

ヒメマス全雌魚・性転換雄魚・全雌三倍体魚の作出について

高橋一孝

ヒメマス *Oncorhynchus nerka nerka* は食用にする場合、黒ずんだ成熟魚より銀色の未熟魚の方が珍重される傾向にある。また、一般に雄の方が雌より早熟な傾向にあることから¹⁾、種苗生産の現場では全雌魚の方が有利である。全雌魚の作出には性転換雄魚の使用が不可欠であり、性転換の方法としてはメチルテストステロン(以下MT という)による方法^{2, 3)}や、ふ化開始直前からの高温処理^{4, 5)}が有効とされている。

そこで、当所ではニジマスに代わる新しい養殖対象魚種を模索する中で、本県を生息分布の南限とするヒメマスに注目した。今回、既往の文献資料に従い、ヒメマスの雌性発生魚にMT 投与を行って性転換雄魚を作出し、さらにこの魚を用いて全雌魚・性転換雄魚・全雌三倍体魚を作出させたので、その結果を報告する。

材料及び方法

実験1で極体放出阻止による雌性発生と性転換雄魚の作出、実験2, 3で性転換雄魚による全雌、全雌三倍体魚の作出を行った。実験1の供試魚は当所産ヒメマス3年雌魚9尾、雄魚はニジマスとヒメマス3年魚を1尾ずつ使用した。採卵日は2007(H19)年9月28日、発眼日は10月22日、ふ化開始日は11月7日(対照区)及び10日(雌性発生区)から29日頃までであった。卵は切開法で採卵し、媒精20分後に圧力650気圧5分間、あるいは水温26°C20分間の処理を行い、個体別に染色体数の倍数化を図った。水温処理による性転換(120尾)はふ化開始日の11月7日から22日まで15日間、18°C(ふ化用水は12°C)の処理を行った。MTによる性転換(47尾)はふ化の終了した12月7日から浮上した17日までの間に(10日間)、週2回(計5回)、10μg/Lの濃度で浸漬処理を行った。その後は市販の配合飼料で餌付けを行い、毎月1回程度体重測定を行った。飼育は2008年4月28日までは64×44×同23cm(65L)のプラスチック水槽で、また、2008年12月28日以降は油鰭を切断し、4.8×1.5×有効水深0.43m(3トン)の屋内コンクリート池に移動させて行った。飼育水は12°Cの地下水を掛け流す流水式とした(注水量1.2L/秒)。給餌は市販の配合飼料を自動給餌器(フードタイマー)で1日6回適宜投与した。成魚は1日3回手撒きにて給餌した。

実験2の供試魚は2009年10月13日に、当所産ヒメマス3年雌魚10尾と実験1の性転換雄魚のうち成熟した2年雄魚1尾(体重418g)を使用した(図1)。卵は切開法で採卵し、乾導法により受精させた。卵は1粒卵重131.0mg、1尾採卵数869粒であった。発眼日は11月13日、ふ化開始日は12月14日であった。12月15日にふ化稚魚を200尾ずつ採取し、水温処理とMTによる性転換雄魚の作出を図った。水温処理は飼育水をサーモ付きヒーターで18°Cに設定したプラスチック水槽内(26×40×有効水深16cm, 16.6L)で12月29日までの14日間、MT処理は100μg/Lの濃度による浸漬法で、12月28日までの13日間に、週3回(計6回)行った。飼育は止水方式とし、酸素欠乏を防ぐためエアストーンで通気を行い、蒸発や水の汚れが顕著な場合には適宜注水・換水を行った。給餌は市販の配合飼料を実験1と同様に行った。水温処理終了後は12°Cの地下水を掛け流す流水式とした。2010年8月27日に処理群の魚を30尾ずつ解剖し、生殖腺の形状から雌雄判別を行った。



