若狭湾西部海域で漁獲されたアカアマダイの 精巣重量と精巣精子の運動活性

藤浪祐一郎,^{1a*} 竹内 宏行,¹ 津崎 龍雄,¹ 太田 博巳^{2b}

(2002 年 4 月 18 日受付, 2002 年 10 月 16 日受理)

¹日本栽培漁業協会宮津事業場,

²独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所

Testicular weight and testicular spermatozoa motility of red tilefish,
Branchiostegus japonicus, captured in western Wakasa Bay

YUICHIRO FUJINAMI,^{1a*} HIROYUKI TAKEUCHI,¹

TATSUO TSUZAKI¹ AND HIROMI OHTA^{2b}

¹Miyazu Station, Japan Sea-Farming Association, Miyazu, Kyoto 626-0052, ²National Research Institute of Aquaculture, Nansei, Mie 516-0193, Japan

Fifty-seven male red tilefish from 35.6 to 43.2 cm in total length (*TL*) were captured in Wakasa Bay during the maturation period (September to October). Relationships among the total length (*TL*), testicular weight (*TW*), and motility of testicular sperm (% motility) were examined. *TL*, *TW*, and % motility were 39.2 ± 0.3 cm, 1.52 ± 0.09 g, and $52.4 \pm 1.9\%$, respectively. As *TL* increased, *TW* increased and % motility decreased significantly ($r=0.61$ and $r=-0.58$, respectively). The total length of the male for collecting the largest amount of potent testicular sperm was calculated as 42.0 cm from the equation of these regression lines.

キーワード：精子活性, 精巣, 種苗生産, 人工授精, アカアマダイ

本州中部以南に分布するアカアマダイ *Branchiostegus japonicus* は主に延縄, 一本釣, 底曳網, こぎ刺網等で漁獲される高級魚である。¹⁾ 本種は海底に巣穴を掘って生息し,²⁾ 大きな回遊はしないと考えられることから³⁾ 地域に密着した栽培漁業の対象種として注目されている。⁴⁾ 日本栽培漁業協会宮津事業場では, 1984 年から本種の種苗生産技術の開発に取り組んでおり, 1999 年には天然親魚にヒト胎盤性生殖腺刺激ホルモンを投与して得た卵と漁獲された雄鮮魚の精巣から採取した精子を用いて人工授精を行い, 350 万粒の受精卵を得る事に成功している。⁵⁾ しかし, 鮮魚の精巣から得られる精子の運動活性は個体差が大きく, これが人工授精の結果を左右する大きな要因となっている。高い受精率を得るためには活性の高い精巣精子を多く持つ個体を人工授精親魚として用いることが重要と考えられるが, アカアマダイの

精液量は極めて少なく,⁴⁾ 解剖により精巣精子を採取する方法以外で精子を得ることは困難であるため, 雄成魚を購入する時点でその個体が活性の高い精子を有するの可否かを判別することは不可能である。

これまで, アカアマダイの雄の成熟に関する調査はいくつか行われているが,^{3,6,7)} 精巣精子の運動活性に着目した調査は筆者らの知る限り行われておらず, 活性の高い精子を多く有する個体の選択基準については明らかにされていない。アカアマダイは漁獲された鮮魚を人工授精用親魚として用いるため, 選択基準のパラメータは漁港において迅速かつ容易に測定できるものが望ましい。そこで我々は運動活性の高い精子を多く有する個体の選択基準作りを目的として, 容易に測定可能な全長に注目し, 全長と精巣精子の運動活性, ならびに精巣重量の関係について調査を行い, いくつかの知見を得たのでここ

* Tel : 81-193-63-8121. Fax : 81-193-64-0134. Email : yuichiro-fujinami@jasfa.or.jp

^a 現所属：日本栽培漁業協会宮古事業場 (Miyako Station, Japan Sea-Farming Association, Miyako, Iwate 027-0097, Japan)

