

増養殖技術開発事業 (ヒラメの雌性発生)

藤川裕司・山田 正・川島隆寿*

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。本年度は、平成1, 2年度に作出した偽雄の特性およびメーカーの違う配合飼料が生産種苗の性比に与える影響について検討を行った。また、ビタミンAの投与が白化個体の出現状況に与える影響についても検討を加えた。

材 料 と 方 法

実験1 平成4年3月17日に、平均全長490~550mmの雌の養成親魚5尾より腹部を搾り採卵を行い、同時に平成1, 2年度に作出した偽雄3グループ(GS₈, GS₁₂, GST)の4尾づつより採精し、雌性発生2倍体を作成した。また、このとき正常雄4尾とのかけ合わせによる、正常発生2倍体も作成した。作出した雌雄発生2倍体および正常発生2倍体は、その一部をふ化後20日に雌性ホルモンのβ-エストラジオール(E₂)処理および、水温20℃で恒温飼育する飼育区へ分槽した。雌性ホルモンの使用法は、10μg/lの濃度の1日当たり2時間の浸漬処理とした。雌性ホルモン処理および水温20℃の恒温飼育の期間は、ふ化後35~95日であった。ふ化後181~202日に開腹して、生殖腺の観察により雌雄の判定を行った。

偽雄GS₈とGS₁₂の受精卵の一部は栽培漁業センターにおいて飼育を行った。このとき、水温20℃の恒温飼育の期間は、ふ化後35~100日であった。ふ化後182日に開腹して、生殖腺の観察により雌雄の判定を行った。

実験2 平成4年4月7日に全長455~620mmの雌の養成親魚3尾より採卵を行った。同時に、平成1, 2年に作出した偽雄3グループ(GS₈, GS₁₂, GST)の4尾づつと偽雄の次世代の偽雄(GST₂)4尾より採精し、雌性発生2倍体を作成した。このとき、正常雄2グループ(4尾と1尾)とのかけ合わせによる正常発生2倍体も作成した。作出した雌性発生2倍体および正常発生2倍体は、その一部をふ化後13日に雌精ホルモンのβ-エストラジオール(E₂)処理および水温20℃の恒温飼育する飼育区へ分槽した。配合飼料はN社製を用いているが、正常発生の2グループには、異なるメーカー(K社)の配合飼料を与える飼育区を設けた。雌性ホルモンの使用法は実験1と同様とした。雌性ホルモン処理および水温20℃の恒温処理の期間は、ふ化後33~90日であった。ふ化後160~241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3 平成4年5月6日に、全長510mmの正常雌1尾と偽雄(2-G₂-Me)1尾の次世代を

* 島根県栽培漁業センター

作出した。これを2群にわけ、1群は無処理とし、他の群はワムシをビタミンA、D₃、Eで強化したものを与えた。ビタミン強化の方法は、ワムシの飼育水にビタミンA、D₃、Eの可溶化液（商品名、デュファゾール）を2次培養の終了2時間前に投与した。投与量は、ビタミンAは50000IU/ℓ、D₃は25000IU/ℓ、Eは20IU/ℓとなるようにした。ビタミン強化の期間は、ふ化後8～40日とした。ふ化後209日に、色素の出現状況を目視観察により調べた。

飼育方法 飼育は当初は100ℓの透明ポリカーボネイト水槽で行ったが、ふ化後約100日に1トン水槽へ移した。1トン水槽へ移す際、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眼側に色の違うラテックス（入れ墨）を注射針で注入して行った。飼育水は、ふ化後約100日までは60μmの濾過海水を紫外線照射装置を通して用いた。ふ化後3日までは止水としたが、ふ化後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。飼料系列はワムシーアルテミア-配合飼料とした。ワムシはナンノクロ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（1cc/100ℓ）で24時間2次培養したものを用いた。

結 果

実験1 正常雌と偽雄の次世代の性比を表1に示した。また、そのときの飼育水温を図1、2に

表1 正常雌と偽雄の次世代の性比

(平成4年3月17日採卵)

