

# 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 - I \*

辻村明夫, 堀江康浩, 畑下成穂

魚類の品種改良を効率良く進めるため, アユを材料として雌性発生2倍体魚を作出し, それらの各種形質に関して基礎的データを積み上げ, 有用形質を識別, 探索するとともに, 適切な形質評価手法の検討を行なう。さらに, 有用形質の遺伝的固定のため雌性発生2倍体の継代作出を試み, 作出魚の育種評価を行なう。また, 有用形質を導入するため, 天然品種の形質評価に関する調査研究を併せて実施する。

本年度は, 実験魚の作出および初期発生段階における各系アユの形態形質の測定を実施した。

## 1 雌性発生による海産, 湖産アユの種苗育成

### 1) 種苗の作出法

#### 材 料 お よ び 方 法

親魚として海産系は, 平成元年3月9日に本県田辺市新庄地先海面で採捕されたものを養成して用いた。なお, 一部の魚はA群作出用として, 平成元年5月16日より6月21日まで成熟促進のため, 300W水銀灯3基で長日処理を行った。湖産系は平成元年3月に琵琶湖より導入され, 本県内水面漁業協同組合連合会が放流用として中間育成していたものを譲り受け養成して用いた。

雌性発生魚の作出方法は1処理回に3~7尾分の精液および1~7尾分の卵を用い, 群毎に3~12回の処理を行った。精子の遺伝的不活化は希釈液 ( $\text{NaCl } 17.61\text{g/l}$ ,  $\text{KCl } 1.9\text{g/l}$ ,  $\text{pH} = 7.5$ ) で100倍希釈し,  $7,000\text{ erg/cm}^2$ の紫外線を照射することにより行った。染色体の倍数化は極体放出阻止型雌性発生2倍体 (G2N-A) では媒精6分後に $0.4\sim 1.5^\circ\text{C}$ , 30分間の低温処理により行い, 卵割阻止型雌性発生2倍体 (G2N-B) では $17.7, 18.5$ および $18.9^\circ\text{C}$ で卵を管理し, 媒精80および90分後に $690\sim 700\text{ kg/cm}^2$ の加圧処理により行った。精子の遺伝的不活化の確認は半数体症候群の出現率により行い, また, 処理卵の発眼率および正常孵化率を求めた。

\* 本研究は平成元年度水産生物有用形質識別評価手法開発事業により実施した。

表1 供試魚の作出結果

群名	採卵日	親魚数		発眼率 (%)	正常孵化率 (%)
		♂	♀		
海産系 G2N-A	9/25,26	15	15	29.4±12.6	12.5±5.4 (5.2-17.5)*
A G2N-B	10/6,9	27	17	15.8±13.6	2.7±2.8 (0.4-9.7)
CONT	9/25,26	15	15	78.8±11.1	67.3±16.9 (43.8-85.2)
海産系 G2N-A	11/7	19	18	43.4±24.3	26.0±17.5 (2.2-48.9)
B G2N-B	11/7	23	21	46.2±11.0	7.7±3.9 (2.4-12.6)
CONT	11/7	19	18	94.9±3.2	91.8±2.8 (87.6-95.2)
海産系 G2N-A	11/7,8	19	15	65.3±12.3	37.5±6.6 (28.5-42.9)
C G2N-B	11/8,9	49	52	39.1±18.6	5.3±6.1 (0-19.2)
CONT	11/7,8	26	19	89.9±3.0	84.2±5.6 (76.3-91.0)
湖産系 G2N-A	10/11	29	30	85.7±6.8	53.3±9.3 (43.3-70.2)
湖産♂*海産♀	10/27	6	5	69.7±23.6	60.4±22.0 (44.8-75.9)

\* (最小-最大)

## 結果および考察

作出結果を表1に示した。すべての雌性発生群で染色体の倍数化処理を行わなかった卵の半数体症候群出現率は100%であり、精子の遺伝的不活化は適当であったと思われる。

2種類の雌性発生2倍体を作成した海産系ではA, B, C群とも発眼率および正常孵化率はG2N-A区>G2N-B区となり、G2N-Bの正常孵化率の平均値はG2N-A区の1/4~1/6であった。G2N-Bの作出は加圧開始時にすでに発生速度に個体差がみられること、また、有害劣性遺伝子の顕在化により成功率が低いことが予想されるが、効率化のためにはさらに処理条件等を検討する必要があるであろう。今回のG2N-B区の作出で最高の正常孵化率は19.2%であった。その処理条件は18.9℃の流水中で卵管理し、媒精90分後に700Kg/cm<sup>2</sup>の加圧処理を行った場合であった。

