

## キュウセン *Halichoeres poecilopterus* 卵の 発生に伴う高温耐性の変化

柏木 正章・鄧 亜光・岩井 寿夫  
三重大大学生物資源学部

### Changes in Thermal Tolerance of Eggs of Wrasse *Halichoeres poecilopterus* during Development

Masaaki KASHIWAGI, Ya-Guang DENG and Toshio IWAI  
Faculty of Bioresources, Mie University

#### Abstract

Effects of short-term thermal shock on the developmental fish eggs were investigated using the wrasse *Halichoeres poecilopterus* (Japanese name: Kyusen). An average of 28 (ranging from 20 to 69) eggs was exposed to 9 test temperatures ( $\Delta t=7\sim 15^{\circ}\text{C}$ ) for 15 min at 25 different stages from shortly after fertilization until hatching, and returned immediately to the initial incubation temperature ( $23.0\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ), nearly equal to the value at fertilization. From the results of hatching rate, the median hatchable shock temperature (MHST) was calculated for both total and viable hatch at every tested stage.

Both MHSTs depended on the developmental stage at the time of the shock, and were lower at the early cleavage and blastopore closing stages than at any of the others. Namely, the eggs at these two stages were the most susceptible to the short-term thermal shock.

Key words: Temperature, Thermal tolerance, Fish egg, Development, *Halichoeres poecilopterus*

キュウセン *Halichoeres poecilopterus* は函館以南の本邦沿岸域に広く分布し、関西地方では漁業や遊魚の対象魚種となっている。しかし、本種の生理生態学的研究は少なく、とくに温度耐性に関する知見はほとんど見当らない。魚卵の温度耐性の把握はその卵のふ化飼育の水温管理上必要である。また、その温度耐性は発生ステージによって変化することがいくつかの魚種<sup>1-9)</sup>で報告されている。そこで、本研究では、キュウセン卵の発生に伴う高温耐性の変化を明らかにした。

本文に先立ち、供試卵をご提供くださった本学部附属水産実験所・木村清志助教授に厚くお礼申し上げます。

#### 材料および方法

魚卵の発生は短時間のうちに大きな形態変化を伴って進行する。この発生に伴う高温耐性の変化については、一般に、発生ステージ毎の短期（5～15分）高温処理実験<sup>1-9)</sup>が行われているので、本研究でも同様の方法で実験した。

本研究に用いたキュウセン卵は、1987年6月6日、三重県英虞湾の本学部附属水産実験所の屋外コンクリート水槽で自然産卵されたものである。産卵時の水温は $23.0^{\circ}\text{C}$ 、塩素量は18.1‰であった。

実験では、供試卵を1細胞期からふ化直前までの25ステージに分け、1ステージにつき平均28個（範囲20～69

個)を 30.0°C から 38.0°C までの 9 試験温度 (1.0°C 間隔)の試験管 (直径 30 mm, 試水 50 ml)へ移し, 15 分後に, 試験管ごと元の飼育水温 (23.0±0.2°C)へ戻し, 卵がふ化するまで静置した。管内水温が飼育水温まで降下するに要した時間は15分以内であった。対照として, 飼育水温の試験管による擬似操作を行った。

各試験管の供試卵については, 総孵化率とそれから奇形仔魚を除外した正常孵化率を計算し, ステージ別にそれぞれの孵化率が50%となる温度を一次補間法<sup>10)</sup>で求めてふ化限界処理温度とした。

## 結 果

実験結果を Table 1 に示した。全ステージの対照卵の総孵化率と正常孵化率はそれぞれ90%以上と85%以上で, 供試卵としての卵質や実験における温度以外の物理的要因等の問題はとくにないと判断された。実験温度の 38.0°C (昇温幅  $\Delta t=15.0^\circ\text{C}$ ) では, 全ステージともふ化がまったく見られなかったが, 30.0~37.0°C におけるふ化率は発生ステージによって大きく異なっていた。

