

ホウライマス雌とギンザケ雄間での無斑異質三倍体の作出

服部克也

Induction of Spot-Less Allotriploids between Female Houraimasu (non-spotted Rainbow Trout) and Male Coho Salmon.

HATTORI Katsuya*

Recently autotriploids and allotriploids are popular in aquaculture because they are expected to become large fish and to expand the marketable choice. We induced spot-less allotriploids between female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and male coho salmon *Oncorhynchus kistuch* by employing houraimasu (non-spotted rainbow trout) *Oncorhynchus mykiss* instead of wild type rainbow trout, because the spot-less allotriploids are expected to have marketable values.

The relationship between non-spot genetic character and external appearance in the allotriploid was evaluated by analyzing erythrocyte major axis for triploidization, and allozymes for hybridization.

The allotriploids derived by crossing female heterotypic (HN) houraimasu with male coho salmon had both spotted and non-spotted characters in equal proportions.

Estimating from the genetic pattern of non-spot gene for the allotriploids between female houraimasu and male Japanese char *Salvelinus leucomeanis*, allotriploids between female houraimasu and male coho salmon will be all spot-less by employing homotypic (HH) female houraimasu.

キーワード：ホウライマス雌，ギンザケ雄，無斑異質三倍体

近年，魚類養殖の分野では大型魚生産のために染色体倍數化技術を用いて三倍体が作出されている。三倍体は雌で不妊となるため，成熟に伴う成長遅滞，外観の劣化，肉質の低下等の弊害を避けることが可能とされている。⁴⁾ 致死性交雑種とされる交雑組合せでも，倍數化処理により異質三倍体化すると，生存性を有する個体が得られる場合があり，⁵⁾ 新魚種作出の手法として期待されている。異質三倍体には，両親種と異なる斑紋が形成されるが，^{3,6)} 多くの場合，消費者にとってこの新しい斑紋は馴染みの薄いものであり，購買意欲を妨げることが多い。無斑の異質三倍体はこの点を解消でき，異質三倍体の商品性が広がる可能性がある。また，ニジマス *Oncorhynchus mykiss* 雌とギンザケ *Oncorhynchus kistuch* 雄との間で得られる異質三倍体は，マス類養殖で大きな被害をもたらすウイルス性疾病の一種，伝染性造血器壊死症 (IHN) に対して抵抗性を有することが知られている。²⁾ そこで，我々はニジマス雌の代わりに無斑のニジマスであるホウライマス¹⁾ *Oncorhynchus*

mykiss 雌を用いて，無斑異質三倍体の作出を検討した。

材料および方法

2つの試験区を設定した。1つはホウライマス雌とギンザケ雄での組み合わせの異質三倍体区，もう1つはホウライマス雌が持つ斑紋遺伝子型を推定するためにホウライマス雌とニジマス雄での組み合わせの後代検定区である。

供試魚には，愛知県水産試験場 鳳来養魚場（現三河一宮指導所）で飼育されているホウライマス，ニジマスおよびギンザケの2年魚を用いた。なお，異質三倍体の作出は，2回（試験Iおよび試験II）実施した。試験Iにおいては，ホウライマス雌・2尾（aおよびb：平均体重865g），ギンザケ雄・1尾（体重920g），ニジマス雄・1尾（体重900g）を供試した。試験IIにおいては，ホウライマス雌・3尾（c，d，およびe：平均体

* 愛知県水産試験場 内水面漁業研究所 三河一宮指導所
(Mikawa Ichinomiya Station, Freshwater Resources Research Center, Aichi Fisheries Research Institute, Ichinomiya, Hoi, Aichi 441-12, Japan.)



Male (B. L.=26.3 cm, B. W.=265 g)



Male (B. L.=27.2 cm, B. W.=276 g)

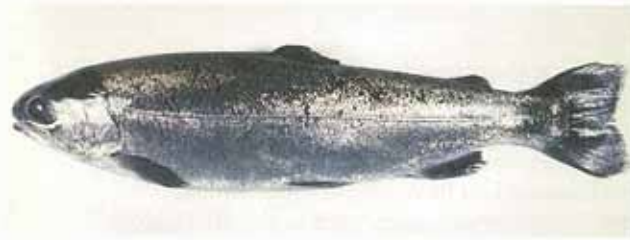
Female (B. L.=28.0 cm, B. W.=330 g)
[Non-spotted type]Female (B. L.=31.2 cm, B. W.=430 g)
[Spotted type]

Fig. 1. Non-spotted allotriploids and spotted allotriploids between female rainbow trout and male coho salmon. The former was produced from non-spotted rainbow trout (Houraimasu).

