

種苗生産研究(飼育実験)の成果から推測したマツカワの繁殖生態

萱 場 隆 昭

キーワード：マツカワ、種苗生産、繁殖生態、性成熟、産卵特性、産卵期

はじめに

「マツカワって、あの王鰈（おうちょう）のこと？」

某スーパーマーケット鮮魚売り場で買い物中の女性が店員に尋ねていました。昨年、北海道が立ち立てたブランドネーム“王鰈”も徐々に知れ渡ってきたのかもしれません。

北海道では冷水性の大型カレイであるマツカワ（写真）の資源増大を目指し、種苗生産・放流技術の開発に取り組んできました。人工種苗の試験放流を続けてきた太平洋海域では、再捕による漁獲が年々増加しています。平成18年度からは100万尾の種苗による大規模放流が予定されており、現在、伊達市に種苗量産施設（海域拠点センター）を建設中です。北海道を代表する新たな味覚としてマツカワが参入できるかどうか、大きなチャレンジが始まろうとしています。

さて、マツカワ放流事業において最も重要な目標は、当然、放流した魚をできるだけ多く漁獲することです（放流魚の回収）。一方、もう一つの目標として“再生産による資源回復”、つまり放した魚が親となって仔を産み、その結果マツカワ資源が増えることも期待されています。昭和40年代まで本道太平洋岸では一単協あたり数十トンもの天然マツカワが獲られていました。しかし、その後なぜか資源が激減し、昭和60年以降は市場からぱったり姿を消しました。そのため、失われたマツカワ資源を復活させるためには、今後たくさん獲ることだけを目指すのではなく、マツカワの

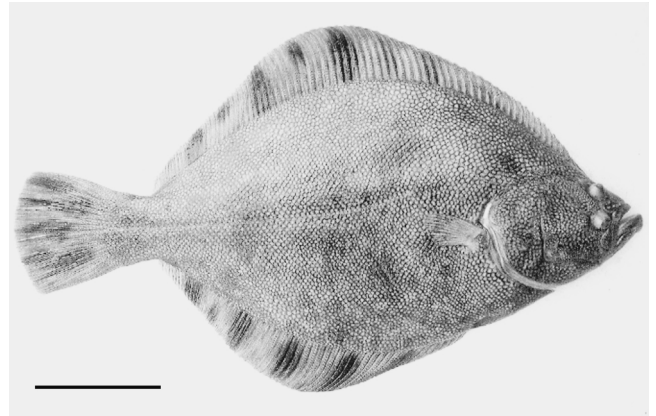


写真 マツカワ *Verasper moseri*. バーは10cm

繁殖生態を理解して産卵親魚を保護できるような漁業のやり方を考案することが重要です。

では、天然海域でのマツカワの繁殖生態とはどのようなになっているのでしょうか？

謎につつまれたマツカワの繁殖生態

“マツカワはいつ、どこで育ち（成熟し）、そして産卵するのか”。実のところ、これについてはほとんどわかっておりません。昔マツカワを獲っていた漁師さんに当時の漁獲状況を尋ねたところ、春先、数m～50mの浅海域でお腹が膨らんだ雌のマツカワを獲ったことがあるとのことでした（佐々木、1997）。また、人工種苗の放流追跡調査によると、未成熟魚（0～2歳）のうちは浅海域に留まっているが、より大きくなるにつれ水深100m以上の外海域へ移動するとのことでした（松田、2000）。どちらもマツカワの生態を示唆する興味深い情報です。しかし、実際に産卵をむかえる成熟個体の漁獲はまれであり、フィールド

調査だけで繁殖メカニズムを類推するにはまだまだ情報が足りません。謎に包まれたパズルを埋める新たなピース（発見）はないのでしょうか。

飼育実験の成果を応用する

魚類の成熟や産卵特性を調べるうえで飼育実験はとても有効な方法です。これまで種苗生産技術を開発する中で、私たちは屋内水槽で稚魚から成魚になるまで飼育し、成熟を促し、そして産卵過程を観察してきました。マツカワの生殖生理について多くの知識を得るとともに、成熟・産卵に適した環境条件も明らかにできました。こうした情報は種苗生産のみに活用できるのではなく、天然環境下での繁殖生態を探るうえで有効な武器となります。

そこで、本稿では種苗生産研究で得た成果をもとにマツカワの繁殖生態について仮説を立ててみました。

マツカワの産卵期はいつ？

“マツカワはいつどこで産卵するのか”。11月～1月の冬であると記載した文献もあれば、春から初夏に成熟した雌を獲ったとの記録もあり（渡辺、1998）、正確なところはわかっていません。そこでまず飼育環境下での雌雄の性成熟過程について調べてみました。

図1は北海道太平洋岸の水温変動下で飼育した2歳魚雄の精巣発達過程を示しています。水温が低下する10月以後生殖細胞の減数分裂が急速に進み、2月に精巣内に精子が出現しました。この時から4月まで精巣内には精子が充満しており、腹部を圧搾すると精液を採取できました。しかし、5月になると精巣内から精子は消失しました。従って、組織観察から判断した雄の生殖可能時期は2月～4月といえます。では雌の場合はどうでしょうか？図2は同条件で飼育した2歳魚雌の卵巢

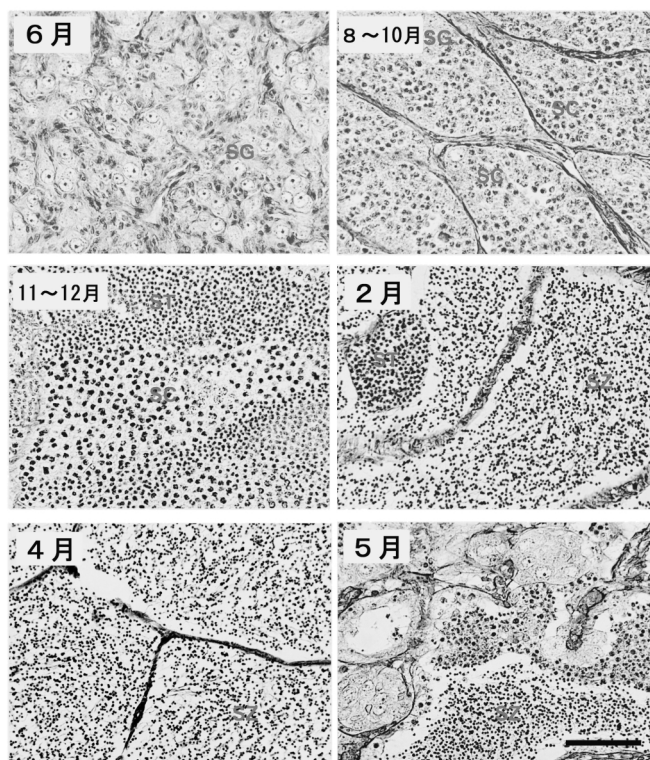


図1 飼育環境下におけるマツカワ雄（2歳魚）の精巣の発達過程 パーは50 μm

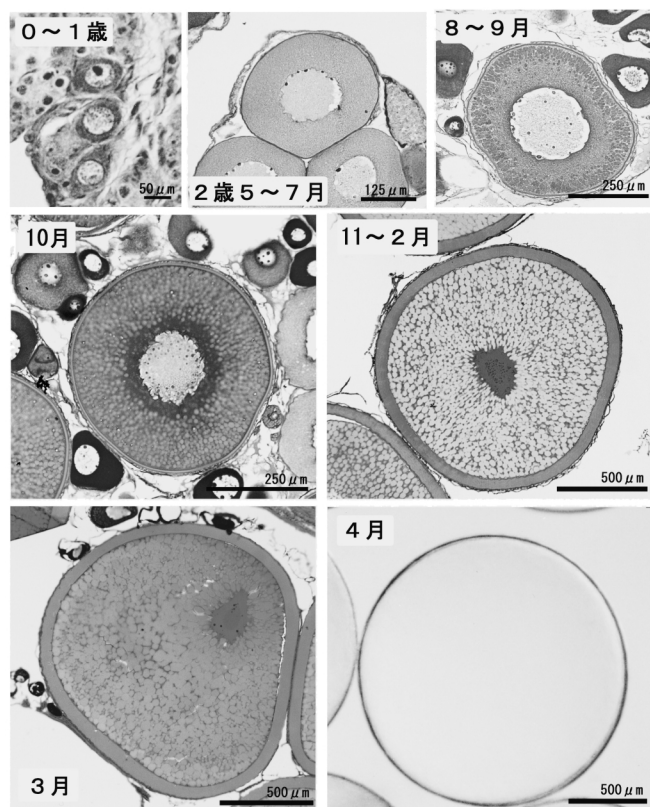


図2 飼育環境下におけるマツカワ雌（2歳魚）の卵巢の発達過程

の発達過程です。7月まで卵巣内には未発達の卵母細胞のみが観察されました。8月になると卵黄タンパク（将来ふ化仔魚の重要な栄養分になる）の蓄積が始まり、卵母細胞の容積は大幅に増加しました。そして、3月～4月、水温の上昇に伴って最終成熟（卵核胞の移動・崩壊、吸水による卵の透明化）がおこり、排卵（成熟卵が卵巣腔へ送り出され、体外へ放出できるようになる状態）する個体も現れました。排卵は約1ヵ月間続くことから、雌の生殖可能期間は3月下旬～5月といえます。

