

エストロン処理の開始時期および期間が ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* の性転換に及ぼす影響^{*1}

久保田善二郎・畠山 元^{*2}

Influence of Initial Age and Duration
of Estrone Treatment on Sex Reversal
of the Loach *Misgurnus anguillicaudatus*

Zenziro Kubota and Hajime Hatakeyama

It is advisable to breed female alone in the culture of the loach *Misgurnus anguillicaudatus*, because the growth rate is usually greater in the female than in the male. Influence of initial age and duration of estrone treatment of 300 $\mu\text{g/l}$ on sex reversal in the loach was studied from this viewpoint. The results obtained are as follows: The sex reversal was obtained in the groups immersed in estrone solution for 40 days at the initial ages of 2, 5, 10 and 20 days after hatching, and for 30, and 50 days at the age of 5 days, but was not observed in the groups immersed for 40 days at the age of 30 days and for 10 and 20 days at the age of 5 days, respectively. Percentage of the malformed fish to the total fish treated showed the highest value, 45.5 %, in the group immersed in estrone solution for 40 days at the initial age of 2 days, and the lowest value, 4 %, in the group for 30 days at the age of 5 days. There was no difference in the body weight of female at the end of the experiment between the sex reversal and the control groups. Mean value of the proportion of ovary weight to body weight was smaller in the sex reversal groups than in the genetic female groups of the control fish. The authors concluded that it was a highly suitable method for the inducement of sex reversal of the loach to immerse them in estrone solution of 300 $\mu\text{g/l}$ for 30 days at the initial age of 5 days or for 40 days at the age of 10 days after hatching.

1. まえがき

ドジョウの成長度は雌の方が雄よりも大きく¹⁾, また,

その単位重量当たりの価格は大型魚の方が小型魚よりも高い。したがって、この養魚を行う場合には、雌だけを飼育することが望ましい。以上のような見地から、久保田・大

*1 水産大学校研究業績 第1133号, 1987年7月3日受理。

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 1133. Received July 3, 1987.

*2 山梨県魚苗センター

Yamanashi Prefectural Fisheries Experimental Station, Shikishima, Yamanashi 400-01, Japan.

浜²⁾はエストロン（以下Esで示す）を用いてドジョウを雌性化するとともに、性転換雌の成長度が遺伝的雌と同様に雄よりも大きいことを確かめた。しかし、その実験では、主にEs処理濃度と性転換との関係を扱った。

本実験は、この性転換をより確実なものにするために、Es処理の開始時期および期間がドジョウの性転換、奇形魚の出現率などに及ぼす影響を知る目的で実施した。

2. 材料および方法

飼育実験は、1983年6月3日から1984年7月6日まで、室内に設置した循環濾過式ガラス水槽（60×30×高さ40cm）および屋外の実験池（200×100×高さ80cm）で実施した。

供試魚は、体重が35gの雌親魚1尾にゴナトロピン1000単位を注射後、10～16gの雄3尾と共に同一ガラス水槽内に収容して自然産卵させ、1983年6月2日にふ化したものである。

実験1は次の方法で行った。すなわち、ふ化後2日目の仔魚を実験群の5群では70尾ずつ、また、対照群のC(1)群とC(2)群では、それぞれ50尾と100尾を各循環濾過式ガラス水槽に放養した。つづいて実験群のそれぞれに、ふ化後2, 5, 10, 20, 30日目からEs処理を40日間実施した（以下、2日開始群、5日開始群…で示す）。その後、7月27日に2, 5, 10日の各開始群および対照群、8月1日に20日、8月11日に30日の各開始群のドジョウをとりあげて、それぞれの実験池へ移し、さらに約11か月間飼育した。

