

雄性ホルモン処理によるヤマメ性転換雄の作出

城 智聡・工藤真弘・小野 淳

三倍体ヤマメの作出にあたっては、「三倍体魚等の水産生物の利用要領」(水産庁通達)により、全雌化が求められる。そのため、遺伝的には雌でありながら機能的には雄となる性転換雄(XX雄)が必要となる。雄への性転換については、雄性ホルモンを用いる方法が多く魚種で試みられている¹⁻⁶⁾。このうちヤマメ性転換の処理条件についてはこれまでに全国養鱒技術協議会、育種・バイオテクノロジー研究部会の連絡試験等で検討されている⁷⁻¹⁰⁾。しかし、雄性ホルモン処理の開始時期、処理間隔等の条件は、飼育魚の系統や飼育水温などにより異なるとされている。そこで本研究では、東京都水産試験場奥多摩分場産ヤマメの最適な雄性ホルモン処理開始時期について検討し、また飼育管理の省力化を目的とした処理回数の削減、ホルモン投与期間の短縮を検討したので報告する。

材料と方法

実験1 ふ化後積算水温 205.7~333.7℃・日での雄性ホルモン処理開始時期が雄化率におよぼす影響

供試魚 1991年11月に作出した性転換雄1+年魚から切り出した精子を森沢¹¹⁾の人工精漿で希釈した後、1993年10月に奥多摩分場産ヤマメ1+年魚雌7尾より採卵した約4500粒に媒精して作出した全雌ヤマメ仔魚を用いた。

雄性ホルモン処理 雄性ホルモン処理条件は、全国

養鱒技術協議会、育種・バイオテクノロジー研究部会¹²⁾の連絡試験に準ずる方法で行った。浮上期以前の供試魚については浸漬処理とし、2日または3日間隔(週2回)で10μg/lの17α-メチルテストステロン(シグマ社製)に2時間浸漬した。浮上後は飼料に対し1ppmになるように17α-メチルテストステロンを添加した餌付用配合飼料を8週間経口投与した。

実験区 実験区の設定は表1に示した。供試魚は発眼卵の時点で6等分し、雄性ホルモン浸漬処理開始時の積算水温が、ふ化後205.7℃・日を1区、同250.2℃・日を2区、同292.3℃・日を3区、同333.7℃・日を4区とし、経口投与のみを5区とした。また、浸漬、経口投与とも行わない6区を対照区とした。

雄化の判定および雄化率の算出 1994年10月12、14日の両日に各区30個体以上を解剖し、肉眼観察または圧片標本の検鏡によって精巢および卵巣の状況を確認した。雄化率は下式により算出した。

$$\text{雄化率} = \left(\frac{\text{精巢を持つ個体数}}{\text{総調査個体数}} \right) \times 100 (\%)$$

実験2 ふ化後積算水温 64.1~228.7℃・日での雄性ホルモン処理開始時期および高濃度処理が雄化率におよぼす影響

供試魚 1992年11月に作出した性転換雄1+年魚から切り出した精子を人工精漿で希釈した後、1994

表1 性転換雄作出のための17α-メチルテストステロン処理方法(実験1)

実験区	処理濃度 (μg/l)	浸漬開始時 積算水温(℃・月) ふ化後	1993年12月			1994年1月					経口投与
			24日	28日	31日	4日	7日	11日	14日	17日	
1	10	205.7	●	●	●	●	●	●	●	●	投与8週間
2	10	250.2			●	●	●	●	●	●	投与8週間
3	10	292.3					●	●	●	●	投与8週間
4	10	333.7							●	●	投与8週間
5	無処理	無処理	-	-	-	-	-	-	-	-	投与8週間
6	無処理	無処理	-	-	-	-	-	-	-	-	投与無し

●は浸漬処理を行った日

年10月に奥多摩分場産ヤマメ1+年魚雌12尾より採卵した約7400粒に媒精して作出した全雌ヤマメ仔魚を用いた。

雄性ホルモン処理 浮上期以前の供試魚については浸漬処理を行った。1区は、週1回の間隔で100 $\mu\text{g/l}$ 濃度の17 α -メチルテストステロン(シグマ社製)に2時間浸漬、その他の区については、対照区である6区を除き2日または3日の間隔(週2回)で10 $\mu\text{g/l}$ 濃度の17 α -メチルテストステロンに2時間浸漬とした。浮上期以降は、対照区である6区を除く全ての区で、飼料に対し1ppmとなるように17 α -メチルテストステロンを添加した餌付用配合飼料を8週間経口投与した。

