

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 - II

高橋昭夫・戸井田伸一

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、3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3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3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。

排卵後の経過時間と倍数化

排卵直後の1尾の雌から1時間おきに8時間後までと、10時間後及び14時間後に排卵した卵の一部を搾出し受精した。受精卵はスライドガラス上に附着し、受精の5分後に低温恒温槽内で低温処理（0℃30分間）を行い、卵の染色体を倍数化して3倍体魚の生残率（ふ化率）を調べた。なお、対照として排卵直後、4時間後、8時間後及び14時間後に通常2倍体魚の生残率を調べた。

稚魚期の成長と生残

稚魚期の3倍体魚の成長と生残を調べるため、通常2倍体魚を対照に、昭和62年4月23日から6月19日までの58日間飼育を行った。供試魚は3倍体魚が平均全長 8.4 ± 0.35 cm、平均体重 3.63 ± 0.60 g、2倍体魚が平均全長 7.6 ± 0.50 cm、平均体重 2.87 ± 0.49 gに成長した稚魚で、両区に5,000尾づつ16トン（ $8 \times 2 \times 1$ 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。

低酸素耐性

低酸素に対する耐性を調べるため、ビニール袋内に淡水20ℓを入れ、第1表に示した供試魚とDOメーターのセンサーを入れてビニール袋を密閉し、鼻上げ開始時及び全数へい死時の溶存酸素量（DO）を調べた。なお、ビニール袋を密閉する時はビニール袋内に空気が残らないようにした。

第1表 低酸素耐性試験の供試魚

試験番号	水 量	供 試 魚			
		種 類	尾 数	全 長	体 重
1	20 ℓ	3 n	20 尾	13.83 ± 0.55 cm	19.2 ± 2.29 g
	20	2 n	20	13.93 ± 0.71	20.34 ± 3.16
2	20	3 n	40	14.15 ± 0.67	22.9 ± 3.20
	20	2 n	40	13.98 ± 0.64	23.93 ± 3.06
				3 n : 3 倍体魚	2 n : 通常 2 倍体魚

成熟調査

成熟期である8月下旬から10月下旬にかけて通常2倍体魚を対照に体重及び生殖線熟度指数（GSI）の変化を調べた。なお、通常2倍体魚と3倍体魚の飼育池は別にして行った。

