

染色体工学手法によるヤマメの雌性発生 - III

相川 英明

魚類の染色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4、5年度に実施した。その結果、受精後の積算水温が70℃・h付近の加圧時期で、ふ化仔魚が得られている。

本年度は、加圧処理1回の行う試験を積算水温70℃・h付近を中心に行うとともに、加圧処理2回の試験を、1回目と2回目の加圧時期の間隔を30～90分に設定し実施した。

材料及び方法

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才魚の雌から搾出法により採取した。

親魚

採卵した雌親魚は、試験1-aは3尾（平均体重276.6g）、試験1-bは7尾（平均体重316.5g）、試験2-aは3尾（平均体重414.6g）、試験2-bは7尾（平均体重255.4g）で、それぞれの卵を一緒に取り扱った。雄は各試験とも1尾ずつである。

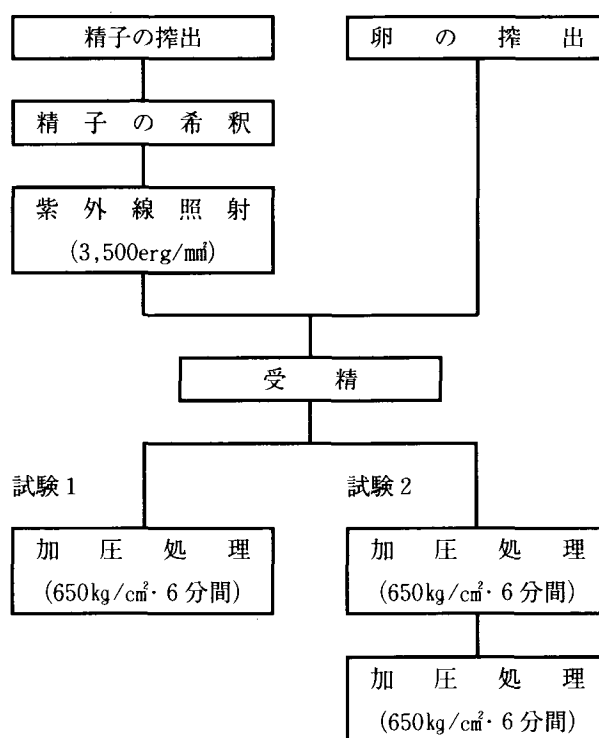
精子の不活化

搾出した精子を希釈液（組成 NaCl9.04 g, KCl3.00 g, CaCl₂0.34 g, NaHCO₃0.20 g, 蒸留水1,000ml）で100倍に希釈し、この希釈精液を3 mlを直径9 cmのシャーレに入れて、紫外線照射（3,500erg/mm²）を行った。

加圧処理

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



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作出方法フロー

試験1は、処理圧力を650kg/cm²で6分間、1回行った。試験区は、受精後4時間（1区）、4時間15分（2区）、4時間30分（3区）、4時間45分（4区）、5時間（5区）の5試験区を設けた。

試験2では、1回目の加圧処理（650kg/cm²・6分間）を受精後4時間15分に行い、2回目を30分後（1区）、60分後（2区）、90分後（3区）に設定し、また、1回目の加圧処理を受精後4時間30分に行い、2回目を同様に30分後（4区）、60分後（5区）、90分後（6区）に設定し実施した。

なお、それぞれの試験は、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6年10月27日（試験1-a）、11月4日（試験1-b）、試験2は、11月1日（試験2-a）、11月7日（試験2-b）に実施した。

結果及び考察

試験1の作出結果を第1表に、試験2の作出結果を第2表にそれぞれ示した。

試験1-aでは、1区（積算水温 65.6℃・h）の浮上率が2.1%と最も高く、また、発眼率、ふ化率を見ると処理開始時期が早いほど成績がよい傾向が見られた。

試験1-bでは、4区（積算水温76.5℃・h）の浮上率が高かったが、対照区である通常受精の6区のふ化率が低く、試験に使用した卵質の悪いことが考えられた。

試験1（加圧一回処理）の結果から、水温16℃付近では、積算水温70℃・h前後に加圧を行うことが有効であると推察され、前年度の結果¹⁾とほぼ一致していた。

試験2-a、bはいずれも、試験1（加圧一回処理）よ

りも浮上率は低かった。しかし、試験2-a、bとも、2回目の処理開始時期が30分後の試験区では、浮上仔魚を得ることができた。一方、2回目の処理開始時期が60分、90分後の試験区においては、発眼卵さえ得ることができなかった。

