

第5回 サケ学研究会 講演要旨集

Abstracts for the Fifth Conference of Salmon Science Society (3S)



The 5th Anniversary

日時：平成23年12月17日(土)～18日(日)

場所：北海道大学 学術交流会館

小講堂

Date: December 17-18, 2011

Venue: Conference Hall, Hokkaido University

11

20

第5回サケ学研究会要旨集目次

The Fifth Conference of Salmon Science Society (3S)

日時 平成23年12月17日(土)～18日(日)

場所 北海道大学 学術交流会館 小講堂

1日目：17日(土)

13:00 開会・会長挨拶

特集『サケは新たなレジームへ?!』

コンビナー：帰山 雅秀(北大院水)・上田 宏(北大FSC)・永田 光博(道さけます内水試)

13:05 趣旨説明 ----- コンビナー

13:20 北太平洋沿岸各国におけるサケ属魚類の資源動態 ----- 浦和 茂彦(北水研)

13:50 太平洋サケ属魚類の生息水温：気候変化はカラフトとサケよりもサクラマスにとってより深刻? ----- 森田 健太郎(北水研)

14:20 北海道のサケの資源変動と増殖の課題 ----- 宮腰 靖之(道さけます内水試)

14:50 カラフトマス孵化場魚と野生魚の母川回帰 ----- 虎尾 充(道さけます内水試)

15:20～15:35 休憩

15:35 生理学からみた野生魚と孵化場魚の差異 ----- 水野 伸也(道さけます内水試)

16:05 母川回帰に関わる嗅覚研究の現状と今後の展望 ----- 工藤 秀明(北大院水)

16:35 日本系サケ個体群の遺伝的評価：現状と今後の課題 ----- 佐藤 俊平(北水研)

17:05 放流魚の繁殖成功度は天然魚より低いか?：スチールヘッドデータのベイズ評価
----- 北田 修一(東京海洋大)

17:35 総合討論

18:30 懇親会(要事前予約) ----- 札幌アспенホテル「アカシア」
札幌市北区北8条西4丁目5番地
(JR札幌駅から徒歩2分)
TEL: 011-700-2111
<http://www.aspen-hotel.co.jp/>

2日目：18日（日）

09:00

特別講演

阿部 周一 先生 北海道大学大学院 水産科学研究院 特任教授，サケ学研究会遺伝学部門代表
『サケ類のゲノム生物学 - 育種と資源管理へ向けて -』

座長：帰山 雅秀（サケ学研究会会長）

一般発表（午前の部）

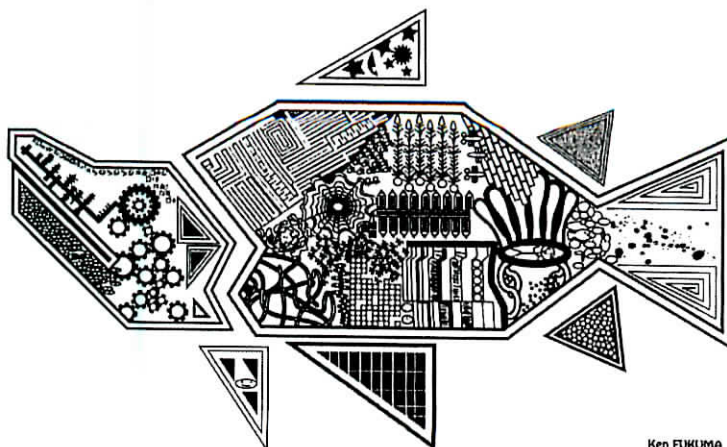
- 10:00 サクラマスの銀化変態期における鰹 Na^+/K^+ -ATPase 活性とインスリン様成長因子-I
の関係 -----°下村 考弘・中嶋 拓郎・堀越 萌李（北大院水）・
飯嶋 亜内・卜部 浩一・水野 伸也（道さけます内水試）・
平松 尚志・原 彰彦・清水 宗敬（北大院水）
- 10:15 根室湾におけるサクラマススモルトの降海状況
-----°春日井 潔・虎尾 充・永田 光博（道さけます内水試）
- 10:30 北海道東部網走沿岸におけるカラフトマスの海洋初期生活
-----°藤原 真・安藤 大成・隼野 寛史・宮腰 靖之（道さけます内水試）・
嶋田 宏（道中央水試）
- 10:45 北太平洋におけるサケ属魚類 (*Oncorhynchus* spp.) の炭素・窒素安定同位体比
-----°小山 諒・秦 玉雪・越野 陽介・工藤 秀明・帰山 雅秀（北大院水）
- 11:00 サクラマスにおけるインスリン様成長因子結合蛋白-1 の発現パターンと成長との関係
-----°川口 航平・下村 考弘・中野 裕介（北大院水）・木村 志津雄（北大 FSC）・
原 彰彦・清水 宗敬（北大院水）
- 11:15 サクラマスにおける細菌性腎臓病の垂直感染防止試験
-----°畑山 誠・水野 伸也・小出 展久（道さけます内水試）・
笠井 久会・吉水 守（北大院水）
- 11:30 Detection methods for epizootiological survey of *Aeromonas salmonicida*, the causative
agent of furunculosis
(せつそう病原菌 *Aeromonas salmonicida* の疫学調査に適した検出法)
-----°Devon DUBLIN, Hisae KASAI and Mamoru YOSHIMIZU（北大院水）
- 11:45 カワマス♀×サクラマス♂不妊雑種における生殖巣形成不全のプロテオミクス
-----°青木 一平・飯田 直登・千田 淑恵（北大水）・阿部周一（北大院水）
- 12:00 サケ類の雑種致死に関する分子細胞遺伝学的研究
-----°杉本 貴城・阿部 周一（北大院水）

12:15～13:15 昼 食

一般発表（午後の部）

- 13:15 北海道オホーツク管内における野生サケの分布と遡上数
-----°ト部 浩一・宮腰 靖之・佐々木 義隆・永田 光博（道さけます内水試）
- 13:30 見市川におけるサクラマスの河川遡上と自然再生産の現状について
-----°楠田 聡・大森 始・青山 智哉・飯嶋 亜内・村上 豊・
大久保 進一・ト部 浩一・宮腰 靖之（道さけます内水試）
- 13:45 美利河ダムにおけるサクラマスの遡上行動
-----°林田 寿文（寒地土研・北大院環）・新居 久也（栽培公社）・
三好 晃治（北大院環）・羽山 英人（道開発局）・上田 宏（北大FSC）
- 14:00 シロザケとサクラマスの遊泳能力・代謝に関する比較研究
-----°三好 晃治（北大院環）・林田 寿文（寒地土研・北大院環）・
辻 貴敏（ネットケア）・新居 久也・藤井 真（道栽培公社）・上田 宏（北大FSC）
- 14:15 カラフトマス雄にみられる背隆起の形成 -----°薄 健太・工藤 秀明（北大院水）・
市村 政樹（標津サーモン科学館・北大院水）・帰山 雅秀（北大院水）
- 14:30 ヒグマ *Ursus arctos* のカラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* 捕食・運搬による河畔林へ
の海起源栄養塩輸送 -----°越野 陽介・工藤 秀明・帰山 雅秀（北大院水）
- 14:45 シロザケ産卵河川におけるオオワシ・オジロワシの分布 -----°松本 経（北見工大院工）
- 15:00～15:15 休憩
- 15:15 河川の溶存遊離アミノ酸組成がサケの河川水選択行動に与える影響
-----°山本 雄三・上田 宏（北大FSC）
- 15:30 ミトコンドリアDNA分析に基づく石川県手取川シロザケ *Oncorhynchus keta* の集団構造
-----°永井 愛梨（北大水）・山田 綾・工藤 秀明・帰山 雅秀（北大院水）
- 15:45 卵黄蛋白前駆物質ビテロジェニンの異種間投与とその運搬過程：イトウとゼブラフィッ
シュを用いたモデルについて
-----°櫻井 秀之・川北 奈央子・平松 尚志・東藤 孝・原 彰彦（北大院水）
- 16:00 カットスロートトラウト卵巣におけるスカベンジャー受容体クラスBタイプI遺伝子
の発現解析
-----°斎藤 恭一・柳 蓉芸・伊東 優太・平松 尚志・東藤 孝・原 彰彦（北大院水）
- 16:15 ヒメマスの性成熟に伴うsGnRH およびcGnRH-II の分泌動態の変化
-----°深谷 厚輔（北大院環）・天野 勝文（北里大海洋生命）・上田 宏（北大FSC）
- 16:30 キスペプチンがヒメマスのsGnRH分泌に与える生理作用
-----°中村 紗由美（北大水）・深谷 厚輔（北大院環）・
天野 勝文（北里大海洋生命）・上田 宏（北大FSC）
- 16:45 事務局報告
- 17:00 閉会

1日目 17日(土)
特集
「サケは新たなレジームへ?!」
要旨



Ken FUKUMA

特集「サケは新たなレジームへ?!」趣旨説明

コンビナー

帰山 雅秀 (北海道大学大学院水産科学研究院)

上田 宏 (北海道大学北方生物圏フィールド科学センター)

永田 光博 (道総研さけます・内水面水産試験場)

サケ属魚類のバイオマスは、1975/76 レジーム・シフト年以來増加し 1990 年代にピークに達して高水準で推移していたが、2000 年代に入り減少の兆しが観察されるようになってきた。ベーリング海東部も寒冷化の方向に向かい、北太平洋生態系は 1998/99 年 ENSO 以來、新たな気候レジームに入った可能性を指摘する研究者もいる。一方、温暖化がポジティブおよびネガティブな影響をサケ属魚類に及ぼすようになり、それに関連した国際シンポジウムが数多く開催されるようになってきた。また、シロザケのバイオマス時系列変化をみると、最近、野生魚が著しく減少しているのに対し、孵化場魚の増加が著しい。特に、これまで野生魚の宝庫といわれてきたアラスカにおいてその傾向が顕著である。以上のような背景を踏まえ、本特集では次のキーワードに基づき、新たなレジームに向けたサケ学研究のあり方について論議したい。

キーワード

- ・ 長期的気候変動とレジーム・シフト
- ・ 野生魚と孵化場魚の相互作用
- ・ 持続可能な統合的サケ資源管理

特集

北太平洋沿岸各国におけるサケ属魚類の資源動態

浦和 茂彦 (水産総合研究センター 北海道区水産研究所)

北太平洋産サケ属魚類の資源量は、歴史的に高い水準にあるが、地域によって大きな差があり、分布の南辺域では減少傾向にある。また、サケとカラフトマスが漁獲量の8割を占めるなど、サケ属魚類の種多様度は減少傾向にある。最近10年間のサケ漁獲量は30万トン前後で推移し、明確な増減傾向はない。極東地域のサケ漁獲量は、25万トン前後で推移しているが、日本では減少、ロシアでは増加傾向にある。ロシアにおけるサケ放流数は約6億尾と十年間で倍増しており、それが漁獲量増加の一因と考えられる。カラフトマスの漁獲量は、奇数年級群で増加傾向にあり、2009年には約60万トンを記録し、特にロシア産カラフトマス(2007年級群)の漁獲量は42万トンに及んだ。サケとカラフトマスが他のサケ属魚類と比較して高い資源レベルを維持している理由として、1) 海洋生産力が高い傾向、2) 淡水生活時期が短く、海洋分布域が広いので気候変動(温暖化)の影響を比較的受けにくい、3) カラフトマスは生活周期が2年と短く成長が早い、4) サケは環境に合わせて餌生物をシフト可能で、胃の収容力が高く消化速度が速い、5) ふ化放流の効果、などが上げられる。

アジア 25万トン前後
(国別には余り変動しない)

ロシア 10億尾

ロシア 10億尾
サケ 30億尾 (日本18億尾)
カラフト 15 "

→ ロシア 6億尾

→ ロシア 4億尾

・ キン-マス (淡水系) 減少傾向

・ カラフト = 増加の理由?

・ シロ = 日本減少、ロシア増加 → ?

日本系減少 → 産卵 → ロシア系

太平洋サケ属魚類の生息水温：

気候変化はカラフトとサケよりもサクラマスにとってより深刻？

森田 健太郎（水産総合研究センター 北海道区水産研究所）

変温動物の生理的過程の多くは温度によって支配されるため、大規模な気候変化は太平洋サケ属の個体群過程にも影響をおよぼす可能性がある。しかし、その影響は河川生活期と海洋生活期では異なると考えられる。海洋生活期においては、太平洋サケ属は大規模な回遊をすることで、能動的に適水温域へ移動することができる。一般的に、太平洋サケ属は夏季に北方域へ回遊し、冬季は南方域へ回遊する。例えば、日本系のサケの場合、夏はベーリング海（表面水温 6~11℃）に索餌回遊し、冬はアラスカ湾（表面水温 5~7℃）で越冬する。さらに、夏のベーリング海では、サケは水温躍層を越える鉛直移動によって体温調節することができる。このように、海洋生活期においては、能動的な回遊を行うことにより、適水温帯へ生息場所を移動させることが可能であるため、気候変化にともなう水温の年変化や季節変化の影響を緩和させることができる。一方、太平洋サケ属は幼魚期と繁殖期には淡水域で生活することになるが、この期間は受動的な水温環境に支配される。例えば、北海道の河川水温は、冬季は 0℃近くまで低下し、夏季は 20℃を越えることも少なくない。1年以上の河川生活期をもつサクラマスの場合、このような 20℃以上に及ぶ大きな水温変化に適応しなければならない。つまり、淡水生活期においては、水温変化に対して受動的に支配されるため、大規模な気候変化が生じればその変化に対して適応しなければならない。以上のことから、地球規模の気候変化は、能動的な移動が可能な海洋生活期が長い種よりも、淡水生活期の長い種に対してマイナスの影響が生じやすいかもしれない。

水温に依存(る)生活史
淡水期の相対的重要性

淡水 = 受動的
海洋 = 能動的

水温耐性体制

鉛直移動力 → 体温を下げた時に深へ移動

淡水 0 ~ 25 (20) °C → サクラマス

Paleotical ↓
human → Regime

本誌誌一

最近の北海道のサケの資源変動と増殖の課題

宮腰 靖之（北海道立総合研究機構 さけます・内水面水産試験場）

北海道のサケの最近の資源変動と増殖 北太平洋における太平洋サケ *Oncorhynchus* spp.の資源量は海洋環境の好転を受けて高い水準にある。日本のサケ・マス生産の中心地である北海道でも、サケ *O. keta* の来遊数は1970年代に急速に増加した後、高い水準で推移してきた。全道的には高い水準を維持していると言えるものの、最近では海域間の漁獲量には大きな格差がみられるようになった。例を挙げると、オホーツク海では1990年代から引き続き高い資源水準にあるが、日本海は過去と比べても低い水準で推移しており、えりも以東太平洋、根室海域では最近2、3年は来遊数の減少が顕著となっている（図1）。

