

(6) 冷水魚品種改良技術試験

ホウライマスの高増体系統作出技術の開発

石元伸一・間瀬三博・林 優行・荒川哲也

キーワード；ホウライマス，高増体系統，間接選抜育種，頭長比

目 的

マス類養殖においては，高品質，高成長等の優良形質を有する系統の作出が望まれている。なかでも，加工処理後の可食部量が多くなるような優れた体型を持つ系統（高増体系統）の作出は重要である。そこで，本課題では無斑のニジマスであるホウライマスの高増体系統作出技術の開発を目的とする。今年度は，昨年度に示された頭長比（頭長/被鱗体長×100）を指標とした選抜効果の再現性を確認するため，選抜F₂魚を親魚とし，上位下位方向へ切断型選抜を実施して次世代魚（F₃）を作出する。また，頭長比の異なるホウライマスを雌親魚として作出した異質三倍体魚の形質発現について検討する。

材料及び方法

平成11年度に作出されたF₂魚の上位4区，下位2区（各区30尾，計180尾）をピットタグにより個体識別し，親魚として飼育した。この親魚群から頭長比の上位下位，それぞれ30%以内を目標に選抜，交配を行い，次世代魚（F₃）の作出を試みた。また，平成12年度に高増体選抜群（F₁）の頭長比順位の上位及び下位の雌親魚を用いて作出した全雌異質三倍体ニジイワを，0.4m³水槽に100尾程度収容・飼育し，それぞれ頭長比を測定，比較した。

結果及び考察

F₂魚群の交配により11の組み合わせによる交配区を得ることができた。これらについては，現在稚魚管理中であり，次年度魚体測定を実施し，頭長形質の遺伝性の確認を行う。

全雌異質三倍体ニジイワの魚体測定は，各区30尾ずつの被鱗体長，頭長および体重を測定した。各区の平均体長，平均体重および頭長比を表に示す。

上位区①，②の頭長比平均値は22.9%，23.8%で，いずれも下位①，②区の24.8%，24.3%より有意に小さかった（上①下①，上①下②，上②下①，上②下②間の4とおりのうち，上②下②間のみp<0.05，他はp<0.01）。このことから，用いた雌親魚の頭部の形質が，その子である全雌異質三倍体ニジイワにおいても発現していると考えられ，雌親魚に頭長比を指標に選抜された高増体系ホウライマスを使用することで，可食部率の高い全雌異質三倍体ニジイワが作出可能であることが示唆された。

なお，本事業は水産庁委託事業として実施した。本研究成果については「水産生物育種の効率化基礎技術の開発」平成13年度推進会議において報告した。

表 全雌異質三倍体ニジイワの魚体測定結果

	雌親魚頭長比 (順位)	平均体長 (cm)	平均体重 (%)	頭長比
上位区①	19.7(6)	16.8±0.9	72.6±13.8	22.9±0.95
上位区②	19.8(9)	15.7±1.2	61.9±15.7	23.8±0.94
下位区①	21.5(97)	14.7±1.6	49.1±5.4	24.8±1.03
下位区②	21.7(102)	16.1±0.7	61.0±13.9	24.3±1.11

平均値±標準偏差

(7) 観賞魚養殖技術試験

キンギョクローンの特性調査-III

鯉江秀亮・水野正之・都築 基

キーワード；第2極体放出阻止，尾緒長割合，体高比，肥満度

目 的

キンギョの効率的な品種改良や新品種作出を行うため，染色体操作による雌性発生2倍体（主にクローン）作出技術を利用することで，有用形質が短期間に固定化できるかどうかを検討した。

材料及び方法

(1) 使用親魚とクローン作出方法

クローン作出の採卵用雌親魚は，第1卵割阻止型雌性発生魚であるリュウキン（4才）¹⁾，タンチョウ（3才）²⁾とタンチョウクローン（6才）³⁾及び当指導所で2世代（2回）雌性発生させたリュウキン（3才）²⁾を用いた。同時に，それぞれ対照とする通常交配魚を作出するために同品種の雄を，また，2世代雌性発生のリュウキンには，さらに異なる系統の2世代雌性発生魚の雄化魚と同系統の2世代雌性発生魚の雄化魚を用いた（表1）。

雌性発生に使用した精子は，コイから採精して，pH 7.0に調節したコイ精しょう液で100倍に希釈し，8,000 erg/mm²の紫外線照射により遺伝的に不活化したものを用い，成熟卵を20℃の条件下で媒精して，5分後に40℃の温水に1分間浸漬し第2極体放出阻止を行った。

通常交配は，成熟卵を20℃の条件下で人工受精した。

(2) 試験区及び飼育方法

第1卵割阻止型雌性発生魚及びクローンを親魚とする試験区は，採卵親魚ごとに通常交配による発生区（対照区）と第2極体放出阻止によるクローン区を設定した。2世代雌性発生魚を親魚とする試験区は，通常交配による発生区（対照区）と異なる系統の2世代雌性発生魚との交配区（ヘテロ区）と同系統の2世代雌性発生魚との交配区（ホモ区）と第2極体放出阻止による3世代雌性発生区（極体区）を設定した。クローン区は採卵量に応じて試験区数を調節した。ただし，リュウ1は極体区を3区設定し，リュウ3は採卵量が少なかったため，ホモ区のみ設定した（表2）。

雌性発生させた卵と通常受精卵は，20℃の条件下でふ化させ，ふ化率及び受精15日後の生残率を求めた。ふ化仔魚は，受精15日後から同一親魚区ごとに収容尾数と試験区を調整し，受精5カ月後まで飼育した。

餌は，週5～6日与え，途中からアルテミアに加え配合飼料も給餌して，最終的に配合飼料単独へと切り替えた（表3）。

飼育水槽は，表5に示した水槽を用い，エアレーションした止水で飼育した。換水は1週間に1～2回全量行った。飼育期間中の水温は図1に示した。

表1 クローン作出及び通常交配に使用した親魚

親魚区分	履歴	親魚体型				魚齢	雌雄	ホルモン 排卵処理	試験区
		全長(cm)	体長(cm)	体高(cm)	体重(g)				
リュウキン1	雌性発生2回	11.2	5.4	4.9	27	3	♀	—	リュウ1
リュウキン2	雌性発生2回	14.3	7.6	6.4	72	3	♀	—	リュウ2
リュウキン3	雌性発生2回	13.7	6.5	5.7	50	3	♀	—	リュウ3
リュウキン♂1	雌性発生2回	11.2	5.6	4.8	20	3	♂	—	
リュウキン♂2	雌性発生2回	10.9	5.7	4.7	30	3	♂	—	
リュウキン♂3	通常2倍体	16.7	9.0	7.5	124	4	♂	—	
リュウキン4	第1卵割阻止1回	15.4	7.4	5.5	50	4	♀	○	リュウ4
リュウキン♂4	通常2倍体	17.2	9.3	5.5	120	4	♂	—	
Cタンチョウ	'96作出クローン	12.2	6.3	3.2	20	6	♀	○	Cタン
タンチョウ♂1	通常2倍体	18.7	10.5	5.6	110	3	♂	—	
タンチョウ	第1卵割阻止1回	11.0	6.0	3.4	20	3	♀	○	タン
タンチョウ♂2	通常2倍体	18.1	10.2	3.6	95	3	♂	—	

