

ドジョウの増殖に関する研究— V.

卵胞ホルモンによる性転換について※

久保田善二郎・松井 魁・西川昇平・関屋 正

Foundation Studies in Culturing of the Japanese Loach,
Misgurnus anguillicaudatus (CANTOR)— V.
 Sex Reversal induced by Follicular Hormone※

By

Zenziro KUBOTA, Isao MATSUI, Syohei NISHIKAWA and Tadashi SEKIYA

Since BERKOWITZ (1941) induced successfully the sex reversal in the guppy by estrogen given through mouth, many workers such as OKADA (1943 and 1944) and YAMAMOTO (1954, 1956 and 1958) applied themselves to inducing this phenomenon in the fish, chiefly from pure scientific interest. But the author intended to induce the sex reversal from practical point of view paying special attention to the fact that the female can grow up far more rapidly than the male. And the results of the experimental culturing planned to induce the sex reversal by giving the foods added to follicular hormone are shown in the below.

1) Each of three groups of the loach shorter than 45 mm in body length was fed on two kinds of foods for 40 days; *i. e.*, a half is fed on the pupae of silk-worm mixed the rice-bran (these groups are called the control groups) and the other half is fed on this foods mixed the follicular hormone (experimental groups).

2) The rates of occurrence of the female individuals to total in respective control groups are 54, 56 and 57 % respectively. While those in respective experimental groups are raised into 82, 91 and 100 % respectively, and the higher rate of female individuals is observable in the group in which the smaller fry are fed on.

3) The pectoral fin of the female individuals in the experimental group is longer than that of the control group, and *vice versa* in the male; and the anal fin of the male individuals in the experimental group is shorter than that of the control group.

※ 水産講習所研究業績 第341号, 1961年6月26日 受理.
 Contribution from the Shimonoseki College of Fisheries, No. 341.
 Received June 26, 1961.

4) The lamina circularis, which develops at the base of second pectoral ray, is very frequently abnormal in shape in loaches of the experimental group, and it is smaller in those of the experimental group than in that of the control group.

まえがき

魚類の性の人為的転換については、BERKOWITZ (1941) はグッピー *Lebistes reticulatus* の稚魚に適量のエストロジエンを経口的に与えると、注射した時より雌化しやすいことを、岡田 (1943) はメダカにおいて、雄の個体に雌性ホルモンである diethyl-stilboestrol および oestriol を皮下注射して、その精巢に卵子を形成させ、さらに同氏 (1944) はメダカ類の1種タップ・ミンノーにおいて若い雄個体に雌性ホルモンである diethyl-stilboestrol の結晶を約3ヵ月にわたって数回皮下注射したところ、精巢中で雄性細胞は退化して卵子が形成されたことを報告している。山本 (1954, '56, '58) はメダカの仔魚を孵化直後から一定の稚魚の段階まで、メチル・テストステロン含有餌料で飼育すると、遺伝的雌XXは性分化の転換をおこして、機能的な雄になるが、その雄と正常雌XX♀♀と交雑した結果、その子は全部雌だけであって、性転換雄の性の遺伝子型がXXであることを確証した。

著者は本実験において、雌の成長度が雄に勝ること (久保田, 1961c), つまり養魚経営的立場から、性を人為的に制御して雌のみを出現させることができるかどうかを知る目的で、卵胞ホルモン添加餌料によって性転換を試みた。

本文に入るに先立ち、御校閲を賜わった京都大学教授松原喜代松博士に感謝の意を表する。

実験の材料および方法

実験は1959年9月8日から10月17日までの40日間、水産講習所の試験池で行なった。使用した池の面積は1.66 m² (0.5坪)、池数は6個である。供試魚は1959年9月1日から3日にかけて、下関市吉見町永田川下流附近の溝で採集した魚のうちから体長45 mm以下、つまり性が未分化の状態 (久保田, 1961a)にあるものと思われるもの108尾を選んで使用した。実験方法は、まず供試魚の尾数を実験群と対照群とに2等分し、さらにこの両群をおのおの3等分して6群をつくった。各群の放養尾数、量および1尾当りの平均体重は第1表に示した通りである。ここでとくに注意を要する点は、実験群においてD群はE群よりも0.1 g、E群

Table 1. Outline of each group of loach at the beginning of the experiment on the sex reversal caused by follicular hormone.

