

クニマス・ヒメマス正逆雑種F₁の成熟と採卵

岡崎 巧・平塚 匡・三浦 正之

山梨県の西湖に生息するクニマス *Oncorhynchus kawamurae* とヒメマス *O. nerka* の間には生殖的隔離があることが知られている¹⁾。一方、西湖と同じ富士五湖の一つである本栖湖にはクニマスとヒメマスの交雑個体が生息していることが知られているが²⁾、両種における生殖的隔離機構については解明されていない。そこで、両種間の生殖的隔離機構の解明に資するため、前報³⁾では両種の池産養成親魚から人工授精により正逆雑種F₁を作出したところ、いずれも正常なふ化仔魚が得られたことを報告した。これらの雑種F₁を引き続き飼育して成熟状況を確認するとともに、得られた配偶子を用いて雑種F₂と戻し交雑種B₁を作出したのでその状況を報告する。なお、本研究は山梨県総合理工学研究機構研究課題の一環として実施した。

材料及び方法

親魚養成・熟度鑑別

2014年10月から11月にかけて作出したクニマス雌×ヒメマス雄（以下、クニヒメ）73尾、ヒメマス雌×クニマス雄（以下、ヒメクニ）120尾、ヒメマス40尾を2017年1月に屋内に設置した角型FRP水槽（1.0m(W)×3.5m(L)×0.5m(D)）3槽に収容した（表1）。この際、クニヒメ区のみ受精日の異なる2群をプールした。

飼育用水は12.5℃の井水を掛け流して使用し、自然日長下でマス用配合飼料を適宜給餌して採卵時期まで飼育した。2017年9月12日から2017年12月4日にかけて、概ね週一回の頻度で各親魚の熟度鑑別を行った。また、排卵または排精が確認された際には、その個体の全長、体長、体重を記録した。なお、クニマスについては交配可能な年級群を保有していなかったため親魚として用いなかった。

表1 供試親魚の由来と収容状況

親魚	受精日	元の雌親魚 (供試尾数)	元の雄親魚 (供試尾数)	収容日	収容水槽	収容尾数	全長 (mm, 平均±SD)	体重 (g, 平均±SD)
クニヒメ	2014/11/12	クニマス(1)	ヒメマス(3)	2017/1/17	ふ化室棟H4	21	247.4±34.5	159.2±73.2
	2014/11/19	クニマス(1)	ヒメマス(1)			52		
ヒメクニ	2014/10/9	ヒメマス(5)	クニマス(2)	2017/1/27	ふ化室棟F4	120	193.6±11.0	72.5±14.6
ヒメマス(対照区)	2014/10/7	ヒメマス(16)	ヒメマス(4)	2017/1/20	ふ化室棟F5	40	249.0±30.8	167.7±66.5

※正逆雑種F₁の作出に用いたクニマスはいずれも西湖産天然親魚より作出した池産養成個体(1代目)

採卵・人工授精

熟度鑑別にて排卵した個体が認められた場合には、切開法若しくは搾出法により採卵し、雄から搾出した精液で人工授精した。交配の組合せは、例えば、クニヒメ雌×クニヒメ雄、ヒメクニ雌×ヒメクニ雄といったように、同一親魚同士での交配の他、可能な限り雌雄異なる親魚の組合せによる正逆交配を行った。受精卵は0.3mm目のカゴ（12.5×16.5×12.5cm）に収容し、12.5℃の井水中で管理し、受精率、発眼率、ふ化率及び浮上率を記録した。

なお、受精率については、受精翌日に供試卵の一部をSera液で固定し、実体顕微鏡下で卵割の有無を確認して算出した。

結果

親魚養成・熟度鑑別

熟度鑑別を開始した2017年9月12日の各親魚の飼育尾数及び平均体重は、クニヒメが70尾・523g、ヒメクニが111尾・332g、ヒメマスが34尾・694gであった。なお、ヒメクニの平均体重が他の親魚に比べ小さかったのは、0～1歳時の飼育密度が他の区に比して高かったことにより成長が劣っていたためである。

