

ニゴロブナの性分化過程について

藤岡康弘

Sex differentiation in nigorobuna *Carassius auratus grandoculis*

Yasuhiro Fujioka

キーワード：ニゴロブナ、性分化、生殖腺

Sex differentiation in Nigorobuna was observed histologically from the first day to 232 days post hatching (ph). In hatched larva at 4.5mm in standard length (SL), the primordial germ cells were found on gut. The gonads elongated on the wall of abdominal cavity from 30 days (10.9mm SL) to 51 days ph (14.5mm SL), and oocyte in the early peri-nucleolus stage were seen at 79 days ph (19mm SL). On the other hand, in presumptive male gonads, no change was observed in number of germ cell and shapes of gonad by 79 days ph, but the active spermatogenesis were found in the testes at 118 days ph (31.7mm SL). These results suggest that sex differentiation occurs from 20 days (10mm SL) to 80 days ph (20mm SL) in female and ganadal sex differentiation in male is retarded comparing with female.

ニゴロブナ *Carassius auratus grandoculis* は、琵琶湖固有のコイ科魚類の1種で、¹⁾ 古くからなれ鮠の1つである「ふな鮠」の材料として利用され、琵琶湖漁業の重要資源となっている。本種の漁獲量は、1985年頃から急激に減少したため、種苗の生産放流や産卵繁殖場の造成などが実施されているが、現在でも30ヶ月前後と漁獲量は低下したままとなっている。ニゴロブナの資源量減少の原因は、ブラックバスなどの有害外来魚による食害のほか、産卵繁殖場である琵琶湖沿岸のヨシ帯の減少や水位の人工的な変動に伴う産着卵の干出によるとされているが、圃場整備による琵琶湖と周辺水田との隔絶にも大きな影響を受けているものと考えられる。「ふな鮠」は抱卵期の雌を使ったものの商品価値が高いことから、性を制御して全雌をつくる技術開発が行われている。²⁾ いっぽうで、本種の性決定様式がXX・XY型であると考えられるものの、雌性発生二倍体に雄が出現するなど、性決定様式に不明な点も多い。³⁾ さらに、性分化の初期に高水温で飼育すると性比が雄に偏ることも報告されている。⁴⁾ そこで、本種の性決定様式を解明する一環として、本研究では成長に伴う生殖腺の発達と組織的变化を明らかにするとともに、性分化が起こる時期やサイズを明らかにすることを目的として実施した。

材料および方法

本研究に使用したニゴロブナの仔稚魚は、1987年6月4日に当場で飼育していたニゴロブナ雌親魚3尾(体重120~210g)の卵と雄親3尾(体重70~145g)の精子を受精して得た仔魚およびそれを飼育した稚魚である。受精卵はおもに6月8日から9日にかけて孵化したことから、6月9日を孵化日として孵化後の日数を数えた。仔魚は150尾を容積30Lのポリカーボネイト製の丸形水槽に収容し、60日間にわたりワムシやミジンコおよびその幼生を適宜投与して室温(17~30℃)で飼育した。その後はFRP製の容積500Lの角形水槽で18℃の地下水を注水してコイ用の人工配合飼料を1日2回与えて飼育した。孵化仔魚および稚魚は孵化後1~232日の間に8回にわたり各回8~10尾を取り上げ、10%ホルマリンで固定した(Table 1)。標準体長(体長)を測定した標本は、さらにブアン液で再固定した後、70%エタノールで保存し、定法に従いパラフィン包埋して厚さ5~7μmの連続切片を作成し、ヘマトキシリン-エオシン染色を施して顕微鏡で観察した。

Table 1. Larvae and juvenile of nigorobuna used in the study

No.	Day after hatching	Number of fish	Mean standard length (mm)	Mean body weight (mg)
1	1	10	4.5	0.7
2	14	9	8.0	9.6
3	30	8	10.9	36.7
4	51	8	14.5	92.2
5	79	8	19.0	224.2
6	118	8	31.7	1234.7
7	163	8	41.2	2222.5
8	232	10	52.0	4200.0

