

平成6年度 アマゴバイテク技術応用試験

牧野 賢治・酒井 基介・尾田 文治

目 的

染色体操作を中心とした新技術を導入することにより、アマゴの新しい育種技術の開発を目指し、将来的に性のコントロールや優良形質の固定を図ることを目的とする。

1 第一卵割阻止型雌性発生魚作出試験

形質の固定化を図るため、第一卵割阻止型の雌性発生二倍体の作出を試みた。

方 法

前年度までと同様に、精子の遺伝的不活化は Mounib Solution で 100 倍に希釈した精子に 3,600erg/mm² の紫外線を照射して行った。染色体倍数化は媒精 10 分後に処理条件を加圧処理は 650気圧 6 分、媒精後積算水温 65, 70, 75, 80 ・h の 4 段階、高温処理は 28 20 分, 30 10 分, 媒精後積算水温 80, 85, 90, 95 ・h, の 4 段階で処理を行った。なお、試験 1 回につき雌 3 尾分の卵と雄 3 尾から撮取した精子を用い、媒精後は水温 14 前後で管理した。

結 果

結果を表 1, 2 に示した。表に示したように加圧処理においては 0.0 ~ 3.3% といずれの諸条件でも非常に低いふ化率であった。高温処理では 28 20 分の処理温度で 0.6 ~ 12.0% のふ化率が得られた。

表 1 平成 6 年度第一卵割阻止型雌性発生魚作出試験結果（加圧処理）

試験区	供試卵数(粒)	発眼卵数(粒)	ふ化尾数(尾)	発眼率(%)	ふ化率(%)
2 Ncont	86	35	35	40.7	40.7
U Vcont	85	3	0	3.5	0.0
65℃・h	672	0	0	0.0	0.0
70℃・h	586	0	0	0.0	0.0
75℃・h	564	10	1	1.8	0.2
80℃・h	403	14	7	3.5	1.7
2 Ncont	145	137	137	94.5	94.5
U Vcont	154	92	2	59.7	1.3
65℃・h	831	17	3	2.0	0.4
70℃・h	769	34	25	4.4	3.3
75℃・h	813	4	4	0.5	0.5
80℃・h	815	8	7	1.0	0.9

表 2 平成 6 年度第一卵割阻止型雌性発生魚作出試験結果（高温処理）

試験区	供試卵数(粒)	発眼卵数(粒)	ふ化尾数(尾)	発眼率(%)	ふ化率(%)
28°C20分					
2 Ncont	88	82	82	93.2	93.2
U Vcont	76	25	11	32.9	14.5
80°C・h	649	67	53	10.3	8.1
85°C・h	598	86	72	14.3	12.0
90°C・h	454	14	11	3.1	2.4
95°C・h	544	4	3	0.7	0.6
30°C10分					
2 Ncont	94	69	69	73.4	73.4
U Vcont	103	0	0	0.0	0.0
80°C・h	388	3	1	0.8	0.3
85°C・h	554	3	0	0.5	0.0
90°C・h	418	0	0	0.0	0.0
95°C・h	400	0	0	0.0	0.0

2 加圧,高温 2 回処理による第一卵割阻止型雌性発生魚作出試験

サケ科魚類では,高水圧処理における第一卵割阻止が困難な理由は処理によって一度消失したはずの紡錘糸が処理後再生されることにより,融合しつつあった半数性のゲノムセットが再び分裂し半数性に再び戻ってしまうためであると考えられている。そこで第一卵割阻止型雌性発生魚作出効率の安定および向上を目的に加圧,高温 2 回処理の検討を行った。

方 法

精子の不活化は上記の試験と同様とした。染色体倍数化の処理条件を媒精 10 分後に加圧処理は 650kg/cm³で 6 分,高温処理は 30 5 分,媒精後積算水温 70,80,90 ・h の 3 段階で処理を行った。なお,2 回目の処理試験は 1 回目の処理終了後 1 分間自然水に放置した後,2 回目の処理を行った。なお,試験 1 回につき雌 3 尾分の卵と雄 3 尾から摂取した精子を用い,媒精後は水温 14 前後で管理した。