実験区 実験区の設定は表2に示した。供試魚は発眼卵の時点で6等分し、浸漬処理開始時の積算水温がふ化後64.1 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{日}$ を1区および2区、同123.9 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{日}$ を3区、同184.1 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{日}$ を4区、同228.7 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{日}$ を5区とした。また、浸漬、経口投与とも行わない6区を対照区とした。

雄化の判定および雄化率の算出 1995年10月12日に各区30個体を解剖し、実験1と同様に雄化判定を行った。

実験3 雄性ホルモンの長時間浸漬処理および経口投与期間が雄化率におよぼす影響

供試魚 1993年に作出した性転換雄1+年魚から切り出した精子を人工精漿で希釈した後、1995年10月に奥多摩分場産ヤマメ1+年魚雌7尾より採卵した約5000粒に媒精して作出した全雌ヤマメ仔魚を用いた。

実験区および雄性ホルモン処理 実験区の設定は表3に示した。供試魚は発眼卵の時点で7等分して各実験区に供試した。浮上期以前の供試魚は浸漬処理とし、浸漬処理開始時期は、実験2で100%の雄化率が得られた条件(浸漬処理開始時期ふ化後積算水温123.9 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{日}$ 、浸漬処理濃度10 $\mu\text{g/l}$ 、浸漬処理回数週2回(2,3日間隔)、浸漬処理時間2時間、浮上後の経口投与期間8週間)に準じ、積算水温でふ化後118.1 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{日}$ とした。

浸漬処理濃度は全て10 $\mu\text{g/l}$ とし、処理回数、処理時間は1区を、浸漬回数削減効果を目的とした長時間浸漬区として週1回・6時間、2区を浸漬回数のみ削減した週1回・2時間、3~6区は週2回・2時間とした。また、浮上期以降は、1ppmの17 α -メチルテストステロン添加餌付用配合飼料の投与期間を1~3区については8週間、4~6区についてはそれぞれ4週間、2週

表2 性転換雄作出のための17 α -メチルテストステロン処理方法(実験2)

実験区	処理濃度($\mu\text{g/l}$)	浸漬開始時 積算水温($^{\circ}\text{C}\cdot\text{月}$) ふ化後	1994年12月						1995年1月				経口投与			
			2日	6日	9日	13日	16日	20日	23日	27日	30日	3日		6日	10日	
1	100	64.1	●		●		●		●		●		●		●	投与8週間
2	10	64.1	●		●		●		●		●		●		●	投与8週間
3	10	123.9	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	投与8週間
4	10	184.1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	投与4週間
5	10	228.7	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	投与2週間
6	無処理	無処理	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	投与無し

●は浸漬処理を行った日

表3 性転換雄作出のための17 α -メチルテストステロン処理方法(実験3)

実験区	処理濃度($\mu\text{g/l}$)	浸漬開始時 積算水温($^{\circ}\text{C}\cdot\text{月}$) ふ化後	1995年11月		1995年12月				1996年1月				経口投与			
			30日	3日	7日	10日	14日	17日	21日	24日	28日	31日		4日		
1	100	118.1	●		●		●		●		●		●		●	投与8週間
2	10	118.1	●		●		●		●		●		●		●	投与8週間
3	10	118.1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	投与8週間
4	10	118.1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	投与4週間
5	10	118.1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	投与2週間
6	10	118.1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	投与無し
7	無処理	無処理	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	投与無し

●は浸漬処理を行った日

間、無投与として設定した。7区は浸漬、経口投与とも行わない対照区とした。

雄化の判定および雄化率の算出 1996年12月3日に各区30個体を解剖し、精巢および卵巢の状況を肉眼観察するとともに、圧片標本の検鏡により雄化判定を行った。雄化率の算出法は実験1と同様に行った。

結 果

実験1 飼育期間中に各実験区とも疾病の発生や事故等はなかった。雄化の判定結果と雄化率を表4に示した。1区では39尾中26尾に精巢がみられ、雄化率は66.7%となったが、このうち、3尾では卵巢も併せ持った雌雄同体であった。また、2区では30尾中5尾に精巢がみられたが、そのうちの4尾が雌雄同体であった。3区でも雌雄同体が1尾みられたが、この他に精巢を持つものは認められなかった。早期に処理を開始するほど雄化率は高くなり、ふ化後の積算水温333.7℃・日以降では0%となった。