結 果

孵化後 1 日の仔魚 (体長 4.5mm) は、ホンモロコと同様に腹部に卵黄嚢をもっており、⁵⁾ まだ卵黄を吸収する過程であった。組織切片の観察より、比較的大型で染色性の弱い始原生殖細胞が頭部に近い体腔壁の左右に消化管との間に挟まれる形で認められた (Fig. 1)。孵化後 14 日の稚魚 (体長 8mm) では、体腔背壁に生殖隆起が認められ、わずかに生殖細胞周辺で増加した体細胞と 1~2 個の大型で円形の仁を有する生殖細胞が観察された。(Fig. 2, 3)。孵化後 30 日の稚魚 (体長 10.9mm) では、孵化後 14 日と同様の位置に生殖細胞数の増加は認められないものの、その周辺の体細胞数が増加して一部の個体では体細胞が体腔壁に沿って左右に伸長しているのが観察された (Fig. 4, 5)。孵化後 51 日 (体長 14.5mm) では、孵化後 30 日に認められた体腔壁に沿った体細胞の伸長がさらに大きくなる個体 (Fig. 6) と、一方で生殖細胞がわずかに増加しているが体細胞要素に大きな変化の認められない個体が見られた (Fig. 7)。孵化後 79 日 (体長 19mm) では、伸長した体細胞による薄板が融合して体腔壁に面する側に卵巣腔を形成している生殖腺が観察され (Fig. 8-10)、生殖細胞は数と大きさを大幅に増加させていた。一方で、生殖細胞数が孵化後 51 日の個体とほとんど変化がなく、体細胞の伸長も見られない個体が認められた (Fig. 11)。周辺仁期の卵母細胞の段階に達した生殖細胞は孵化後 118 日の個体 (体長 31.7mm) で観察され (Fig. 12, 14)、その大きさは直径 30~60 μm であった。一方で空隙が形成されず、体腔壁から垂下した状態で減数分裂初期の精原細胞が包囊を形成した精巣をもつ個体が見られた (Fig. 13)。孵化後 163 日の個体 (体長 41.2mm) では、雌では卵

母細胞は大型化して数も増加していた (Fig. 15)。雄の生殖腺では、分裂中の精原細胞が多数観察された (Fig. 16)。孵化後 232 日 (体長 52mm) の個体では、雌では周辺仁期の卵母細胞が多数見られ、それらのサイズもかなり大きく発達していた。中には卵黄胞期の発達段階へ進んでいる細胞も観察された (Fig. 17)。雄の生殖腺では、活発な減数分裂と精子形成の進む個体 (Fig. 18) と、一方ではまだ精原細胞数の少ない発達初期の精巣をもつ個体も認められた (Fig. 19, 20)。

考 察

本研究結果より、ニゴロブナの性分化の組織学的な兆候は孵化後 30 日に観察された未分化生殖腺の体腔壁に沿った体細胞要素の伸長によって認めることができる。このような生殖腺をもつ個体では、孵化後 51 日では卵細胞の出現と卵巣腔の形成によって卵巣へと分化することが推定された。一方で精巣へと分化する生殖腺では、孵化後 79 日 (体長 19mm) でも卵巣形成のような明確な変化が見られず、その後の孵化後 118 日 (体長 31.7mm) の間に体細胞分裂による生殖細胞の増殖と減数分裂が急速に起こるものと考えられた。従ってニゴロブナの性分化は、雌では孵化後 30 日頃 (体長 10mm) に、雄では孵化後 80 日頃 (体長 20mm) に組織学的に明確になるものと考えられる。藤岡ら²⁾はニゴロブナの雌性発生二倍体に 17-methyltestosterone (17-MT) を作用させて遺伝的雌を雄に性転換させた偽雄をつくり、これを用いて全雌生産に成功しているが、このとき 17-MT は孵化後 25 日 (全長 16mm) から 85 日 (全長 45mm) まで漬浸処理を行っている。さらに、全雌種苗を用いて孵化後 20 日 (全長 11.4mm) から 80 日間 (全長 34~38mm)

