本論文・*Full Paper*

魚類学雑誌 60(1):1–13
2013 年 4 月 25 日発行

トゲウオ亜目魚類精子の比較形態

原　政子 [1,3]・赤川　泉 [2]・川原玲香 [1]

[1] 〒 277–8564　千葉県柏市柏の葉 5–1–5　東京大学大気海洋研究所
[2] 〒 424–8610　静岡県静岡市清水区折戸 3–20–1　東海大学海洋学部
[3] 現住所：〒 179–0075　東京都練馬区高松 4–31–4

（2011 年 5 月 31 日受付 ; 2012 年 11 月 20 日改定 ; 2012 年 11 月 20 日受理）

キーワード：トゲウオ亜目，精子，微細構造

魚 類 学 雑 誌
Japanese Journal of Ichthyology
© The Ichthyological Society of Japan 2013

Masako Hara*, Izumi Akagawa and Ryouka Kawahara. 2013. Comparative morphology of spermatozoa in the Gasterosteoidei. Japan. J. Ichthyol., 60 (1): 1–13.

Abstract The ultrastructure of mature spermatozoan was examined by TEM and SEM for 11 species of Gasterosteoidei: Hypoptychidae (*Hypoptychus dybowski*), Aulorhynchidae (*Aulichthys japonicus*, *Aulorhynchus flavidus*), and Gasterosteidae (*Gasterosteus aculeatus*, *G. wheatlandi*, *Pungitius pungitius*, *P. tymensis*, *P. sinensis*, *P. kaibarae* ssp., *Culaea inconstans*, and *Spinachia spinachia*). All spermatozoa were characteristic of a uniflagellate anachrosomal aquasperm type, but with significant variations. Nuclei, characterized in all species by a very shallow nuclear fossa, were grouped into four morphological types, ranging from an elongate temple bell shape to fully spherical. Coaxial arrangements of the proximal and distal centriole were confirmed in most species. A centriolar plug and accessory appendage were observed in some gasterosteid species, and a centriolar adjunct shared by *Aulorhynchus flavidus* and the gasterosteids. Mitochondria were divided into ring and tube-shaped types, separable at the generic level. Sperm morphology indicated paraphyly of Aulorhynchidae as presently recognized. Similarly, sperm structure did not support our molecular phylogeny placing *Gasterosteus* as the sister taxon of other gasterosteid genera.

**Corresponding author: 4–31–4 Takamatsu, Nerima, Tokyo 179–0075, Japan*

精子は単細胞で単純な構造をしているため，形態比較が容易であると同時に，特異な分類形質として注目されている．特に無脊椎動物では , 精子形態を分類形質とした系統分類学的研究が活発に行われ，分類形質としての精子の位置づけが確立しつつある（Jamieson, 1999abc）．魚類に関しては，相次いで発表された 2 つの総説（Jamieson, 1991; Mattei, 1991）において，魚類の精子形態の特徴と既往の分類体系の知見を総括する中で，下位分類群よりも上位分類群で精子形態が単純化する傾向，および上位分類群中最大の分類群であるスズキ目魚類で精子形態が多様化すること，などが指摘されている．これらの総説により分類形質としての精子の潜在性が強調されたことに続き，1995 年に開催された国際精子学会では , 精子の形態を分類形質と対応させる試みをひとつの学問分野に位置づけ，精子系統学としてあつかうことが主要テーマとして取り上げられた（Jamieson et al., 1995）．魚類の精子系統学への関心がたかまるなかで筆者らは，Jamieson（1991）と Mattei（1991）の総説では観察した魚類の種数が少ないこと，および淡水産魚類の情報に偏っていたことから，日本産の海産魚類や種多様性の著しいハゼ亜目魚類などの精子形態の多様性と系統的意義との関連を解明するための知見を集積してきた（Hara and Okiyama, 1998; 原 , 2003, 2004, 2007, 2009）．これらの成果は特に海産魚類の精子形態の知見を充実させたものとして，Jamieson（2009）が精子系統分類学を再検討するにあたって，多数の精子画像が掲載されるなど大きく貢献した．

本研究は筆者らの行ってきた精子の比較形態学の一環として，トゲウオ亜目魚類 Gasterosteoidei を取りあげる．本亜目は，トゲウオ科 Gasterosteidae（5 属），シワイカナゴ科 Hypoptychidae（1 属），クダヤガラ科 Aulorhynchidae（2 属），Indostomidae（1 属）の 4 科 9 属で構成される（Nelson, 2006）．これらトゲウオ亜目魚類は，分布域の広いイトヨ属 *Gasterosteus* を中心に行動学，形態学，生理学，遺伝学 , 進化学などの各分野で多くの研究に用いられている（後藤・森 , 2003）．一方，本科魚類の精子の微細構造については，シワイカナゴ *Hypoptychus dybowskii*，クダヤガラ *Aulichthys japonicus*，エゾトミヨ *Pungitius tymensis*，トミヨ *P. sinensis*，イバラトミヨ *P. pungitius*（Hara and Okiyama, 1998 参照）の他に，朝鮮半島産のミナミトミヨ *P. kaibarae*（Kim et al., 2002 参照）の 3 科 3 属についての知見があるにすぎない．本研究ではこれら既往の種に関連する情報を追加し，Indostomidae を除くトゲウオ亜目魚類 3 科 8 属 12 種を対象に精子形態の特徴を整理し，特に分子系統の成果に注目してその系統学的な意義を検討する．

材 料 と 方 法

本研究に用いたトゲウオ亜目魚類 11 種の採集場所と精巣標本の固定方法を Table 1 にまとめ，記載に用いた精子各部の名称を Fig. 1 に示した．なお，本文中の精子の上下とは，軸糸構造の 2 本の中心微小管の平面に直交する方向を示す（Fig. 1）．

精巣の透過型電子顕微鏡試料　採取した精巣を Table 1 に示す固定液中で細切して室温で固定した．A 液の標本については，0.1 M カコジル酸緩衝液（pH 7.4）（和光純薬社製）で調整した 2％パラホルムアルデヒド（メルク社製 , ドイツ），2％グルタルアルデヒド（ポリサイエンス社製 , USA）の混合液中で 4˚C で 12 時間前固定した．B 液の標本については，0.1 M リン酸緩衝液（pH 7.4）で調整した 8％パラホルムアルデヒド混合液中で室温で 7 日間前固定した．A と B の固定標本の洗浄には，0.1 M カコジル酸緩衝液（pH 7.4）を用い，液を室温で数回交換した後に，この緩衝液に 4˚C で一晩浸漬した . 後固定以後については原（2009）の方法に準じた．

精子の走査型電子顕微鏡試料　前固定液の中で精巣を細切した際に，切断面から固定液中に流れ

Table 1. Collection data for specimens of Gasterosteiformes examined

Family	Species	Location/Date	Fixatives
Aulorhynchidae	*Aulichthys japonicas*	Ootsuchi Bay, Iwate Pref., June 1989–March 1993. Aburatsubo Bay, Kanagawa Pref., May 1990, 1991, 1992.	A
	Aulorhynchus flavidus	Bamfield, B. C., Canada, Aug. 2001.	B
Gasterosteidae	*Apeltes quadracus*	Shediac River, Canada, June 2004.	B
	Culaea inconstans	Univ. Wisconsin, Canada, Dec. 2001. Guelph Univ. Canada, June 2004.	B
	Gasterosteus aculeatus	Shinano Rivers, Niigata Pref., March 1991, 1992.	A
	Gasterosteus wheatlandi	Shediac River, Canada, June 2004.	B
	Pungitius pungitius	Nishitappu River, Hokkaido, June 1993.	A
	Pungitius sinensis	Biwase River, Hokkaido, June 1993.	A
	Pungitius tymensis	Biwase River, Hokkaido, June 1993	A
	Spinachia spinachia	Oban, Scotland, June 1998. Danmarks Akvarium, June 2005.	B
Hypoptychidae	*Hypoptychus dybowski*	Ootsuchi Bay, Iwate Pref., June 1989–March 1993.	A

A. 2% paraformaldehyde–2% glutaraldehyde in 0.1 M cacodylate buffer.
B. 8% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer.

