

内水面総合技術開発試験： バイオテクノロジー利用技術確立試験

高田 芳博

【目的】

全雌三倍体サクラマスを安定的に量産するための技術開発を図る。

【方法】

1. 材料

親魚としたサクラマスは、米代川水系阿仁川に遡上した親魚から採卵し、育成した稚魚を内水面試験池において親魚養成したF1である。この親魚から平成12年10月16日に採卵された卵を以下の処理に使用した。

2. 精子の不活化

雄の親魚から精液0.1mlをマイクロピペットを用いて滅菌シャーレに採取し、人工精しょうで100倍に希釈した。液温の上昇を防ぐためにシャーレをタオルで巻いた保冷剤の上に乗せ、ロータリーシェイカーにより攪拌させながら紫外線照射量が約5,000erg/mm² (560μw・s/cm²、90秒)となるよう紫外線を照射させ、精子を不活化させた。

3. 第二極体放出阻止

雌性発生を誘起させるため、採卵した卵を不活化精子で受精させた後、表1に示す条件で高温処理による第二極体放出阻止のための処理を行った。

表1 サクラマスの処理条件

試験区	処理条件	処理開始時間(積算温度)
A-1	28℃-15分間	受精後10分(109℃・分)
A-2	紫外線照射精液媒精区	

4. 偽雄(性転換雄)の作出条件の検討

偽雄を作出するには、全雌ふ化仔魚の性分化初期に雄化するためのホルモンを投与する必要がある。そこで、第二極体放出阻止によって作出した全雌浮上稚魚に、ふ化後から浮上までメチルテストステロンを用いたホルモン液浸漬処理を行うとともに浮上後から60日間、ホルモン液を添加した飼料を投与することにより、偽雄の作出を試みた(表2)。また、11年度に作出した偽雄サクラマスのうち、一部の個体を解剖して雌雄の判別を行い、雄化率について調べた。

表2 ホルモン投与条件

試験区	浸漬処理濃度	処理回数・時間	経口投与濃度
A-1-1	対照区		
A-1-1	1μg/ℓ	1回2時間週2回、浮上まで	1mg/kg(餌)

【結果と考察】

高温処理を行っていない、精子を不活化させただけのA-2区では正常にふ化した個体は全く見られず、精子の不活化において問題はなかったと判断された。高温処理を行ったA-1区では発眼率28%で、714尾の雌性発生魚が得られた(表3)。この雌性発生魚の約半数(A-1-2区)についてホルモン処理を行い、性転換を誘起した。これらについては継続して飼育し、5gサイズに成長した段階で性比を調べる予定である。

平成11年度に作出した偽雄サクラマスの雄化率について表4に示した。ホルモン処理を施したいずれの試験区においても80%を越える高い雄化率を示した。浸漬処理濃度についてはどちらの濃度も大きな違いはなく、1~5μgの範囲内であれば雄に性転換するうえで有効であると判断された。なお、ホルモン処理を行わない全雌魚の試験区については獣害により生残個体を得ることができず、性比を確認することができなかった。

表3 発眼率及びふ化率

試験区	処理卵数	発眼卵数	発眼率(%)	ふ化尾数
A-1	3,019	856	28.4	714
A-2	364	205	56.3	0

表4 各試験区の雄化率

試験区	ホルモン投与条件	調査尾数	♂(尾)	♀(尾)	雄化率(%)
A-2	通常ふ化	31	15	16	48
A1-2	ホルモン浸漬1μg/ℓ+飼料添加	40	35	5	88
A1-3	ホルモン浸漬5μg/ℓ+飼料添加	24	20	4	83
B1-2	ホルモン浸漬1μg/ℓ+飼料添加	24	24	0	100
B1-3	ホルモン浸漬5μg/ℓ+飼料添加	18	17	1	94