

温度刺激によるヤマメ染色体の倍数化について

誌名	新潟県内水面水産試験場調査研究報告
ISSN	03861643
著者名	土屋,文人 小島,将男 岩橋,正雄
発行元	新潟県内水面水産試験場
巻/号	13号
巻号補足	
掲載ページ	p. 23-28
発行年月	1986年

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



温度刺激によるヤマメ染色体の倍数化について

土屋文人・小島将男・岩橋正雄

Polyploidy of Chromosome Induced by Heat Shock in Yamame Salmon, *Oncorhynchus mosou*

Fumito TSUCHIYA, Masao KOJIMA and Masao IWAHASHI

当小出支場に於いて、サクラマス増殖用種苗生産を目的に約70%という高い銀毛化率を示す系群のヤマメを選抜育成しているが、銀毛化した幼魚の性比をみると雌68.6%、雄31.4%と圧倒的に雌が多い。また待鳥¹⁾によると、新潟県海域におけるサクラマスの雌雄比も約70%を雌が占めていると報告している。それで銀毛化率の高いヤマメに全雌生産の手法を併用するならば、100%近い降海型種苗生産が可能と考えられる。

また一方、沿岸養殖業界からサクラマス養殖を希望する声も多く出てきており、淡水池で200g以上の大型銀毛幼魚を安定生産する技法の開発が急務であるが、これには全雌3倍体の不妊魚が有効と考えられる。これらを行う際には簡易で安定した染色体の倍数化技術開発が必要である。

従来、染色体の倍数化には、受精卵を650気圧以上の高水圧で処理する方法がとられていたが、大量処理をすることが困難であることから、小島ら²⁾は、それに替わる簡便法として、ニジマス卵を用いて高水温による温度刺激を与えることを試みて好結果を得、染色体を倍数化するのに必要な水温と浸漬時間との関係について報告している。

今回、ヤマメ卵について同様の実験を行い、二・三の知見を得たので、その結果について報告する。

材料および方法

供試親魚と卵 親魚は当支場で継代選抜したヤマメで、体重236~372g、平均抱卵数804粒であり、搾出した卵の重量は1粒0.075~0.088gであった。

雌性発生の誘起 小野里ら³⁾の方法により、ヤマメ精漿で100倍に希釈した精液0.5mlを、径9

cmのシャーレに広げ、強度46ergs/mm²の紫外線を80秒間照射し、精子の染色体を不活化させた後に200粒の卵を入れて媒精を行った。

倍数化处理 媒精した卵は、水温14.3～14.5℃で吸水させ、10分後に恒温水槽に移して温度刺激を与えた。受精卵は200粒ずつ所定の温度に所定の時間浸漬した後、もとの水に戻してふ化させて、ふ上時の生残率を調べた。浸漬温度と時間は表1、2に示したとおりである。

表－1 雌性発生試験の受精卵浸漬温度と時間

温 度 (℃)	時 間 (分)	対 照 区
20	20	
27	9 ～18 (1分半間隔)	半数体卵、正常発生卵
28	6.5～15.5 (")	" 、 "
29	5 ～10 (1分間隔)	
30	3 ～ 8 (")	
31	2 ～ 7 (")	半数体卵、正常発生卵
32	1 ～ 3.5 (30秒間隔)	" 、 "

表－2 3倍体化試験の受精卵浸漬温度と時間

温 度 (℃)	時 間 (分)	対 照 区
20	20	
27	6 ～18 (2分間隔)	正常発生卵
28	5 ～13 (1分間隔)	"
29	3 ～ 9 (")	"
30	2 ～ 7 (")	"
31	1 ～ 7 (")	"
32	1 ～ 4 (30秒間隔)	"

なお雌性発生試験の場合、採卵してから媒精、倍数化处理終了までに時間を要するので、8尾の親魚から採取した約6,400粒の卵を混合して、水温20、27、29、31℃の試験区に使用し、次に他の7尾から採取した約5,600粒の卵を混合して、28、30、32℃区に使用した。対照として、各々最初に処理をした試験区と最後に処理をした試験区について正常発生卵区を設け、採卵後の時間の経過によるふ上率に差異のないことを確かめた。また20℃、20分という低水温長時間処理区と、各試験区の倍数効果を確認した。

