

23. バイオテクノロジー 導入試験

平成元年度バイオテクノロジー導入試験

増殖科 鍋 島 浩

マダイの雌性発生2倍体及び3倍体作出試験

1 目 的

染色体操作技術の導入により、優良形質をもつマダイの新養殖品種を作出する。

2 材料と方法

(1) 雌性発生2倍体

実験に供した親魚は高知県栽培漁業センターで養成したマダイとクロダイである。媒精に用いたクロダイ精子は生理食塩水で100倍に希釈後、 $3,000 \text{ erg/mm}^2$ の紫外線照射により、不活化した。高温処理の誘導条件は、媒精3分後に1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4分の7区の処理時間と32.5, 35, 37.5, 40℃の4区¹⁾の温度を設定して検討した。また、低温処理(クロダイ不活化精子での媒精3分後に0℃の海水に10～15分間浸漬)によって第2極体放出阻止型雌性発生2倍体(以下G2NAとよべる)を作出した。なお、G2NAの作出条件は前年度に検討済である。

(2) 3倍体

前記の養成マダイを用い、媒精3分後に0℃の海水に12分間、受精卵を浸漬し、誘導を試みた。

(3) 量産区

前記の方法で3倍体、雌性発生2倍体の量産試験を行った。ふ化は一腹ごとに30ℓポリカーボネイト水槽で行い、ふ化後も同様に一腹ごとに室外2トンコンクリート水槽で個別飼育した。そして全長20mm程度に成長した段階で水試専用水面小割に収容し、全長30～40mmで一部を取り上げ、アイソザイム分析用試料とした。そして、個体識別と3倍体、雌性発生2倍体誘導成否の判定を行った。判定後は対照区(無処理区)、3N処理区、G2NA処理区の3区にそれぞれまとめて収容し、飼育を続けた。

3 結果及び考察

高温処理によるG2NAの誘導は媒精3分後に2.5分間、35℃¹⁾の海水に浸漬することで高い生残率を示し、その後のアイソザイム分析で100%G2NAの誘導が確認された。また、低温処理によっても100%G2NAの誘導が確認された。しかし、第1卵割阻止型雌性発生2倍体(以下G2NBとよべる)は作出できなかった。

また、3Nもアイソザイム分析及び赤血球径の観察により100%誘導が確認された。

当初対照区、3N区、G2NA区の各区間には成長差がみられなかったが、その後3N区の成長がやや劣る傾向がみられた。この原因としては3N区の収容密度が高かったこと等が考えられる。G2NBは高温、低温処理では誘導できなかったが、高圧処理では他の魚種²⁾で成功例があり、きめ細かな条件設定をすれば誘導の可能性があり来年度の課題としたい。

4 文 献

- 1) Ketut Sugama, N. Taniguchi, S. Seki, H. Nabeshima, and Y. Hasegawa : Nippon suisan Gakkaishi, 56(9), 1427-1433(1990)
- 2) Taniguchi, N., S. Seki, J. Fukai, and A. Kijima : Nippon Suisan Gakkaishi, 54:553-557.

平成元年度バイオテクノロジー導入試験

鍋 島 浩

アコヤガイ外套膜の培養細胞による真珠形成試験

1 目 的

組織培養技術を導入した新たな真珠養殖方法を開発する。

2 材料と方法

昭和 63 年 11 月に増殖がみられたアコヤガイ 外套膜由来と思われる細胞の 24 代目を平成元年 5 月に核とともにアコヤガイ 生殖腺内に移植した。移植する細胞数及び移植方法は既報¹⁾に準じた。なお、1 区は細胞をあらかじめ核に付着さす方法で、2 区は細胞浮遊液を核の周囲に注入する方法である。期間中の管理としては月 2 回の貝掃除と 6、7 月に各 1 回の塩水処理を実施した。そして平成 2 年 1 月 9 日に取り上げた。

3 結果及び考察

取り上げた結果、1 区で 4.7%、2 区で 10.2% の真珠形成率がみられた。この真珠は稜柱層を巻き込み、商品価値はなかったが明らかに真珠であった。しかし、この細胞はアイソザイム分析²⁾により異生物の疑いがあったため、あらためて 45 代目の細胞を外套膜由来であるか水産庁養殖研究所に判定を依頼したところ以下の結果が出、真菌類の 1 種であった。

① 染色体観察が不可（低張処理で細胞が膨潤しない。）

② 電子顕微鏡観察及び DAPI 染色で細胞内に 1～20 個の核が存在する。

これらのことより、真珠形成がみられた理由として 24 代目時点の細胞では、まだ外套膜由来細胞が存在していたためか、それとも全く偶然に真珠形成がなされたのか不明な点が多く、さらに試験を継続する予定である。

4 謝 辞

培養細胞が外套膜由来であるかの判定にあたって、詳細な検査をしてくださった水産庁養殖研究所 淡路雅彦氏に深くお礼を申しあげる。

5 文 献

- 1) 鍋島 浩 1989 : アコヤガイ外套膜の組織培養技術研究, 高知水試事業報告書
- 2) 谷口順彦・岡田容典 (1980) : マダイの生化学的多型に関する研究。日水誌, 46 (4), 437-443。

