

## 染色体操作による全雌三倍体アユの作出と飼育特性

高橋 昭夫

Production of All females Triploids in *Plecoglossus altivelis* by Chromosomal Manipulation with Special Reference to their Survival and Growth.

Teruno TAKAHASHI\*

### ABSTRACT

The chromosome was manipulated in the present experiments in order to produce artificially functional sex reversal males and all female triploids of the ayu, *Plecoglossus altivelis*, in application of 17 $\alpha$ -methyltestosterone.

The former trial was successful in the following three cases among others : ( ) A dose of 5  $\mu$ g/g per day for 80, 85 and 90 days each ; ( ) a dose of 10  $\mu$ g/g per day for the same duration program ; ( ) and a dose of 15  $\mu$ g/g per day for 75 days. Through these cases, the rate of masculinization is rather low, that is 2.0 - 4.7%.

Regarding the latter one, all female triploids are induced by two continuous procedures. Eggs from normal diploids were fertilized with spermatozooids from sex reversal male, and hydraulic treatment for 6 min was made for them 6 min after fertilization. In this hatching rate is so lower as of 1.3 - 30.1%, probably as a result of the treatment mentioned above.

### はじめに

魚類の染色体操作を利用した育種技術としては、受精卵の第二極体放出阻止による倍数体魚及び雌性発生魚を作出する技術と雌性発生二倍体魚に雄性ホルモンを投与して性転換雄魚を作出する技術、並びにこの両技術を用いた全雌魚作出技術がある。

淡水魚の倍数体魚については、雌雄混合三倍体魚、全雌三倍体魚及び四倍体魚の作出が試みられており、雌雄混合三倍体魚作出研究はいろんな魚種で行われている。この場合雄型の三倍体魚は成熟し、成熟に伴う肉質劣化、斃死等により商品価値を低下させる欠点がある。しかし、雌型は成熟しないために大型魚を生産することができる等の利点があるため全雌三倍体魚作出の研究が進められ、ニジマス<sup>1)</sup>ヤマメ<sup>2)</sup>ではすでに実用化されている。アユについては、作出に必要な性転換雄魚の作出技術が不安定であるために、全雌三倍体魚に関する報告がまったくない。筆者は、アユの染色体操作技術を利用して雌性発生二倍体魚等の研究を1987年から実施し、1992年には性転換雄魚の作出に成功し1993年からは全雌三倍体魚作出の研究に着手した。

本報告では、アユの性転換雄魚の作出技術及び全雌三倍体魚の作出技術と飼育特性について報告する。

### 材料および方法

#### 1 性転換雄魚の作出技術

供試魚は雌性発生二倍体魚を用いた。

雌性発生二倍体魚の作出方法は次のとおりである。改良した淡水魚用リングル希釈液(水1 $\lambda$ 、KCl 1.8g、NaCl 7.5g)で通常二倍体精液を100倍に希釈した後紫外線照射装置を用いて紫外線量を7,000ergs/mm<sup>2</sup>照射し精子の染色体を破壊し不活化精子とした。そして、通常二倍体卵に受精し受精5分後に加圧器を用いて650kg/cm<sup>2</sup>の水圧で6分間処理し、卵の第二極体の放出を阻止した。

この雌性発生二倍体魚から性転換雄魚を作出する方法は、全長20mm以下の仔魚に雄性ホルモンの17 $\alpha$ -メチルテストステロン(以下、「MT」と呼ぶ。)をエチルアルコールで配合飼料に吸着し経口投与する方法で行った。

このMT添加飼料を後で述べる試験 ~ において飼育開始時は1gを1日6回に分けて投与し、成長に応じて増量しそれぞれの投与終了時まで給餌した。また、飼

育開始時から2週間は生物餌料としてアルテミアふ化幼生を1日1回併用し、MT投与期間終了後に市販の配合飼料だけに切り換えた。飼育水槽は0.5トン水槽を用い、飼育尾数を500尾で飼育を開始した。

飼育水にはアレン氏処方人工海水の1/5希釈濃度(比重1.003)の人工汽水を用い、水温保持のために温水ボイラーによる間接加温による循環濾過飼育を行った。

MT投与期間終了後は成長に応じて他の飼育池へ移収し、成熟期の9月中旬まで継続飼育して性比を調べた。

MT投与量、時期及び期間の違いによる雄性化率を調べるため1992年から1994年までの3年間で次の3試験を行った。

(試験) 1992年11月3日から試験を開始した。

供試魚にはふ化後33日の仔魚(全長18.70mm体重14.20mg)を用い、1、2区は5 $\mu$ g/g、3、4区は10 $\mu$ g/g、5区は15 $\mu$ g/g、6区は20 $\mu$ g/gのMT量とし、投与期間は1、3区が80日間、2、4区を90日間、5区が75日間、6区を70日間とした。

表1 試験の雄性ホルモン投与量、投与期間と投与開始時の仔魚の体型

区	ホルモン投与量 ( $\mu$ g/g)	ホルモン投与期間 (日間)	開始時の体型		
			全長(mm)	体重(mg)	ふ化後日数 (日)
1	5.0	80	18.70	14.20	33
2	5.0	90	18.70	14.20	33
3	10.0	80	18.70	14.20	33
4	10.0	90	18.70	14.20	33
5	15.0	75	18.70	14.20	33
6	20.0	70	18.70	14.20	33

(試験) 1993年10月21日から試験を開始した。

7~10区はふ化後24日の仔魚(全長15.15mm体重6.04mg)を用い、MT量は0.5 $\mu$ g/g、1.0 $\mu$ g/g、投与期間はそれぞれ100日間、120日間とした。また、11~16区は供試魚にはふ化後31日の仔魚(全長29.10mm体重11.70mg)を用い、MT量で5 $\mu$ g/g、10 $\mu$ g/g、15 $\mu$ g/g、投与期間はそれぞれ80日間、90日間、100日間とした。

