

キンギョおよびキンブナの産卵行動における産卵基質の関与

小林牧人*・黒柳仁志*, 大友明香*, 早川洋一*

Involvement of spawning substrates in spawning behavior of goldfish, *Carassius auratus*, and crucian carp, *Carassius buergeri* subsp. 2. KOBAYASHI Makito*, KUROYANAGI Hitoshi*, OHTOMO Sayaka*, & HAYAKAWA Youichi* (*Department of Natural Sciences, International Christian University, 3-10-2 Osawa, Mitaka, Tokyo, 181-8585 Japan)

Construction of artificial river and lake banks changes the aquatic environment, and these changes are known to cause decreases of aquatic plants in shallow waters. We conducted experiments to examine the involvement of aquatic plants in spawning behavior of goldfish, *Carassius auratus*, and crucian carp, *Carassius buergeri* subsp.2. The spawning behavior was induced by injecting prostaglandin F2 α into females. Pairs of male and female goldfish or crucian carp were placed in experimental tanks with or without aquatic plants made of acrylic yarn. Both goldfish and crucian carp spawned actively onto the aquatic plants whereas the behavior significantly decreased without the aquatic plants. The present experiments demonstrate that aquatic plants are essential as spawning substrates for performance of spawning behavior of these species. It is critical for conservation of fish species that use aquatic plants as spawning substrates to maintain aquatic plants on river and lake banks.

Keywords

goldfish, crucian carp, spawning behavior, aquatic plant, spawning substrate
キンギョ, キンブナ, 産卵行動, 水草, 産卵基質

1 はじめに

近年の地域開発により日本国内の自然環境に大きな変化が生じている。特に水辺環境においては、河川、水路などの岸がコンクリートで護岸され、流速の増大や水生植物の減少が生じている¹⁻⁴⁾。これらの環境の変化は多くの魚種の生息には不適切であると考えられている。水生植物は魚種によっては親魚の産卵基質として活用され、仔稚魚の成育の場となっていると考えられている¹⁻⁴⁾。魚類の保全の観点からは、これらの魚種の生活史が完結することが必須であり、そのためには生存、性成熟だけでなく産卵行動が正常に行われる環境が維持されることが重要である。

多くの魚類において、繁殖活動の最終段階である産卵行動を行うためには、まず雌雄の魚が生理的に性成熟に達していることが必要である。雌における卵黄形

成、雄における精子形成は餌の量、水温が適切であれば比較的幅広い環境条件下で進行すると考えられている⁵⁾。一方、雌の卵成熟、排卵、放卵および雄の放精は、より限定的な環境条件下でないと起こらない場合が多い。それらは産卵行動がとりやすい環境であり、また胚発生、仔稚魚の発育が保障されている環境であると言える。

コイ *Cyprinus carpio* やフナ類 (*Carassius* 属) では、粘着性の卵を水生植物などの産卵基質に産み付ける産卵行動を行うことが知られている⁶⁾。したがって岸の改修による水生植物の減少は、これらの魚種の産卵行動を抑制し、生活環の完結を妨げることが推察される。

このような水辺の環境の変化に対して、水辺に植物を増やす試みや^{7,8)}、水路を多自然型に改修する試みがなされている^{9,10)}。これらの試みにより水辺の生物相の増大が報告されているが、これらの研究からは、環境の変化と産卵行動の関係は、具体的には明らかと

* 〒 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

なっていない。

そこで本研究では、水槽内で実験を行って魚類の産卵行動における産卵基質の関与をより具体的に検証することを目的とした。水槽内の実験では、同一個体を用いて産卵基質の有無による行動の変化を短時間で定量的に見ることが可能である。また実験では、産卵に好適な環境だけでなく、同時に不適な環境の検証も可能となる。ここではキンギョ *Carassius auratus* およびキンブナ *Carassius buergeri* subsp.2 において産卵基質の有無により産卵行動がどのように変容するのか行動実験を行った。キンギョは野生の魚類ではないが、その生殖生理についての知見が豊富で、卵を水生植物などの産卵基質に産み付けることも知られている¹¹⁻¹³⁾。またホルモンを用いて産卵行動を容易に誘起できるというモデル動物としての利点がある。さらに本研究ではキンギョに加えて日本原産のキンブナについても同様の実験を行った。

