

# メダカの婚姻色に対する去勢とメチル・ テストステロン投與の効果

丹 羽 は じ め

(旧姓鈴木 名古屋大学理学部生物学教室)

Effects of castration and administration of methyl-testosterone on the  
nuptial coloration of the medaka, *Oryzias latipes*

Hajime (SUZUKI) NIWA

(Biological Institute, Faculty of Science, Nagoya University)

は し が き

魚類の婚姻色が生殖腺ホルモン、とりわけ精巢ホルモンの刺戟によつて雄に発現されることは Bock ('28) のトゲ魚 *Gasterosteus aculeatus*, 戸沢 ('29) のヤリタナゴ *Acheilognathus intermedia* における去勢実験、ならびに, WUNDER ('31), GLASER および HAMPEL ('32) のタナゴ *Rhodeus amarus* への精巢抽出物質の投与実験によつて明らかにされた。しかし、メダカ *Oryzias latipes* の婚姻色としてこれまで知られているのは、春から秋にかけて雄の不對鰭に現われる白色色素胞 (guanophore) のみで (岡 '38)。この発現が男性ホルモンによることは、岡田・山下 ('44) の実験で明らかにされただけである。その他の色素胞による婚姻色については未だ報告されていない。野生のメダカは真皮に、黒色色素胞 (melanophore), 黄色色素胞 (xanthophore), 白色色素胞 (guanophore) の三色色素胞を持つているのであるが、数年前の夏、山本教授は雄の腹鰭の黒色色素胞が雌のものよりいちじるしく多いことを指摘された。こゝに報告する研究はそれに続いて行われたものである。

メダカの第二性徴として広く知られているものは、背鰭と腹鰭の外部形態の雌雄による違いである。すなわち、成熟した雄のこれ等の鰭は雌に較べ鰭条の節数が多く、したがつて長い。また縁に鋸歯状の切れ込みがあり、この切れ込みは背鰭の第5と第6鰭条の間で特に発達して鰭の長さの半ばに達している。この他、臀鰭の鰭条は最後端を除いた他は分枝することなく、後方から数えて第2から第7乃至第9の鰭条にはいぼ状突起を生じている。雌の臀鰭は三角形で、大部分の鰭条は分枝して居り、切れ込みもいぼ状突起もない (岡 '31)。そして、このような雄の示す第二性徴が精巢ホルモンによつて発現されるものであることはすでに実験的に明らかにされたところである (永田 '34, '36, 岡田・山下 '44)。

以上の他に、野生のメダカは、生殖期が近づくと、雄の尾鰭の背縁と腹縁部が橙色に色づき、鰭の中央部の鰭条間に4~6条の黒色の筋が目立つてくる。そして、生殖の最盛期(6~8月)にはこれらの色調は非常に濃厚になる。この時期では、さらに注意して観察すれば、雄の腹鰭に無数の黒点があることも肉眼で認められる。雌では稀に雄と見違えるような個体もあるが、概して一年を通じ尾鰭の色彩にいちじるしい変化を示さない。この雄の特徴は一見して雌雄の判別ができるほどであり、婚姻色と見なしてよいと思われる。そこで、生殖期における雌雄の色調の差とその季節的消長とを客観的に表わす為、尾鰭の一定面積内と腹鰭との黒色色素胞の数を算定した。その結果は第1表にまとめたとおりである。その他の部位の黒色色素胞数は雌雄によるいちじるしい差が認められなかつた。

第 1 表. 季節による黒色素胞数の変動

	4 月～5 月			6 月～8 月			12 月～2 月		
	尾 鰭	腹 鰭	個体数	尾 鰭	腹 鰭	個体数	尾 鰭	腹 鰭	個体数
♀	10±0.2	1±0.5	37	9±1	7±2	25	7±0.4	4±1	32
♂	31±1	55±6	29	28±1	60±6	25	15±1	7±1	25

以上の観察による雌雄の色素胞数の差は、性ホルモンの刺激によつてもたらされるものであろうことを予想して、以下に述べる実験を行つた。この研究に於ては、色素胞の数のみを問題とし、その大きさは考慮しなかつた。また、算定した色素胞は色素が形成されている着色した色素胞のみである。

