

染色体操作による有用魚種の品種改善研究－VI

温水循環式温度処理による三倍体アマゴの量産について

桑田 知宣・熊崎 隆夫・田口 錠次

Studies on Genetic Improvement Useful Fishes by Chromosome Manipulation -VI

Mass Production of Triploid Amago Salmon (*Oncorhynchus rhodurus*)

by Circulating System of Heated Water

Tomonori KUWADA・Takao KUMAZAKI・Jyoji TAGUTI

これまでの試験結果¹⁾から、三倍体を作出す方法として、吸水5分後に卵を27°Cの温水に23分間浸漬する方法が最も効率が良いことがわかっている。そこで大型の金ザルを用いて同様の条件で三倍体の量産を行った（未発表）。しかし、この方法では、大量の卵（10万粒以上）を処理する場合、中心部にある卵の温度が周辺部に比べて上昇しにくいため、各卵に加わる温度刺激が不均等になる。また、処理後に卵を収容する際、物理的な衝撃により卵が死んでしまう問題があり、試験的に作出了した場合に比べて発眼率、三倍体化率が低かった。これらの問題点を改善するため、温水循環式の三倍体量産装

置を試作し、量産試験を行った。

材料及び方法

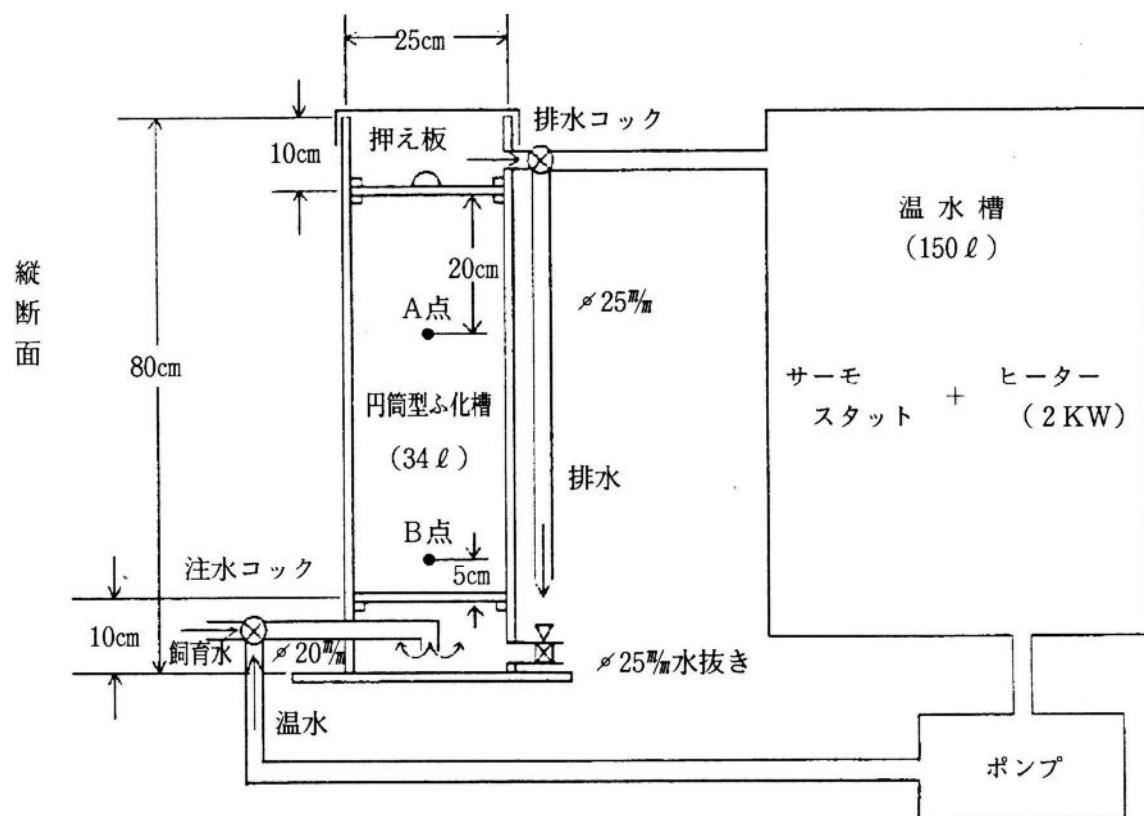
第1図に示したように槽内に温水を循環出来るように改良した円筒型ふ化槽を三倍体量産装置とした。量産試験は、1991年10月21日、24日、28日の3回行った。各試験の供試卵は、当場飼育のアマゴ80～100尾より採卵した。供試卵数は103,000～112,000粒であった。精子は満1年の早熟性転換雄魚20～30尾より採精し、プールして用いた。試験1（10月21日）では、卵を媒

