

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：80122

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450289

研究課題名(和文) 生理学および生態学的手法を用いた海洋生活初期のサケ・マス稚幼魚の成長率評価

研究課題名(英文) Evaluation of growth rates of juvenile chum and pink salmon in their early marine phase using the physiological and ecological techniques

研究代表者

宮腰 靖之 (MIYAKOSHI, Yasuyuki)

地方独立行政法人北海道立総合研究機構・その他部局等・さけます資源部長

研究者番号：70442639

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：サケ・マス稚幼魚の生き残りに強く影響すると言われる海洋生活初期の成長率を評価するため、耳石日周輪分析と生理学の指標の開発を行った。耳石からは降海日と日間成長率が推定でき、生理学的手法では血中IGF-I量が成長率の最もよい指標となることが示された。サケのIGF-I量は、河口域に滞泳する稚魚では低く、沖に分布する幼魚ほど高い傾向がみられた。また、カラフトマスのIGF-I量はサケよりも高く、沿岸域で早く成長しながら回遊していくことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To evaluate the growth rates of chum and pink salmon in their early marine life, we analyzed the otolith daily increments of juvenile chum and pink salmon and examined the effective physiological indicators for growth rates. By otolith increment analyses, the dates of ocean entry and daily growth rates can be estimated. From examining the physiological indicators, the serum insulin-like growth factor (IGF)-I can be used as a most useful indicator to evaluate the growth rates of juvenile salmon. Serum IGF-I levels in chum and pink salmon estuarine area were lower and fish in the coastal area were higher, indicating that growths of juvenile salmon was activated when they left the estuarine area and migrated to the offshore while fish of low growth stay in the estuary. Until May, IGF-I levels in pink salmon were lower than chum salmon but were higher in June, which likely reflects a higher growth rate of this species.

研究分野：水産増殖学、水産資源学

キーワード：サケ カラフトマス 成長率 IGF-I 耳石 沿岸

### 1. 研究開始当初の背景

サケ・マス類の生活史を通じ、稚魚が降海した直後の海洋生活初期における死亡率が高いことが知られている (Bax, 1983; Healey, 1982 など)。海外では海洋生活初期のサケ・マスの分布や生残率に関する研究が古くから多く行われており、汽水域の発達した沿岸域や内湾域を中心としてサケ・マス稚魚の行動生態、生息環境条件、捕食者など生残率に関わる要因についての研究が行われてきた。一方、国内でも沿岸域でのサケ・マス稚魚の分布調査が1990年代以降多く見られるようになり、サケ・マスの稚魚が沿岸域に滞泳する時期とその水温帯、沿岸を離脱する時期などが明らかとなっている (入江, 1990; Nagata *et al.*, 2007 など)。しかしながら個体の生残率に関わる要因までを詳しく研究した事例は必ずしも多くはない。

魚類の仔稚魚期の成長速度は生残率に影響する重要な要因であることが多くの魚種で調べられている。内分泌学的には、魚類の成長はインスリン様成長因子 (insulin-like growth factor, IGF)-I により促進され、近年、血中 IGF-I 量が個体の成長率の指標となることが示されている (Beckman *et al.*, 2004)。そのため、サケ・マス類において IGF-I や IGF 結合蛋白である IGFBP 量を調べることで、稚魚の状態をより正確かつ高感度に評価することが可能となり、生残率や資源への加入量を予測できる可能性がある。北米では実際にギンザケを対象として血中 IGF-I を成長率の指標に用いて幼魚の生残率や回帰率を推定する試みが行われている。

ただし、我が国で重要な漁業資源となっているサケ、カラフトマスではこれまでに IGF-I 系を用いて成長率を評価した研究はない。これはギンザケやマスノスケなど他のサケ科魚類と比べて淡水生活期間が短いサケ、カラフトマスでは、降海時の魚体サイズが小さいために採血が難しいことが一つの要因である。そこで、小型の稚魚を対象とした IGF-I と IGFBP を遺伝子および蛋白レベルで解析する技術を検討し、フィールドでの稚魚の成長に伴う IGF-I と IGFBP の測定を行えるようにすることが必要である。

また、最近では耳石の日周輪の計測によりサケ・マス稚魚の降海日の推定や日間成長率の推定が可能となった (Saito *et al.*, 2007)。カラフトマスにおいても実験的な検証が行われ、耳石の日周輪形成、海水移行帯が確認されており、日周輪間隔の測定による日間成長率の推定が可能となってきた。このような耳石微細構造の解析は、個体の降海時期と成長履歴を検証可能な点で優れており、サケおよびカラフトマス稚魚の降海後の成長率を推定することが出来る。近年開発されたこれらの技術

