

淡水魚類の雌性化技術開発

ペヘレイの品種改良 - I

高橋 昭夫

魚類の染色体の倍数性を利用する育種技術として、ペヘレイの第2極体放出阻止による雌性発生二倍体魚と三倍体魚の作出に関する試験を実施した。

材料と方法

用いたペヘレイ親魚は当場で養成したもので、卵はチャスコムス湖産ペヘレイ（以下ペヘレイと呼ぶ）が成熟し排卵した雌魚から搾出法により採取し、精子はペヘレイとパタゴニア産ペヘレイ（以下「パタゴニア」と呼ぶ）及びマゴイの雄魚から搾出法により採取した。

ペヘレイの卵は数本のフィラメント状の付着糸を持っているために、卵と卵の付着糸が絡み合ってダンゴ状になってしまう。そこで、処理後の卵は鉢で付着糸を切り、卵と卵を分離してふ化まで管理した。

低温処理による雌性発生二倍体魚の作出

精子は、マゴイの雄から搾出した精液を人工精漿（ $\text{NaCl} : 4.38\text{g}$ $\text{KCl} : 6.21\text{g}$ $\text{CaCl}_2 : 0.29\text{g}$ $\text{MgCl}_2 : 0.16\text{g}$ $\text{H}_2\text{O} : 1000\text{cc}$ ）で100倍に希釈し、この希釈精液3ccを直径90mmのシャーレにいれて紫外線を照射（ $7,800\text{ergs/mm}^2$ ）したもので、この照射精液を、搾出した卵に媒精し、受精後に、低温恒温槽を用いて卵の染色体を倍数化した。

低温処理は、適正な処理時間と処理時期を見出だすため、受精5分後の卵を0℃の水中で10分、25分、40分、55分及び70分処理する区と、受精2分後、4分後、5分後、6分後、7分後及び8分後の卵を0℃の水中で40分処理する区を設けて行った。なお、対照区として、不活化した精子と受精させた卵を倍数化処理しない区およびペヘレイの精子で受精させた通常発生二倍

体魚区を設けた。

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、数尾の雌から卵を搾出し、マゴイ不活化精子で受精した後倍数化処理（5分後、0℃、40分間）を行った。なお、対照区として、不活化していないマゴイ精子と受精した後倍数化処理（5分後、0℃、40分間）した異質三倍体魚区、マゴイ不活化精子と受精した後倍数化処理しない区、ペヘレイ精子と受精した後倍数化処理（5分後、0℃、40分間）した三倍体魚区及びペヘレイ精子で受精後に倍数化処理しない通常発生二倍体魚区を設けた。

水圧処理による交雑三倍体魚の作出

精子にはパタゴニアを用い、ペヘレイ卵と受精後にアユの三倍体作出と同じ倍数化処理（5分後、 650kg/cm^2 、5分間）¹⁾を行った。対照区として、受精後に倍数化処理しない交雑二倍体魚区とペヘレイ精子を用いて受精後に倍数化処理しない通常発生二倍体魚区を設けた。

交雑三倍体魚と交雑二倍体魚の成長と生残

交雑三倍体魚と交雑二倍体魚の仔魚期の成長と生残を調べるために、通常発生二倍体魚を対照に、平成元年6月19日から7月13日までの56日間飼育を行った。

供試魚は各区ともふ化仔魚で、1区では通常発生二倍体魚、全長7.0mm、体重1.7mg、830尾を、2区では交雑三倍体魚、全長7.0mm、体重1.6mg、500尾を、3区では交雑三倍体魚、全長6.9mm、体重1.6mg、1,000尾を、4区が交雑二倍体魚で全長6.9mm、体重1.6mg、27尾を、それぞれ0.5トンのパンライト

