

「富士の介」の親魚として使用するマスノスケ性転換オス作出法の簡易化

三浦正之・平塚 匡

マス類養殖業においては、長引く不況による販売量の停滞、飼料代を中心とした生産経費の上昇によってその経営は厳しいものとなっている。このような状況の中、全国的にブームになりつつあるスペシャル・トラウトやご当地サーモンと呼ばれる付加価値の高いブランドサーモンにおいては、輸入鮭鱒類との差別化が図られ、近年食材としての地位が高まりつつある¹⁾。特に内水面で生産されたブランドサーモンの多くには染色体操作²⁾を用いた不妊化技術が用いられ品質向上が図られている。山梨県水産技術センターにおいて開発されたニジマス *Oncorhynchus mykiss* とマスノスケ *O. tshawytscha* (英名：キングサーモン) を親魚とするブランドサーモン「富士の介」(2017年に名称決定)においてもこれらの技術が用いられている³⁾。「富士の介」の種苗生産や養殖方法については、2016年に水産庁による「三倍体魚等の水産生物の利用要領」に基づく確認が完了し、2017年から山梨県内の民間養鱒場での養殖が始まるとともに、養殖は順調に行われ2019年から市場への流通が始まった。「富士の介」はマスノスケを親魚として用い、かつ異種間交配魚という他に類を見ない際立った特殊性があるが、併せて肉質の面でも優れていることが分析により確認されており³⁾、実際に市場での評価は高い。

「富士の介」の親魚として使用するマスノスケ性転換オスは雌性発生によって得られたマスノスケ全メス群に対して孵化直後に雄性ホルモン処理を行うことで性転換を誘起し作出する²⁾。現在、雄性ホルモンの処理条件は孵化後から週2回、0.15 ppm の17 α -メチルテストステロン(以下、MT)溶液に8時間浸漬し、これを計8~10回行うとともに1 ppm のMTを含有させた飼料を浮上後60日間給餌することとしており、この条件において実験上100%のオス化率が得られている(20尾中20尾)⁴⁾。一方、ニジマスのようにMT含有飼料のみで高いオス化率が得られる魚種も存在しており⁵⁾、仮にマスノスケにおいても同様であった場合には「富士の介」の種苗生産の効率化が図られる。このため、本研究ではマスノスケ性転換オス作出の簡易化を目的として、マスノスケの性転換にMT溶液での浸漬処理およびMT含有飼料による餌付けの両処理が必要かどうかを検討した。

材料及び方法

試験区は簡易化区①(MT浸漬のみ)、簡易化区②(MT飼料給餌のみ)、従来法区(MT浸漬+MT飼料給餌)、無処理区(MT処理なし)の計4区とし、各区、当支所で2018年10月18日に採卵及び授精を行ったマスノスケ全メス群の発眼卵から正常に孵化した魚200尾ずつを供試魚とした。

MT浸漬処理を行った簡易化区①と従来法区では、各区の孵化が概ね完了した同年12月1日から12月25日の間に0.15 ppmのMT溶液に8時間浸漬する処理を週2回の頻度で計8回実施した。浸漬処理に用いたMT溶液は12.5℃の地下水を用いて作成し、処理中は十分に通気した。

MT含有飼料の給餌を行った簡易化区②および従来法区では、浮上が確認された同年12月26日からMT含有飼料での餌付けを開始し2019年2月23日までの60日間継続してこの飼料を給餌した。給餌は平日には手撒きとフードタイマー(マルカン社製、ニッソーフードタイマー)の併用、土日祝日はフードタイマーで行い、1日の給餌回数は6回を目安とした。餌付けに使用した1 ppmのMT含有飼料は、市販の餌付け用飼料(日清丸紅飼料社製、マス餌付スーパーA)1kgに消毒用エタノール(富士フィルムワコーケミカル社製)を溶媒として調整し

