

## 7) 紫外線による雄性発生誘導技術の開発

井戸本純一

【目的】昨年度、その可能性が確かめられた簡便な雄性発生半数体の誘導技術について、未受精卵に対する紫外線の照射条件を再度検討した。また、より広い応用が期待される雄性発生二倍体の誘導についても検討した。

【材料および方法】卵は、昨年度と同群の優性アルビノニジマスから各実験ごとに2~3尾分を得、混合して用いた。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、基本的には昨年度と同じであったが、1回に処理する未受精卵の定量を昨年度の30ml から30g に改めた。積算水温約200℃・日で検卵を行い、昨年度と同様の基準で胚の生存性（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を満たすものを黒眼胚、それ以外を無眼胚とした。積算水温約400℃・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** 3尾から得た卵を用い、0~10分間の11段階の紫外線照射を行った。発眼期生存率は、対照区の86.6%から4分間照射区の14.7%に急激に低下したあと、6分間照射区では34.3%に回復し、昨年度と同様に明瞭な Hertwig 効果が認められたが、その照射時間はほぼ2倍であった（図1）。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24.5%と、雌親魚が完全なホモ型アルビノではなかったことを示したが、7分間以上の照射区では約90%に増大した。孵化率は、紫外線照射によって急速に低下し、4分間照射区では0.3%、5分間以上の照射区では0%となった。

**実験2** 2尾から得た卵を用い、0~16分間の9段階の紫外線照射を行った。発眼期生存率の変化は、実験1にくらべてゆるやかで、明瞭な Hertwig 効果は認められなかった（図2）。黒眼胚の割合は、対照区の0.4%から、12分間照射区では98.3%に達した。孵化率は、実験1にくらべてゆるやかに低下し、6分間照射区でも1.9%の卵から生存性の孵化仔魚が得られた。このことから、本実験における有効紫外線強度は、実験1にくらべて弱かったと考えられ、その原因は供試卵の卵膜の厚さの違いによるものと思われる。

**実験3** 実験1の結果に基づき、7分間の紫外線照射を行った10回分の卵を混合ののち3分割して媒精し、それぞれ①受精15分後から20分間の温度処理（26℃）、②受精3時間45分後から6分間の高水圧処理（650kgf/cm<sup>2</sup>）、③受精4時間45分後から6分間の高水圧処理（650kgf/cm<sup>2</sup>）の3とおりの倍数体化处理を施した。①では、発眼期生存率は7.8%で、黒眼胚の割合は61.8%であった。②では、生存胚はほとんど得られなかった。③では、発眼期生存率は11.2%で、黒眼胚の割合は21.4%であった。また、いずれの処理区においても、正常に発生していると思われる胚はほとんどなかった。

以上の結果から、紫外線を用いて雄性発生を確実に誘導するには、親魚の年齢や個体差に応じて卵膜の厚さを予測する技術が必要と考えられる。また、卵膜の厚い卵に対しては、照射する紫外線の強度をさらに高める必要があると思われる。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。

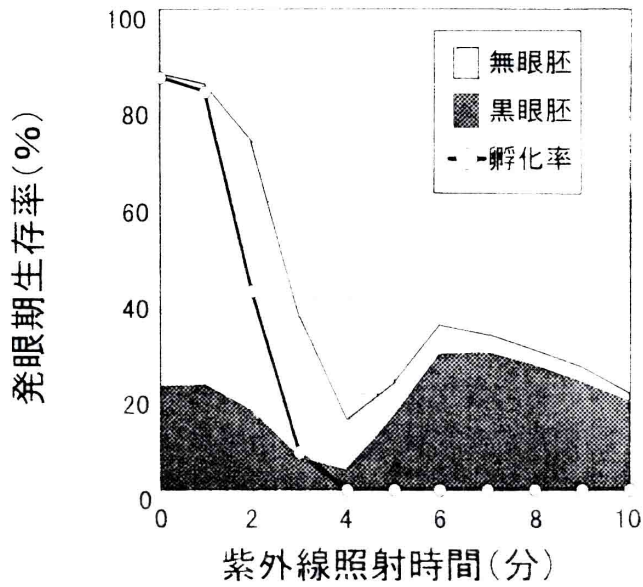


図1 アルビノニジマス未受精卵に対する紫外線照射時間と胚の生存性の関係 (実験1)。

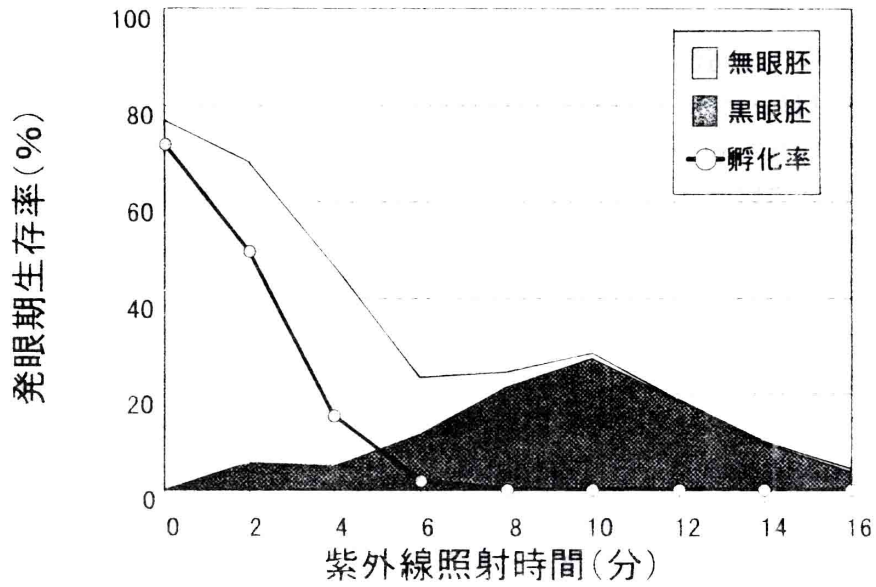


図2 アルビノニジマス未受精卵に対する紫外線照射時間と胚の生存性の関係 (実験2)。

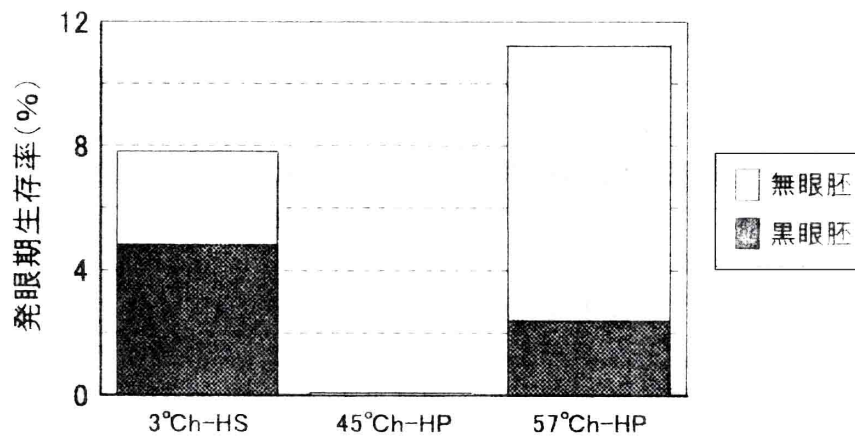


図3 アルビノニジマス未受精卵を用いた雄性発生二倍体誘導実験区の胚の生存性 (実験3)。