

海生研リーフレットNo. 8

マダイ卵の高温耐性



平成5年3月

財団法人 海洋生物環境研究所

マダイ卵の高温耐性

目 次

はじめに.....	2
試験材料.....	2
試験方法.....	3
試験結果.....	5
考 察.....	9
おわりに.....	11
参考文献.....	13

はじめに

海産生物の卵の温度耐性については、受精卵を孵化まで一定温度で保持し、孵化可能な温度範囲あるいは孵化時間などを明らかにした報告例は多い。しかし、比較的短時間の温度変化がその後の卵発生に及ぼす影響について検討した例は少ない。産出された卵は、受精後、時間の経過とともに2細胞、4細胞と細胞の数を増し、やがて形態形成を経て全体として統一のとれた個体として孵化する。このようにダイナミックな変化が形態的にも、また生理的にも進行している発生過程においては、高温に対する耐性も大きく変化すると推察される。そこで、マダイ卵を供試材料として、卵の高温耐性を発生段階別に検討してみた（木下・道津、1989）。

試験材料

マダイは、北海道の東部と北部を除く日本各地に広く分布し、良く知られているように、古くから代表的重要魚種となっている。産卵期は春季で、水温が14~15°C前後に上昇した時期に始まり、21~23°Cで終了する。本州中部付近の産卵期は4~6月である。この時期にマダイは陸上の親魚水槽内ではほぼ毎日夕方に放卵・放精することが知られている。マダイの正常な受精卵は水面に浮遊するため、これをたも網などで直接すくいとるか、飼育水の表層水をたも網などを通して排出する方法で回収することができる。本試験で用いたマダイ卵は、産卵直後の卵を入手する必要があることから、蓄養池におけるマダイの産卵行動を確認後、すみやかにたも網で卵を集めることにした。採卵後、濾過海水で洗卵し、20°Cに設定した恒温水槽内に浮遊卵のみを収容した。採卵時の水温は18.5~21.5°Cの範囲にあった。

第1図にマダイ卵の発生経過を示した。受精卵の直径は約0.9mmで卵割期、胞胚期、囊胚期を経て胚体が形成され、やがて心臓などの器官も認められるようになり、孵化に至る。孵化仔魚の全長は約2mmである。水温20°Cの場合、受精からおよそ30時間で孵化する。

