

## 平成3年度バイオテクノロジー導入試験

増殖科 小 松 章 博

### I 極体放出阻止型雌性発生2倍体の第2世代の作出技術開発試験

#### 1. 目 的

昭和63年4月に作出した第2極体放出阻止型雌性発生2倍体を親魚として、これから第2世代の作出を行い遺伝的特性並びに飼育特性を解明する事により養殖用種苗としての可能性を検証する。

#### 2. 材料と方法

##### 1) 採卵親魚

昭和63年4月に高知県栽培漁業センターで養成した通常2倍体(以下NOR. 2Nと述べる)から低温処理法<sup>1,2)</sup>により作出した第2極体放出阻止型雌性発生2倍体第1世代(以下GA(1)と述べる)を当场海面小割で大型魚を選抜しながら育成した。これらは平成3年2月18日から陸上の加温水槽で飼育を継続し、この内から成長の良い10尾を選んで採卵用親魚として用いた。なお、これらのマダイ(GA1)の内、大型魚は他の雌性発生試験用にも使用したことで産卵期を過ぎて魚が痩せたため6月4日の測定では2月に比べて平均体重が小さかった。これらの生育経過を表-1に示し、陸上加温水槽での飼育経過は表-2に示した。

表-1 昭和63年(1988年)作出雌性発生2倍体(GA(1))の生育経過

| 測定日     | 測定魚   | 測定数     | 尾 叉 長                    | 体 重                       | 備 考         |
|---------|-------|---------|--------------------------|---------------------------|-------------|
| H2.4.26 | 全 体   | 尾<br>24 | 23.7 ± 2.0 <sup>cm</sup> | 271.5 ± 72.2 <sup>g</sup> | 性分化調査(24尾)  |
| H2.5.2  | 大 型 魚 | 20      | 24.7 ± 1.4               | 318.3 ± 60.4              | 親魚選抜(272尾)  |
|         | 小 型 魚 | 20      | 20.8 ± 2.1               | 191.0 ± 59.4              | 性分化調査(259尾) |
| H2.6.21 | 小 型 魚 | 77      | 21.7 ± 1.8               | 223.8 ± 52.4              | 性分化調査(77尾)  |
| H2.9.25 | 大 型 魚 | 32      | 28.0 ± 2.1               | 478.8 ± 107.1             |             |
| H3.2.18 | 大 型 魚 | 30      | 33.6 ± 2.4               | 883.8 ± 162.4             | 陸揚げ魚(120尾)  |
| H3.6.4  | 大 型 魚 | 28      | 33.4 ± 1.9               | 759.3 ± 112.6             | 陸上水槽飼育魚     |

表－２ 陸上加温水槽の飼育経過

| 日 時           | 水温(℃)     | 飼 育 経 過                                                       |
|---------------|-----------|---------------------------------------------------------------|
| H 3.2.18～2.25 | 13.4→11.2 | 流水飼育，急激な水温低下のため異常遊泳個体が見られたため2月25日から加温開始（2/25は13℃に設定）          |
| H 3.2.25～2.27 | 13.0～13.2 | 2月27日午後から14.0℃へ昇温開始                                           |
| H 3.2.28～3.5  | 13.8→15.0 | 3月5日夕刻に産卵行動を確認したので昇温を中止して自然流水飼育とする。（流入水温13.6℃）                |
| H 3.3.23      | 16.1      | 採卵，ふ化試験実施（正常発生確認）                                             |
| H 3.3.27      | 16.4      | 採卵，ふ化試験実施。浮上卵率41.9%，平均卵径0.93mm，正常個体のふ化率81.4%                  |
| H 3.4.1～4.5   | 16.1～16.9 | この間の浮上卵率約50%，正常ふ化率約90%，卵径0.90～0.93mmであった。                     |
| H 3.4.6～4.11  | 17.0～17.8 | この間の浮上卵率は14.0～59.6%で全般的に良くないが，浮上卵のふ化率は75%，卵径は0.89～0.91mmであった。 |
| H 3.4.12～4.15 | 18.2～18.9 | 4月13日に第2世代作出試験実施（♀4尾）                                         |
| H 3.4.16以降    | 19.3～     | 4月19日に第2世代作出試験実施（♀6尾）                                         |

## 2) 採卵及び作出方法

採卵はGA(1)雌10尾（以下GA(1)♀1～10と述べる）から1腹ごとに搾出法により行い，それぞれから雌性発生第2世代（以下GA(2)♀nと述べる，ただしnは♀1～10を表すものとする）を作出した。

また，同時にGA(1)♀と飼育期間中に雄に性分化した偽雄（以下GA(1)♂と述べる）間の自然交配卵（以下GA<sup>+</sup>×GA<sup>-</sup>と述べる）及び高知県栽培漁業センターで養成中のNOR. 2Nの受精卵を採卵した。これらの採卵はオーバーフローにより流下した卵をネットで受ける方式により行った。なお，親魚区分，採卵日及び採卵量等については表－3に示した。