雑種F₁とヒメマスの成熟個体（排精または排卵した個体）の出現状況を図1に示した。

排精または排卵した個体は、クニヒメで雄1尾、雌16尾、ヒメクニで雄2尾、雌5尾、ヒメマスで雄6尾、雌9尾であった。また、熟度鑑別開始時の飼育尾数に対する成熟個体の出現割合は、クニヒメ、ヒメクニ、ヒメマスの順にそれぞれ24.3%、6.3%、44.1%で、ヒメクニの成熟個体の出現割合が最も低かった（図1）。成熟個体の出現時期は、熟度鑑別を開始した2017年9月12日から12月1日までであり、いずれも概ね10月に成熟するものが多かった。なお、最後の鑑別を行った2017年12月4日時点で、各親魚とも新たに成熟の兆候を示す個体は認められなかったため、2017年12月7日に残りの飼育個体の全数を処分した。

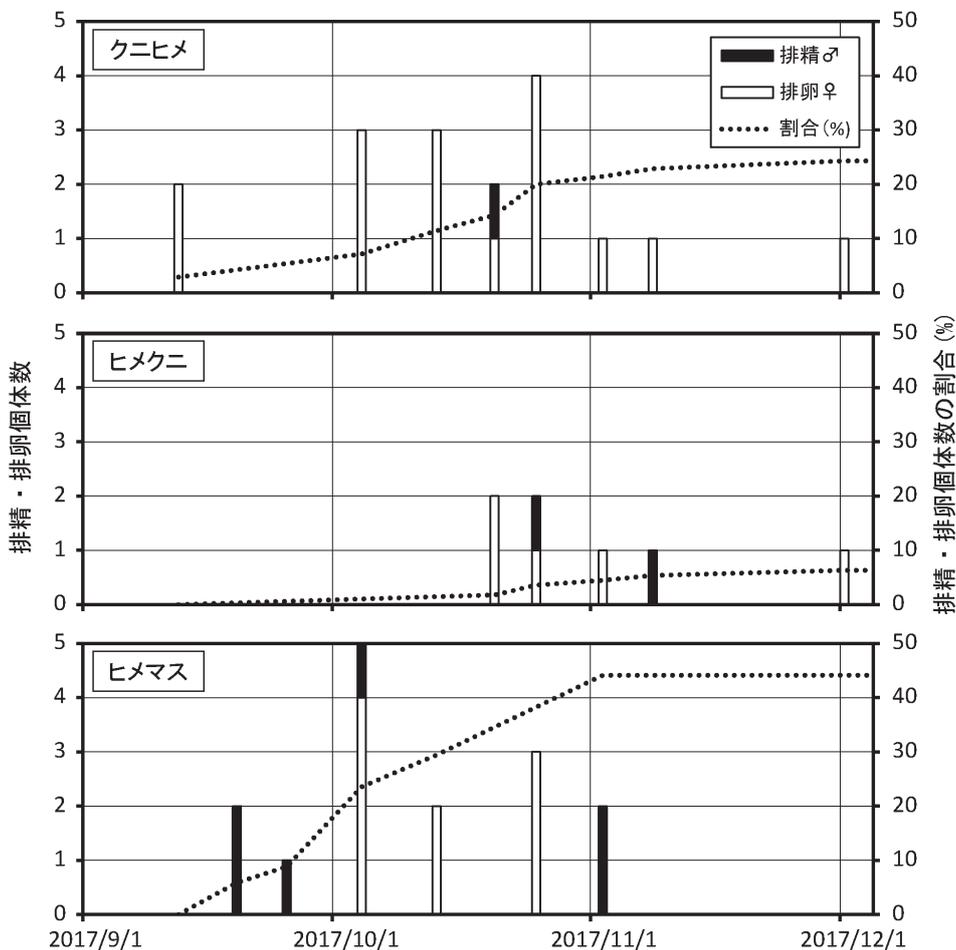


図1 成熟個体の出現状況

正逆雑種F₁とヒメマス成熟個体の魚体測定結果を表2に示した。

各親魚の全長と体重は、クニヒメ雄（1個体）が330mm、732g、クニヒメ雌（16個体）が347±32mm（平均±標準偏差，以下同じ）、640±188g、ヒメクニ雄（2個体）が326±23mm、530±127g、ヒメクニ雌（5個体）が322±20mm、455±102g、ヒメマス雄（6個体）が405±33mm、1,003±316g、ヒメマス雌（9個体）が390±24mm、

842±184gであった。なお、雌の成熟最小全長と体重は、クニヒメで272mm・213g、ヒメクニで295mm・315g、ヒメマスで365mm・851gであった。

表2 成熟個体の魚体測定結果

魚種	性	排卵・排精確認日	全長(mm)	体長(mm)	体重(g)	採卵数(粒)	備考
クニヒメ	♂	2017/10/20	330	380	732		
	♀	2017/9/12	315	273	469	未計数	過熟のため未交配
		2017/9/12	313	274	479	未計数	"
		2017/10/4	340	298	653	640	雄未排精のため未交配
		2017/10/4	355	312	670	606	"
		2017/10/4	365	320	738	589	"
		2017/10/13	346	307	557	430	"
		2017/10/13	303	268	383	255	"
		2017/10/13	346	307	567	369	"
		2017/10/20	356	315	690	534	ヒメクニ, ヒメマス各1尾と交配
		2017/10/25	372	325	769	551	
		2017/10/25	364	317	725	252	ヒメマス2尾, クニヒメ1尾と交配