2 材料と方法

2・1 キンギョおよびキンブナ

キンギョ *Carassius auratus* は埼玉県水産流通センター（埼玉県加須市）から購入した。キンブナ *Carassius buergeri* subsp.2 は群馬県水産試験場より供与された。キンギョ、キンブナはそれぞれ入手後数か月間 800 L ストック水槽で飼育した。餌は 1 日 1 回市販のキンギョの餌（キンギョの主食、イトスイ、東京）を適量与えた。これらの魚を水温 20℃、日長 16 時間明期（6 時点灯）で飼育し、性成熟を促進した。この条件下で飼育したキンギョ、キンブナの雄は排精がみられ、胸鰭には雄の二次性徴である追い星がみられた。また雌についてはキンギョ、キンブナともに飼育中に排卵する個体がみられたことから、これらの雌雄の魚は十分に性成熟していると考えられた。

ストック水槽で飼育後、実験に使用する魚を 60 L ガラス馴致水槽（20℃、16 時間明期）に移し、実験前に 1～4 週間飼育した。

2・2 キンギョとキンブナの産卵行動およびホルモンによる行動誘起

キンギョの産卵行動およびそのホルモンによる調節は詳細に研究され、さらにホルモン投与による産卵行動誘起法が確立されている^{14,15)}。

キンギョでは雌が排卵をすると卵巣内でプロスタグランジン F2 α (PG) が産生され、この PG が雌の脳に作用し、雌に放卵行動を誘起する（図 1）^{14,15)}。

同時にこの PG は尿とともに水中にフェロモンとして放出され、雄を刺激して雌に対しての追尾と放精行動を誘起する。雌雄による一連の産卵行動は、雄が排卵してフェロモンを放出する雌を追いかける追尾から始まる。雌が水面近くにある水草（産卵基質）に向かって上昇すると、雄が追従する。雌雄は体を横転させ、雌が上、雄が下に位置する。このとき雌が放卵し、雄は放精する。放卵・放精後、雌雄の魚は尾鰭を激しく振動させて水を攪拌し、卵と精子を混合させる。受精卵は粘着性を持ち、水草に付着する。尾鰭の振動後、雌雄の魚は水面から水中へと下降し、雄の追尾が再開する。雌は 1 回の放卵で数十粒の卵を放出し、卵巣内の排卵された卵がすべて出されるまで数十回、数時間にわたり雄との産卵行動を繰り返す。

キンギョでは非排卵雌に PG を投与することにより、排卵雌と同様な一連の産卵行動が誘起される（図 1）^{14,15)}。投与された PG は水中にフェロモンとして放出され、雄の追尾、放精行動を誘起する。雄は排卵雌に対して行うのと同様の行動を PG を投与された雌に対して行う。ただしこの場合、雌は排卵していないので実際の卵の放出は伴わない。この方法により雄が性成熟していれば、雌が排卵をしていなくても、季節、時刻を問わず PG 投与後、数分で雄の追尾、雌雄の産卵行動（雌の放卵行動と同様の行動および雄の放精行動）が始まる。これまでの経験から体重 10～50 g の雌のキンギョに 5 μ g の PG を筋肉注射することにより、雌雄の産卵行動が 2～3 時間持続することが

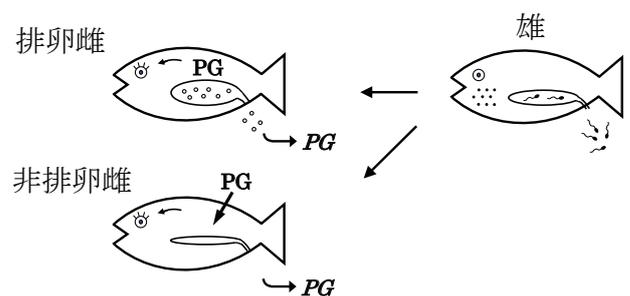


図 1 キンギョの産卵行動のホルモンによる調節とホルモン投与による行動の誘起。

雌が排卵すると卵巣内でプロスタグランジン F2 α (PG) が産生され脳に作用して雌の放卵行動を誘起する。同時にこの PG はフェロモンとして水中に放出され、雄を刺激して追尾、放精行動を誘起する。非排卵雌に外部から PG を投与するとこの雌は放卵行動と同様の行動をとる。ただしこの場合、卵の放出は起こらない。投与された PG はフェロモンとして水中に放出され、雄の追尾、放精行動を誘起する。雄は、排卵雌、PG を投与された雌を区別することなく追尾、放精行動を行う。