雌性発生魚の作出<sup>1-3)</sup>は，卵に不活性化<sup>※1)</sup>したクロダイの精子を媒精した後，低温処理<sup>※2)</sup>する方法によった。

※1：不活性化法—クロダイ精子を生理食塩水<sup>※3)</sup>で100倍に希釈後，40秒間紫外線照射(3,000 erg/mm<sup>2</sup>)により不活性化

※2：低温処理法—湿導法で媒精し3分後に0℃の海水中に10～15分間浸漬したのち常温で発生

※3：生理食塩水—NaCl 13.5g，KCl 0.6g，CaCl<sub>2</sub> 0.25g，MgCl<sub>2</sub> 0.35g，NaHCO<sub>3</sub> 0.02gを1リットルの蒸留水に溶かして作成

表-3 雌性発生第2世代を作出した親魚及び採卵量

| 項目                               | 採卵日  | 採卵量       | 処理卵量     | ※4<br>親魚系統 | ふ化率          |              |              | 全長        | 尾叉長       | 体重       |
|----------------------------------|------|-----------|----------|------------|--------------|--------------|--------------|-----------|-----------|----------|
|                                  |      |           |          |            | ※5<br>GA (2) | ※6<br>UV (N) | ※7<br>Nor 2N |           |           |          |
| GA(1)♀1                          | 4/13 | ♀<br>12.9 | ♀<br>8.6 | C-5        | %<br>91.9    | %            | %<br>94.0    | mm<br>376 | mm<br>339 | g<br>798 |
| GA(1)♀2                          | 4/13 | 9.9       | 7.0      | C-5        | 56.7         | 58.0         | 100.0        | 385       | 343       | 907      |
| GA(1)♀3                          | 4/13 | 26.5      | 9.0      | C-5        | 22.9         | 44.2         | 98.7         | 344       | 305       | 683      |
| GA(1)♀4                          | 4/13 | 39.8      | 15.4     | C-5        | 26.9         | 41.8         | 94.9         | 407       | 368       | 991      |
| GA(1)♀5                          | 4/19 | 24.6      | 16.0     | C-5        | 47.3         | 33.9         |              | 369       | 336       | 842      |
| GA(1)♀6                          | 4/19 | 20.5      | 20.5     | C-5        | 77.8         | 11.0         |              | 379       | 340       | 752      |
| GA(1)♀7                          | 4/19 | 18.8      | 10.3     | C-5        | 54.0         | 16.4         |              | 360       | 319       | 701      |
| GA(1)♀8                          | 4/19 | 16.5      | 16.5     | C-5        | 5.0          | 29.7         |              | 383       | 337       | 817      |
| GA(1)♀9                          | 4/19 | 8.6       | 8.6      | C-5        | 48.9         | 52.8         |              | 346       | 311       | 672      |
| GA(1)♀10                         | 4/19 | 8.9       | 8.9      | C-5        | 24.5         | 24.3         |              | 375       | 332       | 774      |
| NOR 2N                           | 4/12 | 5.0       | 5.0      |            |              |              | 92.5         |           |           |          |
| GA <sup>+</sup> ×GA <sup>-</sup> | 4/12 | 5.0       | 5.0      | C-5<br>C-3 |              |              | 100.0        |           |           |          |

※4：親魚系統の区分はアイソザイム分析による。

※5：ふ化尾数 / 全卵数， ※6：半数体 / 全卵数， ※7：ふ化尾数 / 全卵数

### 3) 成長比較試験

作出したGA(2)♀n及びGA<sup>+</sup>×GA<sup>-</sup>，NOR. 2Nは，7月4日まで各区ごとに室内の500リットル水槽で通常の方法により飼育した後，当場の海面小割生簀（1.5m×1.5m×1.5m）に沖出しした。

陸上水槽で飼育中にGA(2)♀5区は死滅し，GA(2)♀6区及びGA(2)♀10区は生残率が極めて低かった。沖出し後7日間馴致飼育し，7月12日に家系間の成長比較を行うためGA(2)♀n各区，GA<sup>+</sup>×GA<sup>-</sup>区とNOR. 2N区との混合飼育試験区を設定して4日間予備飼育をしたのち尾数調整をして成長比較試験を開始した。各区の収容尾数は，GA(2)♀n区とGA<sup>+</sup>×GA<sup>-</sup>区は230尾，NOR. 2N区は130尾とした。ただし，生残率の低かったGA(2)♀6区とGA(2)♀10区は混合して1区とした。各区の沖だし時の体長，体重を表-4に示し，試験開始時の収容尾数については表-5に示した。