(試験) 1994年10月18日から試験を開始した。

ふ化後24日の仔魚(全長18.99mm体重12.52mg)を用い、5.0 $\mu$ g/g、7.5 $\mu$ g/g、10 $\mu$ g/gのMT量で、投与期間はすべて85日間とした。

## 2 全雌三倍体魚の作出

性転換雄魚の作出を目的とした実験 ~ で雄性化処理した魚が本当に性転換雄魚となっているかどうかを確認するためには、この雄を用いて作出した魚がすべて雌になるかを調べれば判明する。そこで1993年~1995年に全雌三倍体魚を作出するA~Cの3試験を行った。

表2 試験の雄性ホルモン投与量、投与期間と投与開始時の仔魚の体型

区	ホルモン投与量 ( $\mu$ g/g)	ホルモン投与期間 (日間)	開始時の体型		
			全長(mm)	体重(mg)	ふ化後日数 (日)
7	0.5	100	15.15	6.04	24
8	0.5	120	15.15	6.04	24
9	1.0	100	15.15	6.04	24
10	1.0	120	15.15	6.04	24
11	5.0	80	20.10	11.70	31
12	5.0	90	20.10	11.70	31
13	5.0	100	20.10	11.70	31
14	10.0	80	20.10	11.70	31
15	10.0	90	20.10	11.70	31
16	15.0	80	20.10	11.70	31

表3 試験の雄性ホルモン投与量、投与期間と投与開始時の仔魚の体型

区	ホルモン投与量 ( $\mu$ g/g)	ホルモン投与期間 (日間)	開始時の体型		
			全長(mm)	体重(mg)	ふ化後日数 (日)
17	5.0	85	18.99	12.52	24
18	7.5	85	18.99	12.52	24
19	10.0	85	18.99	12.52	24

全雌三倍体の作出には通常二倍体雌魚3~5尾の卵に性転換雄1尾の精子で受精し、受精6分後に6分間水压650kg/cm<sup>2</sup>の加圧処理により行った。作出魚は成熟期の9月まで飼育し性比を調査した。また、1g前後に成長した魚の染色体数及び赤血球長径を調べて三倍体魚であるかを確認した。

用いた雄魚は1尾を除いて輸精管に異常があり搾出では採精のできなかったため、開腹して精巢を取り出し、メスで切開し、にじみ出た精巢精子の運動性を確認したのち使用した。

(試験A) 1993年9月21日に試験で雄性化が確認できた1区(5 $\mu$ g/g,80日)の1尾、3区(10 $\mu$ g/g,80日)の2尾を用い三倍体作出を行った。用いた雄はすべて輸精管に異常があった。

(試験B) 1994年9月22日に試験で雄性化が確認できた8区(0.5 $\mu$ g/g,120日)、14区(10 $\mu$ g/g,80日)の各1尾、15区(10 $\mu$ g/g,90日)の2尾を用いて三倍体作出を行った。用いた雄は15区の1尾で輸精管が正常で、他はすべて輸精管に異常があった。

(試験C) 1995年9月18日に試験で雄性化が確認できた18区(7.5 $\mu$ g/g,85日)、19区(10 $\mu$ g/g,90日)の各1尾を用いて三倍体作出を行った。用いた雄はともに輸精管に異常があった。

## 3 全雌三倍体魚の飼育特性

(仔魚期) 試験Bで作出したアユの仔魚期の成長、生残を調べるため、1994年9月30日にふ化した仔魚を用い60日間飼育した。

飼育池は12トン(8×1.5×1m)のコンクリート水槽を用い、全雌三倍体魚をa区29,000尾、b区30,000尾、c区40,000尾収容し、対照区として通常二倍体魚をd区に40,000尾を収容した。飼育水はアレン氏処方1/5濃度の人工汽水を循環濾過し、給餌はシオミズツボムシとアルテミアふ化幼生と配合飼料を投与した。

(稚魚期) 稚魚期の成長、生残を調べるために、ふ化後190日(1995年4月8日)の稚魚で全長8.60±0.45cm、体長7.24±0.40cm、体重3.70±0.52gの全雌三倍体魚を用い、対照として全長8.87±0.48cm、体長7.39±0.51cm、体重4.07±0.68gの通常二倍体魚を用いた。飼育期間は60日間とし、飼育池は12トンの円径FRP

水槽2面を用い、各1,000尾を全雌三倍体魚と通常二倍体魚を別々に収容した。飼育水は淡水の循環濾過で加温を行い、給餌は1日4回ほぼ飽食まで配合飼料を投与した。

(成魚期) 成魚期の成長、生残を調べるために、ふ化後240日(1995年5月28日)の全長13.01±1.25cm、体長11.35±0.85cm、体重16.84±3.79gの全雌三倍体魚を用い、対照として全長12.08±0.92cm、体長11.15±0.68cm、体重14.01±3.51gの通常二倍体魚を用いた。飼育期間は80日間とし、飼育池は12トン円径FRP水槽1面に全雌三倍体魚と通常二倍体魚各々500尾を収容し混合飼育で行った。なお、通常二倍体魚の脂鱗の切除により三倍体魚と区別した。

飼育水は淡水の循環濾過で無加温で行い、給餌は1日4回ほぼ飽食まで配合飼料を投与した。

(成熟調査) 1995年8月28日から10月28日の成熟期に通常二倍体魚を対照に体重及び生殖腺指数(GSI=GW/BW×100)の変化を調べた。全雌三倍体魚と通常二倍体魚の飼育池は別にし、12トン円径FRP水槽2面に200尾収容した。飼育水は淡水(井戸水)の流水で、給餌は1日2回ほぼ飽食まで配給飼料を投与した。

