

# アマゴの全雌生産に関する研究一Ⅲ 精子の大量不活性化法の検討

山本章造

Studies concerning Production of Gynogenetic Seedlings in Amago  
*Salmo (Oncorhynchus) masou macrostomus*—Ⅲ Conditions of Ultraviolet  
Ray Doses to Inactivate Diluted Mass Sperm Genetically

Syozo YAMAMOTO

アマゴ *Salmo (Oncorhynchus) masou macrostomus* の精子は、100倍希釈精液0.5mlに2,340～4,860erg/mm<sup>2</sup>の紫外線量を照射することによって、遺伝的に不活性化することを前に報告した<sup>1)</sup>。しかし、0.5mlの精液量では、200粒の卵に対しても受精率が低く、媒精できる卵数に限度があった<sup>1)</sup>。

そこで、より多くの卵に雌生発生の処理をするためには、さらに大量の精液を不活性化させる必要がある。その紫外線の照射量を検討した結果を報告する。

報告に先だち、採卵用の親魚を提供していただいた富村営種苗センター 城守敏郎技師に深謝する。

### 材 料 と 方 法

試験には排卵4日以内の親魚から採集した卵を用いた。精子の希釈と紫外線の照射方法、採卵と受精方法及び卵管理方法などは前報<sup>1)</sup>と同様にした。受精率、発眼率及びふ化率は供試卵数に対する割合で示し、結果の評価をした。

紫外線の照射量と精子の不活性化量に関する試験を2回実施した。

**紫外線照射量の検討** 3mlの100倍希釈精液の精子を不活性化するため、適正な紫外線の照射量を検討した。試験区と供試卵数を表1に示した。3mlの100倍希

釈精液に、3,600～14,400erg/mm<sup>2</sup>の範囲で紫外線を照射した。照射精子で媒精した卵の受精率、発眼率及びふ化率の結果から、適正な紫外線の照射量を検討した。対照区として、紫外線を照射しない区(IC区)と、6,000erg/mm<sup>2</sup>の紫外線を照射した精子で媒精後、高温刺激(28℃, 10分)を加えた雌性発生二倍体区(DC区)を設けた。各区への供試卵数は205～308粒の範囲であった。

体重330～430gの親魚から採卵し、それらをプールにして試験に供した。採卵重量は240gであった。媒精時の温度は11.5℃, 吸水時の水温は12.5℃であった。採卵は1987年10月15日に実施した。

**希釈精子不活性化量の検討** 6,000erg/mm<sup>2</sup>の紫外線照射量に対し、100倍に希釈した精液の精子が完全に不活性化される量を調べた。

試験区と供試卵数を表2に示した。1.5～20mlの範囲の希釈精液に紫外線を照射し、卵発生率の結果から、適正な精液量を調べた。

対照区としてはIC区を設けた。各試験区の供試卵数は93～159粒の範囲であった。

体重410gの親魚から採卵し、1腹子を7試験区に分けて使用した。媒精時の温度は10.3℃, 吸水時の水温は12.0℃であった。採卵は'87年10月21日に実施した。

表1 試験区別の紫外線照射量と供試卵数

試 験 区	IC*	DC*	1	2	3	4	5	6	7
照 射 量 (erg/mm <sup>2</sup> )	—	6,000	3,600	4,800	6,000	7,200	8,400	10,800	14,400
供 試 卵 数 (粒)	225	250	308	251	205	432	219	280	297

\* IC: 無処理, DC: 倍數化処理 (28℃, 10分)

表2 試験区別の精液量と供試卵数

試験区	IC	1	2	3	4	5	6
精液量 (ml)	3.0	1.5	3.0	4.5	6.0	10.0	20.0
供試卵数	106	112	150	125	119	87	108

## 結果と考察

**精子の不活性化に必要な紫外線照射量** 紫外線の照射量が異なる精子で媒精した卵の発生率を図1に示した。IC区の受精率は97.8%で高かったが、不活性化精子区では、照射量が増すにつれて75%から徐々に低下し、特に、10,800erg/mm<sup>2</sup>以上では10%近くになった。紫外線量が多くなると、精子の運動性が低下し<sup>1)</sup>、受精能にも影響を与えると考えられた。

発眼率は受精率と同様な傾向を示した。IC区は95.1%であるのに対し、不活性化精子区は3,600erg/mm<sup>2</sup>の56.8%から徐々に低下し、10,800erg/mm<sup>2</sup>以上になると、8%前後に急減した。IC区の発眼卵は正常な胚であったが、不活性化精子区の発眼卵のほとんどの胚は、眼球が小さく、胚体の色がうすい、萎縮化した、いわゆる半数体の症状を呈した。DC区の発眼卵には両者が混在していた。

ふ化率は、IC区、94.3%、DC区、24.4%であった。一方、不活性化精子区のほとんどの発眼卵は、半数体胚であるために、ふ化前あるいはふ化途中に頭部だけを出して死亡した。しかし、正常ふ化稚魚が3,600erg/mm<sup>2</sup>区で5尾(ふ化率1.6%)、4,800erg/mm<sup>2</sup>区で1尾(同、

