

増養殖技術開発事業 (ヒラメの雌性発生)

藤川裕司・山田 正

本事業は、ヒラメ種苗の全雌化を目的として平成元年度より5ヵ年計画で行っている。今年度は、第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の作出および平成1、2年度に作出した偽雄の特性について検討を行った。

方 法

実験1 平成3年4月12日と4月27日には、それぞれ全長467mm、550mmの天然魚、5月8日には2～4歳の養成親魚より採卵を行い、同時に養成親魚の雄より採精し、第2極体放出阻止型の雌性発生2倍体を作成した。この作成方法は、平成元年度の鳥根県水産試験場事業報告に詳しく記載されている。また、このとき正常雄とのかけ合わせによる、正常発生群も作成した。作成した雌性発生2倍体および正常発生2倍体は、その一部を着底前に、雌性ホルモンの β -エストラジオール(E_2)と雄性ホルモンの17-メチルテストステロン(Me)で処理する飼育区へ分槽した。雌性ホルモンおよび雄性ホルモンの使用法は、それぞれ $10\mu\text{g}/\ell$ 、 $5\mu\text{g}/\ell$ の濃度の1日当たり2時間の浸漬処理とした。ふ化後168～222日に開腹して、生殖腺の観察より雌雄の判定を行った。

実験2 平成3年5月15日に、2～4歳の養成親魚より採卵を行い、同じに平成元年および2年に作成した偽雄より採精し媒精した。また、鳥根県水産試験場より譲り受けた偽雄の精子との間で媒精した群も作成した。同時に、正常雄とのかけ合わせによる正常発生群も作成した。これらの作成魚は、着底前に分槽を行い、その一部に雌性ホルモンによる1日当たり2時間の浸漬処理、および飼育水の冷却による水温 20°C の恒温飼育を行った。ふ化後154～191日に開腹して、生殖腺の観察より雌雄の判定を行った。

飼育方法 飼育は当初 100ℓ の透明なポリカーボネイト水槽で行ったが、ふ化後約100日で1トン水槽へ移した。この際、数種の異なる実験群を同一水槽に収容したが、それらの区別は魚体の無限側に色の違うラテックス(入れ墨)を注射器で注入して行った。飼育水はふ化後、約100日までは、 60μ の濾過海水を紫外線照射装置を通して用いた。日齢3日までは止水としたが、日齢5～10日は0.5～1回転/日、その後は1～3回転/日とし、さらに日齢30日以降は回転率を上げた。餌料系はワムシーアルテシア配合餌料(K社)とした。ワムシはナンノクロプシスのみで生産したものを用いた。アルテミアは乳化オイルで24時間2次培養したものを用いた。

結 果

実験1 平成3年4月12日, 4月27日および5月8日に行った, 雌性発生2倍体作出の5実験の雌雄の判定結果を表1~5に示した。また, そのときの飼育水温を図1, 2に示した。

表1 第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の性比(実験1-G, H3.4.12作出)

作出法	実験No.	処 理	雌 : 雄		雌 : 雄 (%)	
正 常 発 生	1-N	無処理	21	4	84	16
"	1-N-E ₂	E ₂	7	1	88	12
雌性発生2倍体	1-G	無処理	14	0	100	0
"	1-G-E ₂	E ₂	5	0	100	0
"	1-G-Me	Me	0	9	0	100

E₂: 雌性ホルモン処理, Me: 雄性ホルモン処理 ホルモン処理の期間はふ化後 35~100日

表2 第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の性比(実験2-G₁, H3.4.27作出)

作出法	実験No.	処 理	雌 : 雄		雌 : 雄 (%)	
正 常 発 生	2-N ₁	無処理	へい死			
雌性発生2倍体	2-G ₁	無処理	へい死			
"	2-G ₁ -Me	Me	測定せず			

表3 第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の性比(実験2-G₂, H3.5.8作出)

