

ホルモン浸漬法によるコイの雄化に及ぼす成長、遺伝因子の影響について

渡邊直樹・坂本正義

1. はじめに

雌ホモ型 (XX-XY型) 魚類における全雌魚の生産は、雄性ホルモン投与により遺伝的雌 (XX) 稚魚を生理的雄に誘導した性転換雄 (XX型雄) を通常雌と交配することによって得られ、すでにサケ科魚類等で実用化されている。コイの全雌生産は、商品性に優れ、成長が速い雌のみを選択飼育できることから、食用コイの養殖におけるメリットが大きい技術である。

コイの 17α -メチルテストステロン浸漬による性転換雄作出条件のうち、ホルモン濃度及びホルモン処理期間については前報 (渡辺ら, 1997) で明らかにしたが、全雌生産の実用化にあたっては、安定した性転換雄の作出が重要となってくる。本研究では 17α -メチルテストステロン浸漬による性転換雄作出率の向上と安定化に資するため、ホルモン処理期間中の成長および親魚の遺伝因子が雄化率に及ぼす影響について検討を行った。

2. 方法

試験に供したコイ (カスミヤマト品種) 親魚のうち、雄は全て茨城県内水面水産試験場で作出した通常雌由来性転換雄を、また雌は茨城県内水面水産試験場および霞ヶ浦手賀地区で飼育された通常雌を用いた。

人工授精は、自然産卵を行っている雌から得た卵に人工精漿で20倍希釈した精液を乾導法で媒精して行った。

ホルモン処理は、各試験ともコイ稚魚を収容した水槽を止水状態にし、エタノールに溶解した 17α -メチルテストステロン (Sigma Che. Com.) を $0.1\mu\text{g}/\ell$ となるよう飼育水中に分散して行った (エタノール濃度は $2\mu\text{l}/\ell$ だった)。ホルモン処理期間および時間は、

15日齢から105日齢の90日間、5日間/週、8時間/日とした。

性の判定は6.5月齢から8.0月齢の期間中開腹し、生殖腺を肉眼及び顕微鏡で観察することによって行った。

なお、試験魚の飼育にはいずれの試験にあっても30日齢まではミジンコ等生物餌料を与え、その後は市販のコイ用配合飼料を用いた。

ホルモン処理期間中の成長が雄化率におよぼす影響について検討するため、孵化後15日目の稚魚250尾 ($49.2\pm 20.6\text{mg}$) を $25.0\pm 0.5^\circ\text{C}$ に調整した加温地下水の半流水式300ℓ容FRP水槽に放養しホルモン処理を行った。また、対照区として50尾の稚魚を $25.0\pm 0.5^\circ\text{C}$ に調整した加温地下水の半流水式50ℓ容ガラス水槽に放養し、ホルモン処理を行わずに飼育した。ホルモン処理期間経過後、ホルモン処理区、対照区とも全個体の体重を電子天秤で測定し、それぞれ①~1.99g, ②2.00g~4.99g, ③5.00g~9.99g, ④10.00g~14.99g, ⑤15.00g~19.99g, ⑥20.00g~の6群に分け、それぞれ個別に飼育を継続したのち、成長を待ち性の判定を行った。

また、ホルモン処理による雄化に対する遺伝的要因の影響について検討するため、性転換雄3尾、通常雌4尾からそれぞれ採精、採卵し、親魚の組合せを変えた総当たりで交配し12試験区の受精卵を得た。受精卵および孵化仔魚は地下水で管理し、孵化後15日目の稚魚50尾を $25.0\pm 0.5^\circ\text{C}$ に調整した加温地下水の半流水式50ℓ容ガラス水槽に放養したものを各試験区2組ずつ設定し、一方はホルモン処理を行い、もう一方は対照区としてホルモン処理を行わなかった。ホルモン処理期間経過後飼育を継続し性判定を行った。

3. 結 果

(1) ホルモン処理期間中の成長と雄化率

対照区およびホルモン処理区のホルモン処理終了時の平均体重と性比をそれぞれ表1, 2に示す。実験魚の体重は対照区では0.76 gから31.62 gの範囲に、また、ホルモン処理区では0.77 gから26.56 gの範囲にあった。

性判定の結果、対照区はいずれの群にも雄が出現しなかったのに対し、ホルモン処理を行った試験区では全ての群に雄の出現がみられ、雄の出現率（雄化率）は11.5～100.0%であった。雄化率について χ^2 検定を行ったところ群間に有意差が認められた。また、体重と雄化率についてスピアマンの順位相関検定を行ったところ両者の相関性は有意で、ホルモン処理終了時の体重が重い群ほど雄化率が高くなる傾向にあった。

