関西自然保護機構会誌 *23*（*1*）：*23－30, 2001*

原　著

# メダカにおける温度性決定の可能性

大阪市立大学大学院理学研究科　関　さと子
京都大学東南アジア研究センター　大西信弘
大阪市立大学大学院理学研究科　幸田正典

Is the sex of the Medaka *Oryzias latipes* determined by the water temperature in their early life ?
Satoko Seki (*Graduate School of Science, Osaka City University*), Nobuhiro Ohnishi (*Center for Southeast Asian Studies, Kyoto University*), Masanori Kohda (*Graduate School of Science, Osaka City University*)

## はじめに

動物の性決定機構には，個体の遺伝子組成によって性が決まる遺伝性決定と，個体のおかれた環境によって性が決まる環境性決定が知られている。哺乳類や鳥類は性染色体の組み合わせによって受精したときに性が決まる遺伝性決定である。一方，環境性決定では，個体の生育環境の温度，pH，社会関係などによって性が決定される。これは最近話題の「環境ホルモン」とは別のものである。環境性決定というのは，本来生物の持つ機能として，環境要因で性が決定されるのであって，本来の生理的なメカニズムが外的要因によって撹乱されているのではない。このような環境性決定はボネリムシ，軟体動物（Gilbert, 2000），等脚類（Charnov & Bull 1977; Rigaud *et al.* 1997），爬虫類（Bull & Vogt 1979; Ferguson & Joanen 1982; Morreale *et al.* 1982; Deeming & Ferguson 1988; Ewert & Nelson 1991），魚類（Heiligenberg 1965; Harrington 1971; Conover & Kynard 1981; Schultz 1993; Römer & Beisenherz 1996; Strüssmann *et al.* 1996 a; Strüssmann *et al.* 1996 b; Kuwamura & Nakashima 1998）などさまざまな分類群で知られている。

雌雄異体の魚類では性決定に関わる環境要因として温度とpHが報告されている。温度性決定はトウゴロウイワシ目，カダヤシ目，ダツ目メダカ科，スズキ目カワスズメ科で知られており，どの種でも卵や仔稚魚が低水温下で育った場合その性比がメスに偏り，高水温の場合ではオスに偏る（Harrington 1971; Conover & Kynard 1 981; Schultz 1993; Römer & Beisenherz 1996; Strüssmann *et al.* 1996 a; Strüssmann *et al.* 1996 b）。pH性決定はカダヤシ目とスズキ目カワスズメ科で知られており，卵や仔稚魚が低いpHで生育した場合はオスに，高い場合にはメスに偏る（Heiligenberg 1965; Rubin 1985; Römer & Beisenherz 1996）。

このような性決定様式には，適応的な場合があることが理論的に示されている（Charnov & Bull 1977）。親も子も，子の生育する環境を選ぶことができず，子が生育する環境によって将来メスで繁殖した方が繁殖成功が高くなる（もしくはオスで繁殖した方が繁殖成功が高くなる）場合，受精時に性を決定するよりは，子がおかれた環境に従って性を決定した方が高い生涯繁殖成功が見込まれるというものである。例えば，トウゴロウ

関西自然保護機構業績　第278号，関西自然保護機構研究助成 No. 54

イワシの一種タイセイヨウシルバーサイド *Menidia menidia* では，彼等の乱婚的配偶システムのため成魚が大きな場合はメスの方が，小さいならオスの方が，生涯繁殖成功が高くなる（Conover 1984 ; Conover & Heins 1987）。春頃産まれた仔魚は繁殖開始まで成長期間が長く大きな成魚になれる。それに対し夏場に産まれた子は繁殖期までの期間が短く大きな成魚になれない。このため春先の低水温下で育った子供はメスに，夏の高水温下ではオスになる温度性決定が遺伝性決定に比べ進化上有利であると考えられている。しかし，温度性決定の適応的意義が実証されているのは，この種を除けば他には見あたらない。

