

ホンモロコの性分化過程について

藤岡康弘

Sex differentiation in honmoroko *Gnathopogon caerulescens*

Yasuhiro Fujioka

キーワード：ホンモロコ、性分化、生殖腺

Sex differentiation in honmoroko *Gnathopogon caerulescens* was observed histologically from one day to 114 days post hatching (ph). The number of germ cells increased gradually from the first day to 32 days ph. At the time of 53 days ph, ovary with oocytes at peri-nucleolus stage and ovarian cavity were observed. On the other hand, gonad of presumptive testis was only seen the increase of number of germ cells at 81 days ph. These results suggest that the sex differentiation takes place during about 30 and 50 days ph (10-15mm in standard length).

ホンモロコは琵琶湖固有のコイ科魚類の一種で、^{1,2)}琵琶湖漁業における主要な水産資源となっている。³⁾その漁獲量は1995年まではほぼ150ト以上で推移して比較的安定していたが、それ以降は急減して低迷したまま今日に至っており、その資源回復をめざして種苗放流などの増殖事業が実施されている。本種の生態については、富山県水産会^{4,5)}や中村^{1,2)}、奥沢らの研究⁶⁾、さらには個体群動態に関する一連の牧の研究⁷⁻¹²⁾などがなされている。ホンモロコの性比に関連しては、高齢魚が雌に偏ることが報告されている。²⁾一方で本種の性比が発育初期の水温によって影響を受け、高水温で飼育すると雄の割合が増加することが知られている。^{13,14)}本種の性決定様式は、雄ヘテロのXX-XY型であると考えられているが、水温などの環境の影響も受けて性が決まるのではないかと推定されている。¹⁵⁾性が決定される時期については、20、25 および30°Cで飼育した場合、孵化後50日には卵巣腔が形成され生殖細胞は周辺期の卵母細胞に分化していることが報告されているが、¹³⁾孵化後50日間の生殖細胞の変化や生殖腺の形成過程の詳細については判っていない。そこで本研究は、ホンモロコの成育に伴う生殖腺の変化を観察することにより組織学的に性分化の時期を推定し、飼育水温の管理や性転換を人為的に行う時のホルモン処理時期などに参考となる知見を得ることを目的に実施した。

材料および方法

本研究に使用したホンモロコは、1987年6月2日に当場で飼育していたホンモロコ雌親魚1尾(体重12.1g)から採取した卵に雌性発生二倍体中に出現した雄1尾(体重6.7g)の精子を受精して得た仔魚およびそれらを飼育した稚魚である。受精卵は6月7日から9日にかけて孵化したことから、6月8日を孵化日として以降の孵化後の日数を数えた。150尾の仔魚を容積30Lのポリカーボネイト製の丸形水槽に収容し、100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(16.1~28.0°C)で飼育した。その後は容積50Lの亚克力製角形水槽でコイ用の人工配合飼料を1日2回与えて飼育し、ふ化後120日に30尾について実体顕微鏡下で生殖腺を摘出し、さらに顕微鏡下で100または200倍に拡大して観察して性別を判定した。性別判定結果から本材料が全雌である可能性が判明したことから、別に同様な方法で飼育していた通常魚同士の掛け合わせによる孵化後146日目の稚魚も本研究に用いた。孵化仔魚および稚魚は孵化後1~102日の間に6回にわたり各6~10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

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

No.	Day after hatching	Number of fish	Mean standard length (mm)	Mean body weight (mg)
1	1	10	4	0.6
2	14	10	7	2.4
3	32	8	10	15
4	53	7	16	83.4
5	81	8	25	230.5
6	102	6	29	395.8
7	146	10	34	578