		2017/10/25	397	347	926	612	
		2017/10/25	386	342	899	520	
		2017/11/2	272	235	213	42	過熟のため未交配
		2017/11/8	360	334	769	661	ヒメクニ1尾, ヒメマス2尾, クニヒメ1尾と交配
		2017/12/1	357	315	739	1,233	クニヒメ1尾, ヒメクニ2尾, ヒメマス2尾と交配(12月4日)
			平均	347	306	640	521
	標準偏差	32	30	188	273		
ヒメクニ	♂	2017/10/25	310	275	413		
		2017/11/8	342	300	593		
		平均	326	288	503		
		標準偏差	23	18	127		
	♀	2017/10/20	295	255	315	358	ヒメマス1尾と交配
		2017/10/20	345	303	586	789	ヒメマス1尾と交配
		2017/10/25	324	289	455	174	ヒメマス2尾と交配
		2017/11/2	310	273	410	688	ヒメクニ1尾, クニヒメ1尾, ヒメマス3尾と交配
		2017/12/1	336	297	510	536	ヒメクニ2尾, ヒメマス2尾と交配(12月4日)
		平均	322	283	455	509	
標準偏差		20	19	102	248		
ヒメマス	♂	2017/9/19	390	337	966		
		2017/9/19	357	310	537		
		2017/9/25	435	385	1,175		
		2017/10/4	447	395	1,491		
		2017/11/2	415	360	949		
		2017/11/2	388	336	898		
		平均	405	354	1,003		
		標準偏差	33	32	316		
	♀	2017/10/4	367	327	636	568	ヒメマス1尾と交配
		2017/10/4	365	343	851	410	ヒメマス1尾と交配
		2017/10/4	393	350	857	751	ヒメマス1尾と交配
		2017/10/4	435	385	1,191	731	ヒメマス1尾と交配
		2017/10/13	417	374	1,032	697	未交配
		2017/10/13	373	330	655	560	未交配
		2017/10/25	372	327	658	227	
		2017/10/25	393	349	821	359	ヒメマス2尾, クニヒメ1尾と交配
		2017/10/25	399	357	877	340	
平均		390	349	842	516		
標準偏差	24	20	184	190			

