屋外池における野生メダカOryzias latipesの繁殖行動

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者名	小林,牧人 頼経,知尚 鈴木,翔平 清水,彩美 小井土,美香 川口,優太郎 早川,洋一 江口,さやか 横田,弘文 山本,義和
発行元	日本水産學會
巻/号	78巻5号
掲載ページ	p. 922-933
発行年月	2012年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

Nippon Suisan Gakkaishi 78(5), 922–933 (2012)

屋外池における野生メダカ *Oryzias latipes* の繁殖行動

小林牧人,[1*] 頼経知尚,[1] 鈴木翔平,[1] 清水彩美,[1] 小井土美香,[1]
川口優太郎,[1] 早川洋一,[1] 江口さやか,[2] 横田弘文,[2] 山本義和[2]

(2012年2月14日受付；2012年5月28日受理)

[1]国際基督教大学教養学部アーツ・サイエンス学科生命科学デパートメント，
[2]神戸女学院大学人間科学部環境・バイオサイエンス学科

Reproductive behavior of wild medaka in an outdoor pond

MAKITO KOBAYASHI,[1*] TOMOHISA YORITSUNE,[1] SHOHEI SUZUKI,[1] AYAMI SHIMIZU,[1]
MIKA KOIDO,[1] YUTARO KAWAGUCHI,[1] YOUICHI HAYAKAWA,[1] SAYAKA EGUCHI,[2]
HIROFUMI YOKOTA[2] AND YOSHIKAZU YAMAMOTO[2]

[1]*Department of Life Science, International Christian University, Mitaka, Tokyo 181–8585,* [2]*Department of Biosphere Sciences, School of Human Sciences, Kobe College, Nishinomiya, Hyogo 662–8505, Japan*

The population of Japanese medaka *Oryzias latipes* has decreased in size because of recent changes in the aquatic environment, and medaka are now recognized as an endangered species. For the efficient conservation of medaka, information on the reproductive ecology of medaka is essential. However, there have been no reports on how wild medaka spawn in nature. In the present study, in order to clarify the spawning behavior and the environment appropriate for such behavior, we observed the spawning behavior of wild Japanese medaka which have been reproducing naturally for several generations in an outdoor pond. During the spawning period, the courtship behavior of males to females started early in the morning and spawning (egg release and sperm release) was observed in the morning. No special substrate was necessary for spawning behavior. After spawning, females held the fertilized eggs on their abdomen and deposited the eggs on aquatic plants growing near the surface of the water. This egg deposition was observed from the morning until the afternoon. For the successful conservation of wild medaka, it is important to collect such information on environmental conditions where medaka reproduce naturally.

キーワード：産み付け，産み付け基質，産卵，繁殖生態，保全，野生メダカ

日本の野生メダカ *Oryzias latipes* は，近年の水辺環境の変化に伴い，その個体数が減少し，1999年には環境庁のレッドリストに「絶滅危惧Ⅱ類（VU）」として掲載された（http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=818，2011年11月26日）。さらに2003年には環境省のレッドデータブックにおいて「絶滅危惧Ⅱ類（VU）」として指定された。[1] その結果，日本の各地でメダカの保全活動が行われるようになってきた。[2–5] 一方，これまでのメダカの研究は，ヒメダカをモデル動物として用いた発生学，遺伝学，毒性学が中心であり，[6–8] 野生メダカの生態に関する研究は少ない。[9–14] 特に野生メダカの産卵生態についての研究はあまり行われておらず，野生メダカがいつ，どこで，どのように産卵行動をしているのか，さらにどのような環境が産卵に適しているのか，明らかにされていない。より効果的にメダカの保全を行うためには，メダカが生存できる環境を保全するだけではなく，メダカが繁殖できる環境を保全することが重要である。そのためには野生メダカが本来どのような繁殖行動を行っているのか明らかにしておく必要がある。またこれまでに飼育水槽内で行われたメダカの繁殖行動については記載があるが，[15–17] これらの行動が自然環境下における野生メダカの行動と同様かどうか，そして保全のための知見として活用可能かどうか，ということを明らかにしておくことも必要である。本研究では，

* Tel : 81–422–33–3132. Fax : 81–422–33–1449. Email : makito@icu.ac.jp

野生メダカの保全活動に必要な基礎的知見を得ることを目的として屋外池における野生メダカの繁殖行動の観察を行った。

試料および方法

観察池　本研究では，神戸女学院大学(兵庫県西宮市)キャンパス内にある万葉池と呼ばれる人工の池においてメダカの観察を行った。この池は1940年から1941年にかけて造成されたもので（Fig. 1），[18] 北緯34度45分，東経135度21分に位置し，周囲約38 mの大きさの淡水の池である。流入水は地下水および雨水で，地下水は池の北側（Fig. 1　写真右側）から流入し，池にたまった水は南側から排水されている。水深は天候および流入水の量により変化するが，池の北側の浅部から中央までが10～35 cm程度で，南側の深部が40～55 cmである。池の北側からの流入量は少なく，水の流入地点付近や排水地点付近をのぞくと池の中の水流はほとんどない。池の岸は石で固められており，底は泥質である。今回，池の水の溶存酸素，pHについては測定をしていないが，この池における過去の測定値を参考として記載する。池の水面付近の溶存酸素は，最低3.99 mg/L（9月），最高11.77 mg/L（4月）であった（2006年5月から2007年4月まで毎月1回，正午前後に測定)。pHは，最低6.90（12月），最高7.92（9月）であった（2010年4月から12月まで毎月1回，正午前後に測定)。(山本，未発表)。

池の周囲および池内に生育する植物は基本的に在来種であるが，2006年にメダカを放流する際に西宮市津門川に生育していたオオカナダモ *Egeria densa* およびコカナダモ *Elodea nuttallii* が関係者により池内に移植され，その後生育している。池の周囲の明るさについては，通常，周囲が明るく感じる「夜明け」は「日の出」に先行し，周囲が暗闇となる「日暮れ」は「日の入り」後となるが，池の周囲が種々の高木に囲まれて陰をつくるため，この池では，「夜明け」は観察時のいずれの時期でも日の出の時刻とほぼ一致していた。一方，「日暮れ」は，「日の入り」の時刻とほぼ一致していた。

本研究での観察期間中，メダカの他に池の中には種々の動物が観察されたが，脊椎動物はアカハライモリ *Cynops pyrrhogaster* のみが観察された。

メダカ　本研究で観察したメダカ *Oryzias latipes* の出所は以下の通りである。1988年に西宮市内の川で野生メダカを西宮市職員が捕獲し，環境学習用教材として西宮市環境学習サポートセンターにて人工繁殖を開始した。2005年に著者のひとりの山本がこれらのメダカを1,500尾譲り受け，神戸女学院大学キャンパス内の万葉池とは別の3つの池で飼育を開始した。2006年6月，10月，11月にこれらの池で飼育していたメダカを万葉池に放流し，2007年から万葉池における自然繁殖が確認されるようになった。万葉池以外の池ではメダカの増殖のため適宜給餌を行っているが，万葉池では魚の捕獲などの時を除き，基本的に給餌を行っていない。この池のメダカは，キャンパス内の他の池のメダカとは異なり，観察のために人が近づいたときに餌を求めて寄ってくることはなく，逃避行動を示した。さらにこの池の周辺は関係者以外の立ち入りが禁止されているため，人間活動のメダカへの影響はほとんどないと考えられる。繁殖行動にかかわっていると思われるメダカを捕獲して体長（全長）を測定したところ，雌雄ともに33 mm前後であった（2009年8月)。なお今回観察を行った万葉池のメダカの遺伝子型は，B-VII subclade[19]であることが同定されている（酒泉，私信)。

