

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580195

研究課題名 (和文) カタクチイワシの回遊二型における成長と回遊履歴の解析

研究課題名 (英文) Analysis of growth and migration history in terms of migratory dimorphism in Japanese anchovy

研究代表者

青木 一郎 (AOKI ICHRO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：40114350

研究成果の概要 (和文)：カタクチイワシの飼育実験の結果、耳石に見られる微細輪紋は水温 15℃以上では 1 日 1 本の日周性をもつが、12℃では日周性はなくなることがわかった。餌量は輪紋間隔に影響した。耳石に含まれるマンガン、ストロンチウムなど 6～8 種の微量元素を分析した結果、元素組成により 60～100%の正しさと採集海域が判別できた。誤判別は互いに近い地点間であった。発生時からある程度の空間的まとまりをもって分布し、成長していくことが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：Rearing experiments on anchovy revealed that micro-increments in otolith were formed daily above 15℃ of water temperature but disappeared below 12℃, and that they were also affected by food conditions. The chemical composition of 6-8 kinds of trace elements including Mn and Sr in otolith discriminated sampling areas at 60-100% of accuracy. Errors occurred between neighboring areas. It was suggested that anchovy are distributed and grow with spatially aggregated but weak coherence from early life stage.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：水産資源学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：水産資源、系群、耳石、日周輪、微量元素

1. 研究開始当初の背景

カタクチイワシでは経験的に沿岸小回遊型と沖合回遊型の二型があり、それが資源変動と関係すると考えられてきたが、その実態は未知のままである。沖合群は莫大な資源量が予想され、その生態特性を明らかにすることは本種の資源評価・予測の上で喫緊の問題であり、また本種の長期変動解明の鍵となる。

2. 研究の目的

(1)本種における耳石微細輪紋形成の日周性(日周輪)の検証に基づく未成魚・成魚の日齢査定手法の確立と成長推定
(2)耳石微量元素組成による沖合群と沿岸群の識別と回遊履歴の推定。

3. 研究の方法

本種成魚期までの耳石微細輪紋形成の日周性を飼育実験により検証する。それに基づいて未成

魚・成魚の日齢査定手法を確立し、太平洋岸各地の沿岸と沖合に分布する未成魚・成魚の成長を推定し比較する。この標本に耳石微量元素分析を行い、発育段階別に元素組成の南北および沿岸—沖合における地理的識別特徴を抽出する。

4. 研究成果

(1) カタクチイワシ未成魚・成魚期における耳石日周輪形成の検証

①夏季の日周輪形成について

屋内の1t円形水槽（濾過海水の流水、自然光下）を用いてカタクチイワシ成魚を飼育した。飼育期間中の平均水温は23.5℃だった。餌は配合飼料を1日あたり体重の2.5%を与えた。飼育期間中に中19日の間隔をあけて2回、ALCを水槽内に30ppmになるまで溶かして微細輪紋の標識を行った。飼育終了後、耳石を摘出して包埋・研磨の後観察に供した。蛍光顕微鏡によりALCで標識された輪紋を確認し、その間の輪紋数を計数し、輪紋間隔を測定した。飼育終了時の平均被鱗体長は113.1mm、平均肥満度は9.96だった。36個体中20個体でALCによる標識の間に明瞭な輪紋数が観察でき、平均輪紋数は18.5本、平均輪紋間隔は0.9μmだった。これより成魚で日周輪が形成されることを確認した（図1）。

