

飼育下での水温自然上昇時におけるナガレホトケドジョウの産卵

青山 茂^{*†}・土井敏男^{††}

神戸市立須磨海浜水族園 〒654-0049 神戸市須磨区若宮町 1-3-5

E-mail pekkon26@yahoo.co.jp

*責任著者

キーワード: 冷却機 産卵間隔 産卵期間 産卵日数 産卵数 産卵水温

2016 年 2 月 13 日受付 2016 年 5 月 10 日受理

要旨 飼育下でナガレホトケドジョウを産卵させるためのより簡便な管理方法を検討するため, 前年 5 月から照明時間を 1 日 12 時間とし, 前年 12 月から水温約 8℃で飼育されていた雌雄を 3 月 1 日に 6 個の水槽に 1 ペアずつ入れ, 水温だけが自然上昇する条件下で産卵するか調べた. その結果, 水温が上昇する中で 3 月中に 6 ペアすべてが産卵を開始した. 各ペアは 2~20 日間隔で 3~13 日産卵し, 産卵期間は 9~72 日間であった. 各ペアの初産卵日の水温については 15.1~16.5℃, 最終産卵日の水温については 15.5~22.1℃であった. 1 産卵日の産卵数は 2~184 個, 1 産卵期間の総産卵数は 147~683 個であった. これらの産卵結果では上限水温を約 15℃に固定して産卵させた既報と大きな差は見られなかった.

はじめに

ナガレホトケドジョウ *Lefua* sp. 1 は福井県・奈良県から岡山県・鳥取県までの本州と, 高知県を除く四国に分布するドジョウ科ホトケドジョウ属の日本固有の淡水魚で, 分布域の一部が重複する同属のホトケドジョウ *L. echigonia* とは形態, 生態(細谷 2013, Aoyama & Doi 2011), および系統発生(Sakai et al. 2003)で区別される未記載種である. この魚は山間の浅くて砂礫底の流れの緩やかな細流に生息するが(細谷 2013), 近年, 生息地の減少などのため, 環境省レッドデータブックで絶滅危惧 I B 類に選ばれている(青山・細谷 2015).

希少種を保護する方法としては生息地の生態系をそのまま保つ保全(In situ Conservation)と研究施設での継代飼育等による保存(Ex situ Preservation)がある(細谷 1997, 2002). 後の場合, 研究施設での繁殖や飼育はなるべく簡便に行なわれるものであることが望ましい. 本種の飼育下での産卵習

[†] 現所属: 神戸市垂水区役所 〒655-8570 神戸市垂水区日向 1-5-1

^{††} 現所属: 神戸市環境局 〒650-8570 神戸市中央区加納町 6-5-1

性や増殖方法については既に報告されている(Aoyama et al. 2005, 青山ら 2006). Aoyama et al. (2005) ではタイマーによって前年 11 月から 1 日 10 時間に設定していた照明時間を 5 月から 12 時間に変化させ, 冬季から設定していた冷却機の水温約 8℃を 5 月頃から徐々に上げて 15℃で一定にする条件下でナガレホトケドジョウを産卵させた. 青山ら(2006)は人工的な採卵器を用いた水槽で産卵床選択実験を行なったが, その際, 照明時間を冬季に設定していた 1 日 12 時間(12L, 9:00~21:00)のまま水温だけを 8℃から徐々に上げ, 上限設定を 15℃に保って産卵を誘発した. 一方, 野外での本種の産卵期間は主に 5 月~7 月で(Aoyama 2007), この間は自然に日長が増加し, 水温が上昇する. 本種が産卵する上限の水温や, 徐々に上昇する水温が産卵期間などにどのように影響するのかは明らかにされていない. 本種の生息地の水温についての報告は少なく, 青山(2014)による月 1 回の調査時の水温については 5 月が 12.3℃, 6 月が 14.3℃, 7 月が 17.3℃である. さらに, 生息地の周囲には樹木が繁茂して日当たりが悪く, 水温については夏でも約 19℃(8 月;青山 2014)や 20~23℃(青山・細谷 2015)と報告されている. 平地にある施設で自然と同じ 5 月頃から産卵させようとする, 山地よりも早期の水温上昇や, 夏季のより高い水温上昇に備えて冷却機を使用する必要がある. しかしながら, 自然上昇する水温の下で本種が産卵する水温範囲が判明すれば, 冷却機の稼働時期をより短くして, 設定操作もより簡便にできると考えられる.

