

雌性発生法によるアユの有用形質の識別・評価に関する研究—V

辻村 明夫, 藤井 久之

本研究では魚類の品種改良を効率的に進めるため、雌性発生法を有用形質の識別・評価手法の開発手段として用いてきた。すなわち、遺伝的特性の異なる第二極体放出阻止型雌性発生二倍体、第一卵割阻止型雌性発生二倍体およびクローンを作出し、正常二倍体と比較することにより、成長および再生産形質の遺伝性の評価を行った。特に遺伝変異を含まないクローンを対照群として用いる方法は、遺伝と環境の両要因に支配される量的形質の遺伝性の解明に有効であることが示唆された。また、本研究では有用形質を導入するため、天然品種の形質評価も併せて行ってきた。天然品種として湖産アユ、海産アユおよび奄美産アユ（リュウキュウアユ）を用い、成長および再生産形質を比較した結果、成長性、光周期性、ふ化日数および卵径等に品種間差が存在することが判明した。

本年度は、海産と奄美産の成長に関する品種間差および成長と血液性状におけるクローンの群間差を調べた。また、クローンを利用して雄親からの遺伝性を推定する方法をふ化仔魚全長を用いて検討した。

1. 海産および奄美産の成長における品種間差

初期体重を揃えた両品種を用い、混合および分離飼育下における成長比較を行った。

実 験 方 法

海産は1992年に養成親魚より作出した1代目、奄美産は1989年に天然親魚より作出された4代目を供試魚とした。混合飼育は平均体重6.5gの両品種を100尾ずつ用い、個体識別のため、背鰭基部に番号入りのリボンタグを装着した。これらの魚を10m² (2×5×0.35m) の飼育池に混養し、1993年7月3日から8月3日までの32日間飼育した。飼育期間中の水温は16.6~17.0°Cであった。

分離飼育は平均体重11.7gの両品種を79尾ずつ用い、2m² (1×2×0.35m) の飼育池2面に分養し、8月12日から9月5日までの25日間飼育した。給餌量は4%から開始し、週一度、飼料効率を80%として給餌量の補正を行った。飼育水温は16.2~17.4°Cであった。

結 果 と 考 察

飼育結果を表1に示した。平均体重をみると、開始時は混合飼育、分離飼育ともに有意な差はなかったが、終了時はどちらも海産が奄美産より大きかった ($P < 0.001$)。増重量は混合飼育では奄美産 (3.62g) は海産 (7.24g) の50%であり、また、分離飼育では奄美産 (6.07g) は海産 (8.43g) の72%と飼育方式により差がみられた。この飼育方式による成長の較差は、摂餌競合等による品種間の干渉を示唆するものであるが、分離飼育でも奄美産の摂餌は劣った。このように、海産系と奄美産系の間には、

成長に関する品種間差が存在するものと考えられる。

表1 海産および奄美産の成長比較

項 目	混合飼育			分離飼育		
	海 産	奄美産	t検定	海 産	奄美産	t検定
開始時平均体重 (g)	6.47	6.53	NS	11.70	11.65	NS
標準偏差 (g)	0.31	0.27		0.44	0.45	
変動係数 (%)	4.8	4.1		3.8	3.9	
終了時平均体重 (g)	13.75	10.36	*	20.13	17.72	*
標準偏差 (g)	1.83	1.23		1.85	1.34	
変動係数 (%)	13.3	11.9		9.2	7.6	
増重量 (g)	7.24	3.62	*	8.43	6.07	—
標準偏差 (g)	1.70	0.93		—	—	
変動係数 (%)	23.5	25.7		—	—	
日間成長率 (%)	2.32	1.37	*	2.17	1.68	—
標準偏差 (g)	0.39	0.30		—	—	
変動係数 (%)	16.8	21.9		—	—	
飼料効率 (%)	—	—		71.4	53.0	—

NS: 有意差なし, *: P < 0.001

2. 雌性発生二倍体間における成長形質の評価

遺伝変異が異なると考えられる3種類の作出群（クローン群，全兄弟群および複数の親魚より作出した対照群）を用いて，その成長性および変異を比較した。また，極体放出型雌性発生二倍体4代目の成長を対照群等と比較し，異なる溶存酸素量下で飼育したクローンの成長およびクローンの血液性状を調べた。

