

## 1 1) ニゴロブナ雌性発生系統の遺伝的特徴

上野世司

【目的】 ニゴロブナ雌性発生魚から大型個体を選抜し、それらを親魚として雌性発生による次世代の作出を行い、作出された 10 系統の飼育成績の評価を混合飼育により行ったところ、標準群（特に選抜等の操作を加えていない対照群）よりも成長が優れると推定される雌性発生系統が 2 系統得られた（滋賀水試，平成 13 年度先端技術等地域実用化研究促進事業報告書）。ここでは、これらのうちの 9 系統の遺伝的特性として、RAPD による BSI 値（Band Sharing Index）を調べた。

【方法】 ニゴロブナ雌性発生継代系統である A, B, C, D, E, F, M, N, O から各 3 尾ずつ、通常発生群 (NNm) から 6 個体、フェノール - クロロホルム法で DNA を抽出し、これらを鋳型 DNA として、RAPD-PCR を行った。プライマーは OPERON Technologies Inc. の Operon 10mer Kits™ から OPA01, OPA02, OPA19, OPA20 の 4 種を用いた（表 1）。PCR 反応の組成は表 2 のとおりとし、Taq polymerase は ExTaq™ を使用した。PCR には MJ-Research の PTC-100-96V（ホットボンネット付き）を用い、PCR サイクルは図 1 のとおりとした。増幅産物は、1.5%アガロースゲル電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色後、UV 照明下で撮影を行った。泳動像からバンドを読みとり、系統内における個体間平均 BSI 値 [BSI = (2 × Nab) / (Na + Nb), Na, Nb は個体 a および b に検出されたバンド数, Nab は両者に共有されるバンド数] を算出した。

【結果】 雌性発生 (A, B, C, D, E, F, M, N, O) 系統、NNm 群の個体間平均 BSI 値を、プライマー毎に表 3 に示す。平均 BSI 値は、NNm 群ではプライマー毎に 0.67 ~ 0.84、合計では 0.77 ± 0.11 であった。雌性発生系統では、0.81 ~ 0.90、合計では 0.85 ± 0.13 であった。雌性発生系統では、NNm 群に比べて BSI 値が高く、遺伝的近交度の上昇が確認された。

雌性発生系統毎に合計平均 BSI 値をみると、A: 0.76 ± 0.18、B: 0.84 ± 0.14、C: 0.83 ± 0.10、D: 0.89 ± 0.10、E: 0.84 ± 0.08、F: 0.91 ± 0.05、M: 0.90 ± 0.06、N: 0.92 ± 0.07、O: 0.77 ± 0.19 であり、NNm 群の 0.77 ± 0.11 に比べて、ほとんどの雌性発生系統で上昇していたものの、全ての系統がクローン系統ではなかった。

これらのことから、初代の雌性発生魚は、第一卵割阻止型ではなく、第二極体放出阻止型の雌性発生魚であったことが確認された。その雌性発生継代系統である A, B, C, D, E, F, M, N, O の各系統は、第二極体放出阻止型雌性発生を 2 回繰り返して作出された系統であり、系統内でクローン集団を形成していなかったものの、遺伝的近交度は上昇しており、形質の固定化も進んでいるものと推測された。

表1 RAPDに用いたプライマーの配列.

Primer	塩基配列
OPA01	5'-CAGGCCCTTC-3'
OPA02	5'-TGCCGAGCTG-3'
OPA19	5'-CAAACGTCCG-3'
OPA20	5'-GTTGCGATCC-3'

表2 PCR反応液の組成.

	( $\mu$ l)
Sample DNA	2
10 $\times$ PCR Buffer	2.5
10 $\times$ dNTPs	2.5
Taq polymerase	0.2
プライマー(100pmol/ $\mu$ l)	0.5
超純水	17.3
計	25

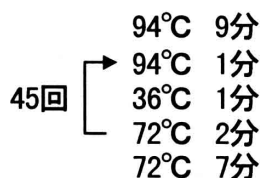


図1 RAPD に用いた PCR サイクル.

表3 RAPD法によるニゴロブナ雌性発生(GPb)系統毎, 通常発生(NNm) 群の個体間平均BSIの比較.

群または系統	OPA01			OPA02			OPA19			OPA20			Total		
	n	Mean	$\pm$ SD	n	Mean	$\pm$ SD	n	Mean	$\pm$ SD	n	Mean	$\pm$ SD	n	Mean	$\pm$ SD
NNm	6	0.77	$\pm$ 0.09	6	0.78	$\pm$ 0.09	5	0.84	$\pm$ 0.08	5	0.67	$\pm$ 0.13	22	0.77	$\pm$ 0.11
GPb A	3	0.95	$\pm$ 0.04	3	0.62	$\pm$ 0.13	3	0.71	$\pm$ 0.20	3	0.77	$\pm$ 0.11	12	0.76	$\pm$ 0.18
B	3	0.84	$\pm$ 0.06	3	0.65	$\pm$ 0.11	3	0.85	$\pm$ 0.06	3	1.00	$\pm$ 0.00	12	0.84	$\pm$ 0.14
C	3	0.84	$\pm$ 0.06	3	0.78	$\pm$ 0.10	3	0.79	$\pm$ 0.10	3	0.92	$\pm$ 0.06	12	0.83	$\pm$ 0.10
D	3	0.94	$\pm$ 0.04	3	0.79	$\pm$ 0.09	3	0.82	$\pm$ 0.07	3	1.00	$\pm$ 0.00	12	0.89	$\pm$ 0.10
E	3	0.87	$\pm$ 0.05	3	0.87	$\pm$ 0.09	3	0.81	$\pm$ 0.07	3	0.83	$\pm$ 0.08	12	0.84	$\pm$ 0.08
F	3	0.94	$\pm$ 0.04	3	0.89	$\pm$ 0.04	3	0.94	$\pm$ 0.04	3	0.86	$\pm$ 0.04	12	0.91	$\pm$ 0.05
M	3	0.89	$\pm$ 0.08	3	0.95	$\pm$ 0.04	3	0.87	$\pm$ 0.05	3	0.90	$\pm$ 0.03	12	0.90	$\pm$ 0.06
N	3	0.85	$\pm$ 0.05	3	0.94	$\pm$ 0.04	3	0.89	$\pm$ 0.04	3	1.00	$\pm$ 0.00	12	0.92	$\pm$ 0.07
O	3	0.74	$\pm$ 0.05	3	0.87	$\pm$ 0.09	3	0.60	$\pm$ 0.28	3	0.87	$\pm$ 0.09	12	0.77	$\pm$ 0.19
Total	27	0.87	$\pm$ 0.08	27	0.82	$\pm$ 0.14	27	0.81	$\pm$ 0.16	27	0.90	$\pm$ 0.10	108	0.85	$\pm$ 0.13

BSI=(2 $\times$ Nab)/(Na+Nb), Na,Nbは個体aおよびbに検出されたバンド数, Nabは両者に共有されるバンド数.  
nは個体間BSI数. A~Oは雌性発生系統名を示す.