

# 内水面でのサケマス養殖における 染色体操作等新技术の応用

小林 徹 （滋賀県醒井養鱒場）

現在、染色体操作技術は、その作出手法開発の段階を終了し、作出した生物の特性評価や雌性発生操作技術を育種研究事業へ応用していく段階へと徐々に移行しつつある。ここでは、三倍体や雌性発生二倍体の生物学的特性の解明や雌性発生育種の事業的実践について、現時点で解明されつつあることについて紹介し、下等脊椎動物における育種研究の今後の展開を考える。

## 1. 不妊魚（三倍体）の作出とその特性

魚類では、産卵を行うと死亡する種が多い。とりわけサケ科魚類はその代表的な種族である。サケマスを取り扱うような内水面養殖業では、この成熟産卵による弊害に長年悩まされてきた。即ち、シロサケやアマゴのように産卵によって死亡する魚種のみならず、産卵後も生残し、二度三度と産卵が可能な魚種でも、生殖腺が発達し、成熟してくると以下のような弊害が起こる。①成長が遅滞する。②体色が黒化する。③肉質が劣化する。④疾病に対する抵抗力が低下する。⑤死亡率が高くなる。これらの弊害によって養殖業者は産卵期に大きな損害を被ってきた。このため、不妊魚の作出は、業界の長年の懸案であったともいえる。こういった意味で、成熟しない魚（不妊魚）を作出し、事業生産に導入していくことは、生産性向上等の観点から考えて、極めて有効なことであると考えられる。このように、三倍体は成熟にかかる弊害を防除するという目的で作出が検討された。

サケ科魚類の三倍体作出方法はいたって簡単である。媒精後15分の受精卵を26℃の温水に20分間浸漬することによって作出が可能であることが明らかにされている。こうして作出した三倍体は従来の二倍体サケ科魚類とはどこがどのように異なっているかについて今まで解明された事柄について以下に解説する。

例えば、三倍体は体を構成する全細胞が大型化し、核内DNAの量は通常の1.5倍（ゲノム3単位）と奇数倍数性になる。この二つのことが三倍体の呼吸系や神経系、生殖系等の生理学的特性に大きく影響を及ぼす。特に生殖系への影響は極めて大きく、三倍体作出の中心目的である不妊性の誘導の点からも特筆に値する。奇数倍数性がもたらす生殖系への影響は生殖腺の発達退縮、血中性ステロイドホルモン濃度にも大きくあらわれている。現在考えられる三倍体の不妊性の最も根本的な原因は、生殖細胞の減数分裂の進行不全であり、体細胞側は基本的には全く問題がないと思われる。しかし、三倍体の妊性は雌雄により異なり、いわゆる二次性徴は雌の三倍体でのみ抑制される。

不妊性は成長に大きく影響する。成熟しないことがエネルギーの損失を最小限に抑え、極端に言えば死なない魚になる。生殖のための多量のエネルギーは成長に振り向けられ、そのことで通常の場合より大きな体型となる。しかし、養殖に直結する他の生理学的特性を考えた場合、三倍体の誘導によってもたらされるも

のは全くのメリットばかりではない。例えば、細胞サイズの増大により、呼吸系に影響がでる。酸素の利用能が二倍体に比べて劣っているようだ。さらに、脳神経系にも影響があり、刺激に対する反応の鈍化や学習能力の低下を来たすものと思われる。しかし、このような二倍体に対する三倍体の生理学的能力の劣化現象も、決定的な難点ではなく、やや劣るという程度であり、生殖腺の発達を抑制するという大きなメリットから考えれば僅かな欠点であるといえる。このため、三倍体の様々な特性を解明して、飼育養成にかかる注意点を明らかにすることが必要である。

このような特性を持つ三倍体の大量作出は現在多数の試験場等で行われている。この場合、上記のような不妊性が期待できる三倍体雌を量産することが必要である。雌ばかりの三倍体の生産は後に述べる全雌生産技術が前提となるが、この方法により生産する魚全個体を不妊魚にすることができる。

## 2. 全雌生産（雌性発生と性転換技術）

生産方法 ①雌性発生二倍体は1)紫外線照射による精子遺伝子の不活性化、2)不活性精子による媒精、3)温度処理あるいは圧力処理による倍数化、の三段階の方法で作出する。②性転換は 17 $\alpha$ -methyltestosterone 1ppm含有餌付用飼料を性未分化のニジマス稚魚に経口投与することで行う。③性転換雄の精巣は輸精管を欠如しているものが多く、精巣から取り出せる精子の多くは運動能を獲得できていない。このため、実用にあたっては精巣内精子への人為的活性付与が必要な場合が多い。演者らは精巣から取り出した運動能未獲得の精子に *in vitro* で運動能を付与し、受精率を高めることを事業的レベルで実践している。

