



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                  |                                                                                                                      |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title            | 二倍体―四倍体モザイクアマゴにおける卵のサイズと倍数性                                                                                          |
| Author(s)        | 山木, 勝; 荒井, 克俊                                                                                                        |
| Citation         | 日本水産学会誌, 69(2), 208-210<br><a href="https://doi.org/10.2331/suisan.69.208">https://doi.org/10.2331/suisan.69.208</a> |
| Issue Date       | 2003                                                                                                                 |
| Doc URL          | <a href="https://hdl.handle.net/2115/35173">https://hdl.handle.net/2115/35173</a>                                    |
| Rights           | © 2003 公益社団法人日本水産学会                                                                                                  |
| Type             | journal article                                                                                                      |
| File Information | arai-77.pdf                                                                                                          |



## 短

## 報

二倍体—四倍体モザイクアマゴにおける  
卵のサイズと倍数性山木 勝,<sup>1,2\*</sup> 荒井克俊<sup>2</sup>

(2002 年 4 月 30 日受付, 2002 年 8 月 29 日受理)

<sup>1</sup>愛媛県立宇和島水産高等学校,<sup>2</sup>北海道大学大学院水産科学研究科Correlation between ploidy and size of the eggs  
spawned by the diplo-tetraploid mosaic  
amago salmon *Oncorhynchus masou ishikawae*MASARU YAMAKI<sup>1,2\*</sup> AND KATSUTOSHI ARAI<sup>2</sup><sup>1</sup>Ehime Prefectural Uwajima Fishery High School, Uwajima, Ehime 798-0068, <sup>2</sup>Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, Japan

キーワード: 倍数体, モザイクアマゴ, 卵サイズ, フローサイトメトリー

アマゴ *Oncorhynchus masou ishikawae* の卵割阻止により生じた二倍体—四倍体のモザイク個体と二倍体の交配では, 三倍体が高頻度で出現することが知られている。<sup>1-3)</sup> このことは, 二倍体—四倍体モザイクアマゴの配偶子は四倍体細胞由来であることを示すものであり, 倍数体の効率的作出に利用可能である。しかしながら, モザイクアマゴの配偶子を利用する当たって, 交配前に配偶子の倍数性を明らかにする必要がある。

魚類の細胞は倍数性の上昇に伴い大型化することが知られている。<sup>4-11)</sup> 同様のことは配偶子においても認められ, ニジマスおよびアマゴの人為四倍体の二倍体精子の例が報告されている。<sup>3,12,13)</sup> また, ドジョウ四倍体および六倍体の雌が産生する二倍体および三倍体卵は, サイズが倍数性に比例して大きい。<sup>14,15)</sup> これらのことは, いくつかの魚種においては, 配偶子のサイズが倍数性を示す外見的指標となり得ることを示唆する。二倍体—四倍体モザイク個体において, 四倍体細胞由来の卵細胞がもし正常に減数分裂を行えば, 生じた卵は二倍体となり, 通常の半数体の卵よりも大きくなることが予想されるが, この点については未確認のままである。

本研究では, 卵割阻止により得られたアマゴについて, 赤血球の核 DNA 量とサイズから二倍体—四倍体モザイクの可能性が高い雌を選び出し, その卵の倍数性とサイズ(卵径)の関係を調べた。

高水圧処理法(650 kg/cm<sup>2</sup>, 6 分間)による第 1 卵割

阻止(1998 年 11 月 13 日実施)は次のとおりである。2 才令の雌 31 個体と雄 9 個体間の交配から得られた受精卵(培養水温 14.9°C)を 13 のグループに分け, 媒精後 4 時間から 7 時間までの間に 30 分毎にそれぞれのグループについて処理を行った。処理約 7 ヶ月後(1999 年 5 月 21 日)に生存していた稚魚 52 個体のうち, 最多核小体数 4<sup>1-3)</sup>を示す卵割阻止処理魚(処理魚)は 22 個体(42.3%)であり, 残り 30 個体の最多核小体数は 2 であった。

