

北海道水産試験場研究報告

第 98 号

SCIENTIFIC REPORTS OF HOKKAIDO FISHERIES RESEARCH INSTITUTES No. 98

北海道立総合研究機構水産研究本部

北海道余市町

2020年9月

Hokkaido Research Organization
Fisheries Research Department

Yoichi, Hokkaido, Japan

September, 2020

北海道立総合研究機構水産研究本部は次の機関をもって構成されており、北海道水産試験場研究報告は、これらの機関における研究業績を登載したものです。

Fisheries Research Department of the Hokkaido Research Organization will now comprise the following seven local Fisheries Research Institutes. The study achievements of these institutes will be published in the “Scientific reports of Hokkaido Fisheries Research Institutes”.

**地方独立行政法人
北海道立総合研究機構
水産研究本部**

(Local Independent Administrative Agency
Hokkaido Research Organization
Fisheries Research Department)

中央水産試験場 (Central Fisheries Research Institute)	046-8555 余市郡余市町浜中町238 (Hamanaka-cho, Yoichi, Hokkaido 046-8555, Japan)
函館水産試験場 (Hakodate Fisheries Research Institute)	040-0051 函館市弁天町20-5 函館市国際水産・海洋総合研究センター内 (Benten-cho, Hakodate, Hokkaido 040-0051, Japan)
釧路水産試験場 (Kushiro Fisheries Research Institute)	085-0027 釧路市仲浜町4-25 (Nakahama-cho, Kushiro, Hokkaido 085-0027, Japan)
網走水産試験場 (Abashiri Fisheries Research Institute)	099-3119 網走市鱒浦1-1-1 (Masuura, Abashiri, Hokkaido 099-3119, Japan)
稚内水産試験場 (Wakkanai Fisheries Research Institute)	097-0001 稚内市末広4-5-15 (Suehiro, Wakkanai, Hokkaido 097-0001, Japan)
栽培水産試験場 (Mariculture Fisheries Research Institute)	051-0013 室蘭市舟見町1-156-3 (Funami-cho, Muroran, Hokkaido 051-0013, Japan)
さけます・内水面水産試験場 (Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute)	061-1433 恵庭市北柏木町3-373 (Kitakashiwagi-cho, Eniwa, Hokkaido 061-1433, Japan)

北海道水産試験場研究報告

第98号

目 次

虎尾 充，宮本真人，小林美樹

逃避行動を利用したサケ稚魚遊泳速度の簡易測定法 1

春日井 潔，實吉隼人，佐々木義隆

根室地方の植別川におけるカラフトマスの遡上・産卵時期，および遡上数の年変動 11

越野陽介，神力義仁，青山智哉，竹内勝巳，實吉隼人，宮腰靖之

北海道南西部知内川におけるサケ稚魚の放流後の降海移動 19

高谷義幸

リアルタイムPCRを用いたコンブ遊走子定量法の改良（技術報告） 25

（2020年9月）

SCIENTIFIC REPORTS
OF
HOKKAIDO FISHERIES RESEARCH INSTITUTES

No.98
CONTENTS

MITSURU TORAO, MAHITO MIYAMOTO and MIKI KOBAYASHI

A simple method for measuring the swimming speed of salmon fry using escape behavior 1

KIYOSHI KASUGAI, HAYATO SANEYOSHI and YOSHITAKA SASAKI

Periods of upriver migration and spawning, and annual change in upriver migration of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* in the Uebetsu River, a non-hatchery-operations river, in the Nemuro area of eastern Hokkaido, Japan 11

YOSUKE KOSHINO, YOSHIHITO SHINRIKI, TOMOYA AOYAMA, KATSUMI TAKEUCHI, HAYATO SANEYOSHI and YASUYUKI MIYAKOSHI

Residence time of stocked chum salmon fry in the Shiriuchi River, in southwestern Hokkaido 19

YOSHIYUKI TAKAYA

An improved method of real-time PCR assay for zoospores of *Saccharina japonica* var. *religiosa*.
(Technical report) 25

(September, 2020)

逃避行動を利用したサケ稚魚遊泳速度の簡易測定法

虎尾 充^{*1}, 宮本真人¹, 小林美樹²

¹北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場,

²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

A simple method for measuring the swimming speed of salmon fry using escape behavior

MITSURU TORAO^{*1}, MAHITO MIYAMOTO¹ and MIKI KOBAYASHI²

¹ Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Eniwa, Hokkaido 061-1433*,

² Donan Research Branch, Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Yakumo, Hokkaido 043-0402, Japan*

We attempted to establish a simple swimming speed measurement method (escape measurement method) for chum salmon fry by video recording escape behavior and analyzing it. Fry were placed in a circular test tank, and sound stimuli were provided twice at 10-second intervals to induce escape behavior. A video recording of the swimming behavior was taken with a digital camera, from which the burst speed and cruise speed were measured by video analysis using free software. The measured burst speed ranged from 70 cm/s to 110 cm/s (18-22 fork length/second, FL /s), and the cruising speed was 10-22 cm/s (2-4 FL/s). A strong positive correlation was found between swimming speed measured by the escape measurement method and the stamina tunnel method, suggesting that the escape measurement method is a valid measure of the swimming speed of salmon fry. The apparatus used in this measurement method is very simple, and it is expected to be applied to various investigations in the future.

キーワード：映像解析，サケ稚魚，種苗性，巡航速度，逃避行動，突進速度

サケ *Oncorhynchus keta* は、北太平洋において最も重要な漁業対象種の1つであり、北日本においても主に沿岸の定置網や河川捕獲によって漁獲される重要な水産資源である。日本における主産地のひとつである北海道では、サケ資源の多くが孵化放流事業によって維持されていると考えられている（小林，2009；Nagata *et al.*, 2012; Miyakoshi *et al.*, 2013; Kitada, 2014）。サケの沿岸漁獲量は1970年代から2000年代前半に大幅に増大しており、これは北太平洋の海洋環境がサケにとって好適であったことに加えて（Beamish and Bouillon, 1993），種苗生産技術の向上や適期放流による生残率の向上など孵化放流事業の成果であると考えられている（Kaeriyama, 1998；小林，2009；関，2013）。しかし最近，北海道では放流数に大き

く変化はないにもかかわらず，サケ来遊資源は減少傾向にあり（Miyakoshi *et al.*, 2013），資源変動要因の解明と早急な対策が求められている。

サケの孵化放流魚の生残率を高めるためには，健康な稚魚が環境が良好な時期に放流する「健苗育成・適期放流」が重要であり（関，2013），変化しつつある海洋環境に対応して，放流されるサケ稚魚の質（種苗性）を評価し飼育技術を再検証することは，資源回復と安定化に向けた対策の1つと考えられる。これまでサケ稚魚では，生化学的指標や海水適応能など様々な指標によって種苗性が評価され（中野・白旗，1988；関，2013），遊泳速度もサケ放流種苗の状態を反映する指標の1つとして用いられている（例えば，Mizuno *et al.*, 2008; Misaka *et al.*, 2014）。

一般に海産魚類の新規加入量は初期減耗率によって決定され、その主要因は被食と考えられている (Bailey and Houde, 1989)。多くの魚種では捕食者に対する武器を持たないので、遊泳能力は捕食者の攻撃を避け生き残るための主要な要素である (Plaut, 2001)。放流されたサケ稚魚でも、河川内での他の魚類による捕食 (久保, 1946; 正田ら, 1959; Fresh and Schroder, 1987; 鷹見・長澤, 1996) や、降海後の沿岸域では海鳥や魚類による捕食が確認されている (Scheel and Hough, 1997; 鷹見・青山, 1997; Nagasawa, 1998; Sturdevant *et al.*, 2009; 宮腰ら, 2013)。そのため、サケ放流種苗の被食回避特性としての遊泳速度の把握は重要と考えられる。

魚類の遊泳速度の定義は様々であるが、大きく分けて3つのカテゴリーに大別される (Beamish, 1978)。すなわち、無気呼吸によって20秒以内に泳げる最大速度である突進速度 (burst speed)、20秒から200分間遊泳可能で最後は疲労する長時間遊泳速度 (prolonged swimming speed)、疲労することなく200分以上泳げる持続遊泳速度 (sustained swimming speed) である。魚類の遊泳能力測定では臨界遊泳速度 (critical swimming speed: Brett, 1964) が最も一般的だが (Plaut, 2001)、その他にも1~数秒間持続する最大遊泳速度と定義される突進速度 (Blaxter, 1969) や長時間遊泳速度のうち測定時間を60分とした最大遊泳速度 (巡航速度, cruising speed: Brett, 1964) が測定されることも多い。遊泳速度の測定には様々な装置や手法が考案されており (Tsukamoto *et al.*, 1975; Beamish, 1978; 塚本, 1991)、種苗性評価指標としてのサケ稚魚の遊泳速度測定では、走流性を利用したウォータートンネル (小林・大熊, 1983; 大熊ら, 1998: 以下、スタミナトンネル法) が多く用いられてきた。スタミナトンネル法は種苗生産現場でのサケ稚魚の突進速度の測定を目的に開発され、簡便で種苗性の評価に関して精度の高い方法と考えられるが、専用の実験装置や多量の実験用水が必要なため使用場所が制限される。一方、Masuda *et al.* (2002) はマサバ仔魚を入れたピーカーにおもりをぶつけて音刺激を与えて逃避行動を誘起し、撮影した映像の解析によって突進速度と巡航速度を測定した。また、同様の方法でマアジ仔稚魚の被食回避能力や魚種間での遊泳力を比較し議論している (Masuda, 2006)。Masudaら (2002) の方法は非常に簡便であり、特殊な実験装置は必要とせず実験場所の制限も少ない。同様の方法をサケ稚魚の遊泳速度の測定に用いることが出来れば、種苗生産現場や野外調査においても遊泳力測定が可能となり、応用範囲の拡大が期待される。

本研究では、サケ稚魚の逃避行動の撮影と映像解析による遊泳速度測定法 (以下、逃避測定法) の確立を試み

た。また、逃避測定法とサケ稚魚で一般的に用いられるスタミナトンネル法で測定した突進速度および巡航速度を比較し、サケ稚魚遊泳速度測定法としての逃避測定法の有効性を検証した。

材料と方法

供試魚 2012年12月に (一社) 根室管内さけ・ます増殖事業協会の標津川採卵場で採卵されたサケ授精卵を北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場道東支場の立体式孵化器に収容し、浮上まで管理した。2013年4月1日に浮上したサケ稚魚を、アトキンス式孵化水槽 (長さ3.26m×幅0.33m×水深0.21m) に収容し市販のサケ稚魚用配合餌料 (EXます1号および2号, 日本農産) で給餌飼育を開始した。給餌は飽食量 (給餌率約3%) を与えた。飼育用水には曝気した地下水 (水温約9.5℃) をかけ流しで使用した。

遊泳速度の測定方法 遊泳速度は、2013年4月2日 (浮上後1日目)、4月9日 (浮上後8日目)、4月16日 (浮上後15日目)、4月23日 (浮上後22日目)、4月30日 (浮上後29日目)、5月10日 (浮上後39日目)、5月15日 (浮上後44日目)、5月22日 (浮上後51日目) の計8回、無作為に抽出した12個体について、飼育室内に設置した装置を用いて、逃避測定法とスタミナトンネル法で測定した。

逃避測定法による遊泳速度測定

1. 撮影方法 逃避測定法に用いた遊泳速度測定装置の模式図をFig.1に示した。実験水槽として、市販の不透明なポリエチレン製たらい (トンボたらい56型, 新輝合成株式会社製) を用いた。実験水槽上方にカメラ用三脚を設置しデジタルカメラ (PENTAX Optio WG-1 GPS,

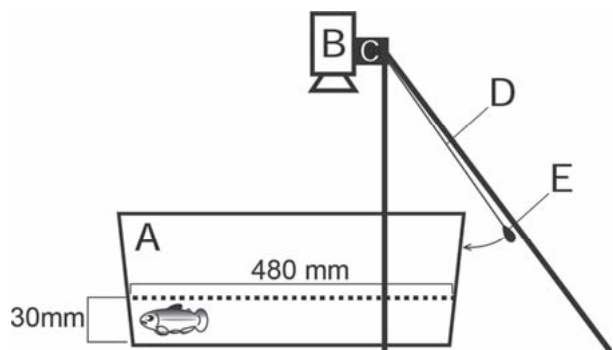


Fig.1 Schematic illustration of the measuring apparatus for burst and cruise speeds with the escape measurement method: A, polyethylene basin; B, digital camera; C, tripod; D, nylon line (750 mm long); E, sinker (20 g weight).

HOYA 株式会社製) を取り付け付けた。デジタルカメラは水準器を用いて水平になるように設置した。また、実験水槽全体が映るようにデジタルカメラのズーム機能で画角を調整した。稚魚の逃避行動を誘起する音刺激を与えるため、三脚から長さ 75 cm の糸で釣り用のおもり (20 g) を吊り下げ、おもりが実験水槽の外壁面に当たるように調整した。これらの機材を設置した後、実験水槽に飼育水槽と同じ飼育用水を注入した。供試魚の鉛直方向の逃避行動を制限するため、実験水槽の水深は稚魚の体高の 3~5 倍程度に相当する 3 cm とした。実験水槽の水深 3 cm 高における観察水面の直径は 48 cm であった。撮影者の動作が供試魚の行動に影響を与える危険を避けるため、撮影操作はデジタルカメラのワイヤレスリモートコントローラー (PENTAX O-RC1, HOYA 株式会社製) で行った。三脚に取り付けたデジタルカメラで動画撮影 (avi 形式, 640 メガピクセル, 30 フレーム/秒) を開始したのち、飼育魚用の柄付きネットを用いて飼育水槽から実験水槽にサケ稚魚を移動した。実験水槽へ稚魚を収容してから 10 秒後に、三脚から吊り下げたおもりを実験水槽外壁面から 50 cm の距離から振り子のように外壁面にぶつけて音刺激を発生させた。同様に、1 回目の音刺激から 10 秒後に 2 回目の音刺激を与えた。2 回目の音刺激から 10 秒後 (稚魚投入 30 秒後) に撮影を終了した。撮影終了後、サケ稚魚は麻酔し尾叉長と体重を測定した。

2. 映像の解析 実験水槽へのサケ稚魚の収容直後と 2 回の音刺激に対する逃避行動を撮影した映像から、突進速度と巡航速度を解析した。本測定法では、突進速度を収容直後からの 10 秒間に測定された最大の遊泳速度と定義した。また、疲労によって遊泳力が低下する 2 回目の音刺激後 (稚魚収容後 20 秒経過後) の 10 秒間の平均遊泳速度 (cm/s) を巡航速度と定義した。

映像解析には、映像の座標位置から距離を測定し移動速度を計算する Windows 用のフリーソフトウェア「運動くん for Windows 2.0」 (<http://www.vector.co.jp/download/file/win95/edu/fh537268.html>, 2020 年 3 月 31 日) を使用した。本ソフトウェアを用いて撮影した動画を読み込み、映像画面上の供試魚の吻端部分をクリックすることで座標を記録した。測定間隔は 3 フレーム (約 0.1 秒) ごととし、得られた座標間の距離から速度を算出した。

スタミナトンネル法による遊泳速度の測定 逃避測定法で測定された突進速度と巡航速度の有効性を検証するため、サケ稚魚の遊泳速度の測定に用いられることの多いスタミナトンネル法 (小林・大熊, 1983) によって突進速度と巡航速度を測定した。Fig.2 にスタミナトンネル法に用いた装置の模式図を示した。

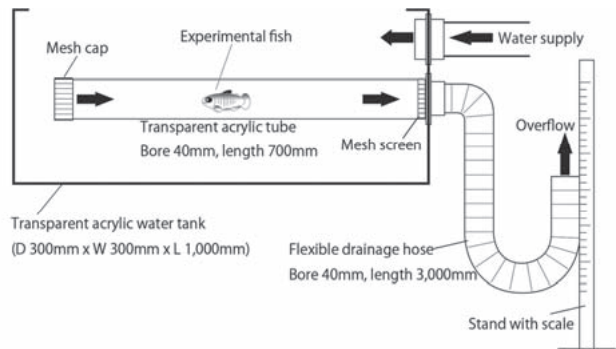


Fig.2 Schematic illustration of the water tunnel apparatus for measurement burst and cruise speeds of chum salmon fry.

