

## 短 報

# 淡水域並びに汽水域に生息する ミナミメダカの成熟特性の比較

岡本祐可子<sup>1</sup>・松田烈至<sup>1\*</sup>・臼井大喜<sup>2</sup>・山口啓子<sup>1</sup>

## Comparison of the maturation characteristics of the Medaka, *Oryzias latipes*, between freshwater and brackish water areas

Yukako Okamoto<sup>1</sup>, Retsushi Matsuda<sup>1\*</sup>, Taiki Usui<sup>2</sup>, Keiko Yamaguchi<sup>1</sup>

**Abstract:** In numerous fish species, the maturation of the gonad is triggered by seasonal changes in water temperature and photoperiod. Besides these factors, changes in salinity in brackish water areas also have an effect. The purpose of this study was to clarify the spawning characteristics of medaka (*Oryzias latipes*) that live in brackish waters. We observed the development of the tissue structure of the ovaries and the temporal changes in the gonadosomatic index (GSI) in brackish water (BW) and freshwater (FW) areas. Between April and July, the GSI was lower in medaka living in BW compared with the GSI of medaka in FW. Yolk spheres and/or follicles were observed from late April to August in many individuals living in FW and some individuals living in BW. Furthermore, many individuals living in estuarine areas had developed yolk spheres and follicles between July and August, when rainfall reduced the salinity. This indicates that the spawning characteristics of medaka living in estuarine areas are influenced by environmental factors, including salinity.

**Key words:** *Oryzias latipes*, GSI, histological structure, ovary

<sup>1</sup> 島根大学生物資源科学部・Faculty of Life and Environmental Sciences, Shimane University, 1060 Nishikawatsu-cho, Matsue, 690-8504, Japan

<sup>2</sup> 島根大学大学院自然科学研究科・Graduate school of Natural Science and Technology, Shimane University, 1060 Nishikawatsu-cho, Matsue, 690-8504, Japan

\* Corresponding Author

受付日：2025年9月27日，受理日：2026年1月10日，WEB掲載日：2026年1月30日

## はじめに

多くの魚類における生殖腺の成熟は、季節変化に伴う水温や日長などの変化によって起こる。例えば水温については、アイゴ *Siganus fuscescens*において水温が 25°C を超えると産卵が開始することが明らかにされている（山田ほか, 2006）。また日長については、シロギス *Sillago japonica*において産卵の終了する日長時間が 12 時間から 13 時間の間にあることが報告されている（瀬戸熊ほか, 2014）。このように水温や日長の変化は、多くの魚類において生殖腺の成熟に影響を及ぼすことが明らかにされている。

淡水域と海域の移行帶に位置する汽水域では、水温や日長の季節変化に加え、常に塩分の変化が起こっている。これにより、汽水域に生息するもしくは一時的に利用する種では水温や日長に加え、塩分についても生殖腺の成熟に何らかの影響を与えている可能性が考えられる。例えば、汽水から海水に生息するクロホシマンジュウダイ *Scatophagus argus* は、塩分 5‰, 15‰, 25‰, 35‰ で飼育すると、雌雄の生殖腺重量指数（以下 GSI : Gonadosomatic Index）は塩分 25‰ で最も高くなるが明らかにされている（Su et al., 2019）。それに加え、Su et al. (2019) は、雄では塩分 25‰ のみで性成熟し、その他の塩分では性成熟に至らなかったこと、雌では卵巣形成に塩分の影響はほとんどなかったが、塩分 25‰ 以外では様々な発達段階の生殖細胞が確認されたことを報告した。つまり、海域を含めた高塩分域を利用する種では、塩分によって生殖腺の成熟が抑制される可能性がある。しかしながら、淡水を含めた低塩分環境を利用する魚類では、塩分が生殖腺の成熟に及ぼす影響についてほとんど検討されていない。

そこで本研究ではミナミメダカ *Oryzias latipes* に着目した。ミナミメダカは太平洋側では岩手県南部以南、日本海側では京都府以南の全国各地の流れの緩やかな河川や沼地などに生息している淡水性魚類である。一方でミナミメダカは、汽水域にも生息が確認されており、継続的に汽水域を利用し、個体群を維持していることが報告されている（田久和ほか, 2018; 2024）。淡水魚であるミナミメダカが汽水域で個体群を維持する形質を有している要因としては、汽水域を介した生息地の拡大があげられる。メダカは汽水域などの塩分環境に生息することにより、塩分環境に順応し、汽水域並びに海域を介した異なる水域への移動ができる可能性があると報告されている（Inoue and Takei, 2002）。ミナミメダカの

