

5. パイテク応用技術開発研究費

1) ニゴロブナおよびホンモロコの雌性発生等による育種技術の開発

上野世司

【目的】ニゴロブナおよびホンモロコの雌性発生を利用した育種技術の開発を行った。育種目標は、ニゴロブナでは高成長、ホンモロコでは偽雄を利用した全雌種苗生産の容易な養殖品種の作出である。

【方法】①ニゴロブナ雌性発生二倍体の量産：ニゴロブナの成長優良個体の選抜に供する雌性発生魚の母集団を形成する目的で、第一卵割阻止型（卵割型）および第二極体放出阻止型（極体型）の雌性発生魚の量産を試みるとともに、その初期減耗を調べた。雌性発生法および染色体倍数化処理法等は従来の方法（滋賀水試）に準じた。②全雌ホンモロコ作出技術の開発：極体型雌性発生魚を作出し、水温18.7～20.5℃で飼育し、ふ化後180日目以降に姉妹毎に性比を調べた。③卵割型雌性発生魚誘起の確認方法の検討：ホンモロコのアイソザイム遺伝子座—動原体間の組み替え率（GCE）を推定するため、極体型雌性発生魚を供試魚としてアイソザイム（6PGDH,PGM,GPI）分析を行った。また、両種のアイソザイム生体検査法について検討した。検出は水平式でんぷんゲル電気泳動法とザイモグラム法によった。

【結果】①ニゴロブナ雌性発生二倍体の量産：ふ化成績：平均正常魚出現率は、極体型では1.8%、卵割型では0.5%であった。初期減耗：孵化後21日目の生残率は卵割型では0.0%、極体型では23.9%、通常発生魚では78.5%であった。卵割型は孵化後3日間の間に大きく低下し、ふ化後15日目には全滅した。今回は雌性発生魚の作出成績、生残率ともに悪く、生残尾数が少ない（卵割型約40尾、極体型70尾;平成11年3月末）が、今後これらの成長を待って各個体の特性を把握するとともに、次世代の作出を実施する予定である。

②全雌ホンモロコ作出技術の開発：ふ化成績：平均正常魚出現率は極体型では13.4%、通常発生魚では68.3%であった。性比（表1）：極体型雌性発生魚の姉妹群毎の雌の割合は100.0%～72.0（調査個体数20個体以上の群）と幅があった。今後、これらの成熟を待って雌の割合の高かった群を中心に雌性発生次世代を作出し、性比のばらつきが遺伝的なものか検証するとともに、品種の固定を試みていく予定である。

③卵割型雌性発生魚誘起の確認方法の検討：ホンモロコGCEの推定：極体型雌性発生魚の6PGDH遺伝子座、PGM遺伝子座およびGPI酵素（遺伝子座未推定）において多型が確認された。今回の結果および既往の知見（滋賀水試）からGCEは6PGDH63.9%、PGM51.3%であった。アイソザイム生体検査法の検討：ニゴロブナ（表2）：アイソザイム生体検査試料として親魚（体長156.9mm以上）の肝臓（市販の生体検査針で採取）および体側筋（メスで少量を切り出して採取）が利用可能であった。血液や鱗は6PGDH、GPI、MDH、LDH、非酵素タンパクの試料として有効であると考えられた。ホンモロコ（表3、表4）：鱗や血液は6PGDH、PGM、GPI、MDH、LDH、非酵素タンパクの生体検査試料として有効であると考えられた。

表1 ホンモロコの第二極体放出阻止型雌性発生二倍体および通常発生魚の性比.

親No.	実験区	N	体長(mm)		性比		
			平均	標準偏差	雄 (%)	雌 (%)	不明 (%)
1	Pb	20	34.94 ± 2.24		3 (15.0)	17 (85.0)	0 (0.0)
2	Pb	6	39.05 ± 5.20		0 (0.0)	6 (100.0)	0 (0.0)
2	Nm	50	26.45 ± 3.19		28 (56.0)	22 (44.0)	0 (0.0)
5	Pb	25	41.10 ± 3.22		7 (28.0)	18 (72.0)	0 (0.0)
6	Pb	28	35.39 ± 4.85		0 (0.0)	28 (100.0)	0 (0.0)
7	Pb	4	34.45 ± 8.37		2 (50.0)	2 (50.0)	0 (0.0)
8	Pb	22	37.26 ± 3.72		5 (22.7)	17 (77.3)	0 (0.0)
10	Pb	12	33.98 ± 7.03		2 (16.7)	8 (66.7)	2 (16.7)
11	Pb	5	41.28 ± 5.27		0 (0.0)	5 (100.0)	0 (0.0)
11	Nm	32	35.51 ± 3.79		12 (37.5)	20 (62.5)	0 (0.0)
34	Pb	27	32.30 ± 5.63		3 (11.1)	23 (85.2)	1 (3.7)
35	Pb	33	31.62 ± 6.11		3 (9.1)	30 (90.9)	0 (0.0)

