

人為三倍体アユの生物学的特性と  
応用に関する研究

稲田善和

# 目 次

緒 論	1
謝 辞	2
第1章 染色体操作による三倍体魚作出の研究史	3
第2章 三倍体アユの作出法	4
第1節 低水温ショックによる作出条件	4
第2節 作出の確認法と成功率	7
第3章 三倍体アユの生理的特性	8
第1節 成 長	9
1. 発育段階別成長	9
2. 飼料転換効率	13
3. 個体変異	15
第2節 性 成 熟	17
1. 成熟および二次性徴	17
2. 性比および不妊性	19
第3節 血液性状	20
第4節 酸素消費量および低酸素耐性	21
第5節 抗 病 性	24
1. ビブリオ病に対する抗病性	24
2. ギロダクチルス症ならびに黒点病に対する抗病性	27
第6節 水温耐性	29
第7節 生理的特性の評価	31
第4章 三倍体アユの形態的特性	37
第1節 稚魚の外部形態	37
第2節 成魚の外部形態	38
第3節 成魚の骨格形態	40
第4節 形態的特性の評価	40
第5章 三倍体アユの生態的特性	41
第1節 行 動	41
1. とびはね行動と溯上行動	41
2. 群れにおける遊泳行動	43
3. なわばり性	44

第2節 食 性	45
1. 付着藻類に対する摂餌活動と成長	45
2. 付着藻類を摂餌した場合の魚体一般成分	48
第3節 生 殖	49
1. 生殖行動	49
2. 産卵期後の生残性	52
第4節 生態的特性の評価	53
第6章 三倍体アユ越年魚の特性	54
第1節 越年生残性	54
第2節 成 長	57
第3節 生殖腺と性徴および推定寿命	58
第4節 外部形態	59
第5節 越年魚の特性評価	59
第7章 三倍体アユの応用に関する試験	60
第1節 低水温ショック法による大量作出試験	60
第2節 種苗大量生産試験	61
第3節 池中養成試験	62
第4節 食味試験	64
第5節 応用に関する評価	66
第8章 総合論議	67
第1節 三倍体アユの生物学的特性について	67
第2節 三倍体アユの産業的利用の展望について	73
要 約	75
Summary	78
付 表	81
文 献	91

## 緒 論

アユ *Plecoglossus altivelis* は、日本をはじめ朝鮮半島、台湾、中国大陸沿岸の一部に分布しており、一科一属一種に分類される特異性の強い魚種である。なかでも、日本列島はその主たる分布域で、北海道西部以南の各地に生息している。

また、アユは両側回遊性の魚種であり、秋に河川で生まれた仔魚は冬の間海面で育ち、春になると稚魚が河川を溯上する。中上流域まで溯った稚魚は、夏を中心に、大半のものはなわばりをもち、他のものは群れるなどして、附着藻類を摂餌して成長する。秋になると成熟魚が河川を下り、下流域で産卵放精したのち自然死亡する。

このように、アユは、秋に生まれて翌年の秋に死ぬ、いわゆる年魚であり、他の魚種にみられない独特の生活史をもっている。また、琵琶湖産アユに代表される陸封アユも、湖とそれに注ぐ河川でほぼ同様の生活をしている。

さらに、アユは、古事記、日本書紀をはじめ多くの古文書にも記されている（宮地，1960）など、古来より日本人にとってなじみの深い淡水魚であるとともに、現在でも本邦の内水面漁業における主要対象魚種である。とくに、温暖な西日本においては、河川漁業のみならず、養殖業にとっても重要な位置を占めている。

しかしながら、近年の湖沼や河川の環境変化はアユ資源の減少をもたらし、多くの産地では、種苗放流など人為的な努力による漁獲量の維持を余儀なくされている。また、このアユ資源の減少や河川漁業の不振ばかりでなく、200海里問題など内外の情勢変化も加わり、アユ養殖業が1978年頃より急進展した。しかし、それも現在では年産12,000 t前後で推移しており、経営上、より高品質、低コストのアユの生産、あるいは端境期の出荷など新たな展開が望まれている。

これらの河川漁業や養殖業をより一層振興するためには、放流技術や養成技術の改良だけでは十分対応できない面も多く、河川漁業においては生態系を混乱させず、かつ放流効果の高い品種が、養殖業にあっては、より経済性の高い品種の開発が切望されている。

近年、アユにおいても、染色体操作の手法による三倍体や雌性発生二倍体が作出できるようになり、品種改良の有効な手段として注目されている。

なかでも三倍体アユは最も早く作出され（Taniguchi *et al.*, 1985）、作出そのものが技術的に容易でもあることから、いち早くその産業的利用が考えられた。

しかし、三倍体アユに限らず、これまでの三倍体魚の特性に関する研究は、成長や成熟など一部分に限られており、生理、生態および形態的特性全般にわたる研究はまだ行われていない。

さいわいアユは、年魚であるうえ、雌1尾の胎内卵数が2,000~120,000（宮地，1979）と、サケ科の魚種などに比べてかなり多く、三倍体魚の特性を解明するうえで、多くの利点を有し、とりわけ好適な研究素材といえる。

この好条件を活用して、三倍体アユの生物学的特性を解明することは、産業的利用を図るうえからも必要不可欠であるばかりでなく、今後の三倍体魚の研究にも役立つものと考えられる。

本研究は、通常のアユ、すなわち正常二倍体アユを対照として、三倍体アユについて様々な実験を行い、その生物学的特性を明らかにするとともに、種苗の量産や養成試験などいくつかの応用化のための検討を行ったものである。

# 謝 辞

本研究を進めるにあたり、終始懇切な学術的指導と激励、および本稿のとりまとめに多大の助言の労を賜った高知大学農学部教授 谷口順彦博士に、衷心より厚く御礼申し上げます。

また、それぞれの専門分野から御指導ならびに御支援を戴いた、高知大学農学部教授 楠田 理一博士、同大学助教授 川合 研児博士、同助教授 山岡 耕作博士、同講師 関 伸吾博士、同大学大学院生で共同研究者であった Ratu Siti Aliah、深井 淳二、畑中 宏之の各氏、東北大学農学部助教授 木島 明博博士、東京大学農学部教授 塚本 勝己博士、同大学 小川 和夫博士、広島大学生物生産学部教授 鈴木 亮博士、九州大学農学部教授 板沢 靖男博士、中村学園大学助教授 吉岡 慶子博士、宮崎大学農学部教授 北尾 忠利博士、同大学教授 川津 浩嗣博士、徳島県水産試験場 城 泰彦博士、(株)共立商事 小松 功氏、広島県水産試験場淡水魚支場 加藤 友久研究員 以上の方々に深く感謝申し上げます。

加えて、三倍体魚に関する貴重な文献目録を提供して戴いた、カナダニューブルンスウィック大学ウエストバンクーバー研究所助教授 Tillmann.J.Benfey 博士、英文のチェックをして戴いた、マレーシア農業大学水産海洋科学学部講師 Siti Shapor Siraj 女史、供試魚の一部を快く分譲して戴いた、熊本県水産試験場 内水面支場 原田 俊秀支場長、同支場 浜竹 芳久技師、和歌山県内水面漁業センター 見奈美 輝彦部長、同センター 辻村 明夫主査研究員に厚く御礼申し上げます。

さらに、供試魚の飼育に便宜を計って戴いた、福岡県栽培漁業公社 小河 淳一、井上 幹男、桑野 隆一の歴代事務局長、同公社 林 功、田中 義興、藤 紘和の歴代次長、および飼育を担当して戴いた、同公社の吉村 研治、宮本 義次、中村 俊政の各技師、高知大学農学部大学院生 韓炫燮氏、他学生諸氏、福岡県内水面水産試験場 牛嶋 敏夫技師、以上の方々に深く感謝申し上げます。

また、天然親魚の採捕に御協力戴いた、筑後川漁業協同組合 樋口 為二郎、矢ヶ部 計、平城 幸男、高山 忠徳、矢ヶ部 強の各氏、および矢部川漁業協同組合 壇 高義（故人）、壇 寿太郎、近藤 齊の各氏に感謝の意を表す。

1993年3月 記

## 第1章 染色体操作による三倍体魚作出の研究史

有性生殖を行う魚類では、通常第二減数分裂が中期の状態では排卵される。すなわちゲノム（染色体）を2セットもった成熟卵が産卵され、ゲノムを1セットもつ精子が受精する。受精後間もなく卵子の減数分裂が再開され、卵子ゲノムの2セットのうち1セットのゲノムは第二極体となって卵外に放出される。そして、卵内に残った1セットは雌性前核となり、精子の1セットの雄性前核と合一して、2セットのゲノムをもつ二倍体となって発生を始める。これが通常の生殖において行われる排卵から発生に至る過程である。

ところが、受精直後、すなわち精子が卵内に進入して第二極体が放出される前に、受精卵に一定の物理的ショックを与えると、卵子の減数分裂の再開が阻止されて第二極体が放出されない。それにより、卵子のゲノム2セットが雌性前核となり、精子の1セットの雄性前核と合一して、3セットのゲノムをもつ三倍体ができる。これがいわゆる第二極体放出を阻止して作出される三倍体魚である。

人為倍數体の作出に関する研究は、両棲類では早くから作出に成功していたが、魚類では、Makino and Ojima が1943年にコイ (*Cyprinus carpio*) で低水温ショック法による三倍体作出の可能性を示唆したのが初めてである。その後、1945年に Svardson がコレゴヌス (*Coregonus lavaretus*) を用いて低水温ショック法によって、1956年に Swarp がトゲウオ (*Gasterosteus aculeatus*) を用いて低水温と高水温ショック法による三倍体の作出を報告している。さらに、1960年代に入って、1962年に Sriramulu がメダカ (*Oryzias latipes*) でコルヒチン処理による作出を報告したのをはじめ、パイク (*Esox lucius*)、ニジマス (*Salmo gairdneri*)、スズキ (*Perca fluviatilis*) での報告 (Lieder, 1964) や、チョウザメ (*Acipenser guldenstadtii colchicus*) の報告がある (Vasetskii, 1967)。1970年代では、カレイ (*Pleuronectes platessa*; Purdom, 1972)、大西洋サケ (*Salmo salar*; Lincoln *et al.*, 1974)、ティラピア (*Oreochromis aureus*; Valenti, 1975)、コイ (Ojima and Makino, 1978)、イワナ (*Salvelinus fontinalis*; Smith and Lemoie, 1979) での報告がある。また、Refstie らはサイトカラシンB処理によるニジマスと大西洋サケでの報告をしている (1977)。1980年代に入ると、1980年の Chourrout のニジマスでの報告をはじめ、多数の魚種にわたってきわめて多くの人為三倍体に関する報告がな

されている。処理法もこれまでの方法に加えて、高水圧ショック法 (ニジマス; Yamazaki, 1983) の他に、ホルマリン (シロザケ *Oncorhynchus keta*; Chernenko, 1985)、亜酸化窒素 (ニジマス; Shelton *et al.*, 1986)、エーテル (ティラピア *Oreochromis mossambicus*; Varadaraj and Pandian, 1988) などが用いられている。なかでもポリエチレングリコールで精子を融合させ、2個の精子を卵内に入れる方法 (ニジマス; Ueda *et al.*, 1986) は特異的である。以上の同質三倍体の作出に関する報告リストを Appendix Table 1 に示した。

三倍体を作成する方法には、4セットのゲノムを持つ四倍体と正常二倍体を交配する方法もある。しかし、この方法は、ニジマスにおいて成功事例があるが、まだ報告例が少ない (Chourrout *et al.*, 1986他, Appendix Table 2)。

また、ハイブリッド受精卵にショックを与えて作出する異質三倍体の研究も行われている。異質三倍体の報告は、1945年に Svardson が大西洋サケ×ブラウントラウト (*Salmo trutta*) で高水温ショック法によって作出したのが初めてである。次いで、1972年に Purdom がソウハチ (*Pleuronectes platessa*) × マガレイ (*Platichthys flesus*) で低水温ショック法による作出を報告している。その後、1980年代になって主としてサケ科の魚種で報告され、ティラピア (*O. aureus* × *O. niloticus*) についても報告された (Don and Avtalion, 1988)。これらの異質三倍体の作出に関する報告のリストを Appendix Table 3 に示した。

日本における三倍体魚の報告は、1943年の Makino and Ojima の先駆的な示唆の後、1978年に Ojima and Makino がコイを用いて低水温ショック法による三倍体の作出を報告したのをはじめとして、1981年に Ueno がタイリクバラタナゴ (*Rhodeus ocellatus ocellatus*) で低水温ショック法によって、1983年に小野里や Yamazaki がニジマスで高水圧ショック法による作出を報告している。以下、魚種別にみると、ニシキゴイ (*Cyprinus carpio*) では Taniguchi らが低水温ショック法 (1986) および高水温ショック法 (1990) で、キンギョ (*Carassius auratus*) では尾城が低水温ショック法で (1986)、ドジョウ (*Misgurnus anguillicaudatus*) では Suzuki らが低水温ショック法で (1985)、ホンモロコ (*Gnathopogon elongatus caeruleus*) およびティラピア (*O. niloticus*) では上野が低水温ショック法で (1985, 1986)、サクラマス (*Oncorhynchus masou*) では小野里が高水圧ショック法で (1985)、また、マダ

イ (*Pagrus major*) では原田らが低水温ショック法で (1984), クロダイ (*Acanthopagrus schlegeli*) では Sugama らが低水温ショック法で (1988), ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) では原田らが低水温ショック法で (1984), それぞれ報告している。一方, 異質三倍体については, 1984年に Arai がイワナ (*Salvelinus leucomaenis*) × シロザケで高水圧ショック法による作出を報告したのをはじめ, シロザケ × カワマス (*Salvelinus fontinalis*) の高水圧ショック法 (Arai, 1986), カラフトマス (*Oncorhynchus gorboscha*) × イワナの高水圧ショック法 (Yamano *et al.*, 1988) による報告がある (Appendix Table 4)。

本研究の対象魚種であるアユについては, Taniguchi らが, 1981年秋に, 高知県物部川産天然親魚を用いて, 低水温ショック法によって初めて作出に成功した (Taniguchi *et al.*, 1985)。Ueno らも1983年に, やはり低水温ショック法で成功している (Ueno *et al.*, 1986)。以来, 筆者らが, 三倍体アユに関して, 様々な特性についての研究を行うことになる。

日本においては, これらの報告後, 各県の研究機関において, サケ科魚類をはじめアユ, ニシキゴイ, キンギョ, ドジョウ, ティラピア, ゲンゴロウブナ (*Carassius cuvieri*), ペヘレイ (*Odonthestes bonariensis*), コレゴマス (*Coregonus peled*), ヒラメ, マダイ, マコガレイ (*Limanda yokohamae*) など多くの魚種で三倍体に関する研究がすすめられている (Appendix Table 5)。

## 第2章 三倍体アユの作出法

三倍体アユの生物学的特性や応用に関して, 本研究をすすめていくにあたっては, まず供試魚を確実に入手しなければならない。そのためには, 最も簡便で実用的な三倍体アユの作出法を開発するとともに, 作出魚の三倍体化の確認と, その成功率をみておく必要がある。

本研究では, 低水温ショックによる最適作出条件の解明を目的として実験を行うとともに, 作出魚の三倍体化の確認法, およびその成功率について検討した。

### 第1節 低水温ショックによる作出条件

低水温ショックによる三倍体アユの作出条件としては, 受精から低水温処理を施すまでの時間, 処理する水温, および処理に要する時間を知る必要がある。まず, 受精後から低水温処理までの時間, すなわち, 処理のタイミングを知るためには, 紫外線照射によって遺伝的に不活

化した精子を用いればよい。つまり, 遺伝的に不活化した精子を用いて成熟卵に受精させ, そのまゝ放置すれば第二極体が放出されて, その胚は1セットのゲノムしか持たない半数体となる。しかし, 適時に低水温処理を行えば第二極体放出が阻止されて, その胚は二倍体 (雌性発生二倍体とよばれる) となる。半数体は異型胚 (半数体症候群とよばれる) となり, 二倍体は正常胚で, 両者は発眼胚の段階で識別が可能である (Taniguchi *et al.*, 1986)。紫外線照射精子を用いた場合の半数体と雌性発生二倍体, および, 正常精子を用いた場合の三倍体, それぞれの作出原理の模式図をFig. 1に示した。

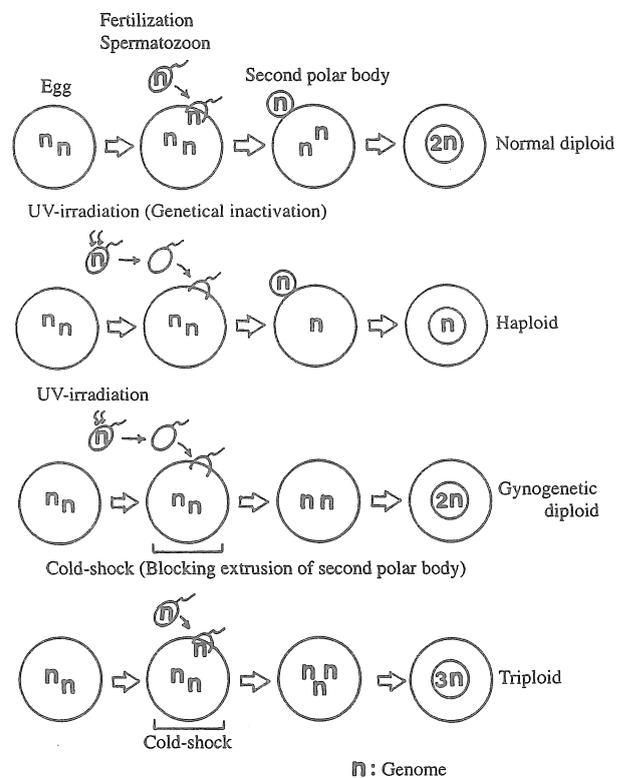


Fig. 1. Theories on induction polyploidy in ayu.

### 1) 材料と方法

#### 低水温処理のタイミング

精子の遺伝的不活化に必要な紫外線量を求めるために, 精液を生理的食塩水 (NaCl : 0.75g, KCl : 0.948g, NaHCO<sub>3</sub> : 0.002g/100ml 蒸溜水) で100倍希釈し, 0~20,000erg/mm<sup>2</sup>の紫外線を線量別に照射した。この照射精子を用いて, 成熟卵に受精させ, それぞれの線量における受精卵の生残率と半数胚の出現率をみた (Hertwig 効果として知られている。Hertwig, 1911)。その結果, 精子の遺伝的不活化に必要な紫外線量は6,420erg/mm<sup>2</sup>以上あればよいことがわかった。

紫外線 (12,840 erg/mm<sup>2</sup>) を照射して遺伝的に不活化した精子を用いて、成熟卵に受精させ、受精後 2 分間隔 (0~16 分) で低水温処理 (0~0.5℃, 60 分間) を行い、半数体胚の出現率と受精卵の生残率をみた。また、同時に、正常 (無照射) 精子を用いて同様の低水温処理を行い、その受精卵の生残率をみた。供試した精液と成熟卵は、いずれも複数の天然親魚から採取したもので、それぞれの受精卵は、76×26mm のスライドガラスに付着させ、検鏡に供した。実験時の卵の発生用水の水温は 20℃ であった。

#### 低水温処理の水温と浸漬時間

処理水温は、氷水に受精卵を浸漬する方法であるので、氷水が安定する水温である 0~0.5℃ とした。浸漬時間については、受精 5 分後に同水温で、30 分間と 60 分間浸漬を比較した。

処理用の水槽には、発泡スチロールの箱を用い、氷塊を浮かべた。また、三倍体化の確認方法は、後述する染色体数によった。

#### 2) 結果

紫外線照射精子と正常精子を用いて成熟卵に受精させ、2 分毎に低水温処理した場合の発眼胚 (孵化前) の生残率と半数体胚の出現率を Fig. 2 に示した。紫外線照射精子を用いた胚も、正常精子を用いた胚も、受精 2 分後の処理では、生残率が一旦低下したが、4 分後の処理では再び上昇した。以後の処理では、生残率は次第に低下し、14 分から 16 分後に再び上昇した。一方、半数体胚の出現率は、4 分後で 0% となった。

また、0~0.5℃ の氷水中に、受精卵を 30 分間と 60 分間浸漬した場合の三倍体の作出結果を Table 1 に示した。30 分間と 60 分間処理いずれの場合も、三倍体化の成功率は 100% であった。

#### 3) 論議

Fig. 2 からえられた結果は、紫外線照射精子を用いて受精させた場合、受精から 4~8 分後あるいは 16 分後

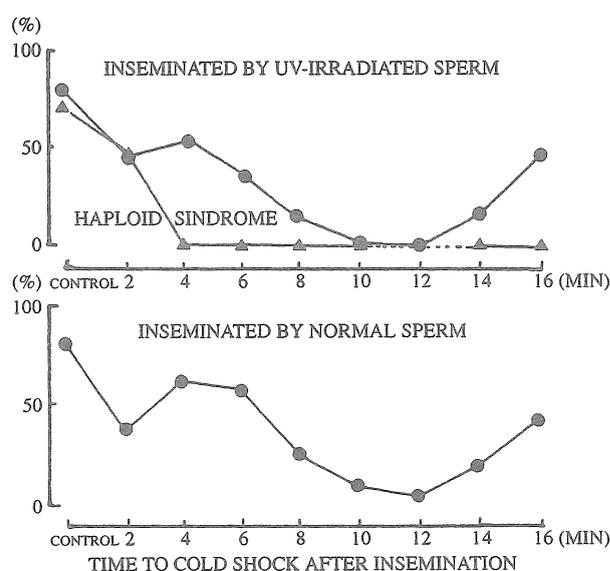


Fig. 2. The survival rate and the incidence of haploid syndrome in embryos (before hatching) of eggs fertilized with UV irradiated (12,840 erg/mm<sup>2</sup>) sperm or normal sperm and subjected to cold water for 60 min at various time insemination.

に低水温処理を行えば、第二極体放出が阻止されて雌性発生二倍体となり、正常精子を用いて受精させ、同様の低水温処理を行えば三倍体が作出できることを示している。したがって、胚の生残率が比較的高く、受精後処理するまでの時間が短くてよいことを考慮すれば、三倍体を作成するための受精後の低水温処理のタイミングは、4~6 分後が適当と考えられた。

ただ、受精 16 分後の処理でも、第二極体の放出が阻止されて、三倍体が作出できるという理由は明らかではない。同様な現象はニジマスでもみられている (Forster, 1986)。

また、浸漬時間については、60 分間のみならず 30 分間でも三倍体化の成功率が 100% であったことから、30 分間以上の浸漬の必要性はないと考えられた。

以上のことから、卵の発生 (孵化) 用水が 20℃ の場合、

Table 1. Success rate of triploid for each duration of cold shock at 5 minutes after insemination.

Experiment	Groups	Duration of cold-shock at 0~0.5℃	Survival rate at eyed embryo stage (%)	Number of fish examined	Average number of chromosomes	Success rate (%)
Exp- I	Control		63	10	51.3±2.45	
	Triploid	60 min	31	30	78.9±4.16	100
Exp- II	Control		58	16	55.0±1.03	
	Triploid	30 min	44	30	80.8±1.41	100
	Triploid	60 min	34	24	82.2±2.68	100

三倍体アユを作出するためには、受精4～6分後に、0～0.5℃の氷水中に30分間の浸漬処理を行えばよいことがわかった。

本研究では、供試魚の作出には、この低水温ショック法を用いたが、一部水温や時間を変えたり、高水温ショック法も試みた。

'84～'89年の作出事例をTable 2に示した。0～0.5℃、30分間の低水温処理では90～100%の成功率を示した。しかし、0～0.5℃、10分間の処理(1985)では40%の成功率しかえられなかった。また、0～0.5℃、40分間の処理(1988)では87%の成功率であった。しかし、この例は、卵量が22万粒と多かったため、低水温処理のタイミングか、処理水温が多少ずれたためではないかと考えられた。4℃、40分間の処理も試みた(1985)が、成功率は0%であった。また、32.5℃、6分間の高水温処理(1989)では、成功率は40%と低いものであった。成功率は、いずれの場合も、後述する赤血球の大きさによる確認法にもとづいている。

本研究では、処理水温と処理時間について、系統的な改良試験を多くに行っていないが、低水温ショック法の場合、氷水による0～0.5℃、30分間処理が、作出成功

率が90～100%と高く、かつ孵化率や稚魚の生残率も、極端に低い場合を除き、それぞれ22.6～58.7%、21.0～74.5%がえられたことから、最も有効な方法であると考えられた。

低水温ショック法によって三倍体アユを作出する場合、その成功のキーポイントの一つは処理のタイミングである。本実験の結果(Fig. 2)では、卵の発生用水が20℃の時、処理のタイミングは受精から4～6分後であった。ただ、その後の作出例では、受精5分後であれば、多少のタイムラグも許容しうるものであった。また、卵の発生用水の水温が18.7℃や16.6℃の場合も、成功率は100%で、とくに違いはみられていない。

処理法には、現在、低水温(Taniguchi *et al.*, 1985; Ueno *et al.*, 1986)、高水温(谷口, 1986)、および高水圧(Taniguchi *et al.*, 1988)ショック法があるが、それぞれ長所と短所がある。

低水温ショック法は特別な器具を必要とせず、野外でも行えるきわめて簡便な方法で、後述する大量処理も可能である。しかし、一回の処理時間が少なくとも30分以上を要するという点で、迅速さにやや欠ける。高水温ショック法は、恒温水槽を要するし、大量処理にやや難がある

Table 2. Examples of induced triploid by cold or heat-shock.

year	Method of shock WT (°C)–Time (Min)	Rate of hatching (%)	Survival rate <sup>1)</sup> of juveniles (%)	Success rate <sup>2)</sup> of triploid (%)
1984	Non <sup>3)</sup>	44.4	55.9	
	Cold 0 ~ 0.5 – 30	22.6	47.9	96
	Cold 0 ~ 0.5 – 60	22.4	25.9	100
1985	Non	49.2	—	
	Cold 4 ———— 40	50.0	80.0	0
	Cold 0 ~ 0.5 – 10	90.0	94.9	40
	Cold 0 ~ 0.5 – 30	58.7	74.5	100
1986	Non	55.5	58.7	
	Cold 0 ~ 0.5 – 30	7.1	21.0	90
	Cold 0 ~ 0.5 – 30	28.0	59.2	100
1987	Non	83.6	(23.4) <sup>4)</sup>	
	Cold 0 ~ 0.5 – 30	28.4	31.4	96
1988	Non	75.0	14.0	
	Cold 0 ~ 0.5 – 30	35.0	0.6	100
	Cold 0 ~ 0.5 – 40	8.9	69.4	87
1989	Non	95.6	(23.7) <sup>4)</sup>	
	Heat 32.5 – 6	41.0	8.2	40

1) Number of juveniles (approximate BW: 1 g)/Number of hatching larvae

2) Number of triploids discriminated by measuring erythrocyte/Number of juveniles

3) Non-shocked=control

4) Value by artificial decrease

が処理時間は短くてよい。高水圧処理は水圧プレスが必要とし、処理できる卵量に限界があるが、処理時間が短くてすみ、実験室向きであろう。

四倍体を用いて三倍体を作成する方法 (Chourrout *et al.*, 1986) はまだアユでは成功していない。本研究でも'86年から、高水圧ショック法によって、受精卵の第一卵割を阻止する方法で、四倍体の作成を試みた。しかし、18日令の仔魚で、染色体数が四倍性と推定された個体のみられたものの (Fig. 3), 成魚になったものの中には、四倍体と思われる個体は見出せなかった。

他に、細胞融合剤のポリエチレングリコールなどで精子を処理し、2個の精子を卵内に入れて、三倍体を作成する方法 (Ueda *et al.*, 1986) や、高 pH 高カルシウム処理による三倍体作成法 (Ueda *et al.*, 1988) もあるが、アユではまだ試みられていない。

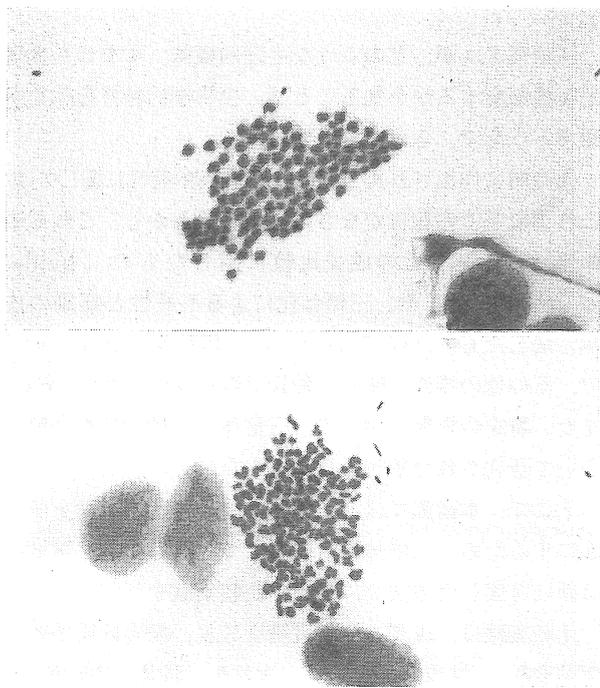


Fig. 3. Chromosomes of tetraploid.

三倍体アユを作成するうえで、もう一つのキーポイントは、処理に用いる卵質の良否であろう。通常の受精ではまったく支障のない卵であっても、低水温ショックに耐えられない場合が意外と多い。また、天然親魚からえた卵の方が、養成親魚からえた卵より成功率が高い場合が多い。しかし、養成親魚からえた卵がすべて悪いとは限らない。本研究では、これらの要因に関する確たる論拠をえていないが、数多くの失敗と成功例から、排卵後できるだけ速やかに、その卵を使用すれば、成功しやすい

という実感を与えている。例えば、夜間の産卵場で採捕した親魚から採卵し、直ちに処理を行えば、成功率は非常に高い。また、養成親魚の場合、飼育水温を低下させて排卵を促し、採卵して処理すれば、比較的高い成功率がえられる。

## 第2節 作出の確認法と成功率

低水温ショック法によって作出した三倍体アユは、実験に供する前に、三倍体化していることの確認と、その成功率を知っておく必要がある。

三倍体化を確認する方法としては、染色体標本作製し、染色体数を計数する方法 (Swarp, 1956) や、血液の塗抹標本作製し、赤血球の大きさをみる方法 (Swarp, 1959), フローサイトメトリー法 (Thorgaard *et al.*, 1980), 電気泳動法によるアイソザイム像の違いをみる方法 (Taniguchi *et al.*, 1987), およびコールターカウンターによる方法 (Benfey *et al.*, 1984) などが知られている。

アユの染色体数は56とされている (Yamazaki, 1971)。また、三倍体アユの赤血球細胞の長径は、正常二倍体より有意に長いことが予想される。ここでは、染色体数と赤血球の大きさによって、三倍体化の確認と成功率を求めた。

### 1) 材料と方法

'84年秋に低水温ショック法 (0~0.5°C, 30分間および60分間処理) によって作出した三倍体と、同時に人工採卵した二倍体を供試魚とした。染色体標本用には孵化後120日令の仔魚を、血液標本用には210日令の稚魚を用いた。

染色体標本作製するために、まず、コルヒチン50 ppmで5時間水浴させたアユ仔魚の鰓組織を摘出した。ついで、0.005MのKCl (コルヒチン加) で低張処理したうえで、カルノア液中で小刻固定し、酢酸を重層、風乾させた。さらに、これをギムザ染色することによって作製した (今井, 1983)。染色体は×1000で検鏡し、正確を期すために写真を撮り、そのプリント上の染色体数を計数した。

血液標本作製するためには、供試魚の尾柄部を切断し、一滴の血液をスライドグラス上にとり引き伸ばした。ついで、常法によりメタノール固定したうえでギムザ染色をすることによって作製した。三倍体の判定は、このようにして作製した三倍体と二倍体の塗抹標本を、顕微鏡下に並列に置いて比較することによった。

### 2) 結果

0~0.5°Cで30分間および60分間処理して作出した三

倍体について、染色体数と赤血球の大きさによって確認したそれぞれの作出成功率をTable 3にまとめて示した。また、染色体と赤血球標本の一例をFig. 4に示した。Table 3にみられるように、染色体数による成功率は、30分間処理区も60分間処理区も100%であったが、赤血球の大きさからみた成功率は、30分間処理区は96%で、60分間処理区は100%であった。

3) 論 議

30分間処理区の三倍体作出成功率に、染色体数と赤血球の大きさという確認方法によって違いがみられた。この要因は明かではないが、染色体数よりも赤血球の大きさによる場合の方が現実性がやや低い(鈴木, 1991)ためか、あるいは、低水温ショックが不十分なために、第二極体が放出してできた二倍体が混入し、それが稚魚の段階まで生残したためかもしれない。

アユにおいて、三倍体化の確認方法には、染色体数やアイソザイム像、および赤血球の大きさによる3方法が知られている。

胚や孵化仔魚の段階では、染色体数で確認する方法が適しており、ある程度大きくなった仔魚であれば、アイソザイム解析も可能である。赤血球の大きさで確認するためには、少なくとも採血できるサイズのアユが必要で

ある。現実性という点では染色体数やアイソザイム像による方法があげられるが、両者は標本作製に手間がかかるという難点がある。標本作製の簡便さという点では、赤血球の大きさをみる方法が優れている。しかし、やや現実性に欠け、サンプルを得るまでに長い日数を要するという難点がある。

本研究では、やや現実性に難があるものの、多くのサンプル処理に便利な赤血球の大きさによる確認法を主として用いた。

アユの三倍体化の成功率について、低水温ショック法に関していえば、受精5分後、0~0.5℃で30分間の処理を行えば、90~100%の作出成功率(赤血球の大きさによる)がえられると考えられる。

第3章 三倍体アユの生理的特性

三倍体アユが、どのような生理的機能、すなわち生理的特性を有するかを知ることは、生物学的特性全体を解明するうえで、きわめて重要である。

人為的に作出された三倍体魚の生理的特性に関しては、これまで多くの報告がなされている。しかし、これらの報告は、二倍体との成長比較に関するもの(Quillet *et al.*, 1988他)や、三倍体化による不妊性と雌雄の成熟に関するもの(Walters *et al.*, 1982他)がほとんどで、その他の特性に関する報告は散見される程度である。また、特定の魚種において、三倍体の生理的特性全般について研究された事例も見あたらない。

そこで、本研究では、三倍体アユの生理的特性を明らかにするため、二倍体を対照として、既存の方法あるいは新に考案した方法で、種々の比較実験を行った。

比較実験は、成長(発育段階別成長、飼料転換効率、個体変異)、性成熟(成熟、二次性徴、性比、不妊性)、血液性状、酸素消費量、低酸素耐性、抗病性(ビブリオ病、ギロダクチルス症、黒点病)および水温耐性(低水

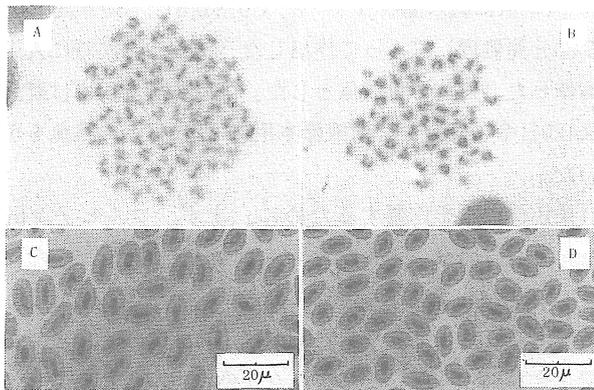


Fig. 4. Chromosomes and erythrocytes of triploid (A,C) and diploid (B,D).

Table 3. Success rates of triploid by chromosome count and erythrocyte size measurement.

Groups	Chromosome count		Erythrocyte size measurement	
	No of samples	success rate (%)	No of samples	success rate (%)
Control	10		10	
Triploid 30*	30	100	50	96
Triploid 60**	30	100	30	100

\* Duration of cold-shock was 30 min at 0~0.5℃

\*\* Duration of cold-shock was 60 min at 0~0.5℃

温, 高水温) の15項目にわたって行った。

### 第1節 成長

成長は, アユの生産にとって, 重要な要素のひとつである。そこで, 発育段階別の三倍体の成長, すなわち仔稚魚期, 成長期および成熟期の成長特性を明らかにするとともに, 成長期から成熟期における飼料転換効率の評価を行った。また, 成長における個体変異(大小差)について, 同時に作出した雌性発生二倍体との比較から, その要因の解明を試みた。

#### 1. 発育段階別成長

アユの仔稚魚期は, 天然アユにとっては海中生活期にあたる。また, 人工生産アユでは種苗生産期に相当する。この時期の成長の良否は, その後の成長に影響する。これはアユが年魚であるため, 成長できる期間が短いことによる。

本研究では, 孵化後, 体重が約1gの種苗サイズになるまでを仔稚魚期とみなし, 二倍体との成長比較から三倍体の成長特性を検討した。

稚魚から成魚までの期間に, アユは最もよく成長する。そして, この成長期の成育の良否が, その年のアユの生産を左右する最大の要因である。また, 生殖腺が発達し, 二次性徴が発現する成熟期に入ると, 体長からみた成長は鈍くなり, そして停止する。そこで, 三倍体アユの成長期および成熟期の成長特性を知るために, 二倍体アユと分離して飼育した場合と, 混合して飼育した場合について, 比較飼育を行った。

また, 成熟期における三倍体アユの雌雄別の成長特性を知るために, 二倍体の雌雄と比較した。

#### 1) 材料と方法

##### 仔稚魚期の成長

三倍体の供試魚作出のために, '84年10月23日に, 筑後川産天然親魚を用いて採卵した。卵は乾導法で受精させた後, 19℃の孵化用水に5分間置き, 3~4℃で1分間の予備冷却をして, 0~0.1℃の氷水中に30分間およ

び60分間浸漬した。その後は再び卵を孵化用水中に戻し, 常法によって発生させた。孵化直前の発眼卵は1tパンライト水槽に収容した。孵化後は海水を注水して, アユの種苗生産事業(福岡県栽培漁業公社)と同様の飼育方法で150日の養成を行った。対照の二倍体として, 無処理の卵による孵化仔魚も同様に飼育した。

生残率は, 150日後の生残尾数を孵化仔魚数で除して求めた。

三倍体と二倍体の成長変化をみるために, 経日的に30尾ずつの仔魚について全長を測定した。飼育海水の水温は, 11月は18.9~15.1℃, 12月は17.0~12.6℃, 1月は12.6~10.4℃, 2月は12.4~10.0℃, 3月は10.5~12.5℃, 4月は11.7~13.0℃であった。

##### 成長期および成熟期の成長

前記の仔稚魚を淡水馴致し, 5月まで養成した稚魚を供試魚とした。分離比較飼育には5t水槽を用い, 混合比較飼育には80t水槽を用いた。飼育用水は19~20℃の地下水で, 給餌は日に3回, 残餌がでない程度に行った。比較飼育実験開始時の, それぞれの供試尾数と魚体の大きさをTable 4に示したが, 分離飼育では, 三倍体の方が二倍体より有意(t検定; 5%有意水準)にやや小さく, 混合飼育では, 有意差はないものの, 三倍体の方がやや小さかった。

##### 成熟期における雌雄の成長差

前記の分離比較飼育における, 8月20日~11月18日の三倍体と二倍体の雌雄10尾ずつについて, それぞれの体長と体重を経日的に測定した。

#### 2) 結果

##### 仔稚魚期の成長

氷水による低水温処理が, 無処理のもの(Control区: 二倍体), 30分処理のもの(C-30区: 三倍体), および60分処理のもの(C-60区: 三倍体)について, 孵化成績と仔魚の飼育成績をそれぞれTable 5とTable 6に示した。Table 5に示したように, 孵化成績において

Table 4. Number and size of diploid (control) and triploid fish in separate and communal rearing condition.

Rearing method	Groups	No of fish	Size of fish (Mean±SD)		
			BL (cm)	BW (g)	CF*
Separate	Diploid	663	5.7±0.31	2.7±0.58	14.6±1.13
	Triploid	661	5.4±0.43	2.3±0.75	14.0±1.27
Communal	Control	6,172	5.4±0.49	2.5±0.49	14.4±1.65
	Triploid	9,983	5.3±0.51	2.3±0.82	14.4±1.74

\*Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)



Table 7. Size (mean±SD) of triploid and diploid fish reared in separate condition.

Date	Cumulative days	No of fish	Triploid			Diploid		
			BL (cm)	BW (g)	CF*	BL (cm)	BW (g)	CF*
May 17	1	30	5.4±0.43	2.3±0.75	14.0±1.27	5.7±0.31	2.7±0.58	14.6±1.13
Jun 24	39	30	8.2±0.61	7.9±1.70	13.9±0.86	8.0±0.56	7.3±1.49	13.8±0.92
Jul 17	62	30	9.7±0.61	14.2±2.73	15.2±1.47	10.0±0.79	15.6±3.56	15.5±1.01
Aug 20	86	20	12.6±0.86	29.6±6.11	14.7±1.21	13.0±1.20	32.8±8.98	14.6±0.75
Sep 9	106	20	15.2±1.04	53.7±11.46	15.0±0.88	14.4±0.85	47.4±9.56	15.7±1.21
Oct 2	129	20	16.4±1.11	67.3±15.63	15.1±1.11	15.9±1.04	66.5±15.78	16.3±1.74
Oct 22	149	20	17.4±1.05	76.6±15.98	14.5±1.42	15.8±0.84	61.2±11.42	15.5±1.86
Nov 18	176	20	17.4±1.51	70.5±25.27	12.8±1.81	16.0±1.00	58.0±15.26	14.0±2.88

\*Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

Table 8. Size (mean±SD) of triploid and diploid fish reared in communal condition.

Date	Cumulative days	Triploid				Diploid			
		N*	BL (cm)	BW (g)	CF**	N*	BL (cm)	BW (g)	CF**
May 17	1	60	5.3±0.51	2.3±0.82	14.9±1.74	30	5.4±0.49	2.5±0.94	14.9±1.65
Jul 7	32	50	10.4±0.99	17.3±5.56	14.7±1.20	50	10.9±0.99	19.5±5.80	14.5±1.20
Aug 27	73	50	14.5±0.95	48.5±11.74	15.7±1.39	50	15.1±1.51	54.9±21.40	15.2±2.25
Sep 17	94	50	15.3±0.88	50.1±8.32	14.0±1.16	50	15.9±1.21	59.9±15.70	14.5±1.30
Oct 16	123	41	17.6±1.39	74.2±17.90	13.3±1.31	33	17.4±1.48	81.3±21.04	15.2±1.62

\* Number of fish

\*\* Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

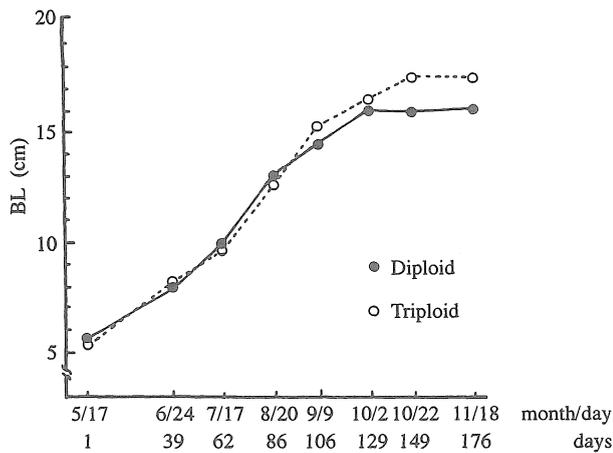


Fig. 6. Changes in body length between triploid and diploid fish reared in separate tank.

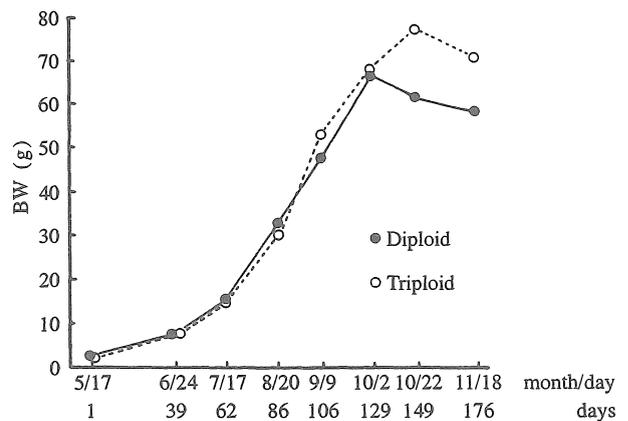


Fig. 7. Changes in body weight between triploid and diploid fish reared in separate tank.