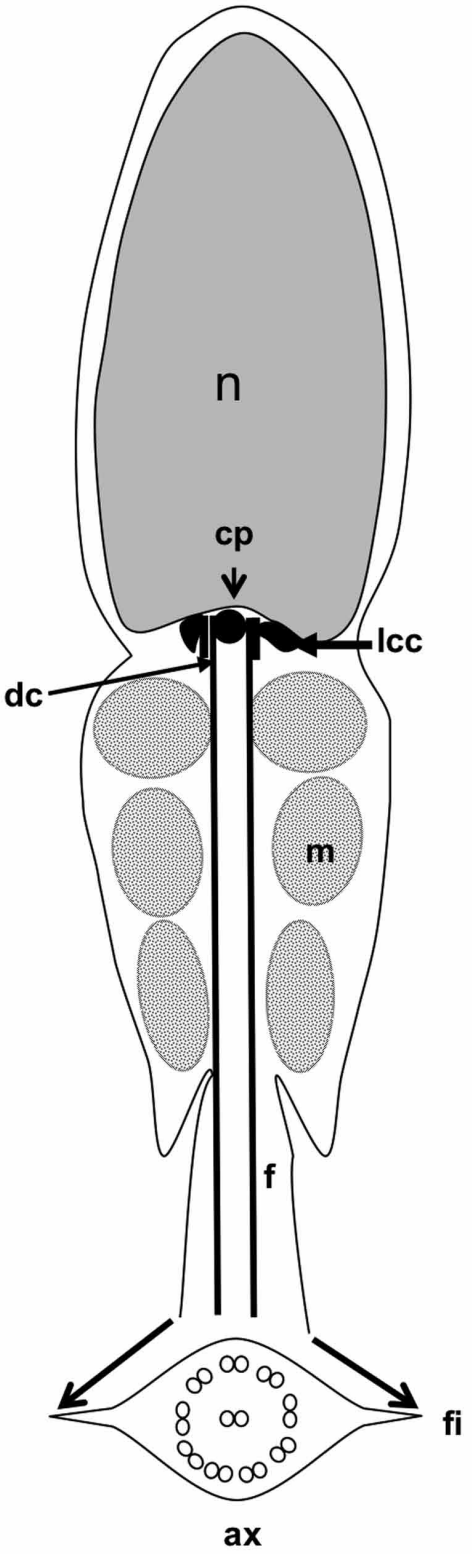

Fig. 1. Schematic illustration of typical gasterosteoid fish spermatozoon. ax: axoneme, cp: centriolar plug, dc: distal centriole, f: flagellum, fi: fin, lcc: lateral centriolar connection, m: mitochondrion, n: nucleus.

出た精液を固定液ごと固定瓶に回収した（標本の固定液と固定時間は精巣と同様である）．標本の洗浄以後については原（2009）の方法に準じた．

結　　果

シワイカナゴ *Hypoptychus dybowskii*（Fig. 2A–D）精子の全長は 40 µm．核は長さ 2.3 µm，幅 0.9 µm，厚さ 0.6 µm で，長軸方向に長く左右に扁平な梵鐘形である（Fig. 2A, B）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，全体的な電子密度は高い．核の基底部の浅い窪みには遠位中心子が位置し，そこから 1 本の鞭毛が伸長する（Fig. 2C）．近位中心子は，初期の精細胞では核の基底部に遠位中心子と並列して位置するが（Fig. 2D），完成した精子では観察されない（Fig. 2C）．ミトコンドリアは複数存在し，いずれも直径約 0.4 µm の球形である．SEM 像によるミトコンドリアが位置する部位は，長さ 0.4 µm，幅 0.7 µm の輪状を呈し，鞭毛の基部を取り巻いている（Fig. 2B, C）．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する（Fig. 2C, D）．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻く（Fig. 2C）．

クダヤガラ *Aulichthys japonicus*（Fig. 2E, F） 精子の全長は 38 µm．核は長さ 2.0 µm，幅 0.9 µm の長軸方向に長い梵鐘形である（Fig. 2E）．TEM 像では先端は細く湾曲し，核の横断面では上下に扁平化している（Fig. 2F）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，全体的な電子密度は高い（Fig. 2F）．核の基底部の浅い窪みに遠位中心子が位置し，そこから 1 本の鞭毛が伸長するが，近位中心子は観察されない（Fig. 2F）．TEM 像によるとミトコンドリアの数は多く，長さ 0.5 µm から 1 µm の楕円形である．SEM 像によるミトコンドリアが位置する部位は長さ 1.8 µm，幅 0.7 µm の筒状を呈し，核の基底部から鞭毛の基部を取り巻く（Fig. 2E, F）．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する（Fig. 2F）．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻く（Fig. 2F）．

Aulorhynchus flavidus（Fig. 2G–I） 精子の全長は 35 µm．核は長さ 1.7 µm，幅 1.2 µm，厚さ 0.5 µm の左右に扁平な梵鐘形である（Fig. 2G, H）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，全体的な電子密度は高い．核の基底部の浅い窪みに遠

