

学位論文審査結果の報告書

氏 名 北川 哲郎

生 年 月 日 (昭和)・平成 60年 6月 18日

本 籍 (国籍) 福井県

学位の種類 博 士 (農 学)

学位記番号 農 第 200 号

学位授与の条件 学位規程第5条該当
(博士の学位)

論 文 題 目 人工繁殖を中心とした希少淡水魚類の
生息域外保存に関する実験的研究

審 査 委 員

(主 査) 細谷 和海



(副主査) 池上 甲一



(副主査) 太田 博巳



(副 査)



(副 査)



論文内容の要旨

近年、我が国に生息する淡水魚類の多くが絶滅の危機に瀕しており、環境省版レッドリストにおいては、我が国の在来魚類の約半数となる148種・亜種までが絶滅危惧種に位置づけられている。生物を保護（Protection）する手段には、保護対象生物が生息する野外の生態系をそのまま保つ生息域内保全（*In situ* Conservation）と、対象生物を研究室に隔離して存在を維持する生息域外保存（*Ex situ* Preservation）の2つがある。希少生物の保護においては、生息域内保全が優先されるべきであるが、生態系はさまざまな要素が複雑に絡み合うため、効果的な保護の実現には生息域外保存による系統の維持が不可欠といえる。水族館などで実施される現行の希少淡水魚類の生息域外保存は、経験則に基づく系統飼育が主流で、繁殖効率の低下や近交弱勢など多くの問題点を抱えている。安定した生物保護の達成には、科学的根拠に基づく生息域外保存手法の確立が急務で、とりわけ実効性の高い定式化した人工繁殖技術が求められる。希少淡水魚類の人工繁殖における技術開発に向けた研究基盤として、水産増殖学分野においては、生息域外保存への活用が期待できる技術が実用に供されている。しかし、水産増殖技術を希少淡水魚の人工繁殖に転用した研究例は極めて少なく、技術開発ならびに手法の体系化は進められていない。本研究では、生息域外保存の体系化に向け、室内における技術開発に用いる実験動物として優れた条件を備える外来亜種タイリクバラタナゴ *Rhodeus ocellatus ocellatus* を材料として、希少淡水魚類の人工繁殖に関する技術開発を試みた。さらに、人工繁殖の煩雑さや産業価値の低さから研究が進められていない、あるいは希少種保護の観点から今後実験動物としての価値が見込まれる複数種を対象として繁殖特性調査を実施し、人工繁殖技術マニュアル構築にむけた基盤を築いた。

人工繁殖技術の開発

好適採卵親魚の選抜 搾出法に際する好適採卵親魚を選抜するため、指標となり得る部位を検証した。検証には5形態・形質（体長、体重、産卵管長、臀鰭長、体高）ならびに形態情報から得られた5つの指数を用いた。検証の結果、産卵管長、OI（体長/産卵管長）、FU（体長/臀鰭長）、DU（体高/臀鰭長）と採卵数との間に強い正の相関が認められた（cor2 test, $p < 0.01$ ）。さらに、採卵数、孵化数、採卵数、孵化数と孵化率との間に強い正の相関が示されたほか（cor2 test, $p < 0.01$ ）、体高に関する2項目（体高比：体長/体高、DU）との間に負の相関が認められた（cor2 test, $p < 0.05$ ）。本実験により、産卵管長ならびに体高に着目することで搾出法に際する好適親魚が得られることが強く示唆された。

ホルモン剤による催熟 完全な人為環境下におけるバラタナゴの人工繁殖を目指し、ホルモン剤投与による催熟を試みた。本実験では、投与物として17 α -hydroxyprogesterone（17 α -OHP；0.01 μg / g BW）とサケ脳下垂体（SPE；200 μg / g BW）を用いた。産卵管の伸長効

果は両製剤に認められ (steel - dwass test, $p < 0.05$) , さらにGSIにも増加傾向が認められた。生殖腺組織切片像には卵黄胞期から前成熟期にあたる卵巢卵が散在し、一部に退行・吸収卵もみられた。卵はSPE区のみから83粒が搾出され、うち43個体が孵化し、17個体が浮上期に達した。以上により、バラタナゴに対するホルモン剤の催熟効果が確認され、人工繁殖技術としての実用性が示された。

長期薬浴による卵菌の抑制 淡水魚類の初期飼育時に頻出する卵菌 (水カビ病) を抑制するため、長期薬浴による生残率の向上を試みた。本実験では、曝気した水道水 (対照区) , 0.5 % 食塩水, 0.1 % 食塩水, 1 ppmメチレンブルー水溶液中で、それぞれ約120尾の孵化仔魚を20日間飼育し、生残率および卵菌の出現様式を検証した。飼育実験の結果、メチレンブルー添加区が最も高い生残率を示し、卵菌抑制に有効であることが確かめられた (log rank test, $p < 0.01$) 。食塩を添加した両区では、卵菌は抑制された一方で生残率が改善せず、本実験の濃度では卵菌の抑制効果以上に魚体への悪影響が大きいと示唆された。

好適初期餌料系列の構築 人為環境下における好適な初期餌料系列の確立に向け、環境要因による影響が少ない生理的機能に着目し、タンパク質分解酵素のトリプシンとキモトリプシン、脂質分解酵素リパーゼ、炭水化物分解酵素アミラーゼの、各活性の初期上昇過程を調査した。各消化酵素の活性は、孵化後5日目には上昇を開始していた。さらに、アミラーゼ活性値の上昇率の変化から、炭水化物吸収能力は孵化後約30日目までに急速に発達することが明らかとなった。アミラーゼ活性値の上昇率が変化した時期は消化管内容物および消化管伸長の変曲期と同期し、消化酵素分析を用いた餌料転換期推定の有効性が示された。また、本研究では摂餌物が酵素活性に与える影響は認められず、飼育個体を用いた好適餌料の推定が可能であることが確かめられた。

