

第 1 回 サケ学研究会 講演要旨集

Abstracts for First Conference of Salmon Science Society (3S)



日時：平成 19 年 9 月 24 日 (月・振替休日)

場所：北海道大学水産学部

Date: Monday, September 24, 2007

Venue: Faculty of Fisheries Sciences,
Hokkaido University

第 1 回サケ学研究会プログラムおよび要旨集目次

First Conference of Salmon Science Society (3S)

日時 平成 19 年 9 月 24 日 (月・振替休日)

場所 北海道大学水産学部 管理棟 6 階 大会議室

午前の部

10:30 開 会・会長挨拶 ----- 阿部周一 (サケ学研究会会長)

10:45 基調講演 浦野 明央 先生 (北海道大学大学院 理学研究院 教授)
『回遊の生態生理学』 ----- 4

12:00 昼休み

午後の部

一般講演 (遺伝・魚病)

13:00 サケ・マス類の遺伝学的研究アップデート °阿部周一 (北大院水) ----- 7

13:15 夏季-秋季ベーリング海および冬季北太平洋に生息するサケの地理的起源
°佐藤俊平 (水研セさけますセ)・守屋彰悟 (日清紡)・福若雅章・東屋知範
(水研セ北水研)・浦野明央 (北大院理)・浦和茂彦 (水研セさけますセ) ----- 8

13:30 遊楽部川シロザケ (*Oncorhynchus keta*) の遡上時期による遺伝的分化
°横谷亮太・工藤秀明・阿部周一 (北大院水)・
北田修一 (海洋大)・帰山雅秀 (北大院水) ----- 9

13:45 サケ科魚類採卵親魚の魚類病原ウイルス保有状況
-1976 年から 2006 年までの結果と受精卵消毒の有効性-
°吉水 守・笠井久会 (北大院水)・野村哲一 (養殖研札幌) ----- 10

14:00 サケ科魚類の抗体検査法について -IHN を例に-
°金 尉植・西澤豊彦・吉水 守 (北大院水)・望月満美子 (静岡水試) ----- 11

14:15 休憩

一般講演（生態・その他）

- 14:40 サケ生態学研究の最近の動向 °帰山雅秀（北大院水） ----- 12
- 14:55 尻別川流域の魚道整備から7年ないし14年を経たサクラマス分布拡大とその課題
 °河村 博（道孵化場）・松枝直一（道後志支庁） ----- 13
- 15:10 知床半島に生息するサクラマスとオショロコマの降下生態について
 竹内勝巳（道孵化場）・°永田光博・春日井潔・虎尾 充・村上 豊・
 佐々木義隆（道孵化場道東）・宮腰靖之（道孵化場） ----- 15
- 15:25 低気圧通過が母川回帰中のサケの行動に及ぼす影響
 °北川貴士・兵藤 晋・佐藤克文・渡辺佑基（東大海洋研） ----- 16
- 15:40 戸切地川におけるブラウントラウト (*Salmo trutta*) の移動生態に関する研究
 °小林秀策（北大院環）・新井崇臣（東大海洋研）・
 本多健太郎（北大院環）・宮下和士（北大FSC） ----- 17
- 15:55 サケ学 (Salmon Science) に関する考察 °清水宗敬（北大院水） ----- 18
- 16:10 休憩

一般講演（生理）

- 16:35 サケの母川回帰機構に関する生理学的研究の現状と将来展望
 °上田 宏（北大FSC） ----- 19
- 16:50 心拍ロガーを用いたシロザケ親魚遡上時の遊泳行動解析
 °牧口祐也（北大院環）・永田鎮也・村田秀樹（大日本住友製薬）・
 上田 宏（北大FSC） ----- 21
- 17:05 サケ科魚類の卵黄形成 -多型ピテロジェニンとコリオジェニン-
 °藤田敏明・望月麻智子・天野春菜・平松尚志・東藤 孝・原 彰彦（北大院水） ----- 22
- 17:20 サケ属魚類における嗅細胞マーカーに関する分子形態学的研究
 °工藤秀明（北大院水） ----- 23
- 17:35 サクラマスの雌から放出され雄を誘引する性フェロモン
 °山家秀信（東農大生物産業） ----- 24
- 17:50 閉会

午前の部

基調講演要旨

基調講演

『回遊の生態生理学』

浦野 明央 先生（北海道大学理学研究院 生命理学部門 教授）

研究の背景

Ecophysiology（生態生理学）は、系統進化という概念を背景とする比較生理学や比較内分泌学にもとづき、生物の環境への適応機構を明らかにする学問分野である。サケの回遊は環境への適応の結果であり、しかもサケ科魚類の進化に対応する（図1）ものなので、その研究は生態生理学そのものと言える。なお、生物をとりまく環境は、周期性があるとはいえ、季節毎、さらには年毎に変動するものなので、生態生理学の研究では、研究手法も含めて長期的展望に立ったストラテジーが要求される。

サケの回遊経路とその成立過程

日本系シロザケの回遊経路に関する最近の仮説（図2）は北太平洋各海域およびベーリング海の環流が、回遊経路と密接に関わっていることを示している。環北太平洋の多くの河川から集めたシロザケのDNA試料の配列データに基づくシロザケ集団形成過程の推定結果（佐藤らによる）は、回遊経路に関する仮説と話がよく合う。この仮説は、シロザケが母川に回帰する際に、経験水域、すなわち何らかの記憶を持つ水域を順次経由して帰ってくることも示している。

ベーリング海における日本系サケの分布動態

シロザケの回遊の生態生理学を進めるにあたって、最初の難関は北洋のサケの母国を同定することであった。阿部教授（現・北大水産）を中心に進められたミトコンドリアDNAの研究は、シロザケに30余りのハプロタイプがあること、そのそれぞれをDNAマイクロアレイで識別できることを示した。ベーリング海および北太平洋で採取した大量のDNA試料のマイクロアレイの解析結果は、日本系のシロザケがベーリング海の中央部を中心に分布していることを明らかにした。この手法はさらに生態生理学的な解析に供した個々の試料の母国の推定にも用いられた。

回遊を支える内分泌機構

サケの回遊のそれぞれの相には、その相に特有の内分泌機能がある（図3）。演者らが研究を進めてきた産卵回遊では、成長を調節する内分泌機能から性成熟を調節する機能への切り換え（図4）が重要ではないかと予測された。ライフサイクルを追って解析が可能なモデル系のサクラマスを用いた結果は、早春に、生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）およびインスリン様成長因子（IGF-I）の相互作用によって配偶子形成および下垂体-生殖腺系の活性化が起きていることを示している（図5）。冬のアラスカ湾で採取したシロザケ試料の解析結果も、すでにアラスカ湾内で生殖腺が発達し始めた個体と未成熟個体が生殖腺の組織像から識別できること、前者は後者よりも成長がよく、血中のIGF-Iの濃度も高いことを明らかにしていた。

産卵回遊の生態生理学

沿岸に戻ってきたサケの母川への遡上行動と淡水適応は、性成熟の状態と沿岸の水温の影響下にある。沿岸の水温が高い年には、高水温に阻まれて、もしくは高水温を嫌って、遡上できないサケが、過熟状態になり（図6）、体液浸透圧（とくに海水中での）の調節能が低下する。

