

アユの全雌生産に関する検討

辻 村 明 夫, 堀 江 康 浩, 畑 下 成 穂

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」の生産は雌雄選別作業の必要性や飼育池の有効利用面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を浴び, 全雌生産にも利用されつつあり, この技術の応用により「子持ちアユ」の生産の効率化が図られるものと思われる。

そこで前報¹⁾に引き続き, アユの全雌生産に必要な精子の遺伝的不活化条件, 卵の染色体倍体化条件, 作出した雌性発生2倍体の飼育特性およびホルモン処理による偽雄の作出条件について検討を行った。

1 精子の遺伝的不活化条件の検討

前報¹⁾では9cmシャーレに100倍希釈精液2mlを入れて紫外線照射を行い, 精液を多く必要とする場合にはシャーレの個数を増やすことで対処した。しかし, 今後, さらに多くの卵を処理するためには大量の精液を効率的に不活性化する必要がある。そこで受精に必要な最少精液量および紫外線照射時における希釈精液量を検討した。また, 紫外線処理精液の保存時間および精液希釈液のpHについても検討した。

材料および方法

親魚は海産系および人工産養成アユを用い, 精液は試験毎に数尾から採取したものを使用し, 卵は1個体分を用いた。精液希釈液の組成はNaCl 7.61g, KCl 1.49g/ℓとし, 精液希釈液のpHを検討した試験以外はNaHCO₃でpH7.0に調整した。紫外線照射は15W殺菌灯1基で30cm上方から行った。

受精に必要な最少希釈精液量 50倍および100倍希釈した精液3mlずつを9cmフラットシャーレ2個に注入し, 7,000erg/mm²の紫外線照射を行った。そのうち0.05, 0.1, 0.2, 0.4および0.6mlを用い, 卵2gと媒精し, また同様に希釈した正常精液1.0mlで媒精した区(IC区)を設けた。16.1~16.3°Cの流水中で卵管理し, 7日目の発眼率を求めた。

紫外線照射時における希釈精液量 50倍および100倍希釈した精液を9cmフラットシャー

レにそれぞれ3, 6, 9, 12および18mlずつ注入し, 7,000erg/mm²の紫外線照射を行った。これらの精液2mlを卵1gと媒精し, また同一量の精液と卵で媒精したIC区を設けた。15.5~17.0°Cの流水中で卵管理し, 8日目の発眼率および半数体症候群出現率を求めた。

紫外線処理精液の保存時間 100倍希釈した精液3mlずつを9cmフラットシャーレ2個に注入し, 7,000erg/mm²の紫外線照射を行った後, 精液を6°Cの冷蔵庫で保存し, 0, 15, 30および60分後に, そのうち1mlずつと紫外線照射直前に搾出し, 室温下(19.1°C)で保存しておいた卵1gずつと媒精した。また, 紫外線無処理精液についても同様の操作を行い, 16.7~17.6°Cの流水中で卵管理し, 4日目の生卵率を求めた。

精液希釈液のpH NaHCO₃を用いてpH7.0および7.9に調整した希釈液で100倍希釈した精液3mlずつを9cmフラットシャーレに注入し, 7,000erg/mm²の紫外線照射を行い, そのうち1mlを卵1gと媒精した。また, 無処理精液についても同様の操作を行い, 16.7~17.6°Cの流水中で卵管理し, 4日目の生卵率を求めた。

結果および考察

受精に必要な最少希釈精液量 卵1gに対する希釈精液量と発眼率の関係を図1に示した。発眼率は50倍希釈の0.025~0.3mlで73.0~80.4%と0.025mlで若干低下したもののIC区の76.8%と大差がなかった。100倍希釈では0.025mlで39.2%および0.05mlで54.6%と明らかに低下し, 0.1ml以上で69.4~72.4%と安定した。このことから卵1gに媒精するために必要な最少量は100倍希釈では0.1ml, 50倍希釈では安全性を見込んで0.05ml程度と思われる。

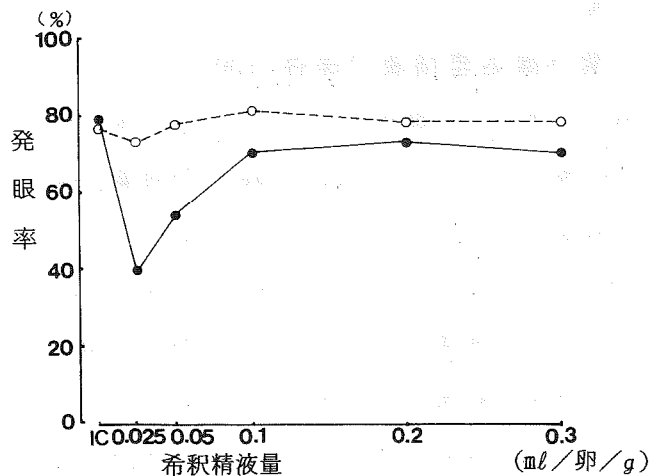


図1 卵1gに対する希釈精液量と発眼率の関係
○---○:50倍希釈 ●---●:100倍希釈

紫外線照射時における希釈精液量 紫外線照射時に9cmフラットシャーレに注入する希釈精液量と発眼率および半数体症候群出現率の関係を図2に示した。半数体症候群出現率は50倍および100倍希釈のいずれの液量でも100%を示し, 50倍希釈の有効性が再確認された。発眼率は50倍希釈では6mlまでは67%程度でIC区と同様であったが, 9ml以上では明らかに低下した。100倍希釈では9mlまでは59~66%とIC区の63%と大差がなかったが, 12mlで51%, 18mlで46%と低下した。これらの発眼率の低下は生残した卵の半数体症候群出現率が100%であったとし

ても、液層の高さの増加により紫外線の透過率が低下し、一部異数性の発生が行われていることが懸念される。従って7,000erg/mm²の紫外線照射で発眼率に影響を及ぼさない9cmシャーレに注入する希釈精液量は50倍希釈では6ml, 100倍希釈では9mlまで可能であると思われ、前報¹⁾で行った100倍希釈2mlに比べ、4倍程度の効率化が期待できる。