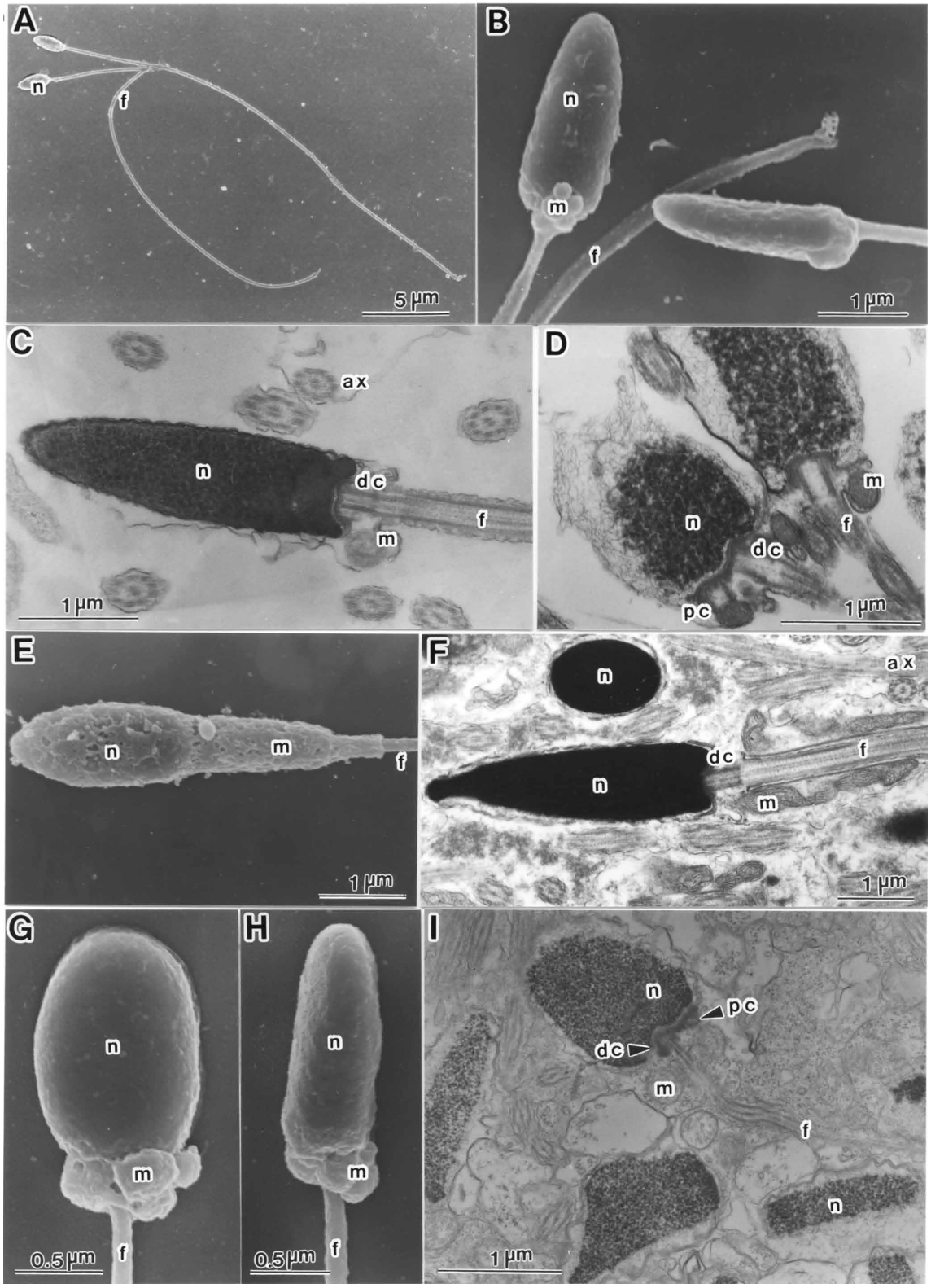

Fig. 2. SEM (A, B, E, G, H) and TEM (C, D, F, I) micrographs of spermatozoa. A–D, *Hypoptychus dybowski*; E–F, *Aulichthys japonicus*; G–I, *Aulorhynchus flavidus*. A, B, E, G, H–Spermatozoa; C, D, F, I–Longitudinal section of head. Abbreviations as in Fig. 1.

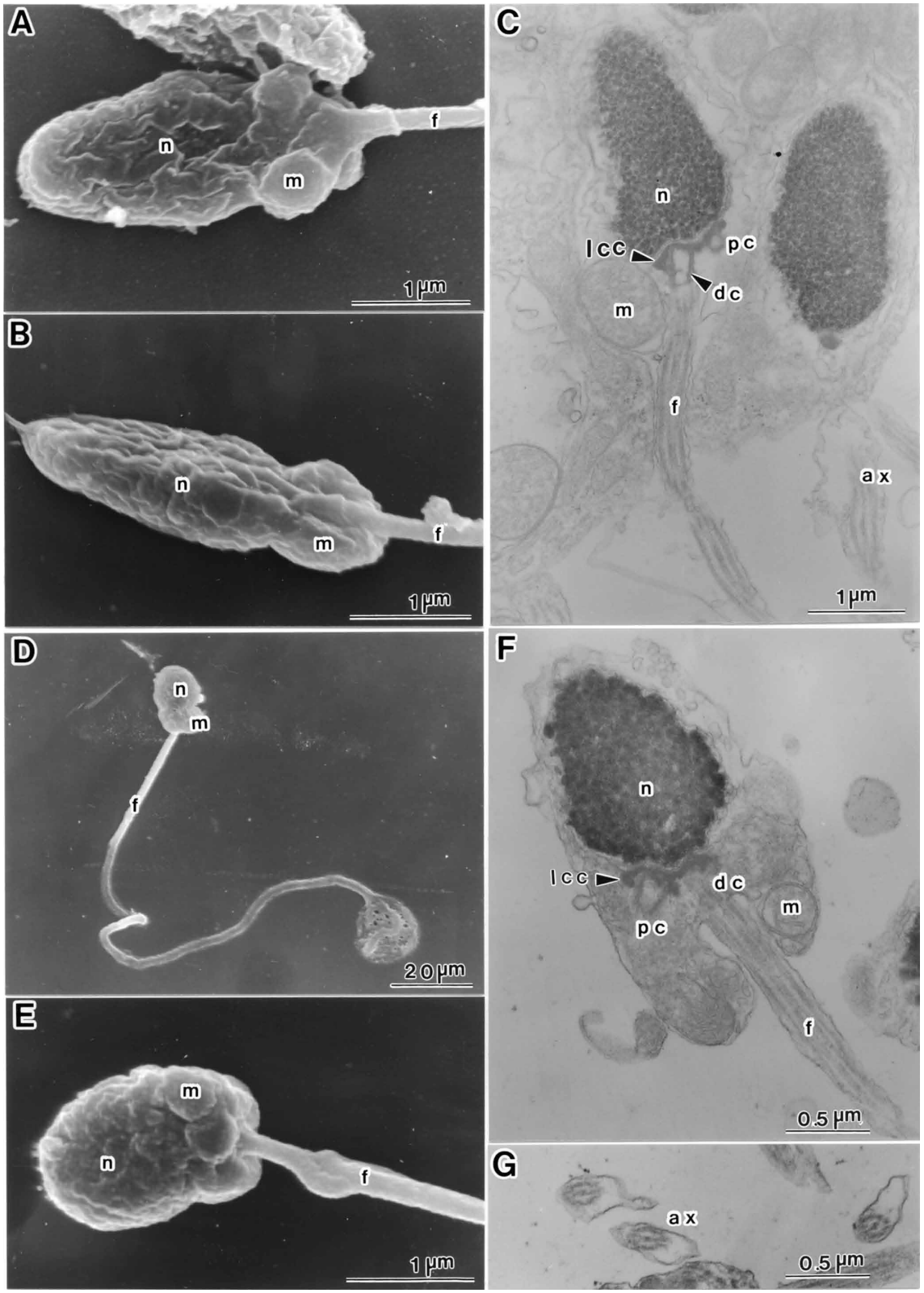

Fig. 3. SEM (A, B, D, E) and TEM (C, F, G) micrographs of spermatozoa. A–C, *Spinachia spinachia*. D–G, *Apeltes quadracus*. A. B, D, E–Spermatozoa; C, F–Longitudinal section of head; G–Cross section of axoneme. Abbreviations as in Fig. 1.