精 1 分後に、ふ化用水を流した装置中に収容し吸水させた。吸水 4 分後にふ化用水（水温 14.4 °C）の給水を止め、処理開始時の水温低下を防ぐため、水抜きより量産装置内の水を排水した。支え板の目に卵が詰まり水量が減ると排水に時間がかかるため、完全にふ化用水がなくなる前に排水を止め（排水時間 3 分）、吸水 7 分後に、温水循環に切り換え、温水を 570 ml/sec で循環し、処理を開始した。温水は処理開始時の水温の低下を想定して、循環前の水温を 28°C とした。また、循環中は温水の水温を 27°C を維持するよう調節した。温水循環に切り替えてから 23 分後に、温水の循環を止め、ふ化用水を 250 ml/sec で装置内に給水し処理を終了した。処理開始から 5 分間および処理終了から 5 分間の量産装置内の 2 点（第 1 図に示した A 点および B 点）に

おける水温変化を、30 秒ごとにデジタル水温計で測定した。その後処理した卵をそのまま装置内で発眼期まで管理した。無作為に処理前の卵を抽出し常法で管理したものと通常発生区とした。また、同様に卵を抽出し従来の方法（吸水 5 分後に 27°C の温水に 23 分間浸漬）で三倍体を作出したものを処理対照区とした。

各区とも発眼期に正常な卵のみを計数し、発眼状況を調査した。また、一部の発眼卵を浮上期まで管理し、各区 50 尾について倍数化状況を調査した。倍数化は赤血球の長径によって判断した²⁾。

試験 2（10月24日）では、温水の循環流量を 290 ml/sec とし、後の操作は試験 1 と同様とした。ふ化用水の水温は 14.2°C であった。なお、試験 1, 2 ともに温水循環式に切り替えてから