実験2は次の方法で行った。すなわち、ふ化後2日目の仔魚を実験群の4群では70尾ずつ各循環濾過式ガラス水槽に放養した。つづいて、それぞれの群にEs処理をふ化後5日目から10, 20, 30, 50日間実施した（以下、10日間処理群、20日間処理群…で示す）。そして7月27日に全群のドジョウをとりあげて屋外の実験池へ移し、前実験と同様に約11か月間飼育した。なお、実験池数の制限から、対照群は実験1と実験2で共用した。さらに、実験1で、ふ化後5日目からEs処理を40日間実施した群、つまり5日開始群を、実験2では40日間処理群として扱った。

Es処理は、まず飼育水1ℓ当り300 μ gのEsを飼育水量の $\frac{1}{10000}$ 量のエタノールに完全に溶解してから、ドジョウを飼育中の水に加える方法で行った。このEs処理濃度は、さきの実験結果²⁾を参照して用いた。なお、実験1ではEs処理を開始してから30日目に1回だけ換水し、その時

に新しくEsを加えたが、実験2では換水を行わなかった。

これらの実験に用いた餌料は、日本配合飼料株式会社製の養鰻用粉餌No.2Mであった。給餌は、ガラス水槽における飼育期間中では1水槽1日当り0.3～1.0gの餌料を煮沸して散布する方法で、また、実験池における飼育期間中では1日当り魚体重の3～10%量の餌料を練り固めて磁製皿に入れ、それを池底に沈める方法で、それぞれ行った。なお、1983年11月2日～1984年4月18日までの間では、低温のため給餌を中止した。

飼育実験の終了日には、すべての魚をとりあげて10%ホルマリン溶液で固定した。その後、生殖腺によって性を決定し、各群の性比を求めると共に、群別、個体別に体長、体重、生殖腺重量を測定し、さらに奇形魚の出現率、生存率を求めた。なお、軀幹部の異常魚については、ソフテックスを用いて脊椎骨の構造を調べた。

給餌期間中における水温は、ガラス水槽では21.1～29.1 $^{\circ}$ C、実験池では13.2～31.8 $^{\circ}$ Cであった。

3. 結果

3.1 Es処理の開始時期が性転換に及ぼす影響(実験1)

ふ化してからEs処理を開始するまでの日数と性比との関係をTable 1に示した。雌の割合は、対照群では50%と20%に対して、2日と5日の各開始群では96%と88%、10日と20日の各開始群では100%で、いずれも著しく高率であった。しかし30日開始群では31%で、急に低下した。このように性は、ふ化後20日までの間にEs処理を開始した群で転換した。

なお、20日開始群の1尾（体長131mm、体重21g）は、胸鰭の第2軟条が他の軟条よりも太くて長く、その基部に骨質薄板があり、また、体側に前後2対の隆起帯が認められ、外形からは雄と判定されたが、解剖の結果0.82gの卵巣をもっていたので、性を雌と決定した。

次に、ふ化してからEs処理を開始するまでの日数と奇形魚の出現率との関係をTable 2に示した。奇形魚の出現率は、実験群のうちでは2日開始群が46%で最高、10日開始群が15%で最低であった。そして、この10日開始群の値は、対照群の値とほぼ一致した。このように、ふ化直後からEs処理を行った群では奇形魚の出現率が高かった。

奇形の型は次の4型に大別された。すなわち、I型は鰭

Table 1. Sex ratio of the loach immersed in estrone solution of 300 $\mu\text{g}/\text{l}$ for 40 days at the initial ages of respective days after hatching

Initial age in days	Number of individuals			$\frac{\text{♀}}{\text{T}}$ (%)	$\frac{\text{♂}}{\text{T}}$ (%)
	♀	♂	Total(T)		
Control (1)	14	14	28	50.0	50.0
Control (2)	3	12	15	20.0	80.0
2	21	1	22	95.5	4.5
5	14	2	16	87.5	12.5
10	20	0	20	100.0	0
20	8	0	8	100.0	0
30	10	22	32	31.2	68.8

Table 2. Percentage of the malformed loach immersed in estrone solution for 40 days