Group	Number of individuals	Total weight(g)	Average body weight(g)
Control	A	18	15.4
	B	//	14.8
	C	//	14.0
Experiment	D	//	15.2
	E	//	13.4
	F	//	12.1

はF群よりも0.07 g重いこと、つまり各群間において種苗の大きさの差異を設けたことである。対照群の餌料は主餌料のみで、蚕蛹と米糠とを乾燥重量比2:1の割合に混ぜて煮沸したもの、また実験群では主餌

料にオバホルモンB錠*（帝国臓器製薬株式会社製）粉末を添加したもので、これらのうち主餌料は放養魚体重量の1/10量を、またオバホルモンは各群につき1錠あてを1日1回与えた。給餌方法は餌料を練り固めて磁製皿に入れ、さらにその皿は、摂餌運動による餌料の散乱を防ぐために池中にあらかじめ用意された直径23.5 cm、深さ8.5 cmの洗面器の底部に安置した。なお残存餌料は、池水の腐敗を防止するために給餌の際に除去した。飼育期間中の池水の温度範囲は17.2~30.2°C、平均水温は23.9°Cである。

雌雄の出現尾数の調査は、実験終了後生魚の状態で行なうとともに、さらに10%ホルマリン溶液に固定後、解剖顕微鏡下で胸鱗の形、その第2鱗条の長さおよび太さ、骨質薄板 lamina circularis の有無によりきわめて正確に行なった。

実験群と対照群との性徴形質の比較方法は、まず胸鱗、腹鱗、臀鱗、尾鱗および背鱗の各長さを測定し、さらにこれらの各測定値の体長に対する百分率（以下係数値とよぶ）の平均値を群別に求めた。両群の平均値間において差異を認めることのできる限界は次式によって規定した。

$$4\sqrt{(E_{p\epsilon})^2 + (C_{p\epsilon})^2} \leq |M_E - M_C|$$

ただし、Eは実験群、Cは対照群、 $p\epsilon$ は標準誤差、Mは平均値である。

胸鱗の雌雄による形態的差異は、ドジョウの性徴のうち最も著しく、しかも早期に出現する形質である（久保田、1961 a）。そこで本実験は、実験群では雌5尾、雄3尾、対照群では雌雄ともに2尾の胸鱗をHOLLISTER（1934）の方法にしたがって透明標本とし、とくに骨質薄板の形について両群間の比較を行なった。次に生殖腺の比較は10%のホルマリン溶液に固定したものをパラフィン法により厚さ10 μ の切片とし、デラフィールド Haematoxilin-eosin で染色を施して顕微鏡下で行なった。

各群の実験期間中における減耗率（N）および増重倍率（W）は次式によって求めた。

$$N = 100(n_0 - n_1) / n_0, W = 100(w_1 - w_0) / w_0$$

この n_0 と n_1 はそれぞれ放養時と収納時における尾数、 w_0 と w_1 は同じく魚体重量である。

実験結果

A. 雌雄の出現率の比較

実験終了時における各群の性比は第2表に示した通りである。雌の総数に対する出現率は、対照群ではA群55.5%、B群53.8%、C群57.1%に対して、実験群ではD群81.8%、E群90.9%、F群100.0%で両群間

Table 2. Sex ratios of each group of loach at the end of the experiment.

Group	Number of individuals			$\{\varphi / (\varphi + \delta)\} \times 100$
	φ	δ	Total	
A	5	4	9	55.5
B	7	6	13	53.8
C	8	6	14	57.1
D	9	2	11	81.8
E	10	1	11	90.9
F	12	0	12	100.0

* 1錠中にエストロン0.05 mg（500単位）、エチニルエストラジオール0.005 mg（500単位 Allen-Doisy法）およびビタミンB₁ 3 mgを含有する。

に大きい差異が認められ、この後者の群のうちでは放養時の魚の大きさが小さい群ほど雌の出現率は大きい。

B. 性徴形質の比較

測定した主な性徴形質の平均値は第3表に示した通りである。この表から実験群と対照群との平均値間における差の信頼度を求めた(第4表)。

Table 3. Mean value of each of the five distinct secondary sexual characters observed in both the control groups and the experiment ones.