この研究に終始御指導を賜つた当大学山本時男教授に謹んで感謝の意を表する。また文献を御貸与くださった、同佐藤忠雄教授の御好意にも厚く御礼申しあげる。

### 材料および方法

材料はすべて名古屋市近郊の田圃で採集した体長 28mm 以上の野生メダカである。黒色素胞の季節的変化の測定にはその都度採集したものをを用いた。実験魚と対照魚は同時に採集したものから選び、同一条件下で飼育した。

性巢の除去は岡田・山下（'44）および山本・鈴木（'55）の方法によつて行つた。男性ホルモンの投与は、米国製商品名 Oreton-M の錠剤を粉末にし、これを 0.035% クロレトン溶液で麻酔した魚の体側の鱗の下へ針で挿入した。Oreton-M 1錠中（約 300mg）にはメチル・テストステロンの結晶が約 10mg 含まれている。

**色素胞の算定** 尾鰭の黒色素胞は接眼マイクロメーターの目盛 50 の間に入る数を数えた。表中の値は尾鰭の中央部の 3 鰭条間について測定した平均値である。雄は色素胞が多いので、麻酔によつてメラニンが拡散すると、隣接する色素胞が重なり測定ができなくなるので、鰭を基部から切り取り M/7.5 KCl 溶液中に入れ、メラニンが点状に集合するのを待つて算定した。腹鰭では全体の数数を数えた。尾鰭の黄色色素胞は背方辺縁部の鰭条間で接眼マイクロメーターの 10 目盛の中に入る数を数えた。顕微鏡のレンズは、対物×10、接眼×5 を用いた。接眼マイクロメーター 10 及び 50 目盛の中に入る実体の面積は約  $180\mu \times 110\mu$  および  $900\mu \times 110\mu$  である。

体長は尾鰭を含めて測定した。各表の数値に付した誤差は公算誤差であり、各数値間の差  $\Delta$  の有意性は式  $P.E. \text{ of } \Delta = \pm \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$  により検定した。

### 実 験 結 果

1. 精巢除去による色素胞の減少 雄の尾鰭と腹鰭の黒色素胞は雌に較べて非常に多く夏にいちじるしくふえることが観察されたのであるが、この現象が精巢ホルモンによつて引き起されるものであれば、雄を去勢することによつて妨げることができ、一方卵巣のホルモンにより雌の色素胞の増加が抑制されているのであれば、卵巣を摘出することにより雄と同程度まで発達させ得るであろう。このような考えのもとに行つた去勢実験の結果が第 2 表である。I は婚姻色を帯び始めて間のない 4 月から 5 月にかけて手術し、同年の 7 月に観察した結果であるが、去勢雄の尾鰭の黒色素胞は対照雄に比較して約 1/2 に減少し、しかも色素胞内のメラニン形成は不十分で、顕微鏡下で、透過光線によつて中心部が灰色に、暗視野では白色に見えるものが多数存在した。これに対し、雌の黒色素胞は測定値で若干増加しているが、検定の結果、有意な差と

第 2 表. 去勢による色素胞数の減少

		正 常 雌	卵巣摘出雌	正 常 雄	完全去勢雄	不完全去勢雄
Ⅰ	体 長 mm	32.7±0.4	34.5±0.5	31.6±0.3		33.5±0.3
	尾鰭の黒色色素胞 (各 14 尾)	7±1 2~15	9±1 1~18	27±3 9~72		14±1 3~27
Ⅱ	体 長 mm	30.5±0.3	31.5±0.3	31.5±0.5	31.4±0.3	33.4±0.3
	尾鰭の黒色色素胞 (各 20 尾)	8±1 1~18	9±1 1~22	26±2 13~48	13±1 5~22	21±2 5~58
	尾鰭の黄色色素胞 (各 15 尾)	20±2 10~34	19±1 7~31	38±2 17~58	21±2 13~36	31±3 13~59
	腹鰭の黒色色素胞 (各 15 尾)	12±3 0~67	16±3 0~56	77±8 22~193	11±2 0~49	53±8 1~147