淡水魚類の雌性化技術開発

ペヘレイの品種改良 - I

高橋 昭夫

魚類の染色体の倍数性を利用する育種技術として、ペヘレイの第2極体放出阻止による雌性発生二倍体魚と三倍体魚の作出に関する試験を実施した。

材料と方法

用いたペヘレイ親魚は当場で養成したもので、卵はチャスコムス湖産ペヘレイ（以下ペヘレイと呼ぶ）が成熟し排卵した雌魚から搾出法により採取し、精子はペヘレイとパタゴニア産ペヘレイ（以下「パタゴニア」と呼ぶ）及びマゴイの雄魚から搾出法により採取した。

ペヘレイの卵は数本のフィラメント状の付着糸を持っているために、卵と卵の付着糸が絡み合ってダンゴ状になってしまう。そこで、処理後の卵は鉢で付着糸を切り、卵と卵を分離してふ化まで管理した。

低温処理による雌性発生二倍体魚の作出

精子は、マゴイの雄から搾出した精液を人工精漿（ $\text{NaCl} : 4.38\text{g}$ $\text{KCl} : 6.21\text{g}$ $\text{CaCl}_2 : 0.29\text{g}$ $\text{MgCl}_2 : 0.16\text{g}$ $\text{H}_2\text{O} : 1000\text{cc}$ ）で100倍に希釈し、この希釈精液3ccを直径90mmのシャーレに置いて紫外線を照射（ $7,800\text{ergs}/\text{mm}^2$ ）したもので、この照射精液を、搾出した卵に媒精し、受精後に、低温恒温槽を用いて卵の染色体を倍数化した。

低温処理は、適正な処理時間と処理時期を見出だすため、受精5分後の卵を0℃の水中で10分、25分、40分、55分及び70分処理する区と、受精2分後、4分後、5分後、6分後、7分後及び8分後の卵を0℃の水中で40分処理する区を設けて行った。なお、対照区として、不活化した精子と受精させた卵を倍数化処理しない区およびペヘレイの精子で受精させた通常発生二倍

体魚区を設けた。

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、数尾の雌から卵を搾出し、マゴイ不活化精子で受精した後倍数化処理（5分後、0℃、40分間）を行った。なお、対照区として、不活化していないマゴイ精子と受精した後倍数化処理（5分後、0℃、40分間）した異質三倍体魚区、マゴイ不活化精子と受精した後倍数化処理しない区、ペヘレイ精子と受精した後倍数化処理（5分後、0℃、40分間）した三倍体魚区及びペヘレイ精子で受精後に倍数化処理しない通常発生二倍体魚区を設けた。

水圧処理による交雑三倍体魚の作出

精子にはパタゴニアを用い、ペヘレイ卵と受精後にアユの三倍体作出と同じ倍数化処理（5分後、 $650\text{kg}/\text{cm}^2$ 、5分間）¹⁾を行った。対照区として、受精後に倍数化処理しない交雑二倍体魚区とペヘレイ精子を用いて受精後に倍数化処理しない通常発生二倍体魚区を設けた。

交雑三倍体魚と交雑二倍体魚の成長と生残

交雑三倍体魚と交雑二倍体魚の仔魚期の成長と生残を調べるために、通常発生二倍体魚を対照に、平成元年6月19日から7月13日までの56日間飼育を行った。

供試魚は各区ともふ化仔魚で、1区では通常発生二倍体魚、全長7.0mm、体重1.7mg、830尾を、2区では交雑三倍体魚、全長7.0mm、体重1.6mg、500尾を、3区では交雑三倍体魚、全長6.9mm、体重1.6mg、1,000尾を、4区が交雑二倍体魚で全長6.9mm、体重1.6mg、27尾を、それぞれ0.5トンのパンライト

水槽に収容した。飼育水には人工汽水を用い、餌はシオミズツボウムシとアルテミアの生物餌料と配合飼料を用いた。

結果と考察

低温処理による雌性発生二倍体魚の作出

染色体を倍数化するため、卵を受精5分後に、0℃の水中に、10分、25分、40分、55分及び70分間と処理時間を変えて入れた結果を第1表と第1図に示した。

ふ化率は40分間処理の4区が2.5%で最も高く、つぎに25分間処理の3区が0.8%、10分間処理の2区が0.5%、55分間処理の5区が0.03%の順、倍数化処理をしていない1区は0%、70分間処理の6区では発眼率で0%であった。ふ化仔魚の奇形率は5区が0%と