実験2 飼育期間中に各実験区とも疾病の発生や事故はなかった。各区の雄化判定結果および雄化率を表5に示した。雄化率は最も低い5区でも73.3%と実験

1における雄化率の最高値(66.7%)を上回る結果となった。2~4区では卵巢を持つ個体はみられず、特にふ化後の積算水温が123.9℃・日の時点で処理を開始した3区では雄化率は100%となった。また、3区よりも早く処理を開始した2区(ふ化後の積算水温64.1℃・日)では雄化の判断ができない個体が1尾みられたものの、雄化率は96.7%とほぼ100%に近い値を示した。一方、処理濃度を高め、処理回数を少なくした1区では83.3%の雄化率となった。

実験1, 2から、雄性ホルモン処理開始時期の違いによる雄化率の変化を図1に示した。雄化率は、ふ化後積算水温250℃・日付近を境に大きく変化する結果となり、250℃・日以降では最も高い場合でも16.7%(250.2℃・日)に留まり、300℃・日以降では雄化する個体はほとんど得られなかった。これに対して、250℃・日以前の場合には最低でも66.7%(205.7℃・日)の雄化率が得られ、特に100℃・日前後の場合は100%もしくはそれに近い雄化率が得られた。

実験3 飼育期間中に各実験区とも疾病の発生や事故はなかった。各区の雄化の判定結果および雄化率を表6に示した。実験2で100%の雄化率が得られた雄

表4 17α-メチルテストステロン浸漬処理開始時期による雄化率の違い(実験1)

実験区	浸漬条件				経口投与期間(週)	精巢のみ	精巢+卵巢	卵巢のみ	無	雄化率(%)
	開始時期(℃・日) ふ化後積算水温	濃度(μg/l)	回数	時間(h/回)						
1	205.7	10	週2回	2	8	23	3	7	6	66.7%
2	250.2	10	週2回	2	8	1	4	22	3	16.7%
3	292.3	10	週2回	2	8	0	1	29	0	3.3%
4	333.7	10	週2回	2	8	0	0	30	0	0.0%
5	無処理	無処理	無処理	無処理	86	0	0	30	0	0.0%
6	無処理	無処理	無処理	無処理	無処理	0	0	30	0	0.0%

雄化率：(精巢を持つ個体数/総調査個体数)×100(%)

表5 17α-メチルテストステロン浸漬処理開始時期による雄化率の違い(実験2)

実験区	浸漬条件				経口投与期間(週)	精巢のみ	精巢+卵巢	卵巢のみ	無	雄化率(%)
	開始時期(℃・日) ふ化後積算水温	濃度(μg/l)	回数	時間(h/回)						
1	64.1	100	週1回	2	8	24	1	0	5	83.3%
2	64.1	10	週2回	2	8	29	0	0	1	96.7%
3	123.9	10	週2回	2	8	30	0	0	0	100.0%
4	184.1	10	週2回	2	8	26	0	0	4	86.7%
5	228.7	10	週2回	2	8	22	1	3	4	73.3%
6	無処理	無処理	無処理	無処理	無処理	0	0	30	0	0.0%

雄化率：(精巢を持つ個体数/総調査個体数)×100(%)

