動となって個体のエネルギー消費をもたらすこととなり，これが初期減耗の大きな要因になっていることも考えられている（坂本ら 2005）。

試験1では，これらの要因が重なり，7日齢で活力を取り戻した個体とそうでない個体の間に摂餌状況の差が生じて，8日齢に成長差が発現した可能性があると考えた。

試験2でも4日齢の深夜に沈降現象が発生し，そのため，仔魚の活力の状況によって5日齢にワムシ摂餌数にバラツキが生じるとともに，その夜に生残率が落ち込んだものと考えた。しかし，試験2では4日齢から3グループ間で成長差が発現していることから，2日齢もしくは3日齢での沈降現象の影響による可能性も否定できない。これらのことから，両試験区ともに仔魚の活力に関わる飼育環境要因によって摂餌行動に影響が出たことによって成長差が発現したものと推察された。その結果，その後の成長差も収束することなく，外部栄養の摂餌状況により助長されたと考えられた。また，試験1および試験2それぞれの供試魚について，21日齢において3グループにおけるハプロタイプ頻度組成の均質性検定では，試験1はハプロタイプの出現について均等と判断されたが（χ^2値＝30.2，P＝0.055），試験2ではハプロタイプの出現に偏りが認められた（χ^2値＝44.2，P＝0.001）。また，逆算推定された成長についてみると，試験1ではハプロタイプ間で13日齢より有意差が検出されたが（Fig. 25，$p<0.05$），日齢間では明確な差が検出されなかった（Table 5）。試験2でもハプロタイプ間で5日齢から有意差が検出

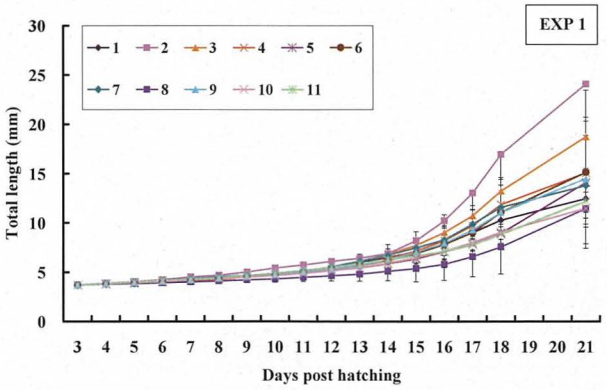

Fig. 25. Growth history of Pacific bluefin tuna in EXP 1, from 3 dph (mouth opening) to 21 dph (juvenile stage) determined by the otolith back-calculation about each haplotype. Plots and vertical bars indicate average and standard deviations, respectively (n＝100)

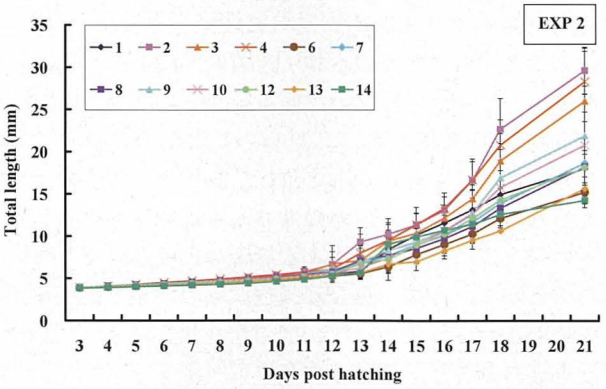

Fig. 26. Growth history of Pacific bluefin tuna in EXP 2, from 3 dph (mouth opening) to 21 dph (juvenile stage) determined by the otolith back-calculation about each haplotype. Plots and vertical bars indicate average and standard deviations, respectively

されたが（Fig. 26, $p<0.05$ between 5～6 and 11～16 dph, $p<0.01$ between 7～10 and 17～21 dph），日齢間では試験1と同様に明確な差は検出されなかった（Table 6）。Sekino et al. (2003) はヒラメの放流種苗において，体サイズに基づく選別が家系構成に大きな影響を与える可能性を示した。すなわち，家系によって初期の成長に差があり，結果として放流時に特定の大きさを選ぶことになったと推察している。また，Nakamura et al. (2008) は脊椎動物中で唯一自家受精をするマングローブ・キリフィッシュ（*Kryptolebias marmoratus*）を用いて，2系統のクローン魚を交配させ，その交雑魚と元の2系統の魚の F_2 世代の成長を比較した。その結果，交雑魚の成長は元の2系統のクローン魚の成長の中間を推移することを報告している。魚類以外でクルマエビにおいて，由来する雌親によって生残率および成長に有意な差が出ることが報告されている（虫明 2010）。また，谷口ら（1988）はマダイにおいて半きょうだい間でも成長率や生残率が明らかに異なることを示し，特に，ふ化後65日までは雌親魚間成長差が -17.2～+16.8%と，かなり大きいことを明らかにし，雌親魚の遺伝的な違いにより，稚魚の成長差は生じたと報告している。また，飼育成績の良否は，飼育環境要因によって大きく左右されることを前提としながらも，親間での成長因子や生残因子といった遺伝的差異が潜在的に関与していることも示唆している。一方，自然産卵法による種苗生産では，親魚の種苗生産への貢献度や著しい家系構成の歪みまで予測することは不可能であることが指摘されている (Sekino et al. 2003)。

本研究においても，ハプロタイプ間での成長速度が異なることが示唆された（Fig. 25, 26）。また，両試験において21日齢の体サイズ差に基づく3グループのハプロタイプ頻度組成の均質性検定をしたところ，試験2では偏りが認められ（χ^2 値 = 44.2, P = 0.001），試験1でも有意ではないが偏る傾向（χ^2 値 = 30.2, P = 0.055）が見られた。これらのことから，クロマグロの成長差にも少なからず遺伝的影響があるものと考えられた。しかし，前述の通り，本研究における成長差の発現には飼育環境による影響も反映されてしまったことから，今後，更なる飼育試験の実施と使用する受精卵または仔魚の収容密度の均一化を図り，試験精度を高めることが必要であろう。

また，試験1および試験2では同一親魚群から得られた受精卵を用いて種苗生産試験を実施したが，21日齢における両試験に共通したハプロタイプ出現状況について規則性が認められず（χ^2 値 = 88.8, P ≒ 0.000），3グループのサイズ毎に見ても同様な結果であった（ト

Table 5. Results of Kruskal Wallis Steel-Dwass test for comparison of growth in EXP 1 among haplotypes of Pacific bluefin tuna in the same age (*; $p<0.05$, **; $p<0.01$)

		3dph	4dph	5dph	6dph	7dph	8dph	9dph	10dph	11dph	12dph	13dph	14dph	15dph	16dph	17dph	18dph	21dph
1	3																	
1	4																	
1	5																	
1	6																	
1	8																	
1	9																	
1	10																	
1	11																	
3	4																	
3	5																	
3	6																	
3	8																	
3	9																	
3	10																	*
3	11																	
4	5																	
4	6																	
4	8																	
4	9																	
4	10																	
4	11																	
5	6																	
5	8																	
5	9																	
5	10																	
5	11																	
6	8																	
6	9																	
6	10																	
6	11																	
8	9																	
8	10																	
8	11																	
9	10																	
9	11																	
10	11																	

Table 6. Results of Kruskal Wallis Steel-Dwass test in EXP2 for comparison of growth among haplotypes of Pacific bluefin tuna in the same age (*; $p<0.05$, **; $p<0.01$)

		3dph	4dph	5dph	6dph	7dph	8dph	9dph	10dph	11dph	12dph	13dph	14dph	15dph	16dph	17dph	18dph	21dph
1	2																	
1	3																	
1	4																	
1	6																	
1	7																	
1	8																	
1	9																	
1	10																	
1	13																	
2	3																	
2	4																	
2	6																	*
2	7															*	*	**
2	8																	
2	9																	
2	10											*						**
2	13																	
3	4																	
3	6																	
3	7																	
3	8																	
3	9																	
3	10																	
3	13																	
4	6																	
4	7																	
4	8																	
4	9																	
4	10																	
4	13																	
6	7																	
6	8																	
6	9																	
6	10																	
6	13																	
7	8																	
7	9																	
7	10																	
7	13																	
8	9																	
8	10																	
8	13																	
9	10																	
9	13																	
10	13																	

ビ：χ^2 値 = 27.1，P ≒ 0.000，モード：χ^2 値 = 52.7，P ≒ 0.000，ビリ：χ^2 値 = 14.0，P ≒ 0.023）。長倉ら（2003）は，ブリの種苗生産で産卵に関与した親魚と得られた種苗の遺伝子組成についてマイクロサテライト DNA を用いて精査した。その結果，産卵への雌親魚の関与率は 77.8 ～ 87.5％であった。また，69 ～ 231 日齢で取り揚げたブリ稚魚には，ハプロタイプの出現頻度に偏りがみられたものの，産卵に関与した全ての雌親魚に由来する種苗が生き残っていることが明らかになった（長倉ら 2003）。本研究で使用したクロマグロ親魚は約 100 個体で，その雌雄比は不明であるが，半数が雌親魚と仮定すると，雌の産卵への関与率は 24.0 ～ 44.0％と試算される。この値は，ブリの場合（長倉ら 2003）と比べて約半分程度と低い。クロマグロからの受精卵の確保は不安定で難しいことが指摘されている（升間 2008）。この原因には，本研究の結果から，クロマグロ雌親魚の中で実際に産卵している個体が少ないということも挙げられるだろう。

本研究で行った 2 回の種苗生産試験で，受精卵から 21 日齢の間に認められた全ハプロタイプ数は，試験 1 で 12 タイプ（Table 3），試験 2 では 22 タイプ（Table 4）であった。その後 21 日齢に取り揚げたクロマグロ種苗のハプロタイプ数は，それぞれ 11 タイプ（91.7％）と 13 タイプ（59.1％）と受精卵の時よりも少なくなった。これらの結果は，クロマグロでは種苗生産の過程で消失するハプロタイプがあるということ，すなわち，雌親魚によっては仔魚が死滅していることを示している。この原因については雌親から卵・仔魚への遺伝的な影響も否定できないものの，現時点ではむしろ飼育手法と飼育環境に起因する仔魚の健康状態の方が大きな影響があったのではないかと考えている。特に飼育水温を見ると，試験 1 では 28.5 ± 0.4℃（27.6 ～ 29.6），試験 2 は 28.8 ± 0.5℃（27.9 ～ 29.8）であり，試験 2 は試験 1 より有意に水温が高かった（$p<0.01$）。ヒラメを用いた温度耐性の育種研究において，温度耐性を有する個体は，単純に感受性がある個体および温度耐性が無い個体と比べて，生残率が有意に高い傾向を示すことが報告されている（Chi et al. 2007）。そのため，クロマグロにも家系毎に飼育水温耐性に違いがあり，それが生残または成長に影響を及ぼしたものと推察した。

さらに，この 2 回の種苗生産試験で使用した受精卵の採卵日には 2 週間の間隔があり，卵径は 2 回目の試験の方が小さくなっていた（Fig. 27）。クロマグロでは，卵径と水温の関係において水温の変化に伴い卵径が変化し，両者には負の相関関係があることが報告されている（宮下ら 2000 a，升間ら 2006）。一方，卵サイズを大きくすることで仔魚の初期摂餌に有利に働くことが，いくつかの魚種での飼育実験で示されている（Theilacker 1981，Knutsen and Tilseth 1985，今井，田中 1966）。さらに，仔魚の活力判定に用いられる無給餌生残指数（Survival Activity Index：SAI，新間，辻ヶ堂 1981）は産卵初期に高く，群として産卵回数が増えるに従って低下する傾向が，シマアジ（虫明，関谷 1993，Watanabe et al. 1998），ブリ（虫明ら 1993，Mushiake et al. 1994，虫明ら 1995）およびキジハタ（萱野，尾田 1990，萱野ら 1998）で報告されている。これらのことから，クロマグロの雌親魚毎での卵径および産卵回数の違いによって，得られた仔魚の種苗生産成績が左右されるという可能性を挙げる。しかし，本研究の 21 日齢において両試験に共通して出現しているハプロタイプ「2」，「3」および「4」は比較的成長が優れたグループに出現したのに対して，ハプロタイプ「1」と「8」は両試験共に「トビ」に出現しない傾向が見られていることから（Fig. 23，24），単純に卵径やふ化仔魚の活力の問題では結論を導くことは難しく，遺伝的影響も考慮しなければならないと思われた。

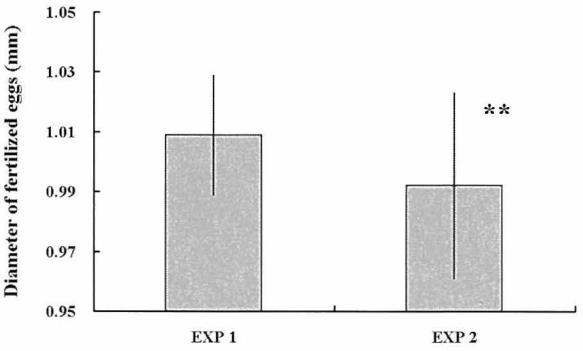

Fig. 27. Comparison of diameter of fertilized eggs used in EXP 1 and EXP 2 (**, ANOVA, $p<0.01$). Data is expressed mean ± SD.

以上のことから，複数の雌親魚から得られた受精卵を用いた事例におけるクロマグロの成長差には，少なからず遺伝的影響があることが示唆された。そして，成長差は仔魚の活力に悪影響を及ぼす事象に起因する摂餌状態の良否によって助長されると考えられた。今後は，試験精度を高めるために種苗生産試験における雌親魚毎に由来するふ化仔魚の収容密度を均一化した上での事象把握が必要であり，また，使用する雌親魚の産卵履歴や卵径データと種苗生産試験結果を照らし合わせることが必要であり，さらに，父系効果の検討も必要であると考えられた。

第3章　スジアラの成長差の発現（複数雌親魚から得られた受精卵を使用した種苗生産過程での成長差の発現）

クロマグロは，その種苗飼育試験期間は約30日間であり，養殖魚として一般的なマダイと比較すると成長が非常に速く（村田 2005），その成長様式が特異である可能性が否めない。一方，ハタ科魚類においても成長差による共食いが問題となっており，チャイロマルハタ（Hseu 2002，Hseu et al. 2003，Takeshita and Soyano 2009），タマカイ（Hseu et al. 2004，2007a），アカマダラハタ（Hseu et al. 2007b），マハタ（Sabate et al. 2009b）などで，その研究がなされている。そのため，本研究では供試魚にハタ科魚類に属するスジアラを用いて，クロマグロで実施したように複数雌親魚から得られた受精卵を用いて種苗生産を行い，スジアラにおいて成長差の発現状況および発現時期を調査すると共に，成長への遺伝的影響について検証した。

材料と方法

親魚および受精卵　2009年5月19日に水研センター西海区水産研究所石垣支所八重山栽培技術開発センター（現 水研センター西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎）で養成されていたスジアラ親魚から得られた受精卵（卵径0.9 ± 0.02mm，平均±標準偏差，n=100）を採卵し，種苗生産試験に供した。なお，スジアラ親魚は雌43個体（体重4.9～6.8kg，全長61.0～67.4cm），雄9個体（6.8～7.4kg，67.0～73.4cm）を200kLコンクリート水槽2基にそれぞれ雌21～22個体，雄4～5個体で収容し，これらの親魚から自然産卵によって得られた受精卵を産卵翌日に回収した。回収した受精卵は紫外線処理海水で洗卵後，200Lアルテミアふ化水槽に一時的に収容した。収容後は約5分間静置し，水槽底面に沈下した卵を取り除いた。アルテミアふ化水槽には中央に2個のエアストーンを垂下して通気を施し，クッパー氏胞形成まで流水（1.5～2.0L/分）で4～6時間の卵管理を行った。その後，それぞれの試験の条件に合わせて，試験水槽へ卵収容するか，別のふ化水槽でふ化させた後に試験水槽に収容した。