Group	Character	Sex	Range	M	σ	C
Control	P L / L × 100	♀	7.6~10.5	9.08±0.11	0.76±0.08	8.37±0.87
		♂	8.2~11.7	12.46±0.22	1.38±0.16	11.07±1.29
	V L / L × 100	♀	5.7~8.3	6.75±0.10	0.69±0.07	10.22±1.07
		♂	6.1~9.5	7.72±0.13	0.83±0.09	10.75±1.25
	A L / L × 100	♀	6.3~10.7	8.54±0.15	1.03±0.11	12.06±1.27
		♂	7.4~12.0	8.81±0.20	1.19±0.13	13.50±1.59
	C L / L × 100	♀	13.9~17.4	15.97±0.13	0.90±0.09	5.63±0.58
		♂	13.7~18.2	16.07±0.20	1.18±0.13	7.34±0.84
	D L / L × 100	♀	7.5~10.8	9.20±0.13	0.85±0.09	9.23±0.96
		♂	7.9~12.3	9.84±0.19	1.17±0.13	11.89±1.38
Experiment	P L / L × 100	♀	8.2~11.7	10.20±0.19	1.61±0.13	15.78±1.38
		♂	10.7~11.9	11.25±0.16	0.41±0.11	3.64±1.01
	V L / L × 100	♀	5.2~8.8	7.01±0.09	0.72±0.06	10.27±0.88
		♂	6.4~7.9	7.25±0.28	0.71±0.20	9.79±2.70
	A L / L × 100	♀	6.4~10.0	8.32±0.11	0.92±0.08	11.05±0.95
		♂	7.4~8.3	7.75±0.16	0.41±0.11	5.29±1.46
	C L / L × 100	♀	13.5~17.5	15.72±0.10	1.29±0.11	8.20±0.70
		♂	15.3~17.4	16.25±0.32	0.82±0.22	5.04±1.39
	D L / L × 100	♀	7.7~10.6	9.09±0.11	0.97±0.08	10.67±0.92
		♂	8.1~10.8	9.92±0.36	0.94±0.26	9.47±2.61

Abbreviations : M, mean ; σ , standard deviation ; C, coefficient of variation.

Table 4. Differences observed between the mean values of the sexual characters of the control groups and of the groups under experiment and their reliabilities.

Character	Sex	$ M_E - M_C $	$\sqrt{(E_P E)^2 + (C_P E)^2}$	$\frac{ M_E - M_C }{\sqrt{(E_P E)^2 + (C_P E)^2}}$
P L / L × 100	♀	1.12	0.22	5.09
	♂	1.21	0.28	4.32
V L / L × 100	♀	0.26	0.14	1.86
	♂	0.47	0.30	1.57
A L / L × 100	♀	0.22	0.17	1.29
	♂	1.06	0.26	4.10
C L / L × 100	♀	0.25	0.17	1.47
	♂	0.18	0.37	0.49
D L / L × 100	♀	0.11	0.17	0.65
	♂	0.08	0.41	0.20

a. 胸鰭の長さ : 対照群と実験群における係数值(胸鰭の長さ/体長, %)の平均値は、雌ではそれぞれ9.08と10.20、また雄では12.46と11.25、両群の平均値間における差の信頼度は、前者が5.09後者が4.32で、

雌雄ともに有意差が認められる。すなわち実験群の胸鰭の長さは対照群のそれに比べて雌では長く、雄では逆に短く、したがってその雌雄差は小さい。雌の変異係数は実験群では15.8、対照群では8.4で、前者の方が後者よりも大きい。

b. 腹鰭の長さ：係数值（腹鰭の長さ／体長，%）の平均値は、雌では対照群と実験群とにおいてそれぞれ6.75と7.01、雄では7.72と7.25、両群の平均値間における差の信頼度は前者1.86、後者1.57で雌雄ともに群間の平均値の差異は認められない。

c. 臀鰭の長さ：係数值（臀鰭の長さ／体長，%）の平均値は雌では対照群 8.54、実験群 8.32、雄では同様に8.81と7.75、両群の平均値間における差の信頼度は前者1.29、後者4.10で、有意差は雄だけに認められる。各群別に雌雄の平均値を比較すると、対照群では雄の方が、実験群では逆に雌の方が大きい。

d. 尾鰭の長さ：係数值（尾鰭の長さ／体長，%）の平均値は、雌では対照群 15.97、実験群 15.72、雄では同じく16.07と16.25、両群の平均値間における差の信頼度は前者1.47、後者0.49で、いずれも有意差が認められない。

e. 背鰭の長さ：係数值（背鰭の長さ／体長，%）の平均値は、雌では対照群 9.20、実験群 9.09、雄ではそれぞれ9.84と9.92で、両群の平均値間における差の信頼度は0.65と0.20を示し、有意差は認められない。