メダカ *Oryzias latipes* は，日本と韓国，中国東部に分布する小さな淡水魚である。湖，池，田のようなたまり水や小川，水路に生息する。メダカは飼育しやすく繁殖も簡単であり生物学の分野では実験動物として世界的に知られている。また，メダカの性はXX／XYの性染色体によって決まる。こうしたことからメダカは性染色体や性分化の研究，最近では環境ホルモンの研究に広く用いられている。

古くからのメダカの研究の中で，温度性決定の可能性を示唆する記載がある。一つは Aida（1936）によるメダカの性染色体異常についての論文である。Aida はこの論文の中で，実験用に屋外水槽で飼育していたメダカの同じ親から生まれた子の性比が夏と春で違い，一般的には暑いときには寒いときより子の性比がオスに偏りがちであり，もしかしたら温度が性決定にかかわっているかもしれない，と記載している。もう一つは，Gresik & Hamilton（1977）が「Handbook of Sexology」の中でメダカの性の逆転について述べた章で紹介している実験である（表1）。メダカの受精卵を水温32℃で発生させ，その水温で飼育するとXXの組み合わせの性染色体を持ち，本来メスになるはずの個体の47％がオスになっている。また，受精卵を水温32℃で発生させて，孵化後22℃という低温で育てるとXXをもつ個体の74％がオスになっている。これらの記載からメダカの場合，遺伝性決定だけでなく，温度も性決定に関与する可能性が考えられる。そこで野外調査と飼育実験からメダカの性決定と温度，pHの関係について探ってみた。

**表1．** J. B. Hamilton の実験結果．メダカを発生初期から32℃で飼育した結果（左），発生初期は32℃で，孵化後22℃で飼育した結果（右）を，それぞれ示している（Gresik & Hamilton 1977 より改変）．

| | 32℃ | | 32℃→22℃ | |
|---|---|---|---|---|
| 性染色体型 （%） | オス | メス | オス | メス |
| XX | 47 | 53 | 74 | 26 |
| XY | 88 | 12 | 92 | 8 |

## 方　法

### 野外調査

野外調査は，1996年3月から1998年4月の間，今もメダカが多数生息する兵庫県中部で行った。調査地一帯は丘陵の斜面に水田が広がり，その水田に水を供給するため池が点在する。ため池にはメダカ同様，稀少な淡水魚が見られるため，ここに詳しい所在地を記すことは控えたい。この中から形状の異なる6つのため池を調査池として選んだ（表2）。1997年には6つの池のうち4つの池で，ほぼメダカの繁殖期にあたる3月下旬から9月中旬の間，ひと月に2回，早朝から日暮れまで3時間おきにpHと水温を計測した。これらの計測と同時に日中には，さなぎ粉を餌にもんどりでメダカを捕獲し，全長と性別を記録した。雌雄の判定は背びれと尻びれに明瞭に認められる性的

**表2．** 各池で捕獲された魚種と池の特徴．確認された種を○で，捕獲個体数がもっとも多かった種を◎で表した．捕獲はさなぎ粉を餌にもんどりを用いた．魚は調査終了後，それぞれの池に返した．

| 池No. | メダカ | カワバタモロコ | バラタナゴ | モツゴ | ドジョウ | トウヨシノボリ | 面積(㎡) | 水深 | 水の色 | 水面の様子 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 37 | ○ | ○ | | | | | 84 | 0.2～0.5m | 無色・透明 | ヒメガマが水面を覆う |
| 38 | ○ | ○ | ◎ | | ○ | ○ | 180 | 0.5m～ | 緑色・濁る | 水面は開けている |
| 39 | ◎ | ○ | | | | | 180 | 0.2～0.4m | 無色・透明 | ヒメガマが水面の半分を覆う |
| 40 | ○ | ◎ | ○ | ○ | | | 81 | 1m～ | 無色・透明 | 全体にヒメガマが生えている |
| 0 | ◎ | ○ | | | ○ | | 5 | 0.2～0.3m | 無色・透明 | 水面は開けている |
| 29 | ◎ | ○ | | | | | 78 | 0.3～0.5m | 茶色・濁る | ヒツジグサが水面を覆う |