17-MT 処理を行ったとき、全雄群が作出できたと報告している。これらの雄性ホルモン処理による性転換結果は今回の生殖腺の組織学的分化過程とよく一致した結果となっている。

ニゴロブナの性分化は、メニディア⁶⁾やホンモロコ⁷⁾などと同様に性分化期の水温によっても影響を受けることが知られている。Fujioka⁴⁾はニゴロブナの全雌種苗を 24℃と 30℃で孵化後 20 日から 80 日間飼育したとき、24℃では全雌となったが、30℃では約 22%の雄が出現したことを報告している。本研究からみてニゴロブナの孵化後 20 日は性分化初期にあたる時期であると考えられ、孵化後 80 日では雌雄の性分化が明確になっていることを考え合わせると、孵化後 20 日 (体長 10mm) から 80 日頃 (体長 20mm) までの 60 日間は性分化期であり、特に孵化後 30~50 日間 (体長 10~15mm) はホルモン処理や飼育水温の上昇などの外部からの刺激に対して大きく影響をうける可能性をもつ時期であると考えられる。

謝 辞

本研究費は、水産庁の地域バイオテクノロジー研究開発促進事業により支給された経費により実施したものであり、水産庁に感謝します。

文 献

- 1) 細谷和海 (2000) : コイ目コイ科, 中坊徹次 (編) 日本産魚類検索—全種の同定, 第 2 版, pp.212-213, 東海大学出版会, 東京.
- 2) 藤岡康弘・田中秀具・澤田宣雄 (1995) : ニゴロブナの性転換雄を用いた全雌生産, 水産増殖, 43(3), 389-393.
- 3) 藤岡康弘 (1997) : ニゴロブナ雌性発生二倍体の作出とその特性, 滋水研報, 46, 1-8.
- 4) Fujioka, Y (2002) : Effects of hormone treatments and temperature on sex-reversal of *Nigorobuna Carassius carassius grandoculis*, Fish. Scie., 68(4), 889-893.
- 5) 藤岡康弘 (2012) : ホンモロコの性分化過程について, 滋水研報, 54, 00-00.
- 6) Conover, DO. Kynard, BK. (1982) : Environmental sex determination : interaction of temperature and genotype in a fish, Science, 213, 577-579.
- 7) Fujioka, Y. (2001) : Thermolabile sex determination in honmoroko *Gnathopogon caerulescens*, J. Fish Biol. 59, 851-861.