試験方法

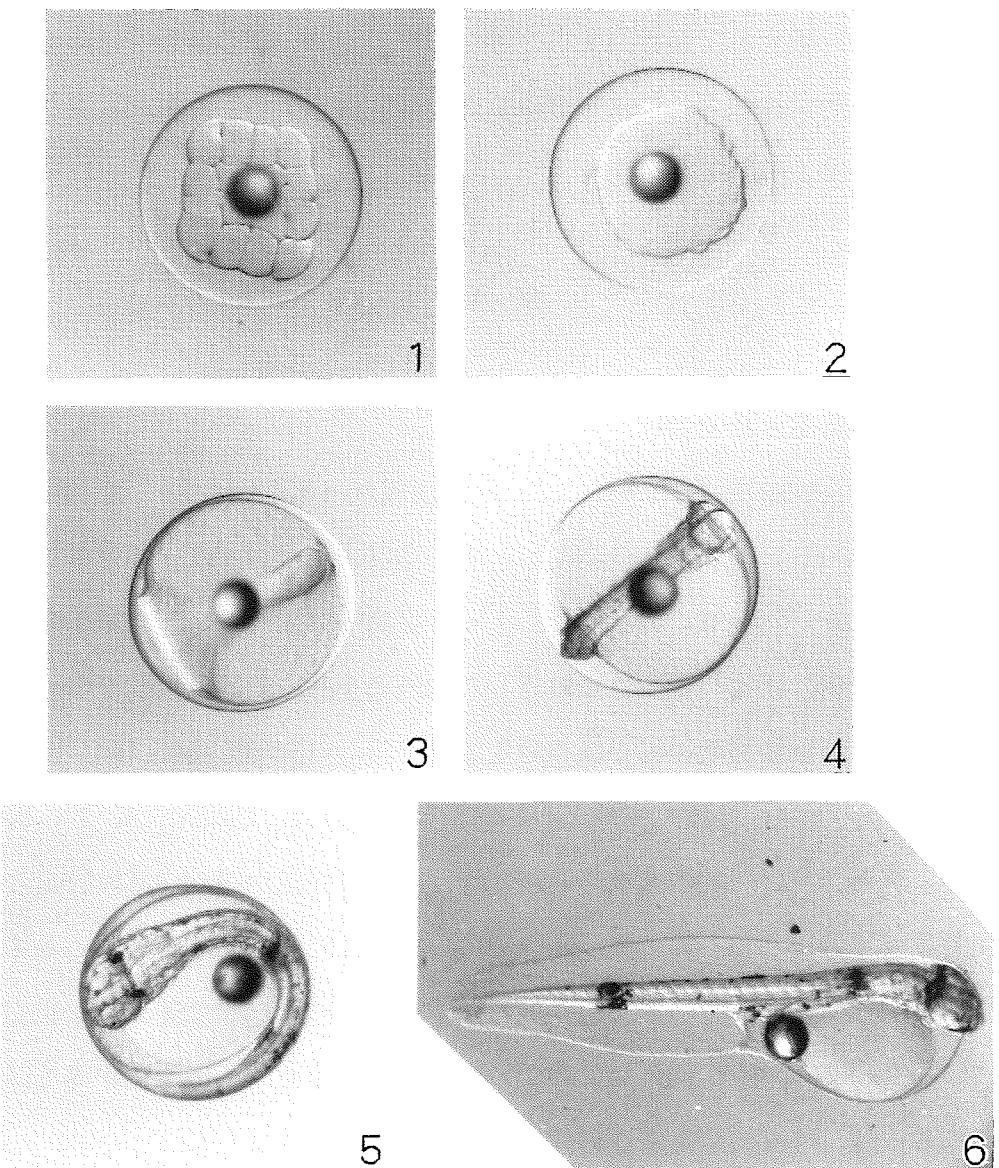
高温接触時間と高温耐性

まず、16細胞期（第1図-1）、胚体出現期（第1図-3）、心拍開始期（第1図-4～5）の3発生段階について、高温に接触させた時間と孵化率との関係を調べた。25～38°Cの範囲で、1～2°C間隔に温度設定した濾過海水の入った試験管内に所定の発生段階に達した供試卵を移し、高温接触を開始した。接触時間は、16細胞期の場合は各設定温度で7.5, 15, 30, 60, 180, 360, 720, 1,440分の8区、胚体出現期と心拍開始期の場合は、同様に7.5, 15, 30, 60分の4区とした。所定の接触時間終了後、20°Cの恒温水槽内へ試験管ごと戻し、孵化まで静置した。この間、試験管内の白濁沈降卵は隨時死亡卵として数え、取り除いた。すべての卵が孵化あるいは死亡（白濁）した時点で、正常孵化個体、奇形個体、死亡個体別に数え、孵化率、奇形率、正常孵化率等を算出した。ここでは、外見的に正常な孵化個体を正常孵化個体とした。

ずっと20°Cの恒温水槽内に保った卵についても同様な移動操作を行い、これを対照区とした。

発生に伴う高温耐性の変化

次いで、発生に伴う高温耐性の変化を詳しく知るため、2～4細胞期から孵化直前までの12または19発生段階について高温接触を行った。接触時間は15分



第1図 マダイ卵の発生 (水温20°C)

1. 16細胞期 (卵径約0.9mm, 受精後約2時間)
2. 胞胚期 (受精後約5時間)
3. 胚体出現期 (受精後約12時間)
4. 卵黄から尾端の分離開始 (受精後約24時間)
5. 孵化直前 (受精後約30時間)
6. 孵化仔魚 (全長約2mm, 受精後約40時間)

