

## 三倍体アユの特性評価研究—II

### 三倍体アユ雄魚の生殖能力について

桑田知宣・松田宏典\*・臼田 博\*

Studies on Characteristics of Triploid Ayu-fish, *Plecoglossus altivelis*—II

Reproductive Ability of the Male Type Triploid Ayu

Tomonori KUWADA・Hironori MATUDA\*・Hiroshi USUDA\*

近年、三倍体アユの人為作出技術が開発され<sup>1)</sup>大量生産も可能となった<sup>2)</sup>。三倍体の特性の一つとして不穏性があげられる<sup>3)</sup>。通常アユは産卵のため秋期になると川を下ってしまうが、三倍体アユは不穏であるため秋期においても川を下らないことが考えられる。この利点から、三倍体アユの河川漁業への利用が期待されている。そのためには、アユ資源を含めた河川の生態系への影響を評価しなければならない。

三倍体アユ雄魚は二倍体アユ雌魚と産卵行動を行うため<sup>4)</sup>、雄魚の生殖能力の有無等が重要な問題である。三倍体の雄魚の生殖能力はニジ

マス、アマゴ等について報告されているが、<sup>5)～8)</sup>アユについての詳しい報告はない。本研究では、三倍体アユの生態系への影響の有無を評価することを目的に、三倍体アユ雄魚の排精時期と精子の形態、精液量、精子数、媒精した卵の発生等について二倍体アユ（人工採苗アユ）と比較検討した。

なお、本研究は平成2年度水産バイテク導入基盤整備事業の一部として実施された。

### 試験の方法

\* 現在 岐阜県農政部水産振興課

## 1. 供試魚

供試した三倍体アユは、1989年10月3日に木曽川産親魚より採卵、受精5分後に0℃の水に30分浸漬し倍数化した。その後（財）岐阜県魚苗センター飼育池（3×10×0.8m）で飼育し、1990年6月下旬に当場に移収し、コンクリート池（直径3.5m）で河川水により飼育した。

二倍体アユは、三倍体アユと同様に木曽川産親魚から採卵し、同センターで飼育した種苗である。

## 2. 精子形成

三倍体アユ雌雄混合群500尾の中から三倍体アユ雄魚を無作為に20尾抽出し、手で腹部を圧迫することにより精液がにじみ出た個体を排精個体として、群の中の排精個体の割合の時期的な変化を調べた。調査は10月17日、10月29日、11月6日、11月15日に行った。二倍体アユについても10月23日に排精個体の割合を調べた。

10月29日に精液の出た三倍体アユ雄魚10個体について精液の塗沫標本を作成し、位相差顕微鏡で精子の形態を観察した。

三倍体アユの精液に水を加えただちに顕微鏡下で観察し、精子の運動性について検討した。

## 3. 精液量および精子数

精液量の測定は10月30日、11月7日、11月15日に行なった。各測定日について精液のにじみ出た三倍体アユと二倍体アユそれぞれ5～10尾を供試した。精液量の測定方法は、腹部を圧迫することによりにじみ出た精液をパストールピペットで採取し、その液量を測定し精液量とした。

10月30日に、二倍体アユ5個体と三倍体アユ3個体について精子数を測定した。測定にはトマ血球算定盤を用いた。

## 4. 三倍体アユ雄魚の精子を媒精した卵の発生状況

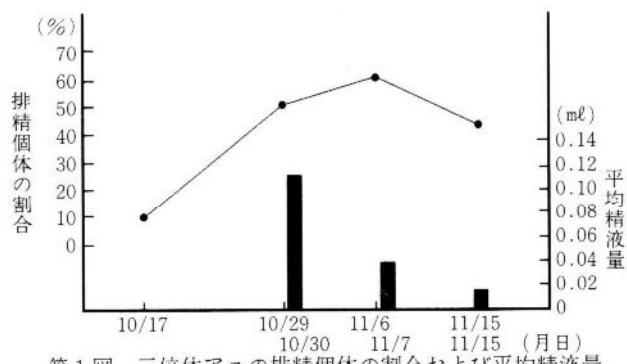
媒精は11月5日に行った。雌親魚は人工採苗アユで、一腹分の卵を二等分し、その一方に3尾の三倍体アユ雄魚の精液9滴で媒精し試験区とした。もう一方には、一尾の人工採苗アユの精液4滴で媒精し対照区とした。それらの卵をスライドグラスに付着させ、その後の発生状況を調べた。