以上の結果から、ホルモン期間中の成長が雄化率に影響を与え、体重が重くなるほど性転換しやすくなることがわかった。

(2) ホルモン処理による雄化に対する遺伝的要因の影響について

ホルモン試験区のホルモン処理開始時およびホルモン処理終了時の体重を表3に示す。ホルモン開始時の平均体重は24.0mgから192.1mgの範囲に、またホルモン処理終了時の各区の平均体重は3.2 gから13.4 gの範囲にあった。

また、性比を表4に示す。いずれの試験区にも雄が出現し、雄化率は32.0%～100%であった。

親魚間の雄化率の差について、雄親魚間および雌親魚間で分散分析により検定したところ、雄親魚間には有意差はなかったが雌親魚間では有意差が認められた。また、ホルモン処理終了時の平均体重について同様の分析を行ったところ、雄親魚間、雌親魚間とも有意差は認められなかった。前述のとおり、ホルモン処理期間中の成長が雄化率に影響を及ぼすことが明らかとなったが、親魚間のホルモン処理終了時の平均体重には差がないにもかかわらず雄化率が異なる結果となったことから、雄化率は使用親魚

表1 ホルモン処理終了時（105日齢）の体重と性比（対照区）

体重群	検査尾数	平均体重±標準偏差		検査結果		
				雄	雌	雄化率
	尾	g	g	尾	尾	%
① ~ 1.99 g	2	0.87±0.11		0	2	0.0
② 2.00 g ~ 4.99 g	3	2.99±0.93		0	3	0.0
③ 5.00 g ~ 9.99 g	7	8.54±0.60		0	7	0.0
④ 10.00 g ~ 14.99 g	20	12.73±1.56		0	20	0.0
⑤ 15.00 g ~ 19.99 g	11	17.10±1.26		0	11	0.0
⑥ 20.00 g ~	4	24.35±4.64		0	4	0.0

表2 ホルモン処理終了時（105日齢）の体重と性比（ホルモン処理区）

体重群	検査尾数	平均体重±標準偏差		検査結果		
				雄	雌	雄化率*1, 2
	尾	g	g	尾	尾	%
① ~ 1.99 g	26	1.49±0.33		3	23	11.5
② 2.00 g ~ 4.99 g	66	3.36±0.83		18	48	27.3
③ 5.00 g ~ 9.99 g	50	6.78±1.20		20	30	40.0
④ 10.00 g ~ 14.99 g	7	12.60±1.69		3	4	42.9
⑤ 15.00 g ~ 19.99 g	7	18.28±1.52		4	3	57.1
⑥ 20.00 g ~	7	22.73±2.03		7	0	100.0

*1：体重群間の雄化率に有意差が認められた（ $\chi^2=23.57$ ，df=5， $p<0.01$ ）

*2：体重と雄化率には有意な相関が認められた（ $r_s=1.00$ ，N=6， $p=0.01$ ，両側検定）

表3 親魚の組合せ別ホルモン処理開始時およびホルモン処理終了時の体重（ホルモン処理区）

上段：ホルモン処理開始時の平均体重±標準偏差（mg）（n=50）

下段：ホルモン処理終了時の平均体重±標準偏差（g）（ ）内は個体数

♀親魚 ♂親魚	F 1	F 2	F 3	F 4	ホルモン処理終了時の平均体重の 平均値(g)*
M 1	140.7±40.8 3.2±0.9 (n=43)	44.0±12.5 7.3±2.8 (n=48)	50.5±11.0 9.6±2.4 (n=49)	24.0±6.2 8.9±2.0 (n=49)	7.3
M 2	192.1±90.9 8.4±2.5 (n=50)	60.6±16.0 9.7±2.6 (n=50)	57.8±7.9 13.4±5.1 (n=36)	28.2±8.6 12.0±3.1 (n=38)	10.9
M 3	103.4±23.8 8.2±2.6 (n=47)	43.5±9.1 7.3±2.7 (n=50)	48.6±8.3 9.1±2.5 (n=50)	35.9±7.4 11.2±2.5 (n=44)	9.0
ホルモン処理終了時の平均体重の 平均値(g)*	6.6	8.1	10.7	10.7	

*ホルモン処理終了時の平均体重の親魚間の差についての分散分析を行ったところ、雄親魚（ $F_{3,46}=2.46$, $p>0.05$ ）、雌親魚（ $F_{3,46}=2.64$, $p>0.05$ ）とも有意性は認められなかった。

