

アマゴの全雌生産に関する研究-V

第1卵割阻止によるアマゴの雌性発生2倍体魚の作出

山本章造・安家重材

Studies concerning Production of Gynogenetic Seedlings in Amago
Salmo (Oncorhynchus) masou macrostomus-V
Induction of Gynogenetic Diploids by Suppression of the 1st Cleavage

Syozo YAMAMOTO and Sigeki YASUIE

第2極体放出阻止によるアマゴ*Salmo (Oncorhynchus) masou macrostomus*の雌性発生二倍体魚は、受精卵への高温あるいは高圧処理によって染色体を倍数化する条件が明らかになり、高率で作出されるようになった¹⁾。しかし、この方法では染色体の乗り換えにより遺伝子の組換えが起こっている可能性が高い²⁾ため、高成長魚や耐病魚などの純系の作出法としては有効でなく、育種的な価値が低い^{3,4)}。そこで、純系の作出に有効な第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚の作出を試みた。

材料と方法

供試魚には、排卵4日以内の親魚を用いた。

7,500erg/mm²の紫外線を照射し、遺伝的に不活性化した同種の精子を、等張法により卵に媒精後、1区当たり200から400粒に分け、水温12.5℃の恒温水槽に静置して試験に供した。

第1卵割阻止のための倍数化処理適期及び方法を検討する実験は2回実施し、媒精10, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420及び480分後に、高圧あるいは高温処理を行った。高圧処理は、フレンチ・プレス(大岳製作所製)を用い、650kg/cm²で6分(実験1)あるいは8分(実験2)間行った。一方、高温処理は、28℃の恒温水槽に受精卵を30分間浸漬することによった。対照区として、雌性発生区(GC区)と無処理区(IC区)を設けた。

倍数化処理は、1988年10月20日及び21日に実施した。処理後、10~13℃の流水中で卵管理を行い、適宜死卵を計数して除いた。結果は供試卵からの発眼率及び正常ふ化率などで評価した。

ふ化稚魚は15l容の金網かごに収容し、遮光しながら

地下水を流水にして飼育した。浮上後は市販の餌付け用配合飼料を与え、ふ化後98日まで飼育試験を続けて、生残と成長を調べた。飼育試験期間中の平均水温は11.3℃(最低10.1℃, 最高13.0℃)であった。対照区として、通常発生の稚魚も同様に飼育した。

結果と考察

第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚を作出するために、高温処理の適期を検討した結果を図1に示した。

発眼率は、IC区が99%以上であるのに対し、不活性化精子を使用した区では若干低下した。GC区及び媒精1時間以後に処理した区の発眼卵は、小眼小頭で胚体の赤味がうすく、いわゆる半数体症候群の症状を呈し、半数体発眼卵と考えられた。

ふ化率は、IC区が90%前後であるのに対し、媒精10分後処理区では50%前後、GC区及び媒精1時間以後の処理区では0%であった。GC区のふ化率が0%であることから精子の不活性化は完全に行われており、媒精10分後のふ化稚魚は、処理時期から考えて第2極体放出阻止による雌性発生二倍体魚とみなされた。しかし、媒精1時間以後に処理した区では正常ふ化稚魚が出現しなかったことから、高温処理によって第1卵割を阻止して染色体を倍数化することは困難と考えられた。

次に、高圧処理により倍数化適期を検討した結果を図2に示した。IC区、GC区は高温区と共通である。処理区の発眼率は50~80%の範囲で、発眼期前の死亡が多く、高温処理に比べ全体に低い傾向であった。

