# ワラスボの採卵, 卵発生および仔魚

## 道 津 喜 衛•田 北 徹

Induced Spawning by Hormon—operation, Egg—development and Larva of Blind Gobioid Fish, *Odontamblyopus rubicundus* 

#### Yoshie DOTSU and Toru TAKITA

On July 24, 1964, three pairs of the blind gobioid fish, Odontamblyopus rubicundus (HAMILTON), were collected from the tidal muddy flat on the coast of Isahaya Bay, Nagasaki Prefecture (Fig.1). They were transported to the laboratory of Nagasaki University and there kept in an aquarium. On July 25, gonadotropic hormons, Synaholin and pituitaries of a fish, were injected and planted in the muscles of the tested fish, to induce the spawning, and Synaholin was supplementally injected on July 29 and August 2 (Table 1 and Table 2). After the first hormon-operation, each pair of the tested fish was enclosed in an earthen pipe, which was set on the aquarium-bottom as an artifical breeding-room. A pair of the tested fish (Fish Nos. 5, 6) spawned 300 eggs on Angust 1. consisting of 240 fertilizes eggs and 60 unfertilized eggs deposited on the inner wall of the earthen pipe. The fertilized eggs consisted of 40 normal eggs, abnormal agrippa eggs and other abnormal ones with inadquately expanded egg-membranes (Fig. 2, 3). Abont 20,000 other discharged eggs consisting of fertilized eggs and unfertilized ones had already eaten by the male parent fish (Fish No.5) when the spawning was recognized.

The normal fertilized eggs were oval in shape, being  $2.5\sim2.6$  mm in long axis and  $0.6\sim0.7$  mm in short axis. The egg was demersal and possessed a boundle of adhesive filaments at the basal end of the eggmembrane. Eye-vesicles firstly appeared in the 12 hours old embryo (Fig. 2, F), and eye-balls appeared in 20 hours old and 26-myomere embryo (Fig. 2, I). The eyes of the embryo normally develobed along with the egg-development. The hatching took place 75 hours after the spawning at the water-temparature of  $27.6\sim28.8^{\circ}\text{C}$ .

The newly hatched larva possessed normal eyes, a few melanophores and 32 myomeres, and was  $3.4\ mm$  in total length (Fig. 2, M).

## はしがき

ハゼ亜目の魚のなかには眼が退化して小さくなる傾向にあると思われるかなりの種類が みられるが、この傾向がさらに進み、眼が退化縮小して皮下に埋没し、視覚を失ったと思 われるいくつかの種類がある。これらのいわゆるめくらハゼはその生態面からみて、(1)日本 産のドウクツミミズハゼ Luciogobius albus')およびマダガスカル島産の Typhleotris madagascariensis²)のように地下水域の暗所に住んでいるもの, (2)北米太平洋岸産の Typhlogobius californiensis³)およびその近縁種に例をみるように,甲殼類の生息 孔のなかに住んでいるもの, (3)東南アジアの各地に産し,日本のワラスボ Odontamblyopus rubicundus⁴)およびアカウオ Ctenotry pauchen microce phalus⁵)で代表され,海底の軟泥中に堀孔あるいは埋没生活を営むものという 3 つの型に分けられる\*¹,これらのめくらハゼのうち,(1)の地下水域産のハゼはいずれの種類も採集個体数が少く,それらの生活史も不明であるが, (2)の T. californiensis については, その胚体および仔魚は一般のハゼ類の胚体および仔魚にみられるような発達した眼をそなえているが,成長するにしたがって眼が退化し,皮下に埋没することがすでに明らかにされている³・7)。また (3)のワラスボおよびアカウオなどについても,それらの中層浮遊生活を送っている仔魚はいずれも普通に発達した眼をそなえているが,その後成長して稚魚となり,底せい生活さらには堀孔,埋没生活に入るにしたがって眼が退化して皮下に埋没してゆくことを筆者がすでに報告した⁴・5)。

九州の有明海にぎょう産するワラスボ\*2については、その生態調査と合せて胚体における眼の発生経過を知るために受精卵をうるためのいろいろな試みを行ってきたが、今回、同海の一支湾である長崎県諌早湾で採集した成熟魚に性腺刺 銭ホルモンを注入し、水槽内で産卵させ、卵発生の経過を明らかにすることができたのでここに報告する.

