

エストロンによるドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* の性転換*¹

久保田善二郎・大浜秀規*²

Inducement of Sex Reversal of Loach, *Misgurnus
anguillicaudatus*, with Estrone

By

Zenjiro KUBOTA and Hideki OOHAMA

It is advisable to breed females alone in culture because the growth rate is greater in females than in males. The experiment was carried out from this viewpoint, and the results obtained are as follows:

Inducement of sex reversal is considered impossible in each group of loach reared with the feed containing 5, 10, and 60 $\mu\text{g}/\text{fish}/\text{day}$ of estrone for 45 days from the 38th day after hatching.

Sex reversal was successful in the group of loach immersed in estrone solution of 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ for 56 days from the 12th day after hatching. There were bony plates (lamina circularis) on pectoral fins in 17% of female and 75% of intersex, and processes on the dorsal parts of body sides in 12% of female, and 75% of intersex of the group of loach immersed in estrone solution of 250 $\mu\text{g}/\text{l}$. Mean value of the proportion of ovary weight to body weight was smaller in the group of loach immersed in estrone solution of 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ than in the control group. The body weight at the end of experiment in the groups treated with estrone solution of 250 and 500 $\mu\text{g}/\text{l}$ was greatest in female, smallest in male and middle in intersex. There was no difference in the body weight of female at the end of experiment between the group of loach treated with estrone solution of 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ and the control group. Weight-multiplicating rate in the group of loach treated with estrone solution of 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ was 1.6 times as large as that in the control group.

Decreasing rate and weight-multiplicating rate in the group of loach reared with the feed containing estrone were larger and smaller respectively than those in the group of fish without hormone. Prior to this experiment, these groups of loach were immersed in estrone concentration of 250, 500, 1000, and 1500 $\mu\text{g}/\text{l}$ respectively for 35 days from the 12th day after hatching.

* 1 昭和58年度日本水産学会秋期大会で発表.

* 2 山梨県魚苗センター

水産大学校研究業績 第1030号, 1984年7月27日受理.

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 1030. Received July 27, 1984.

The most suitable concentration of estrone solution is 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ for sex reversal of the loach with estrone in culture.

1. まえがき

魚類の性を制御することについては多くの報告¹⁾があるが、それらの方法は次の3つに大別される。その1は精子を γ 線²⁻⁶⁾、X線^{7,8)}または紫外線⁹⁻¹¹⁾などで処理して遺伝的に不活性にした後、正常な卵に媒精して雌性発生を誘起する方法、その2はホルモン処理して性を転換させる方法、その3はテラピア属におけるように異種間交雑により単性種苗を得る方法¹²⁻¹⁴⁾である。そして、その2は、さらに次の2方法に分けられる。すなわち、稚魚を男性ホルモンにより雄性化または女性ホルモンにより雌性化する直接的な方法¹⁵⁻¹⁷⁾およびホルモン処理によって遺伝的性が機能的に逆転した性転換魚と正常魚とを交配し、性染色体の組み合わせによってF₁またはF₂世代での性比をコントロールする間接的方法¹⁸⁻²⁸⁾である。

ところで、ドジョウの成長度は雌の方が雄よりも大きく²⁹⁾、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、筆者らはエストロン、エチニルエストラジオールおよびビタミンB₁を含有するオバホルモンB錠(帝國臓器株式会社製)粉末をドジョウに経口投与して、すでに性を雌に転換することができた^{30,31)}。

本実験は、この性転換をより確実なものにするために、エストロン(以下Esで示す)を用いてドジョウの雌性化に有効な方法を求めるとともに、性転換雌の成長度を知る目的で実施した。

2. 材料および方法

飼育実験は、実験1と2では1981年6月6日から1982年7月5日まで、実験3では1982年6月2日から1983年6月27日までの間、室内に設置した底面循環濾過式のガラス水槽(60×30×40 cm)および屋外の実験池(200×100×80 cm)で実施した。

供試魚は、実験1と2では体重が44g、実験3では21gの各雌親魚1尾に対してゴナトロピン1000単位を注射後、それぞれ6~14g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、前者では1981年6月6日、後者では1982年6月2日にふ化したものである。

実験は次の3方法で行った。すなわち、実験1では、ふ化後2日目に仔魚を30尾ずつ循環濾過式ガラス水槽4個に放養し、つづいてふ化後38日目に、各水槽のドジョウ(平均体長25.0±0.23 mm, 平均体重0.148±0.004 g)をそれぞれ2 m²の実験池へ移した。そして、その日から45日間、対照群を除いた3群に1日1尾当たり、それぞれ5, 10, 60 μg のEsを餌料に混ぜて経口投与し、さらにその後では正常餌料だけを与えて310日間飼育した。実験2では、ふ化後2日目の仔魚を35 lの水を入れた循環濾過式ガラス水槽4個に100尾ずつ放養し、ふ化後12日目から56日間、対照群を除いた3群にそれぞれ125, 250, 500 $\mu\text{g}/\text{l}$ のEs処理を行い、さらにその後、ドジョウを実験池へ移して326日間飼った。実験3では、250, 500, 1000, 1500 $\mu\text{g}/\text{l}$ のEs処理をふ化後12日目から35日間行った後、それぞれ2つに分けて実験池へ放養し、一方は餌料だけ、他方は餌料にその $\frac{1}{10000}$ 量のEsを加えて40日間給餌した。そして、その後さらに301日間飼育した。

実験2と3におけるEs処理は、まずEsを飼育水量の $\frac{1}{10000}$ 量のエタノールに充分溶解してから、ドジョウを飼育中の水に加える方法で行った。なお、Es処理を開始してから、実験2では35日目、実験3では22日目に1回だけ換水し、その時に新しくEsを加えた。

これらの実験で用いた餌料は、日本配合飼料株式会社製の養鰻用粉餌No.2 Mであった。給餌は、ガラス水槽における飼育期間中では1水槽につき、1日当たり、0.2~0.5g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日当たり、魚体重の5~10%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、実験1では1981年10月28日から1982年4月18日まで、実験2では1981年11月13日から1982年4月18日まで、そして実験3では1982年11月5日から1983年4月10日までの間、低温のため給餌を中止した。給餌期間中の水温範囲は、実験1では12.8~31.8℃、実験2では12.8~29.1℃、そして実験3では12.3~27.8℃であった。

各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、その後、群別、個体別に体長、全長および背鰭、胸鰭、腹鰭、尻鰭の各長さ、ならびに体重、生殖腺重量を測定するとともに、ドジョウの雄の特徴

Table 1. Sex ratio of each group reared with the feed containing 0, 5, 10, and 60 $\mu\text{g}/\text{fish}/\text{day}$ of estrone. Drug was fed for 45 days from the 38th day after hatching.