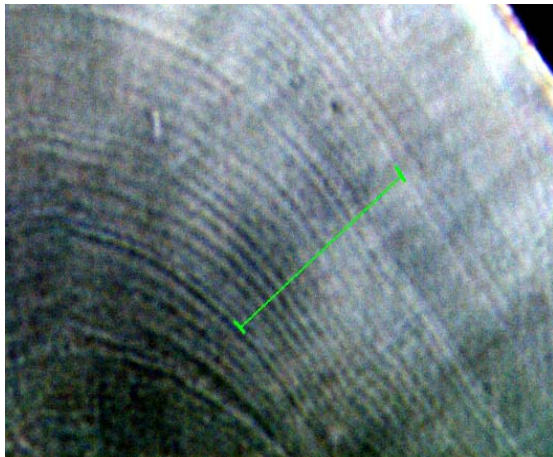


図1 輪紋計数部分（直線部）

屋外の1t長方形水槽（自然海水の流水、自然光下）を3基用いてカタクチイワシ未成魚を飼育した。飼育期間中の水温は23.9℃だった。餌は配合飼料をそれぞれ1日あたり体重の2.5%（実験群A）、1.5%（実験群B）、0.5%（実験群C）を与えた。飼育期間中に中30日の間隔をあけて2回、2004年と同様に微細輪紋の標識を行った。飼育終了後、耳石を摘出して包埋・研磨し、同様の手順で輪紋数を計数し輪紋間隔を測定した。飼育終了時の平均被鱗体長はそれぞれ83.6mm（A）、81.5mm（B）、78.4mm（C）で、AC間には有意差が見られた（ANOVA、 $P<0.05$ ）。平均肥満度はそれぞれ9.62（A）、7.87（B）、7.10（C）で、各実験群間に有意

差が見られた（ANOVA、 $P<0.01$ ）。実験群Aは16個体中すべてで、実験群Bは42個体中39個体で、実験群Cは40個体中37個体でALCによる標識間にわたり明瞭な輪紋が観察できた。平均輪紋数はそれぞれ29.6本（A）、29.6本（B）、29.7本（C）だった。平均輪紋間隔は3.1μm（A）、2.1μm（B）、1.8μm（C）であり、どの実験群でも輪紋間隔は狭くなっていく傾向が見られた。これより未成魚期に日周輪が形成されること、輪紋間隔は餌環境の影響を受けることがわかった。

②冬季の日周輪形成について

屋外の1t長方形水槽（自然海水の流水、自然光下）を2基用いてカタクチイワシ未成魚を飼育した。飼育期間中の平均水温は13.1℃だった。餌は配合飼料を1日あたり体重の2.5%（実験群A）、0.5%（実験群B）を与えた。飼育期間中に中28日をあけてALCによる耳石微細輪紋標識を2回行った。飼育終了後耳石を摘出して包埋・研磨し、光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡により観察を行った。光学顕微鏡による観察では、標識間にわたり明瞭な輪紋がみられる耳石はなかった（図2）。標識の間隔と経過日数より、輪紋が日周的に形成されていた場合の期待輪紋間隔を求めると、0.5μm（A、 $n=63$ ）、0.3μm（B、 $n=63$ ）だった。不明瞭ながらも輪紋が見られる耳石について計数を行うと、平均輪紋数は18.4本（ $n=16$ ）で明らかに経過日数よりも少なかった。明瞭な輪紋が観察できなかった原因として、輪紋が光学顕微鏡の分解能以下であることのほか、低水温によって輪紋形成の活性が低下したため、明帯・暗帯のコントラストが低下したことが考えられる。塩酸、EDTA、proteinase K bufferをそれぞれ用いて耳石をエッチングし、走査型電子顕微鏡により観察を行ったが、明瞭な輪紋は観察できなかった。しかし、一部の耳石（ $n=9$ ）では、光学顕微鏡による観察で2回目の標識から耳石縁辺の間に経過日数とほぼ等しい輪紋が見られ、春以降水温が上昇すると明瞭な日周輪が形成されることが示唆された。

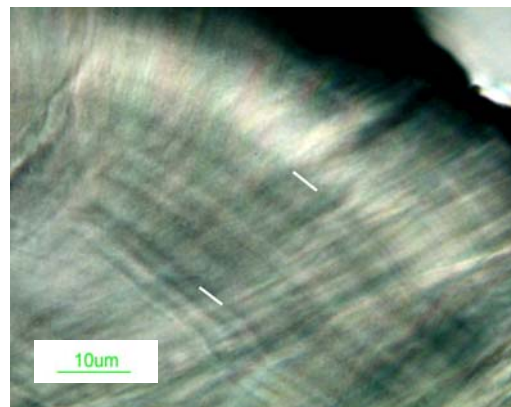


図2 冬季の輪紋構造

③低水温下における日周輪形成

低水温が輪紋形成に及ぼす影響について調べるために、温度制御下でカタクチイワシ成魚の飼育

実験を行った。alizarin complexone(ALC)を用いて耳石微細輪紋を標識し一定の期間中形成される微細輪紋を計数し、微細輪紋数と実際の経過日数を比較した。