次に胸鰭の形状を透明標本により比較した（第1図）。ドジョウの雄は普通体長が53 mm 前後に達すると、

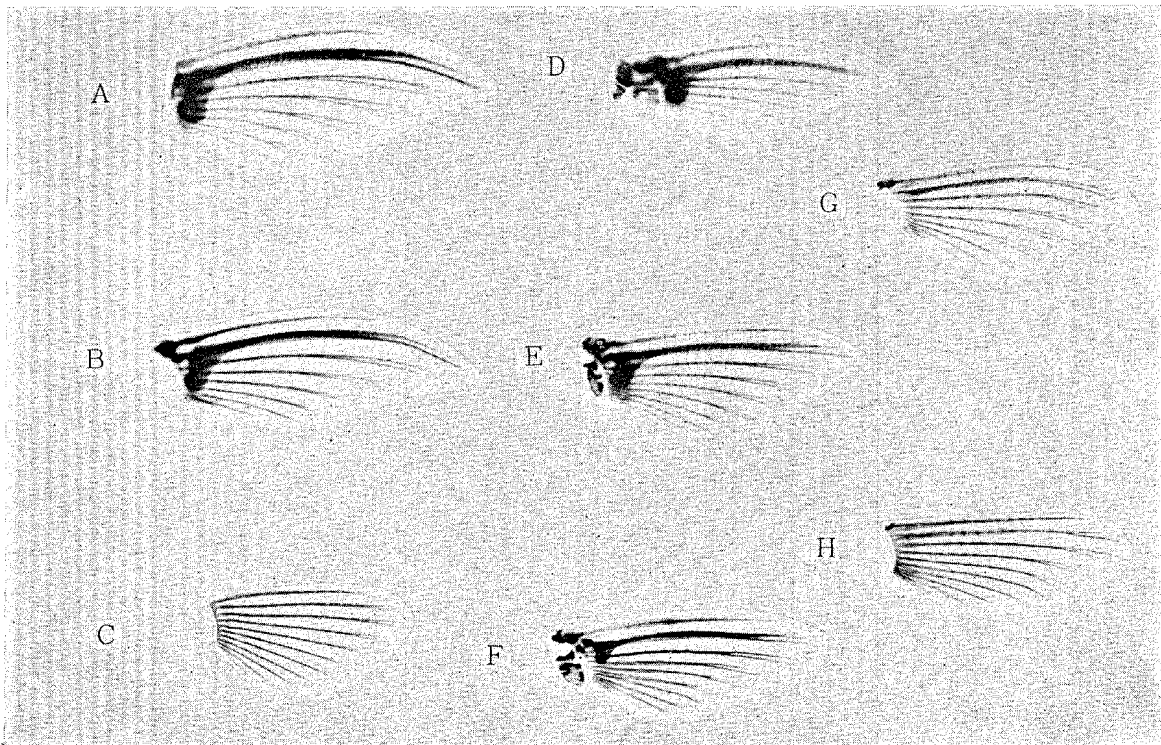


Fig. 1. Comparison of the pectoral fin of the group fed on the follicular hormone added to foods with that of control group. Pay attention that the lamina circularis of the hormone added to group can not develop so conspicuously as that of control group.
Notes: A and B, male of control group; C, female of the same group; D, E and F, male of the experiment group; G and H, female of the same group.

