

ホンモロコ・ニゴロブナの雌性化技術開発に関する研究— I

田中 秀具・澤田 宣雄

ホンモロコ (*Gnathopogon elongatus caerulescens*) とニゴロブナ (*Carassius auratus grandoculis*) は、琵琶湖特産の高級水産物で琵琶湖漁業においても魚類ではアユに次ぐ主要魚獲物となっている。特にホンモロコは「子持ちモロコ」として、ニゴロブナは「フナズシ」の原料として両種とも雌魚の需要が大きく、価格面でも雌が雄を大きく上回っている。

一方、滋賀県における魚類養殖業は主にアユ・コイ・ニジマスを中心に発展してきたが、近年は生産経費の増大と生産物価の低迷により伸び悩みの傾向があり、新たな養殖魚の開発も考えてゆく必要がある。

この様な背景のもとに、当场では昭和61年度よりホンモロコとニゴロブナの全雌生産技術を確立するため、近年マス類を中心に研究の進んでいるバイオテクノロジーの手法^{1)~6), 8)}を応用し、紫外線照射による精子の遺伝的不活化や染色体倍化処理方法等、両魚種の雌性発生2倍体を作成するための基礎的な条件について若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

本章に於ては本研究の全般に共通した材料及び方法について述べ、詳細は各実験の章の中で述べることにする。

1. 親魚および採卵

親魚材料は滋賀県水産試験場にて累代飼育されたものからホンモロコは2⁺魚(一部3⁺魚)、ニゴロブナは3⁺魚を用いた。採卵に際しては、腹腔への排卵直後の卵を供試するため、実験開始の約12時間前に親魚にゴナトロピン(日本薬局方、胎盤性性腺刺激ホルモン)を2 I.U./g.BW. 腹腔内注射後、水温を25℃に上昇させた。採卵は搾出法によった。

2. 精子液と紫外線照射

精子液は親魚より搾出しながらシリンジで採精した後、淡水硬骨魚用リンゲル氏液で50倍~100倍に稀釈した。紫外線照射に際してはなるべく精子に均等に照射できる様に、精子液を1mlずつガラスシャーレに小分けし、薄くのぼして振とうさせた。紫外線線量は、紫外線灯からの距離を50erg/ml/secになる様にセットし、照射時間によって必要量を求めた。尚、線量は254 nmの波長を主体とした測定を行った。

3. 染色体倍化処理

染色体倍化処理法にはコルヒチンやサイトカラシンB等の化学物質を用いて有糸分裂を阻害する化学的方法と、温度ショックや加圧ショックによって有糸分裂を阻害する物理的方法が知られているが、²⁾本研究では物理的方法のうち、受精卵を低温に晒して有糸分裂を阻害する方法を用いた。本研究で試みた低温のうち0℃と4℃は、水冷用クーラー(ヤマト科学、ネオクールディップ)と水により確保し、-15℃は、10%グリセリン水溶液を満した容器を冷凍庫内に入れ、サーモスタット付ヒーターで温度調節して確保した。

4. 孵化管理および結果の判定

受精卵は両魚種とも付着性の沈性卵であるので、ガラス板又はガラスシャーレに付着させ、所定の処理の終了後は20℃~25℃の水中で孵化させた。死卵は毎日計数しながら除去した。

尚、雌性発生魚作出試験に於ては、精子の遺伝的不活化の不十分な場合にも結果の判定が明確となるように、受精可能で雑種の生存が不可能な近縁の異種精子⁷⁾を受精させるのが望ましい。従って本研究では原則としてホンモロコの試験にはドジョウ精子又はニゴロブナを、ニゴロブナの試験にはホンモロコ精子を用いた。

結果の判定は孵化時点を中心として行った。両魚種とも水温20℃~25℃では受精後3日~9日の間に孵化した。孵化がほぼ完了した時点で残っていた生卵は針で卵膜を破り、強制的に孵化させた。

孵化仔魚は肉眼的に可能な範囲(実体顕微鏡併用)で2倍体正常魚・2倍体異常魚・2n様異数体・半数体に分けて計数した。2倍体正常魚は各魚種の通常の孵化仔魚と全く異ならないもの、2倍体異常魚は正常孵化仔魚とほぼ同じ姿をしているが、軽度の奇型であったり泳ぎ方が異常なもの、2n様異数体は半数体症候群のもののうち、やや大型で曲がり方の少ないものや体軀はまっすぐだが正常仔魚に比べてかなり小さく、目が異常なもの、半数体は典型的な半数体症候群のものとした。ホンモロコの各分類の典型的なものを図1に示す。