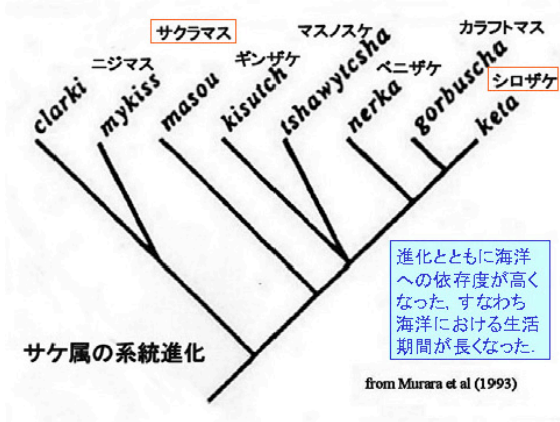


図1 太平洋サケの系統進化

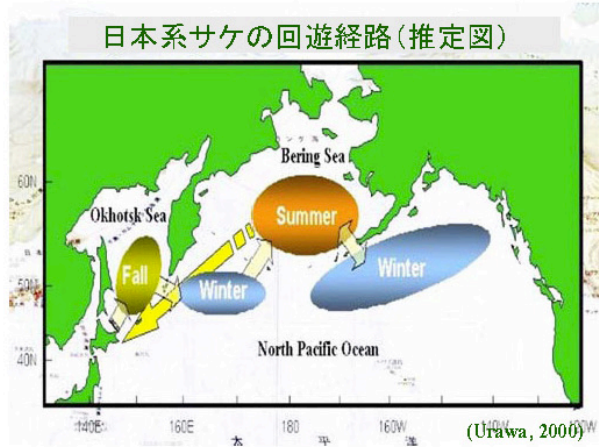


図2 日本系シロザケの回遊経路

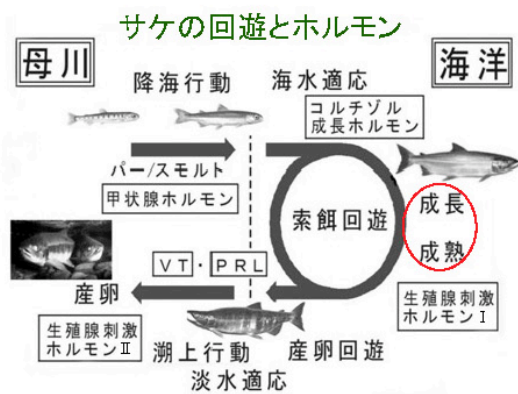


図3 回遊を支える内分泌機構

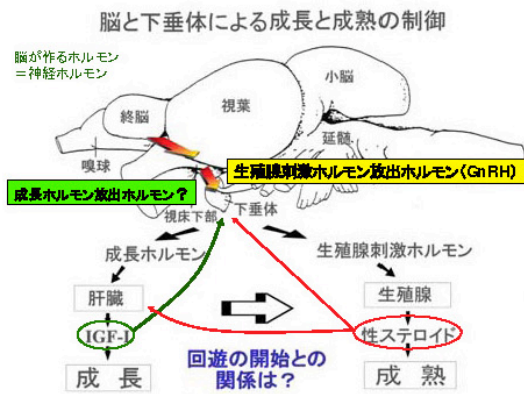


図4 成長から性成熟への転換機構

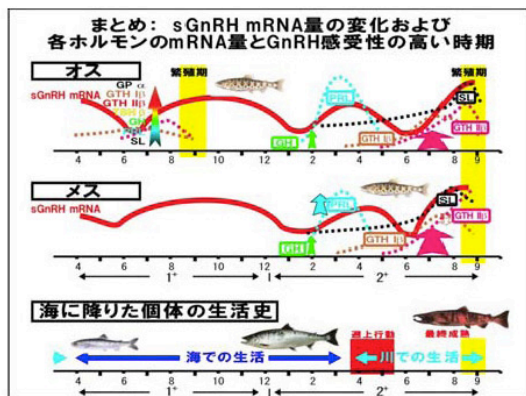


図5 サクラマス下垂体におけるホルモン濃度の変動

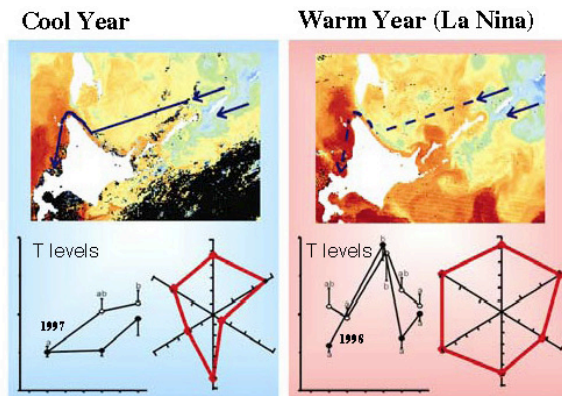


図6 沿岸水温の性成熟への影響

**午後の部
一般講演要旨**

サケ・マス類の遺伝学的研究アップデート

阿部周一

北海道大学大学院水産科学研究院

サケ・マス類の遺伝学的研究は、染色体ゲノム構造の分析、集団遺伝構造解析・多様性分析や系統解析などの面で、魚類の中でも比較的進んでいる。ここでは、我々の研究も含め、種々の分子遺伝マーカーを用いた最新の細胞遺伝学、集団遺伝学、さらに系統分類学的研究の成果に関する以下の項目について概説する。

1. サケ・マス類のゲノム構造解析と性染色体同定
2. サケ・マス類の分子系統と属間関係の再考
3. サケ・マス類の分子集団遺伝学研究の新しい展開

夏季－秋季ベーリング海および冬季北太平洋に生息するサケの地理的起源

○佐藤俊平（水研セさけます）・守屋彰悟（日清紡）・福若雅章・東屋知範（水研セ北水研）・
浦野明央（北大院理）・浦和茂彦（水研セさけます）

サケは北太平洋一帯に広く分布し、その生活史の大部分を海洋域で過ごす。そのため、サケの資源量変動や回遊経路等を解明するには、海洋域における季節毎の分布や地理的起源を明らかにする必要がある。これまで、夏季には多くの調査が行われており、2002－2004年には北太平洋遡河性魚類委員会（NPAFC）で計画されたベーリング／アリューシャンさけ・ます国際共同調査（BASIS）に基づき大規模な調査船調査が実施された。また1990年代に3回しか行われていない冬季調査についても、2006年に約8年ぶりに行われた。ここでは、これらの調査で得られたサケについて、ミトコンドリアDNAによる遺伝的系群識別を行い、その地理的起源を推定したので、その結果について報告する。

2002－2003年の9月と2004年の6－7月にベーリング海および周辺海域（2002年：51°41′－58°30′N, 172°30′E－172°21′W；2003年：49°59′－57°59′N, 174°59′E－164°59′W；2004年：50°－58°N, 175°E－170°W）で、2006年の1－3月に北西太平洋（42°30′－44°21′N, 164°56′－165°06′E）およびアラスカ湾（47°54′－53°56′N, 144°49′－145°00′W）で、水産庁調査船開洋丸による表層トロール調査（5ノットで1時間曳網）を行い、血液もしくは胸鰭を採集した。得られたサンプルからDNAを抽出し、各個体のミトコンドリアDNAハプロタイプを決定した後、環太平洋サケ48集団の遺伝基準データ（判別精度88－95%）を用いて最尤法による系群組成の推定を行った。

2002－2004年のベーリング海では、サケは調査海域一帯に広く分布していた。2002年および2003年9月のベーリング海では、アジア系（日本系およびロシア系）の系群が優占していた。このうち日本系の割合は両年共に類似しており、特に調査海域の北東部でその割合が高くなる傾向が見られた。ロシア系の割合は2003年よりも2002年で高く、主にベーリング海の西側に多く分布していた。また北米系の割合は2002年よりも2003年で高かったが、両年ともアジア系より低かった。2004年6－7月のベーリング海においてもアジア系が優占しており、2002年および2003年同様、日本系の割合が調査海域北東部で高くなる傾向が見られた。2006年1－3月にかけて北西太平洋で漁獲されたサケは95%が海洋年齢1歳の幼魚であり、その系群組成を調べてみるとロシア系が最も高い割合を示した。一方、アラスカ湾で漁獲されたサケは94%が海洋年齢2歳以上であり、その系群組成は北側では北米系が多くを占めているのに対し、南側では半数以上をアジア系サケが占めていることが明らかとなった。

遊楽部川シロザケ (*Oncorhynchus keta*) の遡上時期による遺伝的分化

○横谷亮太¹・工藤秀明¹・阿部周一¹・北田修一²・帰山雅秀¹

¹北海道大学大学院水産科学研究院 ²東京海洋大学

研究背景・目的 サケ属魚類 (*Oncorhynchus* spp.) は母川回帰性を有するため (e.g. Quinn et al. 1987), 各河川集団間で遺伝的分化がおりやすい (e.g. Beacham et al. 2004)。集団間の遺伝的分化を知る上で突然変異率が高く遺伝子組成が多様であるミトコンドリア DNA (mtDNA) やマイクロサテライト DNA (msDNA) などの DNA マーカーを用いることで, 近年, サケ属魚類集団構造のより詳細な解析が可能になってきた (Sato et al. 2004, Habicht et al. 2007)。本研究の対象河川である北海道南部の遊楽部川は, シロザケ (*O. keta*) が自然産卵するわが国でも数少ない河川である。一方, 本河川の上流域に位置する孵化場では, これまで北海道内の他河川から大量のシロザケ卵を移入してきた。そのため, 遊楽部川固有のシロザケ集団は移植集団により遺伝子が攪乱された可能性が高い。サケ属魚類の回帰時期は遺伝的に固定されているといわれている (Quinn 2000)。また, 遊楽部川のシロザケ回帰時期は現在では, 北海道南部の集団が北海道の他地域の集団よりも遅いことが知られている (Nagata and Kaeriyama 2003)。よって遊楽部川シロザケでは, 遡上時期により遺伝的分化が起こっている可能性が考えられる。本研究では, 遊楽部川シロザケの時期別遡上集団の遺伝的分化について mtDNA 解析に基づき検証するとともに, 移植集団が固有集団に与える遺伝的影響について明らかにすることを目的とする。

