

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、中出雅大、端野開都、小林昇市、坂井一博、稲田圭佑、永見 新、
鈴木信雄、松原 創（金沢大学）

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/cpinfo/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・低塩分化の影響は、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、雌雄配偶子形態の周年変化を調べ卵成熟が促進される環境要因を特定し、受精させた卵を様々な水温や塩分濃度で管理を行い、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. 雌雄配偶子形態の周年変化を調べた

コマイ及びトウガレイの両種の雌雄配偶子形態の周年変化を調べるために、成熟サイズに達している個体にて生殖腺重量および肝臓重量の測定を行った。体サイズによる影響も見するために、全長、体長、重量の測定も行った。標本数に関しては毎月 3 個体とし、2019 年 1 月から 2021 年 11 月までの個体のデータを用いた。

なお、生殖腺体指数（GSI）と比肝重値（HSI）は次式により求めた。

$$\text{GSI} = \text{生殖腺重量 (g)} / \text{重量 (g)} \times 100$$

$$\text{HSI} = \text{肝臓重量 (g)} / \text{重量 (g)} \times 100$$

実験 2. 卵成熟が促進される環境要因の特定

コマイ及びトウガレイの両種の卵成熟が促進される環境要因を特定するために、成熟個体を用いて飼育実験を行った。本実験では、日長条件もしくは水温条件どちらの要因が卵成熟を促進させているか調べるために 4 つの実験区を設けた。

実験区 1) 自然水温で日長条件を 9L15D とした。(自然区)

実験区 2) 自然水温で日長条件を 0L24D とした。(0L 区)

実験区 3) 水温 5 度 (一定) で日長条件を 9L15D とした。(加温区)

実験区 4) 水温 5 度 (一定) で日長条件を 0L24D とした。(加温 0L 区)

実験開始日は卵成熟が進行すると思われる 11 月とし、排卵するか否か検証した。排卵しなかった個体に関しても 3 月まで飼育を続けた。なお、実験開始日から実験終了時まで毎月 3 個体ずつのサンプリングを行い、実験 1 と同様の方法にて GSI、HSI の算出を行った。

実験 3. 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。各試験区について孵化率を以下の通りに算出した。

(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. 雌雄配偶子形態の周年変化を調べた

コマイ：月ごとにコマイの GSI 値を調べたところ、メスは 8 月では $0.537 \pm 0.124\%$ 、9 月では $1.143 \pm 0.162\%$ 、10 月では $2.736 \pm 0.223\%$ 、11 月では $8.739 \pm 1.240\%$ 、12 月では $8.379 \pm 0.236\%$ 、1 月では $28.895 \pm 15.805\%$ 、2 月では $5.754 \pm 3.476\%$ 、3 月では $7.527 \pm 3.987\%$ 、4 月では $1.126 \pm 0.114\%$ と厳冬期である 1 月に高い値を示した (図 1-a)。一方、オスは 8 月では $0.315 \pm 0.109\%$ 、9 月では $2.441 \pm 0.932\%$ 、10 月では $8.916 \pm 1.352\%$ 、11 月では $17.766 \pm 3.492\%$ 、12 月では $17.766 \pm 3.492\%$ 、1 月では $14.635 \pm 5.498\%$ 、2 月では $20.323 \pm 1.105\%$ 、3 月では $9.796 \pm 8.647\%$ 、4 月では $0.554 \pm 0.168\%$ 、と厳冬期である 11 月～2 月と比較的長期間高い値を示した (図 1-b)。このことからコマイの産卵ピーク時期は 1～2 月と推察された。この時期は、産卵が行われている厚岸湖では結氷時期と重なっており水温は 0°C 以下である。コマイと同じタラ科のマダラやスケトウダラも冬期に産卵することが知られているが、水温 0°C 以下になるような環境下での産卵は珍しい (石原 2006)。