本研究では, 照明時間を概ね周年にわたって 1 日 12 時間(12L, 9:00~21:00)一定にし, 水温だけが冬季に設定した約 8℃から 25℃まで自然に上昇する条件の水槽で本種を雌雄のペアごとに飼育し, 各ペアが産卵するか調べるとともに, 産卵特性について既報(Aoyama et al. 2005)の結果と比較した.

方法

親魚の飼育

親魚は 1996~2000 年に兵庫県加古川水系の上流域, 標高約 300~340 m で採集したものと, それらを親魚として 2001~2002 年に水槽で繁殖させたものである. これらの親魚から約 30 尾を 2003 年 5 月に神戸市立須磨海浜水族園の暗室に設置した冷却機付の複数のガラス水槽に移して分散飼育した後, 2003 年 8 月に同じ暗室内のストック用の 160 L ガラス水槽(幅 90 cm × 奥行 45 cm × 水深 40 cm)に収容した. 暗室内の各水槽には 20 W 蛍光灯 1 灯ずつが 1 日 12 時間(12L, 9:00~21:00)点灯されていた. スtock水槽の底には何も敷かず, 底面ガラスの上には隠れ場所として直径 2~2.5 cm, 長さ 10~20 cm の塩化ビニール製パイプを数本置いた. 濾過にはスポンジフィルターを使用し, 飼育水はエアリフトによって水槽内を循環させた. スtock水槽の水温については 2003 年 8~10 月には 23℃に冷却機を設定し, 以後は徐々に下げて 12 月には約 8℃に設定していた.

水温自然上昇時における産卵実験

本研究を実施した神戸市立須磨海浜水族園は砂浜に続く平地にあり, 屋内に置いた水槽でも本種の生息地より早い時期から水温が上昇する. そのため, 2004 年 2 月下旬に先の暗室に 9 L ガラス水槽(幅 18.5 cm × 奥行 31.5 cm × 水深 15 cm)を 6 個設置した(図 1). 飼育水の循環・濾過についてはエアリフト式スポンジフィルターによって行ない, 水槽底には何も敷かなかった. 照明には水槽 3 個ずつに対し

