

マダイおよびクロダイの第二極体放出阻止に 有効な低温処理水温

荒川 敏久・Ong Yong Teong*

Adequate Temperature for Cold Shock Treatment to Retain the Second Polar Body
in Red and Black Sea Breams

Toshihisa ARAKAWA and Ong Yong Teong*

Temperature ranges for effective cold shock treatment were examined for the 2nd polar body retainment in red sea bream *Pagrus major* and black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*. Eggs of two species were inseminated with the ultraviolet irradiated milt at ca. 20°C, and subjected to at various temperature ranging from 0-10°C for 10 minutes from 3 minutes after insemination. Their hatching rates were compared among the temperatures tested.

The hatching larvae of intact control (inseminated with normal milt and not subjected to cold treatment) were almost morphologically normal, but all larvae inseminated with UV irradiated milt and not subjected to cold treatment were abnormal. Hatching rates in cold shock treated groups were high in the temperature range of 1-7°C for both species (over 70% for red sea bream and over 50% for black sea bream), and these larvae were almost normal. We concluded that this temperature range is adequate for the 2nd polar body retainment in both species of sea bream.

低温処理は第二極体保持による雌性発生魚や3倍体魚の作出に有効な手法¹⁾であり、さきに筆者らは、マダイ *Pagrus major* やクロダイ *Acanthopagrus schlegeli* は2-3°Cの処理で第二極体が保持されることを報告した²⁾。しかし、両種を含む温帯性の魚類において低温処理は魚種により-2°Cから5°Cまでの様々な水温で行われており³⁾、同一魚種でも異なる水温が用いられた例^{2,4)}もあるため、有効な処理水温にはある程度の幅があることが推察される。そこで、今回マダイとクロダイの有効な低温処理水温の範囲を明らかにする目的で本実験を実施し、若干の知見を得たので報告する。

材料と方法

低温処理時間の設定 低温処理水温条件の検討を行うのに先立って、試験処理時間を決定するために、処理時間がふ化率に及ぼす影響を調べた。

親魚には、ふ化から3年間長崎県水産試験場増殖研究所で養成した体重約1.3kgのマダイと、ふ化から4年間養成した体重約700gのクロダイを用いた。採卵・採精は雌雄各1尾ずつから搾出法で行った。精液は荒川(1988)⁵⁾に従い *Pleuroctes platessa* のリングル液で50倍に希釈した後1,500 erg/mlの紫外線を照射し、遺伝子を不活性化した。マダイ卵は紫外線照射を施したマダイ精液を用いて18.4°Cの水温で媒精し、低温処理は媒

* 長崎大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Nagasaki University)

精3分後から5, 10, 15および30分間媒精卵を1.2, 3.6, 4.9, 8.5°Cの海水に浸漬して行った。クロダイ卵は紫外線照射を施したクロダイ精液を用いて20.5°Cの水温で媒精し, 低温処理は媒精3分後から5, 10, 15および30分間媒精卵を2.9, 4.1, 9.2°Cの海水に浸漬して行った。また, 両魚種とも精液の紫外線処理と媒精卵の低温処理の両方を施さないIntact control (I-Contと略す), および紫外線照射精液で媒精し低温処理を施さないCold shock control (C-Contと略す)を対照として設けた。これらの卵は, 浮上卵200粒を100mlビーカーに収容して, 2日後にふ化率を求めた。

低温処理水温の設定 媒精3分後の卵を10分間0-10°Cの6段階の異なる水温に浸漬し, 低温処理水温がふ化率に及ぼす影響を調べた。用いた親魚, 採卵・採精, 精液の処理方法および対照区の設定は前項と同様である。媒精水温はマダイでは20.9°C, クロダイでは20.5°Cであり, 処理水温はマダイでは0.6, 1.8, 4.2, 6.3, 9.9, 10.2°C, クロダイでは0.3, 2.0, 4.3, 6.8, 8.6, 10.7°Cであった。低温処理区および対照区の卵は浮上卵200粒を100mlビーカーに収容して2日後にふ化率と正常な仔魚のふ化率を求めた。ふ化仔魚が正常か奇形かの判定は, 20倍の双眼実態顕微鏡下で仔魚の外部形態を観察して行った。