繁殖特性調査

繁殖実験および飼育個体を用いた発育段階区分を実施し、6科・亜科7属15種・亜種・未記載種 (タナゴ亜科6種, ダニオ亜科1種, ヒガイ亜科1種, カマツカ亜科2種, フクドジョウ亜科4種, ゴクラクギョ亜科1種) の産卵行動ならびに初期成長に関する情報を集積した。本調査では、対象とした種の基本的な繁殖手法を示すと同時に、モツゴ属 *Pseudorasbora* ならびにゼゼラ属 *Biwia* の近縁種間における繁殖基質の嗜好や繁殖行動の違い、タイワンキンギョ *Macropodus opercularis* の繁殖特性における地域差、ホトケドジョウ属の近縁種間に見られる初期成長特性の違いを明らかとした。本成果は、人工繁殖技術の開発に際する基盤のみならず、他分野に対する生態情報の提供や生息域内保全へのフィードバックに資すると期待できる。

論文審査結果の要旨

北川哲郎氏は“人工繁殖を中心とした希少淡水魚類の生息域外保存に関する実験的研究”において、希少淡水魚類の生息域外保存における水産増殖技術の転用を試み、実用に資する複数の人工繁殖・飼育技術を確立した。さらに、産業上の価値の低さなどから情報が集積されていない複数種の希少淡水魚類を対象として飼育実験および発育段階区分を試み、人工繁殖の技術的基盤となる繁殖特性を明らかとしている。以上より、本論文は独自性が高く、博士論文として大いに評価できる。

すなわち、論文の前半部において、バラタナゴ *Rhodeus ocellatus* を実験動物とした下記4項の技術開発に取り組み、人工繁殖技術のマニュアル化および実権動物としてのバラタナゴの利用性向上に資する成果を挙げた。①淡水魚類の初期飼育において、低濃度のメチレンブルーを添加し、授精から稚魚期に至るまでの約20日間薬浴状態に置くことで効果的に水カビ類が抑制できることを報告し、人工繁殖における繁殖効率の向上に寄与した。②雑食性淡水魚類であるバラタナゴの仔稚魚期における消化酵素活性の推移を分析し、炭水化物分解酵素であるアミラーゼの体重あたり活性の上昇率が、消化器官の形成完了から消化管内容物が変化するまでの期間中に変化することを明らかとした。加えて、同項において、摂餌物の異なる個体を試料とした場合においても同様の変化が認められることを示し、消化酵素群活性の測定によって人工種苗を用いた食性移行期の推定が可能であることを実証した。③雌親魚のデジタル画像上から得られる形態情報ならびに形態情報から算出された指数の相関係数を算出し、各項目の係数に基づく統計処理から産卵管長および体高が採卵に適した雌親魚の指標になり得ることを示唆した。④サケ脳下垂体ないし17 α -hydroxyprogesteroneを腹腔注射することで雌親魚の排卵および産卵管の伸長を誘導した。さらに、人工再熟個体を用いた人工授精から複数の稚魚を獲得し、従来不可能とされていた、二枚貝などの生物材料を用いないタナゴ亜科の人工繁殖を達成した。

次いで、論文の後半部において、繁殖実験および飼育個体を用いた発育段階区分により、希少淡水魚類6科・亜科15種の産卵行動ならびに初期成長に関する情報を記載した。繁殖特性調査で得られた成果は、いずれも人為環境下における繁殖効率の改善に繋がるばかりか、生

域内保全や社会啓発などへのフィードバックが期待できる内容を含んでいる。とりわけ、同所的あるいは側所的に分布するモツゴ属*Pseudorasbora*ならびにゼゼラ属*Biwia*の近縁種間において、繁殖基質に関する嗜好や繁殖行動の差異を示した点は、生息域内保全施策検討するうえで極めて有益な成果である。さらに、本研究中に明らかとなった、タイワンキンギョ*Macropodus opercularis*の繁殖行動および初期成長特性における地域差や日本産ホトケドジョウ属*Lefua*の近縁種間に見られる初期成長特性の差異などは、保全生物学の枠を超えて進化学的、生物地理学的に高い価値を有する情報と考えられ、他分野へのフィードバック機能を強調する成果と言える。

本論文は、経験則による部分が大きかった淡水魚類の生息域外保存とりわけ人工繁殖技術に関する研究に取り組み、異なる保存目標を念頭に置いた技術開発を展開するなど、生息域外保存研究の体系化を進めた点で優れた研究と判断できる。さらに、人工繁殖手法の効率化にとどまらず、既往情報の少ない種に関する基本的な繁殖手法や生物学的情報を多数集積するなど、保護活動ならびに他の学術分野への波及性に富む成果を挙げた点は大きな功績と言える。また、本論文の取り組みは、水産学で培われた技術群を希少淡水魚類の生息域外保存へと展開し、双方の分野に新たな視点を提供するもので、保全生物学における応用研究のモデルとして大いに評価される。このように、本論文の内容は、本学大学院農学研究科学位資格の基準を満たすことはもとより、学術的にきわめて重要な研究であると言える。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成27年2月7日、農学研究科教授会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。