は認められなかった。Ⅱは婚姻色の未だ現れていない 11 月から 12 月に去勢し、翌年 7 月に測定した結果である。前の実験では、雄の去勢に関してその完全性を厳密にしらべなかつたので、この実験では、他の第二性徴に対する手術の効果を確かめた上で、完全去勢雄と不完全去勢雄とに分けて去勢の影響を観察した。すなわち、精巣の除去と同時に臀鰭の下半分を切り取り、結果を測定する時に再生した部分の後方の鰭条にいぼ状突起を生じたものおよび尾鰭の後縁の白色色素胞が消失していないものは不完全去勢魚とした。完全去勢雄の尾鰭の黒色色素胞数は対照雄の約 1/2 であり、すべての個体について色素胞内のメラニン形成は極めて悪く、岡氏 ('31) の Stage 1 および 2 に相当する段階のものが多く認められた (図版 1, C)。不完全去勢雄の色素胞数は、対照雄に較べて、完全去勢雄程の著しい差を示さず、メラニン形成も正常に近いものが多かった。特に臀鰭の再生した鰭条にいぼ状突起を多数生じた個体ではこの傾向がいちじるしい。雌では前回と同様目立つた変化が認められなかった。次に腹鰭の黒色色素胞であるが、これも精巣の完全な除去によつて、統計的に十分有意と認められるまでに発達が抑えられた。不完全去勢雄の 53 の値は正常雄との間に有意な差をもっていない。雄に現れる婚姻色として尾鰭の背腹縁部が橙色に色づくことを前に述べたのであるが、その部位の雄の黄色色素胞数は雌のものゝ約 2 倍であることが測定された。この色素胞も去勢によつて雄では減少し、雌では変化が見られなかった。以上 2 回の去勢実験の結果は、野生メダカの雄の婚姻色が精巣ホルモンの盛んな分泌によつて引き起されることを物語るものである。

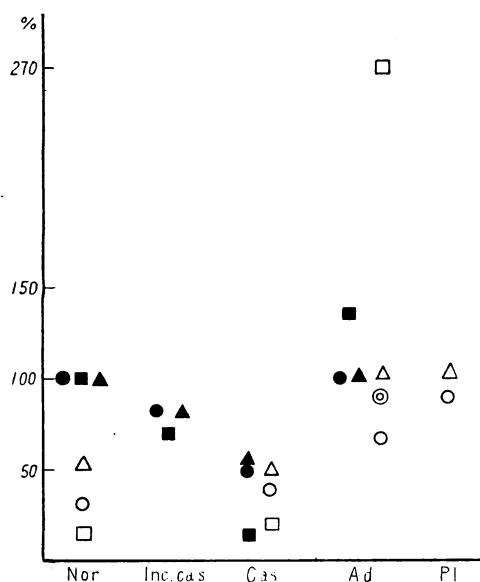
2. メチル・テストステロンの皮下投与による雌の色素胞の発達 野生メダカの婚姻色が雄において精巣ホルモンによつて促されるものであれば、雌に男性ホルモンを投与することにより、人工的に雄と同じ色彩を帯びさせることができるわけである。したがつて、先ず卵巣を除いた雌へメチル・テストステロンを皮下投与した。実験には第 2 表にのせた卵巣摘出雌を用い、12 尾にホルモンを投与し、残る 8 尾を対照とした。その結果、投与してから 10 日後に、すでに尾鰭に鮮明な黒色の筋を現し、鰭の背腹縁に濃い橙色を帯びるようになった。黒色色素胞の増加の様子は、投与前の平均値が 5 であるのに対して投与後 19 に増加し、個体別に見れば、投与によつて約 2 倍から 6 倍にふえ、色素胞内メラニンの形成も著しく、十分拡散した状態では隣接する細胞が重なり合つて数える事ができないほどである (図版 1, E)。対照の色素胞には増加が見られなかった。この実験期間中の平均水温は 30°C であつた。この実験結果は婚姻色が男性ホルモンによつて雄に発達することの証拠として十分な意義を持つと考えられる。

次に、卵巣を除いてもなんら意味のある変化が生じないならば (第 2 表)、正常の雌に男性ホルモンを投与しても婚姻色を発達させ得るはずである。しかし、1952 年 9 月正常雌 13 尾に、卵