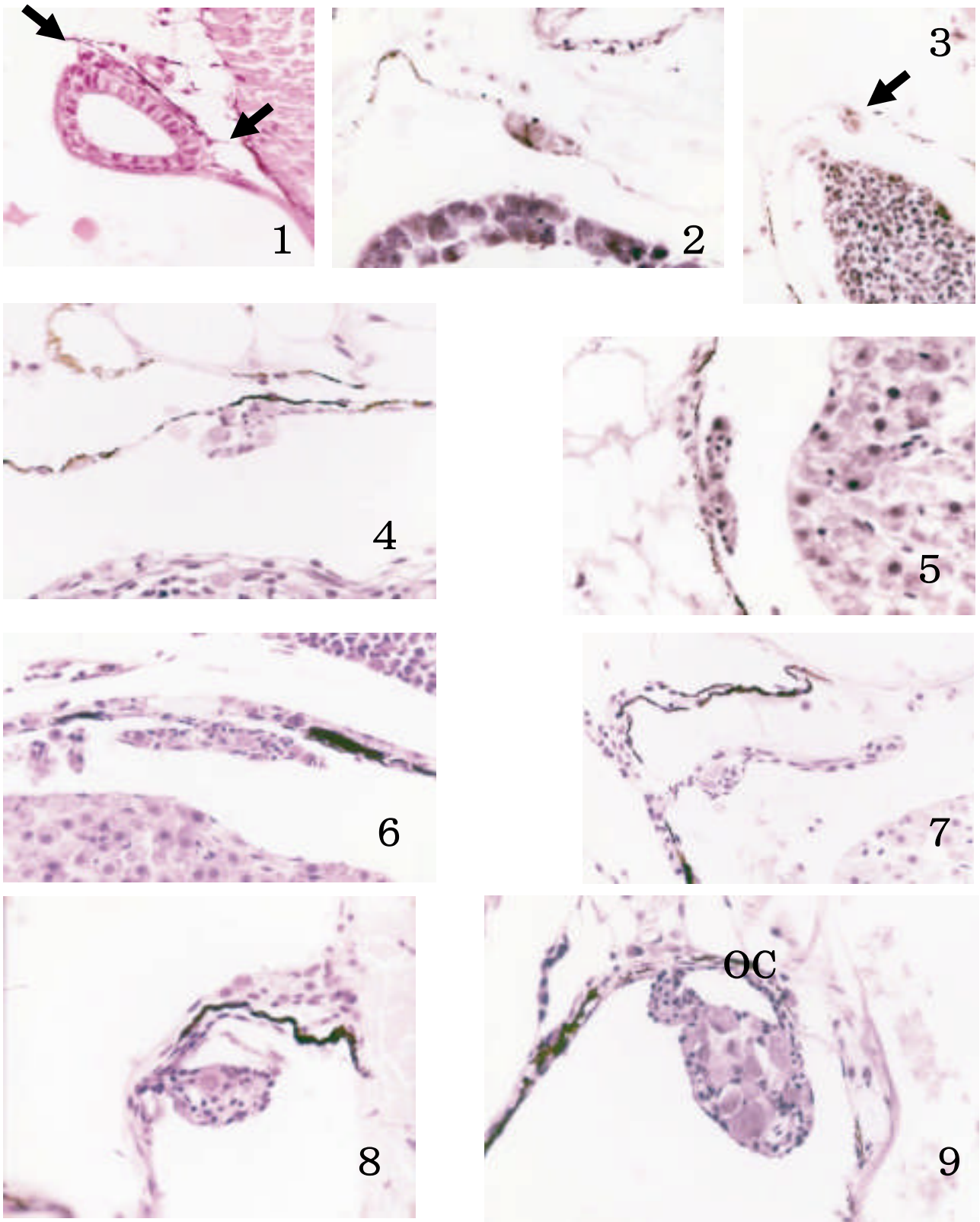


Fig. 1. Sexually indifferent gonad of a newly hatched fry. Arrows indicate primordial germ cells. $\times 250$
Fig. 2, 3. Gonads at 14 days post hatch. $\times 600$ Fig. 4, 5. Gonads at 30 days post hatch. $\times 300$
Fig. 6, 7. Gonads at 51 day post hatch. $\times 300$ Fig. 8, 9. Ovary at 79 days post hatch. OC: Ovarian cavity.
 $\times 300$

