海生研研報, 第24号, 11-16, 2019 Rep. Mar. Ecol. Res. Inst., No. 24, 11-16, 2019

短報

飼育下におけるシロギスの生殖腺の性分化と発達

堀田公明^{*1}[§] · 岸田智穂^{*1} · 瀬戸熊卓見^{*2} · 渡邊裕介^{*3} · 足立伸次^{*4}

Sex Differentiation and Gonadal Development in Laboratory-reared Japanese Whiting *Sillago japonica*

Komei Hotta^{*1 §}, Chiho Kishida^{*1}, Takumi Setoguma^{*2}, Yusuke Watanabe^{*3} and Shinji Adachi^{*4}

要約:シロギス種苗を26℃長日(15L/9D)条件下で飼育して生殖腺の性分化と成熟を調べた。孵化後7日(平均全長0.34cm)には既に始原生殖細胞が体腔背壁に現われ,孵化後30日(平均標準体長(MSL)1.6cm)には生殖隆起が腸管膜基部の両側に形成されていた。孵化後38日には卵巣腔の陥入が始まった生殖腺(卵巣)と未分化生殖腺(予定精巣)の2型に分化し(雌MSL 2.7cm,予定雄MSL 2.3cm),予定精巣は孵化後53~60日(MSL 5.0cm)に輸精管の形成開始によって精巣と確認された。孵化後120日の卵巣には核移動期の卵母細胞が,精巣の精小嚢内腔には充満した精子がそれぞれ観察され(雌MSL 12cm,雄MSL 11cm),26℃長日条件で飼育すればシロギス種苗は約120日で成熟することが示された。また,生殖腺の発達に関する詳細な基礎的知見が得られたシロギスを,性分化前から成熟までの特定の発育段階に的を絞った供試材料として利用することが可能となった。

キーワード:シロギス, Sillago japonica,性分化,始原生殖細胞,生殖腺発達

Abstract: Artificially hatched larvae of Japanese whiting were reared at a constant temperature (26°C) and a photoperiod (15L/9D) and sex differentiation and gonad development were observed until 120 days post-hatching (dph). The primordial germ cell (PGC) had already appeared on the dorsal side of the abdominal cavity at 7 dph, at mean body length 0.34cm. The germinal ridges were located on both sides of the dorsal mesentery at 30 dph (1.6cm in mean standard length (MSL)). The ovaries were distinguished from the undifferentiated gonads (presumptive testes) by onset of ovarian cavity formation at 38 dph (2.7cm MSL in female, 2.3cm MSL in presumptive male). The presumptive testes were confirmed by onset of sperm duct formation at 53-60 dph (5.0cm MSL). At 120 dph (12cm MSL in female, 11cm MSL in male), oocytes at the migratory nucleus stages were observed in the ovaries, and the lumens of the seminal lobule in testes were filled with spermatozoa, demonstrating that laboratory-reared Japanese whiting are matured at approximately 120 days.

Key words: Japanese whiting, Sillago japonica, sex differentiation, primordial germ cell, gonad development

⁽²⁰¹⁸年9月28日受付, 2018年10月4日受理)

^{*1} 公益財団法人海洋生物環境研究所 中央研究所 (〒299-5105 千葉県夷隅郡御宿町岩和田300番地)

[§] E-mail: hotta@kaiseiken.or.jp

^{*2} 元海生研職員

^{*3} 公益財団法人海洋生物環境研究所 実証試験場 (〒945-0017 新潟県柏崎市荒浜4-7-17)

^{*4} 北海道大学 大学院水産科学研究院 (〒041-8611 北海道函館市港町3-1-1)

シロギス*Sillago japonica* は飼育条件下で成熟や 産卵を行い、それらの制御も可能なことから、成 熟や産卵に関する調査研究の材料に適しており, 供試材料としてしばしば用いられてきた(熊井・ 中村, 1977; Kobayashi et al., 1988; Matsuyama et al., 1990; 古川ら, 1991; Kashiwagi et al., 2000; Hotta et al., 2001; Shimasaki et al., 2006; 瀬戸熊ら, 2014a,2014b)。成熟や産卵を理解するためには生 殖腺の発達に関する基礎的な知見が欠かせない。 海域で採取したシロギスの生殖年周期に関しては 角田 (1970), Sulistiono *et al*. (1999), 近藤ら (2000) の報告がある。また,著者らは以前,シロギス稚 魚を用いて性分化に及ぼすエストロゲンの影響を 調べており(堀田ら, 2015), 性分化前後の期間 の生殖腺の組織観察を行っている。しかし、シロ ギスの性分化や発達について孵化直後から成熟ま で一貫して観察した報告はこれまでにない。そこ で、本研究では種苗生産したシロギスを用いて、 発育初期の性分化過程について組織学的に検討す

