

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成30年 5月28日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26850118

研究課題名(和文) 卵数法による資源量推定にむけた駿河湾産サクラエビの産卵特性の解明

研究課題名(英文) Biological aspects of spawning for assessing the stock size *Lucensosergia lucens* in the Suruga Bay using the egg production method

研究代表者

土井 航 (Doi, Wataru)

東海大学・海洋学部・准教授

研究者番号：70456325

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：生物学的調査により駿河湾のサクラエビの資源量を推定するために必要な情報である、1日あたりに産卵する雌の割合(産卵頻度)、雌1個体が1回に産む卵数(バッチ産卵数)などの繁殖生態に関する研究を行った。産卵直前のサクラエビの雌を、卵巣の色彩に基づいて目視・デジタル画像のそれぞれによって分類する方法を開発した。産卵直前・直後の個体の卵巣の形態学的特徴を明らかにするとともに、これらを指標に産卵盛期中の産卵頻度を0.2-0.3と推定した。また、2013・2014年級の雌の成熟体長が1990年代以前に比べ小型化していることを示した。バッチ産卵数については、追加実験を行ってから発表する予定である。

研究成果の概要(英文)：To assess stocks of sergestid shrimp *Lucensosergia lucens* based on the egg production method, fisheries must estimate the spawning fraction, or number of females spawning per day, and batch fecundity. Therefore, we developed a method based on the ovarian color pattern to classify matured females prior to spawning. We subsequently studied the spawning rate and the number of eggs released by mature females using shipboard spawning experiments, and characterized ovarian histology before and after spawning. The daily proportions of spawning females before and after spawning varied from 2.4 to 26.5% in 2013, and from 6.0 to 22.2% in 2014. The spawning fractions were 0.214-0.347, and the ranges were smaller than that of the proportion of females both before and after spawning. The sizes at maturity of the 2013 and 2014 cohorts were smaller than those of the 1960-1990 cohorts. Batch fecundity will be reported after further experiments.

研究分野：水産資源生物学

キーワード：サクラエビ 産卵頻度 成熟サイズ 甲殻類 根鰓亜目 駿河湾 卵巣

1. 研究開始当初の背景

駿河湾のサクラエビ漁業は、総漁獲量規制・生産額プール制・産卵期禁漁の導入による資源管理型漁業の例として知られるが、漁獲量は2009年から現在に至るまで不漁と呼ばれるほどの低水準で推移している。これまで、単位努力あたりの漁獲量 (CPUE) や漁獲物の体長組成 (VPA) を用いた資源評価、資源量推定がなされている。しかし、魚群探索・漁獲技術の高度化に起因する努力量の変化、小型エビの混獲を避けた操業による漁獲物体長組成の偏りが指摘されており、資源評価・推定結果が資源の実態と大きく乖離している可能性がある。そこで、漁業に依存しない生物情報に基づいた資源量推定法が模索され、卵数法とくに Daily Egg Production Method (DEPM) による適用が試みられている。親エビ資源量 (B) は DEPM によって次のように求められる。

$$B = P_d \cdot A \cdot W / R \cdot S \cdot F_d$$

ここで、 P_d : 単位面積あたりの1日の総産卵量、 A : 産卵場の面積、 W : 雌1個体あたりの重量、 R : 性比、 S : ある1日に産卵する雌の割合 (産卵頻度)、 F_d : 雌1個体が1回に産む卵数 (バッチ産卵数) である。本研究は、 S と F_d を明らかにする。

サクラエビの水産生物学は1960年~1990年代の精力的な研究によって大きく進展した。これらの成果から、現在は発達した卵巣が青紫色に透けて見える個体を成熟雌として判別し、その割合を産卵頻度 S としている。しかし、青紫色であることの判別は観察者の主観に依存しており、またそのような卵巣をもつ個体が実際には何日後に産卵するのかわかっていない。一方、研究代表者らによる予備的観察では、先行研究では観察されていなかった排卵直前の最終成熟期の卵細胞 (以下、最終成熟卵) を発見しており、これを指標に用いることで、個体の産卵時期を高い精度で予測できると期待される。また、後述する排卵後濾胞の指標化に成功すれば、その個体がいづ産卵したか、すなわち産卵履歴を求めることも可能になる。