作出法	実験No.	処 理	雌 : 雄	雌 : 雄(%)	測定時平均全長(mm)
正 常 発 生	5-N	無処理	6 2	75 25	202
“	5-N-E ₂	E ₂	2 0	100 0	180
“	5-N-20°C	20°C	17 4	81 19	199
正常雌×偽雄	5-GS ₈	無処理	29 2	94 6	172
“	5-GS ₈ -E ₂	E ₂	26 0	100 0	172
“	5-GS ₈ -20°C	20°C	30 0	100 0	175
正常雌×偽雄	5-GS ₁₂	無処理	19 5	79 21	180
“	5-GS ₁₂ -E ₂	E ₂	16 0	100 0	177
“	5-GS ₁₂ -20°C	20°C	18 0	100 0	182
正常雌×偽雄	5-GST	無処理	20 2	91 9	173
“	5-GST-E ₂	E ₂	4 0	100 0	174
“	5-GST-20°C	20°C	30 6	83 17	173

E₂ : β-エストラジオールによるふ化後35～95日の1日2時間の浸漬処理

20°C : 水温20°Cでのふ化後35～95日の恒温飼育

示した。作出魚の雌の割合は、正常発生が無処理では75%、水温20℃の恒温飼育では81%であった。正常発生において、比較的高率で雌が出現しているが、これは、このとき用いた4尾の正常雄の中に偽雄が混じっていたためと推測される。

偽雄3グループ(GS₈, GS₁₂, GST)との次世代では、E₂処理は3グループともすべて雌であったので、これら作出群は、遺伝的に雌になっていることが確かめられた。また、無処理では雌は79~94%であった。水温20℃の恒温飼育では、雌の割合は83~100%の高率であった。

栽培漁業センターにおける飼育結果を表2に示した。栽培漁業センター産のものは、雌の割合は48%であった。一方、偽雄GS₁₂の次世代の雌の割合は、水温20℃の恒温飼育したものでは100%であった。

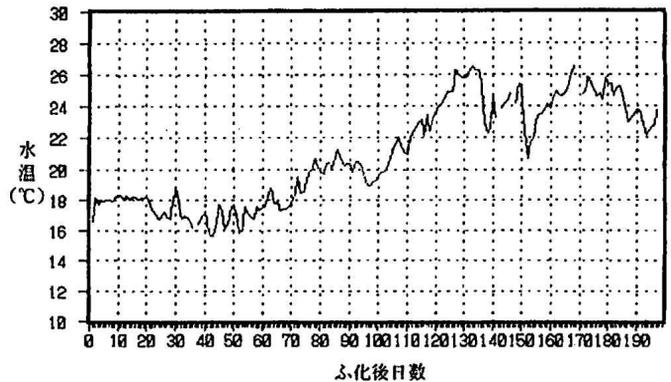


図1 平成4年3月17日作出(表1の実験)の常温飼育群の飼育水温

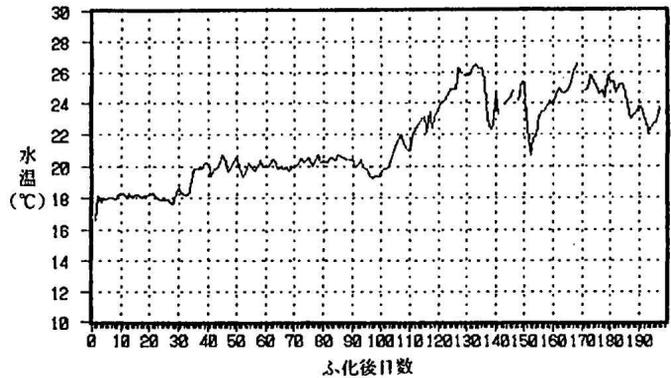


図2 平成4年3月17日作出(表1の実験)の水温20℃の恒温飼育群の飼育水温

表2 正常雌と偽雄の次世代の性比(栽培漁業センター飼育分)

(平成4年3月17日採卵)

