

3) ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の継代特性

(2) 性転換雄精子からの雄性発生誘導

亀甲武志、井戸本純一（琵琶湖博物館）

【目的】平成12年度の結果から、第一卵割阻止型雌性発生によって固定化した有用遺伝子を確実に継代する方法として、性転換技術の利用が有効である可能性が示された。そこで、本研究ではニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄（以下G II偽雄とする）の精子を使って、紫外線を利用した雄性発生誘導試験を行った。

【材料と方法】卵は雄性アルビノニジマス2尾から得たものを混合して用いた。卵膜の厚さは昨年度開発した手法を用いて、個体ごとに5つの卵を測定した。精子はG II偽雄5尾、対照区として普通ニジマス1尾を用いて、前章1の方法で精子抽出を行い、精子容積率の測定（11,000rpm × 10分）と精子の運動活性の観察および精子最長運動時間の測定（2回測定の平均値）に供した。未受精卵にたいする紫外線照射方法は、1回に処理する未受精卵の定量を30gにして、紫外線照射時間を8分間とした。6回分の処理卵合計180gを、混合したのち、20gずつ小分けして、上述の抽出精子をそれぞれ媒精した。残りの卵には、親魚4（図1）から得た精子を媒精したのち、受精4時間45分後から6分間の高水圧処理（650kgf/cm²）の倍数化処理を行った。積算水温約200℃・日で検卵を行い、胚の生存性（発眼期生存率）を判定した。すなわち、透明性を保った卵について①黒い色素を伴う眼胞または眼点が認められる、②胚体の形成が認められる、③血色素の生成が認められる、のいずれかを満たすものを生存胚とした。また、①をみたすものを黒眼胚、それ以外を無眼胚とした。

【結果および考察】アルビノニジマス2尾の卵膜の厚さはほとんど同じであった（表1）ことから、卵を遺伝的不活性化するのにあたって卵を混合することによる影響はないと考えた。用いた精子の性状（表2）は、普通ニジマスがG II偽雄の精子よりもすこし活性が弱かったが、精子の運動活性、精子最長運動時間はおおむね良好であった。発眼率については（表3）、どの試験区においても黒眼胚の割合が95%以上を占めており、アルビノ遺伝子がほぼ不活性化されていることから、雄性発生の誘導に成功したと考えられる。発眼期生存率については、対照区の比較的精子活性が低かった普通ニジマスでの生存率が5割を越え、G II偽雄についても34.9%から61.6%の生存率を示した。また、これらの値は、G II魚の雌性発生継代における半数体対照区や普通ニジマスの精子を用いた雄性発生半数体の誘導実験における発眼期生存率と比べて高い値で安定しており、G II偽雄の精子の遺伝的資質が全般的に高いことが示唆された。一方、もっとも高い発眼期生存率を示した親魚4の精子でも雄性発生二倍体の誘導は全く成功しなかった（表4）。しかし、雄性発生二倍体の誘導に関しては今後の検討課題である。

表1 アルビノニジマスから得た卵の卵膜の厚さの平均値と標準偏差

個体	1	2
最大値(mm)	0.036	0.036
最小値(mm)	0.035	0.034
平均値(mm)	0.0352	0.0354
標準偏差	0.000447	0.0008944

表2 ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄精巢抽出精子の性状

親魚	調査日	体長 (cm)	魚体重 (g)	精巢重量 (g)	精液搾出 の可否	抽出精子		
						SPC(%)	運動活性	最長運動時間
1	2003/1/15	30.5	760	35.5	—	11.3	+++	1分56秒
2	2003/1/15	34	777	28.1	—	15.5	+++	2分41秒
3	2003/1/15	34.5	839	16.1	—	8	+++	3分18秒
4	2003/1/15	28.2	372	14.9	—	10.5	+++	1分54秒
5	2003/1/15	32.3	981	14.6	+	11.9	+++	1分58秒
6	2003/1/15	39	916	33	+	9	++	1分18秒

SPC: 精巢組織の2倍量の人工精漿で抽出した精子懸濁液の精子容積率

運動活性: 運動精子の割合が50%以上(+++), 20%~50%(++), 10%以下(+).

個体1~5はG II偽雄、個体6は普通ニジマス雄

表3 ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄精巢抽出精子をアルビノ卵に媒精したニジマスの発眼率

親魚	供試卵数	発眼期			備考
		黒眼胚	無眼胚	生存率(%)	
1	150	67	2	46	
2	152	52	1	34.9	
3	150	55	0	36.7	
4	151	88	5	61.6	
5	146	63	0	43.2	
6	147	78	2	53.7	普通ニジマス雄

表4 アルビノニジマス未受精卵を用いた雄性発生二倍体誘導実験区の胚の生存性

親魚	供試卵数	発眼期			備考
		黒眼胚	無眼胚	生存率(%)	
4	486	0	0	0	すべて死卵

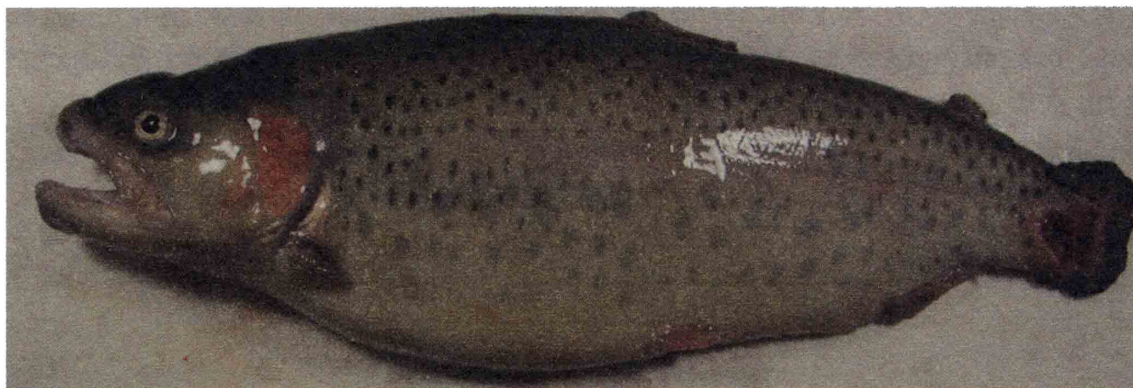


図1 親魚4