

6) 卵膜の厚さに注目した紫外線によるニジマスの雄性発生誘導

亀甲武志、井戸本純一（琵琶湖博物館）

【目的】 昨年度、紫外線によるニジマスの雄性発生誘導は、紫外線透過率を考慮にいれ、卵膜の厚さを揃えた卵を用いる必要性が指摘された。そこで、本研究では卵膜の厚さがほぼ一定と考えられる、同一個体から得られた卵を用いて紫外線による雄性発生半数体の誘導を行った。

【材料および方法】 実験 1,2,3 はそれぞれ普通ニジマス 1 尾から、実験 3,4 はそれぞれ優性アルビノニジマス 1 尾から得た卵を用いた。一腹ごとに 5 つの卵を抽出し（実験 1 は 1 つ）卵膜の厚さ測定した。精子は各実験ごとに 1 尾の通常ニジマスから得たものを用いた。未受精卵に対する紫外線照射方法は基本的には一昨年度と同じであるが、1 回に処理する未受精卵の定量を実験 1,2,3 は 30g、実験 4,5 は 15g にして、0~8 分間の 5 段階の紫外線照射を行った。また、実験 4,5 は底部から通気する際に、氷を通して空気を冷却した。積算水温約 200 °C・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。積算水温約 400 °C・日で外形的な奇形を含むすべての生存している孵化仔魚の数を計数し、供試卵に対する孵化率を算出した。

【結果および考察】 実験 1,2,3 それぞれの実験区での卵膜の厚さを表 1 に示す。実験 1,2 で用いた卵にくらべ、実験 3 で用いた卵の卵膜は明らかに薄いと考えられた。発眼期生存率は、実験 1 では対照区の 51 %から 2 分間照射区の 22.6 %に低下したあと、4 分間照射区では、37 %に回復し、Hertwig 効果が認められた（図 1）。実験 2 では対照区の 61.5 %から 2,4 分間照射区と低下したあと、6 分間照射区では、24.3 %に回復し、Hertwig 効果が認められた（図 2）。孵化率は実験 1,2 ともに 2 分間以上の照射区では 0 %であった。実験 3 では対照区のみ発眼期生存率、孵化率がそれぞれ 85.4 %、76.9 %で 2 分間以上の照射区ではほとんど生存胚が認められなかった（図 3）。

実験 4,5 実験 4 で用いた卵にくらべ実験 5 で用いた卵の卵膜の厚さは厚いと考えられた。実験 4 では、発眼期生存率は、対照区の 38.8 %から 2 分間照射区の 24.4 %に低下したあと、4 分間照射区では対照区よりも高い 56.8 %に回復し、Hertwig 効果が認められた（図 4）。アルビノ遺伝子の不活性化を示す黒眼胚の割合は対照区が 0 %と、雌親魚が完全なホモ型アルビノであることを示したが、4 分間以上の照射区では 80 %近くに増大した。孵化率は 2 分間以上の照射区で 0 %であった。実験 5 では、発眼期生存率は、対照区の 100 %から 4 分間照射区の 4.3 %に急激に低下したあと、6 分間照射区では 10.9 %に回復し、Hertwig 効果が認められたがその値は対照区にくらべて著しく低かった（図 5）。アルビノ遺伝子の不活性化を示す黒眼胚の割合は対照区が 0 %と、雌親魚が完全なホモ型アルビノであることを示したが、8 分間以上の照射区では 100 %であった。孵化率は 4 分間以上の照射区で 0 %であった。以上の結果から、紫外線による雄性発生の誘導は、卵膜の厚さのわずかな差によって左右されることが確認されるとともに、雄性発生半数体の生存性が、精子の遺伝学的資質を強く反映していることが示唆された。

表1 各採卵親魚における卵膜の厚さの平均値と標準偏差

実験	2	3	4	5
最大値(mm)	0.036	0.018	0.038	0.038
最小値(mm)	0.033	0.015	0.034	0.036
平均値(mm)	0.0342	0.0166	0.035	0.0368
標準偏差	0.001166	0.00102	0.001549	0.000748