また、先の受精に必要な最少精液量から、50倍希釈では9cmシャー

レ1個に6ml注入する1回の紫外線照射で120gの卵(卵数276,000粒)と、また100倍希釈では9ml注入することにより90gの卵(卵数207,000粒)と媒精可能である。この卵量は100gサイズの親魚の4~6尾分にあたり、実用規模で十分使用できると思われる。

紫外線処理精液の保存時間

前報¹⁾で精子の運動性を観察することにより、保存時間の検討を行い、6,000erg/mm²の照射量では照射後の20分以内に、9,000erg/mm²以上では10分以内に媒精する必要があると示唆された。このことを再確認する意味で7,000erg/mm²の紫外線照射後、一定時間毎に卵と媒精し、4日目の生卵率を求めることにより保存時間を検討し、その結果を図3に示した。無処理精液は時間の経過とともに徐々に生卵率は低下し、0分後には94.8%であったものが60分後には65.0%となった。また、紫外線処理精液では0分後93.6%, 15分後83.0%, 30分後29.0%

%, 60分後6.7%となり、15分以上で生卵率の急激な低下がみられ、前報¹⁾と同様な結果となった。このことから媒精は紫外線照射後できるだけすみやかに行う必要があり、7,000erg/mm²程度では少なくとも15分以内に行う必要があると思われる。

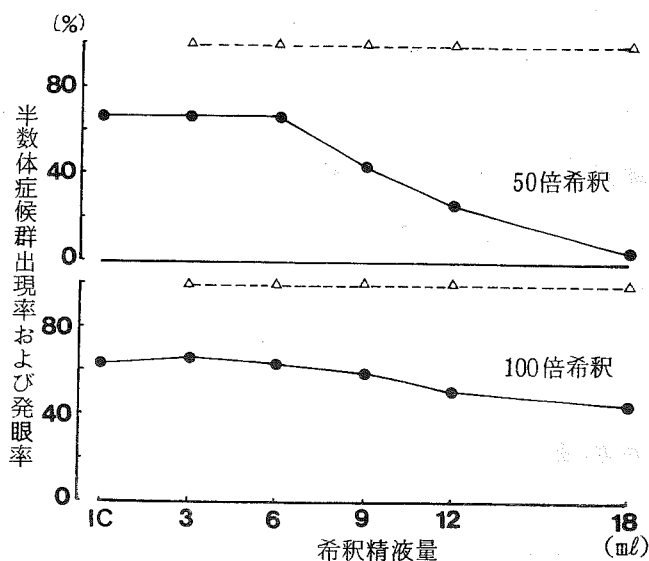


図2 紫外線照射時における希釈精液量と発眼率の関係

●●:発眼率 △△:半数体症候群出現率

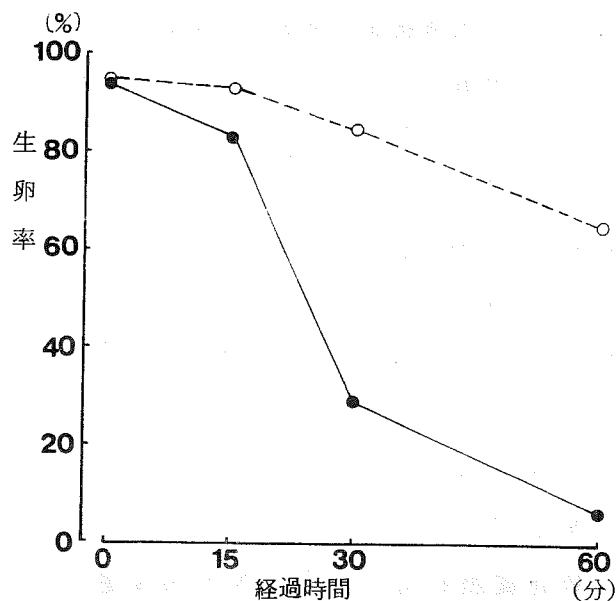


図3 紫外線処理精液の保存時間

○--○:無処理
●--●:紫外線処理

精液希釈液のpH 希釈精液の

pH別の生卵率を表1に示した。

無処理精液に対し、紫外線処理

精液の生卵率は低くなったが、

pH間の差はみられなかった。

アユの精漿のpH測定では7.9の

結果を得ているが、今回の結果からpH7.0~7.9の範囲で十分使用できると思われる。

表1 希釈精液のpH別生卵率(%)

pH	1 回 目		2 回 目	
	無処理	紫外線処理	無処理	紫外線処理
7.0	94.6	58.6	97.5	76.8
7.9	94.0	52.5	96.2	75.0

2 卵の染色体倍数化条件の検討

最近、極体放出阻止型雌性発生2倍体では染色体の交叉による遺伝子の組換えが高頻度で起こる遺伝子座があるため、純系化の効率が同系交配に比べて必ずしも良くないこと、また、純系作出には1個の雌性前核から発生させ、第1卵割の中期の卵にショックを与え分裂を阻止し、染色体を倍化させる第1卵割阻止法が有効であることが報告²⁾されている。純系魚は育種の素材としての活用および飼育環境因子の解明に今後、重要な意味をもつものと考えられる。第1卵割阻止による染色体の倍数化は通常、加圧処理が用いられる場合が多く、今回は処理開始時間について検討した。また、参考のため、排卵後の経過時間が発眼率に及ぼす影響についても調べた。

材料および方法

加圧処理開始時間 供試精液および卵は人工産養成アユから採取した。精液は数尾から採取したものを混合して用い、100倍希釈した。7,000erg/mm²の紫外線照射した希釈精液3mlを3gの卵と媒精し、300~400粒ずつスライドガラスに附着させ、処理開始まで16.4℃の流水中に置いた。媒精後40分から10分毎に120分まで650kg/cm²・6分間の加圧処理を行った。また、加圧処理を行わない区(GC区)も設け、これらの卵を16.1~16.7℃の流水中で管理し、7日目の発眼率および正常ふ化率を求めた。