*本報告は昭和61年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書より抜粋したものである。

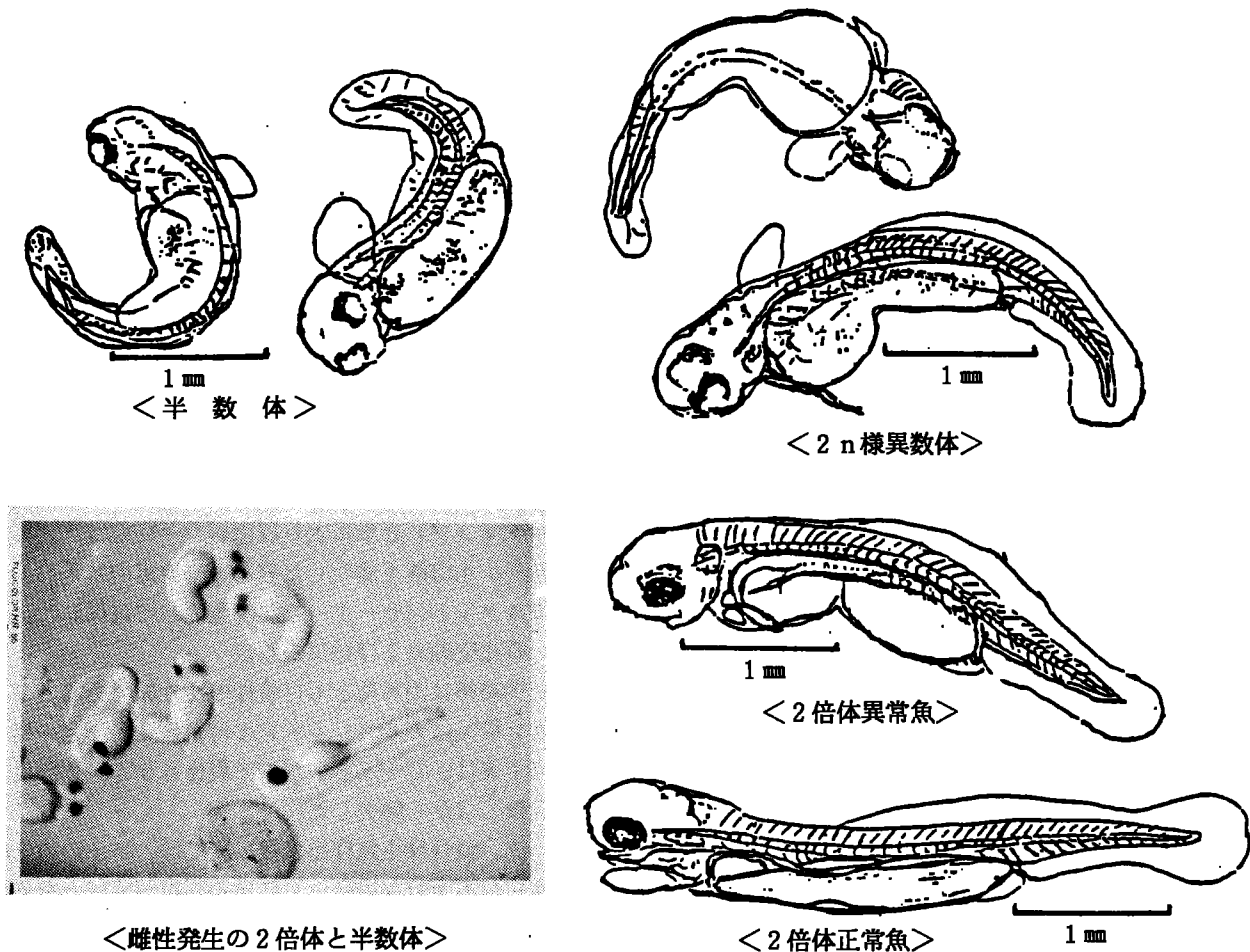


図1. 雌性発生による孵化仔魚（ホンモロコ）

計数したデータから下記の項目を中心に検討した。

- (1) 孵化率 = $\frac{\text{総孵化仔魚数}}{\text{使用卵数}} \times 100 (\%)$
- (2) 正常仔魚獲得率[※] = $\frac{\text{2倍体正常魚数}}{\text{使用卵数}} \times 100 (\%)$

※) この値が今後の実用化の面で最も重要視される。

- (3) 孵化仔魚正常率 = $\frac{\text{2倍体正常魚数}}{\text{総孵化仔魚数}} \times 100 (\%)$
- (4) 倍化仔魚率 = $\frac{\text{2倍体正常魚数} + \text{2倍体異常魚数} + \text{2n様異数体数}}{\text{総孵化仔魚数}} \times 100 (\%)$
- (5) 半数体出現率 = $\frac{\text{半数体仔魚数}}{\text{総孵化仔魚数}} \times 100 (\%)$

5. 飼育管理

孵化仔魚のうち、2倍体異常魚・2n様異数体・半数体は5%ホルマリンで固定・保存した。2倍体正常

魚は一部サンプリングし、残りは性の確認をするために正常魚と平行して飼育し、一部は雄性ホルモン処理による性コントロール（偽雄づくり）の試験に供した。尚、各試験に於て対照区で出現した交雑魚（ホンモロコ♂×ニゴロブナ♀、ドジョウ♂×ニゴロブナ♀、ニゴロブナ♂×ホンモロコ♀、ドジョウ♂×ホンモロコ♀）についても飼育を試みたが、殆んどの個体は1週間以内に死亡し、2ヶ月以上生存できた個体は皆無であった。

結 果

1. 精子の遺伝的不活化条件究明試験

1-1. ホンモロコ精子

ホンモロコ精子を遺伝的に不活化させるのに必要な紫外線照射量を明らかにするために、表1に示す各照射量で処理したホンモロコ精子をホンモロコ卵に受精させ、孵化率および半数体出現率を求めた。

孵化率および半数体出現率の結果を表1および図2に示した。図2に明らかな様に紫外線照射によるHer-

表1. ホンモロコ精子への紫外線照射量と孵化率・半数体出現率

紫外線照射量 (erg/ml)	孵化率 (%)	半数体出現率 (%)
0	81.69	0.
200 (50erg/ml/sec × 4 sec)	49.07	74.07
500 (50 × 10)	57.07	90.28
1,000 (50 × 20)	47.73	98.59
3,000 (50 × 60)	38.26	97.67
5,000 (50 × 100)	18.71	100
10,000 (50 × 200)	5.08	100