作出法	実験No.	処理	雌:雄	雌:雄(%)	測定時平均全長(mm)
正常発生	栽培センター産	無処理	38 41	48 52	163
正常雌×偽雄	5-GS ₈	無処理	へい死	- -	-
"	5-GS ₈ -20℃	20℃	へい死	- -	-
正常雌×偽雄	5-GS ₁₂	無処理	3 0	100 0	172
"	5-GS ₁₂ -20℃	20℃	11* ² 0	100 0	177
正常雌×偽雄	5-GS ₈ ・GS ₁₂ * ¹	20℃	67* ³ 0	100 0	162

20℃: 水温20℃でのふ化後35~100日の恒温飼育

*1: 偽雄GS₈とGS₁₂の次世代の混合飼育

*2: 雌雄不明2尾

*3: 雌雄不明9尾

また、偽雄GS₈とGS₁₂の次世代を混合して、水温20℃の恒温飼育したものは、雌の割合は100%であった。なお、偽雄GS₈の次世代はふ化後49日にすべてへい死した。これらの結果より、正常雌と偽雄の次世代には、高率で雌が出現することが認められた。

実験2 正常雌と偽雄の次世代の性比を表3に示した。また、そのときの飼育水温を図3、4に示した。正常発生魚の雌の割合は、E₂処理では65%、70%であった。E₂処理は、遺伝的に雌のヒラ

表3 正常雌と偽雄の次世代の性比

(平成4年4月7日採卵)

作出法	実験No.	処 理	雌：雄	雌：雄(%)	測定時平均全長(mm)
正常発生	6-N	無処理	2 11	15 85	176
"	6-N-E ₂	E ₂	13 7	65 35	177
"	6-N-20℃	20℃	11 20	35 65	173
正常発生	6-NK	無処理	へい死		-
"	6-NK-20℃	(配合K社) 20℃ (配合K社)	2 4	33 67	180
正常発生	6-N ₈	無処理	3 4	43 57	196
"	6-N ₈ -E ₂	E ₂	7 3	70 30	185
"	6-N ₈ -20℃	20℃	7 17	29 71	186
正常発生	6-N ₈ K	無処理	9 20	31 69	184
"	6-N ₈ K-20℃	(配合K社) 20℃ (配合K社)	5 5	50 50	175
正常雌×偽雄	6-GS ₈	無処理	2 0	100 0	169
"	6-GS ₈ -E ₂	E ₂	へい死	- -	-
"	6-GS ₈ -20℃	20℃	へい死	- -	-
正常雌×偽雄	6-GS ₁₂	無処理	6 2	75 25	174
"	6-GS ₁₂ -E ₂	E ₂	9 1	90 10	153
"	6-GS ₁₂ -20℃	20℃	5 5	50 50	169
正常雌×偽雄	6-GST	無処理	7 2	78 22	169
"	6-GST-E ₂	E ₂	2 0	100 0	146
"	6-GST-20℃	20℃	9 14	39 61	165
正常雌×偽雄	6-GST ₂	無処理	6 1	86 14	168
"	6-GST ₂ -E ₂	E ₂	10 0	100 0	167
"	6-GST ₂ -20℃	20℃	3 5	38 62	176

E₂ : β-エストロジオールによるふ化後33~90日の1日2時間の浸漬処理

20℃ : 水温20℃でのふ化後33~90日の恒温飼育

メが性転換により雄化するのを抑制する効果がある。ということは、ここで作出した正常発生魚は、約半数は遺伝的に雌であるということになる。一方、無処理や水温20℃の恒温飼育では、雌の割合は低率であった。これらのことより、正常発生魚は約半数は遺伝的には雌だが、一部は性転換により雄になったものと考えられる。配合飼料のメーカーの違いが、作出魚の性比に与える影響については、その差は認められなかった。

