

淡水魚類の雌性化技術開発

染色体工学手法によるアユの3倍体作出 - I

高橋 昭夫

前年度より、アユの雌性発生を可能にする基礎試験を開始し、卵の染色体を倍数化することが可能になった。そこでこの技術を応用してアユの3倍体作出試験を実施した。

材料および方法

試験に用いたアユ親魚は當場で人工採苗し親魚に養成したもので、精子は成熟した雄魚から搾出法により、卵は排卵後1時間以内の雌魚から搾出法により採取した。

以下試験方法について述べる。

染色体の倍数化

精子で媒精した卵は、スライドグラス上で吸水させてから低温刺激により第2極体の放出を阻止して染色体を倍数化し3倍体魚(3n)の作出を図るため第1表に示す低温処理を行った。

低温刺激は低温恒温水槽を用い、処理は前年度の結果から水温0~0.5℃の水中に受精の5分後に30分(I区)と60分間(II区)入れて行った。対照(IV区)として温度刺激を与えない通常2倍体魚(2n)を設けた。また、第1卵割を阻止し4倍体(4n)を作出

するため受精の80分後に60分間の低温処理区(III区)を設けた。

倍数化の確認は赤血球細胞長径の計測と小刻法による染色体標本の染色体数計数により行った。

仔魚飼育試験

3nを大量に作出するため、290千粒の卵を一度にポリエチレン袋に入れて、受精から低温処理まで行い、処理の終了後にシュロ製の魚巢に付着させ、ふ化した仔魚の成長と生残状況を2n魚と比較した。

飼育池は12㎡のコンクリート角型池2面を使用し、1面に3nを60千尾、他の1面に2nを80千尾収容し、ふ化後80日間飼育した。

飼育方法および給餌量等は當場における通常の種苗生産方法によった。

結果と考察

染色体の倍数化

低温処理により染色体の倍数化を図り、3nおよび4nの作出結果を第2表に示した。

3nの作出は低温刺激時間が30分のI区はふ化率

第1表 倍数体作出方法

区	処 理 方 法		
	水 温	時 期	時 間
I	0 ~ 0.5℃	5 分後	30 分間
II	"	"	60
III	"	80	60
IV	—	—	—

第2表 倍数体の作出結果

区	受精 卵数	刺 激			生残率 %	備考
		水温 ℃	時期 分後	時間 分間		
I	3,800	0~0.5	5	30	40.3	3n
II	2,800	"	"	60	7.1	3n
III	3,800	"	80	60	32.9	4n
IV	3,800	—	—	—	62.9	2n

40.3%で、60分処理のⅡ区の7.1%に比較して5倍以上高かったが、同じ卵を使った2n(Ⅳ区)のふ化率62.9%よりは低くなった。

4nを作出するため受精の80分後に60分間の低温処理を行ったⅢ区はふ化率は32.9%であった。

染色体の倍数化を確認するため、ふ化後90日目の稚魚を用いて赤血球細胞長径と染色体数を調べた結果を第3表に示す。

2nであるⅣ区の赤血球細胞長径は9.6μ、染色体数は51~55本であった。低温処理をし、3nの作出を図ったⅠ区の赤血球細胞長径は11.5μ、染色体数は77~82本であった。

第3表 ふ化後90日目の赤血球細胞長径と染色体数の計測結果

区	全 長	赤血球細胞長径	染色体数	備 考
I	33.7mm	11.5μ	77~82本	3n
Ⅲ	32.1	8.8	52~55	—
Ⅳ	32.0	9.6	51~55	2n

第4表 染色体数による倍数体作出率

区	サンプル数	2n	3n	4n	作出率
I	20尾	1尾	19尾	0尾	94.7%
Ⅲ	10	10	0	0	—
Ⅳ	20	20	0	0	0

3nの赤血球細胞長径は2nより大きくなると言われており、アユが1.21倍、アマゴが1.2倍、ヤマメが1.3倍大きいとの報告がある。今回の結果でもⅠ区がⅣ区の1.2倍であるので赤血球細胞長径からみてⅠ区は3nの作出魚であると判定した。なお、アユの染色体数は56本であるので3nでは84本持っていなければならないことになる。染色体標本に染色体の重なりがみられ75本以上計数できたものは3nと判定した。なお、染色体数からの倍数体作出率を第4表に示したが、Ⅰ区の3n作出率は94.7%であった。

4nの作出を図ったⅢ区の赤血球細胞長径は8.8μ、染色体数が52~55本であった。4nの染色体数は112本であり、今回の低温処理によって第1卵割を阻止し

染色体を倍数化することはできなかった。

仔魚飼育試験

飼育結果は第5表および第1~3図に示した。

試験終了時の生残は3nが28千尾、生残率46.7%であったが、対照の2nは53千尾、生残率66.3%であった。

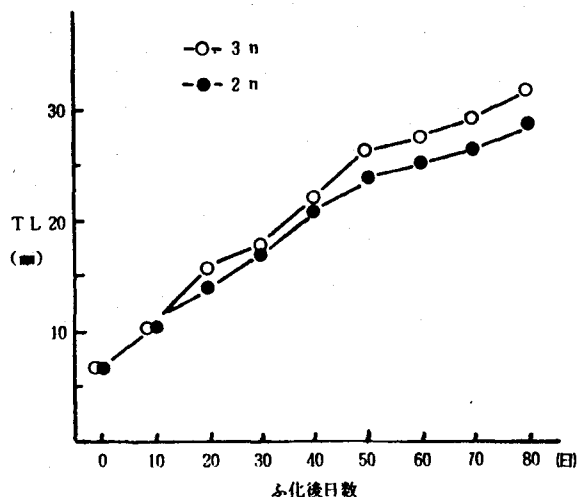
成長は3nの全長が32.3mmで2nの全長が28.6mmと大きな成長差は見られなかった。