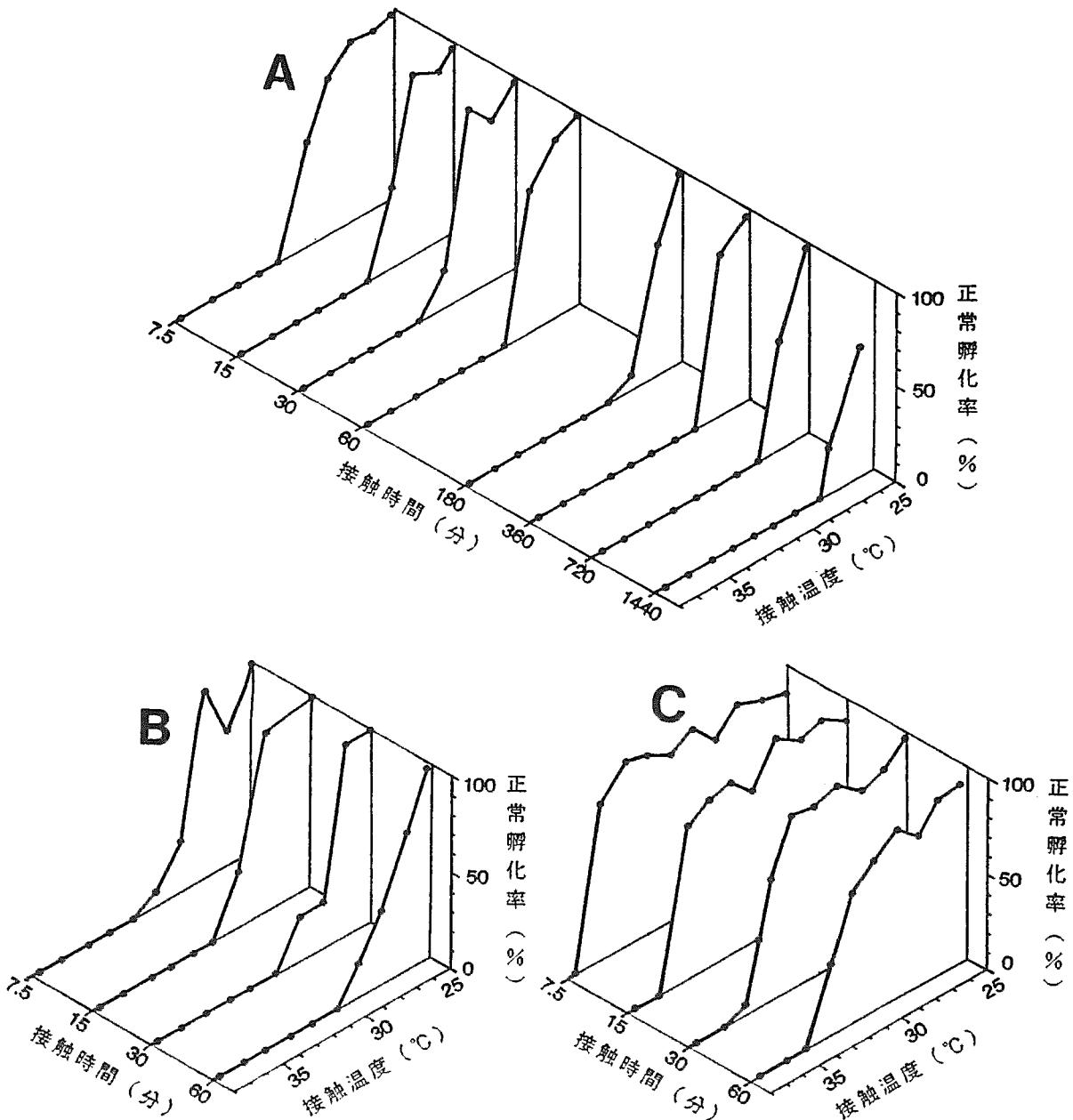
間のみとし、接触温度としては25~37°Cの範囲に11区を設けた。接触終了後、試験管ごと20°Cの恒温水槽内に戻して孵化まで静置し、前述と同様の方法で正常孵化率等を算出した。この試験は2回に分けて行った。第1回試験では、2~4時間間隔で孵化までに12発生段階について高温接触を行った。第2回試験では、温度耐性が大きく変化すると推定された時期は1時間間隔で、その他の時期にはおよそ2時間間隔で、合計19発生段階について高温接触を実施した。