採卵・人工授精

正逆雑種 F₁ とヒメマスから得た配偶子による人工授精の結果を表 3 に示した。また、人工授精の組合せによる雑種 F₂ と戻し交雑種 B₁ の生残状況を表 4 に示した。

交配の組合せと例数は、クニヒメ雌×クニヒメ雄が 4 例、クニヒメ雌×ヒメクニ雄が 2 例、クニヒメ雌×ヒメマス雄が 4 例、ヒメクニ雌×クニヒメ雄が 1 例、ヒメクニ雌×ヒメクニ雄が 2 例、ヒメクニ雌×ヒメマス雄が 5 例、ヒメマス雌×クニヒメ雄が 1 例、ヒメマス雌×ヒメマス雄が 5 例の計 24 例で、ヒメマス雌×ヒメクニ雄の組合せのみ実施できなかった (表 3,4)。

人工授精の結果、ヒメクニ雌×クニヒメ雄の 1 例を除き、いずれの親魚の組合せにおいても正常な浮上個体が得られ、親魚として用いた正逆雑種 F₁ の配偶子はいずれも正常に機能することが確認された。受精から浮上までの生残率は、対照のヒメマス雌×ヒメマス雄も含めてばらつきが大きく、各親魚組合せ間における生残率の差の有無は明らかにできなかった。

表 3 正逆雑種 F₁ とヒメマスから得た配偶子による人工授精の結果

交配組合せ(♀×♂) と親魚尾数(括弧内)	受精日	供試卵数 (粒)	受精率 (%)	正常発眼率 (%)	ふ化尾数 (尾)	ふ化率 (%)	浮上尾数 (尾)	浮上率 (%)
クニヒメ(1)×クニヒメ(1)	2017/10/20	65	29.4	23.1	12	18.5	11	16.9
クニヒメ(4)×クニヒメ(1)	2017/10/25	154	59.5	11.7	12	7.8	5	3.2
クニヒメ(1)×クニヒメ(1)	2017/11/8	137	91.7	44.5	71	51.8	13	9.5
クニヒメ(1)×クニヒメ(1)	2017/12/4	172	2.4	0.6	1	0.6	1	0.6
クニヒメ(1)×ヒメクニ(1)	2017/11/8	151	97.7	63.6	100	66.2	4	2.6
クニヒメ(1)×ヒメクニ(2)	2017/12/4	166	2.3	1.2	3	1.8	3	1.8
クニヒメ(1)×ヒメマス(1)	2017/10/20	169	34.3	23.7	41	24.3	37	21.9
クニヒメ(4)×ヒメマス(2)	2017/10/25	147	51.3	9.5	15	10.2	9	6.1
クニヒメ(1)×ヒメマス(2)	2017/11/8	163	96.2	56.4	96	58.9	12	7.4
クニヒメ(1)×ヒメマス(2)	2017/12/4	153	0	-	-	-	-	-
ヒメクニ(1)×ヒメクニ(1)	2017/11/2	183	8.3	1.1	2	1.1	1	0.5
ヒメクニ(1)×ヒメクニ(2)	2017/12/4	285	33.3	1.1	7	2.5	6	2.1
ヒメクニ(1)×クニヒメ(1)	2017/11/2	179	0	-	-	-	-	-
ヒメクニ(1)×ヒメマス(1)	2017/10/20	149	51.6	47	69	46.3	68	45.6
ヒメクニ(1)×ヒメマス(1)	2017/10/20	156	35.9	6.4	9	5.8	7	4.5
ヒメクニ(1)×ヒメマス(2)	2017/10/25	127	59	15.7	19	15	14	11
ヒメクニ(1)×ヒメマス(3)	2017/11/2	177	0	-	-	-	-	-
ヒメクニ(1)×ヒメマス(2)	2017/12/4	117	43.1	2.6	8	6.8	6	5.1
ヒメマス(1)×ヒメマス(1)	2017/10/4	114	96.4	21.9	20	17.5	19	16.7
ヒメマス(1)×ヒメマス(1)	2017/10/4	124	100	55.6	68	54.8	64	51.6
ヒメマス(1)×ヒメマス(1)	2017/10/4	131	43.3	24.4	15	11.5	12	9.2
ヒメマス(1)×ヒメマス(1)	2017/10/4	125	96.6	96.8	122	97.6	2	1.6
ヒメマス(3)×ヒメマス(1)	2017/10/25	125	60	11.2	12	9.6	9	7.2
ヒメマス(3)×クニヒメ(1)	2017/10/25	129	43.2	9.3	12	9.3	12	9.3