図1 ヒメマス雄魚と精巢

実験3の供試魚は、実験2の性転換雄魚のうち、3年魚として成熟した魚を使用した。雌魚は2010年9月6日と17日に産卵した6尾と8尾の卵をその都度プールして用いた。卵はそれぞれ1粒卵重133.7mg, 117.6mg, 1尾採卵数971粒, 861粒であった。発眼日はそれぞれ9月30日, 11月13日, ふ化開始日は10月22日, 11月2日であった。三倍体化は媒精20分後に26°C20分間の水温処理を行った。MT処理は11月19日~11月26日

Takahashi Kazutaka

までと、11月26日～12月3日までの間に、それぞれ4回（週3回の頻度） $100\mu\text{L}$ の濃度で浸漬した。今年度は浸漬の開始時期が遅れたため、続いて11月29日～12月27日までの29日間と、12月6日～12月27日までの21日間、MTの経口投与（ 0.5mg/kg 飼料）を行った。2011年3月15日に尾柄部の切断を行って採血し、常法により三倍体化率を判定した。また、7月1日に処理群の魚を20～30尾ずつ解剖し、生殖腺の形状から雌雄判別を行った。

結果及び考察

実験1

ヒメマスの個体別雌性発生の結果及び集計を表1, 2に示す。対照区の平均発眼率は59.2%、平均正常ふ化率は48.5%であったのに対し、試験区の平均発眼率は水温5.3%、圧力7.6%、平均正常ふ化率は水温2.0%、圧力5.7%であった。試験区ではいずれも水温処理より圧力処理の方が高い傾向にあったが、有意差は見られなかった（ t 検定, $p > 0.05$ ）。半数体区は9個体中7個体発眼したが、正常ふ化率はいずれも0%で、精子の不活性化が適切に行われたものと考えられた。水温処理では、対照区の正常ふ化率と倍数化区のそれとの間には相関がなかった（ $R = -0.18$ ）。

18°C 処理群の斃死数の変化を表3に示す。No.1個体は6尾、No.9個体は1尾の合計7尾の生残（5.8%）であった。処理開始直後の斃死が多く、高水温の影響の大きいことが示唆された。さらに飼育を続けたところ、12月7日までにすべての仔魚が斃死したため、試験を終了した。2008年1月7日における試験区（MT投与）の生残率は0.66%であったのに対し、対照区のそれは48.0%であった（表4）。

次にMT投与魚（0年魚）の成長及び生残率を図1, 2に示す。2008年12月18日（1年魚）では29尾生残し（餌付け開始から80.5%）、平均体重は59.6gであった。成長及び生残は通常の飼育例と比べ概ね良好であった。その後、本種の脂鰭をカットし、他群と混合飼育した。2009年10月13日（2年魚）に成熟した雄魚が1尾確認でき、成熟率は3.4%であった（表5）。

表1 ヒメマスの個体別雌性発生 (実験1)

No	倍数化 処 理	供試卵数 (粒)	発眼卵数 (粒)	発眼率 (%)	正常 ふ化数 (尾)	正常 ふ化率 (%)	1粒卵重(mg) 1尾採卵数(粒)
1	cont	93	36	38.7	22	23.7	144.4
	G-C	79	8	10.1	0	0.0	775
	G-2N 水温	603	69	11.4	58	9.6	18°C処理 ※
2	cont	113	47	41.6	45	39.8	125.5
	G-C	88	11	12.5	0	0.0	1,075
	G-2N 水温	874	42	4.8	1	0.1	
3	cont	100	82	82.0	65	65.0	140.2
	G-C	90	1	1.1	0	0.0	1,023
	G-2N 水温	833	53	6.4	19	2.3	
4	cont	114	65	57.0	62	54.4	144.6
	G-C	91	0	0.0	0	0.0	882
	G-2N 水温	677	3	0.4	1	0.1	
5	cont	83	27	32.5	23	27.7	148.2
	G-C	92	5	5.4	0	0.0	667
	G-2N 水温	492	14	2.8	2	0.4	
6	cont	104	37	35.6	11	10.6	132.4
	G-C	87	2	2.3	0	0.0	922
	G-2N 水温	731	13	1.8	4	0.5	
7	cont	120	90	75.0	83	69.2	135.6
	G-C	104	0	0.0	0	0.0	987
	G-2N 水温	51	0	0.0	0	0.0	
	G-2N 圧力	712	0	0.0	0	0.0	
8	cont	116	109	94.0	87	75.0	120.2
	G-C	107	8	7.5	0	0.0	1,127
	G-2N 水温	474	26	5.5	3	0.6	
	G-2N 圧力	430	26	6.0	9	2.1	
9	cont	105	80	76.2	75	71.4	140.0
	G-C	69	6	8.7	0	0.0	763
	G-2N 水温	174	26	14.9	8	4.6	
	G-2N 圧力	415	70	16.9	62	14.9	18°C処理 ※