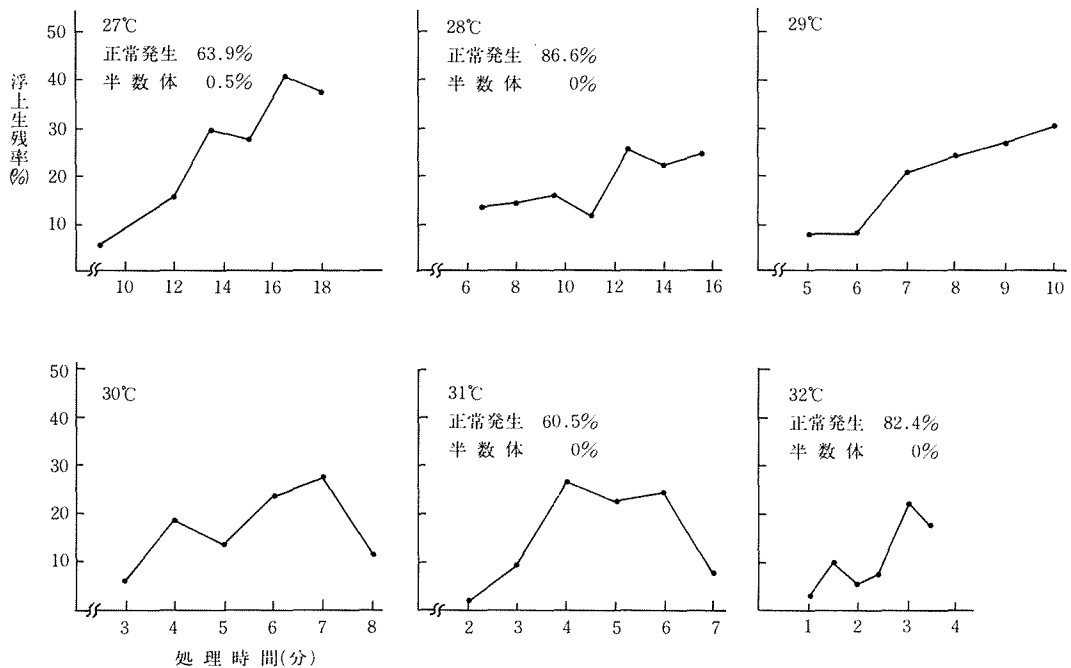
一方3倍体化試験の場合は、各水温区ごとに、3尾ずつの親魚から採取した卵を混合して使用し、各々対照として倍数化处理をしない正常発生卵区を設けて、ふ上率の比較を行うと同時に、血球の長径の比較を行い、各試験区の3倍体化率を求めた。

結果および考察

雌性発生倍数化処理 各水温と浸漬時間によるふ上率を図1に示した。20℃、20分浸漬した試験区のふ上率は0%であり、染色体の倍数化はみられなかった。また各温度区に設けた同質卵の倍数化処理をしなかった半数体区をみると、27℃区に1尾(0.5%)のふ上魚があったが、それ以外はすべて0%であり、紫外線照射による精子の染色体不活化は、ほぼ完全になされたと判断され、各温度処理区でふ上した稚魚は全て温度刺激により染色体を倍数化された稚魚であると考えられる。

また、同一卵群を使用した27、29、31℃区のうち、採卵直後に行った27℃区とおよそ1時間半経過してから行った31℃区に設けた正常発生卵区のふ上率についてみると、63.9および60.5%であり、他方の20、28、30、32℃区の場合も、それぞれ86.6と82.4%と大きな差はなく、採卵後の時間の経過による受精率の低下は殆どなかったものと考えられた。

次に各温度区毎に行った浸漬時間経過ごとのふ上率についてみると、27℃区は16分30秒が40.5%と最も高く、28℃区では12分30秒～15分30秒で22.0～25.0%と高く、29℃区は10分で29.6%と高いが、それ以上長い時間に最高値を示す可能性があった。30℃区では7分が27.1%、31℃区は5～7分が22.2～26.8%、32℃区は3分で22.7%とそれぞれ高かった。



図－1 雌性発生倍数化処理水温・時間と浮上率

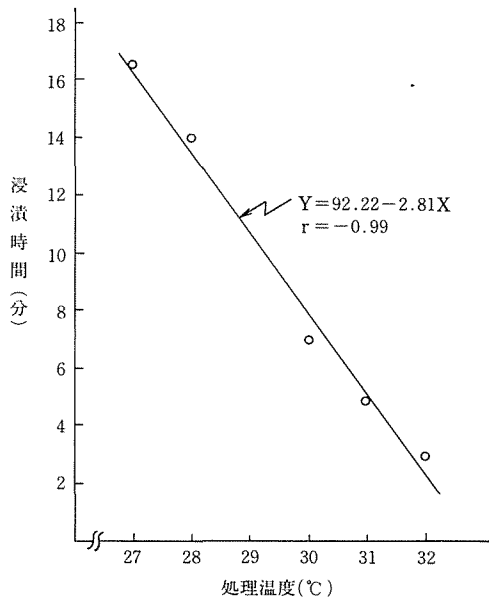


図-2 雌性発生倍数化処理水温と時間の関係

3 倍体化処理 3 倍体化魚の確認は赤血球の長径の長さが、各温度区ごとに設けた正常発生区 (2 倍体魚) では $16.57 \pm 0.87 \mu$ であるのに対し、3 倍体化魚では $21.39 \pm 1.29 \mu$ と約 3 割大きく、その差は写真にして比較するといっそう明瞭となるので (図版) 写真判定で行った。