排卵後の経過時間が発眼率に与える影響

20時から22時の間に排卵した1個体を用い、22時を0時間後として8, 20, 44, 70時間後に少量の卵を搾出し、その都度採取した生鮮精子で媒精した。試験中、親魚は15.9℃の流水中で、卵は16.1~16.3℃の流水中で管理し、7日目の発眼率を求めた。

結果および考察

加圧処理開始時間 加圧処理開始時間と生残率の関係を図4に示した。発眼率はGC区で93.3%と高率であったが、40および50分後の加圧処理では卵はすべて死亡した。60分以後上昇し、90分から110分後に92%程度に安定し、120分後では再び低下した。正常ふ化率は70分まで0となり、80分後以降に上昇がみられ、100分後に39.0%、110分後に41.4%とピークに達し、120分後では低下した。90分以降では半数体にみられるような卵膜から頭部のみを出して死亡する魚は少なく、奇形魚でもふ化する傾向がみられた。今回の加圧開始までと同一の水温(16.4°C)下に置いた別個体の卵発生では120分後に一部の卵に第1卵割と思われるものが出現し、140分後には

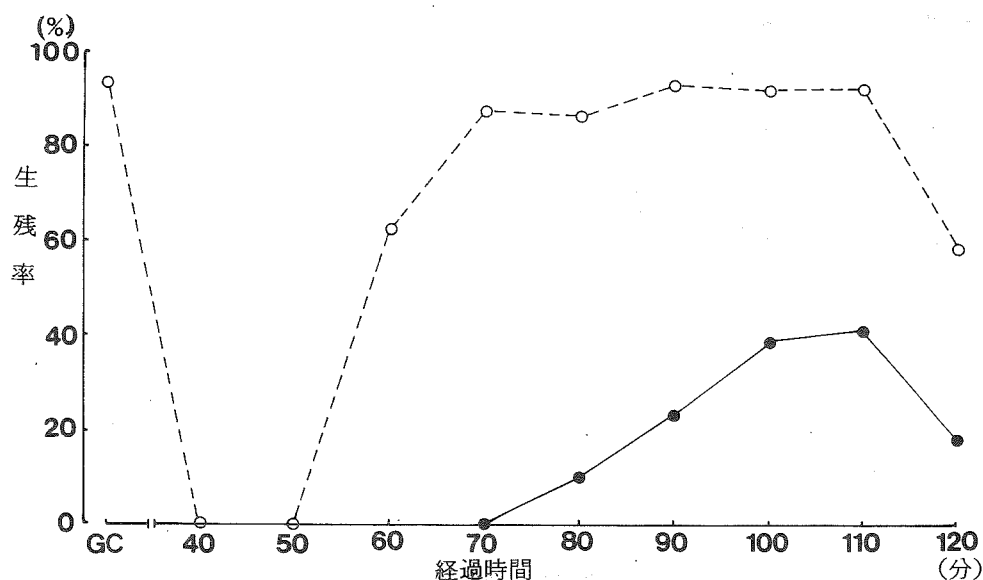


図4 加圧処理開始時間と生残率の関係

○--○:発眼率 ●—●:正常ふ化率

第1卵割を確認した。アユの第1卵割阻止型雌性発生2倍体の誘導例では600kg/cm²、6分間の加圧が必要であり、加圧処理開始時間は媒精後70分(水温18.5~19.0°C)と報告³⁾されている。今回の試験から16.4°Cにおける適正加圧処理開始時間は媒精後100~110分後と推定された。このように適正加圧処理開始時間は媒精後、加圧処理関係開始までの卵管理水温に支配されると思われる。また、卵の発生速度の個体変異も作出率に大きく影響するものと思われるので卵発生を同調化させるため有効な卵管理水温の検討も必要であろう。

排卵後の経過時間が発眼率に与える影響 排卵後の経過時間と発眼率の関係を図5に示した。排卵直後の卵は95.8%と高い発眼率を示し、20時間後までは96%以上となり、以後、やや低下するものの70時間までは88%程度と良好であった。このことから15.9°C程度の比較的低い水温で排卵親魚を飼育することにより、卵の過熟化がある程度抑制されるものと思われる。

3 雌性発生2倍体の作出と飼育特性

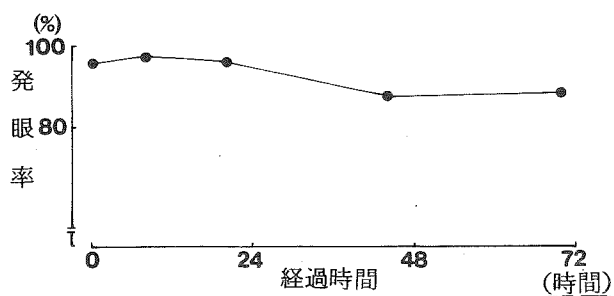


図5 排卵後の経過時間と発眼率の関係

養成親魚を用いて極体放出阻止型雌性発生2倍体の作出を行い、また前年度、作出魚を用いて稚魚からの成長および成熟状況を調べた。さらに、第1卵割阻止型雌性発生2倍体の作出を試み、ふ化後22日目の仔魚を用いて成長実験を行った。

材料および方法

極体放出阻止型雌性発生2倍体の作出 供試精液および卵は人工産養成アユから採取した。精液は数尾から採取したものを、希釈液 (NaCl 7.61 g, KCl 1.49 g / ℓ pH7.0) で100倍希釈した。1～4回までは2個の9 cmフラットシャーレに3 mlずつ注入し、7,000erg/mm²の紫外線照射を行い、5～14回までは4個の9 cmフラットシャーレに2 mlずつ注入し、7,380erg/mm²の紫外線照射を行った。これらの精液と過熟ステージ I～II の卵30.7～72.8 g (卵数70,000～167,000粒) と媒精した。染色体の倍数化は媒精後6分後に0～1.3℃、60分間の低温処理により行った。なお、一部の卵は半数体症候群出現率により紫外線照射の適否を判定するために低温処理は行わなかった。14.9～17.0℃の流水中で卵管理を行い、9～10日目の発眼率および一部のふ化仔魚の奇形率を調べた。