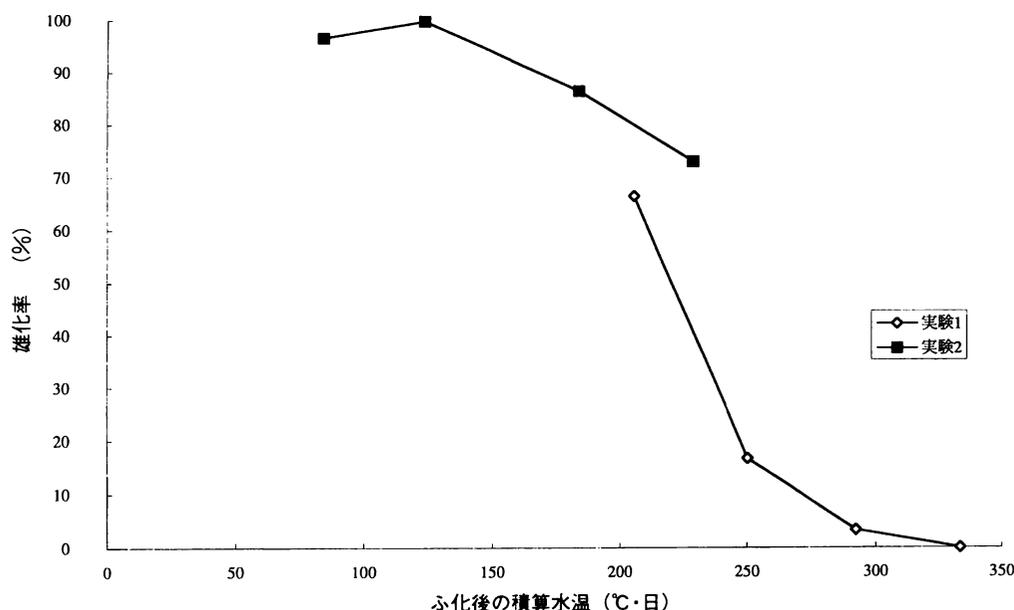


図1 雄性ホルモン処理開始時期による雄化率の違い

表6 17 α -メチルテストステロン浸漬処理回数および経口投与期間による雄化率の違い (実験3)

実験区	浸漬条件				経口投与期間 (週)	精巣のみ	精巣+卵巣	卵巣のみ	無	雄化率 (%)
	開始時期(°C・日) ふ化後積算水温	濃度 ($\mu\text{g}/\text{l}$)	回数	時間 (h/回)						
1	118.1	0	週1回	6	8	18	0	8	5	60.6%
2	118.1	10	週1回	2	8	8	1	19	2	30.0%
3	118.1	10	週2回	2	8	22	0	6	2	73.3%
4	118.1	10	週2回	2	4	12	0	18	0	40.0%
5	118.1	10	週2回	2	2	3	1	15	1	13.3%
6	118.1	10	週2回	2	無処理	0	0	30	0	0.0%
7	無処理	無処理	無処理	無処理	無処理	0	0	30	0	0.0%

雄化率：(精巣を持つ個体数/総調査個体数)×100 (%)

性ホルモン処理条件(浸漬処理開始ふ化後 123.9°C・日、浸漬濃度 10 $\mu\text{g}/\text{l}$ 、浸漬時間 2時間、浸漬処理回数週 2回、経口投与期間 8週間)とほぼ同条件である 3 区の雄化率が最も高く 73.3% となった。浸漬処理回数と 1 回あたりの浸漬時間については、処理回数を少なくした 2 区では雄化率が 30.0% に低下したが、1 回あたりの浸漬時間を 2 時間から 6 時間に延長した 1 区の雄化率は 60.0% となった。

経口投与期間の違いによる雄化率の変化を図 2 に示した。投与期間 4 週間の 4 区の雄化率が 40.0%、2 週間の 5 区が 13.3%、経口投与を行わなかった 6 区では雄化した個体はみられず、経口投与期間の短縮に伴って雄化率は直線的に低下した。

考 察

山形県内水面水産試験場⁷⁾は、ヤマメの雌への性分化時期がふ化後積算水温 250°C・日にあり、それ以前の 210°C・日(ふ化後 20 日)前後に処理を開始することで最も高い雄化率が得られるとしている。本実験でも雄性ホルモン処理開始時期がふ化後積算水温 250°C・日以降になると、急激に雄化率が低下したことから、奥多摩分場産ヤマメの性決定はほぼこの時期に一致すると考えられた。

最適な雄性ホルモン処理開始時期について同報告⁷⁾と比較すると、本実験で最適であった 123.9°C・日と比べて 90°C・日程度高い結果が得られている。一方、群馬県水産試験場⁸⁾の報告では、ふ化直後のホルモン処