平成元年度バイオテクノロジー導入試験

増殖科 鍋島 浩

クロアワビ3倍体について

1 目 的

クロアワビ3倍体の生態特性を解明し、養殖品種としての可能性をさぐる。

2 材料と方法

昭和61年11月に低温処理で作出したクロアワビ2倍体¹⁾(以下3Nとよべる、誘導率83.6%)を昭和62年5月に屋外2トンコンクリート水槽に設置したプラスチック製のかご(50×40×80cm)に100個収容した。対照区には同じ母貝から作出した通常2倍体を用いた。飼育開始時の平均殻長は3N区が12.6mm, 2N区が12.3mmで、餌料は生のカジメ、アオサ及び塩蔵ワカメで飽食量与えた。

また、成熟状態を調べるために平成2年11月24日に別水槽で飼育した2N, 3N区から各々30個取り上げた。

3 結果及び考察

平成2年3月までの成長を図1に示した。3N区が2N区に比較してやや劣る傾向がみられた。期間中の生残率は3N区が70%, 2N区が55%で2N区が低かったが、これは水温上昇期のへい死が多かったためである。

成熟度の判定では雌雄判別可能な個体を目視により1～4(数字が大きい程成熟が進む)の4段階に分けたが3N区の発達が明らかに抑制されており、しかも雌雄判定不可能な個体が40%を占めていた(表1, 2)。しかし、雄の中には精巣が2N区と同じように発達する個体もあり、これが3Nの誘導に失敗した2Nか、もしくは3Nにもかかわらずクロアワビでも精巣が発達するのか、今後さらに検討する必要がある。