を活用することにより、生理学的、生態学的、双方の手法を用いて、降海直後から沿岸滞泳期にかけてのサケ・マス稚魚の成長率の評価が可能となるものと考えられる。

北海道オホーツク海側の網走湾では、サケ・マス稚魚分布のモニタリング調査が行われており、春季にはサケ、カラフトマスの稚魚が高い密度で生息する (Nagata *et al.*, 2007)。本研究では同地区でのサケ・マス増殖の基幹河川である網走川の河口から沿岸生活期、沿岸から沖合へ回遊する時期にかけてのサケ、カラフトマスの稚魚を採集し、成長量と成長因子の挙動を調べることで、海洋生活初期のこれら2魚種の稚魚の生残機構に関する重要な知見を得られる可能性が高い。

### 2. 研究の目的

サケ・マス類の生活史の中で、稚魚が降海した直後の死亡率の高いことが知られており、国内外で海洋生活初期のサケ・マス類の生残率に関して多くの研究が実施されてきた。本研究では海洋生活初期の成長率に着目し、生理学的 (インスリン様成長因子と IGF 結合蛋白の測定) および生態学的 (耳石の日周輪の分析) 手法を用いて成長率の評価基準の検討を行うとともに、実際に北海道オホーツク海側の河川の河口域から沿岸域に滞泳する時期にかけてサケ・マス稚魚を採集し、その成長率を評価することを試みた。それら分析結果からサケ、カラフトマス稚魚の海洋生活初期の成長率の評価と生残機構について考察を行う。

生理学的手法については、野外調査と並行して室内実験を行い、サケとカラフトマスを魚種別に給餌群と絶食群などを設定して、個体ごとの成長率と各部位の指標値を比較し、成長率の指標としての有効性を検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 野外におけるサケ・カラフトマスの採集

北海道東部オホーツク海側を流れる網走川とその河口近くの沿岸域を調査フィールドとした (図1)。網走川では河口から約5 km 上流の地点を調査定点とし、さらに沿岸域に



図1 北海道オホーツク海側網走川および沿岸でのサケとカラフトマスの採集地点

は河口（距岸 100 m）、距岸 600m、1000m、4000m の地点に調査定点を設定し、5 月上旬から 7 月上旬までの間、毎旬 1 回、サケとカラフトマスの稚幼魚を採集した。採捕方法は河川では投網、河口では地曳網、沿岸各点では 2 艘による船曳網とし、網走漁業協同組合、網走合同定置漁業、網走市役所の協力を得て採捕作業を実施した。

採集した稚幼魚は生かして実験室へ持ち帰り、サケおよびカラフトマスそれぞれ体長（尾叉長）と体重を測定し、血液を採取した。さらに、耳石、鰓、筋肉などを採取し、本研究での各項目の分析に供した。

#### (2) 耳石日周輪分析による降海日と成長率の推定

サケおよびカラフトマスでは、耳石の輪紋形成が日周性を持つことが知られており、また、河川から降海した際には海水移行チェックと呼ばれる太い明瞭な輪紋が形成される。また、耳石径と体長との関係はアロメトリー式で表すことができ、バイオロジカル・インターセプト法を用いることより耳石径から任意の時点の体長を逆算推定することが出来る。これらの特徴を利用して、サケおよびカラフトマス稚幼魚の降海日（旬）の推定と降海後の日間成長率の推定を行った。2013～2015 年の 3 カ年の 5 月下旬～6 月上旬に距岸 1 km の定点（図 1）で採集されたサケおよびカラフトマスの稚幼魚を対象として分析を行った。

#### (3) 生理学的指標の有効性の検討

サケを用いた室内実験：

個体の成長率を評価する生理学的手法として、IGF-1 量のほか、RNA/DNA (R/D) 比が広く用いられている。そこで、海水移行ならびに摂餌状態の変化が RNA/DNA (R/D) 比や IGF-1 量に及ぼす影響を調べた。5 月にサケ稚幼魚を淡水飼育および海水移行群に分け、さらに給餌群と無給餌群に分け、飼育後 0、1、2、3 週間後に各群 8 尾ずつをサンプリングし、尾叉長、体重を測定した後、血液、肝臓、筋肉を採取した。肝臓および筋肉の R/D 比を蛍光法により測定し、血中 IGF-1 量を時間分解蛍光免疫測定法により、肝臓 *igf-1* mRNA 量をリアルタイム定量 PCR により測定した。