また、湖産系G2N-A群の正常孵化率は53.3%と良好な値を示した。

## 2) 仔稚魚の飼育

### 材料および方法

湖産系G2N-A群を除く各群の孵化直前の卵を池水容量0.7m<sup>3</sup>(1×2m)または1.2m<sup>3</sup>(1×3m)の屋内コンクリート池計10面に収容し、孵化後1日目から41日目はシオミズツボムシ、15日目からは

配合飼料，また28日目からはアルテミア幼生を併用給餌した。飼育用水はアレン処方的人工海水（比重1.0050～1.0060）を用い，循環濾温方式で飼育した。湖産系G2N-A群は池水容量35 m<sup>3</sup>（5×10 m）の屋内コンクリート池で飼育していたふ化後49日目の仔魚のうち6,000尾を池水容量1.2 m<sup>3</sup>（1×3 m）の屋内コンクリート池に収容し，以後，上記と同様の方法で飼育した。これらの池の飼育水温は14～19℃，照度は，2,000 lux以下であった。

### 結 果 お よ び 考 察

飼育結果を表2に示した。海産系A群は29～35日目，B群は19～29日目，C群は15～19日目，湖産系G2N-A群は59～71日目および湖産♂×海産♀群は25～30日目にかけて細菌性疾病と思われるかなりのへい死魚がみられた。抗生物質およびフラン剤で数回薬浴を実施したとろへい死魚数は減少した。目視による推定生残数は海産系ではG2N-B区が最も少なく，仔魚の活力も他に比べやや弱いように思われた。その理由として，遺伝子座のホモ接合により有害劣性遺伝子が顕在化したためと思われる。海産系A群のG2N-B区は，生残尾数が少なくなったため109日目に全数取り上げを行った。生残尾数は148尾で，正常孵化魚尾数に対する生残率は1.7%であった。他の群については現在，飼育途中であるため，生残率や成長に関する詳細な調査は1g程度まで飼育した時点で行う予定である。

表2 飼 育 結 果

群 名	ふ 化 日	正 常 ふ 化 仔 魚 数	推 定 生 残 数 (2月21日現在)	水 槽 容 量 (m <sup>3</sup> )
海産系 G2N-A	10/6	44,100	3,000	1.2
A G2N-B	10/16	8,600	148*	0.7
CONT	10/6	38,400	5,000	1.2
海産系 G2N-A	11/21	26,600	2,000	0.7
B G2N-B	11/21	33,200	1,000	0.7
CONT	11/21	25,300	2,000	0.7
海産系 G2N-A	11/23	38,000	2,000	1.2
C G2N-B	11/23	45,800	1,000	1.2
CONT	11/23	24,800	3,000	0.7
湖産系 G2N-A	10/20	287,900	3,000	1.2
湖産♂*海産♀	11/8	17,000	500	0.7

\* 2月12日 全数取り上げ

## 2 初期発生段階における各系アユの形態形質の測定

### 1) 仔魚の全長および体重の測定

#### 材 料 お よ び 方 法

サンプリングは海産系のうち、孵化仔魚数、水槽の大きさ等の飼育条件が比較的均一である B 群は孵化後 5, 23, 59, 89 日目に行い、A 群は 25, 90, 12 日目に、C 群は 58, 90 日目に行った。また、湖産系 G 2 N - A 群は 90, 119 日目に、湖産♂×海産♀群は 90 日目に行った。

これらのサンプル魚を 10%ホルマリンに浸漬固定後、全長は個体別に 25 日目までのものは万能投影機で 10 および 20 倍に拡大して測定し、41 日目以降のものはノギスで測定した。体重は 59 日目までのものはサンプル魚全体を秤量し平均を求め、89 日目以降のものは個体別に測定した。

#### 結 果 お よ び 考 察

表 3 に海産系 B 群の全長および体重の推移を示した。5 日目の全長および体重は対照区、G 2 N - A 区、G 2 N - B 区の順に小さくなり、23, 41 日目ではその関係は逆転した。59 日目では G 2 N - A 区、G 2 N - B 区、対照区と順に小さくなり、89 日目も体重では同様の傾向を示した。5 日目の関係は孵化仔魚の大きさを反映したもの思われ、その後の成長は仔期の生残状況に起因する餌料環境を反映した結果と考えられる。全長および体重の変動係数は対照区に比べ、雌性発生区で常に高い傾向がみられ、雌性発生 2 倍体における変異の拡大が示唆されたが、G 2 N - A 区・G 2 N - B 区間では一定の傾向はみられなかった。また、成長に伴い変動係数は増加する傾向がみられた。

