報 文

ウシガエルの生殖腺の性分化過程

岩 沢 久 彰・高 沢 保 (新潟大学理学部生物学教室)

Sex Differentiation of the Gonad in the Bullfrog, *Rana catesbeiana*

Hisaaki IWASAWA and Tamotsu TAKASAWA

(Biological Institute, Faculty of Science, Niigata University)

The bullfrogs inhabiting Lake Sagata, Niigata City, breed in June. The larvae grow quickly during the summer months. After October, the growth is gradually retarded, and stops during the winter season. The larval growth begins again in April, and the development of the hindlimb is particularly noticeable in the second-year larvae. These larvae metamorphose in June. The gonadal development notably parallels the body growth mentioned above. In the first-year larvae, irrespective of genetic sex, all the gonadal anlagen develop into an ovarian structure. Almost no developmental change is observed in the winter. The gonadal development resumes in April, and the sexual difference becomes gradually clear, i. e. the growth of the oocytes is conspicuous in genetic females, whereas in genetic males, the change of the ovary into the testis takes place, and a testicular structure is observed in most specimens in June. The mode of sex differentiation in amphibians has been classified into 3 types in relation to the time of metamorphosis (Witschi, 1929), and according to this classification, the mode in the bullfrogs inhabiting Lake Sagata belongs to the semidifferentiated type. It is conceivable, however, that the conception introduced by Witschi has no significant meaning embryologically.

両生類の生殖腺の性分化様式が、同一種内においても地域によって、遺伝的に異なる場合のあることは *Rana temporaria* でよく知られている (Witschi, 1929, 1930)。また、同じ生殖集団においても性分化様式には多少の変異があり、これには特に幼生期の水温が大きく影響しているらしい (Iwasawa, 1969a, b)。ウシガエルは北米原産であるが、現在ではカナダ、キューバ、ハワイ、イタリアなどにも分布し、日本には1918年に移入され、以来50余年を経て、琉球を含む青森県以南の多くの地方に生息している。本種の生殖腺の発生については、すでに Swingle (1926), Hsü ら (1970), Yü ら (1972) の報告があるが、日本産の材料についての研究はまだ行われていない。広い地域に分布している本種は性分化様式の地域差を検討するには適した材料と思われるので、以下に報告する観察を行なった。

この研究には山路ふみ子自然科学振興財団から与えられた研究助成金の一部を使用した。ここに深く感謝の意を表する。

材 料 と 方 法

ウシガエルの幼生と幼蛙は新潟市郊外の佐潟で1971年4月から翌年3月まで毎月1回の割合で採集した。採集個体は採集日と発育の程度によってAからNまでの14グループに分けた。各グループの採集日、用いた個体数、全長、体長を表1に示す。動物は採集日にブアン液で固定し、生殖腺を周囲の組織と共に切り出して、8 μ のパラフィン切片を作り、デラフィールドのヘマトキシリンとエオシンで染色した。

Table 1. Materials used in the present observations

Group	Date of collection	No. of animals	Body size (mean, in mm)	
			Total length	Body length
A	July 22	18	21.2	11.2
B	Aug. 22	20	51.3	24.0
C	Oct. 1	16	64.3	30.0
D	Oct. 27	16	77.5	34.6
E	Nov. 17	20	78.1	34.9
F	Dec. 5	15	93.3	41.6
G	Jan. 27	20	94.5	41.9
H	Feb. 21	17	93.1	40.7
I	Mar. 25	17	81.7	36.5
J	Apr. 20	23	102.0	41.9
K	May 15	17	114.9	50.0
L*	June 20	20	88.8	46.7
M**	June 20	20	—	47.5
N	July 22	4	—	52.5

* Metamorphosing frogs

** Newly metamorphosed frogs

観 察 結 果

1. 変態までの発育経過

佐潟における本種の産卵は主として6月に行われる。幼生は7月から10月にかけて、特に盛夏にかなり急速な成長を示したが、その後、水温の低下と共に成長はほとんど停止した。翌年の4月以降に再び成長は活発となり、5月には変態進行中の幼生、6月には変態を終った幼蛙が多くみられた。表1にみられるグループIにおける発育の落ちこみは小さい個体が偶然に多く採集されたためと思われる。グループLにみられた体長の減少は変態進行に伴う変化である。

