

クニマス池産養成親魚（3～6歳）の成熟と採卵

—2015～2017年度の結果—

岡崎 巧・平塚 匡・小澤 諒・加地奈々*・三浦正之

2010年に西湖でクニマス *Oncorhynchus kawamurae* が再発見されたことを受け、当所では本種の域外保全と将来的な養殖対象種としての活用を図るため、養殖技術の確立に向けた研究を行ってきた¹⁻³⁾。前々報²⁾では、2011年11月から2012年1月にかけて西湖産天然親魚からの人工授精により得たクニマスについて、満2歳時の成熟状況について検討した結果、飼育総数の4.5%の個体が成熟し、雄20尾、雌1尾の排精、排卵を確認するとともに、得られた卵を用いて人工授精を行ったところ、少数ではあるものの、池産養成親魚からの次世代の作出に成功したことを報告した。また、他のサケ科魚類と同様、雌の成熟に先立ち、雄を主体に早熟個体が出現したため、飼育しているクニマスは、3歳となる翌年に相当数が成熟するものと予想された。一方、引き続き3歳魚の成熟について検討した前報³⁾では、前々報²⁾での予想に反し、多くの個体が成熟しなかったことを報告した。満3歳時に成熟個体が出現しなかった理由として、本種の成熟年齢が高いことや、当所における水温等の飼育環境が成熟に適した条件ではないことが考えられたため、これら3歳魚を引き続き飼育し、6歳で全ての個体がへい死するまでの成熟状況を確認したので報告する。

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

2015年4月1日時点におけるクニマス養成親魚（3歳）の飼育総数は297尾で、これらを屋内に設置した角型FRP水槽4基（700L容、計97尾）、屋内コンクリート製長方形池（稚魚池棟1-A-1、1-A-2、1-B-1号池、4.6m(L)×1.5m(W)×0.3m(D)）3面（計200尾）において12.5℃の井水を掛け流して飼育した。2015年11月4日からは、屋内FRP水槽4基のうち3基で飼育していた個体54尾を屋外コンクリート製長方形池（3-8号池、9.5m×3m×0.5m）1面に収容するとともに、屋内コンクリート製長方形池3面で飼育していた個体を同2面（1-A-1、1-A-2号池）に集約させた。さらに、前報³⁾で報告したとおり、3歳時に成熟個体が出現しなかった要因の一つに、当所における飼育水温が本種の成熟適水温に比べ高かったことが考えられたため、外気温が飼育用水の水温（12.5℃）を下回る2015年11月4日から2016年4月6日までの間、屋内池1面（1-A-1号池）及び屋外池1面（3-8号池）の注水量を減少させるとともに水車を設置し、曝気することで飼育水温を低下させた（表1）。なお、屋内池1面（1-A-2号池）については対照として水温低下の措置はとらなかった。へい死に伴い総飼育尾数が18尾まで減少した2017年2月以降は、全ての個体を屋外池1面（3-8号池）に集約して飼育した。飼育中の各池の水温は記録式温度計（Tidbit, Onset社製）で1時間毎に記録した。熟度鑑別は、前報³⁾から引き続き、2015年4月（3歳）から2018年4月（6歳）にかけて、週1回の頻度で全飼育個体の熟度鑑別を行った。その際、二次性徴を呈した個体の背鰭基部にアンカータグで標識し、個体識別した。排卵または排精を確認した際には、全長、体長、体重を記録した。

表1 各飼育池の注水量と換水率 (2015年11月4日～2016年4月6日)

飼育池	容積(L)	注水量(L/sec.)		換水率(回/h)		設置した水車の諸元
		調整前	調整後	調整前	調整後	
1-A-1号池 (屋内)	2,000	2.0	0.4	3.6	0.7	松阪製作所製FI-20型(出力0.2kW)
1-A-2号池 (屋内)	2,000	2.0	調整なし	3.6	調整なし	設置なし
3-8号池 (屋外)	14,000	4.0	0.4	1.0	0.1	松阪製作所製FI-40型(出力0.4kW)

