

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07544

研究課題名(和文) シロサケの母川探索行動とその影響因子の解明

研究課題名(英文) Behavior for searching the natal river in chum salmon and the effectors

研究代表者

野畑 重教 (Nobata, Shigenori)

東京大学・大気海洋研究所・特任研究員

研究者番号：00526890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：三陸地方に來遊するサケの母川回帰行動を明らかにするために、岩手県の大槌湾で発信器を装着したサケを放流してその動きを追跡した。その結果、大槌湾河川へ入る場合は南寄りのルートを選択して河川へ遡上することが明らかになった。河川水は湾の南岸寄りに流入していることから、サケは河川の匂いを頼りに遡上河川を探索した結果、南岸からのアプローチになったと考えられる。遡上時の性成熟度はほぼ全個体が最終成熟を迎えているが、成熟途上の個体では湾奥で最終成熟を迎えるまで待っていることが推察された。このように三陸のサケの回帰行動には、成熟度や湾の物理環境の影響があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To clarify homing behavior of chum salmon, homing salmon, which were attached with acoustic transmitters, were released and tracked in the Otsuchi Bay. More than half of fish went out the bay. The others entered the rivers that flow into the Otsuchi Bay via the southern coast of the bay, because of southward flow of river water. Most of pre-matured fish hold in the inner bay until complete maturation degree and then entered the rivers. It is likely that homing salmon stay in the inner bay until just before spawning in November and December. In conclusion, homing behavior is influenced not only by maturation degree but also by spreading of river water.

研究分野：比較生理学

キーワード：サケ 母川回帰 性成熟

1. 研究開始当初の背景

サケの稚魚は生後まもなく降海し、数年の大回遊のち生まれた川に遡上(母川回帰)し繁殖する。母川の探索は、稚魚期に記録された母川特有の“匂い”をたよりに行われ、高い母川回帰率はバイオフィルムなどによる安定した母川環境によって維持されると考えられてきた。しかし、2011年に三陸沿岸を襲った大津波は母川環境を攪乱し、サケの回帰に少なからず影響を与えることが懸念された。この可能性を明らかにする目的で、申請者は音波発信器を用いた行動解析を岩手県大槌湾で開始した。その結果、湾奥での行動は4つのパターンに分類された。すなわちすぐに特定の河川に遡上する個体、河口を探索した後に遡上する個体、すぐに湾外に出てしまう個体、河口探索後に湾外に出る個体、である。このように、たとえ湾内に移動したサケであっても、その後の行動はこれまで考えられてきたものよりも極めて複雑であることがわかってきた。

大槌湾で明らかとなった多様な行動様式の原因について申請者は以下の影響を考えた。すなわち 震災の影響(震災前の母川の“匂い”と河川環境の攪乱による震災後の“匂い”とのギャップが、震災前に降海したサケの母川回帰に影響するか否か)、 遺伝的背景(生まれた川の違い)および 生理学的背景(性成熟の進行度合いや塩分耐性の喪失が河川へのモチベーションとなる)である。

以上、3つの仮説を検証することで、大津波による河川環境攪乱の影響を明らかにすることにとどまらず、サケの回帰行動の真実を明らかにできると考えた。

2. 研究の目的

三陸のサケの母川回帰行動がどのような因子により制御されているかを明らかにし、最終的にはサケ資源の回復にも貢献することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

本研究は、岩手県の大槌湾で実施された。大槌湾にはサケの遡上河川が3つ注いでおり(大槌川、小槌川、鵜住居川)、湾奥での河川選択行動を超音波発信器によるバイオテレメトリー手法で調べた。

湾奥の定置網で捕獲されたサケに超音波発信器を装着し、5mlの採血および鰓の小片を採取した。麻酔から覚醒後に捕獲地点よりやや湾奥の蓬莱島付近、あるいは捕獲地点からやや湾口側の地点で放流した。発信器からの信号を受信するために、湾奥に19個の受信器を設置した。この受信器の配置から河口側に設置した受信機で最後の受信記録がある個体はいずれかの河川に遡上したと考えられ、また湾口側の受信機で最後の受信記録がある個体は湾口側へ移動したと考えられる。また、実際に川に遡上したかを確認する目的で、移動式受信器による探索も合わせて

行った。さらに Vemco ポジショニングシステムを用いて軌跡の詳細を明らかにした。

血から遠心分離により血漿を得て使用時まで-80℃に保存した。血漿中の性ステロイドホルモン濃度を測定するため、エーテル抽出を行い緩衝液で再溶解した後、ELISA法で Testosterone (T)、Estradiol (E)、11-Ketotestosterone (11KT)、および 17 β ,20 α -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP)の濃度を測定した。

鰓小片は、組織解析用に4%パラフォルムアルデヒドで1晩固定した後、使用まで70%エタノールで保存した。また遺伝子解析用として RNA later に一晩浸した後、使用まで凍結保存した。RNA抽出、リアルタイムPCR、*in situ* ハイブリダイゼーションは汎用法により行った。