処理魚およびその交配子孫の倍数性は, 血液および正常発眼卵の胚を試料として DNA 量フローサイトメトリー<sup>3)</sup>により決定した。また, 血液塗抹標本において, 赤血球サイズ(核長径)を個体毎に 50 個測定した。大型赤血球<sup>1-3)</sup>については写真撮影を行い, その写真中の比率を求めた。

2000 年 10 月 25 日時点で最多核小体数 4 で選別した 16 個体の処理魚が生存しており, このうち雌 9 個体と雄 5 個体が成熟していた。この 14 個体中, 雌 7 個体と雄 5 個体(4 nF#1-5)は, 対照とした二倍体(平均核 DNA 量  $96.9 \pm 2.13$ , 範囲 94.2-98.7; 平均赤血球核長径  $7.2 \pm 0.39 \mu\text{m}$ , 範囲 6.8-7.6  $\mu\text{m}$ )とほぼ同量の相対核 DNA 量(平均  $102.3 \pm 3.33$ , 範囲 96.9-105.9)と赤血球核サイズ(平均  $6.9 \pm 0.48 \mu\text{m}$ , 範囲 6.1-7.6  $\mu\text{m}$ )を示したことから, 二倍体であると判定された。しかしながら, 4 nF#1(雌)は, 102.9(2C)と 203.8(4C)の異なる相対核 DNA 量を示す二つのピーク(細胞比 13.7:86.3)が確認されたことから, 二倍体—四倍体モザイクであると判定された。この個体の赤血球の 11.5%は二倍体サイズ(核径  $6.1 \pm 0.76 \mu\text{m}$ )であったが, 残りの 88.5%は大型赤血球(核径  $10.3 \pm 0.69 \mu\text{m}$ )であった。相対核 DNA 量(99.9)から二倍体と判定された 4 nF#2(雌)では, 二倍体サイズの赤血球(核径  $6.2 \pm 0.68 \mu\text{m}$ )の他に大型赤血球(核径  $10.1 \pm 0.77 \mu\text{m}$ )が 2.6%の割合で存在し, 軽度のモザイク性が見られた。

これら二倍体—四倍体モザイク雌と二倍体ないしは処理魚雄との間で交配を行った。二倍体雌 2 個体(2 nF#1, 2)の卵はプールして交配を行った。二倍体雌の卵径は 5~7 mm(平均 5.9 mm)であった。二倍体同士の対照交配区の発眼率(約 300°C・日)は 76.1%で, フローサイトメトリーの結果において, 胚( $n=12$ )はすべて二倍体であった(Table 1)。

モザイク 4 nF#1 と二倍体雄の交配から得られた受精後の卵径は 6~10 mm であり, 対照と比較して大型卵

\* Tel : 81-895-22-6575. Fax : 81-895-25-0751. Email : yamaki-masar@esnet.ed.jp

**Table 1.** Ploidy and egg diameter of eyed-egg embryos developing from the fertilization of eggs of diplo-tetraploid mosaic females (4 nF#1 and #2) with haploid sperm of one diploid and five putative tetraploid males in amago salmon *Oncorhynchus masou ishikawae*