3nの生残率が2nより低くなったが、2nの生残率が変動巾の最大値に達したためで、同時に行った種苗生産の生残率は39.8%であり、稲田も3nの生残はやや劣るものの大きな成長差は見られないとしている。これらのことから、低温処理により染色体を倍数化しても、成長、生残に与える影響はないものと思われる。

試験終了時の奇形魚発生割合は3nおよび2nとも1%以下であった。

第5表 仔魚飼育結果

項目	区	3n	2n
飼育水量		8×1.5×1.0m	12m ²
飼育期間		80日	
開始時	尾数	60千尾	80千尾
	全長	6.54mm	6.78mm
終了時	尾数	28千尾	53千尾
	全長	32.3mm	28.6mm
生残率		46.7%	66.3%



第1図 3倍体魚の成長(全長)

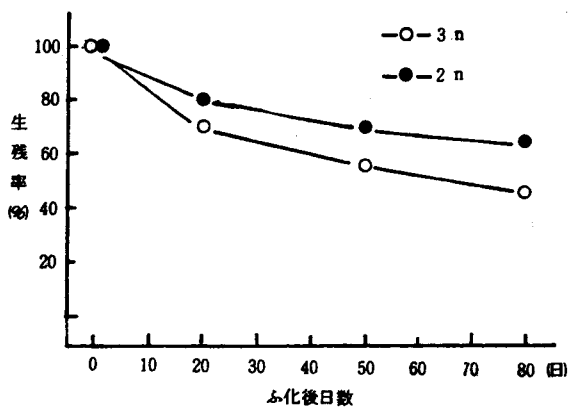
要 約

アユの染色体倍數化による3nの作出と仔魚の成長、生残について試験した。

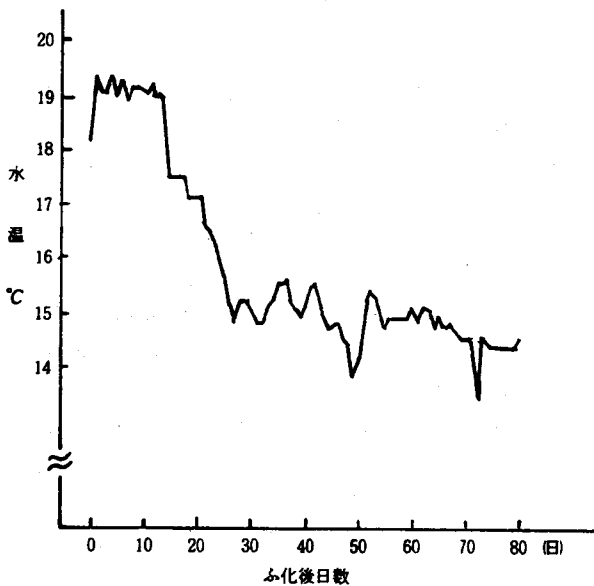
1. 第2減数分裂阻止による3nの作出には、受精の5分後に30分間の低温処理が有効であった。
2. 3nの赤血球細胞長径は11.5 μ で2nの9.6 μ の1.2倍であった。
3. 第1卵割を阻止し4nを作出するため、受精の80分後に60分間の低温処理を行ったが染色体を倍數化することはできなかった。
4. 3n仔魚の飼育試験をふ化後80日まで行ったが、生残は2nより劣るものの、成長では大きな差は見られなかった。また、奇形魚發生率も低かった。

文 献

- 1) 高橋昭夫(1987) 染色体工学手法によるアユの雌性發生-I、淡水魚類の雌性化技術開発 神奈川県淡水魚増殖試験場報告 23 3-7
- 2) 谷口順彦(1986) 染色体倍數化技術と魚類育種(上) 水産の研究 5-5(24) 86-90
- 3) 小島吉雄(1984) 染色体工学に基づく人為倍數性魚の形成 魚類細胞遺伝学 93-97
- 4) 稲田善和(1985) 魚類の成熟、産卵制御に関する研究、昭和60年度指定調査研究総合助成事業報告書
- 5) 臼田博(1986) 温度処理による3倍体アマゴの作出と飼育、染色体操作による有用魚類の品質改善研究-(1), 岐阜県水産試験場研究報告 31 16-19
- 6) 土屋文人他(1986) 温度刺激によるヤマメ染色体の倍數化について 新潟県内水面水産試験場研究報告 13 23-28
- 7) 小島吉雄(1984) 魚類染色体データマニュアル 魚類細胞遺伝学 183



第2図 3倍体魚の生残



第3図 飼育水温の経日変化