ふ化率から計算されたふ化限界処理温度には卵の発生に伴って特徴的な変化が見られた (Fig. 1)。すなわち, この温度は卵割開始時の 1 細胞期 (受精後 0.5 時間) において, 総孵化率と正常ふ化率がそれぞれ 30.7°C ( $\Delta t$

Table 1. The percentages of total (TH) and viable hatch (VH), and the median hatchable shock temperatures

Developmental stages No.	Age* <sup>2</sup> features (h)	Control* <sup>3</sup>		30 (7)		31 (8)		32 (9)		
		TH	VH	TH	VH	TH	VH	TH	VH	
1	1-cell	0.5	100.0	98.8	90.5	90.5	33.0	22.0	0.0	0.0
2	16-cell	1.5	100.0	100.0	93.8	93.8	100.0	100.0	0.0	0.0
3	Early morula	2.5	100.0	100.0	97.6	95.1	95.8	91.7	69.5	28.8
4	Late morula	3.5	96.9	96.9	—	—	—	—	97.1	97.1
5	Early brastula	4.5	100.0	100.0	—	—	—	—	100.0	100.0
6	Middle brastula	5.5	95.7	87.0	—	—	—	—	100.0	100.0
7	Late brastula	6	94.7	94.7	—	—	—	—	100.0	96.3
8	◇	6.5	100.0	90.0	—	—	—	—	93.3	93.3
9	◇	7	100.0	100.0	—	—	—	—	100.0	100.0
10	◇	7.5	96.0	96.0	—	—	—	—	100.0	94.7
11	Early gastrula	8	97.7	95.3	—	—	—	—	100.0	100.0
12	◇	8.5	93.8	87.5	—	—	—	—	100.0	88.9
13	◇	9	100.0	95.0	—	—	—	—	100.0	93.3
14	◇	9.5	100.0	100.0	—	—	—	—	91.7	85.0
15	Middle gastrula	10	100.0	100.0	—	—	—	—	100.0	95.0
16	◇	10.5	100.0	93.3	—	—	—	—	100.0	100.0
17	◇	11	100.0	95.7	—	—	—	—	100.0	89.5
18	Late gastrula	11.5	97.6	97.6	—	—	—	—	92.9	85.7
19	Embryo appeared	12	95.5	90.9	—	—	—	—	95.1	95.1
20	Optic vesicles	12.5	100.0	100.0	—	—	—	—	100.0	87.5
21	Blastopore closing	14	100.0	96.4	—	—	—	—	96.0	96.0
22	Blastopore closed	16	100.0	95.7	—	—	—	—	90.5	90.5
23	Body pigmented	20.5	100.0	86.7	—	—	—	—	100.0	95.7
24	Heart beat began	22	100.0	97.1	—	—	—	—	100.0	97.7
25	Just before hatch	24	100.0	91.7	—	—	—	—	100.0	87.5

\*<sup>1</sup> Data at 38°C ( $\Delta t=15^\circ\text{C}$ ) are omitted because no egg hatched. \*<sup>2</sup> Hours after fertilization. \*<sup>3</sup> Incubation

=7.7°C) および 30.5°C ( $\Delta t=7.5^\circ\text{C}$ ) と最も低かったが、卵割の進行に伴って徐々に上昇し、胚期中期(受精後6時間)にはそれぞれ 35.4°C ( $\Delta t=12.4^\circ\text{C}$ ) と 35.3°C ( $\Delta t=12.3^\circ\text{C}$ ) になった。

その後、この温度は囊胚期後期(受精後11.5時間)までほとんど一定であったが、胚体出現期(12.0時間)から降下しはじめ、原口閉鎖直前期(14.0時間)には、総孵化率が 33.3°C ( $\Delta t=10.3^\circ\text{C}$ )、正常孵化率が 33.0°C ( $\Delta t=10.0^\circ\text{C}$ ) になった。この温度は卵割開始期のそれに次いで低かった。そして、原口閉鎖直後期(16時間)以降は再びふ化限界接触温度が上昇し、ふ化直前期(24.0時間)にはそれぞれ全ステージ中最高の 37.6°C ( $\Delta t=14.6^\circ\text{C}$ ) と 37.2°C ( $\Delta t=14.2^\circ\text{C}$ ) になった。