極体放出阻止型雌性発生2倍体の成長と成熟 昭和61年11月12日に海産系養成親魚から採卵、採精し、紫外線照射 (7,000～9,000erg/mm²) による精子の遺伝的不活化と低温処理 (媒精5～6分後より0.3～1.5℃で60分間) による染色体の倍数化により作出した雌性発生2倍体および正常精子で媒精した通常2倍体を用いた。供試サイズまで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養成した。

1) 試験-1 (混合飼育)

(1) 試験期間：昭和62年6月19日から10月27日までの131日間。なお、成長試験は9月28日までの102日間とした。

(2) 供試魚および飼育方法：平均体重6.7 gの雌性発生2倍体 (雌性発生魚) 1,494尾を脂鰭切除により標識し、平均体重4.4 gの通常2倍体 (通常魚) 1,512尾と混合飼育した。飼育池は池水容量35m³ (5×10m) でアユ用配合飼料を給餌し、飼育期間中の水温16.0～21.4℃であった。

(3) 魚体測定：開始時および終了時に全数取り上げ尾数と魚体重の測定を行い、中間測定は原則として月1回、50尾を取り上げ魚体重を測定した。成熟度指数は7月16日からほぼ2週間毎

に4～47尾を取り上げ調査した。また、10月27日に同一精液で雌性発生魚および通常魚から搾出した卵と媒精し、16.2～17.6℃の流水中で卵管理しふ化率を求めた。

2) 試験－2 (分離飼育)

(1) 試験期間：昭和62年7月1日から9月1日までの63日間。(Ⅰ期7月1日～21日，Ⅱ期7月22日～8月11日，Ⅲ期8月12日～9月1日)

(2) 供試魚および飼育方法：平均体重5gの雌性発生2倍体(雌性発生区)および通常2倍体(対照区)を298尾ずつ，池水容量3.5m³(2×5m)の飼育池に放養し，アユ用配合飼料を1日当たり魚体重の2～3%程度給餌した。飼育期間中の水温はⅠ期17.0～17.6℃，Ⅱ期17.6～20.1℃，Ⅲ期18.9～19.3℃であった。

(3) 魚体測定：21日目毎に全数取り上げ，魚体重および尾数を測定した。

第1卵割阻止型雌性発生2倍体の仔魚期の成長

(1) 供試魚の前歴：昭和62年11月5日に人工産養成親魚から採精・採卵し，8,400erg/mm²の紫外線照射による精子の遺伝的不活化と加圧処理(媒精後80分間18.1℃の流水中で卵管理し，650kg/cm²・6分間処理)による染色体の倍数化を行い，第1卵割阻止型雌性発生2倍体を作成した。また，正常精子および卵により媒精した通常2倍体も作成し，これらのふ化仔魚にシオミズツボワムシを給餌し，試験開始まで飼育した。

(2) 試験期間：昭和62年12月12日から昭和63年2月12日までの63日間。

(3) 供試魚および飼育方法：ふ化後22日目の雌性発生2倍体(雌性発生区)および通常2倍体(対照区)を800尾ずつ用い，池水容量0.6m³(1×2m)の屋内コンクリート池2面にそれぞれ放養した。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，アレンの人工海水(比重1.0050～1.0055)による循環濾過方式で飼育した。飼育水温は12.8～17.1℃(平均15.3℃)で最高照度は2,000luxであった。

(4) 魚体測定：開始時に50尾，終了時に150尾の全長・体重を測定し，終了時には生残魚の全数を計数した。

結果および考察

極体放出阻止型雌性発生2倍体の作出 14回の作出結果を表2に示した。低温処理を行わなかった卵の半数体症候群の出現率は1，2および11回で93.3～97.7%となったほかは100%であり，媒精後9～10日目の半数体の生残率は13.3～72.7%，平均39.3%であった。前報¹⁾の7,000erg/mm²照射による半数体症候群の出現率はいずれも100%であり，今回の遺伝的不活化が適正に行われなかった原因は不明である。同種精子を用いる場合には遺伝的不活化を完全に行う必要

があり、実用規模で行う場合、その操作の正確さが問題となる。アユにおいても今後、異種精子の利用を検討する必要がある。また、半数体の生残率は前報¹⁾の1/2以下と低く、卵質を含めた媒精時における諸要因の検討がさらに必要と思われる。

表2 極体放出抑止型雌性発生2倍体の作出結果

回	低温処理 温度 (°C)	半数体 生残率 (%)	半数体症候 群出現率 (%)	低温処理卵 の生残率 (%)	ふ化仔魚 奇形率 (%)
1	0.1~0.7	65.7	97.1	38.2	—
2	0.1~0.4	49.4	93.3	46.9	—
3	0.1~0.6	13.3	100	15.4	—
4	0.5	28.4	100	20.6	—
5	0~0.8	32.3	100	18.8	19.2
6	0.3~0.8	47.4	100	23.0	25.0
7	0.3~0.5	37.2	100	25.7	23.9
8	0.8~1.0	29.8	100	19.0	—
9	0.6	44.0	100	34.4	11.4
10	0.5~1.2	18.6	100	13.1	16.8
11	0.9~1.0	72.7	97.7	69.9	14.7
12	0.6~0.7	51.5	100	37.8	—
13	0.4~1.2	19.8	100	25.2	—
14	0.9~1.3	39.5	100	25.2	59.5
平均	—	39.3	99.2	29.5	24.4

低温処理卵の9~10日後の生残率は13.1~69.9%、平均29.5%であり、前報¹⁾の7,000erg/mm²照射における平均値69.1%よりかなり劣った。低温処理卵と半数体の生残率の比を低温処理の影響の指標として考えると今回は平均75.1%であり、前報¹⁾では69.1%となり、低温処理の影響度は今回の方がやや少ない結果となった。