日本でのサケ・マスの資源管理は放流事業を中心として行われており、北海道でも毎年、さけ・ますふ化放流計画が策定され、河川ごとに定められた親魚捕獲数、飼育尾数、放流尾数の計画に沿って増殖事業が行われている。サケでは全道で127万尾の親魚を捕獲し、約10億尾の稚魚を放流する計画となっている。捕獲河川における遡上数が少なく計画どおりの親魚が確保できない地区では、沿岸漁業の休漁措置（自主規制）も含む種卵確保対策が講じられる。最近数年を見ても、毎年、複数の地区で漁業規制による種卵確保を余儀なくされており、増殖事業や漁家経営の面から見ても不安定な資源状態と言える。北海道のサケの資源管理の主体は、資源量が最も高かった1990年代後半に国から道へと移管され、現在の増殖計画や管理体制は資源量が最も高かった年代のものを基本としているが、今後、来遊数が少なく推移することも想定し、増殖計画や管理体制の再検討が必要であるものと考えられる。

野生魚も含むサケ・マスの資源管理 今後の課題は少なくないとは言え、北海道のサケの増殖事業は漁業資源増産を目的とした水産増殖の世界的な成功例と言える。北海道では将来的にも大規模な放流事業がサケ資源管理の中心的な役割を果たすことは間違いないものと思われるが、長期間にわたりサケ・マス資源を持続的に管理するには、野生個体群と好適な産卵環境が維持されることが不可欠であるとの指摘もある（Mobrand et al. 2005）。北海道のサケの野生個体群に関する情報は乏しいが、最近になってようやく北海道の野生サケ個体群に関する調査が開始され、情報が徐々に蓄積されつつある（Miyakoshi et al. 2011）。増殖事業を運営し安定的な漁業資源造成を進めると同時に、野生サケを含めた遺伝資源の保全をどのように調和を図って進めていくのか、今後の大きな課題と言える。

主な漁業対象種であるサケ属3種（サケ、カラフトマス、サクラマス）の最近の漁獲変動の傾向は魚種により大きく異なり（図1）、現状の増殖事業がサケ・マスの来遊資源に占める貢献度は魚種により大きく異なることがわかってきた。放流方法の様々な工夫が行われており、放流効果も魚種、年、地区、河川、ふ化場、放流群、放流方法ごとに大きく異なる。カラフトマスやサクラマスの資源管理をサケと同じ方策で考えることは適切ではないかもしれない。今後はふ化放流魚と野生魚の資源構造の調査や資源量のモニタリングをするとともに、魚種ごとに適切な管理方策を設定し、実行していくことが重要となるのではないだろうか。

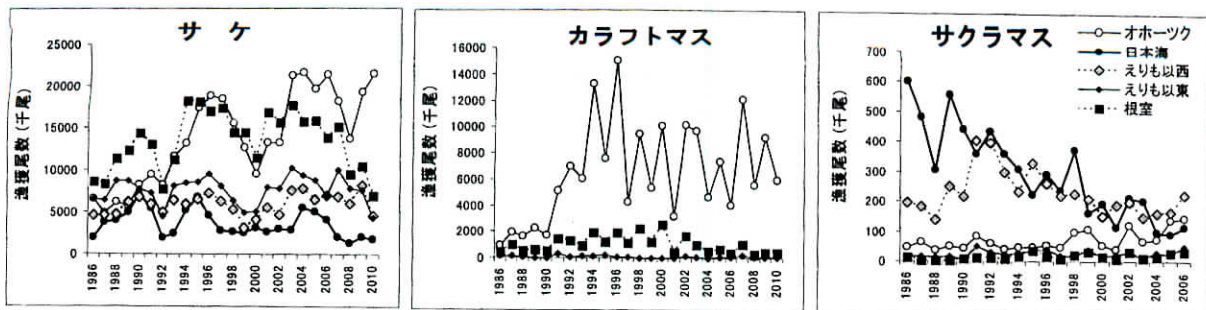


図1 1986年以降のサケ属3種の北海道における海区ごとの漁獲尾数の推移

★ 増殖体制（レジム）のシフト 関係 = サケ資源管理の全貌
★ サケ自然産卵

カラフトマス孵化場魚と野生魚の母川回帰

虎尾 充 (北海道立総合研究機構 さけます・内水面水産試験場)

遡河回遊性サケ属魚類は母川回帰性を持つがある程度の迷入 (straying) もある。迷入の程度は魚種や河川環境, 調査時の標識の有無など様々な条件によって異なる。カラフトマスはサケ属魚類の中でもっとも迷入が多いとされるが, 日本におけるカラフトマスの母川回帰性については不明な点が多く孵化場魚の迷入についてもほとんどわかっていなかった。さけます内水試では, カラフトマス孵化場魚の母川回帰性を検証するため, 北海道東部根室湾に面する当幌川から耳石 ALC 標識魚を放流し根室海区の捕獲河川で回帰調査を実施した。またこの調査の過程で当幌川水系に孵化場魚とは異なる時期に特定の支流で産卵する野生魚の存在も示唆された。本講演ではカラフトマスの母川回帰性 (あるいは迷入) の持つ生態学的な意義を議論するための材料として, これらの調査結果を紹介する。

2008年と2009年9月に根室海区のカラフトマス捕獲河川11河川において回帰親魚から耳石回収を行い, 標識魚混入率と母川選択率 (当幌川への推定遡上尾数/根室海区捕獲河川への推定遡上尾数の合計) を求めた。放流河川である当幌川における標識魚混入率は2008年には63.2% (標識魚尾数1,027尾/調査尾数1,626尾), 2009年では18.2% (同91尾/501尾) であった。放流河川を選択して遡上した割合を示す母川選択率は, それぞれ83.1%, 38.4%であった。年級によって大きな変動があったが, 当幌川から放流された孵化場魚も母川選択性を示すと考えられた。また調査を行った全ての河川で標識魚が確認されたことから, 少なくとも根室海区全域にわたって母川以外の河川への迷入 (exploring, wandering, proving の可能性を含む) が確認された。また9月上旬から10月下旬に旬1回, 放流場所である当幌ふ化場付近の本流と支流サクラ川において繁殖後斃死個体 (ホッチャレ) の計数, 尾叉長の測定と耳石の回収を行い, ALC 標識の有無を確認した。この結果, 標識魚は放流場所である当幌川に, 無標識魚はサクラ川に選択的に遡上する傾向が強いと考えられた。また無標識魚は, 小型で遡上時期および遡上した支流が異なることから, 孵化場魚とは独立して再生産を行っている野生魚であると考えられた。

カラフトマスでは広範囲の迷入がある一方で, 支流単位での母川選択性を持つ可能性もあり, 個体群の遺伝的構造や再生産について, 今後, 生態学的・遺伝学的な調査研究の必要がある。

・ 迷入の評価?
 迷入の定義
 Exploring (探索), Wandering (彷徨)
 Proving (試行), Straying (迷入)

・ 3. 他魚種の迷入率 → ライ (年別は4月) 選択率が異なる理由.

↓ 評価? ↑

proving の過大評価 → 迷入

サクラ川の遡上時: 他魚種と混同する量がある.

特集

生理学からみた野生魚と孵化場魚の差異

水野 伸也 (北海道立総合研究機構 さけます・内水面水産試験場)

目的 近年、人工増殖によるサケマス資源の遺伝的多様性の低下が懸念され、野生サケマス資源の保全が重要視されるようになった。野生資源の保全を考える上で、野生魚に与える孵化場魚のインパクトの解明は必要不可欠である。演者はこれまで、サケマス人工増殖技術効率化の一端として孵化場魚における生理機能の問題点を明らかにするため、孵化場魚と野生魚の生理機能の差異をサクラマス幼魚及びシロザケ稚魚を材料として調べてきた。今回の発表では、これまで得られた結果の概要を報告するとともに、結果から推測される「野生魚と孵化場魚の相互作用に与えるこの両者の生理機能の差異の影響」について考察する。

材料と方法 サクラマスの供試魚には、孵化場魚として道総研さけます内水試道南支場の池産1年魚を、野生魚として放流の行われていない見市川の支流で捕獲した1年魚を用いた。シロザケの供試魚には、孵化場魚として北海道内各地の民間孵化場で生産された稚魚、野生魚として植別川で捕獲した稚魚を用いた。サクラマスについては銀化変態期に、シロザケについては体重 1g 前後の時期に採集した。採集したサンプルを、各種生理学的解析に供した。

結果 サクラマス幼魚では、孵化場魚は野生魚に比べ、血中ヘモグロビン量及び筋肉中 ATP 量が少なく、最大遊泳速度が遅く、筋肉中チトクロム酸化酵素活性が低かった。また、サケ稚魚では、一部の孵化場魚は野生魚に比べ体全体 ATP 量が少なかった。サケ稚魚の体全体 ATP 量と最大遊泳速度、体全体 ATP 量と絶食耐性各々の間には正の相関があり、体全体 ATP 量は最大遊泳速度及び絶食耐性を反映しているものと推察された。さらに、従来の研究から、血中ヘモグロビン量は体内の酸素運搬能力、ATP 量は瞬発的活動能力、最大遊泳速度は捕食者からの逃避能力及び餌を捕る能力、筋肉中チトクロム酸化酵素活性はエネルギー産生能力、絶食耐性は貧栄養環境下における生残能力を反映していると考えられた。以上の結果から、サクラマス孵化場魚は、捕食されやすい、餌をとれない、体内の酸素運搬能力、瞬発的活動能力及びエネルギー産生能力が劣る等の特性を、一部のサケ孵化場魚は、捕食されやすい、餌をとれない、瞬発的活動能力が劣る、貧栄養環境下で生残率が低い等の特性を有する可能性が示された。孵化場魚と野生魚が混生すると仮定した場合、孵化場魚は野生魚に比べ、成長が悪く、生残率が低いと推測される。

サケマス
シロザケ
血中ヘモグロビン量 = 酸素運搬能力 → 回避能力 → MSS と関係
ATP 量 → エネルギー産生能力 → MSS

筋肉中チトクロム酸化酵素活性 → ATP 合成能力低下

Max 遊泳能力低下
(MSS)

ATP

Fe 中の (餌中の Fe 中の)

母川回帰に関わる嗅覚研究の現状と今後の展望

工藤 秀明 (北海道大学大学院水産科学研究院)

遡河性サケ科魚類の母川回帰における母川の識別には、降海時期付近までに刷込まれたニオイを感じる嗅覚系が重要な働きをすることが 1950 年代の Hasler らの研究グループにより示され、現在まで多くの研究者によりその全容の解明を目指して研究が進められている。サケ学研究会が発足し 5 年間に経過するが、その間に発表された新知見を中心に、本発表では、サケの母川回帰に関わる嗅覚研究の現状と今後の展望について紹介する。

国内外での現況 国外の状況としては、北米の研究者を中心に、水圏の環境汚染物質（農薬や重金属）のサケの嗅覚への影響に関する論文が多数発表され、母川刷込や母川回帰にも負の影響を与えることが示唆されている（総説として Tierney et al. 2010）。また、ゲノムからのニオイ受容体遺伝子の解析も精力的に進められている（e.g., Johnson & Banks 2011; Johnstone et al. 2011）。しかし、刷込や嗅覚と回遊を直接扱った報告は、近年見当たらない。一方、国内では、北海道大学上田研究室によるサケ属魚類の嗅覚に関する研究が精力的に進められており、電気生理学的手法と Y 字水路を駆使した研究では、産卵遡上個体の母川水認識に関する多くの新知見が明らかにされている（Yamamoto et al. 2010）。また、分子生物学的にも、受容体遺伝子（Morinishi et al. 2007）および刷込関連遺伝子（Hino et al. 2007）のクローニングと発現解析が行われている。革新的なものとしては、動物用 MRI 装置を用いた非侵襲性分析技術により、成熟ヒメマスの母川水などのニオイ物質に対する脳の活動部位の可視化が行われている（Bandoh et al. 2011）。私たちの研究室でも、嗅神経指標タンパク（Kudo et al. 2009a）の遺伝子解析を行うとともに、古典的ながら嗅覚器官の発達過程に着目し、シロザケの生活史に伴う嗅覚器官の発達様式を明らかにし、サケの鼻にどれだけの数のニオイを受容する神経細胞（嗅細胞）が存在するかを明らかにした（Kudo et al. 2009b）。また、降海行動のトリガーとして最有力視されていた甲状腺ホルモンの受容体の解析から、嗅覚器官の嗅上皮における嗅細胞の細胞分化に同ホルモンが強く関わることを示している（第 3 回本研究会要旨集 江藤他；投稿準備中）。さらに、シロザケの嗅覚の一次中枢である嗅球における嗅神経系の神経回路（嗅神経一次投射）の解析から、外部から入力したニオイ情報がチューニングされる領域を明らかにし、より高次の脳での処理や刷込関連領域につながる神経解剖学的研究が進行中である。

今後の展望 上述のように、医学・基礎生物学の最新の技術を応用した生理学的アプローチにより、サケの母川回帰に関わる嗅覚の新知見は着々と積み重ねられているが、その全容解明には「何か」大きなブレークスルーが必要なかもしれない。また、本特集の話題の一つである「野生個体と放流個体の差異」さらには「迷込個体」に関する嗅覚の生理学的知見については、今のところ無いが、これらに関する解析を今後効果的に行っていくには「良質のサンプル」（確実に母川のニオイを刷込中または刷込まれた個体、想起または識別中の個体、迷込個体など）が必要となり、生態学や行動学分野の研究者との連携が必要不可欠と考えられる。

参考文献 (要 "salmon" と "olfactory" と合わせて検索)

Bandoh H. et al. (2011) *PLoS ONE*

Hino H. et al. (2007) *Aquaculture*

Johnson M.A. & Banks M.A. (2011) *Gene*

Johnstone K.A. et al. (2011) *Mol. Ecol.*

Kudo H. et al. (2009a) *Comp. Biochem. Physiol. A*

Kudo H. et al. (2009b) *Chem. Senses*

Morinishi F. et al. (2007) *Comp. Biochem. Physiol. B*

Tierney K.B. et al. (2010) *Aquat. Toxicol.*

Yamamoto Y. et al. (2010) *PLoS ONE*

Wisby W.J. & Hasler A.D. (1954) *J. Fish. Res. Board Can.*

日本系サケ個体群の遺伝的評価：現状と今後の課題

佐藤 俊平（水産総合研究センター 北海道区水産研究所）

サケは母川回帰性を持つことから、遺伝的に異なる地域個体群を形成し、それぞれの個体群は地域環境に適応した遺伝的特性を持つと考えられる。また各個体群内の個体間でも高い遺伝的変異性がみられる。そのため、サケは個体群間の遺伝的独立性と個体群内の遺伝的変異性の二つによって種内の遺伝的多様性を高度に維持していると考えられる。一方、サケは北日本の重要な水産対象種であり、その漁業資源の多くはふ化放流をベースとする増殖事業により維持されている。しかし、増殖事業が日本系サケの遺伝的多様性や生態系に与える影響が指摘されている。遺伝的多様性や生態系の保全に配慮したふ化放流事業を持続的に展開するには、適切な遺伝的管理方策をとることが不可欠である。そのためには、まず日本系サケ個体群の遺伝構造と遺伝的多様性についての現状を正確に把握することが重要である。ここでは、これまで行われてきた日本系サケ個体群の遺伝構造解析結果を示すとともに、今後の課題について述べる。

