

2) 雌性発生半数体区で出現したホンモロコ正常魚のアイソザイム分析

上野世司

【背景・ねらい】ホンモロコやニゴロブナの卵において紫外線照射精子で雌性発生を誘起した場合、倍数化処理を施さなくても半数体症候群とよばれる奇形と生存性のある孵化仔魚が出現する場合が多い。今回、この生存性のある魚の出現由来について明らかにするため、ホンモロコの雌性発生半数体区において出現した正常個体のアイソザイムを電気泳動法により調べた。また、同卵に卵割阻止処理を加えた区において出現した正常魚が真に第一卵割阻止によるものかどうかについても検討を加えた。

【成果の内容・特徴】アイソザイム分析に供した個体の作出法は以下のとおりである。ホンモロコの通常発生雌1尾から採卵し、次の3区の処理を行った。極体放出阻止区；ニゴロブナのUV精子の媒精後、卵を25.1℃に保ち、媒精後4～10分に40.8℃の温水への50秒間の浸漬処理を行った。卵割阻止区；ニゴロブナのUV精子の媒精後、卵を25.1℃に保ち、媒精後22～25分に40.8℃の温水への50秒間の浸漬処理を行った。雌性発生半数体区；ニゴロブナのUV精子を媒精し、温度処理は行わなかった。通常発生区；同種の精子数尾分を媒精した。

雌性発生半数体区、極体放出阻止区、卵割阻止区の正常魚の遺伝子型の分析は、水平式デンブングル電気泳動法を用いたアイソザイム多型の検出により行った。分析試料は、各々の検体からの肝臓および体側筋を用いた。

その結果、各区の正常魚出現率は、雌性発生半数体区では10.4%、極体放出阻止区では0.0～4.6%、卵割阻止区では6.0～8.3%であった（表1）。各雌性発生区の正常魚の6PGDのヘテロ出現率は、雌性発生半数体区で44.4%、極体放出阻止区で50.0%、卵割阻止区で54.5%であった。PGMでは全試験区の全個体でAA型ホモを示した。これは、雌親の遺伝子型がAA型ホモであったものと推測される（表2）。

【成果の活用面・留意点】昨年度の結果から、6PGDの多型は同一遺伝子座上の2種の対立遺伝子AとBに支配され、それぞれAA、AB、BBの遺伝子型をとり、動原体と6PGD遺伝子座間の組換え率は58.2%と推定されている。雌性発生半数体区、極体放出阻止区、卵割阻止区のヘテロ型出現率がこの結果にほぼ一致したこと、雌性発生には異種精子を利用しているため遺伝的不活性化の失敗により精子が遺伝的に関与している可能性がないことから、ホンモロコの雌性発生半数体区で出現した正常魚が第二極体放出の阻止により倍数化したこと、また、このときの卵割阻止区において出現した正常魚のほとんどが第二極体放出阻止により出現した可能性が大きく、卵割阻止型雌性発生二倍体の作出精度向上に関する検討が必要である。

表1 雌性発生無処理区において正常魚が高率で出現したときの通常発生区、極体放出阻止区、卵割阻止区におけるホンモロコ作出成績。

試験区	高温処理	使用卵数	発眼数	発眼率 (%)	孵化数	孵化率 (%)	正常魚孵化数	正常魚出現率 (%)
	開始時期 (分)							
通常発生	-	198	122	61.6	101	51.0	88	44.4
雌性発生無処理	-	135	73	54.1	43	31.9	14	10.4
	4	105	22	21.0	13	12.4	3	2.9
極体放出阻止	5	110	21	19.1	6	5.5	0	0.0
	6	123	16	13.0	10	8.1	3	2.4
	7	91	5	5.5	6	6.6	1	1.1
	8	130	5	3.8	5	3.8	2	1.5
	9	131	22	16.8	10	7.6	6	4.6
	10	90	7	7.8	3	3.3	0	0.0
	卵割阻止	22	121	42	34.7	23	19.0	10
卵割阻止	23	83	36	43.4	9	10.8	5	6.0
	24	149	56	37.6	23	15.4	9	6.0
	25	103	29	28.2	19	18.4	5	4.9

*高温処理開始まで受精卵は25.1℃に保った。

表2 ホンモロコの雌性発生無処理区において正常魚が高率で出現したときの各雌性発生区で出現した正常魚の6PGDおよびPGM遺伝子型の分析結果。

試験区	遺伝子型				合計	
	AA	AB	BB	不明		
6PGD	雌性発生無処理	4	4	1	0	9
	極体放出阻止	1	5	3	1	10
	卵割阻止	1	6	4	0	11
PGM	雌性発生無処理	9	0	0	0	9
	極体放出阻止	10	0	0	0	10
	卵割阻止	11	0	0	0	11