Initial age in days	Number of individuals		Percentage of malformed fish
	Total	Malformed fish	
Control(1)	28	5	17.9
Control(2)	15	2	13.3
2	22	10	45.5
5	16	6	37.5
10	20	3	15.0
20	8	2	25.0
30	32	9	28.1

条の屈折、湾曲、萎縮、融合、II型は脊椎骨の上下方向または水平方向の湾曲、屈折および椎体数の減少 (Fig. 1)、III型は吻部の鈍円、短縮、IV型は体の短縮、胸部の肥大などであった。なお、奇形魚の中にはI型とII型、またはI型とIV型のような複数の型をもった個体が認められた。ふ化してからEs処理を開始するまでの日数と各奇形型の出現数および出現率との関係をTable 3に示した。なお、この表の奇形魚数は、I型とIV型のような複数の型をもった個体では、両型に個体数を加算して示した。出現率は、2日開始群ではI型とIV型、5日開始群ではI型、30日開始群ではI型とII型がそれぞれ多かった。このように、各群

において最も普遍的に現われた奇形型はI型であった。

奇形魚は雌にも雄にも出現した。そして奇形魚における卵巣重量の体重に対する割合は、0.8~27.0%の範囲に広く分布していた。

実験終了時における各群の平均体長および平均体重をTable 4に示した。それらの値は、2日開始群が最小で、それと対照群C(1)との間に $P < 0.05$ で有意差が認められた。雌性化率が100%であった10日と20日の各開始群の値は、いずれも対照群の雌と近似しており、その雄よりも大きかった。

各群における生殖腺重量の体重に対する割合、つまり成

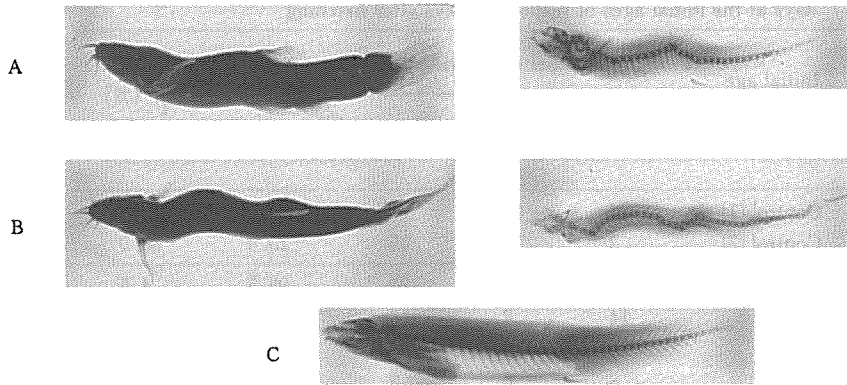


Fig. 1. External morphology and spinal column of the loach immersed in estrone solution. A, spinal column bent vertically; B, spinal column bent horizontally; C, normal spinal column.

Table 3. Percentage of the malformed loach immersed in estrone solution for 40 days in each type of malformation. A specimen having two types of malformation was treated as two specimens. Type I, malformation in fins; II, flexion of spinal column; III, malformation of snout; IV, shrinkage of body

Initial age in days	Number of malformed fish				Percentage of malformed fish			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Control (1)	2	3	1	0	33.3	50.0	16.7	0
Control (2)	2	0	0	0	100.0	0	0	0
2	7	0	0	9	43.8	0	0	56.3
5	7	0	2	0	77.8	0	22.2	0
10	2	2	1	0	40.0	40.0	20.0	0
20	2	0	0	0	100.0	0	0	0
30	6	5	1	0	50.0	41.7	8.3	0

Table 4. Mean values of body length and body weight of the loach immersed in estrone for 40 days and reared for about one year