二型に基づいて行った。性比は，性成熟した個体中のオスの割合で求めた。多くの場合測定後，メダカは採集した池に放した。

1998年4月から5月には多数のメダカが生息する3つの池で，一日にできるだけたくさんのメダカを捕獲し，性と体長を記録した。この調査でも魚体の計測後，メダカは捕獲した池に放した。

### 飼育実験

1997年6月から1998年4月にかけて，調査地から持ち帰ったメダカを用いて飼育実験を行った。水温の他pHも性決定に関与する可能性があるため，水温を一定にしpHを変化させた飼育実験と，pHを一定にし水温を変化させた飼育実験を行い，それぞれでのメダカの性比を検討した。性比は，同様に性成熟した個体中のオスの割合で求めた。pHは5～9，水温は21～30℃の範囲で様々な条件を設定した。いずれも14L10Dの光条件下で行った。

水温の効果を確かめる実験では，水温は21-30℃の間の5つの条件を設定し，pHはいずれも7.0-7.2の間に保った。pHの飼育実験ではpHは5，7及び9の3つの条件を設定し，水温はそれぞれ24.0-24.9℃の間に保った。

それぞれの条件の水槽にメダカをペアで飼育繁殖させ，50卵を採卵した。卵は引き続き同じ水温とpHの条件で孵化後約90日間飼育し，性的二型に基づき性を判別した。飼育は，水槽（60 cm×30 cm×30 cm高）に，15 cm×25 cm，深さ15 cmのメッシュの網を浮かべ，その中で卵から飼育した。餌はテトラフィン（テトラベルケ社製）を，仔魚期には乳鉢ですりつぶし，稚魚期以降は細かくして与えた。給餌は日に2回残餌がでない程度の量を与えた。死魚がでた場合は，すみやかに除去した。各50匹のメダカで死亡個体数は20匹未満であった。

## 結果と考察

### 1997年の野外調査

調査した6つのため池はそれぞれ植生や水質，生息する魚種の割合が異なっていた（表2）。詳細な調査を行った4つの池の日毎の平均水温は，平均気温と対応し季節的に大きく変化したが，池間での差異はあまりなかった（図1）。日毎の平均pHも季節によって変化した（図1）。春から秋へ進むにつれ，4つの池の平均pHは下がる傾向が見られた。池No. 38以外の3つの池ではその範囲はpH 6.3から7.6の間と多少ばらつきがあったが，池No. 38は他の3つと比べ高い平均pH値を示し，その変異幅も大きかった。池No. 38が他の池と違う点として，水面を覆う水性植

物が無く，植物プランクトンが多く水が緑色になっている点があげられる。植物プランクトンの光合成が盛んになると水中の二酸化炭素の消費が増し，このことがpH値を上げていることが考えられる。一日の中でも水温，pHは大きく変化した。早朝の水温はいずれの池でも一日のうち最も低く，晴れた日の午後はpHが上昇する傾向が見られた。

調査地ではメダカの繁殖期が長いため，繁殖期の初期と後期では平均水温は大きく異なっていた（図1）。このように本調査地では，メダカの卵や仔稚魚が生育する環境条件としての平均水温や平均pHは，季節や池によって異なっていることが明らかとなった。

メスが卵を持ったまま捕獲される4月中旬から9月下旬が，本調査地でのメダカの繁殖期と考えられた。6月上旬には当年生まれの幼魚がもんどりにかかるようになる（図2）。8月下旬になると当年生まれと考えられる個体で繁殖をしているものもいた。