正常ふ化率は、媒精10分後が52%であり、これらは第2極体放出阻止による雌性発生二倍体魚であった。媒精

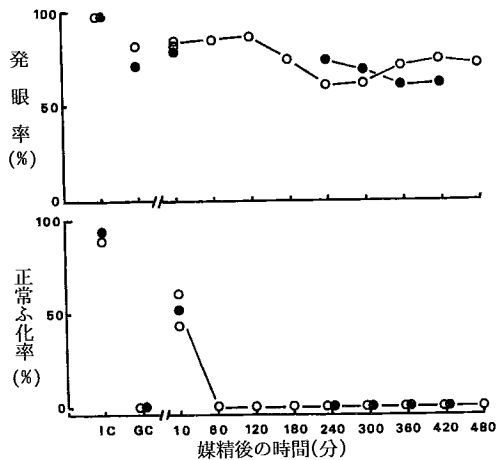


図1 高温処理時期と卵発生率との関係
○: 実験1, ●: 実験2

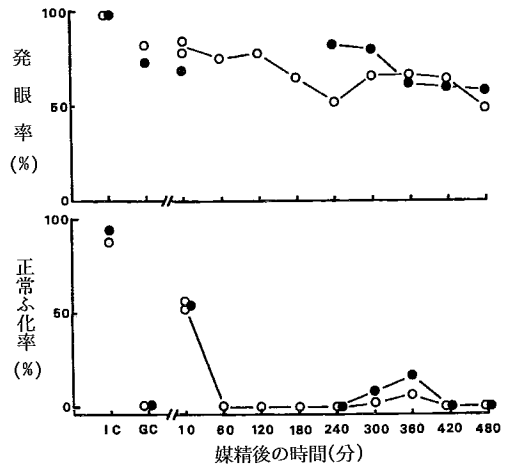


図2 高圧処理時期と卵発生率との関係
○: 実験1, ●: 実験2

後60~240分の間及び420分以後には、ほとんどの卵が発眼期前後に出血したり半数体卵で死亡し、ふ化稚魚は出現しなかった。しかし、媒精300分後に正常ふ化稚魚が、実験1で3尾(正常ふ化率, 0.9%), 実験2で33尾(同, 7.1%), さらに、360分後には、実験1で20尾(同, 5.2%), 実験2で72尾(同, 16.8%)出現した。この時期は第1卵割が開始する時期に相当することから、これらは第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚と考えられた。

2回の実験から、第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚はほぼ同様な傾向で出現することが明らかになったが、正常ふ化稚魚の出現率は低かった。倍数化のための処理時期は媒精300-360分後と幅があることから、最適時期を詳細に検討するとふ化率はさらに高くなる可能性があると思われた。しかし逆にこのことは、すでに卵発生の速度に差を生じていることを示唆しており、最適期においても高いふ化率を期待できないとも考えられた。同じサケ科のニジマス*Salmo (Salmo) mykiss*に対する高圧処理の適期は、水温10℃で媒精300分後とされており⁹⁾、アマゴと若干の差があると思われた。

以上の結果、染色体倍数化法としての高温処理は、第2極体放出阻止には有効であるが、第1卵割阻止には効果がなかった。一方、高圧処理は第2極体放出阻止にも、第1卵割阻止にも有効であった。さらに、第1卵割阻止における処理の適期は媒精300~360分後と考えられた。

また、高圧処理の時間を検討した結果、正常ふ化率は6分間よりも8分間の方が高かった。サケ科魚類の処理

時間は6分間が適しているとされている⁹⁾が、作出率が低いことから、処理時間についてはさらに検討を要すると思われた。

次に、ふ化稚魚の奇形率〔(奇形数/ふ化稚魚数)×100〕を表1に示した。対照区は0.6%以下であるのに対し、第2極体放出阻止区は3.7-6.0%, 第1卵割阻止区は5.7~25.0%に達した。奇形魚は体軀間部が湾曲したり、尾部が変形しているものが多かった。対照区に比べ奇形率が高かったのは、倍数化処理の物理的的刺激による卵発生の異常や、特に、第1卵割阻止では染色体のホモ化による劣性遺伝子の発現などが原因していると考えられた。

また、倍数化処理の操作が卵に与える影響を調べ、処理10日後までの生卵率を表2に示した。処理5日まで

表1 ふ化稚魚の奇形率 (%)

	実験1	実験2
対照区	0.6	0.1
第2極体放出阻止	3.8, 6.0	3.7
第1卵割阻止	13.0, 25.0	5.7, 11.1

表2 倍数化処理後の生卵率

処理後日数	生卵率 (%)			
	5日以内		10日以内	
	範囲	平均	範囲	平均
対照区	100	100	100	100
高温区	99.4-100	99.8	61.1-88.5	77.6
高圧区	59.8-99.3	87.7	50.3-83.6	70.9

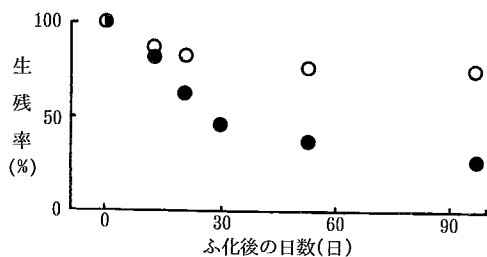


図3 ふ化数の生残率の変化

○: 通常発生魚

●: 第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚

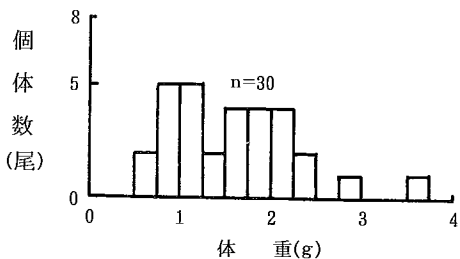
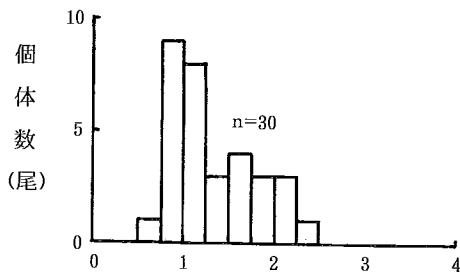