産卵は、屋外の淡水で飼育されたヒメダカの生殖腺の観察から 4 月から 10 月頃と考えられており、その開始には日長に関わらず、水温が関係していることが明らかにされている（Awaji and Hanyu, 1988）。一方で、汽水域に生息するミナミメダカの産卵特性については、岡山県の塩田地帯において塩分の低下する梅雨時期に産卵が起こることが報告されているが（柳島・森, 1957），塩分が GSI の変化や卵巣の成熟過程に与える影響については明らかにされていない。そこで本研究は、島根県東部の淡水域と汽水域においてミナミメダカの雌を採取し、GSI の経時変化と卵巣の組織学的な観察に基づき、汽水域に生息するミナミメダカの産卵盛期における卵巣の成熟特性について明らかにすることを目的とした。

## 材料と方法

### 1. 野外調査並びにサンプル分析

野外調査は、ミナミメダカが継続的に生息していることが確認されている島根県東部の淡水域の小川（以下 FW）と汽水域の貯水池（以下 BW）において 2023 年 2 月～8 月にかけて月 1～2 回行った。なお本稿では、本種の保全学的な観点から詳細な調査場所を示すことを控えた。野外調査は、2023 年 2 月 17 日、3 月 3 日、3 月 22 日、4 月 7 日、4 月 21 日、5 月 12 日、5 月 23 日、6 月 9 日、6 月 23 日、7 月 14 日、8 月 17 日に実施した。それぞれの調査では、水質計（東亜ディーケー株式会社、MM-42DP）を用いて水温並びに塩分を測定した。さらに、両地点における水温は水温ロガー（Onset 社、MX2202）、BW の塩分は塩分ロガー（Onset 社、U24-002-C）で測定した。卵巣観察用のミナミメダカは、目合い 3 mm のたも網を用いてランダムに採集した。その後、現地において雌雄判別を行い、それぞれ 11 個体を生きたまま研究室に持ち帰った。持ち帰ったミナミメダカは、調査当日の 16:00～18:00 の間にデビットソン液で固定保存した。

デビットソン液で固定したミナミメダカは、標準体長、体高、体幅についてノギスで測定し、全重量を測定した。その後、顕微鏡下においてピンセットを用いて卵巣を取り出し、その重量を測定し、得られた値に基づきそれぞれの個体の GSI について（卵巣の重量(g)/ 全重量(g)) × 100 で算出した。なお、解剖により得られた卵巣は、再度デビットソン液で固定保存し、組織切片の作成に用いた。

生殖腺の組織切片の作成では、まず各調査におい

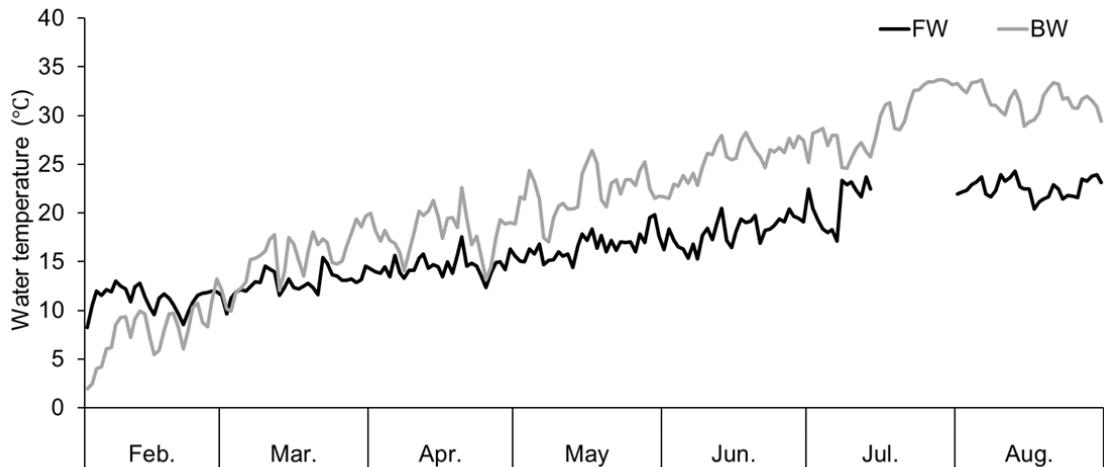


図1 両水域における日平均水温の経時変化。

Fig. 1 Changes in the daily mean water temperature in both water areas.

