

マス類遺伝子資源の保全および利用に関する研究費

1) ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚とその性転換雄の成熟特性

亀甲武志、江竜勝一

【目的】 選抜母集団として、ニジマスのホモクローンおよびヘテロクローンを大量に作出する技術を開発するため、不特定多数の個体に由来する卵から作出した第一卵割阻止型雌性発生魚と、それらに性転換処理を施したもののが成熟特性について調査した。本年度は平成10、11年秋に作出したそれらの調査結果について報告する。

【方法】供試魚 平成10年11月13日に親魚33尾から得た卵を用いて作出した第一卵割阻止型雌性発生魚（以下、GⅡ魚）19尾および平成11年11月26日に親魚212尾から得た卵を用いて作出したGⅡ魚18尾を用いた。また対照として平成10年11月13日に親魚33尾から得た卵を用いて作出した第二極体放出阻止型雌性発生魚（以下、GⅠ魚）9尾を用いた。また、平成11年11月19日に親魚222尾から得た卵を用いて作出したGⅡ魚に雄化処理を施したもの（以下、GⅡ偽雄）30尾を用いた。雄化処理の方法は、餌付けから60日間の0.5ug/g-MT含有飼料投与であった。

成熟特性調査 調査は平成14年10月28日から同年12月9日までは週1回の割合で、同年12月10日から平成15年1月24日までは週2回の割合ですべてのGⅡ魚、GⅠ魚を排卵鑑別したのち、排卵確認できたものは体長、体重を測定したのち、採卵し、卵重量を測定した。GⅡ偽雄については、平成14年11月7日から平成15年1月15日にかけて調査を行った。供試魚は、体長、体重を測定したのち、精巣を取り出して、重量を測定した。

精子の抽出 摘出後、アイスボックスで1~2時間冷蔵した精巣から約3gの断片を切り出し、目の細かいステンレスメッシュ（茶こし）の上で眼科用要刀を使って切り刻んだ。精巣の2倍量（約6ml）の人工精漿をかけながら、試験管の底部で精巣断片を押しつぶし、精子を抽出した。得られた懸濁液は、よく攪拌し、1~2時間冷蔵したのち、精子容積率の測定（11,000rpm×10分）と精子の運動活性の観察および精子最長運動時間の測定（2回測定の平均値）に供した。

【結果および考察】 平成10年作出のGⅡ魚は19尾中17尾から採卵することができ、平成11年度作出のGⅡ魚は18尾中17尾採卵することができた（表1）。GⅡ魚全体では37尾中34尾は採卵でき、9割を越える個体で排卵が正常に完了した。またその卵質についても平成12年度のアマゴGⅡ魚で見られた、卵の大きさや成熟度が著しく不揃いなものは見られなかった。一方、GⅠ魚は9尾中6尾で排卵が正常に完了した（表2）。GⅡ偽雄における雄化率は精巣摘出できなかった1個体をのぞく97%であったが、精液が排出できた個体の割合は、GⅡ偽雄では雄の5分の1にあたる21%であった（表3）。GⅡ偽雄で精巣の発達が認められた29個体のうち3個体の精巣では精嚢の発達に部分的なばらつきがみられ、モザイク状の外観を呈し、1個体の精巣では精子が凝集しているのが観察された。精子容積率は3%~26%とばらつきが大きかったが、精子の運動活性、精子最長運動時間は3個体をのぞきおおむね良好であった。以上のようにニジマスGⅡ魚およびGⅡ偽雄では、生殖腺の発達に特に異常は認められなかった。これが、魚の特性によるものか、ホルモン処理の適否によるものかは、今後の検討課題である。

表1 ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の成熟特性

親魚	作出年度	調査日	体長(cm)	魚体重(g)	卵重(g)	卵重比(%)	備考
1	平成11年	2002/11/7		1115	156.9	14.1	体長測定行わず
2	平成11年	2002/11/13		879	11.1	1.3	体長測定行わず
3	平成10年	2002/11/18	48.8	169.2	27.2	16.1	
4	平成10年	2002/11/18	42	147.7	19.4	13.1	
5	平成10年	2002/11/18	51.7	239.5	29.2	12.2	
6	平成11年	2002/11/25	36.5	70.6	119.5	16.9	
7	平成11年	2002/11/25	50.5	169.7	28.4	16.7	
8	平成10年	2002/11/28	47.5	133.1	41.6	3.1	
9	平成10年	2002/11/28	49.5	192.0	81.2	4.2	
10	平成10年	2002/11/28	44	120.6	126.7	10.5	
11	平成11年	2002/12/3	40.5	100.7	177.8	17.7	
12	平成11年	2002/12/3	37.7	98.0	28.6	2.9	
13	平成11年	2002/12/3	46.8	162.0	11.4	0.7	
14	平成10年	2002/12/9	42.8	1318.3	109.6	8.3	
15	平成10年	2002/12/9	47.5	1834.7	343.7	18.7	
16	平成10年	2002/12/9	53.5	251.1	39.0	15.5	
17	平成10年	2002/12/9	44.3	124.3	15.5	12.5	
18	平成11年	2002/12/10	44.6	1564.5	213.3	13.6	
19	平成11年	2002/12/10	35	925.6	92.8	10.0	
20	平成10年	2002/12/13	42.5	1187.9	223.4	18.8	
21	平成11年	2002/12/13	38.5	841.8	186.6	22.2	
22	平成10年	2002/12/16	41.5	1633.8	221.9	13.6	
23	平成10年	2002/12/16	39.7	137.9	70.4	5.1	
24	平成11年	2002/12/16	37	99.3	11.4	11.5	
25	平成11年	2002/12/16	33	74.3	64.9	8.7	
26	平成10年	2002/12/24	45	169.4	240.4	14.2	
27	平成11年	2002/12/27	41	1507.7	135.7	9.0	
28	平成11年	2002/12/27	41	1468.1	54.4	3.7	
29	平成10年	2002/12/27	42	1574.7	188.7	12.0	
30	平成11年	2003/1/3	38.5	83.2	75.1	9.0	
31	平成10年	2003/1/3	42.8	1362.8	36.1	2.6	
32	平成11年	2003/1/6	29	43.8	5.6	12.8	
33	平成11年	2003/1/14	38.5	984.3	48.1	4.9	
34	平成10年	2003/1/17	36.5	1421.8	150.3	10.6	背骨曲がってる