Dose of estrone ($\mu\text{g}/\text{fish}/\text{day}$)	Number of fish			$\frac{\text{♀}}{\text{T}}$ (%)	$\frac{\text{♂}}{\text{T}}$ (%)
	♀	♂	Total (T)		
0 (Control)	11	9	20	55.0	45.0
5	7	15	22	31.8	68.2
10	9	10	19	47.4	52.4
60	10	11	21	47.6	52.4

である体側背部の前後の隆起帯³²⁻³⁴⁾の有無を調べた。また、胸鰭の形および構造は、ドジョウの性徴のうちで最も顕著な特徴^{35,36)}であるから、実験2では、すべての個体の胸鰭を切断して HOLLISTER の方法で透明標本とし、骨質薄板の存在を確かめるとともに、その長さをマイクロメータで測定した。

性の決定は生殖腺を鏡検して行った。それによっても、なお性の判定が困難な場合には、パラフィン法によって厚さ10 μ の切片とし、DELAFFIELD の Hematoxyline-Eosin で染色して顕微鏡下で調べた。

3. 結 果

3.1 Es を経口投与した場合 (実験1)

1日1尾当たりのEs投与量と性比との関係をTable 1に示した。雌の割合は、対照群では55.5%に対して実験群では31.8~47.6%で、後者は雌性ホルモンを投与したにもかかわらず前者よりも小さかった。このように、実験1では性の転換ができなかった。

群別、雌雄別による全長および背鰭、胸鰭、腹鰭、尻鰭の各長さの体長に対する割合の平均値を求めTable 2に示した。これらの各平均値は、対照群と実験群との間において明確な差異が認められなかった。

実験群において、体側背部の隆起帯は、対照群と同様に雄ではすべての個体が認められたが、雌では全く存在しなかった。

各群における生殖腺重量の体重に対する割合の平均値をTable 3に示した。雌におけるその平均値は、対照群では19.6%に対して実験群では11.0~16.6%で、後者の方が前者よりも小さかった。

各時期における群別の総魚体重から各期間中における増重倍率を求めTable 4に示した。全実験期間中における増重倍率は、対照群では68に対して実験群では55~69で、両群間における差異が認められなかった。

次に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 5に示した。対照群と実験群との間における差異は、平均体長では全く認められなかった。また、平均体重でも60 μg 投与の雄以外では平均体長の場合と同じであった。

3.2 Es 処理を行った場合 (実験2)

実験2の時期別における各群の生存尾数をTable 6に示した。500 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群の生存尾数は他の群よりも著しく少なかったが、これは水槽水の循環が故障によって一時的に停止したためである。減耗は各群とも飼育の初期において多かった。Es処理を終った直後の1981年8月17日における生存尾数は、500 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群を除いた2つの実験群では71尾と86尾に対して対照群では70尾で、実験群と対照群との間において顕著な差異が認められなかった。しかし、実験終了日における生存尾数は、群間の差異が大きくなり、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群が70尾で最も多く、対照群が53尾で最も少なかった。

次にEs処理濃度と性比との関係をTable 7に示した。雌の割合は、対照群では47.2%に対して、125 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群では44.4%で、両群がほぼ同じ値を示したが、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群では82.9%となり急増した。一方、雄の割合は、対照群と125 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群がそれぞれ52.8%と55.6%に対して、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群では5.7%で激減した。そして間性が250, 500 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群でそれぞれ11.4%と9.1%出現した。このように性は250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 以上の処理濃度で転換した。

Table 2. Mean values of the five distinct secondary sexual characters observed in both control group and experiment groups.

Dose of estrone ($\mu\text{g}/\text{fish}/\text{day}$)	Sex	100·TL/L	100·DL/L	100·PL/L	100·VL/L	100·AL/L
0 (Control)	♀	113.70± 1.68	8.08± 0.66	9.01± 1.29	7.16± 0.44	7.64± 0.78
	♂	116.44± 1.94	11.56± 1.36	15.61± 2.07	11.17± 1.02	11.04± 0.81
5	♀	113.14± 0.94	7.63± 1.02	9.23± 0.68	7.73± 0.72	7.54± 0.91
	♂	116.40± 1.45	10.68± 1.09	14.63± 1.29	10.15± 1.47	10.10± 1.51
10	♀	115.44± 1.28*	8.46± 1.41	9.93± 0.69	7.68± 1.29	7.96± 1.02
	♂	115.30± 3.46	10.40± 1.22	16.27± 1.17	10.91± 0.71	10.43± 0.84
60	♀	113.50± 2.66	8.13± 0.51	9.80± 1.29	7.56± 0.82	7.89± 1.20
	♂	117.64± 2.50	11.51± 1.03	15.80± 1.56	10.85± 0.75	10.41± 0.98

* Value with asterisk is statistically different from that of the control, $P < 0.05$.

L, body length; TL, total length; DL, dorsal fin length; PL, pectoral fin length; VL, pelvic fin length; AL, anal fin length.

Table 3. Mean values of the percent of gonad weight to body weight of each group reared with the feed containing 0, 5, 10, and 60 $\mu\text{g}/\text{fish}/\text{day}$ of estrone at the end of the first experiment. Drug was fed for 45 days from the 38th day after hatching.

Dose of estrone ($\mu\text{g}/\text{fish}/\text{day}$)	Sex	Maturity factor (%) (mean \pm S.D.)
0 (Control)	♀	19.61 \pm 4.92
	♂	0.62 \pm 0.30
5	♀	16.64 \pm 2.48
	♂	0.51 \pm 0.19
10	♀	10.98 \pm 6.69*
	♂	0.40 \pm 0.12
60	♀	14.38 \pm 5.35*
	♂	0.53 \pm 0.09

* Values with asterisks are statistically different from that of the control, $P < 0.05$.