次に月ごとにコマイの HSI 値を調べたところ、メスは 8 月では $2.373 \pm 0.907\%$ 、9 月では $3.053 \pm 0.755\%$ 、10 月では $3.605 \pm 0.578\%$ 、11 月では $4.599 \pm 0.952\%$ 、12 月では $3.035 \pm 0.974\%$ 、1 月では $3.333 \pm 1.450\%$ 、2 月では $1.861 \pm 0.140\%$ 、3 月では $2.920 \pm 0.788\%$ となった (図 2-a)。一方、オスは 8 月では $4.009 \pm 0.827\%$ 、9 月では $3.613 \pm 0.767\%$ 、10 月では $2.708 \pm 0.576\%$ 、11 月では $1.915 \pm 0.323\%$ 、12 月では $2.355 \pm 0.295\%$ 、1 月では 1.582 ± 0.288 、2 月では $1.909 \pm 0.749\%$ 、3 月では $3.526 \pm 0.292\%$ となった (図 2-b)。また、参考に 12 月の生殖腺及び肝臓の状態を雌雄ごとに載せている (写真 2)。本結果からコマイの HSI は雄親魚より雌親魚において 10 月～1 月にかけて高くなることが示唆された。このことは、多くの硬骨魚類と類似した現象であると考えられた。多くの硬骨魚類は、産卵期に卵巣より分泌されるエストラジオール 17β の刺激を受けて肝臓にてビテロジェニンの合成が進行されるため雌親魚の方が雄親魚と比べ高い値を示すことが知られている (会田 1974)。しかし、本結果の GSI 値、HSI 値の数値にばらつきが見られ、n 数も少なかったことから、今後再試験を検討する必要がある。

トウガレイ：月ごとにトウガレイの GSI 値を調べたところ、メスは 8 月では $1.797 \pm 0.079\%$ 、9 月では $3.680 \pm 0.824\%$ 、10 月では $10.948 \pm 2.889\%$ 、11 月では 17.415 ± 1.057 、12 月では $41.164 \pm 2.466\%$ 、1 月では $17.409 \pm 8.904\%$ 、2 月では $2.495 \pm 0.974\%$ 、3 月では $2.433 \pm 0.647\%$ 、4 月では $2.681 \pm 0.837\%$ 、となり 12 月～1 月に高い値を示した (図 3-a)。一方、オスは 8 月では $0.812 \pm 0.862\%$ 、9 月では $5.730 \pm 3.837\%$ 、10 月では $11.033 \pm 2.549\%$ 、11 月では 7.184% 、12 月では $29.875 \pm 4.721\%$ 、1 月では $3.291 \pm 2.800\%$ 、2 月では $1.310 \pm 0.471\%$ 、3 月では $1.175 \pm 0.601\%$ 、4 月では $1.388 \pm 0.168\%$ となりメスと同様に 12 月が最高値を示した (図 3-b)。このことから、トウガレイは 12 月～1 月に産卵ピークを迎えることが推察された。実際に氷下漁の漁場にて観察したところ、毎年トウガレイの

排卵はクリスマス前後から正月後にピークを迎えている（小林 私信）。しかし、正月休みのタイミングと重なり、漁は休みになるため調査はなかなか実行できず今後の課題とも言える。

次に月ごとにトウガレイの HSI 値を調べたところ、メスは 8 月では $0.857 \pm 0.608\%$ 、9 月では $1.725 \pm 0.219\%$ 、10 月では $2.430 \pm 0.197\%$ 、11 月では $2.244 \pm 0.140\%$ 、12 月では $1.040 \pm 0.374\%$ 、1 月では $1.860 \pm 0.206\%$ 、2 月では $1.301 \pm 0.521\%$ 、3 月では $1.851 \pm 0.889\%$ 、4 月では $1.341 \pm 0.065\%$ となった（図 4-a）。一方、オスは 8 月では $1.386 \pm 0.970\%$ 、9 月では $1.122 \pm 0.273\%$ 、10 月では $1.299 \pm 0.247\%$ 、11 月では 1.377% 、12 月は測定できず、1 月では $1.421 \pm 0.337\%$ 、2 月では $1.534 \pm 0.121\%$ 、3 月では $1.498 \pm 0.173\%$ 、4 月では $1.491 \pm 0.335\%$ となった（図 4-b）。また、参考に 1 2 月の生殖腺及び肝臓の状態を雌雄ごとに載せている（写真 3）。トウガレイの HSI 値もコマイと同様に雄親魚より雌親魚において 9 月から 11 月にかけて高くなることが示唆された。コマイとの相違点は、GSI 値・HSI 値共にトウガレイの方が早めの時期から高くなり始めることである。このことから、産卵期はトウガレイの方がコマイと比較して早いことが考えられた。