表-4 雌性発生2倍体第2世代の測定('91.7.12実施)

| 項目<br>稚魚区分                       | 採卵日  | 親魚※4<br>系統       | 資料      | 尾 叉 長            | 全 長              | 体 重             |
|----------------------------------|------|------------------|---------|------------------|------------------|-----------------|
| NOR. 2N                          | 4.12 |                  | 尾<br>30 | $5.8 \pm 0.9$ cm | $6.0 \pm 0.9$ cm | $4.5 \pm 2.1$ g |
| GA <sup>+</sup> ×GA <sup>-</sup> | "    | C- $\frac{3}{5}$ | 30      | $5.6 \pm 0.7$    | $6.0 \pm 0.9$    | $4.2 \pm 1.6$   |
| GA(2)♀1                          | 4.13 | C-5              | 30      | $5.4 \pm 0.6$    | $5.7 \pm 0.5$    | $3.8 \pm 1.2$   |
| GA(2)♀2                          | "    | C-5              | 28      | $5.8 \pm 1.2$    | $6.5 \pm 1.1$    | $5.3 \pm 2.3$   |
| GA(2)♀3                          | "    | C-5              | 29      | $5.7 \pm 0.5$    | $6.0 \pm 0.6$    | $4.5 \pm 1.2$   |
| GA(2)♀4                          | "    | C-5              | 27      | $5.3 \pm 0.6$    | $5.7 \pm 0.7$    | $3.6 \pm 1.3$   |
| GA(2)♀7                          | 4.19 | C-5              | 29      | $5.2 \pm 0.6$    | $5.5 \pm 0.6$    | $3.2 \pm 1.1$   |
| GA(2)♀8                          | "    | C-5              | 31      | $5.4 \pm 0.5$    | $5.6 \pm 0.5$    | $3.4 \pm 1.0$   |
| GA(2)♀9                          | "    | C-5              | 30      | $5.1 \pm 0.7$    | $5.4 \pm 0.7$    | $3.2 \pm 1.2$   |
| GA(2)♀6                          | "    | C-5              | 29      | $5.5 \pm 0.9$    | ...              | $3.7 \pm 2.0$   |
| GA(2)♀10                         | "    | C-5              | 30      | $4.9 \pm 0.5$    | ...              | $2.3 \pm 0.8$   |

表-5 成長比較試験設定区('91 7.16)

| 区名<br>尾数 | GA(2)<br>1  | GA(2)<br>2 | GA(2)<br>3 | GA(2)<br>4 | GA(2)<br>7 | GA(2)<br>8 | GA(2)<br>9 | GA(2)<br>6, 10 | GA -<br>Mass                     |
|----------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|----------------|----------------------------------|
| GA(1)親魚  | ♀1          | ♀2         | ♀3         | ♀4         | ♀7         | ♀8         | ♂9         | ♀6  ♀10        | GA <sup>+</sup> ×GA <sup>-</sup> |
| GA(2)尾数  | 230         | 222        | 238        | 220        | 230        | 230        | 230        | 118  53        | 230                              |
| 親 魚      | N O R . 2 N |            |            |            |            |            |            |                |                                  |
| 尾 数      | 130         | 130        | 130        | 130        | 130        | 130        | 130        | 130            | 130                              |
| 合 計      | 360         | 352        | 368        | 350        | 360        | 360        | 360        | 301            | 360                              |

## 4) 組織移植適合試験

GA(2)♀nの遺伝的な近縁度を推定するため、7月4日以降当場の海面小割で飼育中のGA(2)♀1, GA(2)♀7, GA(2)♀9を用いて家系内組織移植試験を11月11日から66日間実施した。また、対照区としてNOR. 2N, GA<sup>+</sup>×GA<sup>-</sup>も同様に試験した。供試魚尾数は各区とも4尾とし、試験は鰓蓋片を各家系ごとに自己移植片(Auto graft, 1片)と同系他個体の移植片(Allo graft, 3片)の計4枚を各体側背側に2片ずつ移植したのち室内水槽で飼育する方法で行った。

判定は各区の移植片(4尾合計16片)を5日間隔で観察し移植片のうち脱落せずに残った他

個体の移植片数を他個体の移植片総数(12)で割り組織適合率とした。途中死亡により試験尾数が減少したものは、生残個体の合計移植片数で脱落せず残った他の個体移植片数を除して組織適合率を求めた。最終判定は平成4年1月15日に実施した。なお、当該試験方法についてはアユで用いた方法<sup>4)</sup>を応用した。

### 3. 結 果

#### 1) 成長比較試験

成長比較試験を開始後、7月16日から8月上旬まで *Gymnodinium mikimotoi* による赤潮が高濃度に発生しこれら試験魚の大部分が死亡し、赤潮終息後もイリドウィルスによると見られる大量斃死が続き、これら試験区の大半が8月末までに死滅したため試験を中止した。