表 4 雑種 F₂ と戻し交雑種 B₁ の生存性

	クニヒメ♂	ヒメクニ♂	ヒメマス♂
クニヒメ♀	○(4)	○(2)	○(4)
ヒメクニ♀	×(1)	○(2)	○(5)
ヒメマス♀	○(1)	-	○(5)

※○：正常な浮上個体を得られた組合せ
 ×：浮上個体を得られなかった組合せ
 ()：交配例数

考 察

本報ではクニマスとヒメマスにおける生殖的隔離機構の解明に資することを目的として、両種の正逆雑種 F_1 に生存性のあることを確認した前報³⁾に引き続き、これら正逆雑種 F_1 の生殖能力について検討した。

正逆雑種 F_1 親魚の熟度鑑別の結果、成熟個体の出現割合は、対照のヒメマスが 44.1%であったのに対し、正逆雑種 F_1 のクニヒメが 24.3%、ヒメクニが 6.3%で、ともに対照のヒメマスに比べ低かった。その要因は、交雑によるものとも考えられるが、親魚養成過程での成長差も大きく影響しているものと考えられ、この点について明らかにすることはできなかった。正逆雑種 F_1 とヒメマス配偶子を用いた人工授精では、ヒメマス雌×ヒメクニ雄を除く 8 通りの組合せで正逆交配したところ、ヒメクニ雌×ヒメクニ雄の 1 例を除く 7 通りの交配組合せで正常な浮上個体を得ることができた。ここでヒメクニ雌×ヒメクニ雄の交配で浮上個体が得られなかったのは、同一個体の精子を他の交配に供試した際に正常な発生が確認されているため、精子側の問題では無く、供試したヒメクニ雌 1 尾の卵質に起因して受精しなかったためと考えられた。

サケ科魚類では、一般に同じ属内の種間交雑から生じる子孫は生殖能力を示すものが多く、属間交雑に由来する子孫は生存性であっても不妊となることが知られている⁴⁾。クニマスはその形態や生活史の特徴から、サケ科魚類の中でベニザケ（ヒメマスの降海型）に最も類縁があると考えられており^{5,6)}、クニマスとヒメマスの正逆雑種 F_1 が妊性を持ち、機能的な配偶子形成能を有していたのは、両種の類縁関係が近いためであろう。また、今回の交配試験における生残率は、クニヒメ雌×ヒメクニ雄やヒメクニ雌×ヒメクニ雄のように、交配例数の少ない一部の組合せにおいては、正常な浮上個体を得られたが低率であったものもあり、交配した親魚の組合せによって生残率に差が生じた可能性は否めないが、対照として用いたヒメマスも含めて生残率のばらつきが大きく、親魚の成熟の状況と同様、この点について明らかにすることはできなかった。