実験 2. 卵成熟が促進される環境要因の特定

*実験 2 は、現在実験途中につき未公開とさせていただきます。

実験 3. 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、エピボリー期には 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 5）。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。孵化前の時期は、厚岸湖の氷が溶け始める時期と重なっていることも考えられるため、様々な水温・塩分を勾配させ孵化率・奇形率などを算出し、受精卵にとって最適な環境を探る試験を行う必要性がある。

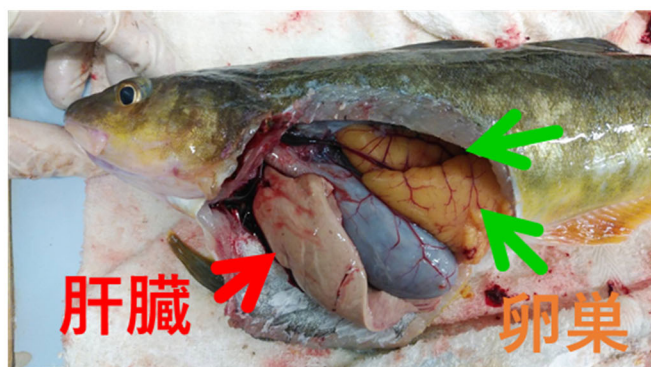
トウガレイ：各発生過程における発生時間を調べたところ、受精後 1 細胞期には 22 時間、2 細胞期から 32 細胞期までは不明、桑実胚期には 45 時間、胞胚期には 100 時間、囊

胚期には 155 時間、エピソード期には 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 6)。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、まずはコマイと同様に様々な水温・塩分を勾配させ孵化率・奇形率などを算出し、受精卵にとって最適な環境を探る試験を行う必要がある。さら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。

まとめ

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。

(a) メス

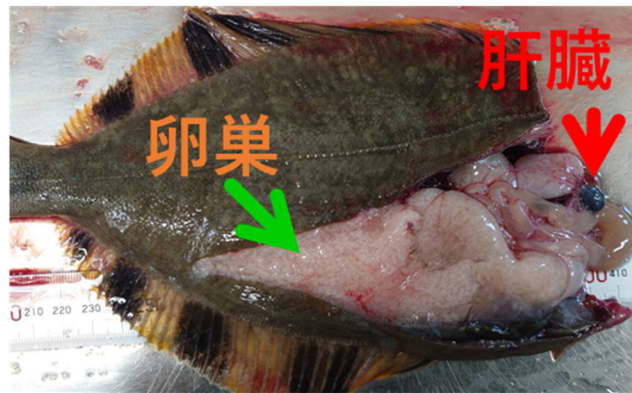


(b) オス



写真2. 実験1におけるコマイの生殖腺と肝臓 (12月)

