

北海道水産試験場研究報告

第 93 号

SCIENTIFIC REPORTS OF HOKKAIDO FISHERIES RESEARCH INSTITUTES No.93

北海道立総合研究機構水産研究本部

北海道余市町

2018年3月

Hokkaido Research Organization
Fisheries Research Department

Yoichi, Hokkaido, Japan

March, 2018

北海道立総合研究機構水産研究本部の水産試験場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。

In addition, the 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)	085-0024 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93号

目 次

嶋田 宏

北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する生物海洋学的研究（学位論文）… 1

坂口健司，鈴木祐太郎，秦 安史，浅見大樹，高嶋孝寛

北海道北部海域に分布するホッケの資源量減少にともなう体サイズの変化とその親魚量への影響… 51

陳 二郎，吉田英雄，桜井泰憲

コマイ卵および仔魚の正常発生過程…………… 59

陳 二郎，吉田英雄，桜井泰憲

水温・塩分濃度の変化がコマイ卵の後期卵発生過程とふ化に及ぼす影響…………… 69

後藤陽子，甲斐嘉晃，堀本高矩，坂口健司，美坂 正

マルチプレックスPCR法による北海道北部に生息するイカナゴ属魚類の種判別簡易化の検討…………… 81

畑山 誠，藤原 真，水野伸也

サケ回帰親魚の体腔液中の冷水病原菌*Flavobacterium psychrophilum*濃度（短報）…………… 89

小山達也，品田晃良，黒田 寛，宮腰靖之

粒子追跡実験を用いた北海道日本海におけるサケ幼稚魚の北上移動に関する考察（短報）…………… 93

吉田秀嗣，金森 誠

北海道，噴火湾東部海域における麻痺性貝毒原因プランクトン*Alexandrium tamarense*の
出現と環境要因，特に河川流量との関係について（資料）…………… 99

（2018年3月）

SCIENTIFIC REPORTS
OF
HOKKAIDO FISHERIES RESEARCH INSTITUTES
No.93
CONTENTS

HIROSHI SHIMADA

Biological Oceanographic Study on Method for Predicting the Occurrence of Paralytic Shellfish Toxin along the Okhotsk Sea Coast off Hokkaido 1

KENJI SAKAGUCHI, YUTARO SUZUKI, YASUFUMI HADA, HIROSHI ASAMI and TAKAHIRO TAKASHIMA

Changes in body size with decrease in biomass of Arabesque greenling *Pleurogrammus azonus* in sea off northern Hokkaido and its influence on spawning stock biomass 51

ARE-LANG CHEN, HIDEO YOSHIDA and YASUNORI SAKURAI

Normal embryonic-hatching process of saffron cod (*Eleginus gracilis*) 59

ARE-LANG CHEN, HIDEO YOSHIDA and YASUNORI SAKURAI

Effects of various temperature-salinity conditions on post embryonic-hatching process of Saffron cod (*Eleginus gracilis*) 69

YOKO GOTO, YOSHIKI KAI, TAKANORI HORIMOTO, KENJI SAKAGUCHI and TADASHI MISAHA

Multiplex PCR-based molecular identification of *Ammodytes* species (Perciformes: Ammodytidae) caught in northern Sea of Japan, Hokkaido, Japan 81

MAKOTO HATAKEYAMA, MAKOTO FUJIWARA and SHINYA MIZUNO

The concentration of *Flavobacterium psychrophilum* in the ovarian fluid of returning chum salmon (Short paper) 89

TATSUYA KOYAMA, AKIYOSHI SHINADA, HIROSHI KURODA and YASUYUKI MIYAKOSHI

Consideration on northward transport of juvenile chum salmon in the Sea of Japan off Hokkaido based on particle-tracking experiments (Short paper) 93

HIDETSUGU YOSHIDA and MAKOTO KANAMORI

Link between abundance of toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamarense*, and certain environmental factors, particularly river runoff, in eastern part of Funka Bay, Hokkaido (Note) 99

(March, 2018)

北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する生物海洋学的研究（学位論文）

嶋田 宏

北海道立総合研究機構中央水産試験場

Biological Oceanographic Study on Method for Predicting the Occurrence of Paralytic Shellfish Toxin along the Okhotsk Sea Coast off Hokkaido

HIROSHI SHIMADA

Central Fisheries Institute, Hokkaido Research Organization, Yoichi, Hokkaido 046–8555, Japan

The scallop fishery along the Okhotsk Sea coast of Hokkaido is known as “sowing culture”, harvesting after three years of scallop seed sowing on the fisheries grounds, and is one of the largest bivalve fisheries (catch slightly less than 300 thousand tons per year) in the world. However, the scallop fishery has experienced economic damage due to incidental occurrence of paralytic shellfish toxin accumulation by shellfish (PST) caused by the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in summer once every several years. An intensive PST occurrence recorded in summer 2002 stopped the scallop fishing for more than one month, leading to a steep fall in the scallop market value and serious economic losses. To minimize economic damage due to PST occurrence caused by *A. tamarense*, the transportation mechanism of water mass contaminated *A. tamarense* from the oceanic area to the scallop fishing ground along the coastal area was revealed and a method for predicting the occurrence of PST was established in the present study.

Seasonal changes in occurrences of vegetative cells of *A. tamarense* and PST toxicity were researched along the coast of Hokkaido during 2005 – 2006. Vegetative cells occurred in the Okhotsk Sea and the Pacific coast (cold current area affected by the East Sakhalin Current and the Oyashio) but not detected in the Sea of Japan and the Tsugaru Strait (warm current area affected by the Tsushima Warm Current and the Tsugaru Warm Current). Occurrences of PST over the quarantine level (4 MU g⁻¹ scallop whole meat) were recorded in Funka Bay during blooms of *A. tamarense* (> 10³ cells L⁻¹) were observed.

Horizontal distribution of resting cysts of toxic *Alexandrium* spp. was investigated around Hokkaido during 1999 – 2000. Resting cysts of *A. tamarense* were widely distributed in the Okhotsk Sea and the Pacific Ocean. Regarding the relationship between past PST occurrences and cyst abundance in the sediment of each area, positive correlations were found between the frequencies of PST occurrence years and the cyst abundances and between the annual maximum PST toxicities and the cyst abundances. Therefore the cyst abundance implies important information about the past PST occurrences (frequency and magnitude) of each area. The occurrences of vegetative cells of *A. tamarense* during 2005 – 2006 (above mentioned) were considered to reflect the cyst abundance of each area. However the occurrences of vegetative cells and cyst abundance in the Okhotsk Sea off Hokkaido, showed that despite the low occurrences of vegetative cells in the coastal area, large cyst abundances were found on the continental shelf from Hokkaido to Sakhalin. Thus the oceanic area of the Okhotsk Sea off Hokkaido was considered to have a high potential for initiation of *A. tamarense* blooms.

Spatial distribution of vegetative cells of *A. tamarense* was examined in the Okhotsk Sea off Hokkaido in summer during 2002 – 2007. The vegetative cells frequently occurred in the surface low salinity water (LSW, salinity < 32.5) in the oceanic area and rarely appeared in the Soya Warm Current water (SWC, salinity > 33.6) along the coastal area and the dichothermal water (DTW, temperature < 2 °C) below 30 m deep in the oceanic area. Nutrient concentrations were respectively higher in the DTW than the LSW and the SWC. Despite the low nutrient concentrations of the LSW, *A. tamarense* can be considered to utilize nutrients originating from the DTW just below the LSW due to the effects of diel vertical migration. A continuous diatom bloom

was observed along the front area between the LSW and the SWC where a belt – shaped upwelling area occurred with higher nutrient concentrations. Bloom of *A. tamarense* tended to be found in the LSW just outside the front area, because of interspecific competition with the diatom bloom. Lower DIP concentration of the SWC is supposed to restrict formation of a *A. tamarense* bloom in addition to the absence of the DTW with higher DIP concentration below the SWC. Therefore environmental conditions of the SWC were concluded to be severe for bloom formation of *A. tamarense*. Regarding the interannual relationship between the abundance of *A. tamarense* in summer and the relative frequency of each water mass in spring and summer, the abundance tended to be higher in years when higher frequencies were recorded of the SWC in spring and of the LSW in summer. The results suggest that warming by the SWC in spring prompts germination of *A. tamarense* cysts in the sediment and domination of the LSW in summer gives optimum medium for bloom formation of *A. tamarense*.

Toxin profiles of 103 culture strains of *A. tamarense* isolated from sediment or seawater samples collected from the coast of Hokkaido and Aniva Bay (southern Sakhalin) were analyzed using HPLC during 2005 – 2009. As a result of cluster analysis of the toxin profiles of culture strains, 101 culture strains were classified in the same cluster, producing C – toxin – 2, gonyautoxin – 4, gonyautoxin – 3 and neosaxitoxin as dominant toxin components excluding two culture strains. The toxin profiles of the 101 culture strains were almost the same as past reports on toxin profiles of *A. tamarense* from Japan and Sakhalin. Cellular toxin contents of culture strains varied from 1 to 1128 fmol cell⁻¹, and were inversely proportional to cell densities. As a result of the estimations if a bloom of *A. tamarense* (cellular toxin content: 10³ fmol cell⁻¹, cell density: 10² cells L⁻¹) was fed on by scallops (filtration rate: 10² L day⁻¹, accumulation ratio of toxin: 35 %), toxification rate of scallop is calculated as 0.4 MU g⁻¹ digestive diverticula day⁻¹. Result of the estimation suggests that scallop become toxic over the self – imposed quarantine level (20 MU g⁻¹ digestive diverticula) after 50 days from the initial occurrence of a *A. tamarense* bloom, scientifically proving the empirical data, “Bloom of *A. tamarense* exceeding ca. 10² cells L⁻¹ causes shellfish toxification over the quarantine level”.

To clarify the transportation mechanism of *A. tamarense* in the Okhotsk Sea coast off Hokkaido, area – wide sampling in the oceanic area, time – series monitoring in the coastal area and current velocity measurements of the SWC using ADCP were conducted in 2004, 2007 and 2008. These surveys were organized based on the hypothetical scenario, “PST occurrence is caused by the inflow of LSW contaminated with *A. tamarense* to the scallop fishing ground at the temporal weakening of SWC indexed by the decrease of the sea – level difference (SLD) between Wakkanai and Abashiri”. It was revealed that *A. tamarense* blooms appeared in the coastal fishing ground simultaneously with the weakening of SWC indexed by the SLD. Retrospective analysis on time – series relationship between the weakening of SWC and the PST toxicity in PST occurrence years also elucidated that the toxicity increased just after the weakening of SWC. Therefore the hypothetical scenario was verified, and a method for predicting the occurrence of PST was constructed as follows;

- (1) Sampling in the oceanic area in June (before PST occurrence) and July (during annual peak of PST occurrence) to monitor horizontal distribution of *A. tamarense*.
- (2) Monitoring of the weakening of SWC indexed by the SLD using internet.
- (3) If *A. tamarense* bloom (> 10² cells L⁻¹) has been found in the oceanic area, and the weakening of SWC is observed, warning of potential PST occurrence within a few weeks should be provided.

Semi – realtime data of the prediction method is available to the public for controlling shipping plan of scallop since 2009. The prediction method gives high cost effectiveness since the essential part of prediction can be simply constructed with the twice a year sampling in the oceanic area and the monitoring of SLD.

The present study provides important information about feeding environment of main fishery resources, not only scallop but also fish such as salmon, since the high contrast structure and dynamics of water masses has been revealed by biological oceanographic studies in the Okhotsk Sea off Hokkaido, focusing on *A. tamarense* as a biological tracer. Recently, it had been reported that warm – water, non – armored flagellates causing harmful red tides have been detected for the first time in the coast of the Sea of Japan and the Tsugaru Strait of Hokkaido. Once a harmful red tide appears in the scallop fishing ground, serious damage may occur to the scallop fishery. Therefore monitoring of non – armored red tide flagellates is necessary to start in addition to armored harmful dinoflagellates such as *A. tamarense* in northern Japan, since the northward expansion of warm – water harmful flagellates is increasingly possible due to ocean warming in the future.

キーワード：オホーツク海, 表層低塩分水, 宗谷暖流, 麻痺性貝毒, 予測

目 次

第1章 序論(麻痺性貝毒に関する既往知見ならびに課題)	
第1節 世界における麻痺性貝毒の発生	
第2節 日本における麻痺性貝毒の発生と原因生物	
第3節 北海道における麻痺性貝毒の発生とホタテガイ漁業との関わり	
1-3-1 噴火湾	
1-3-2 オホーツク海	
1-3-3 その他の海域	
第4節 本研究の目的および本論文の構成	
第2章 北海道周辺の海洋環境, <i>Alexandrium tamarense</i> 栄養細胞の出現状況ならびに有毒 <i>Alexandrium</i> 属シストの水平分布	
第1節 各海域の海洋環境の季節変化	
2-1-1 海流系によって大別される4つの海域	
2-1-2 道東太平洋(親潮域)	
2-1-3 道南太平洋(親潮・沿岸親潮・津軽暖流混合域)	
2-1-4 日本海	
2-1-5 オホーツク海	
第2節 海域別の <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の出現状況ならびに麻痺性貝毒の発生状況	
2-2-1 はじめに	
2-2-2 材料および方法	
2-2-3 結果および考察	
2-2-3-a 海域別表面水温の季節変化	
2-2-3-b 海域別表面塩分の季節変化	
2-2-3-c 海域別の <i>A. tamarense</i> 出現状況ならびに麻痺性貝毒による二枚貝の毒化状況	
第3節 有毒 <i>Alexandrium</i> 属シストの水平分布	
2-3-1 はじめに	
2-3-2 材料および方法	
2-3-3 結果および考察	
2-3-3-a 北海道全域における有毒 <i>Alexandrium</i> 属シストの水平分布	
2-3-3-b 内湾域等における有毒 <i>Alexandrium</i> 属シストの水平分布	
2-3-3-c シスト密度と底質の関係	
2-3-3-d 海域別のシスト分布と麻痺性貝毒の発生履歴の関係	
第3章 夏季北海道沖オホーツク海における <i>Alexandrium tamarense</i> 栄養細胞の空間分布	
第1節 はじめに	
第2節 材料および方法	
第3節 結果および考察	
3-3-1 水塊構造と <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の空間分布	
3-3-2 栄養塩ならびにChl- <i>a</i> 濃度の空間分布	
3-3-3 海洋環境と <i>A. tamarense</i> 空間分布の模式化	
第4章 北海道およびサハリン南部アニワ湾産 <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の毒性	
第1節 はじめに	
第2節 材料および方法	

第3節 結果および考察	
4-3-1 北海道沖オホーツク海～アニワ湾産 <i>A. tamarense</i> の毒性	
4-3-2 その他の海域(噴火湾～厚岸沖太平洋)産 <i>A. tamarense</i> の毒性	
4-3-3 クラスタ分析による <i>A. tamarense</i> 培養株の毒成分組成の分類	
4-3-4 細胞密度および細胞毒量の関係	
4-3-5 <i>A. tamarense</i> の毒性に基づいたホタテガイ毒化の試算	
4-3-5-a 平均的細胞毒量の <i>A. tamarense</i> の出現を想定したホタテガイ毒化の試算	
4-3-5-b <i>A. tamarense</i> 高毒株の出現を想定したホタテガイ毒化の試算	
4-3-5-c <i>A. tamarense</i> 超高毒株の存在を仮定したホタテガイ毒化の試算	
4-3-6 <i>A. tamarense</i> の細胞毒量, 細胞密度およびホタテガイの毒化速度の関係	
第5章 夏季北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガイ漁場における麻痺性貝毒の発生予測	
第1節 はじめに	
第2節 材料および方法	
第3節 結果および考察	
5-3-1 沿岸～沖合域における物理環境および <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の分布	
5-3-2 沿岸定点における物理環境および <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の分布動態ならびに地まきホタテガイの麻痺性毒性値の変動	
5-3-3 沿岸定点における宗谷暖流の流況	
5-3-4 レトロスペクティブ解析による貝毒発生機構仮説の検証	
5-3-5 麻痺性貝毒発生予測手法の運用	
5-3-5-a 麻痺性貝毒発生予測手法のフローならびに運用実績	
5-3-5-b 水塊構造の分析による <i>A. tamarense</i> ブルームの発生予測	
5-3-5-c 天文潮位および気圧配置等の天文・気象情報を用いた宗谷暖流弱勢の予測	

第6章 総合考察

第1節 北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する研究の生物海洋学的意義	
第2節 北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する研究の社会科学的意義	
第3節 残された課題と今後の展望	

要約

Summary

謝辞

引用文献

第1章 序論(麻痺性貝毒に関する既往知見ならびに課題)

第1節 世界における麻痺性貝毒の発生

麻痺性貝毒は、*Alexandrium*属等の有毒渦鞭毛藻が産生する毒成分が二枚貝類等に蓄積されることで、以下に述べるように発生する現象である (Hallegraeff 1995)。麻痺性貝毒成分 (Paralytic Shellfish Toxin, 以下タイトルを除いてPSTと略記する) を蓄積した魚介類にはフグ毒と似た神経毒であるゴニオトキシン (Gonyautoxin, GTX) 群, サキシトキシン (Saxitoxin, STX) 等の複数の毒成分が含まれ (Oshima 1995), ヒトが喫食すると神経細胞のナトリウムチャンネルが阻害されて麻痺症状を呈し, 重症の場合は死にいたる (Hille 1975, Acres and Gray 1978)。麻痺性貝毒によって毒化した貝類等の喫食による中毒事故は死亡例を含めて多く, 古くは1793年カナダのブリティッシュコロンビアにおける中毒事例をはじめ (Dale and Yentsh 1978), ロシア極東でも1945年にベーリング

海西岸で死亡例が記録されている (Orlova et al. 2002)。麻痺性貝毒の発生海域は近年拡大傾向にあるため (例えば Hallegraeff 2004, Fig. 1), 食品安全の観点から国際的に問題となっている。麻痺性貝毒による中毒事故を未然に防止するためには, 有毒渦鞭毛藻の出現状況と貝類等の毒性値の定期的監視が不可欠である。このような定期的監視が公的に行われている国々では, 基準値を超える貝類の毒化が確認されると, 出荷規制によって計画的な漁獲と流通が困難となるため, 例えば単価下落といった経済的損失が生じる。このように麻痺性貝毒は, 食品安全および漁業経営といった社会的側面において, 極めて人類と関わりの深い汎世界的な現象である。

第2節 日本における麻痺性貝毒の発生と原因生物

我が国における麻痺性貝毒は, 1948年愛知県豊橋市におけるアサリ *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve) の喫食による中毒事件が初めての記録である (野口 2003)。全国的な発生状況を概観すると (今井・板倉

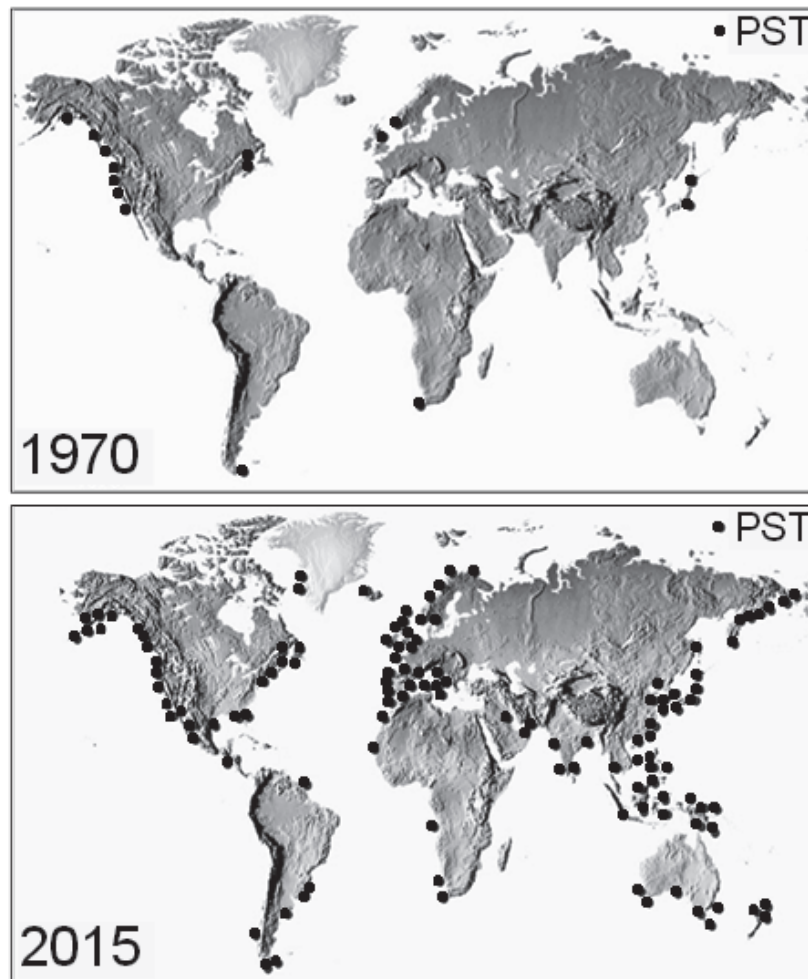


Fig.1 Global distribution of PST accumulation by shellfish reported in 1970 and 2015 (modified from http://www.whoi.edu/cms/images/PSP_worldmap_1970_2015_422437.jpg, last visited Aug. 24/ 2016).

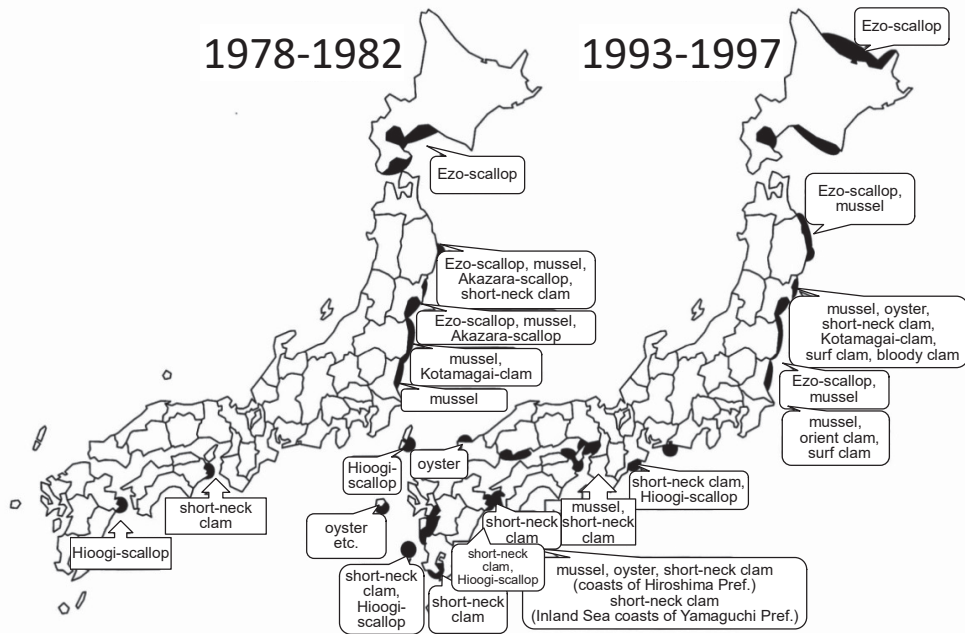


Fig.2 Occurrence areas of PST accumulation by shellfish in Japan during 1978 – 1982 (left) and 1993 – 1997 (right), with the information about shellfish species of PST contamination over the quarantine level (4 MU g^{-1} meat) (modified from Imai and Itakura 2007).

2007, Fig. 2), 1980年前後は東北以北に集中していたのに対し, 1993年以降は急速に西日本へ拡大していることが分かる。この麻痺性貝毒発生域の拡大は, 特に有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* (Labour) Balech によるものであることが分かっている (今井・板倉 2007)。本種を含む *Alexandrium* 属は形態学的に酷似した有毒種を多く含む分類群で, 光合成を行いながらも溶存態有機物を摂取することができる, 混合栄養性の渦鞭毛藻である (Anderson et al. 2012)。近年有毒 *Alexandrium* 属の形態／分子分類が再検討され, 従来「*A. catenella* – *tamarense* グループ」に含まれていた日本産 *A. tamarense* は「*A. fundyense* (北米クレード)」と呼ぶべきとの説が提唱されているが (John et al. 2014a, b), 本稿においては *A. tamarense* と表記する。*A. tamarense* は北日本を含む北太平洋亜寒帯域沿岸に広く分布することが知られており (福代 1985, Nagai et al. 2007, Natsuike et al. 2013, 夏池・今井 2016), 現在我が国において最も注意深く監視すべき有毒渦鞭毛藻のひとつである。上記「*A. catenella* – *tamarense* グループ」のうち *A. catenella* は種名の廃棄が提案されたものの (John et al. 2014b), 論議を経て *A. fundyense* のシノニムとして種名が残ることとなっている (Fraga et al. 2015, Reine 2017)。我が国において *A. catenella* は *A. tamarense* よりも温暖な環境に出現し (福代 1985), 毒成分組成も異なることが知られていることから (加賀ほか 2006), 本稿においては別種として扱う。麻痺性貝毒の原因となる有毒渦鞭毛藻には他に

A. minutum, *A. tamiyavanichii*, *Gymnodinium catenatum*, *Pyrodinium bahamense* ver. *compressum* 等が知られるが (今井・板倉 2007), 我が国においては, これらを原因とする PSP 発生頻度は *A. tamarense* に比べれば格段に低い。

第3節 北海道における麻痺性貝毒の発生とホタテガイ漁業との関わり

1-3-1 噴火湾

北海道南西部太平洋側に位置する噴火湾は年間約10万トンを生産する我が国最大のホタテガイ *Mizuhopecten yessoensis* (Jay) の養殖漁場として知られる (嶋田ほか 2000, Kosaka and Ito 2006)。本海域では1978年に初めて, 養殖ホタテガイから出荷自主規制値 (4 MU g^{-1} 可食部) を超えるPSTが検出された (西浜 1982)。以後1991年まで噴火湾では毎年のように麻痺性貝毒による出荷規制措置が講じられ, 経済損失をもたらすようになった (Fig. 3)。原因種は1988年秋季 (原因種は *A. catenella*, Noguchi et al. 1990) を除いて全て *A. tamarense* であり, 本種の出現状況がその年の麻痺性貝毒の発生状況をほぼ決定していた (嶋田 2000b)。すなわち北海道においては, *A. tamarense* 出現予測は麻痺性貝毒の発生予測とほぼ同義である。麻痺性貝毒の発生予測が成功すればホタテガイ等二枚貝漁業の麻痺性貝毒による経済損失を最小限に抑えることができることから, その社会科学的意義は極めて大きい。

A. tamarense は有性生殖で形成されたシスト (休眠接

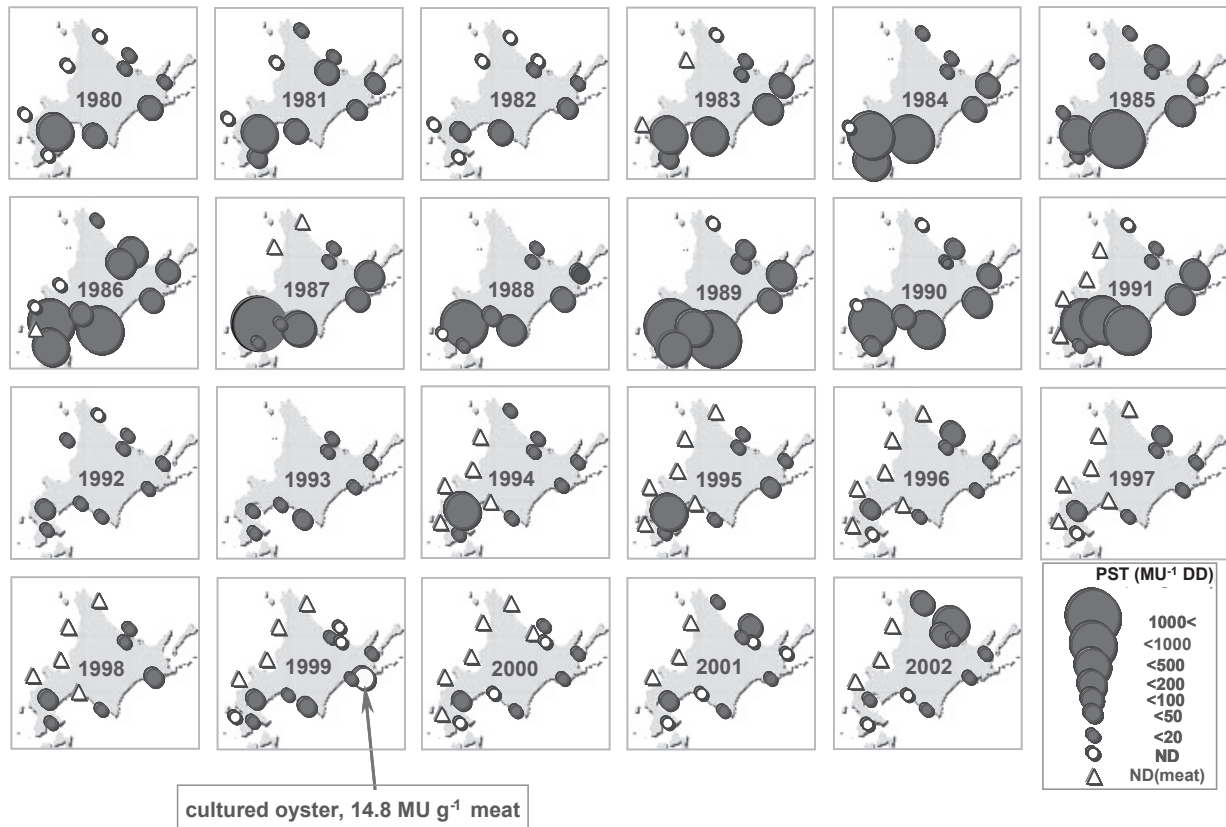


Fig.3 Diagram showing the annual variation of PST accumulation by scallop around Hokkaido during 1980–2002 (modified from Shimada and Miyazono 2005, data source: Hokkaido Prefecture). Sizes of circles indicate annual maximum PST toxicity (MU g^{-1} digestive diverticula or whole meat of scallops).

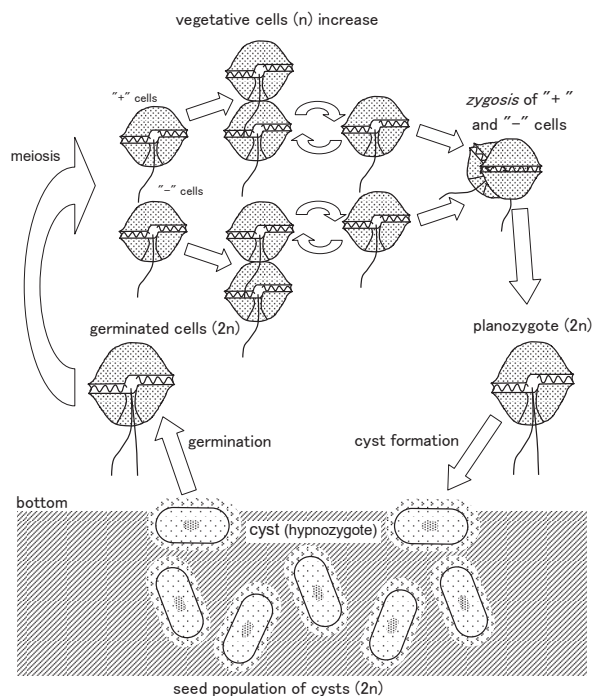


Fig.4 A schematic diagram showing the life cycle of *A. tamarense* (modified from Yoshimatsu 1992).

合子、核相 $2n$ ）から発芽して発芽細胞（核相 $2n$ ）を生じ、その後減数分裂して無性的に栄養細胞（核相 n ）が分裂増殖、再び有性生殖により運動性接合子（核相 $2n$ ）を生じてシストとなり沈降、底質中で休眠するという生活環をもつことが知られている（吉松 1992, Fig. 4）。本種シストは、発芽可能な状態に成熟するための「内因性休眠期間」を経た後、発芽に必要な温度範囲（ $5 - 21^{\circ}\text{C}$ ）の下で活発に発芽し（Perez et al. 1998, Itakura and Yamaguchi 2005）、100年を超えて発芽能を保持することも知られている（Miyazono et al. 2012）。このような生理生態学的特性から、噴火湾では*A. tamarense*は内因性休眠期間を経た後の春季から夏季にシストから発芽し、栄養細胞が増殖してブルームを形成してきたことが示唆されている（宮園 2015）。

噴火湾における*A. tamarense*ブルーム（ ≥ 1000 cells / L）の発生環境は水温 $5 - 11^{\circ}\text{C}$ 、塩分33以下であり（Shimada et al. 1996, 嶋田 2000b）、これは主にオホーツク海を起源とする沿岸親潮が冬季から春季に噴火湾に流入した後に昇温中の環境と考えられる。北海道においては、麻痺性貝毒はオホーツク海から太平洋沿岸の寒流（東カラフト海流および沿岸親潮）域でのみ発生するのに

対し、対馬暖流が卓越する日本海沿岸では全く発生しない (Shimada and Miyazono 2005, Fig. 3, 磯田・岸 2003, Fig. 5)。このことは、北海道では*A. tamarense*の出現が寒流の影響を受ける海域に限られていることを示す。

1-3-2 オホーツク海

北海道オホーツク海沿岸は世界的なホタテガイの好漁場として知られる (Kosaka and Ito 2006)。本海域のホタ

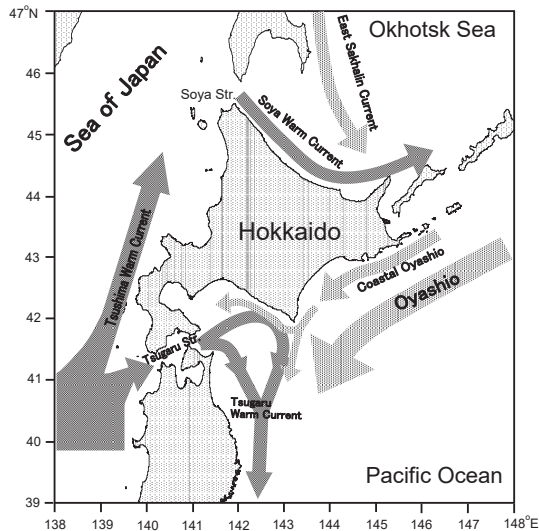


Fig.5 Schematic paths of the warm currents (Tsushima, Soya and Tsugaru Warm Currents) and the cold currents (East Sakhalin Current, Coastal Oyashio and Oyashio) around Hokkaido (modified from Isoda and Kishi 2003).

テガイは外海の海底に稚貝を放流して3年後に回収する「地まき」という方法で漁獲される (西浜 1994a)。本海域では1985年に初めて出荷自主規制値を超えるPSTが検出されて以来、およそ4年に1度の頻度で麻痺性貝毒が発生し、経済損失をもたらしてきた (西浜 1994b, Shimada and Miyazono 2005, Shimada et al. 2012)。特に2002年夏季は網走沿岸で高毒化し (最高毒性値: 454 MU g^{-1} 中腸腺)、漁獲の最盛期に一ヶ月以上にわたり生鮮および加工向けホタテガイの水揚げが完全にストップして大きな経済損失をもたらした (Shimada et al. 2012, 嶋田ほか 2016, Fig. 6)。

本海域のホタテガイ漁獲量および漁獲金額の年変動を見ると、2002年の高毒化の翌年に漁獲量の増加に反して金額は減少していることから (Fig. 7)、単価の暴落が多大な損失をもたらしたことが分かる (嶋田ほか 2016)。このような損失を最小限に抑えるために、本海域における*A. tamarense*出現予測すなわち麻痺性貝毒の発生予測手法の開発が急務となった (嶋田ほか 2016)。本海域の麻痺性貝毒は、沖合表層で増殖した*A. tamarense*が、通常は対馬暖流を起源とする宗谷暖流で覆われる沿岸のホタテガイ漁場に輸送されるためと推測されていたが (Nishihama et al. 1993, 西浜 1994b)、そのメカニズムは不明であった。

夏季北海道沖オホーツク海には、沿岸には対馬暖流を起源とする宗谷暖流水 (SWC)、沖合表層にはオホーツク海表層低塩分水 (LSW) がそれぞれ分布する (青田 1975)。また宗谷暖流の流速は稚内網走間の水位差と正

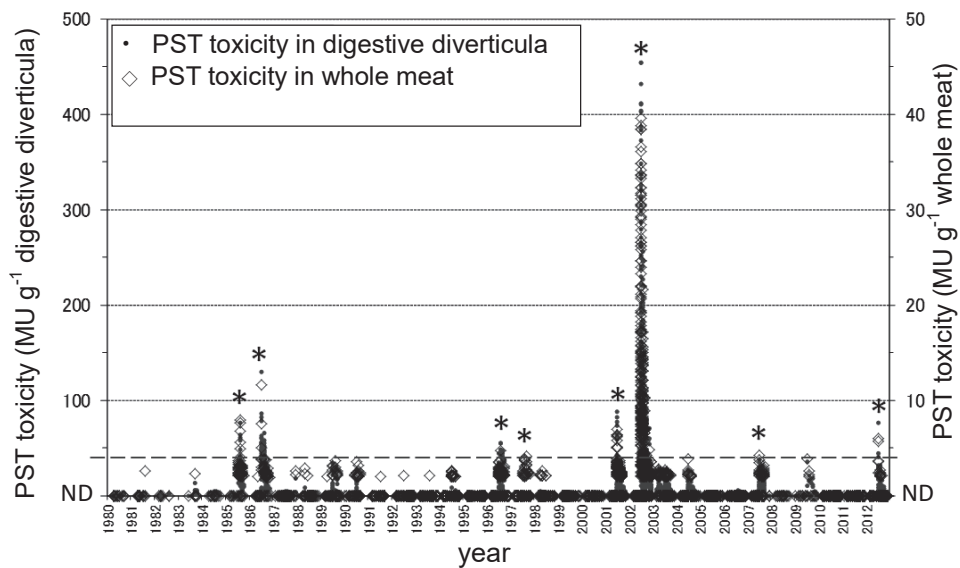


Fig.6 PST toxicity in whole meat of scallop along the Okhotsk Sea coast of Hokkaido during 1980 – 2012 (modified from Shimada et al. 2016, data source: Hokkaido Government). Broken line indicates quarantine level of PST toxicity (4 MU g^{-1} meat). Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity $< 2 \text{ MU g}^{-1}$)”.

*: PST toxicity over quarantine level

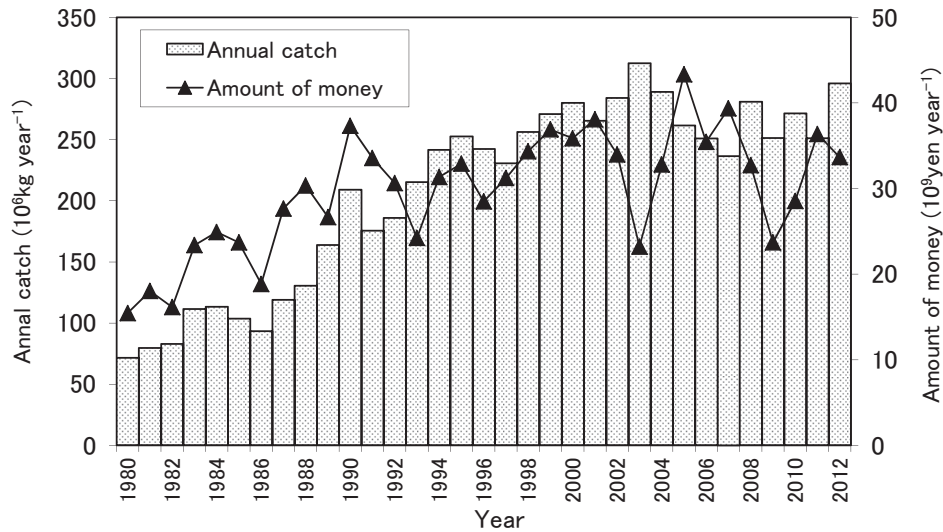


Fig.7 Changes in annual catch and monetary amount of the scallop fisheries along the Okhotsk Sea coastal area of Hokkaido during 1980–2012 (modified from Shimada et al. 2016).

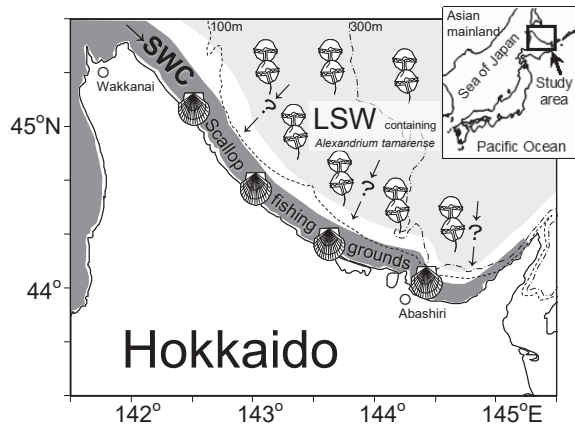


Fig.8 Schematic path of the Soya Warm Current (SWC, salinity ≥ 33.6) and location of the scallop fishing grounds and the low salinity water (LSW, salinity ≤ 32.5) contained *Alexandrium tamarense* in summer (modified from Shimada et al. 2012). The present study examined the appropriateness of the hypothetical scenario, “PST occurrence is caused by the inflow of LSW to the scallop fishing ground at the temporal weakening of SWC”.

の相関があること、すなわち宗谷暖流は日本海とオホーツク海の水位差によって駆動されていることが示唆されていた (青田1975)。これらの既往知見から、沖合表層で増殖した *A. tamarense* の沿岸への輸送およびホタテガイの毒化は、日本海とオホーツク海の水位差が減少して、ホタテガイ漁場を覆っている宗谷暖流が一時的に弱勢となったときに起こるという仮説シナリオが想定される (Fig. 8)。この仮説シナリオを検証するためには、本海域の海洋環境ならびに沖合の *A. tamarense* シストおよび栄養細胞の分布、栄養細胞の毒性、沿岸定点における宗

谷暖流の勢力と *A. tamarense* 栄養細胞の分布動態との関係を総合的に解明する必要があると考えられる。

1-3-3 その他の海域

1-3-1で述べたとおり、北海道における *A. tamarense* 栄養細胞の出現および麻痺性貝毒の発生は寒流の影響のある海域 (日本海沿岸を除く海域) に限られて記録されている (Shimada and Miyazono 2005, Fig. 3)。本種はチャクチ海およびカムチャツカ半島沿岸といった寒帯および亜寒帯域において分布が確認されており (Orlova et al. 2007, Natsuike et al. 2013)、噴火湾では5–11℃前後でブルームを形成する冷水種であることを考慮すると (Shimada et al. 1996, 嶋田2000b)、これまで北海道日本海沿岸で *A. tamarense* の出現記録がないことは、亜寒帯域においても温暖かつ貧栄養な暖流域は本種の増殖条件が整わないことを示唆する (例えば 西浜1982, 西浜1994b)。北海道オホーツク海沿岸を稚内から網走の方向に流れる宗谷暖流は対馬暖流を起源とする海流であることから (磯田・岸2003, Fig. 5)、対馬暖流と同様に、*A. tamarense* の増殖に適さない環境であると推測される。なぜ暖流域が *A. tamarense* の増殖に適さないのかという問題を解明するためには、寒流域と暖流域双方における本種の分布と水温、塩分ならびに栄養塩環境についての詳細な分析が必要である。しかしながら、この問題は本研究の主題から外れるため、本稿においては指摘にとどめ、将来の課題としたい。我が国において *A. tamarense* よりも温暖な環境に出現する *A. catenella* 等の有毒種は、将来的に北海道周辺の暖流域における出現が想定されるため、日本海沿岸をはじめとする暖流域における有毒種の監視は重要である。

第4節 本研究の目的および本論文の構成

本研究は、以上の序論を踏まえて、北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガイ漁場における麻痺性貝毒原因種 *A. tamarense* の出現メカニズムを生物海洋学的に解明し、麻痺性貝毒の発生予測手法を構築して、貝毒発生によるホタテガイ漁業の経済損失を低減することを目的として行われたものである。本論文では、第2章において、本研究の基礎となる北海道周辺の外洋／沿岸域の海洋環境ならびに麻痺性貝毒原因種 *A. tamarense* の栄養細胞およびシストの分布状況について整理する。第3章では、本研究の主たるフィールドであるオホーツク海に目を移し、*A. tamarense* 栄養細胞の空間分布を水塊構造および栄養塩環境を含めて詳述する。第4章では、貝類によるPSTの蓄積に関わる、北海道沿岸およびサハリン南部アニワ湾産 *A. tamarense* の海域別／培養株別の毒性について述べる。第5章では、オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測手法とその運用について詳説する。最後に第6章では、本研究の意義ならびに将来展望について総括する。

第2章 北海道周辺の海洋環境、*Alexandrium tamarense* 栄養細胞の出現状況ならびに有毒 *Alexandrium* 属シストの水平分布

第1節 各海域の海洋環境の季節変化

2-1-1 海流系によって大別される4つの海域

北海道周辺海域は太平洋とその縁辺海である日本海およびオホーツク海に囲まれ、寒流（親潮・沿岸親潮・東カラフト寒流）および暖流（対馬・津軽・宗谷暖流）の影響を受けるため（Fig. 9）、海域別の水塊構造の季節

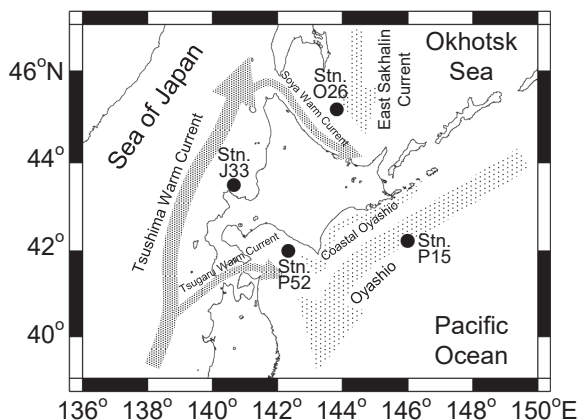


Fig.9 Map showing schematic paths of the ocean currents (modified from Isoda and Kishi (2003)) and the four monitoring stations in each sea area around Hokkaido (modified from Shimada et al. 2012).

