

異なる水深によるメダカ受精卵の孵化率および孵化日数への影響

上出櫻子*・木村恵美*・小林牧人*

Influence of different water depth on hatching rate and hatching time of fertilized eggs of medaka. KAMIDE Sakurako*, KIMURA Emi*, & KOBAYASHI Makito* (*Department of Natural Sciences, International Christian University, 3-10-2 Osawa, Mitaka, Tokyo, 181-8585 Japan)

Japanese medaka (*Oryzias latipes*) is known to deposit fertilized eggs on aquatic substrates in shallow waters. In order to examine the influence of water depth on embryonic development of fertilized eggs of an orange-red variety and wild medaka, we observed fertilized eggs for 18 days and compared the hatching rate and the hatching time at different water depths of 5, 30, and 65 cm. The hatching rate was lower at 65 cm depth than at 5 cm depth and the hatching time was longer at 65 cm depth than at 5 cm depth with both the orange-red variety and the wild medaka. These results indicate that deep water is not suitable for the embryonic development of medaka and suggest that preservation of natural conditions in shallow waters of rivers and ponds is important for conservation of wild Japanese medaka.

Keywords

medaka, fertilized egg, hatching rate, hatching time, water depth

メダカ, 受精卵, 孵化率, 孵化日数, 水深

1 はじめに

日本のメダカ（ミナミメダカ *Oryzias latipes* とキタノメダカ *Oryzias sakaizumii*）¹⁾はその個体数が減少し、現在、環境省により絶滅危惧Ⅱ類（VU）に指定されている²⁾。メダカの保全を効果的に行うにはメダカの生活史を把握し、その生活史が完結されるための環境の保持が重要である。筆者らはこれまでにメダカの保全のための基礎的知見を得ること目的として、メダカの繁殖生態の研究を行ってきた³⁾。その結果、野外でのミナミメダカの繁殖行動の観察から、ミナミメダカの雌は雄との産卵行動後、池、川などの浅瀬の流れの緩いところに生育する植物に受精卵を産み付けることが明らかとなった⁴⁻⁶⁾。また実験室でのヒメダカでの実験から、ヒメダカの雌は深い水深にある水草より浅い水深にある水草を選好して卵を産み付ける性質をもつことも明らかとなった⁷⁾。浅い水深に受精卵を産み付けるメリットとしては、捕食圧の低減のほか、水温と溶存酸素量が受精卵の発生に適していること

などが考えられる。一方、デメリットとしては、水位の低下により受精卵が空気中に露出してしまう可能性がある。しかし我々の研究から、水分の補給があればメダカ（ヒメダカとミナミメダカ）の受精卵は数日間、空気中に曝されても、その後水中に戻されれば孵化をする、という乾燥耐性をもつことが示され、乾燥という危険に対してはある程度対応ができることが明らかとなった⁸⁾。

本研究では、胚発生の観点からヒメダカおよびミナミメダカの受精卵を水槽内の異なる水深に置き、孵化率、孵化日数を調べ、水深が受精卵に及ぼす影響について検証した。

2 材料と方法

2・1 メダカおよび受精卵の採取

本研究ではヒメダカ (*Oryzias latipes*) と野生ミナミメダカ (*Oryzias latipes*) を用いた。実験には全長 30 mm 前後の個体を用いた。ヒメダカは埼玉県流通センター（埼玉県加須市）より購入した。また野生ミナミメダカは東京都の野川（三鷹市）で採集した。野

* 〒 181-8585 東京都三鷹市大沢 3-10-2 国際基督教大学 教養学部アーツ・サイエンス学科自然科学デパートメント

川の野生ミナミメダカ集団については、遺伝子解析がなされている。Takehana et al.⁹⁾によるマイトタイプの種類では、野川の集団では主としてB11タイプで、関東型の在来集団であることが確認されている¹⁰⁾。

これらのメダカを性成熟させるために水温25℃、日長16時間明期(6:00点灯)に設定したガラスストック水槽(40L)で飼育した。餌には市販の飼料(「めだかの餌 産卵・繁殖用」, キョーリン社, 姫路市)を1日2回適量与えた。水槽内にはオオカナダモ(*Egeria densa*)を入れ、水質維持のための濾過フィルターを設置した。この条件で飼育水槽内で季節を問わずメダカの産卵がほぼ毎日行われる。

受精卵採取のため、初日の午後に雌雄のメダカを小型水槽(13.5×9.8×深さ8.9cm)に1個体ずつ入れた。小型水槽の飼育条件は、水温25℃、日長16時間明期(6:00点灯)とした。水槽内に濾過槽、水草は入れていない。翌日の朝(8:00-12:00)、産卵が行われた場合、雌の腹部に保持されている卵塊を採集し、卵を個別に分離して実験用カゴに入れた。同一個体の雌から得た受精卵は、以下に示す3つの実験群にほぼ均等になるように分配した。

