

## 3倍体作出処理を施したイシダイの精子について

最上 泰秀・宮木 廉夫・荒川 敏久\*<sup>1</sup>

Spermatozoa of Triploid Japanese Parrotfish, *Oplegnathus fasciatus*

Yasuhide Mogami, Kadoo Miyaki, and Toshihisa Arakawa

The triploid fish was induced by cold shock treatment; the fertilized eggs were stored for 15 minutes in 6°C temperature after 1.5 or 3 minutes from insemination.

The tripliod induction was confirmed from the length differences of the major axis of erythrocyte between treated and not-treated fish. The spermatozoa of the triploids only moved but could not swim, and the survival rate of them was about 50%. The size of the spermatozoa was 2.2 to 2.8  $\mu\text{m}$  larger than that of the dipliods of 1.2 to 1.4  $\mu\text{m}$ . The tail of the spermatozoa did not extend straight but entangled so that they could not swim. The hatching rate of the eggs inseminated with the triploids milt was 0% but that of the dipliods was 39.7%, it suggests that the triploids male was sterile.

3倍体魚は、一般に不妊と考えられ、成熟に伴う成長の遅延が起らないため養殖に有利であると考えられ、養殖品種として利用することを目的として、作出技術の研究が行われてきた。<sup>1,2)</sup>しかし、実際に作出された3倍体における観察では、必ずしもすべてが不妊となるわけではなく、生殖腺の発達は種や性によって異なることが明らかにされた。<sup>3,4,5,6)</sup>

著者らは、イシダイ *Oplegnathus fasciatus* の3倍体を作成し、精子の形態、運動性および受精能力を調べた結果、不妊であることが判ったので、それらの概要を報告する。

### 材料と方法

供試した3倍体魚は、1987年7月に、媒精1分30秒もしくは、3分後の受精卵に、6°C15分間の低温処理を施して作出した\*<sup>2</sup>体長21.5cmの3年魚（以下、3倍体魚とする）を用いた。

3倍体魚の確認は、精子を採取したイシダイの尾部から採血した血液の塗抹標本を作成し、<sup>7)</sup>赤血球長径の比較によって行った。対照として、体長21.8cmの2倍体の3年魚を用いた。

精子の運動性は、採取後直ちに200倍の顕微鏡下で観察し、表1に示す基準<sup>8)</sup>で評価を行った。

精子の形態の観察は、松尾、吉越<sup>9)</sup>の方法に従った。即ち、精子は2.5%グルタルアルデヒドで50分間固定した後、PH7.2の0.1M第1・第2燐酸ナトリウム緩衝液に8%のサッカロースを加えたもので3回洗浄し、1%四酸化オスミウム液で1時間、氷水中で後固定を施した。固定試料はエタノールで脱水後、酢酸イソアミルを仲介し、ドライアイスを用いて臨界点乾燥を施し、金をスパッタ・コーティングして10,000倍の走査電子顕微鏡で観察した。

さらに、受精能力を調べるために、1990年7月4日に、体長23.0cmのイシダイ2倍体魚の雌1尾

\*1 壱岐支庁水産課

\*2 荒川敏久・高屋雅生・宮原治郎：染色体操作による養殖魚の品種改良試験，昭和62年度長崎県水試事業報告，112，(1989)。

表1 精子の活力(運動性) 入谷<sup>2)</sup>より改変

Table 1. Activity of spermatozoa

Motility grade	Survival rate (%)	Movement
0	0	—
1	< 30	very passive, tottery
2	31-50	passive
3	51-70	moderately active
4	71-80	active
5	> 81	very active

から搾出法によって採取した卵に媒精した(24.0℃)。これらの卵は、浮上卵300粒を300ml ビーカーに収容し、止水、無通気、室温で静置し、2日後にふ化率を求めた。

なお、比較のため2倍体魚でも同様の処理を行った。

### 結 果

3倍体魚と対照魚の赤血球の形態を図1に、長径のヒストグラムを図2に示した。3倍体魚の赤血球長径は13.2μm、対照魚は9.9μmで、3倍体魚の赤血球長径は対照魚の約1.3倍であった。

対照魚および3倍体魚の精子の運動性はそれぞれ4と1と判定され、3倍体魚の精子が強い旋風運動を示したのに対し、3倍体魚の精子の活力は弱く、前進運動を行うものはなかった。対照魚および3倍体魚の精子の走査電子顕微鏡写真を図3に示した。対照魚の精子の大きさが1.2~1.4μm

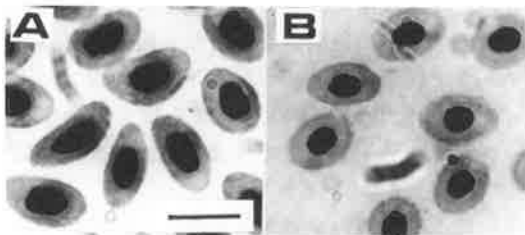


図1 イシダイ3倍体魚と対象魚の赤血球の比較  
Fig. 1. Erythrocytes of triploids(A) and diploids(B) of Japanese parrotfish *Oplegnathus fasciatus*. Scale bar :5m,

