

1	事業名	試験研究調査費	予算額	23,600	千円
2	事業細目	(試験研究調査項目) 増養殖技術研究費(バイオテク応用技術開発研究)	予算額	1,000	千円
3	期間	61年度～63年度	予算区分	国補	
4	担当者	田中、沢田、			
5	目的	ホンモロコとニゴロブナについて、市場価値の高い雌魚を効率的に生産するため、バイオテクノロジーの手法を応用して、全雌生産技術を確立する そのために、本年度は、両種の雌性発生2倍体を作成するための基礎的条件を検討した。			
6	方法	① 精子への適正紫外線照射量の検討 精子の遺伝的不活化 → 受精 (雌性発生) 染色体倍化処理 ② 第2極体放出抑制を目標とした低温処理方法の検討 雌性発生2倍体…性の確認(すべて雌のはず) 大量全雌生産 雄性ホルモン浸漬による偽雄作出 → 偽雄と通常の雌とのかけあわせ ③ ホルモン処理条件の検討(時期、浸漬濃度) ①②③: 試験の主要なポイント ①②の結果を明確にするため、ホンモロコの雌性発生には、ドジョウおよびニゴロブナの遺伝的不活性化精子を、ニゴロブナの雌性発生には、ホンモロコの遺伝的不活性化精子を用いた。			
7	結果の概要	(1) ホンモロコとニゴロブナ的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(図1、図2)。 (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分～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36.6～51.4%)を得た(図3、図4、図5)。 (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分～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(図6)。 (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、卵黄の差が大きいことが示唆された。 (6) 本年度に得た両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、生殖腺の発生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。 (7) 本研究で得た両種の雌性発生魚で、メチルテストステロン浸漬による偽雌作出のための条件決定試験を予備的に行い、現在、飼育中である。			

8 主要成果の具体的数値 (図・表 等)

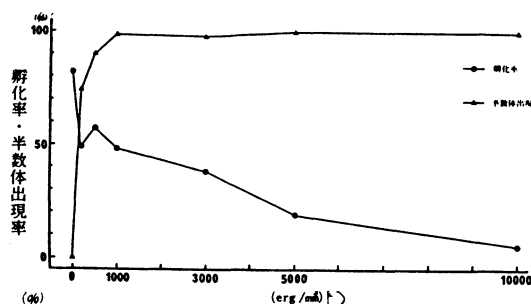


図1 ホンモロコ精子に対する紫外線照射量の影響

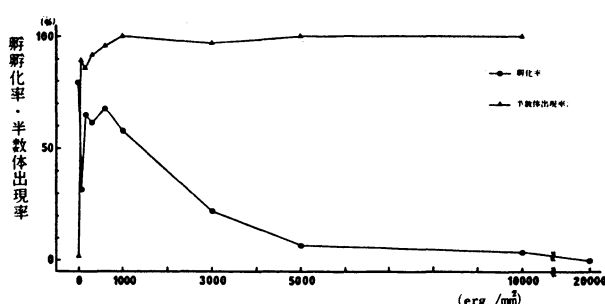


図2 ニゴロブナ精子に対する紫外線照射量の影響

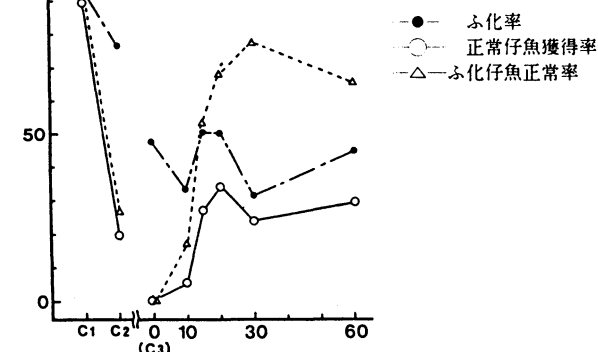


図3 ホンモロコの雌性発生

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UV照射精子受精

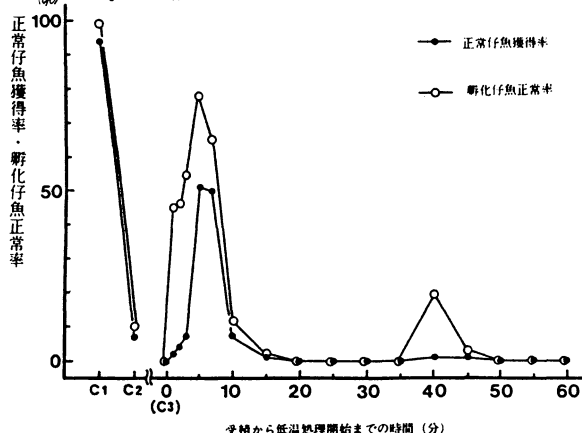


図5 ホンモロコの受精から低温処理 (0℃、40分間) 開始までの時間と正常仔魚獲得率および孵化仔魚正常率

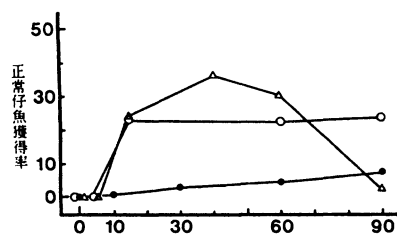


図4 低温処理時間

ホンモロコの低温処理方法と正常仔魚獲得率

○-1.5℃ △0℃ ●4℃

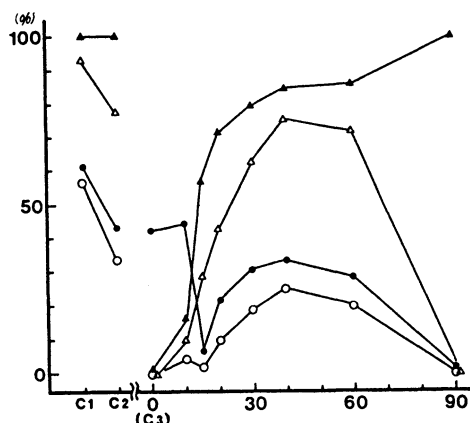


図6 ニゴロブナの低温処理 (0℃) による雌性発生2倍体作出試験の成績

▲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UV照射精子受精

9 今後の問題点—遺伝・育種面への応用という大命題の他、近々解決すべき問題に以下のものがある。

- (1) 精子紫外線照射の際の大量処理法
- (2) ニゴロブナにおける適正低温および低温処理開始時期の検討
- (3) 卵質の検討
- (4) 雌性発生魚の性の確認、偽雄作出法の確立
- (5) 染色体観察およびDNA相対量測定による、染色体倍化のチェック

10 次年度の具体的計画

- (1) 上記の問題点について究明
- (2) 雌性発生魚の生物学的特性の解明