もし放流した魚もこれと類似した条件で育っているとしたら繁殖時期は4月頃であるはずですが。しかし、放流魚がどんな場所で育つのかはまだわからず、果たして飼育下と同じ速さで成熟するかどうか定かではありません。そこで、産卵期を予測する別のアプローチとして、飼育実験によってマツカワの成熟に必要な条件（特に水温）を調べてみました。図3のように自然海水温で飼育する実験区の他に、10月以降も加温飼育し実験的に水温が低下する時期を遅らせた実験区を設け、それぞれの成熟過程を比較しました。その結果、雄の場合、高水温条件下では精子形成が全く進みませんが、水温が低下すると精子形成は速やかに進行し生殖腺体指数（GSI）も増加しました。すなわち、マツカワ雄が成熟するためには秋から冬にかけての水温低下が必須条件なのです。一方、雌の場合は水温が低下しなくとも卵黄形成は進行して2月までGSIが増加しました。しかし、パターン③のように3月から4月にかけて水温上昇がなかった場合、最終成熟が誘起されず、卵母細胞は崩壊してしまいました。従って、雌が生殖可能となるためには春季に低水温状態から徐々に昇温するという刺激が不可欠なのです。そのため、両条件が揃った時期でなければマツカワは繁殖できないことになります。とすると、水温が最低レベ

ルまで下がった後に徐々に上昇する時期、産卵期はやはり春季だといえるのではないのでしょうか。

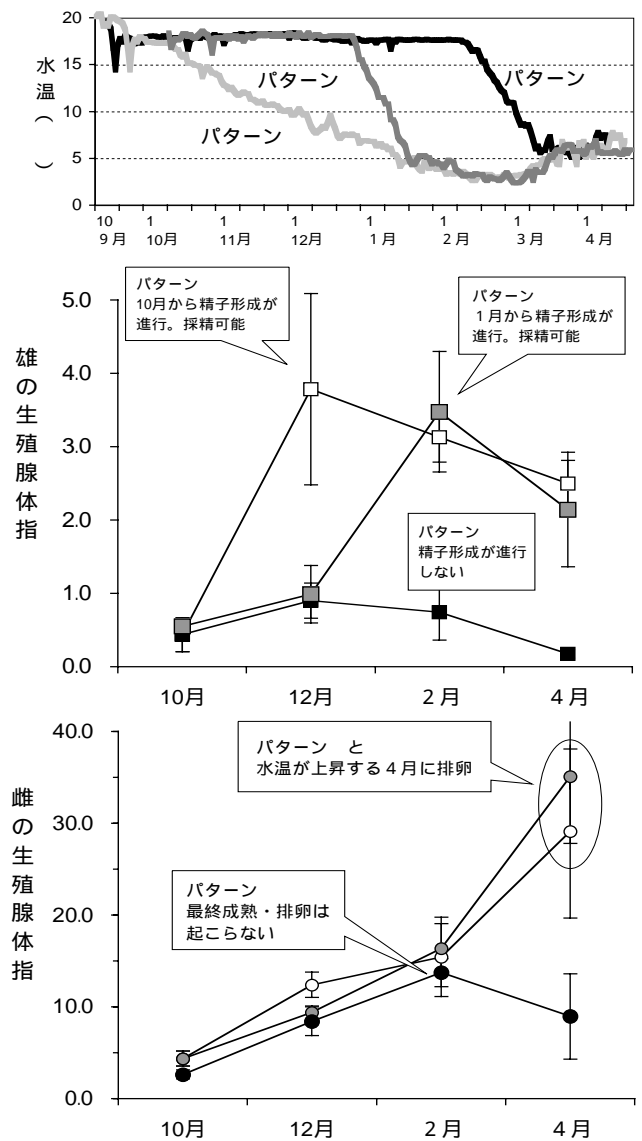


図3 水温別飼育実験におけるマツカワ雌雄の生殖腺体指数の変化

繁殖加入年齢は？

“マツカワはいつ（何歳）から繁殖に加わるのか”。このことは漁獲規制サイズを決めたり、資源への加入の仕組みを調べるうえで把握すべき大事な事柄です。漁獲物を調査した結果、雌では全長50cm以上、雄では36cm以上の個体で生殖腺の発達が認められ、繁殖加入年齢は雌で4～5歳、雄

で3歳ではないかと推測されています(高谷、2005)。

飼育条件下ではどうでしょうか。図4に飼育魚のGSIの周年変化と卵および精子が採取できた時期を示しました。これによると雄では満2歳の4月、雌では満3歳になった4月が初回産卵のピークとなっています。雄の方が雌より1年早く成熟することは共通していますが、飼育環境下では天然よりも若齢で産卵をむかえているようです。

では初回産卵年齢とは何によって決まるのでしょうか。これを調べるため、全長10cmの雌の稚魚を用い、水温別の飼育実験を行ってみました(図5)。通常、マツカワは水温が7~8℃を下回る冬季間、摂餌が減退するため成長も停滞します。A群では0歳から3歳まで自然海水の水温変動で飼育しました。一方、B群では0歳時の12月~5月まで10℃以上に加温飼育し冬季も摂餌できるようにしました。さらにC群においてはより活発に摂餌できるように0歳時と1歳時の両低水温期間に加温飼育を行いました。満3歳になった時点で各群の成長と排卵の可否を調べたところ、A群の