て採取した5～9個体の卵巣を常法により脱水を行い、パラフィンによって包埋した。その後、包埋した卵巣の中央部において7～10 μmの連続切片を作成した。作成した連続切片は、マイヤーヘマトキシリン染色液、エオシン染色液を用いて二重染色した後に、生物顕微鏡による観察（オリムパス社、BX51）並びに写真撮影を行った。

## 2. 組織切片の評価

卵巣の発達段階の評価は、Iwamatsu et al. (1988)の卵巣の発達段階の区分を参考にし、5段階 (Stage 1: 未熟期, Stage 2: 前卵黄形成期, Stage 3: 卵黄形成期, Stage 4: 卵黄球期, Stage 5: 退行期) に区分した。この評価では、Stage 4 が最も発達した状態であり、卵巣において卵黄球の占める割合が高いことを示す。一方、産卵直前の細胞である卵黄球や卵があった痕跡である濾胞を保持する個体は、Stage 2 や Stage 3 に区分された個体にも確認される。すなわち、Stage 2 や Stage 3 に区分された個体が卵黄球もしくは濾胞を保持していた場合には、これらの区分の個体においても産卵を行っている可能性がある。そこで本研究の組織切片の評価では、卵黄球及び濾胞の保持について確認し、記録した。

なお、卵巣の発達段階の評価はそれぞれのステージの細胞が占める割合に基づいているため、ほとんど欠損がない組織切片を使用する必要がある。一方で、卵黄球もしくは濾胞の保持については、これらの細胞の有無に基づくことから、組織切片の一部に欠損があった場合にも評価が可能である。そのため、

本研究では卵巣の発達段階の評価と卵黄球もしくは濾胞の保持の個体数が異なっている。

## 3. 統計解析

調査期間中における FW と BW において採取されたミナミメダカの GSI は、二元配置分散分析を行い、調査日と調査地の主効果並びに交互作用について検討した。その後、Tukey-Kramer 検定の多重比較を行い、FW と BW の全ての組み合わせの GSI の違いについて検討した。なお、解析は、R (version 4.2.2) を用いて実施した。

## 結 果

FW 並びに BW における日平均水温の経時変化について図1に示す。それぞれの地点における最大水温は、FW では 8月13日の  $24.3 \pm 2.7^{\circ}\text{C}$ , BW では 7月29日の  $33.6 \pm 1.6^{\circ}\text{C}$  であった。また、BW は調査期間を通して FW と比較し、水温が高い傾向にあった。次いで、FW 並びに BW における塩分と BW における日平均塩分の経時変化について図2に示す。FW の塩分は調査期間を通して 0.1 psu 以下であった（図2a）。BW の日平均塩分は 3月下旬から 4月上旬を除き、底層において高い値を示しており、調査期間を通して概ね 4 psu 以上で推移した（図2b）。表層の日平均塩分はしばしば 1 psu 以下を示したが、底層において 1 psu 以下を示したのは 7月9日の 0.7 psu のみであった。