最低で、処理時間の減少とともに高くなり、2区では50%であった。

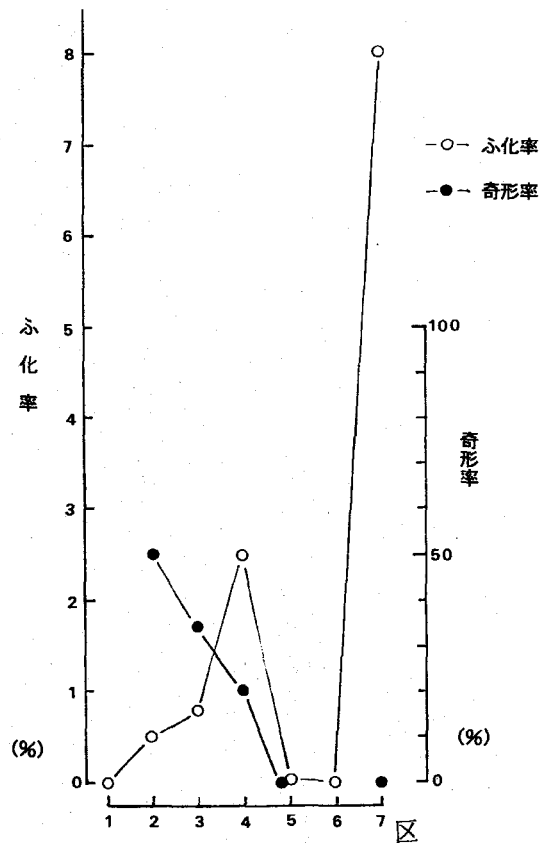
なお、対照とした通常発生二倍体魚の7区のふ化率が8.0%と低かったことから、試験に用いた卵の卵質はそれほど良いものではなかったと言える。

染色体を倍数化するため受精2分後、4分後、5分後、6分後、7分後及び8分後の卵を、0℃の水中で40分間処理した結果を第2表と第2図に示した。

ふ化率は、受精5分後の4区が1.5%で最も高く、ついで受精6分後の5区が0.9%、受精2分後の2区と受精4分後の3区が0.3%、受精7分後の6区と受精8分後の7区が0.2%で、倍数化処理していない1区は0%であった。ふ化仔魚の奇形率は、2区、3区及び6区は0%で、4区は12.5%、5区は20%、7区は100%の順であったが、4区と5区を除いた他の区

第1表 低温処理時間と雌性発生二倍体魚作出率の関係

区	受精卵数	処 理			発眼率 %	ふ化率 %	奇形率 %	備 考
		水 温	時 期	時 間				
1	400粒	—	—	—	0.5	0	—	半数体
2	400	0℃	5分後	10分間	3.0	0.5	50.0	
3	400	"	"	25 "	1.5	0.8	33.3	
4	400	"	"	40 "	4.0	2.5	20.0	
5	400	"	"	55 "	0.5	0.03	0	
6	400	"	"	70 "	0	—	—	
7	400	—	—	—	15.0	8.0	0	通常発生二倍体



第1図 不活化精子と受精したペヘレイ卵の低温処理時間別ふ化率および奇形率

はふ化仔魚が1尾と少なかった。

なお、対照とした通常発生二倍体魚の8区のふ化率が6.0%と低かったことから、試験に用いた卵の卵質はそれほど良いものではなかったと言える。

低温処理による雌性発生二倍体魚の作出は、ふ化率及びふ化仔魚の奇形率からアユの場合²⁾とはほぼ同様に、受精5～6分後に0℃の水中で40分間処理するのが有効であった。