## 結果および考察

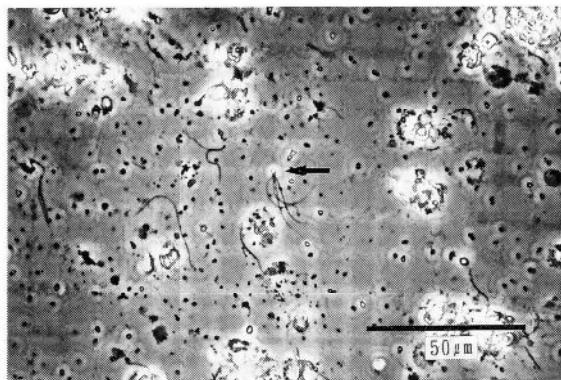
### 1. 精子形成

三倍体アユの排精個体の割合および平均精液量の推移を第1図に示した。10月17日の調査ではすべての三倍体アユに顕著な二次性徴が認められた。しかし腹部を圧迫して精液を出した個体は2尾(10%)のみで、その量も極めて微量だった。そのうちの1尾について塗沫標本を作成し検鏡したところ、極めて少数ながら鞭毛を備えた精子が確認出来た。

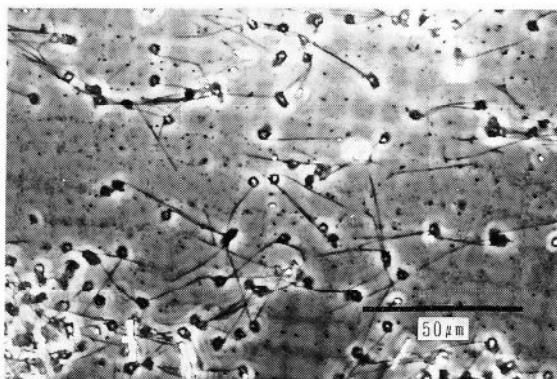
10月29日の調査では、10尾(50%)の三倍体アユが精液を出した。それらすべてについて塗沫標本を作成し検鏡したところ、すべての標本で鞭毛を備えた精子を確認した。岡田<sup>5)</sup>はニジマスの三倍体の精子を走査電子顕微鏡で観察し、その頭部の大きさが不揃いであったことを報告



第1図 三倍体アユの排精個体の割合および平均精液量  
●—● 排精個体の割合 ■ 平均精液量



第2図 鞭毛の4本ある三倍体アユの精子(矢印)



第3図 二倍体アユの精子

している。本試験においても同様の像が見られ、三倍体アユの精子は二倍体アユの精子に比べて頭部の大きさが不揃いで、鞭毛の長さ、本数が違う等様々な異常形態を示した(第2図・第3図)。鞭毛を備えた精子の混在割合には個体差

が見られ、採精量の多い個体ほど鞭毛を備えた精子の割合が高いようであった。精子の運動性についても検討したが、視野の中に運動している精子を確認できなかった。

11月6日の調査では12尾(60%)が、11月15日の調査(調査尾数14尾)では6尾(43%)が精液を出し、11月6日の調査時が最も排精個体の割合が高かった。

これらの結果、三倍体アユの排精盛期は11月上旬であり、6割の三倍体アユにおいて鞭毛を備えた精子が形成されているものと推察される。11月上旬にほとんどの三倍体アユ雄魚が斃死し、排精盛期と大量斃死時期はほぼ一致するようであった。