越冬飼育

10月上旬から3月下旬まで、飼育水に水温の異なる湧水と河川水を使用し、雌雄各500尾づつを収容して冬の成長、生残を比較した。

飼育池は屋外の円形水槽（19トン）を使用し、給餌は配合飼料を飽食まで1日4回投与した。

結果と考察

排卵後の経過時間と倍数化

結果を第2表と第1図に示した。

排卵直後の卵の生残率は3倍体魚が71.1%、通常2倍体魚が75.8%であったが、その後の3倍体魚は2時間後に43.9%まで低下したあと、除々に上昇し5時間

後には63.2%になった。その後はまた低下しだし、8時間後にはまた43.6%になった。14時間後には60.1%までまた上昇した。

通常2倍体魚は4時間後が67.0%、8時間後が67.9%、14時間後でも69.0%とほぼ同じ生残率を示した。

3倍体魚の生残率が排卵を開始してから時間の経過により上下するということは、アユの排卵が一度に行われなかったためと考えられる。

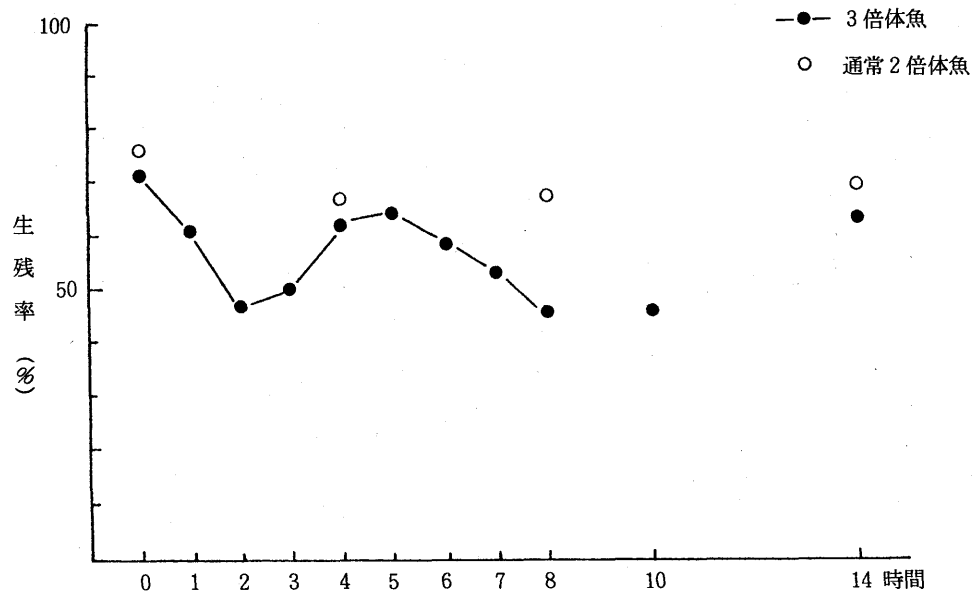
前年度までの試験では、卵質により染色体倍数化後の生残率に大きな差が見られ、排卵直後の卵を使うことが必要であった。

排卵直後の卵と同程度の生残率を得るには、排卵してから何時間以内に採卵すれば良いかを、検討するために本試験を行ったが、排卵が一度に行われなかったためか、明確な関係を見出すことができなかった。

伏木¹⁾によると、アユの排卵は外部環境要因により作用されるとしており、今回の試験では供試魚を網いけすに収容して行ったことが影響し、排卵を狂わせたとも考えられる。

第2表 排卵後の経過時間と卵倍数化処理後の生残率

排卵後の時間	卵数	発眼率	ふ化率	作出魚の種類
0 時間	474 粒	81.6 %	70.3 %	3倍体魚
1	310	75.8	58.1	"
2	328	74.4	43.9	"
3	445	53.7	49.9	"
4	546	64.8	60.3	"
5	269	67.7	63.2	"
6	315	62.8	58.7	"
7	392	53.6	51.5	"
8	312	61.2	43.6	"
10	363	48.2	46.2	"
14	501	66.6	60.1	"
0	298	80.2	75.8	通常2倍体魚
4	610	92.3	67.0	"
8	467	68.3	67.9	"
14	393	69.2	69.0	"



第1図 排卵後の経過時間と生残率

稚魚期の成長と生残

飼育結果を第3表に、水温を第2図に示した。

飼育期間の成長は第3表に示したとおり3倍体魚と通常2倍体魚は同様に成長した。

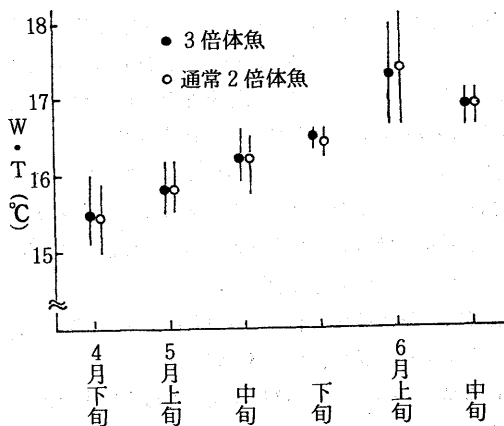
生残は第4図に示したとおり通常2倍体魚とほとん

ど差が見られず、飼料効率、日間成長倍率及び肥満度でもほとんど差が見られなかった。

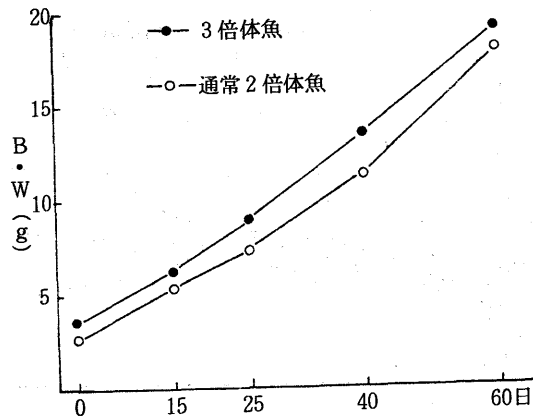
前回の仔魚期と今回の稚魚期の飼育結果から第2極体放出阻止による3倍体魚の成長と生残は通常2倍体魚と差のないことが判明した。