突進速度は、供試魚を飼育水槽から透明なアクリル製の測定管 (内径 40 mm, 長さ 700 mm) に入れ流速 2 cm/s で 5 分間馴致させた後、測定した。馴致後に排水口の排水口を毎秒約 1 cm ずつ下げて水をオーバーフローさせることで測定管内に流速を生じさせ、稚魚が測定管後方のメッシュスクリーンに接触し遊泳不能となった時点での落差から流速を求め、突進速度とした。

スタミナトンネル法による巡航速度は、任意の流速におけるサケ稚魚の遊泳可能時間を示す遊泳曲線を作成して求めた。供試魚を測定管内に収容し流速 2 cm/s で 5 分間馴致させた後、2.8~83.0 cm/s の間の任意の 7 段階の流速で遊泳させ、各流速段階での遊泳可能時間 (秒) を測定した。測定は各流速段階で 3 個体ずつ行った。得られた流速と遊泳時間から関係式 (遊泳曲線) を求め、3,600 秒 (60 分) 間の遊泳が可能な流速を算出して巡航速度とした。遊泳速度の測定後にサケ稚魚を麻酔し、尾叉長と体重を測定した。

遊泳速度は毎秒あたりの遊泳距離 (cm/s) およびこれを尾叉長で除した対体長比 (FL/s) で示した。逃避測定法とスタミナトンネル法で測定されたサケ稚魚の突進速度と巡航速度について、それぞれ相関関係を検証した。

最大遊泳速度の出現頻度分布と音刺激後の移動距離の推移 逃避測定法における突進速度と巡航速度の定義の妥当性を検証するため、測定した全個体 (96 検体) の最も速い突進速度が検出された時間、および時間の経過に伴う最大遊泳速度と遊泳距離の変化を、実験水槽への収容直後の 10 秒間、1 回目の音刺激後の 10 秒間、2 回目の音刺激後の 10 秒間に分けて記録した。

逃避測定法における実験水槽の直径が遊泳速度へ与える影響の検証 逃避測定法において、実験水槽の直径の違いがサケ稚魚の遊泳速度に影響を与えるかどうかを検証するため、2014 年 3 月 7 日に標津川産のサケ稚魚を用いて、50 型、56 型、75 型の 3 つの大きさのポリエチレン製たら

Table 1 Burst and cruise speeds of chum salmon fry measured using escape measurement method.

Date of experiment	Days after emergence	Mean fork length (cm)	Mean body weight (g)	Burst speed		Cruise speed	
				cm/s	FL/s	cm/s	FL/s
Apr. 2, 2013	1	3.50 ± 0.11	0.38 ± 0.07	70.3 ± 3.7	20.1 ± 1.6	14.8 ± 1.9	4.2 ± 0.6
Apr. 9, 2013	8	3.89 ± 0.21	0.49 ± 0.05	75.2 ± 7.4	19.4 ± 1.8	10.2 ± 3.7	2.6 ± 0.9
Apr. 16, 2013	15	3.92 ± 0.25	0.64 ± 0.12	83.9 ± 5.5	21.4 ± 1.4	14.5 ± 5.2	3.7 ± 1.3
Apr. 23, 2013	22	4.34 ± 0.21	0.77 ± 0.09	89.8 ± 9.0	20.7 ± 2.2	16.6 ± 8.0	3.8 ± 1.8
Apr. 30, 2013	29	4.44 ± 0.25	0.77 ± 0.12	91.5 ± 10.1	20.6 ± 2.1	17.1 ± 6.4	3.8 ± 1.4
May 10, 2013	39	4.77 ± 0.28	1.03 ± 0.18	92.5 ± 9.4	19.4 ± 1.5	19.6 ± 5.9	4.1 ± 1.3
May 15, 2013	44	4.94 ± 0.36	1.06 ± 0.20	105.8 ± 11.0	21.5 ± 2.4	20.8 ± 7.9	4.2 ± 1.5
May 22, 2013	51	5.62 ± 0.60	1.67 ± 0.58	109.6 ± 10.8	19.7 ± 2.6	22.3 ± 7.3	4.0 ± 1.4

いを実験水槽として遊泳速度を測定した。それぞれの実験水槽の水深3cm高における観察水面の直径は42cm, 48cm, 61cmであった。それぞれ12個体を用いて突進速度と巡航速度を測定し、3つの実験水槽間で統計的有意差があるかについて、Steel-Dwass法で検定した。

結 果

逃避測定法による遊泳速度 逃避測定法によって測定した突進速度と巡航速度をTable 1に示した。測定に用いたサケ稚魚は浮上直後の体サイズが平均尾叉長 3.50 ± 0.11 cm, 平均体重 0.38 ± 0.07 gであった。飼育51日目には 5.62 ± 0.60 cm, 1.67 ± 0.58 gまで成長した。浮上直後（尾叉長3.5 cm）に測定された突進速度は、70 cm/sであった。その後突進速度は、浮上後29日目（尾叉長4.4 cm）まで成長とともに92 cm/sまで向上した。浮上後39日目（尾叉長4.8 cm）で一時的に突進速度の上昇は90 cm/s台で停滞したが、浮上後44日目（尾叉長5.0 cm）で106 cm/sまで急速に上昇し、孵化後51日目（尾叉長5.6 cm）には110 cm/sとなった。この間、突進速度の体長比は、およそ20 FL/sでほぼ一定であった。

巡航速度は浮上直後（尾叉長3.5 cm）で15 cm/sを示した後、浮上後8日目（尾叉長3.9 cm）には一時的に10 cm/sに低下した。その後は緩やかに上昇し22日目（尾叉長4.3 cm）には17 cm/sとなった。29日目（尾叉長4.4 cm）には17 cm/sで一時的に停滞したが、39日目以降に巡航速度は上昇し51日目（尾叉長5.6 cm）には22 cm/sとなった。巡航速度を体長比で見ると、浮上直後に4.2 FL/sと比較的速い速度を示した後、8日目に2.6 FL/sまで一時的に低下した。その後は、3.7~4.2 FL/sの範囲にあった。

スタミナトンネル法による遊泳速度の測定 スタミナトンネル法による突進速度と巡航速度の測定結果をTable 2に示した。実験に用いたサケ稚魚は、浮上時には平均尾

叉長 3.45 ± 0.16 cm, 平均体重 0.39 ± 0.01 gから、51日目には 5.46 ± 0.25 cm, 1.31 ± 0.17 gとなった。突進速度は、浮上時の21 cm/sから51日目の53 cm/sまで一貫して上昇した。浮上後51日目（尾叉長5.5 cm）の突進速度の向上は顕著であった。突進速度の体長比は6.2~9.8 FL/sの範囲で、浮上から22日目（尾叉長4.4 cm）までは、突進速度の体長比は6 FL/s台であったが、尾叉長が5.0 cm近くになった44日目以降に向上し8.5~9.8 FL/sを示した。

スタミナトンネル法による巡航速度を求めるため、測定して得られた遊泳曲線をFig 3に、得られた遊泳曲線の関係式に3,600秒を代入して計算された巡航速度をTable 3に示した。求められた巡航速度は1.7~8.1 cm/sの範囲であった。浮上直後と8日目の巡航速度は2.3 cm/sであったが、15日目に一時的に1.7 cm/sに低下した。その後、22日目、29日目には4.5~5.0 cm/sを示した。39日目以後に顕著に上昇し6.5~8.1 cm/sを示した。体長比では0.4~1.6 FL/sの範囲であった。

逃避測定法とスタミナトンネル法で得られた遊泳速度の比較 逃避測定法とスタミナトンネル法で測定された突進速度の間には、強い有意な相関が認められた (Fig.4; $r = 0.953$, $P < 0.001$)。また、巡航速度でも有意な相関が認められた (Fig.4; $r = 0.909$, $P < 0.05$)。

Table 2 Burst speed of chum salmon fry measured using the stamina tunnel method.

Date of experiment	Days after emergence	Mean fork length (cm)	Mean body weight (g)	Burst speed	
				cm/s	FL/s
Apr. 2, 2013	1	3.45 ± 0.16	0.39 ± 0.01	21.4 ± 2.1	6.2 ± 1.1
Apr. 9, 2013	8	3.66 ± 0.19	0.38 ± 0.08	22.7 ± 4.7	6.2 ± 1.4
Apr. 16, 2013	15	4.17 ± 0.21	0.55 ± 0.11	26.6 ± 3.6	6.4 ± 0.8
Apr. 23, 2013	22	4.43 ± 0.20	0.68 ± 0.10	30.8 ± 7.1	6.9 ± 1.4
Apr. 30, 2013	29	4.42 ± 0.27	0.64 ± 0.12	33.3 ± 8.1	7.5 ± 1.7
May 10, 2013	39	4.99 ± 0.34	0.98 ± 0.34	39.3 ± 12.7	7.9 ± 2.4
May 15, 2013	44	4.94 ± 0.28	0.82 ± 0.14	42.3 ± 14.7	8.5 ± 2.7
May 22, 2013	51	5.46 ± 0.25	1.31 ± 0.17	53.4 ± 13.0	9.8 ± 2.2

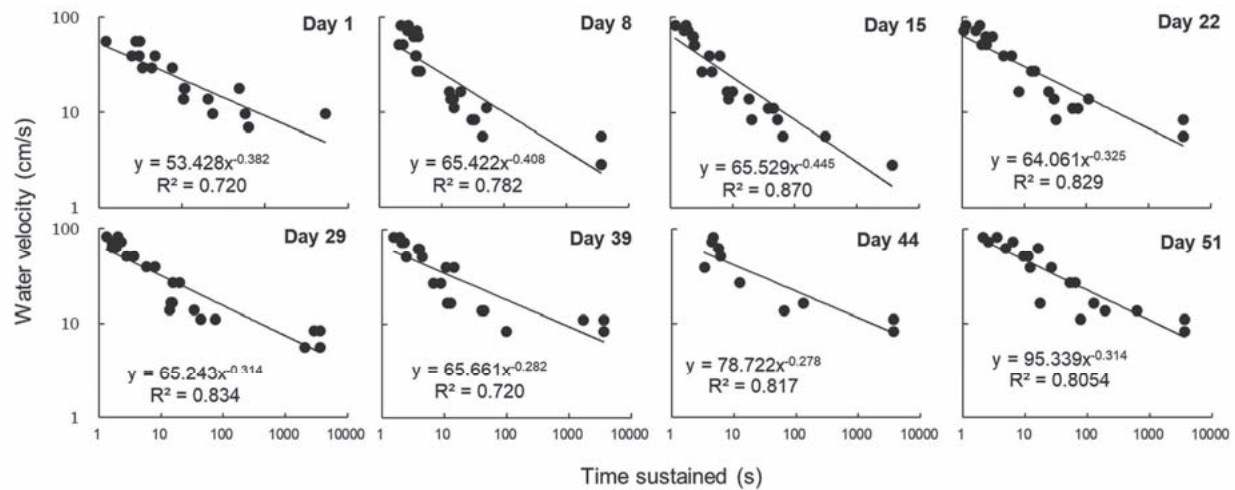


Fig.3 Relationship between swimming duration of chum salmon fry and water velocity estimated using the stamina tunnel method. The day in each figure shows the number of days after emergence.

Table 3 Cruise speed of chum salmon fry measured using the stamina tunnel method.

Date of experiment	Days after emergence	Mean fork length	Mean body weight	Cruise speed	
				cm/s	FL/s
Apr. 2, 2013	1	3.76 ± 0.14	0.36 ± 0.05	2.3	0.6
Apr. 9, 2013	8	3.83 ± 0.16	0.44 ± 0.07	2.3	0.6
Apr. 16, 2013	15	4.05 ± 0.22	0.53 ± 0.10	1.7	0.4
Apr. 23, 2013	22	4.45 ± 0.24	0.69 ± 0.13	4.5	1.0
Apr. 30, 2013	29	4.55 ± 0.24	0.69 ± 0.13	5.0	1.1
May 10, 2013	39	4.90 ± 0.23	0.99 ± 0.15	6.5	1.3
May 15, 2013	44	4.95 ± 0.23	0.87 ± 0.11	8.1	1.6
May 22, 2013	51	5.34 ± 0.44	1.22 ± 0.34	7.3	1.4

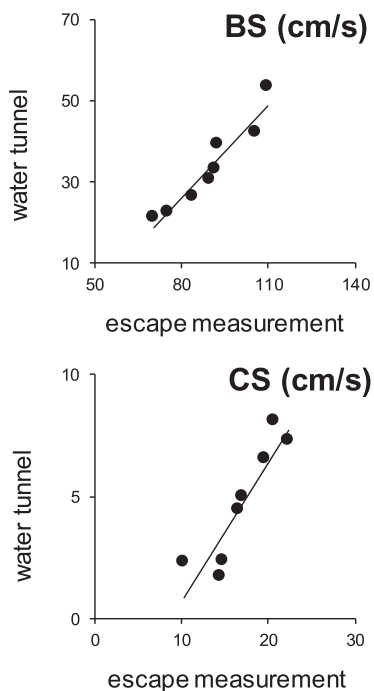


Fig.4 Relationship between burst and cruise speeds (BS, CS) measured using the escape measurement method and a simple water tunnel apparatus.

測定時間ごとの最大遊泳速度の出現頻度分布と音刺激後の移動距離 逃避測定法で遊泳速度を測定した96検体のうち、実験水槽への収容直後に最大遊泳速度が記録された個体（頻度）は85個体（88.5%）、1回目の音刺激後に最大遊泳速度が記録された個体は9個体（9.4%）、同様に2回目以降では2個体（2.1%）であった（Fig. 5）。多くの個体で収容直後の10秒間に最大遊泳速度が記録された。また、実験水槽へのサケ稚魚収容時から、1回目および2回目の音刺激後には、測定された最大遊泳速度、移動距離はともに低下した（Fig. 6）。収容時を1としたときの最大遊泳速度は1回目の音刺激後には平均0.80、2回目の音刺激後では平均0.67まで低下した。また、10秒間の平均移動距離は、収容直後を1としたとき、1回目の音刺激後では0.56、2回目の音刺激後では0.45まで低下した。

逃避測定法における実験水槽の大きさが遊泳速度に与える影響 直径の異なる実験水槽を用いて逃避測定法で測定した突進速度と巡航速度を Table 4 と Fig. 7 に示した。試験に用いたサケ稚魚の平均尾叉長は4.9～5.0 cmで、試験群間で有意差は認められなかった。水深3 cmで観察水面の直径が42 cm（50型）、48 cm（56型）、61 cm（61型）の各実験水槽で測定された突進速度の体長比は、それぞれ 20.2 ± 1.8 , 19.7 ± 1.5 , 21.6 ± 2.3 FL/sであった。また、巡航速度の体長比はそれぞれ 4.1 ± 1.1 , 4.8 ± 1.3 , 4.6 ± 0.9 FL/sであった。最も小さい直径42 cmの50型水槽による測定で巡航速度の平均値が小さかったが、大きさの異なる3つの実験水槽で測定した突進速度と巡航速度には、統計的な有意差は認められなかった（Steel-Dwass法, $P > 0.05$ ）。

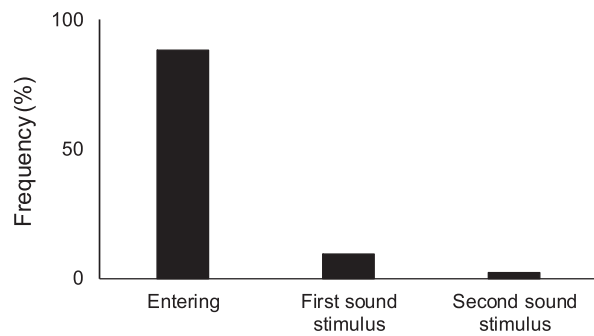


Fig.5 Frequency distribution of appearance in maximum burst swimming speed for chum salmon fry determined using the escape measurement method for each stimulus (n = 96).

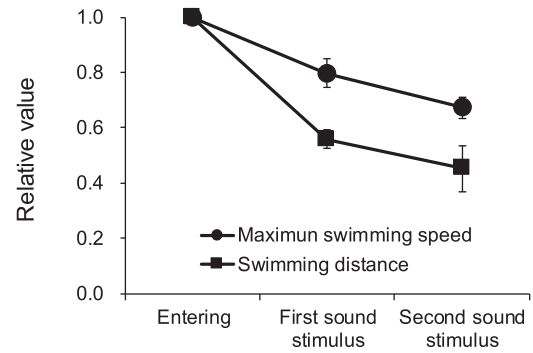


Fig.6 Changes in relative values of maximum swimming speed and swimming distance for chum salmon fry within 10 seconds determined using the escape measurement method.

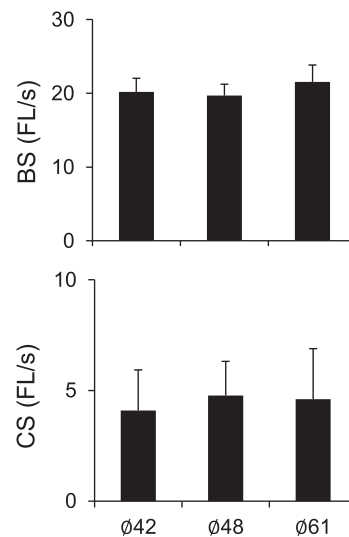


Fig.7 Comparison of burst speed (BS) and cruise speed (CS) measured using the escape measurement method using three different sized tanks. No significant differences were found in swimming speed among tanks (Steel-Dwass test, $P > 0.05$).

