

## 西湖クニマス展示館飼育魚の成熟と採卵

岡崎 巧・平塚 匡・青柳敏裕・渡辺安司\*

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、本種の養殖技術の確立に向けた研究を行ってきた<sup>1,4)</sup>。これまでの結果、天然親魚から得られた養殖第一世代のクニマスは、忍野支所（以下、支所）の飼育環境下（水温 12.5℃）において概ね順調な成長を示すものの<sup>1-3)</sup>、成熟個体の出現率が低いことに加え、卵質が極端に悪いことが明らかとなり、養殖第二世代以降の量産が課題となっている<sup>3,4)</sup>。そこで、成熟に関与する環境要因のうち、親魚養成水温の影響を明らかにするため、支所及び西湖クニマス展示館（以下、展示館）の異なる水温下で飼育中のクニマスの成熟状況について検討したところ、展示館において 9℃の水温下で飼育していた個体の一部が成熟し、これらを用いて人工授精を行ったところ、従前の結果<sup>4,5)</sup>に比べ良好な採卵成績が得られたため、その状況について報告する。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

#### 供試魚

供試魚は 2017 年度産及び 2019 年度産のクニマスで、いずれも西湖産天然親魚より作出した養殖第一世代の個体である（表 1）。これらは概ね 1 歳まで支所の 12.5℃の井水で飼育の後、展示館へ移送し、屋内の展示水槽（1t または 2t）にて 9℃の井水を掛け流して飼育した（図 1）。なお、展示館の開館中（9:00-17:00）は展示水槽に照明が施されており、閉館時には消灯するが、天窓からの自然光により展示水槽の日長条件は概ね自然日長が保たれていた。

表 1 供試魚の由来と飼育状況

作出年度	親魚	作出年月日	展示館での飼育開始年月日	尾数	年級
2014	西湖産天然	2015/2/4	2016/4/18	10	1
2017	西湖産天然	2017/12/11-18	2019/4/18	30	1

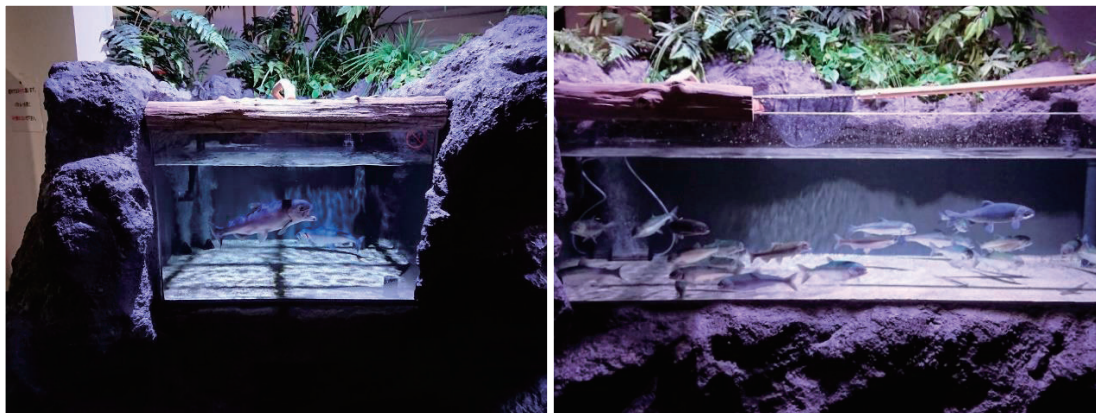


図 1 展示水槽におけるクニマス飼育状況（左：1t 水槽・5 歳魚、右：2t 水槽・3 歳魚 撮影 2020/9/8）

Okazaki Takumi, Hiratsuka Tadashi, Aoyagi Toshihiro, Watanabe Yasushi

\*、西湖漁業協同組合

## 熟度鑑別

熟度鑑別は、二次性徴により体色が黒化した個体が初めて認められた時点から週1回の頻度で実施し、新たな成熟個体が見られなくなるまで継続した。その際、二次性徴を呈した個体には背鰭基部にアンカータグで標識し、排精または排卵が確認された際には、魚体測定のうえ、採卵・人工授精に供した。