Initial age in days	Sex	Body length (mm) (M ± S.D.)	Body weight (g) (M ± S.D.)
Control (1)	♀	117.3 ± 19.9	22.7 ± 9.1
	♂	100.0 ± 12.2	11.4 ± 3.2
Control (2)	♀	114.6 ± 12.0	21.1 ± 4.7
	♂	97.4 ± 9.0	9.8 ± 2.6
2	♀	99.5 ± 19.9* ¹	15.4 ± 6.5* ¹
	♂	80.2 ± 0	6.6 ± 0
5	♀	108.3 ± 29.6	18.4 ± 11.1
	♂	102.1 ± 14.0	10.8 ± 3.5
10	♀	117.2 ± 13.4	21.4 ± 5.1
20	♀	120.0 ± 28.3	26.8 ± 11.4
30	♀	117.2 ± 23.5	23.1 ± 10.1
	♂	100.3 ± 10.5	11.6 ± 3.0

* Value with *1 is statistically different from that of the control (C1), P < 0.05.

Table 5. Mean values of the percentage of gonad weight to body weight of the loach immersed in estrone solution for 40 days and reared for about one year

Initial age in days	Sex	Percent of gonad weight to body weight (M ± S.D.)
Control (1)	♀	18.7 ± 4.4
	♂	0.57 ± 0.11
Control (2)	♀	18.2 ± 5.3
	♂	0.58 ± 0.10
2	♀	17.9 ± 5.3
	♂	0.75 ± 0
5	♀	17.8 ± 6.7
	♂	0.49 ± 0.08
10	♀	16.7 ± 5.0
20	♀	16.4 ± 9.2
30	♀	24.2 ± 4.7* ¹
	♂	0.71 ± 0.17* ¹ * ²

* Values with *1 and *2 are statistically different from those of the control (C1) and (C2) respectively, P < 0.05.

熟度指数の平均値を Table 5 に示した。雌における成熟度指数は、雌性化率が100%の10日と20日の各開始群では17%と16%、性が転換しなかった30日開始群では24%、そして対照群では18%と19%で、性転換魚を含んでいる群の方が、それを含まない群に比べて小さい傾向が認められた。

ふ化してから Es 処理を開始するまでの日数とガラス水槽および実験池において飼育したドジョウの生存率との関係を Fig. 2 に示した。その日数と生存率との間の一定の関係は、水槽、実験池共に認められなかった。

3.2 Es 処理の期間が性転換に及ぼす影響 (実験 2)

Es 処理期間と雌の出現率との関係を、実験 1 の結果も加えて Fig. 3 に示した。雌の出現率は、対照群では50%と20%に対して20日間処理群では38%で、両群がほぼ同じ値を示したが、30日間処理群では100%となり、急増した。そして40日間処理群では88~100%で高率を維持したが、50日間処理群では75%に低下した。このように雌の出現率は、Es 処理期間が30~40日の間で高かった。

Es 処理日数と奇形魚の出現率との関係を Table 6 に示した。20日間と30日間の各処理群における奇形魚の出現率は、0%と4%で、他の実験群および対照群におけるよりも小さかった。このように奇形魚の出現率は30日間処理群

では低率であったが、実験 1 において、同一処理を40日間実施した群では38%で、高率であった。

10, 40, 50日間処理群において最も多く出現した奇形の型は、実験 1 で示した I 型であった。

実験終了時における各群の平均体長および平均体重を Table 7 に示した。これらの結果からは、Es 処理日数と平均体長および平均体重との間の一定の関係は認められなかった。なお、100%雌に転換した30日間処理群の値は、対照群の雌と近似しており、その雄よりも大きかった。これは実験 1 の結果とよく一致する。

次に各群における成熟度指数を Table 8 に示した。性転換率が高かった30日間と40日間の各処理群における雌の成熟度指数は18%と17%で、対照群の19%と18%および他の実験群の22~24%よりも小さかった。これも実験 1 の結果とよく一致する。