雌魚はB群やC群に比べて小ぶりであり、成長が明らかに劣っていました(図6上)。さらにB群

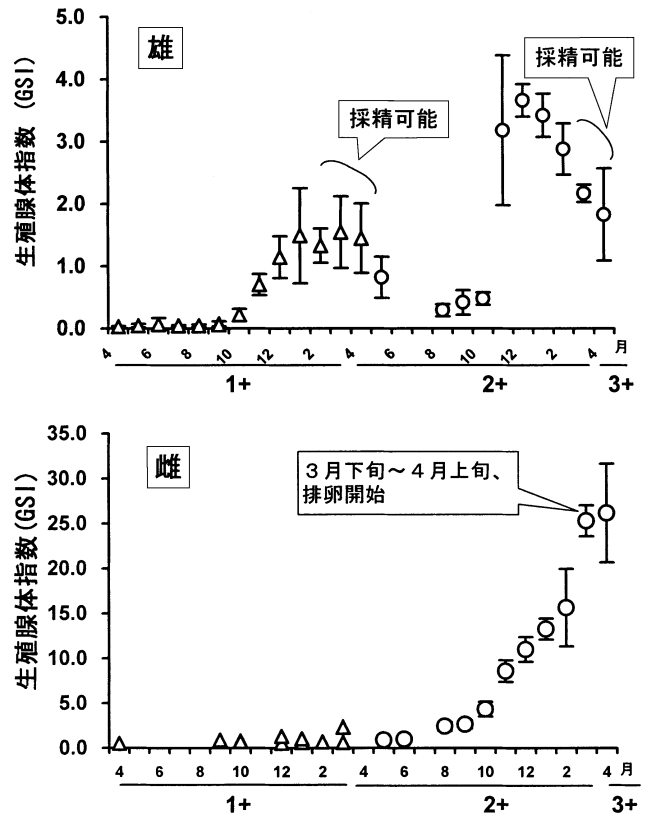


図4 飼育したマツカワの生殖腺体指数の周年変化

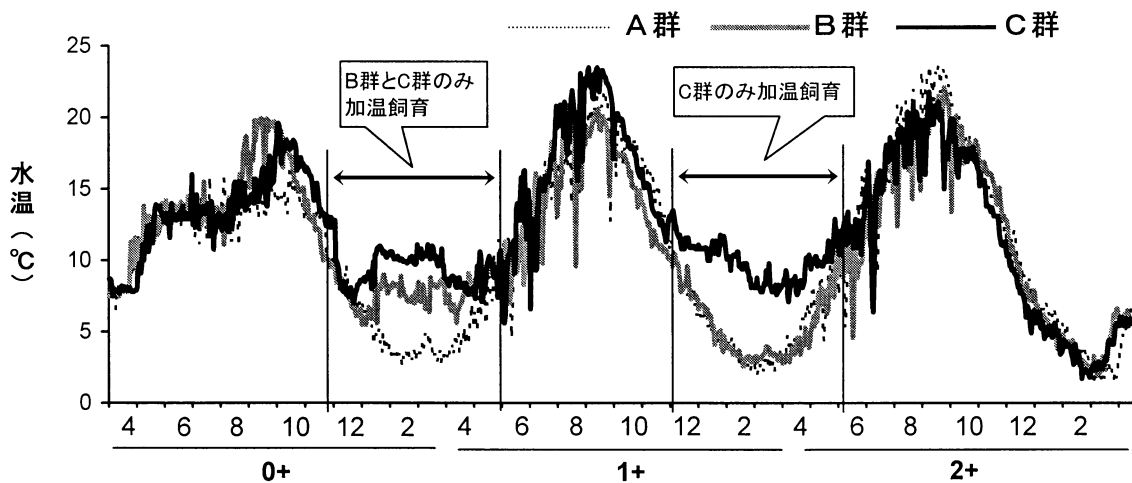


図5 マツカワ雌稚魚(全長10cm)を用いた水温別飼育実験の水温変化

- A群: 0歳~3歳まで自然海水の水温変動で飼育
- B群: 0歳時の低水温期間(12月~5月)のみ加温飼育を実施
- C群: 0歳時および1歳時の低水温期間(12月~5月)加温飼育を実施

およびC群の雌の場合、2歳の夏から卵黄形成が始まり、3歳の4月にほぼ全個体が排卵したのに対し、A群の雌では卵巣が発達せず、その年排卵は認められませんでした(図6下)。A群の親魚を継続して飼育したところ、4歳4月になって初めて排卵することができました。このことからマツカワ雌の初回産卵年齢は成長と強く関連しており、一定のレベルまで成育が進んでいなければその年産卵することはできないと考えられます。飼育環境下は外敵などのストレスが少なく、かつ、栄養価の高い餌料を毎日十分摂食できる好適な環境です。そのため、天然よりも成長が優れているため、初回産卵年齢が若くなると思われます。このデータから考えると、マツカワ雌が産卵するための成長ボーダーラインは(4月の時点で)全長47cmです(図7)。現在、放流魚の成長と年齢の

関係を解析中ですが、飼育魚より成長が遅いと考えると、繁殖加入年齢はおそらく雌で4歳、雄で3歳以後と思われます。(漁獲物から推定した結果と一致)

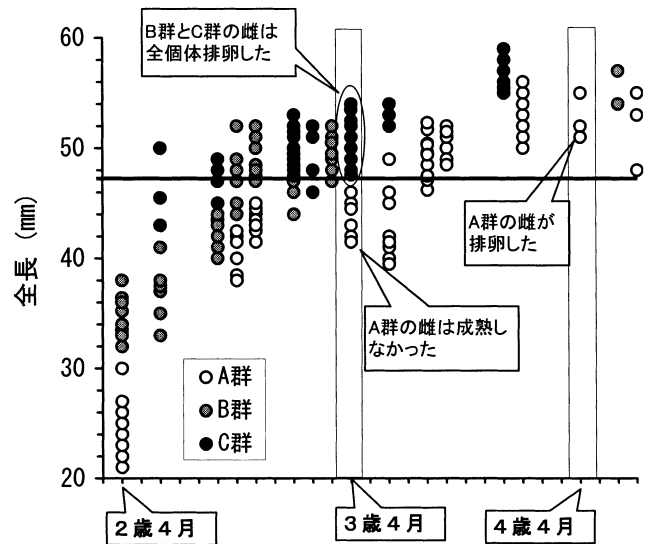


図7 マツカワ雌の全長と排卵時期の関係

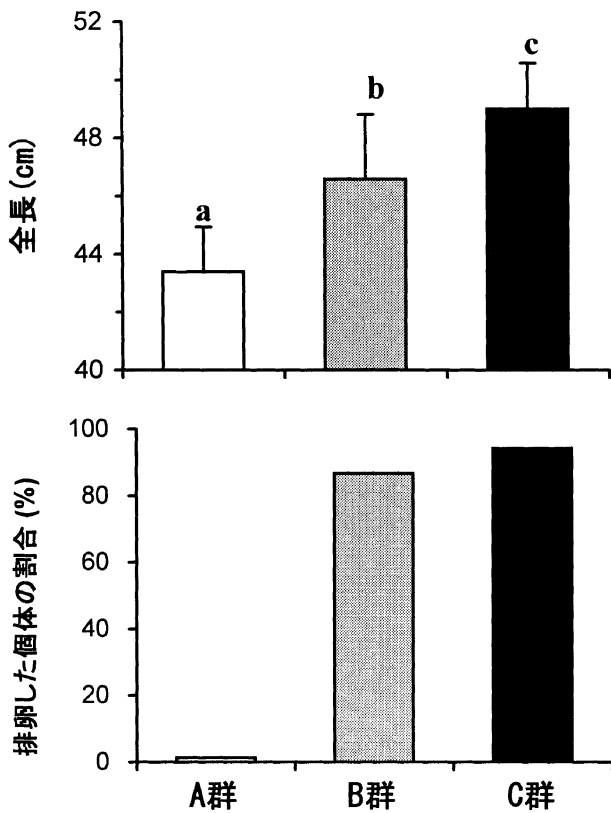


図6 水温別の飼育実験におけるマツカワ雌の成長(上)と排卵個体率(下)
異なるアルファベットは統計学的に有意な差があることを示す(p<0.05)

マツカワの産卵特性は?

“マツカワはどのように産卵しているのか”。フィールド調査でこのことを調べるのは極めて困難です。近年、私たちは水槽内でマツカワの自然産卵を誘導することに成功し、産卵特性について様々なことを知ることができました。ここではいくつかの知見を紹介します。

数日(2~4日)間隔で卵放出を繰り返す

同じ異体類であるヒラメやマガレイは産卵期間中、毎日産卵することができます。一方、マツカワ雌は連日卵を放出することができません。図8は雌1尾と雄4尾を同じ水槽内に収容した際の産卵数の日変化を示しています。雌は一回あたり平均10万粒の卵を2~4日間隔で放出しています。これは雌の排卵周期が平均3.5日間隔であることに起因しており、産卵環境が適していれば排卵周期にあわせて卵を放出するようです。また、興味

深いことに、水温を一日に1～2℃急上昇させることによって放卵がスタートし、受精も起こりやすくなります。そのため、天然海域でもこうした水温の急変が産卵の引き金となっているかもしれません。春先にこのような水温変動が起こりやすい場所こそ産卵場ではないでしょうか？