これらのことにより作出結果が不良であった主原因は媒精時における操作に不備があったものと考えられる。精液希釈液の組成、必要精液量およびシャーレへの注入量等について試験的には検討を加えているが、今後、実用規模で行う場合に生じるギャップを埋めて行く必要があると思われる。

ふ化仔魚の奇形率は11.4~59.5%、平均24.4%であった。奇形率は低温処理条件（例えば処理継続時間）により異なるものと思われ、今後、検討する必要があるだろう。

極体放出阻止型雌性発生2倍体の成長と成熟

1) 試験-1-(混合飼育)

(1) 生残：へい死尾数の推移を図6に、飼育結果を表3に示した。雌性発生魚は7月29日から8月5日にかけてへい死魚が増加し、この期間中に全へい死魚の78%がへい死した。症状として鰓および肝臓のうっ血がみられ、魚は盛んに水面を飛びはねた。鰓に寄生虫はみられず、細菌

検査でも原因菌らしきものは分離されなかった。また、通常魚のへい死状況から伝染性の強いものとは思われなかった。このようなへい死魚は同時期に種苗の由来を同一とする他の飼育池に放養していた雌性発生魚にもみられたが、染色体操作による弊害とは考えにくく、飼育前歴に何らかの問題があったものと思われる。飼育期間中のへい死率は通常魚で0.9%、雌性発生魚で11.5%となった。

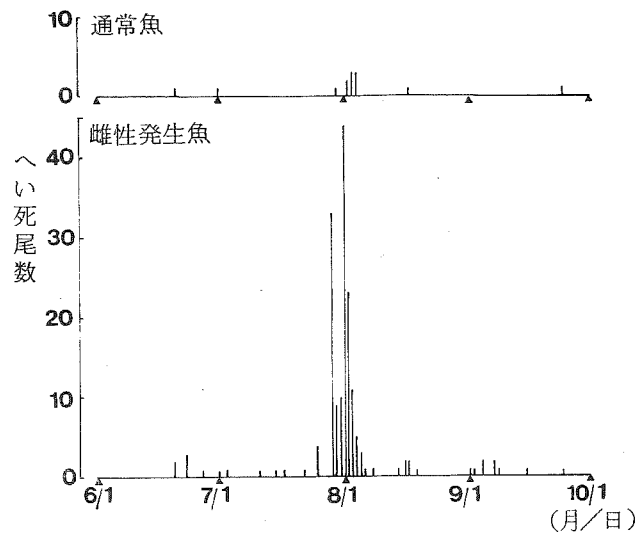


図6 へい死尾数の推移

(2) 成長：サンプリング魚の体重および変動係数の推移を図7に、成長試験終了時における体重組成を図8に示した。魚体重はへい死魚の増加した7月下旬から8月上旬にかけて逆転し、以後、通常魚に比べ雌性発生魚の成長は劣った。へい死魚の増加期には雌性発生魚の摂餌は悪く、それ以後の成長に影響を及ぼしたものと思われる。日間増重率は通常魚が2.40%、雌性発生魚が1.78%となり、前者に比べ後者は74%の成長量にとどまっ

た。変動係数は雌性発生区で常に大きい傾向がみられ、8月26日には通常魚13.1%、雌性発生魚26.4%とその差は最も大きくなった。魚体重の組成をみても雌性発生魚は広がり大きい分布を示した。今回の成長試験では原因不明のへい死のため、その後の成長に影響を及ぼしたものと考えられ、成長についての特性を十分検討することができなかった。しかし、アユで報告³⁾されているように雌性発生魚で個体変異の大きい傾向が示された。

表3 混合飼育結果

区	通常魚	雌性発生魚
開始時平均体重(g)	4.4	6.7
〃 尾数	1,512	1,494
終了時平均体重(g)	61.3	47.4
〃 尾数	1,327	1,150
へい死尾数	13	172
へい死率(%)	0.9	11.5
サンプル採取尾数	172	172
日間増重率(%)	2.40	1.78