Es 処理日数と循環濾過水槽および実験池で飼育した各群のドジョウの生存率との関係を Fig. 4 に示した。水槽における生存率は、Es 処理日数が10~40日の間では、20日の24%を除くと44~59%で、ほぼ一定であったが、50日では14%に低下した。一方、実験池における生存率は39~82%で、Es 処理日数と生存率との間の一定の関係は認められなかった。

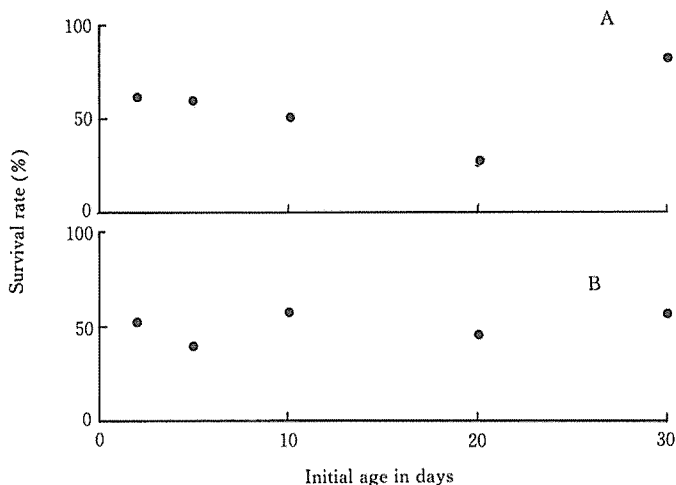


Fig. 2. Survival rate of the loach immersed in estrone solution for 40 days at the initial ages of respective days after hatching. A, circulating and filtering aquarium; B, experimental pond.

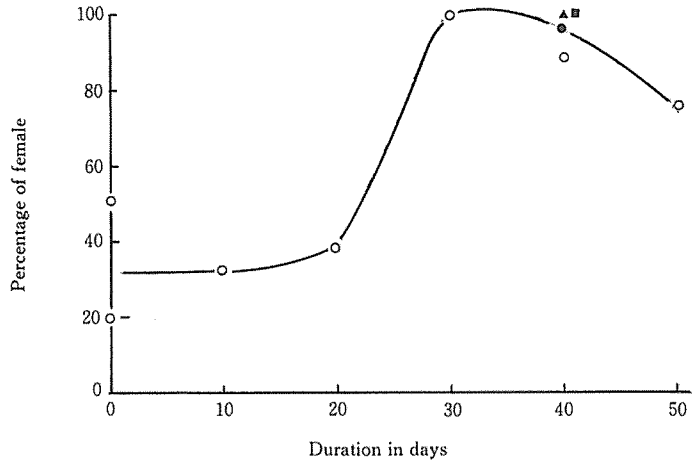


Fig. 3. Percentage of female of the loach immersed in estrone solution for 40 days. Initial ages of estrone treatment after hatching: ●, 2; ○, 5; ▲, 10; ■, 20 days.

Table 6. Percentage of the malformed loach immersed in estrone solution at the initial age of 5 days after hatching

Duration in days	Number of individuals		Percentage of malformed fish
	Malformed fish	Total	
0	5	28	17.9
0	2	15	13.3
10	5	12	41.7
20	0	14	0
30	1	24	4.2
40	6	16	37.5
50	3	8	37.5

Table 7. Mean values of body length and body weight of the loach immersed in estrone solution at the initial age of 5 days after hatching and reared for about one year

Duration in days	Sex	Body length (mm) (M ± S.D.)	Body weight (g) (M ± S.D.)
0	♀	117.3 ± 19.9	22.7 ± 9.1
	♂	100.0 ± 12.2	11.4 ± 3.2
0	♀	114.6 ± 12.0	21.1 ± 4.7
	♂	97.4 ± 9.0	9.8 ± 2.6
10	♀	115.0 ± 38.9	24.7 ± 15.7
	♂	97.8 ± 10.3	11.1 ± 2.8
20	♀	136.7 ± 9.2 ^{*2}	30.5 ± 5.4 ^{*2}
	♂	117.8 ± 5.5 ^{*1*2}	16.7 ± 2.1 ^{*1*2}
30	♀	112.3 ± 13.1	23.0 ± 5.5
40	♀	108.3 ± 29.6	18.4 ± 11.1
	♂	102.1 ± 14.0	10.8 ± 3.5
50	♀	134.4 ± 22.4	34.2 ± 11.6 ^{*2}
	♂	101.1 ± 14.9	11.5 ± 5.0

