

東海大学大学院平成 30 年度博士論文

タナゴ *Acheilognathus melanogaster* の繁殖活  
動を誘導する環境要因の解明

指導 秋山 信彦 教授

東海大学大学院地球環境科学研究科

地球環境科学専攻

太田 勇太

## 目次

Abstract.....	1
第1章 緒言.....	3
第2章 屋外飼育条件下における生殖年周期.....	5
2-1 目的.....	5
2-2 材料と方法.....	5
2-3 結果.....	5
2-3-1 卵巣の発達過程.....	5
2-3-2 精巣の発達過程.....	6
2-3-3 水温及び日長時間の変化と生殖腺・肝臓・脳下垂体の周年変化.....	6
2011年から2012年における生殖年周期.....	6
2013年から2014年における生殖年周期.....	7
2-4 考察.....	8
第3章 産卵期開始誘導要因.....	10
3-1 目的.....	10
3-2 材料と方法.....	10
3-2-1 実験までの飼育と実験水槽.....	10
3-2-2 測定方法.....	10
3-2-3 実験開始時期および日長と水温条件.....	11
明期, 暗期の長さが生殖腺に与える影響.....	11
3-3 結果.....	11
3-3-1 日長時間及び水温が産卵期開始に与える影響.....	11
2011年10月10日から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態.....	11
2011年冬至から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態.....	12
2013年秋分から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態.....	13
2013年冬至から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態.....	13
2016年産卵期開始直前から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態..	14
2014年と2015年の冬至から明期, 暗期の長さを変えた場合の生殖腺の動態...	15
3-3-2 各実験で産卵が見られた条件.....	16
3-4 考察.....	16
第4章 産卵期終了誘導要因.....	19
4-1 目的.....	19
4-2 材料と方法.....	19
4-2-1 実験までの飼育と実験水槽.....	19
4-2-2 測定方法.....	19

4-2-3	実験開始時期および日長と水温条件.....	19
4-2-4	明期, 暗期の長さが生殖腺に与える影響.....	20
4-2-5	水温が産卵間隔に与える影響.....	20
4-3	結果.....	20
4-3-1	異なる時期の日長および水温が産卵期終了に与える影響.....	20
	産卵盛期の5月10日から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態...	21
	産卵期終盤である夏至から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態..	22
4-3-2	日長のみを変更した場合の生殖腺の動態.....	23
	2015年と2016年の夏至から明期, 暗期の長さを変えた場合の生殖腺の動態...	24
	.....	24
4-3-3	水温を変えた場合の排卵および産卵間隔.....	25
4-3-4	各実験で産卵が抑制された条件.....	25
4-4	考察.....	26
第5章	総合考察.....	29
	要約.....	32
	謝辞.....	34
	文献.....	35
	図.....	38
	表.....	86

## **Studies of environmental factors to induce the breeding activities of bitterling, *Acheilognathus melanogaster***

**Yuta Ota**

The bitterling *Acheilognathus melanogaster* habitats have been drastically reduced due to water pollution and river improvement. For this reason, this species was listed as endangered in the Red List of the Ministry of Environment in 2007 due to its importance to zoogeography. There has been a lack of knowledge about the reproductive of *A. melanogaster* for protection and propagation. Therefore, the purpose of this study is to obtain basic knowledge about the reproductive.

*A. melanogaster* reproductive cycle was investigated from June 2011 to September 2012 and March 2013 to August 2014. From March to July in both years, the GSI value stayed high and individuals with developed gonads were observed. However, in August in both years, the GSI sharply dropped, and individuals with regressed gonads were observed. These results indicate that the spawning season of *A. melanogaster* reared in outdoor tanks was from the end of March to the end of July. Based on these results, we reared *A. melanogaster* under different combinations of water temperatures and daylight lengths from the autumnal equinox and the winter solstice. There were no spawning activities under the condition of 12L during the experiments on October 10, 2011 and September 23, 2013. On the contrary, the species was spawning in the case of long day treatment of 14 and 15L. There were no spawning activities under the condition of 9L during the experiments on December 22, 2011 and December 22, 2013. However, there was spawning in the long day treatment of 12 and 15L. Moreover, the species was not spawning in the cryogenic water temperature of 14°C. However, when the water temperature rose higher than 16°C, *A. melanogaster* spawned under the long day treatment. These results indicate that *A. melanogaster* starts spawning in the long day treatment longer than 12L when the water temperature is 16°C or higher. In order to investigate the light dark cycle which affected the gonad, *A. melanogaster* were reared in different combinations of daylight lengths from the winter solstice. The gonad maturation was enhanced and increase in GSI under the conditions of long light period. One of the important factors for the spawned seems to be long light period.

In order to investigate the factors which affect the end of the spawning season, in August both years, *A. melanogaster* were reared in different combinations of water temperatures and daylight lengths on May 10 and the summer solstice (June 21). The spawning of *A. melanogaster* was terminated for all daylight lengths at 28°C. However, the spawning continued in the case of the all daylight lengths at 20°C. The spawning was terminated under the conditions of 22°C 12L12D and 24°C 12L12D in the summer solstice. In order to investigate the light dark cycle which affected the end of the spawning season, *A. melanogaster* were reared in different combinations of daylight

lengths from the summer solstice. The spawning was terminated under the conditions of short photoperiod. In order to investigate the water temperature which affected the spawning cycle, *A. melanogaster* were reared in different combinations of water temperatures on April and May. The ovulation of *A. melanogaster* was terminated under the condition of 26°C. However, the ovulation increased under the condition of 18°C. One of the main factors for the end of the spawning season seems to be the influence of high water temperature. However, it was revealed that short day treatment under the low water temperature conditions also helped the end the spawning season.

The results of these studies suggest that *A. melanogaster* has a distinct annual reproductive cycle and the spawning period from the end of March to the end of July. These studies conclude that the spawning period of *A. melanogaster* is initiated by lengthening daylength in spring, and is terminated by increasing temperature in summer.

## 第1章 緒言

日本在来のタナゴ類には、3属12種8亜種（中坊 2013）が存在する。これらのうち、カネヒラ *Acheilognathus rhombeus* を除くほとんどの種が、絶滅危惧種に指定されている。特にミヤコタナゴ *Tanakia tanago*、イタセンパラ *A. longipinnis* は、1974年に文化庁により天然記念物に指定されている。タナゴ類は生きた淡水二枚貝に産卵するため、産卵床である二枚貝の減少、河川改修による生息地の減少、オオクチバス *Micropterus salmoides* やブルーギル *Lepomis macrochirus* 等の外来種による捕食など様々な要因により減少している。

タナゴ *A. melanogaster* は、体長9~12cmのコイ科魚類である（赤井ら 2004）。本種は、カラスガイ *Cristaria plicata* やドブガイ *Anodonta woodiana* など比較的大型の二枚貝の鰓葉に産卵する（長田・石鍋 2000）。1965年位までは本種の本来の分布域は、青森県鷹架沼から神奈川県鶴見川に至る本州太平洋沿岸である（中村 1969）。生息域は平野部を流れる河川や比較的浅い湖沼である（長田・石鍋 2000；環境省自然環境局野生生物課 2007）。日本固有種としては、分布域が青森県にまで達し、関東地方から東北地方までの太平洋側にのみ生息するなど、生物地理学的にも重要な種である。しかし、都市開発、農薬使用による水質汚濁、河川改修による産卵場の消失などによって生息地、個体数共に昭和40年ころから急激に減少している（長田・石鍋 2000）。現在では東京、神奈川、埼玉の関東地方では絶滅した可能性が高く、青森県の小川原湖、利根川水系、阿武隈川水系、北上川水系でも個体数は著しく減少した（環境省自然環境局野生生物課 2007）。これにより、1999年に環境庁の日本の絶滅のおそれのある野生生物レッドデータブック脊椎動物編では準絶滅危惧に指定され、さらに2007年には環境省レッドリストの絶滅危惧種 I B類に指定された（環境省自然環境局野生生物課 2007）。このように保護の必要性が高いにも関わらず、生息地、個体数共に減少傾向が続いている。本種に関しては中村（1969）により産卵習性、発育史、成熟に関する報告がなされているが、産卵生態や生活史全般についての詳細な研究は行われていないため、保護や増殖に必要な繁殖生態に関する知見は、他のタナゴ類と比較して少ない。本種はすでに各地で生息数が激減していることから、環境保全だけで保全することは難しいと考えられる。

タナゴ類の保全には、生息地の保全と域外での保全の2通りが存在する。生息地である湖沼での保全には、第一に外来魚の駆除が必要となるが、広大な池での外来魚の完全駆除は難しいことから、短期的な生息地の復元は困難である。さらに、河川では産卵母貝である二枚貝の消失が問題であり、適切な流量管理が必要であるが、短期的な生息地での自然増殖は困難である。そのため、ミヤコタナゴやイタセンパラでは、水族館や研究機関において人工飼育下での域外保全を行っている。また、溜池などの小さな水面を利用した保護池を作り、イタセンパラ（宮下 2005）の緊急的な保護の事例での成功例が報告されている。しかしながら、保護池の問題として魚を導入する地域の水質や都会などでは、周辺の照明

などによる日長時間の変化などにより、魚類の繁殖リズムが狂うことが考えられる。また、タナゴ類は日本各地に生息し、生息環境が流水域や止水域など種によってそれぞれ異なる。そのため、それぞれの種の生態に合った生息環境を造る必要がある。また、魚類の繁殖に関係した環境要因が分かれば、それに基づき増殖個体が自然状態で生息できる放流場所の選定が行える。しかしタナゴの場合には、繁殖条件は明らかにされていない。

硬骨魚類の多くは、毎年決まった時期に繁殖をする。これは、魚類の生殖内分泌系が水温変化や日長時間等の外部環境要因に依存していることによる（羽生 1991）。外部環境要因による繁殖リズムの調節は、多くの個体を一度に処理して、産卵期を早くしたり遅くしたり調節ができることから、水産増養殖上の利点があるため、現在までに多く研究されてきた。例としてマサバ*Scomber japonicus*（石橋ら 2006）、マアジ*Trachurus japonicus*（入路ら 2008）、クロエソ*Saurida umeyoshii*（酒井ら 2009）などで、生殖年周期の制御、産卵数等の資源増殖、種苗生産技術の開発をするうえで重要となる知見が得られている。

タナゴ類には春産卵型、春夏産卵型、秋産卵型の3つの産卵型が報告されている。このうち春産卵型ではアカヒレタビラ*Acheilognathus tabira*（清水・羽生 1981）が、春夏産卵型ではタイリクバラタナゴ*Rhodeus ocellatus ocellatus*（朝比奈ら 1980 ; Asahina and Hanyu 1983）とミヤコタナゴ（Hatakeyama and Akiyama 2007）が、秋産卵型ではカネヒラ（Shimizu et al. 1987）とゼニタナゴ*A. typus*（Shimizu and Hanyu 1983）で生殖年周期が報告されている。一般に春産卵魚では水温上昇が産卵開始要因で、高温抑制が産卵期終了要因とされている。春夏産卵魚では日長依存性は春に見られず、秋に向けて発達し、冬季にかけて衰退する傾向にある。一方、秋産卵魚では日長の短縮による成熟の促進が見られる。このように魚類の産卵期は水温の強い支配を受けていることが多いが、日長条件も重要であり、それらの関与は魚種や季節によっても異なる。これは絶滅の危機に瀕している魚種に対しても、増殖を図る上で重要な知見となる。絶滅が危惧されるタナゴ亜科魚類の保護や増殖を行うためには、多様な産卵期を持つ魚類であることから、個々の種類について知見を得る必要がある。特に繁殖に関わる知見は重要である。

本種の産卵期に関しては、5~6月（中村 1969）と3~6月（中坊 1993）の報告があり、本種が春産卵型であることは明らかである。しかし、生殖腺を周年に渡って観察した研究はない。本種は関東地方から東北地方にかけて広い範囲に分布することから中村、中坊の報告にもある生息地域による産卵期のずれがあると考えられる。このことから産卵期だけでなく、生殖年周期を詳細に調べることは生殖と環境の関係を明らかにするうえで重要であると考えられる。

そこで、本研究では静岡県の屋外飼育条件下において本種の生殖年周期を明らかにすることを目的とした。また、本種を安定して継代飼育していくためには、本種の産卵期の開始や終了を直接的に制御する環境要因を明らかにする必要がある。そのため、非産卵期と産卵期の個体を、様々な日長と水温を組み合わせた条件下で飼育することで、生殖活動と環境要因との関係を明らかにすることを目的とした。

## 第2章 屋外飼育条件下における生殖年周期

### 2-1 目的

絶滅危惧種の保全において、その種の繁殖生態を明らかにしていくことは重要である。本種が春産卵型であることは知られているが、本種の生殖腺を周年に渡って観察した研究はない。そこで、静岡県の屋外飼育条件下における本種の年間を通じた成熟サイクルを詳細に調べることで、生殖と環境の関係を明らかにすることを目的とした。

### 2-2 材料と方法

供試魚には茨城県霞ヶ浦の流入河川である梶無川で採集され、東海大学海洋学部で継代飼育している1~2歳魚のタナゴを用いた。供試個体は屋外に設置している500l容ポリエチレン製水槽(1337×864×685mm)で照明器具や濾過装置、温度調節も行わず、自然日長下、地下水のかけ流しで飼育した。水槽の底面には厚さ5cmとなるように珪砂を敷き、産卵期間中には産卵基質となるカワシンジュガイ *Margaritifera laves* を収容した。カワシンジュガイへの産卵の確認は、2013、2014年共に3~7月の期間に毎日、8月以降は不定期に行った。1日2回配合飼料(あゆソフト、日本農産工業株式会社)を適量与えた。水温を測定するためにデータロガー(パシコ貿易社製)を用いて飼育槽の水温を1時間おきに記録した。日長時間については理科年表(国立天文台2011、2012、2013、2014)によって求めた。

2011年6月29日から2012年9月30日と、2013年3月27日から2014年8月27日にかけて毎月1回雌雄各10個体を抽出した。抽出した個体は、体長、体重を測定後に生殖腺重量を測定した。雌については産卵管の長さ(産卵管長)と臀鰭最長軟条長を計測し、朝比奈他(1980)に従い、Fin Unitを  $F.U.=\text{産卵管の長さ}/\text{臀鰭最長軟条長}$  と、生殖腺体指数(Gonad somatic index, 以下GSIとする)を  $GSI=\text{生殖腺重量}/\text{体長}^3 \times 10^7$  の式により求めた。また脳下垂体を観察するために頭部を切断し、生殖腺を肝臓とともにブアン氏液で24時間固定後、70%エタノール液中で組織標本作成時まで保存した。保存した生殖腺、肝臓、頭部は定法に従って厚さ5 $\mu\text{m}$ のパラフィン切片を作成した。生殖腺、肝臓はMayerのヘマトキシレン・エオシン重染色し、頭部はAzan染色を施した。作成した組織標本については光学顕微鏡下で観察した。

### 2-3 結果

#### 2-3-1 卵巣の発達過程

卵巣の発達過程はHatakeyama and Akiyama(2007)に従い、次の4相に分類した。

- 1) 終了相(Postspawning phase): 表層胞期の卵巣卵も見られるが、大部分を周辺仁期の卵巣卵が占める(Fig. 1A)。
- 2) 未熟相(Prespawning phase): 表層胞期と周辺仁期の卵巣卵が大部分を占める(Fig. 1B)。

- 3) 成熟相前期 (Early spawning phase) : 表層胞期と周辺仁期前期の卵巢卵が大部分を占めるが, 第一次卵黄球期から完熟期までのいずれかの卵巢卵が見られる (Fig. 1C)。
- 4) 成熟相後期 (Late spawning phase) : 第一次卵黄球期から完熟期までのいずれかの卵巢卵が見られる。表層胞期後期と周辺仁期前期の卵巢卵も見られるが, 成熟相前期よりも少ない。また, 退行変性した卵巢卵も観察される (Fig. 1D)。

### 2-3-2 精巢の発達過程

精巢の発達過程は Hatakeyama and Akiyama (2007) に従い, 次の5相に分類した。

- 1) 終了相 (Postspawning phase) : 第一次精原細胞がほとんどで, 精小嚢内腔は観察できない (Fig. 2A)。
- 2) 未熟相前期 (Early prespawning phase) : 第一次精原細胞に加えて, 包嚢を形成した第二次精原細胞が観察される。精小嚢内腔が観察できる (Fig. 2B)。
- 3) 未熟相後期 (Late prespawning phase) : 第一次精原細胞から第二次精母細胞までの包嚢が観察される。精小嚢内腔が観察できる (Fig. 2C)。
- 4) 成熟相前期 (Early spawning phase) : 精原細胞, 精母細胞に加え精細胞の包嚢も観察される。また, 形成された精小嚢内腔に精子が観察できる (Fig. 2D)。
- 5) 成熟相後期 (Late spawning phase) : 精子が充満した精小嚢内腔が大部分を占める (Fig. 2E)。

### 2-3-3 水温及び日長時間の変化と生殖腺・肝臓・脳下垂体の周年変化

#### 2011年から2012年における生殖年周期

2011年の屋外の水温は9月に月の平均水温が21.0℃と最も高くなった。9月以降は水温が下降し始め, 月の平均水温は12月で18.4℃と2011年で最も水温が低くなった。2012年の月の平均水温は2月が最も低く18.0℃となった。2月以降は水温が上昇し, 8月には月の平均水温が21.3℃と2012年で最も高くなった (Fig. 3)。

2011年の日長は, 6月に14時間30分と2011年の最長日長となった。6月以降, 日長は序々に短くなり, 12月に9時間49分と2011年の最短日長となった。2012年の日長においても6月に14時間31分と2012年の最長日長となった (Fig. 3)。

実験開始直後の2011年6月29日の雄のGSIは1.35~8.00であり, 終了相の個体が50%であった。その後, 2011年7月27日から2012年2月26日までの雄のGSIは0.01~2.44と大きな変化は見られず, 成熟相前期の個体が10~30%であった。2011年6月29日から2012年1月26日の雌のGSIは1.22~9.70であり, ほとんど変化が見られなかった (Fig. 4)。2011年10月26日から2012年1月26日には成熟相前期の個体が10~20%見られたが, 50~80%の個体が未熟相であった (Table 1)。2011年6月29日から2012年1月26日には全ての個体がF.U. は1.0未満であった (Fig. 5)。2011年6月29日から2012年1月26日までの肝細胞は核が萎縮しており, 細胞質が空胞様構造を示した (Fig. 6)。脳下垂体の前葉主部は, 細胞質がほとんど萎縮し, アニリンブルーに対する

好染性はほとんど見られなかったが、2012年1月26日にはアニリンブルーの好染性がやや増加した個体が確認できた (Fig. 7)。

2012年3月28日から7月26日の雄のGSIは0.03~6.62であり、この期間中6月26日のGSIは7月26日、8月27日、9月30日よりも高かった (Steel-Dwass法  $p<0.05$ , Fig. 4)。2012年3月28日から成熟相後期まで発達した個体が10~80%で出現した (Table 1)。7月26日ではGSIがわずかに減少し、この時期では成熟相後期が20%、終了相においても20%と退行した精巢も出現した (Table 1)。2012年3月28日から7月26日の雌のGSIは0.31~27.75であり、3月28日、5月26日、6月26日は8月27日よりも高かった (Steel-Dwass法  $p<0.05$ , Fig. 4)。さらに、この時期にはF.U. が1.5以上の個体が見られるようになった (Fig. 5)。この時期から成熟相後期の個体が20~40%、成熟相前期の個体が40~80%と発達した卵巣が多く見られた。しかし、7月26日はGSIが高かったにもかかわらず、終了相の個体が75%であった (Table 1)。3月28日から7月26日にかけては、GSIの上昇に伴って肝細胞は核と仁が肥大して、細胞質がヘマトキシリンに好染した (Fig. 6)。脳下垂体前葉主部は、細胞質がアズカルミンGに染まり、アニリンブルーに好染する顆粒が多数確認できた (Fig. 7)。

2012年7月26日から8月27日にかけて雄のGSIは急減し、8月27日から9月30日のGSIは0.05~0.51とほぼ同様の値であった (Fig. 4)。この時期の精巢は未熟相前期が50~80%とほとんどが退行していた (Table 1)。雄と同様に7月26日から8月27日にかけて雌のGSIが急減し、9月30日では1.28~3.85となり、F.U.も1.0以下となった (Fig. 4, 5)。この時期の卵巣は終了相の個体が80~90%となった (Table 1)。GSIの低下した9月30日では肝細胞の核が萎縮しており、空胞様構造を示した (Fig. 6)。脳下垂体の前葉主部は、アニリンブルーに対する好染性が見られたが、わずかに好染性の減少が観察された (Fig. 7)。

### 2013年から2014年における生殖年周期

2013年の屋外の水温は8月に月の平均水温が25.8°Cと最も水温が高くなった。8月以降水温が下降し始め、月の平均水温は12月に13.2°Cと2013年で最も水温が低くなった。2014年では7月に月の平均水温が24.0°Cと2014年で最も高くなった (Fig. 8)。

2013年の日長は6月に14時間30分と2013年の最長日長となった。6月以降、日長時間は序々に短くなり、2013年12月に9時間49分と2013年の最短日長となった。その後、日長は再び長くなり、2011年から2012年と同様の経過を示した (Fig. 8)。

2013年3月27日から7月27日までの雌のGSIは0.09~10.92と高い値を示し、4月28日、5月29日、6月28日と8月23日との間に有意差が見られた (Steel-Dwass法  $p<0.05$ , Fig. 9)。この時期から60~100%で成熟相後期まで発達した個体が出現した (Table 2)。2013年3月27日から7月27日までの雌のGSIは2.81~25.80であり、8月23日、9月28日よりも高くなった (Steel-Dwass法  $p<0.05$ , Fig. 9)。この時期にはF.U. 1.5以上の個体が見られた (Fig. 10)。3月27日から7月27日は成熟相後期の個体が10~60%、成熟相前期の個体が30~90%と発達した卵巣が多く見られた (Table 2)。GSIが高かった2013年3月27日から7月27日にかけては、肝細胞は核と仁が

肥大して、細胞質がヘマトキシリンに好染した (Fig. 11)。脳下垂体の前葉主部は、細胞質がアゾカルミンGに染まり、アニリンブルーに好染する顆粒が多数確認できた。(Fig. 12)。

8月23日になると雄のGSIは0.19~0.47となり (Fig. 9)、この時期の精巣は終了相が50%、未熟相前期が50%であった (Table 2)。2013年9月28日から2014年2月26日までGSIは0.04~1.58と低く、2014年3月25日との間に有意差が見られた (Steel-Dwass法  $p < 0.05$ , Fig. 9)。この時の精巣には、成熟相後期まで発達した個体は見られなかった (Table 2)。8月23日の雌ではGSIが0.65~2.17となり (Fig. 9)、F.U.も1.0以下となった (Fig. 10)。この時期の卵巣は終了相の個体が100%であった (Table 2)。2013年9月28日から2014年2月26日までの期間のGSIは1.07~10.14であり、12月28日に一部でGSIの高い個体が見られ、9月28日と10月29日よりも高かった (Steel-Dwass法  $p < 0.05$ , Fig. 9)。卵巣の発達段階は、11月27日と12月28日に成熟相前期の個体が40%見られたが、それ以外では全ての個体で未熟相以下であった (Table 2)。GSIの低い9月28日から2014年2月26日までの期間の肝細胞は、核が萎縮しており、空胞様構造を示した (Fig. 11)。GSIの低下した8月23日では、アニリンブルーに好染した個体が減少した (Fig. 12)。

2014年3月25日から7月26日までの期間の雄のGSIは0.44~11.92となり、2013年と同様に高い値を示し、3月25日、4月27日、5月25日と8月27日との間に有意差が見られた (Steel-Dwass法  $p < 0.05$ , Fig. 9)。この時の精巣の発達段階は、成熟相後期の個体が50~90%、成熟相前期の個体が10~50%と発達した精巣が多く見られた (Table 2)。8月23日ではGSIが0.11~4.89となり (Fig. 9)、この時の精巣は終了相や未熟相だけでなく発達した成熟相の精巣も見られた (Table 2)。2014年3月25日から7月26日までの期間の雌のGSIは4.95~41.70となり、2013年と同様に高い値を示し、8月27日との間に有意差が見られた (Steel-Dwass法  $p < 0.05$ , Fig. 9)。この時の卵巣の発達段階は、成熟相後期の個体が30~60%、成熟相前期の個体が30~70%と発達した卵巣が多く見られた (Table 2)。8月にかけてGSIが急減し、8月27日では0.72~1.79となり (Fig. 9)、F.U.も1.0以下となった (Fig. 10)。この時期の卵巣は全ての個体で未熟相以下であった (Table 2)。2014年3月25日から7月26日までの肝細胞及び脳下垂体の前葉主部は、前年度2013年と同様の状態の組織像が観察された (Fig. 11, 12)。実験期間中、実際にカワシンジュガイに産卵がされていたのは2013年3月12日 (水温17.8°C, 日長約12L) から7月28日 (水温21.8°C, 日長約14L) の期間と、2014年は3月8日 (水温14.9°C, 日長約12L) から7月30日 (水温23.0°C, 日長約14L) の期間であった。

## 2-4 考察

3月の段階では、GSIが雌雄共に急激に高くなり、それぞれ成熟相後期が出現していることから、この時期に成熟が急速に進行したと考えられる。この成熟相になった卵巣では全ての発達段階の卵母細胞が存在し、明瞭な卵群を欠くことから本種は非同期発達型であると考えられる。そのため、産卵前後の個体間で卵母細胞の組成が異なることから、GSIのば

らつきが生じるものと考えられる。また、GSIは3月から7月にかけて高い値を維持し、7月から8月にかけて急激な低下を示した。このGSIや生殖腺に同調した変化が、本種の肝臓組織像やGTH細胞の組織像においても観察された。産卵期のアカヒレタビラ（清水・羽生 1981）やアゴハゼ *Chasmichthys dolichogonathus*（金子ら 1984）においても同様の組織像が観察されており、本種においてもこの時期に卵黄タンパク質の合成が行われていることが考えられる。肝臓では、雌性ホルモンの作用のもとにビテロゲニンを合成し、血中を介して卵母細胞に取り込まれて卵黄物質を構築する。そのため、肝臓では肝細胞、核、核小体の肥大やRNAの増加による好塩基性が強くなる（会田 1974）。GTH細胞は生殖周期の各時点で成熟状態の相違により染色性や形態が異なる（会田 1991）。このため本種の脳下垂体の組織像においても季節間の違いが見られ、生殖腺に同調した変化が観察されたものと考えられる。実際に3月から7月にカワシンジュガイを飼育水槽に収容すると産卵が見られた。このことから本種の産卵期は3月下旬から7月下旬であると考えられる。中村（1969）は関東平野の湖沼における本種の産卵期は5月から6月、中坊（1993）によれば産地は不明であるが3月から6月と報告しており、多少異なっていた。これらの報告は、貝体内の産着卵などから推定したものであり、組織学的観察に基づくものでないことから、本実験における産卵期との違いが見られると考えられる。また、中村（1969）は東北地方においては関東地方の産卵期よりも多少遅れるものと示唆している。本種の生息地は、本来関東地方から東北地方と広い範囲に生息していることから、環境要因が生息地によって違うことで本種の産卵期に多少の違いが見られると考えられる。

小型のコイ科魚類で春に産卵する種としては、ホンモロコ *Gnathopogon carulescens*（奥沢ほか 1986）、キンギョ *Carassius auratus*（Razani and Hanyu 1986）、モツゴ *Pseudorasbora parva*（Asahina et al. 1990；大仲 2008）、アカヒレタビラ（清水・羽生 1981）で報告があり、本種についてもこれらと同様の春産卵型であることが明らかとなった。一般に春産卵型の魚類は、産卵期開始が水温の上昇によるものとされており、アカヒレタビラ、モツゴ、ホンモロコなどがこれに当たる。本種の産卵期が開始した3月の平均水温は2013年で18.7℃、2014年で16.4℃、日長は約12Lと水温や日長が冬至から上昇した。一方、産卵期終了に関しては同じ春産卵の魚類ではアカヒレタビラ（Shimizu and Hanyu 1982）が知られており、夏の高水温によって産卵が終了するとされている。本種の産卵期が終了した8月の平均水温は2013年で24.2℃、2014年で23.2℃となり、年間で最も高かった。日長は3月から6月にかけては約12Lから約14.5Lと長日化し、その後7月にかけて約14Lへと短日化した。産卵期が終了した8月にはさらに短日化し約13Lとなった。本種の3月や7月からの生殖腺の変化した時期に日長や水温の変化があったことから、産卵期の開始や終了に日長や水温が関与したものと考えられる。

以上のことから、屋外飼育した本種の生殖周期は、一年を周期とした明確な産卵期間と非産卵期間に分けることができ、静岡県での屋外飼育条件下では産卵期は3月から7月であることが明らかとなった。

## 第3章 産卵期開始誘導要因

### 3-1 目的

前章第2章の結果から、本種は他のタナゴ類と同様に産卵期の開始誘導要因は、日長や水温による影響を受けていると考えられる。従って、夏至から産卵期直前までの非産卵期において、実験を開始した時期によって日長や水温に対する生殖腺の反応は異なると考えられる。外部環境要因が生殖内分泌系におよぼす影響を調べることは、増殖を図る上で重要な知見となる。そのため、現在までにアカヒレタビラ(清水・羽生 1981)、ゼニタナゴ(Shimizu and Hanyu 1983)、ミヤコタナゴ(Hatakeyama and Akiyama 2007)においては、産卵期に影響をおよぼす日長や水温の関係が明らかにされている。しかし、本種の産卵期開始に直接影響をおよぼす外部環境要因についての知見は皆無である。そこで本章では秋分、冬至、秋分と冬至の間、産卵期直前から日長と水温を様々に組み合わせ、生殖腺に与える影響について調べた。

### 3-2 材料と方法

#### 3-2-1 実験までの飼育と実験水槽

供試魚は東海大学海洋学部で繁殖した個体を用いた。供試個体は実験に用いるまでの間屋外に設置した500l容FRP水槽に収容し、自然日長下、地下水をかけ流し、飼育した。1日2回配合飼料(あゆソフト, 日本農産工業株式会社)を適量与えた。実験水槽としては60×30×36cmのアクリル製水槽を用い、簡易濾過装置を取り付け、底面に厚さ5cmとなるように珪砂を敷いた。実験水槽の最低水温を保つためにウォーターバスに収容し、個々の水槽にサーモスタットとヒーターで加温し、水温をそれぞれの条件に制御した。光源には20W白色蛍光灯を使用し、タイマーによって日長時間を制御した。個々の水槽の外部光の侵入を防ぐために、数枚の黒色ビニールで覆った。実験魚には1日2回配合飼料(あゆソフト, 日本農産工業株式会社)を適量与えた。各水槽には産卵基質であるカワシンジュガイを1個体収容した。

#### 3-2-2 測定方法

実験期間中は毎日産卵管の伸長量とともに各水槽に収容したカワシンジュガイへの産卵数を計測した。カワシンジュガイへの産卵数は、真珠養殖の挿核手術の際に使用する開口器を使用し、鰓葉腔に産卵された卵の有無を確認し、卵が確認できた場合にはカワシンジュガイを交換した。実験開始時には、屋外で飼育していた雌雄5個体ずつ、終了時には各条件で飼育していた個体全てを前章第2章の方法と同様にGSI, F.U.を測定し、生殖腺の切片標本を観察した。

### 3-2-3 実験開始時期および日長と水温条件

2011年に開始した実験では、秋分点から冬至に向かう途中の10月10日から秋分点の日長約12Lを基準とし、短日化および長日化した日長9, 12, 15L, この時期に近い水温22°Cを基準に4°Cずつ低下させた水温14, 18, 22°Cを組み合わせた9条件の水槽に、屋外水槽から雌雄10個体ずつ収容し、62日間飼育した (Table 3)。さらに、冬至である12月22日からは、10月10日から開始した実験と同様の条件で雌雄5個体ずつ収容し、62日間飼育した。

2013年に開始した実験では、2011年の実験を基に日長と水温を変更した。秋分点である9月23日から日長12, 14, 15L, 水温16, 18°Cを組み合わせた6条件の水槽に、屋外水槽から雌雄5個体ずつ収容し、50日間飼育した。また、12月22日からは、日長9, 11, 12L, 水温16, 18°Cを組み合わせた6条件の水槽に、屋外水槽から雌雄5個体ずつ収容し、50日間飼育した (Table 3)。

産卵期直前である2016年2月1日から開始した実験では、この時期の日長約10.5Lを基準に長日化した日長10.5, 14 L, この時期に近い水温14°Cを基準に4°Cずつ上昇させた水温14, 18, 22°Cを組み合わせた6条件の水槽に、屋外水槽から雌雄5個体ずつ収容し、40日間飼育した (Table 3)。

### 明期、暗期の長さが生殖腺に与える影響

2014年12月22日から冬至の日長約10L12Dを基準とし、明期および暗期を長くした10L12D, 10L14D, 12L12D, 12L14D, 水温22°Cの4条件の水槽に屋外水槽から雌雄5個体ずつ収容し、60日間飼育した。

2015年12月22日からは、2014年12月22日から開始した実験と同様の条件で雌雄5個体ずつ収容し、50日間飼育した。

## 3-3 結果

### 3-3-1 日長時間及び水温が産卵期開始に与える影響

#### 2011年10月10日から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態

2011年10月10日の実験開始時の屋外水槽の日長は約11.5L, 水温は20.1°Cであった。開始時の雌のGSIは2.12~5.65であった (Fig. 13)。この時の卵巣は10個体中4個体が終了相, 10個体中6個体が未熟相であった (Table 4)。開始時の雄のGSIは0.11~0.29であった (Fig. 13)。この時の精巣は10個体中2個体が終了相, 10個体中6個体が未熟相前期, 未熟相後期と成熟相前期が1個体ずつ観察された (Table 4)。この時期の雌はF.U.が1.0以上の個体は見られず、雌雄ともに実験開始時期の個体は非産卵期の状態であった。

日長9, 12, 15Lと水温14, 18, 22°Cを組み合わせた9条件で62日間飼育すると、実験期間中15Lの18, 22°Cのみ産卵が見られ、15L18°Cでは期間中512個で産卵された卵数が最も多かった。実験期間中F.U.が2以上の個体が見られたのは15Lの全水温条件と12Lの18, 22°Cであった。15Lの14, 18, 22°Cでそれぞれ52日後, 34日後, 30日後と15L22°Cで最も早く産卵管

の伸長が見られ、水温が低下するにつれて伸長するのが遅くなった。また、12L18°C, 12L22°Cではそれぞれ54日後と57日後に産卵管の伸長が見られた (Fig. 14)。実験終了時の雌のGSIでは、15L18°C, 15L22°CでGSIの平均値がそれぞれ14.05, 8.99と高く、9Lの全水温条件と12L14°C, 12L18°CのGSIの平均値が2.92~4.94であり、これらの間に有意差が認められた (Steel-Dwass法,  $p < 0.05$ , Fig. 13)。この時の卵巣は15Lの全水温条件で10個体中4個体が成熟相後期まで発達した個体が見られ、12L22°Cでも10個体中2個体が成熟相後期の個体であった。特に15L18°C, 15L22°Cでは、成熟相前期と後期のみであったが、12L22°Cと15L14°Cでは終了相から成熟相後期の段階とばらつきが見られた (Table 4)。