FW 並びに BW において採取されたミナミメダカ

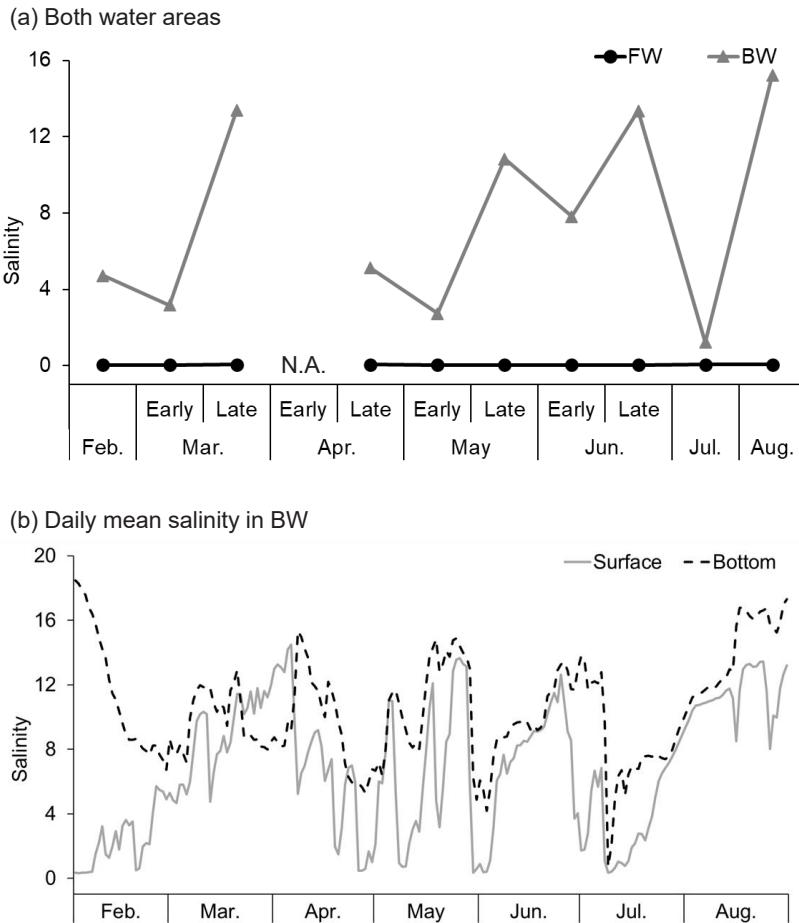


図2 両水域における調査日の塩分 (a), 並びに BW における日平均塩分の経時変化 (b)

Fig. 2 Salinity on survey days in both water areas (a) and changes in daily mean salinity in BW (b).

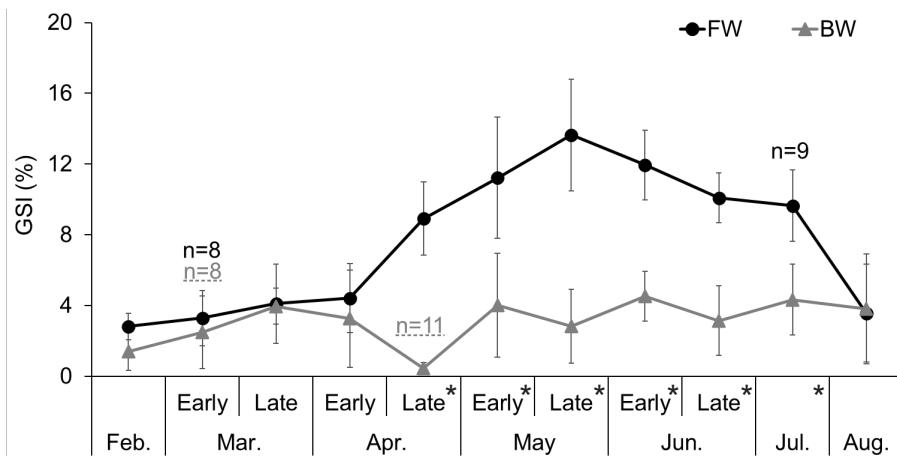


図3 両水域における GSI の経時変化. n は個体数を示す. n がない場合は 10 個体を示す. エラーバーは標準偏差を示す. \* は FW と BW に有意差があることを示す ( $p < 0.05$ ).

Fig. 3 Changes in GSI in both water areas. n, the number of individuals, is 10 unless otherwise indicated. Error bars indicate standard deviation. \* indicates a significant difference between medaka in FW and BW ( $p < 0.05$ ).