謝辞 はじめに本研究を続けるに当りご指導とごべんたつをいただいた九州大学内田恵 太郎名誉教授に感謝すると共に、研究材料の採集そのほかでご協力をいただいた佐賀県水 産試験場有明分場(現在、佐賀県養殖試験場)の職員の方々、鹿島市の宮崎貞治氏、有明 海沿岸の漁業者、高椋伊佐男、中尾春男、中島善七、舟本月雄の諸氏にこの機会に謝意を 表する.

#### ワラスボの受精卵をうるために行つてきた試み

1)1947年から1953年までの期間には、ワラスボの産卵期に当ると考えられた6月から9月\*\*。までの間に佐賀県鹿島市の地先を主な調査地として、福岡県および佐賀県の地先の有明海で操業し、ワラスボが取れる各種の網(例えば、ふくろ網、しげ網、たけはぜなど)の漁船に便乗し、それらの網の漁獲物のなかからワラスボの成熟魚を選び出し、それを用いて人工受精を試みた。また、同時に、この時期には鹿島市地先で干潮時に現われる干がたの軟泥中に造られていた生息室のなかに潜んでいたワラスボの成魚をくわで掘り起こして取ったり、ワラスボかきという道具を用いて刺し取ったりしてえたなかから成熟魚を選び、それを用いて人工受精を試みたが、いずれの場合にも、完熟精巣を持った雄魚は多数えられたが、完熟卵巣を持った雌魚は1尾もえられず、人工受精による受精卵はえ

<sup>\*1</sup>高木な)はこれらのめくらハゼを堀孔型と洞くつ型との2つの生態型に含めている.

<sup>\*2</sup>ワラスボは日本では有明海にのみ産する.

<sup>\*3</sup> その後筆者が有明海沿岸の2,3 の漁業者からえた聞込み調査によると,腹部のいちじるしくふくれた成熟ワラスボが取れる盛期は冬が終り,海水がぬくもり始める3月から5月の間であるとされており,有明海産ワラスボの産卵期の再調査と3~5月に取れるワラスボを用いての人工受精試験を試みる必要がある.

られなかった. しかし、これらの調査で、有明海で天然に取れるワラスボ成魚の中には完 熱卵巣を持った雌魚が混ることはほとんど期待できないことを知った.

- 2) 1950年の5月から9月の間に,前後数日にわたって,鹿島市地先の干がたでその軟泥中に造られていたワラスボの生息室を探してくわで堀り起し,その室の泥の内壁に産み付けられていると予想された天然卵の採集を試みたが卵は全然えられなかった.
- 3) 1954年 7月17日, 鹿島市塩田川の川口で操業するふくろ網の漁船に便乗し、その網で取れた多数のワラスボ成魚のなかからなるべく腹のふくれた成熟雌魚 5 尾となるべく大型の雄完熟魚(いずれも全長300mm以上)を選んで生かしておき、雌成熟魚 5 尾のうちの 3 尾には性腺刺 践ホルモンとして食用蛙の脳下垂体の懸濁液を腹腔内に注射し\*4,また、残りの雌魚 2 尾にはそれぞれその胸鰭背方の筋肉中に食用蛙の脳下垂体を 1 個づつを移植したのちに、雌雄 1 対の 5 組を作り、各組をそれぞれ下水用のうわ薬の付いた土管(内径6cm、長さ約45cm)のなかに入れ、土管の両方の入口を網でふたをしてそのなかに魚をとじ込めたのち、漁船の舷外の海水中につるしたり、天然生息場付近の水底に置いたりして産卵の促進をはかったが、土管が流失したり、海底の軟泥中に埋もれたりして脳下垂体注入処理後 1 日以内に全試験魚を失ったので採卵することはできなかった。しかし、この実験によって、有明海のような潮汐の干満の差が大きくて潮流の早い水域では生息場付近の天然水域で試験魚を生かしておき、管理を続けることが困難であることを知った。)
- 4) 1963年7月7日,鹿島市沖の有明海に設置してあるたけはぜの漁船に便乗し,その網で取れたワラスボ成魚のなかからなるべく腹部の大きな雌成熟魚5尾と雄完熟魚3尾\*5とを選んで生かしたままで長崎市文教町にある本学部の実験室まで運び,そこの飼育水槽(透明ビニール製で,縦70cm,横90cm,深さ45cmのもので,そのなかに½海水を深さ10cmほどになるように入れた)に収容し,換水せず,また,餌も与えずに7月30日までの23日間飼育した。この間,7月9日と7月16日の両日,各個体に性腺刺戟ホルモンとしてシナホリン(帝国臓器製薬株式会社製)の20家鬼単位づつを筋肉中に注射して卵巣内卵の成熟促進をはかったところ,7月16日の注射後雌魚のうちの2尾の腹部がかなりふくれてきたが,人工受精が可能な完熟卵をうるまでには至らなかった。しかし,この実験で,ワラスボの成熟魚を生かしたままでかなりの距離運べること,また,それを高水温期に無投餌で長い間水槽で飼育ができることを知った。
- 5) 1964年 7 月24日,有明海の一支湾である諫早湾に面する長崎県北高来那高木町地先の干がたの軟泥中に造られていたワラスボの生息室をくわで堀りおこし,そのなかにいた雄成魚 3 尾,雌成魚10尾を採集し(Fig. 1),このうち,体がやせ,腹部が小さくなっており,すでに産卵を終っていると思われた雌 4 尾を除いたほかの個体を生かしたままで長崎市の本学部まで運び,そこの循環式水槽\*°に収容した.7 月25日,雌魚のうち腹部がな