2・2 受精卵孵化実験

採取した受精卵は実験用のカゴに入れた。カゴは塩ビのパイプ(外径76mm, 内径74mm, 長さ60mm)の両端の外側にステンレス製の急須用茶こし(ヤマキイカイ, 常滑市)をはめて作成した(図1)。ただし水深5.0cmにセットしたカゴについては、塩ビパイプの長さは30mm, 茶こしは下端のみはめた。各カゴの塩ビパイプの部分に2か所の孔を開け、カゴ

に紐をつけて水槽上部に設置した角材から実験水槽内に垂下させた。実験には、屋外に設置された大型FRP循環濾過式実験水槽(内寸80×140×深さ70.5cm)を用いた。実験水槽は水温25℃、日長16時間明期(4:00点灯)に設定した。水深は70cmになるように水を入れた。水槽上部に3本の角材を渡し、6個の実験用カゴを紐でつるし、実験用カゴの底面が水深5.0, 30.0, 65.0cmになるように各水深について2個ずつ設置した。1つの実験用カゴの中には受精卵を7~8個入れた。受精卵を実験用カゴに入れてから、18日間、毎日カゴの中の孵化仔魚の有無を観察した。6個の実験用カゴを用いた観察を1セットとし、観察は3セットのデータ(1水深あたりカゴ6個分)を合一して実験結果とした。実験水槽内のカゴの配置は、観察ごとに変えた。孵化した仔魚はプラスチックシャーレに入れ、数日間飼育し、異常がないか観察した。水槽内の水は循環しており、水温は水深5.0, 30.0, 65.0cmの各水深において25℃に保たれた。また水槽内の各水深の溶存酸素濃度を溶存酸素計(DO-5509, 佐藤商事, 川崎市)で実験開始時(3セットのうちの1セット目の開始時)と実験終了時(3セットのうちの3セット目の終了時)に測定した。溶存酸素濃度は水深の増大に伴い、若干の低下がみられた(表1および表2)。ヒメダカの受精卵を用いた実験は2016年4月23日から6月30日に、野生ミナミメダカの受精卵を用いた実験は2016年8月1日から10月27日に行った。

2・3 統計学的検定

各水深間の孵化率の差は、Fisherの正確確率検定

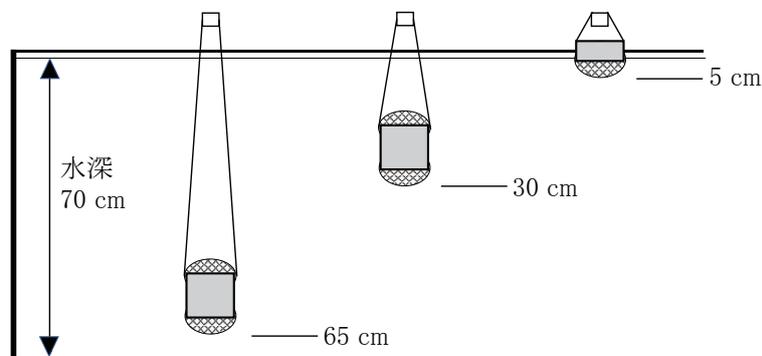


図1 実験装置の模式図。

水深70cmに設定した実験水槽内に実験用のカゴを垂下した。カゴの中にヒメダカあるいは野生ミナミメダカの受精卵を入れた。カゴの下端がそれぞれ水深65, 30, 5cmとなるように設置した。18日間、毎日カゴの中の受精卵を観察し、孵化率、孵化日数を測定した。なお図中のカゴは、実際の縮尺より大きく示してある。

法で比較した。各水深間の孵化日数の差は、Steel-Dwassの多重検定で比較した。有意水準は5%とした。

3 結果

3・1 孵化率

水深65cmにおけるヒメダカ受精卵の孵化率は、水深5cmのそれと比較して有意に低かった ($p<0.05$) (図2A)。水深65cmにおける野生ミナミメダカ受精卵の孵化率は、水深5cmのそれと比較して有意に低かった ($p<0.05$) (図2B)。また各水深で孵化した仔魚の形態、遊泳に異常はみられなかった。

3・2 孵化日数

水深65cmにおけるヒメダカ受精卵の孵化日数(最短11日, 最長18日)は、水深5cm(最短8日, 最長17日)および水深30cm(最短8日, 最長15日)のそれと比較して有意に長かった ($p<0.05$) (図3A)。水深65cmにおける野生ミナミメダカ受精卵の孵化日数(最短8日, 最長16日)は、水深5cm(最短8日,