胸鰭の第2鰭条の背面基部に骨質薄板が現われ始め後方に板状に発達し、体長が58 mm になると、河川産では第9鰭条までをおおう（久保田，1961 a）。この骨質薄板は塚原（1948）が報告したように、産卵時に雄の体を雌に固着するために用いられ、その後縁にはノコギリ状の小さな刻みがある。さて対照群における

雄2尾(第1図AおよびB, 体長69.5 mmと66.2 mm)の胸鰭第2鰭条はいずれも他の鰭条よりも長く, 太く, また骨質薄板は第6~第7鰭条までをおおい, その板でおおわれない鰭条数はともに3本である。一方実験群の胸鰭第2鰭条は他の鰭条よりも長く太いが, 対照群のそれに比べると, 上述したように短く, そして幾分細い。また骨質薄板はNo.1の個体(第1図D, 体長68.0 mm)では第7鰭条までをおおい, あとに2鰭条を残し, ほぼ対照群と一致するが, No.2(第1図E, 体長64.8 mm)では第6鰭条まで, No.3(第1図F, 体長72.0 mm)では第4鰭条までをおおい, 残余鰭条数はそれぞれ4本と7本で, 対照群よりも多い。このように実験群雄の胸鰭の形状は対照群と著しく相違し, その性徴形質の発達はよくない。一方雌の胸鰭の長さは上述の検定から両群間に差異が認められたが, その形状はほぼ類似している。しかし, 実験群のうちの1尾(第1図G, 体長64.9 mm)は, 第2鰭条が第3鰭条よりも長く, しかも他のいずれの鰭条よりも太く, その基部で雄ならば骨質薄板が形成される部位が膨らみ, わずかに後方に突出し, 一見雄の外形を有していた。

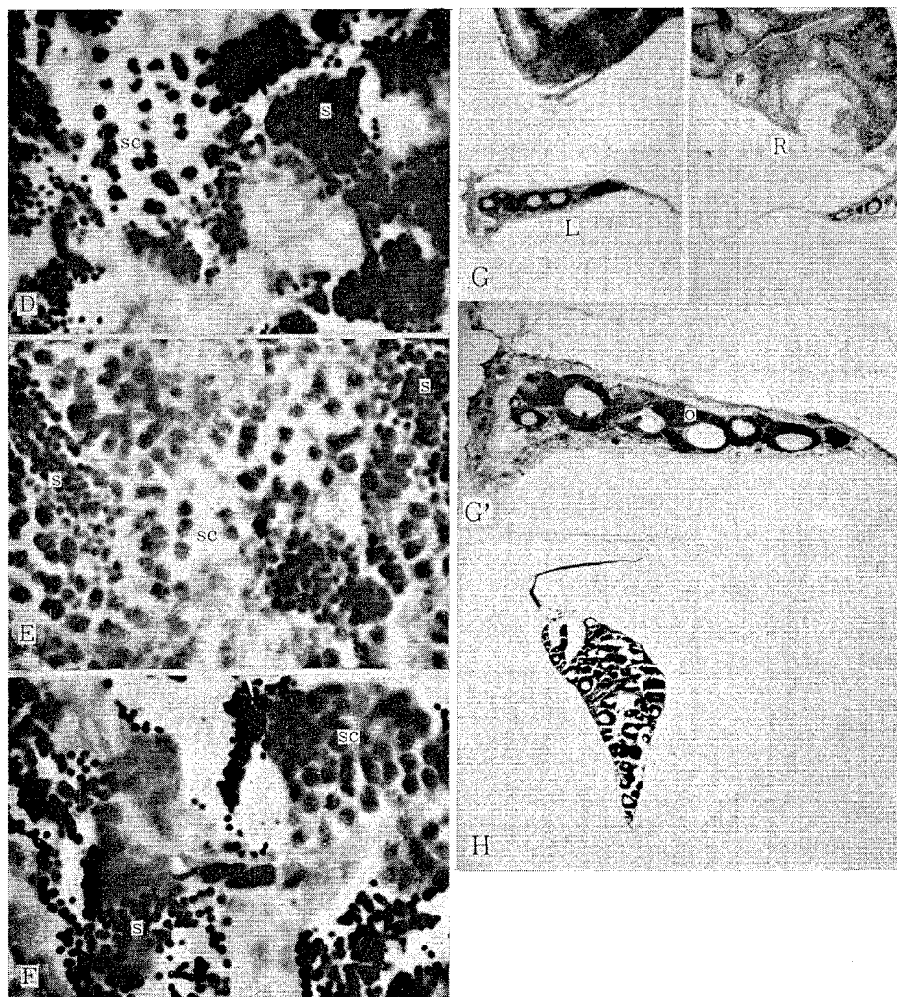


Fig. 2. Microscopic view of the gonads in the experiment group.