Table 1. Eyed egg and hatching rates in female of Tests and II of Tests I and II

		Test I		Test II		
		F-a*	F-b*	F-c*	F-d*	F-e*
Eyed egg rate (%)	Cont.	95.0	56.8	60.8	92.5	98.8
	Allo.	91.7	46.7	(60.2) **		
Hatching rate (%)	Cont.	96.9	97.9	100	90.0	92.6
	Allo.	83.4	99.6	(86.1) **		

(*) : Individual number of females

(**): Mixed eggs of c, d, and e

重515g), ギンザケ雄・1尾(体重290g), ニジマス雄・1尾(体重550g)を供試した。後代検定区は雌親魚毎に行ったが, 異質三倍体区では雌親魚3尾の卵を混合して処理を行った。

異質三倍体作出のための倍数化は, 受精・吸水10分後に26℃の温水に20分間受精卵を浸漬する温度処理にて行った。処理後は, 異質三倍体区および後代検定区共に通常の卵管理を行い, 発眼率の算出は積算水温(水温×日数; Temperature unit: TU)が約250TU, 孵化率の算出は約500TUのときに実施した。孵化後は, 通常の餌付け・飼育管理を行った。餌付け・飼育7ヶ月時に, 無斑魚, 有斑魚の出現比率を調べた。また, 異質三倍体化の確認は, アロザイムの分析, 赤血球長径の計測にて行った。アロザイムの分析は, 水平式デンブングル電気泳動法により, クエン酸-N-(3-アミノプロピル)モルホリン緩衝液⁷⁾を用い, ゲル濃度11.5%, 定

電流4mA/cm²で行った。

アロザイム検出用試料には, 筋肉の解凍ドリップを用い, Isocitrate dehydrogenase (IDH) および Malate dehydrogenase (MDH) の2つの酵素について分析した。赤血球長径値は, 末梢血により血液塗抹標本を常法により作成し, 計測した30個の平均を求め, 倍数性を判定した。

結果および考察

試験Iおよび試験IIにおける雌親毎の発眼率, 孵化率を, Table 1に示した。異質三倍体区では, 後代検定区に比べて発眼率, 孵化率ともにやや低い傾向が認められた。

観察された異質三倍体区は無斑個体および有斑個体の写真をFig. 1に示した。無斑個体では, 有斑個体に認

Table 2. Body length, body weight, average of erythrocyte major axis and the external appearance of samples used for electrophoretic analysis in Tests I and II

	Body length* (cm)	Body weight* (g)	Erythrocyte major axis** (μ m)	Spotted / Non-spotted
(I) Allotriploid***	9.4 \pm 0.8	13.2 \pm 3.6	18.7 ~ 20.5	15 / 15
Houraimasu****	11.7 \pm 0.9	20.8 \pm 4.8	13.4 ~ 15.7	15 / 15
Coho salmon*	11.7 \pm 1.4	24.7 \pm 7.6	15.4 ~ 17.3	30 / 0
(II) Allotriploid***	16.5 \pm 2.4	81.4 \pm 36.8	19.4 ~ 21.5	11 / 15

(*): average \pm standard deviation. (**): min.value ~ max.value of samples.

(***): female Houraimasu \times male coho salmon

(****): non-spotted rainbow trout and spotted rainbow trout

(*): diploid

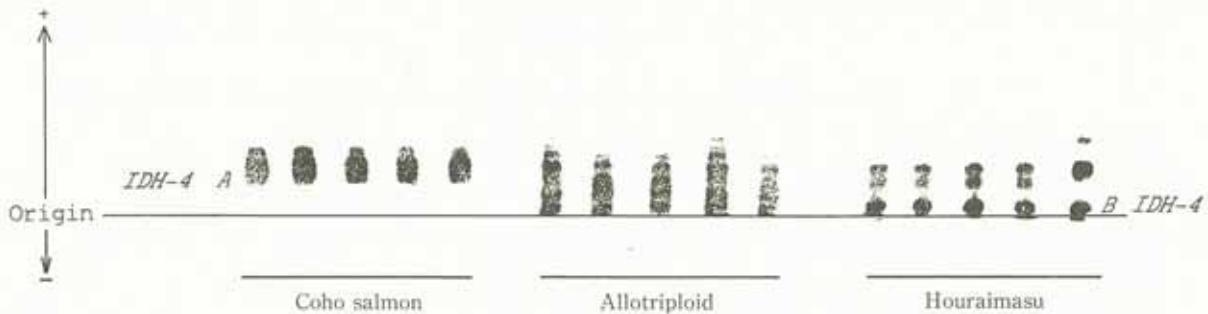


Fig. 2. Electrophoretic patterns and presumed loci in IDH. (Samples in Test I)