表4 親魚の組合せ別の性判定結果（ホルモン処理区）

上段：検査尾数 中段：性判定による出現個体数 下段：雄化率（雄／（雄+雌）×100）

♀親魚 ♂親魚	F 1	F 2	F 3	F 4	平均雄化率(%)*
M 1	n=43 雄 18, 雌 25 雄化率=41.9%	n=47 雄 19, 雌 28 雄化率=40.4%	n=49 雄 34, 雌 15 雄化率=69.4%	n=49 雄 48, 雌 1 雄化率=98.0%	62.4
M 2	n=50 雄 41, 雌 8, 不明 1 雄化率=83.7%	n=50 雄 34, 雌 16 雄化率=68.0%	n=36 雄 31, 雌 4, 不明 1 雄化率=88.6%	n=38 雄 38, 雌 0 雄化率=100.0%	85.1
M 3	n=47 雄 42, 雌 5, 雄化率= 89.4%	n=50 雄 16, 雌 34 雄化率=32.0%	n=50 雄 46, 雌 4 雄化率=92.0%	n=43 雄 37, 雌 6 雄化率=86.0%	74.9
平均雄化率(%)*	71.7 ^{b c}	46.8 ^{a b}	83.3 ^c	94.7 ^c	

*雄化率の親魚間の差についての分散分析を行ったところ、雄親魚には有意性は認められなかったが（ $F_{3,46}=0.89$, $p>0.05$ ）、雌親魚については有意であった（ $F_{3,46}=4.06$, $p<0.05$ ）。雌親魚の平均雄化率の肩のアルファベットはR. A. FisherのLSD法による検定結果で、異なる文字間には5%水準で有意差があることを示す。

の遺伝的要因の影響を受けるといえる。

各試験区のホルモン処理終了時の平均体重と雄化率の関係を図1に示す。スピアマンの順位相関検定の結果、ホルモン処理終了時の平均体重と雄化率の正の相関が支持され、親魚の組み合わせが異なった試験区間においても平均体重が重い試験区ほど雄化率が高くなる傾向がみられた。

また、対照区の性比を表5に示す。性転換雄3個体中2個体（M1およびM3）は交配相手にかかわらず全て子供が雌であったが、1個体（M2）は4尾の交配相手のうち3尾の子供に雄が含まれており、

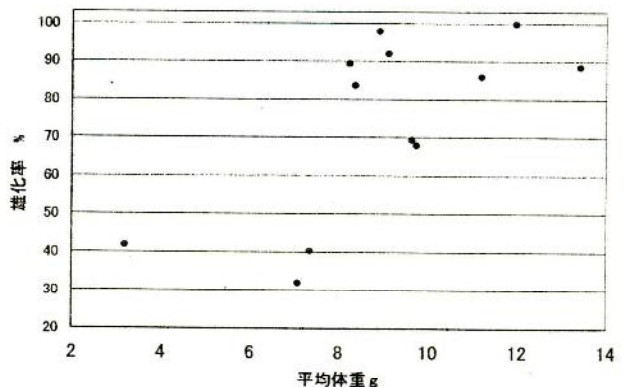


図1 ホルモン処理終了時の平均体重と雄化率の関係
スピアマンの順位相関検定の結果、平均体重と雄化率間に有意の相関が認められた。
（ $n=12$, $r_s=0.52$, $p<0.05$, 両側検定）

表5 親魚の組合せ別の性判定結果 (対照区)

上段: 検査尾数 中段: 性判定による出現体数 下段: 雄出現率 (雄 / (雄+雌) × 100)

♀親魚 \ ♂親魚	F 1	F 2	F 3	F 4	雄出現率平均 (%) *
M 1	n=42 雄 0, 雌 42 雄出現率=0.0%	n=46 雄 0, 雌 46 雄出現率=0.0%	n=47 雄 0, 雌 47 雄出現率=0.0%	n=45 雄 0, 雌 45 雄出現率=0.0%	0.0 ^a
M 2	n=48 雄 1, 雌 47 雄出現率=2.1%	n=44 雄 0, 雌 44 雄出現率=0.0%	n=50 雄 2, 雌 48 雄出現率=4.0%	n=34 雄 1, 雌 33 雄出現率=2.9%	2.3 ^b
M 3	n=47 雄 0, 雌 47 雄出現率= 0.0%	n=46 雄 0, 雌 46 雄出現率=0.0%	n=48 雄 0, 雌 48 雄出現率=0.0	n=45 雄 0, 雌 45 雄出現率=0.0%	0.0 ^a
雄出現率平均 (%) *	0.7	0.0	1.3	1.0	

* 雄出現率の親魚間の差についての分散分析を行ったところ、雌親魚には有意性が認められなかったが ($F_{3,12}=0.40$, $p>0.05$), 雄親魚については有意であった ($F_{3,12}=7.09$, $p<0.05$)。雄親魚の雄出現率平均値の肩のアルファベットは R. A. FisherのLSD法による検定結果で、異なる文字間には5%水準で有意差があることを示す。

その出現率は2.1%から4.0%であった。雄の出現率の差について雄親魚間および雌親魚間で分散分析により検定したところ、雌親魚間には有意差はなかったが雄親魚間では有意差が認められた。

