

ホウライマスを雌親とする異質三倍体の成熟

服部克也・岩田靖宏・水野正之・峯島史明

Sexual Maturation of Allotriploids Induced by Using Female Houraimasu

HATTORI Katsuya^{*1}, IWATA Yasuhiro^{*2}, MIZUNO Masayuki^{*1}, and MINESHIMA Fumiaki^{*1}

Non-spotted allotriploids were induced by crossing female non-spotted rainbow trout named "houraimasu" with male Japanese char or male amago salmon. The gonado-somatic index (GSI: gonad weight $\times 100$ /body weight), and histological observation of gonads were examined to clear up their sexual maturity. In males of allotriploids derived by crossing female houraimasu and male Japanese char (abbreviated as triploid nijiwa), the average value of their GSI ranged from 1.025 to 1.626, and most of the samples had the pink-colored testis, some had the whole white-colored testis or the partially white-colored testis. A cross section of testis of 24 month-old fish showed spermatozoa partially. In females of triploid nijiwa, the average value of their GSI ranged from 0.021 to 0.079. A cross section of ovary of 24 month-old fish showed undeveloped germ cells. In males of allotriploids derived by crossing female houraimasu and male amago salmon (abbreviated as triploid nijima), the average value of their GSI ranged from 0.850 to 2.716, and their testis had many points similar to that of triploid nijiwa. In females of triploid nijima, the average value of their GSI ranged from 0.019 to 0.035, and their ovary had many points similar to that of triploid nijiwa. It is obviously that males gonads of triploid nijiwa and triploid nijima developed to maturity as autotriploids of rainbow trout and amago salmon, but further confirmation is needed to clarify their fertility.

All triploid nijiwa and triploid nijima should be produced as female to enhance the marketable values, and further they should be produced as only the seeds for pond-culture industry to conserve the wild genetic stock of Japanese char and amago salmon considering their crossing possibility with the wild stock.

キーワード：ホウライマス、異質三倍体、ニジイワ3N、ニジアマ3N、成熟、全雌化

近年マス類の養殖において、消費者の嗜好の多様化に伴い、刺し身等に用いる大型魚の需要が高まっている。このために倍数体育種の一つの手法として、大型魚生産に適している三倍体の作出が試みられている。^{1-5,11)} 一般に、三倍体は不妊であることが多いが、ニジマス *Oncorhynchus mykiss*,^{1,2)} アマゴ *Oncorhynchus rhodurus*^{3,4)} 等の同質三倍体の雄では、生殖腺の発達が認められ、一部の個体に精子の形成が確認されている。また、アユ *Plecoglossus altivelis* の同質三倍体の雄と二倍体の雌との交配により孵化仔魚が得られたことが報告されており、⁵⁾ 排出される精子の受精能力についても可能性が指摘されている。

こうした同質三倍体の雄に認められる成熟は、成熟に伴う肉質の劣化、成長遅滞という養殖魚としての負の側面と、自然環境に存在した場合には、在来系統との交雑を起こす可能性が考えられ、在来種の特性に影響をもたらすことが危惧されている。⁶⁾

一方、我々は、新品種の作出を目的として無斑のニジマスであるホウライマス *Oncorhynchus mykiss* を用いて、ホウライマス雌 \times イワナ雄 *Salvelinus leucomaenoides* 型異質三倍体（以下ニジイワ3N）、ホウライマス雌 \times アマゴ雄型異質三倍体（以下ニジアマ3N）等について無斑個体の作出を試み、それに成功したが、これら異質三倍体の成熟については調べていない。そこで、ニジイ

* 1 愛知県水産試験場 内水面漁業研究所 三河一宮指導所

(Mikawa Ichinomiya Station, Freshwater Resources Research Center, Aichi Fisheries Research Institute, Ichinomiya, Hoi, Aichi 441-12, Japan.)

* 2 愛知県水産試験場 漁業生産研究所

(Marine Resources Research Center, Aichi Fisheries Research Institute, Minamichita, Chita, Aichi 470-34, Japan)

Table 1. Sampling date, body length, body weight, and gonado-somatic index of male triploid nijiwa.