日本系サケの遺伝的個体群構造はこれまで多くの遺伝マーカーを用いて解析されてきた。SNP（一塩基多型）57 遺伝子座を用いて日本系サケ 41 個体群について解析を行い、近隣結合法で系統樹を作成したところ、概ね北海道 5 地域（オホーツク・根室海峡・日本海・太平洋西部・太平洋東部）、本州太平洋地域および本州日本海地域に分かれた。この結果は、マイクロサテライト 14 遺伝子座あるいはアロザイム 20 遺伝子座の解析とほぼ同様であった。さらに AMOVA 分析および F_{ST} 値の比較を行ったところ、この 7 地域間に有意な遺伝的分化が存在し、その程度は北海道地域と本州地域間で大きいことが明らかとなった。以上のことから、日本系サケには遺伝的に異なる 7 つの地域個体群が存在することが示唆された。一方で、遡上（産卵）時期により遺伝的に差が見られる河川個体群も観察された。その理由はいろいろ考えられるが、日本系サケの遺伝的個体群構造が地理的な要因だけでなく、時間的な影響も受けている可能性を示している。したがって、今後は時空間的な個体群構造を明らかにすることが必要である。また、耳石温度標識調査により、日本系サケにも自然産卵魚が一定数存在することが明らかとなってきた。日本系サケ個体群の遺伝的多様性を保全するため、自然産卵魚の遺伝的特性を明らかにし、これらの役割を評価する必要がある。

地域別 1.16%
 10 地域別 0.97%
 Pairwise F_{ST}
 本州 0.023
 本州 0.013

アロザイム、マイクロサテライトの解析

特集

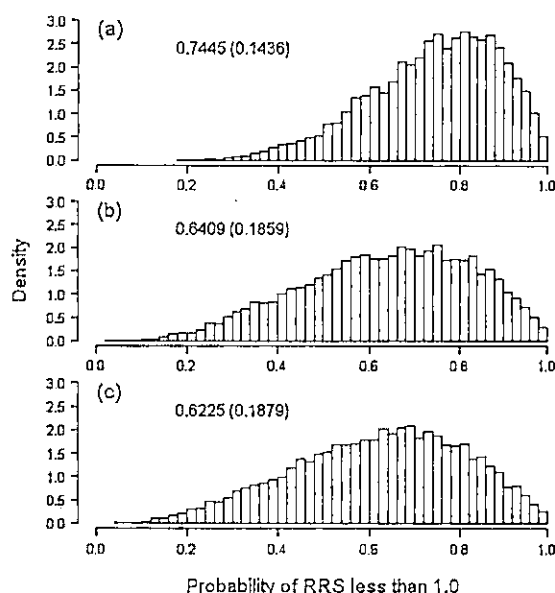
放流魚の繁殖成功度は天然魚より低いか？：スチールヘッドデータのベイズ評価

北田 修一（東京海洋大学）

目的 自然環境での人工種苗の繁殖成功度（Reproductive success, RS）は、種苗放流、養殖、保全生物の分野において最も関心の高いテーマの一つとなっている。スチールヘッドやギンザケなどの交配実験によって、人工種苗の天然魚に対する相対繁殖成功度（Relative reproductive success, RRS）が 1.0 を下回っていることが報告された[1]。また、これまでの研究成果は、真の RRS は 1 つの河川内であっても、交配や放流年、また自然の環境条件によって大きく変動することを示唆している。適切な種苗放流方策を考えるためには、異なる交配や飼育方法での RRS の情報を収集し、変動する自然環境下で放流された集団の RRS の変動を評価することが不可欠といえる。実験で得られた RRS の推定値の変動は、これらの変動にサンプリング誤差が加わったものである。したがって、RRS の推定値を解析する場合には、同じ河川のデータであっても、RRS の変動を考慮し、サンプリング誤差を差し引いて評価することが必要となる。ここでは、RRS の分布の新しい推定方法とスチールヘッドのデータ解析結果[2]を紹介する。

方法 真の RRS が対数正規分布すると仮定し、調査で得られたデータからこの分布を推定する。この分布の平均は、複数回の実験で得られた従来法の平均値と比較される。米国 Hood River でこれまでに得られたスチールヘッドの 42 個の RRS の推定値（Araki et al. 2007a; Araki et al. 2007b; Araki et al. 2009）に、新たに開発したベイズ階層モデルを適用した。周辺尤度に基づくマルコフ連鎖モンテカルロ（MCMC）シミュレーションを用いて平均 RRS の事後分布を推定するとともに、RRS が 1.0 を下回る事後確率を計算した。

結果と考察 放流魚（F1 と呼ぶ）5 グループ 30 個の推定値の平均±SD（範囲）は 0.7189 ± 0.3487 (0.153–1.560) で、天然生まれのその仔（F2 と呼ぶ）3 グループ 18 個では 0.7656 ± 0.3305 (0.065–1.268) であった。RRS 分布の MCMC 標本は、情報不足を反映し、F1, F2 および両方合わせたデータのいずれも大きく変動した。平均 RRS の事後分布は、両方のデータを合わせた場合は 0.625 に緩やかなピークを持ったが、F1, F2 ではピークを持たなかった。広い分布範囲と 95%信用バンドは精度が高くないことを示した。調査回数に比較して RRS の分布が振れていること、および標本数や親子鑑定の計測誤差を反映して、RRS が 1.0 を下回る確率は 0.5 を挟んで広い分布を示した。その平均±SD と 95%信用区間は、両方のデータを合わせた場合は 0.7446 ± 0.1436 [0.2978, 0.9661]（図 (a)）、F1 魚で 0.6409 ± 0.1859 [0.1477, 0.9489]（図 (b)）、F2 魚では 0.6225 ± 0.1879 [0.1263, 0.9451]（図 (c)）と算定された。RRS の平均レベルで見ると、F1 放流魚と F2 天然魚の RS 低下が暗示されたが、F1, F2 魚の RS が天然魚と遜色ないと仮説（RRS が 1.0 を下回る確率は 0.5）を棄却することはできなかった。講演では、RS 低下のメカニズムについても議論する予定である。



[1]北田修一（2011）種苗放流の遺伝的影響：実態と展望。「農林水産業を支える生物多様性の評価と課題」日本農学会編、シリーズ 21 世紀の農学、83-112.

[2] Kitada, S., H. Kishino and K. Hamasaki (2011) Bias and significance of relative reproductive success estimates based on steelhead data: A Bayesian meta-analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 68: 1827-1835.

2日目 18日(日)

特別講演

要旨

阿部 周一（北海道大学大学院水産科学研究院）

「とる漁業からつくる漁業へ」と言われてから久しい。ものを「つくる」には、その「つくり」と「しくみ」、さらに「はたらき」を知らなければならない。それらの情報は遺伝情報としてゲノムに書き込まれている。このため、魚介類の様々な生物学的現象を理解して「つくる漁業」に貢献するには、ゲノム研究は欠かせない。本講演では、サケ類の育種や資源管理に向けて我々が行ってきたゲノム生物学的研究とその成果について概説する。

サケ類の分子遺伝マーカー開発と資源管理への応用：核やミトコンドリア DNA 配列の解析から得られる各種分子遺伝マーカーは、サケ類の遺伝的多様性の推定、集団の構造と成立過程の分析、系群識別などに有用である。それらのマーカーを用いた研究から、極東から北米に分布するサケ（シロザケ）の環太平洋集団では、大陸や地域の間、さらに地域内の遺伝的分化が明らかになってきた。今後、集団構造の解明に加え、海洋に分布するサケの系群識別が高い精度で可能になるものと期待される。これまでの分析でサケの海洋分布はノンランダムであることが示唆されており、起源が異なるサケの詳しい回遊経路の解明も近いと思われる。また、野生魚と養殖魚（飼育魚・放流種苗）の遺伝的多様性の比較から、後者における急速な多様性喪失や野生母集団との遺伝的分化がサクラマスを含む種々のサケ類で示唆されている。このため、種苗放流のサケ類資源に与える効果や野生魚に及ぼす影響を評価する具体的な方策立案の基礎的データを集積するため、一層の分子集団遺伝学的研究が望まれる。

サケ類種間雑種の分子細胞遺伝学的研究：魚類では、雑種強勢を利用した形質の改良などのため様々な種間交雑が試みられてきた。サケ類も育種目的で種間雑種が試みられてきたが、その多くは致死または不妊であり、有用品種が確立された例はきわめて少ない。一部の雑種では発生初期胚における染色体異常が致死の原因と考えられ、ゲノム解析から得られた各種 DNA プローブを用いた蛍光 *in situ* hybridization や染色体ペインティング、さらにプロテオミクスなどにより致死のしくみの一端が分かってきた。例えば、致死胚では親種の組合せに係わらず雄親由来染色体の選択的排除や構造異常が起きている。ニジマス雄との交雑では常に致死胚が生じ、ノンランダムなニジマス染色体の排除が起きていることが示唆された。また、系統的に遠い両親種の中の雑種では、雌親ゲノムの倍数化を伴う雌性発生が起きる傾向がある。さらに、致死胚や不妊雑種生殖巣の網羅的タンパク分析から、各種の代謝関連タンパク、ハウスキーピングタンパク、生殖巣特異的タンパクなどの発現抑制や欠如が分かってきた。それらのタンパクをコードする遺伝子が確定されれば、種間雑種における生存性や妊性の回復に道を開き、新しい品種の創出も可能になるかも知れない。

まとめ―課題と展望：サケ類のゲノム生物学的研究はまだ断片的であり、今後、ゲノムの構造と機能に関するシステムティックなデータの集積が望まれる。これにより、集団解析において現在主流である遺伝的に中立なマーカーのほか形質を支配する遺伝子マーカーが利用できるようになり、遺伝的多様性喪失の具体的な生物学的意味の理解が進み、効率的な資源管理に道を開く可能性がある。また、発生、生殖、成長、耐病性などに係わる遺伝子とその機能の詳細が明らかになり、それらの遺伝子を用いて古典的な選抜育種に代わる新たな育種のアプローチが可能になることも期待される。

2日目 18日(日)

一般発表

要旨



Oncorhynchus gorbuscha

サクラマス銀化変態期における鰓 Na^+/K^+ -ATPase 活性と
インスリン様成長因子-I の関係

○下村 考弘・中嶋 拓郎・堀越 萌李 (北大院水)・飯島 亜内・水野 伸也・
ト部 浩一 (道さけます・内水試)・平松 尚志・原 彰彦・清水 宗敬 (北大院水)

目的 サクラマスは、一年間の河川生活を経て、二年目の春に河川生活型のパーから海洋生活型のスマルトに移行して降海する。河川から海に降る時には海水適応能の獲得が不可欠であり、それには鰓の Na^+/K^+ -ATPase (NKA) の活性化が重要となる。NKA 活性の上昇には、成長ホルモン (GH) やコルチゾルが関与しており、インスリン様成長因子(IGF)-I は GH の役目を仲介すると考えられている。IGF-I は標的器官に存在する IGF-I 受容体 (IGF-IR) と結合し、シグナルを細胞内部に伝達することで機能を発揮する。ゆえに、鰓の IGF-IR の発現が NKA 活性に影響を与えることが予想されるが、スマルト時期の IGF-IR の動態に関する知見は乏しい。また、どの組織由来の IGF-I が海水適応能の獲得に関与しているのかもはっきりしていない。そこで本研究では、降海時期におけるサクラマスの各組織の IGF-I mRNA 量、鰓の 2 種の IGF-IR サブタイプ mRNA 量、血中 IGF-I 量ならびに鰓の NKA 活性を測定して、それらの関係を調べることを目的とした。

材料と方法 供試魚には、北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場道南支場で飼育されていたサクラマス幼魚を使用した。2009 年 11 月 (0+) から 2010 年 6 月 (1+) までの計 8 ヶ月間、それぞれ 7 個体ずつを毎月サンプリングし、尾叉長と体重を測定した後、肝臓、筋肉、鰓および血液を採取した。肝臓、筋肉、鰓の *igf1* および鰓の *igflra* と *igflrb* 量をリアルタイム定量 PCR 法で、血中の IGF-I 量は時間分解蛍光免疫測定法により測定した。また 3 月から 6 月までの NKA 活性も測定した。

結果と考察 5 月に NKA 活性はピークを示し、肥満度は最低値を示した。このことからスマルト化のピークは 5 月であると予想された。また *igf1* 量は、肝臓で 3 月に明確なピークをみせ、筋肉では 1 月から 4 月までの低水温期に比較的高値を示した。鰓 *igf1* 量はスマルト移行期 (3 月~5 月) で高く、血中 IGF-I 量はスマルト移行期に急激に上昇した。降海時期を過ぎた 6 月には NKA 活性および鰓 *igf1* 量が低下したものの、血中 IGF-I 量は高値を示した。*igflra* と *igflrb* 量は、NKA 活性と鰓 *igf1* と同様にスマルト移行期に高い値を示し、6 月に減少した。これらの関係を調べたところ、スマルト移行期の血中 IGF-I 量と NKA 活性が体サイズ (尾叉長と体重) に対して正の相関を示した。そこで体サイズの影響を除くために、回帰式を用いて平均体サイズにおける値に標準化した。その結果、3 月から 5 月までの血中 IGF-I 量と鰓 *igf1* 量は NKA 活性に対して正の相関を示すことが分かった ($r^2=0.49$ と $r^2=0.25$)。よってスマルト移行期には、内分泌的および局所的 IGF-I の両方が NKA 活性の上昇に関与していることが示唆された。しかし 6 月には血中 IGF-I 量が増加しているのにも関わらず、NKA 活性は減少した。これは脱スマルト化による生理的変化、特に鰓における IGF-IR の低下によるものと推察された。

根室湾におけるサクラマススモルトの降海状況

○春日井 潔・虎尾 充 (道さけます・内水試 道東)・永田 光博 (道さけます・内水試)

背景と目的 サクラマススモルト (以下スモルト) の降海時期や沿岸域における生態についてはいくつかの報告があるが、降海から沿岸域における分布までを全体的にとらえた例は少ない。サケ稚魚の沿岸域における分布や環境との関係を調査した根室湾における沿岸調査ではスモルトも少なからず採捕された。本報告では、根室湾におけるスモルトの出現状況を示し、サケ稚魚の出現状況と比較してみたい。

方法 西別川におけるスモルトの降下時期を明らかにするため、2008～2010年の4月上旬から6月中旬にかけて、河口から約12km上流に位置する捕獲場にロータリー式スクリュートラップ (以下トラップ) を設置して、スモルトの採捕を行った。トラップによって採捕されたスモルトの確認は原則、午前中に行い、個体数を計数して放流した。