た 5 ppm の MT 溶液 200mL を霧吹きで展着し、常温で十分に乾燥させたものを使用した。

これらの MT 処理が完了した魚は、後述する性転換率の確認や排精率の確認などを行うまでの期間、各区の飼育条件を極力揃えた形で飼育した。すなわち、飼育水槽および飼育池は各区同一の形状のものを用い、水温 12.5 度の地下水を同様の換水率でかけ流しながら飼育した。また、給餌する飼料や体重当たりの給餌率についても統一し、1 または 2 か月おきに総重量の測定を行い給餌量の補正を行った。

孵化後約 1 年 4 ヶ月目となる 2020 年 3 月下旬に各区から無作為に抽出した 30 尾ずつの生殖腺の状況を確認し、性転換率（以下、オス化率）を算出した。生殖腺の確認は肉眼、実体顕微鏡、光学顕微鏡下のいずれかでを行い雌雄を判定した。なお、光学顕微鏡下での観察は生殖腺の圧扁標本を作製した後に実施した。孵化後約 2 年 0 ヶ月目となる 2020 年 11 月下旬に第 2 次性徴を示した（以下、性成熟した）個体全てについて排精の有無を確認した。

結果

供試魚の体重の推移を図 1 に示した。すべての試験区において成長は概ね同等であった。

孵化後約 1 年 4 ヶ月目にオス化率を調べた際の平均体重は簡易化区①（MT 浸漬のみ）、簡易化区②（MT 飼料給餌のみ）、従来法区（MT 浸漬+MT 飼料給餌）、無処理区でそれぞれ 113.5, 111.8, 117.0, 97.8 g であった。図 2 にオス化率を示した。簡易化区①、簡易化区②、従来法区のオス化率はそれぞれ 40.0, 90.0, 100 % であった。一方、無処理区のオス化率は 0 % であった。オス化率について、簡易化区②及び従来法区の間では有意差が認められなかったが（Tukey の母比率の検定, $p > 0.05$ ）、その他のすべての試験区間で有意差が認められた（ $p < 0.01$ ）。また、簡易化区②ではオスと判定された個体のうち約半数の個体の精巣中に卵母細胞が混在していることが確認された（写真 1）。

孵化後約 2 年 0 ヶ月目時点で無処理区を除く試験区において、一部の早熟個体が性成熟していた。また、これらの個体は全てオスであった。性成熟した個体に占める排精した個体の割合を図 3 に示した。簡易化区①（MT 浸漬のみ）、簡易化区②（MT 飼料給餌のみ）、従来法区（MT 浸漬+MT 飼料給餌）の排精個体率はそれぞれ 100, 78.6, 80.0% で試験区間に有意差は認められなかった（ $p > 0.05$ ）。なお、排精が確認されなかったすべての性成熟個体においても精巣は十分に発達していた。また、各区ともに精子の運動性を確認したところ良好であった。