観察方法　夜明け前から日暮れ後まで，池の周囲および池の中央に位置する石の上から目視および双眼鏡（Papilio 8.5×21, PENTAX社製）を用いてメダカの行動観察を行った（Fig. 1)。各観察月（Table 1）の観察時刻は，初日は午前7時から日暮れまで，あるいは正午から日暮れまで，2日目以降は夜明けから日暮れまで，最終日は夜明けから正午までである。夜明け前や日暮れ後の観察も数回行ったが，その際，肉眼で観察できない明るさの時は，懐中電灯を用いた。なお懐中電灯には当初赤いセロハンを被せたものを用いたが，短時間の観察ではセロハンを付けないものを使用しても，赤いセ

Table 1　Dates of observation, time of sunrise and sunset, and water temperature of Man-yo Ike Pond on observation days

Observation date	Sunrise	Sunset	Water temperature (℃)
2009			
*August 3–7	5:10	19:00	24.5
September 10–12	5:38	18:14	21.0
November 28–30	6:45	16:49	10.5
2010			
February 24–26	6:35	17:50	7.5
*June 8–10	4:46	19:11	19.0
*July 19–21	5:00	19:11	24.6
*August 5–7	5:12	15:58	26.3
September 23, 27	5:47	17:56	20.0
November 29–30	6:46	18:58	8.5
2011			
January 7–8	7:07	17:04	4.2
*May 19–21	4:54	18:58	18.2
*June 22–25	4:47	19:16	22.5
*July 21–23	5:00	19:11	24.0
2012			
April 6–7	5:40	18:24	10.0

* Spawning was confirmed in these months.

ロハンを被せたものを使用した場合とメダカの行動に顕著な違いが見られなかったので，その後，セロハンを付けないものを使用した。また懐中電灯の使用は，短時間の魚の水中での位置，行動の有無の確認のみに使用し，継続的な行動観察には用いなかった。記録，行動解析のために写真撮影にはデジタルカメラ（μ830, OLYMPUS 社製および CX4, RICOH 社製）を用い，ビデオ撮影は，ビデオカメラ（DCR-TRV70K および DCR-TRV33K, SONY 社製）を用いて行った。雨天時，雨天後の水の濁りで魚が見えないときは，観察を行わなかった。

メダカの行動パターンの確認は，基本的に Ono and Uematsu[15,16] および岩松[17] によって記載されているヒメダカの行動をもとに行ったが，今回各行動の用語については後述するように，新たな用語の提唱を行い，暫定的にそれらの用語を使用した。

メダカの行動観察を行なった年月は，以下のとおりである。2009 年 8, 9, 11 月，2010 年 2, 6, 7, 8, 11 月，2011 年 1, 5, 6, 7 月，2012 年 4 月（Table 1）。また各観察日の初日の兵庫県の日の出，日の入りの時刻は Table 1 のとおりである（国立天文台ホームページより。http://www.nao.ac.jp/）。行動観察は，産卵期の繁殖行動を中心に行ったが，比較のために非産卵期の行動観察も行った。池の表面水温の測定は，観察期間中の正午前後に行った。なおこの池におけるメダカの産卵期は 4 月下旬から 9 月初旬までである（山本，未発表）

本研究では，雌雄の放卵・放精後に行われる，雌が受精卵をなんらかの基質に付着させる行動（産み付け行動）の観察も行った。また雌がどのような基質を産み付けに活用しているのか明らかにするために，雌が産み付け行動を行っていた対象の植物を採取し，受精卵の付着の有無を確認した。卵の確認された植物の一部については適当量を採取し，付着している受精卵の数を数え，採取した植物の湿重量を測定した。そして植物湿重量あたりの卵数を求め，基質の選好性の指標とした。さらに産み付け行動が確認されていない植物についても数種の植物を採取し，受精卵の付着の有無を調べ，基質としての活用の有無を確認した。

メダカの繁殖行動およびその用語　メダカの繁殖行動のパターンとしては，Ono and Uematsu[15,16] および岩松[17] は飼育水槽内でのヒメダカの繁殖行動を次のように定義している。

雄は，雌を発見すると雌に接近し（ちかづき：approaching），互いの距離が約 5 cm 以内になると一定の間隔を保ちながら雌雄が遊泳する（したがい：following）。その後，雄が雌の下方やや後方に並列停止する行動をとり（求愛定位：courting orientation），やがて雌が頭部を約 30 度持ち上げる行動（頭上げⅠ：head up I）を示すと，雄は求愛定位の位置から頭上げの体位をとる雌の吻先を「ひらり」とかすめて円を描くように泳いで再び元の位置に戻る（求愛円舞：courting round dance）。この求愛円舞の後（あるいは引き続いて行われることが多い浮上がりの後）に，雌が約 60 度（場合によっては 45～90 度）の角度で頭部を上げる行動が見られる（頭上げⅡ：head up II）。やがて，求愛定位のまま静止する雌に対して雄はゆっくりと側面から浮上して（浮上がり：floating up）雌を抱えた状態になる。雄は頭部を雌よりも下にして背鰭と尻鰭で雌を抱え，泌尿生殖口の部分を互いに近づける（交叉：crossing）。そして雄は胸鰭と尾鰭を激しく動かすとともに，雌雄が小刻みに体を振動させてゆっくりと頭部を下げ，卵の放出（産卵：spawning）と精子の放出（射精：ejaculation）が行われる（交尾：copulation）。その後，雌雄は頭部を互いに反発させるように弓なりに体をそらせ，雄はゆっくりと浮上する（はなれ：separating）。卵はこのとき雌の腹部にあり，雌は数時間後に卵を腹部から離脱させる。頭上げⅢ（head up III）は，雌が卵を腹部から振り落とす際に行われる行動の一部とされる。

以上が，Ono and Uematsu[15,16] および岩松[17] の記載を基にした雌雄のヒメダカの出会いから放卵・放精に至る過程の概略である。本研究では上記を参考に各行動の観察を行った。しかしこれらの用語の使い方は，必ずしもメダカの繁殖行動の用語として適切に表現しているとは思われないものがあるので，今回，著者らは近年のメダカの行動研究[20-26] をもとに，前報と同様，[27] あらたな用語を提唱し，本論文では以下および Table 2 に示す用語を暫定的に使用した。ここでは，雄が雌に接近し，雌雄の放卵・放精による受精が起こり，雄が雌から離れるまでの一連の行動を「産卵」（spawning），その後，雌が受精卵を基質に付着させる一連の行動を「産み付け」（egg deposition）と区分した。また「ちかづき」から「浮上がり」までを「求愛行動」（courtship behavior）と細分することも可能であるが，ここでは，一連の産卵行動の一部とした。その他，雄同士の行動を「攻撃」（aggression）と区分した。Ono and Uematsu[16] および岩松[17] による日本語の用語と今回提唱する日本語の用語の対照は以下のとおりである。

日本語での変更のないもの：
ちかづき，したがい，求愛定位，頭上げⅠ，頭上げⅡ，頭上げⅢ，求愛円舞，浮上がり，交叉，はなれ，こすりつけ（卵を水底にこすりつける行動）。