・リュウキン1～3は，第1卵割阻止型雌性発生魚の卵を第2極体放出阻止により雌性発生させクローン化させたが，クローン化に至らなかった同一の個体群。

・リュウキン♂1は，リュウキン1～3と同系の雌性発生魚で雄化したもの。

・リュウキン♂2は，リュウキン1～3と異なる雌性発生魚で，これについてもクローン化していなかった。

表2 試験区と使用卵数

試験区	採卵月日	雌親魚	発生方法	使用卵数	精子
リュウ1-対照	01.04.09	リュウキン1	通常交配	184	リュウキン♂3
リュウ1-ヘテロ			通常交配	292	リュウキン♂2
リュウ1-ホモ			通常交配	345	リュウキン♂1
リュウ1-極体1			第2極体放出阻止法	1,344	コイUV照射
リュウ1-極体2			第2極体放出阻止法	1,126	コイUV照射
リュウ1-極体3			第2極体放出阻止法	954	コイUV照射
リュウ2-対照	01.04.09	リュウキン2	通常交配	186	リュウキン♂3
リュウ2-ヘテロ			通常交配	288	リュウキン♂2
リュウ2-ホモ			通常交配	338	リュウキン♂1
リュウ2-極体			第2極体放出阻止法	738	コイUV照射
リュウ3-ホモ	01.04.09	リュウキン3	通常交配	273	リュウキン♂1
リュウ4-対照	01.05.30	リュウキン4	通常交配	305	リュウキン♂4
リュウ4-クローン			第2極体放出阻止法	1,280	コイUV照射
Cタンク-対照	01.05.30	Cタンク	通常交配	332	タンク♂1
Cタンク-クローン			第2極体放出阻止法	941	コイUV照射
タンク-対照	01.05.31	タンク	通常交配	132	タンク♂2
タンク-クローン1			第2極体放出阻止法	138	コイUV照射
タンク-クローン2			第2極体放出阻止法	42	コイUV照射

表3 給餌量

水槽	餌料種類	15日	1か月	1か月半	2か月	2か月半	3か月	3か月半	4か月	4か月半
		1か月	1か月半	2か月	2か月半	3か月	3か月半	4か月	4か月半	5か月
100ℓ	アルテミア(千個)	4.0	8.0	12.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
	配合餌料(g)					0.2	0.4	0.4	0.6	0.6
15ℓ	アルテミア(千個)	2.0	4.0	6.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
	配合餌料(g)					0.1	0.2	0.2	0.3	0.3
7.3ℓ	アルテミア(千個)	1.0	2.0	3.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
	配合餌料(g)					0.05	0.1	0.1	0.15	0.15

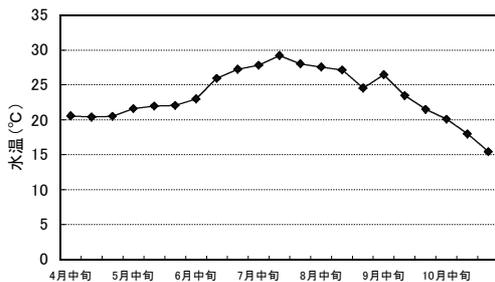


図1 水温の推移

表4 ふ化率及び受精15日後の生残率

試験区	使用卵数	ふ化尾数	ふ化率 (%)	受精15日後 生残尾数	受精15日後 生残率 (%)
リュウ1-対照	184	126	68.5	104	82.5
リュウ1-ヘテロ	292	247	84.6	125	50.6
リュウ1-ホモ	345	286	82.9	95	33.2
リュウ1-極体1	1,344	370	27.5	173	46.8
リュウ1-極体2	1,126	397	35.3	172	43.3
リュウ1-極体3	954	359	37.6	161	44.8
リュウ2-対照	186	152	81.7	117	77.0
リュウ2-ヘテロ	288	247	85.8	121	49.0
リュウ2-ホモ	338	303	89.6	98	32.3
リュウ2-極体	738	161	21.8	56	34.8
リュウ3-ホモ	273	164	60.1	78	47.6
リュウ4-対照	305	12	3.9	3	25.0
リュウ4-クローン	1,280	71	5.5	46	64.8
Cタンク-対照	332	190	57.2	171	90.0
Cタンク-クローン1	941	394	41.9	178	89.0
Cタンク-クローン2				142	73.2
タンク-対照	132	57	43.2	35	61.4
タンク-クローン1	138	3	2.2	↓	↓
タンク-クローン2	42	36	85.7	25	64.1

・タンククローン1はふ化尾数が少なかったことからクローン2に集約した。

(3) 体型測定

第1卵割阻止型雌性発生魚とクローン魚を親魚とする試験区では受精5か月後に、2世代雌性発生魚を親魚とする試験区では受精4か月後に生残率、全長、体長、体高、体重を測定した。そして、得られた値から

$$\text{尾鰭長割合} [(\text{全長mm} - \text{体長mm}) / \text{全長mm} \times 100]$$

$$\text{体高比} [\text{体高mm} / \text{体長mm} \times 100]$$

$$\text{肥満度} [\text{体重 g} / (\text{体長cm})^3 \times 10^3]$$

を求め、対照区と比較した。

結果及び考察

(1) ふ化率とふ化から受精5か月後までの生残率

第1卵割阻止型雌性発生魚及びクローンを親魚とする試験区のふ化率は、対照区で3.9~57.2%、クローン区で2.2~85.7%であった。

2世代雌性発生魚を親魚とする試験区では、リュウ1、2ではヘテロ区とホモ区の方が82.9~89.6%で対照区の68.5、81.7%より高い結果であった。極体区は21.8~37.6%で他の区に比べ低かった(表4)。

第1卵割阻止型雌性発生魚及びクローンを親魚とする試験区のふ化から受精5か月後までの生残率は、対照区で16.3~45.8%、クローン区で23.9~47.9%でありふ化率同様に対照区が低い傾向であった。

2世代雌性発生魚を親魚とする試験区では、受精4か月後~5か月にかけてリュウ1-ヘテロ区とリュウ2-極体区で細菌感染により生残率が大きく減少したため、受精4か月後の生残率で比較した。その結果、対照区が75.2、72.9%、ヘテロ区が41.6、42.9%、ホモ区がリュウ3を含めて27.3~38.2%、極体区が16.8~27.9%で、対照区が最も良かった(表5)。

表5 受精15日後からの試験区と生残率

試験区	収容尾数	収容月日	収容水槽 サイズ	受精4か月 生残率(%)	受精5か月 生残率(%)
リュウ1-対照	56	4月24日	15ℓ	75.2	69.3
リュウ1-ヘテロ	56	4月24日	15ℓ	41.6	25.3
リュウ1-ホモ	56	4月24日	15ℓ	27.3	26.1
リュウ1-極体1	56	4月24日	15ℓ	24.2	21.7
リュウ1-極体2	56	4月24日	15ℓ	27.9	26.3
リュウ1-極体3	56	4月24日	15ℓ	16.8	16.0
リュウ2-対照	56	4月24日	15ℓ	72.9	71.5
リュウ2-ヘテロ	56	4月24日	15ℓ	42.9	39.4
リュウ2-ホモ	56	4月24日	15ℓ	28.9	24.8
リュウ2-極体	56	4月24日	15ℓ	23.6	7.5
リュウ3-ホモ	56	4月24日	15ℓ	38.2	29.7
リュウ4-対照	3	6月14日	2ℓ	25.0	25.0
リュウ4-クローン	46	6月14日	15ℓ	33.8	32.4
Cタンク-対照15	55	6月14日	15ℓ	47.5	45.8
Cタンク-対照100	116	6月14日	100ℓ	16.3	16.3
Cタンク-クローン15	55	6月14日	15ℓ	47.9	47.9
Cタンク-クローン100	123	6月14日	100ℓ	23.9	23.9
タンク-対照	35	6月14日	7.3ℓ	22.8	22.8
タンク-クローン	25	6月14日	7.3ℓ	25.6	25.6

注) Cタンククローンの2区はCタンククローン1を分けたもので、Cタンククローン2は雑化させた

(2) 尾鰭長割合, 体高比及び肥満度

第1卵割阻止型雌性発生魚及びクローンを親魚とする試験区の受精5カ月後の平均尾鰭長割合は、リュウ4で対照区が33.8%, クローン区が35.9%, Cタンで対照15, 100区が33.8, 33.1%, クローン15, 100区が34.7, 33.4%, タンで対照区が34.0%, クローン区が35.9%で、いずれもクローン区が対照区を上回る結果であった。受精5カ月後の平均体高比は、リュウ4で対照区が49.3%, クローン区が50.8%, Cタンで対照15, 100区が50.2, 50.2%, クローン15, 100区が53.1, 52.2%, タンで対照区が51.9%, クローン区が55.0%で、尾鰭長割合同様いずれもクローン区が対照区を上回る結果であった。受精5カ月後の平均肥満度は、リュウ4で対照区が64.6, クローン区が66.3, Cタンで対照15, 100区が73.3, 72.5, クローン15, 100区が92.6, 84.3, タンで対照区が76.9, クローン区が91.8で、尾鰭長割合や体高比同様いずれもクローン区が対照区を上回る結果であった(表6)。