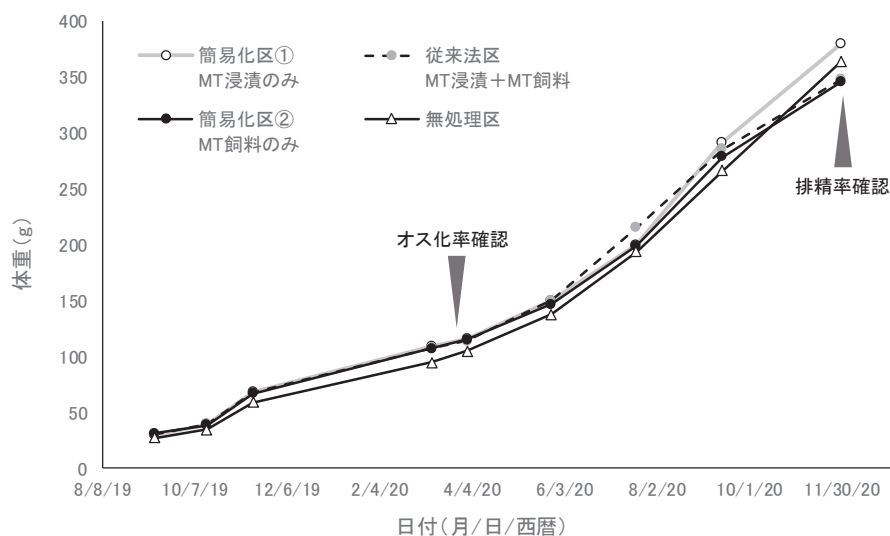


図1 成長の推移

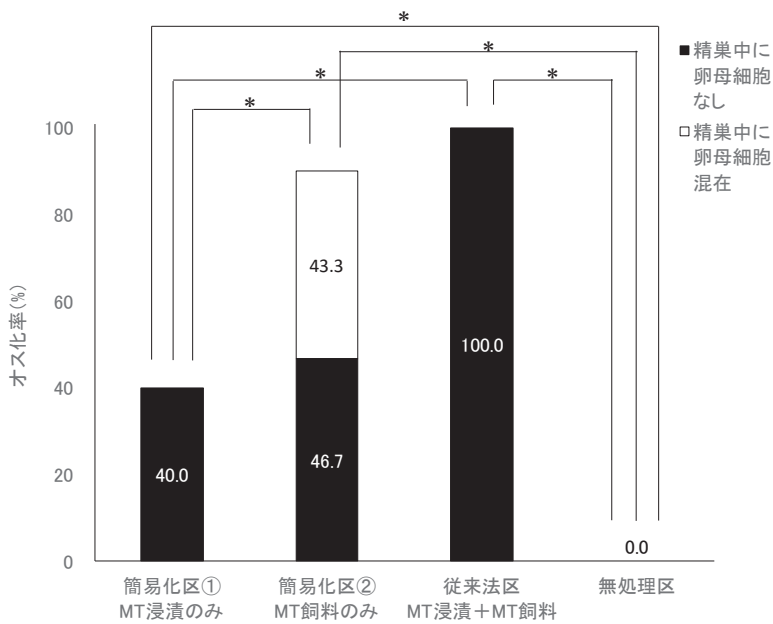


図2 マスノスケ全メス群への雄性ホルモン処理によるオス化率
*, 有意差あり(Tukeyの母比率の検定, $p < 0.01$)

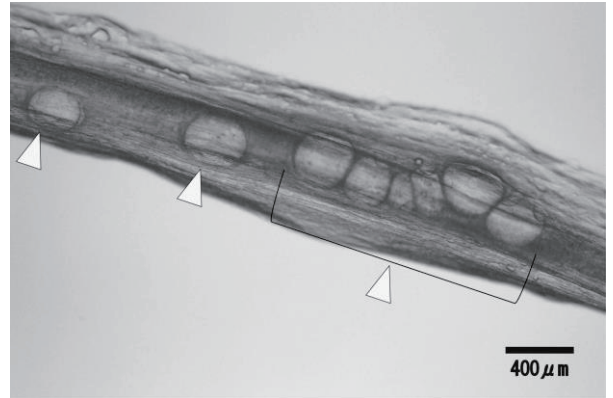


写真1 精巢中の卵母細胞(矢尻:簡易化区②)

