

2) 性分化期高温飼育極体放出阻止型雌性発生二倍体第二代雌個体からの雌性発生第三代の作出

西森克浩・藤岡康弘

【目的】卵割阻止型雌性発生で作出され、性分化時期を30℃で飼育された個体のうち、数個体が機能的雌に分化し、昨年度の産卵期に採卵可能な個体となった。これらの個体を催熟し、雌性発生操作によって第二代が作出され、性分化期を再び高温飼育された。これらは遺伝的均一（クローン）となると期待されたが、RAPD-PCR産物のDNA断片解析の結果、クローンではないと判定された。これは第一代の作出時に第二極体の自然放出阻止が起こったためと考えられた。しかし、これら第二代は難雄化がより進んでいると考えられるため、これらのうち雌性を維持した個体を用いて、極体放出阻止型および卵割阻止型雌性発生により第三代を作出し、性分化期を30℃で飼育した。

【実験方法】実験は1997年5月10日に行った。通常発生用の精子は3個体の雄の通常発生ホンモロコから搾出によって採精した。雌性発生用の精子は3個体のニゴロブナの雄から搾出によって採精した。精子の不活化は常法により行った。

第二極体放出阻止による染色体の倍数化は、0℃の水水に40分間浸漬することで行った。倍数化処理は、受精卵を6群に分け、5分から1分おきに10分まで水水処理をずらせて行った。

第一卵割阻止による染色体の倍数化は、41℃の温水に50秒浸漬する方法によって行った。倍数化処理は、受精卵を4群に分け、26分から2分おきに32分まで温水処理をずらせて行った。

【結果】各雌性発生系統の作出成績を表1に示した。正常魚出現率は、通常発生区では39.4%、雌性発生無処理区では0%、極体放出阻止区では4.6~48.6%、卵割阻止区では1.9~4.9%であった。雌性発生魚は性分化期を30℃で飼育し、その後地下水を流水して飼育しているが生残率が低く、1998年2月現在で極体放出阻止型が約30尾、卵割阻止型が2尾、生残しているのみであった（通常発生魚は1998年2月現在で約30尾生残している）。飼育中死亡した個体の生殖腺を調べたが、生殖腺が確認できたのは5尾だけで、このうち雌は1尾のみであった。これらの系統は生殖巣の発達を待つて機能的性を確認し、次世代を作出したい。

表1 雌性発生第三代の作出成績

雌性発生方法	温度処理開始時期	供試卵数	正常ふ化仔魚数
通常発生	—	330	130(39.4%)
雌性発生無処理	—	196	0(0.0%)
極体放出阻止	5分	329	160(48.6%)
	6分	234	113(48.3%)
	7分	471	142(30.1%)
	8分	514	73(14.2%)
	9分	592	40(6.8%)
	10分	523	24(4.6%)
卵割阻止	26分	737	17(2.3%)
	28分	308	15(4.9%)
	30分	525	10(1.9%)
	32分	74	2(2.7%)

括弧内は正常ふ化率