実 験 方 法

1) 遺伝変異が異なる作出群間の成長比較 供試魚は4系統のクローン（WA1，WA2，WA3，9201），全兄弟2群（A，B群）および対照群で，平均体重6gのものを50尾ずつ用いた。

供試魚の由来は次のとおりである。クローンはいずれも海産系の第一卵割阻止型雌性発生二倍体から作出し，クローンWA1は5代，クローンWA2とクローンWA3は2代継代したものであり，クローン9201は初代魚である。全兄弟群の作出は海産系親魚を用いて種苗生産中の稚魚125千尾よりトビ群151尾を1992年1月に選別し，このうちで増重量が多かった雌雄1尾ずつを用いて全兄弟A群を，少なかった雌雄1尾ずつを用いて全兄弟B群を作出した。対照群は海産系養成親魚の雄20尾，雌20尾を用いて1992年に作出したものである。

これらの魚を群間の体重組成ができるだけ同一になるよう調整し，個体識別のため，体側筋肉部にピッ

トタグ (IDENTIFICATION DEVICES, INC. 製) を挿入し, 10m^2 ($2 \times 5 \times 0.35\text{m}$) の飼育池に混養した。飼育は1993年6月24日から8月23日までの61日間とし, 7月21日 (28日目) に中間測定を行った。飼育期間中の水温は $16.3 \sim 18.1^\circ\text{C}$ であった。

2) 極体放出阻止型雌性発生二倍体 (G2N-A) 4代目の成長比較 供試魚は前年度報告¹⁾のG2N-A 3代目群のうち, 大型魚9尾を選択して作出したG2N-A 4代目群500尾, 全兄弟A群400尾, クローンWA 1400尾および複数親魚より作出した正常二倍体 (対照群) 400尾を使用した。これらの魚は各系統の識別のため鰭を切除し, 50m^2 ($5 \times 10 \times 0.7\text{m}$) の飼育池に混養して, 7月15日から10月11日までの88日間飼育した。魚体重の測定は開始時, 44日目, 88日目に行った。飼育期間中の水温は $16.8 \sim 19.2^\circ\text{C}$ であった。

3) 異なる溶存酸素量下におけるクローンの成長比較 溶存酸素量を3, 4および6ppm とした3区を設け, 溶存酸素量の調整は注水口を水中に入れエア・示すように, 平均水温は $16.8 \pm 0.4^\circ\text{C}$ であり, 平均溶存酸素量 (酸素飽和度) は3ppm区 $3.04 \pm 0.11\text{ppm}$ (32.3%), 4ppm区 $4.23 \pm 0.15\text{ppm}$ (45.0%) および6ppm区 $6.55 \pm 0.15\text{ppm}$ (69.6%) であった。供試魚は平均体重11gのクローンWA 1, クローン9201, クローンWA 3および複数親魚より作出した正常二倍体 (対照群) を用いた。各系統は識別のため, 鰭を切除し, 1区当り25~30尾ずつを 2m^2 ($1 \times 2 \times 0.3\text{m}$) の試験池に混養した。飼育は各区とも同一量の飼料を与え, 8月17日から9月4日までの19日間行った。

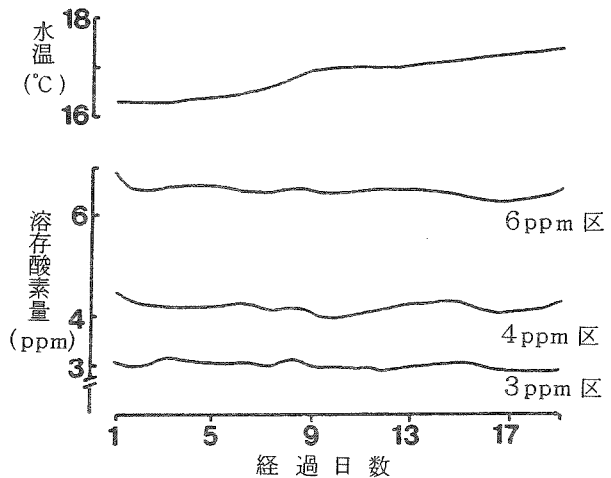


図1 水温と溶存酸素量の変化

4) クローン群間の血液性状の比較 供試魚はクローンWA 1, クローン9201, クローンWA 3および複数親魚より作出した正常二倍体 (対照群) の雌を用いた。測定は臨床化学自動分析機 (VISIONアナライザー) を用い, 総蛋白質, グルコース, GPT, ALP について10月23~25日に行った。