Table 4. Weight-multiplying rate of each group reared with the feed containing 0, 5, 10, and 60 $\mu\text{g}/$ fish/day of estrone. Drug was fed for 45 days from the 38th day (July 14, 1981) after hatching.

Dose of estrone ($\mu\text{g}/$ fish/day)	Body weight (g)				
	July 14, 1981	Oct. 27	Apr. 15, 1982	May 19	July 5
0 (Control)	4.41	104.3	126.4	161.1	304.9
5	4.44	109.0	114.1	140.2	260.7
10	4.23	94.8	85.5	106.2	238.1
60	4.59	80.3	89.0	125.3	319.9

Dose of estrone ($\mu\text{g}/$ fish/day)	Weight-multiplying rate				
	July 14, 1981 -Oct. 27	Oct. 27- Apr. 15, 1982	Apr. 15- May 19	May 19- July 5	July 14, 1981 -July 5, 1982
0 (Control)	22.65	0.21	0.27	0.89	68.13
5	23.55	0.05	0.23	0.86	57.71
10	21.42	-0.10	0.24	1.24	55.28
60	16.49	0.11	0.41	1.55	68.69

Table 5. Mean values of body length and weight in each group at the end of the first experiment.

Dose of estrone ($\mu\text{g}/$ fish/day)	Sex	Body length (mm) (mean \pm S.D.)	Body weight (g) (mean \pm S.D.)
0 (Control)	♀	120.00 \pm 6.69	19.86 \pm 3.54
	♂	98.89 \pm 4.83	9.60 \pm 0.79
5	♀	120.57 \pm 2.07	19.10 \pm 1.54
	♂	93.40 \pm 10.74	8.47 \pm 2.49
10	♀	109.11 \pm 22.63	16.30 \pm 7.24
	♂	99.70 \pm 4.60	10.10 \pm 1.22
60	♀	122.00 \pm 18.47	19.56 \pm 7.63
	♂	104.91 \pm 9.46	11.30 \pm 2.36*

* Value with asterisk is statistically different from that of the control, $P < 0.05$.

Table 6. Surviving number of each group at respective periods in the second experiment.

Concentration of drug ($\mu\text{g/l}$)	Number of fish						
	1981				1982		
	June 8	July 18	Aug. 17	Nov. 12	Apr. 15	May 19	July 5
0 (Control)	100	77	70	64	58	56	53
125	100	71	71	67	67	67	63
250	100	86	86	84	82	80	70
500	100	13	13	13	11	11	11

Table 7. Sex ratio of each group immersed in estrone solution for 56 days from the 12th day (June 18, 1981) after hatching.

Concentration of drug ($\mu\text{g/l}$)	Number of fish				$\frac{\text{♀}}{\text{T}}$ (%)	$\frac{\text{♂}}{\text{T}}$ (%)	$\frac{\text{♀}}{\text{T}}$ (%)
	♀	♂	♀	Total (T)			
0 (Control)	25	28	0	53	47.2	52.8	0
125	28	35	0	63	44.4	55.6	0
250	58	4	8	70	82.9	5.7	11.4
500	9	1	1	11	81.8	9.1	9.1

Table 8. Mean values of the five distinct secondary sexual characters observed in both control group and experimental groups.

Concentration of drug ($\mu\text{g/l}$)	Sex	100·TL/L	100·DL/L	100·PL/L	100·VL/L	100·AL/L
0 (Control)	♀	113.00±1.78	8.26±0.73	9.58±0.70	7.76±0.77	7.52±0.66
	♂	117.14±2.37	10.45±1.12	16.53±1.39	11.48±1.48	10.18±1.03
125	♀	114.29±1.67*	8.41±0.83	10.26±0.97*	7.45±0.82	7.43±1.06
	♂	116.60±2.21	11.38±0.87*	17.55±1.01*	11.12±0.86	10.32±0.91
250	♀	114.52±2.35*	9.07±1.17*	10.99±2.18*	8.34±1.36*	8.26±1.32
	♂	116.00±1.77	11.03±1.40	15.13±4.99	9.48±2.75	9.73±1.44
	♀	115.63±1.75	10.10±1.20	14.90±2.58	10.39±2.00	10.24±1.65
500	♀	113.00±1.55	8.47±0.67	9.81±0.84	7.51±0.65	7.67±1.02
	♂	112.00±0	11.40±0	12.40±0	11.60±0	10.00±0
	♀	115.00±0	11.20±0	14.30±0	10.20±0	10.20±0

* Values with asterisks are statistically different from that of the control, $P < 0.05$.

L, body length; TL, total length; DL, dorsal fin length; PL, pectoral fin length; VL, pelvic fin length; AL, anal fin length.

群別、雌雄別による全長および背鰭、胸鰭、腹鰭、尻鰭の各長さの体長に対する割合の平均値をTable 8に示した。これらの値を、性転換が認められた250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群と対照群について比較すると、雌ではすべての形質において前者の方が後者よりも大きかった。ただし、これらのうち尻鰭長の体長に対する割合だけは $P < 0.05$ の範囲で有意差が認められなかった。一方、雄では背鰭長の体長に対する割合を除いたすべての形質において250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群よりも対照群の方が大きい値を示したが、これらの差異はいずれも有意でなかった。このようにEs処理による体形の変化は、雄よりも雌の方が顕著であった。

次に対照群と250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群における胸鰭の形をFig.1に示した。対照群の雄の胸鰭は、第1軟条の基部がこぶ状となっており、また、第2軟条が他の軟条よりも太くてしかも長く、その基部に骨質薄板があった(Fig.1-A)が、雌

のものは雄よりも小型で、第1軟条基部のこぶおよび第2軟条の骨質薄板がなかった(Fig.1-B)。ところが250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群の雌の胸鰭の形は、大部分のものは対照群の雌と同形であったが、一部のものは対照群の雄と近似していた(Fig.1-C)。また、間性では骨質薄板をもっているものが多くみられた(Fig.1-D)。250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群の雌および間性のうちで骨質薄板をもっているものの割合は、それぞれ17%と75%であった。次に群別に骨質薄板長の体長に対する割合の頻度分布をFig.2に示した。その割合は、対照群の雄では1.6~2.6%、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群の雄では1.8~3.0%、雌および間性では0~2.6%の範囲にそれぞれ分布していた。このように普通ならば雄だけに出現する骨質薄板が、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群では雌にもみられ、その大きさは対照群の雄と同じものから痕跡的なものまで広範囲にわたっていた。