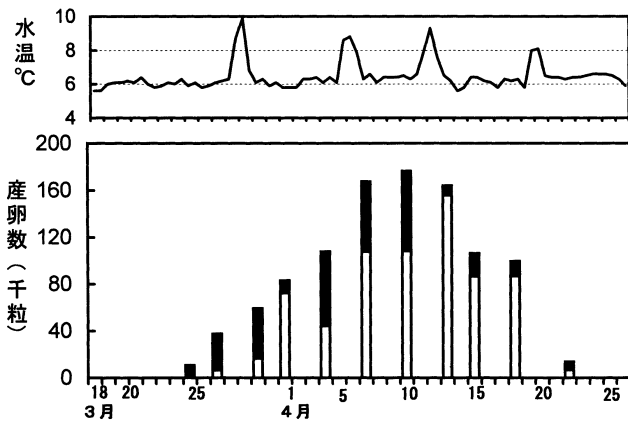


図8 マツカワの水槽内自然産卵
白棒は受精卵数、黒棒は未受精卵数を示す

産卵は深夜から早朝

水槽内に浮遊している受精卵を回収し卵発生ステージを調べることによって、産卵がいつ起こったのかを逆算できます(図9)。産卵時刻を調べ

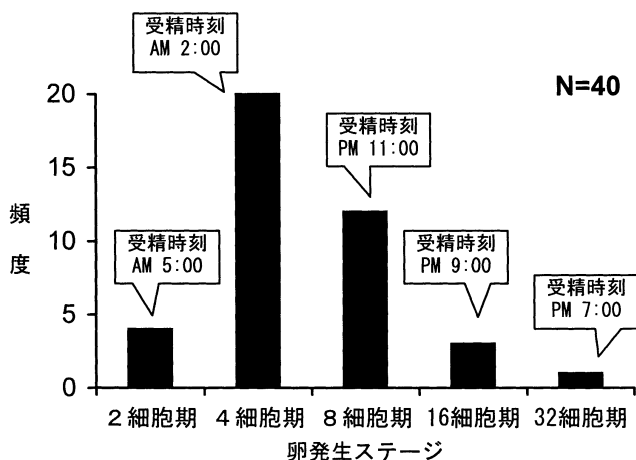


図9 自然産卵で得られた受精卵の卵発生段階(頻度)とその発生状況から推定した産卵時刻

たところ、午後11時～翌朝2時にピークが認められます。つまりマツカワは深夜から早朝にかけて産卵すると考えられます。

産卵にはペアリングが不可欠

水槽内でも自然産卵を誘導できるようになりましたが、前述の通り、本種は夜間に産卵するため産卵行動を目視、または撮影することはなかなか困難です。そこで、人為的に搾出した卵と精子を産卵水槽内に滴下し、受精率を調べることによって本来あるべき産卵行動を推測してみました。まず、放卵・放精のタイミングと受精率との関係を調べるため、水槽に卵を投入し、その0～2時間後に精液を滴下しました。その結果、受精率は卵投入の30分後までは高率でしたが、それ以上間隔があくと卵質が劣化し受精率が急激に低下することがわかりました(図10)。従って、受精が成功するためには少なくとも卵放出の30分以内に雄が放精しなければいけません。次に、卵と精液の放出地点の距離の影響について調べてみました。卵と精液を同地点、距離1m、2mそして3m離れた地点に滴下したところ、2m以上離れた場合、受精率は急減しました(図11)。この結果はマツ

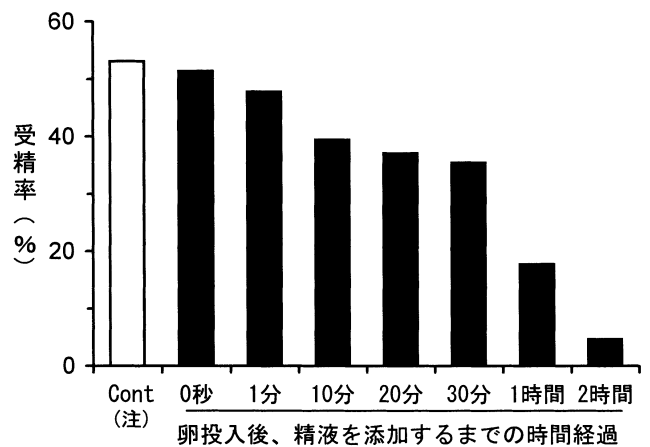


図10 搾出した卵および精液の水槽内滴下実験1
卵、精液の滴下時間間隔と受精率の関係
(注) 乾導法による人工授精

カワの受精が成功するためには雌雄が1 m以内に近接して放卵、放精する必要があることを示しています。つまり、マツカワが産卵するためには雌雄のペアリングが不可欠なのです。最近、マツカワのDNAマーカー開発が進められ、親子判別ができるようになりました。自然産卵で得た受精卵を調べたところ、どうも特定のペアが連続的に交配しているようです（水産研究総合センター鈴木、私信）。マツカワは相手のえり好み厳しく、なおかつ、一度ペアになったら産卵期を通してともに過ごすのかもしれない。

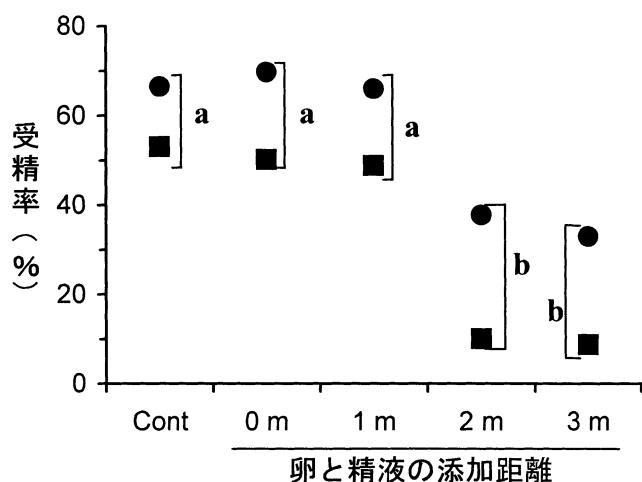


図11 搾出した卵および精液の水槽内滴下実験2卵、精液の滴下地点の距離と受精率の関係
試験1回目、試験2回目
異なるアルファベットは統計学的に有意な差があることを示す ($p < 0.05$)

おわりに

以上、種苗生産研究の成果から推測したマツカワ繁殖生態の一端を紹介しました。この仮説の通り、繁殖加入年齢と成長が強く関連するのであれば、餌料環境が優れた時期や場所に集中放流することによって放流魚の成長がよくなり、より早く産卵加入できる可能性があります。また、本結果を参考に産卵時期や場所を絞り込むことができれば、もっと効果的に産卵親魚を保護することがで

きるでしょう。繁殖生態に基づいて栽培技術を改良することが、将来の資源増大に結びつくかもしれません。

また、今回紹介したように、天然での生活史を探る研究ツールとして種苗生産技術を利用することは大変有益であり、今後多方面で活用されると思います。しかし、その場合、常に「得られたデータは“飼育”というガラスを通してみえた現象」であることを念頭に置く必要があります。生理的に理にかなった反応が、必ずしも実際の生態で主として発現するとは限りません。そのため、フィールド調査の結果や漁獲情報を確認めながら研究を進める姿勢が大事と思われます。

今、私が働いている栽培センター（鹿部町）は、今年度で30年余りの歴史に幕を閉じます。次年度からは飼育研究機能と調査研究機能をあわせもった栽培水産試験場（室蘭市）が始動します。2つの機能の相乗効果によって研究の幅が広がり、北海道の水産業にもっと貢献できるのではと考えています。

参考文献

- 佐々木正義、角田富男：日高及び胆振太平洋海域のマツカワの漁業実態と生態について。北水試だより。38, 7-12 (1997)
- 松田泰平：えりも以西太平洋海域におけるマツカワ放流技術開発の現状。平成13年度育てる漁業講演要旨集。25-32 (2000)
- 高谷義幸：北海道におけるマツカワ種苗放流研究。北海道立水産試験場技術資料No. 5. 43-49 (2005)
- 渡辺研一：北海道太平洋岸で漁獲されたマツカワの排卵状況から推定した産卵期。水産増殖。46, 589-590 (1998)

(かやば たかあき 栽培センター魚類部)

報文番号B2261)

十勝海域のさけ定置網で混獲されたマツカワの“頭”から得られた情報

佐々木正義・徳田 耕 貴

キーワード：マツカワ、頭部標本、全長組成、年齢、十勝海域

増えているマツカワ

十勝海域におけるマツカワの人工種苗放流は、管内の沿海4町（広尾、大樹、豊頃、浦幌）と3漁業協同組合（広尾、大樹、大津）で構成される十勝管内栽培漁業推進協議会によって、1992年から実施されています（図1）。

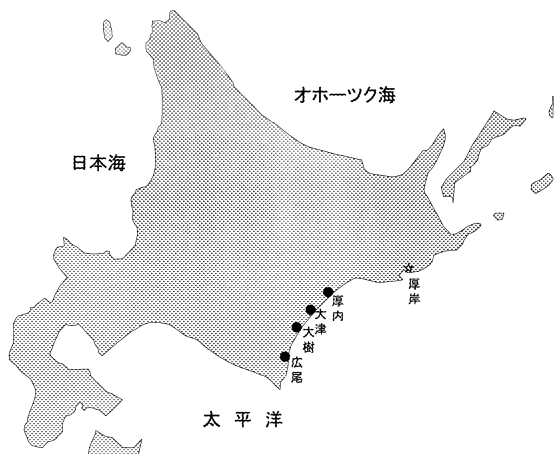


図1 十勝支庁管内の漁協の所在地（●）および厚岸群放流場所（○）
注）厚内は大津漁協厚内支所

放流を始めた1992年当初、マツカワの漁獲量はわずか1kgでしたが、1998年には100kgを超え、2003年は475kg、2004年は612kgにまで増えてきました（図2）。この漁獲量の増大は、マツカワ人工種苗の放流後に漁獲量が増大していることや近年の調査において、漁獲物のほぼ100%が放流魚であることから、人工種苗の放流効果によるものと推定されます。しかし、漁獲量の増大に、どれくらいの大きさの、何歳位のマツカワが貢献しているのか、ほとんど情報がありません。そこで、これらを明らかにする目的で調査を行いました。

標本の入手方法

マツカワの大きさや年齢を調べるためには、魚体を買上げ、大きさの測定は勿論のこと、解剖して頭部にある耳石（じせき）*1を取り出さなければなりません。しかし、2001年から本格的な調査を開始した釧路水試の予算は、20～30尾位のマツカワを購入できる程度のものでした。

