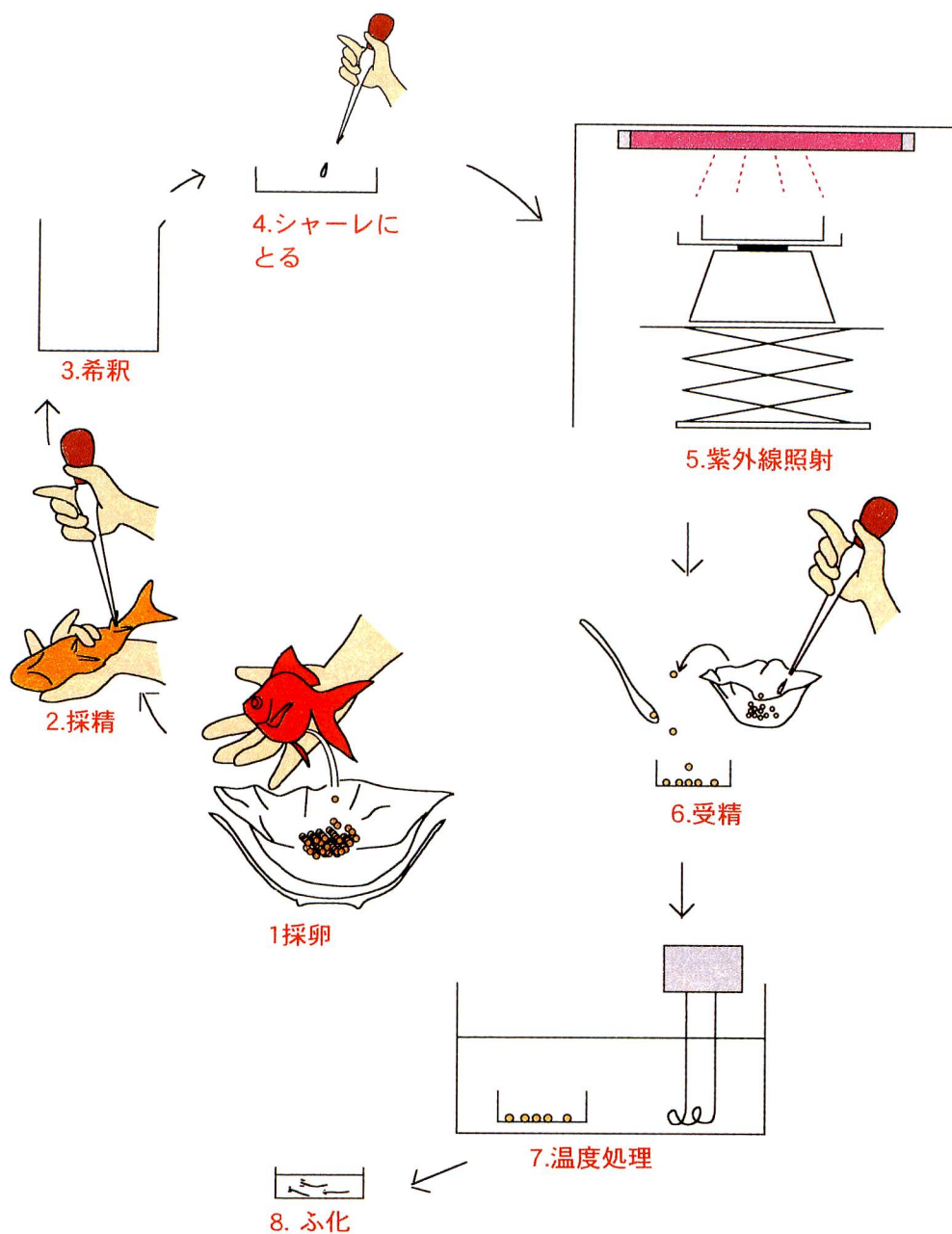


キンギョ雌性発生技術マニュアル

木本 巧

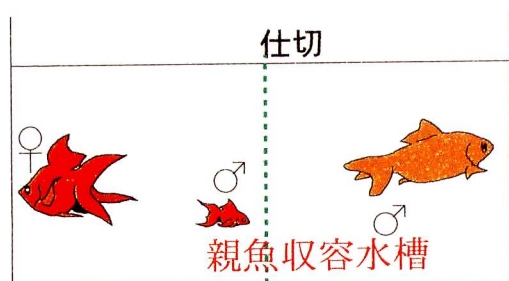


キンギョの雌性発生操作手順概略

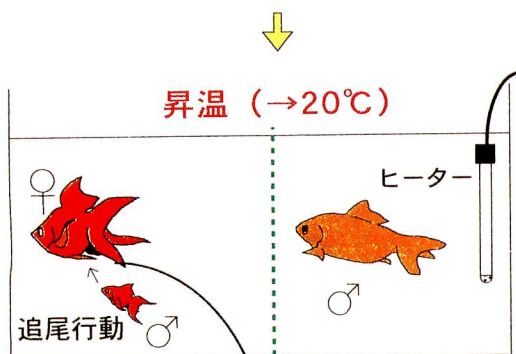
雌性発生は8つの過程に分けられる。すなわち、卵および精液を採取する(1, 2)。精液を希釈し(3)、シャーレにとり(4)、紫外線を照射して精子を不活化してから(5)、受精させた後(6)、受精卵を低温または高温によって処理し(7)、ふ化させる(8)。