体長についてみると、9月9日に、三倍体は二倍体より有意に長くなり、10月2日には有意差はなくなったが、10月22日以後は、やはり有意に長くなった。すなわち、9月9日以降、体長からみた三倍体の成長は二倍体を上まわる傾向を示した。

一方、体重についてみると、9月9日では、有意差は

ないものの、三倍体の平均体重は二倍体よりやや重くなった。10月2日には体重差はなくなったが、10月22日では、三倍体は有意に重くなった。しかし、11月18日では、両者の個体差が大きくなり、有意差自体はなくなった。また、三倍体は11月18日に、二倍体は10月22日以降体重が減少した。

体長と体重から算出した肥満度では、成長期は両者に有意差はなく、成熟期には差が生じる傾向がみられた。

混合比較飼育：5回のサンプリングについての三倍体と二倍体の魚体測定結果をTable 8に示した。また、この結果からえた両者の体長における成長をFig. 8に示した。また、同図では、9月と10月の両者の雌雄における成長差を上段図(A)に示した。この実験においては、成長期は8月27日まで、成熟期は9月17日以降にはほぼ相当する。

成長期では、実験開始時二倍体と有意差がなかった三倍体は、7月7日と8月27日に、体長は二倍体より有意に短くなり、体長からみた成長が劣る傾向を示した。成熟期では、9月17日は、三倍体の体長は二倍体より有意に短かったが、10月16日になると、有意差はなくなり、平均値は二倍体をわずかに上まわった。またA図に示したように、三倍体の雄の成長変化は二倍体雄と同様であったが、三倍体の雌の成長は、二倍体の雌雄だけでなく、三倍体雄の成長をも上まわった。

体重については、三倍体と二倍体の間で有意差がみられたのは、成熟期の9月17日のみであった。また、肥満度については、成長期では有意差はみられず、成熟期になると有意差がみられた。

成熟期における雌雄の成長差

三倍体と二倍体の雌雄それぞれの体長の変化をFig. 9に、また、体重の変化をFig. 10に示した。Fig. 9に

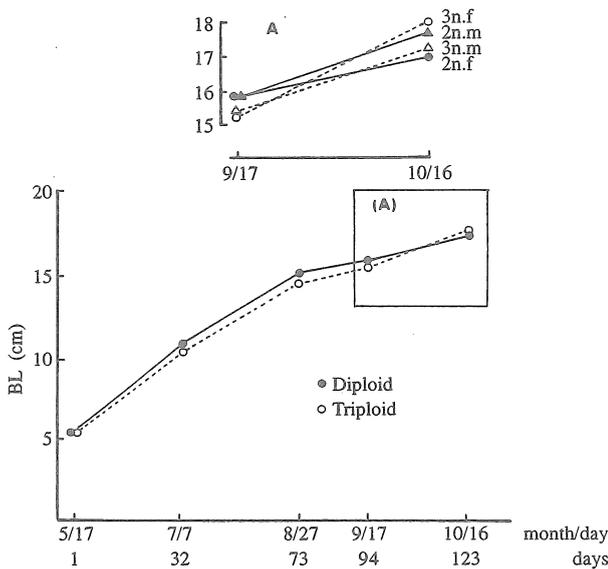


Fig. 8. Changes in body length between triploid and diploid fish reared in communal tank. A: comparison of females and males in the maturity season. 3n.f: triploid female 3n.m: triploid male 2n.f: diploid female 2n.m: diploid male

みられるように、体長変化からみた成長では、二倍体の雌雄が、10月2日以降、成長を停止するのに対して、三倍体では、雄は二倍体雄を上まわるものの、やがて同様に成長が停止した。しかし、雌は二倍体雌を上まわり、なおも成長し続ける傾向をみせた。また、Fig. 10に示したように、体重の変化からみた成長では、二倍体の雌は、10月2日以降増重しなくなり、雄は10月2日以降体

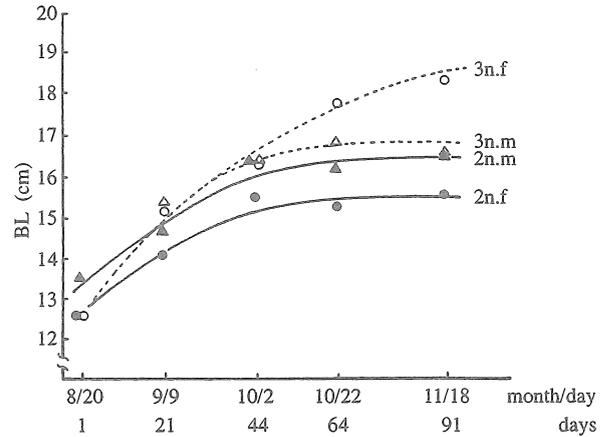


Fig. 9. Changes in body length between triploid and diploid females and males in the maturity season. 3n.f: triploid female 3n.m: triploid male 2n.f: diploid female 2n.m: diploid male

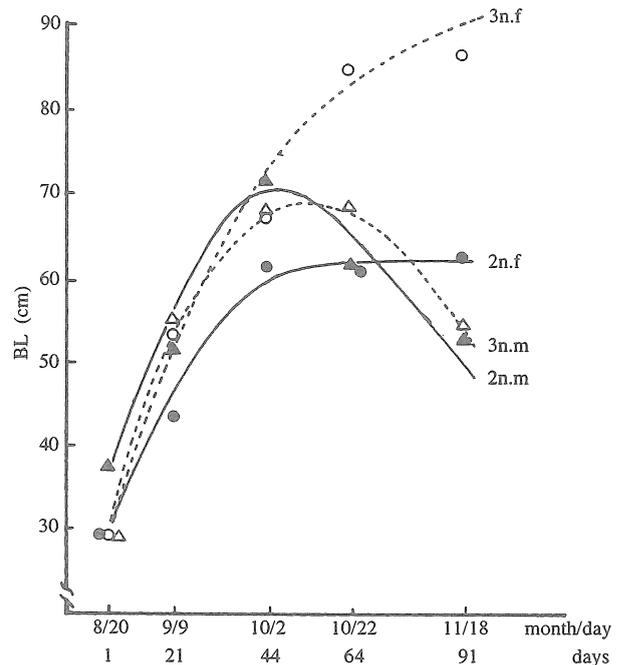


Fig. 10. Changes in body weight between triploid and diploid females and males in the maturity season. 3n.f: triploid female 3n.m: triploid male 2n.f: diploid female 2n.m: diploid male

重が減少した。一方、三倍体では、雄は二倍体雄より遅れるものの、やはり10月2日以降体重が減少した。しかし、三倍体の雌は、10月22日～11月18日に増重が鈍るものの、成長を続ける傾向をみせた。

### 3) 論議

仔稚魚期の成長実験において、種苗までの生残率では、二倍体区の55.9%に比べて、三倍体の30分処理区は8%低い結果であったが、60分処理区は30%も低い結果となった。これは、Table 5に示したように、60分処理区は、孵化率では30分処理区とほとんど同値であるのに、異型胚率が17.9%と、二倍体区の0%や30分処理区の7.8%よりもかなり高く、異型魚が孵化したためではないかと考えられた。また、異型胚率が高くなったのは、処理時間が長かったためと推察された。

三倍体の仔稚魚期の成長については、このように生残率がやや低くなり、飼育密度の差も考慮する必要があるが、全体としてみると、三倍体の成長は、二倍体にやや劣るものの、群の中でも成長のよい個体は遜色なく成長するものと考えられた。

成長期および成熟期の成長実験の分離比較飼育においては、成長期では、三倍体の成長は、体長、体重いずれからみた場合も、二倍体と差がなかった。しかし、成熟期に入ると、体長からみた成長は二倍体を上まわった。体重からみた成長は、体長ほど明らかな傾向ではなかったが、やはり二倍体よりよいものであった。また、成熟期の後半では、三倍体の体長も、二倍体同様伸びなくなり、体重も二倍体同様減少した。これは、三倍体においては、雄の方の体長伸長が止まり、体重も減少するためであり、二倍体にあっては、雌雄の伸長停止と雄の体重減、および一部の雌の放卵による体重減によるものと考えられた。

一方、混合比較飼育においては、成長期では、三倍体の体長からみた成長は二倍体に比べて有意に劣るものであった。しかし、体重からみた成長には有意差はみられなかった。したがって、この時期の三倍体の成長は二倍体にやや劣ると考えられた。ところが、成熟期では、有意差はないものの、三倍体の体長が二倍体を上まわった。これは、A図にみられたように、三倍体雌の好成長によるものと考えられた。

肥満度については、分離、混合いずれの比較飼育においても、三倍体と二倍体の間に、成長期では差がみられなかったのに、成熟期では差がでる傾向があった。これは、成熟に伴う雌雄の個体差、なかでも二倍体の雌雄差の影響が大きかったものと推定された。

このように、三倍体の成長期の成長は、分離飼育した場合は二倍体と差がなく、混合飼育した場合は二倍体にやや劣るものである。しかし、成熟期の成長は、分離、混合いずれの飼育の場合も、二倍体を上まわる。それは、主として三倍体雌の好成長によると考えられた。

成熟期における雌雄の成長差の結果から、体長からみた成長差において、二倍体雌雄の成長が停止するのは、成熟が進行するためであり、三倍体の雌のみが特異的に成長し続けたのは、成熟しないためであると考えられた。ただ、三倍体雄も成長が停止した。このことは、三倍体雄も成熟することを示唆している。なお、三倍体雌の特異的な好成長傾向は、前実験の混合比較飼育でも同様にもとめられた (Fig. 8 : A)。また、体重からみた成長差においては、二倍体雌が増重しなくなったのは、成熟が完成して、あるいは一部が放卵したためであり、二倍体雄の体重の減少は、放精と精巢の退行などによると考えられた。

同様に、三倍体雄の体重減も、ある程度発達した精巢の退行と関連があると推定された。しかし、三倍体雌の増重が続くのは、卵巣が発達せず、成熟しないためと考えられた。このように、三倍体の雌のみが、成熟期においても、成長し続けるのは、後述する生殖腺の発達と密接に関連していると推定された。

以上のことから三倍体アユの発育段階別の成長は、仔稚魚期(分離飼育)では、個体差が出やすく、弱小さな個体の減耗があるものの、二倍体にやや劣るものであると考えられた。成長期では、二倍体と分離して飼育した場合は、二倍体と同等であり、二倍体と混合して飼育した場合は、二倍体にやや劣るという特性があると考えられた。しかし、成熟期では、二倍体との分離、混合いずれの飼育の場合も、二倍体の成長を上まわる傾向があり、その要因は三倍体雌が成長し続ける特性をもつためと推定された。

### 2. 飼料転換効率

アユは、孵化後の初期飼育を除き、配合飼料によって養成される。なかでも、稚魚から成魚までは最も成長する時期で、配合飼料の給餌量も多い。この成長期における飼料転換効率の良否は、養殖経営上からも重視されるのはもちろんだが、アユのエネルギー摂取や消費といった生理的活性を反映しており、成長特性と密接に関連している。そこで、二倍体同様の配合飼料を給餌した場合における、三倍体の日間伸長率や増重率および飼料転換効率(以下飼料効率と略記)の良否をみるための実験を行った。

1) 材料と方法

前述の分離比較飼育実験（'85年、無蓋水槽）における、5月17日～8月20日の三倍体と二倍体の日間伸長量、増重量と日間伸長率、増重率ならびに飼料効率を求めた。また、'86年に作出し、翌'87年5月まで養成した三倍体と二倍体についても、無蓋の水槽での飼料効率を求めた。給餌は、いずれの実験の場合も、1日3回の飽食給餌（残餌がでない量）とし、飼育用水には19～20℃の地下水を用いた。

一方、水槽壁に付着藻類が発生し、供試魚の餌となるのを防ぐため、水槽上面を遮光ネットでおおった場合における、三倍体と二倍体（'87年養成）の日間伸長量、増重量と日間伸長率、増重率および飼料効率を求めた。この実験では、三倍体区、二倍体区とも同一量給餌（制限給餌）とした。

いずれの実験の場合も、飼育水槽は同型の5t水槽を用いた。

2) 結果

無蓋の水槽を用いた'85年の分離比較飼育における、日間伸長量、増重量と日間伸長率、増重率および飼料効率をTable 9に示した。日間伸長量と増重量では、三倍体は二倍体よりもわずかに低い値を示したが、日間伸長率と増重率においては、三倍体は二倍体よりも、伸長率では低かったものの、増重率ではわずかに高い値を示した。しかし、飼料効率では、三倍体は82.4%であり、二倍体の89.2%よりも低い値であった。

Table 9. Daily growth rate and food conversion efficiency of triploid and diploid within 86 days (May 17~Aug 20, 1985).

		Triploid	Diploid
Daily growth	Body length mm	0.76	0.77
	Body weight g	0.29	0.32
Daily growth rate	Body length %	0.88	0.97
	Body weight %	2.73	2.67
Food conversion efficiency	%	82.4	89.2

\* Induced success rate 96%

Daily growth:  $(L_2 - L_1) / D, (W_2 - W_1) / D$

Daily growth rate:  $\{(\frac{L_2}{L_1})^{\frac{1}{D}} - 1\} \times 100, \{(\frac{W_2}{W_1})^{\frac{1}{D}} - 1\} \times 100$

Food conversion efficiency:  $\{(W_2 - W_1) \times \frac{N_1 + N_2}{2}\} \times 100 / F$

$L_1, W_1$ : Initial body length and body weight

$L_2, W_2$ : Final body length and body weight

D: Experimental days

F: Feeding amount

$N_1$ : Initial number of fish

$N_2$ : Final number of fish

'87年の無蓋水槽における、4つの実験期間について、三倍体と二倍体の飼料効率をTable 10に示した。5月28日～6月30日の期間では、三倍体の飼料効率は二倍体より2.7%低かったが、7月1日～7月26日では、三倍体の方が逆に0.6%高かった。7月27日～9月15日は、水槽壁の付着藻類も供試魚に摂餌されたため、100%を越える飼料効率となったが、この期間も三倍体は二倍体より7.6%低いものとなった。しかし、9月16日～10月27日では、三倍体は二倍体より24.1%も高い値となった。

Table 10. Food conversion efficiency (%) of triploid and diploid during each experimental period (1987).

Groups	Experimental period			
	May 28~ Jun 30	Jul 1 ~ Jul 26	Jul 27~ Sep 15	Sep 16~ Oct 27
Diploid	73.2	62.2	118.0	11.7
Triploid*	70.5	62.8	110.4	35.8

\* Induced success rate 90.4%

遮光ネットを水槽の上に張り、付着藻類の発生を抑えて3回の実験を行ったが、その実験条件をTable 11に示した。この実験では、供試尾数や給餌量もまったく同じものとした。3回の実験結果をTable 12にまとめて示した。実験Ⅰ（5月28日～7月1日）でも、実験Ⅱ（8月12日～9月14日）でも、三倍体の日間伸長量、増重量と日間伸長率、増重率および飼料効率は、二倍体より低い値を示した。しかし、実験Ⅲ（9月14日～10月17日）では、伸長量と伸長率は三倍体の方がかなり高いものとなり、増重量はわずかに低いものの、増重率は二倍体と同等となった。

また、二倍体と三倍体の飼料効率の差も、実験Ⅰの20.5%や、実験Ⅱの16.8%に較べて、実験Ⅲではわずか2.4%となった。

3) 論 議

'85年の無蓋水槽、飽食給餌の実験結果は、アユの成長期（5月17日～8月20日）において、三倍体の成長は二倍体にわずかに劣り、飼料効率は低いことを示した。

'87年の無蓋水槽、飽食給餌の実験結果は、成長期（5月28日～9月15日）において、三倍体の飼料効率は、二倍体よりやや低い時期もあれば、高い時期もあり、池壁の付着藻類を摂餌すれば（7月27日～9月15日）、飼料効率が100%を越えることを示した。また、成熟期（9月16日～10月27日）では、三倍体の飼料効率は、二倍体とともに低下するが、明らかに二倍体より高くなる

ことを示した。これは、二倍体では、成熟の完成にともない、摂餌量が減少するが、それ以上の比率で、体重が減少した (Fig. 7) ためであり、一方、三倍体では、半数の雄が成熟したため、その分摂餌量も減少し、それ以上の比率で、総体重が減少した (Fig. 7) ためと推定された。

このように、無蓋の水槽での飽食給餌下では、成長期の三倍体の飼料効率は、二倍体にやや劣る傾向があるが、大きな差ではなく、また、成熟期の三倍体の飼料効率は二倍体より高くなる傾向があると考えられた。

しかし、無蓋の水槽では、日照によって水槽壁に付着藻類が発生する。そして、供試魚がそれを摂餌するため、Table 10に示したように、飼料効率が100%を越えることがあり、配合飼料による飼料効率を比較するうえで適切とはいえない。

'87年の遮光水槽、制限給餌の実験結果は、成長期 (実験 I, II) における、三倍体の日間伸長量、増重量と日間伸長率、増重率および飼料効率は二倍体に劣ることを示した。しかし、成熟期 (実験 III) においては、増重量と増重率が二倍体とほぼ同等となり、飼料効率はやや低いものとなるが、伸長量と伸長率は二倍体より顕著に高く、成熟期では三倍体の成長の方が優れていることを示した。すなわち、成熟期においては、二倍体における増重量と増重率は、主として雌の孕卵による体重増の結果であり、実質的には、三倍体の成長が二倍体を上回することを示していると考えられた。

### 3. 個体変異

仔稚魚期の成長において、三倍体は二倍体に比べて個体差が大きいという傾向がみられた。この要因を解明するため、同時に作出した第二極体放出阻止型雌性発生二

Table 11. Experimental conditions in tank without sunlight for daily growth rate and food conversion efficiency of triploid and diploid fish.

Experiment	Number Period Days	Exp- I	Exp- II	Exp- III
		May 28~Jul 1 34	Aug 12~Sep 14 33	Sep 14~Oct 17 33
No of fish	Triploid*	500→449	329→329	319→316
	Diploid	500→477	329→319	319→315
Body length (cm)	Triploid	6.2±0.38→7.8±0.80	10.9±1.28→13.3±0.97	13.3±0.97→15.2±1.14
	Diploid	6.3±0.41→8.2±0.56	10.6±1.08→13.4±1.07	13.4±1.07→14.3±1.17
Body weight (g)	Triploid	3.0±0.60→7.3±2.30	21.7±6.97→37.7±7.60	37.7±7.60→51.2±12.76
	Diploid	3.4±0.69→8.8±1.82	19.6±6.11→39.3±8.27	39.3±8.27→53.4±11.96
Feeding amount (g)		3,020	6,720	8,600
Water temperature (°C)		18.2~20.5	19.4~21.0	17.9~19.2

\*Induced success rate 90.4%

Table 12. Comparison of daily growth, growth rate and food conversion efficiency between triploid and diploid fish for each experimental period.

			Exp- I	Exp- II	Exp- III
			3N* 2N**	3N 2N	3N 2N
Daily growth	Body length	mm	4.6 < 5.6	7.4 < 8.4	5.8 > 2.7
	Body weight	g	0.13 < 0.16	0.49 < 0.60	0.41 < 0.43
Daily growth rate	Body length	%	0.67 < 0.77	0.60 < 0.71	0.40 > 0.20
	Body weight	%	2.46 < 2.60	1.63 < 2.03	0.92 = 0.92
Food conversion efficiency		%	67.7 < 88.2	78.4 < 95.2	49.6 < 52.0

\*Triploid \*\*Diploid

Daily growth :  $(L_2 - L_1) / D, (W_2 - W_1) / D$

D : Experimental days

N<sub>1</sub> : Initial number of fish

N<sub>2</sub> : Final number of fish

Daily growth rate :  $\frac{L_2 - L_1}{D \times \frac{L_1 + L_2}{2}} \times 100, \frac{W_2 - W_1}{D \times \frac{W_1 + W_2}{2}} \times 100$

Food conversion efficiency :  $\{(W_2 - W_1) \times \frac{N_1 + N_2}{2}\} \times 100 / F$

倍体（以下雌性発生二倍体と略記）と二倍体を比較対照として用いた。雌性発生二倍体は近交係数が大きくなり、遺伝的形質としての個体差（変異）が二倍体や三倍体より拡大することが示唆されている（Taniguchi *et al.*, 1987）。そこで、稚魚まで養成した三倍体と、同時に養成した雌性発生二倍体、および二倍体の体長、体重、肥満度の個体変異について比較した。

1) 材料と方法

'87年秋に作出し、翌'88年5月まで養成した平均体重6～7gサイズの3者の稚魚について、任意にサンプリングし、体長、体重を測定した。また、この両者から肥満度 ( $BW \times 1000 / BL^3$ ) を算出した。

2) 結 果

雌性発生二倍体、三倍体および二倍体の魚体測定結果をTable 13に示した。平均体長、体重で、大きかったのは三倍体で、次いで雌性発生二倍体、二倍体の順であった。

Table 13. Body sizes of juveniles in each ploidy.

Groups	No of fish	Body length Mean±SD (cm)	Body weight Mean±SD (g)	Condition factor*
G-diploid**	55	7.3±1.24	6.5±3.69	14.6±2.28
Triploid	55	7.6±1.10	7.6±3.46	15.7±1.56
Diploid	51	7.3±0.93	6.1±2.25	15.0±1.45

\*  $BW \times 1,000 / BL^3$

\*\* Gynogenetic diploid

各供試魚の魚体のバラツキ（変異）をみやすくするために、変動係数（標準偏差／平均値）を算出し、Table 14に示した。また、各供試魚の体長、体重および肥満度のヒストグラムをそれぞれFig. 11～Fig. 13に示した。

Table 14に示したように、三倍体の変動係数は、体長、体重においては、高い雌性発生二倍体と低い二倍体の中位を示し、肥満度では、低い二倍体と同値であった。

また、Fig. 11～13のヒストグラムにもみられるように、三倍体は、とくに体長、体重において、二倍体のよ

Table 14. Coefficient of variation\* in body sizes of each ploidy.

Groups	Body length	Body weight	Condition factor
G-diploid	0.17	0.57	0.16
Triploid	0.14	0.46	0.10
Diploid	0.13	0.37	0.10

\* Standard deviation / Mean value

うにまとまった分布を示さず、むしろ、雌性発生二倍体に近い広い分布を示した。

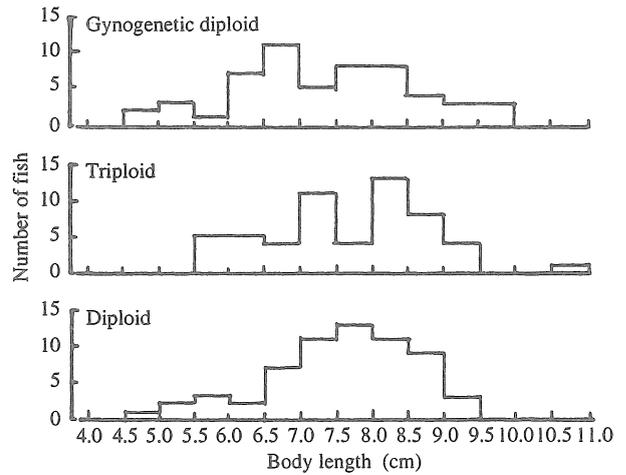


Fig. 11. Histogram of body length for each ploidy.

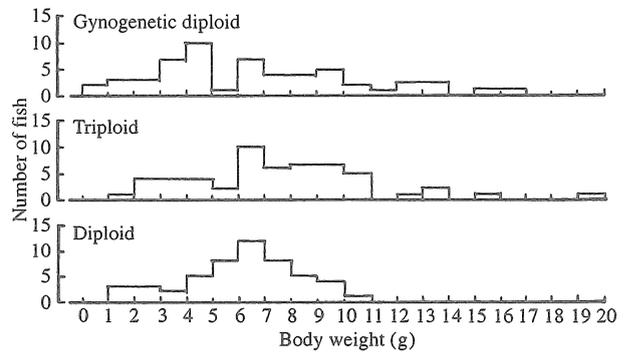


Fig. 12. Histogram of body weight for each ploidy.

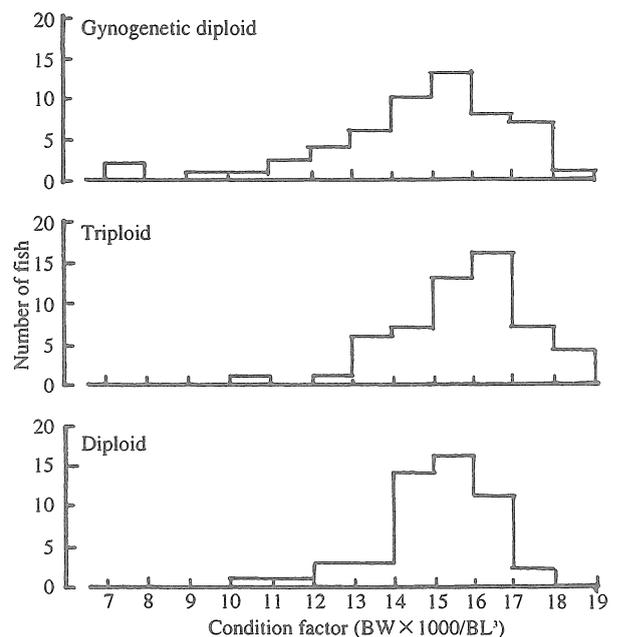


Fig. 13. Histogram of condition factor for each ploidy.

## 3) 論議

三倍体の稚魚は、二倍体より大きな個体変異を示し、雌性発生二倍体より小さい個体変異を示した。また、ヒストグラムの分布も、雌性発生二倍体に近いものであった。

近年、卵子の2セットのゲノムをもつ雌性発生二倍体では、魚体の大きさなどの個体差が、遺伝的形質として、正常二倍体より拡大することが明らかにされている(谷口, 1989)。卵子の2セットと精子の1セットのゲノムをもつ三倍体にも、この遺伝的形質が違った形で表れ、個体差を生じたものと考えられる。ただ、飼育前歴が同一ではないので、飼育環境の影響も考慮する必要がある。本実験結果を遺伝的形質のみで論ずることはできない。この三倍体に表れる個体差の現象については、後述の総合論議で詳しく論じたい。

## 第2節 性成熟

年魚であるアユの性成熟は秋季にみられ、それが完成するとアユは次代を残して死亡する。生殖腺は初秋から急速に発達し始め、それにとまって二次性徴が発現する。三倍体魚の性成熟については、当初は、雌雄とも不妊性であると考えられていたが、のちに、雄の方は成熟する可能性があるとして唆された(Purdum, 1983)。本研究の三倍体アユにおいても、前述の成長に関する実験で、成熟期の雌雄の成長差は性成熟と密接に関連していると考えられた。そこで、三倍体の性成熟を明らかにするため、雌雄の成熟、二次性徴、性比および不妊性に関する検討を行った。

## 1. 成熟および二次性徴

成熟期における三倍体アユの好成長は、性成熟の違いが関与しているものと考えられた。そこで、前述の分離比較飼育における8月20日～11月18日について、三倍体と二倍体の雌雄における、生殖腺の発達状況からみた成熟と二次性徴の発現の有無を観察した。

## 1) 材料と方法

三倍体と二倍体の雌雄10尾ずつについて、経日的に開腹して、生殖腺重量を測定し、生殖腺指数(GSI:  $GW \times 100 / BW$ )を求めた。また、二次性徴については、体色、体型および尻鰭の変化と追星などの外観をみた。さらに、混合比較飼育の供試魚についても同様の観察を行った。

## 2) 結果

8月20日～11月18日における、三倍体と二倍体の雌雄のGSIの変化をFig. 14に示した。二倍体雌のGSIは直線的に増加し、一部の雌では放卵がみられたが、41.1%の過熟の段階にまで至った。二倍体の雄では、10月22日に

12%台までの増加がみられ、以降は放精と精巢の退行のためGSIは減少した。一方、三倍体の雌では、生殖腺は未発達のまま推移し、GSIの平均値は0.5%以下にとどまった。三倍体の雄では、透明感のある桃色の精巢が発達したが、GSIの平均値は6%台までで、10月22日以降は精巢の退行がみとめられた。これらの傾向は、混合比較飼育の供試魚でもほぼ同様であった。しかし、三倍体の雌(赤血球による判定)の中には、まれに卵黄形成にまで至る個体もみられ、GSIが10%を越えるものもあった。10月以降、GSIが10%以上であった個体の出現率は、分離比較飼育では5%、混合比較飼育では2%であった。なお、三倍体雌のGSIの最高値は20.6%であった。

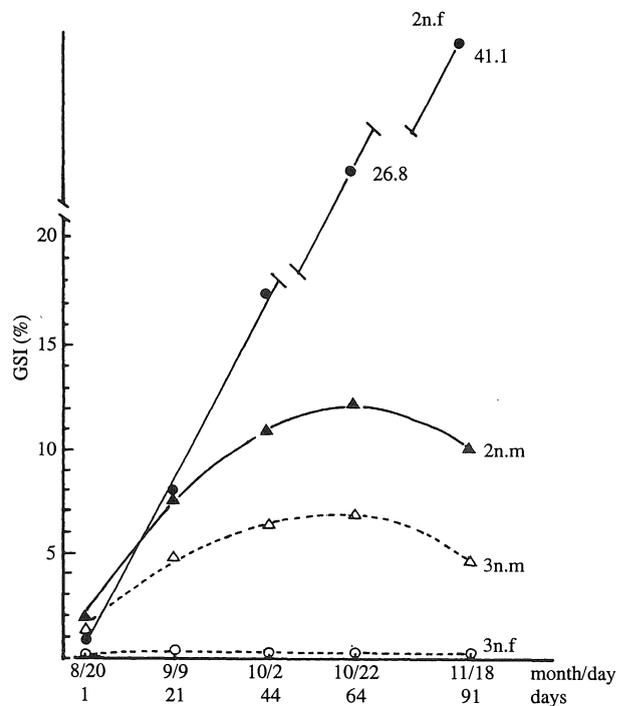


Fig. 14. Changes of gonado-somatic index of triploid and diploid females and males in the maturity season.  
3n.f:triploid female 3n.m:triploid male  
2n.f:diploid female 2n.m:diploid male

二次性徴については、三倍体の雄では、二倍体の雄よりやや遅れたが、10月2日以降、体色の黒化、尻鰭の追星など、いわゆる「サビ」がすべての個体で発現した。しかし、三倍体の雌では、二次性徴がみられず、11月18日の時点でも、夏アユの外観を呈していた。この傾向は、12月になっても、さらに、翌春になっても同様であった(Fig. 15, 16)。

## 3) 論議

三倍体の雌雄は二倍体に比して、特異的な成熟を示し

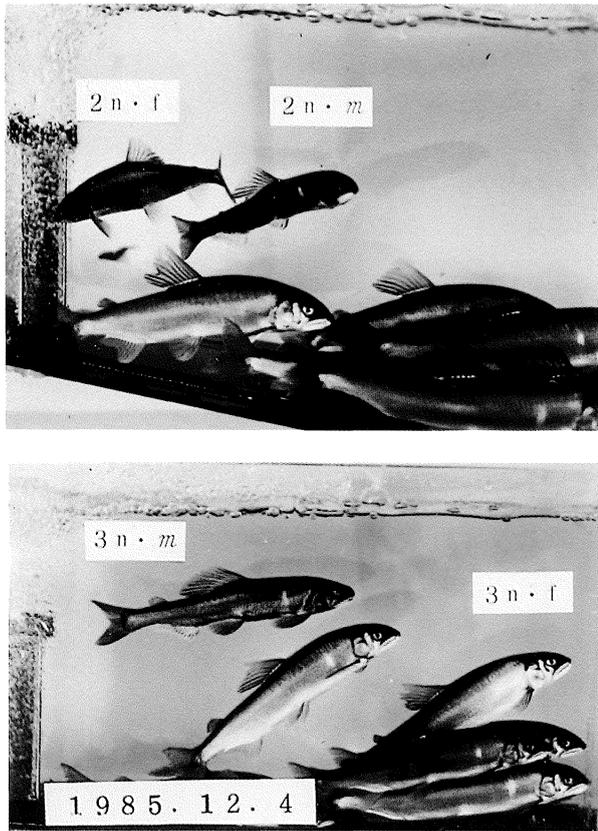


Fig.15. Secondary sexual dimorphism in triploid and diploid fish in December.  
 2n.f:diploid female 2n.m:diploid male  
 3n.f:triploid female 3n.m:triploid male

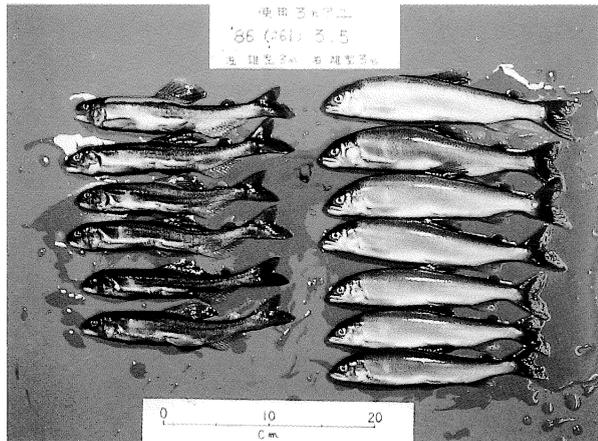


Fig.16. Secondary sexual dimorphism in triploid female (right) and male (left) in March.

た。すなわち、三倍体の雌は、例外的な個体はあるものの、その大半が生殖腺が発達しないまま推移するものと考えられた。また、三倍体の雄は精巣が発達するが、それは二倍体の半分位であると推定された (Fig.17, 18)。これらの傾向は、'87~'88年に、高知大学で行われた実験でも、同様にみられている。三倍体の好成長、なかで

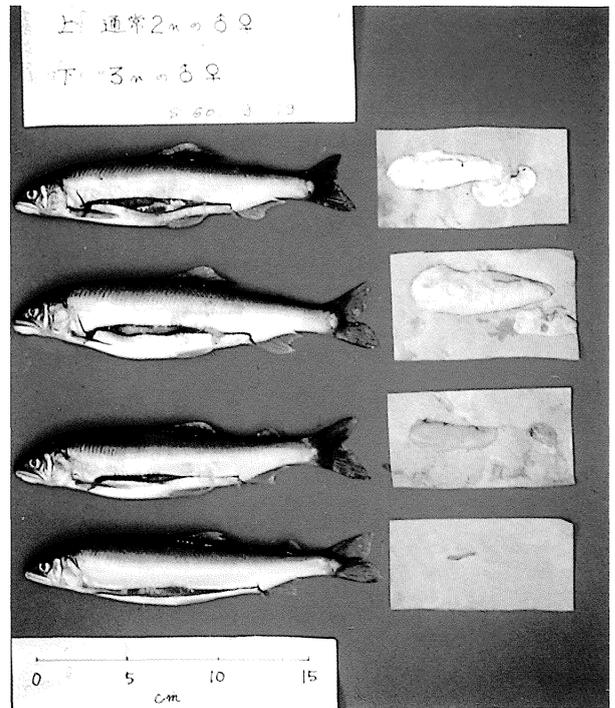


Fig.17. Gonads of male and female diploids (upper two) and triploids (lower two) in September reared in communal tank.



Fig.18. Gonads of female and male triploids (upper two) and diploids (lower two) in November reared in communal tank.

も雌の成長は、このような生殖腺の未発達が関与しているものと考えられた。三倍体雄の成熟期における成長停

止 (Fig. 9) も、発達した生殖腺に関係があると推定された。

また、三倍体の二次性徴も、雌では発現せず、雄では発現するという、特異的な発現の仕方を示した。これらは、前述の生殖腺の発達の有無と密接に関連しているものと推察された。

2. 性比および不妊性

三倍体アユの成熟期の成長には、雌雄によって違いがみられた。そこで、三倍体の性比の確認を行った。また、三倍体魚は不妊性であると考えられているので、三倍体アユの雌雄の不妊性、なかでもとくに精巣がある程度発達する雄の不妊性について検討した。

性比の材料には、前述の分離比較飼育と混合比較飼育における供試魚を用いた。その中の三倍体と二倍体の雌雄尾数によって、両者の性比とした。また、不妊性については、分離比較飼育における、三倍体と二倍体の雌雄を用いて、卵子と精子の形成状態を観察した。

1) 方法

性比については、サンプルの外観、卵精巣の状態および赤血球の大きさによって、三倍体と二倍体の雌雄を判別し、それぞれの尾数を計数した。

不妊性については、8月20日から経日的に、三倍体と二倍体の雌雄10尾ずつをとり、腹部を圧して採卵、採精の可能性の有無をみた。また、同供試魚を開腹して、卵

精巣の状態を観察した。さらに、雄の精子形成については、精巣をホルマリン固定し、その一部をスライドグラスにとり、カバーグラスで押し潰して、×100~400の検鏡によって観察した。

2) 結果

分離および混合比較飼育における、サンプル中の三倍体と二倍体の雌雄尾数をTable 15に示した。三倍体の雌雄は、二倍体同様ほぼ同数であった。

分離比較飼育における、三倍体と二倍体の雌雄それぞれの、採卵、採精可能魚の出現率と、雄の精子形成魚の割合をTable 16に示した。二倍体の雌では、10月22日以降、採卵可能魚が出現したのに対して、三倍体の雌では、生殖腺が発達しないため、当然のことながら、採卵可能魚はまったく出現しなかった。一方、二倍体の雄では、10月2日以降、採精可能魚が出現したのに対して、三倍体の雄には、それがまったく出現しなかった(透명한精漿様のものは採取された)。

また、精巣の検鏡観察では、二倍体に、8月20日からすでに、精子形成がみられたのに対して、三倍体では、正常な精子形成がまったくみとめられなかった。ただ、巨大化した細胞や、変形した鞭毛をもつものなどがみられたのみであった (Fig. 19)。

Table 15. Number of triploid and diploid females and males in each experimental group.

Samples (period)	Triploid		Diploid	
	female	male	female	male
Separate rearing (Aug~Nov)	56	53	52	49
After separate rearing (Nov 18)	181	184	124*	177
Communal rearing (Sep~Oct)	45	43	45	42

\*Increased mortality due to over maturity

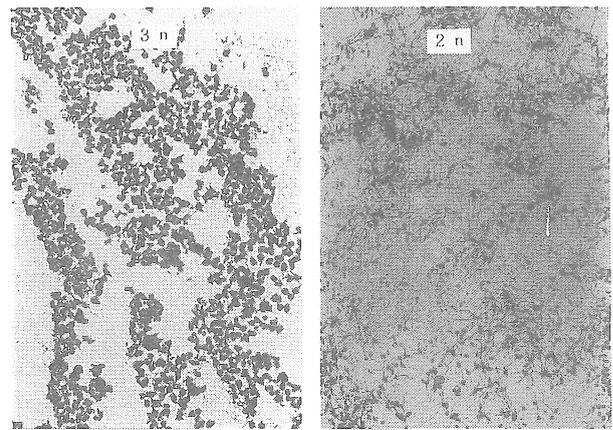


Fig.19. Spermatozoa in smear of triploid (left) and diploid (right) male.

Table 16. Appearance rate of collectable eggs and sperm, and rate of sperm formation in triploid and diploid fish (%).

		Aug 20	Sep 9	Oct 2	Oct 22	Nov 18
Female	Triploid	0	0	0	0	0
	Diploid	0	0	0	20	90
Male	Triploid	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
	Diploid	0 (100)	0 (100)	80 (100)	100 (100)	100 (100)

3) 論 議

三倍体の雌雄尾数もほぼ同数であったことから、性比は1 : 1と考えられた。このように、成熟期になっても、性比が変わらないことから、三倍体化した場合も、当歳魚においては、雌雄どちらかが生残しやすいという傾向はないと推定された。

不妊性については、三倍体では、雌の場合は、卵巣そのものが未発達で、正常な卵子形成に至らず、雄の場合も、精巣はある程度発達するものの、採精できず、正常な精子がみられないことから、雌雄のいずれも不妊性であると判断された。

第3節 血液性状

三倍体魚の赤血球細胞が二倍体より大きいことは、早くから知られていた (Swarup, 1959)。アユにおいても、三倍体は赤血球細胞が大きいことから、二倍体とは血液性状が異なることが想定される。そこで、赤血球の大きさを含めて、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値について測定し、三倍体の血液特性の解明を試みた。

1) 材料と方法

'85年9月2日～7日に、前述の混合比較飼育水槽から、三倍体と二倍体の雌雄それぞれ10尾ずつをとりあげ供試魚とした。供試魚はオイゲノールで麻酔したうえで開腹し、その動脈球より0.2～0.7mlを採血し、検査に

供した。

検査方法は、つぎのとおりとした (川津, 1981)。赤血球の細胞と核の長径については、三倍体と二倍体それぞれ5尾ずつの血液塗抹標本をギムザ染色し、1尾当たり20細胞、合計100細胞の成熟赤血球を×1000の検鏡で実測比較した。以下の検査項目については、三倍体と二倍体の雌雄それぞれ10尾ずつの血液を用いた。赤血球数 (RBC) については、トーマの血球計算盤を用いた。ヘモグロビン濃度 (Hb) については、シアンメトヘモグロビン法を、ヘマトクリット値 (Ht) については、マイクロヘマトクリット法をそれぞれ用いた。また、RBC, Hb, Htの三者の平均値から、三倍体と二倍体の、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) をそれぞれ算出した。

2) 結 果

三倍体と二倍体の雌雄の供試魚の大きさをTable 17に示したが、三倍体の方が二倍体よりやや小さかった。また、GSIに示したように、わずかに生殖腺が発達しつつあったが、検査自体に支障はないものと思われた。三倍体と二倍体の雌雄のRBC, HbおよびHt検査結果をTable 18に示した。三倍体と二倍体いずれの場合も、雌雄間の検査結果に有意差 (t検定; 5%有意水準) は

Table 17. Size, gonado-somatic index and condition factor (mean±SD) of triploid and diploid females and males used for hematological characteristics examination.

Groups	No of fish	BL (cm) <sup>1)</sup>	BW (g) <sup>2)</sup>	GSI (%) <sup>3)</sup>	CF <sup>4)</sup>	
Triploid	female	10	15.7±0.95	58.6±9.80	0.2±0.06	15.1±0.95
	male	10	15.9±0.75	59.0±8.54	1.7±1.16	14.6±0.86
Diploid	female	10	16.4±0.95	65.0±11.89	1.9±1.27	14.7±1.36
	male	10	16.9±0.48	66.6±8.80	3.5±2.47	13.8±0.90
Triploid	Total	20	15.8±0.84	58.8±8.95	1.0±1.14	14.8±0.93
Diploid	Total	20	16.6±0.78	65.8±10.21	2.7±2.08	14.3±1.22

1) Body length      2) Body weight      3) Gonado-somatic index (GW×100/BW)  
4) Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

Table 18. Hematological characteristics of triploid and diploid females and males.

Groups	No of fish	RBC <sup>1)</sup> ×10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> mean±SD	Hb <sup>2)</sup> g/100ml mean±SD	Ht <sup>3)</sup> % mean±SD	
Triploid	female	10	334.4±18.84	11.1±0.52	49.4±3.16
	male	10	327.6±24.99	10.2±1.33	45.2±6.40
Diploid	female	10	451.0±22.78	10.5±0.95	46.4±4.26
	male	10	455.5±28.11	10.8±0.82	47.9±5.01

1) Number of erythrocytes      2) Hemoglobin concentration      3) Hematocrit

Table 19. Hematological characteristics of triploid and diploid fish.

	Triploid	Diploid	Ratio <sup>7)</sup>	t
Cell major axis $\mu$	12.2±0.78	10.1±0.78	1.21	P<0.001
Nucleus major axis $\mu$	5.9±0.44	4.7±0.39	1.26	P<0.001
RBC <sup>1)</sup> ×10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup>	331.0±21.82	453.3±25.01	0.73	P<0.001
Hb <sup>2)</sup> g/100ml	10.7±1.08	10.6±0.87	1.01	P>0.50
Ht <sup>3)</sup> %	47.3±5.41	47.1±4.64	1.00	P>0.50
MCHC <sup>4)</sup>	22.6	22.5	1.00	
MCV <sup>5)</sup> $\mu^3$	142.9	103.9	1.38	
MCH <sup>6)</sup> 10 <sup>-9</sup> mg	32.3	23.4	1.38	

- 1) Number of erythrocytes      2) Hemoglobin concentration      3) Hematocrit  
 4) Mean corpuscular hemoglobin concentration :  $MCHC = \bar{x} Hb \times 100 / \bar{x} Ht$   
 5) Mean corpuscular volume :  $MCV = \bar{x} Ht \times 10^7 / \bar{x} RBC$   
 6) Mean corpuscular hemoglobin :  $MCH = \bar{x} HB \times 10^7 / \bar{x} RBC$       7) Triploid/Diploid

みとめられず、血液性状は雌雄同一とみなした。そこで、雌雄をまとめた三倍体と二倍体の血液性状をTable 19に示した。赤血球の細胞と核の長径では、三倍体が二倍体より、有意に約1.2倍以上大きい結果を示した。短径については表示しなかったが、やはり有意に大きいものの、長径ほどの違いではなかった。RBCについても、顕著な有意差を示し、三倍体は二倍体の0.73倍であった。しかし、HbとHtでは、三倍体は二倍体と有意差はなく、ほとんど同値を示した。

また、MCHCもほとんど同値で、赤血球内のヘモグロビン濃度は同一であることを示した。しかし、MCV、MCHは、三倍体の赤血球が大きいため、当然のことながら、二倍体より1.38倍大きい値を示した。

### 3) 論議

血液性状において、三倍体は二倍体に比して、きわめて特異的な違いをもっていることがわかった。すなわち、三倍体は、赤血球の量やヘモグロビンの全体量は二倍体と同じであるが、赤血球が大きい反面、赤血球数が少ないという血液特性をもっていると判断された。

これらの血液性状検査は高知大学でも行われ (Aliah *et al.*, 1991), 本実験と標本作製や検査方法の違いにより、測定値がやや異なるものの、同傾向の結果が得られている。

この血液性状における三倍体の特性は、酸素消費量など、その他の生理的特性に、関連してくるものと推察された。

### 第4節 酸素消費量および低酸素耐性

前述の血液性状にみられたように、三倍体は二倍体に比して、血中の赤血球の量やヘモグロビン量が同値であるのに、赤血球の細胞が大きく、血球数が少ないという血液特性をもっている。このことは、三倍体の溶存酸素

(DO) の消費量や低酸素耐性にも影響があるのではないかと考え、密閉流水方式によってDO消費量を計測するとともに、自己消費による酸欠死のDO濃度から、低酸素耐性をみる実験を行った。

#### 1) 材料と方法

##### 密閉流水方式によるDO消費量

三倍体と二倍体の供試魚は、'85年の8月12日~19日に、混合比較飼育水槽から、魚体の大きさを変えて、それぞれ15尾ずつサンプリングしたものである。これらの供試魚は、実験開始前に1~2日間の餌止めを行っていた。測定装置の略図をFig. 20に示した。供試魚はオイゲノールで麻酔して容器内に入れ、じゅうぶん覚醒させたのち、測定に供した。測定時の条件をTable 20に示したが、排出水のDO濃度の減少量(消費量)は、注

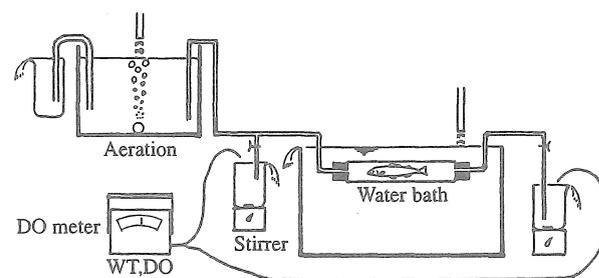


Fig. 20. Equipment used for measuring oxygen consumption.

Table 20. Oxygen consumption experiment in triploid and diploid fish.

Shut stream method	
Condition of fish	5~11 hrs after feeding
Range of WT(°C)	20.3~20.9
Limit of oxygen consumption	within 20% of pouring
Gill pulse rate(time/sec)	2.3~2.5
Light degree	below 20 lux

入水のDO濃度の20%以内になるよう、流量を調節した(板沢, 1981)。

酸欠死DO濃度

'86年の三倍体と二倍体の未成魚5尾ずつを、密閉容器(5.4l/容. 三角フラスコ)に収容し、酸欠死するま

での時間を計るとともに、DO濃度の変化をウィンクラー(アジ化ナトリウム変)法で測定した。供試魚はオイゲノールで麻酔して容器内に収容し、通水してじゅうぶん覚醒させたのち、通水を止めて実験開始とした。また、酸欠死の判定は、鰓蓋運動が完全に停止した時点とした。酸欠死測定装置の略図をFig. 21に示した。

実験は4回にわたって行ったが、各実験における三倍体と二倍体の供試魚の大きさをTable 21に示した。平均体重で見ると、三倍体の方が二倍体よりやや小さかった。なお、供試魚は、実験開始前に2日間の餌止めをしておいた。

2) 結果

密閉流水方式によるDO消費量

三倍体と二倍体の供試魚の大きさと、DO消費量(ml/時)の結果をTable 22に示した。また、体重とDO消

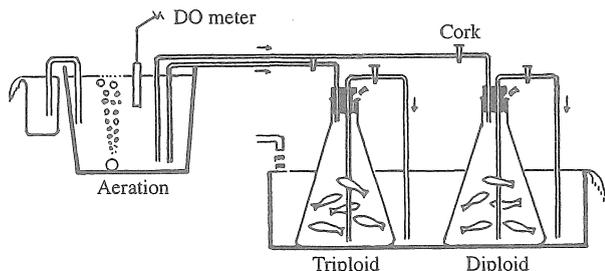


Fig. 21. Equipment used to measure mortality (due to lack of oxygen).

Table 21. Mean size of triploid and diploid fish in each experiment to measure mortality due to lack of oxygen.

	Exp-1*		Exp-2		Exp-3		Exp-4		
	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	
No of fish	5	5	5	5	5	5	5	5	
BL cm	Mean	9.54	9.64	9.30	9.60	9.76	9.40	8.76	9.66
	Range	9.2~9.8	9.4~9.9	9.1~9.6	9.4~9.8	9.1~10.7	8.7~9.8	8.4~9.0	9.3~9.9
TL cm	Mean	11.42	11.36	11.16	11.36	11.68	11.10	10.48	11.46
	Range	11.0~11.6	11.0~11.7	10.9~11.4	11.2~11.6	11.0~12.7	10.4~11.5	10.2~10.8	11.1~11.8
BW g	Mean	11.86	12.42	10.68	12.42	11.42	11.64	9.00	13.04
	Range	10.3~12.7	11.5~13.7	10.0~11.2	11.5~13.5	9.6~14.9	9.3~12.9	8.0~11.3	12.1~14.4

\* Experiment number

Table 22. Size of fish and oxygen consumption in each sample of triploid and diploid.

Sample No	Triploid				Diploid			
	BL (cm)	BW (g)	CF*	OC (ml/h)**	BL (cm)	BW (g)	CF*	OC (ml/h)**
1	10.3	18.3	16.8	5.4	10.5	16.0	13.8	3.9
2	11.6	22.5	14.4	3.1	10.6	18.8	15.8	3.2
3	11.5	22.9	15.1	4.8	11.3	19.4	13.5	4.2
4	11.1	23.4	17.1	3.5	11.8	22.6	13.8	5.3
5	11.2	23.5	16.7	4.6	12.7	26.5	12.9	4.8
6	11.8	28.1	17.1	7.2	12.2	28.6	15.8	8.1
7	12.4	28.2	14.5	3.8	12.2	29.6	16.3	9.1
8	12.6	29.4	14.7	5.4	12.4	30.5	16.0	6.0
9	13.0	31.0	14.1	5.0	12.5	31.3	16.0	8.5
10	12.6	32.9	16.5	5.6	12.6	32.1	16.1	6.0
11	13.3	33.0	14.0	9.7	13.0	36.0	16.4	9.8
12	14.0	38.6	14.1	6.1	13.9	36.7	13.7	12.4
13	13.6	39.9	15.9	10.6	14.3	41.6	14.2	6.7
14	13.9	43.6	16.2	12.5	13.7	43.7	17.0	12.1
15	14.7	48.5	15.3	14.0	14.4	48.1	16.1	10.1

\* Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

\*\* Oxygen consumption

費量の関係をFig. 22に示した。三倍体、二倍体とも、体重とDO消費量の間には、正の相関がみられたが、両

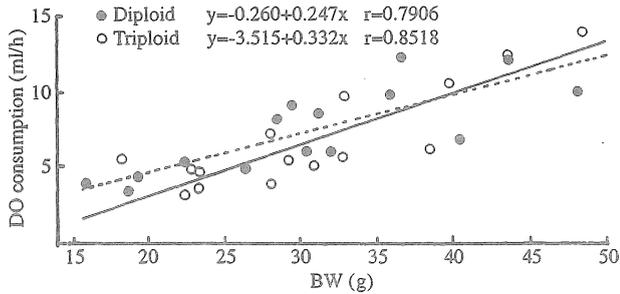


Fig. 22. Relation between body weight and oxygen(DO) consumption of triploid and diploid fish.

者のDO消費量には、個体差が大きく、明らかな違いはみられなかった。

酸欠死DO濃度

4回の実験における、開始時と、5尾すべてがへい死した終了時のDO濃度と飽和度、およびへい死に至るまでの時間(第1尾目と最後の5尾目)をTable 23に示した。水温はいずれの実験の場合も20.9℃であった。Table 23に示したように、三倍体の方が二倍体よりも、

高いDO濃度と飽和度で、へい死したとはみられない結果であった。また、三倍体の方がより早くへい死する傾向もみられなかった。しかし、本実験では、供試魚の大きさに多少の差があるので、体重の大小と、1尾当たりおよび体重1g当たりのDO消費量をTable 24に示した。体重では、いずれの実験の場合も、三倍体の方が二倍体よりも小さかった。しかし、1尾当たりのDO消費量では、実験-2と4のように、魚体が小さくても、DO消費量が多い場合もみられた。また、体重1g当たりのDO消費量では、魚体の小さい三倍体の方が、当然ながら、多い傾向を示した。

3) 論議

密閉流水方式によるDO消費量の実験では、三倍体の酸素消費量は二倍体と明らかな差がなかった。高知大学においても、同様の装置を用いて、酸素消費量の実験が行われたが、やはり、両者に有意な差はみられていない(Aliah *et al.*, 1991)。

酸欠死DO濃度の実験では、三倍体は二倍体に比べて、酸欠死する時点のDO濃度に、明らかな差はみられないが、魚体は小さくても酸素消費量が多い場合もみられたことから、酸素消費量はやや多い可能性があると考えら

Table 23. Initial and final oxygen concentrations and saturation degrees in each experiments (time of first and fifth dead fish due to lack of oxygen were observed) in triploid and diploid groups.