実験終了時の雄のGSIは、15L18°C, 15L22°CでGSIの平均値がそれぞれ3.21と3.42と高く、9Lの全水温条件と12L18°Cとの間に有意差が認められた (Steel-Dwass法,  $p < 0.05$ , Fig. 13)。15Lの全水温条件で成熟相後期まで発達した個体が見られ、15L22°Cで10個体中8個体が成熟相後期まで発達した個体が見られた。12L22°Cでも、10個体中2個体が成熟相後期の個体であった。特に15L18°C, 15L22°Cでは、成熟相前期と成熟相後期のみであったが、12L22°Cと15L14°Cでは未熟相や終了相の未熟な精巣も見られた (Table 4)。

#### 2011年冬至から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態

冬至である2011年12月22日の実験開始時の屋外水槽の日長は約10L, 水温は19.2°Cであった。実験開始時の雌のGSIは、3.61~4.59であった (Fig. 15)。この時の卵巣は、5個体中2個体が終了相, 2個体が未熟相, 1個体が成熟相前期であった (Table 4)。開始時の雄のGSIは、0.13~0.32であった (Fig. 15)。この時の精巣は、5個体中3個体が終了相, 5個体中2個体が未熟相前期であった (Table 4)。この時期の雌はF.U.が1.0以上の個体は見られず、雌雄ともに実験開始時期の個体は非産卵期の状態であった。

日長9, 12, 15Lと水温14, 18, 22°Cを組み合わせた9条件で50日間飼育すると実験期間中12L18°C, 12L22°C, 15L18°C, 15L22°Cで産卵が見られた。15L22°Cでは期間中556個で産卵された卵数が最も多かった。実験期間中F.U.が2.0以上の個体が見られたのは12L22°Cと15L22°Cで、実験開始26日後に最も早く見られた。12L18°Cと15L18°Cはそれぞれ49日後と40日後であった。12L14°Cで57日後, 15L14°Cで50日後にはF.U.が2以上の個体が見られ、9L14°Cでも52, 53日後に1個体ずつ出現したが、これらの条件では実験期間中の産卵は見られなかった (Fig. 16)。実験終了時の雌のGSIでは、12L18°C, 12L22°C, 15L18°C, 15L22°CでGSIの平均値がそれぞれ11.85, 7.10, 25.78, 8.41とGSIの高い個体が見られたが、9条件の間で有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 15)。この時の卵巣は、12Lと15Lの全水温条件で成熟相後期まで発達した個体が見られ、特に15L14°C, 15L18°Cで、5個体中4個体が成熟相後期まで発達していた。9L22°Cでも成熟相後期が5個体中2個体出現した。15Lの全水温条件と12L22°Cでは、成熟相前期と成熟相後期であったが、12L14°C, 12L18°C, 9L22°Cでは未熟相と終了相の未熟な段階の卵巣も見られた (Table 4)。

実験終了時の雄のGSIは、15L14°Cで0.58~7.00とGSIの高い個体が見られたが、雌と同様、

9条件のGSIの間での有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 15)。この時の精巣は12L18°C, 12L22°C, 15L18°C, 15L22°Cで成熟相後期の個体が見られ, 特に12L22°Cで5個体中4個体が成熟相後期まで発達していた。12L22°C, 15L18°C, 15L22°Cでは, 成熟相前期と成熟相後期であったが, 12L18°Cでは, 未熟相と終了相の未熟な段階の精巣も見られた (Table 4)。

#### 2013年秋分から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態

2013年9月23日の実験開始時の屋外水槽の日長は約12L, 水温は22.2°Cであった。開始時の雌のGSIは0.97~2.56であった (Fig. 17)。この時の卵巣は5個体中4個体が終了相, 1個体が未熟相の卵巣であった (Table 5)。開始時の雄のGSIは0.13~0.32であった (Fig. 17)。この時の精巣は5個体中3個体が終了相, 2個体が未熟相前期であった (Table 5)。この時期の雌はF.U.が1.0以上の個体は見られず, 雌雄ともに実験開始時期の個体は非産卵期の状態であった。

日長12, 14, 15Lと水温16, 18°Cを組み合わせた6条件で50日間飼育した場合, 実験期間中14Lと15Lの全水温条件で産卵が見られ, 15L16°Cでは期間中91個で産卵された卵数が最も多かった。実験期間中F.U.が2以上の個体が見られたのは14Lと15Lの全水温条件であった。15L18°Cでは実験開始から39日後に最も早く, 14L16°C, 14L18°Cでそれぞれ46日後, 49日後であり, 15L16°Cで48日後であった。しかし, 12Lの全水温条件では産卵管は伸長しなかった (Fig. 18)。実験終了時の雌のGSIでは, 14L16°C, 15L16°C, 15L18°CでそれぞれGSIの平均値が8.26, 11.60, 12.74と高かったが, 他の条件との間に有意差は認められなかった

(Steel-Dwass法, Fig. 17)。この時の卵巣は14Lと15Lの全水温条件で成熟相後期の個体が発見した。特に14L16°Cで5個体中4個体が成熟相後期まで発達していた。14L16°C, 15L16°C, 15L18°Cでは, 成熟相のみであったが, 14L18°Cでは終了相から成熟相後期までと卵巣にばらつきが見られた (Table 5)。

実験終了時の雄のGSIは, 15L18°CでGSIの平均値が6.52と高く, 12L16°C, 12L18°CでGSIの平均値がそれぞれ0.58, 0.50と低かったが, 6条件のGSIの間での有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 17)。この時の精巣は15Lの全水温条件と14L16°Cで成熟相後期の個体が見られた。特に15L18°Cで5個体中3個体が成熟相後期まで発達した個体が見られた。15L18°Cでは成熟相のみであったが, 14L16°Cと15L16°Cでは終了相, 未熟相の未熟な精巣も見られた (Table 5)。

#### 2013年冬至から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態

2013年12月22日の実験開始時の屋外水槽の日長は約10L, 水温は17.0°Cであった。実験開始時の雌のGSIは4.45~6.06であった (Fig. 19)。この時の卵巣は5個体中1個体が終了相, 3個体が未熟相, 1個体が成熟相前期の卵巣であった (Table 5)。実験開始時の雄のGSIは0.51~1.02であった (Fig. 19)。この時の精巣は5個体中2個体が未熟相前期, 3個体が未熟相後期であった (Table 5)。この時期の雌はF.U.が1.0以上の個体は見られず, 雌雄ともに実験開始時期の

個体は非産卵期の状態であった。

日長9, 11, 12 Lと水温16, 18°Cを組み合わせた6条件で50日間飼育した場合、実験期間中12L18°Cのみ産卵が見られ、産卵された卵数は90個であった。実験期間中F.U.が2.0以上の個体が見られたのは11L16°Cと12L18°Cであった。12L18°Cで実験開始から43日後で最も早く見られ、実験期間中の産卵は見られなかったが、11L16°Cでも47日後にF.U.が2以上になる個体が見られた (Fig. 20)。実験終了時の雌のGSIでは、12L16°C, 12L18°Cの2条件でそれぞれGSIの平均値が10.97, 11.84と高く、9L16°C, 9L18°CでGSIの平均値がそれぞれ5.48, 3.47と低かったが、6条件のGSIの間での有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 19)。この時の卵巢は12Lの全水温条件と11L16°Cで未熟相から成熟相後期までの段階が見られた。特に12L16°C, 12L18°Cで5個体中2個体が成熟相後期まで発達した個体が見られた (Table 5)。

実験終了時の雄のGSIの平均値は、12L16°Cで5.22とGSIの高い個体が見られたが、6条件のGSIの間での有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 19)。この時の精巣は11L16°Cと12L16°Cで成熟相後期の個体が見られた。しかし、12L16°Cで未熟相の段階も見られ、11L16°Cでは終了相と未熟相前期の未熟な精巣も見られた (Table 5)。

#### 2016年産卵期開始直前から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態

実験開始時の屋外水槽の日長は約10.5L, 水温は13.9°Cであった。開始時の雌のGSIは、2.86~5.23であった (Fig. 21)。この時の卵巢は5個体中2個体が終了相, 3個体が未熟相であった (Table 6)。開始時の雄のGSIは0.21~0.62であった (Fig. 21)。この時の精巣は5個体中3個体が未熟相前期, 1個体が成熟相前期, 1個体が成熟相後期であった (Table 6)。この時期の雌はF.U.が1.0以上の個体が1個体見られたが、一部を除いては雌雄ともに非産卵期の状態であった。

日長10.5, 14Lと水温14, 18, 22°Cを組み合わせた6条件で40日間飼育した場合、実験期間中は14L18°C, 14L22°Cで産卵が見られ、14L22°Cでは期間中419個で最も産卵された卵数が多かった。実験期間中F.U.が2.0以上の個体が見られたのは14L18°C, 14L22°Cのみであった。14L22°Cで実験開始から31日後と最も早く、14L18°Cで33日後であった (Fig. 22)。実験終了時の雌のGSIは、14L14°C, 14L18°C, 14L22°CでそれぞれGSIの平均値が8.31, 11.80, 8.65と高かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 21)。14Lの全水温条件で成熟相後期の個体が出現した。特に14L18°Cで5個体中4個体が成熟相後期であった。この中で14L18°C, 14L22°Cでは、成熟相前期や成熟相後期のみであったが、14L14°Cでは未熟相から成熟相後期までの段階が見られた (Table 6)。

実験終了時の雄のGSIは、14Lの18, 22°CでそれぞれGSIの平均値が4.28, 3.71と高かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 21)。14Lの全水温条件で成熟相後期の個体が出現した。特に14L22°Cで5個体中4個体が成熟相後期であった。この中で14L14°C, 14L18°Cでは、成熟相前期や成熟相後期のみであったが、14L22°Cでは1個体のみ未熟相前期の未熟な段階の精巣も見られた (Table 6)。

#### 2014年と2015年の冬至から明期、暗期の長さを変えた場合の生殖腺の動態

2014年の実験開始時の屋外水槽の日長は約10L、水温は13.2°Cであった。開始時の雌のGSIは2.62~8.54であった(Fig. 23)。この時の卵巣は5個体中3個体が未熟相、2個体が成熟相であった(Table 7)。実験開始時の雄のGSIは0.28~1.12であった(Fig. 23)。この時の精巣は5個体中5個体が未熟相前期であった(Table 7)。雌雄ともに実験開始時期の個体は非産卵期の状態であった。

10L12D, 10L14D, 12L12D, 12L14Dの4日長条件で60日間飼育した場合、実験期間中は12L14Dのみ産卵が見られ、期間中の産卵された卵数は87個であった。実験期間中F.U.が2.0以上の個体が見られたのは12L14Dのみで、実験開始から43日後であった(Fig. 24)。実験終了時の雌のGSIの平均値は12L14Dで8.58と高かったが、4条件のGSIの間での有意差は認められなかった(Steel-Dwass法, Fig. 23)。12L12D, 12L14Dでは成熟相後期の個体が出現した。12L12D, 12L14Dの条件でも成熟相後期だけでなく終了相や未熟相の未熟な卵巣も見られた(Table 7)。

実験終了時の雄のGSIの平均値は12L14Dで3.49と、GSIの高い個体が見られたが、4条件のGSIの間での有意差は認められなかった(Steel-Dwass法, Fig. 23)。12L12D, 12L14Dで成熟相後期の個体が出現した。特に12L14Dで5個体中4個体が成熟相後期まで発達していた。12L12D, 12L14Dの条件でも成熟相後期だけでなく終了相や未熟相前期の未熟な精巣も見られた(Table 7)。

2015年の実験開始時の屋外水槽の日長は約10L、水温は16.9°Cであった。開始時の雌のGSIは3.66~5.29であった(Fig. 25)。この時の卵巣は5個体中5個体が未熟相であった(Table 5)。実験開始時の雄のGSIは0.12~1.43であった(Fig. 25)。この時の精巣は5個体中5個体が未熟相前期であった(Table 7)。雌雄ともに非産卵期の状態であった。

10L12D, 10L14D, 12L12D, 12L14Dの4日長条件で50日間飼育した場合、実験期間中は12L12D, 12L14Dで産卵が見られ、12L14Dでは期間中268個で最も産卵された卵数が多かった。実験期間中F.U.が2.0以上の個体が見られたのは12L12D, 12L14Dであった。12L14Dで実験開始から28日後と最も早く、12L12Dで30日後であった(Fig. 26)。実験終了時の雌のGSIの平均値は12L14DのGSIは15.09と高かったが、4条件のGSIの間での有意差は認められなかった(Steel-Dwass法, Fig. 25)。全ての条件で成熟相後期の個体が出現したが、特に12L14Dで5個体中4個体が成熟相後期であった。この中で12L14Dでは成熟相前期と後期であったが、その他の条件では終了相や未熟相の未熟な段階の卵巣も見られた(Table 7)。

実験終了時の雄のGSIは、12L12D, 12L14DでそれぞれGSIの平均値が4.59, 3.58と高く、10L12D, 10L14DでGSIの平均値がそれぞれ1.24, 1.82と低かったが、4条件のGSIの間での有意差は認められなかった(Steel-Dwass法, Fig. 25)。10L14D以外の条件で成熟相後期の個体が出現した。特に12L14Dでは成熟相後期が5個体中4個体と多かった。この中で12L14Dでは成熟相前期と後期であったが、その他の条件では終了相や未熟相前期、未

熟相後期の未熟な段階の精巣も見られた (Table 7)。

### 3-3-2 各実験で産卵が見られた条件

2011年10月10日では、日長9, 12, 15Lと水温14, 18, 22°Cを組み合わせた9条件で飼育した場合、15L18°C, 15L22°Cで産卵が見られた。2011年12月22日の実験では、10月10日と同様の条件で飼育した場合、12L18°C, 12L22°C, 15L18°C, 15L22°Cで産卵が見られた。2013年9月23日の実験では、日長12, 14, 15Lと水温16, 18°Cを組み合わせた6条件で飼育した場合、14L16°C, 14L18°C, 15L16°C, 15L18°Cで産卵が見られた。2013年12月22日の実験では、日長9, 11, 12 Lと水温16, 18°Cを組み合わせた6条件で飼育した場合、12L18°Cのみ産卵が見られた。2016年2月1日の実験では、日長10.5, 14Lと水温14, 18, 22°Cを組み合わせた6条件で飼育した場合、14L18°C, 14L22°Cで産卵が見られた。2014年12月22日の実験では、10L12D, 10L14D, 12L12D, 12L14D 4日長条件で飼育した場合、12L14Dのみ産卵が見られた。2015年12月22日の実験では、2014年と同様の条件で飼育した場合、12L12D, 12L14Dで産卵が見られた。

### 3-4 考察

2011年の秋分点と冬至の間から開始した実験と、2013年の秋分点から開始した実験では、実験開始時の自然日長は12Lであり、自然日長と同様の条件下であった12Lで62日または50日飼育しても産卵が見られなかった。一方、実験開始時より長日化した14, 15Lの条件下では産卵が見られた。2011年と2013年の冬至から開始した実験では、実験開始時の自然日長は10Lであり、開始時より日長が1時間短い9Lと、1時間長い11Lでは産卵が見られなかったが、12, 15Lと開始時より相対的に長日化した条件では産卵が見られた。このように秋分点、秋分と冬至の間、冬至から実験をしたが、同じ12Lでも冬至から開始した実験では産卵を開始したのに対し、それより以前である秋分点および秋分点と冬至の間から開始した場合は12Lでは産卵が見られなかった。本種の産卵期は前章の結果から3~7月であり、産卵を開始した3月の日長は12Lであった。どちらの実験も産卵が開始した条件と同様の12Lではあったが、秋分点および秋分点と冬至の間から開始した実験では、12Lが実験開始時の自然日長と同様であり、長日化した条件でなかったために産卵しなかったと考えられる。冬至に行った実験の場合、12Lで産卵が見られた理由は、実験開始時の自然日長が10Lと、開始時よりも相対的に長日化した条件であったためと考えられる。このことから本種の産卵を促す要因としては、日長時間が長日化することが必須条件と考えられる。しかし、2013年の冬至に行った実験では、冬至から1時間長い条件である11Lでは、成熟相前期や成熟相後期と発達した生殖腺が見られたにもかかわらず産卵は見られず、12Lの条件では産卵が見られた。実験開始時期の自然日長は約10Lであり、11Lの条件でも長日化であったにもかかわらず産卵が見られなかった。このことから、長日化は必要であるものの、12L未満の長日化では、成熟まで進行しても産卵開始には至らないことが示唆される。

ウシモツゴ *Pseudorasbora pumila* subsp. (大仲ら 2009) の成熟過程は2段階に分けられ、9月から12月の長期にわたって起きる段階と、3月から4月の短期間で進行し、GSIの急激な上昇と精子の形成及び卵黄球の蓄積の段階が存在する。アカヒレタビラ (清水・羽生 1981) でも同様に7月下旬から9月上旬のGSIのゆるやかな上昇の段階と、GSIの急上昇する2段階の成熟が報告されている。一方、タイリクバラタナゴ (朝比奈ら 1980) では卵黄胞期が周年存在し、成熟の段階性は認められない。シロギス *Sillago japonica* (近藤ら 2000) でも成熟の段階性は見られず、産卵開始直前にGSIが急上昇する。このような成熟の段階性は魚種によって異なるが、産卵開始直前に生殖腺が発達する現象は多くの魚種でも見られる。本種でも11Lの条件で成熟相まで発達することから日長が11Lになる2月頃に成熟相の個体が出現し、12Lになる3月下旬頃にGSIは急激に上昇し、産卵に至ることが考えられる。

多くの魚種は、成熟に水温や日長時間の外部環境要因が関与しているため、成熟のサイクルは年間に変化する水温や日長時間の周年変化と対応している。アユ *Plecoglossus altivelis* (白石・武田 1961)、ゼニタナゴ (Shimizu and Hanyu 1983)、カネヒラ (Shimizu et al. 1994) は水温より日長時間が重要とされている。これらはいずれも秋産卵型の魚種であるが、短日化して12Lとなる秋分の日長付近から産卵を開始する。春夏産卵型であるタイリクバラタナゴ (Asahina and Hanyu 1983) は、産卵期開始に日長は関係なく、水温の上昇によって産卵期が開始する。春産卵型であるアカヒレタビラ (Shimizu and Hanyu 1982) は春の長日化による影響ではなく、水温の上昇によって産卵を開始する。この時の水温上昇は、雌雄ともに13°C付近が臨界水温となっていることが報告されている。モツゴ (朝比奈ら 1985) やホンモロコ (Okuzawa et al. 1989) でも、日長時間に関係なく、水温の上昇によって産卵が開始することが報告されている。一般に春産卵魚と春夏産卵魚は、産卵の開始は日長時間の増加よりも水温上昇が重要とされている。また、タイリクバラタナゴ (Asahina and Hanyu 1985) やアカヒレタビラ (Shimizu and Hanyu 1991) では、1年の間に光周性 (生物が日長に反応する性質) を示す時期と示さない時期があることが報告されている。これらは、秋に顕著な光周性を示すが、春には示さないため、日長時間に反応せずに水温の上昇によって産卵を開始する。トゲウオ科の仲間のイトヨ *Gasterotes aculeatus* (Baggerman 1972) でも、日長に対する反応性が時期によって異なり、産卵期前に弱くなるとされている。一方、モツゴ (朝比奈ら 1985) は、タイリクバラタナゴやアカヒレタビラと異なり、産卵期前まで光周性を示すことが報告されている。本研究のタナゴでは産卵期の直前である2月1日から開始した実験で実験開始時と同様の日長時間である10.5Lの条件では、水温に関係なく産卵が見られず、長日化させた条件である14Lでは、14°C以外の条件で産卵が見られた。本種の場合は、秋から春までの実験全てで日長による影響を受けていることから、秋から春にかけて光周性が続いているため、日長増加によって産卵が開始するものと考えられる。

この産卵の開始に影響する日長は、暗期の減少によることも考えられたため、2014年と2015年の冬至から明暗周期を変えた条件で飼育した。実験開始時と同様の条件である

10L14D, 開始時より暗期が短くなった 10L12D の両条件では, 産卵には至らなかった。しかし, 開始時よりも明期が長くなった 12L12D, 12L14D の両条件では, 暗期の長さに関係なく産卵が見られた。古川ら (1991) は明暗周期を変えてシロギス *Sillago japonica* の産卵時刻の変化を調べ, 照明点灯時刻が変わっても点灯から産卵時刻は同じであることを明らかにした。このようにシロギスでは, 明期の開始が産卵時刻を決める要因とされている。また, トビヌメリ (Zhu et al. 1991) では, 暗期の開始時刻が産卵時刻を決める要因であることが報告されている。これらは産卵時刻に明暗周期が関与していることを示しているが, 本種の成熟促進には, 明暗周期が 22 時間や 26 時間であっても, 12L と連続した明期の条件で産卵していることから, 産卵期開始には暗期の長さに関係なく, 一定以上の明期が重要であると考えられる。

2011 年 10 月 10 日に開始した実験では, 12, 15L においては 14°C よりも 18, 22°C で成熟相まで発達する個体が多く, 2011 年の冬至から開始した実験でも, 一部を除いて同様な傾向が見られた。タイリクバラタナゴ (西・高野 1979) において, 短日高温よりも長日高温で卵巣の発達を促し, 同じ長日条件下では, 水温が高いほど卵巣の成熟を促すとされている。本種においても, 同じ日長条件であるならば, 高温条件がより成熟を促すと考えられる。また, 2011 年の秋分点および秋分点と冬至の間から開始した実験と, 2016 年の産卵期開始直前の実験から, 14°C の低水温では, 日長の長さに関係なく産卵が見られないことから, 水温も一定以上必要であると考えられる。しかしながら, 本実験においては, 16°C 以上の水温であれば, 水温に関係なく長日化した条件で産卵が見られた。このことから, 本種の産卵開始においては水温が 16°C 以上であること, 日長時間が 12L 以上に長日化することが重要であると考えられる。

以上のことから, 春産卵型の魚は, 水温の上昇が産卵開始には第一要因とされているが, 本種は日長時間の増加で成熟し, 実際に産卵に至るのは日長時間が 12L 以上になった時期と考えられる。春分の頃になると産卵するが, 夏至から秋分の日にかけて短日化しているため, この時期には 12L でも産卵しない。しかし, 2011 年 10 月 10 日, 2013 年 9 月 23 日に始めた実験のように短日化した 12L からでも 14, 15L と再度長日化した場合には産卵する。このことから, 最低水温 16°C 以上の場合 12L になることが重要ではあるが, 単純に 12L にすれば産卵するのではなく, 前歴の日長時間から長日化して 12L 以上になることが本種の産卵開始を誘導する一要因であると考えられる。第 2 章の屋外飼育で, 2011 年から 2012 年と 2013 年から 2014 年の水温が違っていても, 3 月に産卵期が開始していたのは, 本種が日長による影響を受けるためと考えられる。また, この日長による影響は, 暗期の長さに関係なく明期の長さが重要であった。第 2 章で屋外飼育での 3 月下旬からの産卵が開始したのも, 春の水温の上昇と明期が実際に 12L 以上になったためと考えられる。

## 第4章 産卵期終了誘導要因

### 4-1 目的

産卵期における環境が適切な範囲を越えている場合、本来産卵する期間よりも早く産卵を終えてしまう可能性がある。本種を安定的に繁殖させるためには、産卵期の終了要因を調べる必要がある。そこで、本章では本種の産卵期終了に影響をおよぼす外部環境要因について明らかにすることを目的とした。

### 4-2 材料と方法

#### 4-2-1 実験までの飼育と実験水槽

供試個体は実験開始までは屋外に設置した500l容FRP水槽に收容し、自然日長下、地下水をかけ流し、飼育した。1日2回配合飼料（あゆソフト、日本農産工業株式会社）を適量与えた。実験水槽としては60×30×36cmの亚克力製水槽を用い、簡易濾過装置を取り付け、底面に厚さ5cmとなるように珪砂を敷いた。実験水槽の最低水温を保つためにウォーターバスに收容し、個々の水槽にサーモスタットとヒーターで加温し、水温をそれぞれの条件に制御した。光源には20W白色蛍光灯を使用し、タイマーによって日長時間を制御した。個々の水槽の外部光の侵入を防ぐために数枚の黒色ビニールで覆った。実験魚には1日2回配合飼料（あゆソフト、日本農産工業株式会社）を適量与えた。各水槽には産卵基質であるカワシンジュガイを1個体收容した。

#### 4-2-2 測定方法

実験期間中は毎日産卵管の伸長量とともに、各水槽に收容したカワシンジュガイへの産卵数を計測した。カワシンジュガイへの産卵数は開口器を用いて開き、鰓葉腔に産卵された卵の有無を確認し、卵が確認できた場合にはカワシンジュガイを交換した。実験開始時には、屋外で飼育していた雌雄5個体ずつ、終了時には各条件で飼育していた個体全てを前章第2章の方法と同様にGSI、F.U.を測定し、生殖腺の切片標本を観察した。

#### 4-2-3 実験開始時期および日長と水温条件

産卵盛期は第2章の結果から、5月の月の平均水温が2012年で19.5℃、2013年で19.8℃、2014年で19.9℃であり、日長時間が13時間34分から14時間20分の範囲であった。本実験では、5月10日から12Lまで短日化した場合と、14Lで維持した場合で比較した。水温については、繰り返し実験ごとで異なるが、20~28℃の範囲とし、12、14Lの日長と組み合わせた条件で飼育した（Table 8）。屋外水槽から雌雄5個体ずつ收容し、31日間飼育した。

第2章の結果から、夏至の水温は2012年で19.7℃、2013年で20.3℃、2014年で21.8℃であり、日長時間が約14時間30分であった。本実験では、夏至から12、14Lまで短日化した場合で比

較した。水温については産卵盛期の実験と同様の範囲とし、12、14Lの日長と組み合わせた条件で飼育した (Table 8)。屋外水槽から雌雄5個体ずつ収容し、2012年で45日、2013、2014年で30日間飼育した。

産卵盛期である2013年5月1日から開始した実験では、日長による影響を調べるため、日長12、13、14 L、水温20°Cを組み合わせた3条件の水槽に屋外水槽から雌雄5個体ずつ収容し、31日間飼育した (Table 8)。

#### 4-2-4 明期、暗期の長さが生殖腺に与える影響

2015年6月22日から開始した実験では、12L10D、12L12D、14L10D、14L12D、水温22°Cの4条件の水槽に屋外水槽から雌雄5個体ずつ収容し、40日間飼育した。2016年6月21日から開始した実験では、2015年6月22日から開始した実験と同様の条件で雌雄5個体ずつ収容し、40日間飼育した。

#### 4-2-5 水温が産卵間隔に与える影響

実験は2012年5月1日、2014年4月1日から開始した。2012年5月1日から開始した実験では、日長14 L、水温18、22、26°Cの3条件の水槽に雄5個体、雌10個体ずつ収容し、45日間飼育した。収容した雌の個体については、個体識別するためにイラストマー蛍光タグシステムにより、マーカを尾柄部に施した。各水槽にはカワシンジュガイを1個体収容し、直接産卵を行わせないためにトリカルネットを被せた。毎日午前中に目視観察によって、F.U.が1.0以上ある個体の産卵管の長さを計測した。この時、F.U.が1.5以上の個体は腹部を軽く圧迫し、得られた卵の数と卵径を計測した。2014年4月1日から開始した実験では日長14 L、水温18、22、26°Cの3条件の水槽に雄5個体、雌10個体ずつ収容し、50日間飼育した。2012年5月1日と同様にマーカを尾柄部に施した。ストレスを避けるために産卵管の計測はせず、F.U.は目視観察のみとした。また、腹部の圧迫による採卵も行わず、各水槽に設置したカワシンジュガイに自然産卵させ、産卵数を計数した。

### 4-3 結果

#### 4-3-1 異なる時期の日長および水温が産卵期終了に与える影響

##### 産卵盛期の5月10日から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態

実験開始時である5月10日の屋外水槽は日長約14L、水温は2012年が19.3°C、2013年が19.2°C、2014年が18.0°Cであった。2012年の開始時の雌のGSIは10.29~20.64であり (Fig. 27)、卵巣は成熟相前期もしくは後期であった (Table 9)。実験開始時の雄のGSIは3.25~7.08であり (Fig. 27)、精巣は成熟相前期もしくは後期であった (Table 9)。この時期の雌はF.U.が1.0未満の個体も見られたが、ほとんどが1.0以上であり、雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

日長 12、14L と水温 20、24、28°C を組み合わせた 6 条件で 31 日間飼育した場合、実験期

間中産卵が行われたのは、6条件中4条件で28°Cでは日長に関係なく産卵が見られなかった。水温20, 24°Cの全日長条件で、実験終了より1~10日前まで連続もしくは1~7日間隔で産卵が観察できた (Fig. 28)。実験終了時の雌のGSIでは、28°Cの12, 14LでそれぞれGSIの平均値が1.51, 2.87と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 27)。この時の卵巢は28°Cの全日長で終了相の個体が出現した。特に28°C12Lで5個体中4個体が終了相まで退行した個体が見られた (Table 9)。実験終了時の雄のGSIでは、28°Cの12L, 14LでそれぞれGSIの平均値が0.20, 0.99と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 27)。水温28°Cの全日長で終了相の個体が出現した。特に28°C12Lで、5個体中5個体が終了相まで退行した個体が見られた。この中で28°C12Lでは、終了相や未熟相のみであったが、28°C14Lでは成熟相前期から成熟相後期の段階も見られた (Table 9)。

2013年の実験開始時の雌のGSIは5.29~15.33であり (Fig. 29)、卵巢は成熟相前期もしくは後期であった (Table 9)。実験開始時の雄のGSIは6.60~8.28であり (Fig. 29)、精巢は成熟相前期もしくは後期であった (Table 9)。この時期の雌はF.U.が1.0以上であり、雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

日長12, 14Lと水温22, 24, 26°Cを組み合わせた6条件で31日間飼育した場合、実験期間中全ての条件で産卵が見られたが、26°C12Lでは実験開始18日以降産卵が見られなくなった。26°C14Lと22, 24°Cの全日長条件では、実験終了日及び1~3日前まで連続もしくは1~6日間隔で産卵が観察できた (Fig. 30)。実験終了時の雌のGSIでは、26°C12LでGSIの平均値が1.53と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 29)。この時の卵巢は26°Cの全日長で終了相の個体が出現した。特に26°C12Lで5個体中5個体が終了相まで退行していた。この中で26°C12Lでは、終了相のみであったが、26°C14Lでは終了相だけでなく成熟相前期と発達した段階も見られた (Table 9)。実験終了時の雄のGSIでは、26°C12L, 14LでそれぞれGSIの平均値が0.30, 1.12と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 29)。この時の精巢は26°C12Lで5個体中4個体が終了相まで退行していた (Table 9)。

2014年の開始時の雌のGSIは5.61~13.54であり (Fig. 31)、卵巢は成熟相前期もしくは後期であった (Table 9)。実験開始時の雄のGSIは4.54~11.81であり (Fig. 31)、精巢は成熟相前期もしくは後期であった (Table 9)。この時期の雌はF.U.が1.0以上であり、雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

日長12, 14Lと水温22, 24, 26°Cを組み合わせた6条件で31日間飼育した場合、実験期間中全ての条件で産卵が見られた。26°C14Lと22, 24°Cの全日長条件では、実験終了日及び2~7日前まで連続もしくは1~6日間隔で産卵が観察できた (Fig. 32)。実験終了時の雌のGSIでは、24°C12L, 26°C12LでそれぞれGSIの平均値が1.99, 1.60と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 31)。全条件で終了相の個体が出現した。特に24°C12L, 26°C12Lで5個体中5個体が終了相まで退行していた (Table 9)。

実験終了時の雄の GSI では、24°C12L, 26°Cの 12L, 14L でそれぞれ GSI の平均値が 1.74, 0.64, 1.63 と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass 法, Fig. 31)。水温 26°Cの全日長で終了相の個体が出現した。特に 26°C12L で 5 個体中 2 個体が終了相まで退行していた。この中で 26°C12L では、終了相と未熟相前期のみであったが、26°C14L では終了相だけでなく成熟相前期もしくは後期と発達した段階も見られた (Table 9)。

#### 産卵期終盤である夏至から日長および水温を変えた場合の生殖腺の動態

実験開始時の日長時間は約14.5L, 水温は2012年が19.8°C, 2013年が21.3°C, 2014年が22.0°Cであった。2012年の開始時の雌のGSIは6.36~20.24であり (Fig. 33), 卵巣は成熟相前期もしくは後期であった (Table 10)。開始時の雄のGSIは4.44~6.19であり (Fig. 33), 精巣は成熟相前期もしくは後期であった (Table 10)。この時期の雌はF.U.が1.0以上であり、雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

日長 12, 14L と水温 20, 24, 28°Cを組み合わせた 6 条件で 45 日間飼育した場合、実験期間中に産卵が行われたのは、6 条件中 4 条件で、28°Cの全日長条件では産卵が見られなかった。20°C14L で間隔が 10 日以上見られない事があったが、実験終了 2~8 日前まで産卵が観察できた (Fig. 34)。実験終了時の雌の GSI では、28°C12L, 28°C14L でそれぞれ GSI の平均値が 1.74, 1.06 と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass 法, Fig. 33)。この時の卵巣は 24°Cと 28°Cの全日長条件で終了相の個体が出現した。特に 28°Cの全日長条件で 5 個体中 5 個体が終了相まで退行していた (Table 10)。実験終了時の雄の GSI では、28°C12L, 28°C14L でそれぞれ GSI の平均値が 0.24, 0.17 と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass 法, Fig. 33)。水温 28°Cの全日長条件と 24°C12L で終了相の個体が出現した。特に 28°C14L で 5 個体中 5 個体が終了相まで退行していた (Table 10)。

2013 年の実験開始時の雌の GSI は 6.23~19.83 であり (Fig. 35), 卵巣は成熟相前期のみであった (Table 10)。実験開始時の雄の GSI は 3.99~9.91 であり (Fig. 35), 精巣は成熟相前期もしくは後期であった (Table 10)。この時期の雌は F.U.が 1.0 以上であり、雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

日長 12, 14L と水温 22, 24, 26°Cを組み合わせた 6 条件で 30 日間飼育した場合、実験期間中全ての条件で産卵が見られたが、26°C12L では実験開始 19 日以降、26°C14L では、実験開始 5 日以降での産卵は見られなかった。水温 22°Cの全日長条件と 24°C14L の条件では実験終了日または 1~15 日前まで連続もしくは 1~5 日間隔で産卵が観察できた (Fig. 36)。実験終了時の雌の GSI では、26°C12L, 26°C14L でそれぞれ GSI の平均値が 1.74, 1.09 と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass 法, Fig. 35)。この時の卵巣は 24°Cと 26°Cの全日長条件, 22°C12L で終了相の個体が出現した。特に 24°C12L と 26°C14L で 5 個体中 5 個体が終了相まで退行していた (Table 10)。実験終了時の雄の GSI では、

26°Cの 12, 14L でそれぞれ GSI の平均値が 0.31, 0.27 と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass 法, Fig. 35)。水温 26°Cの全日長条件と 22°C12L, 24°C12L で終了相の個体が出現した。特に 26°C14L で、5 個体中 5 個体が終了相まで退行していた (Table 10)。

2014年の実験開始時の雌のGSIは5.33~11.97であり (Fig. 37), 卵巣は1個体を除いて成熟相前期もしくは後期であった (Table 10)。実験開始時の雄のGSIは4.17~6.17であり (Fig. 37), 精巣は成熟相前期もしくは後期であった (Table 10)。この時期の雌はF.U.が1.0以上であり、雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