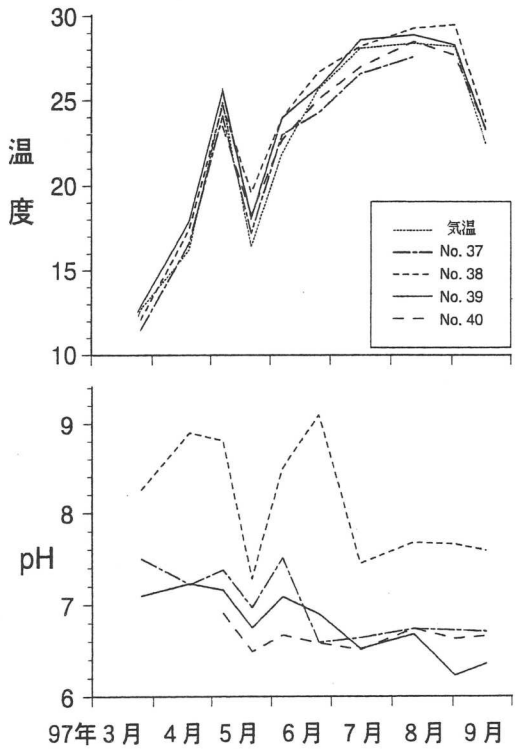



**図1．** 水温（上）・pH（下）の季節変化。気温の変化を上図に重ねて示した。水温はどの池もおおむね同じような変化をしている．

### 飼育実験

野外調査の結果から，メダカが繁殖を始める4月中旬には，平均水温がまだ15-20℃であり，繁殖期後半の8月には30℃近くにまでなることがわかる。また，pHも池により，季節によって変化した。飼育実験はメダカが実際繁殖している範囲の温度や，pHで行った。我々は，性比が低水温でメスに偏り，高水温下ではオスに偏ることを予想していたが，飼育実験の結果では残念ながらメダカの性比と水温・pHとの間には相関関係は見られなかった（図3）。なぜ性比の偏りがでなかったのだろうか。もちろんこの結果がメダカに温度やpHによる性決定機構が無いことを示すのかも知れない。しかし，例えば，仔稚魚の死亡率は雌雄とも等しいという保証はなく，この点が結果を曖昧にしている可能性は否定できない。また，設定水温は21℃から30℃までとしたが，もっと広い設定水温，特に低水温での飼育実験を行えば良かったかも知れない。自然条件では，一日の水温は早朝に最も低く，晴れた日では午後3時頃最も水温が高くなった。これに対し，実験での水温は一日中変化することはなかった。この点は，平均水温としては同じでも野外と異なる点である。また，実験では野外条件と比べかなり高密度で飼育されており，この点にも問題があったかも知れない。これらの点についてはpHを操作した実験でも同様である。