※ 性転換処理法を示す

※ cont: 対照区、G-C: 半数体区、G-2N: 倍数化区を示す

※ 正常ふ化率: 供試卵数に対する割合を示す

表2 雌性発生の集計

項目	1粒卵重 (mg)	1尾採卵数 (粒)	発眼率(%)			正常ふ化率(%)		
			cont	G-2N 水温	G-2N 圧力	cont	G-2N 水温	G-2N 圧力
平均	136.8	913	59.2	5.3	7.6	48.5	2.0	5.7
標準偏差	9.3	155	23.1	5.0	8.5	23.8	3.2	8.1
測定数	9	9	9	9	9	9	9	9

表3 18℃処理群の斃死数の変化（実験1）

調査月日	No.1 (尾)	No.9 (尾)	合計 (尾)	同比 (%)
ふ化数(尾)	58	62	120	100.0
11月12日	28	14	42	35.0
11月13日	15	14	29	24.2
11月14日	5	15	20	16.7
11月15日			0	0.0
11月16日	2	12	14	11.7
11月17日			0	0.0
11月18日			0	0.0
11月19日	0	5	5	4.2
11月20日			0	0.0
11月21日			0	0.0
11月22日	2	1	3	2.5
合計(尾)	52	61	113	94.2
生残尾数(尾)	6	1	7	5.8

表4 生残率（実験1）

試験区	供試卵数 (粒)	発眼卵数 (粒)	正常 ふ化数 (尾)	取上尾数 (尾)	※1
雌性発生区 (MT処理)	5,448	203	47	36	
	生残率(%)	3.7	0.9	0.66	
	※2	100.0	23.2	17.7	
対照区	948	573	473	455	
	生残率(%)	60.4	49.9	48.0	
	※2	100.0	82.5	79.4	