結果と考察

好適低温処理時間 マダイ媒精卵の低温処理時間とふ化率の関係を図1に示した。ふ化率はI-Contでは86%, C-Contでは20%であり, 処理水温が1.2-4.8°Cの範囲では10分間の処理時間で60-75%と各々の水温条件中で最も高くなった。また, 処理水温8.5°Cのふ化率は1.2-4.8°Cに比べていずれの処理時間でも著しく劣ったものの, 5-10分間では18-25%と他の処理時間よりは優れていた。

クロダイ媒精卵の低温処理時間とふ化率の関係を図2に示した。ふ化率はI-Contでは57%, C-Contでは0%であり, 処理水温が2.9と4.1°Cでは10分間の処理時間で約50%と各々の水温条件中で最も高くなった。また, 処理水温9.2°Cのふ化率は2.9や4.1°Cに比べていずれの処理時間でも

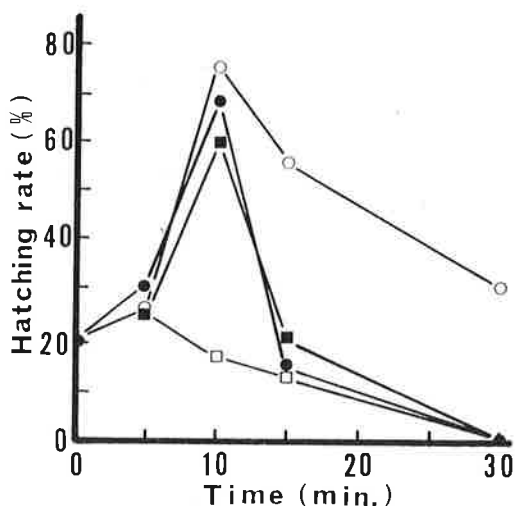


図1 マダイ媒精卵の低温処理時間とふ化率の関係

Fig. 1. Relationship between hatching rate and duration of cold shock treatment in red sea bream *Pagrus major*.

Eggs were treated at 1.2°C (○-○), 3.6°C (●-●), 4.8°C (■-■), and 8.5°C (□-□).

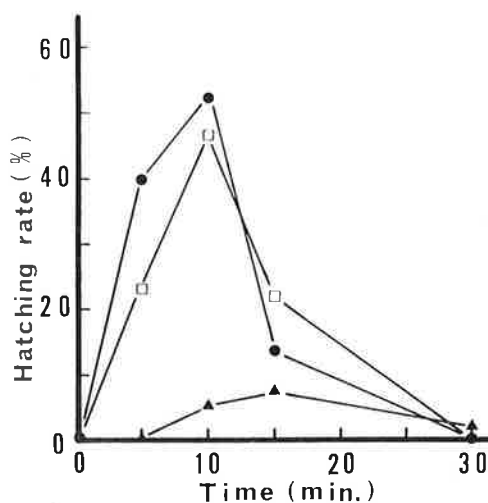


図2 クロダイ媒精卵の低温処理時間とふ化率の関係

Fig. 2. Relationship between hatching rate and duration of cold shock treatment in black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*.

Eggs were treated at 2.9°C (●-●), 4.1°C (□-□), and 9.2°C (▲-▲).

