

染色体操作による有用魚種の品質改善研究－Ⅲ

晚期産卵系ニジマスの温度処理による三倍体作出について

臼田 博・熊崎 隆夫

Studies on Genetic Improvement Useful Fishes
by Chromosome Manipulation-Ⅲ

Thermal Induction of Autotriploid in
Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* which
is the Late Spawning Strain

Hiroshi USUDA・Takao KUMAZAKI

第2極体の放出を阻止するために、小野里¹⁾はサケ科魚類を材料にして、受精卵に圧力を加える方法（水圧処理）を試み、高率で染色体の倍数化を確認している。しかし、水圧処理の方法は、特殊な機械を必要とする上に、セルの容積から一回の処理量が制限される。また、水圧機のセルからの処理卵の出し入れに際して、出来るだけ衝撃を与えないように細心の注意を払う必要がある。そこで、簡便な方法として、受精卵に温度刺激を与えて倍数化する方法（温度処理）が試みられている²⁾。しかし、倍数化率が低いため、作出技術の改良が必要とされてい

る。

本試験では、産卵期の遅い系統のニジマス（晚期産卵系）を対象に、三倍体を高率で作出するために、受精卵を吸水後、倍数化処理するまでの時間、倍数化のための処理温度、並びに倍数化処理するまでの受精卵の一時的な収容温度について検討したので報告する。

材料および方法

晚期産卵系ニジマスの3年魚4尾から昭和62

第1表 倍数化処理条件

処理方法	処理前の吸水時の水温	吸水後倍数化処理するまでの時間(分)							
		5	7	9	11	13	15	17	
20°C 8分間	3°C	5	7	9	11	13	15	17	
25°C 8分間	3°C	5	7	9	11	13	15	17	
29°C 8分間	3°C	5	7	9	11	13	15	17	
29°C 8分間	12°C	5	7	10	12	15			

年2月17日に採卵し、1尾の成熟雄から採精した精液を4等分して、雌4腹分を一腹ごとに3°Cの生理的等張塩類溶液中で媒精した。この受精卵を3°Cの水中に収容し、3腹分については、吸水5分後から2分間隔で17分後まで、順次一部の卵を取り出し、一腹ごとに20°C、25°Cまたは29°Cの異なる温水中に直接浸漬し、8分間の温度ショックを与えた後、再び3°Cの水中にもどした(第1表)。

一腹分については、3°Cの生理的等張塩類溶液中で媒精後、12°Cの水中に直接収容し、吸水5分後から2~3分間隔で15分後まで順次一部の卵を取り出して29°Cの温水中に直接浸漬し、8分間の温度ショックを与えた後、再び3°Cの水中にもどした(第1表)。その後、これらの4腹分の受精卵を3~5°Cの水中で管理し、発眼率、ふ化率、奇形魚の発生率および三倍体魚の作出率について調べた。なお、三倍体は赤血球の大きさにより判定し³⁾、各区作出了した稚魚30尾について調べ、倍数化率を算出した。

第2表と第1図に処理温度および吸水後処理するまでの時間ごとの倍数化試験の結果を示した。20°Cまたは25°Cの温度処理での発眼率は、吸水後処理までの時間にかかわらず、前者では対照区の83.3%に比べて最も低いのが9分後の処理の68.9%であり、全体的に若干低下したが、後者では対照区の91.8%に比べて17分後の処理が最も低くて85%であり、他は89.8%以上の発眼率を示した。しかし、作出された個体の倍数化率は低く、20°Cでは、5, 7, 17分後の処理の場合で13.3%の倍数化率であり、25°Cでは、17分後の処理で13.3%の倍数化率が認められただけである。29°C中の8分間の倍数化処理については、吸水後5分から13分までに処理した群の発眼率は60.5%から62.8%であり、対照区の88.6%に比べて25.8%から28.1%低かったが、作出された個体の倍数化率は、11分後の処理群の93.3%を除き、他の群は100%を示した。吸水後15分以後の処理では、発眼率は約50%であり、特に17分後の処理では、倍数化率は55%であった。29°C中の8分間の倍数化処理の前に、12°C中に受精卵を収容後処理した結果、吸水後処理までの時間にかかわらず、発眼率は80%以上

