

アユ全雌魚生産技術実用化研究

船越 進・萩平 将・荒木 茂
尾田 文治・松岡 正義

本研究は、養殖アユを対象に雌単一の稚魚を生産し、市場価値の高い「子持ちアユ」の生産効率を大幅に向上させることによって、アユ養殖の経済性を高める技術の実用化を図ることを目的として行った。

本年度の研究方法

1 全雌試験魚の雌雄の判定

平成2年秋に機能的雄と通常の雌とを交配して作出した全雌試験魚の雌雄の判定を行った。

判定は、平成3年10月中旬に、すべての個体を開腹し、生殖巣を確認することによって行った。

2 ホルモン剤による性転換試験

ふ化後40日目の雌性発生二倍体に対して、ふ化後120日目までメチルテストステロンを投与し、機能的雄の誘導を図った。

3 雌性発生二倍体の作出

加圧及び高温処理により、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体及び第一卵割阻止型雌性発生二倍体の作出を行った。また、精子はアユ及びリュウキュウアユのものを用いた。

4 雌性発生二倍体作出の成否の判定

作出した雌性発生二倍体について、アイソザイムによる成否の判定を行った。

本年度の研究結果

1 全雌試験魚の判定結果

平成2年秋に機能的雄と通常の雌を交配して作出した全雌試験魚について、雌雄の判定を行った。結果は表1のとおりである。

すべての試験区から雄がほぼ50%の率で出現し、全雌は確認できなかった。

表 1 全雌試験魚判定結果

試験区	判定尾数	雌 (尾)	雄 (尾)	雌出現率(%)
全雌 1	477	222	255	46.5
2	321	190	131	59.1
3	435	218	217	50.1
4	277	146	131	52.7
5	290	156	134	53.7
6	422	233	189	55.2
7	223	108	115	48.4
8	221	111	110	50.2
9	248	123	125	49.5
10	301	143	158	47.5
11	298	150	148	50.3
2 Ncont.	290	141	149	48.6

2 NCONT.: 通常の精子を受精させたもの

2 ホルモン剤による性転換試験

ふ化後 40 日目の雌性発生二倍体に対して、ふ化後 120 日目までメチルテストステロンを経口単独で、0.01, 0.05, 0.1 及び 0.5 $\mu\text{g/g}$ を投与した区と浸漬単独で 0.0001 及び 0.00001ppm を投与した区をそれぞれ設け、機能的雄の誘導を図った。

誘導した結果は表 2 のとおりである。

試験区は 6 区設けたが、いずれの試験区も判定時までの生残尾数が少なく、判定できたのは、99 尾であった。判定は、全雌魚作出時に開腹し、生殖巣の形状を調べることにより行った。このうち機能的雄が誘導できたのは試験区 3、試験区 4 及び試験区 6 からそれぞれ 1 尾ずつ、合計 3 尾の機能的雄が誘導でき、全体の誘導率は 3.0% であった。

誘導できた機能的雄の生殖巣の形状は、試験区 3 は精巣のみ確認、試験区 4 は精巣のみ確認できたが未熟、試験区 6 は療巣及び卵巣を持った雌雄同体であった。

また、判定した 99 尾について、尻びれの形状と生殖巣の形状を調べた。その結果は、表 3 のとおりで、尻びれはすべて雌の形状をしていた。

生殖巣の形状については、卵巣を持ったものが全体の 72%、卵巣も精巣も持たない不明のものが全体の 24% であった。

表 2 機能的雄の誘導試験結果

試験区	雌性発生の方 法	判定尾数	機能的雄の 出現尾数	誘導率 (%)	ホルモンの濃度及び投与方法	ホルモンの 投与期間(日)
1	GA	23	0	0	0.1 $\mu\text{g/g}$ 経口	81
2	GB	10	0	0	0.5 $\mu\text{g/g}$ 経口	121
3	GA	18	1	5.5	0.0001ppm 浸漬	113
4	GA	28	1	3.5	0.05 $\mu\text{g/g}$ 経口	113
5	GA	11	0	0	0.01 $\mu\text{g/g}$ 経口	113
6	GA	9	1	11.1	0.00001 ppm 浸漬	113
計		99	3	3.0		

GA : 第二極体放出阻止型雌性発生二倍体
GB : 第一卵割阻止型雌性発生二倍体

表3 ホルモン投与試験後の生殖巣及び尻びれの形状

試験区	雌性発生の方法	判定尾数	機能的雄の出現尾数	誘導率(%)	卵巣出現尾数(尾)	不明(尾)	尻びれの形状
1	GA	23	0	0	22	1	すべて雌
2	GB	10	0	0	5	5	〃
3	GA	18	1	5.5	11	6	〃
4	GA	28	1	3.5	21	6	〃
5	GA	11	0	0	9	2	〃
6	GA	9	1	11.1	4	4	〃
計		99	3	3.0	72	24	