沿岸域におけるスモルトの出現状況を明らかにするため、2007～2010年にかけて、別海地区の渚帯 (別海37号定置、別海漁港、別海41号定置、別海44号定置) において4月下旬から7月上旬に地曳網で、沖合 (床丹川、西別川、風蓮湖の河口の沖合) において4月下旬から7月中旬に2艘曳きでスモルトの採捕を行った。単位努力量当たりの採捕尾数 (Catch per Unit Effort: CPUE) は、渚帯では地曳網1回の採捕尾数、沖合では1km当たりの採捕尾数とした。採捕されたスモルトは5%中性ホルマリンで約4時間固定後、70%エタノールに移し替え、測定まで保存した。スモルトは尾叉長、体重を測定し、生殖腺の形状から雌雄の判別を行った。

結果と考察 トラップによるスモルトの採捕は、5月上旬から6月中旬にかけて観察され、採捕のピークは2008年および2009年が5月下旬、2010年が6月上旬で、ピーク時の水温は9～15℃であった。渚帯においては、スモルトは5月下旬から6月中旬の間で採捕されたが、沖合の水温が8℃に到達する前には採捕されなかった。沖合においては、スモルトは5月下旬～6月下旬に多く採捕された。沖合でスモルトが多く採捕されたときの表層水温はおもに8～12℃で、サケ稚魚が多く採捕される水温帯と違いがなかった。サケは渚帯への出現ピークと沖合への出現ピークの間に長い期間がある場合があったが、サクラマスは渚帯への出現ピークの時期と沖合への出現ピークの時期の間にほとんど差がなく、河川から沖合へ速やかに移動していると考えられた。

^{アツク}
 降海C ⇒ 5/F (2010年 6/E) 9～15℃
[≒]
 4/F～5/F 9～12℃
^{アツク}
 5/F～6/F
^{アツク}
 5/F 下型 → 7/E. ↓型 (110mm)
 (135mm)
 ♀ 60～70%

北海道東部網走沿岸におけるカラフトマスの海洋初期生活

○藤原 真・安藤 大成・隼野 寛史・宮腰 靖之(道さけます・内水試)・嶋田 宏(道中央水試)

目的 一般にサケマス類は海洋初期生活期に高い減耗が起こることが知られており、沿岸域での分布移動や成長等の初期生態を明らかにすることは重要である。しかし、カラフトマスの国内での研究事例は非常に少ないのが実情である。そこで北海道東部の網走川においてカラフトマスの標識放流試験を行い、降海後の初期生態を調査した。

方法 発眼卵期にアリザリンコンプレクソン (ALC) を用いて耳石に蛍光標識を施した 2005 年級と 2006 年級のカラフトマス稚魚約 250 万尾を 4 月下旬と 5 月上旬に網走川に放流した。網走沿岸域の 6 定点 (2 定線, 各定線に 1km, 4km, 7km の 3 点) と網走港内の計 7 定点で 2 艘曳き網 (約 2km 曳航) を用い稚魚を採集し、同時に表面水温も測定した。調査は 4 月下旬から 7 月上旬まで旬一回実施した。

結果 両年級とも 1km 沖での標識魚の CPUE (尾/2km) は表面海水温 (SST) が 9°C を超える 5 月下旬から増加した。放流後の経過日数(D)と平均尾叉長 (Y) の関係式($Y=ae^{rD}$) を求めると瞬間成長係数(r)は、2006 年では 0.0155~0.0162, 2007 年では 0.0108~0.012 と、2006 年の値が 2007 年より高かった (図 1)。1km 沖の CPUE が増加した 5 月下旬の胃内容量指数 (SCI) は、2006 年; 2.52~2.63, 2007 年; 0.99~1.21 と 2006 年で高く、動物プランクトン量の増減ともよく一致した。このことからカラフトマスの成長には水温依存的な分布移動と餌料環境が大きく関与していることが示唆された。

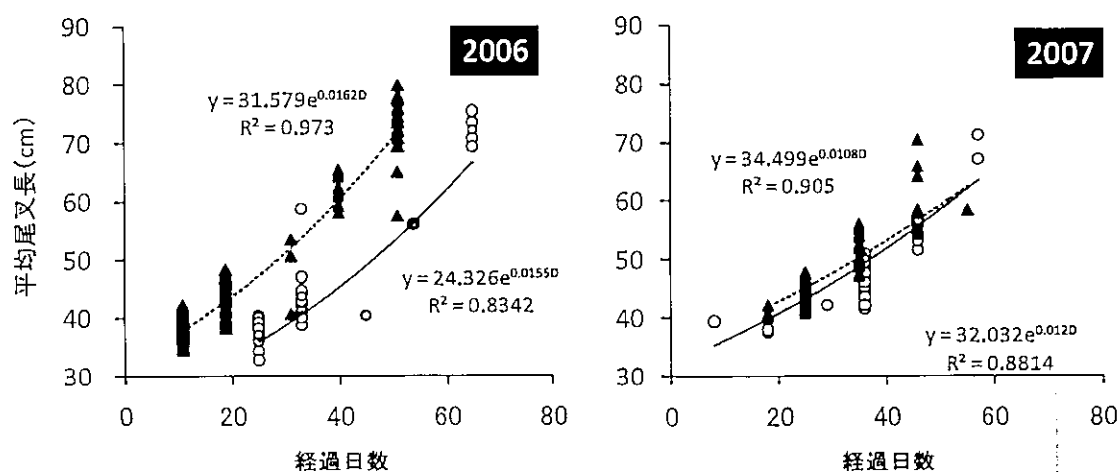


図 1 平均尾叉長の推移 (○; 4 月下旬放流, ▲; 5 月上旬放流)

北太平洋におけるサケ属魚類の炭素・窒素安定同位体比

○小山 諒・秦 玉雪・越野 陽介・工藤 秀明・梶山 雅秀 (北大院水)

背景と目的

動物の炭素 ($\delta^{13}\text{C}$) と窒素 ($\delta^{15}\text{N}$) の安定同位体比は、食物網におけるその種の位置を表す (Tieszen et al. 1983)。生態系において栄養段階が1段階あがる毎に、動物の $\delta^{15}\text{N}$ は 1.3~5.3‰、 $\delta^{13}\text{C}$ は約 1‰ 増加する (Minagawa & Wada 1984; Vander Zanden & Rasmussen 2001)。アラスカ湾におけるサケ属魚類 (*Oncorhynchus* spp.) は $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ の分析結果から第4栄養段階に位置づけられているが、気候変動や海況の変化に応じて食物網やその安定同位体比も変わることが報告されている (Kaeriyama 2004; Kaeriyama et al. 2004)。本発表では、北太平洋亜寒帯海域から採集したサケ属魚類の安定同位体比分析に基づき、彼らの食物網における種間の位置関係とその空間変動について報告する。

材料と方法

2006年、2007年および2010年に北太平洋亜寒帯海域において、北海道大学水産学部練習船おしよる丸上で表層流し網と延縄によりサケ属魚類を採集した。サケ属魚類の筋肉切片を超純水で洗浄し、インキュベータ内 (60°C) で乾燥し、粉末化した後、クロロホルム-メタノール混合溶液 (2:1) で脱脂した。その後、標本をスズカップに丸め、元素分析計 EA110 と質量分析計 DELTA plus (Thermo Fisher Scientific 社製) によりそれらの $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ を求めた。標本採集エリアを西部亜寒帯還流域 (WSG)、アラスカ還流域 (AG)、南東ベーリング海域 (SEB)、北部ベーリング海域 (NB) およびアリューシャン列島海域 (AIS) の5海域に区分した。

結果と考察

サケ属魚類の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ は、マスノスケ *O. tshawytscha* とスチールヘッドトラウト *O. mykiss* が最も高く、ついでギンザケ *O. kisutch* とベニザケ *O. nerka* が高く、そしてシロザケ *O. keta* とカラフトマス *O. gorbuscha* が最も低い傾向を示した。その傾向は、クラスター分析の結果とも一致した。これらの結果は、既報 (Satterfield & Finney 2002; Kaeriyama et al. 2004; Johnson & Chindler 2008) と一致し、サケ属魚類の栄養段階の序列を示すものと考えられる。サケ属魚類の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ は、ベニザケとカラフトマスでは海域間で有意な差が見られなかった ($P>0.05$; Scheffes-F) が、シロザケではNEBでのみ ($P<0.01$, Scheffes-F)、ギンザケではAISでのみ ($P<0.05$, Scheffes-F) 有意に高い $\delta^{15}\text{N}$ を示した。この要因を特定することはむずかしいが、各海域生態系の特性、種特異性あるいは種の可塑性等が複雑に関連しあっているものと考えられる。

一般発表 午前の部

サクラマスにおけるインスリン様成長因子結合蛋白-1の発現パターンと成長との関係

○川口 航平・下村 考弘・中野 裕介（北大院水）・木村 志津雄（北大FSC）・原 彰彦
・清水 宗敬（北大院水）

目的 魚類を含む脊椎動物の成長にはインスリン様成長因子-I (IGF-I) が重要な役割を果たしているが、その生理活性は6種類のIGF結合蛋白 (IGFBP) により調節されている。IGFBPの機能は大別するとIGF-I活性の阻害型と促進型に分けられる。サケ科魚類の血中には3種の主要なIGFBPが存在するが、そのうち2種は阻害型と考えられる。我々は最近これらが共にIGFBP-1のサブタイプ (1a と 1b) であることを明らかにした。しかし、IGFBP-1サブタイプの発現パターンを比較した例はほとんどなく、成長や栄養状態との関連性も明らかになっていない。そこで本研究では、サクラマス幼魚を用いてIGFBP-1a及び-1bのmRNA量と成長との関係を調べ、それぞれの成長の負の指標としての特性を評価することを目的とした。

材料と方法 北海道大学北方生物圏フィールド科学センター七飯淡水実験所にて、2010年度にサクラマス当歳魚を、2011年度に1年魚を用いて飼育実験を行った。まず実験魚をピットタグにより個体標識した。そして、給餌群、絶食群及び再給餌群の3群に分け飼育を開始した。給餌群には実験期間中1日1回の給餌を行い、絶食群は餌止めを行った。再給餌群には3週間（当歳魚）または4週間（1年魚）の餌止めの後、給餌を行った。絶食後及び再給餌開始後1と2週目に各群7個体ずつの体重と尾叉長を測定した後、肝臓を採取した。また、IGFBP-1aと-1bに特異的なプライマーを設計し、肝臓からcDNAを調製した後、リアルタイム定量PCRにより各mRNA量を測定した。更に、それらを体重及び尾叉長の変化から算出した個体の成長率と比較した。

結果と考察 当歳魚と1年魚で絶食によって体重及び肥満度が減少し、その後の再給餌によって回復した。当歳魚において *igfbp-1a* と *-1b* の mRNA 量は個体標識のストレスによると考えられる上昇が見られたものの、実験終了時には共に絶食群が給餌群に比べて有意に高値を示した。また、再給餌によってそれらの mRNA 量は最終的に給餌群と同等になった。1年魚においても *igfbp-1a* と *-1b* の mRNA 量は実験終了時に絶食群が給餌群に比べ有意に高値になった。また、再給餌によって両 mRNA 量は減少し、特に *igfbp-1a* では絶食群より有意に低くなった。これらの結果に加えて、それぞれのサブタイプが各成長率に負の相関を示したため、2種類のIGFBP-1はIGF-Iを介した成長を阻害する作用があることが示唆された。今回の実験では *igfbp-1b* の方が *igfbp-1a* よりも肝臓における相対量が高かった。また、これまでの解析で *igfbp-1b* は主に肝臓で発現している一方、*igfbp-1a* は主に肝臓以外で発現していることが観察されているため、これらのサブタイプは作用する器官を分けることで共に成長を阻害している可能性が考えられる。さらに、本研究で両サブタイプは個体の成長率と負の相関を持つと考えられ、成長の負の指標となり得ることが示唆された。

サクラマスにおける細菌性腎臓病の垂直感染防止試験

○畑山 誠・水野 伸也・小出 展久 (道さけます・内水試)・笠井 久会・吉水 守 (北大院水)

目的 細菌性腎臓病に感染したサクラマス親魚の配偶子を人工受精する際、原因菌 *Renibacterium salmoninarum* が体腔液中に 10^7 CFU/ml 以上存在すると、卵門から囲卵腔内に移行し、垂直感染を引き起こす可能性のあることが報告されている。本研究では、人為的に *R. salmoninarum* に感染させたサクラマス親魚に抗菌剤エリスロマイシン(EM) を注射し、本菌の減少効果を観察すると共に卵を受精前に等調液で洗浄して表面の生菌数を減少させることで、垂直感染を防除することが可能かどうかを検討した。

方法 道さけます内水試で 8°C 湧水を用いて飼育中の雌雄未分別のサクラマス 2+ (平均体重 623 g) に 4.3×10^3 CFU/尾の *R. salmoninarum* (サクラマス由来 Tok 46 株) を腹腔内に接種した。接種 15 日後に半数に EM 注射液 30 mg/尾を筋肉内に注射し EM 投与群とした。残り半数を対照群とし、共に 26 日後に採卵を行った。採卵に供した雌から腎臓と体腔液を採取し、改変 KDM 寒天培地 (Mathui *et al.*, 2009) を用いて *R. salmoninarum* 生菌数を測定した。個体別に得た卵は二分し、一方は卵重量の約 10 倍量の滅菌生理食塩水を用いて 3 回洗浄後、受精に供し、他方は無処理のまま受精した。なお、精液は人為感染を行っていない雄 5 尾分を混合して受精に供した。受精卵は発眼まで 8°C の湧水で管理した。発眼後は各 30 粒をヨード剤 (水産用イソジン) で消毒した。消毒後、囲卵腔液を採取し、*R. salmoninarum* の分離を行った。生菌数は段階希釈試料を改変 KDM 寒天培地表面に塗擦し、 15°C で 90 日間培養した。検出限界は 1 CFU/mg である。発育したコロニーは抗 *R. salmoninarum* 抗体を用いた間接蛍光抗体法により同定した。

結果 対照群の腎臓 13/14 尾、体腔液 5/14 尾から *R. salmoninarum* が分離され、その生菌数は腎臓で 1~243 CFU/mg、体腔液で 1~9 CFU/mg であった。一方、EM 注射群 10 尾の腎臓および体腔液からは *R. salmoninarum* は分離されなかった。もちろん、使用した雄 5 尾の腎臓からは分離されなかった。卵洗浄試験は採卵適期を逸した親魚に由来する発眼率 0% の卵が多く出現し、洗卵試験に供したのは対照群 6 尾、EM 注射群 6 尾の雌親魚に由来する卵となった。発眼後に囲卵腔液から *R. salmoninarum* の分離を試みたが、いずれの供試群の発眼卵からも分離されなかった。感染試験で検出限界以上の *R. salmoninarum* を分離できなかったため、洗卵の垂直感染防止効果は検証できなかったが、親魚に対するエリスロマイシン投与は、体内の *R. salmoninarum* の低減に有効であり、親魚自体の死亡数低減とともに垂直感染を防止する効果が期待できるものと考えられた。



Oncorhynchus masou

Detection Methods for the Epizootiological Survey of *Aeromonas salmonicida*, the Causative Agent of Furunculosis

(せつそう病原菌 *Aeromonas salmonicida* の疫学調査に適した検出法)

○Devon DUBLIN, Hisae KASAI and Mamoru YOSHIMIZU
Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University

Object The high demand for salmon culture resulted in an intensification of the production such as hatcheries and aquaculture facilities which resulted in the industry being plagued with various diseases such as furunculosis which can present itself in asymptomatic forms with sudden and sporadic outbreaks. The need to identify and detect it efficiently is of utmost importance with many methods being employed with varying degrees of success. However these successes are dependent on several direct and indirect factors such as logistics and sample quality. As a result we embarked on a comparative study of these methods with a view of evaluating their efficiency and applicability in an actual epizootiological survey in Hokkaido.