日本語の用語の変更を提唱するもの：

交尾	→	抱接
産卵	→	放卵
射精	→	放精

こすりつけ　→　付着（卵を基質に付着させる行動）
S型ふりおとし　→　ふりおとし

今回あらたに加えるもの：
ふるわせ
つつき

これら用語の変更には以下の理由があげられる。「交尾」は生物学において雄が交尾器を用いてあるいは体の密着により雌の体内に直接精子を送り込む行為と定義され（生物学辞典第4版，岩波書店，生物学辞典，東京化学同人），体外受精を行うメダカに適用するのは好ましくない。雌雄のメダカが体を密着させ，雄が背鰭と臀鰭で雌を抱えるような行為を「交接」[28]あるいは「抱接」[29]と呼ぶことがある。「交接」は雌雄の体の接触が必ずしもなく，雄がいったん環境中に精子を放出し，その精子を雌が体内に取り入れるといった「間接交尾」によって体内受精を行う動物の生殖行為に使われる場合が多い（生物学辞典，東京化学同人，舘[30]）。一方「抱接」は雌雄が体を密着させて生殖口を近づけて体外受精を行う生殖行為に使用される（生物学辞典，東京化学同人）。これらの理由から，著者らはメダカの受精のための雌雄の行為は，「抱接」とするのが適切と考え，本論文では，「交尾」，「交接」ではなく，「抱接」という言葉を用いた。

また「産卵」という言葉は，雌が体内から卵を放出すること（egg release, oviposition）あるいは雌雄の魚が放卵・放精を行うための一連の行動を指すこと（spawning）（生物学辞典第4版，岩波書店，生物学辞典，東京化学同人）など複数の意味をもつため，本論文では，雌が卵を体外に放出する行為を「放卵」とし，「産卵」は雌雄の魚が放卵・放精を行うための一連の行動の意味で使用した。

「射精」は主として哺乳類の雄において勃起した陰茎から精液が射出される現象に用いられのので，ここでは単に雄が精子を体外に放出する行為として「放精」（sperm release, sperm emission）とした（生物学辞典，東京化学同人）。

メダカでは，抱接後，雌雄の魚が体を振るわせ，放卵，放精，その結果としての受精が起こる。Ono and Uematsu[15,16]および岩松[17]では，この体を震わせる行動を「交尾」の中に含めているが，今回，この行動については産卵過程のひとつの行動として「ふるわせ」（quivering）[20,22–25]を新たに付け加えた（Table 2）。

ヒメダカでは雌雄の産卵後，雌は数時間，受精卵を付着糸によって腹部に保持する。[15–17] そして飼育水槽内では，水槽内に受精卵を付着させる基質がある場合，吻で基質を数回つつき，その後体を震わせながら腹部の受精卵を基質に付着させる。また水槽内に基質がない場合，雌は腹部を水槽の底にこすりつけるか，体を左右に振って卵を体から切り離す。Ono and Uematsu[15]および岩松[17]では，受精卵をもった雌が基質あるいは水槽の底に腹部をこすりつける異なる2種類の行動を「こすりつけ」（rubbing-on）としているが（Table 2では，便宜的にrubbing-on 1とrubbing-on 2に区別した），本研究では，受精卵をもった雌がなんらかの基質に対して卵をこすりつけて付着させるための一連の行動（つつきpickingと付着attaching）を「産み付け」（egg deposition）とし，受精卵を持つ雌が水底に腹部をこすりつけて卵を離脱させることを従来通り「こすりつけ」（rubbing-on）として区別した（Table 2）。さらに水槽内に受精卵を付着させる基質がない場合，雌は体を左右に振って受精卵の離脱を行うことがある。Ono and Uematsu[15]および岩松[17]は，この行動を「ふりおとし」（sigmoid）としているが，本研究ではその英語表記を日本語の意味に対応させてsheddingとした。その他，いくつかの日本語の用語の英語表記についても近年のメダカの行動研究[20–26]をもとに変更を行った（Table 2）。

結　果

メダカの繁殖行動　観察時の池の表面水温をTable 1に示す。2009年8月から2012年4月までに行なったメダカの行動観察（Table 1）において，繁殖行動は2009年8月，2010年6, 7, 8月および2011年5, 6, 7月に確認された。確認された繁殖行動のパターンとしては，雄の雌に対する「ちかづき」，「したがい」，「求愛定位」，「求愛円舞」，「浮上がり」，「交叉」，「抱接」（Figs. 2, 3a），雌雄の「ふるわせ」（Fig. 2），抱接後の雄の雌からの「はなれ」（Fig. 3b）が確認された。

また受精卵を保持した雌による「産み付け」（つつきと付着）が観察された。その行動は，受精卵を保持した雌がはじめに吻で基質（産み付け基質）を数回つつき，その後体を震わせながら素早く回転あるいは直進して，腹部の受精卵を基質にこすりつけて付着させた。産み付け基質が藻類（ヤナギゴケ *Amblystegium riparium* あるいはホウオウゴケの1種 *Fissidens* sp.）の場合，コケの上を弧を描くように泳いで卵を付着させた（Figs. 4, 5；電子付録 video_4, video_5: https://www.jstage.jst.go.jp/article/suisan/78/5/78_5_922/_article/supplement/-char/ja/）。産み付け基質が水生植物の場合（オオカナダモあるいはコカナダモ），これらの水草の茎に沿って直線的に水草の葉の間を通り抜けるようにして卵を付着させた。本研究の観察では，1回の産み付け（つつきと付着）ですべての受精卵が産み付け基質に付着することはなく，産み付けは繰り返し行われていた。多くの場合，雌は1回から数回「つつき」を行ってから受精卵

Table 2 Newly proposed terminology for reproductive behavior of medaka *Oryzias latipes*

Ono and Uematsu[5,16] Iwamatsu[17]		Proposed terminology		Brief description
English	Japanese	English	Japanese	
		SPAWNING	*SANRAN*	Actions by male and female for fertilization
Approaching	Chikazuki	Approaching	Chikazuki	Access of male to female
Following	Shitagai	Following	Shitagai	Male swims behind female.
Courting orientation	Kyu-ai Teii	*Positioning*	Kyu-ai Teii	Male keeps distance near female.
Head-up I	Atama Age I	Head-up I	Atama Age I	Rejection of female to male
Courting round dance	Kyu-ai Enbu	*Quick circle*	Kyu-ai Enbu	Male swims in a circle in front of female.
Head-up II	Atama Age II	Head-up II	Atama Age II	Rejection of female to male
Floating-up	Ukiagari	*Floating*	Ukiagari	Male floats up from beneath female.
Crossing	Kousa	*Contact*	Kousa	Contact of urogenital pore of male and female
Copulation	Koubi	*Wrapping*	*Hou-setsu*	Male wraps female with dorsal and anal fins.
		Quivering	*Furuwase*	Male and female quiver their bodies to release gametes.
Spawning	Sanran	*Egg release*	*Hou-ran*	
Ejaculation	Shasei	*Sperm release*	*Hou-sei*	
Fertilization	Jusei	Fertilization	Jusei	
Separating	Hanare	*Leaving*	Hanare	Male leaves female.
		Sneaking	*Suniikingu*	Sperm release of non-pair male to pairing-female
		EGG DEPOSITION	*UMITSUKE*	Actions by female for attaching eggs to substrate
		Picking	*Tsutsuki*	Picking substrate by the snout
Rubbing-on 1	Kosuritsuke 1	*Attaching*	*Fuchaku*	Attachment of fertilized eggs to substrate
		OTHERS		
Rubbing-on 2	Kosuritsuke 2	Rubbing-on	Kosuritsuke	Rubbing eggs against bottom of tank
Head-up III	Atama Age III	Head-up III	Atama Age III	Shedding eggs by shaking body
Sigmoid	S-Gata Furi-otoshi	*Shedding*	*Furi-otoshi*	Shedding eggs by shaking body
		AGGRESSION	*KOUGEKI*	Actions by male to male
		Chasing	*Oiharai*	Chasing other males
Fighting	Tatakai	Fighting	Tatakai	Butting and hitting with tail
		Disrupting	*Bougai*	Disruption of spawning by non-pair male

