

ジャワメダカ (*Oryzias javanicus*) における生殖腺の発達と雌雄判定

角埜 彰^{*1}・藤井 一則^{*1}・小山 次朗^{*2}

Histological studies on the gonadal development in Java medaka (*Oryzias javanicus*)

Akira KAKUNO^{*1}, Kazunori FUJII^{*1}, and Jiro KOYAMA^{*2}

Abstract Sexual differentiation and maturation in Java medaka (*Oryzias javanicus*) were examined histologically. At 14 days after hatching, the oocyte at the perinucleolus stage was observed in fry. In the male gonad, the primary spermatocyte was observed in testis at 18 days after hatching. The urino-genital papillae in female and the longer dorsal fin in male, which are constituted secondary sexual characters, were observed at 60 days after hatching. At 100 days after hatching, spawning was observed. These results suggest that the sexes in fry of Java medaka were identified histologically at 14 days after hatching, and externally at 60 days after hatching.

Key word: Java medaka, sexual differentiation, maturation, secondary sexual characters

環境エストロゲンの魚類への影響を調べるための実験魚として、孵化仔魚が成熟・産卵に至るまでの期間が短く、小型水槽中で再生産が可能なヒメダカ (*Oryzias latipes*) がよく利用されている。ヒメダカは淡水魚であるが、海水魚でこのヒメダカに準じた実験魚はこれまでは見当たらなかった。そこで我々は、*Oryzias* 属の海産メダカであるマレーシアペナン島原産ジャワメダカ (*Oryzias javanicus*) に着目し、孵化～成熟・産卵までの全生活環を調べる毒性試験の実験魚とするための基礎資料として、生殖腺の発達過程および雌雄判別にに関する知見を得たのでここに報告する。

瀬戸内海区水産研究所で10世代以上継代飼育したジャワメダカ成魚から得た受精卵を産卵日ごとに分け、アルテミアを投餌し水温26℃で孵化後100日目まで飼育した。仔稚魚は5～10日ごとに10%ホルマリン・リン酸緩衝液 (pH7.4) で固定し、体重および全長を測定後、常法により連続組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色を施した。山本 (1970) の分類に従って、光学顕微鏡により生殖細胞を観察するとともに、仔稚魚の生殖腺の発達過程および二次性徴の

出現時期などを調べ、同属のヒメダカに関する吉岡・島谷 (1976) と比較した結果を以下に述べる。

ジャワメダカ受精卵は、水温26℃で孵化までに14日を要した。孵化直後の仔魚は、全長が約4.4mm、魚体重は約5mgであった。孵化後5日目 (全長5.3mm) では、卵母細胞 (oocyte)、精母細胞 (spermatocyte) とともに確認できず、雌雄の判定は困難であった (Fig. 1. A)。孵化後14日目 (全長8.3mm) に、長径約28μm、短径17μmの周辺仁期 (perinucleolus stage) の卵母細胞が認められたが (Fig. 1. B)、染色仁期 (chromatin-nucleolus stage) の卵母細胞は特定できなかった。卵母細胞数は孵化後70日頃 (全長20mm) まで徐々に増加し (Fig. 1. D)、また、一对の卵巣が融合し一つの器官をなしていた。孵化後77日目 (全長22mm) 以降で、卵黄形成が開始され (Fig. 1. E)、卵巣周辺部には卵原細胞 (oogonium) が卵巣後背部には卵巣腔がそれぞれ認められ、また、輸卵管 (oviduct) も開口していた。産卵は孵化後100日目 (全長24mm) に確認された。

ヒメダカでは、体長5.0-5.5mmで染色仁期および周辺仁期の卵母細胞が現れて卵巣が分化し、体長11-13mmで卵母細胞に卵黄核が認められ、体長16-18mmでは

2001年8月20日受理 (Accepted on August 20, 2001)

水産総合研究センター業績 A 第4号 (Contribution No.A 4 from Fisheries Research Agency)

^{*1}瀬戸内海区水産研究所 〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5 (National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, Maruishi 2-17-5, Ohno, Hiroshima, 739-0452, Japan)