日長12, 14Lと水温22, 24, 26°Cを組み合わせた6条件で30日間飼育した場合、実験期間中全ての条件で産卵が見られたが、26°C12Lでは実験開始2日以降、26°C14Lでは実験開始5日以降での産卵は見られなくなった。また、24°Cの2日長条件のうち12Lでも実験開始14日以降産卵が見られなくなった。水温22°Cの全日長条件と24°C14Lの条件では、実験終了日または1~15日前まで、連続もしくは1~5日間隔で産卵が観察できた (Fig. 38)。実験終了時の雌のGSIでは、26°C12L, 26°C14LでそれぞれGSIの平均値が1.24, 1.14と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 37)。この時の卵巣は全ての条件で終了相の個体が出現した。特に26°Cの全日長条件で、5個体中5個体が終了相まで退行した個体が見られた (Table 10)。実験終了時の雄のGSIでは、24°C12L, 26°C12L, 26°C14LでそれぞれGSIの平均値が0.22, 0.47, 0.35と低かったが、他の条件との間に有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 37)。24°C14L以外の条件で終了相の個体が出現した。特に26°C12Lで、5個体中4個体が終了相まで退行していた。この中で24°C12L, 26°Cの全日長条件では、終了相や未熟相のみであったが、22°Cの全日長条件では成熟相前期から成熟相後期の段階も見られた (Table 10)。

#### 4-3-2 日長のみを変更した場合の生殖腺の動態

産卵盛期である2013年5月1日の実験開始時の屋外水槽は日長約13.5L, 水温18.4°Cであった。実験開始時の雌のGSIは6.95~35.15であり (Fig. 39), 卵巣は5個体中4個体が成熟相前期, 1個体が成熟相後期であった (Table 11)。実験開始時の雄のGSIは2.36~7.69であり (Fig. 39), 精巣は5個体中1個体が成熟相前期, 4個体が成熟相後期であった (Table 11)。この時期の雌はF.U.が1.0以上であり、雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

日長12, 13, 14Lの3日長条件で31日間飼育した場合、実験期間中全ての条件で産卵が見られたが、12Lでは実験開始22日以降での産卵は見られなかった。13, 14Lでは、実験終了日まで、連続もしくは1~3日間隔で産卵が観察できた (Fig. 40)。実験終了時の雌のGSIでは、12, 13, 14LでそれぞれGSIの平均値が3.08, 6.20, 10.07と日長時間が長くなるにつれてGSIが高くなり、12Lでは開始時よりも低くなった (Steel-Dwass法  $p < 0.05$ , Fig. 39)。この時の卵巣は12, 13Lで終了相の個体が出現した。特に12Lで5個体中4個体が終了相まで退行していたが、14Lでは成熟相前期もしくは後期のみであった (Table 11)。実験終了時の雄のGSI

では、12, 13, 14LでそれぞれGSIの平均値が2.58, 4.34, 3.92と12Lの条件で低い傾向が見られたが、条件間で有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 39)。13Lで5個体中1個体が終了相であった。14Lでは成熟相後期のみであったが、12Lの条件では成熟相後期だけでなく未熟相前期と退行した段階も見られた (Table 11)。

#### 2015年と2016年の夏至から明期、暗期の長さを変えた場合の生殖腺の動態

夏至である2015年6月22日と2016年6月21日の実験開始時の屋外水槽は日長約14.5L, 水温は2015年で20.4°C, 2016年で22.1°Cであった。2015年6月22日の実験開始時の雌のGSIは、6.61~12.82であった (Fig. 41)。この時の卵巣は5個体中4個体が成熟相前期, 1個体が成熟相後期であった (Table 12)。実験開始時の雄のGSIは0.22~3.40であった (Fig. 41)。この時の精巣は5個体中2個体が未熟相前期, 3個体が成熟相前期であった (Table 12)。この時期の雌はF.U.が2.0以上であり, 一部を除いて雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

12L10D, 12L12D, 14L10D, 14L12Dの4日長条件で40日間飼育した場合, 実験期間中は全ての条件で産卵が見られたが, 12L10Dで実験開始28日以降, 12L12Dでは実験開始12日以降での産卵は見られなかった。14L12Dでは実験終了日まで連続もしくは1~4日間隔で産卵が観察できた (Fig. 42)。実験終了時の雌のGSIは, 12L10D, 12L12DでそれぞれGSIの平均値が2.18, 2.49と低い傾向が見られたが, 4条件のGSIの間での有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 41)。この時の卵巣は全ての条件で終了相の個体が出現した。特に12L10D, 12L12Dで5個体中5個体が終了相まで退行していた。14L10D, 14L12Dでは, 終了相だけでなく成熟相前期と発達した段階も見られた (Table 12)。実験終了時の雄のGSIは, 12L12D, 14L10DでそれぞれGSIの平均値が0.30, 0.18と低い傾向が見られたが, 4条件のGSIの間での有意差は認められなかった (Steel-Dwass法, Fig. 41)。この時の精巣は12L10D, 12L12Dで終了相の個体が出現した。12L12Dでは終了相, 未熟相前期または後期のみであったが, 12L10Dでは1個体のみであるが成熟相前期の個体も見られた (Table 12)。

2016年6月21日の実験開始時の雌のGSIは, 6.56~25.54であった (Fig. 43)。この時の卵巣は5個体中2個体が成熟相前期, 3個体が成熟相後期であった (Table 12)。実験開始時の雄のGSIは, 2.65~6.89であった (Fig. 43)。この時の精巣は5個体中1個体が成熟相前期, 4個体が成熟相後期であった (Table 12)。この時期の雌はF.U.が1.0以上であり, 雌雄ともに繁殖期間中の状態であった。

12L10D, 12L12D, 14L10D, 14L12Dの4日長条件で40日間飼育した場合, 実験期間中は全ての条件で産卵が見られたが, 12L10Dで実験開始31日以降, 12L12Dでは実験開始29日以降での産卵は見られなかった。14L10Dでは, 実験終了6日前まで, 連続もしくは3~6日間隔で産卵が観察された。14L12Dでは, 実験終了1日前まで, 連続もしくは1~5日間隔で産卵が観察された (Fig. 44)。実験終了時の雌のGSIは, 12L10D, 12L12DでそれぞれGSIの平均値が1.85, 2.25であり, 14L10D, 14L12Dでそれぞれ3.56, 6.86と12Lの条件で低い傾向が見られたが, 4条件のGSIの間での有意差は認められなかった (Steel-Dwass法,

Fig. 43)。この時の卵巢は 12L12D で 5 個体中 5 個体が終了相まで退行していた。12L12D では終了相のみであったが、14L10D では終了相や未熟相前期、さらには成熟相前期の個体も見られた (Table 12)。実験終了時の雄の GSI は、12L10D, 12L12D でそれぞれ GSI の平均値が 0.30, 0.43 と低い傾向が見られたが、4 条件の GSI の間での有意差は認められなかった (Steel-Dwass 法, Fig. 43)。12L10D では 5 個体中 1 個体が終了相、4 個体が未熟相前期で、12L12D では 5 個体中 2 個体が終了相、3 個体が未熟相前期と退行した段階が観察された (Table 12)。

#### 4-3-3 水温を変えた場合の排卵および産卵間隔

2012 年 5 月 1 日から 18, 22, 26°C の 3 水温条件下で 1 歳魚と 2 歳魚をそれぞれ飼育した。実験期間中に 1 歳魚が排卵した平均回数は、18°C で 4.1 回、22°C で 3.5 回、26°C で 1.4 回であった。実験期間中に 2 歳魚が排卵した平均回数は、18°C で 3.4 回、22°C で 2.8 回、26°C で 1.7 回であった。1 歳魚と 2 歳魚の排卵回数には、いずれの水温においても、年齢による有意差は認められなかった (Steel-Dwass 法)。1 歳魚の平均排卵回数は 18°C と 26°C の間で有意差が認められたが (Steel-Dwass 法  $p < 0.05$ )、2 歳魚では有意差は認められなかった (Steel-Dwass 法, Fig. 45)。

排卵された卵の長径の平均値は、1 歳魚の 18°C で  $3.6 \pm 0.2$  mm ( $n=512$ )、22°C で  $3.4 \pm 0.2$  mm ( $n=471$ )、26°C で  $3.2 \pm 0.2$  mm ( $n=103$ ) であった。2 歳魚では 18°C で  $3.6 \pm 0.2$  mm ( $n=258$ )、22°C で  $3.3 \pm 0.2$  mm ( $n=317$ )、26°C で  $3.2 \pm 0.2$  mm ( $n=238$ ) であった。これら 3 水温の卵の長径は、水温が高くなるほど卵径が小さくなり、1 歳魚と 2 歳魚共に有意差が認められた (Steel-Dwass 法  $p < 0.05$ , Fig. 46)。

2014 年 4 月 1 日から 3 水温条件下で飼育した場合、18°C では実験期間中に産卵管が伸長した平均回数は 6 回であった (Fig. 47)。実験期間中は全ての個体で産卵管の伸長が観察された。産卵管の伸長が実験終了日または 1~11 日前まで、連続もしくは 4~16 日間隔で観察された (Fig. 48)。水温 22°C で飼育した場合、実験期間中に産卵管が伸長した平均回数は 7 回であった (Fig. 47)。実験期間中は全ての個体で産卵管の伸長が観察された。産卵管の伸長は、実験終了日または 1~22 日前まで、連続もしくは 2~15 日間隔で観察された (Fig. 48)。水温 26°C で飼育した場合、実験期間中に産卵管が伸長した平均回数は 2 回であった (Fig. 47)。実験期間中は 10 個体中 5 個体で産卵管の伸長が観察されなかった。産卵管の伸長が実験終了 1~31 日前まで連続もしくは 5~25 日間隔で観察できた (Fig. 48)。18°C で飼育した場合の産卵管の伸長間隔は平均 9 日間隔、22°C で飼育した場合の産卵管の伸長間隔は平均 6 日間隔であり、有意差が見られた (Steel-Dwass 法  $p < 0.05$ )。また、異なる 3 水温条件下で、実験期間中に産卵管が伸長した平均回数は、18, 22, 26°C でそれぞれ 6 回、7 回、2 回であり、26°C で少なくなった (Fig. 47)。

#### 4-3-4 各実験で産卵が抑制された条件

2012年5月10日、6月21日から開始した実験では、28°C12L、28°C14Lでは産卵が見られなかった。2013年5月10日から開始した実験では、26°C12Lで実験開始18日以降で産卵が見られなかった。2013年6月21日から開始した実験では、26°C12Lで実験開始19日以降、26°C14Lでは実験開始5日以降で産卵は見られなかった。2014年5月10日から開始した実験では、全ての条件で産卵が見られたが、24°C12L、26°C12Lで5個体中5個体が終了相まで退行していた。6月21日から開始した実験では、26°C12Lで実験開始2日以降、26°C14Lでは実験開始5日以降で産卵は見られなかった。また、24°C12Lでも実験開始14日以降で産卵が見られなかった。

2013年5月1日から日長のみを変えて飼育した場合、12Lでは実験開始22日以降で産卵が見られなかった。2015年6月22日と2016年6月21日からは、12L10D、12L12D、14L10D、14L12Dの明暗周期を変化させた4条件で飼育した。2015年では、12L10Dで実験開始28日以降、12L12Dでは実験開始12日以降で産卵は見られなかった。2016年では、12L10Dで実験開始31日以降、12L12Dでは実験開始29日以降で産卵は見られなかった。

2015年5月1日、2014年4月1日から18、22、26°Cの3水温条件下で飼育すると、26°Cで排卵回数、産卵管の伸長回数共に少なく、卵径も小さくなった。

#### 4-4 考察

屋外飼育条件で産卵期が終了した8月の日長は、短日化し約13L、平均水温は2013年で24.2°C、2014年で23.2°Cとなり年間で最も高かった。このように産卵期が終了したこの時期に日長時間の短縮と水温上昇があったことから、これらの要因が関与したものと考えられる。この産卵期の終了に影響を及ぼす要因を調べるために、日長と水温を様々に組み合わせた水槽で飼育実験を行った。2012年5月から開始した実験では水温20、24、28°Cにした場合、28°Cの全日長条件で産卵が終了した。また、2013年と2014年では条件を変え、水温22、24、26°Cにした場合、24、26°Cの12Lの条件でも産卵が終了した個体が見られた。2012年の夏至から開始した実験では、2012年5月に行った実験同様、28°Cにした場合、GSIが著しく低くなり、産卵が終了した個体が見られた。さらに、28°Cに加え、24°Cの12LでもGSIが低くなった。2013年と2014年の夏至から開始した実験では、24°Cの12Lの条件でも、産卵が終了した個体が見られた。このように水温が高い28°Cでは、5月と夏至から開始した実験のいずれにおいても、日長時間に関係なく産卵が終了し、26°Cにおいても同様に、産卵が終了した個体が多く見られた。一方で、水温20、22°Cの条件ではGSIが高い値を維持し、産卵が継続している個体が多いことから、本種の産卵を終了させる要因は、水温が26°C以上に上昇することが影響しているものと考えられる。本種と同様に産卵期の終了が水温に影響される魚種としてはアカヒレタビラが知られている。アカヒレタビラ (Shimizu and Hanyu 1982) の雌においては26、30°Cで飼育した個体の退行が見られ、22°Cでは成熟が保持されたままであった。雄においても30°Cでの抑制に加えて、22°Cの8、12Lでも一部の個体で退行が見られたとしている。ホンモロコ (奥沢ほか 1986) でも、光周期にかかわらず高水温によつ

て退行することが報告されている。このように、春産卵魚は、夏に向けての水温上昇によって、生殖腺の退行が著しく促進されることが、主要因とされている(清水 2006)。

一方、春夏産卵型であるが、タイリクバラタナゴは日長が産卵期の終了に影響を与えることが報告されている。この産卵期を終了させる臨界日長は、水温により異なることが明らかにされている。メダカ*Oryzias latipes*(羽生・小栗 1977)やキンギョ(Razani and Hanyu 1986)においても、タイリクバラタナゴのように光周反応に温度依存性があることが報告されている。このように、産卵期の終了が日長の影響を受ける魚種においても、水温の違いによって日長に対する反応が異なることが明らかとなっている。また、アカヒレタビラでは5月上旬から22°Cの11, 15Lでの長期間飼育をすると、11Lで飼育した場合で生殖腺の退行が見られ、15Lで飼育した後に11Lに変更した場合でも退行が見られた(羽生 1985)。アカヒレタビラでは、水温を25°C前後より低く保つと生殖腺の退行が起らず、代わりに光に対する反応性が強くなるとされている。本種においては、28°Cで日長に関わらず産卵の終了が見られたが、24°Cにおいては、12Lに短日化させた場合で、産卵が終了する個体が見られた。特に、2013年と2014年の夏至から開始した実験では、12Lにした場合で22, 24°Cでも産卵が終了した個体が多かった。このことから本種においても水温と光周性の発達との関連が示唆される。この日長による影響を調べるため、2013年5月1日から日長のみを変えた条件で飼育すると、13, 14Lでは実験終了日まで産卵が見られたが、12Lとした場合では産卵が終了した。水温による影響がない場合において、日長の短日化が産卵期終了に影響していることが示唆された。

このように産卵期終了においても日長の影響が示唆されたが、この日長においても産卵期終了に明期や暗期の長さに関係することが考えられるため、第3章と同様に、2015年と2016年の夏至から明暗周期を変えた条件で飼育した。実験開始時よりも明期が短い12L10D, 12L12Dの両条件ではGSIが14Lの条件よりも低くなり、産卵が終了した。植物において開花や花芽形成は、日長の明期もしくは暗期の長さを感じとって起こることが知られている。キクタニギク*Chrysanthemum seticuspe*(久松 2014)は、14時間の暗期と10, 16, 22時間の明期を組み合わせた24, 30, 36時間の光周期条件下におくと、30, 36時間周期では、暗期よりも明期が長いにも関わらず花芽形成が見られた。このことは、キクタニギクが明期の長さや明期、暗期の比ではなく、絶対的な暗期の長さを認識していることを示している。本種の産卵期終了には、光周期が22, 26時間であっても、明期が12Lの条件で産卵の終了が見られることから、暗期の長さに関係なく絶対的に明期が短くなることが重要であると考えられる。また、第2章の結果から、屋外水槽では8月の水温は23.2, 24.2°Cであり、産卵が終了した条件である26, 28°Cの高水温ではないにもかかわらず産卵が終了した。このときの屋外の日長は、夏至から短日化して約13Lとなっていた。このことから、産卵期終了は水温による影響だけでなく、短日化による影響もあるものと考えられる。

水温が産卵期間に与える影響を調べるために、2012年5月1日から異なる水温条件下で飼育した場合、水温が高いほど排卵回数は少なくなった。水温26°Cでは排卵回数が最も少な

く、排卵された卵の大きさも小さくなった。また、26°Cでは1歳魚、2歳魚共に実験終了前には排卵が見られなくなった。2014年4月1日から開始した実験では、26°Cで飼育した場合で実験期間中の産卵管の伸長した平均回数が少なかった。他の条件では、全ての個体で産卵管が伸長していたのに対して、26°Cでは10個体中5個体しか産卵管が伸長していなかった。多回産卵を行う魚類では、数日の周期で産卵を繰り返し、チチブ *Tridentiger obscurus* (Kaneko et al. 1986) では平均10日間隔で産卵を行う。また、産卵のサイクルは水温に強く影響され (羽生 1991)、タナゴ類の産卵周期においても水温に依存している場合が多く、タイリクバラタナゴ (羽生 1991) では15°Cで8~11日間、25°Cで2~3日間隔となる。カネヒラ (Shimiz et al. 1985) では、25°C10Lの条件下ではほぼ5日毎に産卵することが明らかにされている。

一般的に卵サイズは高水温で小さくなる傾向があり、卵サイズと水温の相関を示す報告がある (浅見 1953)。カタクチイワシ *Engraulis japonica* (轟田 1992) では、水温と卵の大きさに逆比例の関係が見られる。本実験においても、水温が高くなるにつれて卵が小さくなり、26°Cで最も小さくなった。本種においても、卵サイズに水温が影響していることが考えられる。また、マガレイ *Pseudopleuronectes herzensteini* (佐藤・竹内 2009) では、排卵間隔がほぼ1日間隔であることが実験により明らかにされているが、実験期間中連続で卵を搾出することによるストレスが産卵数に影響している可能性も示唆されている。本種において、給餌は各水温条件下で飽食状態まで与えていたことから、栄養状態によるものとは考えにくい。排卵の有無を確認する際、腹部の圧迫によって卵を搾出していたストレスの影響は考えられる。しかし、一般には産卵間隔は水温に影響され、タイリクバラタナゴのように高水温で短くなる傾向が見られる。本種においても排卵回数、産卵管の伸長、卵サイズが水温の上昇により減少していることや、産卵期終了が水温に依存している可能性があることから、本種の産卵期の長さは水温に依存しているものと考えられる。

以上のことから、産卵期の終了を誘導する要因は、水温による影響が大きく、26°C以上の高水温では、日長時間に関係なく産卵が終了するが、水温を低く保っている場合でも、長日条件から12Lの短日条件になると、産卵が終了することが明らかとなった。

## 第5章 総合考察

タナゴ類はイシガイ科の二枚貝の鰓葉腔もしくは鰓上腔に産卵する特殊な生態を持つため、繁殖行動 (Wipkema 1961 ; 秋山・小笠原 1991), 二枚貝の選択性 (秋山ら 1994) など繁殖生態に関する研究が数多くなされている。本種の生活史については、中村 (1969) による産卵習性, 発育史, 成熟に関する報告があるだけであり, 他のタナゴ類と比較しても生活史に関する詳細な研究は存在しない。本種の具体的な保全策を立てるためには, このような生活史だけでなく, 繁殖生態の解明が不可欠であるが, 生息地または生息数の激減のため, これらの知見を得る事が困難である。そのため, 主な生息地である河川や湖沼などでの具体的な保全策が確立されていない。また, 産卵に直接影響を及ぼす水温や日長が分かれば, それに基づいて放流先が選定できるが, 本種に関しては明らかにされていない。そこで, 本研究ではタナゴの産卵期開始や終了に直接影響を及ぼす水温や日長といった外部環境要因との関係について検討を行った。

屋外飼育では, 3月から7月にかけて GSI は高い値を維持し, 7月から8月にかけて急激な低下を示した。このことから本種の産卵期は3月から7月であり, 春産卵型であることが明らかとなった。また, 脳下垂体や肝細胞細胞質においても生殖腺と同調した変化が見られた。ホンモロコ (奥沢ら 1986) の血中の性ステロイドホルモン濃度の季節変化は GSI の変化との相関が強く, 生殖腺の状態をよく反映していることが報告されている。チチブ (村山 1992) では7, 8月の GSI の増加に対応して卵黄形成の進行が見られ, これに伴って E<sub>2</sub> が増加し, 卵黄蓄積の完了とともに低下していることが報告されている。このように血中ホルモンの濃度は GSI や日長, 水温の季節変化とよく対応している。本研究では血中のホルモン濃度について測定していないが, 肝臓や脳下垂体の季節変化が GSI の増減や生殖腺の動態に対応していることから, 本種においても各ホルモン濃度は成熟に伴って変化していることが考えられる。しかし, 雌雄差および生殖腺の発達段階に年による違いも見られた。これは, 本研究の屋外飼育では地下水を利用していたが, 年により注水量が異なったため水温に違いが生じ, その結果, 産卵期の状態に違いをもたらしたものと考えられる。また, 本種は関東地方から東北地方と広い範囲に生息していることから生息地の違いによる水温の違いがあると考えられる。中村 (1969), 中坊 (1993) と本実験における産卵期の違いも, 水温による違いであると考えられる。道南産のドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* (寺西ら 1981) の産卵期は7~9月までとしており, この間の GSI の変化や血中ビデロゲニン量の変化には著しい個体差が見られている。寺西ら (1981) はドジョウの卵母細胞が非同期発達型であることから同一個体が同一産卵期に反復して産卵することを反映しているとしている。本種は非同期発達型であり, 産卵期開始時や終了時における GSI や生殖腺の個体間のばらつきも, 卵巣内中に様々な段階の卵母細胞が同一期に存在することが影響していると考えられる。

第3章では, 本種の産卵期開始誘導要因を調べた。非産卵期である秋分点, 秋分点と冬

至の間、冬至に水温と日長を組み合わせ、6 または 9 条件で飼育した。これらの実験では、開始時より長日化することで産卵が開始した。この長日化も 12L にすれば産卵するのではなく、前歴の日長時間から 12L 以上に長日化することが本種の産卵開始を誘導する要因であると考えられる。また、日長が 14, 15L と長日化した条件であっても 14℃では産卵が見られなかったことから、産卵期開始には一定以上の水温が必要である。

アカヒレタビラは、産卵期の開始直前までは日長の影響を強く受けるとされている (Shimizu and Hanyu 1991)。しかし、産卵期開始直前では日長の影響でなく、水温の影響が出るとされている。これはタイリクバラタナゴ (Asahina and Hanyu 1985 ; 西・高野 1979) やトゲウオ科の仲間 (Baggerman 1972) でも報告されている。この様に、光に対する反応が、年間で変化することが他魚種で報告されている。そこで、第 3 章では本種の産卵期開始直前における日長の影響も調べた。産卵期開始直前から日長と水温を組み合わせた 6 条件で飼育すると、実験開始時と同様の日長時間では産卵が見られず、長日化した条件で産卵が見られた。このことから、本種においてはモツゴ (朝比奈ら 1985) のように、産卵期開始直前まで光周性を示す魚種であることが明らかとなった。また、この産卵期を開始させる日長が明期の長日化によるのか、暗期の短日化によるものかを特定するために、冬至から明暗周期を変えた 4 条件で飼育した。この実験結果より、明期が 12L の条件では、暗期の長さに関係なく産卵が見られた。このことから、本種の生殖年周期から明らかとなった 3 月における産卵期開始要因は、日長の長日化によるものであり、この日長時間の長日化は、暗期の長さに関係なく、一定以上の明期が重要であることが示唆された。

次に、第 4 章では 7 月における本種の産卵期終了に影響を及ぼす要因について調べた。産卵盛期と終盤から開始した実験では、28℃の高水温で産卵が終了し、20℃の低水温ほど日長に関係なく継続していた。また、産卵期間中の排卵間隔においても、26℃では排卵回数や産卵管の伸長した回数が少なく、卵径も他の条件よりも小さくなった。これらの結果からも、本種の産卵期に水温が強く影響しており、本種の産卵期を終了させる要因として水温が影響していることが考えられる。一方で、12L に短日化した条件で産卵が終了する個体が見られた。さらに、この日長における産卵の終了が、明期によるものか、暗期によるものか調べた結果、暗期の長さに関係なく、明期が 12L と短日化した条件で産卵の終了が見られた。第 2 章で屋外飼育した個体の 8 月の産卵期終了も、屋外水槽の水温があまり高くないことから、日長の短日化による影響もあったものと考えられる。以上の結果から、本種は夏の高水温によって産卵期が終了するが、水温の低い場合には代わりに光周性が発達し、夏至以降の短日化に影響されて産卵期が終了するものと考えられた。本種は広範囲に生息することから、生息場所によっては水温が異なると考えられる。本種のように、水温以外の要因で生殖機能を制御できることは、湧水池のような水温の変化が少ない環境にも適応する可能性があると考えられる。

本研究から本種の繁殖生態に関する知見がいくつか得られ、本種を研究施設や水族館で系統維持していく場合でも本研究で得られた知見によって本種を任意の時期に産卵させる

ことも可能であり、計画的な増殖をさせられると考えられた。そして、今回得られた知見を利用することで、本種の繁殖に適した放流場所の選定をすることが出来ると考えられた。その際、本種の産卵開始は日長に強く影響を受けることから、人工照明などによって本種の産卵期を狂わせない場所を選ぶ必要がある。また、産卵期間中は水温による影響を受けやすく、26℃以上の水温は本種の産卵期終了を早めてしまう。産卵期である3月から7月まで繰り返し産卵をさせるためには、水温を考慮する必要がある。

一般的に春産卵魚は、水温上昇により産卵期が開始されるが、本実験のタナゴは、産卵が長日化により生じる点で特異的であると言える。光周性に関しても、アカヒレタビラ (Shimizu and Hanyu 1991) やタイリクバラタナゴ (Asahina and Hanyu 1985) が産卵期開始直前には消失しているが、本種に関しては産卵期開始直前でも消失せずに日長によって産卵が開始していることが明らかとなった。また、この日長に関しては、これまで植物で明期と暗期に注目した実験が行われているが、魚類で日長時間に対して暗期と明期のどちらに反応しているか注目した実験は行われていなかった。第3章及び第4章で、日長の暗期と明期が生殖腺に及ぼす影響を調べ、新たな知見を得ることができ、本種の産卵期が、明期に反応して開始または終了することが明らかとなった。モツゴは分布が広く、これは高い生態的柔軟性を持つことを示しており、繁殖期をはじめとするさまざまな生態的イベントの季節性にも地域差があることが推察されている (御勢・水野 1972)。これは、生息場所によって日長や水温に違いが出るためと考えられる。本種も関東地方から東北地方までと広い範囲に生息しており、生息地域での産卵に差があると考えられる。中村 (1969)、中坊 (1993) と今回の実験による産卵期の違いもこうした本種の広い範囲に生息できる柔軟性とその地域の環境による違いによるものと考えられる。

本研究結果から、本種は8、9月に生殖腺が最も未熟となり、秋から冬にかけては水温が適水温に戻っても日長が短日化するため、生殖腺の発達は進まない。冬から春にかけては日長が長日化するが、2月までは12Lを超えないため、成熟相前期で留まる。日長が12Lを超える、3月に生殖腺が急激に発達し、産卵に至る。その後、夏に向かって高水温になると生殖腺が退行し、高温にならない環境下においても日長の短日化によって産卵期が終了する。以上、一年を通した生殖腺の活動が日長や水温によって変化していくことが明らかとなった。

## 要約

1. 本研究は、絶滅危惧種であるタナゴの繁殖生態に関する基礎的知見を得ることを目的とした。野生個体を大量に確保することは困難であるために、東海大学海洋学部で屋外飼育している本種の生殖年周期を明らかにした。また、この生殖年周期を基に、本種を安定的に増殖させるために、産卵期の開始と終了に直接影響を及ぼす水温と日長を明らかにした。
2. 屋外飼育条件下における本種の生殖年周期を調べた結果、日長時間と水温の変化する時期に合わせ、生殖腺、脳下垂体、肝細胞細胞質の変化が見られた。このことから、一年を周期とした生殖腺の変化は、水温と日長の外部環境要因に影響を受けていると考えられた。本種の屋外飼育での産卵期は、3月下旬から7月下旬であることが明らかとなった。
3. 非産卵期である秋分、秋分と冬至の間、冬至と産卵期直前から水温と日長時間を組み合わせ合わせた6または9条件下で飼育した。いずれの実験においても、水温16°C以上で実験開始時期よりも長日化した条件で産卵が開始した。このことから、水温16°C以上が絶対条件であり、前歴の日長時間からの長日化によって産卵期が開始すると考えられた。
4. 冬至から明暗周期を10L12D, 10L14D, 12L10D, 12L14Dで飼育すると、12L14Dでは産卵が見られ、10L12D, 10L14D, 12L10Dでは産卵は見られなかったが、成熟相の個体が出現した。これらの結果から、本種の産卵期の開始における日長時間には、暗期の長短は関係なく、明期の長日化が重要であると考えられた。
5. 産卵盛期である5月からと、産卵期の終期である夏至から水温と日長時間を組み合わせさせた様々な条件下で飼育した。いずれの条件においても、水温28°Cでは日長の短日化に関係なく産卵が終了し、水温20°Cでは産卵が継続する個体が多いことから、本種の産卵期の最大終了要因は水温の上昇であると考えられた。
6. 産卵盛期である5月から日長時間を12, 13, 14Lで飼育すると、12Lの条件でGSIが低くなった。また、夏至から明暗周期を12L10D, 12L12D, 14L10D, 14L12Dで飼育した場合においても、12L条件で暗期の長さに関係なく、産卵を終了する個体が多かった。このことから、本種の産卵期の終了に影響を及ぼす日長時間は明期の短日化が重要であると考えられた。

7. 産卵期間中の4月と5月に水温の違いにおける排卵と産卵管の伸長を調べると、水温18℃では実験期間中の排卵と産卵管の伸長した回数が最も多く、水温26℃では少なかった。このことから、本種の産卵を抑制する要因は水温であると考えられた。
8. 春産卵型は一般に、水温の上昇が産卵期開始の主要因とされているが、本種の場合は、日長時間の長日化が最大要因であることが明らかとなった。また、これまで魚類において明期と暗期の長さに注目した実験は行われていなかったが、本研究により、本種が明期の長さを受容していることが明らかとなった。
9. これらの知見から、本種を域外保全するにあたって日長時間や水温の調整によって計画的な繁殖をさせることが可能となり、安定した継代飼育をしていくことが可能となると考えられる。

## 謝辞

本研究の遂行ならびに本論の取りまとめにあたり、終始懇切なるご指導、ご校閲を賜った東海大学海洋学部水産学科教授の秋山信彦博士に深甚なる感謝の意を表します。

東海大学海洋学部水産学科の齋藤寛博士、東海大学理学部化学科の石原良美博士、東海大学生物学部海洋生物科学科の櫻井泉博士、三重大学生物資源学部生物資源学研究科の河村功一博士には本論文ご校閲の労をいただきました。東海大学海洋学部清水教養教育センターの栗原ゆか准教授には英文のご校閲をして頂いた。これらの先生方に厚く御礼申し上げます。

国立研究開発法人水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所の今井正博士、東海大学海洋学部水産学科非常勤講師の大貫貴清博士には研究活動に対して数多くのご助言を頂きました。これらの方々に感謝の意を表します。

東海大学海洋学部水産学科秋山研究室の卒業生ならびに在学生の皆様には本論文の作成に関して惜しみないご協力を頂きました。これらの方々に御礼を申し上げます。

また、東海大学海洋科学博物館の職員の皆様には自身の研究活動に対し、格別のご理解とご協力を頂いた。これらの方々に御礼を申し上げます。

本論文はこれらの方々の惜しみない協力によって作成できた賜物であり、ここに改めて感謝の意を示すものであります。

## 文献

- 赤井裕・秋山信彦・鈴木伸洋・増田修（2004）タナゴのすべて. 株式会社エムピージェー. 神奈川, p29.
- 会田勝美（1974）卵黄たん白の蓄積. 水産学シリーズ 6 魚類の成熟と産卵 その基礎と応用（日本水産学会編）. 恒星社厚生閣, 東京, 88-99.
- 会田勝美（1991）成熟・産卵の内分泌支配. 水族繁殖学（隆島史夫・羽生功編）. 緑書房, 東京, p. 71.
- 秋山信彦・小笠原義光（1991）ミヤコタナゴの繁殖行動. 神奈川県自然保全研究会報告書, **10**, 13-18.
- 秋山信彦・今井秀行・小笠原義光（1994）ミヤコタナゴの産卵基質として用いたカワシンジュガイの有効性. 水産増殖, **42**, 231-238.
- 朝比奈潔・岩下いくお・羽生 功・日比谷京（1980）タイリクバラタナゴの生殖年周期. 日水誌, **46**, 299-305.
- Asahina, K. and I. Hanyu (1983) Role of temperature and photoperiod in annual reproductive cycle of the rose bitterling *Rhodeus ocellatus ocellatus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**, 61-67.
- Asahina K. and I. Hanyu (1985) Development of photoperiodism involved in the gonadal activity of the rose bitterling. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 1665-1670.
- 朝比奈潔・松岡 剛・藤本広明・広瀬一美・日比谷京（1985）モツゴ *Pseudorasbora parva* の成熟に及ぼす水温と光周期の影響. 日本大学農獣医学部学術研究報告, **42**, 203-210.
- Asahina, K., H. Hirose and T. Hibiya（1990）Annual reproductive cycle of the topmouth gudgeon *Pseudorasbora parva* in the Tama River. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **56**, 243-247.
- 浅見忠彦（1953）カタクチイワシ *Engraulis japonicas* T. es S. の浮遊卵に関する研究. 南海区水研業績集, **1**, 1-17.
- Baggerman, B. (1972) Photoperiodic responses in the stickleback and their control by a daily rhythm of photosensitivity. *Gen. Comp. Endocrinol. Suppl.*, **3**, 466-476.
- 御勢久右衛門・水野信彦（1972）河川の生態学. 築地書館, 東京, p245.
- 羽生功・小栗幹朗（1977）: 生殖. 魚類生理学概論（田村保編）. 恒星社厚生閣, 東京, 158-192.
- 羽生功（1985）魚の生殖リズムと環境要因Ⅱ. 水産の研究, **4**, 50-54.
- 羽生功（1991）生殖周期. 魚類生理学（板沢靖男・羽生功編）. 恒星社厚生閣, 東京, p. 287.
- Hatakeyama, R. and N. Akiyama (2007) Annual reproductive cycle of a bitterling, *Tanakia tanago*, reared in an outdoor tank, *Zool. Sci.*, **24**, 614-622.
- 久松完（2014）電照栽培の基礎と実践 光の質・量・タイミングで植物をコントロール. 誠文堂新光社, 東京, 59-66
- 入路光雄・白石哲郎・入江奨・新井早也佳・北野載・山口明彦・松山倫也（2008）: 水槽内で飼育したマアジの生殖腺の周年変化. 63 (2), 115-123