* Values with *1 and *2 are statistically different from those of the control (C1) and (C2) respectively, $P < 0.05$.

Table 8. Mean values of the percentage of gonad weight to body weight of the loach immersed in estrone solution at the initial age of 5 days after hatching and reared for about one year

Duration in days	Sex	Percent of gonad weight to body weight (M ± S.D.)
0	♀	18.7 ± 4.4
	♂	0.57 ± 0.11
0	♀	18.2 ± 5.3
	♂	0.58 ± 0.10
10	♀	22.0 ± 6.9
	♂	0.81 ± 0.20 ^{*1*2}
20	♀	21.9 ± 6.6
	♂	0.68 ± 0.15 ^{*1}
30	♀	17.8 ± 5.2
40	♀	17.1 ± 7.7
	♂	0.68 ± 0.13
50	♀	23.9 ± 2.1
	♂	0.53 ± 0

* Values with *1 and *2 are statistically different from those of the control (C1) and (C2) respectively, $P < 0.05$.

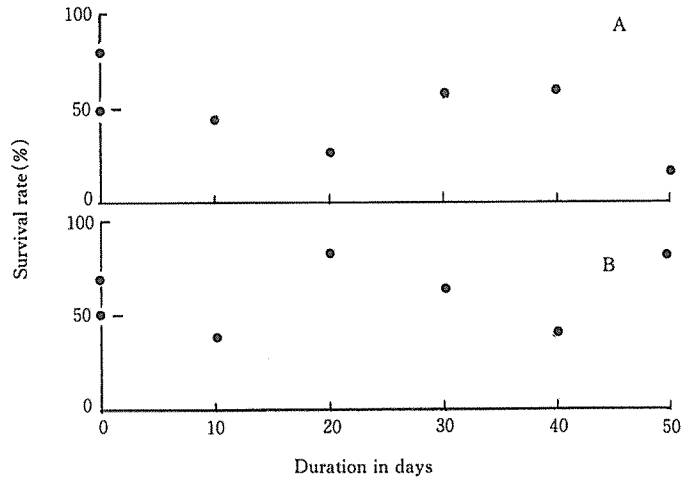


Fig. 4. Survival rate of the loach immersed in estrone solution for respective days at the initial age of 5 days after hatching. A, circulating and filtering aquarium; B, experimental pond.

4. 考 察

魚類の性を転換するには、性ホルモンによる処理を適した時期から開始し、適当な期間つづける必要がある。その開始時期は、基本的には性誘導物質が内部的に分泌され、性が分化する時で、グッピーのような卵胎生魚^{3, 4)}を除いた一般的な魚では、摂餌を開始する時期に相当する^{5, 6)}。しかし Yamazaki⁷⁾は、ニジマスの経口処理は摂餌開始期の直後から始めるのが効果的であるが、処理が摂餌開始期から1~2週間遅れても、比較的高い頻度で性転換雄が出現することを報告した。

本実験では、ドジョウの性は、300 $\mu\text{g/l}$ 、40日間のEs処理をふ化後20日目に開始した場合でも転換した。ドジョウが最初に摂餌を開始する時期は、ふ化してから44時間後で、体長が3.8~4.1mm、卵黄の側面積が肛門より前方の体側面積の約7%になった時期に相当する⁸⁾。以上からすると、ドジョウは摂餌開始後、約2週間たってからEs処理を開始しても性が転換することになる。この事は、ニジマスの場合と一致する。