種苗生産　容量60kLのコンクリート製八角形水槽（底面積25m^2，実効水量：50kL）を使用し，仔魚（1日齢，2.5 ± 0.08mm，n=30）を1.2万個体/kLの密度で収容した。飼育管理手法については，クロマグロの沈降死抑制に実績のある飼育水を水中ポンプ（CSL-100，寺田ポンプ製作所）で攪拌する方式を改良し実施した（Fig. 28，29）。なお，クロマグロで実施していた方式に対して改良した点は，6日齢まで24時間の照明を施し（Yoseda et al. 2008），水槽底に配された直径13mmの塩化ビニル製パイプについて，水の吐出方向が1本は水槽の底面から表面への垂直方向に設置され，残りの1本が水槽の底面と平行に向けられた点である（Fig. 6, 7）。水中ポンプからの水の吐出量を1.5 kL/時とし，仔魚が排水ネットに接触するのを防ぐために，通気が排水ネットを挟むように隣接して設置した2個のエアストーンからの通気量は0.5 L/分とした。なお，2個の角形エアストーン（50×50×170mm）のうち1個からは酸素通気を施した。また，24時間照明を止めた夜間にスジアラ仔魚の沈降現象が起きると想定し，

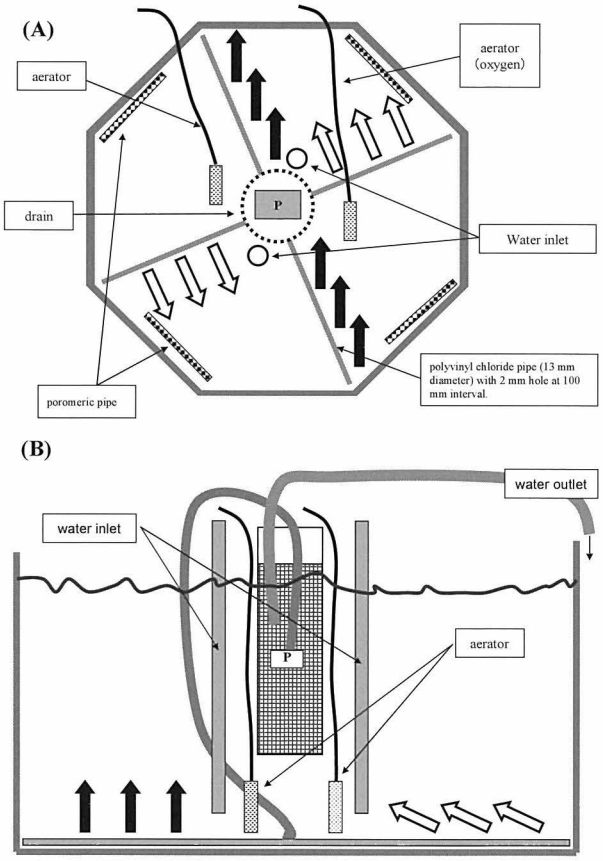

Fig. 28. Horizontal (A) and lateral views (B) of the rearing tank for mass culture in Yaeyama Station, the Research Center for Subtropical Fisheries and Aquaculture, SNF, FRA using the water pump system. "P" indicates water pump. White and black arrows indicate directions of water current. Angle of white arrow is set 0 degree, and 90 degree for black arrow against the tank bottom.

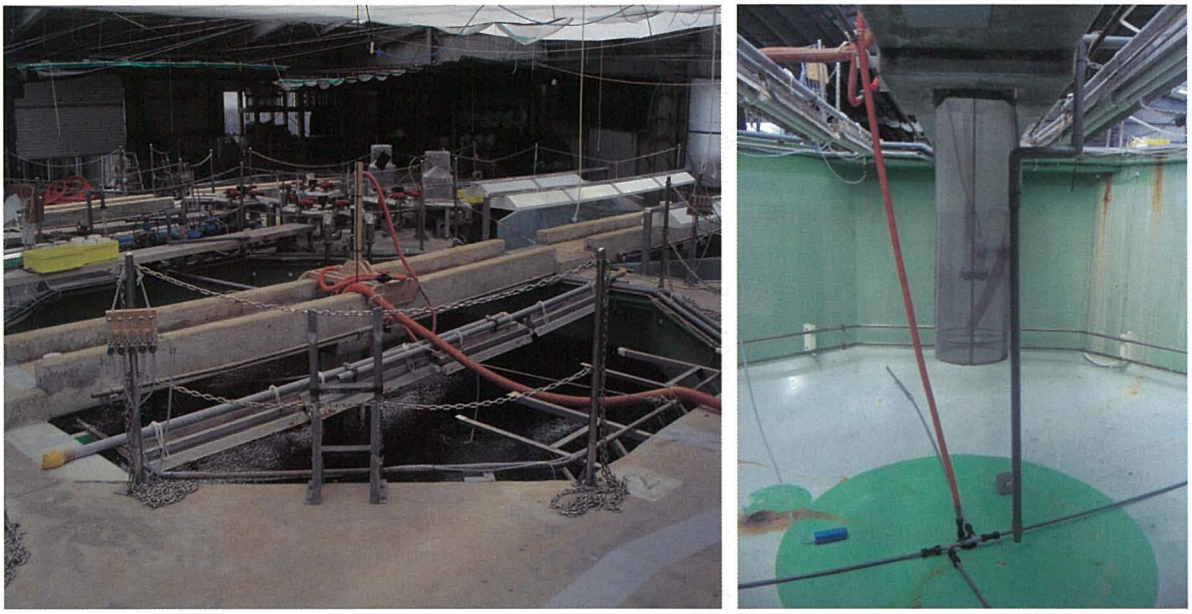

Fig. 29. The rearing tank for mass-culture of leopard coral Center for Subtropical Fisheries and grouper in the Yaeyama Station, the Research Aquaculture, SNF, FRA using the water pump system.

消灯後に沈降現象を抑制する操作を加えるようにした。沈降現象抑制操作として，水中ポンプからの水の吐出量を 1.5 kL/ 時から 2.2 kL/ 時に増加させるとともに，散気ホース（直径 13 mm × 長さ 50 cm，以下，エアブロック）によるエアブロック 4 箇所（0.5 L/ 分・箇所）を稼働させ，7 日齢から 0.5 L/ 分・日の割合で 2.0 L/ 分までに，またエアストーンからの通気量も，それぞれ 0.5 L/ 分から 1.0 L/ 分までに増加させた。なお，量産飼育試験の開始水温が 25℃台であったため，0.5℃ / 日の割合で飼育適正水温といわれている 28℃まで昇温させた（照屋 1998）。

その結果，試験水温は収容から試験終了まで 25.6 ～ 29.3℃（28.2 ± 0.6℃，平均 ± 標準偏差）の範囲であった。また，水質状況および溶存酸素量の観測値を見ながら注水量を除々に増加させた。

2 日齢より市販の冷蔵濃縮ナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata*（マリンフレッシュ，メルシャン株式会社）を飼育水中の密度が 50 万細胞 /mL となるように添加した。同じ 2 日齢（仔魚が開口し摂餌を始める前日）には，いわゆる SS 型ワムシ *Brachionus rotundiformis* タイ株（以下ワムシ）の給餌を開始し，5 日齢まで飼育水中のワムシ密度が 20 個体 /mL となるよう調整した。また，5 ～ 22 日齢にはいわゆる S 型ワムシ小浜株（以下ワムシ）を 20 個体 /mL の密度で与えた。

さらに，仔魚の平均全長が 6mm に達した 17 日齢から 41 日齢まではアルテミア *Artemia franciscana* 幼生を与え，25 日齢より取り上げまでは配合飼料を給与した。ワムシはマリンフレッシュ（200 mL/ 億個体）で 6 時間の栄養強化後，DHA 強化剤（ハイパーグロス，日清マリンテック株式会社）を 200 mL/ 億個体の割合で添加し，16 時間栄養強化した。アルテミアは，HUFA 強化ユーグレナ（ドコサユーグレナ・ドライ，秋田十條化成社株式会社）を 20 g/ 億個体となるよう添加し，16 時間栄養強化した。

また，10 日齢まで成長，生残およびワムシ摂餌個体数を調べた。まず，仔魚の生残尾数を推定するため，24 時間照明を止めた 7 日齢より直径 50mm の塩化ビニル製パイプを用いて，夜間（20:00 ～ 21:00）に飼育水槽の 7 定点から 20 ～ 30L の飼育水を採水した。採水した飼育水中の仔魚数から容積法で水槽全体の生残尾数を推定した。さらに，全長およびワムシ摂餌個体数を測定するために，スジアラ仔魚を毎日 14:00 に飼育水槽から 30 個体採取した。仔魚を 5ppm に調整した m- アミノ安息香酸エチルメタンスルホネート（ナカライテスク株式会社）で麻酔後，スライドグラスに乗せ，万能投影機（V12-A，Nikon）で 20 ～ 50 倍に拡大し，デジタルノギス（Absolute DIGIMATIC，Mitutoyo）を用いて全長を 0.1mm 単位で測定した。ワムシ摂餌個体数の確認は，スライドグラス上で仔魚を軽く押し潰し，仔魚の消化管内のワムシの口器（咀嚼器）の数を光学顕微鏡（YS2-H，Nikon）下で計数した。なお，平均全長 20mm に達した 42 日齢に分槽を行った。

耳石輪紋観察および成長履歴調査　飼育試験期間中，5，10，20，30 および 40 日齢に飼育水槽から無作為に各 15 個体を採取した。個体の成長差が明確となった 50 日齢には仔稚魚を 50 個体採取した（Fig. 30）。

採取したサンプルは，99.5%エタノールで保存後，後日，耳石輪紋観察およびマイクロサテライト DNA 析に供した。40 日齢過ぎから，共食い行動が観察され始め，「共倒れ現象」（Fig. 31）も見られるようになった。共倒れした標本の被食魚（Prey：PR）および捕食魚（Cannibal：CA）の全長の関係式（TL_{PR} = 0.41 TL_{CA} + 8.57，r^2 = 0.57）が得られた（Fig. 32）。

捕食魚と被食魚の全長比を見ると 1.54 ± 0.12（1.27 ～ 1.82）であった。そのため本研究においては，この比の最小値 1.27 を使用し，50 日齢の供試魚において最小全長個体の 1.27 倍以上の全長を有する個体を「トビ」（LARGE）とし，供試魚全体を「トビ；LARGE」「モード；INTERMEDIATE」「ビリ；SMALL」の 3 群に分けた。各個体の耳石（礫石）を摘出し，耳石日輪紋測定システム（RATOC 社）を用いて各日齢の輪紋の増加幅および耳石径（OR）を測定した（Fig. 33）。推定全長は，得られた各耳石測定値から Back-calculation 法を用いて求めた。全長を推定するための Back-calculation には，基本的に実測値との残差が最も少ない Campana 法（Campana1990）を用いた。

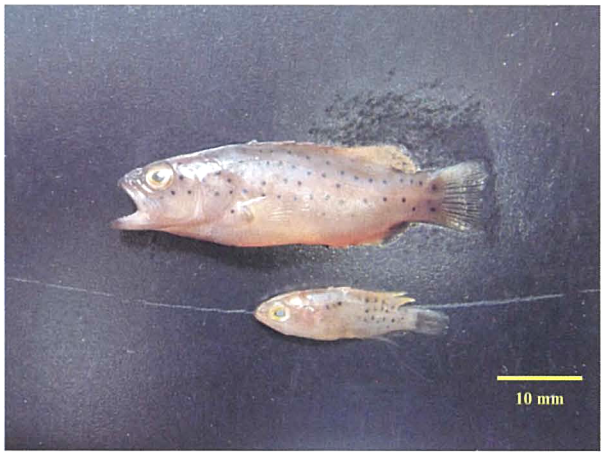

Fig. 30. Leopard coral grouper at 60 dph (Upper: LARGE TL 43.2 mm, lower: SMALL TL 23.3 mm).

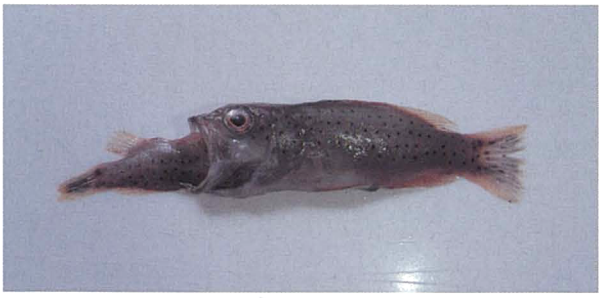

Fig. 31. A cannibal died from suffocation with the prey in its mouth at 60 dph (Cannibal: TL 47.2 mm, Prey: TL 27.2 mm).

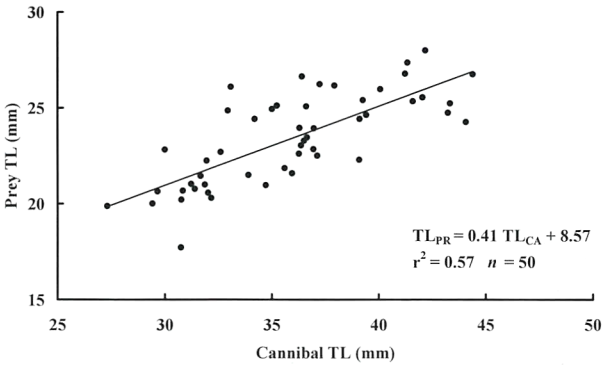

Fig. 32. Relationship between cannibal and prey total lengths in suffocation of leopard coral grouper.

親子判別（マイクロサテライト DNA 解析）　Fujii et al.（2010）の方法を改変し，スジアラのマイクロサテライト DNA 解析を行った。スジアラ親魚（n=43）の鰭および 50 日齢のスジアラ種苗（n=50）の筋肉から Agencort DNAdvance genomic DNA isolation kit（Beckman Coulter, Inc）を用いて，プロトコルに従ってゲノム DNA を抽出した。なお，DNA の増幅には MJ PTC-100（Bio-Rad Laboratories, Inc., U.S.A）を用いて行った。全サンプル個体について，マイクロ

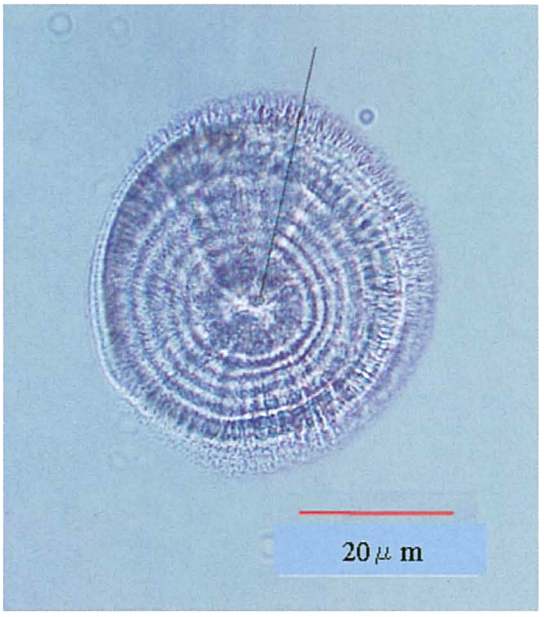

Fig. 33. Lapillus otolith of leopard coral grouper (20 dph, TL 9.0 mm).