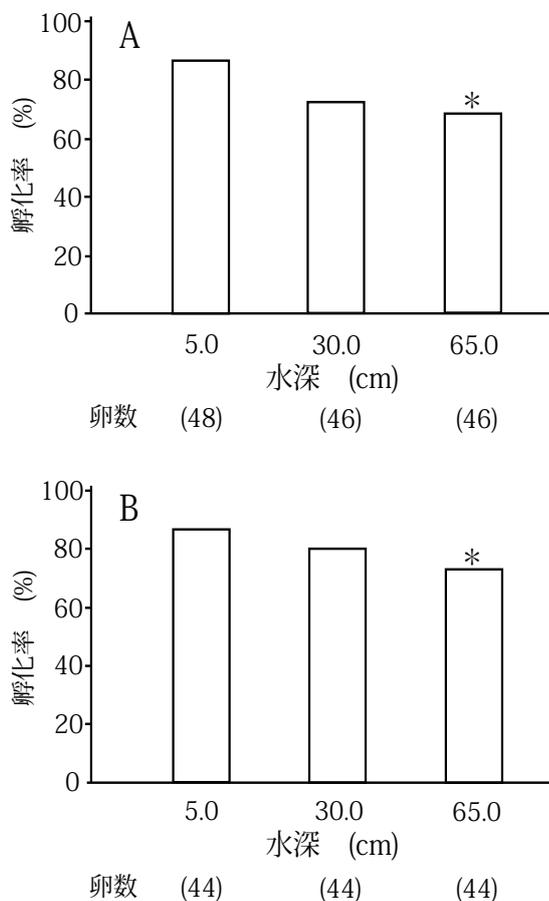


図2 異なる水深によるメダカ受精卵の孵化率への影響。

A, ヒメダカ; B, 野生ミナミメダカ。*, 水深5cmに置かれた受精卵の孵化率との比較, $p<0.05$ 。

表1 各水深の実験開始時および終了時の溶存酸素濃度 (ヒメダカ)。

水深 (cm)	溶存酸素濃度 (mg/L)	
	開始時	終了時
5	6.8	6.9
30	6.7	6.7
65	6.5	6.6

表2 各水深の実験開始時および終了時の溶存酸素濃度 (野生ミナミメダカ)。

水深 (cm)	溶存酸素濃度 (mg/L)	
	開始時	終了時
5	6.9	6.8
30	6.8	6.7
65	6.6	6.6

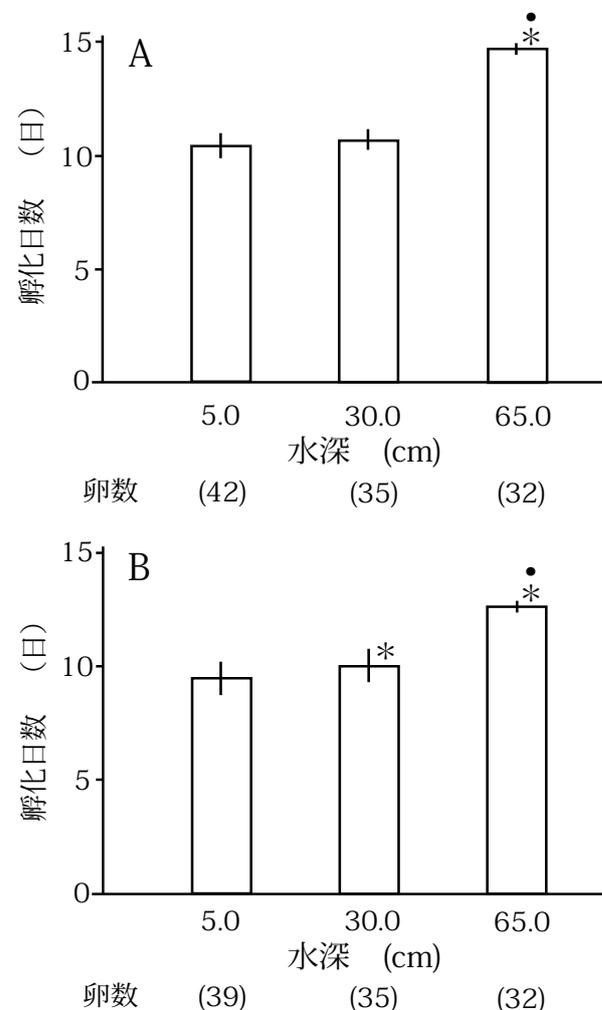


図3 異なる水深によるメダカ受精卵の孵化日数への影響。

A, ヒメダカ; B, 野生ミナミメダカ。カラムとバーは平均値と標準誤差を示す。

*, 水深5cmに置かれた受精卵の孵化日数との比較, $p<0.05$ 。

●, 水深30cmに置かれた受精卵の孵化日数との比較, $p<0.05$ 。

最長 14 日) および水深 30cm (最短 8 日, 最長 14 日) のそれと比較して有意に長かった ($p < 0.05$). また水深 30cm の受精卵の孵化日数は, 水深 5cm のそれと比較して有意に長かった ($p < 0.05$) (図 3B).