- 石橋亮・村田修・山本眞司・岡佑介・米島久司・家戸敬太郎・宮下盛・熊井英水（2006）飼育下におけるマサバの成長と生殖腺の発達. 水産増殖, 52 (2), 195-200
- 金子豊二・羽生功・広瀬慶二（1984）アゴハゼ *Chasmichthys dolichogonathus* の生殖年周期. 日水誌, 50, 1535-1540.
- Kaneko, T., K. Aida and I. Hanyu (1986) Changes in Ovarian Activity and Fine Structure of Pituitary Gonadotrophs during Spawning Cycle of the Chichibu-goby *Tridentiger obscurus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **52**, 1923-1928.
- 環境省自然環境局野生生物課（2007）改訂レッドリスト 付属説明資料 汽水・淡水魚類, p. 21.
- 国立天文台（2011）各地の日の出日の入り. 理科年表 平成24年（机上版）（国立天文台編），丸善株式会社, 東京, p. 38.
- 国立天文台（2013）各地の日の出日の入り. 理科年表 平成26年（机上版）（国立天文台編），丸善株式会社, 東京, pp. 31-42.
- 近藤茂則・松浦健一・宮澤功吉・吉岡 基・柏木正章（2000）英虞湾産シロギスの生殖年周期. 三重大生物資源紀要, **24**, 1-8.
- 宮下敏夫（2005）淀川のシンボルフィッシュ イタセンバラ. 希少淡水魚の現状と未来（片野修・森誠一編），信山社, 東京, pp. 144-154.
- 村山司・会田勝美・羽生功（1992）：チチブの産卵期における卵巣機能の低下. 日水誌, **58** (6), 1079-1082.
- 中坊徹次（1993）日本産魚類検索全種の同定. 東海大学出版会, 東京, pp. 214-219.
- 中坊徹次（2013）日本産魚類検索全種の同定. 東海大学出版会, 東京, pp. 310-316.
- 中村守純（1969）タナゴ. 日本のコイ科魚類. 緑書房, 東京, pp. 30-35.
- 長田芳和・石鍋尋寛（1998）タナゴー日本の希少な野生水生生物に関するデータブック（水産庁編）. 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 118-119.
- 西 健一郎・高野和則（1979）タイリクバラタナゴ *Rhodeus ocellatus ocellatus* の卵巣におよぼす光周期と温度の影響. 北海道大学水産学部研究彙報, **30**, 63-73.
- 奥沢公一・古川清・会田勝美・羽生功（1986）ホンモロコ *Gnathopogon carulescens* の生殖年周期. 日水誌, 52 (11), 1957-1960
- Okuzawa, K., K. Furukawa, K. Aida and I. Hanyu (1989) Effects of photoperiod and temperature on gonadal maturation, and plasma steroid and gonadotropin levels in a cyprinid fish, the honmoroko *Gnathopogon caeruleus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **75**, 139-147.
- 大仲知樹・前田時和・北野忠・古屋康則（2009）絶滅危惧種ウシモツゴ *Pseudorasbora pumila* subsp. sensu Nakamura（1963）の生殖周期. 魚類学雑誌, **56**, 47-58.
- 大仲知樹（2008）愛知県犬山市のため池におけるモツゴ *Pseudorasbora parva*（Temminck et Schlegel, 1846）の繁殖期：とくに絶滅危惧種ウシモツゴ *P. pumila* subsp. sensu Nakamura, 1963の保全と関連して. 豊橋市自然史博物館研報, **18**, 11-16.
- 太田勇太・石原良美・齋藤 寛・大貫貴清・秋山信彦（2015）タナゴ *Acheilognathus melanogaster*

- の産卵期開始に影響を及ぼす環境要因. 水産増殖, **63**, 437-445.
- Razani, H., and Hanyu, I. (1986) Annual Reproductive Cycle of 2~3 years old female goldfish and its artificial modification by manipulations of water temperature and photoperiod. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **52**, 965-969.
- 酒井猛・米田道夫・時村宗春・堀川博史・松山倫也 (2010) 東シナ海産クロエソ *Saurida umeyoshii* の成熟と産卵. 日水誌, **63** (2), 115-123
- 佐藤敦一・竹内俊郎 (2009) マガレイの産卵間隔, 総産卵量, 産卵時刻, 排卵周期. 水産増殖, **57** (3), 411-416.
- 清水昭雄・羽生 功 (1981) 春産卵魚アカヒレタビラの生殖年周期. 日水誌, **47**, 333-339.
- Shimizu, A. and I. Hanyu (1982) Environmental regulation of annual reproductive cycle in a spring-spawning bitterling *Acheilognathus tabira*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1563-1568.
- Shimizu, A. and I. Hanyu (1983) Environmental regulation of spawning-period in an autumn-spawning bitterling *Pseudoperilampus typus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**, 895-900.
- Shimizu, A. K. Aida and I. Hanyu (1985) Endocrine profiles during the short reproductive cycle of an autumn-spawning bitterling, *Acheilognathus rhombea*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **60**, 361-371.
- Shimizu, A. K. Aida and I. Hanyu (1987) Annual reproductive cycle in an autumn-spawning bitterling *Acheilognathus rhombea*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **53**, 529-536.
- Shimizu, A. and I. Hanyu (1991) Changes in photoperiodism involved in the gonadal development of a spring-spawning bitterling *Acheilognathus tabira*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **57**, 177.
- Shimizu, A., K. Aida and I. Hanyu (1994) Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity and plasma steroid levels in an autumn-spawning bitterling, *Acheilognathus rhombea*, during different phases of its annual reproductive cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **93**, 137-150.
- 清水昭雄 (2006) 魚類の生殖周期と水温等環境条件との関係. 水産総合研究センター研究報告, **4**, 1-12.
- 白石芳一・武田達也 (1961) アユの成熟に及ぼす光周期の影響. 淡水研報, **11**, 69-81.
- 高橋裕哉 (1989) 魚類の成熟, 発生, 成長とその制御. 水族繁殖学 (隆島史夫・羽生功編). 緑書房, 東京, pp. 35-64.
- 寺西哲夫・原彰彦・高橋裕哉 (1981) ドジョウの *Misgurnus anguillicaudatus* の生殖周期に伴うビデロジェニンの変動. 北海道大学水産学部研究彙報, **32**, 281-292.
- 鶴田義成 (1992) カタクチイワシの成熟・産卵と再生産力の調節に関する研究. 水工研報, **13**, 129-168.

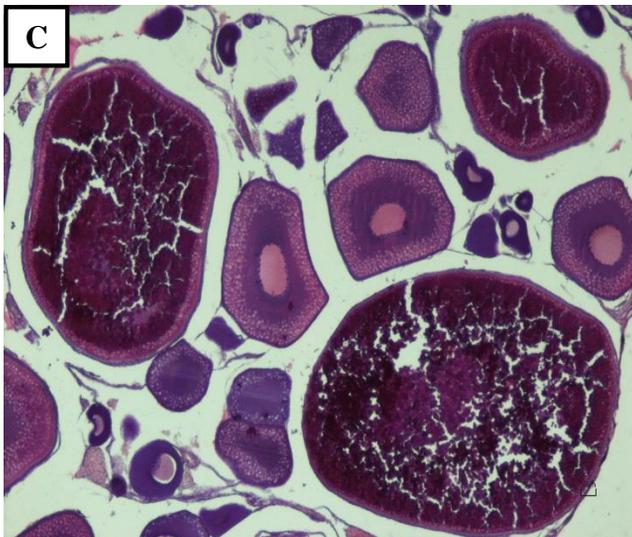
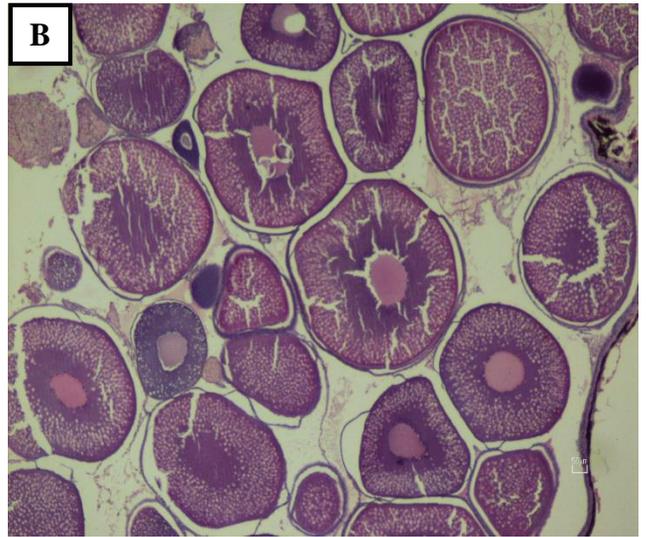
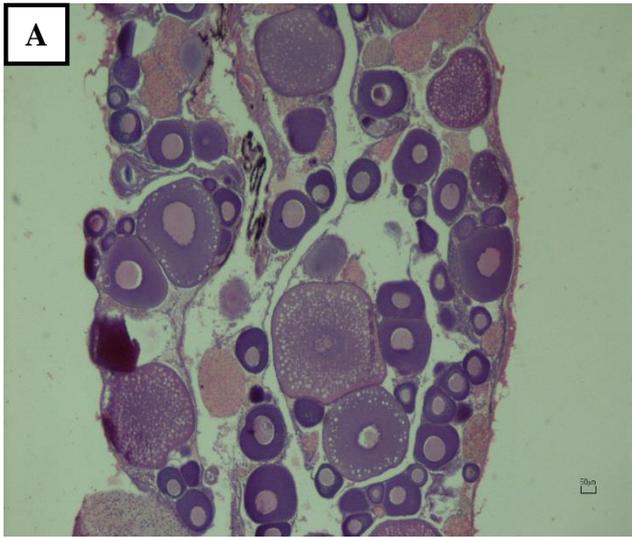


Fig. 1. Ovarian maturity stages of *Acheilognathus melanogaster*.  
A, Postspawning phase; B, Prespawning phase; C, Early spawning phase;  
D, Late spawning phase.

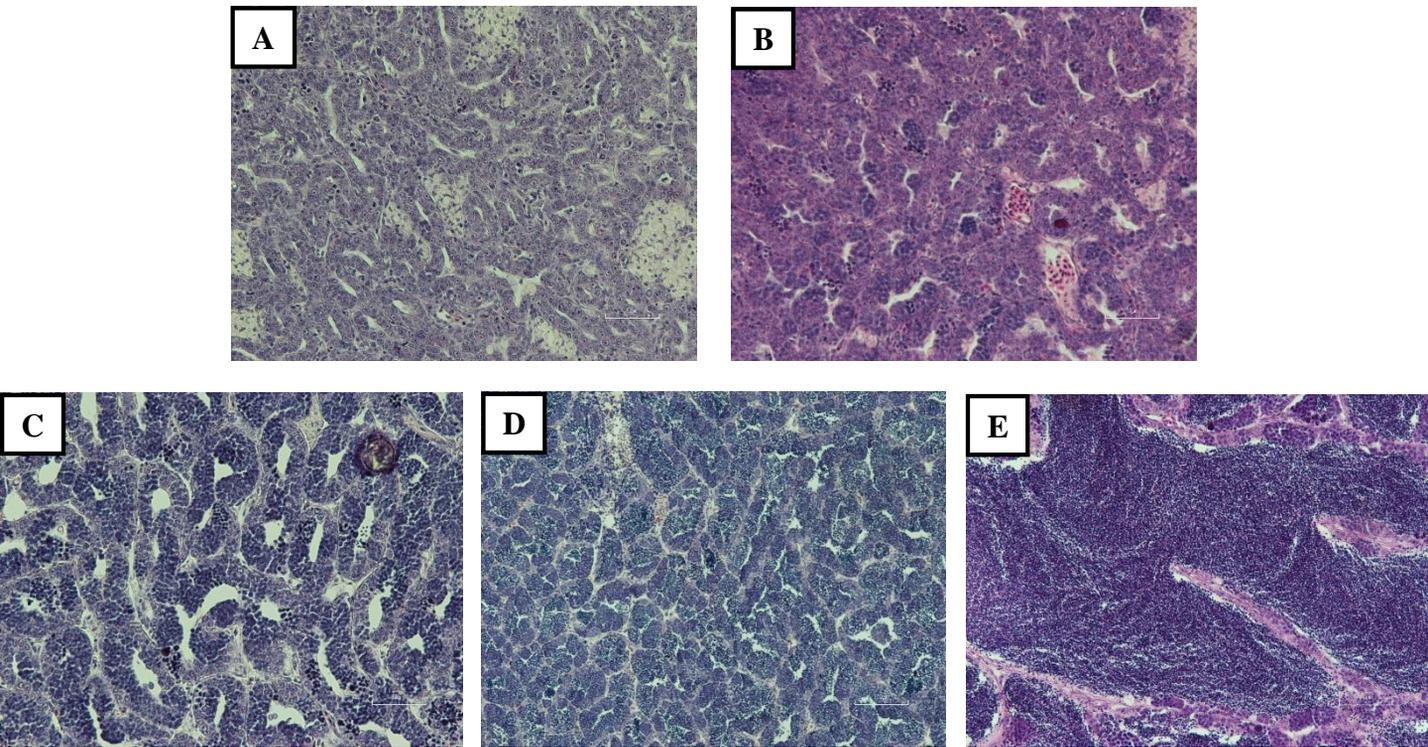


Fig. 2. Testicular maturity stages of *Acheilognathus melanogaster*.

A , Postspawning phase; B , Early prespawning phase; C , Late prespawning phase; D, Early spawning phase; E, Late spawning phase.

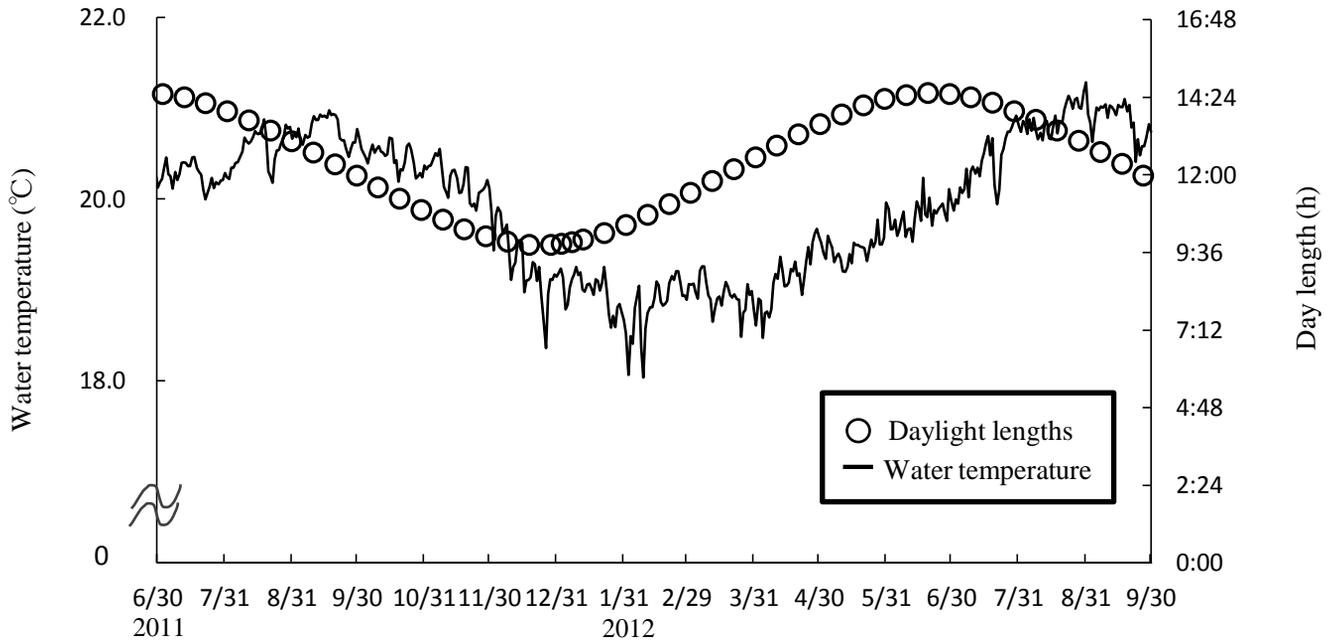


Fig. 3. Seasonal changes in daylight length and water temperature at the outdoor tank during the experiment period.

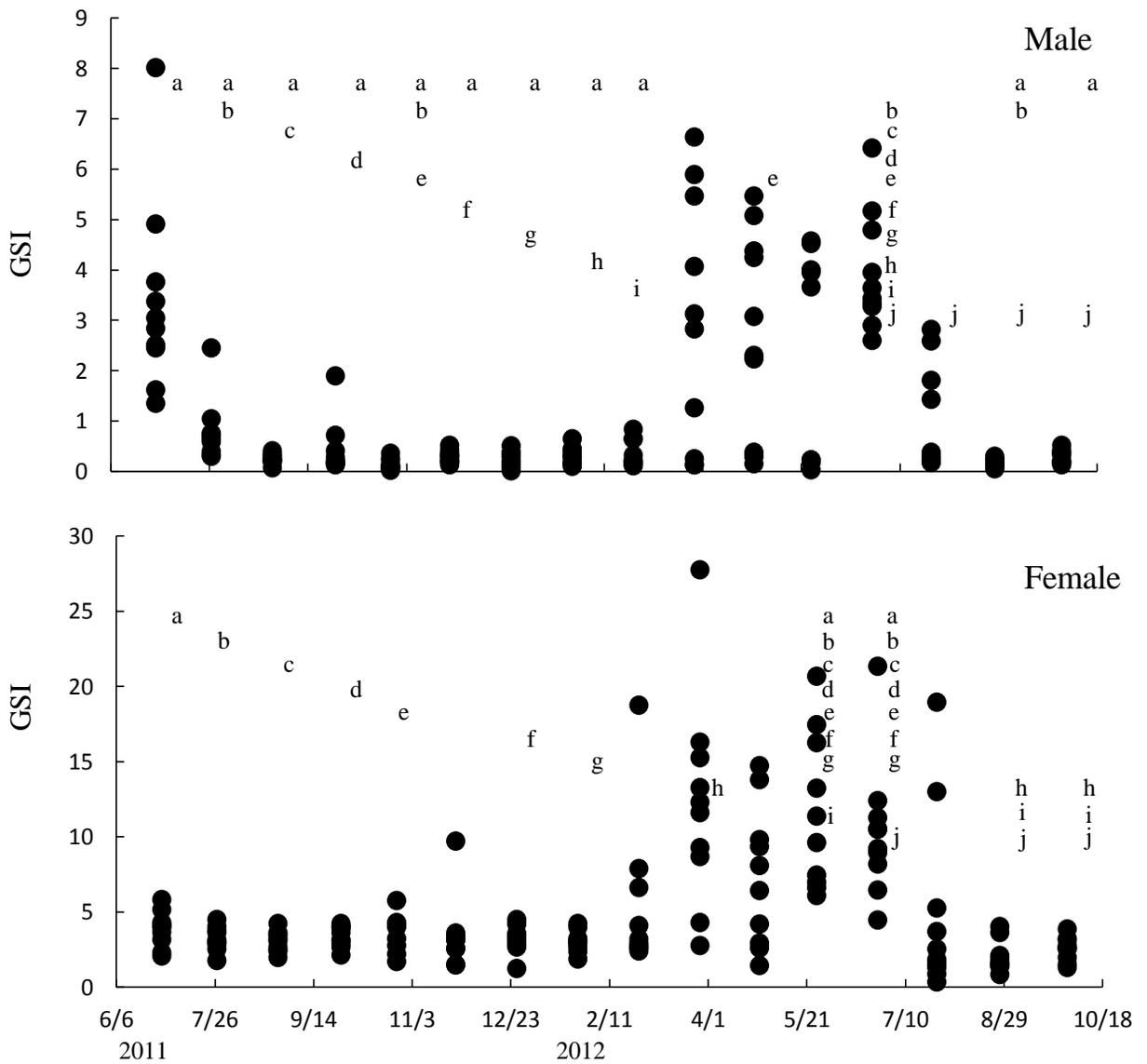


Fig. 4. Seasonal changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* at the outdoor tank. Values with the same letter are not significantly different (Steel-Dwass;  $p > 0.05$ ).

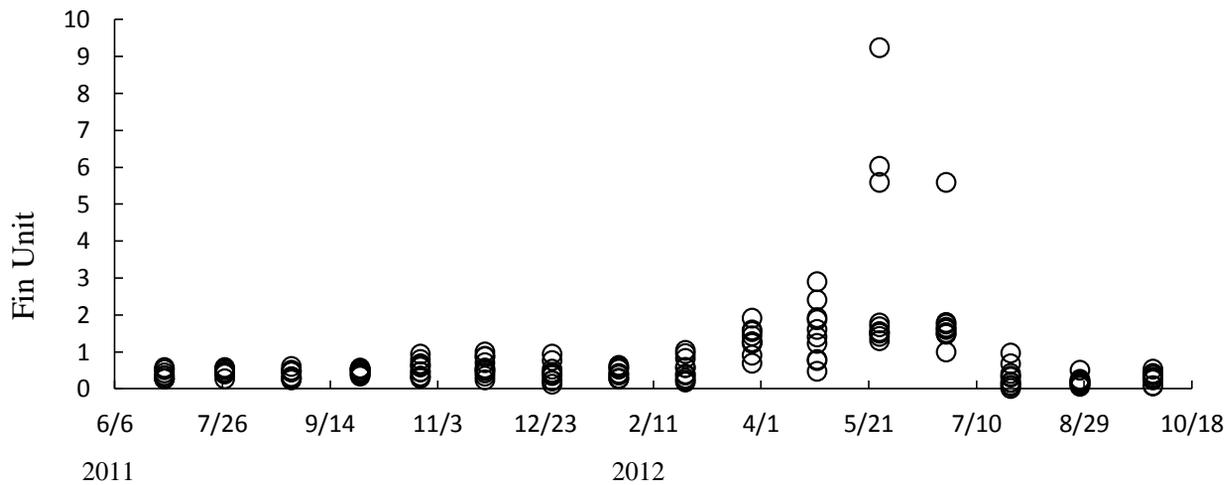


Fig.5. Seasonal changes in Fin Unit of *Acheilognathus melanogaster*.

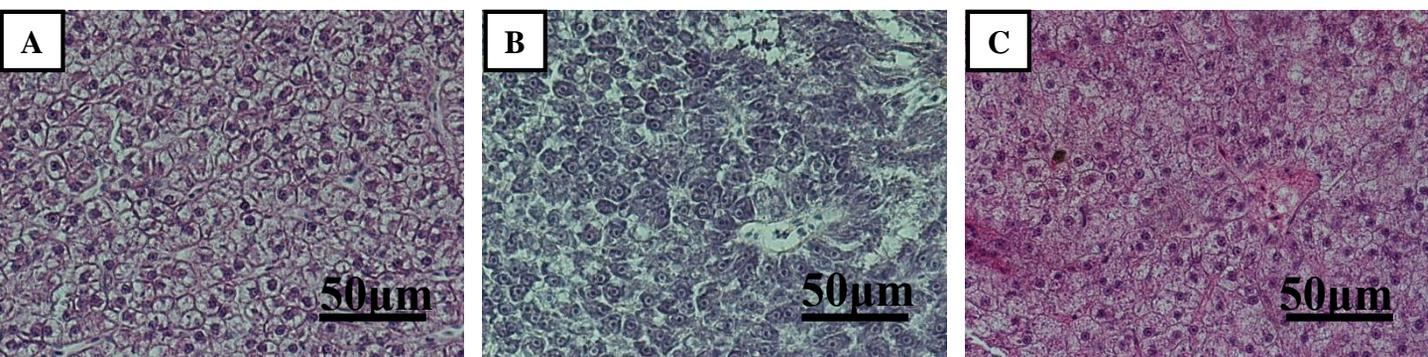


Fig. 6. Hepatic histology of *Acheilognathus melanogaster* in different seasons. A, 26th January; B, 28th March; C, 30th September.

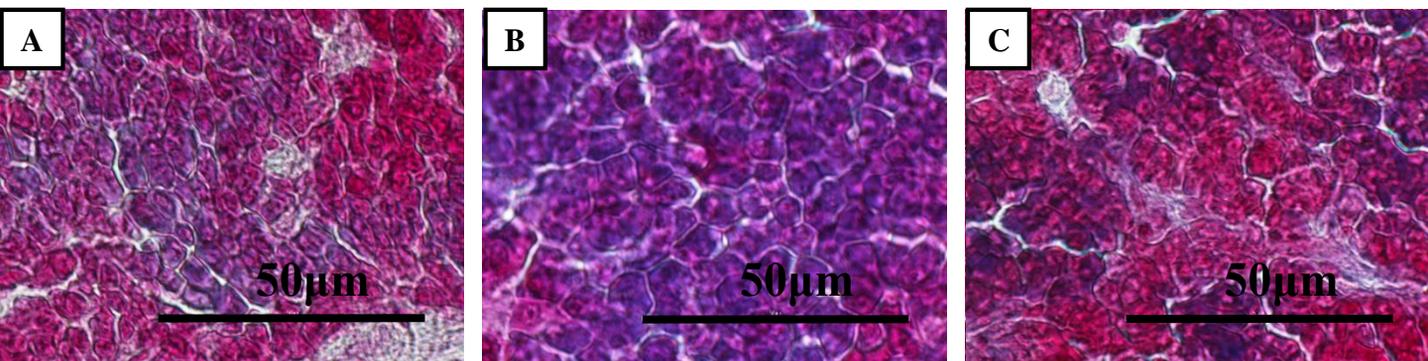


Fig. 7. Pituitary glands histology of *Acheilognathus melanogaster* in different seasons. A, 26th January; B, 28th March; C, 30 th September.

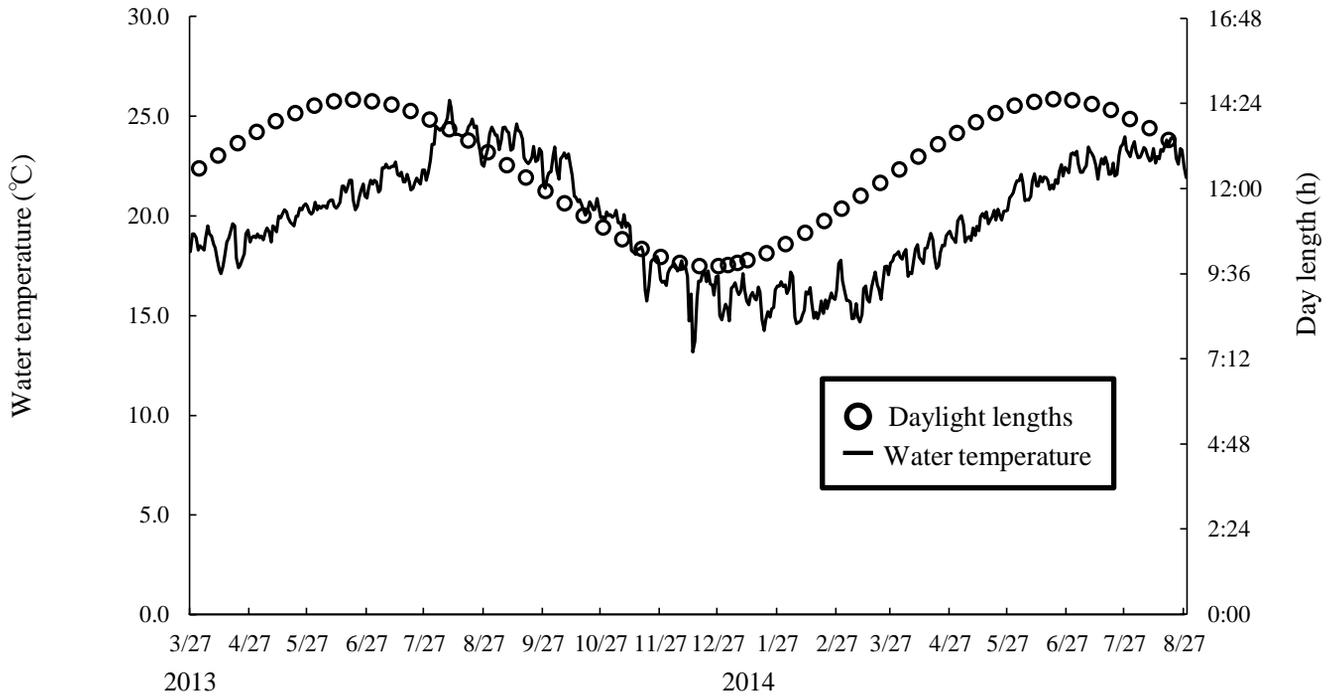


Fig. 8. Seasonal changes in daylight length and water temperature at the outdoortank during the experiment period.

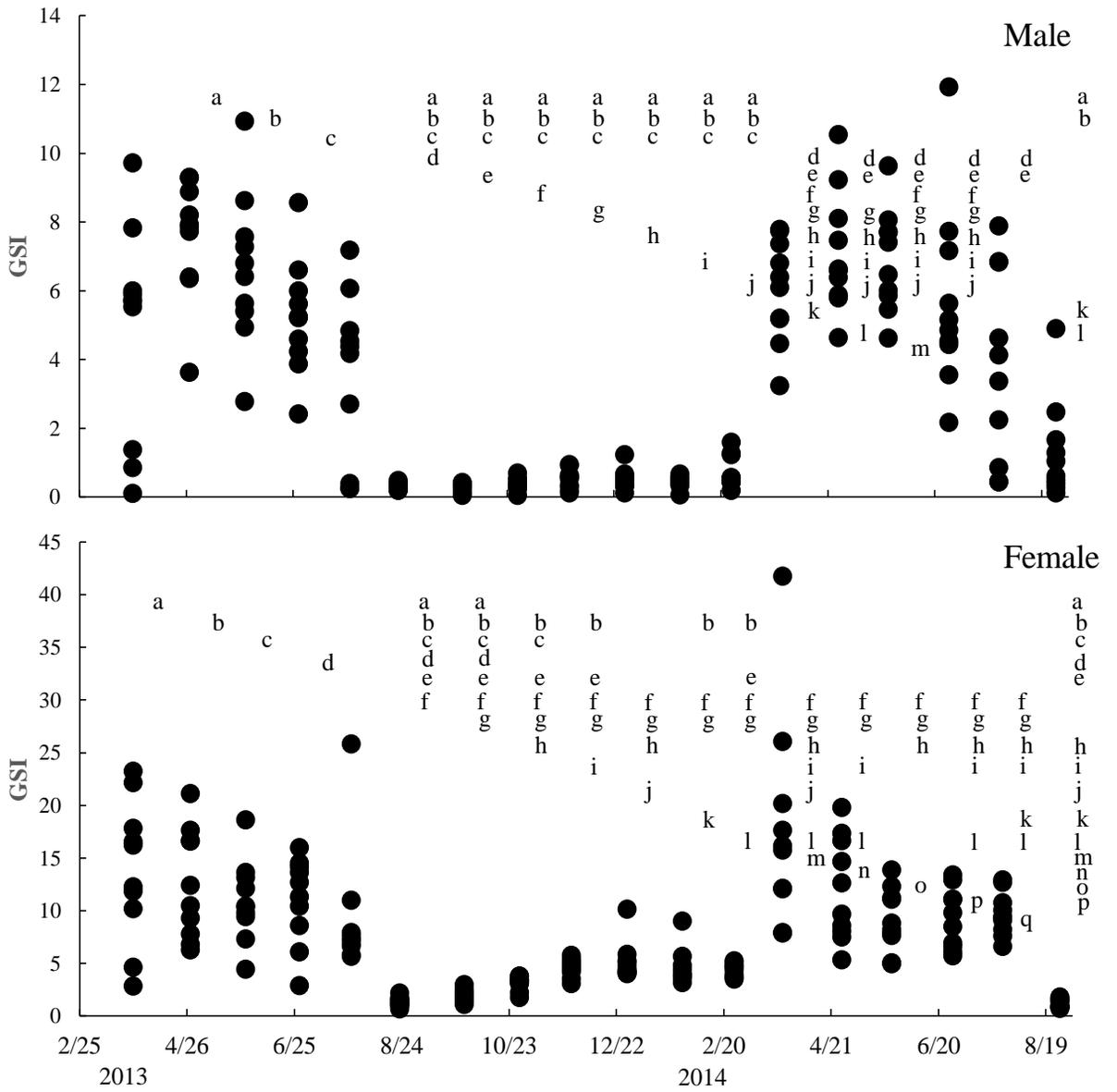


Fig. 9. Seasonal changes in GSI of the *Acheilognathus melanogaster* at the outdoor tank. Values with the same letter are not significantly different (Steel-Dwass;  $p > 0.05$ ).

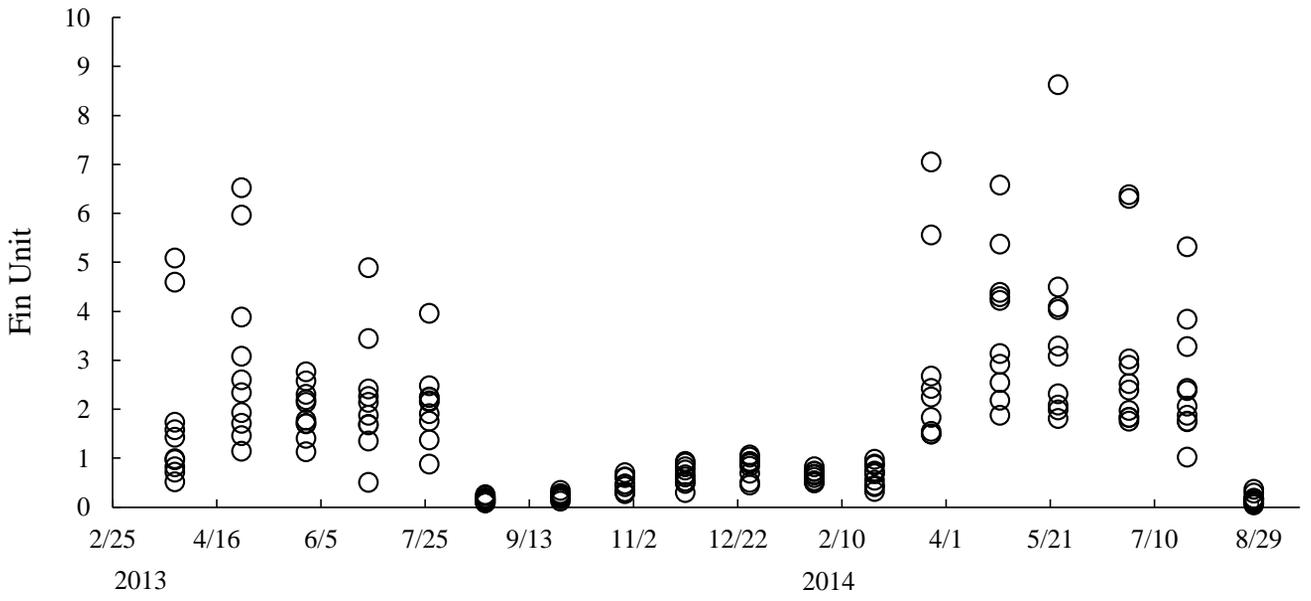


Fig. 10. Seasonal changes in Fin Unit of *Acheilognathus melanogaster*.

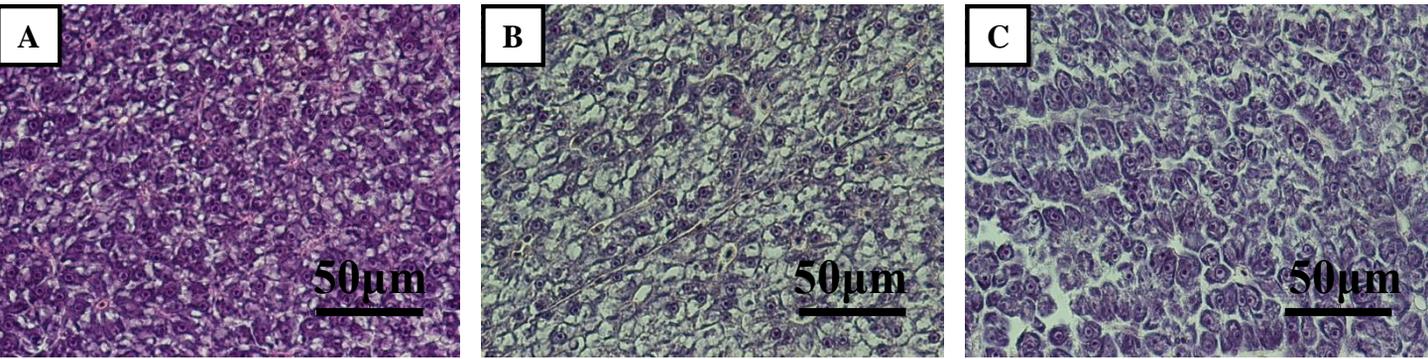


Fig. 11. Hepatic histology of *Acheilognathus melanogaster* in different seasons. A, 27th March; B, 26th February; C, 25th March.