各温度区ごとの浸漬時間の違いによる 3 倍体化率の変化を、ふ上尾数の少なかった 2 ~ 3 の試験区を除き、各区 30 尾ずつの検体から求めて図 3 に示した。合わせてふ上率も示したが、各温度区の対照区である正常発生卵のふ上率に 59.2 ~ 95.9% と差がみられたので、それぞれ対照区のふ上率を 100% として換算して表示した。

まずふ上率についてみると、27°C の場合には 18 分間浸漬まで差異がなかった。28°C では、6 ~ 12 分間浸漬区で 13 分間より低い結果であったが、これは各時間区ごとに 200 粒ずつの卵を小ダモに入れて浸漬をしたので、処理操作上の物理的な実験ミスであったものと考えられ、13 分間浸漬まではふ上率に大きな低下はないと判断される。29°C の場合も浸漬時間の経過とともに低下傾向にみえるが、次の 30°C の場合 7 分間浸漬まで差異がないことから、28°C の場合と同様の実験ミスと推測される。しかし 31、32°C の場合には、明らかに浸漬時間の経過とともにふ上率は低下していった。

次に 3 倍体化率についてみると、27°C では 12 分間浸漬で 100% に達した。また 28、29°C ではそれぞれ 10 分、9 分間浸漬で 94%、97% に達したが、30°C では浸漬時間が不足し、7 分間浸漬で 76% にしかなかった。31°C では 7 分間浸漬区で低下しているが、この区は検体が 13 尾であったことから精度を欠き、6 分間浸漬区では 89% を示しながら、7 分間浸漬区では 70% という結果となった。32°C では 3 分 30 秒浸漬区で 98% に達した。

これら各温度での 100% に近い 3 倍体化率になる浸漬時間を図 4 に示した。31°C 以下では、 $Y = 44 - 1.2X$ という関係式が得られたが、31°C を越えると急激に短くなった。

これら 29°C を除いた各温度区のうち、最もふ上率が高いと判断される浸漬温度とその時間との関係について回帰式を求めると、 $Y = 91.43 - 2.79X$ となり、図 2 に示したように打点が殆んど直線上にのり、相関係数も -0.99 と強い相関を示した。

この結果を小島ら²⁾がニジマス卵について報告した結果と比較すると、卵径卵重が類似しているにもかかわらず、ヤマメ卵の場合は各温度ともニジマス卵より約 1.4 倍長い時間浸漬する必要がある結果であった。