Age*	Date	No. of samples	BL±SD (cm)	BW±SD (g)	GSI±SD
1	Nov. 6 '92	20	19.7±1.2	122±20	2.83±1.13
	Nov. 20 '92	20	20.4±1.1	138±24	2.30±0.83
	Dec. 17 '92	21	22.3±1.3	188±35	1.30±0.82
	Dec. 31 '92	44	22.5±1.5	181±33	1.41±0.73
	Feb. 12 '93	29	24.5±0.9	232±28	0.89±0.41
	(Total)	(134)	(22.2±2.1)	(178±47)	(1.63±1.02)
2	Nov. 6 '92	20	30.7±1.6	506±71	1.60±0.60
	Nov. 12 '92	14	31.5±1.5	549±73	1.56±0.54
	Nov. 13 '92	16	29.0±2.3	483±97	1.29±0.37
	Dec. 3 '92	10	31.3±1.8	551±104	1.03±0.51
	Dec. 25 '92	40	31.7±2.3	535±83	0.67±0.25
	Jan. 7 '93	40	32.4±2.1	590±92	0.47±0.08
	Feb. 10 '93	40	32.2±2.6	535±103	0.49±0.17
3	(Total)	(174)	(31.5±2.2)	(537±98)	(0.87±0.56)
	Nov. 5 '92	10	43.5±1.6	1670±212	1.68±0.31
	Nov. 12 '92	10	43.4±2.2	1568±252	1.44±0.37
	Nov. 27 '92	5	44.8±1.3	1738±252	1.24±0.33
	Dec. 2 '92	5	41.9±1.3	1406±163	0.74±0.10
	Feb. 5 '93	20	45.3±1.5	1723±143	0.51±0.12
(Total)	(50)	(44.2±2.0)	(1651±222)	(1.03±0.55)	

(*): Age 1: 11~14 month-old. Age 2: 23~26 month-old. Age 3: 35~38 month-old.

ワ3Nおよびニジアマ3Nの成熟に関する調査を行ったので報告する。

材料および方法

供試魚はニジイワ3Nおよびニジアマ3Nの1年魚、2年魚、および3年魚を用いたが、これらは以下のとおりに作出了した。

ニジイワ3Nについては、ホウライマス雌2年魚から採卵した卵を、イワナ雄2年魚の精液と常法により媒精・吸水し、吸水10分後に26°Cの温水に20分間浸漬する温度処理を施した。処理後は通常の卵管理を行った。

ニジアマ3Nについては、ホウライマス雌2年魚から採卵した卵を、アマゴ雄2年魚の精液と常法により媒精・吸水し、ニジイワ3Nと同様の温度処理および卵管理を行った。また、孵化後はニジイワ3N、ニジアマ3N共に通常の飼付け飼育を行った。なお、供試魚の1年魚は1991年11月、2年魚は1990年11月、3年魚は1989年11月に作出了した。

愛知県水産試験場鳳来養魚場（現三河一宮指導所）での通常の産卵期は、ニジマス（ホウライマス）が11月中旬から1月中旬、イワナは11月中旬から12月中旬、アマゴは10月下旬から11月下旬であり、これら親魚として用いた魚種の産卵期から、供試魚の成熟に関する調

査は11月から2月を中心に行った。なお、供試魚の雌の一部については産卵期以外にも調査を実施した。

成熟に関する調査として、開腹により生殖腺の目視観察、生殖腺重量の測定、雄については排出による精液の排出の確認、および一部個体について生殖腺の組織標本の作成を行った。GSIは、生殖腺重量を体重で除し、これを100倍して求めた。組織標本については、Bouin液で固定後、Hematoxylin-Eosin染色を行い、顕微鏡下にて観察した。

結果

ニジイワ3N雄

生殖腺の観察を行った供試魚の観察日、観察個体数、平均体長、平均体重、およびGSI平均値をTable 1に示した。

また、観察された生殖腺を開腹した個体と共にFigs. 1-2に示した。1年魚、2年魚、および3年魚のほとんどの個体で肌色の色調を呈した精巣が認められた。この精巣は二倍体の精巣と比べて柔軟性が乏しく、折り曲げると切断され、切断面より精液が滲出することは認められなかったが、排出した場合には透明の精漿を排出する個体も存在した（Fig. 1）。この他の個体では、一部分または全体に白い精巣（以下白色精巣）が観察され、これらの精巣では少量ではあったが精液および精漿が認め



Fig. 1. 36 month-old male triploid nijiwa (top) and its pink-colored testis (bottom).