2世代雌性発生魚を親魚とする試験区の受精4カ月後の平均尾鰭長割合は、リュウ1の対照, ヘテロ, ホモ, 極1, 2, 3区で34.2, 35.7, 36.9, 36.7, 37.0, 37.3%, リュウ2の対照, ヘテロ, ホモ, 極体区で34.8, 36.5, 36.8, 36.2%, リュウ3-ホモ区が35.4%で、対照区は他の試験区と比べ尾鰭長割合が少ない傾向であった。受精4カ月後の平均体高比は、リュウ1の対照, ヘテロ, ホモ, 極1, 2, 3区で45.0, 47.0, 50.8, 55.1, 53.2, 56.3%, リュウ2の対照, ヘテロ, ホモ, 極体区で44.7, 48.0, 49.9, 51.9%, リュウ3-ホモ区が48.9%で、極体区>ホモ区>ヘテロ区>対照区の順で大きかった。受精4カ月後の平均肥満度は、リュウ1の対照, ヘテロ, ホモ, 極1, 2, 3区で54.8, 63.2, 69.6, 77.5, 80.0, 83.2, リュウ2

表6 第1卵割阻止型雌性発生魚及びクローンを親魚とする試験魚の体型

試験区	測定日	測定尾数	全長(mm)	体長(mm)	体高(mm)	体重(g)	尾鰭長割合	体高比	肥満度	
リュウ4-対照	10月30日	3	平均	27.3	18.1	9.0	0.40	33.8	49.3	64.6
			標準偏差	4.6	3.0	2.0	0.16	0.3	3.3	5.5
			変異係数	0.17	0.17	0.22	0.41	0.01	0.07	0.08
リュウ4-クローン	10月30日	23	平均	28.7	18.4	9.4	0.47	35.9	50.8	66.3
			標準偏差	5.0	3.2	2.1	0.32	2.0	3.3	10.2
			変異係数	0.18	0.17	0.22	0.68	0.05	0.06	0.15
Cタン-対照15	10月30日	28	平均	26.8	17.7	8.9	0.45	33.8	50.2	73.3
			標準偏差	4.4	2.7	1.8	0.31	2.8	3.1	14.7
			変異係数	0.16	0.15	0.20	0.70	0.08	0.06	0.20
Cタン-対照100	10月30日	36	平均	30.6	20.5	10.3	0.73	33.1	50.2	72.5
			標準偏差	6.1	4.4	2.4	0.50	2.8	2.5	10.9
			変異係数	0.20	0.21	0.23	0.69	0.08	0.05	0.15
Cタン-クローン15	10月30日	21	平均	25.9	16.9	9.0	0.53	34.7	53.1	92.6
			標準偏差	4.9	3.5	2.3	0.49	2.5	3.3	11.5
			変異係数	0.19	0.21	0.26	0.92	0.07	0.06	0.12
Cタン-クローン100	10月30日	36	平均	28.3	18.8	9.9	0.68	33.4	52.2	84.3
			標準偏差	6.4	4.2	2.7	0.58	2.5	3.9	14.7
			変異係数	0.23	0.22	0.28	0.85	0.07	0.07	0.17
タン-対照	10月30日	13	平均	33.9	22.4	11.6	0.87	34.0	51.9	76.9
			標準偏差	2.7	1.5	1.0	0.20	1.6	2.6	10.4
			変異係数	0.08	0.07	0.09	0.23	0.05	0.05	0.14
タン-クローン	10月30日	10	平均	36.0	23.1	12.8	1.23	35.9	55.0	91.8
			標準偏差	5.9	3.9	2.5	0.67	1.7	3.0	6.3
			変異係数	0.16	0.17	0.19	0.54	0.05	0.05	0.07

の対照, ヘテロ, ホモ, 極体区で57.1, 62.8, 67.2, 71.8, リュウ3-ホモ区が67.9で、体高比同様極体区>ホモ区>ヘテロ区>対照区 の順で大きかった。極体区とホモ区との体高比や肥満度の差については、ホモ区が同系統の雌性発生を親魚としたため、対照区やヘテロ区とホモ区との差より少なかったと考えられた。また、このことにより雌性発生を繰り返せばクローン化する可能性が示された(表7)。

また、尾鰭長割合, 体高比, 肥満度における t 検定の結果、各形質において作出方法の違いによる上記の差は、肥満度におけるヘテロとホモの差を除いて有意(P<0.05)であった。

なお、この試験は水産庁補助事業により実施し、その詳細は「平成13年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書」に記載した。

参考文献

- 1) 愛知県水産試験場 (1999) キンギョクローンによる優良形質固定化技術の開発. 平成10年度地域先端技術共同研究開発促進事業報告書.
- 2) 愛知県水産試験場 (2000) キンギョクローンによる優良形質固定化技術の開発. 平成11年度地域先端技術共同研究開発促進事業報告書.
- 3) 鯉江秀亮・高須雄二・村松寿夫 (1997) キンギョのクローン(タンチョウ)の形質調査, 平成8年度愛知県水産試験場業務報告, 27-28.

表7 2世代雌性発生魚を親魚とする試験魚の体型

試験区	測定日	測定尾数	全長(mm)	体長(mm)	体高(mm)	体重(g)	尾鰭長割合	体高比	肥満度	
リュウ1-対照	8月9日	51	平均	21.8	14.3	6.5	0.17	34.2	45.0	54.8
			標準偏差	3.5	2.1	1.5	0.10	3.0	4.3	16.1
			変異係数	0.16	0.15	0.23	0.57	0.09	0.10	0.29
リュウ1-ヘテロ	8月9日	46	平均	22.0	14.1	6.7	0.20	35.7	47.0	63.2
			標準偏差	4.3	2.5	1.7	0.13	3.8	5.5	21.7
			変異係数	0.19	0.18	0.26	0.65	0.11	0.12	0.34
リュウ1-ホモ	8月9日	46	平均	21.8	13.8	7.0	0.20	36.9	50.8	69.6
			標準偏差	3.9	2.5	1.5	0.11	3.0	3.6	18.5
			変異係数	0.18	0.18	0.21	0.57	0.08	0.07	0.27
リュウ1-極体1	8月9日	29	平均	23.2	14.7	8.1	0.27	36.7	55.1	77.5
			標準偏差	4.5	2.8	1.8	0.17	2.2	3.8	19.3
			変異係数	0.19	0.19	0.22	0.63	0.06	0.07	0.25
リュウ1-極体2	8月9日	36	平均	22.7	14.3	7.6	0.24	37.0	53.2	80.0
			標準偏差	3.7	2.2	1.5	0.12	2.5	3.4	17.3
			変異係数	0.16	0.15	0.19	0.47	0.07	0.06	0.22
リュウ1-極体3	8月9日	21	平均	24.8	15.5	8.8	0.34	37.3	56.3	83.2
			標準偏差	4.4	2.7	1.9	0.22	2.7	3.5	18.8
			変異係数	0.18	0.17	0.21	0.65	0.07	0.06	0.23
リュウ2-対照	8月10日	53	平均	22.2	14.4	6.6	0.21	34.8	44.7	57.1
			標準偏差	4.8	2.9	1.9	0.15	2.5	4.6	13.2
			変異係数	0.21	0.20	0.29	0.71	0.07	0.10	0.23
リュウ2-ヘテロ	8月10日	49	平均	22.5	14.3	6.9	0.20	36.5	48.0	62.8
			標準偏差	4.5	2.7	1.7	0.12	2.4	4.7	19.7
			変異係数	0.20	0.19	0.24	0.61	0.06	0.10	0.31
リュウ2-ホモ	8月10日	50	平均	21.3	13.5	6.8	0.18	36.8	49.9	67.2
			標準偏差	4.2	2.5	1.7	0.11	2.2	4.1	14.8
			変異係数	0.20	0.19	0.24	0.62	0.06	0.08	0.22
リュウ2-極体	8月10日	38	平均	22.8	14.6	7.6	0.23	36.2	51.9	71.8
			標準偏差	3.4	2.2	1.3	0.11	2.7	3.5	18.0
			変異係数	0.15	0.15	0.17	0.45	0.07	0.07	0.25
リュウ3-ホモ	8月9日	35	平均	22.0	14.1	7.0	0.22	35.4	48.9	67.9
			標準偏差	4.6	2.7	2.0	0.17	2.2	5.1	17.5
			変異係数	0.21	0.19	0.29	0.75	0.06	0.10	0.26