カラフトマスを用いた室内実験

個体標識したカラフトマス稚幼魚を給餌群、給餌群と絶食群に分け、4-5 月に人工海水中で 10 日間飼育した。実験開始時および終了時に各個体の尾叉長・体重を記録し、瞬間成長率を算出した。サンプリングした魚から血液および筋肉を採取し、血中 IGF-1 量および筋肉 R/D 比をそれぞれ時間分解蛍光免疫測定法および蛍光法により測定し、カラフトマス稚魚における R/D 比および血中 IGF-1 量と個体成長率との関係

を調べた。

野外で採集したサケおよびカラフトマス稚幼魚での測定結果：

5 月中旬から 7 月上旬にかけて、網走川、河口および沿岸にて、採集したサケ、カラフトマスの稚幼魚の Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase(NKA) 活性、筋肉の RNA/DNA 比、および血中 IGF-1 量を測定した。血中 IGF-1 量および筋肉 R/D 比はそれぞれ時間分解蛍光免疫測定法および蛍光法により測定した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 野外でのサケおよびカラフトマスの採集時期

5 月にはサケおよびカラフトマスの稚幼魚は河口域を中心に分布しており、距岸 1 km 以上の沿岸で多く見られたのは 6 月に入ってからであった（図 2）。稚幼魚の分布密度は水温に依存する傾向がみられ、5 月中旬の水温が高めでに表面水温が 8 を超えた年には 5 月下旬以降、沿岸域で多数のサケ・マス稚幼魚が採捕された。一方、5 月中旬まで水温が低く 4 台で推移した年（2013 年）の採捕数は 3 年間で最も少なかった。6 月下旬以降、表面水温が 13 を超える頃にはサケおよびカラフトマスの稚幼魚はほとんど採捕されなくなった。これらの結果は既往の知見とほぼ同様と言える。網走沿岸域にサケおよびカラフトマスの分布するのはおおよそ 2 か月間で、ピークは 5 月下旬から 6 月中旬にみられ、その時期は水温に依存する傾向がみられた。また、河口域での稚魚の分布時期はカラフトマスがサケよりも 1 旬早く、5 月上旬あるいは中旬にはピークがみられた。

網走川では 6 月中旬までサケ、カラフトマ

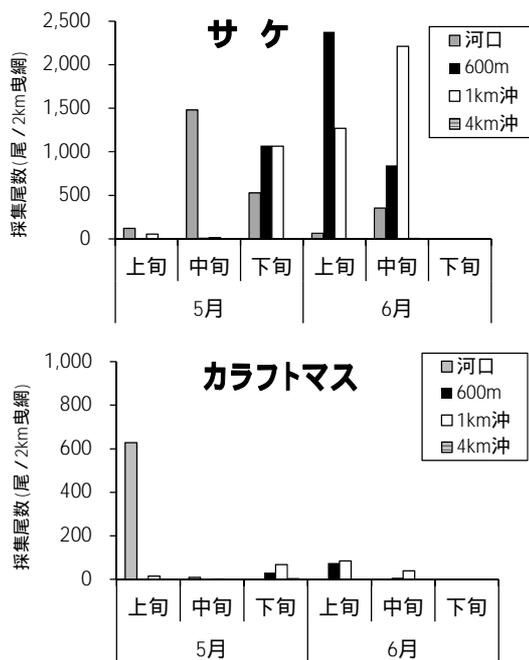


図 2 網走川河口から沿岸でのサケとカラフトマスの採集尾数（2013 年）

スの稚幼魚が採捕され、その中には体重2gを超える大型の幼魚も含まれた。網走川は干満により海水が逆流するため、降海して沿岸で成長した幼魚の一部はふたたび河川に滞泳することが示唆された。

河口から沿岸域で採捕された稚幼魚の体サイズは、河口から沖に向かうにつれて大型となる傾向がみられた。また、5月まではサケと比べてカラフトマスは小型の個体が多かったが、6月に入ると逆に、サケよりもカラフトマスのほうが大型となった。このことからカラフトマスの海洋生活移行後の成長率はサケのそれよりも高いことが示唆された。