明らかとなっている。本研究ではこの方法によりキンギョの産卵行動を誘起し、雌雄の上昇から下降までを1回の産卵行動として目視で数えた。

キンブナについては、これまでPGにより産卵行動を誘起した例はないが、キンブナと近縁のギンブナ *Carassius* sp.¹⁶⁾ においてPGにより産卵行動が誘起されており、今回、キンブナの雌にPGを投与して雌雄の産卵行動が起こるか調べた。その結果、雌にPGを投与することにより、キンギョおよびギンブナの場合と同様の産卵行動が誘起された(図2)。雄はPGを投与された雌を追尾し、雌雄の魚の上昇、横転、尾鰭の振動、下降が行われた。本研究では、キンブナについても雌へのPG投与により産卵行動を誘起して実験を行った。

2・3 実験1：キンギョの産卵行動における水草の関与

キンギョの産卵行動の実験は60 L ガラス実験水槽(20℃, 16時間明期)で行った。産卵基質としては

アクリル製毛糸を束ねてつくった人工水草を使用した。水槽内には水質維持のための濾過槽を設置した。実験は水草の設置条件の異なる3つの実験群(グループA, BおよびC)からなり、テスト1, 2および3を行った(図3)。

テスト1では各実験群の水槽の水面に3束の水草を設置し、雌にPGを投与して産卵行動を誘起し、雌雄各ペアの産卵行動の回数を測定した。テスト1の後、実験水槽を3つの異なる条件にした。1) 水草を水面近くに設置したもの(グループA)。2) 水草を水底に設置したもの(グループB)。3) 水草を水槽に設置しないもの(グループC)。これらのいずれかの環境条件に各ペアを約24時間馴致した。

テスト2では再度雌にPGを投与し、それぞれの条件下での産卵行動の回数を測定した。なおグループBでは、テスト2において、水底にある水草に対して、雌雄の魚は下降、横転、放卵・放精行動、尾鰭の振動、上昇という産卵行動がみられた。この場合、下降から上昇までを1回の産卵行動として数えた。