この性転換雄の精子を使って受精させると生まれくるすべての個体が雌になる。全雌種苗はこの方法を採用することにより、大量生産が可能になった。また、全個体を不妊魚とするための全雌三倍体生産は、この性転換雄の精子で媒精した受精卵に上述の温水処理を施すことでこれも大量に作出する事が可能になった。醒井養鱒場ではここ数年前から、これらの方法を事業生産に組み入れ、全雌種苗・全雌三倍体種苗の事業的生産を行っている。

## 3. 選抜雌性発生育種

養殖の歴史の比較的長いニジマスでは、従来から飼育群中に様々な変異が見られてきた。特に、産卵時期、胞卵数、卵径、卵重、体長、体重、肥満度等の様々な形質は、生産や品質に密接な関係を持っている。従来から、これらの形質に着目し、親魚選抜を行い、飼育群の表現型のうち遺伝的な部分を望ましい方向へ改良しようとする努力が続けられてきた。しかし、選抜育種は、目的とする形質の固定に著しく長期間を必要とし、またその効力には限界もある。ここで、注目されるのが雌性発生育種法である。

雌性発生育種法とは、雌性発生操作を応用して育種効果を高める方法である。通常の選抜育種では、ある飼育群に優良な形質を持った雌を見だし、この形質に着目して品種改良を進めようとした場合、次世代作出時には雄親の遺伝的関与を考慮しなければならない。雌性発生育種は、①この雄親の遺伝的関与を抹消することにより、全く別方向への選択圧を排除する事ができ、また②各遺伝子座に

ついて著しく同型接合率を高めることができる、という2点から従来の選抜育種法に比べて著しく有効な方法であるといえることができる。

雌性発生二倍体には、その作出過程における操作の違い、特に倍数化時期の違いによって二つのタイプを作出できる。紫外線照射によって遺伝的不活性とした精子の媒精によって雌性発生を開始した卵は、細胞分裂として、まず第二成熟分裂、次いで第一卵割を行う。雌性発生二倍体の作出を行う際、魚類では通常この両者のうちどちらかの分裂を阻止する事により、半数性から二倍性を回復させる。ところがこれらのどちらを選ぶかによって、生まれくる稚魚たちの遺伝的支配は大きく異なる。特に第一卵割を阻止した場合、その細胞内の遺伝子座はすべて同型接合性となる。このことは、配偶子を形成する際、第一減数分裂前期の相同染色体間の組換えの影響を全く受けることなく、形成される多数の卵の遺伝子組成を均一にできるという大きな意味を持つ。即ち、第一卵割阻止によって作出した雌性発生二倍体を親魚とすれば、次世代は遺伝的均一集団、クローンとなる。

クローンの作出は、集団を構成する遺伝子組成を均一にするという意味で大変意義が大きい。例えば、実験系、特に *in vivo* の実験では結果に対して、常に環境分散と遺伝分散の解析に頭を悩ますところであるが、クローンを実験材料に使えばでてきた結果の分散はすべて環境分散であるとみなすことができる。また、養殖魚としても、遺伝的組成が均一であるということは体型その他の形質が通常の場合に比べて極めて均質となるため、飼育魚の管理や出荷時の選別作業の軽減がはかれる可能性も大きい。

演者らはニジマスとアマゴにおいて第一卵割阻止型雌性発生二倍体の作出を行い、親魚まで養成し、最近クローンの作出を手掛けており、その過程で形質の大きな収斂を観察している。

#### 4. 将来展望

全雌種苗生産・全雌三倍体の生産は既に各地の試験研究機関で量産が行える段階に達している。今後、これらの種苗が業界に普及し、生産性を大きく向上させるものと思われるが、同時に今までに存在しなかったタイプの種苗であるので、その飼育養成には様々な問題点も出てくると考えられる。この意味で、これらの種苗の生物学的特性をより詳細に把握することが是非とも必要である。

一方、雌性発生育種は、まだ途についたばかりで問題となることも多々考えられるが、上述のように雌性発生技術の育種事業に対する効果は大変大きなものがある。今後、様々な品種の作出と系統間交配による本格的な水産育種事業が大きく発展するものと予想される。この場合、作出した各品種系統の保護のため、胚体や精子の保存技術開発がますます重要になるものと思われる。また、クローンを使った実験系の確立によって、従来解析が困難であった純粋な環境効果が測定できる。このことは、今後の養殖環境解析や生理学的研究に大きな推進力となるものと考えられる。