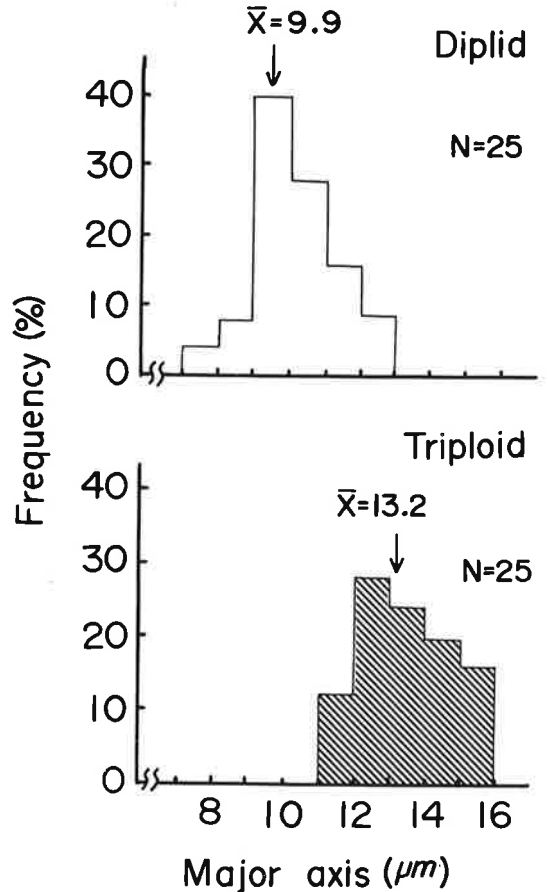


図2 イシダイ3倍体魚と対象魚の赤血球長径の比較  
Fig. 2. Comparison of erythrocytes between triploids and diploids of Japanese parrotfish *Oplegnathus fasciatus*.

であったのに対し、3倍体魚では2.2~2.8μmと明らかに大きかった。また、精子の尾部は、頭部に絡みついたもの、数本あるもの、途中から二股に分かれるものなどの形態異常が認められた。

3倍体および2倍体魚のふ化率は、各々0%と39.7%であった。

### 考 察

海産魚の人為3倍体については、マダイ、クロダイで赤血球が大型化することが知られている。<sup>2)</sup> 今回のイシダイについては、3倍体の誘導を行った個体は2倍体魚の約1.3倍の長径を示し

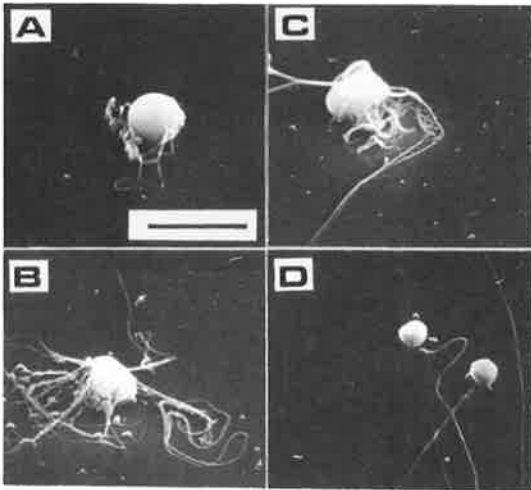


図3 電子顕微鏡による3倍体魚および対照魚の精子の形態の比較

Fig. 3. Morphology of spermatozoa on the scanning electron microscopy.  
A—C ; Abnormal shapes of triploids,  
D ; Normal shapes of diploids.  
Scale bar ; 10  $\mu$ m.

たことから、3倍体魚が誘導されたと判断した。

田畑ら<sup>6)</sup>は、ヒラメの3倍体魚を誘導し、その精液を観察した結果、「精子」がみられたが、海水に接水させても全く運動が起らず、ほとんどの「精子」で尾部を欠いていたことから、この「精子」は精子変態が完全に行われていない精細胞ではないかと推測している。しかし、今回の観察では、形態には異常があるものの、尾部があり、運動性が認められたことから、イシダイでは、ヒラメと異なり、精子変態は進んでいるものと思われる。また、ニジマス<sup>3)</sup>やホンモロコ<sup>4)</sup>では、3倍体魚から得た精子で同種の2倍体魚を媒精すると、仔魚は得られるが多くは奇形であり、浮上り期までにはへい死することが知られている。今回実験したイシダイでは、受精率は調べていないが、

受精率は0%で胚体の形成も確認できなかったこと、精子の形態が異常で運動性が弱いことなどから、受精は起こらなかった可能性が高く、3倍体魚は不妊になるものと推察される。

### 謝 辞

走査電子顕微鏡用の試料の作成について懇切なるご指導をいただいた長崎大学水産学部吉越一馬教授に深謝する。

### 文 献

- 1) 小野里担：魚類の人為倍数化とその利用，水産育種，8 17～29 (1985)。
- 2) 荒川敏久・高屋雅生・井上潔・高見生雄・山下金義：低温処理法によるマダイおよびクロダイの3倍体誘導条件の検討，長崎水試研報，13 25～30 (1987)。
- 3) 岡田鳳二：ニジマスの人為的生統御に関する研究，北海道水産孵化研報，40，28～30 (1985)。
- 4) 上野 一：3倍体ホンモロコの不妊性と成熟，水産育種，10，37～41 (1986)。
- 5) R. Suzuki, T. Nakanisi, and T. Oshiro: Survival, growth, and sterility of induced triploids in the Cyprinid loach *Misgurnus anguillicaudatus*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51, 889～894 (1985)。
- 6) 田畑和夫・五利江重昭・川村芳浩：3倍体魚ヒラメの飼育特性と成熟，水産増殖，36，267～276 (1989)。
- 7) 田中克己・浜清：顕微鏡標本の作り方，第17版，裳華房，東京，1977，pp.248～250。
- 8) 入谷明：精液の性状とその検査，新家畜繁殖学講座Ⅱ，第2版，朝倉書店，東京，1973，pp.51～80。
- 9) 松尾玲子・吉越一馬：走査電子顕微鏡観察によるカンザシゴカイ類 *Hydroides* 属3種の精子の形態，付着生物研究，4，23～25 (1983)。