キングヨ 雌性発生手順

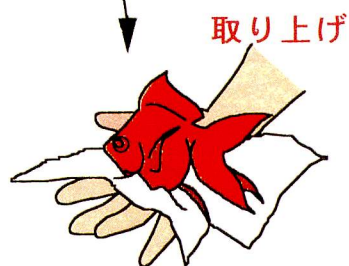
1.卵を採る



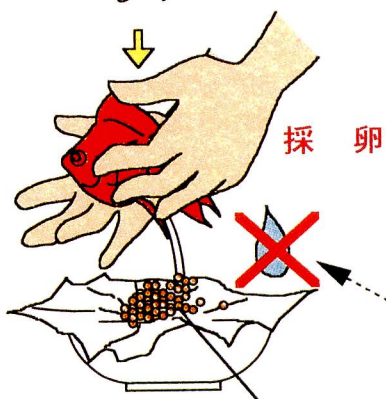
(1) 3月下旬に池から室内の水槽に雌雄のキングヨを移す。雄と雌は同じ水槽内に仕切りで分けて収容する。雌は、小型の雄を雌と一緒にしておくと、排卵時に追尾行動を起こすので排卵の有無を確認しやすい。



(2) 水温はヒーターで5℃程度上昇させ、20℃前後となるようにする。さらに、雌に採卵予定日前夜の11:00PMにゴナトロピン10単位/gを筋肉に注射すると採卵がより確実となる。



(3) 通常48時間位後に産卵が始まる。小さい雄魚が雌魚を追尾していれば、雌魚を取り上げて触診し、排卵の有無を確認する。取り上げた魚は、固くしぼった濡れタオルで水分をふき取る。



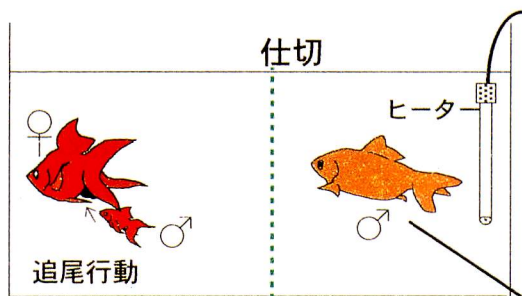
(4) 排卵した雌魚は、腹部を軽く押すだけで卵が流れ出す。卵はラップフィルムを敷いたおわん等の容器で受ける。このとき、卵に水滴が落ちないように注意する。

淡水が混入すると卵は受精しなくなる



(5) 卵は、ラップフィルムの口を閉じておき、朝採卵したならば、室温で2~3時間は十分保存できる。

2～5.精液を採取し、不活化する

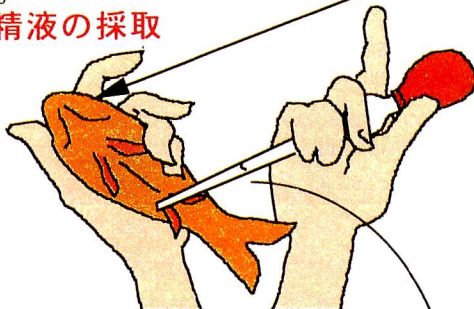


(1) 雄魚は大型のワキンが良い、理由は精子の量が多いのと、採精が容易だからである。雄魚は採卵用の雌魚と同じ水槽内に仕切って收容し、前日に1単位/gのゴナトロピンを筋肉に注射すれば、ほぼ確実に精子が採れる。もちろん、池から精液を出す雄魚を取り上げて直接採精しても良い。

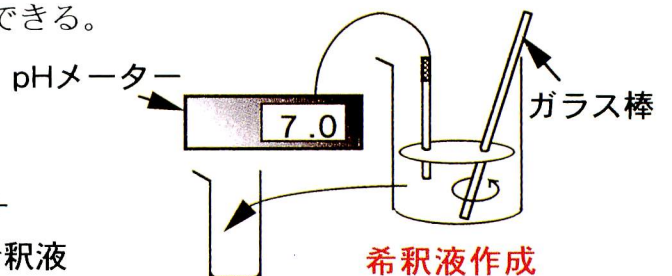
取り上げ

(2) 取り上げて、固くしぼった濡れタオルで余分な水分ふき取る。

精液の採取



(3) 水1lに、NaCl 7.5g、KCl 0.2g、CaCl₂ 0.4gを溶かした液に、NaHCO₃を少量加えてpH7.0に調整する（pH調整には、pHメーターが必要である）。pH7.0に調整後は、密閉容器中で暫く保存できる。