変化は極めてユニークである。それぞれの海域は、道東太平洋は親潮、道南太平洋は親潮／沿岸親潮および津軽暖流、日本海は対馬暖流、オホーツク海は東カラフト海流および宗谷暖流の影響を受ける海域というように、海流系によって4海域に大別することができる（田中ほか 2003, 嶋田ほか 2012）。本研究の主たるフィールドであるオホーツク海は、沿岸に日本海を起源とする高温／高塩分の宗谷暖流、沖合に低温／低塩分の東カラフト海流がそれぞれ流れ、極めてコントラストの高い水塊構造が特徴であるが、その環境特性を理解するためには他海域との比較が必須である。そこで第2章第1節では、太平洋（道東および道南太平洋）、日本海およびオホーツク海において北海道立総合研究機構水産研究本部（以下、道水試と略称）が定期的実施しているCTD（Seabird Electronics, SBE-911plus）を用いた水温、塩分の観測例を順に示し、海域別の環境特性について述べる。

2-1-2 道東太平洋（親潮域）

Stn.P15 (42°15.1' N, 145°59.8' E, Fig. 9) における水温塩分の鉛直分布の季節変化をみると、100m以浅の表層を除いてほぼ周年にわたり低温な親潮（ $\leq 5^{\circ}\text{C}$ ）が卓越する海域であることが分かる（嶋田ほか 2012, Fig. 10）。年により夏～秋季に表層で北上暖水の影響がみられるが、顕著な水温／塩分躍層の発達はまだで、混合層深度が極めて深いのが特徴である。

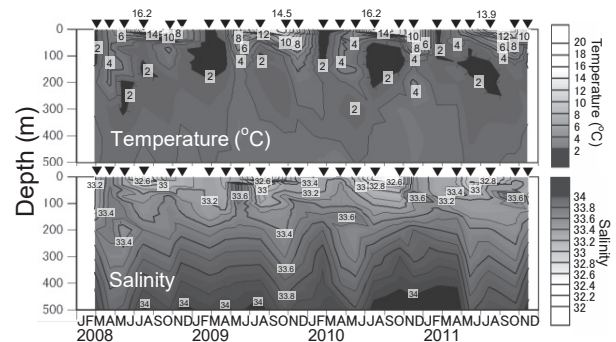


Fig.10 Seasonal changes in vertical profiles of water temperature (upper) and salinity (lower) at Doto area of the North Pacific (Stn. P15) during 2008 – 2011 (modified from Shimada et al. 2012).

2-1-3 道南太平洋（親潮・沿岸親潮・津軽暖流混合域）

Stn.P52 (42°00.1' N, 142°19.8' E, Fig. 9) における水温塩分の鉛直分布の季節変化をみると、季節変化は親潮域と似るが、春季表層の低温・低塩分化（沿岸親潮の流入）、夏～秋季表層の高温・高塩分化（津軽暖流の流入）、すなわち表層における水塊交代が特徴であることが分かる（嶋田ほか 2012, Fig. 11）。また、夏～秋季は成層が

強まり、混合層深度は道東太平洋よりも浅いのが特徴である。噴火湾は本海域の西端に位置し、同様の水塊交代が生じることが知られている（大谷・木戸 1980, 嶋田 2000a）。

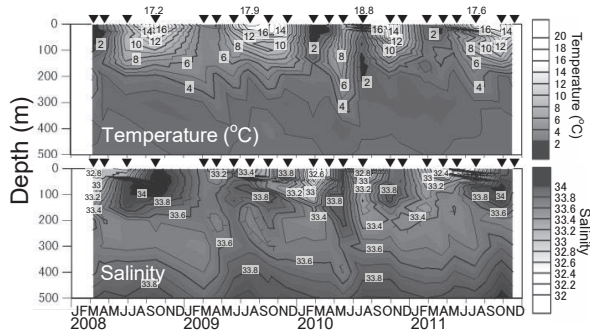


Fig.11 Seasonal changes in vertical profiles of water temperature (upper) and salinity (lower) at Donan area of the North Pacific (Stn. P52) during 2008 – 2011 (modified from Shimada et al. 2012).

2-1-4 日本海

Stn.J33 (43°30.1' N, 140°39.8' E, Fig. 9)における水温塩分の鉛直分布の季節変化をみると、ほぼ周年にわたって150m以浅を対馬暖流水（水温 $\geq 6^{\circ}\text{C}$ ）、300m以深を日本海固有水（水温 $\leq 2^{\circ}\text{C}$ 、塩分 ≈ 34 ）が占めることが分かる（嶋田ほか 2012, Fig. 12）。日本海は浅い海峡（シル部の海底水深：対馬海峡・津軽海峡130m／宗谷海峡55m）で太平洋／オホーツク海と接続するため表層を除き閉鎖的環境であり、近年温暖化傾向が著しい海域である（田中 2002）。北海道オホーツク海沿岸を帯状に流れる宗谷暖流水は日本海表層の水が湧昇・混合して（Nakata et al. 1999）、日本海とオホーツク海の水位差を駆動力としてオホーツク海に流出したジェット流であることが知られている（青田 1975, Mitsudera et al. 2011）。

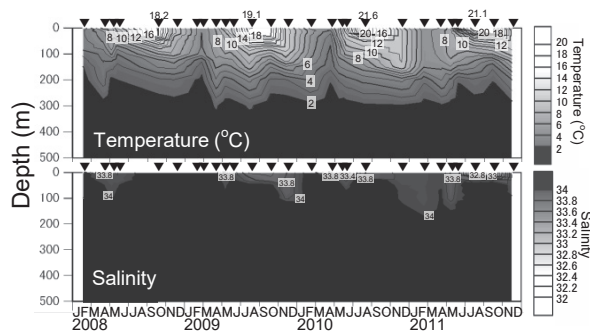


Fig.12 Seasonal changes in vertical profiles of water temperature (upper) and salinity (lower) at the northern Japan Sea (Stn. J33) during 2008 – 2011 (modified from Shimada et al. 2012).

2-1-5 オホーツク海

Stn.O26 (45°10.1' N, 143°49.8' E, Fig. 9)における水温塩分の鉛直分布の季節変化をみると、20m以浅は表層低塩分水（ $>2^{\circ}\text{C}$ ）、50m以深は 2°C 以下の中冷水がそれぞれ占める、他3海域と比較して極めて特徴的な水塊構造であることが分かる（嶋田ほか 2012, Fig. 13）。沖合定点では稚内から網走の方向に沿岸を流れる宗谷暖流水（塩分 ≥ 33.6 ）は全く観測されない。本海域は表層低塩分水の直下に中冷水が存在するため混合層深度が極めて浅く、冬季結氷する季節海域である（田中ほか 2003）。冬季沖合の船舶観測例はないが、TRBM-ADCP（耐トロール海底設置型ドップラー流速計）を用いた観測によれば、東カラフト海流は冬季（1月）に最も卓越し、夏季（7月）に最も弱勢であることが分かっている（Mizuta et al. 2010）。対馬暖流を起源として北海道オホーツク海沿岸を帯状に流れる宗谷暖流は夏～秋季（6–10月）に最も卓越し、冬季（1–2月）に最も弱勢であることが分かっている（Fukamachi et al. 2008）。

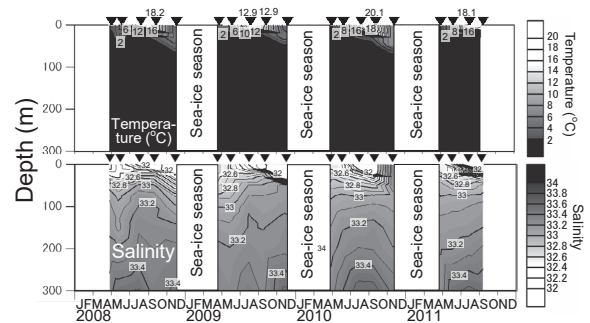


Fig.13 Seasonal changes in vertical profiles of water temperature (upper) and salinity (lower) at the southern Okhotsk Sea (Stn. O26) during 2008 – 2011 (modified from Shimada et al. 2012).

第2節 海域別の*A. tamarensis*栄養細胞の出現状況ならびに麻痺性貝毒の発生状況

2-2-1 はじめに

北海道沿岸における貝毒プランクトンの監視は、1980年代に噴火湾、日本海およびオホーツク海沿岸のホタテガイ漁場において開始された（西浜1985, 2000）。2005年4月に厚岸産マガキから生鮮出荷自主規制値を超えるPSTが検出されて以降は、ホタテガイ以外の貝類漁場における調査を拡充して監視が継続されている（嶋田ほか 2007）。第2章第2節では、2005–2006年の調査で明らかとなった*A. tamarensis*出現状況ならびに麻痺性貝毒の発生状況を、海域別の環境特性と併せて整理する。

2-2-2 材料および方法

水温、塩分の観測および海水試料の採集は、2005年4月から2006年12月まで、19海域の21定点において (Fig. 14)、海水期を除いて周年原則として各定点毎月1-2回行った。水温、塩分の観測はメモリーSTD (アレック, AST-1000) を用いて行った。海水試料は表面から底層まで最大8層の採集深度から1 Lを採集、最終濃度約2 %の中性ホルマリンで固定し、沈殿法または20 μ mプランクトンネットを用いて1 mLまで濃縮した。このうち0.1 mLを計数用試料として有殻渦鞭毛藻の外部形態観察に必要なカルコフロー染色 (Fritz

and Triemer 1985) を施し、落射蛍光顕微鏡を用いて紫外線励起下で*A. tamarense*栄養細胞を計数した。*A. tamarense*栄養細胞の形態観察による同定はBalech (1995) に従って行った。

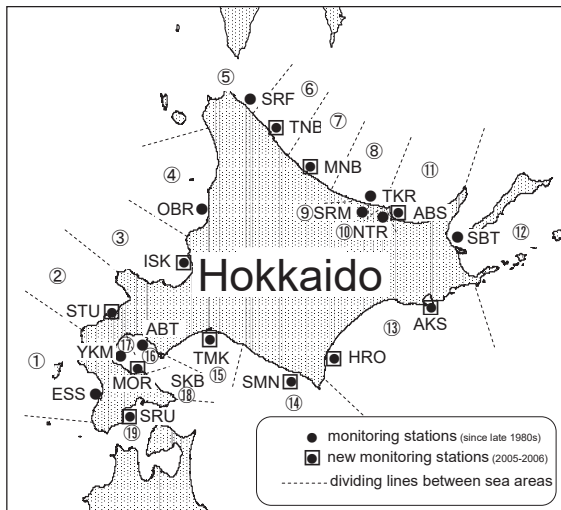


Fig.14 Map showing location of the 21 stations (closed circles) and 19 sea areas (divided by broken lines) for monitoring of *Alexandrium tamarense* around Hokkaido during 2005 – 2006 (modified from Shimada et al. 2007).

Abbreviations; ESS: Esashi, STU: Suttu, ISK: Ishikari, OBR: Obira, SRF: Sarufutsu, TNB: Tonbetsu, MNB: Monbetsu, TKR: Tokoro, SRM: Lake Saroma, NTR: Lake Noto, ABS: Abashiri, SBT: Shibetsu, AKS: Akkeshi, HRO: Hiroo, SMN: Samani, TMK: Tomakomai, ABT: Abuta, YKM: Yakumo, MOR: Mori, SKB: Shikabe, SRU: Shiriuchi

2-2-3 結果および考察

2-2-3-a 海域別表面水温の季節変化

北海道沿岸定点における海域別表面水温の季節変化のイソプレットをFig. 15に示す。冬季の最低水温をみると、暖流域の日本海南部および津軽海峡沿岸では5℃以上であるのに対し、寒流域の道東太平洋および根室海峡では冬季0℃前後と低い。夏季の最高水温についても同

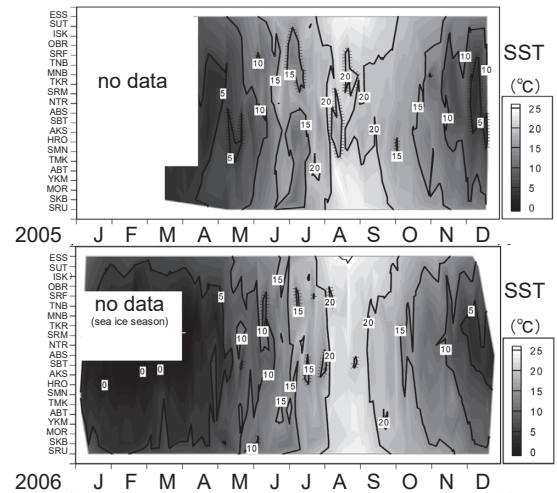


Fig.15 Isopleths showing seasonal change of sea surface temperature (SST) at the 21 monitoring stations around Hokkaido during 2005 – 2006 (modified from Shimada et al. 2007). For location of each monitoring station, see Fig. 14.

Abbreviations; ESS: Esashi, STU: Suttu, ISK: Ishikari, OBR: Obira, SRF: Sarufutsu, TNB: Tonbetsu, MNB: Monbetsu, TKR: Tokoro, SRM: Lake Saroma, NTR: Lake Noto, ABS: Abashiri, SBT: Shibetsu, AKS: Akkeshi, HRO: Hiroo, SMN: Samani, TMK: Tomakomai, ABT: Abuta, YKM: Yakumo, MOR: Mori, SKB: Shikabe, SRU: Shiriuchi

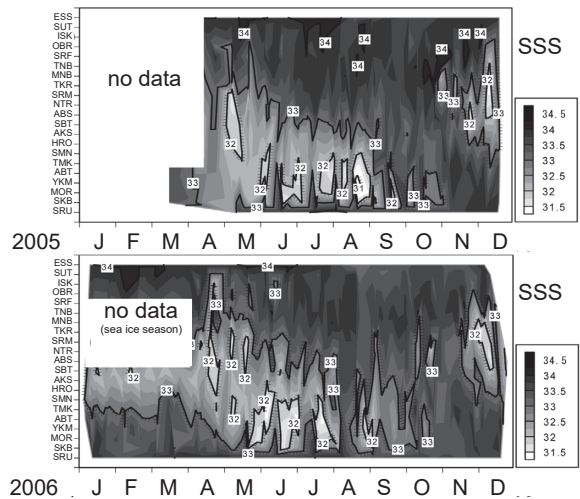


Fig.16 Isopleths showing seasonal change of sea surface salinity (SSS) at the 21 monitoring stations around Hokkaido during 2005 – 2006 (modified from Shimada et al. 2007). For location of each monitoring station, see Fig. 14.

Abbreviations; ESS: Esashi, STU: Suttu, ISK: Ishikari, OBR: Obira, SRF: Sarufutsu, TNB: Tonbetsu, MNB: Monbetsu, TKR: Tokoro, SRM: Lake Saroma, NTR: Lake Noto, ABS: Abashiri, SBT: Shibetsu, AKS: Akkeshi, HRO: Hiroo, SMN: Samani, TMK: Tomakomai, ABT: Abuta, YKM: Yakumo, MOR: Mori, SKB: Shikabe, SRU: Shiriuchi

2-2-3-b 海域別表面塩分の季節変化

北海道沿岸定点における海域別表面塩分の季節変化のイソプレットをFig. 16に示す。暖流域（日本海）では周年にわたって概ね高塩分（ $33.5 \leq$ ）であるのに対し、寒流

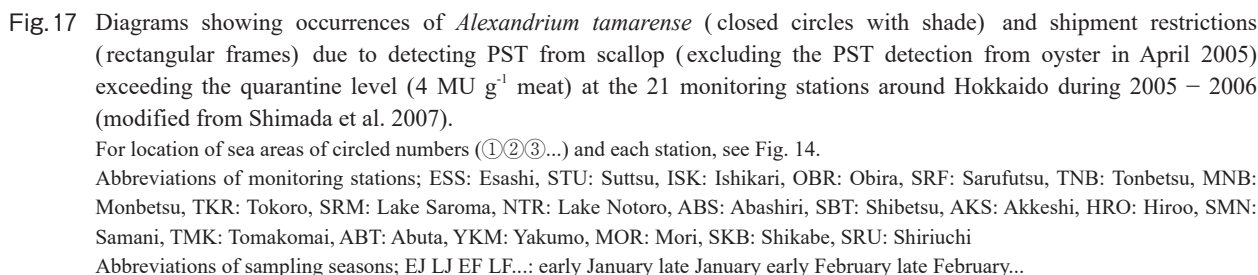


Fig. 17 Diagrams showing occurrences of *Alexandrium tamarens* (closed circles with shade) and shipment restrictions (rectangular frames) due to detecting PST from scallop (excluding the PST detection from oyster in April 2005) exceeding the quarantine level ($4 \text{ MU g}^{-1} \text{ meat}$) at the 21 monitoring stations around Hokkaido during 2005 – 2006 (modified from Shimada et al. 2007).

域（太平洋からオホーツク海）では概ね低塩分（ ≤ 33.0 ）である。寒流（東カラフト海流および沿岸親潮）は一般に冬季～春季に強勢だが（Mizuta et al. 2010, 嶋田ほか2012）、寒流が弱勢となる夏季から秋季に塩分が上昇する場合があります、この傾向は例年表層で津軽暖流水（塩分 ≥ 33.6 ）の卓越が観測される道南太平洋および噴火湾沿岸で顕著である。夏～秋季（6～10月）オホーツク海沿岸の表面塩分が日本海と同等に高塩分であることは、宗谷暖流の卓越を示すものである。この宗谷暖流の卓越は、前節で触れたとおり、本海域の沿岸域のみ観測される特異的な現象である。一方、11月以降の本海域における低塩分化は、東カラフト海流の卓越を示すものと推察される。

2-2-3-c 海域別の*A. tamarense*出現状況ならびに麻痺性貝毒による二枚貝の毒化状況

北海道沿岸定点における*A. tamarense*の月別最高出現数およびPSPによる出荷自主規制期間をFig. 17に示す。*A. tamarense*は主に春～夏季に太平洋～オホーツク海沿岸に出現することが明らかとなった。*A. tamarense*の出現に伴う出荷自主規制値を超える毒化は、*A. tamarense*が概ね100 cells L^{-1} を超えて出現したとき発生することが示された。既往の調査結果（嶋田2000b）と併せて2005～2006年の沿岸定点における2年間の詳細な調査結果をまとめると、北海道におけるPSP発生は、*A. tamarense*を原因種とするホタテガイのPSPによる毒化とほぼ同義で

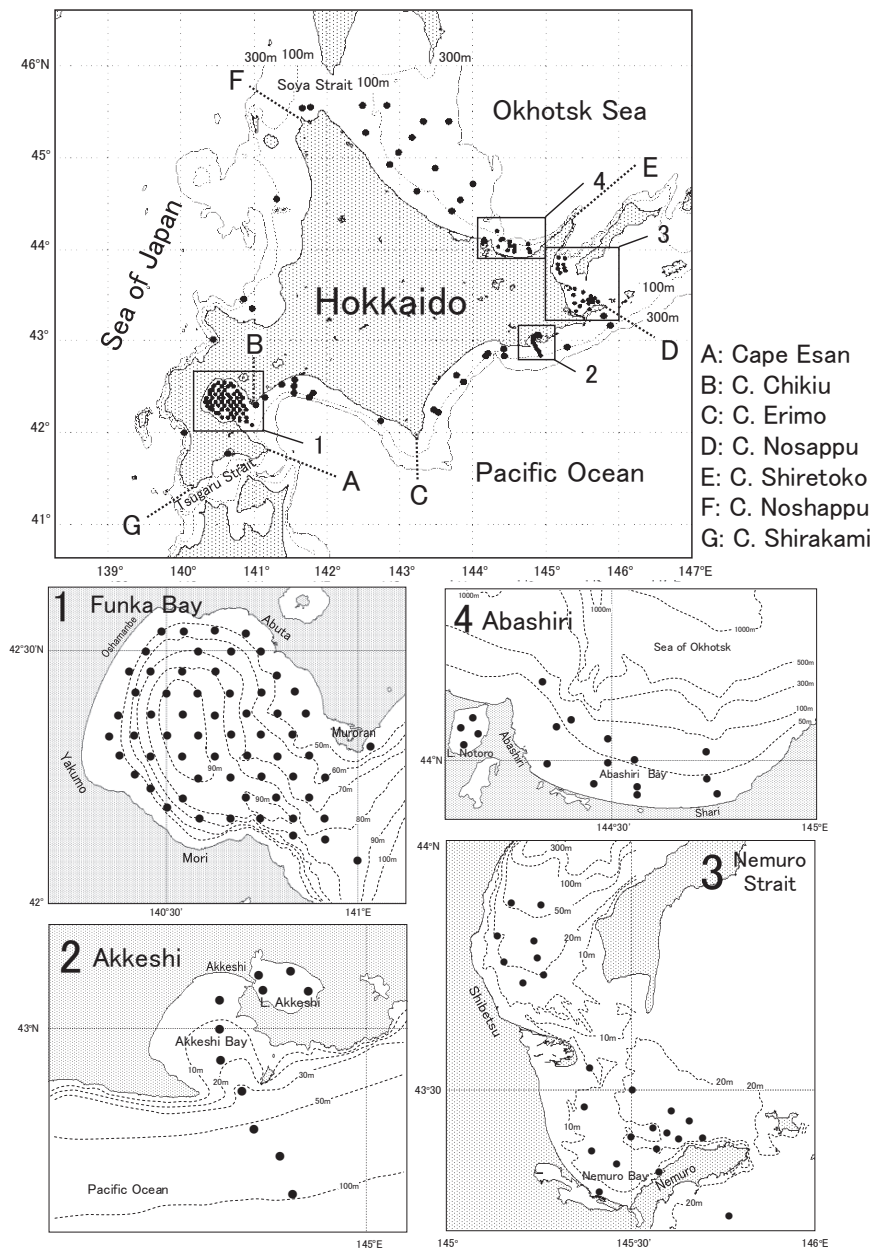


Fig. 18 Maps showing the sampling stations of bottom sediments for counting resting cysts of toxic *Alexandrium* spp. in each area around Hokkaido (modified from Shimada and Miyazono 2005).

2-3-1 はじめに

2-3-2 材料および方法

シスト調査は、1999-2000年に北海道周辺海域の152
 定点（オホーツク海は32定点）において行った
 (Fig. 18)。シスト検鏡用の底泥試料として、スミスマ
 ッキンタイヤ型／TFO柱状／エクマンバージ採泥器を用
 いて各定点の表層泥（0-3 cm）を採取した。冷蔵保存

して持ち帰った底泥試料は、肉眼の分解能を0.1 mmとみなして、粒状物が少ない／多い試料をそれぞれ「泥」／「砂礫」として肉眼観察結果を記録し、0.3–0.5 gを秤量して蒸留水に懸濁させた。この懸濁試料に超音波洗浄処理を施し、10–100 μm の画分をプランクトンネットを用いて篩い分けて、プリムリン染色による直接計数法 (Yamaguchi et al. 1995) に従って、湿泥1gあたりのシスト数を求めた。

2-3-3 結果および考察

2-3-3-a 北海道全域における有毒*Alexandrium*属
シストの水平分布

北海道全域におけるシストの分布を概観すると、最高密度が 10^3 cysts g^{-1} wet sedimentを超える海域はオホーツク海および噴火湾であることが目立つ (Fig. 19)。第2章第1節で示した各海域の海洋環境との関係を見ると、シストは寒流（親潮、沿岸親潮、東カラフト海流）の影響を受ける海域（噴火湾、道東・道南太平洋、オホーツク海）のみに分布し、暖流域（対馬暖流および津軽暖流域）には出現しないことが明らかとなった。噴火湾および各海域の底泥試料を珪藻増殖阻害剤 GeO_2 を添加した

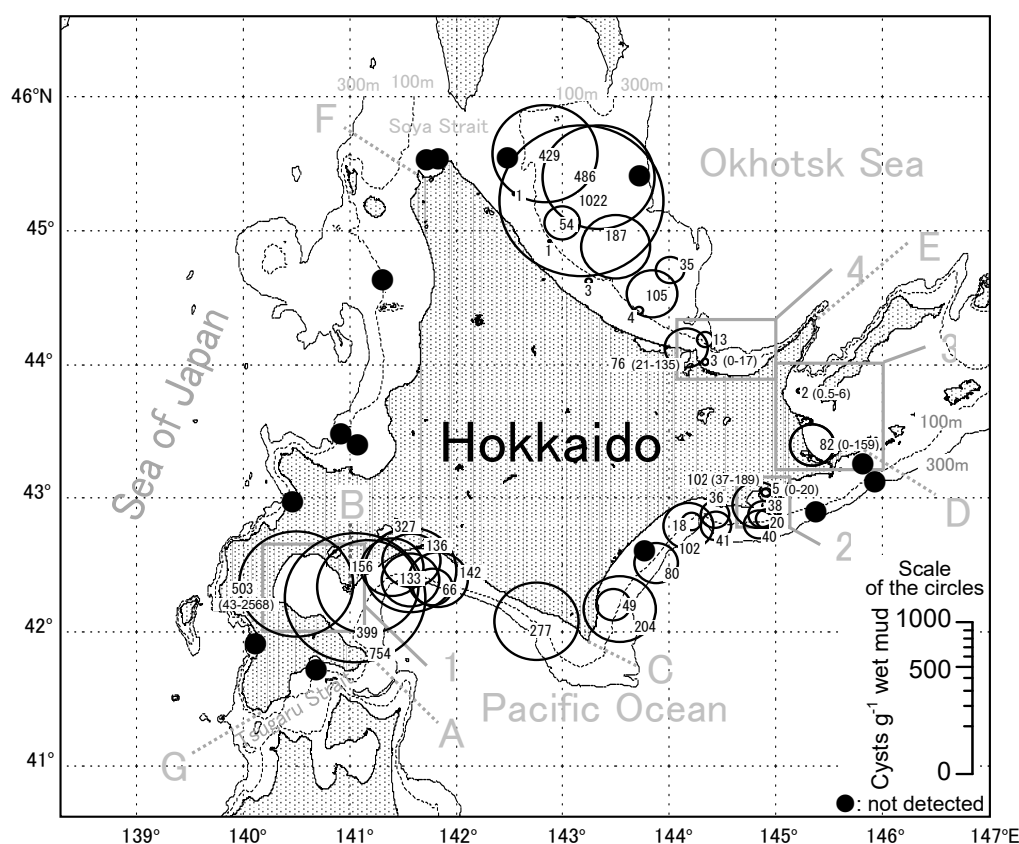


Fig. 19 Horizontal distribution of toxic *Alexandrium* spp. resting cysts around Hokkaido. Black spots “●” indicate “not detected”. Numbers in parentheses are the range of cyst concentrations at the sampling stations in small area (modified from Shimada and Miyazono 2005).

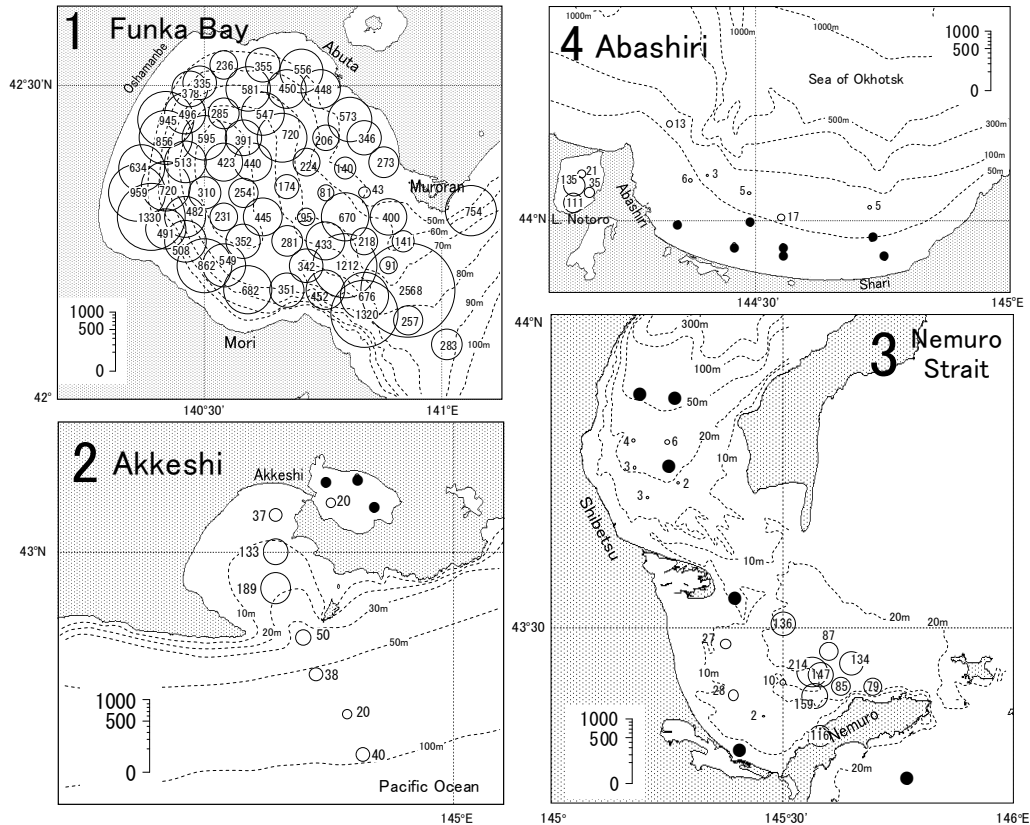


Fig. 20 Horizontal distribution of toxic *Alexandrium* spp. resting cysts in the four regions in the coast of Hokkaido. Black spots “●” indicate “not detected” (modified from Shimada and Miyazono 2005). Numbers are cysts g^{-1} bottom wet sediment.

濾過海水に懸濁させて温度 10°C 、明暗周期 $14\text{L}:10\text{D}$ の条件で培養したところ、発芽した*Alexandrium*属の細胞は全て*A. tamarense*と同定された (Shimada and Miyazono 2005, Shimada et al. 2011)。従って、1988年に噴火湾で*A. catenella*の出現記録があるものの、北海道周辺海域に分布する有毒*Alexandrium*シストの多くは*A. tamarense*であると推察される。

2-3-3-b 内湾域等における有毒*Alexandrium*属シストの水平分布

内湾域等における詳細なシストの分布をみると、一様にシスト多いのは噴火湾であるが、能取湖や厚岸湖といった海跡湖にも相当量のシストが存在することが明らかとなった (Fig. 20)。一方網走沿岸ではシストはごく沿岸には存在せず、沖合に分布することが明らかとなった。噴火湾、厚岸湾および根室海峡では、シストは湾口部に相対的に多い傾向が認められた。この傾向は、北海道沿岸では*A. tamarense*ブルームが主にフロント域で発生してきたことを示すものと考えられる。

2-3-3-c シスト密度と底質の関係

採集された底質の肉眼観察による「泥」または「砂礫」

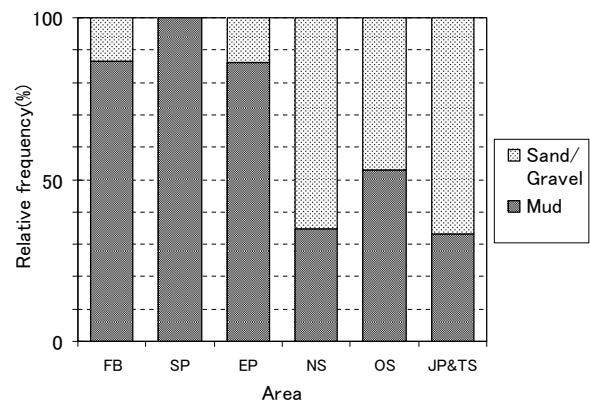


Fig. 21 Sediment composition (relative frequency of “Mud” or “Sand/Gravel”) in each area around Hokkaido (modified from Shimada and Miyazono 2005).

For location of each area, see Fig. 18.

Abbreviations; FB: Funka Bay, SP: Donan area of north Pacific, EP: Doto area of north Pacific, NS: Nemuro Strait, OS: Sea of Okhotsk, JP&TS: Sea of Japan and Tsugaru Strait

の判別結果をFig. 21に示す。「泥」は太平洋沿岸で頻度が高く、「砂礫」は根室海峡、日本海および津軽海峡で頻度が高かった。これは、潮流の速い海峡部や冬季荒天が続く日本海沿岸では、本研究で用いたようなシンプル

な道具で採集可能な100m以浅の場所に、沈降速度の遅い泥分が集積しにくいことを示すものであろう。

底質とシスト密度の関係をみると、シストは泥に多く、砂や礫には少ないことが明らかとなった (Fig. 22)。これはYamaguchi et al. (1996, 2002) による瀬戸内海における既往知見と同様の傾向である。シストの粒径はシルト～極細砂 (粒径63 μm 未満～粒径125 μm) の範囲にあるため、シストの物性が泥場への沈降、集積に寄与しているものと推察される。

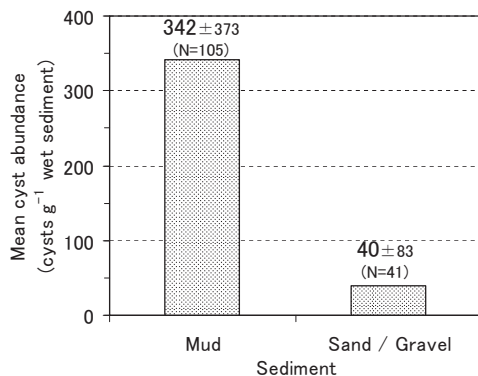


Fig. 22 Comparison of the mean cyst abundance (cysts g⁻¹ wet sediment, $\pm$ SD) between the two sediment groups (modified from Shimada and Miyazono 2005), “Mud” and “Sand/Gravel” in the present study, excluding the data for the Sea of Japan and the Tsugaru Strait where cysts were not detected. There was a significant difference between the two groups (t -test, $p < 0.01$).

2-3-3-d 海域別のシスト分布と麻痺性貝毒の発生履歴の関係

海域別の平均シスト密度と、麻痺性貝毒発生年の頻度 (1980-2000年に出荷自主規制値を超える毒性値を記録した年の頻度) ならびに平均年間最高PST毒性値 (1980-2000年の各年に記録された最高毒性値の21年間平均値) との関係を見ると、双方ともに有意な正の相関が認められた (Fig. 23)。このことは、各海域のシスト密度が*A. tamarense*ブルームの発生頻度と発生規模の履歴であることを意味する。オホーツク海は平均シスト密度と麻痺性貝毒発生年の頻度こそ低めであるが、沖合陸棚域のシスト密度の最高値は10³ cysts g⁻¹ wet sediment以上と極めて高いことから、本海域沖合は大規模な*A. tamarense*ブルームが高頻度で発生した海域であると推察される。本節で示した1999-2000年のシスト分布 (Shimada and Miyazono 2005) と、前節で述べた2005-2006年における海域別の*A. tamarense*栄養細胞の出現状況ならびに麻痺性貝毒の発生状況 (嶋田ほか 2007) がよく似ていることは、海域別のシスト密度が*A. tamarense*ブルームと麻

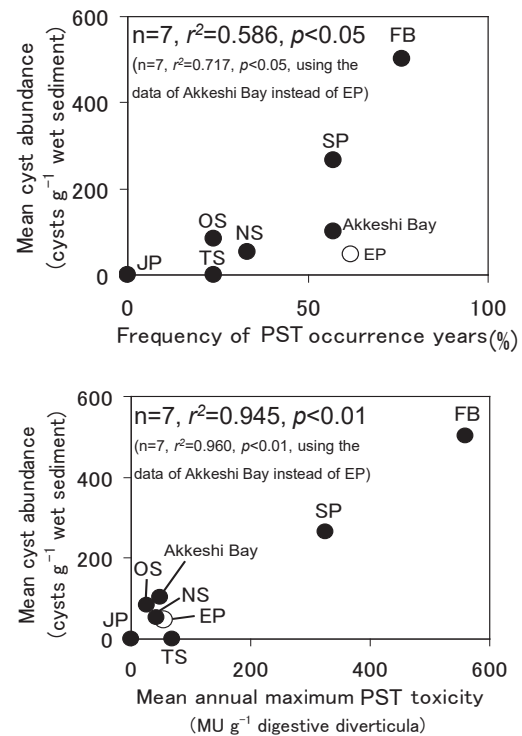


Fig. 23 Relationships among the mean cyst abundance, the frequency of PSP occurrence years (%), above and the mean annual maximum PST toxicity (MU g⁻¹ digestive diverticula of scallop, below) in 1980-2000 (modified from Shimada and Miyazono 2005). Abbreviations; FB: Funka Bay, SP: Donan area of north Pacific, EP: Doto area of north Pacific, NS: Nemuro Strait, OS: Sea of Okhotsk, JP& TS: Sea of Japan and Tsugaru Strait

痺性貝毒発生の将来的な発生リスクを指標することを意味するものであろう。

第3章 夏季北海道沖オホーツク海における *Alexandrium tamarense* 栄養細胞の空間分布

第1節 はじめに

1-3-2で述べたとおり、夏季北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガイ漁場では数年に1回の頻度で麻痺性貝毒が発生し、経済損失をもたらしてきた。本海域の麻痺性貝毒は沖合表層の*A. tamarense*を含んだ水塊が沿岸に流入するために発生すると推測されていたものの (Nishihama et al. 1993, 西浜1994b), 本海域の詳細な水塊構造および*A. tamarense*の空間分布については不明のままであった。第3章では、北海道沖オホーツク海における*A. tamarense*栄養細胞の分布と水塊構造の関係を詳述し、本海域の物理/化学/生物環境の模式的整理を試みる。

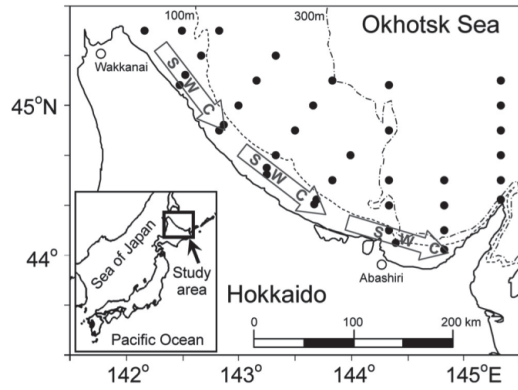


Fig. 24 Map showing 37 sampling stations (●) in the Okhotsk Sea off Hokkaido. Open arrows indicate schematic path of the Soya Warm Current (modified from Shimada et al. 2010).

第2節 材料および方法

調査は、2002–2007各年の7月下旬 (*A. tamarens*の例年の分布盛期) に37定点で行った (Fig. 24)。各定点でバケツおよびナンゼン採水器を用いて深度0–40 mについて10 m毎5層の採水を行い、同時にCTD (Seabird, SBE-11) を用いて水温・塩分の観測を行った。各定点の採集深度から得られた海水試料のうち500 mLを *A. tamarens* 計数用として最終濃度約1%の中性ホルマリンで固定し、実験室に持ち帰った。また、各定点でバケツ採水した表面海水試料については、230 mLを直ちにガラス繊維濾紙 (Whatman GF/F) を用いて濾過し、捕集物が付着した濾紙をアルミ фольで遮光のうえ–20℃で凍結保存、暗所冷蔵下で90%アセトン10 mLに6時

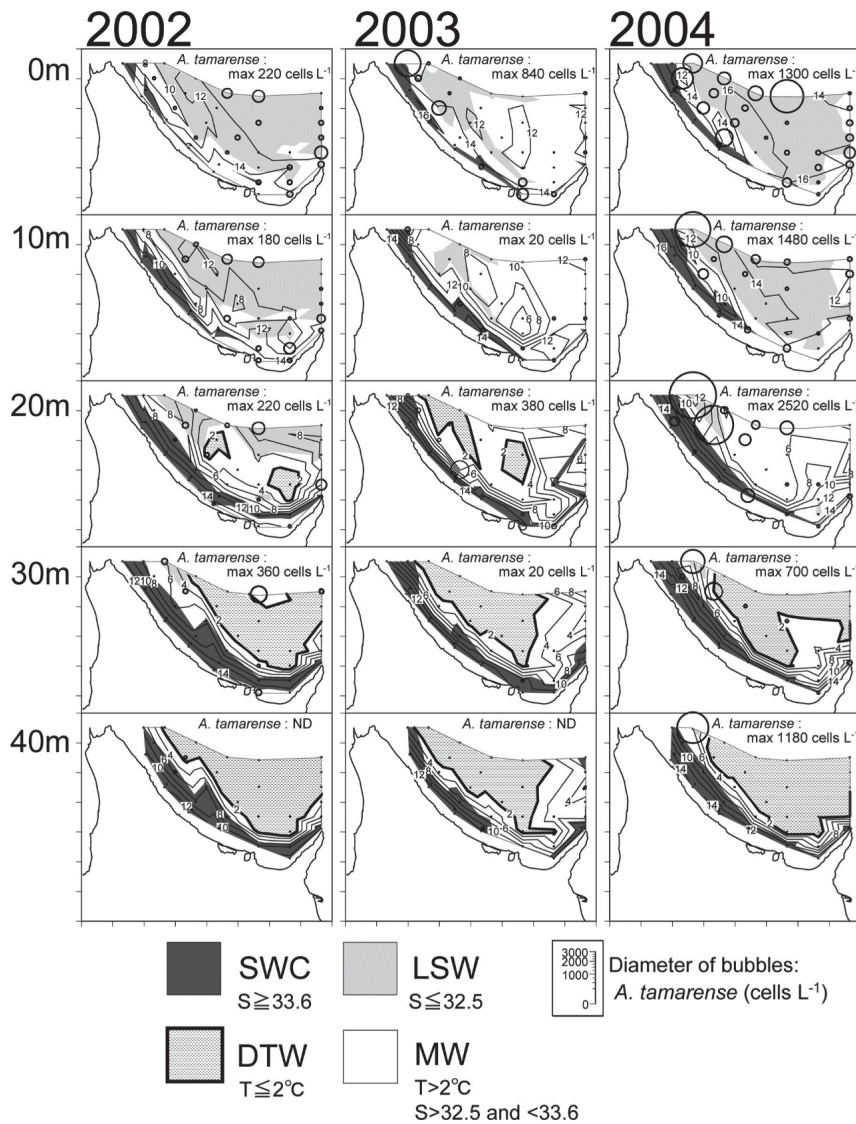


Fig. 25 Spatial distribution of water temperature (contours), water masses (shades) and cell density of *Alexandrium tamarens* (bubbles) in July 2002–2004 (modified from Shimada et al. 2010). Abbreviations of water masses; SWC: Soya Warm Current (salinity ≥ 33.6). LSW: Surface low-salinity water (salinity ≤ 32.5). MW: Mixed water (water temperature $> 2^{\circ}\text{C}$, salinity > 32.5 and < 33.6). DTW: Dichothermal water (water temperature $\leq 2^{\circ}\text{C}$).

