

(様式第3号)

## 論 文 要 旨

論 文 題 目

**Thesis title:**

### **Physiological Studies on Lunar Reproductive Rhythms in Rabbitfishes**

#### **Abstract**

To clarify the annual reproductive cycle in the golden rabbitfish, *Siganus guttatus* in Okinawan waters, monthly changes in gonadal characteristics were observed histologically. In males, the testicular lobules were occupied exclusively by spermatogonia from November through March. Spermatids and spermatozoa appeared in April and numerically increased in May. In June and July, the testes were densely packed with spermatozoa, and a large number were also observed in the sperm duct. In females, on the other hand, early vitellogenic oocytes first appeared in some ovaries in May and numerically increased in June and July. Many late vitellogenic oocytes and empty follicles were observed in some ovaries in June and July. These results suggest that the reproductive season of *S. guttatus* in Okinawan waters lasts at least for two months from June to July.

Characteristics of the lunar spawning cycle of *S. guttatus* were determined by histological observations of gonads, and immunological measurements of plasma steroid hormones, estradiol ( $E_2$ ), testosterone (T), 11-ketotestosterone (11-KT),  $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP) and  $17\alpha,20\beta,21$ -trihydroxy-4-pregnen-3-one ( $20\beta$ -S), and vitellogenin (VTG, female specific protein). In males, weekly change in GSI showed two peaks corresponding with the new moon in June and July. Histological observations revealed that the testes developed synchronously toward the first lunar quarter in June and July. Weekly changes of plasma T, 11-KT and DHP coincided with those of testicular activity. They reached their peaks one week before spawning, coinciding with the peaks of GSI and testicular development. In females, on the other hand, GSI also showed two peaks during the first lunar quarter in June and July. Yolky oocytes and many empty follicles were observed during the same lunar quarter. Spawning of fish in the tanks also occurred around this lunar phase in both June and July. Plasma steroid hormones,  $E_2$ , T, DHP and  $20\beta$ -S, and VTG levels changed in parallel with GSI and correlated closely with the ovarian activity. These results suggest that *S. guttatus* is a multiple spawner and spawn synchronously around the first lunar quarter during these two months.

Contd...../please see annexure I

氏 名 Md. Saydur Rahman

## Annexure I

The importance of the lunar cycle in steroidogenesis in the gonad of *S. guttatus* was confirmed by *in vitro* production and conversion of steroid hormones in the ovaries during the two lunar phases, the new moon (one week before spawning) and the first lunar quarter (just 'before' spawning). After hormone treatments, germinal vesicle breakdown (GVBD) could be induced only around the first lunar quarter. When intact follicles of oocytes were incubated with human chorionic gonadotropin (hCG), the production of  $E_2$  decreased, whereas DHP increased from the new moon to the first lunar quarter. This result suggests that the ovarian follicles produce  $E_2$  for induction and maintenance of vitellogenesis around the new moon and DHP for induction of final maturation of oocytes around the first lunar quarter, and that the metabolic changes in ovaries occur rapidly according to the lunar cycle.

Hormonal regulation on lunar-synchronized acquisition of testicular development in rabbitfishes, *S. guttatus* and *S. argenteus* were determined by *in vitro* steroidogenesis of testicular preparations, and sperm motility, biochemical compositions in the seminal plasma according to the lunar cycle. When testicular fragments and sperm preparations of *S. guttatus* were incubated with hCG and two precursor steroid hormones, T and  $17\alpha$ -hydroxyprogesterone ( $17\alpha$ -OHP) during the two lunar phases, the production of 11-KT from testicular fragments and DHP from sperm preparations increased at the first lunar quarter (the spawning moon phase). These results suggest that 11-KT is produced in somatic cells of the testis under the influence of gonadotropin, and that sperm can convert  $17\alpha$ -OHP to DHP. In *S. argenteus*, sperm motility occurring in the experimental solution was low one week before the spawning (full moon), peaked on the day of spawning (last lunar quarter), and then decreased after the spawning. A significant increase in pH and decrease in osmolality occurred in the seminal plasma toward the spawning moon phase. The concentration of  $Ca^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  in seminal plasma was also increased around the same moon phase. The administration of hCG or DHP 10 days before the predicted spawning lunar day resulted in increases in sperm motility and seminal plasma pH. Plasma levels of DHP were increased after injection of hCG. These results indicate that gonadotropin and DHP are related to the acquisition of testicular development in the rabbitfishes and that the action of gonadotropin is to stimulate the production of DHP by the testis.

These results suggest that the fundamentals for the acquisition of gonadal development of the rabbitfish have characteristics of marine teleost fishes. It is concluded that in rabbitfishes, cues from the lunar are an important environmental factor to synchronize the reproductive activity during the spawning season. Additionally, the present study may show that the use of lunar cues in the higher portions of the reproductive axis in rabbitfishes.