表 4 に海産系 A・C 群、表 5 に湖産系 G 2 N - A 群、湖産♂×海産♀の全長および体重を示した。海産系 A 群では対照区と比べ、25, 90 日目とも G 2 N - A 区の変動係数が高く、109 日目の G 2 N - B 区と 120 日目の対照区および G 2 N - A の比較では G 2 N - B 区で明らかに変動係数が高かった。また、海産系 C 群は 58 日目では G 2 N - A 区の変動係数が最も高く、次いで対照区となり、G 2 N - B 区で最も低くなったが、90 日目では G 2 N - A 区、対照区、G 2 N - B 区の順に変動係数は高くなった。対照区の飼育密度は他区に比べかなり高く、餌料環境の悪化による成長のバラツキの拡大があるにもかかわらず、90 日目の G 2 N - B 区ではそれ以上の個体変異がみられた。

湖産系 G 2 N - A 群の成長は海産系 G 2 N - A 群に比べ劣り、変動係数も高い値を示したが、飼育前歴に違いがあるため、一般的傾向であるかは不明である。また、湖産♂×海産♀群の 90 日目の変動係数はいずれの雌性発生区より低く、海産系の対照区と同程度であった。

図1に海産系B群の全長組成を、図2海産系A群の全長組成を示した。対照区に比べ雌性発生区でバラツキの大きい分布を示し、特にA群のG2N-B区で顕著であった。

表3 海産系B群の全長および体重の推移

ふ化後日数		全 長 (mm)			体 重 (mg)		
		CONT	G2N-A	G2N-B区	CONT	G2N-A	G2N-B区
5日目	平 均	8.46	8.00	7.79	0.73	0.66	0.55
	標準偏差	0.32	0.48	0.46			
	変動係数	0.038	0.060	0.059			
	サンプル数	50	50	50	50	50	50
23日目	平 均	12.90	13.04	13.40	3.2	3.5	3.4
	標準偏差	0.56	1.07	1.14			
	変動係数	0.043	0.082	0.085			
	サンプル数	33	32	30	33	32	30
41日目	平 均	16.95	17.29	17.89	9.2	10.2	10.9
	標準偏差	1.38	2.35	2.05			
	変動係数	0.081	0.136	0.115			
	サンプル数	53	35	35	53	35	35
59日目	平 均	23.04	25.24	23.15	27.0	36.6	29.0
	標準偏差	2.31	3.01	3.18			
	変動係数	0.100	0.119	0.137			
	サンプル数	35	35	28	35	35	28
89日目	平 均	35.95	39.96	35.41	132.8	159.1	137.5
	標準偏差	3.53	5.05	4.07	43.6	68.2	52.7
	変動係数	0.098	0.137	0.115	0.328	0.429	0.383
	サンプル数	56	52	57	53	52	57

表4 海産系A・C群の全長および体重

群名	ふ化後日数		全長 (mm)			体重 (mg)		
			CONT	G2N-A	G2N-B区	CONT	G2N-A	G2N-B区
海産系 A群	25日目	平均	12.97	12.97		3.3	3.7	
		標準偏差	0.77	1.24				
		変動係数	0.059	0.096				
		サンプル数	35	37		35	37	
	90日目	平均	34.60	36.48		129.7	168.9	
		標準偏差	2.55	3.81		34.6	65.2	
		変動係数	0.074	0.104		0.267	0.386	
		サンプル数	109	113		109	113	
	120日目	平均	38.02	40.26	45.24*	217.0	276.7	428.1*
		標準偏差	3.37	3.98	8.39	74.2	104.0	270.9
		変動係数	0.089	0.099	0.185	0.342	0.376	0.633
		サンプル数	106	109	148	106	109	148
海産系 C群	58日目	平均	18.40	23.30	22.70	12.9	32.9	29.2
		標準偏差	2.34	3.37	2.27			
		変動係数	0.127	0.145	0.100			
		サンプル数	50	46	41	50	46	41
	90日目	平均	35.49	39.49	35.43	136.2	197.3	141.6
		標準偏差	3.60	3.89	5.15	49.9	64.9	67.9
		変動係数	0.101	0.099	0.145	0.366	0.329	0.480
		サンプル数	50	61	50	50	61	50

