

# アユの全雌生産に関する検討

辻村明夫, 宇野悦央, 松本全弘

アユは本県の主要養殖魚種であるが, さらに消費の拡大を図るためには「子持ちアユ」等の付加価値の高い商品開発が必要である。現在の「子持ちアユ」の生産は, 雌雄の選別作業の必要性や飼育池の有効利用からみても生産効率は必ずしも高くない。

近年, 染色体操作は新しい水産育種技術として注目され, 全雌生産にも利用されつつある。この技術とホルモン処理による偽雄作出技術を組み合わせることにより, 「子持ちアユ」の生産の効率化が図られるものと考えられる。

そこで, 今回は各形質が均一化するため養殖上有利であると考えられるヘテロ型クローンを作成するための手段として, クローンをを用いて偽雄の作出を試み, 第一卵割阻止型雌性発生二倍体と作出された偽雄との交配を行った。また, このヘテロ型クローンの全雌化を判定するとともに, 全雌魚の飼育特性の解明として成長および体形を調査した。

## 材料および方法

**偽雄の作出** 1) 試験区およびホルモン処理法 供試魚は1987年に第一卵割阻止法並びに翌1988年に極体放出阻止法により作出し, 1989年に極体放出法により継代したクローンである。これらの仔魚のうち, ふ化後23日目の仔魚2,000尾(全長 $11.3 \pm 0.5 \text{ mm}$ , 1区)およびふ化後55日目の仔魚1,500尾(全長 $16.0 \pm 1.4 \text{ mm}$ , 2区)を用いた。ホルモン投与期間は1区が1989年12月15日から1990年5月17日の154日間, 2区は1990年1月16日から5月17日の122日間とした。

ホルモン材は17-methyltestosterone (MT) を用い, エチルアルコールに溶解後,  $0.4 \mu\text{g/g}$  飼料になるよう配合飼料に吸着・風乾後給餌した。また, 生物餌料として1区はふ化後42日目までシオミズツボムシ, 43日目から76日目までアルテミア幼性を, 2区は55日目から76日目までアルテミア幼性を与えた。

2) 飼育環境 飼育水槽は $2 \text{ m}^2$  ( $1 \times 2 \times 0.35 \text{ m}$ ) の屋内コンクリート池を使用し, アレンの希釈人口海水(比重 $1.0050 \sim 1.0055$ )により, 循環濾過方式で飼育した。1990年4月23日から28日にかけて淡水馴致を行い, ホルモン処理終了時まで同一池で飼育した。以後は体重の増加とともに飼育池を拡大し, 11月8日まで飼育した。ホルモン処理期間中の水温は $13.8 \sim 17.2^\circ\text{C}$ であった。

3) 魚体測定および効果判定 ホルモン処理開始時および終了時に全数を計数するととも

に、20～50尾ずつサンプリングして全長・体重を測定した。また、10月29日に両区から100尾程度を取り上げ、解剖により雌雄の判定を行った。

4) 卵割阻止型雌性発生二倍体との交配 1990年11月8日に2区に出現した雌雄同体魚について第一卵割阻止型雌性発生二倍体2尾と個体別に交配を行い、発限率および正常ふ化率を求めた。なお、雌雄同体魚の媒精は精巢をハサミで細かく切り刻み、浸出した精子により行った。

5) ヘテロ型クローンの種苗生産 雌雄同体魚と交配した卵割阻止型雌性発生二倍体のふ化仔魚(ヘテロ型クローン1および同2)は、それぞれ2 m<sup>2</sup> (1×2×0.35 m) の屋内コンクリート池に収容した。飼育はアレン処方希釈人工海水(比重1.0050～1.0060)用い循環濾過方式により、シオミズツボワムシ・アルテミア幼生および配合飼料を給餌した。

**全雌化の判定および飼育特性の解明** 1) 全雌化の判定 1991年9月24日にヘテロ型クローン1(99尾)、同2(100尾)について解剖により、雌雄の判定を行った。

2) 成長比較 ヘテロ型クローン1、2をそれぞれ800尾およびクローンを715尾用い、50 m<sup>2</sup> (5×10×0.7 m) の飼育池に混養し、1991年6月10日から10月8日までの121日間、アユ用配合飼料を給餌し飼育した。識別のため、ヘテロ型クローン2の脂鱗およびクローンの右腹鱗を切除した。魚体重の測定は開始時・51日目・107日目および121日目に行った。飼育期間中の水温は16.6～19.5℃であった。