本報では人為的に作出した正逆雑種 F_1 が妊性を持つとともに、機能的な配偶子形成能を有し、戻し交雑を含む雑種 F_2 の作出が可能であったことを示したが、このような遺伝子浸透を伴う近縁種間の交雑は、自然界においては在来種に対して遺伝的攪乱を招き、時として在来種の絶滅を引き起こすことが知られている⁷⁾。また、サケ科魚類における遺伝子浸透を伴う人為交雑では、ヤマメ *O. masou masou* とアマゴ *O. masou ishikawae* の雑種 F_1 と戻し交雑を含む雑種 F_2 のように、継代が進んでも元の親の種に比べて生存率が変わらないとする事例^{8,9)}がある一方で、カワマス *Salvelinus fontinalis* とイワナ *S. leucomaenis* の雑種 F_1 やビワマス *O. rhodurus* とサクラマス（ヤマメの降海型）の雑種 F_1 では雑種強勢により両親の種に比べ生存率が高くなるが、戻し交雑を含む F_2 以降の生存率が両親の種に比べて低下するなど、交雑が進むにつれ適応度の低下が生じる事例も知られている^{10,11)}。富山県の神通川では、近年、遡上するサクラマスが小型化しており、その要因の一つとして在来種であるサクラマスと近縁外来種のサツキマス（アマゴの降海型）との交雑が指摘されており、交雑幼魚の降海率の低下や回遊期間の短縮及び回遊範囲の縮小などによるサクラマス資源の減少や魚体の小型化が懸念されるなど、近縁外来種との交雑によって在来種の遺伝的特徴が喪失され、水産資源に悪影響を及ぼす点で遺伝的攪乱の影響が問題視されている^{12,13)}。一方、西湖と同時期にクニマスが移植された経緯のある山梨県の本栖湖では、ヒメマスに混じりクニマスとヒメマスの雑種が高頻度で出現することが知られており、純粋なクニマス集団はほぼ生息していないと考えられている²⁾。これらの事実は、他のサケ科魚類における近縁種間の交雑事例を踏まえると、本栖湖で長期間にわたり存続してきたであろう雑種集団の成因や、西湖におけるクニマスとヒメマス間の生殖的隔離機構を知る上で興味深い。両種の人為交雑による適応度の低下の有無なども含め今後の課題としたい。

本報では雑種とその両親であるクニマスとヒメマスの判別については検討していないが、これらの外観はいずれも極めて酷似しており、外観上の判別は事実上不可能である。また、クニマスとヒメマスの判別に用いられる計数形質の幽門垂と鰓耙数についても、雑種個体は両種の間間的な値を示すことが知られている²⁾。さらに現在用いられている PCR 法による判別法¹⁴⁾はミトコンドリア DNA 上のクニマス特異的配列を検出するもので、ミト

コンドリア DNA は母系遺伝するため個体毎に雑種を判別することは不可能であり、判別のためには核 DNA を用いた方法の開発も必要となろう。このように両種の雑種は一度混入してしまえば、その判別は非常に困難であるため、飼育環境下においてクニマス、ヒメマス及び両種の雑種が混入しないように管理することは勿論のこと、両種の生殖的隔離機構が依然として不明である現状、遺伝的攪乱を避け、クニマスのみならずヒメマスを保全するためにもクニマス及び両種の雑種を他の水域へ放つことは厳に慎むべきである。

謝 辞

本研究を行うにあたり、供試魚の飼育管理を行っていただいた羽田幸司主任技能員ほか臨時職員の方々に謝意を表します。

要 約

1. クニマスとヒメマスにおける生殖隔離機構の解明に資することを目的として、両種の正逆雑種 F₁ に生存性のあることを確認した前報³⁾に引き続き、これら正逆雑種 F₁ の繁殖能力について検討した。
2. 熟度鑑別開始時の飼育尾数に対する成熟個体の出現割合は、正逆雑種 F₁ のクニヒメが 24.3%、ヒメクニが 6.3%、対照のヒメマスが 44.1%であった。
3. 正逆雑種 F₁ 及びヒメマスから得た配偶子を用い、8 通りの組合せによる交配を 24 例実施し、雑種 F₂ 及び戻し交雑魚を作出した。
4. 交配の結果、ヒメクニ雌×クニヒメ雄の 1 例でふ化仔魚が得られなかった他、生残率にばらつきはあるものの、実施したいずれの親魚の組合せにおいても正常な浮上個体が得られた。
5. 以上により、雑種 F₁ には妊性があること及び機能的な配偶子形成能を有することが確認された。