### (2) 耳石日周輪分析によるサケおよびカラフトマスの降海日と成長率の推定

サケおよびカラフトマス稚幼魚の降海日(旬)を推定したところ、4月下旬から5月下旬の間であると推定され、そのピークはカラフトマスのほうがサケよりも1旬程度早い傾向がみられた。また、カラフトマスでは、サケと比べて降海旬がピーク旬前後に集中しており、2013年は4月下旬から5月上旬、2014年は4月下旬~5月中旬、2015年は5月中下旬に降海したと推定された。網走川における稚魚の放流時期はカラフトマスでは5月上旬、サケでは5月中旬から下旬であることから、推定された両種の降海時期の違いは、放流時期の違いと放流後の降河行動の違いからくるものと考えられた。

サケ稚幼魚の降海後の推定日間成長率は2013年が $0.30 \pm 0.11$ mm/day、2014年は $0.31 \pm 0.07$ mm/day、2015年は $0.29 \pm 0.08$ mm/dayであった。一方、カラフトマスでは、2013年が $0.36 \pm 0.07$ mm/day、2014年が $0.27 \pm 0.07$ mm/day、2015年が $0.34 \pm 0.13$ mm/dayであった。カラフトマスのほうが日間成長率は若干高めめの年もみられるものの、サケ、カラフトマスともに、3年間の比較では年間での推定日間成長率に有意差は認められなかった(Kruskal-Wallis検定)。

### (3) 生理学的指標の有効性の検討

海水移行時のサケ飼育実験： 淡水飼育と海水移行群の間ではいずれの指標値にも有意な変化はみられなかった。絶食群では1、2週目にはいずれの指標値も減少しはじめ、肝臓R/D比、血中IGF-I量および肝臓 *igf-1* mRNA量では塩分の影響を受けずに魚の摂餌状態を反映するものと考えられた。また、絶食に対する反応の違いから、肝臓R/D比よりも血中IGF-I量と肝臓 *igf-1* mRNA量のほうが高感度な成長指標であると考えられた。

また、これとは別に魚を個体ごとに識別して実施した10日間の室内実験では、血中IGF-I量と筋肉 *igf-1*量は絶食により有

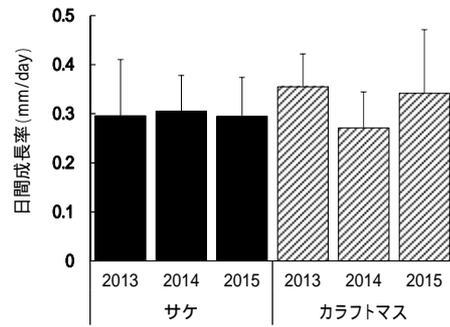


図3 網走沿岸で採捕されたサケとカラフトマスの降海後の日間成長率(縦棒は標準偏差を示す)