Fig. 2. 24 month-old male triploid nijiwa (top) and its white-colored testis (bottom).

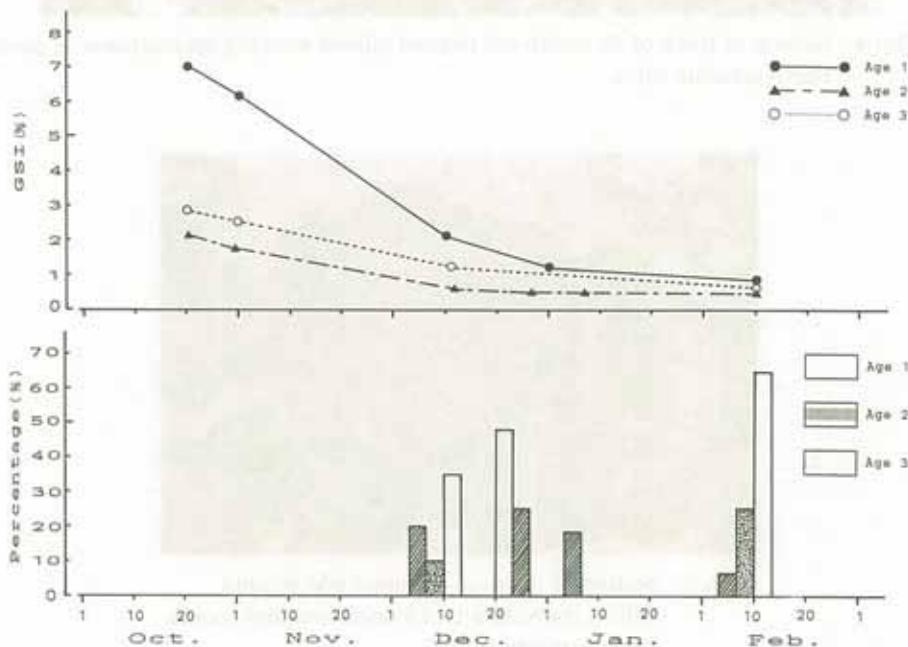


Fig. 3. Fluctuation of average of GSI in males triploid nijiwa (top) and the percentage of the white-colored testis (bottom). (Age 1: 11~14 month-old. Age 2: 23~26 month-old. Age 3: 35~38 month-old.)

られた (Fig. 2)。

また、観察期間での GSI 平均値の変化と白色精巢個体の出現率を Fig. 3 に示した。GSI 平均値は 1~3 年魚において、観察期間内で前半から後半にかけて漸減する傾向が認められ、白色精巢個体の出現率は観察期間を通して 5~40% 程度であった。なお、白色精巢個体のうち排出により実際に精液が排出されたのは、白色精巢個体全体の約 18% であり、排出された精液は二倍体の精液に比べて非常に薄い白色であった。

観察した個体のうち 3 年魚で、精漿の充満した透明な精巢を持つ個体が 1 尾確認された。

組織標本の作成を行った供試魚の観察日、観察個体数、平均体長、平均体重、および GSI 平均値を Table 2 に示した。2~3 年魚では、産卵期においても GSI 平均値の上昇は全く認められなかった。2 年魚について組織標本の作成を行い、その結果を Fig. 5 に示した。卵巣胞囊に卵原細胞、卵母細胞が含まれていることが確認されたが、これ以上に発達した卵細胞は認められなかった。また、空胞化している部分も認められた。

胞囊で鞭毛を有する精子の形成が認められたが、ほとんどの部分で精子形成が未発達であり、また、空胞化している部分も認められた。

ニジイワ 3N 雌

生殖腺の観察を行った供試魚の観察日、観察個体数、平均体長、平均体重、および GSI 平均値を Table 2 に示した。2~3 年魚では、産卵期においても GSI 平均値の上昇は全く認められなかった。2 年魚について組織標本の作成を行い、その結果を Fig. 5 に示した。卵巣胞囊に卵原細胞、卵母細胞が含まれていることが確認されたが、これ以上に発達した卵細胞は認められなかった。また、空胞化している部分も認められた。

