

結氷期の厚岸湖にて産卵するコマイ及びトウガレイ受精機構の解明

小林寛

はじめに

生物は、それを取り巻く環境と様々な関わりを持っており、それぞれが生態系に一定の役割を果たす。したがって、一種でも生物が絶滅すると、生態系のバランスが大きくくずれ、多様性が失われる。絶滅の理由の1つとして、近年問題視されている地球温暖化による環境の変化による繁殖条件の悪化(片野・森、2005)が挙げられる。実際に年平均気温は上昇傾向にあり(http://www.data.kishou.go.jp/climate/cpdinfo/temp/an_jpn.html)平均気温が1°C上がることで、最大30%の種の絶滅リスクが増大することが示唆されている(IPCC 2007a)。釧路沖では、地球温暖化により過去100年間で水温が2°Cも上昇している(気象庁、2011)。また、それに伴い海面水温も上昇している(http://www.data.kishou.go.jp/kaiyou/shindan/a_1/japan_warm/japan_warm.html)。このように極東亜寒帯域である北海道においても年間平均気温や海面水温の上昇、沿岸の塩分低下などの温暖化の影響が認められ海洋生態系への影響が懸念されている(田所ら 2008)。国内ではスケソウタラやサケなどが温暖化による水温上昇の影響を受け、高水温範囲の南から絶滅していくことが懸念されている(岸 2011)。その原因の1つとして魚類の産卵の多くは、外部環境(水温・塩分など)に大きく影響されることが挙げられる(清水 2006)。魚類の受精の成否は外部環境によって大きく左右され、卵は好適な環境の範囲内でしか正常に発達しない(日暮・田内、1925; 岩井・柏木、1989)。したがって、受精や孵化にとって最適な水質範囲を明らかにすることは、生息環境の水質変化による産卵・孵化への影響を予測することが可能になる。温暖化による高水温の影響は、寒冷地ほど受けやすく、特に厳冬期に産卵する魚種は近い将来、多大な影響を受けることが懸念される。しかしながら、厳冬期に産卵する魚類の受精機構や発生に関する知見は極めて少ない。北海道において厳冬期(水温0°C以下の環境下)に産卵する魚類は厚岸湖に多く生息するコマイ(写真1、陳ら 2005)及びトウガレイ(写真2、南 1995)がいる。興味深いことに、コマイは沈下性卵、トウガレイは浮遊性卵を結氷時に産出する。そこで本研究では結氷期に産卵するコマイ及びトウガレイに焦点を当て、受精させた卵を様々な水温で管理を行い、奇形率や孵化率など卵発生過程を詳細に観察することを目的とした。

材料と方法

供試魚

コマイ（写真 1-a）及びトウガレイ（写真 1-b）の成熟魚は厚岸湖または能取湖にて釣り採集または地元の漁師による厚岸湖内の氷下待網漁にて漁獲された魚を用いた。

実験 1 卵発生過程

コマイ及びトウガレイの受精卵がどのように厳冬期に発生をしているか調べた。実験には、厚岸湖にて 12 月-1 月に捕獲された成熟個体を乾導法にて人工授精させ良質な受精卵を用いた。受精卵は、プラスチックピペットを用いて 25~40 粒とりプラスチックシャーレに分配した。なお、受精卵の管理は、コマイは 2°C、トウガレイは 0°C に設定したインキュベーターで管理した。発生過程に関しては顕微鏡にて毎日観察し、発達段階ごとに撮影した。また、換水は、すべての試験区で 3 日 1 度のペースで、同条件の水を用いて行った。実験はすべての卵が壊死あるいは孵化仔魚の卵黄嚢吸収が完了するまで継続した。

実験 2 水温勾配実験

コマイ及びトウガレイの受精卵にとって最適な水温環境を調べるために以下の実験区を設け、孵化するまで管理し、それぞれふ化率を算出した。

水温実験 (-2°C, -1°C, 0°C, 1°C, 2°C, 3°C, 4°C, 5°C, 6°C, 7°C, 8°C, 9°C)

塩分 33.0 一定 計 12 実験区

なお、実験には 6 穴プレートを用い、1 実験区 6 繰り返しとし、孵化まで 3 日に 1 回換水を行い、死卵は毎日除去した。

統計解析

本研究で実施した全ての統計解析は、統計ソフトウェア R（引用）を用いて行った。

(a) コマイ (*Eleginus gracilis*)