試験結果

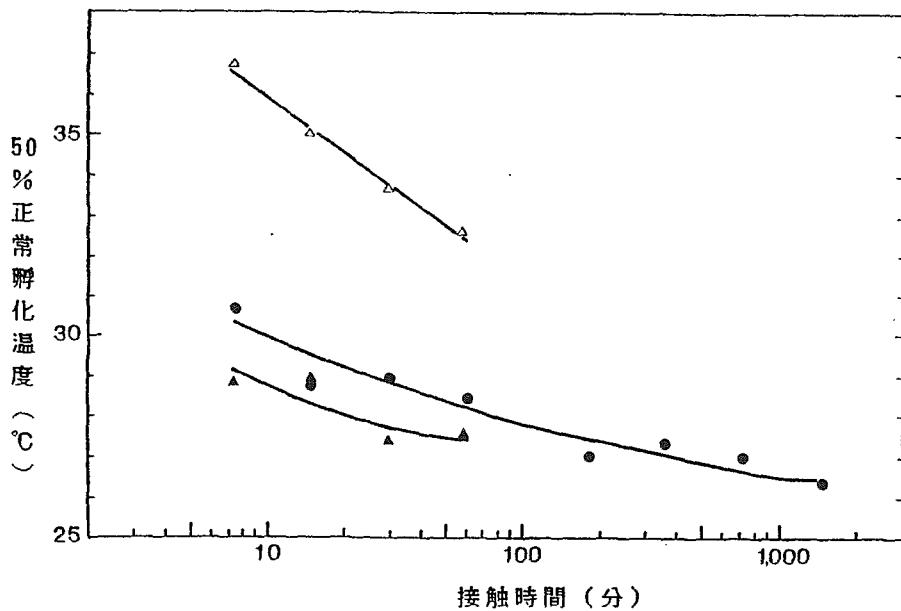
高温接触時間と高温耐性

第2図に、16細胞期、胚体出現期および心拍開始期について求めた接触時間、接触温度と正常孵化率との関係を示した。正常孵化率は接触温度の低い試験区や接触時間の短い試験区で高い値を示し、ある温度を越えると2~4°Cという比較的狭い温度範囲で急激に低下した。このグラフから各接触時間ごとに正常孵化率が50%を示す温度を求めて50%正常孵化温度と呼び、以下この値を用いて検討することにした。この50%正常孵化温度は奇形個体を全て死亡個体のなかに含めた場合の半数致死温度に相当する。第3図にはこのようにして求めた50%正常孵化温度と接触時間との関係を示した。

16細胞期の50%正常孵化温度は、7.5分接触区で30.6°C、180~1,440分接触区では27.3~26.4°Cと接触時間が長くなると低下し、26°C付近に近づく傾向を示した。胚体出現期の50%正常孵化温度は、7.5分および15分接触区では28.8°C、60分接触区では27.6°Cで、16細胞期の場合よりやや低い値を示した。心拍開始期の50%正常孵化温度は、7.5分接触区で36.7°Cと高かったが、60分接触区で32.6°Cと接触時間が長くなると急激に低下した。しかし、心拍開始期の50%正常孵化温度は、16細胞期、胚体出現期と比較すると4~8°C高く、これら3発