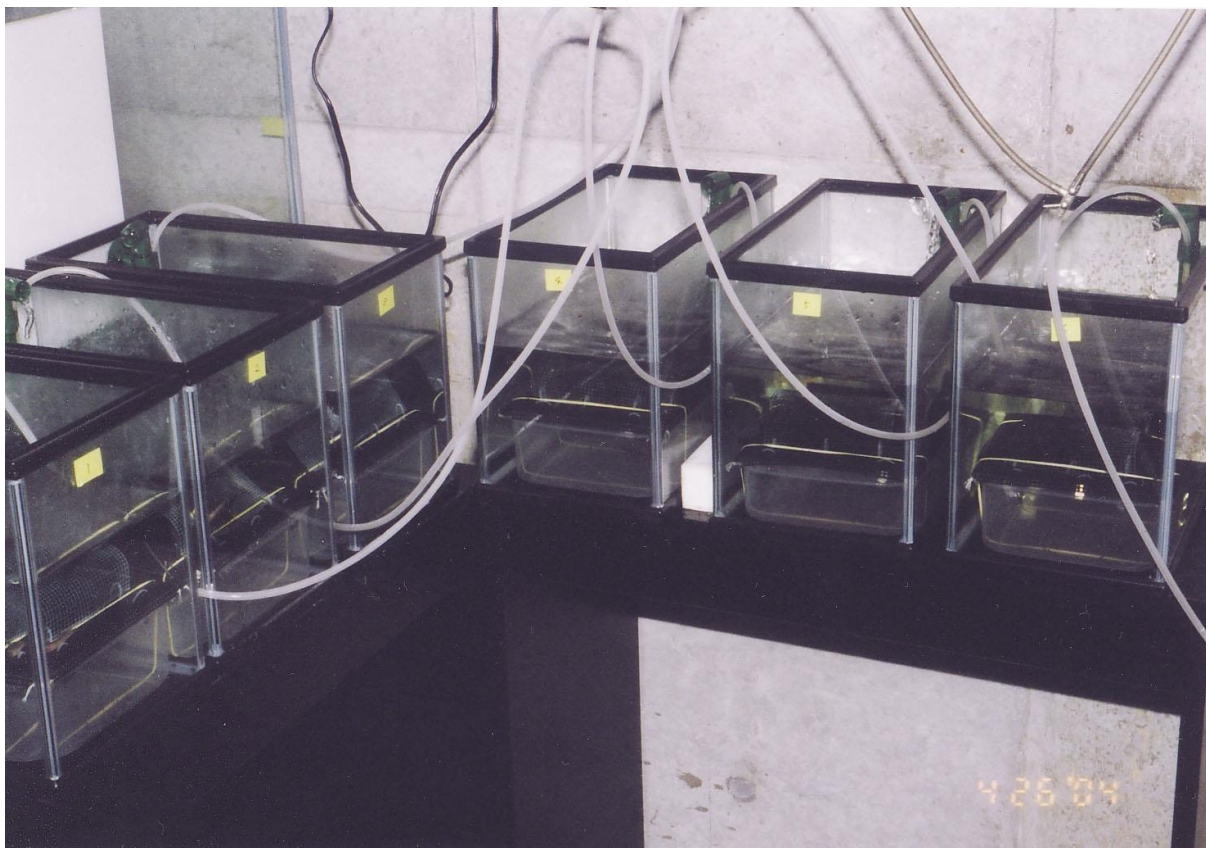


図 1. ナガレホトケドジョウの産卵実験に用いた 6 個の水槽の写真.

Fig. 1. A photo of six tanks used in the spawning experiment of *L. sp. 1*.

て 20 W 蛍光灯 1 灯を用い、約 30 cm 上方からストック水槽と同様に 1 日 12 時間 (12L, 9:00~21:00) 点灯させた. 2004 年 3 月 1 日に、これらの水槽にストック水槽から雌雄の 1 ペアずつを入れた (ペア 1~6; 表 1). 給餌には冷凍赤虫を解凍し、毎日飽食するように与えた. 水温については午前 11 時のペア 1 の飼育水槽の値で代表させた. 採卵にあたっては、親魚による卵の捕食を避けるための採卵器 (青山ら 2006) を各水槽の底に 1 個ずつ置いた. この採卵器はタッパー容器 (幅 20 cm × 奥行 15 cm × 高さ 6 cm) に園芸用鉢底ネットで作った蓋をかぶせ、その上に産卵床としてウイローモス *Fantinalis antipyrretica* を約 50 g セットしたものである. 本種の産卵行動は雌雄が産卵床に潜り込み、寄り添って体を震わせて産卵し、そこから飛び出してくるというもので、産み出された卵は産卵床へ粘着することなく、網の目を抜けて容器の底に落ちる (青山・土井 2006). 本種はこのような産卵行動を繰り返して 1 腹卵を 1 日以内に産出し、それを 1 産卵期に数日に分けて行なう多回産卵魚である (Aoyama et al. 2005). 卵の回収については、毎日午前 9 時に採卵器の底に卵が落ちていないか確認し、実際に産卵行動が続いている場合には当日産出卵とみなし、それ以外は 9 時の時点で発見された卵を前日産出卵とみなして回収した. 回収した卵については 5%ホルマリンで固定後、計数した.