第 3 表. メチル・テストステロン投与の色素胞数に対する効果

	雌 (各 14 尾)			雄 (各 14 尾)		
	対 照	投 与 前 (17/V)	投 与 後 (23/VII)	対 照	投 与 前 (19/V)	投 与 後 (24/VII)
体 長 mm	30.9±0.3	30.5±0.2	31.0±0.9	31.2±0.4	30.5±0.2	30.7±0.1
尾鰭の黒色色素胞	6±0 3~12	6±0 3~12	14±1 9~22	21±2 10~47	19±1 11~25	21±1 7~33
尾鰭の黄色色素胞	18±1 10~26	18±1 10~30	31±2 13~45	30±2 13~43	27±2 14~48	33±1 24~53
腹鰭の黒色色素胞	2±1 0~14	—	91±19 5~270	34±8 3~154	—	46±10 6~136
尾鰭の白色色素胞	0	0	16	18	—	43
突起を生じた鰭条数	0	0	7	8	—	8

巣摘出雌に投与したとほぼ同量 (Oreton-M の粉末約 0.5mg) のメチル・テストステロンを皮下投与した結果は、予期に反して、投与後 2 週間を経ても色素胞の増加は見られなかった。別の個体で追試した結果も同様に否定的であつた。この期間中の平均水温は 25°C である。そこで 1954 年 6 月、正常雌および正常雄のおのおの 16 尾に今度は卵巢摘出雌に与えた量の約倍量を投与した。2 週間後には、臀鰭の鰭条に突起を生じたものが 15 尾中 12 尾、尾鰭の縁に白色色素胞を生じたもの 9 尾があつたにもかかわらず、黒色色素胞のいちじるしい増加は見られなかった。そこでさらに、前とほぼ同量のホルモンを追加投与し、2 週間後に測定した。この期間中の平均水温は 24°C であつた。第 3 表は上記 2 回の皮下投与の結果である。メチル・テストステロンを



第 1 図. グラフは第 2, 第 3 表をまとめ、各実験例における正常雄の色素胞数に対する正常雌及び実験魚の色素胞数の割合を百分比で示したものである。白…雌、黒…雄。○…尾鰭の黒色色素胞、△…尾鰭の黄色色素胞、□…腹鰭の黒色色素胞、Nor: 正常、Inc. cas: 不完全去勢、Cas: 完全去勢、Ad: メチルテストステロン投与、Pl: 精巣移植、◎卵巣を除かれた雌

投与された雌は、すべての個体がほぼ完全な雄の第二次性徴を具えるに至つた。そして、尾鰭の黒色色素胞の発達はやゝ不完全であるが、腹鰭では著しい増加が見られた。尾鰭の黄色色素胞も正常雄と同程度まで増加した。正常雄の色素胞には投与による変化が現れなかった。

### 3. 精巣移植の色素胞に対する効果

卵巣を除いた雌への精巣の移植は、観察時まで魚を生かすことが出来なくて失敗した。正常雌への移植は冬 22 尾に行つたが、移植後 2 度目の生殖期になつて、ようやく一尾が臀鰭の鰭条に突起を生じたのみで、この雌の尾鰭の黒色色素胞は 19、同黄色色素胞は 35 であつた。1 例だけでは統計的に効果を確認することはできないが、尾鰭の黒色色素胞は雄のものと同程度まで発達しており (図版 1, F), 移植後 1 年目の夏にはこのようなことが見られなかった。移植が有効であつたものとする。残りの 21 尾の尾鰭の黒色色素胞は 8、黄色色素胞は 19、腹鰭の黒色色素胞は 5 であつた。