表4 試験 のホルモン投与終了時の生残と成熟期の性比と雌雄の特徴

区	ホルモン投与終了時生残				成熟期の性比と雌雄の特徴							
	開始時 尾数 (尾)	終了時 尾数 (尾)	生残率 %	調査 尾数 (尾)	雌			雄			雌雄同体 (尾)	
					成熟魚 (尾)	不妊魚 (尾)	計(尾)	輸精管の有無		無精了魚 (尾)		計(尾)
								有り(尾)	無し(尾)			
1	500	288	57.6	97	4	75	79(81.4)	0	3	15	18(18.6)	0(0)
2	500	345	69.0	90	2	85	87(97.7)	0	3	0	3(3.3)	0(0)
3	500	434	86.8	84	1	76	77(91.7)	0	4	1	5(6.0)	2(2.4)
4	500	454	90.8	87	0	85	85(97.7)	0	2	0	2(2.3)	0(0)
5	500	359	71.8	99	1	96	97(98.0)	0	2	0	2(2.2)	0(0)
6	500	275	55.0	89	2	84	86(96.6)	0	1	0	1(1.1)	2(2.2)

( )内の数字は%

表5 試験 のホルモン投与終了時の生残と成熟期の性比と雌雄の特徴

区	ホルモン投与終了時生残				成熟期の性比と雌雄の特徴						
	開始時 尾数 (尾)	終了時 尾数 (尾)	生残率 %	調査 尾数 (尾)	雌			雄			計(尾)
					成熟魚 (尾)	不妊魚 (尾)	計(尾)	輸精管の有無		計(尾)	
								有り(尾)	無し(尾)		
7	500	248	49.6	121	40	81	121(100)	0	0	0(0)	
8	500	278	55.6	198	2	194	198(99.8)	0	2	2(1.0)	
9	500	320	64.0	124	22	102	124(100)	0	0	0(0)	
10	500	364	72.8	170	0	170	170(100)	0	0	0(0)	
11	500	344	68.8	137	12	123	135(98.5)	0	2	2(1.5)	
12	500	389	77.8	166	7	158	165(99.4)	0	1	1(0.6)	
13	500	319	73.6	135	12	123	135(100)	0	0	0(0)	
14	500	347	69.4	105	50	53	103(98.1)	0	2	2(1.9)	
15	500	385	77.0	181	1	178	179(98.9)	1	1	2(1.1)	
16	500	347	69.4	181	3	177	180(99.4)	0	1	1(0.6)	

( )内の数字は%

## 結 果

### 1 性転換雄魚の作出

(試験) MT投与期間中の水温は13.4~17.3であった。MT投与期間中の各区の供試魚は、大量へい死もなく投与終了時の生残率は表4に示したとおり55~90.8%であった。9月中旬に各区の性比を調査した結果、全区で雄が作出され、雄化率は1区が18.6%(18尾)、2区が3.3%(3尾)、3区が6.0%(5尾)、4区が2.3%(2尾)、5区が2.2%(2尾)、6区が1.1%(1尾)であった。

作出された雄の特徴を調べたところ雄の作出率が18.6%(18尾)と高かった11区は、精巢内精子のない無精子魚が83.3%(15尾)を占めた。精巢内精子を持った魚は16.7%(3尾)で、すべて輸精管が異常で、搾出による精子の採集は不可能であった。

無精子魚は3区でも1尾作出されたが、その他の区の雄は精巢を持った魚ですべて輸精管が異常であった。雄にならなかった魚は、ほとんどに生殖腺が糸状で未発達な卵巣が確認された。正常に発達した卵巣を持った成熟魚も各区とも数尾みられた。

(試験) MT投与期間中の水温は10.5~21.0であった。MT投与期間中の各区の供試魚は、試験と同様に大量へい死もなく投与終了時の生残率は表5に示し

たとおり49.6~77.8%であった。9月中旬に各区の性比を調査した結果、雄が作出された区の雄化率は8区が1.0%(2尾)、11区が1.5%(2尾)、12区が0.6%(1尾)、14区が1.9%(2尾)、15区が1.1%(2尾)、16区が0.6%(1尾)であった。

作出された雄はほとんどが輸精管が異常であった。ただし、15区の1尾だけは輸精管が正常で、搾出法により精子が採取できたが、その後の調査で性転換雄魚で

表6 試験 のホルモン投与終了時の生残と成熟期の性比と雌雄の特徴

区	ホルモン投与終了時生残				成熟期の性比と雌雄の特徴					
	開始時尾数(尾)	終了時尾数(尾)	生残率(%)	調査尾数(尾)	雌			雄		
					成熟魚(尾)	不妊魚(尾)	計(尾)	輸精管の有無		計(尾)
							有り(尾)	無し(尾)		
17	500	464	92.8	222	7	207	214(96.4)	0	8	8(3.6)
18	500	384	76.8	216	0	214	214(99.1)	0	2	2(0.9)
19	500	490	98.0	261	5	246	251(96.2)	0	10	10(3.8)

( )内の数字は%

ないことが判明している。雄にならなかった魚の尻鰭は雌型で、生殖腺が糸状で未発達であった。また、正常な卵巣を持った雌魚は7区が33.1%、14区が48.5%と多かった。

(試験 ) MT投与期間中の水温は12.6~21.6であった。MT投与期間中の各区の供試魚は、試験、と同様に大量へい死もなく投与終了時の生残率は表6に示したとおり76.8~98.0%であった。9月中旬に各区の性比を調査した結果、各区で雄が作出され、雄化率は17区が3.6%(8尾)、18区が0.9%(2尾)、19区が3.8%(10尾)であった。

作出された雄の特徴をしらべたところすべて輸精管が異常で、雄にならなかった魚も実験、と同様に不妊魚と成熟魚で、各区とも不妊魚がほとんどであった。

## 2 全雌三倍体魚の作出

(試験A) 作出結果を表7に示した。1区の雄を用いたa区のふ化率は7.5%、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は27.3%であった。3区の雄を用いたb区のふ

