海生研研報,第25号,53-59,2020 Rep. Mar. Ecol. Res. Inst., No. 25,53-59,2020

短 報

ヒゲソリダイの卵発生

塩野谷 勝*§·吉川貴志*

Embryonic Development of Short Barbeled Velvetchin Hapalogenys nigripinnis

Masaru Shionoya*§ and Takashi Kikkawa*

要約:飼育下の自然産卵により得たヒゲソリダイの受精卵について25 $^{\circ}$ で、卵発生(胚発生)過程を観察、写真撮影した。卵割を開始した胚は、受精後3時間で胞胚期、5時間30分でのう胚期、9時間で胚体期に達し、20時間30分でふ化を開始した。また、25 $^{\circ}$ で受精した卵を用いた24 $^{\circ}$ 34 $^{\circ}$ での実験により、卵は27 $^{\circ}$ C以上では正常にふ化できないことが明らかとなった。

キーワード: ヒゲソリダイ, 卵, 胚, 発生, ふ化上限温度

Abstract: Fertilized eggs of barbeled velvetchin, *Hapalogenys nigripinnis*, obtained through the natural spawning in a rearing tank were incubated at 25 °C water temperature, and the embryonic development was recorded until hatching out. Embryos that had started cleavage have reached blastula stage at three hours after fertilization, the gastrula stage at five hours and 30 minutes, the embryo stage at nine hours, and hatched out in 20 hours and 30 minutes. The thermal tolerance maximum for their hatching success were also examined. The result suggested that the embryos might not hatch normally above 27 °C.

Key words: Hapalogenys nigripinnis, egg, embryonic development, hatching temperature

まえがき

ヒゲソリダイHapalogenys nigripinnis(流通名の例:かやかり)は、わが国では青森県から熊本県の日本海・東シナ海沿岸、茨城県から九州南岸の太平洋沿岸、瀬戸内海、東シナ海大陸棚域に分布するイサキ科魚である(土居内、2018)。公益財団法人海洋生物環境研究所では、小型水槽を用いた本種の種苗生産に成功している(喜田ら、未発表)。しかし、本種の詳細な卵発生(胚発生)や温度耐性等の知見については、これまでに報告例がない。本稿では、自然産卵によって得た受精卵についてふ化までの胚発生過程を観察し、またふ化可能な高温側水温限界を実験的に求めることにより、本種の種苗生産および発電所温排水等による高水温影響の評価に資することを目的とした。

材料と方法

胚発生の観察 公益財団法人海洋生物環境研究所の実証試験場で屋外飼養しているヒゲソリダイ天然魚 (新潟県柏崎産)を親魚とし,雄3個体のほか,雌雄不明13個体を混合し、2019年6月17日にFRP製10トン容円形水槽に収容した。この水槽の外部には、排出された表層水を受ける水槽(250L容)が付帯しており、この受水槽にネット(テトロンPET32GG、目合い0.6mm)を設置することで、排水とともに水槽内の卵を回収できる構造となっている。飼育水には、砂ろ過した自然海水(ろ過海水)を用い、換水率0.5回転/時の流水式で、水温は26℃を超えないよう調節した。日長は自然日長で、餌は1日2回、午前(9:30前後)にモイストペレットを、午後(13:30前後)に冷凍アミをそれ

⁽²⁰¹⁹年11月6日受付, 2019年12月13日受理)

^{*} 公益財団法人海洋生物環境研究所 実証試験場(〒945-0017 新潟県柏崎市荒浜四丁目7番17号)

[§] E-mail: shionoya@kaiseiken.or.jp

ぞれ与えた。

2019年10月7日の16:00より、30分ごとに受水槽 内の卵の有無を観察し、17:00に卵を確認した。 この時刻を「受精時刻」とした。受水槽から5L 容プラスチック製手付きカップを用いて, 飼育水 とともに卵を回収して,実験室内に静置した。回 収した卵のうち、手付きカップ内の飼育水表面に 浮上していた卵を, 胚発生の観察に用いた。なお, この卵群の浮上卵率,胚体期における正常発生率, および正常ふ化率は受精翌日の観察でそれぞれ 94% (n=1,046), 98% (n=100) および91% (n=107) であった。ここでは、実体双眼顕微鏡(株式会社 ニコン、システム実体顕微鏡SMZ1500) を用いて 個体の観察を行い、脊索のわん曲等の形態異常の ない個体を,正常ふ化とみなした。また平均卵径 および油球径は、それぞれ0.92mm±0.02mm*SD*およ び0.24mm±0.01mm*SD*であった (*n*=30; 胚体期)。採 取した浮上卵を、ろ過海水を入れた1L容ガラス 製ビーカーに100個程度収容し、30分経過後にこ のビーカー2個を25.0℃に温調した恒温槽(株式 会社三商,マルチサーマルユニットSMU-60G) に水浴した。