第 1 図 量産装置

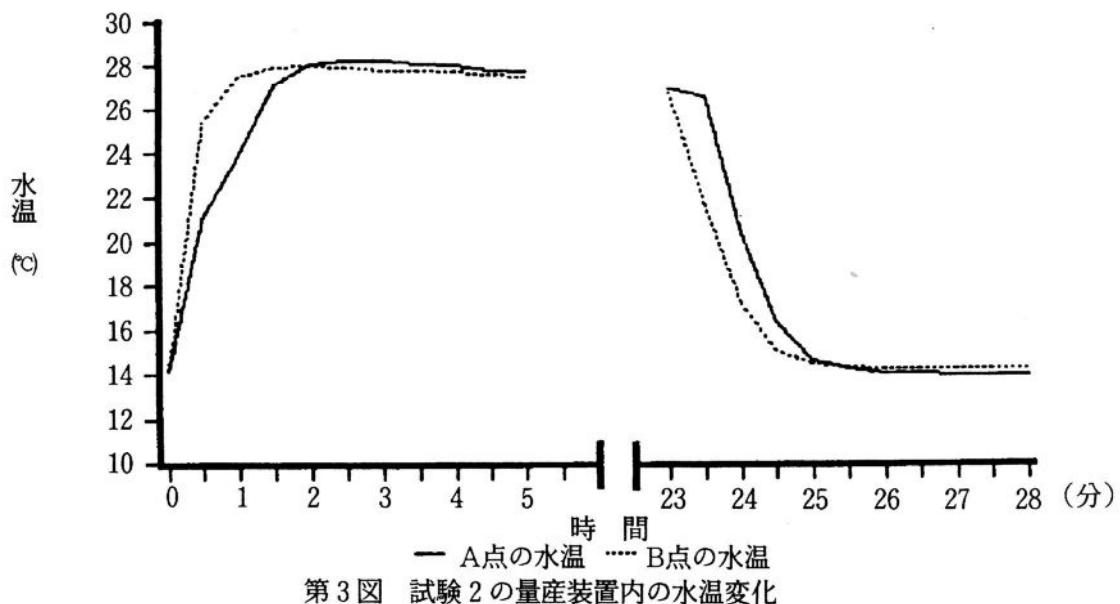
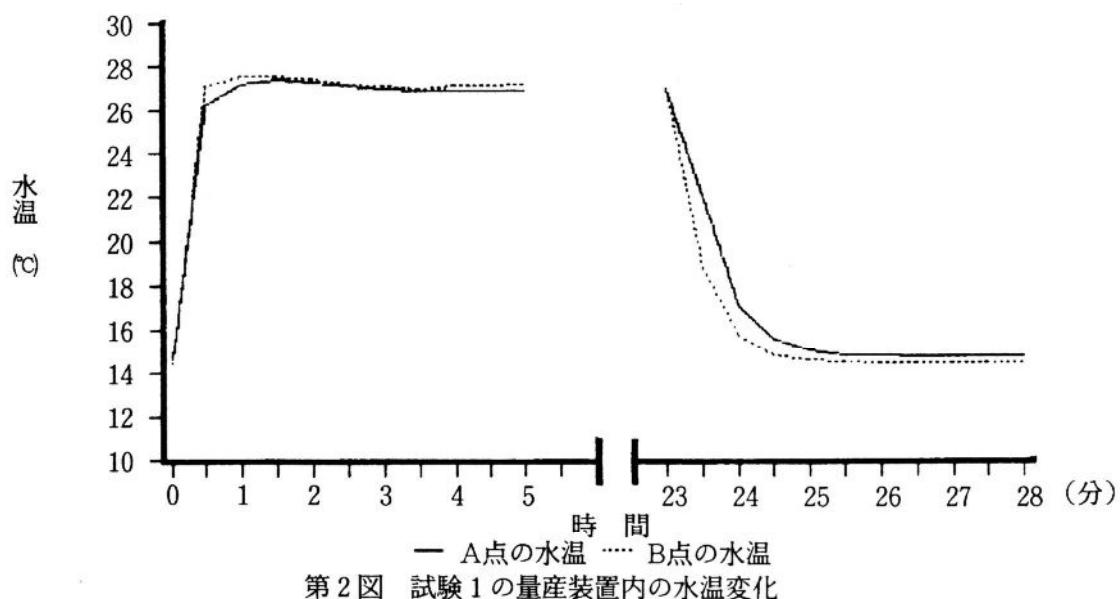
30秒後に温水は、排水口に達していた。

試験3(10月28日)では、媒精1分後に媒精容器中にふ化用水を加え吸水させた卵を、吸水7分30秒後に温水を240ml/secで循環している装置内に大型ろう斗を用いてふ化用水とともに流し込み収容した。後の操作は試験1と同様とした。ふ化用水の水温は13.7°Cであった。

各試験の処理開始から5分間および処理終了から5分間の装置A点およびB点における水温の経時的变化を第2~4図に示した。各試験の発眼および倍数化成績を表に示した。

試験2および3(循環流量が少ない場合)では、A点における水温の上昇は、B点に比べて緩やかであり、27°Cに達するのに約2分間かかった。27°Cに到達後は、両点ともほぼその水温で安定し、ほとんど温度差がなかった。ふ化用水給水後の水温の下降の傾向も上昇時と同様であつ