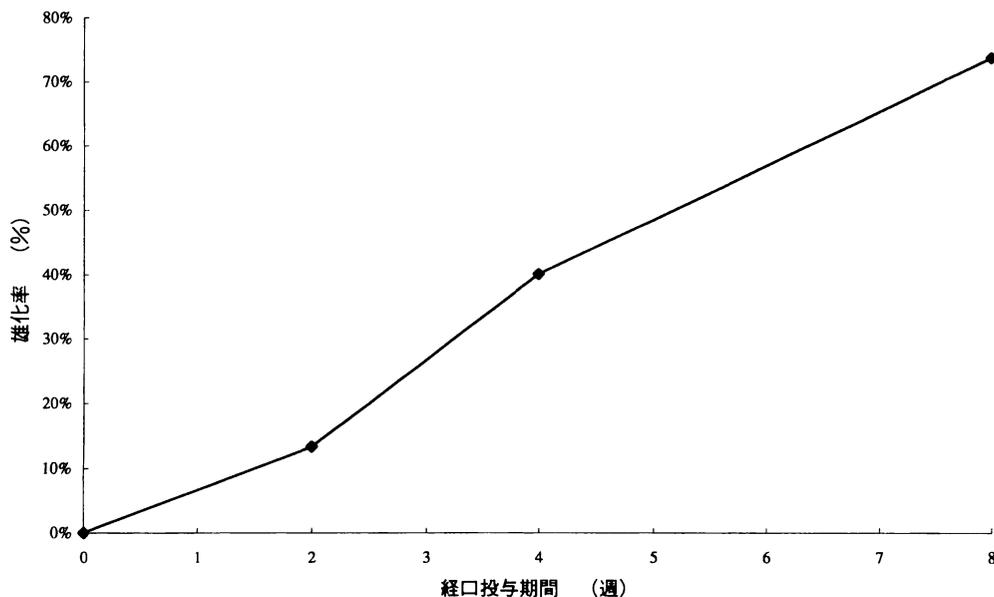


図2 経口投与期間の違いによる雄化率の変化

理開始で86.7%の雄化率が得られているが、ふ化後80℃・日前後に開始した場合には雄化個体が得られていない。従って本実験の結果と比較すると、積算水温で40℃・日程度の差がみられたことになり、最適な雄性ホルモン処理条件については様々な結果が得られている。また本実験のうち、ほぼ同様の雄性ホルモン処理条件に基づいて行った実験2の3区と実験3の3区の間でも雄化率には大きな差異を生じる結果となった。

一方、高濃度処理を行った場合の雄化率は83.3%と高率であったので、処理濃度を10 μ g/lから100 μ g/lに高めれば、処理回数を週2回から1回に削減することが可能と考えられた。長時間処理では高濃度処理に比べ雄化率は低下したが60.0%台を確保することができ、高濃度処理と同様に処理回数削減の可能性が認められた。しかし雄性ホルモン経口投与期間の短縮した実験3の各区では、いずれも雄化率が大きく低下してしまい、この結果、大幅な投与期間短縮の可能性は低いと考えられた。また、工藤ら¹³⁾の報告と同様に、雄化した個体の中には判定の際に精巢の異常(雌雄同体、輸精管の異常など)固体が90%程度と多くみられ、搾出によって採精できるものは少なかった。さらに、搾出可能な個体でも採精量が通常雄と比較して少ないため、現段階では精巢を切り出して利用することになり、種苗生産現場における作業効率の低下を招く可能性がある。今後は搾出効率の検討と、処理回数を削減した場合に高い雄化率が得られるよう、高濃度処理の

浸漬濃度、長時間浸漬の浸漬時間についてさらに検討する必要がある。

文 献

- 岡田鳳二(1985)ニジマスの人為的性統御に関する研究。北海道立水産ふ化場研報,(40):1-49.
- 天下谷昭文・久慈康支・菅原紀綱(1993)バイオテック利用魚類養殖システム開発事業。平成3年度岩手内水試年報:37.
- 北海道立水産ふ化場(1985)サケ科魚類の生物工学応用試験。昭和58年度事業成績書:190-193.
- 徳島県水産試験場(1991)平成元年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業—アユの染色体操作による全雌魚大量生産技術開発研究—4(抄録)。平成元年度徳島水試事業報告:36-37.
- 沢本良弘(1994)コレゴヌスの全雌化試験—I。平成4年度長野水試事業報告:4.
- 北海道立水産ふ化場(1993)池産サクラマスの種苗生産における性比コントロール技術の導入試験。平成3年度道立水産ふ化場事業成績書:149.
- 山形県内水面水産試験場(1991)雄性ホルモン処理による性転換雄作出技術の開発、性コントロール技術の確立によるヤマメの全雌魚生産技術の開発。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:35-38.
- 松岡栄一・星野勝弘・薩美賢策(1995)ヤマメの性転換雄魚作出試験。群馬水試研報:59-61.
- 泉滋彦(1991)サケ科魚類の性転換雄作出試験。平成元年度

福島内水試事業報告：2-3.

10) 稲荷森輝明・天下谷昭文・菅原紀綱（1991）ヤマメの性転換雄作出試験. 平成元年度岩手内水試年報. : 37.

11) 森沢正昭（1984）サケの精子の運動開始. 遺伝, **38**（1）：18
-33.

12) 全国養鱒技術協議会育種・バイオテクノロジー研究部会（1988）第1回育種・バイオテクノロジー研究部会資料：4-5.

13) 工藤真弘・小野淳（2000）ヤマメ性転換雄精子の受精能. 東京水試調査研報., (**212**)：38.