卵の大量低温処理

結果を第3表に示した。

6,800粒のベヘレイ卵をマゴイ不活化精子で媒精し、受精後に低温処理した1区(雌性発生二倍体)のふ化率は3.8%で、ふ化仔魚の奇形率は13.8%であった。

マゴイ精子を不活化しないでベヘレイ卵3,700粒に媒精し、受精後に低温処理を行った2区(異質三倍体)と、マゴイ精子を不活化しないでベヘレイ卵4,200粒に媒精し、受精後に低温処理を行わない3区(異質二倍体)は共に発眼しなかった。

ベヘレイ精子を不活化しないでベヘレイ卵4,550粒に媒精し、受精後に低温処理を行った4区(三倍体)では、ふ化率が4.1%で、ベヘレイ精子を不活化しないでベヘレイ卵4,000粒に媒精し、受精後に低温処理を行わない5区(通常発生二倍体)はふ化率が8.0%

であった。ふ化仔魚には両区とも奇形魚が見られなかった。

ベヘレイ卵を一度に3,000粒以上媒精し、受精後に低温処理により卵の染色体を倍数化することが可能であった。

三倍体になっているかの判断は染色体数を調べて行うが、ベヘレイの染色体数に関する報告は見られないことから、小刻法により染色体標本を作成した。その結果、通常発生二倍体の染色体数は、作成した20尾の標本が42～48本であったことで、最も多い48本(写真-1)をベヘレイの染色体数と判断した。そこで、4区の染色体標本を作成し調べた結果、最大72本(写真-2)であったことから三倍体であると判断した。また、パタゴニアの染色体数はベヘレイと同様に48本であった。

加圧処理による交雑三倍体魚の作出

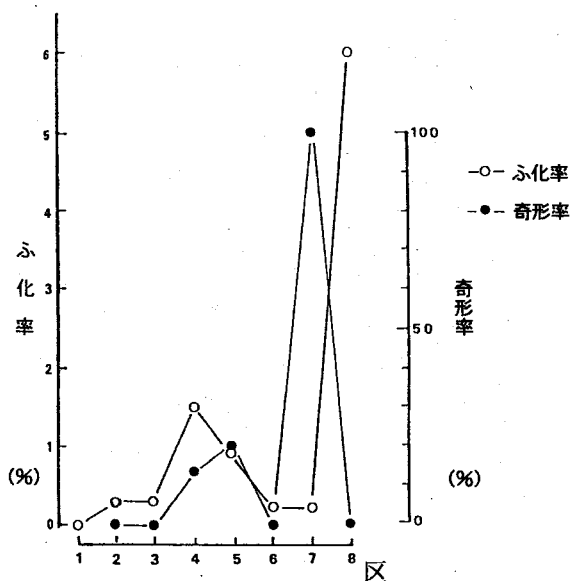
結果を第4表に示した。

16,500粒のベヘレイ卵をパタゴニア精子で媒精し、受精後に水圧処理した交雑三倍体魚区は、ふ化率6.1%、1,000尾のふ化仔魚が得られた。

1,650粒のベヘレイ卵をパタゴニア精子で媒精し、受精後に水圧処理を行わない交雑二倍体魚区は、ふ化率1.8%で、2,500粒のベヘレイ卵をベヘレイ精子で媒

第2表 低温処理時期と雌性発生二倍体魚作出率との関係

区	受精卵数	処 理			発眼率 %	ふ化率 %	奇形率 %	備 考
		水 温	時 期	時 間				
1	285粒	-	-	-	3.2	0	-	半数体
2	350	0℃	2分後	40分間	3.1	0.3	0	
3	300	"	4 "	"	3.7	0.3	0	
4	520	"	5 "	"	5.0	1.5	12.5	
5	560	"	6 "	"	3.6	0.9	20.0	
6	450	"	7 "	"	3.1	0.2	0	
7	620	"	8 "	"	0.5	0.2	100	
8	450	-	-	-	10.7	6.0	0	通常発生二倍体



第2図 不活化精子で受精したベヘレイ卵を40分間低温処理した時期別のふ化率および奇形率