(b) トウガレイ (*Pleuronectes pinnifasciatus*)



写真1. 実験に使用したコマイとトウガレイ

結果・考察

実験 1. 卵発生過程

コマイ：各発生過程における発生時間を調べたところ、受精後 1 細胞期には 5 時間、2 細胞期には 13 時間、4 細胞期には 15 時間、8 細胞期には 23 時間、16 細胞期には 28 時間、32 細胞期には 35 時間、桑実胚期には 38 時間、胞胚期には 54 時間、囊胚期には 120 時間、エピボリ一期には 189 時間、尾芽胚期には 226 時間、体節形成期には 262 時間、心臓形成期には 311 時間、眼黒色素沈着期には 444 時間、レンズ形成期には 554 時間、体黒色素沈着期には 731 時間、前脳形成期には 787 時間、胸鰭形成期には 842 時間、口・尾部形成期には 1051 時間、孵化開始は受精から約 47 日間となる 1138 時間となり、発生段階ごとに撮影を行った（図 1）。先行研究の陳らの結果と発生時間を比較すると、体黒色素沈着期までは近い時間であったが、孵化までの時間は本研究の方が、約 6 日遅いという結果となった。本結果の胸鰭形成期から口・尾部形成期になるまでの時間がかかっていることもあり、再試験が必要であると考えられる。いずれにせよ本結果より、コマイの受精卵は実験 1 より 1 月～2 月に産出されそこから 1 ヶ月から 2 ヶ月の期間において孵化することが推測された。

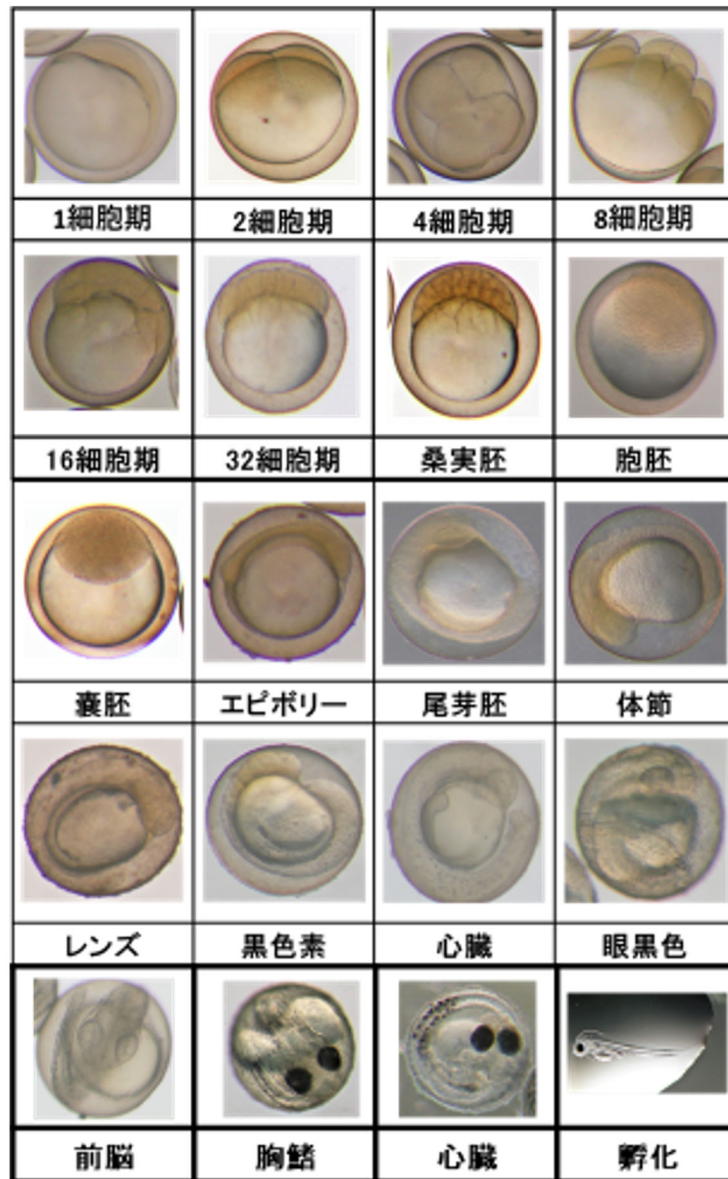
トウガレイ：各発生過程における発生時間を調べたところ、受精後 1 細胞期には 22 時間、2 細胞期から 32 細胞期までは不明、桑実胚期には 45 時間、胞胚期には 100 時間、囊胚期には 155 時間、エピボリ一期には 224 時間、尾芽胚期には 269 時間、体節形成期には 293 時間、心臓形成期には 360 時間、眼黒色素沈着期は不明、レンズ形成期には 412 時間、体黒色素沈着期は不明、前脳形成期から口・尾部形成期までは不明、孵化開始は受精から約 29 日間となる 694 時間となり、発生段階ごとに撮影を行った各発生過程における発生時間と撮影した写真を示した（図 2）。トウガレイの発生時間に関しては、不明点があるため今後再試験が必要である。トウガレイの受精卵の発生は、2°C で観察したコマイの受精卵と比べ孵化までの時間は早かった。実験 1 の結果から、トウガレイの産卵は 12 月-1 月と推測され孵化までの日数が 29 日間となると結氷期真っ最中の厚岸湖にて受精卵は発生を進めていくことが考えられた。また興味深いことにトウガレイの受精卵は分離浮遊卵である。ならば、2 月にかけて分厚くなっていく氷に対してどのようにして卵が氷に巻き込まれないようにしているのだろうか。今後、このような生存戦略を解明するために、結氷期の厚岸湖にて氷下の環境を野外調査し、トウガレイの受精卵が氷に巻き込まれない理由を解明していく。