ペア 4 については、実験途中で雄が斃死したので、代わりの雄を入れたが、以後は産卵しなかった. すべてのペアで産卵が終了した後、水温が 25°C に達した 6 月 23 日の時点で実験を終了した.

産卵日数 (産卵期間中に実際に産卵した日数)、産卵間隔、総産卵数、1 産卵日の産卵数、体長、それぞれの間の相関関係をスピアマンの順位相関係数によって検定した (統計解析フリーソフト R version 3.2.4, 有意水準 5%未満).

表 1. 実験に用いたナガレホトケドジョウのペア.

Table 1. Experimental fish of *L. sp. 1* introduced each tank.

Pair name	Female		Male	
	Name	SL (mm)	Name	SL (mm)
Pair 1	F1	63.3	M1	52.8
Pair 2	F2	61.8	M2	52.0
Pair 3	F3	58.9	M3	48.3
Pair 4	F4	54.0	M4	43.1
Pair 5	F5	43.2	M5	45.9
Pair 6	F6	42.4	M6	39.3

結果

産卵の概要

実験開始後、水温が上昇する中で 3 月中にすべてのペアが産卵を開始した。各ペアの初産卵日は 3 月 15 日～3 月 25 日で、そのときの水温は 15.1～16.5℃であった(表 2, 図 2, 3)。最終産卵日は 3 月 26 日～6 月 1 日で、水温は 15.5～22.1℃であった(表 2, 図 2, 3)。各ペアは 2～20 日間隔で 3～13 日産卵した。産卵期間は 9～72 日間であった。1 産卵日の産卵数は 2～184 個、1 産卵期間の総産卵数は 147～683 個であった。雌の体長と産卵日数との間には有意な相関は見られず($r=0.353$, $P>0.05$, $N=6$, 図 4), 雌の体長と総産卵数との間にも有意な相関は見られなかった($r=0.6$, $P>0.05$, $N=6$, 図 5)。さらに、産卵日数と総産卵数との間にも有意な相関は見られなかった($r=0.794$, $P>0.05$, $N=6$, 図 6)。各雌において産卵日数と、1 産卵日の産卵数あるいは産卵間隔との関係を調べたところ、個体によっては産卵数あるいは産卵間隔の一方に有意な相関が認められる場合があった(表 3)。

表 2. ナガレホトケドジョウの各ペアにおける産卵状況.

Table 2. Summary of batch spawning in six isolated pairs of *L. sp. 1* during the experiment.

Female name	Spawning				Number of eggs		
	Period (days)	Days	Rate * (%)	Temperature (°C)	Total	per day	
						Range	Mean
F 1	Mar.23–May 4 (43)	7	16	15.1–20.6	683	22–184	97.6
F 2	Mar.15–Apr.18 (35)	7	20	15.1–18.8	515	2–150	73.6
F 3	Mar.25–Apr.24 (31)	4	13	15.3–17.9	173	37–54	43.3
F 4	Mar.18–Mar.26 (9)	3	33	16.5–15.5	283	72–125	94.3
F 5	Mar.22–Jun. 1 (72)	13	18	15.3–22.1	534	8–75	41.1
F 6	Mar.25–Apr.21 (28)	3	11	15.3–18.5	147	20–66	49.0
Mean	(36.3)	6.2	17		389.2	–	66.5

*: Spawning rate = $100 \times (\text{spawning days}) / (\text{days of spawning period})$