文 献

- 1) Nakabo, T., Nakayama K., Muto N. and Miyazawa M.(2011) : *Oncorhynchus kawamurae* “Kunimasu”, a deepwater trout, discovered in Lake Saiko, 70 years after extinction in the original habitat, Lake Tazawa, Japan. *Ichthyol Res.*, 58(2), 180-183.
- 2) Nakayama, K., Tohkairin, A., Yoshikawa, A. and Nakabo, T.(2018) : Detection and morphological characteristics of “Kunimasu” (*Oncorhynchus kawamurae*) / “Himemasu” (*O. nerka*) hybrids in Lake Motosu, Yamanashi Prefecture, Japan. *Ichthyol Res.*, 65(2), 270-275.
- 3) 青柳敏裕・岡崎 巧・大浜秀規・三浦正之・谷沢弘将・小澤 諒・長谷川裕弥・吉澤一家・坪井潤一・勘坂弘治・市田健介・Lee Seungki・吉崎悟朗・松石 隆 (2015) : クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究 (第 3 報) . 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 10, 43-65.
- 4) 荒井克俊・藤本貴史・山羽悦郎 (2017) : 交雑と育種. 「水産遺伝育種学」(中嶋正道・荒井克俊・岡本信明・谷口順彦編) . 東北大学出版会, 仙台, 171-186.
- 5) 杉山秀樹 (2000) : 田沢湖まぼろしの魚 クニマス百科. 秋田魁新報社, 秋田, 240pp.
- 6) 中坊徹次 (2011) : クニマスについて - 秋田県田沢湖での絶滅から 70 年 - . タクサ, 30, 31-54.
- 7) 河村功一・片山雅人・三宅琢也・大前吉広・原田泰志・加納義彦・井口恵一朗 (2009) : 近縁外来種との交雑による在来種絶滅のメカニズム. 日本生態学会誌, 59, 131-143.
- 8) 茂木 博・本荘鉄夫・立川 互 (1975) : ヤマメとアマゴの交雑について - I . 交雑種 F₁ の形質. 岐阜水試研報, 20, 55-60.
- 9) 熊崎 博・本荘鉄夫・立川 互 (1979) : ヤマメ (*Oncorhynchus masou*) とアマゴ (*O. rhodurus*) の交雑に

ついて - II. F2 および退交雑種の形質. 岐阜水試研報, 24, 25-32.

- 10) Suzuki, R. and Fukuda, Y. (1971) : Growth and survival of F₁ hybrids among salmonid fishes. *Bull. Freshwater Fish. Res. Rab.*, 21(2), 117-138.
- 11) Suzuki, R. (1974) : Inter-crossings and back-crossings of F₁ hybrids among salmonid fishes. *Bull. Freshwater Fish. Res. Rab.*, 24(1), 11-29.
- 12) 田子泰彦 (2002) : サクラマス生息域である神通川へのサツキマスの出現. 水産増殖, 50(2), 137-142.
- 13) 田子泰彦 (2002) : 神通川で漁獲されたサクラマスの最近の魚体の小型化 (資料) . 水産増殖, 50(3), 387-391.
- 14) Nakayama, K., Muto, N., Nakabo, T. (2013) : Mitochondrial DNA sequence divergence between “Kunimasu” *Oncorhynchus kawamurae* and “Himemasu” *O. nerka* in Lake Saiko, Yamanashi Prefecture, Japan, and their identification using multiplex haplotype-specific PCR. *Ichthyol. Res.*, 60(3), 277-281.