結 果

結果を表 3,4 に示した。加圧,高温処理ともに発眼率,ふ化率が低い結果となった。

表 3 平成 6 年度第一卵割阻止型雌性発生魚作出試験結果（加圧 2 回処理）

試験区	供試卵数(粒)	発眼卵数(粒)	ふ化尾数(尾)	発眼率(%)	ふ化率(%)
2 Ncont	173	148	148	85.5	85.5
U Vcont	158	26	0	16.5	0.0
70°C・h	861	13	7	1.5	0.8
80°C・h	926	7	7	0.8	0.8
90°C・h	875	0	0	0.0	0.0
2 Ncont	125	40	38	32.0	30.4
U Vcont	135	16	2	11.9	1.5
70°C・h	652	17	9	2.6	1.4
80°C・h	623	0	0	0.0	0.0
90°C・h	500	0	0	0.0	0.0

表 4 平成 6 年度第一卵割阻止型雌性発生魚作出試験結果（高温 2 回処理）

試験区	供試卵数(粒)	発眼卵数(粒)	ふ化尾数(尾)	発眼率(%)	ふ化率(%)
30°C5分					
2 Ncont	108	107	107	99.1	99.1
U Vcont	73	5	5	6.8	6.8
70°C・h	824	0	0	0.0	0.0
80°C・h	974	0	0	0.0	0.0
90°C・h	874	0	0	0.0	0.0

3 高温処理及び加圧処理による雌性発生魚大量作出試験

処理条件の違いによる作出率の良否を検討するため、高温処理及び加圧処理による雌性発生魚大量作出試験を行った。

方 法

精子の不活化は1,2の試験と同様の方法で行った。両区とも媒精10分後に染色体倍数化処理を行った。加圧処理は650気圧6分間で行い、高温処理は28℃で20分間浸漬する方法で行った。処理後自然水温の流水下で管理した。なお、試験1回につき雌3尾分の卵と雄3尾から摂取した精子を用いた。

結 果

結果を表5に示す。加圧処理におけるふ化率は21.7%、高温処理では73.4%と高いふ化率であった。1000粒以上の卵であれば、第二極体放出阻止による雌性発生魚作出は今回に関して言えば、高温処理が有効であると思われる結果が得られたので、今後試験回数を増やし、さらなる検討を行ってきたい。

表5 平成6年度第二極体放出阻止型雌性発生魚作出試験結果

試験区	供試卵数(粒)	発眼卵数(粒)	ふ化尾数(尾)	発眼率(%)	ふ化率(%)
2 Ncont	81	81	79	100.0	97.5
UVcont	96	41	4	42.7	4.2
加圧処理	1114	258	242	23.2	21.7
高温処理	1129	869	829	77.0	73.4

4 雌性発生魚作出

第二極体放出阻止により作出された雌性発生魚を作出し、その中で優良な個体を選抜し、次世代へと継代して育種選抜を行うことにより優良純系を得る目的で行った。

方 法

上記の試験と同様の方法で行い、高温処理条件だけを30℃で10分の浸漬に変えて行った。

結 果

結果を表6に示す。加圧処理においてコントロールのふ化率が悪く、卵質が大きく影響したものである。計288尾の雌性発生ふ化仔魚が得られた。

表 6 平成 6 年度第二極体放出阻止型雌性発生魚作出試験結果

試験区	供試卵数(粒)	発眼卵数(粒)	ふ化尾数(尾)	発眼率(%)	ふ化率(%)
30°C10分					
2 Ncont	82	82	82	100.0	100.0
U Vcont	66	53	0	80.3	0.0
G 2 N A	882	354	279	40.1	31.6
2 Ncont	100	7	7	7.0	7.0
U Vcont	105	0	0	0.0	0.0
加圧処理	2960	7	7	0.2	0.2
2 Ncont	128	5	4	3.9	3.1
U Vcont	129	0	0	0.0	0.0
加圧処理	1062	6	2	0.6	0.2
2 Ncont	177	1	0	0.6	0.0
U Vcont	202	0	0	0.0	0.0
加圧処理	2207	1	0	0.0	0.0