群別、性別による体側背部の隆起帯をもった個体の出現

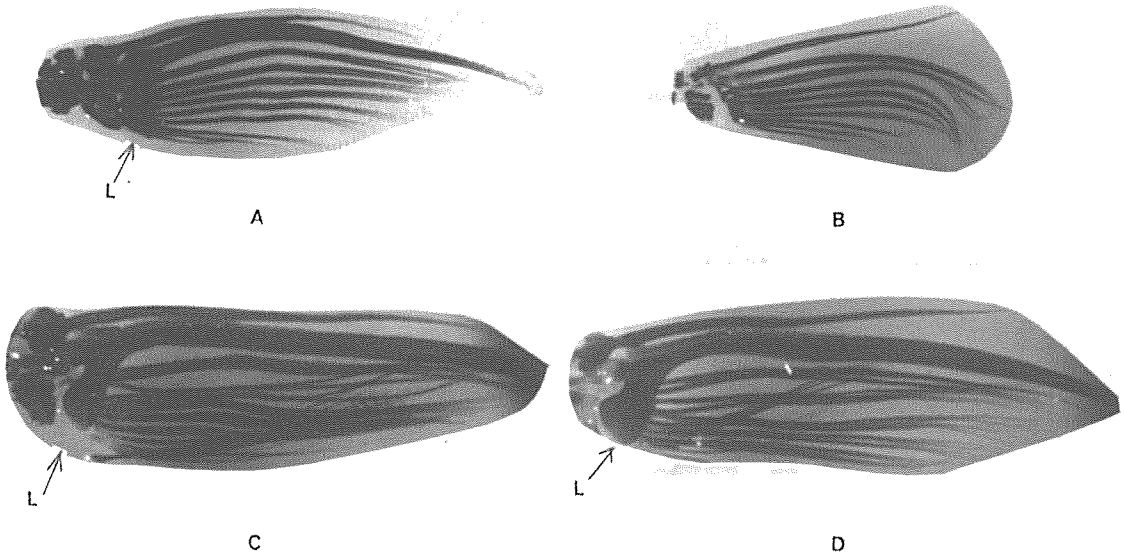


Fig. 1. Shape and structure of pectoral fin of loach, *Misgurnus anguillicaudatus*, immersed in estrone solution for 56 days from the 12th day after hatching.

A : Pectoral fin with the bony plate, lamina circularis (L), in a male of the control group. The 2nd ray is longer and thicker than the other rays.

B : Pectoral fin in a female of the control group. There is no bony plate on the 2nd ray.

C : Pectoral fin in a female immersed in estrone solution.

There is a bony plate on the 2nd ray of pectoral fin.

D : Pectoral fin in an intersex immersed in estrone solution.

Table 9. Percentage of loach with processes on body sides to the total of each group.

Concentration of drug ($\mu\text{g}/\text{l}$)	Sex	Number of fish (N)	A	B	C	$\frac{A}{N}$ (%)	$\frac{B}{N}$ (%)	$\frac{C}{N}$ (%)
0 (Control)	♀	25	0	0	25	0	0	100.0
	♂	28	27	1	0	96.4	3.6	0
125	♀	28	0	0	28	0	0	100.0
	♂	35	35	0	0	100.0	0	0
250	♀	58	3	4	51	5.2	6.9	87.9
	♂	4	1	2	1	25.0	50.0	25.0
	♀	8	4	2	2	50.0	25.0	25.0
500	♀	9	0	0	9	0	0	100.0
	♂	1	1	0	0	100.0	0	0
	♀	1	1	0	0	100.0	0	0

A, loach with processes in anterior and posterior; B, loach with processes in posterior; C, loach with no processes.

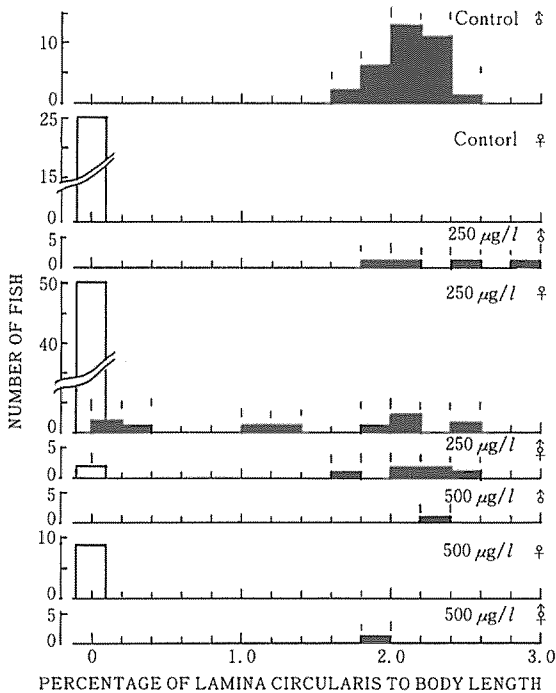


Fig. 2. Frequency distribution in the ratio of length of bony plate with pectoral fin, lamina circularis, to body length at respective groups. White portions indicate the number of loach without the bony plate on pectoral fin.

Table 10. Mean value of percentage of gonad weight to body weight of each group of loach immersed in estrone solution for 56 days from the 12th day after hatching and then cultured in absence of the hormone for 326 days.

Concentration of drug ($\mu\text{g}/\text{l}$)	Sex	Maturity factor (%) (mean \pm S.D.)
0 (Control)	♀	16.58 \pm 5.03
	♂	0.57 \pm 0.13
125	♀	16.42 \pm 3.99
	♂	0.66 \pm 0.13*
250	♀	11.60 \pm 6.15*
	♂	1.00 \pm 1.38
	♀	1.03 \pm 1.33
500	♀	15.31 \pm 4.89
	♂	0.50 \pm 0
	♀	0.30 \pm 0

* Values with asterisks are statistically different from that of the control, $P < 0.05$.