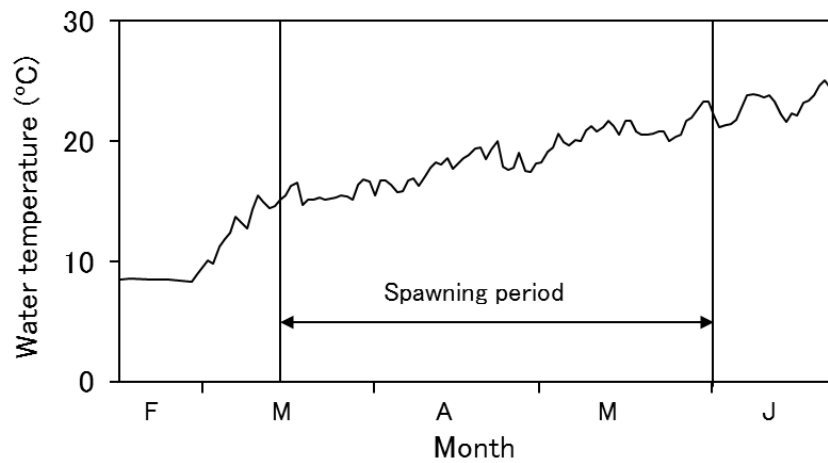


図 2. 実験期間中の水温変化とナガレホトケドジョウの産卵期間.

Fig. 2. Change of water temperature and spawning period of *L. sp. 1* during the experiment.

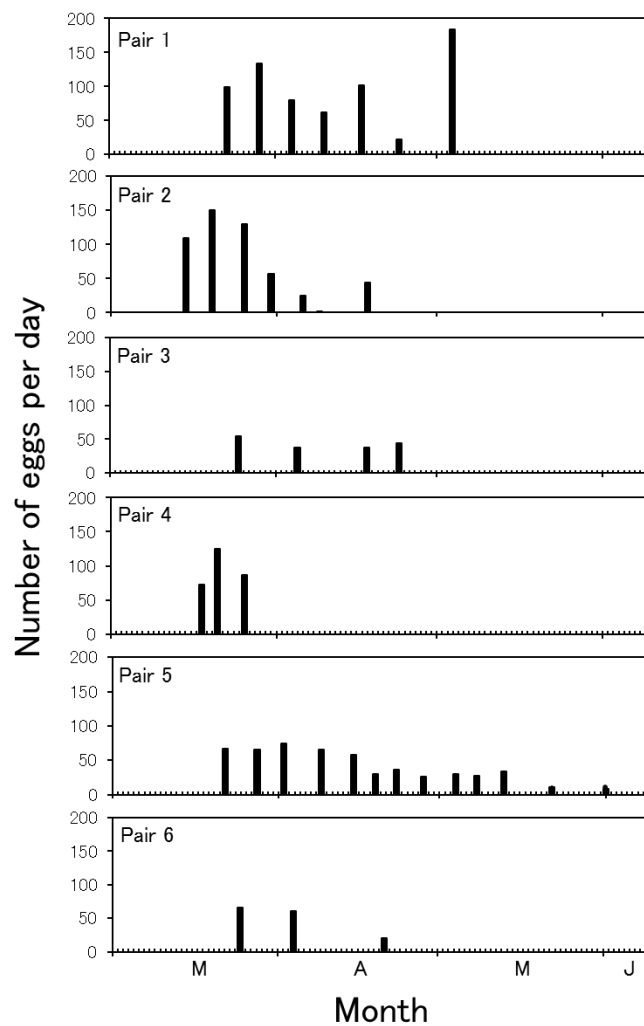


図 3. ナガレホトケドジョウの各実験水槽における各ペアの産卵頻度と1産卵日当たりの産卵数.

Fig. 3. Frequency of spawning and number of eggs per day in six isolated pairs of *L. sp. 1*.

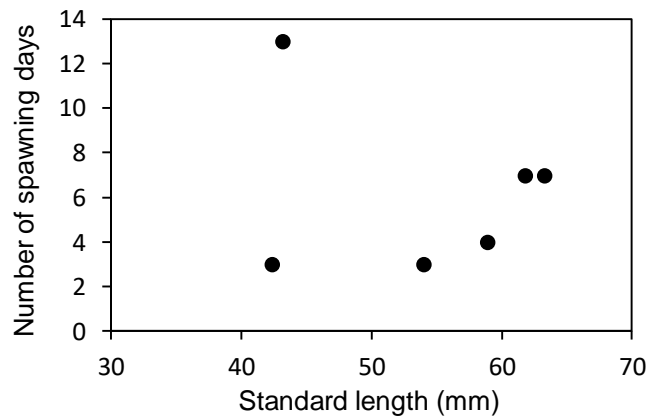


図 4. ナガレホトケドジョウの雌の体長と産卵日数の関係.