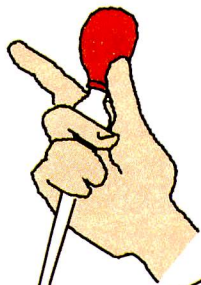


(5) 精液をピペットで0.2 ml、乾いた容器に取る。

精液 + 希釈液

精液を希釈
(6) 100倍に希釈する。

(4) 希釈液を20 ml測り取る。

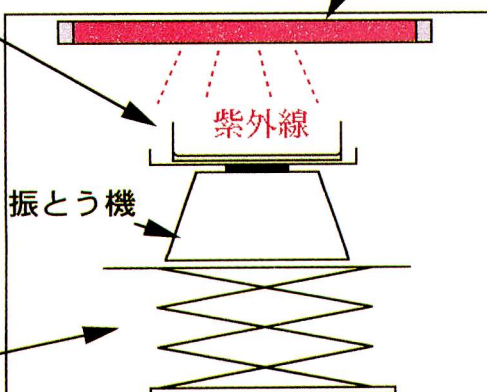


希釈精液

紫外線ランプ

紫外線を照射して精液を不活化

(7) 直径90mmのシャーレに、100倍希釈した精液を2ml入れて、薄く広げる。



紫外線照射装置

(8) 希釈精液を入れたシャーレを振とう機にのせて振とうしながら紫外線を当てる。シャーレの位置は紫外線が、50ergs/sec・mm²となるように調整し、紫外線の照射時間は2分間にする。（紫外線の強さを測るためには、U.V.メーターが必要である。）

注；紫外線は、直視しないこと。

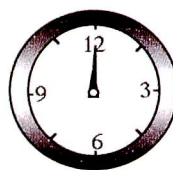
木箱（自作）

6～8.受精と誘発処理等

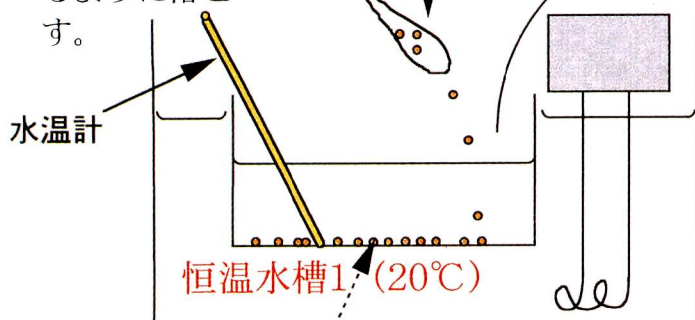
(1) ラップフィルムに小匙少々のお卵を移す。

(2) 卵に紫外線照射済みの希釈精液2mlをかける。

(3) 6ml の汲み置き水を加え、（下から指でつついて、精子とお卵が均等に混じるように）撹拌する。水を加えると同時に、受精が始まるので、同時に時計を読む。

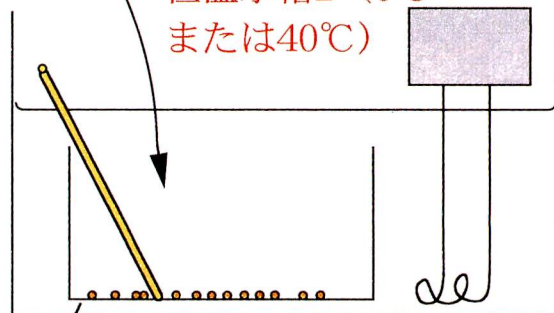


(4) 卵は小匙で容器の上に均等に分散するように落とす。



卵は、底面にすぐ付着する。以後、卵の処理等はこの容器ごと行う。

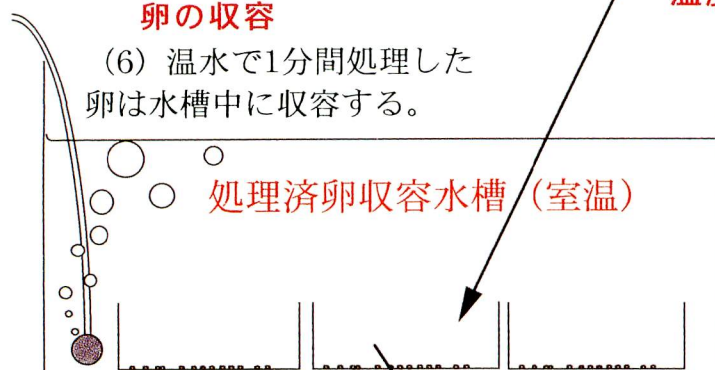
恒温水槽2 (0℃
または40℃)



卵の收容

(6) 温水で1分間処理した卵は水槽中に收容する。

処理済卵收容水槽 (室温)



温度処理による雌性発生誘発

(5) 第2極体放出阻止は受精5分後に、第1卵割阻止は40分後に処理する。第2極体放出阻止は0℃の冷水に25分漬けるか、または40℃の温水に1分間漬ける。第1卵割阻止は40℃の温水に1分間漬ける。

(7) 発眼の前後に、卵はシャーレごと水槽から取り出し、室内でふ化させる。ふ化まで卵が死なないように、容器の水を時々交換する。死卵があった場合はピンセット等で除去する。

死卵の除去