## 採卵・人工授精

熟度鑑別により排卵個体が認められた際には、2-フェノキシエタノールで麻酔後、その場で搾出法により採卵した。採卵後の個体は再び展示水槽に戻し、状況に応じて後日再度の採卵に供した。採卵時に成熟した雄がいた場合には、同様に麻酔後、精子を搾出した。これらの卵と精子は7cm径のプラスチックシャーレに収容のうえ、冷蔵状態で直ちに支所へ運び、常法により人工授精した。採卵時に成熟した雄がいなかった場合には、事前に液体窒素中で凍結保存した精子を用いた。精子の凍結保存と解凍精子による人工授精は、土井ら<sup>9)</sup>またはCiereszko *et al.*<sup>6)</sup>の方法に準じた。受精卵は発眼期まで12.5℃の井水を掛け流して管理した。発眼期から浮上期までの間は冷却機により9℃に設定した水槽中に井水を微量注水して管理し、発眼率、孵化率、浮上率を計数した。ここで、発眼期から浮上期までの間を9℃の水温で管理したのは、近縁種のヒメマス *O. nerka*<sup>7)</sup>が温度依存型性決定様式を持ち、9℃より高い水温で孵化管理した場合、性比が雄に偏ることが知られており<sup>8,9)</sup>、クニマスにおいても同様に性比の偏りが生じることを懸念したためである。

## 結果

### 熟度鑑別

熟度鑑別と魚体測定の結果を表2に示した。2014年度産親魚では2018年2月26日から2020年12月1日までの間に雌4尾の排卵と雄1尾の排精を確認し、鑑別開始時(3歳)の飼育尾数(9尾)に対する成熟魚の出現率は55.5%であった。成熟年齢は3-6歳であったが、4歳で成熟した個体は見られなかった。2017年度産親魚では2020年9月8日から2021年1月19日までの間の3歳時に雌6尾の排卵と雄2尾の排精を確認した。鑑別開始時(3歳)の飼育尾数(23尾)に対する成熟魚の出現率は34.8%であった。これら成熟魚の魚体測定の結果、雌の平均全長は279mm(215-403)(括弧内:最小-最大,以下同)、平均体長は243mm(181-349)、平均体重は294.8g(98.8-789.0)、雄の平均全長は298mm(230-343)、平均体長は259mm(197-300)、平均体重は338.3g(123.7-536.0)であった。なお、2014年度産親魚は2021年1月3日に飼育していた最後の1尾(雌未熟魚)が6歳で斃死したが、2017年度産親魚については、2021年3月31日時点で14尾の未熟魚(3歳)が生存しており、引き続き成熟状況を確認していく予定である。

表2 採卵・排精確認時の魚体測定結果

親魚 作出年度	親魚 ID	性別	採卵・排精 確認年月日	年級	全長 (mm)	体長 (mm)	体重 (g)
2014	14展3F①	♀	2018/2/26	3	243	208	161.8
	14展3F②	♀	2018/3/5	3	274	236	200.3
	14展5F①	♀	2020/01/27	5	403	349	789.0
	14展5M①	♂	2020/1/27	5	343	300	536.0
	G087	♀	2020/12/01	6	330	285	510.0
2017	G074	♂	2020/09/08	3	322	280	355.3
	G075	♂	2020/9/8	3	230	197	123.7
	G077	♀	2020/9/30	3	223	196	135.0
	G084	♀	2020/10/6	3	256	218	189.3
	G080	♀	2020/10/6	3	265	227	185.0
	G076	♀	2020/10/21	3	237	227	142.8
	G079	♀	2020/10/21	3	215	181	98.8
	G086	♀	2021/01/19	3	345	298	536.1

## 採卵・人工授精

2014年度及び2017年度産親魚からの採卵成績を表3, 4に示した。2014年度産雌親魚4尾から2,379粒を採卵し、人工授精による交配を7例実施した結果、平均発眼率は29.5%、平均孵化率は28.7%、平均浮上率は28.0%で、665尾の浮上仔魚が得られた。また、2017年度産雌親魚6尾から2,488粒を採卵し、同様に16例の交配を行ったところ、平均発眼率は72.6%、平均孵化率47.5%、平均浮上率40.8%で、1,014尾の浮上仔魚が得られた。ここで、発眼から孵化の間で生残率が大きく減少しているのは、管理中に酸欠による卵の斃死があったためである。

なお、2014年度及び2017年度産の雌親魚1尾あたりの平均採卵数は487粒(213-1,045)であり、概ね体重に比例して採卵数は増加した(図2)。

表3 2014年度産親魚からの採卵成績

交配例数	受精年月日	雌親魚ID	年級	供試卵数	雄親魚ID	年級	受精率(%)	発眼卵数	発眼率(%)	孵化尾数	孵化率(%)	浮上尾数	浮上率(%)
1	2018/2/26	14展3F①	3	319	天然C053,055凍結	—	0	3	0.9	3	0.9	3	0.9
2	2018/3/5	14展3F②	3	468	天然C053,055凍結	—	80	354	75.6	349	74.6	342	73.1
3	2020/1/27	14展5F①	5	405	14展5M①	5	—	162	40.0	157	38.8	154	38.0
4	2020/1/29	14展5F①	5	142	14展5M①	5	—	12	8.5	11	7.7	11	7.7
5	2020/12/1	G087	6	486	A036凍結(2011産)	3	—	22	4.5	21	4.3	20	4.1
6	2020/12/1	G087	6	477	G074凍結(2017産)	3	—	148	31.0	140	29.4	134	28.1
7	2020/12/8	G087	6	82	G074凍結(2017産)	3	—	1	1.2	1	1.2	1	1.2
合計・平均				2,379				702	29.5	682	28.7	665	28.0