Fig. 4. Relationship between standard length and number of spawning days for each female of *L. sp. 1* used for the experiment.

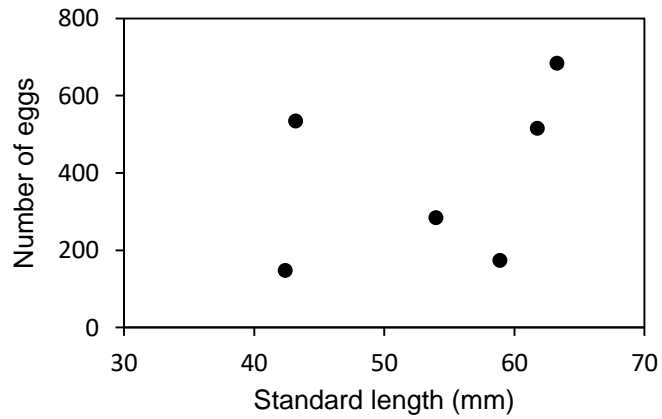


図 5. ナガレホトケドジョウの雌の体長と総産卵数の関係.

Fig. 5. Relationship between standard length and total number of eggs spawned by each female of *L. sp. 1* used for the experiment.

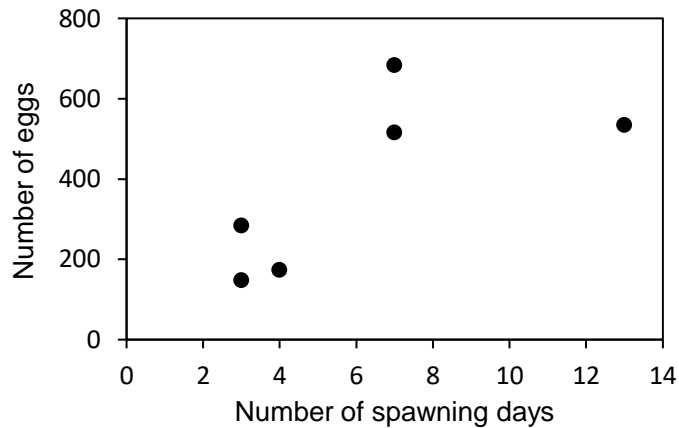


図 6. ナガレホトケドジョウの各雌における産卵日数と総産卵数の関係.

Fig. 6. Relationship between number of spawning days and total number of eggs spawned by each female of *L. sp. 1* used for the experiment.

表 3. ナガレホトケドジョウの各雌における産卵日数と産卵数および産卵間隔との関係.

Table 3. Relationships between the decrease in number of eggs per day with succeeding spawning days, and between the increase in interval between spawning days with succeeding spawning days, for each female of *L. sp. 1* used for the experiments.

Female name	No. of eggs per day			Interval		
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>N</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>N</i>
F1	0.036	ns	7	0.926	**	6
F2	-0.786	*	7	0.265	ns	6
F3	-	-	4	-	-	3
F4	-	-	3	-	-	2
F5	-0.883	***	13	0.193	ns	12
F6	-	-	3	-	-	2

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, ns: not significant.