Materials and Methods Firstly, detection limits of *Aeromonas salmonicida* by culture, serological test and PCR were analyzed. A controlled field experiment at the Hokkaido Inland Fisheries Science Station in Eniwa was conducted using 60 masu salmon *Oncorhynchus masou* fries averaging 21.5 g. Fries were divided into 2 groups, control group injected with 0.1 mL of 0.85% NaCl solution/fish and test group with 0.1 mL/fish of 6.3×10^3 CFU/mL of *A. salmonicida* strain isolated from char *Salvelinus leucomaenis*. An epizootiological survey of selected rivers in Hokkaido was then conducted.

Results The results obtained showed Coomassie Brilliant Blue Agar (CBBA) producing a limit of detection of 10^2 , Immuno-fluorescence Antibody Test (IFAT) 10^4 , PCR Test 10^5 and Co-agglutination test (COAT) 10^3 CFU/mL. The results demonstrated that CBBA and COAT were more capable of diagnosing the bacteria at low concentrations. Of the field analysis, all of the fishes in control group tested negative while the test group produced the following positive results: CBBA 13/30 (43.3%), IFAT 30/30 (100%), PCR 1/30 (3.3%) and COAT 30/30 (100%). The limits of detection were similar to those obtained in the first experiment however, the PCR results indicates that nonspecific reaction from direct use of tissue is a limiting factor. The results from the epizootiological survey in Hokkaido with CBBA showed positive results from Aioi, Raiun and Shibetsu at 1/60 (1.67%), 3/60 (5%) and 7/60 (11.67%) respectively with IFAT, COAT and PCR acting as corroborating methods in varying degrees. Hekiriji, Iwaobetsu, Moheji, Rausu and Shiribetsu were found to be negative. Positive ratio at Iwaobetsu and Raiun decreased every year and resulted in *A. salmonicida* free in the last three years at Iwaobetsu. These results are consistent with prior investigations that south Hokkaido is free from *A. salmonicida* as opposed to north, central and east Hokkaido.

せつそう病原菌 *Aeromonas salmonicida* の疫学調査に適した検出法について検討した。検出感度は CBBA 培養法 > 共同凝集法 > 蛍光抗体法 > PCR の順となり、道内 8 河川の採卵親魚の検査でも CBBA 培養法が適していた。1979 年からの疫学調査では、本菌は道央・道北・道東に広く分布していたが、道南はクリーンゾーンであった。斜里川と岩尾別川の検出率は年々減少し、後者ではここ 3 年間陰性となった。

カワマス♀×サクラマス♂不妊雑種における生殖巣形成不全のプロテオミクス

○青木 一平・飯田 直登・千田 淑恵（北大水）・阿部 周一（北大院水）

背景と目的 サケ科魚類は水産重要種を多く含み、特に養殖魚では生残率、耐病性、肉質等の向上および改良が求められている。そこで優秀な形質を持つ新品種を得るため、雑種作出の試みが広く行われてきた。しかしほとんどの雑種の組み合わせでは、致死や不妊等の雑種退行を引き起こすため、成功例は極めて少ない。したがって雑種退行の機構解明は、有用な新品種を確立するために必須である。当研究室では生存性不妊のカワマス♀×サクラマス♂雑種においてプロテオミクスを用いた雑種不妊の研究を行い、本雑種雄において精巣発達および精子形成に関与するタンパクをいくつか同定した（千田 2009）。しかし、本雑種の雌についてはタンパク分析の知見がまだない。そこで本研究では本雑種雌に焦点を当て、生殖巣発達に関与するタンパクの発現を雑種と親魚の間で比較することにより、雑種不妊の機構解明にせまることを目的とした。

材料と方法 北大北方生物圏フィールド科学センター七飯淡水実験所で飼育されている雌のカワマス 13 個体(1+~3+)、サクラマス 16 個体(1+~3+)、カワマス♀×サクラマス♂雑種 22 個体(1+, 4+, 5+)の鱗と生殖巣を用いた。鱗からは DNA を抽出して、GH-Y 偽遺伝子の PCR 分析により雌雄を判別した。また、GH-1 遺伝子 intron C 領域の PCR 分析から雑種の確認をした。生殖巣は組織学的観察により発達程度を確認するとともに、二次元電気泳動 (2-DE) によるタンパク発現パターンの比較および MALDI-TOF 質量分析によるタンパクの同定にそれぞれ用いた。また、雑種のみ体細胞のフローサイトメトリーにより倍数性を確認した。

結果と考察 今回用いた雑種のうち、GH-Y 分析から遺伝的雌と判定された 16 個体は、いずれも 2 倍体で生殖巣は未発達であった。4+ 雑種生殖巣の組織学的観察の結果、卵母細胞を囲むように精小嚢が混在しているのが確認された。また、2-DE によるタンパク発現パターン比較の結果、親魚では高発現であるが雑種で低発現または発現していないスポットが確認された。さらに、カワマス親魚と雑種において高発現スポットの質量分析を行った結果、カワマスで 12 種類、雑種では 8 種類のタンパクを同定した。同定されたタンパクのうち Annexin と Nucleoside diphosphate kinase は雑種で発現が低下していた。Annexin ファミリーの一つである Annexin V はラット脳下垂体において LH や FSH を誘導する可能性が示唆されている (Kawaminami et al. 2002)。もし魚類でも同じ機能であれば、Annexin の低発現により LH や FSH の産生量が低下し雑種の卵成熟を妨げている可能性がある。また、Nucleoside diphosphate kinase は metabolic process 関連タンパクで、ATP や NTP 等の合成に必要である。雑種ではこのタンパクの低発現により代謝が低下し、生殖細胞系列の細胞の増殖・分化能が低下することにより、生殖巣発達に異常をきたしていると考えられる。今後、雑種、親魚ともに解析個体数を増やし、今回の結果を確認する必要がある。

サケ類の雑種致死に関する分子細胞遺伝学的研究

○杉本 貴城・阿部 周一 (北大院水)

背景と目的 サケ科魚類では育種を目的として様々な種間交雑が行われてきた。しかし、それらの雑種の多くは、致死性あるいは生存性不妊である。我々はこれまで、サケ科魚類雑種致死の一因として初期胚発生における染色体異常の関与を示唆してきた。そこで本研究では、まだ研究例が少ないイトウ雑種を中心に致死性と染色体異常の関連を探ることにより雑種致死の機構を明らかにすることを目的とした。

材料と方法 春にはイトウ♀とカラフトマス♂またはサクラマス♂、ニジマス♂やカットスロート♂、さらにカットスロート♀とカラフトマス♂またはニジマス♂との交雑、秋にはシロザケ♀とカラフトマス♂またはサクラマス♂やニジマス♂、さらにカラフトマス♀とシロザケ♂やニジマス♂との交雑を行い、受精卵を得た。そして生残率より生存性や致死性の判定をし、胚の外部形態の観察、そして染色体数の計数や染色体ペインティング (WCP) による両親種の染色体識別を行った。

結果と考察 カットスロート♀×ニジマス♂、シロザケ×カラフトマスの正逆交雑、シロザケ♀×サクラマス♂の胚は多くが正常な胚発生を経て孵化に至ったため生存性と判定され、いずれも染色体数は両親の半数和を示した。一方、イトウ雑種、カットスロート♀×カラフトマス♂雑種、シロザケ♀とニジマス♂雑種、カラフトマス♀とニジマス♂雑種の胚は孵化前に全て死亡したため致死性と判定され、多くは異常な外部形態をもち、染色体数はモードを示さなかった。WCP による分析の結果、生存性雑種胚では両親種よりゲノムを1セットずつ受け継いでいることが確認された。一方、致死性雑種胚では雄親由来の染色体が選択的に削減されており、特にイトウ致死性雑種胚では雄親の種類によって削減される染色体の数に差がみられた。今後も引き続き、削減や構造異常に巻き込まれた染色体を同定するため、WCP や核型分析、および rRNA 遺伝子の蛍光 in situ hybridization (FISH) などを用いて分析を深めて行く予定である。

イトウ× (1倍, 2倍体) 雄親由来の染色体が排除される
カラフト (1倍, 3倍体) ↓ 致死性胚



Hucho perryi



Oncorhynchus mykiss

一般発表 午後の部

北海道オホーツク管内における野生サケの分布と遡上数

○ト部 浩一・宮腰 靖之・佐々木 義隆・永田 光博（道さけます・内水試）

背景と目的 1970年代に放流技術の向上や海洋環境の好転によりサケ (*Oncorhynchus keta*) の漁獲量が急増したのを契機に、人工孵化放流による資源増殖への期待が急速に高まった。さらに、その頃、河川改修などによりサケマスの繁殖に不可欠である良好な河川環境が次々と失われていく時代であったことが相まって、人工孵化放流への依存度はさらに高まり、野生個体群のことは殆ど顧みられなくなってしまった。サケ漁業を持続的に発展させるためには様々な要素を考慮しなければならないが、北海道の環境に適応した野生サケ個体群の保全・管理は最も重要な要素であろう。最近になって、本道における野生個体群の分布状況が明らかにされたが (Miyakoshi et al. 2011; 宮腰ら 2011)、未だ野生個体群に関する情報は非常に少ない。このため、本研究では北海道サケの約半分が漁獲されるオホーツク管内において、野生サケ個体群の分布状況を調査するとともに、遡上数に関する知見の収集を行った。

方法 (1) 野生個体群分布状況調査：オホーツク管内の非放流河川でサケが再生産している可能性がある 13 河川において 10 月上旬と 11 月下旬の 2 回実施した。調査河川の規模に応じて 1-4 地点の調査区間 (区間長 7-130 m) を設定し、河岸からの目視により遡上親魚、産卵後の斃死個体、産卵床の有無について確認を行い、それらのいずれかが確認された場合は野生個体群が存在すると判定した。なお、分析には後述する非放流河川での遡上数調査 (6 河川) から得られた情報も用い、合計 19 の非放流河川について野生サケ個体群の有無を判定した。

(2) 遡上数調査：宮腰ら (2011) および北見管内さけます増殖事業協会の情報に基づき、野生サケ個体群の存在が複数年にわたって確認されている 6 河川を対象に、平成 22 年 8 月下旬から 12 月下旬にかけて、ウライまたは目視調査により遡上数を推定した。また、調査時に発見された産卵後の斃死個体から耳石を採取し、耳石標識 (温度標識および ALC 標識) の有無から放流由来の迷入についても確認した。

結果 (1) 野生個体群分布状況調査：19 河川のうち、10 月上旬の調査では 10 河川で、11 月下旬の調査では 17 河川で野生魚の存在が確認された。

(2) 遡上数調査：遡上時期は 9 月 9 日～12 月 17 日にわたり (積雪により調査を終了したため遡上終期は不明)、遡上ピークは 1 河川で 10 月上旬と 11 月下旬に、それ以外の 5 河川では 10 月下旬またはそれ以降に確認された。調査期間中の遡上数は 5-4547 尾と推定された。耳石分析の結果、サンプルが得られなかった 1 河川を除く全ての調査河川で斜里川からの放流魚が確認され、その割合は 0.8-3.2%であった。

考察 分布調査の結果、野生魚が確認された河川数が 10 月上旬よりも、11 月下旬の調査時の方が多かったこと、また、全ての遡上数調査河川において 10 月下旬以降に遡上ピークが確認されたことから、野生個体群は後期群を主体に維持されていると考えられた。

引用文献

Miyakoshi, Y., H. Urabe, H. Saneyoshi, T. Aoyama, H. Sakamoto, D. Ando, K. Kasugai, Y. Mishima, M. Takada, and M. Nagata. 2011. The occurrence and run timing of naturally spawning chum salmon in northern Japan. *Environmental Biology of Fishes*, DOI.10.1007/s10641-011-9872-5.