作出法	実験No.	処 理	雌 : 雄		雌 : 雄 (%)	
正 常 発 生	2-N ₂	無処理	0	1	0	100
"	2-N ₂ -E ₂	E ₂	18	3	86	14
雌性発生2倍体	2-G ₂	無処理	1	7	13	87
"	2-G ₂ -E ₂	E ₂	13	0	100	0
"	2-G ₂ -Me	Me	測定せず			

E₂: 雌性ホルモン処理, Me: 雄性ホルモン処理 ホルモン処理の期間はふ化後 33~99日

表4 第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の性比(実験2-G₃, H3.5.8作出)

作出法	実験No.	処 理	雌 : 雄		雌 : 雄 (%)	
正 常 発 生	2-N ₃	無処理	16	13	55	45
雌性発生2倍体	2-G ₃	無処理	12	1	92	8
"	2-G ₃ -Me	Me	測定せず			

表5 第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の性比(実験2-G₄, H3.5.8作出)

作出法	実験No.	処理	雌:雄	雌:雄(%)
正常発生	2-N ₄	無処理	8 17	32 68
雌性発生2倍体	2-G ₄	無処理	3 1	75 25
”	2-G ₄ -Me	Me	測定せず	

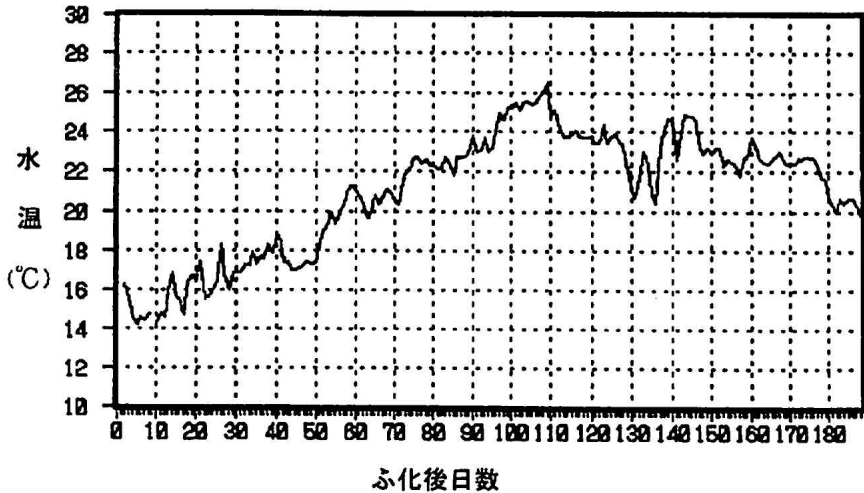


図1 平成3年4月12日作出群の飼育水温

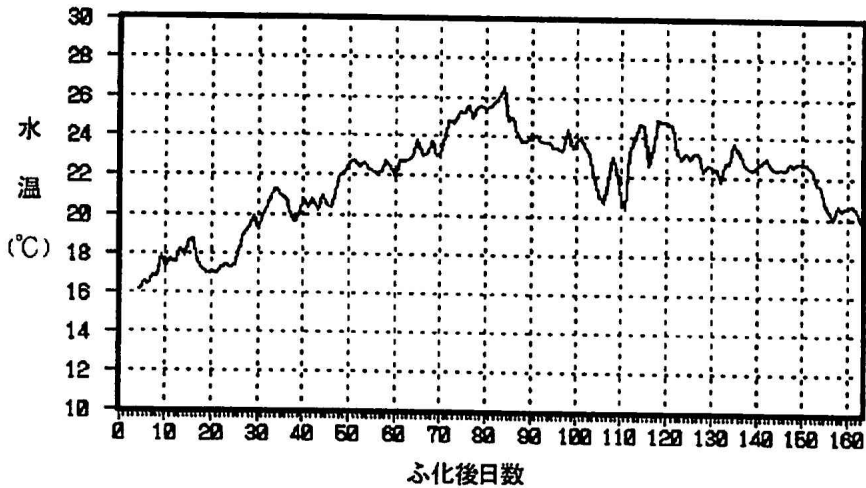


図2 平成3年5月8日作出群の飼育水温

実験1-Gにおいて、正常発生の無処理およびE₂処理において、それぞれ雌は84%、88%の高率で出現したのは特徴的である(表1)。このとき、雌性発生2倍体の無処理では、雌は100%であった(表1)。また、実験2-G₂でも、正常発生のE₂処理で雌は86%の高率で出現した(表3)。