サテライト7遺伝子座（E10，E190，E153，STR8，STR36，STR29，STR35）をポリメラーゼ連鎖反応（PCR）で増幅し，遺伝子型を決定した（Ozaki et al. 投稿準備中）。PCR反応は，PCR反応液10μL中に0.5 pmoL/μL 未標識プライマーと0.05 pmol/μL 蛍光エンドプライマー（with [5'-TET]），1 × PCR buffer，2.0 mM MgCl2，0.2 mM dNTP，1% BSA，0.025 unit の Taq DNA polymerase（Ex-Taq，タカラバイオ株式会社），鋳型DNA 25 ngを加えて行った。なお，アニーリング温度は，各マイクロサテライトマーカーの至適温度を使用した。この反応液を95℃で2分間初期加熱変性し，95℃ で30秒の変性，56～58℃ で1分のアニーリング，72℃で 1分の伸長を35サイクル繰り返し，最後に72℃で 3分の伸長反応を行った。PCR産物は同等量のLoading buffer（98% formamide，10 mM EDTA [pH 8.0]，0.05% bromophenol blue）と混合し，95℃で5分間加熱した後，直ちに氷で冷却した。7M urea と0.5 × TBE buffer を含んだ6% PAGE-PLUS ゲル（AMRESCO Inc., U.S.A）で電気泳動（1800V，1.5時間）を行い，終了後，FMBIO III Multi-View fluorescenceimage analyser（株式会社 日立ソリューションズ）を用いて泳動像を調べた。

統計処理　50日齢で3グループに分けられたサンプルにおいて，50日齢の全長の実測値および逆算推定された同一日齢の全長はKruskal Wallis test（$p<0.05$）の後，Steel-Dwass testで検定した。また，産卵雌親魚頻度組成の統計的有意差は，モンテカルロシミュレーションの10万回試行によるχ^2検定で検討した（Roff and Bentzen 1989）。さらに，親子判別後，雌毎に逆算推定された同一日齢の全長についてもKruskal Wallis test（$p<0.05$）の後，Steel-Dwass testで検定した。

結　果

親子判別（マイクロサテライトDNA解析）　マイクロサテライト解析で得られた多型情報により，実験に使用した受精卵は雌9個体に由来し，産卵には雄が5個体関与していたものと確認された（Fig. 34）。親子鑑定の結果から50日齢のスジアラ種苗には，14通りの雌雄の組合せが確認された（Table 7）。最も出現頻度が高いのは，雌親魚ではF1の15個体であり，次いでF2の12個体と，この2個体で半数以上を占めた。一方，雄親魚ではM1が40個体と8割を占めていた。

種苗生産　スジアラ仔魚の初期減耗状況を把握するための夜間計数は，24時間照明を6日齢まで施していたため7日齢より実施した。7日齢の生残率は47.7%であり，以降，ほぼ横ばいに推移し，10日齢の生残率は45.1%であった（Fig. 35a）。3日齢の全長は2.6 ± 0.1mm（平均±標準偏差，2.4～2.8）であり，以降は指数関数的な成長を示し（Fig. 35b），23日齢には平均全長が10mmを超え（10.9 ± 0.4mm，9.9～11.5），40日齢で平均19.8 ± 2.3mm（12.5～23.6），50日齢で平均25.46 ± 2.56mm（21.6～32.4）となり，56日齢で平均全長が306.6）となった。なお，20日齢過ぎより背鰭および腹鰭の伸長鰭条が収縮して稚魚期へ移

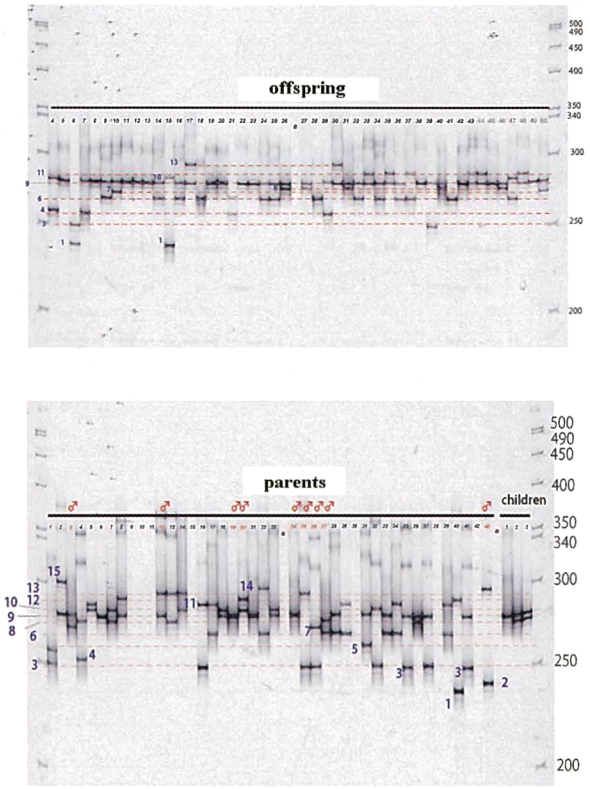

Fig. 34. Electrophoresis of the PCR products amplified using seven primer pairs

Table 7. Appearance distributions in each parent of leopard d coral grouper larvae at 50 dph (F; female parent, M; male parent)

Parent No.	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	Number of fish
M1	15	9	7	4	3		1	1		40
M2		3		1		1				5
M3			1	1						2
M4						2				2
M5									1	1
Number of fish	15	12	8	6	3	3	1	1	1	50

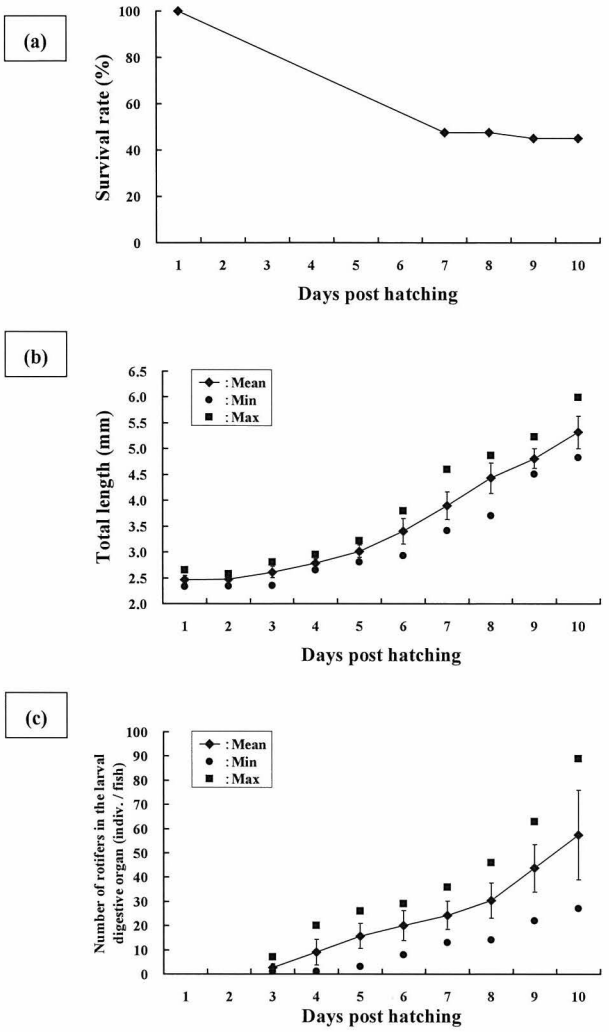

Fig. 35. Changes in (a) survival rate, (b) total length, and (c) the number of rotifers in the gut of leopard coral grouper larvae (n=30) in the rearing experiment. Bar indicates standard deviation.

行し始める個体が確認され，個体による発育の違いが認められた。

摂餌状況をみると，3日齢でスジアラ仔魚のワムシ摂餌個体率は100%であった。4日齢より摂餌された消化管内のワムシ個体数は仔魚によっては20個体以上の差があり，その後，8日齢では30個体以上，9日齢で40個体以上，10日齢では60個体以上と，その差がより大きくなる傾向を示した（Fig. 35c）。

成長履歴と逆算推定　50日齢におけるスジアラ供試魚の全長組成をFig. 36に示した（n=50，25.8 ± 2.7 mm，21.6 ～ 32.4）。【最小個体の全長の1.27倍以上の全長を有する個体をトビ（LARGE）】と定義した。これを基に3群に分けた結果，50日齢において最小全長個体は21.6mmであったことから，「トビ」は11個体（29.9 ± 1.7 mm），「ビリ」は11個体（22.7 ± 0.5 mm），これら以外は「モード」とし，28個体（25.4 ± 1.1 mm）に分けられた。なお，これら3グループの全長は互いに有意に異なっていた（p<0.01）。

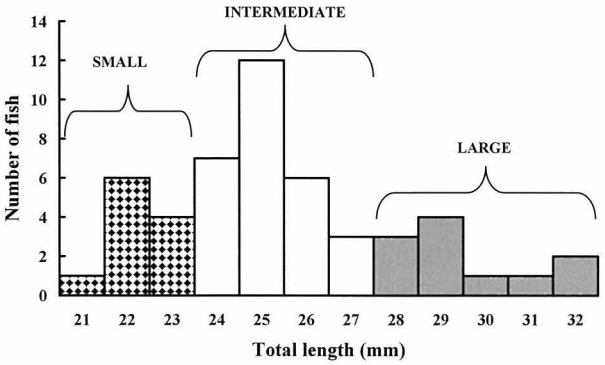

Fig. 36. Frequency distribution of total length of leopard coral grouper sampled at 50 dph (n=50, 25.8 ± 2.7 mm, mean ± SD).

飼育水槽から5～10日おきに採取したスジアラ仔魚140個体から，各試験においてFig.37のような全長（TL）と耳石径（OR）の関係が観測された。なお，耳石の日周輪紋は外部摂餌の始まった4日齢から形成され，1日に1本増加していた。全長と耳石径の関係において，耳石径が80μm付近で変曲点が存在した（Fig. 37）。スジアラの発育についてMasuma et al.（1993）の報告と照らし合わせた結果，耳石径が80μm付近の場合，postlarva期からjuvenile期へ移行する時期に一致していた。

全長を想定するために，前章と同様にCampana法（1990）を試行したが，実測値との適合状況が悪かったため，実測値との適合状況を検討した結果，本研究では，耳石径が80μm以下の場合は，回帰式 $TL = 1.35\ OR^{0.538}$（r^2=0.95）を，耳石径が80μmより大きいの

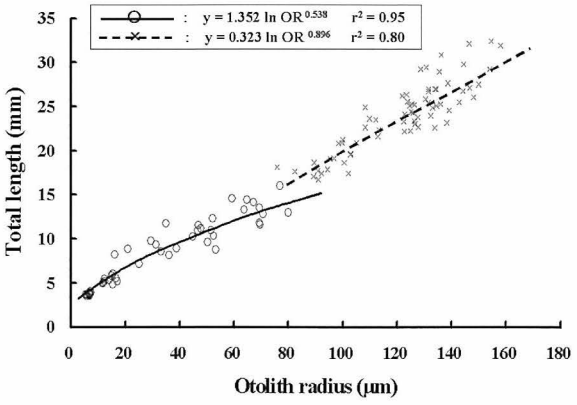

Fig. 37. Relationship between lapillus otolith radius and total length of leopard coral grouper larvae.

場合はCampana法により，LaおよびOaには，この区間での最小値である，La = ln（17.6mm），Oa = 82.4μmを用いた。

その結果，逆算推定された全長を基に，Fig. 38の通り3グループに分けられた50日齢の供試魚の成長履歴が得られた。「ビリ」の全長は，「トビ」と24日齢から（p<0.05 between 24～25 dph，p<0.01 after 26 dph），「モード」とは31日齢から（p<0.05 between 31～34 dph，p<0.01 after 35 dph），より小さかった。同様に「トビ」の全長は27日齢から「モード」よりも大きかった（p<0.05 between 27～30 dph，p<0.01 after 31 dph）。

成長への遺伝的影響　供試魚を「トビ」「モード」「ビリ」の3群に分けたが（Fig. 36），各々のグループに出現する雌親魚の状況をFig. 39に示した。50日齢における雌親魚出現頻度組成の均質性検定では有意差は認められず（χ^2値 = 17.4, P = 0.373），また成長についても，雌親魚毎による有意差は検出されなかった（Fig. 40）。

考　察

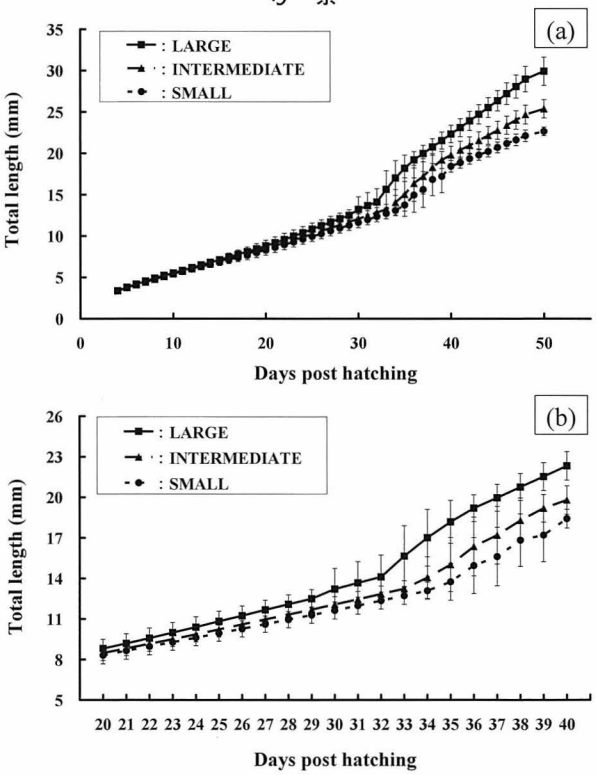

Fig. 38. Growth history of leopard coral grouper (a) from 4 dph to 50 dph (juvenile stage), and (b) from 20 dph to 40 dph determined by the otolith back-calculation. Plots and vertical bars indicate average and standard deviations, respectively. Total length of three size groups divided at 50 dph were significantly different each other (p<0.05, Steel-Dwass test).

今回供試したスジアラ種苗は遺伝マーカー調査によって，雌9個体，雄5個体のスジアラ親魚から得られたものであることが明らかになった。

照屋（1998）はスジアラ仔魚の至適飼育水温は28℃と報告している。また，Yoseda et al.（2006）は，スジアラ仔魚は28℃では52時間後に開口し，その後，初回摂餌が開口から6時間遅れると，5日齢での成長および生残に影響を及ぼすことを報告している。また，同じハタ科魚類のクエでは，飼育水へのワムシの至適給餌密度は20～30個体/mLと報告されているが（照屋，與世田2006），今回のスジアラ飼育期間中も飼育水のワムシ密度は20個体/mLi以上を維持していた。また，飼育水温は26.5～28.7℃（28.1 ± 0.3℃）で，摂餌開始は3日齢であり，3日齢での摂餌率は100%あった。そのため，本研究におけるスジアラ種苗生産過程においても，クロマグロと同様に餌料密度および飼育水温に関する影響は無かったものと考えられた。

雌家系毎の遺伝的影響による成長については，試験期間を通じて有意差が検出されなかった（Fig. 40）。また，50日齢における雌親魚出現頻度組成の均質性検定でも，有意差は認められなかった（Fig. 39，χ^2

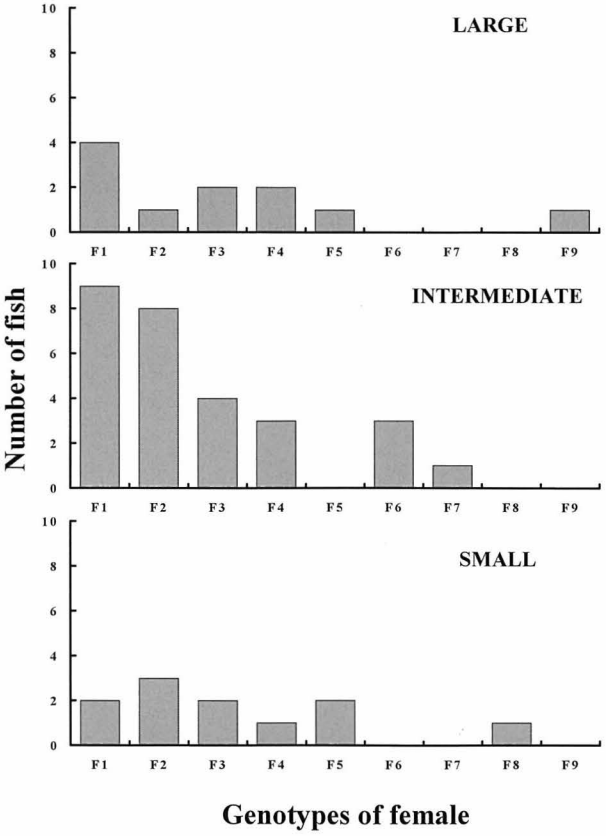

Fig. 39. Frequency distribution of each female of leopard coral grouper larvae sampled at 50 dph (n = 50).