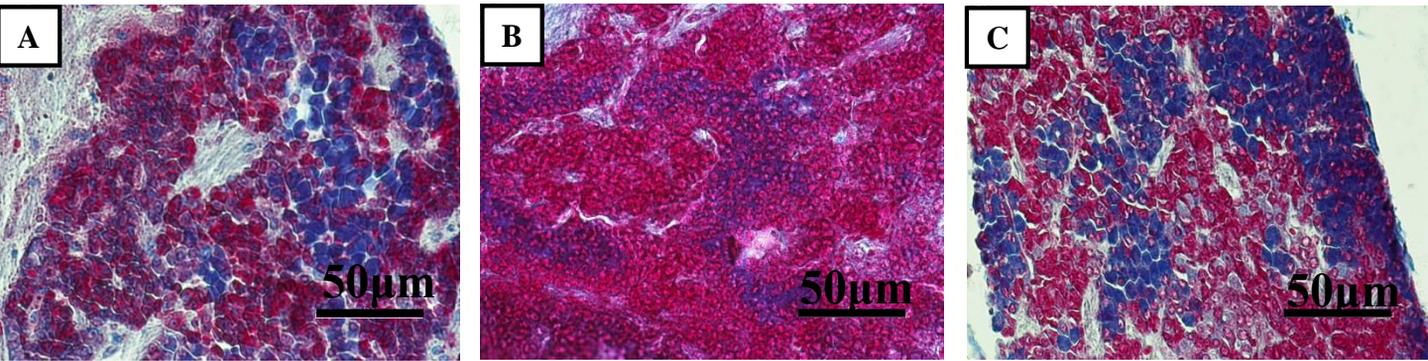


Fig. 12. Pituitary glands histology of *Acheilognathus melanogaster* in different seasons. A, 27th March; B, 26th February; C, 25th March.

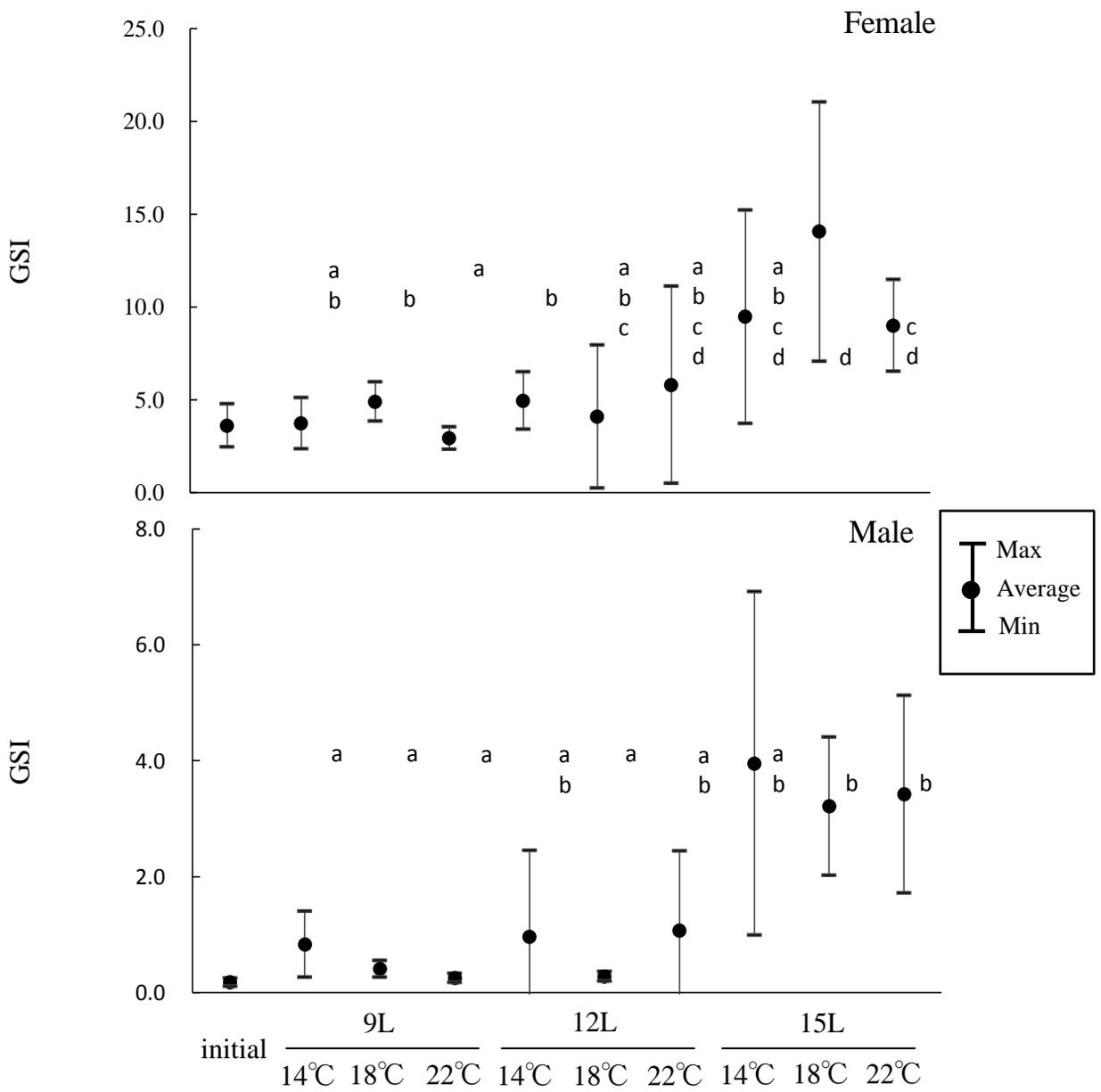


Fig. 13. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from October 10, 2011. Values with the same letter are not significantly different (Steel-Dwass;  $p > 0.05$ ).

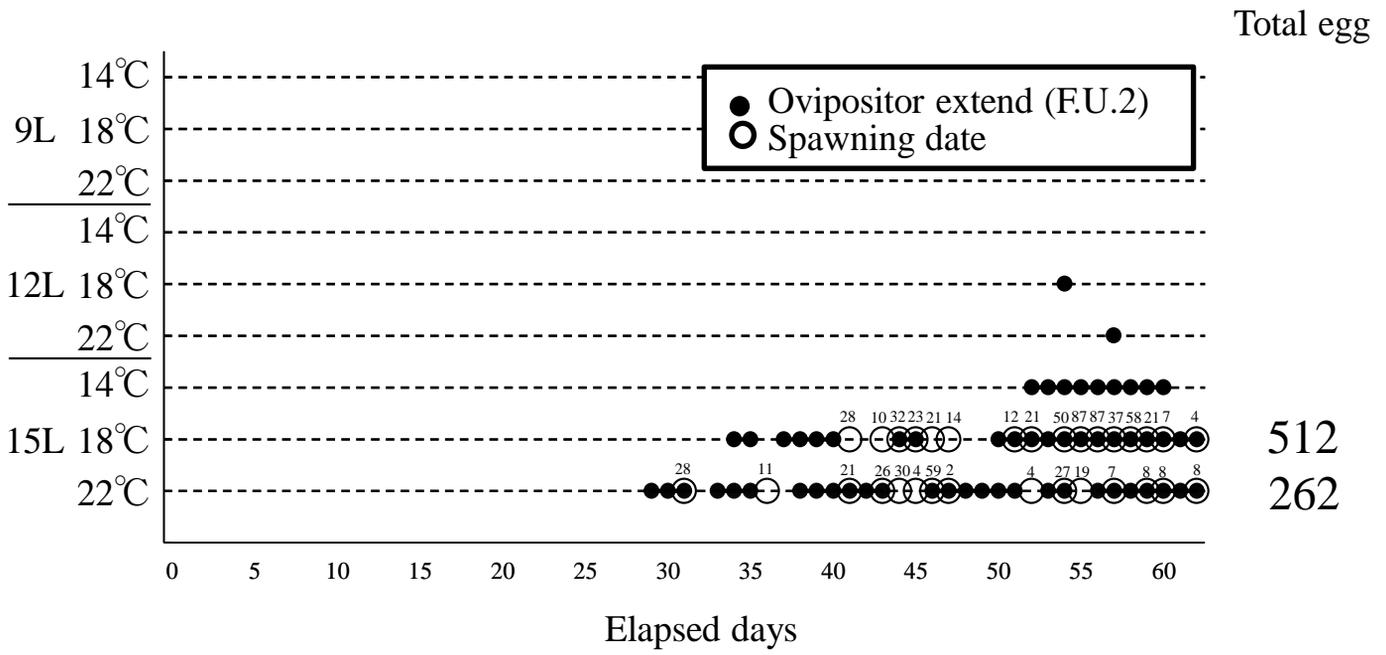


Fig. 14. Days when ovipositor length extends beyond 2.0FU. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

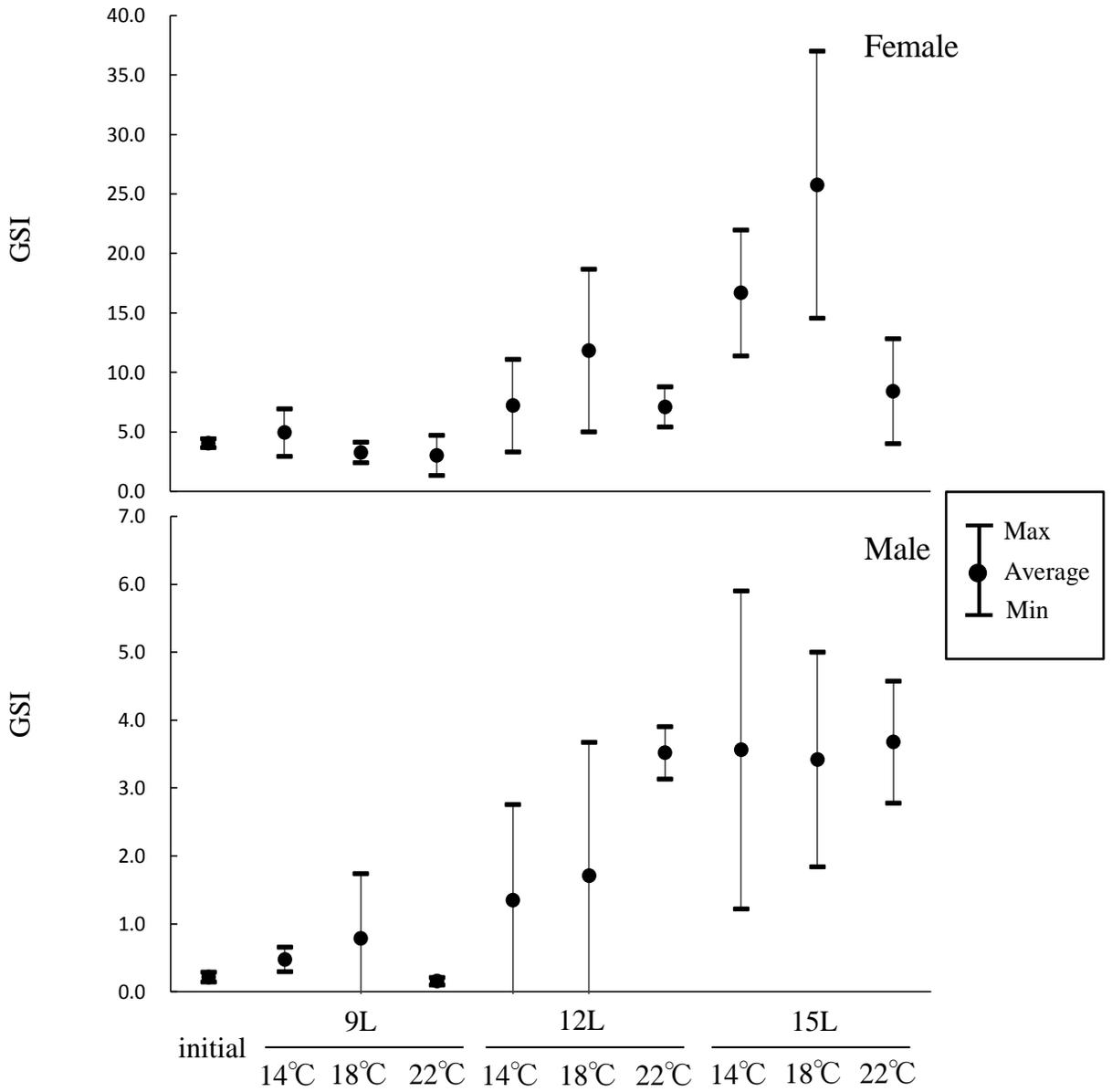


Fig. 15. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from winter solstice, 2011.

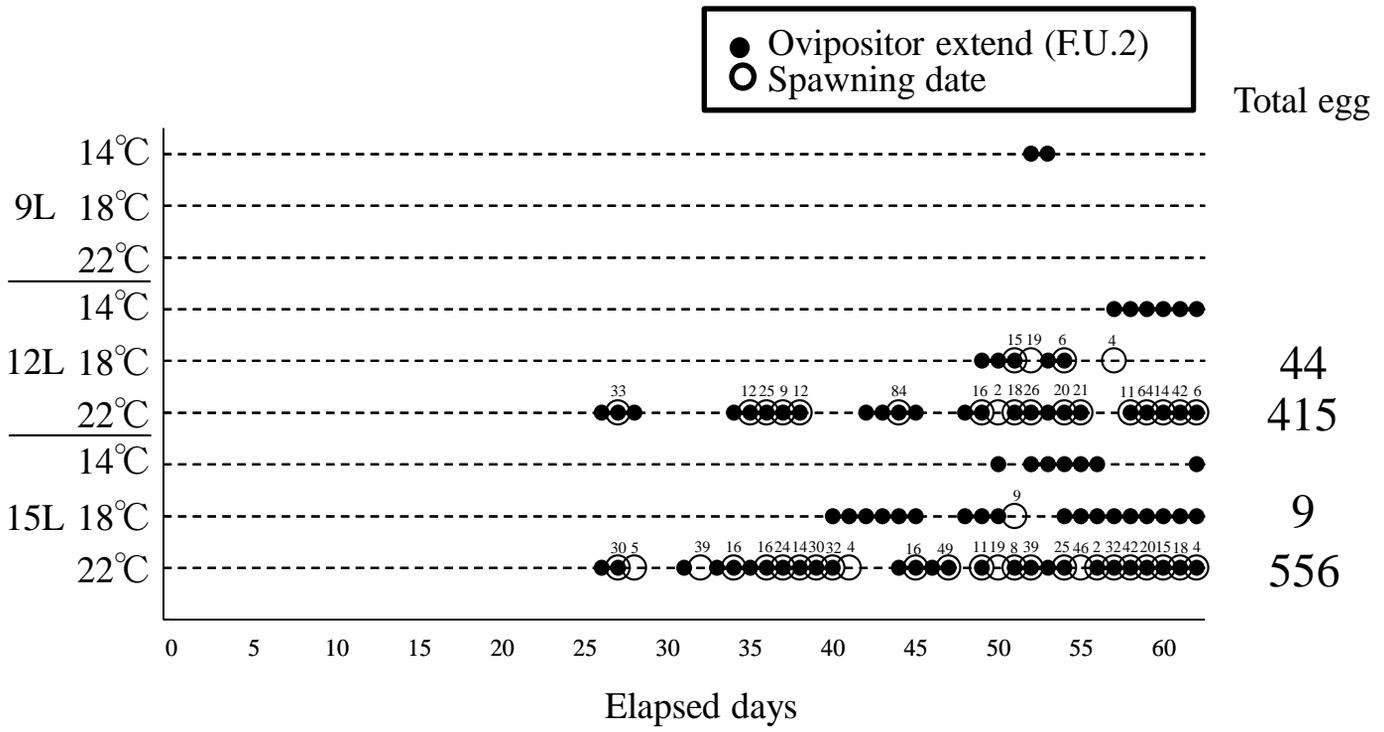


Fig. 16. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

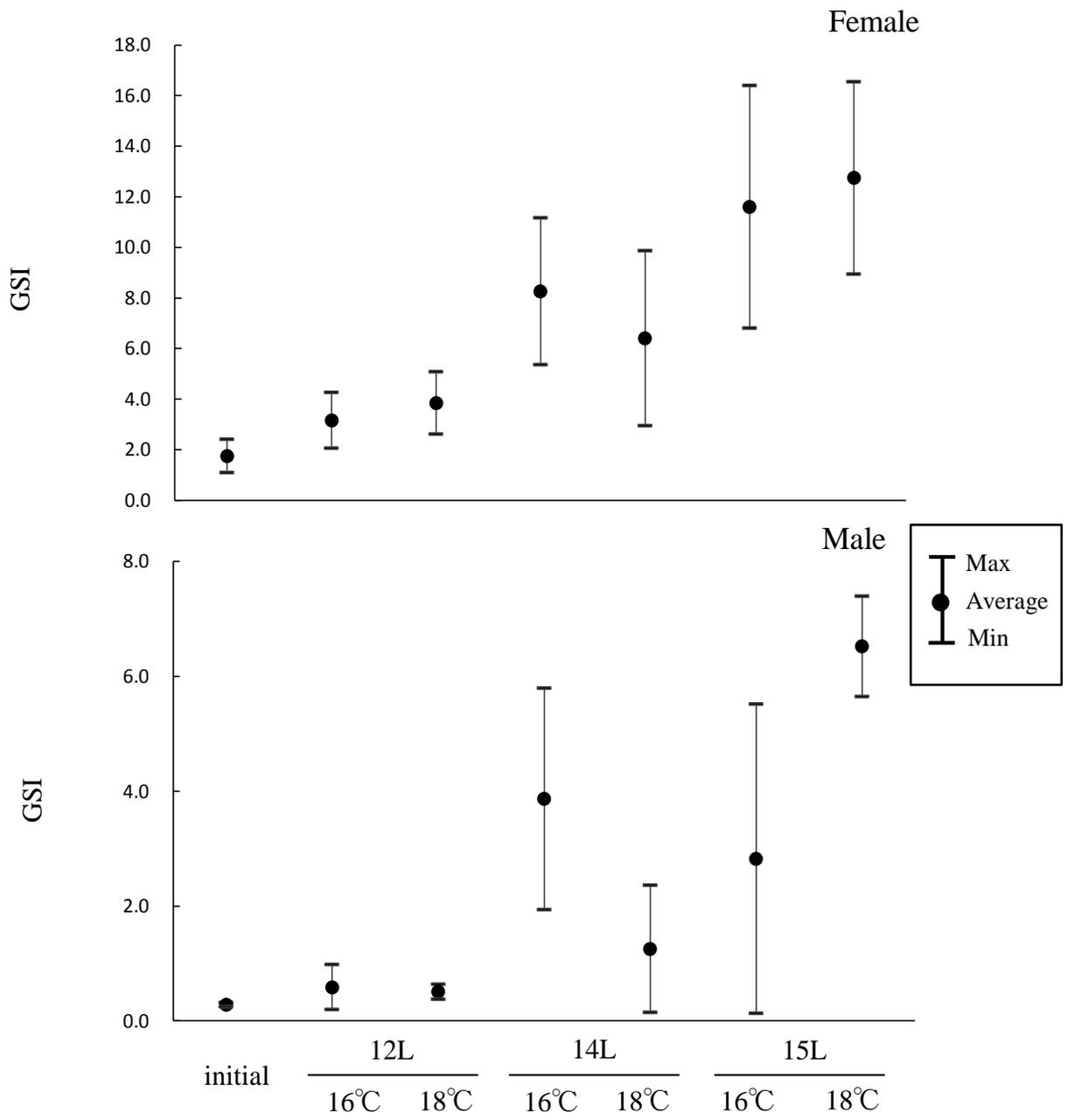


Fig. 17. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from autumn equinox, 2013.

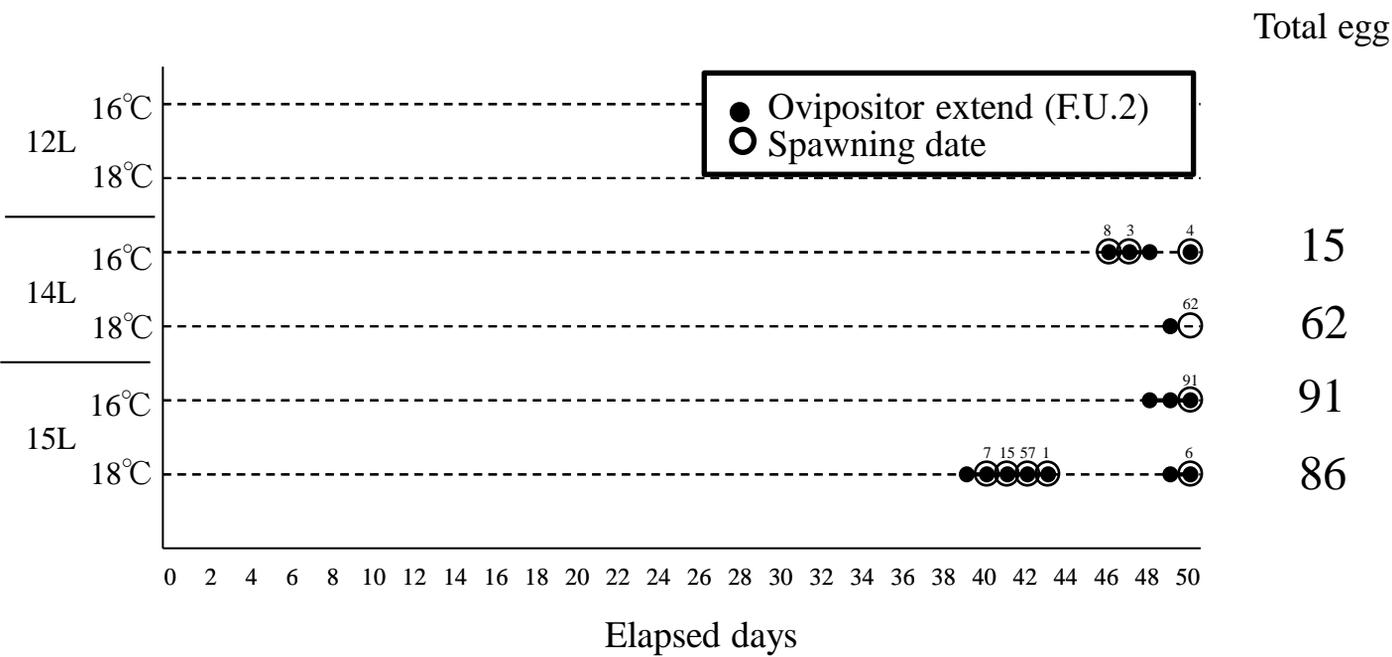


Fig. 18. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

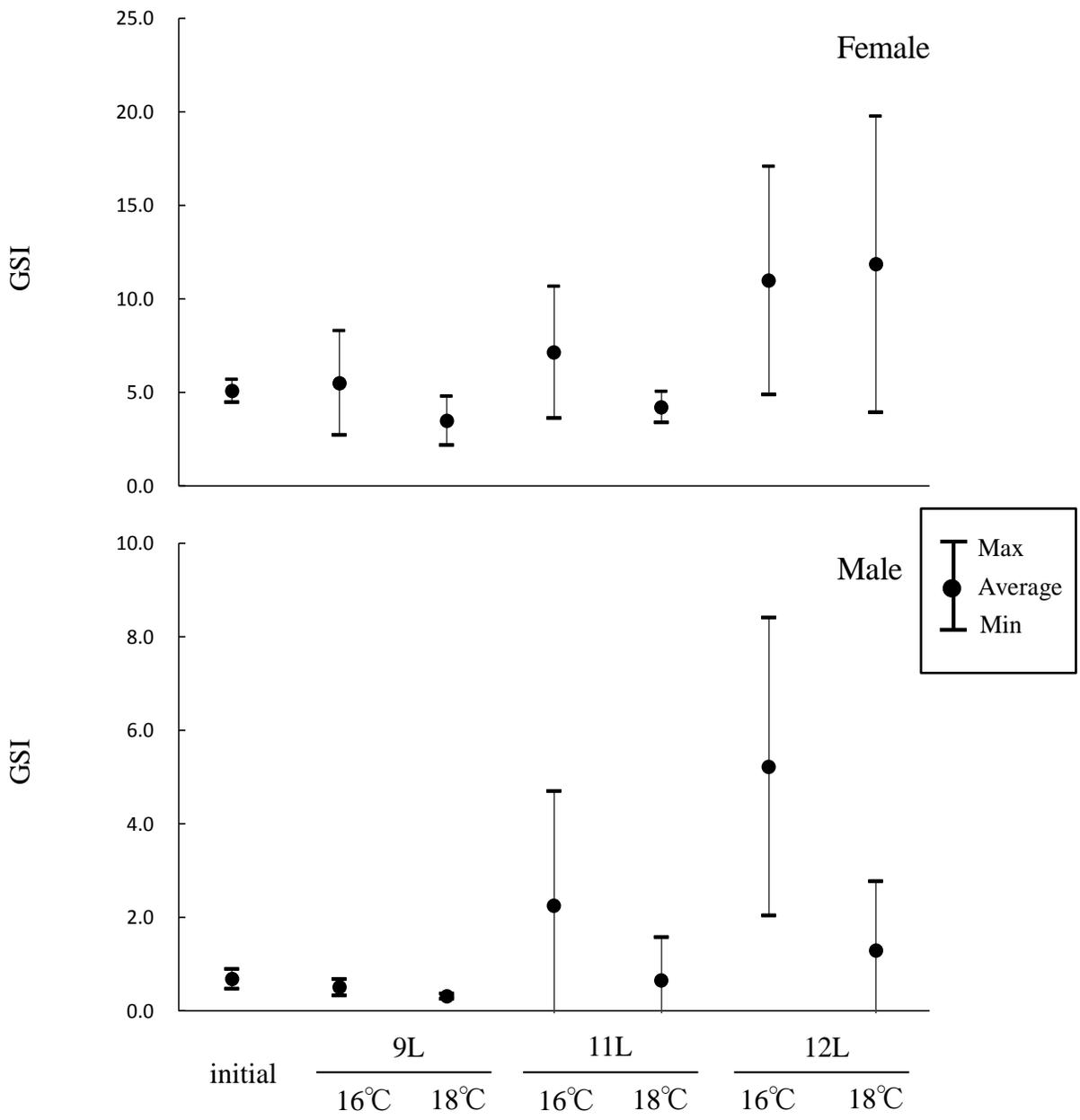


Fig. 19. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from winter solstice, 2013.

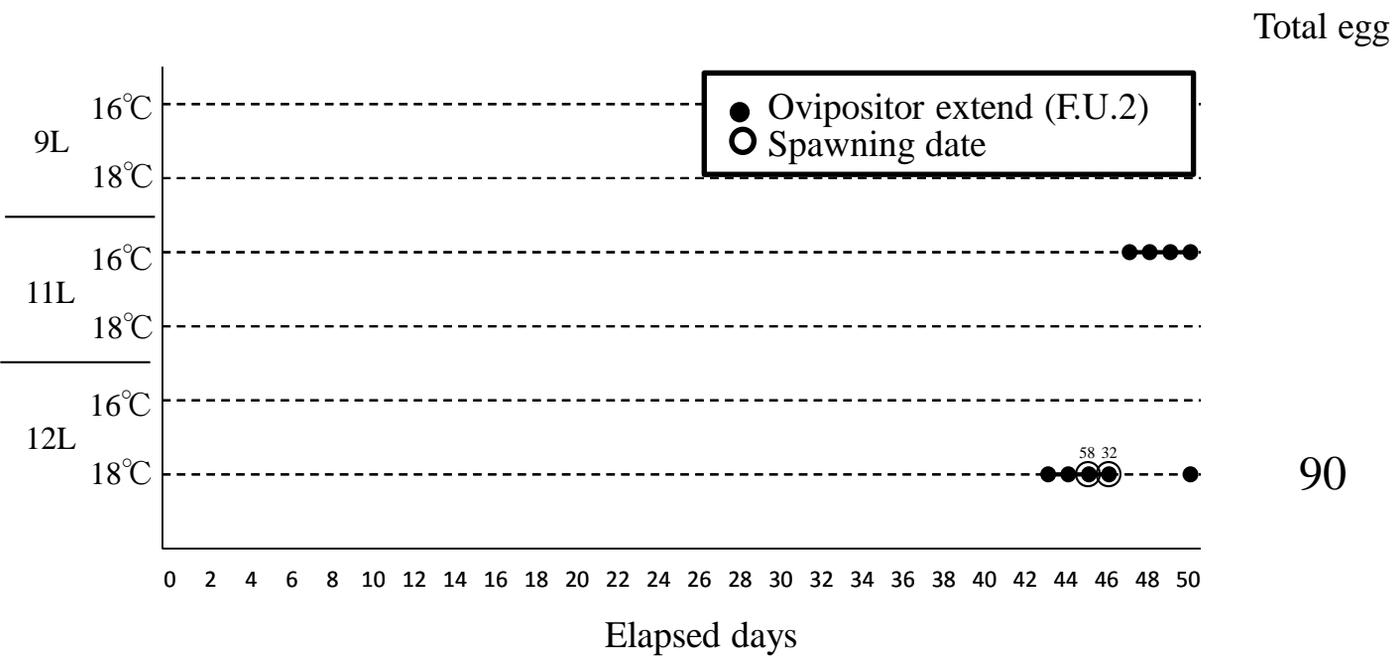


Fig. 20. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

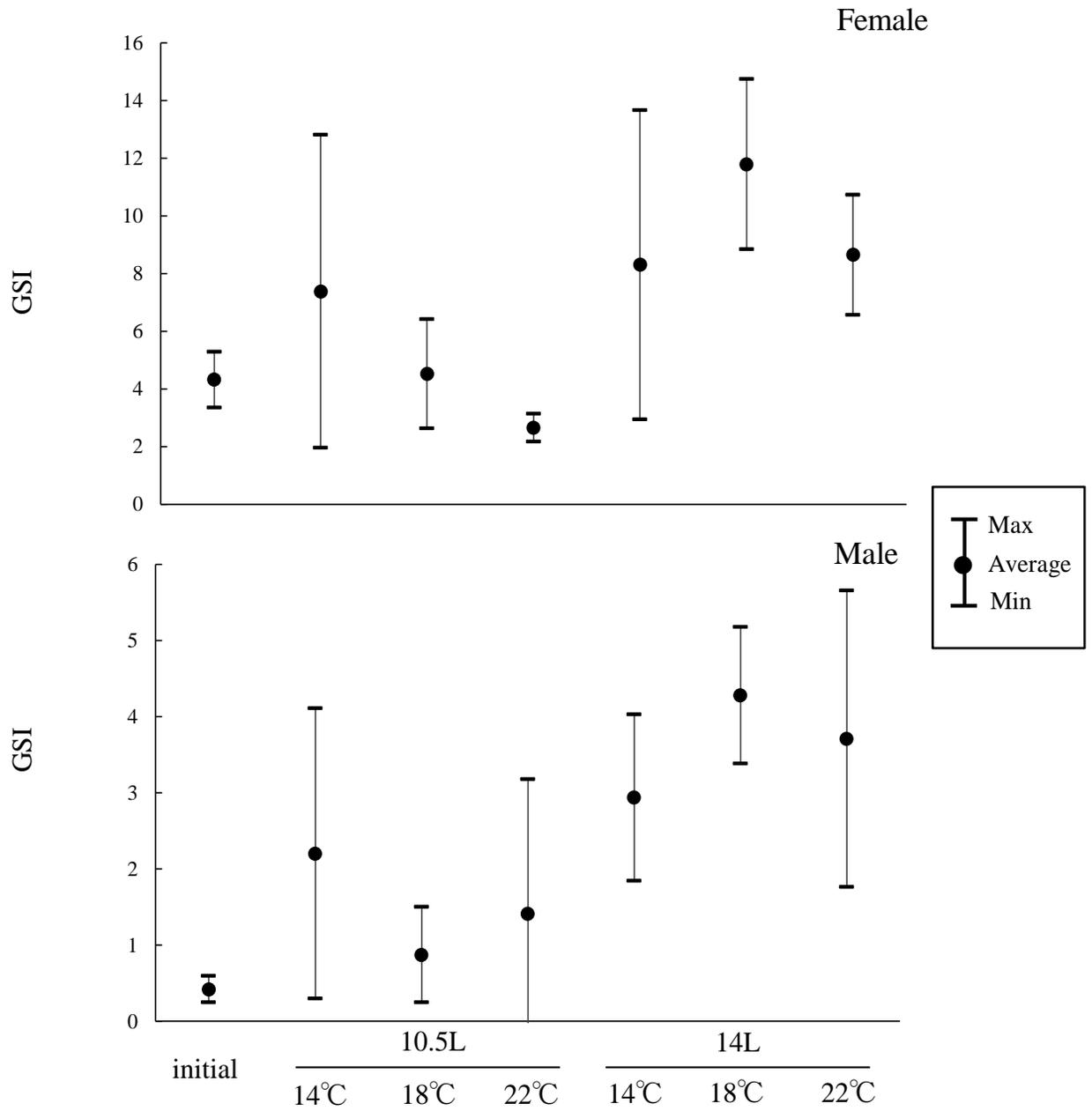


Fig. 21. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from February 1, 2015.

