

淡水魚類の雌性化技術開発

染色体工学手法によるヤマメの雌性発生Ⅱ

勝呂尚之・高橋昭夫

魚類の染色体の倍数体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、ヤマメの第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚の作出に関する試験を平成5年度に実施した。その結果、受精後4時間30分後の加圧処理（積算時間74.3℃・h）で、2尾（ふ化率3.1%）のふ化稚魚を得ることができた。

今年度もヤマメの雌性発生二倍体を作成するために最適な条件を見出すため、加圧処理の時期等について引き続き検討したので報告する。

材料及び方法

親魚 当場で継代飼育している系統で、人工採苗で養成したものを用いた。精子は、成熟した2才魚の雄から、卵は成熟排卵した2才魚の雌から採出法により採取した。

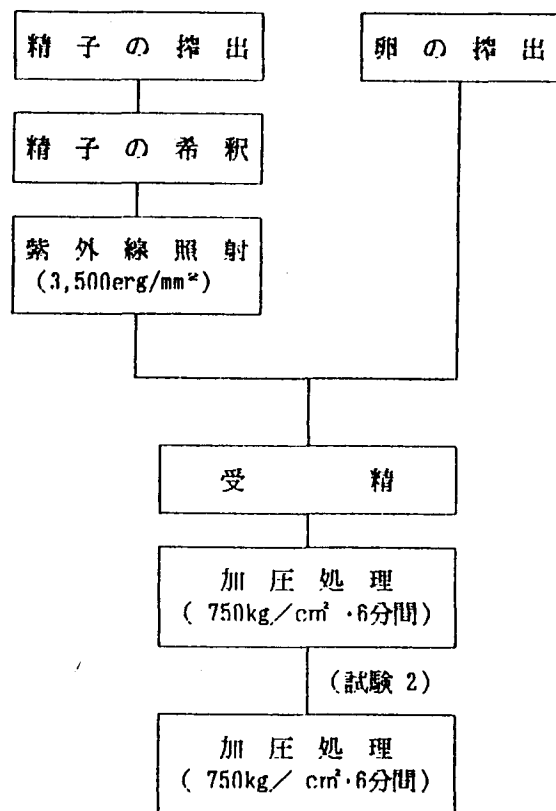
採卵した雌親魚は、試験1-aは4尾（平均体重 331.3g）試験1-bは5尾（平均体重 328.0g）、試験2は5尾（平均体重 316.2g）で、それぞれの卵と一緒に取扱った。雄は各試験とも1尾ずつである。

精子の不活化 第一卵割阻止による雌性発生二倍体魚の作出手順について第1図に示した。

採出した精子を希釈液（組成NaCl 9.04g, KCl 3.00g, CaCl₂ 0.34g, NaHCO₃ 0.20g, DW 1ℓ）で100倍に希釈し、この希釈精液3ccを直径9cmのシャーレに入れて、紫外線照射（3,500ergs/mm²）を行った。

加圧処理 不活化した希釈精液を、採出した卵に媒精し、受精後に加圧機を用いて加圧処理を行った。

試験1の加圧方法は、処理圧力750kg/cm²で6分間行った。試験2では、はじめに750kg/cm²で6分間行い、加圧終了後、圧力を0に下げ、同様の加圧処理を再度実施した。それぞれ適正な加圧処理時期を見出すため、受精後3時間（1区）、3時間30分（2区）、4時間（3区）、



第1図 加圧処理を用いた第一卵割阻止によるヤマメ雌性発生二倍体の採出方法フロー図

4時間30分（4区）、5時間（5区）の5試験区を設けて加圧処理を行った。また、対照区として、不活化を行わない通常の精子で、受精させた区と不活化した希釈精液で受精させ、倍数化処理を行わない区を設定した。

試験1は、平成5年11月9日（試験1-a）、11月17日（試験1-b）、試験2は11月12日に実施した。

結果及び考察

第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚の作出結果を第1表に示した。試験期間中の水温は、14.0～16.8℃であ