1973年 8月 20日

琉球大学大学院  
理工学研究科長 殿

論文審査委員

主査 氏名 村井 実 (印)  
副査 氏名 中村 将 (印)  
副査 氏名 斎藤 茂 (印)

学位 (博士) 論文審査及び最終試験の終了報告書

学位 (博士) の申請に対し、学位論文の審査及び最終試験を終了したので、下記のとおり報告します。

記

申請者	専攻名 海洋環境学 氏名 Md. Saydur Rahman 学籍番号 [REDACTED]		
指導教官名	村井 実		
成績評価	学位論文 (合格) 不合格	最終試験 (合格) 不合格	
論文題目	Physiological Studies on Lunar Reproductive Rhythms in Rabbitfishes		
<p>審査要旨 (2000字以内)</p> <p>本論文は、サンゴ礁域に生息する魚類アイゴ属 (Siganidae) 2種の生殖活性と月齢との関連を調べ、アイゴ類の月齢同調産卵の特性を生殖生物学的側面から明らかにすることをめざしている。</p> <p>ゴマアイゴ (<i>Siganus guttatus</i>) の生殖腺の組織学的観察結果から、沖縄近海における本種の産卵は6月から7月の、新月から上弦の月の間に行われ、年2回産卵することが判明した。すなわち、この月齢に向けて生殖腺内の生殖細胞は同調的に発達した。上弦の月後の卵巣内には産卵の指標である排卵後濾胞が認められた。血中ステロイドホルモンを酵素免疫測定法で測定した結果、雄魚の場合は、testosterone (T)、11-ketotestosterone (11-KT) そして <math>17\alpha, 20\beta</math>-dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP) が、雌魚の場合は estradiol-<math>17\beta</math> (<math>E_2</math>)、T、DHP そして <math>17\alpha, 20\beta, 21</math>-trihydroxy-4-pregnen-3-one (<math>20\beta</math>-S)</p>			

## 審査要旨

が、それぞれ生殖腺の発達と同調して変化し、生殖関連のこれらのステロイドホルモンが月齢に伴って変化することが判明した。

ゴマアイゴの卵巣の一部をヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) やステロイドホルモンとともに生体外培養し、月齢変化と卵巣でのステロイドホルモン合成能の関連を明らかにした。卵核胞の崩壊 (Germinal vesicle breakdown, GVBD) に及ぼすホルモンの効果を異なる月相で比較した結果、新月時には GVBD を全く誘導することは出来なかったが、上弦の月では hCG や DHP で GVBD を高い割合で誘導することができた。卵巣片を hCG と共に培養して培養液中のステロイドホルモン量を測定した結果、新月から上弦の月にかけて  $E_2$  産生は減少したのに対し、DHP の産生は増加した。以上の結果は  $E_2$  が卵黄形成に、そして DHP が卵母細胞の最終成熟に重要なホルモンであり、卵を取り囲む濾胞細胞における  $E_2$  から DHP 産生への転換は月齢に従って急激に起こることが示唆された。

月齢に伴う精巣の発達を、精巣画分におけるステロイド産生能の変化、精子運動能の変化そして精しょうの生化学的組成の変化から調べた。ゴマアイゴの精巣片と精子画分をそれぞれ hCG や前駆ステロイドホルモン (T 及び  $17\alpha$ -hydroxyprogesterone ;  $17\alpha$ -OHP) と共に培養した結果、11-KT は T もしくは hCG 存在下において新月時に、そして DHP は  $17\alpha$ -OHP 存在下において上弦の月で高くなった。これらの結果から、11-KT は脳下垂体刺激ホルモンの制御下によって体細胞組織で、そして DHP は精子でそれぞれ前駆ホルモンから転換されているものと考えられ、これらの変化が産卵月齢で急速に起こることが示唆された。

ハナアイゴ (*S. argenteus*) における精子運動活性を NaCl 溶液 (800mOsm/kg) で調べた。精子運動活性は産卵月齢 (満月) 一週間前には低かったが、産卵月齢 (下弦の月) になると急激に増加した。精しょうの浸透圧は産卵月齢で減少したのに対して pH は増加した。精しょうの  $Ca^{2+}$  や  $Mg^{2+}$  濃度は産卵月齢で増加した。これらの結果から、精巣での精子運動能の獲得は産卵月齢前に急速に起こることが判明した。精子運動活性の低い時期 (満月) に hCG や DHP をハナアイゴに注射すると、産卵月齢時期に匹敵する精子運動能と、それに付随する精しょうの組成変化が起こった。hCG 注射はまた、血中 DHP 濃度を高めた。これらの結果から、脳下垂体刺激ホルモンや DHP は精巣発達の最終段階に関係しており、脳下垂体刺激ホルモンの効果は精巣における DHP の産生を介していることが示唆された。

アイゴ類の生殖腺で起っている内分泌学的な機構は他の海産魚類とほぼ同じであることが判明した。アイゴ類の特徴として全ての変化は産卵月齢を中心に同調的に起こることが明らかとなった。さらに、アイゴ類は月からの刺激を生殖軸 (視床下部-脳下垂体-生殖腺) のより高いレベルで感じていることが示唆された。

以上の研究は、月からの刺激が魚類の生殖現象 (特に産卵現象) に及ぼす効果を生殖生物学的視点から明らかにした初めてのものであり、学位論文として十分価値がある。