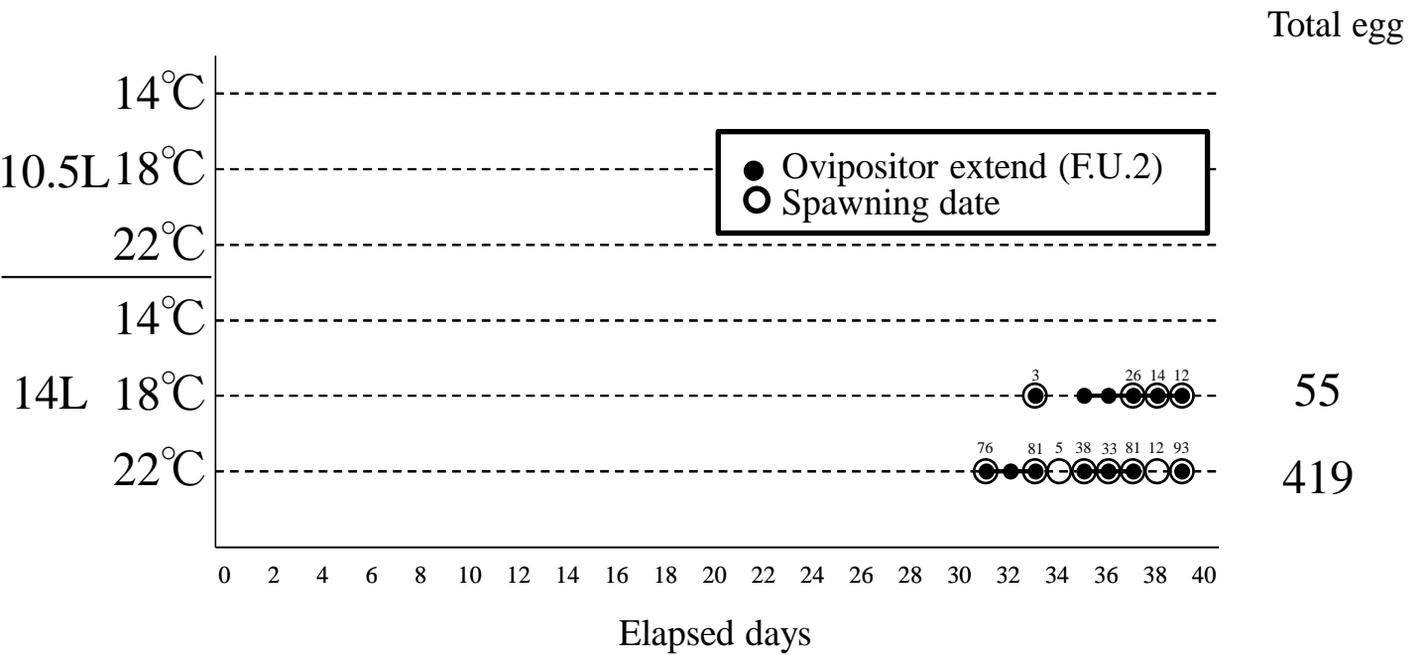


Fig. 22. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

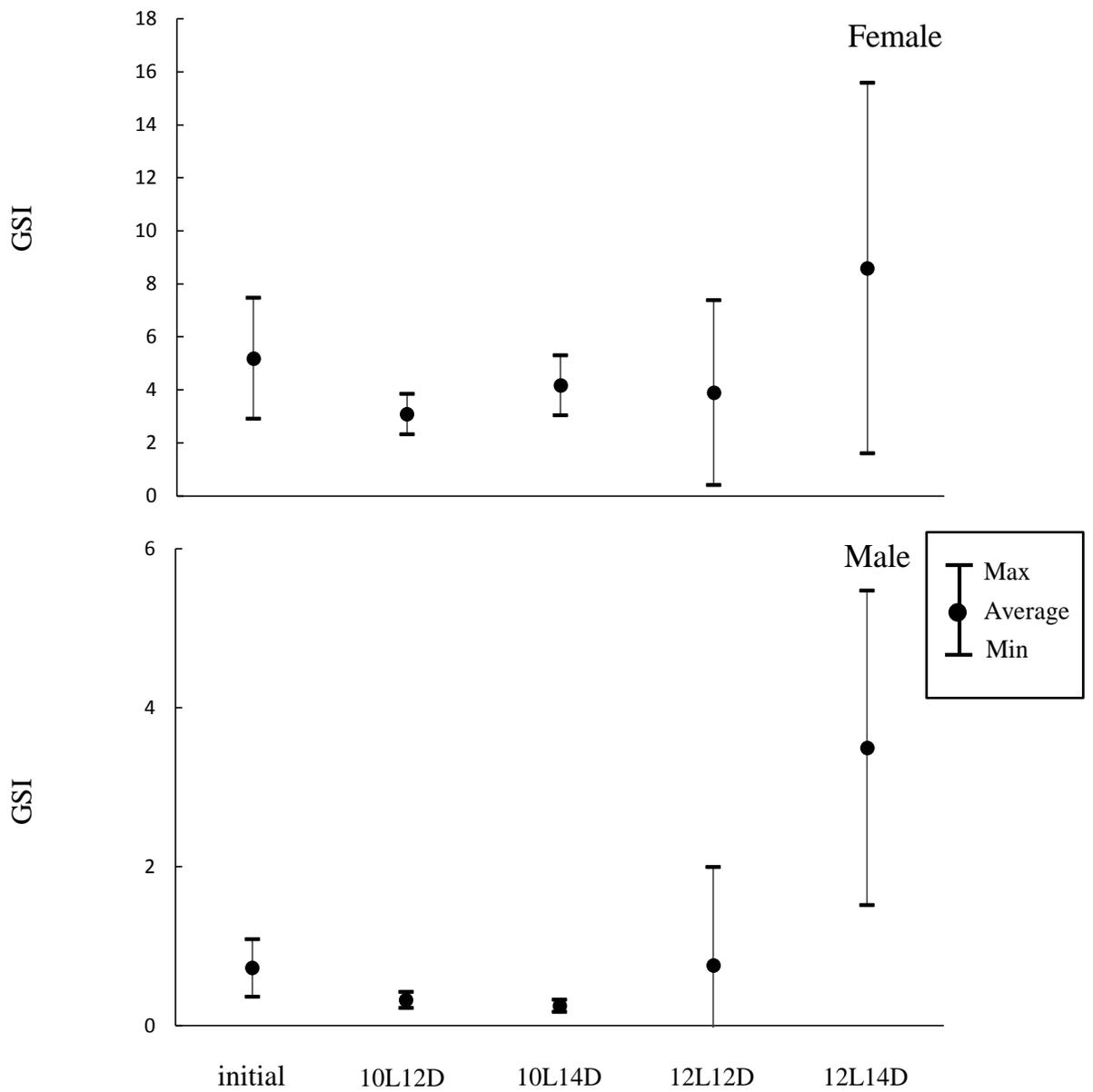


Fig. 23. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under different photoperiod in the experiment conducted from winter solstice, 2014.

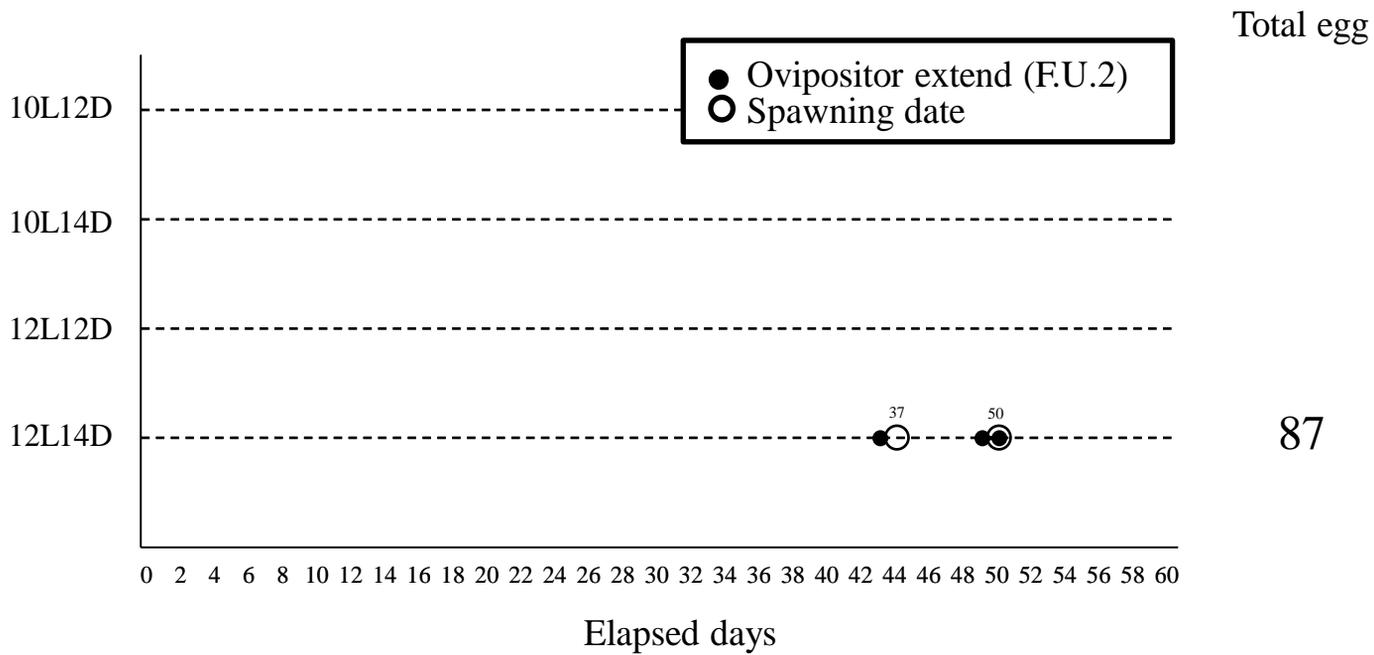


Fig. 24. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

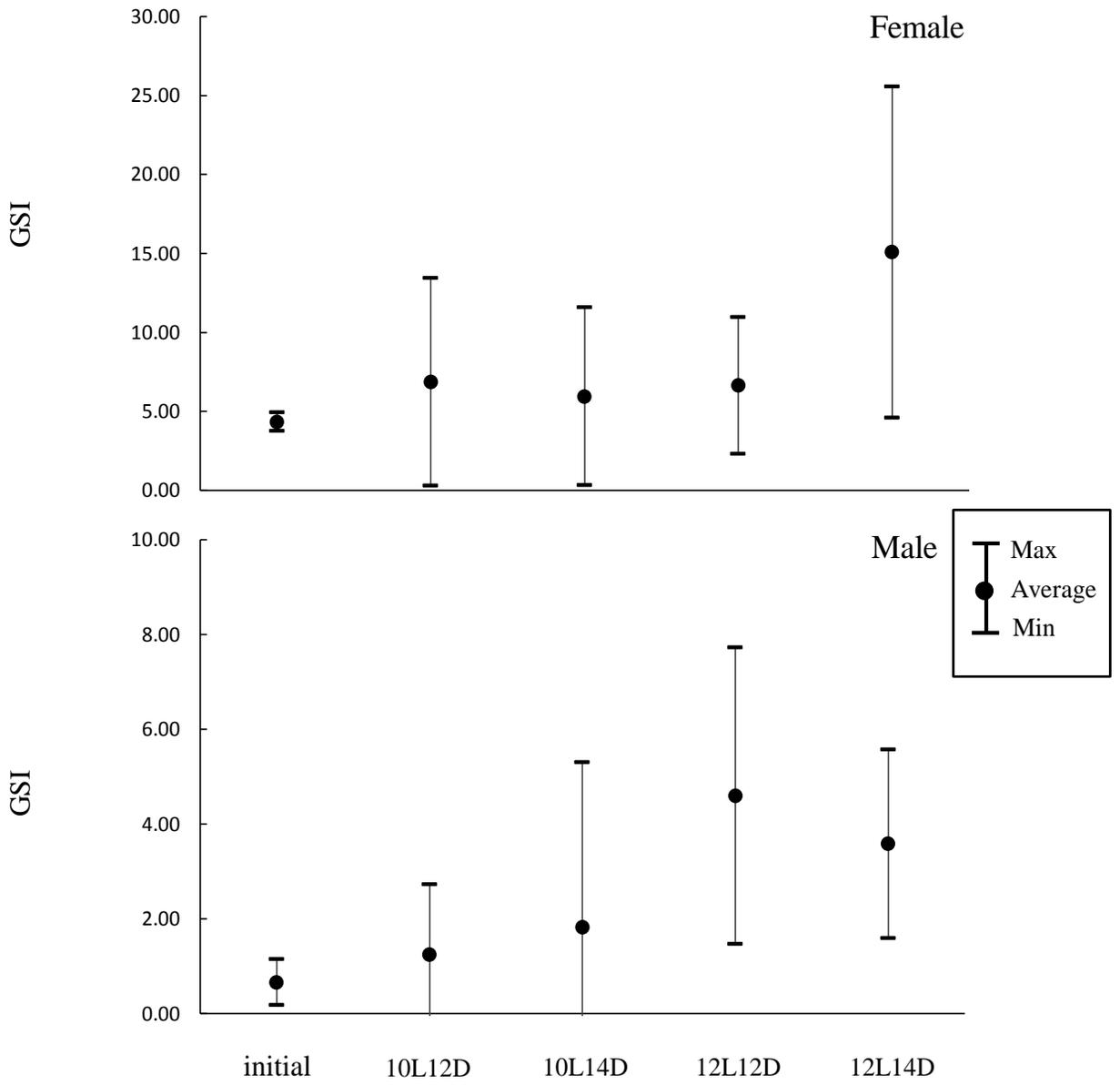


Fig. 25. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under different photoperiod in the experiment conducted from winter solstice, 2015.

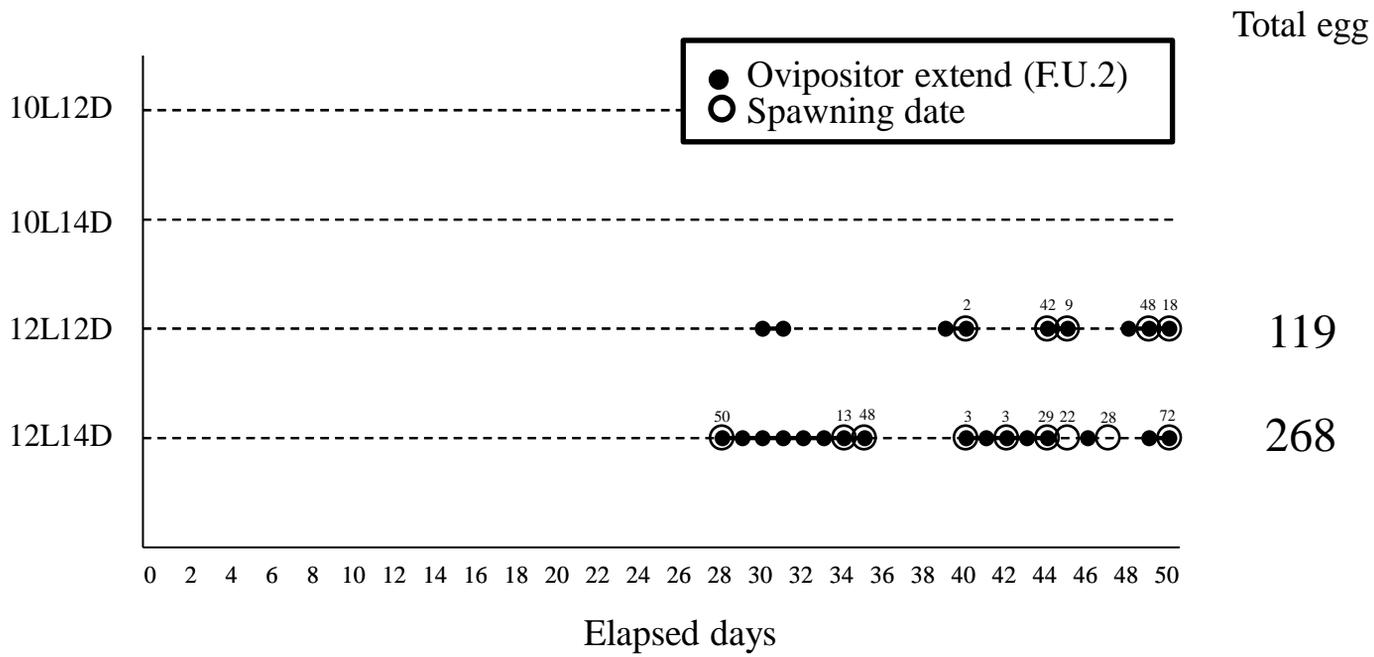


Fig. 26. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

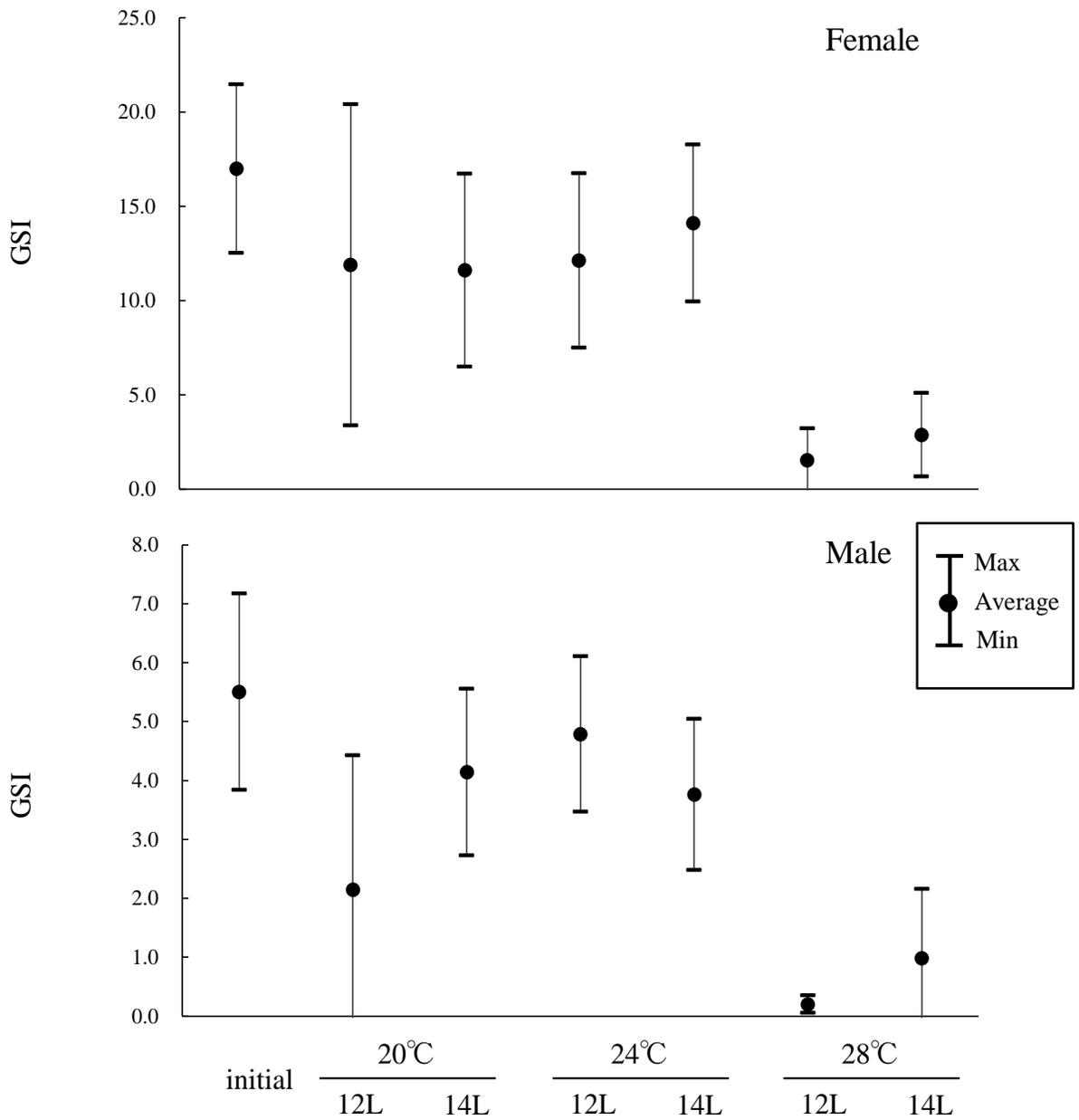


Fig. 27. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from May 10, 2012.

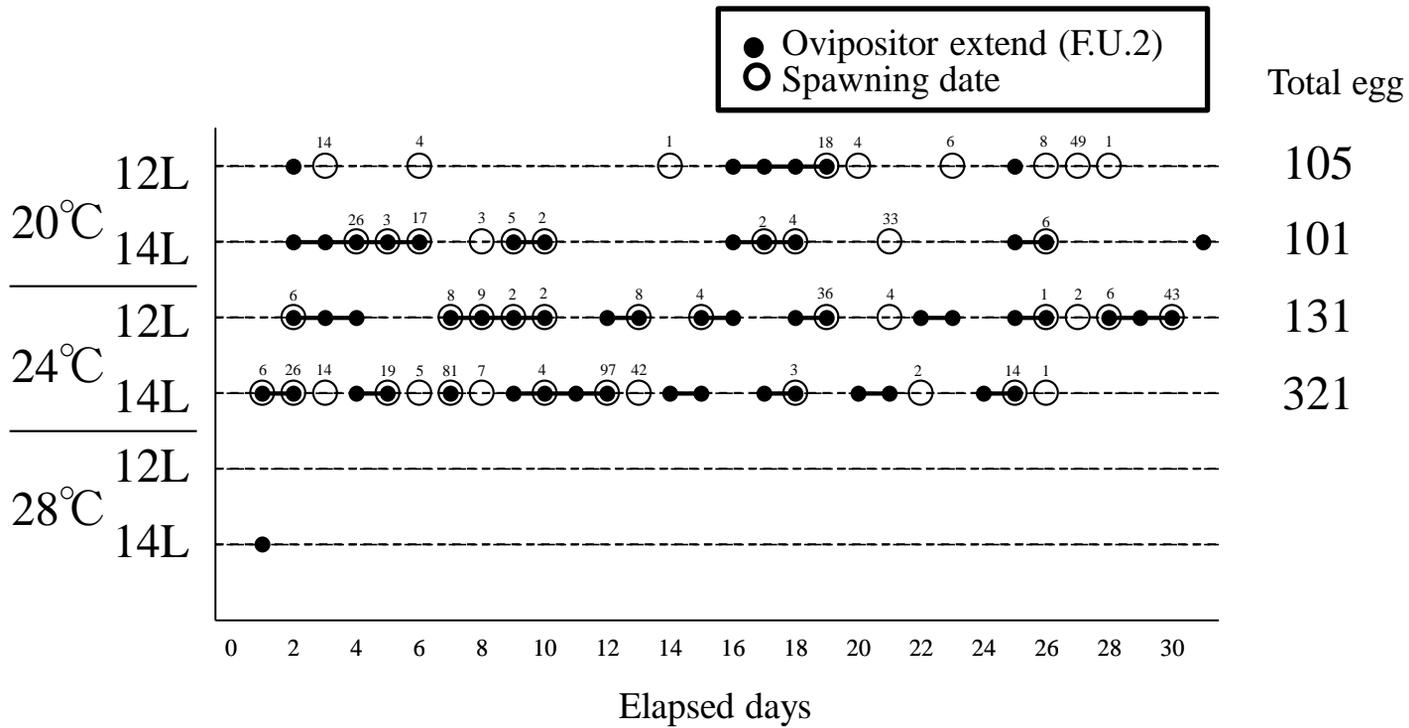


Fig. 28. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

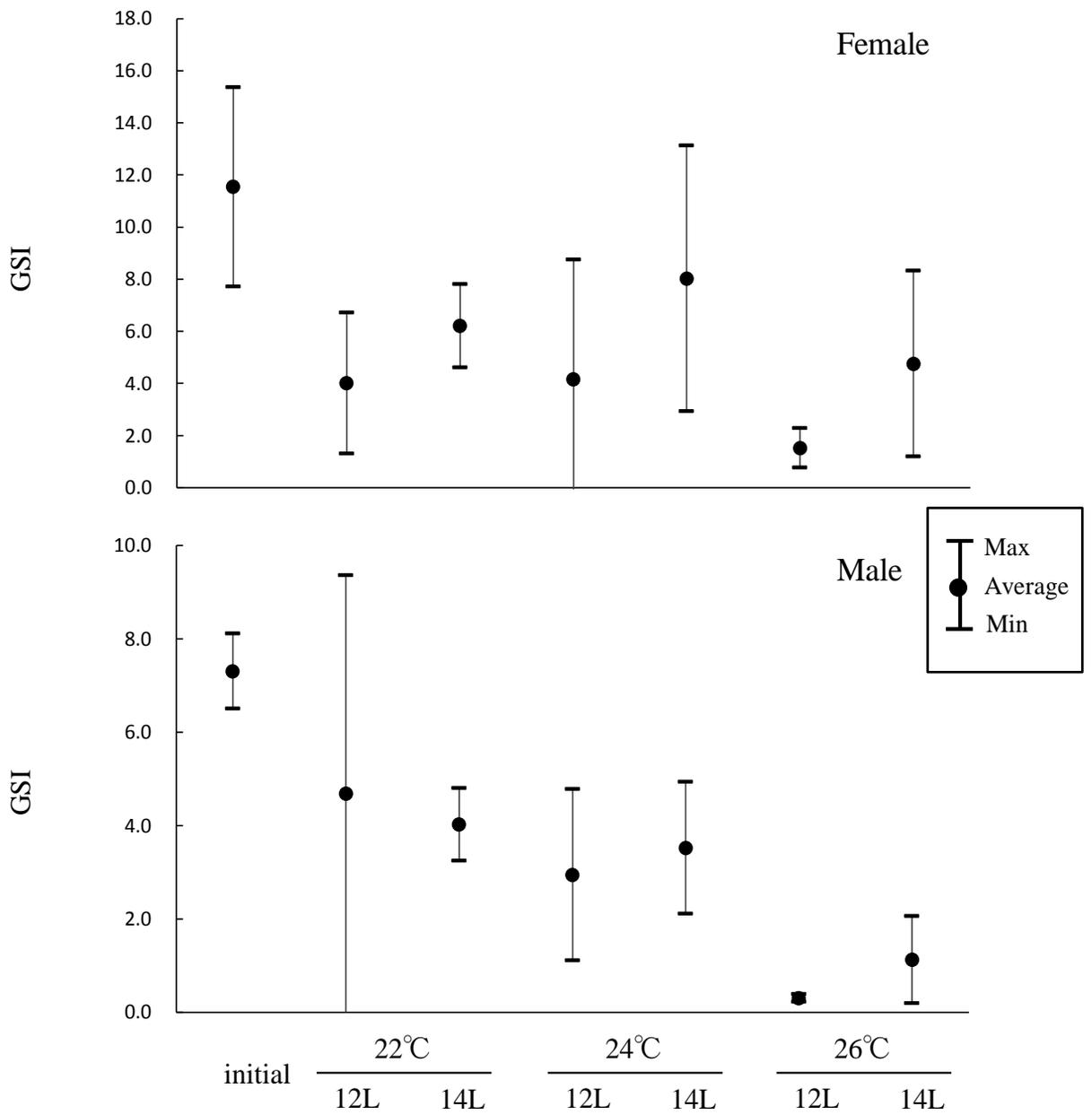


Fig. 29. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from May 10, 2013.

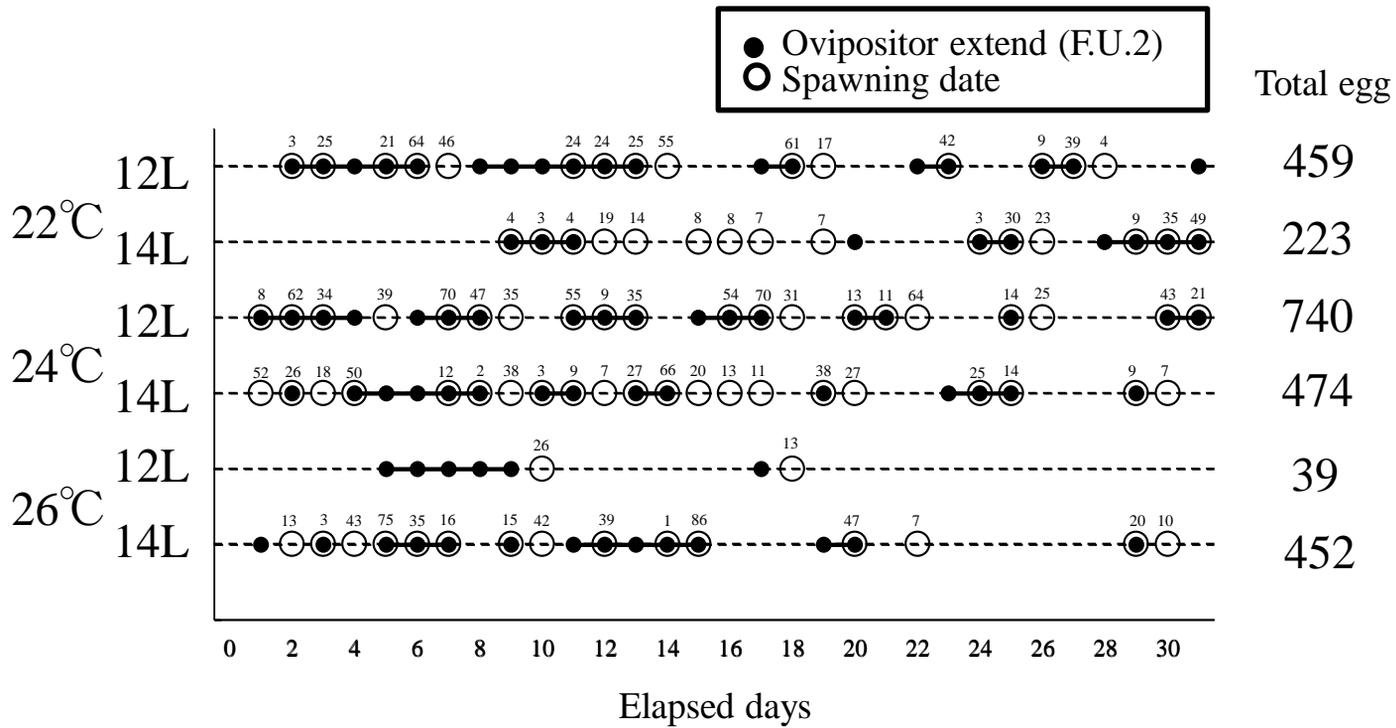


Fig. 30. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

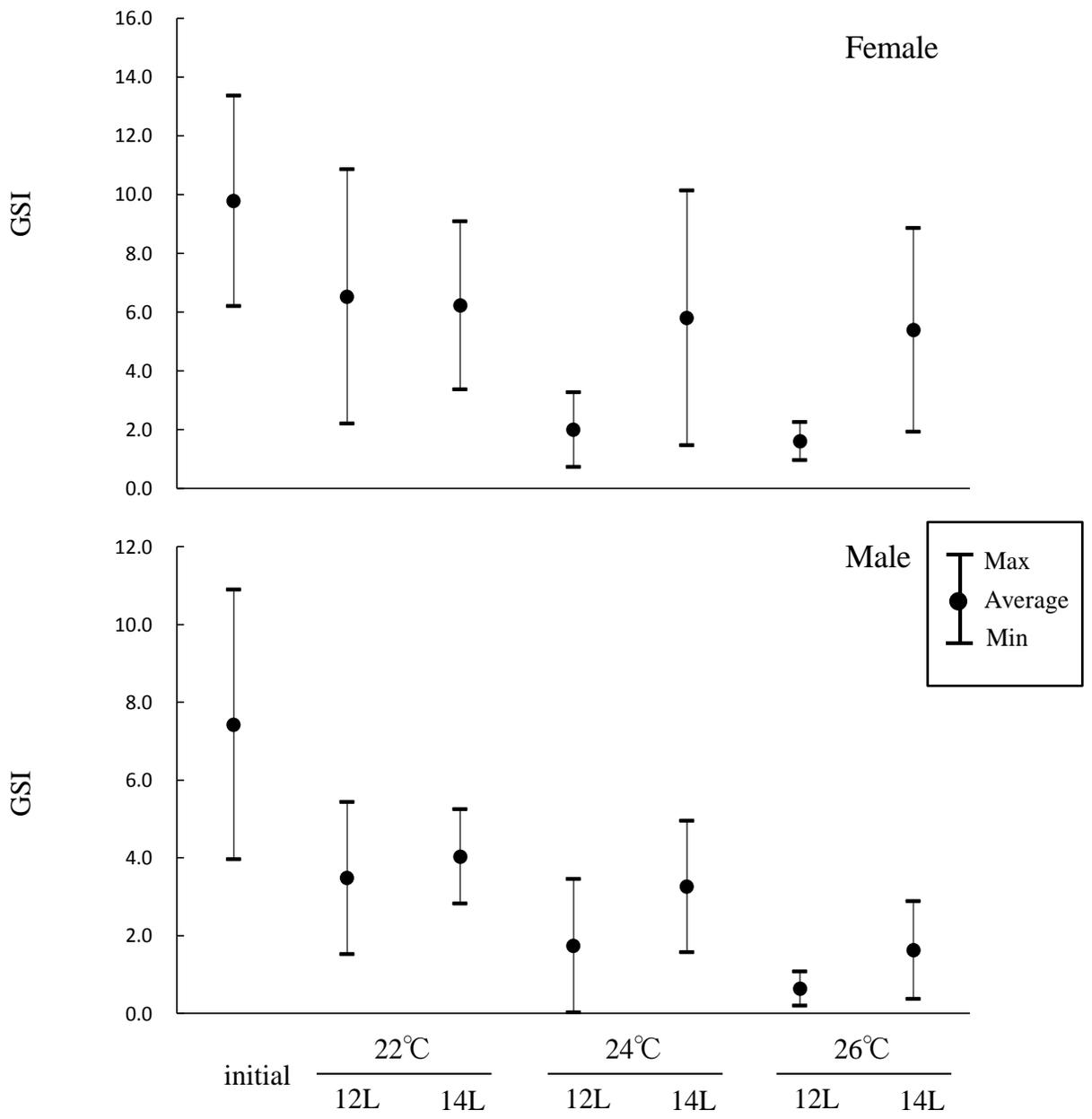


Fig. 31. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from May 10, 2014.