※1 雌性発生（MT処理）区は1月7日、対照区は12月12日に取上

※2 上段は供試卵数、下段は発眼卵に対する割合を示す

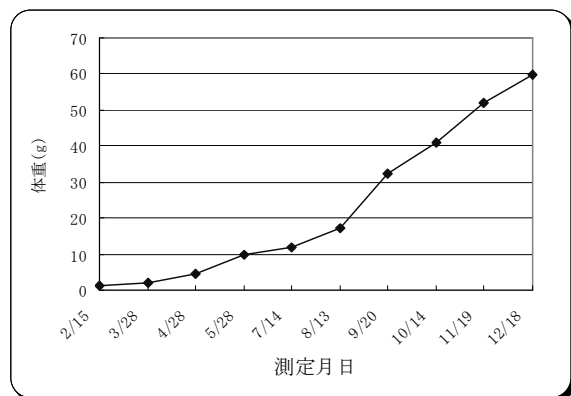


図1 0年魚の成長（実験1）

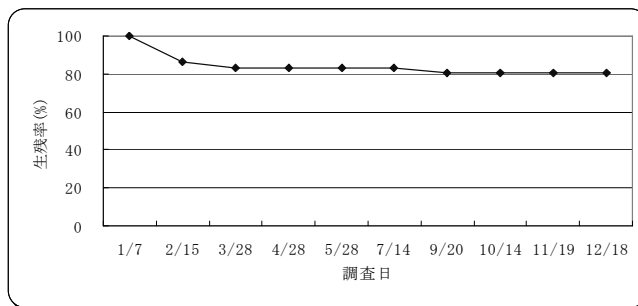


図2 0年魚の生残率（実験1）

表5 性転換雄魚の大きさ

TL(cm)	BL(cm)	BW(g)	肥満度	GW(g)	GSI(%)
30.0	25.7	418	24.6	3.9	0.9

実験2

ヒメマス全雌魚の作出を表6に示す。対照区の発眼率は65.8%，正常ふ化率は43.5%（発眼卵からは66.1%）と高く，卵質は概ね良好であった。一方，試験区の発眼卵からの正常ふ化率は70数%と対照区より少し高めであった。2010年6月23日に対照区の魚の性別を開腹して調査したところ，3尾が不明，9尾が雌魚であった。調査尾数は少ないが

明瞭な雄個体が出現しなかったことから、今回使用した雄魚は性転換した魚である可能性の高いことが判明した（表7、図3）。

次に、8月27日に再度試験区の性転換率を各区とも30尾ずつ調査したところ、水温処理区は雄魚の割合が16.7%と低率であったのに対し、MT処理区は100%であった（表8）。18℃の水温処理で性転換に効果があるとした栃木水試の報告⁵⁾とは異なるため、今後系統による違い等の点も考慮する必要がある。水温処理区はこの時点で飼育を終了し、処分した。

試験区（0年魚）の成長及び生残率を図4.5に示す。2010年11月12日（1年魚）ではMT処理区で138尾（69.0%）生残し、平均体重は12.1gであった。成長は飼育密度が実験1より高く、しかも給餌量が不足していたため、かなり劣った。MT処理区の魚はその後も飼育を継続し、親魚養成を図っている。

表6 ヒメマス全雌魚の作出（実験2）

試験区	供試卵数 (粒)	発眼卵数 (粒)	発眼率 (%)	正常 ふ化数 (尾)	正常 ふ化率 (%)	奇形尾数 (%)	奇形率 (%)
対照区	8,695	5,719	65.8	2,140	43.5	0	0.0
	※		100.0		66.1		
水温処理区		400		285	71.3	5	1.8
MT処理区		400		290	72.5	4	1.4

※発眼卵に対する割合を示す

表7 対照区の性比（実験2）

No.	TL(cm)	BL(cm)	BW(g)	性別	肥満度
1	7.8	6.7	3.9	♀	12.97
2	8.7	7.5	5.9	♀	13.99
3	8.7	7.5	5.4	不明	12.80
4	8.2	6.9	4.1	♀	12.48
5	8.2	6.9	4.0	不明	12.18
6	8.7	7.3	4.8	♀	12.34
7	8.8	7.6	5.6	♀	12.76
8	8.6	7.3	5.0	♀	12.85
9	7.5	6.3	3.2	♀	12.80
10	7.9	6.7	3.9	♀	12.97
11	8.3	6.8	4.2	不明	13.36
12	7.6	6.8	4.2	♀	13.36
平均	8.3	7.0	4.5		12.90
標準偏差	0.5	0.4	0.8		0.49

※2010年6月23日調査

表8 性転換雄魚の作出（実験2）

試験区	性転換 処理尾数 (尾)	調査尾数 (尾)	雄魚尾数 (尾)	性転換率 ※ (%)	平均体重 (g)
水温処理区	200	30	5	16.7	10.0
MT処理区	200	30	30	100.0	7.2