考察

産卵誘発のための飼育条件

先に述べたように, Aoyama et al. (2005) では, 照明時間と水温をタイマーや冷却機を用いて冬季に設定していた状態から夏季に向けて徐々に増大させ, 上限水温を 15°C に設定して野外と同じ 5 月頃から本種を産卵させた. また, 飼育下の本種について冬季の 8°C 設定のまま夏を越させて 11 月に水温を 15°C に上昇させたところ, 産卵が開始された (青山 未発表). このように冷却機の使用は, 人為的に産卵期をコントロールできる利点はあるものの, 操作の煩雑さや, 電気代の増加, 結露の発生などの問題もある. 一方, 本研究では照明時間を少なくとも前年 5 月から 10 ヶ月間 1 日 12 時間とし, 水温を前年 12 月から約 3 ヶ月間約 8°C に保った後, 自然上昇に任せて産卵実験を実施したところ, 3 月から 6 ペアすべてが産卵した. すなわち, 照明時間については, Aoyama et al. (2005) における産卵期前の調整は不要で周年 1 日 12 時間一定で良いと考えられ, 水温についても設定を細かく調整して上昇させる必要はなく, 自然上昇に任せることでより簡便に産卵させられることが明らかになった. 今後は, 夏越しの時期を含めて冷却機を使用しない飼育条件下で生活史の年間サイクルを完了できるか調べる必要がある.

産卵特性

表 4 に本研究と既報 (Aoyama et al. 2005) での産卵状況の比較を示す. 既報では 11 ペアを産卵させたが, 産卵期開始時の水温は 13.4~15.9°C で, 本研究の結果よりやや低かった. この値と本研究で産卵が行なわれた最高水温が 22.1°C であることから, 本種において産卵が行なわれる水温は概ね 13~22°C の範囲と考えられる. 本種の生息地では夏場でも約 19°C の場合もあり (青山 2014), 必ずしも 22°C まで上がるとは限らない. 本研究では回収した卵をすぐにホルマリンで固定したが, 今後は実際に発生させて卵の質についても検討する必要がある.

表 4. 本研究と先行研究におけるナガレホトケドジョウ各ペアの産卵結果の比較.

Table4. Comparison of spawnings of each pair of *L. sp. 1* between the present study and the previous study.

	Present study	Previous study *
Number of spawning pairs	6	11
Standard length (mm) of females	42.4–63.3	34.1–70.9
Water temperature (°C) at the first spawning	15.1–16.5	13.4–15.9
Water temperature (°C) at the last spawning	15.5–22.1	14.8–15.6
Number of spawning days per pair	3–13	1–13
Spawning period per pair (days)	9–72	1–67
Interbal between spawnings (days)	2–20	3–14
Total number of spawned eggs per pair	147–683	47–1080
Number of eggs per spawning day	2–184	10–264

*: Aoyama et al. (2005)

本研究では産卵日数は最大 13 日で、水温 15°C 一定で産卵させた既報 (Aoyama et al. 2005) と同じであった。最長産卵期間は本研究の 72 日間で既報の 67 日間より少し長かった。既報では、雌の体長と、総産卵数あるいは産卵日数との間には有意な相関は認められなかったが、本研究でも同様に認められなかった。既報では産卵日数と総産卵数の間に正の相関が認められたが、本研究では有意な相関は認められなかった。既報では、産卵日数が 10 日以上雌すべてにおいて、産卵日数が増えるにつれて 1 日当りの産卵数が減少し、前回の産卵日との間隔が長くなる傾向が見られた。しかしながら、本研究では、産卵日数が 7 日以上雌で、1 産卵日の産卵数あるいは産卵間隔のどちらか一方に有意な相関が認められただけで、産卵日数の増加とともに減少した産卵数が、一転して最後の産卵日に最多になった雌も見られた。以上のように本研究の結果は既報のそれと比べて多少の違いはあったものの、本研究では標本数がより少ないこともあり、全体的には概ね同様の傾向であると考えられた。

以上のことから、小型の水槽と簡易な採卵器を使用し、水温自然上昇の下で自然産卵させる簡便な採卵方法でも本種の系統保存に十分に活用できるであろうことが示唆された。

引用文献

Aoyama, S. 2007. Sexual size dimorphism, growth, and maturity of the fluvial eight-barbel