#### 2) 組織移植適合試験

平成3年11月11日から平成4年1月15日の間(66日)の移植組織片の受容状況を見ると、NOR、2Nと $GA^+ \times GA^-$ は3週間以内に他個体から移植された鰓蓋片を全て拒絶し自己移植片しか受容しなかったが、GA(2)♀1, 7, 9では他個体からの移植組織を長期間受容するものが見られた。

特にGA(2)♀7は極めて高い組織移植適合率(66.7%)を示し、またGA(2)♀1も組織適合率(25.0%)を示した。また、GA(2)♀9は最終判定時には自己移植片しか受容しなかったが、移植片の脱落推移を見ると明らかにNOR、2Nや $GA^+ \times GA^-$ よりも脱落までに長期間を経過した。なお、全個体とも自己移植片は全て受容した。これらの結果については、表-6及び図-1(後掲)に示した。

### 4. 考 察

海産養殖魚としてブリに次いで生産が多いマダイの養殖品種の開発を目途として染色体操作技術を導入した育種技術開発が昭和61年より熊本県や長崎県において取り組みが開始され、現在多くの知見が集積されている<sup>5)</sup>。本県においても昭和63年度からマダイの雌性発生技術開発を中心とした取り組みを行い、これらについては既報<sup>1), 6-7)</sup>の通りである。

本年は昭和63年度に低温処理法により作出し当场で育成したマダイGA(1)を用いて極体放出阻止型雌性発生2倍体の第2代目(GA(2))の作出を行い、これらを用いてその遺伝特性や飼育特性の解明を試みたところである。

表－6 極体放出阻止型雌性発生2倍体第2世代の組織移植適合試験結果

| 判 定 日    | NOR,2N  | GA <sup>+</sup> ×GA <sup>-</sup> | GA(2)♀1 | GA(2)♀7 | GA(2)♀9 |
|----------|---------|----------------------------------|---------|---------|---------|
| 91/11/11 | 100.00% | 100.00%                          | 100.00% | 100.00% | 100.00% |
| 11/14    | 100.00  | 100.00                           | 100.00  | 100.00  | 100.00  |
| 11/21    | 100.00  | 66.67                            | 91.67   | 100.00  | 100.00  |
| 11/23    | 50.00   | 66.67                            | 75.00   | 100.00  | 100.00  |
| 11/25    | 11.11   | 8.33                             | 75.00   | 100.00  | 83.33   |
| 11/28    | 0.00    | 8.33                             | 75.00   | 100.00  | 83.33   |
| 12/02    | 0.00    | 0.00                             | 66.67   | 100.00  | 83.33   |
| 12/07    | 0.00    | 0.00                             | 66.67   | 100.00  | 41.67   |
| 12/10    | 0.00    | 0.00                             | 66.67   | 100.00  | 33.33   |
| 12/14    | 0.00    | 0.00                             | 66.67   | 100.00  | 33.33   |
| 12/19    | 0.00    | 0.00                             | 66.67   | 77.78   | 22.22   |
| 12/24    | 0.00    | 0.00                             | 58.33   | 77.78   | 22.22   |
| 12/28    | 0.00    | 0.00                             | 41.67   | 66.67   | 11.11   |
| 92/ 1/ 5 | 0.00    | 0.00                             | 41.67   | 66.67   | 11.11   |
| 1/10     | 0.00    | 0.00                             | 41.67   | 66.67   | 11.11   |
| 1/15     | 0.00    | 0.00                             | 25.00   | 66.67   | 0.00    |

注：試験期間（平成3年11月14日から平成4年1月15日の間）

#### 1) 雌性発生2倍体の第2代目（GA(2)）の作出

成長の良い10尾のGA(1)を親魚として極体放出阻止法により10系統の雌性発生マダイの第2代目（GA(2)）の作出を実施した。これらの作出率を見ると第1世代（GA(1)）の親魚によって正常な個体のふ化率が異なり、また、その後の室内飼育でも親魚によって生残率が異なった。これは採卵時期、採卵時間、採卵方法などが作出率に大きく影響しているのではないかとと思われる。今後の課題として、作出率の向上が求められるのでこれらについて再検討が必要である。また、室内の飼育区によって生残率が異なることが見られたが、この原因として飼育環境が一定でないことや第2極体放出阻止型の第2世代は遺伝分散が縮小し、弱有害遺伝子が同型接合となったことから近交弱勢が現れた<sup>8)</sup>のではないかと考えられる。なお、マダイの雌性発生魚は雌雄に性分化する<sup>7)</sup>事が明らかとなっており、今後の検討課題として雌性発生マダイの性分化過程を解明することにより効率的に全雌を生産する性コントロール技術開発が必要なものと思われる。