4 文 献

- 1) 鍋島 浩 1989: クロアワビ3倍体作出試験, 高知水試事業報告書

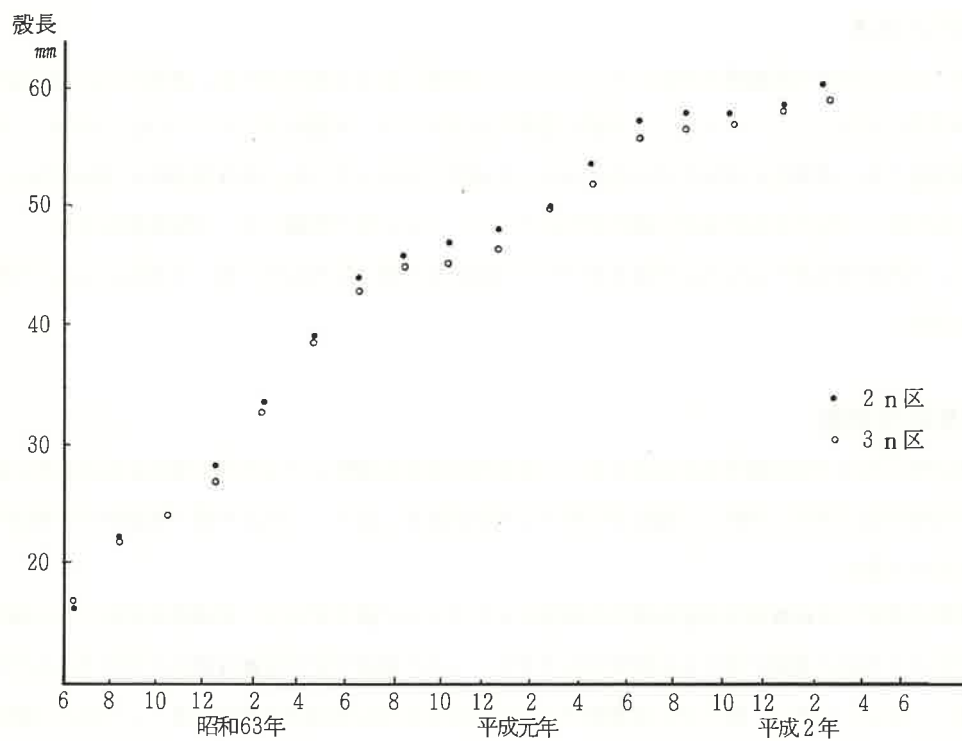


図1 クロアワビの成長

表1 クロアワビ2倍体(対照区)の性成熟状況

2Nアワビ

1989. 11. 24 測定

No	殻 長	殻 幅	殻 高	重 量	軟体部	性	熟 度	軟体部比
1	52.4	40.1	14.9	23.31	12.49	m	3	53.6
2	53.1	37.5	14.4	22.04	11.60	f	1	52.6
3	53.6	37.4	17.9	23.79	14.02	f	2	58.9
4	52.5	37.3	16.5	21.70	11.74	f	1	54.1
5	55.8	35.8	17.7	26.14	15.39	f	2	58.9
6	53.1	37.9	14.0	24.10	14.74	m	3	61.2
7	53.0	36.1	15.5	20.71	12.57	f	3	60.7
8	53.3	37.7	13.3	22.99	13.54	f	4	58.9
9	46.4	32.1	11.1	15.08	7.76	m	1	51.5
10	47.6	33.2	16.0	17.37	9.19	m	2	52.9
11	48.7	34.6	14.3	16.93	9.57	m	2	56.5
12	48.2	34.2	11.3	18.00	10.17	f	1	56.5
13	47.6	33.6	13.1	14.47	7.67	u.k	—	53.0
14	44.6	32.0	11.5	12.82	6.85	u.k	—	53.4
15	50.7	35.7	15.3	19.11	11.41	m	4	59.7
16	47.6	30.5	13.0	17.14	9.29	m	2	54.2
17	49.3	35.7	15.6	21.79	12.47	f	3	57.2
18	49.5	34.3	14.3	17.54	9.82	m	3	56.0
19	46.9	33.7	12.5	16.61	9.94	f	2	59.8
20	47.6	33.6	11.9	15.96	8.70	m	1	54.5
21	52.4	37.2	12.9	19.51	11.30	m	4	57.9
22	49.1	36.6	16.5	20.16	10.19	f	1	50.5
23	53.7	39.1	16.4	25.51	15.13	m	2	59.3
24	48.7	32.2	13.4	16.77	9.62	m	3	57.4
25	43.9	27.3	10.8	11.98	6.58	u.k	—	54.9
26	52.4	36.9	13.3	24.10	12.03	m	3	49.9
27	47.3	31.2	12.3	17.86	12.27	u.k	—	68.7
28	49.5	33.6	13.7	20.50	13.05	m	4	63.7
29	54.3	38.2	15.3	24.68	14.30	u.k	—	57.9
30	45.8	31.7	14.5	14.91	8.79	f	2	59.0
mean	50.0	34.9	14.1	19.5	11.1			56.8
SD	3.1	2.8	1.9	3.8	2.4			4.0

表2 クロアワビ3倍体(試験区)の性成熟状況

3Nアワビ 1989. 11. 24 測定

No	殻長	殻幅	殻高	重量	軟体部	性	熟度	軟体部比	
1	49.5	33.4	14.0	18.21	10.66	f	1	58.5	0.144
2	46.4	31.2	10.7	13.95	7.32	m	2	52.5	0.121
3	51.3	32.3	14.9	20.18	14.42	u.k	—	71.5	0.151
4	49.5	33.7	12.7	18.09	10.45	u.k	—	57.8	0.132
5	48.9	32.8	14.2	20.58	12.59	m	2	61.2	0.148
6	48.3	32.4	14.2	18.01	10.21	m	2	56.7	0.150
7	52.9	36.4	14.2	24.35	13.93	f	3	57.2	0.137
8	48.6	32.9	14.4	20.86	12.53	m	3	60.1	0.150
9	52.7	34.7	13.3	20.90	11.75	f	1	56.2	0.132
10	50.5	33.2	13.0	18.63	11.41	u.k	—	61.2	0.134
11	50.4	33.3	15.8	23.38	12.42	m	4	53.1	0.159
12	52.9	36.5	16.6	26.62	16.00	f	1	60.1	0.155
13	47.0	31.7	12.3	16.33	9.64	u.k	—	59.0	0.135
14	54.6	37.4	17.7	27.66	17.50	f	2	63.3	0.161
15	50.6	34.0	14.5	19.78	10.90	m	2	55.1	0.146
16	48.0	32.3	14.2	18.45	10.13	m	3	54.9	0.150
17	53.0	35.8	13.7	23.94	15.93	m	—	66.5	0.134
18	48.9	32.3	12.0	18.82	11.60	u.k	—	61.6	0.129
19	56.2	37.0	16.6	28.10	16.24	f	1	57.8	0.151
20	52.0	35.6	13.7	22.28	13.71	u.k	—	61.5	0.135
21	51.0	33.7	11.7	20.43	11.80	m	3	57.8	0.121
22	45.4	30.3	11.4	14.77	8.79	u.k	—	59.5	0.131
23	46.5	32.7	13.8	16.54	9.24	u.k	—	55.9	0.148
24	50.5	34.0	14.3	20.71	11.76	u.k	—	56.8	0.145
25	45.0	29.5	12.7	13.49	7.99	m	1	59.2	0.146
26	46.4	31.7	13.4	15.13	8.32	u.k	—	55.0	0.146
27	49.8	33.2	16.3	20.28	11.80	m	2	58.2	0.164
28	49.0	33.2	14.3	17.43	9.51	u.k	—	54.6	0.148
29	47.4	29.9	12.8	19.13	12.21	m	3	63.8	0.142
30	48.7	33.8	14.4	19.23	11.93	u.k	—	62.0	0.149
mean	49.8	33.4	13.9	19.88	11.76			59.0	0.143
SD	2.7	2.0	1.6	3.66	2.49			4.0	0.011