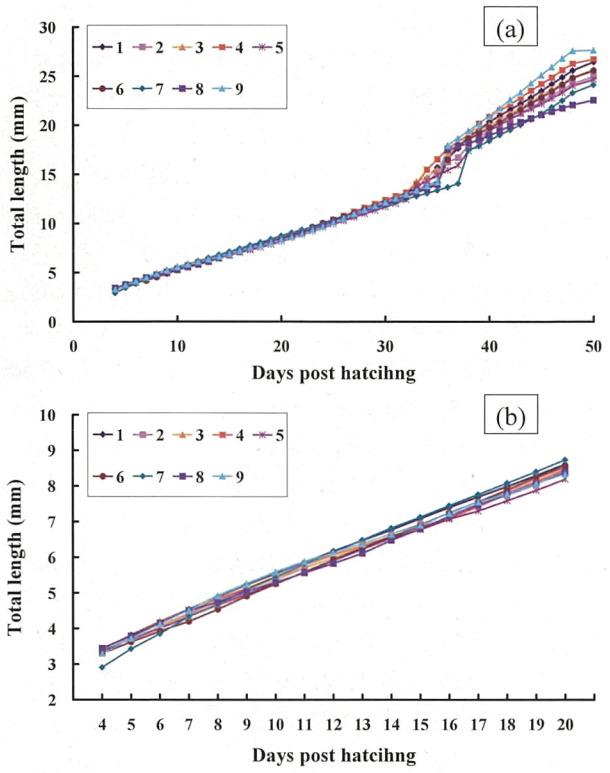

Fig. 40. Growth history of leopard coral grouper (a) from 4 dph to 50 dph (juvenile stage), and (b) from 4 dph to 20 dph determined by the otolith back-calculation about each parental female. Plots indicate average (n=50). Data was mean.

値 = 17.4, P = 0.373)。しかし，本研究の50日齢における3グループに分けられた供試魚は，20日齢過ぎから一部の個体に最大伸長期の背鰭および腹鰭棘が収縮して稚魚期へ移行し始める個体が確認され，発育の違いが認められた。仔魚期と稚魚期で形態の異なるウナギでは，成長の良い個体ほど早く変態が起こることが報告されている（塚本 1994）。また，カレイの一種 *Scophthalmus maximus* の仔魚では，同一日齢で体長が大きい個体はその後の成長が良く，逆に，体長の小さい個体は成長も良くないことが報告されている（Rosenberg and Haugen 1982）。本研究では，全長で分けた3グループの変態前における全長には明確な成長差が検出されなかった。Masuma et al.（1993）はスジアラの飼育で全長11.8mmで稚魚期に移行している個体を報告している。

本研究における「トビ」個体群において逆算推定した全長を見ると，Masuma et al.（1993）が報告している全長11.8 mmに達している個体が22日齢には出現し，27日齢には「トビ」の平均全長が11.8 mmサイズに達している（Fig. 38b）。また，「モード」個体群には25日齢に全長11.8 mmの個体が出現し，29日齢に平均全長が11.8 mm以上に達した（Fig. 38b）。これは，「モード」との全長に有意差が検出された日齢と符合した。

これらのことから，スジアラは，成長差の早い個体ほど変態開始時期が早くなり，その結果，食性が変わる変態以降に成長差が明らかになるものと推察された。

また，谷口ら（1988）は，飼育成績の良否は飼育環境要因によって大きく左右されることを前提としながらも，親間での成長因子や生残因子といった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。そのため，本研究において，統計処理上では遺伝的影響は認められなかったものの，変態開始時期のズレは少なからず遺伝的影響が関与していることは否定出来ない。その一方，自然産卵法による種苗生産では，親魚の種苗生産への貢献度や著しい家系構成の歪みまで予測することは不可能に近い（Sekino et al. 2003）。そのため，今後は更なる飼育試験の実施と使用する受精卵または仔魚の収容密度の均一化を図り，試験精度を高めることが必要であろう。

さらに，この飼育試験においてワムシは22日齢まで給餌され，アルテミア幼生は17日齢，配合飼料は25日齢から給餌を開始した。逆算推定した成長履歴から全長の有意差が認められたのは「トビ」と「ビリ」の間では24日齢からである。また，その後，「ビリ」が他の2グループに対して有意に小さくなり始めたのは，配合飼料を給餌し始めた後である。これについては，この時点における「ビリ」は未だ配合飼料を摂餌することが出来ないか，摂餌出来たとしても消化吸収機能の能力が乏しく，アルテミア幼生などの生物餌料に依存していたためと考えられた。Masuda et al.（2002）はマサバにおいて異なる餌料条件下で飼育した場合に仔魚の遊泳能力に違いが出ることを指摘している。また，ヒラマサでは給餌する餌料種の変更により成長差が増加すること（Moran 2007），大西洋マダラ *Gadus morhua* では短い仔魚期段階に至適餌料を摂餌することにより，その後の仔稚魚期の成長が改善されることが報告されている（Koedijk et al. 2010）。これらのことから，成長差はクロマグロと同様に餌料環境（種類，密度および物性など）によって発現し助長されることが考えられた。

以上のことから，スジアラの成長差は少なくとも雌親魚に由来する遺伝的影響は小さく，仔魚期から稚魚期へ早く変態完了後（着底完了後）に明らかになり，さらに餌環境によって助長されるものと考えられた。今後は，クロマグロと同様に試験精度を高めるために種苗生産試験における雌親魚毎に由来するふ化仔魚の

収容密度を均一化した上での事象把握が必要であり，また，使用する雌親魚の産卵履歴や卵径データと種苗生産試験結果を照らし合わせることが必要であり，さらに，父系効果の検討も必要であると考えられた。

第４章　総合考察

本研究で取り扱ったクロマグロは，養殖産業界で注目度が高く，世界的にも資源減少の危機が指摘されており，世界の関係機関で増養殖に関する試験研究の対象となっている。また，スジアラが属するハタ科魚類は，日本国内はもとより中国，東南アジア諸国およびオセアニアで増養殖技術開発研究が盛んに行われている魚種である。この２魚種はいずれも，成長が進むと魚食性を示す魚種である。種苗生産過程でみられる共食いは，種苗の体サイズ差によってその強度が増すことが知られている（Sakakura and Tsukamoto 1996, Sabate et al. 2009 b）。そのため，種苗生産過程において成長差が生じた場合，共食いによって種苗の生産数を低下させ，生産性を損なうこととなる。そのため，成長差がいつ，どのようにして生じるのかを調べることは，生物学上の興味のみならず，種苗生産技術開発においても重要な意義を持つと考える。よって，本研究ではこれらの魚種における成長差の発現機構について調査を行った。

その結果，クロマグロの成長差は，① 開口時の発現，② 飼餌料環境による発現，③ 減耗現象を起因とする発現，④ 特定の発育段階に移行後の発現，⑤ 遺伝的影響の５つの要因によるものと考えられた。スジアラの場合は，① 変態後（発育段階移行後）の発現，② 飼餌料環境による発現，③ 遺伝的影響の３つの要因によって成長差が生じると考えられた。ここで，成長差に関わる両種に共通の３要因と，クロマグロに認められた開口時および初期減耗の２要因に大きく分けられる。しかしながら，後者の２要因もまたスジアラの種苗生産過程の中で起こり得る現象であることから，クロマグロで挙げられた成長差の５要因を，本研究の対象とした２魚種に共通した要因であると捉えることにした。そして，本研究で得られた知見を基に，成長差発現の軽減策ならびに発現後の種苗生産現場における生産性向上のための対応策，さらには残された課題について考察した。

第１節　開口時の成長差発現

開口時の成長差の発現の原因には，卵径の大きさやふ化のタイミングの違いなどが考えられる。

大西洋マダラでは，卵径サイズに対して孵化仔魚の体サイズが正比例するが，得られた小型の仔魚は同一環境において大型の仔魚よりも生残率が低いことが報告されている（Marteinsdottir and Steinarsson 1998）。また，卵サイズが大きくなると，仔魚の初期摂餌の成功に有利に働くことが飼育実験によって明らかにされている（大西洋マダラ；Knutsen and Tilseth 1985，カタクチイワシ；今井，田中 1996，アジの一種 *Trachurus symmetricus*; Theilacker 1981）。本研究で使用したクロマグロおよびスジアラ受精卵のサイズ組成を見ると，Fig. 41，42 の通りとなった（クロマグロ，第２章第１節：卵径 0.97 ± 0.02 mm，平均±標準偏差，n = 100，変動係数 CV = 0.0200），第２章第２節：Exp 1［卵径 1.01 ± 0.02 mm，n = 100，CV = 0.0201］，Exp 2［卵径 1.00 ± 0.03 mm，n = 100，CV = 0.0312］，スジアラ，第３章：卵径 0.88 ± 0.02 mm，n = 100，CV = 0.0189）。卵径組成について，各々の変動係数

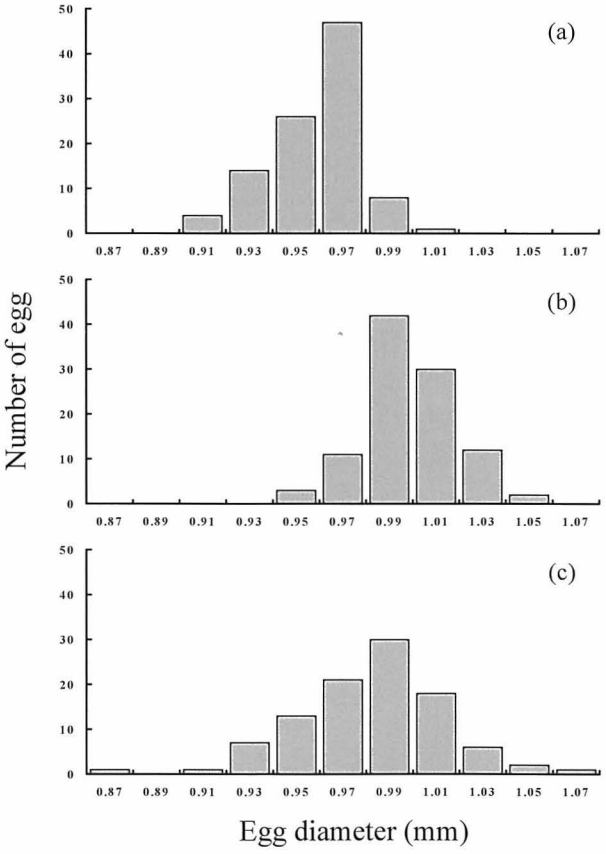

Fig. 41. Frequency distribution of egg diameter of fertilized eggs used in each rearing experiment, Pacific bluefin tuna in (a) Chapter 2, Section 1 [n = 100, Ave. 0.97 ± 0.02 mm, CV = 0.02], (b) Exp 1 [n = 100, Ave. 1.01 ± 0.02 mm, CV = 0.02] and (c) Exp 2 [n = 100, Ave. 1.00 ± 0.03 mm, CV = 0.03] in Chapter 2, Section 2

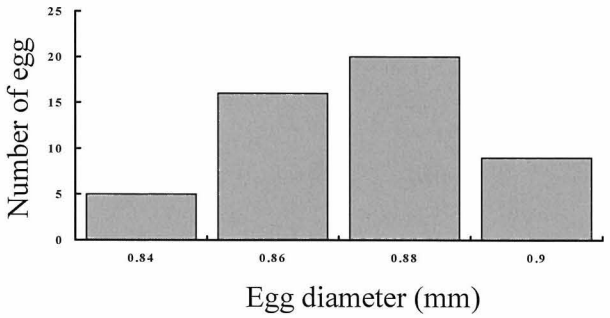

Fig. 42. Frequency distribution of egg diameter of fertilized eggs used in rearing experiment of Leopard coral grouper in chapter 3 [n = 100, Ave. 0.88 ± 0.02 mm, CV = 0.02].

(CV) を見ると，0.0200，0.0201，0.0312，0.0189 となり，クロマグロの1例（クロマグロ複数親魚：Fig. 40c）を除き，約 0.02 の範囲であった。本研究において，開口時から成長差が生じた事例は，クロマグロの一腹子における事例（Fig. 40a）のみであった。そのため，開口時に成長差が生じた原因として，卵径に起因する影響は少なかったものと推察された。

また，本研究で使用されたクロマグロの受精卵は，複数の親魚が混在する生簀網内で自然産卵されたものをプランクトンネットで回収して，これを陸上飼育施設に移し，ふ化管理された。このような採卵およびふ化管理条件下において，宮下ら（2000 a）は，受精卵ふ化水温が 24 ～ 29℃の間では，ふ化開始からふ化完了までの所要時間が 30 分から 2 時間 30 分の範囲であったことを報告している。ふ化が早く完了した仔魚ほど外部栄養への移行は早く，逆に孵化が遅い仔魚は外部栄養への移行が遅くなる。

したがって，日中に開口が起こった場合，ふ化時刻の早い仔魚ほど早く摂餌を開始し，より多くの時間を摂餌に費やすことができるようになる。一方，仔魚は基本的に visual feeder であるから，夜間には摂餌をしない（Sabate et al. 2009 a）。したがって，夜間に仔魚の開口が始まった場合には，夜明けに近い時間，すなわちより遅く孵化をした仔魚ほど，内部栄養を消費が少ない状態で外部栄養に移行する機会が増すことになる。以上のように，卵径とふ化時刻は仔魚の初期摂餌に影響を及ぼすことになる。実際，キジハタにおいて初期摂餌の可否で，その後の成長および生残に影響が出ることが報告されている（Yoseda et al. 2006）。本研究のクロマグロおよびスジアラの種苗生産に使用した受精卵において，ふ化管理水槽での目視観察でも，ふ化開始およびふ化完了時間に 1 ～ 2 時間程度の間隔が生じているのが確認された。そのため，このふ化時間の差が原因で，開口時において成長差が発現する場合があることが考えられた。

以上のように開口時に成長差が発現する事例については，種苗生産開始前に卵径測定やふ化状況を調べることにより，成長差の発現状況を予測することが可能となると考えられた。そのため，得られた受精卵の卵径選別やふ化の同調を促すといった対処を施すことにより，成長差の発現を抑制または軽減されるものと考えらる。また，このような受精卵を使用した場合，仔稚魚がハンドリングに強くなった段階でのサイズ選別を徹底的に行うことも一つの方法であり，種苗生産に使用しないことを検討する必要もあるだろう。