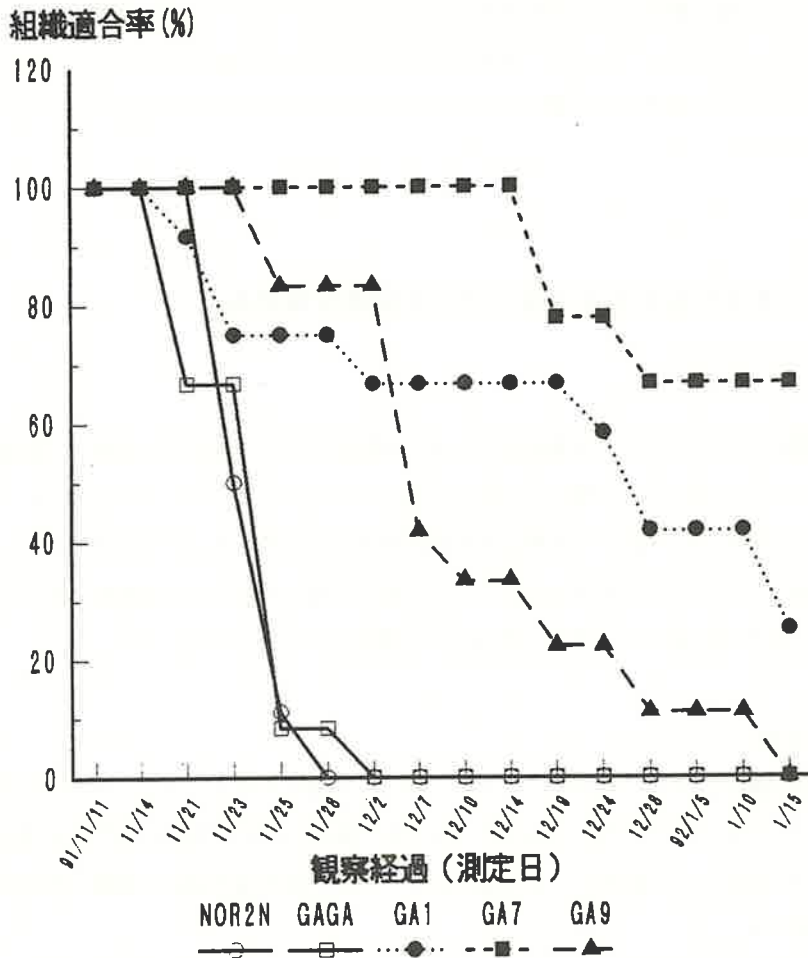


図-1 組織移植適合性試験結果

## 2) 成長比較試験

この試験は飼育環境条件を一定にして雌性発生第2代目の家系ごとの成長差を明らかにすることで成長の良い家系の選択が可能となり、また同一家系内での個体選抜を行い有用系統を確立することを目的とした。極体放出阻止型雌性発生2倍体の第2代目は同一家系内であってもその遺伝的形質は一樣でない<sup>8)</sup>ことから、系統間、個体間の成長差を明らかにすることは極めて重要であったが、赤潮(*Gymnodinium mikimotoi*)とイリドウィルスと見られる病気により試験魚が死滅して実験を中止せざるを得なかった。

## 3) 組織移植適合試験

GA(2)♀1, 7, 9の移植片の脱落経過を見ると明らかにNOR.2NやGA<sup>+</sup>×GA<sup>-</sup>よりも脱落までに長期間を経過しており、このことはGA(2)の近縁度が上昇したことを示しているのではないかと見られた。

このことは、極体放出阻止型雌性発生法による育種の手法<sup>8)</sup>として、雌性発生第1代目で変異幅を拡大してその内から目的とする形質を供えた個体の選択を行い、これを用いて第2代目を作出して家系内の変異の幅を縮小したのち更に第3代目を作出して行くことで種の改良が可能であることを示しているものと思われる。

## Ⅱ 第1卵割阻止型雌性発生2倍体の作出技術開発試験

### 1. 目的

第2極体放出阻止法で作出した雌性発生魚は、相同染色体間で遺伝子の組換えが高頻度で起きていることから、得られた系統は品種固定の最良の方法とは言えないことが知られている。卵割阻止法による雌性発生魚は、異型接合体が出現することがないため品種を固定化する上で極めて重要な技術<sup>9)</sup>であることが知られている。本試験は、第1卵割阻止法で雌性発生2倍体（以下GBと述べる）の作出を行いマダイの育種技術を確立することを目的とする。

### 2. 材料と方法

GBの作出試験は、4月19日から5月18日の間に4回高圧処理法（フレンチプレスを使用）により実施した。作出はマダイ雌（GA(1)♀）親魚より搾出した未受精卵に遺伝子を不活性化したクロダイ精子を媒精し、それを18.2℃で発生をさせた後、処理開始時間、加圧力及び加圧時間を変化させて行った。

