

# アマゴの全雌生産に関する研究—Ⅳ 雌性発生二倍体魚の効率的な作出条件

山本章造

## Studies concerning Production of Gynogenetic Seedlings in Amago *Salmo (Oncorhynchus) masou macrostomus* - Ⅳ Conditions to Induce Gynogenetic Diploids Effectively by Heat Shock

Syozo YAMAMOTO

前報<sup>1)</sup>において、アマゴ *Salmo (Oncorhynchus) masou macrostomus* の雌性発生二倍体魚は、染色体の倍数化条件が30℃・5～15分の高温刺激によって、作出できることを明らかにした。しかし、結果の再現性が低く、対照区に比べ発眼率、ふ化率ともに劣った。この原因としては、1) 試験区の受精率が低かったこと、2) 30℃の高温刺激では卵に与える影響が大きくなり、死卵が増加したこと、3) 倍数化が不十分で半数体胚のまま死亡する発眼卵が多く見られたことなどが上げられる。

そのために、媒精時の希釈精液量を増やし、卵に与える影響がより少ないと考えられる26～28℃の温度処理条件で、第2極体放出阻止による染色体の倍数化を試みた。それらについて得られた結果を報告する。

報告に先だち、供試親魚を提供していただいた富村営種苗センター 城守敏郎技師並びに右手養魚センターの職員各位に深謝する。

### 材料と方法

試験は2回実施し、それらの供試材料と方法をまとめて表1に示した。供試親魚には、排卵4日及び5日以内

表1 供試材料と方法

	試験1	試験2
供試尾数 ♀	4	3
平均体重 (g)	398	747
排卵後	4日以内	5日以内
不活性化処理		
精液	100倍希釈精液 3 ml	
照射量 (erg/mm <sup>2</sup> )	5,000	6,600
倍数化処理	吸水10分後高温処理	
媒精時温度 (℃)	10.6	10.2
吸水時水温 (℃)	14.2	10.2

の2年魚を用いた。

精子は、前報<sup>2)</sup>と同様の人工精漿で100倍に希釈し、その希釈精液 3 ml を、直径9 cmのガラスシャーレの底面全体に広げた。そのシャーレを振とうしながら紫外線を照射し、精子を不活性化させた。照射時の希釈精液の厚さは0.6mmであった。

第2極体放出阻止による染色体の倍数化は、等調法で媒精した受精卵を10分間吸水させた後に、高温刺激を加えることによって行った。染色体を倍数化するための高温刺激条件と各試験区への供試卵数を表2にまとめて示した。

高温刺激条件は、水温を26～30℃、処理時間を5～20分の範囲で設定し、水温と時間を組み合わせて10試験区を設けた。試験1の26℃・20分区及び28℃・10分区は複数にした。対照区として、無処理区 (IC区)、不活性化処理だけをした雌性発生区 (GC区) 及び高温刺激

表2 倍数化条件と供試卵数 (粒)

温度 (℃) 時間 (分)	試験1			試験2		
	26	28	30	26	28	30
5	214	263	221	204	212	200
10	233	221 571	204	193	204	185
15	229	233		178	171	
20	178	444		202	155	
IC*	241			162		
GC	184			158		
TC	213			174		

\* IC: 無処理, GC: 精子不活性化処理, TC: 倍数化処理

(20℃・10分処理)だけを与えた倍数化処理区(TC区)を設けた。

採卵受精法、温度処理法及び卵管理法などは前報<sup>1)</sup>と同様にした。染色体倍数化の成否はGC区の受精卵が半数体胚で死亡することによって判定した。結果は供試卵数に対する受精率、発眼率及びふ化率で検討した。