2. 生殖腺の発生

外観 グループAでは生殖腺原基は左右の中腎の間を走る後主静脈の腹面の中腎に近い部分

に、前方がやや太く後方は細くのびている長さ2mm強の一對の索状物として認められる。グループBでは長さは4.5mmとなり幅もかなり増加しているが、グループC、Dでは長さは3.5mmに短縮し、代って幅は0.6mmに増加している。この変化は卵母細胞の肥大開始による。生殖腺の外観に雌雄差が認められるのはグループK以降である。この頃から雌では生殖腺の輪郭がめだって不整となり、幅の増加がいちじるしく、平板的な状態から次第に立体的となり、波状のひだの形成がみられるようになる。グループL、Mの卵巣は腹面からの計測では長さ5-6mm、幅2mm程度のものが多い。一方、グループKの精巣に分化する生殖腺では輪郭の凹凸がめだたなくなり、幾分長さが短縮し、以後は次第に未熟精巣の外観に近づく。グループMでは長さ3.6mm、幅1.0mm程度のものが多くみられた。

組織学的観察 生殖腺の性分化過程を表2に示す基準によって9段階に区分した。グループ

Table 2. Histological structure of gonads

Stage	Histological structure	Figure*
I	Sexually indifferent gonad. No ovarian cavity. Few germ cells.	1
O ₁	Ovarian cavities develop. Germ cell nests are few.	2
O ₂	Ovarian cavities develop moderately. Germ cell nests occupy the cortex. Some germ cells are in the synaptene stage. No auxocyte.	3
O ₃	Early auxocytes (44 μ)** and germ cell nests are seen.	5
O ₄	A fairly number of auxocytes (66 μ)** are observed. Oogonia and early oocytes are numerously seen in the cortex.	6
O ₅	Ovarian cavities are filled with auxocytes (89 μ)**.	7
O ₆	Ovarian cavities are filled with auxocytes (129 μ)**. Oogonia and early oocytes are few.	10
T ₁	Immigration of rete cells into the gonad is noticeably seen. Seminiferous tubules are developing. Narrow ovarian cavities still present. A few auxocytes are observed in some.	11
T ₂	Seminiferous tubules are developing and lumina are visible in some parts. No ovarian cavity.	12

* See Figure 13 also.

** The values in parentheses show the average diameters of 20 auxocytes observed adjacent to the ovarian cavities.

Aでは生殖腺原基は性的未分化の状態（ステージI）にあり、横断面では間充織細胞と大きく明るい核をもつ生殖細胞（ふつうは1個、多い部分では4、5個）がみられ、生殖細胞は細胞質に卵黄粒を含むものが多い（図1）。グループBでは全例に卵巣の分化がみられたが、その程度にはかなりの変異がある。すなわち、約半数の個体はステージO₁（図2）の状態で、中央部には1層の性索細胞に縁どられた卵巣腔の発生があり、それをとり囲んで1、2層の大きく明るい核をもつ生殖細胞巣がみられる部分もあるが、その数はまだきわめて少ない。残りの約半数はステージO₂（図3）の状態、大きい卵巣腔を囲む皮層部のほとんどは生殖細胞巣

Figs. 1-6. Cross sections of gonads (cf. Table 2). Black lines are scales of 50μ . 1. Stage I; 2. Stage O_1 ; 3. Stage O_2 ; 4. Stage O_2 (an early stage of testiculization); 5. Stage O_3 ; 6. Stage O_4 . Abbreviation: FB fat body, G germ cell, M mesentery, MN mesonephros, OC ovarian cavity, PCV posterior cardinal vein, Y yolk spherules.

によって占められている。生殖細胞の若干は接合期にあるが、肥大卵母細胞の発生はみられない。グループBの少数はステージ O_3 (図5) の状態にあり、卵巣腔に面して若干数の肥大を始めた卵母細胞がみられた。グループCでは過半数が O_2 、若干は O_3 、ごく少数が O_4 (図6)、すなわち、卵巣腔に面する卵母細胞の肥大はかなりいじりしいが、まだ卵巣腔を満たすには至らない状態であった。このように7月から10月にかけて生殖腺の発達はいじりしいが、これは体の急激な成長とはほぼ平行的である。グループD、Eではほとんどの個体がステージ O_2 — O_4 にあったが、Dの1例で卵巣腔が多数の肥大卵母細胞で満たされているステージ O_5 (図7) の分化がみられた。グループF—Iではステージ O_2 — O_5 のものがほとんどであるが、FとG

Figs. 7-12. Cross sections of gonads (cf. Table 2). All photomicrographs at the same magnification. The scale in Fig. 10 denotes 100μ . 7. Stage O_5 ; 8,9 Stage O_5 (Testiculinization is occurring); 10. Stage O_6 ; 11 Stage T_1 ; 12. Stage T_2 .