第1表 ヤマメの受精後の加圧時期と雌性発生二倍体の作出率

		処 理 (圧力 750kg/cm ² 6分間)			卵 数 (粒)	発眼率 (%)	ふ化率 (%)	奇形率 (%)
試験区		時 期	水 温 (°C)	積算水温 (°C・h)				
試験1a	1	3時間後	15.7	47.1	339	0	—	—
	2	3時間30分後	〃	55.0	362	0.3	0.3	0
	3	4時間後	〃	62.8	651	0.3	0.2	0
	4	4時間30分後	〃	70.7	789	0.4	0.3	0
	5	5時間後	〃	78.5	494	1.6	1.2	0
	6	通常受精(2n)	〃	—	334	95.8	80.2	0
	7	加圧処理なし(n)	〃	—	239	23.8	0	—
試験1b	1	3時間後	15.8	47.4	352	0	—	—
	2	3時間30分後	〃	55.3	366	0	—	—
	3	4時間後	〃	63.2	384	0	—	—
	4	4時間30分後	〃	71.1	477	15.9	4.2	0
	5	5時間後	〃	79.0	524	0	0	0
	6	通常受精(2n)	〃	—	473	39.7	11.6	0
	7	加圧処理なし(n)	〃	—	272	39.3	0	—
試験2	1	3時間後	15.5	46.5	349	0	—	—
	2	3時間30分後	〃	54.3	348	0	—	—
	3	4時間後	〃	62.0	241	0	—	—
	4	4時間30分後	〃	69.8	570	0.2	0.2	0
	5	5時間後	〃	77.5	384	0.2	0.2	0
	6	通常受精(2n)	〃	—	467	67.2	44.6	0
	7	加圧処理なし(n)	〃	—	341	0	—	—

* 奇形率はふ化直後に確認された奇形魚による

った。

試験1-aでは、5区(積算水温 78.5°C・h)のふ化率が1.2%と最高で、6尾のふ化仔魚を得た。さらに、2区(積算水温 55.0°C・h)と4区(積算水温 62.8°C・h)がふ化率0.2%で1尾のふ化仔魚を得た。

試験1-bでは、ふ化仔魚の作出に成功したのは4区(積算水温 71.1°C・h)だけで、ふ化率4.2%で20尾のふ化仔魚を得た。ふ化率4.2%は、今回の試験における最高のふ化仔魚作出率であり、発眼率も15.9%で特に高かった。対照区である通常受精区の発眼率が39.7%及びふ化率が11.6%と低かったにも関わらず、試験1-bの4区が他の試験も含めて最高であったのは、使用した雌親魚5尾のうち、一部の卵質が良好であったためと推定される。

試験2は、4区(積算水温 69.8°C・h)と5区(積算水温 77.5°C・h)がふ化率0.2%でそれぞれ1尾のふ化

仔魚の作出に成功した。

これらの結果から、ヤマメの雌性発生二倍体作出のためには、水温15°C付近では、受精後、4時間30分～5時間の積算温度で70～80°C・h前後に加圧処理を行うのが有効であると推察される。この結果は前年度の結果¹⁾とほぼ一致している。しかし、試験1-aと試験2において受精後の加圧処理時間が、5時間である5区でふ化仔魚が得られたことから、さらに処置時間を延長した試験区を設定して試験を行う必要がある。

また、試験2で実施した連続で2回加圧処理を行う方法は、最高でもふ化率が0.2%に過ぎず、加圧処理を1回行った試験1と比較して、特に有効性は認められなかった。

ニジマスの温度処理を用いた第一卵割阻止による雌性発生二倍体の作出試験では、二回処理により作出率を向

上させるとの報告がある²⁾。この場合は、再処理開始時間を一回目処理終了後30～90分経過した後に実施されている。

今回の結果では、再処理を連続して行ったため、作出率の向上に結びつかなかった可能性がある。従って次年度は、再処理を行うまでの時間についても検討を進めていきたい。また、今後、ヤマメの雌性発生二倍体の作出率を向上させ、その量産技術を開発するためには、二回加圧処理を含め、最適加圧力や加圧時間および加圧処理時期の詳細について、さらに検討を加えたい。

摘 要

- 1 ヤマメの第1卵割阻止による雌性発生二倍体の作出の最適加圧時期を見出すため、受精後3～5時間後に加圧処理を行い、発眼率とふ化率を検討するとともに、2回連続で加圧処理を行う有効性についても検討した。

- 2 試験1-aでは、5区（積算水温78.5℃・h）において、ふ化率1.2%でふ化仔魚の作出に成功した他、2～4区（積算水温55.0～70.7℃・h）でもふ化率0.2～0.3%でふ化仔魚を得ることができた。
- 3 試験1-bでは、4区（積算水温71.1℃・h）でふ化率4.2%で20尾のふ化仔魚を得ることができた。
- 4 2回連続で加圧処理を行った試験2では、4区（積算水温69.8℃・h）と5区（積算水温77.5℃・h）でふ化率0.2%であった。

文 献

- 1) 勝呂尚之・高橋照夫（1994），染色体工学手法によるヤマメの雌性発生-I，淡水魚の雌性化技術開発，神奈川県淡水魚増殖試験場報告 30，4～5.
- 2) 岐阜県水産試験場（1995），地域バイオテクノロジー実用化技術研究開発促進事業（水産業関係）平成5年度成果概要，水産庁，71～74.