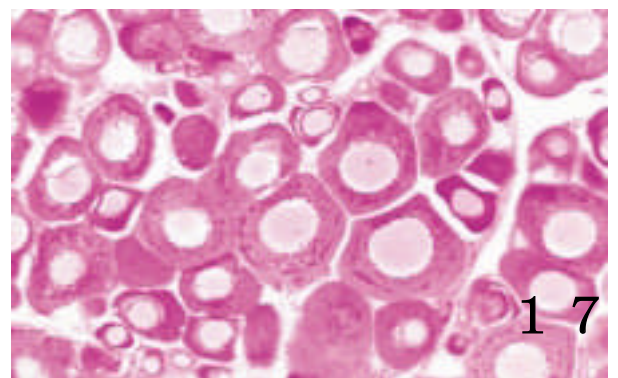
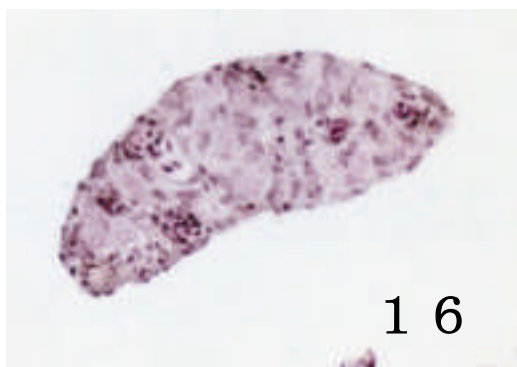
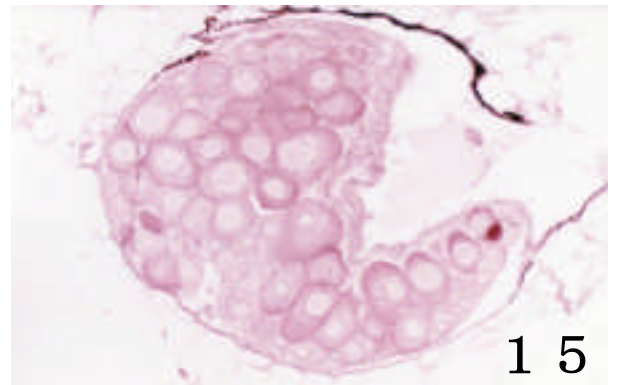
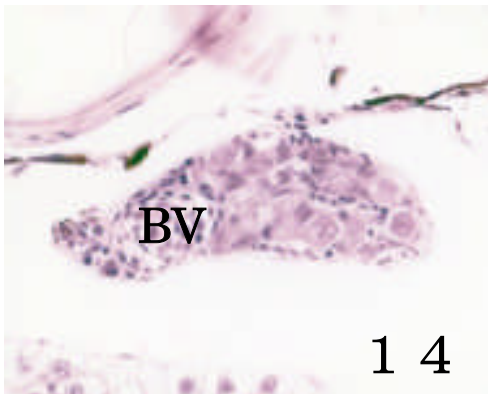
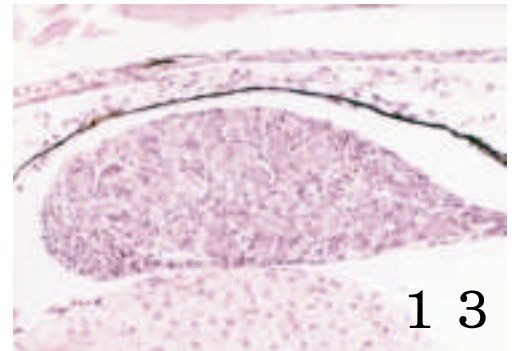
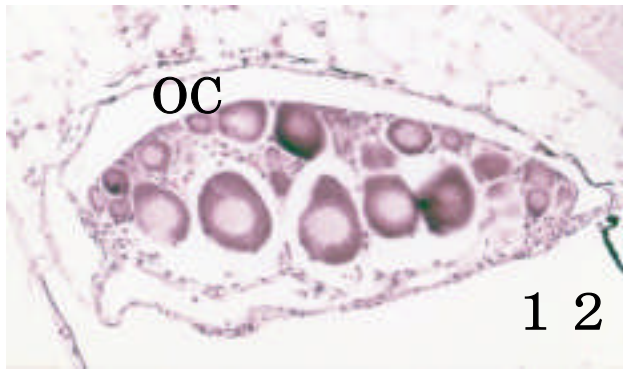
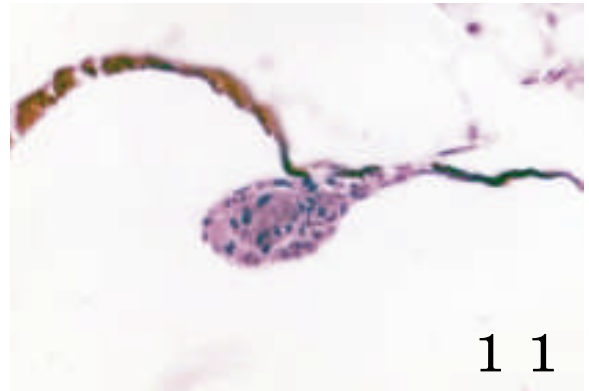
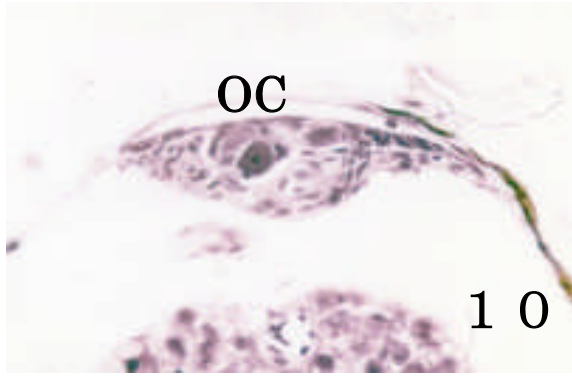