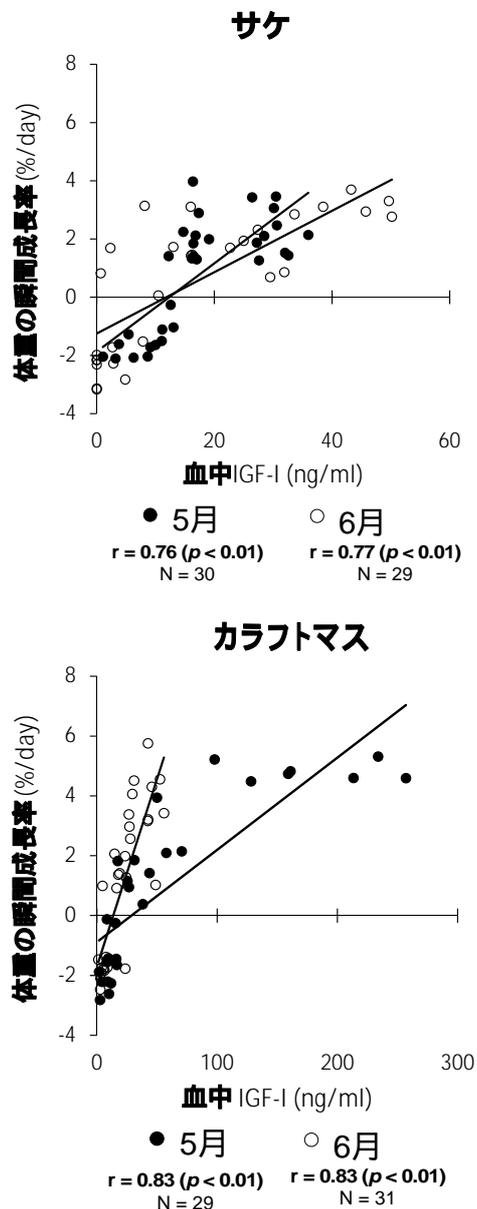


図4 サケとカラフトマスの血中IGF-I量と瞬間成長率の関係

意に減少した。これに対して肝臓 *igf-1* 量は顕著な差を示さなかった。また、血中 IGF-1 量は個体の成長率と高い正の相関を示し、筋肉 *igf-1* 量も正の相関を示した。しかしながら、肝臓 *igf-1* 量は有意な相関を示さなかった。一方、これらは尾又長とは相関を示さず、体サイズよりも成長率をよく反映していた。以上の結果から、サケ稚幼魚において血中 IGF-1 量は成長の指標として最も感度が高いものと考えられた。また血液の採取が困難な場合には、肝臓ではなく筋肉の *igf-1* 量が有用であり、これを指標として用いることが適切であると考えられた(図4)。

カラフトマスの飼育実験： 筋肉 R/D 比と魚の瞬間成長率の間に有意な相関は認められなかった。これに対し、血中 IGF-1 量は魚の瞬間成長率と有意な相関を示した(図4)。これらのことから、カラフトマスにおいても血中 IGF-1 量が成長率の指標として有用であるものと考えられた。

野外調査で採集されたサケとカラフトマスの測定結果： 採捕されたサケ稚幼魚の鰓の  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (NKA) 活性は6月上旬をピークとし、6月中旬には低下する傾向がみられた(図5)。一方、筋肉中の RNA/DNA 比と血中 IGF-1 量は6月中旬に最も高くなる傾向がみられた。ただし、河口で採捕された魚の血中 IGF-1 量は時期を通して常に低い値となっていた。

河口では稚幼魚の IGF-1 量が低い傾向が認められ、降海直後の海水適応の際に稚魚の成長率が低下しており、この時期がサケ・マスの生き残りを左右する重要な時期である可能性が示唆された

野外において採集されたカラフトマスでは、筋肉 R/D 比は兩年とも6月に最も高い値を示したが、地点間で差は見られなかった。血中 IGF-1 量は兩年とも6月上旬に高い値となり、かつ河川から沿岸へ向けて段階的に増加した。また、この時期のカラフトマスの血中 IGF-1 量はサケのそれよりも高い傾向がみられた。これらのことから、カラフトマスは河川からの降海後、成長率を高めながら河川から沿岸域さらに沖合へと移動するものと考えられた。

#### <引用文献>

- Bax, N.J. (1980) Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40, 426-435.  
 Beckman, B.R., Fairgrieve, W., Cooper, K.A., Mahnken, C.V.W., and Beamish, R.J. (2004) Trans. Am. Fish. Soc., 133, 1057-1067.  
 Healey, M.C. (1982) Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39, 952-957.  
 入江隆彦 (1990) 西海区水研報, 68, 1-142.