Table 4 Burst and cruise speeds of chum salmon fry within tanks of different sizes measured using the escape measurement method.

Type of experiment tank	Inner diameter at Water depth 3cm (cm)	Mean fork length (cm)	Mean body weight (g)	Burst speed		Cruise speed	
				cm/s	FL/s	cm/s	FL/s
Type 50	42	4.97 ± 0.22	1.08 ± 0.13	100.2 ± 9.4	20.2 ± 1.8	20.2 ± 4.9	4.1 ± 1.1
Type 56	48	4.91 ± 0.42	1.04 ± 0.33	96.4 ± 8.6	19.7 ± 1.5	23.3 ± 6.4	4.8 ± 1.3
Type 75	61	5.03 ± 0.20	1.12 ± 0.16	108.5 ± 13.9	21.6 ± 2.3	23.1 ± 4.1	4.6 ± 0.9

考 察

本研究ではサケ稚魚の逃避行動を利用した簡便な遊泳速度の測定法（逃避測定法）の確立を試みた。逃避測定法では、Masuda *et al.* (2002) を参考に、特殊な機器を必要とせず様々な使用環境に対応できるよう市販のたらいに収容したサケ稚魚に音刺激を与えて逃避行動を誘起し、デジタルカメラで撮影した映像を Windows 用のフリーソフトを用いて解析し突進速度と巡航速度を測定した。多くの遊泳速度測定法では専用の装置が必要になるなど、使用場所が制限される。サケ稚魚の遊泳速度測定で用いられるスタミナトンネル法（小林・大熊，1983）でも専用の測定装置が必要で、水面と排水口の落差によって測定管内に流速を生じさせる仕組みのため大量の用水が必要である。逃避測定法では、一般的な市販のデジタルカメラ、ポリエチレン製のたらい、三脚等があれば撮影ができ、使用機器や撮影場所による制限は少ない。また、実験用水も淡水、海水を問わず、注入する用水の水温を調整することで任意の水温下での測定が可能である。1 個体の撮影は 30 秒間で準備作業を含めても必要な時間は 2 分程度と短く、撮影現場での作業時間の短縮に寄与できる。しかし、映像解析に要する時間は、フリーソフトウェアを用いて行ったものの、習熟しても 1 個体あたり 15 分程度の時間を要し、作業上の課題として残された。今後、稚魚の遊泳行動を自動的に追跡するプログラムや、多個体を同時に撮影した映像で個体別に自動追尾が出来ればさらに効率化が可能となり、現在、関係機関と共同で開発を進めている。

逃避測定法における遊泳速度の定義の妥当性と技術的な問題点について検討する。本研究の逃避測定法では、突進速度を実験水槽へ収容した直後から 10 秒間に測定された最大の遊泳速度と定義した。供試したサケ稚魚では収容直後、およびその後の 2 回の音刺激に反応して遊泳速度が急激に上昇する行動が観察されたが、これらはそれぞれ未知の環境に投入された際の驚愕・逃避行動、および音刺激に対する驚愕・逃避行動を示すものと考えられた。一般的に、突進速度は 1～数秒間持続する最大遊泳速度と定義される（Blaxter, 1969）。逃避行動時には瞬発的に発揮しうる最大の速度で遊泳すると考えられるため、逃避測定法においても、最大遊泳速度が収容直後ないし音刺激直後に検出される可能性が高い。実際にどの段階で最大遊泳速度が出現したかを検出したところ、多くの個体（86%, $n = 96$ ）で実験水槽への収容直後に記録された（Table 4, Fig. 7）。また、その後は 2 回の音刺激によって驚愕・逃避行動が続くため徐々に疲労し、突進速度はほとんどの個体で低下した（Fig. 6）。これらのことから、

本研究で定義した突進速度（収容直後の 10 秒間に記録された最大遊泳速度）は、供試個体が数秒間に限って発揮しうる最大の遊泳速度を示し、充分妥当な値と考えられる。本研究において巡航速度は、2 回目の音刺激後、すなわち、収容から 20 秒経過後の 10 秒間の平均遊泳速度（cm/s）と定義した。Beamish (1978) による遊泳速度の区分では、20 秒から 200 分間遊泳可能で最後は疲労する遊泳速度を長時間遊泳速度と定義している。今回の逃避測定法で、サケ稚魚の実験水槽への収容時から 1 回目および 2 回目の音刺激にかけての平均移動距離を検出したところ（Fig. 6）、相対的な移動距離は 0.56 から 0.45 へと徐々に低下していた。これは音刺激に反応し逃避行動を繰り返すうちに疲労して遊泳速度が低下し、その結果、移動距離も低下したと考えられる。逃避測定法で測定した巡航速度は、連続的な刺激による逃避行動が 20 秒間続いた後の遊泳速度を測定していることになり、これは 20 秒から 200 分間遊泳可能で最後は疲労するという長時間遊泳速度の定義に相当すると思われる。また、本研究で比較対象として測定したスタミナトンネル法による巡航速度（60 分持続遊泳可能な遊泳速度）とも同じ区分に含まれ、定義として矛盾しないと思われる。さらに、逃避測定法とスタミナトンネル法で測定した突進速度および巡航速度には、方法間で有意な強い相関が認められた（Fig. 4）。これは、同じサケ稚魚集団の遊泳速度を測定した場合に、逃避測定法とスタミナトンネル法で同様の傾向を検出できることを示し、逃避測定法はサケ稚魚の突進速度および巡航速度の測定法として妥当といえる。本研究では逃避測定法の技術的な問題点として、実験水槽（たらい）の大きさがサケ稚魚の遊泳速度に与える影響が想定されたため、その検証も行った。尾叉長約 50 mm のサケ稚魚を用いて直径 42 cm, 48 cm, 61 cm の実験水槽により遊泳速度を測定したところ、突進速度は 20 cm/s 程度でほとんど差は無かった。巡航速度は最も小さい直径 42 cm の実験区で平均値がやや小さかったが、有意差は認められなかった。したがって、逃避測定法において実験水槽の大きさの違いが突進速度および巡航速度に与える影響は小さいと考えられ、特に供試魚の体長の 10 倍を目安とした直径の実験水槽を用いることで影響は排除できると思われる。

逃避測定法による遊泳速度の種苗性指標としての有効性を検討する。逃避測定法とスタミナトンネル法による遊泳速度を比較すると、逃避測定法で測定値が高くなる傾向があった。突進速度の体長比（BL/s）は多くの魚種で 10 BL/s 前後であり、サケ科やサバ科の魚種は 10 BL/s 以上（塚本・梶原，1973）と報告されている。逃避測定法で測定された突進速度は 20 FL/s 前後で、既報に比べてかなり高い。これはスタミナトンネル法を含め、多くの測定法

ではサケ稚魚の走流性を利用して流水中で測定しているのに対し、逃避測定法は止水中での測定という違いに起因すると推察される。さらに、逃避測定法では、スタミナトンネル法に比べて遊泳速度の測定値の幅が小さかった。逃避測定法で測定された突進速度は最小値が70.3 cm/s, 最大値が109.6 cm/sで、巡航速度は最小値が10.2 cm/s, 最大値が22.3 cm/sであった (Table 1)。一方、スタミナトンネル法による突進速度は最小値が21.4 cm/s, 最大値が53.4 cm/sであり (Table 2), 巡航速度の最小値と最大値はそれぞれ1.7 cm/s, 8.1 cm/sであった (Table 3)。最小値に対する最大値の比を見ると、逃避測定法では突進速度が1.6倍、巡航速度が2.2倍、同様にスタミナトンネル法ではそれぞれ2.5倍と4.7倍であり、スタミナトンネル法に比べて逃避測定法で測定値の幅が小さい。このことは、種苗性評価に用いる際に稚魚のコンディションの違いによる遊泳速度の差が検出されにくいことを示唆しており、今後は飼育条件を変えた測定データを積み重ねることで種苗性指標としての有効性を検証していく必要がある。

遊泳速度に影響を与える主な要因として、水温、塩分濃度、訓練や飼育などがある (塚本・梶原, 1973; Beamish, 1978)。一般的に、持続的な遊泳速度は水温の影響を受けやすく、突進速度は受けにくい傾向があるが (Brett, 1967), 最適な遊泳水温は魚種や発育段階によって異なる (Plaut, 2001)。サケ科魚類では、淡水から海水に移行する時に運動活性や遊泳力が変化するとの報告があり (Houston, 1959; Flagg and Smith, 1982; Flagg *et al.*, 1983; Pedersen and Malte, 2004), サケ稚魚では海水移行時に一時的に遊泳能力が低下することが知られている (Houston, 1959)。また、流速の速い流水中で飼育することで魚類の遊泳力を向上させる取り組みも古くから行われている (Brett *et al.*, 1958; Nahhas *et al.*, 1982; Farrell *et al.*, 1990; Azuma *et al.*, 2003; 藤原ら, 2010)。これらの流水トレーニングはサケ科魚類を中心に行われてきたが、遊泳速度が向上した事例がある一方、効果が認められないとの報告もある (Davison 1997)。サケ稚魚では飼料にクエン酸鉄を添加することで遊泳力が向上したとの報告があるが (Mizuno *et al.*, 2008), 遊泳力向上に関わるトレーニングなどの試みはまだ多くない。サケ稚魚は放流後、一定期間河川内に滞在した後、降海し沿岸生活を送る。サケ科魚類では生活史初期に大きな減耗が生じると考えられており (Healey, 1982; Bax, 1983; Farley *et al.*, 2008), 河川降下中や海洋生活初期の小型で遊泳力の低い時期には、被食が減耗要因の1つになると考えられている (Taylor and McPhail, 1985; Hargreaves and LeBrasseur, 1986; Beamish and Neville, 2001; Willette, 2001; Tucker *et al.*, 2016)。増殖事業において、上記のような放流後のサケが経験する水

温や海水移行後の遊泳力の変化など、環境要因および生活史上の変化がどのように被食の程度に影響を与えるかは不明な点が多い。遊泳力に着目して、放流されるサケ稚魚の生残を高める飼育・ふ化放流方法の探索はまだ発展途上にあり、種苗性指標としての簡便な遊泳力測定法の開発が求められている。この点で、本研究による逃避測定法は今後の貢献が期待できる。

以上、本研究で検討した逃避測定法は、サケ稚魚の突進速度および巡航速度の測定法として有効であると考えられた。本測定法で用いた装置自体は設置や取り扱いが非常に簡便であるため、今後、種苗生産の現場や野外調査における遊泳速度の測定への応用が期待される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、サケ授精卵を提供していただいた一般社団法人根室管内さけ・ます増殖事業協会および職員の方々に感謝いたします。

引用文献

- Azuma T, Noda S, Yada T, Ototake M, Nagoya H, Moriyama S, Yamada H, Nakanishi T, Iwata M. Profiles in growth, smoltification, immune function and swimming performance of 1-year-old masu salmon *Oncorhynchus masou masou* reared in water flow. *Fish. Sci.* 2003; 68: 1282–1294.
- Bailey KM, Houde ED. Predation on eggs and larvae of marine fishes and the recruitment problem. *Adv. Mar. Biol.* 1989; 25: 1–83.
- Bax NJ. Early marine mortality of marked juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) released in Hood Canal, Puget Sound, Washington, in 1980. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1983; 40: 426–435.
- Beamish FWH. Swimming capacity. In: Fish Physiology. Vol. VII Locomotion (Hoar WS. and Randall DJ. eds.), Academic Press, New York. 1978; 101–187.
- Beamish R, Bouillon DR. Pacific salmon production trends in relation to climate. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1993; 50: 1002–1016.
- Beamish RJ, Neville CM. Predation-based mortality on juvenile salmon in the Strait of Georgia. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Tech. Rep.* 2001; 2: 11–13.
- Blaxter JHS. Swimming speeds of fish. *FAO Fish. Rep.* 1969; 62: 69–100.
- Brett JR. The respiratory metabolism and swimming

- performance of young sockeye salmon. *J. Fish. Res. Board Can.* 1964; 21: 1183–1226.
- Brett JR. Swimming performance of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in relation to fatigue time and temperature. *J. Fish. Res. Board Can.* 1967; 24: 1731–1741.
- Brett JR, Hollands M, Alderdice DF. The effect of temperature on the cruising speed of young sockeye and coho Salmon. *J. Fish. Res. Board Can.* 1958; 15: 587–605.
- Davison W. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. *Comp. Biochem. Physiol. A* 1997; 117: 67–75.
- Farley Jr EV, Moss JH, Beamish RJ. A review of the critical size, critical period hypothesis for juvenile Pacific salmon. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 2008; 4: 311–317.
- Farrell AP, Johansen JA, Steffensen JF, Moyes CD, West TG, Suarez RK. Effects of exercise training and coronary ablation on swimming performance, heart size, and cardiac enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Can. J. Zool.* 1990; 68: 1174–1179.
- Flagg TA, Prentice EF, Smith RS. Swimming stamina and survival following direct seawater entry during parr-smolt transformation of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture* 1983; 32: 383–396.
- Flagg TA, Smith LS. Changes in swimming behavior and stamina during smolting of coho salmon. *Salmon and trout migratory behavior Symposium* 1982; 191–195.
- Fresh KL, Schroder SL. Influence of the abundance, size, and yolk reserves of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) on predation by freshwater fishes in a small coastal stream. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1987; 44: 236–243.
- 藤原公一, 臼杵崇広, 北田修一. 成長および流水トレーニングに伴うニゴロブナ *Carassius auratus grandoculis* 仔稚魚の遊泳速度の変化. *日本水産学会誌* 2010; 76: 1025–1034.
- Hargreaves NB, LeBrasseur RJ. Size selectivity of coho (*Oncorhynchus kisutch*) preying on juvenile chum salmon (*O. keta*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1986; 42: 581–586.
- Healey MC. Timing and relative intensity of size-selective mortality of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) during early sea life. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1982; 39: 952–957.
- 疋田豊彦, 亀山四郎, 小林明弘, 佐藤行孝. 西別川に於けるニジマスの生物学的調査. 特に害魚の食性に就いて. *北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1959; 14: 91–121.
- Houston H. Locomotor performance of chum salmon fry (*Oncorhynchus keta*) during osmoregulatory adaptation to sea water. *Can. J. Zool.* 1959; 37: 591–605.
- Kaeriyama M. Dynamics of chum salmon, *Oncorhynchus keta*, populations released from Hokkaido, Japan. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 1998; 1: 90–102.
- Kitada S. Japanese chum salmon stock enhancement: current perspective and future challenges. *Fish. Sci.* 2014; 80: 237–249.
- 小林哲夫, 大熊一正. サケマス稚魚の体力測定装置について. *北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1983; 37: 41–44.
- 小林哲夫. 「日本サケ・マス増殖史」北海道大学出版会, 札幌. 2009.
- 久保達郎. 各種河川魚の鮭鱒稚魚食害に就て. *北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1946; 1: 51–55.
- Masuda R, Shoji J, Aoyama M, Tanaka M. Chub mackerel larvae fed fish larvae can swim faster than those fed rotifers and *Artemia* nauplii. *Fish. Sci.* 2002; 68: 320–324.
- Masuda R. Ontogeny of anti-predator behavior in hatchery-reared jack mackerel *Trachurus japonicus* larvae and juveniles: patchiness formation, swimming capability, and interaction with jellyfish. *Fish. Sci.* 2006; 72: 1225–1235.
- Misaka N, Mizuno S, Ando D, Koyama T, Teranishi T, Koide N. Effects of cottonseed oil in diets on growth, feed efficiency and health parameters of chum salmon *Oncorhynchus keta* fry. *Sci. Rep. Hokkaido Fish. Res. Inst.* 2014; 85: 25–32.
- Miyakoshi Y, Nagata M, Kitada S, Kaeriyama M. Historical and current hatchery programs and management of chum salmon in Hokkaido, northern Japan. *Rev. Fish. Sci.* 2013; 21: 469–479.
- 宮腰靖之, 永田光博, 安藤大成, 藤原真, 青山智哉. 北海道東部網走沿岸におけるサケおよびカラフトマス幼稚魚の魚類捕食者. *北海道水産試験場研究報告* 2013; 83: 41–44.
- Mizuno S, Misaka N, Teranishi T, Ando D, Koyama T, Araya K, Miyamoto M, Nagata M. Physiological effects of an iron citrate dietary supplement on chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fry. *Aquaculture Sci.* 2008; 56: 531–542.
- Nagasawa K. Fish and seabird predation on juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in Japanese coastal waters, and an evaluation of the impact. *N. Pac. Anadr. Fish*