		Exp-1 <sup>1)</sup>		Exp-2		Exp-3		Exp-4	
		Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid
Initial	Con <sup>2)</sup> mg/l	6.59	6.92	6.93	6.93	7.03	6.87	7.05	6.67
	Sa.d <sup>3)</sup> %	73.9	77.6	77.7	77.7	78.8	77.0	79.0	74.8
Final	Con mg/l	1.29	1.37	1.24	1.25	1.21	1.04	1.08	1.13
	Sa.d %	14.5	15.4	13.9	14.0	13.4	11.7	12.1	12.7
Time <sup>4)</sup>	First dead fish	1:15'	1:27'	1:36'	1:11'	1:32'	1:25'	1:46'	1:06'
	Fifth dead fish	1:21'	1:34'	1:49'	1:41'	1:54'	1:35'	1:59'	1:23'

1) Experiment number    2) Oxygen concentration    3) Oxygen saturation degree  
4) An hour and minutes since the experiments began

Table 24. Comparison of mean body weight and oxygen consumption between triploid and diploid fish for each experiment.

	Exp-1		Exp-2		Exp-3		Exp-4	
	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid
BW (g) <sup>1)</sup>	11.9 < 12.4		10.7 < 12.4		11.4 < 11.6		9.0 < 13.0	
OC (mg/fish) <sup>2)</sup>	5.73 < 6.01		6.16 > 6.15		6.30 < 6.31		6.46 > 5.99	
OC (mg/g) <sup>3)</sup>	0.48 = 0.48		0.58 > 0.49		0.55 > 0.54		0.72 > 0.46	

1) Mean body weight    2) Oxygen consumption per fish  
3) Oxygen consumption per gram of body weight

れた。この傾向は、前述の高知大学の実験においても言及されている。

このように、三倍体の酸素消費量は、二倍体に比べて、やや多い可能性はあるものの、明らかな差はないものと考えられた。また、三倍体の低酸素耐性も二倍体と差はないものと推定された。

これらの要因として、測定方法の問題も考慮する必要があるが、三倍体の赤血球の形状そのものも、偏平で可変的であり、全体の血球表面積に、二倍体と大きな差がないことも、理由の一つと考えられた。

ただ、これらの傾向は、三倍体と二倍体を別個に実験して得られた結果である。混合した条件下では、相互干渉が生じて、酸素消費量や低酸素耐性が異なってくることも推察される。

本研究中でも、混合飼育において、酸欠時に、三倍体の方が二倍体より早く、かつ多くへい死する傾向が観察された。ちなみに、'85年の混合比較飼育水槽において、9月3日、攪水車の故障で酸欠状態を来したが、その時の放養尾数に対する三倍体と二倍体のへい死率は、2.67%と0.67%であった。この時のへい死魚の平均体重は、三倍体が37.2g、二倍体は46.8gで、小さい三倍体の方が早く多くへい死した。したがって、二倍体と同一条件下の飼育では、三倍体の、とくに低酸素耐性については、じゅうぶん留意すべきであろうと考えられた。

### 第5節 抗 病 性

抗病性の有無は、アユの生産を左右する重要な要素である。しかし、三倍体魚の抗病性に関する報告は、異質三倍体については1報告がある (Parsons *et al*, 1986) が、アユのような同質三倍体については皆無である。そこで、アユの代表的な細菌性疾病であるビブリオ病と、寄生虫症としてしばしばみられるギロダクテルス症と黒点病について、三倍体の抗病性を検討した。

#### 1. ビブリオ病に対する抗病性

三倍体の抗病性をみるために、血清型 A の *Vibrio*

*anguillarum* に対する感受性と、同血清型菌のビブリオ病ワクチンの効果について、二倍体と比較検討した。

#### 1) 材料と方法

##### *V. anguillarum* に対する感受性

'85年に作出し、翌'86年7月まで養成した三倍体と二倍体の未成魚について、*V. anguillarum* のLD<sub>50</sub>値を求めた。

実験は7月4日～8月14日の間3回行った。それぞれの実験における、三倍体と二倍体の魚体の大きさを Table 25に示したが、三倍体の方が二倍体よりわずかに小さかった。

供試菌株には、宮崎大学より分与を受けた病原性のある *V. anguillarum* PT-24 株を用いた。実験に先立って、同株を用いて、実験魚以外のアユに筋肉注射によって人為感染させ、その感染魚を-40℃で凍結保存し、菌の病原性を保持しておいた。実験直前にこの凍結感染魚を解冻し、供試菌を再分離して純培養を行った。次いで1%食塩水を用いて、 $\times 10^5 \sim 10^6$  CFU/mlの菌液を5lずつ調製した。この各菌液濃度液に、供試魚を10尾ずつあるいは20尾ずつ5分間浸漬して人為感染させた (城, 1981)。感染後は40l容の水槽に移し、無給餌で流水飼育を行いながら、10日間のへい死率をみた。このへい死率から、Reed-Muench法 (国立予防衛生研究所学会, 1973) によりLD<sub>50</sub>を算出した。また、へい死魚については、腎臓部からの細菌分離を行い、抗血清によるスライド凝集反応によって、供試菌によるへい死であることを確認した。飼育期間中の水温は19.5～20.8℃であった。

##### ビブリオ病ワクチン効果

'86年に作出し、'87年7月まで養成した三倍体と二倍体の未成魚について、ビブリオ病ワクチンの有効期間と有効率を比較した。三倍体と二倍体の供試魚は、飼育前歴の影響を少なくするため、5月21日から40日間、同一水槽内で混養しておいた。

供試菌株には、自然発症のアユから分離した、血清型

Table 25. Number of fish (in a lot) and size of triploid and diploid fish in resistance to vibriosis experiment.

	Exp- I <sup>1)</sup>		Exp- II		Exp- III	
	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid
No of fish in a lot	10	10	20	20	20	20
Mean <sup>2)</sup> body length (cm)	7.3	7.5	7.7	8.1	8.9	9.1
Mean body weight (g)	5.6	6.2	7.5	8.7	10.3	12.0
Condition factor <sup>3)</sup>	14.5	14.4	15.9	15.9	14.7	15.6

1) Experiment number

2) Dead fish not included

3) BW×1,000/BL<sup>3</sup>

Aの*V. anguillarum*を用いた。攻撃試験に使用するために、あらかじめ実験魚以外のアユに浸漬法によって人為感染させ、その感染魚を $-40^{\circ}\text{C}$ で凍結保存しておいた。ワクチン原液は、供試菌を1%食塩加トリプトソイブイオン培地で $25^{\circ}\text{C}$ 、48時間培養したのち、0.3%になるようにホルマリンを加え、 $4^{\circ}\text{C}$ に24時間放置して不活化する方法で作製した。原液の菌濃度は $1.1 \times 10^8 \text{CFU/ml}$ であった。

ワクチン処理は、この原液を飼育用水で10倍希釈して、40lのワクチン液を作製し、この液に、三倍体と二倍体を100尾ずつ、10分間浸漬することによった(城, 1981; Kawano *et al.*, 1983)。ワクチン処理後は、対照の無処理の供試魚とまったく同一条件で、残餌がでない程度に1日3回給餌しながら、5t水槽で流水飼育した。

ワクチン処理後、1, 2, 3および8週目に、5分間の浸漬感染法によって攻撃した。攻撃菌濃度は $10^4 \text{CFU/ml}$ になるよう調製した(楠田ら, 1981)。

攻撃試験に使用した三倍体と二倍体のワクチン処理区と無処理区の供試尾数は、20尾または25尾であった。1, 2, 3および8週目の攻撃試験に用いた供試魚の大きさ

をTable 26にまとめて示した。各試験とも、三倍体の方が二倍体よりわずかに小さかった。

攻撃後は、それぞれの試験区毎に、尾数を20尾に統一して、40l容の水槽に収容した。以後、2週間にわたって流水飼育しながら、毎日のへい死状況をみた。へい死魚については、腎臓部から細菌分離を行い、抗血清によるスライド凝集反応によって、供試菌によるへい死であることを確認した。

## 2) 結果

### *V. anguillarum* に対する感受性

3回の実験における、三倍体と二倍体の菌濃度別のへい死亡率と $\text{LD}_{50}$ をTable 27にまとめて示した。各実験のへい死亡率は、人為感染の菌濃度が若干異なるため一様ではなかったが、いずれの場合も、 $10^5 \text{CFU/ml}$ および $10^4 \text{CFU/ml}$ の菌濃度では、すべての個体がへい死し、人為感染させなかった対照区(Control)では、まったくへい死魚はみられなかった。

各実験における、三倍体と二倍体に対する*V. anguillarum*の $\text{LD}_{50}$ 値は、実験-Iでは、三倍体がやや低かったが、実験-IIとIIIでは、両者間にほとんど差はみられ

Table 26. Size of triploid and diploid fish in each challenge experiment (artificial infection with *Vibrio anguillarum*).

Weeks after vaccination	Triploid				Diploid			
	No of fish	BL (cm) <sup>1)</sup>	BW (g) <sup>2)</sup>	CF <sup>3)</sup>	No of fish	BL (cm)	BW (g)	CF
1	25	8.1	8.1	15.0	25	8.7	9.9	15.2
2	20	8.5	9.0	14.9	20	8.8	10.9	16.0
3	20	8.8	11.4	16.5	20	8.9	12.4	17.3
8	25	10.2	15.1	14.2	25	10.6	16.7	13.8

1) Mean body length    2) Mean body weight    3) Condition factor ( $\text{BW} \times 1,000 / \text{BL}^3$ )

Table 27. Comparison of mortality rate between triploid and diploid fish infected with different concentrations of *Vibrio anguillarum*, and comparison of the limited death 50 ( $\text{LD}_{50}$ ) between triploid and diploid fish.

Concentration of <i>V. anguillarum</i>	Exp-I		Exp-II		Exp-III	
	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid
$10^5$ (CFU/ml)	100*	100	-	-	100	100
$10^4$	100	100	100	100	100	100
$10^3$	100	100	100	100	65	60
$10^2$	80	40	45	40	10	10
$10^1$	20	10	10	15	0	0
$10^0$	0	0	-	-	-	-
Control	0	0	0	0	0	0
$\text{LD}_{50}$ **	$3 \times 10^{15}$	$3 \times 10^{21}$	$2 \times 10^{20}$	$2 \times 10^{23}$	$3 \times 10^{27}$	$3 \times 10^{28}$

\* Percent of dead fish

\*\* Limited death 50

なかった。

また、低菌濃度における、三倍体と二倍体の経日的な生存率の変化をFig. 23に示した。実験-Iの $10^2$ CFU/mlで人為感染させた場合を除いて、最終生存率では、両者の間に有意な差（有意水準：5%）はみとめられな

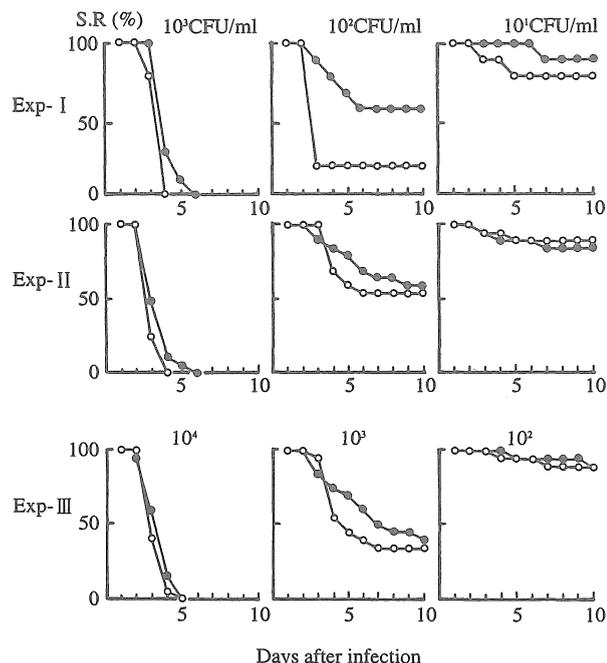


Fig. 23. Changes in survival rate (SR) of triploid and diploid fish infected with different concentrations of *V. anguillarum*. (○) Triploid, (●) Diploid

かった。しかし、三倍体の方が二倍体より早くへい死する傾向がみられた。

#### ビブリオ病ワクチン効果

ワクチン処理後1, 2, 3および8週目の攻撃試験における、菌濃度と期間中の飼育水温をTable 28に示し

Table 28. *Vibrio anguillarum* concentration and water temperature range in each challenge experiment.

Weeks after vaccination	Period	<i>V. a</i> concentration (CFU/ml)	Temperature (range°C)
1	Jul 8~Jul 21	$3.3 \times 10^3$	20.6~20.9
2	Jul 15~Jul 28	$1.8 \times 10^4$	20.6~20.8
3	Jul 29~Aug 12	$1.1 \times 10^4$	20.7~20.8
8	Aug 26~Sep 8	$0.9 \times 10^4$	20.6~20.8

た。菌濃度では若干の差があったが、飼育水温はほぼ同一であった。

各攻撃試験後における、三倍体と二倍体のワクチン処理区と無処理区のへい死率をTable 29に示した。ワクチン処理区では、三倍体のへい死率が二倍体より高かったが、有意な差（有意水準5%）ではなかった。また、無処理区でも、三倍体はすべて100%のへい死率であったのに対して、二倍体では、1週目と3週目に、それぞれ90%と95%のへい死率を示した。これら両者のへい死の有効率（RPS: Relative of Percentage Survival）を求めたものをTable 30に示した。いずれの週でもワクチンの有効性がみとめられたが、三倍体は二倍体よりやや低いワクチン有効率を示した。

また、各週の攻撃試験における、三倍体と二倍体のワクチン処理区と無処理区の生存率の経日変化をFig. 24に示した。いずれの週においても、ワクチン処理区の三倍体と二倍体は高い生存率で推移したのに対して、無処理

Table 29. Mortality rate of vaccinated and non-vaccinated triploid and diploid groups.

Weeks after vaccination	Triploid		Diploid	
	Vaccine	Non	Vaccine	Non
1	30*	100	10	90
2	10	100	0	100
3	25	100	20	95
8	20	100	15	100

\* Mortality (%)

Table 30. Relative of Percentages Survival (RPS) in triploid and diploid fish vaccinated and challenged with *V. anguillarum* at given intervals.

Weeks after Vaccination	Triploid	Diploid
1	70*	89
2	90	100
3	75	79
8	80	85

\*RPS:  $1 - \left| \frac{\% \text{ vaccination mortality}}{\% \text{ control mortality}} \right| \times 100$

区は短時日のうちにへい死した。へい死状況では、三倍体の方がやや早くへい死する傾向がみられた。

#### 3) 論 議

*V. anguillarum* に対する感受性実験において、三倍体と二倍体に対する*V. anguillarum*のLD<sub>50</sub>値は、実験-Iでは、三倍体の方がやや低く、実験-IIとIIIでは、二

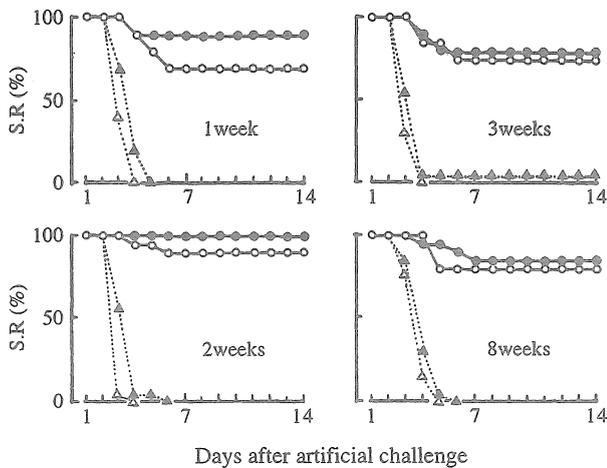


Fig. 24. Changes in survival rate (S.R.) of triploid and diploid fish vaccinated and challenged with *V. anguillarum* at given intervals. (○) Vaccinated triploid, (△) Non-vaccinated triploid, (●) Vaccinated diploid, (▲) Non-vaccinated diploid

倍体とほとんど差がみられなかった。この実験-Iにおける差の要因は、供試魚の状態によるものと思われた。すなわち、実験-Iの三倍体と二倍体は、別々の水槽から得られたもので、実験-IIとIIIの供試魚は、両者を混養して後、それぞれ12日目と27日目に得られたものである。このような、実験に供するまでの飼育前歴が、実験結果に影響したものと考えられた。したがって、実験-IIとIIIの結果のように、LD<sub>50</sub>値、すなわち、*V. anguillarum* に対する感受性において、三倍体は二倍体とほとんど差はないと考えられた。

また、Fig. 23にみられたように、低菌濃度における、三倍体と二倍体の経日的な生残率の変化では、実験-Iの10<sup>3</sup>CFU/mlで感染させた場合を除いて、最終生残率では、両者の間に有意差はみとめられなかった。しかし、へい死自体は、三倍体の方が二倍体より早い傾向がみられた。このことは、三倍体群のなかに、*V. anguillarum* に対する感受性が高い個体も含まれていることを示唆していると考えられた。

ビブリオ病ワクチン効果の実験において、ワクチン処理区の三倍体も、二倍体同様生残したことから、ワクチン効果自体は8週間後でもじゅうぶん期待できると考えられた。しかし、ワクチンの有効率は、二倍体よりやや低いものと推定された。

また、ワクチン無処理区のへい死状況では、感受性の実験同様、三倍体の方が二倍体よりやや早くへい死する傾向がみられた。

以上のように、三倍体は、*V. anguillarum* に対する

感受性において、二倍体とほとんど差がなく、ワクチン効果も期待できることから、三倍体のビブリオ病(血清型A)に対する抗病性は、二倍体とほぼ同等であると推定された。ただ、人為感染において、早く死ぬ個体もみられることから、抗病性が弱い個体も含まれると推察された。

2. ギロダクチルス症ならびに黒点病に対する抗病性  
三倍体と二倍体について、アユのギロダクチルス症の原因とされている *Gyrodactylus japonicus* (Ogawa and Egusa, 1978) と、黒点病の原因である横川吸虫 *Metagonimus yokogawai* に対する感受性を、人為感染によって比較し、両疾病に対する抗病性を検討した。

### 1) 材料と方法

#### ギロダクチルスに対する感受性

'86年に作出し、翌'87年7月まで養成した三倍体と二倍体の未成魚を供試魚とした。両者は同年5月から実験に供するまでの間、同一水槽内で混養し、ギロダクチルスの寄生がないことを確認しておいた。

人為感染は、三倍体と二倍体を50尾ずつ400l容水槽に収容した後、ギロダクチルスが既に寄生しているアユ12尾を投入して、実験が終了するまで同居させておく方法によった。

寄生虫体数は体表と鰓について計数したが、その方法をFig. 25に示した。まず、三倍体と二倍体それぞれ20尾ずつを、同居開始後2週目と6週目にとりあげた。とりあげた供試魚を1尾ずつ氷水麻醉して、左体側の粘液と左第一鰓弓を鰓弁ごとスライドグラスにとり、×100

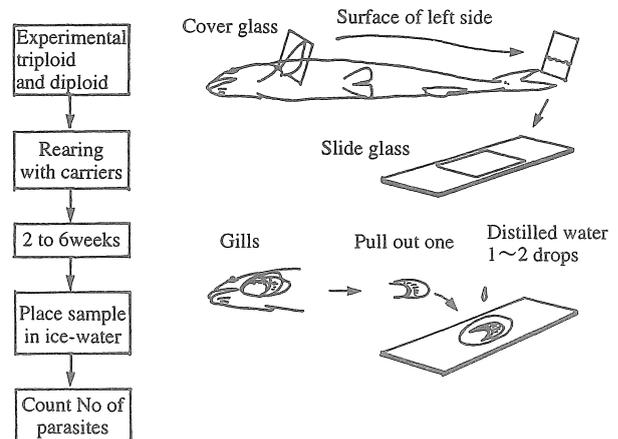


Fig. 25. Parasites counting method in the body surface and gill of triploid and diploid fish.

の検鏡によって、虫体数を計数した。実験期間中は流水飼育としたが、水温は21~23℃であった。

横川吸虫に対する感受性

ギロダクチルスに対する感受性実験に用いた供試魚と同じ由来群から、三倍体と二倍体の未成魚をとりあげ供試魚とした。両者は、5月から実験に供する7月までの間、地下水を用いて混養しておいたもので、横川吸虫に感染する恐れのないものである。

人為感染は、三倍体と二倍体を30尾ずつ400l 容水槽内に収容し、横川吸虫が存在する河川から採集してきたカワニナ *Semisulcospira libertina* を、30個投入する方法によった。第一中間宿主であるカワニナを投入後25日目に、三倍体と二倍体を20尾ずつとりあげ、氷水で麻酔したのち、左体側の側線と正中線で囲まれる、腹側の体色が白い範囲について、黒点数を目視によって計数した。また、メタセルカリア（被のう幼虫）の確認は、Fig. 26に示した方法で、随時検鏡によって行った。感染実験期間中は流水飼育としたが、飼育水温は21~23℃であった。

2) 結 果

ギロダクチルスに対する感受性

感染原のアユを投入後、2週目と6週目にとりあげた三倍体と二倍体の被検魚の大きさをTable 31に示した。いずれの週でも、三倍体の方が二倍体よりわずかに小さかった。

寄生は、三倍体、二倍体ともに、体表ではみとめられたが、鰓ではみられなかった。そこで、2週目と6週目

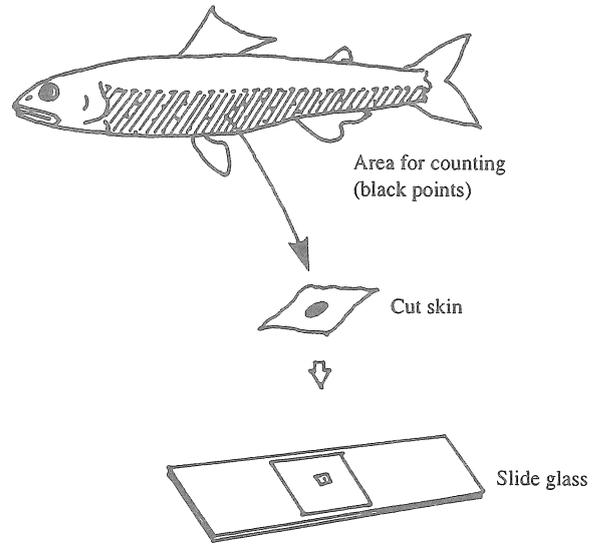


Fig. 26. Counting area of parasites (black points) and indentifiably method of metacercaria.

の、三倍体と二倍体の体表に寄生したギロダクチルスの寄生虫体数をTable 32に示した。供試尾数に対する感染魚率は65~80%で、供試魚1尾当たりの寄生虫体数は、2週目では三倍体が1.7個体で、二倍体の1.3個体より多かったが、6週目では三倍体は1.3個体で、二倍体の1.8個体より少なかった。このように寄生虫体数は少なかったが、いずれの週でも、三倍体と二倍体の間に有意な差はみられなかった。

Table 31. Size (mean±SD) of triploid and diploid fish after 2 or 6 weeks rearing with parasite carriers.

Rearing with carriers	Groups	No of fish	BL (cm)	BW (g)	CF*
2 weeks	Triploid	20	8.6±0.45	9.7±1.83	15.4±1.24
	Diploid	20	9.0±0.44	11.7±1.97	16.1±1.20
6 weeks	Triploid	20	10.0±0.77	14.0±2.76	13.9±1.79
	Diploid	20	10.0±0.49	15.2±2.78	14.9±0.80

\* Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

Table 32. Number of *G.japonicus* on the surface of triploid and diploid fish after 2 or 6 weeks rearing with parasite carriers.

Rearing with carrier	Groups	Examined fish	Infected fish (rate %)	Mean No of parasite* (range)	t
2 weeks	Triploid	20	16 (80)	1.7±1.63 (0~6)	P>0.20
	Diploid	20	13 (65)	1.3±1.21 (0~4)	
6 weeks	Triploid	20	15 (75)	1.3±1.16 (0~5)	P>0.20
	Diploid	20	16 (80)	1.8±1.51 (0~5)	

\* Mean number of parasite per a examined fish±SD

## 横川吸虫に対する感受性

三倍体と二倍体の、被検魚の大きさとメタセルカリア寄生虫体（黒点）数をTable 33にまとめて示した。魚体の大きさでは、三倍体より二倍体の方が、肥満度がやや高く、体表面積もわずかに広がったが、寄生虫体数の検査には影響はない程度であった。感染魚（黒点が確認されたもの）数では1尾の差があったが、供試魚1尾当たりのメタセルカリア寄生虫体数は、三倍体、二倍体ともに4.1個体で、両者の間に有意な差はみられなかった。

## 3) 論議

ギロダクチルスに対する感受性実験では、寄生虫体数自体は少なかったが、三倍体と二倍体の間に、その有意差はみられなかった。したがって、三倍体のギロダクチルスに対する感受性は二倍体と差はないものと考えられた。ただ、人為感染は成立したものの、寄生虫体数が少ない結果となったのは、本虫が胎生で、伝播は魚体を離れた虫体が他の宿主に遭遇することによる（江草, 1978）とされていることから、感染原アユの数や飼育密度が影響したものと推定された。

横川吸虫は、5～10月の高水温期に、カワニナからセルカリアが遊出し、アユに侵入してメタセルカリアになる（越智, 1957）。そして、侵入後成熟メタセルカリアになるのに、夏季の水温20～27℃で、18～20日を要するとされている（高橋, 1929）。本実験は、これらの条件に合致しており、人為感染はじゅうぶん成立したものと考えられた。そして、実験の結果、メタセルカリアの寄生虫体数に、三倍体と二倍体の間に有意差はみられなかった。したがって、三倍体の横川吸虫に対する感受性も、二倍体と差はないものと考えられた。

以上のように、ギロダクチルスと横川吸虫に対する感受性において、三倍体は二倍体と差がないとみられたことから、三倍体のギロダクチルス症と黒点病に対する抗病性は、二倍体と同等であると考えられた。

## 第6節 水温耐性

三倍体魚の水温耐性に関する報告はみられない。アユ

は温水性魚類であるが、10℃以下や28℃以上では、餌を食べない（石田, 1987）などの生理的障害をきたす。そして、水温がさらに降下あるいは上昇すると死亡する。そこで、常水温から低水温（5℃）へ、また、常水温から高水温（30℃）へという、水温変化によるへい死状況から、三倍体アユの低水温と高水温に対する水温耐性をみるための実験を行った。

## 1) 材料と方法

## 低水温耐性

'87年に作出し、翌'88年7月まで養成した三倍体と二倍体30尾ずつを供試魚とした。両者は、同年5月から実験に供するまでの55日間、同一水槽内で混養しておいた。実験には、200l容水槽（L×B×D=130×50×50cm）を用い、クーラーによって、水温を徐々に常水温の21.3℃から5℃を目安に降下させた。また、酸欠によるへい死が起きないように、DOメーターで酸素濃度を常時チェックした。実験装置の略図をFig. 27に示した。

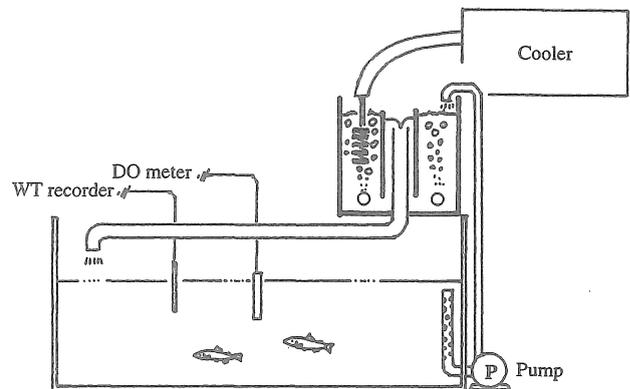


Fig. 27. Equipment used for low water temperature endurance experiment.

## 高水温耐性

低水温耐性に用いた供試魚と同群由来の、三倍体と二倍体各30尾を供試魚とした。両者は実験に供するまでの62日間、同一水槽内で混養しておいた。実験には、200l

Table 33. Size of triploid and diploid fish and number of *M.yokogawai* metacercaria in triploid and diploid fish after 25 days rearing with *S.libertina*.

Groups	Examined fish	BL (cm) mean±SD	BW (g) mean±SD	CF* mean±SD	Infected fish (rate %)	Mean No of parasite** (range)	t
Triploid	20	10.0±0.77	14.0±2.76	13.9±1.79	20 (100)	4.1±1.80 (1~8)	P>0.20
Diploid	20	10.0±0.49	15.2±2.78	14.9±0.80	19 ( 95)	4.1±2.51 (0~9)	

\*Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

\*\*Mean number of parasite per examined fish±SD

容水槽 (L×B×D=130×50×50cm) を用い、電気ヒーターによって、水温を徐々に常水温の20.5℃から30℃を目安に上昇させた。また、酸欠によるへい死を防ぐために常時酸素濃度をチェックした。実験装置の略図をFig. 28に示した。

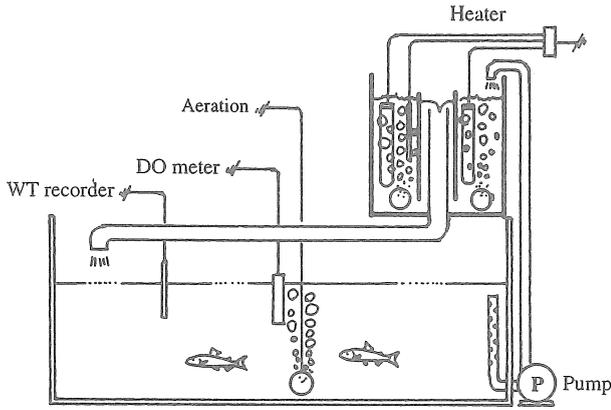


Fig. 28. Equipment used for low water temperature endurance experiment.

2) 結果

低水温耐性

三倍体と二倍体の供試魚の大きさと、終了時（実験開始後5日目）における、両者の生残尾数と生残率をTable 34にまとめて示した。また、降下水温の変化と、三倍体と二倍体の経時的な生残率の変化をFig. 29に示した。

Table 34に示したように、三倍体の生残率は3.3%、二倍体のそれは13.3%で、三倍体の方が低い結果であつた。

Table 34. Size and survival rate of triploid and diploid fish at low water temperature (5℃).

Groups	No of fish	BL (cm) mean±SD	BW (g) mean±SD	CF* mean±SD	Survival	
					No of fish	Rate (%)
Triploid	30	11.6±0.60	24.6±3.55	15.7±1.17	1	3.3
Diploid	30	11.1±0.54	20.6±3.38	15.1±0.83	4	13.3

\* Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

Table 35. Size and survival rate of triploid and diploid fish at high water temperature (30℃).

Groups	No of fish	BL (cm) mean±SD	BW (g) mean±SD	CF* mean±SD	Survival**	
					No of fish	Rate (%)
Triploid	30	11.5±0.60	22.5±3.40	14.7±1.03	0	0
Diploid	30	11.4±0.70	21.0±4.06	13.9±0.97	0	0

\* Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

\*\* All fish were dead due to too high temperature

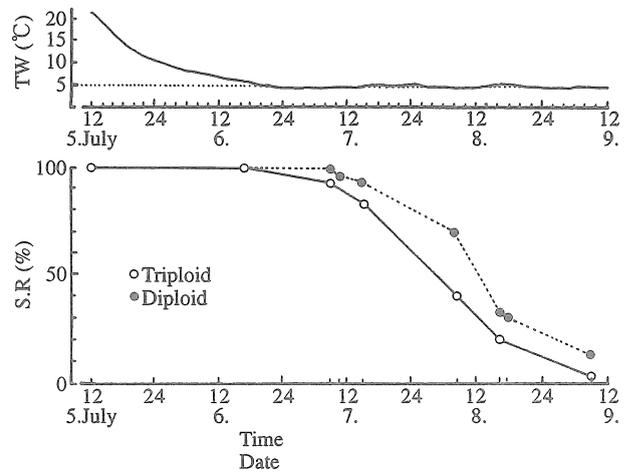


Fig. 29. Changes of water temperature and survival rate of triploid and diploid fish in low water temperature.

た。また、Fig. 29に示したように、水温が5℃に降下したのち、まず三倍体がへい死し始め、ついで二倍体のへい死が始まった。その後、経時的に両者ともへい死が続いた。

高水温耐性

三倍体と二倍体の供試魚の大きさと、実験開始後4日目の生残率をTable 35にまとめて示した。また、上昇させた水温の変化と、三倍体と二倍体の経時的な生残率の変化をFig. 30に示した。Table 35に示したように、三倍体、二倍体とも、供試魚のすべてがへい死し、両者の生残率の差をみる事ができなかった。これは、Fig. 30に示したように、7月15日（4日目）の6時頃に、一

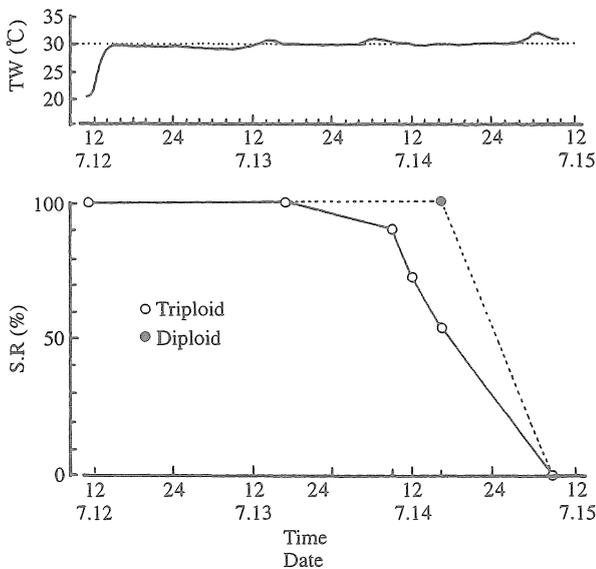


Fig.30. Changes of water temperature and survival rate of triploid and diploid fish in high water temperature.

時的に水温が32℃まで上昇したためであった。しかし、経時的な生残率の変化では、三倍体の方が二倍体より早くへい死する傾向があった。

### 3) 論議

低水温耐性実験において、三倍体は、二倍体に比べて、早く死に始め、終了時の生残率も低いことから、三倍体の低水温への変化に対する耐性は、二倍体より弱いものと考えられた。

高水温耐性実験において、実験条件の不備から供試魚がすべてへい死し、生残率の差をみることができなかったが、やはり、三倍体は二倍体より早く死に始め、低水温耐性の場合と同様に、三倍体の高水温への変化に対する耐性は、二倍体より弱いものと推定された。

このように、三倍体の低水温と高水温に対する耐性は、二倍体より弱いものと考えられた。

### 第7節 生理的特性の評価

三倍体アユの生理的特性については、成長（発育段階別の成長、飼料効率、稚魚の個体変異）をはじめ、性成熟（生殖腺の発達からみた成熟、二次性徴、性比、不妊性）、血液性状、酸素消費量、低酸素耐性、抗病性（ビブリオ病、ギロダクテルス症、黒点病に対する抗病性）および水温耐性（低水温、高水温耐性）の各項目にわたって検討した。

#### 1) 成長、飼料効率について

三倍体アユの仔魚期から成熟期までの成長は、正常二倍体アユの一生の成長過程に相当する。

前述したように、三倍体の孵化から約1gサイズの稚魚までの、いわゆる仔稚魚期の成長は、個体差がでやすく、弱小な個体の減耗があるものの、二倍体にやや劣る程度と考えられた。この傾向は、'84年～'89年の仔稚魚においても、同様にみとめられた。また、仔稚魚期の生残率も、作出年によって良否があるが、二倍体と比べて極端に低いものではなく、実際に高い場合もみられた (Table 2)。

成長期の三倍体の成長は、二つの特徴を示した。すなわち、二倍体と分離して飼育した場合は、二倍体と同等の成長を示し、二倍体と混合して飼育した場合は、二倍体にやや劣る成長傾向を示した。ただし、これらの結果は、1日3回の飽食給餌下での特徴であり、制限同量給餌下では、分離飼育においても、三倍体の成長率や飼料効率は、二倍体のそれよりも低いものであった。しかし、成熟期になると、分離、混合のいずれの飼育の場合も、三倍体の成長が二倍体を上まわった。飼料効率の面でも、三倍体の方が高くなる傾向をみせた。この成熟期の三倍体の好成長は、主として三倍体の雌がひきつづき成長することによるものであった。

このように、三倍体アユの成長は、まとめると、次のような特性を示した。すなわち、仔稚魚期においては、三倍体の成長は二倍体よりやや劣り、個体差がでやすい。成長期においては、飽食給餌下での分離飼育では、三倍体の成長は二倍体と同等、しかし、混合飼育では二倍体にやや劣る。一方、制限給餌下では、分離飼育であっても、成長率、飼料効率ともに二倍体より低い。ところが、成熟期になると、分離、混合いずれの飼育でも、三倍体の成長が二倍体を上まわる。また、制限給餌下でも、三倍体の成長率が高くなる。これは、主として三倍体雌の成長継続によるものである。

これら一連の成長傾向は、高知大学で行われた'86～'87年の実験でも同様であった (畑中ら, 1991)。

三倍体と二倍体の成長比較については、各魚種に関して、分離または混合飼育した場合の報告がなされている (Quillet *et al*, 1988)。

まず、分離飼育した場合として、アメリカナマズ (*Ictalurus punctatus*) の三倍体は、未成熟期では、二倍体と成長差がないが、成熟期以降では、二倍体より優れていると報告されている (Wolters *et al.*, 1982)。ヨーロッパナマズ (*Silurus glanis*) の未成熟期では、三倍体の成長率が二倍体より高く (Krasznai and Marian, 1986)、アフリカナマズ (*Clarias gariepinus*) でも、三倍体の飼料効率の方がよかったとされている

(Henken *et al.*, 1987)。ニジマスでは、稚魚期の三倍体の成長は二倍体に劣る (Solar *et al.*, 1984 ; Chourrout *et al.*, 1986 ; Happe *et al.*, 1988) が、成熟期や以降の成長は、明らかに三倍体が優れている (Quillet *et al.*, 1987)。また、大西洋サケの未成魚の三倍体の成長は、二倍体と変わらず (Benfey and Sutterlin, 1984), ニシキゴイの未成熟期では、三倍体の成長は二倍体に劣っている (Taniguchi *et al.*, 1986)。ヒラメでは、三倍体の成長は、餌付け期では二倍体に劣るが、以後の成長は、産卵期間中でも同様であったと報告されている (田畑ら, 1989)。

他方、混合飼育した場合においては、コイの稚魚期では、三倍体の成長は二倍体と差がなく (Gervai *et al.*, 1980), ニジマスでは、未成魚期では、三倍体の成長は二倍体に劣り、成熟後では変わらない (Lincoln and Scott, 1984) という報告と、未成熟期までは変わらず、成熟期になると三倍体の成長がよい (Thorgaard *et al.*, 1986) とする報告がある。ギンザケの未成魚期では、三倍体の成長は二倍体に劣っている (Utter *et al.*, 1983)。また、ドジョウでは、三倍体の成長率は、若齢期では二倍体より低いが大差なく、成熟期になると顕著に高くなっている (Suzuki *et al.*, 1985)。マダイの未成魚期では、三倍体の成長率は、二倍体と変わらない (Sugama *et al.*, 1992) と報告されている。

分離と混合双方で飼育した場合として、ギンザケの稚魚期での三倍体の成長は、いずれの場合も、二倍体と変わらず (Johnson *et al.*, 1986), 草魚の仔稚魚期においては、分離飼育では、三倍体の成長は二倍体と変わらず、混合飼育では、二倍体に劣る (Cassani and Caton, 1986) と報告されている。

これらの研究報告を総合すると、分離飼育では、未成熟期においては、大西洋サケとヒラメ、ナマズ類、草魚の三倍体は、二倍体とほぼ同等か優れているが、ニジマスやニシキゴイでは劣っている。しかし、成熟期ないしそれ以降では、ナマズ類だけでなく、ニジマスでも三倍体の方が優れている。ヒラメは、2年目から混合飼育されているが、三倍体と二倍体は同様の成長とされている。一方、混合飼育では、未成熟期では、コイ、ドジョウ、マダイで同等か大差ない程度で、ニジマス、ギンザケ、草魚では三倍体の成長は二倍体に劣るとなっている。ただ、ニジマスとギンザケでは、同等と劣るといふ二つの報告がある。しかし、成熟期ないしそれ以降では、ニジマス、ドジョウいずれも三倍体の成長が優れているとされている。

このように、分離、混合という飼育方法によって、また、魚種によって違いがあるものの、三倍体の未成熟期の成長は、優れた魚種もあるが、おおむね二倍体と同等かもしくは劣っているといえそうである。しかし、成熟期ないしそれ以降の成長では、同等の魚種もあるが、三倍体の方が二倍体より優れているし、多くの場合、それは三倍体の性成熟、中でも雌の生殖腺の未発達が関与しているとされている。

これらの研究報告から得られた三倍体魚の成長の特徴は、本研究の三倍体アユの成長特性と多くの点で符合している。

飼料効率については、分離飼育のアフリカナマズでは、三倍体の方がよかったとされており、本研究のアユとは異なった。これは、他のナマズ類の三倍体の成長も二倍体と同等 (アメリカナマズ) か、二倍体よりよい (ヨーロッパナマズ) ことから、魚種の違いによるものと考えられる。ただ、成長期の三倍体アユは、制限給餌下において、飼料効率が二倍体より低いことから、エネルギーの摂取などの生理活性が鈍いかあるいは低い可能性がある。したがって、成長期に二倍体と同等の成長をさせるためには、少量ずつの給餌で回数を多くするか、栄養価の高い飼料を与える必要があるかも知れない。

## 2) 稚魚の個体変異について

成長に関連して、体長、体重において、三倍体の個体変異が二倍体より大きいのは、3セットのゲノムをもつため、すなわち、遺伝的形質が表れるためと考えられた。

ただ、三倍体魚の個体変異を遺伝的側面から検討した報告はアユ (Taniguchi *et al.*, 1987) 以外では見あたらない。しかも、この三倍体の個体変異という遺伝的形質は、魚体の大きさだけでなく、他の生理、生態および形態的特性にも関連してくる重要な特性と考えられ、後述の総合論議で言及する。

## 3) 性成熟について

三倍体は、二倍体の成熟期 (秋季) において、二倍体と同様あるいは異なる形質を示した。

成長においてみられたように、成熟期に入ると、三倍体は二倍体の成長を上まわった。その要因は、三倍体の、なかでも雌が成熟せず、成長を続けるためであった。生殖腺の発達状況をみてみると、二倍体の発達に比べて、三倍体の雄では1/2程度まで発達したが、雌では未発達のまま推移した。

二次性徴も、この生殖腺の発達に相応して、三倍体の雄では、二倍体の雄同様に発現したが、三倍体の雌では発現せず、夏アユの外観を保っていた。そして、この傾

向は、産卵期後においても、継続された。

また、アユは雄の遺伝子によって性が決定される魚種であるので、三倍体の性染色体型は雌がXXX、雄はXXYとなる。当然ながら作出時の性比は1:1である。そして、三倍体の成熟期までの性比も1:1で、三倍体化によって、雌雄のどちらかが生残しやすいという傾向はみられなかった。しかし、成熟や不妊性との関係で、成熟期以降の両者の生残は大きく違ってくる。この生残性については、後述する越冬魚の特性において言及する。

三倍体の不妊性については、本研究では、組織学的な検討を行っていないが、三倍体の雌雄とも、正常な卵子や精子の形成はみられず、いずれも不妊性と判断された。

三倍体魚の成熟や二次性徴、性比および不妊性に関しては、これまで多くの報告がなされている。

三倍体雌の成熟について、アメリカナマズの三倍体の卵巣は、二倍体より小さく、卵母細胞のみがみられ(Wolters *et al.*, 1982)、ヨーロッパナマズの卵巣も明らかに小さく、Ⅲステージまでしか発達しない卵巣組織(二倍体; Vステージ)は多くの間隙組織をもっていた(Kraszai and Marian, 1986)とされている。陸封大西洋サケでは、三倍体のGSIは二倍体の7.7%で、卵巣は発達せず、少数の卵母細胞をもつ(Benfey and Sutterlin, 1984)と報告されている。ニジマスについては、未成熟の二倍体が第二次卵母細胞をもつものに対して、三倍体は卵原細胞のみをもち、第一次卵母細胞は存在しない(Lincoln and Scott, 1984)とする報告や、三倍体のGSIは二倍体より有意に低く、二倍体の卵母細胞が周辺仁期から卵黄形成期にあるのに対して、三倍体では、大部分が対合期の染色仁期で、まれに周辺仁期の卵母細胞がみられた(岡田, 1985)とされている。また、三倍体の卵巣には、周辺仁期以上に肥大発達した卵母細胞はまったくみられず、第一減数分裂前期の卵母細胞であり、包のう中心には、細胞の退行がみられる。このため、GSIは0.02~0.03と著しく低かった(中村ら, 1987)とする報告もある。ホンモロコでは、三倍体も二倍体同様、卵巣はよく発達し、卵巣卵のほとんどは、卵黄胞期や卵黄球期に至っており、一部は胚胞移動期に達していたが、極体放出はみられなかった(上野, 1985)とされている。ドジョウでは、三倍体のGSIは二倍体より著しく低く、卵巣卵はみられていない(Suzuki *et al.*, 1985)。ギンザケでは、三倍体のGSIは二倍体の11.8%で、卵巣の発達阻止と未熟卵がみられ、二倍体でみられた卵黄形成はなかった(Jhonson *et al.*, 1986)とされている。また、産卵期が近いニシキゴイでは、三倍体の

卵巣は発達せず、GSIは二倍体より明らかに小さかった(Taniguchi *et al.*, 1986)とされ、一方、コイでは、三倍体にも機能正常な卵巣がみられたが、多くは不妊性であった(Wu *et al.*, 1986)とする報告がある。ティラピア(*O. niloticus*)では、三倍体の卵巣は、未発達状態にとどまっておき、染色仁期から胚胞移動期のさまざまな卵がみられたが、産卵されない(上野, 1986)とされ、*O. aureus*でも、三倍体の卵巣は、不妊性だが、発達することがある(Penman *et al.*, 1987)とされている。ヒラメでは、三倍体のGSIは0.4%(二倍体; 約2%)にすぎず、卵巣には、卵原細胞が多く存在し、染色仁期と周辺仁期の卵母細胞が散見されるだけで、排卵はまったくみられなかった(田畑ら, 1989)と報告されている。

三倍体の卵巣が完熟しない要因について、ギンザケに $17\beta$ -エストラジオールを注射したところ、対照魚よりも、血中ビテロゲニンは明らかに高くなり、血中ゴナドトロピンはわずかに減少し、肝指数や脳下垂体ゴナドトロピン含有量は高くなった。これらの結果は、三倍体が、肝臓のビテロゲニン生産による、卵巣からのエストロゲン刺激を部分的に欠くか、あるいは減少するために、卵母細胞が完熟に至らないことを示す(Benfey *et al.*, 1989)と報告されている。

他方、三倍体雄の成熟について、カレイの三倍体は、二倍体同様、精母細胞と精細胞が発達し、運動性のある精子が生産され、二倍体卵と受精した。しかし、発眼までのへい死が多く、わずかに孵化しても、48時間以上生残しなかった(Lincoln, 1981)と報告されている。

アメリカナマズでは、三倍体の精巣は小さく、精子を含まない(Wolters *et al.*, 1982)とされ、陸封大西洋サケでも、三倍体のGSIは二倍体の52%で、精巣は発達し、わずかな精細胞を含んでいたが、精子は含まれなかった(Benfey and Sutterlin, 1984)とされている。また、ドジョウでも、三倍体のGSIは二倍体に近く、精母細胞が存在するが、精子はみられなかった(Suzuki *et al.*, 1985)と報告されている。

ニジマスでは、三倍体の精巣重量は二倍体に近く、わずかな精子を含む精母細胞や精細胞がみられ、精子の頭部は大きく、運動性があった(Lincoln and Scott, 1984)とされ、また、成熟した三倍体の精巣は、変異のある精子で満たされていたが、この精子を用いて、二倍体卵と受精させても、孵化が遅れ、孵化率も著しく低く、すべての個体が奇形であった(岡田, 1985)とされている。ホンモロコでも、三倍体の精巣もよく発達し、第一

次、第二次精母細胞で占められており、局所的に精細胞や精子形成がみられ、精子は形態異常だが、運動性があった(上野, 1985)と報告されている。ティラピア (*O. niloticus*) では、三倍体の精巣には、不均一な精細胞が、第一次、第二次精母細胞に混じって存在するが、放精しない(上野, 1986)とされ、*O. aureus* でも、精巣が発達し、精子を産生する(Penman *et al.*, 1987)とされている。ヒラメでは、精子や精細胞がみられたが、精子は頭部が大きくて、尾部を欠くものも多く、運動性はまったくなくない。また、二倍体卵と受精させても、孵化率は0%であった(田畑, 1989)とされ、マダイでは、精原細胞、精母細胞および精細胞様のものがみられ、精子が存在しないか、わずかにみられても、大型で不規則(2頭、多鞭毛)であった(北村ら, 1991)と報告されている。

三倍体の二次性徴については、ホンモロコでは雌雄ともに発現した(上野, 1985)とされているが、他の魚種では、雌で発現したとする報告はない。

ニジマスの三倍体雄では、二倍体雄より明らかに低いスペルマトクリットをもち、小さい精巣をもつが、正常な二次性徴を示し、産卵期後へい死する(Benfey and Solar, 1986)とされ、ニジマスとカラフトマスの三倍体雄では、双方とも二倍体雄より約1ヶ月遅れたが、二次性徴が発現し、血中ステロイドホルモン(11-ケートテストステロン、テストステロン、 $17\beta$ -エストラジオール、 $17\alpha$ -ヒドロキシ- $20\beta$ -デハイドロprogテストロン)とゴナドトロピンは正常値を示した。他方、三倍体雌では、銀白色を残し、ステロイドホルモンやゴナドトロピンの増加はみられず、脳下垂体のレベルであった(Benfey *et al.*, 1989)と報告されている。他の報告でも、ニジマスの三倍体雌のテストステロンと $17\beta$ -エストラジオールのレベルは、二倍体雌より低かった(Lincoln and Scott, 1984)とされている。

