

学 位 論 文 題 名

Studies on environmental factors influencing sex
differentiation in pleuronectid, cyprinid
and salmonid fishes

(カレイ科, コイ科およびサケ科魚類の性分化に
影響を及ぼす環境要因に関する研究)

学位論文内容の要旨

多くの水産養殖対象魚種では、雌雄どちらかの性が経済的価値が高いことが多く、単性養殖が有用である。また、放流用対象魚種においては、遺伝的性と生理的性が一致した種苗の生産が望まれている。従って、水産増養殖における性の統御は非常に重要であると考えられており、効率的な養殖や放流事業を行うためには、対象魚種の遺伝的性と生理的性を把握した性の統御を行う必要がある。一般に魚類の性は遺伝的に定められていると考えられているが、ある魚種では稚魚期の飼育水温やpHなどの環境要因が遺伝的雌の雄化誘導など性分化に影響を及ぼすことが報告されている。しかし、その報告は少なく、環境による性分化機構についてはほとんど解っていない。そこで、本研究ではこれまで行われてきた性ホルモン投与や染色体操作とは異なる新たな性統御法の開発および環境による性分化機構の解明を目的として、以下の実験を行った。

先ず、水産上有用魚種であるカレイ科のマツカワおよびマコガレイ、コイ科のコイおよびキングヨ、サケ科のサクラマスおよびニジマスを用いて性分化に及ぼす稚魚期の飼育水温の影響を調べた。マツカワ、マコガレイ、コイおよびキングヨでは、高水温飼育群において性比が雄に偏っていたことから、これらの種では、性分化が水温の影響を受けることが明らかとなった。一方、サケ科魚類では、胚発生に異常をきたすほどの高水温で飼育しても性比は偏らなかったことから、性分化が水温の影響を受けないことが示された。また、マツカワ

の生殖腺の性分化過程を調べたところ、全長約35mmの個体において、性的に二型の生殖腺が認められ、将来の卵巢では卵巢腔の形成開始が観察されたことから、本種の生殖腺の形態的性分化は全長約35mmから開始することが示された。キングヨでは、低水温飼育群において性比の偏りは認められなかったが、生殖腺の分化および発達が非常に遅く、通常の条件下ではすでに発達した生殖腺を有する体サイズおよび日齢に達していても、生殖腺は未熟な状態を呈していた。以上の結果より、カレイ科およびコイ科魚類では、稚魚期の飼育水温が性分化に影響を及ぼしていることが明らかとなった。また、生殖腺の分化および発達の速度は飼育水温により異なることが示された。

次に、効率的な性統御を行うためには、適切な時期に適切な水温処理を行う必要があるため、マツカワおよびキングヨの性分化に影響を及ぼす水温の感受期を調べた。マツカワでは、孵化後、徐々に水温を上げ、体長20mmまでに18℃とした群の性比は100%雄となった。しかし、体長10mmから14℃で飼育した後、18℃に昇温した群では、昇温する時期が遅れるほど性比は1:1に近づき、体長40mm以降昇温した群では、性比の偏りは認められなかった。キングヨでは、遺伝的全雌を用い、受精後12日まで23℃で飼育した後、23および30℃とした群を設けた。さらに、23℃の群は5日ごとに30℃に昇温し、30℃の群は同様に23℃に降温した。実験期間中23℃で飼育した群ではほとんどの個体が雌となり、30℃で飼育した群では多くの個体が雄となった。23℃から30℃に昇温した群では昇温時期が遅れるほど雌の割合が多くなり、受精後27日以降は対照群の性比と有意な差は認められなかった。30℃から23℃に降温した群では、降温する時期が遅れるほど雄の割合が多くなり、受精後22日以降は対照群の性比と有意な差は認められなかった。以上の結果より、マツカワの性分化に及ぼす水温の感受期は、14℃で飼育した場合、体長30-40mmまでであることが示された。キングヨの水温の感受期は、23℃では受精後27日、30℃では22日までであることが明らかとなった。また、両種とも性分化に及ぼす水温の感受期は、これまでに明らかとなっている生殖腺の形態的性分化の開始以前であることが示された。