第3表 3倍体アユ稚魚期の飼育結果

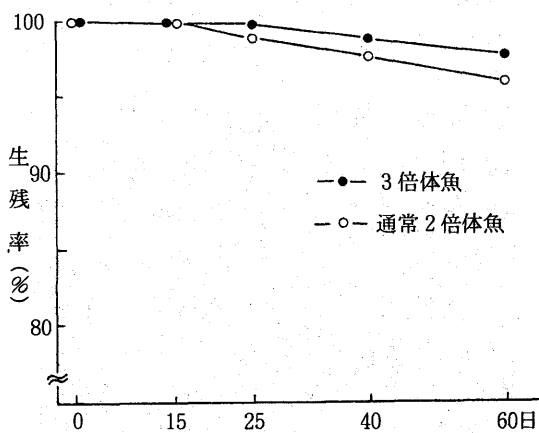
項 目		3 倍 体 魚	通常 2 倍体魚
開 始 時	尾 数 (尾)	5000	5000
	平均体重 (g)	3.63 ± 0.60	2.87 ± 0.49
	平均全長 (cm)	8.46 ± 0.35	7.76 ± 0.50
	平均肥満度	5.95	6.12
給 餌 日 数		58	58
終 了 時	尾 数 (尾)	4888	4786
	平均体重 (g)	18.86 ± 2.72	17.76 ± 3.65
	平均全長 (cm)	13.77 ± 0.60	13.32 ± 0.82
	平均肥満度	7.21	7.28
生 残 率 (%)		97.8	95.7
増 重 量 (g)		74040	70650
給 餌 量 (g)		61880	61880
飼 料 効 率 (%)		119.7	114.2
日間成長倍率		2.26	2.41



第2図 3倍体アユ稚魚期の飼育水温



第3図 3倍体アユ稚魚期の成長



第4図 3倍体アユ稚魚期の生残

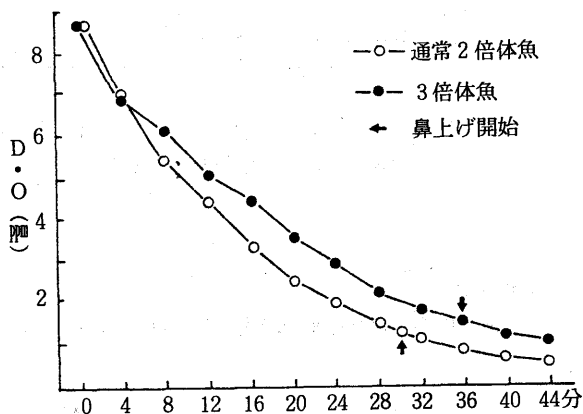
低酸素耐性

試験結果を第5図及び第6図に示した。

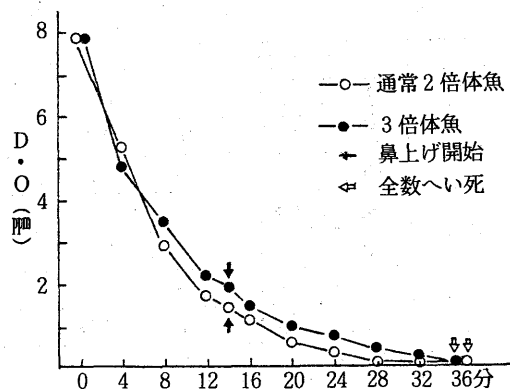
収容密度1尾/ℓの時は、3倍体魚の鼻上げはDOが1.5ppmから、通常2倍体魚は1.3ppmから始まった。収容密度を2尾/ℓにしたときは、3倍体魚が1.8ppm、通常2倍体魚が1.4ppmから始まり、両試験とも3倍体魚が通常2倍体魚より高いDOで鼻上げが始まった。