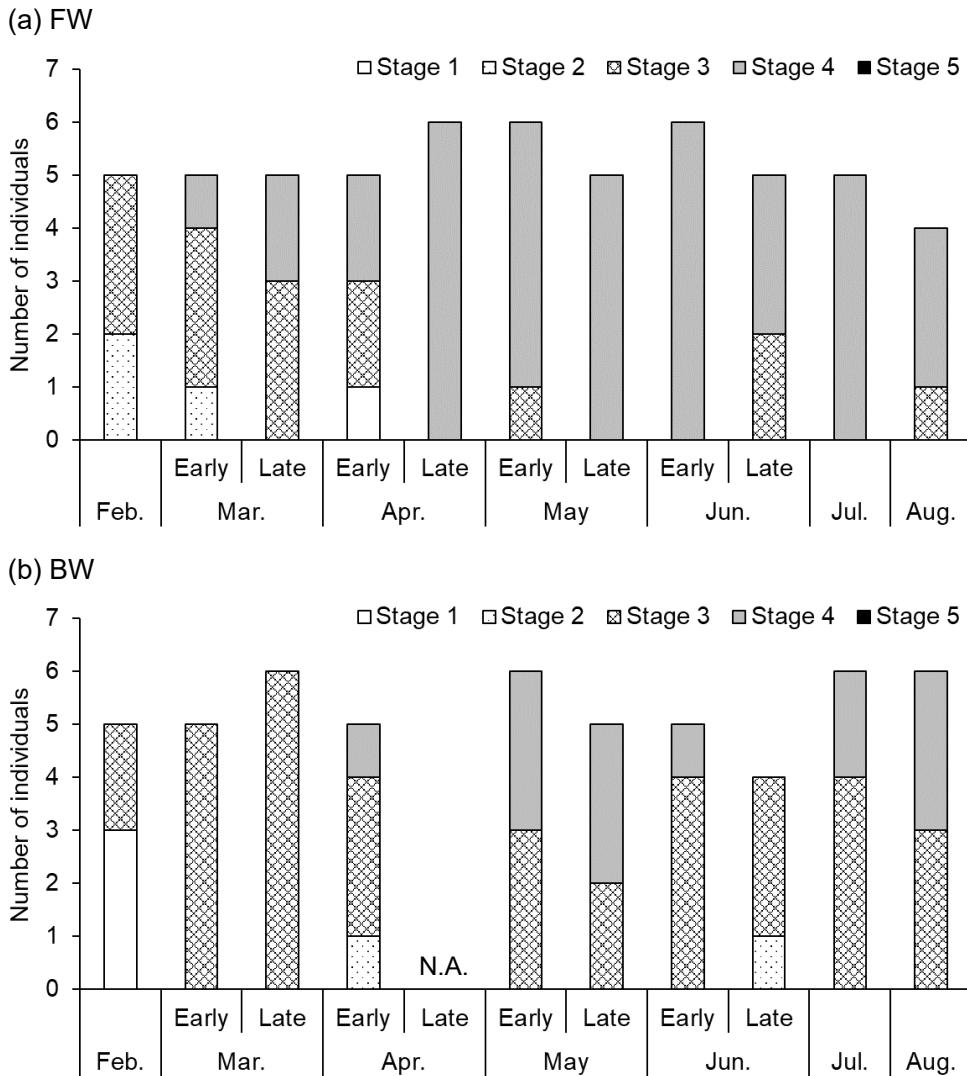


図 4 FW (a) 並びに BW (b) における生殖腺の発達段階の評価。

Fig. 4 Evaluation of gonad developmental stages in fish from FW (a) and BW (b).

の GSI の経時変化について図 3 に示す。なお、図中に Tukey-Kramer 検定の多重比較によって得られた全ての組み合わせの有意差を示すことが困難であったため、同調査月間のみ示した。二元配置分散分析の結果、調査日、調査地点の主効果、調査日と調査地点の交互作用が認められた (Two-Way ANOVA:  $p < 0.05$ )。FW の GSI は、2 月中旬から 4 月上旬にかけて 2.8% から 4.4% に緩やかに上昇した。その後は、5 月下旬にかけて 13.7% まで上昇し、7 月中旬まで 9.6% 以上で推移した後に、8 月中旬には 3.6% まで低下した。BW の GSI は、2 月中旬から 3 月下旬にかけて 1.4 から 4.0% まで上昇した。その後は 4 月下旬を除き、4 月上旬から 8 月中旬にかけて 2.8% か

ら 4.5% で推移した。また、4 月下旬から 7 月にかけて BW の GSI は、FW と比較して有意に低い値であった (Tukey-Kramer test:  $p < 0.05$ )。

FW 並びに BW において採取されたミナミメダカの生殖腺の発達段階の評価を図 4 に示す。FW は 3 月上旬に Stage 4 の個体が初めて出現し、4 月下旬から 8 月中旬にかけて Stage 4 の個体が中心であった (図 4a)。BW は 2 月中旬から 3 月下旬にかけて Stage 1 もしくは Stage 3 の個体が中心であり、Stage 4 の個体は 4 月上旬に初めて出現した (図 4b)。その後は、5 月上旬から 8 月中旬にかけて Stage 2 から Stage 4 の個体が出現した。なお FW 並びに BW では、調査期間を通して Stage 5 の個体は出現しなかった。

