

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—Ⅲ

高橋昭夫

魚類の染色体の倍数化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ことを目的として、アユの第2極体放出阻止による雌性発生2倍体魚の作出に関する試験を実施するとともに、61年度に作出した雌性発生2倍体魚の特性について調べた。

材料と方法

用いたアユ親魚は当场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、卵は成熟排卵した雌魚からそれぞれ搾出法により採取した。

特性の調査に用いた雌性発生2倍体魚は、61年度に低温処理により作出した魚を使用した。

精子希釈液の組成の検討と保存

搾出した精液を顕微鏡下のスライドガラス上に滴下後に、第1表に示した組成の希釈液で希釈し、精子が活動するかどうかを検査した。

精液保存は第1表のD希釈液で希釈した精液と、この希釈精液を紫外線で照射(7,000ergs/mm²)した精液を室温及び冷蔵庫内に置き、60分おきに顕微鏡下のスライドガラス上に精液を滴下し、0.1MNaCl液を加え、精子の活動量を目視で行った。

第1表 希釈液の組成

内 容 物	A	B	C	D	E
塩化ナトリウム(g)	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
塩化カリウム(g)	1.8	1.8	1.8	1.8	—
塩化カルシウム(g)	0.2	0.2	—	—	—
重炭酸ナトリウム(g)	0.02	—	0.02	—	—

蒸留水 1 ℓ 当り

稚魚期の成長と生残

雌性発生2倍体魚の稚魚期の成長、生残を調べるため、通常2倍体魚を対照に昭和62年4月23日から6月19日まで58日間飼育を行った。供試魚は雌性発生2倍体魚が体重、 3.00 ± 0.78 g、全長、 7.68 ± 0.52 cm、通常2倍体魚が体重、 2.87 ± 0.49 g、全長、 7.76 ± 0.50 cmに成長した稚魚を5,000尾づつ16トン(8×2×1 m)のコンクリート水槽へ別々に収容し、飼育水は淡水の流水で実施した。

成熟調査

成熟期(8月～9月)における雌性発生2倍体魚の雌雄比及び生殖線熟度指数($GSI = GW/BW\%$)を調べ、採卵が可能な魚については採卵を実施し、ふ化率等を調べた。

結果と考察

精子希釈液の組成の検討と保存

試験結果を第2表に示した。

第2表 試験結果

希釈液	希釈液中の精子	0.1M NaCl添加後の精子
A	—	+
B	—	+
C	—	+
D	—	+
E	+	—

+: 動く —: 動かない

61年度に使用していたKCl強化淡水魚用リンゲル液から、塩化カルシウム (CaCl_2)、重曹 (NaHCO_3) の順に除いていった結果、塩化ナトリウム (NaCl) と塩化カリウム (KCl) のみの溶液 (D液) でアユの精液を希釈することが可能となった。

D液で希釈した精液がどのくらいの時間保存することが可能であるかを調べた結果を第3表に示した。

室温 (17~18℃) に置いた希釈精液と照射精液は60分までは、ともにほとんどが活発に動き、120分後でもほぼ半数が動いた。180分経過すると一部の精子が動くだけで、動きも不活発になり、240分後にはすべてが動かなくなった。

冷蔵庫内 (5℃) に置いた精液は180分後まで活発に動き、240分後でもほぼ半数が動いた。その後、300

第3表 希釈精液の保存時間と運動性

精液の種類	保存場所	保 存 時 間 (分)									
		0	60	120	180	240	300	360	420	480	1440
希釈精液	室内	++	++	+	±	—					
"	冷蔵庫内	++	++	++	++	+	±	±	±	±	±
照射精液	室内	++	+	+	±	—					
"	冷蔵庫内	++	++	++	++	+	±	±	±	—	

++: 90%以上の精子が動く

+: 50%以上の精子が動く

±: 10%以上の精子が動く

—: すべての精子が動かない

~420分後までは動きは不活発であるが一部が動き、480分経過すると照射精子はまったく動かなくなった。希釈精子は1,440分後 (24時間) でも不活発であるものの一部の精子が動いた。

室温に120分間置いた精液と、冷蔵庫内に180分間置いた精液は、希釈精液及び照射精液を卵に受精させたところ両精子ともほぼ100%受精した。

NaCl 17.5gとKCl 10.18gを水100mlに溶かして作成した希釈液は、アユの精液希釈液として十分使用できるとともに、希釈精液及び照射精液を冷蔵庫内に保存すれば180分後でも使用できることが判明した。