| Female #                  | Diameter of eyed eggs (mm) | Ploidy determined by DNA content flow cytometry |                             |          |                              |                      |                    | Total |
|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------|----------|------------------------------|----------------------|--------------------|-------|
|                           |                            | Diploid                                         | Hyper-diploid* <sup>1</sup> | Triploid | Hyper-Triploid* <sup>2</sup> | Haplo-diploid mosaic | N.D.* <sup>3</sup> |       |
| 2 nF#1 + #2* <sup>4</sup> | 5-6                        | 7                                               | 0                           |          | 0                            | 0                    | 0                  | 7     |
|                           | 6-7                        | 5                                               | 0                           | 0        | 0                            | 0                    | 0                  | 5     |
|                           | sum                        | 12(100)* <sup>6</sup>                           | 0                           | 0        | 0                            | 0                    | 0                  | 12    |
| 4 nF#1* <sup>4</sup>      | 6-7                        | 1                                               | 1                           | 7        | 1                            | 0                    | 0                  | 10    |
|                           | 7-8                        | 1                                               | 5                           | 5        | 4                            | 0                    | 1                  | 16    |
|                           | 8-9                        | 0                                               | 2                           | 11       | 5                            | 0                    | 1                  | 19    |
|                           | 9-10                       | 0                                               | 1                           | 0        | 0                            | 0                    | 0                  | 1     |
|                           | Sum                        | 2(4.3)                                          | 9(19.6)                     | 23(50.0) | 10(21.7)                     | 0                    | 2(4.3)             | 46    |
| 4 nF#2* <sup>5</sup>      | 4-5                        | 7                                               | 0                           | 1        | 0                            | 0                    | 0                  | 8     |
|                           | 5-6                        | 12                                              | 0                           | 0        | 0                            | 0                    | 0                  | 12    |
|                           | 6-7                        | 9                                               | 0                           | 0        | 0                            | 1                    | 0                  | 10    |
|                           | 7-8                        | 17                                              | 0                           | 1        | 0                            | 0                    | 0                  | 18    |
|                           | 8-9                        | 0                                               | 0                           | 6        | 0                            | 0                    | 0                  | 6     |
|                           | 9-10                       | 0                                               | 1                           | 3        | 0                            | 0                    | 0                  | 4     |
|                           | Sum                        | 45(77.6)                                        | 1(1.7)                      | 11(19.0) | 0                            | 1(1.7)               | 0                  | 58    |

\*<sup>1</sup> 2.3 n to 2.7 n. \*<sup>2</sup> 3.3 n to 3.7 n. \*<sup>3</sup> Not determined. \*<sup>4</sup> Crossed with one diploid male.\*<sup>5</sup> Crossed with five putative tetraploid males determined diploid, individually. \*<sup>6</sup> Figures in parentheses are percentages.

が高頻度に見られた。この交配区の発眼率は18.6%と低く、胚の50%は三倍体で、二倍体は僅か4.3%であった。その他に、倍数性が2.3 n~2.7 nの間である高二倍体(19.6%)と3.3 n~3.7 nである高三倍体(21.7%)が見られた(Table 1)。以上の結果を卵サイズについて見ると、三倍体あるいは高三倍体は直径6~7 mm(80.0%)と8~9 mm(84.2%)の発眼卵に多かった。

二倍体雌と処理魚雄4 nM#1-5間における各交配区の正常発眼率は67.8-78.8%であった。この交配で得られた胚(n=58)はすべて二倍体であったことから、4 nM#1-5の精子はすべて半数体(1 n)であったと推定される。

モザイク雌4 nF#2の卵と処理魚雄5個体(4 nM#1-5)で各々受精したグループからは各交配区に直径4~10 mmの卵が見られ、正常発眼率は36.6-61.8%(平均51.2%)であった。胚の倍数性は、77.6%の二倍体の他、19.0%の三倍体、1.7%の半数体-二倍体モザイク、1.7%の高二倍体が見られた。処理魚雄4 nM#1-5の精子は半数体(1 n)であったことから、この交配区で生じた三倍体は、4 nF#2が産生した二倍体卵に由来すると考えられる。倍数性を卵サイズ毎に見ると、卵径4~7 mmの発眼卵では、三倍体は低頻度(3.3%)であったが、卵径7 mm以上の大型発眼卵では35.7%が三倍体であった(Table 1)。

以上の結果から、卵割阻止により生じた二倍体-四倍体モザイク個体の雌の卵と通常精子(1 n)の交配にお

いて、大型の卵では三倍体が高頻度で出現することが判明した。このことは、大型卵は二倍体の可能性が高いことを示唆する。モザイク個体の雌がどのくらいの頻度で二倍体卵を作るかは不明であることから、採卵の際、倍数性を反映する卵サイズに注目することは重要である。今後、第1卵割阻止処理魚から大型卵が得られた場合、これらを二倍体と想定して交配に用いることは、三倍体あるいは染色体操作を併用しての四倍体作出において有効であると考えられる。