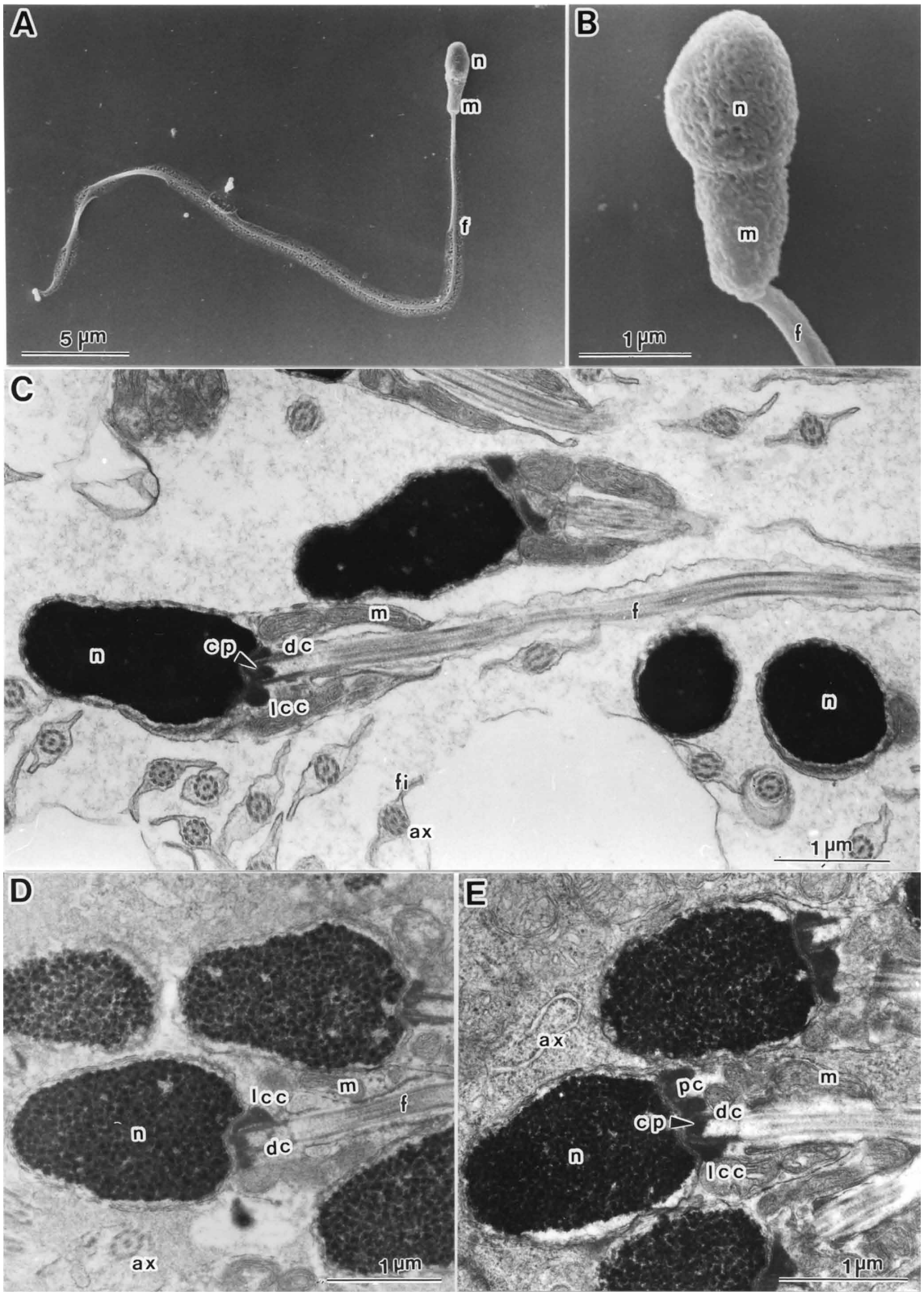

Fig. 4. SEM (A, B) and TEM (C–E) micrographs of spermatozoa. A–C, *Pungitius tymensis*; D, *Pungitius pungitius*; E, *Pungitius sinensis*, A, B–Spermatozoa; C–E–Longitudinal section of head. Abbreviations as in Fig. 1.

位中心子が位置し，そこから 1 本の鞭毛が伸長する（Fig. 2I）．近位中心子は，初期の精細胞において核の基底部に遠位中心子と並列して位置するが（Fig. 2I），完成した精子では観察されない．ミトコンドリアは複数で，いずれも直径約 0.5 μm の球形である．SEM 像によるミトコンドリアが位置する部位は，長さ 0.5 μm，最大幅 0.7 μm の輪状を呈して鞭毛の基部を取り巻く（Fig. 2G, H）．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する（Fig. 2I）. 鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で , 周囲を原形質膜が取り巻く（Fig. 2I）.

Spinachia spinachia（Fig. 3A–C） 精子の全長は 34 μm．核は長さ 1.6 μm，幅 1.0 μm，厚さ 0.5 μm の左右に扁平な梵鐘形である（Fig. 3A, B）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，空胞を含むが，全体的な電子密度は高い．核の基底部の浅い窪みに遠位中心子が位置し，これに並列して近位中心子が観察される．遠位中心子の側面には電子密度の高い中心子の付属物（lateral centriolar connection; lcc）が観察され，遠位中心子から 1 本の鞭毛が伸長する（Fig. 3C）．ミトコンドリアは複数で，いずれも直径約 0.7 μm の球形である . SEM 像によるミトコンドリアが位置する部位は長さ 0.7 μm，幅 0.9 μm の輪状を呈し，鞭毛の基部を取り巻く（Fig. 3A, B）．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が存在する（Fig. 3C）．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻く（Fig. 3C）．

Apeltes quadracus（Fig. 3D–G） 精子の全長は 22 μm．核は長さ 1.5 μm，幅 1.0 μm の左右に扁平な梵鐘形である（Fig. 3D, E）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し , 空胞を含むが，全体的な電子密度は高い（Fig. 3F）．核の基底部の僅かな窪みに遠位中心子が位置し，そこから 1 本の鞭毛が伸長し，lcc をもつ近位中心子が遠位中心子に並列して観察される（Fig. 3F）．ミトコンドリアは複数で，いずれも直径約 0.5 μm の球形である．SEM 像によるミトコンドリアが位置する部位は長さ 0.6 μm，幅 1 μm の輪状を呈し，鞭毛の基部を取り巻く（Fig. 3F）．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する（Fig. 3F）．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻き，その部分の断面像では原形質膜が膨張する（Fig. 3G）．

エゾトミヨ *Pungitius tymensis*（Fig. 4A–C） 精子の全長は 27 μm．核は長さ 1.3 μm，最大幅 1.0 μm の梵鐘形であり（Fig. 4A, B），TEM 像によると先端付近がややくびれる（Fig. 4C）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，全体的な電子密度は高い（Fig. 4C）．核の基底部の僅かな窪みに，lcc と中心小体栓（centriolar plug; cp）をもつ遠位中心子が位置し，そこから 1 本の鞭毛が伸長するが，近位中心子は観察されない（Fig. 4C）．TEM 像によるとミトコンドリアは多数で，長さ 0.5 μm から 0.8 μm の楕円形を呈する．SEM 像によるミトコンドリアが位置する部位は長さ 1.1 μm，幅 0.8 μm の筒状を呈し，核の基底部から鞭毛の基部を取り巻く（Fig. 4B）．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する（Fig. 4C）．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻き，その断面像では原形質膜の両端が長く伸びた鰭状を呈する（Fig. 4C）．