表7 試験Aの全雌三倍体魚作出結果

区	親魚		卵数(粒)	水圧処理の有無	ふ化率(%)	ふ化尾数(尾)	三倍体化率		成熟期の性比			
	雌	雄					赤血球検査(%)	染色体検査(%)	調査尾数(尾)	雌(尾)	雄(尾)	全雌化率(%)
a	通常二倍体	*1	187,000	あり	7.8	14,600	100	90	500	500	0	100
	通常二倍体	*1	220	なし	27.3	60						
b	通常二倍体	*2	150,000	あり	15.0	22,500	100	95	1,000	1,000	0	100
	通常二倍体	*2	200	なし	29.7	60						
c	通常二倍体	*3	200,000	あり	30.1	60,200	100	90	1,000	1,000	0	100
	通常二倍体	*3	200	なし	60.3	123						

\*1: ホルモン投与量 5 $\mu$ g/g、投与期間80日で雄性化した輸精管異常魚

\*2: ホルモン投与量10 $\mu$ g/g、投与期間80日で雄性化した輸精管異常魚

\*3: ホルモン投与量10 $\mu$ g/g、投与期間80日で雄性化した輸精管異常魚

表8 試験Bの全雌三倍体魚作出結果

区	親魚		卵数(粒)	水圧処理の有無	ふ化率(%)	ふ化尾数(尾)	三倍体化率		成熟期の性比			
	雌	雄					赤血球検査(%)	染色体検査(%)	調査尾数(尾)	雌(尾)	雄(尾)	全雌化率(%)
d	通常二倍体	*4	220,000	あり	4.6	10,100	100	90	200	200	0	100
	通常二倍体	*4	245	なし	45.0	110						
e	通常二倍体	*5	200,000	あり	5.0	10,000	100	95	200	200	0	100
	通常二倍体	*5	200	なし	63.0	126						
f	通常二倍体	*6	270,000	あり	1.3	3,500	100	95	100	52	48	52
	通常二倍体	*6	153	なし	15.1	23						
g	通常二倍体	*7	270,000	あり	4.3	14,300	100	90	200	200	0	100
	通常二倍体	*7	168	なし	63.3	106						

\*4: ホルモン投与量0.5 $\mu$ g/g、投与期間120日で雄性化した輸精管異常魚

\*5: ホルモン投与量10 $\mu$ g/g、投与期間80日で雄性化した輸精管異常魚

\*6: ホルモン投与量10 $\mu$ g/g、投与期間90日で雄性化した輸精管異常魚

\*7: ホルモン投与量10 $\mu$ g/g、投与期間90日で雄性化した輸精管異常魚

表9 試験Cの全雌三倍体魚作出結果

区	親魚		卵数 (粒)	水圧処理 の有無	ふ化率 (%)	ふ化尾 数(尾)	三倍体化率		成熟期の性比			
	雌	雄					赤血球検査 (%)	染色体検査 (%)	調査尾数 (尾)	雌(尾)	雄(尾)	全雌化率 (%)
h	通常二倍体	*8	108,000	あり	2.6	2,800	100	95	500	500	0	100
	通常二倍体	*8	270	なし	27.0	73						
i	通常二倍体	*9	130,000	あり	9.4	12,200	100	90	500	500	0	100
	通常二倍体	*9	240	なし	36.0	86						

\*8 : ホルモン投与量 7.5 µg/g、投与期間 85 日で雄性化した輸精管異常魚

\*9 : ホルモン投与量 10 µg/g、投与期間 85 日で雄性化した輸精管異常魚

化率は 15.0% で、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は 29.7% であった。同じく 3 区の雄を用いた c 区のふ化率は 30.1% で、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は 60.3% であった。

染色体標本と赤血球標本を作成し三倍体化率を求めた結果、a、b、c、区の三倍体化率は赤血球標本では 100%、染色体標本では 90~95% であった。

成熟期の性比調査で、尻鰭の形では全て雌型であり全雌三倍体であることが確認された。

(試験 B) 作出結果を表 8 に示した。8 区の雄を用いた d 区のふ化率は 4.6% で、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は 45.0% であった。14 区の雄を用いた e 区のふ化率は 5.0% で、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は 63.0% であった。15 区の輸精管正常雄を用いた f 区のふ化率は 1.3% で、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は 15.1% であった。15 区の輸精管異常な雄を用いた 9 区のふ化率は 4.3% で、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は 63.3% であった。d、e、f、g 区の三倍体化率は赤血球標本で 100%、染色体標本で 90~95% であった。

成熟期の性比調査で、15 区の輸精管正常な雄を用いた f 区は、ほぼ半数で雄が確認され全雌でないことが判明したが、e、f、g 区は尻鰭の形では全て雌型であり全雌三倍体魚であることが確認された。

(試験 C) 作出結果を表 9 に示した。18 区の雄を用

表 10 全雌三倍体仔魚期の飼育結果

区		ア	イ	ウ	エ
開始時	全長 (mm)	6.1	6.1	6.1	6.1
	体重 (mg)	0.4	0.4	0.4	0.4
	尾数 (尾)	29,000	30,000	40,000	40,000
飼育期間 (日)		60	60	60	60
終了時	全長 (mm)	36.4	35.2	33.3	30.0
	体重 (mg)	110.9	95.5	86.0	71.0
	尾数 (尾)	10,000	12,000	12,000	12,000
生残率 (%)		34.5	40.0	30.0	30.0