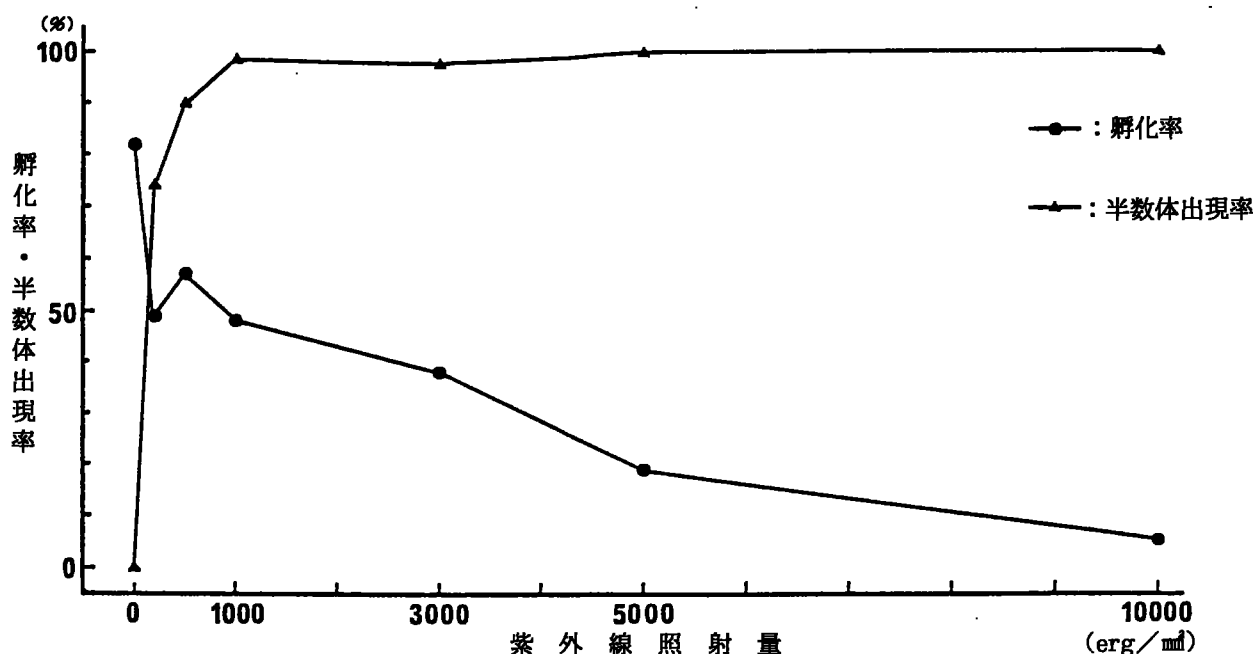


図2. ホンモロコ精子に対する紫外線照射の影響

twig 効果^{1) 8)}が認められた。即ち照射量 0 → 200 erg/ml に上昇させると孵化率は、81.69 % → 49.07 % に急低下するが、更に照射量を 500 erg/ml に上昇させると孵化率は 57.07 % に回復した。500 erg/ml 以上で照射量の上昇に伴ない、孵化率は徐々に減少し、10,000 erg/ml では 5.08 % となった。一方、半数体仔魚の出現率は、紫外線照射量が 200 erg/ml で 74.07 % にまで急増し、1,000 erg/ml では 98.59 % となり、それ以上の照射量では 100 % あるいはそれに近い値となった。

従って以上のことから、ホンモロコ精子を紫外線照射により遺伝的に不活化させるには、Hertwig 効果の出現線量より高く、且つ半数体仔魚出現率が 100 % に近い値となり、しかも孵化率がそれほど低くならない 1,000 ~ 5,000 erg/ml が適していると思われる。

1-2. ニゴロブナ精子

ニゴロブナ精子を遺伝的に不活化させるのに必要な

紫外線照射量を明らかにするために、表 2. に示す各照射量で処理したニゴロブナ精子をホンモロコ卵に受精させ、孵化率および半数体出現率を求めた。

孵化率および半数体出現率の結果を表 2. および図 3. に示した。図 3. に明らかな様にニゴロブナ精子に於てもホンモロコ精子と同様に Hertwig 効果様の現象が認められた。孵化率についてみると、照射量が 50 erg/ml で最低 (32.06 %) となり、150 ~ 600 erg/ml で回復 (600 erg/ml で 68.06 %) するが、それ以降照射量の上昇に伴い減少した (5,000 erg/ml で 6.82 %)。

一方、半数体出現率は 50 erg/ml で 90.48 % にまで増加し、1,000 erg/ml では 100 % に達した。

従って以上のことから、ニゴロブナ精子を紫外線照射により不活化させるには、その照射量は 1,000 ~ 3,000 erg/ml が適していると思われる。

表2 ニゴロブナ精子への紫外線照射量と孵化率・半数体出現率

紫外線照射量 (erg/ml)	孵化率 (%)	半数体出現率 (%)
0 (50erg/ml/sec × 1 sec)	79.12	2.08
50 (50 × 3)	32.06	90.48
150 (50 × 6)	65.22	86.67
300 (50 × 2)	61.24	91.74
600 (50 × 10)	68.06	96.15
1,000 (50 × 30)	58.02	100.
3,000 (50 × 60)	22.30	96.77
5,000 (50 × 100)	6.82	100
10,000 (50 × 200)	3.85	100
20,000 (50 × 400)	0	—

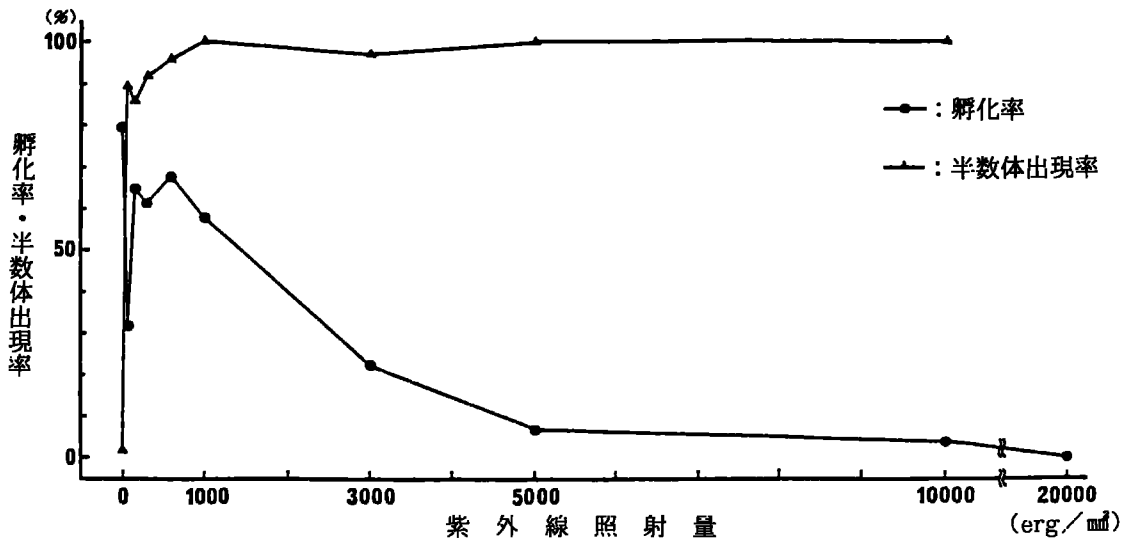


図3. ニゴロブナ精子に対する紫外線照射の影響

2. ホンモロコ雌性発生2倍体の作出試験

2-1. 低温処理条件究明試験(1)