第2図 各発生段階における接觸時間、接觸温度、正常孵化率の関係
A. 16細胞期、B. 胚体出現期、C. 心拍開始期



第3図 各発生段階における接觸時間と50%正常孵化温度との関係
 ●：16細胞期，▲：胚体出現期，△：心拍開始期

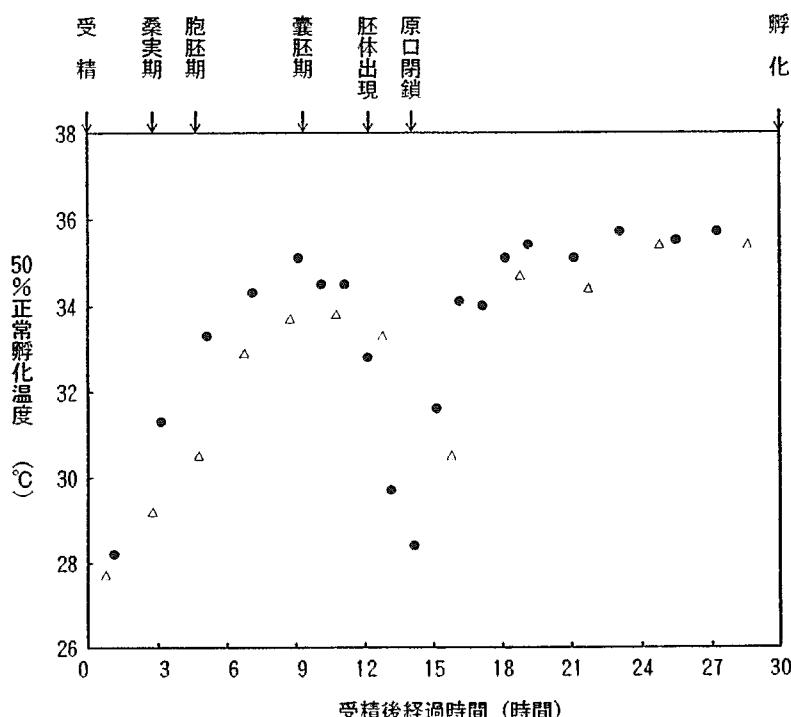
生段階の中では高温耐性が最も大きかった。対照区の正常孵化率は、いずれの発生段階においても85%以上であった。

発生に伴う高温耐性の変化

第4図に接觸時間が15分の場合の発生段階別に算出した50%正常孵化温度を示した。第1回試験では、50%正常孵化温度の低い時期は、受精後1時間前後と約16時間の2回みられた。そこで第2回試験では受精後15時間前後を中心として高温接觸を行う発生段階数をふやしたところ、受精後13~15時間で50%正常孵化温度が受精後1時間と同レベルまで低下した。従って、50%正常孵化温度が低い時期は、受精後1時間前後と受精後13~15時間といえよう。なお、対

照区の正常孵化率は、第1回試験では2細胞期で74.3%とやや低かったが、その他の発生段階ではいずれも88%以上、第2回試験では、いずれの発生段階においても95%以上であり、移動操作に起因する孵化率の低下はないと判断された。一方、受精後8～10時間と18時間以降孵化までの50%正常孵化温度は比較的高かった。この時期の2回の試験結果を比較すると第1回試験の方が約1°C低い値を示した。これは、第1回試験の対照区の正常孵化率がやや低かったことにあらわれているような卵質の差によるものかもしれない。

50%正常孵化温度が低い受精後1時間前後と受精後13～15時間の発生段階に対応させると、2～4細胞期および胚体出現期から原口閉鎖までに相当し、その値はおよそ28°Cであった。胞胚期から嚢胚期、また、原口閉鎖以後孵化直前までの50%正常孵化温度は高く、約35°Cであった。