結果



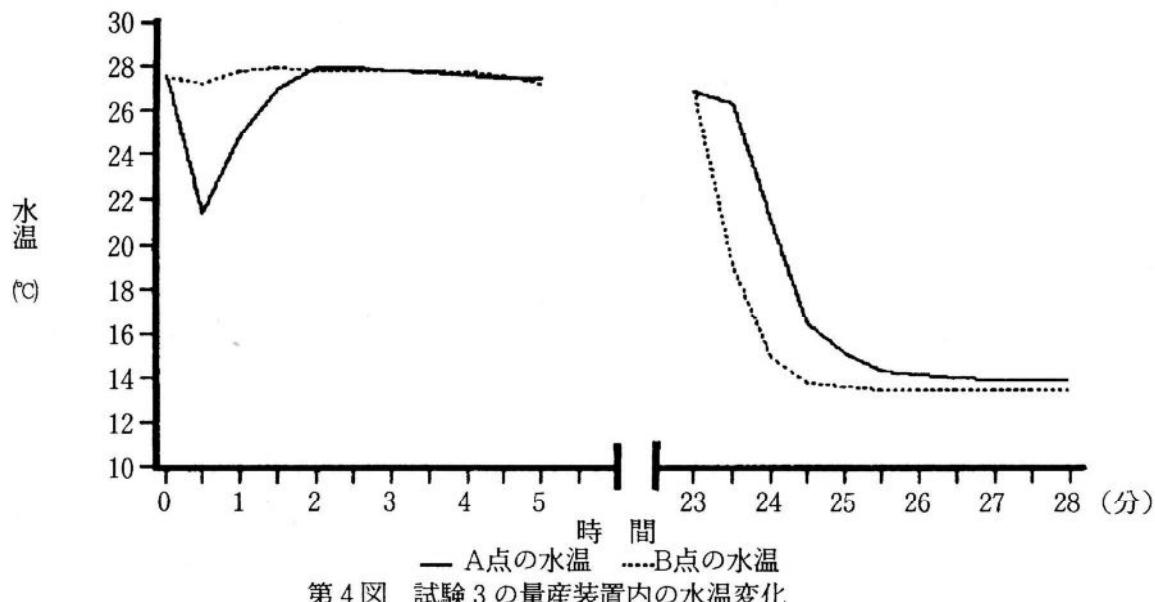


表 三倍体の作出成績

試験	親魚数	区名	供試卵数	発眼率	三倍体化率	三倍体作出効率
1	85	量産区	粒 103,000	% 79.6 (85.2)	% 88	% 70 (74.9)
		処理対照区	1,518	69.4 (74.3)	88	61 (65.3)
		通常発生区	1,233	93.4	—	—
2	113	量産区	110,000	68.2 (90.7)	84	57.3 (76.2)
		処理対照区	831	50.5 (67.1)	96	48.5 (64.5)
		通常発生区	512	75.2	—	—
3	107	量産区	112,000	74.1 (98.1)	90	66.7 (88.3)
		処理対照区	908	47.2 (62.5)	98	46.3 (61.3)
		通常発生区	453	75.5	—	—

発眼率は供試卵数に対する割合

()内の値は通常発生区の発眼率による補正值

た。試験1（循環流量が多い場合）では、A点とB点における水温変化の差は小さかったが、装置内で卵が水流によって舞上がっていた。

すべての試験において量産区の発眼率が処理対照区の発眼率より高かった。量産区の三倍体化率は、試験3が最も高く90%であった。試験2、3の量産区の三倍体化率は処理対照区より低かった。三倍体作出効率（発眼率×三倍体化

率）では、すべての試験において量産区が処理対照区より高かった。各試験の量産区の発眼率、三倍体作出効率を通常発生区の発眼率で補正し比較すると、補正值はともに、試験3、試験2、試験1の順に高かった。補正三倍体作出効率は、いずれの量産区も70%以上であり、試験3では88.3%と高率であった。