材料・方法 2005年10月～翌年1月にかけておよそ10日間毎に遊楽部川の産卵後シロザケ親魚より採集した背鰭から, DNAを抽出後, PCR法により mtDNA 調節領域を増幅し, シーケンサーにより同領域 5'末端前半部分の高変異領域約 500bp の塩基配列を解読した。塩基配列の変異を検出しハプロタイプを決定した後, 遡上時期の異なる 10月, 11月および 12月の 3産卵集団のハプロタイプの頻度分布を基に集団間の遺伝的差異について検討した。なお, 移植集団の遺伝的影響について検討するため, 主な移入元の 3河川集団 (千歳川, 十勝川および西別川集団) のハプロタイプのデータを Sato et al. (2001) から引用した。また, 移植集団の混合率の推定は岸野ら (1994) を基に行った。

結果・考察 mtDNA 調節領域 481bp の塩基配列を解読した結果, 8箇所において塩基の変異がみられ, 8種類のハプロタイプが検出された。遊楽部川 10月と 11月集団のハプロタイプ多様度は, 12月集団に比較して高く, 移植集団のそれに類似した。遊楽部川の 3産卵集団について, 各 2集団間の F_{st} を算出し遺伝的分化について検討したところ, 12月産卵集団は 10月と 11月の産卵集団との間に有意な遺伝的差異が観察された ($P < 0.01$)。遊楽部川の 3産卵集団と他河川 3集団の計 6集団について同様の解析を行ったところ, 遊楽部川の 10月と 11月の集団はほとんど他河川 3集団との間に有意な差が観察されなかったのに対して, 12月集団は他河川 3集団と有意に異なった ($P < 0.01$)。樹形図を基にした系統解析においても, 10月と 11月の集団は 12月集団よりも移植集団と近縁な関係にあることが分かった。また, 遊楽部川 12月集団を固有集団とし, 基準集団 (遊楽部川固有集団, 千歳川集団, 十勝川集団および西別川集団) のハプロタイプ頻度分布から遊楽部川の 10月と 11月の集団における各基準集団の混合率を推定すると, 遊楽部川の 10月集団は 11月集団と比較して他河川集団の混合率が高かった。これらのことから, 遊楽部川シロザケ集団では, 10–11月集団が移植集団により遺伝的に攪乱され, 12月集団は移植集団よりも遡上時期が遅いことから固有集団の遺伝子組成を維持していることが示唆された。

サケ科魚類採卵親魚の魚類病原ウイルス保有状況
—1976年から2006年までの結果と受精卵消毒の有効性—

吉水 守・笠井久会 (北大院水)・野村哲一 (養殖研札幌)

【目的】成熟期に達した親魚は卵巣腔液あるいは精液中に保菌している病原体を放出し、水平感染ならびに卵表面を介した垂直感染を引き起こす。増養殖に用いる親魚の病原ウイルス保有状況の把握は病原ウイルスの疫学および疾病対策上重要である。今回、母川に回帰したサケ科魚類親魚を対象に1976年から2006年にかけて行った調査に、2005および2006年に実施した内水面で養殖されているサケ科魚類採卵用親魚の調査結果を加え、北日本における魚類病原ウイルスの分布状況を考察すると共に、1992年以降全施設の全魚種で実施されるようになった受精卵消毒の有効性についても検討したので紹介する。

【材料と方法】1976年から2006年にかけて、北日本の主要な河川に回帰したサケ(*Oncorhynchus keta*), サクラマス (*O. masou*), カラフトマス (*O. gorbusha*), ベニザケ (*O. nerka*)ならびにヒメマス (*O. nerka*)、2005年と2006年に全国で養殖されていたニジマス (*O. mykiss*)、ギンザケ (*O. kisutch*), アマゴ (*O. rhodurus*) の採卵親魚、計37,173尾から Yoshimizu et al., (1985) の方法で一群60尾を対象に卵巣腔液を採取し、濾過除菌後あるいは抗生物質添加法により実験室に搬送し試験に供した。CHSE-214もしくはRTG-2細胞に接種して15°Cで2週間培養後、CPEの有無を観察した。2005年以降はASE細胞もしくはASK細胞も供試した。分離したウイルスは抗血清による中和試験あるいは遺伝子抽出後ウイルス特異プライマーを用いたPCR (RT-PCR) により同定を行った。

【結果】本調査で、伝染性造血器壊死症ウイルス (infectious hematopoietic necrosis virus; IHNV)に加え、日本にしか存在しないサケ科魚類のヘルペスウイルス (*Oncorhynchus masou virus*; OMV) ならびにサケ科魚類のレオウイルス (Chum salmon virus; CSV) が分離された。サケ伝染性貧血症 (infectious salmon anemia: ISA) は日本での発病例はなく、ISAVも分離されなかった。1970年代から'80年代の調査でOMVはサクラマスから広く分離され、調査したサクラマス孵化場の中でOMVが分離されなかったのはわずか1カ所であった。サクラマスとヒメマス・ベニザケに関しては'80年代からポピドンヨード (50 ppm) による受精卵消毒が実施されたが、1992年に突如として道内の21河川に遡上したサケからIHNVが分離された。これを契機に受精卵消毒の対象をシロサケにまで拡大し、全施設で実施されるようになった。1992年度の稚魚に発病はなく、1992年度に放流したサケが回帰する1995年から1997年にかけての漁獲量に変化はなく、回帰親魚からもIHNVは分離されなかった。卵消毒が徹底された1993年以降、母川回帰したサケ科魚類からのウイルス分離率は減少し、最近はほとんど分離されなくなり受精卵消毒の効果が確認された。今後も受精卵の消毒を継続する必要があると考える。一方、内水面のニジマスおよびアマゴの養殖用親魚からIHNVが高率に分離され、ニジマス養殖においてIHNVが全国的に蔓延している実態が明らかになった。受精卵の消毒を行い稚魚期をウイルスフリーの用水を用いて隔離飼育することにより、ニジマスの養殖・生産は確保されている。しかし、河川水はすでにIHNVで汚染されているところが多く、発症サイズも徐々に大型化している。池出後のIHNV感染防止対策としてワクチン開発が急がれる。同時に選抜育種やバイオテクノロジーを駆使した耐病性を有する系統の作出なども重要な課題と考える。

サケ科魚類の抗体検査法について -IHN を例に-

°金 尉植・西澤豊彦・吉水 守 (北大院水)・望月満美子 (静岡水試)