採卵・人工授精

熟度鑑別において排卵した個体が認められた際は、切開法若しくは搾出法により採卵し、クニマス雄個体またはクニマス代理親魚(サクラマス)²⁾より搾出した精子で媒精した。また、採卵時に採精可能な雄がいなかった場合には、あらかじめ液体窒素中で凍結保存した精子を用いた。代理親魚が排精した精子はクニマス種特異的プライマーを用いたPCR法⁴⁾によりドナーであるクニマス由来の精子であることを確認のうえ媒精に供した。精子の凍結保存と凍結精子を用いた人工授精は、土居ら⁵⁾または Ciereszko *et al.*⁶⁾の方法に準じて行った。受精卵は0.3mm目のカゴ(12.5×16.5×12.5cm)に収容のうえ12.5℃の井水中で管理し、発眼率、ふ化率及び浮上率を記録した。

結果

親魚養成・熟度鑑別

クニマスの飼育尾数について、前報³⁾で報告した飼育期間も含め図1に示した。2015年4月1日時点の飼育尾数は297尾(3歳)であったが、加齢とともにへい死尾数が増加し、2018年4月23日に最後の1尾(6歳)がへい死した。主な直接的死因は、細菌性疾病、寄生虫病、真菌病などの感染症によるものの他、腎石灰化症候群、肝腫瘍といった非感染性と思われる疾病がみられ、成熟に伴うへい死は少なかった(図2)。

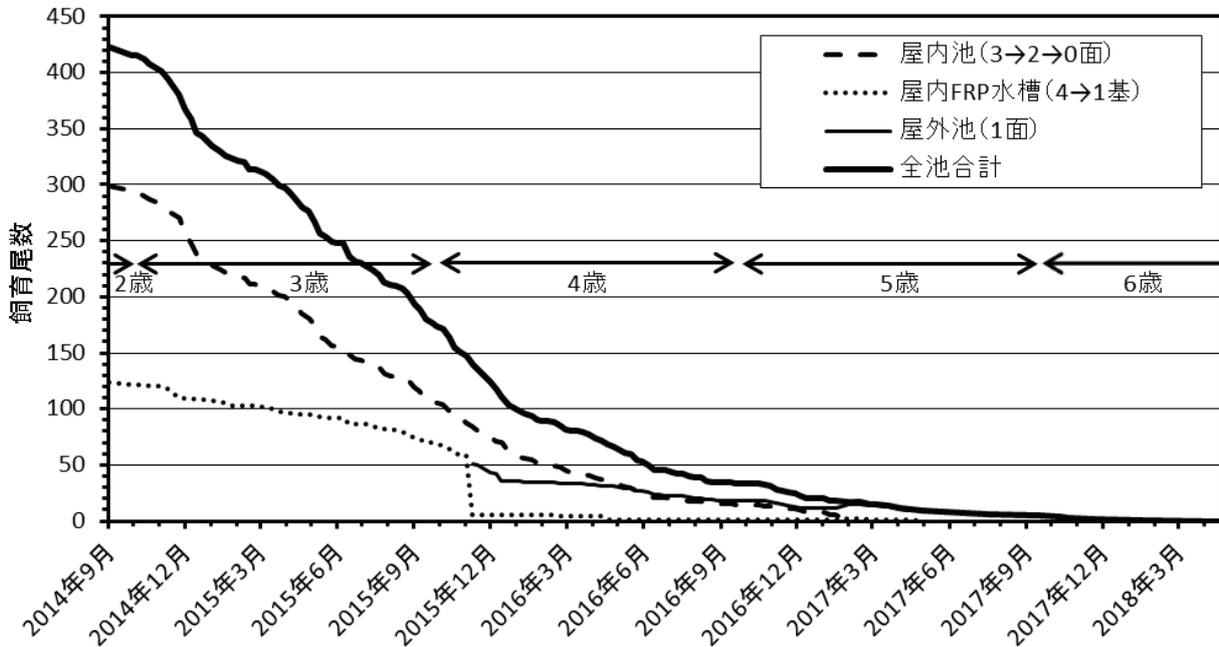


図1 クニマス飼育尾数の推移 (2014年9月3日～2018年4月23日)