結果と考察

1) 遺伝変異が異なる作出群間の成長比較 各作出群の成長と変異を表2に示した。開始時の体重はいずれの群間においても有意な差はなかった。4系統のクローン間の比較では, クローンWA 1は体重, 増重量とも他の3群より大きく ($P < 0.01$), 成長が優れた。他の3群間では, 中間時体重および中間-開始時増重量でクローンWA 2はクローンWA 3より大きかった ($P < 0.05$) が, 他の組合せでは有意な差はみられなかった。前年度¹⁾においてもクローンWA 1はクローンWA 2より成長が優れ, 本年度も同様の結果となり, クローン間に成長差が存在することが確認された。クローン群間における中間時体重の遺伝率の計算例を表3に, 各項目における遺伝率を表4に示した。遺伝率はいずれの項目においても0.7以上と高く, クローン間で成長に関してかなりの遺伝的差のあることが推定される。

表2 飼育結果

項目	クローンWA1	クローン9201	クローンWA2	クローンWA3	全兄弟A群	全兄弟B群	対照群
測定尾数	47	49	49	47	47	48	44
開始時体重 (g)	6.01	5.99	5.98	6.00	5.92	5.96	5.97
標準偏差 (g)	0.24	0.30	0.29	0.32	0.27	0.30	0.28
変動係数 (%)	4.0	5.0	4.8	5.3	4.5	5.0	4.7
中間時体重 (g)	14.94	11.27	11.42	10.93	18.29	16.91	15.70
標準偏差 (g)	1.51	0.79	0.86	0.99	1.71	1.91	2.38
変動係数 (%)	10.1	7.0	7.6	9.1	9.4	11.3	15.2
終了時体重 (g)	31.38	20.68	20.59	20.81	45.07	39.26	35.89
標準偏差 (g)	4.15	2.24	2.08	2.38	4.30	5.80	7.94
変動係数 (%)	13.2	10.8	10.1	11.4	9.5	14.8	22.1
中間-開始増重量 (g)	8.94	5.28	5.44	4.93	12.38	10.95	9.73
標準偏差 (g)	1.43	0.68	0.73	0.96	1.63	1.79	2.32
変動係数 (%)	16.0	13.0	13.5	19.5	13.2	16.3	23.8
終了-中間増重量 (g)	16.44	9.41	9.17	9.88	26.78	22.35	20.20
標準偏差 (g)	2.86	1.77	1.48	1.56	3.08	4.59	5.90
変動係数 (%)	17.4	18.8	16.1	15.7	11.5	20.5	29.2
終了-開始増重量 (g)	25.37	14.69	14.61	14.81	39.15	33.30	29.92
標準偏差 (g)	4.09	2.12	1.98	2.32	4.25	5.74	7.92
変動係数 (%)	16.1	14.4	13.5	15.7	10.9	17.2	26.5

表3 クローン群間における中間時体重の遺伝率

区分	自由度	平均平方	分散成分
クローン群間	3	166.68	$\delta E^2 + K \delta G^2$
クローン群内	188	1.17	δE^2

$\delta E^2 = 1.17, \delta G^2 = 3.45, K = 48$
 $h^2 = \delta G^2 / (\delta E^2 + \delta G^2) = 3.45 / (1.17 + 3.45) = 0.748$