第 2 節　飼餌料環境による成長差発現

飼餌料環境による成長差の発現の原因には，餌密度餌量，物性および種類の違いなどが考えられる。

クロマグロ種苗生産現場において，飼育水中のワムシの最適給餌密度は 10 ～ 30 個体 /mL（Sawada et al. 2000）であることが，ハタ科魚類のクエでは，20 ～ 30 個体 /mL であることがそれぞれ報告されている（照屋，與世田 2006）。また，餌の量によって成長差が生じ，「トビ」の出現状況に違いが出てくること（コイ・ギンブナ；中村 1955）や成長速度が速くなることも報告されている（サワラ；Shoji et al. 1999）。本研究におけるクロマグロの種苗生産試験においては，飼育水中のワムシ密度は 10 個体 /mL 以上を維持しており，スジアラでは 20 個体 /mL 以上を維持していた。このことからも，本研究において餌料密度による成長への影響は無かったものと考えられた。

また，マサバ（Masuda et al. 2002）では，ワムシおよびアルテミア幼生などの動物プランクトン以外にマダイ仔魚を与えることにより，遊泳能力の発達過程が異なることが報告されている。これはマダイ仔魚がワムシやアルテミア幼生と比べて，マサバの発育，特に筋肉形成に適したエネルギー源になりやすいためとされいる。また，ヒラマサでは給餌餌料の変更により成長差が増加すること（Moran 2007），大西洋マダラでは短い仔魚期段階に至適餌料を摂餌することにより，その後の仔稚魚期の成長が改善されることが報告されている（Koedijk et al. 2010）。本研究において，クロマグロでは 15 日齢からアルテミア幼生の給餌を開始し，スジアラでは 17 日齢からアルテミア幼生，25 日齢から配合飼料を給餌した。そのため，これら新たに給餌された飼餌料により骨格または筋肉などの発育が促進されたことが考えられた。その結果，クロマグロでは 15 日齢（第 2 章第 2 節），スジアラで 25

日齢から統計学的に成長差が拡大する結果となったと考えられた。

これらのことから，与える飼餌料の量および物性などを改善すると共に，発育状況に合わせた飼餌料を給餌することにより，成長差を軽減させることが可能であると考えられた。

第3節　減耗現象を起因とする成長差発現

種苗生産過程に生じる減耗現象としては，浮上死，沈降死，疾病および飼育環境の変化が知られている。

特に，本研究においてクロマグロで発生した沈降現象（Tanaka et al. 2009, Masuma et al. 2010）は，主な減耗原因の一つであり，他魚種（クロダイ；北島ら 1997，ブリ；山崎ら 2002，クエ；照屋 20003，マツカワ *Verasper moseri*; 萱場ら 2003，キハダ *T. albacares*; 木村ら 2004，カンパチ；Papandroulakis et al. 2005，照屋ら 2009，キジハタ；南部ら 2006，スジアラ；武部ら 2010）でも報告されている。Tanaka et al.（2009）は沈降現象が2日齢より観察され，5日齢にピークがあることを報告している。本研究でも，クロマグロでは全飼育試験において2日齢から8日齢までの間に沈降現象が発生したものと推察された。また，スジアラにも小型水槽を用いた実験で3日齢以降の仔魚に沈降現象が生じることが報告されているが（武部ら 2010），本研究において採られた飼育手法により，沈降現象による減耗を抑制できたものと考えられた。そのため，スジアラでは沈降現象を切っ掛けとする成長差の発現は認められなかった。一方，クロマグロについては，夜間の通気量の調整（宮下 2006，田中ら 2010）や夜間照明（石丸ら 2010 口頭発表，久門ら 2010 口頭発表）によって，沈降現象が軽減されることが報告されている。今後，安定的に沈降現象を軽減・抑制できる飼育技術の開発が急務であると考えられた。

また，仔魚の減耗要因として浮上死（キジハタ；Yomaoka et al. 2000，マハタ；塩谷ら 2003，クロマグロ；宮下 2006，スジアラ；Yoseda et al. 2008）が知られているが，その軽減・抑制方法に関する研究報告は多く，通気および注水方法（Sakakura et al. 2006, 2007a），水槽の形状（Ruttanapornvareesakul et al. 2007），水面で波を形成する飼育方法（Sakakura et al. 2007b），フィードオイルの添加（Yomaoka et al. 2000，土橋ら 2003）などの効果が検討され，浮上死による大量減耗を軽減する試みがなされ，量産化に繋がる成果が挙げられてきている。本研究で扱った2魚種においても，浮上死の報告があるが，実験期間中に浮上死による甚大な減耗は認められなかった。しかし，種苗生産期間中の仔魚観察に注意を払い，浮上死を発現させるような要因の排除（照度変化，エアレーション量変化など）し，安定的に飼育が行えるような技術の高度化は必要である。

さらに，本研究の魚種において共通かつ重大な疾病としてウイルス性神経壊死症（VNN）が挙げられる（スジアラ；狩俣ら 2005，クロマグロ；西岡ら 2010）。VNN の防除方法については，ELISA 法または PCR 法を用いたウイルス陰性親魚の選別（シマアジ；室賀ら 1998，マツカワ；渡辺ら 1998 マハタ；照屋 2004），受精卵の消毒方法（シマアジ；室賀ら 1998，ヒラメ；三村ら 1998a，1998b，マツカワ；渡辺，吉水 2000），飼育器具の消毒（マツカワ；渡辺，吉水 1998）および飼育に使用する殺菌水の検討（クロマグロ；手塚ら 2004）など様々な知見が得られてきた。その結果，近年 VNN の発生事例が減少してきており，これらの防疫対策を毎年継続的に施すことにより，VNN の発生事例は低下するものと考えられる。

飼育環境の変化については，飼育水槽への新鮮海水の注水手法の改善（ヒラメ；阪本ら 1998，クエ；照屋 2003，ブリ；山本ら 2004）および貝化石の添加（クエ；本藤ら 2003，小金，兼松 2004）などにより生残率が高まること，もしくは安定することが報告されている。クロマグロおよびスジアラの種苗生産においても，これらの手法は試みられているが，その効果は判然とはしていない。しかし，他魚種において効果が得られていることから，積極的に試行することは無駄ではないと考える。

本研究においてクロマグロの事例では，沈降現象を切っ掛けに成長差が発現することが確認された。そのため，不本意ながらも種苗生産過程において，これらの減耗現象が発生した場合，それを引き金に成長差が生じるため，仔稚魚がハンドリングに強くなった段階でのサイズ選別を徹底的に行うことにより共食い現象による減耗が軽減されるものと考えられた。しかし，VNN などの疾病による減耗後の飼育の継続は，飼育施設への病原体の蔓延または常在を招くことになりかねないので，細心の注意を払う必要がある。また，飼育を中止することを検討することも必要であると考える。

第4節　発育段階移行後の成長差発現

前述した種苗生産を行う以前の要因，すなわち卵径およびふ化タイミング，そして，餌料環境および各種減耗要因による成長差発現要因が抑制・軽減され，初

期飼育手法が高度化された場合，普遍的に成長差が発現する時期は，魚種毎の成長・発育特性（個性）が発揮される時期・体サイズということになる。

本研究においてクロマグロでは，まず沈降現象を切っ掛けに成長差が発現した。そして，flexion 期から postflexion 期に移行した後，成長差が拡大する傾向が認められた。Miyashita et al.（2001）はクロマグロは postflexion 期から上顎および下顎に歯が生えてくることを報告している。また，Sabate et al.（2010）は本種が flexion 期から稚魚期にかけて，遊泳速度が速くなり，つつき合い行動が増加すること，そして，この行動は摂餌能力の発達であることを報告している。さらに，つつき合い行動は共食い（摂餌）行動に直接関連があるとしている。また，スジアラと同じハタ科のマハタ（北島ら 1991）やチャイロマルハタとタマカイの交雑魚（Koh et al. 2010）では，仔魚期から稚魚期への変態が完了した後から共食い行動が観察される。本研究におけるスジアラの事例でも 22 日齢から稚魚段階に移行した個体が出現し，つつき合い行動が観察されるようになった。そして，24 日齢に成長差が生じるという結果となった。このように，形態変化に伴う食性の変化が起こることによって，その後の成長は，飼餌料環境に左右され，そして，それに適応できた個体が良好な成長を示すことが考えられた。それゆえ，発育状況に応じた餌料系列を構築することが肝要であろう。

また，発育段階が稚魚期に移行してから成長差が明瞭になるという現象は，ブリ（長倉ら 2003）やヒラメ（Sakakura et al. 2004）で報告されている。これら 2 魚種は種苗生産技術が確立されている種であり，飼育初期の生残率は 50 ～ 90%と高いものである。本研究におけるスジアラの事例でも，変態以前には明らかな成長差は発現していない。また，10 日齢までの生残率も既存の飼育方法（照屋 1998，Yoseda et al. 2008，與世田 2008）で 5%程度であったのに対して，本研究で採られた種苗生産手法では 10 日齢での 40%以上を示したことから，スジアラにとっては有効な飼育方法であると考えられた。このことから，クロマグロでは飼育手法の改善により減耗要因，特に沈降現象が抑制または軽減された場合，成長差が flexion 期から postflexion 期の間に発現することが予想される。

以上のように，飼育技術が高度化された場合，魚種毎に成長差の生じる発育段階にターゲットを絞り，共食いなどを起こす魚種ではサイズ選別を施すことにより，減耗が軽減され生産性が向上することになる。また，共食いをしない魚種においてもサイズ選別を施し，適正な飼餌料を与えることにより，魚食性であるヒラマサ（Moran 2007）および大西洋マダラ（Koedijk et al. 2010）で報告されている事例のように，成長が改善されることが考えられた。

第 5 節　遺伝的影響による成長差発現

残された問題として遺伝的影響による成長差の発現について考察する。

クロマグロ（第 2 章第 2 節）では，21 日齢でサンプリングした稚魚において，各サイズに出現する雌家系に由来する遺伝子の組成均一性について統計処理を行った。その結果，試験 1 では家系の組成は均一で（Fig. 23，χ^2 値 = 30.2，P = 0.055），試験 2 では家系による偏りが認められた（Fig. 24，χ^2 値 = 44.2，P = 0.001）。スジアラの場合は，50 日齢時点では均一性について有意差は検出されなかった（Fig. 39，χ^2 値 = 17.4，P=0.373）。しかし，クロマグロの 2 試験において，P 値が試験 1 で【0.055】，試験 2 では【0.001】という値であり，成長差の発現には，少なからず遺伝的影響があることが示唆されるものであった。また，逆算推定された成長過程についてハプロタイプ別（Fig. 25, 26, 40）にみると，いずれの事例においても，ハプロタイプ間での明確な差は検出されなかった（Table 5, 6）。しかし，統計的有意差が検出されないまでも，逆算推定された全長は，サンプリング時にクロマグロ（Fig. 25, 26）では最小と最大で 2 倍以上（10mm 以上）の開きが，スジアラ（Fig. 40）では 5 mm 以上の差が生じていた。これら全長差（成長差）は，飼育現場の担当者の目視観察感覚からすると【成長差が生じている】という印象である。さらに，クロマグロおよびスジアラにおいて，成長差が明らかになった時点でサンプリングを行った個体で，全サンプルに対する「トビ」への出現割合を見てみると（Fig. 43-45），「トビ」に出現しやすい家系として認識されてしまうものがある。本研究において，特にクロマグロの 2 事例では種苗生産に供試した受精卵の由来は同一親魚群であった。その中でハプロタイプ No. 2 および No. 3 は，両試験ともに「トビ」に出現する確率が高いもの（60%以上）として認識されるであろう。ヒラメにおいて家系間によって初期の成長に差があることが推察されている（Sekino et al. 2003）。さらに，マダイ（谷口ら 1995），コイ（Brodya et al. 1976, 1980）およびグッピー *Poecilia reticulata*（Nakajima and Fujio 1993）では，成長に係る選択育種において一定の遺伝的な選抜の効果があることが報告されている。これらのことから，魚類の成長差の発現には少なからず遺伝的な影響が作用していることが示唆された。しかし，本研究で使用

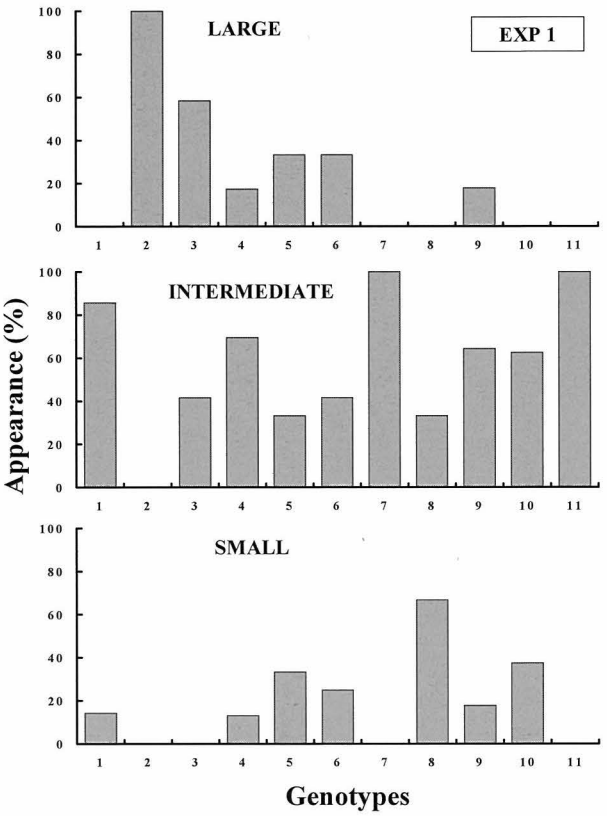

Fig. 43. Appearance of haplotypes of Pacific bluefin tuna sampled at 21 dph of EXP 1 (n=100)

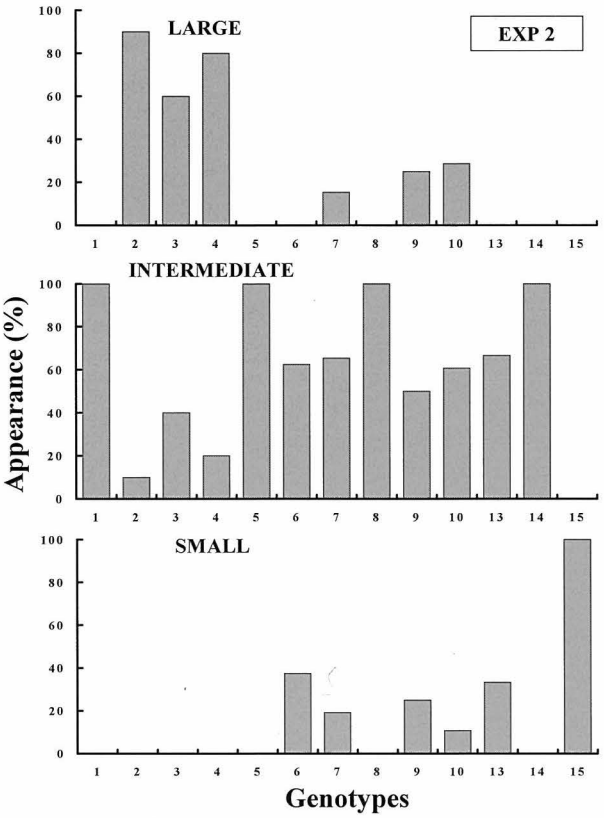

Fig. 44 Appearance of haplotypes of Pacific bluefin tuna sampled at 21 dph of EXP 2 (n=100).