4. 研究成果

(1)2015~2017年度の11~12月にかけて計255個体のサケに発信器をつけて放流し、243個体からデータを取得した。以前からの検討と同様に放流した個体の半数以上は湾外へ出て計95個体が大槌湾にそそぐ3河川のいずれかに遡上した。

(2)回帰魚の成熟状態の変化を時間軸で見えるために、飼育魚から経時的に採血し、血中ステロイドホルモンを測定した。雌雄ともにTやE(11KT)の濃度は一貫して減少するのに対して、DHPは上昇後ピークを迎えると減少へと転じた。DHPは最終成熟を誘起するホルモンでその血中レベルは最終成熟の指標となる。そこで供試魚の放流時の成熟状態を知るために、血漿中のT、E、11KT及びDHP濃度を測定した。大槌湾河川に遡上した群と湾外へ行った個体のDHP濃度はそれぞれ0.08~331(0.09~12)ng/mlと0.39~346(0.08~30.5)ng/ml(カッコは雄)と、両群で差は認められなかった。この結果から最終成熟を迎えた(DHP濃度の高い)個体でも、入りやすい手近の川に遡上するわけではないことが示唆された。次に河川に入った個体だけを対象として、放流時の血漿DHP濃度と河川への遡上開始までの時間(待機時間)の関係を見ると、両者は有意な負の相関関係を示した(図1)。

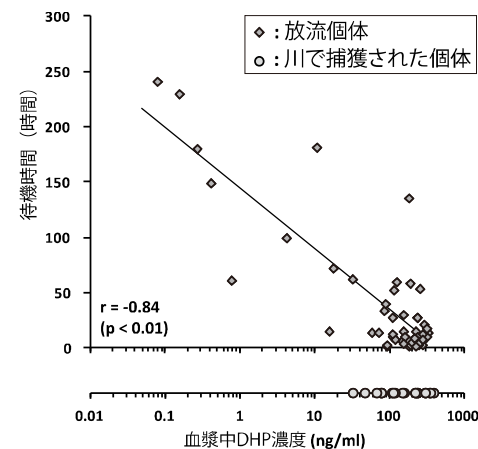


図1 河川へ遡上するまでの待機時間と放流時のDHP濃度

つまり雌雄とも最終成熟している個体は待機時間が短く、成熟途上の個体は待機時間が長いことがわかった。放流個体とは別に河川で捕獲された個体の成熟度はほぼ例外なく最終成熟を迎えていた(図 1)。以上のことから成熟途上の個体は湾内で最終成熟するのを待ってから遡上を開始すると考えられる。(3)三陸に回帰するサケは遡上を目前にして、湾内ですでに淡水型のエラに形態変化していることが知られている。すなわち海にいながら徐々に塩分耐性が失われている可能性があり、これが回帰行動に影響を与える可能性がある。塩分耐性の指標となる血漿の浸透圧は 292 ~ 484(mOsmol/l)と広範囲に及んだが、血漿浸透圧と待機時間、および浸透圧と成熟度の間には有意な相関はみられなかった。塩分耐性の詳細な解析としてマーカー分子を定量的に評価するため、 Na^+ , K^+ , ATPase(NKA)の3種のサブユニット(1a, b, c)のcDNAクローニングを行った。リアルタイムPCRによる評価系を確立し予備検討として各サブユニットの発現量を測定したところ、1aの発現量は淡水馴致の鰓と比較して海水馴致の鰓で極端に低いことがわかった。逆に1bの発現量は海水馴致群で高いことがわかった。これは他のサケ科魚類で報告された発現量の結果と一致しており、サケでもサブユニットの発現量をもとに海水型と淡水型を評価できる可能性が示唆された(図 2)。組織学的解析を行うために1aとbに対する抗体を作製し、鰓組織の免疫染色を行ったところ良好な染色像が得られた。しかし、この抗体を作製するために用いた抗原のアミノ酸配列のうち、C末端側の半分はaとbに共通の配列であるため、各抗体はaとbを共に認識している可能性がある。今後抗体の精製を行って、免疫染色の系を確立させる。*in situ*ハイブリダイゼーションでは1aとbは検出できたが、1cは検出できなかったため、新たなプローブを作製するなどの検討を今後行う。

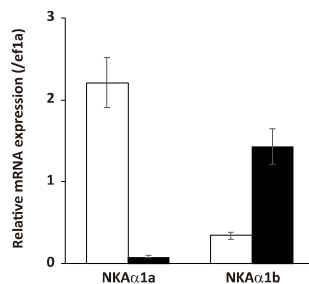


図2 淡水馴致魚と海水馴致魚におけるNKA αサブユニット発現量

(4)河川への遡上様式は湾の物理環境に依存する傾向が見られた。湾の南側にそそぐ鵜住居川へは湾の南岸寄りのルートで河口にアプローチして遡上する。一方、湾の北側に注ぐ大槌川(小槌川)へも南岸よりのルートから北上して河口にアプローチする。つまりサケは大槌湾の南岸を高頻度に利用して各河川へと遡上する(図 3)。この原因として河川水の湾内への流入方向があげられる。湾内の表層の物理環境は反時計回りの流れに支配されていて、湾に流れた河川水も反時計回りで広がる(図 4)。そのため河川水は南岸に集