著しく劣ったものの10-15分間では10%程度で他の処理時間よりは優れていた。

このように、いずれの水温条件でも10分間程度の処理で最もふ化率が高くなったことから、マダイおよびクロダイの好適低温処理水温の検討に当たっては、10分間の処理時間で処理水温を比較することとした。

好適低温処理水温 低温処理水温とマダイのふ化率および正常な仔魚のふ化率の関係を図3に示した。ふ化率はI-Contでは72%であったが、C-Contでは26%に低下した。また、前者のふ化仔魚はすべて正常であったが、後者のふ化仔魚は全てが全身的な奇形であり半数体であると推察された。すなわち後者の正常仔魚のふ化率は0%であった。

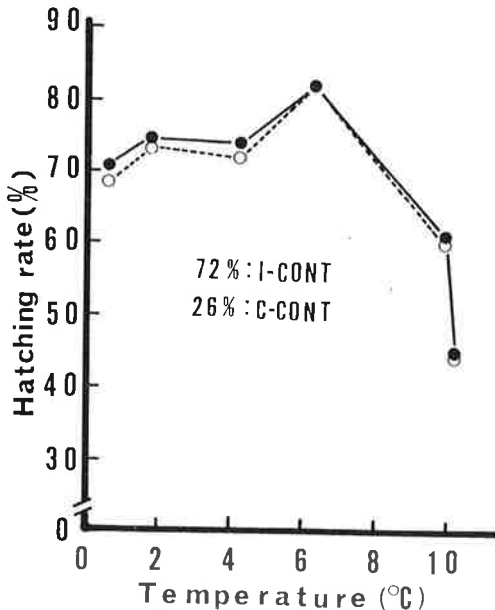


図3 マダイ媒精卵の低温処理水温とふ化率の関係

Fig. 3. Relationship between hatching rate and temperature of cold shock treatment in red sea bream *Pagrus major*.

I-CONT : Egg inseminated with normal milt and not subjected to cold treatment.
C-CONT : Egg inseminated with UV irradiated milt and not subjected to cold treatment.

●—● : Hatching rate of total larvae.
○---○ : Hatching rate of normal larvae.

しかし、紫外線照射精液で媒精した卵を0.6-10.2°Cで低温処理をすることにより、正常なふ化仔魚が出現し、特に0.6-6.3°Cの処理水温では70-80%とI-Contと同等かそれ以上の正常な仔魚のふ化率を得た。また、9.9°Cや10.2°Cでは正常な仔魚のふ化率は60%以下になり、C-Contよりは優れているものの6.3°C以下の処理水温に比べて劣った。このように、低温処理を施さなかった場合にはすべて奇形であったふ化仔魚が処理を施した場合には正常に発生したことから、これらの正常なふ化仔魚は処理により第二極体の保持が行われ雌性発生2倍体として誘導されていると推察される。これらのことから、マダイの第二極体は1-6°C程度の低温処理で効果的に保持され、10°C程度では一部には極体保持を行う卵があるものの、その割合は6°C以下に比べて低下することが示唆された。

低温処理水温とクロダイのふ化率および正常な仔魚のふ化率の関係を図4に示した。ふ化率はI-Contでは81%であったが、C-Contでは52%に低下した。また、前者ではふ化仔魚の95%が正常であったのに対して、後者のふ化仔魚は全てが全身

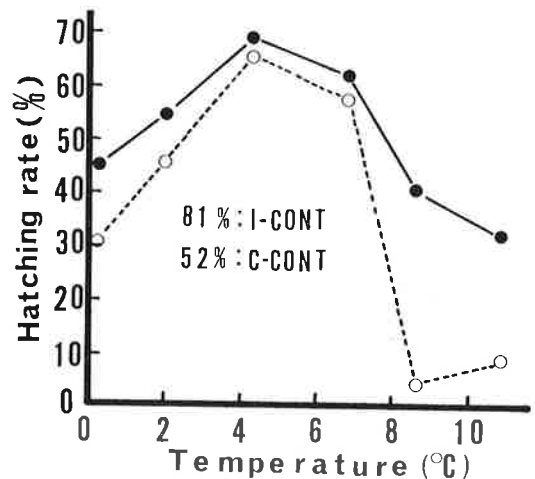


図4 クロダイ媒精卵の低温処理水温とふ化率の関係

Fig. 4. Relationship between hatching rate and temperature of cold shock treatment in black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*.

Symbols are the same as in Fig. 3.