第4図 受精後経過時間と15分間高温接触時の50%正常孵化温度との関係
△：第1回試験，●：第2回試験

考　　察

マダイ卵の発生に及ぼす水温影響の研究例としては、発生適温、発生速度に関連した報告が多い。例えば、Apostolopoulos (1976) はマダイ卵の孵化に及ぼす水温と塩分の影響を調べ、塩分17~34‰、水温19~25°Cで孵化率が80%以上を示すとしている。また、発生速度は、水温によって著しく異なり、水温14°Cでは孵化までに要する時間は約90時間、24°Cでは25時間前後であるとされている（落合・田中, 1980）。しかし、高温耐性を接触時間と発生段階との関係で明らかにした例はみあたらない。

本試験の結果から、マダイ卵の50%正常孵化温度は、16細胞期、胚体出現期、心拍開始期とともに、高温接触時間が長くなると低下し、50%正常孵化温度は高温接触時間に依存することが知られた。16細胞期に高温接触を開始した場合、接触時間が長くなると50%正常孵化温度は26°C前後に近づく傾向が認められた。このことから受精後間もない卵を一定温度で長時間静置した場合、この供試卵の半数が正常に孵化する上限温度は26°C付近にあると推定された。心拍開始期卵の50%正常孵化温度を、16細胞期および胚体出現期のそれと比較すると、接触時間7.5~60分の範囲で、いずれも心拍開始期の50%正常孵化温度が4~8°C高い。従って、高温接触時間が7.5~60分では心拍開始期の方が他の2発生段階と比較すると高温に強いことが明らかである。

発生段階別の高温耐性の変化についてより詳細にみるため、接触時間を15分間として検討した結果、50%正常孵化温度は発生に伴って大きく変化し、50%正常孵化温度は発生段階によって28~35°Cと約7°Cの差が認められた。50%正常孵化温度が低い時期は2~4細胞期および胚体出現期から原口閉鎖までであった。これらの発生段階は、言い換えると高温に対する感受性が高い発生段階といえよう。また逆に、高温感受性が低い発生段階は、胞胚期から囊胚期まで

と、原口閉鎖後から孵化までとなる。すなわち、マダイの場合の高温に対する感受性は発生段階によって大きく変化し、高温に対する感受性が高い時期は産卵直後の数時間および胚体出現から原口閉鎖にかけての数時間であるといえよう。

卵割期および胚体出現期から原口閉鎖にかけて高温に対する感受性が高いことは、淡水魚のコイ (Frank, 1974) で指摘されていたが、マダイについても同様の傾向があることが明らかになった。海産魚ではマダイ以外にスズキ(木下・道津, 1989), シロギス (Oozeki and Hirano, 1985), ヒラメ (柏木ら, 1992) などにおいても発生段階によって高温耐性が変化する現象が認められ、いずれも「卵割期」および「胚体出現期から原口閉鎖」にかけて高温に対する感受性が他の発生段階より高い傾向が認められている。

また、発生段階による高温耐性の差異についてシロギスを用いての詳細な検討の結果 (Oozeki and Hirano, 1985), 卵割期では短時間の高温接触を受けると、割球の大きさが不揃いであるなどの異常卵割がみられることから卵割が阻害されやすいこと、また、胚体出現期から原口閉鎖にかけては、囊胚形成速度の不均一から細胞結合がこわれること、などが高温障害として指摘されている。しかし、これらの異常発生を引き起こすメカニズムにはまだ不明な点が多い。

お わ り に

この研究は、温排水による昇温が海生生物に及ぼす影響を検討するための基礎的知見を得ることを目的に実施されたものである。

すでに述べたように、20°Cを産卵水温とした場合のマダイ卵に及ぼす高温の影響をまとめると、50%正常孵化温度は高温接触時間と発生段階によって異なり、接触時間が長いほど50%正常孵化温度が低下すること、また、「卵割期」および「胚体出現期から原口閉鎖」の50%正常孵化温度は他の発生段階より低く、これら両発生段階の高温に対する感受性が他の発生段階より高い傾向が認められた。