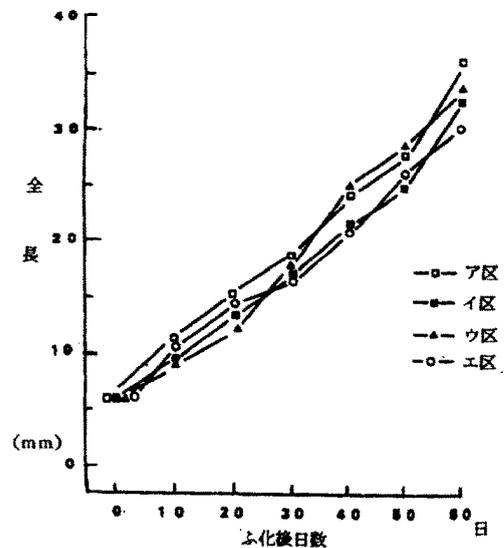


図 1 全雌三倍体ふ化仔魚のふ化後 60 日までの全長変化

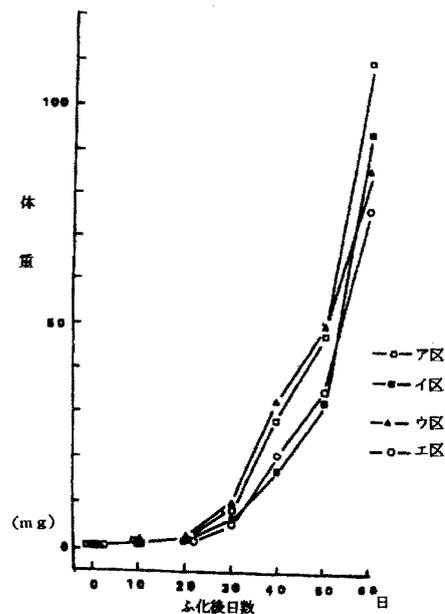


図 2 全雌三倍体ふ化仔魚のふ化後 60 日までの体重変化

いた h 区のふ化率は 2.6% で、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は 27.0% であった。19 区の雄を用いた i 区のふ化率は 9.4% で、水圧処理を行わなかった卵のふ化率は 36.0% であった。h、i 区の三倍体化率は赤血球標本では 100%、染色体標本では 90~95% であった。

成熟期の性比調査で、作出された魚は尻鰭の形では全て雌型であり全雌三倍体魚であることが確認された。

3 全雌三倍体魚の飼育特性

(仔魚期) 飼育結果を表 10 に示した。飼育期間中の水温は 15.5~17.5 であった。

飼育期間中は目立った魚病の発生もなく順調に推移した。全長の変化を図 1、体重の変化を図 2、生残率の変化を図 3 に示した。終了時の全長は全雌三倍体魚の a 区 36.4 mm、b 区 35.2 mm、c 区 33.3mm、通常二倍体魚の d 区 30.0 mm で、体重は全雌三倍体魚の a 区 110.9 mg、b 区 95.5 mg、c 区 86.0 mg、通常二倍体魚の d 区が 71.0 mg、生残率は全雌三倍体魚の a 区 34.5%、b 区 40.0%、

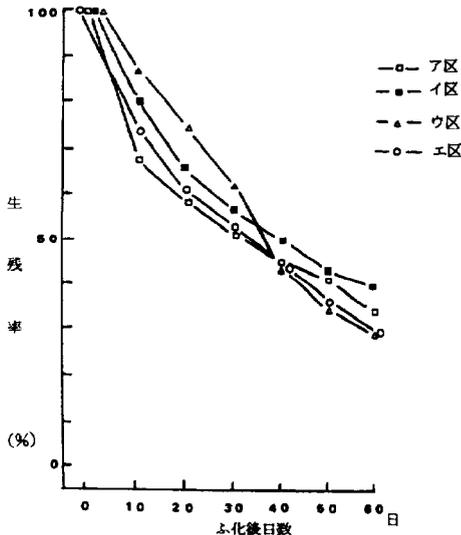


図 3 全雌三倍体ふ化仔魚のふ化後 60 日までの生残率変化

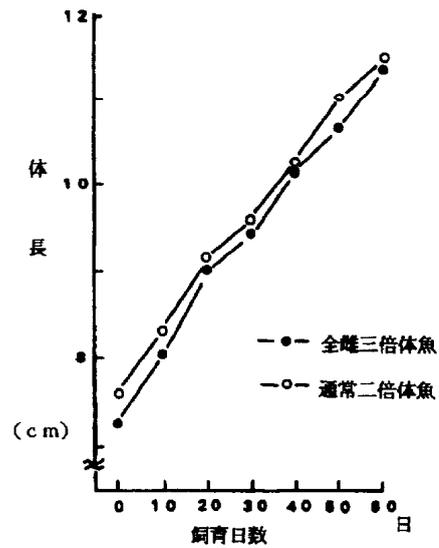


図 4 全雌三倍体魚と通常二倍体魚の稚魚期の体長変化

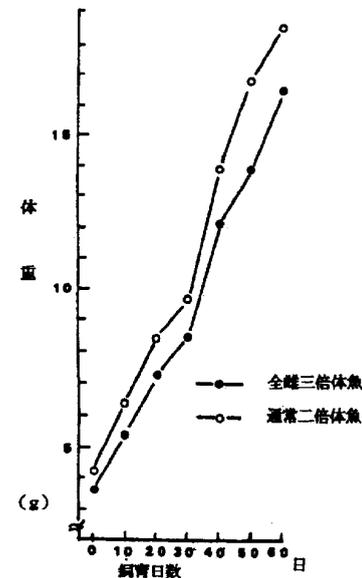


図 5 全雌三倍体魚と通常二倍体魚の稚魚期の体重変化

表 11 全雌三倍体稚魚期の飼育結果

項目		全雌三倍体魚	通常二倍体魚
開始時	全長 (cm)	8.60 ± 0.45	8.87 ± 0.48
	体長 (cm)	7.24 ± 0.40	7.39 ± 0.51
	体重 (g)	3.70 ± 0.52	4.07 ± 0.68
	尾数 (尾)	1,000	1,000
飼育期間 (日)		60	60
終了時	全長 (cm)	13.16 ± 0.57	13.34 ± 0.45
	体長 (cm)	11.24 ± 0.52	11.47 ± 0.57
	体重 (g)	16.15 ± 2.69	18.08 ± 1.67
	尾数 (尾)	999	999
生残率 (%)		99.9	99.9