稚魚期の成長と生残

飼育結果を第4表に、水温を第1図に示した。

飼育期間の体重の変化は、第2図に示したとおり雌性発生2倍体魚と通常2倍体魚は同じ様な成長を示した。

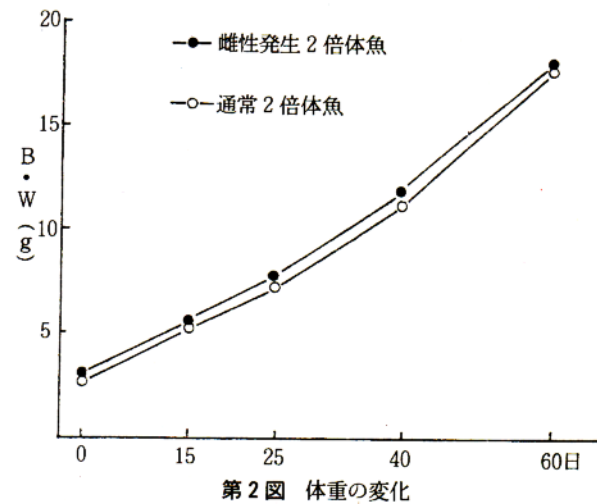
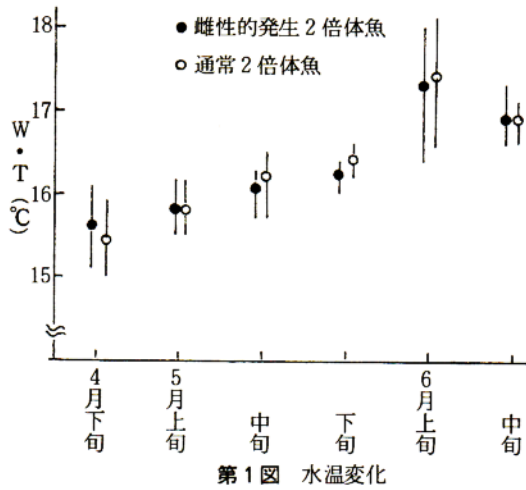
生残は第3図に示したが、雌性発生2倍体魚は40日目以降にチョウチン病の発生によりへい死が見られるようになった。このチョウチン病は通常2倍体魚でも発生したが、その率は雌性発生2倍体魚より低く、飼育終了時のチョウチン病発病率は雌性発生2倍体魚が10%で、通常2倍体魚の4%より2.5倍多かった。

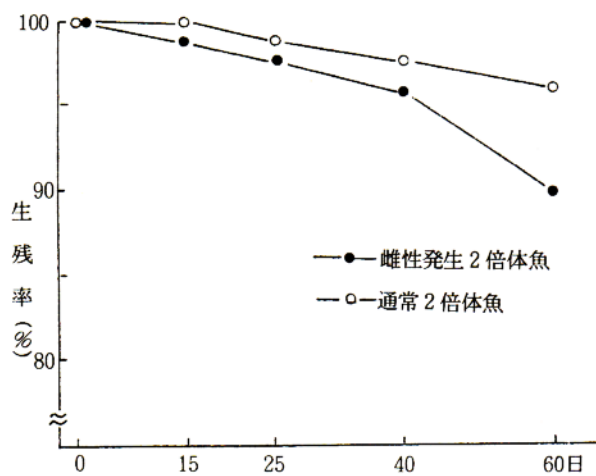
飼料効率、日間成長倍率、肥満度にはほとんど差が見られなかった。

前回の仔魚期¹⁾と今回の飼育結果から、雌性発生2倍体魚の成長、生残は、通常2倍体魚と比較しても差のないことが判明した。

第4表 飼育結果

項 目		通常2倍体魚	雌性発生2倍体魚
開始時	尾 数(尾)	5000	5000
	平均体重(g)	2.87 ± 0.49	3.00 ± 0.78
	平均全長(cm)	7.76 ± 0.50	7.68 ± 0.52
	平均肥満度	6.12	6.63
給 餌 日 数		58	58
終了時	尾 数(尾)	4786	4476
	平均体重(g)	17.76 ± 3.65	17.97 ± 3.46
	平均全長(cm)	13.32 ± 0.82	13.22 ± 0.92
	平均肥満度	7.28	7.74
生 残 率(%)		95.7	89.5
増 重 重(g)		70650	65400
給 餌 量(g)		61880	61880
飼 料 効 率(%)		114.2	105.7
日 間 成 長 倍 率		2.41	2.38
チョウチン病発病率(%)		4.0	10.0