実験1は、1回だけ測定し、0.035mmであった。

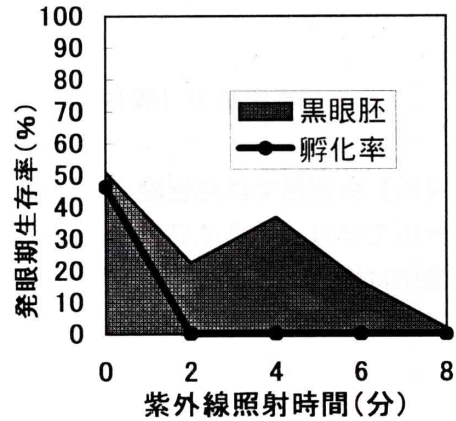


図1 卵膜の厚さ0.035mmのニジマス未受精卵に対する紫外線照射時間と胚の生存性の関係(実験1)

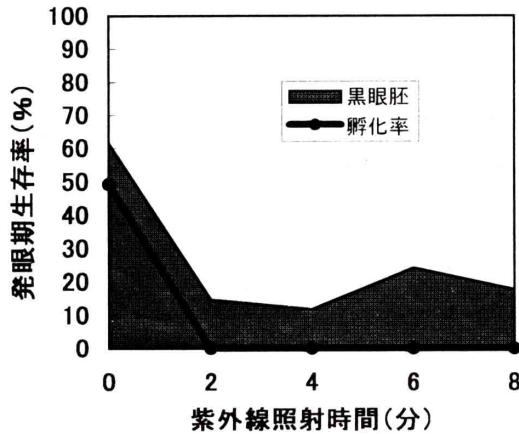


図2 卵膜の厚さ0.034mmのニジマス未受精卵に対する紫外線照射時間と胚の生存性の関係(実験2)

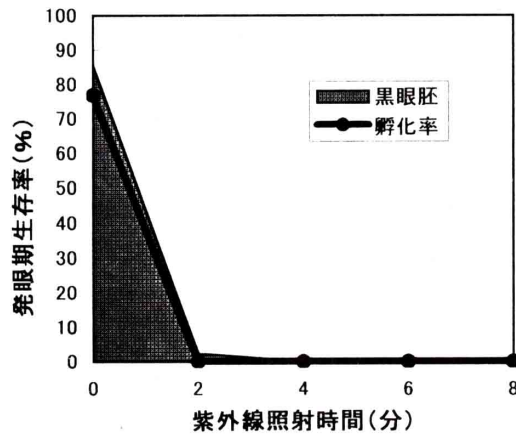


図3 卵膜の厚さ0.017mmのニジマス未受精卵に対する紫外線照射時間と胚の生存性の関係(実験3)

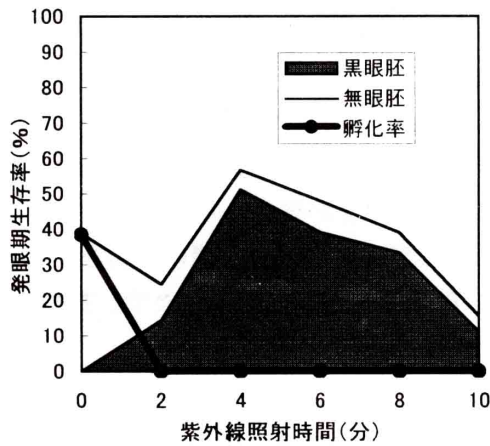


図4 卵膜の厚さ0.035mmのアルビノニジマス未受精卵に対する紫外線照射時間と胚の生存性の関係(実験4)

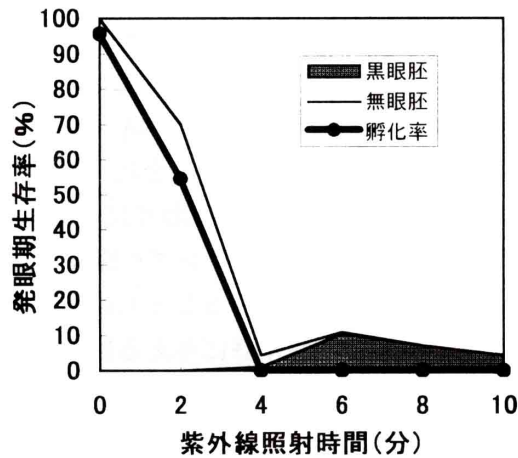


図5 卵膜の厚さ0.037mmのアルビノニジマス未受精卵に対する紫外線照射時間と胚の生存性の関係(実験5)