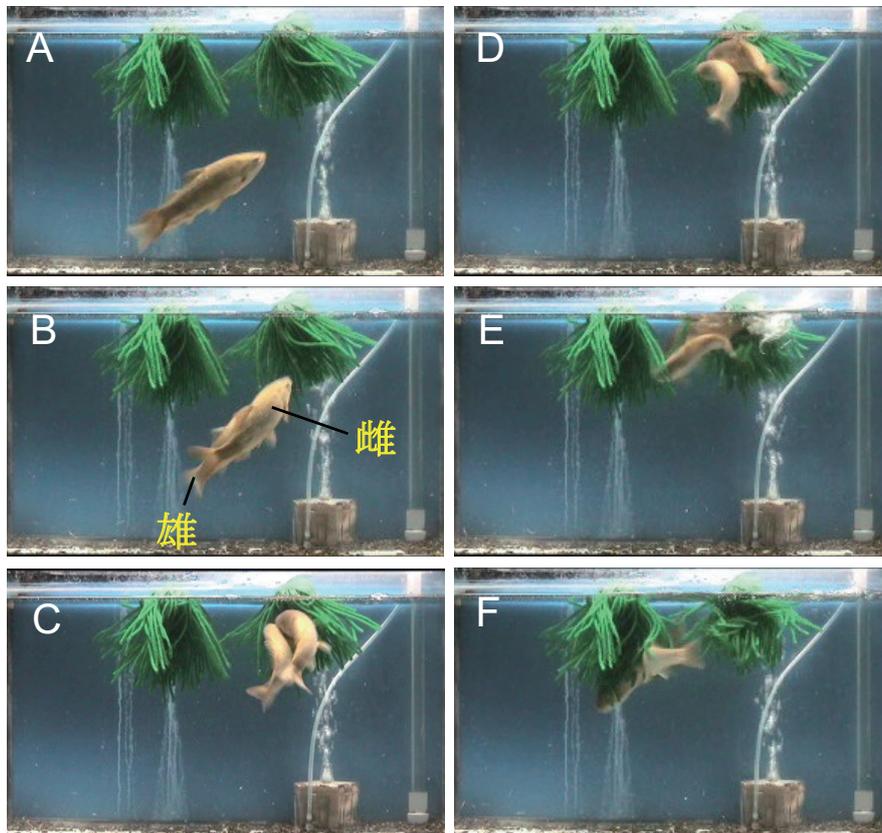


図2 プロスタグランジンによって誘起されたキンブナの産卵行動。

非排卵雌にプロスタグランジン F2 α を投与することにより、キンギョと同様の産卵行動が誘起された。A, B: 水面にあるアクリル製の毛糸でつくった人工水草に向かって上昇する雌と追従する雄。C: 体の横転。雌が上、雄が下に位置する。D: 雌の放卵行動と雄の放精行動。ただしこの場合、雌の卵の放出は伴わない。E: 尾鰭による水の攪拌。F: 下降。

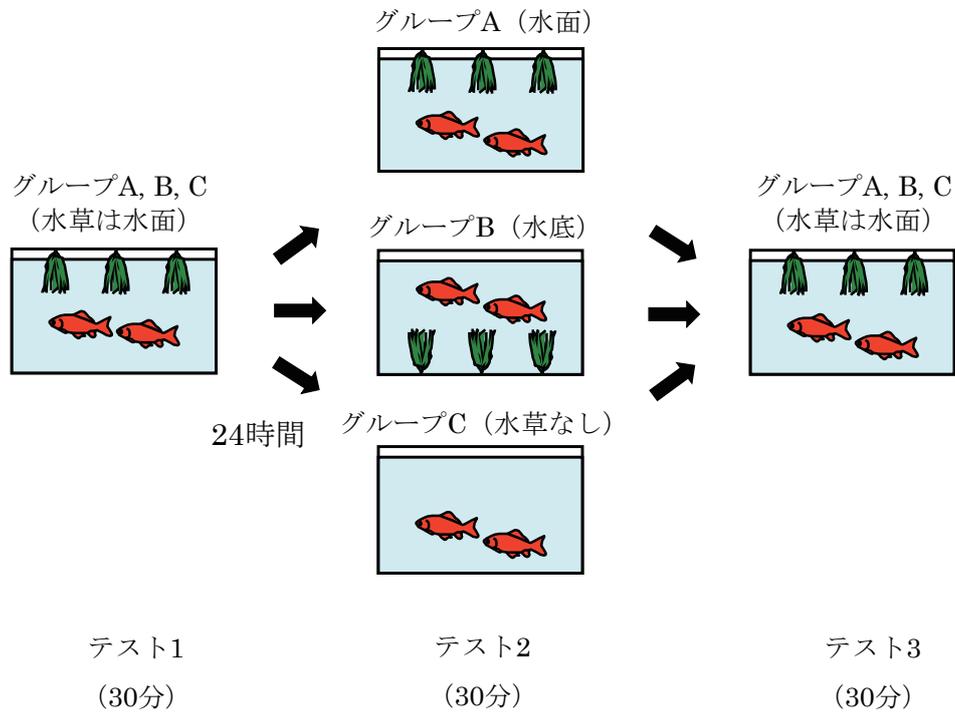


図3 実験1の概略.