表4 クローン群間の遺伝率

項目	遺伝率
中間時体重	0.748
終了時体重	0.774
中間-開始増重量	0.774
終了-中間増重量	0.747
終了-開始増重量	0.783

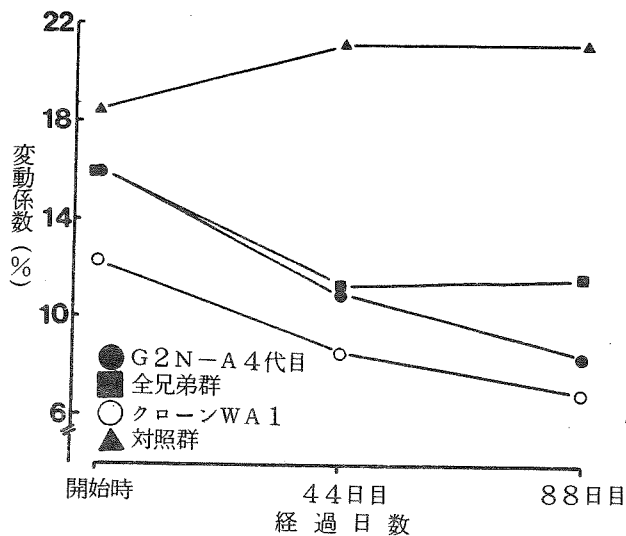
全兄弟A, B群と対照群の比較では, 体重, 増重量ともA群が最も大きく, 次いでB群となり, 対照群が最も小さかった。対照群とA群およびA群とB群との有意差は常に $P < 0.01$ であり, 対照群とB群の有意差は終了時体重と終了-中間増重量では $P < 0.05$ であったが, 他は $P < 0.01$ であった。このことは, 3群の相互間に成長差のあることを示し, トビ群から作出したA, B群は対照群より成長が優れた。トビの出現は環境条件に由来する場合が多いことが知られているが, 成長に関する選抜の効率化のためにも今後, その遺伝性を含めた特性把握がさらに必要と思われる。

これら7系統の変動係数をみると、クローン群に比べ、複数の親魚より作出した対照群の値は明らかに高く、全兄弟群と比べても高かった。このことは、複数親魚より作出した対照群の成長に関する遺伝的変異が大きいことを示している。また、トビ群中で増重量の少ないもの同士を交配したB群ではクローン群に比べ、やや大きな値を示したが、増重量の多いもの同士を交配したA群ではむしろクローン群より小さな値を示した。多くの系統を混合飼育した本試験において、成長に関して劣位であったこれらのホモ型クローンは、摂餌の機会均等が保障されず変動係数の増加を招いたことを考慮する必要があるが、成長に関して大方向に選抜された全兄弟群の成長変異はかなり小さくなることが推定される。このことから、クローンの変異が環境変異のみと考えると、大方向に選抜された全兄弟群の変異も環境変異に近似すると考えられる。

2) G2N-A 4代目の成長比較 体重の推移を表5に、体重の変動係数の推移を図2に示した。日間成長率は全兄弟群が最も優れ、次いでG2N-A 4代目群、対照群となり、クローンWA 1が最も劣った。88日

表5 G2N-A 4代目の体重の推移

	項 目	開始時	44日目	88日目
G2N-A 4代目群	平均体重 (g)	6.56	24.71	43.64
	標準偏差 (g)	1.05	2.71	3.71
	変動係数 (%)	16.0	11.0	8.5
	日間成長率 (%)	—	3.01	2.15
	測定尾数	100	60	100
全 兄 弟 群	平均体重 (g)	7.19	30.01	51.38
	標準偏差 (g)	1.15	3.34	6.03
	変動係数 (%)	16.0	11.1	11.7
	日間成長率 (%)	—	3.25	2.23
	測定尾数	99	60	100
ク ロ ー ン W A 1	平均体重 (g)	7.67	21.82	31.54
	標準偏差 (g)	0.94	1.87	2.21
	変動係数 (%)	12.3	8.6	7.0
	日間成長率 (%)	—	2.38	1.61
	測定尾数	100	60	100
対 照 群	平均体重 (g)	6.94	23.76	38.23
	標準偏差 (g)	1.29	5.06	8.09
	変動係数 (%)	18.6	21.3	21.2
	日間成長率 (%)	—	2.79	1.94
	測定尾数	100	60	100



目についてみると、対照群はG2N-A 4代目群に比べ、9割程度の成長率であった。体重の変動係数は対照群で21.2%と最も高く、次いで全兄弟群の11.7%、G2N-A 4代目群の8.5%となり、クローンWA1で7.0と最も小さくなった。これらのことは、G2N-Aの大型魚を継代することにより、成長に関する選択効果が期待され、また、その成長の変異も縮小することを示している。