卵割阻止処理を行った卵は30リットルポリカーボネイト水槽に移して室温でふ化させて飼育を継続した。また、その卵の一部を試験区ごとに1リットルビーカーに移して同じく室温で発生させ正常ふ化発生した比率の高い試験区で最適作出条件の判断を行った。なお、各試験区毎に不活性化したクロダイ精子で媒精した無処理区を対照区として設定した。これらの作出条件については表-7に示した。

### 3. 結果

1リットルビーカーでの作出試験結果を見ると媒精後18.2℃で発生させた場合には、処理開始時間は40～55分（特に45～50分）、圧力は600～800 kg/cm<sup>2</sup>、加圧時間は2～6分の範囲で正常に発生した個体が得られた。特に処理開始時間が45分、加圧時間3～6分、圧力700 kg/cm<sup>2</sup>で正常な個体の発生率が高いことから最適作出条件は、この近傍にあるのではないかと見られたが、この時の対照区に少数ではあるが正常発生個体が見られることから確定には到らなかった。



また、5月8日、5月18日に作出処理したのち、30リットルポリカーボネイト水槽でふ化させた各試験区は、腐敗物等を取り除きながら同容器で飼育を継続した。

これらのふ化仔魚は、個体間の成長差が大きく飼育中に共食いやその他原因不明の斃死が続き、全長20～30mmまで生残したのは十数尾で、卵割阻止型雌性発生2倍体の作出証明に到らなかった。これらの結果については表-7に示した。

#### 4. 考 察

マダイの卵割阻止型雌性発生技術開発に平成元年度から着手し、平成2年度には高水圧法による作出可能性について報告<sup>7)</sup>したが、本年度は不活性化した精子を媒精後、水温18.2℃で発生させて高圧処理を実施した。最適作出処理条件は、媒精45～50分後に加圧力700/cm<sup>2</sup>・加圧時間3～5分にあるのではないかと考えられた。また、昨年報告<sup>7)</sup>した加圧力300～400kg/cm<sup>2</sup>についてもやはり若干の正常ふ化個体を得たが飼育にまで到らなかった。

卵割阻止型雌性発生魚の正常発生率、生残率が極めて悪い理由として、小野里、谷口らが指摘<sup>10)</sup>するように、卵割阻止型雌性発生は優良品種の固定化の技術として優れている反面、弱有害遺伝子がホモ化することによって致死するのではないかと考えられる。なお、当场での卵割阻止型雌性発生処理は、産卵水槽で飼育中のものの内夕方から夜間にかけて自然産卵する個体を捕獲して実施しているが、この処理に伴う刺激等が作出率に何らかの影響があることが考えられるため今後は採卵方法等についても再検討を行う必要があるであろう。

#### Ⅲ 謝 辞

本試験は、高知大学農学部栽培漁業学科谷口順彦教授との共同研究であり事業推進に当たって、谷口教授以下水族生態学教室の皆さんに多くのご協力を頂いたことに深く感謝します。

表-7 卵割阻止型雌性発生2倍体の作出条件試験結果(1リットルビーカー試験結果)