- Comm. Bull.* 1998; 1: 480–495.
- Nagata M, Miyakoshi Y, Urabe H, Fujiwara M, Sasaki Y, Kasugai K, Torao M, Ando D, Kaeriyama M. An overview of salmon enhancement and the need to manage and monitor natural spawning in Hokkaido, Japan. *Environ. Biol. Fish.* 2012; 92: 311–323.
- Nahhas R, Jones NV, Goldspink G. Some aspects of sustained training of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 1982; 20: 351–358.
- 中野広, 白旗総一郎. サケの健苗性評価について. 日本水産学会誌 1988; 54: 1263–1269.
- 大熊一正, 佐々木正吾, 和田有正, 戸嶋忠良. スタミナトンネルを用いて測定したサケ稚魚の突進速度. さけ・ます資源管理センター研究報告 1998; 1: 45–48.
- Pedersen LF, Malte H. Repetitive acceleration swimming performance of brown trout in fresh water and after acute seawater exposure. *J. Fish Biol.* 2004; 64: 273–278.
- Plaut I. Critical swimming speed: its ecological relevance. *Comp. Biochem. Physiol. A* 2001; 131: 41–50.
- Scheel D, Hough KR. Salmon fry predation by seabirds near an Alaskan hatchery. *Mar. Eco. Prog. Ser.* 1997; 156: 35–48.
- 関二郎. さけます類の人工孵化放流に関する技術小史 (放流編). 水産技術 2013; 6: 69–82.
- Sturdevant MV, Sigler MF, Orsi JA. Sablefish predation on juvenile pacific salmon in the coastal marine waters of southeast Alaska in 1999. *Trans. Am. Fish. Soc.* 2009; 138: 675–691.
- 鷹見達也, 青山智哉. 北日本の沿岸におけるアメマスによるサケ幼稚魚の捕食. 北海道立水産孵化場研究報告 1997; 51: 57–61.
- 鷹見達也, 長澤和也. 河川におけるアメマスによるサケ稚魚およびサクラマス幼魚の捕食. 北海道立水産孵化場研究報告 1996; 50: 45–47.
- Taylor EB, McPhail JD. Burst Swimming and size-related predation of newly emerged coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 1985; 114: 546–551.
- Tsukamoto K, Kajihara T, Nishiwaki M. Swimming ability of fish. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* 1975; 41: 167–174.
- 塚本勝巳. 遊泳生理. (板沢靖男, 羽生 功編)「魚類生理学」. 恒星社厚生閣, 東京. 1991: 539–584.
- 塚本勝巳, 梶原武. 魚類の遊泳速度と遊泳能力. 水産土木 1973; 10: 31–36.
- Tucker S, Hipfner JM, Trudel M. Size- and condition-dependent predation: a seabird disproportionately targets substandard individual juvenile salmon. *Ecology* 2016; 97: 461–471.
- Willette M. Foraging behaviour of juvenile pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) and size-dependent predation risk. *Fish. Oceanogr.* 2001; 10 (Suppl. 1): 110–131.

根室地方の植別川におけるカラフトマスの遡上・産卵時期、および遡上数の年変動

春日井 潔^{*1}, 實吉隼人², 佐々木義隆³

¹北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場道東センター,

²北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場,

³北海道立総合研究機構網走水産試験場

Periods of upriver migration and spawning, and annual change in upriver migration of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* in the Uebetsu River, a non-hatchery-operations river, in the Nemuro area of eastern Hokkaido, Japan

KIYOSHI KASUGAI^{*1}, HAYATO SANEYOSHI² and YOSHITAKA SASAKI³

¹ Doto Research Branch, Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Nakashibetsu, Hokkaido 086-1164, Japan

² Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Eniwa, Hokkaido 061-1433,

³ Abashiri Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Abashiri, Hokkaido 099-3119, Japan

We surveyed the number and noted the period of upriver migrating pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* in the Uebetsu River, a non-hatchery-operations river (adult fish are not collected for hatchery programs and fry are not released), of the northern Nemuro area, between 2008 and 2015. In the Uebetsu River, the observed numbers of pink salmon and their redds peaked between mid-and late September, and between mid-September and early October, respectively. The total number of pink salmon observed in the Uebetsu River peaked in 2009 and 2010 of the odd years and even years, respectively and decreased dramatically after those years. The total number of pink salmon observed in the Uebetsu River significantly correlated with the coastal and river catches of pink salmon in the northern Nemuro area.

キーワード：カラフトマス, 遡上数, 遡上・産卵時期, 非捕獲・非放流河川

カラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* は、サケ属 (*Oncorhynchus*) ではもっとも大きな資源量を有する種で (North Pacific Anadromous Fish Commission, 2019), 北極海沿岸から北太平洋沿岸にかけて分布し、北海道は分布の南限に位置する (Augerot, 2005)。北海道においては、カラフトマスの来遊数 (沿岸漁獲数+河川捕獲数) は1990年代に急増したが、2010年代に入り急激に減少した (Saito *et al.*, 2016; Fig. 1)。世界自然遺産がある知床半島を擁する根室北部地区はカラフトマスの来遊数が多い地域であるが、北海道全体と同様に近年来遊数が急激に減少している (Saito *et al.*, 2016; Fig. 1)。北海道ではカラフトマスのふ化放流事業により毎年約1~1.4億個体の稚魚を放流

しており (森田, 2019), 放流数がほぼ一定であるにも関わらず、来遊数は偶数年と奇数年で大きく変動するため、自然産卵に由来する野生魚が多くを占めていると推測されている (Morita *et al.*, 2006; Ohnuki *et al.*, 2015)。カラフトマスの放流河川ではふ化放流用種苗を確保するために遡上した親魚をほぼ全数捕獲している。そのため、これらの河川では河川を横断して設置する捕獲装置であるウライを設置している期間中の遡上数を把握する事が可能である。一方、放流を行っていない河川では遡上数がほとんど把握されていない。また、北海道においてカラフトマスの捕獲は自然産卵が行われる場所より下流で行われることが多いため、カラフトマスの自然産卵における

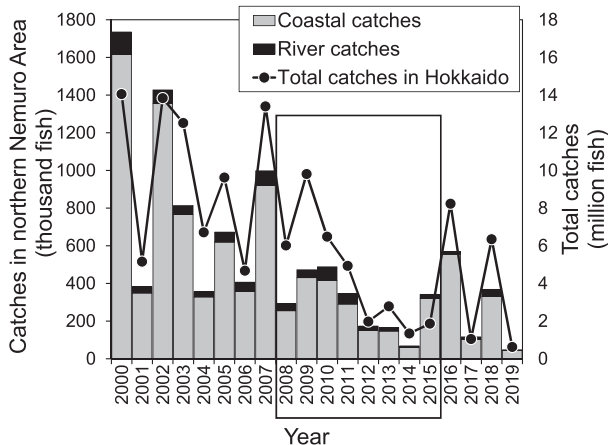


Fig.1 Changes in coastal and river catches of pink salmon in the northern Nemuro area and total catches of pink salmon in Hokkaido. The enclosed area indicates the boundary of this study.

産卵時期や産卵場所についての情報は限定的である（横山ら, 2010; Torao *et al.*, 2011; 飯田ら, 2014）。

根室地方の知床半島の基部に位置する植別川ではカラフトマスの稚魚放流は1984年, 親魚捕獲は1991年以降行われていない（北海道さけ・ますふ化場, 1988, 1992～1994; ただし, 2017年より補完河川として捕獲する計画があるが, 実際には捕獲されていない）。著者らは8年間にわたり植別川において実施したサケの自然産卵調査でカラフトマスの遡上個体数も記録した。本報告では, カラフトマスの増殖事業（親魚捕獲および稚魚放流）を行っていない植別川におけるカラフトマスの遡上時期および遡上範囲を調べ, カラフトマスの遡上数の変動を明らかにし, 遡上数と沿岸漁獲数や放流・捕獲河川における捕獲数との間の関係を検討した。

材料と方法

調査場所・方法 植別川は北海道東部の根室地方北部の知床半島基部に位置し（Fig. 2; 春日井ら, 2013; Kasugai *et al.*, 2016）, 河口から約7km上流の上植別橋までの間には魚の遡上を妨げる自然障壁および河川構造物はない。植別川はふ化場の取水口（河口から約1km上流）より上流では上植別橋および約10km上流の橋以外に河道に近づくことは容易ではなく, さらに約7.5km上流からは断崖が河川両岸に迫り, 大きな淵が連続しているため踏査するのは困難である。これらの地形条件から, 調査区間は河口から約7.5km上流までの範囲とした。

2008～2015年の9月中旬から12月下旬まで旬1回, 植別川の河口から上流へ遡って踏査し, 遊泳しているカラフトマスを目視で計数した。踏査は2人で行い, 先行する観

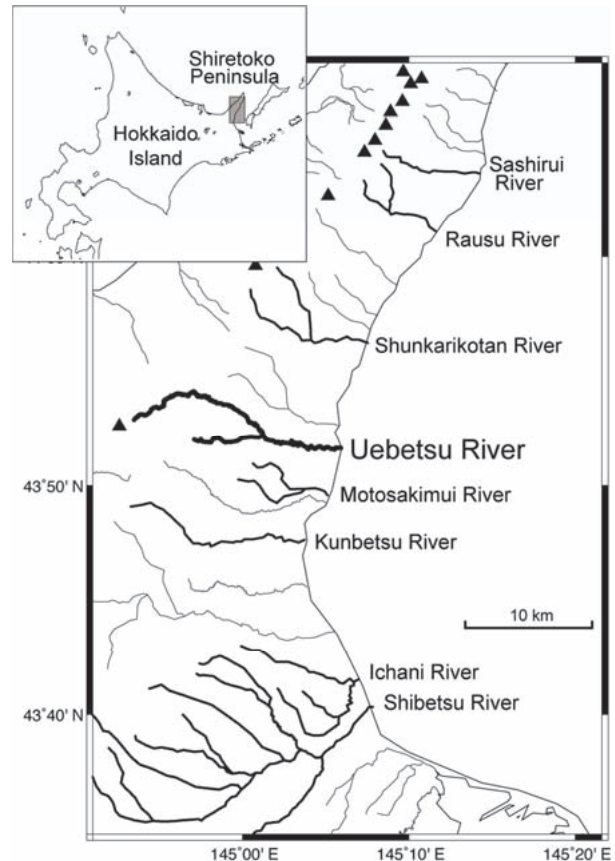


Fig.2 Locations of the Uebetsu River and surrounding rivers where pink salmon are collected for hatchery programs in the northern Nemuro area.

察者が親魚を計数し, 後続の観察者が産卵床を計数した。ただし, カラフトマスが非常に多く観察された場所では産卵床が重複し正確に計数できなかったことや（Fukushima *et al.*, 1998; 宮腰, 2006; 飯田ら, 2014）, サケの遡上数が増えるとサケの産卵床と区別が困難であるため, 2008年の10月上旬以降および2014年の全調査期間の産卵床数は解析に用いなかった。計数したカラフトマス個体数および産卵床数は河口からの距離で1 kmごとに集計した。

サケマス類の遡上数の推定には台形近似法（Area-Under-the-Curve: AUC）がよく用いられている（English *et al.*, 1992; Irvine *et al.*, 1992）。AUCによる推定では遡上期間全体にわたる目視調査による観察数のデータが必要である（Bue *et al.*, 1998）。ところで, 知床半島周辺の河川では8月中旬の小定置網の休漁期間から遡上するカラフトマスが増加するとされており（小宮山, 2003）, 植別川においても調査を始めた9月中旬には遡上を観察している。しかし, 本研究では9月上旬以前のデータがなく精度の高い推定値が得られないことからAUCによる推定は行わなかった。知床半島のルシャ川においては9月20日前後に遡上

のピークがあることから（横山ら，2010），この地域の9月中旬以降の遡上数は遡上数全体の大きな割合を占めると考えられる。本研究では，観察数の合計（合計観察数）が遡上数の年変動の傾向を表す指標となると考え，調査期間中の合計観察数を以後の解析の対象とした。

沿岸漁獲数および河川捕獲数 カラフトマスの沿岸漁獲数は北海道連合海区漁業調整委員会提供資料による根室北部地区（羅臼漁協，標津漁協，野付漁協北部）の値を用いた。カラフトマスの河川捕獲数および採卵数は根室北部地区の値を用いた（北海道さけ・ます増殖事業協会さけ・ます増殖データ管理システム，2020.1.28閲覧）。沿岸漁獲数，河川捕獲数，採卵数は旬毎に集計して解析に用いた。植別川のカラフトマス合計観察数と根室北部地区の沿岸漁獲数，根室北部地区の河川捕獲数の間の関係はKendallの順位相関で検討した。統計解析はR version 3.6.2を用いて行い，有意水準は5%とした（R Core Team, 2019）。

結 果

遡上数および産卵床数 植別川においては，調査を開始した9月中旬から多くのカラフトマスを観察し，年によっては11月上旬まで観察することができた。また，カラフトマスの観察数はいずれの年も9月中旬から下旬に最大となった（Fig. 3, Table 1）。カラフトマスは河口から調査区間内の最上流の7.5kmまで観察された（Fig. 4）。カラフトマスの観察数は9月中旬には河口から3kmより上流で観察された個体数の比率が18.5–96.7%（平均53.3%）であっ

たが，季節の進行とともにその比率が低くなった。

各年に観察された観察数の合計は最小で114個体（2014年），最大で5,961個体（2010年）であり（Fig. 5），平均±標準偏差は $2,436 \pm 2,000$ 個体であった。偶数年は2010年，奇数年は2009年に最大となり，それ以降は減少していった。特に2014，2015年はそれぞれの2年前の合計観察数の7.5%，23.0%と急激な減少を示した。

産卵床も調査を始めた9月中旬には観察された（Fig. 3）。産卵床数が最大になった時期は，2013年および2015年は9月中旬，2011年は10月上旬であったが，それ以外の年は9月下旬で，カラフトマスの観察数が最大になった時期から2旬以内にあった。

沿岸漁獲数・河川捕獲数・採卵数の季節変化 根室北部地区における沿岸漁獲数は，8月上旬～8月下旬にかけて最大となった（Fig. 3）。根室北部地区の河川においてはカラフトマスの捕獲は8月下旬から始めることが多く，8月下旬～9月上旬にかけて捕獲数が最大となった（Fig. 3）。河川捕獲数が最大になる時期は沿岸漁獲数が最大になる時期に一致するか，あるいはその2旬以内にあった。根室北部地区の河川で捕獲されたカラフトマスの採卵は9月上旬～10月上旬に行われ，9月中旬～9月下旬に採卵数の最大値を示した。植別川のカラフトマスの観察数の最大値は，根室北部地区の河川捕獲数が最大になった時期より1～2旬遅れた（Fig. 3）。また，植別川のカラフトマスの産卵床数が最大になった時期は，2年間を除き（2013年：同じ旬，2011年：2旬後），根室北部地区の採卵数が最大になった時期より1旬遅れた（Fig. 3）。

遡上数と沿岸漁獲・河川捕獲数との関係 植別川におけ

Table 1 Number of observed adult fish and redds of pink salmon in the Uebetsu River between 2008 and 2015. Upper row: number of adult fish, lower row: number of redds.