した受精卵はいずれも自然産卵によるものである。自然産卵法による種苗生産では，親魚の種苗生産への貢献度や著しい家系構成の歪みまで予測することは不可能であることが指摘されている（Sekino et al. 2003）。これは開口時の成長差発現（第4章第1節）で述べた要因にも直接関わることであり，産卵に関与した雌によって，産卵したタイミングや産出された卵の卵径の大きさも考慮されるべきことであり，一概には【遺伝的影響】として結論づけられない。また，本研究におけるクロマグロ受精卵については，雄親魚の関与状況が把握されていない状況である。クロマグロの産卵には，雌1個体に対して複数の雄個体が関与すること（宮下ら 2000 b）が報告されている。また，本研究におけるスジアラの事例においても，複数の雄親魚の産卵への関与が確認された。そのため，育種研究的観点による成長形質の母性効果ならびに父性効果の判定について試験精度を高めるためには，クロマグロ以外の魚種においても人工採卵技術などによって受精タイミングを同調させたり，卵径選別を施したりするなどの種苗生産開始前において，条件を均一化する必要がある。また，水温や餌料環境による影響もあることから，試験区を多数設定したり，飼育試験を反復的に行うなど

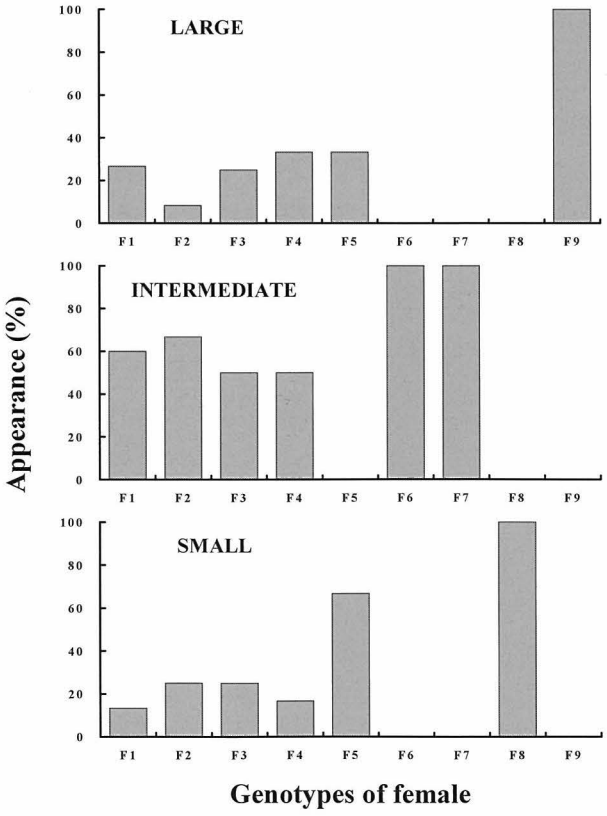

Fig. 45. Appearance of each female of leopard coral grouper larvae sampled at 50 dph (n = 50).

したりすることで，成長差の発現傾向を把握することが必要であると考える。しかし，親魚間での成長因子や生残因子といった遺伝的差異が潜在的に関与していることを示唆されているが（谷口ら 1988），飼育成績の良否は飼育環境要因によって大きく左右されることからも，種苗生産技術の安定化および高度化が必須であると考える。

第6節　総括

本研究ではクロマグロおよびスジアラの成長差発現機構を解明した。主な発現時期は，① 開口時の発現，② 飼餌料環境による発現，③ 減耗現象を起因とする発現，④ 特定の発育段階に移行後の発現，⑤ 遺伝的影響の5つの要因によるものと考えられた。これらの要因において，① 開口時の発現，③ 減耗現象を起因とする発現，④ 特定の発育段階に移行後の発現については，いずれも成長差発現の予測が可能であり，そのため，それぞれに対応が可能な選別作業などを施すことにより，共食いによる減耗を軽減させられると考えられた。また，② 飼餌料環境による発現については，その魚種にあった給餌方法および餌料系列の再検討することで対応が可能であると考える。

種苗生産過程でみられる共食いは，種苗の体サイズ差によってその強度が増すことが知られている（Sakakura and Tsukamoto 1996, Sabate et al. 2009 b）。他魚種における「トビ」の出現割合は，コイ（吉田実習場 1936，山田 1936），ブリ（Sakakura and Tsukamoto 1998 a）およびヒラメ（Sakakura 2006）で報告がある。コイにおける吉田実習場の事例では，全取り揚げ個体の最小体長個体の1.5倍以上の体長を有する個体の出現割合は5%，2倍以上のものでは0.1%であった。また，山田（1936）の事例では，試験終了時の取り揚げ個体数が839個体であり，これらの体長は6.459 ± 2.868 cm（平均±標準偏差，2.25 ～ 22.5）であった。そして，全サンプルの平均体長の1.5倍以上の稚魚の出現割合は13.8%，2倍以上の大きさの個体の出現割合は4.4%であった。また，ブリ（Sakakura and Tsukamoto 1998 a）およびヒラメ（Sakakura 2006）では，社会的ランクでクラス分けされているが，それらは基本的にサイズ差を反映していた。これら2種の稚魚の社会的ランクが最上位のもの，すなわち「トビ」の出現割合は，ブリで10 ～ 20%，ヒラメでは約37%であった。共食いによる種苗の損失状況は，ブリの種苗生産において，共食いが確認されてから2週間の間に60%以上が死亡することが報告されている（Sakakura and Tsukamoto 1998 b）。また，ヒラマサ（蛭子ら 1993）では20日齢から35日齢までに80%以上，チャイロマルハタ（Takeshita and Soyano 2009）では全長30 mmサイズにおける減耗割合は28.3 ～ 36.1%であることが報告されている。クロマグロでは共食いによって全滅に近い飼育事例も経験的に知られている。そのため，あるクロマグロ種苗生産研究機関では，仔稚魚がつつき合い行動が観察される段階で選別作業を専属的に行う臨時職員を雇い，つつき合い行動する個体または共食いにおける補食魚を徹底的に選別し，生産性を向上させるような努力をしている。また，マハタ（Sabate et al. 2009 b）では後期仔魚期から攻撃行動が観察されるようになり，着底生活に移った稚魚期から増加することが報告されている。他のハタ科魚類において着底生活に移行する全長は，ヤイトハタ44 mm（濱本ら 1986），キジハタ30 mm（水戸ら 1967，Fukuhara and Fushimi 1988），クエ30 mm（真鍋，春日 1989），マハタ30.8 mm（北島ら 1991），スジアラ35 mm（Masuma et al. 1993）である。また，ブリ（Sakakura and Tsukamoto 1998 a）でも稚魚期に攻撃行動が増加すること，ヒラメ（Sakakura 2006）では着底生活に移った稚魚期から増加することが報告されている。チャイロマルハタでは，サイズ選別によって共食いによる減耗を抑制するには限界があることも報告されているが（Takeshita and Soyano 2009），クエ，マハタやキジハタでは，共食い現象が激しくなる以前に取り揚げ，サイズ選別を施すことが，種苗の生産数を高めるのに有効であるとされ（照屋 私信），ハタ科魚類の種苗生産機関では実施されている。また，ブリでもサイズ選別を施すことにより，サイズ選別を行わないものより，生残数に3倍の開きが生じることが報告されている（Sakakura and Tsukamoto 1998 b）。これらのことから，特定の発育段階に移行後（クロマグロ；稚魚期に移行後，スジアラ；着底生活に移行後）にサイズ選別を行い，分別飼育を行うことで種苗の生産数を向上させることが可能になると考える。

また，つつき合い行動または共食い行動が，何に起因して発現するのかを精査することにより，その対応策も考えられることになる。クロマグロでは，攻撃行動または共食い行動は，空腹時に観察されることが報告されている（Sabate et al. 2009 a，2010）。そのため，給餌手法を工夫し改善することにより，クロマグロ仔稚魚の空腹時間を短縮することで共食い行動は軽減できるものと考えられる。また，マハタの攻撃行動は縄張り行動に起因することが知られている（Sabate et al. 2009 b）。また，ブリではパッチ内の個体間干渉を軽減するために，稚魚期に攻撃行動が増加することが報告されている（Sakakura and Tsukamoto 1998 a）。

そのため，種苗生産現場では飼育水槽内の種苗密度を下げるように分槽を施すことが肝要である。また，ハタ科魚類は visual feeder であることが知られている（Yoseda et al. 2008）。ヒラメではナンノクロロプシス（100 万細胞 /mL）を飼育水に添加して飼育した場合と添加しないで飼育した場合では，添加しない水槽では共食いによる「トビ」が出現することが報告されている（岡内 2005）。これは，飼育水中にナンノクロロプシスが添加されたことにより，飼育環境が暗黒状態に保たれ，視覚情報が低下し，共食い行動が緩和されたためとしている。そのため，共食いをする魚種においては，飼育水へのナンノクロロプシスなどの微細藻類の添加により濁度を調整し，魚の視覚を鈍らせるといった手法も共食い行動を抑制・軽減させるためには必要な試みではないかと考えられた。

以上のことから，本研究で得られたクロマグロおよびスジアラでの知見は基本的に他の養殖対象魚種において共通な問題項目であり，その成果は他魚種にも広く活用されるものと考えられた。その結果，魚類養殖業において，生残率を高め生産尾数も増加させることから，生産性および採算性の向上に寄与するものである。また，育種研究を進めていく上で重要な知見であり，魚類養殖業に貢献する重要な成果であると考える。

謝　辞

本研究をまとめる機会を与えられ，常に懇切丁寧な指導と校閲を賜り，また魚類飼育においても様々なご助言を賜り，その結果に一喜一憂して下さった長崎大学 阪倉良孝教授に謹んで深謝の意を表します。さらに，同 萩原篤志教授，征矢野 清教授には論文全体に亘って有益なご助言を戴き深謝の意を表します。

日本海水産研究所資源生産部部長 升間主計博士には，クロマグロの種苗生産技術開発に取り組む機会を与えて戴き，また本論文をまとめる契機と激励を，そして，特に良き人達との出会いを与えて戴き，感謝の念に堪えない。ここに改めて深謝いたします。

また，クロマグロの種苗生産技術開発に取り組むに当たり，（独）水産総合研究センター奄美栽培漁業センター（現 西海区水産研究所まぐろ増養殖研究センター奄美庁舎）において，一緒に仕事をして戴いた手塚信弘主任研究員（現 日本海区水産研究所資源生産部），二階堂英城主任研究員，また，本研究を進めるに当たり，井手健太郎研究員（現 増養殖研究所養殖技術部），久門一紀主任研究員，田中庸介博士，西 明文研究員，尾花博幸係員（現 水産総合研究センター本部総務部），今泉 均主任研究員（現 増養殖研究所養殖技術部）および塩澤 聡グループ長には，ご支援とご協力を賜りました。ここに厚くお礼申し上げます。さらにクロマグロ受精卵の回収や海上飼育を補助して戴いた川上栄一嘱託職員，PCR-RFLP 分析とデータの取り纏めを手伝って戴いた富岡江利嘱託職員，人生の転機を与えてくれた徳田かおり元契約職員を始め奄美栽培漁業センター職員の方々に感謝の気持ちを表します。

スジアラの種苗生産技術開発に当たり，西海区水産研究所亜熱帯研究センターにおいて，様々なアドバイスやご助力を戴いた奥澤公一博士（現 増養殖研究所養殖技術部），小林真人博士，佐藤 琢博士，浅見公雄研究員（現 瀬戸内海区水産研究所増養殖部），照屋和久博士，スジアラ種苗生産業務全般においてアシストをして戴いた津波愛子契約職員および小村正彦嘱託職員，文献整理やプレゼン資料作成を忙しい中，手伝って戴いた志鷹真理子契約職員を始め亜熱帯研究センター八重山庁舎の方々に感謝の気持ちを表します。

さらに，本稿をまとめるに当たり，遺伝子解析の実施および助言して戴いた鈴木伸明博士（西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎），尾崎照遵博士（増養殖研究所養殖技術部），宇治 督研究員（増養殖研究所養殖技術部），統計処理においてアドバイスを戴いた栗原健夫博士（現 西海区水産研究所有明海・八代海漁場環境研究センター），耳石観察においてアドバイスを戴いた山田秀秋博士（西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎）に感謝の気持ちを表します。

また，当方に種苗生産技術を始めとする栽培漁業技術開発業務に対する心構えを教授して戴いた町田雅春主任研究員（現 日本海区水産研究所資源生産部），藤本 宏グループ長（現 日本海区水産研究所資源生産部），白井重行氏（元（社）日本栽培漁業協会 技術員），尾野 久氏（元（社）日本栽培漁業協会 技術員）に，この場を借りて心から感謝の意を表します。また，（社）日本栽培漁業協会屋島事業場（現 瀬戸内海区水産研究所屋島庁舎）に赴任中，淺岡春実元契約職員およびご家族の方々には，支援，激励を下さいました。ここに厚くお礼申し上げます。

日本大学 廣瀬一美名誉教授には，学生時代から今日に至るまで公私共々に，並々ならぬご高配を賜った。特に，この水産研究分野に対して道筋を示してくれたことについては，当方が持ちうる全ての感謝の気持ちをもってしても表現できないものである。この場を借りて心から深謝の意を表します。

最後に，このような激務に耐えられるように健常な身体に産み育ててくれた父・總順，母・芳枝に，この場を借りて心から感謝の意を表します。さらに，妻・

寿乃には家庭を守り，家族の日常生活を支えてくれたこと，また息子・隼翔，娘・那央には日々の生活への張り合いを与えてくれたことに心から感謝する。

引用文献

Adams C, Huntingford F, Turnbull J, Arnott S, Bell A (2000) Size heterogeneity can reduce aggression and promote growth in Atlantic salmon parr. *Aquacult Int* **8**: 543-549

荒川敏久・石崎靖朗・中田　久・清水　健・有元　操・竹内俊郎（2001）飼育および天然ブリ稚魚の一般成分および無機質含量の比較．日本水産学会誌 **67**: 794-800

Brodya T, Moav R, Abramson ZV, Hulata G, Wohlfarth G (1976) Applications of electrophoretic genetic markers to fish breeding. II. Genetic variation within maternal half-sibs in carp. *Aquaculture* **9**: 351-365

Brodya T, Storcha N, Kirshta D, Hulata G, Wohlfarth G, Moav R (1980) Application of electrophoretic genetic markers to fish breeding: III. Diallel analysis of growth rate in carp. *Aquaculture* **20**: 371-379

Brownell CL (1985) Laboratory analysis of cannibalism by larvae of the cape anchovy *Engraulis capensis*. *Trans Am Fish Soc* **114**: 512-518

ブリの種苗生産技術開発（栽培漁業技術シリーズ）（2006）社団法人 日本栽培漁業協会 東京：p21-25, p38

Campana SE (1990) How reliable are growth back-calculations based on otolith? *Can J Fish Aquat Sci* **47**: 2219-2227

Campana SE, Jones CM (1992) Analysis of microstructure data. *Can Spec Publ Fish Aquat Sci* **117**: 73-100

Chi X, Wang J, Song S, Su Y (2007) Study on the breeding selection of thermal tolerance flounder (*Paralichthys olivaceus*) by a molecular marker. *J Xiamen University* (*Natural Science*) **46**: 693-696

Danzmann RG, Ferguson MM (1995) Heterogeneity in the body size of Ontario cultured rainbow trout with different mitochondrial DNA haplotypes. *Aquaculture* **137**: 231-244

出村雅晴（2010）クロマグロの資源問題とわが国マグロ養殖をめぐる動向．農林金融 **6**: 50-61

海老沢明彦（1998）スジアラの資源生態調査（水産生物生態調査）．平成８年度 沖縄県水産試験場事業報告書，沖縄：37-40

海老沢明彦（1999）スジアラの資源生態調査（水産生物生態調査）．平成９年度 沖縄県水産試験場事業報告書，沖縄：33-38

蛭子亮制・立原一憲（1993）ヒラマサ種苗生産における共食いによる減耗．長崎県水試研報，**19**: 1-7

FAO (2006) The state of world fisheries and aquaculture, Rome. 123-124

Fuji K, Yoshida K, Hattori K, Ozaki A, Araki K, Okauchi M, Kubota S, Okamoto N, Sakamoto T (2010) Identification of the sex-linked locus in yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture* **308**: S 51-S55