発生期間中の総ふ化率と正常ふ化率のふ化限界処理温度の差異は 1.3°C 以内で、両者ともほぼ同じ変化を示していた (Fig. 1)。

考 察

以上、キュウセン卵の温度耐性は卵割開始期において最も小さかった。卵割開始期の高温耐性が発生期間中で最小またはそれに近いことは、タラ科の1種 *Enchelyopus cimbrius*<sup>1)</sup>、キノボリウオ科の1種 *Trichogaster trichopterus* var. *sumatranus*<sup>2)</sup>、コイ<sup>3,4)</sup>、*Fundulus heteroclitus*<sup>5)</sup>、シロギス<sup>7)</sup>、マダイ<sup>8)</sup>、スズキ<sup>9)</sup>などで報告されている。このなかで BERGAN<sup>2)</sup>、OOZEKI and HIRANO<sup>7)</sup> およ

(MHST) of *H. poecilopterus* eggs which received a 15-min thermal shock at different developmental stages\*1

Test temperature ( $\Delta t^{*4}$ ) °C										MHSTs at every stage			
33 (10)		34 (11)		35 (12)		36 (13)		37 (14)		TH	( $\Delta t$ )	VH	( $\Delta t$ )
TH	VH	TH	VH	TH	VH	TH	VH	TH	VH				
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30.7 ( 7.5)		30.5 ( 7.5)	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	31.5 ( 8.5)		31.5 ( 8.5)	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	32.4 ( 9.4)		31.8 ( 8.7)	
80.6	36.1	17.5	5.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	33.5 (10.5)		32.7 ( 9.7)	
91.7	91.7	95.8	87.5	21.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	34.6 (11.6)		34.6 (11.6)	
100.0	100.0	100.0	92.3	75.0	75.0	0.0	0.0	0.0	0.0	35.4 (12.4)		35.3 (12.3)	
96.8	93.5	95.0	95.0	96.4	75.0	0.0	0.0	0.0	0.0	35.6 (12.6)		35.4 (12.4)	
100.0	90.5	92.3	84.6	94.4	77.8	0.0	0.0	0.0	0.0	35.5 (12.5)		35.4 (12.4)	
100.0	100.0	100.0	75.0	94.8	74.1	11.0	0.0	0.0	0.0	35.5 (12.5)		35.2 (12.2)	
100.0	100.0	80.0	73.3	95.7	73.9	16.7	0.0	0.0	0.0	35.5 (12.5)		35.3 (12.3)	
100.0	96.6	100.0	96.7	85.7	62.3	16.7	0.0	0.0	0.0	35.5 (12.5)		35.2 (12.2)	
100.0	71.4	97.4	89.5	97.9	77.1	1.5	0.0	0.0	0.0	35.5 (12.5)		35.5 (12.5)	
100.0	100.0	84.0	80.0	92.9	78.6	7.7	0.0	0.0	0.0	35.4 (12.4)		35.3 (12.3)	
100.0	90.6	95.8	95.8	96.3	77.8	0.0	0.0	0.0	0.0	35.5 (12.5)		35.5 (12.5)	
100.0	80.0	100.0	95.8	91.7	50.0	23.1	0.0	0.0	0.0	35.6 (12.6)		35.0 (12.0)	
100.0	96.6	97.0	87.9	100.0	75.8	40.0	0.0	0.0	0.0	35.9 (12.9)		35.4 (12.4)	
100.0	92.3	100.0	93.3	90.9	63.6	77.8	11.1	0.0	0.0	36.5 (13.5)		35.2 (12.2)	
100.0	94.1	100.0	80.0	85.7	64.3	31.8	0.0	0.0	0.0	35.7 (12.7)		35.2 (12.2)	
100.0	98.1	92.9	88.1	55.0	25.6	2.6	0.0	0.0	0.0	35.1 (12.1)		34.5 (11.5)	
93.5	90.3	65.0	60.0	40.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	34.6 (11.6)		34.2 (11.2)	
63.6	47.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	33.3 (10.3)		33.0 (10.0)	
100.0	96.0	100.0	85.2	100.0	66.7	16.7	0.0	0.0	0.0	35.5 (12.5)		35.3 (12.3)	
100.0	100.0	100.0	80.0	100.0	85.7	94.1	69.4	94.1	23.5	37.5 (14.5)		36.5 (13.5)	
100.0	97.7	100.0	95.2	100.0	71.4	100.0	52.2	100.0	27.3	37.5 (14.5)		37.5 (13.7)	
100.0	92.5	100.0	90.0	100.0	82.9	100.0	68.4	94.4	55.6	37.6 (14.6)		37.2 (14.2)	