実験 2 水温勾配実験

コマイ：各温度における受精から孵化までの時間を示した（図 3）。なお、温度ごとに孵化した時間を比較するためにカイ二乗検定を行ったところ有意水準 1% において $p < 0.05$ となった。また、水温と孵化日数の関係を調べたところ水温 -2°C では 1071 時間、水温 -1°C では 1720 時間、水温 0°C では 1630 時間、水温 1°C では 949 時間、水温 2°C では 1138 時間、水温 3°C では 834 時間、水温 4°C では 714 時間、水温 5°C では 675 時間、水温 6°C では 530

時間、水温 7°Cでは 532 時間となり水温 8°C以上では孵化が認められず、相関関係を調べたところ $y = -114.94x + 1266.6$ となり相関係数は 0.6844 となった (図 4)。次に各水温の孵化率を算出したところ、水温 -2°Cでは、水温 -1°Cでは 1720 時間、水温 0°Cでは 1630 時間、水温 1°Cでは 949 時間、水温 2°Cでは 1138 時間、水温 3°Cでは 834 時間、水温 4°Cでは 714 時間、水温 5°Cでは 675 時間、水温 6°Cでは 530 時間、水温 7°Cでは 532 時間となった (図 5)。各水温の孵化率を比較するために、一元配置分散分析を行った結果、有意な差がみられた ($F =$ 、 $P < 0.05$)。Tukey HSD test の結果、0°C-2°Cにおいて高い孵化率であることがわかった (Tukey HSD test、 $p < 0.05$)。




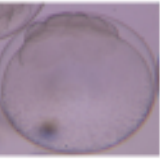
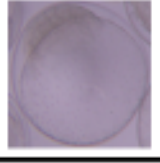
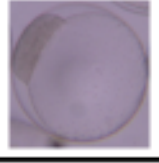
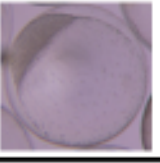




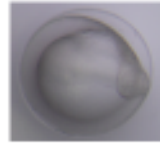

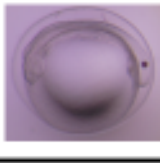

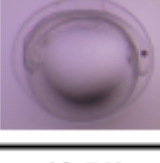
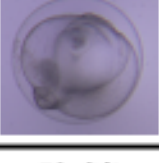