<sup>\*4</sup>アセトンで脱水,固定したのち乾燥,保存しておいた脳下垂体をすりつぶして 0.25%食塩水で懸 濁液を作り,ワラスボ1尾当り脳下垂体1.5個あてになるように注射した.

<sup>\* 5</sup>ワラスボの精巣は完熟状態のものでもひも状の細長いものであり、 したがって、 雌魚と違って、 雄魚は完熟精巣を持っていてもそのために腹部が特に大きくなることはない。

<sup>\*6</sup> 水槽はろ過揚水型 $^3$ )の内式ろ床のもので, 縦 $^7$ 0cm,横 $^9$ 0cm,深さ $^4$ 5cmの透明ビニール製であり,水槽内を暗くするためにその外囲を暗膜でおおい, 土管内のワラスボの行動を 観察する時だけこの暗膜を取り除いて水槽内を明るくした。飼育水の水温は $^2$ 7 $\sim$ 29 $^\circ$ C,pH 7.9,比重 $^1$ .018 $^\circ$ 0 た.

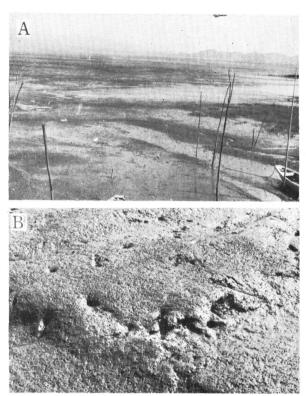


Fig. 1 Habitat of the fish, Odontamblyopus rubicundus
A Tibal muddy flat on the coast of Isahaya Bay, Nagasaki Pref.
B Entrances to the living hole of the fish on the tidal muddy flat.
Photographs were taken at ebb tide.

るべく大きな 3尾を選び、これらと雌魚 3尾とで雌雄 1 対の 3組を作り、性腺刺患ホルモンとして各個体の胸部筋肉中にブリ Seriola quinqeradiata の脳下垂体\*7を 1 個ないし 2 個を移植し、さらに、 $10\sim20$ 家鬼単位のシナホリンを筋肉中に注射し、そののち各組の魚をうわぐすりのついた下水用土管(内径8.5cm、長さ62cm)のなかに入れ、土管の両入口を金網で蓋し、そのなかに魚を閉じ込めたままで土管を上記の水槽底に横たえておいた。この試験魚のうちの 4 個体には 7 月29 日に、さらにそのうちの 1 個体には 8 月 2 日にもシナホリンを追加注射したが、試験魚およびそれに対するホルモン処置の詳細はそれぞれ Table 1 と Table 2 とに示した。試験魚のうち、土管80.3に閉じ込めておいた雌雄魚 81、82、83 は 83 月 84 日、土管内で産卵し、受精卵がえられた。

<sup>\* 7 1964</sup>年 4 月, 長崎県男女群島のブリ落網で取れた体重 7 kg前後の成熟ブリから漁場現場で採取し アセトンのなかに貯蔵しておいたものを用いた. なお, この脳下垂体を採取したブリには雌雄両 方が含まれていた.