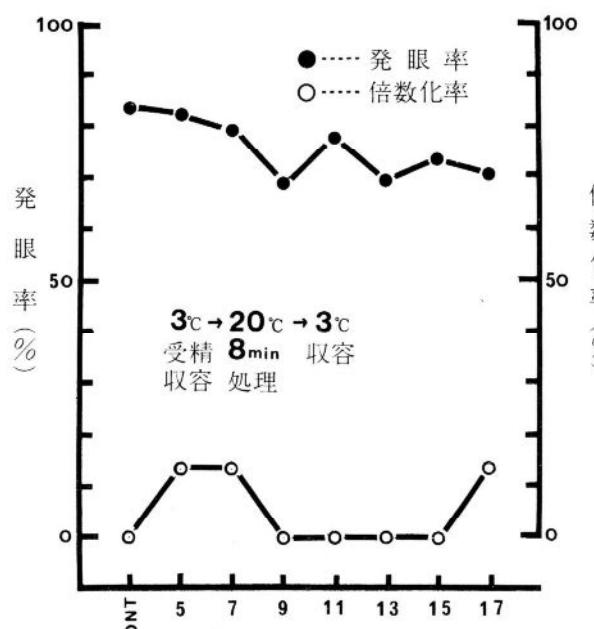
結果および考察

第2表 倍数化処理温度および吸水後処理までの異なる時間ごとの倍数化試験結果

処理方法	項目	処理条件	供試卵数(粒)		発眼率(%)	ふ化率(%)	奇形魚発生率(%)	倍数化率(%)
			対照区	168	83.3	82.7	0.7	0.0
吸水	5分後	20℃	129	82.2	78.3	4.7	13.3	13.3
		25℃	105	79.0	76.2	3.6	0.0	0.0
		8分間	74	68.9	64.9	5.9	0.0	0.0
		136	77.2	75.0	2.9	0.0	0.0	0.0
	11	110	69.1	66.4	3.9	0.0	0.0	0.0
		149	73.2	69.8	2.8	0.0	0.0	0.0
		101	70.3	70.3	0.0	13.3	13.3	13.3
		—	—	—	—	—	—	—
吸水	5分後	233	91.8	90.1	1.9	0.0	0.0	0.0
		25℃	291	94.5	92.8	1.5	0.0	0.0
		8分間	218	95.0	91.3	2.9	0.0	0.0
		11	185	93.5	88.1	4.7	0.0	0.0
	13	261	91.6	88.9	2.9	0.0	0.0	0.0
		332	89.8	87.7	2.3	6.7	6.7	6.7
		250	91.2	88.0	2.2	0.0	0.0	0.0
		15	287	85.0	81.5	2.5	13.3	13.3
吸水	5分後	376	88.6	85.9	2.7	0.0	0.0	0.0
		29℃	202	60.9	56.4	5.8	100.0	100.0
		8分間	114	60.5	57.9	1.5	100.0	100.0
		11	172	62.8	59.3	4.7	100.0	100.0
	13	31	61.1	54.2	10.1	93.3	93.3	93.3
		162	60.5	50.6	11.8	0.0	0.0	0.0
		136	49.3	39.7	15.6	1.9	1.9	1.9
		143	53.1	46.2	9.6	55.0	55.0	55.0
吸水	5分後	233	91.8	90.1	1.9	0.0	0.0	0.0
		29℃	409	86.8	84.6	2.0	0.0	0.0
		8分間	435	80.7	76.3	3.8	100.0	100.0
		10	470	80.4	78.9	1.1	93.3	93.3
	12	486	86.8	84.6	2.4	100.0	100.0	100.0
		15	466	87.6	84.3	3.4	100.0	100.0
		—	—	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	—	—	—

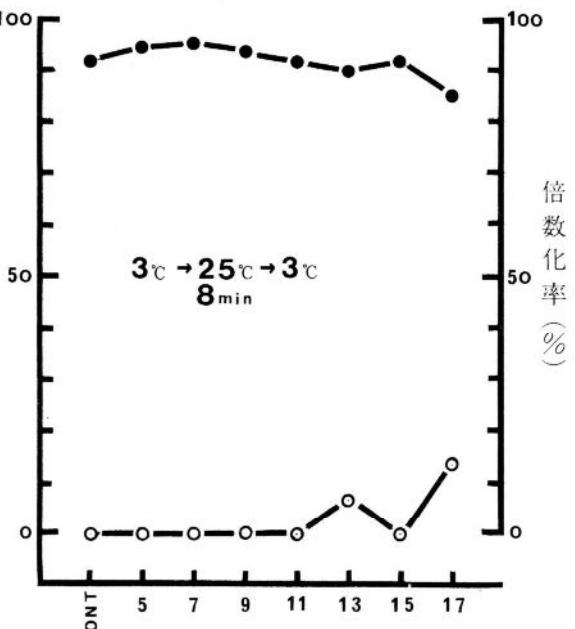
注：発眼率＝健全発眼卵／供試卵数
奇形魚発生率＝奇形魚尾数／全魚尾数
ふ化率：正常ふ化尾数／供試卵数
倍数化率＝三倍体尾数／稚魚30尾