サケ科魚類の卵を用いた高水圧処理による第一卵割阻止において、処理30分ぐらいから紡錘系の再生が始まり、90分後には染色体の移動が観察されることが指摘されている²⁾。そこで、試験2では、2回目の処理開始時期の検討を行ったが、前述のとおり30分で浮上仔魚が得られ、60、90分では発眼卵をも得ることも出来なかったことから、2回目の処理開始時期は30分前後が適当であると考えた。

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4～5時間後に加圧処理を1回行い、ふ化率、浮上率を検討すると共に、加圧処理を間隔をあげ2回行う試験を実施した。

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(試験1)

		1回処理(圧力650kg/cm ² 6分間)						
試験区		処理開始時期	水温 (℃・h)	積算水温 (℃・h)	卵数	発眼率(%)	ふ化率(%)	浮上率(%)
試験1a	1	4時間後	16.4	65.6	332	4.5	2.4	2.1
	2	4時間15分後	〃	69.7	320	3.5	1.8	0.3
	3	4時間30分後	〃	73.8	385	1.3	0.5	0
	4	4時間45分後	〃	77.9	332	1.5	0.6	0.3
	5	5時間後	〃	82.0	308	0.3	0	0
	6	通常受精(2n)	〃	—	421	93.0	90.7	89.3
	7	加圧処理なし(n)	〃	—	252	0	0	0
試験1b	1	4時間後	16.1	64.4	572	0.2	0.2	0
	2	4時間15分後	〃	68.4	790	0.8	0.8	0.3
	3	4時間30分後	〃	72.5	1321	1.9	1.2	0.5
	4	4時間45分後	〃	76.5	429	1.6	1.6	1.2
	5	5時間後	〃	80.5	399	0.5	0.3	0.3
	6	通常受精(2n)	〃	—	732	1.9	1.9	1.9
	7	加圧処理なし(n)	〃	—	440	0.5	0.3	0

註) ふ化率、浮上率は、供試卵数に対する割合

第2表 ヤマメの受精後の加圧時期(2回処理)と雌性発生二倍体の作出率(試験2)

		2回処理(圧力650kg/cm ² 6分間)		卵数	発眼率(%)	ふ化率(%)	浮上率(%)
試験区		第1回目 処理開始	積算水温 (℃・h) 第2回目 処理開始時期(℃・h)				
試験 2a		水温15.9℃					
	1	4時間15分後	(67.6) 30分後 (75.5)	311	0.3	0.3	0
	2	〃	60分後 (83.5)	257	0	0	0
	3	〃	90分後 (91.4)	221	0	0	0
	4	4時間30分後	(71.5) 30分後 (79.5)	358	0.8	0.8	0.6
	5	〃	60分後 (87.5)	336	0	0	0
	6	〃	90分後 (95.4)	215	0	0	0
	7	通常受精(2n)		207	92.7	90.8	81.1
	8	加圧処理なし(n)		80	0	0	0
試験 2a		水温16.4℃					
	1	4時間15分後	(69.7) 30分後 (77.9)	790	0.6	0.4	0.4
	2	〃	60分後 (86.1)	510	0	0	0
	3	〃	90分後 (94.3)	560	0	0	0
	4	4時間30分後	(73.8) 30分後 (82.0)	540	0.9	0.2	0.2
	5	〃	60分後 (90.2)	345	0	0	0
	6	〃	90分後 (98.4)	275	0	0	0
	7	通常受精(2n)		432	95.5	94.5	93.6
	8	加圧処理なし(n)		233	0	0	0

註) ふ化率、浮上率は、供試卵数に対する割合

- 2 加圧処理1回の試験では、試験1-aは1区(積算水温 65.6℃・h)の浮上率が2.1%と最も高く、試験1-bでは、4区(積算水温 76.5℃・h)の浮上率が高かった。
- 3 加圧処理2回の試験では、2回目の処理開始時期を30～90分に設定し検討した。その結果、2回目の処理開始時期は30分前後が適当であると考えられた。

文 献

- 1) 勝呂尚之・高橋昭夫(1995), 染色工学手法によるヤマメの雌性発生Ⅱ, 淡水魚雌性化技術開発, 神奈川県淡水魚増殖試験場報告, 30, 4～6.
- 2) 小野里担(1991), サケ科魚類のクローン作出とその問題点, 養殖研ニュース, 21, 9～11.