イバラトミヨ *Pungitius pungitius*（Fig. 4D） 精子の核は長さ 1.4 μm，最大幅 1 μm の梵鐘形である．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，小さな空胞を含むが全体的な電子密度は高い．核の基底部の僅かな窪みに lcc をもつ遠位中心子が位置し，そこから 1 本の鞭毛が伸長するが近位中心子は観察されない．TEM 像によるとミトコンドリアは多数で，球形や楕円形を呈する．それらが位置する部位は長さ 1.4 μm，幅 1 μm の襟状を呈し，核の基底部から鞭毛に沿って配列する．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻き，その部分の断面像では原形質膜が膨張する．

トミヨ *Pungitius sinensis*（Fig. 4E） 精子の核は長さ 1.7 μm，最大幅 1.2 μm の梵鐘形である．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，小さな空胞を含むが，全体的な電子密度は高い．核の基底部の僅かな窪みに lcc と cp をもつ遠位中心子と近位中心子が並列に位置し，遠位中心子から 1 本の鞭毛が伸長する．TEM 像によるとミトコンドリアは多数で，球形や楕円形を呈する．それらが位置する部位は長さ 1.3 μm，幅 1 μm の襟状を呈し，核の基底部から鞭毛に沿って配列する．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻き，その部分の断面像では原形質膜が膨張する．

Culaea inconstans（Fig. 5A–C） 精子の全長は 28 μm．核は長さ 1.5 μm，最大幅 0.9 μm の梵鐘形

である（Fig. 5A, B）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，大小の空胞を含むが，全体的な電子密度は高い（Fig. 5C）．核の基底部の僅かな窪みに lcc をもつ遠位中心子と近位中心子が並列し，遠位中心子から 1 本の鞭毛が伸長する（Fig. 5C）．TEM 像によるとミトコンドリアは棒状を呈する．SEM 像によるミトコンドリアが位置する部位は長さ 0.8 µm，最大幅 0.6 µm の筒状を呈し，核の基底部から鞭毛の基部を取り巻く（Fig. 5B, C）．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻き，その部分の断面像では原形質膜の両端は鰭状に尖る（Fig. 5C）．

イトヨ *Gasterosteus aculeatus*（Fig. 6A–C） 精子の全長は 27 µm．核は長さ 1.2 µm，幅 1.1 µm の球形である（Fig. 6A, B）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，全体的な電子密度は高い（Fig. 6C）．核の基底部に lcc をもつ遠位中心子と近位中心子が並列し，遠位中心子から 1 本の鞭毛が伸長する（Fig. 6C）．TEM 像によるとミトコンドリアは多数で，直径約 0.4 µm の球形を呈する．SEM 像によるミトコンドリアが位置する部位は，長さと幅が 1 µm 程の筒状を呈し，核の基底部から鞭毛の基部を取り巻く（Fig. 6B, C）．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する（Fig. 6C）．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻き，その部分の断面像では原形質膜が膨張する（Fig. 6C）．

Gasterosteus wheatlandi（Fig. 6D–F） 精子の全長は 24 µm．核は長さ 1.7 µm，幅 1.1 µm の梵鐘形である（Fig. 6D, E）．核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し，大小の空胞を含むが全体的な電子密度は高い（Fig. 6F）．核の基底部の僅かな窪みに lcc をもつ遠位中心子が位置し，ここから 1 本の鞭毛が伸長する（Fig. 6F）．TEM 像によるとミトコンドリアは多数で，直径 0.3 µm から 0.8 µm の球形や卵円形を呈する．それらが位置する部位を SEM 像でみると長さと幅が 1 µm 程の筒状を呈し，核の基底部から鞭毛の基部を取り巻く（Fig. 6E, F）．ミトコンドリアのクリステは櫛状や小胞状に発達し，基質には微細顆粒が密に存在する（Fig. 6F）．鞭毛の軸糸構造は 9+2 型で，周囲を原形質膜が取り巻く．

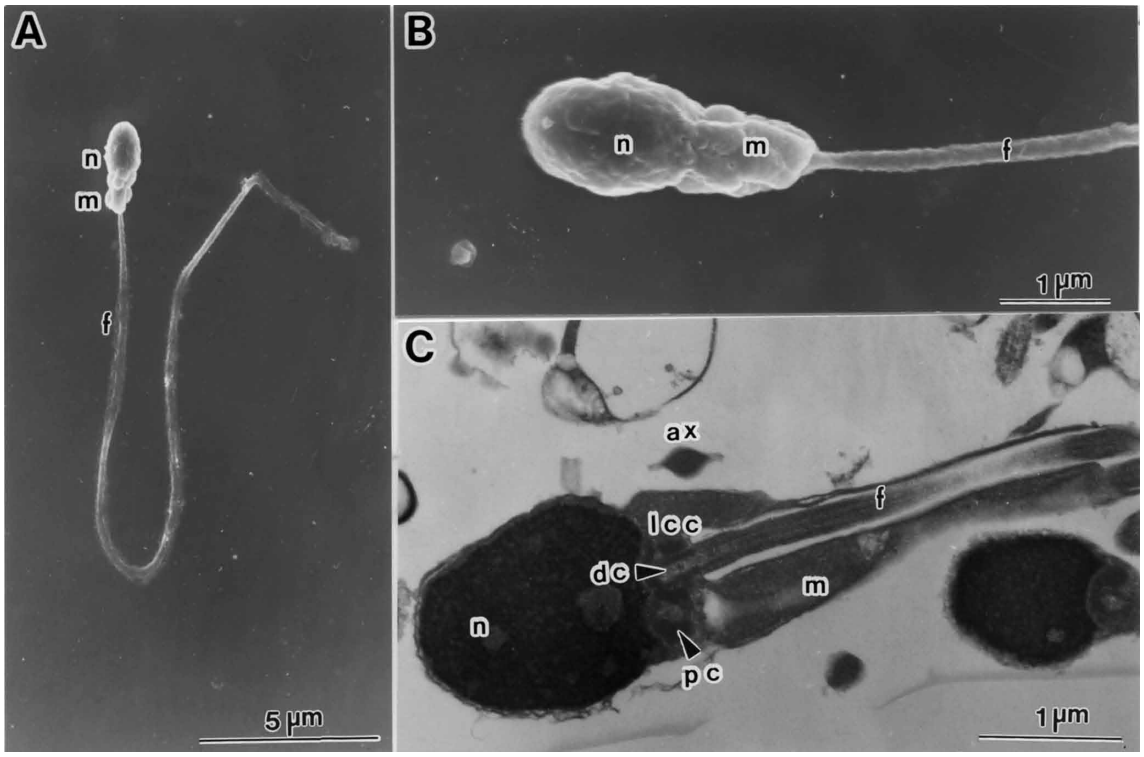

Fig. 5. SEM (A, B) and TEM (C) micrographs of *Culaea inconstans*. A, B–Spermatozoa; C–Longitudinal section of head. Abbreviations as in Fig. 1.