※年齢は10月を基準とした

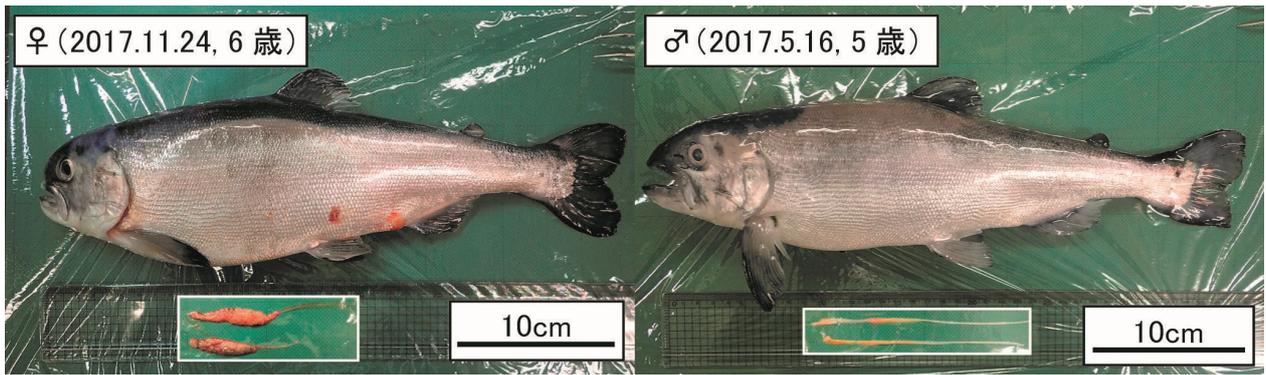


図2 クニマスへい死魚と生殖腺（白枠内，魚体と同スケール）

2015年10月28日から2018年4月24日までの各飼育池の水温を図3に示した。2015年11月4日から2016年4月6日にかけて、注水量の調節と水車の設置により、水温低下の措置をとった屋内池（1-A-1号池，以下屋内低水温区）と屋外池（3-8号池，以下屋外低水温区）の期間中の平均水温（最低－最高，以下同）は、屋内低水温区の1-A-1号池で11.2℃（9.1－13.1），屋外低水温区の3-8号池では9.2℃（4.2－14.4）で、いずれも昼夜の外気温による日較差が大きかった。また、同期間、水温低下の措置をとらなかった屋内池の1-A-2号池（以下通常水温区）では平均水温12.7℃（11.5－12.3）℃で、概ね原水に近い水温（12.5℃）で安定して推移した。外気温の上昇とともに、水温低下の措置を中止した2016年4月7日から2016年12月14日（1-A-2号池での飼育終了時）までの各池の平均水温は、屋内池の1-A-1号池と1-A-2号池それぞれ12.6℃（11.6－13.1），12.6℃（12.1－13.0）で原水に近い水温で安定していたのに対し、屋外池の3-8号池では平均水温は12.7℃（10.4－14.8）と原水に近いものの外気温の影響による日較差が大きかった。