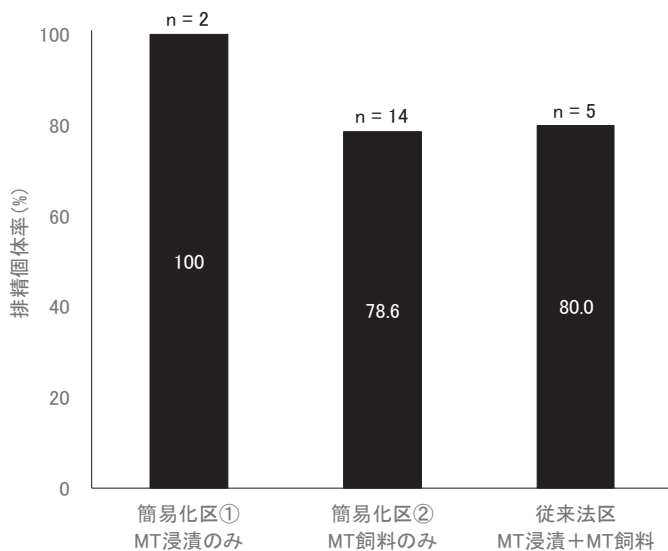


図3 マスノスケ性転換オスの成熟個体に占める排精個体の割合
3試験区間に有意差なし(Tukeyの母比率の検定, $p > 0.05$)

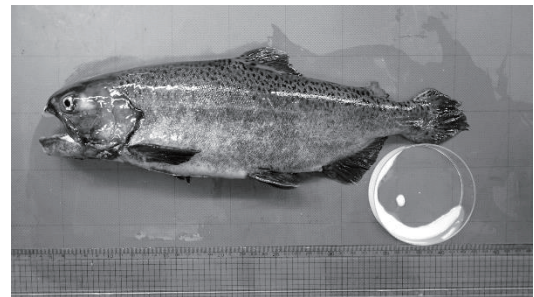


写真2 マスノスケ性転換オス排精個体(簡易化区②)

考察

日本においては100種類近いブランドサーモンが存在するが⁶⁾, その多くが刺身などの生食向けや切り身での利用を想定した2~3kg程度のサイズで出荷されている。鮭鱒類は通常このサイズになると性成熟する個体の割合が増加し, 性成熟した個体では体成分が生殖腺の発達に利用されるため肉質が低下する⁷⁾。このため, 一部のブランドサーモンにおいては, 全メス化と三倍体化を組み合わせた不妊化処理が性成熟期における肉質の低下抑

制技術として有効活用されている。「富士の介」においてもこの技術が用いられており、生産される魚はすべてメスで三倍体となっている。このような理由から「富士の介」の生産においては性決定に関与する Y 染色体を持たない精子のみをつくるマスノスケの性転換オスが特に要となる役割を果たしている。

ニジマスでは、過去に 10.5℃の飼育水温において MT を用いたオス化の条件が詳細に調べられており⁵⁾、浮上後 2 週間以内に MT 含有飼料の給餌を開始し、8 週間継続することで 90 %以上のオス化率が得られている。また、この研究では餌付け用飼料の MT 濃度とオス化率との関係は 0.5~1 ppm をピークとする鋭い単峰性の曲線を示すことがわかっている。さらにニジマスの性分化の過程について組織学的検討が行われており、浮上から 2 週目までは生殖腺において卵原細胞の増殖が主体で卵母細胞への移行は極めて少ないことが観察されている。このことは前述の MT 投与の開始時期とオス化率との関係性を支持している。なお、当所においても本県のブランドサーモン「甲斐サーモン」や「甲斐サーモンレッド」^{6,8,9)}などの種苗としても活用されるニジマス全メス三倍体の生産に用いられるニジマス性転換オスを作成するには、浮上後 1 ppm の MT 含有飼料を 60 日間給餌する方法がとられている。一方、アマゴでの同様の研究において、浮上後の MT 含有飼料の給餌のみではオス化率は高くても 3 割に満たず、高いオス化率を得るためには浮上後からの 1 ppm の MT 含有飼料の給餌に加えて浮上前の 0.01 または 0.1 ppm の MT 溶液中への孵化仔魚の浸漬処理が必要であった¹⁰⁾。このことは性分化の時期がニジマスよりも早い段階に存在することを示唆しているが、その後の研究によってアマゴの性分化のタイミングは水温 8~10℃で飼育した場合に浮上前の孵化後 17 日目ごろに存在することが明らかにされている¹¹⁾。