その後それぞれのビーカーからパスツールピペットを用いて時計皿に卵を取り出し,顕微鏡を用いて胚の発生段階を確認するとともに,顕微鏡に接続したデジタルカメラ (株式会社ニコン,デジタルカメラDXM1200F)を用いて撮影した。発生段階の区分は,岩井(1985)およびOozeki and Hirano (1985)に準じた。その後,原則30分ごとに胚の発生段階を観察し記録するとともにビーカー内水温を棒状標準温度計で計測し記録した。

ふ化上限水温判定 胚発生の観察と同じ親魚から、2019年9月24日および9月30日に得た受精卵のうち、いずれも海水に浮上する正常な卵を供試対象とし、受精後ただちに複数段階の高水温下に卵を収容し、各温度での正常ふ化率を調べた。この試験は2回行った。

胚発生観察の予備検討において、水温約25℃では胚が24時間未満でふ化することを確認していたため、受精後24時間以上経過した時点で、各ビーカーに収容した供試卵の正常発生率を観察することとした。各温度区の正常ふ化率は、供試個体数に占める正常ふ化個体の割合とした。

試験海水は、砂ろ過した自然海水を精密ろ過および限外ろ過して準備した(株式会社キッツ、純海水製造装置V920155700081を使用)。

設定温度は、試験1回目では24 $^{\circ}$ C、26 $^{\circ}$ C、28 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ C、32 $^{\circ}$ C、および34 $^{\circ}$ Cの6段階とし、その結果から試験2回目の設定温度を、24 $^{\circ}$ C、26 $^{\circ}$ C、27 $^{\circ}$ C、28 $^{\circ}$ C、および29 $^{\circ}$ Cの5段階に決定した。設定温度の制御には、恒温槽(株式会社三商、マルチサーマルユニットSMU-60Gおよびタイテック株式会社、ユニット恒温機サーモミンダー SJ-07N)を用いた。1温度区(1基の恒温槽)につき試験海水100mLを満たしたガラスビーカー3個を水浴し、試験海水が各設定温度±0.1 $^{\circ}$ Cとなるよう、受精卵を得る約2時間前より温度調節を行った。温度は試験開始時および終了時に、それぞれ棒状標準温度計で計測した。なお、試験海水の蒸発による塩分濃度変化を防ぐ目的で、ビーカー上部をアルミホイルで覆った。

親魚飼育水槽より供試卵を得たのち、パスツールピペットを用いて各ビーカーに10個ずつ収容し、試験を開始した。すなわち、供試卵数は1温度区につき10個×3連で30個とした。供試卵回収時の水温、試験開始時の胚発生段階、および卵径ならびに油球径を第1表に示す。

結果と考察

胚発生の観察 観察時に測定したビーカー内の水温は、25.0℃~25.1℃であった。卵割を開始した胚は、受精後3時間で胞胚期、5時間30分でのう胚期、9時間で胚体期に達し、20時間30分でふ化を開始した(第2表)。各発生段階で記録した写真を、

第1表 ヒゲソリダイ卵ふ化実験における供試卵の回収時水温、発生段階および大きさ

試験	卵回収時 水温 (℃)	試験開始時 発生段階	平均卵径 (mm)	平均油球径 (mm)
1回目	25. 2	1 細胞~2 細胞	0.89 ± 0.01 SD	$0.24 \pm 0.00 SD$
2 回目	26.0	2細胞~4細胞	0.90 ± 0.02 SD	$0.23 \pm 0.00 SD$

卵径および油球径は n=10 の算術平均。

第2表 ヒゲソリダイ卵の発育段階と受精後 経過時間 (25.0℃)