間浸漬抽出の後、蛍光光度計 (Turner Design, 10-AU) を用い、Holm-Hansen et al. (1965) の方法に従ってクロロフィル a 濃度を分析した。さらに、2004–2007年に得られた各海水試料については、30 mLを凍結保存して持ち帰り、オートアナライザー (Bran+Luebbe, Autoanalyzer II) を用いて栄養塩 ($\text{NO}_3\text{-N}$ および $\text{PO}_4\text{-P}$) 濃度を分析した。

各定点で得られた*A. tamarensis*計数用の海水試料500 mLは、最終濃度約2%の中性ホルマリンで固定して実験室に持ち帰り、沈殿法によって1 mLまで濃縮した。このうち0.1 mLを計数用試料として有殻渦鞭毛藻の外部形態観察に必要なカルコフロー染色 (Fritz and Triemer 1985) を施し、落射蛍光顕微鏡を用いて紫外線励起下で

*A. tamarensis*栄養細胞を計数した。*A. tamarensis*栄養細胞の形態観察による同定はBalech (1995) に従って行った。

第3節 結果および考察

3-3-1 水塊構造と*A. tamarensis*栄養細胞の空間分布

Fig. 25および26に年別、深度別の水温、塩分および*A. tamarensis*栄養細胞の水平分布を示す。水塊の空間分布をみると、何れの年においても沿岸に宗谷暖流水 (SWC)、沖合に表層低塩分水 (LSW)、30m以深に中冷水 (DTW)、宗谷暖流と表層低塩分水のフロント域の西側に冷水帯 (湧昇域) がそれぞれ分布することが分かる。*A. tamarensis*は表層低塩分水に多く出現し、宗谷暖流水

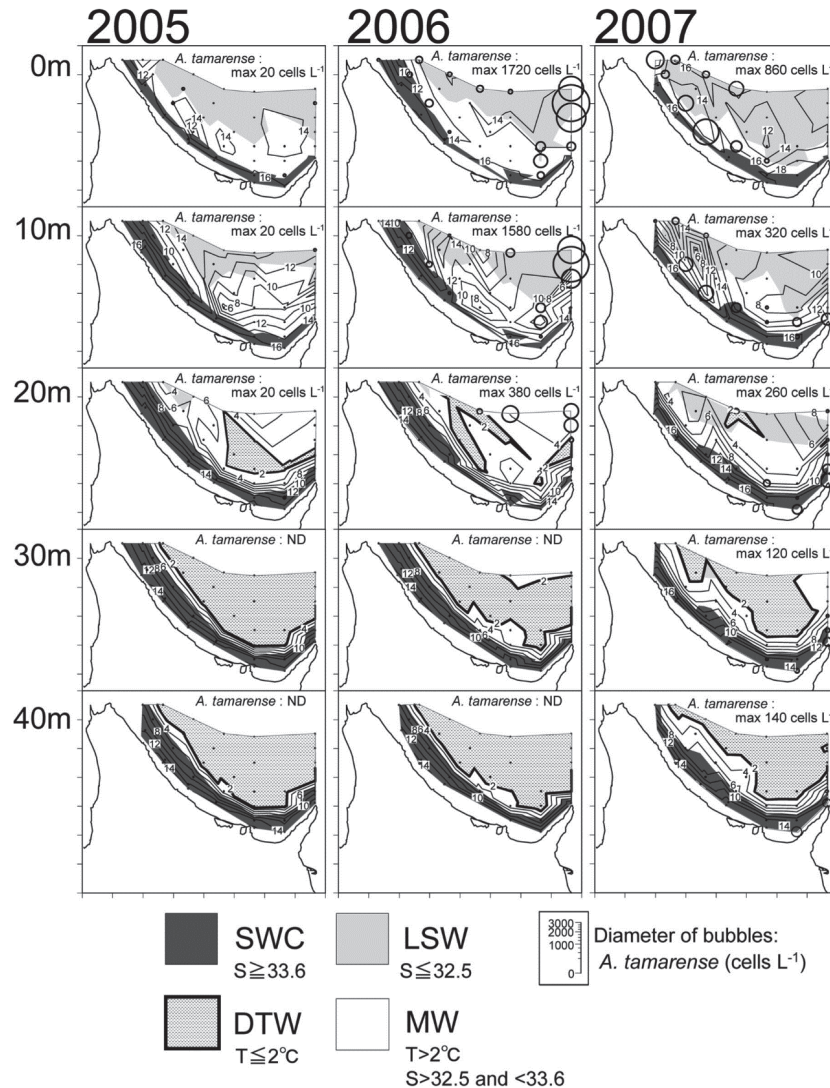


Fig. 26 Spatial distribution of water temperature (contours), water masses (shades) and cell density of *Alexandrium tamarensis* (bubbles) in July 2005–2007 (modified from Shimada et al. 2010). Abbreviations of water masses; SWC: Soya Warm Current (salinity ≥ 33.6). LSW: Surface low-salinity water (salinity ≤ 32.5). MW: Mixed water (water temperature $> 2^\circ\text{C}$, salinity > 32.5 and < 33.6). DTW: Dichothermal water (water temperature $\leq 2^\circ\text{C}$).

および中冷水における出現はまれであった。

*A. tamarense*出現数の年変動をみると、多くの年で 10^2 cells L^{-1} を超えるブルームが出現するが、2005年のように出現が極めて低水準のケースのあることが明らかとな

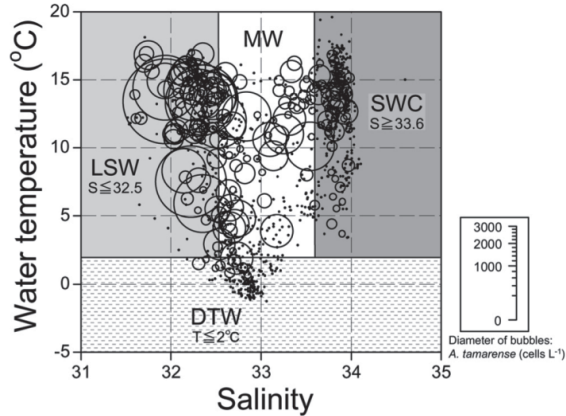


Fig. 27 Cell density of *Alexandrium tamarense* (bubbles) superimposed on the temperature – salinity diagram in the Okhotsk Sea off Hokkaido based on data during 2002–2007 (modified from Shimada et al. 2010). Screentones indicate the range of temperature and salinity of the four water masses.

った。*A. tamarense*ブルームは主に宗谷暖流と表層低塩分水のフロント域付近に出現することも明らかとなった。

水塊別の*A. tamarense*栄養細胞の出現状況をT-Sダイアグラム上のバブル図としてFig. 27に示す。3-1-2で示したとおり、*A. tamarense*は表層低塩分水 (LSW) に多く宗谷暖流水 (SWC) と中冷水 (DTW) ではまれであることが分かる。

水塊別の*A. tamarense*栄養細胞の出現状況をTable 1にまとめて示す。*A. tamarense*栄養細胞は表層低塩分水 (LSW) に最も多く出現する一方、宗谷暖流水 (SWC) と中冷水 (DTW) ではまれであり、混合水 (MW) にも相当量の出現が認められることが明らかとなった。

3-3-2 栄養塩ならびにChl-*a*濃度の空間分布

Fig. 28に年別、深度別の硝酸態窒素 (NO_3-N) 濃度および*A. tamarense*栄養細胞の水平分布を示す。 NO_3-N 濃度は、表面では宗谷暖流 (SWC) と表層低塩分水 (LSW) のフロント (湧昇)域を除いて $2 \mu M$ 以下と低めであるのに対し、沖合30 m以深の中冷水 (DTW) では $10 \mu M$ 以上と高濃度であることが極めて特徴的であった。フロント域における $5 \mu M$ 前後の値は、栄養塩の湧昇が

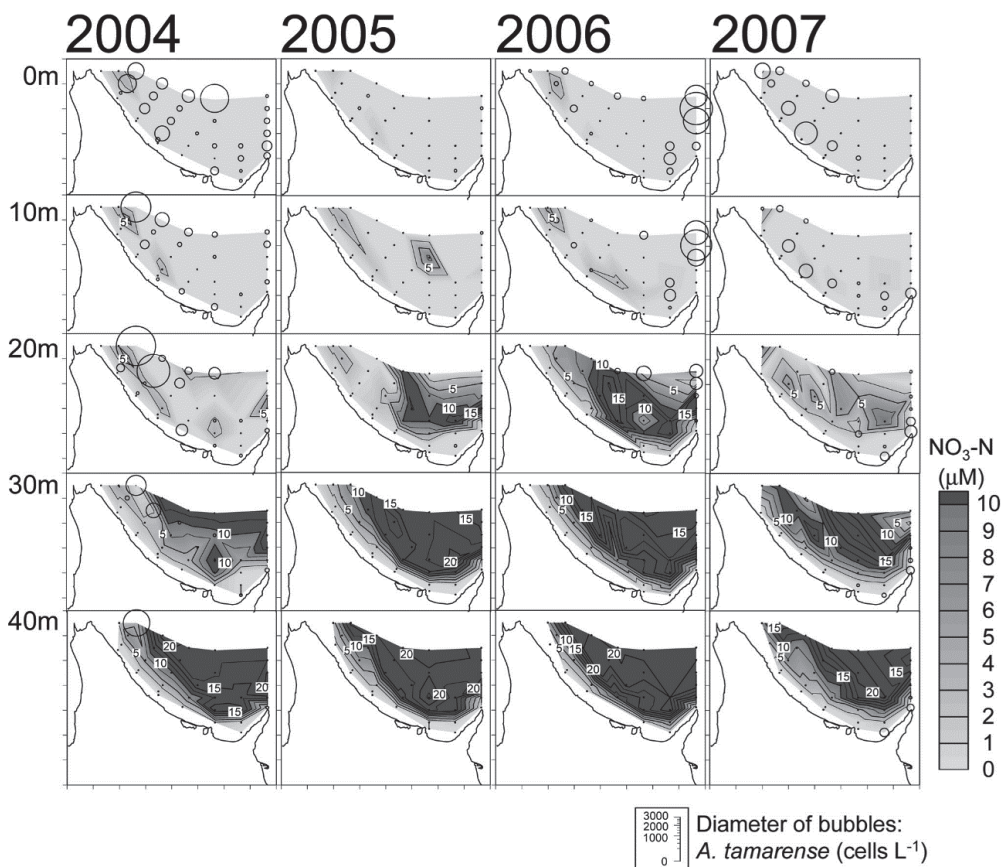


Fig. 28 Spatial and vertical distribution of NO_3-N concentration (contours) and cell density of *Alexandrium tamarense* (bubbles) in July 2004–2007 (modified from Shimada et al. 2010).

あることを示すものである。*A. tamarense*はフロント域のやや沖合でブルームを形成する傾向が認められた。

Fig. 29に年別、深度別のリン酸態リン ($\text{PO}_4\text{-P}$) 濃

Table 1 Cell density of *Alexandrium tamarense* in each water mass in the Okhotsk Sea off Hokkaido during 2002 – 2007 (modified from Shimada et al. 2010). Abbreviations of water masses are following:
SWC: Soya Warm Current (salinity ≥ 33.6)
LSW: Surface low – salinity water (salinity ≤ 32.5)
MW: Mixed water (water temperature $>2^\circ\text{C}$, salinity > 32.5 and <33.6)
DTW: Dichothermal water (water temperature $\leq 2^\circ\text{C}$)

Water mass	Number of samples	Cell density of <i>A. tamarense</i> (cells L^{-1} , mean $\pm$ SD)
SWC	312	7.4 $\pm$ 27.7
LSW	182	114.0 $\pm$ 342.1
MW	262	40.8 $\pm$ 127.5
DTW	183	3.7 $\pm$ 29.2

度および*A. tamarense*栄養細胞の水平分布を示す。 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は、表面では宗谷暖流 (SWC) と表層低塩分水 (LSW) のフロント (湧昇) 域を除いて $0.3\mu\text{M}$ 前後と低めであるのに対し、沖合30 m以深の中冷水 (DTW) では $1\mu\text{M}$ 以上と高濃度であることが特徴で、空間分布のパターンは $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度とほぼ同様であった。

水塊別の栄養塩濃度をまとめてTable 2に示す。中冷水 (DTW) は $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ ともに極めて高濃度であるのが特徴である。宗谷暖流水 (SWC) および表層低塩分水 (LSW) は中冷水と比較してはるかに低栄養塩であ

Table 2 Nutrient concentrations in each water mass observed in the Okhotsk Sea off Hokkaido during 2004 – 2007 (modified from Shimada et al. 2010).

Water mass	Number of samples	Nutrient concentrations	
		$\text{NO}_3\text{-N}$ (μM , mean $\pm$ SD)	$\text{PO}_4\text{-P}$ (μM , mean $\pm$ SD)
SWC	225	1.52 $\pm$ 2.41	0.26 $\pm$ 0.22
LSW	120	0.21 $\pm$ 0.86	0.35 $\pm$ 0.15
MW	156	3.51 $\pm$ 4.55	0.59 $\pm$ 0.37
DTW	125	15.79 $\pm$ 4.53	1.55 $\pm$ 0.29

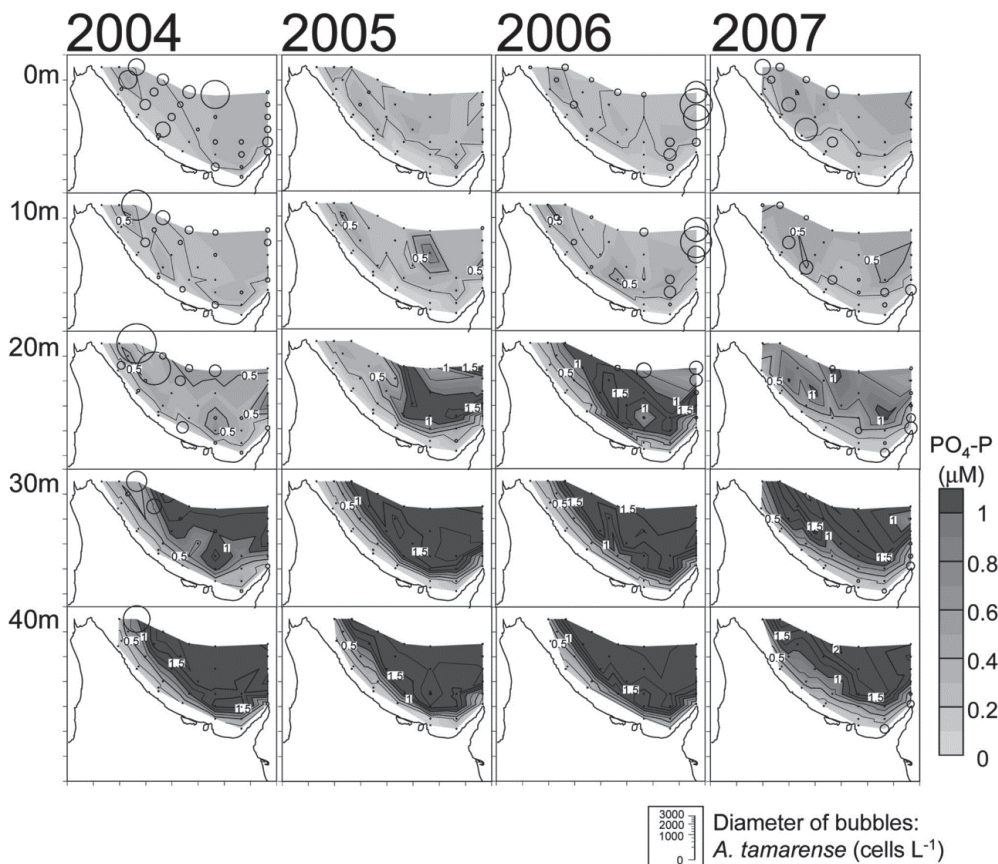


Fig. 29 Spatial and vertical distribution of $\text{PO}_4\text{-P}$ concentration (contours) and cell density of *Alexandrium tamarense* (bubbles) in July 2004–2007 (modified from Shimada et al. 2010).

るが、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は宗谷暖流水で比較的高濃度であるのに対し、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は表層低塩分水で比較的高濃度であることが特徴である。Yamamoto and Tarutani (1999) は *A. tamarense* 栄養細胞の増殖を律速するときの $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度を $0.12\ \mu\text{M}$ と報告しているが、本研究においてこの濃度を下回る値は、宗谷暖流水において25%の頻度で観察された (Shimada et al. 2010)。このことは、宗谷暖流水（ひいては対馬暖流水）においては低DIP（溶存無機リン）濃度が *A. tamarense* の増殖を律速するケースが多いことを示唆するものであろう。一方、表層低塩分水におけるDIP濃度は宗谷暖流水と比較して1.35倍高めであり、*A. tamarense* の増殖を律速するケースはほとんど観察されなかった。表層低塩分水におけるDIN（溶存無機窒素）濃度は低いものの、日周鉛直移動によって深みの栄養塩を利用可能と考えられていることと (MacIntyre et al. 1997, Lewis et al. 2006), *A. tamarense* はアミノ酸等のDON（溶存有機窒素）を利用できることから (Ogata et al. 1996), 表層低塩分水における低DIN濃度は本種の増殖を律速する要因とはならないと推察される。

表面におけるクロロフィルa濃度と *Alexandrium tamarense* 栄養細胞の水平分布をFig. 30に示す。クロロフィルa濃度は宗谷暖流 (SWC) と表層低塩分水 (LSW) のフロント（湧昇）域で $0.5\ \mu\text{g L}^{-1}$ 以上と高く、優占種は何れの年も珪藻（優占種: *Thalassiosira* spp. および *Chaetoceros* spp.）であることから、フロント域では湧昇によって底層から有光層に栄養塩が供給されるために夏

季においても珪藻ブルームが持続していることが明らかとなった。板倉 (2000) は、一般に珪藻の休眠期細胞は湧昇によって有光層に達することで季節を問わず増殖可能であると述べており、本フロント域における持続的な珪藻ブルームは湧昇によるイベントであると考えられる。一方、*A. tamarense* ブルームはフロント域の珪藻ブルームを避けるようにやや沖合に出現する傾向があることから (2004および2006年)、本海域において *A. tamarense* は栄養塩の豊富な湧昇域を好むものの、珪藻と競合しているものと推察された (Shimada et al. 2010)。我が国沿岸において *A. tamarense* は珪藻ブルームの終結後に増殖することが知られており (例えば 嶋田 2000a, Itakura et al. 2002), 本研究においても、*A. tamarense* と珪藻は栄養塩をめぐる競合関係にあるために空間分布において棲み分けていることが示唆された。

3-3-3 海洋環境と *A. tamarense* 空間分布の模式化

本海域における生物海洋学的調査によって明らかとなった物理／化学／生物海洋環境ならびに *A. tamarense* 栄養細胞の空間分布模式図をFig. 31に示す。*A. tamarense* の主分布域は表層低塩分水 (LSW) であり、高温かつ低DIPを特徴とする宗谷暖流水 (SWC) および低温の中冷水 (DTW) には *A. tamarense* はまれであることが明らかとなった。表層低塩分水は低DINであるが、わずかな日周鉛直移動によって中冷水との混合水 (MW) に達してDINを補給可能であることから、*A. tamarense* の増殖に好

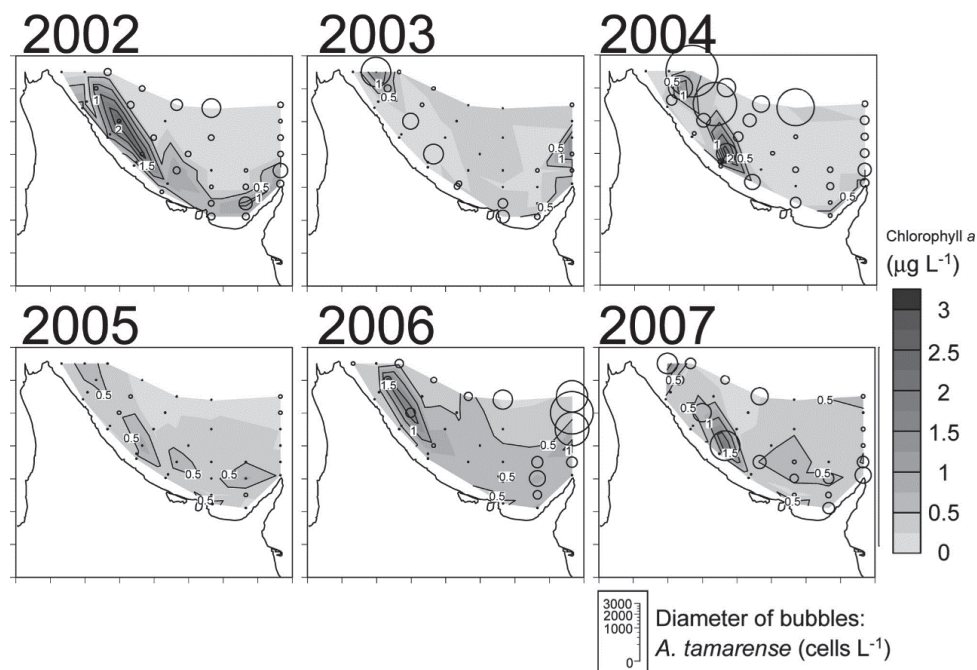


Fig. 30 Horizontal distribution of sea surface chlorophyll *a* concentration (contours) and maximum cell density of *Alexandrium tamarense* (bubbles) at each station in July 2002–2007 (modified from Shimada et al. 2010).

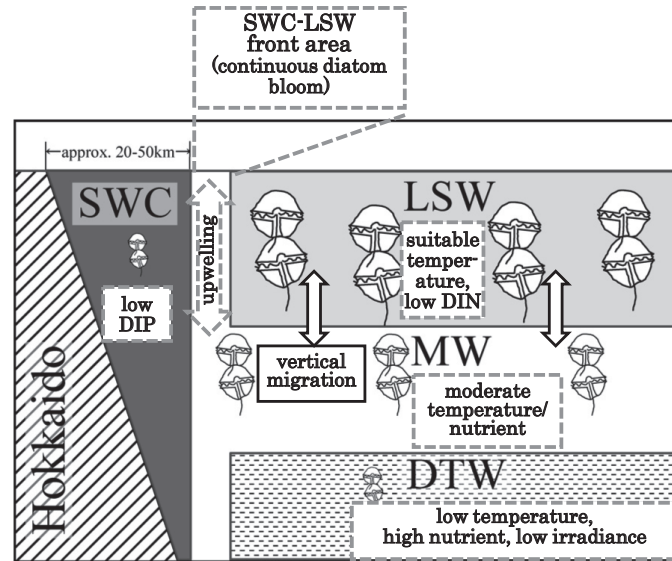


Fig.31 Schematic diagram of spatial distribution of water masses, front area with upwelling and abundance of *Alexandrium tamarens* in vertical section in the Okhotsk Sea off Hokkaido. Icon size of *A. tamarens* indicates relative abundance (modified from Shimada et al. 2010).

適な環境であると推察された。一方、宗谷暖流／表層低塩分水のフロント（湧昇）域には、すでに衛星および沿岸観測から示唆されていた持続的珪藻ブルームの存在（例えば Mustapha et al. 2009, 工藤ほか 2011）が多年にわたり確認され、*A. tamarens*ブルームは、珪藻ブルームのやや沖合の表層低塩分水に出現することが明らかとなった。以上、多年にわたる詳細な調査によって、*A. tamarens*を含んだ表層低塩分水の沿岸への流入が麻痺性貝毒発生の直接原因と推察される結果を得た。

第4章 北海道およびサハリン南部アニワ湾産 *A. tamarens*栄養細胞の毒性

第1節 はじめに

麻痺性貝毒は二枚貝等が原因生物を摂食して体内に毒成分を蓄積する現象であるため、その発生予測のためには、*A. tamarens*シスト、栄養細胞の分布に関する情報だけでなく、現場に出現する本種栄養細胞の毒性に関する情報が不可欠である。第4章では、北海道およびサハリン南部のアニワ湾産*A. tamarens*栄養細胞の毒性について述べる。また、本種のホタテガイへの給餌試験結果（木村ほか 2009）に基づいて、現場における*A. tamarens*の出現状況とホタテガイの毒化に関して試算する。

第2節 材料および方法

培養株を得るための試料として、2005–2009年に噴火湾、苫小牧、浦河、厚岸、オホーツク海およびアニワ湾

の6海域（Fig. 32）で採集した底泥試料のほか、噴火湾については2006年5月に採集した海水試料を用いた。シストを発芽させるために底泥試料2–3 gをプランクトンネットを用いて10–100 μm の画分を篩い分け、珪藻増殖阻害剤 GeO_2 を添加（最終濃度2 mg L^{-1} ）した濾過海水に懸濁させて6穴マルチウェルプレートに10 mLずつ収容し、温度10 $^{\circ}\text{C}$ 、明暗周期14L:10Dで2週間培養した。発芽（または海水試料から単離）した*A. tamarens*はSWIIm培地（Sako et al. 1990）で洗浄、1 mLの培地を分注した48穴マルチウェルプレートに1細胞ずつ収容し、前述と同様の温度、光条件で2週間培養して、クローン

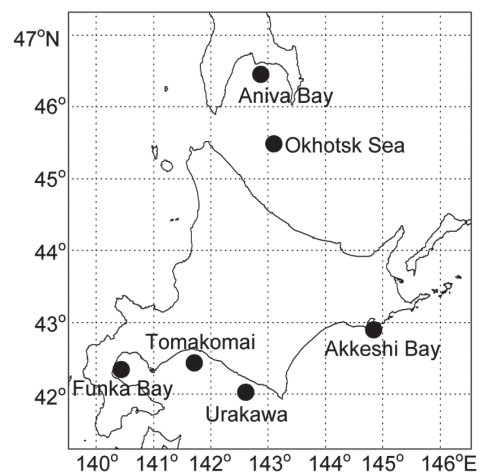


Fig.32 Map showing the six sampling areas in Hokkaido and southern Sakhalin (modified from Shimada et al. 2011).

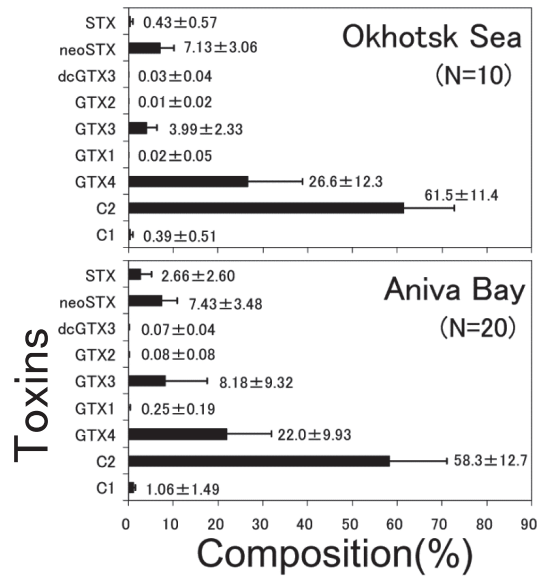


Fig. 33 Average composition of PST (mean±standard deviation) in the culture strains of *Alexandrium tamarens* obtained from the Okhotsk Sea and Aniva Bay (modified from Shimada et al. 2011). Error bars indicate standard deviation, “N” mean number of culture strains. Abbreviations and specific toxicity ($\text{MU } \mu\text{M}^{-1}$) of toxin components are as follows; STX: saxitoxin (2483), neoSTX: neosaxitoxin (2295), dcGTX3: decarbamoyl gonyautoxin-3 (1872), GTX2: gonyautoxin-2 (892), GTX3: gonyautoxin-3 (1584), GTX1: gonyautoxin-1 (2468), GTX4: gonyautoxin-4 (1803), C2: C-toxin-2 (239), C1: C-toxin-1 (15)

培養株を確立した。確立した各培養株は10 mLの培地を分注した試験管に移し、同様の条件でさらに2週間培養して、増殖が定常状態に達した培養株 ($10^2 - 10^4$ cells mL^{-1}) を毒成分分析用の試料とした。試料10 mLを450 Gで10分間遠心分離して上澄を除去し、最終濃度0.5 Mの酢酸で固定後、凍結保存した。同時に試料0.1mLについて倒立顕微鏡を用いて*A. tamarens*細胞数を計数した。高速液体クロマトグラフ（日立製作所, L-6000一式）による毒成分分析は、分析直前に遠心式フィルター（Millipore, Ultrafree C3GC）を用いて高分子画分を除いた試料について、Oshima (1995) の方法に従って行った。

第3節 結果および考察

4-3-1 オホーツク海およびアニワ湾産*A. tamarens*の毒成分組成

オホーツク海およびアニワ湾産*A. tamarens*培養株の毒成分組成をFig. 33に示す。主成分はともにC-toxin-2（以下C2と略記する）、gonyautoxin-4（以下GTX4と略記する）、gonyautoxin-3（以下GTX3と略記する）、neosaxitoxin（以下neoSTXと略記する）であった。

4-3-2 その他の海域（噴火湾～厚岸沖太平洋）産*A. tamarens*の毒成分組成

噴火湾、苫小牧、浦河、厚岸産*A. tamarens*培養株の毒成分組成をFig. 34に示す。主成分はオホーツク海お

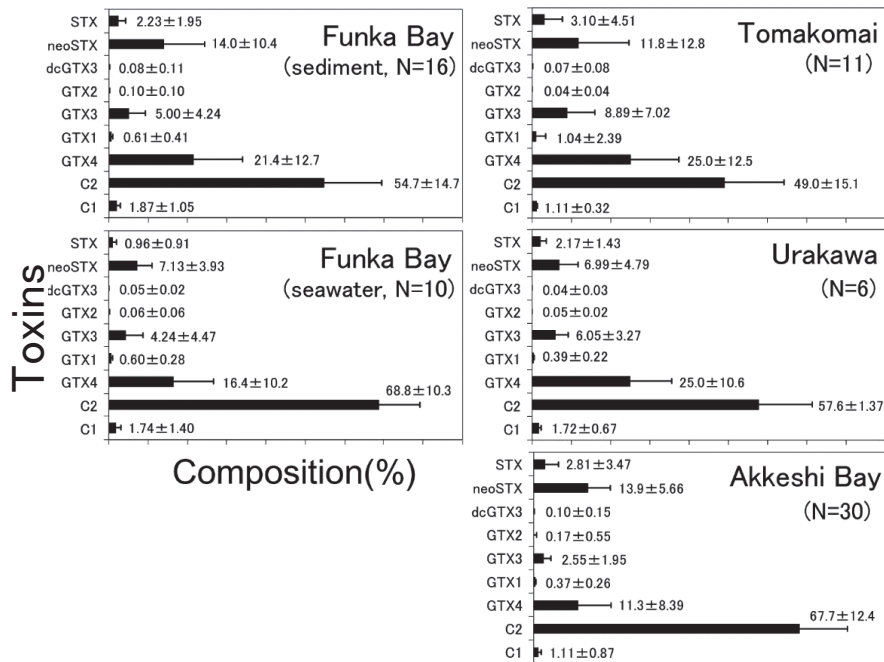


Fig. 34 Average composition of PST (mean±standard deviation) in the culture strains of *Alexandrium tamarens* obtained from the four sampling areas (modified from Shimada et al. 2011). Error bars indicate standard deviation, “N” mean number of culture strains. Results of the culture strains obtained from bottom sediment and seawater in Funka Bay are described separately. Abbreviations and specific toxicity of toxin components are shown in Fig. 33.

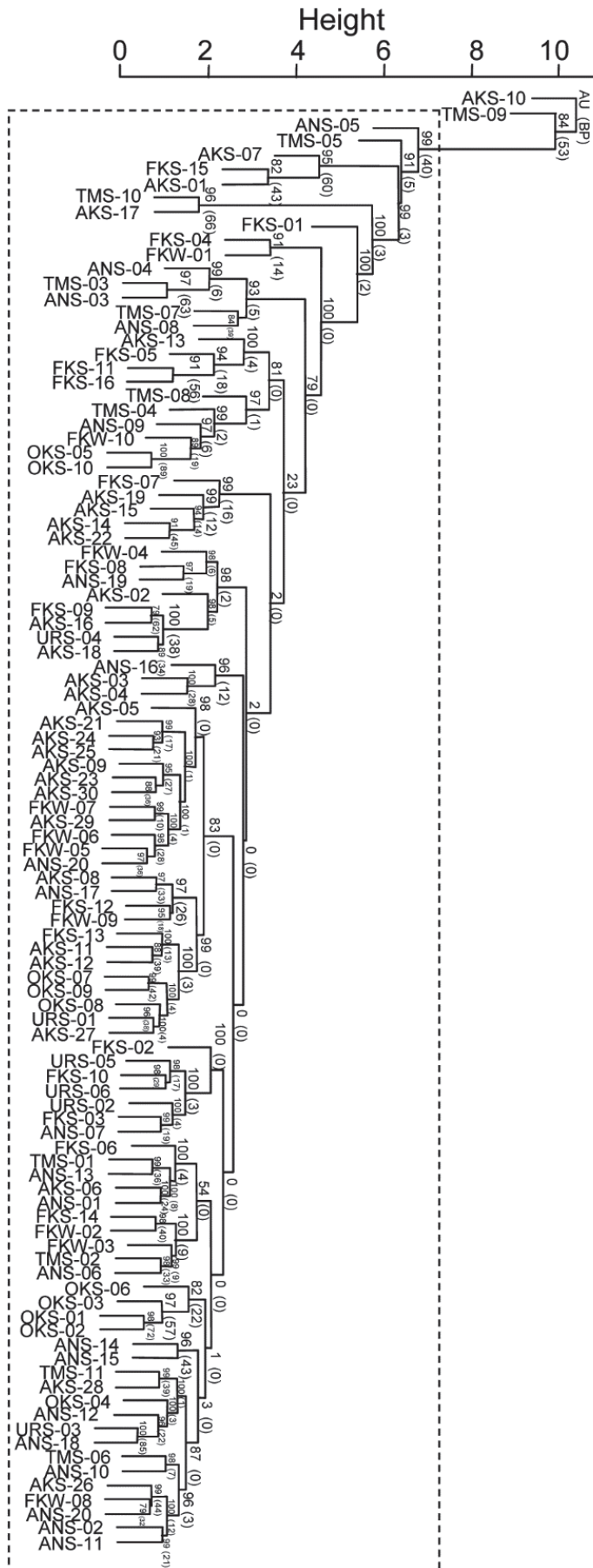


Fig.35 Result of cluster analysis of the PST compositions of the 103 culture strains (modified from Shimada et al. 2011). Clusters with approximately unbiased p - values larger than 95% are highlighted by a broken - line rectangle, which are strongly supported by the data. “AU” and “(BP)” on the edges of the clustering mean approximately unbiased p - values and bootstrap probabilities (number of resamplings=1,000). “Height” on the scale on the top indicates branch length of the dendrogram.

よびアニワ湾産同様にC2, GTX4, GTX3, neoSTXであった。

4-3-3 クラスター分析による *A. tamarense* 培養株の毒成分組成の分類

全103培養株の毒成分組成のマルチスケールブーstrap法 (Shimodaira 2002) によるクラスター分析結果をFig. 35に示す。厚岸および苫小牧産の2株を除く101株は同一クラスターを形成し、これらは毒成分組成において同一グループに分類されることが明らかとなった。

同一クラスターに分類された101株の平均毒成分組成と、例外的と判別された2株の毒成分組成をFig. 36に示す。101株の平均毒成分組成は既報のサハリン南部 (Orlova et al. 2007), 岩手県 (加賀ほか 2006), 広島湾 (Asakawa et al. 2005) 各地産株と4種の毒成分 (C2, GTX4, neoSTXおよびGTX3) を主成分とする点で類似し

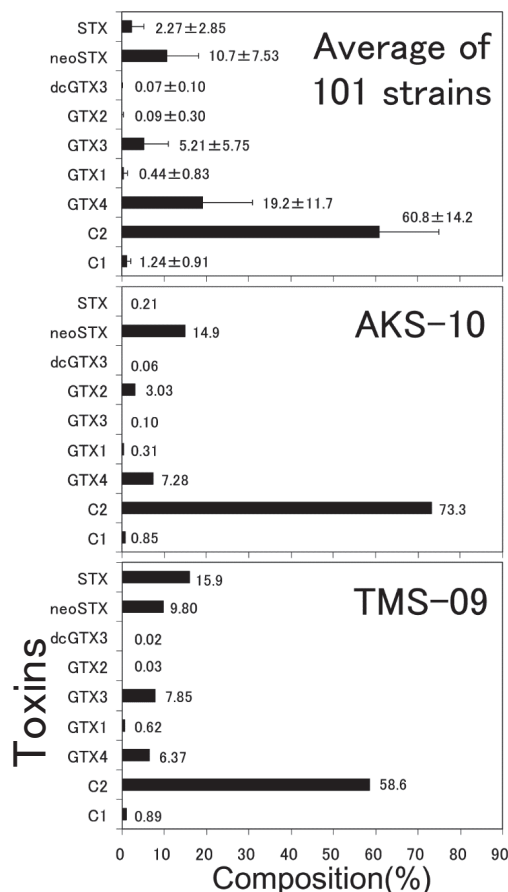


Fig. 36 Compositions of PST of the 101 culture strains in the clusters highlighted by the rectangle in Fig. 35 on average (mean ± standard deviation) and 2 culture strains (AKS-10 and TMS-09) outside the clusters (modified from Shimada et al. 2011). Abbreviations and specific toxicity of toxin components are shown in Fig. 33.

ていた。このことは、日本産 *A. tamarense* は遺伝的に異なる複数の個体群から構成されるものの (Nagai et al. 2007), 毒成分組成は概ね類似することを示唆する。例外的と判別された厚岸産株はGTX3が少なくGTX2が多い点で、苫小牧産株はSTXが多い点で、それぞれ平均的毒組成と異なったが、いずれもC2を主成分とする点では類似していた。

4-3-4 細胞密度および細胞毒量の関係

毒成分分析に供した試料の *A. tamarense* 細胞密度と細胞毒量の関係をFig. 37に示す。細胞毒量は1–1128 fmol cell⁻¹ (平均細胞毒量187 fmol cell⁻¹) の範囲で変動し、*A. tamarense* 細胞密度と細胞毒量の間には反比例の関係 ($y = 9942.2x^{-0.448}$) があることが明らかとなった (スピアマン順位相関係数 $r_s = 0.539$, $p < 0.01$)。分析に供した各試料の細胞密度は単離から4週間後の値であり、各培養株のおおよその増殖速度を反映していると考えられる。Ogata et al. (1987) は *Protogonyaulax tamarensis* (= *A. tamarense*) の細胞毒量は増殖速度が高いほど低下することを報告しており、本研究における *A. tamarense* 培養株の細胞毒量が、細胞密度が高いほど低いことは、この報告と一致していると考えられる。Fig. 37に示された回帰式 $y = 9942.2 x^{-0.448}$ に、天然でしばしば観察されるような細胞密度、たとえば 10^3 cells L⁻¹ をあてはめると、約 10^4 fmol cell⁻¹ という極めて高い細胞毒量の「超高毒株」の存在が予想される。しかしながら、この外挿的仮説の検証のためには、天然の *A. tamarense* 栄養細胞について細胞毒量データの蓄積が必要である。

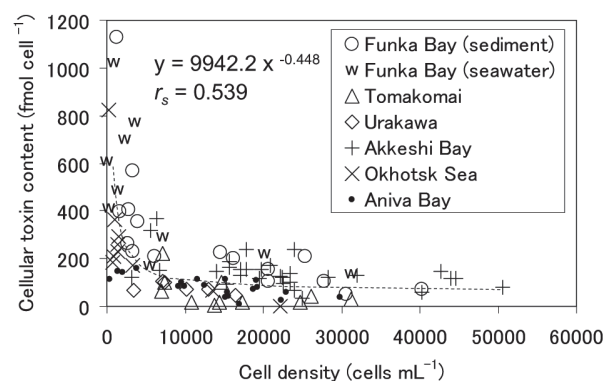


Fig. 37 Relationship between the cell density (cells mL⁻¹) and the cellular toxin content (fmol cell⁻¹) of the culture strains of *Alexandrium tamarense* (modified from Shimada et al. 2011). Scatter diagram is plotted using different symbols to distinguish among the sources of the samples. Regression equation of curve fitting with Spearman's rank correlation coefficient (r_s) is described on the left side of the diagram.

4-3-5 A. tamarensisの毒性に基づいたホタテガイ毒化の試算

4-3-5-a 平均的細胞毒量のA. tamarensisの出現を想定したホタテガイ毒化の試算

Shimada et al. (2011) が示した平均的細胞毒量 10^2 fmol cells⁻¹のA. tamarensisが 10^3 cells L⁻¹の密度で継続的に分布し、水温10℃における体重100 gのホタテガイ1個体の濾水量を 10^2 L day⁻¹ (蔵田ほか1991) とすると、1日にホタテガイ1個体が摂取する毒量は次のようになる。

$$10^2 \times 10^3 \times 10^2 = 10^7 \text{ fmol day}^{-1}$$

毒の中腸腺への蓄積率を35 % (木村ほか2009) と仮定すると、1日に中腸腺に蓄積される毒量は次のとおり見積もられる。

$$10^7 \times 0.35 \text{ fmol day}^{-1}$$

Shimada et al. (2011) が示した101株の平均毒組成を仮定して、成分別の比毒性 (Ohshima 1995) に基づいてモル毒量をマウス毒力に換算 ($\times 0.8 \times 10^{-6}$) とすると、一日に中腸腺に蓄積される毒量のマウス毒力は次のとおりである。

$$10 \times 0.35 \times 0.8 \text{ MU day}^{-1}$$

体重100 gのホタテガイ1個体の中腸腺を7 g (嶋田ほか2000) とすると、1日に中腸腺1 gに蓄積されるマウス毒力 (毒化速度) は次のとおり求められる。

$$\begin{aligned} 10 \times 0.35 \times 0.8 / 7 \\ = 0.4 \text{ MU g}^{-1} \text{ digestive diverticula day}^{-1} \cdots \textcircled{1} \end{aligned}$$

①の試算結果は、平均的毒性のA. tamarensisが継続的に 10^3 cells L⁻¹出現している場合、ホタテガイ1個体が北海道における生鮮ホタテガイの出荷自粛基準値 (20 MU g⁻¹ 中腸腺) を超える毒を蓄積するために $20 / 0.4 = 50$ 日を要することを意味する。しかしながら現場において 10^2 cells L⁻¹レベルのA. tamarensis出現によって毒化する事例が多いことは (嶋田ほか 2007)、現場に出現するA. tamarensisの細胞毒量がより高いことを示唆する。従って、過去の毒化事例および将来の毒化予測のためには、以下に述べるような高毒株の出現を想定した試算が必要と考えられる。

4-3-5-b A. tamarensis高毒株の出現を想定したホタテガイ毒化の試算

Shimada et al. (2011) が存在を確認した細胞毒量 10^3 fmol cell⁻¹のA. tamarensis高毒株の 10^3 cells L⁻¹のブルーム出現を仮定すると、4-3-5-aと同様の手順によって、1日に中腸腺1 gに蓄積されるマウス毒力 (毒化速度) は次のとおり求められる。

$$\begin{aligned} 10^2 \times 0.35 \times 0.8 / 7 \\ = 4 \text{ MU g}^{-1} \text{ digestive diverticula day}^{-1} \cdots \textcircled{2} \end{aligned}$$

②の試算結果は、ホタテガイは高毒株のブルーム出現からわずか5日で出荷自粛基準値 (20 MU g⁻¹ 中腸腺) を超えて毒化する可能性を示唆する。一方で、既知の高毒株のブルーム出現を仮定してもなお、西浜 (1982) が示した1979年噴火湾の養殖ホタテガイ漁場における35 MU g⁻¹ 中腸腺 day⁻¹の毒化速度には及ばないことも意味している。

4-3-5-c A. tamarensis超高毒株の存在を仮定したホタテガイ毒化の試算

西浜 (1982) が報告した高毒化事例を説明するために、Shimada et al. (2011) が言及した超高毒株の存在を仮定して試算を行ってみる。細胞毒量 10^4 fmol cell⁻¹のA. tamarensisが 10^3 cells L⁻¹のブルーム出現を仮定すると、4-3-5-aと同様の手順によって、1日に中腸腺1 gに蓄積されるマウス毒力 (毒化速度) は次のとおり求められる。

$$\begin{aligned} 10^3 \times 0.35 \times 0.8 / 7 \\ = 40 \text{ MU g}^{-1} \text{ digestive diverticula day}^{-1} \cdots \textcircled{3} \end{aligned}$$

③の試算結果は、西浜 (1982) が報告した毒化速度35 MU g⁻¹ 中腸腺 day⁻¹とほぼ同様の値であり、このとき現場において超高毒株が継続的に出現していた可能性がある。この事例ではホタテガイの生息水温は約8℃であり、低温下で緩やかに増殖したA. tamarensisブルームが高毒化に関与したと推測される。現場で単離されたA. tamarensis栄養細胞から 10^4 fmol cell⁻¹の細胞毒量が検出された記録はないが、今後もこのような高毒化事例が起こることを想定しつつ、注意深く監視を継続することが重要と考えられる。

4-3-6 A. tamarensisの細胞毒量、細胞密度およびホタテガイの毒化速度の関係

4-3-5-a, b, cに示したとおり、既往知見に基づいて

Table 3 Estimated accumulation velocity of PST (MU g^{-1} digestive diverticula day^{-1}) in a scallop under each cell density and cellular toxin content of *Alexandrium tamarense*. Applied parameters used for calculation of the accumulation rate of PST are following:

Filtration rate by a scallop (at 10°C , body weight: 100 g): 10^2 L day^{-1} (Kurata et al. 1991)

PSP accumulation / *A. tamarense* ingestion ratio by scallop: 35 % (Kimura et al. 2009)

Weight of digestive diverticula of a scallop (body weight: 100 g): 7 g (Shimada et al. 2000)

Conversion factor of toxicity from “fmol” to “mouse unit” based on the average toxin composition and relative toxicity of each toxin component reported by Shimada et al. (2011) and Oshima (1995): $\times 0.8 \times 10^{-6}$

Cellular toxin content of <i>A. tamarense</i> (fmol cell^{-1})	Cell density of <i>A. tamarense</i> (cells L^{-1})		
	10^2	10^3	10^4
* 10^2	0.04	0.4	4
** 10^3	0.4	4	40
*** 10^4	4	40	400
	(MU g^{-1} digestive diverticula day^{-1})		

* average cellular toxin content of *A. tamarense* (cf. Fig. 37)

** high cellular toxin content of *A. tamarense* (cf. Fig. 37)

*** calculated cellular toxin content of *A. tamarense* at the cell density of $10^3 \text{ cells L}^{-1}$ using the regression equation (cf. Fig. 37)

水温 10°C における体重100 gのホタテガイ1個体（中腸腺重量7 g）の濾水量を 100 L day^{-1} と仮定すれば、細胞毒量別、細胞密度別に、ホタテガイの毒化速度（ MU g^{-1} 中腸腺 day^{-1} ）を概算することができる（Table 3）。この概算結果は「細胞毒量 $10^3 \text{ fmol cell}^{-1}$ の高毒株が $10^2 \text{ cells L}^{-1}$ で出現すれば、ホタテガイの毒性値は50日で出荷自粛基準値 20 MU g^{-1} 中腸腺を超える（ $20 \div 0.4 = 50$ 日）」という高毒株の低密度出現時の毒化を想定した、危機管理のためのガイドラインを示すものである。同時に、この結果は、2-2-4で示された「毒化を警戒すべき*A. tamarense*細胞密度は $10^2 \text{ cells L}^{-1}$ 」という経験的事実に科学的根拠を与えるものである。一方、ホタテガイの濾水量は水温 15°C では 10°C の3-4倍に急増することが知られていることから（蔵田ほか1991）、ホタテガイの毒化速度は、*A. tamarense*の細胞毒量と細胞密度だけでなく、水温によって変化すると考えられる。生物の代謝と温度の関係は、温度が 10°C 上昇したときの生化学反応量の増加を指標する Q_{10} valueを用いて説明され、多くの生物と同様に、二枚貝類においても Q_{10} valueは一般に2前後の値をとることが知られている（Jørgensen 1990）。しかしながら、ホタテガイを含むイタヤガイ科二枚貝類においては、 Q_{10} valueは2-3の値にとどまるのに対して濾水量は5-6倍に急増する種が含まれることから（Lu and Blake 1997）、温度変化に対する濾過捕食能力の応答が極めて

敏感な生物であるといえる。従って、実際にホタテガイの毒化速度を見積もる際、Table 3の概算結果は、ホタテガイの生息水温による濾水量の変動に従って、少なくとも3-4倍の範囲で変動することに留意すべきであろう。

第5章 夏季北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガイ漁場における麻痺性貝毒の発生予測

第1節 はじめに

1-3-2で述べたとおり、本海域の麻痺性貝毒は、沖合表層で増殖した*A. tamarense*が、通常は対馬暖流を起源とする宗谷暖流で覆われる沿岸のホタテガイ漁場に輸送されるためと推測されていたが（Nishihama et al. 1993, 西浜1994b）、そのメカニズムは不明のままであった。第5章では、本海域における*A. tamarense*の空間分布と宗谷暖流の流況の關係に着目した麻痺性貝毒の発生予測手法の構築について詳説する。

地まきホタテガイ漁場における麻痺性貝毒の発生機構に関する仮説の概略図をFig. 38に示す。(a)は宗谷暖流が稚内から網走の方向に沿岸を順調に流れている場合、(b)は宗谷暖流が弱勢となった場合をそれぞれ示す。宗谷暖流は日本海とオホーツク海の水位差で駆動され、その流速と流量は稚内と網走の水位差（以下SLDと略記する）と相関があることが知られている（青田 1975,

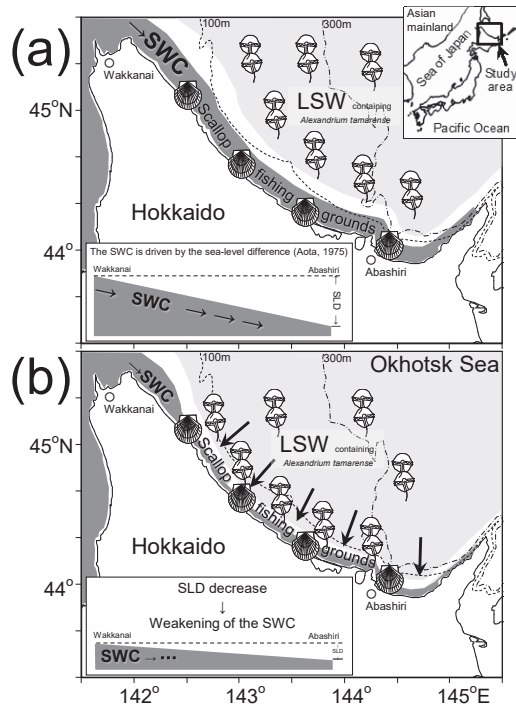


Fig. 38 Schematic path of the Soya Warm Current (salinity ≥ 33.6) and location of the scallop fishing grounds and the low salinity water (salinity ≤ 32.5) containing *Alexandrium tamarensis* in summer by the hypothetical scenario, “PST occurrence is caused by the inflow of LSW to the scallop fishing ground at the temporal weakening of SWC indexed by the decrease of the sea – level difference (SLD) between Wakkanai and Abashiri” (modified from Shimada et al. 2012).