### 3. 精液量および精子数

三倍体アユと二倍体アユの精液量を第1表に示した。

二倍体アユの平均精液量は10月30日より11月7日の方が多かったのに対し、三倍体アユの平均精液量は時期が遅くなるほど減少した。各測定日の三倍体アユの精液量は個体ごとにバラツキが大きく、最も多い個体は0.6ml(10月30日)の精液を出した。このように多量の精液を出す個体は斃死直前の個体に多く観察された。これらのことより早熟な三倍体アユほど精液量が多く、それらは比較的早期に斃死することが推察される。

全期間を通じての平均精液量を三倍体アユと二倍体で比較すると、三倍体アユの精液量は二倍体アユの約4分の1であった。また、最も採精量が多かった測定日の平均採精量を比較する

第1表 三倍体アユと二倍体アユの精液量

供試魚	測定年月日	供試魚数	平均精液量 ml	最大最小精液量 ml
三倍体アユ	1990年 10/30	10	0.113	0 ~ 0.60
	11/7	8	0.039	0.01 ~ 0.13
	11/15	6	0.018	0 ~ 0.03
	計	24	0.065	0 ~ 0.60
二倍体アユ	10/30	8	0.191	0.05 ~ 0.60
	11/7	5	0.344	0.12 ~ 0.74
	計	13	0.23	0 ~ 0.74

採精不可能の個体は精液量を0とした。

第2表 三倍体アユおよび二倍体アユの精子数

(1990 10/30 サンプリング)

個体番号	二倍体アユ 個/ml	三倍体アユ 個/ml
1	$1.27 \times 10^{11}$	$8.6 \times 10^7$ (0.60ml)
2	$1.05 \times 10^{11}$	$2.0 \times 10^7$ (0.04ml)
3	$0.99 \times 10^{11}$	$1.6 \times 10^7$ (0.04ml)
4	$0.97 \times 10^{11}$	
5	$0.94 \times 10^{11}$	
平均	$1.04 \times 10^{11}$	$4.1 \times 10^7$

( ) 内の数字は採精した精液量

と三倍体アユの精液量は二倍体アユの約3分の1であった。

三倍体アユと二倍体アユの精子数を第2表に示した。

測定個体が3個体と少ないが三倍体アユの精子数は個体差が大きく二倍体アユの精子数の1200~6500分の1であった。

#### 4. 三倍体アユ雄魚の精子を媒精した卵の発生

について

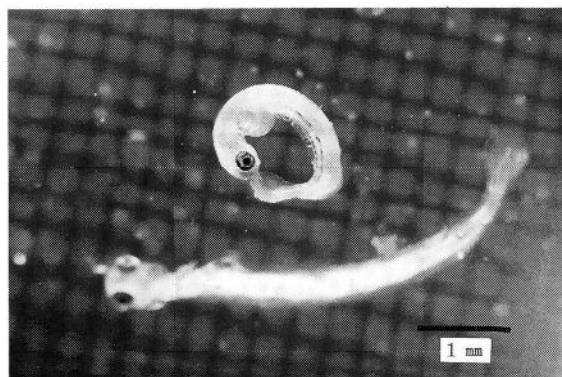
三倍体アユの精子を媒精した二倍体アユ卵(1290粒)の発生状況を第3表に示した。受精後8日目に対照区の卵が発眼したのでその発眼卵数を計数するとともに、試験区の卵を実体顕微鏡で観察したところ、39粒の卵が発眼または胚体形成していた。その後隨時観察したところ受精後11日目までに32粒の卵が発眼に至った。残り7粒の卵は発眼に至らず死卵となった。その後ほとんどの卵が孵化に至らず死卵となり、また孵化したものについてもすべて奇形胚であり孵化後死滅した(第4図)。受精後22日目に対照区の孵化仔魚185尾について観察したところすべて正常な孵化仔魚であった。

檜垣ら<sup>7</sup>は、ニジマス三倍体精子の媒精により得られる発生胚の大部分は異数性で奇形となり、孵化までに死亡したが、そのごく一部は正常に孵化することを報告している。また、上田