シリン-エオシン染色を施して観察した。

結 果

孵化直後（孵化後 1 日）の仔魚（体長 4mm）は、腹部にまだ卵黄嚢をもっており、卵黄を吸収する途中であった。組織切片の観察より、ヘマトキシリンに濃く染まる比較的大型の生殖細胞が頭部に近い体腔壁の左右の場所に卵黄嚢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 7mm）では卵黄は全て吸収され、内臓諸器官はほぼ全て完成されていた。体腔背壁の左右に垂下する形で体細胞層に囲まれた数個の生殖細胞が腸管との間に存在したが、形態的に明白な性分化の兆候は認められなかった（Fig. 2,3）。孵化後 32 日の稚魚（体長 10mm）では、孵化後 14 日と同様の位置に生殖細胞を多数包む生殖組織が体腔壁に垂下する形で観察されたが（Fig. 4, 5）、形態的には性分化の特徴的な変化は認められなかった。しかし、生殖細胞数は大幅に増加しており、明らかに孵化後 14 日の生殖腺とは区別できた。孵化後 53 日の稚魚（体長 16mm）では、観察した 7 個体全てで発達した生殖細胞が染色仁期の卵母細胞の段階に達していた（Fig. 6）。中には卵母細胞が周辺仁期に達している個体も認められ（Fig. 7）、生殖腺と体腔壁の間には体細胞で形成される囲卵腔と呼ばれる間隙が形成されていた。孵化後 81 日の稚魚（体長 25mm）では、卵母細胞がサイズを増し（直径 30~50 μ m）、数も大幅に増加していた（Fig. 8, 9）。一方で生殖細胞数は増加しているが形態的に未分化な生殖腺をもつ個体が見られた（Fig. 10）。孵化後 102 日の個体（体長 29mm）では、卵母細胞の数が大幅に増加していた（Fig. 11）。通常の親同士との交配による孵化後 146 日（体長 34mm）の稚魚では、多数の発達した大型の卵母細胞をもつ個体とは対照的に、小型の多数の精原細胞が包囊を形成しているのが観察された（Fig. 12, 13）。

考 察

今回の観察に使用したホンモロコは、孵化後 120 日の段階で 30 個体について性別を調査したところ、全て雌であった。ホンモロコは XX-XY 型の性決定をされると考えられているため¹⁵⁾、今回使用した雄親が雌性発生二倍体に出現した雄であることから、性染色体型が XX 型の遺伝的には雌であるが表現型が雄に性分化した個体であったものと推察される。従って、本研究で観察した孵化後 102 日までの仔稚魚は全て雌に性分化する可能性をもった個体であると考えられる。

本研究の生殖腺組織の観察から、孵化後 53 日（体長 16mm）のホンモロコは、生殖細胞が染色仁期、あるいはさらに進んだ周辺仁期の卵母細胞の段階へと発達移行しており、雌性への分化が完成している段階に達して、Fujioka¹³⁾ が指摘しているのと同様な結果であった。しかし、孵化後 32 日の個体では、生殖細胞数は大幅に増加していたものの性分化を判定する際の形態的証左と言われる卵巣腔原基の形成や生殖細胞の減数分裂¹⁶⁾ が確認できなかった。これらの結果を総合すると、ホンモロコにおいてはおよそ孵化後 30 日から 50 日の間（体長 10-15mm）に組織学的な性分化が起こるものと推察される。同じコイ科魚類のコイ *Cyprinus carpio* では、孵化後 65 日に卵母細胞様の大型の生殖細胞が生じることによって雌の生殖腺の分化が判別されるという。¹⁷⁾ 一方メダカ *Oryzias latipes*、¹⁸⁾ テラピア・ジリ *Tilapia zillii*¹⁹⁾ やテラピア・モザンビカ *T. mossambica*²⁰⁾ の性分化は、それぞれ孵化日、孵化後 15 日あるいは 20 日とされ、これらの魚類に比較してホンモロコはかなり遅い時期である。

孵化後 81 日の個体の中に卵巣とは明らかに異なる生殖腺をもつ個体が見られたが（Fig. 10）、卵巣腔の形成は見られず生殖細胞の大きさは孵化後 32 日のものと同様でその数は増加していた。このような生殖腺は精巣へ分化する可能性をもっているものと推定された。上述のように、使用した実験魚は全雌になる可能性をもっているが、飼育水温の影響などで雄へ分化しつつある個体が出現したものと考えられる。

ホンモロコは性決定が飼育水温の影響を強く受け、発育初期に高水温で飼育すると雄の割合が増加することが報告されている。¹³⁾ 今回の生殖腺組織の観察からすると、孵化後 32 日の標本で観察される生殖細胞数の

増加は、雌への性分化に関連している可能性を示唆するものと考えられる。水温が性分化に影響する発育段階については明らかになっていないが、これらの観察結果からすると組織的な分化に先立つ孵化後 20 日から 40 日の間に影響を及ぼす時期が存在するのではないかと推定される。さらに性ホルモンを用いて性転換を誘起し、いわゆる偽雄を作出して全雌種苗を生産する場合、²¹⁾ 性ホルモンの処理時期は性分化時期より前から開始し一定期間継続することが必要であるとされている。¹⁹⁾ この点から見ると、ホンモロコでは孵化後 15 日頃から 35 日間が必要であると考えられる。