60 L 実験水槽に雌雄各1個体のキンギョを入れた。テスト1では水草が水面にある条件下で雌にプロスタグランジン F2α (PG) を投与して産卵行動を誘起し、その回数を30分間測定した。その後、雌雄の魚を3つの異なる条件下においた。約24時間後、テスト2では再度雌にPGを投与し、異なる条件下での産卵行動の回数を30分間測定した。テスト2の終了直後に水草を水面に設置し、ひきつづき産卵行動の回数を30分間測定した(テスト3)。

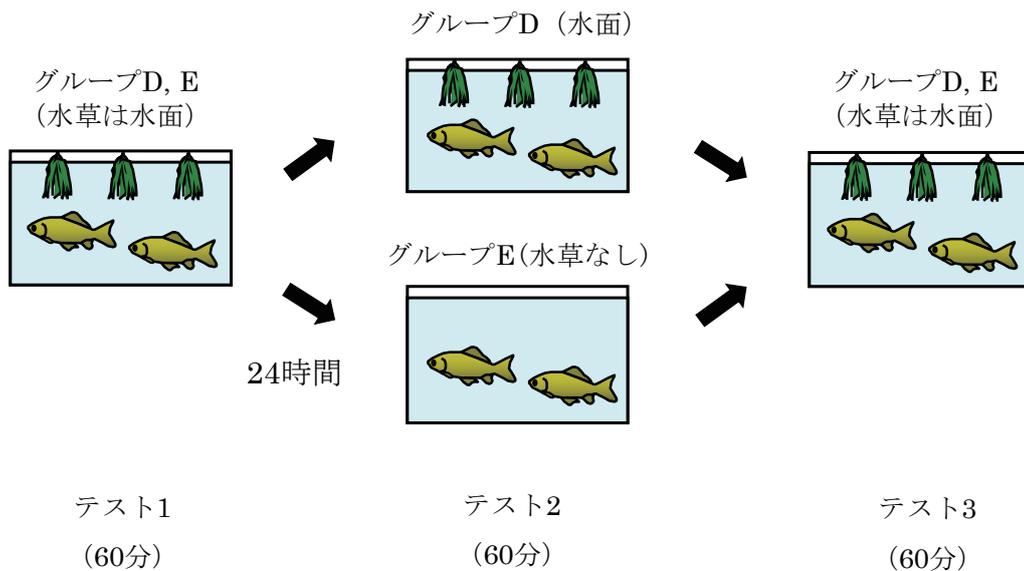


図4 実験2の概略.

60 L 実験水槽に雌雄各1個体のキンブナを入れた。テスト1では水草が水面にある条件下で雌にプロスタグランジン F2α (PG) を投与して産卵行動を誘起し、その回数を60分間測定した。その後、雌雄の魚を2つの異なる条件下においた。約24時間後、テスト2では再度雌にPGを投与し、異なる条件下での産卵行動の回数を60分間測定した。テスト2の終了直後に水草を水面に設置し、ひきつづき産卵行動の回数を60分間測定した(テスト3)。

テスト3ではテスト2の終了直後に、すべての水槽の水面に水草を設置し産卵行動の回数を測定した。なおPG投与後初めの30分間は産卵行動の回数の個体差が大きいため、テスト1およびテスト2において、PG投与後30～60分の30分間の産卵行動の回数を測定した。テスト3ではテスト2で投与したPGが有効であったため、PGは投与しなかった。

PG (パナセラン-Hi, 第一製薬, 東京) は雌1個体あたり $5.0 \mu\text{g}/2.5 \mu\text{l}$ (溶媒は生理食塩水) をマイクロシリンジで背部に筋肉注射した。実験に使用した各グループの魚のペア数および体重 (g, 平均値±標準誤差) は以下のとおりである。グループA (10ペア): 雄, 16.4 ± 0.9 ; 雌, 14.8 ± 0.7 。グループB (10ペア): 雄, 17.4 ± 1.1 ; 雌, 15.2 ± 0.6 。グループC (11ペア): 雄, 19.0 ± 1.2 ; 雌, 14.4 ± 0.4 。

2・4 実験2: キンブナの産卵行動における水草の関与

キンブナを用いた実験ではキンギョの実験と同じ実験水槽を用いた。実験は水草の設置条件の異なる2つの実験群 (グループDおよびE) からなり、テスト1, 2および3を行った (図4)。

テスト1では各実験群の水槽の水面に3束の水草を設置し、雌にPGを投与して産卵行動を誘起し、雌雄各ペアの産卵行動の回数を測定した。テスト1の後、実験水槽を2つの異なる条件にした。1) 水草を水面近くに設置したもの (グループD)。2) 水草を水槽に設置しないもの (グループE)。これらのどちらかの環境条件に各ペアを約24時間馴致した。