Italicized terms, newly proposed terms

の「付着」を行ったが，つつきをせずに付着を行う場合もみられた。また植物の種類によっては，「つつき」を繰り返し行っても「付着」まで至らない場合もみられた。なお雌のメダカが保持する卵がすべて受精しているかどうかは確認していないが，ここでは便宜的に受精卵と呼ぶことにした。雌の「産み付け」は雌単独で行われ，近くに雄がいるとあるいは雄が接近してくると，「つつき」を行っても「付着」まで至らないことがしばしば観察された。

「ちかづき」から「はなれ」までは，特別な基質を必要とせず，特定の水深で行うといった傾向はみられなかったが，「産み付け」には基質を必要とし，多くの場合，水面近くの浅い水深で行われた。

今回，「ちかづき」から「求愛円舞」までの行動は多数回，「ちかづき」から「交叉」まで（抱接にはいたらない）の行動はのべ15回，「ちかづき」から「はなれ」までの行動（抱接，ふるわせを含む）はのべ12回確認した。また「産み付け」はのべ48回確認した。なお雄の雌に対する「求愛円舞」は放卵前の雌だけでなく，腹部に受精卵を持つ雌に対しても行われていた。「抱接」は，表層，中層で行われているのを観察したが，池のものかげで行う場合が多いのか，また他の繁殖行動が1日に複数回行われるのに対し，「抱接」は1個体の雌が1日1回しか行わないためか，それほど頻繁には観察できなかった。その他，1例ではあるが，放卵，放精後，雄が雌からはなれた直後，別の雄が受精卵を保持する雌に対して，腹部を2回ほど接触させる「スニーキング」[24,28]とみられる行動が観察された。

Ono and Uematsu[15]および岩松[17]により，飼育水槽内の雌が受精卵を水底にこすりつけて卵を腹部から切り離す「こすりつけ」という行動が記載されている。この行動と類似した腹部を池の水底にこすりつける行動が受精卵を保持する雌にみられたが，この行動は雄においてもみられ，今回，池でみられた腹部をこすりつける行動は雌雄共通の行動であった。

また今回，受精卵をもつ雌による「ふりおとし」[15,17]

Fig. 1 Man-yo Ike Pond. The reproductive behavior of wild medaka *Oryzias latipes* was observed in this pond. The distance between white marks of a black bar indicates 50 cm. Photographed in July 2011.

Fig. 2 Spawning behavior of wild medaka *Oryzias latipes*. A male (blue arrow) is wrapping a female (red arrow); they are quivering and releasing gametes. The male adopts an S-shaped posture during the early phase of spawning. Photograph taken from a videotape at 10:28 on June 9, 2010.

Fig. 3 Spawning behavior of wild medaka *Oryzias latipes*. a. A male (blue arrow) is wrapping a female (red arrow); they are quivering and releasing gametes. The male and female place some distance between their heads during the later phase of spawning. b. After quivering for gamete release, the male left the female (leaving). The female is holding fertilized eggs (white arrow). Photographs taken from a videotape at 9:33 on June 9, 2010.

は確認されなかった。ヒメダカでは，卵の付着のための基質のない水槽内に卵を保持した雌を入れると，卵の付着糸が伸長し，卵が雌の体から離れ，付着糸で卵がぶらさがった状態になることがある。このような状態の時に「ふりおとし」が頻繁にみられるが（小林，未発表），今回，屋外池では付着糸の伸長した状態で受精卵を保持する雌はみられなかった。

産み付け基質　雌が受精卵を産み付ける基質の種類および選好性を調べるため，行動観察と基質の採取による受精卵の付着の確認を行った。雌が産み付け行動を行った水中の植物は，池の岸の石表面に生育するヤナギゴケ（Fig. 6）およびホウオウゴケの１種，池の中央に生育するオオカナダモ（Fig. 7），コカナダモであった。この他，陸上植物のベニシダ *Dryopteris erythrosora*（Fig. 8），アラカシ *Quercus glauca* の枝が水中に垂れ下がり，その枝から伸びる葉に対しての産み付け行動が観察された。また陸上植物の枯れ枝（種不明）が池に落ち，この枯れ枝に対する産み付け行動がみられた（Fig. 9）。これらの植物を採取した結果，受精卵が付着していることを確認した。これらの基質に対しての産み付けは，水面近く（水深 1～3 cm）で行われたが，枯れ枝，オオカナダモへの産み付けは，池の中層で行う場合もみられた。ヤナギゴケの場合，池の岸の石に生育していたが，水面近くのヤナギゴケには多数の受精卵が観察されたの

Fig. 4 Egg deposition behavior of female medaka *Oryzias latipes*. a, b. The female holding fertilized eggs is attaching the eggs to aquatic moss *Amblystegium riparium*. c, d. The female is leaving the aquatic moss. Arrows indicate the direction of movement of the fish. Photographs are taken from videotape #4 at 9:32 on June 10, 2010.

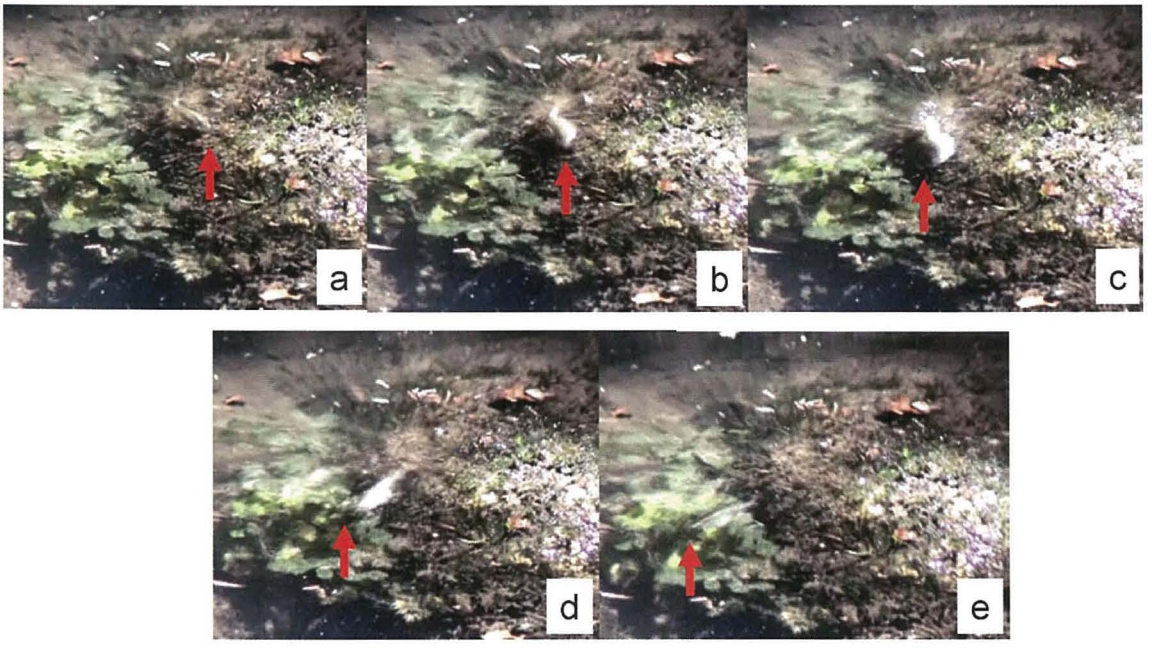

Fig. 5 Egg deposition behavior of female medaka *Oryzias latipes*. a, A female holding fertilized eggs is approaching the aquatic moss (species unidentified). b, c. The female is attaching the eggs to the aquatic moss. d, e. The female is leaving the aquatic moss. Arrows indicate the position of the head of the fish. Photographs are taken from videotape #5 at 10:17 on July 20, 2010.