自然条件下や養殖環境下での水温は必ずしも一定ではないため、水温の変動が性分化に及ぼす影響について調べた。遺伝的全雌のキンギョをそれぞれ23および30℃で飼育し、温度感受期間中にそれぞれ30および23℃への1日水温パルス処理を1-数回行ったところ、30℃から23℃のパルス処理では、すべての群において対照群の性比に比べ有意に雌の割合が増加していた。しかし、23℃から30℃へのパルス処理ではいずれの群においても対照群の性比との間に有意な差は得られなかった。以上の結果より、高率で雄を得るためには、温度感受期間を通して常に高温を保つ必要があることが明らかとなった。逆に、温度感受期間中23℃で飼育し、多少の温度上昇があったとしても、性分化には影響がないことが示唆された。

マツカワでは、稚魚期の飼育水温を14℃としても必ずしも性比が1:1にならないことが知られており、水温以外の環境要因が性分化に影響を及ぼしている可能性が考えられる。そこで、マツカワ、コイおよびキンギョを用いて、稚魚期の飼育水のpH、飼育密度および光周期が性分化に及ぼす影響を調べた。水温14℃で飼育したマツカワでは、低pH(7.1)群の性比がほぼ1:1となり、対照群(8.2)および高pH(9.0)群において性比は雄に偏った。キンギョでは、低pH(5.0)群において性比の雄への偏りが認められた。コイでは、低pH処理群での性比の偏りは認められなかった。マツカワにおける低pHによる性比の雌への偏りは、キンギョやこれまで報告されている淡水魚の低pHによる雄への偏りとは逆であった。また、キンギョおよびマツカワの飼育密度およびキンギョの光周期の性分化への影響は認められなかった。以上の結果より、マツカワおよびキンギョでは、飼育水温だけでなく飼育水のpHも性分化に影響を及ぼしていることが明らかとなった。

最後に環境依存型性分化の機構を解明するために、コルチゾルおよび甲状腺ホルモン性の性分化に及ぼす影響について調べた。コルチゾルおよび抗甲状腺ホルモン(チオウレア)を稚魚期のキンギョに、それぞれ経口投与および浸漬処理を行った結果、どちらの処理群でも性比は濃度依存的に雄へ偏った。このことから、コルチゾルおよび甲状腺ホルモンの性分化への関与が示唆された。このような性ホルモン以外のホルモンの性分化への関与は、全脊

椎動物を通じてほとんど報告されていない。

本研究では、飼育水の稚魚期の水温やpH処理が新たな性統御法の一つとして有用であることが示された。また、飼育水の水温やpHなどの環境の性分化への影響はストレスによる血中コルチゾル上昇や甲状腺ホルモンの低下が関与するものと推察された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	山内	皓平
副査	教授	麦谷	泰雄
副査	教授	荒井	克俊
副査	助教授	上田	宏
副査	助教授	足立	伸次

学位論文題名

Studies on environmental factors influencing sex differentiation in pleuronectid, cyprinid and salmonid fishes

(カレイ科, コイ科およびサケ科魚類の性分化に
影響を及ぼす環境要因に関する研究)

多くの水産養殖対象魚種では、雌雄どちらかの性が経済的価値が高いことが多く、単性養殖が有用である。また、放流用対象魚種においては、遺伝的性と生理的性が一致した種苗の生産が望まれている。従って、水産増養殖における性の統御は非常に重要であると考えられており、効率的な養殖や放流事業を行うためには、対象魚種の遺伝的性と生理的性を把握した性の統御を行う必要がある。一般に魚類の性は遺伝的に定められていると考えられているが、ある魚種では稚魚期の飼育水温やpHなどの環境要因が遺伝的雌の雄化誘導など性分化に影響を及ぼすことが報告されている。しかし、その報告は少なく、環境による性分化機構についてはほとんど解っていない。本研究ではこれまで行われてきた性ホルモン投与や染色体操作とは異なる新たな性統御法の開発および環境による性分化機構の解明を目的として行われた。