Year	September		October			November			December			Total
	mid	late	early	mid	late	early	mid	late	early	mid	late	
2008	1,791	1,145	149	5	0	0	0	0	0	0	—	3,090
	1,000	1,602	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,602
2009	1,395	1,665	610	125	34	1	0	0	0	0	—	3,830
	369	621	220	4	38	—	—	—	—	—	—	1,252
2020	3,965	1,869	94	33	0	0	0	0	0	0	—	5,961
	1,043	1,416	84	13	2	—	—	—	—	—	—	2,558
2011	1,156	1,010	776	459	26	0	0	0	0	0	0	3,427
	364	675	820	656	140	—	—	—	—	—	—	2,655
2012	667	778	73	2	0	—	0	0	0	0	—	1,520
	263	451	51	—	—	—	—	—	—	—	—	765
2013	655	248	329	—	26	1	0	0	0	0	—	1,259
	506	67	101	—	2	—	—	—	—	—	—	676
2014	30	72	8	3	1	0	0	0	0	0	0	114
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2015	173	89	24	3	0	0	0	0	0	0	0	289
	220	144	85	5	—	—	—	—	—	—	—	454

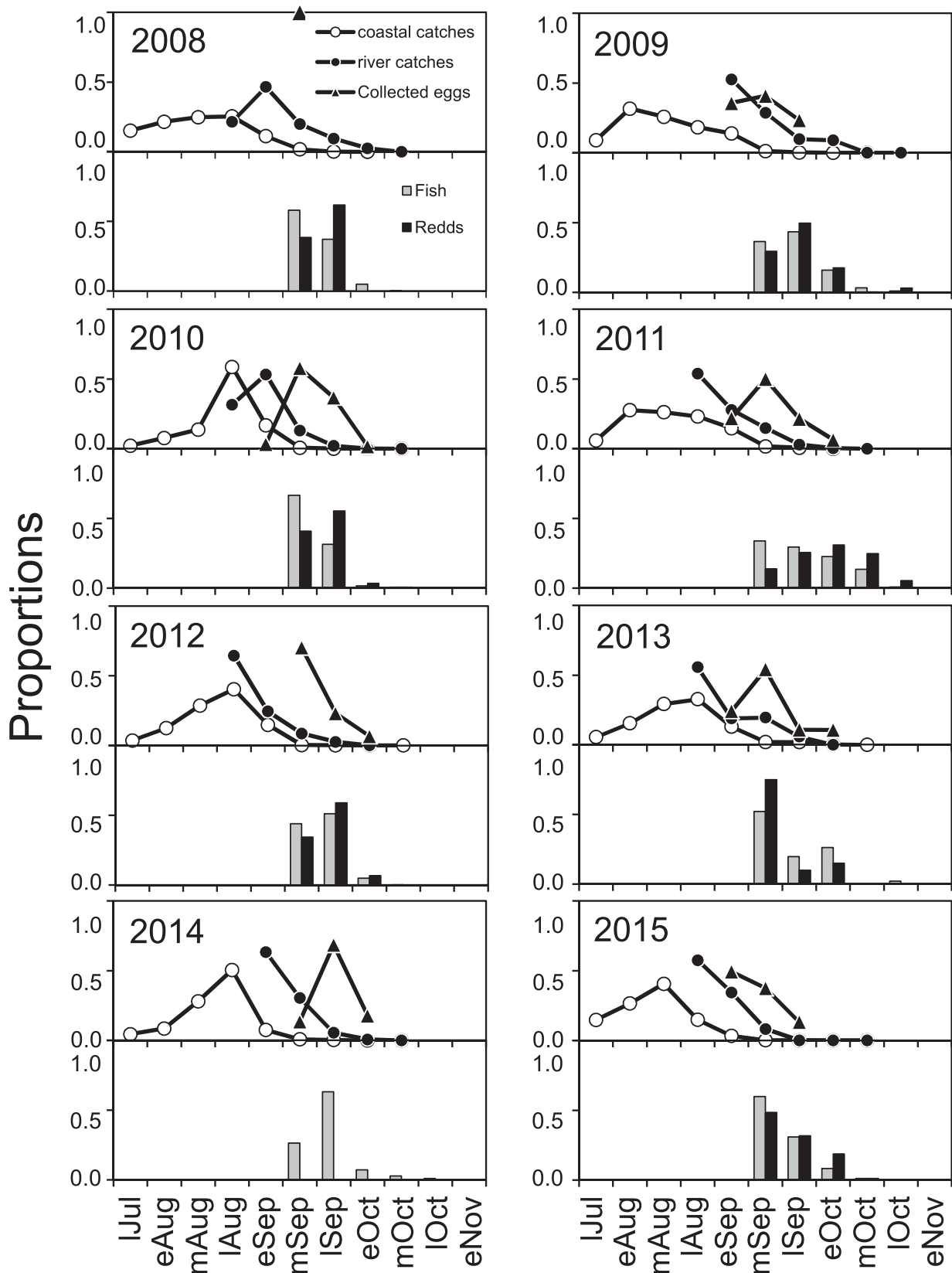


Fig.3 Changes in the seasonal proportions of the coastal and river catches of pink salmon, and their eggs collected from the northern Nemuro area (upper panels), and the changes in the seasonal proportions of the upriver pink salmon and redds in the Uebetsu River (lower panels) between 2008 and 2015. The open circles, closed circles, and closed triangles in the upper panels indicate coastal catches, river catches, and eggs collected in the northern Nemuro area. Furthermore, the gray and black bars in the lower panels indicate observed pink salmon and redds, respectively in the Uebetsu River.

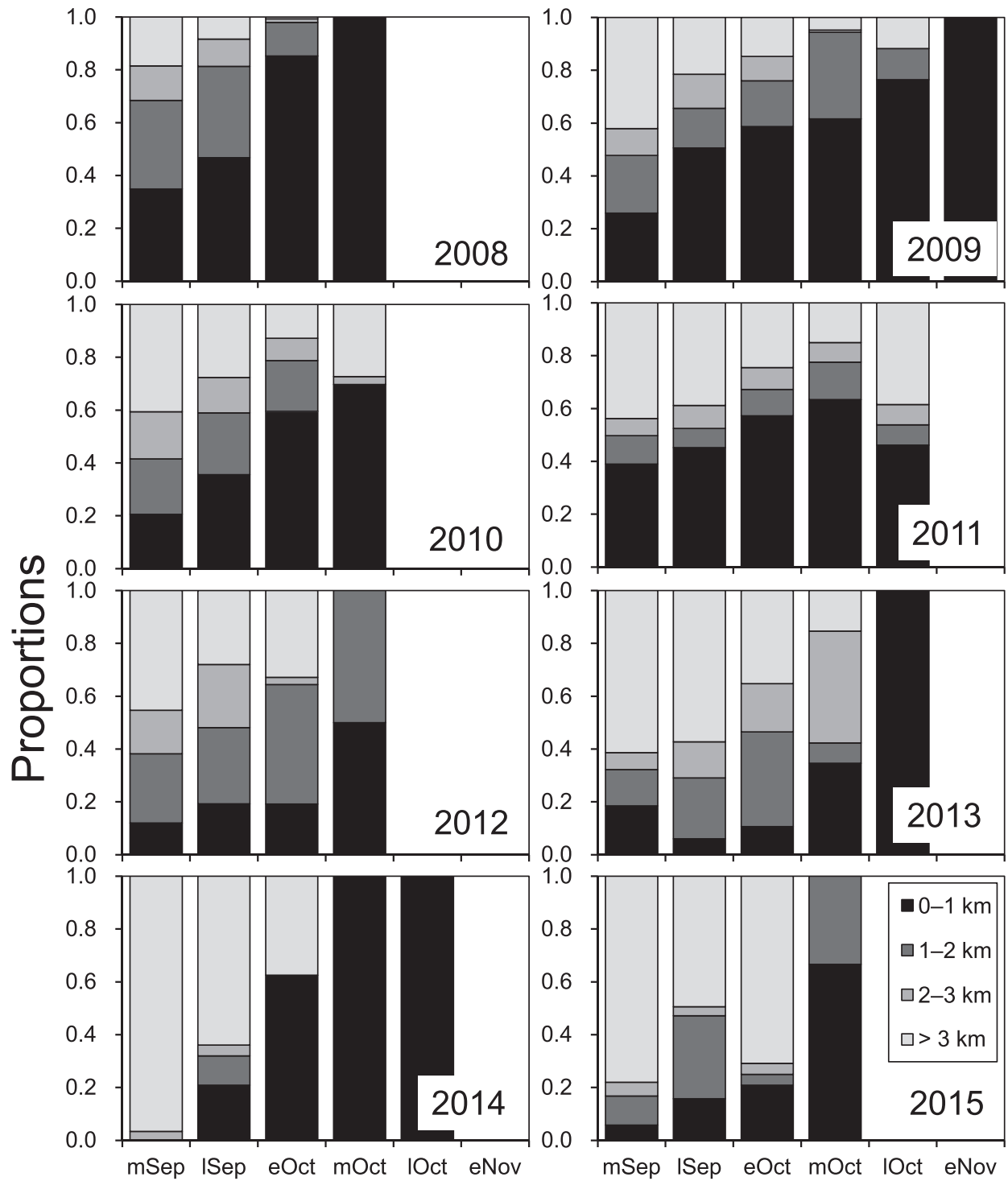


Fig.4 Seasonal proportions of observed pink salmon in the Uebetsu River between 2008 and 2015.

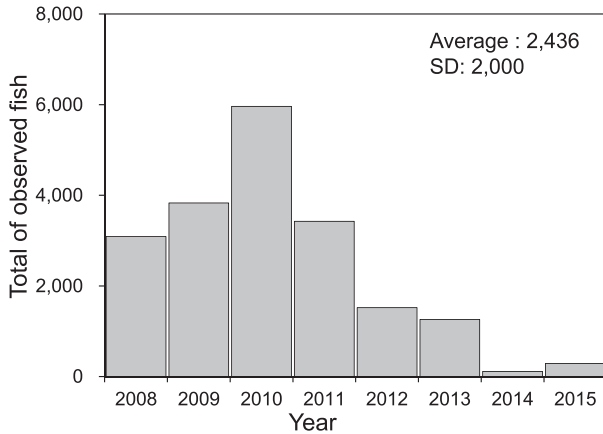


Fig. 5 Changes in the total number of observed pink salmon in the Uebetsu River between 2008 and 2015.

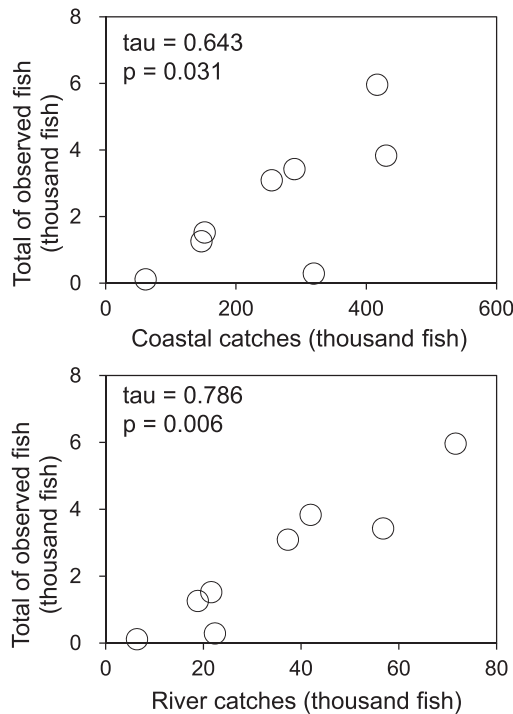


Fig. 6 Relationship between coastal catches (upper panel) and river catches (lower panel) in the northern Nemuro area, and the total number of observed pink salmon in the Uebetsu River.

るカラフトマスの合計観察数は、根室北部地区の沿岸漁獲数および河川捕獲数と有意な正の相関を示した（沿岸漁獲数： $\tau = 0.643$, $p = 0.031$ ；河川捕獲数： $\tau = 0.786$, $p = 0.006$; Fig. 6）。また、沿岸漁獲数は河川捕獲数と有意な正の相関を示した（ $\tau = 0.833$, $p = 0.015$ ）。

考 察

本研究では、カラフトマスの非放流・非捕獲河川である植別川における8年間にわたるカラフトマスの遡上数調査により、その遡上状況を明らかにした。さらに、植別川のカラフトマス遡上数は根室北部地区の沿岸漁獲数や河川捕獲数と同調し、急激に減少していることが明らかになった。

根室北部地区の捕獲場（サシルイ川、羅臼川、春苧古丹川、元崎無異川、薫別川、伊茶仁川、標津川；Fig. 2）では、河口からの距離が標津川（1.9km）を除き、0.5km以下で、河口から非常に近い（標津川を含めた7河川の平均±標準偏差＝ 0.546 ± 0.600 km；国土地理院電子地図 <https://maps.gsi.go.jp/>より計測）。植別川ではカラフトマスは河口から7.5 km上流まで遡上が観察されていることから、近隣の河川においても河口近くで捕獲されなければ上流へ遡上するものと思われる。根室北部地区の捕獲河川ではカラフトマスの捕獲数の季節変化が植別川より1～2旬ほど早く推移したのは、上流へ遡上できず、河川滞在日数が短かったことによるものと考えられる。

植別川ではカラフトマスの観察数と産卵床数のそれぞれが最大となる時期は同時期もしくは2旬以内の差があった。根室北部地区では8月下旬に植別川河口から約10km離れた定置網で漁獲され標識放流されたカラフトマスが10日以内に近隣河川で捕獲され、植別川では産卵後のへい死魚として32日後に発見されている（宮本ら, 2015）。上述のように根室北部地区では河口近くで捕獲を行っているため、河川に入った日を河川で捕獲された日として標識放流から10日後と仮定すると、上記の標識魚は植別川に入ってから約20日でへい死したことになる。ただし、本調査においては10日の調査間隔で行っていたためへい死したのは10日以内早かった可能性があることから、植別川では遡上してから10～20日間滞在したと推測される。この河川内の滞在日数は観察数と産卵床数のそれぞれが最大となる時期の差である1～2旬とおおむね一致する。このことから、カラフトマスの自然産卵における観察数と産卵床数のそれぞれが最大になる時期の差は、河川への遡上から産卵しへい死するまでの期間を示していると考えられる。

植別川の産卵床数が最大になる時期は、根室北部地区のカラフトマスの採卵数が最大になる時期よりおおむね1旬遅い。増殖事業における採卵では、親魚の腹部の触診により排卵を確認し、排卵している親魚はすみやかに卵を採取される。しかし、自然産卵においては排卵後に産卵床を形成して産卵するため、排卵から産卵までには一定の時間を要すると考えられる。また、10日間の調査間

隔のために、実際に産卵床が形成されてから計数されるまで最大9日の遅れが生じる。この排卵～産卵の時間的な差が根室北部地区の採卵数と植別川産卵床数の最大になる時期の差になっていると推測される。

サケ属の回帰資源は一定の地域範囲で連動し、降海直後の海面水温などの沿岸環境が回帰資源量に大きな影響を与えると推測されている (Pyper *et al.*, 2001; Mueter *et al.*, 2002)。カラフトマスの沿岸漁獲において人工ふ化による放流魚（ふ化場魚）は2割程度を占め、大部分は野生魚であると推測されている (Ohnuki *et al.*, 2015)。根室北部地区では放流を行っている増殖河川においても回帰資源の減少が著しく、野生魚、ふ化場魚の双方とも稚魚期の生き残りが良くなかった可能性がある。また、近年北海道ではカラフトマスやサケが産卵のために回帰する秋季に沿岸域の海水温が高く推移し、サケでは来遊時期の遅れや漁獲量の減少が報告されている (宮腰, 2013, 2018)。北海道ではカラフトマスはサケより早い時期に河川に遡上するため、高水温の影響をより大きく受けることが予想され、高水温は来遊に大きな影響を及ぼすことが示唆されている (Saito *et al.*, 2016; 森田, 2019)。植別川を含めて根室北部地区でカラフトマス来遊資源が低迷しているのも、野生魚とふ化場魚の双方にとって降海直後や回帰時の沿岸環境が生残に厳しい環境になっていることによる可能性が高いと考えられる。

北海道では2017年からカラフトマスのふ化場魚すべてに標識を施して放流し、ふ化放流事業の効果の検証や野生魚の貢献度を推定する研究が進められている (北海道区水産研究所, 2018)。この全数標識放流の回帰時には、沿岸漁獲物や増殖河川における捕獲魚で標識確認が行われる。植別川のような非捕獲・非放流河川においても遡上数や標識の確認を行い、野生魚の再生産状況を解明してゆくことができれば、放流事業に加えて自然再生産資源も含めた増殖手法についても検討できるものと考えられる。

謝 辞

一般社団法人根室管内さけ・ます増殖事業協会には調査の実施にあたり便宜を図って頂いた。さけます・内水面水産試験場の坂本博幸氏、宮本真人氏、虎尾充氏、大森始氏には調査を手伝って頂いた。ここに記して感謝の意を表したい。

引用文献

Augerot X. Atlas of Pacific salmon. University of California

Press, Berkeley and Los Angeles, 2005.

Bue BG, Fried SM, Sharr S, Sharp DG, Wilcock JA, Geiger HJ. Estimating salmon escapement using area-under-the-curve, aerial observer efficiency, and stream-life estimates: The Prince William Sound pink salmon example. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 1998 ; 1: 240–250.

English KK, Bocking RC, Irvine JR. A robust procedure for estimating salmon escapement based on the area-under-the-curve method. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1992 ; 49: 1982–1989.

Fukushima M, Quinn TP, Smoker WW. Estimation of eggs lost from superimposed pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) redds. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1998 ; 55: 618–625.

北海道区水産研究所. カラフトマスの採卵時期及び育成条件の見直しによる放流時期の適正化に関する研究. 平成30年度さけます報告会. (http://hnf.fra.affrc.go.jp/event/sakehou/h30sakehou_05.pdf(2018))(2020.2.27)

北海道さけ・ますふ化場. 平成2年度～平成4年度北海道さけ・ますふ化場事業成績書. 札幌. 1992～1994.

北海道さけ・ますふ化場. さけ・ます捕獲採卵・ふ化放流成績 (昭和48年～昭和60年海区・水系別). 1988.

飯田真也, 宮腰靖之, 加藤 毅, 徳田裕志, 藤原 真, 安藤大成. 北海道オホーツク海側のウライ設置河川および非設置河川におけるカラフトマスの自然産卵. 水産増殖 2014; 62: 129–136.

Irvine JR, Bocking RC, English KK, Labelle M. 1992. Estimating coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) spawning escapements by counting visual surveys in areas selected using stratified random and stratified index sampling designs. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1992 ; 49: 1972–1981.