【背景】抗体検出 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法は、特異抗体を定量的に検出する方法であり、多量の検体を処理できることから、ほ乳類では感染歴の把握を目的とした一次スクリーニング法として広く普及している。魚類においても、抗体検出 ELISA 法は古くから検討されているが、ELISA 吸光値の再現性が低いため、普及していない現状にある。一方、伝染性造血器壊死症 (infectious hematopoietic necrosis, IHN) は、サケ科魚類の稚仔魚期のウイルス病で、卵消毒およびウイルスフリーの飼育水を用いた隔離飼育などの防除対策により 1990 年頃から稚魚期での発生はほとんど認められなくなっている。近年、成魚サイズのニジマスで IHN による死亡が問題になり、ニジマスの IHN 履歴を正確に把握し、地域間での不顕性感染魚の移動を制限することが IHN の防疫対策上重要であると考えられる。【目的】本研究では、IHN virus (IHNV) に対する特異抗体検出法の確立を目的に、まず魚類抗体検出 ELISA における再現性の低さの原因と対策について検討し、次いで ELISA 用抗原として IHNV と同属のウイルスを併用することで抗 IHNV ニジマス抗体を正確かつ定量的に検出できることを明らかにし、血清疫学への道を開いたので報告する。【材料および方法】魚類血清として、ニジマス、サクラマス、ヒラメおよびコイ血清を、ELISA 用ブロッキング剤としてスキムミルク、FBS、豆乳、BSA、ゼラチンおよび Blocking reagent[®]を、ELISA 用抗原として魚類病原ラブドウイルスである IHNV、VHSV および HIRRV 培養液を用いた。ニジマス血清として、IHN 歴の有る養魚場および無い養魚場から各々 238 尾および 148 尾の血清を実験に供した。供試魚血清は 5% skim milk で 40 倍に希釈後 25°C で 1 時間処理し ELISA に供した。ELISA は常法に従って行い、OPD 溶液で発色、2N 硫酸で反応停止後、ELISA 吸光値(492 nm)を測定した。【結果および考察】抗原未固定の ELISA プレートに各種ブロッキング剤で処理し、各魚類血清をアッセイしたところ、何れも強い発色反応 (ELISA 吸光値 0.3~1.0) が認められた。魚類血清をスキムミルクで処理すると発色が認められず、魚類 IgM がブロッキング剤と非特異的に吸着することが示された。抗原固定した ELISA プレートに、ブロッキング剤で前処理した魚類血清をアッセイしたところ、抗原量あるいは抗体量に依存した発色が認められ、ブロッキング剤が IgM の抗原抗体反応を阻害しないことが示された。一方、IHNV を抗原とした場合、IHN 発症歴有および無ニジマス血清の ELISA 吸光値は各々 0.26-1.03 および 0.04-0.64 と測定され、発症歴無の血清にもかかわらず高い値を示した検体が認められた。そこで一部の血清を VHSV および HIRRV を抗原とした ELISA に供したところ、発症歴有血清の吸光値は IHNV を抗原とした場合に比べ低い値を示したが、発症歴無血清の吸光値に大きな差は認められず、VHSV あるいは HIRRV を抗原とした場合の吸光値は、IHNV 以外の夾雑抗原との反応であると考えられた。したがって IHNV を抗原とした吸光値から VHSV あるいは HIRRV を抗原とした吸光値を差し引いた値が IHNV 抗原との特異反応を示していると考えられた。本改良法に基づき、発症歴有および無養魚場のニジマス血清全 386 尾について再度検討したところ、発症歴有血清の吸光値の差は 0-0.7(平均 0.23)であったのに対し、IHN 歴無血清は何れも 0.2 以下(平均 0.01)となり、本法により抗 IHNV 特異抗体が検出可能となった。

サケ生態学研究の最近の動向

帰山 雅秀 (北海道大学大学院水産科学研究院)

北海道大学電子ジャーナリストを用いて、2007 年度に発行されている水産学関連の論文を調べた。本年度発行された水産学関係の論文数(原著論文と短報)は、現時点(2007年9月)で、日本(JFS: 日本水産学会誌, Fisheries Science)が166編、米国(AFS: Transactions of the American Fisheries Society)が95編、カナダ(CJFAS: Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science)が111編であった。そのうちサケ科魚類(かっこ内はサケ属魚類)に関連する論文数と全体に占めるその割合は、JFSが8(7)編と4.8(4.2)%, AFSが31(20)編と32.6(21.1)%, そしてCJFASが29(16)編と26.1(14.1)%であった。このように、わが国において発行されている水産学関係の論文数は3カ国の中で最も多いが、サケ学に関連する論文数は米加に比べて著しく少ないといえる。

論文数を魚種別で見ると、サケ属魚類ではニジマス(26%)が最も多く、ついでマスノスケ(22%), カットスロート(16%), ギンザケ(14%)の順であり、その他のサケ科魚類ではブラウントラウトとカワマスがそれぞれ27%と最も多かった。米加ではマスノスケ(10編)が最も多く、ついでニジマス(9編)であった。日本では、全論文数8編のうち、ニジマス(4編)が最も多く、ついでシロザケ(2編)、マスノスケ(1編)とアメマス(1編)の順であった。このように、わが国では外来種であるニジマスに関する論文が最も多い結果となっている。

サケ科魚類の論文数68編中、生態学関係は45編(JFS: 2編, AFS: 20編, CJFAS: 23編)であった。それらをキーワード毎に区分すると、生活史戦略(分布, 回遊, 成長, 生残率など)が16編で最も多く、ついで環境(産卵, 温度耐性, 酸性雨, ロギング, ダム, 環境復元, 野生魚と孵化場魚との関係など)9編, 種間関係5編, 絶滅危惧種関係3編であり、喰う-喰われる関係, 耳石, 外来種, 生態系が各2編, 生物多様性, 形態, 行動および寄生虫が各1編であった。環境9編のうち、孵化場魚と野生魚との関係に関する論文が6編を占めた。このように、生活史戦略に関する論文が最も多く、ついで環境関係の論文が多い結果となっている。

なお、追加情報としてPICESおよびNPAFCにおける最近のサケ学関連研究情報もあわせて紹介する。

尻別川流域の魚道整備から7年ないし14年を経たサクラマスの 分布拡大とその課題

河村 博（北海道立水産孵化場）・松枝直一（北海道後志支庁）

北海道南部の尻別川は、イトウ、オショロコマ、アメマス、サクラマス、サケ、カワヤツメなど北海道在来の魚類等ほか、豊かな水生生物を育む中規模河川である。しかし他の我が国河川と同様、尻別川も1921年から1951年にかけて、電源開発のため本流6カ所に発電用ダムが建設された。その結果、流程の実に5分の4の流域で、遡河性サケマス類の遡上が途絶え利用できない流域空間が生じた。一方、1993年に初めて最下流ダムに魚道が整備され、1998年から2000年にかけて残りすべてのダムに魚道が整備された。しかし、魚道整備後のダム上流域のサクラマス分布拡大に関する情報知見はきわめて乏しい実態にある。

【目的】

尻別川本流に整備された6基の魚道の効果を検証する目的で、魚道整備7年ないし14年後の流域支流におけるサクラマスの自然分布および産卵場分布を調べる。併せて近縁種の分布についても調べる。さらに、尻別川河川環境の改変実態を既存の資料および現地踏査から調べ、サクラマスの遡上分布阻害要因を明らかにして、その対策を検討する。

【調査の方法】

2005年から2007年にサクラマス幼魚および河川残留型魚の分布を、尻別川一次支流で餌による釣獲法で調べた。調査期間は6月1日から9月末までとした。成魚および産卵床調査は、産卵期の9月中旬から下旬に行った。釣獲個体はデジタル写真で尾叉長を記録し、河川残留型個体は雌雄を判別した。各支流のサクラマスと近縁種の豊度を評価するため、豊度指数を設けた（調査距離10mに対する釣獲個体数）。調査流域環境の指標として、流程、流域面積、取水比、河川型、川幅、河床組成、人工工作物、気温、水温などを記録した。近縁種のアメマス、オショロコマおよび外来近縁種のニジマス、ブラウントラウトも同様の方法で調べた。調査結果に基づき、流域を上流域、中流域（ダム設置区間）、下流域に3区分して種の分布マップを作成し、流域区分ごとに種の支流分布率（種が分布した一次支流数 / 調査した流域の一次支流数）×100）を求めて魚道の効果を評価した。さらに遡上分布阻害要因を整理検討して、遡河性魚類に対する河川環境収容力を改善するための方策を検討した。

【結果】

調査した一次支流数は50、水系全体の44.2%（50/113）であった（上流域：46.2%（12/26）、中流域：47.8%（22/46）、下流域：39%（16/41））。

サクラマスの自然分布：サクラマスの支流分布率は、上流域で25%（3/12）、中流域で36.4%（8/22）、下流域では70.6%（12/17、増殖河川目名川を含む）であった。サクラマス支流分布率は下流域で高く上流域で低い傾向が認められたが、分布の拡大が魚道を通じて促されたことが窺えた。上流域の1支

流では排卵間近の雌 1 個体 (FL20.5cm) が 9 月 30 日に見出され、河川残留型集団の再生産が確認できた。支流昆布川では産卵床が観察された。

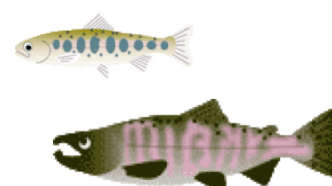
近縁種の分布：アメマスの支流分布率は、上流域で 91.7% (11/12)、中流域で 63.6% (14/22)、下流域で 56.3% (9/16) であった。アメマスは上流域の支流に広く分布しており、中下流域の支流にも比較的多く分布する傾向がみられた。オショロコマは、中流域の真狩川でその分布が確認された。外来種ニジマスの支流分布率は、上流域と中流域でそれぞれ 50% (6/12)、45.5% (10/22) に達したが、下流域のそれは、6.3% (1/16) であった。ブラウントラウトは中流域の昆布川でのみ確認できた。ニジマスの自然再生産が、複数の一次支流で確認された。