るとともに雌雄生殖腺が成熟に至るまで観察を続けた。

新潟県柏崎市地先で釣獲したシロギスを親魚と して,水槽内産卵によって得られた卵を孵化させ, 養成した仔稚魚を供試材料とした。養成期間中の 水温は26±0.5℃, 日長は15時間明期9時間暗期 (15L/9D), 餌料は初期にはシオミズシボワムシ Branchionus plicatilis およびアルテミアArtemia salinaを、その後には配合飼料(海産魚用初期飼 料2~5号ノーサン)を主として与え、また、水質 の維持の目的で孵化直後から孵化後30日まで、植 物プランクトン(パブロバPavlova lutheri, テトラ セルミスTetraselmis tetrathele)を添加した。孵化 後7, 10, 14, 21, 30, 38, 45, 53, 60, 90, 120 日に14~37尾を取り上げて全長または体長(標準 体長)を測定した後、魚体丸ごと、生殖腺を含む 躯幹部または生殖腺をブアン液で固定した。その 後,パラフィンに包埋し常法により切片を作製し て組織観察を行った。孵化後の雌雄分化と体長を

孵化後日数	雌雄	平均村	票準体長 (最小~最大)cm	観察個体数
7	未分化	0.34	$(0, 32 \sim 0, 36)^*$	17
10	未分化	0.46	$(0.42 \sim 0.51)^*$	18
14	未分化	0.55	$(0.44 \sim 0.73)$	21
21	未分化	0.85	$(0.62 \sim 1.1)$	36
30	未分化	1.6	$(1.1 \sim 2.0)$	36
38	未分化	2.3	$(1.8 \sim 2.7)$	32
	此隹	2.7	$(2.5 \sim 2.9)$	5
45	未分化	3.2	$(2.6 \sim 3.8)$	14
	雌	3.5	$(2.9 \sim 3.9)$	7
53	未分化	3.3	$(2.6 \sim 3.8)$	7
	雌	3.4	$(2.9 \sim 4.0)$	6
	雄	3.9		1
60	未分化	4.9	(4.5, 5.3)	2
	雌	5.0	(4.2~5.6)	12
	雄	5.0	(4.2~6.0)	16
90	雌	8.1	$(7.0 \sim 9.2)$	15
	雄	8.0	$(7.4 \sim 8.6)$	15
120	雌	12	$(11 \sim 13)$	11
	雄	11	$(8.1 \sim 12)$	19

第1表 シロギスの雌雄分化と体長

* 孵化後7日と孵化後10日の値は全長



第1図 孵化後7日から孵化後53日までのシロギスの生殖腺組織像
A:孵化後7日の始原生殖細胞,pgc:始原生殖細胞,md: 中腎輸管,in:腸管,B:孵化後10日の始原生殖細胞,me:腸間膜,C:孵化後14日の始原生殖細胞,sc:体細胞,D: 孵化後30日の生殖隆起,gr:生殖隆起,E:孵化後38日の卵 巣,OC:卵巣腔,F:孵化後45日の卵巣,ol:卵巣薄板, og:卵原細胞,G:孵化後53日の精巣,sd:輸精管,bv:血管, スケールバー:A~Dは0.01mm,E~Gは0.1mm。



第2図 孵化後60日から孵化後120日のシロギスの生殖腺組織像
 A:孵化後60日の卵巣,pn:周辺仁期卵母細胞,B:孵化後60日の精巣,spc:精母細胞,spt:精細胞,C:孵化後90日の卵巣,D:孵化後90日の精巣,spm:精子,E:孵化後120日の卵巣,gv:卵核胞,F:孵化後120日の精巣,スケールバー:0.1mm (A~F)。

