

5. バイテク応用技術開発研究費

1) ニゴロブナおよびホンモロコの雌性発生等による育種技術の開発

上野世司・西森克浩・藤岡康弘

[目的] ニゴロブナおよびホンモロコの雌性発生等を利用した育種技術の開発を行った。育種目標は、ニゴロブナでは高成長、ホンモロコでは偽雄を利用した全雌種苗生産の容易な養殖品種の作出である。

[方法] 1. 精液の希釈用溶液および保存方法の検討; 精子の遺伝的不活化処理の際に必要な精液の希釈用溶液および希釈精液の保存温度について検討した。2. 卵割阻止型雌性発生魚(卵割型)の量産技術の開発; 卵割型の量産方法を確立するとともに、併せてその量産を試みた。3. 雄性発生技術の開発; UV照射による卵の遺伝的不活化技術として、卵の浸漬用BSS、卵の保存温度、UV照射量について検討した。4. 卵割阻止条件の検討(ホンモロコ); 高温処理の開始時期および浸漬条件について検討した。5. ニゴロブナ高成長系統の作出; 通常発生魚から選抜した大型個体を親魚として、選抜のもととなる遺伝子プールとしての卵割型の作出を行った。6. ホンモロコ全雌生産可能な系統の作出; 高水温下でも性転換しない雌性個体を選抜することにより、雄の出現しない全雌生産の容易な品種の固定を目指している。ここでは雌性発生第一代または第二代を作出し、それらを標準水温(20℃)、高水温(25または30℃)で飼育して今後の選抜に供することとした。

[結果] 1. 精液の希釈用溶液および保存方法 コイ用人工精漿(C-ASP)のうち、NaCl濃度をニゴロブナ用には75~92 mM、ホンモロコ用には92~110mMに調整したものが各精液の希釈溶液として優れた(表1)。ニゴロブナ精液をC-ASPで希釈し、2~30℃の温度で保存したところ、精子の運動性保持能において5℃が最も優れた。

2. 卵割型の量産技術 従来法よりも雌性発生手法(精子へのUV照射、卵の付着基体、高温処理槽)を大型化することにより卵割型の量産が可能となった。

3. 雄性発生技術 卵をBSSに浸漬すると卵質が悪化したが、浸漬溶液としてニゴロブナではコイ用生理塩類溶液またはそのNaCl濃度を163 mMに調整したCB20、ホンモロコではCB20を使用し、卵の保存温度を約10℃とし、浸漬後30分以内に供試することで良好な卵質を維持できた。ホンモロコ卵の遺伝的不活化には12000erg/mm²の照射量が必要であったが、その時のふ化率は11.5%と低かった(図1)。

4. 卵割阻止条件(ホンモロコ) 水温約20℃のとき、媒精後18~38分の広い時間帯での高温処理で卵割阻止が可能であった。高温処理(41℃)による卵割阻止条件として、浸漬時間60秒間が最適であると考えられた。

5. ニゴロブナ高成長系統の作出 雌性発生第一代として卵割型の作出を試みた。自然の極体放出阻止による二倍体も混入したと考えられるが、今後、これらのうち大型個体を親魚とすることにより育種効果を期待したい。

6. ホンモロコ全雌生産可能な系統の作出 作出した各群について、今後、性比を確認するとともに雌性発生次世代を作出し、性比のばらつきが遺伝的なものか検証しつつ、品種としての固定を試みていきたい。

表1 ホンモロコ精液を各生理塩類溶液で希釈した後の経過時間(時:分)と精子の運動性の評価.

試験区	希釈後の経過時間(時間:分間)、室温、精子の運動性の評価									
	0:30	1:00	2:00	4:00	6:00	8:00	23:30	28:30	32:30	47:30
	18.9°C	18.7°C	19.0°C	19.8°C	20.6°C	20.6°C	19.1°C	20.8°C	21.0°C	18.6°C
非希釈	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	-	-	-
CS00	++	+	+	+	+	±	-	-	-	-
CS05	+++~++	++	++	++	++	++~+	-	-	-	-
CS10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++~++	-
CS20	+++	+++	+++	+++	+++~++	++	-	-	-	-
CB00	+++	+++~++	++	+	+~±	±	-	-	-	-
CB10	+++~++	++	++~+	+~±	-	-	-	-	-	-
CB20	+++~++	+++~++	++~+	+~±	±	-	-	-	-	-
F-BSS	+++~++	+++~++	+++~++	++	++	++~+	-	-	-	-

CS00:コイ用人工精漿(NaCl75mM), CS05:コイ用人工精漿(NaCl84mM)
 CS10:コイ用人工精漿(NaCl92mM), CS20:コイ用人工精漿(NaCl110mM).
 CB00:コイ用BSS(NaCl 128mM), CB10:コイ用BSS(NaCl 145mM), CB20:コイ用BSS(NaCl 163mM)
 F-BSS:淡水硬骨魚用BSS

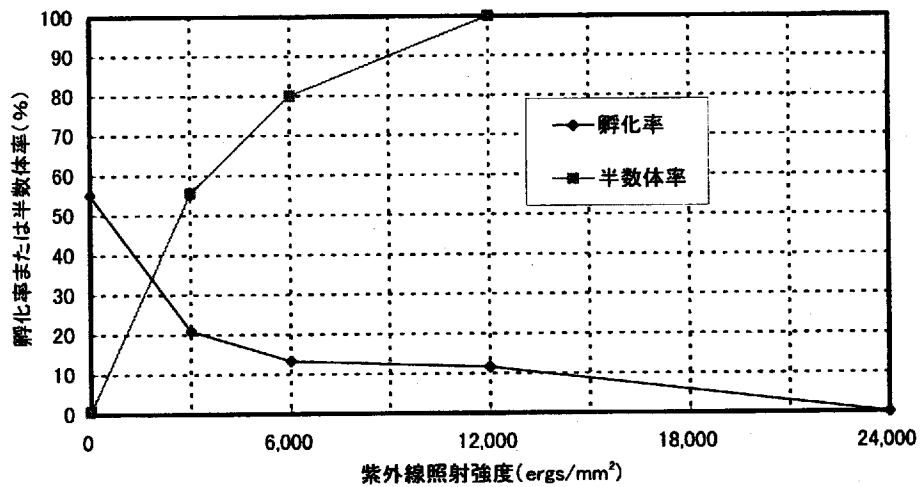


図1 ホンモロコ卵における紫外線照射強度と孵化率および半数体率の関係.
 孵化率: 孵化数/供試卵数、半数体率: 半数体孵化数/孵化数の各百分率.