屋内 700L 水槽 (自然光下) 2 基を用いて平均体長約 1.1 cm のカタクチイワシ成魚を飼育した。水温はそれぞれ 12°C (A 群)、15°C (B 群) に設定した。餌は 1 日あたり体重の 2.5% の配合餌料を与えた。飼育中に中 28 日の間隔をあけて 2 回、ALC による輪紋標識を行った。飼育後摘出した耳石を包埋・研磨し、標識間を光学顕微鏡により観察した。

2 回の ALC 標識が確認できた 122 個体の ALC 標識間の 1 日当たり平均輪紋間隔は A 群では $0.59 \mu\text{m}$ ($n=41$)、B 群では $1.18 \mu\text{m}$ ($n=81$) であった。水温が高い B 群は A 群に比べ耳石成長が大きかった。輪紋が明瞭に観察され、輪紋の計数が可能だった個体の平均輪紋数と平均輪紋間隔は A 群では 25.1 本、 $0.74 \mu\text{m}$ ($n=12$)、B 群では 27.5 本、 $0.98 \mu\text{m}$ ($n=23$) であった。実際の経過日数は 28 日であり、12°C の A 群では輪紋の日周性は認められなかった。15°C の B 群では日周性が確認できた。しかし、輪紋が不明瞭なために計数できなかった個体も半数以上あった。このような個体では標識間の一部には明瞭な輪紋部分を示すことが多かった。成魚の一部の個体では耳石は成長するが、明帯・暗帯のコントラストが低下することがあると考えられる。

(2) 耳石日輪の基づいたカタクチイワシの日齢推定

①カタクチイワシ成魚の日齢推定

三陸沖、常磐沖、相模湾で採集したカタクチイワシ成魚の日齢を、耳石日輪に基づいて査定した。耳石日輪の観察は耳石薄片標本を光学顕微鏡と電子顕微鏡を併用して行った。日齢 171~329 の範囲であった。常磐沖、相模湾は過去の知見の成長曲線と差がなかったのに対し、三陸沖では過去の知見よりも速く成長し、約 8 ヶ月で標準体長 11.5 mm に成長していると考えられた (図 3)。

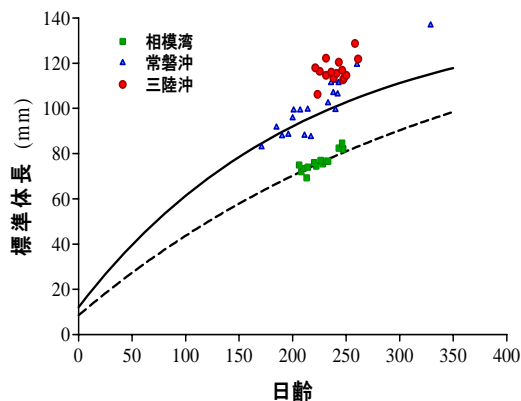


図 3 カタクチイワシの成長

②カタクチイワシ未成魚の沖合・沿岸群の成長比較

カタクチイワシは資源高水準期に分布を沖合に拡大することが知られており、沖合域と沿岸域に生息する群の間で繁殖特性が異なっているなど、生活史特性に差があることが示唆されている。本研究では沖合と沿岸でそれぞれ採集されたカタクチイワシ未成魚の日齢査定を行い、成長の比較を行った。

