

<p>1. 事業細目：バイオテク応用技術開発研究</p> <p>2. 研究名：ホンモロコの雌性発生時の雌雄両性前核の挙動</p> <p>3. 研究期間：昭61年度～昭63年度</p>	<p>予算額 1,702千円</p> <p>予算区分 国補</p> <p>4. 担当者 藤岡、遠藤</p>
<p>5. 目的</p> <p>雌性発生時のホンモロコ卵内の雌雄両性前核の経時的な挙動を調査することにより、第2成熟分裂あるいは第1卵割のための低水温処理の適正なタイミングを明らかにする。</p>	
<p>6. 方法</p> <p>3,000erg/mm²の紫外線を照射したニゴロブナ精子をホンモロコ卵に受精した後、経時的に0℃の水に40分間の低水温処理を施し、発生率、フ化率および正常仔魚の出現率を調べた。また、同時に受精卵を経時的にブアン液で固定し、パラフィン包埋後7μの連続切片をつくり、ヘマトキシリン-エオシンの二重染色を施して卵内の両性前核の挙動を観察し、低水温処理による雌性発生の成績と対比した。</p>	
<p>7. 結果の概要</p> <p>(1) 紫外線を照射したニゴロブナ精子を受精したホンモロコ卵の低水温処理のタイミングとフ化率、正常仔魚出現率の関係(図1)</p> <p>受精後90分までの間に経時的に低水温処理を行うとフ化率は7分、12分、40分、70分、90分にピークのある変化を示した。一方、正常仔魚出現率は、7分にピークが認められるが、9分以後にはほとんど正常仔魚は出現せず、10～12分、20～25分、35分、55分後に1～2%の出現率にとどまり、第2極体放出阻止による雌性発生は受精後7分が適当であると考えられる。</p> <p>(2) 雌雄両性前核の挙動(図2)</p> <p>(受精後10秒) 雌性核は第2成熟分裂中期でとどまっている。精子はすでに卵門を通過してはいるが細胞質には達していない。</p> <p>(受精後5分) 雌性核は第2成熟分裂後期に達し、第2極体となる部分の細胞膜は細胞質よりわずかに突出している。精子核は細胞質に少し入ったところにあり、星状体が出現し始めている。</p> <p>(受精後7分) 雌性核はまだ分裂後期の像を示</p>	<p>している。精子核はさらに細胞質の深層へ進み、すぐ近くに星状体が形成されつつある。(受精後10分) 雌性核は極体を放出し雌性前核となって細胞質表層にある。精子核の付近に星状体がよく発達している。</p> <p>(受精後15分) 雌性核はなお表層近くに位置しているが、精子核に向かって移動中と思われる。精子核は膨潤して雄性前核となっている。</p> <p>(受精後20分) 雌雄両性前核は細胞質の中心で接着している。</p> <p>(受精後30分) 受精後20分と同様両性前核は接着した状態で、隔合した核は認められない。</p> <p>(受精後40分) すでに第1卵割中期に入っており、赤道面に並んだ雌性前核に由来する染色体と雄性前核が核濃縮しつつあると考えられる小体が認められる。</p> <p>(受精後50分) 第1卵割はほぼ終了し卵割溝が形成されている。雄性核は濃縮した小体となり、割球のどちらか一方の細胞質中にある。</p> <p>(受精後60分) 第2卵割の前期から中期に達している。</p> <p>(受精後70分) 第2卵割が終了し4細胞状態。</p>

8. 主要成果の具体的数値

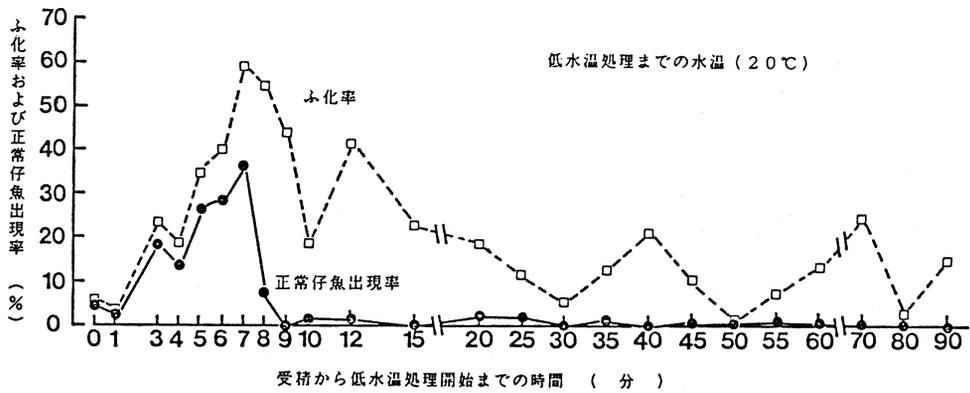


図1. 紫外線(3000erg/mm²)を照射したニゴロブナ精子をホンモロコ卵に受精した後の低水温処理(0℃, 40分間)開始時間とふ化率、正常仔魚出現率の関係

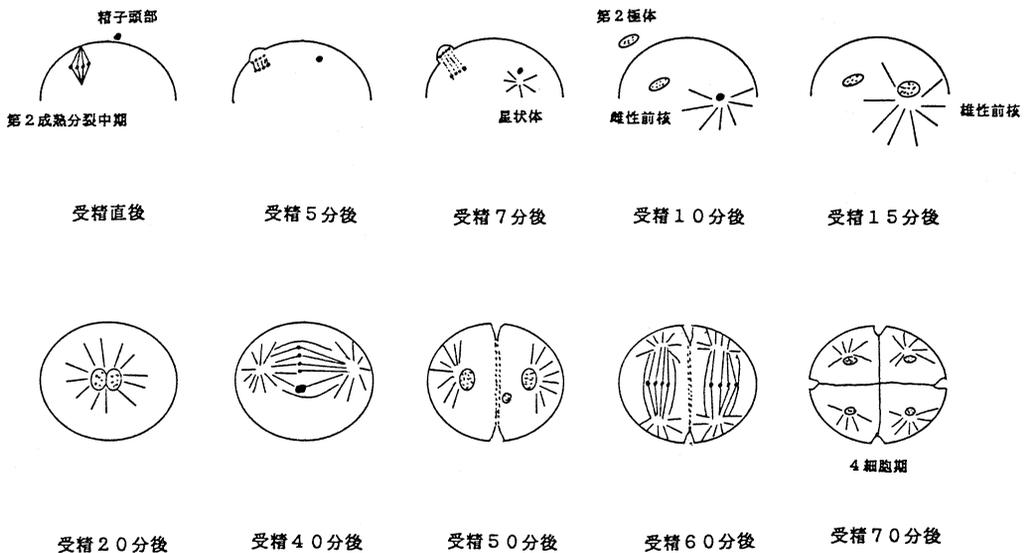


図2. 紫外線を照射したニゴロブナ精子をホンモロコ卵に受精した時の雌雄前核の挙動

9. 今後の問題点

ニゴロブナ精子への紫外線の照射量が少ない場合、精子核が雌性核と隔合する可能性があるので、確認する必要がある。この場合は雌性発生とは言えなくなる。

10. 次年度の具体的計画

受精後40分に第1卵割中期に達するので、第1卵割阻止雌性発生2倍体の作出には、この時間を中心に高水圧あるいは高水温処理を検討する。