二倍体-四倍体モザイクの4 nF#1の子孫には、高二倍性、高三倍性の異数体が高頻度に見られた。四倍体では二価あるいは四価染色体の形成により、正常な減数分裂が生じることが期待できるが、実際には、異数体配偶子形成が生じたことが考えられる。可能性としては、四倍体の生殖細胞において、三価染色体と一価染色体が同時に形成され、異数体配偶子が形成されたのかもしれない。従って、4 nF#1から得られた卵の発眼までの生残率が特に低かったことは、異数性による発生異常によるものとも考えることができる。このような異数体配偶子形成はニジマス人為四倍体において既に報告されている。<sup>16)</sup>

4 nF#2は、フローサイトメトリーによるモザイク性の確認が困難であったが、交配実験において、四倍体由来と思われる二倍体卵が比較的多く見られたことは、器官・組織によるモザイク性の相違を示している。この理由として4 nF#2は、血液細胞の多くが二倍体である

が、生殖腺は四倍体細胞を多く含むモザイクであったと考えられる。

### 謝 辞

飼育にあたった佐藤正治氏、佐藤治平氏に感謝申し上げます。本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (B) (2) (課題番号 13460079) および秋山記念生命科学振興財団助成金に拠った。

### 文 献

- 1) 山木 勝, 佐藤正治, 佐藤治平, 昆 洋一, 張 全啓, 内村祐之. 高水圧および高水温処理によるアマゴ四倍体の誘起とその最大核小体数と DNA 量測定による確認. 水産育種 1997; **25**: 37-48.
- 2) 山木 勝, 佐藤治平, 谷浦 興, 荒井克俊. 二倍体一四倍体モザイクアマゴの子孫. 日水誌 1999; **65**: 1084-1089.
- 3) 山木 勝, 荒井克俊. 第 1 卵割阻止に由来するアマゴにおける配偶子の倍数性. 北海道大学水産学部研究彙報 2000; **51**: 135-152.
- 4) Benfey TJ, Sutterlin AM, Thompson RJ. Use of erythrocyte measurements to identify triploid salmonids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1984; **41**: 980-984.
- 5) Utter FM, Johnson OW, Thorgaard GH, Ravinovitch PS. Measurement and potential applications of induced triploidy in Pacific salmon. *Aquaculture* 1983; **35**: 125-135.
- 6) Lou YD, Purdom CE. Polyploidy induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 1984; **25**: 345-351.
- 7) Johnstone R, Lincoln RF. Ploidy estimation using erythrocytes from formalin-fixed fry. *Aquaculture* 1986; **55**: 145-148.
- 8) Aliah RS, Yamaoka K, Inada Y, Taniguchi N. Effects of triploidy on tissue structure of some organs in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1990; **56**: 569-575.
- 9) Aliah RS, Inada Y, Yamaoka K, Taniguchi N. Effects of triploidy on hematological characteristics and oxygen consumption in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 833-836.
- 10) 山本 淳, 飯田貴次. 三倍体ニジマスの血液学的性状. 魚病研究 1994; **29**: 239-243.
- 11) Arai K, Matsubara K, Suzuki R. Karyotype and erythrocyte size of spontaneous tetraploidy and triploidy in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 2167-2172.
- 12) Chourrout D, Chevassus B, Krieg F, Happe A, Burger G, Renard P. Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females—Potential of tetraploid fish. *Theor. Appl. Genet.* 1986; **72**: 193-206.
- 13) Blanc J-M, Chourrout D, Krieg F. Evaluation of juvenile rainbow trout survival and growth in half-sib families from diploid and tetraploid sires. *Aquaculture* 1987; **65**: 215-220.
- 14) Zhang Q, Arai K. Flow cytometry for DNA contents of somatic cells and spermatozoa in the progeny of natural tetraploid loach. *Fisheries Sci.* 1996; **62**: 870-877.
- 15) Arai K, Taniura K, Zhang Q. Production of second generation progeny of hexaploid loach. *Fish. Sci.* 1999; **65**: 186-192.
- 16) Chourrout D, Nakayama I. Chromosome studies of progenies of tetraploid female rainbow trout. *Theor. Appl. Genet.* 1987; **74**: 687-692.

