

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雌性発生 - II

高橋 昭夫

近年、魚類の染色体の倍数性を利用する育種技術として卵の染色体を操作し、雌性発生を誘発する研究が行われている。当場においても昭和60年度よりアユの雌性発生を可能にする試験を行ったが、作出率が低い等の問題が多かった。61年度は作出率を高くする条件等について試験を実施した。

材料および方法

用いたアユ親魚は当場で人工採苗し、親魚まで養成したもので、精子は成熟した雄魚から搾出法により、卵も成熟排卵した雌魚から搾出法により採取した。

親魚養成の違いが染色体の倍数化に与える影響

親魚は春季(5月上旬から6月下旬)に電照を行い8月上、中旬に採卵できる早期群と、自然日長によって9月上、中旬に採卵できる通常群および6月下旬から9月下旬まで電照を行い10月上、中旬に採卵できる晩期群を用い、それぞれの親魚群から採卵し、不活化精子で媒精し5分後に低温処理(0~0.5℃、30分間)を行いその後のふ化率(生残率)を比較した。

採卵は排卵後1時間以内の親魚から行い、媒精後の卵はスライドガラス上に付着させ、吸水してから処理した。

排卵後の経過時間と染色体倍数化後のふ化率

親魚は自然日長下で飼育した通常群を用い、排卵後24時間以内の卵と排卵後1時間以内の卵を使用し、不活化精子で媒精し5分後に低温処理(0~0.5℃、30分間)を行い、そのふ化率を比較した。

媒精後の卵はスライドガラス上に付着して吸水が終了してから処理した。

卵の大量低温処理

実用化のためには大量の卵を低温処理する必要があることから10万粒以上の卵を不活化精子で媒精後、ポリエチレン袋に収容し吸水させ、低温処理もポリエチレン袋に入れたまま行い、処理終了後にシュロ製の魚巢に付着させた。

媒精時の不活化精子の量は卵10万粒につき6ml使用し、親魚は通常群を使用した。

仔魚飼育試験

大量低温処理により作出した雌性発生2倍体(G2n)と通常の受精によりふ化した仔魚(2n)を12トン(8m×1.5×1)のコンクリート角型池に、G2n80千尾、2n80千尾収容し、ふ化80日後までの成長と生残をを比較した。

飼育水および給餌等は当場のアユ種苗生産の方式に従って行った。

結果と考察

親魚養成の違いが染色体の倍数化に与える影響

結果を第1表に示す。

早期群の親魚を使用してG2nの作出を2回行ったが、発眼までいたらなかった。第1表に示した他に何回か行ったが、いずれも発眼しなかった。

通常群と晩期群の親魚では、両群とも正常なふ化仔魚が得られ、ふ化率は通常群が17.5%、21.0%で晩期群の12.4%、13.2%よりやや良かった。

早期群の親魚ではG2nの作出が出来なかったが、2nのふ化率は親魚間による差はほとんどみられていないので、早期群は電照により成熟を早めたこと以外

は他の群と変わらないので、このことが影響しているとも考えられるが不明である。

このことは重要なことで、今後、加圧処理による染色体倍數化の検討が必要であろう。

第1表 親魚の違いと雌性発生2倍体作出率

親 魚	採卵時水温	月 日	受精卵数	発眼率	ふ化率	備 考
早期群	22.3℃	8月11日	350粒	0%	— %	
		8・18	420	0	—	
		8・18	280	58.9	54.3	通常発生
通常群	19.0	9・2	400	32.5	17.5	
		9・11	328	43.3	21.0	
		9・11	310	60.0	56.8	通常発生
晚期群	17.1	10・12	169	27.8	12.4	
		10・16	151	29.1	13.2	
		10・16	220	58.2	55.0	通常発生

排卵後の経過時間と染色体倍數化後のふ化率

結果を第2表に示す。

排卵後24時間以内の親魚から採卵し低温処理した卵のふ化率は17.3%で前年度より高くなったが、1時間おきに排卵の有無を調べ、排卵した親魚から採卵し、低温処理した卵のふ化率は43.9%と高くなった。なお、

同時に行った2nのふ化率も、排卵1時間以内の卵が71.5%で排卵24時間以内の56.8%より高くなっているがG2nのふ化率ほど差はなかった。

この結果から低温処理によって染色体倍數化を行う卵は、排卵直後または排卵後1時間以内に行うのが有効と考えられる。

第2表 排卵後の経過時間と雌性発生2倍体作出率

排卵後の時間	採卵時水温	受精卵数	発眼率	ふ化率	備 考
24時間以内	19.0℃	400粒	32.5%	17.3%	
1時間以内		310	60.0	56.8	通常発生
		446	64.0	43.9	
		330	75.2	71.5	通常発生