Fish No.	Sex	T. L.	B. L.	B. W. in g.	Pipe No.*
1	Male	228	191	25.2	1
2	Female	250	208	24.6	1
3	Male		205	32.3	2
4	Female	_	224	24.8	2
5	Male	327	275	49.0	3
6 .	Female	236	195	27.8	3

Table 1 The tested fish

Table 2 Hormon-operation on the tested fish

Fish No.	Sex	Hormon-operation	Spawning	
1	Male	A pituitary* of a fish was planted and 20 R. U. Synaholin** was injected in the pectoral muscle on July 25, 1964.	The spawning did not occur. The fish died on July 26, 1964.	
2	Female	A pituitary of a fish was planted and 20 R. U. Synaholin was injected in the muscle on July 25, and 10 R. U. Synaholin was supplementally injected on July 29.	The spawning did not occur. The fish was fixed on July 30.	
3	Male	A pituitary of a fish was planted and 20 R. U. Synaholin was injected in the muscle on July 25.	The spawning did not occur. The fish was fixed on August 6.	
4	Female	A pituitary of a fish was planted and 20 R. U. Synaholin was injected on the muscle, 10 R. U. Synaholin was supplementally injected on July 29 and August 2.	The spawning did not occur. The fish was fixed on August 6.	
5	Male	A pituitary of a fish was planted and 20 R. U. Synaholin was injected the muscle on July 25, and 20 R. U. Synaholin was supplementally injected on July 29.	The spawning ocurred on August 1. The fish was fixed on the day.	
6	Female	Two pituitaries of a fish were planted and 20 R. U. Synaholin was injected in the muscle on July 25, and 10 R. U. Synaholin was supplementally injected on July 29.	The spawning ocurred on August 1. The fish was fixed on the day.	

<sup>\*</sup> The pituitaries were collected from ripe yellow tail, Seriola quinqueradiata of about 7 kg in body-weight, and they were preserved in acetone.

<sup>\*</sup> Earthen pipes. After the first hormon-operation, each pair of the tested fish was enclosed in a pipe set on the aquarium-bottom as an artifical breeding-room.

<sup>\*\*</sup> Synaholin is produced by Teikoku Zoki Seiyaku Cō., Tokyo. This preparation is a chorinic gonatropin and mammalian pituitary extract.

#### 産卵

### 卵発生および前期仔魚

上記の土管内壁からはぎ取った 300 個の卵についてみると、そのうちの約8割の卵は受精していたが、残りの約2割の卵は末受精卵であった。この受精卵のうち卵膜が十分に伸張して長なす形をしていたものは約半数であり、残りの受精卵では卵膜が十分に伸張せず球形ないしは長楕円形をしていた。なお、筆者がさきにワラスボの放出未受精卵として報告した卵はこのような卵膜が十分に伸張していない卵を示したことになる4)。卵膜が十分に伸張した受精卵のうちで、その胚盤が卵膜基部(卵門の位置)に向って位置している正常卵は約3割にすぎず、残りの卵は胚盤が卵膜先端部に向って位置する異常な逆子卵でありい)、結局、土管から剝ぎ取った300卵のうち、正常な受精卵は40個にすぎなかった。また、この土管に付いていた卵はかなりの時間をかけて産出、受精されたものと思われ、土管からはぎ取った直後の卵についての検鏡結果によると、大部分の受精卵は桑実期であったが、一部の卵は細胞分裂前のものであった。雄親魚(No.5)の胃内から取り出した約2万個の卵のうちの約9割の卵は未受精卵であり、残りの1割の卵が受精卵であったが、受精卵のなかには卵膜が十分に伸張していないものが多かった。

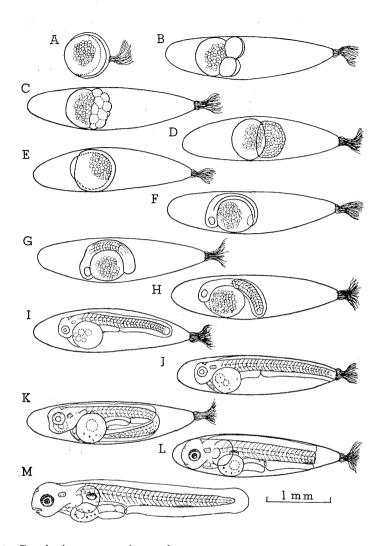


Fig. 2 Developing eggs and a prolarva

A Discharged, unfertilized egg. B 2-cell stage. C 16-cell stage. D Morula stage, 7 hr. after spawning. E Before closure of blastpore, 10 hr. after. F Embryo formed, eye vesicles and Kupffer's vesicle appear, 12 hr. after. G 9-myomere embryo, 13 hr. 30 min.

after. H 14-myomere embryo, tail free from yolk, 17 hr. after.