(a) usual condition, (b) PST occurrence

Fukamachi et al. 2008)。SLDが減少して宗谷暖流が弱勢となると、沖合の表層低塩分水が沿岸に流入すると推測される。夏季の表層低塩分水には*Alexandrium tamarensis*が含まれているため (Shimada et al. 2010), 表層低塩分水が沿岸へ流入すると、地まきホタテガイ漁場へ*A. tamarensis*が供給され、ホタテガイが毒化すると推測される。この仮説に基づき、沖合および沿岸における*A. tamarensis*の分布調査および流況調査、ならびに麻痺性毒性値とSLDのレトロスペクティブ解析を行うことによって、麻痺性貝毒の発生予測手法の開発を試みた。

第2節 材料および方法

調査定点をFig. 39に示す。*A. tamarensis*空間分布調査は37定点 (●), 地まきホタテガイ漁場における*A. tamarensis*分布動態調査は3定点 (Stn. T, N, A: ■), 宗谷暖流流況調査は2定点 (Stn. S, H: ▲)をそれぞれ設定した。

*A. tamarensis*の広域的な空間分布調査は2004年7月、

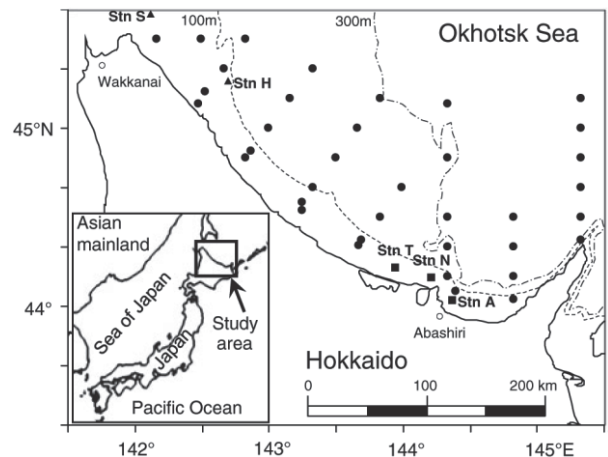


Fig. 39 Map showing the 37 oceanic sampling stations (●), 3 coastal sampling stations (■; Stn. T, N and A) and 2 stations (▲; Stn. S and H) for observation of the Soya Warm Current using the bottom – mounted ADCP (modified from Shimada et al. 2012).

2007年6月および7月、2008年6月に行った。6月は37定点のうち28定点でCTD (Seabird Electronics, SBE-911plus)を用いた水温、塩分の観測およびバケツを用いた表面採水を行い、7月は37定点で水温、塩分の観測およびナンゼン採水器を用いた深度40 mまで10 m毎5層 (0, 10, 20, 30, 40 m)の採水を行った。各定点で得られた海水試料500 mLは最終濃度約2%の中性フォルマリンで固定して実験室に持ち帰り、沈殿法によって1 mLまで濃縮した。このうち0.1 mLを*A. tamarensis*計数用試料として有殻渦鞭毛藻の外部形態観察に必要なカルコフロー染色 (Fritz and Triemer 1985)を施し、落射蛍光顕微鏡を用いて紫外線励起下で*A. tamarensis*栄養細胞を計数した。*A. tamarensis*栄養細胞の形態観察による同定はBalech (1995)に従って行った。

地まきホタテガイ漁場における*A. tamarensis*分布動態調査は2004、2007および2008各年の6-7月に各定点毎月2-3回の頻度で行った。各調査ではメモリーSTD (アレック, AST-1000)を用いた水温、塩分の観測およびバンドン採水器を用いた深度40mまたは50mまで最大7層、各500 mLの深度別採水を行った。調査期間中はStn.Nに深度0-50 mに最大3個のデータロガー (Onset, TBI32-05+37)を設置して、水温の連続観測を行った。*A. tamarensis*計数用試料の固定、濃縮、検鏡の手順は前述同様に行った。*A. tamarensis*の分布動態と麻痺性毒性値の関係を解析するために、北海道庁および漁業協同組合によって実施された、網走 (雄武~斜里) 沿岸における生鮮ホタテガイの毒性値検査結果を用いた。解析に際しては、毒性値上昇前の1番目と2番目のSLD低下を「顕著な宗谷暖流弱勢」と定義したうえで、SLD低下と毒性

値上昇の時系列における関係を調べた。

宗谷暖流流況調査は*A. tamarense*分布動態調査と同時期に、2004年はStn.H、2007および2008年はStn.Sにおいて、耐トロール海底設置型超音波ドップラー流向流速計（TRBM-ADCP、ADCP本体：RD Instruments, WH-Sentinel 200 kHz、海底設置マウント：Flotation Technologies, AL-200）を用いて流向流速プロファイルの観測を行った。宗谷暖流流況解析のためのSLDデータは、気象庁が公開している標高（TP）基準の値（<http://www.data.jma.go.jp/kaiyou/db/tide/genbo/index.php>, 2016年12月1日）を用いて算出した。宗谷暖流流況解析に際しては、流向流速およびSLDの1時間毎の時系列データから24時間タイドキラーフィルター（Hanawa and Mitsudera 1985）を用いて潮汐成分を除去したデータを用いた。SLDと宗谷暖流流況の相関解析に際しては、SLDに対応する流向流速データを1時間ずつ遅らせて R^2 値が最大となる時間差においてラグ相関を求めた。

麻痺性毒性値とSLDのレトロスペクティブ解析は、上述の北海道庁および漁業協同組合による毒性値検査および気象庁公開のデータを用いて行った。

第3節 結果および考察

5-3-1 沿岸～沖合域における物理環境および*A. tamarense*栄養細胞の分布

*A. tamarense*空間分布調査で明らかとなった本種栄養細胞の水平分布をFig. 40に示す。本種は宗谷暖流外側の表層低塩分水（LSW）に主に出現し、沿岸の宗谷暖流水（SWC）にはほとんど出現しないことが確認された。また2007年の結果から、7月に*A. tamarense*ブルーム（ $> 10^2$ cells L^{-1} ）が出現した年には、すでに6月からブルームが始まっていたことも分かった。一方*A. tamarense*出現の年変動をみると、2008年のようにほとんど出現しない年もあることが明らかとなった。

5-3-2 沿岸定点における物理環境および*A. tamarense*栄養細胞の分布動態ならびに地まきホタテガイの麻痺性毒性値の変動

2004年の沿岸定点におけるデータロガーによる水温の時系列変化、現場調査時における水温、塩分および*A. tamarense*の鉛直分布の変動、ならびにホタテガイの麻痺性毒性値の変動をFig. 41に示す。*A. tamarense*は7月中旬の水温と塩分の低下直後に多く出現した。毒性値は*A. tamarense*出現とほぼ同時に上昇しはじめ、生鮮出荷自粛レベル（ 3 MU g^{-1} 可食部以上 4 MU g^{-1} 可食部未満）に達した。これらの現象は、宗谷暖流の一時的弱勢時に*A. tamarense*を含んだ沖合の表層低塩分水が沿岸に流入

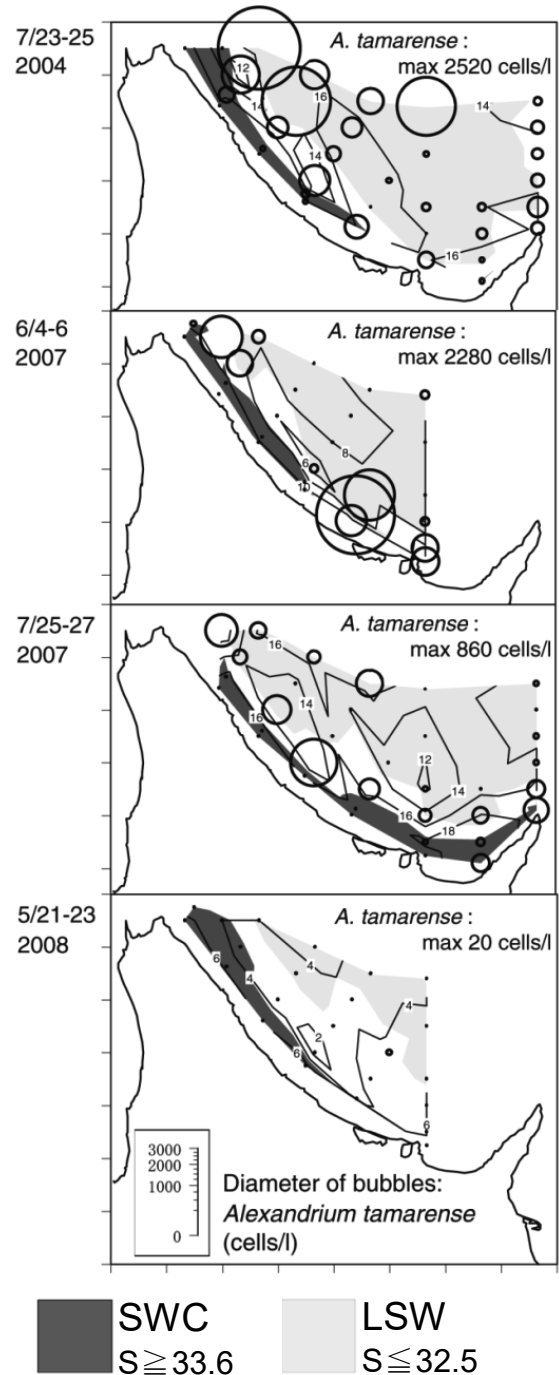


Fig. 40 Horizontal distribution of water temperature (contours), water masses (shades) on sea surface and cell densities of *Alexandrium tamarense* (bubbles) in the oceanic area during each sampling period (modified from Shimada et al. 2012). Cell densities are the maximum value at each station.

するとの仮説 (Fig. 38) を支持する結果と考えられた。

同様に、2007年の結果をFig. 42に示す。*A. tamarense*は7月上旬の水温および塩分低下の直後に多く出現し、ほぼ同時に麻痺性毒性値は上昇しはじめ、生鮮出荷自主規制値（ 4 MU g^{-1} 可食部）に達した。これらの現象は、

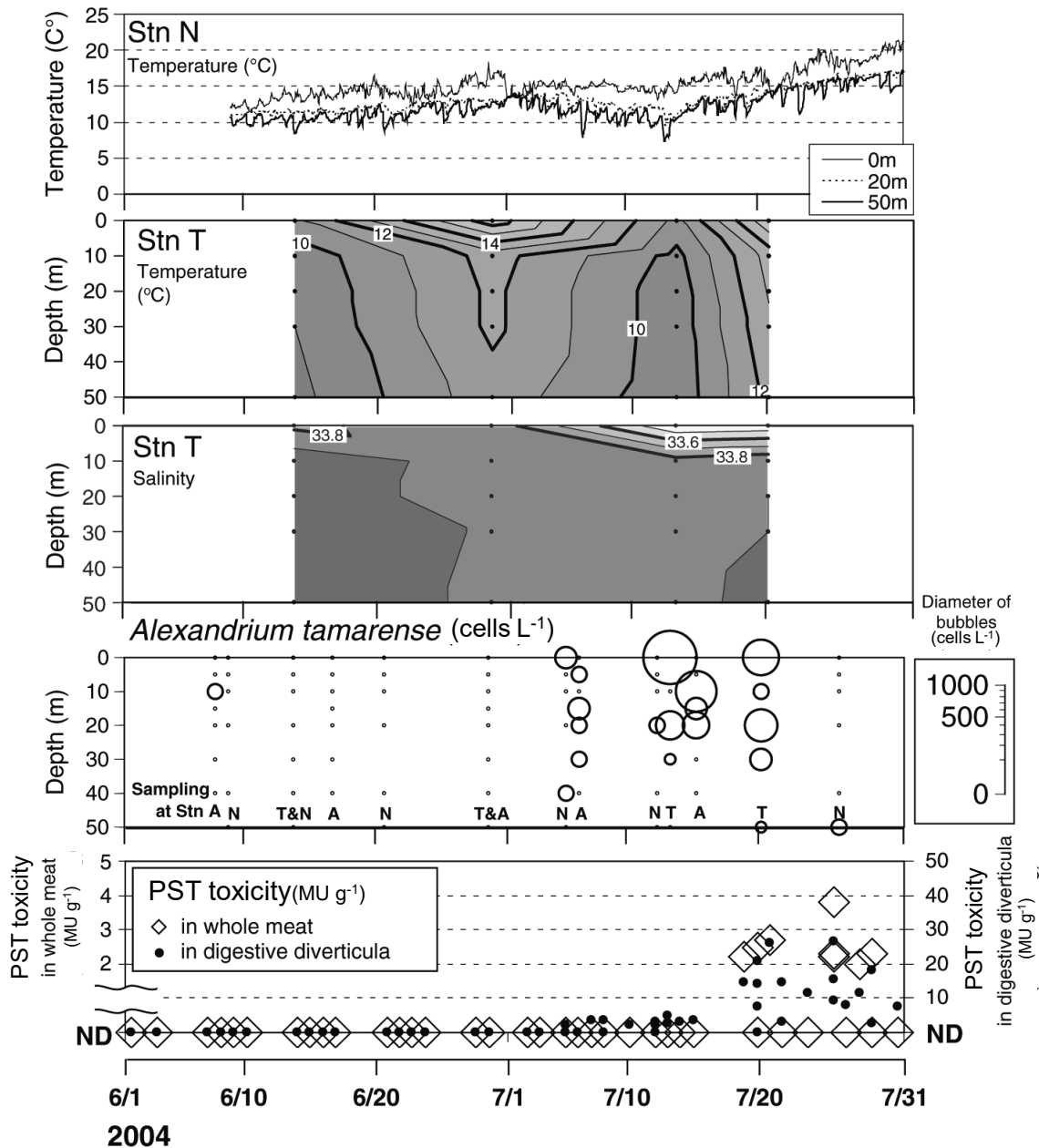


Fig. 41 Temporal changes in water – temperature at Stn N (line), vertical distribution of water temperature and salinity (contours) at Stn T, cell densities of *Alexandrium tamarensis* (bubbles) at each station and PST toxicity of scallop along the coast off Abashiri (two axes scatterplot) during June – July 2004 (modified from Shimada et al. 2012). Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity < 2 MU g⁻¹)”

2004年のケースと同様に、宗谷暖流の一時的弱勢時に *A. tamarensis* を含んだ沖合の表層低塩分水が沿岸に流入するとの仮説 (Fig. 38) を支持する結果と考えられた。

同様に、2008年の結果をFig. 43に示す。*A. tamarensis* は調査期間を通じてほとんど出現せず、7月中旬の水溫低下の後も出現しなかった。毒性値も上昇しなかった。本年は沖合の *A. tamarensis* の出現が極めて少なかったため (Fig. 40)、宗谷暖流が弱勢となって沖合の表層低塩分水が沿岸に流入しても、*A. tamarensis* は沿岸に出現し

なかったものと考えられる。

5-3-3 沿岸定点における宗谷暖流の流況

2004年の流況調査で得られた深度別の流向流速の時系列変化および海岸線 (140°) 方向の平均流速とSLDの時系列変化における関係をFig. 44に示す。海岸線方向の平均流速すなわち宗谷暖流の流速とSLDの間には高い相関が認められた。6-7月の麻痺性毒性値上昇前の1番目と2番目の水位差低下 (黒矢印↓) を「顕著な宗谷暖流

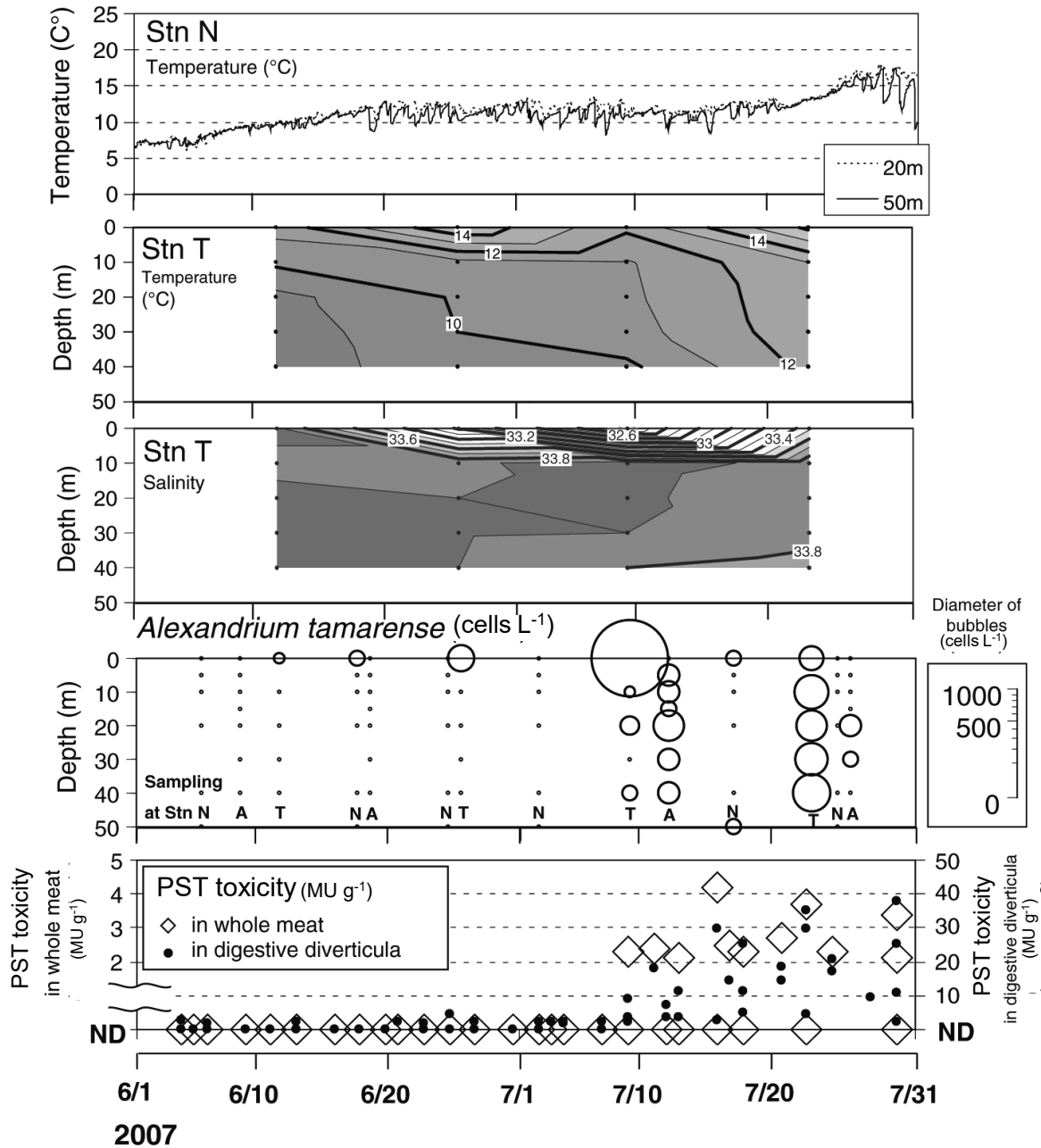


Fig. 42 Temporal changes in water – temperature at Stn N (line), vertical distribution of water temperature and salinity (contours) at Stn T, cell densities of *Alexandrium tamarensis* (bubbles) at each station and PST toxicity of scallop along the coast off Abashiri (two axes scatterplot) during June – July 2007 (modified from Shimada et al. 2012). Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity < 2 MU g⁻¹)”

弱勢」と定義したうえで、沿岸定点における*A. tamarensis* 分布動態調査の結果 (Fig. 41) と併せてみると、7月中旬の*A. tamarensis*出現と良く一致することが明らかとなった。これらの流況データは、分布動態調査の結果と併せて、Fig. 38に示した仮説を強く支持する結果である。

同様に、2007年の流況調査で得られた結果をFig. 45に示す。2004年の結果と同様に、宗谷暖流の流速とSLDの間には高い相関が認められた。沿岸定点における*A. tamarensis*分布動態調査の結果 (Fig. 42) と併せてみ

ると、7月上旬の「顕著な宗谷暖流弱勢」は*A. tamarensis*出現と良く一致していたことが明らかとなった。これらの流況データは、2004年の結果と併せて、Fig. 38に示した仮説を強く支持する結果であろう。

同様に、2008年の流況調査で得られた結果をFig. 46に示す。2004および2007年の結果と同様に、宗谷暖流の流速とSLDの間には高い相関が認められた。2008年は6月中旬および下旬に宗谷暖流が弱勢となったものの、沖合に*A. tamarensis*が極めて少なかったため (Fig. 40)、沖

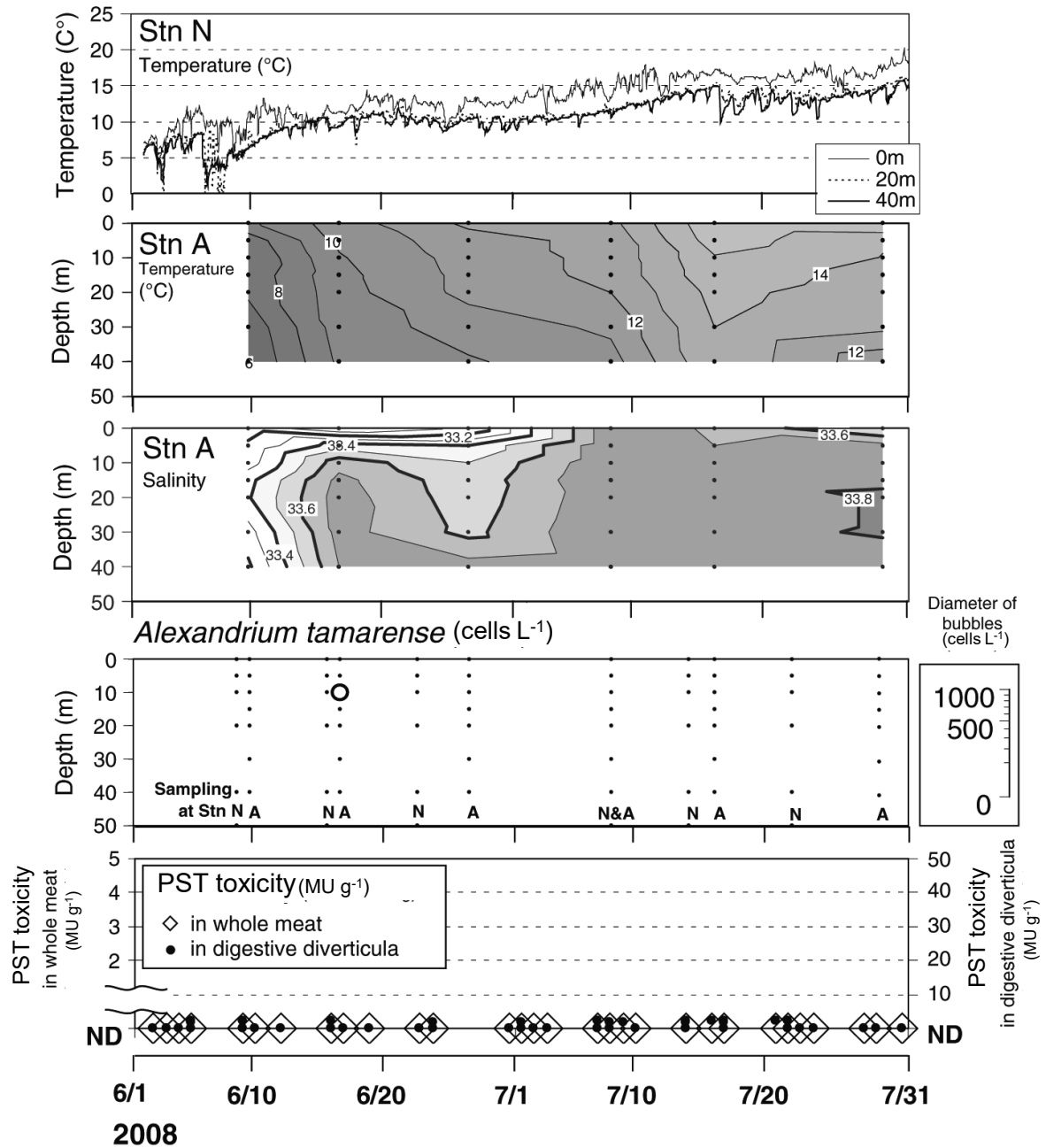


Fig. 43 Temporal changes in water – temperature at Stn N (line), vertical distribution of water temperature and salinity (contours) at Stn A, cell densities of *Alexandrium tamarense* (bubbles) at each station and PST toxicity of scallop along the coast off Abashiri (two axes scatterplot) during June – July 2008 (modified from Shimada et al. 2012). Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity < 2 MU g⁻¹)”

合の表層低塩分水が沿岸に流入しても、*A. tamarense*は沿岸に出現しなかったものと考えられる。

5-3-4 レトロスペクティブ解析による貝毒発生機構仮説の検証

本研究開始以前に生鮮出荷自主規制値を超える麻痺性毒性値が検出された年（1996, 2001, 2002年）についてのSLDおよび麻痺性毒性値の時系列変化をFig. 47に示す。「顕著な宗谷暖流弱勢」は1996年については7月上旬、

2001年については6月下旬から7月上旬、2002年については6月中旬から下旬に認められ、毒性値の上昇は「顕著な宗谷暖流弱勢」の約1–3週間後に起こったことが確かめられた。以上のレトロスペクティブ解析結果は、「宗谷暖流の一時的弱勢時に*A. tamarense*を含んだ沖合の表層低塩分水が沿岸に流入する」との仮説を強く支持するものである。

さらに、5-5-1に図示した以外の年も含め、本海域の麻痺性貝毒発生に関連する3つのイベントすなわち「顕

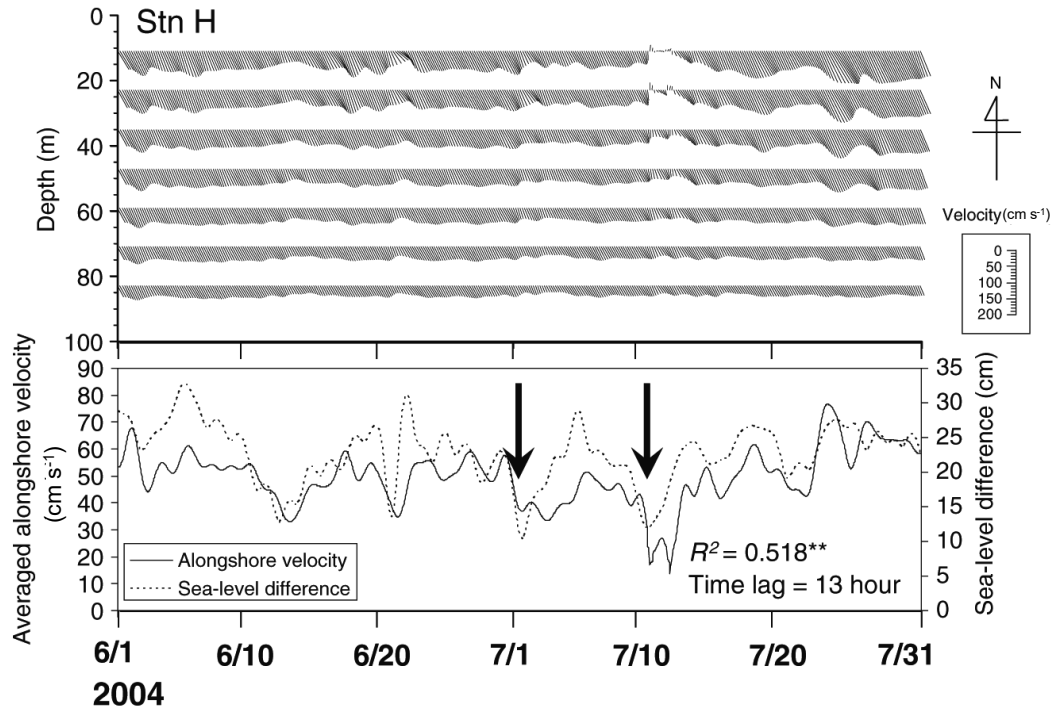


Fig. 44 Temporal changes in current profile in seven layers (vector plot) at Stn H (depth of layer: 11, 23, 35, 47, 59, 71 and 83 m, thickness of layer: 4 m), alongshore velocity (solid line, average of seven layers) and the sea – level difference (dashed line) with maximum R – square of time lag correlation during June – July 2004 (R – square with two asterisk means significant correlation, $p < 0.01$) (modified from Shimada et al. 2012). The arrows indicate obvious decreases of the sea – level difference. Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks of the sea-level difference after June before increase of PST toxicity.

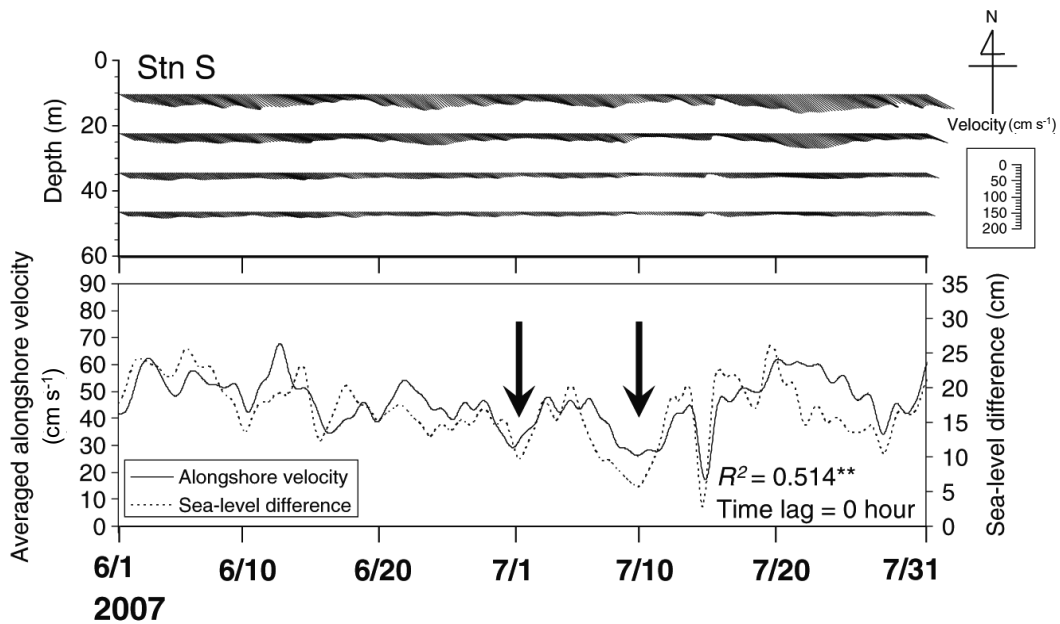


Fig. 45 Temporal changes in current profile in four layers (vector plot) at Stn S (depth of layer: 10, 22, 34 and 46 m, thickness of layer: 2 m), alongshore velocity (solid line, average of seven layers) and the sea – level difference (dashed line) with maximum R – square of time lag correlation during June – July 2007 (R – square with two asterisk means significant correlation, $p < 0.01$) (modified from Shimada et al. 2012). The arrows indicate obvious decreases of the sea – level difference. Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks of the sea – level difference after June before increase of PST toxicity.

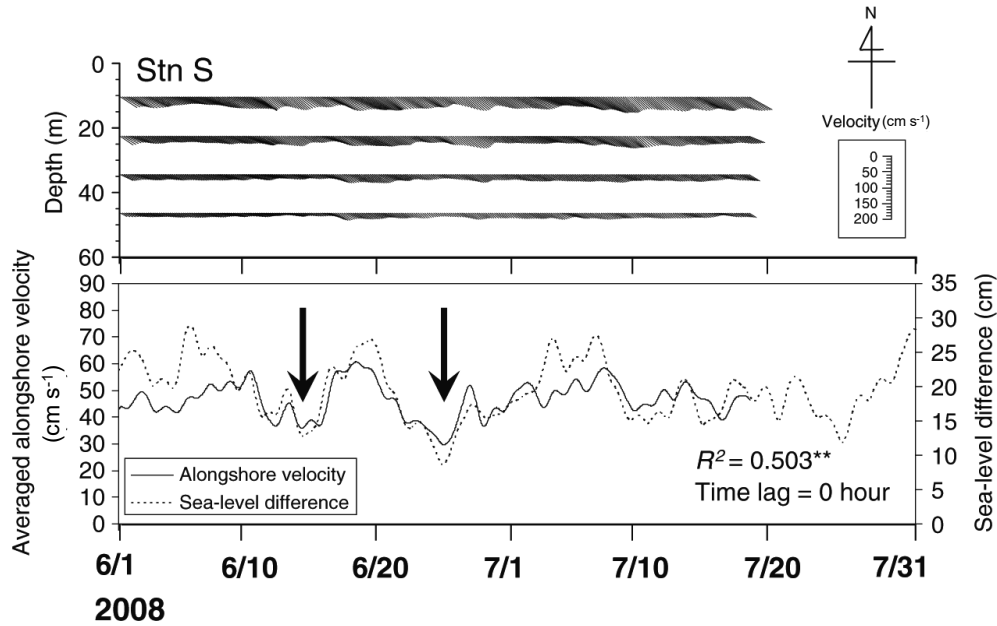


Fig. 46 Temporal changes in current profile in four layers (vector plot) at Stn S (depth of layer: 10, 22, 34 and 46 m, thickness of layer: 2 m), alongshore velocity (solid line, average of seven layers) and the sea – level difference (dashed line) with maximum R – square of time lag correlation during June – July 2008 (R – square with two asterisk means significant correlation, $p < 0.01$) (modified from Shimada et al. 2012). The arrows indicate obvious decreases of the sea – level difference. Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks of the sea – level difference after June before increase of PST toxicity.

Table 4 Dates of three events related to the occurrence of paralytic shellfish toxin (PST) in 1996 – 2003, 2005 and 2006 (modified from Shimada et al. 2012)

Year	Date of events related to PST occurrence (month / day)		
	Obvious decrease of the sea-level difference ^a	First detection of PST toxicity in whole meat of scallop	Peak of PST toxicity in whole meat of scallop
1996 ^b	7/8 and 10	7/15	8/6
1997 ^b	6/28 and 29	7/22	8/25
1998	6/3 and 21	7/24	7/24 and 27
1999	6/7 and 22	not detected	not observed
2000	no data	not detected	not observed
2001 ^b	6/21 and 7/2	7/12	7/19
2002 ^b	6/10 and 24	7/1	7/8
2003	6/10 and 7/15	3/26 ^c	7/28
2005	6/30 and 7/27	not detected	not observed
2006	6/3 and 7/3	not detected	not observed

^a Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks after June before increase of PST toxicity

^b PSP occurrence year (maximum PST toxicity ≥ 4 MU g⁻¹)

^c Detected toxicity in scallop probably due to residual toxin accumulated in 2002 summer

Table 5 Operating results of the prediction method of PST occurrence after 2009 (modified from Shimada et al. 2016). Values in the parentheses indicate cell density (cells L⁻¹) of *Alexandrium tamarense*.

Year	Bloom occurrence of <i>A. tamarense</i> ($\geq 10^2$ cells L ⁻¹) (max. cell density of <i>A. tamarense</i>)		Date of events related to PST occurrence and the prediction flowchart (month / day)			
	late May - early June	late July	Obvious decrease of the sea-level difference*	First detection of PST toxicity ≥ 20 MU g ⁻¹ digestive diverticula or ≥ 3 MU g ⁻¹ in whole meat of scallop	Warning of PST occurrence	Shipping restriction of scallop due to PST
2009	no	yes (460)	6/29 and 7/14	7/22	7/24	no
2010	no	yes (240)	6/20 and 7/5	no	no**	no
2011	no	yes (550)	6/23 and 7/19	no	no**	no
2012	yes (230)	yes (1760)	6/11 and 28	7/23	6/15	7/24
2013	yes (340)	no	6/3 and 16	no	no***	no
2014	yes (160)	yes (7160)	6/21 and 7/27	7/29	6/20	no

* Obvious decrease of the sea-level difference is defined as the minimum and second minimum peaks after June before increase of PST toxicity

** Low PST risks have been expected because *A. tamarense* blooms occurred only in far offshore area in late July

*** No *A. tamarense* bloom has been observed in late July

著な宗谷暖流弱勢」,「軟体部麻痺性毒性値の初検出」,「軟体部麻痺性毒性値のピーク」の発生日をまとめて Table 4に示す。毒性値が上昇した年においては全てこれら3つのイベントは数週間おきに順に発生していた事実が確かめられ,「宗谷暖流の一時的弱勢時に *A. tamarense*を含んだ沖合の表層低塩分水が沿岸に流入」した結果として麻痺性貝毒が発生することが検証された。広域調査が行われていない2001年以前の沖合における *A. tamarense*の出現状況は不明だが,少なくとも毒性値の上昇が認められた1996–1998年および2001年については, *A. tamarense*ブルームが出現していた可能性が高い。

5-3-5 麻痺性貝毒発生予測手法の運用

5-3-5-a 麻痺性貝毒発生予測手法のフローならびに運用実績

以上の現場調査およびレトロスペクティブ解析によって検証された,「SLD減少によって指標される宗谷暖流の弱勢時に, *A. tamarense*栄養細胞を含んだ表層低塩分水が沿岸に流入して,ホタテガイが毒化する」という仮説に基づき,年2回の *A. tamarense*広域分布調査とインターネット(気象庁HP)を利用したSLD(=宗谷暖流勢力)の監視を組み合わせた麻痺性貝毒の発生予測手法を構築した(Fig. 48)。本予測手法は2009年以降運用され,広域分布調査およびSLD等の情報は適宜「オホーツク海貝毒プランクトン速報」および「宗谷暖流情報」として

公開されている。

2009–2014年の麻痺性貝毒の発生予測手法の運用実績を Table 5に示す。予測は概ね的中するものの, *A. tamarense*空間分布調査の時空間的粗さのために予測精度に問題が残っている。今後は *A. tamarense*空間分布調査の精度向上(調査頻度,定点数および採集深度の追加)を検討するとともに,以降に示すような本海域の環境特性を考慮した精度向上を試みる必要がある。

5-3-5-b 水塊構造の分析による *A. tamarense*ブルームの発生予測

まず本海域沖合における *A. tamarense*ブルームの形成条件について考えてみる。嶋田ほか(2009)は夏季オホーツク海表層における *A. tamarense*存在量と春季の水塊構造の年変動における関係を解析し,夏季の *A. tamarense*存在量は,春季に宗谷暖流が卓越傾向の「温暖年」(2002, 2004, 2007, 2009年)に多く,春季に宗谷暖流が弱勢で中冷水が卓越傾向にある「寒冷年」(2003, 2005, 2006, 2008年)には少ない(ただし *A. tamarense*ブルームが知床半島沖に偏在した2006年は例外的である)ことを見出した(Fig. 49)。このことは,本海域の底泥中に含まれるシストは宗谷暖流の卓越による温度刺激によって発芽,増殖している可能性を示唆する。春季の本海域陸棚上においては,高比重の宗谷暖流水は海底付近を潜流として流れ(田中ほか2003),底泥の昇温に有効であると推察さ

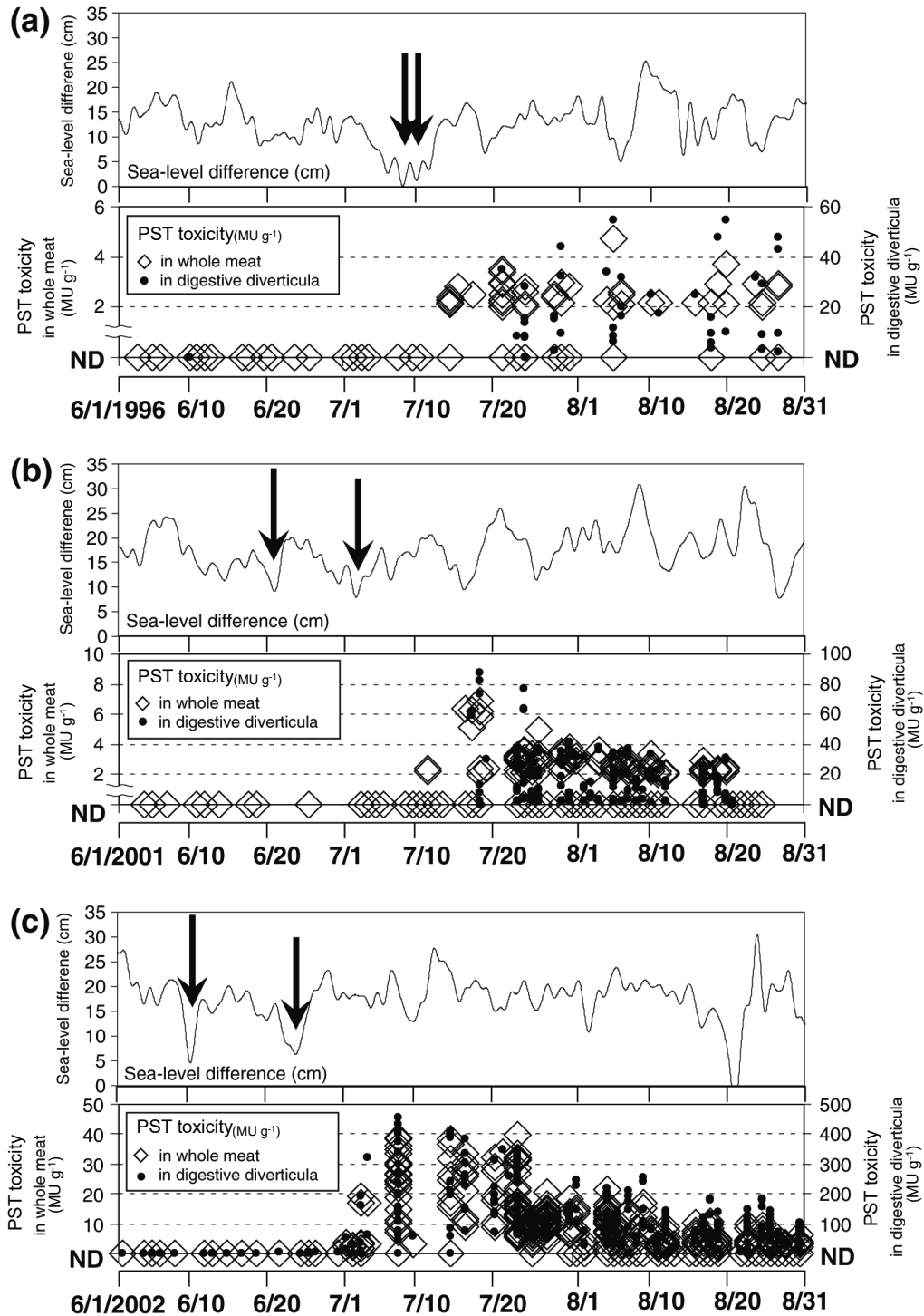


Fig. 47 Temporal changes in the sea – level difference and PST toxicity during June – August of 1996 (a), 2001 (b) and 2002 (c) (modified from Shimada et al. 2012). The arrows indicate obvious decreases of the sea – level difference. Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks of the sea – level difference after June before increase of PST toxicity. Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity < 2 MU g⁻¹)”.