### 1998年の野外調査

各池の50-100個体前後のサンプルから池ごと

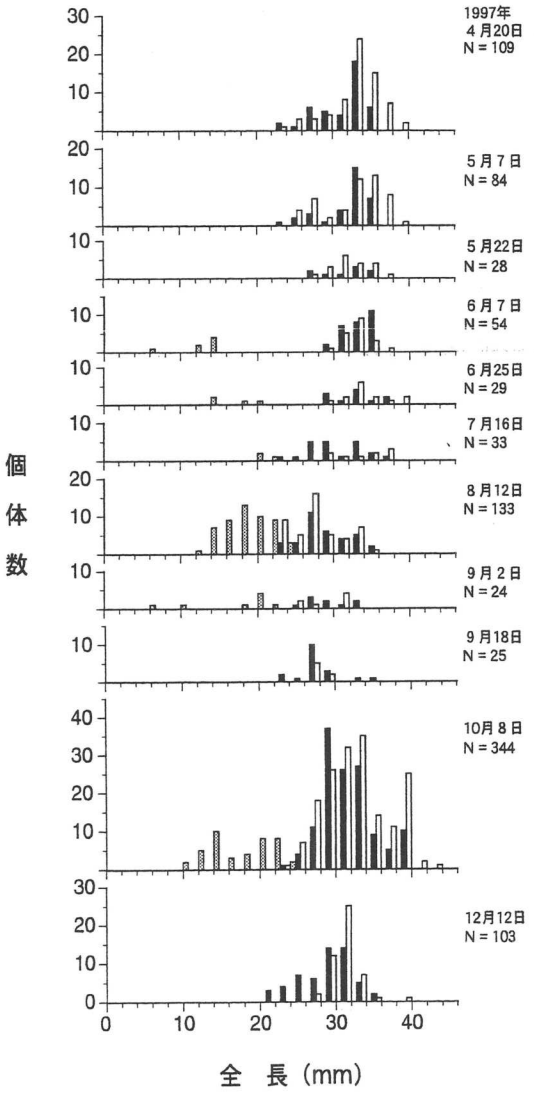



図2．捕獲個体の体長の頻度分布．白がメス，黒がオス，グレーが未成魚を示す．池No. 37, 38, 39, 40での標本を込みにしている．

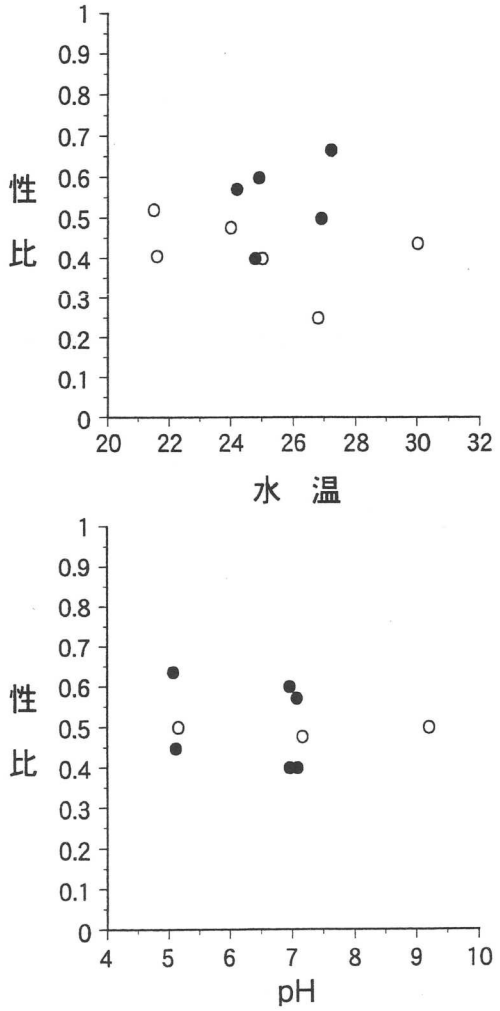



図3．飼育実験での水温（上）・pH（下）と性比（性成熟した個体中のオスの割合）の関係。●は死亡率が20％未満，○は死亡率が20～40％の結果を示す．

の性比を算出したところ，実は同じ池由来の場合でもサンプル毎に性比にばらつきがみられた。そこで池に生息するメダカの性比を推定するのに必要なサンプル数を知るため，捕獲・計測順に性比を算出し，性比がどのように変化するかを検討した（図4）。その結果，約300個体捕獲すると，ぶれが小さく性比は安定するように思われた。池に生息するメダカの性比を算定するには，もんどりを用いた場合少なくとも約300個体が必要のようである。メダカを300個体以上捕獲できた池での性比を見てみるとおおむね0.4前後で，池ごとに違いはなかった（表3）。今回のもんどりによる採集では，もんどりに遭遇する一群が捕獲

されることが考えられる。一般に魚類の群は，似通った個体で構成される傾向が知られている(Breder 1976)。メダカの群も似通ったサイズの個体で構成される傾向があり，性的サイズ二型のあるメダカでは，群毎に性比が偏り，捕獲時の性比が大きくぶれた可能性がある。300 個体分の捕獲はもんどり採集 5-8 回分に相当し，いくつかの群のサンプリングができたため，この数値で性比が安定したと思われる。

調査した池は，水草の被度により pH にはばらつきがあったが，水温には池間で大きな差はなかった。300 個体以上のメダカを採集した池では，メダカの性比はほぼ 0.4 であった。もしメダカの性が遺伝的に 1：1 に決まっているなら，死亡率の性差や捕獲効率の性差など検討すべき要因はいくつかある。しかし，春から梅雨明け頃までの長い低水温の時期がメスに偏った性比をもたらしているとの温度性決定の可能性も，今回の研究からは否定できない。