豊度指数：ここでは昆布川の二次支流の結果も含めた。サクラマス豊度指数の平均値は、上流域で 1.38 (支流数 9)、中流域で 2.38 (23)、下流域で 3.33 (11) であった。アメマスのそれは、上流から下流に向けて、1.79 (19)、1.49 (16)、1.23 (8) であった。ニジマスのそれは上中流域で似た値を示したが (1.42 (10) および 1.32 (9))、下流域では 2.34 (1) であった。中流域のブラウントラウトの平均豊度指数は 0.65 (3) であった。

遡上分布阻害要因：阻害要因は人為的要因と生物学的要因に分けられた。前者は主として河川環境の改変 (横断工作物、埋設導水管、ショートカット、3 面護岸、河道の減水と濁水、土砂流入、酪農系排水、魚道遮断、河畔林消失) が上げられ、後者は外来近縁種の放流定着およびサクラマス生活型の改変が指摘された。これら要因について検討を行い対策を提案した。

【結論】

尻別川本流の魚道は一定の効果を発揮しているが、遡河性魚類の分布を阻害する河川環境の改変が進みつつある。今後尻別川の河川環境収容力の改善を議論するとき、本調査資料は有用な情報を提供すると考えられる。



Oncorhynchus masou

知床半島に生息するサクラマスとオショロコマの降下生態について

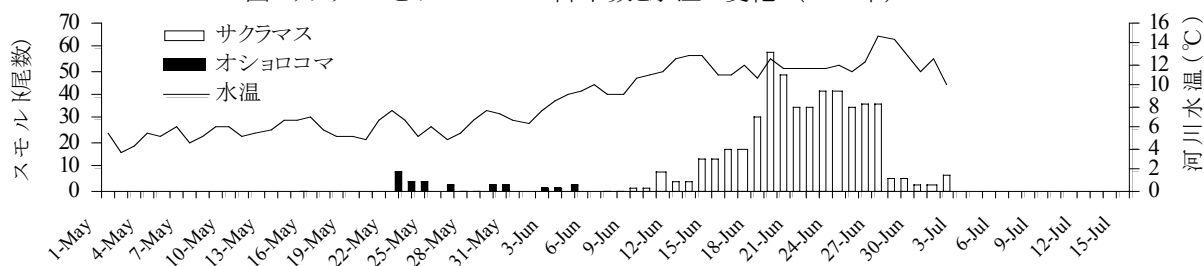
竹内勝巳（道ふ化場）・○永田光博（道ふ化場道東）・春日井潔（道ふ化場道東）・虎尾 充（道ふ化場道東）・村上 豊（道ふ化場道東）・佐々木義隆（道ふ化場道東）・宮腰靖之（道ふ化場）

目 的 北海道に生息するサクラマスのスマルト（降海型幼魚）が海へ降る時期に地理的傾斜のあることは知られており、北部や東部に生息するサクラマスほど遅れる傾向にある。一方、分布の南限にある北海道のオショロコマは知床半島の河川を除いてスマルトの出現はほとんどないと考えられている。しかし、道東に生息する両種の降下生態に関してトラップ等の連続採集法により定量調査された事例は見あたらない。知床半島の基部に位置し根室海峡側へ注ぐ植別川において自然産卵由来のサケ稚魚の降下調査を実施したところサクラマスとオショロコマのスマルトを多数採捕し、北海道東部に生息する両種の降下生態に関する貴重な情報を入手したので報告する。

方 法 植別川は流路延長 22.3km、流域面積 91.9km²で遡上障害となるダムなどの工作物がほとんどない自然河川である。アメリカ E.G.Solution 社製のロータリー式スクリュートラップを用いて、2005 年～2007 年の 5 月～7 月にかけて降下するサクラマスとオショロコマのスマルト採集を行った。トラップ後方の捕獲槽に入ったスマルトは 1 日～3 日おきに取上げた。2007 年についてはスマルトの体長も測定した。また、環境条件として河川水温と水位をロガーにより計測した。

結果及び考察 サクラマスのスマルト採捕数は、それぞれ 138 尾(2005 年)、44 尾(2006 年)、513 尾(2007 年)で 2007 年の降下数が卓越した。スマルトの降下時期は 2005 年が 6 月下旬～7 月中旬であったのに対して、2006 年と 2007 年は 6 月中旬～7 月上旬とやや早まる傾向にあった。スマルトの降下は融雪増水が終了して河川水位が低下し、日平均水温も 8℃を超えた頃から始まり、14℃前後まで続いた。2007 年に採集されたスマルトの平均尾叉長は 14.1cm で、時間の経過とともに小型化した。一方、オショロコマのスマルト採捕数は 2005 年が 2 尾、2006 年が 8 尾、そして 2007 年が 34 尾とサクラマスに比べて少なかったが、サクラマス同様に 2007 年の降下数が最も多かった。スマルトの降下時期は 2005 年が 6 月上旬～中旬、2006 年が 5 月中旬、そして 2007 年が 5 月中旬～6 月上旬であり、サクラマスよりも 2 旬～4 旬早い傾向にあった (図)。このため降下時の河川環境にも違いがみられ、河川水位は融雪増水により増大し、また日平均水温も 8℃以下と低かった。2007 年に採集されたスマルトの平均尾叉長は 16.9cm で、サクラマス同様に時間の経過とともに小型化した。サクラマスとオショロコマの降下時期に大きな違いがみられたのは、両種の水温耐性の違いが反映したものと考えられる。

図 サクラマスとオショロコマの降下数と水温の変化 (2007年)



低気圧通過が母川回帰中のサケの行動に及ぼす影響

○北川貴士・兵藤 晋・佐藤克文・渡辺佑基(東大海洋研)

【背景】三陸沿岸に回帰したサケ *Oncorhynchus keta* は、津軽海峡から沿岸に沿って南下する津軽暖水の高水温環境下にさらされる。既往研究から、この津軽暖水の影響で沿岸域の表層水温が高いとき、サケは水温躍層下へ潜行する傾向があることが分かっている。これは、躍層下の低水温環境で代謝速度を下げることでエネルギーを温存し、節約した代謝エネルギーを生殖にまわす戦略であると考えられている。

【目的】低気圧の通過に伴う当該沿岸海域の急激な海洋構造の変化に対する本種の応答行動について、データロガーおよび海洋観測から得られたデータを解析することで検討した。

【方法】2006年10月4日に岩手県大槌湾・湾中央部に設置された定置網で捕獲されたサケ10個体(オス8個体, メス2個体, 尾叉長62~72cm)の背鰭前方の側面にLOTEK社(カナダ)製データロガー(LTD1100)を装着したのち、湾口中央部より放流した。回収されたロガーに記録された経験水温, 遊泳深度データ, およびCTD観測で得られた水温・塩分データの解析を行った。

【結果・考察】放流2日から16日後に合計7個体再捕された。どの個体も放流直後、湾外の陸棚域に出て、数時間単位で100m以深への潜行を数日にわたり繰り返した(370.4±327.2分, 平均±標準偏差)。そのときの陸棚域の環境水温について、表層は約20℃であったが、水温躍層が形成したため、深度とともに低下し、水深150mでは約14℃であった。しかし、10月7日以降、サケは陸棚域において短時間の鉛直移動を繰り返すようになった(76.5±50.4分)。環境水温は、表層から水深約150mまで約18℃とほぼ一様となっていた。10月6~7日に強い勢力の低気圧が三陸地方を通過したことから、この低気圧通過に伴う強風によりこの鉛直混合は引き起こされたものと考えられた。また、潜行時間の短縮化については、サケが表層の高水温をさけて代謝を抑えるために躍層下へ逃避しようとしたものの、環境水温が低下しないため、途中で潜行を中止したものと推察された。