(目的) 第2極体放出抑制によるホンモロコ雌性発生2倍体の作出が、低温処理法(0℃)によって可能であることを確認すると共に、その処理継続時間を明らかにする。

(方法) 精子はドジョウ(リンゲル氏液にて100倍稀釈。紫外線3,000 erg/ml照射)を用いた。低温処理温度は0℃(0~ -0.3℃)、低温処理の開始は第2極体の放出される前、受精後5分で、これらの条件を一定としておき、低温処理の継続時間を10分、15分、20分、30分、60分と変えて試験した。

(結果) 試験は3尾の雌親魚から採卵し、3系列で実施したが、そのうち2系列は発生率(受精1日後の生存率)が非常に低かった(後述)、残りの1系列について結果を求めて図4.に示した。

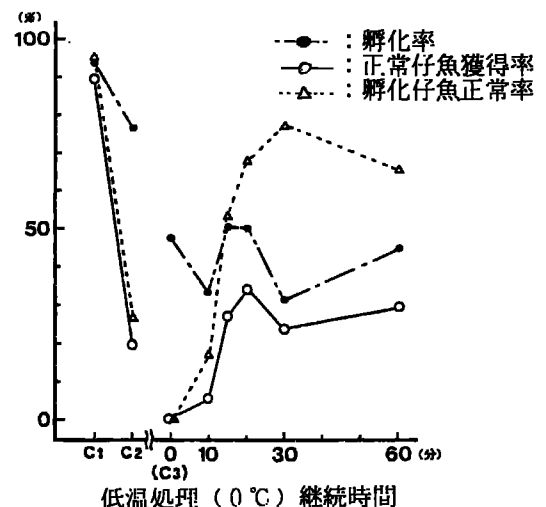


図4. ホンモロコの雌性発生2倍体作出成績と低温(0℃)処理継続時間の関係

* C₁: ホンモロコ正常精子受精
 C₂: ドジョウ正常精子受精
 C₃: ドジョウU.V.照射精子受精

孵化率についてみると、対象区ではC₁(ホンモロコ正常精子を受精)が93.96%、C₂(ドジョウ正常精子を受精)が76.56%であった。C₂がC₁より低いのは異種精子使用の影響と推定できる。低温処理の0分区分(C₃:ドジョウの紫外線照射精子を受精させ、低温処理を行わない区)では47.31%であったが、低温処理を行った区では処理時間の増加に対して(10分→60分)31.18%~50.68%の間を変動し、特に傾向は認められなかった。

孵化仔魚正常率は、C₁が95.32%、C₂が26.36%、C₃が全て半数体症候群で0%に対し、低温処理を行った区では10分区分で16.95%から、処理時間の増加と共に上昇し、30分区分で77.36%に達した後、60分区分では65.77%と若干低下した。

正常仔魚獲得率は、低温処理10分区分では5.56%とかなり低い、処理時間の増加と共に上昇し、20分区分で34.03%とピークに達した後、30分区分24.18%、60分区分29.20%という結果となった。即ちC₁(89.56%)よりはるかに劣るが、C₂(20.18%)より高率で正常2倍体を得られるのは、低温処理を15分以上行った区である。

従って以上のことより、遺伝的に不活化されたドジョウ精子をホンモロコ卵に受精させ、5分後から0℃の低温処理を15分~60分行えば、ホンモロコの雌性発生2倍体の正常孵化仔魚が30%程度は得られると言える。

2-2. 低温処理条件究明試験(2)

(目的) 第2極体放出抑制によるホンモロコ雌性発生2倍体の作出を低温処理法によって行う場合、その適正処理継続時間を明らかにする目的で本試験を実施した。

(方法) 低温処理の温度は-1.5℃、0℃、4℃とし、各実験系の処理継続時間は、-1.5℃では5分・15分・60分・90分の4区、0℃では5分・15分・40分・60分・90分の5区、4℃では10分・30分・60分・90分の4区とした。卵は5尾の親魚より採取し、プールして全試験区に供した。精子はニゴロブナ(リングル氏液50倍希釈、紫外線3,000 erg/mm²照射)、低温処理の開始は受精後5分で、全試験区一定とした。

又、対照区として、ホンモロコ正常精子を受精させた区(C₁)、ニゴロブナ正常精子を受精させた区(C₂)、ニゴロブナ紫外線照射精子を受精させ低温処理を行わなかった区(C₃)を設けた。

(結果)

(1)低温処理-1.5℃: 孵化率・倍化仔魚率・孵化仔魚正常率・正常仔魚獲得率を一括して図5に示した。図に明らかな様に孵化率は処理時間の増加と共に低下する(60分区分で30.5%)が90分区分では若干上昇し

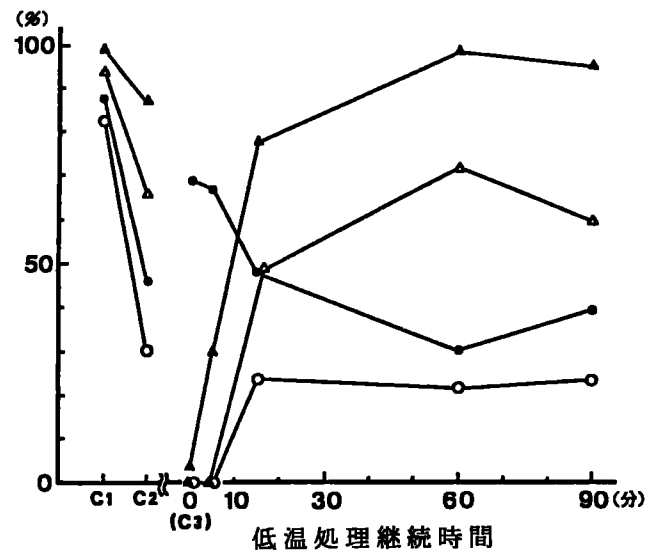


図5. ホンモロコの低温処理(-1.5℃)による雌性発生2倍体魚作出試験の成績

▲ 倍化仔魚率、 △ 孵化仔魚正常率
● 孵化率、 ○ 正常仔魚獲得率
C₁: ホンモロコ正常精子受精、C₂: ニゴロブナ正常精子受精、C₃: ニゴロブナU.V.照射精子受精