表4 2017年度産親魚からの採卵成績

交配例数	受精年月日	雌親魚ID	年級	供試卵数	雄親魚ID	年級	受精率(%)	発眼卵数	発眼率(%)	孵化尾数	孵化率(%)	浮上尾数	浮上率(%)
1	2020/09/30	G077	3	165	G074	3	71.8	100	60.6	53	32.1	41	24.8
2	2020/09/30	G077	3	168	G075	3	68.2	121	72.0	30	17.9	23	13.7
3	2020/10/06	G080	3	206	G074	3	100	204	99.0	96	46.6	85	41.3
4	2020/10/06	G080	3	204	G075	3	100	204	100	57	27.9	53	26.0
5	2020/10/06	G084	3	200	G074	3	81.6	167	83.5	123	61.5	114	57.0
6	2020/10/06	G084	3	199	G075	3	90.1	180	90.5	73	36.7	69	34.7
7	2020/10/13	G080	3	17	G074	3	93.3	14	82.4	14	82.4	13	76.5
8	2020/10/13	G084	3	15	G074	3	94.1	11	73.3	10	66.7	10	66.7
9	2020/10/21	G076	3	336	G074	3	61.9	192	57.1	189	56.3	189	56.3
10	2020/10/21	G079	3	213	G074	3	35.5	4	1.9	3	1.4	1	0.5
11	2020/10/27	G076	3	5	G074	3	100.0	4	80.0	3	60.0	3	60.0
12	2021/1/19	G086	3	179	A036凍結(2011産)	3	79.5	113	63.1	100	55.9	9	5.0
13	2021/1/19	G086	3	179	G074凍結(2017産)	3	97.4	167	93.3	124	69.3	115	64.2
14	2021/1/19	G086	3	175	天然C053,055凍結	—	93.7	169	96.6	154	88.0	144	82.3
15	2021/1/19	G086	3	177	天然C057凍結	—	79.3	122	68.9	120	67.8	113	63.8
16	2021/1/27	G086	3	50	A036凍結(2011産)	3	94.0	35	70.0	34	68.0	32	64.0
合計・平均				2,488				1,807	72.6	1,183	47.5	1,014	40.8

※表3,4ともに受精率の算出は無作為抽出により行ったため、全数計数により算出した発眼率より低い値を示すものがある

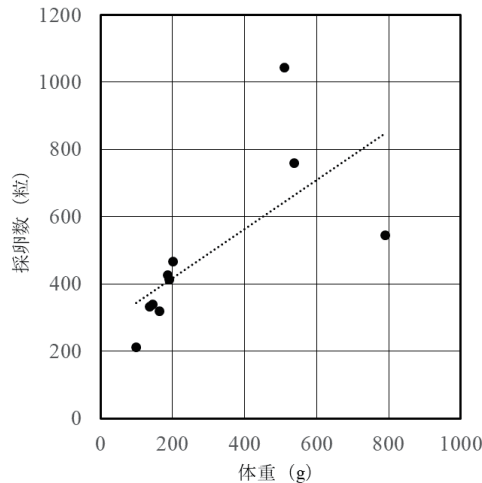


図2 体重と採卵数の関係

## 考 察

支所の井水（12.5℃）で飼育した2011年度産親魚の成熟状況について検討した従前の結果<sup>3,4)</sup>では、3歳時の成熟魚の出現率は雌雄あわせて5%であり、3歳以降、全ての個体が斃死した6歳までの成熟魚の出現率は10%であった。また、成熟した雌の3歳魚9尾、4歳魚3尾、5歳魚2尾から採卵し、20例の人工授精を行ったところ、発眼率はいずれも1%未満であり、支所の飼育環境下では成熟魚の出現率が低いことに加え、採卵成績も著しく低いことが課題となっており、その要因は親魚養成時の高水温による影響と考えられてきた。