で1例ずつの、卵母細胞の肥大が一段とめだつステージ O_6 (図10)が観察された。グループE-Gの O_2 , O_3 , およびグループH-Jの O_2 はやがて精巣方向への分化を始める遺伝的雄であろう。水温の低い10月下旬から3月にかけては幼生の成長はめだたないが、生殖腺の発達に関しては、この期間の前半では幾分進行している (特に遺伝的雌と思われる個体で) が、後半では発達は停止状態にあると判断される。

遺伝的雄の生殖腺における精巣的分化の徴候は、グループJで生殖細胞巢に異常核をもつ細

胞の出現として認められた(図4)。グループKではステージO₂, O₃のすべてとO₄の半数で卵巣腔への性索のいちじるしい侵入がみられた。グループLではこれがさらにいちじるしく, 卵巣腔を縁どる細胞は多層化し, 性索は皮層部にも侵入し, 部域によっては細精管原基が形成され, 他方, 肥大卵母細胞の残存もかなりあるという間性的構造がみられた(図8)。性索の侵入はあまりめだたないが, ほとんどの肥大卵母細胞に退化的変化がみられる例も観察された(図9)。グループMでは多くの遺伝的雄の生殖腺はステージT₁(図11)で, 生殖腺の多くの部分は初期細精管原基に占められ, せまい卵巣腔の残存がみられた。グループNでは卵巣腔はみられず, ある細精管原基ではせまい腔の発生も認められるステージT₂(図12)の状態であった。このように遺伝的雄における生殖腺の精巣の分化は4月に始まり, 6月にはほぼ精巣原基としての構造を示すものが多く, 精巣分化は変態的变化の進行とはほぼ平行的に起っているといえる。

生殖腺の発生過程の各ステージの組織構造を模式的に図13に示す。卵巣的構造から精巣への変化は, 半数を上まわる個体ではステージO₂で起り, 残りの個体はステージO₃—O₆に当る各構造から転換を始めた。各グループにみられた生殖腺の発生状態を要約して表3に示す。

Fig. 13. Schematic representation of the process of gonadal development in both sexes (cf. Table 2).

Table 3. Gonadal development in each group

Group	I	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅	O ₆	T ₁	T ₂	Total
A	18									18
B		9	8	3						20
C			10	5	1					16
D			5	3	7	1				16
E			5	3	12					20
F			5	2	2	5	1			15
G			4	1	4	10	1			20
H			7	3	4	3				17
I			9	4	2	2				17
J			12	3	6	2				23
K			6(6)	1(1)	4(2)	4	2			17
L			2(2)	1(1)		1(1)	15(2)	1		20
M						2(2)	11	7		20
N							3		1	4

The numerals in parentheses indicate the numbers of masculinizing specimens.

考 察

両生類の性分化様式に関する性的種族の概念はヨーロッパ大陸の *Rana esculenta* (Hertwig, 1912) および *Rana temporaria* (Witschi, 1929) について提出されたもので、彼らは変態との時間的関連において3つの性的種族を定義したが、Swingle (1926), Hsü ら (1970), Yü ら (1972) もこれを踏襲して、北米産、台湾産のウシガエルの性分化に関して、分化種族、半分化種族、未分化種族がみられると報告している。今回の観察結果によれば、新潟産のウシガエルでは雄の生殖腺が卵巣の構造から精巣に転換するのは時期的には変態の進行と平行的であるから、これはいわゆる半分化種族ということになる。