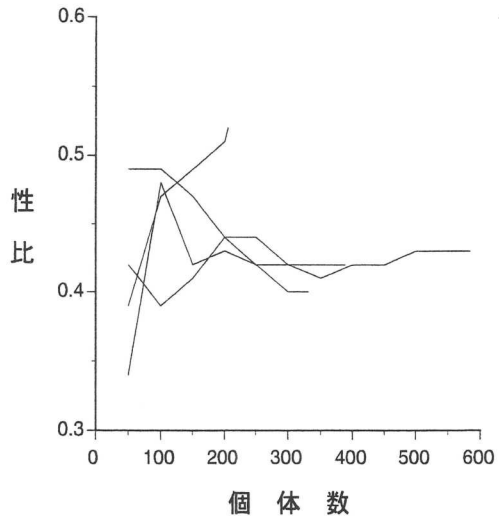



**図 4．** 1998 年の捕獲調査時の計測順性比（性成熟した個体中のオスの割合）．折れ線は 4 つの池での累積個体数である．300 個体前後でぶれが小さくなるように見える．

**表 3．** 各池で捕獲されたメダカの個体数と性比（性成熟した個体中のオスの割合）．

| 池No. | 捕獲個体数 | 性比 |
|---|---|---|
| 39 | 587 | 0.43 |
| 0 | 331 | 0.40 |
| 29 | 389 | 0.42 |

### メダカの温度性決定の可能性

メダカで，どのようなオスが高い繁殖成功を上げているかを水槽実験で調べた研究がある(Grant *et al.*, 1995)。Grant らは，よくメスを追尾しより多く求愛するオスほど，メスと多く配偶することを見出した。オス間でなわばり闘争もあるが，オス間競争に強いオス，つまり大きなオスの繁殖成功が必ずしも高くはないことを示している。彼等の実験設定からすると，同様のことは野外でもおこっていると思われる。つまり，配偶成功を考えた場合，オスはメスの追尾や求愛に投資できれば，大きさに関係なく高い繁殖成功が期待できるわけである。言い換えればメダカのオスの高い繁殖成功には，大きな体サイズは必ずしも必要ではない。これに対し，メスは大きいほど産卵数が多くなることが期待できる。すなわち，大きな個体はメスである方が，確実に平均的期待値よりも高い繁殖成功が期待でき，これに対し体長が全個体の平均以下の個体の場合，オスである方が高い繁殖成功が期待できる。このように，繁殖成功から見た場合，メダカは大型個体はメスに，小型個体はオスになった方が有利であると考えられる。前述した雄が雌より小さいタイセイヨウシルバーサイドでも，雌は大きな個体ほど繁殖成功は高いのに対し，雄の繁殖成功はサイズとは大きく関係しないことが報告されている。

このように繁殖成功の観点で考えた場合のメダカでの性と体サイズの関係は，タイセイヨウシル

バーサイドの場合とよく似ている。Conover (1984) はタイセイヨウシルバーサイドの研究から，性的サイズ二型があり，繁殖期が長く，早く性成熟が起こる魚種で温度性決定が起こるだろうと予想している。メダカには明瞭な性的サイズ二型が存在する。また繁殖期は4月から9月までと長い。そして一年で性成熟する。このように，メダカはConoverの予想の条件を満たしている。春頃の低水温で孵化したメダカは，多くが秋頃には繁殖に参加できるほどの大きさにまで成長するのに対し，高水温の夏に孵化したメダカは，秋頃ではまだまだ小さい。おそらく，この時期の体長差は，翌年の春先から始まる繁殖期での体長に大きく関連するだろう。このように，メダカの場合でも，タイセイヨウシルバーサイドと同様に，温度性決定（低水温下ではメス，高水温下ではオス）があっても，不思議はないように思われる。

今回の調査では，水温を管理した実験でも性比の違いは検出できなかった。しかし，この結果から，メダカでの温度性決定機構が存在しないとはいえないのではないかと我々は考えている。それはメダカの飼育密度をはじめ，実験条件に改良の余地が残されていると考えるためである。メダカの温度性決定の問題は，飼育条件や野外での採集方法に改善すべき点はあるものの，今後ともさらに検討を加える必要があると思われる。Conover (1984) の研究以来，温度性決定の例は，幾つもの種で報告されている。しかし，その性決定機構がいかに各個体の適応度をあげるのかを明らかにした研究は未だ出ていない。この研究対象として，メダカはまだその可能性を秘めていると思われる。

## 引用文献


Aida, T. 1936. Sex reversal in *Aplocheilus Latipes* and new explanation of sex differentiation. Genetics, 21 : 136－153.