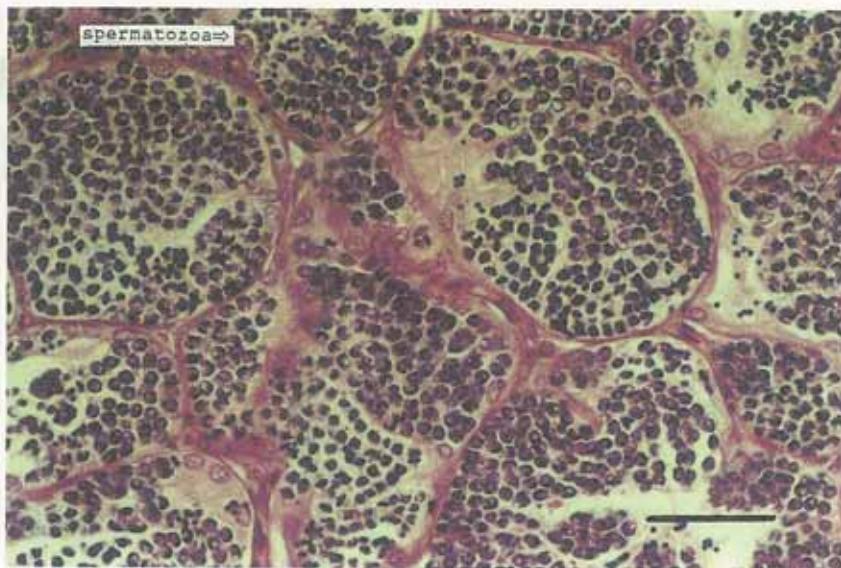


Fig. 4. Section of testis of 24 month-old triploid nijiwa showing spermatozoa in part.
Bar represents 50 μ m.

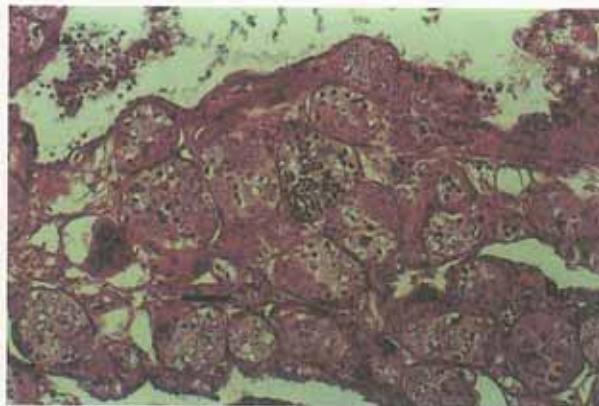


Fig. 5. Section of ovary of 24 month-old triploid nijiwa showing a lot of oogonium and oocyte.
Bar represents 50 μ m.

Table 2. Sampling date, body length, body weight, and gonado-somatic index of female triploid nijiwa.

Age*	Date	No. of samples	BL \pm SD (cm)	BW \pm SD (g)	GSI \pm SD
2	Sep. 4 '92	5	33.9 \pm 1.3	517 \pm 50	0.041 \pm 0.012
	Nov. 18 '92	5	34.0 \pm 1.7	650 \pm 97	0.055 \pm 0.011
3	Sep. 18 '91	5	30.2 \pm 1.5	430 \pm 57	0.079 \pm 0.010
	Nov. 18 '91	5	31.5 \pm 0.8	464 \pm 44	0.057 \pm 0.022
	Feb. 4 '92	5	35.5 \pm 1.7	696 \pm 65	0.040 \pm 0.028
	May. 12 '92	5	30.1 \pm 1.7	554 \pm 65	0.047 \pm 0.028
	Nov. 6 '92	1	46.4	1560	0.021
	Nov. 27 '92	10	49.5 \pm 3.5	2266 \pm 350	0.027 \pm 0.009
	Dec. 2 '92	4	49.6 \pm 1.9	2273 \pm 176	0.033 \pm 0.005
	Dec. 3 '92	1	51.4	2680	0.024
	Jan. 11 '93	1	52.4	2880	0.022
	Apr. 26 '93	7	51.3 \pm 2.0	2486 \pm 299	0.038 \pm 0.010
	Apr. 30 '93	17	52.1 \pm 2.4	2485 \pm 316	0.026 \pm 0.009

(*) Age 2: 21~23 month-old. Age 3: 21~40 month-old.