率を Table 9 に示した。前部と後部の隆起帯を両方とももっていた個体の出現率は、対照群、125, 500 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群では雌が 0%, 雄が 96.4~100%であったが、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群では雌が 5.2%, 雄が 25.0%, 間性が 50.0%であった。さらに後部の隆起帯だけをもっていた個体の出現率は、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群では雌が 6.9%, 雄が 50.0%, 間性が 25.0%に対して、他の 3 群では対照群雄の 3.6%を除くと、すべて 0%であった。

各群における生殖腺重量の体重に対する割合の平均値つまり成熟度指数を Table 10 に示した。それは、性転換雌が多数含まれている 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群の雌では 11.6%で、対照群の雌の 16.6%よりも小さかった。ところで 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群の成

熟度指数は、胸鰭に骨質薄板をもっていない個体では $12.80 \pm 5.71\%$ に対して、それをもっている個体では $5.82 \pm 4.61\%$ で、前者の方が後者よりも大きかった。

次に対照群における卵巣と精巣および 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ 群における間性の生殖腺の組織標本を Fig. 3 に示した。対照群では、卵巣は大部分が直径 690~780 μ の第 3 次卵黄球期の卵母細胞で占められており、そのほかに 220~260 μ の卵黄顆粒期、70~80 μ の周辺仁期のものが少数混じっていた (Fig. 3-A)。同じく精巣は、その細精管腔に精子が充満していた (Fig. 3-B)。一方、間性の生殖腺では、卵母細胞と精子が混在するもの、ほとんど精巣部分からなるが、一部に限って複数の卵母細胞がみられるもの (Fig. 3-C),

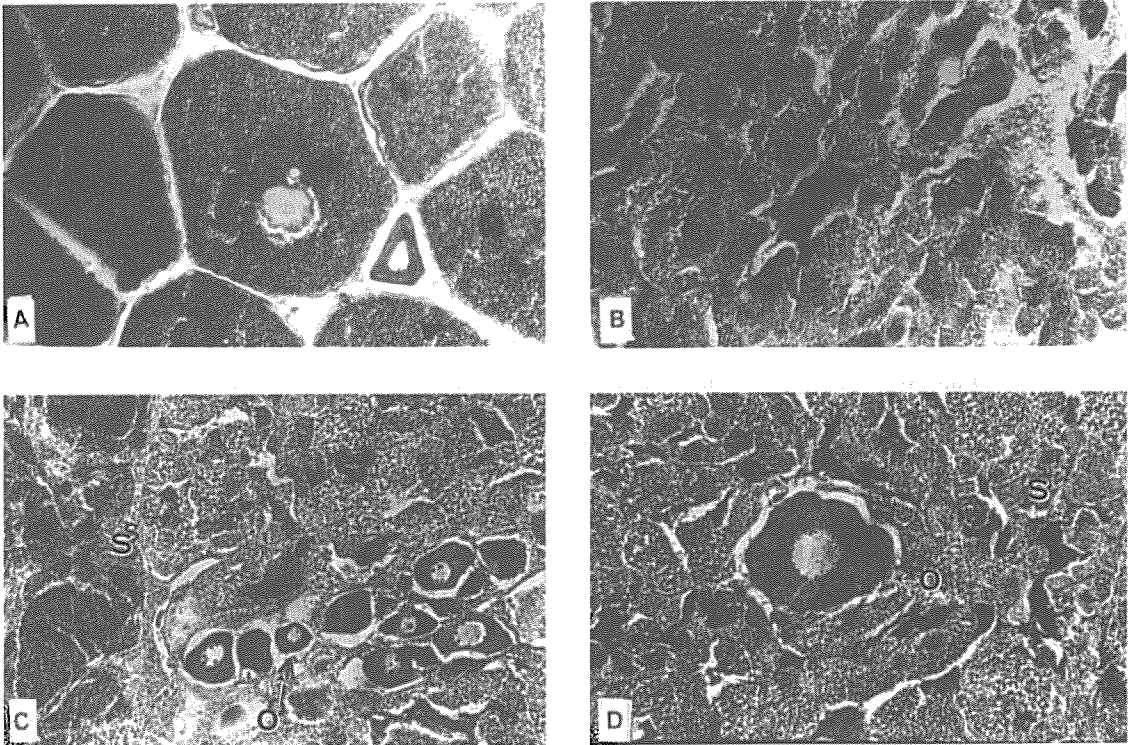


Fig. 3. Micrographs of gonad of loach immersed in estrone solution for 56 days from the 12th day after hatching.

A : Oocyte of the tertiary yolk globule stage in the control group.

B : Testis filled with spermatozoon in the control.

C and D : Gonad of an intersex immersed in estrone solution.

There are singular or plural oocytes (O) of perinucleolus stage in the gonad filled with spermatozoon (S).

Table 11. Weight-multiplicating rate of each group at respective periods during the second experiment.

Experimental groups were treated with estrone for 56 days from the 12th day (June 18, 1981) after hatching.

Concentration of drug ($\mu\text{g}/\text{l}$)	Body weight (g)					
	June 8, 1981	Aug. 17	Nov. 12	Apr. 15, 1982	May 19	July 5
0 (Control)	0.026	22.2	141.4	139.7	240.5	474.1
125	0.026	35.0	200.0	212.0	288.9	516.1
250	0.026	41.9	209.2	214.5	368.8	749.3
500	0.026	14.3	72.4	73.6	123.7	249.0

Concentration of drug ($\mu\text{g}/\text{l}$)	Weight-multiplicating rate					
	June 8, 1981 -Aug. 17	Aug. 17- Nov. 12	Nov. 12- Apr. 15, 1982	Apr. 15- May 19	May 19- July 5	June 8, 1981 -July 5, 1982
0 (Control)	852.46	5.37	-0.01	0.72	0.97	18234
125	1344.00	4.72	0.05	0.36	0.79	19850
250	1611.30	3.99	0.03	0.72	1.03	28818
500	548.23	4.07	0.02	0.68	1.01	9577

Table 12. Mean value of body length and body weight of each group at the end of the second experiment on the sex reverse caused by estrone.