^b 現所属：近畿大学農学部水産学科 (Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kinki University, Nara, Nara 631-8505, Japan)

に報告する。

実験方法

材料 若狭湾西部海域において産卵盛期とされる9月と10月³⁾に底延縄で漁獲され、京都府伊根町の伊根漁港に水揚げされた全長 39.2 ± 0.3 cm (35.6~43.2 cm) のアカアマダイ雄成魚 57 尾を材料として用いた。供試魚は漁獲直後に水とともにクーラーボックスに入れ、実験開始まで水温を維持した。なお、漁獲から実験を開始するまでの経過時間は5~8時間であった。

年齢の推定 若狭湾におけるアカアマダイの年齢と成長について詳細に調べた清野らの報告³⁾に従い、全長 34.9~37.1 cm を5歳、37.2~38.7 cm を6歳、38.8~39.9 cm を7歳、40 cm 以上を8歳以上とした。

精巣重量の測定 左右の精巣を摘出し、合計重量を測定して精巣重量とした。

運動精子比の測定 本報では精子の運動活性の指標として、450 mM NaCl 溶液⁸⁾ (20 mM の HEPES-NaOH で pH を 8.0 に調整) で希釈直後に運動している精子の比率 (以下、運動精子比) を用いた。摘出した精巣をはさみで切断し、切断面より滲出した精巣精液を解剖針の先端にごく少量付け、スライドグラス上で 20 μ L の 450 mM NaCl 溶液に素早く混ぜ合わせて希釈した。希釈から 10 秒後の精子の運動状態を光学顕微鏡に接続した CCD カメラ (KP-C210, Nikon) とビデオデッキ (NV-BS900, Panasonic) を用いて録画した。後にこのビデオテープをコマ送り再生し、画面上で無作為に選んだ 50 以上の精子から前進運動をしている精子の比率を求めた。測定はそれぞれの個体の精子について 3 回繰り返して行い、平均値をその精子の運動精子比とした。

返して行い、平均値をその精子の運動精子比とした。

統計学的処理 全長と精巣重量および全長と運動精子比の相関関係を調べる実験では Pearson's correlation coefficient test により相関係数の有意性を検定し、 $p < 0.05$ を有意な相関とみなした。年齢ごとの運動精子比および精巣重量を比較する実験では Scheffe's multiple comparison test により、有意差のある組み合わせを調べた ($p < 0.05$)。全長、体重、精巣重量、運動精子比等の測定値は全て平均値 $\pm$ 標準誤差で表記した。

結果

精巣の部位と精子活性 実験に先立ち、精巣を頭部側から前、中、後の3部位に分け、各々の精巣断片から精巣精子を採取し、運動精子比を測定した。その結果、運動精子比はそれぞれ $61.4 \pm 4.6\%$, $57.4 \pm 4.3\%$, $59.9 \pm 4.4\%$ ($n=4$) を示した。各部位の運動精子比に有意な差が認められなかったことから、以後の実験における運動精子比の測定は任意の精巣部位で行った。

精巣重量 供試魚の精巣重量は 0.29~3.49 g の範囲にあり、平均重量は 1.52 ± 0.09 g, GSI は $0.21 \pm 0.01\%$ であった。全長 40 cm 未満の個体 ($n=38$) では 2 g 以上の精巣を持つ個体が 2 個体 (5.3%) であったのに対して、全長 40 cm 以上の個体 ($n=19$) では 11 個体 (57.9%) であった。精巣重量は大型個体ほど増加する傾向を示し、全長 (TL) と精巣重量 (TW) の間には有意な正の相関 ($r=0.61$, $p<0.05$) が認められた。両者の関係は $TW=0.23 TL-7.48$ で表された (Fig. 1)。

精巣精子の運動精子比 全個体の運動精子比の平均値は $52.4 \pm 1.9\%$ (22.8~82.9%) であった。全長 39 cm

Fig. 1. Relationship between testicular weight and total length of the red tilefish. Correlation between testicular weight (TW) and total length (TL) was positively significant ($TW=0.23 TL-7.48$, $r=0.61$, $p<0.05$, $n=57$).