謝 辞

本研究費は、水産庁により支給された経費により実施したものであり、感謝致します。

文 献

- 1) 中村守純 (1949) : 琵琶湖産ホンモロコの生活史. 日本水産学会誌, 第 15 卷, 第 2 号. p.88-96.
- 2) 中村守純 (1969) : ホンモロコ. 日本のコイ科魚類. 資源科学シリーズ, 4. p.117-125. 東京, 資源科学研究所.
- 3) 藤岡康弘 (2001) : ホンモロコ *Gnathopogon caeruleus* の増養殖研究の現状と課題, 滋水研報, 第 48 卷. p.47-56.
- 4) 富山県水産会 (1940a) : ホンモロコの生態並に飼育試験. 水産研究誌, 第 35 卷, 第 6 号, p.142-147.
- 5) 富山県水産会 (1940b) : ホンモロコの生態並に飼育試験(其 2). 水産研究誌, 第 35 卷, 第 7 号, p.160-165.
- 6) 奥沢公一・古川清・会田勝美・羽生功(1986) : ホンモロコ, *Gnathopogon elongates caeruleus* の生殖年周期, 日本水産学会誌, 第 52 卷, 第 11 号, p.1957-1960.
- 7) 牧 岩男 (1964) : びわ湖内湾における魚類の餌生物の関係, 生理生態, 第 12 卷, 第 1・2 合併号, p.259-271.
- 8) 牧 岩男 (1966a) : びわ湖のホンモロコ個体群変動の解析 I. 生活環のどの位置が個体群の年変動に関係しているか. 日本生態学会誌, 第 16 卷, 第 5 号, p.183-190.
- 9) 牧 岩男 (1966b) : びわ湖のホンモロコ個体群変動の解析 II. 冬季の個体群の年変動の要因解析の試み. 日本生態学会誌, 第 16 卷, 第 6 号, p.254-264.
- 10) 牧 岩男 (1967) : びわ湖のホンモロコ個体群変動の解析 III. 0+年魚における体内脂肪含有量の季節変化と“越冬”について. 日本生態学会誌, 第 17 卷, 第 5 号, p.199-205.
- 11) 牧 岩男 (1968a) : びわ湖のホンモロコ個体群変動の解析 IV. ふたたび, 年変動に関係する生活環上の位置について. 日本生態学会誌, 第 18 卷, 第 3 号, p.112-119.
- 12) 牧 岩男 (1968b) : びわ湖のホンモロコ個体群変動の解析 V. 0+年魚における成長の年変動と越冬期における個体群の年変動の関係. 日本生態学会誌, 第 18 卷, 第 4 号, p.158-166.
- 13) Fujioka, Y (2001) : Thermolabile sex determination in honmoroko, J. F. Biol., 59, p.851-861.
- 14) Fujioka, Y (2006) : Patterns of sex ratio response to water temperature during sex determination in honmoroko *Gnathopogon caeruleus*, Fish. Sci., 72, p.1034-1041.
- 15) Fujioka, Y (1998) : Survival, growth and sex ratios of gynogenetic diploid honmoroko, J. F. Biol., 52, p.430-442.
- 16) 隆島史夫・会田勝美 (1984) : 性分化とホルモン. 日本比較内分泌学会編, 学会出版センター, 東京, p.77-97.
- 17) Philip, R.D. & Takashima F. (1980) : Sex differentiation in common carp, *Cyprinus carpio*, J. Tokyo Univ. Fish. 66, No. 2, p.191-199.
- 18) 都築英子・江上信夫・兵藤泰子 (1966) : メダカの正常発生過程における生殖細胞の増殖と性分化, 魚類学雑誌, 13, p.176-182.
- 19) Yoshikawa H. & Oguri M. (1987) : Sex differentiation in a Cichlid, *Tilapia zillii*, Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 44(4), p.3131-318.
- 20) Nakamura M. & Takahashi H. (1973) : Gonadal sex differentiation in *Tilapia masambica*, with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic males. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 24, p.1-13.
- 21) 藤岡康弘 (1993) : ホンモロコ *Gnathopogon*

caerulescens の 17-methyltestosterone 漬浸処理による性転換と全雌魚生産の試み, 水産増殖, 第 41 巻, 3 号, p.409-416.