図2 体重の変動係数の推移

3) 異なる溶存酸素量下におけるクローンの成長比較 飼育結果を表6に示した。開始時体重は群間に有意な差はなかった。終了時の体重はクローンWA1とクローンWA3では、4ppm区と6ppm区に差はみられなかったが、3ppm区は小さく、特にクローンWA1で著しかった。また、クローン9201は6ppm区に比べ、4ppm区では減少傾向を示し、3ppm区で急激に小さくなった。3系統のクローン間で各溶存酸素量下における体重の変化は異なり、クローン間に低酸素に対する耐性の違いがあると考えられる。また、クローンWA1とクローン9201にみられた3ppm区における体重の急激な低下は、遺伝的に均一であるクローンでは閾値を超えると反応が急激に起こることを示すものと考えられる。対照群では終了時体重は溶存酸素量が少ないほど小さかった。

終了時の変動係数比を図3に示した。変動係数比は対照群ではクローン群に比べ高く、特に4ppm区で著しかった。このことは、4ppm区において低酸素に対する耐性の差が最も大きく現れ、成長を指標として低酸素選抜を行なう場合、水温16.8℃では4ppm(酸素飽和度45%)での飼育が適していると考えられる。

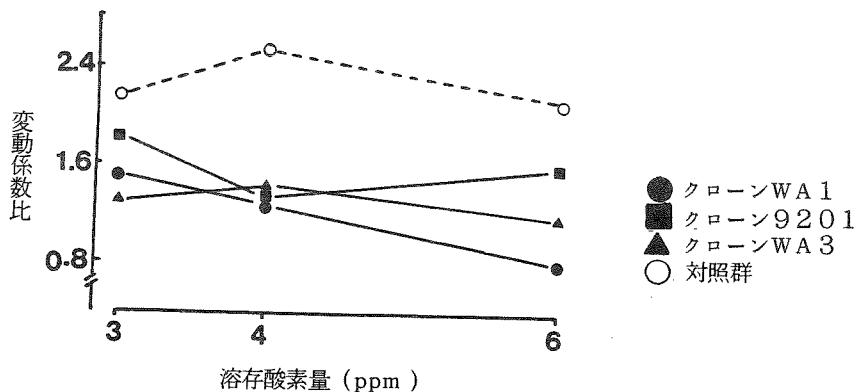


図3 体重の変動係数比の変化

表6 飼育結果

項 目		3ppm	4ppm	6ppm
クローンWA1	開始時体重 (g)	11.26	11.23	11.26
	標準偏差 (g)	0.43	0.43	0.43
	変動係数 (%)	3.8	3.8	3.8
	測定尾数	30	30	30
	終了時体重 (g)	13.26	18.39	18.21
	標準偏差 (g)	0.76	0.89	0.57
	変動係数 (%)	5.7	4.8	3.1
	測定尾数	20	30	30
クローン9201	開始時体重 (g)	11.40	11.41	11.46
	標準偏差 (g)	0.37	0.57	0.43
	変動係数 (%)	3.3	5.0	3.8
	測定尾数	30	30	30
	終了時体重 (g)	12.00	15.03	15.76
	標準偏差 (g)	0.71	1.02	0.96
	変動係数 (%)	5.9	6.8	6.1
	測定尾数	23	30	30
クローンWA3	開始時体重 (g)	11.18	11.15	11.41
	標準偏差 (g)	0.43	0.38	0.62
	変動係数 (%)	3.9	3.4	5.4
	測定尾数	25	25	26
	終了時体重 (g)	13.01	14.30	14.33
	標準偏差 (g)	0.65	0.71	0.93
	変動係数 (%)	5.0	5.0	6.5
	測定尾数	25	25	26
対 照 群	開始時体重 (g)	11.23	11.23	11.25
	標準偏差 (g)	0.46	0.50	0.41
	変動係数 (%)	4.1	4.5	3.6
	測定尾数	30	30	30
	終了時体重 (g)	14.89	16.42	18.04
	標準偏差 (g)	1.30	1.88	1.40
	変動係数 (%)	8.7	11.5	7.8
	測定尾数	29	30	30