春日井 潔, 竹内勝巳, 佐々木義隆, 永田光博. 知床半島植別川における淡水カジカ類とシマウキゴリの降河状況. 知床博物館研究報告 2013; 35: 39–46.

Kasugai K, Nagata M, Takeuchi K, Torao M, Murakami Y, Sasaki Y, Miyakoshi Y, Irvine JR. Migratory timing of masu salmon and Dolly Varden smolts exiting the Uebetsu River near the Shiretoko World Heritage Site, Hokkaido, Japan, and potential angling effects. *Ichthyol. Res.* 2016; 63: 181–186.

小宮山英重. 知床の淡水魚. 「知床の魚類 (知床町立博物館編)」北海道新聞社, 札幌. 2003; 10–141.

宮腰靖之. 網走市周辺地域におけるカラフトマスの遡上状況調査. 魚と水 2006: 45–48.

- 宮腰靖之. 秋の沿岸での高水温がサケの来遊時期に与える影響. 北水試だより 2013; 87: 5-8.
- 宮腰靖之. 北海道におけるサケの資源動態. 海洋と生物 2018 ; 40: 330-334.
- 宮本真人, 虎尾 充, 實吉隼人, 春日井 潔. 根室海峡沿岸で標識放流されたカラフトマスの沿岸および河川再捕 (短報). 北海道水産試験場研究報告 2015; 88: 49-54.
- 森田健太郎. カラフトマス日本系. 水産庁・水産研究・教育機構 (編), 平成30年度国際漁業資源の現況. Download from: (http://kokushi.fra.go.jp/H30/H30_59.pdf (2019)) (2020.2.28)
- Morita K, Morita SH, Fukuwaka M. Population dynamics of Japanese pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*): are recent increases explained by hatchery programs or climatic variations? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2006; 63: 55-62.
- Mueter FJ, Ware DM, Peterman RM. Spatial correlation patterns in coastal environmental variables and survival rates of salmon in the north-east Pacific Ocean. *Fish. Oceanogra.* 2002; 11: 205-218.
- North Pacific Anadromous Fish Commission. NPAFC Pacific salmonid catch statistics (updated 31 July 2019). Download from: ([https://npafc.org/statistics/\(2019\)](https://npafc.org/statistics/(2019))) (2019.9.25)
- Ohnuki T, Morita K, Tokuda H, Okamoto Y, Ohkuma K. Numerical and economic contributions of wild and hatchery pink salmon to commercial catches in Japan estimated from mass otolith markings. *N. Am. J. Fish. Manag.* 2015; 35: 598-604.
- Pyper BJ, Mueter FJ, Peterman RM, Blackbourn DJ, Wood CC. Spatial covariation in survival rates of Northeast Pacific pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 2001; 58: 1501-1515.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019. URL <http://www.R-project.org/>.
- Saito T, Hirabayashi Y, Suzuki K, Watanabe K, Saito H. Recent decline of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) abundance in Japan. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 2016; 6: 279-296.
- Torao M, Nagata M, Sasaki Y, Takeuchi K, Kasugai K. Evidence for existence of wild population of pink salmon in the Tohoro River system flowing into Nemuro Strait, eastern Hokkaido, Japan. *Sci. Rep. Hokkaido Fish. Res. Inst.* 2011; 80: 45-49.
- 横山優哉, 越野陽介, 宮本幸太, 工藤秀明, 北田修一, 埴山雅秀. 知床半島ルシャ川におけるカラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* の産卵遡上動態評価. 日本水産学会誌 2010; 76: 383-391.

北海道南西部知内川におけるサケ稚魚の放流後の降海移動

越野陽介^{*1}, 神力義仁², 青山智哉³, 竹内勝巳³, 實吉隼人², 宮腰靖之⁴

¹北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場道東センター,

²北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場,

³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,

⁴元北海道立総合研究機構水産研究本部

Residence time of stocked chum salmon fry in the Shiriuchi River, in southwestern Hokkaido

YOSUKE KOSHINO^{*1}, YOSHIHITO SHINRIKI², TOMOYA AOYAMA³, KATSUMI TAKEUCHI³, HAYATO SANEYOSHI² and YASUYUKI MIYAKOSHI⁴

¹ Doto Research Branch, Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Nakashibetsu, Hokkaido, 086-1164,

² Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Eniwa, Hokkaido, 061-1433,

³ Donan Research Branch, Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Yakumo, Hokkaido 043-0402,

⁴ Formerly: Fisheries Research Department, Hokkaido Research Organization, Yoichi, Hokkaido 046-8555, Japan

We collected the otolith-marked chum salmon fry that were released at different periods to determine the residence time of stocked fry in the Shiriuchi River of southwestern Hokkaido. The number of chum salmon fry collected with a fyke net trap decreased notably within approximately 2 days after release. While salmon fry were not collected during the day, many were collected at night. These results suggest that the salmon fry stocked at the Shiriuchi River, where the distance from the release site to the estuary is short, migrate to sea quickly and mainly at night.

キーワード：降海移動，サケ，耳石温度標識，水中音響カメラ

サケ *Oncorhynchus keta* は年によっては漁獲金額が500億円を超えることもある（北海道水産現勢：<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/sum/03kanrig/sui-toukei/suitoukei.html>），北海道における重要な漁業対象種の一つである。その放流数は1970年代後半から1990年代以降、ほぼ一定で推移しているが、来遊数は増減を繰り返し、3,000万～6,000万尾の間で推移してきた。しかし、2016年以降に来遊数の減少が顕著となり、特に2017年および2019年には来遊数が2,000万尾を割り込むような不漁に見舞われており、その対策が喫緊の課題となっている。

サケは降海直後において、海水温や餌生物量など海洋環境の影響を受けて減耗すると考えられている（宮腰ら、

2007; Saito *et al.*, 2009）。したがって、北海道においては、放流適期（沿岸の表面水温が5～10℃となり生物生産が高まる時期）に稚魚を河川に放流し、沿岸域の環境が稚魚にとって好適となるタイミングで降海できるようにすることが望ましいとされている（野川、2010）。そのため、放流後のサケ稚魚がどのくらい河川に滞在した後に降海するかを明らかにするための研究が、これまで行われてきた。

一般的に放流されたサケ稚魚は、河川に長期間留まらず放流されてからおよそ10日後までにはその多くが降海すると考えられている（小林ら、1965；宮腰ら、2012）。野生のサケ稚魚においても浮上時期が早かった稚魚の一

部を除き, 多くの個体は河川内では成長せずに海に下るため(埴山・佐藤, 1979), サケ稚魚が河川に滞在する期間は基本的に短いと考えられる。その一方で, 放流する時期により稚魚が河川に滞在する期間に差があることも知られており, 放流時期が早い稚魚は放流時期が遅い稚魚に比べて降河に要する時間が一ヶ月以上長くなることも報告されている(たとえば小林ら, 1965; 真山ら, 1983; Kasugai *et al.*, 2013)。そのような場合, サケ稚魚の密度が高くなることによる餌量の減少(小林・原田, 1968)や他の魚種による捕食(永田・宮本, 1986)が河川内における稚魚の減耗に繋がることも予想される。

このように, サケ稚魚の放流後の降海移動に関する調査研究は, 多くの河川で行われてきたが, 北海道南西部の津軽海峡側でサケ稚魚の降海移動に関する研究が行われた事例はわずかである。当該地域は, 津軽暖流の影響により冬季でも海水温が比較的高いため, サケ稚魚の放流適水温の下限値とされる5℃を下回ることが少なく(気象庁: <https://www.data.jma.go.jp>), サケ稚魚の放流時期を判断するのが難しい地域である。河川に放流されたサケ稚魚がどの程度河川に滞在してから海に降りるのかを明らかにすることは, その河川滞在期間を考慮したサケの放流タイミングを検討する上で重要であると考えられる。そこで本報では, 津軽海峡に面する北海道南西部知内川で放流されたサケ稚魚の河川滞在期間を明らかにするために, 稚魚の採集や水中音響カメラにより降海移動の特徴を調べた。

試料と方法

調査河川 北海道渡島管内を流れる知内川は, 津軽海峡に流入する流路長約34.7kmの二級河川であり, 河口から5km上流には渡島管内さけ・ます増殖事業協会の知内ふ化場がある(Fig. 1)。知内ふ化場では, 2014年に1,179万尾, 2015年に1,087万尾の稚魚を3月から5月にかけてふ化場から約2km下流の地点までトラックで輸送して放流している。野外調査における放流群の特定のために,

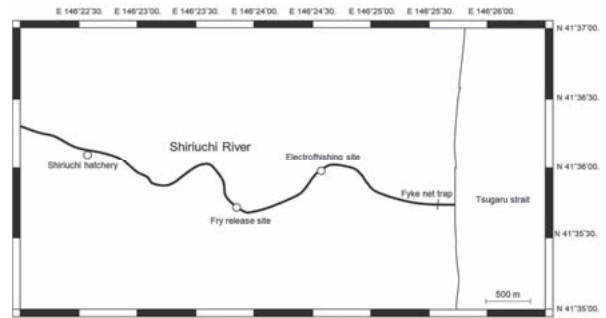


Fig.1 Location of the survey area and sampling sites.

サケ稚魚の耳石にはバーコード様の標識(耳石温度標識)を施標した。施標した放流群の放流日, 放流数, 体サイズおよび放流時の河川・沿岸の水温を表に示した(Table 1)。2014年には2群, 2015年には3群の標識魚をそれぞれ時期を変えて放流した。2ヶ年で放流した6つの標識群の放流時における平均体サイズは54~57mmの比較的狭い範囲に収まっていたことから(Table 1), 本報では放流群間の体サイズの差による降海行動の違いは生じていないと仮定した。3月の放流時には, 河川水温は両年ともに5℃以下, 沿岸水温は2015年が8.3℃であったのに対して2014年は2.6℃と低かった。4月以降の放流では河川・沿岸ともに放流適水温の下限値とされる5℃を超えていた。

サケ標識魚の採集 標識したサケ稚魚の降海時期を明らかにするために稚魚トラップ(長さ4.7m, 口径0.6×0.6m, 目合5mm, 以下トラップ)による採集調査を, 2014年には3月11日から5月7日までに計9回, 2015年には3月11日から6月2日までに計24回行った。トラップは河口から500m上流にある知内大橋下の河川中央部(川幅が約40m, 水深が約0.4m, 流速約0.6m/sの地点)に設置した。過去の降海行動の研究では, サケ稚魚は夕方から夜間にかけて降海することが明らかとなっているため(小林1964), 本調査におけるトラップの設置時間帯は夕方18時から翌朝9時までとした。トラップで稚魚が採集できない場合を考慮し, 放流地点から1km下流の右岸側に約100

Table 1 Release informaton for each otolith-marked group.

Release year	Otolith hatch code	Release date	Number released	Folk length (mm)	Body mass (g)	River temperture (°C)	Sea surface temperature (°C)
2014	2,3-2H	11-Mar	1,342,000	55	1.33	3.5	2.6
2014	2-2,3H	11-Apr	1,828,000	54	1.21	7.0	6.7
2015	2,3-2H	11-Mar	1,005,000	54	1.16	0.6	8.3
2015	2-2,3H	11-Apr	957,000	54	1.17	9.1	10.2
2015	2-2,1,2H/2-3,2H	1-May	915,000	57	1.26	12.1	11.8

mの調査区間を設定し、電気ショッカー（Smith-Root社製、LR-24型）による標識魚の採集も併せて行った。トラップおよび電気ショッカーで採集したサケ稚魚はその場で計数を行い、採集個体の一部（最大30尾程度を上限）を5%ホルマリン溶液で3時間固定した後で保存用の70%エタノール溶液に移し替え、標識の確認のために持ち帰った。実験室で尾叉長と体重の測定を行った後、サケ稚魚から耳石を採取し、耳石標識の確認および放流群の特定を行った。耳石はスライドガラスに熱可塑性樹脂を用いて接着し、耐水研磨紙およびラッピングフィルムを用いて耳石の核が露出するまで研磨した。研磨した耳石を光学顕微鏡下で観察し、標識の有無の確認および標識魚については標識群の特定を行った。稚魚の採集結果と標識率をTable 2に示した。トラップで実際に採集されたサケ稚魚の数に、耳石標識魚の割合を乗じて、採集魚中の標識魚の数を推定した。

Table 2 Summary of chum fry collection and identification of otolith marking

Year	Method	Number of collected chum fry	Number of sampled fry for otolith identification	Number of otolith-marked fry	otolith marking rate (%)
2014	Fyke net trap	842	221	88	40
	Electrofishing	359	359	51	14
2015	Fyke net trap	2017	572	282	49
	Electrofishing	504	504	146	29

降河行動の日周変化 知内川におけるサケ稚魚の降海移動の日周変化を詳しく調べるために、トラップによる採集と併せて水中音響カメラ（DIDSON, Sound Metric社製）を利用したサケ稚魚の行動観察を行った。サケ稚魚の降海移動は、特に夜間に活発になることが知られてきたが（小林, 1958）、近年にはそのような目視による観察が難しい環境下における水生生物の行動を調べるための新しい手法として水中音響カメラが普及し始めている。これまでサケ稚魚の降海移動についてはトラップによる採集調査によって明らかにされてきたが、水中音響カメラを利用すれば、日中における稚魚のトラップの回避など、直接的な採集では調べることができなかった降海移動の特性を明らかにできる可能性がある。そこで、2015年4月11日15時から4月13日12時まではサケ稚魚をトラップにより3時間毎に採集し、計数した。水中音響カメラは、4月11日9時から12日9時までの24時間、トラップの約5m上流側に流れに対して直角になるように河床を掘り下げて水中に設置し、周波数を1.8MHz、表示距離を3mに設定して、毎秒10フレームで河川の流心部を撮影した。

結 果

トラップによる標識魚の採集数は、放流日（3月11日、

4月11日および5月1日）とその翌日が特に多く、それ以外では少なかった（Fig. 2）。電気ショッカーで採集したサケ稚魚についてもほぼ同様の傾向がみられ、標識魚の放流日あるいはその翌日には標識魚の数が多かったものの、それらの日以外の調査では標識魚は少なかった（Fig. 3）。2015年5月に放流した標識群は放流2日後以降には採集されず、3月および4月に放流された標識群と比べて河川滞在の期間が短い傾向がみられた。

2015年4月11日から13日に3時間毎にサケ稚魚を採集した結果、11日の21時から24時に採集数が最も多く、12日の9時まで採集された（Fig. 4）。採集数は大きく減少したものの、12日21時から13日9時まででも前日同様の時間帯にサケ稚魚の採集数がピークとなった。一方で、昼間から夕方当たる9時から18時までの間にはサケ稚魚は採集することができなかった。

水中音響カメラによる観察では降海移動するサケ稚魚の群れは観察できたものの（Fig. 5）、個体ごとに計数することは困難であった。そのため、その稚魚の群れを一単位として計数した。その結果、放流直後である9時から12時の間に最も多い48の群れが降海したのを確認し、その後も15時から21時、翌12日の3時から6時にもわずかではあるが群れでの降海がみられた（Fig. 6）。11日21時から12日3時までの夜間にはサケ稚魚の群れは観察できなかった。

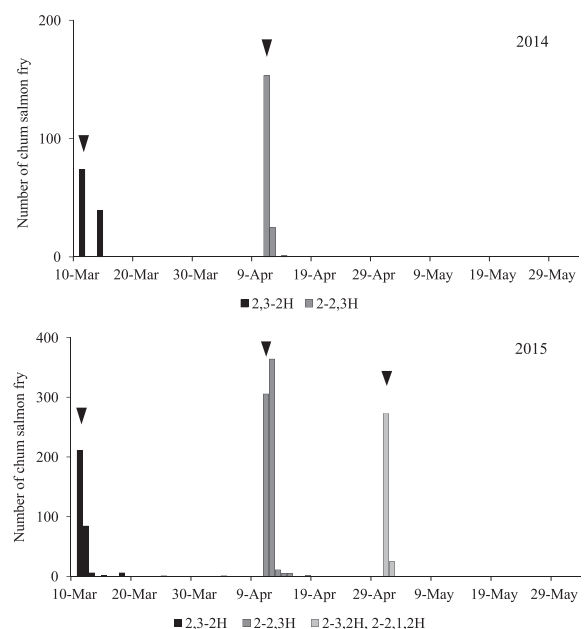


Fig.2 Number of marked chum salmon fry collected by fyke net trap in 2014 (upper) and 2015 (lower). The color patterns correspond to each otolith marking and arrowheads indicate the day of release of each marked salmon.