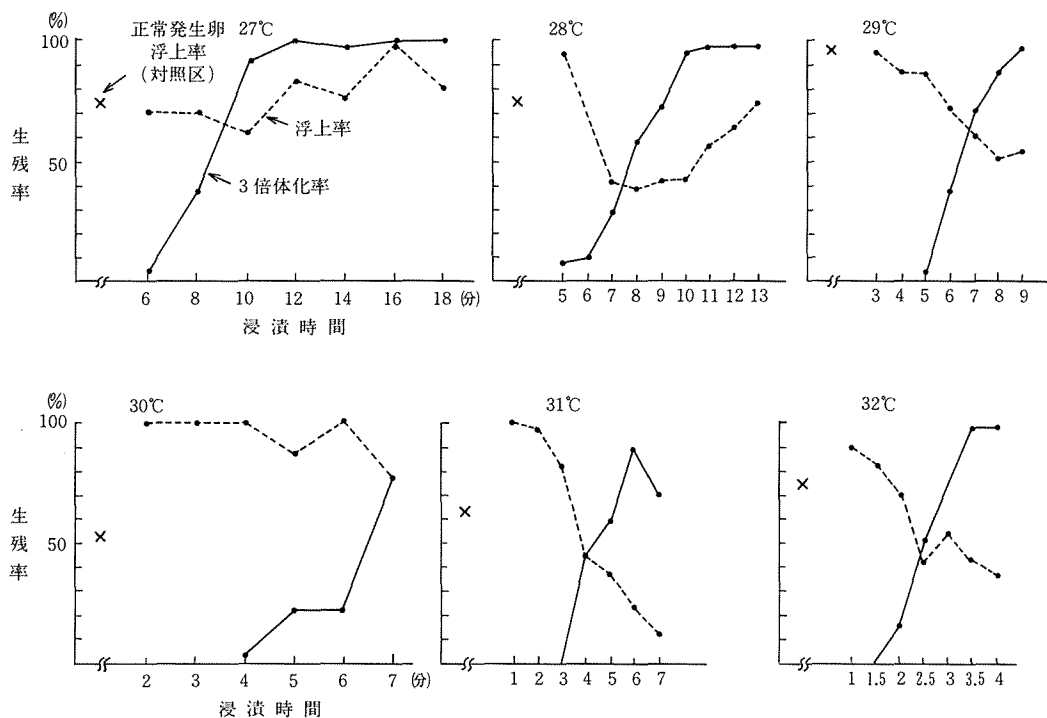


図-3 浸漬温度別3倍体化率と浮上生残率

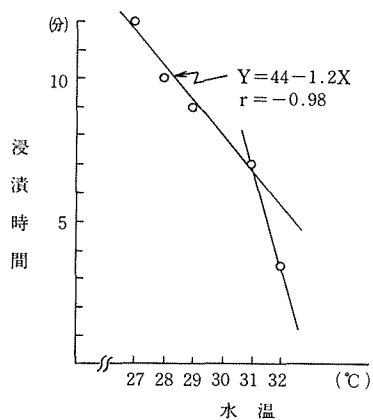


図-4 3倍体化に要する水温と最低浸漬時間

大量卵を処理する場合、すべての卵が所定の温度に達するのに時間がかかることが考えられるので、3倍体化率がほぼ100%に達してから生残率の低下するまでの時間の長い水温に長時間浸漬するのがよいと考えられる。即ち27~28℃がよく、27℃ならば16~18分間浸漬、28℃では、その後数回の経験で15分浸漬でも生残率の低下がみられないことを確認しているので、13~15分浸漬がよいと考えられる。

要 約

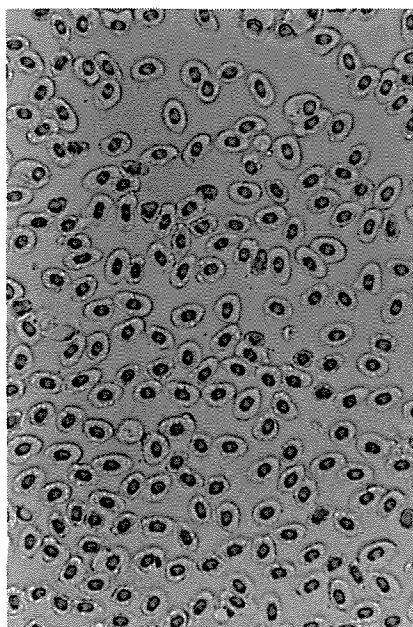
サクラマス増殖用種苗生産のために有効な全雌生産、またサクラマス海中養殖用種苗として有効な全雌3倍体の不妊魚生産を目的として、大量処理が可能な温度刺激によるヤマメ染色体の倍数化について検討した。

1. 雌性発生時における染色体の倍数化は、水温27～32℃の範囲で最適浸漬時間が $Y = 92.22 - 2.81X$ （Y：分、X：温度℃）で求められた。
2. 3倍体化処理の場合、水温27～31℃の範囲で100%に近い3倍体化率を示す浸漬時間は $Y = 44 - 1.2X$ （Y：分、X：温度℃）で求められた。

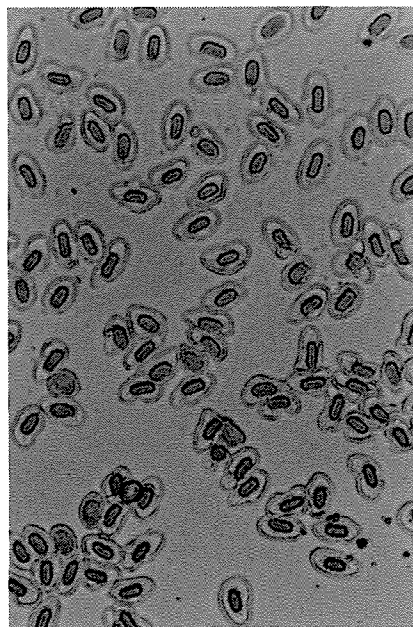
なお、本研究にあたり、血液鑑定等にご協力いただいた宮崎県水産試験場小林分場 神田美喜夫技師にお礼を申し上げる。

文 献

- 1) 待島精治：サクラマスの生活史と沖合分布、サケマス調査研究資料、遠洋水産研究所(1981)
- 2) 小島将男・岩橋正雄：温度ショックによるニジマス染色体の倍数化効果について、本誌12、39—44 (1985)
- 3) 小野里 垣・山羽悦郎：紫外線照射によるサケ目魚種4種の雌性発生誘起、日水誌49(5)、693～699 (1983)



$16.57 \pm 0.87 \mu$



$21.39 \pm 1.29 \mu$

図版、正常魚（2倍体＝左）と3倍体魚（右）の赤血球