第3表 三倍体アユの精液を媒精した二倍体アユ卵の発生状況

区分	総卵数 粒	胚体形成卵数 粒	発眼卵数 粒	孵化尾数 尾	孵化率	奇形率
試験区	1,290	39 (3.02%)	32 (2.48%)	6 (0.47%)	18.75%	100%
対照区	1,501	1,134 (75.5%)	1,134 (75.5%)	1,123 (74.8%)	99.1%	0%

( ) 内の数字は総卵数に対する割合、孵化率は発眼卵数に対する割合



第4図

上 3n♂ × 2n♀ 孵化仔魚  
下 2倍体の正常孵化仔魚

ら<sup>8</sup>は、ニジカワ三倍体精子の媒精により発生したニジマス卵の発眼胚について染色体分析を行い、それらが2.5倍性個体群（染色体数が79～83）と3.5倍性個体群（染色体数が110～112）の2群にわかれ、3.5倍性個体群の一部には生存性が認められたことを報告している。これらの報告から、本試験における発生胚は異数性の奇形胚であることが推察される。今回は正常な孵化仔魚が認められなかったが、ニジマスやニジカワの報告例を考慮するとアユにおいても正常な孵化仔魚が発生する可能性がないとは言えない。

これらの結果、三倍体アユの精子には受精能カがあり、その受精卵からは異数性の胚が発生

すると考えられる。顕微鏡下の観察では、三倍体アユ雄魚の精子の運動性は確認出来なかつたが、運動性のない精子によって卵が受精することは考えにくいので、運動時間が短かいか、一部の精子しか動かなかつたことが考えられ、一部の三倍体アユの精子には運動性があると推察される。

## 要 約

1. 三倍体アユ雄魚の排精時期と精子の形態、精液量、精子数、三倍体アユの精子を媒精した卵の発生について二倍体アユと比較した。
2. 排精盛期の11月上旬には、60%の三倍体アユ雄魚で採精が可能であり、それらの精液の塗沫標本の全てで鞭毛のある精子を観察した。その精子の二倍体アユに比べて様々な異常形態を示した。
3. 三倍体アユの平均精液量は、二倍体アユの1/4であった。三倍体アユの精子数は二倍体アユの1/1200以下であった。
4. 三倍体アユの精子を媒精した卵の一部から異数性と推察される奇形胚が発生した。これら

の一部は孵化に至ったが、その後すべて死滅した。

アユの特性評価試験、平成元年度水産バイテク導入基盤整備事業報告書  
171—197 編集 日本水産資源保護協会

## 文 献

- 1) Taniguti,N,A.Kijima ,J.Fukai. Y.Inada ,1986 ; Conditions to Induce Triploid and Gynogenetic Diploid in Ayu Plecoglossus altivelis, Bull. Japan. Soc. Fish, 52, 49—53.
- 2) 岐阜県水産試験場, 1988 ; 昭和 62 年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書、染色体の倍数化技術の応用によるアユ・アマゴの品種改善研究
- 3) 福岡県内水面水産試験場, 昭和 60 年度指定調査研究総合助成事業報告書 魚類の成熟、産卵制御に関する研究
- 4) 岐阜県水産試験場, 1990 ; 木曽川産三倍体

- 5) 岡田鳳二 1985 ; ニジマスの人為的性統御に関する研究、北海道立水産孵化場研究報告 No.40 1—49
- 6) Ueda, T. M, Sawada.and J,Kobayashi (1987) ; Cytogenetical Characteristics of the Embryos between Diploid Female and Triploid Male in Rainbow Trout. Japan J.Genetics ,No. 62 (5) ; 461—465
- 7) 檜垣俊二・鄧 亜光・村田 晶・尾城 隆・隆島史夫 1989 ; 平成元年度日本水産学会春季大会講演要旨集
- 8) 上田高嘉・佐藤良三・岩田宗彦・古丸 明・阿久津梅二・武藤光司・小林仁道 1990 ; 平成 2 年度日本水産秋季大会講演要旨集