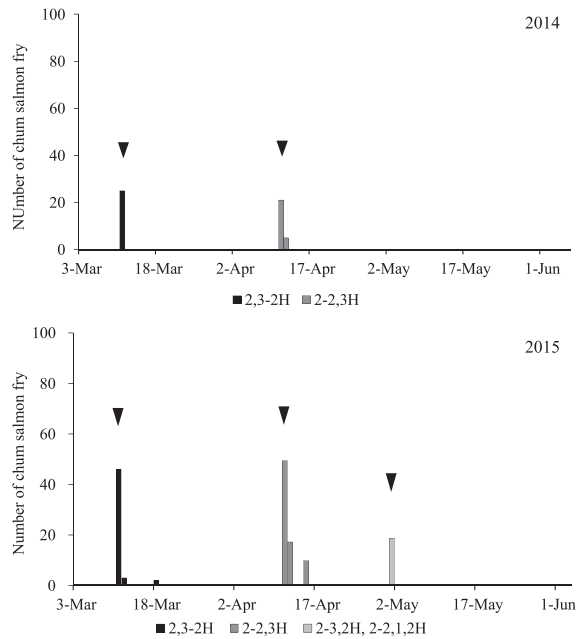


Fig.3 Number of marked chum salmon fry collected by electrofishing in 2014 (upper) and 2015 (lower). The color patterns correspond to each otolith marking and arrowheads indicate the day of release of each marked salmon.

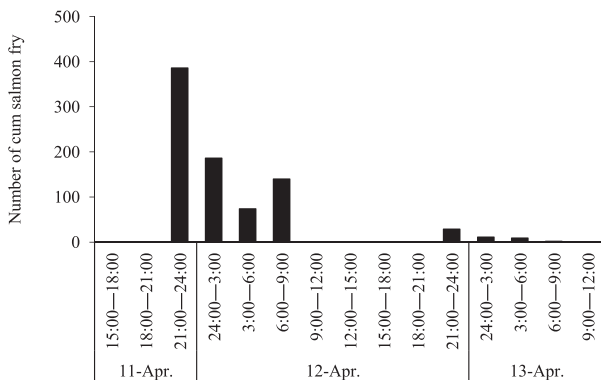


Fig.4 Number of chum salmon collected by fyke net trap at 3 hour intervals between 15:00 on April 11, 2015 and 12:00 on April 13, 2015.

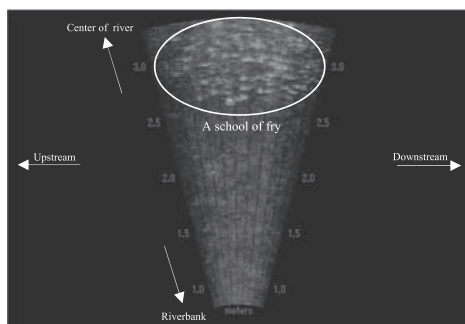


Fig.5 An acoustic image of chum salmon fry observed by dual frequency identification sonar (DIDSON). The elliptical white images in the circle are the school of salmon fry.

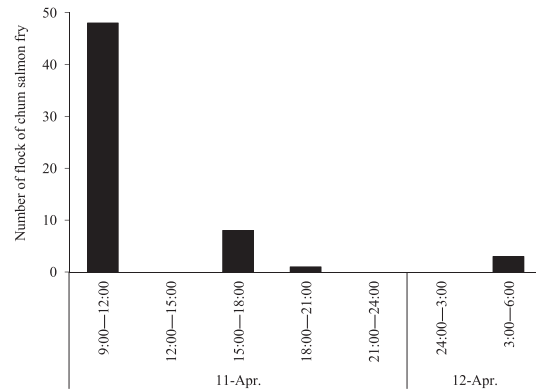


Fig.6 Number of chum salmon fry schools observed by DIDSON between 9:00 on April 11, 2015 and 6:00 on April 12, 2015.

考 察

これまでのサケ稚魚の降海移動に関する研究では、サケ稚魚の降海に要する期間は時期によって異なっていることが報告されてきた（小林ら, 1965; 真山ら, 1983）。特に、後期（4月中旬以降）に放流された群ではそれ以降に放流された群と比べて河川滞在期間が短く（およそ10日程度）、放流が遅い群ほど降河の速度が速いことが明らかとなっている（Kasugai *et al.*, 2013）。このことは、サケ稚魚は沿岸環境が好適な時期に降海できるように降河の速度を調節しているためだと考えられている。知内川における結果では、稚魚の河川滞在期間にそこまで明瞭な違いは見られず、どの放流時期においてもおよそ放流後のわずかな期間に降河移動のピークがみられたものの、2015年5月に放流された標識群のみ放流2日後以降には全く採集されなかった。この結果は上述したような放流時期による降河速度の違いを反映していたのかもしれない。特に本河川は放流場所から河口までの距離が約3 kmと短いことから、降河速度が河川滞在期間の違いに反映されづらかった可能性も考えられる。

サケ稚魚の降海行動の日周性を確認したところ、夜間から明け方のみトラップで採集され日中にはほとんど採集されなかった。この結果は、降海は基本的に夜間に行われるという過去の知見（McDonald, 1960; 小林, 1964）と一致した。このような移動の傾向は魚類（鷹見・長沢, 1996）や鳥類による捕食（河村ら, 2000）を避けるためと考えられる。しかし、水中音響カメラでは日中の放流直後に降海するサケ稚魚の群れを確認することができた。小林・阿部（1977）は遊楽部川でサケ稚魚が放流直後に降海行動を開始して放流当日に18km下流の河口で採集されたことを報告しており、それは人為的な放流

の刺激に伴う異常な行動であると述べている。また、及部川でも、輸送放流の刺激によると思われる日中の降海行動が報告されている（長谷川ら，2019）。したがって、本調査で日中に降海した群れが多く確認されたのは、輸送放流による刺激やストレスが影響した可能性が高いと思われる。さらに、4月11日の15時から18時の時間帯にはトラップでは採集されなかったが、水中音響カメラでは降海移動する稚魚の群れが確認できたことから、日中にはサケ稚魚がトラップを避けていることを示している可能性が示唆された。このことは、今後日中におけるサケ稚魚の採集調査を行う上での懸念事項になると思われる。一方、今回トラップで数多く稚魚が採集された夜間に、水中音響カメラでサケ稚魚の群れを確認できなかった。このことについて詳細な議論はできないが、サケ稚魚は夜間に岸際を移動することが報告されていることから（小林，1964）、サケ稚魚が水中音響カメラの撮影範囲外である岸側を移動していたのかもしれない。したがって、水中音響カメラでサケ稚魚の降河行動を調べる場合には、降河するサケ稚魚が全て撮影範囲に入るような川幅が比較的狭い場所で観察できれば、サケ稚魚の降河位置など詳細な降河行動を明らかにできるとと思われる。

本研究の結果から、輸送放流に伴う例外的な行動は確認されたものの、知内川ではサケの河川滞在期間は極めて短く、放流後わずかな期間で降海することが明らかとなった。この知内川のようにサケ稚魚が即座に降海するような河川では、河川環境はもとより沿岸の海水温や餌環境などがサケ稚魚にとって好適かどうかを把握したうえで放流を行うことが重要だと考えられる。他のサケ属魚類における研究では、河川内における死亡も無視できない程度に高いと考えられている（Chittenden *et al.*, 2010）。したがって、知内川のような河川滞在期間の短さは、魚類などによる河川内での被食（永田・宮本，1986）や長期間の降河移動による栄養状態の低下（kasugai *et al.*, 2013）に伴う減耗の抑制に繋がるというメリットがある可能性がある。

謝 辞

本研究を行うにあたり、知内川でのサケ稚魚の採集調査に多大なる協力を頂いた柳元孝二専務および鈴木慎主任をはじめとする一般社団法人渡島管内さけ・ます増殖協会の皆様に厚くお礼申し上げます。本研究は、水産庁太平洋サケ資源回復調査委託事業および北海道資源生態調査総合事業により行われました。

引用文献

- Chittenden CM, Melnychuk MC, Welch DW, McKinley RS. An investigation into the poor survival of an endangered coho salmon population. *PLoS ONE* 2010; 5: 3–12.
- 長谷川功，森田健太郎，大熊一正，鈴木健吾，本多健太郎，中島歩，吉野州正，日本海さけ・ます増殖事業協会，渡島管内さけ・ます増殖事業協会．サケ稚魚の降海行動が活発になるとき．*SALMON情報* 2019; 13: 14–19.
- 帰山雅秀，佐藤愁一．十勝川におけるサケ稚魚の成長と食性に関する調査－Ⅲ．1977年，稚魚の降海移動期と成長および摂餌活動との関係．*北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1979; 33: 47–73.
- Kasugai K, Torao M, Nagata M, Irvine JR. The relationship between migration speed and release date for chum salmon *Oncorhynchus keta* fry exiting a 110-km northern Japanese river. *Fish. Sci.* 2013; 79: 569–577.
- 河村博，工藤智，宮本真人，永田光博．サケ幼魚の沿岸生態．*日本海区さけます回帰率向上対策調査報告書* 2000; pp: 68–99.
- 小林哲夫．サケ稚魚の生態調査(5)．降海期に於けるサケ稚魚の行動について．*北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1958; 12: 21–30.
- 小林哲夫．サケ稚魚の生態調査－Ⅶ．サケ稚魚の行動についての一知見．*北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1964; 18: 1–6.
- 小林哲夫，原田滋，阿部進一．西別川におけるサケ・マスの生態調査Ⅰ．サケ稚魚の降海移動並びに成長について．*北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1965; 19: 1–10.
- 小林哲夫，原田滋．西別川におけるサケ・マスの生態調査Ⅲ．サケ稚魚の食性と餌料生物相について．*北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1968; 22: 15–35.
- 小林哲夫，阿部進一．遊楽部川におけるサケ・マス生態調査2．サケ稚魚の降海移動，成長と標識親魚の回帰．*北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1977; 31: 1–11.
- 真山紘，関二郎，清水幾太郎．石狩川産サケの生態調査－Ⅱ．1980年及び1981年春放流稚魚の降海移動と沿岸帯での分布回遊．*北海道さけ・ますふ化場研究報告* 1983; 37: 1–22.
- McDonald J. The behavior of Pacific salmon fry during their downstream migration to fresh water and saltwater nursery areas. *J. Fish. Res. Board Can.* 1960; 17: 655–676.
- 宮腰靖之，安藤大成，藤原真，隼野寛史，永田光博．網

- 走川におけるサケ稚魚の降河移動. 北海道水産試験場研究報告 2012; 82: 19–26.
- 宮腰靖之, 永田光博, 齊藤誠一. 衛星リモートセンシングにより観測したオホーツク海東部地区の春季の沿岸水温とサケの回帰率との関係. 北海道水産孵化場研究報告 2007; 61: 1–10.
- 永田光博, 宮本真人. 歌別川におけるサケ稚魚の降下移動とハナカジカによるサケ稚魚捕食量の推定. 北海道立水産孵化場研究報告 1986; 41: 13–922.
- 野川秀樹. さけます類の人工ふ化放流に関する技術小史(序説). 水産技術 2010; 3: 1–8.
- Saito T, Shimizu I, Seki J. Relationship between zooplankton abundance and the early marine life history of juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta* in eastern Hokkaido, Japan. *Fish Sci.* 2009; 75: 303–316.
- 鷹見達也, 長沢和也. 河川におけるアメマスによるサケ稚魚およびサクラマス幼魚の捕食. 北海道立水産孵化場研究報告 1996; 50: 45–47.

リアルタイムPCRを用いたコンブ遊走子定量法の改良（技術報告）

高谷義幸*

北海道立総合研究機構中央水産試験場

An improved method of real-time PCR assay for zoospores of *Saccharina japonica* var. *religiosa*. (Technical report)

YOSHIYUKI TAKAYA

Central Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Yoichi, Hokkaido 046-8555,

キーワード：定量，ホソメコンブ，遊走子，リアルタイムPCR

北海道南西部の日本海沿岸では、主要な大型海藻であるホソメコンブの群落が増加し、磯焼け状態となっている。このような海域では、遊走子の供給源である母藻の減少により、群落の回復が困難になっている。海水中の遊走子数を定量することは、コンブ群落の形成機構を知るための重要な手がかりとなるが、従来用いられてきた培養による手法（新原ら，1980；名畑，1989）では、多検体の分析が難しかった。

高谷ら（2016）はリアルタイムPCRを用いてホソメコンブ遊走子数を容易に定量する手法を開発したが、安定した測定値を得るためには試水を濾過したフィルターに2,000個以上の遊走子を捕捉することが必要だった。ここでは、より少ない遊走子濾過数でも定量できる方法として、前報（高谷ら，2016）に比べて、抽出後のDNA濃度が10倍となる抽出法での手順について検討した。また、PCRの測定精度を向上させるために、ホソメコンブ用プライマー（高谷ら，2016）で、まれに見られることがあった非特異増幅の影響を軽減するのに最適なプライマー濃度と蛍光強度測定温度を求め、PCRプロトコルを改訂した。

試料と方法

DNA抽出キットの変更 前報（高谷ら，2016）で用いたDNA抽出キット（DNeasy Plant Maxi Kit（QIAGEN社））は、抽出時の最終液量が2,000 µLであった。これを最終液量が200 µLであるDNeasy Plant Mini Kit（QIAGEN

社）に変更することで、抽出液中のDNA濃度を従来の10倍とした。この際、キット所定のDNA抽出手順の過程に、遊走子を捕集するために使用した濾紙を除去するステップ（図1のステップ7～9）を追加した（図1）。

非特異増幅の軽減1 プライマー濃度の検討 非特異増幅に対するプライマー濃度の影響を検討するため、プライマー添加量を4段階に調整してPCRを行った。PCR反応液は、TB Green Premix EX Taq II（タカラバイオ社）12.5 µLにホソメコンブ用のForwardおよびReverseプライマー（高谷ら，2016）を終濃度が0.6 µM，0.4 µM，0.3 µMおよび0.2 µMになるように加え、超純水で液量を23 µLに調整した。これに、テンプレートとなるDNA抽出液を2 µL加えて最終的に25 µLに調整してPCRに供した。非特異増幅は、ホソメコンブのDNA濃度が薄いときに生じやすいため、この実験で用いたテンプレートは、DNA抽出液200 µL中にホソメコンブ遊走子30個相当のDNAを含む抽出液を使用した。

これらをThermal Cycler Dice Real Time System Lite（タカラバイオ社）を用いて、リアルタイムPCRに供した。PCRの反応条件は、95℃30秒で初期変性を行った後、95℃で5秒，60℃で30秒の温度サイクルを45回行い、PCR終了後に融解曲線分析を行った。

非特異増幅の軽減2 蛍光強度測定温度の検討 このプライマー使用時に見られる非特異増幅のTm値はホソメコンブのTm値と明らかに異なっているため、非特異増幅による産物が乖離して蛍光を失い、かつ特異的産物が乖離せずに蛍光を維持する温度に蛍光強度測定ステップを設定

DNAの抽出手順 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN社)使用時

1. 400 μ Lの「AP1」を2mLのチューブに入れ65°Cに加熱する*1。
2. 4 μ Lの「RNase」を添加する。
3. 遊走子を濾過した濾紙を「1」のチューブに入れる*2。
4. 濾紙を入れたチューブを65°Cで15分間インキュベートする。途中で2～3回、ボルテックスで攪拌する。
5. 130 μ Lの「Buffer P3」を添加後、ボルテックスで混和する。この時、チューブの下端まで白濁するように激しく攪拌する。攪拌時に粘性を生じると混和しづらくなるので、手早くボルテックスする。その後、氷上で5分間インキュベートする。
6. 室温、20,000×Gで5分間遠心分離する。
7. 新しい1.5mLチューブに広口チップで上澄と沈殿を移す。上面に浮いているものと濾紙は移さない。
8. 室温、20,000×Gで2分間遠心分離する。
9. 「QIA shredder Mini Spin Column (2mLチューブにセット済み) (薄紫色)」に上澄全量を広口チップで移す。沈殿はなるべく吸わないようにする。
10. 室温、20,000×Gで2分間遠心分離する。
11. 濾液を新しい2mLチューブにピペットを使って移す。この時、遠心したチューブ内にペレットができていた場合は、これをはがさないように注意する。
12. 「11」で移したライセートの1.5倍量の「Buffer AW1*3」を添加し、ピペッティングで混和する。通常は、450 μ L程度のライセートが得られるので、加える「AW1」は675 μ Lとなる。
13. 「12」の混和液を「DNeasy Mini Spin Column (2mLチューブにセット済み) (白色)」に移すただし、全量は移せないで、2回に分けて移すことになる。
14. 室温、6,000×Gで1分間遠心分離する。濾液は捨てる。
15. 「13」で残ったライセートを「DNeasy Mini Spin Column」に移す。
16. 室温、6,000×Gで1分間遠心分離する。濾液とチューブは捨て、「DNeasy Mini Spin Column」をキット添付の2mLコレクションチューブにセットする。
17. 「Buffer AW2*3」500 μ Lをカラムに添加する。
18. 室温、6,000×Gで1分間遠心分離する。濾液は捨てる。
19. 再度、500 μ Lの「Buffer AW2」をカラムに添加する。
20. 室温、20,000×Gで2分間遠心分離し、メンブレンを乾燥させる。
21. 「DNeasy Mini Spin Column」を新しい1.5mLチューブに移す。
22. 100 μ Lの「Buffer AE」を「DNeasy Mini Spin Columnメンブレン」にアプライする。
23. 室温で5分間インキュベートする。
24. 6,000×Gで2分間遠心分離する。
24. 「22」～「24」を繰り返す。最終液量は200 μ Lとなる。