(a) メス



(b) オス

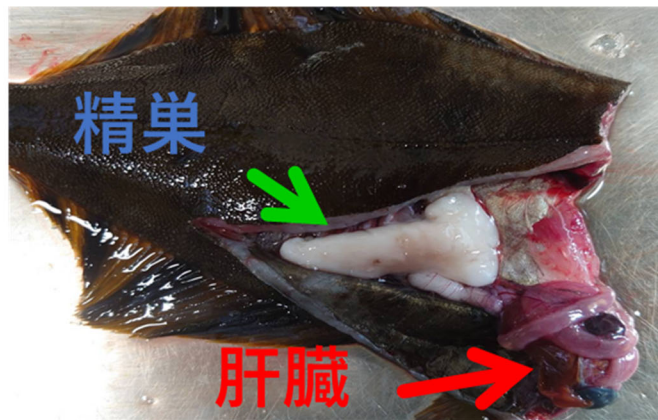
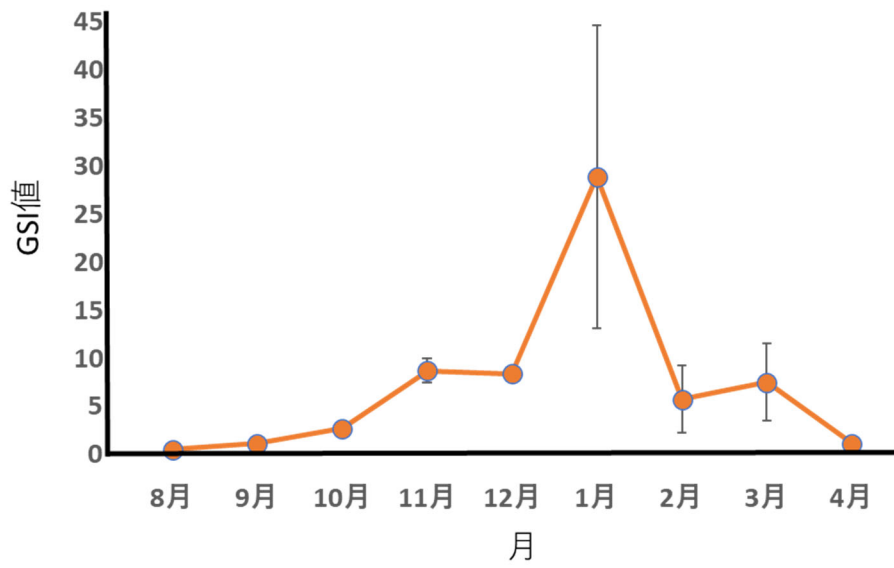


写真3. 実験1におけるトウガレイの生殖腺と肝臓 (12月)

(a) メス



(b) オス

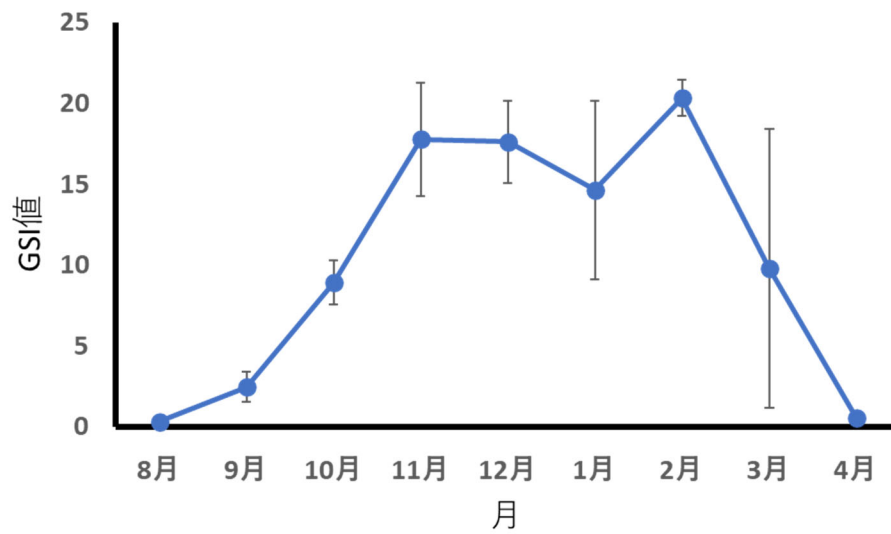
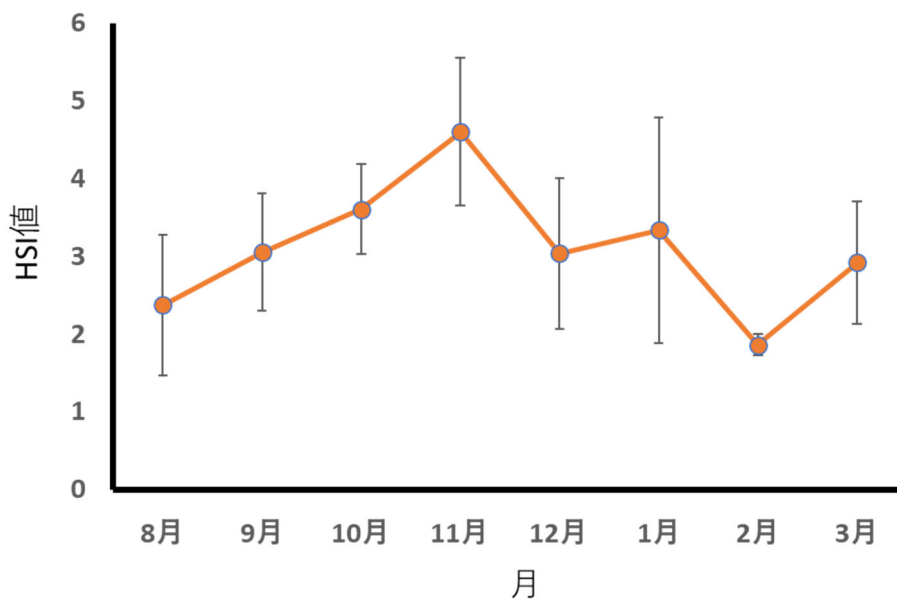