Table 3. Sampling date, body length, body weight, and gonado-somatic index of male triploid nijiiama.

Age*	Date	No. of samples	BL±SD (cm)	BW±SD (g)	GSI±SD
1	Oct. 21 '92	10	14.9±0.9	56±11	6.96±1.35
	Oct. 30 '92	28	17.3±1.6	82±22	6.24±1.34
	Dec. 11 '92	26	19.9±1.6	120±27	2.04±1.14
	Dec. 31 '92	42	19.1±1.7	103±29	1.20±0.66
	Feb. 12 '93	31	20.6±1.3	127±23	0.78±0.29
	(Total)	(137)	(18.9±2.2)	(104±32)	(2.72±2.53)
2	Oct. 20 '92	10	29.0±1.6	384±58	2.11±0.70
	Oct. 28 '92	33	28.6±2.0	387±68	1.83±0.64
	Dec. 3 '92	25	28.9±1.8	404±71	0.57±0.18
	Dec. 25 '92	44	29.8±1.9	423±66	0.51±0.13
	Jan. 7 '93	40	29.9±1.9	431±87	0.48±0.60
	Feb. 10 '93	20	29.7±1.7	397±57	0.43±0.10
	(Total)	(172)	(29.4±1.9)	(410±74)	(0.85±0.77)
3	Oct. 20 '92	10	37.8±1.9	865±180	2.94±0.47
	Oct. 29 '92	10	39.2±2.5	995±126	2.51±0.53
	Dec. 2 '92	10	39.6±2.5	959±142	1.19±0.37
	Feb. 9 '93	10	39.7±3.1	932±181	0.51±0.11
	Feb. 10 '93	10	41.4±2.4	1034±178	0.43±0.07
	(Total)	(50)	(39.5±2.8)	(957±176)	(1.52±1.10)

(*) Age 1: 11~14 month-old. Age 2: 23~26 month-old. Age 3: 35~38 month-old.



Fig. 6. 36 month-old male triploid nijiiama (top) and its pink-colored testis (bottom).

ニジアマ 3N 雄

生殖腺の観察を行った供試魚の観察日、観察個体数、平均体長、平均体重、および GSI 平均値を Table 3 に示した。

また、観察された生殖腺を開腹した個体と共に Figs. 6-7 に示した。1年魚、2年魚、および3年魚のほとんどの個体でニジイワ 3N 同様に肌色の色調を呈した精巢が認められた。この精巢の性状は、ニジイワ 3N で認められた肌色の精巢と同じであった (Fig. 6)。この他の個体でニジイワ 3N にも見られた白色精巢が観察され、これらの精巢では少量ではあったが、精液および精漿が認められた (Fig. 7)。

観察期間での GSI 平均値の変化と白色精巢個体の出現率を Fig. 8 に示した。GSI 平均値は 1~3 年魚において、観察期間内で前半から後半にかけて低下する傾向が認められたが、白色精巢個体の出現率は観察期間を通して 5~65% 程度であり、観察期間の後半に出現率が高くなることが認められた。なお、白色精巢個体のうち排出により実際に精液が排出されたのは、白色精巢個体全体の約 18% であり、排出された精液は二倍体に比べて非常に薄い白色であった。

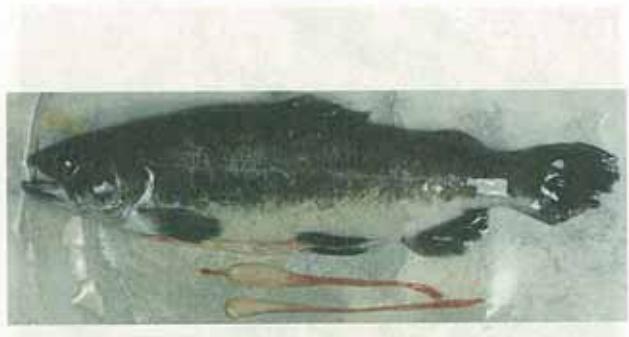


Fig. 7. 24 month-old male triploid nijiiama (top) and its white-colored testis (bottom).