供試魚には、沖合群として 2007 年 7 月 14 日および 2005 年 8

月 3、5 日に本州の東方沖合 (39-44.N, 154-158° E) にて表層トロールにより採集した個体を、沿岸群として 2005 年の夏季に他の実験で飼育した相模湾の個体および 2006 年 9 月 21 日、11 月 8 日に相模湾で採集した個体を用いた。それぞれ、体長、体重を測定後、耳石 (扁平石) を取り出し、樹脂に包埋した。耐水研磨紙などを用いて耳石 Frontal 面を両側から研磨し、耳石薄片標本を作製した。これを耳石日輪計測システムを用いて観察し、耳石核から縁辺まで日輪を計数し、輪紋間隔と耳石径を測定した。

沖合群は体長 54.3-93.6mm、77-148 日齢 ($n=39$)、孵化時期は 2-5 月だった。沿岸群は体長 64.4-90.5mm、109-204 日齢 ($n=30$)、孵化時期は 2-7 月だった。耳石径一体長でプロットすると、同一体長では沖合群のほうが耳石が小さい傾向が見られた。また、Hayashi and Kondo (1957) の成長式と比較すると、沖合群は同日齢で体長が有意に大きく ($P < 0.01$)、沿岸群は有意に小さくなった ($p < 0.05$)。以上より、カタクチイワシ未成魚の沖合群は沿岸群に比べ成長が速いことが示唆された。

(3) 耳石微量元素によるカタクチイワシ太平洋系群の資源構造に関する研究

① ICP-AES による耳石微量元素組成の地理的変異

溶液導入型の微量元素分析は、カタクチイワシのような耳石が小さい魚種において、個体ごと、あるいは生活段階に応じた解析はできない一方、大量のサンプルを扱えることに利点がある。ICP-AES を用いた解析により、本種太平洋系群内の個体群の関連性を把握できると考えられる。

2002 年 5 月から 2010 年 1 月までに 1. 本州東方沖合移行域 (以下移行域) A (5 サブサンプル)、2. 移行域 B (9)、3. 移行域 C (5)、4. 移行域 D (5)、5. 移行域 E (5)、6. 鉏路沖 (10)、7. 尾札部 (15)、8. 三陸沖 (19)、9. 常磐沖 (10)、10. 銚子沖 (11)、11. 相模湾 (15)、12. 熊野灘 (10)、13. 長崎沖 (8) の計 13 海域で採集されたカタクチイワシ成魚耳石を計 127 サブサンプル作成した。1 サブサンプルは乾重量がおよそ 10mg となるように 2-7 個体の耳石をまとめたものである。それらを硝酸に溶かし、溶液導入型誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (SO-ICP-AES) を用いて Mn、Fe、Mg、Sr、Ba、Na の 6 元素の対 Ca 重量比を求め、得られたデー

タに対する解析を行った。

判別関数分析の結果、長崎沖サンプルの微量元素組成は他海域のものから 100%の正判別率で区別された。長崎のデータを除いて判別分析を行った結果、正判別率は 56.9%となった。海域ごとにある程度のクラスターを形成し、誤判別となったサブサンプルの多くは地理的に比較的近い海域間で生じた。例外として移行域の 2 サブサンプルが熊野灘に、相模湾が釧路沖と三陸沖にそれぞれ 1 サブサンプルずつ判別された。正準得点を見ると、個体群毎のまとまりが比較的近い海域間で重なり合っていることがわかり、各海域の個体群である程度まとまりつつも、生息海域の重複があることが示唆された。なお、正準得点の Mn で特徴づけられる軸は採集点の沿岸一沖合方向の配置と一致した (図 4)。

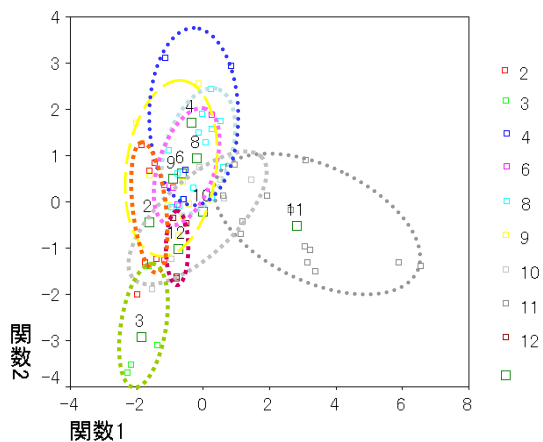


図 4 判別分析の正準得点分布。関数 1 は Mn、関数 2 は Sr の寄与が大きい。2: 移行域 B、3: 移行域 C、4: 移行域 D、6: 釧路沖、8: 三陸沖、9: 常磐沖、10: 銚子沖、11: 相模湾、12: 熊野灘