そのため、お金をかけないで、漁獲物の大きさや年齢などの調査をできないかということを思案しました。そして、2002年から、大樹漁協と大津漁協厚内支所（以後厚内支所と記す）に調査への協力をお願いし、図3に示すような漁獲物の調査票に漁獲されたマツカワの大きさや漁場、単価などを記載していただくことにしました。

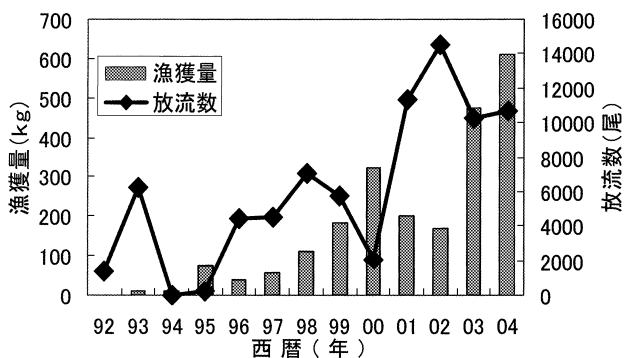


図2 十勝支庁における1992年以降のマツカワの人工種苗放流数と漁獲量

*1 耳石は頭部（内耳）にある石灰質の結晶。大きさ数mmのもので、透明体と不透明帯が交互に周期的に形成されることから、樹木と同様に輪紋が見えます。このため、通常年齢を把握するのに使用されます。

表2 マツカワ頭部標本入手数

| 漁協名/年 | 2002 | 2003 | 2004 |
|-------|------|------|------|
| 厚内* | 7 | 45 | 0 |
| 大津 | - | 33 | 10 |
| 大樹 | - | 0 | 6 |
| 広尾 | - | 23 | 52 |
| 合計 | 7 | 101 | 68 |

*大津漁協厚内支所
“-”は標本依頼せず

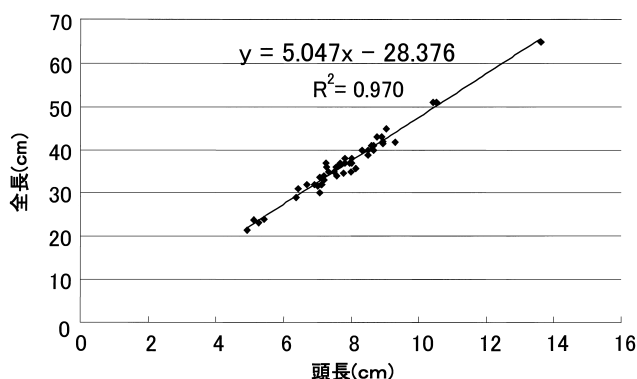


図4 頭部標本の頭長測定結果と調査票の全長記録から得られた頭長 - 全長関係
但し、大樹漁協で購入したマツカワ13尾分を含む

には 101 尾分、2004年には68尾分の頭部標本を入手することができました (表2)。

なお、これらの頭部標本のほとんどは、8月から11月にさけ定置網漁業者から提供されました。

頭部標本から全長の推定方法

2003年に集まった頭部標本のうち、漁獲物調査票に全長も記載されているものが34尾ありました。はじめに、これらの頭長 (図3) と、大樹漁協で魚体を買上げた13尾の頭長、全長を測定し、計47尾分の頭長 - 全長関係を調べたところ、直線の回帰式によく当てはまりました (図4)。そこで、全長の記載が無いその他の頭部標本についても、頭長を測定し、頭長 - 全長関係式を用いて、個々の全長を求めました。

頭部標本から推定した全長 - 年齢組成

図5に頭部標本から推定した全長組成を示しま

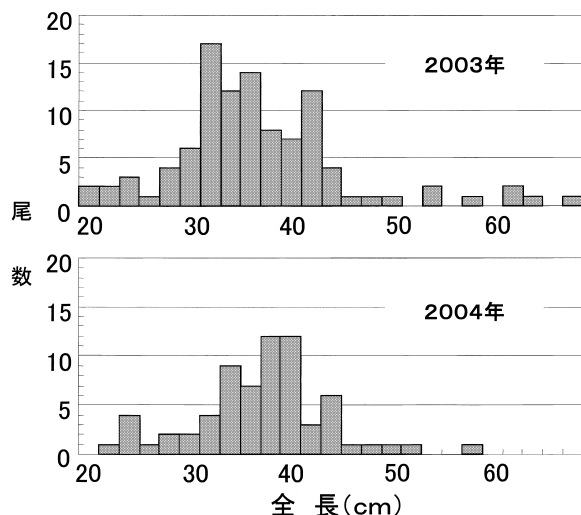


図5 頭長から求めた全長組成

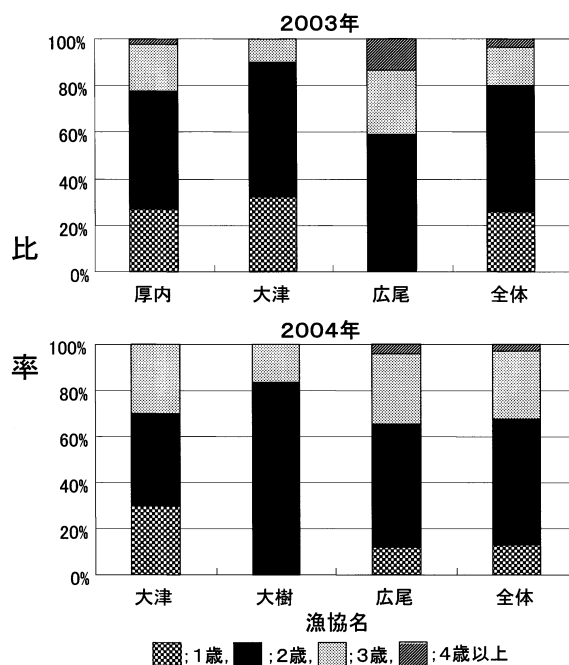


図6 頭部標本の耳石輪紋から推定された漁協別および全体の年齢組成

した。これによると、両年とも30~42cmまでの割合が高く、さらに2003年には60cmを超えるものが、4尾も含まれていました。

図6には耳石の輪紋計数から推定した年齢組成を示しました。漁協別に見ても、いずれの漁協とも1歳と2歳が全体の60~80%を、またこれに3歳を加えた割合が全体のおおよそ90%以上を占めていました。4歳以上*4の比率は2003年には約4%、2004年には約3%と極めて低くなっていました。

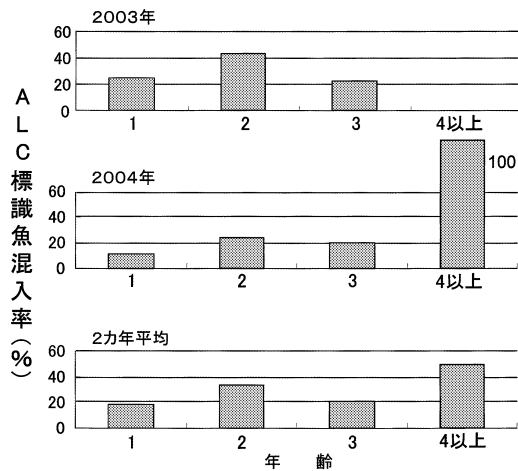


図7 ALC標識魚の年齢別混入率

厚岸放流群の混入率

図7に厚岸で放流されたマツカワであることを示すALC標識魚の各年齢における混入率を示しました。

混入率は標本数が少なかった4歳以上を除く1～3歳では、2003年には22～43%、2004年には11～24%、2カ年の平均では18%～34%でした。4歳以上では2003年には0%（4尾中0尾）、2004年には100%（2尾中2尾）でした。

頭部標本の解析から得られた情報

今回の調査から、秋季に十勝海域のさけ定置網で混獲されるマツカワは、2歳魚が最も多く、これに1歳魚と3歳魚を加えたものが大部分を占めていることがわかりました(図5、6)。また、この混獲マツカワの中に、厚岸で放流された人工種苗が含まれることも明らかになりました(図7)。

さらに、これまで、十勝海域で標識放流されたマツカワは、1歳の秋季に、ししゃも桁網によって最も多く再捕されており(佐々木、角田(2003)本誌60号)、頭部標本から得られた年齢組成の結果と異なっていました。この相違は、年齢による生息水深の違いや漁具の特性などによって生じた

と考えられます。このことは、マツカワ人工種苗を放流した場合、主に漁獲される年齢やサイズは放流海域の漁業実態によって異なる可能性があることを教えてくれます。

この様に、十勝管内の各漁協および十勝地区栽培漁業推進協議会の協力により得られたマツカワの頭部標本の解析から、秋季のさけ定置網による混獲マツカワの情報だけでなく、今後、マツカワの生態や放流効果の地域差などを検討する際の貴重な情報も得られました。