4. 考 察

本研究の結果、17 α -メチルテストステロン浸漬による遺伝的雌コイの表現型雄への誘導には、ホルモン処理期間中の成長および親魚の遺伝的要因が影響を及ぼすことがわかった。

Daviesら (1980) は、コイの性分化過程を組織学的な見地から検討しているが、その中で性分化が生殖腺の発達や性分化の時期は体サイズには依存しないとしている。しかしながら、今回ホルモン処理終了時点で体重が重いほど雄化率が高くなる傾向が認められたことから、雄化率を上げ効率的に性転換雄を得るためには、ホルモン処理期間中の飼育環境を良好に保ち、適度に成長を促す必要があるといえる。

また、使用親魚によりホルモン処理区の雄化率が有意に異なる結果が得られた。今回の試験では雌親魚のみで雄化率に有意差が認められ雄親魚間には有意な差は認められなかったが、使用した雄 (性転換雄) が全てきょうだいであったことから、雄については性転換に関連する遺伝因子の個体間の変異差が小さかったた

めと考えられる。

一方、ホルモン処理を行わない対照区において、性転換雄のうちの1個体の子供から雄が出現した。コイを含む雌ホモ型 (XX-XY型) の性決定様式を有する魚類では、性転換雄 (XX型雄) の利用や雌性発生技術により理論的には全雌生産が可能となる。しかし、雌ホモ型とされるホンモロコ (藤岡, 1993) ニゴロブナ (藤岡ら, 1995, 藤岡1997), キンギョ (Oshiro, 1987, 田中ら, 1997), ドジョウ (Nomura *et. al.*, 1998), ヒラメ (Tabata, 1991) 等ではこれらの技術を利用しても必ずしも全個体が雌となっておらず、一部に雄の出現があったことが報告されている。また、これらの魚種の多くで比較的高い水温での飼育時に雄の出現率が高くなることが併せて報告されている。雄の出現する理由についてOshiro (1987) は、キンギョの雌性発生二倍体による実験結果から系統により遺伝的性決定機構が異なるか性分化への環境等の影響が大きいと推定している。

今回低率ながら全雌魚中から雄の出現をみたことは、コイの全雌魚の実用生産にあたって全雌魚製品中に雄が混入する可能性を示している。また、田中ら (1997) は、キンギョの雌性発生魚中に出現した雄の子供に雄の出現率が高いことを報告しており、これらの雄が親魚候補としてホルモン処理され性転換雄親魚として使

用された場合、子供に高率の割合で雄が現れることも予想される。このため、全雌生産を実用化するにあたっては、使用親魚から雄の出現する系統を排除していくことが必要となる。

5. 要 約

- (1) コイの 17α -メチルテストステロン浸漬による遺伝的雌魚の性転換雄への誘導におよぼすホルモン処理期間中の成長と使用親魚の遺伝因子の影響について検討を行った。
- (2) ホルモン処理期間中終了時の体重が重いほど雄化率は有意に高まった。
- (3) 使用親魚によって子供の雄化率が有意に異なった。
- (4) 使用親魚の系統によっては性転換雄と通常雌の交配による全雌魚中に雄が出現することがわかった。

参考文献

- Davies, P. & Takashima, F. (1980) : Sex differentiation in common carp, *Cyprinus carpio*. j. Tokyo Univ. Fish., 66 (2), 191-199.
- 藤岡康弘 (1993) : ホンモロコ, *Gnathopon caurulescens* の 17α -methyltestosterone 浸漬法による性転換と全雌生産の試み. 水産増殖, 41 (3), 409-416.
- 藤岡康弘・田中秀具・澤田宣雄 (1995) : ニゴロブナの性転換雄を用いた全雌魚生産. 水産増殖, 43 (3), 389-393.
- 藤岡康弘 (1997) : ニゴロブナ雌性発生二倍体の作出とその特性. 滋賀県水試研報46, 1-8.
- Nomura, T., Arai, K., Hayashi, T. & Suzuki, R. (1998) : Effect of Temperature on Sex Ratios of Normal and Gynogenetic Diploid Loach. Fisheries Science, 64 (5), 753-758.
- Oshiro, T. (1987) : Sex Ratios of Diploid Gynogenetic Progeny Derived from Five Different Females of Goldfish. Nippon Suisan Gakkaishi, 53 (10), 1899.
- Tabata, K. (1991) : Induction of Gynogenetic Diploid Male and Presumption of Sex Determination Mechanisms in the Hirame *Paralichthys olivaceus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 57 (5), 845-850.
- 田中深貴男・福田一衛・来間明子 (1997) : キンギョの全雌生産について. 埼玉水試研報55, 9-13.
- 渡辺直樹・岩崎 順・高島葉二 (1997) : 17α -メチルテストステロン浸漬法によるコイ *Cyprinus carpio* の性転換雄作出について. 茨城内水試研報33, 53-59.