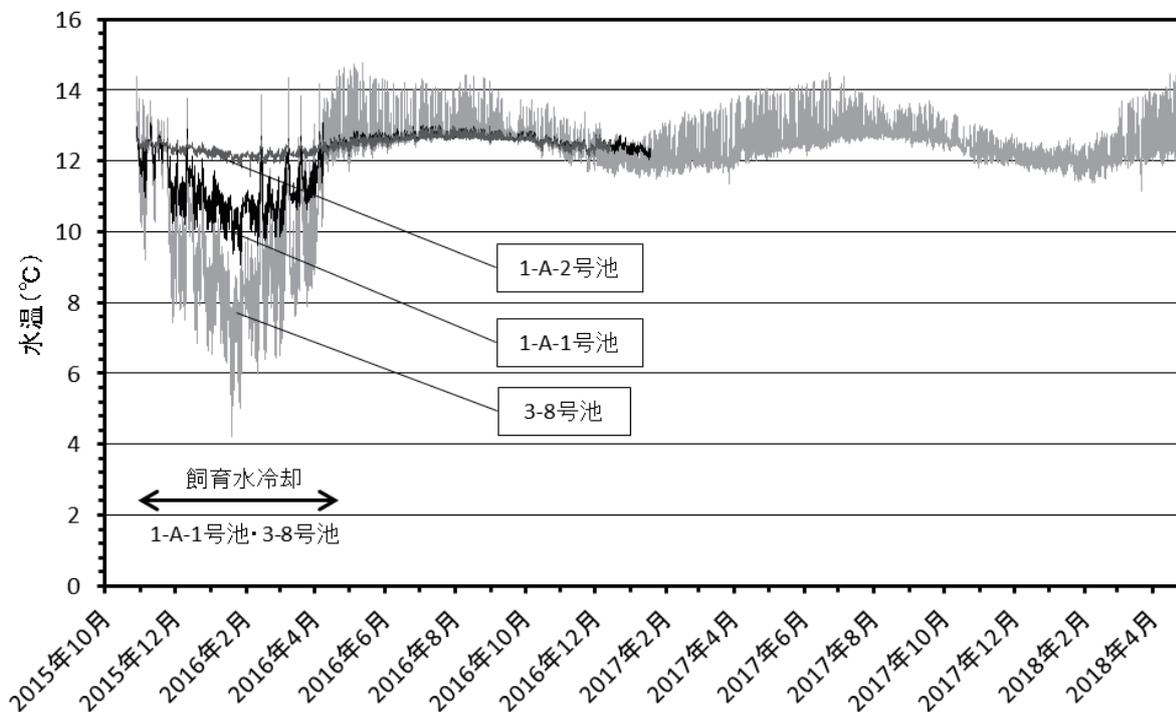


図3 クニマス各飼育池の水温（2016年10月～2018年4月）

成熟個体（排卵または排精した個体）の出現状況について、2014年度末より継続して成熟個体が出現したことから、前報³⁾で報告した2014年度の結果とあわせて図4に示した。成熟個体の出現状況は2014年度（2～3歳）が雄13尾、雌10尾、2015年度（3～4歳）が雄11尾、雌7尾、2016年度（4～5歳）が雄2尾、雌3尾で、2017年度（5～6歳）は出現しなかった。2015年度は前年度より引き続き4月から6月に至るまで毎月少数の成熟個体が出現し、明確な産卵期は認められなかった。2016年度は5月に成熟個体が1尾出現したが、残り4尾については10月から1月に出現しており、本供試魚を作出した際の採卵時期と概ね一致していた。2014年9月以降に成熟した個体の総数は、雄が26尾、雌が20尾の合計46尾で、2014年9月時点の飼育個体数423尾に対し成熟した個体の割合は約10%であった。その他の個体は成熟することなく2018年4月23日までに全ての個体がへい死した。

2015年11月4日から2016年4月6日までの間、屋内外のコンクリート池各1面において飼育用水の温度を低下させたところ、11月に成熟した雄1尾は屋内通常水温区（1-A-2号池）、同じく11月に成熟した雌2尾については屋外低水温区（3-8号池）、2月に成熟した雌1尾は通常水温区（屋内FRP水槽）で飼育中のものであった。また、水温低下の措置を中止した直後の5月に成熟した雄は屋外低水温区（3-8号池）で飼育中のものであった。5月に成熟した1個体を含めた両水温区における成熟個体の総数は、低水温区で3尾（雄1、雌2尾）、通常水温区で2尾（雄1尾、雌1尾）であり、いずれも成熟個体の出現は少なく差は認められなかった。

