

## ブルーギル類初期飼育と3倍体作成技術

栗田 潤・山口寿哉・石川 卓・奥 宏海・正岡哲治・桐生郁也(水研機構増養殖研)・  
藤原 篤志(水研機構中央水研)・岡本裕之(水研機構増養殖研)

侵略的外来種を根絶させる新たな放流手法として我々は雌特異的生殖関連遺伝子をゲノム編集により機能欠損させた雄(不妊化遺伝子搭載雄)を放流するという遺伝子制圧法を考案し、ブルーギルを対象に技術開発に取り組んでいる。本技術の確立には、自身では生殖細胞をつくれない雌個体に目的ゲノム編集がなされた個体の生殖細胞を移植するいわゆる“借り腹技術”が必要になる。そのためには移植される側を3倍体化、雑種化するなどして自身の配偶子を作れないようにしておく必要があり、3倍体化はその重要な技術の一つである。それにはまず安定したブルーギル類の人工採卵技術や初期飼育技術の確立が必要で、またそれらの技術はそもそもゲノム編集自体の操作にも必要不可欠である。研究開始当初、ブルーギルの仔魚を無事に育てること自体がかなり困難であったが、数年にわたる経験から、現在では安定的に生産ができるようになってきている。これらの技法は、他のブルーギル研究にも役立つのではないかと考え、簡単に情報提供させていただくこととした。まず人工採卵には通常の10倍濃度程度のhCG投与(ブースター併用)が有効であった。仔魚飼育容器にはスドーのサテライトスリムが適しており、初期餌料には淡水ツボワムシの連続給餌、ホウネンエビ幼生、ベトナム産アルテミア幼生、ソルトレイク産アルテミア幼生の順次給餌が適していた。ホウネンエビ幼生給餌の効果は絶大であるが、耐久卵の入手が困難なため、淡水ワムシの連続給餌期間を10日程度以上に延長することで、時間はかかるもののホウネンエビ幼生給餌を省いてもアルテミア幼生給餌までもっていくことが可能であった。3倍体化は受精直後7°C20分の低温処理の倍数化率が高かったが、低温の後遺症により孵化はするもののほとんどの個体が浮上できないことが後に判明したことから、現在では7°C15分+10°C5分の操作を採用している。また致死性雑種であるブルーギル雌×パンプキンシード雄の受精卵にこの処理を加えることで、生残性が回復することが確認され、全3倍体生産技術として期待される。仔稚魚期の疾病としては、ウイルス病と推察される表皮増生症や眼球出血浮腫症が問題となることがあった。本研究は、環境省 環境研究総合推進費(4-1408、4-1703)により実施された。

(写真: 3倍体化処理パンプキンシード仔魚に移植したブルーギルの精原細胞を含む蛍光標識した精巣細胞 ←)