Fig. 10. Ovary at 79 days post hatch. OC: Ovarian cavity. ×300
Fig. 11. Presumed testes of a juvenile, 79 days post hatch. ×300
Fig. 12. Ovary at 118 days post hatch. ×150
Fig. 13. Testes at 118 days post hatch. ×150
Fig. 14. Ovary at 118 days post hatch. BV : Blood vessel. ×300
Fig. 15. Ovary at 163 days post hatch. ×30
Fig. 16. Testes at 163 days post hatch. ×150
Fig. 17. Ovary at 232 days post hatch. ×150

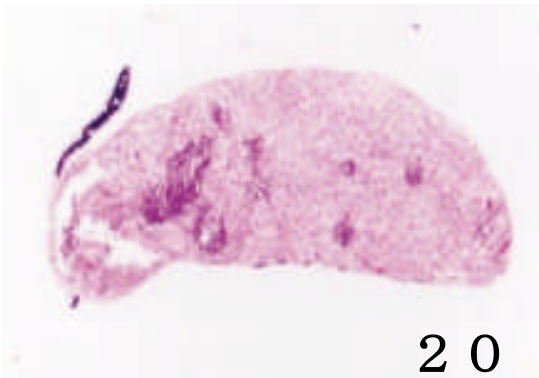
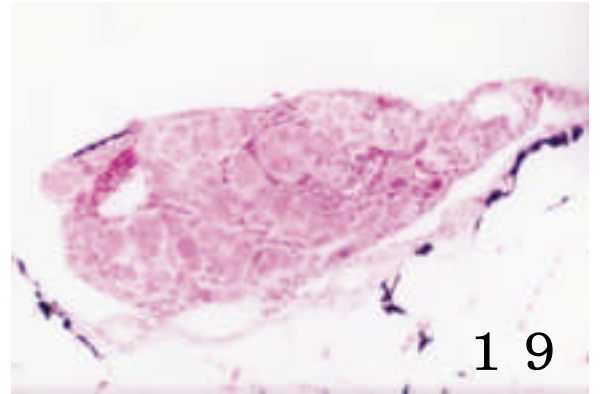
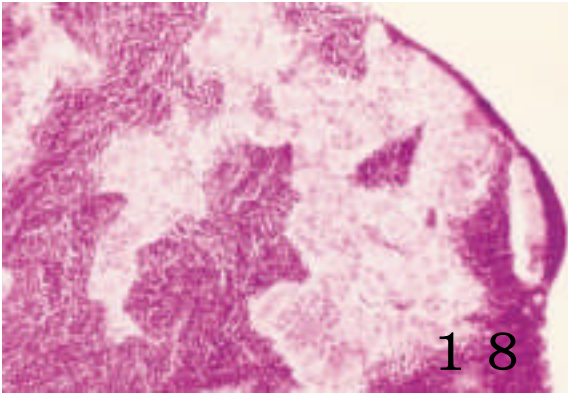


Fig. 18. Testis at 232 days post hatch. $\times 150$ Fig. 19. Testis at 232 days post hatch. $\times 300$ Fig. 20. Testis at 232 days post hatch. $\times 150$