図1. コマイにおける各月ごとのGSIの結果
横軸は月、縦軸はGSI値を示している。

(a) メス



(b) オス

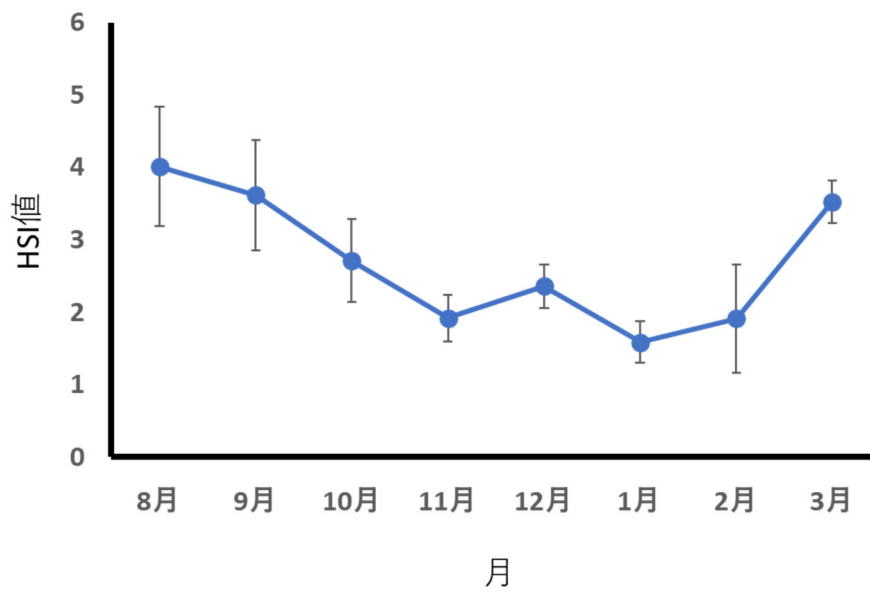
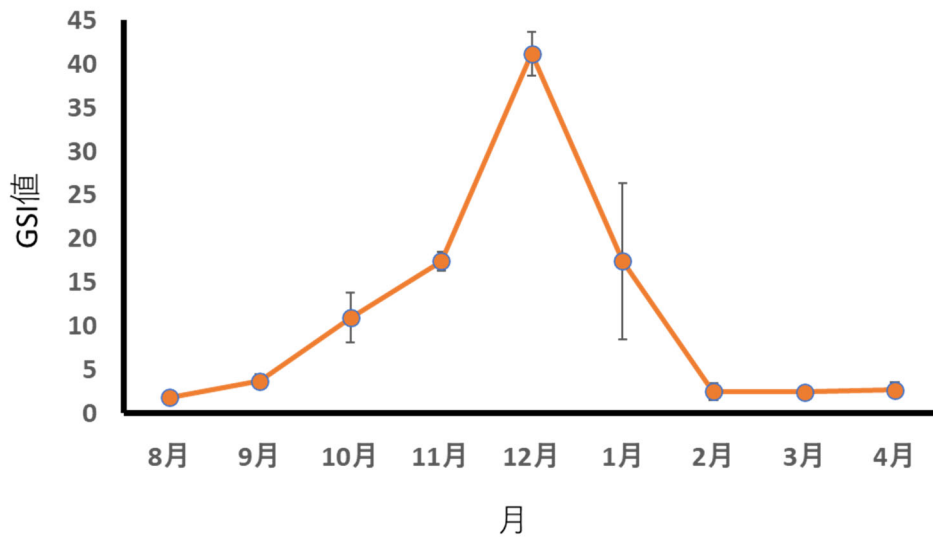