表2 ニジマス第二種対放出阻止型雌性発生魚の成熟特性

親魚	作出年度	調査日	体長(cm)	魚体重(g)	卵重(g)	卵重比(%)	備考
1	平成10年	2002/11/28	42.8	138.5	16.3	11.8	
2	平成10年	2002/11/28	41.5	115.8	173.6	15.0	
3	平成10年	2002/12/13	45.8	1679.3	345.6	20.6	
4	平成10年	2002/12/16	52.5	318.0	710.1	22.5	
5	平成10年	2002/12/24	42.1	1573.3	208.4	13.2	
6	平成10年	2002/12/27	46.3	2049.2	241.8	11.8	

表3 ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄精巢抽出精子の性状

親魚	調査日	体長 (cm)	魚体重 (g)	精巢重量 (g)	精液排出 の可否	SPC(%)	抽出精子		備考
							運動活性	最長運動時間	
1	2002/11/7		83.5	1.4	-	3	++	3分30秒	モザイク状精巢
2	2002/11/7		199.6	7.8	-	11	+++	2分20秒	
3	2002/11/7		97.5	2.6	-	8.9	+	10秒	モザイク状精巢
4	2002/11/7		64.1	4	-	7	++	9分38秒	モザイク状精巢
5	2002/11/7		35.7	1.0	-	5	++	3分50秒	
6	2002/11/26	43	128.6	22.7	-	17	++	1分7秒	
7	2002/11/26	35	62.2	5.2	-	12.9	+++	1分27秒	
8	2002/11/26	41	102.7	16.6	-	12.5	++	1分13秒	
9	2002/11/26	30.5	46.3	17.6	-	13.8	++	1分2秒	
10	2002/11/26	39	109.2	13.7	+	16	+++	2分	
11	2002/11/26	35.8	90.6	24.4	-	21.3	+++	2分3秒	
12	2002/11/26	37.7	92.0	32.7	-	2.6	++	1分22秒	
13	2002/11/26	58.5	310.0	137.4	+	7.9	++	1分3秒	
14	2002/11/26	34	62.8	18.9	-	1.7	++	1分31秒	
15	2002/11/26	30	61.9	25.3	-	9.2	+	0秒	精子凝集
16	2002/12/25	42.7	151.9	67.1	-	1.5	++	1分47秒	
17	2002/12/25	35.3	90.4	26.8	+	12.7	++	2分8秒	
18	2002/12/25	43	139.3	60.9	+	13.3	++	1分27秒	
19	2002/12/25	33	55.8	3.9	-	3.9	++	2分42秒	
20	2002/12/25	29.5	53.0	14.4	-	16.7	++	1分15秒	
21	2003/1/7	32.4	61.3	22.7	-	15.3	++	4分45秒	
22	2003/1/7	37.9	88.6	5.7	-	7.9	++	1分56秒	
23	2003/1/7	30	56.5	19.4	-	15.2	++	2分	
24	2003/1/7	28.2	38.2	0.1	-				精子抽出行わず
25	2003/1/7	38	85.6	2.8	+	15.5	++	3分18秒	
26	2003/1/15	30.5	76.0	35.5	-	11.3	++	1分56秒	
27	2003/1/15	34	77.7	28.1	-	15.5	++	2分41秒	
28	2003/1/15	34.5	83.9	16.1	-	8	++	3分18秒	
29	2003/1/15	28.2	37.2	14.9	-	10.5	++	1分54秒	
30	2003/1/15	32.3	98.1	14.6	+	11.9	++	1分58秒	

SPC:精巢組織の2倍量の人工精液で抽出した精子懸濁液の精子容積率

運動活性:運動精子の割合が50%以上(++)、20%~50%(++)、10%以下(+)。

個体1~5は体長測定行ななかった