GA：第二極体放出阻止型雌性発生二倍体
 GB：第一卵割阻止型雌性発生二倍体

3 全雌試験魚の作出

誘導できた機能的雄2尾と通常の雌を交配した。交配は、雄1尾対雌1尾で行った。

方法は、機能的雄の精巢を取り出し、ミンスし、希釈液で約50倍に希釈した後受精させた。

その結果は、表4のとおりで、試験区1,2ともふ化仔魚は得られなかった。これは、機能的雄が充分成熟していなかったためと、コントロールのふ化率からみて、卵が過熟であったためと思われる。

表4 全雌魚の作出結果

試験区	発眼率(%)	ふ化率(%)
全雌 1	0	0
CONT.	0	0
全雌 2	0	0
CONT.	99	14.2

CONT.：全雌と同一の卵に通常の精子を受精させたもの

4 雌性発生二倍体の作出

アユ及びアユの近縁種であるリュウキュウアユの精子を用いて雌性発生二倍体の作出を行った。雌性発生は、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体(GA)及び第一卵割阻止型雌性発生二倍体(GB)の2種類をそれぞれ作出した。

精子の遺伝的不活化は、精子をニジマスの人工精しょうで約100倍に希釈した後、4,500~7,000erg/mm²の紫外線を照射することにより行った。

染色体の倍数化には、アユ精子を用いたものについては高温及び加圧処理の両方を、リュウキュウアユ精子を用いたものについては加圧処理のみを行った。

なお、交配はすべて雄1尾対雌1尾で行った。

1) アユの精子を用いた雌性発生二倍体の作出

アユの精子を用いて、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体(GA)及び第一卵割阻止型雌性発生二倍体(GB)を作出した。

作出試験は、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体 15 区、第一卵割阻止型雌性発生二倍体 10 区を行い、このうちふ化仔魚が得られたのは、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体の 6 区で、第一卵割阻止型雌性発生二倍体からはふ化仔魚は得られなかった。

また、作出試験には、養成した親魚を用いた。

なお、受精時の水温は 13～14 であった。

第二極体放出阻止型雌性発生二倍体の作出試験結果

A 高温処理によるもの

処理は、受精 5 分後に水温 33 に設定した水槽に 5 分間浸漬することにより行った。結果は表 5 のとおりである。

B 加圧処理によるもの

処理は、受精 5 分後に、650 気圧を 6 分間かけることにより行った。結果は表 6 のとおりである。

これらの結果から、正常魚ふ化率が 14.4%～48.5%となり、安定しているとはいえない。

これは、使用した卵の熟度の差と思われる。

第一卵割阻止型雌性発生二倍体の作出試験結果

染色体の倍数化処理は、受精 85 分後に第二極体放出阻止型雌性発生二倍体の作出と同様の加圧あるいは高温処理を行った結果、ふ化仔魚は得られなかった。これは、染色体倍数化処理を行うタイミングが早すぎたためと思われる。

表 5 アコ精子を用いた第二極体放出阻止及び高温処理による雌性発生二倍体の作出試験結果

試験区	紫外線照射量 (erg/mm ²)	発眼率(%)	ふ化率(%)
1 GA 3	4,500	53.5	18.0
2 NCONT.		73.6	31.7
UVCONT.		60.6	0
2 GA 6	6,000	—	—
2 NCONT.		90.0	85.1
UVCONT.		99.2	0

2 NCONT.: 精子に紫外線処理をしないで受精させたもの
UVCONT.: 紫外線処理をして受精させ、染色体倍数化処理をしないもの

表6 アユ精子を用いた第二極体放出阻止及び加圧処理による雌性発生二倍体の作出試験結果

試験区	紫外線照射量 (erg/mm ²)	発眼率(%)	ふ化率(%)
1 GA 2	6,000	—	—
2 NCONT.		53.2	47.2
UVCONT.		55.6	0
2 GA 7	6,000	26.4	25.6
2 NCONT.		96.1	96.1
UVCONT.		92.3	0
3 GA 8	6,000	16.9	14.4
2 NCONT.		24.3	5.0
UVCONT.		71.0	2.0
4 GA15	4,500	61.9	48.5
2 NCONT.		89.2	76.1
UVCONT.		97.6	1.6

2 NCONT. : 精子に紫外線処理をしないで受精させたもの

UVCONT. : 紫外線処理をして受精させ、染色体倍数化処理をしないもの

2) リウキュウアユ精子を用いた雌性発生二倍体の作出

リウキュウアユの精子を用いて、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体及び第一卵割阻止型雌性発生二倍体を作成した。

作出試験は、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体を4区、第一卵割阻止型雌性発生二倍体を10区行った。このうちふ化仔魚が得られたのは、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体が1区第一卵割阻止型雌性発生二倍体が7区であった。

