

1 2) 実験動物としての琵琶湖産ヒブナ（ギンブナ）の生物学的特性

上野世司

【目的】 琵琶湖に生息するギンブナは、全て雌とされ、それらは複数の雌性発生クローン系統から構成されているといわれる。琵琶湖において、まれに体色が橙色のギンブナ（ヒブナ）が採捕される。一方、ニゴロブナの育種等の目的で飼育試験を行うにあたり、池中飼育条件ではニゴロブナとほぼ同様の生活を持ち、系統内ではクローンを形成しているギンブナを各水槽に収容し、その飼育成績から水槽間の環境の差異による飼育成績のばらつき（環境分散）を補正することが試みられている（滋賀水試，平成 13 年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書）。ここでは、このような実験動物としての利用が期待される、琵琶湖産ヒブナ（ギンブナ）の生物学的特性についてまとめた。

【方法と結果】 i) 供試魚由来 当時飼育のヒブナは、'91 年春に、近江八幡市牧町地先のヨシ群落内で採取した卵からふ化したギンブナのうち、成長にともなって体色が通常の銀白色から、橙色に変化した雌個体 2 個体を始まりとしている。これらは、およそ体長 15cm 程度に成長したころから、体表の腹部側から徐々に黒色の色素が消失していき、やがて体表全体から黒色の色素がみられなくなり橙色となった（図 1）。

ii) 雌性発生の確認 【方法】'93 年 6 月 23 日に、HCG の腹腔内注射により人工採卵した卵に、ニゴロブナ雄 1 尾から得た精液を媒精した。媒精が終了した卵は、すりガラスおよび塩ビ板に付着させ、一部の卵について発眼数、ふ化数、正常仔魚数を計数した。さらに、これらの生産された個体のうち 1 個体から、'00 年 5 月 31 日に、同じく人工採卵した卵に、ニゴロブナ雄 4 尾、またはホンモロコ雄 15 尾から得た精液を媒精した。【結果】'93 年、'00 年の両年ともに、卵の発生、仔稚魚の成育は順調に進み、雌親魚と同様、ギンブナの特徴をもつ稚魚が多数生産された（表 1）。

iii) 生残と成長 【方法】'00 年のホンモロコ精液媒精によって得られたヒブナ仔魚のうち 40 尾については、ビーカーに収容し、餌料としてワムシとミジンコを与え、ふ化後 13 日目までの生残率（初期減耗）を調べた。また、ふ化後 13 日目の仔魚 1200 尾を、ニゴロブナ通常発生仔魚 1200 尾と混合して、8 m² の飼育池に収容して飼育した。餌料としてワムシとミジンコを与え、孵化後 40 日後からは徐々に市販の養コイ用人工配合飼料に切替えた。'01 年 7 月 25 日に（ふ化後 1 年 2 ヶ月後）、全個体を取り上げて計数するとともに、ヒブナ 52 尾、ニゴロブナ通常発生魚 48 尾の体長を測定した。【結果】ふ化後 13 日目のヒブナ仔魚の生残数は、39 尾（生残率 97.5 %）であった。ふ化後 13 日から 1 年 2 ヶ月後までの生残数は 746 尾（生残率 62.2 %）、ニゴロブナの生残数は 921 尾（生残率 76.8 %）であった。ヒブナの体長（Mean ± SSD）は 131.2 ± 6.1mm、ニゴロブナ雌の体長は 134.9 ± 11.2mm、ニゴロブナ雄の体長は 123.2 ± 9.2mm であった。変動係数(CV)は、ヒブナが 0.05、ニゴロブナ雌が 0.08、ニゴロブナ雄が 0.07 であり、ヒブナはニゴロブナよりもばらつきが小さかった（表 2）。

iv) 性比 【方法】'93 年に作出した個体のうち'00 年に生残していたヒブナ成魚 4 個体の性を確認した。また、'00 年にホンモロコ精液を媒精して発生させた 50 個体について、'01 年 7 月に開腹して生殖腺を検鏡して性を判別した。同時に、同じ飼育池で混合飼育したニゴロブナの通常発生魚 48 個体について、排泄口付近を圧迫して精液の出る個体を雄、それ以外を雌として、雌雄を判別した。【結果】'93 年に作出した個体のうち、'00 年に生残していたヒブナ成魚 4 個体は全て雌であった。また、'00 年のヒブナは雌が 100 %、ニゴ