	発生段階	経過時間			
受精		0:00			
卵割其	卵割期				
1.	1 細胞	0:15			
2.	2 細胞	0:30			
3.	4 細胞	0:40			
4.	16 細胞	1:10			
5.	32 細胞	1:30			
6.	初期桑実胚	2:00			
7.	後期桑実胚	2:30			
胞胚期					
8.	初期胞胚	3:00			
9.	中期胞胚	4:00			
10.	後期胞胚	5:00			
のう胚期					
11.	初期のう胚	5:30			
12.	中期のう胚	8:00			
13.	後期のう胚	8:30			
胚体其	胚体期				
14.	胚体出現	9:00			
15.	眼胞形成	10:00			
16.	原口閉鎖	10:30			
17.	10 体節	11:30			
18.	14 体節	14:30			
19.	心臟原基形成	15:30			
20.	水晶体形成	16:00			
21.	尾部の伸長	17:30			
22.	胚の動き	18:00			
23.	ふ化準備	19:00			
卵黄仔魚期					
24.	ふ化開始	20:30			

第1図~第2図に示す。以下,各発生段階の形態について記述する(行頭の番号は,第1図~第2図中の番号に相当する)。

(卵割期)

- 1. 1細胞:胚盤が確認できる。
- 2. 2細胞:胚盤が2個の割球に分割する。
- 3. 4細胞:第2卵割により4個の割球となる。
- 4.16細胞:第4卵割により16個の割球となる。
- 5. 32細胞:第5卵割により32個の割球となる。 上部から見ると円形を成す。
- 6. 初期桑実胚:胚盤側面は2~3層の細胞層になる(胚盤葉)。
- 7. 後期桑実胚:側面の細胞層がさらに増え,胚 盤葉の縁辺部の形成が始まる。

(胞胚期)

8. 初期胞胚:胚盤の細胞が更に小さくなり,層 も増える。胚盤葉縁辺部が外側に向かい始め る。

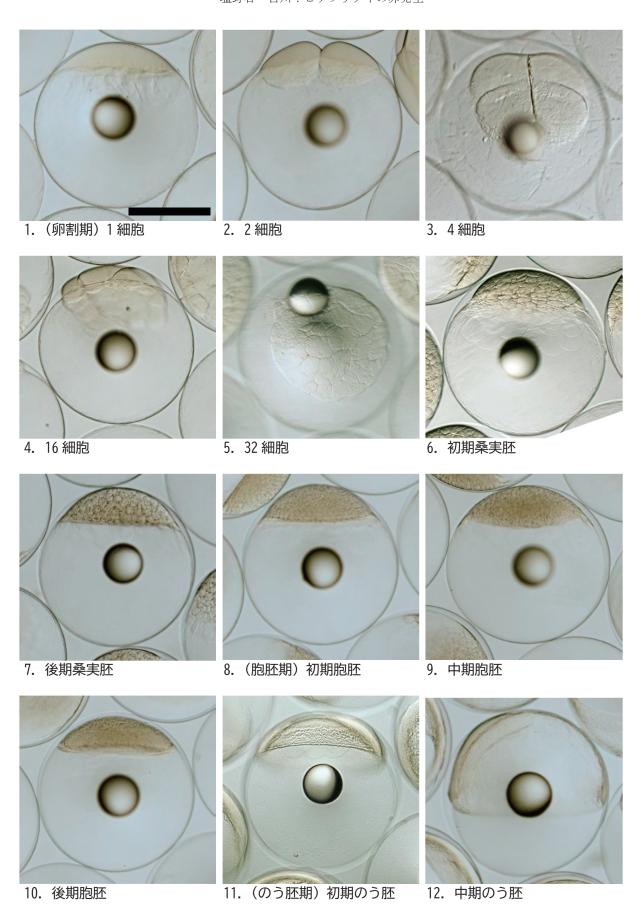
- 9. 中期胞胚:胚盤葉の細胞は不明瞭で、縁辺部 が卵黄中心部に突出し始め、側面から見ると 胚盤葉が両凸レンズ状になる。
- 10. 後期胞胚: 胚盤葉が透明になり始め, 側面から見た縁辺部は再び直線的になる。胚盤葉の縁辺部は卵黄縦方向の1/5に達するまで伸長する。

(のう胚期)