39.5%となる。孵化仔魚正常率は60分区分(71.7%)でピークとなる山を形成する。正常仔魚獲得率は5分区分では0%であるが15分区分~90分区分の間では21.8%~23.5%で横ばいである。

従って低温処理を-1.5℃で行う場合にはその処理を15分~90分継続すればよいと言える。

(2)低温処理0℃: 孵化率・倍化仔魚率・孵化仔魚正常率・正常仔魚獲得率を一括して図6に示した。図に

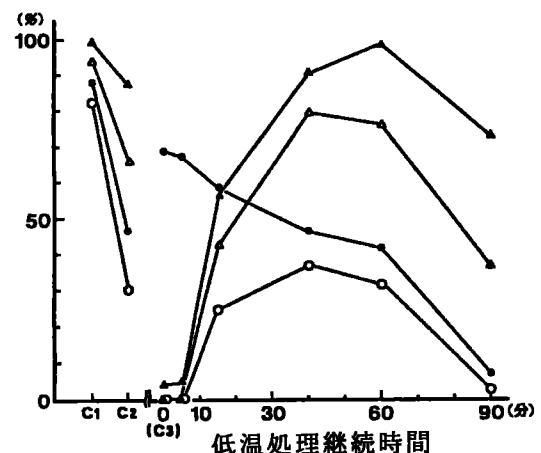


図6. ホンモロコの低温処理(0℃)による雌性発生2倍体魚作出試験の成績

▲ 倍化仔魚率、 △ 孵化仔魚正常率
● 孵化率、 ○ 正常仔魚獲得率
C₁: ホンモロコ正常精子受精、C₂: ニゴロブナ正常精子受精、C₃: ニゴロブナU.V.照射精子受精

明らかな様に孵化率は処理時間の増加と共に低下し、40分區46.3%、60分區41.4%で、90分區では急減して6.9%に至っている。孵化仔魚正常率・正常仔魚獲得率は、5分區では共に0%であるが処理時間の増加と共に上昇し、40分區でピークに達し（孵化仔魚正常率79.0%、正常仔魚獲得率36.6%）、処理時間が更に長くなると低下する。

従って低温処理を0℃で行う場合にはその処理継続時間は40分が最適であると言える。

(3)低温処理4℃：孵化率・倍化仔魚率・孵化仔魚正常率・正常仔魚獲得率を一括して図7.に示した。図に明らかな様に孵化率は処理時間の増加と共に若干低下するが、30分區~90分區では55%程度でほぼ横ばいである。孵化仔魚正常率・正常仔魚獲得率とも処理時間の増加と共に上昇するが全体的に低率であり、倍化仔魚率でさえ90分區でも50%を越えていない。

従って以上のことから4℃は染色体倍化のための低温処理には、他の温度に比べて不十分な温度と思われる。

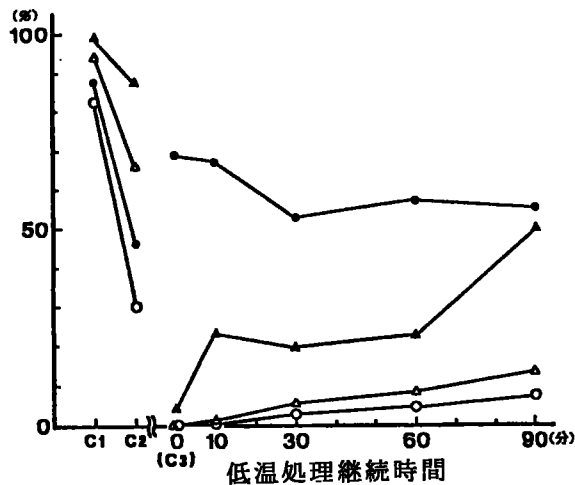


図7. ホンモロコの低温処理（4℃）による雌発生2倍体魚作出試験の成績

▲ 倍化仔魚率、 △ 孵化仔魚正常率
● 孵化率、 ○ 正常仔魚獲得率
C₁: ホンモロコ正常精子受精、C₂: ニゴロブナ正常精子受精、C₃: ニゴロブナU.V.照射精子受精

(4)低温処理方法と正常仔魚獲得率：(1)~(3)を総括するため、図5・図6・図7より正常仔魚獲得率を抜き出して図8.に示した。図8.によれば低温処理の温度としては4℃はあまり効果的とは言えない。

- 1.5℃では15分~90分で21.8%~23.5%の正常な雌性発生2倍体を得ているが、-1.5℃は10%グリセリン水溶液を冷凍庫内で冷やして設定する等、作業性

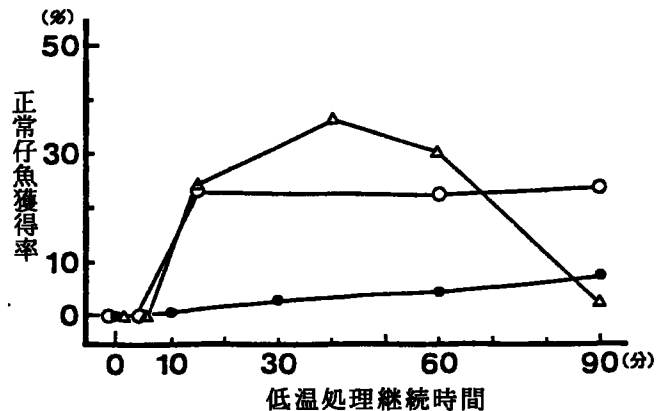


図8. 低温処理方法と正常仔魚獲得率

○ - 1.5℃、△ 0℃、● 4℃

の点でやや困難である。0℃は処理時間が40分と60分で30%以上と、全試験区の中で最も高率で正常雌性発生2倍体を得ており、しかも0℃は-1.5℃に比べて温度設定が簡単である。