## 結果と考察

### 試験1

受精卵は積算温度が263℃・日で発眼し、440℃・日でふ化を開始した。IC区の受精率は、96.8%で高かったが、不活性化精子を使用した試験区では未受精卵が多く

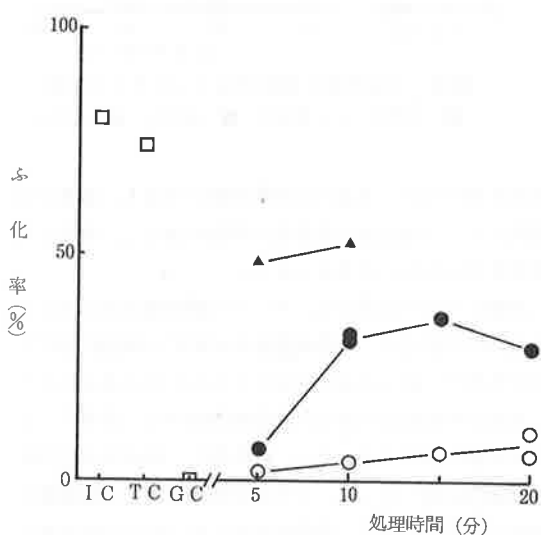
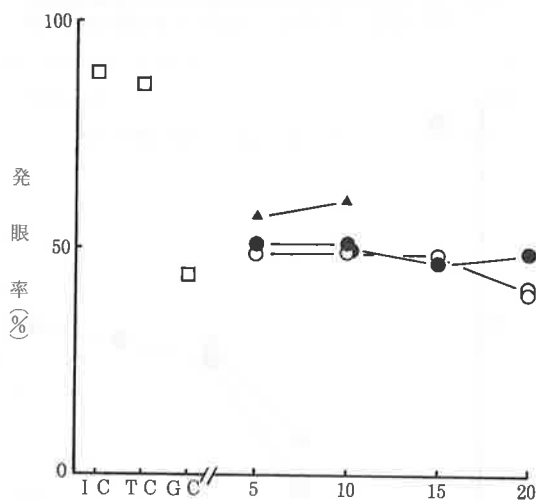


図1 高温刺激と発眼率及びふ化率との関係  
□: 対照区, ○: 26℃区, ●: 28℃区, ▲: 30℃区

みられ、受精率は67.0%であった。

温度処理別の発眼率及び正常ふ化率を図1に示した。発眼率は半数体胚の発眼も含めたものである。発眼率はIC区88.6%, TC区86.0%であるのに対し、不活性化精子を用いた試験区では50%前後であった。温度処理が30℃区で若干高く、26℃・20分区でやや低かった。試験区の発眼率が低下したのは、受精率が低いこととともに、半数体発眼胚が多くみられたことから、染色体が十分に倍数化しなかった結果と考えられた。IC区とTC区の発眼卵の胚はすべて正常であったが、試験区では半数体胚が混在し、特に26℃区では顕著であった。

正常ふ化率は、IC区が82.1%, TC区が74.3%で、GC区が0%であった。GC区でふ化稚魚が出現しなかったことから、精子は完全に不活性化され、試験区の稚魚は雌性発生していると考えられた。

試験区のふ化率は温度処理条件によって差が大きかった。26℃区のふ化率は処理時間が長くなるにつれて徐々に高くなったが、20分区でも10%以下で低かった。発眼からふ化までの間の死亡は、ほとんどが半数体胚によるものであり、染色体の倍数化が不十分であることを示した。また、26℃区では処理時間が長くなるにつれて、ふ化率が高くなる傾向があることから、処理時間をさらに延長して検討する必要がある。