平均値 ± 標準偏差

表 12 全雌三倍体成魚期の通常二倍体魚との混合飼育結果

項目		全雌三倍体魚	通常二倍体魚
開始時	全長 (cm)	13.01 ± 1.25	12.08 ± 0.92
	体長 (cm)	11.35 ± 0.85	11.15 ± 0.68
	体重 (g)	16.84 ± 3.79	14.01 ± 3.51
	尾数 (尾)	500	500
飼育期間 (日)		80	80
終了時	全長 (cm)	18.48 ± 1.29	15.39 ± 1.17
	体長 (cm)	15.95 ± 1.08	13.93 ± 1.43
	体重 (g)	53.77 ± 11.85	33.55 ± 10.17
	尾数 (尾)	398	474
生残率 (%)		79.6	94.8

平均値 ± 標準偏差

c区 30.0%、通常二倍体魚のd区が30.0%であった。

(稚魚期) 飼育結果を表11に示した。飼育期間中の水温は16.4~17.6であった。飼育期間中の摂餌は通常二倍体魚、全雌三倍体魚とも活発で、成長は体長を図4、体重を図5に示したとおり順調であった。終了時の全長は全雌三倍体魚が13.16±0.57cm、通常二倍体魚が13.34±0.45cm、体長は全雌三倍体魚が11.24±0.52cm、通常二倍体魚が11.47±0.57cm、体重は全雌三倍体魚が16.15±2.69g、通常二倍体魚が18.08±1.67gであった。

飼育期間中のへい死はほとんどなく、通常二倍体魚と全雌三倍体魚とも終了時の生残率は99.9%であった。

(成魚期) 飼育結果を表12に示した。飼育期間中の水温は15.8~17.0であった。飼育期間中の体長の変化を図6、体重の変化を図7に示した。全雌三倍体魚と通常二倍体魚は同じような成長を示し、終了時の全雌三倍体魚は全長が18.48±1.29cm、体長が15.95±1.08cm