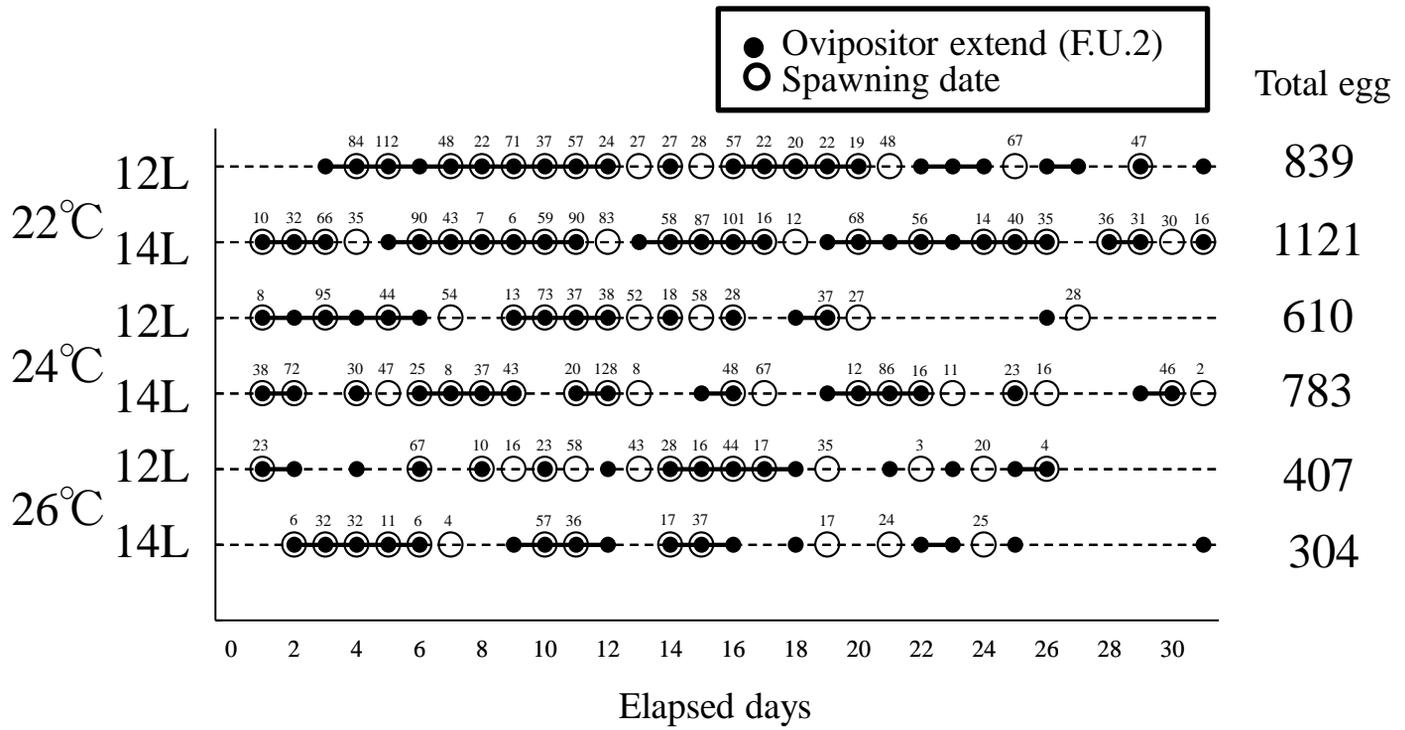


Fig. 32. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

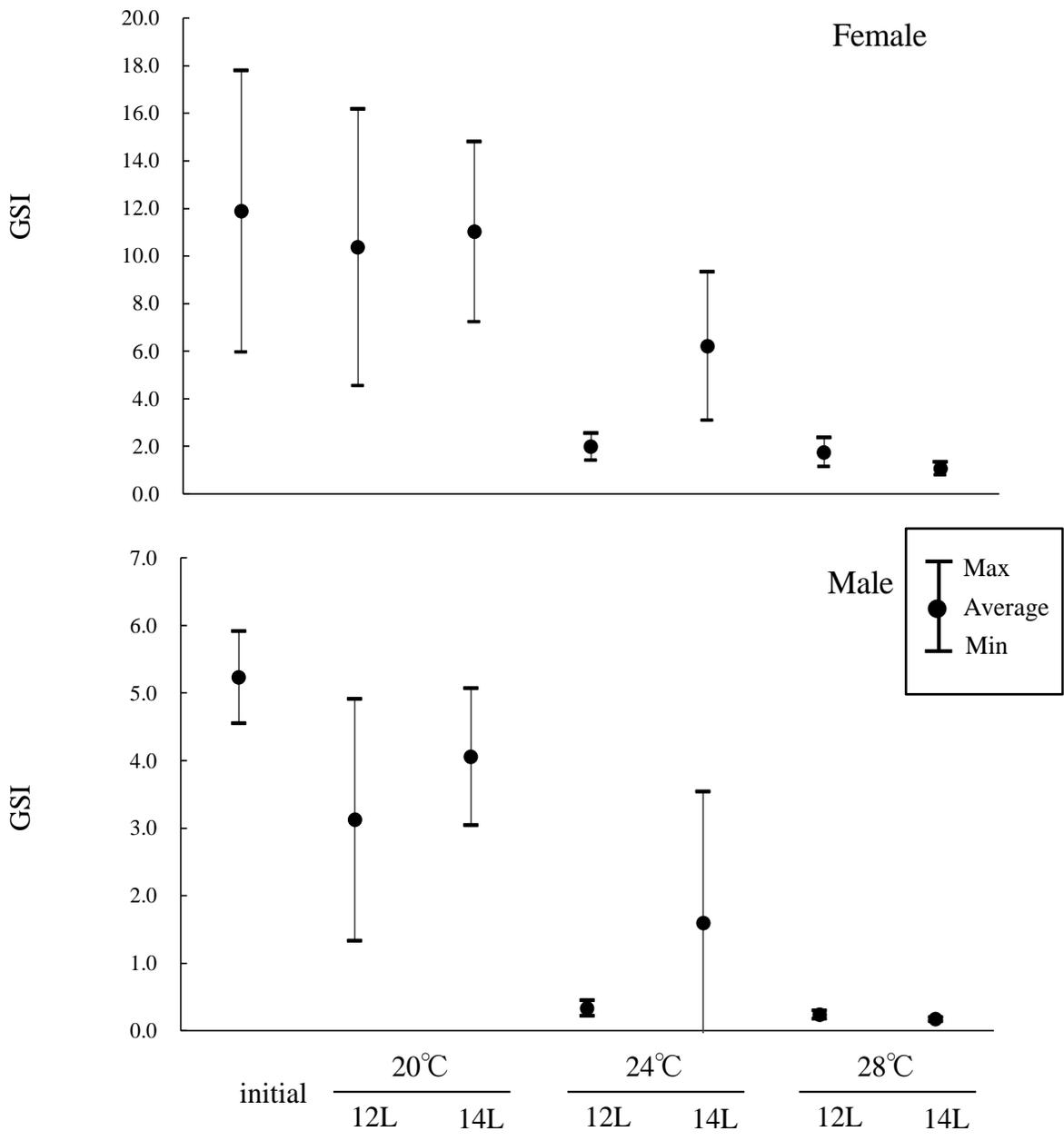


Fig. 33. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from summer solstice, 2012.

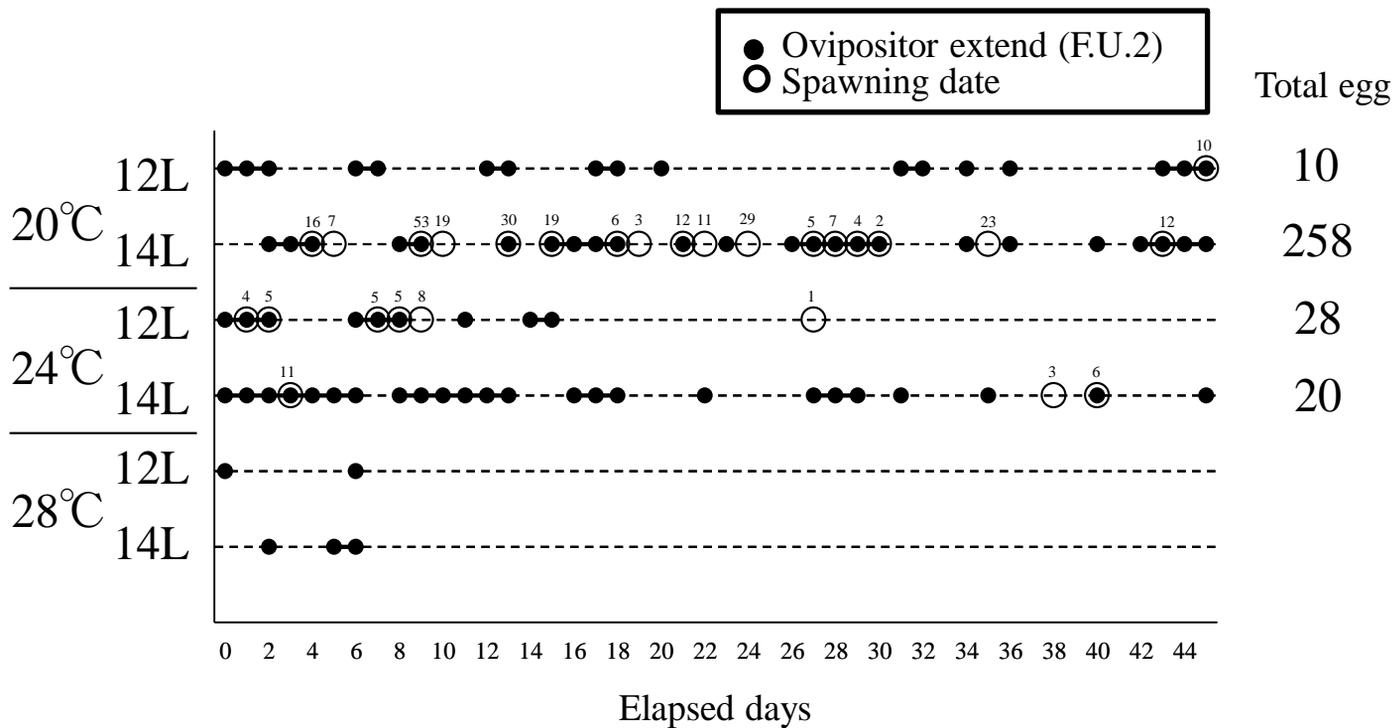


Fig. 34. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

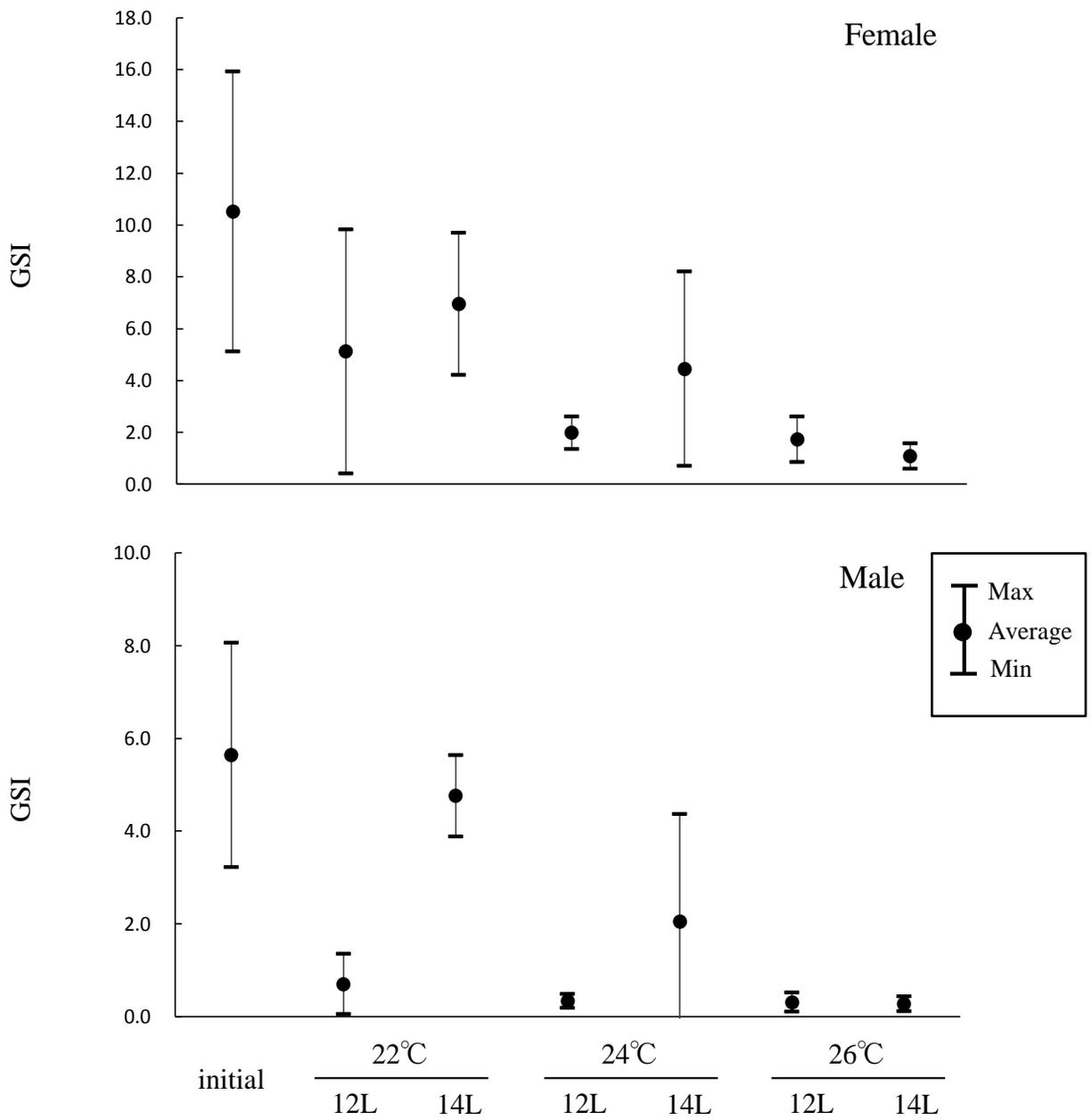
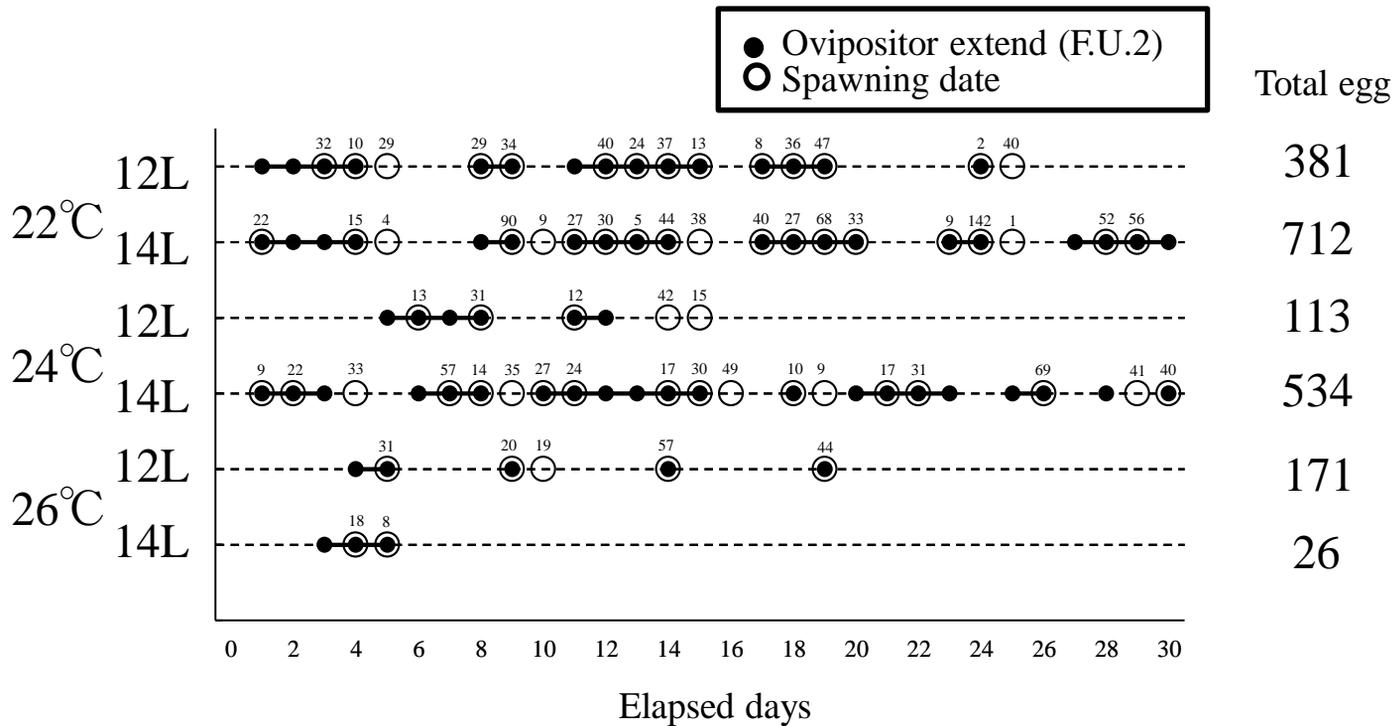


Fig. 35. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from summer solstice, 2013.



Total egg

381

712

113

534

171

26

Fig. 36. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

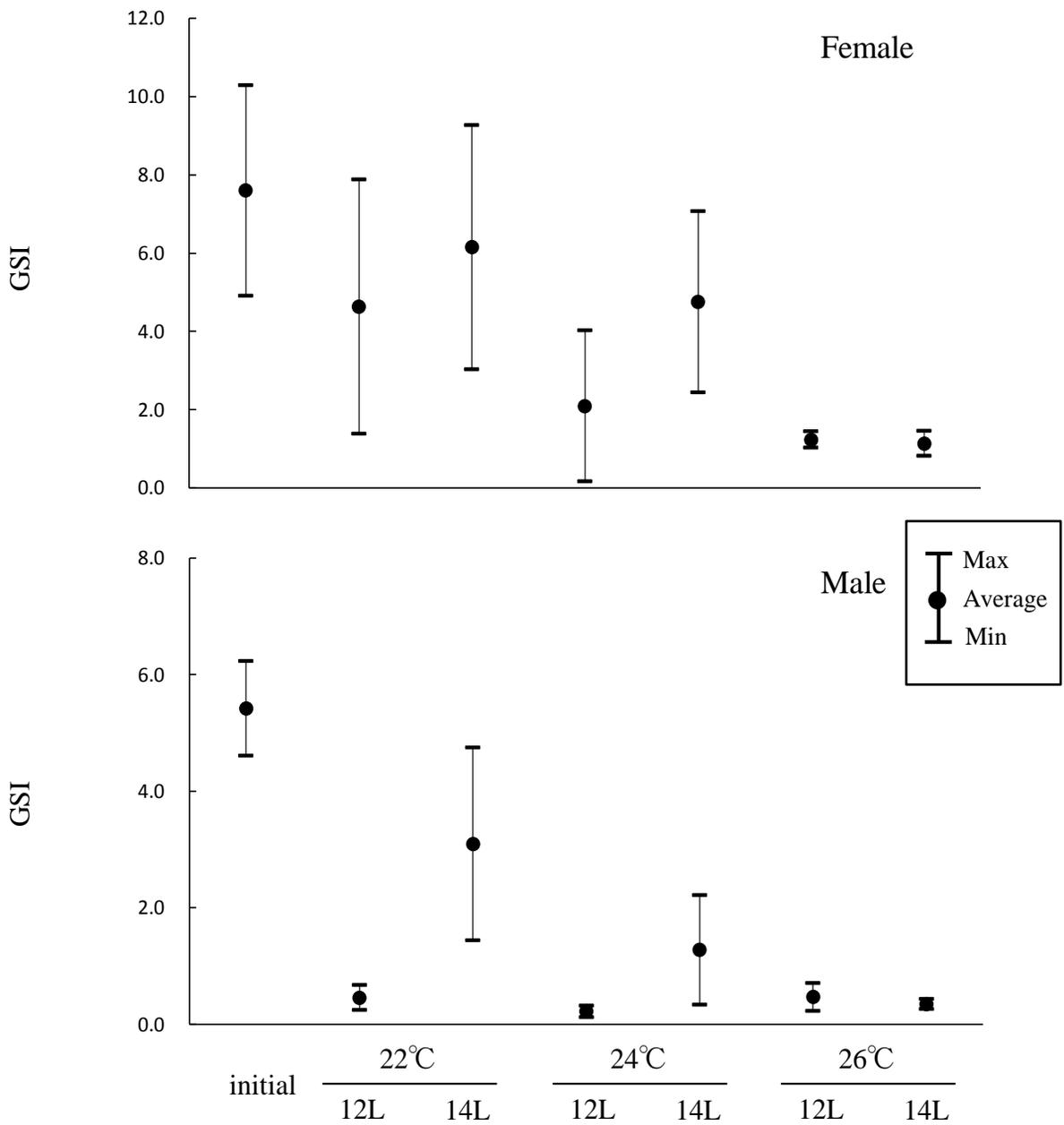


Fig. 37. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under various photoperiod and water temperature in the experiment conducted from summer solstice, 2014.

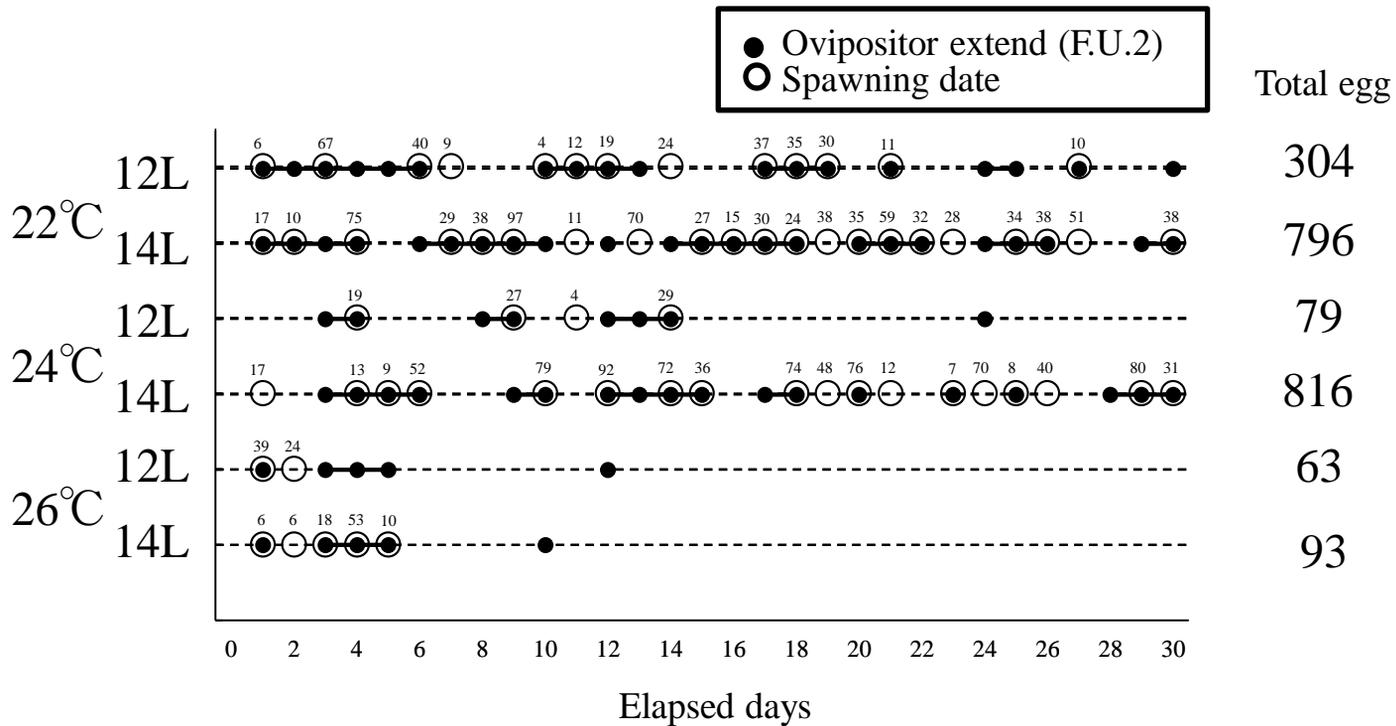


Fig. 38. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

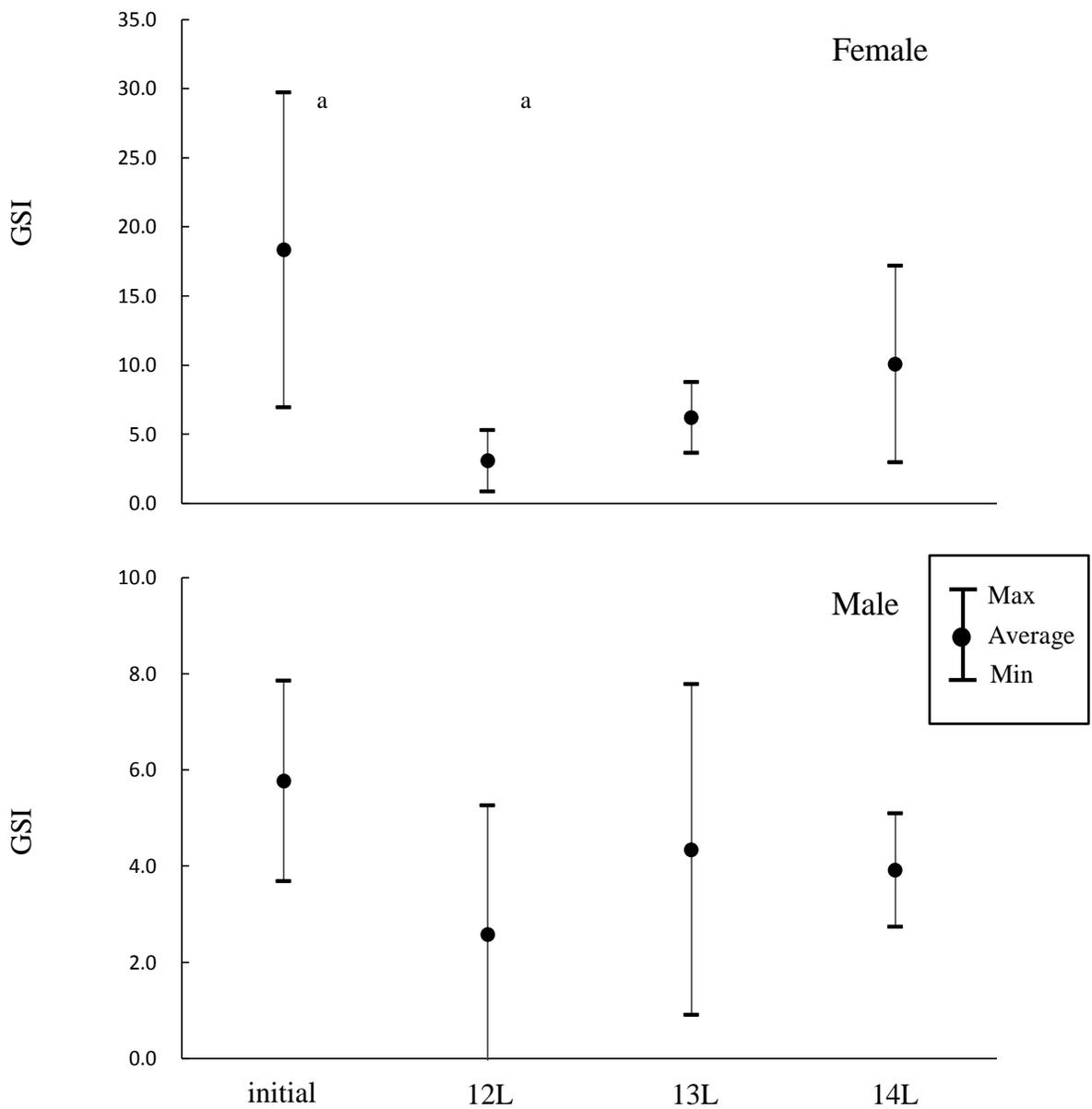


Fig. 39. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under different photoperiod in the experiment conducted from May 1, 2013. Values with the same letter are not significantly different (Steel-Dwass;  $p > 0.05$ ).

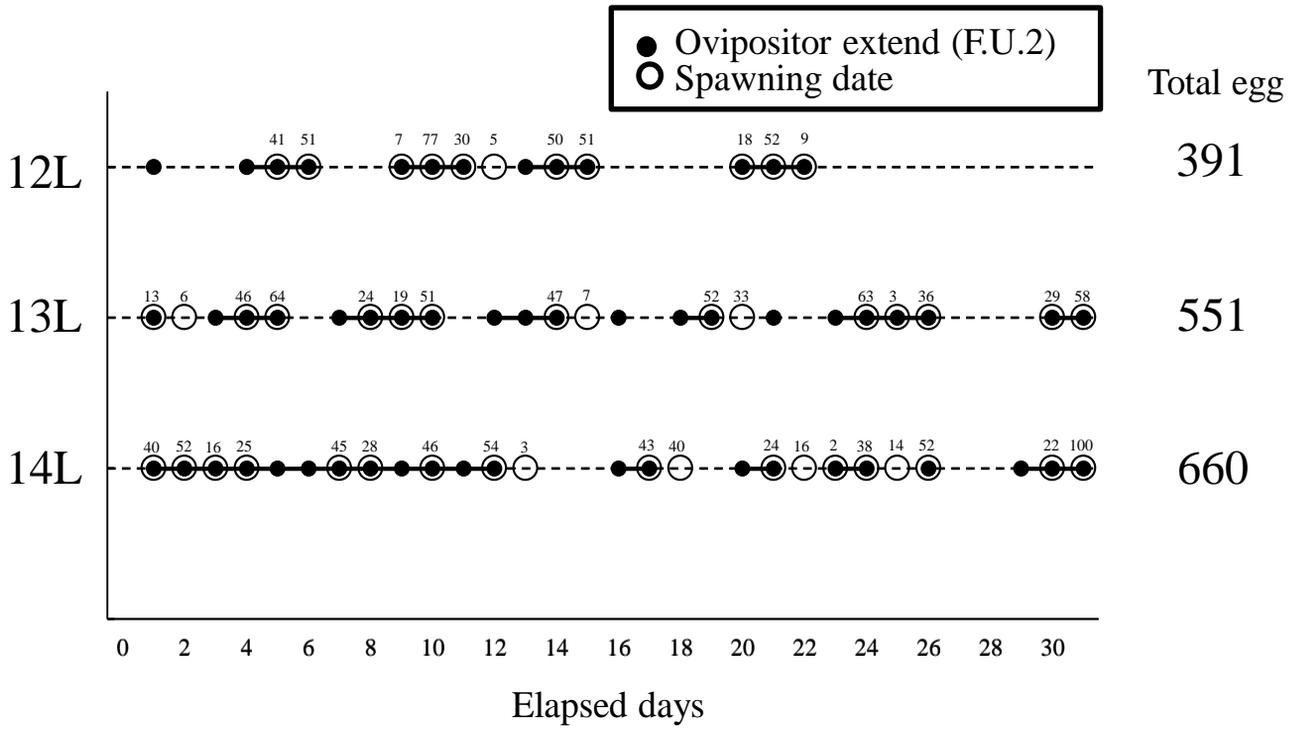


Fig. 40. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

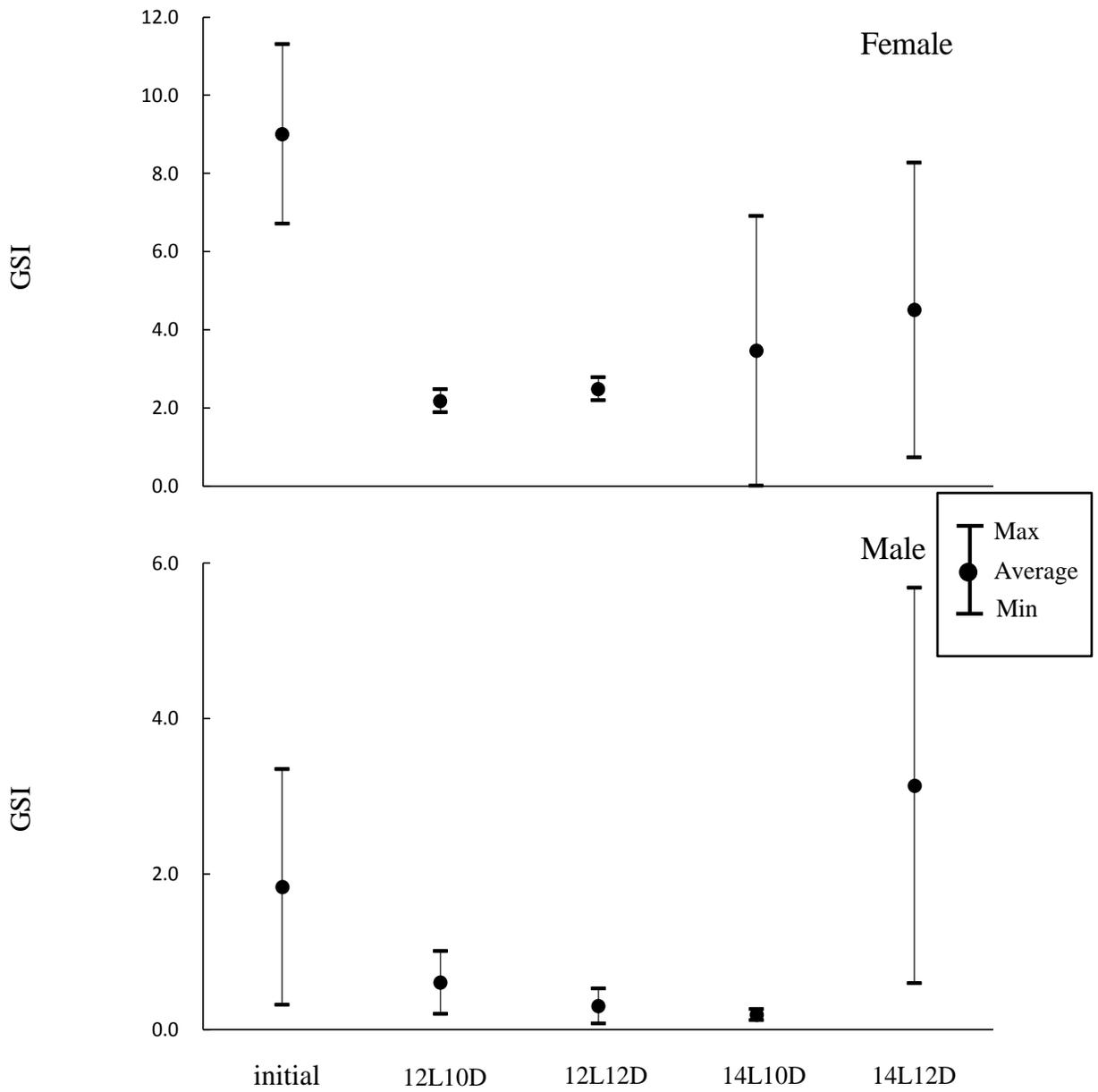


Fig. 41. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under different photoperiod in the experiment conducted from summer solstice, 2015.