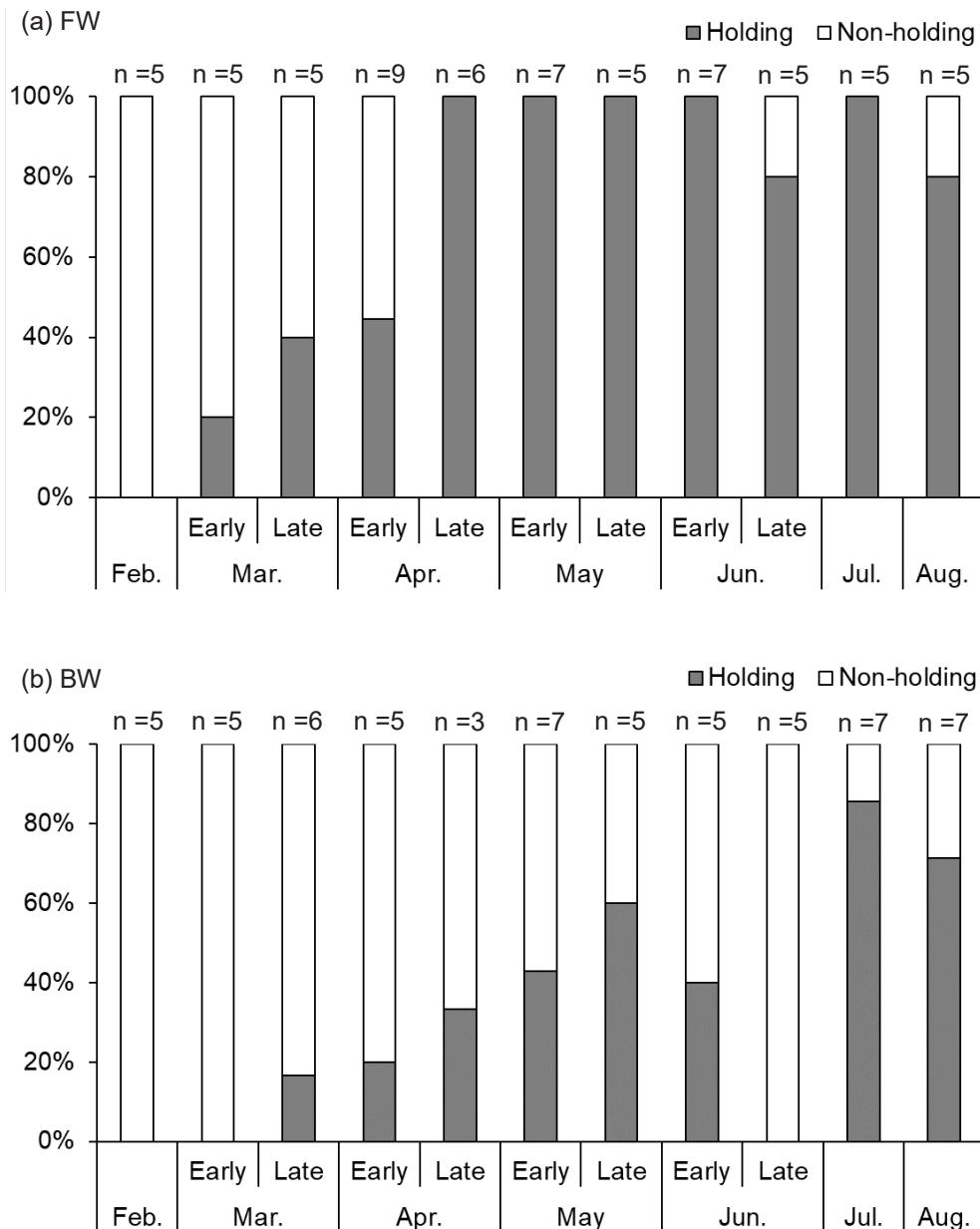


図5 両水域における卵黄球もしくは濾胞を保持する個体の割合の経時変化. (a) FW (b) BW

**Fig. 5** Changes in the proportion of individuals retaining yolk spheres and/or follicles in both water areas: (a) FW, (b) BW.

FW 並びに BW において採取されたミナミメダカの卵黄球もしくは濾胞の有無について図5に示す。FWは、3月上旬に卵黄球もしくは濾胞を持つ個体が初めて確認された(図5a)。その後は、3月下旬から4月上旬にかけて徐々に上昇し、4月下旬から8月中旬まで80%以上の個体において保持が認められた。BWは、3月下旬に卵黄球もしくは濾胞を持つ個体が初めて確認された(図5b)。その後は、4

月上旬から5月下旬にかけて60%まで徐々に上昇した後に6月下旬にかけて低下し、6月下旬には卵黄球もしくは濾胞を持つ個体が確認されなかった。また、翌月である7月中旬や8月中旬には、70%以上の個体において卵黄球もしくは濾胞を保持が認められた。調査期間中においてFWでは卵黄球もしくは濾胞の保持率が100%に達したのが5回あったのに対し、BWでは一度も100%に達しなかった。

## 考 察

本研究は、汽水域に生息するミナミメダカの産卵盛期における卵巣の成熟特性について明らかにすることを目的とし、FWとBWにおいて野外調査を行い、GSIの経時変化と卵巣の組織学的な観察を行った。一方で、本研究の調査対象地は、ミナミメダカが年間を通じて採取することが可能であったが、塩分に加え、水温についても違いが見られた。そこで本研究では、水温と塩分に着目し、汽水域に生息するミナミメダカの卵巣の成熟特性について考察する。