また、作出試験には、吉野川で採捕した天然親魚を採卵用として用い、染色体の倍数化処理はすべて加圧処理（650気圧・6分間）で行った。

なお、受精時の水温は、20.0～20.6であった。

第二極体放出阻止型雌性発生二倍体の作出試験結果

受精5分後に加圧処理を行った。結果は表7のとおりである。

正常魚ふ化率は0.7%と低いが、2NCONT.も低く、これは用いた卵が過熱であったためと思われる。

第一卵割阻止型雌性発生二倍体の作出試験結果

受精90分後（試験区1～4）及び85分後（試験区5～7）に加圧処理を行った。結果は表8のとおりである。

正常魚ふ化率は試験区1～4で1.1%～5.2%、試験区5～7で7.3%～30.5%となっており、卵の熟度の関係もあるので、単純には比較できないが、受精後85分後の処理が第一卵割の時期に合致したものであると思われる。

表7 リュウキュウアユ精子を用いた第二極体放出阻止による雌性発生二倍体の作出試験結果

試験区	紫外線照射量 (erg/mm ²)	発眼率(%)	ふ化率(%)
1 GA19	6,000	1.5	0.7
2 NCONT.		4.9	4.9
UVCONT.		0	0

2 NCONT.: 精子に紫外線処理をしないで受精させたもの
UVCONT.: 紫外線処理をして受精させ、染色体倍數化処理をしないもの

表8 リュウキュウアユ精子を用いた第一卵割阻止による雌性発生二倍体の作出試験結果

試験区	紫外線照射量 (erg/mm ²)	発眼率(%)	ふ化率(%)
1 GB12	6,000	9.7	5.2
2 NCONT.		17.4	16.7
UVCONT.		33.9	0
2 GB13	6,000	11.7	3.1
2 NCONT.		7.5	7.5
UVCONT.		33.9	0
3 GB14	6,000	10.9	3.9
2 NCONT.		3.0	3.0
UVCONT.		6.3	0
4 GB17	6,000	13.3	1.1
2 NCONT.		37.1	30.8
UVCONT.		53.9	9.2
5 GB18	6,000	32.7	7.3
2 NCONT.		91.4	81.5
UVCONT.		86.4	4.2
6 GB19	7,000	29.1	11.9
2 NCONT.		88.0	86.1
UVCONT.		83.9	8.1
7 GB20	7,000	67.2	30.5
2 NCONT.		94.1	92.6
UVCONT.		95.0	0

染色体の倍數化処理は、試験区1~4が受精90分後、試験区5~7が受精85分後

2 NCONT.: 精子に紫外線処理をしないで受精させたもの
UVCONT.: 紫外線処理をして受精させ、染色体倍數化処理をしないもの

5 雌性発生二倍体作出の成否の判定

得られた雌性発生二倍体のうち、試験区 GA2, GA3, GA6, GA7, GA8 及び GA15 について雌性発生の成否の判定を行った。

判定は、デンブングルによる電気泳動を行い、アユ各個体のアイソザイムを検出することにより行った。

判定に用いた試料は、作出した雌性発生二倍体各 10 尾とその親魚 2 尾ずつ計 72 尾である。

結果は、表 9 のとおりである。

この結果から、試験区 GA2, GA3, GA7, GA8 及び GA15 については雌性発生二倍体の作出に成功しているものと思われる。

表 9 雌性発生二倍体作出の成否の判定結果

試験区	親の表現型		作出魚の表現型出現数(尾)		
	雌	雄	A A	A B	B B
GA 2	A B	A B	0	10	0
GA 3	A B	A B	0	10	0
GA 6	A B	A B	4	6	0
GA 7	A B	A B	0	10	0
GA 8	A B	A B	0	10	0
GA15	A B	A B	0	10	0

考 察

1 全雌魚が確認できなかったことについては、作出時に使用した雄が雌性発生由来の雄でなかったためであると考えられる。

その原因は雌性発生の失敗かあるいは飼育過程で通常の雄が混じってしまった等が考えられるが断定はできない。

雌性発生魚の作出技術は、卵の熟度の影響、染色体倍数化処理のタイミングの問題があるものの、これまでの研究経過からみてほぼ確立できたものと考えられる。

その雌性発生魚を使って機能的雄を誘導しているが、誘導できたのはごくわずかで、それが飼育管理上のミスで通常の雄が混じったものを使った可能性は否定できない。

今後は、飼育管理の徹底を図るとともに、全雌魚作出時には、雄魚の精巢の形状の確認が必要であると思われる。

2 機能的雄の誘導については、生残尾数及び誘導率が低いことから、再度、投与するホルモンの濃度、投与方法、投与開始時期あるいは投与期間等を検討する必要があると思われる。

3 雌性発生二倍体の作出のうち、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体については、卵の熟度の影響があるもののほぼ確率できたと思われるが、第一卵割阻止型雌性発生二倍体については、再度、受精水温による染色体倍数化時期の検討が必要だと思われる。