先ず、水産上有用魚種であるマツカワ、マコガレイ、キングヨ、コイ、サクラマスおよびニジマスを用いて性分化に及ぼす稚魚期の飼育水温の影響を調べた。カレイ科およびコイ科魚類では、高水温飼育群において性比が雄に偏っていたことから、性分化が水温の影響を受けることが明らかとなった。一方、サケ科魚類では、胚発生に異常をきたすほどの高水温で飼育しても性分化が水温の影響を受けないことが示された。また、マツカワの生殖腺の性分化過程を調べたところ、形態的性分化は全長約35mmから開始することが明らかとなった。キングヨで

は、低水温飼育群において生殖腺の分化および発達が非常に遅かったことから、生殖腺の分化および発達は飼育水温により異なることが示された。

次に、効率的な性統御を行うためには、適切な時期に適切な水温処理を行う必要があるため、マツカワおよびキンギョの性分化に影響を及ぼす水温の感受期を調べた。マツカワの性分化に及ぼす水温の感受期は、14℃で飼育した場合、体長30–40mmまでであることが明らかとなった。キンギョの水温の感受期は、23℃では受精後27日、30℃では22日までであることが明らかとなった。また、両種とも性分化に及ぼす水温の感受期は生殖腺の形態的性分化の開始以前であることが示された。

自然条件下や養殖環境下での水温は必ずしも一定ではないため、水温の変動が性分化に及ぼす影響について調べた。遺伝的全雌のキンギョをそれぞれ23および30℃で飼育し、温度感受期間中にそれぞれ30および23℃への1日水温パルス処理を行ったところ、30℃から23℃のパルス処理では、すべての群において対照群の性比に比べ有意に雌の割合が増加していた。しかし、23℃から30℃へのパルス処理ではいずれの群においても対照群の性比との間に有意な差は得られなかった。以上の結果より、高率で雄を得るためには、温度感受期間を通して常に高温を保つ必要があることが明らかとなった。逆に、温度感受期間中23℃で飼育し、多少の温度上昇があったとしても、性分化には影響がないことが示唆された。

マツカワやキンギョでは、稚魚期に適した水温で飼育しても、必ずしも期待した結果が得られないことから、他の環境が性分化に影響を及ぼしている可能性が考えられる。そこで、マツカワ、コイおよびキンギョを用いて、稚魚期の飼育水のpH、飼育密度および光周期が性分化に及ぼす影響を調べた。その結果、マツカワおよびキンギョにおいてpHの性分化への影響が認められたが、コイでは認められなかった。また、飼育密度および光周期の性分化への影響は認められなかった。以上の結果より、マツカワおよびキンギョでは、飼育水温だけでなく飼育水のpHも性分化に影響を及ぼしていることが明らかとなった。

最後に環境依存型性分化の機構を解明するために、コルチゾルおよび甲状腺ホルモンの性分化に及ぼす影響について調べた。稚魚期のキンギョにコルチゾルおよび抗甲状腺ホルモン（チオウレア）投与を行った結果、どちらの処理群でも性比は濃度依存的に雄へ偏ったことから、これらのホルモンの性分化への関与が示唆された。このような性ホルモン以外のホルモンの性分化への関与は、全脊椎動物を通じてほとんど報告されていない。

上述のように、本研究では、稚魚期の飼育水の水温やpHが性を統御する際に有用であることが示唆された。また、飼育水の水温やpHなどの環境の性分化への影響はストレスによる血中コルチゾル上昇や甲状腺ホルモンの低下が関与するものと推察された。これらの結果は、水産増養殖における新たな性の統御法を可能にしたばかりでなく、今後、魚類の環境依存型の性分化機構を解明するうえで

極めて重要な知見を提供したものとして高く評価され、本論文が博士（水産学）の学位請求論文として相当の業績であると認定した。