キングョクロンの性転換-III

鯉江秀亮・水野正之・都築 基

キーワード；キングョ，メチルテストステロン，性転換

目的

現在、クロンの実用化を図るため染色体操作によるクロンの作出を行っているが、この方法では、相同染色体が同型のクロン（ホモ型クロン）以外作出できない。ホモ型クロンは、遺伝的に近交係数が最も大きく、近交弱性が現われる可能性が高い¹⁾。そのため、一部のクロンを性転換し、これを別のクロンと交配させて相同染色体が異型のヘテロ型クロンを作った方が、利用価値は高いと考えられる。また、染色体操作によらない通常交配であれば、ふ化率及び歩留りの向上も期待できる。

平成12年度のメチルテストステロン濃度0.1, 1.0, 2.0 ppmの配合飼料給餌による試験結果では1.0ppmで最も雄化率が高かったことから、本年度は、より濃度区分を細かく設定して性転換率を調査した。

材料及び方法

(1) 供試魚とホルモン

試験には、平成13年4月9日に成熟した2世代雌性発生魚（平成11年度作出リュウキン）の卵を第2極体放出阻止により発生させた稚仔魚（以下極体魚とする）と、同卵に異なる系統の2世代雌性発生リュウキン及び通常2倍体のリュウキンの精子を受精させ発生させた通常交配の稚仔魚（以下ヘテロ魚と対照魚とする）3群を使った。性転換ホルモンにはメチルテストステロン²⁻⁵⁾を用いた。

(2) ホルモン投与方法と飼育方法

ホルモン投与する試験区は、ホルモンを0.5ppm, 1.0 ppm, 1.5ppm濃度に添加した配合飼料を給餌する3区に分けた。これらの区には、極体魚を使用した。また、コントロール区は、極体魚とヘテロ魚及び対照魚の3群についてホルモン無添加の配合飼料を給餌して、それぞれ0ppm区、ヘテロ魚区、対照魚区とした。各試験開始時の供試魚の全長は7~8mmであった（表1）。収容尾数は、各区それぞれ30尾として15ℓコンテナ水槽で、水温20℃に設定してエアレーションした止水で飼育した。

ホルモン投与期間中の配合飼料は、1日当たり体重の5%を週5~6日与えた。体重は2週間ごとに測定した。ホル

モン投与終了後の配合飼料の給餌量は、試験終了28日（試験開始後通算123日）までは体重の3%、88日（試験開始後通算183日）までは体重の2%とし、その後生殖巣を観察するまで、生残尾数の多かった対照を0.8g、その他を0.5gとした（図1）。アルテミアは、週5~6日試験開始15日まで1日1区当たり千個、それ以降183日後まで2千個を与えた。飼育水の水換えは、1週間に1, 2回全量行った。

表1 試験区及び試験開始時の全長

試験区	使用魚	試験開始時	
		平均全長(mm)	標準偏差
1.5ppm	リュウ1-極体	7.15	0.44
1.0ppm	リュウ1-極体	7.11	0.47
0.5ppm	リュウ1-極体	7.33	0.47
0ppm	リュウ1-極体	7.24	0.38
対照魚	リュウ1-対照	7.78	0.69
ヘテロ	リュウ1-ヘテロ	8.18	0.53

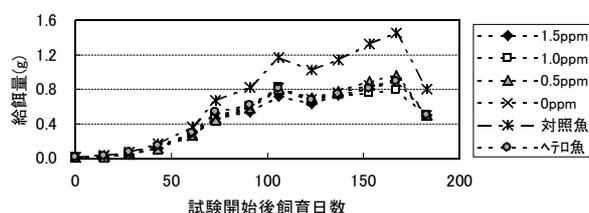


図1 ホルモン試験給餌量

(3) 生残率と成長

ホルモン投与試験中（95日間）及び試験後88日（通算183日）までの間、2週間ごとに生残尾数と体重を測定し、生残率と成長（体重の変化）をみた。

(4) 雌雄の判別方法

各試験区とも12月14日~1月21日にかけて対照魚区は15尾、その他の区は、10尾について生殖組織を顕微鏡観察し雌雄判別を行った。

判別基準は、以下のとおりとした。

精巣の組織があり、水を加えると精子が動くもの	[♂]
精巣の組織らしいものがあるが、 水を加えても精子が動かないもの	[(♂)]
卵巣の組織があり卵母細胞がみられるもの	[♀]
卵巣の組織と思われるもの	[(♀)]
不明なもの	[不明]
精巣と卵巣の両方の組織がみられるもの	[♂♀]

結果

(1) 生残率と成長

試験開始後通算183日までの生残率は対照魚区が93.3%で最も高く、ヘテロ魚区と0~1.5ppm区では43.3~53.3%であった。ヘテロ魚区は試験開始43~61日後に大きく減少した。0~1.5ppm区ではヘテロ魚区と比較するとさらかな減少傾向であった(図2)。

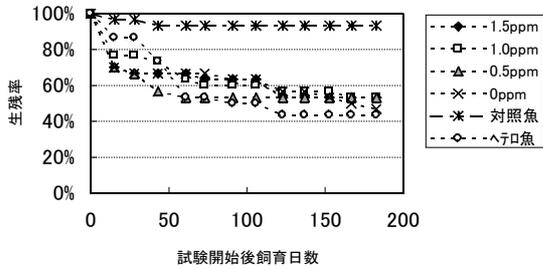


図2 生残率

成長は、通算183日でヘテロ魚区と0ppm区が最も良かった。また、1.0ppm区は途中成長が不良になり6区中最も劣ったが、試験開始91日後までは0ppm区より成長が良く、より高濃度の1.5ppm区でも成長は劣っていなかったことから、原因はホルモン投与ではないと思われた。対照魚区の成長は、生残尾数が多く正確な比較はできないが、