# 若狭湾西部海域で漁獲されたアカアマダイの精巢重量と精巢精子の運動活性

藤浪祐一郎, 竹内宏行, 津崎龍雄 (日裁協宮津),  
太田博巳 (養殖研)

成熟期に採捕されたアカアマダイの雄成魚を用い, 全長と精巢重量, および精巢精子の運動活性の関係について調べた。調査した全長 35 cm 以上の成魚全 57 尾の平均全長は  $39.2 \pm 0.3$  cm, 精巢重量は  $1.52 \pm 0.09$  g, 精巢精子の運動精子比は  $52.4 \pm 1.9\%$  であった。精巢重量は, 全長との間に正の相関を持つことが認められたが, 精巢精子の運動精子比と全長との間には負の相関が認められた。全長と精巢重量, 全長と精巢精子の運動精子比のそれぞれの関係式から, 受精可能な精子を最も効率的に採取できる親魚の全長は 42.0 cm と推定された。

日水誌, **69**(2), 197-200 (2003)

# 新潟県沿岸海域におけるオニオコゼ *Inimicus japonicus* の年齢と成長および産卵期

渡辺憲一, 貝田雅志, 花田利香子,  
伊藤 東 (新潟県立海洋高)

新潟県上越沿岸海域で採集された 292 個体を実験材料として用いて, オニオコゼの年齢と成長の関係を明らかにするとともに産卵期を推定した。後翼状骨に形成された輪紋は年 1 回形成される年輪であることから, 輪紋を用いて年齢査定し, 各輪紋形成時における計算全長を算出した。これをもとに von Bertalanffy の成長式を雌雄別に導いたところ, 全長, 体重ともに雌の方が雄よりも成長の良いことが明らかになった。また, 生殖腺熟度指数 *GSI* の月別変化から産卵期間は 6 月から 8 月であると推定された。 日水誌, **69**(2), 201-207 (2003)

# 二倍体—四倍体モザイクアマゴにおける卵のサイズと倍数性 (短報)

山木 勝 (宇和島水産高, 北大院), 荒井克俊 (北大院)

高水圧処理による第 1 卵割阻止 (受精 4~7 時間後, 650 kg/cm<sup>2</sup>, 6 分間) により生じた二倍体—四倍体モザイクアマゴが産生する卵のサイズと倍数性の関係について調査した。対照とした二倍体の発眼卵の直径は 5~6 mm (平均 5.9 mm) であったのに対し, モザイク個体においては 4~10 mm であった。モザイク雌 2 個体の卵を二倍体雄の精子で受精させたところ, 二倍体以外に三倍体が出現した。三倍体は, 直径 7 mm 以上の大型発眼卵で特に高い頻度で見られた。以上の結果は, モザイクアマゴが産生する大型卵は四倍体細胞由来の二倍体の可能性が高いことを示唆する。

日水誌, **69**(2), 208-210 (2003)

# 貝類リゾチームの体内分布 (短報)

宮内浩二, 松宮政弘, 望月 篤 (日大生物資源)

貝類におけるリゾチームの生物学的意義を解明する一環として, 部位の分別が可能な 6 種について, リゾチームの体内分布を検討した。活性はほとんどの部位に認められたが, いずれの種においても消化器官で強く, 他の部位の約 2-4 倍以上の活性が検出された。ヤマトシジミの消化器官, ヒザラガイ消化管およびウチムラサキ中腸腺で活性が高く, 特にヤマトシジミ消化器官での値はニワトリ卵白リゾチームに匹敵した。このことから, 貝類リゾチームは主に消化器官に存在し, 腸内細菌相の制御および生体防御の両者に深く関与していることが示唆された。

日水誌, **69**(2), 211-213 (2003)