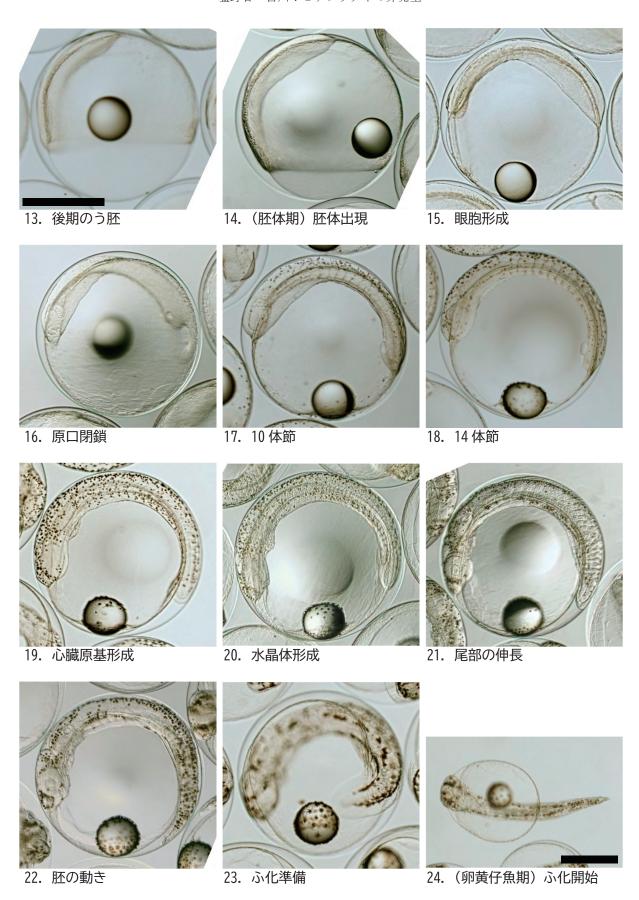
- 11. 初期のう胚: 胚盤葉が半透明になり, 卵黄と の間に胞胚腔を形成する。胚盤葉の縁辺部は 卵黄縦方向の1/4に達するまで伸長する。
- 12. 中期のう胚: 胚盤葉の縁辺部は卵黄縦方向の 3/5に達するまで伸長する。胚盤には胚体原 基が確認できる。
- 13. 後期のう胚: 胚盤葉による被包が卵の3/4に 達する。胚体原基がより厚くなる。

(胚体期)

- 14. 胚体出現: 胚体が更に明瞭になる。胚体の動物極側が厚くなり頭部となる。胚盤葉は卵の4/5を覆う。
- 15. 眼胞形成: 胚体頭部両側に眼胞の形成が始まる。 胚体表面に体節が分化する。
- 16. 原口閉鎖:胚盤葉の被包が完了し,胚体尾部 にクッパー氏胞が出現する。眼胞が明瞭にな る。
- 17. 10体節: 胚体の体節が10程度確認できる。胚体および卵黄上皮の色素胞が多数見られる。 耳胞は不明瞭。
- 18. 14体節: 胚体の体節が14程度確認でき, 頭部 と尾部の区別は明瞭。胚体の色素胞がさらに 増え, 筋節に沿った分布が確認できる。また 油球表面の色素胞の数も増える。
- 19. 心臓原基形成:心臓の原基が形成される。クッパー氏胞が消失する。卵黄から尾部後端が分離し始め、膜が確認できる。
- 20. 水晶体形成:水晶体が確認できる。色素胞が 胚体腹部側にも分布する。尾部末端が細く伸 長し始め、膜鰭が明瞭になる。
- 21. 尾部の伸長:尾部がさらに伸長し、心臓の拍動が始まる。耳胞が明瞭になる。
- 22. 胚の動き:卵殻内で胚が動き,心臓が完全に 拍動する。尾部は伸長して末端が鋭くなる。 耳胞中に2個の耳石核が確認できる。
- 23. ふ化準備: 胚が体を曲げるなど激しく動く。 尾部がさらに伸長して卵外周の3/4ほどの長



第1図 ヒゲソリダイの卵発生1 (1細胞~中期のう胚; スケールは0.5mm (1~12で共通))。



第2図 ヒゲソリダイの卵発生2(後期のう胚~ふ化開始;スケールはいずれも0.5mm (13~23は共通))。

さとなる。

(卵黄仔魚期)