| 処理日   | 受精後処理<br>開始時間 | 処理圧力<br>kg/cm <sup>2</sup> | 加圧時間<br>(min) | 処理<br>卵数 | 死卵数   | 半数体<br>発生数 | 正常体<br>発生数 | 半数体率<br>n/全卵(%) | 正常ふ化率<br>2n/全卵(%) |
|-------|---------------|----------------------------|---------------|----------|-------|------------|------------|-----------------|-------------------|
| 4. 19 | 45:00         | 650                        | 2:00          | 24       | 10    | 14         | 0          | 58.33           | 0.00              |
|       | 45:00         | "                          | 4:00          | 32       | 25    | 7          | 0          | 21.88           | 0.00              |
|       | 57:30         | "                          | 2:00          | 41       | 41    | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 57:30         | "                          | 4:00          | 42       | 42    | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 62       | 41    | 21         | 0          | 33.87           | 0.00              |
|       | 40:00         | 650                        | 2:00          | 2,043    | 1,839 | 190        | 14         | 9.30            | 0.69              |
|       | 40:00         | "                          | 4:00          | 2,807    | 2,736 | 68         | 3          | 2.42            | 0.11              |
|       | 50:00         | "                          | 2:00          | 3,205    | 3,171 | 31         | 3          | 0.97            | 0.09              |
|       | 50:00         | "                          | 4:00          | 3        | 3     | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 171      | 143   | 28         | 0          | 16.37           | 0.00              |
| 4. 27 | 30:30         | 650                        | 4:00          | 127      | 127   | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 32:00         | "                          | 2:00          | 258      | 258   | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 40:00         | "                          | 2:00          | 590      | 590   | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 40:00         | "                          | 4:00          | 572      | 564   | 8          | 0          | 1.40            | 0.00              |
|       | 50:00         | "                          | 2:00          | 230      | 230   | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 50:00         | "                          | 4:00          | 455      | 455   | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 273      | 158   | 115        | 0          | 42.12           | 0.00              |
|       | 32:30         | 650                        | 2:00          | 1,330    | 1,330 | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 32:30         | "                          | 4:00          | 517      | 517   | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 42:30         | "                          | 2:00          | 465      | 464   | 0          | 1          | 0.00            | 0.22              |
|       | 42:30         | "                          | 4:00          | 464      | 464   | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 52:30         | "                          | 2:00          | 4,708    | 4,683 | 9          | 16         | 0.19            | 0.34              |
|       | 52:30         | "                          | 4:00          | 7,081    | 7,072 | 9          | 0          | 0.13            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 353      | 136   | 217        | 0          | 61.47           | 0.00              |
|       | 35:00         | 650                        | 2:00          | 2,074    | 2,073 | 1          | 0          | 0.05            | 0.00              |
|       | 35:00         | "                          | 4:00          | 2,452    | 2,452 | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 45:00         | "                          | 2:00          | 3,638    | 3,080 | 548        | 10         | 15.06           | 0.27              |
|       | 45:00         | "                          | 4:00          | 2,510    | 2,489 | 18         | 3          | 0.72            | 0.12              |
|       | 55:00         | "                          | 2:00          | 1,800    | 1,800 | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 55:00         | "                          | 4:00          | 2,113    | 2,103 | 10         | 0          | 0.47            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 405      | 205   | 200        | 0          | 49.38           | 0.00              |
| 5. 8  | 40:00         | 300                        | 3:00          | 861      | 757   | 100        | 4          | 11.61           | 0.46              |
|       | 45:00         | 300                        | 3:00          | 1,071    | 1,071 | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 45:00         | 400                        | 3:00          | 361      | 357   | 4          | 0          | 1.11            | 0.00              |
|       | 50:00         | 300                        | 3:00          | 566      | 563   | 3          | 0          | 0.53            | 0.00              |
|       | 55:00         | 300                        | 3:00          | 458      | 407   | 49         | 2          | 10.70           | 0.44              |
|       | 55:00         | 400                        | 3:00          | 396      | 373   | 17         | 6          | 4.29            | 1.52              |
|       | UV CONT       |                            |               | 157      | 59    | 94         | 4          | 59.87           | 2.55              |
|       | 45:00         | 700                        | 3:00          | 1,235    | 1,030 | 117        | 88         | 9.47            | 7.13              |
|       | 45:00         | "                          | 6:00          | 3,228    | 2,894 | 88         | 246        | 2.73            | 7.62              |
|       | 52:30         | "                          | 3:00          | 1,883    | 1,867 | 8          | 8          | 0.42            | 0.42              |
|       | 52:30         | "                          | 6:00          | 958      | 957   | 1          | 0          | 0.10            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 119      | 34    | 84         | 1          | 70.59           | 0.84              |
|       | 50:00         | 300                        | 3:00          | 533      | 460   | 70         | 3          | 13.13           | 0.56              |
|       | UV CONT       |                            |               | 127      | 29    | 98         | 0          | 77.17           | 0.00              |

バイオテクノロジー導入試験  
(マダイ)