テスト2では再度雌にPGを投与し、それぞれの条件下での産卵行動の回数を測定した。テスト3ではテスト2の終了直後に、両方の水槽の水面に水草を設置し産卵行動の回数を測定した。

PGは雌1個体あたり $5.0 \mu\text{g}/2.5 \mu\text{l}$ をマイクロシリンジで背部に筋肉注射した。なおキンブナの場合、キンブナの場合と同様¹⁶⁾、PG投与後の産卵行動の回数の頻度がキンギョより低いため、テスト1およびテスト2においてはPG投与後の60分間の産卵行動の回数を測定し、テスト3では、テスト2終了直後から60分間の産卵行動の回数を測定した。実験に使用した各グループの魚のペア数および体重 (g, 平均値±標準誤差) は以下のとおりである。グループD (8ペア): 雄, 47.2 ± 4.5 ; 雌, 75.8 ± 5.6 。グループE (7ペア): 雄, 46.7 ± 6.0 ; 雌, 76.5 ± 5.4 。

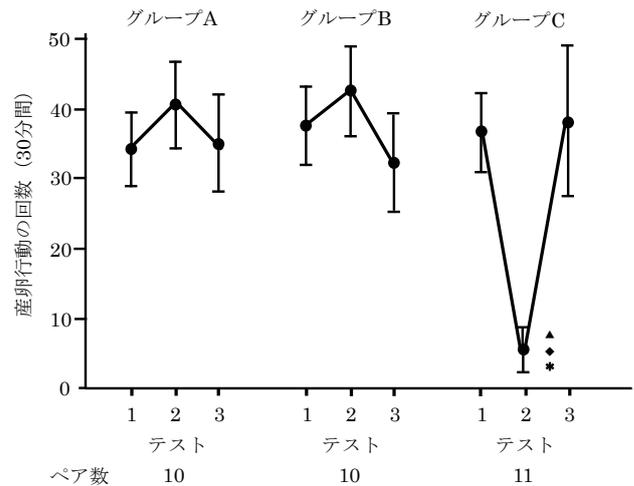


図5 キンギョの産卵行動における水草の影響。

シンボルとバーは各グループの産卵行動の回数の平均値と標準誤差を示す。▲, グループCのテスト2とテスト1間の比較 ($p < 0.01$)。◆, グループCのテスト2とテスト3間の比較 ($p < 0.01$)。*, グループCと他の実験群のテスト2の結果の比較 (グループAおよびグループB, いずれも $p < 0.05$)。

3 結果

3・1 実験1: キンギョの産卵行動における水草の関与

グループAおよびグループBでは、テスト1, 2および3において活発な産卵行動が観察された (図5)。テスト1, テスト2およびテスト3間はいずれも有意な差はなかった ($p > 0.10$, Wilcoxonの符号付順位和検定)。

グループCでは、テスト1において活発な産卵行動がみられた。30分間の産卵行動の平均回数は36.5 (標準誤差5.8)であった。しかし、テスト2において水草がなくなると、11個体中3個体においては雄の追尾のみで産卵行動はみられなかった。他の個体は、水槽の角において数回産卵行動を行った。30分間の産卵行動の平均回数は5.5 (標準誤差3.5)であった。水草を戻したテスト3においてはすべての個体で産卵行動がみられ、平均回数は38.1 (標準誤差11.3)であった。テスト1とテスト3間には有意差はなく ($p > 0.10$)、テスト1とテスト2、テスト2とテスト3間には有意差があった (いずれも $p < 0.01$, Wilcoxonの符号付順位和検定)。

