

学 位 論 文 題 名

シロギスの成熟および産卵に及ぼす

環境要因の影響に関する研究

学位論文内容の要旨

沿岸海域は沿岸漁業の対象種の生息海域であるばかりではなく、遠洋水域に生息する魚の幼稚魚が育つ重要な場所でもある。従って漁業資源を維持・管理する1つの方策は沿岸海域を魚類の繁殖が可能な環境に保つことであり、それを踏まえた沿岸海域の水産有用種のモニタリングが今後より重要になると考えられる。そこで、本研究は沿岸性魚類の生殖に及ぼす環境要因の影響を調査するための指標魚あるいは飼育実験におけるモデル魚としてのシロギスの有効性を確立することを目的とした。

魚類の成熟や産卵に及ぼす環境要因の影響を調べるためには、初めにその魚の正常な生殖年周期や成熟過程を把握しておく必要がある。そこで、本研究では、まず自然条件下で飼育したシロギス雌雄の生殖腺組織像、血中性ステロイドホルモンおよびビテロゲニン（Vg）量の季節変化を調べた。その結果、産卵期の6～8月をピークとして、雄では11-ケトテストステロン（11KT）が、雌ではエストラジオール-17 β （E2）およびVgの血中量が増加することが明らかとなり、11KTが雄の、E2およびVgが雌の成熟の指標となることが示された。また、雄の血中Vgが4月から9月の限られた時期に検出されることが明らかとなり、本研究の後半でその季節変動の原因を究明した。

シロギス産卵時の多くの現象に水温が影響を及ぼすことは報告されているが、それらの報告の多くは、自然条件下で飼育されたシロギスから得られた結果である。本研究では、正確な水温を設定して飼育実験を行い、産卵に関わる現象と水温の関係について既報知見との比較を行った。初めにシロギスが正常

な産卵を行う高温限界を調べた結果、約 28℃であることが明らかとなった。そこで、28℃と産卵開始水温とされる 22℃の 2 水温でシロギスを飼育して、産卵に及ぼす影響を観察したところ、28℃では 22℃と比較して多量の小卵を遅い時間に産卵し、既往知見を確認することができた。また、特定的水温で飼育されたシロギスの産卵現象の再現性は非常に高かったことから、産卵に及ぼす水温の影響を生理学的に解明する上で、シロギスの実験系は極めて有効であると考えられた。異なる水温で飼育されたシロギスの産卵前の成熟卵径を調べた結果、成熟卵ですでに異なることが明らかとなり、水温は産卵前の卵形成過程に影響を与えていることが示唆された。そこで、22℃と 28℃の異なる 2 水温で飼育したシロギスの卵巣の組織学的変化、卵母細胞の卵径分布、卵母細胞の卵成熟能 (*in vitro* での生殖腺刺激ホルモン (GTH) および $17\alpha,20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (DHP) 添加による卵成熟の有無で判定) および性ステロイドホルモンの日周変化を調べ、卵成熟過程に及ぼす水温の影響を詳細に検討した。その結果、22℃で飼育したシロギスに比べ、28℃で飼育したシロギスは卵成熟の開始時刻が遅いことが明らかとなり、それが産卵時刻が遅くなる原因と考えられた。28℃で飼育したシロギスの卵成熟過程は、300-350 μm の間に GTH 感受性を獲得し、さらに、約 350 μm で DHP 感受性を獲得する。その後、350 μm 以上の卵はすべて卵成熟に移行することから、DHP 感受性を得てから 12 時間以内に産卵に至る一定した卵成熟リズムを持つと考えられた。一方、22℃で飼育したシロギスの卵成熟過程をみると、350-400 μm に成長した卵母細胞のうち DHP 感受性を持たない卵が存在し、そのような卵が卵巣中に常にみられたことから、350-400 μm の卵のうち卵成熟し産卵するのはその一部であり、残りは次回以降の産卵に持ち越されることが考えられた。以上の理由により、28℃で飼育したシロギスに比べ、22℃で飼育したシロギスの産卵数は少なくなり、350-400 μm の範囲の卵の割合が少なくなることから、結果的に産出卵の卵径が大きくなるものと考えられた。以上より、水温操作と卵巣の採集時刻を調整することによって、GTH あるいは卵成熟ステロイドに対する感受性が異なる様々な卵母細胞を採取できることが明らかとなり、シロギスが卵成熟過程を解析するのに適した実験モデル魚であることを実証した。