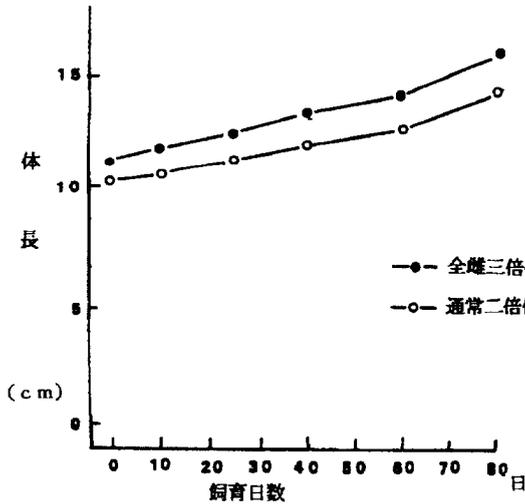


図6 全雌三倍体魚と通常二倍体魚の成魚期の体長変化

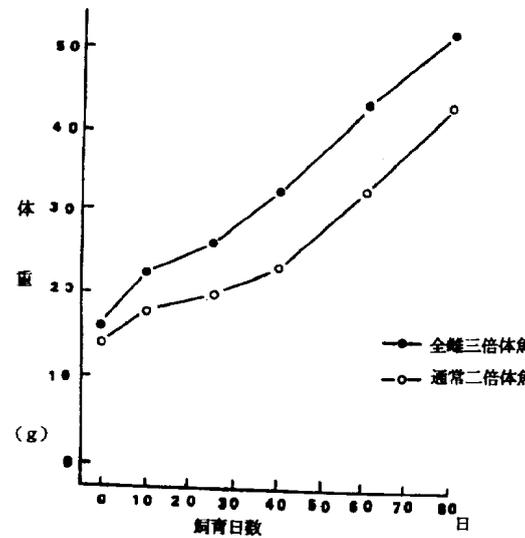


図7 全雌三倍体魚と通常二倍体魚の成魚期の体重変化

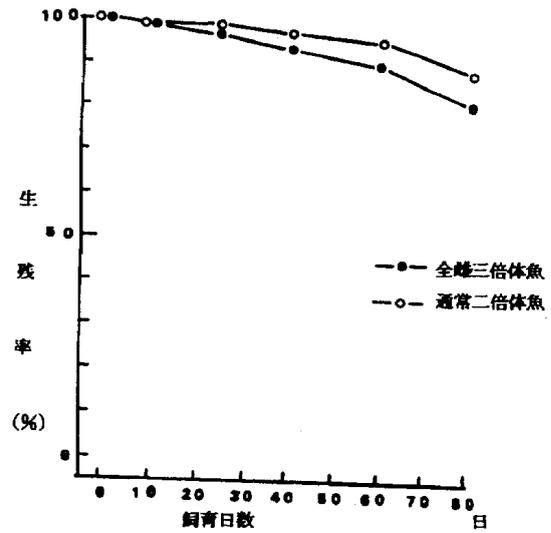


図8 全雌三倍体魚と通常二倍体魚の成魚期の生残率変化

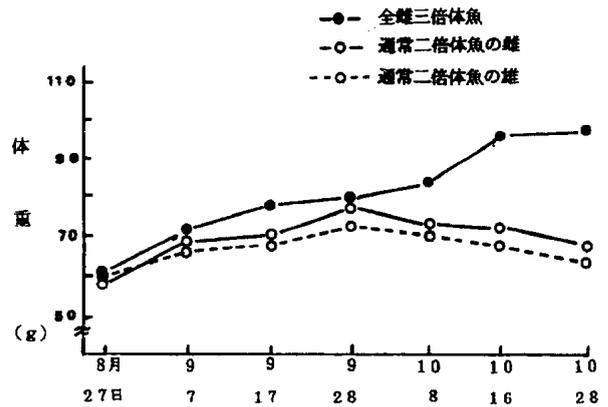


図9 成熟期の全雌三倍体魚と通常二倍体魚の体重変化

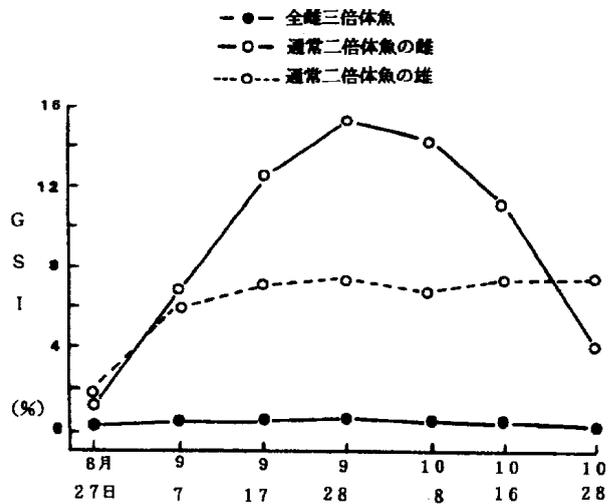


図10 成熟期の全雌三倍体魚と通常二倍体魚の生殖腺指数の変化

体重が  $53.77 \pm 11.85\text{g}$  で通常二倍体魚は全長が  $15.39 \pm 1.17\text{cm}$ 、体長が  $13.73 \pm 1.43\text{cm}$ 、体重が  $33.55 \pm 10.17\text{g}$  であった。

生残率は図 8 に示したとおり全雌三倍体魚が通常二倍体魚より 15.2% 低くなった。

(成熟調査) 成熟期の体重変化を図 9 に示した。9 月下旬までは全雌三倍体魚と通常二倍体魚とも体重は増加している。その後は全雌三倍体魚の体重は増加を続けたが、通常二倍体魚は生殖腺発達の影響で雌雄ともに体重は減少し、11 月上旬には死亡する個体が出はじめた。

生殖腺指数 (GSI) の変化を図 10 に示した。全雌三倍体魚は試験期間中を通じて変化なく、10 月下旬でも 0.5% 以下であった。二次性徴も発現せず、卵巣は糸状で卵母細胞は確認できなかった。通常二倍体魚は 9 月上旬から急激に GSI が高くなりだし、9 月下旬に雌は 14.5% に達し、雄は 9 月中旬から 10 月中旬まで 6.0~6.5% で推移し、どちらも 9 月下旬には採卵、採精が可能となった。

## 考 察

### 1 性転換雄魚の作出

雄性ホルモンを投与して雌を雄に性転換する技術は、ニジマス<sup>1)</sup>、アマゴ<sup>3)</sup>、では確立されているが、アユでは確立されていない。

人為的に魚類の性転換を図るには、MT の投与量、投与期間及び投与開始時期の決定が重要で、投与量及び投与期間については、少量を長期間投与と多量の短期間投与が一般的に試みられている。投与開始時期については佐々木他<sup>4)</sup>によると形態学的性分化開始以前から始めるのが最適で、アユは形態学的性分化臨界期である全長 35~40mm 以前に投与することが必要であるとしている。今回の試験は投与開始時期を全長 15.15~20.10 mm で実施し、この場合の投与量及び投与期間について検討を行った結果を表 13 に示したが、5.0  $\mu\text{g/g}$ 、80、85、90 日

: 実施していない

間、10.0  $\mu\text{g/g}$ 、80、85、90 日間、15.0  $\mu\text{g/g}$ 、75 日間では雄化率が 2.0% 以上となった。

辻村他<sup>5)</sup>はふ化後 44 日目、全長  $16.8 \pm 1.6\text{mm}$  の仔魚に MT 0.6  $\mu\text{g/g}$  を 127 及び 149 日間経口投与して性転換雄魚 (雄化率 0.7 及び 9.9%) を作出しているが、今回の結果から投与量を 5.0  $\mu\text{g/g}$  及び 10.0  $\mu\text{g/g}$ 、80~90 日間の投与が有効であると考えられた。

今回、性転換雄魚と確認された魚は、すべて輸精管が異常で搾出では精子が採取できなかったが、辻村他<sup>5)</sup>も性転換雄魚はすべて輸精管異常であったと報告している。ニジマス<sup>6)</sup>ヤマメ<sup>3)</sup>でも輸精管異常が多いとの報告がある。岡田<sup>1)</sup>は、ニジマスで正常な輸精管を持つ性転換雄魚を作出している。アユの場合でも正常な輸精管を持つ性転換雄魚であれば、精子が採取可能となってから 10 日間以上利用できると思われるが、輸精管が異常な性転換雄魚では、精巣を取り出して用いているために再使用できない欠点があり、輸精管の正常な性転換雄魚の作出と性転換雄魚の精子凍結保存技術の開発が今後必要である。

なお、雄化率が最も良い試験区で 4.7% であったが、全雌魚 10 万尾作出に用いる精液量は、量的には 0.1cc あれば十分であり、この程度あれば全雌魚の量産が可能である。

### 2 全雌三倍体魚の作出

雌雄混合三倍体魚の作出は稲田他<sup>7)</sup>等で行われているが、全雌三倍体魚については作出に成功した報告がない。今回全雌三倍体魚の作出を 9 回実施した。その内訳は次のとおりで、性転換雄魚として MT 投与量 0.5  $\mu\text{g/g}$ 、投与期間 120 日間試験区の 1 尾、5.0  $\mu\text{g/g}$ 、80 日間試験区の 1 尾、10.0  $\mu\text{g/g}$ 、80 日間試験区の 4 尾、85 日間試験区の 1 尾、90 日間試験区の 1 尾及び 7.5  $\mu\text{g/g}$ 、85 日間試験区の 1 尾を用いている。倍数化のために水圧処理を行ったが、ふ化率は水圧処理を行わなかった通常二倍体魚より低くなったのは、卵質に問題がある場合もあるが、水圧処理の影響の方が大きいと思われる。今後は水圧処理による染色体の倍数化を必要としない四倍体魚を用いた全雌三倍体魚作出についての研究が望まれる。