一方、展示館の飼育魚について検討した今回の結果、2014年度産親魚では、3歳から6歳にかけて、鑑別開始時の飼育尾数に対し、55.5%の個体が成熟し、2017年度産親魚では3歳で26.6%の個体が成熟した。また、2014年度産及び2017年度産親魚からの採卵成績は、平均発眼率がそれぞれ29.5%、72.6%に達し、いずれも従前の結果<sup>3,4)</sup>に比べ、成熟魚の出現率が増加するとともに、成熟魚からの採卵成績も大幅に向上した。これらのことから、展示館における飼育水温（9℃）は支所の飼育水温（12.5℃）に比べ、より成熟に適した水温であったものと考えられた。

一般的に魚類の初回成熟を調節する因子は、内的（遺伝的）要因と外的（環境）要因に規定され、魚が一定の大きさに成長した後、成熟に好適な環境下で成熟するとされる<sup>10)</sup>。また、成熟するサイズは魚種毎に決まっており、一定の大きさまでは性成熟が不可能とされ、このサイズは生物学的最小形と呼ばれる<sup>10)</sup>。今回確認した成熟個体のうち、最小のものは2017年度産親魚の雌で、全長215mm、体長181mm、体重98.8gの3歳魚であった。

この個体は、これまでに天然魚を含めて確認された<sup>14,11)</sup>雌の成熟魚としては最小であった。また、これまでの雄の成熟最小個体が214.8mmであった<sup>14,11)</sup>こともあわせると、概ね全長215mmが本種の生物学的最小形と考えられた。一方、今回採卵した2017年度産親魚群には、生物学的最小形を大幅に超えるにもかかわらず、未成熟の個体が多く認められたほか、2014年度産親魚では3歳以降6歳にわたり初回成熟する個体が出現した。これらのことから、本種においては生物学的最小形にかかわらず、成熟時の体サイズと年齢にばらつきが生じることが明らかとなった。

なお、成熟年齢のばらつきについては、2011年度産親魚を用いた従前の結果<sup>4)</sup>においても認められ、成熟魚の出現率が低く、採卵成績も低調であったことから、ばらつきの要因は高水温、即ち外的（環境）要因により成熟が抑制されたためと推察した。今回、同様に成熟年齢にばらつきがみられた2014年産親魚では、成熟魚の出現率、採卵成績ともに向上していたため、今後は成熟年齢のばらつきの要因が内的（遺伝的）要因である可能性も視野に入れ、引き続き本種の成熟に関する至適環境要因を検討するなかで明らかにしていくこととしたい。



## 要 約

1. 2014 年度及び 2017 年度に天然親魚から作出し、西湖クニマス展示館で飼育中のクニマスの成熟状況について観察するとともに、出現した成熟魚を用いて人工授精を試みた。
2. 2014 年度産親魚では 3-6 歳までの間に雌雄計 5 尾の成熟魚が確認され、鑑別開始時の飼育尾数に対する成熟魚の出現率は 55.5%であった。また、2017 年度産親魚では 3 歳で雌雄計 8 尾の成熟魚が確認され、成熟魚の出現率は 34.8%となり、従前の結果（3-6 歳間で 10%）に比べ、成熟魚の出現割合が向上した。
3. 2014 年度産及び 2017 年度産親魚からの採卵成績は、平均発眼率がそれぞれ 29.5%、72.6%となり、従前の結果（平均 1%未満）に比べ採卵成績が大幅に向上した。
4. 西湖展示館飼育魚における成熟魚の出現割合と採卵成績の向上については、展示館における飼育水温がより成熟に適していたためと考えられた。
5. 本種においては生物学的最小形にかかわらず、成熟時の体サイズと年齢にばらつきが生じることが明らかとなった。

## 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) 岡崎 巧・平塚 匡・小澤 諒・加地奈々・三浦正之（2019）：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—. 山梨県水産技術センター事業報告書, 46, 60-67.
- 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) 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 日本動物分類学会誌, 30, 31-54.
- 8) Azuma, T., Takeda, K., Doi, T., Muto, K., Akutsu, M., Sawada, M., Adachi, S. (2004) : The influence of temperature on sex determination in sockeye salmon *Oncorhynchus nerka*. *Aquaculture.*, 234, 461-473.
- 9) 東 照雄（2007）：水温制御による安全かつ簡易なヒメマス全雌生産技術の開発. SALMON 情報, 1, 12-13.
- 10) 奥沢公一（2006）：魚類の初回成熟. 水産総合研究センター研究報告, 別冊 4, 75-85.
- 11) Nakabo, T, Tohkairin, A., Muto, N., Watanabe, Y., Miura, Y., Miura, H., Aoyogi, T., Kaji, N., Nakayama, K. and Kai, Y. (2014) : Growth-related morphology of “Kunimasu” (*Oncorhynchus kawamurae* : family Salmonidae) from Lake Saiko, Yamanashi Prefecture, Japan. *Ichthyol Res.*, 61(2), 115-130.