Fujimoto K, Yamamoto T, Sudo M, Haga Y, Kurata M, Okada T, Miyashita S, Sawada Y, Kumai H (2008) Neutral lipid deposition in larval and juvenile Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, under different rearing temperatures. *Aquacult Sci* **56**: 19-30

Fukuhara O and Fushimi T (1988) Fin differentiation and squamation of artificially reared grouper, *Epinephelus akaara*. *Aquaculture* **69**: 379-386

藤田　清（1998）マグロの種類と生態．マグロの生産と消費（小野征一郎 編），成山堂書店，東京：1-48

藤田智也（2011）全国の種苗生産および種苗放流の状況について ～平成21年度 栽培漁業種苗生産，入手，放流実績（全国）より～．豊かな海 **23**: 46-54

Georgiadis MP, Hedrick RP, Johnson WO, Gardner IA (2000) Mortality and recovery of runt white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) in a commercial farm in California, USA. *Prev Vet Med* **43**: 269-281

Hseu JR (2002) Effects of size difference and stocking density on cannibalism rate of juvenile grouper *Epinephelus coioides*. *Fish Sci* **68**: 1384-1386

Hseu JR, Chang HF, Ting YY (2003) Morphometric prediction of cannibalism in larviculture of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture* **218**: 203-207

Hseu JR, Hwang PP, Ting YY (2004) Morphometric model and laboratory analysis of intracohort cannibalism in giant grouper *Epinephelus lanceolatus fry*. *Fish Sci* **70**: 482-486

Hseu JR, Shen PS, Huang WB, Hwang PP (2007

a) Logistic regression analysis applied to cannibalism in the giant grouper *Epinephelus lanceolatus fry*. *Fish Sci* **73**: 472-474

Hseu JR, Huang WB, Chu YT (2007 b) What causes cannibalization-associated suffocation in cultured brown-marbled grouper, Epinephelus fuscoguttatus (Forsskål, 1775)? *Aquacult Res* **38**: 1056-1060

濱本俊策・真鍋三郎・春日　公・野坂克巳（1986）ヤイトハタ *Epinephelus coioides*（Lacépède）の水槽内産卵と生活史．栽培技研 **15**: 143-155

本藤　靖・照屋和久・高橋　誠（2003）貝化石添加によるクエ種苗生産手法の有効性について．栽培漁業センター技報 **1**: 52-54

Imai C, Tanaka S (1987) Effect of sea water temperature on egg size of Japanese anchovy. *Fish Sci* **53**: 2169-2178

Itoh T, Shiina Y, Tsuji S, Endo F, Tezuka N (2000) Otolith daily increment formation in laboratory reared larval and juvenie bluefin tuna *Thunnus thynnus*. *Fish Sci* **66**: 834-839

今井千文・田中昌一（1996）摂餌開始時期のカタクチイワシ仔魚の生残能力に対する卵サイズの影響．日本水産学会誌 **64**: 8-15

石丸千紗子・久門一紀・田中庸介・西　明文・江場岳史・樋口健太郎・二階堂英城・塩澤　聡・阪倉良孝・升間主計（2010）24時間照明がクロマグロ仔魚の生残，成長，及び摂餌に与える影響．平成21年度日本水産学会春季大会講演要旨集，p34

岩井　保・中村　泉・松原喜代松（1965）マグロ類の分類学的研究．京大みさき臨海研究所特別 研究報告，京都：2

岩谷芳自（1999）キジハタのふ化およびふ化仔魚に与える通気の影響．栽培技研 **27**: 59-61

Kato Y, Takebe T, Masuma S, Kitagawa T, Kimura S (2008) Turbulence effect on survival and feeding of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* larvae, on the basis of a rearing experiment. *Fish Sci* **74**: 48-53

Kitajima C, Yamane Y, Matsui S, Kihara Y, Furuichi M (1993) Ontogenetic change in buoyancy in the early stage of red sea bream. *Fish Sci* **89**: 209-216

Knutsen GM, Tilseth S (1985) Growth, development and feeding success of Atlantic cod larvae Gadus morhua related to eggs size. *Trans Am Fish Soc* **114**: 507-511

Koedijk RM, Folkvord A, Foss A, Pittman K, Stefansson SO, Handeland S, Imsland AK (2010) The influence of first-feeding diet on the Atlantic cod *Gadus morhua* phenotype: survival, development and long-term consequences for growth. *J Fish Biol* **77**: 1-19

Koh I CC, Sitti-Raehanah MS, Akazawa N, Oota Y, Senoo S (2010) Egg and larval development of a new hybrid orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* × giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. *Aquacult Sci* **58**: 1-10

Kohno H, Ordonio-Aguolar RS, Ohno A, Taki Y (1997) Why is grouper larval rearing difficult?: an approach from the development of the feeding apparatus in early life stage larvae of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Ichthyol Res* **44**: 67-274

Kumai H (1997) Present state of bluefin tuna aquaculture in Japan. *Aquacult Sci* **45**: 93-297

梶山英二・西岡丑三（1930）鯛「ラーバ」飼育完成に就て．水産研究誌 **25**: 35-40

狩俣洋文・仲盛　淳・仲本光男・呉屋秀夫・福徳　学（2005）栽培漁業推進対策事業（スジアラ）．平成15年度沖縄県水産試験場事業報告書 p195

柏木正章・中村総之・岡田芳和・山田直博（1985）シロギスの卵径の産卵期間中の周期的変化．水産増殖 **33**: 134-138

片山政夫（1984）ハタ科．日本産魚類大図鑑解説（益田　一・荒賀忠一・上野輝彌・吉野哲夫 編），東海大出版会，東京：123-124

萱場隆昭・杉本　卓・松田泰平（2003）マツカワ種苗生産における仔魚の大量沈下減耗．水産増殖 **51**: 443-450

萱野泰久・尾田　正（1990）池中養成したキジハタ親魚群の自然産出卵の卵質について．岡山県水産試験場報告 **5**: 48-52

萱野泰久・何　玉環・原　隆・福永丈人（1998）年齢組成の異なるキジハタ親魚群の自然産出卵の卵質．水産増殖 **46**: 213-218

木村伸吾・中田英昭・Marguline D・Suter JM・Hunt SL（2004）海洋乱流がキハダマグロ仔魚の生残に与える影響．日本水産学会誌 **70**: 175-178

金城清昭・中村博幸（2009）沖縄県におけるヤイトハタの養殖技術開発と養殖の現状．月刊養殖 **5**: 24-26

北島　力・高屋雅生・塚島康生・荒川敏久（1991）マハタの卵内発生および飼育による仔稚魚の形態変

化．魚類学雑誌 **38**: 47-55

北島　力・山根康幸・松井誠一（1997）クロダイ仔稚魚の発育に伴う比重の変化．日本水産学会誌 **60**: 755-762

久門一紀・田中庸介・西　明文・江場岳史・樋口健太郎・二階堂英城・塩澤　聡・石丸千紗子・阪倉良孝・升間主計（2010）24時間照明がクロマグロ仔魚の生残、成長、及び摂餌に与える影響—量産規模での実証試験．平成21年度日本水産学会春季大会講演要旨集，p34

小金隆之・兼松正衛（2004）飼育水への貝化石の添加がクエの成長，生残および水質に及ぼす影響．栽培漁業センター技報 **2**: 17-21

栗田　豊・米田道夫・松山倫也（2010）産卵親魚個体群の繁殖能力と加入量変動 —母性効果研究の現状と今後の展開—．水産海洋研究 **74**: 1-3

Liao IC, Huei MS, Emily YC (2001) Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture* **200**: 1-3

Marteinsdottir G, Steinarsson A (1998) Maternal influence on the size and viability of Iceland cod *Gadus morhua* eggs and larvae. *J Fish Biol* **52**: 1241-1258

Masuda R, Shoji J, Aoyama M, Tanaka M (2002) Chub mackerel larvae fed fish larvae can swim faster than those fed rotifers and *Artemia nauplii*. *Fish Sci* **68**: 320-324

Masuma S, Tezuka N, Teruya K (1993) Embryonic and morphological development of larval and juvenile coral trout, *Plectropomus leopardus*. *Japan J Ichthyol* **40**: 333-342

Masuma S, Takebe T, Sakakura Y (2011) A review of the broodstock management and larviculture of the Pacific northern bluefin tuna in Japan. *Aquaculture* **315**: 2-8

Miyashita S, Sawada Y, Okada T, Miyashita S, Murata O, Kumai H (2001) Morphological development and growth of laboratory-reared larval and juvenile *Thunnus thynnus* (Pisces: Scombridae). *Fish Bull* **99**: 601-616

Moran D (2007) Size heterogeneity, growth potential and aggression in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi* Valenciennes). *Aquacult Res* **38**: 1254-1264

真鍋三郎・春日　公（1989）水槽内におけるクエの産卵行動と初期生活史について．動物園水族館雑誌 **30**: 16-24

升間主計・竹内宏行（2001）スジアラ仔魚の3タイプワムシに対する摂餌選択性．栽培技研 **28**: 69-72

升間主計・手塚信弘・尾花博幸・鈴木伸明・野原健司・張　成年（2003）ミトコンドリアDNA分析から推定した養成クロマグロの産卵生態．水研センター研報 **6**: 9-14

升間主計・手塚信弘・小磯雅彦・神保忠雄・武部孝行・山崎英樹・尾花博幸・井手健太郎・二階堂英城・今泉　均（2006）養成クロマグロの産卵に及ぼす水温の影響．水研センター研報 別冊 **4**: 157-171

升間主計（2008）水産総合研究センター（旧 日本栽培漁業協会）によるクロマグロ栽培漁業技術の開発．水産技術 **1**: 21-36

松井　魁（1949 a）鯉の優良品種に関する研究．第一報 種苗用鯉の雑種に就いて．第二水産講習所研究報告 **1**: 13-26

松井　魁（1949 b）鯉の優良品種に関する研究．第二報 トビ鯉の形態的特徴に就いて．第二水産講習所研究報告 **1**: 27-32

松井　魁（1950）水産生物の成長度に関する研究 第5報トビゴイの成長度に就いて．魚類学雑誌 **1**: 166-174

水戸　敏・鵜川正雄・樋口正毅（1967）キジハタの幼期．内海区水産研究所研究報告 **25**: 337-347

三村　元・長瀬俊哉・片山泰人・難波憲二（1998 a）海水中の残留オキシダントの定性分析とヒラメ，*Paralichthys olivaceus* 卵への影響．日本水産学会誌 **63**: 448-486

三村　元・長瀬俊哉・片山泰人・長光貴子・難波憲二（1998 b）オゾン処理海水のヒラメ，*Paralichthys olivaceus* 卵に対する影響．水産増殖 **46**: 101-110

宮下　盛・田中祐志・澤田好史・村田　修・服部亘宏・滝井健二・向井良夫・熊井英水（2000 a）クロマグロ卵の発生と孵化に及ぼす水温の影響．水産増殖 **48**: 199-207

宮下　盛・村田　修・澤田好史・岡田貴彦・久保喜計・石谷　大・瀬岡　学・熊井英水（2000 b）養成クロマグロの成熟と産卵．**48**: 475-488

宮下　盛（2002）クロマグロの種苗生産に関する研究．近大水研報 **8**: 1-172

宮下　盛（2006）種苗生産における浮上および沈降死．日本水産学会誌 **72**: 947-948

村田　修・山本眞司・石橋　亮・岡　佑介・米島久司・家戸敬太郎・宮下　盛・熊井英水（2005）マサバ養成親魚の自然産卵と卵発生および仔稚魚飼育．水産増殖 **53**: 319-324

室賀清邦・古澤　徹・古澤　巌（1993）総説：シマ

アジのウイルス性神経壊死症．水産増殖 **46**: 473-480

虫明敬一・関谷幸生（1993）シマアジふ化仔魚の活力判定の試み．水産増殖 **41**: 150-160

虫明敬一（2010）海産魚介類の親魚特性が仔稚魚の成長および生残に及ぼす影響 ―クルマエビ，ブリおよびシマアジでの研究事例―．水産海洋研究 **74**: 99-105

Nakajima M, Fujio Y (1993) Genetic determination of the growth of the guppy. *Fish Sci* **59**: 461-464

Nakamura Y, Suga K, Sakakura Y, Sakamoto T, Hagiwara A (2008) Genetic and growth differences in the outcrossings between two clonal strains of the self-fertilizing mangrove killifish. *Can J Zool* **86**: 976-982

Nishioka T, Mori K, Sugaya T, Tezuka N, Takebe T, Imaizumi H, Kumon K, Masuma S, Nakai T (2010) Involvement of viral nervous necrosis in larval mortality of hatchery-reared Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Fish Pathol* **45**: 69-72

Niwa Y, Nakazawa A, Daniel M, Scholey VP, Wexler JB, Chow S (2003) Genetic monitoring for spawning ecology of captive yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) using mitochondrial DNA variation. *Aquaculture* **218**: 387-395

長倉義智・大原恵理子・中野昌次・高橋　誠・石橋矩久・坂本 崇・岡本信明（2003）親子鑑別によって確かめられたブリ親魚の総参加型の誘発産卵．栽培技研 **30**: 43-47

中島正道（2009）魚類養殖における量的形質の育種学的研究．日本水産学会誌 **75**: 361-364

中村中六・笠原正五郎（1955）トビゴイに関する研究 －Ⅰ．トビの現れる時期に就いて．日本水産学会誌 **21**: 73-76

中村中六（1955）養魚上より見たるコイとフナの二，三の比較．日本水産学会誌 **21**: 77-81

中村中六・笠原正五郎（1956）トビゴイに関する研究（第2報）餌料の粒子組成と量の影響．日本水産学会誌 **21**: 1022-1024

南部智秀・山本健也・道中和彦・原川泰弘（2006）キジハタの種苗生産，放流技術開発．山口県水産研究センター事業報告 山口：35-40

日本栽培漁業協会40年史（2003）社団法人 日本栽培漁業協会 東京：61-62

大沢康典・筒井　清・町田秀夫・梶島孝雄（1984）3倍性ギンブナ *Carassius auratus langsdorfii* の同腹 F_1 個体間のクローン性の検討．信州大学理学部紀要 **19**: 27-35

大島泰雄（1994）水産増・養殖技術発達史．IV 大正・昭和［戦前］年代（大島泰雄 編），緑書房，東京：119-120

岡内正典（2005）小さな植物プランクトンの大きな可能性「－第5回－ 魚介類種苗に与える影響と利用方法」．養殖 **42** (9)：88-91

Palumbi S, Martin A, Romano S, Mcmillan WO, Stice L, Grabowski G (1991) The simple fool's guide to PCR, Version 2.0. University of Hawaii, Honolulu

Papandroulakis N, Mylonas CC, Maingot E, Divanach P (2005) First results of greater amberjack (*Seriola dumerrili*) larval rearing in mesocosm. *Aquaculture* **250**: 155-161

Parazo MM, Avila EM, Reyers Jr DM (1991) Size- and weight-dependent cannibalism in hatchery-bred sea bass (*Lates calcarifer* Bloch). *J Appl Ichthyol* **7**: 1-7

Petursdottir TE (2002) Influence of feeding frequency on growth and size dispersion in arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquacult Res* **33**: 543-546

Randall JE and Hoese DF (1986) Revision of the Groupers of the Indo-Pacific. Genus *Plectropomus* (Perciformes: Serranidae). INDO-PACIFIC FISHES