卵の大量低温処理

結果を第3表に示す。

使用した卵は排卵後1時間以内の親魚より採卵し低温処理を行った。

一度に10万以上の卵を処理するのに使用した不活化精子は、当初に予定した0.6cc/1万粒の量で十分受精することがわかった。

10万粒の卵を一度に低温処理した。ふ化率は30%以

上で良かったが、卵数が多いとふ化率が悪くなる傾向もみられ、同時に行った2nのふ化率は70.7%であった。

アユ卵は受精と同時に付着膜を反転して物に付着するが、ポリエチレン袋の中では卵と卵が多少付着するもののポリエチレン袋には付着しなかった。また、処理終了後に魚巢へ付着するときはまだ十分付着力を保持していた。

第3表 卵の大量低温処理による作出率

受精卵数 千粒	受精時水温 ℃	低温処理			ふ化率 %
		水温 ℃	時期 分	時間 分	
104	17.2	0~0.5	5	30	43.7
145	17.2	0~0.5	5	30	30.0
58	—	—	—	—	70.7

仔魚飼育試験

仔魚飼育結果を第4表および第1図に示す。

生残はG2nが30千尾で生残率は37.5%であったが、2nでは53千尾で生残率66.3%と高かった。

成長はG2nの全長が31.9mmで、2nの28.6mmより良かった。2nの生残率が66.3%と高かったのは、排卵後1時間以内の良質卵を使用したことによる飼育途中のへい死がほとんどみられなかったためである。

種苗生産に使用している卵は排卵後24~48時間のもので、80日頃の生残率は39.8%であり、今回のG2nの生残率が低いとは思われない。なお、終了時における奇形魚の割合は、G2nおよび2nとも1%以下であった。

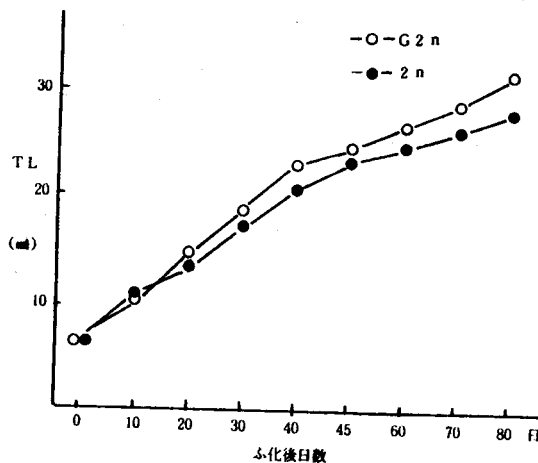
第4表 仔魚期の飼育結果

項 目	G2n	2n
飼 育 水 量	12トン(8×1.5×1m)	
飼 育 期 間	9月25日~12月14日 80日間	
開始時尾数	80,000尾	80,000尾
開始時全長	6.59mm	6.78mm
終了時尾数	30,000尾	53,000尾
終了時全長	31.9mm	28.6mm
生 残 率	37.5%	66.3%

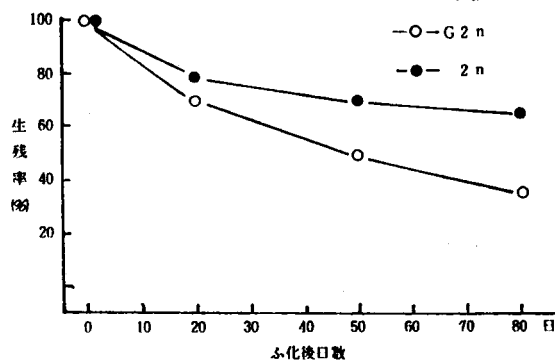
要 約

アユの雌性発生2倍体を効率よく作出する条件等について検討した。

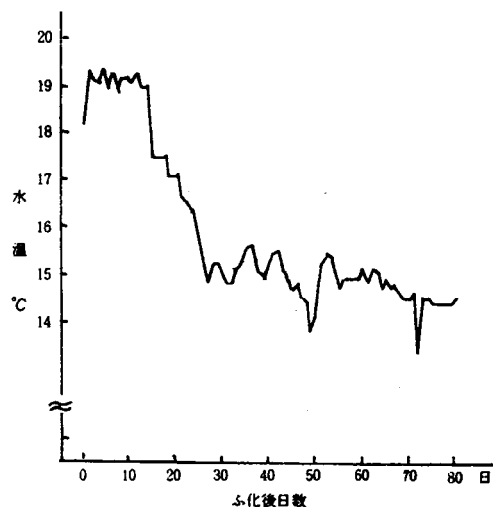
1. 養成親魚のうち早期群を使用すると原因は不明であるが雌性発生2倍体作出することは出来なかった。
2. 排卵直後か排卵後1時間以内の卵を使用することで作出率は向上した。
3. 大量の卵を処理するためにポリエチレン袋の使用が有効であった。
4. 出魚の成長、生残は生残で2nより低いものの成長では差はみられなかった。また、奇形発生率も低かった。



第1図 雌性発生2倍体魚の成長(全長)



第2図 雌性発生2倍体の生残



第3図 飼育水温の経日変化

文 献

- 1) 高橋昭夫(1987) 染色体工学法によるアユの雌性発生-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