三倍体の性比については、アメリカナマズ(Wolters *et al.*, 1982)、ニジマス(Solar *et al.*, 1984; 岡田, 1985)では1:1で、ホンモロコでは二倍体同様雄に偏っており(上野, 1985)、マダイでは、わずかな両性を除き、すべて雄であった(北村ら, 1991)と報告されている。

三倍体の不妊性について、コイにおいて、生殖腺の大きさと未熟卵から、不妊性が示唆され(Gervai *et al.*, 1980)、不妊の原因は、異数性あるいは温度ショックによる染色体の損傷であろう(Wu *et al.*, 1986)とされた。マダイでは、組織像から、不妊性である(Sugama *et al.*, 1992)と報告されている。

また、ニジマスの三倍体雄の精子は、DNA含有量が

半数体と二倍体の中間で、異数体であり、この精子を用いても、子の生存ができない(Benfey and Solar, 1986)とされ、草魚の三倍体雄では、異型や変化のある精子がつくられ、DNA含有量や組織像から、精細胞は1.5(54%)、3(24%)、6(22%)倍性であり、これらの異数体細胞は第一減数分裂の後期で、有用な精子が生産される可能性(6倍性細胞の減数分裂によって)がある(Allen *et al.*, 1986)とする報告がある。

ニジマスの三倍体雌では、血中ステロイドホルモン(エストラジオール- $17\beta$ 、テストステロン、 $17\alpha$ 、 $20\beta$ -diHprog)が二倍体より著しく低く、このことが、第一減数分裂時の染色体の不分離と併せて、不妊性の原因であろう(中村ら, 1987)とされている。

以上の報告にみられるように、三倍体の雌雄の成熟、二次性徴、性比、不妊性は、魚種によって様々である。

しかし、ほぼ共通してみられるのは、三倍体の雌においては、生殖腺は、卵原、卵母細胞まで発達するが、GSIは二倍体より著しく低い魚種がほとんどである。なかには、ホンモロコやティラピア(*O. niloticus*, *O. aureus*)のように、卵黄球期や胞胚移動期にまで達するものもあるが、排卵にまで至るものは皆無である。また、二次性徴はホンモロコを除き、発現したという報告はなく、成熟前の状態が保たれているようである。

一方、三倍体の雄においては、生殖腺が精原や精母細胞まで発達することである。そして、なかには、カレイ、ニジマス、ホンモロコ、ティラピア(*O. aureus*)、ヒラメ、マダイのように、精細胞や精子形成にまで至るものもある。しかし、それらの精子は異数性で、運動性のあるなしにかかわらず、全て異型であり、通常卵と受精させても生存性はみられていない。また、二次性徴も二倍体同様にみられる場合が多い。これは、ニジマスやカラフトマスのステロイドホルモンの研究結果からもうなずける現象である。

三倍体の性比は、アメリカナマズ、ニジマス、ホンモロコ、マダイでふれられているが、マダイを除き、他の魚種は二倍体の性比と同様である。三倍体がすべて雄になるのは、マダイの他に、タイリクバラタナゴ(Ueno *et al.*, 1982)が知られているが、その原因はまだ明らかにされていない。

三倍体は、総じて雌雄とも不妊性であり、子孫を残すことはできないと考えられる。また、これまで、次代を作出したという報告も見あたらない。不妊性の原因は、雌雄いずれの場合も、第一成熟分裂の対合期において、3セットの染色体の分離が混乱するためであろうと考え

られている。その結果、雌では様々な段階の生殖細胞がみられ、雄でも同様で、精子形成がみられなかったり、また、みられたとしても、すべて異数体で、異型精子となったものと考えられる。

この不妊性を含めて、成熟の仕方や二次性徴の発現、および性比に関するこれまでの報告は、本研究のアユで得られた結果と多くの点で符合している。

前述したように、三倍体アユは、生殖腺の観察によると、雌の卵巣はほとんど発達せず、他の多くの魚種と同様であった。ただ、中には、GSIが10%を越えるものもわずかながらみられた。卵巣がある程度発達することは、ホンモロコ、ギンザケ、コイ、ティラピア (*O. aureus*) でもみられている。この要因は、三倍体の卵巣に様々な段階の細胞が存在するためと考えられる。一方、三倍体アユの雄においては、精巣が二倍体の1/2程度まで発達した。発達程度の差はあるものの、これも多くの魚種と同様であった。また、精巣内には、異型精子様の巨大細胞がみられた。本研究では未検討であったが、最近の研究(桑田ら, 1992)では、アユにおいても、成熟末期の三倍体雄の精巣内に、ニジマス同様の異型精子が確認されている。この精子は運動性がなく、通常卵と受精させても、奇形胚で、孵化までに至るものがほとんどなく、孵化しても死滅したとされている。精子形成という点では、カレイ、ニジマス、ホンモロコ、ティラピア (*O. aureus*)、ヒラメ、マダイなどと共通しており、運動性がないという点では、ヒラメ、マダイと共通している。

二次性徴についても、雌では発現せず、雄で発現したニジマス、カラフトマスなどと共通している。しかし、雌雄とも発現したとするホンモロコとは異なっている。性比も、アメリカナマズ、ニジマス、ホンモロコでの報告と同様、二倍体の性比と同じであった。また、不妊性についても、卵巣、精巣の発達や精子の形状から、ほとんどの魚種と同様とみられた。

このように、三倍体アユの成熟、二次性徴、性比、不妊性は、多くの魚種とほぼ同様であり、アユも特異的な魚種ではないものと考えられる。

#### 4) 血液性状、酸素消費量および低酸素耐性について

三倍体アユの血液性状は、赤血球量(Ht)やヘモグロビン量は二倍体と同値であるが、赤血球細胞が大きい反面、赤血球の数が少ないという特性をもっていた。この赤血球細胞が大きいという点から、酸素消費量や低酸素耐性に差があるのではないかと想定して、両者について検討した。その結果、酸素消費量に明らかな差はみられなかったものの、三倍体は二倍体よりやや多い可能性

があると考えられた。また、混合飼育試験における酸欠時の観察でも、三倍体は二倍体より早くかつ多くへい死し、低酸素耐性が弱いものと考えられた。

血液性状について、三倍体の赤血球細胞が大きいことは、早くから知られており、三倍体の確認に用いられている(Swarup, 1959)。Woltersら(1982)は、三倍体アメリカナマズの赤血球核の長径、短径および容量は、二倍体より有意に大きい値を示したが、三倍体を見分けるには、長径のみが正確性があると報告している。Sezakiら(1983)は、天然ギンブナの三倍体の二、三解糖酵素活性は、赤血球1個当たりでは、二倍体より明らかに高いが、単位血液量当たりでは、ほとんど差がないと報告している。Benfey and Sutterlin(1984)は、陸封大西洋サケにおいて、三倍体の平均赤血球容量(MCV)は二倍体より大きい、赤血球数は少なく、ヘマトクリット値は同じだとしている。また、血液全体のヘモグロビン含有量と平均血球ヘモグロビン濃度(MCHC)は低い、実際の平均血球ヘモグロビン含有量(MCH)は二倍体より高いとしている。そして、三倍体の赤血球容量の増加は、主として細胞の長さによるもので、細胞の幅は重要ではなく、細胞の高さによるものでもないとしている。さらに、三倍体の赤血球核が細胞内で占めるパーセンテージは、二倍体より大きいとし、平均細胞質ヘモグロビン濃度は、計算上二倍体と同じだと報告している。また、Benfeyら(1984)は、同じ魚種において、コールターカウンターを用いた赤血球サイズによる三倍体の選択効果は高く、スピードと正確性において、フローサイトメトリーに代わりうるとしている。そして、この方法は、ヨークサック稚魚から成魚まで使えると報告している。Ueno(1984)は、三倍体コイの赤血球の核は、二倍体より、長径で1.44倍、表面積で1.04倍大きかったが、赤血球は0.6倍と少なかったとし、Suzukiら(1985)は、三倍体ドジョウの赤血球の長径は、二倍体の1.2~1.3倍であったと報告している。Johnstone and Lincoln(1986)は、ホルマリン固定されたニジマス稚魚の赤血球標本において、三倍体の赤血球核の長さや染色濃度の差によって、二倍体と区別できると報告している。

また、本研究の共同研究者であるAliah(1991)も、アユにおいて、三倍体と二倍体の雌雄間における血液性状に差はなかったとし、三倍体のヘマトクリット値とヘモグロビン量、およびMCHCは二倍体とほとんど同値であったのに、MCVとMCHは二倍体の62.25%と76.08%であり、赤血球数では41.82%であったとしている。そして、三倍体のMCVの増加は、赤血球の短径よりも、

主として長径の差（二倍体の1.32倍）によるものとして  
いる。また、赤血球核の長径、短径における差も、細胞  
のそれと同傾向であったという結果を得ている。

これらの報告にみられるように、三倍体は、二倍体と  
の比較数値において、魚種によって多少の差はあるもの  
の、血液性状では、ほとんど同じ傾向を有しており、ア  
ユも例外ではない。

酸素消費量との関係で、注目されるのは、赤血球の大  
きさ（表面積）と血中のヘモグロビン量である。前述し  
たように、三倍体では、赤血球内のヘモグロビン濃度は  
二倍体と同じであるが、細胞表面積が大きい、そして、  
血中の赤血球全体量やヘモグロビン量はほぼ同じである  
が、赤血球数が少ないという特性をもっている。これら  
の特性は、赤血球の酸素運搬能において、三倍体が二倍  
体より劣ることを示唆し、酸素消費量に差があることを  
想定させる。

Benfey and Sutterlin (1984) は、前述の血液性状の  
結果にもとずいて、陸封大西洋サケの、各酸素分圧  
( $PO_2$ ) 下における、酸素消費率を求めたところ、低  
 $PO_2$  や通常  $PO_2$  においても、三倍体の酸素消費率は二  
倍体と差がなく、トゲウオ (Swarup, 1959) の結果と  
同じであったとしている。しかし、低  $PO_2$  下で長い時  
間をかければ、三倍体と二倍体の差がでるかも知れない  
と報告している。Graham ら (1985) は、三倍体の大西  
洋サケにおいて、血液性状は Benfey and Sutterlin  
(1984) の報告と同じであったとし、酸素分圧 50mmHg  
において、三倍体のヘモグロビン酸素負荷比 (Loading  
Ratio) は、二倍体の77%であったとしている。この  
減少した酸素負荷比は、低い血中ヘモグロビン濃度と連  
携して、三倍体の血中酸素含有量を、最高でも二倍体の  
68%にするという結果を得ている。そして、この酸素運  
搬能力の減少は、活動している魚には有害ではないかも  
知れないが、ある努力を要する条件下では、三倍体の酸  
素獲得能力を妨げるかも知れないと報告している。また、  
Aliah ら (1991) は、三倍体アユの酸素消費量は、二  
倍体より多い傾向を示したが、有意差はみられなかった  
とし、本研究と同様の結果を得ている。

これらの報告は、じゅうぶんな水中酸素量の下では、  
三倍体の酸素消費量は二倍体と明らかな差がないことを  
示しており、低酸素状態では、差がでることを示唆して  
いる。

三倍体アユにおいても、酸素消費量に差がないのは、  
赤血球の容積 (MCV) が、細胞の高さ（厚さ）による  
ものではなく、細胞の長さによるものである (Benfey

and Sutterlin, 1984 ; Aliah *et al.*, 1991)。すなわち、  
三倍体アユの大きな赤血球も扁平で面積が広いだけで、  
赤血球全体の表面積は、二倍体と大きな差がないため  
ではないかと推定される。また、強度の低酸素状態下では、  
本来的に鈍い活動 (Aliah *et al.*, 1990) がより鈍化する  
ことに伴って、三倍体の酸素運搬能が低下し、より早  
く死に至るのではないかと推定される。

#### 5) 抗病性および水温耐性について

三倍体アユの抗病性に関して、*Vibrio anguillarum*  
に対する感受性、ビブリオ病ワクチンの効果、およびギ  
ロダクチルスと横川吸虫に対する感受性を検討した。

その結果、*V. anguillarum* の三倍体に対する  $LD_{50}$  値  
は、二倍体のそれよりもやや低いものの、差はみられな  
かった。また、三倍体のビブリオ病ワクチンの有効率は  
二倍体よりやや低いものであった。なお、両実験におけ  
る、人為感染後のへい死状況では、三倍体の方が早くへ  
い死する傾向がみられた。ビブリオ病はアユの代表的な  
細菌性疾患であるが、この疾患に対する三倍体の抗病性  
は、二倍体よりやや弱いものの、明らかな差ではなかつ  
た。また、ギロダクチルスおよび横川吸虫の寄生虫体数  
では、三倍体と二倍体との間に有意な差はみられなかつ  
た。したがって、これらの寄生虫症に対する三倍体の抗  
病性は二倍体と同等とみなされた。

三倍体魚の抗病性に関する報告は少なく、IHN に関  
する報告 (Parsons *et al.*, 1986) や、本研究の筆者ら  
の報告 (稲田ら, 1990) の他に余り見あたらない。Par  
sons らは、ニジマス×ギンザケの異質三倍体稚魚の IHN  
ウイルス感染による生残率は、ニジマスの二倍体より顕  
著に高く、ギンザケの二倍体よりやや低いが、有意差が  
なかったとし、人為感染実験以後のへい死亡率も低かつ  
たと報告している。しかし、この報告は、異質三倍体の生  
存性 (Chevassus *et al.*, 1983; Scheerer and Thorgaard,  
1983) と関連しており、このハイブリッド三倍体の IHN  
抗病性も、弱いニジマスと強いギンザケの間の強さで  
ある。したがって、同質三倍体の抗病性として、評価す  
ることは適当ではない。近年、ニジマスや他のサケ科魚  
種の三倍体の IHN 抗病性が検討されているが、その評  
価はまだ一定していない。

本研究の三倍体アユについてみるかぎり、三倍体の抗  
病性は二倍体よりやや弱いか、同等であるものと推定さ  
れる。

三倍体アユの低水温および高水温耐性の実験では、い  
ずれの場合も、三倍体の方が二倍体より早く死に始め、  
生残率も低い（低水温耐性）ものであった。三倍体魚の

水温耐性に関する報告も見あたらないので、推定の域にとどまるが、三倍体の水温耐性は二倍体よりも弱いものと考えられる。

6) その他の特性(組織構造, 運動性, 塩水や薬剤耐性)について

共同研究者の Aliah ら(1990)は, 三倍体アユの網膜, 中脳視蓋, 腎臓の各組織を二倍体と比較している。その結果, 三倍体の各器官の大きさは二倍体と差はないが, 核と細胞の大きさは, 二倍体より大きく, 細胞数は少なかつたとしている。また, 聴覚と視覚については, 三倍体は二倍体より鈍感であったとしている。そして, この感覚の特性は組織構造に関係があり, この鈍感さを利用すれば, 雑音などの多い人工環境下での養殖魚として, 三倍体は適しているのではないかと報告している。

本研究の6年間にわたる飼育実験でも, 三倍体の遊泳活動は二倍体より鈍く, 摂餌活動も二倍体ほど俊敏ではなかつた。また, 後述する生態的特性でもふれるが, 三倍体の多くの行動は二倍体より鈍い傾向がみられている。

Wiley and Wike (1986)は, 三倍体草魚のエネルギーバランスは, 摂取されたエネルギーの12~13%が新陳代謝に使われ, 74%は排泄され, 13~14%が成長に向けられるとしている。これは, 二倍体同様の標準的なバランスであると報告している。Small and Benfey (1987)は, ギンザケと大西洋サケの三倍体について, 赤血球, 白血球, 脳細胞, 網膜細胞の核と細胞の大きさをみている。その結果, 三倍体では, それらの核や細胞の大きさが一様に増加しているとし, 供試魚の大きさや器官の大きさが二倍体と同じであることから, 各細胞の数の減少が推論できるとしている。そして, 網膜や脳細胞数の減少は, 視覚の鋭さや学習能力に影響するかも知れないとし, 混養における三倍体の成長不良などに関係がありそうだとしている。また, 赤血球や白血球数の減少は, ヘモグロビンの運搬や免疫システムに関係するだろうと報告している。Konishi ら(1991)は, 三倍体サクラマス<sup>1)</sup>の筋肉におけるリソゾーム系グリコーゲン代謝について, 超微細細胞構造の分析や生化学的測定を行ったが, それらは二倍体と明らかな差はなかつたと報告している。

これらの報告にみられるように, 三倍体は二倍体より, 魚体を構成する細胞は大きく, 細胞数が少ないという特性をもっている。しかし, 通常の飼育条件下では, 二倍体と同様の機能をもっているようにみえる(Small and Benfey, 1987)し, 事実, 前述のようにエネルギーバランスやグリコーゲン代謝も変わらない。ただ, アユについてみられるように, 三倍体の活動は二倍体より鈍く,

組織構造の影響があることは確かであると考えられる。

三倍体アユの飼育中において, 本研究では, 細菌性疾病や寄生虫症の対策として, 1~3%の塩水浴や抗菌剤および駆虫剤の薬浴を実施してきた。これらの処置において, 三倍体の耐久力は二倍体ととくに変わるところはなかつた。Johnson ら(1986)は, ギンザケの三倍体を, 淡水と海水で飼育したが, 海水への適応は二倍体と差がなかつたと報告している。Quillet ら(1987)も, ニジマスの三倍体稚魚を海水生け簀で飼育するために, 海水へ移したが, 二倍体との差はなかつたと報告している。宮崎(1991)は, 三倍体サクラマスを海水へ移し, スモルト化率と血清中のNaイオン濃度をみたところ, 三倍体のスモルト化率は100%(二倍体:53.8%)であったとしている。Naイオン濃度は, 二倍体パーは5,000ppmであったが, 三倍体と二倍体スモルトは4,000ppmで, 同様であったと報告している。

これらの報告のサケ科魚種は広塩性魚種であり, アユもまた同様である。アユは出水によって, しばしば海面にまで流され, 再溯上してくることが一般によく知られている。したがって, 三倍体アユも, サケ科魚種同様, 塩水に対する耐性は二倍体と差がないものと推定される。また, 薬剤に対する三倍体の耐性については, これまで報告が見あたらない。厳密な濃度実験を行えば, 二倍体との差がでるかも知れないが, 通常の処方では差はないものと考えられる。

## 第4章 三倍体アユの形態的特性

アユは瀬に住むといわれるように, 生息環境にふさわしい体型を有している。そして, その形態はアユの生理, 生態的機能に規定されている。3セットのゲノムをもつ三倍体アユが, 表現形質として, どのような形態を有するかは, 生理, 生態的特性との関連においても, また, 今後の利用を図るうえからも重要な問題である。しかし, 三倍体魚の形態的特性に関する報告は少なく, ハイブリッド草魚(Cassani *et al.*, 1984)や大西洋サケ(Sutterlin *et al.*, 1987)について記載されているにすぎない。そこで, 三倍体アユの稚魚と成魚の外部形態と, 成魚の骨格形態について調べた。

### 第1節 稚魚の外部形態

アユの稚魚期は, 河川では盛んに溯上する時期に当たり, 養成では種苗期に相当する。したがって, この時期の外部形態が正常魚と異なれば, その後の行動や成長な

どに影響する。仮に三倍体稚魚の外部形態が二倍体と異なるようであれば、生理、生態的特性全般に関与してくと考えられるので、二倍体との形態比較を行った。

1) 材料と方法

'87年に作出し、翌'88年5月11日まで養成した三倍体(体長 $7.7 \pm 0.85$ cm)と二倍体(体長 $7.8 \pm 0.58$ cm)の稚魚25尾ずつを供試魚とした。両者は測定に供するまで、5t水槽で別々に飼育したものである。測定にあたっては、一旦10%のホルマリン固定を行った。各部位の測定方法をFig.31に示した。

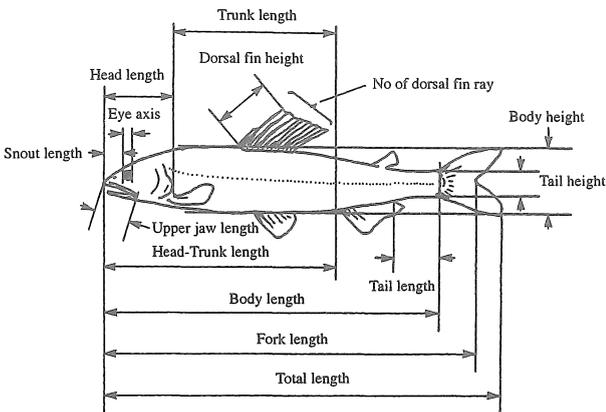


Fig.31. Morphometrical measurements.

2) 結果

測定は13項目について行ったが、三倍体と二倍体両者を比較するため、実測値の背鰭条数を除き、各部位の長さを体長で除した数値(体長比)を求めた。三倍体と二倍体の各部位における体長比の平均値と、両者のt検定の結果をTable 36にまとめて示した。三倍体は8部位においては、二倍体との間に有意な差はみとめられなかったが、上顎長、尾叉長、全長、尾柄高、背鰭高の5部位で有意な差を示した。なお、この5部位とも、三倍体の方が二倍体よりも高い値を示した。

3) 論議

三倍体と二倍体稚魚についての、高知大学による26部位の測定結果では、背鰭条数においてのみ有意差がみられ、その他の部位では差がなかったとされている。そして、背鰭条数の差も、低水温ショックによる影響の可能性があるとされている(関ら, 1986)。今回の測定で有意差がみられたもののうち、上顎長の差についての知見はないが、尾鰭を含む尾柄部や背鰭においては、飼育環境の違いによって、発達の差を生じることが、飼育現場ではよく知られている。今回の測定では、測定に供するまでの被検魚の飼育条件に、大きな違いがあった。すなわ

Table.36. Ratio(mean±SD) of the various lengths, axis and heights per body length between triploid and diploid juveniles.

	Triploid	Diploid	
No of fish	25	25	
Upper jaw length	14.4±0.66	13.8±0.50	P<0.001
Snout length	8.9±0.35	8.9±0.55	
Eye axis	5.6±0.31	5.5±0.31	
Head length	25.5±0.80	25.5±0.65	
Trunk length	48.0±1.17	48.5±1.21	
Head-trunk length	73.5±0.72	73.8±0.70	
Fork length	111.8±0.91	110.6±0.91	P<0.001
Tail length	12.1±0.65	12.1±0.98	
Total length	119.3±1.15	118.0±1.22	P<0.001
Body height	19.9±0.93	19.6±0.63	
Tail height	8.4±0.28	8.2±0.28	P<0.05
Dorsal fin height	17.7±0.76	15.7±0.84	P<0.001
No of dorsal fin ray*	10.7±0.48	10.8±0.41	

\* Practical number

ち、3月3日～5月11日の間、三倍体は5t水槽内で3,558尾が飼育され、二倍体は同型的水槽で7,907尾が飼育された。三倍体の飼育密度は、実に二倍体の半数以下であった。このような飼育環境の違いが両者の体型に影響し、全長、尾叉長、尾柄高、背鰭高での有意差を生じたのかも知れない。

したがって、前述の高知大学の知見と合わせ考えると、三倍体の稚魚期における外部形態は、本来的には二倍体と差はないものと推定された。

第2節 成魚の外部形態

アユは成魚になると、雌雄の形態差が生じるようになる。第3章の性成熟で述べたように、三倍体の雌雄は不妊性で、成熟や二次性徴の発現の仕方が異なっている。なかでも三倍体の雌は成熟しないので、成魚の形態も異なることが予想される。そこで、成魚の外部形態について、三倍体と二倍体、およびそれぞれの雌雄を比較検討した。

1) 材料と方法

'86年に作出し、翌'87年9月16日まで養成した三倍体と二倍体を供試魚とした。両者は7月27日から測定に供するまでの間、同型の5t水槽で、それぞれ472尾と504尾が別々に飼育されたものである。測定時の両者のサンプル数と魚体の大きさ、および生殖腺指数(GSI)をTable 37にまとめて示したが、三倍体の方が二倍体よりわずかに大きかった。また、各部位の測定はホルマリ

Table 37. Size (mean±SD) of triploid and diploid adult fish used for morphometry.

	Triploid	Diploid
No of fish	26	30
Body length (cm)	13.9±0.89	13.1±0.93
Total length (cm)	16.3±1.00	15.3±1.03
Body weight (g)	37.6±6.53	34.5±6.18
Condition factor*	14.0±1.15	15.2±1.69
GSI** female	0.18±0.09	11.39±2.72
male	6.07±0.51	8.86±1.17

\* BW×1,000/BL<sup>3</sup>

\*\* GW×100/BW

ン固定サンプルについて行い、前述の稚魚の形態と同じ方法によった。

## 2) 結果

三倍体と二倍体のサンプル全体と、雌雄に分けた場合について、各部位の体長比と背鰭条数（実測値）を Table 38 に示した。また、それらの t 検定による有意差を Table 39 に示した。Table 38, 39 に示したように、雌雄を含めたサンプル全体としては、三倍体と二倍体それぞれの体長比において、上顎長、吻長、眼径、頭長では、三倍体は二倍体より有意に低く、尾叉長、尾柄長、背鰭高では有意に高かった。しかし、胴長、頭胴長、全長、体高、尾柄高、背鰭条数では、有意差はみられなかつ

Table 39. Statistical significance (t-distribution) of the differences between the morphometrical characters of the triploid and diploid adult fish.

	Total	Female	Male
Upper jaw length	P<0.01	P<0.01	
Snout length	P<0.01	P<0.01	
Eye axis	P<0.05	P<0.05	
Head length	P<0.001	P<0.01	
Trunk length			
Head-trunk length		P<0.05	
Fork length	P<0.01	P<0.05	P<0.01
Tail length	P<0.01		
Total length		P<0.05	P<0.05
Body height		P<0.001	
Tail height			
Dosai fin height	P<0.05	P<0.001	
No of dosai fin ray*			

\* Practical number

た。一方、雌雄別に両者を比較すると、雌では多くの部位で有意差がみられた。逆にいえば、有意差がみられなかったのは、胴長、尾柄長、尾柄高、背鰭条数の4部位のみであった。雄の方では、雌に比して、多くの部位で有意差がみられず、有意差がみられたのは、尾叉長と全長の2部位においてのみであった。

## 3) 論議

以上の結果は、三倍体と二倍体のサンプル全体として

Table 38. Ratio (mean±SD) of the various lengths, axis and heights per body length of triploid and diploid adult fish.

	Triploid			Diploid		
	Total	Female	Male	Total	Female	Male
No of fish	26	13	13	30	15	15
Upper jaw length	12.1±0.36	12.1±0.37	12.0±0.35	12.5±0.56	12.7±0.55	12.3±0.47
Snout length	8.1±0.32	8.0±0.30	7.9±0.34	8.3±0.48	8.5±0.42	8.0±0.43
Eye axis	4.4±0.32	4.3±0.21	4.5±0.38	4.6±0.30	4.5±0.25	4.6±0.36
Head length	22.2±0.76	22.3±0.60	22.2±0.92	23.0±0.82	23.3±0.92	22.6±0.54
Trunk length	48.6±2.12	49.8±1.34	47.5±2.19	48.4±2.28	50.1±1.65	46.6±1.29
Head-trunk length	71.1±1.78	72.2±1.37	70.0±1.48	71.5±2.12	73.3±0.72	69.7±1.40
Fork length	110.6±0.69	110.4±0.61	110.9±0.71	110.0±0.66	109.9±0.58	110.1±0.75
Tail length	13.0±1.14	12.9±1.12	13.1±1.19	12.7±0.66	12.4±0.64	13.0±0.54
Total length	116.5±1.49	116.7±1.11	116.2±1.80	115.7±0.92	115.8±1.10	115.6±0.73
Body height	21.1±1.06	20.6±0.96	21.6±0.93	21.6±0.95	22.2±0.91	21.0±0.55
Tail height	8.5±0.47	8.2±0.35	8.7±0.50	8.6±0.41	8.4±0.44	8.8±0.32
Dosai fin height	17.3±0.60	16.9±0.42	17.6±0.54	16.8±1.06	16.0±0.81	17.5±0.66
No of dosai fin ray*	11.1±0.33	11.2±0.38	11.1±0.28	11.1±0.37	11.0±0.38	11.1±0.35

\* Practical number

の有意差が、雄の体型によるものではなく、主として、雌の体型の違いによることを示している。

Table 37のGSIに示したように、時期的に成熟がすすみつつあることから、雌の体高における差は当然考えられるが、他の部位における差は、むしろ、三倍体の雌が成熟しないため、二倍体雌と体型的な差がでることによると推定された。また、体高における差についても、二倍体雌の体高（体長比）の範囲が20.7~23.5であったのに、三倍体雌は19.1~22.2とやや広いものであった。このように、三倍体雌の中に、体高の低い個体が存在するのも、その要因の一つであろう。一方、雄の方は、三倍体と二倍体との外部形態に、ほとんど差がみられない。これも、前述の成熟や二次性徴に示したように、三倍体の雄も二倍体の雄同様成熟するため、体型的な差がでないものと推定された。

### 第3節 成魚の骨格形態

第1および2節で述べたように、稚魚の外部形態では、三倍体と二倍体との間にほとんど差はなく、成魚になると、雌において、その差がみられた。この雌における外部形態の差が、成魚の骨格によるものかどうかを知るために、軟X線写真によって（落合，1987）、両者の骨格形態を比較検討した。

#### 1) 材料と方法

供試魚は、'89年8月のなわばり実験に用いた、三倍体と二倍体の5尾ずつを凍結保存しておいたものである。両者はすべて雌で、比較した一対の三倍体と二倍体は体長もほぼ同じものである。軟X線写真は一対ずつを撮り、骨格構成、背鰭、尻鰭、尾鰭の条数をみるとともに、総脊椎骨数を計数した。

#### 2) 結 果

三倍体と二倍体の軟X線写真の一例をFig.32に示した。

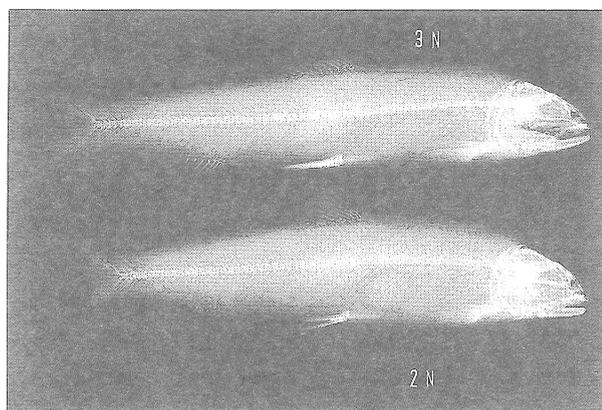


Fig.32. X-ray photograph of triploid and diploid adult skeleton.

骨格構成や各鰭の条数においても、多少の形の違いはあるが、とくに異なる部分はみられなかった。また、総脊椎骨数をTable 40に示した。頭骨の構成骨に隠れて不鮮明な部分を除いたため、総脊椎骨数の結果は59~60個となったが、三倍体と二倍体の間に差はみられなかった。

Table 40. Number of total vertebra in triploid and diploid adults by X ray photograph.

Sample No	Triploid	Diploid
1	60	60
2	59	60
3	59	59
4	60	59
5	60	59

### 3) 論 議

三倍体と二倍体の雌において、骨格構成や背鰭、尻鰭、尾鰭の条数、および総脊椎骨数に、差がみられないことから、両者の外部形態の差は、骨格形態によるものではなく、前述したように、成熟に起因する体型差のためと推定された。ただ、アユの総脊椎骨数は61~62個（石田，1987）とされているが、計数結果は2個少なくなった。これは、Fig.32に示したように、軟X線写真では、正確に計数できなかったためである。

### 第4節 形態的特性の評価

三倍体アユ稚魚の13項目の外部形態では、上顎長、尾叉長、全長、尾柄高、背鰭高（いずれも体長比）で二倍体との有意差がみられた。しかし、上顎長を除き、他の部位は飼育環境によって差が生じることから、上顎長のみ之差となる。この差の要因は不明であったが、基本的には、三倍体と二倍体の稚魚においては、外部形態の差はないものと考えられた。

同様に、9月の成魚の外部形態について、三倍体と二倍体の雌雄を比較した。その結果、雌では、胴長と尾柄長、尾柄高、および背鰭条数以外の9部位で、有意差がみとめられた。一方、雄では、尾叉長と全長においてのみ有意差がみられた。雌における多くの部位での差は、主として三倍体雌が成熟しないため、体型差が生じることによると考えられた。また、雄において、尾叉長と全長での差は飼育環境によるもので、両者の差はほとんどないものと考えられた。その要因として、三倍体の雄も、二倍体雄と同様に成熟し、体型的な差を生じないためと推定された。

また、8月の三倍体成魚の骨格形態について、各骨部

位の形、背鰭、尻鰭、尾鰭の各条数および総脊椎骨数を検討した。その結果、二倍体との差はみられなかった。

Cassaniら(1984)は、ハイブリッド草魚の三倍体と二倍体の外部形態と咽頭歯、鰓耙数などについて比較し、三倍体は二倍体よりも側線鱗と側線下横列鱗が少なく、腸長比(対標準長)が長く、奇形が少なかったとしている。ただ、養成年が違い、摂餌活動も一致していない。また、生産結果や正確な選抜測定が一致しないといった、ハイブリッド草魚の生産技術がまだ洗練されていないので、不確実性が残ると報告している。

Sutterlinら(1987)は、大西洋サケの陸封型と溯上型および両者のハイブリッド幼魚の異型について検討し、短い鰓蓋が三倍体と二倍体にみられたが、ヒートショックには関係がなかったとしている。しかし、突き出た下顎が三倍体にみられ、この異型はヒートショックによるものではなく、三倍体化によるものとみられたと報告している。

これらの報告と合わせ考えると、三倍体アユ稚魚の上顎長の差は、大西洋サケの下顎の異型と同じく、三倍体化によるのかも知れない。ただ、成魚において、雌では有意差がみられたが、雄ではみられていないので判然としない。

本研究の三倍体アユにかぎっていえば、稚魚の外部形態は基本的に二倍体と差がなく、成魚の骨格形態にも差がないと推定される。また、成熟期にかかる時期においては、雄では二倍体雄同様成熟するため、外部形態に差は生じないが、雌では成熟しないため、二倍体との差が生じると考えられる。

## 第5章 三倍体アユの生態的特性

緒論で述べたように、年魚で両側回遊性であるアユは、独特の生態的形質をもっている。この形質が三倍体アユにどのような形で表れてくるか、すなわち、三倍体の生態的特性を知ることは、生理的および形態的特性とあわせて、三倍体の生物学的特性全般を解明するうえで不可欠である。また、今後、養殖対象魚としてはもちろんのこと、放流対象魚として利用するうえからも必要なことである。しかし、三倍体魚の生態的特性に関する報告はほとんどなく、ティラピア(*O. niloticus*)のなわばり行動や性行動(上野, 1986)、アマゴの求愛行動(北村ら, 1991)などの報告があるにすぎない。そこで本研究では、種々の実験水槽を用いて、三倍体アユの行動に関

して、とびはね行動、溯上行動、群れにおける遊泳行動、およびなわばり性について検討した。また、模擬河川を用いて、食性に関して、付着藻類に対する摂餌活動や成長、付着藻類を摂餌した場合の魚体一般成分について検討し、さらに、生殖に関して、秋季の生殖行動や産卵期後の生残性について検討した。そして、これらの結果から、三倍体アユの生態的特性の評価を行った。

### 第1節 行動

未成魚のアユは、上流への溯上性が強く、生息適地に到達するとなわばりを形成し、他のアユを激しく排撃するなどの行動をとる。これらの行動に関する三倍体アユの機能を知るために、とびはね行動、溯上行動、群れにおける遊泳行動、およびなわばり性について、二倍体を対照に水槽実験を行った。

#### 1. とびはね行動と溯上行動

河川に放流したアユの溯上性の良否は、放流直前に、とびはね行動をみることによって判断できるとされている(Tsukamoto *et al.*, 1990; Uchida *et al.*, 1990)。そこで、実験水槽を用いて、三倍体と二倍体について、とびはね行動(とびはね率)と溯上行動(溯上率)を比較した。

#### 1) 材料と方法

##### とびはね行動

実験水槽には、 $L \times B \times D = 180 \times 90 \times 60$ cmのFRP水槽を用い、Fig.33に示したような実験装置を屋外に設定した。用水は地下水で、とびはね行動を誘発するために、径25mmのパイプから0.5~0.6l/secの注水を行った。また、ネットかえしによって、一度とびはねた供試魚は元の水面へは戻れない構造とした。供試魚は、'88年に作出し、翌'89年5月まで養成した三倍体と二倍体を用いた。両者は実験に供するまでの約2ヶ月間、同一水槽内で混養し、飼育前歴の差による影響が小さくなるよう配慮した。実験に際しては、混養水槽から、ほぼ同サイズの三倍体と二倍体をそれぞれ50尾ずつ選び出し、実験

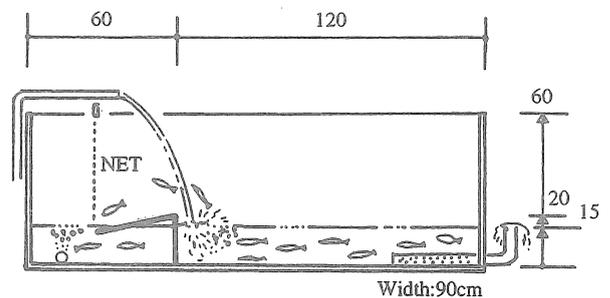


Fig.33. Experimental tank for jumping behavior observation.

水槽に収容した。両者の供試魚の大きさをTable 41に示したが、三倍体の方が二倍体よりわずかに小さかった。

測定は、照度変化があり、とびはねやすいとされている晴天時 (Uchida *et al.*, 1990) を見計らって実験を行い、5時間後および24時間後のとびはね魚を計数する方法とした。実験開始時刻は午前10時とした。実験は同じ供試魚を用いて、続けて3回実施したが、実験と実験の中一日は300l容の黒色水槽に収容して、供試魚を静養させた。実験期間は8月10日～15日で、実験中の水温は20.6～21.0℃であった。

Table 41. Size (mean±SD) of triploid and diploid fish used for the jumping behavior experiment.

Groups	No of fish	BL(cm)	BW(g)	CF*
Triploid	50	10.3±0.49	13.3±1.71	12.1±0.62
Diploid	50	10.7±0.67	15.8±2.93	12.9±1.12

\*Condition factor : BW×1,000/BL<sup>3</sup>

### 溯上行動

実験水槽には、L×B×D=180×90×60cmのFRP水槽を用い、Fig.34に示したような実験装置を屋外に設定した。落差13cmの斜面に一定の水流をつけるため、ポンプで用水を循環させた。斜面の流速は計測しなかったが、水深は供試魚の体高にほぼ等しいものとした。

供試魚は、前述のとびはね実験に用いた三倍体と二倍体を選び出した群から、それぞれ50尾ずつを取り出したものである。

測定方法は、24時間後に上段の水面に溯上した三倍体と二倍体を計数することによった。実験は8月23日の13時30分から24日の同時刻までおこなったが、実験中の天候は曇り、水温は21.7℃であった。

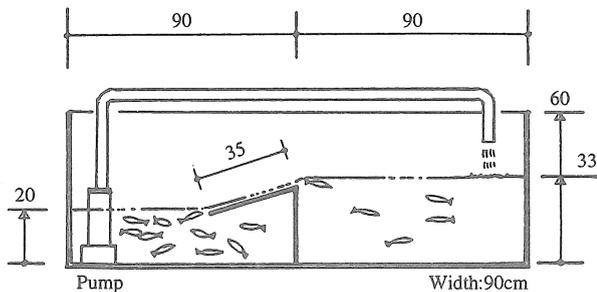


Fig.34. Experimental tank for ascending behavior observation.

## 2) 結果

### とびはね行動

3回の実験における、三倍体と二倍体の実験開始5時

間後および24時間後のとびはね率をTable 42に示した。いずれの実験、いずれの時間においても、三倍体のとびはね率は、二倍体より低い値を示した。また、両者の実験3回の平均とびはね率は、5時間後においては、三倍体は51.3%で、二倍体は82.7%であり、24時間後においては、三倍体は76.7%で、二倍体は95.3%となった。このように、いずれの経過時間においても、三倍体の平均とびはね率は、二倍体よりも明らかに低い値を示した。

Table 42. Jumping rate of triploid and diploid group at 5 and 24 hours after beginning of experiment.

Experiment No	Groups	Jumping rate (%)	
		5 hrs	24hrs
Exp-1	Triploid	54	76
	Diploid	96	98
Exp-2	Triploid	52	82
	Diploid	84	100
Exp-3	Triploid	48	72
	Diploid	68	88
Mean±SD	Triploid	51.3±3.06	76.7±5.03
	Diploid	82.7±14.05	95.3±6.43

### 溯上行動

実験開始後、すぐに溯上する個体がみられ始めたが、一度に集中して溯上する行動はみられなかった。24時間後の三倍体と二倍体の溯上率をTable 43に示した。三倍体の溯上率は16%で、二倍体の54%の1/3以下であった。

Table43. Ascending rate of the experimental triploid and diploid fish.

Groups	No of fish	Ascending	
		No of fish	Rate (%)
Triploid	50	8	16
Diploid	50	27	54

## 3) 論 議

アユ稚魚のとびはね率と、河川放流後の上流への溯上性は正の相関があり、また、友釣りによる再捕率も高いと報告されている (Tsukamoto *et al.*, 1990 ; Uchida *et al.*, 1990)。両実験の実施時期が8月であり、春季の稚魚とは時期的な違いがあることも考慮する必要があるが、三倍体は二倍体より、とびはね率は明らかに低く、溯上率も1/3以下であったことから、三倍体が河川放

流された場合、溯上性は二倍体より相対的に劣り、友釣りによる再捕率も低くなると想定された。

## 2. 群れにおける遊泳行動

河川においては、未成魚のアユは群れで行動することも多く、また渇水期には、酸欠死することもまれに見られる。そこで、実験水槽を用いて、三倍体と二倍体の、還流における群れの遊泳状況を観察するとともに、酸素消費量をあわせて測定した。

### 1) 材料と方法

実験水槽には100lの黒色円形水槽を用い、Fig. 35に示したような実験装置を室内に設置した。用水はポンプによって還流させ、供試魚が一定方向へ泳ぐようにした。供試魚は、'88年に作出した三倍体と二倍体で、翌'89年5月から実験に供する8月まで混養しておいたものである。実験に際して、両群から同サイズのものを10尾ずつを選び出した。供試魚の大きさをTable 44に示したが、両者はほとんど同じ大きさであった。

実験は、三倍体、二倍体とも同じ供試魚を用いて、3回ずつ計6回にわたって行い、常時供試魚の遊泳状態を観察するとともに、実験開始時と30分後および60分後の酸素濃度を、DOメーターとウィンクラー（アジ化ナトリウム変）法で測定した。

実験は8月17日と18日の両日行ったが、実験中の水温は20.0~21.0℃であった。

### 2) 結果

実験開始時と30分および60分後の酸素測定値と、60分後（終了時）の酸素減少量（消費量）をTable 45に示した。三倍体と二倍体についての、それぞれ3回の実験において、30分後および60分後の酸素濃度は5 ppm以上

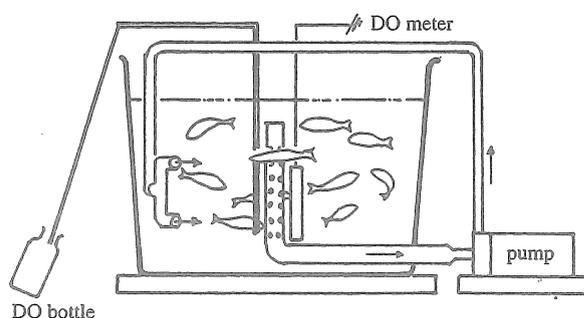


Fig. 35. Experimental tank for observation of oxygen consumption and swimming behavior in triploid and diploid groups.

Table 44. Size (mean±SD) of triploid and diploid fish used for oxygen consumption and swimming behavior experiments.

Groups	No of fish	BL (g)	BW (g)	CF*
Triploid	10	10.4±0.27	13.1±0.77	11.7±0.44
Diploid	10	10.4±0.38	13.0±1.09	11.5±0.87

\*Condition factor :  $BW \times 1,000 / BL^3$

で、供試魚にとって、酸素不足の影響はない濃度であった。また、実験開始時と60分後の酸素濃度の差、すなわち、10尾の群れとしての酸素消費量では、三倍体で0.28~0.62ppm/hourとバラツキがみられたものの、3回の平均値は0.45ppm/hourであった。一方、二倍体の平均値は0.46ppm/hourで、両者の間に有意差はみられなかった。

しかし、実験中の遊泳行動には、かなりの違いが観察された。3回ずつの実験に共通してみられたのは、三倍

Table 45. Oxygen concentration before, at 30 minutes and at 60 minutes after beginning of the experiment, and oxygen consumption of the triploid and diploid groups.

Groups	Experiment number	Oxygen concentration (ppm)			
		Initial	at 30 min	at 60 min (Final)	Initial-Final*
Triploid	Exp-1	6.42	6.22	5.97	0.45
	Exp-2	6.36	6.26	5.74	0.62
	Exp-3	6.07	6.04	5.79	0.28
	Mean±SD	6.28	6.17	5.83	0.45±0.17**
Diploid	Exp-1	6.33	6.15	5.90	0.43
	Exp-2	6.05	5.86	5.56	0.49
	Exp-3	6.20	6.17	5.75	0.45
	Mean±SD	6.19	6.06	5.74	0.46±0.03**

\* Oxygen consumption in 10 fish

\*\* Not significant at  $P > 0.50$

体が水流に対してあまり逆らわず、見かけ上静止して遊泳するか、前進してもわずかであったのに対して、二倍体は水流に逆らって前進しながら遊泳することが多かった。また、遊泳活動としても、二倍体が俊敏であるのに対して、三倍体はやや鈍重の感があった。

### 3) 論 議

三倍体は二倍体に比べて、群れとしての酸素消費量には差はないものの、遊泳活動は鈍いと判断された。逆にいえば、三倍体に二倍体同様の遊泳活動が強いられば、酸素消費量は二倍体よりも多くなる可能性も考えられた。

これらのことから、三倍体は、河川において、渇水時にまれに生じる酸欠状態を、障害物を越えて回避する行動や、出水などの強い水流に逆らう行動が、二倍体より劣るかも知れないと想定された。

三倍体が二倍体に比べて、酸素消費量に差がないことは生理的特性の実験でもみられ、遊泳活動が鈍いことや、摂餌活動も俊敏でないことは、本研究の6年間の飼育実験でもみられている。

### 3. なわばり性

河川に溯上したアユは、付着藻類を摂餌するために、なわばりを形成するという独特の生態的形質を有している。また、池中養成したアユも、河川放流すれば、なわばりを形成する。そして、このなわばり性の有無や優劣については、水槽実験で判定が可能とされている(関ら, 1984)。そこで、三倍体のなわばり機能を知るために、二倍体との一対ずつの組み合わせについて、水槽実験による判定を行った。

#### 1) 材料と方法

実験水槽として、L×B×D=74×43.5×30cmのアク

リル水槽5個を用い、それらをFig.36に示したように、屋外の池中に配置した。用水には、後述する模擬河川水を用いたが、ポンプによって常時注水できるようにした。また、供試魚が実験中に飛び出すのを防ぐために、水槽上面を半透明のビニールスレートでおおった。

供試魚は、'88年に作出し、翌'89年8月まで養成した三倍体と二倍体を用いた。両者は、実験に供するまでの約3ヶ月間、同一水槽内で混養しておいたものである。また、判別のために、混養前に二倍体の脂鱗を切除しておいた。

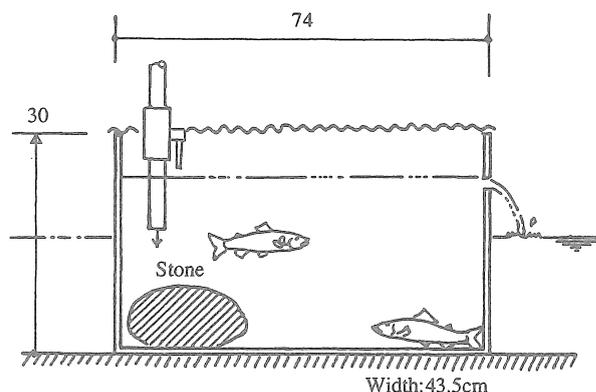


Fig.36. Experimental tank for observation on territorial behavior.

実験には、三倍体と二倍体それぞれ1尾ずつを一組として、25組を使用した。組み合わせにあたっては、両者の体長(3mm以内)と性別が同一になるようにした。

5組ずつ5回の実験に用いた供試魚の大きさをTable 46に示した。雌雄の組数は、雌が13組、雄が12組であった。実験開始にあたっては、三倍体と二倍体を同時に水

Table 46. Size of the experimental triploid and diploid fish used for territorial behavior experiments.