Pb: 第二極体放出雌性発生 Nm: ホンモロコ×ホンモロコの通常交配

表2 ニゴロブナの部位毎の酵素および非酵素タンパクの電気泳動による検出の評価.

酵素またはタンパク	部位			
	鱭	血液	肝臓	体側筋
6PGDH	+	-	+++	-
PGM	-	-	++	+
GPI	+	+	+++	+
G6PDH	++	±	+++	-
ME	±	-	+++	+
IDH	-	-	-	-
MDH	+++	+++	+++	+++
LDH	+++	++	+++	+++
α GPDH	-	-	+++	+++
PROT	±	+++	±	++

表3 ホンモロコの血液による酵素および非酵素タンパクの電気泳動による検出の評価.

酵素またはタンパク	試料		
	全血	血球	血漿
6PGDH	-~+	-~+	-
PGM	-~+	-	-~±
GPI	++	++	++
ME	-~±	-~±	-~±
G6PDH	±~++	±~++	-~±
IDH	-	-	-
MDH	++	+~++	+~++
LDH	++	++	-~±
α GPDH	-~±	-~±	-~±
PROT	++	++	+~++

+++:ほとんどの個体でバンドが強く検出
 ++:ほとんどの個体でバンドが検出
 +:ほとんどの個体でバンドがごく弱く検出
 ±:ほとんどの個体で何らかの検出反応/バンド不明瞭
 -:ほとんどの個体で検出反応なし

検出の評価: ++:明瞭または強くバンド検出
 +:バンド弱く反応
 ±:微かな検出反応
 -:検出反応なし

表4 ホンモロコの部位毎の酵素および非酵素タンパクの電気泳動による検出の評価.

酵素等	白筋		血合い筋		鰭		眼球		心臓		生殖腺		肝臓	
	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd
6PGDH	-	-	+	±	±	-	+	+	++	+	+	+	++	++
PGM	++	++	++	++	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++
GPI	++	+	++	+	++	±	++	±	++	+	++	+	++	+
ME	+	±	+	+	±	-	±	-	±	±	±	-	+	±
G6PDH	-	-	+	±	±	-	±	-	+	+	++	+	++	++
IDH	++	++	++	++	+	+	+	+	++	+	-	-	++	++
MDH	++	++	++	++	++	+	++	+	++	++	++	+	++	+
LDH	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
α GPDH	++	++	++	++	±	-	±	-	±	-	±	-	++	++
PROT	++	++	+	++	±	-	+	±	++	+	++	±	+	+

酵素等	腎臓		腸		脾臓		鱭		血球		全血		血漿	
	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd	Dto	Bnd
6PGDH	++	++	++	++	+	+	++	+	±	-	±	-	±	-
PGM	++	++	++	++	+	±	++	+	±	-	±	-	±	-
GPI	++	±	++	±	++	±	++	±	++	±	++	+	++	+
ME	±	-	±	-	±	-	±	-	±	-	±	-	±	-
G6PDH	++	++	-	-	+	±	++	±	±	-	±	-	-	-
IDH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MDH	++	+	++	+	++	++	++	++	++	+	++	+	+	+
LDH	++	++	++	±	++	++	++	++	+	++	+	+	±	-
α GPDH	+	+	±	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-
PROT	+	±	±	-	++	++	+	-	++	++	++	++	++	++

Dto: 検出反応の評価 (+: 強い反応 +: 弱い反応 ±: 微かな反応 -: 反応なし)
 Bnd: バンド判別の評価 (+: 何らかのバンドが明瞭に判別可 +: 何らかのバンドが判別可 ±: 何らかのバンドらしきものが判別可 -: バンド判別不可)