宮腰靖之, ト部浩一, 安藤大成, 實吉隼人, 青山智哉, 坂本博幸, 春日井潔, 永田光博. 2011. 北海道におけるサケ自然産卵個体群の分布. 北海道水産試験場研究報告 (印刷中)

見市川におけるサクラマスの河川遡上と自然再生産の現状について

○楠田 聡・大森 始・青山 智哉・飯嶋 亜内・村上 豊・大久保 進一・
ト部 浩一・宮腰 靖之 (道さけます・内水試)

目的 サクラマスは、主に北海道と本州の日本海沿岸で漁獲され、商品価値が高く、漁業及び遊漁の対象種として利用されているものの、近年漁獲量が減少傾向にある。漁獲量の増加のため、主に北海道日本海側の河川で、人工種苗の幼稚魚が放流されてきた。我々は、スマルト放流事業による自然再生産資源造成への潜在的効果を検証するため、近年、見市川へスマルト大量放流を実施したところ、放流魚が前浜の漁獲に貢献することが確認されるとともに、見市川には比較的多くの親魚が遡上するようになった。今回は、見市川での親魚の遡上状況として推定遡上数と道南支場での捕獲数の推移を紹介するとともに、自然再生産の状況として産卵床の分布、密度及び構造について、既報や近隣河川の情報と比較した結果を紹介する。

方法 親魚の遡上状況：青山ら (2010) の方法に従い 2009 年に遡上した親魚数をピーターセン法で推定した。2007～2011 年にかけて、道南支場周辺に分布した親魚を捕獲し、時期別捕獲数の推移を調べた。自然再生産の状況：2008～2011 年に親魚が遡上可能な見市川流域 (2008 年は一部区間) を踏査し、産卵床の位置を GPS で記録した。さらに、2011 年は、一部の産卵床について、マウンドの長径、短径と水深、ピットの長径と水深をそれぞれ計測した。

結果 親魚の遡上状況：2009 年に見市川に遡上した親魚は 2,165 尾 (±188 尾) と推定された。2008 年 5 月に 204 千尾のスマルト幼魚 (うち鰭切り標識魚は 92 千尾) を見市川に放流したため、鰭切り標識魚における放流数に対する推定遡上数の割合から、2,165 尾の親魚のうちの 6 割以上 (1,379 尾) がスマルト幼魚放流由来の回帰親魚であると推定された。遡上親魚数とスマルト幼魚放流由来の親魚の割合は、2008 年の各値 (5,521 尾, 9 割以上, 青山ら 2010) より低下したことから、比較的年変動が大きいことが判明したものの、スマルト幼魚の自然再生産資源造成への潜在的効果は大きいと考えられた。親魚の捕獲数も、2007 年が 599 尾, 2008 年が 1,283 尾, 2009 年が 376 尾, 2010 年が 999 尾, 2011 年が 1,204 尾と年変動が大きかった。捕獲盛期は概ね 9 月中旬から下旬であったが、2010 年のみ 9 月下旬であった。

自然再生産の状況：産卵床は、2008 年に 175 個, 2009 年に 48 個, 2010 年に 71 個, 2011 年に 464 個が確認された。2008 年の産卵床密度 (個/km) は、本流で 25, 支流の冷水川と二俣川でそれぞれ 20 と 5 であった。2011 年の産卵床密度は、本流で 48, 冷水川で 39, 二俣川で 26 であり、スマルト大量放流を実施する以前の 1992 年とほぼ同等の値を示したものの (青山・畑山 1994), 1990～1995 年の厚田川より高い値であった (杉若ら 1999)。2011 年には、河口から約 1.5km 上流までの本流域で、極めて高い産卵床密度 (139 個/km) が確認された。産卵床は、マウンドの長径が 74.8±1.6 (標準誤差, N=144) cm, 短径が 57.7±0.8cm, 最浅部の水深が 13.7±0.7cm であり、ピットの長径が 81.6±1.5cm, 最深部の水深が 27.1±0.8cm であった。遡上親魚の多くが自然産卵をしていることが確認された一方で、親魚数に対して確認できた産卵床が少ないことや本流下流域に産卵床が偏在したことは、どのような要因によるものなのか、今後さらに検討する必要がある。さらにスマルト放流事業による自然再生産資源造成への潜在的効果として、産卵床から発生する稚魚数の推定やその生き残り等を明らかにしていく必要がある。

$$N = \frac{N_2 N_1}{M_1}$$

(標識魚) $\pm SE = \sqrt{\frac{N(N_1 - M_1)(N_2 - M_1)}{M_1^2} - 28}$

産卵床 → 上流に多い
セバ

美利河ダムにおけるサクラマスの遡上行動

○林田 寿文 (寒地土研・北大院環)・新居 也 (道栽培公社)・三好 晃治 (北大院環)・
羽山 英人 (道開発局)・上田 宏 (北大FSC)

目的 北海道南部を流下する一級河川後志利別川は、サクラマス(*Oncorhynchus masou*)が産卵のために遡上する河川として知られている。そのため、後志利別川の上流に位置する美利河ダムにはサクラマスなどの回遊魚を対象とした日本一長い魚道が設置されている。これまで、ダムまでの河道や魚道内のサクラマスの遡上調査として産卵床調査などが行なわれてきたが、今後はサクラマスの遡上環境の改善に向けた提案を行うため、より詳細な遡上行動データの蓄積を行うことが必要である。本研究では、サクラマスの位置を即時に特定出来る電波発信機と、事前に設置した受信機付近を通過した時の時間を記録する超音波発信機を両方装着し、ダム堤体直下から発電放流口における減水区間(延長約 6.7km)および魚道内(延長約 2.4km)における遡上行動の解析を行った。特に魚道内では電波発信機のうち筋電位 (electromyogram: EMG) 発信機を用い遡上・定位状況を把握するとともに遊泳能力の推定も試みた。また、サクラマスの遡上期である 9 月 13~21 日に減水区間の水深増加を目的としたダムからの弾力的管理放流を行った。

方法 2011 年 8~9 月に後志利別川に遡上したサクラマス 31 尾を捕獲した。発電放流口付近で採捕された 18 尾は弾力的放流前後の行動把握を行うため、MCFT2 発信機 (MCFT2-3EM ; Lotek 社) を外部装着した。魚道付近で採捕された 13 尾は魚道内における遊泳速度や定位状況を把握するため、EMG 発信機 (CEMG2-R11-35 ; Lotek 社) を外部装着した。電波受信機 (SRX_600 ; Lotek 社) を用いて、EMG・MCFT2 発信機から発信される電波により、供試魚の河川内位置情報および EMG 情報を取得した。超音波発信機 (V9-2L-R64 ; Vemco 社) は全供試魚に外部装着し、ダム堤体直下から発電放流口までの減水区間に 6 か所、魚道内 (最上流・中間・最下流) に 3 か所設置された受信機 (VR2 ; Vemco 社) により通過時の信号を取得した。

結果 最終的なサクラマスの遡上位置を確認した結果、魚道をすべて通過しダム上流のチュウシベツ川まで遡上した供試魚は 7 尾 (魚道放流 5 尾、放流口 2 尾)、魚道内に 2 尾 (魚道放流 1 尾、放流口 1 尾)、減水区間に 10 尾 (魚道放流 6 尾、放流口 4 尾)、発電放流口下流に 11 尾 (魚道放流 3 尾、発電放流 8 尾)、不明 1 尾であった。供試魚の行動は大きく分けて、①行動開始後、一気に上流へ遡上する個体、②行動開始後、一気に下流へ降河する個体、③減水区間と魚道の往來を繰り返す個体とに区別できた。また、弾力的管理放流中に減水区間を遡上した供試魚は 9 尾確認された。個別の供試魚の行動としては、魚道内で 3 週間同じ箇所定位後、チュウシベツ川へ遡上した個体が確認されたほか、約 8 時間、3 日間、14 日間魚道内に定位した後、上流へ遡上した個体が確認された。以上の結果、弾力的管理放流がサクラマスの遡上意欲を向上させた可能性、および魚道はサクラマスの遊泳能力内において遡上・休息等の選択性を与えていることが考えられた。

2.4 km
1尾 EMG

シロザケとサクラマスの遊泳能力・代謝に関する比較研究

○三好 晃治 (北大院環)・林田 寿文 (寒地土研・北大院環)・
辻 貴敏 (ネットケア)・新居 久也・藤井 真 (道栽培公社)・
上田 宏 (北大 FSC)

背景と目的

遡河回遊魚であるサケ科魚類の多くは、産卵のため限られたエネルギーにより河川を遡上しなければならぬため、短時間で効率的に河川を遡上することが重要である。豊平川におけるバイオテレメトリー手法を利用したシロザケ (*Oncorhynchus keta*) およびサクラマス (*O. masou*) の遡上行動を追跡調査した結果、二種間では河川工作物を遡上する際に異なる遡上行動をとることが観察され、異なる遡上行動は両種の遊泳能力・代謝の違いに起因することが予想された。しかし、これまでのシロザケおよびサクラマスの産卵親魚の遡上行動に関する既往研究では、河川工作物の遡上に関わる巡航速度や突進速度などに特化した研究が中心に行われてきたため、両種の遊泳能力・代謝については、不明な点が多く残されている。本研究では、シロザケとサクラマスの産卵親魚の遊泳能力・代謝の違いを明らかにするため、回流水槽を用いた遊泳実験を行い、両種の遊泳能力・代謝を比較した。

材料と方法

2010年および2011年10月に千歳川に遡上したシロザケ5尾、サクラマス11尾を実験に用いた。これら供試魚を流速可変式の回流水槽(450L)内で遊泳させ、臨界遊泳速度(U_{crit})の測定、および臨界遊泳速度測定に伴う酸素消費量の推定を行った。 U_{crit} は、15分毎に水槽内の流速を0.25BL/sずつ段階的に増加させ、供試魚が遊泳不可能になるまでの時間を計測して算出した。酸素消費量は、水槽内の溶存酸素量から測定し、標準代謝量(SMR)、活動代謝量(AMR)、および代謝量範囲(AMS)を算出した。

結果と考察

シロザケとサクラマスは、遊泳速度が上昇するにしたがい、酸素消費量が上昇した。しかし、サクラマスに比べシロザケの方が、ゆるやかに酸素消費量が上昇する傾向が解析された。また、両種間で U_{crit} を比較したところ、シロザケが2.87BL/sであったのに対し、サクラマスが3.21BL/sと高く、有意差が認められた。SMRは、シロザケが243.7mgO₂/kg/hであったのに対し、サクラマスは112.3mgO₂/kg/hと有意に低かった。有酸素遊泳と無酸素遊泳の境界の速度である U_{crit} がサクラマスの方が高く、またSMRはサクラマスの方が低いことから、シロザケに比べ、サクラマスが高流速帯を長時間遡上することに適していることが明らかになった。

カラフトマス雄にみられる背隆起の発達

○薄 健太・工藤 秀明 (北大院水)・市村 政樹 (標津サーモン科学館・北大院水)・
帰山 雅秀 (北大院水)

背景と目的 遡河性サケ属魚類 (*Oncorhynchus* spp.) の性成熟時には、背隆起、鼻曲がり、婚姻色などの第二性徴が特に雄で発現し、同属の中でもカラフトマス (*O. gorbuscha*) の背隆起は、顕著に発達する。サケ属魚類の背隆起や鼻曲がりの発達は、産卵場における雌をめぐる雄同士の競争に有利であることが示されている (e.g., Gross 1984; Quinn and Foote 1994)。背隆起の構造については、カラフトマスおよびヒメマスの背部断面に関する肉眼解剖学的研究により、神経棘が縦裂して生じる間隙およびその周囲における線維性軟骨組織の発達が主因となっていることが報告されている (Davidson 1935; 中村 1942)。しかしながら、組織および細胞レベルでの知見はなく、背隆起の形成過程やその制御機構についても不明である。さらに、背部に存在する不完全神経間棘と性成熟との関連も報告がない。本研究では、サケ属魚類の背隆起の細胞・組織レベルの構造とその発達様式を明らかにすることを目的として、背隆起発現前後のカラフトマス背部の解剖学的解析を行った。

材料と方法 供試魚のカラフトマスには、2010年5月に北太平洋西部 (北緯43度, 東経155度) において、北海道大学附属練習船おしよる丸により手釣りで採集した未成熟の雌雄、同年9月に定置網により捕獲され標津港に水揚げされた遡上前の雄および同月に標津サーモン科学館から供与された標津川に産卵遡上した成熟雌雄を用いた。外部形態計測用写真撮影および魚体測定を行った後、背部を剖出した。外部形態計測では、魚体のデジタル画像と画像解析ソフトを用いて、魚体の体型を反映する外部形態部位長と第二性徴関連部分長の解析を行った。背部内部骨格の解析には、透明二重染色骨格標本を用い、不完全神経間棘の発達を骨長、骨径および体軸との角度について分析した。また、ブアン氏液による背部組織の固定後、常法によるパラフィン包埋切片を作製し、ヘマトキシリン-エオシン (HE) 染色およびマッソントリクローム (MT) 染色を施し、顕微鏡観察した。

結果と考察 外部形態計測分析では、背隆起に関連する部位長が成熟雄で有意に高値を示した。背部内部骨格の観察では、背隆起が形成された成熟雄において、不完全神経間棘が体軸に対して鉛直方向に伸長し、骨長および骨径も有意に増加していた。不完全神経間棘は、内部骨格観察および組織切片観察から軟骨内骨化を示す骨組織であることが確認された。成熟雄の背部の前頭断標本をHE染色で観察した結果、正中付近、後向錘直上および前竜骨上筋周辺における、疎性結合組織の顕著な発達が観察された。同部位のMT染色では、アニリンブルーに好染される膠原線維からなる結合組織が認められた。未成熟雌雄、遡上前雄および成熟雌では、後向錘直上および前竜骨上筋周辺において、成熟雄で認められた結合組織の発達は観察されなかった。

上述の過去の報告では、背隆起は軟骨組織の発達により形成すると記載されている。しかしながら、本研究の結果により、背隆起は、不完全神経間棘の伸長と周囲の膠原線維を有する疎性結合組織の増加により発達し、骨端軟骨以外の広範囲にわたる軟骨の新生や軟骨組織塊の形成は起こらないことが示された。

ヒグマ *Ursus arctos* のカラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* 捕食と運搬行動による
河畔林への海洋由来栄養塩輸送

○越野 陽介・工藤 秀明・梶山 雅秀 (北大院水)

背景と目的 遡河性サケ属魚類 *Oncorhynchus* spp. (サケ類) は河川へ産卵遡上することにより、陸域生態系の生産力や生物多様性を高める (e.g., Kline et al. 1990; Wipfli et al. 1998)。環北太平洋地域のヒグマ *Ursus arctos* はサケ類を捕食して、死骸や排泄物という形で陸域生態系へ海洋由来栄養塩 (MDN) を運搬する (Hilderbrand et al. 1999) ベクターとしての役割を果たしている。しかし、現在ウライや河川工作物がサケ類の産卵遡上の障害となり、北海道の多くの河川においてサケ類による物質輸送の系が断たれてしまっている (梶山 2005)。サケ類が陸域生態系の生産力と生物多様性に果たす役割を明らかにするうえで、サケ類起源の MDN を定量化し、その輸送経路を解明することが必須である。そのためには、河畔林生態系における重要な MDN ベクターであるヒグマのサケ類の運搬とその被食量を明らかにすることが必須となるが、わが国においてそのような研究は梶山・南川 (2008) を除きほとんど行われていない。本発表では、MDN の定量化とその河畔への輸送経路を解明するために、ヒグマによるカラフトマス捕食と運搬について解析を行った。

材料と方法 安定同位体比分析によるカラフトマス寄与率推定：2006～2008 年に知床半島ルシヤ川においてヒグマの体毛をヘアートラップにより採集した。採集した体毛サンプルを脱脂した後毛根部を 5mm 切断し、その炭素・窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$) を MAT252 (Finnigan MAT) により測定した。また、ヒグマ体毛毛根部と餌対象生物の $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ から、混合モデル MixSIR (Semmens and Moore 2008) によりヒグマ餌生物におけるカラフトマスの寄与率 (%) を推定した。カラフトマス被食動態：2006～2009 年のカラフトマス遡上期に知床半島ルシヤ川においてヒグマによるカラフトマス運搬行動の目視観察を行い、その運搬距離を測定した。また、ルシヤ川河畔におけるカラフトマス死骸を死因ごと (ヒグマ被食個体および産卵後死亡個体) に分けて計数し、そのデータとカラフトマスの窒素含有率よりカラフトマスの河畔への MDN 輸送量 (kgN/yr) を輸送経路別 (ヒグマおよび洪水による輸送) に算出した。ルシヤ川における河川環境とカラフトマスの遡上動態に関するデータは横山ら (2010) より引用した。