Notes: D, E and F, testes of the individual in the experiment groups; G, ovary of the individual in the experiment group with some male-like external characters; G', further magnified photograph of the left lobe in G; H, ovary of the individual in the experiment group, without any male-like external character. L, left lobe of the ovary; R, right lobe of the ovary; o, oocyte; sc, spermatocyte (primary or secondary); s, spermatozoa.

C. 生殖腺

実験群の生殖腺は雌雄ともいずれも正常で、間性個体はなく、それぞれ精子形成期および周辺仁期の段階にあった(第2図)。これらのうち、とくに注意を要するのは、上述した外形が雄に近似した個体が、第2図GおよびG'にみられるように完全な卵細胞を有していたことで、この卵巣の大きさは精巣の場合(久保田, 1961b)と同様に、左右で著しい不相称性を有している。

D. 成長度および減耗率の比較

実験終了時における各群の魚の平均体長を第5表に示した。対照群であるA, BおよびCの各群の平均体長は、それぞれ69.0 mm, 65.9 mmおよび65.1 mmに対して、実験群であるD, EおよびFの各群では、

Table 5. Mean body length of each group of loach at the end of the experiment on the sex reversal caused by follicular hormone.

Group	Range	Mean(mm)	Standard deviation
A	60~76	69.00±1.29	5.74±0.91
B	57~77	65.86±1.05	5.84±0.74
C	53~80	65.13±1.18	6.78±0.84
D	54~73	63.36±1.15	5.64±0.81
E	51~65	61.18±1.02	5.00±0.72
F	57~74	64.50±0.83	4.26±0.59

63.4 mm, 61.2 mm および 64.5 mm で前者の方が後者よりもわずかに大きい。

実験終了時における各群の魚体重量は、対照群では25.0~31.1 g, 実験群では18.2~25.1 g で、前者の方が後者よりも重い傾向があり、また平均体重は対照群では2.22~2.77 g に対して実験群では1.65~2.09 g で、後者は前者よりも軽い(第6表)。

Table 6. Total weight and mean body weight of each group of loach at the end of the experiment.

Group	Total weight(g)	Mean body weight (g)
A	25.0	2.77
B	30.7	2.36
C	31.1	2.22
D	21.1	1.92
E	18.2	1.65
F	25.1	2.09

次に各群の減耗率および増重倍率を示すと第7表の通りである。減耗率は対照群では22.2~50.0% に対して、実験群では33.3~38.9% で、本実験からは両群間における差異は認められない。増重倍率は対照群では62.3~122.1% で、種苗の大きさが小さい群ほど値が大きい。このことは、種苗の大きさが生産量に及ぼす影響についての実験結果(久保田ら, 1957)と一致する。一方、実験群では、35.8~107.4% で、放養時における種苗の大きさが最も小さいF群の値が最大である。そこで対照群と実験群の倍率を放養時にお

Table 7. Comparison of the mortality and the weight-multiplying rate of the groups of individuals fed on the follicular hormone added to foods with those of the control groups.

Group	Number of individuals		$\frac{(n_0 - n_1)}{n_0} \times 100$	Total weight (g)		$w_1 - w_0$	$\frac{w_1 - w_0}{w_0} \times 100$
	At the beginning of the culturing (n_0)	At the end (n_1)		At the beginning (w_0)	At the end (w_1)		
A	18	9	50.0	15.4	25.0	9.6	62.3
B	〃	13	27.8	14.8	30.7	15.9	107.4
C	〃	14	22.2	14.0	31.1	17.1	122.1
D	〃	11	38.9	15.2	21.6	6.4	42.1
E	〃	11	38.9	13.4	18.2	4.8	35.8
F	〃	12	33.3	12.1	25.1	13.0	107.4

Note: For the groups, see Table 1.