- loach in the Kako River, Japan. Ichthyol. Res. 54: 268-276.
- 青山 茂. 2014. ホトケドジョウとナガレホトケドジョウの成長の比較例. 伊豆沼研報 8: 45-50.
- Aoyama, S., Doi, T. & Baba, K. 2005. Spawning habits of the fluvial eight-barbel loach, *Lefua* sp., observed in captivity. Ichthyol. Res. 52: 237-242.
- 青山 茂・土井敏男. 2006. 水槽内で観察されたナガレホトケドジョウの群れ産卵. 兵庫陸水生物 58: 95-98.
- 青山 茂・土井敏男・柳内 健. 2006. ナガレホトケドジョウの人工増殖における産卵床選択と子の育成. 水産増殖 54: 135-138.
- 青山 茂・細谷和海. 2015. ナガレホトケドジョウ. 環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室 (編). レッドデータブック 2014 -日本の絶滅の恐れのある野生生物-4 汽水・淡水魚類. pp. 198-199. ぎょうせい, 東京.
- Aoyama, S. & Doi, T. 2011. Morphological comparison of early stages of two Japanese species of eight-barbel loaches: *Lefua echigonia* and *Lefua* sp. (Nemacheilidae). Folia Zool. 60: 355-361.
- 細谷和海. 1997. 生物多様性を考慮した淡水魚保護. 長田芳和・細谷和海(編). 日本の希少淡水魚の現状と系統保存-よみがえれ日本産淡水魚. pp. 315-329. 緑書房, 東京.
- 細谷和海. 2002. 日本の希少淡水魚の現状と保護対策(特集 2 日本の希少淡水魚の保護). 遺伝 56: 59-65.
- 細谷和海. 2013. ドジョウ科. 中坊徹次(編). 日本産魚類検索 全種の同定 第三版. pp. 328-334, 1819-1822. 東海大学出版会, 神奈川.
- Sakai, T., Mihara, M., Shitara, H., Yonekawa, H., Hosoya, K. & Miyazaki, J. 2003. Phylogenetic relationships and intraspecific variations of loaches of the genus *Lefua* (Balitoridae, Cypriniformes). Zool. Sci. 20: 501-514.

Spawnings of the fluvial eight-barbel loach, *Lefua* sp.1,
under a natural rise of water temperature in captivity

Shigeru Aoyama*[†] & Toshio Doi^{††}

Kobe Municipal Suma Aqualife Park, 1-3-5 Wakamiya, Suma, Kobe, Hyogo 654-0049, Japan
E-mail pekkon26@yahoo.co.jp

*Corresponding author

Abstract To examine easier methods for captive spawning of the fluvial eight-barbel loach, *Lefua* sp.1, six pairs of a male and a female were introduced in separate experimental tanks on March 1 in which water temperature was allowed to naturally rise and illumination conditions remained constant. Before the experiment, they had been reared together in the stock tank under conditions of 12 hr/day illumination by a 20-W fluorescent lamp from May in the previous year and water temperature of ca. 8°C from December in the previous year. In the result, the six pairs all began to spawn in March. Each pair spawned for 3-13 days with intervals of 2-20 days over an entire spawning periods of 9-72 days. Water temperatures both at the first and the last spawning days of each pair were 15.1-16.5°C and 15.5-22.1°C, respectively. The number of eggs spawned per spawning day and the total number of eggs spawned during spawning periods of each pair were 2-184 and 147-683, respectively. These results denoted the same tendency as found in the previous report in which the loach spawned under water temperature conditions of ca. 15°C after being artificially increased from ca. 8°C.

Keywords: cooling system, egg number, interval between spawning days, spawning days, spawning period, temperature for spawning,

Received: February 13, 2016/ Accepted: May 10, 2016

[†] Present address: Kobe City Tarumi Ward Office, 1-5-1 Hyuga, Tarumi, Kobe, Hyogo 655-8570, Japan

^{††} Present address: Environment Bureau of Kobe Municipal Office, 6-5-1, Kanou, Tyuou, Kobe, Hyogo 650-8570, Japan