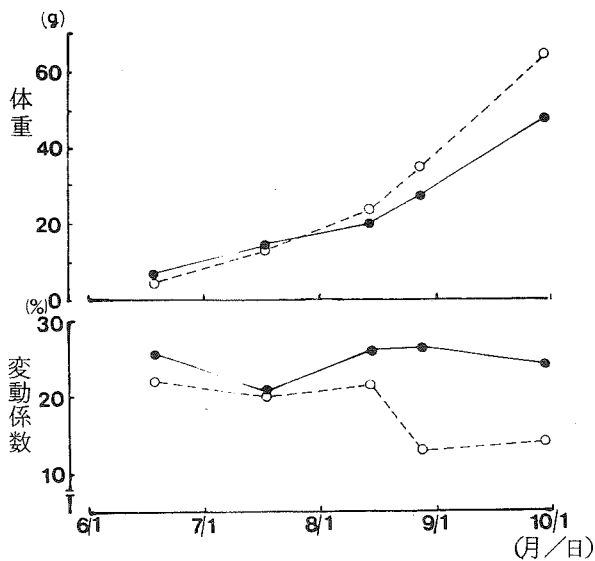


図7 体重および変動係数の推移
○-○: 通常魚 ●-●: 雌性発生魚

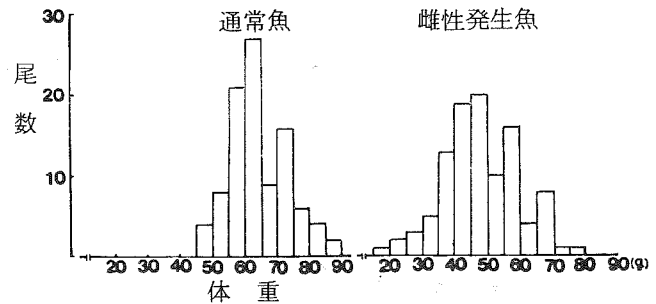


図8 成長試験終了時の体重組成

(3) 成熟：成熟度指数および変動係数の推移を図9に、9月28日の魚体重と成熟度指数の関係を図10に示した。成熟度指数の平均値は雌性発生魚で7月16日に0.31%であったものが8月26日に1.35%となり、以後、急速に増加し、10月12日には18.3%となった。通常魚も同様の傾向を示し、10月12日に18.2%となった。以後、雌性発生魚では10月19日に28.5%となり、排卵魚がみられたが、通常では排卵魚は確認されなかった。変動係数は雌性発生魚で大きい傾向がみられ、9月14日に通常魚53.4%、雌性発生魚65.3%と最大になり、その後、減少した。魚体重と成熟度指数の関係でも雌性発生魚は座標面にばらつく傾向があり、通常魚と比べ、成熟の早いものと遅いものとの差が大きいことを示している。先の排卵魚の出現傾向もこのことを裏づけている。このことから第2極体放出型の雌性発生2倍体においてもその特性の1つとして成熟過程の個体変異が大きくなることが示された。この現象は適度に成熟した魚を出荷する「子持ちアユ」生産において出荷時期の延長化による有利な面と一度に大量出荷できない不利な面を備えている。後者の対策としては、例えばクローン魚群の親魚化とその全雌生産により対応可能と思われ、今後、検討する必要がある。

通常魚および雌性発生魚の採卵結果を表4に示した。同一精子を用いたこれらの媒精で1回目の雌性発生魚のふ化率は低かったが、これは卵質による差と思われる。他は良好なふ化率を示し、特に問題はないものと思われる。

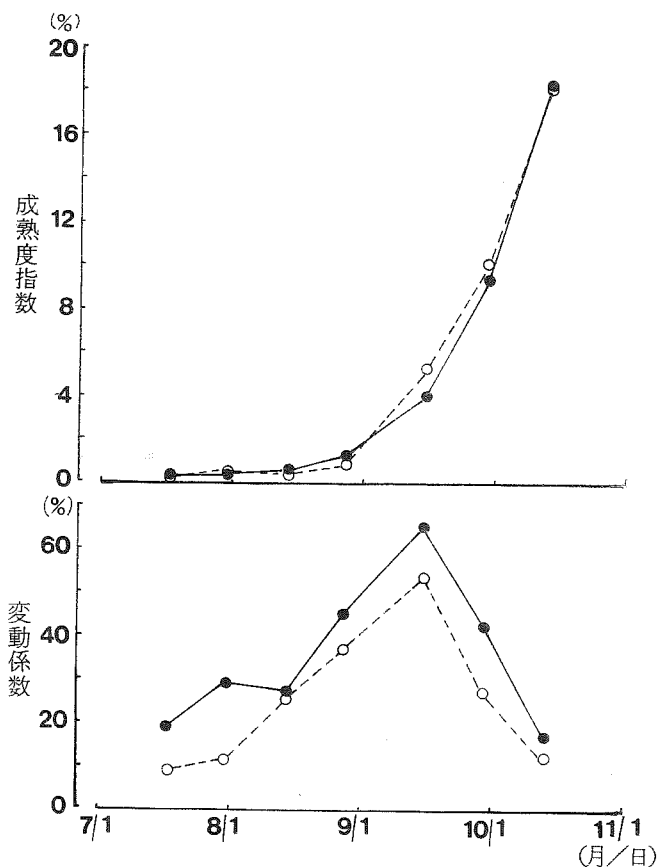


図9 成熟度指数および変動係数の推移
○-○:通常魚 ●-●:雌性発生魚

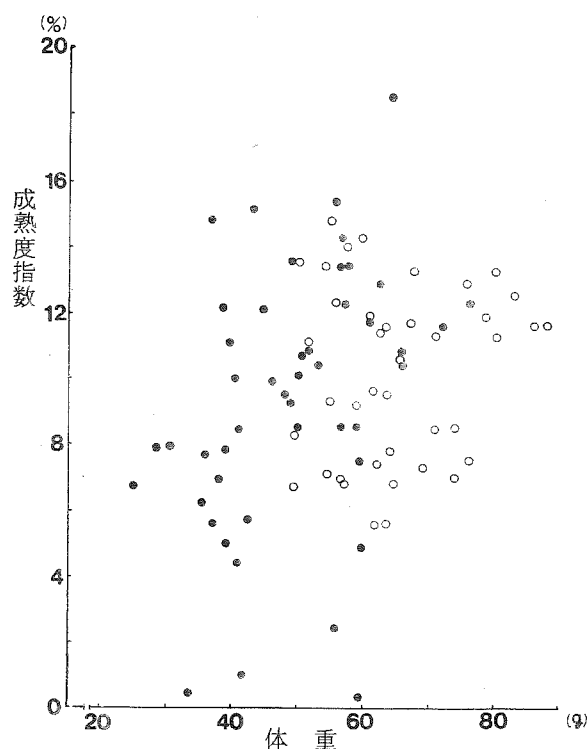


図10 魚体重と成熟度指数の関係
●:雌性発生魚 ○:通常魚

表4 通常魚および雌性発生魚の採卵結果 (%)

回	通常魚		雌性発生魚	
	ふ化率	正常ふ化率	ふ化率	正常ふ化率
1	84.7	83.5	53.0	44.3
2	94.4	75.7	90.8	90.8
3	90.0	89.5	86.3	84.7

2) 試験-2 (分離飼育)

飼育結果を表5に示した。混合飼育の場合と同様にⅡ期の7月下旬から8月上旬にかけて雌性発生区でへい死魚がみられ、この期間中、魚の体色は黒化し、摂餌が低下した。補正飼料効率は全期間において雌性発生区で劣り、へい死がみられたⅡ期で特に悪くなった。また、補正日間成長率も同様の傾向を示したが、Ⅲ期で逆転しているのは対照区の補正日間給餌率が低いためであると思われる。このように今回の飼育試験では原因不明の疾病の影響が大きく、成長についての特徴を十分検討することができなかった。