従って以上のことより、遺伝的に不活化されたニゴロブナの精子をホンモロコ卵に受精させ、5分後から低温処理を行って正常な雌性発生2倍体を得るには0℃で40分~60分継続するのが最適であると言えよう。

2-3. 低温処理条件究明試験(3)

(目的) 2-2.の試験に於て低温処理開始時期を受精後5分として低温処理を行い、0℃を40分継続する方法で最も良い結果を得た。本試験に於ては第2極体放出抑制を目的とした倍化処理として0℃、40分の低温処理を行うこととし、その開始時期として受精後5分が最適なのかどうかを検討し、併せて同処理法による第1卵割阻止誘起の可能性²⁾も追求することを目的とした。

(方法) 精子はニゴロブナ（リンゲル氏液50倍希釈、紫外線3,000 erg/ml照射）を用いた。卵は5尾の親魚より採取し、プールして全試験区に供した。低温処理は0℃、40分継続で一定とし、処理の開始を受精後1分・2分・3分・5分・7分・10分・15分…（5分間隔）…60分と変えて設定し、孵化状況から適正開始時期を明らかにした。

尚、ホンモロコ卵では水温20℃~25℃では第2卵割が受精後70分~80分頃起こるのを確認しているの、第1卵割は受精後40分~50分頃と思われる。従って第1卵割阻止を狙うには、その処理開始時期は受精後60分まで設定しておけば十分と考えられた。

(結果) 低温処理開始時期と孵化仔魚正常率・正常仔魚獲得率の関係を図9.に示した。図に明らかな様に孵化仔魚正常率も正常仔魚獲得率も、受精後5分~7分で非常

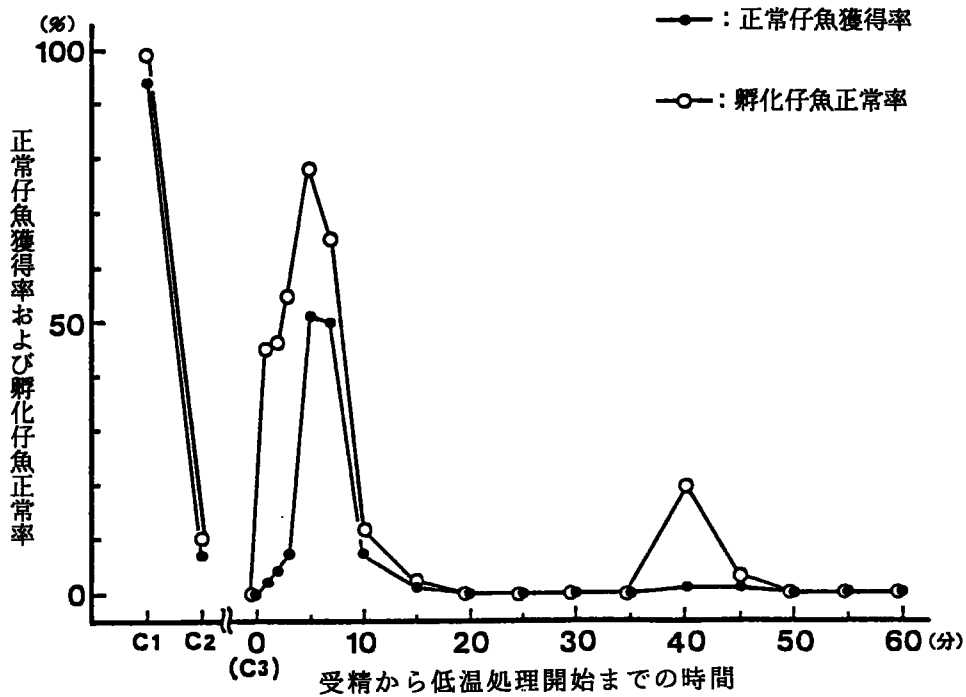


図9. 受精から低温処理（0℃、40分間）開始までの時間と、正常仔魚獲得率および孵化仔魚正常率

に高い値を示し、中でも受精後5分では孵化仔魚正常率77.7%、正常仔魚獲得率51.4%と最高値になった。受精後10分以降は処理開始時期の延長と共に急減し、20分～35分では両率とも0%であった。従って第2極体放出抑制を目標とした染色体倍化処理は、受精後5分～7分に行うべきであり、中でも受精後5分に開始するのが最適であることが示唆された。

又、受精後40分区と45分区に於て両率の若干の上昇がみられ、両区で各1尾の正常孵化仔魚が獲得できた。これは第1卵割の阻止に対して本倍化処理が不十分ながらも働いたのではないかと推測される。

3. ニゴロブナ雌性発生2倍体の作出試験

(目的) 第2極体放出抑制によるニゴロブナ雌性発生2倍体の作出を低温処理法（0℃）によって行う場合の低温処理の継続時間を明らかにする目的で本試験を実施した。

(方法) 精子はホンモロコ（リングル氏液50倍希釈、紫外線3,000erg/ml）を用いた。卵はニゴロブナ雌1尾より採取し、全試験区に供した。低温処理温度は0℃、低温処理の開始は第2極体の放出される前、受精後5分でこれらの条件を一定としておき、低温処理の継続時間を10分・15分・20分・30分・40分・60分および90分として試験を行った。