全雌三倍体魚かどうかを判定するために染色体標本と赤血球標本を作成した。赤血球標本による方法では、三倍体魚の赤血球細胞長径は二倍体魚の 1.21 倍大きいとの稲田<sup>7)</sup>の報告があり、赤血球細胞長径を計測した結果では 1.20 倍であったことから三倍体化率を 100% とした。また、染色体標本による染色体数を計数した結果では、染色体数が 78 本以上を三倍体魚と判定したために三倍体化率は 90~95% となった。三倍体魚の染色体数は二倍体魚の 1.5 倍、84 本であり、染色体標本の作成段階では染色体が十分に広がらないと重なり合っ少なく計数さ

表 13 ホルモン投与量及び投与期間と雄化率の関係

投与期間 投与量	70	75	80	85	90	100	120
0.5 $\mu\text{g/g}$						x	
1.0						x	x
5.0						x	
7.5							
10.0							
15.0							
20.0							

: 雄化率 2.0% 以上

: 雄化率 2.0% 以下

x: 雄化率 0%

れたため低い値となったものと思われる。

成熟期の体型による性比調査からほとんど全雌となっていたが、10.0 µg/g、80日間の輸精管の正常な1尾を用いて作出した三倍体魚は、ほぼ半数に雄型が見られ、受精に用いた雄が性転換雄魚でなかったことが判明した。供試魚に用いた雌性発生二倍体魚の成熟期の性比はすべて雌であったことから、この雄がなぜ作出されたかは不明である。

### 3 全雌三倍体魚の飼育特性

全雌三倍体の仔魚期から成魚期の飼育結果から成長、生残とも通常二倍体魚と差がなかったものの成魚期の生残は低くなった。これは通常二倍体魚との混合飼育のためと思われる。稲田他<sup>7)</sup>は雌雄混合三倍体魚の成長、生残は通常二倍体魚と比較して差がなく、混合飼育の場合には三倍体魚の成長が劣るとしているが、今回の場合は成長に差がみられず生残が低くなった。この原因については不明である。

また、成熟期の通常二倍体魚は成熟に伴う成長停滞と放精放卵による体重の減少が認められたが、全雌三倍体魚は二次性徴も発現せず GSI は 0.5%以下で推移し成熟しないことを確認できた。また、成長停滞を示さず成長を続けることも判明し、雌雄混合三倍体魚の雌型が成熟せず成長を続ける結果<sup>7)</sup>と一致した。

以上のことから全雌三倍体魚の飼育特性は、稚魚期までの成長、生残は通常二倍体魚とほぼ同じであるが、成熟期になっても成熟しないために成長停滞もなく、成長を続け大型魚となることである。

この成熟しないで成長を続ける全雌三倍体魚は、アユ養殖の端境期である 12~2月でも飼育が可能となり周年の活魚出荷や大型魚生産により刺身等への利用拡大による養殖業の振興に寄与することが期待できる。

## 摘 要

1 アユの雌性発生二倍体仔魚に雄性ホルモンを投与して性転換雄魚を作出する試験と、作出した性転換雄魚を用いて全雌三倍体魚を作出する試験を実施した。また、全雌三倍体魚の飼育特性を調査した。

2 性転換雄魚の作出は雄性ホルモンに 17 -メチルテストステロンを用い、投与量(0.5, 1.0, 5.0, 7.5, 10.0, 15.0, 20.0 µg/g)、投与期間(70, 75, 80, 85, 90, 100, 120日間)及び投与開始時期(全長15.15, 18.70, 18.99, 20.10mm)について検討した。投与量5.0 µg/g、投与期間80、85、90日間と10.0 µg/g、80、85、90日間及び15.0 µg/g、75日間で雄化率が2.0%以上であった。性転換雄魚と確認された魚は、すべて輸精管が異常で、搾出により精子を採取することができなかった。

3 性転換雄魚と通常二倍体雌魚で全雌三倍体魚を作出した結果、ふ化率が1.3~30.1%と低くなり、その原因は倍数化するために水圧処理を行った影響と考えられた。この方法にいる全雌三倍体化率は、染色体数の計数では90~95%、赤血球長径の測定では100%であった。

4 全雌三倍体魚の飼育特性は、ふ化から成魚までの成長、生残は通常二倍体魚とほぼ同じであるが、成熟期になっても成熟しないために成長停滞がなく成長し続けることが飼育効果である。

## 文 献

- 1) 岡田鳳二(1985): ニジマスの人為的性統御に関する研究, 北海道水産ふ化場研報, 40, 1~49.
- 2) 桂 和彦(1993): 染色体操作によるヤマメ全雌魚生産と特性評価, 水産育種, 19, 11~19.
- 3) 土屋文人(1986): ヤマメ性転換試験, 新潟県内水面水産試験場研究報告, 13, 29~36.
- 4) 佐々木拓・隆島史夫・高橋昭夫(1987): アユの性分化とその制御, 水産増殖, 34(4), 249~251
- 5) 辻村明夫・堀江康浩・畑下成穂(1991): アユの全雌生産に関する検討, 和歌山県内水面漁業センター事業報告, 15, 4~7.
- 6) 高橋一孝(1987): ニジマス性転換雄魚の精巢精子による受精について, マス類の染色体操作による育種試験 - IX, 山梨県魚苗センター事業報告, 13, 11~13.
- 7) 稲田善和・谷口順彦(1990): 人為三倍体アユの諸特性について, 水産育種, 15, 1~9.