図2. コマイにおける各月ごとのHSIの結果
横軸は月、縦軸はHSI値を示している。

(a) メス



(b) オス

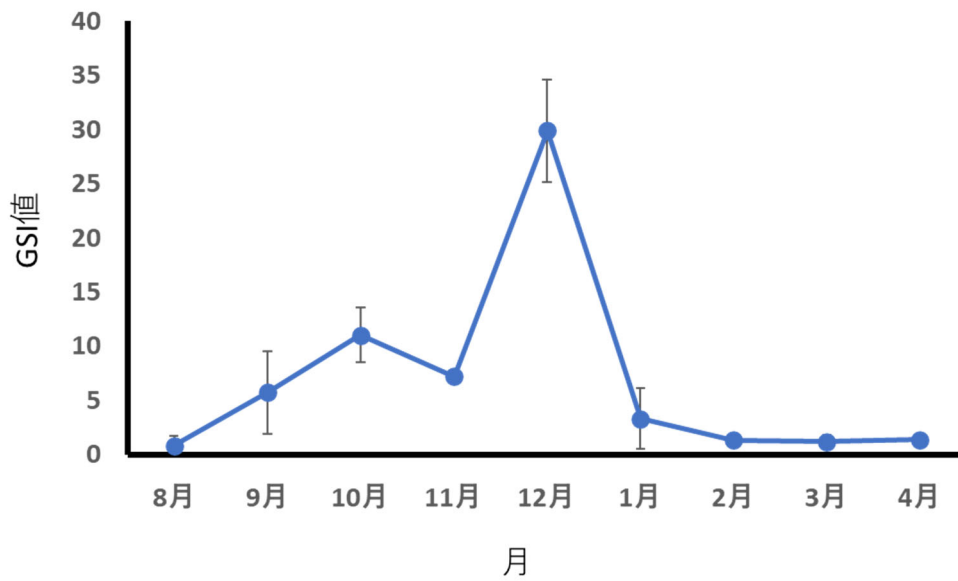
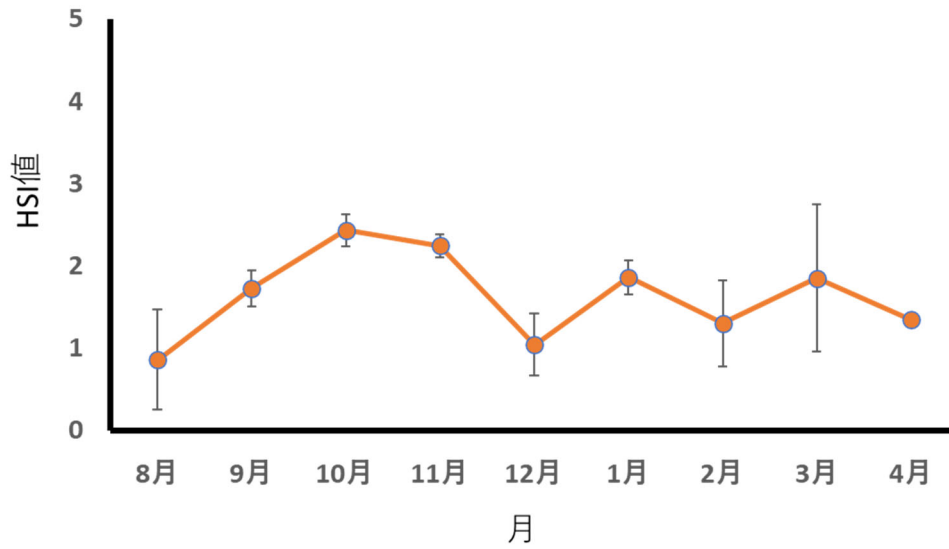