トウガレイ：各発生過程においての発生時間と撮影した写真を示した。次に各温度における受精から孵化までの時間を示した (図 6)。なお、温度ごとに孵化した時間を比較するためにカイ二乗検定を行ったところ有意水準 1%において $p < 0.05$ となった。また、水温と孵化日数の関係を調べたところ水温 -2°Cでは 1071 時間、水温 -1°Cでは 1720 時間、水温 0°Cでは 1630 時間、水温 1°Cでは 949 時間、水温 2°Cでは 1138 時間、水温 3°Cでは 834 時間、水温 4°Cでは 714 時間、水温 5°Cでは 675 時間、水温 6°Cでは 530 時間、水温 7°Cでは 532 時間となり水温 8°C以上では孵化が認められず、相関関係を調べたところ $y = -114.94x + 1266.6$ となり相関係数は 0.6844 となった (図 7)。次に各水温の孵化率を算出したところ、水温 -2°Cでは 1071 時間、水温 -1°Cでは 1720 時間、水温 0°Cでは 1630 時間、水温 1°Cでは 949 時間、水温 2°Cでは 1138 時間、水温 3°Cでは 834 時間、水温 4°Cでは 714 時間、水温 5°Cでは 675 時間、水温 6°Cでは 530 時間、水温 7°Cでは 532 時間となった (図 8)。各水温の孵化率を比較するために、一元配置分散分析を行った結果、有意な差がみられた ($F =$ 、 $p < 0.05$)。Tukey HSD test の結果、0°C-2°Cにおいて高い孵化率であることがわかった (Tukey HSD test、 $p < 0.05$)。