Experiment Number	Groups	No of fish	BL*(range) cm	BW*(range) g
Exp- I	Triploid	5	13.2 (12.2~14.0)	29.4 (23.3~35.3)
	Diploid	5	13.0 (12.1~14.1)	29.6 (24.3~35.9)
Exp- II	Triploid	5	13.2 (12.2~13.7)	28.7 (23.4~32.2)
	Diploid	5	13.1 (12.5~13.6)	29.1 (25.6~33.3)
Exp- III	Triploid	5	12.9 (12.3~13.3)	25.9 (21.8~29.0)
	Diploid	5	12.8 (12.1~13.5)	26.8 (23.8~32.4)
Exp- IV	Triploid	5	13.3 (12.4~14.7)	31.3 (26.2~41.4)
	Diploid	5	13.3 (12.5~14.8)	31.1 (26.8~39.2)
Exp- V	Triploid	5	13.6 (12.9~14.4)	31.4 (26.3~39.3)
	Diploid	5	13.6 (12.7~14.3)	32.9 (24.1~40.1)

\* Mean of 5 fish

槽に投入した。

なわばり行動の観察は、随時目視によって行ったが、5水槽ではほぼ優劣が明らかになった時点で、次のように判定した。①明らかに優位、相手を激しく排撃する。②相対的に優位、石を占有する。③互角、互いに追撃するか、共に泳ぐ。④劣位。

実験期間は、8月17日～9月14日で、実験期間中の水温は20.6～26.5℃であった。

## 2) 結果

一回の実験に用いた5個の水槽において、なわばり行動の優劣の判定には3～8日を要した。5回の実験の合計25組の判定結果をTable 47に示した。明らかに優位と判定されたのは、三倍体が6組(尾)、二倍体は5組(尾)で、三倍体の方が1尾多かった。しかし、相対的に優位と判定されたのは、三倍体の2尾に対して、二倍体は9尾と7尾も多い結果となった。両者互角については3組がみられた。劣位と判定されたのは、三倍体が14尾で、二倍体は8尾であった。また、明らかに優位と相対的に優位の合計は、三倍体が8尾、二倍体は14尾となるが、その中の雌雄の数は、三倍体では雌7尾と雄1尾で、二倍体では雌5尾と雄9尾であった。このように、三倍体では、優位であった8尾のうち7尾までが雌であった。また、優位であったもののうち、相手との大小差の内訳をみると、三倍体では、大5尾、小0尾、同サイズ3尾で、二倍体では、大2尾、小6尾、同サイズ6尾であった。このように、三倍体で優位であった8尾は、大または同サイズのもので、小で優位にたったものはなかった。

実験中の水温の変動幅は3.5～5.6℃で、5回の実験ともおおむね同様であったが、天候はまちまちであった。

Table 47. Judgement of fight for territory between triploid and diploid fish.

Judgement	No of triploid	No of diploid
Superior	6	5
Relative superior	2	9
Even	3	3
Inferior	14	8
Superior by sex		
Female	7	5
Male	1	9
Superior by size		
Larger	5	2
Smaller	0	6
Same	3	6

## 3) 論議

以上の結果から、三倍体も、アユ本来のなわばり性と

いう形質は有しているものの、二倍体に比して、それはやや劣るものと考えられた。また、雌雄の別や相手との関係では、三倍体は、雌でかつ相手と同サイズが大きい場合に、優位にたてるものと考えられた。したがって、河川内においても、二倍体となわばりを競い合った場合、三倍体は劣位にたつことが多く、友釣りによる釣獲率も低くなると想定された。今後、三倍体を放流魚として利用するにあたっては、性別やサイズを考慮する必要があると考えられた。

## 第2節 食性

河川において、アユはもっぱら藍藻や珪藻といった附着藻類を摂餌して成長する。そして、アユ独特の味覚や香りは、これらの藻類を餌料とするためといわれている。三倍体アユにも、この食性が備わっているかどうかを知るために、附着藻類を繁茂させた模擬河川を造り、その中で摂餌活動や成長を観察するとともに、一定期間放養後の魚体一般成分の分析を行った。

### 1. 附着藻類に対する摂餌活動と成長

模擬河川内に、成長期から成熟期に相当する期間、三倍体と二倍体を放養して、両者の摂餌活動や成長をみる実験を3回にわたって行った。なお、この実験では、7月を成長期、8月を成魚期、8～9月を成魚期から成熟期にかかる期間としてあつかった。

#### 1) 材料と方法

8×12mの池の中に、コンクリートブロックを用いて、幅1m長さ25m(1988年)あるいは18m(1989年: Fig. 37)の水路を造り、その中に河川石を配置して、実験用の模擬河川とした。用水には地下水を用いたが、一定の水流をつけるため、Fig. 37に示したように、下流端から上流端へポンプによって用水を循環させた。実験は'88～'89年に3回実施した。

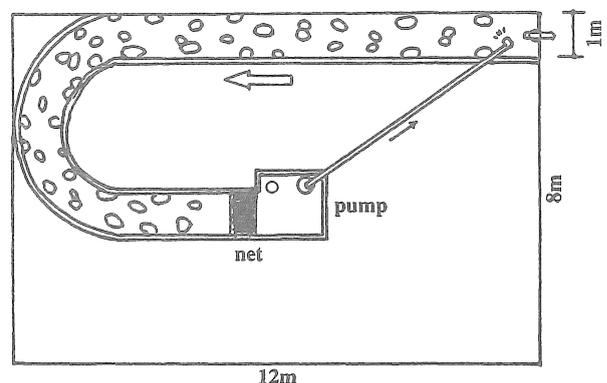


Fig. 37. Experimental stream for observing the feeding behavior of riverbed algae.

実験Ⅰの供試魚には、'87年に作出し、'88年8月まで養成した三倍体と二倍体50尾ずつを用いた。両者は実験に供するまでの約3ヶ月間、同一水槽内で混養しておいた。

実験Ⅱおよび実験Ⅲの供試魚は、'88年に作出し、'89年7月および8月まで養成した三倍体と二倍体で、両者は、実験Ⅱの開始時まで約2ヶ月間、実験Ⅲの開始時まで約3ヶ月間混養しておいたものである。供試尾数は、実験Ⅱ、Ⅲとも三倍体と二倍体それぞれ25尾ずつとした。

また、三倍体と二倍体を識別するため、いずれの実験の場合も、混養前に二倍体の脂鰭を切除しておいた。

実験Ⅰの実験期間は、アユの成魚期から成熟期にかかる8月16日～9月27日の42日間で、実験Ⅱは成長期の7月6日～7月26日の20日間、実験Ⅲは成魚期の8月4日～8月24日の20日間である。いずれの実験の場合も、摂餌活動の観察は随時目視によって行い、成長をみるために、実験開始時と終了時の体長と体重を測定した。また、実験Ⅰの供試魚については、終了時に雌雄の生殖腺重量も測定した。

2) 結 果

摂餌活動については、いずれの実験の場合も、三倍体は二倍体同様附着藻類をよく食む姿が観察された。ただ、なわばりの形成については、実験Ⅲにおいて、1尾の二倍体にその行動がみられたのみで、その他は確認できなかった。

各実験における、実験開始前と終了時の、三倍体と二倍体の魚体の大きさをTable 48, 49に示した。Table 48に示したように、実験Ⅰでは、実験終了時において、

三倍体と二倍体いずれの尾数も46尾となっており、開始時より4尾少なくなっていた。これはへい死や逃亡によるものであった。

魚体の測定結果から、実験Ⅰにおける、三倍体と二倍体の、体長の日間伸長量と伸長率、体重の日間増重量と増重率、また、それらを雌雄に分けた場合の値をTable 50にまとめて示した。伸長量と伸長率では、三倍体の方がわずかに高い値を示したが、増重量と増重率では、二倍体の方が倍近く高い値を示した。これらの伸長、増重の量と率を雌雄に分けた場合の値をみると、三倍体では、伸長、増重の量、率とも雄雌はほとんど同値であったが、二倍体では、伸長、増重の量、率とも雄の方が雌よりも高い値を示した。実験期間中の水温は18.5～23.5℃で、附着藻類は主として珪藻類であった。

実験ⅡおよびⅢにおける、三倍体と二倍体の、体長の日間伸長量と伸長率、体重の日間増重量と増重率をTable 51にまとめて示した。いずれの実験の場合も、三倍体の伸長、増重の量と率は二倍体よりも低い値であった。実験期間中の水温は、実験Ⅱでは20.7～26.3℃、実験Ⅲでは20.9～26.5℃であった。また、両実験とも附着藻類は主として藍藻類であった。

実験Ⅰ～Ⅲにおける三倍体と二倍体の体長、体重および肥満度の変化をFig. 38にまとめて示した。実験Ⅰについては、成熟期にかかるため、終了時に雌雄別に計測したが、三倍体が雌雄ともほとんど同様の変化であったのに比べて、二倍体では、雄の方が雌よりも大きく変化した。三倍体と二倍体の比較として、3回の実験結果を全体としてみると、三倍体の体長、体重の変化、すなわ

Table 48. Pre and post-experimental size (mean±SD) of triploid and diploid fish used in Experiment-I (Aug16～Sep27).

Groups	Pre-experiment	Post-experiment			
		Total	Female	Male	
Triploid	No of fish	50	46	26	20
	Body length (cm)	12.2±0.65	13.1±0.60	13.1±0.57	13.1±0.66
	Body weight (g)	23.7±3.69	25.9±3.58	26.0±3.53	25.8±3.72
	Condition factor*	13.1±0.92	11.6±0.73	11.6±0.81	11.5±0.62
	GSI**		3.5±2.87	0.8±1.13	6.0±1.10
Diploid	No of fish	50	46	31	15
	Body length (cm)	12.2±0.56	13.0±0.72	12.9±0.68	13.3±0.76
	Body weight (g)	24.6±3.61	28.8±5.82	28.3±5.44	29.8±6.62
	Condition factor	13.6±0.80	12.9±1.09	13.1±1.04	12.5±1.11
	GSI		11.4±4.00	13.9±3.90	8.7±1.55

\*  $BW \times 1,000 / BL^3$

\*\*  $GW \times 100 / BW$

Table 49. Pre and post-experimental size (mean±SD) of triploid and diploid fish used in Experiment-II, III.

Experiment Number	Groups		Pre-experiment	Post-experiment
Exp-II (Jul 6~26)	Triploid	No of fish	25	25
		Body length (cm)	12.0±1.01	12.9±0.90
		Body weight (g)	26.4±7.22	29.2±6.45
	Diploid	Condition factor*	15.1±1.09	13.3±0.94
		No of fish	25	25
		Body length (cm)	11.3±0.73	12.6±0.79
		Body weight (g)	23.2±4.63	27.8±5.23
Exp-III (Aug 4~24)	Triploid	Condition factor	15.7±0.89	13.7±0.74
		No of fish	25	25
		Body length (cm)	10.7±0.37	11.6±0.36
	Diploid	Body weight (g)	16.7±1.89	19.8±2.04
		Condition factor	13.6±0.83	12.6±0.73
		No of fish	25	25
		Body length (cm)	11.3±0.57	12.8±2.23
Diploid	Body weight (g)	20.6±3.38	25.6±4.15	
	Condition factor	14.2±0.79	12.8±2.47	

\* BW×1,000/BL<sup>3</sup>

Table 50. Daily growth and growth rate of triploid and diploid fish released in the experimental stream in Experiment-I (Aug16~Sep27).

Groups	Sex	Daily growth*		Daily growth rate**	
		BL(mm)	BW(g)	BL(%)	BW(%)
Triploid		0.21	0.05	0.17	0.21
Diploid		0.20	0.10	0.16	0.38
Triploid	Female	0.21	0.05	0.17	0.22
	Male	0.21	0.05	0.17	0.20
Diploid	Female	0.17	0.09	0.14	0.34
	Male	0.27	0.12	0.21	0.46

\* Daily growth:  $(L_2 - L_1) / D; (W_2 - W_1) / D$ \*\* Daily growth rate:  $\frac{L_2 - L_1}{D \times \frac{L_1 + L_2}{2}} \times 100; \frac{W_2 - W_1}{D \times \frac{W_1 + W_2}{2}} \times 100$ 

L<sub>1</sub>, body length; W<sub>1</sub>, body weight pre-experiment.  
 L<sub>2</sub>, body length; W<sub>2</sub>, body weight post-experiment.  
 D, experimental days.

ち成長は二倍体より劣る結果となった。実験Iの終了時における、供試魚の生殖腺指数(GSI)は、Table 48に示したとおりであるが、三倍体の雌を除き、三倍体の雄や二倍体の雌雄は、生殖腺が発達しつつあった。

### 3) 論議

観察の結果から、摂餌活動自体については、三倍体も二倍体同様の習性をもっていると思われた。ただ、成長

Table 51. Daily growth and growth rate of triploid and diploid fish released in the experimental stream in experiment-II, III.

Experiment No	Groups	Daily growth*		Daily growth rate*	
		BL(mm)	BW(g)	BL(%)	BW(%)
Exp-II (Jul6~26)	Triploid	0.45	0.14	0.36	0.50
	Diploid	0.65	0.23	0.54	0.90
Exp-III (Aug4~24)	Triploid	0.45	0.16	0.40	0.85
	Diploid	0.55	0.25	0.46	1.08

\* See Table 50 so for calculations.

とも関連しているなわばりに関しては、用いた実験河川が、その形成に適していなかったと思われ、明らかにすることができなかった。

成長の違いについて、実験Iでは、三倍体は、体長の日間伸長量、伸長率では、二倍体よりわずかだが高い値を示し、体重では逆に、増重量、増重率とも明らかに低い値を示した。また、雌雄別の伸長、増重の量と率をみると、三倍体の雌雄はほとんど同値(雌の伸長率はわずかに高い)なのに対して、二倍体では、明らかに雄の方が雌よりも高い値を示した。これらのことは、実験期間がアユの成熟期にかかっているため、GSI (Table 48) にみられるように、生殖腺が成熟の段階に近づきつつあることと関係があると思われた。すなわち、三倍体の体長からみた成長は、成熟期には二倍体を上回る現象(畑

中ら, 1991; 本文, 成長期および成熟期の成長) がでてきたために, 三倍体の日間伸長量, 伸長率が, 二倍体よりもわずかながら高くなったと考えられた。また, 体重の増重量と増重率が二倍体より低くなったのは, 二倍体では, 成熟を前に, 雄の体が大きくなり, 雌は卵巣の発達によって, 体長より体重が増加するという一般的傾向のためであろう。

実験ⅡとⅢでは, 三倍体は, 日間伸長, 増重の量, 率とも二倍体よりも明らかに低く, すなわち, 成長期から成魚期にかけては, 成長が劣るという結果を示した。三倍体の成長が劣る要因として, 池中養成では二倍体との摂餌面での競合が考えられているが(畑中ら, 1991), Fig. 38に示したように, 両者の肥満度の変化は同様であることから, 摂餌不良が原因とは考えにくい。やはり, 三倍体が有する一つの生態的特性と思われた。

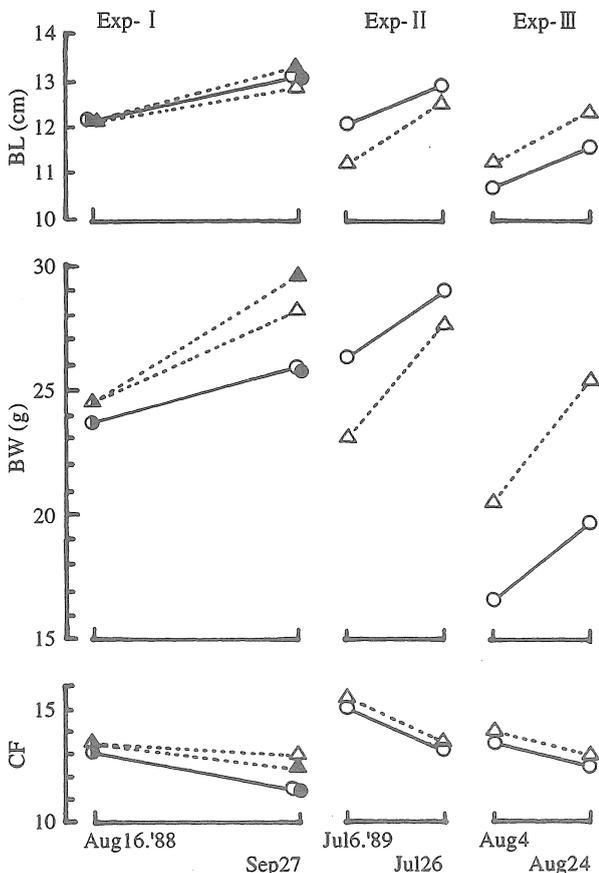


Fig. 38. Comparisons of body length, body weight and condition factor ( $BW \times 1,000 / BL^3$ ) between triploid and diploid fish.  
 Exp-I : ○, triploid female ; ●, triploid male ; △, diploid female ; ▲, diploid male  
 Exp-II ~ III : ○, triploid ; △, diploid.

以上のように, 付着藻類に対する三倍体の摂餌活動については, 摂餌の形態自体は二倍体と同様で, 本来的なアユの習性を有しているが, 摂餌した結果としての成長は, 成長期から成魚期では二倍体に劣り, 成熟期になると, 二倍体を上回る傾向がでてくると推定された。

## 2. 付着藻類を摂餌した場合の魚体一般成分

養殖アユは天然アユに比べて, 肉質が劣ることが一般的に知られている。そして, 天然アユの肉質がよいのは, 付着藻類を摂餌するためといわれている。そこで, 前述の付着藻類の摂餌活動と成長に関する実験に用いた, 三倍体と二倍体について, 魚体の一般成分分析を試み, 両者の比較から三倍体の魚体成分の評価を行った。

### 1) 材料と方法

供試魚は, 前述の実験Ⅲにおける終了時の三倍体と二倍体である (Table 49)。分析に先立って, 供試魚を氷じめしたのち,  $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結保存しておいた。供試尾数は, 三倍体と二倍体それぞれ25尾ずつとしたが, 分析必要量の関係から, 5尾分を1検体とし, 5検体ずつについて分析に供した。分析部位は, 頭, 骨, 内臓, 鰭を除く可食部 (フィレー) で, 分析項目は, 水分, 蛋白質, 脂質, 糖質, 灰分の5項目とした。分析は, 依頼した「日本食品分析センター」で, 常法によって行われた。

### 2) 結果

三倍体と二倍体各5検体の分析結果をTable 52に, また, 各分析項目毎の両者の有意差 (t検定) をTable 53にそれぞれ示した。Table 53に示したように, 水分については, 三倍体は二倍体より有意に少なく, 蛋白質と脂質は逆に有意に多かった。糖質については, 二倍体より少なかったが, 有意差はみられなかった。また, 灰分は二倍体より有意に多かった。

### 3) 論議

分析結果から, 総じていえば, 三倍体は二倍体よりも, 水分が少なく, 脂質や灰分は多いが, 蛋白質や糖質は余り差がないようであった。これらの結果は, 三倍体と二倍体の活動力の差によるものかも知れない。

ただ, この一般分析値は, 20日間にわたって付着藻類を摂餌した後のものであって, 摂餌以前, すなわち, 配合飼料を摂餌していた時の分析を行っていない。したがって, 付着藻類を摂餌したことによって, 魚体成分がどの程度変化したかを知ることはできない。そこで, 食品としての天然アユと養殖アユの一般分析値 (松元, 1984) と, 今回の三倍体および二倍体の分析結果との比較をTable 54に示した。三倍体と二倍体の分析値は5検体の平均値であるので, 合計が100%にはならないが, 4

Table 52. Results of general components (%) in triploid and diploid fish fillet, in case of feeding on riverbed algae.

Groups	Sample No	Moisture	Protein	Lipid	Sugar	Ash
Triploid	1	73.6	19.4	5.2	0.03	1.8
	2	73.2	19.5	5.6	0.03	1.8
	3	73.3	19.5	4.8	0.05	1.7
	4	74.9	17.9	6.6	0.03	1.3
	5	73.5	19.2	6.2	0.02	1.4
	Mean.SD	73.7±0.69	19.1±0.68	5.7±0.73	0.03±0.011	1.6±0.23
Diploid	1	76.0	18.1	3.9	0.05	1.3
	2	76.6	18.0	4.1	0.03	1.2
	3	75.8	18.5	4.9	0.04	1.4
	4	74.4	18.7	5.0	0.06	1.4
	5	75.6	18.7	3.9	0.03	1.3
	Mean.SD	75.7±0.81	18.4±0.33	4.4±0.55	0.04±0.013	1.3±0.08

Table 53. Statistical significance (t-distribution) differences in general component between triploid and diploid fish.

	Comparison	t
Moisture	3N* < 2N**	P<0.001
Protein	3N>2N	P<0.02
Lipid	3N>2N	P<0.001
Sugar	3N<2N	
Ash	3N>2N	P<0.01

\* Triploid, \*\* Diploid

Table 54. Comparison of general component (%) between triploid, diploid, wild and cultured ayu.

Groups	Moisture	Protein	Lipid	Sugar	Ash
Triploid	73.7	19.1	5.7	0.03	1.6
Diploid	75.7	18.4	4.4	0.04	1.3
Wild*	74.6	18.3	5.5	0.1	1.5
Cultured*	69.5	17.8	10.4	0.6	1.7

\* Food analysis (Matsumoto, 1984)

者を比較すると、三倍体と二倍体は、養殖アユよりも天然アユにより近い分析結果となっている。このことは、20日間の付着藻類の摂餌によって、三倍体と二倍体が天然アユとほぼ同レベルの魚体成分を有していたことを示している。したがって、今回の分析結果は、三倍体が河川放流された場合の魚体一般成分を示唆しているものと考えられた。

### 第3節 生殖

アユの産卵期は秋季である。産卵期が近づく、成熟

魚は河川を下り、河口に近い瀬を主な産卵場として、次代を残すための生殖活動を行う。そして、産卵、放精を終えた親魚は自然死亡する。しかし、第3章の性成熟で述べたように、三倍体アユは雌雄とも不妊性である。この生理的特性から、三倍体アユがどのような生殖行動をとり、産卵期後どのような生残性を示すかという点は、きわめて興味深い生態的特性である。そこで、模擬河川において、この両特性について詳しく観察した。

#### 1. 生殖行動

河川の産卵場において、アユの生殖行動はまず雄から始まる。成熟した雄が瀬に群れをなして集まるようになり、産卵に来る雌を待つ。雌が産卵場に進入して来ると、雄は一群となって雌を追尾し、小砂利の中に雌が産卵するのに合わせて放精する(西田, 1978)。このような生殖行動が可能となるように、模擬河川内に産卵床を設け、成熟期の三倍体と二倍体の雌雄、または三倍体の雄と二倍体の雌を放流して、一連の生殖行動の違いを観察した。

#### 1) 材料と方法

実験用の模擬河川は、前述の付着藻類に対する摂餌活動と成長の実験に用いた河川 (Fig.37) に、アユの産卵にふさわしい粒径5~30mmの小砂利(石田, 1959)を用いて、約1.4m<sup>2</sup>の産卵床を設定したものである (Fig. 39)。砂利の厚さは約5~7cm、水深は約12~15cm、流速は13~19cm/secであった。

飼育用水には地下水を用いたが、水質の悪化を来さず、かつ気温の影響で水温が変化するように、できるだけ注水量を少なくした。また、一定の水流を維持するために、Fig. 39に示したように、ポンプを用いて用水を循環させた。

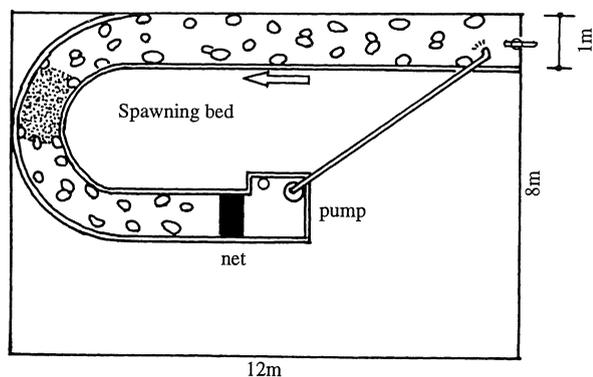


Fig. 39. Experimental stream for observing the spawning behavior of triploid and diploid fish.

さらに、産卵、放精後死亡した親魚を採取するため、最下流部にネットを斜めに設置しておいた。

実験は'89年と'90年の2回実施した。実験Ⅰでは、三倍体の雌雄と二倍体の雌雄の4者が混在する場合の生殖行動を観察し、実験Ⅱでは、三倍体の雄と二倍体の雌のみが混在する場合の生殖行動を観察した。

供試魚は、いずれの実験の場合も、前年秋に作出した三倍体と二倍体を養成したもので、両者の識別は二倍体の脂鱗を切除することによった。

実験Ⅰでは、三倍体の雌雄各30尾と二倍体の雌雄各30尾の計120尾を用いた。雌雄の判別は尻鱗の形態および体型の違いによったが、三倍体の雌以外の供試魚、すなわち、三倍体の雄と二倍体の雌雄は二次性徴が発現していた。

各供試魚の平均体長は、三倍体の雌が11.0cm、雄が11.1cm、二倍体の雌が12.7cm、雄が13.0cmであった。また、三倍体雄の生殖行動を水面上から確認しやすくするために、背鱗基部に化繊糸を縫い付けて標識とした雄32尾(平均体長; 13.8cm)を追加放流した。実験は9月15日から生殖行動がみられなくなった11月上旬まで行った。

実験Ⅱでは、二次性徴が明らかな三倍体の雄50尾と、成熟した二倍体の雌50尾を用いた。供試魚の平均体長は、それぞれ14.3cmと13.9cmであった。実験は10月4日～12月28日の間行った。

実験Ⅰ、Ⅱとも、供試魚の観察はほぼ毎日行ったが、必要に応じて、VTRや写真撮影による観察も行った。なかでもとくに、産卵床における瀬付き行動や、産卵放精活動を中心に観察した。また、随時産着卵の状態も観察した。

## 2) 結果

'89年の実験Ⅰにおける観察結果は次のようであった。

産卵期が近づくと、雄は群れを成して産卵床の上下を泳ぐようになった。その後間もなくして、雄群の繁殖準備態勢ともいえるべき、産卵床への瀬付き行動が9月20日すぎからみられ始めた。そして、最初の産着卵が9月26日にみとめられた。

産卵放精活動は、10月9日以降活発となり、10月末まで盛んに行われた。とくに10月下旬は、昼間でもみられるほど活発であった。しかし、11月に入ると次第に少なくなり、同月中旬にはほとんどみられなくなった。

最初の自然死亡魚として、10月26日に三倍体と二倍体の雄1尾ずつがみられた。

産着卵50粒を、産卵盛期の10月20日に採集して通水しておき、4日目に観察したところ、その生存卵率は84%であった。また、産卵床で直接観察した場合も、おおむね同程度の生存卵率であった。

三倍体の雄は、産卵床において、Fig. 40に示したように、二倍体の雄とまったく同様の瀬付き行動を示し、産卵しに来る二倍体雌の進入に備えた。ただ、瀬付き開始時期は二倍体よりやや遅い傾向がみられた。そして、三倍体の雄は、Fig. 41-1に示したように、二倍体の雄とともに、産卵しに来た二倍体雌を一群となって追尾し、その直後、水しぶきを上げ水面を大きく波立たせる産卵放精活動に参加した(Fig. 41-2)。この産卵放精の瞬間には、周囲の雄も産卵する雌の側に瞬時に集中したが、三倍体の雄も例外ではなかった。

以上の一連の三倍体雄の行動は、二倍体雄と何ら変わるところはなかった。

一方、三倍体の雌は、ほぼ常時産卵床より上流部に分散しており、時々上下して産卵床を通過することはあっても、そこに留まり雄群の追尾を受けることはなかった。

観察中の模擬河川の水温は16.0～25.0℃で、付着藻類



Fig. 40. Schooling behavior of triploid and diploid males in spawning bed. One half of triploid males were marked with white ribbon at frontal part of dorsal fin.

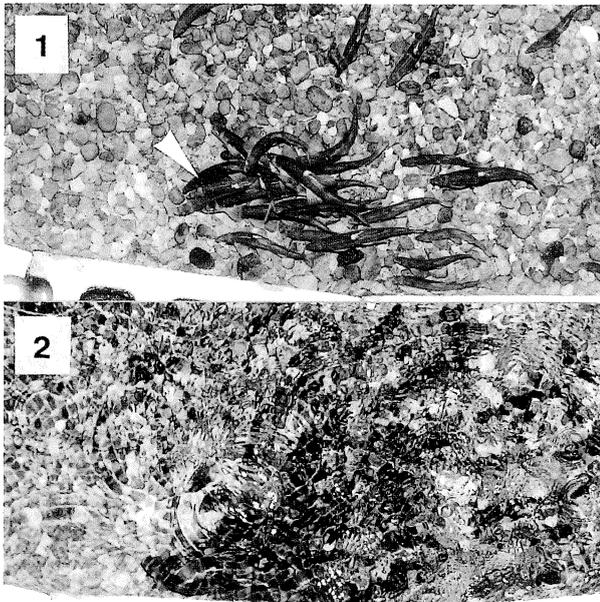


Fig.41.1 : Triploid and diploid males chasing a diploid female (▽). One half of triploid males were marked with white ribbon at frontal dorsal fin.  
2 : Spawning action just after the chasing activity (Both chaser and non-chaser males gathered around the female momentarily and splashed water during spawning action).

は藍藻類の*Hemoeothrix* spが優占種であった。

'90年の実験Ⅱにおける観察結果は次のようであった。

三倍体の雄は、実験Ⅰでみられたような、明らかな瀬付き行動を示さず、産卵床に短時間留まることはあっても、二倍体の雌を待つ状態ではなかった。そして、二倍体の雌と遭遇しても、それを追尾し産卵させる行動も軽微で、活発なものではなかった。

産卵の形跡はわずかにみとめられたものの、産着卵数は少なかった。また、その卵はほとんどが白濁しており、石から容易に剥離する死卵が多かった。そして、実験Ⅰ同様の4日目の観察でも、生存卵率は0%であった。

二倍体雌の死亡は11月9日からみられたが、死亡した7尾のうち6尾までが過熟卵を有していた。

12月28日の実験終了時まで、三倍体の雄は、11月30日以降12%が死亡し、二倍体の雌は、11月9日以降14%が死亡した。

生殖行動観察中(10月4日~11月30日)の模擬河川の水温は13.5~20.1℃で、付着藻類の優占種は、実験Ⅰ同様*Hemoeothrix* spであった。

### 3) 論議

三倍体の生殖行動について、実験Ⅰおよび実験Ⅱの観

察結果からみると、まず、三倍体の雌は、二倍体の雌雄と混在する条件下において、産卵行動をまったく示さず、もっぱら上流部に分散し、産卵床に来ることもなかった。したがって、河川での繁殖期にあっても、三倍体の雌は何らの生殖行動も示さないものと判断された。一方、三倍体の雄は、二倍体の雌雄と混在する条件下では、二倍体の雄同様、産卵床への瀬付き行動を示し、産卵に来た二倍体雌を追尾して産卵放精活動に参加した。しかし、二倍体雌のみと混在する場合は、瀬付き行動も明確ではなく、相手を追尾し産卵を補助する行動もほとんどみられなかった。また、二倍体雌が過熟卵を有したまま死亡したのも、この行動が一因と考えられた。このように、三倍体の雄は、異なる条件下で異なる生殖行動を示した。二つの条件における主要な差異は、三倍体の雌と二倍体雄の存在の有無である。三倍体の雌は、前述したように、産卵放精活動に全く関与しないので除外すると、二倍体の雄との関係が考えられる。本来、産卵放精活動は、光りや水温などの環境条件の他に、フェロモンなどの雌雄の相互刺激で行われると考えられている(Honda, 1979)。三倍体の雄も、二倍体の雌雄が存在する時は、二倍体雌の刺激を受けて生殖行動を示し、二倍体の雄が存在しない時は、二倍体の雌からの刺激が少なく、活発な生殖行動を示さないのではないかと推察された。また、二つの実験条件におけるもう一つの差異は、二倍体の雌に対する三倍体雄の放流尾数である。実験Ⅰでは、二倍体の雌30尾に対して、三倍体の雄は、標識分を含めて62尾であり、実験Ⅱでは、両者とも50尾ずつの同数であった。二倍体の雌と三倍体の雄の相対的な尾数の違いが、両者の生殖行動にどのように影響するのか、今回の結果からは明らかにすることができなかった。しかし、実験Ⅱの三倍体の雄は、産卵放精活動の前段であり、繁殖の準備体制ともいべき産卵床への瀬付き行動すら、明確には示さなかった。このことから、三倍体の雄自体の生殖のための行動力は、二倍体の雄よりも弱いと推察された。

伊藤ら(1990)は、水槽実験における三倍体の産卵時の生理的变化から、三倍体の雄と二倍体の雌との組み合わせで、二倍体雌の放卵がみられたとし、また、三倍体は雌雄とも産卵に参加する可能性があることを示唆している。今回の実験では、前述したように、三倍体の雄と二倍体の雌が混在した場合、卵数は少ないものの、二倍体雌の産卵の形跡はみとめられた。しかし、産卵放精活動への参加については、三倍体の雄の参加は確認されたが、三倍体の雌ではみとめられなかった。

今回の実験Ⅰにおいて、三倍体の雌雄が二倍体の雌雄

と混在した場合、生殖活動盛期の産着卵の生存卵率は84%であった。これは、三倍体雄の尾数が二倍体の雄よりも約2倍多いという条件下での結果である。琵琶湖の人工河川における生存卵率は約96%とされており(中, 1987)、今回の実験はこれよりやや低い。河川の条件が異なるので、直接の比較は困難であるが、この生存卵率の低い分は、受精能力の無い三倍体の雄が放精活動に参入したためとも考えられた。雌アユ1尾の産卵に対して、回りで放精する雄アユの数は限られるであろうし、その可能性も否定できない。

今回の実験に用いた模擬河川が、実際の河川の自然環境とどの程度異なるものかは明らかではない。しかし、観察中の産卵放精活動は天然アユの産卵形態(西田, 1978)とわけてよく似ており、仮に三倍体が河川に放流された場合も、今回の実験とほぼ同様な生殖行動を示すものと考えられた。

2. 産卵期後の生残性

年魚であるアユは、産卵放精後ほとんどの親魚が自然死亡し、越冬することができない。そこで、不妊性である三倍体の雌雄が、産卵期後どのような生残性を示すかを知るために、前述の生殖行動にひきつづき、自然死亡に関する観察実験を行った。

1) 材料と方法

実験は、前述の生殖行動に関する実験Iの供試魚について、ひきつづき行った。実験期間は、自然死亡する親魚がみられ始めた日から翌春までとした。生残尾数の変化をみるために、産卵放精を終えて衰弱あるいは死亡して、下流のネット(Fig. 39)に流れ着いた親魚をそのつと採取した。三倍体または二倍体であることの確認は、脂鱗の有無、および開腹して生殖腺を観察することによった。また、実験終了時の生残魚について、尾数と生殖腺重量を計測した。

2) 結果

親魚の自然死亡がみられ始めたのは、産卵放精活動も後期の10月26日からであった。死亡開始時から翌年4月6日の実験終了時までの、三倍体と二倍体の雌雄4者の経日的な生残率の変化をFig. 42に示した。実験期間のうち、年内の12月28日までの生残率をみると、三倍体の雌では、まったく死亡がみられず、生残率100%であったが、三倍体の雄の方は37%の生残率であった。一方、二倍体では、雌は40%が生残していたが、雄の生残率は7%であった。

12月28日以降、翌春の4月6日までの越冬生残率をみると、三倍体の雌は80%(24尾/30尾)が生残し、雄は

3%(1尾)の生残率であった。二倍体の方は、雌が10%(3尾)生残したが、雄は生残しなかった。

実験終了時における、各供試魚の生殖腺指数GSI(GW×100/BW)をTable 55に示した。三倍体雌のGSIは0.2±0.23%で、生殖腺は未発達のままであった。1尾だけ生残した三倍体の雄は、外見は雄であったが、GSIは0.03%で、生殖腺は非常に小さかった。一方、二倍体の雌は11.0±0.68%で、未熟卵が残っていた。

10月26日~翌春4月6日の実験期間中の模擬河川の水温は、22.0~6.9℃で、10月下旬が最も高く、1月下旬が最も低かった。

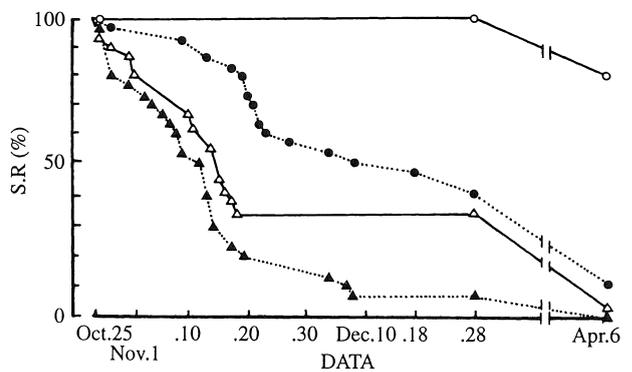


Fig. 42. Changes in survival rate (SR) of triploid and diploid females and males observed after the spawning period and until next Spring.

- - ○ : triploid female
- △ - △ : triploid male
- - ● : diploid female
- ▲ - ▲ : diploid male

Table 55. Gonado-somatic index of triploid and diploid fish after experiment (Apr 6).

Groups	Sex	No of survivors	GSI*(%)±SD (Range)
Triploid	Female	24	0.2±0.23(0.04~1.10)
	Male	1	0.03
Diploid	Female	3	11.0±0.68(10.5~11.8)

\* Mean of GSI (GW×100/BW)

3) 論 議

産卵放精後越冬し、翌春の4月6日まで生残したもののなかでは、三倍体の雌が特異的に多かった。三倍体の雄は1尾が生残したが、この個体は、前述したように、GSIが0.03%で生殖腺が発達しておらず、そのため外見は雄でも、雌のように生残できたものと考えられた。また、二倍体では、雄は生残できなかったが、雌は10%が生残した。

自然の河川においても、冬季の水温が温かい河川では、越冬する雌アユが存在する。今回の実験では、最低水温が6.9℃であったことからみて、模擬河川の環境は冬季河川の自然環境ほど厳しくはなく、二倍体の雌が生残できたとも考えられた。また、実験終了時の生残率には、水鳥の食害も影響している。実験期間が5ヶ月余りにわたったため、なかでも1～4月の間に、食害によると思われる数尾の不明個体がみられた。このような点も考慮する必要があるが、二倍体の雌がいくらか生残できるような河川においては、三倍体の雌は、比較的高い生残率で、越冬することができると推察された。

#### 第4節 生態的特性の評価

三倍体アユの生態的特性に関しては、行動（とびはね行動と溯上行動、群れにおける遊泳行動、なわばり性）、食性（付着藻類に対する摂餌活動と成長、付着藻類を摂餌した場合の魚体一般成分）、生殖（生殖行動、産卵期後の生残性）の各項目について検討した。

##### 1) 行動（とびはね行動と溯上行動、群れにおける遊泳行動、なわばり性）について

実験水槽における、三倍体のとびはね率は二倍体より明らかに低かった。また、溯上率を比較したところ、やはり三倍体の溯上性は二倍体より劣ることが確認された。さらに、10尾の群れによる酸素消費量と遊泳行動をみたところ、酸素消費量では二倍体との有意差はみられなかった。しかし、遊泳行動においては、三倍体は、水流に対して静止して泳ぐなど、やや鈍重の感があり、水流に逆らって泳ぐ二倍体の俊敏さとは対象的であった。なわばり性については、三倍体もその形質を有していることがわかった。しかし、二倍体と一つのなわばりを競い合った場合は、劣位に立つことが多かった。

このように、三倍体の行動には二倍体より劣る面がみられ、仮に三倍体が河川に放流された場合、溯上性は二倍体に劣り、友釣りによる再捕率も二倍体より低いと想定される。また、群れとしての酸素消費量に差はないものの、その遊泳行動が鈍いことから、渇水期における酸欠死の危険性や、強い水流に流されやすいなどの可能性があると推定される。さらに、なわばり性も劣ることから、友釣りによる再捕率が二倍体より低いと想定され、とびはね行動の実験結果と符合している。ただ、なわばり性については、雌で二倍体より大きい場合は優れており、放流の仕方しだいでは、三倍体の釣獲率も高くなる可能性もありえよう。

##### 2) 食性（付着藻類に対する摂餌活動と成長、付着藻類を摂餌した場合の魚体一般成分）について

模擬河川における実験では、三倍体も付着藻類をよく食む行動が観察された。また、成長期から成魚期にかけての成長は二倍体に劣り、成熟期にかかる時、その体長における伸長率は二倍体を上回る傾向がみられた。20日間にわたって付着藻類を摂餌した三倍体は、二倍体同様天然アユに近い魚体成分となったが、二倍体より、水分が少なく、脂質や灰分は多く、蛋白質や糖質は余り差がないという結果であった。

アユは河川において、大半のものはなわばりをつくり、その他は群れるなどして、付着藻類を摂餌して成長する魚種である。三倍体アユが河川に放流された場合、付着藻類の摂餌というアユ本来の形質は有しているが、その結果としての三倍体の成長は、成長期（夏季）では二倍体に劣り、成熟期（秋季）にかかる時二倍体を上まわるものと推定される。三倍体の魚体一般成分は二倍体とやや異なる傾向を示したが、この要因が、三倍体の代謝機能によるものか、組織構造によるものか、その他によるものか、本研究では明らかにできなかった。これまで、三倍体魚の魚体一般成分に関する報告は見あたらない。ただ、ニジマスにおいて、カンタキサンチンを与えた三倍体のフレッシュカラーは二倍体と差がなかったという報告(Choubert and Blanc, 1985)があるのみである。いずれにしても、河川で成長した三倍体アユの魚体一般成分が、食品としての価値に大きく影響することはないと推察される。

##### 3) 生殖（生殖行動、産卵期後の生残性）について

模擬河川での実験において、三倍体の雌は産卵放精といった産卵活動にまったく関与しなかったが、三倍体の雄は二倍体雄同様産卵活動に参加した。しかし、三倍体雄も二倍体雌のみと混在する場合は、その活動は二倍体よりも弱いものと推察された。また、産卵期間中を含めた産卵期後翌春までの生残率では、三倍体の雌のみが特異的に高かった。一方、三倍体の雄は二倍体雄よりやや遅れて自然死亡するものの、その生残率はきわめて低いものであった。これは、二倍体の雌がわずかに生残し、二倍体の雄が生残しなかった時点においてであった。

上野(1986)は、ティラピア(*O. niloticus*)の三倍体雌雄は、なわばり行動の一部はみせたが、性行動は示さなかったと報告している。北村ら(1991)は、アマゴの三倍体雄が、二倍体の排卵雌に対して、正常な求愛行動を示したとしている。そして、その頻度は二倍体の雄より有意に高かったと報告している。

当初、三倍体は雌雄とも不妊性で、成熟の問題が回避されると考えられていたが、三倍体雄はそうではないか

も知れないと示唆された (Purdom, 1983)。事実、その後の研究で、三倍体雄は不妊性 (異数体精子をもったとしても) であるが、二倍体の雄同様成熟することが明らかにされた。

前述したように三倍体アユの雄は成熟し、生殖行動を示したが、示さなかったとするティラピア (*O. niloticus*) とは異なっている。また、示したとしても、三倍体の方が二倍体より求愛行動の頻度が高かったとするアマゴとも、やや異なっている。これらの生殖行動の有無や程度の差は、魚種による違いではないかと推察される。

三倍体アユが河川に放流された場合、雌は産卵に関与せず、とくに生態的支障はないものと思われる。しかし、雄の方は産卵活動に参加するので、その不妊性が再生産に影響するという可能性も否定できないであろう。

産卵期後の生残性について、検討した報告も余りみられない。しかし、三倍体ニジマス雄には二次性徴が発現し、産卵期後のへい死がみられる (Benfey and Solar, 1986) といった報告はあり、三倍体の雄が二倍体の雄同様自然死亡するのは当然と考えられているようである。

前述したように、アユにおいては、三倍体雄は生残できず、雌のみが高い生残性を示した。これらのことは、河川内においても同様と考えられ、二倍体の雌がいくらか生残できるような河川にあっては、三倍体雌は、産卵期後翌年まで高い生残率で生存すると推定される。

#### 4) 放流に関する留意点

以上のように、三倍体アユは、一面では二倍体と共通した形質をもち、他方では特異的な生態的形質 (特性) を有している。したがって、今後、三倍体を放流用種苗として利用するにあたっては、以下の点に留意すべきであろう。

三倍体は、二倍体に比べて溯上性が弱く、強い水流に流されやすい可能性や、渇水期に酸欠死の危険性もありうることから、放流場所に配慮する必要があると考えられる。また、三倍体は、付着藻類を食んで、なわばりも形成するが、その成長は二倍体より劣り、なわばり性も劣ることから、三倍体だけの放流か、あるいは二倍体が少なくなった時点での利用が、より効果的であろう。しかし、産卵期において、三倍体の雄は二倍体の雄同様の生殖行動を示し、アユの繁殖すなわち再生産に影響を及ぼす可能性がある。したがって、再生産が行われている河川では、三倍体の放流は雌に限るべきであろう。三倍体の雌は、生殖行動を行わず、再生産に影響しない。そのうえなわばり性も雄より強いと考えられる。さらに、成熟しないので、二倍体の雌雄より長く中上流域に留ま

り、また、他魚種との生態的競合も少ないので、結果的に漁期が延長されるという利点もあると推定される。加えて、二倍体の雌がいくらか生残できるような温かい河川では、翌年まで生残でき、漁獲も可能であると考えられる。

三倍体アユを河川放流した場合の安全性に関しては、群馬水試と岐阜水試 (1989~1991) によって、生物学的特性評価 (成長、酸素消費量、なわばり形成能、生存限界水温、成熟、精子形成、産卵行動他) と三倍体の雌の実験放流が行われている。両水試の生物学的特性評価は、本研究の生理的特性や生態的特性の研究結果とほとんど符合しており、矛盾点はみられない。また、実験放流による調査結果は、本研究の生態的特性から想定されたものとよく符合している。そして、両水試とも、三倍体雌は放流種苗として利用が可能であるとしている。換言すれば、本研究の実験成果が、両水試の実験放流によって立証されたといえよう。ただ、両水試の間で、三倍体雄の精子形成について、違いがみられている。群馬水試は、形態的に完成した精子はみられず、受精能がなかったとしている。一方、岐阜水試は、排精個体がみられ、受精能があったとしている。両者の違いは、親魚の由来によるものか、飼育環境によるものか、あるいは、その他の要因によるものか、現状では不明である。なお、本研究の結果は、群馬水試の結果に近い。また、両水試とも、実験放流河川は冬季水温が非常に低い水域であるので、越年魚をみとめておらず、この点の立証は実現しなかった。

## 第6章 三倍体アユ越年魚の特性

前章の産卵期後の生残性で述べたように、不妊性である三倍体アユのうち、雌は生殖腺がほとんど発達せず、成熟しないまま産卵期を過ごして、越年することができるという特異性を有している。この越年三倍体雌の特性を知るために、通常の飼育水温と低水温における越年生残性をはじめ、越年後の成長、生殖腺の状態と性徴、継続飼育による寿命の推定、および外部形態について検討した。なお、これらの特性を知ることは、三倍体アユの今後の利用を図るうえでも、不可欠の課題といえる。

### 第1節 越年生残性

養成池における三倍体アユの越年飼育の可否を知るため、アユの養成適水温すなわち常水温と、冬季に生息下限に達するような低水温での飼育実験を行い、三倍体雌の越年生残性を調べた。

## 1) 材料と方法

## 常水温生残性

11月～翌年2月の間、地下水による常水温飼育を行い、三倍体と二倍体の雌雄の生残率を比較した。

供試魚は、'84年秋に作出し、翌'85年11月まで養成した三倍体と二倍体の雌雄とした。飼育には同型の5t水槽2槽を用い、三倍体と二倍体の供試魚を別々に収容した。用水として地下水を注水し、残餌がでない程度に、1日1～2回の給餌を行った。実験開始時の供試尾数は、三倍体では、雌154尾、雄156尾で、二倍体では、雌101尾、雄156尾であった。供試尾数の違いは、予備飼育時のへい死によるものである。また、三倍体の雌を除き、三倍体の雄および二倍体の雌雄には、すでに二次性徴が発現していた。

実験期間は11月18日～翌年2月20日としたが、期間中の飼育水温は、11月では18.5～19.2℃、12月では18.0～19.5℃、1月では17.2～18.8℃、2月では17.0～18.8℃であった。観察はほぼ毎日行い、へい死魚をそのつど取りあげ計数した。

## 低水温生残性

冬季に水温が低下する養成池での、三倍体雌雄の生残率を比較した。

供試魚は、'85年11月まで養成した三倍体の雌雄のうち40gサイズのものとした。実験開始時の供試尾数は、三倍体の雌が443尾、雄は535尾であった。飼育には80m<sup>2</sup> (48t容)の円形水槽を用い、飼育水温を下げるため、地下水の注水量を極力少なくした。給餌は残餌がでない程度に1日1～2回行った。実験は11月12日～翌年5月31日の間行ったが、観察はほぼ毎日行い、へい死魚はそのつど取りあげた。

## 2) 結果

## 常水温生残性

実験開始時と終了時における、供試魚の大きさと生殖

腺指数 GSI (GW×100/BW) を Table 56 に示した。開始時の GSI をみると、各供試魚とも成熟期の後期に達しており (Fig. 14)、中でも二倍体雌は過熟卵を有するものが多かった (GSI: 27.6～55.8%)。また、実験終了時まで成長したのは三倍体の雌のみで、三倍体の雄や二倍体の雌雄は成長しておらず、生殖腺も退行していた。実験開始時と終了時の、三倍体と二倍体雌雄の飼育尾数と、4者の飼育生残率を Table 57 に示した。また、4者の生残率の変化を Fig. 43 に示した。Table 57 に示したように、二倍体の雌雄がそれぞれ 4.0% と 0.6% と低い生残率を示したのに対して、三倍体の雌は 85.7% という高い生残率であった。しかし、三倍体の雄は 14.1% の生残率にとどまり、魚体は成熟後の衰弱を示していた。また、Fig. 43 に示したように、へい死は二倍体の雌から早く始まり、二倍体の雄がそれにつづいた。三倍体の雄は、二倍体の雄よりも遅れてへい死する傾向がみられた。

Table 57. Initial (Nov 18) and final (Feb 20) number of and survival rate for triploid and diploid females and males.