図3. トウガレイにおける各月ごとのGSIの結果
横軸は月、縦軸はGSI値を示している。

(a) メス



(b) オス

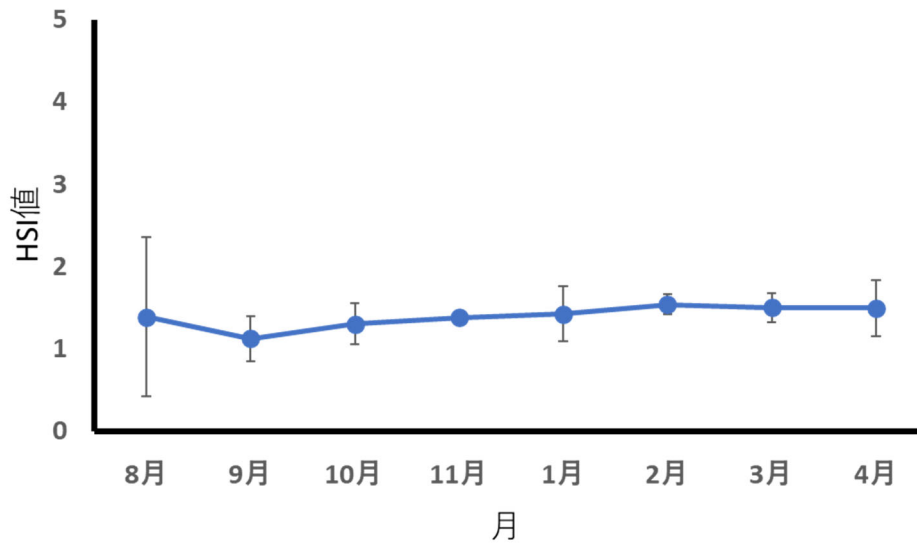
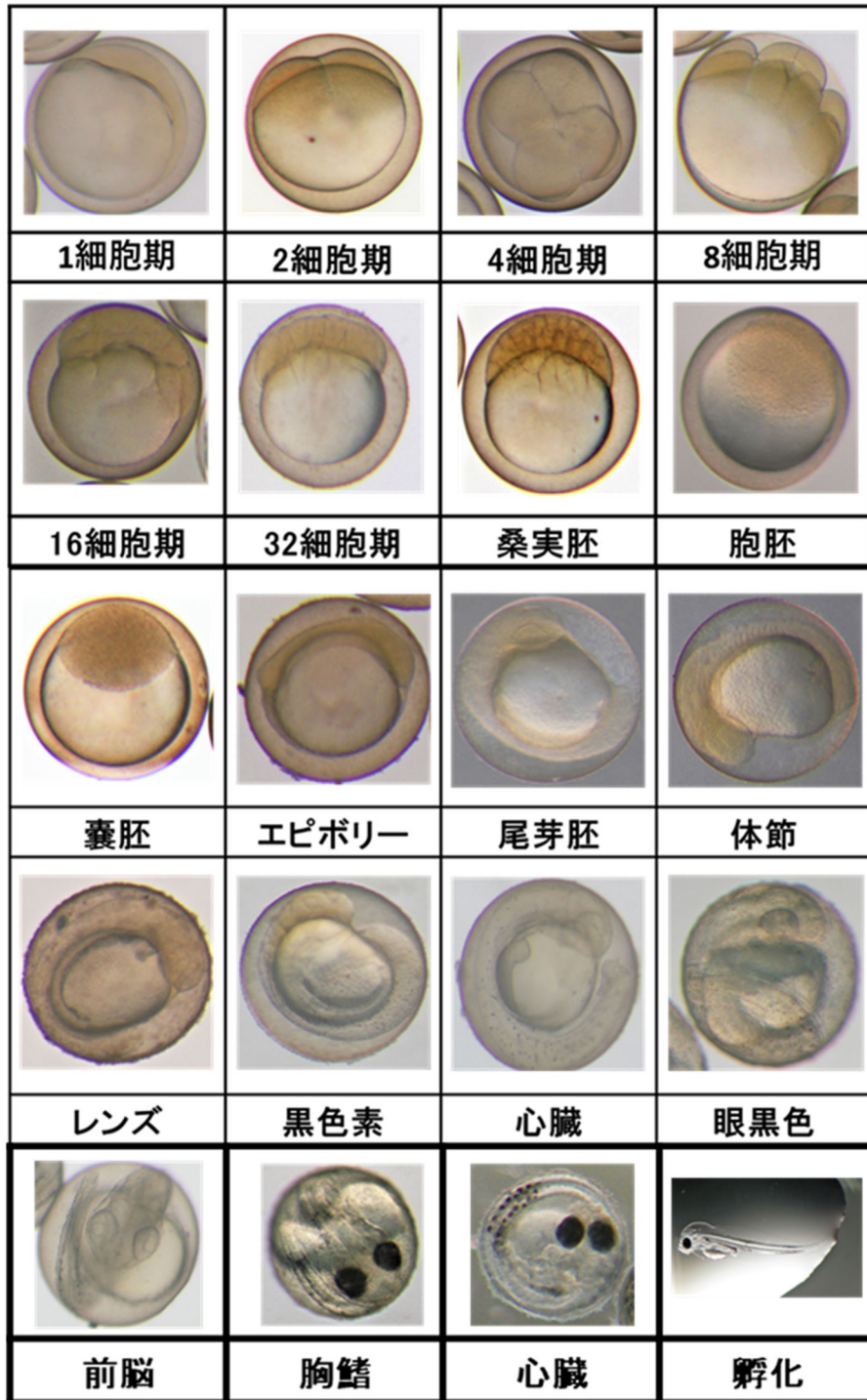