^{*2}鹿児島大学水産学部 〒890-0056 鹿児島県鹿児島市下荒田4-50-20 (Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20, Simoarata, Kagoshima-shi, Kagoshima, 890-0056, Japan)

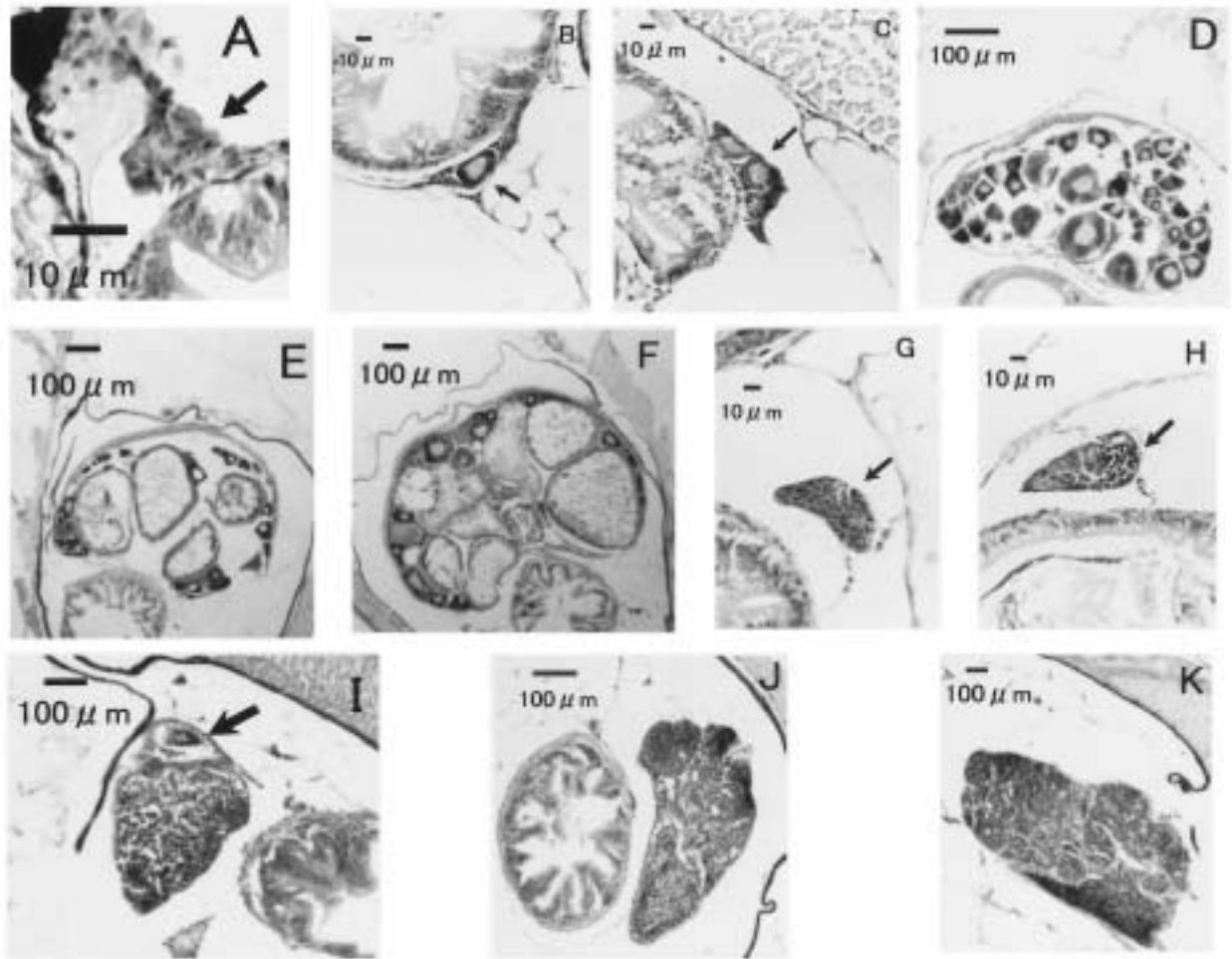


Fig. 1. Germ cells of Java medaka.