観察した個体のうち 2 年魚で、精漿の充満した透明な精巢を持つ個体が 1 尾確認された。

組織標本の作成を 1 年魚および 2 年魚の精巢について行ったが、2 年魚での結果を Fig. 9 に示した。ニジイワ 3N 同様に一部の精巢胞巣で鞭毛を有する精子の形成が認められたが、ほとんどの部分で精子形成が未発達であり、また、空胞化している部分も認められた。

ニジアマ 3N 雌

生殖腺の観察を行った供試魚の観察日、観察個体数、平均体長、平均体重、および GSI 平均値を Table 4 に

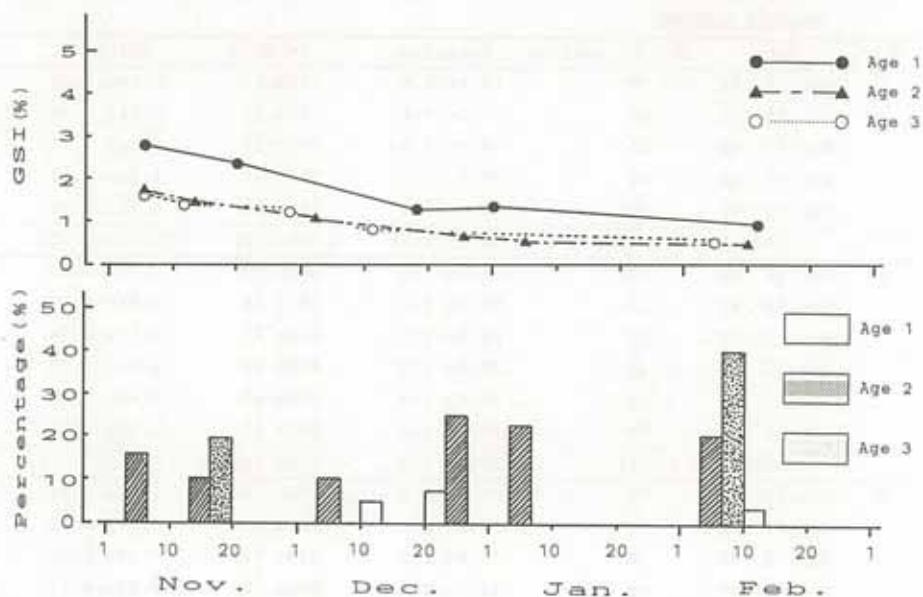


Fig. 8 Fluctuation of average values of GSI in males triploid nijiama (up) and the percentage of the white-colored testis (bottom). (Age 1: 11~14 month-old. Age 2: 23~26 month-old. Age 3: 35~38 month-old).

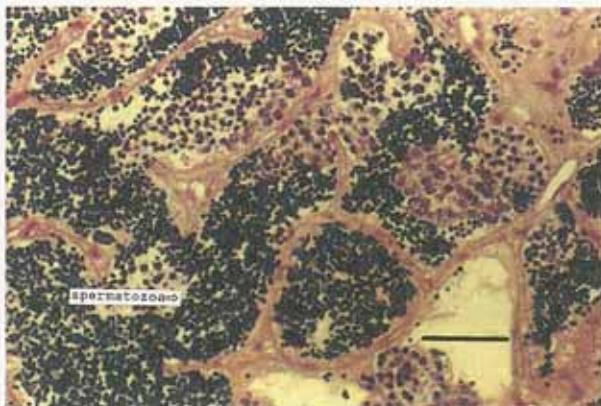


Fig. 9. Section of testis of 24 month-old triploid nijiama showing spermatozoa in part. Bar represents 50 μm.