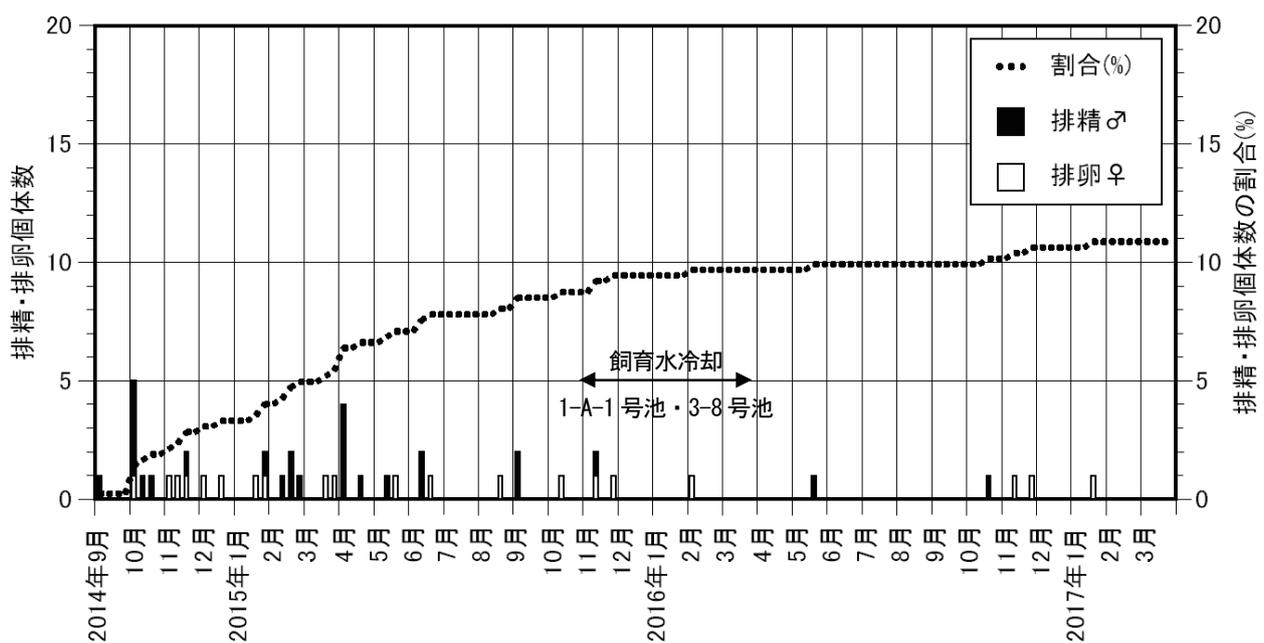


図4 クニマス3～5歳魚の成熟状況

※割合：2014年9月3日時点の総飼育尾数（423尾）に対する割合

雄及び雌の成熟個体の魚体測定結果を2014年度の結果とあわせ、表2、3に示した。

2014年9月以降に出現した雄成熟個体の平均全長は $353 \pm 43\text{mm}$ で、最小は264mm（3歳）、最大は410mm（4歳）、平均体重は $593 \pm 212\text{g}$ で、最小は272g（3歳）、最大は974g（5歳）であった。また、雌成熟個体の平均全長は $330 \pm 37\text{mm}$ で最小は254mm（3歳）、最大は397mm（5歳）、平均体重は $443 \pm 168\text{g}$ で、最小は187g（3歳）、最大は838g（3歳）であった。

表2 雄成熟個体の魚体測定結果

年度	雄個体 ID	排精確認日	年齢※	全長 (mm)	体長 (mm)	体重 (g)	備考
2014	A006	2014/9/3	2	309	274	388	
	B058	2014/10/1	3	280	247	277	
	A010	2014/10/1	3	326	247	386	
	A022	2014/10/1	3	395	-	774	
	A024	2014/10/1	3	390	-	732	
	A021	2014/10/7	3	369	328	649	
	A030	2014/10/15	3	382	341	815	
	A050	2014/11/19	3	264	235	363	
	A069	2015/1/28	3	343	317	534	
	B084	2015/2/10	3	301	265	277	
	A026	2015/2/18	3	295	262	272	
	A036	2015/2/18	3	357	316	608	
	A074	2015/2/25	3	380	355	696	
	2015	A076	2015/4/1	3	366	322	632
A008		2015/4/7	3	357	316	515	
A077		2015/4/7	3	311	275	369	
A078		2015/4/7	3	335	290	430	
A080		2015/4/22	3	313	268	557	
A083		2015/5/13	3	375	332	522	
A084		2015/6/8	3	394	352	911	
未標識		2015/6/11	3	400	354	650	へい死時に排精確認のため未標識
A085		2015/9/3	3	323	289	504	
A086		2015/9/3	3	392	340	823	
A090		2015/11/11	4	405	360	860	
2016	A094	2016/5/23	4	410	363	902	
	A095	2016/10/19	5	400	351	974	

※年齢は10月を基準として記載した。

表3 雌成熟個体の魚体測定結果

年度	雌個体 ID	排卵確認日	年齢※	全長 (mm)	体長 (mm)	体重 (g)	備考
2014	A019	2014/10/1	3	334	-	436	
	A012	2014/11/5	3	254	218	187	約50%未排卵
	A023	2014/11/12	3	352	308	557	
	A020	2014/11/19	3	308	269	350	
	A035	2014/12/1	3	274	243	228	へい死時に排卵確認、未交配
	A032	2014/12/17	3	324	286	420	
	A011	2015/1/21	3	286	259	321	
	A063	2015/1/28	3	350	311	537	排卵直後にへい死
	A071	2015/3/20	3	300	266	255	へい死時に排卵確認、未交配
	A037	2015/3/25	3	323	286	365	
2015	A033	2015/5/20	3	327	301	444	へい死時に排卵確認、未交配、一部排卵(卵巣卵含め全て過熟)
	A042	2015/6/17	3	322	296	328	
	未標識	2015/8/21	3	395	357	838	へい死時に排卵確認、未交配
	A088	2015/10/14	4	313	272	358	
	A089	2015/11/11	4	342	299	588	
	A091	2015/11/25	4	349	308	510	採卵重量・数は2回分の合計
	A093	2016/2/3	4	323	285	298	へい死時に排卵確認、未交配、一部排卵(卵巣卵含め全て過熟)
2016	#240	2016/11/9	5	354	315	502	
	#241	2016/11/30	5	397	360	711	へい死時に排卵確認・未交配
	A096	2017/1/18	5	376	331	634	1回目採卵後にへい死(一部排卵)