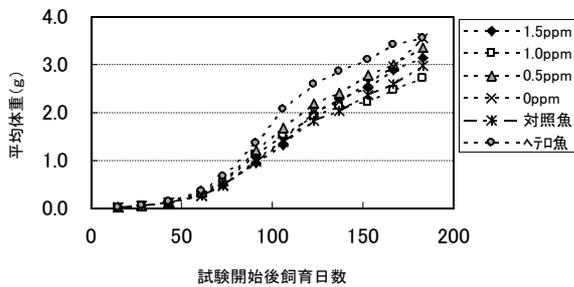


図3 平均体重の推移からみた成長

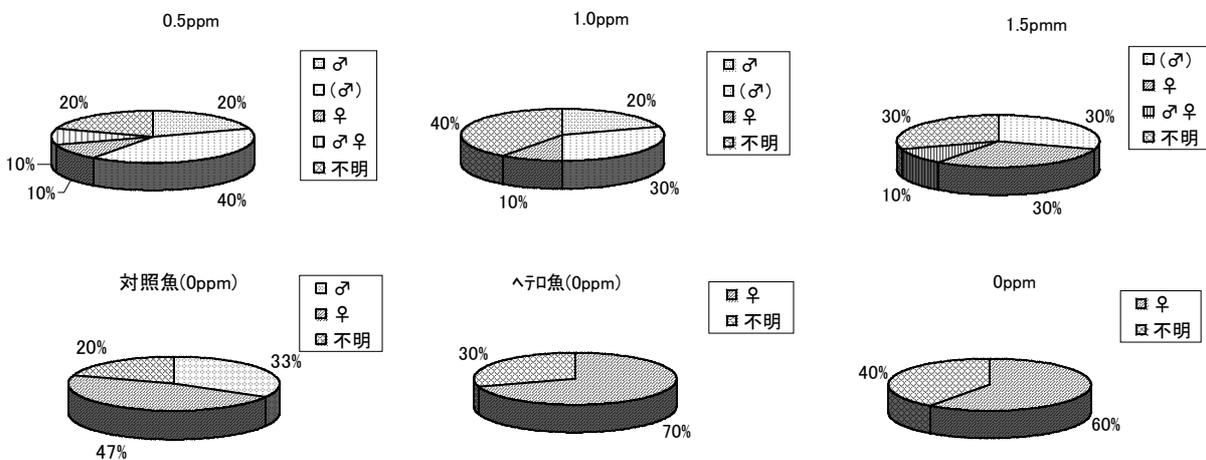


図4 雌雄判定結果

高密度にもかかわらず1.0ppm区より良い結果となった(図3)。

(2) 雌雄判別結果

雌雄判別結果、雄(♂と♂)の出現率で比較すると、0.5ppm区が60%、1.0ppm区が50%、1.5ppm区が30%で、ホルモン処理では、0.5ppm区が最も性転換率が高かった。また、コントロールとした0ppm区やヘテロ魚区では、雄が確認できなかった。通常2倍体との交配である対照魚区では、雄が33%出現した(図4)。

本年度と平成12年度の結果とあわせて考えると、ホルモン濃度は0.5~1.0ppmが適正濃度であると考えられる。

なお、この試験は水産庁補助事業により実施し、その詳細は「平成13年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書」に記載した。

参考文献

- 1) 藤尾芳久・木島明博(1987) 水産育種の基礎, 水産増養殖叢書36. 日本水産資源保護協会, 40-51.
- 2) 岩田靖宏・宮本淳司・高尾允英(1990) キンギョの性転換試験Ⅰ. 愛知県水産試験場業務報告, 33-36.
- 3) 岩田靖宏・宮本淳司・高尾允英(1990) キンギョの性転換試験Ⅱ. 愛知県水産試験場業務報告, 37.
- 4) 田中深貴男・福田一衛・来間明子(1997) キンギョの全雌生産について. 埼玉県水産試験場研究報告 第55号, 9-13.
- 5) 鯉江秀亮・水野正之・都築基(2000) キンギョのクローンの雄性化試験. 愛知県水産試験場業務報告, 54-55.

キンギョの第1卵割阻止型二倍体魚の特性調査－Ⅳ

水野正之・鯉江秀亮・都築 基

キーワード；キンギョ，第1卵割阻止型二倍体，耐病性

目的

染色体操作による雌性発生二倍体作出技術を利用して、耐病性を持ったキンギョが作出可能か検討する。

本年度は、第1卵割阻止による雌性発生魚，第2極体放出阻止による雌性発生魚，及び通常交配魚を作出し、キンギョ養殖で最も発生が多く、被害も大きい寄生虫症の感染試験を行い、寄生虫に強いクローン魚作出用親魚となる第1卵割阻止型雌性発生魚の選抜を試みた。

材料及び方法

雌性発生のための採卵親魚は当所で飼育していた4才ワキンを使用した。

雌性発生に使用した精子は、コイから採精しpH7.0に調整したコイの人工精しょうで100倍に希釈して、8,000erg/mm²の紫外線照射により遺伝的に不活化したものをを用いた。

第1卵割阻止は、成熟卵を20℃の条件下で培精し、34分後に40℃の温水に40秒間浸漬した後、20℃の水に1分間戻し、再び40℃の温水に40秒間浸漬した。

第2極体放出阻止は、成熟卵を20℃の条件下で培精し、5分後に40℃の温水に1分間浸漬した。

通常交配は、成熟卵を20℃の条件下で雄ワキン精子を人工授精した。

試験区は、採卵親魚ごとに通常交配による発生区(Cont.)，第2極体放出阻止区(Me.)，第1卵割阻止区(Mi.)を設定した。

(1) ふ化率

雌性発生させた卵と通常受精卵は20℃の条件下でふ化させ、ふ化仔魚を計数し、ふ化率を求めた。

(2) 寄生虫による感染試験

感染試験には、受精5カ月後まで発病歴がなかった親魚2(W2)のCont.，Me.，Mi.の魚を各27尾使用した。

感染試験に使用した感染源の魚は、海部地区の生産者の池で病気が原因と思われるへい死被害がみられた池を選び、この池の生存魚を採取して感染源として用いた。

生産者の池から40尾を採取し、そのうちの10尾について、事前にヘルペスウイルスの保有の有無、細菌の保有

状況を調べた。ヘルペスウイルスは間接蛍光抗体法で、細菌の保有状況は、BHI培地、普通寒天培地、改変サイトファーガー培地で調べたが、ヘルペスウイルス、細菌は確認されなかった。

また、ウイルス検査、細菌検査で使用した魚の鰓(左第1鰓弁)と体表(左胸鰭)を顕微鏡下で寄生虫付着状況を確認した結果、養殖池で起こっているへい死は寄生虫症によるものと判断し感染試験の感染源として使用した(表1)。

表1 感染源魚の寄生虫付着状況

感染源魚の寄生虫寄生数(1尾平均)		
寄生虫	鰓	体表
ダクチロギルス	15.8	0
トリコディナ	33.8	34.3
ギロダクチルス	2.8	1.8

感染は、試験区分が分かるようにCont.は左胸鰭切除、Me.は右胸鰭切除、Mi.は右腹鰭を切除し試験区ごとの標識とした。供試魚と感染源魚10尾を100ℓ水槽に収容し、10日間同居感染させた。また、感染源魚が入っていない水槽で同様の処置をした陰性対照区も設定した。なお、この間の水温は20℃に設定しフィルターろ過を行った。感染後の飼育は50ℓコンテナ水槽で水量40ℓの止水に収容し、フィルターろ過し水温は20℃に設定して21日間飼育し、発病、へい死状況を調べた。

結果及び考察

(1) ふ化率，受精5カ月後までの生残率

ふ化は受精7日後には終了し、Cont.は52.6%，Me.は34.1%，Mi.は15.5%であった。Mi.はふ化尾数が多かったため、受精5カ月後までの飼育は2区に分けて行った。

受精5カ月後の生残率はCont.は66.0%，Me.が70.0%，Mi.が46.0と48.0%で、ふ化率と同様にMi.が最も低い生残率になった(表2)。

(2) 寄生虫による感染試験

感染試験の感染耐過魚をある程度確保するために、へい死が増加し始めた試験開始4日後以降に、週3回ホルマ

表2 受精後2カ月後から受精5カ月後までの生残率

試験区	ふ化率(%)	受精2カ月後 生残率(%)	受精3カ月後 生残率(%)	受精4カ月後 生残率(%)	受精5カ月後 生残率(%)
W2-Cont.	52.6	92.0	68.0	64.0	66.0
W2-Me.	34.1	98.0	80.0	70.0	70.0
W2-Mi.1	15.5	84.0	56.0	50.0	48.0
W2-Mi.2	※	82.0	54.0	46.0	46.0

※W2-Mi.は、ふ化尾数が多かったため、2区設定した。

リン20ppm, 水産用マゼテン1ppm, マラカイトグリーン0.1ppmの混合液で薬浴しながら寄生虫に強い魚の選抜を試みた。Cont. は試験開始7日後からへい死がみられ累積へい死率は63.0%となった。Me. は試験開始4日後からへい死がみられ累積へい死率は81.5%となった。Mi. は試験開始4日後からへい死がみられ累積へい死率は85.5%となり、ふ化率、5カ月後の生残率と同様に累積へい死率についてもMi. が最も劣る結果となった(図1)。