Groups	Sex	Nov18	Feb20	Survival rate (%)
Triploid	Female	154	132	85.7
	Male	156	22	14.1
Diploid	Female	101	4	4.0
	Male	156	1	0.6

## 低水温生残性

三倍体の雌雄の生残率 (実験中途の1月31日の生残率を含む) を Table 58 に示した。また、旬間別の飼育水温と、三倍体雌雄の生残率の変化を Fig. 44 に示した。飼育水温は、1月上旬と2月下旬に8℃台まで低下したが、降雪のあった早朝など、ごく一時的には6～7℃台まで低下した日もあった。生残率については、Table 58

Table 56. Mean size and gonado-somatic index of triploid and diploid females and males in survival experiment (normal rearing water temperature).

Groups	Sex	Initial (Nov 18)					Final (Feb 20)				
		N <sup>1)</sup>	BL(cm)	BW(g)	CF <sup>2)</sup>	GSI(%) <sup>3)</sup>	N	BL(cm)	BW(g)	CF	GSI(%)
Triploid	Female	10	18.3	86.1	13.7	0.3	10	19.3	98.9	13.6	0.9
	Male	10	16.6	54.9	11.9	4.6	10	16.8	43.1	9.0	2.8
Diploid	Female	10	15.6	62.8	16.1	41.1	4 <sup>4)</sup>	15.9	52.8	13.1	18.3
	Male	10	16.5	53.1	12.0	9.9	1 <sup>4)</sup>	15.6	38.1	10.0	1.5

1) Number of fish

2) Condition factor (BW×1,000/BL<sup>3</sup>)

3) GW×100/BW

4) Survivors

Table 58. Changes of survival rate (SR) of triploid females and males in the survival experiment (low rearing water temperature).

Sex of triploid	Initial (Nov12)	Middle (Jan31)		Final (May31)	
	No of fish	Survivor	SR (%)	Survivor	SR (%)
Female	443	163	36.8	150	33.9
Male	535	1	0.2	0	0

(a note) Bacterial gill disease caused high mortality between Nov 29 and Dec 3

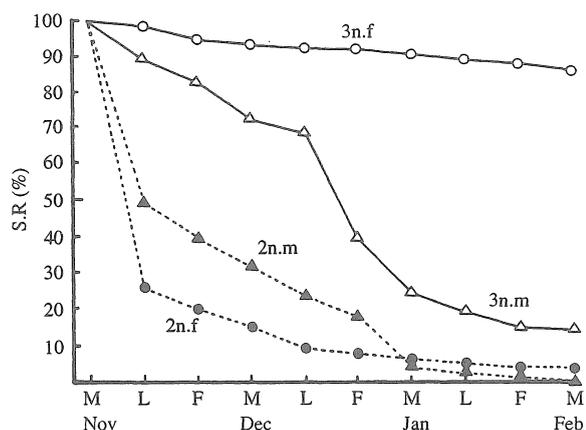


Fig. 43. Changes in survival rate (S.R) in the first, middle and last ten days of each month, between triploid females and males.  
3n.f:triploid female 3n.m:triploid male  
2n.f:diploid female 2n.m:diploid male

とFig. 44に示したように、11月29日～12月3日の間に、細菌性鰓病が発生したため、三倍体の雌に199尾（へい死率：44.9%）、雄に444尾（へい死率：83.0%）のへい死が生じた。抗菌剤の薬浴によって治癒したものの、この魚病のために、12月上旬の生残率が大きく低下する結果となった。飼育実験中途の1月31日における生残率は、雌が36.8%、雄は0.2%となり、なかでも雄は1尾が生残するのみであった。この雄も3月上旬には衰弱してへい死した。したがって、実験終了時における生残魚は雌のみであり、その生残率は33.9%であった。

### 3) 論議

常水温生残性の実験において、二倍体の雌雄に比べて、三倍体の雌は生残率が顕著に高く、越年飼育が可能であることを示した。しかし、三倍体の雄は、二倍体の雌雄より生残率は高いものの、魚体の衰弱からみて、やがてはへい死するものと考えられた。この傾向は、前章の模擬河川における産卵期後の生残性の実験でもみられた。ただ、前実験とは異なり、二倍体雌のへい死は、二倍体と三倍体の雄より遅いものであった。この違いは、飼育水温の差によると考えられた。すなわち、今回の実験が

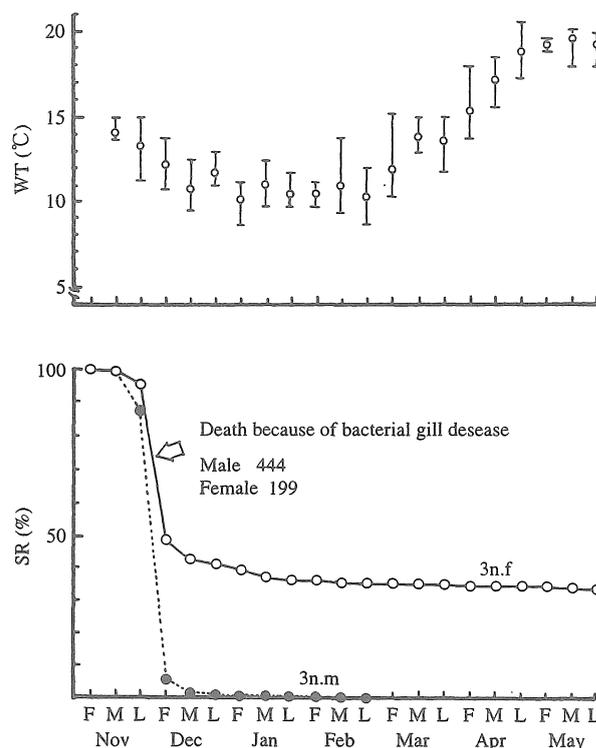


Fig. 44. Changes of water temperature and survival rate (S.R) in the first, middle and last ten days of the month in triploid females and males.  
3n.f:triploid female  
3n.m:triploid male

17.0～19.5℃といった常水温（前実験：22.0～6.9℃）であったため、二倍体の雌が、自然死亡ではなく、過熱のために早くへい死したと推定された。

低水温生残性の実験において、細菌性鰓病によるへい死のため、三倍体の低水温飼育での越年生残性をじゅうぶん明らかにすることはできなかった。しかし、魚病治癒後の生残率の推移にみられたように、三倍体では、やはり雌のみが冬季の低水温に耐え、生残できるものと推察された。仮に、魚病の発生がなかったとしても、産卵期後の生残性の実験でみられたように、雄はへい死し、雌だけが高い生残率を示したものと考えられた。なお、細菌性鰓病の発生要因は、主として、換水不足にとりま

う水温低下と給餌による水質悪化と考えられた。また、本魚病のため、三倍体雄の方が雌より多くへい死したが、成熟せず元気な雌に比べて、成熟して老化が進行した雄は、抗病力が低下していたためではないかと推定された。

このように、常水温および低水温生残性は、三倍体雌のみが高く、通常の飼育水温はもとより、8℃といった冬季水温を経過しても、越年飼育が可能であると考えられた。

## 第2節 成長

産卵期を経過して越年した三倍体雌が、どのような成長を示すかという点について検討するために、継続飼育実験を行った。

### 1) 材料と方法

'84年秋に作出し、翌'85年秋まで養成した三倍体の雌2,000尾を供試魚とし、86年秋まで継続飼育を行った。飼育には80t八角水槽を用い、地下水を注水するとともに、攪水車を稼働させた。給餌は残餌がでない程度に1日2~3回行った。飼育水温は17~23℃の範囲であった。

### 2) 結果

'85年10月16日~翌'86年10月17日の間に、任意にサンプリングした供試魚の魚体測定結果をTable 59に示した。また、全長と体長および体重の変化、すなわち成長をFig. 45に示した。三倍体雌は、個体差が大きくなるものの、越年後も成長し続けた。実験終了時の最大個体は、Table 59に示したように、全長29.9cm、体長25.4cm、体重301.5gであった。

### 3) 論議

今回の実験に用いた水槽は、注水量が1日4~5換水と少なく、アユの飼育環境としては良好とはいえなかった。そのためFig. 45のような成長にとどまったものと考えられた。注水量が1日10換水以上といった良好な飼育条件であれば、さらに良い成長を示したものと推察さ

れた。ちなみに、高知大学の同様な実験では、本実験よりよい成長を示し、最大個体は全長33.3cm、体重412.2gであったと報告されている(畑中ら, 1991)。

越年三倍体雌の個体差が大きくなる点については、第3章の成長で述べたように、三倍体の遺伝的形質の表れと推察され、後述の総合論議で言及する。

ただ、今回の実験では、水鳥による食害や魚病など、事故死による減耗があり、生残率を明らかにすることができなかった。しかし、老衰によると思われるへい死は

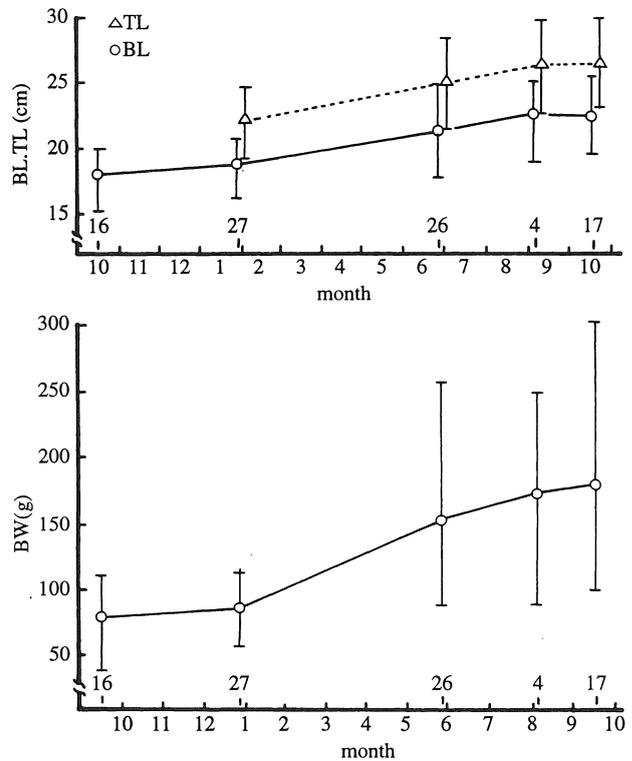


Fig. 45. Growth curves of triploid females in the post-spawning period based on total length (TL), body length (BL) and body weight (BW).

Table 59. Size of triploid females in post-spawning season, range in parenthesis.

	Oct 16, '85	Jan 27, '86	Jun 26	Sep 4	Oct 17
No of fish	25	30	30	27	22
Total length (cm)	—	22.2 (19.2~24.6)	25.0 (21.4~28.3)	26.4 (22.5~29.7)	26.4 (23.0~29.9)
Body length (cm)	18.0 (15.2~20.0)	18.8 (16.2~20.7)	21.3 (17.8~24.8)	22.6 (19.0~25.0)	22.4 (19.6~25.4)
Body weight (g)	78.6 (38.9~110.6)	85.7 (57.0~112.8)	153.0 (88.5~252.7)	172.8 (88.2~249.1)	178.7 (99.9~301.5)
Condition factor*	13.4	15.2	15.6	14.8	15.6

\*BW×1,000/BL<sup>3</sup>

観察されず、三倍体雌の越年後2年目の飼育はじゅうぶん可能であると推定された。

第3節 生殖腺と性徴および推定寿命

越年三倍体雌の生殖腺の状態と性徴の有無を観察するとともに、ひきつづき生後3年目の飼育を行い、寿命の推定を行った。

1) 材料と方法

前述の成長実験魚のなかから、鳥害や魚病によってへい死した個体を随時取りあげ、生殖腺重量を計測するとともに、性徴の有無を調べた。

また、同実験魚の一部を生後約2年6ヶ月まで継続飼育し、供試魚の老衰状況から寿命の推定を行った。

2) 結 果

月毎にまとめた供試魚の生殖腺指数GSI (GW×100/BW)をTable 60に示した。多くの供試魚のGSIは、0.1%以下から0.5%前後のものであったが、なかにはまれに数%から10%に達する個体もみられた。しかし、2度目の産卵期に向かって、卵巣が発達した個体はみられなかった。また、10月にみられたGSIが10.9%の個体をはじめ、数%のGSIを示した個体も、その卵巣は、黄褐色ないしは赤褐色を呈していた (Fig. 46)。

性徴については、産卵期になっても、二次性徴のような兆候はみられず、当歳魚のような外観を呈していた。ただ、GSIが高い個体は、産卵期に関係なく、やや黒ずんだ外観を呈していた (Fig. 46)。

寿命については、2回目の産卵期を過ぎ、2度目の越年をしたものをひきつづき飼育したが、再越年後、春頃から日数が経過するにつれて、なかには摂餌活動が鈍り、痩せる個体が見られ始めた。それらの個体は、腹側にやや湾曲するようになり、体表もザラついた感を呈して、

Table 60. Gonado-somatic index of triploid females until the next spawning season.

Month	No of sample	GSI (%)*	
		Mean	Range
4	9	0.16	0.43~0.08
5	3	0.18	0.31~0.08
6	31	0.78	8.94~0.03
7	70	0.48	4.77~0.06
8	29	0.56	5.31~0.08
9	—	—	—
10	13	1.34	10.90~0.17
11	5	0.69	2.21~0.25

\*GW×100/BW

元気な遊泳ができなくなった (Fig. 47)。飼育は、衰弱個体が見られ始めた6月10日まで行った。ただ、この時点でも、元気な個体も少なくなかった。

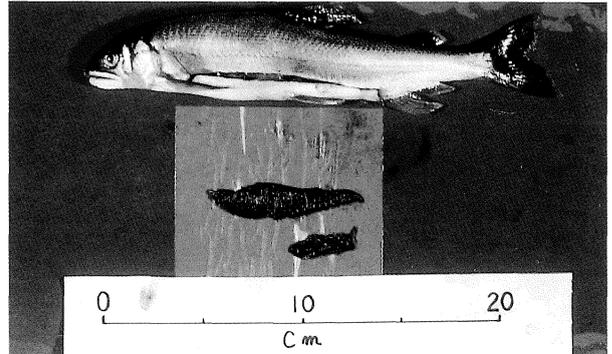


Fig. 46. Triploid female with high gonado-somatic index.

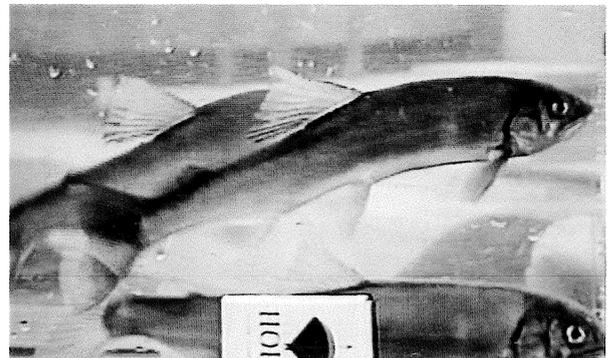


Fig. 47. Triploid female at the age of 2 years 6 month.

3) 論 議

生殖腺について、2度目の産卵期に向かって、卵巣が発達した個体はみられなかったが、長細い個体では、体重が軽く、GSIがやや高くなったと思われた。また、GSIが高い個体は、二倍体雌の未熟卵の色調とは異なる卵巣を有していたが、再発達したものとは思えなかった。このように、越年した三倍体雌の生殖腺は、GSIが相対的にやや高くなるものもあるが、基本的には当歳魚のレベルにとどまったままであると推定された。

性徴については、発現した個体はみられなかった。これは、越年三倍体雌の生殖腺が発達しないことから、性徴をあらゆる性ホルモンなどの要因に欠けるため、当歳魚の外観を保ったままであると推定された。また、GSIが高く、やや黒ずんだ外観を示した個体は、当歳魚の段階で、ある程度発達した卵巣から性ホルモンが分泌され、軽微な性徴を発現し、越年後もその状態が保たれたのではないかと推察された。

寿命については、生後約2年半から見られ始めた衰弱個

体は、老化によるものと推定された。ただ、同時に、まだ元気な個体も少なくないことから、三倍体の雌は、少なくとも生後2年以上生きつづけ、3年に達するものも存在すると考えられた。したがって、三倍体雌の寿命は、個体差があるものの、生後2年以上3年程度、すなわち、二倍体の約2～3倍と推定された。

#### 第4節 外部形態

越年した三倍体雌の外観上の形態には、個体により違いがみられた。また、この形態の違いは、今後の利用に当たっても無視できない問題である。そこで、外観上の形態を類別した。

##### 1) 材料と方法

'86年秋に作出し、翌々年の'88年8月まで養成した三倍体の雌群のうち70尾を供試魚とした。形態の類別は、①通常の外部形態を有するもの、②体高比(体高/体長)が低く、長細いもの、③著しく体高比が低く、痩せているもの、の3態である(Fig. 48)。

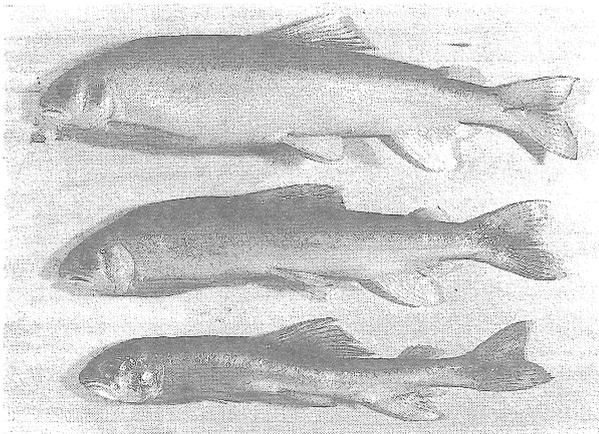


Fig. 48. Three types of one-year-old triploid females.

##### 2) 結果

供試魚70尾中の①②③の類別尾数は、それぞれ53尾、10尾、7尾で、構成比は、75.7%、14.3%、10.0%となった。

##### 3) 論議

越年三倍体雌群のなかで、通常形態魚が75.7%ということは、今後の利用を図るうえで、留意すべき問題点であろう。また、外部形態に、このような個体差がみられたのは、成長や寿命における個体差同様、三倍体の遺伝的形質のひとつの表れではないかと推察された。

#### 第5節 越年魚の特性評価

年魚である二倍体アユは、秋季の生殖後、そのほとんどが自然死亡し、越年することができない。一方、三倍

体アユは、不妊性であるがゆえに、雌雄によって自然死の仕方も違って来る。なかでも三倍体雌は越年後も生存でき、特異的な特性を有している。本研究では、越年魚、すなわち、越年三倍体雌の越年生残性をはじめ、成長、生殖腺、性徴、寿命、および外部形態について検討した。

##### 1) 越年生残性について

三倍体の常水温と低水温生残性を検討したところ、17.0～19.5℃といった常水温飼育においては、翌年2月中旬までに、二倍体の雌雄がわずかな生残率を示したのに対して、三倍体雌は高い生残率を示した。一方、三倍体の雄は、二倍体の雌雄よりもやや高かったものの、その生残率は低いものであった。また、冬季の水温が8℃まで低下した低水温飼育においては、魚病によるへい死がでたため明らかではなかったが、三倍体雌は5月下旬までじゅうぶん生残できた。しかし、雄の方は3月上旬までにへい死してしまった。

このように、常水温および低水温においても、高い越年生残性を示したのは三倍体雌のみであった。なお、二倍体の雌雄はもちろんのこと、三倍体の雄も、その越年生残性は極めて低く、ほどなくへい死するものと考えられた。

アユのように、年魚で一回しか産卵しない魚種についての、生残性に関する報告はみられない。ただ、サケ科魚種においても、産卵期後、三倍体雌は生残するが、雄は、二倍体雄同様成熟するため、へい死する(Benfey and Solar, 1989)とされており、三倍体アユも同様の傾向と推定される。

##### 2) 成長、生殖腺、性徴、および寿命について

三倍体雌には越年後も成長の継続がみられた。しかし、成長するにつれて個体差も大きくなった。また、生殖腺は次の産卵期に向かっても発達せず、基本的には当歳魚のレベルにとどまったままであると推定された。そして、二次性徴のような兆候もみられなかった。さらに、三倍体雌を生後約2年6ヶ月まで飼育したが、老衰によると思われる衰弱個体がみられ始めたことから、その寿命は2年以上3年程度と推定された。

産卵期後の三倍体魚の好成長は、多くの魚種でみられている。例えば、アメリカナマズ(Wolters *et al.*, 1982)、ニジマス(Lincoln and Scott, 1984; Chourrout *et al.*, 1986; Thorgaard *et al.*, 1986; Quillet *et al.*, 1987)、ドジョウ(Suzuki *et al.*, 1985)、ヒラメ(田畑ら, 1989)などがあげられる。そして、これらの好成長は雌の成長に負うところが大きい。三倍体アユにおいても、産卵期後越年して生残し、成長しうるのは雌のみであっ

た。ただ、本研究でみられたような、産卵期後における成長の個体差についての報告例はみられない。

また、三倍体雌がどの程度まで大きくなるかという点についても、他魚種の報告もなく、まだ明らかではない。しかし、アユの越年三倍体雌の最大魚は、自然河川におけるアユの最大記録に近く、飼育条件次第ではさらに大型化する可能性もある(畑中ら, 1991)。したがって、推定の域をでないが、本研究の越年魚の成長や寿命の点を合わせ考えると、三倍体雌は二倍体の1.5~2倍程度の大きさになるのではないかと考えられる。

三倍体雌の生殖腺について、産卵期後発達したという報告はみられない。むしろ、ニジマスでは、組織的には退行している現象が報告されている(中村ら, 1987)。したがって、越年三倍体アユの雌の生殖腺は発達せず、GSIは当歳魚のレベルのままである可能性が高い。

性徴については、生殖腺や肝臓に関連するホルモンが関与する(Benfey *et al.*, 1989)ことから、生殖腺が発達しない越年三倍体アユの雌では、発現しなかったものと推定される。

三倍体雌の寿命についての報告も見あたらない。したがって、推定にとどまるが、三倍体アユの雌の寿命は二倍体の2~3倍程度と考えられる。

### 3) 外部形態について

越年した三倍体雌はおおむね三つの外部形態を示した。すなわち、通常の外部形態、長細い形態、および著しく長細く痩せた形態の3態である。通常の形態のものは別としても、長細いものは食用魚としての利用にやや難があり、著しく痩せたものは、利用できないであろう。

産卵期後の三倍体魚の外部形態に関する報告も見あたらないので、越年三倍体アユの雌にかぎって言えば、この外部形態の違いは、成長や寿命の個体差同様、三倍体の遺伝的な個体差ではないかと考えられる。すなわち、3セットのゲノムをもつ三倍体の遺伝的形質の表れと推定される。この遺伝的形質については、後述の総合論議で言及する。

## 第7章 三倍体アユの応用に関する試験

三倍体アユを産業的に利用できるようにするためには、これまで述べてきたような、種々の特性に関する小規模な実験による生物学的特性の解明だけでなく、実用規模での量産や養成、さらには食味についても検討しておく必要がある。そこで、低水温ショック法による大量作出

試験をはじめ、種苗大量生産試験と池中養成試験、および食味試験を実施した。

### 第1節 低水温ショック法による大量作出試験

第2章で述べたように、三倍体アユを作出するためには、低水温ショック法をはじめ、高水温ショック法、高水圧ショック法などがある。中でも低水温ショック法は、特別な器具を必要とせず、野外でも行えるきわめて簡便な方法である。そこで、本法による大量作出処理を試みた。

#### 1) 材料と方法

'86年10月に、福岡県矢部川の天然アユの産卵場において、夜間、天然親魚数10尾を採捕し、Fig. 49に示した方法で大量低水温処理を行った。卵は雌親魚から直接搾出し、精液は注射器(無針5ml)で採取した。その後、両者を鳥の羽でよく混合し、化繊の採卵ネット(20×30cm)1枚当たりに1.7~2.2万粒を直接塗り付けた。採卵ネットが10枚程度になったところで、それらを、水槽内の河川水に一度に沈め、受精をさせた。その後、5分間河川水中に保ち、ついで、0~0.5℃の氷水に採卵ネットを移し、30分間置いた後、通常の河川水に戻した。この作業を数回繰り返す、処理済みの受精卵が付着した採卵ネットを、湿ったタオルでくるんで持ち帰り、孵化槽に収容した。採卵および処理作業は10月17日と26日の両日行ったが、作業時の河川水温は、それぞれ18.7℃と16.6℃であった。三倍体化処理を行った卵と通常受精を行った対照卵については、発眼率や発眼胚中の奇形胚率および孵化率を求めた。また、三倍体化の成功率は、種苗化した稚魚100尾から採血し、赤血球の大きさをみることによって算出した。

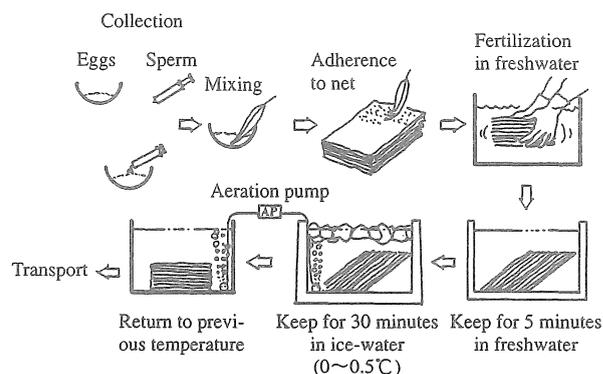


Fig. 49. Method for massive induction of triploidy using cold-shock.

#### 2) 結果

大量作出処理における、採卵数、採卵数に対する発眼胚生残率、発眼胚中の奇形発眼胚率、孵化仔魚数、採卵

Table 61. Experimental results of a massive cold shock application for triploidy induction.

Groups	Number of collected eggs	Survival rate in eyed embryo stage	Rate of abnormal eyed embryo	Number of hatching larva	Hatching rate	Success rate*
Triploid	160,000	40	—	24,000	15	100
Triploid	400,000	40~50	8.6	133,000	33	100
Diploid	10,000	80	1.7	7,000	70	—

\*By erythrocytes size measurement

数に対する孵化率、および三倍体化成功率をTable 61にまとめて示した。

10月17日の三倍体化のための採卵数は16万粒で、10月26日の採卵数は40万粒であった。採卵数に対する発眼胚の生残率は、それぞれ40%と40~50%とほぼ同様であった。

発眼胚中の奇形発眼胚率は、17日の卵については観察しなかったが、26日の卵では8.6%を示した。また、採卵数に対する孵化率は15%と33%で、17日の卵の方が26日の卵よりも低い値を示した。

三倍体化の成功率については、両日の孵化仔魚を混合して飼育したため個別のものではないが、供試魚100尾のすべてが三倍体となっており、両日とも成功率は100%とみなされた。

対照の二倍体は、10月26日の卵の一部である1万粒を用いて、通常受精によって作出した。その発眼胚生残率は80%、奇形発眼胚率は1.7%、孵化率は70%であった。

### 3) 論議

対照の二倍体の成績と比較して、三倍体の発眼胚の生残率はほぼ半数を示し、奇形発眼胚率は約5倍を示した。また、孵化率では、二倍体のほぼ半数ないしそれ以下であった。これらの三倍体の成績は、低水温ショックによるものと考えられるが、17日の卵の孵化率が、これまでの成績(22.6~58.7%)より、低い結果を示した。これは、奇形発眼胚率(確認しなかった)が、26日の卵より高かったためではないかと推察された。

このように、大量低水温処理したところ、三倍体の孵化までの成績は、二倍体のそれよりも低いものとなった。しかし、アユは雌1尾当たりの孕卵数が数万粒と多い魚種であるので、簡便な大量低水温処理によって、数10万尾単位の孵化仔魚の量産がじゅうぶん可能であると考えられた。

### 第2節 種苗大量生産試験

前述の大量低水温処理によって作出した三倍体の孵化仔魚について、体重約1gまでの種苗生産試験を行った。

#### 1) 材料と方法

三倍体の孵化仔魚157,000尾を、福岡県栽培漁業公社

のアユ種苗生産用の20t水槽(L×B×D=3×8×1m)1面に収容し、同公社の飼育方法によって養成を行った。飼育用水には、12月上旬までは濾過海水を用い、以後は海水をそのまま用いた。換水はごく少量の注水から始め、最大換水時では1日24回転であった。孵化後の各日令における飼育水温と、餌料として用いたワムシ、アルテミア、および配合飼料の給餌量をTable 62にまとめて示した。このうち飼育水温については、加温を行っていないので、自然海水温による変化がみられた。

飼育成績については、経日的に30尾のサンプリングを行うとともに、最終時(150日目)に生残尾数を計数した。また、10月13日に作出した三倍体と二倍体を1tパンライト水槽で養成し、飼育成績の対照とした。

#### 2) 結果

20t水槽を用いた大量生産試験区の三倍体と、1t水槽を用いた小規模な生産試験区の三倍体と二倍体について

Table 62. Water temperature and types of food given to the triploid larvae and juveniles.

Age (days)	Range of W.T (°C)	No of <i>Brachionus</i> (million)	No of <i>Artemia</i> (million)	Artificial food (g)
0~10	17.5~18.3	900		
~20	16.7~18.4	1,000	65	230
~30	15.4~16.8	700	315	1,420
~40	15.0~16.7		300	3,360
~50	14.6~16.0		284	4,800
~60	14.1~14.7		58	8,400
~70	12.9~13.7			11,400
~80	12.7~13.4			18,000
~90	11.8~13.4			22,200
~100	12.4~13.5			23,600
~110	11.8~13.2			24,000
~120	12.2~13.3			23,700
~130	12.5~13.4			18,000
~140	12.3~13.3			25,000
~150	12.5~13.9			22,500
Total		2,600	1,022	206,610

て、孵化後から種苗サイズに至るまでの全長変化（成長）をFig. 50に示した。大量生産区の三倍体の成長は、小規模生産区の二倍体にやや劣るものの、同区の三倍体とほとんど変わらない成長を示した。また、試験終了時（種苗サイズ）における生残率をTable 63に示した。大量生産区は59.2%の生残率を示し、小規模生産区の三倍体の21.0%より二倍以上高く、同区の二倍体の58.7%よりもむしろ高い値であった。

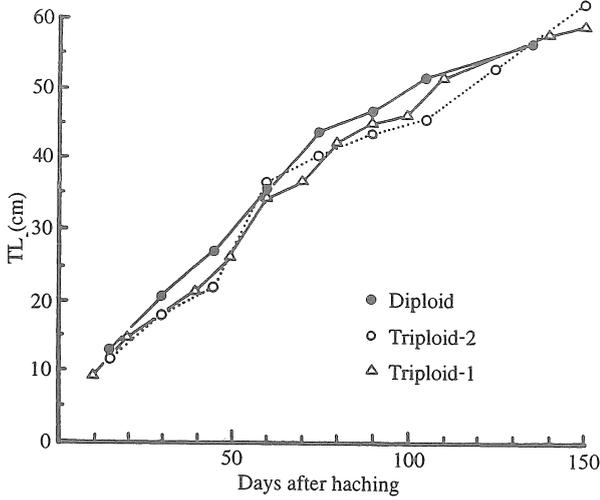


Fig. 50. Comparison of total length growth curves between triploid-1 (Δ) in mass seed production, triploid-2 (○) and diploid (●) in small scale seed production.

Table 63. Comparison of survival rate between triploid-1 (mass seed production), triploid-2 and diploid (small scale seed production).

Groups	No of larvae	No of juveniles	Survival rate (%)
Triploid-1*	157,000	93,000	59.2
Triploid-2**	16,300	3,427	21.0
Diploid**	16,640	9,770	58.7

\*Bred in 20 t tank    \*\* Bred in 1 t tank

### 3) 論 議

大量生産区の三倍体の成長は、小規模生産区の三倍体とほぼ同様で、二倍体よりやや劣ることから、第3章の生理的特性（仔稚魚期の成長Fig. 5）でみられた傾向と同じく、同一条件で二倍体と比較飼育したとしても、二倍体よりやや劣るものと推定された。

また、大量生産区と小規模生産区が生残率の差は、飼育密度や水槽の大きさなど飼育条件の違いによるものと

考えられた。それにしても、59.2%という飼育生残率は、通常の種苗生産方式で、三倍体の大量生産がじゅうぶん可能であることを示している。

ちなみに、大量生産区の三倍体種苗の大きさは、全長  $58.0 \pm 4.36\text{mm}$  (Range : 48~64mm) であった。また、30尾の総重量から算出した平均体重は0.82g であった。前述したように、同区の三倍体は採卵日が2日（10月17日、26日）にわたっており、孵化日にずれがあったので、後日の孵化から日令を計算している。このため終了時の種苗の大きさに、全長で16mmの個体差が生じたものと推察された。したがって、採卵あるいは孵化が同日であれば、遺伝的形質が表れたとしても、種苗の個体差はより小さくなったものと考えられた。

### 第3節 池中養成試験

前述の種苗大量生産試験で生産された三倍体種苗を淡水馴致し、そのうち10,000尾を成魚まで養成して、成長、成熟、およびへい死状況を観察した。

#### 1) 材料と方法

'87年4月6日に、福岡県栽培漁業公社から同県内水面水産試験場へ93,000尾の三倍体種苗を搬入し、ただちに淡水馴致を行った。以後そのまま飼育を続け、4月18日に、大小ほぼ半数ずつの群に選別した。このうち大サイズの群から10,000尾をとり、供試魚とした。

試験は、予備飼育の後、5月26日から10月6日まで行ったが、その間、経日的に30~60尾のサンプリングを行い、全長、体長、体重を測定した。また、成熟期にかかる9月と10月では、生殖腺重量もあわせて測定した。試験期間中のへい死魚は、そのつと採取して計数した。

#### 2) 結 果

試験期間中の飼育水温をTable 64に示した。全期間を通して、飼育水温は19.0~22.4℃で、アユの飼育適水温であった。

Table 64. Water temperature in the practical breeding test of triploid fish from juvenile to adult.

Date	Days of breeding	W.T(°C) at 9:00 a.m.	
		Mean	Range
May26~Jul 6	1~ 42	20.0	19.0~21.5
Jul 6 ~Aug12	43~ 79	21.4	20.8~22.4
Aug13~Sep16	80~113	21.1	20.5~22.0
Sep16~Oct 6	114~134	19.5	18.5~20.5

サンプリング毎の魚体の大きさと、9月16日と10月6日における雌雄の生殖腺指数GSIをTable 65に示した。

Table 65. Size, Condition factor and gonado-somatic index (mean±SD) of the triploid samples.

Date	May26	Jul 6	Aug12	Sep16	Oct 6		
Days of breeding	1	42	79	113	134		
No of sample	50	31	30	15m <sup>1)</sup>	15f <sup>2)</sup>	30m <sup>1)</sup>	30f <sup>2)</sup>
Total length (cm)	6.9±0.44	9.2±0.46	11.5±0.77	16.2±0.96	16.0±1.55	16.2±1.54	16.4±1.52
Body length (cm)	8.3±0.52	10.9±0.53	13.5±0.88	18.8±1.16	18.6±1.74	19.0±1.62	19.2±1.68
Body weight (g)	4.3±0.92	11.0±1.63	22.5±4.71	65.2±10.62	63.8±20.88	74.0±22.69	71.8±18.54
Condition factor <sup>3)</sup>	12.8±1.23	14.2±0.88	14.7±1.20	15.3±1.70	15.0±1.48	16.8±1.38	16.0±1.78
GSI (%) <sup>4)</sup>	—	—	—	3.7±0.66	0.3±0.35	6.4±0.98	0.9±1.41

1) Male 2) Female 3)  $BW \times 1,000 / BL^3$  4)  $GW \times 100 / BW$

やはり、雄では精巣の発達がみられ、二次性徴も発現したが、雌では、10月のGSIで0.08~5.51%と個体差があるものの、卵巣の多くは未発達で、二次性徴も発現しなかった。

体重と体長の変化からみた成長をFig. 51とFig. 52に示したが、最大最小の範囲にみられるように、経日的に個体差が大きくなる結果を示した。

試験期間中のへい死尾数とへい死率をTable 66に示した。へい死の原因は、主として魚病によるもので、細菌性鰓病やギロダクチルス症に起因するものが多かった。全体としては1,034尾がへい死し、へい死率は10.3%を示した。

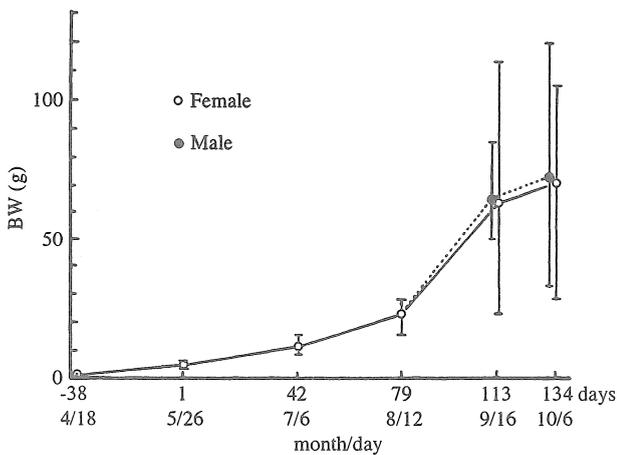


Fig. 51. Body weight growth curve of triploid fish in practical breeding test from juvenile to adult. plots are mean, maximum and minimum.

### 3) 論議

GSIと二次性徴については、前述の生理的特性（成熟および二次性徴）と同様の結果であったが、成長では、同特性（成長期および成熟期の成長）より劣る結果となった。これは、主として注水量不足のためと推察された。

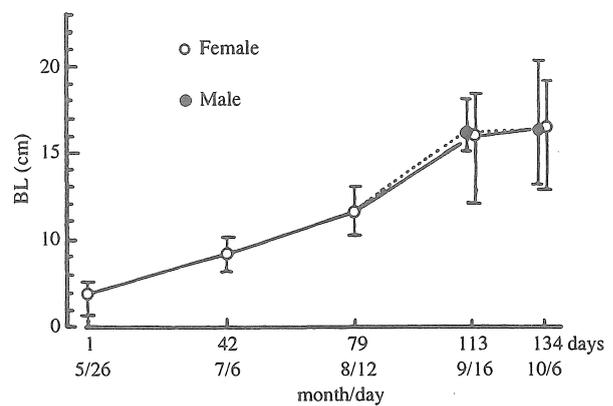


Fig. 52. Body length growth curve of triploid fish in practical breeding test from juvenile to adult. plots are mean, maximum and minimum.

Table 66. Number of dead fish and mortality in the practical breeding test of triploid fish from juvenile to adult.

Period of breeding	Dead fish		
	Number	Number per day	Mortality(%)
May26~Jul6	410	9.8	4.1
Jul7~Aug12	146	3.9	1.5
Aug13~Sep16	221	6.5	2.3
Sep17~Oct6	257	12.2	2.8
Total	1,034		10.3

また、個体差が大きくなった点については、飼育中に選別をしなかったことにもよるが、遺伝的形質として、三倍体の個体差が二倍体より大きい（第3章；成長、個体変異）ことと関連していると考えられた。

へい死率については、二倍体の一般的飼育に比べて、とくに低いとは思われなかった。

このように、三倍体の稚魚から成魚までの池中養成は、成長のバラツキなど基本的な改良点もあるが、二倍体同

様の飼育方法で可能であると推察された。

第4節 食味試験

三倍体アユの利用を図るうえで、味覚の良否も不可欠の問題である。そこで、二倍体アユを対照として、三倍体の当歳魚と越年魚（雌）の食味試験（官能検査：島田ら、1985）を行った。

1) 材料と方法

当歳魚の食味試験

'85年秋に作出し、翌'86年9月まで養成した三倍体と二倍体の雌雄（70～80gサイズ）を供試魚とした。調理方法は「塩焼」で、三倍体と二倍体の雌雄一対ずつ計4尾を1検体とした。被検者は、試験場員他6名（男性4名、女性2名）で、アユの味覚を熟知している人々である。

検体は、混合飼育水槽で3日間の餌止めをした後、試験当日（9月13日）の朝取りあげ、ただちに塩水を用いて氷じめを行った。その後、死後硬直したものを塩焼して、被検者に1検体ずつ供した。

評価は、三倍体と二倍体それぞれについて、味、香り、肉のしまり、脂ののりに関して、0～3点の4点評価で、検査表に記入してもらった。

越年魚の食味試験

'86年秋に作出し、翌々年の'88年9月まで養成した三倍体雌の越年魚と、'87年秋に作出し、翌'88年9月まで養成した二倍体の当歳魚、および、河川に放流され、試験前日に採捕された人工種苗由来の河川アユ、以上の三者を供試魚とした。調理方法は、「塩焼」、「塩焼の身肉のみ」、「あらい（刺身：氷じめ）」で、河川アユは「塩焼」のみの対照魚とした。被検者は試験場員他11名（男性6名、女性5名）で、いずれもアユを好む人々である。

試験方法は次のとおりとした。

①評価法 …… 味、香り、肉のしまり、脂ののりについて5点評価

良い……………5点	やや悪い……………2点
やや良い……………4点	悪い……………1点
普通……………3点	

②検査日……'88年9月19日

③調理前処理

3日間餌止め→取りあげ→塩水氷じめ→硬直→調理

④調理法、使用尾数、平均体重

i) 塩焼

三倍体越年魚	12尾	120g
二倍体当歳魚	12尾	120g
河川アユ	11尾	70g

ii) 塩焼の身肉のみ

三倍体越年魚	3尾	120g
二倍体当歳魚	5尾	120g

iii) あらい（刺身：氷じめ）

三倍体越年魚	3尾	200g
二倍体当歳魚	4尾	150g

2) 結果

当歳魚の食味試験

試験結果をTable 67にまとめて示した。雌雄については、評価差がなかったため、とくに別けて集計しなかった。まず、味については、三倍体で、美味とした人が3人で評価点9点、普通とした人が3人で6点、まずいとした人や判らないとした人はいなかった。一方、二倍体では、美味とした人が2人で6点、普通とした人が4人で8点、まずい、判らないとした人はいなかった。したがって、味についての点数は、三倍体が計15点で、二倍体は計14点で、三倍体の方が1点多かった。

香りについては、三倍体では、良いとした人がなく、普通、悪い、判らないとした人がそれぞれ2人ずつで、計6点であったが、二倍体では、良いとした人が1人で、普通とした人も1人、悪い、判らないとした人がそれぞれ2人で、計7点となり、三倍体の方が1点少なかった。

肉のしまりについては、三倍体では、良いとした人が2人、普通とした人が3人、悪いとした人が1人で、計13点。二倍体では、良いとした人が3人、普通とした人が3人で計15点となり、三倍体の方が2点少なかった。

脂ののりについては、三倍体では、良いとした人が1人、普通とした人が4人、悪いとした人が1人で、計12点。二倍体では、良いとした人が1人、普通とした人が3人、悪いとした人が2人で、計11点となり、三倍体の方が1点多かった。

以上のように、三倍体は二倍体に比べて、味については+1点、香りについては-1点、肉のしまりについては-2点、脂ののりについては+1点という結果となった。また、総合点数では、三倍体は46点で、二倍体は47点となり、三倍体の方が1点少なかった。

越年魚の食味試験

三倍体越年魚と二倍体当歳魚および河川アユの味、香り、肉のしまり、脂ののりについての評価の結果と、各材料のアユについて、最も好ましいとした被検者数をTable 68にまとめて示した。

「塩焼」では、味、香り、肉のしまり、脂ののり、いずれの調理法においても、三倍体越年魚は二倍体当歳魚よりも、評価点数は少ない結果であった。また、両者と

Table 67. Results of the flavor test (Shioyaki) made by 6 testers between triploid and diploid adult fish.

Test item	Appreciation	(point)	Triploid		Diploid	
			No of tester	(score)	No of tester	(score)
Taste	Delicious	( 3 )	3	( 9 )	2	( 6 )
	Common	( 2 )	3	( 6 )	4	( 8 )
	Undelicious	( 1 )				
	Unkown	( 0 )				
Fragrance	Good	( 3 )			1	( 3 )
	Common	( 2 )	2	( 4 )	1	( 2 )
	Bad	( 1 )	2	( 2 )	2	( 2 )
	Unkown	( 0 )	2	( 0 )	2	( 0 )
Toughness of fish	Good	( 3 )	2	( 6 )	3	( 9 )
	Common	( 2 )	3	( 6 )	3	( 6 )
	Bad	( 1 )	1	( 1 )		
	Unkown	( 0 )				
Feeling of grease	Good	( 3 )	1	( 3 )	1	( 3 )
	Common	( 2 )	4	( 8 )	3	( 6 )
	Bad	( 1 )	1	( 1 )	2	( 2 )
	Unkown	( 0 )				
Total score				( 46 )		( 47 )

Table 68. Result (appreciative points) of the flavor tests made by 11 testers between one-year-old triploid female, diploid adult and riverine adult fish.