に対し，水深 10 cm 付近に生育するヤナギゴケには受精卵はみられなかった。また池の水位が低下した際，ヤナギゴケが水面より上の空気中に露出し，そこに受精卵が付着していることが確認された（Fig. 10）。

次に池内の種々の植物を採取したところ，今回の観察では産み付け行動が確認されなかった植物にも受精卵が付着していた。そのひとつは，陸上植物の根（2 種確認されたうち，1 種はアオキ *Aucuba japonica*，もう 1 種

Fig. 6 Eggs of medaka *Oryzias latipes* deposited on aquatic moss *Amblystegium riparium*. White circles indicate the deposited eggs.

Fig. 7 An egg of medaka *Oryzias latipes* deposited on aquatic plant *Egeria densa*. A white circle indicates the deposited egg.

は種不明）であった。陸上植物の根は地中から池に達し，水中に伸びている部分に受精卵の付着が確認された。また水面に浮遊する落ち葉（種不明）にも受精卵の付着が確認された。なお池内に多くみられるアオミドロ *Spirogyra* sp. には受精卵の付着は確認されなかった。

産み付け基質の選好性の指標として，湿重量あたりの受精卵の数を，池の岸の水面近くのヤナギゴケ，池中央のオオカナダモとコカナダモで比較した。結果は以下のとおりである。2010 年 7 月 20 日：ヤナギゴケ，170 個/g；オオカナダモ，1.2 個/g；コカナダモ，0.10 個/g。2011 年 7 月 22 日：ヤナギゴケ，4.2 個/g；コカナダモ，0.36 個/g。2011 年 7 月 23 日：ヤナギゴケ，10 個/g。なお 2011 年はオオカナダモの量が少なく採取を行わなかった。またヤナギゴケに付着する受精卵には，異なる発生段階のものがみられた。

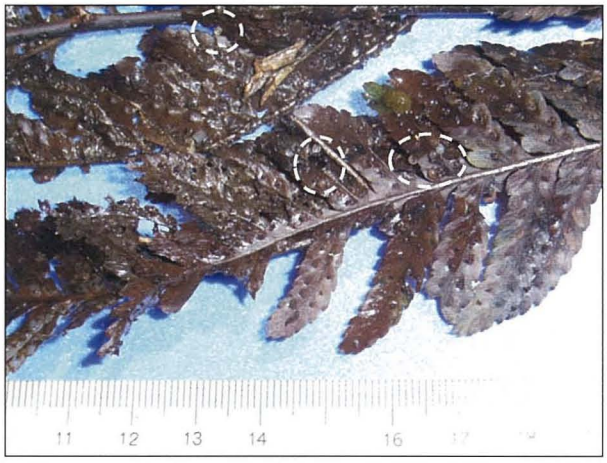

Fig. 8 Eggs of medaka *Oryzias latipes* deposited on a dead leaf of fern *Dryopteris erythrosora* which was hanging in the water of the pond. White circles indicate the deposited eggs.

Fig. 9 Eggs of medaka *Oryzias latipes* deposited on a dead branch which had fallen into the pond. White circles indicate the deposited eggs.

その他の行動　雄同士の行動としては，雄が他の雄を追いかける行動「追いはらい」（chasing）[20,21] と雄が他の雄に打撃を与えるとされる「たたかい」（fighting, striking）[17,24,31] がみられた。雄が他の雄を追いかける行動は，10～20 cm ほどの移動であるが，時として 1 m ほど追いかけることもあった。ごくまれに受精卵を保持

Fig. 10　An egg of medaka *Oryzias latipes* deposited on aquatic moss *Amblystegium riparium*. The egg was exposed to the air because the water level of the pond fell. The upper part of the photograph shows the water surface of the pond and the lower part shows a stone with aquatic moss exposed to the air at the edge of the pond. A blue arrow indicates the deposited egg. The inset is a close-up photo of the egg taken from a different angle with a plastic ruler, with graduation marks of 1 mm. It is unknown when the egg was deposited and for how long it had been exposed to the air. Photographed on July 21, 2011.

Fig. 11　Aggregation of medaka *Oryzias latipes*. Male and female medaka aggregate near the surface of the water above *Spirogyra* sp. Photographed at 10:31 on June 9, 2010.

した雌に対する雄の「追いはらい」がみられた。一方，雄同士が接触しあう素早い行動がみられた。行動観察時に魚の姿勢の変化により魚の腹部が見えたこと，水面が揺れたことから，雄が他の雄に打撃を与えていると考えられ，この行動は「たたかい」と判定した。

その他，抱接をしている雌雄の魚に他の雄が接近，接触し，抱接が中断されるという雄による産卵の「妨害」(disruption)[24]がしばしば観察された。また抱接中の雌雄の魚に他の雄が近づいた際，抱接中の雄が抱接をやめて，近づいてきた雄を追いはらうことも観察された。

性別を問わず複数の個体が集まる行動には2種類の様式がみられた。ひとつは，数尾から数十尾の魚が集まるものであるが，1尾の魚が動いても他の魚はこの動きに反応せず，集まり全体の移動がほとんどみられない様式のものである。ここでは「群がり」(aggregation)[32,33]とした（Fig. 11）。もう一方は，「群がり」と同様，数尾から数十尾の魚が集まるが，1尾の魚の動きに他の魚が反応し，少しずつ集まり全体が移動する様式のものである。本研究ではこちらを「群れ」(school）とした。

行動の日周変化および季節変化　繁殖行動が確認された月（5, 6, 7, 8月）における，個々の繁殖行動の日周変化は以下のとおりである。夜明け後，目視で観察ができるような明るさになり，観察を開始した時点で，雄の雌に対する「求愛円舞」，雄同士の「追いはらい」，「たたかい」がみられた。さらにこの時点で受精卵を保持した雌も確認された。これらのことから，夜明け以前にすでに「産卵」が開始していたことが推測された。そこで夜明け前に懐中電灯を用いて，魚の観察を行ったところ，多くの魚は水中で静止していて動かないが，中には「求愛円舞」，「追いはらい」を行っている雄がみられた。

活発な「求愛円舞」は夜明けから11：00頃まで観察された。実際に目視で「交叉」，「抱接」が観察されたのは，夜明けから10：30頃までの間であった。9：00頃から「群がり」がみられ，午後まで「群がり」は維持された。まれに午後に「群れ」が形成されることがあった。受精卵を保持した雌は15：00頃までみられた。これ以降，受精卵を保持した雌がみられなかったことから，「産み付け」は15：00頃までに終えるものと推察される。

活発な「追いはらい」，「たたかい」は夜明けから観察され，求愛がみられなくなる11：00頃にはこれらの行動もみられなくなった。各観察年，月における繁殖行動のパターンは基本的に同様であったが，繁殖行動の頻度は6月が5, 7, 8月に比べて高い傾向が見られた。

なお繁殖行動の観察されなかった月(9, 11, 1, 2, 4月)は，夜明け後，「群れ」が形成され，日暮れまで「群れ」が維持された。また「群がり」，「追いはらい」，「たたかい」はみられなかった。