表5 分離飼育の飼育結果

区	I 期		II 期		III 期		全 期	
	対照区	雌性発生区	対照区	雌性発生区	対照区	雌性発生区	対照区	雌性発生区
開始時平均体重(g)	5.1	5.2	9.1	8.3	15.3	12.1	5.1	5.2
" 尾 数	298	298	298	297	298	288	298	298
終了時平均体重(g)	9.1	8.3	15.3	12.1	23.6	19.0	23.6	19.0
" 尾 数	298	297	298	289	298	288	298	288
へい死率(%)	0	0.3	0	2.7	0	0	0	3.0
補正飼料効率(%)	90.2	78.4	110.1	68.8	104.6	83.1	102.8	77.6
" 日間給餌率(%)	2.99	2.76	2.21	2.53	1.95	2.52	2.00	2.30
" 日間成長率(%)	2.81	2.22	2.52	1.76	2.09	2.15	2.47	2.04

第1卵割阻止型雌性発生2倍体の仔魚期の成長 飼育結果を表6に、終了時の全長の組成を図11に示した。生残率は雌性発生区で20.1%となり、対照区の35.6%より低くなった。成長においても雌性発生区で劣り、対照区に比べ、全長で85%、体重で57%の成長量にとどまった。変動係数は雌性発生区で高く、全長の組成でもバラツキの大きい傾向がみられた。第1卵割阻止型雌性発生2倍体は初代においてすべての遺伝子座でホモ型になるが、親の対立遺伝子が分離するため、個体によって遺伝子組成は著しく多様になると考えられている²⁾。今回の成長のバラツキはこのことを反映した結果と思われるが、今後、さらに飼育を継続し、その特性を検討する予定である。

表6 第1卵割阻止型発生2倍体の飼育結果

区	全 長 (mm)		体 重 (mg)		生残率 (%)
	開始時 (CV)*	終了時 (CV)*	開始時	終了時	
対 照 区	11.3±0.8 (7.1)	38.1±2.7 (7.1)	2.4	200.5	35.6
雌性発生区	10.1±0.8 (7.9)	32.4±3.7 (11.4)	1.9	113.4	20.1

*CV: 変動係数 (%)

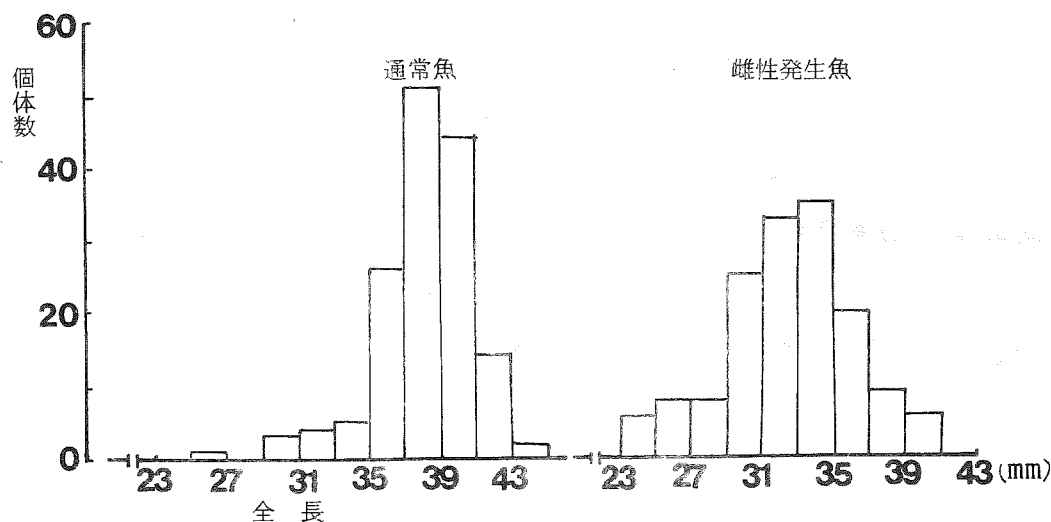


図11 終了時の全長組成

4 ホルモン処理による偽雄の作出

全雌魚を大量生産するためには、雌性発生2倍体をホルモン処理により、機能的雄に性転換し、通常雌と交配させる方法が効率的であると考えられている。そこで性転換のためのホルモン処理濃度および処理方法について検討した。

材料および方法

試験期間 昭和61年12月25日から昭和62年10月23日までの273日間行い、ホルモン処理期間は昭和61年12月25日から昭和62年2月24日までの62日間とした。

供試魚および飼育環境 全長12.9mm（ふ化後28日目）の雌性発生2倍体を2,000尾ずつ用いた。飼育水槽は容量600ℓ（1×2m）の屋内コンクリート池に容量300ℓの濾過槽を取り付け、アレンの人工海水（比重1.0050～1.0055）で循環ろ過飼育を行い、以後、魚体重の増加とともに飼育池を拡大し、10月23日まで飼育した。なお、ホルモン処理期間中の水温は10.5～16.2℃（平均15.3℃）であった。

試験区 ホルモン剤は17-methyltestosterone（MT）を用い、エチルアルコールに溶解後、経口投与の場合は配合飼料に吸着・風乾して与え、浸漬の場合は5日目毎に飼育水に添加し、2時間止水とした後、600ℓの新水を換水した。試験区は表7に示すように1、2区は50および100μg/g飼料を投与し、3区は42日目まで100μg/ℓ飼育水で9回の浸漬を行い、以後、100μg/g飼料に切り替え、4区は100μg/ℓ飼育水で13回の浸漬を行った。3、4区はホルモン無添加飼料を与え、全区ともホルモン処理期間中もアルテミア幼生を併用給餌した。

表7 試験区

区	処理方法
1	経口投与 50 μg/g
2	経口投与 100 μg/g
3	浸漬 100 μg/ℓ（42日目まで）経口投与 100 μg/g（43日目以降）
4	浸漬 100 μg/ℓ

魚体測定および効果判定 開始時、30日目、61日目および127日目に19～50尾ずつサンプリングし、体重を測定し、127日目に生残魚の全数を計数した。また、8月25日および10月23日20～33尾を取り上げ、体重を測定するとともに雌雄を判定した。

