

1. 事業細目：バイオテク応用技術開発研究費	予 算 額 1,716千円
2. 研 究 名：ニゴロブナ、ホンモロコの雌性発生二倍体誘起のタイミング	予算区分 国 補
3. 研究期間：昭和61年度～平成3年度	4. 担 当 者：上野
5. 目的	
両魚種において、より効率的な雌性発生二倍体誘起法を確立するため、第二極体放出阻止および第一卵割阻止の適正な処理開始時間を検討した。	
6. 方法	
ニゴロブナ卵にはホンモロコUV精子（生理塩類溶液で100倍希釈後、液厚0.18mmで4000 $\text{ergs} \cdot \text{mm}^{-2}$の紫外線を照射し、遺伝的に不活化）を受精させた。ホンモロコ卵にはニゴロブナUV精子（同100倍希釈後、液厚0.18mmで7000 $\text{mm} \sim 8000 \text{ergs} \cdot \text{mm}^{-2}$の紫外線照射）を受精させた。次にこれらの卵を、15.0～26.7℃の水温条件下に置き、前者では受精後4～40分の間に、後者では4～10分と20分～40分の間にそれぞれ1分間隔で高水温処理（41℃温水へ50秒間浸漬）を行い、第二極体放出阻止または第一卵割阻止を試みた。以下、この高水温処理を阻止という。 その後、それらの卵を地下水中でインキュベートして、孵化仔魚数と正常孵化仔魚数を計数し、孵化率（全卵数に対する孵化仔魚数の百分率）、正常魚獲得率（全卵数に対する正常孵化仔魚数の百分率）および正常率（孵化仔魚数に対する正常孵化仔魚数の百分率）を求めた。	
7. 結果の概要	
① 第二極体放出阻止および第一卵割阻止型雌性発生二倍体出現のピーク	の関係
正常魚獲得率は、阻止を行うまで卵を置いた水温により変動したが、両魚種とも、受精後7分前後と20分以降にピークのある2峰形を示した（図1、2）。受精後の経過時間から考えて、最初のピークは第二極体放出阻止によるもの、後のピークは第一卵割阻止によるものであると判断される。	阻止開始までの水温と、第二極体放出阻止または第一卵割阻止までの適正時間（最も高率で正常魚が得られた時間）との関係を図4～7に示す。水温（X）と処理開始時間（Y）の間には強い負の相関が認められ、それらの関係式は次のとおりであった。
ニゴロブナの場合、第一卵割阻止型雌性発生二倍体が得られたピーク幅は、およそ8分間であり、最も高い正常魚獲得率は17.9%であった。どの区でも共通して20分以降に孵化率のピークがみられ、少し遅れて正常率のピークがみられた（図3）。これらのピークの出現時間が一致しないのは、受精後の高温刺激に対する抵抗性と倍数化の最適時間が一致しないためであると考えられる。	ニゴロブナ・第二極体放出阻止 $Y = -0.5946X + 20.31, (n=10, r=-0.9290)$ ニゴロブナ・第一卵割阻止 $Y = -2.825X + 95.17, (n=7, r=-0.9213)$ ホンモロコ・第二極体放出阻止 $Y = -0.3691X + 14.08, (n=12, r=-0.9195)$ ホンモロコ・第一卵割阻止 $Y = -1.474X + 61.18, (n=8, r=-0.9444)$
② 阻止開始までの水温と適正な阻止開始時間と	