## 考 察

メダカ *Oryzias latipes* では、雄を未だ婚姻色の現れていない時期に去勢すると、生殖期に至つても色素胞の増加を見ず、生殖期の初期、既に婚姻色を呈している時に去勢すれば、その最盛期に至つて色素胞は減退し、雌と同様婚姻色を帯びない状態になる(第2表及び図版 1, A~C)。アブラハヤの一種、*Phoxinus laevis* とトゲ魚 *Gasterosteus aculeatus* の雄の婚姻色も、出現前に去勢すれば生殖期になつても現れないこと (KOPEC '18, '27, BOCK '28) 及びヤリタナゴの婚姻色も最盛期に去勢すると正常魚に比べて早く色が消え、冬季完全に去勢されたものは生殖期に至つても婚姻色を帯びないという例(戸沢 '29)は、メダカにおける実験結果と同じである。たゞヤリタナゴで、生殖期の初期及び中期に去勢した場合には、去勢が完全であつても雌雄共に実験魚の半数以上が婚姻色を呈することが報告されているが、メダカでは手術が完全であればこのようなことはなかつた。

次にメチル・テストステロンの投与によつて、雌にも人工的に雄と同じ程度まで色素胞を増加させ、肉眼的にも濃厚な婚姻色を誘発することができたのであるが、同種の実験は WUNDER ('31), GLASER および HAEMPEL ('32) によつて行われ、いづれも男性ホルモンの投与が婚姻色の誘発に有効であるという結果を得ている。

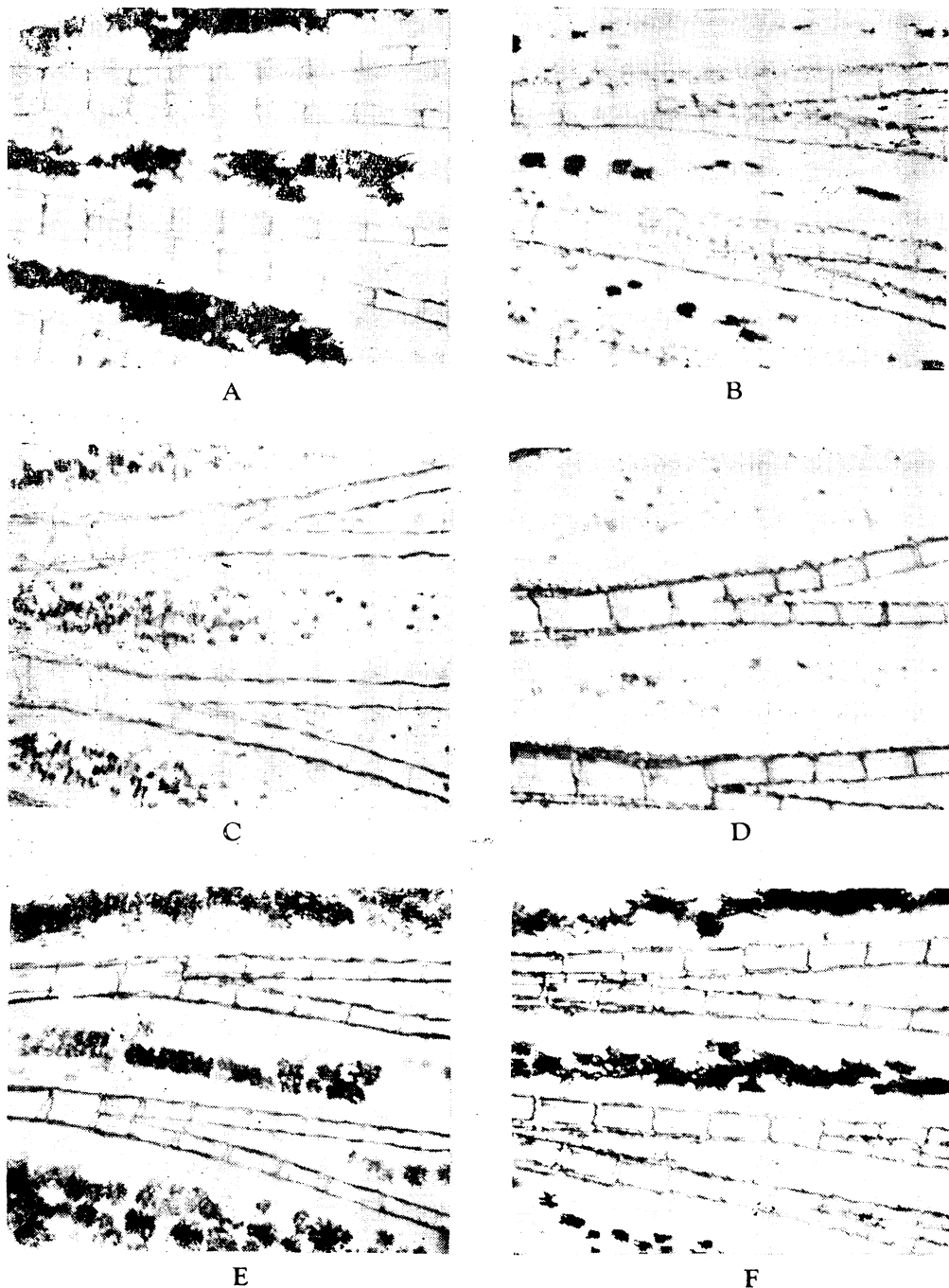
戸沢('29)氏によると、ヤリタナゴでは生殖期に雌も淡い婚姻色を帯びており、婚姻色発現以前に手術したものゝ中、完全摘出雌は生殖期に至つても婚姻色を現さないが、一部摘出雌は43%の個体に色を現している。生殖期の初期および中期に手術が行われた場合は一層この傾向が強い。この実験結果から、ヤリタナゴでは卵巢の存在も婚姻色の発現に促進的な意味を持つものゝようである。しかし、メダカでは、雌は四季を通じて鰭の色に目立つた変化はなく、色素胞数にも変動はないし、どの時期に卵巢を除いても有意な変化が見られないので、卵巢の存在が婚姻色の発現に積極的な役割を果しているとは思われない。むしろ、メチル・テストステロン投与の実験で、卵巢摘出雌には短期間に極めて有効に作用したのに対し、正常雌には約倍量を投与してもなお効果が弱く、4倍量の投与によつてようやく色素胞の増加を見たことは、卵巢の存在が人工的な婚姻色の発現に抑制的な作用を持つものゝように思われる(実験2)。女性ホルモンの投与実験も試みたのであるが未だ発表の域に達していない。この問題は今後の研究にまたなければならない。