結果および考察

成長 成長の推移を表8に示した。経口投与区（1，2区）に比べ，浸漬区（3，4区）の

表8 成長の推移

区	開始時		30日目		61日目		92日目		127日目		生残率*
	全長(mm)	体重(mg)	全長(mm)	体重(mg)	全長(mm)	体重(mg)	全長(mm)	体重(mg)	全長(mm)	体重(mg)	
1	12.9±0.9	3.6	23.2±4.0	33.2	35.2±4.1	151.5	46.3±6.2	526.4	60.8±4.1	1,517.5	48.4
2			21.7±1.8	23.2	33.3±4.9	126.4	44.2±4.6	427.0	55.4±6.0	1,013.5	60.4
3			20.9±2.7	24.0	30.2±2.6	85.6	40.0±3.6	280.6	52.5±5.9	825.7	51.3
4			20.4±1.7	20.5	26.6±2.0	51.8	36.5±3.3	204.2	49.7±5.3	713.0	44.7

*生残尾数 / (開始時尾数 - 中間サンプリング尾数) × 100

成長は劣り，浸漬のみを行った4区の成長が最も劣った。摂餌状況をみても3，4区で悪く，36日目頃より体色が白化し，へい死魚が増加した。3区では経口投与に切り替え後，へい死は減少したが，4区のへい死はホルモン処理終了後まで続いた。ホルモン処理終了後，20日目頃より細菌性疾患と思われるへい死魚が各区で増加し，127日目の生残率は45～60%となった。今回の試験では対照区は設定しなかったため50 $\mu\text{g/g}$ 飼料投与区（1区）の成長低下については不明であるが，100 $\mu\text{g/g}$ 飼料投与区（2区）および100 $\mu\text{g/l}$ 浸漬区（3，4区）ではMTによる成長阻害がみられた。また，成長に伴ない体形異常が顕在化し，背鰭・臀鰭の発育不全，頭部短縮，下顎不整合，鰓蓋発育不全および短軀等がみられ，特に浸漬区（3，4区）で短軀の出現が目立った。このように今回のMT濃度では骨格形成に異常を来たすものと思われる。

効果の判定 性別判定結果を表9に示した。8月25日調査で雄性化は認められなかったが，性別不明魚が出現したため，10月23日に最終調査を行った。各区ともすべての魚が卵巣を有し，外観的にも雄の特徴をまったく示さず，雄性化は認められなかった。アユの性分化の形態学的臨界期は水温15°Cで飼育した場合，ふ化後90日（全長35mm）から同120日（40mm）にかけて存在する⁴⁾と考えられており，またこの時期を含んだestradiol-17 β の経口投与で雌性化に成功している⁴⁾。今回の試験でのホルモン処理終了後前日の全長は表8の61日目のものであり，2～4区については臨界期に達していないものの1区については臨界期に達した魚が存在したにもかかわらず，雄性化はみられなかった。これから雄性化と雌性化ではホルモン処理期間に差のあることも考えられ，また今回のMT濃度では成長阻害および体形異常の増加がみられ，正常な発育をしているとは思われなかった。今後，さらに処理期間，濃度等について検討する必要がある。

表9 性別判定結果

区	8 月 2 5 日				1 0 月 2 3 日			
	体重(g)	雄(尾)	雌(尾)	不明(尾)	体重(g)	雄(尾)	雌(尾)	不明(尾)
1	15.1	0	29	4	28.2	0	20	0
2	15.1	0	20	1	29.1	0	20	0
3	19.4	0	19	3	27.1	0	20	0
4	15.4	0	22	8	32.8	0	20	0

要 約

- 1) 7,000erg/mm²の紫外線照射における卵1gを媒精するために必要な希釈精液量は100倍希釈で0.1ml, 50倍希釈で0.05mlと考えられた。
- 2) 7,000erg/mm²の紫外線照射における9cmシャーレに注入する希釈精液量は100倍希釈で9ml, 50倍希釈で6mlまで可能であると考えられた。
- 3) 紫外線照射精液による媒精はできるだけすみやかに行うに必要があり, 7,000erg/mm²では15分以内に行う必要があると考えられた。
- 4) 精液希釈 (NaCl 7.61g, KCl 1.49g/ℓ) のpHは7.0~7.9の範囲で十分使用可能と考えられた。
- 5) 第1卵割阻止のための適正加圧処理開始時間は水温16.4℃では媒精後100~110分と推定された。
- 6) 排卵親魚を低水温(15.9℃)下で飼育することにより, 少なくとも排卵後70時間までは発眼率の低下は抑制された。
- 7) 養成親魚を用いて低温処理により極体放出阻止型雌性発生2倍体の作出を試みた結果, 発眼卵の生残率は13.1~69.9%(平均29.5%)であった。
- 8) 極体放出阻止型雌性発生2倍体の飼育試験で成長については原因不明の疾病のため十分検討することができなかったが, 通常2倍体に比較して個体変異が大きい傾向を示した。また, 成熟状況についても同様に個体変異が大きい傾向を示した。
- 9) 第1卵割阻止型雌性発生2倍体の成長・生残は通常2倍体より劣った。また, 成長の個体変異は通常2倍体より大きい傾向を示した。
- 10) ふ化後28日目の雌性発生2倍体を用いて, メチルテストステロンによる50, 100μg/g飼料の投与および100μg/ℓの浸漬を62日間実施した結果, いずれも雄性化はみられなかった。また, 今回のホルモン処理濃度では成長阻害および体形異常の増加が認められた。

文 献

- 1) 辻村明夫, 堀江康浩, 明楽公男: 昭和61年度和歌山県内水面漁業センター事業報告書, 69-79 (1988) .
- 2) 谷口順彦: 水産育種, 11, 49-58 (1986) .
- 3) N. Taniguchi, S. Seki, J. Fukai and A. Kijima: *Nippon Suisan Gakkaishi* , 54, 1483-1491 (1988) .
- 4) 佐々木拓, 隆島史夫, 高橋昭夫: 水産増殖, 34, 249-251 (1987) .