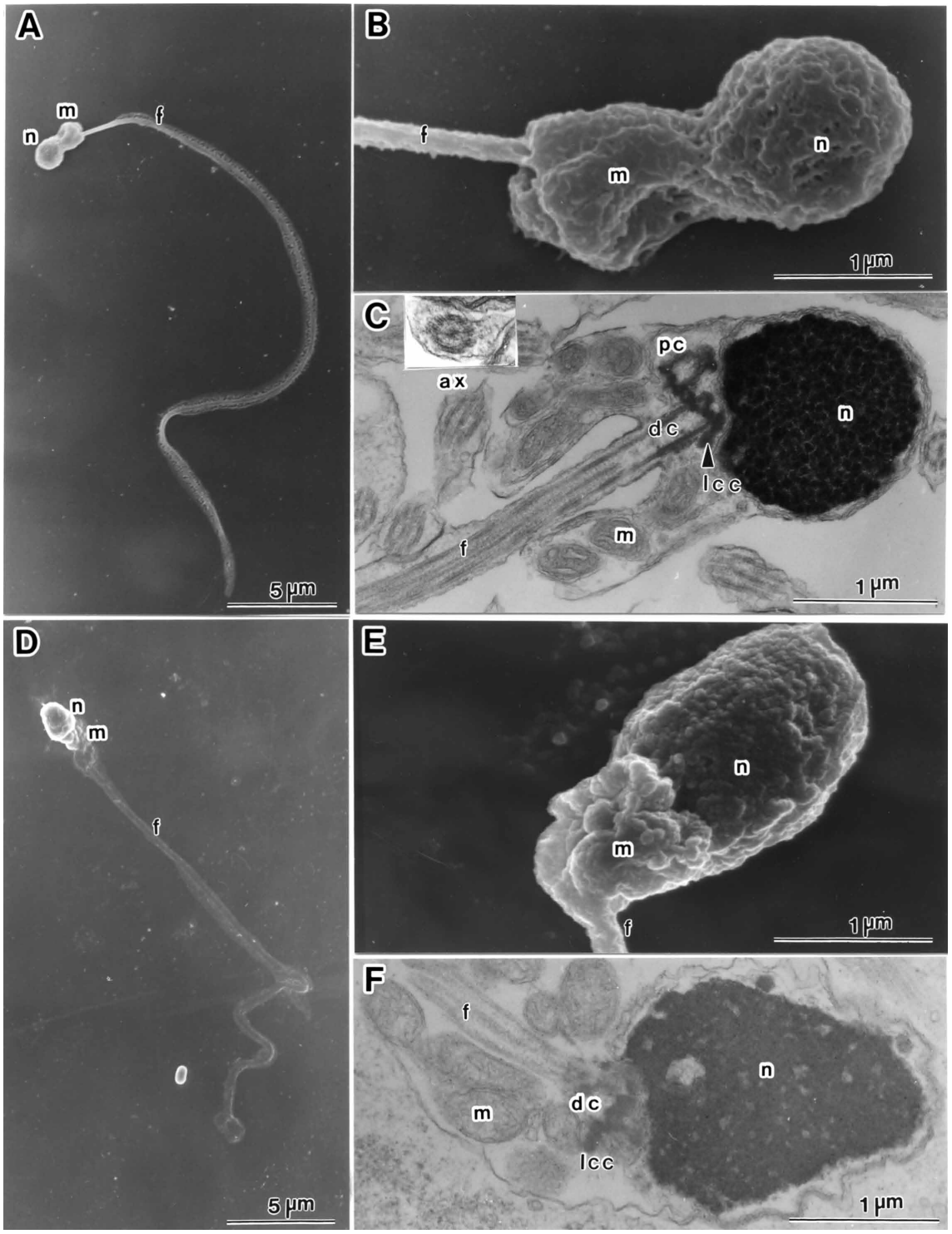

Fig. 6. SEM (A, B, D, E) and TEM (C, F) micrographs of spermatozoa. A–C, *Gasterosteus aculeatus*; D–F, *Gasterosteus wheatlandi*. A, B, D, E—Spermatozoa; C, F—Longitudinal section of head. Abbreviations as in Fig. 1.

考　　察

精子各部の特徴　既往の情報（Hara and Okiyama, 1998; Kim et al., 2000）を含むトゲウオ亜目 4 属 12 種の精子形態に関する知見を Table 2 に示した．

核：全種において電子密度が高く，基底部の陥入域がきわめて浅い梵鐘形の特徴を共有した．これらは I 型：核長 2.0–2.3 μm で，きわめて細長く扁平な梵鐘形（クダヤガラ *Aulichthys japonicus*，シワイカナゴ *Hypoptychus dybowskii*），II 型：核長 1.5–1.7 μm で，扁平な梵鐘形（*Apeltes quadracus*，*Aulorhynchus flavidus*，*Spinachia spinachia*），III 型：梵鐘形 [*Culaea inconstans*，*Gasterosteus wheatlandi*，ミナミトミヨ *Pungitius kaibarae* ssp.（朝鮮産），イバラトミヨ *Pungitius pungitius*，トミヨ *Pungitius sinensis*，エゾトミヨ *Pungitius tymensis*] および IV 型：球形（イトヨ *Gasterosteus aculeatus*）の 4 型に大別される．なお，クダヤガラ科では *Aulichthys* 属と *Aulorhynchus* 属が I 型と II 型に分かれ，トゲウオ科の *Gasterosteus* 属には III 型と IV 型が認められるなど，科ないし属のレベルで核の形態が多様化していた．とりわけ，扁平な核は I 型と II 型の 3 科 5 属 5 種によって共有されることが注目された．これまでに扁平な核をもつ精子は，体内受精様式をもつウミタナゴ *Ditrema temmincki*，ナガガジ *Zoarces elongates*（Hara and Okiyama, 1998）やサヨリ科の胎生種 *Hemirhamphodon pogonognathus*（Jamieson, 1989）などで報告されているが，I，II 型の 5 種は，*Auli. japonicus* を除くすべてが体外受精を行なうことから，トゲウオ亜目における核の扁平化は受精様式に関連した適応だけでなく，系統的な関連が大きいものと推定された．

中心小体：一般的な硬骨魚類の精子では，核の基底部に形成される陥入域の最深部に近位中心子と遠位中心子が互いに垂直に位置し，遠位中心子から一本の鞭毛が伸長する．トゲウオ亜目 12 種では，（1）*P. kaibarae* ssp. を含むトゲウオ科 6 種で近位中心子と遠位中心子が並列して位置すること，（2）トゲウオ亜目では *H. dybowski* と *Auli. japonicus* を除き，中心子の周辺を電子密度の高い中心子付属物（centriolar adjunct）が発達すること，（3）*Pungitius* 属では遠位中心子の中に中心小体栓（centriolar plug）（sensu Jamieson, 1989）が発達する種（*P. sinensis* と *P. tymensis*）と，発達しない種（*P. kaibarae* ssp. と *P. pungitius*）が存在すること，（4）シワイカナゴ科の *H. dybowski* とクダヤガラ科の *Auli. Japonicus* および *Aulo. flavidus* では近位中心子が観察されないことなど，中心子の形態や発現における多様化が注目された．シワイカナゴ科とクダヤガラ科で近位中心子が見られないことに関しては，核の顆粒が濃縮する時期には近位中心子が遠位中心子と並んで観察されたことから，近位中心子が精子の完成時までに消失したためと考えられた．なお，トゲウオ目ヤガラ属の 1 種 *Fistularia tabacaria* では，核の基底部に形成された浅い W 型の鞭毛陥入域に近位中心子と遠位中心子が並列して位置することは（Mattei, 1970），トゲウオ目におけるトゲウオ亜目とヤガラ属の系統的な関連性を示すものと推測された．