図4 ふ化後98日目における通常発生魚(上)と雌性発生二倍体魚(下)の体重組成

は、高温区の生卵率は対照区とほとんど変わらなかったが、高圧区は他区より10%以上低く、高圧処理操作が卵の正常な発生に直接悪影響を与えていると思われた。さらに、10日までの生卵率は、対照区が変わらないのに対し、高温区が77.6%に、高圧区も70%近くまで低下し、倍数化処理がその後の卵発生に悪い影響を与えていると思われた。

ふ化後の生残率の変化を図3に示した。通常発生魚の浮上り期までの生残率は81.6%で、その後の死亡は少なく98日目までの生残率は73.6%であった。一方、第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚は、浮上り前後までに約50%が死亡し、その後も浮上りできない稚魚の死亡が続き、98日目までの生残率は25.6%であった。第1卵割阻止区の奇形魚を除いたふ化稚魚は、通常発生魚と変わらなかつ

たが、ふ化後15日目頃になると外観的にも違いが明らかになって、稚魚の大小差が目立ち、体色がうすい稚魚は浮上り期が近づいても弱々しくてほとんど運動せず、徐々に死亡した。

通常発生魚はふ化後98日目に、平均体長が 44.6 ± 4.81 mm (平均値 \pm 標準偏差)、平均体重が 1.38 ± 0.457 g (同)に成長した。一方、第1卵割阻止による稚魚は、平均体長が 47.0 ± 6.46 mm (同)、平均体重が 1.63 ± 0.695 g (同)に成長し、通常発生魚よりもわずかに優れた。この成長差は、第1卵割阻止区の生残率が低く、成長の劣るほとんどの稚魚がそれまでに死亡した結果により生じたと考えられる。

図4にふ化後98日目の体重組成を示した。第1卵割阻止区の稚魚は明らかに成長差が大きく、「とび」の出現がみられた。第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚の成長の変異が大きいことは、アユ *Plecoglossus altivelis* やヒラメ *Paralichthys olivaceus* でも観察されており、アマゴも同様な傾向を示した。しかし、アユやヒラメでは成長が劣るのに対し、アマゴでは浮上り前後に弱小個体がほとんど死亡するために、通常発生魚よりも若干優れる傾向を示す相違があった。

要 約

1. 第1卵割阻止によるアマゴの雌性発生二倍体魚の作出を試みた。
2. 染色体倍数化法としての高温処理は、第2極体放出阻止には有効であったが、第1卵割阻止には効果がなかった。
3. 一方、高圧処理は第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚の作出に対しても有効であり、高圧処理の適期は媒精300~360分後と考えられた。
4. 第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚の正常ふ化率は、媒精360分後の受精卵を650気圧の水圧で8分間処理することによって最も高くなったが、最高でも16.8%であった。
5. 奇形魚の出現率は第1卵割阻止区で高くなり、5.7~25.0%の範囲で、差も大きかった。
6. 第1卵割阻止による雌性発生二倍体魚の浮上り率は52.0%、ふ化後98日目までの生残率は25.6%で、通常発生魚に比べ著しく劣った。

文 献

- 1) 山本章造, 1988: アマゴの全雌生産に関する研究-IV, 雌性発生2倍体魚の効率的な作出条件, 岡山水試報, 2, 82-85

- 2) G. H. THORGAARD, F. W. ALLENDORF, and K. L. KNUDSEN, 1983: Gene-centromere mapping in rainbow trout: High interference over long map distances, *Genetics*, 103, 771-783
- 3) 谷口順彦, 1986: 魚類の雌性発生2倍体におけるG-C組換え率と固定指数について, *水産育種*, 11, 49-58
- 4) 田畑和男, 1988: 第1卵割阻止によるヒラメの雌性発生2倍体の誘起と飼育特性, *日水誌*, 54, 1867-1872
- 5) 小野里担, 1983: 魚類の人為倍数化とその利用, *水産育種*, 8, 17-29
- 6) N. TANIGUCHI, S. SEKI, J. FUKAI, and A. KIJIMA, 1988: Induction of two types of gynogenetic diploids by hydrostatic pressure shock and verification by genetic marker in ayu, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1483-1491