※ 2010年8月27日調査



図3 ヒメマス全雌魚（対照区）

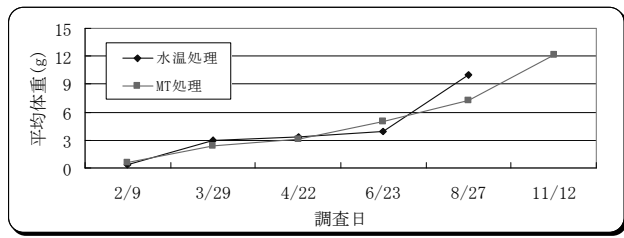


図4 0年魚の成長（実験2）

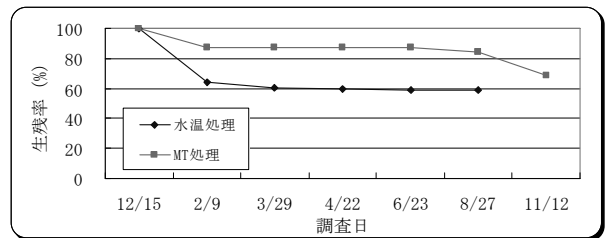


図5 生残率の変化（実験2）

実験3

実験2の生残魚を飼育し8月27日に取り上げたところ15尾生残しており、2年魚からの生残率は53.6%（15尾/28尾）であった。成熟した性転換雄魚を図6、7及び表9に示す。15尾のうち3尾は雄の未熟魚であった。取り上げ以降親魚の水カビ付着による斃死が続き、魚体測定できたのはうち8尾であった。



図6 性転換雄魚（3年魚）



図7 性転換雄魚の精巢（同左）
輸精管の異常が見られる

表9 3年魚の性転換雄魚（実験3）

月日	TL(cm)	BL(cm)	BW(g)	GW(g)	GSI(%)	性別
8月27日	35.6	30.4	502	18.5	3.7	♂
	40.3	35.6	820	1.9	0.2	♂
	35.0	30.7	507	14.7	2.9	♂
9月6日	36.0	31.4	593	21.5	3.6	♂
	40.2	34.2	685	20.4	3.0	♂
9月17日	41.8	36.7	908	26.9	3.0	♂
	40.0	34.7	662	0.2	0.0	♂
	40.2	35.3	666	0.4	0.1	♂
平均	38.6	33.6	668	13.1	2.1	
標準偏差	2.6	2.4	141	10.7	1.6	

次に採卵成績、性及び三倍体化率を表10、11に示す。全雌魚と性転換雄魚の発眼率はそれぞれ56.9、30.1%と、全雌三倍体魚の17.7、12.9%よりも高かった。ふ化率も同様に前者の方がかなり高かった。全雌魚は、1回目は100%の雌魚率であったが2回目は70%と低かった。既往文献によるとヒメマス全雌魚の中から雄魚が10~20%出現することが報告されており⁶⁾、この原因については今のところ不明であるが、ヒメマスの性転換が水温やストレスにより誘発されやすいことと関係しているかもしれない。性転換雄魚は2回とも100%雄魚であった。3月15日に行った全雌三倍体魚の調査では1回目が96.7%、2回目が100%三倍体化していた。また、奇形率は1回目が66.7%、2回目が6.7%と回次で大きく異なった。1回目の奇形は下顎不整合が最も多く、次いで鰓蓋欠損、尾柄捻転が多かった。2回目は鰓蓋欠損、尾柄捻転が多かった（図8、9）。三倍体化率は2回ともかなり高かったが、奇形率も高かったことからさらに検討する必要があるものと判断された。今後については性転換雄魚が安定して確保できたこと、また、水産庁の利用承認^{*}が既に済んでいることから、県内業者への利用普及に向けてさらに検討を進めていきたい。

※ 栃木水試聞き取りによる

表10 採卵成績

採卵日	区分	採卵数 (粒)	発眼卵数 (粒)	発眼率 (%)	ふ化尾数 (尾)	ふ化率 (%)	取上尾数 (尾)	生残率 (%) ※1	BW (g)		
9月6日	全雌魚	823	468	56.9	133	40.5	109	82.0	0.94		
	偽雄魚				200		165			82.5	1.11
	全雌三倍体魚				5,124		905			17.7	250
9月17日	全雌魚	671	202	30.1	70	25.3	63	90.0	1.11		
	偽雄魚				100		87			87.0	2.64
	全雌三倍体魚				6,220		805			12.9	343
合計		12,838	2,380		1,096		686				