マツカワ栽培漁業の今後の問題点

ある漫画雑誌の連載中の作品でマツカワが取り上げられた際には、近縁種であるホシガレイや天然の寒ビラメに匹敵する美味なカレイとしてマツカワが紹介されています。しかし、外観がそっくりなホシガレイの単価は築地(東京)で10,000円/kg以上となっているのに対して、マツカワの単価は多くの地域で1,000～2,000円/kgくらいではありません。

このようなマツカワとホシガレイの単価の違いは、全国的な知名度の差が大きな要因となっているようです。マツカワの漁獲量は近年増えているものの、“幻のカレイ”と言われて久しく、水揚げされても大部分が現地で消費されているため、全国的にはもちろんのこと、道内ですら知名度はあまり高くありません。

また、2006年から予定どおり、北海道えりも以西海域で100万尾のマツカワが放流されれば、本誌67号で紹介されているように、漁獲量の増加に伴う価格の低下も懸念されます。

そのため、今後、価格の維持・上昇を図るためには、できるだけ多くのマツカワを地元だけでなく、札幌や東京などの大消費地にも流通させるこ

*4 4輪以上になると、計数は非常に困難だったので、ここでは4輪以上みられるものはすべて4歳以上としました。

とが必要です。

ただ、もしそうになると、我々が調査のためにマツカワを入手することは、ますます難しくなってしまうかもしれません。

全道に広げよう、マツカワの輪！

最近、ヒラメでは1枚の鱗、鱠（ひれ）の先端、焼き魚や干物からでも放流場所を特定できる手法（DNA分析）が開発されています。マツカワでも近い将来このような分析手法が確立すれば、食材として扱う業者（割烹、料亭、寿司屋や居酒屋等）や各地の栽培漁業推進協議会の協力を頂いて、十勝管内で実施した漁獲物調査票や頭部標本の収集を全道規模で展開して、貴重で高価なマツカワを購入しなくても、各地の年齢別漁獲尾数だけでなく、水域別の放流効果なども明らかできるように

なるかも知れません。

全道に先駆けて十勝管内で実施したこれらの調査（調査票、頭部標本）は、2006年からスタートするマツカワの大規模種苗放流の資源増大効果を解析する際にも、極めて有効なツールとなることを確信しています。

マツカワの放流に直接関わる各地協議会（市町村・漁協）や道、国の試験研究機関、行政はもちろんのこと、マツカワ資源を利用する受益者、消費者の方々の理解と協力に基づいた地道な放流効果調査の積み重ねこそ、マツカワの栽培漁業を成功させる近道と考えています。

広げましょう、マツカワの輪を！

（ささき まさよし 釧路水試資源増殖部、

とくだ こうき 釧路地区水産技術普及指導所

報文番号B2262)

各水試発トピックス

「中央水試一般公開～魚に触れよう」

平成17年7月26日（火）に中央水試の一般公開を開催しました。

一般公開は、例年この時期に開催しており、今年は好天に恵まれたこともあり、442人も参加者がありました。

今年は、水試で行っている試験・研究についての紹介に加えて、ペットボトルを利用した浮沈子作りや海藻を使った絵はがき創りなどの体験コーナーも実施しました。

また、魚に親しむことを目的としたタッチプールやカニ釣りなどのコーナーも大盛況でした。

毎年、好評のサキイカの試作実演や地曳き網も行列が出来るほどの人気でした。

この日は、朝から気温も上がり、子供達はプールの水の心地よい冷たさに歓声を上げ、魚や貝などと触れあいながら、楽しく遊んでいました。

ほとんどの小学校が夏休みに入ったため、遠くは小樽の手宮小など町内外からたくさんの小学生が集まり、普段は静かな試験場内に一日中、子供達の笑声が響いていました。



カニ釣りコーナーのようす

（中央水試企画情報室 新井雅博）

リポフスチンを用いた年齢査定

栞 田 稔

キーワード：リポフスチン、年齢査定、成長、甲殻類、嗅葉

はじめに

魚類では耳石や鱗、貝では貝殻といった硬組織に木の年輪のようなものが現れ、これを用いて年齢査定を行っています。このように年齢を数えることができるものを年齢形質といい、多くは硬組織が用いられます。

ところが、エビ・カニなどの甲殻類は脱皮を繰り返して成長します。従って、硬組織（外骨格）の部分を脱ぎ捨ててしまうため、年齢形質を持っておらず、年齢査定が行えません。

そこで甲殻類では甲長（甲羅の長さ）などのサイズを基準として年齢を推定しているのが現状です。しかし、高齢になるとあまり成長しなくなるためにサイズだけからでは精度の高い年齢推定が困難になるという問題をかかえています。

近年、生物の特定の部分に蓄積するリポフスチンという物質の量を基準として、甲殻類の年齢推定を行う試みがなされてきています。ここでは、このリポフスチンを用いた年齢査定の紹介と噴火湾のトヤマエビに適用した予備実験の結果について報告します。

リポフスチンとは？

リポフスチンとは、一言で言えば、老化物質（色素）の一種です。

生物の細胞には不要となったタンパク質を分解する機能があります。年齢に伴って、この機能が低下し、不要となったタンパク質が正常に消化・

分解されなくなります。一方、細胞を覆う細胞膜は、活性酸素と反応し、酸化されてしまうことがあります。この未消化・未分解のタンパク質に酸化された細胞膜が結合してリポフスチンが生成します。これは一度生成されると、溶け出すことはほとんどなく細胞中に蓄積されるので、年齢に伴い蓄積量が増えていくことになります。

リポフスチンの計測

リポフスチンは全ての細胞で同程度に生成・蓄積されるわけではありません。飼育実験や野外調査から、リポフスチンは、使用頻度が高く、盛ん

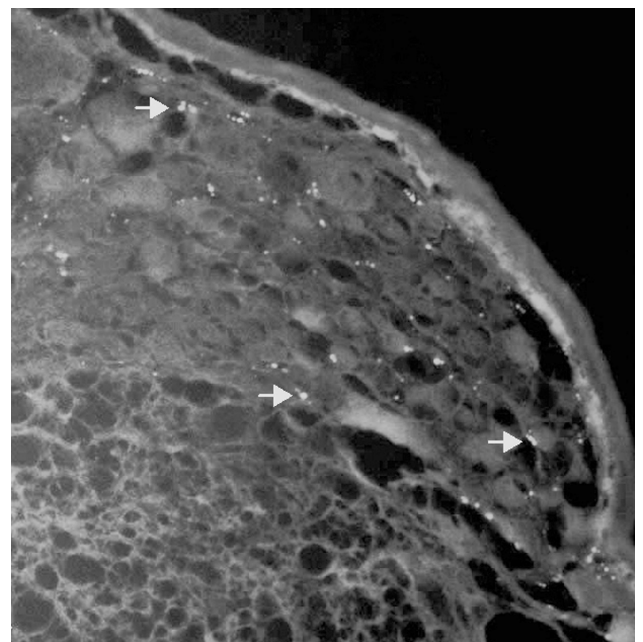


写真1 シャコの脳内神経細胞に蓄積するリポフスチン（矢印はリポフスチンの例）（児玉圭太氏提供）

に細胞分裂をくりかえしている細胞に、一定の割合で蓄積していくと考えられています。多く蓄積される部位は、種によって異なります。ヨーロッパのスターでは眼の神経、ナンキョクオキアミやシャコでは脳内の一部ですが、オーストラリア産ザリガニを始めとする多くの甲殻類では、脳内の嗅葉きゅうようと呼ばれる匂いにかかわる領域に多く蓄積しています。これは、夜間に活動し、暗闇で匂いを頼りに餌を探し回るため、嗅葉の使用頻度が高まるためと思われます。

リポフスチンの量は、脳などの薄片標本を作製し、その断面上でのリポフスチンの部分の面積比を求めることで、蓄積量（の指標）とします。薄

片の厚さは、6 μ m (6/1000mm) くらいで、顕微鏡で観察します。リポフスチンは紫外線を照射すると、黄色の蛍光を発することから他の部分との識別は容易に行うことができます（写真1）。この定量方法はかなりの時間を要し、作業も困難ですが、正確な測定値を得ることができます。