先に述べたシロギスの生殖年周期の研究により、自然条件下で飼育したシロギス雄の血中 Vg 濃度の季節変動が明らかとなった。近年、魚類雄の血中 Vg を指標としたエストロゲン様物質の検索が行われているが、雄血中 Vg の基礎レベルの把握および血中 Vg の変動要因を明らかにすることは、指標精度の向上のために不可欠と考えられる。そこで、シロギス雄血中 Vg の季節変動の要因について検討を行った。雄血中 Vg が検出される時期が成熟期あるいは水温上昇期に重なっていることから、シロギス雄における血中 Vg 濃度の季節変動の原因として、成熟雌の存在、雄の成熟度および高水温の 3 要因が推察されたことから、それぞれの可能性を検証するための実験を行った。成熟雌と混合飼育を行った場合は、雄単独で飼育した場合に比べ、雄の血中 Vg 濃度が上昇することが示され、成熟雌の存在が雄の血中 Vg 上昇に関与することが明らかとなった。しかし、雌雄混合で飼育した場合は雄単独で飼育した場合に比べ、精巢（生殖腺体指数）が大きかったことから、血中 Vg 量の差が、成熟度の差に起因している可能性も残された。次に、異なる成熟段階のシロギス雄の Vg 産生能およびそれぞれの精巢に及ぼすエストロゲンの影響を調べるために、飼育水中で 2 週間 E2 曝露させた雄の血中 Vg の測定および精巢の組織学的観察を行った。その結果、精子形成開始前から開始直後の時期の雄は精子形成末期の雄に比べ高い Vg 産生能を有することが明らかとなった。また、精子形成開始期の精巢ではごく微量（環境水中に 10 pg/mL 前後）の E2 によっても精巢発達が抑制されることが示された。これらのことから、シロギス雄の成熟度によって Vg 産生能が異なることが明らかとなり、Vg 産生能は精子形成が活発に行われている時期に高くなると推測された。また、精子形成開始期の精巢ではエストロゲン様物質の影響が大きくなると考えられた。最後に、シロギス雄の Vg 産生能に及ぼす水温の影響を調べるために、異なる水温（19～25℃）条件で E2 曝露させた雄の血中 Vg を測定し、併せて精巢の組織学的観察も行った。その結果、水温が高くなる程、Vg 産生能が高くなることが示された。これに対して、精巢に及ぼす E2 の影響には水温による違いはみられなかった。いずれの水温区の精巢も精子形成初期にあったが、環境水中に 10 pg/mL 程度の E2 が存在することによって精子形成が抑制されていた。精子形成に対するエストロ

ゲンの作用は、雄の血中 Vg 産生能に比べ水温の影響を受けにくいことが示された。これは、沿岸海域でシロギスを対象とした内分泌かく乱物質影響調査を行う際には、特に低水温期においても、精巢の成熟度を考慮する必要があることを示している。

以上、魚類の繁殖生理に関する沿岸海域の指標魚あるいは実験モデル魚としてのシロギスの有効性を示した。今後、シロギスを沿岸域の指標魚あるいは実験モデル魚として多方面で用いられることにより、知見が集積されその有効性も増すことが期待される。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	山 内 皓 平
副 査	教 授	原 彰 彦
副 査	教 授	都 木 靖 彰
副 査	助教授	足 立 伸 次

学 位 論 文 題 名

シロギスの成熟および産卵に及ぼす

環境要因の影響に関する研究

沿岸域は漁業生産の重要な場であるばかりではなく、遠洋水域を含めた多くの魚類が繁殖を行う場所でもある。従って漁業資源を維持する1つの方策は沿岸域を魚類の繁殖に適切な環境に保つことであり、そのための沿岸性魚類のモニタリングが重要となる。そこで、本研究は沿岸性魚類の生殖に及ぼす環境要因の影響を調査するための指標魚あるいは実験モデル魚としてのシロギスの有効性を確立することを目的とした。

初めにシロギスの正常な生殖年周期や成熟過程を把握するために、自然条件下で飼育したシロギス雌雄の生殖腺組織像、血中性ステロイドホルモンおよびビテロゲニン

(Vg) 量の季節変化を調べた。その結果、産卵期の6～8月をピークとして、雄では11-ケトテストステロン (11KT) が、雌ではエストラジオール- 17β (E2) およびVgの血中量が増加することが明らかとなり、11KTが雄の、E2およびVgが雌の成熟の指標となることが示された。また、雄の血中Vgが4月から9月の限られた時期に検出されることが明らかとなり、本研究の後半でその季節変動の原因を究明した。