グループA, グループBおよびグループCのテスト2間の比較においては、分散分析において有意差があり ($p < 0.01$)。グループAとグループB間では有

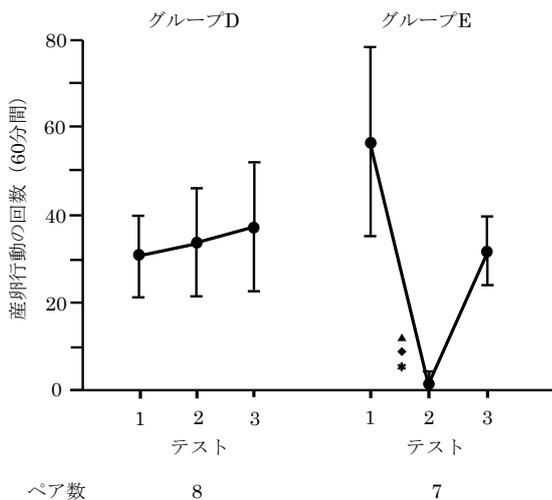


図6 キンブナの産卵行動における水草の影響。

シンボルとバーは各グループの産卵行動の回数と標準誤差を示す。▲、グループEのテスト2とテスト1間の比較 ($p < 0.02$)。◆、グループEのテスト2とテスト3間の比較 ($p < 0.02$)。*、グループEとグループDのテスト2の結果の比較 ($p < 0.01$)。

意差はなく ($p > 0.10$)、グループAとグループC、グループBとグループC間には有意差があった (いずれも $p < 0.05$, Tukeyの検定)。

すなわち、グループCのテスト2の産卵行動の回数は、テスト1およびテスト3の行動回数より有意に少なく、また他のグループのテスト2の行動回数より有意に少なかった。

3・2 実験2：キンブナの産卵行動における水草の関与

グループDにおいては、テスト1、2および3において活発な産卵行動が観察された (図6)。テスト1、テスト2およびテスト3間はいずれも有意な差はなかった ($p > 0.10$, Wilcoxonの符号付順位和検定)。

グループEでは、テスト1において活発な産卵行動がみられ、60分間の産卵行動の平均回数は56.7 (標準誤差22.5)であった。それに対し、水草を除去したテスト2では、7個体中4個体において雄の追尾のみで、産卵行動は行われず、他の個体は、水槽の角で数回の産卵行動を行った。60分間の産卵行動の平均回数は2.0 (標準誤差1.4)であった。水草を戻したテスト3ではすべての個体で活発な産卵行動がみられ、平均回数は32.1 (標準誤差7.7)であった。テスト1とテスト3間には有意差はなく ($p > 0.10$)、テスト1とテスト2、テスト2とテスト3間には有意差

があった (いずれも $p < 0.02$, Wilcoxonの符号付順位和検定)。

グループDおよびグループEのテスト2間の比較においては有意差があった ($p < 0.01$, Welchのt検定)。すなわち、グループEのテスト2の行動回数はテスト1およびテスト3の行動回数より有意に少なく、またグループDのテスト2の行動回数より有意に少なかった。

4 考察

本研究では、水草の存在がキンギョおよびキンブナの産卵行動にどのように関与するのか、実験的に検証を行った。キンギョにおいては、水槽内に水草が存在するグループAおよびグループBでは、テスト1、テスト2、テスト3においていずれも活発な産卵行動がみられた。一方、グループCではテスト1において活発な産卵行動がみられたが、水槽内に水草のないテスト2においては、産卵行動の回数は有意に低下した。また水草を戻したテスト3においては活発な産卵行動が行われた。このことはグループCのペアがテスト2において生殖能力を失ったということではなく、生殖能力があっても水草がないと産卵行動を行わないということを明確に示している。

キンブナにおいても、水草のある環境のグループDのテスト1、テスト2、テスト3およびグループEのテスト1、テスト3において活発な産卵行動がみられた。しかし水草のない環境のグループEのテスト2においてはわずかな産卵行動しか行われなかった。この結果はキンギョと同様、キンブナは性成熟していても水草がないと産卵行動を行わないことを示している。

本研究の結果から、産卵基質である水草の存在はキンギョ、キンブナにおいて産卵行動の発現のためには必須であり、産卵基質のない環境は、魚が性成熟していても産卵行動ができなくなり、魚にとって不適な環境であると言える。実際、岸をコンクリートで固めた池において、人工魚巣を設置したところ、コイ、フナ類がその人工魚巣に対して大量の産卵を行ったということが報告されている¹⁷⁾。この結果は、水草のないガラス水槽と同様、コンクリートの岸では魚が性成熟しても産卵基質がないため産卵行動ができなかったものと推察される。