考　　察

野生メダカはその個体数の減少から絶滅危惧種に指定され，[1] 保全活動も行われているが，[2-5] これまで野生メダカの繁殖行動についての学術的な報告はなかった。このことは野生メダカがいつ，どこで，どのような環境で産卵をしているのか明らかにされていなかったことを示している。野生メダカにとって産卵に好適な環境が明らかではない状況下では，どのような環境を保全，修復すべきか，明確な方法を得ることが困難であると考えられる。また河川改修，圃場整備などによりメダカの産卵好適環境が失われても誰も気がつかないという事態も懸念される。このような状況下，本研究ではメダカの保全の

ための基礎的知見を得るために，屋外の池で自然繁殖している野生メダカの繁殖行動の観察を行った。

本研究で観察対象とした池は人工の池であり，メダカ以外の脊椎動物が少ないなど天然の池とは動物相が異なるが，池の造成後70年ほど経過し，植物相はほぼ在来種であること，放流されたメダカは西宮市在来の野生メダカであること，その後メダカは人為的な補助なしで2007年から繁殖を繰り返していることなどから，野生メダカの自然条件下での繁殖行動を観察するには好適であると考えられた。これまで飼育条件下でのメダカの繁殖行動を観察した報告はあるが，[15-17,19-25] 飼育条件下でのメダカの行動と自然条件下の野生メダカの行動が同じかどうか，比較した研究はなく，また飼育条件下で得られた知見がそのまま保全活動に適用可能なのか，野生メダカの保全のためには，明らかにしておくことが重要である。実際，アミメハギ *Rudarius ercodes* では飼育環境下と自然条件下では繁殖行動のパターンが異なるという報告がなされている。[34] 水槽内での飼育条件下では，アミメハギはペア産卵を行うが，自然条件下では1個体の雌のあとに数個体の雄が行列をなして求愛を行い，雌の放卵時には複数個体の雄が雌の周囲で放精をするといった一雌多雄型産卵を行うことがフィールド観察から明らかとなっている。このような経緯で行った本研究は，屋外で自然産卵する野生メダカの繁殖行動に関する初めての報告と位置づけられる。

今回観察された野生メダカの繁殖行動は，雌雄の一連の産卵に関して，Ono and Uematsu[15,16] および岩松[17] らによって記載されているヒメダカの行動および我々が飼育室内で観察しているヒメダカの行動（小林，未発表）とほぼ同様であった。なお用語については本論文の「材料と方法」で提唱しているとおりである。

飼育条件下での行動と屋外池での行動の差異としては，雌の「産み付け」があげられる。Ono and Uematsu[15,16] および岩松[17] は，雌雄の産卵行動のあと，雌が受精卵を水槽の底にこすりつける行動と雌が受精卵を振り落とす行動が起こることを記載している。今回，メダカが腹部を池の底にこすりつける「こすりつけ」に類似した行動は見られたが，この行動は受精卵を保持する雌だけでなく，受精卵を持たない雌および雄においてもみられたこと，受精卵を持つ雌がこすりつけを行った直後に池の底の泥を採取しても泥の中から卵がみつからなかったことから（小林，未発表），屋外池でみられた行動は，飼育水槽内でみられる「こすりつけ」とは別の種類の行動であると考えられた。ただし，この行動の意味は今のところ不明である。一方，雌が受精卵を振り落とす行動も屋外池ではみられなかった。実験室内で，受精卵の付着のための基質を入れない水槽に受精卵を保持した雌のヒメダカを入れると，水槽の底への腹部の「こすりつけ」，「ふりおとし」による卵の離脱がみられ，水槽に水草などの基質を入れると雌は基質に対して「つつき」と受精卵の「付着」を行い，「こすりつけ」と「ふりおとし」はほとんど起こらなくなる（小林，未発表）。このことから，「こすりつけ」と「ふりおとし」は，水槽内に受精卵を産み付ける基質がない飼育条件下で誘起される雌のメダカの行動と考えられる。

産卵後の雌のメダカの行動として，今回，受精卵を産み付ける一連の行動（つつきと付着）が観察された。多くの卵生の魚類では，受精卵は雌雄の放卵，放精直後に浮遊，沈下あるいは基質に付着するが，メダカでは雌が受精卵を腹部に保持するという，メダカの仲間以外ではみられないような繁殖様式をとる。メダカと同じ纏絡卵を産むトビウオでも放卵後すぐに受精卵は基質に付着し，メダカのような卵の保持，産み付け行動は行わない。[35-37] 受精卵を保持するメダカの雌は，吻でコケ，水草などをつつき，その後受精卵をそれらの基質に付着させる行動をとった。この場合，卵の付着に際し，基質の適性を吻で確認するのか，「つつき」のみを行って受精卵の「付着」にまで至らない場合もしばしば観察された。

屋外池における受精卵の産み付けは，ほとんどの場合が水面近くの水深1 cm程度のところで行われた。浅い水深のところに受精卵を産み付ける理由として，卵の捕食者を避ける，卵が高い溶存酸素を得ることができるなどのメリットが考えられるが，水位の低下により卵が水面から露出して乾燥するデメリットも考えられる。実際に，池の水位の低下によりメダカの受精卵が水面から出ていることが観察されている。雌が水面近くに卵を産み付ける意義およびこの性質が他の地域のメダカにもみられる共通の性質かどうか，今後の研究課題である。

メダカの産み付け基質の材質としては，多少の選好性があるようであるが，特定の基質のみを選ぶわけではなく，異なる材質のものに受精卵の産み付けを行っていた。今回の観察において高頻度で受精卵の付着が観察されたのは，ヤナギゴケおよびホウオウゴケの1種であった。長野県内の自然繁殖している野生メダカを観察した際，サイシュウテングゴケ *Rhynchostegium contractum* に受精卵が産み付けられていたことから，メダカは披針形の葉をもつ蘚類を基質として特に好むのかもしれない。またサイシュウテングゴケの場合も，産み付けられていた卵は水面近くであった（小林，未発表）。なおサイシュウテングゴケは陸生の蘚類であるが，観察池では茎の一部分が池の水中にまで入り込んでいた。

野生メダカの繁殖行動において雌雄の産卵行動を行うためには特別な基質は必要としないが，雌が受精卵の産み付け行動を行うためには，メダカの好む基質が必要である。メダカの卵の産み付け，その後の胚発生といった繁殖過程を保障するには，メダカの産み付け基質のある

環境を保全することが重要であると考えられる。

産卵期のメダカの日周活動としては，早朝からの雄同士の「たたかい」，「追いはらい」，雄の雌に対する「求愛円舞」，雌雄の「抱接」，そして午後までの雌の受精卵の保持および「つつき」，「付着」といった行動がみられた。このような行動の日周変化は長野県の野生メダカにおいても観察されたことから（小林，未発表），今回の観察結果は，野生メダカの産卵期における共通の日周活動である可能性が考えられる。

繁殖行動以外には，産卵期間中に雄同士の「たたかい」，「追いはらい」が頻繁に観察された。「たたかい」は社会的順位に基づく行動とされているが，[17,31] 屋外の池において，「たたかい」，「追いはらい」および「妨害」は，雄が他の雄に対して行い，産卵期の午前中の求愛を行う時間とほぼ同じ時間帯に観察されたことから，ここでは繁殖行動の一部であるとも考えられる。また午後の遅い時間の「産卵」が行われない時間帯にも「たたかい」が観察されることがあったが，この場合は社会的順位による行動と考えられる。その他，産卵期間中は「群がり」が観察されたが，非産卵期には「群がり」はみられず，「群れ」が形成されていた。