次に産卵と水温の関係について過去の知見を踏まえて検討した。シロギスが正常な産卵を行う下限 (22℃) と上限 (28℃) の2水温でシロギスを飼育して産卵に及ぼす影響を観察したところ、28℃では22℃と比較して多量の小卵を遅い時刻に産卵した。また、特定的水温で飼育したシロギスの産卵現象の再現性は非常に高かったことから、産卵に及ぼす水温の影響を生理学的に解明する上で、シロギスの実験系は極めて有効であると考えられた。

そこで、22℃と28℃の異なる2水温で飼育したシロギスの卵巢の組織学的変化、卵母細胞の卵径分布、卵母細胞の卵成熟能 (*in vitro* での生殖腺刺激ホルモン (GTH) および

17 α ,20 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (DHP) 添加による卵成熟の有無で判定) および性ステロイドホルモンの日周変化を調べ、卵成熟過程に及ぼす水温の影響を生理学的に検討した。その結果、28℃飼育のシロギスの産卵時刻が遅くなる原因は、卵成熟開始時刻が22℃飼育のシロギスに比べ遅くなるためであることが判明した。また、飼育のシロギスの卵母細胞は、約350 μ mでDHP感受性を獲得して卵成熟に移行するのに対し、22℃飼育魚の卵母細胞はそのサイズに成長してもDHP感受性を持たない卵が存在することが明らかとなった。すなわち、22℃飼育では350-400 μ mの卵母細胞のうち卵成熟・産卵するのはその一部であり、残りは卵径を増しながら次回以降の産卵に持ち越されるため、小卵が多数産卵されるものと考えられた。同時に、水温操作と卵の採集時刻を調整することによって、GTHやDHPに対する感受性が異なる様々な卵母細胞を採取できることが明らかとなり、シロギスが卵成熟過程を解析するのに適した実験モデル魚であることが実証された。

最後に先に述べたシロギス雄の血中Vg量の季節変動について検討した。季節変動の原因として、成熟雌の存在、雄の成熟度および高水温の3要因が推察され、それぞれの可能性を検証するための実験を行った。成熟雌と混合飼育した雄の血中Vg濃度は、雄単独で飼育した雄の値に比べ高値を示したことから、成熟雌の存在が雄の血中Vg上昇に関与することが明らかとなった。しかし、混合飼育した雄の精巣は雄単独飼育した雄の精巣よりも発達していたことから、血中Vg量の差が成熟度の差に起因した可能性も残された。次に、異なる成熟段階のシロギス雄のVg産生能および精巣に及ぼすエストロゲンの影響を調べる目的で、2週間E2曝露させた雄の血中Vgの測定および精巣の組織学的観察を行った。その結果、精子形成開始前から開始直後の時期の雄は精子形成末期の雄に比べ高いVg産生能を有することが明らかとなった。また、精子形成開始期の精巣ではごく微量(環境水中に10pg/mL前後)のE2によっても精巣発達が抑制されることが示された。最後に、シロギス雄のVg産生能に及ぼす水温の影響を調べるために、異なる水温(19~25℃)条件でE2曝露させた雄の血中Vgを測定し、併せて精巣の組織学的観察も行った。その結果、水温が高くなる程、Vg産生能が高くなることが示された。また、いずれの水温区の精巣も精子形成初期にあったが、環境水中に10pg/mL程度のE2が存在することによって精子形成は抑制されており精子形成に対するエストロゲンの作用は、雄の血中Vg産生能に比べ水温の影響を受けにくいことが示された。これは、沿岸海域でシロギスを対象にモニタリング調査を行う際には、特に低水温期においても、精巣の成熟度を考慮する必要があることを示している。

以上、本研究によりシロギス雌の成熟・産卵に及ぼす水温の影響および雄の血中Vgの動態に関する詳細な知見が数多く得られた。これらの結果は、今後、シロギスを実海域の指標魚あるいは実験モデル魚として使用した際に、得られたデータを解析・評価する上で極めて重要な知見を提供したものと高く評価され、本論文が博士(水産科学)の学位を授与される資格のあるものと判定した。