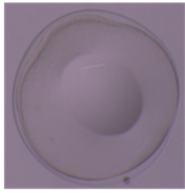
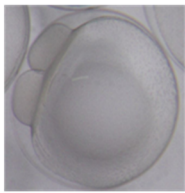
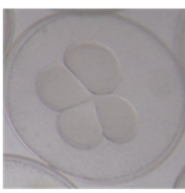
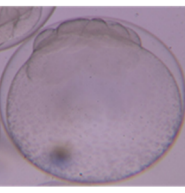
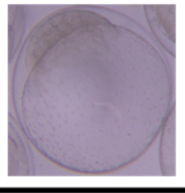
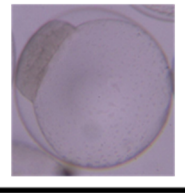
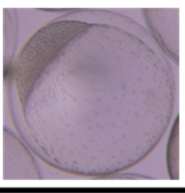
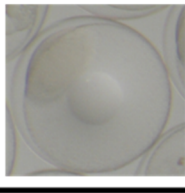
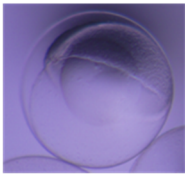
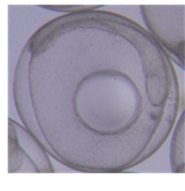
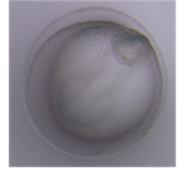
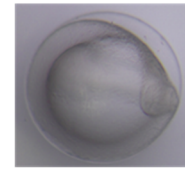
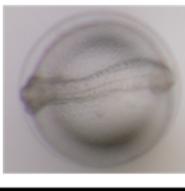
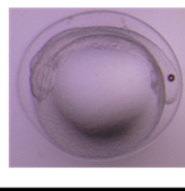
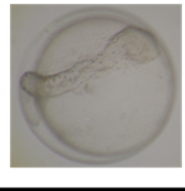
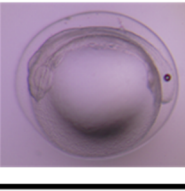
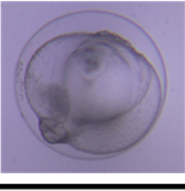


図4. トウガレイにおける各月ごとのHSIの結果
横軸は月、縦軸はHSI値を示している。



— 0.5mm

図5. 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	エピボリー	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6. 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。

謝辞

本研究の一部は、令和3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.