実験1において、300 $\mu\text{g/l}$ 、40日間のEs処理をふ化後2日目から開始した群では、雌の出現率は高かったが、奇

形魚が多く現われ、しかも実験終了日における魚体の大きさが他の群に比べて小さかった。一方、それと同一処理をふ化後10日目から開始した群では、雌の出現率が100%であり、奇形の出現率が最も低く、成長も良好であった。また、実験2では、雌の出現率はふ化後5日目から300 $\mu\text{g/l}$ のEs処理を30~40日間つづけた場合に高かった。しかし、それらのうち40日間処理群では、30日間処理群に比べて奇形魚の出現率が大きかった。

以上を総合すると、ドジョウの性を雌に転換するには、ふ化後5日目から30日間、または、ふ化後10日目から40日間、300 $\mu\text{g/l}$ のEs処理を行うのが最も良い方法と考えられる。

Ashby⁶⁾は、ブラントラウトで飼育水中のステロイドにより腎臓が肥大し、生殖腺上皮が肥厚することを、また、岡田⁹⁾はニジマスでEsを経口投与することにより肝臓および腎臓が肥大し、鰓外壁が肥厚することを、それぞれ報告した。本実験では、ドジョウをEs処理した場合に脊椎骨の湾曲、屈折および椎骨数の減少、鰭条の萎縮、融合などの奇形魚を多く出現した。このような奇形は、Es処理により内分泌に異常をきたし、体の各部分における分化や成長に遅速および異形を生じたことによるものと思われる。

そして、奇形魚の出現率が、ふ化後2日目からEs処理を開始した群において最も大きかったことは、ふ化直後では、その影響をより強く受けることを示しているように考えられる。なお、筆者らはEsの内臓に及ぼす影響について現在調査中である。

5. 要 約

ドジョウの成長度は雌の方が雄よりも大きいので、その養魚を行う場合には雌だけ飼育することが望ましい。この見地から本実験を行い次の結果を得た。

1. ドジョウの性は、 $300 \mu\text{g/l}$ 、40日間のエストロン(Es)処理を、ふ化後2~20日目から開始した群では転換したが、30日目から開始した群では転換しなかった。
2. 奇形魚の出現率は、 $300 \mu\text{g/l}$ のEs処理を、ふ化後2日目から40日間行った群では46%、ふ化後5日目から30日間行った群では4%であった。
3. 実験終了時における平均体重は、性転換雌の群と遺伝的雌の群との間で差異が認められなかった。
4. 卵巣重量の体重に対する割合の平均値は、性転換雌の群の方が遺伝的雌の群よりも小さかった。

5. ドジョウの性は、 $300 \mu\text{g/l}$ のEs処理を、ふ化後2~20日目から30~40日間行った群では転換したが、20日間行った群では転換しなかった。

今回の実験結果から、ドジョウの性を雌に転換するには、ふ化後10日目から40日間、 $300 \mu\text{g/l}$ のEs処理を行うのが最も良い方法と考えられる。

文 献

- 1) 久保田善二郎：水講研報，11，213~234 (1961).
- 2) 久保田善二郎・大浜秀規：水産大研報，33，11~25 (1984).
- 3) M. Dzwillio: *Bio. Zentralbl.*, 81, 575~584 (1970).
- 4) H. Takahashi: *Nippon Suisan Gakkaishi*, 41, 499~506 (1975).
- 5) E. Padoa: *Biomorphosis*, 1, 337~354 (1939).
- 6) K. R. Ashby: *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 5, 225~249 (1957).
- 7) F. Yamazaki: *Aquacult.*, 33, 329~354 (1983).
- 8) 久保田善二郎：ドジョウ，“養魚学各論”（川本信之編），恒星社厚生閣，東京，1967，pp. 252~278.
- 9) 岡田鳳二：孵化場研究報告，28，11~21 (1973).