3倍体魚と通常2倍体魚の酸素消費量については、福岡内水試³⁾によると両者には明らかな差異は見られないとしていることから、3倍体魚が低酸素に対して弱いのは、岐阜水試⁴⁾の報告と同様に、赤血球の大きさが通常2倍体魚より3倍体魚が1.2倍大きいために、血液中の赤血球数は通常2倍体魚より3倍体魚が少なくなることによるものと考えられる。

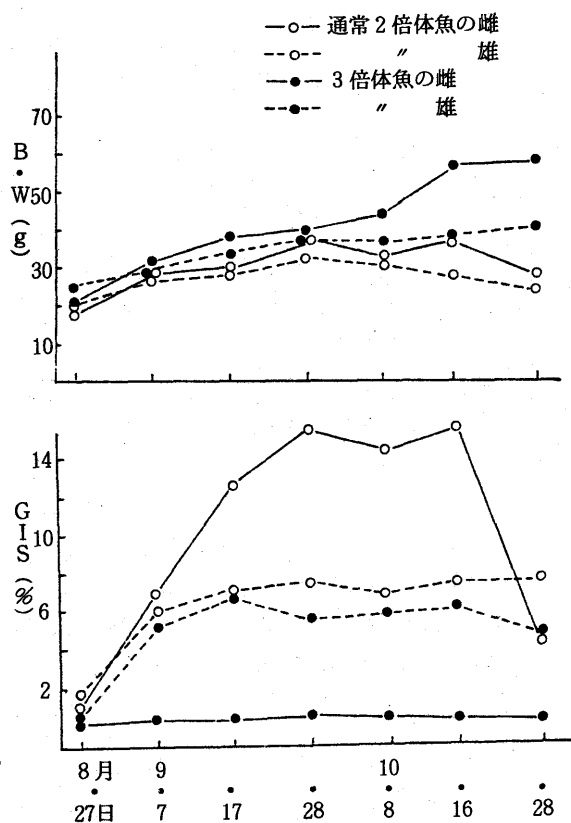
収容密度2尾/ℓの時に、全数がへい死するまで試験を行ったが、その時のDOは0.1ppmで3倍体魚及び通常2倍体魚とも同じであった。また、へい死に至るまでの時間も34分と同じであった。



第5図 密度1尾/ℓの時の酸素量と鼻上げ開始までの時間



第6図 密度2尾/ℓの時の酸素量と鼻上げ開始およびへい死の時間



第7図 体重と生殖腺指数の変化

成熟調査

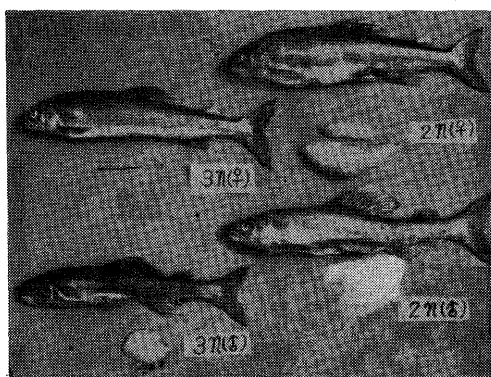
成熟期のGIS及び体重の変化を第7図に示した。

3倍体魚の雌のGSIは8月下旬に0.5%以下であったが、その後もほとんど高くなり、10月下旬でも0.5%以下であった。魚体には二次性徴も発現せずサビは見られなかったが、雄は9月になると精巣が発達し、9月中旬には5%以上になり魚体にはサビも出てきたが、放精することはなかった。この状態は10月下旬まで続いた。精巣の色は通常2倍体魚が白いのに対して、薄いアメ色であった(写真参照)。

通常2倍体魚は9月上旬から急激に、GSIが高くなりだし、下旬に採卵、採精が可能となった。

体重は9月中旬まで3倍体魚及び通常2倍体魚とも増加したが、その後の通常2倍体魚はほとんど増加せず、逆に減少する傾向であった。3倍体魚は雌雄は雌増加してはいるものの、雄はそれ程増えてはいない。