— 0.5mm

図1. コマイ発生過程

各発生段階の名称と撮影された写真を示している。

			
1細胞期	2細胞期	4細胞期	8細胞期
			
16細胞期	32細胞期	桑実胚	胞胚
			
囊胚	エピソード	尾芽胚	体節
			
心臓		レンズ	体黒色
			
前脳	胸鰭	口・尾部形成	孵化

— 0.5mm

図2. トウガレイ発生過程

各発生段階の名称と撮影された写真を示している。

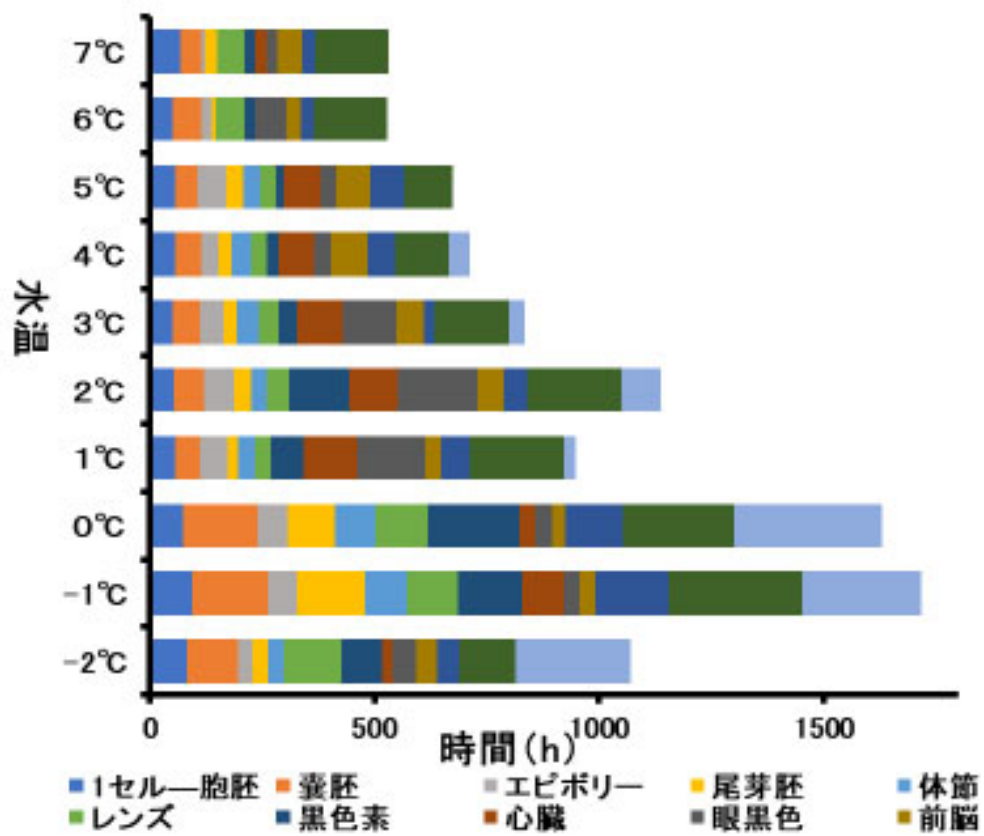


図3. コマイの各温度における受精から孵化までの時間
横軸は時間 (h)、縦軸は水温 (°C) を表している。