中片部：複数のミトコンドリアが核の基底部と接し，鞭毛の基部を長さ 0.6–0.7 μm の輪状に取り巻く「輪状型」と，多数のミトコンドリアが鞭毛の基部の細胞質溝（cytoplasmic canal）を挟んで長さ 0.7–1.4 μm の筒状に取り巻く「筒型」とに区分された．なお，筒型はその縦断面を TEM 像でみると襟状を呈する．輪状型ではミトコンドリアは球形で，*H. dybowski*，*Aulo. flavidus*，*S. spinachia* および *Apeltes quadracus* の 4 種に共有の形質であった．一方，*Auli. japonicus*，*Pungitius* 属 3 種および *Gasterosteus* 属 2 種の合計 6 種が共有する筒型では，ミトコンドリアは球形や卵円形などの多様な形状を示した．このように，本亜目における中片部の特徴は科のレベルでは共有されていないが，属レベルでは明瞭に分化していることが注目された．

鞭毛：本亜目の精子は 1 本の鞭毛を持ち，軸糸構造を取り巻く原形質膜の両端に発達する鰭状突起（lateral fin）の性状には変異が認められ，顕著な鰭状突起の形成は *P. kaibarae* spp.，*P. tymensisi* および *C. inconstan* の 3 種で観察された．

精子形態と分類体系　トゲウオ目 Gasterosteiformes は 11 科で構成される単系統群であり , それらは 2 亜目（トゲウオ亜目 Gasterosteoidei とヨウジウオ亜目 Syngnathioide）に大別され , 本研究の対象であるトゲウオ亜目は 4 科（シワイカナゴ科，クダヤガラ科，トゲウオ科および Indostomidae）で構成されるとする説が一般的である（Nelson, 2006; Wiley and Johnson, 2010）．今回，Indostomidae を除く 3 科の全属について，精子形態の特徴が明らかにされたので，これらと共通する分類群に基づく Kawahara et al.（2009）の分子系統仮説（Fig.7）との比較を中心に精子形態と分類体系の関連について考察する．

Kawahara et al.（2009）の系統仮説では，（1）シワイカナゴ科を外群とすると単系統群を形成する

Table 2. Comparison of spermatozoan morphological characters among 12 species of Gasterosteiformes

Family	Species	Total length (μm)	Nucleus		Centriole				Mid-piece			Flagellum	
			length width (μm)	shape	electron density	proximal centriole	centriolar plug	centriolar adjunct	length width (μm)	shape	cristae	number	fin
Aulorhynchidae	*Aulichthys japonicus*	38	2.0x0.9	elongated temple bell shape; depressed	high	–	–	–	1.8x0.7	cylindrical	vesicular, many granules	single	–
	Aulorhynchus flavidus	35	1.7x1.2	temple bell shape; depressed	high	(+)	–	+	0.5x0.7	annular	vesicular, many granules	single	–
Gasterosteidae	*Apeltes quadracus*	22	1.5x1.0	temple bell shape; depressed	high	+	–	+	0.6x1	annular	vesicular granules	single	–
	Culaea inconstans	28	1.5x0.9	temple bell shape	high	+	–	+	0.8x0.6	cylindrical	vesicular, many granules	single	+
	Gasterosteus aculeatus	27	1.2x1.1	spherical	high	+	–	+	1x1	cylindrical	vesicular, many granules	single	–
	Gasterosteus wheatlandi	24	1.7x1.1	temple bell shape	high	–	–	+	1x1	cylindrical	vesicular, many granules	single	–
	*Pungitius kaibarae ssp.**	33.3	–	temple bell shape	high	+	–	+	–	cylindrical	vesicular, many granules	single	+
	Pungitius pungitius	–	1.4x0.8	temple bell shape	high	–	–	+	1.4x1	collar	vesicular, many granules	single	–
	Pungitius sinensis	–	1.9x1.3	temple bell shape	high	+	+	+	1.3x1	collar	vesicular, many granules	single	–
	Pungitius tymensis	27	1.3x1.0	temple bell shape	high	–	+	+	1.1x0.8	cylindrical	vesicular, many granules	single	+
	Spinachia spinachia	34	1.6x1.0	temple bell shape; depressed	high	+	–	+	0.7x0.9	annular	vesicular, many granules	single	–
Hypoptychidae	*Hypoptychus dybowski*	40	2.3x0.9	elongated temple bell shape; depressed	high	(+)	–	–	0.4x0.7	annular	vesicular, many granules	single	–

(+) present in intermediate spermatid

*: Kim et al., 2002

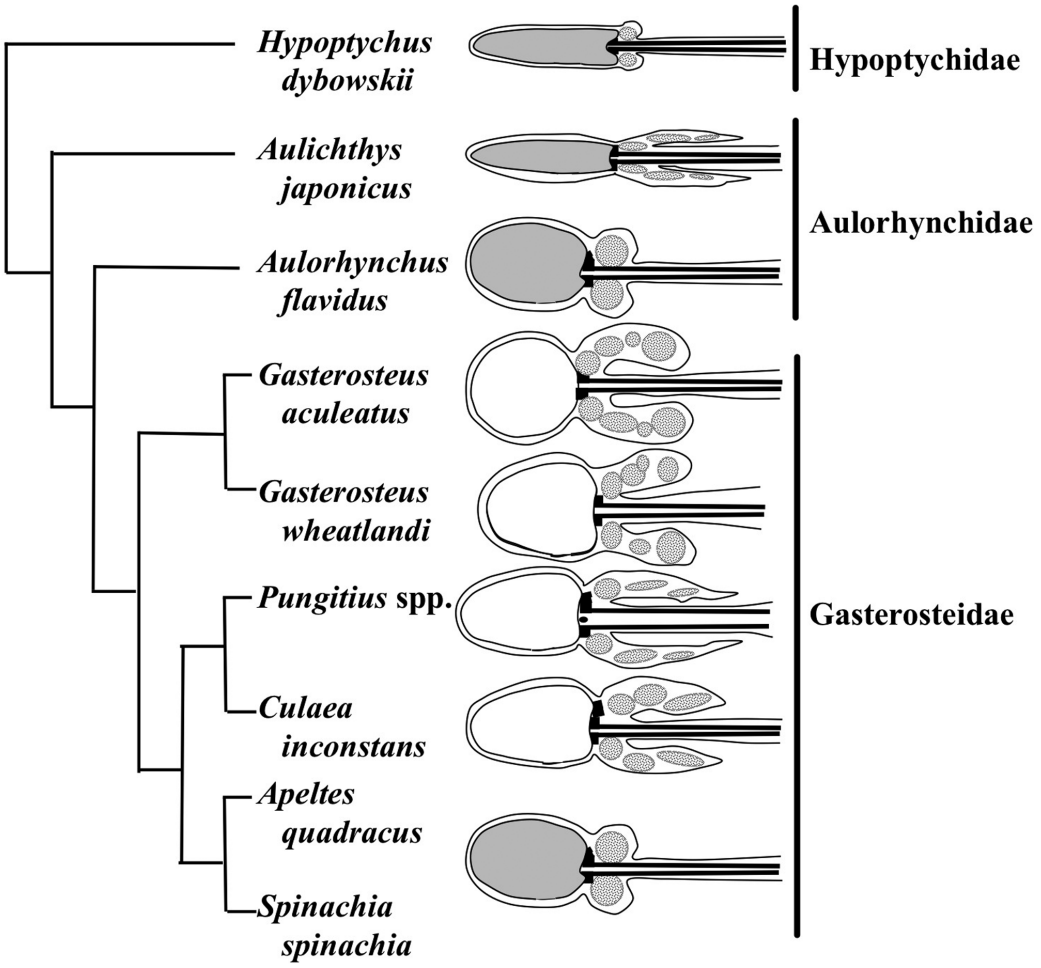

Fig. 7. Phylogenetic relationships of Gasterosteoidei (slightly modified from Kawahara et al., 2009) and spermatozoon structures. Depressed nucleus indicated by shaded area.