②LA-ICP-MS による生活史を通した耳石微量元素

レーザー照射型の耳石微量元素分析は、個体の生活段階ごとに分析することが可能なため、溶液導入型の分析よりもより詳細な資源構造の把握が可能になる。

2007 年 7 月から 2010 年 1 月に 1. 移行域 B、2. 移行域 C、3. 移行域 D、4. 移行域 E、5. 移行域 F、6. 移行域 G、7. 黒潮続流域、8. 三陸沖、9. 銚子沖、10. 熊野灘の計 10 海域において採集されたカタクチイワシの各 4 個体をサンプルとして使用した。なお、移行域 B、C、D および三陸沖、熊野灘については前章のサンプルと同時に採集されたものである。耳石を洗浄、乾燥後、包埋、研磨し、レーザー照射型誘導結合プラズマ質量分析装置 (LA-ICP-MS) による分析に供した。レーザーを照射するスポットは、核から縁辺に向け各個体につき計 6 スポットとした。耳石中の Li、Na、Mg、K、Mn、Sr、Ba、Ca のイオンカウント数を測定

し、各元素の対 Ca mol 比を算出した。得られたデータの内、Ba は同一海域内同一スポットでの大きな外れ値が多く、値の信頼性がないもしくは地理的な変異を反映しないと判断し、今回の解析からは除いた。また、耳石半径と体長関係を考慮した上で、スポット位置での体長がそれぞれスポット 1~27.0mm、2~53.9mm、3~80.8mm、4~107.7mm、5~134.6mm となるようにそろえた体長変換スポット(LP)1~5 に変換した。5 つの体長変換スポット(LP1~5)と核および縁辺(それぞれ SP0 および SP6 とする)の計 7 スポットのデータを用いて解析した。

SP0 と SP6 の値を用いて、それぞれの海域の SP0 もしくは SP6 に判別させたところ、SP0 と SP6 は完全に区別された。スポット内海域間での判別分析の正判別率は、SP0 で 50.0%、LP1 で 70.0%、LP2 で 72.5%、LP3 で 75.0%、LP4 で 82.6%、LP5 で 100.0%となり、体長が大きくなるにつれて正判別率が高くなった。一方、SP6 での正判別率は 75.0%となった (図 5)。SP6 での判別率が下がったのは、体長が揃っていないためと考えられる。SP0 内および LP1 内での海域間誤判別は様々な海域に及び、最も離れた移行域 B - 熊野灘間でも生じたことから、生活史初期においては、サンプル全体での交流が存在する。しかし、スポット 0 で 50.0%という正判別率を示した (図 6) ことと、発達と共に判別率が上昇したことから、発生時からある程度の空間的まとまりをもって成長していくと考えられる。

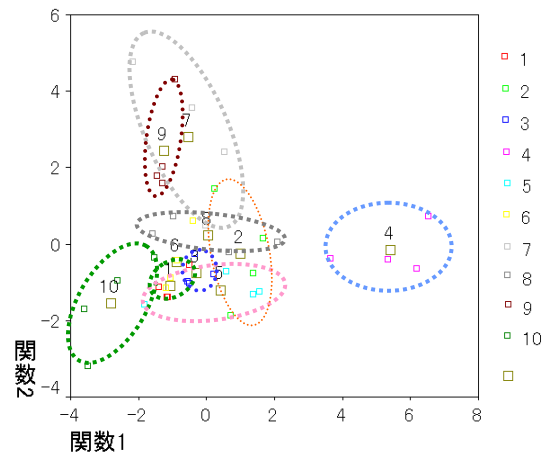


図 5 判別分析の正準得点分布 (SP6)。1: 移行域 B、2: 移行域 C、3: 移行域 D、4: 移行域 E、5: 移行域 F、6: 移行域 G、7: 黒潮続流域、8: 三陸沖、9: 銚子沖、10: 熊野灘。黒潮の影響のある 7、9、10 および親潮域に最も近い 4 はそれぞれ中央部から離れてプロットされた。