先行研究で推定されたバッチ産卵数 F_d を DEPM に用いることにも課題がある。Omori (1974) などは卵巣内の成熟卵数と飼育下での放卵数から800~2500と推定したが、この数値は限られた時期の少数のサンプル数から得られたものである。金子・大森 (2012) では、甲長と月による変動を示唆する結果が示されているが、その要因についての解析・考察が十分でない。さらに、2004年には、それまでの想定よりも小型の体サイズで成熟卵巣をもつ個体が確認されている。一般的に、甲殻類のバッチ産卵数は体サイズ、産卵経験、季節差 (本種の産卵期は5~11月の半年にお

よぶ) 水温などの影響を受けることから、これらを説明変数としたバッチ産卵数の推定式が必要である。

2. 研究の目的

そこで、本研究では駿河湾産サクラエビを対象に、野外で採集した雌エビの前後数日間の産卵頻度を推定する方法を開発するとともに、バッチ産卵数の推定式を開発する。まず、(1)産卵直前の段階に達した卵母細胞 (最終成熟卵) と、産卵の痕跡である排卵後濾胞 (POF) の観察技術を開発する。(2)野外で採集した雌エビの卵巣を(1)の方法で観察し、産卵期中 (5月~11月) の産卵頻度がどのように推移していくのかを明らかにする。(3)飼育による放卵数、組織観察による最終成熟卵数と POF の観察から、体サイズ・季節・産卵経験によるバッチ産卵数の変動の有無と程度を解析し、これらを説明変数にした重回帰式を求め、バッチ産卵数を推定可能にする。

3. 研究の方法

供試個体

2013~2015年の6~10月に駿河湾においてサクラエビを採集した。夜間に表層まで浮上してくる産卵雌を中心とした本種の群れを、魚群探知機を用いて探索し、反応のあった場所でトロールを曳網した。採集した標本は目的に応じて、採集直後または冷蔵後、実験後に10%ホルマリン海水で固定した。固定標本の体長 (額角の基部から尾節の末端までの長さ) と頭胸甲長 (背面正中線に沿って額角基部から頭胸甲後端までの長さ) を0.01 mm 単位の精度で計測した。

組織観察

10%ホルマリンで固定された標本の頭胸甲をダビットソン液で1週間脱灰した。その後、第3歩脚の基部で正中線に対して直角に輪切りにし、第3歩脚から尾部側の頭胸甲部を常法に従って、脱水、パラフィン包埋後、第3歩脚から第4歩脚側に向かって厚さ5-6 μm の切片を作成し、マイヤーヘマトキシレン・エオジン2重染色を施した。光学顕微鏡下で、染色切片の卵巣組織全体像と、組織学的特徴を観察した。先行研を参考にして、卵母細胞を未成熟なものから順に次の8つの成熟段階に区分した; 卵原細胞期, 染色仁期, 卵黄胞期, 第1次卵黄球期, 第2次卵黄球期, 第3次卵黄球期, 前成熟期, 成熟期。