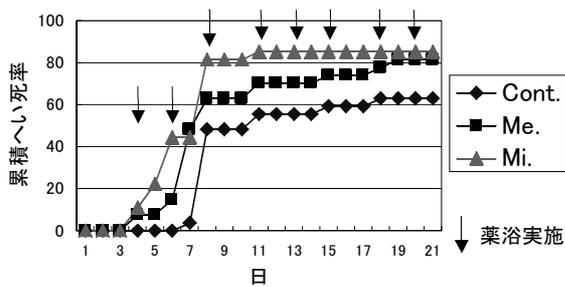


図1 寄生虫感染試験の累積へい死率の推移(親魚2)

感染試験の供試魚には、発病歴のない健康と考えられる魚を用いたことや、感染源の魚には、寄生虫の他には病原体が付着していなかったことから、へい死は寄生虫によるものと判断した。

昨年度行ったヘルペスウイルスによる感染試験では、キンギョのヘルペスウイルスに感受性を示す株化細胞がないことからウイルス力価を求めることができず、過度な選抜強度で感染試験を行い、ある程度ヘルペスウイルスに強い魚もへい死している可能性も考えられる。寄生虫による感染試験の場合も、選抜強度が強すぎたためかへい死率がかなり高くなり、最終的にほとんどの魚がへい死する場合もある。そして、ウイルスでも寄生虫でも感染試験での選抜強度を常に一定することができないため、年度によって病気に強い魚の基準が異なってしまう。

また、当所では採卵可能な親魚に育てるまでに最低2年を要するが、感染耐過魚は水温変化等の飼育環境の変化をきっかけに病気が発症、へい死することが多い。

しかし、これまでの感染試験の結果から、第1卵割阻止型雌性発生魚の中にも病気に強いと思われる魚も存在する。このため、耐病性クローン作出の可能性はあると思われる。

今後、クローンの病気に対する感受性など基礎試験に取り組むとともに、耐病性を持つ魚を広くさがし求めてこれを元としてクローン化を目指すことが、より実用的な方法と考える。

なお、この試験は水産庁補助事業により実施し、その詳細は「平成13年度先端技術等地域実用化促進事業報告書」に記載した。

作出クローンのクローン化確認と特性調査

鯉江秀亮・水野正之・都築 基

キーワード；キンギョ，クローン，鱗移植，DNAフィンガープリント

目 的

作出したクローン群についてクローン化の確認をし、これらが、どのような特徴を持っているか、また、染色体操作によるクローン化により系統的にどのような変化がみられたかを調査し、クローン技術利用の可能性を検討する。

材料及び方法

(1) クローンの系統

クローン化の確認と体型調査は、平成12年度作出のアルビノリュウキンクローン (GA1-C.)¹⁾ とリュウキンクローン (GR1-C.)¹⁾ について、比較的体型の良い個体を選抜し屋外水槽で飼育していた個体について行った。

(2) クローン化の確認

クローン化の確認は、GA1-C. とGR1-C. とそれらの作出卵と通常2倍体魚の精子と受精させ発生させた魚（対照魚）¹⁾ について、鱗移植とDNAフィンガープリントで行った。鱗移植は、各群5尾を使用し、同クローン間で5枚ずつ鱗を移植し、脱鱗の有無、鱗色素（特にグアニン色素）の変化を調べ判定した。DNAフィンガープリントは、各群につき5～6尾の尾鰭からTNES-UREA法によりDNAを抽出し、制限酵素はHinf I を、プローブは (GGAT)₄ を使用して分析した。

(3) 体型比較

GA1-C. とGR1-C. について、全長、尾叉長、体長、体高、体幅、体重を調査し、

尾鰭長割合 [(全長mm－体長mm) / 全長mm × 100]

体高比 [体高mm / 体長mm × 100]

体幅比 [体幅mm / 体高mm × 100]

肥満度 [体重 g / (体長cm)³ × 10³]

を算出して体型比較を行った。

結果及び考察

(1) クローン化の確認

鱗移植の結果、GA1-C. とGR1-C. は、すべての個体で移植した5枚の鱗のうち少なくとも1枚以上に4カ月経って



図1 鱗移植できたクローン
(上：GA1-C. ， 下：GR1-C.)

も脱鱗や色素の崩壊がなかったため、鱗移植が可能と判断した。各対照魚では、すべての鱗について脱鱗、グアニン色素の崩壊が2カ月以内にみられた。鱗移植できた代表的な例を図1に示す。

DNAフィンガープリントでは、各クローン群で不一致するバンドはみられず、対照魚では不一致するバンドがみられた。

これら2つの方法によりGA1-C. とGR1-C. はクローン化したと判断した。

(2) 体型比較結果

今回の調査は、ふ化してから約1年1カ月後の調査で、全長、尾叉長、体長、体重、尾鰭長割合は、GR1-C. がGA1-C. より大きく、体高、体幅、体高比、体幅比、肥満度は、逆にGA1-C. がGR1-C. より大きい結果となった（表1）。また、体長と尾鰭長割合、体高比、体幅比、肥満度

の相関図（図2）をみると、尾鰭長割合はGR1-C.が、体高比、体幅比、肥満度はGA1-C.が明らかに大きいことがわかった。平成12年度の各クローン群の体型調結果では、体長、尾鰭長割合、体高比、肥満度で群間にこれほどの大きな差はみられなかったが、成長するに従い体型の違いが明確となり大きな差が生じたと考えられた。

なお、この試験は水産庁補助事業により実施し、その詳細は「平成13年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書」に記載した。

参考文献

- 1) 愛知県水産試験場（2001）キンギョクローンによる優良形質固定化技術の開発。平成11年度地域先端技術共同研究開発促進事業報告書。

表1 体型測定結果

測定尾数		全長(mm)	尾又長(mm)	体長(mm)	体高(mm)	体幅(mm)	体重(g)	尾鰭長割合	体高比	体幅比	
'00GA1-C.	19	平均	75.0	55.2	44.5	33.6	21.7	12.8	40.8	75.8	49.0
		標準偏差	8.8	6.9	6.1	4.0	2.3	4.8	2.4	5.2	3.5
		変異係数	0.12	0.13	0.14	0.12	0.11	0.37	0.06	0.07	0.07
'00GR1-C.	33	平均	96.5	68.1	54.1	32.7	20.1	15.7	44.0	60.5	37.3
		標準偏差	9.6	7.5	6.0	3.9	2.2	4.7	2.0	3.3	3.0
		変異係数	0.10	0.11	0.11	0.12	0.11	0.30	0.05	0.05	0.08