なお、実験1-G、2-G₂とも雌性発生2倍体のE₂処理は、100%が雌となっているので、両作出群とも遺伝的には雌となっていることが確かめられた(表1、3)。実験1-G₁は、Me処理区以外は、すべて飼育過程(ふ化後44~45日)でへい死した(表2)。実験2-G₃、2-G₄の雌性発生2倍体の無処理では、それぞれ92%、75%で雌が出現した(表4、5)。

実験2 正常雌と偽雄とのかけ合わせによる作出魚の、雌雄の判定結果を表6、7に示した。なお、表6、7は同一の偽雄の群(個体は違う)を用いて実験の反復を行った結果を示している。この飼育期間における、飼育水温の経日変化を図3、4に示した。実験3では、正常発生群において無処理区、E₂処理区ともに100%が雌となり、同時に作出した20℃飼育区においても雌は95%と高率なものであった(表6)。偽雄とのかけ合わせの作出群は、無処理では76~100%が雌となり、20℃飼育群では93~100%と高率で雌が出現した(表6)。なお、このとき同時に作出したE₂処理では、すべての実験群で100%が雌になっていることから、遺伝的には雌となっていることが確かめられた。実験4では、正常発生の無処理では100%が雌となり、20℃飼育では88%が雌となった。偽雄とのかけ合わせの作出群では、無処理区では53~100%が雌であったが、20℃飼育では83~100%が雌となった。

表6 雌性発生2倍体雄(偽雄)と正常雌との次世代の性比(実験3, H3.5.15作出)

作出法	実験No.	処理	雌 : 雄		雌 : 雄 (%)	
正常発生	3-N ₉	無処理	19	0	100	0
"	3-N ₉ -E ₂	E ₂	24	0	100	0
"	3-N ₉ -20℃	20℃	18	1	95	5
正常雌×偽雄	3-G S ₈	無処理	20	0	100	0
"	3-G S ₈ -E ₂	E ₂	26	0	100	0
"	3-G S ₈ -20℃	20℃	9	0	100	0
"	3-G S ₁₂	無処理	16	5	76	24
"	3-G S ₁₂ -E ₂	E ₂	13	0	100	0
"	3-G S ₁₂ -20℃	20℃	13	1	93	7
"	3-G S T	無処理	11	0	100	0
"	3-G S T-E ₂	E ₂	20	0	100	0
"	3-G S T-20℃	20℃	へい死			
"	3-G T ₂	無処理	16	1	94	6
"	3-G T ₂ -E ₂	E ₂	19	0	100	0
"	3-G T ₂ -20℃	20℃	23	0	100	0

E₂: 雌性ホルモン処理(ふ化後33~95日)

20℃: 水温20℃による恒温飼育(ふ化後35~96日)

表7 雌性発生2倍体雄（偽雄）と正常雌との次世代の性比（実験4，H3.5.15作出）

作出法	実験No.	処 理	雌 : 雄	雌 : 雄 (%)
正 常 発 生	4-N ₉	無処理	35 0	100 0
"	4-N ₉ -20°C	20°C	29 4	88 12
正常雌×偽 雄	4-G S ₈	無処理	45 1	98 2
"	4-G S ₈ -20°C	20°C	20 4	83 17
"	4-G S ₁₂	無処理	28 0	100 0
"	4-G S ₁₂ -20°C	20°C	26 0	100 0
"	4-G S T	無処理	9 8	53 47
"	4-G S T-20°C	20°C	11 0	100 0
"	4-G T ₂	無処理	26 0	100 0
"	4-G T ₂ -20°C	20°C	24 0	100 0