示した。2~3年魚では、産卵期においてもGSI平均値の上昇は全く認められなかった。2年魚について組織標本の作成を行い、その結果をFig. 10に示した。ニジイワ3N同様に卵巣胞囊に卵原細胞、卵母細胞が含まれていることが確認されたが、これ以上に発達した卵細胞は認められなかった。また、空胞化している部分も認められた。

考 察

本報でのニジイワ3Nおよびニジアマ3Nで観察された精巢はアマゴ同質三倍体⁴⁾の場合と同様な精巢の色を呈していることが認められ、また組織標本の結果でも、発達退行現象とされる精巢内の生殖細胞の状態が観

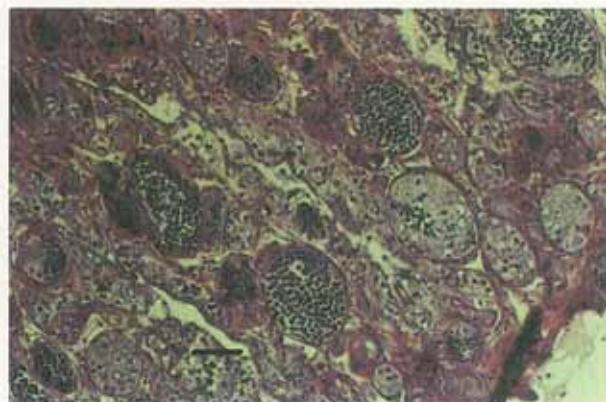


Fig. 10. Section of ovary of 24 month-old triploid nijiama showing a lot of oogonium and oocyte. Bar represents 50 μm.

察された。これらの肌色精巢では部分的に精子形成が認められたことから、ニジマス同質三倍体²⁾同様に排出された透明な精液には精子が存在していると思われた。

なお、一部で認められた白色精巢は、精巢内の生殖細胞の発達が部分的または全体的に進んだ個体と考えられ、観察個体のうちニジイワ3Nでは1年魚で約4%，2年魚で約19%，3年魚で約22%，ニジアマでは1年魚で約36%，2年魚で約15%，3年魚で約12%を占めていた。すなわちニジイワ3N、ニジアマ3Nでは肉眼で確認される精液を排出する可能性がある個体が全体の約4分の1から3分の1は存在していると考えられた。なお、ニジアマ3Nでは精液が排出された個体は確認されなかつたと報告されているが、⁷⁾これは観察された個体数が少なかったためと思われる。ニジマス同質三倍体

Table 4. Sampling date, body length, body weight, and gonado-somatic index of female triploid nijiamia.

Age*	Date	No. of samples	BL±SD (cm)	BW±SD (g)	GSI±SD
2	Sep. 14 '92	5	29.3±0.5	337±22	0.025±0.007
	Nov. 18 '92	6	30.6±1.3	426±68	0.037±0.013
3	Sep. 18 '91	7	27.2±2.2	305±85	0.035±0.007
	Nov. 18 '91	6	29.7±0.7	385±39	0.030±0.008
	Feb. 4 '92	6	32.5±0.8	466±24	0.027±0.010
	May. 12 '92	5	35.1±1.7	554±65	0.047±0.028
	Dec. 3 '92	1	42.6	1390	0.022
	Jan. 13 '93	10	41.3±2.8	1209±249	0.019±0.008
	Apr. 26 '93	1	42.6	1180	0.008

(*) Age 2: 21~23 month-old. Age 3: 21~40 month-old.

雄において、ステロイドホルモン (Testosterone, 11-Ketotestosterone) の最高値は GSI の最高値を示した時期よりも 1か月程遅れることが報告されており、²⁾ ニジアマ 3N に認められた産卵期の後半に白色精巢個体の出現率が高い傾向は、ステロイドホルモンの影響が考えられた。しかし、ニジイワ 3N では産卵期間を通して白色精巢の出現率は変化しない傾向が認められることから、ステロイドホルモン等の内分泌の影響以外の可能性が存在していると思われた。

本報においてニジイワ 3N 1尾、ニジアマ 3N 1尾で透明な精巢を持っていたことが確認されたが、テラビア同質三倍体の精巢では透明な精巢を持つことが報告されており、³⁾ 生殖腺の発達の段階でテラビア同質三倍体の場合と同様な状態が生じたと考えられた。

なお、本報ではニジイワ 3N およびニジアマ 3N の雄から得られた精液の受精能力について調査を行わなかつたが、イワナ、アマゴ等の在来マス類、ニジマスとの交雑を行い、その受精能力を調べる必要があると思われた。