偽雄4グループ(GS₆, GS₁₂, GST, GST₂)の次世代は、E₂処理では90~100%が雌であったので、これらの作出群は遺伝的には雌になっていることが確かめられた。無処理では雌の割合は75~86%と比較的高率であった。しかし、水温20℃の恒温飼育では雌の割合は38~50%と低率であった。これらのことは、水温20℃の恒温飼育は、遺伝的に雌

のヒラメが性転換により雄化するものを、かなりの割合で抑制するという知見¹⁾に矛盾する。この原因は以下のように推測した。水温20℃の恒温飼育群は、ふ化後61日(6月10日)に飼育水を冷却するために培養棟より本館の飼育室へ移動させた。この時期は、性の分化が生じる期間なので、この時期に飼育環境の変化というストレスを被ったために性転換が生じ雄の割合が増加した。

本実験で用いた偽雄は、実験2で用いたものと同じグループ(個体は違うが同一作出群)のものを用いている。しかし、両者の次世代は、飼育環境が異なると、その影響で雌の出現割合は大きく異なるものと推測される。

実験3 ワムシのビタミンA強化がヒラメの色素出現に与える影響調査結果を表4に示した。有眼側色素異常(白化個体)の割合は、無処理では88%であったが、ワムシのビタミンAを強化した実験区では0%であった。なお、後者の測定尾数が少ないのは、浮遊期に表皮増生症が出現し、大量へい死を起こしたためである。この結果より、ワムシをビタミンAで強化することが、白化個体の出現防除に効果があることが認められた。

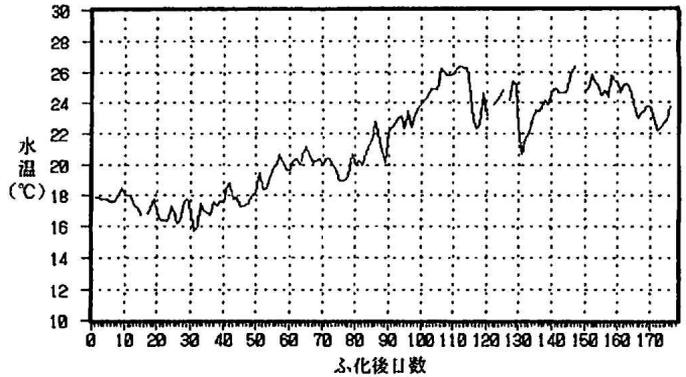


図3 平成4年4月7日作出(表3の実験)の恒温飼育群の飼育水温

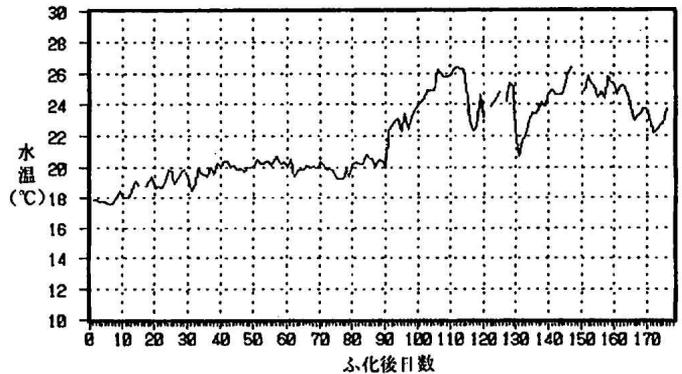


図4 平成4年4月7日作出(表3の実験)の水温20℃の恒温飼育群の飼育水温

表4 ワムシのビタミンA強化がヒラメの色素出現へ与える影響

作出法	実験No.	処理	有眼側色素正常	有眼側色素異常
正常雌×偽雄	7-G ₂ Me	無処理	5	36
〃	7-G ₂ Me-D	ビタミン強化*	7	0

*ふ化後4～40日に、ワムシ飼育水へ2次培養終了2時間前に、ビタミンA、D₃、Eをそれぞれ50,000IU/ℓ、25,000IU/ℓ、20IU/ℓ投与した。

引用文献

- 1) 鳥取県水産試験場：ヒラメの染色体操作技術等を応用した優良種苗生産に関する研究。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。