3) 体形比較 成長比較試験終了時のヘテロ型クローン1、2およびクローンを20尾ずつ10%ホルマリンで固定後、体長・尾長・尾柄長・尾柄高・吻長・頭長・体高および体幅をノギスで計測した。

## 結果および考察

**偽雄の作出** 1) 飼育結果 ホルモン処理終了時の生残率は1区が66.5%、2区が86.5%であり、全長および体重は1区が61.2±2.1mm、1.57±0.20g、2区が60.3±2.4mm、1.55±0.23gであった。開始時のそれぞれの大きさからみると、本結果は良好であると思われる。

2) 効果判定 解剖による性別判定結果を表1に示した。

表1 ホルモン処理魚の解剖による性別判定結果

	雄	雌雄同体	雌
	*		
1	0 (0)	25 (23.4)	82 (76.6)
2	0 (0)	31 (30.7)	70 (69.3)

\*尾数(割合、%)

雄は両区とも全くみられず、完全な偽雄は作出されなかった。雌雄同体魚は1区で23.4%，2区で30.7%出現し、その他は雌であった。雌雄同体魚の生殖腺重量に占める精巣重量の割合を図1に示した。

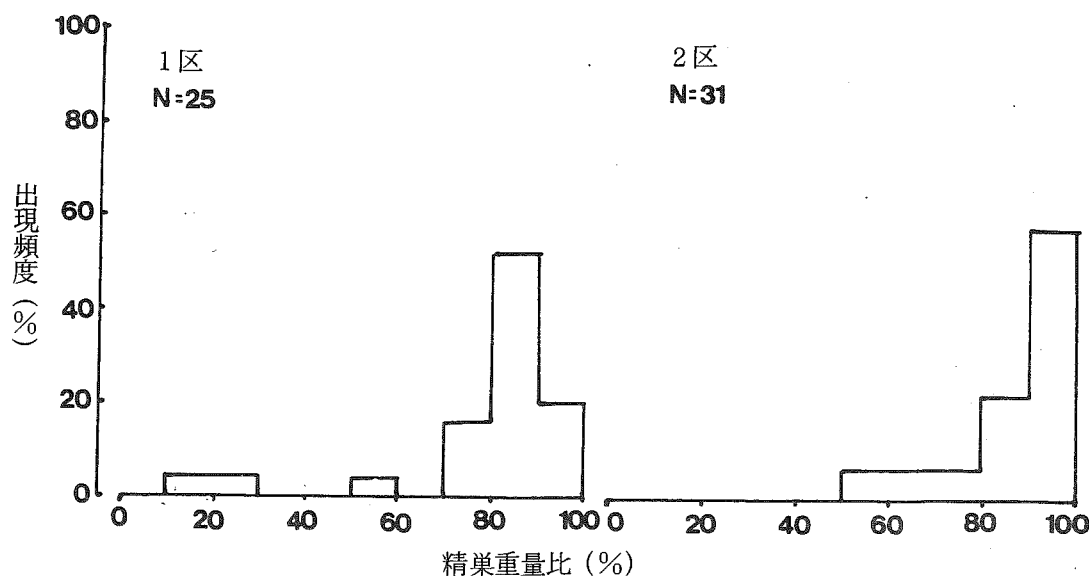


図1 雌雄同体魚の生殖腺重量に占める精巣重量の割合

精巣重量比が70%以上である個体の出現頻度をみると、1区が88%，2区が87%と高く生殖腺の大部分は精巣で占められていた。クローンにおいてこのようにホルモン処理による性別が不安定になる理由は不明であるが、ホルモン投与初期に生物飼料を併用したため、ホルモン飼料の摂餌が不均一であったとも考えられる。今後はホルモン飼料を単独給餌した場合の性比について検討する必要がある。

3) 卵割阻止型雌性発生二倍体との交配 交配結果を表2に示したが、発眼率はヘテロ型クローン1が41.3%，同2が36.4%と低かった。発眼卵から正常ふ化する場合（正常ふ化率を発眼

表2 雌雄同体魚と卵割阻止型雌発生二倍体との交配結果

種別	発眼率 (%)	正常ふ化率 (%)	正常ふ化尾数
ヘテロ型クローン1	41.3	40.6	6,000
ヘテロ型クローン2	36.4	30.9	5,400

率で除す)はいずれも85%以上となり、ヘテロ型クローン1で6,000尾、同2で5,400尾の正常ふ化仔魚が得られた。発眼率の低い原因としては、使用した雌雄同体魚の精子活性が弱い