第1表に,生殖腺組織像を第1図と第2図にそれぞ れ示した。

始原生殖細胞は円形または楕円形で細胞質は明 るく,大型円形の核は数個の仁を含むことから, 他の細胞と容易に見分けることができる(都築ら, 1966)。始原生殖細胞は孵化後7日(全長0.32~ 0.36cm)には既に体腔背壁に観察され(第1図A), 孵化後10日(全長0.42~0.51cm)には中腎輸管の 下方に移動した(第1図B)。孵化後14日(体長0.44 ~0.73cm)から孵化後21日(体長0.62~1.1cm) には、体細胞が始原生殖細胞の周りを取り囲むよ うに増加し(第1図C), 孵化後30日(体長1.1~ 2.0cm)には複数の生殖細胞と体細胞から成る生 殖隆起が形成されていた(第1図D)。その後, 孵 化後38日には卵巣腔の陥入が始まった生殖腺(第 1図E) と未分化生殖腺の2型に分化し,前者が卵 巣,後者が将来の精巣(予定精巣)と考えられた (雌体長 2.5~2.9cm, 予定雄体長 1.8~2.7cm)。 孵化後45日の雌(体長2.9~3.9cm)の卵巣には卵 巣薄板構造の兆候や卵原細胞の分裂像(第1図F) が確認され,卵巣の形態が整いつつあった。予定 精巣は孵化後45日においても未分化の様相を呈し たが, 孵化後53日(体長3.9cm)から60日(体長4.2 ~6.0cm)にかけて、生殖腺の間質中に輸精管とな る小管構造や血管の形成が始まったことで精巣と 確認された(第1図G)。なお孵化後60日において も2個体のシロギス(体長4.5cmおよび5.3cm)が 未分化の生殖腺を有していたが、それらの生殖腺 に卵巣腔の形成や卵原細胞の増殖等明らかに卵巣 と判断される組織像が確認されなかったこと, さ らに孵化後120日までの観察したすべての試料中 に間性の生殖腺はなかったこと等から、2個体の 未分化生殖腺も精巣と考えられた。孵化後60日の 雌(体長4.2~5.6cm)の卵巣には周辺仁期の卵母 細胞が(第2図A), 孵化後60日の一部の雄の精巣 には精母細胞および精細胞を含む包嚢(第2図B) が観察され、雌雄の配偶子形成が進行していた。 孵化後90日の雌(体長7.0~9.2cm)の卵巣には, 卵巣薄板構造が明瞭となり卵巣薄板中には主に周 辺仁期の卵母細胞が認められた(第2図C)。孵化 後90日の雄(体長7.4~8.6cm)の精巣には,精子 までの各発達段階の生殖細胞からなる包嚢が認め られ(第2図D), 雌雄ともに成熟途上にあること が観察された。そして孵化後120日になると,雌(体 長11~13cm)の卵巣には核移動期の卵母細胞(第 2図E)が、雄(体長8.6~12cm)の精巣には精小 嚢内腔に充満した精子が観察され(第2図F),雌 雄ともに成熟に達していることが確認された。

雌雄異体の魚類においては、原則的に将来の卵 巣が将来の精巣に先んじて発達し、多くの魚類で は卵巣腔形成が雌の指標となり、将来の雄は未分 化生殖腺の状態が続いた後、精小嚢と輸精管の形 成が始まる(小林ら, 2013)。海産魚類において はヒラメ Paralichthys olivaceus (田中, 1987),マ コガレイ Pleuronectes yokohamae (鈴木ら, 1992), トラフグ Takifugu rubripes (松浦ら, 1994), クロ ソイ Sebastes schlegelii (Omoto et al., 2010), マ サバ Scomber japonicus (Kobayashi et al., 2011), タイセイヨウダラ Gadus morhua (Haugen et al., 2012), コイチ Nibea albiflora (Lou et al., 2016), turbot *Scophthalmus maximus* (カレイ目の一種) (Zhao et al., 2017) において生殖腺の性分化の兆 候として卵巣腔形成のための体細胞の増殖と形態 変化が観察されている。シロギスにおいても卵巣 腔の形成が先行し(体長≥2.5cm),次いで輸精管 の形成が始まった(体長≧3.9cm)ことから、シ ロギスの性分化は多くの海産魚でみられる性分化 過程に類似した過程を辿ることが明らかとなっ た。

本研究によりシロギスの生殖腺の性分化と成熟 までの過程および期間が明らかとなったが、本研 究結果を応用することにより、26℃/長日条件で 飼育したシロギス種苗を、孵化後120日以内に性 分化前から成熟までの特定の発育段階に的を絞っ た供試材料として提供することが可能になると考 えられる。

引用文献

- 古川 清・会田勝美・吉岡 基・佐藤英雄・羽生 功(1991).シロギスの産卵リズムに及ぼす光 周期と水温の影響.日水誌,**57**,2193-2201.
- Haugen, T., Almeida, F.F., Andersson, E., Bogerd,
 J., Male, R., Skaar, K.S., Schulz, R.W.,
 Sørhus, E., Wijgerde, T. and Taranger, G.L.
 (2012). Sex differentiation in Atlantic cod
 (*Gadus morhua* L.): morphological and gene
 expression studies. *Reprod. Biol. Endocrinol.*,
 10(47), 1–13.
- Hotta, K., Tamura, M., Watanabe, T., Nakamura, Y., Adachi, S. and Yamauchi, K. (2001). Changes in spawning characteristics of Japanese whiting

Sillago japonica under control of temperature. *Fisheries Sci.*, **67**, 1111–1118.