Concentration of drug ($\mu\text{g}/\text{l}$)	Sex	Body length (mm) (mean \pm S.D.)	Body weight (g) (mean \pm S.D.)
0 (Control)	♀	104.88 \pm 7.30	11.75 \pm 2.77
	♂	89.00 \pm 5.35	6.44 \pm 1.03
125	♀	97.21 \pm 13.35*	10.50 \pm 4.01
	♂	88.60 \pm 4.04	6.35 \pm 0.97
250	♀	96.95 \pm 15.27*	11.59 \pm 13.19
	♂	76.50 \pm 18.09	4.58 \pm 3.43
	♀	91.38 \pm 18.61	7.51 \pm 3.78
500	♀	135.22 \pm 11.74*	24.95 \pm 6.08*
	♂	93.00 \pm 0	8.30 \pm 0
	♀	119.00 \pm 0	15.03 \pm 0

* Values with asterisks are statistically different from that of the control, $P < 0.05$.

そして精巣の中に1個の卵母細胞が存在するもの (Fig. 3-D) などがあった。それらの卵母細胞の成熟過程は、大部分のものが直径が80~90 μ の周辺仁期、少数のものが240~300 μ の卵黄顆粒期であった。

実験期間中における各群の増重倍率を Table 11 に示した。魚体重は、実験開始時に0.026gであったものが、実験終了時には対照群が474g に対して250 μ g/l 群では749g となり、後者の増重倍率は前者の約1.6倍に相当した。

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 12 に示した。125 μ g/l 群と250 μ g/l 群の雌は対照群に比べて、体長では短かったが、体重では有意差が認めら

れなかった。ところで500 μ g/l 群では、雌が対照群よりも体長、体重ともに著しく大きい値を示したが、これは同群が雄および間性においても他群より大きいこと、および実験3の結果などから、おもに密度効果によるものと思われる。そして250, 500 μ g/l 群における体重は、いずれも雌が最大、雄が最小、そして間性が両者の中間値を示した。

奇形魚の出現率は、対照群が1.9%に対して実験群では2.9~9.1%であった。奇形の型は、胸鰭、背鰭、尻鰭、腹鰭の軟条がゆなし、その数が少ないもの、またはそれらが折れ曲ったもの、脊椎が“く”の字状に屈折したもの、および吻が短いものなどであった。そして、これらのうちで

Table 13. Comparison of survival rate between the groups reared with the feed containing 100 mg estrone/kg diet for 40 days(B) and the groups reared without hormone(A). Before this experiment, these groups were immersed in estrone concentration of 250, 500, 1000, and 1500 μ g/l respectively for 35 days from the 12th day (June 14, 1982) after hatching.

Group	Concentration of drug (μ g/l)	Number of fish				Survival rate (%)		
		July 22, 1982	Nov. 4	Apr. 11, 1983	June 27	Nov. 4, 1982	Apr. 11, 1983	June 27
Control	250	25	13	13	13	52.0	52.0	52.0
	500	25	20	20	19	80.0	80.0	76.0
	1000	25	21	20	19	84.0	80.0	76.0
	1500	25	19	18	15	76.0	72.0	60.0
Experimental	250	36	15	15	15	41.7	41.7	41.7
	500	29	18	18	18	62.1	62.1	62.1
	1000	30	22	15	9	73.3	50.0	30.0
	1500	36	19	19	19	52.8	52.8	52.8

Table 14. Comparison of the proportion of ovary to the body weight at the end of the experiment between the groups reared with the feed containing 100 mg estrone/kg diet for 40 days and the groups reared without hormone. Before this experiment, these groups were immersed in estrone concentration of 250, 500, 1000, and 1500 μ g/l respectively for 35 days from the 12th day after hatching.

Concentration of drug (μ g/l)	Proportion of ovary to body weight (%)	
	Control	Experimental
250	18.12 \pm 3.28	18.39 \pm 3.57
500	17.37 \pm 4.46	14.64 \pm 4.30
1000	19.56 \pm 2.97	23.72 \pm 3.85*
1500	15.06 \pm 8.00	14.61 \pm 4.18

* Value with asterisk is statistically different from that of the control, P < 0.05.

は胸鱗の異常が最も多かった。

3・3 Es 処理を行った後、さらに Es を経口投与した場合 (実験 3)

この実験では各群とも全個体が雌になった。実験期間中における各群の生存率を Table 13 に示した。実験終了日における対照群と実験群の生存率は、Es 処理濃度が250

$\mu\text{g/l}$ では、それぞれ52.0%と41.7%、500 $\mu\text{g/l}$ では76.0%と62.1%、1000 $\mu\text{g/l}$ では76.0%と30.0%、そして1500 $\mu\text{g/l}$ では60.0%と52.8%で、すべての処理濃度において前者の方が後者よりも大きかった。

群別による卵巢重量の体重に対する割合の平均値を Table 14 に示した。各 Es 処理濃度別に対照群と実験群の平均値を比較すると、有意差が認められたのは1000 $\mu\text{g/l}$

Table 15. Comparison of the weight-multiplicating rate between the groups reared with the feed containing 100 mg estrone/kg diet for 40 days and the groups reared without hormone. Before this experiment, these groups were immersed in the estrone concentration of 250, 500, 1000, and 1500 $\mu\text{g/l}$ respectively for 35 days from the 12th day after hatching.

Group	Concentration of drug ($\mu\text{g/l}$)	Body weight (g)				Weight-multiplicating rate			
		July 22, 1982	Nov. 4	Apr. 11 1983	June 27	July 22, 1982 - Nov. 4	Nov. 4 - Apr. 11, 1983	Apr. 11, - June 27	July 22, 1982 - June 27, 1983
Control	250	13.3	105.8	116.1	316.9	6.97	0.10	1.73	22.88
	500	5.4	127.1	131.2	320.8	22.36	0.03	1.44	57.97
	1000	5.7	145.1	144.4	418.9	24.60	-0.01	1.90	72.88
	1500	6.7	105.7	120.9	270.2	14.80	0.14	1.23	39.39
Experimental	250	20.3	111.2	111.0	334.2	4.53	-0.01	2.01	15.45
	500	6.2	97.7	76.1	241.1	14.73	-0.22	2.17	37.81
	1000	8.0	162.4	117.1	207.1	19.73	-0.28	0.77	24.98
	1500	9.1	135.9	141.6	329.7	13.92	0.04	1.33	35.19

Table 16. Comparison of mean body weight at the end of the experiment between the groups reared with the feed containing 100 mg estrone/kg diet for 40 days and groups reared without hormone. Before this experiment, these groups were immersed in estrone concentration of 250, 500, 1000, and 1500 $\mu\text{g/l}$ respectively for 35 days from the 12th day after hatching.