これまでにリポフスチンが確認された甲殻類を表1にまとめてみました。

表1 リポフスチンの存在が確認された甲殻類（資料：Sheehy(1990)より一部改変）

| 目 | 科 | 種 | | |
|-------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------|---------|
| Stomatopoda | Squillidae | <i>Squilla laevis</i> | シャコの仲間 | |
| | | <i>Oratosquilla stephensoni</i> | " | |
| | Odontodactylidae | <i>Odontodactylus cultrifer</i> | " | |
| Amphipoda | Talitridae | <i>Talitrus</i> sp. | ハマトビムシ | |
| Decapoda | Penaeidae | <i>Penaeus esculentus</i> | クルマエビの仲間 | |
| | | Alpheidae | <i>Alpheus stephensoni</i> | テッポウエビ |
| | | Parastacidae | <i>Cherax cuspidatus</i> | 淡水産ザリガニ |
| | <i>Cherax quadricarinatus</i> | | " | |
| | <i>Cherax depressus</i> | | " | |
| | Callianassidae | <i>Callianassa australiensis</i> | スナモグリの仲間 | |
| | Palinuridae | <i>Jasus novaehollandiae</i> | イセエビ科 | |
| | Scyllaridae | <i>Scyllarus demani</i> | ヒメセミアエビ | |
| | | <i>Thenus orientalis</i> | セミアエビ科 | |
| | Diogenidae | <i>Clibanarius</i> sp. | ヤドカリの仲間 | |
| | Coenobitidae | <i>Birgus latro</i> | ヤシガニ | |
| | Porcellanidae | <i>Petrolisthes lamarcki</i> | カニダマシの仲間 | |
| | Raninidae | <i>Ranina ranina</i> | アサヒガニ科 | |
| | Dorippidae | <i>Neodorippe</i> spp. | ヘイケガニの仲間 | |
| | Calappidae | <i>Calappa hepatica</i> | カラッパの仲間 | |
| Majidae | <i>Phalangipus australiensis</i> | クモガニ科 | | |
| Portunidae | <i>Portunus pelagicus</i> | ガザミの仲間 | | |
| | <i>Scylla serrata</i> | ノコギリガザミ | | |
| Mictyridae | <i>Mictyris longicarpus</i> | ミナミコメツキガニ | | |

東京湾のシャコへの適用例

リポフスチン研究の適用例として、東京湾のシャコについての研究²⁾を紹介します。

東京湾のシャコの体長組成を図1に示します。雌雄ともモードが1つの単峰型であり、体長組成だけからは、一見すると単一の年齢(年級)群に見えます。複数の年齢群が想定される場合、その正確な年齢推定は困難となってしまいます。

これを、リポフスチンの量からみたのが図2です。この図では、明瞭に4つのモードが認められ、それぞれが年齢に対応すると考えられています。

東京湾のシャコは従来の体長を基準とした年齢査定では、漁獲可能サイズ(体長11cm)に成長するまでに2年かかると考えられていました。しかしリポフスチンによる年齢査定から、漁獲可能サイズでは3歳以上の占める割合が高いことがわかりました。また漁獲可能サイズに満たない個体にも3歳以上のものが存在することもわかりました。

噴火湾のトヤマエビでの予備実験結果

次に、噴火湾のトヤマエビへの適用を試みた結果について報告します。

本種も他の甲殻類同様に、甲長を基準とした年齢推定を行っています(表2)。今回は本種でリポフスチンが検出できるか、およびどの程度蓄積されるかを目的とした予備実験のため、リポフスチンが年齢とともに蓄積されることを考慮し、年齢が3~5歳と推定される甲長35~48mmの大型の個体を用いました(表3)。

リポフスチン観察に使用したのは、トヤマエビの脳全体ですが、一般の甲殻類で最も多く蓄積するとされる脳の嗅葉部分を重点的に観察しました。トヤマエビの脳は眼と眼の間に位置し

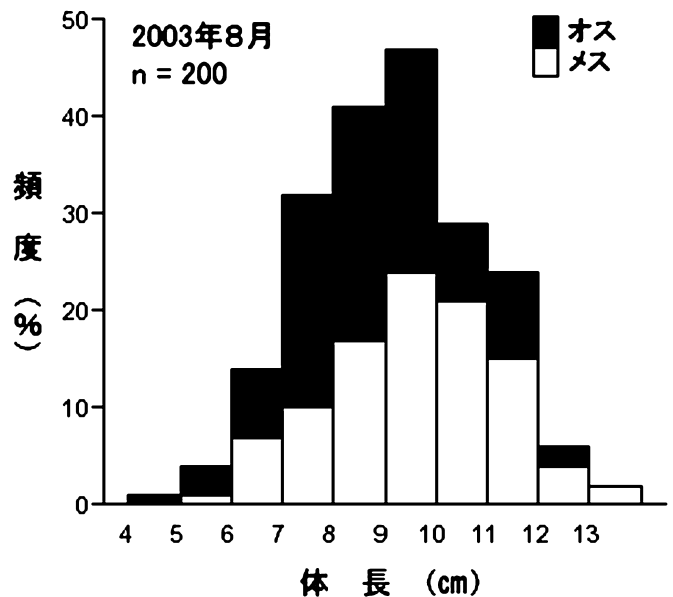


図1 2003年8月に採集したシャコの体長頻度分布 (資料: Kodama (2005)より一部改変)

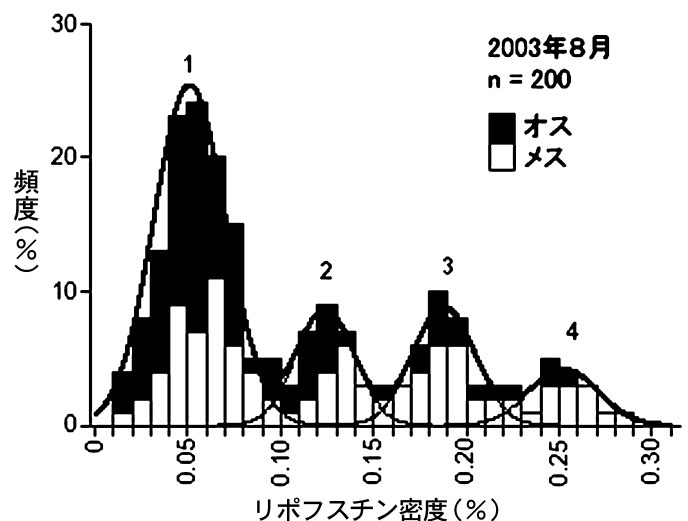


図2 リポフスチン密度階級別の個体数頻度分布 (資料: Kodama (2005)より一部改変)

表2 噴火湾のトヤマエビの年齢 - 甲長関係

| 年齢 | 甲長(mm) | 備考 |
|----|--------|----------------|
| 1歳 | 20~25 | 過去の成長記録データから算出 |
| 2歳 | 26~30 | |
| 3歳 | 31~35 | |
| 4歳 | 36~40 | |
| 5歳 | 41~ | |

表3 蛍光顕微鏡観察に用いた個体の生物情報

| 甲長(mm) | 体重(g) | 漁獲日時 | 性別 | 推定年齢 | リポフスチンの有無 |
|--------|-------|-----------|----|------|-----------|
| 47.54 | 59.0 | 2004/9/6 | メス | 5 | × |
| 39.16 | 51.5 | 2004/9/6 | " | 4 | × |
| 39.05 | 49.5 | 2004/10/4 | " | 4 | |
| 37.64 | 44.0 | 2004/9/6 | " | 4 | × |
| 35.84 | 36.5 | 2004/9/6 | " | 4 | × |
| 35.70 | 35.8 | 2004/9/6 | " | 4 | × |
| 34.61 | 36.0 | 2004/9/6 | " | 3 | × |

推定年齢は甲長を基準とした

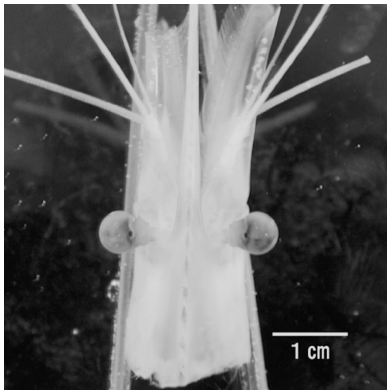


写真2 トヤマエビの頭部写真

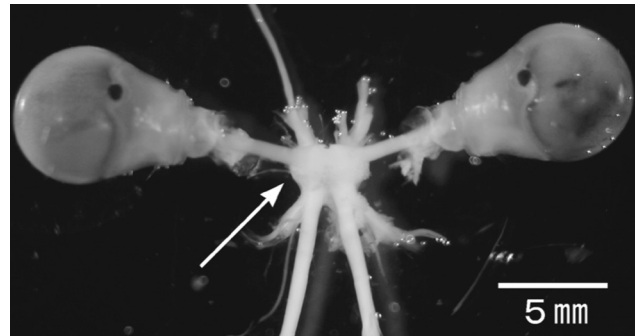


写真4 トヤマエビの脳写真(矢印は嗅葉を示す)