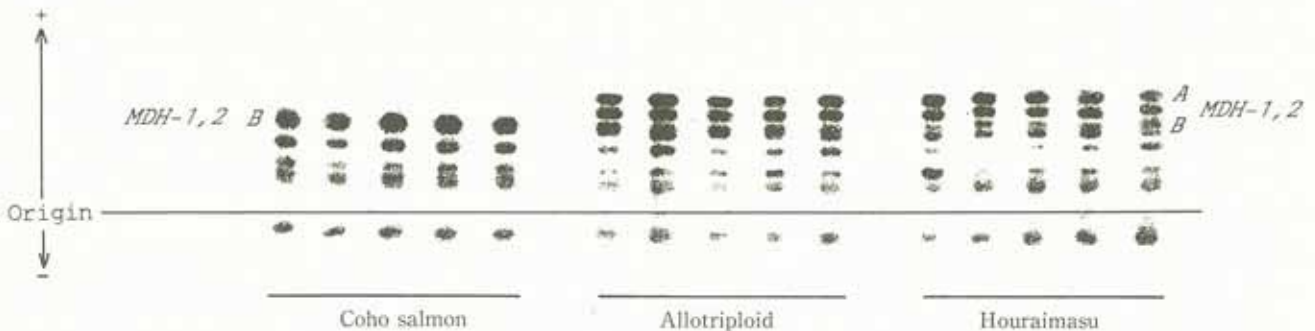


Fig. 3. Electrophoretic patterns and presumed loci in MDH. (Samples in Test I)

められるパーマークおよび黒点が全く認められなかった。なお、異質三倍体区の斑紋形成の観察結果は、試験 I が無斑個体 513 尾・有斑個体 503 尾、試験 II が無斑個体 163 尾・有斑個体 167 尾であった。また、供試したホウライマス雌親魚の斑紋遺伝子型は、後代検定の結果から試験 I (a, b) および試験 II (c, d, e) について全てヘテロ型 (HN 型) であった。なお、ホウライマスの無斑遺伝子を H、ニジマスの有斑遺伝子を N とした。

アロザイム分析および赤血球長径値の測定に供試した個体の平均体長、平均体重、赤血球長径値、および無斑個体数と有斑個体数を Table 2 に示した。赤血球長径値

で三倍体化が判断できることが知られており、⁹⁾ 異質三倍体区が 18.7~21.5 μ m であり、対照とした二倍体のホウライマス (13.4~15.7 μ m) とギンザケ (15.4~17.3 μ m) よりも大きな値を示しており、無斑個体、有斑個体のいずれについても三倍体化されていた。

試験 I のアロザイム分析で得られた泳動像の一部を、Figs. 2-3 に示した。IDH-4 遺伝子座においてホウライマスは B 遺伝子、ギンザケは A 遺伝子の発現が認められ、異質三倍体区の魚は母方の B 遺伝子および父方の A 遺伝子の発現が認められた (Fig. 2)。また、泳動像の量的比⁹⁾ から異質三倍体の遺伝子型は ABB 型であると推定された。

Table 3. Phenotypic segregation of samples in Test I

Sample	MDH-1, 2		
	Honotype (A)	Heterotype (A,B)	Honotype (B)
Allotriploid*	0	30	0
Houraimasu**	9	21	0
Coho salmon*	0	0	30

(*) female Houraimasu x male coho salmon.

(**) non-spotted rainbow trout and spotted rainbow trout.

(*) diploid.

Table 4. Genetic pattern of non-spot gene for allotriploidy induction between female Houraimasu* and male coho salmon

Genotype of female	Genotype of egg	Genotype of sperm	Genotype of allotriploid
HN (Hetero-type)	HH	G	HHG (Non-spotted)
	NN	G	NNG (Spotted)

(*) non-spotted rainbow trout

(**) H: non-spot gene in rainbow trout N: spot gene in rainbow trout

G: spot gene in coho salmon

MDH-1, 2 遺伝子座ではホウライマスは A 遺伝子, B 遺伝子の発現が認められ, ギンザケは B 遺伝子の発現が認められた (Fig. 3)。異質三倍体区の魚では, A 遺伝子および B 遺伝子の発現が認められた。なお, 試験 I における MDH-1, 2 遺伝子座の泳動像の観察結果 (Table 3) は, 供試されたホウライマスには, A 遺伝子ホモ型個体および A 遺伝子および B 遺伝子のヘテロ型個体が含まれており, B 遺伝子のホモ型個体は認められていないこと, およびギンザケでは B 遺伝子のホモ型個体のみ認められ, A 遺伝子は存在していないことを示している。このことから, 異質三倍体区の魚では, ある個体ではホウライマスの A 遺伝子および B 遺伝子とギンザケの B 遺伝子が, また, ある個体ではホウライマスの A 遺伝子とギンザケの B 遺伝子が発現していると推察された。