戸切地川におけるブラウントラウト (*Salmo trutta*) の移動生態に関する研究

○小林秀策（北大院環）・新井崇臣（東大海洋研）・本多健太郎（北大院環）・
宮下和士（北大 FSC）

【目的】

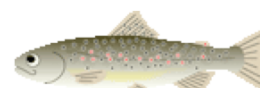
ブラウントラウト (*Salmo trutta*) は、ヨーロッパ原産のサケ科魚類で、国際自然保護連合 (IUCN) の侵略的外来種ワースト 100 に選ばれている。北海道では 40 水系以上で確認されており、国内における本種の在来魚種に対する影響は明らかにされているが、分布域拡大に関する知見は限られている。本研究では、超音波発信機・受信機及び耳石の Sr/Ca 比を解析する事により、本種降海型の遡上降海行動を定量的に捉えることを目的とした。

【方法】

調査は 2006 年 11 月から 2007 年 5 月にかけて、北海道南西部に位置する戸切地川の河口から上流へ 3km の区間で行った。ウライ及びエレクトロフィッシャーを用いて捕獲した個体 (N=7) に対して発信機を装着し、移動を追跡した。また 2006 年 12 月から 2007 年 6 月において、函館湾の定置網により漁獲された降海型個体 (N=46) の耳石の Sr/Ca 比を解析した。

【結果】

全装着個体（全長 395-688mm、平均 499mm）中、2 個体は成熟メスであり、他個体は成熟が確認出来なかった。7 個体中、5 個体は放流後 3 週間から 3 ヶ月、河川で特定の淵に滞在した後、降海した。残り 2 個体のうち 1 個体は特定の淵で 1 月まで滞在が確認され、1 個体は上流で受信が確認された後、受信が途絶えた。上記の結果から本調査河川には降海型個体が生息する事が確認された。さらに、それらは秋から冬にかけて、産卵もしくは越冬のために河川に遡上し、その後冬から春にかけて、海洋に移動する事が示唆された。また、耳石を解析した降海型個体の全長及び年齢は 137-592mm (0-4+) であった。



Salmo trutta

サケ学 (Salmon Science) に関する考察

°清水宗敬 (北大院水)

サケ学研究会 (Salmon Science Society, 3S) は、2006 年 12 月に設立された。この研究会は、「世界中のサケ科魚類の科学に関する情報の発信と交換をめざす」ことを掲げている。今回、記念すべき第 1 回サケ学研究会にあたり、「サケ学」の特色、定義および目指すところなどについて考察したい。

「サケ学」の特色

生物学において、ある生命現象を解析するには、それに適したモデル生物が用いられるのが一般的である。例えば、遺伝学ではハエが、生態学では野鳥が、そして生理学ではラットなどがモデル生物として用いられている。一方、サケ学はその名の通りサケ科魚類を扱う学問であり、サケに携わっている遺伝学者、生態学者、生理学者などが集まっている。すなわち、既存の学問では特定の生命現象がまずあってそれに適した種が選ばれるのに対し、サケ学は注目すべきサケという種があり、それを様々な角度から解析を加える学問であるといえる。私はこのような生物をモデル生物に対し、「シンボル種 (symbol species)」と呼びたい。シンボル種を使った研究の利点は、異なる分野の専門家がサケ科魚類という「共通言語」で意見交換や共同研究がしやすいところにある。逆に、ハエを使う遺伝学者と野鳥の研究をしている生態学者が意見交換や共同研究をすることは容易ではない。

なぜサケなのか

次に、異なる分野の専門家をつなぐシンボル種がなぜサケなのかを考察したい。サケは (1) 特色のある生活史を持つこと、(2) 産業的にも生態系においても重要種であること、(3) 人間活動の影響を受けやすいこと、および (4) 淡水から外洋まで分布域が広いなどの特徴を持つ。これらの特徴は多くの人々の興味を引きつけ、様々な分野でサケの研究が進んでいる。加えて、一般社会にも認知度が高く、地域によっては文化的な意義も持っている。このような種は稀であり、シンボル種としてふさわしいと考える。現在、世界で大きな課題として捉えられている「生態系保全をベースとした持続可能な開発」には、社会の承認を得ながら、様々な学問を有機的に結びつけて多角的に研究を行っていく必要がある。しかし、それに対する最善なアプローチは確立しているとは言えない。サケをシンボル種とするサケ学は、この分野に大きく寄与できると考えている。

サケ学 (Salmon Science) の定義と目指すもの

以上の考察を踏まえ、自分なりにサケ学の定義づけをしたい。私は、「サケ学は、サケ科魚類をシンボル種として様々な分野の研究者が有機的に結びつき、多角的な角度から生態系保全をベースとした持続可能な開発を目指す学問である」と提唱したい。しかしながら、目指すものを一つに限る必要は全くない。サケ学研究会が各分野の最新知見の紹介や異分野間の活発な意見交換の場となり、そこから新しい研究展開が生まれることを期待している。

サケの母川回帰機構に関する生理学的研究の現状と将来展望

北海道大学

北方生物圏フィールド科学センター 共生生態系保全分野

大学院環境科学院 生物圏科学専攻

上田 宏

サケが河川固有のニオイを識別して母川回帰するという嗅覚仮説 (olfactory hypothesis) は 1950 年代に提唱されたが、未だに数多くの謎が残されている。水産学および生物学の大きな謎の一つであるサケの母川回帰機構を解明するため、数多くの共同研究者および大学院生とともにやっている、行動生理学的・生殖生理学的・感覚生理学的研究の現状と将来展望について概説する。

1. 行動生理学的研究

大海原から母国の沿岸まで回帰する時に用いる感覚神経機能に関しては不明な点が多いが、大海原で自分いる位置を割り出す定位 (orientation) 能力、および母国の方向を割り出し回帰する航路決定 (navigation) する能力を有していなければならない。これまでに、日長 (日の出と日の入) や地磁気など用いて定位し、太陽コンパスや磁気コンパスを用いて航海していることが示唆され、地図とコンパス説 (map and compass hypothesis) が提唱され、海流の走流性 (rheotaxis) の関与も示唆されている。また、サケは精度のよい生物時計 (biological clock) も有しており、成育場から産卵場までの回遊に要する時間、および母川の河口から産卵場までの遡上行動に要する時間を計算していると考えられる。

ベーリング海で延縄により捕獲された元気のよいシロザケを、鱗紋により日本系シロザケと判定し (日本系シロザケは人工孵化放流されているので初期の鱗紋間隔が広い)、他国のシロザケと判別ができる)、遊泳速度・水深・水温が記録できるプロペラ付きデータロガーを 60 個体に装着したところ、1 個体のロガーが根室沿岸の定置網で回収された。この個体のベーリング海から北海道沿岸までの 67 日間の直線距離にして 2,760km におよぶ遊泳速度・深度・温度が初めて記録された。シロザケは北洋を北海道に向かって夜間は表層を、昼間は特徴的な潜水行動により索餌しながら、ほぼ直線的に回帰する可能性が示された。

サケがどのような感覚機能を用いて大海原において航路決定しているかは、今後の大きな研究課題である。また、遡河回遊中のサケ親魚の筋電図 (Electromyogram) を測定できる EMG 電波発信機、心電図 (Electrocardiogram) を記録できる ECG ロガー、および降河回遊中のスマルトに装着可能な Nano tag 電波発信機を用いたバイオテレメトリー研究の新たな展開も期待される。

2. 生殖生理学的研究

サケは繁殖のため母川回帰するので、生殖腺の成熟を調整する脳—下垂体—生殖腺系のホルモンが、サケの母川回帰行動を制御していると考えられる。サケの脳の嗅球・終神経・視索前野から分泌されるサケ型生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (sGnRH) が、性成熟および母川回帰に重要な役割を演じていると考えられる。ベーリング海から千歳川の孵化場まで回帰するシロザケの母川回帰に伴う、脳各部位の sGnRH、下垂体の生殖腺刺激ホルモン (GTH)、および生殖腺から分泌される性ステロイド (雌の卵黄形成に重要な estradiol-17 β : E2、雄の精子形成に重要な 11-ketotestosterone: 11KT、E2 と 11KT の前駆体で遡上行動に関与