*1 AP1は常温で結晶を生じるので、あらかじめ60°C程度に加熱して結晶を溶解して2mLのチューブに400 μ Lずつ分注してストックしておくといよい。

*2 濾紙全体がAP1に浸漬されるよう、ハサミで濾紙を1/2に切断する。濾紙を收容してあるポリ袋の上から切断し、ピンセットで濾紙を取り出してチューブに2枚とも入れる。
切断に用いたハサミとピンセットは、コンタミを避けるため、1サンプルごとにエタノールで洗浄して拭き取る。

*3 AW1とAW2は濃縮なので、表示に従ってエタノールで希釈しておく。AW1に沈殿が見られる場合は、65°Cに加熱して沈殿を溶解した後にエタノールで希釈する。

図1 DNA抽出の手順

することで、非特異増幅産物を除いてターゲットだけを特異的に測定することが可能となる（タカラバイオウェブカタログ「インターカレーター法によるリアルタイムPCRの条件検討 2(2)検出ステップ（ターゲット特異的検出）」, http://catalog.takara-bio.co.jp/product/basic_info.php?unitid=U100004190, 2020年5月20日閲覧）。そこで、PCR終了後の融解曲線分析から、非特異増幅とホソメコンブのT_m値の差を調べ、伸長反応ステップに追加する蛍光強度測定ステップの温度を検討した。

DNeasy Plant Mini Kitを使用した場合のDNA抽出精度の確認 2019年10月30日に北海道後志総合振興局管内余市町にある道総研中央水産試験場前浜で子嚢斑が形成されているホソメコンブを採集し、表面を蒸留水で洗浄してから紙に包んだ半乾燥状態で冷蔵庫内に半日置き、これを人工海水に浸漬して遊走子を放出させた。得られた粗遊走子液は4枚重ねのさらしで夾雑物を除去し、冷暗所に2時間静置して試験用の遊走子原液とした。遊走子原液から9mLを分注し、これにホルマリン1mLを加えて遊走子を固定し、血球算定盤を用いて遊走子数を計数した。

遊走子原液を人工海水で10倍に希釈したものから50mLと10mL、また、原液を100倍希釈したものから20mL、10mLおよび5mLを前報（高谷ら, 2016）と同様の方法でそれぞれ2本ずつ濾過し、フィルターホルダーから濾紙を取り出した後、濾過面を内側に折りたたんでチャック付きポリ袋に収容してDNA抽出まで-30℃で冷凍保存した。後日、図1に示した方法でDNA抽出を行い、先の非特異増幅軽減実験で得られたPCRプロトコル（後述）でPCRを行って、想定した遊走子濾過数とリアルタイムPCRのCt値を比較した。

定量下限値の検討 本法における定量下限値を調べるため、図1の手順で抽出したホソメコンブ遊走子20,000個相当のDNAを含む抽出液を1/2ずつ12段階にEASY Dilution（タカラバイオ社）で希釈して、20,000～10個相当となるDNA希釈系列を作成した。これを、先の非特異増幅軽減実験で得られたPCRプロトコル（後述）でPCRを行い、測定精度（Ct値の安定性）について検討した。

結果と考察

プライマー濃度の決定 4段階のプライマー濃度でPCRを行った結果、すべての濃度で非特異増幅が見られたが、0.3μMで最も少なかった。また、0.6～0.3μMではホソメコンブ反応の蛍光強度に差は見られなかったが、0.2μMでは非特異増幅の蛍光強度が大きいと同時にホソメコンブ反応の蛍光強度が低下した（図2）。以上のことから、ホソメコンブの反応に影響を与えずに非特異増幅を軽減

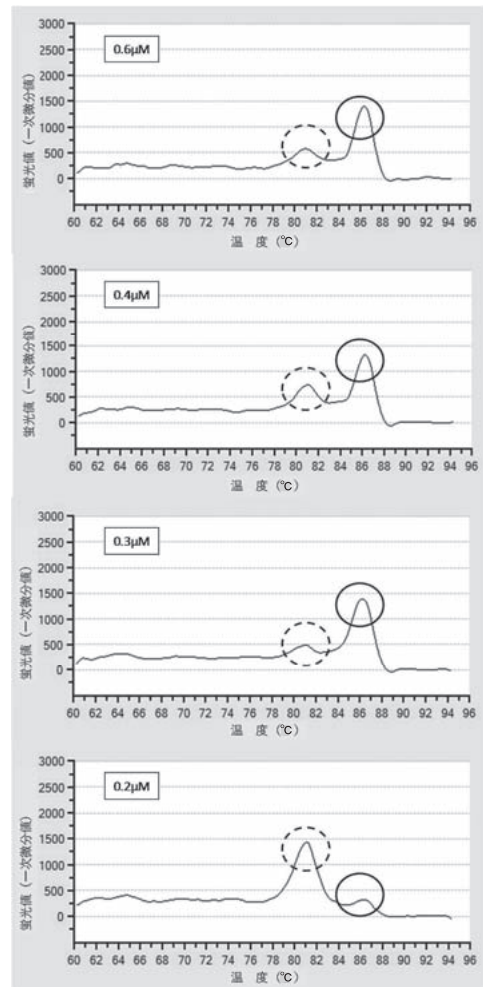


図2 4段階のプライマー濃度でPCRしたときの融解曲線の負の一次微分曲線

破線丸印が非特異増幅によるピーク、実線丸印がホソメコンブDNAによるピーク

Thermal Cycler Dice Real Time System Lite（タカラバイオ社製）付属のデータ処理ソフトにより作図して一部改変および加筆

できる最適なプライマー濃度は、終濃度で0.3μMであると考えられた。

蛍光強度測定温度 図3に前述の実験における0.4μMの融解曲線分析の結果を示した。非特異増幅のT_m値は81.0℃付近であった。これに対してホソメコンブのT_m値は86.5℃付近であり、両者の融解曲線の負の一次微分曲線のピークは84.0℃で明瞭に分離可能であった。このことから、PCR時の伸長ステップの次に84.0℃の蛍光強度測定ステップを追加設定することで、非特異増幅の影響を受けずにホソメコンブのDNA量が測定可能となった。新たに作成したPCRプロトコルは図4に示した。

DNeasy Plant Mini Kitを使用した場合のDNA抽出精度 濾過前の遊走子原液の遊走子数は、直接計数の結果45,000

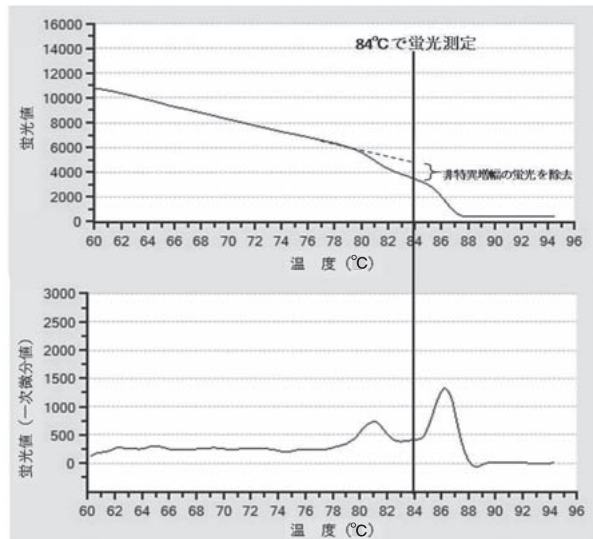


図3 非特異増幅とホソメコンプによる増幅の融解曲線(上)とその負の一次微分曲線(下)

Thermal Cycler Dice Real Time System Lite (タカラバイオ社製) 付属のデータ処理ソフトにより作図して一部改変および加筆

①PCR反応液の調整	
TB Green Premix Ex Taq II (タカラバイオ社)	12.5 μ L
Forward Primer (10 μ M)	0.75 μ L
Reverse Primer (10 μ M)	0.75 μ L
超純水	9.0 μ L
DNAテンプレート	2.0 μ L
合 計	25.0 μ L
②PCRプロトコール	
95°C 30秒 (初期変性)	
↓	
95°C 5秒	
↓	
60°C 30秒	40cycle
↓	
84°C 15秒 (蛍光測定)	
↓	
融解曲線分析	

図4 リアルタイムPCR プロトコール

個/mLであった。したがって、濾紙に捕捉された遊走子数は、225,000個、45,000個、9,000個、4,500個および2,250個と想定された。これらから図1の手順でDNAを抽出し、リアルタイムPCRで測定した結果を図5に示した。その結果、想定された遊走子数とCt値には強い相関関係 ($R^2=0.990$) があり、DNAは精度高く抽出されていた。

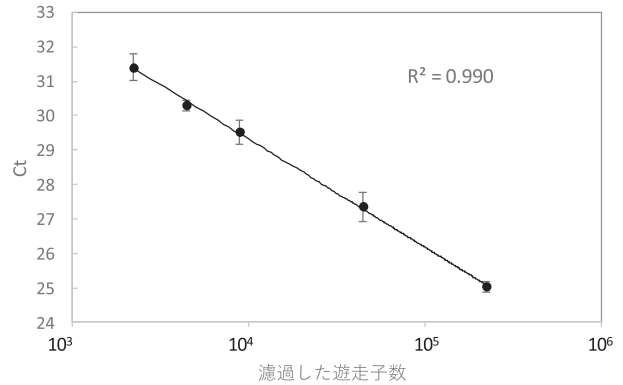


図5 濾過した遊走子数と抽出したDNAのCt値

定量下限値 遊走子20,000個~10個相当まで12段階のDNA希釈系列を図4のプロトコールを使ってリアルタイムPCRで測定した結果を図6に示した。遊走子数とCt値には20,000~312個相当までは高い相関関係 ($R^2=0.995$) があり、残差に偏りもなかったが、156個相当以下では相関関係はある程度維持されたもののCt値のばらつきが大きく一部の残差に偏りが見られた。また、10個相当では検出できない場合もあった。さらに、20,000~312個相当までのPCR効率率は92.4%であり、一般に適正とされる範囲(80~100%)内であった。

以上のことから、本法では、試水を濾過したフィルター上に300個以上の遊走子が含まれていれば正確な定量が可能であると判断され、前報に比べて検出下限値を1/7にすることができた。これは、現状で私たちが行っている現場海水の濾水量(50mL)を想定した場合、海水中に6個/mL以上の遊走子があれば正確に定量できることを示している。

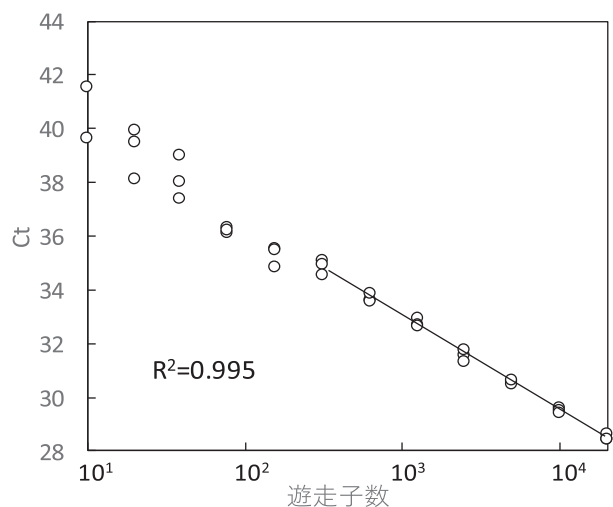


図6 遊走子由来DNAの希釈系列とCt値の関係 R^2 は20,000~312個までのデータから算出

引用文献

- 名畑進一．コンブ遊走子の生態に関する研究 第1報 コ
ンブ遊走子の定量法，北海道立水産試験場研究報告
1989; 32: 11-17.
- 新原義昭，名畑進一，松谷 実，武井文雄．リシリコン
ブの成熟と胞子体発芽数の周年変動及び日周変動．
北海道立水産試験場報告 1980; 22: 7-16.
- 高谷義幸，秋野秀樹，四ツ倉典滋．リアルタイムPCR
を用いたホソメコンブ遊走子の定量法（技術報告）．
北海道水産試験場研究報告 2016; 90: 13-16.

逃避行動を利用したサケ稚魚遊泳速度の簡易測定法

虎尾 充, 宮本真人, 小林美樹

逃避行動の動画撮影と映像解析による簡便なサケ稚魚の遊泳速度測定法（逃避測定法）の確立を試みた。円形試験水槽に稚魚を収容し10秒間隔で2回の音刺激を与えて逃避行動を誘起した。遊泳行動をデジタルカメラで撮影し、Windows用のフリーソフトウェアを用いて映像解析によって突進速度と巡航速度を測定した。測定された突進速度は70～110 cm/s（18～22 FL/s）、巡航速度は10～22 cm/s（2～4 FL/s）であった。逃避測定法とスタミナトンネル法による遊泳速度には強い正の相関が認められ、逃避測定法はサケ稚魚の遊泳速度の測定法として有効であると考えられた。

A 583 北水試研報 98 1-10 2020

根室地方の植別川におけるカラフトマスの遡上・産卵時期、および遡上数の年変動

春日井 潔, 實吉隼人, 佐々木義隆

北海道根室地方北部地区においてカラフトマスの捕獲・放流を行っていない植別川で2008～2015年にかけて本種の遡上数および遡上・産卵時期を調査した。植別川ではカラフトマスの観察数は9月中旬から下旬に、産卵床数は9月中旬から10月上旬に最大になった。カラフトマスの合計観察数は、奇数年が2009年、偶数年が2010年に最大となった後、急激に減少した。植別川におけるカラフトマスの合計観察数は根室北部地区の沿岸漁獲数および河川捕獲数と有意な正の相関を示した。

A 584 北水試研報 98 11-18 2020

北海道南西部知内川におけるサケ稚魚の放流後の降海移動

越野陽介, 神力義仁, 青山智哉
竹内勝巳, 實吉隼人, 宮腰靖之

北海道南西部知内川において、サケ稚魚の河川滞在期間を明らかにするために、標識を施したサケ稚魚をそれぞれ異なる時期に放流し、稚魚トラップにより採集した。放流したサケ稚魚の採集数は、放流からおおよそ2日以内に大きく減少した。また、サケ稚魚は日中にはほとんど採集されず、夜間に多数採集された。これらの結果から、放流場所から河口までの距離が短い知内川ではサケ稚魚の河川滞在期間は短く、夜間を中心に速やかに降海していると考えられた。

A 585 北水試研報 98 19-24 2020

リアルタイムPCRを用いたコンブ遊走子定量法の改良（技術報告）

高谷義幸

リアルタイムPCRでホソメコンブ遊走子を定量するための方法を改良した。より少ない遊走子を濾過した場合でも測定できるようにするため、抽出後のDNA濃度が前報の10倍となるDNA抽出法に変更した。また、PCRの測定精度を向上させるために、非特異増幅の影響を軽減するのに最適なプライマー濃度と蛍光強度測定温度を求めて、PCRプロトコルを改訂した。今回の方法では、海水中からホソメコンブ遊走子を定量する際の検出下限が前報の1/7となり、試水濾過後のフィルターに300個以上の遊走子が捕捉されていれば精度高く定量できる。

A 586 北水試研報 98 25-29 2020

水産研究本部図書出版委員会

委員長	中多 章文
委 員	萱場 隆昭 武田 忠明 赤池 章一 高嶋 孝寛 森 立成 浅見 大樹
事務局	星野 昇 富樫 佳弘 中明 幸広

水産研究本部出版物編集委員会

委員長	星野 昇
委 員	山口 幹人 板谷 和彦 馬場 勝寿 金田 友紀 蛸谷 幸司 武田 浩郁 隼野 寛史 卜部 宏一 浅見 大樹 水野 伸也
事務局	富樫 佳弘 中明 幸広（作業補助：石川さやみ）

北海道水産試験場研究報告 第98号

2020年9月25日発行 ISSN : 2185-3290

編集兼 発行者	北海道立総合研究機構水産研究本部 〒046-8555 北海道余市郡余市町浜中町238 電話 総合案内 0135(23)7451（総務部総務課） 図書案内 0135(23)8705（企画調整部企画課） FAX 0135(23)3141 Hamanaka-cho 238, Yoichi-cho, Hokkaido 046-8555, Japan
印刷所	岩橋印刷株式会社 〒063-8580 札幌市西区西町南18丁目1番34号 電話 011(669)-2500