Test item	Shioyaki			Fish of Shioyaki		Arai (Sashimi)	
	Triploid	Diploid	River ayu	Triploid	Diploid	Triploid	Diploid
Taste	35	43	45	38	43	49	43
Fragrance	29	33	38	27	32	30	29
Toughness of fish	37	46	49	39	44	47	39
Feeling of grease	34	38	34	39	35	38	39
Total score	135	160	166	143	154	164	150
No of testers who preferred it	0	2*	8*	1	10	7	4

\*Equally appreciated by same tester (ties), not included

も、河川アユよりも評価点数は少ない傾向であったが、脂ののりだけは、二倍体当歳魚の点数が多く、三倍体越年魚と河川アユは同点であった。総合点数をみると、河川アユが166点と最も多く、次いで二倍体当歳魚が160点で、三倍体越年魚は135点と最も少なかった。さらに、被検者から最も好ましいとされたのは、やはり、河川アユ(8人)、二倍体当歳魚(2人)の順で、三倍体越年魚を好ましいとした人はいなかった。中には1人だけ、河川アユと二倍体当歳魚を同等とした被検者もあった。このように、「塩焼」では、放流人工産とはいえ河川アユの評価が最も高かったが、養成アユである三倍体越年

魚と二倍体当歳魚との間でも、かなりの差がみられ、三倍体越年魚は好まれない結果となった。

「塩焼の身肉のみ」の場合でも、三倍体越年魚は、味、香り、肉のしまりについては、いずれも二倍体当歳魚よりも評価点数は少なかった。ただ、脂ののりについては点数が多かった。この脂ののりの結果は、「塩焼」の場合と逆となった。また、好ましいとした被検者の数も、三倍体越年魚は1人のみで、二倍体当歳魚の10人に較べて、圧倒的に少なかった。

しかし、「あらい」の場合は、前2者の調理法とはかなり異なる結果となった。三倍体越年魚は、味、香り、

肉のしまりについては、いずれも二倍体当歳魚よりも評価点数が多く、脂ののりについてだけ1点少なかった。好ましいとした被検者の数も、二倍体当歳魚の4人より3人多い7人であった。

### 3) 論 議

当歳魚の食味試験結果から、三倍体の当歳魚の食味は、味や脂ののりは二倍体に劣らず、香りや肉のしまりやや劣るものの、全体としては、二倍体とあまり変わらないと評価された。

もっとも、本試験の実施が9月中旬であり、成熟期にかかる時期であるので、成熟にともなう体成分の変化も考慮する必要があるが、食用魚としての三倍体当歳魚の評価に、とくに影響はないものと考えられた。

越年魚の食味試験結果から、三倍体越年魚は、「塩焼」では不評であるが、「あらい」では好まれると評価され、今後の利用方法を示唆した。

ただ、本試験では、当歳魚の食味試験とは異なり、供試魚の養成池や養成期間に、当然ながら違いがある。アユの体成分は飼育方法によって差異が生じることがよく知られており、三倍体越年魚を利用する場合も、この点に留意する必要があると考えられた。

また、本試験では、三倍体越年魚は「あらい」にすれば好まれるという結果であったが、その調理上での利点も有している。すなわち、雌である三倍体越年魚は卵巣が発達しないため、とくに成熟期の二倍体の雌雄に比べて、体容積の中で腹腔部の占める割合が少ない。ちなみに、大型の河川アユの雌雄と三倍体越年魚の断面をみるとFig. 53に示したような差が生じる。端的に言えば、三倍体越年魚は、いわゆる腹身の部分が厚いだけでなく、全体の可食部が多くなり、刺身には好適な材料と考えられた。

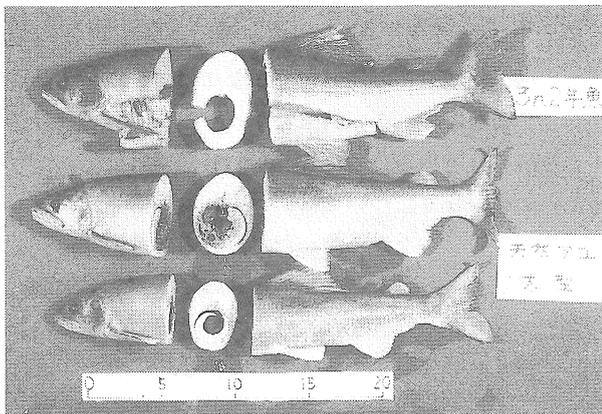


Fig. 53. Cross section of one-years-old triploid female (upper) and large wild ayu (lower two: female and male)

### 第5節 応用に関する評価

三倍体アユの特性を産業に応用する観点から、以下の4項目についての検討を行った。すなわち、種苗量産のための低水温ショック法による大量作出、種苗の大量生産、実用規模の飼育池での養成、および食味についてである。

#### 1) 低水温ショック法による大量作出について

三倍体アユを作出する方法には、低水温ショック法の他に、高水温や高水圧ショック法がある。なかでも低水温ショック法は、特別な器具を必要とせず、野外でも行える簡便な方法である。本研究では、実際に川原において、天然親魚から採卵採精し、本法によって大量作出を試みた。その結果、孵化率15%および33%で、合計157,000尾の孵化仔魚を得た。そして、三倍体化の成功率は100%であった。このように、孵化率は無処理のもの70%に較べて、その半数以下と低かったが、種苗を量産するために必要な孵化仔魚数の確保はじゅうぶん可能であった。

アユは雌1尾が数万粒の卵を孕卵する魚種である。したがって、低水温処理によって孵化率が多少低くとも、数10万尾の三倍体仔魚を得るのに、とくに支障はないものと考えられる。

三倍体の産業規模での量産については、他の魚種でも試みられている。

Forsterら(1986)は、三倍体ニジマスの現場向き作出法について、受精25分後の卵を26℃で高水温処理したところ、卵のへい死率は22.5%で、三倍体化の成功率は93%であったとしている。また、受精40分後の卵を27.0~28.3℃で処理したところ、卵のへい死率はわずか7%で、三倍体化成功率は87.5%であったと報告している。Benfeyら(1988)は、サケマス三倍体の量産のための加圧装置について、シロザケの卵を用いて、実験室規模(40mlセル)と産業規模装置(1lセル)の実験を行っている。その結果、産業規模装置の三倍体生産(孵化)は、実験室規模装置の70%であったと報告している。サケマス類の三倍体量産のためには、今日では高水温ショック法(Thorgaard, 1981他; Appendix Table 1)がもっぱら用いられている。しかしながら、アユにおいては、高水温処理よりも低水温処理の方が、処理時間は30分間と、高水温処理の6分間に比べて長くなるが、より簡便で現場向きであり、一般普及できる方法と考えられる。

#### 2) 種苗の大量生産について

大量処理によって得られた157,000尾の三倍体孵化仔魚を、20t水槽を用いて、通常の種苗生産方法で養成し

た。その結果、三倍体の成長は小規模生産の二倍体よりやや劣ったものの、種苗サイズ (TL: 58mm, BW: 0.82 g) までの飼育生残率は59.2%で、二倍体の生残率58.7%よりも高いものであった。したがって、三倍体種苗の大量生産は、既存の生産方式でじゅうぶん可能であると考えられた。ただ、三倍体は個体差が生じるので、生産途中で、既存の方法で選別を行うか、あるいは、個体差が生じないような改良親魚 (例えばクローン魚) を用いる必要があると考えられる。

### 3) 池中養成について

三倍体稚魚10,000尾を80 t水槽で成魚まで養成した。注水量が少なく、飼育条件としては好適といえなかった。成長そのものはよくなかったが、へい死亡率はとくに高くはなかった。また、産卵期にかかると、雄では精巢が発達し始め、二次性徴も発現した。しかし、雌では卵巣は未発達で、二次性徴も発現しなかった。ただ、選別をしなかったことにもよるが、三倍体の特性として、日がたつにつれて個体差が大きくなった。選別、分養をすれば、個体差も小さくなると思われるが、基本的には、個体差が生じないような改良親魚を用いる必要があると考えられる。いずれにしても、三倍体の池中養成は、既存の方法でじゅうぶん可能であると推察される。

### 4) 食味について

食味については、三倍体当歳魚と二倍体当歳魚、および三倍体越年雌と二倍体当歳魚の間で比較した。その結果、三倍体当歳魚の「塩焼」での食味は、味や脂ののりは二倍体に劣らず、香りや肉のしまりではやや劣った。しかし、全体としての評価は、あまり変わらないものであった。一方、三倍体越年魚雌は、「塩焼」では二倍体当歳魚より不評であったが、「あらい (刺身)」では好まれるという結果であった。

これらの結果から、三倍体当歳魚は、食品として二倍体と同等に扱うことができると考えられる。なかでも、精巢が発達し、二次性徴が発現する三倍体雄は、事前の選別という労力を要するが、二倍体と同様の利用が可能であろう。他方、三倍体雌は、生殖腺が発達せず夏アユの外観を保ったままであるので、成熟抑制といった労を要せず、成熟期においても、成魚としての通常利用が可能である。また、越年した三倍体雌は、アユの端境期でも利用できるし、大型化したものは、アフリカナマズ同様可食部が大きく (Henken *et al.*, 1987), 「あらい」という新たな利用方法がありそうである。

## 第8章 総合論議

本研究は、人為三倍体アユの生物学的特性の解明と応用に関する研究を主題とした。

まず、供試魚を確保するために、三倍体アユの作出法を確立するとともに、生物学的特性を解明するために、二倍体アユを対照として、生理、形態および生態の見地から、様々な特性の検討を行った。また、今後の産業的利用の見地から、産業規模での応用試験もあわせて行った。

第二極体放出阻止による三倍体魚の作出法として、様々な魚種において、物理的な処理法をはじめ薬物による処理法など、多くの手法が用いられている。

アユに関しては、低水温ショック法、高水温ショック法および高水圧ショック法といった、物理的処理法が用いられてきた。

本研究では、低水温ショック法について検討した。その結果、受精5分後、0~0.5℃で、30分間処理を行えば、90~100%の成功率で、三倍体化できることが明らかとなった。また、孵化率も、通常受精の場合の1/3~1/2程度が期待できることもわかった。この低水温ショック法は氷水を用いれば可能という、きわめて簡便な方法である。したがって、費用がかからず、技術普及という面でも優れた方法といえよう。

ただ、三倍体化の確認のためには一定の技術が必要である。本研究では、染色体を計数する方法と、赤血球の大きさを二倍体のそれと比較する方法を用いた。正確性という点では前者が、簡便さという点では後者が優れている。他にアイソザイム像による方法 (Taniguchi *et al.*, 1987) も用いられているが、本研究では、時間的制約から用いることができなかった。

低水温ショック法による三倍体アユの作出に際して、留意すべき点の一つがある。それは使用する卵の卵質という点である。本研究では、確たる論拠を得ていないが、数多くの失敗と成功例から、排卵後できるだけ速やかに、その卵を搾出して使用すれば、成功しやすいという実感を得ている。この低水温ショックに耐え得る卵質という問題は、親魚養成の方法を含めて、今後さらに検討する必要があるだろう。

### 第1節 三倍体アユの生物学的特性について

作出した三倍体アユの当歳魚 (孵化~成熟期) の生理、形態、生態的特性、および実用面での特性 (食味) を Table 69にまとめて示した。また、越年魚の特性についても同様に Table 70に示した。

三倍体アユの染色体数は、二倍体が56であるので、84

Table 69. Characteristics of newly spawned triploid (3N) ayu in comparison with diploid (2N).

Item	Characteristic
No of chromosome	3N:84 2N:56
Type of sexual chromosomes	Female:XXX Male:XXY (Sexual ratio:1)
Treated eggs	(Cold-shock)
Hatching rate	1/3 ~ 1/2 of non treated
Success rate	90 ~ 100%
Breeding of larvae	(Hatch out ~ Juvenile BW = 1 g)
Growth	Slightly inferior
Survival rate	Slightly inferior
Breeding of juvenile	(Juvenile ~ Adult)
Coefficient of variation in size	Larger than 2N in BL and BW
Growth	No difference (Separate rearing) Slightly inferior (Communal rearing)
Survival rate	No difference
Food conversion efficiency	Slightly lower (Identical feeding level)
Daily growth rate	Slightly lower (            /            )
Maturity season	(Autumn)
Growth	Only 3N female grows Growth of 3N male stops similarly to 2N
Secondary sexual characteristics	Only 3N female does't show 3N male develops similarly to 2N
Gonado-somatic index	Mean of 3N female below 0.5% (f2N:27%) Mean of 3N male is about 6% (m2N:12%)
Oogenesis	Not any normal eggs (Sterility)
Spermatogenesis	Not any normal spermatozoa (Sterility)
Hematological characteristics	(Adult)
Erythrocyte	
Cell major axis	About 1.2 times larger than 2N
Nucleus major axis	About 1.3 times larger than 2N
No of cells (RBC)	About 27% fewer than 2N
Hemoglobin content (Hb)	No difference
Hematocrit (Ht)	No difference
MCHC	No difference
MCV	About 1.4 times higher than 2N
MCH	About 1.3 times higher than 2N
Oxygen consumption	(Juvenile ~ Adult)
Individual	No difference
Population	No difference
Death for lack of oxygen	Early death (Communal rearing)
Resistance to disease	(Before adult)
Susceptibility to <i>Vibrio anguillarum</i>	No difference (High early mortality)
Effect of vibriosis vaccination	No difference (Slightly lower RPS)
Susceptibility to <i>Gyrodactylus japonicus</i>	No difference
Susceptibility to <i>Metagonimus yokogawai</i>	No difference
Resistance to water temperature	(Before adult)
To low temperature	Inferior (High early mortality)
To high temperature	Inferior (High early mortality)

Table 69. (cont)

Item	Characteristic
Morphological comparisons	(*Adult in early maturity season)
Juvenile morphometry	No difference
*Adult morphometry	No difference between 3N male and 2N male Difference between 3N female and 2N female
Adult skeleton	No difference
Tests in experimental tank	(Before adult)
Jumping behavior	Inferior
Ascending behavior	Inferior
Oxygen consumption by group	No difference (Separate)
Swimming behavior	Slightly inferior
Territorial behavior	Slightly inferior
Observations in experimental stream	(Before adult ~ Adult, Mature adult)
Growth	Inferior in before adult ~ adult
General component	Small difference
Spawning behavior	3N male shows normal courtship 3N female never shows
Survival after-spawning season	Only 3N female survive
Flavor tests	(Adult)
Shioyaki	No difference

Table 70. Characteristics of one-year-old triploid ayu (after-spawning season).

Item	Characteristic
Survival after-spawning season	
In normal water temperature	Only 3N female survive (WT:17.0~19.5°C)
In lower water temperature	Only 3N female survive (WT Min level:8°C)
Growth	3N female continues growing (Variation is large)
Gonado-somatic index	Unchanged (Not developed)
Sexual characteristics	Don't show
Life span	About 2~3 years (2~3 times longer than 2N)
Morphological appearances	Normal (76%), Slender (14%) and Skinny (10%) types were observed
Flavor tests	(Comparison with 2N adult)
Shioyaki	Inferior
Arai (Sashimi; row fish)	Superior

3N:Triploid 2N:Diploid

となる。また、アユは性比が1:1の雌雄異体種であり、性が雄の遺伝子で決まる雄ヘテロ型魚種である。したがって、三倍体の性染色体型はXXXおよびXXYとなる。ただ、魚類では、どの染色体が性の決定に関与するのか、環境要因がどの程度影響するのかなど、まだ明らかにされていない(長浜, 1991)。

#### 当歳魚の生理的特性

孵化仔魚から種苗サイズ(約1g)の稚魚までの三倍体アユの成長は、個体差がでやすく、全体として二倍体よりやや劣った。また、飼育生残率もやや劣る傾向がみられた。平均6~7gサイズの稚魚における、三倍体の

魚体の大きさの変異は、二倍体より幅広いものであり、そのバラツキの傾向は、同時に作出した第二極体放出阻止型雌性発生二倍体に近似していた。三倍体の個体差が大きいという傾向は、マダイにおいてもみられており(Sugama *et al.*, 1992)、アユでは成魚になってもみられ、さらに、越年した雌においてもみとめられた(Table 70)。

この三倍体に生じる個体差の要因は何であろうか? 第二極体放出阻止型雌性発生二倍体の初代では、魚体の大きさなどの表現形質のうち、遺伝的(量的)形質において、その個体差(変異)が拡大することが知られて

いる(谷口, 1989)。三倍体アユの3セットのゲノムのうち、2セットはこの雌性発生二倍体と同じものであり、他の1セットは雄由来のものである。このゲノムの組み合わせから単純に考えれば、三倍体は、雌性発生二倍体と正常二倍体の遺伝的形質を合わせもっていることになる。それゆえ三倍体に個体差が生じるという推論もあり得よう。しかし、この推論は単純すぎるきらいがある。三倍体の3セットのゲノムのうち、1セットの精子ゲノムは、祖父母由来の異なる二つの型があり、単一のものではない。また、2セットの卵子ゲノムは、第一成熟分裂時に、相同染色体間で乗換が起こった後、第二成熟分裂時に第二極体の放出が阻止されているので、全て異祖接合状態である。また、相同染色体間で乗換が起こる時、対合した染色体において、動原体から離れた遺伝子座では組替え(G-C組替え)がより生じやすい(谷口, 1989)。このG-C組替えは、他の組替え型の染色体でも生じるので、2セットの卵子ゲノムは、複雑な遺伝子をもったゲノムの異型接合状態となる。

三倍体の3セットのゲノムは、このような複雑な異型接合状態の卵子ゲノムと、二つの精子ゲノムのうち、いずれかの1セットによって構成されているといえよう。さらに、本研究のように、作出に用いた親魚が複数であれば、個々の3セットのゲノムの構成は多様化することになり、三倍体群は、多様で不均質な遺伝的形質をもつ集団であると考えられる。ちなみに、複数の親魚由来の雌性発生二倍体と三倍体アユの、GPIアイソザイムによるGpi-1遺伝子座の異型接合体率は、それぞれ0.517と0.800と著しく高く、染色体の乗換が高頻度に起こっていることが示唆されている(Taniguchi *et al.*, 1987)。このように、一つの多型遺伝子座において、異型接合体率が高いということは、同型接合体率が低いことを示している。すなわち、近交係数が小さいことを意味している。近交係数が小さければ遺伝分散も小さくなり、表現形質の個体変異も縮小するとされている(谷口, 1989)。前述のGPIアイソザイムに関する報告によれば、三倍体アユの近交係数は、雌性発生二倍体より小さくなり、個体変異も縮小する結果となる。

以上のように考察すると、本研究でみられた三倍体アユの稚魚における個体差は、主としてその不均質な遺伝的形質によるものであり、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体より個体差が小さいのは、その近交係数がより小さいためと推定される。

この三倍体アユの不均質な遺伝的形質は、成魚や越冬雌の個体差だけでなく、他の特性にも広く関与している

と推察される。

三倍体アユの成長期(稚魚から成魚まで)の群としての成長は、他魚種の三倍体でもみられるように、分離飼育では二倍体と差がなく、混合飼育ではやや劣るものであった。混合飼育における成長差の要因として、いくつかの生理的特性の違いが考えられる。それは、血液性状の違いによる酸素運搬能(測定値では、有意でないわずかの差)や、組織構造の違いによる感覚の鈍さなどである。また、分離飼育の制限給餌下における飼料効率や日間成長率も、二倍体より低いものであった。この傾向も、混合飼育した場合、俊敏に摂餌活動する二倍体が競争相手では、三倍体に不利に作用するだろう。

ところが、成熟期にかかると、三倍体の成長は二倍体を上まわるようになった。それぞれの雌雄別の成長をみると、二倍体の雌雄が、性成熟の進行に伴い、その成長を停止するのに対して、三倍体では、雌は成長し続ける特徴を示した。一方、雄の方も二倍体雄の成長を上まわった。しかしその後、二倍体雄同様、成長は停止する傾向を示した。そして、二次性徴も二倍体雄と変わらない発現の仕方であった。それに比べて、成長停止を示さない三倍体雌は二次性徴を発現せず、夏アユの外観を保ったままであった。これらの成長傾向と二次性徴の発現傾向は、それぞれの生殖腺の発達と深く関わっていると考えられる。すなわち、二倍体雌が完熟したと思われる時点での三倍体雌のGSIは、二倍体雌のその約0.02%しかなく、三倍体雄のGSIは、二倍体雄の約50%であった。成長に関していえば、卵巣がほとんど発達しない三倍体雌では、摂餌によって摂取されたエネルギーの一部が、性成熟ではなく、成長に向けられるため、成長を継続できると考えられる。他方、精巣が二倍体雄の1/2程度まで発達する三倍体雄では、二倍体雄ほど多くのエネルギーが性成熟に向けられず、一時的に二倍体雄の成長を上まわると考えられる。しかし、ステロイドホルモンの分泌がみられない三倍体雌に比べて、発達した精巣からステロイドホルモンが分泌されるなど、性成熟が進行し、成長が停止すると推察される。また、二次性徴は、ステロイドホルモンの分泌の有無に関連しており、三倍体雌では発現せず、雄では発現したと考えられる。加えて、三倍体雄の二次性徴は、二倍体雄よりやや遅れて発現したが、これは、両者の精巣の発達程度(GSI)の差によるのかも知れない。

三倍体アユ雌雄の生殖腺において、正常な卵子や精子の形成は観察されず、両者とも不妊性と判断された。ただ、雄の精子形成に関しては、本研究では、排精をみと

めなかったが、それがわずかながらみられたという報告もある。その異型精子は運動性がなく、ニジマス同様、通常卵と受精させても、胚は致死性であったとされている。この報告と本研究との差異の要因は不明であるが、三倍体雄の染色体の対合が、雌よりずっと遅い時期に起こる（鈴木, 1991）ことと関係があるのかも知れない。すなわち、対合期の三倍体雄の飼育環境の違いによる可能性も考えられる。

三倍体アユの血液性状において、特異的な特性が観察された。それは、他魚種の三倍体とほぼ同様に、二倍体より赤血球細胞が大きい反面、赤血球数が少ないという特性である。また、血中の赤血球の全体量（Ht）やヘモグロビン含有量には差がないという特性を合わせもっている。さらに、本研究では検討しなかったが、ギンザケでは、白血球細胞も大きく、その数も少ないという報告もある（Small and Benfey, 1987）。このことは、アユでも当然考えられる現象である。これらの血液性状における特性は、三倍体の生理に、二倍体とは違った作用をもたらすと推定される。例えば、赤血球細胞が大きく、その数が少ないことによる酸素運搬能の低下（酸素消費量の増加）が予想される。また、病原体の貧食細胞でもある白血球において、その細胞が大きく、数が少ないことによる抗病力の低下が想定される。

しかし、三倍体アユの酸素消費量は、個体別にも、また5尾や10尾の群としても、二倍体との間で有意な差はみとめられなかった。ただ、二倍体よりやや多い可能性がみられたのみであった。ところが、二倍体と混養した場合において、低酸素状態になると、二倍体より早くかつ多くへい死する傾向を、一方では示した。

三倍体の酸素消費量に二倍体と差がないことは、トゲウオや大西洋サケでもみられている。酸素消費量に差がみられない理由として、一つには、血中のヘモグロビン含有量が同じであることが考えられる。他の一つは、三倍体の大きな赤血球も、形状が扁平で可変的であるため、赤血球全体の表面積は二倍体と大差がないという点が考えられる。

また、二倍体アユと混養した場合、三倍体が早く酸欠死するのは、極限状態において、二倍体との競合に劣る面があるためと推定される。稚魚の個体差に関して述べたように、三倍体の酸素消費量にも、遺伝的形質としての個体差があることも考えられ、感覚器官の組織構造に起因する、三倍体の活動の鈍さも不利に作用した可能性がじゅうぶん考えられよう。すなわち、三倍体アユ群の中には、二倍体群よりも、酸素消費量が多く、酸欠に弱

い個体が多く存在し、また、活動が鈍いために、酸欠を回避する行動（早い遊泳や鼻上げなど）をじゅうぶんとれなかったのではないかと推定される。

三倍体アユの抗病性に関しては、ビブリオ病とギロダクチルス症および黒点病について検討した。血清型Aの *Vibrio anguillarum* に対する感受性では、二倍体との差はみられなかったが、人為感染において、三倍体は二倍体よりやや早くへい死する傾向がみられた。また、同菌によるワクチン効果にも差はみられなかったものの、ワクチン有効率（RPS）は、二倍体よりやや低いものであった。さらに、ギロダクチルス（*Gyrodactylus japonicus*）や横川吸虫に対する感受性では、二倍体との差はみられなかった。

アユにおける、*V. anguillarum* の侵入門戸は、主として皮膚であるとされている（Kawai *et al.*, 1981 ; Muroga and De La Cruz, 1987）。また、体表粘液に *V. anguillarum* 細胞を融解する作用があることが報告されている（伊丹ら, 1987）。皮膚感染後、感染巣で増殖した *V. anguillarum* は、その後、魚体各部に運ばれ、最終的には敗血症をもたらすとされている（舟橋ら, 1974 ; 江草ら, 1979 ; Muroga and De La Cruz, 1987）。

したがって、三倍体アユのビブリオ病に対する抗病性も、体表粘液や白血球などの性状、および抗体産生能と関わっていると考えられる。三倍体の粘液細胞に関する報告はないが、細胞が大きく、その数が少ないという三倍体の組織構造上の特性から考えて、三倍体アユの体表粘液の性状が、二倍体と異なる可能性もある。また、前述のように白血球細胞も大きくて少ないと想定される。さらに、抗体の産生に関与する腎臓の組織も同様である。もう一つの関与臓器である脾臓も、同様の組織構造であろう。このように考えられる三倍体アユの体組織や血液の特性が、*V. anguillarum* に対する感受性に反映されたものと推察される。すなわち、感受性やワクチン効果に明らかな差はみられなかったものの、人為感染後二倍体より早くへい死したり、有効率が二倍体よりやや低いという結果として、表れたものと推定される。さらに、抗病力自体も、遺伝的形質として、三倍体アユに個体差があるという可能性も存在するだろう。

ギロダクチルスや横川吸虫の寄生に対する、アユの抵抗機構は明らかにされていない。したがって、なぜ三倍体と二倍体の寄生虫体数に差がなかったのか不明である。これは、これらの寄生虫にとって、宿主の体質は余り問題とならないためかも知れない。

低水温（5℃）および高水温（30℃）に対する耐性に

において、三倍体アユは、二倍体より早くへい死し、生残率も低いと考えられた。温水魚に属するアユの生息水温は9～22℃で、13～18℃が好適水温とされている。また、10℃以下28℃以上では餌を食べず、15～25℃の間では、高温の方が摂餌状態がよいとされている（石田，1987）。これらのアユの水温域からみて、本研究で設定した5℃および30℃は、アユにとっては極限状態に近かったものと推定される。この状態で、三倍体が二倍体より早くへい死する傾向を示したのは、三倍体の水温適応能力が、二倍体より劣っていたためと推察される。この要因として、低酸素状態や *V. anguillarum* に対する感受性で述べたように、三倍体の組織構造上の特性や遺伝的形質としての個体差が考えられる。すなわち、三倍体は、水温変化に対して、生理的反応が鈍い可能性がある。また、遺伝的に水温変化に弱い個体が存在することも考えられよう。

#### 当歳魚の形態的特性

三倍体アユ稚魚の外部形態においては、同サイズの二倍体と、基本的な差はみとめられなかった。また、成魚の骨格形態においても同様であった。これらは三倍体魚の組織構造上の特性（組織の大きさは同じだが、細胞が大きく、その数が少ない）によるものと考えられる。しかし、成熟期にかかる成魚では、三倍体の雌は二倍体雌と異なる外部形態を示した。これは、三倍体雌では、生殖腺が発達せず、夏アユの外観を保っていたことによるものであった。一方、三倍体の雄は、二倍体雄とほとんど変わらない外部形態を示した。これは、生殖腺が発達するため、そこから分泌されるステロイドホルモンなどによる形態変化が進行した結果と推察される。

#### 当歳魚の生態的特性

アユの特異的な生態的形質の点と、将来、放流対象魚として利用するという観点から、行動、食性、生殖に関して、いくつかの特性の検討を行った。

その結果、三倍体アユは、とびはね行動や溯上行動においては、二倍体より劣るものであった。また、群れとしての酸素消費量には差はないものの、遊泳行動は鈍く、二倍体のような俊敏さには欠けていた。さらに、なわばり行動においても、二倍体より劣位に立つ場合が多いと考えられた。模擬河川における実験では、三倍体も二倍体同様付着藻類をよく摂餌したが、その結果としての成長期の成長は二倍体より劣るものであった。また、魚体一般成分は、二倍体より水分が少なく、脂質や灰分が多く、蛋白質や糖質はあまり差がなかった。

これらの結果から、河川に放流された場合の三倍体の

動向が、次のように想定される。放流後、三倍体は二倍体に比べて、上流に向かっての移動分散はあまり広いものではなく、強い水流にもあまり逆らえないと推定される。また、二倍体より遅れて成長し、なわばりをもち、友釣りによって釣獲はされるが、二倍体より有利な条件（雌でかつ魚体が大きい）でなければ、その釣獲率は二倍体よりも低いと推察される。さらに、三倍体は、大きな出水に流されたり、夏季の渇水期に酸欠死しやすいといった危険性もあるだろう。魚体一般成分は、食味との関係では、實際上あまり問題にならないと考えられる。

これらの三倍体アユの生態的特性は、何に起因するものであろうか？行動面で二倍体に劣るのは、やはり組織構造上の特性による鈍感さのゆえであろう。また、成長面で劣るのも、混合飼育の場合と同様、摂餌活動に俊敏さを欠くためではないかと推定される。さらに、魚体一般成分の違いも、組織構造によるのかも知れないが、この点については、詳細な検討を行っていないので明らかではない。

産卵期における生殖行動では、三倍体アユは興味深い特性を示した。二倍体雌雄との混在下で、三倍体の雌は産卵行動をまったく示さなかった。それに対して、雄の方は、二倍体雄同様、二倍体雌を追尾し、放精活動に参加した。その行動は二倍体雄と何ら変わるところがなかった。三倍体雌雄の、この異なる生殖に関する行動は、性成熟について述べたように、生殖腺の発達の有無とステロイドホルモンなどの分泌の有無に関連しているものと推察される。アユの再生産が可能な河川にあっても、三倍体の雄は、本研究の実験と同様な生殖行動を示すものと考えられる。したがって、産卵期に、三倍体の雄が二倍体雄より多い場合は、未受精卵が生じる可能性がある。今後、三倍体アユを放流種苗として利用する場合は、他魚種との競合面も少なく、不妊性で再生産にも影響しない三倍体雌に限るべきであろう。

その上、三倍体雌のみは、産卵期でも成長でき、以後の生残率も特異的に高い。冬季の最低水温が6.9℃では、翌春までその80%が生残した。群馬水試と岐阜水試（1992）によれば、河川における三倍体雌の生存限界水温は、5℃および3～4℃とされている。そして、三倍体雌を利用することによって、漁期が、群馬では70日間延長可能と推定し、岐阜では水温11℃まで延長できると推論している。両水試の報告に若干の差異はあるが、三倍体雌の生残性は漁期の延長をもたらす、温かい河川にあっては、本研究の結果からみて、越年も可能である。このように、三倍体の雌は、河川漁業にとっても少なく

ない利点を有している。ただ、全雌化や魚体の個体差の問題は残っており、この点が改良されれば、利用価値はさらに高まるだろう。

#### 越年魚の特性

Table 70に示したように、秋季の産卵期を経過して越年した三倍体雌雄は、通常の飼育水温においても、低水温においても、異なる生残性を示した。すなわち、三倍体雌のみが生残することができ、雄は生残することができなかった。この傾向は、第5章の模擬河川における実験でも同様にみとめられた。

三倍体の雌が生残できるのは、生殖腺が発達せず性成熟が進行しないためであり、雄が生残できないのは、生殖腺が発達し、性成熟と老化が進行するためと考えられる。

生残した三倍体雌は、通常の飼育水温において、成長し続け、魚体は大型化した。また、2度目の産卵期にかかっても、生殖腺は未発達のままで、性徴も発現しなかった。これらの傾向は、国内のニジマスにおいても、同様にみとめられている（小林，1992）。このように、越年三倍体雌が成長を継続して大型化し、成熟もみられないのは、当歳魚と同様に、摂餌によって摂取されたエネルギーの一部が成長に向けられ、ホルモンのバランスも大きく変化しないためと推定される。

ただ、三倍体雌がどこまで大型化するかという点については、具体的な報告例がない。三倍体魚の組織構造の特性から推論すると、二倍体と同じ細胞数まで、各組織が大きくなるという仮説も考えられよう。しかし、三倍体雌は成熟しないという特性があるため、この仮説も論拠に乏しいといわざるをえない。

本研究では、越年後の成長や寿命の点から考えて、二倍体雌成魚の1.5～2倍程度ではないかと推定した。

三倍体アユの雌の寿命については、本研究の飼育結果では、2年半を過ぎる頃から、老衰によると思われる衰弱個体がみられ始めたことから、生後2～3年程度と推定された。ただ、弱った個体から未だ元気な個体まで、個体差がかなりみられ、中には3年を越す個体もあるかも知れない。

また、越年三倍体雌の外観上の形態においても、通常の形態のものからひどく瘦せたものまで、個体差がみられた。この個体差は、寿命における個体差と同様、三倍体アユの一つの遺伝的形質の表れではないかと推定される。

#### 第2節 三倍体アユの産業的利用の展望について

本研究では、三倍体アユの産業的応用化のための検討

も行った。その結果、三倍体化の大量処理が低水温ショック法で容易であることや、三倍体の種苗生産や池中養成は、従来の方式でじゅうぶん可能であることが明らかとなった。また、食味についても、当歳魚の「塩焼」では二倍体と差がないことや（Table 69）、越年三倍体雌は「あらい」向きであることも示した（Table 70）。

しかし、三倍体アユを、緒論で述べたように、産業的に利用するためには、基本的に二つの改良点があることが、本研究の結果明らかとなった。

その第一の点は、三倍体の利点が、雄ではほとんどみられず、雌に限られるということである。第二の点は、生理、生態および越年魚の特性において、三倍体は二倍体より、やや劣らないしは劣る点が少ないし、個体差が生じるということである。

第一の点に関しては、三倍体の雌のみが不妊性の効果を発揮し、性成熟にともなうデメリットがなく、長寿で大型化することから、すべて雌の三倍体に改良する必要がある。この全雌三倍体への改良はニジマス（Lincoln and Scott, 1983）やティラピア（*O. mossambicus*）（Varadaraj and Pandian, 1990）などで成功している。それは、雄性ステロイドホルモンによる性転換雄（XX）を用いることによってである。また、最近では、ニジマス四倍体の雌に性転換雄を交配する方法や、性転換四倍体雄（XXXX）と二倍体雌を交配する方法なども研究されつつある（長野水試他）。

アユにおいても、第二極体放出阻止型雌性発生二倍体にメチルテストステロンを投与することによって、性転換雄ないしは雌雄同体が得られる。それらは輸精管を欠くものの、精巣精子自体は使用が可能である（辻村ら，1990～1992）。また、クローンアユに投与した場合は、さらにより結果が得られるといわれている。

このように、性転換雄を用いれば、全雌三倍体アユの作出は技術的に可能であり、筆者も作出を試みている。

第二の点に関して、三倍体アユの当歳魚において、生理面での、仔稚魚期の成長や生残率をはじめ、成長期の飼料効率や成長率、未成魚の低酸素耐性やビブリオ病抗病性および水温耐性、さらに、生態面での、とびはね行動や溯上行動、およびなわばり性や成長などの点で、二倍体よりやや劣らないしは劣る傾向がみられた。また、越年雌魚において、成長、寿命および形態に個体差がみられた。

これらの傾向は、主として三倍体アユが生来的にもっている、血液性状や組織構造などの特性と関連していると考えられるが、それに加えて、三倍体の遺伝的形質が

関与していると推定される。

稚魚の個体差に関して述べたように、三倍体は、不均質な遺伝的形質をもった個体の集団と考えられる。本研究のように、複数の天然親魚から人為的に作出した三倍体アユは、限られた親魚集団から作出したものより、この不均質性はより高いものであったと推定される。このことが、各特性において、二倍体よりやや劣らないしは劣る傾向や、個体差を生じる傾向の一因となったものと考えられる。

三倍体アユを今後産業的に利用するためには、以上の第一と第二の点の改良、すなわち、全雌化と遺伝的均質化を図る必要がある。これらの2点を同時に改良することは、遺伝的に均質なクローンアユを用いることによって可能である。クローンアユは、第一卵割阻止型雌性発生二倍体の1尾を親魚として、極体放出阻止によって作出できるようになった (Taniguchi *et al.*, 1988 ; 辻村

ら, 1990)。また、その遺伝的均質性も、すでに確認されている (Han *et al.*, 1991 ; 1992)。

クローンアユと、雄性ステロイドホルモンによって性転換させたクローンを親魚として、三倍体化処理を行えば、全雌で遺伝的に均質な三倍体アユが得られる。また、親魚として用いるクローンの片方が、異なる親魚由来のものであれば、全雌ヘテロクローン三倍体となり、近交弱性の影響も免れることができる。筆者は'92年秋に、この全雌ヘテロクローン三倍体の作出が可能であることを確認している。

現在、雌性発生法を利用して、アユの有用な遺伝的形質に関する研究がすすめられている (高知大学他)。その結果、様々な生理、生態および形態的形質が見出されつつあり、将来、成長が良く病気に強いなど、養殖に適した三倍体アユや、河川放流に適した三倍体アユの作出が可能となるだろう。

## 要 約

本研究では、人為三倍体アユに関して、まず、供試魚の作出法について検討した。ついで、主題である生物学的特性に関して、生理的、形態的、および生態的な諸特性について、二倍体アユと対比して検討し、越年魚の特性についても検討した。また、今後の利用を図る見地から、産業的応用化のための検討もあわせて行った。

### 1. 三倍体アユの作出法

低水温ショック法による、第二極体放出阻止のタイミングと処理時間について、紫外線照射精子を用いて検討した。その結果、処理のタイミングは受精後4～6分が適当で、0～0.5℃の氷水中に30分間または60分間浸漬すれば、100%の成功率（染色体数による）で、三倍体化できることがわかった。また、その後の作出例から、受精5分後、0～0.5℃で30分間処理を行えば、90～100%の成功率（赤血球の大きさによる）で、三倍体アユが得られることが明らかとなった。そして、この場合、孵化率も通常受精の1/3～1/2程度が期待できることもわかった。

三倍体化の確認方法として、染色体数と赤血球の大きさをみる方法を用いたが、両者からみた作出成功率は、100%と96%という違いがみられた。厳密を期す必要がある時は、染色体数による確認が、簡便を期す必要がある時は、赤血球の大きさによる確認が適している。

### 2. 生理的特性

#### 成長、飼料転換効率、個体変異

三倍体アユの仔稚魚期（孵化～約1gサイズ）の成長は、個体差がでやすく、弱小な個体の減耗があるものの、二倍体にやや劣る程度であった。生残率も二倍体に比べて極端に低いものではなかった。

成長期（稚魚～成魚期）の成長は、分離飼育では二倍体と同等の成長を示したが、混合飼育では二倍体にやや劣る傾向を示した。しかし、分離飼育でも、制限給餌下では、三倍体の成長率や飼料効率は、二倍体のそれより低いものであった。

ところが、成熟期になると、分離、混合いずれの飼育の場合も、三倍体の成長が二倍体を上まわった。これは、主として、三倍体の雌が引き続き成長し続けることによるものであった。

三倍体アユの成長に関するこれらの傾向は、他の魚種の研究結果と多くの点で符合していた。

平均6～7gサイズの稚魚の大きさにおいて、三倍体は二倍体より幅広い個体変異を示し、そのバラツキの傾

向は、同時に作出した第二極体放出阻止型雌性発生二倍体と近似していた。この傾向は、三倍体の遺伝的不均質性を示唆していた。

#### 性成熟（成熟、二次性徴、性比、不妊性）

成熟期において、三倍体の雌では、生殖腺は未発達のまま（平均GSI:0.5%以下）で推移したのに対して、三倍体の雄では、二倍体雄のGSIの約半分程度まで生殖腺が発達した。

二次性徴は、三倍体の雌では発現せず、夏アユの外観を保っていた。一方、三倍体の雄では、二倍体雄同様、二次性徴が発現した。

三倍体の成熟期までの性比は1:1で、雌雄間での生残率の違いはみられなかった。

三倍体の雌では、生殖腺そのものが未発達で、正常な卵子形成に至らず、三倍体雄の場合も、精巣はある程度発達するものの、正常な精子がみられないことから、いずれも不妊性と判断された。

これらの特性は、他の多くの魚種の三倍体とほぼ同様であった。

#### 血液性状、酸素消費量および低酸素耐性

三倍体アユの血液性状は、赤血球量（Ht）やヘモグロビン含有量（Hb）は二倍体と同値であるが、赤血球細胞が大きい反面、赤血球数が少ないという特性を示した。

酸素消費量では、三倍体は二倍体よりやや多い可能性があったが、明らかな差はみられなかった。しかし、混合飼育中の酸欠状態では、三倍体は二倍体より早くかつ多くへい死し、低酸素耐性が弱いことを示した。

血液性状の特性は、陸封大西洋サケの血液性状とほぼ同様であった。また、赤血球細胞が大きい点については、他の魚種の三倍体と共通であった。酸素消費量については、陸封大西洋サケの三倍体と同様の結果であった。

#### 抗病性および水温耐性

三倍体アユに対する血清型Aの *Vibrio anguillarum* のLD<sub>50</sub>値は、二倍体に対してよりやや低かったが、明らかな差はみられなかった。また、同菌によるワクチン有効率では、三倍体は二倍体よりやや低い程度であった。これらの結果から、三倍体の血清型Aのピブリオ病に対する抗病性は、二倍体と差がないとみなされた。なお、同菌による人為感染後のへい死状況では、三倍体の方が二倍体より早くへい死する傾向があった。

ギロダクチルスと横川吸虫の寄生虫体数では、三倍体と二倍体との間に有意な差はみられず（ $P>0.20$ ）、ギロダクチルス症と黒点病に対する三倍体の抗病性も二倍体

と差がないとみなされた。

三倍体の低水温および高水温耐性については、いずれの場合も、三倍体の方が二倍体より早く死に始め、生残率も低くなり、三倍体の水温耐性は二倍体より弱いとみなされた。

#### その他の特性

6年間にわたる飼育実験において、三倍体の遊泳活動は、全体として二倍体より鈍く、摂餌活動も二倍体ほど俊敏ではなかった。

#### 3. 形態的特性

稚魚の13項目の外部形態において、三倍体と二倍体との間で、基本的な差異はみられなかった。

9月の成魚の外部形態においては、雌では、三倍体が成熟しないため、胴長他9部位で二倍体と有意な差がみられた ( $P < 0.001 \sim 0.05$ )。しかし、雄では、三倍体も成熟するため、二倍体との差はみとめられなかった ( $P > 0.05$ )。

また、8月の三倍体成魚の骨格形態においては、各骨部位の形状、各鱗条数および総脊椎骨数に、二倍体との差異はみられなかった。

#### 4. 生態的特性

行動（とびはね行動、溯上行動、群れにおける遊泳行動、なわばり性）

三倍体のとびはね率は二倍体より明らかに低く、溯上率も低かった。このことから、三倍体を河川に放流した場合、その溯上性や友釣りによる再捕率は二倍体より低くなると想定された。

10尾の群として、酸素消費量には三倍体と二倍体との間に有意差はみられなかった ( $P > 0.50$ ) が、三倍体の遊泳行動は二倍体より鈍いものであった。このことから、三倍体は、渇水期における酸欠死の危険性や、強い水流に流されやすいなどの可能性があるとして推定された。

三倍体は二倍体となわばりを競い合った場合、劣位に立つことが多かった。

しかし、雌で二倍体より大きい場合は優位に立った。

食性（付着藻類に対する摂餌行動と成長、付着藻類を摂餌した場合の魚体一般成分）

模擬河川において、三倍体も付着藻類をよく食む行動が観察された。しかし、成長期から成魚期にかけての三倍体の成長は二倍体に劣り、成熟期にかかると、体長での成長は二倍体を上まわる傾向がみられた。

20日間にわたって付着藻類を摂餌した三倍体は、二倍体同様天然アユに近い魚体一般成分となったが、二倍体より水分が少なく、脂質や灰分は多く、蛋白質や糖質に

は余り差がなかった。

これらの傾向は、河川内においても同様であろうと推定された。また、魚体成分の差は、食品としての価値に影響しない程度と推定された。

#### 生殖（生殖行動、産卵期後の生残性）

模擬河川において、三倍体の雌は産卵活動にまったく関与しなかった。一方、三倍体雄は、二倍体雄とともに産卵放精活動に参加した。しかし、三倍体雄も二倍体雌のみと混在する場合は、その活動は二倍体雄よりも弱いものであった。これらのことから、三倍体アユが河川に放流された場合、雌は特に支障はないが、雄は、二倍体雄よりもその数が多い場合は、再生産に影響する可能性があるとして想定された。

産卵期間中を含めた産卵期後の生残率は、三倍体の雌のみがきわめて高かった。一方、三倍体の雄は、二倍体よりやや遅れて自然死亡するものの、その生残率はきわめて低かった。このことから、二倍体雌がいくらか生残できるような温かい河川にあっては、三倍体雌は、翌年まで高い生残率で生存できると推定された。

#### 5. 越年魚の特性

##### 越年生残性

17.0~19.5℃といった常水温飼育において、二倍体雌雄が、翌年2月中旬までに、ごくわずかな生残率を示したのに対して、三倍体雌は高い生残率を示した。一方、三倍体雄は、二倍体雌雄よりやや高かったものの、その生残率は低いものであった。

また、冬季の水温が8℃台まで低下した低水温飼育においては、三倍体雌は5月中旬（実験終了時）までじゅうぶん生残できたが、三倍体雄は3月上旬までにへい死してしまっ

た。このように、常水温および低水温飼育においても、三倍体雌のみが高い生残性を示した。

##### 成長、生殖腺、性徴、および推定寿命

三倍体雌では、越年後も成長の継続がみられた。しかし、成長するにつれて個体差も大きくなった。

三倍体雌の生殖腺は、次の産卵期においても、当歳魚のGSIレベルにとどまったままであり、性徴の兆候もみられなかった。

さらに三倍体雌を、生後2年6ヶ月まで飼育したが、衰弱個体がみられ始めたことから、三倍体雌の寿命は、2年以上3年程度（二倍体の約2~3倍）と推定された。

##### 外部形態

越年三倍体雌は、おおむね三つの外観上の異なる形態を示した。すなわち、通常の外部形態（76%）、長細い

形態（14%）、および著しく長細く瘦せた形態（10%）の3態であった。

#### 6. 三倍体アユの応用に関する試験

##### 低水温ショック法による大量作出試験

アユの産卵場近くの川原において、数10尾の天然親魚を用いて、16万粒および40万粒を採卵し、0～0.5℃で30分間処理を行った。その結果、孵化率は15%と33%で、合計157,000尾の孵化仔魚を得た。そして、赤血球の大きさによる作出成功率は100%であった。この実験結果は、三倍体種苗の量産をするために必要な、孵化仔魚数の確保がじゅうぶん可能であることを示した。

##### 種苗大量生産試験

157,000尾の三倍体孵化仔魚を、20 t水槽を用いて、通常のアユ種苗生産方式で養成した。その結果、種苗サイズ（平均BW：0.82 g）までの生残率は59.2%であった。このことは、三倍体種苗の大量生産が、既存の方法でじゅうぶん可能であることを示した。

##### 池中養成試験

三倍体種苗10,000尾を80 t水槽で成魚まで養成した。その結果、へい死率は通常のアユ養成の場合と同程度であった。しかし、日数経過とともに個体差が大きくなった。また、産卵期にかけると、雄では、やはり精巣が発達し始め、二次性徴が発現したが、雌では、卵巣は未発達のままで、二次性徴も発現しなかった。この結果は、

三倍体の池中養成が既存の方式でじゅうぶん可能であることを示した。

##### 食味試験

三倍体当歳魚の「塩焼」での食味は、味や脂ののりは二倍体に劣らず、香りや肉のしまりがやや劣ったが、全体としては余り変わらないものであった。

越年三倍体雌は、「塩焼」では二倍体当歳魚より不評であったが、「あらい」では好まれるという結果であった。また、越年三倍体雌の大型化したものは可食部が大きかった。

#### 7. 三倍体アユの産業的利用の展望

三倍体アユを産業的に利用するためには、基本的に二つの改良点があることが明らかとなった。

第一の点は、長寿で大型化するなどのメリットが雌に限られるため、全雌化することであり、第二の点、少ない特性で二倍体に劣ったり、個体差が生じるといったデメリットをなくすため、遺伝的に均質化することである。

この2点を同時に改良するためには、クローンアユを親魚に用いる必要がある。クローンと雄に性転換したクローンを用いれば、全雌で均質な三倍体が得られる。最終的には、異なる系統の、有用形質をもつクローンをを用いることによって、より実用的な全雌ヘテロクローン三倍体の作出が期待される。

## Summary

Ayu, *Plecoglossus altivelis* is an important freshwater fish not only for aquaculture but also for river fishing in Japan. However, both industries have been in a slump for several years due to unfavorable increase in its consumption, together with its depleting availability in nature. Therefore, developments in improving its breeding potential has been a major look out for those concerned.

Triploid ayu production were one of the targeted species because it was produced early in studies on manipulation of domestic fishes (Taniguchi *et al.*, 1985).

Present studies were concentrated mainly on biological characteristics of induced triploid ayu.

The methods of inducing triploid ayu by blocked extrusion of the second polar body with cold-shock treatment was examined first. And then the physiological, morphological and ecological characteristics of newly spawned and one-year-old (after spawning season) triploid ayu were examined in comparison with normal diploid ayu or in alone. Furthermore, experiments on the practical test for aquaculture were also examined.

### 1. Method of induction

The time and duration of treatment in cold-shock for blocking extrusion of the second polar body were examined with the use of the ultra violet irradiated sperm. Results indicated that a suitable treatment time was 4~6 minutes after fertilization, duration with cold-shock (0~0.5°C) of 30 or 60 minutes showed 100% success rate of triploid induction (identification by chromosomes count).

Triploid Ayu was produced with 90~100% success rate (identification by measuring erythrocyte size) at 5 minutes after fertilization with 30 minutes treatment duration in cold water (0~0.5°C). The rate of hatching was about one-third ~ one-half production of normal fertilization.

Chromosome count and erythrocyte size were used in assessing the identify of triploids. There was little difference in success rate by either method. The success rates by chromosome count and by erythrocyte size measurement were 100% and 96% respectively at 30-minute duration treatment. Chromosome count is suitable when exact identification is necessary, and erythrocyte size measurement is suitable when brief identification is required.

### 2. Biological characteristics of triploid ayu

#### 1) Physiological characteristics

##### (1) Growth, Feeding efficiency and Variance of size in juveniles

At breeding larval stages (Hatched out ~ Jvenile : about 1g, BW), the growth of triploid groups was

a little inferior to that of diploid groups, and the variance of body size in triploids was larger than in diploids.

The survival rate of the triploid groups was slightly lower than that of the diploid groups, though tiny weak fish in the triploid were apt to die.

At breeding juveniles stages (Juvenile ~ Adult), the growth of triploids was similar to that of diploids in separate rearing, but was a little inferior to the growth of diploids in communal rearing. Even in separate rearing, however, under condition of limited feeding, the growth rate and the feeding efficiency of the triploids were a little lower than those of the diploids. But in the maturity season, the growth of the triploids exceeded that of the diploids. This tendency was due to the successive growth of the triploid females.

These growth tendencies of triploid ayu were similar to those finding of other triploid fishes.

In juveniles (Mean BW: 6~7g), the variance of body length and body weight in the triploids were larger than those in the diploids, and a tendency of variance in the triploids was similar to that of the gynogenetic diploids (with blocked extrusion of the second polar body). These results suggested that genetical characteristics in triploids are complex, and variable.

#### (2) Maturity, Secondary sexual characteristics, Sex ratio and Sterility.

During the maturity season, the gonads of the triploid female exhibited low levels of development (Mean GSI: below 0.5%), but the gonads of the triploid male developed up to about half the GSI of the diploid male.

Secondary sexual characteristics were not found in the triploid female, but were found in the triploid male. The appearance of the triploid female has shown no change since summer season.

Sex ratios in the triploids were 1:1 until the maturity season. This result suggested that survival rates between triploid females and males were not different.

Normal eggs were not observed in the undeveloped oogenesis of the triploid female, nor were normal spermatozoa in the spermatogenesis of the triploid male. Therefore both females and males were presumed to be sterile.

These characteristics of triploid ayu were similar to those of many other triploid fish.

#### (3) Hematological characteristics, oxygen consumption and Resistance to lack of oxygen.

Hematologically size of the erythrocyte cell in the triploid was larger than in the diploid, but the number of erythrocyte (RBC) was smaller than in the diploid, though the hematocrit (Ht) and hemoglobin contents (Hb) were not different from diploid.

In oxygen consumption, there was a tendency for

the value of the triploid to be a little higher than that of the diploid, though there was no apparent difference in both values. However the triploids died earlier than the diploids, and dead triploids were more numerous than the diploids due to lack of oxygen (communal rearing). These results suggested that triploids were weaker than diploids in resistance to lack of oxygen.

Hematological characteristics in triploid ayu were similar to those in triploid landlocked Atlantic salmon.

Large-sized erythrocyte cells were common to triploid ayu and other triploid fishes.

Results showed that there was no apparent difference between triploid and diploid in oxygen consumption and this was similar to results in landlocked Atlantic salmon.

(4) Resistance to disease and Resistance to water temperature

The Limited Death 50 (LD<sub>50</sub>) of *Vibrio anguillarum* (sero type:A) in groups of triploid ayu were a little lower than in groups of diploid, but there was no significant difference ( $p > 0.05$ ) in the mortality between infected triploids and diploids.

Effects of vaccination to vibriosis in triploids were a little lower than in diploids. A tendency for the triploids to die earlier than the diploids was observed in these experiments.

The number of parasites such as *Gyrodactylus japonicus* and *Metagonimus yokogawai* was not significantly different ( $p > 0.20$ ) between triploids and diploids.

In experiments of resistance to high and low temperatures (30-5°C), triploids died earlier than diploids, and the survival rate was lower than the diploids. These results suggested that resistance to changes in water temperatures in triploids was inferior to that of diploids.

(5) Other characteristics.

In observation of breeding tests for six years, it was apparent that the swimming behavior of the triploids was slower than that of the diploids, and feeding behavior of the triploids was inactive than the diploids.

2) Morphological characteristics.

It was estimated that there were no basic differences in 13 morphometric traits between triploid and diploid juveniles.

Significant differences ( $p < 0.001 \sim 0.05$ ) were observed in 8 traits besides trunk length between triploid and diploid adult females because the triploid females were not mature. On the other hand, significant differences ( $p < 0.05$ ) were not observed in most of traits between triploid and diploid adult males because the triploid males were mature.