FW並びにBWのGSIは、上昇する時期や最大値に大きな違いが見られた。Awaji and Hanyu (1988; 1989) は、雌のメダカは水温が12°Cから14°Cで成熟が開始することを報告した。両水域において日平均水温が12°Cを超えたのは、FWでは2月3日、BWでは2月28日であった。つまり、FWでは2月上旬、BWでは3月上旬から成熟が開始したと推察される。実際に、その1か月後の3月上旬と4月上旬には、それぞれの水域において初めてStage 4の個体が出現した。したがって、ミナミメダカは生息する水域に関わらず、水温が12°Cから14°Cに達した時期から成熟が開始し、その約1ヶ月後に産卵可能な個体が出現することが明らかとなった。

次いでGSIの上昇について見ると、FWでは水温が12°Cを超えた約2か月後の4月上旬から起こり、BWでは調査期間を通して5%以下で推移した。また、両水域においてStage 4の個体が出現開始した4月上旬以降は、FWでは多くの個体がStage 4であり、同時期の卵黄球もしくは濾胞の保持は多くの個体で確認された。一方で、4月下旬から8月中旬のBWではStage 2からStage 4まで様々な発達段階の個体が出現し、卵黄球もしくは濾胞を保持する個体は、FWと比較し、4月下旬から6月下旬では少なく、7月中旬から8月中旬では同程度であった。これらのことから、4月上旬以降、FWでは多くの個体が産卵活動を行っていたが、BWでは4月下旬から6月下旬は少數の個体、7月中旬から8月中旬は多くの個体が産卵活動を行っていたと思われる。つまり、BWにおける4月下旬から6月下旬は、卵の成熟や生産が何らかの制限を受けていたと考えられる。柳島・森(1957)は、塩田地帯に生息するメダカは、4月や5月に産卵が起こらず、6月中旬の塩分が低下した際に、一斉に産卵することを報告した。本研究においてもBWにおいて70%以上の個体が卵黄球もしくは濾胞を保持した7月中旬から8月中

旬は、7月8日に151.5 mm, 7月9日に40.5 mm, 7月13日に50.5 mmの降水があり(気象庁, 2025), それに伴ってBWの塩分が1 psu以下まで低下した(図2b)。以上のことから、BWに生息するミナミメダカは、塩分の低下に伴って卵の成熟や生産を行う個体が増加し、7月から8月にかけて大規模な産卵が起こっていたことが推察された。

本研究と同様に、ミナミメダカのGSIや生殖腺の組織学的な観察を行った事例としては、茨城県牛久市の牛久沼周辺の淡水の用水路に生息する個体に関する研究がある(Awaji and Hanyu, 1987)。Awaji and Hanyu (1987) は、牛久沼周辺の淡水の用水路に生息する雌のGSIは、4月から上昇し、5月に11%まで達し、6月まで同程度で推移した後に、7月に約7%まで低下することを報告した。また、雌の生殖腺の組織学的な観察では、3月には卵黄球が確認されず、4月中旬から卵黄球期の卵母細胞や排卵後濾胞が確認され始め、産卵が開始すること、5月から7月は4月中旬の個体と同様な生殖腺の発達段階が見られたことも報告されている(Awaji and Hanyu, 1987)。本研究においてFWはAwaji and Hanyu(1987)と比較し、GSIの上昇時期は同時期であったが、GSIの最大値が高く、Stage 4の個体の出現する時期が長期的であった。つまり、本研究で対象としたFWは、Awaji and Hanyu (1987) の牛久沼周辺の淡水の用水路よりもミナミメダカの産卵や成熟に適した環境であると推察される。FWは島根県の1級河川である斐伊川から伏流水が流れ込んでおり、FWの水温は他の生息域と比較して冬季に暖かく、夏季に低い傾向にある。そのため、FWでは水温の季節変動が小さいことにより、ミナミメダカの産卵や成熟に好適に働いた可能性がある。一方でBWでは、Awaji and Hanyu (1987) やFWのような春季の急激なGSIの上昇は見られず、5%以下の低い値で推移した。つまり、BWに生息するミナミメダカの産卵盛期のGSIは、FWだけでなく、Awaji and Hanyu (1987) の結果とも異なっており、GSIの上昇が抑制されていた。水温は、3月以降、成熟を開始する水温の12°Cを概ね超えており(Awaji and Hanyu, 1988; 1989)，生殖腺が成熟する環境にあり、水温が生殖腺の成熟を抑制したとは考え難い。そのため、GSIの上昇を抑制した要因の一つとしては塩分が考えられる。Mandal et al. (2017) は汽水域に生息するパールスピット *Etroplus suratensis* を淡水(1 ppt), 汽水(15 ppt), 海水(30 ppt)で飼育し、その結果60日後には汽水と比較して淡水と海水で飼育した