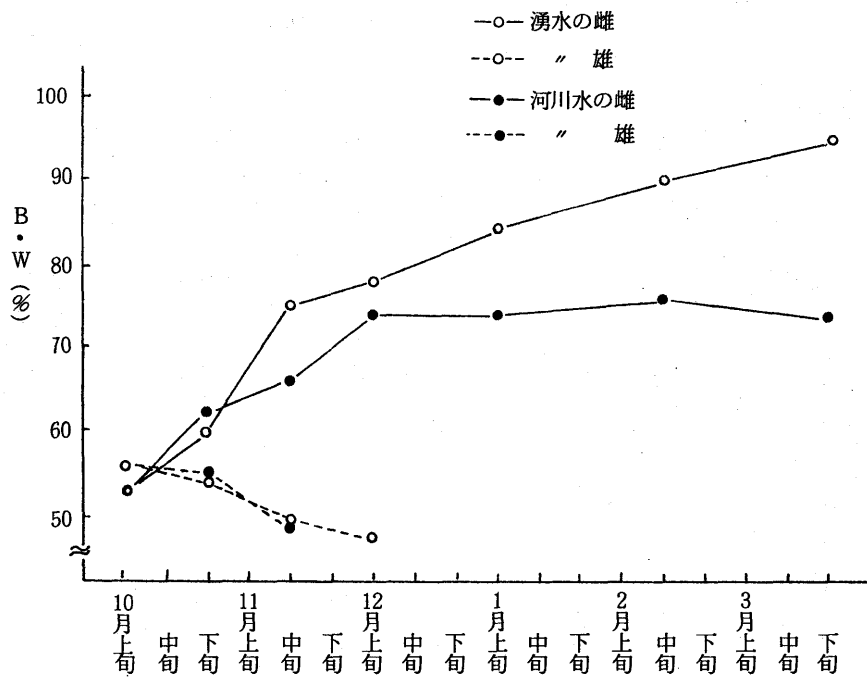
3倍体魚は福岡内水試、岐阜水試の報告と同様に雌は成熟せず、雄は成熟するが放精しないことが確認できた。