Apparent differences were not observed in skeleton, i.e. the shape of each bone, the number of fin rays

and the number of total vertebrae, between triploid and diploid adults in August.

3) Ecological characteristics.

(1) Jumping behavior, Ascending behavior, Swimming behavior in groups and Territorial behavior.

Jumping rate of triploids was apparently lower than that of diploids, and ascending rate was also lower. These results suggested that upstream ascending quality and recatching rate by fishing in summer (main fisheries season) of triploids will be inferior to those of diploids when triploids are released in natural rivers.

In oxygen consumption rate of 10 fish, a significant difference ( $p < 0.50$ ) was not observed between triploid and diploid, however, swimming behavior of triploids was slower than that of diploids. These results suggested that triploids may die of lack of oxygen when the water levels in the river fall, and triploids may be washed away by strong stream current.

Territorial ability of triploid was inferior to that of diploid in competition for territory except for a case that the triploid was female; besides was larger than diploid.

(2) Feeding behavior on riverbed algae and growth, and General components of fish body in case of feeding on riverbed algae.

In the experimental stream, triploid also fed well on riverbed algae. The growth of triploids was inferior to that of diploids in periods of growth and maturation. But in the maturity season, growth of triploids exceeded that of diploids.

The triploids which had fed on riverbed algae for 20 days showed, like diploids, general components of fish body similar to those of wild ayu. The moisture content was less, lipid and ash contents were much greater in triploids than in diploids, and great differences ( $p < 0.01$ ) were not found in protein and sugar contents between triploids and diploids. These results suggested that these tendencies are found also in natural rivers, and differences in components of fish body will not affect their value as foodstuff.

(3) Spawning behavior and survival after spawning season.

In the experimental stream, the triploid female was never involved in spawning activity, on the other hand, the triploid male was involved in spawning activity together with the diploid male. But, when triploid males were released together with only diploid females, the spawning activity of triploid males was weak. Results suggested that the triploid female did not affect the reproduction of the diploid, however, the triploid male may affect the reproduction of the diploid when the population of the triploid male is much greater than the

diploid male.

During and after the spawning season, survival rate of triploid females was very high, and diploid females was very low. On the other hand, triploid males died a little later than diploid males, and their survival rate was extremely low. These results suggested that triploid female would survive until the next year at a high rate in rivers warm enough for some diploid females to survive.

#### 4) Characteristics of one-year-old triploid ayu

##### (1) Survival in the next year

In normal rearing water temperature (17.0~19.5 °C), survival rates of diploid females and males indicated very low levels, but the survival rate of triploid females was very high. On the other hand, the survival rate of the triploid male was low though it was a little higher than that of the diploid male.

In low rearing water temperatures which fell to 8 °C in winter, the triploid female could survive until the middle of May (after experiment) though the triploid male died before the middle of March.

These results showed that only triploid females could survive at a high rate in both normal and low rearing water temperature.

##### (2) Growth, Gonad level, Sexual characteristics and Life span

Triploid females continued growing after the spawning season. The more the triploid female grew, the larger the variance of growth.

The gonad of the triploid female remained at the level of newly spawned fish, and the secondary sexual characteristics did not appear in the next spawning season.

Triploid females continued to breed for 2 years and 6 months after hatching. At that time, some infirm fish were observed, therefore the life span of the triploid female was presumed to be from 2 years old to 3 years old (2~3 times of diploid).

##### (3) Appearances

Three type of morphological appearances were observed generally in one-year-old triploid females. These were normal (76%), slender (14%) and skinny figure (10%). These results suggested that triploid has genetic variance in morphological appearance.

### 3. Practical tests

#### 1) Large amount of cold-shock treatment

A large amount of cold-shock treatment was examined in a riverbank with 160 thousand and 400 thousand eggs that were collected from several dozen wild ayu.

As a result, rates of hatching were 15% and 33%, and a total of 175 thousand larvae were obtained. The success rate of inducing triploid was 100% by measuring erythrocyte size. These results showed that the mass production of triploid larvae for aquaculture is quite possible.

#### 2) Juvenile mass production

157 thousand triploid larvae were reared with the normal rearing method in a 20 t tank. As a result, the survival rate until juvenile (mean BW:0.08g) was 59.2%. This result also showed that the mass production of triploid juveniles is quite possible.

#### 3) Rearing from juvenile to adult

10 thousand triploid juveniles were reared to adult in a 80 t tank. As a result, the mortality was similar to that of normal rearing, but the variance of growth became larger as days went by.

In the maturity season, the gonads of the triploid male developed, and the secondary sexual characteristics appeared. But, the gonads of the triploid female did not develop, and the secondary sexual characteristics did not appear.

These results showed that rearing of the triploid from juvenile to adult is quite possible with the normal rearing method.

#### 4) Flavor test

In flavor tests of newly spawned triploids in the cooking style of Shioyaki, i.e. grilled and seasoned with salt, the taste and the feeling of grease were similar to those of the diploid, and the fragrance and firmness of the fish were a little inferior to those of the diploid, however as a whole, the flavor of the triploid was not so different from that of the diploid.

In the flavor test of the one-year-old triploid female, the flavor through Shioyaki was inferior to that of newly spawned diploid, but the flavor of Arai (Sashimi, i.e; raw slices) was superior to that of the diploid.

The triploid females which grew larger in the following year had small abdomens because the gonads did not develop, and therefore, there was large edible part in triploid female suitable for Sashimi, raw fish.

### 4. Improvement of triploid

Two fundamental improvements have been identified for the practical use of triploid in the aquaculture industry. The first point is making all females triploid, and the second point is creating genetic equality.

The clone is necessary for the simultaneous improvement of the two problems.

All female and genetically equal triploids are obtained by using female clones and masculinized clones. This method has become technically possible with ayu.

In the near future, more practical production of all-female hetero-clone triploids will be possible by using two superior clones which have different characteristics.

Appendix Table 1. List of reports on autotriploids and their author, prior to 1988.  
(extracted from bibliography by T.J.Benfey, 1989)

Fish species*	Method of shock	Author (Year)
Black Sea-Azov Sea sturgeon	Heat	Vosetskii (1967)
White sturgeon	Heat	Kowtal (1987)
Pink salmon	Heat	Utter <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Chernenko (1985)
Chum salmon	Pressure	Benfey <i>et al.</i> (1987)
	Pressure	Yamano <i>et al.</i> (1988)
	Pressure	Arai (1984)
	Colchicine	
	Formalin	Chernenko (1985)
Coho salmon	Heat	
	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
	Pressure	Benfey <i>et al.</i> (1988)
	Cold	Refstie <i>et al.</i> (1982)
	Heat	Utter <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Johnson <i>et al.</i> (1986)
	Heat	Chernenko (1985)
	Heat	Parsons <i>et al.</i> (1986)
	Heat	Phillips <i>et al.</i> (1986)
	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
	Pressure	Benfey <i>et al.</i> (1987)
	Pressure	Small and Benfey (1987)
Chinook salmon	Nitrous oxide	Benfey and Donaldson (1988)
	Pressure	Small and Randall (1988)
	Heat	Utter <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Johnson <i>et al.</i> (1984)
	Heat	Hill <i>et al.</i> (1985)
Rainbow trout	Heat	Phillips <i>et al.</i> (1986)
	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
	Colchicine	Lieder (1964)
	Cold	Purdom and Lincoln (1973)
	Cytochalasin B	Refstie <i>et al.</i> (1977)
	Heat	Chourrout (1980)
	Heat	Thorgaard <i>et al.</i> (1981)
	Heat	Chourrout and Quillet (1982)
	Heat	Chevassus <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Lincoln and Scott (1983)
	Heat	Scheerer and Thorgaard (1983)
	Pressure	Yamazaki (1983)
	Pressure	Chourrout (1984)
	Heat	Lincoln and Bye (1984)
	Ether	
Heat	Lou and Purdom (1984)	
Pressure		
Heat	Solar <i>et al.</i> (1984)	
Heat	Sumpter <i>et al.</i> (1984)	
Cytochalasin B	Bolla and Refstie (1985)	

Appendix Table 1. (cont)

Fish species*	Method of shock	Author (Year)	
cont	Heat	Choubert and Blanc (1985)	
	Heat	Leary <i>et al.</i> (1985)	
	Pressure	Okada (1985)	
	Heat	Purdom <i>et al.</i> (1985)	
	Heat	Solar and Donaldson (1985)	
	Heat	Allendorf <i>et al.</i> (1986)	
	Heat	Almeida (1986)	
	Heat	Benfey <i>et al.</i> (1986)	
	Heat	Dorson and Chevassus (1986)	
	Heat	Forster <i>et al.</i> (1986)	
	Heat	Johnstone and Lincoln (1986)	
	Heat	Kim <i>et al.</i> (1986)	
	Heat	Parsons <i>et al.</i> (1986)	
	Heat	Phillips <i>et al.</i> (1986)	
	Nitrous oxide	Shelton <i>et al.</i> (1986)	
	Polyethylene glycol	Ueda <i>et al.</i> (1986)	
	Heat	Blanc <i>et al.</i> (1987)	
	Pressure	Boulanger (1987)	
	Heat	Chourrout and Nakayama (1987)	
	Nitrous oxide	Johnstone <i>et al.</i> (1987)	
	Heat	Nakamura <i>et al.</i> (1987)	
	Heat	Oliva-Teles and Kaushik (1987)	
	Heat	Quillet <i>et al.</i> (1987)	
	Pressure	Sakai <i>et al.</i> (1987)	
	Pressure	Ueda <i>et al.</i> (1987)	
	Heat	Happe <i>et al.</i> (1988)	
	Kamchatkan trout	Heat	Chernenko (1985)
Cold		Lincoln <i>et al.</i> (1974)	
Atlantic salmon	Cytochalasin B	Refstie <i>et al.</i> (1977)	
	Cytochalasin B	Allen and Stanley (1979)	
	Heat	Holmefjord <i>et al.</i> (1983)	
	Heat	Benfey and Sutterlin (1984)	
	Pressure	Benfey and Sutterlin (1984)	
	Cytochalasin B	Bolla and Refstie (1985)	
	Heat	Graham <i>et al.</i> (1985)	
	Heat	Johnstone (1985)	
	Heat	Fox <i>et al.</i> (1986)	
	Heat	Glebe <i>et al.</i> (1986)	
	Pressure	Johnstone (1987)	
	Pressure	Small and Benfey (1987)	
	Heat	Sutterlin <i>et al.</i> (1987)	
	Brown trout	Heat	Scheerer and Thorgaad (1983)
		Heat	Arai and Wilkins (1987)
	Arctic char	Heat	Glebe <i>et al.</i> (1986)
	Brook char	Colchicine	Smith and Lemoine (1979)
Cold		Lemoine and Smith (1980)	
Heat		Scheerer and Thorgaad (1983)	

Appendix Table 1. (cont)

Fish species*	Method of shock	Author (Year)
Japanese char	Pressure	Arai (1984)
Ayu	Cold	Taniguchi <i>et al.</i> (1985)
	Cold	Ueno <i>et al.</i> (1986)
	Pressure	Taniguchi <i>et al.</i> (1988)
Gwyniad	Cold	Svardson (1945)
Northern pike	Cold	Lieder (1964)
Grass carp	Cold	
	Cytochalasin B	Cassani and Caton (1985)
	Heat	
	Pressure	Cassani and Caton (1986)
	Cold	
	Heat	Thompson <i>et al.</i> (1987)
Carp	Cold	Makino and Ozima (1943)
	Cold	Ozima and Makino (1978)
	Cold	Gervai <i>et al.</i> (1980)
	Colchicine	
	Cold	Meriwether (1980)
	Cold	Ueno (1984)
	Cold	Taniguchi <i>et al.</i> (1986)
	Cold	Wu <i>et al.</i> (1986)
Willow gudgeon	Cold	Ueno (1985)
Rose bitterling	Cold	Ueno and Arimoto (1982)
Japanese common loach	Cold	Suzuki <i>et al.</i> (1985)
	Cold	Chao <i>et al.</i> (1986)
Loach	Pressure	Vasetskii <i>et al.</i> (1984)
European catfish	Cold	Krasznai <i>et al.</i> (1984)
	Cold	Krasznai and Marian (1986)
Channel catfish	Cold	Wolters <i>et al.</i> (1981)
	Cold	Chrisman <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Bidwell <i>et al.</i> (1985)
African catfish	Cold	Henken <i>et al.</i> (1987)
	Cold	Richter <i>et al.</i> (1987)
Threespine stickleback	Cold	
	Heat	Swarp (1956)
Medaka	Heat	Naruse <i>et al.</i> (1985)
	Colchicine	Sriramulu (1962)
Perch	Colchicine	
	Cold	Lieder (1964)
Tilapia ( <i>O.aureus</i> )	Cold	
	Heat	Valenti (1975)
	Heat	Don and Avtalion (1986)
	Heat	Penman <i>et al.</i> (1987)
	Cold	Don and Avtalion (1988)
Tilapia ( <i>O.mossambicus</i> )	Heat	Pandian and Varadaraj (1987)
	Heat	Penman <i>et al.</i> (1987)

Appendix Table 1. (cont)

Fish species*	Method of shock	Author (Year)
cont	Colchicine	
	Cold	
	Cytochalasin B	
	Ether	Varadaraj and Pandian (1988)
	Heat	
	Pressure	
Tilapia ( <i>O.niloticus</i> )	Heat	Chourrout and Itskovich (1983)
	Heat	Shah and Beardmore (1986)
	Heat	Penman <i>et al.</i> (1987)
	Cold	
	Heat	Don and Avtalion (1988)
Hirame	Cold	Tabata <i>et al.</i> (1986)
Plaice	Cold	Purdom (1972)
	Cold	Lincoln (1981)
Winter flounder	Cold	Hoornbeek and Burke (1981)

Note: Cases in which the technique was not known and triploidy was spontaneous, are omitted

\*Common name: Scientific name

Black Sea-Azov Sea sturgeon: *Acipenser guldenstadti colchicus*

White sturgeon: *Acipenser transmontanus*

Chum salmon: *Oncorhynchus keta*

Chinook salmon: *Oncorhynchus tshawytscha*

Kamchatkan trout: *Salmo mykiss*

Brown trout: *Salmo trutta*

Brook char: *Salvelinus fontinalis*

Ayu: *Plecoglossus altivelis*

Northern pike: *Esox lucius*

Carp: *Cyprinus carpio*

Willow gudgeon: *Gnathopogon elongatus caeruleus*

Rose bitterling: *Rhodeus ocellatus ocellatus*

Japanese common loach: *Misgurnus anguillicaudatus*

Loach: *Misgurnus fossilis*

Channel catfish: *Ictalurus punctatus*

Threespine stickleback: *Gasterosteus aculeatus*

Medaka: *Oryzias latipes*

Tilapia (*O.aureus*): *Oreochromis aureus*

Tilapia (*O.mossambicus*): *Oreochromis mossambicus*

Tilapia (*O.niloticus*): *Oreochromis niloticus*

Hirame: *Paralichthys olivaceus*

Winter flounder: *Pseudopleuronectes americanus*

Pink salmon: *Oncorhynchus gorbuscha*

Coho salmon: *Oncorhynchus kisutch*

Rainbow trout: *Salmo gairdneri*

Atlantic salmon: *Salmo salar*

Arctic char: *Salvelinus alpinus*

Japanese char: *Salvelinus leucomaenis*

Gwyniad: *Coregonus lavaretus*

Grass carp: *Ctenopharyngodon idella*

European catfish: *Silurus glanis*

African catfish: *Clarias gariepinus*

Perch: *Perca fluviatilis*

Plaice: *Pleuronectes platessa*

Appendix Table 2. List of reports on autotriploid by breeding of tetraploid×diploid and their author, prior to 1988. (quotation from bibliography by T.J.Benfey, 1989)

Fish species	Breeding ♀ × ♂	Author (Year)
Rainbow trout*	2N × 4N	Chourrout <i>et al.</i> (1986)
	2N × 4N	Blank <i>et al.</i> (1987)
	2N × 4N	
	4N × 2N	Chourrout and Nakayama (1987)
	2N × 4N	Oliva-Tales and Kaushik (1987)
	2N × 4N	Quillet <i>et al.</i> (1988)

\*scientific name: *Salmo gairdneri*

Appendix Table 3. List of reports on induced allotriploids and their author, prior to 1988.  
(extracted from bibliography by T.J.Benfey, 1989)

Spawners* female × male	Method of shock	Author (Year)
Pink salmon		
×Chinook salmon	Heat	Utter <i>et al.</i> (1983)
×Japanese char	Pressure	Yamano <i>et al.</i> (1988)
Chum salmon		
×Coho salmon	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
×Chinook salmon	Heat	Seeb and Seeb (1986)
	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
×Brook char	Pressure	Arai (1986)
×Japanese char	Pressure	Arai (1984)
Coho salmon		
×Chum salmon	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
×Sockeye salmon	Pressure	Benfey and Donaldson (1988)
×Chinook salmon	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
	Pressure	Benfey and Donaldson (1988)
×Rainbow trout	Heat	Parsons <i>et al.</i> (1986)
Sockeye salmon		
×Coho salmon	Pressure	Benfey and Donaldson (1988)
Chinook salmon		
×Pink salmon	Heat	Utter <i>et al.</i> (1983)
×Chum salmon	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
×Coho salmon	Heat	Seeb <i>et al.</i> (1986)
Cutthroat trout		
×Rainbow trout	Heat	Rohrer and Thorgaard (1986)
Rainbow trout		
×Coho salmon	Heat	Chevassus <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Dorson and Chevassus (1985)
	Heat	Parson <i>et al.</i> (1986)
	Heat	Quillet <i>et al.</i> (1987)
×Cutthroat trout	Heat	Rohrer (1982)
×Atlantic salmon	Heat	Purdom <i>et al.</i> (1985)
×Brown trout	Heat	Chevassus <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Scheerer and Thorgaard (1983)
	Heat	Quillet <i>et al.</i> (1987)
×Brook char	Heat	Chevassus <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Scheerer and Thorgaard (1983)
	Heat	Dorson and Chevassus (1986)
	Heat	Quillet <i>et al.</i> (1988)
×Grayling	Heat	Chourrout (1986)
Atlantic salmon		
×Brown trout	Cold	Svardson (1945)
	Heat	Holmefjord <i>et al.</i> (1983)
×Arctic char	Heat	Holmefjord <i>et al.</i> (1983)
	Heat	Glebe <i>et al.</i> (1986)
Brown trout		
×Rainbow trout	Heat	Scheerer and Thorgaard (1983)
	Heat	Purdom <i>et al.</i> (1985)

Appendix Table 3. (cont)

Spawners* female × male	Method of shock	Author (Year)	
(Brown trout)			
×Brook char	Heat	Scheerer and Thorgaard	(1983)
	Heat	Scheerer <i>et al.</i>	(1987)
Brook char			
×Rainbow trout	Heat	Scheerer and Thorgaard	(1983)
×Brown trout	Heat	Scheerer and Thorgaard	(1983)
Japanese cher			
×Chum salmon	Pressure	Arai	(1984)
Tilapia ( <i>O.aureus</i> )			
×Tilapia ( <i>O.niloticus</i> )	Heat	Don and Avtalion	(1988)
Tilapia ( <i>O.niloticus</i> )			
×Tilapia ( <i>O.aureus</i> )	Heat	Don and Avtalion	(1988)
	Heat	Chourrout and Itskovich	(1983)
Plaice			
×Flounder	Cold	Purdom	(1972)
	Cold	Lincoln	(1981)
×(Plaice×Flounder)			
Hybrid	Cold	Purdom	(1972)

Note: Cases in which triploidy was spontaneous are omitted

\*Common name: Scientific name

Pink salmon: *Oncorhynchus gorbuscha*

Chinook salmon: *Oncorhynchus tshawytscha*

Japanese char: *Salvelinus leucomaenis*

Coho salmon: *Oncorhynchus kisutch*

Rainbow trout: *Salmo gairdneri*

Atlantic salmon: *Salmo salar*

Brook char: *Salvelinus fontinalis*

Arctic char: *Salvelinus alpinus*

Tilapia (*O.aureus*): *Oreochromis aureus*

Tilapia (*O.niloticus*): *Oreochromis niloticus*

Plaice: *Pleuronectes platessa*

Chum salmon: *Oncorhynchus keta*

Sockeye salmon: *Oncorhynchus nerka*

Cutthroat trout: *Salmo clarki*

Brown trout: *Salmo trutta*

Grayling: *Thymallus thymallus*

Flounder: *Platichthys flesus*

Appendix Table 4. List of researches on inducement of triploid fish in Japan, prior to 1990.

Fish species*	Method of shock	Author (Year)
Carp	Cold	Ojima and Makino (1978)
	Cold	Ueno (1984)
Fancy carp	Cold	Taniguchi <i>et al.</i> (1986)
	Heat	Taniguchi <i>et al.</i> (1990)
Goldfish	Cold	Oshiro (1987)
Loach	Cold	Suzuki <i>et al.</i> (1985)
Rose bitterling	Cold	Ueno (1982)
Biwa gudgeon	Cold	Ueno (1985)
Tilapia ( <i>O.niloticus</i> )	Cold	Ueno and Itomizu (1986)
Rainbow trout	Pressure	Onozato (1983)
	Pressure	Yamazaki (1983)
	Polyethylene glycol**	Ueda <i>et al.</i> (1986)
	Heat	Nakamura <i>et al.</i> (1987)
	High pH,High Ca sol	Ueda <i>et al.</i> (1988)
Masu salmon	Pressure	Onozato (1985)
Japanese char		
×Chum salmon	Pressure	Arai (1984)
Chum salmon		
×Brook trout	Pressure	Arai (1986)
Pink salmon		
×Japanese char	Pressure	Yamano <i>et al.</i> (1988)
Ayu	Cold	Taniguchi <i>et al.</i> (1985)
	Cold	Ueno <i>et al.</i> (1986)
	Pressure	Taniguchi <i>et al.</i> (1988)
Red sea bream	Cold	Harada <i>et al.</i> (1984)
	Cold	Sugama <i>et al.</i> (1988)
Black sea bream	Cold	Sugama <i>et al.</i> (1988)
Hirame	Cold	Harada <i>et al.</i> (1984)
	Cold	Tabata <i>et al.</i> (1989)

\*Common name: Scientific name

Carp: *Cyprinus carpio*

Goldfish: *Carassius auratus*

Rose bitterling: *Rhodeus ocellatus ocellatus*

Biwa gudgeon: *Gnathopogon elongathus caerulescens*

Tilapia(*O.niloticus*): *Oreochromis niloticus*

Rainbow trout: *Salmo gairdneri*

Japanese char: *Salvelinus leucomaenis*

Chum salmon: *Oncorhynchus keta*

Pink salmon: *Oncorhynchus gorbuscha*

Ayu: *Plecoglossus altivelis*

Black sea bream: *Acanthopagrus schlegeli*

Hirame: *Paralichthys olivaceus*

Fancy carp: *Cyprinus carpio*

Loach: *Misgurnus anguillicaudatus*

Masu salmon: *Oncorhynchus masou*

Brook trout: *Salvelinus fontinalis*

Red sea bream: *Pagrus major*

\*\*used sperm fusion

Appendix Table 5. List of prefectural researches on fish triploidy and gynogenesis in Japan (1991); Fisheries Agency, 1992.

Prefecture's name	Research theme and fish species		
	Triploidy	Gynogenesis	Other theme
Hokkaido	Masu salmon Coho salmon Rainbow trout	Masu salmon Coho salmon Atlantic salmon Rainbow trout	Tetraploidy Preservation of sperm Super male
Aomori	Rainbow trout	Rainbow trout Masu salmon	
Iwate	Rainbow trout Masu salmon Masu trout	Rainbow trout Masu salmon Masu trout	Preservation of sperm
Miyagi	Coho salmon Masu trout Rainbow trout	Coho salmon	
Akita		Hirame	
Yamagata	Masu trout	Masu trout Rainbow trout	Allotriploidy Preservation of sperm
Fukushima	Rainbow trout	Masu trout Masu salmon Fancy carp	
Ibaragi	Rainbow trout Masu trout		
Tochigi	Rainbow trout	Ayu Kokanee salmon	Preservation of sperm
Gunma	Ayu	Ayu Fancy carp Rainbow trout	
Saitama		Goldfish Fancy carp Rainbow trout	
Chiba	Hirame	Loach Hirame	
Tokyo	Masu trout	Masu trout Goldfish Rainbow trout	
Kanagawa	Ayu Pejerrey	Ayu Masu trout Hirame	Preservation of sperm
Yamanashi	Rainbow trout	Rainbow trout Fancy carp	Allotriploidy
Nagano	Rainbow trout Lake whitefish	Rainbow trout	Tetraploidy
Niigata	Fancy carp Tilapia	Hirame Fancy carp	Androgenesis
Toyama	Masu salmon	Masu salmon	
Ishikawa	Masu salmon	Hirame	Allotriploidy
Fukui		Hirame	Preservation of sperm
Shizuoka	Rainbow trout	Rainbow trout Amago salmon	

Appendix Table 5. (cont)

Prefecture's name	Research theme and fish species			
	Triploidy	Gynogenesis	Other theme	
Gifu	Ayu	Ayu		
Aichi	Amago salmon	Amago salmon	Allotriploidy	
	Rainbow trout	Goldfish		
	Amago salmon			
Mie	Amago salmon	Amago salmon		
	Shiga	Rainbow trout		
Osaka	Deepbodied crucian carp	Biwa gudgeon		
		Round crucian carp		
		Rainbow trout		
		Amago salmon		
		Deepbodied crucian carp		
Wakayama		Ayu		
Hyogo		Hirame		Allotriploidy
Okayama		Amago salmon		
Hiroshima	Mud dab	Mud dab		
		Ocellate puffer		
		Fancy carp		
Tottori		Hirame		
Shimane		Hirame		
Yamaguchi		Ayu		
Kagawa	Sand borer	Hirame		
		Mud dab		
Ehime		Amago salmon		
Tokushima		Ayu	Androgenesis	
		Amago salmon		
Kochi	Ayu	Ayu		
Fukuoka	Ayu	Red Sea bream		
	Carp	Ayu		
Nagasaki		Carp		
Oita	Amago salmon	Ocellate puffer		
	Masu trout			
Kumamoto	Red Sea bream	Hirame		
Miyazaki	Rainbow trout	Ayu	Preservation of sperm	
	Masu trout			
Kagoshima	Tilapia	Hirame	Androgenesis	
	Hirame			

## 文 献

- Aliah, R.S., K.Yamaoka, Y.Inada, and N.Taniguchi (1990): Effect of triploidy on tissue structure of some organs in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, (4), 569-575.
- Aliah, R.S., Y.Inada, K.Yamaoka, and N.Taniguchi (1991): Effect of triploidy on hematological characteristics and oxygen consumption in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(5), 833-836.
- Allen, S.K.Jr., R.G.Thiery, and N.T.Hagstrom (1986): Cytological evaluation of the likelihood that triploid grass carp will reproduce. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 115, 841-848.
- Allen, S.K.Jr., and R.J.Wattendorf (1986): A review of the production and quality control of triploid grass carp and progress in implementing sterile triploids as management tools in the US. *Aquaculture*, 57, 359-379.
- Arai, K. (1984): Development genetic studies on salmonids: morphogenesis, isozyme phenotypes and chromosomes in hybrid embryos. *Men. Fac. Fish. Hokkaido. Uni*, 31, 1-94.
- Arai, K. (1986): Effect of allotriploidization on development of the hybrids between female chum salmon and male brook trout. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 52, 823-829.
- Benfey, T.J. and A.M.Sutterlin (1984): The haematology of triploid landlocked Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish. Biol.*, 24, 333-338.
- Benfey, T.J., A.M.Sutterlin, and R.J.Thompson (1984): Use of erythrocyte measurements to identify triploid salmonids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41, 980-984.
- Benfey, T.J. and A.M.Sutterlin (1984): Growth and gonadal development in triploid landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41, 1387-1392.
- Benfey, T.J. and A.M.Sutterlin (1984): Oxygen utilization by triploid landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 42, 69-73.
- Benfey, T.J. and I.I.Solar, G.de Jong, and E.M.Donaldson (1986): Flowcytometric confirmation of aneuploid in sperm from triploid rainbow trout. *Am. Fish. Soc.*, 115, 838-840.
- Benfey, T.J. and E.M.Donaldson (1988): Triploidy in the culture of Pacific salmon. In: *Proc. Aquaculture International Congress (Vancouver, Canada; Sept.6-9), British Columbia Pavilion Corp.*, 549-554.
- Benfey, T.J., P.G.Bosa, N.L.Richardson and E.M.Donaldson (1988): Effectiveness of commercial-scale pressure shocking device for producing triploid salmonids. *Aquaculture*, 7, 147-154.
- Benfey, T.J. (1989): A bibliography of triploid fish, 1943 to 1988. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1682, 1-33.
- Benfey, T.J., H.M.Dye, I.I.Solar and E.M.Donaldson (1989): The growth and reproductive endocrinology of adult triploid Pacific salmonids. *Fish. Physiol. Biochem.*, 6(2), 113-120.
- Benfey, T.J., H.M.Dye and E.M.Donaldson (1989): Estrogen-induced vitellogenin production by triploid coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), and its effect on plasma and pituitary gonadotropin. *General and Comparative Endocrinology*, 75, 83-87.
- Cassani, J.R., W.E.Caton and B.Clark (1984): Morphological comparison of diploid and triploid hybrid grass carp, *Ctenopharyngodon idella* ♀ × *Hypophthalmichthys nobilis* ♂. *J. Fish. Biol.*, 25, 269-278.
- Cassani, J.R. and W.E.Caton (1986): Growth comparisons of diploid and triploid grass carp under varying conditions. *Prog. Fish-Cult.*, 48, 184-187.
- Chernenko, E.V. (1985): Induction of triploidy in Pacific salmon (*Salmonidae*). *J. Ichthyol.*, 25 (4), 124-130.
- Chevassus, B., R.Guyomard, D.Chourrout and E.Quillet (1983): Production of viable hybrid in salmonids by triploidization. *Genet. Sel. Evol.*, 15, 519-532.
- Choubert, G. and J-M.Blanc (1985): Flesh colour of diploid and triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri* RICH.). *Fed. canthaxanthin. Aquaculture*, 47, 299-206.
- Chourrout, D., B.Chevassus, F.Krieg, A.Happe, G.Burger and P.Renard (1986): Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid male and diploid female potential of tetraploid Fish. *Theor. Appl. Genet.*, 72, 193-206.
- Don, J. and R.R.Avtalion (1988): Comparative study on the induction of triploidy in tilapias, using cold and heat-shock techniques. *J. Fish. Biol.*, 665-672.
- 江草周三 (1978): 魚の感染症, 初版, 恒星社厚生閣, 東京, 462-465.
- 江草周三・窪田三郎・宮崎照雄 (1979): 魚の病理組織学, 水産学シリーズ. 東京大学出版会, 東京, 78-79.

- Forster, M., R.Klupp and L.Mayer (1986): Erzeugung triploider regenbogenforellen unter praxisbedingungen. *Fischer Teichwirt*, 37(4), 98-100.
- 舟橋紀男・宮崎照雄・小寺和郎・窪田三郎 (1974): アユのビブリオ病の病理組織学的研究. *魚病研究*, 8, 136-143.
- Gervai, J., S.Peter, A.Nagy, L.Horvath and V.Gsany (1980): Induced triploid in carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish. Biol.*, 17, 667-671.
- 岐阜県水産試験場(1989): 木曾川産三倍体アユの特性評価試験. 「昭和63年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書」, 水産資源保護協会, 東京, 175-196.
- 岐阜県水産試験場(1990): 木曾川産三倍体アユの特性評価試験. 「平成元年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書」, 水産資源保護協会, 東京, 171-197.
- 岐阜県水産試験場(1991): 木曾川産三倍体アユの特性評価試験. 「平成2年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書」, 水産資源保護協会, 東京, 181-211.
- Graham, M.S., G.L.Fletcher and T.J.Benfey (1985): Effect of triploid on blood oxygen content of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 50, 133-139.
- 群馬県水産試験場(1989): 湖産・海産交雑三倍体アユの特性評価試験. 「昭和63年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書」, 水産資源保護協会, 東京, 197-235.
- 群馬県水産試験場(1990): 湖産・海産交雑三倍体アユの特性評価試験. 「平成元年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書」, 水産資源保護協会, 東京, 198-251.
- 群馬県水産試験場(1991): 湖産・海産交雑三倍体アユの特性評価試験. 「平成2年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書」, 水産資源保護協会, 東京, 212-243.
- 群馬県水産試験場, 岐阜県水産試験場(1992): 三倍体アユ特性評価試験. 「昭和63年度～平成3年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書(第2分冊). 作出生物の特性評価試験」, 水産資源保護協会, 東京, 99-192.
- Han, H-S., N.Taniguchi and A.Tsujimura (1991): Production of clone ayu by chromosome manipulation and confirmation by isozyme marker and tissue grafting. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(5), 825-832.
- Han, H-S., H.Mannen, A.Tsujimura and N.Taniguchi (1992): Application of DNA fingerprinting to confirmation of clone in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58(11), 2027-2031.
- Happe, A., E.Quillet and B.Chevassus (1988): Early life history of triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, 71, 107-118.
- 畑中宏之・稲田善和・谷口順彦(1991): 三倍体アユの当歳魚および越年魚における成長と成熟. *水産増殖*, 39(3), 241-247.
- 原田輝雄・村田修・宮下盛・上野紘一(1984): ヒラメの人為3倍体の生産. 昭和59年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 147.
- 原田輝雄・宮下盛・村田修・上野紘一(1984): マダイの人為3倍体の生産. 昭和59年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 146.
- Henken, A.M., A.M.Brunink and C.J.J.Richer(1987): Differences in growth rate and feed utilization between diploid and triploid African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquaculture*, 63, 233-242.
- Honda, H.(1979): Female sex pheromon of the ayu, *Plecoglossus altivelis*, involved in courtship behavior. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 45(11), 1375-1380.
- 今井弘民(1983): 染色体観察の手引き(1). *遺伝*, 37(1), 98-104.
- 石田実(1987): アユ解説. 「魚類解剖図鑑」(落合明), 緑書房, 東京, 81-36
- 石田力三(1959): アユの産卵生態-I. 産卵群の構造と産卵行動. *日水誌*, 25(4), 259-268.
- 伊丹利明・高橋幸則・佐藤和也(1987): アユの体表粘液における溶菌活性. *日水誌*, 53(3), 401-406.
- 板沢靖男(1981): 魚類試験法・呼吸生理実験法「実験動物としての魚類」(江上信雄), ソフトサイエンス社, 東京, 243-257.
- 伊藤文成・山口元吉・井口恵一郎・征矢野清・山内平(1990): 3倍体アユの産卵への参加の可能性. 平成2年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 57.
- 城泰彦(1981): アユの *Vibrio anguillarum* 感染症とその予防疫. *四国医学雑誌*, 37(1), 82-110.
- Johnson, O.W., W.W.Dickhoff and F.M.Utter(1986): Comparative growth and development of diploid and triploid coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, 57, 329-336.
- Johnstone, R. and R.F.Lincoln(1986): Ploidy estimation using erythrocytes from formalin-fixed salmonid fry. *Aquaculture*, 55, 145-148.
- Kawai, K., R.Kusuda and T.Itami(1981): Mechanisms of protection in ayu orally vaccinated for vibriosis. *Fish Pathol.*, 15, 257-262.
- Kawano, K., T.Aoki and T.Kitao(1983): Immersion vaccination and water-born challenge of ayu (*Plecoglossus altivelis*) against vibriosis. *Fish Pathol.*, 18, 143-149.
- 川津浩嗣(1981): 魚類試験法・血液検査法. 「実験動物としての魚類」(江上信雄), ソフトサイエンス社,

- 東京, 228-242.
- Kitamura, H., O.Y. Teong and T. Arakawa (1991): Gonadal development of artificially induced triploid red sea bream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(9), 1657-1660.
- Kitamura, S., H. Ogata and H. Onozato (1991): Triploid male masu salmon *Oncorhynchus masou* shows normal courtship behavior. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(11), 2175.
- 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.
- 国立予防衛生研究所学友会 (1973): ウィルス実験学総論, 改訂二版, 丸善, 東京, 479-480.
- Konishi, Y., H. Onozato, A. Yamamoto and K. Fujimori (1991) Characteristics of lysosomal hydrolytic pathway of glycogen in striated muscle of diploid and triploid masu salmon. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(5), 943-949.
- Kranzai, Z. and T. Marian (1986): Shock-induced triploidy and its effect on growth and gonad development of the European catfish, *Silurus glanis* L. *J. Fish. Biol.*, 29, 519-527.
- 楠田理一・杉山昭博・川合研児・稲田善和・米田実 (1981): アユに対する *Streptococcus* sp ならびに *Vibrio anguillarum* の病原性について. *日水誌*, 47(8), 993-997.
- 桑田知宣・松田宏典・臼田博 (1992): 三倍体アユ雄魚の生殖能力について. *岐阜水試研報*, 37, 9-14.
- Lincoln, R.F. (1981): Sexual maturation in triploid male plaice (*Pleuronectes platessa*) and plaice × flounder (*Platichthys flesus*) hybrids. *J. Fish. Biol.*, 19, 415-426.
- Lincoln, R.F. and A.P. Scott (1983): Production of all-female triploid rainbow trout. *Aquaculture*, 30, 375-380.
- Lincoln, R.F. and A.P. Scott (1984): Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish. Biol.*, 25, 385-392.
- Makino, S. and Y. Ojima (1943): Formation of the diploid eggs nucleus due to suppression of the second maturation division, induced by refrigeration of fertilized eggs of the carp, *Cyprinus carpio*. *Cytologia*, 13, 55-60.
- 松元文子 (1984): 調理のための食品成分表, 第4版, 柴田書店, 東京, 49
- 宮崎統五 (1991): 不稔三倍体サクラマス, *Oncorhynchus masu* のスモルト化率及び海水移行後の血清ナトリウムイオン濃度. *水産増殖*, 39(4), 381-385.
- 宮地伝三郎 (1969): アユの話. 岩波書店, 東京, 1-226.
- 宮地伝三郎・川那辺浩哉・水野信彦 (1979): アユ. 「原色日本淡水魚類図鑑」, 保育社, 大阪, 108-114.
- Muroga, K. and M.C. De La Cruz (1987): Fate and location of *Vibrio anguillarum* in tissues of artificially infected ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Fish Pathol.*, 22, 99-103.
- 中賢治 (1987): 琵琶湖の人工河川. 滋賀県水産試験場研究報告, 39, 243-251.
- 長浜嘉幸 (1991): 生殖: 配偶子形成の制御機構. 「魚類生理学」(坂沢靖男, 羽生功), 恒星社厚生閣, 東京, 243-286.
- 中村将・長浜嘉孝・岩橋将男 (1987): ニジマス三倍体の生殖腺と皿中ステロイドホルモン. *日水誌*, 53(6), 1105.
- 西田睦 (1978): びわ湖のコアユの産卵生態. *日水誌*, 44(6), 577-585.
- 越知吾一 (1957): 日本における *Metagonimus* 属吸虫の研究. *東京医事新誌*, 74, 581-599.
- Ogawa, K. and S. Egusa (1978): Seven species of *Gyrodactylus* (*Monogenea: Gyrodactylidae*) from *Plecoglossus altivelis* (*Plecoglossidae*), *Cyprinus carpio* (*Cyprinidae*) and *Anguilla* spp (*Anguillidae*). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 44(6), 613-618.
- Ojima, Y. and S. Makino (1978): Triploidy induced by cold-shock in fertilized eggs of the carp. A Preliminary Study. *Proc. Japan Academy*, 54B, 359-362.
- 岡田鳳二 (1985): ニジマスの人為的性統御に関する研究. *北海道水産孵化場研報*, 40, 1-49.
- 小野里担 (1983): 魚類の人為倍数化とその利用. *水産育種*, 8, 17-29.
- 小野里担 (1985): サクラマスの人為三倍体について. 昭和60年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 64.
- 尾城隆・藪内秀樹・会田勝美 (1987): 不妊魚作出に関する研究・三倍体キンギョ0年魚の性成熟について. 昭和61年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 119.
- 落合明 (1987): 魚類解剖学, 初版, 緑青房, 東京, 35-61.
- Parson, J.E., R.A. Bush, G.H. Thorgaard and P.D. Scheerer (1986): Increased resistance of triploid rainbow trout × coho salmon hybrid to infectious hematopoietic necrosis virus. *Aquaculture*, 57, 337-343.
- Penman, D.J., D.O.F. Skibinski and J.A. Beardmore (1987): Survival, growth rate and maturity in triploid tilapia. In: *Proc. Ward Symp. Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture*, Vol. II, 227-288.
- Purdom, C.E. (1983): Genetic engineering by the manipulation of chromosomes. *Aquaculture*, 33,

- 287-300.
- Quillet, E., B. Chevassus and F. Krieg (1987): Characterization of auto and allotriploid salmonids for rearing in seawater cages. In: Proc. Ward Symp. Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture, Vol. II, 239-252.
- Quillet, E., B. Chevassus, J.-M. Blank, F. Krieg and D. Chourrout (1988): Performances of auto and allotriploid in salmonids. I. Survival and growth in fresh water farming. *Aquat. Living Resour.*, 1, 29-43.
- Scheerer, P. D. and G. H. Thorgaard (1983): Increased survival in salmonid hybrid by induced triploidy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 40, 2040-2044.
- 関伸吾・谷口順彦・村上幸二・米田実 (1984): 湖産アユと海産アユの成長, 成熟および行動の比較. *淡水魚*, 10, 101-104.
- 関伸吾・岸野茂信・谷口順彦 (1986): 3倍体アユの形態と習性. 昭和61年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 445.
- Sezaki, K., S. Watabe and K. Hashimoto (1913): A comparison of chemical composition between diploid and triploid of "Ginbuna" *Carassius auratus langsdorfi*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49(1), 97-101.
- Shelton, C. J., A. G. Macdonald and R. Johnstone (1986): Induction of triploid in Rainbow Trout using Nitrous Oxide. *Aquaculture*, 58, 155-159.
- 島田保子・川端晶子・亀城和子・村山篤子 (1985): 最新調理学実習, 第2版, 学建書院, 東京, 123-150.
- Small, S. A. and T. J. Benfey (1987): Cell size in triploid salmon. *J. Exp. Zool.*, 241, 339-342.
- Solar, I. I., E. M. Donaldson and G. A. Hunter (1984): Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by heat-shock, and investigation of early growth. *Aquaculture*, 42, 57-67.
- 水産庁研究部研究課 (1992): 水産分野におけるバイオテクノロジー研究の現状. 1-5.
- Sugama, K., N. Taniguchi, T. Arakawa and C. Kitajima (1988): Isozyme expression of artificially induced ploidy in red sea bream, black sea bream and their hybrid. *Rep. Usa. Mar. Biol. Inst. Kochi Univ.*, 10, 75-81.
- Sugama, K., N. Taniguchi, S. Seki and H. Nabeshima (1992): Survival, growth and gonad development of triploid red sea bream, *Pagrus major* (Temminck et Schlegel); use of allozyme marker for ploidy and family. *Aquaculture and Fisheries management*, 23, 149-159.
- Sutterlin, A. M., J. Holder and T. B. Benfey (1987): Early survival rate and subsequent morphological abnormalities in landlocked, anadromous and hybrid (landlocked × anadromous) diploid and triploid Atlantic salmon. *Aquaculture*, 64, 157-164.
- Suzuki, R., T. Nakanishi and T. Oshiro (1985): Survival, growth and sterility of induced triploid in the cyprinid loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51(6), 889-894.
- 鈴木亮 (1991): 発生生理とバイオテクノロジー. 「魚類生理学」(板沢靖男, 羽生功), 恒星社厚生閣, 東京, 585-609.
- Swarp, H. (1956): Production of heteroploidy in the three-spined stickback, *Gasterosteus aculeatus* (L.). *Nature*, 178, 1124-1125.
- Swarp, H. (1959): Effect of triploidy on the body size, general organization and cellular structure in *Gasterosteus aculeatus* (L.). *J. Genet.*, 56, 143-155.
- 田畑和男・五利江重昭・川村芳浩 (1989): 3倍体ヒラメの飼育特性と成熟. *水産増殖*, 36(4), 267-276.
- 高橋昌造 (1929): *Metagonimus yokogawai*. *Metagonimus* の一新種および *Exorchis major* の發育史に就いて. *岡山医学会雑誌*, 41, 2678-2755.
- Taniguchi, N., S. Seki, Y. Inada and K. Murakami (1985): Induced triploid in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51(3), 503.
- Taniguchi, N., A. Kijima, T. Tamura, K. Takegami and I. Yamasaki (1986): Color, growth and maturation in ploidy-manipulated fancy carp. *Aquaculture*, 57, 321-328.
- Taniguchi, N., A. Kijima, J. Fukai and Y. Inada (1986): Condition to induce triploid and gynogenetic diploid in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 52(1), 49-53.
- 谷口順彦 (1986): 染色体倍化技術と魚類育種(上). *水産の研究*, 5(5), 86-90.
- 谷口順彦 (1986): 染色体倍化技術と魚類育種(下). *水産の研究*, 5(6), 36-40.
- Taniguchi, N., A. Kijima and J. Fukai (1987): High heterozygosity at Gpi-1 in gynogenetic diploid and triploid of ayu *Plecoglossus altivelis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53(5), 717-720.
- Taniguchi, N., S. Seki, J. Fukai and A. Kijima (1988): Induction of two type of gynogenetic diploid by hydrostatic pressure-shock and verification by genetic marker in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54(9), 1483-1491.
- 谷口順彦 (1989): 染色体操作の遺伝学的意義. 「水産増

- 養殖と染色体操作」(鈴木亮), 恒星社厚生閣, 東京, 104-117.
- 谷口順彦(1990): ニシキゴイの新しい改良法について. 日鱗, 275,28-35.
- Thorgaard, G.H., P.S.Rabinovich, M.H.Shen, G.H.E. Gall, J.Propp and Utter(1982): Triploid rainbow trout identified by flow cytometry. *Aquaculture*, 29,305-309.
- Thorgaard, G.H.(1986): Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture*, 57,57-64.
- Tsukamoto, K., N.Masuda, M.Endo and T.Otake(1990): Behavioral characteristics of ayu, *Plecoglossus altivelis*, as predictive induce for stocking effectiveness in river. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(8),1177-1186.
- 辻村明夫・堀江康浩・畑下成穂(1990): アユの全雌生産に関する検討. 和歌山内水センター事報, 43-63.
- 辻村明夫・堀江康浩・畑下成穂(1991): アユの全雌生産に関する検討. 和歌山内水センター事報, 4-7.
- 辻村明夫・堀江康浩・松本全弘(1992): アユの全雌生産に関する検討. 和歌山内水センター事報, 4-7.
- 辻村明夫・堀江康浩・松本全弘(1992): 雌性発生法によるアユの有用形質の識別・評価に関する研究-II. 和歌山内水センター事報, 8-25.
- Uchida, K., Y.Ikenaga and H.Kariya(1990): Effect of environmental factors on Jumping behavior of the juvenile ayu *Plecoglossus altivelis*, with special reference to their upstream migration. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(9),1393-1399.
- Ueda, T., M.Kobayashi and R.Sato(1986): Triploid rainbow trout induced by polyethylene glycol. *Proc. Japsan. Academy*, 62B,161-164.
- Ueda, T., R.Sato and J.Kobayashi(1988): Triploid rainbow trout induced by high-pH. high-Calcium. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54,2045.
- Ueno, K. and B.Arimoto(1982): Induction of triploid in *Rhodeus ocellatus* by cold-shock treatment of fertilized eggs. *Experimentia*, 38,544-546.
- Ueno, K.(1984): Induction of triploid carp and their haematological characteristics. *Jap. J. Genet*, 59,585-591.
- 上野紘一(1985): 3倍体ホンモロコの不妊性と二次性徴. 水産育種, 10,37-41.
- Ueno, K., Y.Ikenaga and H.Kariya(1986): Potentialy of application of triploidy to the culture of ayu, *Plecoglossus altivelis* temminck et Schegel. *Japan. Genet*, 61,71-77.
- 上野紘一(1986): 染色体工学に基づくテトラピア不妊化技術. 養殖, 23(11),102-105.
- Utter, F.M., O.W.Johnson, G.H.Thorgaard and P.S.Rabinovitch(1983): Measurement and potential applications of induced triploidy in Pacific salmon. *Aquaculture*, 35,125-135.
- Varadaraj, K. and T.J.Pandian(1988): Induction of triploids in *Oreochromis mossambicus* by thermal, hydrostatic pressure and chemical-shocks. In: *Proc. Aquaculture International Congress (Vancouver, Canada: Sept.6-9)*, British Columbia Pavilion Corp, 531-535.
- Varadaraj, K. and T.J.Pandian(1990): Production of all-female sterile trioloid *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture*, 84,117-123.
- Wiley, M.J. and L.D.Wike(1986): Energy balance of diploid, triploid, and hybrid grass carp. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 115,853-863.
- Wolters, W.R., G.S.Libey and C.L.Chrisman (1982): Effect of triploidy on growth and gonad development of channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 111,102-105.
- Walters, W.R., C.L.Chrisman and G.S.Libey(1982): Erythrocyte nuclear measurement of diploid and triploid channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. Fish. Biol.*, 29,253-258.
- Wu, C.Ye.Y. and R.Chen(1986): Genome manipulation in carp (*Cyprinus carpio* L). *Aquaculture*, 54,57-61.
- Yamano, K., E.Yamada and F.Yamazaki(1988): Increased viability of allotriploid pink aslmon × Japanese char hybrids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54,1477-1481.
- Yamazaki, F.(1971): A chromosome study of the ayu, a salmonid fish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 37(8),707-710.
- Yamazaki, F.(1983): Sex control and manipulation in fish. *Aquaculture*, 33,329-354