ICP-AES と LA-ICP-MS を用いた耳石微量元素の分析によって、カタクチイワシ太平洋系群内での個体間の交流を定量的に示すことができた。今回の研究ではそれぞれの個体の発生地までは明らかにすることができなかった。これについては

今後の課題であると共に、出生地既知の仔魚耳石核成分との比較によって明らかにされることが期待される。

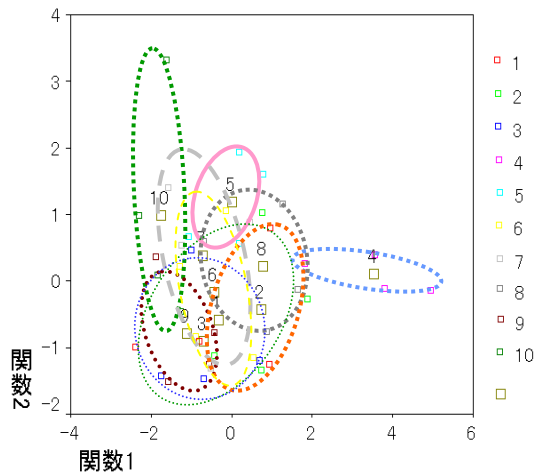


図 6 判別分析の正準得点分布 (SPO)。1: 移行域 B、2: 移行域 C、3: 移行域 D、4: 移行域 E、5: 移行域 F、6: 移行域 G、7: 黒潮続流域、8: 三陸沖、9: 銚子沖、10: 熊野灘。親潮域に最も近い 4 は離れてプロットされた。

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 4 件)

- ①S. Namiki, H. Tanaka, S. Katayama, O. Funaki, I. Aoki and Y. Oozeki (2010) Validation of daily increment formation in otoliths of immature and adult Japanese anchovy *Engraulis japonicus*. Fish. Sci. 76 (6), 951-959. 査読有り
- ②R. Yukami, I. Aoki and I. Mitani (2008) Daily age of adult Japanese anchovy *Engraulis japonicus* off eastern Honshu, Japan by otolith daily increment. Fish. Sci. 74, 1348-1350. 査読有り
- ③Takasuka, A., Oozeki, Y., Aoki, I., Kimura, R., Kubota, H., Sugisaki, H., Akamine, T. (2008) Growth effect on the otolith and somatic size relationship in Japanese anchovy and sardine larvae. Fisheries Science, 74: 308-313. 査読有り
- ④H. Tanaka, A. Takasuka, I. Aoki and S. Ohshio (2008) Geographical variations in the trophic ecology of Japanese anchovy *Engraulis japonicus*, inferred from carbon and nitrogen stable isotope ratios. Mar. Biol. 154: 557-568. 査読有り

〔学会発表〕 (計 4 件)

- ①深谷一弥・青木一郎・村瀬弘人・米崎史郎・渡辺光、耳石微量元素によるカタクチイワシ太平洋系群の資源構造に関する研究、日本水産学会、2011年3月28日、東京
- ②金善庸・青木一郎・並木重伸、低水温下におけるカタクチイワシの日周輪形成について、日本水産学会、2010年9月24日、京都市
- ③青木一郎・清水宣維、九州西岸域におけるカタクチイワシ仔稚魚の成長、水産海洋学会、2009年11月19日、長崎市
- ④S. Shimizu and I. Aoki Growth of larvae and juvenile Japanese anchovy *Engraulis japonicus* off the coast western Kyushu, Japan. 17th Annual meeting of PICES, 2008年10月31日、大連 (中国)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青木 一郎 (AOKI ICHIRO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
研究者番号：40114350