今回，1例ではあるが，雄メダカのスニーキングが観察された。[24,28] この行動は，古屋[28] の記載する「産卵後スニーキング」である可能性が考えられた。ビデオによるこの行動の解析の結果，雄がスニーキング時特有の行動であるS字型の姿勢を雌に対してとっていることから（高田，私信），飼育水槽内でみられる雄メダカのスニーキングと同様の行動であると判定された。このことは，雄メダカのスニーキングは，閉鎖的な飼育条件下でのみ起こる行動ではなく，自然界でもみられる現象であることを示唆している。

魚類の保全を適切に行うためには，その魚種の生存環境を保全するだけではなく，その魚の産卵環境も保全することが重要である。[38] そのためには，その魚種の産卵行動がどのような行動であるかということを明らかにするとともに，その産卵行動がどのような環境で行われるかということを明らかにしておく必要がある。今回の野生メダカの繁殖行動の観察結果から，メダカの雌雄の産卵行動には特別の基質を必要としないが，雌が受精卵を産み付けるためには水面近くに基質が必要であることが観察された。このことから，メダカの保全を行うためには，水面近くの浅瀬にメダカの好む産み付け基質が生育していることが重要であると考えられた。またヒメダカで記載されている雌が受精卵を離脱させるための行動，「ふりおとし」，「こすりつけ」，は野生メダカではみられず，これらの行動は飼育条件下で産み付け基質がないときに見られる行動と考えられた。

今回，自然産卵する野生メダカの繁殖行動に関する初めての観察がなされたが，本研究の結果が，神戸女学院大学で繁殖しているメダカ特有の性質によるものなのか，また万葉池の環境条件でのみみられる行動なのか，今後，他の地域の野生メダカの繁殖行動の観察を行うとともに，得られた観察結果を実験室内で検証し，メダカの保全活動に必要な基礎的知見の集積を図りたい。

謝　辞

本研究において，蘚類の種の同定は国立科学博物館植物研究部陸上植物研究グループの樋口正信先生に，陸上植物の種の同定は神戸女学院大学人間科学部環境・バイオサイエンス学科野嵜玲児先生にしていただいた。雄メダカのスニーキングの判別は信州大学理学部生物科学科高田啓介先生にしていただいた。メダカの遺伝子型の同定は新潟大学理学部酒泉満教授にしていただいた。感謝の意を表する。本研究の一部は，国際基督教大学研究助成基金補助金により実施された。

文　献

1) 環境省．改訂・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―．自然環境保護センター，東京．2003.
2) 佐原雄二，細見正明．メダカとヨシ．岩波書店，東京．2003.
3) 端　憲二．メダカはどのように危機を乗り越えるか．農文協，東京．2005.
4) 坂本　啓，谷合祐一，須藤篤史，小畑千賀志，花輪正一，太田裕達，高橋清孝．メダカ農業水路の保全で復元．「田園の魚をとりもどせ」（高橋清孝編）恒星社厚生閣 2009; 98–104.
5) 竹花佑介，北川忠生．メダカ人為的な放流による遺伝子撹乱　魚類学雑誌 2010; **57**: 76–79.
6) Shima A, Mitani H. Medaka as a research organism: past, present and future. *Mech. Dev.* 2004; **121**: 599–604.
7) Matsumoto Y, Oota H, Asaoka Y, Nishina H, Watanabe K, Bujnicki JM, Oda S, Kawamura S, Mitani H, Medaka: a promising model animal for comparative population genomics. *BMC Res. Notes* 2009; **2**: 88. doi:10.1186/1756–0500–2–88.
8) Padilla S, Cowden J, Hinton DE, Yuen B, Law S, Kullman SW, Johnson R, Hardman RC, Flynn K, Au DWT. Use of medaka in toxicology testing. *Curr. Protoc. Toxicol.* Unit1.10, 2009; **39**: 1–36.
9) 寺尾　修．野生メダカの生態．遺伝 1985; **39**: 47–50.
10) 小林　尚．長野県北部の水田地帯におけるメダカ *Oryzias latipes* の成長と移動様式．長野県自然保護研究所紀要 2002; **5**: 9–14.
11) 高村健二．分布確認地点にもとづくメダカ生息適地推定．保全生態学研究 2007; **12**: 112–117.
12) Kamito A. Early development of the Japanese killifish (*Oryzias latipes*) with notes on its habits. *J. Coll. Agricul.* 1928; **10**: 21–38.
13) Awaji M, Hanyu I. Annual reproductive cycle of the wild type medaka *Nippon Suisan Gakkaishi* 1987; **53**: 959–965.
14) 濱口　哲，中川実紀，藤巻　玲，酒泉　満．新潟地域のメダカの生活史．「弥彦山・角田山とその周辺の環境科学―弥彦プロジェクト研究報告書―（2003.3）」（新潟大学

理学部自然環境科学科編)，新潟大学，新潟．2003; 37–45.
15) Ono Y, Uematsu T. Mating ethogram in *Oryzias latipes*. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI Zool*. 1957; **13**: 197–202.
16) Ono Y, Uematsu T. Sequence of the mating activities in *Oryzias latipes*. *Japan. J. Ecol*. 1968; **18**: 1–10.
17) 岩松鷹司．新版メダカ学全書．大学教育出版，東京．2006.
18) 矢野悟道，瀬戸良三，前多　純，布施道子，鬼頭英子，安達裕子．岡田山の自然．神戸女学院百周年記念「岡田山の自然」出版委員会，西宮市．1974.
19) Takehana Y, Nagai N, Matsuda M, Tsuchiya K, Sakaizumi M. Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in Japanese wild population of medaka, *Oryzias latipes*. *Zool. Sci*. 2003; **20**: 1279–1291.
20) Hamilton JB, Walter RO, Daniel RM, Mestler GE. Competition for mating between ordinary and supermale Japanese medaka fish. *Anim. Behav*. 1969; **17**: 168–176.
21) Walter RO, Hamilton JB. Head-up movement as an indicator of sexual unreceptivity in female medaka, *Oryzias latipes*. *Anim. Behav*. 1970; **18**: 125–127.
22) Uematsu K. An analysis of sufficient stimuli for the oviposition in the medaka *Oryzias latipes*. *J. Fac. Appl. Bio. Sci. Hiroshima Univ*. 1990; **29**: 109–116.
23) Grant JWA, Green LD. Mate copying versus preference for actively courting males by female Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Behav. Ecol*. 1996; **7**: 165–167.
24) Grant JWA, Bryant MJ, Soos CE. Operational sex ratio, mediated by synchrony of female arrival, alters the variance of male mating success in Japanese medaka. *Anim. Behav*. 1995; **49**: 367–375.
25) Howard RD, Martens RS, Innis SA. Drnevich JM, Hale J. Mate choice and mate competition influence male body size in Japanese medaka. *Anim. Behav*. 1998; **55**: 1151–1163.
26) Oshima Y, Kang IJ, Kobayashi M, Nakayama K, Imada N, Honjo T. Suppression of sexual behavior in male Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17β-estradiol. *Chemosphere* 2003; **50**: 429–436.
27) 早川洋一，瀧田真平，菊池一也，吉田彩夏，小林牧人．メダカの産卵行動における嗅覚の関与．魚類学雑誌，印刷中．
28) 古屋康則．メダカに見られる2種類のスニーキング行動．「今，絶滅の恐れがある水辺の生き物たち」(内山りゅう編) 山と渓谷社，東京．2007; 155.
29) 井尻憲一．宇宙メダカ実験のすべて．RICUT，東京．1997.
30) 舘　鄰．生殖生物学入門．東京大学出版会，東京．1990.
31) 小野嘉明，植松辰美．メダカのたたかい行動と体色変化．金沢大学理学部能登臨海実験所年報 1963; **3**: 1–4.
32) 有元貴文．魚はなぜ群れで泳ぐか．大修館書店，東京．2007.
33) 幸田正典．社会．「魚類生態学の基礎」(塚本勝巳編) 恒星社厚生閣，東京．2010; 27–41.
34) 赤川　泉．アミメハギの雌はどのようにして雄を選ぶか．「魚類の繁殖戦略2」(桑村哲生，中嶋康裕編) 海游社，東京．1997; 92–125.
35) 岩井　保．魚学入門．恒星社厚生閣，東京．2005.
36) Nakaya M, Morioka T, Fukunaga K, Murakami N, Ichikawa T, Sekiya S, Suyama S. Growth and maturation of Pacific saury *Cololabis saira* under laboratory conditions. *Fish. Sci*. 2010; **76**: 45–53.
37) 中屋光裕，森岡泰三，福永恭平，村上直人，市川　卓，関谷幸生，巣山　哲．サンマ飼育下の成長と成熟．日水誌 2011; **76**: 571.
38) Abe T, Kobayashi I, Kon M, Sakamoto T. Spawning behavior of the kissing loach (*Leptobotia curta*) in temporary waters. *Zool. Sci*. 2007; **24**: 850–853.