(結果) 本試験から得られた孵化率・孵化仔魚正常率・正常仔魚獲得率を図10.に示した。

孵化率についてみると、C₁（ニゴロブナ正常精子受精）

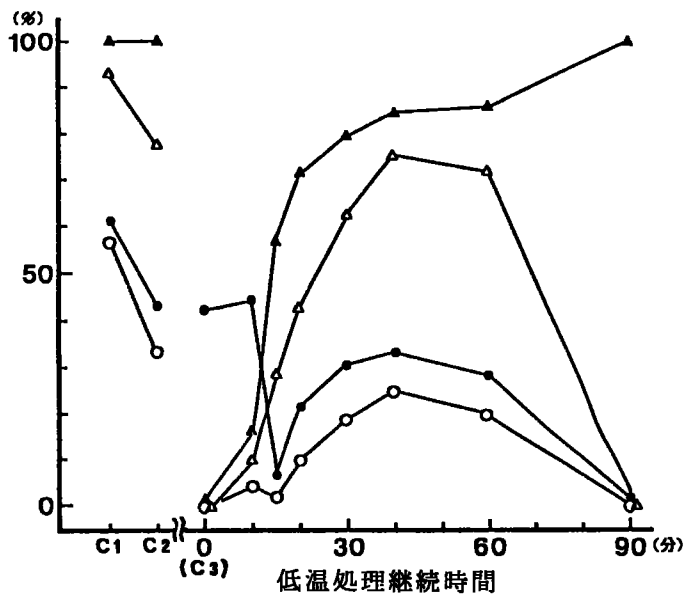


図10. ニゴロブナの低温処理（0℃）による雌性発生2倍体魚作出試験の成績

- ▲ 倍化仔魚率、△ 孵化仔魚正常率
- 孵化率、○ 正常仔魚獲得率
- C₁: ニゴロブナ正常精子受精、C₂: ホンモロコ正常精子受精、C₃: ホンモロコU.V.照射精子受精

では60.82%で比較的低い値となり、卵質があまり良好ではなかったことが示唆される。C₂（ホンモロコ正常精子受精）では43.15%、C₃（ホンモロコ紫外線照射精子受精、低温処理を行わない区）では41.99%であった。低温処理

区では15分區で6.42%に減少するが、処理継続時間が長くなると40分區の33.33%をピークとする山を形成する。

孵化仔魚正常率はC₁で93.29%、C₂で77.65%、C₃で0%（半数体症候群）であるのに対し、低温処理区では10分區で9.89%から処理時間の増加と共に上昇し、40分區で75.00%に達した後低下し、90分區では0%となった。

正常仔魚獲得率は低温処理10分區では4.41%とかなり低い、処理時間の増加と共に上昇し、30分區では18.95%、40分區では25.00%とピークに達した後低下し、60分區では20.27%、90分區では0%となった。

従って以上のことから、遺伝的に不活化されたホンモロコ精子をニゴロブナ卵に受精させ、その5分後から低温処理を0℃で30分～60分行えば、正常な雌性発生2倍体が20～25%程度は得られると言える。

考察並びに総括

1. 精子の遺伝的不活化の為の紫外線照射量について

本研究に於ては、ホンモロコ精子とニゴロブナ精子について、ホンモロコ卵を媒体として（ホンモロコ半数体作出によって）紫外線照射による遺伝的不活化条件を検討し、その照射量はホンモロコ精子では1,000～5,000 erg/ml、ニゴロブナ精子では1,000～3,000 erg/mlが適当であるという結果を得た。しかし、卵質や精子の活力の差などの要因も考慮すると本結果が絶対値であるとは言い切れず、紫外線照射時の水温や媒精時の水温等の条件も考慮しながら再現実験を繰り返す必要がある。又、Hertwig（様）効果の確認についてはニゴロブナ卵を媒体としての試験も行う必要がある。

更に、本研究に於てはリンゲル氏液希釈精子を1mlづつ紫外線照射したが、大量に全雌生産を行うには、遺伝的不活化精子が大量に必要となる。精子の紫外線照射を一度に大量に行う方法を開発することも今後の課題である。

2. 染色体倍化の為の処理条件について

本研究に於ては、第2極体放出抑制による染色体倍化処理方法としての低温処理の条件について検討し、ホンモロコについては受精後5分（遅くとも7分以内）に0℃の低温処理を開始し、40分～60分継続するのが最も良いという結果を得た。ニゴロブナについては受精後5分に0℃の低温処理を開始した場合、その処理を30分～60分継続すれば効果があることが明らかとなった。しかし、ニゴロブナに於ては低温温度間の比較と、処理開始時期については未検討である。

又、本研究に於て検討しなかった高温処理（40℃付近で60秒前後の処理）の可能性についても今後研究してゆきたい。

更に、今後育種面への応用を考えれば、第1卵割阻止による染色体倍化の手法についても研究を進める必要がある。

3. 供試卵の卵質について

本年度の試験に於ては、前述の様にホンモロコとニゴロブナの雌性発生魚作出条件についてある程度の成果を得たが、雌性発生の成功率の低い例も多かった。即ち、図11・図12. に示した様に、同一処理条件であっても結果に大きな変動がみられた。この原因について推測すると、雌性発生の成否の鍵の1つは供試卵の卵質ではないかと考えられる。例えば図11.におけるドジョウ精子を用いたホンモロコ雌性発生2倍体作出の3系列の試験では、同一の精子を用い同一の処理を行っており、異なるのは卵