- 堀田公明・岸田智穂・瀬戸熊卓見・渡邉裕介・道津光 生・足立伸次(2015).シロギスの性分化に及 ぼす17β-エストラジオール曝露の影響.海 生研研報, No. 21, 13-21.
- 角田俊平(1970). 底流網によるキスの生態とそ の資源に関する研究. 広島大学水畜産学部紀 要, 9, 1-55.
- Kashiwagi, M., Kondo, S., Yoshida, W. and Yoshioka, M. (2000). Effects of temperature and salinity on hatching success of Japanese whiting *Sillago japonica* eggs. *Suisanzoshoku*, 48, 637-642.
- Kobayashi, M., Aida, K., Furukawa, K., Law, Y.K. Moriwaki, T. and Hanyu, I. (1988). Development of sensitivity to maturationinducing steroids in the oocytes of the daily spawning teleost, the kisu *Sillago japonica*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 72, 264–271.
- 小林牧人・大久保範聡・足立伸次(2013).生殖. 「魚類生理学の基礎」(会田勝美・金子豊二 編),恒星社厚生閣,東京,149-183.
- Kobayashi, T., Ishibashi, R., Yamamoto, S., Otani, S., Ueno, K. and Murata., O. (2011). Gonadal morphogenesis and sex differentiation in cultured chub mackerel, *Scomber japonicus*. *Aquacult. Res.*, **42**, 230–239.
- 近藤茂則・松浦健一・宮澤功吉・吉岡 基・柏木正章 (2000). 英虞湾産シロギスの生殖周期. 三重 大生物資源紀要, **24**, 1-8.
- 熊井英水・中村元二(1977). キスの自然産卵に ついて.近畿大学農学部紀要, 10, 39-43.
- Lou, B., Xu, D.D., Geng, Z., Zhang, Y.R., Zhan, W. and Mao, G.M. (2016). Histological characterization of gonadal sex differentiation in *Nibea albiflora. Aquacuture Res.*, 47, 632–639.
- 松浦修平・内藤 剛・新町充人・吉村研治・松山 倫也(1994).トラフグ生殖腺の性分化過程. 水産増殖,**42**,619-625.
- Matsuyama, M., Adachi, S., Nagahama, Y.,

Maruyama, K. and Matsura, S. (1990). Diurnal rhythm of serum steroid hormone levels in the Japanese whiting, *Sillago japonica*, a daily-spawning teleost. *Fish. Physiol. Biochem.*, **8**, 329–338.

- Omoto, N., Koya, Y., Chin, B., Yamashita, Y., Nakagawa, M. and Noda, T. (2010). Gonadal sex differentiation and effect of rearing temperature on sex ratio in black rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Ichthyol. Res.*, **57**, 133-138.
- 瀬戸熊卓見・吉野幸恵・土田修二・木下秀明 (2014a).水温および日長制御によるシロギ スの複数年にわたる周年産卵.海生研研報, No. 19, 67-72.
- 瀬戸熊卓見・吉野幸恵・土田修二・木下秀明
 (2014b).シロギスの産卵終了に及ぼす日長の影響.海生研研報, No. 19, 73-78.
- Shimasaki, Y., Oshima, Y., Inoue, S., Inoue, Y., Kang, I.J., Nakayama, K., Imoto, H. and Honjo, T. (2006). Effect of tributyltin on reproduction in Japanese whiting, *Sillago japonica*. *Marine Environ. Res.*, **62**, S245–S248.
- Sulistiono, Watanabe, S. and Yokota, M. (1999). Reproduction of the Japanese whiting, *Sillago japonica* in Tateyama bay. *Suisanzoshoku*, 47, 209–214.
- 鈴木伸洋・田村正之・大内一郎・広松和親・杉原 拓郎(1992).マコガレイ生殖腺の性分化過 程.水産増殖,40,189-199.
- 田中秀樹 (1987). ヒラメの生殖腺の性分化過程. 養殖研報, 11, 7-19.
- 都築英子・江上信雄・兵藤泰子(1966).メダカの 正常発生過程における生殖細胞の増殖と性分 化.魚類学雑誌,13,176-182.
- Zhao, C.Y., Xu, S.H., Liu, Y.F., Wang, Y.F., Liu, Q.H.and Li, J. (2017). Gonadogenesis analysis and sex differentiation in cultured turbot (Scophthalmus maximus). Fish Physiol. Biochem., 43, 265-278.