EX-1



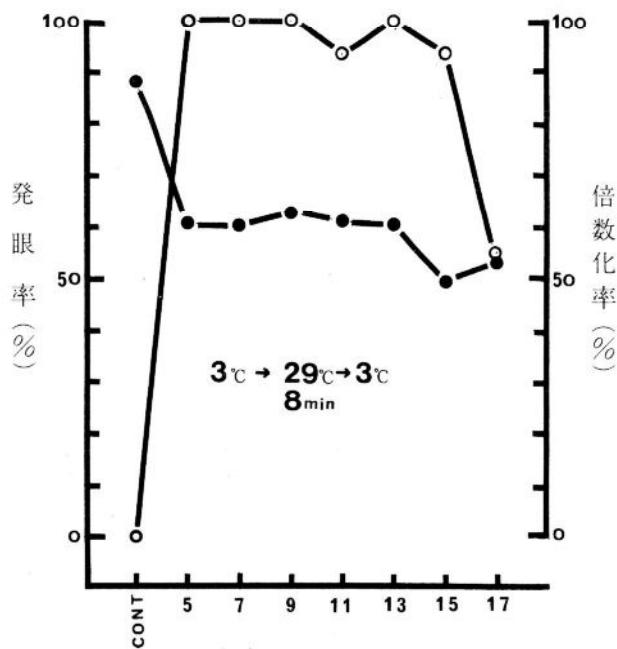
吸水後処理するまでの時間（分）

EX-2



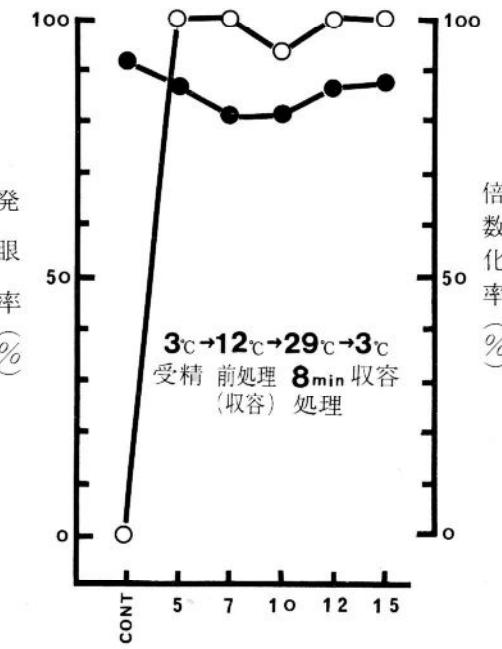
吸水後処理するまでの時間（分）

EX-3



吸水後処理するまでの時間（分）

EX-4



吸水後処理するまでの時間（分）

第1図 倍数化処理温度及び吸水後の処理時間ごとの発眼率と倍数化率

となり、特に15分後でも87.6%を示し、対照区のそれに匹敵する程になった。この発眼率は3°Cの水に直接浸漬した後、同じ条件で倍数化処理した群と比べて約20%以上も高かった。また、作出された個体の倍数化率も10分後に処理した群の93.3%を除き、他の群は100%を示した。

このように、受精卵を処理する前に12°C中に一時的に収容し、吸水後15分以内に29°Cの温水中で8分間の温度処理をすれば、効率良く、三倍体を作出出来ることが分った。この方法は、倍数化処理までの受精卵の収容水温が極端に低い厳冬時に有効である。ふ化水温が特に低くなれば、従来の倍数化試験に示すように⁴⁾、直接29°Cの温水中に収容し、8分間の温度ショックを与えれば良いであろう。

要 約

1. 産卵期の遅い系統のニジマスの三倍体を効率良く作出するための処理条件について検討した。
2. 20°Cまたは25°Cの温水中で8分間の温度ショックを与えた群では、発眼率については若干劣るか同程度であったが、倍数化率については、吸水後処理までの時間にかかわらず、大変低かった。
3. 29°Cの温水中で直接8分間の温度ショックを与えた群では、吸水後5分から13分までに処理した場合の発眼率は対照区よりも25%から28%低かったが、倍数化率では殆ど

が100%を示した。吸水後15分以後の処理では、発眼率、倍数化率ともに低下した。

4. 29°Cの温水中で温度ショックを与える前に、12°Cの水中に収容し吸水させた群では、処理までの時間にかかわらず、発眼率は80%以上を示し、直接浸漬後同じ条件で倍数化処理した群と比べて約20%以上も高かった。また、倍数化率も殆どが100%を示した。

文 献

- 1) H. ONOZATO, 1984; Diploidization of gynogenetically activated Salmonid eggs using hydrostatic pressure, Aquaculture, 43, 91-97.
- 2) 高橋一孝, 1985; マス類の染色体操作による育種試験—I 温度ショックによるニジマス染色体の倍数化, 昭和59年度事業報告, 13, 85-91, 山梨県魚苗センター.
- 3) 児島将男・岩橋正男, 1985; 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, 新潟内水試研報, 12, 39-44.
- 4) 田中 博, 1988; 染色体操作による有用魚種の品質改善研究—II, 温度処理によるニジマスの同質及びアマゴ雄魚との異質三倍体の作出と飼育, 岐水試研報, No.33, 21-27.