未満の個体 ($n=28$) では 60% 以上の運動精子比を示す個体が 18 個体 (64.3%) であったのに対して、全長 39 cm 以上の個体 ($n=29$) では 4 個体 (13.8%) であった。運動精子比は大型個体ほど低下する傾向を示し、全長 (TL) と精巣精子の運動精子比 (TM) の間には有意な負の相関 ($r = -0.58, p < 0.05$) が認められた。両者の関係は $TM = -4.41 TL + 225.23$ で表された (Fig. 2)。

これらの結果から、精巣重量に運動精子比を乗じたものを採取可能な精子量 (TsV) と仮定したところ、

$TsV = -1.01 TL^2 + 84.79 TL - 1684.72$ で表された。この二次方程式から、全長 42.0 cm で採取可能な精子量が最大になると考えられた。

年齢と精巣重量および運動精子比の関係 供試魚の年齢組成は 5 歳魚が 7 尾、6 歳魚が 21 尾、7 歳魚が 10 尾、8 歳以上魚が 19 尾と推定された。それぞれの精巣重量は 0.92 ± 0.08 g, 1.19 ± 0.11 g, 1.33 ± 0.15 g, 2.21 ± 0.15 g であり、8 歳以上魚の値は 7 歳以下の値に比べ有意に高い値を示した。一方、運動精子比はそれぞれ $62.2 \pm 3.9\%$, $58.8 \pm 2.8\%$, $52.4 \pm 4.6\%$, $41.7 \pm 2.5\%$ であり、8

Fig. 2. Relationship between testicular sperm motility and total length of the red tilefish. Correlation between the percent motility of testicular sperm (TM) and total length (TL) was negatively significant ($TM = -4.41 TL + 225.23, r = -0.58, p < 0.05, n = 57$).

Fig. 3. Changes in testicular weight and testicular sperm motility with age of the red tilefish. Age was estimated based on the report of Kiyono et al. (1977). Figures indicate the means ($\pm$ SE) of testicular sperm motility of 5 year old ($n=7$), 6 year old ($n=21$), 7 year old ($n=10$), and 8 or more year old ($n=19$) males. Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

歳齢以上の値は6歳齢以下の値に比べ有意に低い値を示した (Fig. 3)。

考 察

アカアマダイは若狭湾では体長 17 cm,⁴⁾ 徳島県太平洋沿岸では体長 19.1 cm (全長 23.7 cm)⁷⁾ から生殖腺内に精子を持つ機能的な雄が出現する。全長約 30 cm 以上になると GSI は高くなるものの,⁷⁾ 成熟年齢は個体差が大きく、4~5 歳魚の中にも未だ糸状の生殖腺を有する個体が出現することが報告されている。⁶⁾ 全長 35 cm 以上の雄個体について調べた本研究では、このような未熟な個体は認められなかった。一方、渡辺と鈴木⁷⁾ はアカアマダイ精巢の組織学的観察を行い、若齢魚には精子と卵母細胞が混在する間性現象が認められること、成長に伴い卵母細胞は減少し、全長 40 cm 以上の個体ではほとんど消失することを報告している。本研究では全長 35.6~43.2 cm の雄成魚について、その全長と精巢重量、精巢精子の運動活性を比較検討したが、運動精子比は全長 39 cm 以下の小型魚が最も高く、それ以上の個体は全長の増加に伴って低下する傾向が認められた。これに対し、精巢重量は大型個体ほど増加する傾向にあった。また、全長と精巢重量の回帰直線式、および全長と運動精子比の回帰直線式より、最大量の運動可能な精巢精子が得られる魚体の大きさは全長 42.0 cm と推定された。この全長は、上述の精巢卵が消失するという組織学的観察結果とも一致すると考えられる。今後は、実際に各体長の個体から採取可能な全ての精巢精子を採取し、その精子量と精子活性を詳細に調べ、今回の解析結果の有効性を検討していきたい。