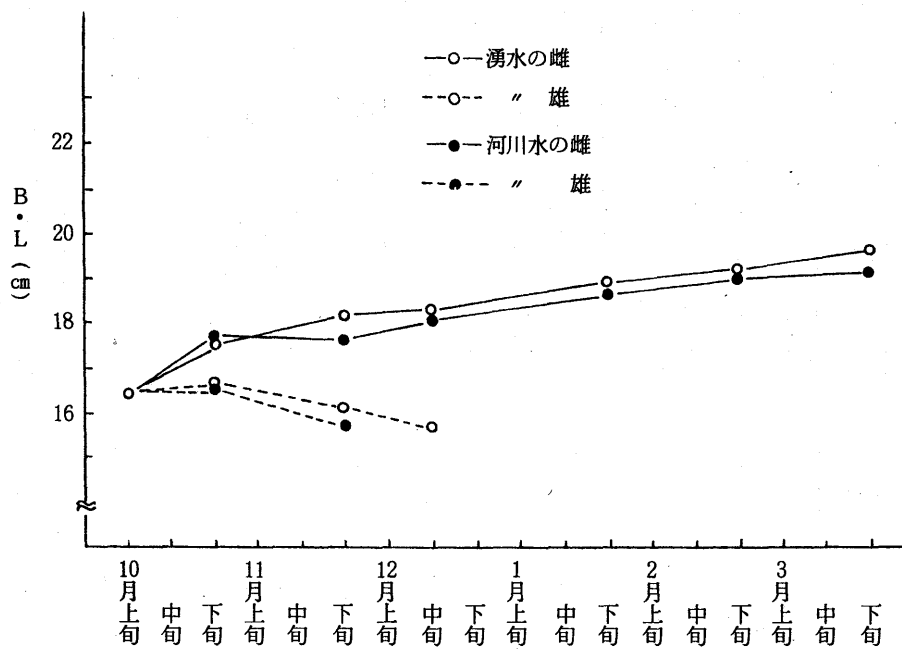
通常2倍体魚及び3倍体魚の精巣の及び卵巣

第4表 飼育結果

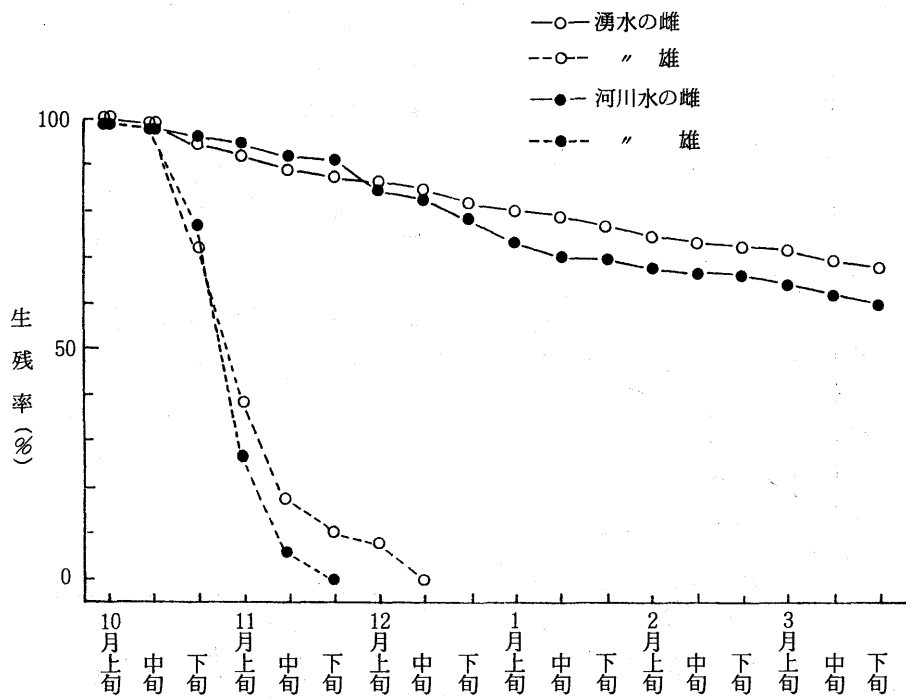
項 目		湧 水		河 川 水	
		雌	雄	雌	雄
開始時	尾数(尾)	500	500	500	500
	全長(cm)	19.1 ± 0.65	19.0 ± 0.71	19.1 ± 0.65	19.0 ± 0.71
	体長(cm)	16.4 ± 0.50	16.4 ± 0.64	16.4 ± 0.50	16.4 ± 0.64
	体重(g)	53.4 ± 5.26	56.1 ± 5.42	53.4 ± 5.26	56.1 ± 5.42
終了時	尾数(尾)	340	0	300	0
	全長(cm)	23.0 ± 0.76	—	22.1 ± 0.56	—
	体長(cm)	19.6 ± 0.62	—	19.1 ± 0.49	—
	体重(g)	93.7 ± 8.19	—	73.8 ± 8.85	—
生残率(%)		68.0	0	60.0	0