ここで述べた50%正常孵化温度は供試個体の半数が正常に孵化する温度をグラフ上から読み取ったものである。発電所の取放水による昇温がマダイ卵に及ぼす影響について考察する際には、マダイ卵に何ら影響を及ぼさないと考えられる上限温度を推定する必要がある。岡村（1990）は、クロアワビの卵と浮遊幼生の高温接触試験結果を詳細に検討し、対照区と生残率に差異が認められない温度は50%正常生残温度から2°Cを引いた温度で、この温度を“許容温度”としている。そこでマダイ卵で得られた50%正常孵化温度に、この-2°Cの補正值を適用し、“許容温度”を求め、発電所の冷却水路系内にマダイ卵が取り込まれた場合の昇温影響について考察すると、次のようになろう。

環境水温20°C、高温接触時間を15分と仮定すると、マダイ卵の50%正常孵化温度から求めた許容温度は、「胞胚期から囊胚期」と「原口閉鎖後孵化直前」では約33°C、「卵割期」と「胚体出現期から原口閉鎖」では約26°Cである。すなわち、マダイ卵の場合、許容温度と基準水温との差温 ΔT は6~13°Cの範囲にある。現行の発電所の冷却水の昇温幅 ΔT は7°Cであることから、これよりわずかながら低い値となる「卵割期」と「胚体出現期から原口閉鎖」の両発生段階に

については昇温影響について留意が必要となる可能性があるが、その他の発生段階では、昇温が孵化等に悪影響を及ぼす可能性は低いものといえよう。

このように、卵の高温耐性は、接触時間によって異なるのはもとより、その発生段階によっても大きく変化することから、発電所の冷却水路系内へ取り込まれた場合の昇温影響あるいは温排水の放水域内における卵の温度影響を明らかにするためには、これらの点を十分考慮して検討する必要があろう。

なお、本研究では孵化直後の仔魚の外部形態から正常個体と異常個体を識別したが、正常と判断された個体のその後の発育経過を明らかにすることも今後の重要な検討課題の一つといえよう。

受精卵の温度耐性に関する以上のような知見は、温排水による昇温影響を検討するための基礎的知見となるばかりでなく、種苗生産の現場などで受精卵の温度管理を行う際にも有用であろう。

参考文献

- Apostolopoulos, J.S.(1976). Combined effects of temperature and salinity of the hatching rate, hatching time and total body length of the newly hatched larvae of the Japanese red sea bream *Pagrus major*. *La mer*, 14(1):23-30.
- Frank, M.L.(1974). Relative sensitivity of different developmental stages of carp eggs to thermal shock. pp. 171-176. In : Gibbons, J.W. and R.R. Sharitz(eds.). *Thermal ecology*. Technical Information Center, U.S. Atomic Energy Commission.
- 柏木正章・鄧 亜光・岩井寿夫 (1992). ヒラメ, *Paralichthys olivaceus*卵の発生に伴う高温耐性の変化. 水産増殖, 40 (1) : 1-5.
- 木下秀明・道津光生 (1989). マダイ卵の高温耐性. 水産増殖, 37 (1) : 15-20.
- 木下秀明・道津光生 (1989). スズキ卵の高温耐性. 水産増殖, 37 (1) : 21-26.
- 落合明・田中克 (1980). 魚類学 (下). 恒星社厚生閣.
- 岡村武志 (1990). クロアワビの卵および浮遊幼生の高温耐性. 海洋生物環境研究所研究報告. No.90201 : 1-38.
- Oozeki, Y. and R. Hirano(1985). Effects of temperature changes on the development of eggs of the Japanese whiting *Sillago japonica* Temminck et Schlegel. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51(4): 557-572.



事務局 〒101 東京都千代田区内神田1-18-12 北原ビル ☎(03)3233-4173
中央研究所 〒299-51 千葉県夷隅郡御宿町岩和田300番地 ☎(0470)68-5111
実証試験場 〒945-03 新潟県柏崎市荒浜4-7-17 ☎(0257)24-8300