Breder, C. M. 1976. Fish schools as operational structures. U. S. Natl. Mar. Fish. Serv. Fish. Bull. 74 : 471－502.

Bull, J. J. & R. C. Vogt. 1979. Temperature-dependent sex determination in turtles. Science, 206 : 1186－1188.

Charnov, E. L. & J. Bull. 1977. When is sex environmentally determined? Nature, 266 : 828－830.

Conover D. O. 1984. Adaptive significance of temperate-dependent sex determination in a fish. Amer. Nat. 123 : 297－313.

Conover, D. O. & B. E. Kynard. 1981. Environmental sex determination: Interaction of temperature and genotype in fish. Science, 213 : 577－579.

Conover D. O. & S. W. Heins. 1987. Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in a fish. Nature 326 : 496－498.

Deeming, D. C. & M. W. J. Ferguson. 1988. Environmental regulation of sex determination in reptiles. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 322 : 19－39.

Ewert, M. A. & C. E. Nelson. 1991. Sex determination in turtles: Diverse patterns and some possible adaptive values. Copeia, 1991 : 50－69.

Ferguson, M. W. J. & T. Joanen. 1982. Temperature of egg incubation determines sex in *Alligator mississippiensis*. Nature, 296 : 850－853.

Gilbert, F. S. 2000. Developmental Biology, 6th Edition. Sinauer Associates, Inc. 749pp. Sunderland, Massachusetts, U. S. A.

Grant, J. W. A., M. J. Bryant & C. E. Soos. 1995. Operational sex ratio, mediated by synchrony of female arrival, alters the variance of male mating success in Japanese medaka. Anim. Behav., 49 : 367－375.

Gresik, E. W. & J. B. Hamilton. 1977. Experimental sex reversal in the teleost fish, *Oryzias latipes*. Handbook of sexology, 107－126.

Harrington, R. W. 1971. How ecological and genetic factors interact determine when self-fertilizing hermaphrodites of *Rivulus marmoratus* change into functional secondary males, with a reappraisal of the modes of intersexuality among fishes. Copeia, 1971 : 389－432.

Heiligenberg, W. 1965. Colour polymorphism in the males of an African cichlid fish. Journal of Zoology, 146 : 95－97.

Kuwamura, T. & Y. Nakashima. 1998. New aspects of sex change among reef fishes: recent studies in Japan. Env. Biol. Fish., 52 : 125－135.

Morreale, S. J., G. J. Ruiz, J. R. Spotila & E. A. Standora. 1982. Temperature-dependent sex determination: Current practices threaten conservation of sea turtles. Science, 216 : 1245－1247.

Rigaud, T., D. Antoine, I. Marcade & P. Juchault. 1997. The effect of temperature on sex ratio in the isopod *Porcellionides pruinosus*: Environmental sex determination or a by-product of cytoplasmic sex determination? Evolutionary Ecology, 11 : 205－215.

Römer, U. & W. Beisenherz. 1996. Environmental determination of sex in *Apistogramma* (Cichlidae) and two other freshwater fishes (Teleostei). Journal of Fish Biology, 48 : 714－725.

Rubin, D. A. 1985. Effect of pH on sex ratio in cichlids and a poecilliid (Teleostei). Copeia, 1985 : 233－235.

Schultz, R. J. 1993. Genetic regulation of temperature-mediated sex ratios in the livebearing fish *Poeciliopsis lucida*. Copeia, 1993 : 1148－1151.

Strüssmann, C. A., J. C. C. Cota, G. Phonlor, H. Higuchi & F. Takashima. 1996a. Temperature effects on sex differentiation of two South American atherinids, *Odontesthes argentinensis* and *Patagonia hatcheri*. Environmental Biology of Fishes, 47 : 143－154.

Strüssmann, C. A., S. Moriyama, E. F. Hanke, J. C. C. Cota & F. Takashima. 1996b. Evidence of thermolabile sex determination in pejerrey. Journal of Fish Biology, 48 : 643－651.