れる。春季の本海域30 m以深の海底は水温2°C以下の中冷水で覆われているため、本種シストの発芽適水温である5–21°C (Anderson 1998) に達するためには、宗谷暖流の卓越に伴う昇温が重要であると推察される。一方 Shimada et al. (2010) は、夏季の*A. tamarens*存在量は本

海域沖合で表層低塩分水が卓越傾向にある年に多いことを明らかにした (Fig. 49)。これらのことは、本海域の*A. tamarens*は春季の宗谷暖流の卓越を第1の必要条件とし、夏季の表層低塩分水の卓越を第2の必要条件としてブルームを形成することを示唆する。すなわち、春季に

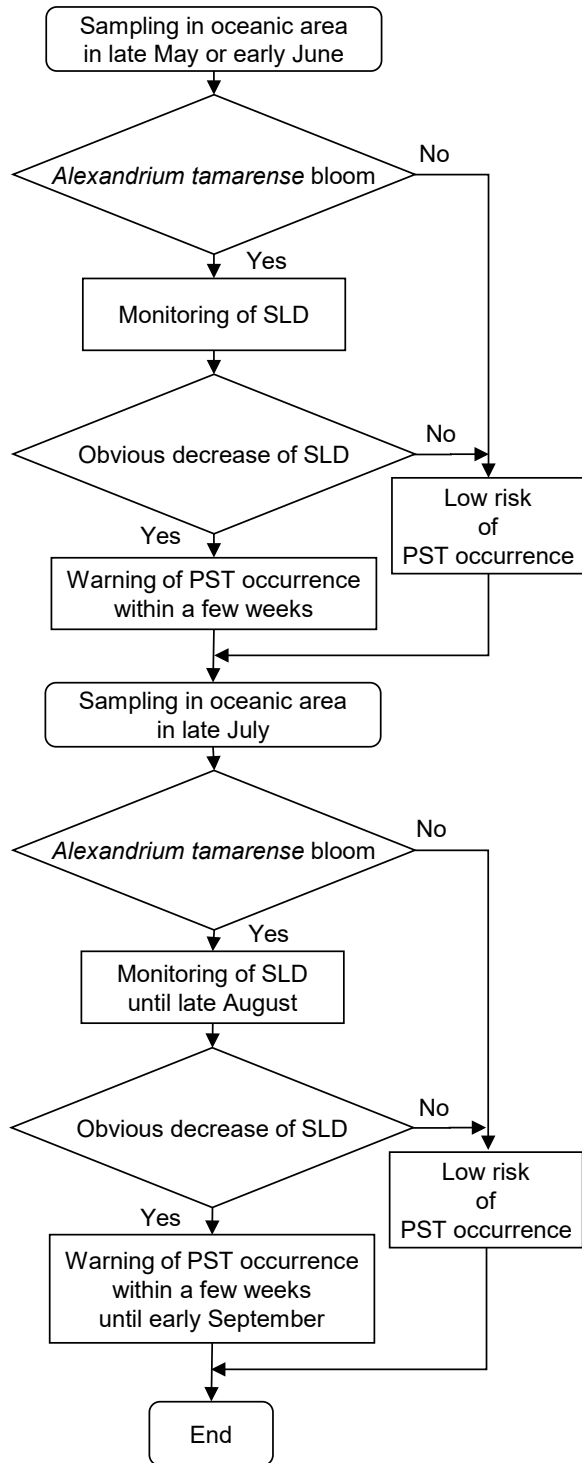


Fig. 48 Flowchart of prediction of PST occurrence in the Okhotsk Sea coast off Hokkaido concluded by the present study (modified from Shimada et al. 2012).
SLD: sea level difference between Wakkanai and Abashiri

シストから発芽して緩やかに増殖した*A. tamarensis*は夏季に表層低塩分水域でブルームを形成すると推察される。従って予測精度向上のためには、春季および夏季の本海域沖合の水塊構造を分析して宗谷暖流および表層低塩分

水の卓越状況を把握することが有効と考えられる。関連して、ブルーム形成に寄与するであろうシストは、北海道からアニワ湾にかけての陸棚域に概ね $10^2 - 10^3$ cysts g^{-1} wet sediment存在することが分かっている (Shimada and Miyazono 2005, Orlova et al. 2007, Motylkova and Mogilnikova 私信)。温暖年の春季は宗谷暖流の影響が及ばないロシア海域においても大気/日照による昇温が見込まれるため、湾中央水深が50 m前後と浅いアニワ湾においてはシストの発芽が活発に起こると推察される。実際、温暖年の2004年にはアニワ湾沿岸で5-7月に*A. tamarensis*ブルームが発生し、最高細胞密度は 3×10^3 cells L^{-1} に達したことが報告されている (Mogilnikova et al. 2007)。一方、夏季アニワ湾の表層には平均的な表層低塩分水よりも低塩分の水塊が形成され、この水塊は宗谷暖流とのフロント域に沿って輸送されることも知られている (Oguma et al. 2011)。2004年のようなフロント域付近の*A. tamarensis*ブルームはアニワ湾を起源として発生した可能性もあるため、衛星画像等を利用して、アニワ湾方面からフロント域への水塊輸送を監視することも、予測精度向上のために有効と考えられる。一方、温暖年の昇温期には生物イベントが早めに起こるため、年2回の広域分布調査では*A. tamarensis*ブルームのピークを捉えることができない場合がある。例えば2002年の高毒化事例では、毒化実態に見合った*A. tamarensis*ブルームが記録されていない。この年の*A. tamarensis*ブルームは恐らく例年より早めにピークを迎え、6月下旬の宗谷暖流弱勢とともに沿岸に流入して7月上旬にホタテガイの高毒化をもたらした後、7月下旬にはおおむね終息していたものと推測される。予測精度向上のためには、このような温暖/寒冷年による生物イベントの遅速を考慮しながら、広域分布調査等を柔軟に実施することも有効と考えられる。また、2004年および2006年のように濃密なブルームが出現しても、出荷自主規制値を超える毒化に到らない場合もある。2004年は宗谷暖流弱勢に伴う毒性値上昇が認められたものの、わずかに出荷自主規制値に及ばなかったケースである (Fig. 41)。これに対し2006年は、ブルームがホタテガイ漁場のない東側に偏って出現したため (Fig. 26)、毒性値の上昇が認められなかったケースである (Table 4)。このように、毒化の条件としての*A. tamarensis*ブルームの出現とホタテガイの毒化のパターンは多様であるため、予測精度向上のためには、春～夏季の水塊構造ならびに夏季の*A. tamarensis*ブルームの出現状況を総合的に考慮する必要がある。

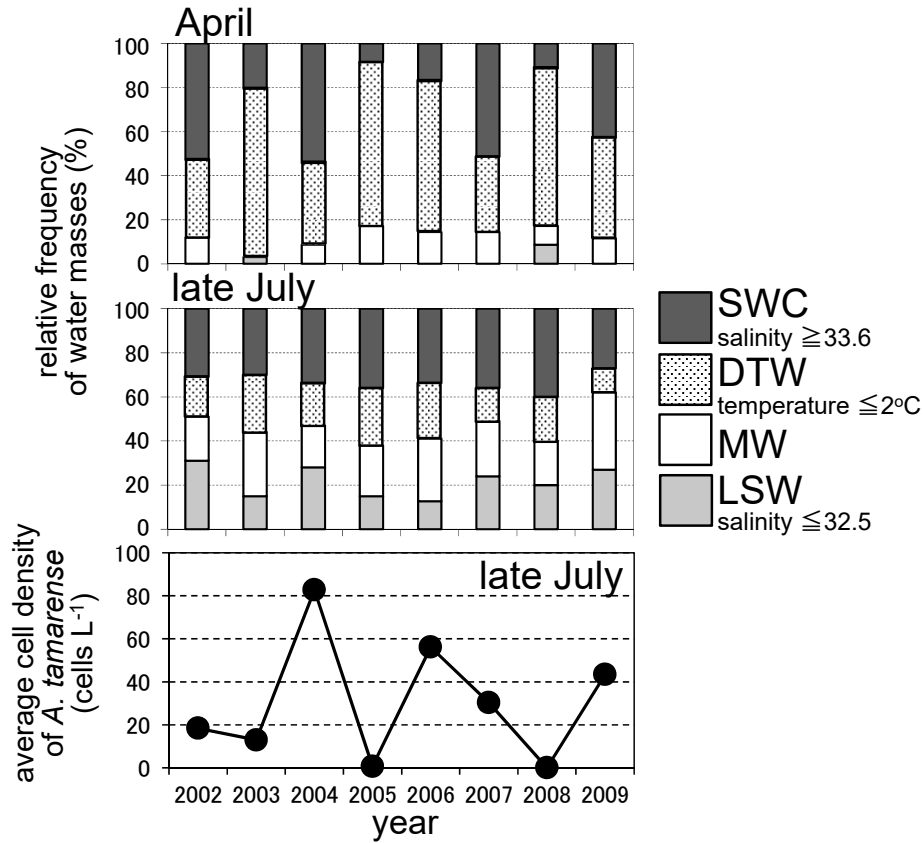


Fig. 49 Annual changes in relative frequency of water masses in April (above) and late July (middle) and average cell density of *A. tamarensis* in the 0–20 m depth layer at sampling stations in the Okhotsk Sea off Hokkaido in late July (below) during 2002–2009 (modified from Shimada et al. 2009, 2010). Relative frequencies of water masses (%) were calculated using the temperature and salinity at five standard layers (0, 10, 20, 30 and 50 m depth) of each station (see Fig. 39). Abbreviations of water masses are following, SWC: Soya Warm Current water (salinity ≥ 33.6), DTW: Dichothermal water (water temperature $\leq 2^\circ\text{C}$), MW: Mixed water (water temperature $> 2^\circ\text{C}$, salinity > 32.5 and < 33.6), LSW: Surface low – salinity water (salinity ≤ 32.5).

*: PST toxicity over quarantine level

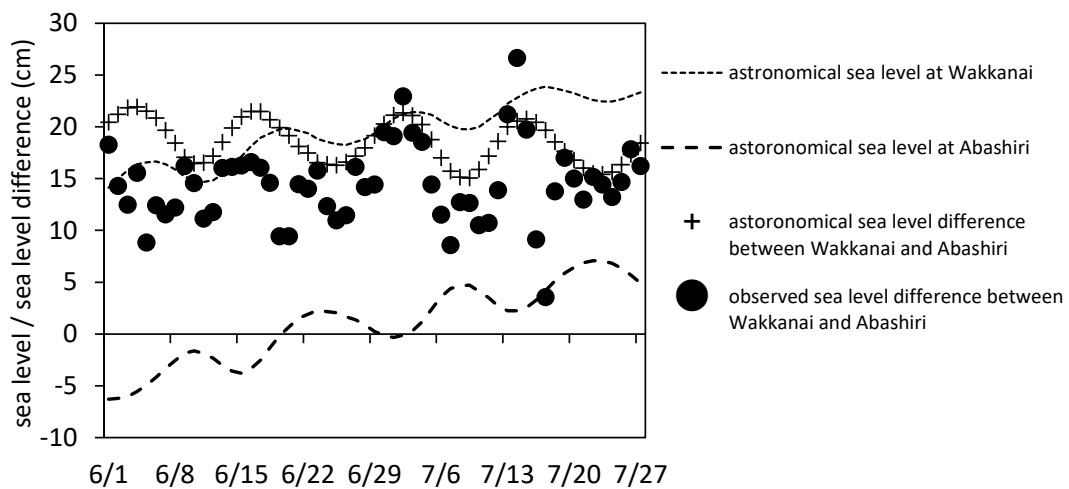


Fig. 50 Astronomical sea level at Wakkanai and Abashiri and astronomical / observed sea level difference between Wakkanai and Abashiri during June–July 2015 (modified from Shimada et al. 2016, data source: <http://www.data.jma.go.jp/gmd/kaiyou/db/tide/sokuho/index.php>, last visited 1 December 2016).

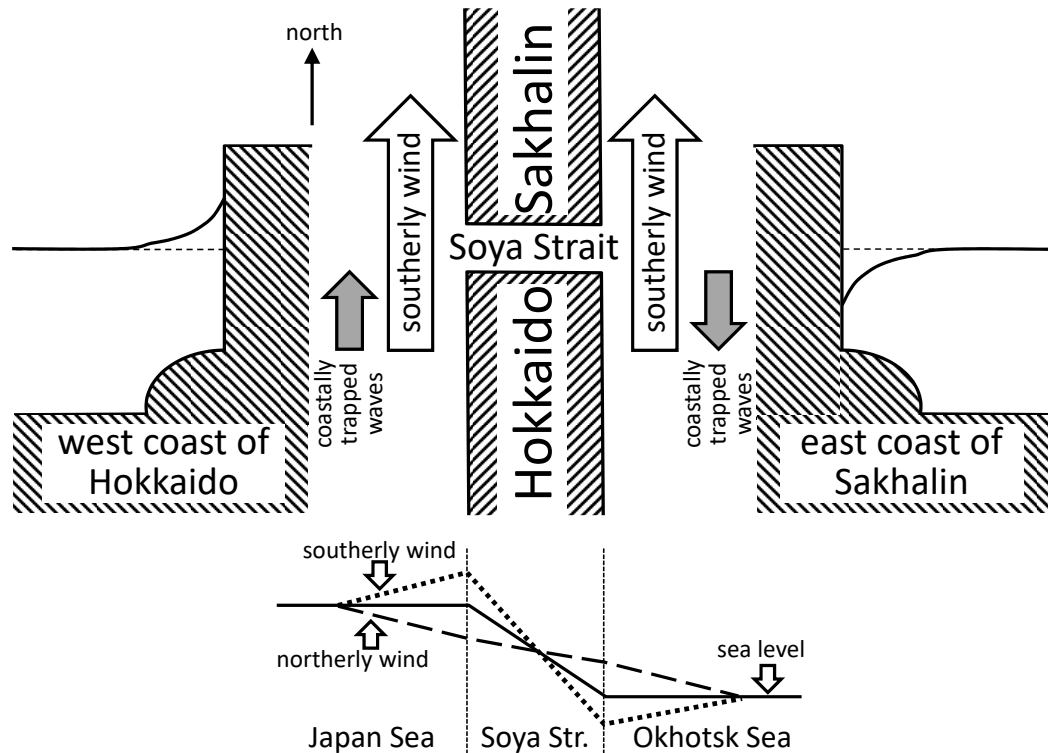


Fig. 51 Diagram showing the generation mechanism of the subinertial variations in the Soya Warm Current by wind – generated coastally trapped waves (modified from Ebuchi et al. (2009)).

5-3-5-c 天文潮位および気圧配置等の天文・気象情報を用いた宗谷暖流弱勢の予測

次いで、本海域沿岸における宗谷暖流弱勢すなわちSLD減少の予測について考えてみる。予測精度向上に利用可能な、最も一般的な物理現象は天文潮位である。インターネット等で公開されている稚内と網走の天文潮位を利用すれば、SLDの予測値を計算することができる (Fig. 50)。また、宗谷海峡周辺における海面の流況データ (<http://www.woc.lowtem.hokudai.ac.jp/hf-radar/print.html#latest>, 2016年12月1日) も、宗谷暖流の流況把握に有用である。さらに、次に示すとおり、風による宗谷暖流の流況変動 (Ebuchi et al. 2009) を考慮することが有効と考えられる。

Ebuchi et al. (2009) は、HFレーダーおよびADCPを用いた宗谷暖流の直接測流結果と過去30年間あまりの風、流況および海面水位の応答関係を解析し、南よりの風が1-2日間続くと北海道日本海沿岸の水位は上昇するのに対し、サハリン東岸オホーツク海の水位は低下するために、SLDは増加し、宗谷暖流が強勢となること明らかにした (Fig. 51)。同様の原理によって、北寄りの風が続くと北海道日本海沿岸の水位は低下し、サハリン東岸オホーツク海の水位は上昇するために、SLDは減少し、宗谷暖流が弱勢となることも示している。従って、SLD減少すなわち宗谷暖流の弱勢は、気圧配置等の気象情報か

ら北よりの風が吹くことが予測できれば予測可能であると考えられる。

PSPによる出荷自主規制措置または出荷自粛が講じられた2002, 2004, 2007各年の宗谷暖流弱勢直前3日間の気圧配置をFig. 52に示す。いずれのケースも、オホーツク海高気圧の停滞または北海道東岸における低気圧発達という、宗谷海峡付近で北よりの風が続きやすい気圧配置であることが分かる。稚内における風向風速の観測記録をみると (<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>, 2016年12月1日), Fig. 52に示した9日のうち6日が北よりの風であり、このうち4日については日平均風速 6 m s^{-1} を超える強風が記録されている。以上から、広域分布調査によってオホーツク海沖合に*A. tamarense*ブルーム ($> 10^2 \text{ cells L}^{-1}$) が確認されている年には、気圧配置等を参考情報として北よりの風の持続を予測しながら、麻痺性貝毒の発生予測手法を運用することが精度向上に有効と考えられる。

第6章 総合考察

第1節 北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する研究の生物海洋学的意義

本研究によって、植物プランクトンである*A. tamarense*をトレーサーとして、北海道オホーツク海沿岸／沖合の

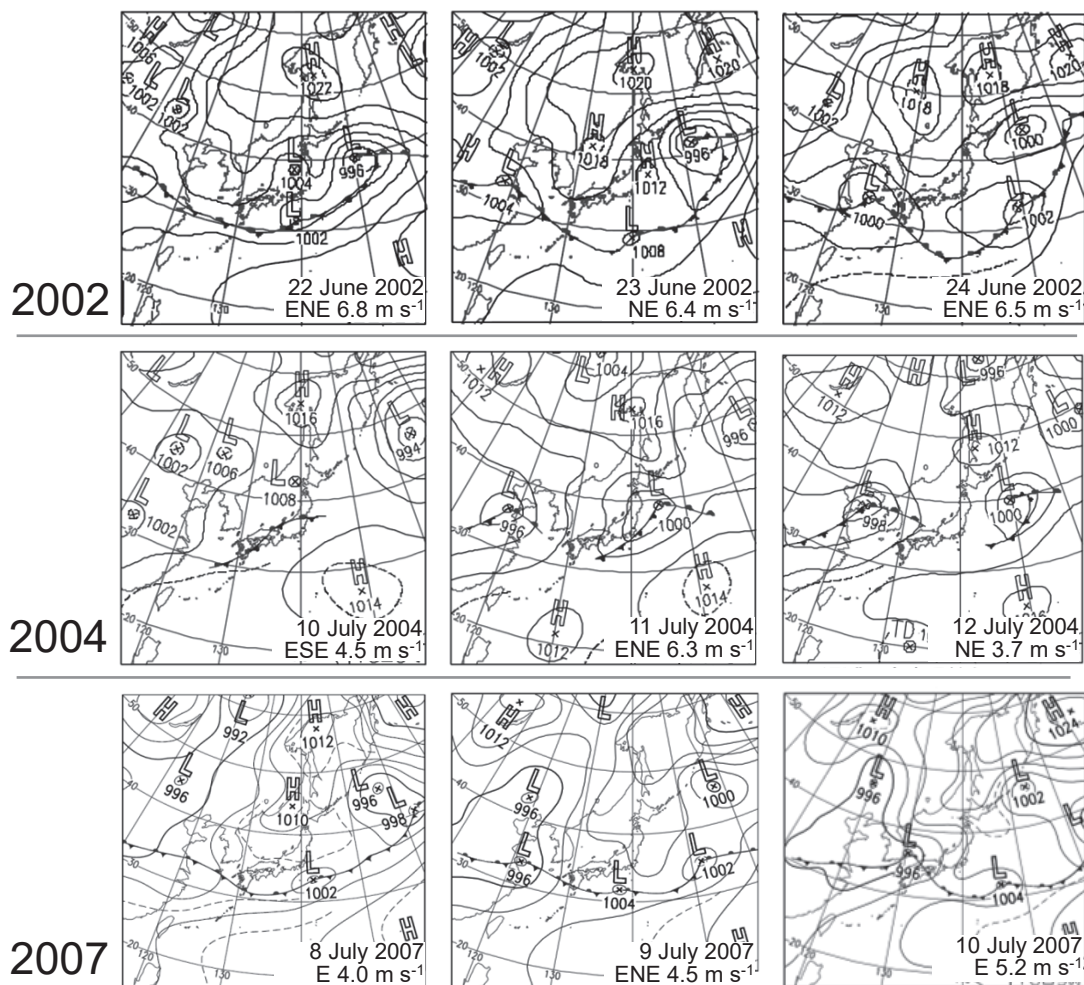


Fig. 52 Charts showing the pressure patterns during three days just before the weakening of the SWC in 2002, 2004 and 2007 (modified from <http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/hibiten/>, last visited 1 December 2016). Wind directions of daily maximum wind speeds and average wind speeds at Wakkanai (data source: <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/ctrn/index.php>) are shown at bottom of the charts.

高コントラストな物理／化学／生物環境が総合的に解明された。本海域の動物プランクトンについても、沖合（低塩分水／中冷水／中層水）の大型カイアシ類優占種は *Metridia okhotensis* および *Neocalanus flemingeri* であるのに対し、宗谷暖流域では *Neocalanus plumchrus* および *Metridia pacifica* であり、明瞭に異なることが明らかとなっている（Asami et al. 2007, 嶋田ほか2012, 嶋田2016）。本研究で明らかとなった本海域の高コントラストな環境は、生物海洋学的に極めて興味深く、ホタテガイやサケなどの漁獲対象種の生態研究においても、餌料環境に関連した重要な情報である。例えば宗谷暖流／表層低塩分水フロント域が夏季においても植物プランクトンの豊富な湧昇域であることが明らかとなったことは、本海域の地まきホタテガイ漁場が極めて豊富な餌料環境にあることを示すものである。

一方、北海道からサハリンにかけての陸棚域に

A. tamarense シストが大量に存在することが明らかとなり、北海道沖オホーツク海は噴火湾と並んで *A. tamarense* 出現リスクの高い海域であることが判明した。春季に温暖かつ夏季に表層低塩分水が卓越傾向にある年に *A. tamarense* 現存量は増加する傾向が認められたことから、本海域の *A. tamarense* シストは宗谷暖流または大気／日照による加温によって発芽／増殖する可能性が示唆された。アニワ湾でも *A. tamarense* ブルーム発生が報告されていることから（Mogilnikova et al. 2007）、本海域沖合の *A. tamarense* ブルームは、アニワ湾をはじめとしたロシア海域を含む海域を発生源として北海道沿岸に來遊する可能性があることを示唆するものである。今後はブルーム発生／來遊のメカニズム解明のために、国際共同研究の推進が望まれる。

他方、*A. tamarense* の単離培養およびホタテガイへの給餌飼育実験によって、*A. tamarense* の毒性とホタテガイ

イの毒化に関する実証データが得られ、現場における毒化の実態が推定可能となった。これまで経験的に知られてきた、生鮮出荷自主規制値を超える毒化を警戒すべき *A. tamarense* 出現数 (10^2 cells L⁻¹) を実験的に検証したことは、毒化リスクを考慮しながら *A. tamarense* の監視を行ううえで極めて意義深いことと言えるだろう。

本研究によって構築された麻痺性貝毒の発生予測手法は、*A. tamarense* シストの発芽からブルーム形成までのプロセスを考慮せずに予測可能であるため、調査船による *A. tamarense* 広域分布調査とインターネットを用いた SLD モニタリングのみの「単純・低コスト」で予測可能であることが特長である。これに対して、他海域（米国メイン湾および噴火湾）における一般的な麻痺性貝毒の発生予測は、シスト発芽からブルーム形成までの時空間プロセスを考慮（シスト／栄養細胞の分布動態調査結果に基づき数値モデル等で計算）する必要がある（McGillicuddy et al. 2003, 2005, Anderson et al. 2005, Keafer et al. 2005, Stock et al. 2005, He et al. 2008, Jin and Hoagland 2008, Li et al. 2009, 宮園 2015）。

第2節 北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する研究の社会科学的意義

本研究の成果は、単純・低コストな生物海洋学的調査によって本海域の地まきホタテガイ漁業の経済損失抑制に貢献するものであり、社会科学的にも意義深いものである。麻痺性貝毒の発生予測手法の運用によって得られたデータは「オホーツク海貝毒プランクトン速報」および「宗谷暖流情報」として公的機関および漁業協同組合連合会等に速報され（<http://www.hro.or.jp/list/fisheries/research/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s-220000000ddi.html>, 2016年12月1日）、地まきホタテガイの計画的漁獲および流通に活用されている（嶋田ほか 2016）。麻痺性貝毒の発生予測手法の運用によって、沖合 *A. tamarense* ブルームおよび宗谷暖流弱勢の確認から生鮮出荷自主規制値を超える PST 検出までの2–3週間のうちに集中漁獲すれば、経済損失を最小限に抑制することができると考えられる。例えば Jin and Hoagland (2008) は、北米メイン湾におけるオオノガイ、ムラサキイガイおよびホンビノスガイ漁業を例に、麻痺性貝毒の発生予測は毒化直前の集中漁獲に効果的であることを示唆している。本研究のケースでは、網走地方（雄武–斜里）沿岸における地まきホタテガイ年間漁獲量15万トンの実質4ヶ月程度（操業日数約120日）での漁獲（一日あたり漁獲努力：1250トン／日）を仮定すると、麻痺性貝毒発生直前の2週（14日）間の漁獲量は、努力量1x（通常どおり）／1.5x／2xの漁獲努力によってそれぞれ1.75万／2.63万

／3.5万トンと見積もることができる。従って、麻痺性貝毒発生直前の2週間に漁獲努力を1.5xに増大すれば、PSP発生予測手法による経済損失抑制効果として、少なくとも年間漁獲量15万トンのうち5%にあたる0.75万トン（単価130円／キロとして9.75億円）を担保できると試算される。

第3節 残された課題と今後の展望

最後に、残された課題と今後の展望について考えてみる。まず *A. tamarense* シストおよび栄養細胞の分布に関しては、ロシア海域（例えばアニワ湾）のデータが不足している。シストについてはアニワ湾に600–700 cysts g⁻¹ wet sediment（2003年調査結果、Motylkova未発表）分布していることが分かっているが、シスト密度の経年変動および水平分布に関する記録はない。栄養細胞については、道水試およびSakhNIRO（サハリン漁業海洋学研究所）が共同で2007年7月下旬に浜頓別–アニワ岬を横断調査した結果、*A. tamarense* 栄養細胞はアニワ岬側のロシア海域で高密度に出現したことが分かっているが（Mogilnikova 未発表）、その後はロシア海域における *A. tamarense* 栄養細胞の分布に関する情報はない。今後はMogilnikova et al. (2007) のような *Alexandrium* 等有毒種分布に関する文献情報のほか、有毒種出現に関するインターネットによる最新情報の公開が望まれる。我が国のオホーツク海域においても、*A. tamarense* シストの分布については、前回調査（Shimada and Miyazono 2005, 1999–2000年調査実施）から15年余りが経過している。オホーツク海沖合（2009年5月27日Stn.O14）のシスト密度はほぼ同様（393±81cysts g⁻¹ wet sediment）であることが分かっているが（山口峰生、私信）、*A. tamarense* 増殖の潜在能評価のためには定期的（例えば5年毎）かつ広域的に調査を行う必要がある。

次いで *A. tamarense* の毒性に関しては、本種の毒成分組成は遺伝形質であることが知られているものの（Sako et al. 1990）、日本産 *A. tamarense* 株別の毒性と遺伝の関係については知見が乏しい。毒成分組成および細胞毒量は、第4章に詳述したとおり、PSP発生予測のために極めて重要な情報である。Gu et al. (2013) は中国沿岸産 *Alexandrium* 数種の単離培養株について形態／分子分類および毒成分組成を明らかにしているが、日本産 *Alexandrium* についても、超高毒株（ 10^4 fmol cell⁻¹）が天然海域に実在するか等を含めて、総合的に明らかにする必要がある。特にオホーツク海のように寒冷な海域には増殖速度の遅い高毒株が存在する可能性があるため、株別の細胞毒量に関する情報の蓄積が望まれる。

麻痺性貝毒の発生予測に関しては、2002年のオホーツ

ク海沿岸における地まきホタテガイの高毒化 (454 MU g^{-1} —中腸腺)が, どのような細胞毒量の*A. tamarense*ブルームがどのような規模で地まきホタテガイ漁場に流入してホタテガイが毒化したのか, という問題が残っている。近年, プランクトンの分布動態が数値モデルを用いた粒子追跡実験によって説明されるようになってきた (例えばOnitsuka et al. 2010)。北海道沖オホーツク海についてもごく最近, 海水の存在を仮定したサブメソスケールモデル「北海道周辺高解像度モデル」が開発され (黒田ほか2016), 2002年の観測データをこのモデルに同化, 再解析したうえで, *A. tamarense*の粒子追跡実験を行う必要がある (現状では2003年以降の観測データしか同化されていない)。モデルを用いた粒子追跡実験によって, 例えば宗谷暖流外側のフロント域に集積した濃密な*A. tamarense*ブルームがサブメソスケールの沈降渦とともにホタテガイの生息する海底に達するというような現象を再現できれば, 将来的な高毒化の予測につながる可能性がある。フロント域の沈降渦は宗谷暖流の順圧不安定 (Ohshima and Wakatsuchi 1990) および日周潮 (有田ほか 2015) によって生じることが示唆されていることから, フロント域の流況をより高精度で再現可能なモデルの構築が望まれる。一方, 本海域の*A. tamarense*ブルームは運動性接合子の形成を伴って濃密に出現するケースがあることから (Fig. 53), 有性生殖およびシスト形成に伴う生物学的な海底への沈降が高毒化に関与している可能性も想定される。しかしながらこのメカニズムを解明するためには, 半数体 (単相) の栄養細胞と倍数体で大型の運動性接合子を区別して計数しながら本種ブルームの鉛直分布の時系列変化を追跡する必要がある, 今後の課題である。

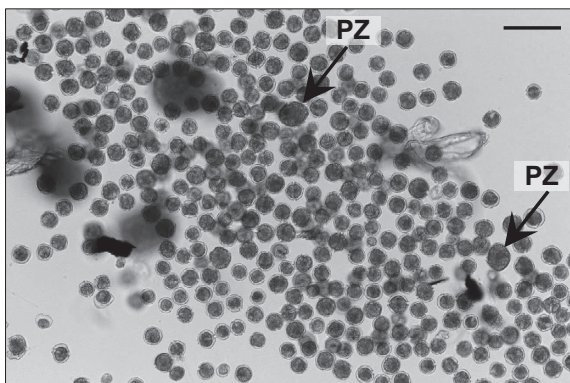


Fig. 53 Microphotograph showing the dense bloom of *A. tamarense* ($42,160 \text{ cells L}^{-1}$) collected from Okhotsk Sea ($44^{\circ}50.1' \text{ N}$, $144^{\circ}19.8' \text{ E}$) on 23 July 2015. Arrows indicate planozygotes (PZ). Scale bar: 100 μm age toxin composition and relative toxicity of each toxin component reported by Shimada et al. (2011) and Ohshima (1995): $\times 0.8 \times 10^{-6}$

最後に, 有害有毒プランクトンの監視の将来展望について考えてみる。まず分類に関しては, 分子分類に基づいた種名や分類体系の混乱が予想される。例えばJohn et al. (2014a, b) による「日本産*A. tamarense* および*A. catenella*は同種*A. fundyense* (北米クレード)であり, *A. catenella*の種名は破棄されるべき」という提案に対して, 論議を経て, *A. catenella*は*A. fundyense*のシノニムとして種名が残ることとなった経緯がある (Fraga et al. 2015, Reine 2017)。今後は「何を同定したのか」という形態/分子分類に関する情報を正確に記録するために, 分子分類技術の整備と普及が急務となるだろう。

我が国において*A. catenella*は, *A. tamarense*よりも温暖な環境に出現し (福代1985), 毒成分組成も異なることが知られていることから (加賀ほか2006), 我が国においては当面, *A. tamarense*とは区別して監視すべきである。1988年秋季噴火湾に出現した*A. catenella*ブルーム (Noguchi et al. 1990) は, 近年の温暖化傾向と相まって, 北海道沿岸で再び発生する可能性がある。温暖化傾向が著しい日本海はもとより, 2015年春季以降顕著な親潮の弱勢が持続している北海道沖太平洋においても (http://www.data.jma.go.jp/gmd/kaiyou/data/db/kaikyo/oyashio/oyashio_area.html, 2016年8月29日), *A. catenella*等の暖水性有毒*Alexandrium*属の出現に注意すべきであろう。暖水性有毒*Alexandrium*属の同定に際しては, 複数種を同時に検出可能な分子生物学的手法 (Nagai 2011) を利用することが有効である。

一方, 近年の温暖化傾向を背景として, 北日本においても有害赤潮発生のリスクが高まっている。例えば最近, 2014年夏季に北海道日本海沿岸において有害ラフィド藻 *Chatonella marina* および有害渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* の出現が北日本で初めて確認され (Shimada et al. 2016), 翌2015年の秋季には函館湾で渦鞭毛藻 *Karenia mikimotoi* による有害赤潮が北日本で初めて記録されている (嶋田ほか2016)。万一, ホタテガイやサケといった重要漁業対象種の漁場において有害赤潮が大規模に発生すれば甚大な被害が予想される。これまで北日本においては固定海水を用いた貝毒原因種等の有殻種の監視が主に行われてきたが, 多くが無殻種である有害赤潮原因種の監視を早急に開始すべきであろう。無殻種の観察には原則として生鮮海水試料を用いる必要があるが (夏池ほか2012), 船舶を用いた広域調査または遠隔地で採集された海水試料は鮮度保持が困難であるため, 脆弱な無殻種の保存に有効な, 新たな固定剤の開発が待たれる。北日本における有害赤潮原因種の監視に際しては, 暖水性有毒有害プランクトンの自然/人為的な分布北上を視野に入れつつ, 直接検鏡/分子分類技術 (real -

time PCR; Coyne et al. 2005), LAMP法; 牛久保 2004, Nagai 2013等)の整備および普及が急務と考えられる。

これまで我が国における有害有毒プランクトン研究は「北日本は貝毒、西日本は赤潮がメイン」という暗黙の分担を前提に産学官一体となって発展してきた。本論文にとりまとめる機会を得た一連の研究は、このような時流のなかで、主に船舶調査によって行われたものである。しかしながら温暖化を背景とする有害赤潮原因種の分布北上が現実となったいま、北日本の有害有毒プランクトン研究は転機を迎えている。近い将来、北日本各地の水産試験場等による地道なモニタリングによって、暖水性有害有毒種の出現確認が相次ぐことは想像に難くない。北日本において未記録の*Alexandrium tamiyavanichi*や*Gymnodinium catenatum*といった暖水性有毒種についても、将来的に出現が確認される可能性がある。我が国における海洋モニタリングに関する予算は近年減少の一途をたどっているが(全国水産試験場長会, 水産総合研究センター 2009, <http://www.jfa.maff.go.jp/j/koho/pr/pam-ph/pdf/monitaringu.pdf>, 2016年11月10日), 予算の削減が有害有毒種の出現確認を遅らせ、思わぬ中毒事例や経済損失の発生につながる可能性があることを我々は認識すべきである。プランクトン研究を通じて、船舶調査の重要性を積極的に発信し、海洋モニタリング推進の一助とすることが重要である。

要 約

北海道オホーツク海沿岸におけるホタテガイ漁業は、稚貝を天然海域に放流して3年後に回収する「地まき」という方法で行われ、年間30万トン弱を生産する世界有数の二枚貝漁業である。しかしながら本海域では数年に一度の頻度で夏季に有毒渦鞭毛藻*Alexandrium tamarense*を原因種とする麻痺性貝毒が発生して経済損失をもたらしてきた。特に高毒化した2002年は例年の漁獲最盛期に1ヶ月余りにわたって漁獲がストップして単価の暴落を招き、深刻な経済損失が生じた。本研究は、本海域沿岸のホタテガイ漁場における麻痺性貝毒原因種*A. tamarense*の出現メカニズムを解明し、麻痺性貝毒の発生予測手法を構築して、貝毒発生によるホタテガイ漁業の経済損失を低減することを目的として行われたものである。

北海道沿岸における麻痺性貝毒原因種*A. tamarense*栄養細胞の出現および麻痺性貝毒の発生状況を2005–2006年に調べた。その結果、本種はオホーツク海から太平洋沿岸すなわち寒流(東カラフト海流および親潮)の影響のある海域にのみ出現し、日本海から津軽海峡すなわち

暖流域(対馬暖流および津軽暖流域)には出現しないことが確認された。調査期間中に出荷自主規制値(4MU g⁻¹可食部)を超えて毒化した海域は噴火湾であり、*A. tamarense*栄養細胞が概ね10² cells L⁻¹を超えて出現すると、ホタテガイが規制値を超えて毒化することが確認された。

北海道周辺における有毒*Alexandrium*属シストの分布を1999–2000年に調べた。その結果、シストはオホーツク海から太平洋に広く分布することが明らかとなった。過去の海域別の麻痺性貝毒の発生頻度および年間最高毒性値と、海域別のシスト密度の関係をみると、それぞれ有意な正の相関が認められた。このことから、海域別のシスト密度は過去の麻痺性貝毒の発生頻度/規模が記録された重要な情報であることが明らかとなった。また、前述の2005–2006年における*A. tamarense*栄養細胞の出現は、海域別のシスト密度を反映した結果であると推察された。栄養細胞とシストの分布を併せてみると、オホーツク海沿岸における*A. tamarense*の出現はわずかであるものの、北海道とサハリンを結ぶ陸棚域にはシストが濃密に分布していることから、オホーツク海沖合は潜在的に*A. tamarense*の出現リスクの高い海域であると推察された。

夏季北海道沖オホーツク海における*A. tamarense*栄養細胞の空間分布を2002–2007年に調べた。その結果、*A. tamarense*は沖合の表層低塩分水(塩分 ≤ 32.5)に多く出現し、沿岸の宗谷暖流水(塩分 ≥ 33.6)および沖合30 m以深の中冷水(水温 ≤ 2℃)にはほとんど出現しないことが明らかとなった。水塊別の栄養塩濃度は中冷水において極めて高いことが確認された。表層低塩分水の栄養塩濃度は低いものの、直下に中冷水から供給された豊富な栄養塩が存在するために、*A. tamarense*はわずかな日周鉛直移動によって栄養塩を利用可能であると推察された。一方、表層低塩分水と宗谷暖流のフロント域では湧昇が観察され、深みから有光層に供給された栄養塩に起因する珪藻ブルームの持続的発生が確認された。*A. tamarense*はこの珪藻ブルームのやや沖合でブルーム(≥ 10² cells L⁻¹)を形成する傾向が認められ、これは珪藻との競合の結果であると推察された。宗谷暖流水の栄養塩濃度は*A. tamarense*の増殖に必要なDIPにおいて特に低く、直下に中冷水も存在しないことから、本種の増殖には適さない環境であると推察された。夏季の*A. tamarense*存在量と春季から夏季の水塊構造の年変動における関係をみると、存在量は春季に宗谷暖流が卓越傾向かつ夏季に表層低塩分水が卓越傾向の年に多い傾向が認められ、本種は春季のシスト発芽には宗谷暖流による加温が、夏季の栄養細胞増殖の空間として表層低塩分

水をそれぞれ必要とすることが示唆された。

北海道沿岸およびサハリン南部アニワ湾で採集した底泥または海水試料から単離した*A. tamarense*培養株の毒成分組成を2005–2009年に調べた。全103培養株の毒成分を高速度液体クロマトグラフを用いて分析し、得られた毒成分組成をクラスター解析した結果、2株を除く101株がC-toxin-2, gonyautoxin-4, gonyautoxin-3, neosaxitoxinを主成分とする同一クラスターに分類された。上記101株の毒組成は既報の日本産およびサハリン産株とはほぼ一致することが明らかとなった。各培養株の細胞毒量は $1-1128 \text{ fmol cell}^{-1}$ の範囲で変動し、細胞密度と細胞毒量との間には反比例の関係があることが明らかとなった。現場において細胞毒量 $10^3 \text{ fmol cell}^{-1}$ の*A. tamarense*が $10^2 \text{ cells L}^{-1}$ の細胞密度で継続的に出現し、体重 10^2 g (中腸腺7 g)のホタテガイの水温 10°C における濾水率を 10^2 L day^{-1} 、毒の蓄積率を35%と仮定すると、毒化速度は 0.4 MU g^{-1} 中腸腺 day^{-1} と見積もられた。これは50日で出荷自粛規制値 (20 MU g^{-1} 中腸腺)に毒化することを示し、「*A. tamarense*が概ね $10^2 \text{ cells L}^{-1}$ を超えて出現すると規制値を超えて毒化する」という経験的事実を科学的に裏付けるものと考えられた。

「稚内–網走間の水位差減少によって指標される宗谷暖流の弱勢時に、*A. tamarense*栄養細胞を含んだ表層低塩分水が沿岸に流入して、ホタテガイが毒化する」との仮説に基づき、沖合および沿岸における*A. tamarense*分布調査ならびにADCPを用いた宗谷暖流の流況調査を2004, 2007および2008年に行い、*A. tamarense*の出現メカニズムの解明を試みた。その結果、*A. tamarense*は宗谷暖流の弱勢時に沿岸のホタテガイ漁場に出現することが確認され、宗谷暖流の弱勢は稚内–網走間の水位差減少と同調することが確認された。さらに過去の麻痺性貝毒発生年について宗谷暖流弱勢と麻痺性毒性値の変動を解析したところ、暖流弱勢の直後に毒性値が上昇することが確認された。以上の生物海洋学的調査および解析によって仮説は検証され、次の手順からなる麻痺性貝毒発生予測手法を構築した。