※年齢は10月を基準として記載した。

採卵及び人工授精

2015, 2016 年度の採卵成績を表 4 に示した。

熟度鑑別において排卵が確認された 6 尾の雌から採卵し、計 12 例の人工授精を実施した (図 5)。いずれも前報³⁾で報告した 2014 年度の結果と同様、卵質が著しく悪かったため、発眼卵が得られたのは 2015 年度に 2 尾 (ID:A087, A091) から採卵した 5 例と 2015 年に 1 尾 (ID:#240) から採卵した 1 例のみで、発眼率は 0.8~4.3% と低率であった。このうち、ふ化仔魚が得られたのは 2015 年度の 2 例 (計 3 尾) と 2016 年度の 1 例 (2 尾) のみであり、さらに浮上期 (稚魚期) まで達したものは 2015 年の 2 例 (計 3 尾) のみであった。

表 4 クニマス 3~5 歳魚採卵成績

年度	雌個体 ID	採卵日	年齢※	交配した雄と供試尾数	採卵数 (粒)	平均卵径 (mm)	発眼卵数	発眼率 (%)	ふ化尾数	ふ化率 (%)	浮上尾数	浮上率 (%)
2015	A042	2015/6/17	3	クニマス凍結精子 (n=1)	78	4.9	0	-	-	-	-	-
	"	2015/7/3	3	クニマス凍結精子 (n=1)	11	"	0	-	-	-	-	-
	A088	2015/10/16	4	クニマス (n=1)	310	5.3	0	-	-	-	-	-
	A087	2015/11/11	4	クニマス凍結精子 (n=2)	200	5.5	4	2.0	0	0	-	-
	"	"	"	代理親魚凍結精子 (サクラマス, n=1)	100	"	3	3.0	0	0	-	-
	"	"	"	代理親魚精子 (サクラマス, n=2)	776	"	13	1.7	2	0.3	2	0.3
	A091	2015/11/25	4	代理親魚精子 (サクラマス, n=1)	347	5.4	15	4.3	1	0.2	1	0.3
"	2015/11/27	4	代理親魚精子 (サクラマス, n=1)	256	"	2	0.8	0	-	-	-	
2016	#240	2016/11/9	5	クニマス (n=1)	309	3.7	6	1.9	2	0.6	0	0
	A096	2017/1/18	5	代理親魚精子 (サクラマス, n=1)	63	4.6	0	-	-	-	-	-
	"	2017/1/23	5	代理親魚精子 (サクラマス, n=1)	42	"	0	-	-	-	-	-
	"	2017/1/30	"	代理親魚精子 (サクラマス, n=1)	24	"	0	-	-	-	-	-