している testosterone: T、雌雄生殖腺の最終成熟に重要な $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one: DHP)の分泌動態を時間分解蛍光測定法により解析した。sGnRH 量のピークは、嗅球では石狩川沿岸(雄)と石狩川河口付近(雌)、終脳では雌雄とも石狩川と千歳川の分岐点であった。下垂体では石狩川沿岸(雌)と河口付近(雄)で sGnRH 量の最高値が観察され、生殖腺成熟の後期に關与する GTH (luteinizing hormone:LH)量の最高値と呼応していた。また、血中ステロイドホルモン量の最高値は、雌の E2 は石狩川沿岸、雄の 11KT、および雌雄の T は石狩川と千歳川の分岐点で、雌雄の DHP は孵化場で急増した。

sGnRH が脳の部位特異的に様々な作用を発現し、サケの母川回帰行動を主導的に調節していると考えられる。sGnRH の発現調節を行っていると考えられる *N*-methyl-D-aspartate 型受容体 (NMDA 受容体) の機能、および母川記銘に關与すると考えられている脳—下垂体—甲状腺系ホルモンの役割は、今後の重要な研究課題である。

3. 感覚生理学的研究

サケが母川回帰するとき識別する河川固有のニオイ成分を分析するため、洞爺湖に注ぐ3河川の河川水に含まれるアミノ酸(L体、関連物質を含む)の定量分析を行ったところ、各河川水中のアミノ酸の組成と濃度は異なっていた。各河川のアミノ酸組成で作成した人工アミノ酸河川水に対するサクラマスの嗅神経応答を交差順応試験により測定したところ、天然水の場合とほぼ同様の嗅神経応答を示し、サクラマスは河川水中のアミノ酸組成を識別していることが確認された。さらに、長流川に回帰した雄シロザケと支笏湖の孵化場に回帰した雌雄ヒメマスの河川水選択性を、Y字水路における選択行動実験により解析したところ、高い確率で両魚種とも人工アミノ酸母川水を選択した。また、母川水以外の人工アミノ酸河川水には選択性を示さなかった。

河川水中のアミノ酸の起源、および季節・年変動の解析を行っており、その解析結果が待たれる。さらに、サケ稚魚がどのように河川水中のアミノ酸組成を記憶し、サケ親魚がどのようにその記憶を頼りに母川を識別して回帰するかは、動物の記憶に關わる非常に重要な問題である。また、正確に母川回帰するサケと、他の河川に迷入するサケの記憶・識別機能はどのように異なっているかも興味を持たれる。

近年の分子生物学的解析により、サケ母川記銘関連遺伝子 (Salmon Olfactory Imprinting-related Gene: SOIG) およびヒメマスニオイ受容体遺伝子 (Lacustrine Sockeye Salmon Odorant Receptor 1: LSSOR1) が単離され、これらの遺伝子がどのように母川記銘および母川回帰に關与しているのかの解析が期待される。

4. 将来展望

サケは優れた航路決定能力を用いて数千キロの大海原を回遊して母国沿岸まで回帰し、数多くの河川から嗅覚により母川のニオイを識別して回帰する驚異的な感覚能力を有している。しかし、サケの母川回帰性はサケの種類および性と成熟度により異なっており、母川以外の河川に遡上する個体が存在し、母川回帰しない個体はその種の分布域広げ個体数を増やしている可能性がある。我国の4種のサケ(カラフトマス・シロザケ・ベニザケ・サクラマス)の嗅覚機能を比較解析することにより、サケの進化と母川回帰性を解明することができる。このサケの種による母川回帰性の違いが明らかになると、現在は同じように行われている4種のサケの人工孵化放流の方式を改良し、それぞれのサケを効率的に資源増産することが可能になる。また、サケの母川識別に關与する流域生態系により異なる河川水中のアミノ酸の起源および季節・年変動が解明できると、サケの嗅覚機能を指標とした河川環境整備を行なうことが可能となり、今後ますます重要になる淡水の質の問題にも貢献できる。

心拍ロガーを用いたシロザケ親魚遡上時の遊泳行動解析

○牧口祐也（北大院環境）・永田鎮也・村田秀樹（大日本住友製薬株式会社）

上田 宏（北大フィールド科学セ）

【背景】

シロザケ (*Oncorhynchus keta*) を含むサケ科魚類は稚魚・幼魚期を生まれた河川（母川）で過ごし、数ヶ月から数年の海洋生活を経て成長し、母川に回帰する。また、母川回帰中のサケ科魚類は摂餌を止めるため、遡上のためのエネルギーは限られており、母川に回帰して遡上するときに、河川改修などの河川環境変化は、サケ科魚類の遡上行動に大きな影響を与えられとされる。近年、心拍が導出可能なデータロガー（以下、心拍ロガー）が開発され自由遊泳下の魚類の心拍情報をロギングすることが可能となった。魚類の心拍情報は遊泳行動に伴うストレス・代謝速度など生理的な情報を明らかにすることができるため、心拍ロガーを用いることでこれまでは得られなかった遊泳環境に伴うサケ科魚類の詳細な遡上行動および生理状態を明らかにすることが可能になると考えられる。しかし、シロザケの遡上行動時における遊泳行動特性については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、母川遡上時のシロザケの遊泳行動特性に関する基礎的知見を得るために、シロザケ親魚に心拍ロガーおよび遊泳速度が記録可能なロガー（以下、プロペラロガー）を装着し、実験水槽内でロギングを行った。

【方法】

実験魚には北海道道東の標津川に遡上したシロザケを用い、心拍ロガー（W400-ECG：リトルレオナルド）およびプロペラロガー（W190L-PDT：リトルレオナルド）を装着し、6.5 m × 1.5 m の実験水槽内で数日間自由遊泳させロギングを行った。心拍ロガー（サンプリングレート：500Hz）により心拍を、プロペラロガー（サンプリングレート：1Hz）により遊泳速度をロギングした。また、得られた心拍データから R-R 間隔を抽出し高速フーリエ解析（FFT）およびフラクレット（大日本住友製薬株式会社）により心拍変動の解析をおこなった。

【結果・考察】

プロペラロガーの遊泳速度の解析から、シロザケ親魚は日中には活発な遊泳は確認されなかったが、日没頃から夜明けまで活発に遊泳をおこなうという明瞭な日周行動の変化がみられた。またフラクレットによる解析の結果より、活発に遊泳行動が確認された夜間においてシロザケの交感神経活性が日中に比べ約2倍になっていた。つまり産卵遡上時のシロザケは日中に比べ、夜間において特に緊張状態にあったと考えられる。また、データロガー装着直後には見られなかった周波数のピークが、装着から数時間後にピークが出現した。これは手術によるストレスの影響によりピークが消失したためと考えられる。

サケ科魚類の卵黄形成 -多型ビテロジェニンとコリオジェニン-

○藤田敏明・望月麻智子・天野春菜・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、肝臓で合成される卵黄蛋白前駆物質であり、近年その多型性が明らかにされ始めている。サケでは2種類のVg遺伝子(完全型Vg、不完全型Vg; VgC)が同定されているものの、蛋白レベルで2種のVgを検出した報告例はない。一方、Vgと同様に肝臓で合成される卵膜蛋白前駆物質(コリオジェニン; Chg)もまた重要な卵形成物質に挙げられ、我々は既にイトウとサクラマスから2種類のChg(Chg HおよびChg L)を精製している。しかし、他の多くの魚種では3種類のChg遺伝子がクローニングされていることから、もう一種類のChgが存在することが予想される。これら多型VgおよびChgの個々の蛋白もしくは遺伝子を解析することは、卵形成の詳細を知る上で重要な情報を提供すると考えられる。本研究では、VgおよびChgの多型性を考慮し、各蛋白もしくは遺伝子を同定することを目的に生化学的および分子生物学的研究を行った。

【方法】 ボラVgCに対する抗体およびイトウ卵黄に対する抗体を用いてイトウ雌血清を解析し、VgCを検出した。次いで、水沈殿法とカラムクロマトグラフィーを用いてVgCを精製した。サクラマスの肝臓からChg遺伝子をクローニングし、リコンビナント蛋白を合成した。精製したリコンビナント蛋白に対する抗体を用いて雌血清と卵膜蛋白を観察し各成分の関係を解析した。

【結果と考察】 免疫電気泳動において、イトウのVgCはボラのVgCに対する抗体と反応して一本の沈降線を形成した。この沈降線は、完全型Vgの沈降線よりもやや内側に形成され、免疫生化学的に異なる蛋白であることが示された。精製したイトウVgCの分子量はゲル濾過で380kDa、SDS-PAGEで140kDaと推定され、既存の完全型Vgと比較して低分子であった。一方、Chg遺伝子は、サクラマスの肝臓から3種類のcDNAクローンが単離できた。これらは、以前に精製した2種類のChg、即ちChg HおよびL、に加えてChg Hと相同性の高いもう一つのChgをコードしていた。リコンビナント蛋白に対する抗体を用いた観察の結果、新たに同定したChgはChg Hよりも分子量のやや大きいバンドを検出し、本種の卵膜が3種類の蛋白からなることが示された。以上のことから、サケ科魚類の卵黄形成および卵膜形成には2型のVgおよび3型のChgが関与することが明らかになった。今後、個々の蛋白の合成機序および機能を解明することで、より詳細な卵形成機構の解明につながると考えられる。