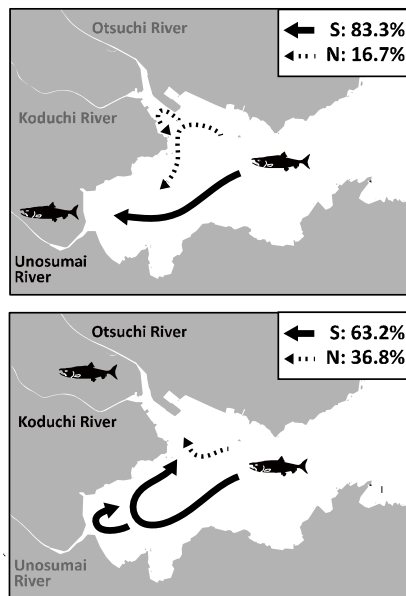


図3 河川遡上時の河口への行動パターン

まる。おそらくサケは南岸に流れ込む河川水の“匂い”を頼りに川にアプローチするため、南岸よりのルートを選択すると思われる。結果として大槌(小槌)川に遡上するサケは鵜住居川への探索行動をとる個体が多くなった(図 3)。

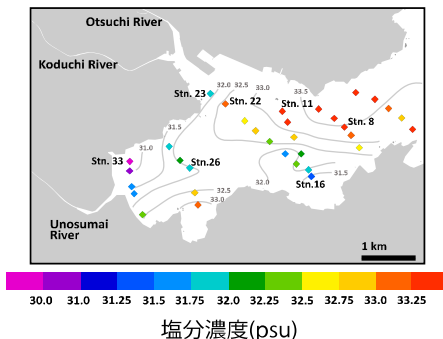


図4 大槌湾表層1mにおける表層塩分濃度分布

以上、三陸に回帰するサケの母川回帰行動は成熟度および湾内の水塊構造に依存していることが明らかになった。また震災後の復興工事により水塊構造が変化することで、母川回帰行動が変化する可能性も示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

1)北川貴士、川上達也、野畑重教、峰岸有紀、伊藤元裕、大竹二雄、青山潤、兵藤晋「通し回遊魚に対する震災の影響」日本水産学会誌 83:681-684, 2017.

2)Miyaniishi H, Inokuchi M, Nobata S, Kaneko T. Past seawater experience enhances seawater adaptability in medaka, *Oryzias latipes*. *Zool Lett*, 2:12,

2017.

〔学会発表〕(計9件)

- 1)野畑重教、北川貴士、佐藤信彦、兵藤 晋、三陸沿岸に回帰するサケの遡上生態の多様性とその要因、2018年3月、日本水産学会、東京海洋大学、東京
- 2)野畑重教、青木良徳、伯耆匠二、北川貴士、佐藤克文、竹井祥郎、兵藤 晋、サケの母川回帰行動と性成熟との関係に関する研究、2017年3月、日本水産学会、東京海洋大学、東京
- 3)野畑重教、海谷啓之、竹井祥郎、ウナギにおけるバソトシンおよびイソトシンの体液調節作用とその受容体との機能相関、2016年12月、日本比較内分泌学会、北里大学、相模原
- 4)野畑重教、北川貴士、青木良徳、伯耆匠二、佐藤克文、竹井祥郎、兵藤晋、サケ (*Oncorhynchus keta*) 回帰親魚の性成熟が河川遡上行動に与える影響、2016年12月、日本比較内分泌学会、北里大学、相模原
- 5)野畑重教、伯耆匠二、青木良徳、日下部誠、北川貴士、佐藤克文、竹井祥郎、兵藤晋、大槌湾におけるサケ回帰親魚の母川回帰行動とステロイドホルモンとの関連、2016年7月、サケ学研究会、北海道大学、札幌
- 6)野畑重教、北川貴士、青木良徳、斉藤 楓・佐藤克文、竹井祥郎、兵藤 晋、大槌湾におけるサケ回帰親魚の河川選択行動、2016年3月、日本水産学会、東京海洋大学、東京
- 7) Nobata S, Kitagawa K, Aoyama J, Kusakabe M, Takei Y, Hyodo S, Impact of the Tsunami on homing of chum salmon, *Oncorhynchus keta*, in Otsuchi Bay. March 2016, TEAMS International Conference, Tokyo.
- 8)Nobata S, Kitagawa K, Saito K, Aoki Y, Sato K, Takei K, Hyodo S, Age composition and behavior of homing chum salmon, *Oncorhynchus keta*, in Otsuchi Bay. February 2016, Salmon Workshop, Morioka.
- 9)野畑重教、北川貴士、青木良徳、斉藤楓、佐藤克文、兵藤 晋、大槌湾におけるサケ回帰親魚の母川回帰行動とステロイドホルモンとの関連、2015年12月、サケ学研究会、北海道大学、札幌

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野畑 重教 (Nobata Shigenori)
東京大学・大気海洋研究所・特任助教
研究者番号：00526890

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()