Group	Concentration of drug ($\mu\text{g/l}$)	Body weight (g) (mean \pm S.D.)
Control	250	24.38 \pm 7.84
	500	16.88 \pm 5.72
	1000	22.05 \pm 5.04
	1500	18.01 \pm 9.15
Experimental	250	22.28 \pm 6.41
	500	13.39 \pm 3.85*
	1000	23.01 \pm 3.05
	1500	17.35 \pm 5.65

* Value with asterisk is statistically different from that of the control, $P < 0.05$.

処理の場合だけであり、全般的にみると、両者間における定向的な差異は認められなかった。

各群の実験期間中における増重倍率を Table 15 に示した。250, 500, 1000, 1500 $\mu\text{g/l}$ の各 Es 濃度で処理した後、Es の経口投与を行わなかった場合の増重倍率は、それを行った場合に比べて、それぞれ1.48, 1.53, 2.91, 1.12 倍大きかった。また、増重倍率は、対照群のうちでは1000 $\mu\text{g/l}$ 処理において最大であった。

さらに、実験終了時における各群の平均体重を Table 16 に示した。平均体重は、500 $\mu\text{g/l}$ 処理では実験群の方が対照群よりも軽かったが、その他の処理濃度のものでは両群間において有意差が認められなかった。

奇形の型は実験 2 の場合と同じであった。対照群と実験群における奇形率は、250 $\mu\text{g/l}$ Es 処理ではそれぞれ 0% と 6.7%、それ以上の濃度では 15.7~26.7% と 15.8~22.2% で、両群間におけるその差異は認められなかった。そして奇形率は、両群とも 250 $\mu\text{g/l}$ で Es 処理を行った方が、500 $\mu\text{g/l}$ 以上の濃度で Es 処理した場合よりも低率であった。

4. 考 察

魚類における Es の経口投与により、山本¹⁸⁾、FINEMAN^ら³⁷⁾ がメダカ、YAMAMOTO と KAJISHIMA³⁸⁾ がキンギョ、岡田³⁹⁾、JALABERT^ら⁴⁰⁾ がニジマス、TAYAMEN と SHELTON⁴¹⁾ が *Tilapia nilotica* でそれぞれ性を転換した。しかし本実験では、Es の経口投与によってドジョウの性を転換できなかった。この理由については次の 2 つのことが考えられる。すなわち、PADOA⁴²⁾ と ASHBY⁴³⁾ はサケの正常な性分化は卵黄吸収が完全に行われた直後で、餌を最初にとる時期であることを、また、YAMAZAKI¹¹⁾ 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、性転換雄は例え処理が摂餌開始期から 1~2 週間おくても比較的高い頻度で出現することをそれぞれ報告している。ところで本実験における Es の経口投与は、ふ化後 38 日目から実施した。以上から、このように Es の経口投与の開始時期が遅れたことが、性転換できなかった原因の 1 つと考えられる。次に久保田^ら^{30, 31)} はドジョウで 1 日 1 尾当たり 9.8 mg および 2.8 mg のオバホルモン B 錠をそれぞれ経口投与することによって 100% 雌性化した。これらの結果から換算すると、1961 年と 1967 年における 1 日 1 尾当たりの Es 投与量は、それぞれ 2.8 μg と 0.79 μg エチニルエストラジオールは 0.28 μg と 0.079 μg で、これらの量は本実験で用いた Es の最少投与量 5 μg よりも少なかった。そして本研究では、

実験群は雌性ホルモンである Es を与えられたにもかかわらず対照群よりも雌の出現率が低かった。ところで岡田^ら³⁹⁾ はニジマスで性を転換させるには好適なホルモン濃度があることを、また、中村⁴⁴⁾ はより高濃度の雄性ホルモンの使用は、逆に遺伝的雄の雌性化をおこすことをそれぞれ報告している。これらからして、Es の投与量が多過ぎたことが本実験で性転換できなかったもう 1 つの原因と考えられる。

250 $\mu\text{g/l}$ の Es 処理を行った群の雌は、各鱗の長さの体長に対する割合の平均値が無処理群の雌よりも大きく、また、それらの一部のものの胸鱗に骨質薄板あるいは体側背部に隆起帯をもっていた。これらは、生殖腺が雌性化されても、なお遺伝的雄の特性が残されていることによるものと思われる。

250, 500 $\mu\text{g/l}$ の Es 処理を行った群の実験終了時における平均体重は、いずれも雌が最大、雄が最小、そして間性が両者の中間値を示した。そして 250 $\mu\text{g/l}$ 群の雌は、遺伝的雄を多く含んでいるにもかかわらず、成長度が対照群と変らなかった。これらは、精巣ホルモンが成長を抑制する因子として働かし、その因子が性転換雌には正常雌と同様でないが、間性にはわずかに残っていることによるものと考えられる。

実験 3 における増重倍率は、Es 処理後、Es の経口投与を行わなかった場合の方が、それを行った場合に比べて高率であった。この原因については、実験終了時の平均体重が両者間でほとんど相違しないことから、生存率の差異によるものと思われる。そして、経口投与と群の死亡原因については調べていないが、ASHBY⁴³⁾ がブラウントラウトで生殖腺以外の器官への影響として腎臓の肥大、生殖腺上皮の肥厚を、また、岡田³⁹⁾ がニジマスでそれら以外に鰓外壁にも著しい肥厚がみられることを報告していることから、内臓諸器官の異常によるものと思われる。

実験 2 の 250 $\mu\text{g/l}$ 群における性別の平均体重からもわかるように、ドジョウの生産量を増加させるには性を雌に転換させる必要がある。ところで増重倍率は、実験 2 では 250 $\mu\text{g/l}$ Es 処理群が、また、実験 3 の対照群では 1000 $\mu\text{g/l}$ Es 処理群が最も高率であった。しかし性転換は、Es の処理濃度が 125 $\mu\text{g/l}$ ではできなかったが 250 $\mu\text{g/l}$ では可能であったこと、実験 3 において奇形率は 250 $\mu\text{g/l}$ 処理の方が 500 $\mu\text{g/l}$ 以上の濃度で処理した場合よりも低率であったことから、養魚を行う際の Es 処理の最適濃度は 250 $\mu\text{g/l}$ と考えられる。