結果と考察 安定同位体比分析および MixSIR による推定結果、秋季ルシヤ川では 11 個体中 8 個体のヒグマ ($\delta^{15}\text{N} > 10\text{‰}$) がカラフトマスを捕食し、餌生物のほとんどをカラフトマスに依存 (30～84%) していることが明らかとなった。ルシヤ川河畔では、カラフトマスは年平均 685 ± 175 個体がヒグマに捕食されていた。カラフトマスはヒグマにより河川から 10m 以内の河畔へ運搬される傾向にあるが、遡上数が少ない 2008 年のみほとんどが河川内で捕食されていた。さらに、2008 年は産卵後死骸よりもヒグマ被食死骸の割合が著しく高かった (χ^2 -test, $P < 0.001$)。横山ら (2010) はヒグマの強い捕食圧の結果、2008 年のルシヤ川におけるカラフトマス河川滞在日数が減少したことを指摘している。このように、サケ類の遡上パターンはヒグマの捕食・運搬パターンを変化させることから、それらに伴い河畔への MDN 輸送量も増減すると考えられた。ルシヤ川におけるヒグマによる河畔への年平均 MDN 輸送量は 181 ± 61 kgN/yr と推定された。また、急激な水位の上昇がみられた 2009 年のみ洪水による大量のカラフトマス死骸運搬 (281 kgN/yr) も観察された。以上のことから、ルシヤ川周辺生態系ではヒグマによるカラフトマス捕食・運搬が主要な MDN 輸送経路として機能しており、さらに、洪水による物理的な運搬過程も大きく貢献していることが明らかとなった。



シロザケ産卵河川におけるオオワシ・オジロワシの分布

○松本 経 (北見工大院工)

目的 古来より北海道におけるシロザケの遡上河川ではオオワシとオジロワシが確認されてきた。これらワシ個体のほとんどは冬期にロシアから飛来する渡り鳥である。ワシ類にとって北海道は重要な越冬地であり、越冬を支えるだけの餌資源が存在すると考えられている。シロザケの遡上河川では多数のワシ個体が確認され、シロザケを採食していることがこれまでに報告されている。しかし、越冬期間にわたって河川を利用するワシ類の採食について定量的に詳しく示された報告はほとんどなかった。ワシ類とシロザケの関係を明らかにすることは、生態系上位捕食で希少種でもあるワシ類の保全だけでなく、シロザケ産卵個体群に与える捕食圧やサケに含まれる海洋由来物質の河川外輸送の解明にとっても重要である。

そこで本研究では、河川生態系におけるワシ類の役割を明らかにすることを目的とし、遡上河川においてワシ類の採食と分布およびシロザケ親魚（ホッチャレを含む）の分布を調べ、シロザケ親魚の分布がワシ類の分布に影響を与えていることやワシ類の採食量を明らかにした。

材料と方法 道東の常呂川支流および佐呂間別川において、冬期間に自動車で移動しながら目視観察してワシ個体の位置を調べた。また、常呂川支流ではワシ類の目視観察を終えた後すぐにシロザケ親魚の分布を踏査して調べた。

結果 常呂川支流ではシロザケ親魚が増えた日にはワシ個体も増えた。シロザケ親魚の分布が変化すると、ワシ個体の位置も変化してシロザケ親魚の分布範囲に重なっていた。シロザケは上流から姿を消し、同調してワシ個体の分布も下流側へ移動した。やがて骨格だけになったシロザケが残り、ワシ類は観察されなくなった。佐呂間別川では常呂川支流の調査地に比べるとワシ個体の密度は低かったが、観察された期間は長かった。どちらの河川でもオオワシとオジロワシは観察されたが、3月になってもオジロワシは数個体観察された。

考察と結論 シロザケ遡上河川ではワシ類はホッチャレを含むシロザケ親魚を採食し、シロザケ親魚の近くに分布した。ワシ類にとってシロザケは見つけやすく、一度に大量の餌として摂ることができ、他の餌を探索するための移動は必要ないのかもしれない。またシロザケが遡上する餌環境は、ワシ類の分布パターンを決める重要な要因になっていると考えられる。シロザケの骨格はワシ類にとってあまりよい餌ではなく、常呂川支流でワシ類が早く姿を消したのは餌資源が枯渇したためであると思われる。佐呂間別川では踏査は行わなかったため、シロザケ親魚の分布については不明であるが、広範囲で結氷して開水面が減少したためにワシ類の採食場所が減少したものの、採食可能期間は長かったのかもしれない。ワシ類の繁殖地へ戻る時期と考えられる3月後半になっても両河川でオジロワシが数個体観察されたのは、当地で繁殖する個体（留鳥）であったと予想される。

河川の溶存遊離アミノ酸組成がサケの河川水選択行動に与える影響

○山本 雄三・上田 宏 (北大 FSC)

背景と目的 サケの母川回帰機構は、降河回遊時に稚魚が河川水中のニオイを記憶（母川記憶）し、遡河回遊時に親魚がそのニオイを想起して母川を選択して回帰する嗅覚仮説が広く受け入れられている。演者らはこれまで主にシロザケおよびヒメマスを材料として、嗅覚応答の電気生理学的実験および Y 字水路を用いた選択行動実験により、河川水中の溶存遊離アミノ酸 (DFAA) 組成がシロザケおよびヒメマスの母川水選択行動に重要であることを明らかにしてきた。しかし、どの程度の DFAA 組成の変化がサケの母川回帰に影響するかは、未だ不明な点が多い。本研究では、母川に含まれる DFAA 組成の変化が、長流川および天塩川に回帰したシロザケ雄親魚 (*Oncorhynchus keta*) の河川水選択行動に与える影響を明らかにする目的で、Y 字水路を用いた行動実験を行った。

材料と方法 実験魚には長流川 (2002 年, 2004 年~2006 年) および天塩川 (2009 年, 2010 年) に回帰してきたシロザケ雄親魚を用い、以下の実験水に対する選択性について Y 字水路を用いた行動実験を行った。

(A) 母川の DFAA 組成の変化がシロザケの河川水選択行動に与える影響

実験水として、長流川の DFAA 組成を再構築した人工長流川水、長流川河川水のアミノ酸の中で最も高濃度なグルタミン酸 (Glu) を除いた人工 Glu-長流川水、他の人工河川水として人工支笏湖孵化場水を用い、次の組み合わせで解析した：①人工長流川水と混合水、②人工長流川水と人工支笏湖孵化場水、③人工長流川水と人工 Glu-長流川水、④人工 Glu-長流川と混合水。

(B) 母川の DFAA 組成の年変動がシロザケの河川水選択行動に与える影響

実験水は、稚魚の降河時期である 2005 年と 2006 年 5 月、および親魚の遡河時期である 2009 年と 2010 年 9 月の天塩川の DFAA 組成の測定結果に基づき作成した人工天塩川水を用い、次の組み合わせで解析した：①飼育水のみ、②降河期の人工天塩川水と飼育水、③遡上期の人工天塩川水と飼育水、④降河期と遡上期の人工天塩川水。

結果と考察 (A) 各実験水に対する選択性を調べた結果、①と②の場合は人工長流川水に対して、また④の場合は人工 Glu-長流川水に対して、有意な選択性を示した。しかし、③の場合、Glu の有無は人工河川水の選択性に影響を及ぼさなかった。この実験により、シロザケが、母川水を選択する時のニオイ物質となるアミノ酸組成は、1 種類のアミノ酸の有無には影響されないアミノ酸組成である可能性が示唆された。(B) 稚魚が降河する 5 月、および 4 年後に親魚となり遡河する 9 月の人工天塩川水を用いた選択行動実験の結果、①の場合、実験魚はランダムに遡上した。②の場合、78.3% の実験魚が降河期の人工天塩川水に有意な選択性を示した。③の場合、73.1% の実験魚が遡河期の人工天塩川水に有意な選択性を示した。しかし、④の場合、各年の人工天塩川水に対する選択性に有意な差は認められなかった。以上の結果、シロザケは稚魚の降河期と親魚の遡河期の DFAA 組成の中で、組成が変わらないアミノ酸を指標にして、母川水のニオイを選択している可能性が推察された。

山本 雄三

一般発表 午後部

ミトコンドリア DNA 分析に基づく石川県手取川シロザケ *Oncorhynchus keta* の集団構造

○永井 愛梨 (北大水)・山田 綾・工藤 秀明・帰山 雅秀 (北大院水)

背景と目的 サケ属魚類 (*Oncorhynchus* spp.) の正確な母川回帰性は地域集団の遺伝的分化を引き起こし (Tylor 1991), 回帰時期には遺伝性があると考えられている (Quinn et al. 2000)。サケ属魚類の集団構造解析にはこれまで複数の DNA マーカーが利用されてきた (Sato et al. 2001, 2004; Beacham et al. 2008, 2009)。ミトコンドリア DNA (mtDNA) 調節領域 5'側前半高変異領域の塩基配列解析により, 日本系シロザケ (*O. keta*) は北海道系, 本州太平洋系および本州日本海系に区分され, 北海道系と本州系の集団間において遺伝的分化が生じていることが明らかにされており (Sato et al. 2001), さらにシロザケのハプロタイプ出現頻度は, 同一河川内でも回帰時期により異なる場合があることも報告されている (Sato et al. 2004; Yokotani et al. 2009)。石川県手取川では 1979 年よりシロザケの孵化放流事業が行われており, 1979 年から 1995 年にかけて北海道の複数河川より合計 4,503 万粒の発眼卵が移植された。他河川からの発眼卵の移植は固有集団の遺伝子攪乱を招く可能性が指摘されている (Waples 1991; Yokotani et al. 2009)。本発表では, mtDNA 調節領域の塩基配列を解析することにより手取川におけるシロザケの集団構造を明らかにし, 人工孵化放流事業が固有集団へ与える遺伝的影響について報告する。

材料と方法 2009 年 10 月 20 日~27 日 (前期集団) および 11 月 20 日~27 日 (後期集団) に石川県手取川に遡上したシロザケ親魚の背鰭を DNA 分析用標本として採集し, -30°C で保存した。サンプル DNA の抽出には Genra Puregene Cell Kit (Qiagen 社) を用い, シロザケ mtDNA 調節領域に特異的なプライマーを用いて PCR 増幅を行った。得られた PCR 産物を用いてサイクルシーケンス反応を行った後, シーケンサー ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems 社) により塩基配列を決定した。得られた塩基配列の変異に基づき各個体のハプロタイプを決定した後, 解析ソフトウェア (ARLEQUIN Ver 3.1) を用いてハプロタイプ出現頻度分布に基づくハプロタイプ多様度, 塩基多様度および集団間における pairwise F_{ST} 値を算出し, 得られた結果より手取川シロザケの集団構造を推定した。また, 得られた結果を日本系シロザケ mtDNA 分析結果 (Sato et al. 2001) と比較することにより, 孵化放流事業による北海道系集団の移植放流が手取川シロザケの集団構造に及ぼす影響を評価した。

結果と考察 手取川シロザケ集団における mtDNA 調節領域 5'前半高変異領域 481bp の塩基配列分析の結果, 5 サイトにおいて塩基置換および欠失が見られ, 5 種のハプロタイプが検出された。ハプロタイプ多様度と塩基多様度は前期集団が 0.59 と 0.0020, 後期集団が 0.58 と 0.0015 となり, 先行研究における本州日本海系他河川集団の分析結果 (Sato et al. 2001) に近似した。ハプロタイプ出現頻度に基づく pairwise F_{ST} 値は 0.0094 ($P > 0.05$) となり, 遡上集団間において遺伝的集団構造に有意な違いは見られなかった。また, 日本系シロザケ他河川集団と手取川集団の集団間における pairwise F_{ST} 値を算出した結果, 手取川シロザケ前期集団は北海道系集団と, 後期集団は本州太平洋系集団と遺伝的集団構造に有意な差が見られない場合が多かった。これらの結果から, 手取川シロザケの遺伝的集団構造は孵化放流事業に伴う北海道系集団の移植による遺伝的影響を受けている可能性があるかと推察された。

卵黄蛋白前駆物質ビテロジェニンの異種間投与とその運搬過程：
イトウとゼブラフィッシュを用いたモデルについて

○櫻井 秀之・川北 奈央子・平松 尚志・東藤 孝・原彰 彦（北大院水）

背景と目的 ビテロジェニン (Vg) は魚類を含む卵生脊椎動物における主要な卵黄タンパク前駆物質である。Vg は卵黄形成期の雌の肝臓でエストラジオール-17β (E2) の作用によって合成・分泌され、Vg 受容体を介して卵母細胞内に特異的に取り込まれる。卵黄形成は稚仔魚の栄養源となる卵黄を大量に蓄積するための重要な過程であるため、その機構を解明し制御することを目的とする研究が数多く行われてきた。しかしながら、Vg の卵母細胞への取込み・蓄積過程から、発生に伴う胚体・稚仔魚への運搬までの一連の過程を可視化し観察した例は殆ど無い。

本研究はサケ科魚類のイトウ (*Hucho perryi*) から精製した Vg を蛍光標識し、コイ科魚類のゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) へ投与することで、異種間における 1) Vg の卵母細胞への取込み・蓄積過程および 2) 胚体・稚仔魚への運搬過程について詳細な知見を得ることを目的とし、以下の実験を行った。

材料と方法 Vg の供与体にはその大量精製法が確立されているイトウを用いた。E2 処理魚から得た血清を水沈殿法とゲル濾過クロマトグラフィーに供して精製 Vg を得た。精製 Vg は赤色蛍光化学物質である Alexa Fluor 594 (Molecular Probes) を用いて標識し、これをグラム体重あたり 0~40 μg の範囲でゼブラフィッシュ背部筋肉中にマイクロシリンジを用いて投与した。投与後は水温 25°C で無給餌飼育し、投与開始から 0~24 時間の間に適宜卵巣を摘出した。摘出した卵巣は 0.1M リン酸緩衝 4%パラフォルムアルデヒド液を用いて 4°C にて 72 時間固定後、凍結切片を作製し、蛍光顕微鏡にて観察した。また投与後の個体において受精卵を得たものは、経時的にサンプリングして同様に固定し、凍結切片またはホルマウント標本を蛍光顕微鏡による観察に供した。

結果と考察 グラム体重あたり 40 μg, 4 μg および 0.4 μg の標識 Vg を投与し 24 時間後にサンプリングした結果、全ての濃度において卵黄形成期の卵母細胞内に顆粒状の蛍光が確認されたが、投与濃度依存的に蛍光が強くなった。標識 Vg をグラム体重あたり 20 μg 投与し経時的に観察した結果、2 時間後から既に卵母細胞内で蛍光が確認され、周縁部から時間経過と共に卵母細胞全体に蛍光が拡散していく様子が観察された。また、8 時間以上経過した個体では小さな顆粒状の強い蛍光体の他に、弱い蛍光を発する大きな球状体が卵母細胞全体で観察された。これは標識 Vg とゼブラフィッシュの卵黄球が融合した結果と考えられた。標識 Vg をグラム体重あたり 40 μg 投与し、産卵後の受精卵や胚体・稚仔魚を蛍光顕微鏡で観察した。その結果、受精直後では卵黄において強い蛍光が確認され、孵化後の仔魚では卵黄嚢もしくは内臓部において強い蛍光が観察された。また、ヒレ形成前後の仔魚においては、蛍光が卵黄嚢や内臓以外にも拡がっている様子が確認された。

