

2. バイテク応用技術開発研究費

1) ホンモロコの第一卵割阻止型雌性発生二倍体作出とその生残率

上野世司

〔目的〕ホンモロコの第一卵割阻止型雌性発生二倍体(以下「卵割阻止魚」という)について、その作出の効率化と生物学的特性の把握のため作出条件を検討し、生残率、同型接合性について調べた。

〔方法〕①卵割阻止魚の作出効率(全卵数に対する卵割阻止魚出現数の百分率)を高めるため、処理水温41℃への60秒間浸漬と90秒間浸漬を比較した。また、低温処理(0℃へ60分間浸漬)、高圧処理(650気圧3分間加圧)により卵割阻止魚の作出を試み、高温処理(41℃へ50秒間浸漬)とそれぞれ比較した。また、卵を収容した水温と高水温処理による適正な第一卵割阻止開始時期の関係について検討した。

②卵割阻止魚を30日間飼育し、その生残率について通常発生二倍体(以下「通常魚」という)および第二極体放出阻止型雌性発生二倍体(以下「放出阻止魚」という)と比較した。

③卵割阻止魚の同型接合性を確認するため、アイソザイムと筋漿蛋白の種内変異、動原体-遺伝子座間の組換え率、卵割阻止魚の遺伝子型を調べた。粗酵素液、筋漿蛋白は肝臓および体側筋(血合いを含む)をホモジナイズして濾紙に吸い込ませ、水平式デンブングル電気泳動法によって検出した。電気泳動緩衝液はT-C Buffer pH8.0を用い、検出酵素は6PGD、PGM、ME、MDH、LDH、IDH、GPI、 α -GPDの8酵素とした。また、筋漿蛋白の染色はアミド黒10Bにより行った。

〔結果〕①処理水温41℃への60秒間浸漬、90秒間浸漬処理の卵割阻止魚の作出効率はそれぞれ1.3%、1.4%と大きな差はみられなかった。高温処理の卵割阻止魚作出効率が2.9~3.2%であったのに対し、低温処理と高圧処理の卵割阻止魚作出効率はいずれも0%であった。卵を収容した水温(X)と卵割阻止魚作出の適正な高温処理開始時期(媒精後Y分)の間には $Y = -3.211X + 100.7$ 、($r = -0.9105$ $n = 18$ 、 $11.8 \leq X \leq 24.5$)という直線の関係式が認められた(図1)。

②卵割阻止魚の生残率は孵化後3~6日の間に大きく低下し、その後は横ばいとなった。卵割阻止魚、放出阻止魚、通常魚の30日目の生残率はそれぞれ2.9~87.9%、60.0~90.0%、100%で、卵割阻止魚の生残率は不安定であった。

③6PGD、PGM、GPIにおいて種内変異が確認でき、6PGDの変異は同一座の2つの遺伝子に、PGMは3つの遺伝子に支配されていることが推定された。放出阻止魚(親は異型接合型)は6PGD、PGMともに異型接合型が出現し、交叉による組換えが確認され、組換え率はそれぞれ58.2%、39.1%と推定された。卵割阻止魚(親は異型接合型)では全個体の6PGD、PGMの遺伝子型が同型接合型を示し、卵割阻止により作出されたことが証明された(図2)。

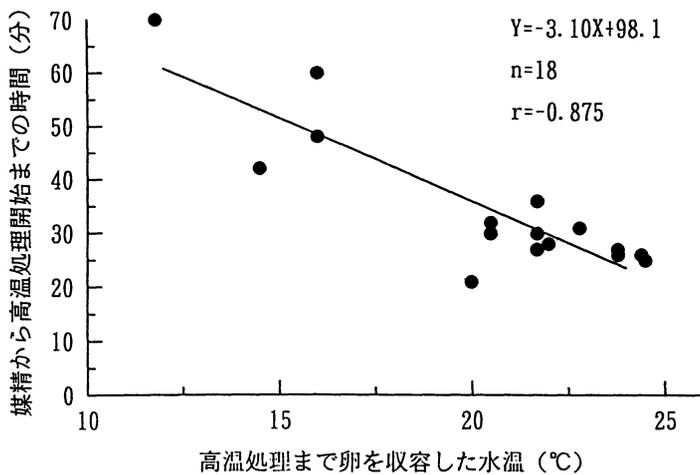


図1 ホンモロコ卵にUV精子を媒精した時の、媒精から高温処理開始まで卵を収容した水温(X)と第一卵割阻止の適正開始時期(Y)との関係。

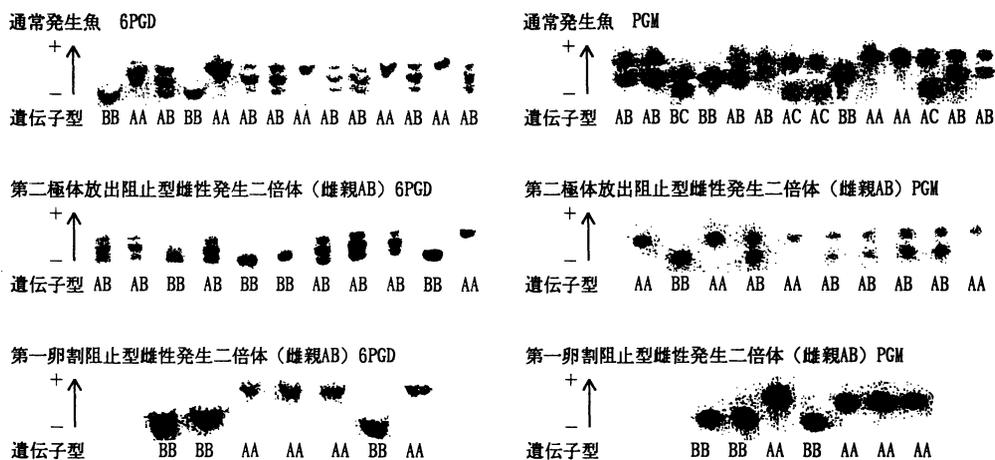


図2 ホンモロコの肝臓から検出された6PGDとPGMアイソザイム