temperature of  $23.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ . \*4  $\Delta t$  shows the value above the control temperature.

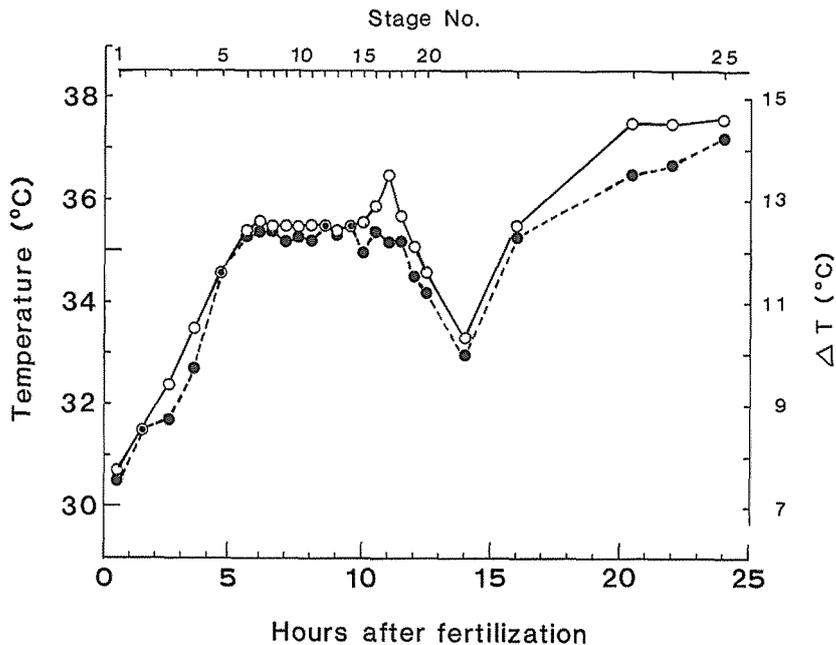


Fig. 1. Changes in the median hatchable shock temperatures for total (○—○) and viable (●---●) hatch of *H. poecilopterus* eggs during development.  $\Delta t$  shows the value above the control temperature (23.0°C).

び HOPKINS and DEAN<sup>5)</sup> は高温処理卵を検鏡し、死因は主に高温が細胞分裂を阻害することであると述べている。したがって、本研究の1細胞期の実験でも細胞分裂が阻害され、その結果、ふ化限界処理温度が最も低い値になったと考えられる。

その後、増大したキュウセン卵の高温耐性は胚体出現期から原口閉鎖直前期にかけて減少し、原口閉鎖完了後は速やかに回復した。このような原口閉鎖期付近における高温耐性の減少は上記各魚種でも認められている。しかし、その耐性が再び増大するステージは魚種によって異なり、例えば、コイ、*F. heteroclitus*、シロギス、マダイでは、原口閉鎖完了後に速やかに回復しているが、*E. cimbrius* とスズキでは、原口閉鎖完了後もしばらくは高温耐性の小さいステージが続き、尾芽分離期以後になってようやく回復している。したがって、キュウセンは前者の例と一致する。