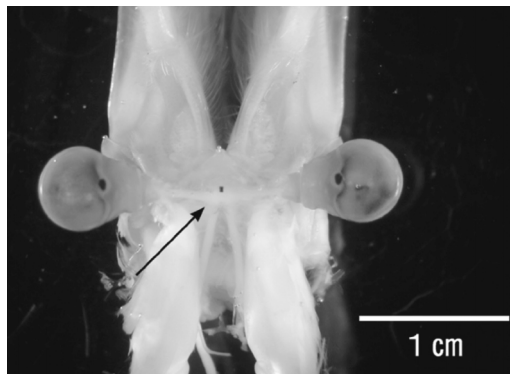


写真3 トヤマエビの頭部写真(頭胸甲除去後)
(矢印は脳を示す)

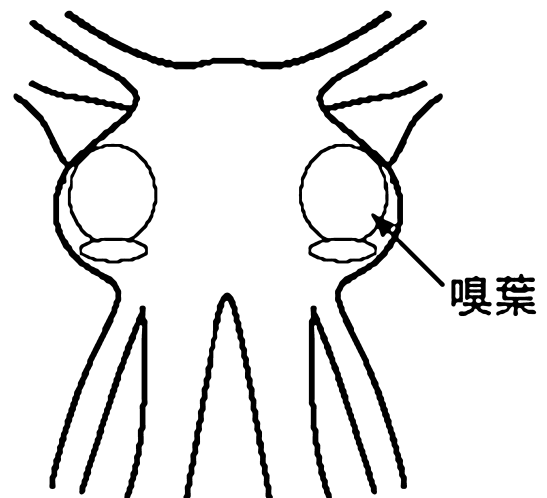


図3 トヤマエビの脳の模式図

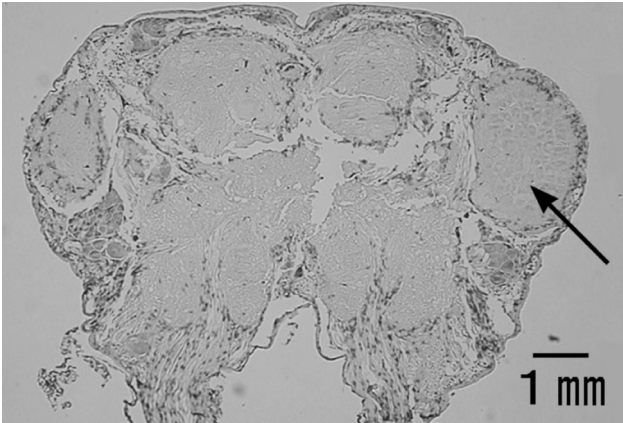


写真5 トヤマエビの脳切片写真(矢印は嗅葉を示す)

ています(写真2~4)。頭胸甲(甲羅)などを全て除去したのが写真4です。嗅葉は脳の左右に1個ずつあります(図3)。この脳を体軸に対して水平方向に薄く切り、観察用の組織切片を作成しました(写真5)。

写真6に紫外線を照射してリポフスチンを発光させた状態を示しました。リポフスチンと思われる物質が蓄積しているのが認められますが、同じ倍率で撮影したシャコ(写真7)と比較して、蓄積量が少なく、光り方も弱いことがわかります。さらに、リポフスチンが確認できたのは実験に用いた7個体中1個体だけでした(表3)。意外なことに、最も大きい甲長48mmの個体(サイズによる推定年齢は5歳)ではリポフスチンは確認できませんでした。

噴火湾のトヤマエビの脳でリポフスチンが検出できなかった原因について、①脳内にリポフスチンは蓄積しているが、蓄積量が少ない、②脳以外の部分(眼の神経など)に蓄積していることが考えられます。このうち①について、材料の加工方法(試薬、切り方)を変えることで検出が可能になるという報告があります。今回トヤマエビで用いた手法は、脳をパラフィンというロウで固めて、ロウと一緒に脳を薄く切る方法です。しかしながらこの方法では、パラフィンが軟らかいために、

薄切時にリポフスチンが押しつぶされて、観察しづらくなるという問題があります。蓄積量が少ない場合は、ますます検出が困難になってしまいます。このためクルマエビでは、パラフィンの代わ

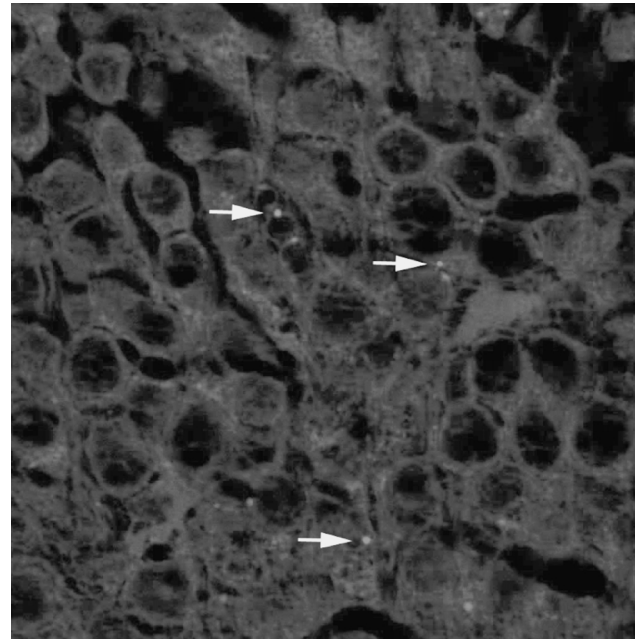


写真6 トヤマエビの脳内神経細胞に蓄積するリポフスチン(矢印はリポフスチンの例)

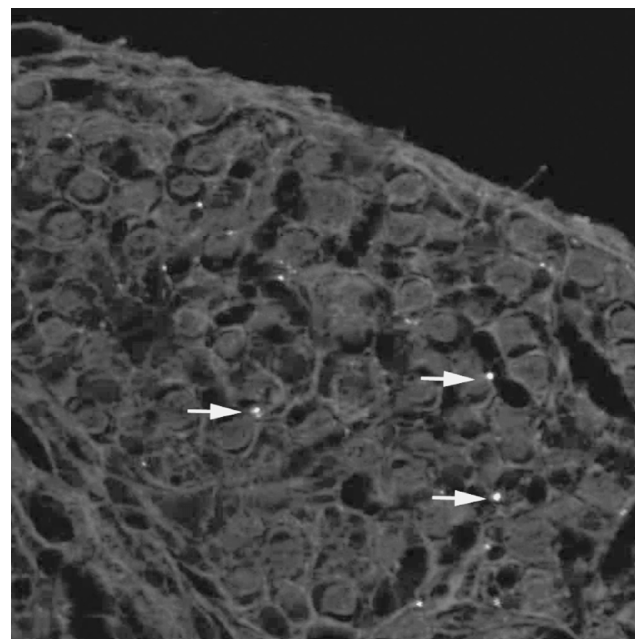


写真7 東京湾シャコの脳内神経細胞に蓄積するリポフスチン(矢印はリポフスチンの例)
(児玉圭太氏提供)

りに、より硬い樹脂を用いて切片を作成する方法がとられています。樹脂切片であれば、リポフスチンの原型を留めたまま薄切することができ、検出が可能になることが報告されています。②については、今回の予備実験では脳以外の部分を観察していないため、現段階では言及できません。これらについては、今後結果が分かり次第報告したいと考えています。

おわりに

年齢は、その生物の生態的特性（成長）を知るだけでなく、資源評価や予測を行う上で、必要不可欠の要素です。しかし、甲殻類や一部の魚類など、漁業において重要な魚種の中にも年齢査定が困難で、正確な資源評価を行うことができないものもあります。

従って、魚種によっては、リポフスチンを用いた年齢査定方法が有効な手段になりうることも十分考えられます。種によってリポフスチンの蓄積部位、蓄積量が異なるために、年齢査定への有効性に違いがみられますが、年齢査定が困難である魚種へ本方法を適用することは意義あるものと考えています。

最後に、リポフスチンに関し、多くのご指導・ご教授を頂いた国立環境研究所の児玉圭太博士に深く感謝します。

【参考文献】

Sheehy M.R.J. : The widespread occurrence of fluorescent morphological lipofuscin in the crustacean brain. *J. Crust. Biol.* 10, 613-622 (1990)

Kodama K, Yamakawa T, Shimizu T and Aoki I. : Age estimation of the wild population of Japanese mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* (Crustacea : Stomatopoda) in Tokyo Bay, Japan, using lipofuscin as an age marker. *FISHERIES SCIENCE*. 71, 141-150 (2005)

(くわだ みのる 函館水試資源管理部

報文番号 B 2263)