Roff DA, Bentzen P (1989) The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms χ^2 and the problem of small samples. *Mol Biol Evol* **6**: 539-545

Rosenberg AA and Haugen AS (1982) Individual growth and size-selective mortality of larval turbot (*Scophthalmus maximus*) reared in enclosures. *Mar Biol* **72**: 73-77

Rudolfsen G, Figenschou L, Folstad I Nordeide T, Soreng E (2005) Potential fitness benefits from mate selection in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *J Evol Biol* **18**: 172-179

Ruttanapornvareesakul Y, Sakakura Y, Hagiwara A (2007) Effect of tank proportions on survival of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* (Thunberg) and devil stinger *Inimicus japonicus* (Cuvier) larvae. *Aquacult Res* **38**: 193-200

Sabate FS, Sakakura Y, Takebe T, Nikaido H, Matsumoto N, Shiozawa S, Hagiwara A, Masuma S (2009 a) Preliminary observations on the development of aggressive behavior in Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Aquacult Sci* **57**:

329-335

Sabate FS, Sakakura Y, Shiozaki M, Hagiwara A (2009 b) Onset and development of aggressive behavior in the early life stages of the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture* **290**: 97-103

Sabate FS, Sakakura Y, Tanaka Y, Kumon K, Nikaido H, Eba T, Nishi A, Shiozawa S, Hagiwara A, Masuma S (2010) Onset and development of cannibalistic and schooling behavior in the early life stages of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Aquaculture* **301**: 16-21

Sakakura Y, Tsukamoto K (1996) Onset and development of cannibalistic behaviour in early life stages of yellowtail. *J Fish Biol* **48**: 16-29

Sakakura Y, Tsukamoto K (1997) Age composition in the schools of juvenile yellowtail *Seriola quinqueradiata* associated with drifting seaweeds in the East China Sea. *Fish Sci* **63**: 37-41

Sakakura Y, Tsukamoto K (1998 a) Social rank in schools of juvenile yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *J Appl Ichthyol* **14**: 69-73

Sakakura Y, Tsukamoto K (1998 b) Effects of density, starvation and size difference on aggressive behaviour in juvenile yellowtails (*Seriola quinquevadiata*). *J Appl Ichthyol* **14**: 9-13

Sakakura Y, Tsukamoto K (1999) Ontogeny of aggressive behavior in schools of yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Env Biol Fish* **56**: 231-242

Sakakura Y, Tsukamoto K, Hagiwara A (2004) A behavioral character during the metamorphosing stage can predict the growth performance of juvenile stage in Japanese flounder. In: Leber KM, Kitada S, Blankenship HL, Svasånd T (ed). Stock Enhancement and Sea Ranching. Blackwell Pub Ltd., UK. 515-524

Sakakura Y, Shiotani S, Chuda H, Hagiwara A (2006) Improvement of the survival in the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* larvae by optimizing aeration and water inlet in the mass-scale rearing tank. *Fish Sci* **72**: 939-947

Sakakura Y (2006) Larval fish behavior can be a predictable indicator for the quality of Japanese flounder seedlings for release. *Aquaculture* **257**: 316-320

Sakakuara Y, Shiotani S, Chuda H, Hagiwara A (2007 a) Flow field control for larviculture of the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture* **268**: 209-215

Sakakura Y, Shiotani S, Hagiwara A (2007 b) Larval rearing without aeration: a case of the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* using a wave maker. *Fish Sci* **73**: 1199-1201

Sawada Y, Miyashita S, Aoyama M, Kurata M, Mukai Y, Okada T, Murata O, Kumai H (2000) Rotifer-size selectivity and optimal feeding density of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, larvae. *Aquacult Sci* **48**: 169-177

Sawada Y, Okada T, Miyashita S, Murata O, Kumai H (2005) Completion of the Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* (Temminck et Schlegel) life cycle. *Aquacult Res* **36**: 413-421

Sekino M, Saitoh K, Yamada T, Kumagai A, Hara M, Yamashita Y (2003) Microsatellite-based pedigree tracing in a Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery strain: implications for hatchery management related to stock enhancement program. *Aquaculture* **221**: 255-263

Seoka M, Kurata M, Kumai H (2007) Effect of docosahexaenoic acid enrichment in *Artemia* on growth of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* larvae. *Aquaculture* **270**: 193-199

Shoji J, Maehara T, Tanaka M (1999) Short-term occurrence and rapid growth of Spanish mackerel larvae in the central waters of the Seto Inland Sea, Japan. *Fish Sci* **65**: 68-72

Silva SS, Philips MJ (2007) A review of cage aquaculture: Asia (excluding China). *FAO Fish Tech Paper* **498**: 21-48

Sogard SM and Olla BL (1994) The potential for intracohort cannibalism in age-0 walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, as determined under laboratory conditions. *Env Biol Fish* **39**: 183-190

齊藤節雄・森　立成・伊藤慎悟・鈴木邦夫（2009）クローンヒラメの特性評価（第１報）成長性と耐病性のクローン間比較．北海道立水産試験場研究報告 **76**: 31-37

阪本憲司・高橋庸一・岡　雅一・板垣恵美子（1998）止水方式におけるヒラメ初期飼育水の細菌相．栽培技研 **27**: 1-6

坂本　亘・岡本杏子・上土生起典・家戸敬太郎・村田修（2005）クロマグロ仔魚の成長に伴う比重変化．日本水産学会誌 **71**: 80-82

新間脩子・辻ヶ堂　諦（1981）カサゴ親魚の生化学的性状と仔魚の活力について．養殖研究所研究報告，**2**: 11-20

塩谷茂明・赤澤敦司・阪倉良孝・中田　久・荒川敏久・萩原篤志（2003）仔魚の飼育水槽内の流場の計測：マハタ飼育水槽の検討例．水産工学 **39**: 205-212

Takashi T, Kohono H, Sakamoto W, Miyashita S, Murata O, Sawada Y (2006) Diel and ontogenetic body density change in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel), larvae. *Aquacult Res* **37**: 1172-1179

Takeshita A, Soyano K (2009) Effects of fish size and size- grading on cannibalistic mortality in hatchery-reared orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* juveniles. *Fish Sci* **75**: 1253-1258

Tanaka Y, Satoh K, Iwahashi M, Yamada H (2006) Growth-dependent recruitment of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the northwestern Pacific Ocean. *Mar Ecol Prog Ser* **319**: 225-235

Tanaka Y, Kumon K, Nishi A, Eba T, Nikaido H, Shiozawa S (2009) Status of the sinking of hatchery-reared larval Pacific bluefin tuna on the bottom of the mass culture tank with different aeration design. *Aquacult Sci* **57**: 587-593

Theilacker GH (1981) Effect of feeding history and egg size on the morphology of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae. *Rapp P-v Reun Cons int Explor Mer* **178**: 432-440

Toledo JD, Golez S, Doi M, Ohno A (1999) Use of copepod nauplii during early feeding satge of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish Sci* **65**: 390-397

Toledo JD, Caberoy N, Quinitio GP, Choresca CH, Nagasawa H (2002) Effects of salinity, aeration and light intensity on oil globule absorption, feeding incidence, growth and survival of early-stage grouper *Epinephelus coioides* larvae. *Fish Sci* **68**: 478-483

Trippel EA, Neilson JD (1992) Fertility and sperm quality of virgin and repeat-spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*) and associated hatching success. *Can J Fish Aquat Sci* **49**: 2118-2127

Trippel EA (1998) Egg size and viability and seasonal offspring production of young Atlantic cod. *Trans Am Fish Soc* **127**: 339-359

Tseng WY and Ho SK (1979) Egg development and early larval rearing of red grouper (*Epinephelus akaara* Temminck & Schlegel). *Quarterly Journal of the Taiwan Museum* **32**: 209-219

Tucker JW (1998) Characteristics of marine fish. In: Tucker JW (ed). Marine Fish Culture. Kluwer Academic Publisher, Norwell: 17-48

武部孝行・小林真人・浅見公雄・佐藤　琢・平井慈恵・奥澤公一・阪倉良孝（2011）スジアラ仔魚の沈降死とその防除方法を取り入れた種苗量産試験．水産技術 **3**: 107-114

谷口順彦・岡田容典（1980）マダイの生化学的多型に関する遺伝学的研究．日本水産学会誌 **46**: 437-443

谷口順彦・東　健作・楳田　晋（1988）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．日本水産学会誌 **54**: 553-557

谷口順彦・松本聖治・小松章博・山中弘雄（1995）同一条件で飼育された由来の異なるマダイ５系統の質的および量的形質に見られた差異．日本水産学会誌 **61**: 717-726

土橋靖史・栗山　功・黒宮香美・柏木正章・吉岡　基（2003）マハタの種苗生産過程における仔魚の活力とその生残に及ぼす水温，照明およびフィードオイルの影響．水産増殖 **51**: 49-53

塚本勝巳（1994）ウナギ―大回遊の成立．川と海を回遊する淡水魚 ―生活史と進化―（後藤　晃・塚本勝巳・前川光司 編），東海大学出版会，東京：42-58

鶴田義成（1992）カタクチイワシの成熟，産卵と再生産力の調整に関する研究．水工研報 **13**: 129-168

照屋和久（1998）Ⅲ－３種苗生産技術の開発．K 新しい栽培種として期待される魚種，５はた類（1）スジアラ．日本栽培漁業協会事業年報(平成８年度)．日本栽培漁業協会 東京：174-176

照屋和久（2003）日本栽培漁業協会におけるハタ類の種苗生産．海洋水産資源の培養に関する研究者協議会論文集 V: 163-167

照屋和久（2004）マハタの親魚養成における VNN 抑制技術と健苗生産技術開発．栽培漁業センター技報 **1**: 67-70

照屋和久・與世田兼三（2006）クエ仔魚の成長と生残に適した初期飼育条件と大量種苗量産試験．水産増殖 **54**: 187-194

照屋和久・與世田兼三・岡　雅一・西岡豊弘・中野昌次・森　広一郎・菅谷琢磨・浜崎活幸（2008）光周期がマハタ仔魚の生残，成長および摂餌に及ぼ

す影響．日本水産学会誌 **74**: 645-652

照屋和久・浜崎活幸・橋本　博・片山俊之・平田喜郎・鶴岡廣哉・林　知宏・虫明敬一（2009）カンパチ仔魚の成長にともなう体密度と水槽内鉛直分布の変化．日本水産学会誌 **75**: 54-63

照屋和久（2009）ハタ科魚類の人工繁殖と種苗放流に関する研究．東京海洋大学学位論文，p23

照屋和久（2010）ハタ科魚類の人工繁殖と種苗放流に関する技術開発研究．日本水産学会誌 **76**: 795-798

手塚信弘・升間主計・武部孝行・二階堂英城・井手健太郎（2004）クロマグロ種苗生産におけるオキシダント処理海水のウイルス性神経壊死症（VNN）への防除効果．栽培漁業センター技報 **1**: 76-79

友田　努・小磯雅彦・桑田　博・陳　昭能・竹内俊郎（2004）増殖ステージが異なるシオミズツボワムシのマダイ仔魚に対する餌料価値．日本水産学会誌 **70**: 573-582

友田　努・小磯雅彦・桑田　博・陳　昭能・竹内俊郎（2005）増殖ステージが異なるシオミズツボワムシのヒラメ仔魚に対する餌料価値．日本水産学会誌 **71**: 555-562

Umino T, Otsu M, Takaba M, Nakagawa H (1993) Some characteristics of runty fish appearing in seed production of red sea bream. *Fish Sci* **59**: 925-928

魚谷逸朗・斉藤　勉・平沼勝男・西川康夫（1990）北西太平洋産クロマグロ *Thunnus thynnus* 仔魚の食性．日本水産学会誌 **56**: 713-717

Ware DM (1977) Spawning time and egg size of Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, in relation to the plankton. *J Fis Res Board Can* **34**: 2308-2315

Watanabe T, Koizumi T, Suzuki H, Satoh S, Takeuchi T, Yoshida N, Kitada T, Tsukishima Y (1985) Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefish meal or on raw krill shortly before spawning. *Fish Sci* **51**: 1511-1521

渡辺研一・鈴木重則・西澤豊彦・鈴木香代・吉水　守・絵面良男（1998）マツカワのウイルス性神経壊死症の防除策．魚病研究 **33**: 445-446

渡辺研一・吉水　守（1998）オゾン処理海水を用いた飼育器具類および受精卵の消毒．**33**: 145-146

渡辺研一・吉水　守（2000）ウイルス性神経壊死症原因ウイルスに汚染したマツカワ受精卵のオゾン処理海水による消毒．日本水産学会誌 **66**: 1066-1067

Yamamoto T, Teruya K, Hara T, Hokazono H, Kai I, Hashimoto H, Furuita H, Matsunari H, Mushiake K (2009) Nutritional evaluation of rotifers in rearing tanks without water exchange during the post-hatch period in seed production of amberjack *Serola dumerili*. *Fish Sci* **75**: 697-705

Yamaoka K, Nanbu T, Miyagawa M, Isshiki T, Kusaka A (2000) Water surface tension-related deaths in prelarval red-spotted grouper. *Aquaculture* **189**: 165-176

Yoseda K, Yamamoto K, Asami K, Chimura M, Hashimoto K, Kosaka S (2008) Influence of light intensity on feeding, growth and early survival of leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*) larvae under mass-scale rearing conditions. *Aquaculture* **279**: 55-62

山本義久・山崎英樹・岩本明雄・今泉　均（2004）ブリ種苗生産における止水飼育の試み．栽培漁業センター技報 **2**: 44-50

山下浩史・藤田慶之・高木基裕（2010）マイクロサテライト親子鑑定によるクエ親魚選抜の試み．平成22年度日本水産学会春季大会講演要旨集，p82

横川浩治・谷口順彦（1988）マダイ養殖用人工種苗と天然種苗の形態および遺伝的差異．香水試研報 **3**: 31-42

山田正二郎（1938）小鯉のトビに就いて．養魚会誌 **8**:1-4

山崎英樹・塩澤　聡・藤本　宏（2002）日本栽培漁業協会におけるブリ種苗生産の現状．水産増殖 **50**: 503-506

與世田兼三・浅見公雄・福本麻衣子・高井良幸・黒川優子・川合真一郎（2003 a）サイズの異なる2タイプのワムシがスジアラ仔魚の初期摂餌と初期生残に及ぼす影響．水産増殖 **51**: 101-108

與世田兼三・團　重樹・藤井あや・黒川優子・川合真一郎（2003 b）異なった日周条件がスジアラ仔魚の初期摂餌，初期生残および消化酵素活性に及ぼす影響．水産増殖 **51**: 179-188

與世田兼三・照屋和久・菅谷琢磨・関谷幸生（2006）初回摂餌の遅れがキジハタ *Epinephelus akaara* 仔魚の摂餌，成長，および生残に及ぼす影響．日本水産学会誌 **72**: 702-709

與世田兼三（2008）ハタ類3種（ヤイトハタ *Epinephelus malabaricus*，キジハタ *Epinephelus akaara*，スジアラ *Plectropomus leopardus*）の初期減耗要因の解明に関する研究．水研センター研報 **23**: 91-144

米田道夫（2010）繁殖特性の変異が加入量に及ぼす影

響 —*Atlantic cod Gadus morhua* を例に—. 水産海洋研究 **74**: 19-26

吉田実習場 (1936) 小鯉のトビに就いての一例. 養殖会誌 **6**: 172-173

Zhang F, Oshiro T, Takashima F (1992) Chromosome synapsis and recombination during meiotic division in gynogenetic triploid ginbuna, *Carassius auratus langsdorfii*. *Ichthyol Res* **39**: 151-155