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を飼育することが望ましい。このような見地から、本実験はエストロン(Es)を用いてドジョウの雌性化に有効な方法を求めるとともに、性転換雌の成長度を知る目的で行った。結果は次のとおりである。

1. ふ化後38日目から45日間、1日1尾当たり5, 10, 60 μg の Es を経口投与したが、ドジョウの性は転換しなかった。そして、性徴および増重倍率は、実験群と対照群との間において差異が認められなかった。

2. ふ化後12日目から56日間、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ の Es 処理をした場合に、性が雌に転換した。

3. 雌における各鱗の長さの体長に対する割合は、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ Es 処理群の方が対照群よりも大きかった。

4. 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ Es 処理群では、雌の17%、間性の75%の個体が胸鰭第2軟条に骨質薄板を、また、雌の12%、間性の75%の個体が体側背部に隆起帯をそれぞれもっていた。

5. 卵巣重量の体重に対する割合の平均値は、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ Es 処理群では11.6%で、対照群の16.6%より小さかった。

6. 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ Es 処理群の間性における卵母細胞の成熟度は、対照群の雌におけるよりも遅れていた。

7. 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ と 500 $\mu\text{g}/\text{l}$ の Es 処理群の実験終了時における体重は、いずれも雌が最大、雄が最小、そして間性が両者の中間値を示した。

8. 実験終了時における雌の体重は、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ Es 処理群と対照群との間で差異が認められなかった。

9. 250 $\mu\text{g}/\text{l}$ Es 処理群の増重倍率は対照群の約1.6倍であった。

10. Es 処理を行った後、さらに Es を経口投与した群の方が、それを行わなかった群よりも減耗率は大きく、増重倍率は小さかった。

11. 養魚を行う際の Es 処理の最適濃度は250 $\mu\text{g}/\text{l}$ であると考えられる。

文 献

- 1) F. YAMAZAKI : *Aquacult.*, **33**, 329~354 (1983).
- 2) 小野里坦 : 日水誌, **48**, 1237~1244 (1982).
- 3) O. VASSILEVA-DRYANOVSKA and R. BEICHEVA : *C. R. Acad. Bulg. Sci.*, **18**, 359~362 (1965).
- 4) C. E. PURDON : *Heredity*, **24**, 431~444 (1969).
- 5) R. F. LINCOLN, D. AULSTAD, and A. GYAMMELTVEDT : *Aquacult.* **4**, 287~297(1974).
- 6) A. NAGY, K. RAJKI, L. HORVATH, and V. CSANI : *Fish. Biol.*, **13**, 215~224 (1978).
- 7) R. LASHER and R. RUGH : *Biol. Bull.*, **123**, 582~588 (1962).
- 8) J. G. STANLEY : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **33**, 1372~1374(1976).
- 9) G. STREISINGER, C. WALKER, N. DOWER, D. KNAUBER, and F. SINGER : *Nature*, **291**, 293~296 (1981).
- 10) J. G. STANLEY : *Trans. Am. Fish. Soc.*, **105**, 10~16 (1976).
- 11) K. IJIRI and N. EGAMI : *Mut. Res.*, **69**, 241~248 (1980).
- 12) C. F. HICKLING : *J. Genet.*, **57**, 1~10 (1960).
- 13) 鈴木敬二他5名 : 昭和57年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, P. 58.
- 14) 鈴木敬二 : 養殖, **2**, 97~100 (1983).
- 15) R. JOHNSTONE, T. H. SIMPSON and A. F. YOUNGSON : *Aquacult.*, **13**, 115~134 (1978).
- 16) 宮森弘子 : 動雑, **68**, 300~303(1959).
- 17) 中村将・岩橋正雄 : 日水誌, **48**, 763~769 (1982).
- 18) T. YAMAMOTO : *J. Exp. Zool.*, **123**, 571~594 (1953).
- 19) 山本時男 : 動雑, **63**, 22~23 (1954).
- 20) 山本時男 : 動雑, **65**, 176~177 (1956).
- 21) 山本時男 : 動雑, **67**, 27 (1958).
- 22) T. YAMAMOTO : *J. Exp. Zool.*, **137**, 227~260 (1958).
- 23) 山本時男 : 動雑, **69**, 33 (1960).
- 24) 山本時男・松田典子 : 動雑, **70**, 33 (1961).
- 25) 山本時男 : 動雑, **71**, 349 (1962).
- 26) 山本時男 : 動雑, **72**, 346 (1963).
- 27) 岡田鳳二・松本春義・村上豊 : 昭和56年度日本水産学会春季大会講演要旨集, P. 33.
- 28) 北海道立水産孵化場 : 第6回全国養鱒技術協議会要録, 26~30 (1981).
- 29) 久保田善二郎 : 水講研報, **11**, 213~234 (1961).
- 30) 久保田善二郎・松井魁・西川昇平・関屋正 : 水講研報, **11**, 287~295 (1961).
- 31) 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. 271~275.
- 32) 林寿祐 : 動雑, **13**, 27 (1901).
- 33) 林寿祐 : 動雑, **15**, 410~414 (1903).
- 34) 塚原博 : 生物, **3**, 64~69 (1948).
- 35) H. RENDAHL : *Ark. Zool.*, **21** (1933).
- 36) 池田兵司 : 動雑, **48**, 983~984 (1936).
- 37) H. FINEMAN, J. HAMILTON and W. SILER : *J. Exp. Zool.*,

- 188, 35~40 (1974).
- 38) T. YAMAMOTO and T. KAJISHIMA : *J. Exp. Zool.*, **168**, 215~222 (1968).
- 39) 岡田鳳二 : 孵化場研究報告, **28**, 11~21(1973).
- 40) B. JALABERT, R. BILLARD and B. CHEVASSUS : *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, **15**, 19~28 (1975).
- 41) M. M. TAVAMEN and W. L. SHELTON : *Aquacult.*, **14**, 349~354 (1978).
- 42) E. PADOA : *Biomorphosis*, **1**, 337~354 (1939).
- 43) K. R. ASHBY : *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **5**, 225~249 (1957).
- 44) M. NAKAMURA : *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **26**, 99~108 (1975).