I 26-myomere embryo, eye-balls and otocysts appear, minute oil globules united into some larger ones, embryo moves, 20 hr. after. J 32(9+23)-myomere embryo, heart pulses, chromatophores ap-

pear on tail and yolk, 34 hr. and 30 min. after. K Embryo grows and bends its tail, rudiments of pectoral fins and air-bladder formed, chromatophores appear on eyes, 49 hr. after. L Embryo before hatching, 72 hr. after. M Prolarva, 10 hr. after hatching.

The egg-development was carried out at the temperature of 27~ 29° C.

むにしたがって発達し、色素が増してゆく(Fig. 2、L)。なお、34時間後の胚体(Fig. 2、J)の卵黄上にはじめて現われる小黒色素胞群は体全体に黒色素胞の少ない本仔魚では一つの特徴として挙げられる。 ふ化時間は水温27.6~28.8° C で約75時間であった。 ふ化直後の仔魚(Fig. 2、M)は生時の全長が3.3~3.5(5 尾について)であり、体節筋肉数は 9+23(成魚の脊椎骨数は 10+23~24)、体には黒色素胞が少なく、尾部体縁部の 2つの大きな黒色素胞は本仔魚の特徴となる。なお、本仔魚は発達した眼をそなえている。

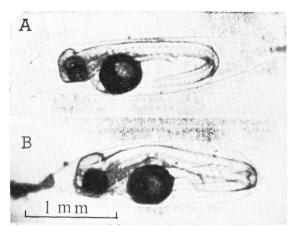


Fig. 3 Developing eggs
A Normal embryo, 49 hr. after spawning. B Abnomal, agrippa embryo, before hatching, 70 hr. after spawning.
The egg-membrane is deformed.

論議

今回の採卵実験のために天然生息場から採集した材料魚のワラスボ成魚はその採集時期が遅れたためになかにはすでに産卵後と思われる個体が混り、採卵実験に用いた雌魚 3尾 (Nos. 2, 4, 6) のうちの2尾 (Nos. 2, 4) は腹部がさほど大きくなく筆者がほかのハゼ類について行なった採卵実験の経験からみて、これらに性腺刺酸ホルモンを注入しても産卵させ得ることは期待できない状態にあったので、腹部のかなり大きかった残りの1尾 (No. 6) については、とにかく、卵を産ませることを第1の目標として前述のように、違った種類の性腺刺酸ホルモンを合せ、しかも必要と思われる量以上のものを魚体に注入した。その結果、その1組の雌雄 (Nos. 5, 6) が土管内で産卵し、受精卵をえることができたが、採卵の成功例はこの1例だけであり、したがって、今回使用したホルモンのワラスボの成魚に対する成熟および産卵促進の効果についての実験、解析的な資料は得られなかった。しかし、成功例は1つだけであったが、これによると、適当な採集時期に得たワラスボの成熟魚を水槽で飼育し、これに前述のような性腺刺酸ホルモンを注入し、さらに適当な産卵室を与えることによって産卵させ、受精卵を得ることは困難でないと思われるが、しかし、今回の実験で得た卵のなかには正常な受精卵が少なかったことは飼育条件下の親魚に必要量以上のホルモンを短時間のうちに注入して半強制的に放卵、放