※1 ふ化尾数に対する割合を示す。

※ 3月10日取上調査

表11 性比及び三倍体化率

採卵日	区分	取上尾数 (尾)	調査尾数 (尾)	雄魚尾数 (尾)	雌魚尾数 (尾)	雌魚率 (%)	性転換率 (尾)	三倍体魚 数(尾)	三倍体化 率(%)	奇形魚数 (尾)	奇形率 (%)	平均体重 (g)
9月6日	全雌魚	9	9	0	9	100				0	0	9.0
	性転換雄魚	139	20	20	0		100			0	0	5.6
	全雌三倍体魚	63	30		1	3.3		29	96.7	20	66.7	1.3
9月17日	全雌魚	48	20	6	14	70.0				0	0	12.3
	性転換雄魚	34	20	20	0		100			1	5.0	14.4
	全雌三倍体魚	104	20					30	100.0	2	6.7	0.8
合計		293	159					20	100.0	5	25.0	7.6

※6月30日取上調査



図8 全雌三倍体 (2010.9.6 作出)



図9 全雌三倍体 (2010.9.17 作出)

要約

1. ヒメマス全雌魚・性転換雄魚・全雌三倍体魚の作出のために3つの実験を行った。
2. 実験1で個体別に極体放出阻止による雌性発生を行ったところ、平均正常ふ化率は水温処理区2.7%、圧力処理区5.7%であった。
3. ふ化直後水温処理あるいはMTの投与により性転換雄魚の作出を図ったところ、水温処理区では12月7日までに全滅したのに対し、MT投与区では29尾(平均体重59.6g)の1年魚が得られた。
4. さらに飼育を続け、翌年には2年魚の成熟雄魚が1尾出現した。
5. 実験2ではこの成熟雄魚を用いて受精させたところ、得られた稚魚は全て全雌魚であったため、性転換雄魚である可能性の高いことが判明した。
6. 得られた全雌魚の一部に、MTの投与あるいは水温処理により再度性転換雄魚の作出を図ったところ、MTの投与による方法では性転換率が100%であったのに対し、水温処理による方法では16.7%と低かった。

7. 実験3では、実験1の性転換雄魚(3年魚)を用いて全雌魚、性転換雄魚、全雌三倍体魚の作出を図ったところ、全雌魚の雌魚率は1回目が100%であったのに対し、2回目は70%と低かった。
8. 性転換雄魚は2回とも雄魚が100%出現した。
9. 全雌三倍体魚は1回目が三倍体化率96.7%、奇形率66.7%であったのに対し、2回目はそれぞれ100%、25.0%であった。

文 献

- 1) 北村章二(2005):8 ヒメマス. 淡水魚, 恒星社厚生閣, 東京, 77-82.
- 2) 加賀豊仁・沢田守伸・福富則夫(1993):ヒメマス染色体操作技術開発試験(ヒメマス性転換). 栃木県水産試験場事業報告書, 第37号, 59-61.
- 3) 宇部稔・工藤飛雄馬(2009):ヒメマスのバイテク魚作出について. 平成19・20年度岩手県内水面水産技術センター年報, 28-29.
- 4) 東照雄(2007):水温制御による安全かつ容易なヒメマス全雌生産技術の開発. SALMON 情報 No.1, 12-13.
- 5) 加賀豊仁・土居隆秀・渡辺裕介・石川孝典(2007):ヒメマス性転換技術改善試験—ホルモン剤を使用しない雄性化技術の開発—. 栃木県水産試験場研究報告, No.50, 65-69.
- 6) 沢田守伸・土居隆秀・加賀豊仁・吉田豊(2005):ヒメマス性転換技術改善試験—雄性化技術におけるホルモン剤利用の縮減—. 栃木県水産試験場研究報告, No.48, 68-75.