魚の雄の婚姻色はそれが現れる部位の色素胞が雌に較べていちじるしく多いことによるものであることは、ヤリタナゴでも観察されているし(戸沢 '29)、野生のメダカでも同様な観察結果を得た。また、ヒメダカの雄の尾鰭の黄色色素胞は雌のものより多いという結果を得ている。次に婚姻色の現出消失と色素胞との関係であるが、戸沢氏は、種々な時期で色素胞数に変化はないが、色素顆粒の量が変化すると述べておられる。メダカで季節および実験によつて可視色素胞の数にいちじるしい増減が見られたのは、含有色素量の極端な消長によるものであろう。

これまで述べたところにより、野生のメダカは、雄に婚姻色を持ち、それは精巣から分泌されるホルモンによつて発現され、雌においては卵巢の存在による影響を受けないものと考えられる。

## 摘 要

1. 野生メダカの成熟した雄は生殖期になると尾鰭の背腹縁部が橙色に色づき、鰭条間に数条の黒色の筋と腹鰭に多数の黒点を現すようになる。この特徴は婚姻色と見なすことができ、黒色素胞と黄色色素胞の増加によつてもたらされる。雌は婚姻色を現さない。



図版 1. 野生メダカの尾鰭の黒色素胞。いずれも約 35 倍  
 A. 正常雄, 体長 35mm, 1952 年 8 月撮影  
 B. 正常雌, 体長 35mm, 同上  
 C. 不完全去勢雄, 体長 36mm, 1952 年 8 月撮影  
 D. 完全去勢雄, 体長 35mm, 同上  
 E. メチル・テストステロンを投与された卵巣摘出雌, 体長 37mm, 1952 年 8 月撮影  
 F. 精巣を移植された雌, 体長 34mm, 1954 年 7 月撮影

2. 雄のこれらの色素胞は去勢によつて減少し、肉眼的にも婚姻色は消失する。雌の色素胞は去勢による変化を示さない。
3. 卵巣摘出雌と正常雌に対するメチル・テストステロンの投与は人工的な婚姻色を発現させることができる。すなわち、これらの雌の尾鰭と腹鰭の色素胞は正常雄と同程度まで増加する。
4. 精巣の移植によつても正常雌に人工的に婚姻色を誘発することができる。
5. 野生メダカの婚姻色は生殖期における精巣ホルモンの盛んな分泌によつて雄のみに発現され、雌では卵巣の影響を受けない。