- (1) 例年の毒化時期前 (6月) および毒化盛期 (7月) に船舶調査によって本海域沖合の*A. tamarense*の水平分布を把握する。
- (2) インターネット公開されている潮位データを用いて宗谷暖流勢力 (稚内–網走間水位差)を監視する。
- (3) 調査によって沖合に*A. tamarense*ブルーム ($\geq 10^2 \text{ cells L}^{-1}$) が確認されていて、宗谷暖流弱勢が観測された場合、数週間以内の麻痺性貝毒発生を注意喚起する。

本予測手法は2009年以降運用され、「オホーツク海貝毒プランクトン速報」/「宗谷暖流情報」として公開され、ホタテガイの計画的出荷に活用されている。本予測手法は年2回の船舶調査と水位差の監視のみのシンプルな構成で運用されるため、費用対効果が高いのが特長である。

本研究は*A. tamarense*をトレーサーとして北海道沖オホーツク海の高コントラストな環境を生物海洋学的に解明したものであり、ホタテガイのみならずサケ等の重要魚種の生態研究においても餌料環境に関連した重要な情報を与えるものである。最近、北海道日本海および津軽海峡沿岸で暖水性有害赤潮原因藻の初記録が相次いでいる。万一、有害赤潮が北日本のホタテガイ漁場で発生すれば、甚大な被害が発生することは間違いない。今後は北日本においても温暖化による暖水性有害種の分布拡大が予想されることから、既往の*A. tamarense*をはじめとする有殻渦鞭毛藻の監視に加えて、有害赤潮の原因となる無殻鞭毛藻の監視を開始することが必要と考えられる。

謝 辞

本論文のとりまとめにあたり、終始懇切なるご指導を賜った北海道大学水産科学研究院特任教授 今井一郎博士に深甚なる感謝の意を表します。北海道大学水産科学研究院教授 和田哲博士、同 准教授 磯田豊博士、同 准教授 山口篤博士ならびに北里大学海洋生命科学部教授 山口峰生博士には、本論文をご校閲いただき、貴重なコメントを賜りました。ここに衷心より御礼申し上げます。また、北海道大学名誉教授 箕田嵩博士、同 元教授 志賀直信博士、滋賀県立大学教授 伴修平博士には、水産学部在学時に自然観察ならびに科学的思考の基礎をご教授戴きました。深く御礼申し上げます。北海道大学低温科学研究所准教授 深町康博士には、ADCPを用いた宗谷暖流の観測ならびにデータ処理について格別のご協力を賜り、深く御礼申し上げます。

北海道における貝毒研究の基礎を築かれた、元栽培漁業総合センター場長 故 西浜雄二博士には、オホーツク海の麻痺性貝毒発生について重要なヒントを遺して戴きました。ここに深く御礼申し上げます。元中央水産試験場副場長 水島敏博氏、元中央水産試験場海洋環境部長 田中伊織氏、元稚内水産試験場場長 吉田英雄博士、元中央水産試験場場長 鳥澤雅博氏には、本論文に関する一連の研究開始にご尽力戴きました。また、元中央水産試験場場長 野俣洋氏、元中央水産試験場資源管理部長 中明幸広氏ならびに部員一同、釧路水産試験場場長 宮園章博士、中央水産試験場企画調整部長 木村稔博士

ならびに同 加工利用部三上加奈子氏, 網走水産試験場浅見大樹博士, 食品加工研究センター 澤田真由美氏, 原子力環境センター 栗林貴範博士の各位には, 一連の研究推進に終始ご協力戴きました。ここに記して感謝の意を表します。現場調査に全面的協力を戴いた中央水産試験場試験調査船 おやしお丸 (2010年用途廃止), 稚内水産試験場試験調査船 北洋丸, 釧路水産試験場試験調査船 北辰丸, 函館水産試験場試験調査船 金星丸の船長ならびに乗組員各位および乗船調査員各位に深謝いたします。

網走沿岸の地まきホタテガイ漁場における海洋観測に際しては, 網走漁業協同組合, 常呂漁業協同組合, 網走東部地区水産技術普及指導所ならびにさけます内水面水産試験場の職員各位に大変お世話になりました。ここに記して御礼申し上げます。また, サハリン漁業海洋学研究所研究員Mrs. Tatyana Alexandrovna Mogilnikova ならびに Mrs. Irina Victorovna Motylkova には, 中央水産試験場での研修を通じて, アニワ湾等ロシア海域における有害有毒プランクトンの分布に関する貴重な情報を戴きました。感謝の意を表するとともに, 国際共同研究の発展を祈念申し上げます。

最後に, 現場調査や趣味に明け暮れて何かと落ち着かぬ自分に, 腰を据えて論文をとりまとめる機会を与えてくれた家族, 嶋田覚子, 嶋田湧, 嶋田演に感謝します。

引用文献

- Acres J, Gray J. Paralytic shellfish poisoning. *CMA Journal* 1978; **119**: 1195 – 1197.
- Anderson DM, Fukuyo Y, Matsuo K. 11. Cyst methodologies In: Manual on Harmful Marine Microalgae, (Hallegraeff G, Anderson DM, Cembella AD eds), UNESCO, Paris. 1995; 229 – 249.
- Anderson DM. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions In: Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms, NATO ASI Series Vol. G41, (Anderson DM, Cembella AD, Hallegraeff GM eds), Springer – Verlag, Berlin. 1998; 29 – 48.
- Anderson DM, Keafer BA, McGillicuddy Jr DJ, Mickelson MJ, Keay KE, Libby PS, Manning JP, Mayo CA, Whittaker DK, Hickey JM, He R, Lynch DR, Smith KW. Initial observations of the 2005 *Alexandrium fundyense* bloom in southern New England: general patterns and mechanisms. *Deep – Sea Res II* 2005; **52**: 2856–2876.
- Anderson DM, Alpermann TJ, Cembella AD, Collos Y, Masseret E, Montresor M. The globally distributed genus *Alexandrium*: multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae* 2012; **14**: 10 – 35.
- 青田昌秋. 宗谷暖流の研究. *低温科学* 1975; **A33**: 151 – 172.
- 有田駿, 磯田豊, 工藤勲, 宮園章, 伊田智喜. 宗谷暖流域における日周潮流と順圧不安定波の相互作用. *沿岸海洋研究* 2015; **52**: 183–195.
- Asakawa M, Takayama H, Beppu R, Miyazawa K. Occurrence of paralytic shellfish poison (PSP) – producing dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan, during 1993–2004 and its PSP profiles. *J Food Hyg Soc Jpn* 2005; **46**: 246–250.
- Asami H, Shimada H, Sawada M, Sato H, Miyakoshi Y, Ando D, Fujiwara M, Nagata M. Influence of physical parameters on zooplankton variability during early ocean life of juvenile chum salmon in the coastal waters of eastern Hokkaido, Okhotsk Sea. *NPAFC Bull* 2007; **4**: 211 – 221.
- Balech E. The genus *Alexandrium* Halim (Dinoflagellata). Sherkin Island Marine Station, Shelkin Island, Co Cork, Ireland. 1995; 151 pp.
- Coyne KJ, Handy SM, Demir E, Whereat EB, Hutchins DA, Portune KJ, Doblin MA, Cary SC. Improved quantitative real – time PCR assays for enumeration of harmful algal species in field samples using an exogenous DNA reference standard. *Limnol Oceanogr Methods* 2005; **3**: 381 – 391.
- Dale B, Yentsh CM. Red tide and paralytic shellfish poisoning. *Oceanus* 1978; **21**: 41 – 49.
- Ebuchi N, Fukamachi Y, Ohshima KI, Wakatsuchi M. Subinertial and seasonal variations in the Soya Warm Current revealed by HF ocean radars, coastal tide gauges, and bottom – mounted ADCP. *J Oceanogr* 2009; **65**: 31 – 43.
- Fraga S, Sampedro N, Larsen J, Moestrup Ø, Calado AJ. Arguments against the proposal 2302 by John & al. to reject the name *Gonyaulax catenella* (*Alexandrium catenella*). *Taxon* 2015; **64**: 634–635.
- Fritz L, Triemer RE. A rapid simple technique utilizing calcofluor white M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. *J Phycol* 1985; **21**: 662 – 664.
- Fukamachi Y, Tanaka I, Ohshima KI, Ebuchi N, Mizuta G,

- Yoshida H, Takayanagi S, Wakatsuchi M. Volume transport of the Soya Warm Current revealed by bottom-mounted ADCP and ocean-radar measurement. *J Oceanogr* 2008; **64**: 385–392.
- 福代康夫. II. 貝毒プランクトンの生物学 2. 分類と分布, 貝毒プランクトン—生物学と生態学 (福代康夫編), 恒星社厚生閣, 東京. 1985; 19–30.
- Gu H, Zeng N, Liu T, Yang W, Muller A, Krock B. Morphology, toxicity, and phylogeny of *Alexandrium* (Dinophyceae) species along the coast of China. *Harmful Algae* 2013; **27**: 68–81.
- Hallegraeff G. I. Harmful algal blooms: A global overview. In: Manual on Harmful Marine Microalgae, (Hallegraeff G, Anderson DM, Cembella AD eds), UNESCO, Paris. 1995; 1–22.
- Hallegraeff G. I. Harmful algal blooms: A global overview. In: Manual on Harmful Marine Microalgae (Second revised edition), (Hallegraeff G, Anderson DM, Cembella AD eds), UNESCO, Paris. 2004; 25–49.
- Hanawa K, Mitsudera F. On the data processing's of daily mean values of oceanographical data, — Note on the daily mean sea-level data —. *Bull Coastal Oceanogr* 1985; **23**: 79–87.
- He R, McGillicuddy DJ, Keafer BA, Anderson DM. Historic 2005 toxic bloom of *Alexandrium fundyense* in the western Gulf of Maine: 2. Coupled biophysical numerical modeling. *J Geophys Res — Oceans* 2008; **113**: C07040, doi:10.1029/2007JC004602.
- Hille B. The receptor for tetrodotoxin and saxitoxin. *Biophys J* 1975; **15**: 615–619.
- Holm-Hansen O., Lorenzen CJ, Holmes RW, Strickland JDH. Fluorometric determination of chlorophyll. *J Cons Con. Int Explor Mer* 1965; **30**: 3–15.
- 今井一郎, 板倉茂. 1. わが国における貝毒発生の歴史的経過と水産業への影響. 貝毒研究の最先端—現状と展望 (今井一郎, 福代康夫, 広石伸互編), 恒星社厚生閣, 東京. 2007; 9–18.
- 磯田豊, 岸道郎. シンポジウム「沿岸親潮」のまとめ. *沿岸海洋研究* 2003; **41**: 1–3.
- 板倉茂. 沿岸性浮遊珪藻類の休眠期細胞に関する生理生態学的研究. *瀬戸内水研報* 2000; **2**: 67–130.
- Itakura S, Yamaguchi M, Yoshida M, Fukuyo Y. The seasonal occurrence of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) vegetative cells in Hiroshima Bay, Japan. *Fish Sci* 2002; **68**: 77–86.
- Itakura S, Yamaguchi M. Morphological and physiological differences between the cysts of *Alexandrium catenella* and *A. tamarense* (Dinophyceae) in the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton Biol Ecol* 2005; **52**: 85–91.
- Jin D, Hoagland P (2008) The value of harmful algal bloom predictions to the nearshore commercial shellfish fishery in the Gulf of Maine. *Harmful Algae* **7**: 772–781.
- John U, Litaker RW, Montresor M, Murray S, Brosnahan ML, Anderson DM. Formal revision of the *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) taxonomy: the introduction of five species with emphasis on molecular-based (rDNA) classification. *Protist* 2014a; **165**: 779–804.
- John U, Litaker RW, Montresor M, Murray S, Brosnahan ML, Anderson DM. Proposal to reject the name *Gonyaulax catenella* (*Alexandrium catenella*) (Dinophyceae). *Taxon* 2014b; **63**: 932–933.
- Jørgensen CB. Beat frequency of lateral cilia and pumping rates. In: Bivalve Filter Feeding, Hydrodynamics, Bioenergetics, Physiology and Ecology, (Jørgensen CB ed), Olsen & Olsen, Fredensborg. 1990; 55–57.
- 加賀新之助, 関口勝司, 吉田誠, 緒方武比古. 岩手県沿岸に出現する *Alexandrium* 属とその毒生産能. *日本水産学会誌* 2006; **72**: 1068–1076.
- Keafer BA, Churchill JH, McGillicuddy DJ, Anderson DM. Bloom development and transport of toxic *Alexandrium fundyense* populations within a coastal plume in the Gulf of Maine. *Deep-Sea Res II* 2005; **52**: 2674–2697.
- 工藤勲, Frolan A, 高田兵衛, 小林直人. オホーツク海沿岸域の海洋構造と生物生産. *沿岸海洋研究* 2011; **49**: 13–21.
- 木村稔, 嶋田宏, 三上加奈子. 給餌飼育で毒化したホタテガイの麻痺性貝毒組成の変化. 平成20年度東北ブロック水産業関係試験研究推進会議海区水産業部会・分科会報告書. 2009; 26–27.
- Kosaka Y, Ito H. Chapter 22 Japan. In: *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*, (Shumway SE, Parsons GJ eds), Elsevier, Amsterdam. 2006; 1093–1141.
- 蔵田護, 干川裕, 西浜雄二. サロマ湖における垂下養成ホタテガイの摂餌量. *北水試研報* 1991; **37**: 37–57.
- 黒田寛, 戸谷タ子, 和川拓, 桑田晃, 瀬藤聡. 北海道周辺高解像度海洋モデルの構築—オホーツク海が太平洋の低次生態系に与える影響評価に向けて—. *低温科学* 2016; **74**: 115–125.
- Lewis NI, Xu W, Jericho SK, Kreuzer HJ, Jericho MH, Cembella AD. Swimming speed of three species of *Alexandrium* (Dinophyceae) as determined by digital

- in-line holography. *Phycologia* 2006; **45**: 61–70.
- Li Y, He R, McGillicuddy DJ, Anderson DM, Keafer BA. Investigation of the 2006 *Alexandrium fundyense* bloom in the Gulf of Maine: in situ observations and numerical modeling. *Cont Shelf Res* 2009; **29**: 2069–2082.
- Lu YT, Blake NJ. Clearance and ingestion rates of *Isochrysis galbana* by larval and juvenile bay scallops, *Argopecten irradians concentricus* (Say). *J Shellfish Res* 1997; **18**: 419–423.
- McGillicuddy DJ, Anderson DM, Lynch DR, Townsend DW. Mechanisms regulating large-scale seasonal fluctuations in *Alexandrium fundyense* populations in the Gulf of Maine: results from a physical-biological model. *Deep-Sea Res II* 2005; **52**: 2698–2714.
- McGillicuddy DJ, Signell RP, Stock CA, Keafer BA, Keller MD, Hetland RD, Anderson DM. A mechanism for offshore initiation of harmful algal blooms in the coastal Gulf of Maine. *J Plankton Res* 2003; **25**: 1131–1138.
- MacIntyre JG, Cullen JJ, Cembella AD. Vertical migration, nutrition and toxicity in the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Mar Ecol Prog Ser* 1997; **148**: 201–216.
- Mitsudera H, Uchimoto K, Nakamura T. Rotating Stratified Barotropic Flow over Topography: Mechanisms of the cold belt formation off the Soya Warm Current along the northeastern coast of Hokkaido. *J Phys Oceanogr* 2011; **41**: 2120–2136.
- Miyazono A, Nagai S, Kudo I, Tanizawa K. Viability of *Alexandrium tamarense* cysts in the sediment of Funka Bay, Hokkaido, Japan: Over a hundred year survival times for cysts. *Harmful Algae* 2012; **16**: 81–88.
- 宮園章. 北海道、噴火湾における麻痺性貝毒原因プランクトン *Alexandrium tamarense* の生理生態学的研究 (学位論文). *北水試研報* 2015; **87**: 1–70.
- Mizuta G, Fukamachi Y, Ohshima KI. Structure and seasonal variability of the East Sakhalin Current. *J Phys Oceanogr* 2010; **33**: 2430–2445.
- Mogilnikova TA, Motylkova IV, Kononova NV. Development of common toxic phytoplankton species and contents of phytotoxins in tissues of scallop *Mizuhopecten yessoensis* (Jay) in the coastal Sakhalin waters. *Trans SakhNIRO* 2007; **9**: 207–222 (in Russian).
- Mustapha MA, Saitoh S-I, T. Lihan T. Satellite-measured seasonal variations in primary production in the scallop-farming region of the Okhotsk Sea. *ICES J Mar Sci* 2009; **66**: doi: 10.1093/icesjms/fsp142.
- Nagai S, Lian C, Yamaguchi S, Hamaguchi M, Matsuyama Y, Itakura S, Shimada H, Kaga S, Yamauchi H, Sonda Y, Nishikawa T, Kim CH, Hogetsu T. Microsatellite markers reveal population genetic structure of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) in Japanese coastal waters. *J Phycol* 2007; **43**: 43–54.
- Nagai S. Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of six *Alexandrium* species (Dinophyceae). *J Phycol* 2011; **43**: 703–708.
- Nagai S. Species-specific detection of six *Alexandrium tamarense* species from single vegetative cells by a loop-mediated isothermal amplification method. *DNA Testing* 2013; **5**: 33–46.
- Nakata A, Tanaka I, Yagi H, Watanabe T, Kantakov GA, Samatov AD. Formation of high-density water (over 26.8 sigma-t) near the La Perouse Strait (the Soya Strait). *PICES Sci Rep* 1999; **12**: 145–147.
- 夏池真史, 金森誠, 馬場勝寿, 山口篤, 今井一郎. 噴火湾における球形シャットネラ *Chattonella globosa* の初報告. *北大水産彙報* 2012; **62**: 9–13.
- Natsuike M, Nagai S, Matsuno K, Saito R, Tsukazaki C, Yamaguchi A, Imai I. Abundance and distribution of toxic *Alexandrium tamarense* resting cysts in the sediments of the Chukchi Sea and the eastern Bering Sea. *Harmful Algae* 2013; **27**: 52–59.
- 夏池真史, 今井一郎. 4–5 *Alexandrium tamarense* species complex 北米クレードの北半球高緯度域における分布. 有害有毒プランクトンの科学 (今井一郎, 山口峰生, 松岡数充編), 恒星社厚生閣, 東京. 2016; 310–315.
- 西浜雄二. 第10章 貝の毒化. 噴火湾とホタテガイ養殖. 噴火湾西部はたて漁業総合対策協議会・噴火湾東部漁業振興対策協議会. 1982; 97–127.
- 西浜雄二. III. 貝毒プランクトンの生態学 5. 北海道, 貝毒プランクトン—生物学と生態学 (福代康夫編), 恒星社厚生閣, 東京. 1985; 47–58.
- Nishihama Y. Seasonal abundance of *Protogonyaulax* sp. causing paralytic shellfish poisoning in Funka Bay. In: Proceeding of North Pacific Aquaculture Symposium (Melteff BR, Neve RA eds). Alaska Sea Grant Publication, Anchorage. 1982; 319–327.
- Nishihama Y, Tada K, Miyazono A. Occurrence of toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamarense*, in Lake Saroma. *Bull Plankton Soc Japan* 1993; **39**: 171–173.
- 西浜雄二. 第3章 オホーツクのホタテ漁業史. オホーツクのホタテ漁業, 北海道大学図書刊行会, 札幌. 1994a; 47–67.

- 西浜雄二. 第8章 貝毒. オホーツクのホタテ漁業, 北海道大学図書刊行会, 札幌. 1994b; 169–190.
- 西浜雄二. 1–2 その他海域. 北海道沿岸における貝毒の研究(貝毒プロジェクト報告書), 北海道立水産試験場技術資料, 余市. 2000; 31–36.
- Noguchi T, Asakawa M, Arakawa O, Fukuyo Y, Nishio S, Tanno K, Hashimoto K. First occurrence of *Alexandrium catenella* in Funka Bay, Hokkaido, along with its unique toxin composition. In: Toxic Marine Phytoplankton (Graneli E, Sundstrom B, Edler L, Anderson DM eds), Elsevier Science Publishing, New York, 1990; 493–498.
- 野口玉雄. マリントキシシン(総説). 日本水産学会誌 2003; **69**: 895–909.
- Ogata T, Ishimaru T, Kodama M. Effect of water temperature and light intensity on growth rate and toxicity change in *Protogonyaulax tamarens*. *Mar Biol* 1987; **95**: 217–220.
- Ogata T, Koike K, Nomura S, Kodama S. Utilization of organic substances for growth and toxin production by *Alexandrium tamarens*. In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (eds) Harmful and Toxic Algal Blooms. UNESCO, Sendai, 1996; 343–346.
- Oguma S, Ono T, Watanabe YW, Kasai H, Watanabe S, Nomura D, Mitsudera H. Flux of low salinity water from Aniva Bay (Sakhalin Island) to the southern Okhotsk Sea. *Est Coast Shelf Sci* 2011; **91**: 24–32.
- 大谷清隆, 木戸和男. 噴火湾の海洋構造. 北大水産彙報 1980; **31**: 84–114.
- Onitsuka G, Miyahara K, Hirose N, Watanabe S, Semura H, Hori R, Nishikawa T, Miyaji K, Yamaguchi M. Large-scale transport of *Cochlodinium polykrikoides* blooms by the Tsushima Warm Current in the southwest Sea of Japan. *Harmful Algae* 2010; **9**: 390–397.
- Orlova TY, Kononova GV, Stonik IV, Selina MS, Morozova TV, Shevchenko OG. Harmful algal blooms on the eastern coast of Russia. *PICES Scientific Report* 2002; **23**: 47–73.
- Orlova TY, Selina MS, Lilly EL, Kulis DM, Anderson DM. Morphogenetic and toxin composition variability of *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae) from the east coast of Russia. *Phycologia* 2007; **46**: 534–548.
- Oshima KI, Wakatsuchi M. A numerical study of barotropic instability associated with the Soya Warm Current in the Sea of Okhotsk. *J Phys Oceanogr* 1990; **20**: 570–584.
- Oshima Y. Post-Column derivatization HPLC methods for Paralytic Shellfish Poisons. In: Manual on Harmful Marine Microalgae, (Hallegraeff G, Anderson DM, Cembella AD eds), UNESCO, Paris, 1995; 81–94.
- Perez CC, Roy S, Levasseur M, Anderson DM. Control of germination of *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae) cysts from the lower St. Lawrence estuary (Canada). *J Phycol* 1998; **34**: 242–249.
- Reine WFP. Report of the Nomenclature Committee for Algae: 15. *Taxon* 2017; **66**: 191–192.
- Sako Y, Kim CH, Ninomiya H, Adachi M, Ishida Y. Isozyme and cross analysis of mating populations in the *Alexandrium catenella* / *tamarens* species complex. In: Toxic Marine Phytoplankton (Graneli E, Sundstrom B, Edler L, Anderson DM eds), Elsevier Science Publishing, New York, 1990; 320–323.
- Shimada H, Mizushima T, Hayashi T. Spatial distribution of *Alexandrium tamarens* in Funka Bay, southwestern Hokkaido, Japan. In: Harmful and Toxic Algal Blooms (Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y eds), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Sendai, 1996; 219–221.
- 嶋田宏. 噴火湾における植物プランクトン組成の季節変化. 沿岸海洋研究 2000a; **38**: 15–22.
- 嶋田宏. 1–1 噴火湾. 北海道沿岸における貝毒の研究(貝毒プロジェクト報告書), 北海道立水産試験場技術資料, 余市. 2000b, 11–30.
- 嶋田宏, 西田芳則, 伊藤義三, 水島敏博. 噴火湾八雲沿岸における養殖ホタテガイの成長, 生残と漁場環境要因の関係. 北水試研報 2000; **58**: 49–62.
- Shimada H, Miyazono A. Horizontal distribution of toxic *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) resting cysts around Hokkaido, Japan. *Plankton Biol Ecol* 2005; **52**: 76–84.
- 嶋田宏, 馬場勝寿, 菅原理恵子, 宮園章, 清川進, 品田晃良. 北海道沿岸の麻痺性貝毒プランクトン出現カレンダー – 2005および2006年の拡大調査結果から – . 北水試だより 2007; **74**: 18–22.
- 嶋田宏, 澤田真由美, 栗林貴範, 中多章文, 宮園章, 浅見大樹. 夏季北海道沖オホーツク海における有毒渦鞭毛藻*Alexandrium tamarens*の現存量の経年変動要因. 平成21年度日本水産学会春季大会講演要旨集. 2009; 250.
- Shimada H, Sawada M, Kuribayashi T, Nakata A, Miyazono A, Asami H. Spatial distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarens* in summer in the Okhotsk Sea off Hokkaido, Japan. *Plankton Benthos Res* 2010; **5**:

- 1–10.
- Shimada H, Motylkova IV, Mogilnikova TA, Mikami K, Kimura M. Toxin profile of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) from Hokkaido, northern Japan and southern Sakhalin, eastern Russia. *Plankton Benthos Res* 2011; **6**: 35–41.
- Shimada H, Sawada M, Tanaka I, Asami H, Fukamachi Y. A method for predicting the occurrence of paralytic shellfish poisoning along the coast of Hokkaido in the Okhotsk Sea in summer. *Fish Sci* 2012; **78**: 865–877.
- 嶋田宏, 坂口健司, 森泰雄, 渡野邊雅道, 板谷和彦, 浅見大樹. 北海道周辺4海域(道東・道南太平洋, 北部日本海および南部オホーツク海)における動物プランクトンバイオマスおよび種組成の季節変化と年変動. *日本プランクトン学会報* 2012; **59**: 63–81.
- 嶋田宏, 澤田真由美, 浅見大樹, 田中伊織, 深町康. 4–4 北海道オホーツク海沿岸における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の出現予察. 有害有毒プランクトンの科学 (今井一郎, 山口峰生, 松岡数充編), 恒星社厚生閣, 東京. 2016; 299–309.
- Shimada H, Sakamoto S, Yamaguchi M, Imai I. First record of two warm-water HAB species *Chattonella marina* (Raphidophyceae) and *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) on the west coast of Hokkaido, northern Japan in summer 2014. *Regional Studies in Marine Science* 2016; **7**: 111–117.
- 嶋田宏. 北海道周辺海域における植物・動物プランクトンの変動. *水産海洋研究* 2016; **80**: 155–156.
- 嶋田宏, 金森誠, 吉田秀嗣, 今井一郎. 2015年秋季北海道函館湾における渦鞭毛藻 *Karenia mikimotoi* による有害赤潮の初記録. *日本水産学会誌* 2016; **82**: 934–938.
- Shimodaira H. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. *Syst Biol* 2002; **51**: 492–508.
- Stock CA, McGillicuddy Jr DJ, Solow AR, Anderson DM. Evaluating hypotheses for the initiation and development of *Alexandrium fundyense* blooms in the western Gulf of Maine using a coupled physical–biological model. *Deep-Sea Res II*. 2005; **52**: 2715–2744.
- 田中伊織. 北海道西岸における20世紀の沿岸水温およびニシン漁獲量の変遷. *北水試研報* 2002; **62**: 41–55.
- 田中伊織, 中多章文, 宮園章. 北海道の海. 新北のさかなたち (水島敏博, 鳥澤雅監修, 上田吉幸, 前田圭司, 嶋田宏, 鷹見達也編), 北海道新聞社, 札幌. 2003; 440–445.
- 牛久保宏. LAMP法の原理 – 遺伝子の簡易・迅速な増幅法 –. *ウイルス* 2004; **54**: 107–112.
- Yamaguchi M, Itakura S, Imai I, Ishida Y. A rapid and precise technique for enumeration of resting cysts of *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in natural sediments. *Phycologia* 1995; **34**: 207–214.
- Yamaguchi M, Itakura S, Nagasaki K, Imai I. Distribution and abundance of resting cysts of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* in sediments of the eastern Seto Inland Sea. In: Harmful and Toxic Algal Blooms (Yasumoto, T., Y. Oshima Y, Fukuyo Y eds), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Sendai. 1996; 177–180.
- Yamaguchi, M, Itakura S, Nagasaki K, Kotani Y. Distribution and abundance of resting cysts of the toxic *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in sediments of the western Seto Inland Sea, Japan. *Fish Sci* 2002; **68**: 1012–1019.
- Yamamoto T, Tarutani K. Growth and phosphate uptake kinetics of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from Hiroshima Bay in the Seto Inland Sea, Japan. *Phycol Res* 1999; **47**: 27–32.
- 吉松定昭. 瀬戸内海における赤潮生物特に渦鞭毛藻類 *Alexandrium* 属2種, ラフィド藻類3種の生活史に関する研究. *香川県赤潮研究所研究報告* 1992; **4**: 1–90.
- 全国水産試験場長会, 水産総合研究センター. 調査船を用いた水産海洋調査の必要性和近年の問題点. 2009; 1–4.

北海道北部海域に分布するホッケの資源量減少にともなう体サイズの変化とその親魚量への影響

坂口健司^{*1}, 鈴木祐太郎², 秦 安史³, 浅見大樹³, 高嶋孝寛⁴

¹北海道立総合研究機構中央水産試験場, ²北海道立総合研究機構稚内水産試験場,

³北海道立総合研究機構網走水産試験場, ⁴北海道立総合研究機構水産研究本部

Changes in body size with decrease in biomass of Arabesque greenling *Pleurogrammus azonus* in sea off northern Hokkaido and its influence on spawning stock biomass

KENJI SAKAGUCHI¹, YUTARO SUZUKI², YASUFUMI HADA³, HIROKI ASAMI³ and TAKAHIRO TAKASHIMA⁴

¹ Central Fisheries Institute, Hokkaido Research Organization, Yoichi, Hokkaido 046–8555,

² Wakkanai Fisheries Institute, Hokkaido Research Organization, Wakkanai, Hokkaido 097–0001,

³ Abashiri Fisheries Institute, Hokkaido Research Organization, Abashiri, Hokkaido 099–3119,

⁴ Hokkaido Research Organization, Yoichi, Hokkaido 046–8555, Japan

Changes in body weight and maturation rate of 1-year-old Arabesque greenling, *Pleurogrammus azonus*, in the Sea of Japan and Sea of Okhotsk off northern Hokkaido (seas off northern Hokkaido) with decrease in biomass were examined to improve the method for estimating spawning stock biomass (SSB). The body weight of 0–4-year-old fish increases as the recruitment of 0-year-old individuals decreased after 2009 year-class. With the low number of recruited individuals since 2009 year-class, the maturation rate of 1-year-old fish almost reached the upper limit (1.0). The SSB in 2010–2016 calculated using estimated body weight and maturation rate was 1.27–1.46 times as high as that calculated using constant body weight and maturation rate. Therefore, the method for estimating the SSB of *Pleurogrammus azonus* was suggested to be improved by considering changes in body size and maturation rate.

キーワード：ホッケ，親魚量，体サイズ，成熟，日本海，オホーツク海，*Pleurogrammus azonus*

北海道北部（後志，石狩，留萌，宗谷，オホーツクの各振興局管内）の沿岸から沖合の日本海およびオホーツク海（以下，北海道北部海域とする）に分布するホッケ *Pleurogrammus azonus* は当海域の重要な水産資源である。当資源を適切に漁獲利用するため，北海道立総合研究機構水産研究本部は，毎年，資源評価を行っている（最新版は坂口ら，2018，<http://www.fishexp.hro.or.jp/exp/central/kanri/SigenHyoka/Kokai/>，以下URL省略）。当資源の漁獲量は，1993–2008年のほとんどの年で10万トンを超えていたが，2009年から減少傾向にあり，2015年と2016年には1.6万トンにまで落ち込んだ（Fig. 1）。漁獲量減少の要因は2009年級以降の加入尾数が少なかったために，資源量が減少してきたことにある（高嶋，2012；坂口ら，2018）。

2012年以降，この資源を利用する主漁業の着業者は，その漁獲量や漁獲努力量を自主的に規制し，産卵親魚量（以下，親魚量とする）を確保する資源管理方策を実施

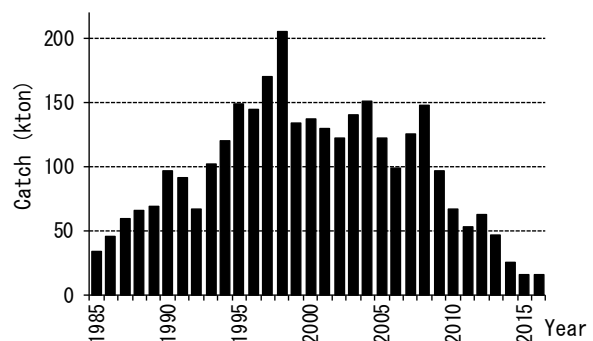


Fig. 1 *Pleurogrammus azonus* catch in the seas off northern Hokkaido.

報文番号A554 (2018年1月15日受理)

*Tel: 0135–23–7451, Fax: 0135–23–3141, E-mail: sakaguchi-kenji@hro.or.jp

している（星野ら，2017）。この方策は，産卵親魚量を確保することで加入量を増やし，資源量の回復を目指すものである。この方策の効果を検証するためには，毎年資源評価において親魚量を正確に推定する必要がある。当資源の親魚量は，①孵化日を1月1日，最低年齢を0歳，最高年齢を4歳以上のグループに設定した上で，半年ごとの年齢別の漁獲尾数を推定し，②これに半年ステップのVirtual Population Analysis（以下，VPAとする）を適用することで1月初めおよび7月初めの年齢別資源尾数を計算し，③産卵後である1月初めの年齢別資源尾数に年齢別の体重と成熟率のそれぞれ一定値（以下，一定体重および一定成熟率とする）を乗じて得られてきた（高嶋，2016）。

一方，近年の資源量減少にともなって，加入尾数が少ない年級ほど0歳魚の平均体長が大きくなる傾向が報告された（前田・鈴木，2013）。もし0歳魚のみならず1歳魚以上の親魚の体サイズも大型化しているならば，これまでの一定体重を用いて計算された親魚量は過小推定されている可能性がある。

加えて，北海道北部海域のホッケの成熟率は産卵期前の体長に依存していることが報告された（Takashima *et al.*, 2016）。もし1歳魚以上の体長が大きくなることで成熟率が上昇しているならば，これまでの一定成熟率で計算された親魚量も過小推定されている可能性がある。

本種の成熟魚は産卵期に接岸し，未成熟魚と同所に分布しないため（蒲原，1957），成熟率の推定が困難であった。しかし，Takashima *et al.*（2016）は体長に対する成熟確率（以下，成熟率とする）の変化をモデルで表し，漁獲物標本の体長組成から標本全体の成熟率を推定することを可能にした。また，50%成熟体長は約240mmと推定され，これは0歳魚の体長より十分に大きく，2歳魚以上の体長より十分に小さいため，0歳，2歳魚以上の成熟率については，それぞれ0.0，1.0の一定値と仮定して問題がない。しかし，1歳魚は，産卵期前の体長が50%成熟体長の前後で年によって変化するため，成熟率も年によって変動することが示唆される（Takashima *et al.*, 2016）。したがって，近年の加入尾数の減少にともなって1歳魚が大型化し，それによって実際の成熟率がこれまで用いられてきた一定成熟率（0.8）よりも上昇し，親魚量が過小推定されていることが懸念される。1歳魚は親魚量に占める割合が大きいため（坂口ら，2018），親魚量全体への影響が大きい。そこで，本研究では北海道北部海域に分布するホッケの資源量減少にともなう体サイズと1歳魚の成熟率の変化を調べ，その親魚量推定への影響を検討する。

Table 1 Year of collection and number of *Pleurogrammus azonus* individuals collected in seas off northern Hokkaido from September to December for body weight measurement

Year	Age-0	Age-1	Age-2	Age-3	Age-4
2004	172	210	183	43	31
2005	236	329	409	142	51
2006	234	397	174	192	65
2007	974	626	348	117	96
2008	443	1,742	421	153	68
2009	162	690	511	118	51
2010	140	489	481	206	51
2011	937	197	352	298	81
2012	1,119	1,915	100	143	100
2013	387	493	765	136	110
2014	355	753	554	281	14
2015	693	493	243	88	82
2016	325	1,045	299	126	16

Table 2 Year of collection and number of 1-year-old female *Pleurogrammus azonus* individuals collected for each sample in the Sea of Japan off northern Hokkaido from September 1st to October 15th for standard length measurement

Year	Sep. 1-15	Sep. 16-30	Oct. 1-15
2004			36
2005			28, 33
2006			61
2007		61	67, 54, 128
2008		97, 86, 83	89, 81
2009	33		40
2010		7	31, 47, 52
2011		8	7*
2012	111*	61*	95*, 147*
2013	24*	60*	
2014		29	33, 30
2015	27	17	84*
2016	10	213*, 29	117*

* Stratified sampling

試料及び方法

年別体重の検討 北海道西部沿岸におけるホッケの産卵期は9月下旬から12月中旬とされる（蒲原，1957）。各年の産卵期に採集されたホッケの体重測定に基づいて年別年齢別平均体重（以下，年別体重とする）を求めるため，2004-2016年の9-12月に北海道北部海域において主に沖合底びき網，底建網，刺網によって漁獲された本種の体重を測定した（Table 1）。各個体から耳石を採取し，薄片を作成して輪紋を観察する方法により年齢を査定した（高嶋ら，2013）。孵化日および年齢加算日は1月1日とした。各年に採集された0-4歳魚について，年齢別雌雄別に平均体重を求め，さらに各年齢の雌雄の平均を年別体重とした。採集個体数の少なかった5歳魚以上の体重は4歳魚と同じとした。この年別体重を用いて(1)式により

親魚量を推定した。

$$S = \sum N_i \cdot w_i \cdot m_i \quad (1)$$

ここで、 S は親魚量、 N は次の年の1月初めの資源尾数、 w は体重、 m は成熟率、添え字の i は年齢であり、0, 1, 2, 3歳および4歳以上である。1月初めの資源尾数は坂口ら(2018)で算出された値を用いた。

比較のため、年齢別体重を2004–2009年の平均で一定と仮定した一定体重でも親魚量を算出した。年別体重の場合と一定体重の場合の親魚量の比を年別に求め、特に、2009年級が1歳で産卵に加わり始めた2010年以降について比較検討した。

加入尾数と体重の関係を検討するため、各年級の0歳時の加入尾数と0–4歳時の年別体重の相関関係を調べた。加入尾数は坂口ら(2018)で算出された値を用いた。これは孵化後半年に相当する7月初めの0歳魚の資源尾数である。

1歳魚の年別成熟率の検討 2004–2016年に採集されたホッケ1歳魚の体長に基づいて成熟率（以下、年別成熟率とする）を推定するため、9月1日から10月15日に沖合底びき網で漁獲された1歳魚の雌の体長を測定した（Table 2）。本種の北海道北部海域の主産卵場は日本海にあるため（蒲原, 1957; 宮口ら, 1983），ここではオホーツク海の標本を除き、日本海の標本のみを用いた。1つの漁獲物標本ごとに10mm単位の体長組成の頻度分布を作成し、ロジスティック曲線による成熟モデル（Takashima *et al.*, 2016）を当てはめて成熟率を推定した（例としてFig. 2）。銘柄別で得られた標本の場合は、銘柄別漁獲尾数で重みづけした体長組成を用いた。Takashima *et al.* (2016)では2007年および2008年の標本それぞれに当てはめた2本のロジスティック曲線が報告されているため、本研究ではこれら2本の成熟曲線の平均である(2)式を用いた。

$$p(l) = \left(\frac{1}{1 + e^{56.487 - 0.238l}} + \frac{1}{1 + e^{32.068 - 0.134l}} \right) / 2 \quad (2)$$

ここで、 $p(l)$ は体長 l mmのときの成熟率である。各漁獲物標本の成熟率は(3)式で求めた。

$$P = \sum f_j \cdot p(m) \quad (3)$$

ここで、 P は漁獲物標本の成熟率、 f は体長階級 j の頻度、 m は体長階級 j の中央値である。各漁獲物標本の成熟率を年ごとに平均して1歳魚の年別成熟率とした。

得られた年別成熟率と1歳魚の一定体重を用いて1歳魚のみの親魚量を計算した。比較のため、一定成熟率(0.8)を用いた1歳魚のみの親魚量も計算した。

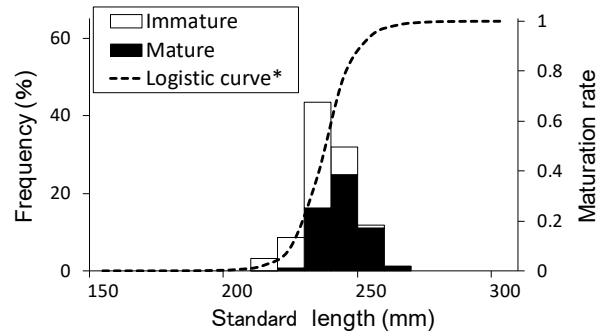


Fig. 2 Example of estimation of maturation rate of 1-year-old female *Pleurogrammus azonus* using standard length frequency composition of sample and logistic curve.

* Modified from Takashima *et al.* (2016)

加入尾数と年別成熟率の関係を検討するため、各年級の0歳時の加入尾数と1歳時の年別成熟率の関係をプロットし、ロジスティック曲線を当てはめた。

年別体重と年別成熟率の両方の影響 上記の検討で求めた年別の体重と成熟率の両方を用いて親魚量を推定し、一定の体重と成熟率で計算した親魚量と比較した。1歳魚以外の年別成熟率は一定成熟率と同じとした。さらに、ここでの親魚量計算に用いた1歳魚の年別体重は、体長230mm未満の小型個体がほとんど成熟しない（Takashima *et al.*, 2016）ことを考慮し、体長230mm以上の雌の平均体重とした。

加入尾数による親魚量への影響の検討 上記の検討により、加入尾数と平均体重の関係、および加入尾数と1歳魚の成熟率の関係が得られる。ある年級の1歳時の成熟率および1歳魚以上になった時の平均体重は、その年級の0歳時の加入尾数と関係していることが予想される。そこで、加入尾数を任意に設定した仮想の年級を考え、その年級が1–4歳魚に成長した時に予想される体重と成熟率から親魚量を求めることによって、加入尾数による親魚量への影響を検討した。加入尾数は1万尾および1億尾–17億尾を1億尾間隔で設定した。それぞれ加入尾数から半年ステップのVPAの前進計算（高嶋, 2016）を5歳初めまで行い、2–5歳初めの資源尾数を計算した。半年ステップのVPAの前進計算では、1月初めの資源尾数は前年7月初めの資源尾数から、7月初めの資源尾数は同年1月初めの資源尾数から(4)式で求めた。

$$N_k = N_{k-1} \cdot e^{-F-M} \quad (4)$$

ここで、 N は資源尾数、添え字の k は年齢とは別に半年ステップで与えた齢期である。 F は漁獲係数で単純にするため加入以降5歳初めまで半年あたり0.4、 M は自然死亡係数で半年あたり0.1475（1年あたり0.295，入江, 1983）で共に一定と仮定した。設定した加入尾数ごとに

1-4歳時の親魚量を(1)式で計算した。親魚量を求める計算に用いた体重および1歳魚の成熟率は、本研究で得られた加入尾数との関係式から推定された値を用いた。なお、0歳魚と2歳魚以上の成熟率は、それぞれ0.0と1.0で一定とした。

結 果

体重の変化 得られた年別体重は0-4歳魚いずれも2004年から2016年にかけて増加傾向にあった (Fig. 3)。加入尾数の多かった2008年級以前と少なかった2009年級以降の平均値を比較すると、0-4歳魚いずれも2009年級以降の方が重く、 t 検定の p 値は0歳魚が0.04, 1歳魚が0.005未満, 2歳魚が0.04, 3歳魚が0.06, 4歳魚が0.04であった。

一定成熟率のもとで、年別体重を用いて計算した親魚量と、一定体重で計算した親魚量を比較した (Fig. 4)。2009年級が1歳魚で産卵に加わり始めた2010年以降の親魚量は、年別体重を用いた方が一定体重の場合の1.14-1.23倍に多く推定された。

加入尾数と年別体重の回帰分析の結果、0-4歳魚いずれも回帰直線の傾きは負であり、 p 値は0歳魚と1歳魚が0.005未満, 2歳魚が0.02, 3歳魚が0.05, 4歳魚が0.03であった (Fig. 5)。

1歳魚の成熟率の変化 標本別に推定された1歳魚の成熟率と年別成熟率とした平均値をTable 3に示した。年別成熟率は2004-2009年では0.54-0.94で、1歳の一定成熟率(0.8)の前後で変動していた。2010年以降2016年までの年別成熟率は0.96-1.00で、上限の1.0にほぼ達していた。

一定体重のもとで、年別成熟率を用いて求めた1歳魚の親魚量と、一定成熟率を用いた場合の1歳魚の親魚量を比較した (Fig. 6)。2009年級が1歳魚になった2010年以降の1歳魚の親魚量は、年別成熟率の方が一定成熟率の場合の1.21-1.24倍に多く推定された。

0歳時の加入尾数と1歳時の年別成熟率の関係を年級別にプロットして示した (Fig. 7)。年別成熟率は、加入尾数が8億尾以下の年級で1.0に近く、これより加入尾数が多くなると低下した。加入尾数が最も多かった約16億尾での成熟率は0.54であった。これらのプロットにロジスティック曲線を当てはめた結果、加入尾数が約8億尾を超えると、1歳魚の成熟率は急に低下していく関係が示された。

体重と成熟率の両方の影響 年別の体重と成熟率を用いて計算された親魚量と、一定の体重と成熟率で計算された親魚量を比較した (Fig. 8)。その結果、年別の体重と成熟率を用いた場合、2010年以降の親魚量は、一定の

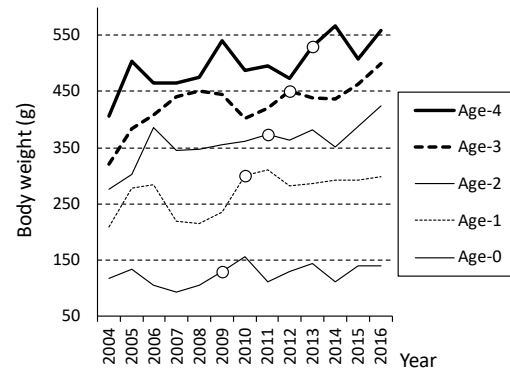


Fig. 3 Changes in mean body weight with age for *Pleurogrammus azonus* collected in seas off northern Hokkaido. Open circles indicate the 2009-year-class, wherein the recruitment of 0-year-old individuals began to decrease.