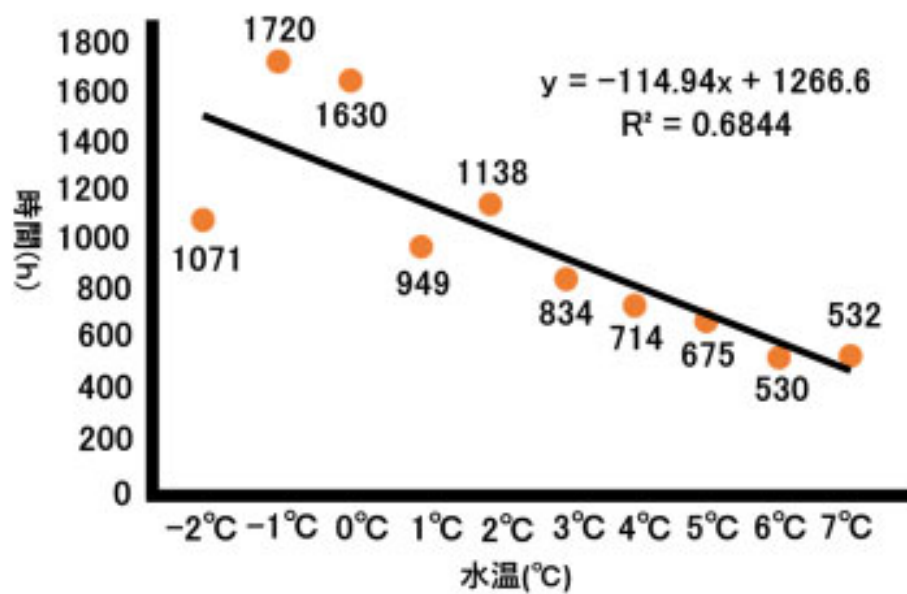


図4. コマイの各温度における受精から孵化までの時間
横軸は水温 (°C)、縦軸は時間 (h) を表している。

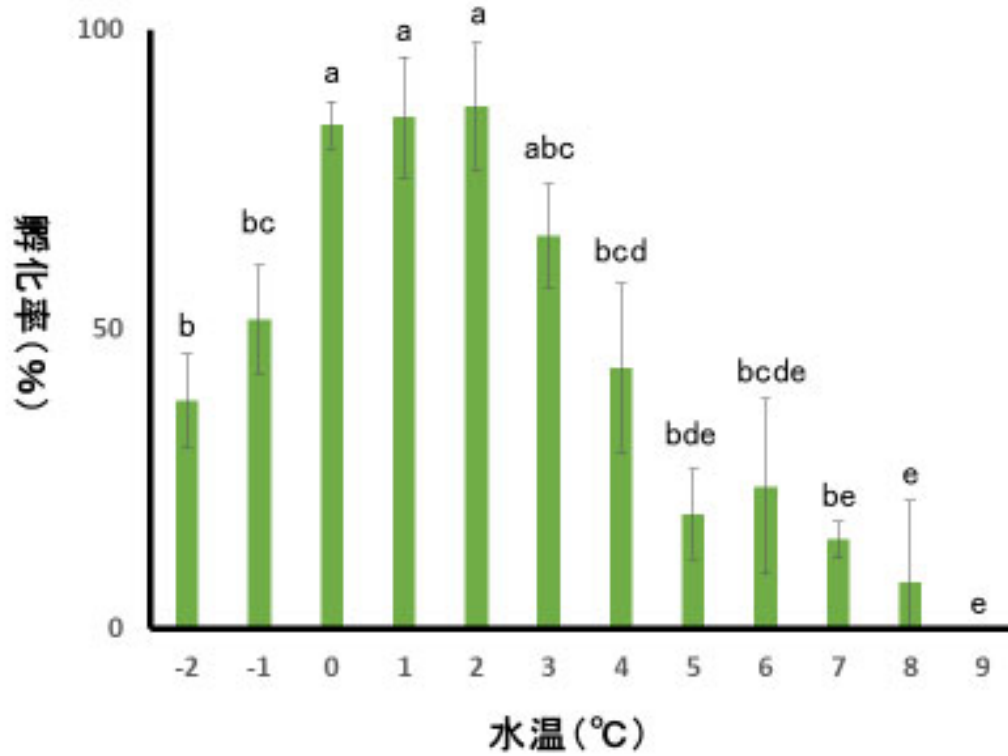


図5. コマイの各温度における孵化率

横軸は水温 (°C)、縦軸は孵化率 (%) を表している。

アルファベットは多重比較の結果、有意に異なるグループであったことを示している。

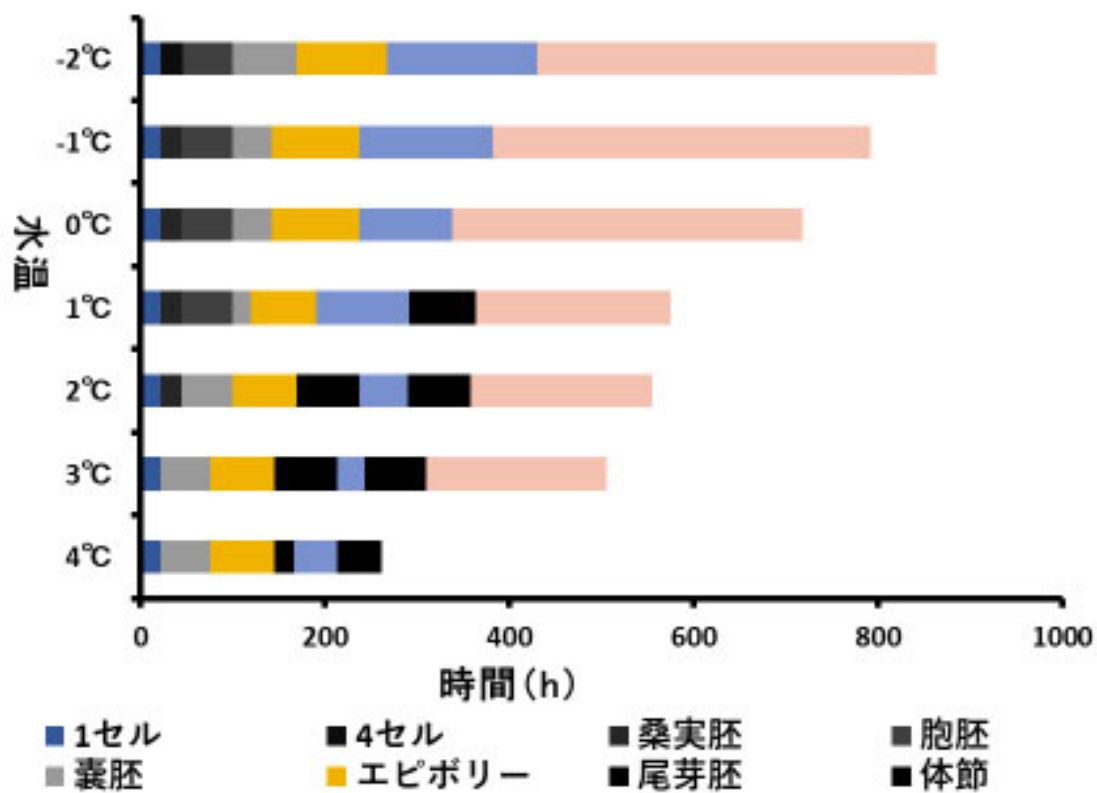