これまでの「富士の介」の生産に用いるマスノスケ性転換オスの作出条件は MT 溶液中への孵化仔魚の浸漬処理と浮上後の MT 含有飼料の給餌の両方を行うこととしていたが⁴⁾、この条件は最大公約数的な考え方に基づいて設定されたものである。今回の試験においてもこの方法と同様の条件である従来法区ではオス化率が 100 %であったが、浮上後の MT 含有飼料の給餌のみの簡易化区②でも 90 %のオス化率が得られた。このことは、マスノスケの性分化のタイミングがニジマスと同様、浮上後に存在すること意味している。また、精巢内に卵母細胞が観察されたという点で従来区とは異なる現象がみられたが、性成熟時における排精率は約 8 割で従来区と比べて遜色ない成績であったことから、性転換オスの精子の利用という面においてこのことは特段問題とならないと考えられる。以上の結果から、今後のマスノスケ性転換オス作出の処理条件として浮上後に 1 ppm の MT 含有飼料を 60 日間給餌する方法を提案したい。

要 約

1. 「富士の介」のオス親として使用するマスノスケ性転換オスは雌性発生によって得られたマスノスケ全メス群に対して孵化直後に雄性ホルモン処理を行うことで性転換を誘起し作出する。
2. 従来のマスノスケを性転換させるための処理条件は孵化後週に 2 回、0.15 ppm の 17 α -Methyltestosterone (以下、MT) 溶液に 8 時間浸漬し、これを計 8~10 回行うとともに 1 ppm の MT 含有飼料を浮上後 60 日間給餌することとしていた。
3. 本研究において浮上後 1 ppm の MT 含有飼料の給餌のみでも高い性転換率が得られることが示されるとともに、オス化した性成熟個体の約 8 割が排精した。
4. 今後、マスノスケ性転換雄の作出は浮上後からの 1 ppm の MT 含有飼料を給餌する方法で行うことを提案する。

文 献

- 1) 小堀彰彦 (2016) : 内水面のスペシャル・トラウト市場と愛知県における「絹姫サーモン」の開発. 養殖ビジネス, 53 (5), 7-10.

- 2) 三浦正之 (2017) : 新魚種開発 山梨県開発の新養殖魚について : ニジマス×マスノスケの全雌三倍体魚. アクアネット, 20 (5), 56-60.
- 3) 平塚匡・小澤諒 (2020) : キングサーモンの優れた性質を受け継ぐ日本で唯一の養殖魚「富士の介」. JATAFF ジャーナル. 公益社団法人 農林水産・食品産業技術振興協会, 8 (1), 40-41.
- 4) 高橋一孝 (2012) : マスノスケの飼育と全雌魚・性転換雄魚の作出について. 平成 22 年度山梨県水産技術センター事業報告書, 1-7.
- 5) 岡田鳳二 (1985) : ニジマスの人為的性統御に関する研究. 北海道立水産孵化場研報, 40, 1-49.
- 6) 今井智 (2020) : 国内のブランドサケマス養殖地図. アクアネット, 23 (2), 20.
- 7) 山下倫明 (1994) : 産卵期サケの肉質軟化機構に関する研究. 日水誌, 60, 439-442.
- 8) 平塚匡 (2016) : 山梨県のブランドニジマス「甲斐サーモン」. 養殖ビジネス, 53 (5), 24-25.
- 9) 平塚匡・名倉盾 (2017) : 「甲斐サーモン」に続くブランド 山梨県の「甲斐サーモンレッド」. 養殖ビジネス, 54 (5), 22-24.
- 10) 臼田博 (1989) : アマゴの全雌生産とその特性. 水産育種, 14, 11-22.
- 11) Nakamura, M. (1994): A Study of susceptibility of sex reversal after a single 2-hour treatment of androgen in Amago salmon. Fish. Sci., 60, 483-484.