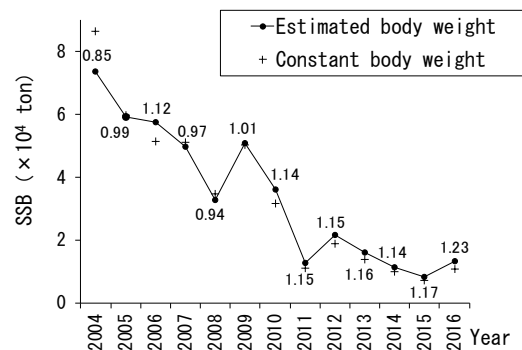


Fig. 4 Spawning stock biomass (SSB) of *Pleurogrammus azonus* in seas off northern Hokkaido calculated using estimated and constant body weight. Numerals indicate the ratio of SSB calculated using estimated mean body weight to that calculated using constant body weight.

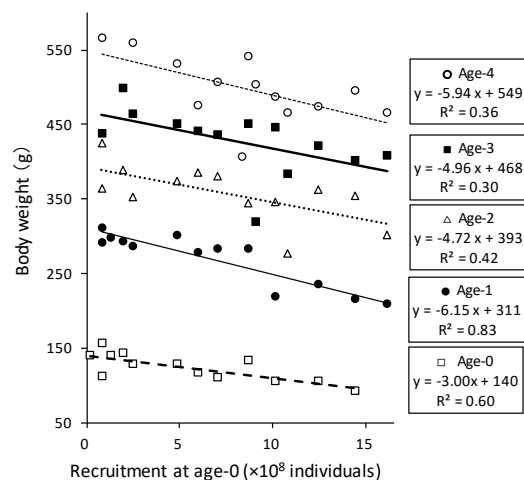


Fig. 5 Relationships between recruitment of 0-year-old individuals and body weight of *Pleurogrammus azonus* of each year-class with age in seas off northern Hokkaido.

Table 3 Maturation rates of 1-year-old *Pleurogrammus azonus* collected in the Sea of Japan off northern Hokkaido from September 1st to October 15th

Year	Sep 1-15	Sep. 16-30	Oct. 1-15	Mean
2004			0.54	0.54
2005			0.98, 0.89	0.94
2006			0.94	0.94
2007		0.87	0.71, 0.86, 0.54	0.75
2008		0.50, 0.63, 0.67	0.79, 0.85	0.69
2009	0.97		0.73	0.85
2010		0.91	0.98, 0.99, 0.98	0.96
2011		0.99	1.00	1.00
2012	0.96	0.99	0.98, 0.98	0.98
2013	0.99	0.97		0.98
2014		0.97	0.99, 0.99	0.98
2015	0.97	1.00	0.99	0.99
2016	1.00	0.97, 1.00	0.98	0.99

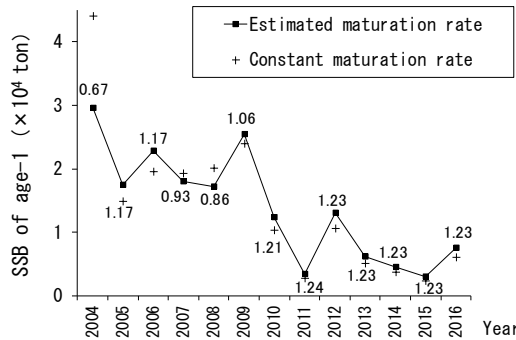


Fig.6 Spawning stock biomass (SSB) of 1-year-old *Pleurogrammus azonus* in seas off northern Hokkaido calculated using estimated and constant maturation rates. Numerals indicate the ratio of SSB calculated using estimated maturation rate to that calculated using constant maturation rate.

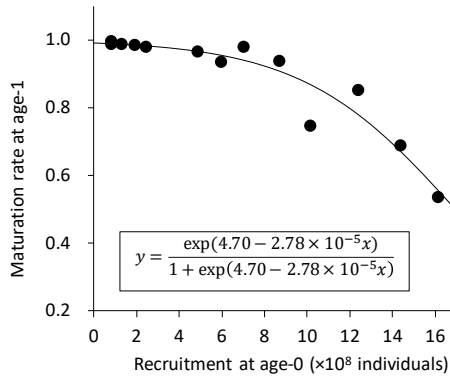


Fig.7 Relationship between recruitment of 0-year-old individuals and maturation rate of 1-year-old *Pleurogrammus azonus* of each year-class in seas off northern Hokkaido. The line indicates the fitted logistic curve.

体重と成熟率を用いた場合の1.27-1.46倍に多く推定された。なお、ここでの計算では1歳魚の年別体重に体長230 mm以上の雌の平均体重を用いた。性別と体長を考慮しない1歳魚の年別体重を用いた場合の2010年以降で親魚量は、一定の体重と成熟率を用いた場合の1.25~1.45倍で

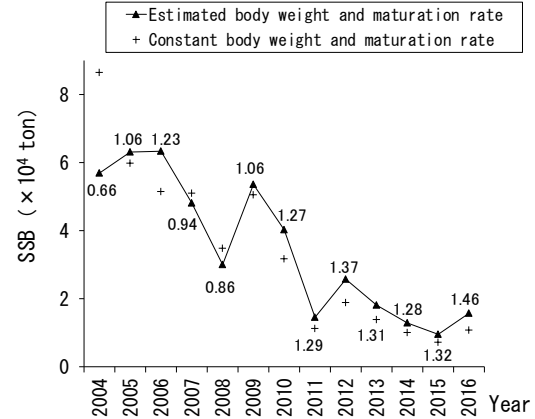


Fig.8 Spawning stock biomass (SSB) of *Pleurogrammus azonus* in seas off northern Hokkaido calculated using estimated and constant body weight and maturation rates. Numerals indicate the ratio of SSB calculated using estimated body weight and maturation rate to that calculated using constant body weight and maturation rate.



Fig.9 Relationships between given recruitment and spawning stock biomass at each age simulated from *Pleurogrammus azonus* recruitment.

あった。

加入尾数による親魚量の変化 加入尾数によって平均体重と1歳魚の成熟率が変化することを考慮して、加入尾数を1万尾から17億尾に仮想的に設定した年級の1-4歳時の親魚量を求め、加入尾数との関係を示した (Fig. 9)。1歳時の親魚量は、加入尾数が12億尾で約4万トンになるまでは、加入尾数が多いほど増加したが、これを超えると減少する山型を示した。2-4歳時の親魚量は加入尾数が多いほど単調に増加した。1-4歳時の親魚量の合計は、1歳時の親魚量が山型を示す影響を受けて、加入尾数が15億尾で約9万トンになるまでは、加入尾数が多いほど増加したが、これを超えて17億尾まではやや減少した。

考 察

北海道北部海域に分布するホッケは、2009年以降に加入尾数が減少したため、2016年まで資源量が減少している（坂口ら、2018）。本研究では、加入尾数と資源量の減少にともなってホッケの体サイズが大型化し、0-4歳魚の平均体重が増加したことと、1歳魚の成熟率が上昇したことを明らかにした。2009年級が1歳魚になり産卵に加わり始めた2010年から2016年までの親魚量は、年別の体重と成熟率で計算することによって、一定の体重と成熟率で計算した場合の1.27-1.46倍に多く推定された（Fig. 8）。体重および成熟率の年による変化を考慮することにより、親魚量の推定方法が改善されたと考えられる。親魚量の上方修正は、再生産成功率（親魚量当たり加入尾数）の下方修正など再生産関係の検討に重要な影響を及ぼすと考えられる。

2008年級以前と2009年級以降の平均体重を年齢別に比較した結果、0-4歳いずれも2009年級以降の方が重かった（Fig. 3）。したがって、2009年級以降の一定体重は過小であったと考えられる。また、年齢別に加入尾数と平均体重の相関関係を見ると、回帰分析の傾きは0-4歳いずれも負であり、加入尾数が少ないほど平均体重が重くなる関係が見られた（Fig. 5）。

この海域のホッケについて、加入尾数が少ないほど0歳時の平均体長が大きいことが報告されている（前田・鈴木、2013）。本研究においても、加入尾数が少ないほど0歳魚の平均体重が重い傾向が見られた。1歳魚以上のホッケの成長や肥満度には漁獲時の生息水温などの環境が影響しているとの報告もあるが（Morita *et al.*, 2014）、本研究の結果は、0歳時での加入尾数の多寡に関連した体サイズの差異が、親魚となる1-4歳時まで影響していたことを示唆している。加入尾数の多寡には水温環境が直接または間接的に影響している可能性が指摘されている（入江、1987；高嶋、2012；高嶋ら、2013；坂口ら、2018）。加入尾数と体サイズと水温環境の3つの関連をさらに検討し、加入尾数が決定する機構を明らかにすることは、ホッケの資源管理をさらに進めるうえで、今後の重要な課題の1つである。

2009年級以降の加入尾数の減少にともなって体長が大きくなった結果、1歳魚の成熟率は上限である1.0近くで推移していた（Table 3）。このため、1歳魚の一定成熟率（0.8）は、2009年級以降については過小であったと考えられる。一方、加入尾数が約16億尾と多かった2004年の1歳魚（2003年級）の成熟率は0.5近くまで低下しており、一定成熟率は過大であった（Fig. 7）。過去には1歳魚の成熟率を0.3として試算されたこともあるため（入

江、1987）、これは非現実的な値ではない。このような加入尾数の多い年級の場合、1歳時の親魚量が成熟率の低下によって大きく抑制され、多くの個体が2歳時に初めて親魚になることが想定される。ただし、本研究では、2004年の1歳魚（2003年級）のような加入尾数が15億尾を超える高豊度年級の漁獲物標本が少なくデータが充分とは言えない。今後、加入尾数の多い年級が出現したときには、産卵期前の1歳魚の漁獲物標本を複数収集し、十分なデータを用いて再度検証する必要がある。

一般に、年級による自然死亡、漁獲死亡、成熟率および成長に変化がないとすれば、加入尾数が多い年級ほど親になった時の親魚量は多くなる。本研究で見られた加入尾数と平均体重の間の負の関係は、加入尾数が増加したときには、その年級が親になったときの親魚量を減らし、加入尾数が減少したときには親魚量を増やすように影響する。つまり、平均体重の変化は、加入尾数の増減による親魚量の変動を抑制するように働く。本研究において加入尾数による親魚量への影響を仮想的に計算した結果（Fig. 9）、2-4歳時の親魚量は加入尾数に比例していた。このため、平均体重の増減は、加入尾数による親魚量の増減を止めるほどの効果はなく、親魚量の変動を低減する程度に働くものと考えられる。

しかし、1歳魚では、加入尾数の増加にともなって、平均体重の減少に加えて、成熟率が低下する（Fig. 7）。このため、本研究の仮想的な計算結果における1歳時の親魚量は、加入尾数が12億尾以下では加入尾数が増えるほど増加したが、これを超えると減少に転じた（Fig. 9）。この結果は、加入尾数が非常に多い年級の場合、加入尾数が多いほど1歳時の親魚量が多くなるとは限らないことを示唆している。

1-4歳時の親魚量の合計も、加入尾数15億尾までは増加し、17億尾までは減少した。本種は5歳魚以上までの生残が比較的少ないことから（高嶋、2016）、1-4歳時の親魚量の合計を各年級の生涯親魚量と見なせる。本研究の仮想的な計算結果から、加入尾数の非常に多い年級においては、1歳時の成熟率の低下にともなう親魚量の減少によって、加入尾数が増えるほど生涯親魚量が増えるとは限らないことを示唆している。したがって、親魚量を確保して加入尾数を増やし、さらにその加入尾数から親魚量を増やすことを狙う資源管理において、加入尾数の非常に多い年級は、さらに親魚量を増やすことに貢献しない可能性に注意する必要がある。ただし、実際の資源の親魚量は本研究で一定と仮定した漁獲係数Fの影響も強く受けると考えられる。なお、17億尾を超える加入については、加入尾数と体重の関係および加入尾数と1歳魚の成熟率の関係が不明なため本研究では計算できな

かったが、そのような非常に多い加入尾数は1985年以降ほとんど見られていない（坂口ら，2018）。

以上の結果を踏まえて、ホッケの資源管理効果の検証のために親魚量を推定するにあたっては、年による体重と成熟率の変化を考慮することが重要と考えられる。

本研究でホッケの親魚量を求めるとき、資源尾数と成熟率は雌雄で同じと仮定した。しかし、大型で高齢の個体ほど雌の割合が高くなることが経験的に知られている。また、雄の成熟率が雌と同じとは限らない。今後の課題として、雌雄別の資源尾数と成熟率と体重を求め、親魚量を雌雄別々に算出してから合算する方法や、産卵量をより反映させるために雌のみの親魚量を推定する方法も検討する必要がある。

謝 辞

本研究では道総研水産試験場の歴代のホッケ担当者が収集したデータを用いた。ここに記して感謝する。本研究の一部は水産庁委託「我が国周辺水域資源評価等推進事業」の一環として行われた。

引用文献

- 星野昇, 坂口健司, 鈴木祐太郎. ホッケの生態に応じたサイズ選択漁獲の可能性と問題点. 月刊海洋 2017; Vol.49 No.9: 497-503.
- 入江隆彦. 7. ホッケ道北群でのコホート解析. 「水産学シリーズ46 水産資源の解析と評価 その手法と適用例（石井丈夫編）」恒星社厚生閣, 東京, 1983; 91-103.
- 入江隆彦. 北部日本海海域のホッケ資源における加入量の変動と再生産関係について. 漁業資源研究会誌 西日本底魚部会報 1987; No.15: 41-52.
- 蒲原八郎. ホッケの研究（Ⅱ）産卵生態. 北水試月報

1957; 14(9): 3-23.

前田圭司, 鈴木祐太郎. 4. 新規加入量予測技術の開発. 資源管理手法開発調査報告書. 2013; 50-53.

宮口喜一, ホッケ研究グループ. 9. 北海道周辺海域のホッケの分布, 回遊. 最近のホッケの調査研究. 1983; 44-59.

Morita S. H., Morita K., Hamatsu T., Chimura M., Yamashita Y., Sasaki K., Sato T. Differential effects of the environment on the growth of Arabesque greenling (*Pleurogrammus azonus*): does rising temperature benefit young but not old fish? *Environ. Biol. Fish.* 2015; 98: 801-809.

坂口健司, 鈴木祐太郎, 秦安史. ホッケ（道央日本海～オホーツク海域）. 2017年度資源評価書. 北海道周辺における主要魚種の資源評価. 北海道立総合研究機構. 2018. <http://www.fishexp.hro.or.jp/exp/central/kanri/SigenHyoka/Kokai/>

高嶋孝寛. ホッケ道北群資源の衰退と今後の展望. 北水試だより 2012; 85: 1-6.

高嶋孝寛. ホッケ道北群資源の評価手法構築に関する研究. 博士論文, 北海道大学, 2016.

高嶋孝寛, 星野昇, 板谷和彦, 前田圭司, 宮下和士. 耳石断面観察によるホッケ道北群の年齢査定法と年齢—サイズ関係. 日本水産学会誌 2013; 79(3): 383-393.

Takashima T., Okada N., Asami H., Hoshino N., Shida O., Miyashita K. Maturation process and reproductive biology of female Arabesque greenling *Pleurogrammus azonus* in the Sea of Japan, off the west coast of Hokkaido. *Fish. Sci.* 2016; 82: 225-240.

高嶋孝寛, 品田晃良, 前田圭司. 2. 再生産関係. 資源管理手法開発調査報告書. 2013; 60-65.

コマイ卵および仔魚の正常発生過程

陳 二郎^{*1}, 吉田英雄², 桜井泰憲³

¹北海道伊達市旭町7-34

²元北海道立総合研究機構水産研究本部

³(一財) 函館国際水産・海洋都市推進機構函館頭足類科学研究所 (北海道大学名誉教授)

Normal embryonic-hatching process of saffron cod (*Eleginus gracilis*)

ARE-LANG CHEN^{*1}, HIDEO YOSHIDA² and YASUNORI SAKURAI³

¹ 7-34 Asahi-machi, Date, Hokkaido 052-0034,

² Formerly: Fisheries Department, Hokkaido Research Organization, Hamanaka-cho, Yoichi, Hokkaido 046-8555

³ Hakodate Cephalopod Research Center, Fisheries and Ocean Hakodate, 20-5, Benten-cho, Hakodate 040-0051, Japan
(Professor Emeritus, Hokkaido University)

Embryonic development and hatching process of saffron cod (*Eleginus gracilis*) were studied in their artificially fertilized eggs at water temperatures and salinity conditions. Eggs were incubated in plastic containers placed in water tanks with natural running water. Eggs failed to develop at temperature above 6°C and salinity below 8.2 in salinity. at all examined conditions. Deformed development and low hatching rate were observed at 4°C and 13~20 in salinity. These results indicate that the optimum temperature for normal embryonic development and hatching could be below 2°C with 20~25 in salinity. Embryonic development was divided into 7 stages from gastrula to 50% hatching at 2°C. At 2°C, hatched larvae's yolk was completely absorbed in two weeks. Most of the hatched larvae were normally developed and a few individuals opened their mouth just after hatching. It was confirmed that saffron cod had advanced morphogenesis at the time of hatching. Despite of normal development of eggs, their hatching rates were extremely low around 30% with gradually increasing water temperature. Natural water temperature and salinity levels in Lake Akkeshi during winter to spring period showed that environmental conditions were extremely stable until melting ice.

キーワード：塩分，コマイ，水温，発生段階，ふ化仔魚，ふ化率，卵正常発生

これまでコマイ *Eleginus gracilis* については，その生殖周期などの解析の結果，沿岸域における産卵盛期は1月であり，主に氷下の浅海域や汽水湖内に来遊し，産卵期間は海域によって多少異なるものの2~3週間と短期間に集中して産卵すると推定されている（陳ら，2005）。また，飼育下での雌は一回で全ての卵を産出することが確認されている（陳ら，2008）。しかし，産出された卵の発生から仔稚魚期にかけての分布特性や生態に関しては，現在までのところ知見は極めて乏しい。例えば，卵発生について清水・三春（1943）が卵の発生適水温を飼育下で確認した以外は，発生の記載にとどまっている（山本・

濱島，1947；Mukhacheva, 1957）。また，結氷下における産卵場でのふ化箱垂下試験（田中，1928）の結果などから，ふ化は沿岸氷の融解時，あるいはその前後の時期に起こると推定されている。加えて，その仔魚は融氷後の4月下旬以降，沿岸から沖合にかけて出現することが報告されている（北海道区水産研究所，1986）。しかし，結氷下の環境条件（水温，塩分）に対して，本種の卵はいかなる適応性をもっているかは明確にされていない。

そこで，本研究では，コマイの卵と仔魚の発生過程をより明確にするため，コマイの産卵場として知られている厚岸湖をフィールドに選り，冬期（1月）から春期（4

月下旬)にかけて, 飼育下での卵発生の形態学的記載, 卵発生速度と水温の関係, および卵の生残と水温, 塩分との関係を調べるとともに, 産卵期後の厚岸湖の環境調査も行った。

試料および方法

親魚の採集と媒精 採卵用の親魚は, 1987年1月に厚岸湖内南東部の氷下待網から得た (Fig.1)。なお, 親魚の輸送方法は産卵実験 (陳ら, 2008) と同様とし, 厚岸湖において, 約30L容量の角型プラスチック製容器に1/3~1/2ほど現場海水を張り, 1箱あたり4~5尾を収容して酸素補給なしで, 飼育実験を行う北海道区水産研究所 (現, 国立研究開発法人水産研究・教育機構北海道区水産研究所) まで輸送した。

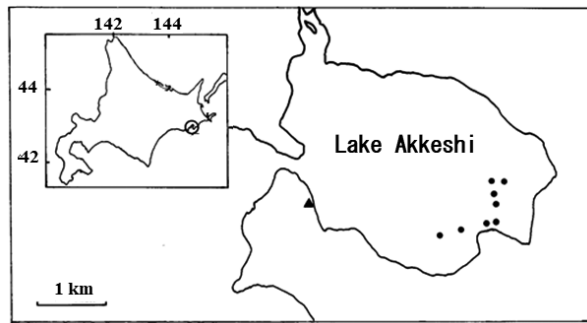


Fig.1 Map of study area showing sampling stations(circles). Triangle indicates the Akkeshi Fisheries Cooperative.

卵の媒精は, 同研究所において, 搬入した雌親魚から完熟卵を1L容量のプラスチック製ボールに必要量搾出し, 精液を少量振りかけて鳥羽で混合する乾導法により行った。これらの受精卵を, 前浜からポンプで揚水した水温0℃前後の濾過海水を満たしたアクリル製円筒10L容器に収容した。この際, 卵同士が粘着して卵塊にならないよう十分かき混ぜ, 数回の換水を繰り返して, 余分な精子や汚れを取り除いた。

卵発生とふ化仔魚の形態的特徴とステージング 卵径の計測は, 2個体の雌から搾出した未受精卵を海水で付活させて行った。卵の発生経過は, 水温変動に左右されるため, 水温調節可能でかつ最も低い2℃で受精卵を飼育し, ふ化までの観察を行った。発生卵の比重はあらかじめ調整したNaCl溶液に胚体形成以降の卵を浸漬させ, それを攪拌しながら徐々に蒸留水で薄め, 浮力0となった濃度の溶液を, 比重瓶に入れて測定した。

卵の生残と水温, 塩分との関係 飼育実験は, 北海道区水産研究所において1987年1月18日から4月24日まで行った。その実験条件の組合せをTable 1に示した。飼育容器は主に10L容量のアクリル製円筒型容器 (直径30cm, 高さ15cm) を用い, 予備として5Lの同型容器 (同24cm, 12cm) も用いた。初期発生卵に対する刺激をなるべく少なくするために, 容器の上を黒いビニールシートで覆い, 光を遮断した。水温測定は毎日行い, 塩分測定は7~10日間隔で行った。水温と塩分測定には水温・塩分同時測定器YSI-202型を用いた。

Table 1 Summary of egg survival experiment at various temperatures and salinities during egg development in 1987.

Exp. Section	The condition in water baths	Temperature mean(range) (°C)	Salinity	Number of rearing vessels and starting dates.
Relationship between temperature and survival. (In 200L containers)	No regulation (natural water flow)	0.2 (-1.1~4.4)	32.0~35.0	Jan.24(A) (B)
		0.7 (-0.8~4.4)		Feb.1(A)
	Maintained by thermoregulator	2.0±0.2	32.0~35.0	Jan. 24(A) (B)
		4.0±0.2		Feb.1(A) (B)
		6.0±0.2		Jan. 24(A) (B)
Relationship between salinity and survival (In 1000L container)	No regulation (natural water flow)	0.5 (-0.8~4.4)	8.0±0.2	Jan. 24(A) (B)
			32.3~32.6	Jan. 18(A)
			25.3~26.0	Jan. 18(A)
			19.7~19.9	Jan. 18(A)
			13.3~13.5	Jan. 18(A)
			8.2	Jan. 18(A)

A: 10L container B: 5L container

水温別の実験区の恒温槽は、次のように設定した。200L容量のプラスチック製水槽6基のうちの1基に、天然状態の水温を想定して、自然海水を常時流し続けた（0℃区）。自然海水温は厚岸湖内よりやや高めの-1.1～0.0℃で推移し、4月からプラスに転じた。実験開始から終了までの平均水温は0.2℃であった。他の5基は閉鎖止水式とし、すべてに500Wヒーターとサーモスタットを配した。これらの恒温槽に受精卵を入れたアクリル容器を収容した。塩分は実験期間を通じて32～35に保った。卵を各容器に収容後、2～4時間かけて恒温槽を2, 4, 6および8℃の水温に調節した。

塩分別の実験区の恒温槽として、1,000L容量の角型FRP製水槽を1基用い、飼育水温を天然状態に近くするため自然海水を流入させた。そこへ、濾過海水を蒸留水で希釈して、25.3～26.0（80%海水）、19.7～19.9（60%海水）、13.3～13.5（40%海水）、および8.2（20%海水）の4段階と、無希釈の32.3～32.6（100%海水）の計5段階の塩分を設定した水温別実験と同様の容器を設置した（Table 1）。本実験に用いた卵の媒精は、あらかじめ各実験区の塩分に調節した水温0℃前後の濾過海水中で行った。

収容卵数は、各容器の底面に夜光性塗料で描いた1辺2.5cmの升目を利用して算出した。卵数は、10L容器で3,000～8,000個、5L容器で1,300～1,600個であった。定期的に各容器から100～200個の卵を採取し、発生途中における生残率、ふ化率、発生速度および発育段階と水温、塩分の関係を調べた。卵の観察において、卵が白濁するなど明らかに死亡と断定された以外に、発生が停止もしくは胚に奇形がみられたときにも、死亡とみなした。換

水は4℃以上の実験区では毎日、2℃区では3日おき、0℃区では1週間おきに行った。また、0℃区における各容器中の水温は、流水と容器の位置などの影響によりわずかに異なっていたため、卵の形態観察は平均水温の最も低い区を選んで行った。ふ化開始以降は卵の採取を止め、仔魚を毎日1回採取し、1日のふ化個体数、体長、奇形の有無等を調べた。

厚岸湖の環境調査 コマイ卵や仔魚の生育環境要因として、水温と塩分を調べた。調査時期と地点は、室内実験の合間を選んで（1～7日間隔）、また結水が安定している2月から3月上旬には親魚採集時と同じ氷下待網漁場において、さらに天候悪化時や漁協の休日および漁終了後は厚岸漁業協同組合地先の岸壁において、水銀温度計とYSI-202型を用いて行った。測定水深は表面から0.3～0.5m程度とした。

結 果

卵発生とふ化仔魚の形態的特徴 未受精卵は透明感のある淡黄色を呈し、形状はほぼ球形であった。2個体の雌から搾出した未受精卵の卵径は、それぞれ $1.01 \pm 0.03\text{mm}$ （平均±標準偏差 $n=14$ ）および $1.03 \pm 0.03\text{mm}$ （同 $n=30$ ）で、0.97～1.06mmの範囲であった。受精後、卵径は1.09～1.13mmに増大し、やや不透明な黄色を呈した。受精後の卵には若干の粘着性がみられた。受精後1時間で原形質はレンズ状となって囲卵腔に突出し、胚盤が形成された。Fig.2に卵の正常発生の特徴を、また以下に時間経過とふ化仔魚（時間、および日数）の形態を要約して示した。

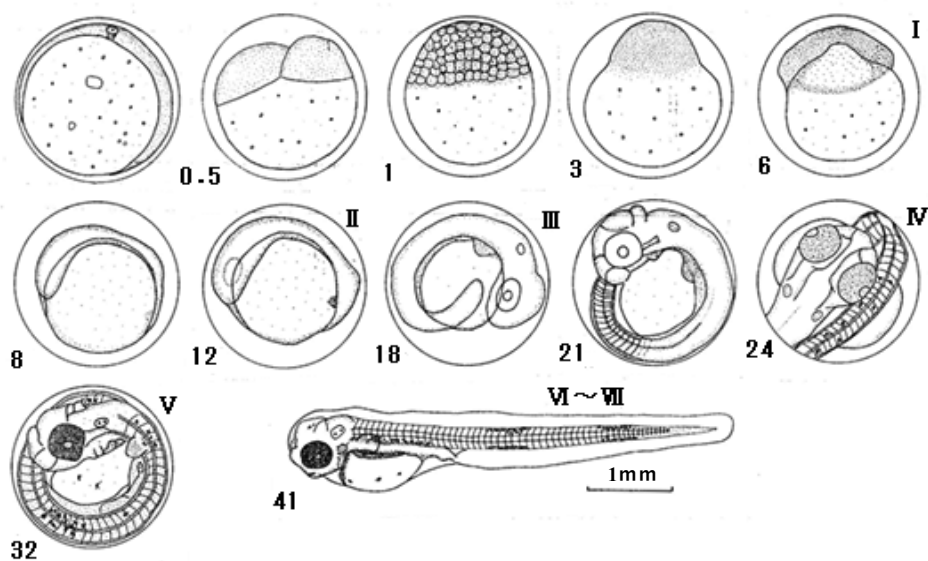


Fig.2 Embryonic developmental stages and hatched larvae at 2℃ . Roman and Greece numbers indicate days after fertilization and developmental stages.

11～12時間：2細胞期

24時間：16細胞，一部は32細胞

30時間：桑実胚期

2日：胞胚期 陥入が始まる前までは極めて物理刺激に弱く，特にこの時期には検鏡中胚が壊れる現象がみられた。

5日：初期囊胚期 胚盤は卵黄をキャップ状に覆うような形となり，陥入を開始する。

6日：胚盤は卵黄の1/2を被覆する。

7日：原口が閉鎖し，その痕跡が残る程度であり，神経溝が観察される。

10日：胚体が卵黄上に膨出し，体節の分化が不明瞭ながら認められる。この頃から眼胞色素沈着が進むまでの間，卵膜は不透明な淡褐色となる。

12日：眼胞原基の輪郭が認められ，クッパー氏胞の形成が始まる。胚は卵黄の約2/3周をおおう。

14日：胚は卵黄を3/4周する。

18日：胚は卵黄を0.8～1.0周する。レンズ，耳胞が明瞭となり，クッパー氏胞はすでに消失し，尾部が卵黄から離れている。体幹部に体節が20個程度数えられる。

20日：胚は卵黄をほぼ1周し，尾部は卵黄からはなれてやや横を向く。心臓原基は頭部中央腹面の卵黄内に突出し，後頭部がやや盛り上がる。比重は1.088（9.8℃）である。

21日：胚は卵黄を1.1～1.2周し卵黄は透明化が進む。顕鏡下で温度が上がると胚がやや律動する。脳は分化が進んでいるが，色素の沈着はまだ認められない。

24日：胚は卵黄を1.3～1.4周し，心臓は完全に卵黄内に突出し，2心室構造となり活発に鼓動している。色素胞は眼胞，および肝臓原基から後方の体側面に散在する。比重は1.071～1.079（11.5℃）である。

28日：胚は卵黄を1.5周する。眼胞の色素は沈着が進んで濃褐色を呈し，肉眼でもはっきり認められる。頭部はよく発達し，頭高は卵径の35～40%に達する。比重は1.062～1.066（11.5℃）である。

31日：胚は卵黄を1.7～1.8周する。眼胞の色素はほぼ完全に沈着し，頭高は卵径の50%近くに達する。星状色素が体側面に点在するが，特に肝臓原基から尾柄に至るまでの2ヶ所に集中している。

39日：顕鏡下で水温が上がると仔魚がふ化する。

41日：ふ化が始まる。

49日：50%がふ化する。

卵の発生速度と水温との関係 卵発生速度と水温の関係

を明らかにするため，前項の記載に基づいて，各水温条件下での卵発生過程を比較した。発育区分の基準としては，胚体の発達程度（卵黄を何周しているか）や色素の沈着状態を採用した（Fig.2）。

I. 初期囊胚期

II. 胚は卵黄を2/3周し，眼胞原基，クッパー氏胞が認められる。

III. 胚は卵黄を1周する。

IV. 眼胞に色素が沈着を開始する。

V. 胚は卵黄を1.7～1.8周し，眼胞には色素が完全に沈着している。

VI. ふ化を開始する。

VII. 50%がふ化する。

ふ化時の様子と仔魚の形態的な特徴を以下に記載する。

ふ化直前とみられる卵を顕鏡下におくと，水温が上がるため卵径はやや増大し，茶褐色の卵膜は透明化して，仔魚がふ出した。Table 2にふ化率が比較的高く，奇形が5%以下とみられた実験区における仔魚の体長を示した。ふ化直後の体長は実験条件によって異なるが，平均して5.39～5.82mmであった。正常ふ化した仔魚の形態をFig.3Aに図示した。ふ化直後の仔魚の体型は尾部が腹側もしくは背側方向へ曲がり，楕円体の卵黄嚢を持っていた。胸鰭はすでに形成され，膜鰭は前頭部から始まって，尾端をまわって腹側に連なり，卵黄後部に終っていた。肛門は卵黄嚢のやや後方に開口していた。黒色素胞は眼に完全に沈着し，点状あるいは樹枝状の色素が卵黄嚢，消化管に接した体側下縁に散在していた。また，尾部の2ヶ所の背腹側にやや密に分布し，色素叢を形成していた（Fig.3A）。ふ化直後とみられる個体の口は，閉じているもの（Fig.3 A-1），中にはすでに開口しているものも認められた（Fig.3 A-2）。卵黄が完全に吸収される

Table 2 Body length(mm) of newly hatched saffron cod larvae at various incubated conditions

Incubation temp. ℃ and sal.	No. of larvae	Body length(mm)		
		mean	S.D.	range
0.2(-1.1～4.4) 31～33	33	5.51	0.09	5.30～5.65
0.7(-0.8～4.4) 31～33	43	5.65	0.20	5.22～6.04
	78	5.82	0.18	5.39～6.15
0.5(-0.8～3.8) 25.3～26.0	78	5.77	0.20	5.39～6.23
2.0±0.2(*) 31～33	59	5.39	0.13	5.07～5.78

(*): Maintained at 2℃ by thermostat.

までの期間は2℃で約2週間であった。

卵黄吸収が進んだ仔魚あるいは完全に吸収した仔魚の平均体長は5.94mm (range 5.68~6.21) で、尾部の2ヶ所の色素叢は発達し、腹面で色素胞が連続している個体も認められた。下顎は上顎よりも突出し、開閉運動がみられた。

卵の発生速度と水温との関係 7つの発生段階と、各飼育水温条件下 (0, 2, および4℃区) における受精後の所要日数とを対応させた結果をFig.4に示した。これより発生速度はこの水温範囲内においては高温ほど速くなることが明らかとなった。なお、次節のFig.6に示すように、外部流水の水温下における実験条件区 (0℃区) では、50%ふ化に至るまでの期間の平均水温は0.2℃であった。

卵の生残と水温との関係 5段階の水温 (Table 1) における受精率は、97~100%でほぼ正常であった。このうち、6℃と8℃の実験区では、すべて16細胞期以降に割球の大きさが不規則になるなど卵割に異常がみられ、2~3日で全て死亡した。一方、受精後正常に卵割が進んだ卵がみられたのは、0℃, 2℃ および4℃の実験区であった。Fig.5に、これらの実験区における生残率の推移を示した。これらの実験区では、受精から桑実胚期にいたるまでに、全体の5~10%の受精卵が死亡した。このうち、0℃および2℃区では、胞胚期以後からふ化に至るまで死亡卵はほとんどみられず、生残率は90%を保っていた。また、0℃および2℃区におけるふ化仔魚はすべて形態的

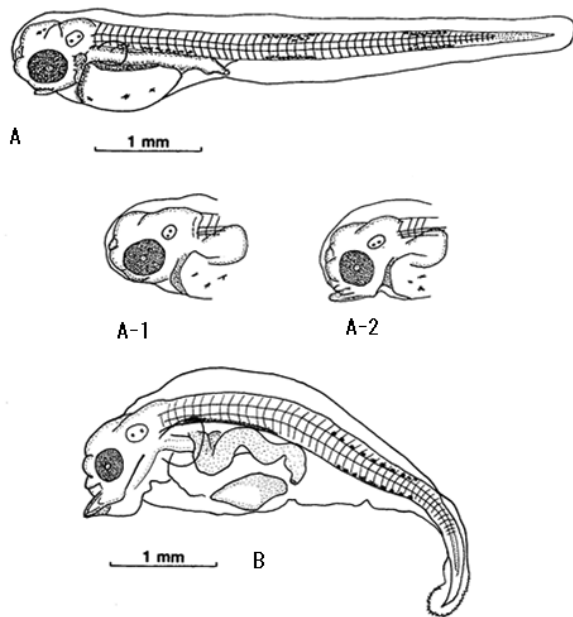


Fig.3 (A) Normally hatched larvae. (A-1) Larvae's with closed mouth. (A-2) Larvae with opened mouth. (B) Abnormally hatched larvae at 4℃.

に正常であったが、ふ化率は0℃区で25.5~35.1%, 2℃区で11.5~16.8%と比較的低かった。さらに0℃区におけるふ化開始は、流水水温の上昇期とほぼ一致していた (Fig.6)。

これに対して、4℃区では16細胞期まで上記2実験区と同様、正常に卵割していた。ただし、胞胚期の段階で割球の大きさが不規則な卵が出現し、生残率は陥入が始まった時点で40~50%に、発眼時では7~10%程度になり、残りは眼胞欠損、色素未沈着および頭部矮小などの奇形卵か死卵であった。このため、ふ化率も2.4~3.0%と極めて低く、かつふ化仔魚の中で形態的に正常なものは2%に満たなかった。なお、奇形仔魚には体幹や脊索の湾曲、膜鱗の摺曲、色素分布の異常などが多かった (Fig.3-B)。

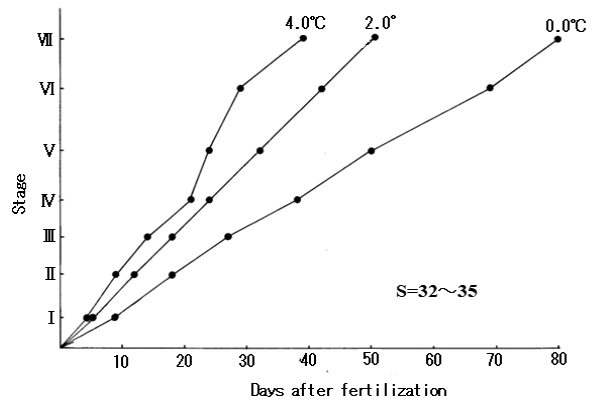


Fig.4 Relation between the embryonic developmental stages and the days after fertilization at different temperature conditions at 32~35 in salinity.

I : Gastrula, II : Appearance of optic vesicle, III : Embryo at the yolk circumference, IV : Appearance of pigments in eye, V : Head height as the radius of egg, VI : 1st hatching, VII : 50% hatching,

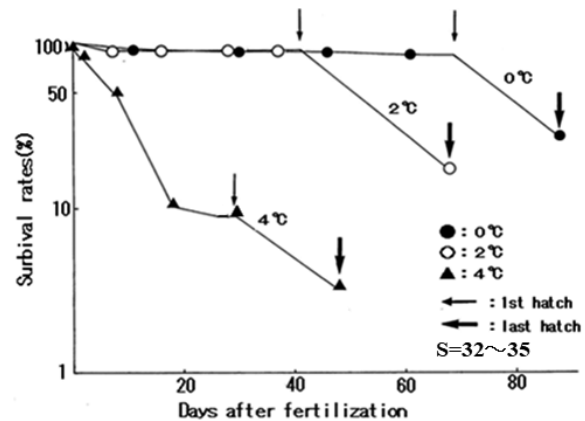


Fig.5 Relationship between egg survival rates and the days after fertilization at different water temperatures.

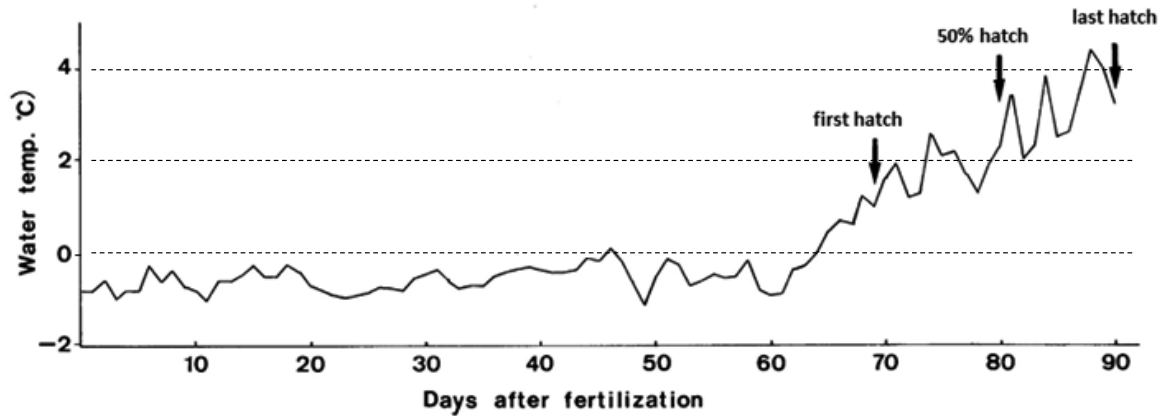


Fig. 6 Water temperature during experiment and hatching at non-regulated water flow.

卵の生残と塩分濃度との関係 水温条件をほぼ一定として、塩分濃度が卵の受精率と発生にどの様に影響するかを調べた (Table 1)。本実験での受精率は塩分32.6区で100%, 25.7区で99%, 19.8区で95%, 13.4区で91%, さらに8.2区では90%と20以下の低塩分ではやや低下する傾向がみられた。

これら5実験区のうち、もっとも塩分濃度の低い8.2区において、卵割までに全卵が死亡した以外は、すべての区でふ化まで達した。Fig. 7に塩分別の生残率の推移を示した。これらの4実験区では、水温の実験と同様、桑実胚期にいたるまでに全体の3~10%の初期死亡がみられた。このうち32.6, 25.7, および19.8区においては、その後ふ化に至るまで途中死亡卵がみられず、90%前後の生残率を保っていた。しかし、19.8区では前2区と比較して、胚体形成期において胚体や心臓の発達に遅れがみられた。

これに対して13.4区では、胚体形成の後期、すなわち

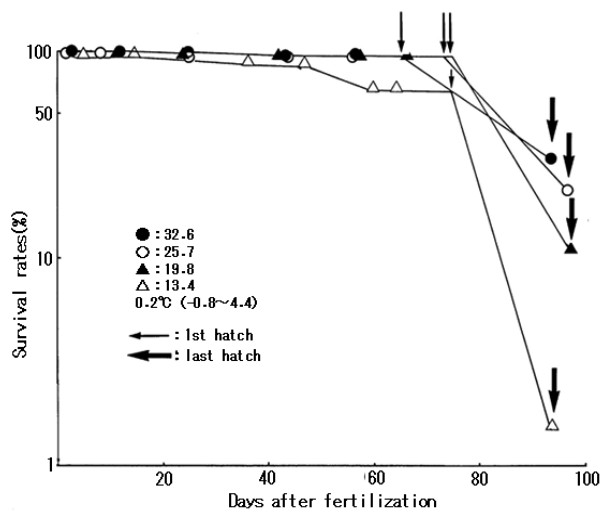


Fig. 7 Relationship between egg survival rates and the days after fertilization at different salinities.