雌雄のGSI、エストラジオール、11-ケトテストステロン、テストステロンが低い値を示し、塩分の変化が生殖腺の発達に関する血漿性ステロイドレベルに影響を与えることを報告した。このことから、広塩性魚類では本来生息する環境と異なる塩分帯に移行もしくは移動させた場合、性ステロイドホルモンなどの分泌量が変化し、結果としてGSIの低下が起こることが考えられた。ミナミメダカは上述したように汽水域にも継続的に生息している個体群がいるが（田久和ら、2018；2024），本来の生息地は淡水域である。つまり、本来の生息場所ではない汽水域に生息する個体では、これらの性ステロイドホルモンの分泌量が淡水域に生息している個体と比較して低く、GSIの上昇が抑制された可能性がある。そのため今後は、汽水域に生息するミナミメダカの性ステロイドホルモンの分泌量を調べることにより、より詳細な産卵特性が明らかになると思われる。

## ま　と　め

以上の結果より、島根県東部に位置する汽水域に生息する個体は、淡水域に生息する個体と比較し、春から夏季にかけてGSIの上昇が抑制されていた。また、産卵盛期の卵黄球もしくは濾胞を保持する個体の割合に大きな違いがあり、BWでは塩分の低下などの環境変動に応じて卵黄球の生産などを変化させていることが示唆された。一方で本研究では、FWにおいて斐伊川からの伏流水の流れ込みにより、水温特性がFWとBWで異なっていた。そのため、今後は水温特性が比較的に近い淡水域と比較検討を行うことにより、汽水域に生息するミナミメダカの卵巣の成熟特性についてより詳細に明らかになると思われる。

## 謝　辞

本研究を行うにあたり、それぞれの調査地における管理者並びに所有者の方々にはご理解とご協力をいただいた。また、島根県立宍道湖自然館の田久和剛史博士には、本論文に対して有益なご助言をいただいた。記して謝意を示します。

## 引　用　文　献

Awaji, M. and Hanyu, I. (1987) Annual reproductive cycle of the wild type Medaka. Nippon suisan

- gakkaishi, 53: 959–965.
- Awaji, M. and Hanyu, I. (1988) Effect of water temperature and photoperiod on the beginning of spawning season in the orange-red type Medaka. Zoological Science, 5: 1059–1064.
- Awaji, M. and Hanyu, I. (1989) Temperature-photoperiod conditions necessary to begin the spawning season in wild type Medaka. Nippon suisan gakkaishi, 55: 747.
- Inoue, K. and Takei, Y. (2002) Diver adaptability in *Oryzias* Species to high environmental salinity. Zoological science, 19: 727–734.
- Iwamatsu, T., Ohta, T., Oshima, E. and Sakai N. (1988) Oogenesis in the Medaka *Oryzias latipes*—stages of oocyte development. Zoological Science, 5: 353–373.
- 気象庁(2025)過去のデータ検索, [https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php?prec\\_no=68&block\\_no=47741&year=&month=&day=&view=](https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php?prec_no=68&block_no=47741&year=&month=&day=&view=) (2025年5月時点)
- Mandal, B., Sawant, P.B., Dasgupta, S., Chadha, N.K., Sundaray, J.K., Sawant, B.T. and Berra A. (2017) Deviation of habitat salinity during seasonal gonad recrudescence affects plasma sex steroid levels and suppresses gonadal maturation in an euryhaline fish *Etroplus suratensis*. Aquaculture Research, 48: 5973–5983.
- 瀬戸熊卓見・吉野幸恵・土田修二・木下英明(2014)シロギスの産卵終了に及ぼす日長の影響. 海生研報, 19: 73–78.
- Su, M., Duan, Z., Shi, H. and Zhang, J. (2019) The effects of salinity on reproductive development and egg and larvae survival in the spotted scat *Scatophagus argus* under controlled conditions. Aquaculture Research, 50: 1782–1794.
- 田久和剛史・山口啓子・高須　晃(2018)耳石Sr/Ca比を用いた汽水域産ミナミメダカの経験環境の推定. Laguna(汽水域研究), 25: 1–9.
- 田久和剛史・臼井大喜・松田烈至・山口啓子(2024)ミナミメダカ山陰型個体群の淡水および汽水域における動態. 陸水学雑誌, 85: 125–140.
- 山田秀秋・桐山隆哉・吉田　拓(2006)アイゴの初期生態の南北差. 水産工学, 43: 35–39.
- 柳島静江・森　主一(1957)魚類の適応変異に関する研究1. メダカ(*Oryzias latipes* T. & S.)の塩水適応 第1報　野外観察. 動物學雑誌, 66: 351–358.