28℃区のふ化率は、処理時間が5分では10%以下で低かったが、10~15分では31.3~35.2%と高くなった。5

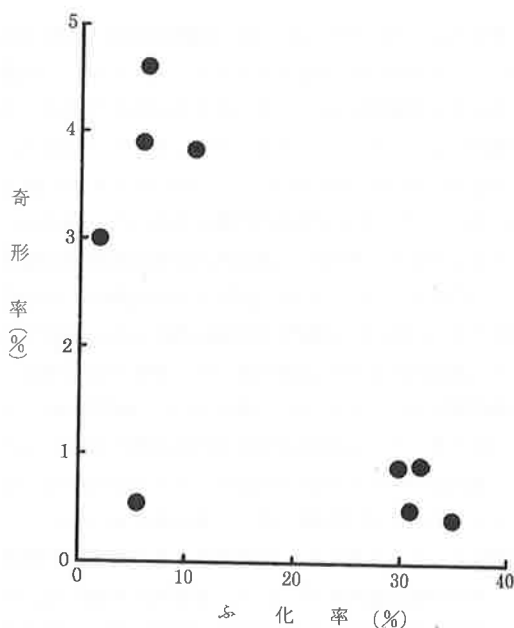


図2 ふ化率と奇形率の関係

分処理では染色体の倍数化が不十分であり、10~15分すると倍数化が進むと考えられた。

30℃区のふ化率は5~10分の処理時間で46.1~49.0%を示し、全試験区の中で最も高かった。発眼率とふ化率の差が少ないことから、高率で倍数化したと考えられた。

発眼からふ化までの死亡は、ほとんどが半数体胚によるものであることから、温度処理区が発眼率とふ化率の差は倍数化率を反映していると考えられた。

次に、ふ化率と奇形率との関係を図2に示した。奇形魚は体躯間部が湾曲した症状を示すものが多かった。奇形率は、0~4.6%の範囲内であり、ふ化率が低いほど奇形率は高くなる傾向があった。高温刺激が不足すると染色体の倍数化が不十分になり、その結果、発生に異常を生じて奇形が多くなると考えられた。

以上の結果から、雌性発生二倍体魚は、高温刺激が30℃・5~10分処理で、最も高率に作出された。

## 試験2

受精卵は積算温度が234℃・日で発眼を始め、421℃・日からふ化を開始した。受精率はIC区98.7%が高かったが、試験区は64.3%であった。試験区の受精率が低いのは試験1と同様の傾向であった。200粒前後の供試卵数に対し、不活性化精液を3ml使用した結果、受精率は前報<sup>1)</sup>より向上したが、それでも対照区に比べ劣った。

温度処理条件別の発眼率及び正常ふ化率を図3に示した。

発眼率は、IC区97.6%に対し試験区は50~60%の範囲内で、処理条件による差は少なかった。しかし、試験1と同様に発眼卵に混在している半数体胚の割合は、処理条件によって異なり、26℃区で多い傾向がみられた。

ふ化率はIC区が90.6%を示し、GC区は0%であった。GC区で正常ふ化稚魚が出現しなかったことから、精子は完全に不活性化し、試験区の正常ふ化稚魚は雌性発生二倍体魚と考えられた。26℃区は、20分処理区でも11.9%で、試験1と同様に低かった。26℃では、さらに長時間の処理が必要であった。28℃のふ化率は、処理時間が長くなるにつれて高くなり、20分処理では49.3%であった。同処理の発眼率は51.0%であることから、染色体は極めて高率で倍数化したと判断された。30℃区は10分処理で高く、48.5%であった。

試験1と2の結果から、高温刺激条件と発生率の関係は、ほぼ同様な傾向を示したが、部分的に相違した。特に、高温刺激が30℃・5分と28℃・20分区で、ふ化率の差が大きかった。この差を生じた原因についてはさらに