また、卵割初期と原口閉鎖期間の耐性の差異にも魚種による違いがある。つまり、コイ、*F. heteroclitus*、スズキでは、卵割初期の耐性が原口閉鎖期のそれより小さく、コイとスズキの場合、ふ化限界処理温度がそれぞれ

2.5°C と 5°C 低いが、シロギスとマダイでは、両ステージ間の差異がほとんどない。キュウセンは卵割初期のふ化限界処理温度が原口閉鎖期のそれより 2.5°C 低く、前者の例と一致し、とくに原口閉鎖完了後の耐性の回復状況とあわせると、本種の卵の発生に伴う温度耐性の変化はコイのそれに著しく類似しているといえる。原口閉鎖期の死因については、HOPKINS and DEAN<sup>5)</sup> は *F. heteroclitus* で原口部卵黄の膨脹による卵黄膜破裂を報告しているが、OOZEKI and HIRANO<sup>7)</sup> はシロギスで囊胚形成速度の不均一による細胞結合の破壊を報告し、両者の見解が異なっている。本研究では、この問題を論じうるデータがない。今後、多くの魚種における研究例を蓄積しての解明が必要と思われる。

なお、発生期間中の総ふ化率と正常ふ化率のふ化限界処理温度の差異は 1.3°C 以内で、両ふ化率ともほとんど同じ変化を示していたが、このなかで、囊胚初期以前は 0~0.8°C でその多くは 0.3°C 以内に対し、囊胚中期以後のそれは 0.2~1.3°C でその多くは 0.4°C 以上で、奇形仔魚の出現率は発生後期の方で高い傾向にあった。この点については、TATARKO<sup>3)</sup> も、高温処理コイ卵にお

いて、その出現率は卵割初期よりも胚体出現期の方で高いことを指摘している。

ところで、KIYONO and SHINSHIMA<sup>6)</sup> はイシガレイ卵について、上記2ステージよりも心搏開始期の方の温度耐性が小さいことを報告しているが、本研究ではそのような現象は観察されなかった。

文 献

- 1) BATTLE, H. I. Effects of extreme temperatures and salinities on the development of *Enchelyopus cimbrius* (L.). *Contribs. Canadian Biol. Fish.*, 5: 109-192 (1929).
- 2) BERGAN, P. On the blocking of mitosis by heat shock applied at different stages in the cleavage divisions of *Trichogaster trichopterus var. sumatranus* (Teleostei: Anabantidae). *Nytt. Mag. Zool.*, 9: 37-121.
- 3) TATARKO, K. I. Sensitivity of pond carp to elevated temperature in various periods of embryonic development. *Gidrobiol. Zb.*, 4: 34-43 (1968).
- 4) FRANK, M. L. Relative sensitivity of different developmental stages of carp eggs to thermal shock. in *Thermal Ecology* (ed. by J. W. GIBBONS and R. R. SHARITZ, Technical Information Center, U. S. Atomic Energy Commission) p. 171-176 (1974).
- 5) HOPKINS, S. R. and J. M. DEAN. The response of developmental stages of *Fundulus* to acute thermal shock. in *Physiological Ecology of Estuary Organisms* (ed. by S. J. VERBERG, Univ. South Carolina Press), p. 301-318 (1975).
- 6) KIYONO, M. and K. SHINSHIMA. The thermal tolerance of stone flounder eggs. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 49: 701-704 (1983).
- 7) OOZEKI, Y. and R. HIRANO. Effects of temperature changes on the development of eggs of the Japanese whiting *Sillago japonica* TEMMINCK et SCHLEGEL. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51: 557-572 (1985).
- 8) 木下秀明・道津光生. マダイ卵の高温耐性. 水産増殖, 37: 15-20 (1989).
- 9) 木下秀明・道津光生. スズキ卵の高温耐性. 水産増殖, 37: 21-26 (1989).
- 10) 中山伊知郎. 統計学辞典. 東洋経済新聞社, p. 447-456 (1970).