卵巣の色彩による産卵直前の雌の分類

より簡易かつ迅速に産卵する雌個体を判別する方法として、卵巣の色彩に基づく成熟

度評価を試みた。サクラエビの雌は成熟すると卵巣が乳白色から青色へと色彩が変化する。この色彩変異と卵巣の成熟の関係性を明らかにすることを目的に、卵巣の色彩評価と組織観察を行った。揚網後直ちに、得られた採集物の中から卵巣が青色を呈する個体（以下、漁業現場での呼称から頭黒個体と称す）を選別し、卵巣の色彩を淡青灰(light blue-gray, 淡い青色を基調とした灰色)、濃青灰(dark blue-gray 濃い青色を基調とした灰色)、緑青灰(greenish blue-gray 緑がかかった青灰色)に判別した。冷蔵保存しながら研究室に持ち帰った頭黒個体の卵巣を頭胸甲の左側面から、デジタルカメラにより撮影した。卵巣画像の3つの部位において、任意の3ヶ所から各10ピクセルのR, G, B値を抽出しL*a*b*表色系へと変換した。L*, a*, b*の平均値を各個体の抽出部位ごとに求め、統計解析を行った。組織学的に区分した卵巣の発達段階間（研究成果参照）においてL*, a*, b*を比較するために、抽出部位ごとに色彩データの統計的検定を行った。また、多変量解析によって色彩データと卵巣の発達に対応がみられるかを検証した。

産卵実験

2013年および2014年の6月～10月の計9日の日没後に採集されたサクラエビの頭黒個体を調査船の甲板上に設置した表層海水で満たした容器に1個体ずつ収容した。1時間おきに容器内を観察し、容器内の水中に卵が認められ、卵巣の濃い青灰色が消えていた場合に産卵したと判断し、雌と卵を10%ホルマリン海水で固定した。この卵を計数しバッチ産卵数を求めた。実験は翌朝までとし、終了後、産卵しなかった雌を10%ホルマリン海水で固定した。実験において産卵した個体（産卵個体）、産卵しなかった個体（未産卵個体）、斃死した個体（死亡個体）の卵巣を組織学的観察に供し、産卵直前、産卵直後の卵巣の形態を記載した。

成熟サイズ

2014年6～10月に採集された322個体の2013年級、および2015年6～10月に採集された248個体の2014年級の雌の卵巣の組織観察を行い、未成熟個体と成熟個体に分類した。成熟確率(m)を応答変数、体長(BL)を数量型の説明変数、年級(Y)を因子型の説明変数としたロジスティックモデルを初期モデルとし、AICによるモデル選択を行った。

産卵頻度

産卵盛期における産卵頻度を推定するために、以下の6つの調査日から各40～50個体、計291個体の雌を各調査日から無作為に

抽出し、卵巣を組織観察に供した。産卵実験により明らかになった産卵前後の卵巣の形態に基づいて、雌の卵巣を未成熟、成熟、産卵前、産卵後の4段階に分類した。その内訳は、2013年6月24日(40個体)、7月22日(47個体)、8月26日(55個体)、2014年8月11日(49個体)、8月18日(50個体)、10月10日(50個体)である。産卵頻度(S)を採集日ごとに以下の式によって求めた。

$$S = (B + A) / (I + M + B + A)$$

ここで、Bは組織学的観察によって産卵前と判断された個体のある採集日の個体数を、同様に、Aは産卵後、Iは未成熟、Mは成熟と判断された個体数を示す。

4. 研究成果

卵巣の色彩による産卵直前の雌の分類

卵巣が青色を呈する頭黒個体の卵巣は構成する卵母細胞の大多数は第1次卵黄球期から成熟期までのいずれか1つの発達段階であった。卵巣の色彩の目視分類結果(淡青灰、濃青灰、緑青灰)と、卵巣の成熟卵群を構成する卵母細胞の発達段階には対応がみられ、淡青灰の個体の成熟卵群は第1次から第3次卵黄球期、緑青灰の個体では前成熟期および成熟期であった。濃青灰の個体では第3次卵黄球期以前、前成熟期以降の成熟卵をもつ個体が約半数ずつであった。

頭黒個体の卵巣における成熟卵群が第3次卵黄球期以前と前成熟期以降のどちらであるかに着目し、画像解析による色彩画像データ(L*, a*, b*)を両者の間で比較した結果、いずれの値にも、母平均の95%信頼区間が重複しないが、平均に有意差が認められた。