本研究より、サケ科魚類の Vg を用いることにより、異なる科に属する魚類の卵母細胞へのその取込みが確認された。またその取込みは、卵黄形成期の卵母細胞に特異的であるとともに、投与後短時間に開始し内因性の卵黄球と融合することが明らかとなった。さらに、蓄積された異種 Vg 由来の卵黄は稚仔魚へ移行できることが示された。

Vg = 卵黄 - 卵母細胞, 血管内

一般発表 午後部

カットスロートトラウト卵巣におけるスカベンジャー受容体クラス B タイプ I 遺伝子の発現解析

○齋藤 恭一・柳 蓉法・伊東 優太・平松 尚志・東藤 孝・原 彰彦（北大院水）

背景と目的 サケ科魚類を始めとする多くの魚類の卵母細胞においては、成長過程において卵黄の主要な構成成分であるタンパク質とともに、胚発生の重要なエネルギー源となる多量の油球が蓄積することが知られている。様々な魚種における解析により、油球はトリアシルグリセロール等の中性脂肪からなることが示されているが、油球の元となる脂質が何に由来し、また油球が卵内でどのように形成されるかについてはほとんど明らかにされていない。我々は、超低密度リポタンパク質（VLDL）が卵内への中性脂肪の主要な供給源であると予想し、サケ科魚類のカットスロートトラウト（*Oncorhynchus clarki*）をモデルに、VLDLを起点とした卵内への脂肪酸（FA）の取り込み・蓄積機構について解析している。これまでの研究から、VLDLが卵母細胞外においてリポタンパクリパーゼの作用によって代謝され、それにより生じたFAがFA輸送体によって卵母細胞に取り込まれ、卵母細胞質内で中性脂肪に再合成されて卵内に油球として貯蔵される経路の存在が示唆されている。そこで本研究では、FA輸送体としてCD36に着目し、そのファミリー遺伝子であるスカベンジャー受容体クラス B タイプ I（SR-BI）のcDNAのクローニングと卵巣での発現解析を行った。

材料と方法 大西洋サケ SR-BI cDNA の配列を基に作製したプライマーを用いて、カットスロートトラウト卵巣由来の cDNA を鋳型とした PCR 反応により、全てのアミノ酸翻訳領域（ORF）の配列を含む SR-BI cDNA 断片をクローニングした。また、SR-BI に特異的なプライマーを作製して、リアルタイム定量 PCR 法を確立し、各組織や卵濾胞組織における mRNA の発現分布、卵巣における mRNA 発現量の周年変化を調べた。さらに、*in situ* ハイブリダイゼーション（ISH）法を用いて、卵巣における SR-BI mRNA の発現部位を組織学的に解析した。

結果と考察 カットスロートトラウト SR-BI の cDNA クローニングの結果、494 個のアミノ酸をコードする ORF 配列を含む 1485bp の SR-BI cDNA 断片が得られた。その演繹アミノ酸配列は、大西洋サケ SR-BI のそれと 96.4% の非常に高い相同性を示した。さらに、様々な種の SR-BI や CD36 のアミノ酸配列を用いて系統樹解析を行ったところ、カットスロート SR-BI は大西洋サケ SR-BI と最も近いクラスターを形成し、SR-BI のグループに属することが確認された。様々な体組織における SR-BI mRNA の発現量を測定したところ、卵巣においてのみ強い発現が認められ、その他の組織では、筋肉で弱い発現が見られた以外にはほとんど認められなかった。次に、各卵濾胞組織における発現部位を調べた結果、莢膜細胞、顆粒膜細胞、および卵母細胞の全てで発現が認められたが、特に顆粒膜細胞において顕著に見られた。さらに、卵巣における SR-BI mRNA 発現量の周年変化を調べたところ、油球形成の最盛期である 6 月において急増してピークを示したが、それ以外は低値を維持した。最も強い発現がみられた 6 月の卵巣組織を用いて ISH 法を行った結果、莢膜細胞、顆粒膜細胞、および卵母細胞の全てで SR-BI mRNA の発現が確認された。以上の結果から、サケ科魚類において、SR-BI は全ての卵濾胞組織で発現しており、油球期最盛期に急増することで卵濾胞組織全体への脂肪酸供給を増加させ、卵母細胞での油球形成の他、その後の卵黄形成に必要な濾胞組織での性ステロイドホルモン産生などに関与している可能性が示された。

ヒメマスの性成熟に伴う sGnRH および cGnRH-II の分泌動態の変化

○深谷 厚輔 (北大院環)・天野 勝文 (北里大海洋生命)・上田 宏 (北大 FSC)

背景と目的 サケ科魚類の母川回帰は性成熟と密接に関係しており、ヒメマス (*Oncorhynchus nerka*) では脳内から分泌される生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) のアナログ投与により母川回帰日数が促進されることが報告されている。サケ科魚類の脳内には2種類の GnRH が存在し、産生される領域によって果たす役割が異なると考えられている。終脳-視索前野領域 (POA) にて産生されるサケ型 GnRH (sGnRH) は、下垂体から生殖腺刺激ホルモン (GTH) の分泌を制御することにより性成熟を統御することが報告されている。しかし、嗅球-終神経節 (OTN) にて産生される sGnRH および中脳被蓋 (MT) にて産生されるニワトリ II 型 GnRH (cGnRH-II) の生理作用は解明されていない。本研究ではヒメマスの未成熟期から産卵期までの POA・OTN にて産生される sGnRH および MT にて産生される cGnRH-II の分泌量の変動を解析することにより、その役割を解明することを目的とした。

材料と方法 実験には北大洞爺臨湖実験所産のヒメマス 4 歳魚の雌雄 (5 月~10 月) を用いた。供試魚は 0.05% オイゲノールで麻酔した後、断頭し脳を摘出した。脳は OTN, POA, MT の 3 領域に分別した後、ヒメマス人工脳脊髄液 1 mL 内において 2 時間 15°C で培養した。培養液中に分泌された sGnRH および cGnRH-II は時間分解蛍光免疫測定法で測定した。また、供試魚からは下垂体も採取し、sGnRH 含有量を測定した。成熟の指標には $GSI = (\text{生殖腺重量(g)}) / (\text{体重(g)}) \times 100 (\%)$ を用いた。

結果と考察 雄では 7 月から、雌では 8 月から GSI が上昇し、10 月には全ての個体が排精・排卵していた。OTN の sGnRH 分泌量は 5 月から 7 月まで下降し、雄では 8 月から 10 月まで上昇を続けたが、雌では 8 月に上昇した後、9 月に下降し、10 月に再上昇した。POA の sGnRH 分泌量は雌雄ともに 8 月に上昇した後、9 月に下降し、10 月に再上昇した。MT の cGnRH 分泌量は、7 月から 8 月にかけて微増した後、9 月に下降し、10 月に急上昇した。3 領域の GnRH 分泌の変動に共通する点として、10 月に上昇していた。また、下垂体中の sGnRH 含有量は雌雄において 9 月にピークとなった。サケ科魚類は短日条件下で繁殖を行うため、8 月に POA の sGnRH 分泌が活発化し、性成熟を誘起した可能性が推察された。さらに、10 月に sGnRH および cGnRH-II の分泌が増加していたことから、3 領域の GnRH 分泌の上昇が、ヒメマスの産卵場までの回帰行動に関与している可能性が示唆された。



Oncorhynchus nerka

キスペプチンがヒメマスの sGnRH 分泌に与える生理作用

○中村 紗由美 (北大水)・深谷 厚輔 (北大院環)・天野 勝文 (北里大海洋生命)・
上田 宏 (北大 FSC)

背景と目的 他の脊椎動物と同様にサケ科魚類の性成熟においても、脳一下垂体一生殖腺 (BPG 軸) 系に存在するホルモンが重要な役割を果たしている。近年、生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の分泌を、上流で制御するペプチドとしてキスペプチンの存在が明らかになった (Kauffman et al. 2007, Popa et al. 2008)。現在、哺乳類ではキスペプチンに関する多くの知見が報告されているが、魚類では、キスペプチン遺伝子の保有形態が魚種ごとに異なっており、哺乳類より複雑であるために知見が少ない。サケ科魚類においても性成熟開始時期に、キスペプチンが何らかの生理作用を有している可能性が示唆されているが、詳細はまだ解明されていない (Okuzawa et al. 2006)。本研究では、サケ科魚類におけるキスペプチンの生理作用の解明を目指し、ヒメマス (*Oncorhynchus nerka*) を用いてキスペプチンの投与実験を行い、下垂体の sGnRH 含有量の変化を調べた。

材料と方法 北大洞爺湖臨湖実験所で飼育されているヒメマス 4 歳魚を用いて、未成熟期である 6 月と、成熟期である 10 月に、キスペプチン (kiss2) の中でも特に成体において生理作用を示すアミノ酸配列を有するペプチド部分 (コアペプチド) である kiss2-10 を 0.04 μ g/l, 0.4 μ g/l および 4 μ g/l に濃度調整し腹腔内投与を行い、投与から 2 時間後の下垂体中 sGnRH 含有量を時間分解蛍光免疫測定法 (TR-FIA) により測定した。なお、投与実験に用いたヒメマスの個体数は、6 月が 43 個体 (雄 18, 雌 25), 10 月が 32 個体 (雄 10, 雌 22) である。

結果と考察 6 月に行った kiss2-10 投与実験の結果は、雌雄ともにコントロール群と kiss2-10 投与群との間に、sGnRH 含有量に関して有意差は認められなかった。Kiss2-10 投与群ごとの sGnRH 含有量のばらつきは、投与量によるものではなく、GSI により判断した個体ごとの成熟度の違いにより生じたと考えられた。一方、10 月に行った kiss2-10 投与実験の結果は、雌雄ともにコントロール群に比べて、kiss2-10 投与群で sGnRH 含有量が有意に増加しており、kiss2-10 投与が下垂体の sGnRH 含有量を増加させたことが明らかになった。以上の結果から、ヒメマスの性成熟期においてキスペプチンが、視索前野からの sGnRH 分泌量を増加させた事により、下垂体の sGnRH 含有量を増加させる作用がある可能性が示唆された。今後、キスペプチンが脳の多部位 (嗅球および終神経) に存在する sGnRH 分泌神経細胞に対してどのような作用を有するかを調べることにより、サケ科魚類の性成熟機能に及ぼすキスペプチンの作用が解明されることが期待される。

サケ学研究会

Salmon Science Society (3S)

名称: 「サケ学研究会」	会費 会費は、当面年額 500 円とする。
事務局: 北海道大学大学院水産科学研究院	組織と役員 (組織) 遺伝学部門 生態学部門 生理学部門 増殖資源部門 事務局 (役員) 1. 会長：組織 4 部門の代表の輪番制とし、 任期は 2 年とし、連続しての再任はなし。 2. 部門代表：各部門に所属する会員から選 出する。部門代表の任期は 4 年とし、再 任は妨げないが、連続 3 期までとする。 3. 事務局長：会長が選任することとし、任 期は 2 年とし、再任は妨げない。
目的: サケ科魚類の科学に関する学術研究・情報 の交流と普及を図り、その学術研究の発展 に寄与することを目的とする。	(現在の役員) 会長：帰山雅秀 遺伝学部門代表：阿部周一 生態学部門代表：帰山雅秀 生理学部門代表：上田 宏 増殖資源部門代表：永田光博 事務局長：工藤秀明
事業: 本研究会は、目的を達成するために次の事 業を行う。 1. 研究発表会および学術講演会等の開催 2. ホーム・ページの開設 3. 関連学会との連絡および協力 4. その他、目的を達成するために必要な事 業	
会員: 本研究会の目的に賛同して入会した個人を 会員とする。会員は下記の組織の 4 部門の いずれかに所属する。 (入会) 入会希望者は、入会申込書を会長に提出し、 各部門の代表の承認を得る。 (退会) 会員が退会しようとするときは、理由を付 して退会届けを会長に提出する。 なお、会費を 2 年間未納した会員は自動的 に退会とみなす。	(2011年12月15日現在)

発表者連絡先（敬称略・発表順）

焔山雅秀 salmon@fish.hokudai.ac.jp
上田 宏 hueda@fsc.hokudai.ac.jp
永田光博 nagata-mitsuhiro@hro.or.jp
浦和茂彦 urawa@affrc.go.jp
森田健太郎 moritak@affrc.go.jp
宮腰靖之 miyakoshi-yasuyuki@hro.or.jp
虎尾 充 torao-mitsuru@hro.or.jp
水野伸也 mizuno-shinya@hro.or.jp
工藤秀明 hidea-k@fish.hokudai.ac.jp
佐藤俊平 shuns@fra.affrc.go.jp
北田修一 kitada@kaiyodai.ac.jp
阿部周一 abesyu@fish.hokudai.ac.jp
下村考弘 baseball048081j@ec.hokudai.ac.jp
春日井潔 kasugai-kiyoshi@hro.or.jp
藤原 真 fujiwara-makoto@hro.or.jp
小山 諒 consa_soda@yahoo.co.jp
川口航平 katsukare_udon@yahoo.co.jp

焔山 誠 hatakeyama-makoto@hro.or.jp
Devon DUBLIN devdub@fish.hokudai.ac.jp
青木一平 ai16_926@yahoo.co.jp
杉本貴城 t_sugimoto0707@yahoo.co.jp
卜部浩一 urabe-hirokazu@hro.or.jp
楠田 聡 kusuda-satoshi@hro.or.jp
林田寿文 hayashida0109@gmail.com
三好晃治 miyoshi10@fsc.hokudai.ac.jp
薄 健太 fochm504@yahoo.co.jp
越野陽介 y_koshino516@yahoo.co.jp
松本 経 mountain-runner@jazz.odn.ne.jp
山本雄三 yuzo@fsc.hokudai.ac.jp
永井愛梨 hase_175@yahoo.co.jp
櫻井秀之 saisyuuheiki_toro@hotmail.com
齋藤恭一 todo@fish.hokudai.ac.jp
深谷厚輔 kosuke@fsc.hokudai.ac.jp
中村紗由美 Sayu-mi@fsc.hokudai.ac.jp

領 収 書

第5回サケ学研究会要旨集代として
¥500- を領収しました。

2011年12月17-18日



サケ学研究会事務局
工藤秀明

サケ学研究会

会長：焔山雅秀
遺伝学部門代表：阿部周一
生態学部門代表：焔山雅秀
生理学部門代表：上田 宏
増殖資源部門代表：永田光博
事務局長：工藤秀明
(hidea-k@fish.hokudai.ac.jp)

事務局

〒041-8611 函館市港町3-1-1
北海道大学大学院水産科学研究院
水圏生態系保全学領域
Tel/Fax 0138-40-5602

<http://www.geocities.jp/sakekenkyukai/index.html>

発行日：2011年12月15日
発行所：サケ学研究会