精させたためと考えられる したかって、ワラスホの健全な正常卵を多数うるためには材料魚の選出と合せてホルモン処置についての今後の研究の積み重ねか必要であると思う

今回のワラスホの採卵実験でえたワラスホの受精卵のなかに異常な逆子卵か混っていたことは先に述べたが(Fig 3, B)、これと同様な逆子卵は筆者か飼育条件下て親魚に性腺刺数ホルモンを圧入して産卵させてえたほかのハゼ類(例えはヒリンコ Chaenogobius castaneus、=クハゼ Chaenogobius heptacantlus)の受精卵のなかにも みられたが(実験結果はいすれも未発表)、これと同性質の逆子卵は 球形卵を産む 魚類の人工受精の場合にも現われると思われる しかし、球形魚卵の場合にはハゼ類卵のような非球形卵 $^{12}$ )の場合と違ってその確認かよういてないてあろう しかし、この魚卵の逆子卵の形成要因、その現われ方なとの解明は、現在、魚類の増殖における種苗生産の一つの問題点となっている健全な正常卵を多数えるための技術を確立するために役立つものと考えられる。

今回の採卵実験によって得た受精卵の発生の観察によって、ワラスホの胚体においてもほかのハゼ類(親魚か正常に発達した眼を持っている種類)の胚体におけると同様な眼か発生し、ふ化仔魚は正常に発達した眼を持っていることを確認てきた このワラスホの眼はその後発育にしたかってしたいに退化し、稚魚末期(全長30mm)になると皮下に埋皮してしまうことはすてに筆者か報告したか⁴)、この眼の退化現象は生態的には、海の中層て序遊生活を送っている仔魚かしたいに底棲生活に移り、さらに成魚にみられるような海底軟尼中ての堀孔生活に移るにしたかって起きる 一方、形態的には、体高か高く、体か側扁していた仔魚の体かしたいに伸ひて円筒形のウナギ型となり、体外縁部にそれそれ分離して発生した第1、第2背鳍、尾鳍、しり鳍の各垂直鳍か一枚の低い鳍膜て連らなるという形態変化に伴って起きる これらワラスホの初期生活史に見られる生態、形態両面における諸変化は、その発育各期の生活に適応して起きる変化てあると同時に、ハゼ類にみられる再演性変化の1つの型を示しているものと思う

#### 要約

日本産のめくらへせの1種であるワラスホについて採卯実験を行った。長崎県諌早湾の天然生息場から1964年7月24日に採集した雌雄成魚3組を水槽で飼育し、それに性腺刺致ホルモンを圧入し、人工産卯室として土管を利用し、ホルモン処置魚をその土管内に閉し込めておいたところ1組の雌雄魚が8月1日に産卵し、受精卯を土管の内壁に産み付けたこの産卵では放出卵のなかに未受精卵およひ逆子卯か多かった。また、大部分の放出卵は雄親魚か食へていた。受精卵は水性付着卵で、卵膜は長径23mm、短径06~07mmの長なす状をなし、その基部に付着糸そうかある。産卵後12時間の胚体で眼胞か現われ、20時間後の胚体で眼球かみられ、その後卵発生か進むにしたかって正常な眼か形成される。水化時間は水温23°Cで約75時間であった。水化直後の仔魚は正常に発達した眼をそなえ、全長33~35mmで、体には黒色素胞が少なく、その筋節数は9+23であった

## 参考文献

- 1) 道津喜衛:動雜,72(1),1~5(1963)
- 2) Angle, F.: Mus. nat. d' Hist. Paris Bull. (2) ,21 (1) , 56~59 (1949)
- 3) MacGinitie, G. H.: Amer. Midl. Nat., 21 (2), 489~505 (1939)
- 4) 道津喜衛:九大農学芸雑, 16 (1) , 101~110 (1957)
- 5) 道津喜衛:九大農学芸雑,16(3),371~380(1958)
- 6) 高木和徳: Jour. Tokyo Univ. Fish., 52 (2), 83~127 (1966)
- 7) Eigenmann, C. H.: Proc. U. S. Nat. Mus., 15, 123~178 (1893)
- 8) 道津喜衛・水戸 敏:魚類雜, 4 (4/5/6), 153~161 (1955)
- 9) 江草周三:水產增殖, 臨1, 3~11 (1962)
- 10) 堤 俊夫·道津喜衛:本誌, 10, 149~159, 1 pl. (1961)
- 11) 道津喜衛・藤田矢郎: 日水誌, 29 (1), 969~975 (1963)
- 12) 道津喜衛・塚原 博:日水誌, 30 (4), 335~342 (1964)
- 13) Breder, C. M. Jr.: Bull. Bingham Ocean. Coll., 8 (3), 1~49, 6 pls. (1943)