## 文 献

- BOCK, F. 1928: Kastration und sekundäre Geschlechtsmerkmale bei Teleostiern. Z. wiss. Z., cxxx, 455—468.
- GLASER, E. und O. HAMPEL 1932: Das experimentell hervorgerufene Hochzeitskleid des kastrierten Fisches als Stigme einer Test- und Standardisierungsmethode des männlichen Sexualhormons. Pflügers Arch., ccxxix, 1. (岡田 '44 による)
- KOPEC, S. 1918: Contribution to the study of the development of the nuptial colors of fishes. Spraw. pos. Tow. Nauk. Warszaw., iii, 11. (岡田 '44 による)
- 1927: Experiments on the dependence of nuptial hue on the gonads in fish. Biol. generalis, Wien, iii, 259. (岡田 '44 による)
- 永田義夫 1934: メダカに於ける生殖腺剔除実験. 動維, xlv, 293—294.
- — 1936: メダカに於ける第一次及第二次性特徴の関係 II. 動維, xlviii, 102—108.
- OKA, T. B. 1931: On the processes on the fin-rays of the male *Oryzias latipes* and other sex characters of this fish. J. Fac. Sci. Imp. Univ. Tokyo, Sec. IV (Zool), ii, 209—218.
- — 1931: Effect of the triple allelomorphic genes in *Oryzias latipes*. J. Fac. Sci. Imp. Univ. Tokyo, Sec. IV, ii, 171—178.
- 岡 徹 1938: 雄メダカの鰭のグアノ細胞, 第二次性徴. 動維, 1, 173—174.
- 岡田 要 1944: 魚類に於ける性徴並にその実験的考察. 実験形態学年報 1, 34—64.
- OKADA, Yo K. and YAMASHITA, H. 1944: Experimental investigation of the manifestation of secondary sexual characters in fish, using the medaka, *Oryzias latipes* (Temminck & Schlegel) as material. J. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ., Sec. IV (Zool), vi, 383—437.
- TOZAWA, T. 1929: Experiments on the development of the nuptial coloration and pearl organs of the Japanese bitterling (*Acheilognathus intermedia*). Fol. Anat. Jap., vii, 407—417.
- WUNDER, W. 1931: Experimentelle Erzeugung des Hochzeitskleides beim Bitterling (*Rhodeus amarus*) durch Einpritzung von Hormonen. Zeit. vergl. physiol., xiv, 676—708.
- YAMAMOTO, T. and SUZUKI, H. 1955: The manifestation of the urinogenital papillae of the medaka (*Oryzias latipes*) by sex-hormones. Embryologia, ii, 133—144.

## Résumé

1. In the breeding-season, fully grown males of the wild medaka (*Oryzias latipes*) display several black stripes in the caudal fin and black spots in the ventral fin become more numerous than those of females. Orange-red color along the dorsal and ventral margins of the caudal fin in the male becomes deeper than in the female. These characters may be called the nuptial coloration and are due to increase in number of melanophores and xanthophores. Full-grown females display no nuptial coloration in

the breeding-season.

2. Two kinds of chromatophores of the male caudal fins and the melanophores of the male ventral fins decrease both in number and quantity of the pigments by the orchotomy and thus the nuptial coloration disappears. On the other hand, the ovariectomy induces no significant change in coloration.

3. The subcutaneous administration of methyl-testosterone to the ovariectomized and the normal females induces the manifestation of the nuptial coloration, i.e., the melanophores and the xanthophores in the caudal fin and the melanophores in the ventral fin increase to the level of normal males.

4. The transplantation of the testis into a normal female induces artificial production of the nuptial coloration.

5. It is concluded that the nuptial coloration of the wild medaka (*Oryzias latipes*) is manifested by the action of the male hormone from the active testis in the breeding season and the female hormone has no effect on the manifestation of the nuptial coloration.