屋外池における野生メダカ *Oryzias latipes* の繁殖行動

小林牧人，頼経知尚，鈴木翔平，清水彩美，
小井土美香，川口優太郎，早川洋一（国際基督教大），
江口さやか，横田弘文，山本義和（神戸女学院大）

本邦の絶滅危惧種にも指定されているメダカを保全するためには，その生息環境だけでなく繁殖生態についても知見を得ることが重要である。本研究では屋外池で自然繁殖している野生メダカを対象に繁殖生態を調べた。メダカでは，雌が産卵後に卵をしばらく腹部に保持し，それらを基質に産み付ける。今回の観察で，野生下において「産み付け行動」の初の観察・記載に成功し，数種の基質を特定した。基質の特定および存在場所は，今後のメダカの保全において，繁殖場所の確保という点で重要な知見になると考えられた。

日水誌，**78**(5), 922–933 (2012)

mtDNA-CO I 領域のシーケンス分析によるヤマトシジミの地域集団構造

飯田雅絵，菅野愛美，木島明博（東北大院農）

ヤマトシジミ種内の地域集団構造を調べるため，東アジアから採取したヤマトシジミおよび対照群において mtDNA-CO I 領域のシーケンス分析を行った。その結果，ヤマトシジミ種内では，1）ロシア・北海道・本州日本海側グループ，2）太平洋側グループ，3）朝鮮半島北東グループ，4）朝鮮半島南西グループの4つの明確なクラスターに分かれ，地理的分化による地域集団構造が示唆された。一方，利根川と桑名の2地域から採取したサンプルは地理的関係を反映しておらず，過去の移植放流の影響が推測された。

日水誌，**78**(5), 934–944 (2012)

異なる餌料で養殖したアワビ F1 交雑種の肉質の比較

原田恭行（富山食研），熊谷敬之（入善漁協），
小善圭一，横井健二（富山食研）

コンブ，塩蔵ワカメ，配合飼料をそれぞれ単独に給餌して養殖したアワビ筋肉の肉質を，物理・化学分析，官能検査により評価した。遊離アミノ酸総量に差は認められなかったが，コンブ区でグリシン含量が多い傾向にあり，疎水性アミノ酸が少なかった。破断強度はワカメ区が弱い傾向にあった。官能検査の結果，甘味は，コンブ区が好ましく，遊離アミノ酸組成の影響があると考えられた。歯ごたえは，ワカメ区が好ましい傾向にあり，破断強度の弱さの傾向に一致した。これらの結果は，養殖アワビの肉質が餌により影響を受けることを示唆した。

日水誌，**78**(5), 945–950 (2012)

クロアワビの消化酵素活性と消化管内容液細菌叢モニタリングのための消化管内容液採取法

丹羽健太郎（水研セ増養殖研），
青野英明（水研セ東北水研），
澤辺智雄（北大院水）

アワビ消化液の非致死的な消化管内容液（DF）の採取方法を開発した。この方法により採取した DF と解剖により採取した消化盲嚢ホモジネート（DH）との間で多糖類分解酵素活性と細菌叢を比較した結果，DF のアルギン酸リアーゼ，セルラーゼおよび β-1,4-マンナナーゼの比活性は DH のそれらに比べていずれも高いこと，また，DF の生菌数は DH よりも低い値を示すが，細菌種の組成は類似していることが明らかになった。本法は，アワビの消化生理の動態解析に有用と考えられる。

日水誌，**78**(5), 951–957 (2012)

輸送および放流過程の異なるニシン稚魚が受けるダメージ：行動の変化，体成分の変化および耳石障害輪形成

瀧谷明朗（道中央水試），福士暁彦（釧路水試）

ニシン種苗が輸送過程や放流過程で受けるダメージを明らかにするため，直接放流群と中間育成後放流群の2群を同日放流した。種苗の輸送後や放流後には成長の停滞，トリグリセリドの急減や酸性プロテアーゼ活性の急増および耳石障害輪形成が認められた。放流初期には遊泳水深帯や摂餌行動に異常が観察された。種苗のダメージの回復までに，輸送は5日前後，放流は10日以上を要した。耳石障害輪形成率の顕著な違いから直接放流群は中間育成後放流群に比べより強いダメージを受けたことが示唆された。

日水誌，**78**(5), 958–965 (2012)

水晒し工程におけるトランスグルタミナーゼの挙動に関する免疫学的研究

酒井清悟（京大院農），
久保田光俊，石田貴之（日水中研），
前川真吾（京大院情報），
豊原治彦（京大院農）

水晒し工程におけるトランスグルタミナーゼの挙動を明らかにする目的で，抗トランスグルタミナーゼ抗体を用いてスケトウダラなど各種魚肉すりみに対してウエスタンブロット分析を行った結果，すべての魚種においてトランスグルタミナーゼと思われるバンドが検出された。しかし，これらのすりみのミオシン重合能には顕著な違いがあったことから，魚種により坐りの程度が異なる原因は，トランスグルタミナーゼの有無ではなく，基質であるミオシンにおけるリシンとグルタミンの存在様式や重合反応機構の違いが原因であると推測された。

日水誌，**78**(5), 966–972 (2012)

ミトコンドリア DNA 分析によるカラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* 集団構造の年級群間比較（短報）

山田　綾，越野陽介，工藤秀明，阿部周一，
荒井克俊，帰山雅秀（北大院水）

カラフトマス *O. gorbuscha* は2年間におよぶ一回産卵型の生活史を持つため，奇数年級群と偶数年級群とに分けられ，各年級群間において遺伝的隔離が生じると考えられている。カラフトマス集団における遺伝的差異に関する研究は様々な方法で行われてきたが，日本系カラフトマスを対象とした研究は少ない。本研究では，2008年および2009年に北海道知床半島ルシャ川に遡上したカラフトマスのミトコンドリア DNA（ND5 領域および COI 領域）を用いて年級群間比較を行った。その結果，年級群間で有意な差が検出され，遺伝的分化が起きていると考えられた。

日水誌，**78**(5), 973–975 (2012)