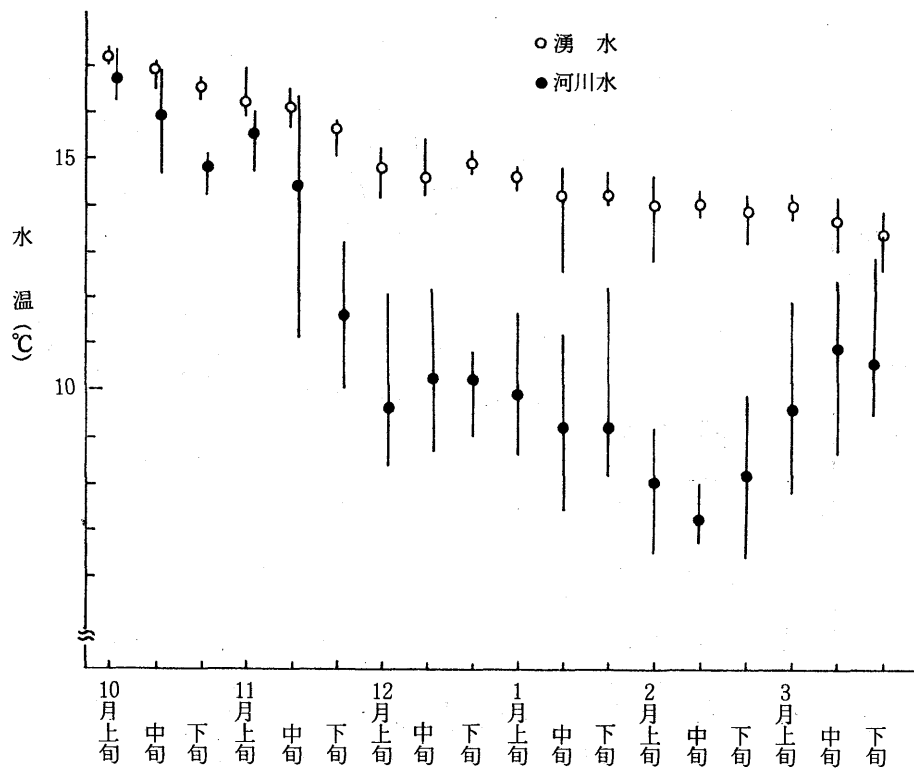
第8図 3倍体アユの越冬飼育時の体重



第9図 3倍体アユ越冬飼育時の体長



第10図 3倍体アユ越冬飼育期間の生残



第11図 3倍体アユ越冬飼育期間の水温

越冬飼育

飼育結果を第4表に示した。
飼育期間の成長は体重変化を第8図に、体長変化を第9図に、生残を第10図に、水温を第11図に示した。
試験開始後は雄に二次性徴が発現して10月下旬からへい死する魚体がみられだし、水温の低い河川水では、11月下旬までに雄のすべてがへい死し、湧水区でも12月中旬までにすべてがへい死した。雌は試験終了の3月下旬まで両区とも生残し、生残率は湧水で68%、河川水で60%と水温の高い湧水で多く生残した。

雄はへい死するまで体重及び体長とも成長が見られず、逆に減少する傾向が見られた。雌は12月上旬まで湧水と河川水とも体重の増加が見られた。湧水ではその後も成長し続けたが、水温が10℃以下となる日が多くなった12月中旬以降の河川水では、魚体重の増加は見られなくなった。ただし、体長では湧水と河川水とも試験終了まで増加した。

アユは年魚とも呼ばれるように1年でその一生を終わるが、低温処理により作出した3倍体魚の雌型(性染色体がXXX)は二次性徴は出現せず、1年を経ても生残し成長することが判明した。雄型(性染色体XXY)は二次性徴が発現し、精巣は発達するが放精せずに1年でへい死した。

冬期の水温が7℃以下(最低6.4℃)になっても3倍体魚の雌型は、福岡内水試の結果と同様へい死することはなかったが、成長はほとんどしなかった。

要 約

- 1. 排卵後の経過時間と3倍体魚作出率の関係を検討した。
- 2. 3倍体魚の特性に関して稚魚期の飼育試験、低酸素耐性、成熟及び越冬飼育試験を行った。
- 3. アユの排卵が一度に行われなかったためか、排卵後の経過時間と低温処理による3倍体魚作出率には、一定の関係がみられなかった。
- 4. 稚魚期の成長、生残、飼料効率、日間成長倍率及び肥満度は、通常2倍体魚と比較しても差がみられなかった。

- 5. 鼻上げ時の溶存酸素量を測定した結果から3倍体魚は通常2倍体魚より低酸素に弱いことが判明した。
- 6. 成熟期の雄型は二次性徴の発現により精巣は発達したが、放精することはなかった。雌型は二次性徴も発現せずGSIも0.5%以下であった。
- 7. 水温の異なる飼育水で越冬試験を行ったところ雄型はすべてへい死したが、雌型は生残し、水温が13℃以上であった湧水では成育し続けた。10℃以下となった河川水ではほとんど成育しないが、6.4℃になってもへい死することはなかった。

文 献

1) 伏木省三(1982): 外部環境要因による成熟・産卵の制御, 魚介類の成熟・産卵の制御, 水産学シリーズ, 41, 104-113.
2) 高橋昭夫(1988): 染色体工学手法によるアユの3倍体作出-1, 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.
3) 福岡県内水面水産試験場(1988): アユの倍数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.
4) 岐阜県水産試験場(1988): 染色体の倍数化技術の応用によるアユ・アマゴの品種改善研究, 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.
5) 福岡県内水面水産試験場(1986): 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.
6) 福岡県内水面水産試験場(1987): アユの倍数体および雌性発生による育種に関する研究, 昭和61年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書.