ける種苗の大きさがほぼ同じ群間でもって比較すると、A群およびB群の倍率はD群よりも、またC群はE群よりもそれぞれ大きい。

考 察

実験群はその全個体にわたって雌性化しないで、大きい種苗の群では雄が少数ながら出現した。この事実は種苗の大きさを体長 45 mm 以下と規定したことから、その制限体長に近い個体では、すでに性の分化が行なわれ、実験群雄の骨質薄板の形状が各個体によってかなりの相違を示したことは、分化の度合の差異によるものと思われ、一たん性が決定すると、卵胞ホルモンが雄性化阻止の因子として働いても、その性の転換をはかることが困難であることを暗示している。したがって卵胞ホルモンによって全個体を雌性化するには、実験群のEおよびF群の成績より考えて、種苗の魚体の大きさを体重が0.7 g、体長が 40 mm 以下の範囲に留める必要があろう。

実験群の胸鱗は、対照群に比べて雄では短く、雌では長い結果を得たが、この原因については雄は卵胞ホルモンによる雄性化抑制の働きにより性徴の発達のはばまれ、一方、雌はそのうちに遺伝的雄が雌性化された、いわゆる機能的雌を含み、それらが多かれ少なかれ雄としての形質を残していることに起因し、変異係数が対照群の 8.4 に対して実験群は 15.8 で著しく大きく、また雄の外形に近似した雌個体を出現したことは、以上の事実を裏付けしているように思われる。

実験群の増重倍率は対照群のそれに比べて小さい値を示したが、これは(久保田, 1953)がホルモン添加餌料による卵巣の成熟促進についての実験で指摘したように、エネルギーが体の増重に使用されるか、または生殖腺の発達および雄性化阻止に使用されるかの相違によるものと思われる。

さて性分化の転換に要する卵胞ホルモンの最少量および投与期間の決定、一たん雌性化すれば処理を中止して後も遺伝的な性へもどらないかどうか、また機能的雌が雄よりも良好な成長度を示すかどうかなどの諸点については残された問題であって、将来さらに研究を進めて行く予定である。

摘 要

1. 体長 45 mm 以下のものを種苗とし、対照群には主餌料(蚕蛹と米糠)のみを、実験群には主餌料にオバホルモン B 錠(帝国臓器製薬会社製)粉末を添加したものを与えてそれぞれの 3 群を 40 日間飼育した。

2. 雌の総数に対する出現率は、対照群では54%、56%および57%に対して、実験群では82%、91%および100%で、この後者の群のうちでは、種苗の小さい群ほど雌の出現率は大きい。
3. 実験群は対照群に比べて胸鱗の長さが雌において長く、雄において短く、また臀鱗の長さが雄において短い。
4. 雄の胸鱗第2鱗条基部に現われる骨質薄板 lamina circularis は実験群では不正常な個体が多く、対照群のそれに比べて発達が悪い。

文 献

- 1) 朝山新一, 1954: 雌雄性. 動雑, **63** (8, 9).
- 2) 久保田善二郎, 1953: ドジョウ卵巣の成熟過程. 第3報, ホルモン添加餌料による卵巣の成熟促進. 本報告, **3** (2).
- 3) —————・松井 魁・白羽根元二・吉武嘉甫, 1957: ドジョウの増殖に関する研究—I. 種苗の魚体の大きさが生産量に及ぼす影響. 本報告, **7** (1).
- 4) —————, 1961a: ドジョウの形態学的研究—III. 雌雄による形態的差異 (2). 本報告, **11** (1).
- 5) —————, 1961b: ドジョウの生態に関する研究—III. 生殖腺について. 本報告, **11** (1).
- 6) —————, 1961c: ドジョウの生態に関する研究—IV. 成長度および肥満度について. 本報告, **11** (1).
- 7) 宮森弘子, 1959: エストロジェンによつてグッピーの性転換. 動雑, **68** (8).
- 8) OKADA, Y. K., 1943: Production of testis-ova in *Orizias latipes* by oestrogenic substances. *Proc. Imp. Acad. Tokyo*, **19** (8).
- 9) —————, 1944: On the bipotentiality of the sex cells in poeciliid Fish. *Proc. Imp. Acad. Tokyo*, **20** (4).
- 10) 塚原 博, 1948: ドジョウの二次性徴と産卵習性との関係について. 生物, **3** (4).
- 11) 山本時男, 1954: 遺伝子型のメダカにおける機能的性転換の人為的誘導. 動雑, **63** (1, 2).
- 12) —————, 1956: 遺伝子型メス (XX) のメダカの機能的性転換の続報, 特に性転換魚の子孫. 動雑, **65** (3, 4).
- 13) —————, 1958: メダカの性分化の転換に要するメチル・テストステロンの閾値及び適量順位. 動雑, **67** (1, 2).