運動精子比と年齢との関係についてみると、8 歳齢以上の魚の運動精子比が 5, 6 歳齢の値よりも低下する傾向が見いだされた。アカアマダイの寿命に関しては 12 歳とする報告があるが、⁹⁾ 生殖可能年齢について調べた報告はなく、大型魚の運動精子比の低下が老齢化による生殖能力の低下に起因するものか否かは、現時点では明らかではない。今回の調査では、漁獲から実験開始まで水温を維持したものの、死後の経過時間、精巢の冷却速度などの条件は必ずしも一定ではなく、これらが精巢精子の運動活性に影響を及ぼした可能性は否定できない。特に、死後の経過時間に関しては精子の運動活性に大きく影響を及ぼすことが知られていることから、¹⁰⁾ 今後、

長期飼育等による雄親魚の確保を実現し、これらの要因が精巢精子の運動活性に及ぼす影響についても詳細に検討を加えていきたい。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、雄成魚の入手に協力していただいた京都府伊根漁業協同組合ならびに伊根モーター組合の関係各位に心からお礼を申し上げる。アカアマダイの漁獲についての貴重な情報の提供を賜った京都府水産事務所、ならびに京都府立海洋センターの方々に深謝の意を表する。文献の収集に協力して頂くとともに有益な御助言を頂いた日本栽培漁業協会の奥村重信博士ならびに同協会企画調査室の方々に深謝の意を表する。また、本稿をまとめるにあたり御校閲の労をお取りいただいた、同協会廣瀬慶二博士にも厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 清野精次, 林 文三. 若狭湾産アカアマダイの生態研究—II 未成魚・成魚の分布. 京都府立海洋センター研報 1997; 1: 15-28.
- 2) 通山正弘. 潜水調査船“しんかい”からみたアカアマダイなどについて. 南西水研ニュース 1975; 13: 12.
- 3) 清野精次, 林 文三, 小味山太一. 若狭湾産アカアマダイの生態研究—I 産卵と性比. 京都府立海洋センター研報 1977; 1: 1-14.
- 4) 奥村重信. アカアマダイの親魚養成と種苗生産に関する研究. 特別研究報告 16 号, 日本栽培漁業協会, 東京. 2001; 1-43.
- 5) 本藤 靖, 村上直人, 渡辺 税, 竹内宏行, 藤浪祐一郎, 津崎龍雄. 人工授精によるアカアマダイの種苗生産. 栽培技研 2001; 28: 73-79.
- 6) 林 泰行. 東シナ海産アカアマダイの成熟と産卵に関する研究—I 生殖腺成熟度指数の経月変化からみた産卵期の推定. 日水誌 1977; 43: 1273-1277.
- 7) 渡辺健一, 鈴木伸洋. 徳島県太平洋沿岸のアカアマダイの性分化, 成熟および産卵期. 日水誌 1996; 62: 406-413.
- 8) 藤浪祐一郎, 竹内宏行, 津崎龍雄, 太田博巳. アカアマダイ漁獲鮮魚から採取した精巢精子の運動活性と冷蔵保存. 日水誌 2003; 69: 162-169.
- 9) 渡辺健一, 上田幸男, 城 泰彦. 徳島県太平洋沿岸域のアカアマダイの年令と成長. 平成 5 年度徳島県水産試験場事業報告. 徳島県水産試験場, 徳島. 1995; 293-302.
- 10) Stoss J. Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. In: Hoar WS, Randall DJ and Donaldson EM (eds), *Fish physiology* 1983; 9-B Academic Press, New York. 1983: 305-350.

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 ± 0.3 cm, 精巢重量は 1.52 ± 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/cm², 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発現した。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)