ことが考えられ、今後検討する必要がある。

4) ヘテロ型クローンの種苗生産状況 ふ化後138日目の生残率はヘテロ型クローン1が74.8

%, 同2が81.4%と高い値を示し, 順調に種苗生産を行うことができた。その後は飼育池を拡大し, 1991年10月8日まで飼育した。

**全雌化の判定および飼育特性の解明** 1) 全雌化の判定 解剖により調査したヘテロ型クローン1, 2はいずれも雌で, 雄や雌雄同体魚は出現しなかった。このことから, 完全に偽雄化しなかった雌雄同体魚の精子を用いても全雌生産は可能であると思われる。

2) 成長比較 ヘテロ型クローンおよびクローンの証明のため, 高知大学により行われたアイソザイム分析の結果は次のようである。Mdh-2・Idh 1, 2・6Pgd・Pgm・Gpi・MpiおよびMe-1の遺伝子座でクローンは単一の同型接合体が出現し, また, ヘテロ型クローン1, 2はGpi

表3 ヘテロ型クローンの成長推移

種 別 項 目	経 過 日 数 (日)				
	開始時	51	107	121	
ヘテロ型クローン1	平均体重 (g)	3.84	10.25	26.48	39.33
	標準偏差 (g)	0.65	1.67	3.09	3.41
	変動係数	0.169	0.163	0.117	0.087
	測定尾数	100	98	100	103
ヘテロ型クローン2	平均体重 (g)	2.90	9.98	27.30	40.46
	標準偏差 (g)	0.51	1.40	2.87	3.22
	変動係数	0.176	0.140	0.105	0.080
	測定尾数	100	100	100	100
ク ロ ー ン	平均体重 (g)	3.25	8.98	22.78	31.69
	標準偏差 (g)	0.59	1.33	2.69	3.36
	変動係数	0.182	0.148	0.118	0.106
	測定尾数	100	99	100	102

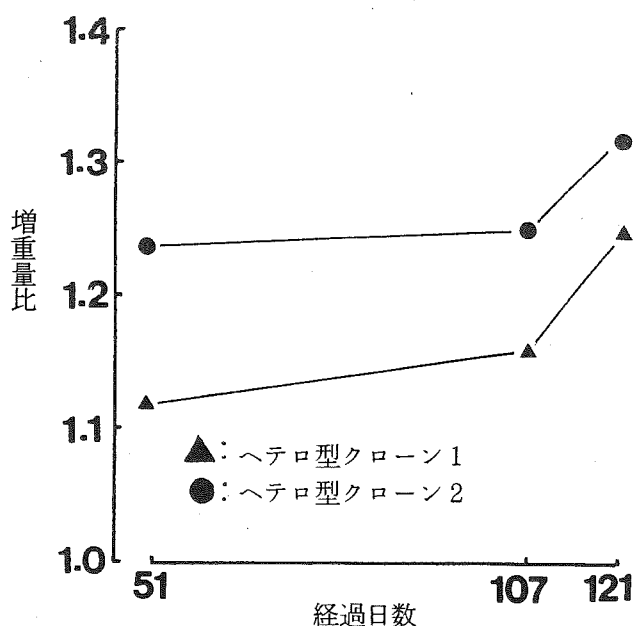


図2 ヘテロ型クローンの増重量比の比較

の遺伝子座では単一の異型接合体が出現し, 他の遺伝子座では単一の同型接合体が出現した。このことから, ヘテロ型クローンおよびクローンの作出の成功が推察された。

ヘテロ型クローンの成長推移を表3に, クローンの増重量を1とした場合のヘテロ型クローンの増重量比を図2に示した。121日目のクローンに対する増重量比はヘテロ型クローン1で1.25倍, 同2で1.32倍となり, いずれもクローンより良好で, ヘテロ型間では2が1よりやや優れた。