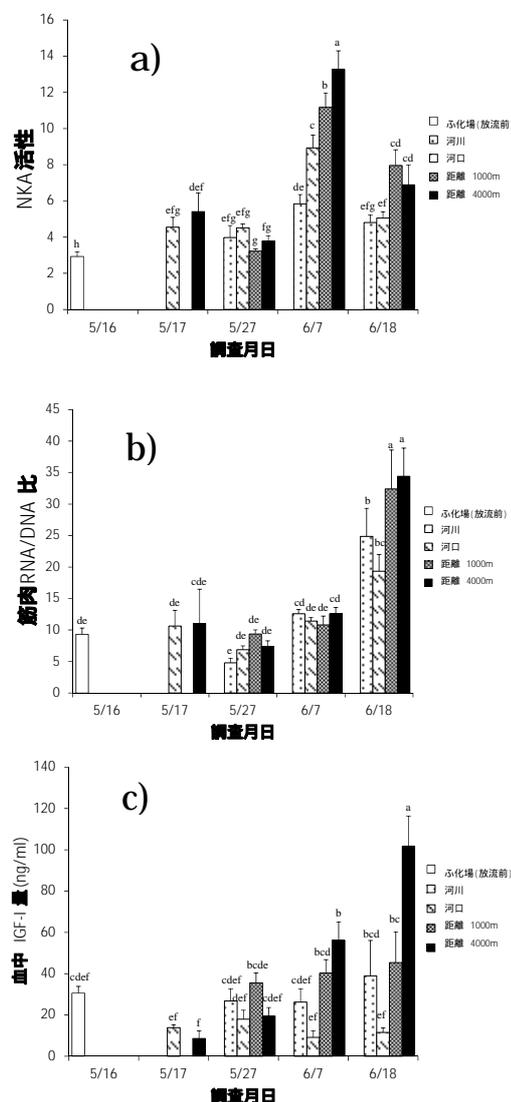


図5 網走沿岸で採捕されたサケ稚幼魚の a)  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (NKA) 活性、b) 筋肉 RNA/DNA 比、c) 血中 IGF-1 量

Nagata, M., Miyakoshi, Y., Ando, D., Fujiwara, M., Sawada, M., Shimada, H., and Asami, H. (2007) North Pacific Anadromous Fish Commission Bulletin, 4, 223-235.

Saito, T., Kaga, T., Seki, J., and Okake, T. (2007) Fish. Sci., 73, 27-37.

#### 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 1 件)

Kaneko, N., Taniyama, N., Inatani, Y., Nagano, Y., Fujiwara, M., Torao, M., Miyakoshi, Y., and Shimizu, M. (2015) Circulating insulin-like growth factor-I in juvenile chum salmon:

relationship with growth rate and changes during downstream and coastal migration in northeastern Hokkaido, Japan. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 991-1003.

〔学会発表〕(計 7 件)

宮腰靖之・藤原 真・虎尾 充・金子信人・清水宗敬 (2013) オホーツク海東部沿岸におけるサケとカラフトマス幼稚魚の分布と成長. 2013 年度水産海洋学会研究発表大会, 平成 25 年 11 月 14~17 日, 京都大学(京都市).

金子信人・谷山奈津美・稲谷 祐・長野雄大・宮腰靖之・藤原 真・虎尾 充・清水宗敬 (2014) 網走川流域・沿岸における放流シロザケの生理学的変化. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 2014 年 3 月 26~31 日, 北海道大学(函館市).

Kaneko, N., Taniyama, N., Inatani, Y., Nagano, Y., Miyakoshi, Y., Fujiwara, M., Torao, M., and Shimizu, M. (2014) Changes in physiological growth parameters during downstream and coastal migration in chum salmon of eastern Hokkaido, Japan. 11<sup>th</sup> International Congress on the Biology of Fish, 2014 年 8 月 3~7 日, Heriot-Watt University (Edinburgh, Scotland, UK).

金子信人・谷山奈津美・藤原 真・虎尾 充・宮腰靖之・清水宗敬 (2015) カラフトマス稚魚の降海回遊に伴う生理学的な成長指標の変化. 平成 27 年度日本水産学会春季大会, 2015 年 3 月 27~31 日, 東京海洋大学(東京都).

Miyakoshi, Y., Fujiwara, M., Torao, M., Kaneko, N., Shimizu, M., and Nagata, M. (2015) Early marine residence and growth of juvenile chum and pink salmon in eastern Hokkaido. NPAFC Symposium, 2015 年 5 月 17~19 日, 神戸国際会議場(神戸市).

Kaneko, N., Taniyama, N., Inatani, Y., Fujiwara, M., Torao, M., Miyakoshi, Y., and Shimizu, M. (2015) Circulating insulin-like growth factor-I in juvenile chum and pink salmon: relationship with growth rate and changes during downstream and coastal migration in eastern Hokkaido, Japan. NPAFC Symposium 2015, 2015 年 5 月 17~19 日, 神戸国際会議場(神戸市).

金子信人・谷山奈津美・宮腰靖之・清水宗敬 (2016) シロザケ稚魚における個体成長率とインスリン様成長因子-I 血中蛋白・遺伝子発現量の関係. 平成 28 年度日本水産学会春季大会, 2016 年 3 月 27~31 日, 東京海洋大学(東京都).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮腰 靖之 (MIYAKOSHI, Yasuyuki)  
北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場・さけます資源部長  
研究者番号: 70442639

### (2) 研究分担者

清水 宗敬 (SHIMIZU, Munetaka)  
北海道大学・大学院水産科学研究院・講師  
研究者番号: 90431337

### (3) 連携研究者

虎尾 充 (TORAO, Mitsuru)  
北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場・道東センター・主査  
研究者番号: 80442672