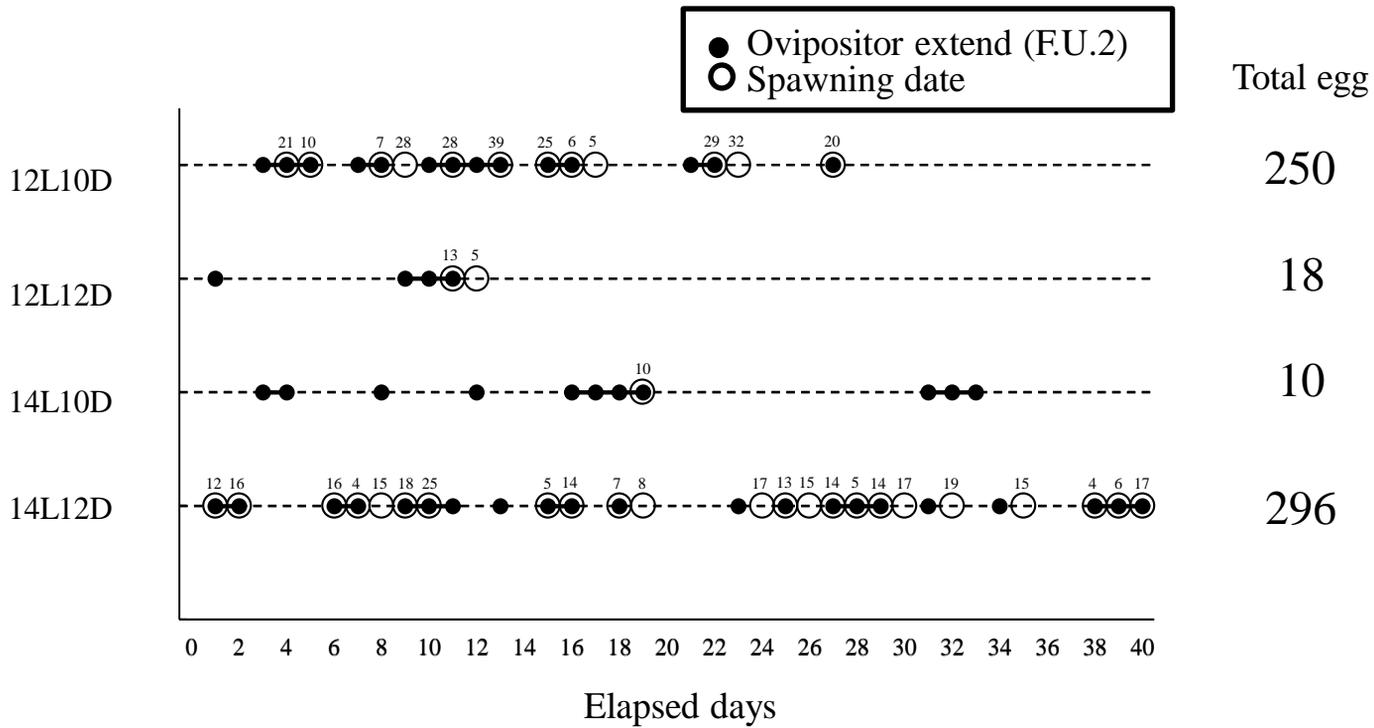


Fig. 42. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

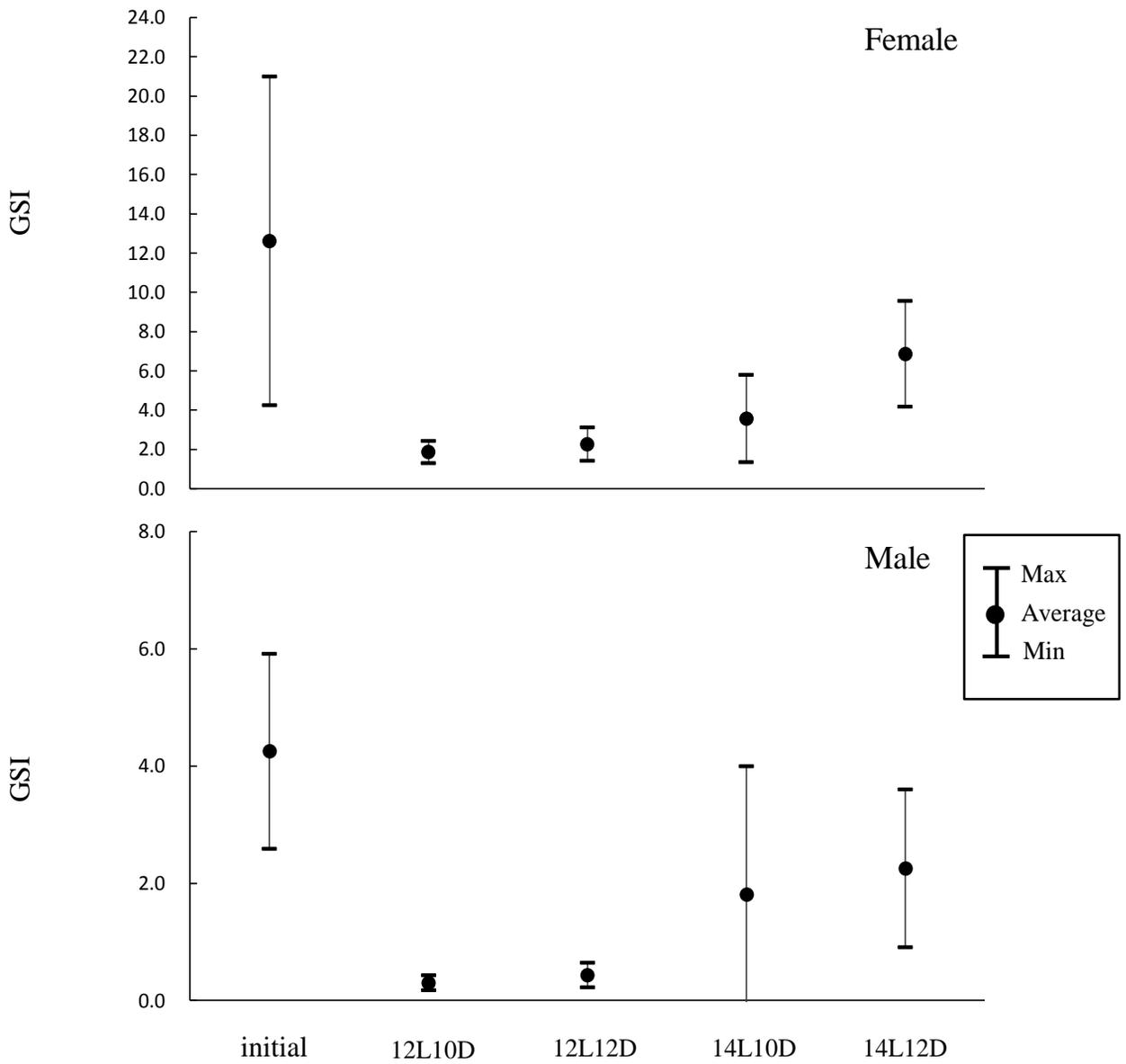


Fig. 43. Changes in GSI of *Acheilognathus melanogaster* under different photoperiod in the experiment conducted from winter solstice, 2016.

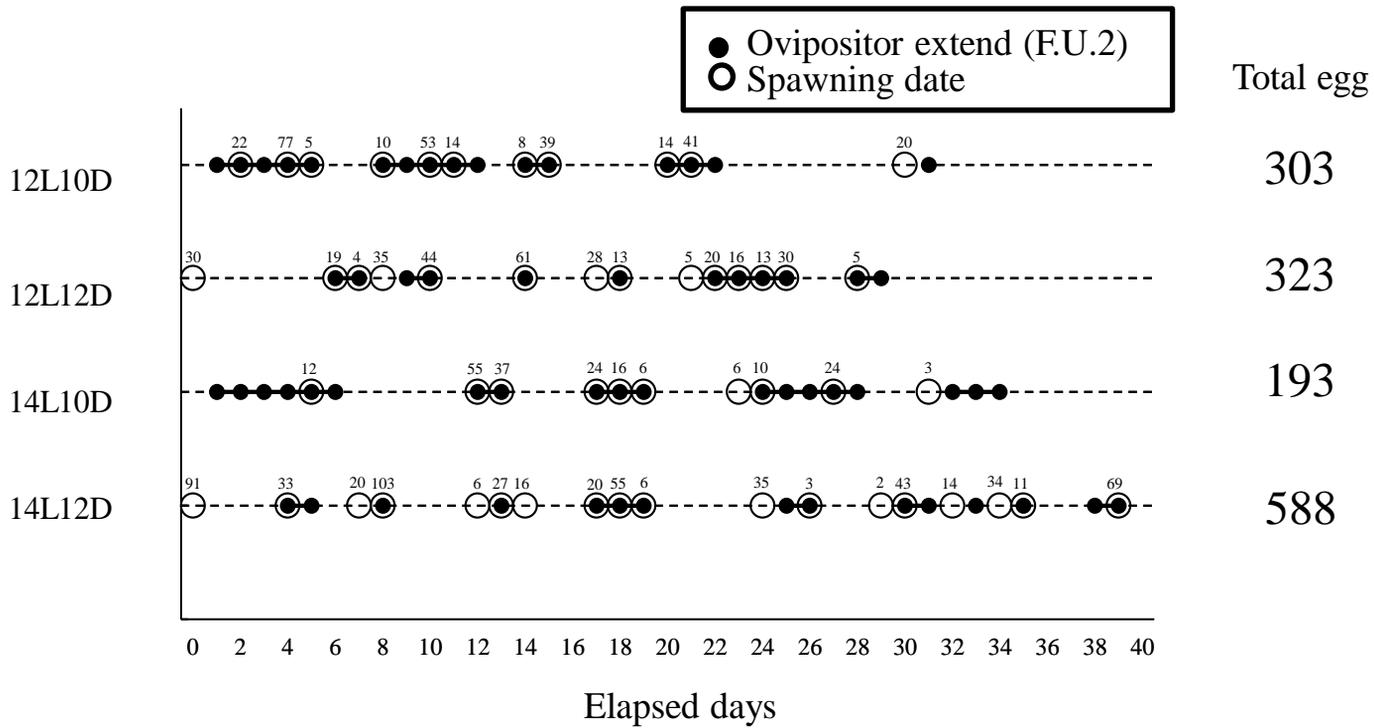


Fig. 44. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. and spawning was found. Numerical number indicates the number of eggs laid.

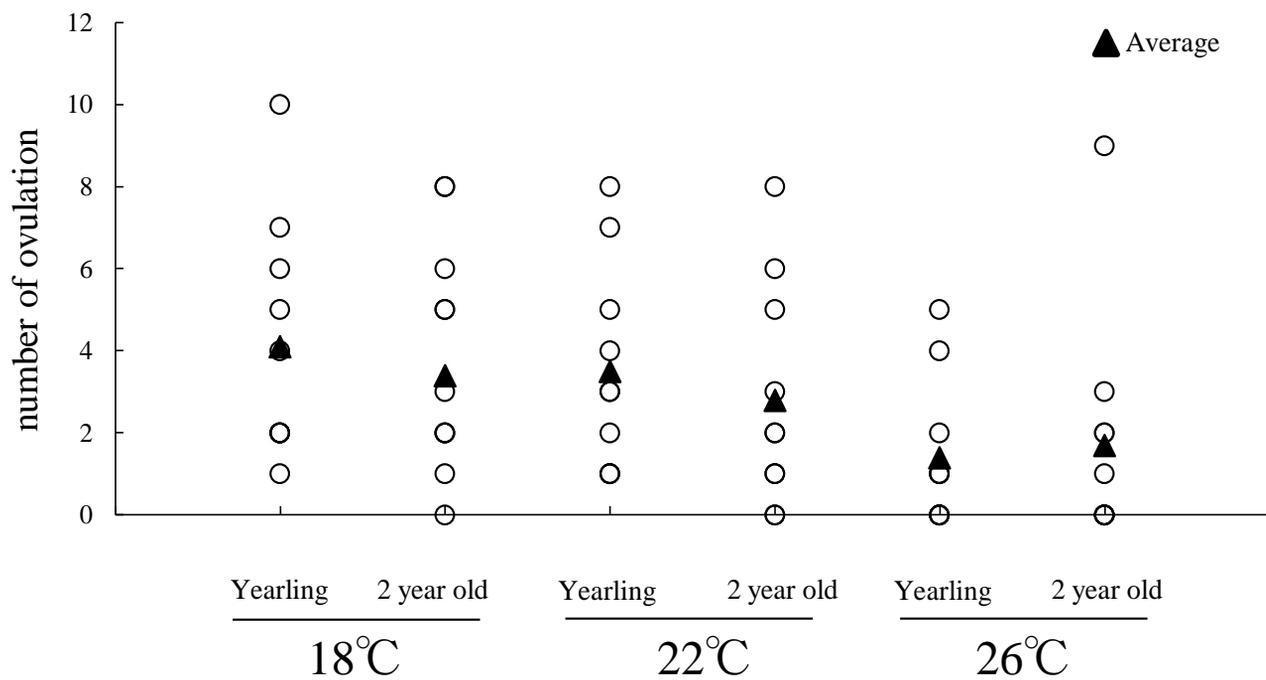


Fig. 45. Number of ovulation in yearling and 2-year-old *Acheilognathus melanogaster*.

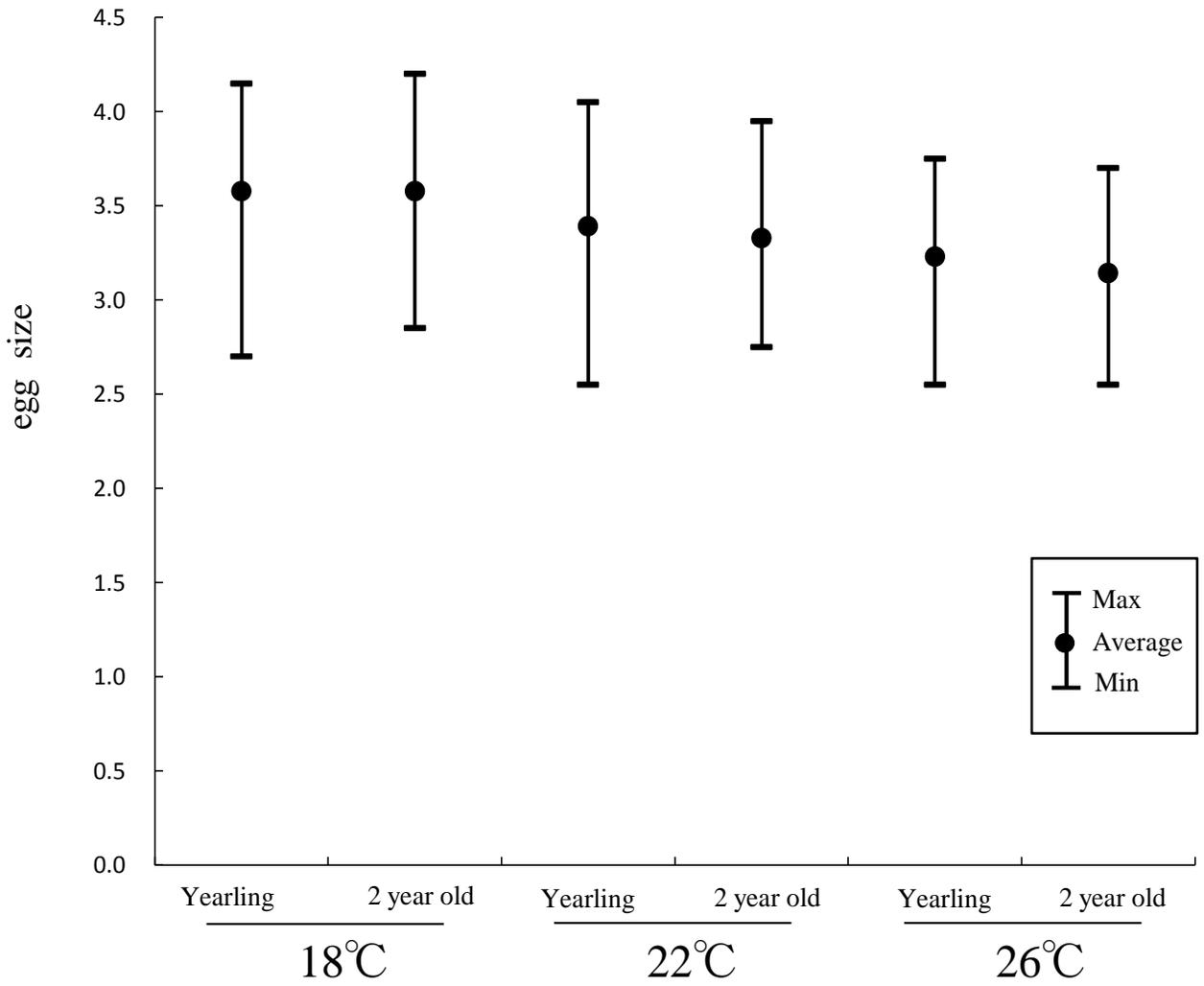


Fig. 46. Egg diameter in each water temperature.

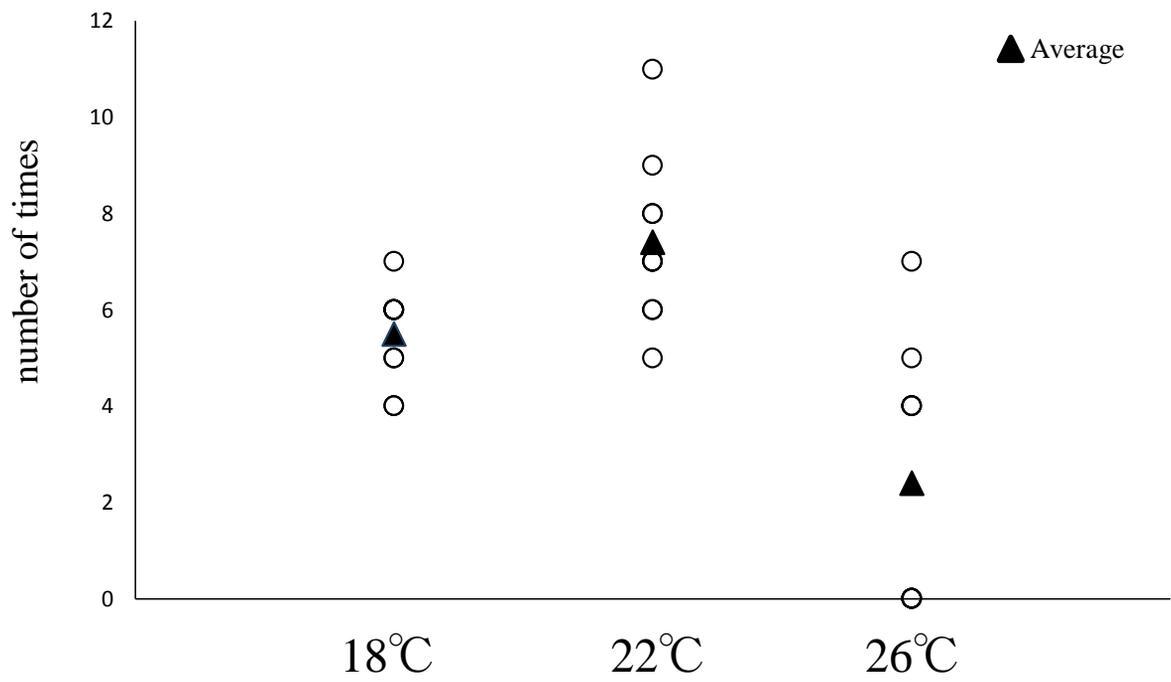


Fig. 47. Number of times ovipositor extend during the experiment.

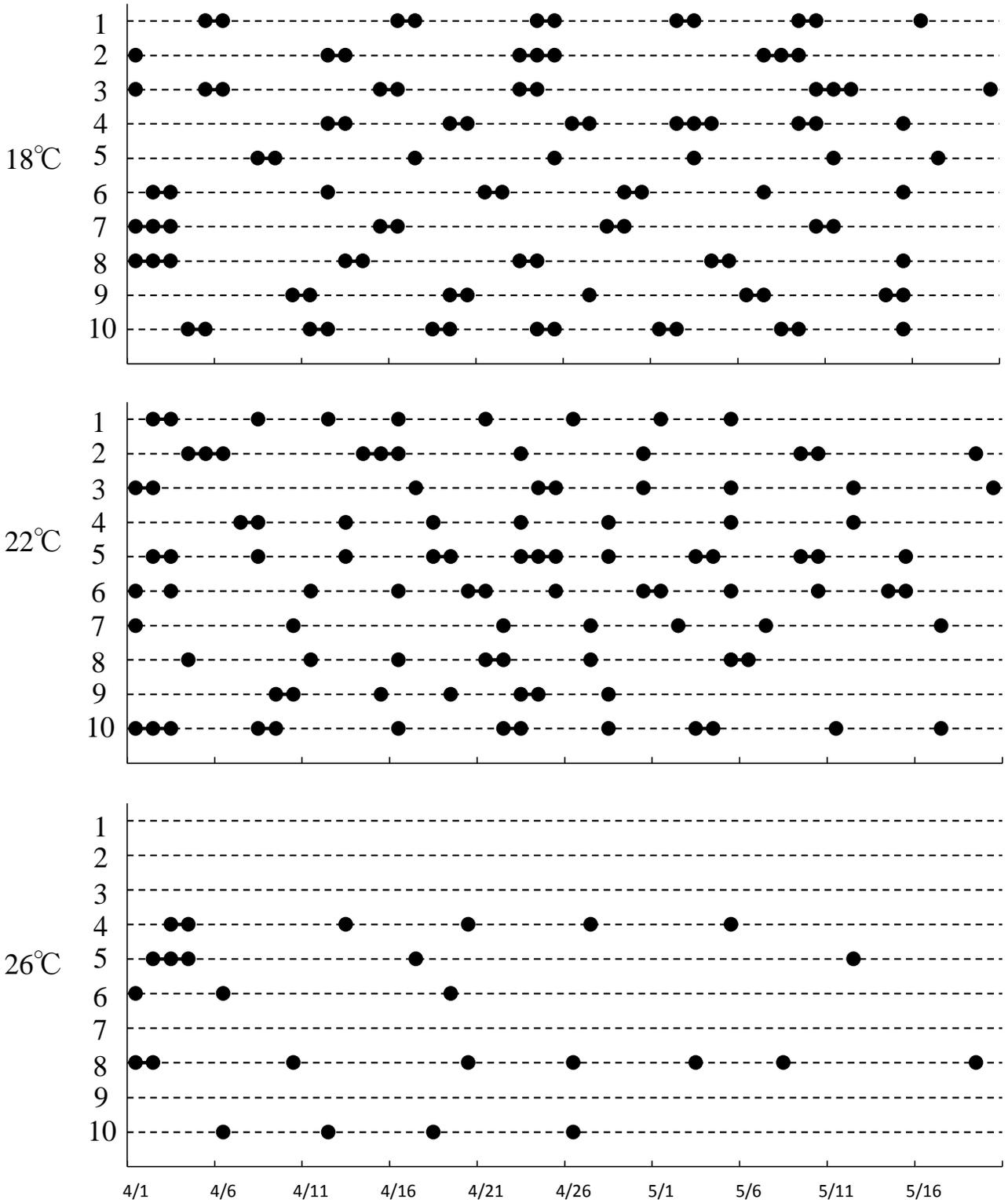


Fig. 48. Days when ovipositor length extends beyond 2.0F.U. (---, not extend; ●, extend; —, continuously extend).

Table 1. Seasonal changes in testicular and ovarian maturity stages of *Acheilognathus melanogaster*.

Gonad developmental stage/day		Jun. 29	Jul. 27	Aug. 27	Sept. 28	Oct. 26	Nov. 25	Dec. 26	Jun. 26	Feb. 26	Mar. 28	Apr. 27	May. 26	Jun. 26	Jul. 26	Aug. 27	Sept. 30
Male	Late spawning phase										4	1	3	8	2		
	Early spawning phase				3	1	2		2	2	2	6	4	2	2		
	Late prespawning phase		2	2	1	3	5	6	4	4	2	1	1				2
	Early prespawning phase	5	7	8	6	5	2	4	1	4	2	2	1		4	5	8
	Postspawning phase	5	1			1	1		3				1		2	5	
Female	Late spawning phase									2	4		4	2			
	Early spawning phase					1	1	1	2	1	4	6	6	8			
	Prespawning phase	1	3	6	5	5	8	6	5	3	1	1			2	1	2
	Postspawning phase	9	7	4	4	3	1	3	3	3	1	2			6	9	8

Table 2. Seasonal changes in testicular and ovarian maturity stages of *Acheilognathus melanogaster*.

Gonad developmental stage/day	Mar. 27	Apr. 28	May. 29	Jun. 28	Jul. 27	Aug. 23	Sept. 28	Oct. 29	Nov. 27	Dec. 28	Jan. 28	Feb. 26	Mar. 25	Apr. 27	May. 25	Jun. 28	Jul. 26	Aug. 27	
Late spawning phase	6	8	7	10	7								6	9	9	5	5	2	
Early spawning phase	3	2	3										4	1	1	5	2		
Male Late prespawning phase	1							6	7	8	7	6						1	
Early prespawning phase					1	5	9	4	1	1	3	3						2	2
Postspawning phase					2	5	1		2	1		1							6
Late spawning phase	6	5	4	3	1								3	4	6	5	5		
Early spawning phase	3	5	6	6	9				4	4			7	6	3	5	5		
Female Prespawning phase	1						4	5	4	5	8	10							2
Postspawning phase				1		9	5	4	2	1	1				1				8

Table 3. Photoperiod and water temperature in each experiment and initial control.

experimental period		2011.10.10~ 2011.12.11	2011.12.22~ 2012.2.22	2013.9.23~ 2013.11.12	2013.12.22~ 2014.2.10	2016.2.1~ 2016.3.13
initial control	photoperiod	11.5L	10L	12L	10L	10.5L
	temperature	20.1°C	19.2°C	22.2°C	17.0°C	13.9°C
experimental condition	photoperiod	9, 12, 15L	9, 12, 15L	12, 14, 15L	9, 11, 12L	10.5, 14L
	temperature	14, 18, 22°C	14, 18, 22°C	16, 18°C	16, 18°C	14, 18, 22°C

Table 4. The numbers of male and females in each maturational stage under different environmental conditions.

		2011.10.10~12.11										2011.12.22~2012.2.22														
		Initial			9L			12L			15L			Initial			9L			12L			15L			
		control	14°C	18°C	22°C	14°C	18°C	22°C	14°C	18°C	22°C	control	14°C	18°C	22°C	14°C	18°C	22°C	14°C	18°C	22°C	control	14°C	18°C	22°C	
Female	Late spawning phase							2	4	4	4				1	3	3	3	4	4	3					
	Early spawning phase		8	3		3	1	3	3	6	6	1	2	1			1	2	1	1	1	2				
	Prespawning phase	6	2	6	9	4	6	3	2			2	3	4	1	2										
	Postspawning phase	4		1	1	3	3	2	1			2			3		1									
	SL(Ave±SD)mm	68.9±2.5	62.2±6.4	64.2±4.4	64.9±5.1	61.9±3.6	65.3±6.0	66.0±4.0	62.0±6.6	63.6±6.4	61.9±3.2	69.7±4.3	67.5±5.5	69.7±5.4	67.7±6.8	69.8±3.6	67.5±7.5	65.4±7.7	68.2±7.9	65.3±6.8	69.4±9.0					
Male	Late spawning phase							2	3	4	8					1	4			3	2					
	Early spawning phase	1	1			1	1	2	4	6	2		1	1		2	1	1	4	2	3					
	Late prespawning phase	1	2						2										1							
	Early prespawning phase	6	6	5	1	4	1		1			2	2	3	3	3	2									
	Postspawning phase	2	1	5	9	5	8	6				3	2	1	2		1									
SL(Ave±SD)mm	74.8±6.3	74.1±5.5	74.7±5.0	78.2±3.3	78.9±4.6	72.1±5.0	76.4±6.2	74.5±8.3	78.8±5.9	78.1±9.2	68.6±10.7	76.0±7.7	75.5±12.1	76.6±9.4	80.3±8.0	77.2±6.5	68.6±8.9	79.4±7.4	75.8±11.2	69.7±7.9						

Table 5. The numbers of male and females in each maturational stage under different environmental conditions.

		2013.9.23~11.12						2013.12.22~2014.2.10							
		12L		14L		15L		9L		11L		12L			
		Initial	16°C	18°C	16°C	18°C	16°C	18°C	Initial	16°C	18°C	16°C	18°C		
		control	16°C	18°C	16°C	18°C	16°C	18°C	control	16°C	18°C	16°C	18°C		
Female	Late spawning phase				4	2	3	3				1	2	2	
	Early spawning phase				1	1	2	2	1	1		1	2	2	
	Prespawning phase	1	2	4		1			3	2	4	2	4	1	1
	Postspawning phase	4	3	1		1			1	2			1		
	SL(Ave±SD)mm	58.0±2.3	56.1±2.3	59.8±3.6	61.9±6.1	60.9±6.3	61.8±2.2	62.4±5.0	59.7±3.9	65.1±3.2	68.3±4.4	69.8±2.9	67.0±2.5	63.5±4.5	64.6±3.3
Male	Late spawning phase				3		1	3				1		2	
	Early spawning phase				1	1	2	2				1	1	2	1
	Late prespawning phase						2	1	3				1	1	1
	Early prespawning phase	2	4	4		1			2	5	4	2	3		3
	Postspawning phase	3	1	1	1	1	1				1	1			
	SL(Ave±SD)mm	63.9±4.1	61.6±3.9	64.7±2.5	63.3±6.0	69.5±3.2	66.5±5.4	69.1±3.4	65.8±6.1	69.1±7.0	76.7±5.4	68.3±8.1	67.2±3.0	69.8±5.6	74.1±8.3

Table 6. The numbers of male and females in each maturational stage under different environmental conditions.

		Initial control	14°C	10.5L 18°C	22°C	14°C	14L 18°C	22°C
Female	Late spawning phase					1	4	3
	Early spawning phase		2	1		3	1	2
	Prespawning phase	3	2	2	3	1		
	Postspawning phase	2	1	2	2			
	SL(Ave±SD)mm	65.6±7.3	69.8±3.3	73.1±3.7	68.0±4.0	71.1±4.9	69.4±2.0	72.0±3.5
Male	Late spawning phase	1				3	3	4
	Early spawning phase	1	1	1		1	2	
	Late prespawning phase		2	3	1			
	Early prespawning phase	3	2	1	4			1
	Postspawning phase							
	SL(Ave±SD)mm	72.0±3.9	76.5±9.2	79.1±7.8	76.8±7.7	78.5±4.9	77.0±3.9	73.8±3.6

Table 7. The numbers of male and females in each maturational stage under different photoperiods.

		2014.12.22~2015.2.20					2015.12.22~2016.2.10				
		Initial control	10L12D	10L14D	12L12D	12L14D	Initial control	10L12D	10L14D	12L12D	12L14D
Female	Late spawning phase				1	1		2	1	2	4
	Early spawning phase	2	1	1		1				1	1
	Prespawning phase	3	3	4	3	1	5	1	4	2	
	Postspawning phase		2		1	1		1			
	SL(Ave±SD)mm	69.6±6.1	76.9±6.4	75.5±4.2	73.6±6.6	75.4±8.1	65.1±4.7	60.4±4.0	57.5±3.5	60.3±6.2	58.2±5.1
Male	Late spawning phase				1	4		1		2	4
	Early spawning phase								1	2	1
	Late prespawning phase							1			
	Early prespawning phase	5	2	5	3	1	5	2	2	1	
	Postspawning phase		3		1			1	2		
	SL(Ave±SD)mm	65.7±4.4	72.5±2.0	72.4±4.5	67.3±4.7	68.1±2.6	58.2±3.7	64.1±5.1	60.8±2.7	64.2±6.9	60.9±5.9

Table 8. Photoperiod and water temperature in each experiment and initial control.

experimental period	2012.5.10~ 2012.6.10	2012.6.21~ 2012.8.5	2013.5.10~ 2013.6.10	2013.6.21~ 2013.7.21	2014.5.10~ 2014.6.10	2014.6.21~ 2013.7.21	2013.5.1~ 2013.5.31
photoperiod	14L	14.5L	14L	14.5L	14L	14.5L	13.5L
initial control							
temperature	19.3°C	19.8°C	19.2°C	21.3°C	18.0°C	22.0°C	18.4°C
photoperiod	12, 14L	12, 14L	12, 14L	12, 14L	12, 14L	12, 14L	12, 13, 14L
experimental condition							
temperature	20, 24, 28°C	20, 24, 28°C	20, 24, 26°C	20, 24, 26°C	20, 24, 26°C	20, 24, 26°C	20°C

Table 9. The numbers of male and females in each maturational stage under different environmental conditions.

		2012								2013								2014							
		Initial		20°C		24°C		28°C		Initial		22°C		24°C		26°C		Initial		22°C		24°C		26°C	
		control	12L	14L	12L	14L	12L	14L	12L	14L	control	12L	14L	12L	14L	12L	14L	control	12L	14L	12L	14L	12L	14L	
Female	Late spawning phase	3			2	2			1					3				4					1		
	Early spawning phase	2	4	5	3	2	1	2	5	3	5	2	1		3	1	3	4				2		3	
	Prespawning phase																							1	
	Postspawning phase		1			1	4	2			2		3	1	5	2			2	1	5	2	5	1	
	SL(Ave±SD)mm	56.7±5.8	61.1±3.3	57.0±4.4	58.1±3.6	57.0±2.2	57.6±3.6	55.0±3.9	52.8±1.9	50.8±2.3	54.2±1.6	58.2±2.5	54.1±2.0	57.0±2.7	58.8±3.1	64.3±3.7	61.9±2.6	63.9±2.9	62.8±6.4	61.1±6.8	62.9±3.1	60.4±4.4			
Male	Late spawning phase	4	1	4	3	1			4	5	2	5	5		4	4	4	2	2	4				3	
	Early spawning phase	1	3	1	2	4			1		1					1	1	3	1	1				1	
	Late prespawning phase		1						1												1				
	Early prespawning phase								1		1			1	1						1			3	
	Postspawning phase						5	3			1			4										2	1
SL(Ave±SD)mm	63.5±7.1	68.5±4.0	62.5±6.8	66.2±4.1	68.0±7.0	67.2±6.6	65.9±3.4	55.8±7.3	59.0±2.2	57.7±4.8	61.0±6.4	61.4±5.9	60.0±2.4	61.3±7.2	67.1±4.7	64.0±7.0	62.9±5.4	68.1±5.5	64.1±2.5	63.8±2.8	63.5±7.5				

Table 10. The numbers of male and females in each maturational stage under different environmental conditions.

		2012								2013								2014							
		Initial		20°C		24°C		28°C		Initial		22°C		24°C		26°C		Initial		22°C		24°C		26°C	
		control	12L	14L	12L	14L	12L	14L	12L	14L	control	12L	14L	12L	14L	12L	14L	control	12L	14L	12L	14L	12L	14L	
Female	Late spawning phase		2	1		1							1					1		1					
	Early spawning phase	5	3	4		2				5		3		3				3	3	3	1		4		
	Prespawning phase				1	1					2	1				1		1	1						
	Postspawning phase				4	1	5	5			3		5	2	4	5			1	1	4	1	5	5	
	SL(Ave±SD)mm	57.8±2.7	56.2±3.5	59.7±5.9	58.9±8.1	55.6±4.8	62.6±2.5	57.8±4.8	52.1±3.2	55.6±2.0	60.7±3.9	58.2±3.7	57.3±2.6	60.1±3.5	61.2±5.2	63.7±1.6	64.8±1.8	60.7±2.3	70.5±4.2	66.2±4.9	63.9±4.3	63.3±3.6			
Male	Late spawning phase	5	3	3						4		4		2				4	1	1			2		
	Early spawning phase		2	2		2				1		1		1				1	1	3			1		
	Late prespawning phase				3	3																			
	Early prespawning phase				1		1				2		2	2	1				2		2	2	1	2	
	Postspawning phase						4	5			3		3		4	5			1	1	3		4	3	
	SL(Ave±SD)mm	62.8±3.8	67.3±5.2	69.0±7.2	74.4±6.1	71.9±4.3	68.7±7.1	77.6±2.2	60.2±6.3	63.0±3.5	63.5±6.2	68.2±4.0	64.2±6.2	63.4±2.2	67.0±2.9	71.0±3.4	72.9±3.2	72.3±8.6	68.6±2.5	71.6±1.9	73.8±4.7	68.9±3.3			

Table 11. The numbers of male and females in each maturational stage under different photoperiods.

		Initial control	12L	13L	14L
Female	Late spawning phase	1		1	1
	Early spawning phase	4	1	3	4
	Prespawning phase				
	Postspawning phase		4	1	
	SL(Ave $\pm$ SD)mm	51.2 $\pm$ 2.4	54.5 $\pm$ 2.7	54.1 $\pm$ 2.2	54.2 $\pm$ 2.8
Male	Late spawning phase	4	2	3	5
	Early spawning phase	1	1	1	
	Late prespawning phase		1		
	Early prespawning phase		1		
	Postspawning phase			1	
SL(Ave $\pm$ SD)mm	57.0 $\pm$ 3.3	57.0 $\pm$ 3.0	62.0 $\pm$ 8.5	61.2 $\pm$ 3.4	

Table 12. The numbers of male and females in each maturational stage under different photoperiods.

		2015.6.22~8.2					2016.6.21~7.31				
		Initial control	12L10D	12L12D	14L10D	14L12D	Initial control	12L10D	12L12D	14L10D	14L12D
Female	Late spawning phase	1					3				
	Early spawning phase	4			2	3	2			2	4
	Prespawning phase							3		1	
	Postspawning phase		5	5	3	1		2	5	2	
	SL(Ave±SD)mm	48.5±1.7	51.8±4.8	51.1±2.5	52.5±2.9	46.6±3.7	61.2±4.6	60.9±6.1	59.4±4.6	60.9±5.5	57.7±1.8
	Late spawning phase					2	4			2	3
Male	Early spawning phase	3	1			1	1			1	1
	Late prespawning phase			1	1	1					
	Early prespawning phase	2	2	3	4	1		4	3	2	1
	Postspawning phase		2	1				1	2		
	SL(Ave±SD)mm	46.0±2.1	56.9±3.4	52.6±2.5	52.2±2.7	48.4±3.3	62.9±5.1	68.1±11.3	59.9±4.1	66.2±3.2	66.2±7.3