\* ふ化後 109 日目に測定

表5 湖産系G2N-A群, 湖産♂×海産♀群の全長および体重

群名	ふ化後日数		全長 (mm)	体重 (mg)
湖産系G2N-A群	90日目	平均	27.29	59.5
		標準偏差	4.36	31.6
		変動係数	0.160	0.531
		サンプル数	104	104
	119日目	平均	37.94	224.3
		標準偏差	4.77	100.5
		変動係数	0.126	0.448
		サンプル数	120	120
湖産♂ * 海産♀	90日目	平均	35.43	148.1
		標準偏差	2.91	48.5
		変動係数	0.082	0.327
		サンプル数	30	30

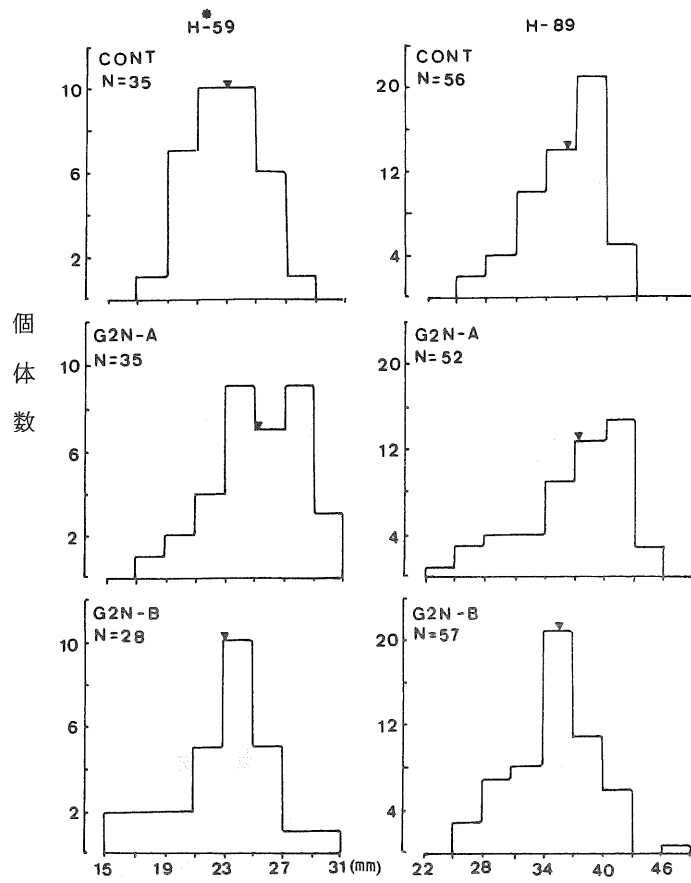


図1 海産系B群の全長組成

▽: 平均値 \* : ふ化後日数

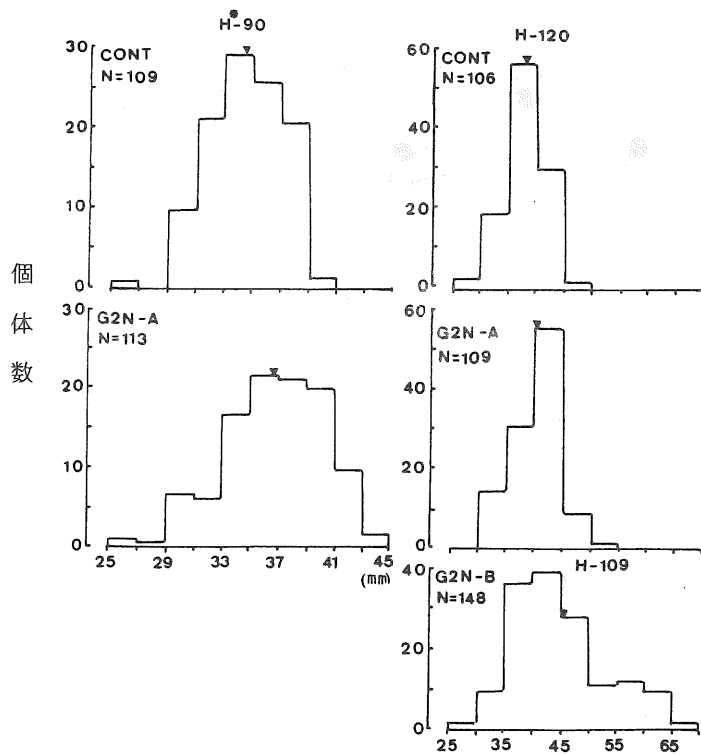


図2 海産系A群の全長組成

▽: 平均値 \* : ふ化後日数