| 処理日   | 受精後処理<br>開始時間 | 処理圧力<br>kg/cm <sup>2</sup> | 加圧時間<br>(min) | 処理<br>卵数 | 死卵数   | 半数体<br>発生数 | 正常体<br>発生数 | 半数体率<br>n/全卵(%) | 正常ふ化率<br>2n/全卵(%) |
|-------|---------------|----------------------------|---------------|----------|-------|------------|------------|-----------------|-------------------|
| 5. 8  | 40:00         | 700                        | 3:00          | 2,640    | 2,635 | 1          | 4          | 0.04            | 0.15              |
|       | 50:00         | "                          | 3:00          | 1,547    | 1,541 | 5          | 1          | 0.32            | 0.06              |
|       | 50:00         | "                          | 6:00          | 2,907    | 2,907 | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 145      | 94    | 41         | 10         | 28.28           | 6.90              |
|       | 46:00         | 700                        | 1:30          | 3,462    | 3,427 | 29         | 6          | 0.84            | 0.17              |
|       | 48:00         | "                          | 1:30          | 774      | 747   | 22         | 5          | 2.84            | 0.65              |
|       | 50:00         | "                          | 1:30          | 715      | 709   | 6          | 0          | 0.84            | 0.00              |
|       | 52:00         | "                          | 1:30          | 735      | 735   | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | 55:00         | "                          | 1:30          | 3,218    | 3,218 | 0          | 0          | 0.00            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 136      | 81    | 50         | 5          | 36.76           | 3.68              |
|       | 45:00         | 800                        | 3:00          | 1,360    | 1,355 | 2          | 3          | 0.15            | 0.22              |
|       | 45:00         | 600                        | 3:00          | 2,983    | 2,844 | 135        | 4          | 4.53            | 0.13              |
|       | 50:00         | 600                        | 3:00          | 2,372    | 2,279 | 93         | 0          | 3.92            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 95       | 71    | 24         | 0          | 25.26           | 0.00              |
|       | 52:30         | 650                        | 6:00          | 1,016    | 1,015 | 1          | 0          | 0.10            | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 148      | 91    | 57         | 0          | 38.51           | 0.00              |
| 5. 18 | 50:00         | 350                        | 3:00          | 894      | 867   | 23         | 4          | 2.57            | 0.45              |
|       | 45:00         | 700                        | 3:30          | 916      | 911   | 2          | 3          | 0.22            | 0.33              |
|       | UV CONT       |                            |               | 216      | 155   | 59         | 2          | 27.31           | 0.93              |
|       | 45:00         | 700                        | 4:30          | 544      | 517   | 16         | 11         | 2.94            | 2.02              |
|       | 45:00         | "                          | 5:00          | 502      | 326   | 82         | 94         | 16.33           | 18.73             |
|       | UV CONT       |                            |               | 591      | 482   | 107        | 2          | 18.10           | 0.34              |
|       | 45:00         | 700                        | 6:00          | 881      | 815   | 13         | 53         | 1.48            | 6.02              |
|       | 45:00         | "                          | 5:30          | 1,441    | 1,329 | 31         | 81         | 2.15            | 5.62              |
|       | UV CONT       |                            |               | 250      | 101   | 147        | 2          | 58.80           | 0.80              |
|       | 45:00         | 700                        | 6:00          | 709      | 704   | 1          | 4          | 0.14            | 0.56              |
|       | UV CONT       |                            |               | 883      | 716   | 167        | 0          | 18.91           | 0.00              |
|       | 44:15         | 750                        | 1:30          | 4,407    | 3,675 | 732        | 0          | 16.61           | 0.00              |
|       | 44:00         | 650                        | 3:00          | 4,168    | 3,390 | 778        | 0          | 18.67           | 0.00              |
|       | 49:15         | "                          | 1:30          | 5,725    | 5,248 | 476        | 1          | 8.31            | 0.02              |
|       | 49:15         | "                          | 3:00          | 4,603    | 4,019 | 583        | 1          | 12.67           | 0.02              |
|       | UV CONT       |                            |               | 104      | 32    | 72         | 0          | 69.23           | 0.00              |
|       | 46:00         | 650                        | 1:30          | 650      | 175   | 475        | 0          | 73.08           | 0.00              |
|       | 46:00         | "                          | 3:00          | 828      | 446   | 382        | 0          | 46.14           | 0.00              |
|       | 51:00         | "                          | 1:30          | 574      | 402   | 172        | 0          | 29.97           | 0.00              |
|       | 51:00         | "                          | 3:00          | 607      | 457   | 150        | 0          | 24.71           | 0.00              |
|       | UV CONT       |                            |               | 58       | 6     | 52         | 0          | 89.66           | 0.00              |

注：UV CONT（精子不活性化対照区）

#### IV 文 献

- 1) 鍋島 浩(1990): マダイの雌性発生 2 倍体作出試験, 昭和63年度高知水試事報
- 2) Ketut Sugama, N. Taniguchi and H. Nabeshima. 1990. Frequency of second meiotic division segregation in induced gynogenetic diploid of red sea bream. The Second Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, :543-547
- 3) Ketut Sugama(1991): Studies on Genetic Variation and Chromosome Set Manipulation in Red Sea Bream (*Pagrus major*). 愛媛連合大学院農学博士論文
- 4) 日本水産資源保護協会: 雌性発生法によるアユの有用形質の識別・評価に関する研究, 水産物有用形質評価手法開発事業報告書, 平成 2 年度, 135-144
- 5) 水産庁: 地域バイオテクノロジー研究開発促進事業(平成 2 年度成果概要) 平成 3 年 7 月, 水産庁研究部研究課
- 6) 鍋島 浩(1991): マダイの雌性発生 2 倍体及び 3 倍体作出試験, 平成元年度 高知水試事報
- 7) 小松章博(1992): 平成 2 年度バイオテクノロジー導入試験, 平成 2 年度 高知水試事報
- 8) 谷口順彦(1989): 染色体操作の遺伝学的意義 水産学シリーズ. 75. 水産増養殖と染色体操作 日本水産学会監修 104-116. 厚生社厚生閣 東京
- 9) 谷口順彦(1986): 魚類の雌性発生 2 倍体における G-C 組換え率と固定指数について 水産育種 11:49-58
- 10) 水産庁養殖研究所: 水産分野における遺伝・育種研究の現状と将来展望, 水産養殖研究推進全国会議議事録, 平成 2 年度, 平成 3 年 3 月