試験 II についてのアロザイム分析結果は, 試験 I のそれと同じであった (データは示していない)。

これらの結果は, 異質三倍体区において認められた無斑個体, 有斑個体は, ホウライマス雌とギンザケ雄の交雑により得られた異質三倍体であることを示した。

ホウライマスにおける第 2 極体放出前の卵の斑紋遺伝子型については, 雌親が斑紋遺伝子ホモ型 (HH 型) の場合には全て HH 型であり, 斑紋遺伝子ヘテロ型 (HN 型) の雌親の場合には HH 型と NN 型が同比率に産出されると推定されている。¹⁰⁾ このため, 本試験に

おいて供試した雌親魚は全て HN 型であったため, これら雌親魚の産出した卵は, HH 型と NN 型が同比率であったと考えられた。本試験の異質三倍体区での無斑個体, 有斑個体はいずれも異質三倍体であり, 無斑, 有斑が同比率に観察されていることから, 本試験におけるホウライマス雌とギンザケ雄における異質三倍体作出での斑紋遺伝子型と斑紋形成の関係は Table 4 のように推定された。

ホウライマス雌とイワナ *Salvelinus leucomaenis* 雄との間で得られる異質三倍体では, HH 型ホウライマス雌を用いた場合はすべて無斑個体となり, HN 型ホウライマス雌を用いた場合は無斑個体と有斑個体が同比率に得られることが報告されている。³⁾ このことから, 本試験における異質三倍体の斑紋形成の結果は, HN 型ホウライマス雌とイワナ雄間での異質三倍体の斑紋形成と同様であり, 本試験の異質三倍体においても HH 型ホウライマス雌を親魚として用いた場合には, すべて無斑の異質三倍体が得られると考えられた。

以上の結果から, ホウライマス雌とギンザケ雄との間での異質三倍体においても無斑個体の作出は可能であり, 無斑個体が得られることにより異質三倍体の商品価値は高まるものと期待される。

謝 辞

本報を稿するにあたり、有益な助言を賜った東京水産大学 岡本信明助教授に深謝の意を表します。また、アロザイムの分析結果についてご指導賜った東北大学 農学部 中島正道助手に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 石井吉夫・小山舜二・今泉克英 (1980) ホウライマス (無斑ニジマス) の養殖について, 水産増殖, 28, 128-133.
- 2) Parsons J. E., Busch R. A., Thorgaard G. H., and Scheerer P. D. (1986) Increased resistance of triploid Rainbow trout × Coho salmon hybrids to Infectious hematopoietic necrosis virus. *Aquac.*, 57, 337-343.
- 3) 服部克也 (1991) ホウライマスとイワナ間での異質三倍体におけるアロザイムおよび無斑遺伝子の発現に関する研究, 水産育種, 16, 43-50.
- 4) 小林 徹 (1992) 長期混合飼育下での人為三倍体ニジマスの成長, 生残および生殖周期, 水産増殖, 40 (1), 51-56.
- 5) 荒井克俊 (1989) 異質倍体, 水産増養殖と染色体操作 (水産学シリーズ 75), 恒星社厚生閣, 東京, 82-94.
- 6) Scheerer P. D. and Thorgaard G. H. (1987) Performance and developmental stability of triploid tiger trout (brown trout ♀ × brook trout ♂). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 116, 92-97.
- 7) 谷口順彦・岡田容典・宮崎嘉弘 (1987) ニベの種族判別に関する研究, 高知大学水産実験所研究報告, 3, 19-30.

要 約

マス類三倍体の商品性を広げるため、本試験ではホウライマス雌とギンザケ雄との間における無斑異質三倍体作出の可能性について検討した。異質三倍体化の確認のため、アロザイム分析により両親種の遺伝子の確認を行い、赤血球長径値により倍数性の判定を行った。斑紋遺伝子 *HN* 型のホウライマス雌を用いたので、得られた異質三倍体は、無斑個体と有斑個体が同比率であった。これは、*HN* 型ホウライマス雌とイワナ雄との異質三倍体に認められた結果と同様であり、また、*HH* 型ホウライマス雌とイワナ雄との異質三倍体は、すべて無斑個体となったことから、本試験における異質三倍体についても斑紋遺伝子 *HH* 型のホウライマス雌を用いることにより、全個体無斑異質三倍体の作出は可能であると考えられた。

- 8) Benfey T. J., Sutterlin A. M., and Thompson R. J. (1984) Use of erythrocyte measurements to identify triploid salmonids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41, 980-984.
- 9) Taniguchi N., Seki S., Inada Y., and Murakami K. (1985) Induced Triploidy in Ayu *Plecoglossus altivelis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51, 503.
- 10) 服部克也 (1991) ホウライマスの雌性発生二倍体, 同質三倍体における斑紋遺伝子の発現に関する研究, 水産育種, 16, 51-55.