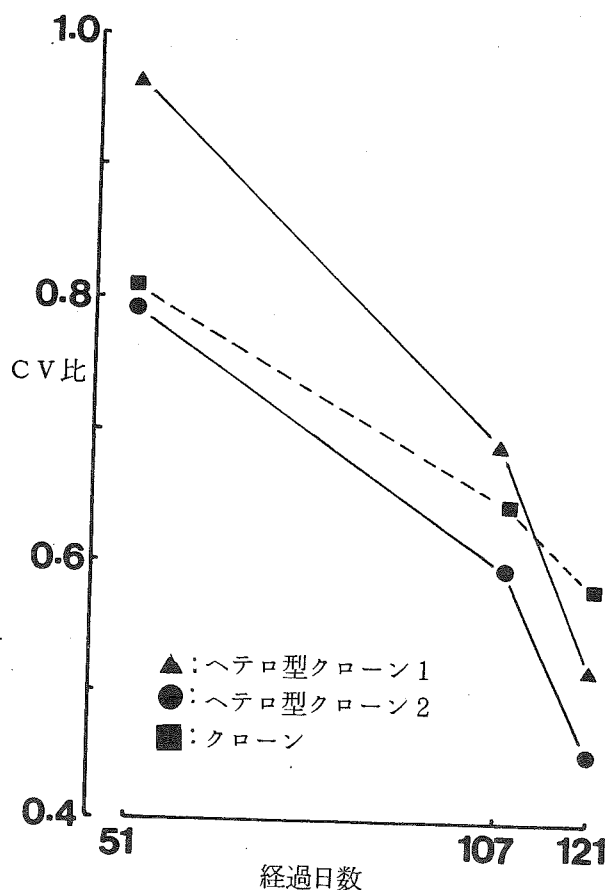


図3 変動係数 (CV) 比の変化

これは母系の成長に関する遺伝的差の表れと考えることができる。次に、変動係数 (CV) 比の変化を図3に示した。CV比はいずれも経時的に徐々に低下し、121日目でクローンが0.582、ヘテロ型クローン1が0.517、同2が0.455となり、変異の縮少がヘテロ型クローンにおいてもクローンと同様に認められた。

2) 体形比較 ヘテロ型クローンおよびクローンにおける計量形質の体長比の測定結果を表4に、その検定結果を表5に示した。尾柄長比・頭長比および体幅比の一部では有意差がなかったが、尾長比・尾柄高比・吻長比および体高比では3系統間ですべて有意差がみられ、ヘテロ型

表4 ヘテロ型クローンおよびクローンにおける計量形質の体長比

種類	項目	尾長	尾柄長	尾柄高	吻長	頭長	体高	体幅
ヘテロ型クローン1	平均値	27.68	12.21	8.09	7.56	22.55	21.58	15.40
	標準偏差	0.50	0.35	0.10	0.21	0.28	0.38	0.31
	変動係数	0.018	0.028	0.012	0.028	0.013	0.018	0.020
ヘテロ型クローン2	平均値	29.66	13.08	7.78	7.76	22.69	21.08	15.35
	標準偏差	0.62	0.36	0.14	0.28	0.32	0.58	0.60
	変動係数	0.021	0.027	0.018	0.036	0.014	0.028	0.039
クローン	平均値	29.11	12.89	7.26	7.34	22.44	18.99	14.02
	標準偏差	0.54	0.27	0.14	0.20	0.36	0.59	0.50
	変動係数	0.019	0.021	0.020	0.028	0.016	0.031	0.035

表5 ヘテロ型クローンの体形に関する検定結果

		ヘテロ型クローン1	ヘテロ型クローン2	クローン
尾長比	ヘテロ型クローン1	—	**	**
	ヘテロ型クローン2	—	—	**
	クローン	—	—	—
尾柄長比	ヘテロ型クローン1	—	**	**
	ヘテロ型クローン2	—	—	NS
	クローン	—	—	—
尾柄高比	ヘテロ型クローン1	—	**	**
	ヘテロ型クローン2	—	—	**
	クローン	—	—	—
吻長比	ヘテロ型クローン1	—	*	**
	ヘテロ型クローン2	—	—	**
	クローン	—	—	—
頭長比	ヘテロ型クローン1	—	NS	NS
	ヘテロ型クローン2	—	—	*
	クローン	—	—	—
体高比	ヘテロ型クローン1	—	**	**
	ヘテロ型クローン2	—	—	**
	クローン	—	—	—
体幅比	ヘテロ型クローン1	—	NS	**
	ヘテロ型クローン2	—	—	**
	クローン	—	—	—

\*\* :  $P < 0.01$    \* :  $P < 0.05$    NS : 有意差なし

クローンおよびクローンの体形は互いに異なるものと思われ、母系の遺伝的影響が推察された。

これらのことことから、クローン的一方を偽雄化し異なるクローンと交配することにより、特色のある均一な全雌魚を生産することが可能であると思われる。

## 謝 辞

本試験を行うにあたって、試験魚のアイソザイム分析をしていただいた高知大学農学部栽培漁業科谷口順彦教授に深謝いたします。