ロブナは雄 50.0 %、雌 50.0 %であった (表 3)。

v) クローン性 【方法】 '00 年作出のヒブナ 3 個体から DNA を抽出し、OPERON Technologies Inc. の Operon 10mer KitsTM から OPA01、OPA02、OPA12、OPA19、OPA20 をプライマーとして、RAPD 分析を行った。個体間平均 BSI 値を算出した。併せて、ニゴロブナ通常発生魚 5 ~ 6 個体についても分析を行った。方法は前記) によった。【結果】ヒブナ 3 個体間で、すべてのプライマーについて多型は検出されなかった (Total BSI 1.00 ± 0.00)。ニゴロブナでは、個体変異がみられた (Total BSI 0.77 ± 0.11) (表 4, 図 2)。

【考察】ギンブナには、全て雌で、雌性発生により繁殖し、クローンを形成している集団がある (例えば、小野里 1983、董ら, 1996)。今回調べたヒブナについても、雌性発生で繁殖できること、全て雌であること、RAPD 分析において変異がみられなかったことから雌性発生クローン系統である可能性がきわめて高いといえる。成長にばらつきが小さかったのは、形質に遺伝分散がなく、環境分散だけを反映 (谷口, 1995) した結果といえる。色彩が特異であることから、系統としての判別がきわめて容易であり、実験動物としての価値は高いと思われる。



図 1 左) 琵琶湖で採捕されたヒブナ 1 代目 ('92/12/18)。右) 3 代目姉妹群の体色 ('03/03/25)。

表1 調査したヒブナ雌親魚の由来と人工受精による次世代作出成績。

作出年	雌親魚の由来	精子提供雄	供試卵数	発眼数 (%)	ふ化数 (%)	正常仔魚数 (%)
'93	琵琶湖採捕個体(卵)	ニゴロブナ	671	-	475 70.8	422 62.9
'00	93作出個体	ニゴロブナ	311	266 85.5	268 86.2	261 83.9
		ホンモロコ	674	576 85.5	496 73.6	452 67.1

(%)は供試卵数に対する100分率。正常仔魚は、ふ化時点において体軸が直線的で短軀等の異常がみられない個体。

表2 ヒブナとニゴロブナの混合飼育による成長の比較。ふ化後1年2ヶ月時点の体長(mm)。

	N	Mean	SSD	CV	Max	Min
ヒブナ 雌	52	131.2	6.1	0.05	147	118
ニゴロブナ 雌	24	134.9	11.2	0.08	153	112
ニゴロブナ 雄	24	123.2	9.2	0.07	138	108

表3 ヒブナの性比。同じ飼育池で飼育したニゴロブナの性比も併せて示す。

作出年	雌親魚	精子提供雄	n	雌 (%)	雄 (%)
'00	ヒブナ	ニゴロブナ	50	100.0	0 0.0
		ホンモロコ	50	100.0	0 0.0
	ニゴロブナ	ニゴロブナ	48	24 50.0	24 50.0

性比は、ヒブナでは、開腹生殖腺を鏡検して、ニゴロブナではふ化後1年2ヶ月時点の産卵期(7月)に排泄口付近を圧迫して精液の出た個体を雄、それ以外を雌と判断した。

表4 RAPD法によるヒブナとニゴロブナの個体間平均BSIの比較。

Primer	ヒブナ				ニゴロブナ			
	n	Mean	±	SD	n	Mean	±	SD
OPA01	3	1.00	±	0.00	6	0.77	±	0.09
OPA02	3	1.00	±	0.00	6	0.78	±	0.09
OPA19	3	1.00	±	0.00	5	0.84	±	0.08
OPA20	3	1.00	±	0.00	5	0.67	±	0.13
Total	12	1.00	±	0.00	22	0.77	±	0.11

BSI=(2×Nab)/(Na+Nb)。Na, Nbは個体aおよびbに検出されたバンド数。Nabは両者に共有されるバンド数。nは個体間BSI数。

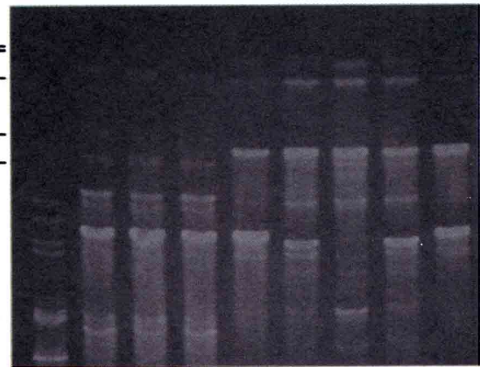


図 2 RAPDによるヒブナ(ギンブナ)とニゴロブナのDNA多型の一例。