主成分分析によって、目視分類と組織観察の結果と総合的に比較した結果、成熟卵群が第3次卵黄球期以前の個体と前成熟期以降の個体は、L*が説明する第1主成分によって区別され、b*が説明する第2主成分には両者の間に分布の違いがみられた。このことから、卵巣の色の明るさ(濃淡)と青色の強弱が異なることを説明している。色彩データを用いて頭黒個体を、成熟卵群が卵黄球期以前である個体と、前成熟期以降である個体に区別できるかどうかを検討するために、判別分析を行った。背側のみの色彩データを用いた判別分析の正答率は85.8%、尾側のみの場合は84.3%、両方を用いた場合は88.8%と高かった。

産卵実験

計9回の船上産卵実験に325個体の成熟個体を供試した結果、199個体が産卵し、14個体が斃死した。実験個体に対する産卵個体の割合(産卵率)は実験日によって変動した。産卵率が80%以上の高い日と40%未満の低い日がそれぞれ2日であったのに対し、残りの4日は53～67%の中程度の値であった。曳網回

ごとの産卵率の変動はさらに大きく、同じ実験日であっても異なった。GLM によって解析したところ、雌の甲長が大きくなるほど、実験水温が高くなるほど産卵率が低下した。産卵個体のうち、100 個体の卵巣は成熟卵が卵巣腔から抜け落ちることで卵巣腔が大きく開口し、第 2 次卵黄胞期までの未成熟卵群のみで構成されていた。39 個体の卵巣は、少数の成熟卵が卵巣膜内縁部または卵巣腔内に残留していた。これまでの実験で得られたバッチ産卵数は、ばらつきが大きく、その要因について再検討するため追加の実験を行う予定である。

成熟サイズ

2013 年級および 2014 年級の両方において、体長 30 または 31 mm を超えると成熟個体と判断される第 1 次卵黄球期以降の卵母細胞をもつ個体が出現した。2013 年級では 33 mm より大きな体長では成熟個体の割合が半分を超えたが、どの階級においても 100% に達することはなかった。一方、2014 年級は体長 34 mm を超える個体はすべて前成熟期または成熟期の卵母細胞を有していた。GLM の結果から求めた 50% 成熟体長の推定値と 95% 信頼区間は、2013 年級は 34.13 mm および 33.05 以上 34.77 以下、2014 年級は 29.48 mm および 27.78 以上 30.79 以下であった。本種の体サイズは、主に水温によって短期的に変動することが知られており、本研究の 2013 年級と 2014 年級の連続した年級間でみられた成熟サイズの違いは、水温による短期的な年変動であると考えられる。一方、2004 年級以降にみられた成熟サイズの減少は、1992 年級以前との差が大きく、2012・2013・2014 年級に至るまでの約 10 年間にわたって継続している可能性が高く、短期的変動とは考えにくい。様々な甲殻類資源において、成熟サイズの小型化は、資源量水準の低下との関連が示唆されていることから、サクラエビにおいて 2004 年級以降において確認された雌の成熟サイズの小型化は、資源水準の悪化による長期的変動によるものと推測される。

産卵頻度

採集回ごとに産卵前と産卵後の個体の出現割合をみると、産卵前の個体の割合は 2.4~26.5%、産卵後の個体の割合は 6.0~22.2% と、ともに大きく変動した。一方、産卵頻度（ある 1 日に産卵した雌の割合）を求めると 0.214~0.347 となり、産卵前・産卵後の個体の出現割合を個別にみた場合よりも変動幅は小さくなった。同様に、未成熟個体と成熟個体はそれぞれ、2.1~24.0%、48.0~74.5% と大きく変動したが、産卵しない個体の割合の変動の幅は 65.3~78.6% となり小さかった。採集時刻と産卵前、産卵後の個体の出現割合の関係をみると、採集時刻が最も早かった 2013 年 8 月 26 日と最も遅かった 2014 年 8 月 12 日の両日で、ともに産卵前の割合が低く、産