0.4%)出現した。3,600erg/mm<sup>2</sup>区で正常稚魚が出現したのは紫外線の照射量が不足し、精子の不活性化が十分に行われなかった結果と考えられるが、4,800erg/mm<sup>2</sup>区では、ふ化率が低いことから、自然倍数化の可能性もあった。照射量が6,000erg/mm<sup>2</sup>以上になると、正常ふ化稚魚は出現せず、精子は完全に不活性化された。

DC区のみふ化率は24.4%で、IC区に比べ低かった。DC区の発眼卵に半数体胚が多数混在していたことから、倍数化が不十分で、ふ化率が低かったと考えられた。

以上の結果から、3mlの希釈精液の精子を完全に不活性化するための適正な紫外線量は、6,000～8,400erg/mm<sup>2</sup>の範囲であると考えられた。

**不活性化に適正な希釈精液量** 異なる量の希釈精液に6,000erg/mm<sup>2</sup>の紫外線を照射し、その精子と媒精した卵の発生率を図2に示した。受精卵は積算温度が244℃・日で発眼を始め、411℃・日でふ化を開始した。

受精率は、1.5ml区の82.0%を除き、いずれも90%以上で高かった。発眼率は75%以上であったが、1.5～4.5ml区で若干低い傾向がみられた。発眼卵はいずれも半数体の症状を呈し、雌性発生していると考えられた。これらは前述と同様に、ふ化前あるいはふ化途中に頭部だけを出して死亡した。

IC区のみふ化率は89.8%で高かった。一方、試験区では半数体胚になっているために、ほとんどが死亡するはずであるが、6.0ml区で2尾(ふ化率、1.6%)、10ml区で1尾(同1.1%)正常ふ化稚魚が出現した。これらは紫外線の照射量が不十分な結果による通常発生魚とも考えられるが、20ml区でふ化稚魚がみられないことから、自然倍数化の可能性もあった。

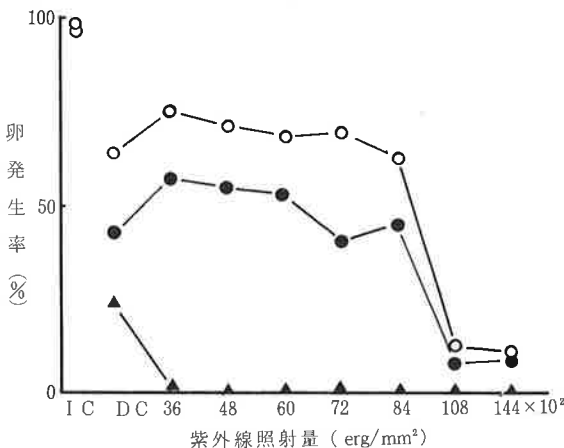


図1 紫外線照射量と卵発生率との関係

○: 受精率, ●: 発眼率, ▲: ふ化率

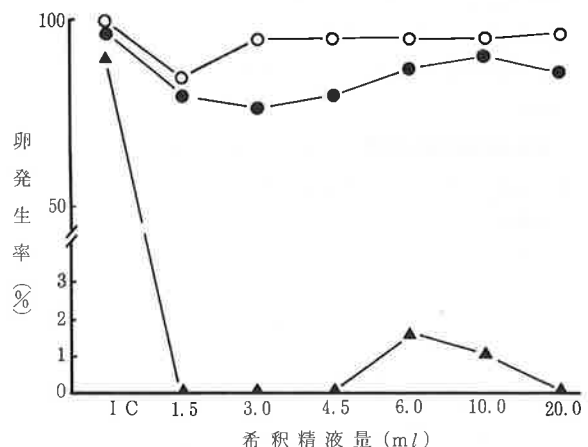


図2 希釈精液量と卵発生率の関係

以上の結果,  $6,000\text{erg}/\text{mm}^2$  の紫外線量に対し,  $4.5\text{ml}$  の希釈精液量までの精子を完全に不活性化できると考えられた。

一連の試験から,  $3.0\sim 4.5\text{ml}$  の100倍希釈精液量に対し,  $6,000\sim 8,400\text{erg}/\text{mm}^2$  の紫外線を照射すると, 精子は完全に不活性化されることが明らかになった。したがって,  $0.5\text{ml}$  の精液量に対して約200粒の卵に媒精できる<sup>1)</sup>ことから,  $4.5\text{ml}$  の精液量に対しては約1,800粒の卵を使用できることになり, 雌性発生の処理操作をかなり簡略化できると考えられた。

## 要 約

1. 精子の大量不活性化を目的にして, 紫外線の適正な照射量と精液量について検討した。

2.  $3\text{ml}$  の100倍希釈精液の精子を不活性化するためには,  $6,000\sim 8,400\text{erg}/\text{mm}^2$  の紫外線照射量が適正であった。

3.  $6,000\text{erg}/\text{mm}^2$  の紫外線照射量では $4.5\text{ml}$  の100倍希釈精液までの精子を完全に不活性化できた。

4. 不活性化精子で媒精した受精卵の中には自然倍数化によると考えられる稚魚が, わずかに出現した。

## 文 献

- 1) 山本章造, 1987: アマゴの全雌生産に関する研究-I, 希釈精子の遺伝的不活性化条件の検討, 岡山水試報, 2, 62-65
- 2) 山本章造, 1987: アマゴの全雌生産に関する研究-II, 高温刺激による染色体倍数化条件の検討と雌性発生二倍体魚の作出, 同誌, 2, 66-72