4 考察

これまでの研究により, 野生ミナミメダカ⁴⁻⁶⁾ およびヒメダカ⁷⁾ は浅い水深に受精卵を産み付ける性質をもつことが明らかとなっているが, 本研究により, 深い水深で受精卵を発生させると, 孵化率が低下し, 孵化日数が延長することが示された. すなわち, メダカにとって, 深い水深に受精卵を産み付けることは, 胚発生の抑制が起こることが示された. 孵化率が下がると繁殖成功の確率が低くなり, 孵化日数が長くなると捕食される確率が高くなると考えられる.

水深の増大に伴う胚発生抑制の要因にはいくつか考えられるが, 最も可能性が高いと考えられるのは水圧の増大である (水深 5, 30, 65cm の水圧はそれぞれ 500, 3000, 6500 Pa). 深い水深による圧力が胚の細胞分裂, 仔魚の受精膜からの脱出 (孵化) に抑制的に作用していたことが考えられる. また実験水槽の水は循環していたものの各水深における溶存酸素濃度は水深の増大とともにわずかな低下がみられ, この要因が胚の細胞の活動に抑制的に作用したことも考えられる. 今回の実験では, 水温は各水深においてすべて 25°C に保たれていたため, 受精卵発生の違いに対する水温の影響は小さいと考えられる. 実際の野外では, メダカの産卵期の春から夏にかけては, 水面近くが高温, 高溶存酸素となり深い水深では低水温, 低溶存酸素となると考えられ, 水深間による孵化率, 孵化日数の差は, 今回の実験結果よりも大きくなると考えられる. また今回は測定をしていないが, 光の強さや波長 (色) も, 受精卵の発生に影響したかもしれない.

今回の研究により, 水深によってメダカの受精卵の孵化率と孵化日数に違いが生じることが実験的に示された. このようなメダカの生物学的特性をふまえ, 池, 川などの岸の浅瀬に適切な繁殖環境が維持されることが, メダカの効果的な保全につながると考えられる¹¹⁾.

引用文献

- 1) Asai, T. Senou, H. & Hosoya, K. : Ichthyol. Explor. Freshwaters, 22, 289-299 (2011).
- 2) 環境省：“環境省レッドリスト 2015 の公表について”, 別添資料 4) レッドリスト (2015)「汽水・淡水魚類」<http://www.env.go.jp/press/101457.html> (2020 年 4 月 23 日閲覧).
- 3) 小林牧人, 上出櫻子, 岩田恵理: 海洋と生物, 39, 113-119 (2017).
- 4) 小林牧人, 頼経知尚, 鈴木翔平, 清水彩美, 小井土美香, 川口優太郎, 早川洋一, 江口さやか, 横田弘文, 山本義和: 日本水産学会誌, 78, 922-933 (2012). (本文中に電子付録データの URL が記載されているが, 間違いがあり, 以下に正しい URL を示す. https://www.jstage.jst.go.jp/article/suisan/78/5/78_922/_article/supplement/-char/ja/)
- 5) 岩田恵理, 坂本幸多朗, 大河内拓也, 佐々木秀明, 安田純, 小林牧人: 自然環境科学研究, 28, 11-21 (2015).
- 6) 上出櫻子, 土師百華, 北川忠生, 小林牧人: 自然環境科学研究, 31, 1-7 (2018)
- 7) 上出櫻子, 小南優, 小林牧人: 自然環境科学研究, 30, 1-4 (2017).
- 8) 小林牧人, 関加奈恵, 松尾智葉, 岩田恵理: 自然環境科学研究, 32, 1-5 (2019).
- 9) Takehana, Y., Nagai, N., Matsuda, M., Tsuchiya, K. & Sakaizumi, M.: Zool. Sci., 20, 1279-1291 (2003).
- 10) 中尾遼平, 入口友香, 周翔瀛, 上出櫻子, 北川忠生, 小林牧人. 魚類学雑誌, 64, 131-138. (2017).
- 11) 小林牧人, 上出櫻子, 北川忠生, 岩田恵理: “日本の野生メダカを守る 正しく知って正しく守る” (棟方有宗, 北川忠生, 小林牧人編), 13-36 (2020), (生物研究社).

論文をまとめるにあたって貴重なご助言を下された宮城教育大学の棟方有宗先生に感謝いたします.

(2020 年 4 月 29 日受付, 2020 年 8 月 10 日受理)