考 察

臼田³⁾は27°Cの温水に23分間浸漬する方法により第二極体放出阻止型雌性発生二倍体を作出する場合、媒精後の処理開始時間はそれ程厳密ではなく、媒精15分後までに倍数化処理すれば良いことを報告している。今回、量産区と処理対照区では処理開始時期に差があるが、量産区の処理水温27°Cへの到達時間は媒精10分後以内であり、臼田の報告から、両区の処理開始時期の差は三倍体の作出に大きな影響を与えないと判断される。

青森県水産試験場⁴⁾は、サクラマスで温度処理により三倍体を作出する場合、高温処理前の浸漬温度が低いと、生残率は低いが三倍体化率が高くなり、高温処理前の浸漬温度が高く、26°C・20分間のように処理温度が低いと生残率が高まるが、三倍体化率は逆に低くなることを報告している。試験2, 3のA点における温度変化が示すように、量産区では処理卵のまわりの水温変化が急激ではないため、高温処理前の浸漬温度を高くした場合と同様の効果が生じると予想される。このため、量産区の発眼率が処理対照区より高く、逆に三倍体化が低くなつたと推察される。

量産区における三倍体化率の低下を防ぐためには処理開始時の卵のまわりの水温を急変させれば良いと考えられるが、それは同時に発眼率の低下をまねくと予想される。実用化には、作出魚の三倍体化率が低いことは問題であり、最低でも90%以上の三倍体化率を確保する必要がある。

あろう。そのためには、作出時の生残率の低下はやむを得ないものと思われる。

そこで、本試験結果から実用化に適した処理条件を考察する。

試験3のように媒精容器内で吸水させる方法は、ふ化用水の排水が容易であり、温度処理開始時の操作も簡単である。卵収容作業に伴う物理的ショックによる斃死が懸念されるが、試験3の量産区の補正発眼率(98.1%)が示すようにはほとんど影響がみられない。したがって、実用化には、媒精容器内で吸水させ、吸収5分後に容器内のふ化用水を出来るだけ排水し、量産装置内へ卵を収容する方法が良いと考えられる。

三倍体化率の低下を防ぐためには、温水の循環流量が多いほうが良いと考えられる。この場合、水流によって、卵が舞上ることによる物理的ショックの影響が懸念されるが、試験1の量産区に大きな発眼率の低下が認められないことより問題はない。一方、量産装置内の水温は処理開始2分後に27°Cに達し、その後は240ml/sec以上であれば循環流量に係わらず一定である。したがって、実用化には、循環流量を処理開始から2分間は500ml/sec以上、その後は250ml/sec前後とするのが良いと考えられる。

要 約

1. 槽内に温水を循環出来るように改良した円筒型ふ化槽を三倍体量産装置とし、三倍体の量産試験を行つた。

2. 装置内の水温は、目的水温に達した後は安定していたが、温水の循環流量が少ない場合の処理開始時と処理終了時では、排水付近で温度変化に遅れがみられた。
3. 量産区の発眼率、三倍体作出効率は、処理対照区のそれより高く、三倍体の量産が可能となった。しかし、量産区の三倍体化率は処理対照区のそれより低く問題が残った。
4. 量産区の三倍体化率を向上させるには、処理開始時の卵のまわりの水温を急変させれば良いと考えられ、実用化には、処理開始時の温水の循環流量を多くし、媒精容器中で吸収させた卵を温水を循環している装置内に収容し、処理開始とする方法が良いと考えられた。

文 献

- 1) 岐阜県水産試験場 1989；染色体の倍数化技術の応用によるアユ・アマゴの品種改善研究 昭和63年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書.
- 2) 岐阜県水産試験場 1987；染色体の倍数化技術の応用によるアユ・アマゴの品種改善研究 昭和61年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書.
- 3) 臼田 博 1989；アマゴの全雌生産とその特性 水産育種, 14, 11-22.
- 4) 青森県水産試験場 1991；不稔化技術の確立によるサケ・マス類の大型魚生産技術の開発研究 平成2年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書.