トゲウオ科がクダヤガラ科の一種 *Aulo. flavidus* と姉妹群関係にあり，クダヤガラ科は側系統群であること，および（2）トゲウオ科の中で最初に分岐したグループがこれまで考えられていた *S. spinachia* ではなく *Gasterosteus* 属であり，*S. spinachia* は *Apel. quadracus* に最も近縁で，*C. inconstans* と *P. pungitius* を含むクレードと姉妹群関係にあることを示唆している点に特徴がある．Kawahara et al.（2009）の分類体系に本研究で得られた精子形態の結果を組込むと Fig. 7 のようになる．

精子形態に関しては，シワイカナゴ科の *H. dybowski* とクダヤガラ科の *Auli. japonicus* は核がⅠ型であるという形質を共有するが，中片部はそれぞれ輪状型と筒型とに区別された．両種の精子形態の相違はシワイカナゴ科の系統的独立性を強く支持するものと考えられる．なお先述のように *Auli. japonicus* は本亜目で唯一体内受精を行なうことが注目される．*Auli. japonicus* の精子が体内受精種の精子でしばしば観察される伸長した核と筒型の中片部（Jamieson, 1991）をもっていたことは，繁殖様式と精子形態の関連性を示唆するものである．また，クダヤガラ科の 2 属については核と中片部の特徴がきわめて対称的であり，特に派生的と推定される中心子付属物の性状からは，精子形態からも同科の側系統性と *Aulo. flavidus* をトゲウオ科の姉妹群とする仮説が支持される．一方 , トゲウオ科内の類縁関係については，*Aulo. flavidus* を外群とすると，精子の核と中片部の形態形質の極性からは，*Apeltes* 属と *Spinachia* 属が最初に分岐し，*Gasterosteus* 属，*Pungitius* 属および *Culaea* 属が派生的な姉妹群を形成することに

なり，イトヨ属が最初に分岐し，*S. spinachia* と *Apel. quadracus* を最も派生的な姉妹群とする分子系統仮説（Kawahara et al. , 2009）とは一致しない．

精子形態による系統仮説が支持されるためには姉妹群 *S. spinachia* と *Apel. quadracus* の分岐にあたり核の扁平化と中片部の輪状化を含む精子形態の進化方向に逆転が生じたことが前提になるが，この前提は形質変換の最節約的な説明にならない．むしろ，本研究の精子形態による系統仮説が，*S. spinachi* とクダヤガラ科がともにトゲウオ科の祖先的性状を示すとする行動学，形態学，分子系統学のデータに基づく既往の仮説（例えば，McLennan and Mattern, 2001; Matten and McLennan, 2004）を支持していることに注目すべきかもしれない．

謝　　辞

標本の入手について多大なご協力を賜った東京大学海洋研究所国際沿岸センターの盛田孝一氏，新潟県内水面水産試験場の樋口正仁氏，日本海区水産研究所の林　育夫氏に厚くお礼申し上げる．稿を進めるに当たり，有益なご助言をいただいた東京大学名誉教授・沖山宗雄博士に深く感謝を表する．貴重なコメントを沢山寄せられた 3 名の査読者に厚くお礼を申し上げる．

引 用 文 献

後藤　晃・森　誠一（編著）．2003．トゲウオの自然史－多様性の謎とその保全－．北海道大学図書刊行会．札幌，278 pp.

原　政子．2003．イカナゴ配偶子の微細構造と機能的特性．魚類学雑誌，50: 35–45.

原　政子．2004．ハゼ亜目魚類精子の微細構造の多様性．魚類学雑誌，51: 1–32.

原　政子．2007．ハダカイワシ科 2 種の精子微細構造．魚類学雑誌，54: 41–46.

原　政子．2009．キュウリウオ科魚類精子の微細構造．魚類学雑誌，56: 119–133

Hara, M. and M. Okiyama. 1998. An ultrastructural review of the spermatozoa of Japanese fishes. Bull. Ocean Res. Inst., Univ. Tokyo, 33: 1–138.

Jamieson, B. G. M. 1989. Complex spermatozoon of the live-bearing half-beak, *Hemirhamphodon pogonognathus* (Bleeker): Ultrastructural description (Euteleostei, Atherinomorpha, Beloniformes). Gamete Research. 24: 247–259.

Jamieson, B. G. M. 1991. Fish evolution and systematics: evidence from spermatozoa. Cambridge Univ. Press, Cambridge. 319 pp.

Jamieson, B. G. M., J. Ausio and J. L. Justine. 1995. Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy. Éditions du Muséum national d`Histoir naturelle, Paris. 564 pp.

Jamieson, B. G. M. 1999a. Reproductive biology of invertebrates, Vol., IX, Part A, Progress in male gamete ultrastructure and phylogeny. John Wiley & Sons, LTD, West Sussex, England, 286 pp.

Jamieson, B. G. M. 1999b. Reproductive biology of invertebrates, Vol., IX, Part B, Progress in male gamete ultrastructure and phylogeny. John Wiley & Sons, LTD, West Sussex, England, 435 pp.

Jamieson, B. G. M. 1999c. Reproductive biology of invertebrates, Vol., IX, Part C, Progress in male gamete ultrastructure and phylogeny. John Wiley & Sons, LTD, West Sussex, England, 342 pp.

Jamieson, B. G. M. 2009. Reproductive biology and pylogeny of fishes, Vol., 8A. Science Publishers, New Hampshire. 788 pp.

Kawahara, R., M. Miya, K. Mabuchi, T. J. Near and M. Nishida. 2009. Stickleback phylogenies resolved: Evidence from mitochondrial genomes and 11 nuclear genes. Molecular Phylogenetics and Evolution, 50: 401–404.

Kim, K. H., J. I. Lee and W. B. Bae. 2002. The ultrastructure of spermatozoa of *Pungitius kaibarae* ssp. (Teleostei, Gasterosteiformes, Gasterosteidae). Korean J. Ichthyol., 14: 198–204.

Mattern, M. Y. and D. A. McLennan. 2004. Total evidence phylogeny of Gasterosteidae: combining molecular, morphological and behavioral data. Cladistics. 20: 14–22.

McLennan, D. A. and M. Y. Mattern. 2001. The phylogeny of the Gasterosteidae: combining behavioral and morphological data sets. Cladistics, 17: 11–27.

Mattei, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic: implication in fishes. Can. J. Zool., 69: 303–3055.

Mattei, X. 1970. Spermiogenèse comparée des poisons. Pages 57–69 *in* B. Baccetti ed. Comparative spermatology. Academic Press, New York.

Nelson, J. S. 2006. Fishes of the World. Fourth ed. Wiley and Sons, New Jersey. 601 pp.

Wiley, E. O. and G. D. Johnson. 2010. A teleost classification based on monophyletic groups. Pages 123–182 *in* J. S. Nelson, H. P. Schultze and M. V. H, eds. Origin and phylogentic interrelationships of teleosts. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, Munchen, Germany.