第3図 生存率

成熟調査

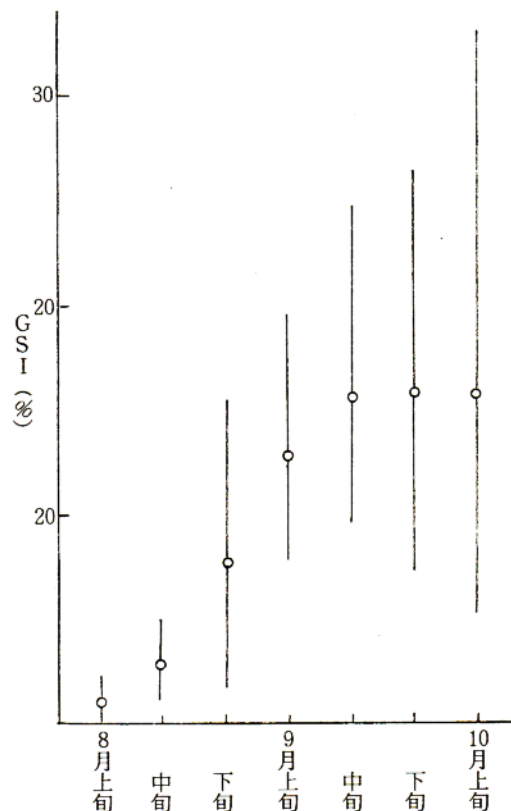
生殖腺熟度指数 (GSI) の測定結果を第4図に示した。

各時期とも調査魚すべてが雌であった。このことから、低温処理により第二極体の放出を阻止して雌性発生2倍体魚の作出に成功したことを確認した。

生殖線の発達 は 8月上旬から一部の魚体に見られるようになり、8月下旬にはほとんどの魚体で卵巣が発達し、GSIは7.7%となった。9月中旬には排卵する魚体も見られるようになり、採卵を実施し、結果を第5表に示した。9月20日の採卵は雌性発生2倍体魚作出のために低温処理を行ったもので、その他は通常2

倍体魚の作出を行った。ふ化率及びふ化仔魚は福岡内水試水試²⁾の報告と同様に通常2倍体魚と差のない正常なものであった。

雌性発生2倍体魚は通常2倍体魚の雌と同様に成熟し、妊性を持つことが判明した。



第4図 生殖腺熟度指数の変化

第5表 採卵結果

月 日	採卵数	発眼率	ふ化尾数	ふ化率	備考
9 14	564千粒	34 %	147千尾	26.1 %	2n
20	78	32	22	28.2	G 2n
21	180	65	105	58.3	2n
10 5	390	64	224	57.6	2n

要 約

1. アユの雌性発生2倍体魚の作出試験と、前年度に作出した雌性発生2倍体魚の特性について調査し。
2. 精子希釈液の成分組成を検討した結果、61年度に使用していたKCl強化リンゲル液組成のうち、 CaCl_2 と NaHCO_3 を除いても十分使用出来ることが判明した。
3. NaCl (0.75 g) と KCl (0.18 g) を水100mlに溶かして作成した希釈液で、希釈した精液がどのくらいの時間保存できるかを調べた結果、室温 (17~18℃) では120分間、冷蔵庫内 (5℃) では180分間保存し、使用できることが判明した。
4. 雌性発生2倍体魚の特性調査では、稚魚期の成長、生残、飼料効率等を通常2倍体魚と比較すると成長には差がみられなかったが、生残はチョウチン病の発病率に差が見られ、雌性発生2倍体魚が通常2倍体魚より少し低くなった。
5. 雌性発生2倍体魚は通常2倍体魚と同様に成熟し、妊性を持ち、排卵した魚体から採卵を行った結果、得られたふ化仔魚は正常であった。

文 献

- 1) 高橋昭夫 (1988) : 染色体工学手法によるアユの雌性発生-II, 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, 24.
- 2) 福岡県内水面水産試験場 (1988) : アユの倍体および雌性発生による育種に関する研究. 昭和62年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書.