卵後の割合が高くなるなど、採集時刻による産卵前後の個体の出現割合の変化は認められなかった。産卵期中の産卵頻度は約 0.2~0.3 で、調査年、調査日や時刻によって大きく変化しなかった。サクラエビの雌は一繁殖期中に複数回の産卵を行い、約 19 日間隔で産卵を繰り返すと推定されている（鈴木ら 2012）。このことから、産卵期間中に産卵頻度が安定している現象は、一部の個体が短期間で産卵を繰り返していることを意味しているのではなく、未成熟雌が成長し、次々と繁殖に加わった結果であると推測される。

以上から、本研究によって産卵直前の段階に達した個体を組織学的観察のみならず、卵巣の色彩から推定することが可能になった。サクラエビでは、産卵の痕跡である排卵後濾胞（POF）は認められなかったものの、卵巣腔等により判別することができるようになった。これらを基に野外で採集した雌エビの卵巣を観察した結果、主産卵期以外の時期を網羅することができなかったものの、産卵頻度は 0.2~0.3 の間で推移することがわかった。また、成熟サイズが 1990 年台以前に比べ明らかに小型化していることが、初めて統計学的解析によって示された。一方、バッチ産卵数とその変動については、論文として発表する前に検討すべき事項が残されたため、期間終了後に追加の実験を行って再検討を行う予定である。

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 4 件)

- (1) 土井 航・中廣篤人・鷺山裕史・鈴木伸洋. 駿河湾におけるサクラエビ雌の成熟サイズと産卵頻度. 水産増殖 (印刷中)
- (2) 土井 航・中廣篤人・鷺山裕史・鈴木伸洋. 船上の産卵実験によるサクラエビの産卵率の推定と産卵個体の卵巣の組織学的特徴. 水産増殖, 66: 11-16. 2018 年
- (3) 鷺山裕史・中廣篤人・土井 航・鈴木伸洋. 駿河湾におけるサクラエビの最小産卵体長の推定. 静岡県水産技術研究所研究報告, 50: 13-17. 2017 年
- (4) 土井 航・鷺山裕史・古市皓大・大隅美貴・鈴木伸洋. 卵巣の色彩に基づいて判別したサクラエビ雌の成熟段階. 日本水産学会誌, 83 (2): 183-190. 2017 年

〔学会発表〕(計 4 件)

- (1) 土井 航・古市皓大・大隅美貴・鷺山裕史・鈴木伸洋, 2016 年 3 月 27 日. 雌サクラエビの成熟段階の組織学的細区分と卵巣色彩による成熟段階の判別. 平成 28 年度公益社団法人 日本水産学会春季大会.
- (2) 古市皓大・大隅美貴・中廣篤人・土井

航・鷺山裕史・鈴木伸洋, 2015年11月21日. 卵巣の色彩に基づくサクラエビの成熟段階の判別. 2015(平成27)年度日本水産学会中部支部大会.

- (3) 中廣篤人・鷺山裕史・土井航・鈴木伸洋, 2014年9月21日. サクラエビ卵巣の産卵前後・産卵期後の組織学的特徴. 2014年度日本水産学会秋季大会. 九州大学. 863.
- (4) 中廣篤人・鷺山裕史・土井航・鈴木伸洋, 2014年9月21日. サクラエビの雄性生殖器官の構造と精子形成過程. 2014年度日本水産学会秋季大会. 九州大学. 867.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

土井 航 (WATARU DOI)

東海大学・海洋学部・准教授

研究者番号: 70456325

(4)研究協力者

鈴木 伸洋 (NOBUHIRO SUZUKI)

東海大学・海洋学部・教授

鷺山 裕史 (HIROFUMI WASHIYAMA)

静岡県水産技術研究所・上席研究員

福井 篤 (ATSUSHI FUKUI)

東海大学・海洋学部・教授