24. ふ化開始: ふ化時点では開口していない。
索はゆるやかに曲がる個体が多い。

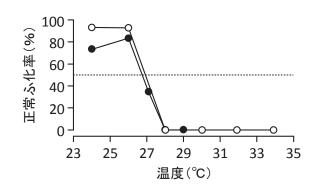
ヒゲソリダイ近縁種の胚発生記載としては、同属のセトダイH. mucronatus (現在はH. analis) の記載がある (鈴木ら、1983)。卵期についてヒゲソリダイと比較すると、セトダイの受精卵では大小の油球が20~60個存在しており、発生とともに最終的に単一の油球になるとしている。これに対しヒゲソリダイは受精直後から油球は単一であったが、複数の油球を有する胚も確認していた。これが正常な状態であるかどうかについては、セトダイの受精卵を得るなどして吟味する必要がある。

卵径については、セトダイでは1.22mm~1.25mm、ヒゲソリダイは約0.9mmで若干の差があった。また同報告では、セトダイと同科魚のイサキ $Parapristipoma\ trilineatum$ が0.82mm~0.92mm、コロダイ $Diagramma\ picta$ で1mm弱、およびコショウダイ $Plectorhinchus\ cinctus$ が0.78mmであることから、セトダイは著しく大きいものの、それが属間差であるかどうかは不明としている。一方、セトダイと同属のヒゲソリダイの卵径が約0.9mmであったことは、本属の卵径は大きい部類に属する可能性がある。

ふ化までの時間については、上記セトダイでの報告では飼育水温が24.0℃~29.8℃であり、直接ヒゲソリダイとの比較ができないものの、ふ化に要した時間は21時間22分であるとしている。一方25℃で行った本研究のヒゲソリダイでは20時間30分であったことは、両者で大差ないことを想起させる。

ふ化上限水温判定 試験開始時および終了時の水 温は,設定温度±0.1℃の範囲にあった。

飼育温度に対する正常ふ化率は、26℃までは高値を示したが、27℃以上では50%を下回り、2回の試験いずれにおいても28℃以上では正常ふ化した個体は無かった(第3図)。なお、試験開始時にはビーカー1個につき10個体の受精卵を収容したものの、正常ふ化の判定観察時には9個体しか視認できないビーカーがあった。この結果、供試個体数は1回目試験の26℃区が28個体、28℃区が27個体、2回目試験では27℃区が29個体であった。



第3図 ヒゲソリダイ受精卵の飼育温度に対する正常ふ 化率(黒丸,1回目試験(開始時水温25.2℃); 白丸,2回目試験(開始時水温26.0℃);点線, 半数正常ふ化の水準)。

その他の区はいずれも30個体であった。

本種の親魚は、当試験場の飼育下において夏季から秋季にかけて産卵する。このことから、本種の胚は比較的高水温でも正常に発生するものと想定していたが、試験では26℃が正常にふ化できる限界であった。胚発生過程のうちごく一時期に高水温を経験するのであれば、正常にふ化しうる個体も多くなるものと思われるが、これについては別途、高温暴露試験を実施して確かめる必要がある。他方、産卵水温よりも低い温度設定の24℃区では、正常ふ化率が比較的良好であった。このような低温側の温度応答についても、実験的な検証をさらに進めることで、種苗生産の分野や発電所温排水等による高水温影響の評価に、より有益な知見を提供することができるであろう。

謝辞

本稿を取りまとめるにあたり貴重なご助言を賜った東京大学名誉教授日野明徳博士、および海洋生物環境研究所木下秀明博士に心より感謝する。胚発生および分類学的な議論に関する有益な情報を提供していただき、画像処理にご尽力賜った同研究所の小嶋純一フェロー、胚の発生過程観察およびふ化実験を補佐していただいた同研究所技術スタッフの上野佳代子氏に厚く御礼申し上げる。また、ヒゲソリダイ親魚を提供していただいた新潟漁業協同組合柏崎支所の柴野一志総代、およびヒゲソリダイ親魚の飼育をはじめ、研究全般に渡って終始ご協力いただいた海洋生物環境研究所の渡邉裕介主査技術員ならびに役職員各位に、謝意を表する。

引用文献

- 土居内 龍 (2018). ヒゲソリダイ. 小学館の図 鑑Z 日本魚類館 (中坊徹次編), 小学館, 東京, 279.
- 岩井 保 (1985). 水産脊椎動物II魚類, 恒星社 厚生閣, 東京, 1-336.
- Oozeki, Y. and Hirano, R. (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**, 557–572.
- 鈴木克美・日置勝三・田中洋一・北沢 博(1983). 水 槽 内 に お け る セ ト ダ イ*Hapalogenys* mucronatusの産卵と初期生活史. 東海大学紀 要海洋学部, **No.16**, 183-191.