※年齢は10月を基準として記載した。

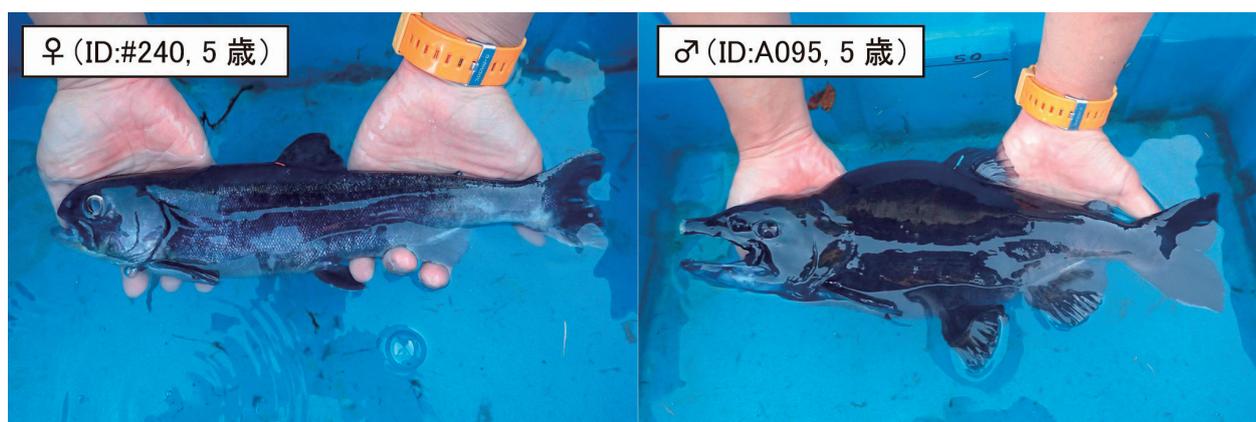


図 5 人工授精に供した親魚 (撮影 : 2016.11.9)

考 察

前報³⁾ではクニマス養成親魚の 3 歳時における成熟状況について、近縁種であるヒメマス *Oncorhynchus nerka* を対照に検討し、ヒメマスでは 3 歳となる 2014 年 10 月から 11 月にかけて、飼育個体数の約 90% が成熟してへい死したのに対し、クニマスでは、2014 年 9 月から 2015 年 3 月までの長期にわたり 5% の個体が成熟したのみであったことを報告した。また、その要因として、クニマスの成熟年齢や成熟に適した環境要因がヒメマスとは異なる可能性を指摘した。そのため、前報³⁾で供試した 3 歳魚の飼育を継続し、成熟個体の出現状況を確認したところ、3 歳以降もほとんどの個体が成熟することなくへい死し、最終的な成熟個体の出現率は 10% にとどまった。このことから、3 歳時にクニマスが成熟しなかったことは、ヒメマスに比べ成熟年齢が高いためでは無いことが明らかとなった。

魚類生殖活動の年周期性は、環境要因の季節的変化と同期して現れ、サケ科魚類は日長が支配的に影響する短日型魚種であり、日長が短くなる秋から冬にかけて成熟することが知られている⁷⁾。また、生殖年周期が日長条

件により支配される一方で、池中養殖における親魚養成時の水温は卵質に影響を及ぼす重要な環境要因であり、ニジマスの場合、食用魚養成には 13~18℃で飼育が可能であるが、親魚養成に適した水温は、4~5℃以上、12~13℃以下とされている⁸⁾。クニマスの近縁種であるヒメマスでは、北海道立水産孵化場により 1968 年から 6 年間にわたり池中養殖に関する試験が行われ、ヒメマスは夏季の高水温 (23℃) を経験すると卵の異常成熟を促すことが明らかにされた⁹⁾。さらに 1982 年から 6 年間、洞爺湖において網生簀養殖試験が行われ、雄は 2 歳、雌は 3 歳で成熟すること、親魚は平均体重 900g に達したが発眼率が平均 44%であること、7 月に低水温 (7~10℃) の千歳試験池に成魚を移すと、良好な卵が得られることが示されている⁹⁾。また、栃木県水産試験場では、最高水温が 20℃と 17℃になる 2 箇所の池でヒメマス 3 歳魚を飼育した場合、最高水温が 20℃となる池では全ての個体が成熟しなかったこと、最高水温が 17℃となる池についても、排卵した雌個体はごくわずかであったとしている¹⁰⁾。さらに、秋田県水産振興センターでは、1 歳半ば以降のヒメマスを、夏期の最高水温が 23℃程度に達する河川水で飼育し、3 歳魚の成熟状況を確認したところ、鑑別開始時の飼育個体数 480 尾に対し、雄については 70 尾以上の排精を確認したものの、排卵した雌は 1 尾のみで、人工授精を行ったものの、卵質が著しく悪く、発眼率 0.9%、ふ化率は 0.8%と低率であったことを報告しており、その要因として高水温による内分泌への影響と推察している¹¹⁾。

一方、ヒメマスの池中養殖における適水温は 8~13℃とされ¹²⁾、上記のヒメマスの事例をふまえると、親魚養成期間のうち、卵黄形成期にあたる夏期の水温が適水温から大きく逸脱しないことが成熟の促進や良好な卵を得る上で重要になると考えられる。クニマスの成熟に適した水温がヒメマスのそれより低いと仮定すると、上記ヒメマスでの事例は、本報におけるクニマスの状況と良く一致する。本報において、2015 年 11 月から 2016 年 4 月にかけてクニマスの飼育水温を低下させたが、成熟個体の出現数の増加など顕著な効果は認められなかったのは上記ヒメマスの事例と同様、卵黄形成期における水温が成熟に適した水温に比して高かったためであろう。