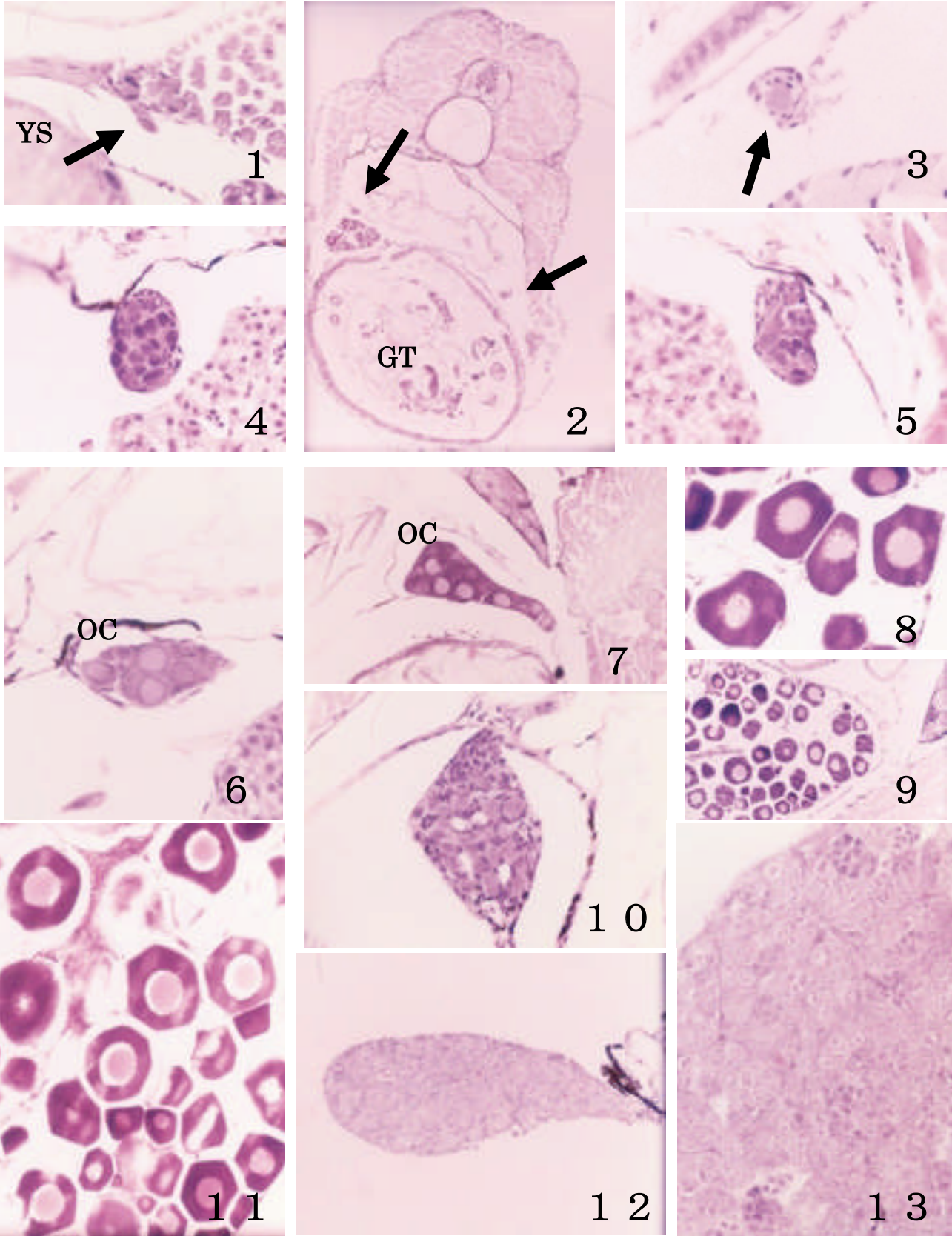


Fig. 1. Primordial germ cell (arrow) at hatching. Yolk sac (YS). $\times 300$ Fig. 2. Arrows show genital ridges at 14 days post hatching (ph). Gut (GT). $\times 150$ Fig. 3. Germ cell (arrow) at the base of genital ridge at 14 days ph. $\times 300$ Fig. 4, 5. Gonads at 32 days ph. Number of germ cells increased considerably. $\times 300$ Fig. 6. Ovary of a female at 53 days ph. Ovarian cavity (OC) was formed. $\times 300$

Fig. 7. Ovary at 53 days ph. Ovarian cavity (OC). $\times 100$ Fig. 8. Oocytes at peri-nucleolus stage at 81 days ph. $\times 150$ Fig. 9. Oocytes at peri-nucleolus stage at 81 days ph. $\times 50$ Fig. 10. Gonad of presumptive testis at 81 days ph. $\times 300$ Fig. 11. Oocytes at peri-nucleolus stage at 102 days ph. $\times 75$ Fig. 12. Testis at 146 days ph. $\times 150$ Fig. 13. Testis at 146 days ph. $\times 300$