4) クローン群間の血液性状の比較 血液性状の比較を表7に示した。変動係数についてみると、ク

表7 クローン群間の血液性状の比較

項 目		クローンWA1	クローン9201	クローンWA3	対照群
総 蛋 白 質 (g/dL)	平均値	4.12	3.89	4.21	4.34
	標準偏差	0.28	0.43	0.42	0.45
	変動係数 (%)	6.8	11.1	10.0	10.4
	測定尾数	11	11	13	11
グ ル コ ー ス (mg/dL)	平均値	56.7	52.9	50.3	55.9
	標準偏差	3.6	3.5	3.8	5.3
	変動係数 (%)	6.4	6.5	7.6	9.5
	測定尾数	12	12	13	12
G P T (U/L)	平均値	117.7	113.4	99.3	103.2
	標準偏差	39.5	31.7	11.1	42.6
	変動係数 (%)	33.6	28.0	11.2	41.2
	測定尾数	11	9	11	12
A L P (U/L)	平均値	28.1	39.1	36.4	33.6
	標準偏差	2.3	2.7	4.5	5.6
	変動係数 (%)	8.3	7.0	12.4	16.7
	測定尾数	12	10	13	12

ローンは総蛋白質を除き、対照群に比べると小さくなる傾向を示したが、クローン間でバラツキが大きく、変異の縮小は明瞭でなかった。クローン群間の平均値の比較では、クローンWA1は他に比べるとグルコースは3.8~6.4mg/dL高く、ALPは8.3~11.0U/L低く差がみられた。

3. 雌性発生二倍体における再生産形質の評価

クローンを利用して雄親の遺伝性を推定する方法をふ化仔魚全長を用いて検討した。

実 験 方 法

11月2日に一腹のクローンWA1の卵を10分割し、その2分割に1尾の正常二倍体の精子をそれぞれ交配し、スライドグラスに付着させた。この操作を5尾の正常二倍体の精子を用いて行った。卵は同一環境下で管理した後、11月17日20時30分までにふ化仔魚を採取した。これらふ化仔魚の全長を各分割区について20尾測定した。また、別のクローンWA1の卵を7分割し、それぞれに異なる正常二倍体の精子を交配し、同様にふ化仔魚全長を測定した。

結果および考察

表8 ふ化仔魚全長の測定結果

区	分割卵の番号	発眼率 (%)	平均全長 (mm) [N=20]	平均全長 2群間の差	2群の平均全長 (mm) [N=40]
1	1	80.0	5.58±0.24	NS	5.57±0.22
	2	75.9	5.57±0.20		
2	3	83.0	5.67±0.18	NS	5.70±0.18
	4	85.2	5.73±0.18		
3	5	84.8	5.73±0.20	NS	5.74±0.20
	6	84.6	5.74±0.20		
4	7	89.1	5.79±0.14	NS	5.75±0.17
	8	87.2	5.71±0.19		
5	9	92.7	5.74±0.20	NS	5.74±0.20
	10	91.9	5.74±0.19		

ふ化仔魚全長の測定結果を表8に示した。発眼率は1区で4.1%の差がみられたが、他区では小さく、また、1区と5区では10%以上の差がみられ、精子により発眼率が変化することが推定された。

クローンの2分割卵に同じ正常二倍体の精子を交配した場合、ふ化仔魚の全長は2群間で有意な差は5例ともみられず、卵管理等で偶発的に発生する環境条件の微妙な差は考慮する必要のないことが解った。そこで、2群を合わせてふ化仔魚全長の遺伝率を求め、表9に示した。遺伝率は0.106と低く、7分割卵に異なった精子を交配させた場合も0.070と低かった。これらの結果は、クローン卵が遺伝的に均一である

ことから、群間にみられる差は雄親に由来するものと推定され、ふ化仔魚全長に対する雄親からの遺伝的影響は少ないものと考えられる。

このように、クローンに異なる親魚を交配し、その分散を求めることにより、簡易的に片親の遺伝性を推定することが可能と考えられ、雌親からの遺伝性を推定する場合は偽雄化したクローンの精子を利用すればよいと思われる。

表9 ふ化仔魚全長の遺伝率

区分	自由度	平均平方	分散成分
群間	4	0.211	$\delta E^2 + K \delta G^2$
群内	195	0.037	δE^2

$$E^2 = 0.037, \delta G^2 = 0.0044, K = 40$$

$$h^2 = 0.0044 / (0.037 + 0.0044) = 0.106$$

文 献

- 1) 辻村明夫, 宇野悦央: 雌性発生法によるアユの有用形質の識別・評価に関する研究—Ⅳ, 平成4年度和歌山県内水面漁業センター事業報告書, 1-20 (1994) .

謝 辞

本研究を行なうにあたり, DNAフィンガープリント法によるクローンの証明をしていただいた高知大学栽培漁業学科谷口順彦教授に深謝いたします。