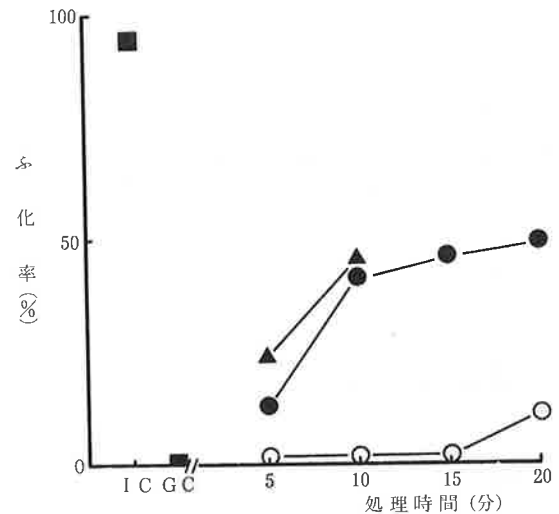
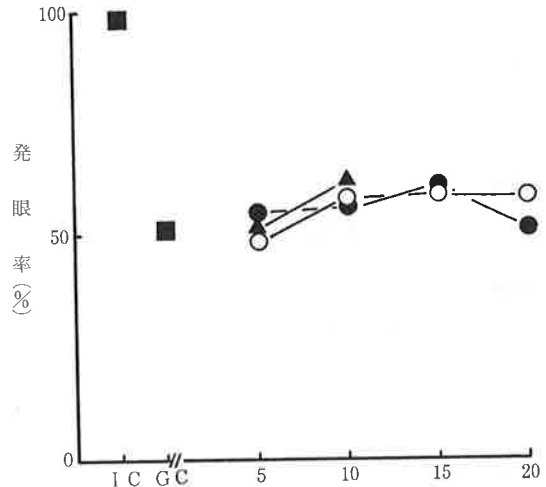


図3 高温刺激と発眼率及びふ化率との関係

■: 対照区, ○: 26℃区, ●: 28℃区, ▲: 30℃区

検討を要するが、前者では高温刺激が不足し、後者では過剰になって染色体の倍数化に障害をきたし、安定した結果を得られないと考えられた。

試験1と2の結果から、アマゴの雌性発生魚における染色体の倍数化は、高温刺激条件が30℃・10分及び28℃・15分処理で、最も高率に安定して行われると考えられた。

染色体の倍数化に適した高温刺激条件は、前報<sup>2)</sup>とほぼ同様な傾向であったが、雌性発生二倍体魚の作出率は飛躍的に高くなった。これは媒精に使用した精液量を増加したことにより、受精率が高くなったことが大きな要因になっている。また、排卵後の卵の状態が染色体の倍数化に影響する<sup>3)</sup>ことから、排卵5日以内の親魚を

使用したことも、成績を高めた原因と考えられた。

高温刺激が26℃では、卵に与える影響が少なく、20分までの処理時間ではふ化率が高くなる傾向にあったことから、さらに延長して検討する必要がある。

### 要 約

1. アマゴの雌性発生二倍体魚の効率的な作出を目的にして、第2極体放出時期に、高温刺激を加える方法による染色体の倍数化条件を検討した。

2. 高温刺激条件が26℃・5～20分の範囲内では、雌性発生二倍体魚のふ化率は10%以下で低く、染色体の倍数化は不十分であった。さらに、処理時間を延長して検討する必要がある。

3. 高温刺激条件が28℃・20分及び30℃・5分では、雌性発生二倍体魚のふ化率の差が大きく、結果の再現性に問題があった。

4. 高温刺激が28℃・15分及び30℃・10分の条件では、

雌性発生二倍体魚のふ化率が49%に達し、最も効率的に安定して染色体は倍数化した。

5. ふ化率が低いほど奇形率は高くなる傾向があり、染色体の倍数化と関連していると考えられた。

6. 高温刺激を加えた卵の発眼からふ化までの間の死亡は、ほとんどが半数体胚であったことから、発眼率とふ化率との差は染色体の倍数化状況を反映していると考えられた。

### 文 献

- 1) 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, 岡山水試報, **2**, 66-72
- 2) 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, 同誌, **2**, 62-65
- 3) 高橋一孝, 1986: マス類の染色体操作による育種試験 - II, 雌性発生誘起における発眼率, 浮上率のバラツキについて, 昭和60年度事業報告, **14**, 90-95, 山梨県魚苗センター