- A : Primordial germ cell or gonium (arrow) were observed in fry at 5 days after hatching.
 B : Oocyte at perinucleolus stage (arrow) was observed in fry at 14 days after hatching.
 C : Oocytes (arrow) were observed in fry at 28 days after hatching.
 D : The number of oocyte in the ovary was increased at 70 days after hatching.
 E : Oocyte at perivitellogenic or vitellogenic stage were observed maturing female at 77 days after hatching
 F : The matured ovary was observed in maturing female at 100 days after hatching.
 G : Primary spermatocyte (arrow) was observed in testis of fry at 18 days after hatching.
 H : Primary spermatocyte and secondary spermatocyte (arrow) were observed in the testis at 35 days after hatching.
 I : Spermatid and serum (arrow) were observed in maturing male at (49 days) after hatching.
 J : More matured testis was observed in maturing male at 63 days after hatching.
 K : Completely matured testis was observed in maturing male at 100 days after hatching.

卵巢腔が拡大し輸卵管が0.3mm以上に伸張し、体長20 - 23mmで輸卵管が開口することが吉岡・島谷(1976)により報告されている。以上のことから、性分化は、ジャワメダカ(体長8mm程度)ではヒメダカ(体長5mm)に比較して、より成長した段階で生じ、輸卵管の開口はヒメダカとほぼ同体長であること、卵巢はヒメダカと同様に1つの器官をなしていることなどが明らかとなった。

ジャワメダカの精巣は、孵化後18日(全長9mm)に第一次精母細胞(primary spermatocyte)が認められ(Fig. 1. G)、孵化後35日目(全長11mm)では、第一

次精母細胞のほか第二次精母細胞(secondary spermatocyte)も出現し(Fig. 1. H)、孵化後49日目(全長19mm)には、第一次精母細胞、第二次精母細胞、精細胞(spermatid)さらには精子(sperm)が認められた(Fig. 1. I)。孵化後49日目以降に精巣断面積が急速に増大し、精子の占める割合も増加した(Fig. 1. J, K)。

ヒメダカの精巣は、孵化後18日目(体長6mm)までは精原細胞(spermatogonium)がまだ包囊(cyst)を形成せずに精巣中に一様に分布し、体長7 - 10mmで精原細胞を含む包囊が認められ、体長18mmでは精母細胞

は出現せず、体長20 - 23mmで精巢内包囊中に種々の発達段階の精細胞が、精小腔および輸精管には精子がそれぞれ認められることが吉岡・島谷(1976)により報告されている。従って、ジャワメダカでは、精巢の発達初期の状況はヒメダカに類似し、精子変態がヒメダカとほぼ同じ体長の20mm程度で認められることが明らかとなった。

ジャワメダカ雌の二次性徴(岩松, 1993)として、泌尿生殖突起(urino-genital-papillae)が孵化後60日(全長19mm)以降で確認され、また、雄と異なり臀鰭軟条の先端が最後部を除き分岐していた。一方、雄では、孵化後60日以降で背鰭が雌よりも長くなっていた。これらの二次性徴により、孵化後60日以降では外部形態からの雌雄判別が可能となった。

このように、ジャワメダカはヒメダカに比較して、やや成長が進んでから卵母細胞が出現し、精子変態はほぼ同様な体長で認められた。また、卵母細胞の出現

により雌雄判定が可能となるのは孵化後14日目以降、第一次精母細胞の出現は孵化後18日以降、泌尿生殖突起の有無、背鰭および臀鰭の形状などの二次性徴による雌雄判定は孵化後60日以降で可能となることが明らかとなった。以上の結果から、ジャワメダカを用いた全生活環毒性試験では、受精卵からの2~3週間程度の暴露試験により孵化仔魚の性比への影響が、受精卵の100日間暴露により成熟した孵化仔魚の産卵数への影響がそれぞれ把握できることが明らかとなった。

文 献

- 岩松鷹司, 1993: メダカ学, 初版, サイエンティスト社, 東京, pp.7 - 42 .
山本喜一郎, 1970: 生殖, 魚類生理(川本信之 編) 恒星社厚生閣, 東京, pp245 - 286 .
吉岡 寛・島谷征一, 1976: メダカ(*Oryzias latipes*)の生殖巣形成に関する研究. 生物教材, 11, 5 - 18 .