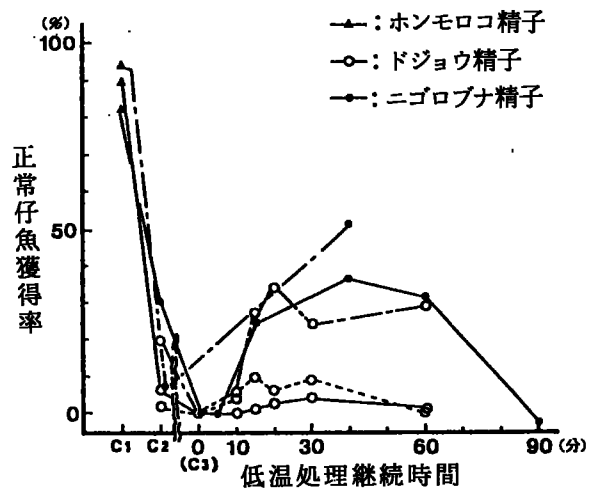


図11. ホンモロコ卵の0℃低温処理における処理時間と正常仔魚獲得率の変動

C₁: ホンモロコ正常精子受精、C₂: ニゴロブナ正常精子受精、C₃: U.V.照射異種精子受精

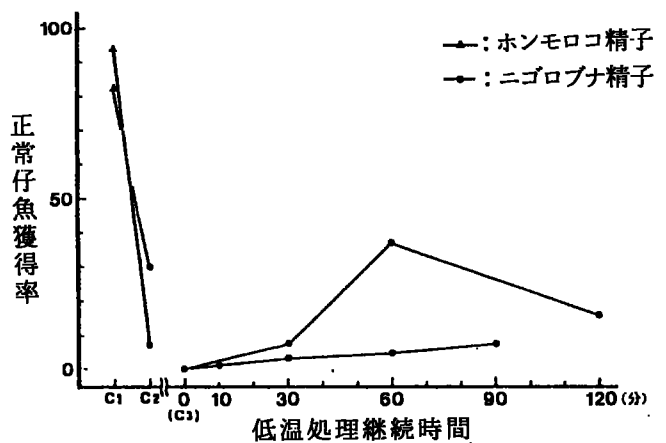


図12. ホンモロコ卵の4℃低温処理における処理時間と正常仔魚獲得率の変動

C₁: ホンモロコ正常精子受精、C₂: ニゴロブナ正常精子受精、C₃: ニゴロブナU.V.照射精子受精

の由来親魚のみであるにも関わらず、正常仔魚獲得率に大きな開きが現れている。逆に言えば、良質卵の確保が可能になれば、本年度の成績も更に向上させることが可能となろう。

又、図11・図12で示される様に、卵質の良否は同種間の正常な受精（図中C₁区）では問題にならなくても、この様な特殊な処理を加える場合には大きな差として発現することもあるようである。

4. 雌性発生魚の性の確認と偽雄化試験について

本研究に於ては、ホンモロコおよびニゴロブナの遺伝的性決定が雌ホモ型であるという前提のもとに進めてきた。ちなみに受精後7~8ヶ月時点(昭和62年2月現在)で、本試験で得た両種の雌性発生魚のうちの数系統からサンプリングし、肉眼的(実体顕微鏡併用)に性のチェックを行ったところ、ホンモロコでは13尾中10尾が明確に雌と確認でき、ニゴロブナでは生殖腺の発達がホンモロコほど良くないが4尾中3尾はほぼ雌と判定できた。しかし、調査尾数も少ないし、現在保有する雌性発生魚も少ないので、今後更に飼育し偽雄化試験の供試魚と共に性成熟を待って性の確認および遺伝的性決定様式の確認を行いたい。

5. その他

- (1)本研究に於ては、肉眼的判別により2倍体正常魚・2倍体異常魚・2n様異数体・半数体を分けたが、厳密には胚体の時点における染色体観察やDNA相対量の測定等の併用が必要であり、今後追及していきたい。
- (2)本研究に於ては試験区間の卵質による誤差を防ぐため、卵数が不足する場合には複数親魚からの卵をプールして各試験区に供したが、遺伝・育種面の追究に当っては、一腹毎の隔離飼育を行い系統の固定・純化を目指すことも必要である。
- (3)雌性発生魚の生物学的特性について通常魚との平行飼育により明らかにする必要がある。

要 約

- (1) ホンモロコ *Gnathopogon elongatus caerulescens* とニゴロブナ *Carassius auratus grandoculis* の全雌生産技術開発のための基礎的な条件として、両種の雌性発生2倍体作出条件について検討した。
- (2) ホンモロコ精子とニゴロブナ精子について、ホンモロコ卵を媒体として紫外線照射による遺伝的不活化条件を検討し、その照射量はホンモロコ精子では1,000~5,000 erg/mm²、ニゴロブナ精子では1,000~3,000 erg/mm²が適当であるという結果を得た。
- (3) ホンモロコについて、第2極体放出抑制による染色体倍化処理方法として、低温処理の条件について検討し、受精後5分(遅くとも7分以内)に0℃の低温処

理を開始し、40~60分継続することによって最も良い結果(正常仔魚獲得率で36.6~51.4%)を得た。

- (4) ニゴロブナについては、受精後5分に0℃の低温処理を開始した場合、その処理を30~60分継続すれば効果的である(正常仔魚獲得率で19.0~25.0%)ことが明らかとなった。
- (5) 染色体の倍化処理を行う場合、同一処理条件であっても結果にばらつきが大きい。その原因として、卵質の差が大きいことが示唆された。
- (6) 本研究で得た両魚種の雌性発生魚の数系統について、受精後7~8ヶ月時点で肉眼的に性の確認を行ったところ、ホンモロコでは13尾中10尾が明確に雌であり、ニゴロブナでは生殖腺の発達がホンモロコほど良くないが、4尾中3尾はほぼ雌と判定できた。

謝 辞

本研究を実施するに当たり、養殖研究所の鈴木亮博士・小野里垣博士・尾城隆博士・中西照幸博士、ならびに近畿大学農学部の上野絃一博士には、種々の技術的問題に関して多大なる御指導と助言を賜った。ここに深謝の意を表す。

文 献

- 1) 小野里垣(1981): 魚類の雌性発生、水産育種6; 11-18
- 2) 小野里垣(1983): 魚類の人為倍数化とその利用、水産育種8; 17-32
- 3) 小野里垣(1984): 魚類の雌性・雄性発生とその応用、細胞工学vol. 3, No 7; 643-650
- 4) 尾城 隆(1984): 魚介類のクローニング、昭和59年度水産増養殖研究推進会議講演要旨
- 5) 上野絃一(1985): 3倍体ホンモロコの不妊性と二次性徴、水産育種10; 37-41
- 6) 鈴木 亮(1985): 魚類、化学と生物 第23巻第11号; 742-748
- 7) Ryo Suzuki (1968): Hybridization Experiments in Cyprinid Fishes XI., 淡水研報第18巻第2号; 113-155
- 8) 小野里垣・山羽悦郎(1983): 紫外線照射によるサケ目魚類4種の雌性発生誘起、日水誌 第49巻第5号; 693-699