図6. トウガレイの各温度における受精から孵化までの時間
横軸は時間 (h)、縦軸は水温 (°C) を表している。

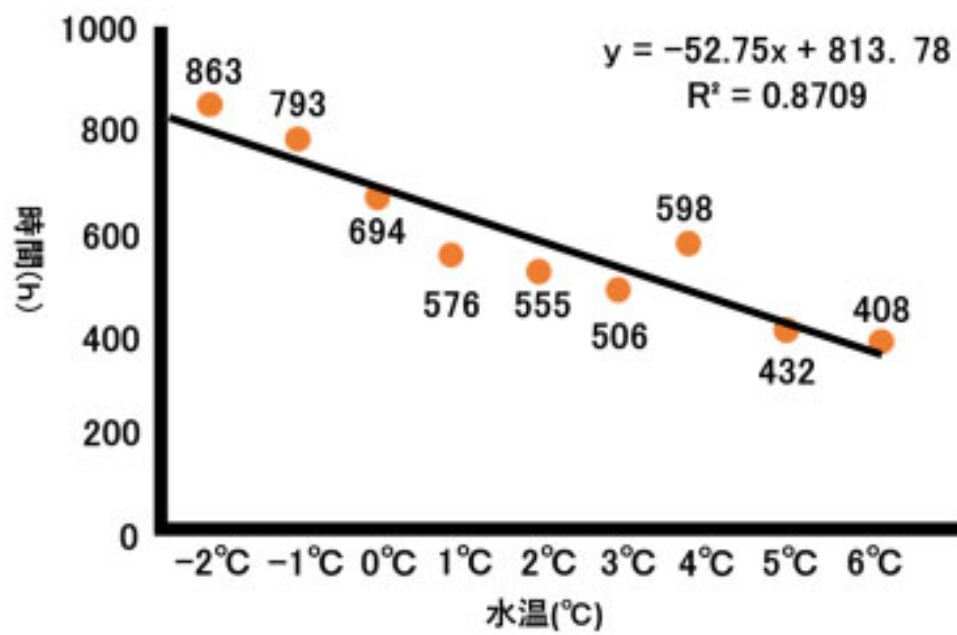


図7. トウガレイの各温度における受精から孵化までの時間
横軸は水温(°C)、縦軸は時間(h)を表している。

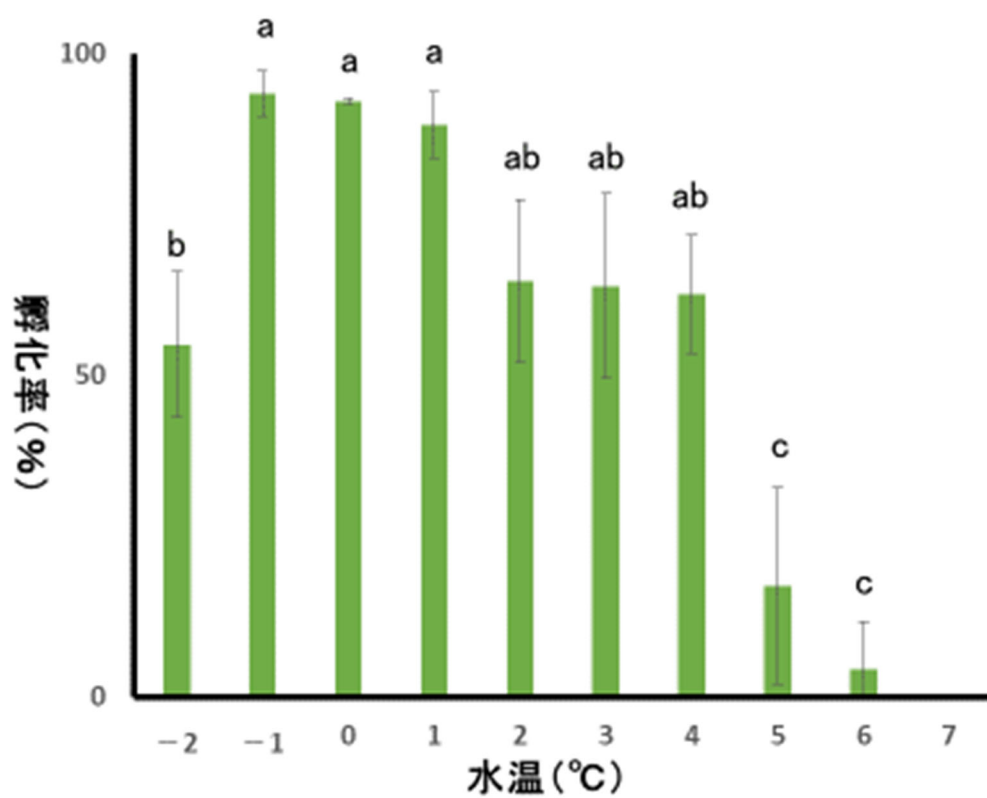


図8. トウガレイの各温度における孵化率
 横軸は水温 (°C)、縦軸は孵化率 (%) を表している。
 アルファベットは多重比較の結果、有意に異なる
 グループであったことを示している。