的な奇形であり半数体であると推察された。すなわち、後者の正常仔魚のふ化率は0%であった。しかし、紫外線照射精液で媒精した卵を0.3-10.7°Cの海水で低温処理することにより、正常な仔魚が出現し、特に2.0-6.8°Cの処理水温では45-65%とI-Contの1/2以上の正常な仔魚のふ化率を得た。また、8.6°Cや10.7°Cでは正常な仔魚のふ化率は10%以下になり、C-Contよりは優れているものの0.3-6.8°Cの処理水温に比べて著しく劣った。これらの正常なふ化仔魚はマダイ同様第二極体の保持が行われ、雌性発生2倍体として誘導されていると推察される。これらのことから、クロダイの第二極体は2-7°C程度の低温処理で効果的に保持され、8°C以上では一部には極体保持を行う卵があるものの、その割合は7°C以下に比べて著しく低下することが示唆された。

魚類における倍数体誘導の事例は谷口(1988)³⁾によって詳述されており、マダイやクロダイ等の温帯性魚類は0°C程度の水温で処理されている例が多い。しかし、今回マダイ・クロダイ共に1-7°Cの処理水温範囲では正常な仔魚のふ化率はいずれの水温でもほぼ変わらなかったことから、両魚種の第二極体保持に有効な処理水温の範囲は比較的広く、少なくとも6°Cの幅はあることが示唆された。また、田端ら(1987)⁶⁾は、ヒラメにおいて処理水温の詳細な検討を行い、12.6°Cで媒精した卵は0-4°Cで雌性発生2倍体の作出効率(正常個体発生率×ふ化率)が優れていることを報告している。今回得られた水温条件は、ヒラメで求められた水温範囲よりも高く、採卵水温が高いマダイ(媒精水温; 20.9°C)やクロダイ(20.5°C)では第二極体保持に有効な処理水温もヒラメに比べて高くなることが示唆された。

また、この低温処理水温の範囲では荒川(1987)²⁾で用いた15分や25分間の処理時間よりも10分間の処理の方がふ化率が高く、さらにこの処理で獲られたふ化仔魚の殆ど全てが正常であることから、

マダイおよびクロダイの第二極体は10分間の処理で保持可能であることが示唆された。

最後に本論分をまとめるに当たり、種々ご指導ご助言をいただいた水産庁養殖研究所福所邦彦博士に深謝の意を表する。

要 約

マダイおよびクロダイの低温処理水温がふ化率に及ぼす影響を調査し、第二極体保持に有効な処理水温の範囲を求め、以下の結果を得た。

- 1) 両魚種とも10分間の低温処理時間で5, 15および30分間に比べて高いふ化率を示した。
- 2) 両魚種とも1-7°Cの低温処理水温範囲で第二極体の保持が有効に行われた。また、8°C以上では極体を保持する卵の割合が7°C以下に比べて著しく低下した。

文 献

- 1) 小野里担：魚類の雌性発生，水産育種，(6)，11-18 (1981)。
- 2) 荒川敏久・高屋雅生・井上潔・高見生雄・山下金義：低温処理法によるマダイおよびクロダイの3倍体誘導条件の検討，長崎水試研報，(13)，25-30 (1987)。
- 3) 谷口順彦：魚類における染色体操作研究の歴史と現状-日本国内の研究を中心として-，高知大学黒潮圏研究所報，(3)，2-15 (1988)。
- 4) 村田修・宮下盛・原田輝男・上野紘一：マダイの単為発生2倍体の生産，昭和60年度日本水産学会秋期大会講演要旨集，p.615 (1985)。
- 5) 荒川敏久・宮原治郎：紫外線照射によるマダイの雌性発生誘起，長崎水試研報，(14)，37-42 (1988)。
- 6) 田畑和男・五利江重昭：低温ショックによるヒラメの雌性発生2倍体誘起に及ぼす有効な水温範囲について，兵庫水試研報，(25)，33-35 (1987)。