このように水生植物を産卵基質とする魚種においては、産卵基質の欠如により産卵行動が行えなくなる。その結果として個体あたりの受精卵数は大きく減

少し、そこに生息する個体群のサイズは徐々に小さくなると思われる。

本研究では、アクリル製の人工水草を用いて産卵基質の有無の実験を行ったが、今回の結果は自然条件下での水生植物と産卵行動の関係をある程度反映していると考えられる。屋外の人造の溜め池において、アクリル以外の種々の人工水草（商品名キンラン、材質ポリプロピレン；商品名ポリモン、材質ポリエステル；商品名寒冷紗、材質ポリエチレン、ポリエーテルサルフォンなど）を設置したところ、コイ、フナ類がそれらを産卵基質として多くの卵を産み付けたということが報告されている¹⁸⁾。このことは、コイ、フナでは産卵基質の構造が繊維状であれば、材質に対する特異性はあまり高くなく、人工物の材質の水草であっても天然の水生植物と同等の効果をもつものと考えられる。

産卵行動は魚類の生活環の中でも重要な活動で、魚が生存・性成熟できる環境であっても産卵行動ができない環境であればその種の生活環は完結しない。また産卵基質となる水生植物がなければ保全のために種苗の放流を行ってもその種の再生産は期待できない。したがって水生植物を産卵基質とする魚類の保全のためには、河川、水路、池の岸の改修の際に、魚類の産卵行動に適切な水生植物が維持されることが重要であると考えられた。

引用文献

- 1) 鈴木誉士, 小林徹: 魚類学雑誌, 56, 182-184 (2009).
- 2) 佐藤太郎, 東淳樹: 野生生物保護, 9, 63-76 (2004).
- 3) 森須美子, 伊藤健吾, 千家正照: J. Rainwater Catchment Systems, 17, 43-49 (2012).
- 4) 西田一也, 千賀祐太郎: 農業土木学会論文集, 233, 29-39 (2004).
- 5) 小林牧人, 頼経知尚, 小井土美香: “魚類の行動研究と水産資源管理” (棟方有宗, 小林牧人, 有元貴文編), 89-100 (2013), (恒星社厚生閣).
- 6) 川那部浩哉, 水野信彦編・監修: “日本の淡水魚” (1993), (山と溪谷社).
- 7) 辻盛生, 平塚明, 澤田一憲, 阿久津研二: 応用生態工学, 11, 89-101 (2008).
- 8) 尾崎保夫, 林紀男, 片桐浩司: 日本水処理生物学会誌, 53, 81-93 (2017).
- 9) 大野正彦, 若林明子: 水環境学会誌, 23, 668-676 (2000).
- 10) 鍋島靖信, 平松和也, 上原一彦: 大阪府立食とみどりの総合技術センター研究報告, 39, 28-34 (2003).
- 11) Kobayashi, M., Sorensen, P. W., & Stacey, N. E.: Fish Physiol. Biochem., 26, 71-84 (2002).
- 12) Munakata, A. & Kobayashi, M.: Gen. Comp. Endocrinol., 165: 456-468 (2010)
- 13) 小林牧人: 海洋と生物, 37, 576-584 (2015) .
- 14) 小林牧人: “魚類のニューロサイエンス” (植松一真, 岡良隆, 伊藤博信編), 245-262 (2002), (恒星社厚生閣).
- 15) 小林牧人, 棟方有宗: “求愛・性行動と脳の性分化” (小林牧人, 小澤一史, 棟方有宗編) 9-32 (2016), (裳華房).
- 16) Kobayashi, M. & Nakanishi, T.: Gen. Comp. Endocrinol., 115, 178-187 (1999).
- 17) 金澤光: 埼玉県水産試験場研究報告, 56, 1-7 (1998) .
- 18) 徳田眞孝, 佐野二郎: Bull. Fukuoka Fisheries Mar. Technol. Res. Center, 24, 7-12 (2014) .

キンブナを供与して下さった群馬県水産試験場の方々に深く感謝致します。また論文をまとめるにあたり貴重なコメントを下さった宮城教育大学棟方有宗准教授に心より感謝致します。

(2019年2月22日受付, 2019年5月21日受理)