まとめ

様々な水温・塩分環境下における卵発生過程を観察することを目的とした。その結果、水温勾配実験に関しては、コマイでは水温 -2°C ~ 7°C の間で孵化がみられ 8°C 以上では孵化しなかった。このことから高水温環境下では発生が進行しないことがわかった。また、観察から水温 5°C 以上、水温 -2°C には孵化が認められているが、奇形仔魚も多かったことから最適孵化水温は 0°C から 4°C であるといえる。トウガレイでは水温 -2°C ~ 6°C の間で孵化がみられ 7°C 以上では孵化しなかった。このことからコマイと同様に高水温環境下では発生が進行しないことがわかった。また、観察から水温 4°C 以上には孵化が認められているが、奇形仔魚も多かったことから最適孵化水温は -2°C から 3°C であるといえ、コマイ以上に低水温を好むことが考えられた。本研究において、コマイ及びトウガレイにとって低水温は非常に重要な環境要因の1つであることが解明された。しかし結氷との深い関係性はまだ解明できていない。今後さらなる研究を重ね、たった 1°C の水温上昇が生物にとってどれだけ大きな悪影響をもたらすか早急に解明していきたい。

謝辞

本研究の一部は、令和4年度厚岸湖・別寒辺牛湿原学術研究奨励補助金を受け行いました。情報等をご教示いただいた厚岸水鳥観察館の澁谷様に御礼申し上げます。本研究のトウガレイ・コマイを活でご提供していただいた厚岸漁協協同組合木下辰吉様、林様に御礼申し上げます。また、研究にご協力していただいた東京農業大学オホーツクキャンパスの中川至純教授、卒業生の小川晃寛様、政木凜太郎様、旭川医科大学の春見達郎助手、金沢大学能登海洋水産センターの永見 新様、中出 雅大様、小林昇一様、坂井 一博様、美幌博物館の町田善康様にこの場を借りて御礼申し上げます。

引用文献

- 陳二郎・吉田英雄・桜井泰憲.(2008) 水槽内で観察されたコマイの産卵行動
北水試研報 73, 35-44.
- 陳二郎・吉田英雄・桜井泰憲.(2018) コマイ卵および仔魚の正常発生過程. 北水試研報 93,
59-67.
- 陳二郎・吉田英雄・桜井泰憲.(2018) 水温・塩分濃度の変化がコマイ卵の後期卵発生過程と
ふ化に及ぼす影響 北水試研報 93, 69-79.
- 日暮忠・田内森三郎. (1925) 魚卵の孵化日数と温度との関係. 水産講習所試験報告, 21, 11-
16.
- 岩井寿夫・柏木正章. (1989) 発生と孵化管理. pp195-237, 隆島史夫・羽生功 (編), 水族
繁殖学, 緑書房, 東京.
- 片野 修・森 誠一.(2005)希少淡水魚の分布と生態. 片野 修・森 誠一 (編), pp.1-10.
希少淡水魚の 現在と未来：積極的保全のシナリオ.信山社, 東京.
- 環境省レッドリストカテゴリー.(2007)
環境省レッドリストカテゴリーと判定基
準.http://www.env.go.jp/press/file_view.php?serial=20545&hou_id=15619
- 環境省:海面水温の長期変化傾向.(北海道周辺・日本東方海域)
http://www.data.kishou.go.jp/kaiyou/shindan/e_1/hakodate_warm/hakodate_warm.html
- 気候変動 2007：総合報告書.
http://www.env.go.jp/earth/ipcc/4th/syr_spm.pdf
- 岸道朗.(2011) 地球温暖化による海洋生態系の変化. Memoirs of the Faculty of Fisheries
Sciences,53(2),27-37.
- 南 卓志 (1995) 北海道沿岸におけるカレイ亜科魚類の産卵期について (総説) 北水試研報
59, 69-80.
- 清水昭男. (2006) 魚類の生殖周期と水温等環境条件との関係. Bulletin of Fisheries Research
Agency. Supplement,4,1-12
- 田所和明・杉本隆成・岸道朗.(2008) 海洋生態系に関する地球温暖化の影響. 海の研究
(Oceangraphy in Japan) ,17(6),404-420.