20°C：水温20°Cによる恒温飼育（ふ化後35~96日）

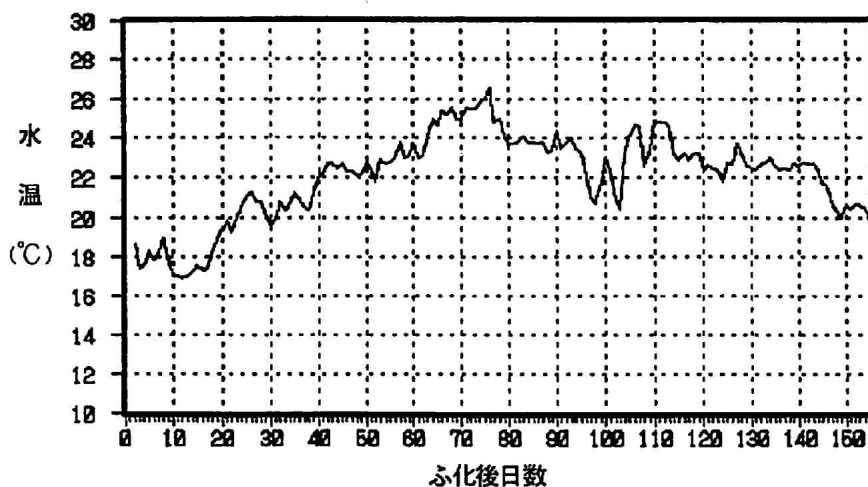


図3 平成3年5月15日作出群の飼育水温

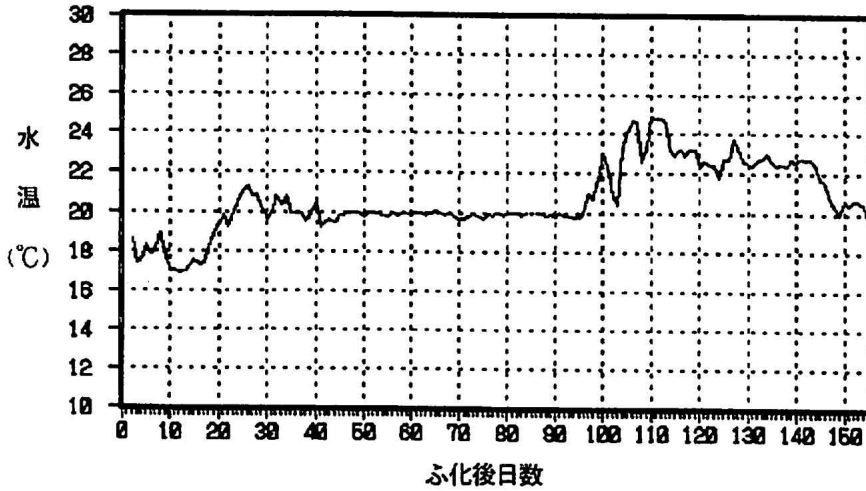


図4 平成3年5月15日作出群の20°C恒温飼育群の飼育水温

考 察

実験1-Gの正常発生の無処理で、雌の出現率は84%と高い値を示している(表1)。また、同時に行った、E₂処理においても雌の割合は88%となっている(表1)。実験2-G₂においては、正常発生のE₂処理で雌の出現率は86%と高率となっている(表3)。実験3においても、正常発生の無処理は雌の出現率は100%となり、E₂処理においても100%が雌となった(表6)。実験4においては、正常発生の無処理で雌が100%となった(表7)。一般的には、雌の出現率は正常発生の無処理では50%以下、E₂処理では50%と考えられる。というのは、正常発生魚は遺伝的に雌の個体が50%含まれていると考えられるが、無処理では一部が性転換により雄化するし、E₂処理では遺伝的雌の個体はすべて雌になるからである。ところが、本実験においては高率で雌が出現するケースが多く認められた。この原因として考えられるのは、このとき用いた正常雄が偽雄であった、あるいは飼育に用いた配合餌料に雌化を促進する物質(雌性ホルモンの物質)が含まれていたことが考えられる。