当所では 12.5℃の飼育用水を用いてヒメマスの種苗生産を行っている。また、近年の発眼率は概ね 60~80%で、生産レベルでの採卵成績として問題はない。このため、本研究では、クニマスの近縁種であるヒメマスの飼育方法に準じてクニマスの飼育を行ってきたが、上記のとおり、クニマスの成熟や卵質に適した飼育水温がヒメマスのそれより低いことが考えられた。今後はこれらをふまえ、クニマスの親魚養成をより低水温下で行い、成熟に適した水温条件について改めて検討することとしたい。

また、前々報²⁾では、西湖におけるクニマス天然魚の産卵期は 11~2 月頃と推定されること、飼育下のクニマス 2 歳魚の成熟期は 11~3 月で、12~2 月が主体であったことを報告し、天然魚と飼育個体の成熟時期が概ね一致していた。一方、3 歳以降の飼育個体では、天然魚の成熟期以降も長期にわたって散発的に成熟個体が出現した。これらはいずれも同一の自然日長下で飼育しており、短日条件のバラツキにより長期化したものとは考えにくく、高水温により成熟が抑制された結果と考えられる。このことについても、今後、成熟に適した飼育水温を検討する中で明らかにしていきたい。

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、水産技術センター忍野支所の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. 前報³⁾に引き続き、西湖産天然親魚より作出した池産養成親魚の成熟状況について検討した。
2. 2014年9月以降、成熟した個体の割合は、試験開始時の飼育個体の約10%であり、それ以外のものは成熟することなく加齢とともにへい死した。
3. 2015, 2016年度に6尾の雌から採卵し、計12例の人工授精を実施したところ、卵質が著しく悪かったため、発眼卵が得られたのは2015年に2尾から採卵した5例と2015年に1尾から採卵した2例のみで、最終的に得られた稚魚は3尾であった。
4. 成熟抑制と卵質不良の要因として卵黄形成期の高水温が考えられた。

文 献

- 1) 青柳敏裕・加地奈々・長谷川裕弥 (2013) : クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究. 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 8, 89-102.
- 2) 青柳敏裕・岡崎 巧・加地奈々・大浜秀規・長谷川裕弥・勘坂弘治・市田健介・吉崎悟朗 (2014) : クニマスの生態解明及び増養殖に関する研究 (第2報) . 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 9, 49-65.
- 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) Nakayama, K., Muto, N. and 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. *Ichthyological Research*, 60(3), 277-281.
- 5) 土居隆秀・福富則夫・尾田紀夫 (1994) : ヒメマスの精液凍結保存技術開発試験—凍結容器として1mL 容ストロー管を使用した保存—. 栃木県水産試験場研究報告, 38, 39-40.
- 6) Ciereszko, A., Dietrich G. J., Nynca J., Dobosz S. and Zalewski T. (2014) : Cryopreservation of rainbow trout semen using a glucose-methanol extender. *Aquaculture*, 420-421, 275-281.
- 7) 隆島史夫 (1982) : 繁殖の生理. 「新水産学全集 16 淡水養殖技術」(野村 稔編) . 恒星社厚生閣, 東京, 11-44.
- 8) 大渡 斉 (1982) : ニジマス. 「新水産学全集 16 淡水養殖技術」(野村 稔編) . 恒星社厚生閣, 東京, 268-191.
- 9) 日本水産資源保護協会 (2005) : 湖沼環境の基盤情報整備事業報告書—豊かな自然環境を次世代に引き継ぐために—支笏湖. 154-155.
- 10) 阿久津正浩・沢田守伸 (2006) : 地域特産マス類養殖技術開発試験—ニッコウイワナ, ヒメマス養殖技術の確立— (平成12年度~) . 栃木県水産試験場研究報告, 49, 64-67.
- 11) 八木澤 優・高田芳博・珍田尚俊 (2017) : クニマス生態調査事業 (クニマス飼育環境整備事業) . 平成28年度秋田県水産振興センター業務報告書, 277-282.
- 12) 北村章二 (2005) : ヒメマス. 「水産増養殖システム2 淡水魚」(隆島史夫・村井 衛編) . 恒星社厚生閣, 東京, 77-82.