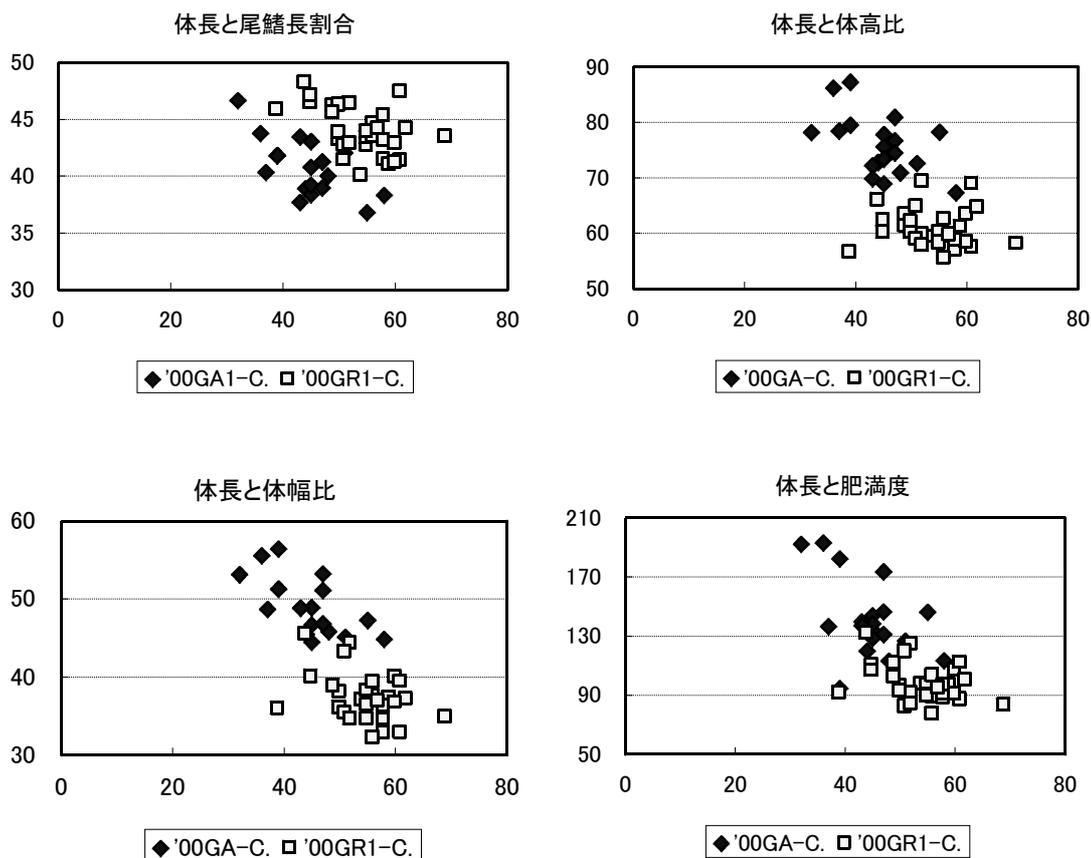


図2 体長と尾鰭長割合、体高比、体幅比、肥満度の相関図

(8) 河川環境影響物質循環調査

柳澤 豊重・澤田 知希・中川 武芳

キーワード；矢作川，窒素，リン，珪素，季節変化，負荷域

目 的

河川に負荷される環境影響物質の動態，循環，負荷域，生態系からの取り出しを明らかにし，河川漁場，河口域漁場の健全な維持に寄与することを目的とする。本年度は，対象である矢作川の支流から流入する負荷物質濃度の変動，負荷量，及び本流への影響を解明する。

方 法

- (1) 矢作川に流入する主要支流の溶存態窒素，リン，珪素濃度の季節変化を把握する。
- (2) 各支流の流量を測定し，上記環境影響物質の矢作川への流入量を把握する。
- (3) 矢作川本流の最上流から感潮域までの環境影響物質濃度の変化及び季節変化を把握する。

このため，矢作川の主要な支流15河川，本流の18地点において，2001年4月から1月1回溶存態窒素，リン酸態リン，ケイ酸態ケイ素の濃度を測定した。9月に大雨後の状況を観測し，11月に支流の流量を測定した。

結果と考察

- (1) 矢作川支流の環境影響物質の特徴と本流への流入量

① 溶存態窒素

支流での溶存態窒素濃度の季節変化を図1に示した。主に山間部から流入する上流～中流の9支流及び巴川の溶存態窒素濃度は20～50 μ Mであり，支流による差，季節変化が小さかった。しかし，下流の田畑，市街地を通過して流入する，飯野川，籠川，青木川，乙川，鹿乗川では春，秋の濃度が高く200 μ Mを越す場合があり，夏期は50～100 μ Mと低い明瞭な季節変化がみられた。

上流の支流ではNH₄-N濃度は極めて低いが，下流の支流である青木川，乙川，鹿乗川では溶存態窒素の50%程度となる場合もあり，他河川と比べ特異的である。

上流部支流と下流部支流では溶存態窒素の起源が異なることが示唆される。

11月調査時点の15支流からの本流への総流入量を図2に示した。負荷量の支流別割合は，上村川8.5%，籠川7.4%，巴川16.4%，乙川29.9%，鹿乗川16.7%であり，この5支流で78.9%を占めた。上流域では上村川が窒素の負荷

に大きな影響力を持っていた。

② リン酸態リン (P04-P)

上村川，名倉川，根羽川，段戸川の濃度はいずれも四季を通じ0.3 μ M程度であったが，大雨後の調査であった9月には2～3倍に濃度が高まった。明智川，田代川，飯野川では春から夏に濃度が高まり秋に低下する明瞭な季節変化がみられた。3支流とも，0.8（春，秋）～1.6（夏） μ Mの間で季節変化し，犬伏川，巴川では0.2（春，秋）～0.8 μ M（夏）の間で同様な季節変化を示した。これらの支流では9月の大雨後の濃度急増はみられなかった。籠川，乙川では，いずれも春に極めて濃度が高く4.0 μ M程度であったが，以後徐々に減少した（10月：籠川2.0，乙川1.0 μ M）。鹿乗川は5.0～に8.0 μ M間で増減した。これらの3支流でも9月の雨後の濃度急増はみられなかった。リン酸態リン濃度の変化からは矢作川の支流は上記グループに大別され，各々リン酸態リンの起源が異なることが示唆される。

11月調査時点の15支流から本流に流入したリン酸態リン (P04-P) 量は63.4kg/dayであった。負荷量の支流別割合は，明智川10.0%，籠川12.2%，巴川11.1%，乙川21.5%，鹿乗川30.1%であり，この5支流で84.9%を占めた。上流域では明智川がリン酸態リンの負荷に強い影響力を持っていた。

③ 溶存態ケイ素 (Si(OH)₄-Si)

4月～8月では15支流の各濃度は概ね150～250 μ Mであり，支流差，季節差は極めて小さかった。9月の大雨後の観測では山間部から流れる7支流（1支流欠測），及び乙川では50～100 μ Mに低下した。田畑，都市部を通過して流入する6支流では150～200 μ Mまで低下した。

(2) 環境影響物質から見た矢作川本流各部の特徴

① 溶存態窒素

奥矢作ダム上流から明治用水ダムまでの濃度は，20～30 μ Mであり，地点による差，季節変化は小さかった。また，この区間ではNH₄-N，NO₂-N濃度は極めて低かった。明治用水ダムから下流では急激に濃度が高まり，春秋は100～180 μ M，夏に50 μ Mと季節変化を示した。この区間での濃度の変化は前述した支流からの負荷によると考えられる。