8. 主要成果の具体的数値

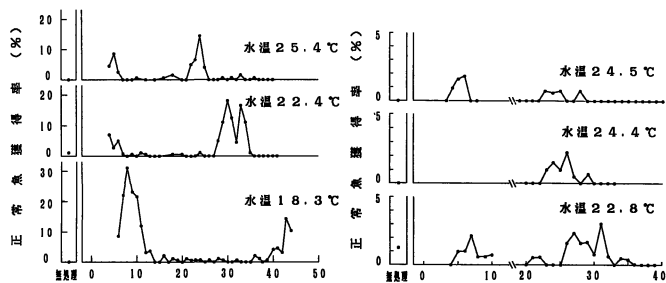


図1 ニゴロブナにおけるUV照射精子の受精から高水温処理までの時間と正常魚獲得率との関係

図2 ホンモロコにおけるUV照射精子の受精から高水温処理までの時間と正常魚獲得率との関係

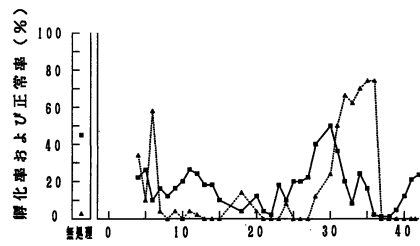


図3 ニゴロブナにおけるUV照射精子の受精から高水温処理までの時間と孵化率(■)および正常率(▲)との関係

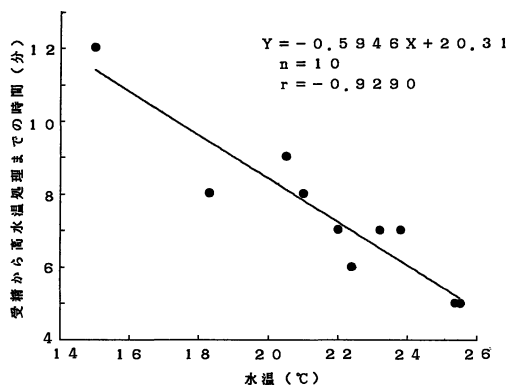


図4 ニゴロブナ卵における第二極体放出阻止開始までの水温と適正な高水温処理開始時間との関係

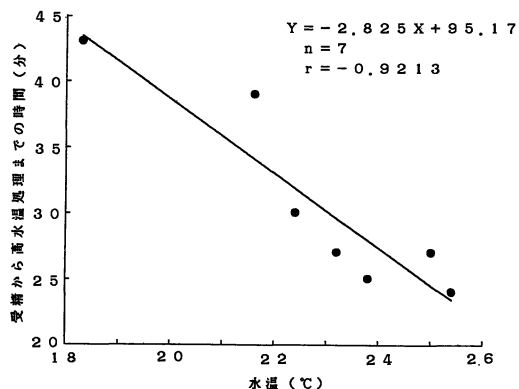


図5 ニゴロブナ卵における第一卵割阻止開始までの水温と適正な高水温処理開始時間との関係

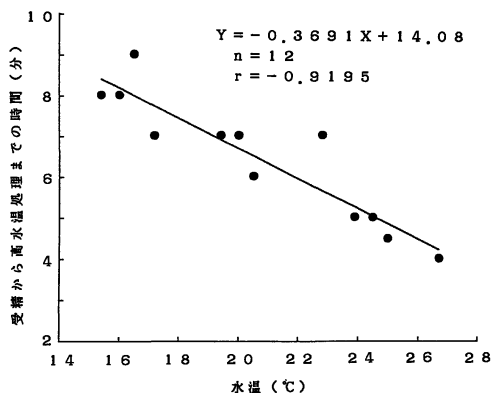


図6 ホンモロコ卵における第二極体放出阻止開始までの水温と適正な高水温処理開始時間との関係

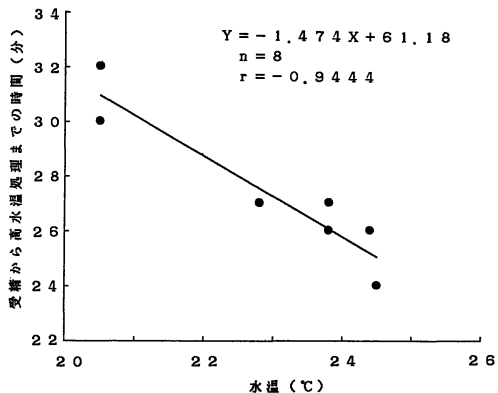


図7 ホンモロコ卵における第一卵割阻止開始までの水温と適正な高水温処理開始時間との関係

9. 今後の問題点

受精20数分後に高水温処理を施して得られた正常仔魚が第一卵割阻止により作出された雌性発生二倍体であることの確認が必要である。

10. 次年度の具体的計画

ニゴロブナ、ホンモロコにおけるアイソザイム分析方法を確立し、第一卵割阻止型雌性発生二倍体であることの確認を行う。