ニジイワ 3N およびニジアマ 3N の雌の生殖腺組織は、ニジマス同質三倍体、⁹⁾ およびアマゴ同質三倍体⁴⁾ の生殖腺組織に見られたと同じく卵細胞が未発達な状態にあり、また 3 年魚においても生殖腺の発達が認められなかつたことから、不妊であると判断された。なお、ニジアマ 3N の 2 年魚雌については、産卵期の GSI は 0.02~0.05 との報告があり、⁷⁾ 本報での数値と同様であることが確認された。

神田は、ニジイワ 3N およびニジアマ 3N の雌雄の体成分を比較したところ、雄については産卵期においてニジマス二倍体の雄と同様な成分変化が見られ、生殖腺の発達に伴う肉質の低下が起こる¹⁰⁾ ことを示した。また、雌については、産卵期での体成分の変化はなかつた¹⁰⁾ ということから、ニジマス同質三倍体¹¹⁾ 同様に商品価値は安定しているとされた。

このため、三倍体魚養殖の効率化、および自然環境下における在来種の特性への配慮から、ニジアマ 3N においては全雌化の必要性が指摘されているが、⁷⁾ ニジイワ 3N についても同様に雄親魚に性転換雄を用いて全雌化を行うことが望ましいと考えられた。また、これらの異質三倍体は池中養殖の種苗として利用されるべきと思われた。

謝 辞

本報を稿するにあたり、校閲および有益な助言を賜りました高知大学 谷口順彦教授に心より御礼申し上げます。また、生殖腺組織の観察について東京水産大学 酒井清助教授にご指導を賜りました。ここに感謝の意を表します。

文 献

- 岡田鳳二 (1987) ニジマスの人为的性統御と不妊化。水産育種, 12, 1-16.
- 滋賀県醒井養鰯場 (1987) マス類の人为倍数体利用による育種に関する研究。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, 12-25.
- 臼田 博 (1986) 染色体操作による有用魚種の品質改善研究—I. 岐阜県水産試験場研究報告, 31, 15-19.
- 滋賀県醒井養鰯場 (1988) マス類の人为倍数体利用による育種に関する研究。昭和 63 年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書, 8-14.
- 岐阜県水産試験場 (1990) 染色体の倍数化技術の応用によるアユ・アマゴの品種改良研究。平成 2 年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書, 2-6.
- 小野里坦 (1985) サケ・マス類の染色体操作について。第 9 回全国養鰯技術協議会要録, 宮城県, 67-78.
- 臼田 博 (1988) 染色体操作による有用魚種の品質改善研究—II. 岐阜県水産試験場研究報告, 33, 21-27.
- 佐藤 将・富田政勝・岩橋正雄・中村 将 (1990) テラビア三倍体の生殖特性。新潟県内水面水産試験場調査研究報告, 16, 73-81.

- 9) 中村 将・長浜嘉孝・岩橋正雄・小島将男 (1987) ニジマス三倍体雌の生殖腺と血中ステロイドホルモン. 東京大学海洋研究所 大船臨海研究センター報告. 12, 167-171.
- 10) 神田文雄 (1992) 先端技術による養殖魚の品質特性とその評価に関する研究. 東京水産大学大学院修士学位論文.
- 11) 小林 徹 (1992) 長期混合飼育下での人為三倍体ニジマスの成長、生残および生殖周期. 水産増殖. 40(1), 57-70.

要 約

ニジイワ 3N およびニジアマ 3N の雄、雌の成熟について、産卵期に生殖腺の測定および観察を行った。ニジイワ 3N およびニジアマ 3N の雄では、GSI 平均値は

0.850~2.716 であり、ほとんどの個体で肌色の精巢が認められた。また、精巢の一部分または全体が白色の精巢を持つ個体も存在し、薄い精液ではあるが排出する個体を確認した。精巢では、部分的ではあるが精子形成が認められた。ニジイワ 3N およびニジアマ 3N の雌の GSI 平均値は 0.019~0.079 であり、卵巣の発達は全く認められなかった。これらから、自然界における在来系統との交雑を避けるため、および養殖魚としての商品価値の観点からニジイワ 3N、ニジアマ 3N については全雌化を行う必要があり、池中養殖種苗として利用されるべきと思われた。