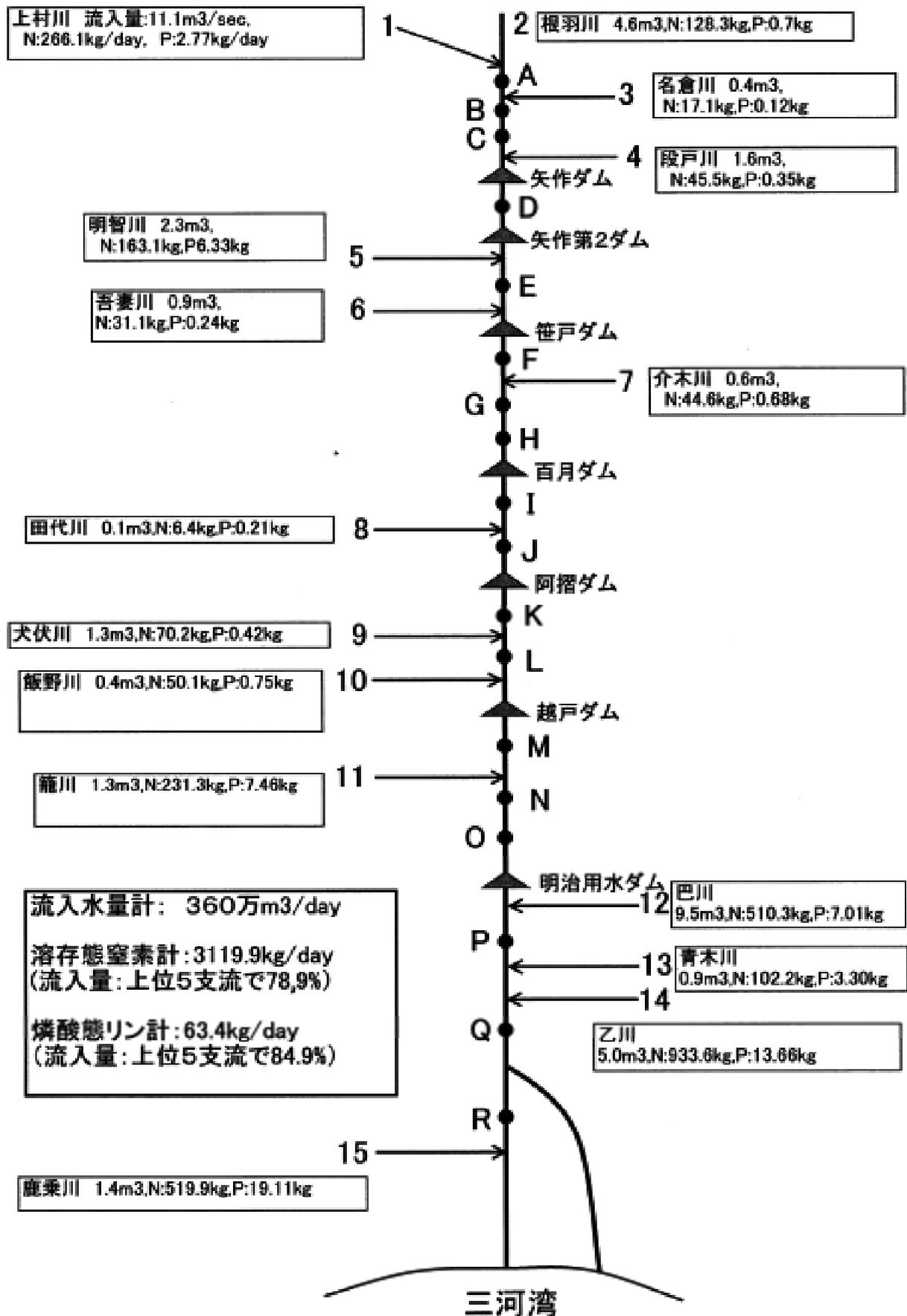


図2 矢作川支流流量 (m³/sec) と本流への溶存態窒素・磷酸態リン流入量 (kg/day) -2001. 11月-

② リン酸態リン

奥矢作ダム上流から明治用水ダムまで15点の濃度は0.2 μM 程度であり、地点による差、季節変化は小さかった。明治用水ダムから下流では急激に濃度が高まり2~3 μM となった。この区域に流入する支流の影響と考えられる。

③ 溶存態ケイ素

奥矢作ダム上流から感潮域に近い米津まで150~200 μM であり、上流下流間の濃度変化は極めて小さかった。しかし、ダムの上下で急激に濃度が変化する現象が観測されている（4月：百月ダム流入部189.5→流下部25.5 μM ，足摺ダム流入部179.3→流下部53.9 μM ，明治用水ダム流入部196.8→ダム内濃度65.5 μM ，7月：奥矢作ダム流入部180.5→流下部52.4 μM ，百月ダム流入部104.2→流下部56.5 μM ）。窒素，リン濃度の減少は小さく，ケイ素のみが大きく減少するため3者のバランスは著しく崩れることになる。溶存珪素の減少はダム内の植物プランクトンによる消費を伺わせる。

④ 矢作川本流の区分と三河湾への影響

矢作川本流は、環境影響物質濃度からみると明治用水ダム（巴川流入部）を境に明瞭に2区分される。三河湾へ流出する環境影響物質は、本流の上流ではなく明治用水ダム下流に流入する支流の強い影響を受けていると考えられる。このため、三河湾への負荷軽減を検討する場合には、これらの支流、及びその後背地に焦点をあてた対策が効率的であると考えられる。

(3) 環境影響物質の流入から見た適切な矢作川維持流量の検討

前述の結果を別の視点から見ると、明治用水ダムから下流では、本流が環境影響物質濃度の高い支流水を希釈していると考えられる。このため、高濃度の環境影響物質を嫌う魚類（特に稚魚）の河川遡上には、本流の希釈効果（維持流量）が重要な役割をはたしている。水産用水基準によるとアユに影響を及ぼす $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は0.2mg/ℓ（14.3 μM ）である。籠川，巴川，青木川，乙川，鹿乗川をあわせた $\text{NH}_4\text{-N}$ 流入量は6,788mg/secであった（11月観測値）。また、上記5支流からの流入水量は18,100 ℓ/secであった（11月観測）。一方、矢作川本流（中流域）の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は0.01mg/ℓ（0.7 μM ）程度であるから、本流に流入してから河口までの間の酸化，消費等による $\text{NH}_4\text{-N}$ の減少率を20%と仮定すると、河口で水産用水基準をクリアする $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度にする本流の流量は9.5 $\text{m}^3/\text{秒}$ となる。この結果は矢作川維持流量を検討する「矢作川魚類会議（国土交通省主催）」で紹介し、矢作川維持流量検討の参考に供した。

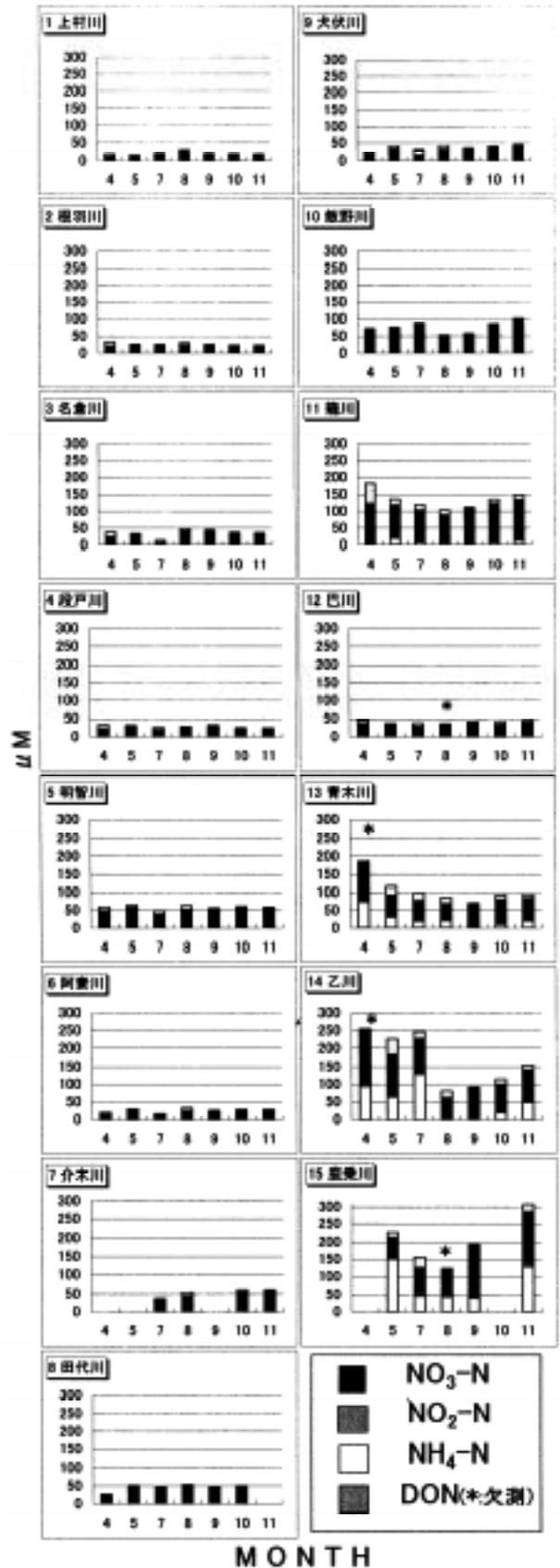


図1 矢作川支流の溶存態窒素濃度季節変化