Hucho perryi

サケ属魚類における嗅細胞マーカーに関する分子形態学的研究

○工藤 秀明（北海道大学大学院水産科学研究院）

【目的】 遡河性サケ属魚類の母川回帰機構の全容は未だ不明であるが、降海時の川のニオイを母川の情報として刷込み、産卵回遊時にその刷込まれた情報を頼りに母川識別を行う「嗅覚刷込み説」は広く受け入れられている。遡河性サケ属魚類において、このニオイの受容器官である嗅細胞を含む嗅神経系については様々な手法により研究が展開されている。その中でも基礎的情報の一つである形態学的解析については、脊椎動物間または魚類間における比較解剖学的見地から遂行されたものが多く、遡河性サケ属魚類の嗅細胞の構造と機能をリンクさせた研究は少ない。サケ属魚類を含む多くの魚類嗅細胞には、超微形態学的に線毛性および微絨毛性の二型の嗅細胞の存在が知られているがその機能的違いについては不明な点が残されている。本研究では、サケ属魚類における両細胞の機能的差異を検索するための足がかりとして、光顕レベルで容易に両細胞を識別可能にすることを目的とし、嗅神経系での存在が知られる既知のタンパクを分子形態学的に検出することにより両細胞の識別が可能か否かの検討を行った。

【材料・方法】 供試魚には、池産ヒメマス 1 年魚および外洋索餌回遊中のシロザケ 3 年魚を用いた。嗅上皮を含む嗅房を剖出後、常法により遺伝子解析試料および組織学的解析試料の作成を行った。今回、嗅細胞のマーカー候補として、哺乳類の嗅細胞のマーカーとして汎用されている嗅覚指標タンパク (olfactory marker protein: OMP) およびサケ科魚類嗅神経組織特異タンパク (N24) として見いだされたサケ嗅覚グルタチオン S-トランスフェラーゼ π (soGST) に着目し、嗅上皮における両タンパクの局在を解析した。遺伝子発現にはジゴキシゲニン標識 cRNA プローブを用いた *in situ* ハイブリダイゼーション法、およびタンパク発現には免疫組織化学的手法によりそれぞれ解析を行った。

【結果】 ヒメマス嗅上皮において、OMP の遺伝子発現を示すシグナルは嗅細胞核周囲部に認められた。OMP 免疫陽性反応は同細胞の嗅小胞および嗅神経軸索を含む細胞質全体に認められた。基底細胞、支持細胞および杯細胞などの他の嗅上皮構成細胞には、遺伝子およびタンパクともに OMP 発現は認められなかった。一方、soGST の遺伝子およびタンパクの発現は、嗅上皮全体としては OMP とほぼ同様の局在性を示したが OMP に比べより多くの嗅細胞に局在が認められた。特に OMP の局在が認められなかった嗅細胞の樹状突起にあたる遠心位側の細胞質が太く短いタイプの嗅細胞にも soGST が局在し、これまでの報告からも同細胞は微絨毛性嗅細胞であると考えられた。このことから、soGST は線毛性および微絨毛性の両タイプの嗅細胞に局在するのに対し、OMP は線毛性嗅細胞に局在があると考えられ、ヒメマス嗅上皮における二重蛍光免疫染色および外洋索餌回遊中のシロザケ嗅上皮の標本においてもこのことを支持する結果が得られた。以上の結果から、両タンパクの局在性の差を利用して二型の嗅細胞の識別が容易に可能になり soGST と OMP が嗅細胞の cell-marker として有用であることが確認された。

サクラマスの雌から放出され雄を誘引する性フェロモン

山家秀信（東京農業大学生物産業学部アクアバイオ学科）

背景と目的

20年以上に及ぶコイ科魚類における研究により、魚類の性フェロモンはステロイドやプロスタグランジンであるとの概念が確立していた。そのようなフェロモンをホルモン様フェロモンと呼ぶ。それに基づき世界各国でサケ科魚類の性フェロモンについて研究されてきたが確証が得られていなかった。サクラマスは遡河回遊型のものと河川残留型という2つの生活史を持つ。そのため、大きく成長する回遊型から大量の尿を得ることができ、小型で扱いやすい河川残留型の雄を用いて行動試験を行える。これまでの研究により、雄誘引フェロモンが排卵雌の尿に含まれホルモン様フェロモンとは異なることが示されている。そこで行動試験と天然物化学的手法を用いて本種の性フェロモンの同定を試みた。

材料と方法

各実験には道立水産孵化場由来の池産サクラマスを用いた。性フェロモンを単離するため簡易行動試験法を開発した。成熟雄はフェロモンを嗅ぐと興奮して胸鰭を激しく動かし前進する。この行動を点数化することでフェロモン活性の強度を確認しながら単離精製を進めた。排卵雌尿を各種クロマトグラフィーに供し、行動試験により活性画分をスクリーニングすることでフェロモンを単離した。各種機器分析法によりフェロモンの構造解析を行った。また、常法により嗅電図を得て、フェロモンに対する嗅覚応答閾値を調べた。

結果

成熟雄を興奮させ誘引する性フェロモンはL-キヌレニンという芳香族アミノ酸であることが判明した。高速液体クロマトグラフィーによってキヌレニンを定量すると排卵雌の尿に特異的に多く含まれ、その濃度は約 10^{-4} Mであった。成熟雄は単離された天然キヌレニンとその合成品に対して同じ行動反応を示し、未熟雄と排卵雌はキヌレニンに殆ど反応しないことから、その行動は成熟雄特異的であるといえる。実験水路中におけるL-キヌレニンに対する行動閾値は 10^{-12} M程度と推定された。また、嗅覚応答閾値は成熟雄で 10^{-14} Mとなり、性的に不活性な雄や排卵雌に比べそれぞれ1,000 または100,000倍も敏感であった。

考察および結論

キヌレニンはトリプトファンの中間代謝物であり哺乳類の尿からも検出される。これまでキヌレニンは昆虫や脊椎動物における眼の色素として同定されてきた他、その関連物質は哺乳類における脳内の神経伝達を調整することが知られている。また、ヒト女性では生理周期中のホルモン動態がトリプトファン代謝に影響を及ぼす。一方、魚類ではトリプトファンを投与したメスの最終成熟が促進されることも報告されている。そこで以下のような仮説を想定した。サクラマスは、産卵のため遡上すると絶食状態に入ることから、最終成熟に向かうホルモン動態の下で、先ず糖原性アミノ酸であるトリプトファンを糖新生に用いながら産卵期に移行し、次いで代謝産物のキヌレニンをフェロモンとして利用しているものと推察される。

発表者連絡先（敬称略）

阿部周一	abesyu@fish.hokudai.ac.jp	佐藤俊平	sato.shunpei@fra.affrc.go.jp
上田 宏	hueda@fsc.hokudai.ac.jp	清水宗敬	mune@fish.hokudai.ac.jp
浦野明央	aurano@sci.hokudai.ac.jp	永田光博	nagatam@fishexp.pref.hokkaido.jp
帰山雅秀	salmon@fish.hokudai.ac.jp	藤田敏明	tf021@fish.hokudai.ac.jp
河村 博	kawamurah@fishexp.pref.hokkaido.jp	牧口祐也	yuya-m@fsc.hokudai.ac.jp
北川貴士	takashik@ori.u-tokyo.ac.jp	山家秀信	h3yambe@bioindustry.nodai.ac.jp
金 尉植	kimwisik@fish.hokudai.ac.jp	横谷亮太	valley@fish.hokudai.ac.jp
工藤秀明	hidea-k@fish.hokudai.ac.jp	吉水 守	yosimizu@fish.hokudai.ac.jp
小林秀策	shusaku5050@yahoo.co.jp		



福岡県嘉麻市 鮭神社内

サケ学研究会

会長：阿部周一
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
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
海洋生態系保全戦略領域
Tel/Fax 0138-40-5602

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

発行日：2007年9月24日
発行所：サケ学研究会