著者は先に、性分化の様式を変態時期との関連において上記の3型に区分することには、記述上の便利はあっても性分化現象の本質とは関係のうすいことと思われ、また遺伝学的検討を経ることなく安易に「種族」の語を用いるべきではないと主張した (Iwasawa, 1969 a)。これらの点はウシガエルの場合、特に注意を要すると思われる。すなわち、本種の幼生期の長さには変異がいちじるしく、北米の Louisiana では4ヵ月齢で、Iowa や New York では3,4年目に変態する (Willis ら, 1956)。台湾では7月に産れた幼生の73%は9月半ばまでに変態し、ごく少数は10月に入って変態したが、残りは幼生のまま越冬したという (杉田, 1953)。青森県では2回の越冬の後に変態するといわれ (佐藤, 1967), 千葉 (橘川, 1953), 彦根 (小山, 1923, 杉田, 1953), 佐世保 (三川内中学津田教諭私信) では生まれた年の秋に変態するものがある。年内に変態するものと1回以上の越冬を経て変態するものでは、変態時の生殖腺の発生は、一般的には後者においてより進んでいるであろう。同一生殖集団において、或るものが年内に変態し、他が幼生の状態で越冬する場合、変態時における生殖腺の発生状態によって、これらを直ちにそれぞれ別の性的種族とすることは不当であろう。

すでに述べたように、本種は広い地域に分布し、幼生期の長さには同一地方においてもいちじるしい変異のある場合が多い。また変態との関係を離れて、精巢の分化が性的に未分化な生殖腺原基から直接的に起る場合と、さまざまな程度の卵巢構造からの転換によって形成される場合がある。これらのことから、さらに各地域の材料について生殖腺の性分化過程を比較検討すれば、性分化現象の機構解明に何らかの示唆が得られるのではないかと考えられる。

要 約

ウンガエルは新潟では6月に産卵、幼生は越冬して6月に変態するものが多い。生殖腺は初めすべて卵巢方向への分化を示すが、越冬後再び体の成長が始まる4月から、雌では卵母細胞の肥大が進むのに対して、雄では卵巢の構造から精巢への転換が始まり、変態時にはほぼ精巢原基としての構造を示す。このように、新潟産の本種の性分化様式はいわゆる半分化種族のそれに当るが、性分化様式を変態との関連で定義することの生物学的意義には疑問がある。

文 献

- Hertwing, R. 1912. Über den derzeitigen Stand des Sexualitätsproblems nebst eigenen Untersuchungen. Biol. Centr., 32: 65-111.
- Hsü, C. and H. Liang 1970. Sex races of *Rana catesbeiana* in Taiwan. Herpetologica, 26: 214-221.
- Iwasawa, H. 1969a. Variation of the mode of sex differentiation in the treefrog, *Rhacophorus arboreus*. Sci. Rep. Niigata Univ. Ser. D, 6: 141-153.
- Iwasawa, H. 1969b. Gonadal development in young frogs of *Rana ornativentris*, with special reference to sex differentiation and sex ratio. Annot. Zool. Japon., 42: 183-192.
- 小山準二 1923. 琵琶湖畔に於けるブルフロッグの養成成績に就きて. 動物学雑誌, 35: 226-228.
- 佐藤光雄 1967. 青森県動物誌・東奥日報社. 88p.
- 水産庁(橘川) 1953. 食用蛙(前篇)・内水面漁業資料 30. 21p.
- 水産庁(杉田) 1953. 食用蛙・普及パンフレット 6. 8p.
- Swingle, W. W. 1926. The germ cells of anurans. II. An embryological study of sex differentiation in *Rana catesbeiana*. J. Morphol. & Physiol., 41: 441-546.
- Willis, Y. L., D. L. Moyle and T. S. Baskett 1956. Emergence, breeding, hibernation, movement, and transformation of the bullfrog, *Rana catesbeiana*, in Missouri. Copeia, 1956: 30-41.
- Witschi, E. 1929. Studies on sex differentiation and sex determination in amphibians. III. Rudimentary hermaphroditism and Y-chromosome in *Rana temporaria*. J. Exp. Zool., 54: 157-223.
- Witschi, E. 1930. do. IV. The geographical distribution of the sex races of the European grass frog (*Rana temporaria* L.). ibid. 56: 149-165.
- Yü, N., C. Hsü and H. Liang 1972. Effect of thyroid function on sex transformation in frog tadpoles. Gen. Comp. Endocrinol., 19: 536-542.