眼胞に色素沈着が始まる頃から、死卵、あるいは頭部が矮小である、心臓が未鼓動、胚体の色素が未発達などの形態異常が多くみられた。また、ふ化開始期における生残率も約65%と、19.8以上の塩分の実験区に比べて低下した。

ふ化率は前項の実験同様、全体として低く、32.6区で29.5%, 25.7区で21.2%, 19.8区で10.9%および13.4区で9.5%と低塩分になるほど低下した。ふ化仔魚は塩分濃度19.8以上の実験区では形態的に正常であった。しかし、13.4区では大部分の仔魚に脊索が屈曲していたり、卵黄の形

Table 3 Water temperature and salinity in Lake Akkeshi during experiment in 1987

Period Feb.~Apr.	Water Temp. °C	Salinity	Stations
Feb. 2	-1.7	31.0	Hole in ice
Feb. 7	-1.7	27.2	Hole in ice
Feb. 10	-1.7	29.3	Hole in ice
Feb. 13	-1.8	31.5	Hole in ice
Feb. 20	missing	31.2	Hole in ice
Mar. 5	-1.7	30.4	Hole in ice
Mar. 5	-1.5	30.3	Ice free area
Mar. 8	-0.7	28.9	Ice free area *)
Mar. 15	0.1	31.9	Ice free area
Mar. 17	-0.4	27.7	Ice free area
Mar. 21	-0.1	26.1	Ice free area **)
Mar. 24	0.2	14.6	Ice free area *)
Mar. 25	0.6	30.0	Ice free area
Mar. 26	1.6	23.4	Ice free area
Mar. 27	1.3	23.1	Ice free area
Apr. 2	0.4	28.1	Ice free area
Apr. 5	2.6	28.1	Ice free area
Apr. 6	3.0	27.0	Ice free area
Apr. 7	1.1	30.7	Ice free area
Apr. 9	2.5	29.5	Ice free area
Apr. 12	2.0	28.7	Ice free area
Apr. 14	1.1	30.7	Ice free area
Apr. 15	2.5	29.5	Ice free area
Apr. 17	2.0	28.7	Ice free area

*) Stormy weather

***) Heavy rain

が球形であったりするなどの奇形がみられ、形態的に正常なものはふ化仔魚のうちの1.5%にとどまった。

なお、前節も含めた全ての実験において、胚体期を通じて形態的に正常であったにもかかわらず、ふ化しなかった卵（水温別実験の0℃、2℃区、および塩分濃度別実験の32.6、25.7および19.8区）の大部分は、卵内で卵黄を吸収したまま死亡していた。

産卵場とその環境 実験期間中の厚岸湖における水温、塩分濃度の記録をTable 3に示した。漁期間中の3月上旬までの水温は、概ね-1.8~-1.7℃で安定していた。3月5日には結氷していない漁業協同組合地先で-1.5℃とやや高めであった。水温はマイナスからプラスに転じ、4月中旬には2~3℃まで上昇していた。

塩分は、結氷下では27~31と外海より低い値で推移し、融氷が進むとさらに低下した。また外海が荒れたり、大雨が降ると低下変動する傾向がみられた。

考 察

本種の発生卵は、山本・濱島（1947）が記載しているように、囊胚形成の段階で胚環、胚循、さらに胚体の輪郭が不明瞭であることが、外観上の特徴の一つである。また、受精卵の比重は1.06~1.08で、これは海水よりも約1.05倍大きく、普通の海水中では速やかに沈降することが示唆される。

水温4℃、塩分20以上の実験区では、ふ化仔魚の体長は5.0~5.8mmで、眼胞に色素が完全に沈着し、胸鰭が発達して口や肛門が開くなど、体器官がかなり発達した状態でふ出することなどで共通していた。この結果は、一定水温にて卵の飼育を行った清水・三春（1943）の報告とほぼ一致している。しかし、過去に行われた山本・濱島（1947）、Mukhacheva（1957）の記載によるふ化時のコマイ仔魚は、本研究結果よりも形態的に未発達（孵化体長は2.5~3.8mm、口、肛門は開いていない）である。これらの記載は、いずれも水温調節のない実験条件のもとでなされており、その水温範囲からみて、ふ化時の水温は天然状態よりも、相当高くなっていたと推測される。このように、高温のもとで胚期を過ごした結果、卵は早期に未熟な状態でふ出したものと考えられる。したがって、むしろ天然かそれに近い本実験の条件下においては、正常なふ出がおこなわれたと結論できる。一方で、本実験において最もふ化率が高かった0℃区の水温は、0℃から3℃前後まで昇温するのに20日程度要し、水温変化による刺激が少ないと考えられた（Fig.6）にもかかわらず、ふ化率は25.5~35.1%と比較的低く、しかも卵内で卵黄を吸収したまま死亡するものが多かった。また、水温を

一定にした他の実験区では、卵のふ化率がさらに低く、正常発生していた卵がふ化できないような傾向がみられた。これらの結果から、水温上昇速度がふ化に何らかの影響を及ぼしている可能性がうかがわれる。

清水・三春（1943）は、桑実胚期の発生卵を用いて、1℃から20℃の様々な水温条件で卵を飼育したところ、4.6℃以上では奇形、死亡が急増することを報告している。本実験においても、受精からふ化までの過程における卵の生残率は、2℃以下の水温で高く、4℃では心臓の鼓動開始までに全体の90%が死亡するか奇形となり、6℃以上では受精後2日以内に全滅に至った。したがって、コマイ卵の全発生期間を通じた適水温は2℃以下であると結論され、極めて寒冷な海域での再生産に適応した特徴と見なすことができる。

一般に、卵割開始から原口閉鎖までの発生段階は、振動などの物理的衝撃や水温変化に対して弱いことが知られている（岩井・柏木，1989）。コマイの場合、受精直後から2~4時間にわたって加温を続け、その結果上記のように6℃以上で死亡し、4℃でも死亡率が高く、死卵の多くは陥入開始から心臓鼓動開始までの間に集中していた。これらのことは、卵の発生初期に高水温が強い影響を与えたことを示している。卵の正常発生と水温との関係は、他のタラ科魚類においても観察されているが、その適温範囲はそれぞれスケトウダラ：0~10℃（中谷・前田，1984）、マダラ：6~7℃（山本，1939）、Atlantic cod：2~10℃、haddock：4~10℃（Laurence and Rogers，1976）、Arctic cod：-1.0~3.0℃（Sakurai *et al.*, 1998）などである。特に、卵割期のAtlantic codの卵は1.5℃以下では死亡しやすく（Thompson and Riley, 1981）、マダラの卵は-0.5~1.5℃の飼育水温では、ふ化に至っていない（山本・西岡，1952）。また、中谷・前田（1984）は、卵割期において飼育水温を4℃から-1℃に下げたスケトウダラ卵のふ化率は、一定水温のものに比べて極めて低いことを報告している。このように、同じ亜寒帯性のタラ科魚類においては、コマイとは逆に発生初期において低水温に対して脆弱な傾向がみられる。これらの適温条件の違いから、コマイは繁殖習性を含めて他種と比べ、ホッキョクダラ（Sakurai *et al.*, 1998）に近い極域魚類の特徴が強いことが示唆される。Fig.8において、2℃における本種の卵の発育段階について同水温におけるスケトウダラ（Hamai *et al.*, 1971）のそれと比較した。同図から明らかなように、コマイのふ化日数は50日とスケトウダラの27日に比べてかなり長かった。しかも、心臓が鼓動を開始してからふ出に至るまでの期間が、全発育期のかなりの部分を占めていた。このことは、ふ化直後から遊泳活動、摂食活動が可能のように、形態形成に胚発生期間

の多くが費やされていることも本種の特徴と考えられる。さらに, Chen and Mishima (1986) は, 飼育下における本種の標準代謝量を調べて, 低水温において他の温帯性魚類よりも酸素消費量が高いことを明らかにし, 生理学的にも極域に適応した魚種の特徴を備えていることを指摘している。

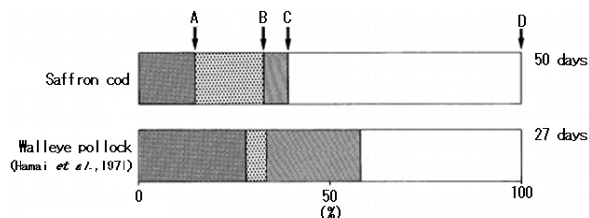


Fig. 8 Comparison of 50% hatching days of saffron cod and walleye pollock at 2 °C and ratios of number of days required to reach at each stages. A: Closure of blastopore, B: Formation of lens, C: Pulsation of heart, D: 50% hatch.

塩分濃度に関する実験での卵の受精率は, 塩分が25以上の場合ほぼ100%であったが, 20以下になると漸減した。一方, 50%ふ化日数は塩分濃度の低下と共にやや長くなったものの, せいぜい数日であり, 発生速度への影響は水温と異なり非常に小さいとみられた。卵の生残と塩分との関係において, ふ化まで達した5実験区のうち, 死卵や発生途中の奇形卵は, 最低塩分の8.2区のstage IV以降に集中して生じていた。また, 19.8区では死亡こそなかったが, 25.7および32.6区と比べて胚の発達程度が遅れていた。さらに, 最終的な卵の生残率も低塩分区ほど低下していた。これらのことから, コマイ卵が正常発生するためには, 前述した水温条件2℃以下において, 20~25以上の塩分が必要と判断された。

厚岸湖は面積32km²の比較的小さい湖で, 数本の“滞筋”以外は平均2mの浅い汽水湖である (濱原ら, 2002)。湖内の環境調査は, 水温と塩分変化の一端を調べただけではあるが, 3月からの水温上昇期には, 3月下旬の大雨で低塩分となるなど, 20~30で変動する傾向がみられた。また, 厚岸湖には別寒辺牛川という比較的大きな河川が流入している。融氷に加えて, こうした淡水による外部要因の変動もコマイ卵のふ化とその生残に影響を与えている可能性もある。今後, 産卵場とされる湖沼の環境をより詳細に調査し, また, 氷点下における実験条件を厳密に調整する必要がある。

謝 辞

本研究を実施するに当たり, 資料採集等にご協力いた

だいた北海道区水産研究所 (現, 国立研究開発法人水産研究・教育機構北海道区水産研究所), 厚岸漁業協同組合の職員の方々, および英文校閲と貴重な助言をいただいたDharmamony Vijai博士に深く感謝の意を表す。

引用文献

- Chen AL, Mishima S. Oxygen consumption of saffron cod, *Eleginus gracilis* (Tilesius). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 1986; 37(4): 303-308.
- 陳 二郎, 吉田英雄, 桜井泰憲. 北海道周辺海域におけるコマイの成熟, 生殖周期及び産卵期の特徴. 北水試研報 2005; 68: 45-64.
- 陳 二郎, 吉田英雄, 桜井泰憲. 水槽内で観察されたコマイの産卵行動. 北水試研報 2008; 73: 35-44.
- Hamai I, Kyushin K, Kinoshita T. Effect of temperature on the body form and mortality in the developmental and early larval stages of the Alaska pollack, *Theragra chalcogramma* (Pallas). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 1971; 22: 11-29.
- 濱原和弘, 福山龍次, 斎藤 修, 藤田隆夫, 有末二郎. 環境基準未達成原因解明調査報告-厚岸湖-. 北海道環境科学センター所報 2002; 29: 67-72.
- 北海道区水産研究所. 北海道周辺海域に分布するスケトウダラ並びに底魚類の資源量調査報告. (昭和57,58年度) 1986; 276pp.
- 岩井寿夫, 柏木正章. 発生の孵化管理. 「水族繁殖学 (隆島忠男, 羽生功編)」緑書房, 東京, 1989; 195-238.
- Laurence GC, Rogers CA. Effects of temperature and salinity on comparative embryo development and mortality of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. and haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. *J. du Conseil* 1976; 36: 220-228.
- Mukhacheva VA. Notes on the development of the Far eastern navaga. *Trudy inst. Okeanol.* 1957; 20: 356-370. (in Russian)
- 中谷敏邦, 前田辰昭. スケトウダラ卵の発生に対する水温の影響及びその浮上速度について. 日本水産学会誌 1984; 56: 937-942.
- Sakurai Y, Ishii K, Nakatani T, Yamaguchi H, Anma G, Jin M. Reproductive characteristics and effects of temperature and salinity on the development and survival of eggs and larvae of Arctic cod (*Boreogadus saida*). In: Ontani et al (eds). Oyashio region and Bering Sea ecosystems. *Mem.Fac.Fish.Hokkaido.Univ.* 1998; 44: 77-89.

清水二郎, 三春平蔵. 氷下魚の孵化温度. 北水試事業旬報 1943 ; 574 : 4.

田中林蔵. 根室に於けるコマイの養殖指導. 北水試事業旬報. 1928 ; 17 : 179-180.

Thompson BM, Riley JD. Egg and larval development studies in the North Sea cod (*Gadus morhua* L.) *Rapp. P-V. Reun. Const. int. Explor. Mer.* 1981 ; 178 : 553-559.

山本護太郎, 西岡丑三. マダラの発生並びに孵化幼生の飼育. 日水研創立3周年記念論文集 1952 ; 301-308.

山本喜一郎, 濱島清正. 日本産コマイ及びスケトウダラの卵及び仔魚の形態に就いて. 生物 1947 ; 2 : 172-177.

山本孝治. 朝鮮産タラ卵の発生に及ぼす水温の影響に就いて. 朝鮮総督府水産試験場業績 1939 ; 29-35.

水温・塩分濃度の変化がコマイ卵の後期卵発生過程とふ化に及ぼす影響

陳 二郎^{*1}, 吉田英雄², 桜井泰憲³

¹北海道伊達市旭町7-34

²元北海道立総合研究機構水産研究本部

³(一財) 函館国際水産・海洋都市推進機構函館頭足類科学研究所 (北海道大学名誉教授)

Effects of various temperature-salinity conditions on post embryonic-hatching process of Saffron cod (*Eleginus gracilis*)

ARE-LANG CHEN^{*1}, HIDEO YOSHIDA² and YASUNORI SAKURAI³

¹ 7-34 Asahi-machi, Date, Hokkaido 052-0034

² Formerly: Fisheries Department, Hokkaido Research Organization, Hamanaka-cho, Yoichi, Hokkaido 046-8555

³ Hakodate Cephalopod Research Center, Fisheries and Ocean Hakodate, 20-5, Benten-cho, Hakodate 040-0051, Japan
(Professor Emeritus, Hokkaido University)

The post embryonic-hatching process of saffron cod *Eleginus gracilis* was examined at 28 different temperature-salinity conditions ranging from -1.3 to 3.3°C and from 10 to 33‰. Our results indicate that the relationship between temperature and the number of days to 50% hatching was exponential. The hatching process observed at constant conditions (< 0°C, 32~35‰) as well as increasing temperatures (1.3~3.3°C) or decreasing salinities (10~20‰) indicate that the advanced developmental stages were acclimated to higher temperatures rather than salinity dilution. Complete yolk absorption of hatched larva occurred within 19 days at 1°C and 13 days at 3°C. Artificially fertilized eggs incubated in suspended basket and transplantation in Lake Saroma, developed up to stage IV~V in 43~51 days in the beginning of March, and up to stage V in 66 days by late March. Natural water temperature gradually increased from below zero and abruptly reached around 3°C in the middle of April. Their normal hatching period was supposed to 80 to 100 days. Laboratory analysis and field results indicate that increase in water temperature triggers early hatching of saffron cod and occurs simultaneously with melting of ice.

キーワード：塩分希釈, ふ化率, 地蒔き, コマイ, 卵発生, 卵収容バスケット, 水温, 水温上昇

陳ら(2018)は、厚岸湖で採取したコマイ親魚を活魚輸送し、実験室内で人工受精した卵を用いて、水温と卵の発生速度および水温、塩分と発生卵の生残との関係を調べた。その結果、卵の正常発生に適切な水温は2°C以下、塩分は20~25以上であることを明らかにした。また、コマイのふ化日数は長く、卵の発生後期の期間がスケトウダラに比べて長いことが明らかになった。しかし、自然海水の「かけ流し」を使用したことにより、実際の結氷下の安定した氷点下水温(-1.8~-1.5°C)を想定した飼育実験を行えなかった。また、結氷環境下から融氷時にかけての水温と塩分の変化がふ化に与える影響は不明のままである。

そこで本研究では、安定した氷点下水温を維持できる実験装置を用いることで氷点下環境にごく近似した状態を再現し、氷点下水温と発生速度、発生卵の生残と水温および塩分濃度と発生卵の生残との関係を調べた。さらに、発生卵の後期ステージにおいて卵に様々な組み合わせによる水温、塩分変化を与えて、卵発生からふ化までの間の最適な水温と塩分を調べた。これと並行して、経時的に環境測定が可能なサロマ湖で、冬期(12月)から春期(4月下旬)にかけての産卵場の環境調査、人工受精卵の氷下における垂下バスケットへの収容および地蒔きによる現場での発生試験を行った。

試料および方法

水温, 塩分の調査および塩分測定方法 コマイの産卵場における冬季から春季間の水温, 塩分濃度の推移について, 1987年12月から1988年4月までの期間, サロマ湖北東部の栄浦沖の水深10~12mの地点の深度8m (Fig.1) に垂下された海況調査用の設置型自記流向流速計 (型式MTCM-5, ACM-4) からデータを得て水温, 塩分の経日変化を求めた。塩分測定値は電気伝導度を介しているため無単位であるが, 後述する室内実験においては, 赤沼式比重計を用いたため‰で表示した。

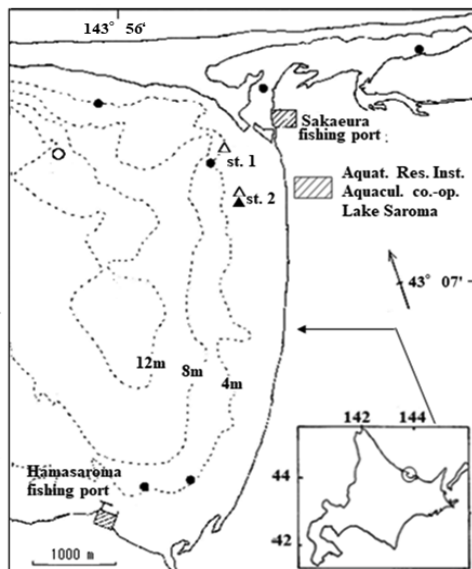


Fig.1 Sampling and experiment stations in Lake Saroma.

- : Sampling stations (Set net)
- : Water temperature, salinity and current meters
- ▲ : Experiment station (incubation baskets st. 2)
- △ : Experiment station (transplantation st.1 and 2)

親魚の採集, 輸送, 受精方法および卵の輸送 採卵用の親魚は, 1988年1月20日および26日にサロマ湖北東部の栄浦, 南東部の浜佐呂間の氷下待網から得た (Fig.1)。なお, 親魚の輸送方法は, 前報 (陳ら, 2018) における実験と同様に行った。

コマイの人工受精は, サロマ湖養殖漁業協同組合サロマ湖養殖調査研究センターにおいて, 搬入した雌親魚から必要量の完熟卵を1L容量のプラスチック製ボールに搾出し, 精液を少量振りかけて鳥羽で混合する乾導法により行った。これらの受精卵を, 濾過海水を満たした10L容器に収容し, 卵同士が粘着して卵塊にならないよう十分かき混ぜ, 数回の換水を繰り返して, 余分な精子や汚れを取り除いた。

洗浄した受精卵を, 海水で湿らせた20×30cmのガー



Fig.2 Devices of captive experiment in Faculty of Fisheries Hokkaido University.

Water and cooling bath were covered by styrofoam board to keep the stable water temperature.

ゼに付着させて4~5層に重ね, 発泡スチロール箱に収容した。受精卵の周囲を氷または雪で覆うことで温度を0~2℃に保ちながら, 航空機または車で函館の北海道大学水産学部まで輸送した。なお, 本実験に使用した1月20日および26日に得られた受精卵について, 前者を“A卵”, 後者を“B卵”と呼称する。

卵・仔魚の飼育実験

1. 卵のふ化と水温, 塩分との関係 氷点下水温における卵の飼育と実験には, エチレングリコールを冷媒とした水冷式恒温槽1台 (Fig.2) を用いた。卵を水温-1.8~-1.5℃, 塩分32~35‰の止水条件で曝気を加えながら胚体形成途中 (受精後32~38日の2月27日) まで飼育し, 正常発生している卵を選別した。選別は, 卵に温度変化を与えないように, 外気を入れて室温を下げた状態で行った。選別した卵は, 1Lビーカー28個にそれぞれ360~450個の範囲で収容し, 水温-1.8~-1.5℃, 塩分32~35‰の条件下で, さらに20日間かけて胚体形成の後期まで飼育した。その後, 対照区となるビーカーを除く実験区では設定した水温もしくは塩分濃度となるように加温と希釈操作を加えた。実験の手順を, Table 1, Fig.3に示した。加温操作は, ビーカーを2基の空冷式恒温器に移し, 3日かけて (3月20日~23日) -1.3℃からそれぞれ1.3℃もしくは3.3℃まで水温を上げた。また, 希釈操作は加温操作途中から3~7日かけて (3月22日~29日), 20, 10%前後および3%以下の濃度になるまで, ピペットを用いて毎日全量の1/10あるいは1/5を脱塩素水に交換することで行った。加温・希釈後は, それぞれ実験区の水温, 塩分を維持した。対照区と希釈を行ったビーカーの塩分は, 実験終了後に比重計にて測定し, ほぼ所定の塩分にあることを確認した。なお, 換水は加温, 希釈操作を行う前

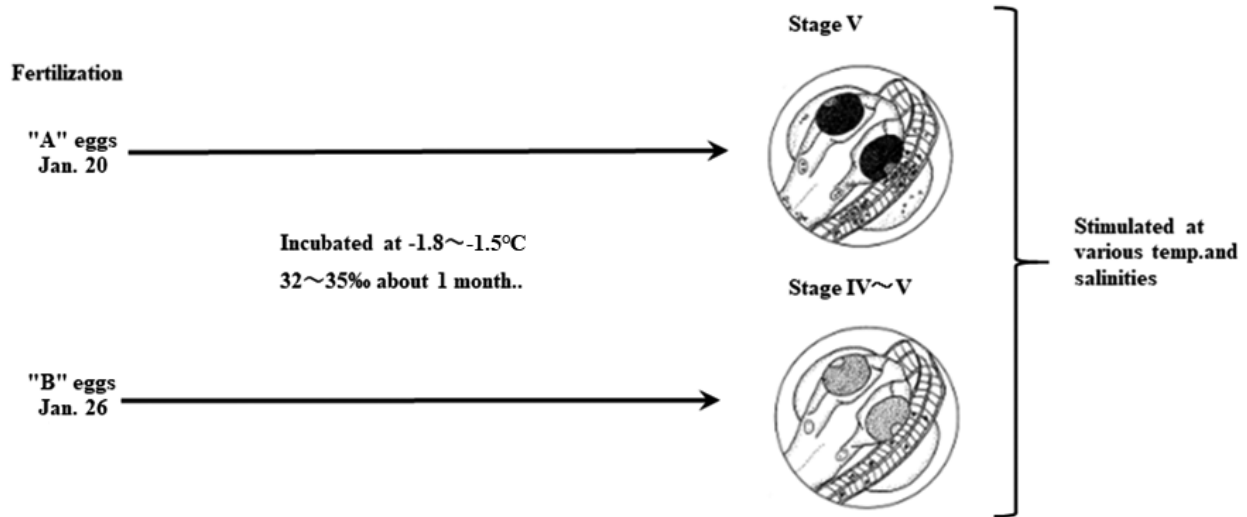


Fig.3 Summary of experimental method for temperature-salinity combinations.

Table 1 The conditions and results of the experiments to find the relation between saffron cod hatching and temperature salinity relationships. Salinity was measured by hydrometer.

Sample & Stage	Acclimated Temp. (range)	Acclimated Sal.(‰)	No. of eggs	No. of hatching	Integrated hatching rate(%)	Days for 50% hatch from acclimation (from fertilization)
Sample A	V -1.3 (-1.7~-0.4)	33.7	417	131	31.4	34(96)
		19.7	407	249	61.8	47(109)
		9.4	391	1	0.3	-
		34.4	406	317	78.1	13(75)
	V 1.3 (0.8~2.4)	34.2	360	311	86.4	14(76)
		22.5	442	334	75.6	13(75)
		12.0	404	334	82.7	15(77)
		32.9	417	304	72.9	8(70)
	V 3.3 (2.0~4.7)	32.4	435	409	94.0	6(68)
		20.8	411	74	18.0	8(70)
		11.7	403	271	67.2	7(69)
		33.8	424	2	0.5	-
	IV~V -1.3 (-1.7~-0.4)	33.6	399	116	29.1	38(96)
		19.4	417	212	50.8	58(114)
		20.3	395	256	64.8	49(105)
		10.3	430	323	75.1	43(109)
Sample B	IV~V 1.3 (0.8~2.4)	34.8	415	134	32.3	21(77)
		33.2	394	213	54.1	21(77)
		22.0	415	186	44.8	22(78)
		21.2	405	129	31.9	21(77)
	IV~V 3.3 (2.4~4.7)	11.6	432	225	52.1	22(78)
		2.5	429	0	0	-
		33.4	406	267	65.8	14(70)
		33.7	398	182	45.7	14(70)
	IV~V -1.3 (-1.7~-0.4)	21.4	451	232	51.4	14(70)
		21.1	408	276	67.6	16(72)
		11.2	403	225	55.8	14(70)
		2.3	410	0	0	-

には週1回程度行っていたが、操作終了後は蒸発分の補充にとどめた。西浜雄二氏（当時網走水産試験場増殖部魚介科長私信）によると、1987年2月5日快晴のサロマ湖水下（氷雪層70cm）水深3mにおける照度は161Luxであった。そこで、照明器具をビーカー表面が100-160Lux程度になるよう設置し、明暗周期は12L-12Dとした（明状態、9:00~21:00）。氷点下における水温は、エチレングリコールを含む自動車エンジン冷却液を入れた恒温槽の水温を - 2.0~-1.8℃程度に保ち、循環させることで調整した（Fig.4）。ふ化率は、日毎のふ化数を加算する積算ふ化率として設定した。さらに、全体の25%がふ化してから75%がふ化を終えるまでの期間に着目し、この期間をふ化日数とした。この実験でふ化した仔魚は、毎日午前中にビーカー毎に取り上げ、その個体数、奇形の有無を調べ、体長を測定した。

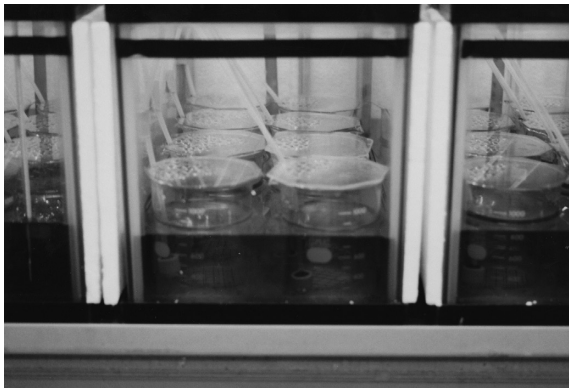


Fig.4 Photograph of 1L beakers in cooling bath. Liquid in cooling bath is automobile engine coolant.

2. 卵黄吸収過程および行動等の観察 ふ化後0~2日目の仔魚を、32~35%の塩分で、1℃もしくは3℃に保った1Lビーカー内に、それぞれ100~130尾収容して無給餌で飼育した。卵黄吸収過程および吸収日数を調べるため、数日おきにビーカーから10~15尾取り上げて、体長と卵黄の長径および短径を測定した。卵黄の体積は、卵黄を楕円形にみたてた視認面積として計算した（円周率×卵黄長径×卵黄短径）。また、10~20個体の仔魚を長径30cmのガラス製水槽に収容し、外気を取り入れて水温を2~3℃に保った状態で、1~2日間隔で遊泳行動を観察した。

現場における受精卵の垂下試験および地蒔き調査 1988年の冬期、結氷したサロマ湖において本調査を行った。受精卵の収容箱は養殖生け簀用のプラスチックメッシュバスケット（内径35×52×27cm、以下バスケットと略称）であり、この中に2個の角型バスケット（26×37×12cm）を収容した。この角型バスケットは底面と側面

に目合約0.3mmのナイロン製網地を張ったものであり、その内部に受精卵を付着させた後、上からやや浅めの角型バスケット（26×37×6cm）をかぶせて卵の散逸を防いだ（Fig.5）。垂下試験のための媒精は、1988年1月16日および19日の計2回行い、それぞれ1個のバスケット（2個の角型バスケット）に受精卵を収容後、直ちにFig.1に示した地点（st.2 水深3m前後）まで運び、氷に穴を開けて箱の位置が海底から1m弱になるように、また、融氷時に流されないように浮きと沈子で固定して設置した。2個のバスケットの設置間隔はおおよそ5~6mであった。バスケット内の2個の角型バスケットのうちの1個は、3月3日に引き上げて、すべての卵を回収した。なお、残りの1個は3月24日に引き上げて、200~300個の卵を採取した。その後、再び垂下し、完全に融氷が終った4月27日に最終的に回収した。卵数は角型バスケット1つあたり15,000~20,000粒であった。卵を採取した後、これを実験室に持ち帰り発生段階を観察した。



Fig.5 Basket used for incubation experiment at Lake Saroma.

一方、地蒔き調査は1月13日にFig.1に示した地点（st.1）で氷に穴を開けて、数時間前に媒精した30,000~40,000粒の受精卵を水表面から直接海底へ沈降させた（水深3m前後）。また、続く1月21日にも垂下されたバスケットから5~6m離れた地点（Fig.1 st.2）へ同様に地蒔きした。3月3日の角型バスケット回収と並行して、地蒔きした受精卵を、Fig.6に示したように、内径6cm、長さ6mのテフロン製ホースの先端に細いビニール製のエアチューブをさしこみ、氷上の潜水用ポンプから空気を送るエ

アリフト装置を用いて、海底の卵と砂礫を海水と共に吸い上げ、NORPACネット（目合0.33mm）で濾して回収した。なお、地蒔き前に、同様の方法で砂礫を吸い上げて自然卵がないことを確認した。これらの採集物は実験室に持ち帰り、砂礫中から卵を選別し、発生段階を観察した。



Fig.6 Sampling method of fertilized eggs sucked up by aeration in a suction hose.

サロマ湖とその周辺におけるコマイ産卵期は、1月16日から26日までの間に得られた採卵用親魚の他に、1月11日の能取湖、18日のサロマ湖から得た漁獲物の生殖腺の状態から推測した。

結果

発生と水温との関係 サロマ湖養殖漁協研究センターで1月20日と26日に媒精した卵を、北海道大学水産学部にて飼育し、前報（陳ら，2008）で示された7発生段階に至る所要日数のデータを得た。前報の厚岸における飼育水温条件（0.0, 2.0, 4.0℃）に、本実験の-1.3℃（実験開始からふ化に至るまでの平均水温）における50%所要ふ化日数（Table 2）を対応させた結果をFig.7に示した。この図から、発生速度はこの水温範囲内においては高温ほど速くなることがより明らかとなった。また、-1.3℃から4.0℃までの計11実験区における平均水温と50%所要ふ化日数（Table 2）の関係を基に、日暮・田内（1925）の実験式を適用して、50%ふ化日数と飼育水温との関係を求めた結果、以下の指数関係が導きだされた（Fig.8）。

$$D=75.06e^{-0.17T}$$

D: 50%ふ化に必要な日数

T: 飼育平均水温（℃）

$$r^2=0.965$$

Table 2 Summary of hatching and temperature for 50% hatching. Salinity was measured by hydrometer.

Experimental condition	Mean temp.from fertilization to 50% hatching	Salinity (‰)	Days for 50% hatching
This study	-1.3	33.7	96
	-1.3	33.6	96
	-0.2		80
	-0.4		72
Chen <i>et al.</i> 2018	0.3		73
	0.0		76
	0.0	32.0~	78
	2.0	34.0	50
	2.0		55
	4.0		39
	4.0		43

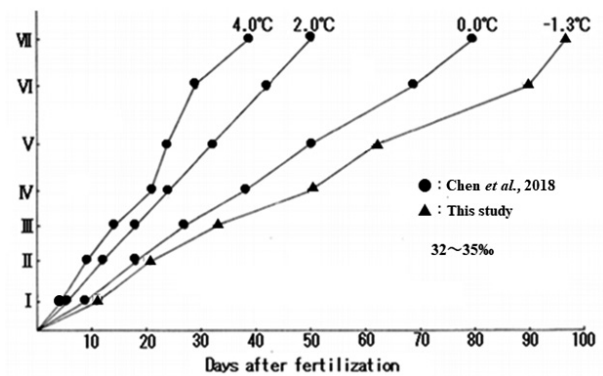


Fig.7 Relation between the embryonic developmental stages and the days after fertilization at different temperature conditions at 32~35‰. stage I : Gastrula, II : Appearance of optic vesicle, III : Embryo at the yolk circumference, IV : Appearance of pigments, V : Head height as the radius of egg, VI : 1st hatching, VII : 50% hatching, Salinity was measured by hydrometer.

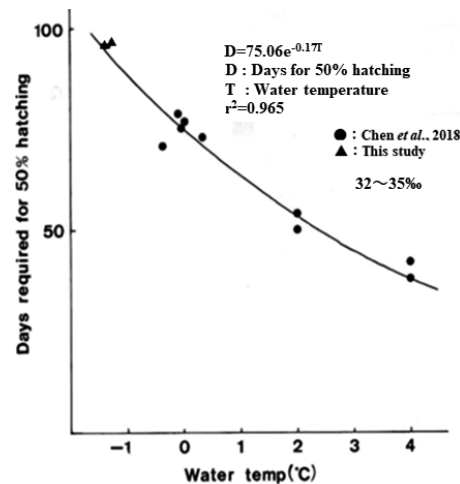


Fig.8 Relation between water temperature and time in days required for 50% hatching. Salinity was measured by hydrometer.

この式から算出した50%ふ化日数は、おおよそ-1℃で89日、0℃で75日、2℃で53日、4℃で38日であった。

ふ化仔魚の形態と行動および水温と卵黄吸収日数の関係
塩分32~35‰下でふ化した仔魚の形態を観察した。前報(陳ら, 2008)で記したように、顕鏡下で加温されたことにより茶褐色の卵膜が透明化し、仔魚は頭部よりふ出した(Fig.9)。仔魚はふ化直後から数日後まで通常水底に横たわるか鉛直方向に遊泳し、水面近くから沈む行動を繰り返した。しかし、卵黄吸収が進むと次第に水面直下を浮遊するか、時々表面を遊泳するようになった。卵黄吸収が進んだ仔魚あるいは完全に吸収した仔魚の平均体長は5.94mm (range 5.68~6.21) で、尾部の2ヶ所の色素叢は発達し、腹面で色素胞が連続している個体も認め

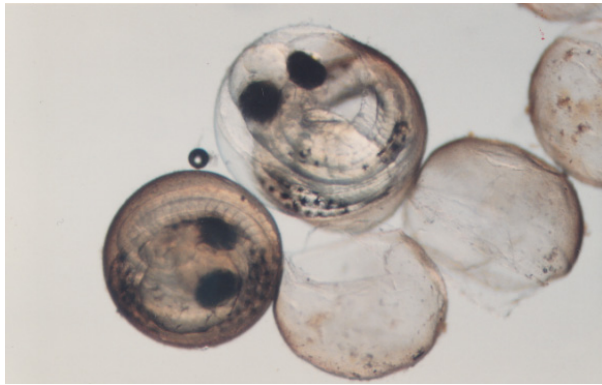


Fig.9 Larvae just after hatching, which was triggered with increasing temperature by strong light under microscope.

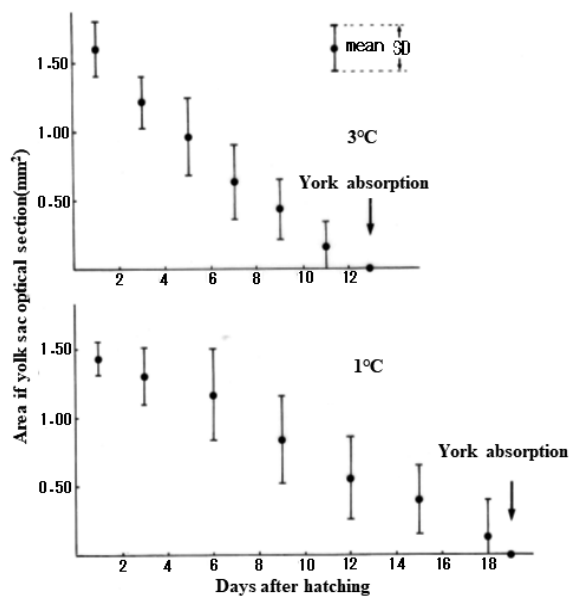


Fig.10 Changes in the size of yolk sac with the lapse of time after hatching at 1 and 3°C and at 32~35‰. Salinity was measured by hydrometer.

られた。ふ化後の卵黄は徐々に吸収され、完全に消失するまでの日数は1℃もしくは3℃の飼育条件で、それぞれ19日、13日と高温ほど短縮された(Fig.10)。

卵のふ化と水温、塩分濃度との関係 本実験では2個体の親魚から得た受精卵(それぞれA卵, B卵)を用いた。A卵, B卵の加温と希釈操作開始時の発生段階は、それぞれstage Vおよびstage IV~V(胚は卵黄を約1.5周)であった(Fig.3)。

Table 1に示した全実験28例のうち、水温の対照区(-1.3℃), 加温後1.3および3.3℃に設定した区をそれぞれ-1.3℃区, 1.3℃区, および3.3℃区とした。また、塩分については33.2‰以上を33‰区, 19.4~22.5‰を20‰区, 9.4~12.0‰を10‰区, 2.5‰以下を0‰区とした。たとえば、A卵の飼育条件を-1.3℃, 33.7‰に設定した実験区の場合は、A卵-1.3℃ 33‰と表した。

2つの0‰区は、ふ化の限界値を探るためのものであり、卵は全てふ化せず死亡したため解析から除外し、3~9‰をふ化に要する塩分の下限と認めた。A卵-1.3℃ 10‰区では、実験途中で凍結を起こして卵が死亡し、またA卵 3.3℃ 20‰区とB卵対照区(B卵-1.3℃ 33‰区)の1例では、死卵が多くふ化率が低かったため解析から除外した。これら5区以外の23実験区ではふ化率に幅がみられたものの、奇形はほとんど認められず、正常な状態でふ化したものとみなした。ふ化は、A卵1.3℃, 3.3℃区の一部において希釈操作が完了しないうちに始まった以外、大部分は操作終了後3日以上過ぎてから始まった。

Fig.11に、それぞれA卵, B卵について水温、塩分の組合せ毎に積算ふ化率の推移を示した。なお、Table 1のピーカーを2個ずつ設定した実験区のうち、一方が死亡もしくは低いふ化率のため除去した実験区(B卵-1.3℃ 33‰区)以外の7実験区(A卵1.3℃ 33‰区, 3.3℃ 33‰区, B卵-1.3℃ 20‰区, 1.3℃ 33‰区と20‰区, 3.3℃ 33‰区, および20‰区)については、2つの実験区で得られた数値を平均して表した。以下にA卵およびB卵のふ化の概要を記した。

ふ化は、A卵およびB卵とも水温が高い区ほど早く始まった。A卵の対照区(-1.3℃ 33‰区)ではふ化率が31.4%と最も低く、かつふ化日数は12日と比較的長かった。これに対して、水温あるいは水温、塩分両方の変化を加えた区では、その変化の程度に無関係に、ふ化率は67.2(3.3℃ 10‰区)~83.5%(1.3℃ 33‰区平均)と高くなり、かつふ化日数は2および4日と極めて短縮されていた。しかし、塩分のみを変えた区(-1.3℃ 20‰区)ではふ化率が61.8%と上昇したものの、ふ化日数は15日と対照区と比べて大きな変化はみられなかった。

B卵の対照区(-1.3℃ 33‰区)におけるふ化率は29.1%

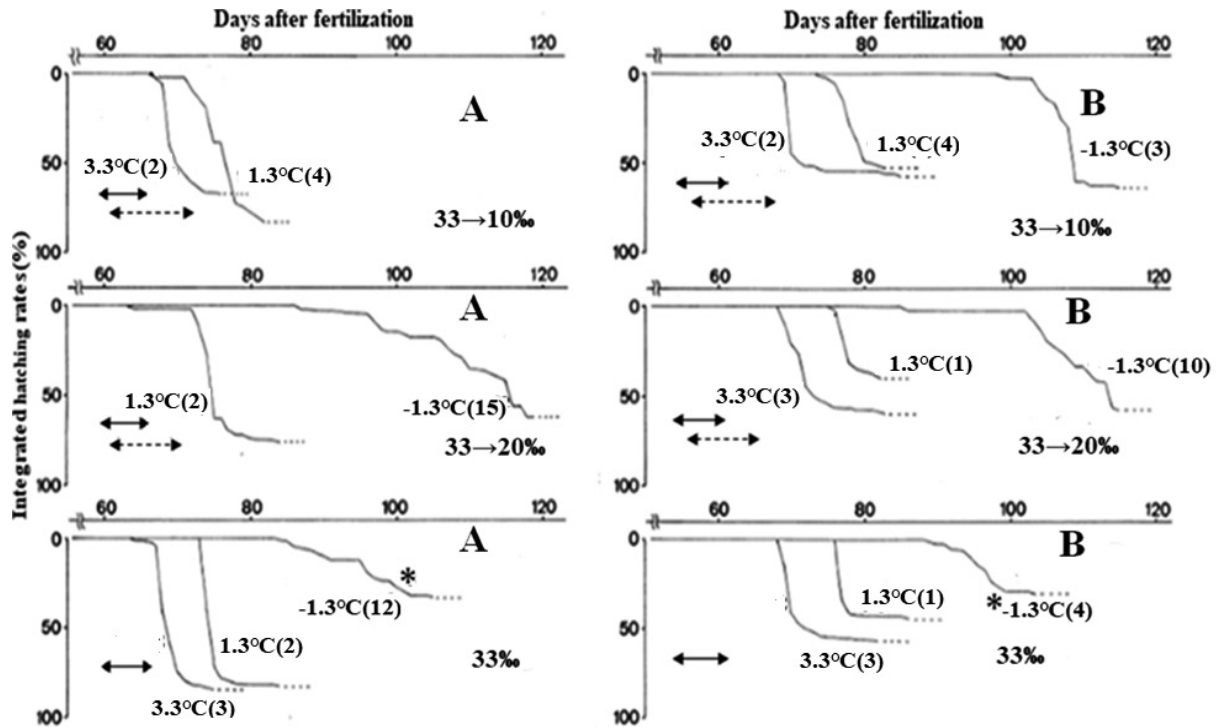


Fig. 11 The hatching process of eggs incubated at a constant condition (below 0°C, 32~35‰) to higher temperature or lower salinities. The each arrow line and broken arrow line indicate temperature and salinity acclimation. The eggs were about stage V (A) and stage IV (B) when acclimated. *: No acclimation. Numbers in the parenthesis indicate incubation days. Salinity was measured by hydrometer.

と最も低かったが、ふ化日数は4日とA卵に比べて短かった。また、水温と塩分の両方の変化を加えた区では、ふ化日数は1~4日と短かったもののふ化率は38.4 (1.3°C 20‰区平均) ~59.5% (3.3°C 20‰区平均) と、A卵ほど高い値を示さなかった。塩分のみを変えた区 (-1.3°C 20‰区および-1.3°C 10‰区) では、ふ化率が57.8~75.1%と上昇したが、ふ化日数は10日および3日と一定にならなかった。以上のことから、A卵を用いた実験区では、加温により短期間のうちに大量にふ化する傾向がみられたが、B卵においてはそれほど顕著でなかった。

A卵、B卵の水温、塩分変化に対するふ化率の差異を検討するため、A、Bともにふ化が認められた実験区のふ化率を、水温-塩分の組合せ毎に χ^2 検定で比較した (Fig. 12)。この検定で有意差がみられなかったのは、対照区 (-1.3°C 33‰区)、-1.3°C 20‰区および3.3°C 10‰区の3区であった。これ以外の水温変化を加えた実験区ではいずれも、より発生が進んだA卵のふ化率がB卵のそれを有意水準1%で上まわった。

現場における受精卵の垂下試験および地蒔き調査 冬期から春期にかけての、サロマ湖内における水温、塩分の記録を、Fig. 13に示した。水温は12月上旬の0~1°Cから急激に下がり、中旬以降3月下旬まで-1°C以下で推移した。さらに3月下旬以降、水温は徐々に上昇して4月中旬

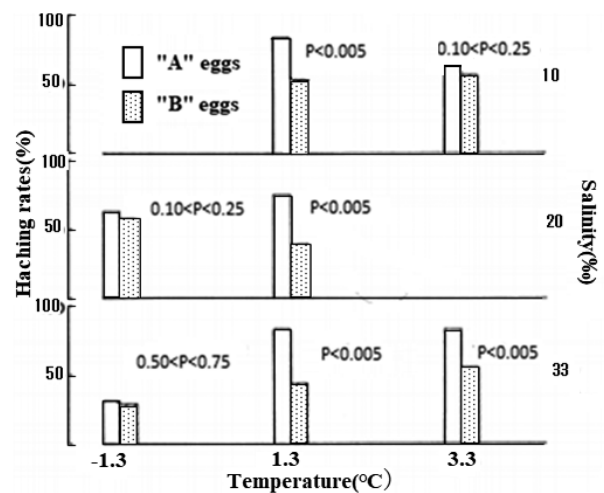


Fig. 12 Comparison between hatching rates of "A" eggs and "B" eggs within the same temperature-salinity conditions. Salinity was measured by hydrometer.

にはプラスに転じ、それ以後は大きく変動を繰り返しながら上昇した。塩分は33程度で一定していたが、4月中旬より30~33の範囲で上昇、下降を繰り返していた。特に、4月13日から16日頃までの水温は、0°C前後から3°C程度まで急上昇し、また塩分は33から30.5程度まで低下するなど顕著な環境変化を示した。

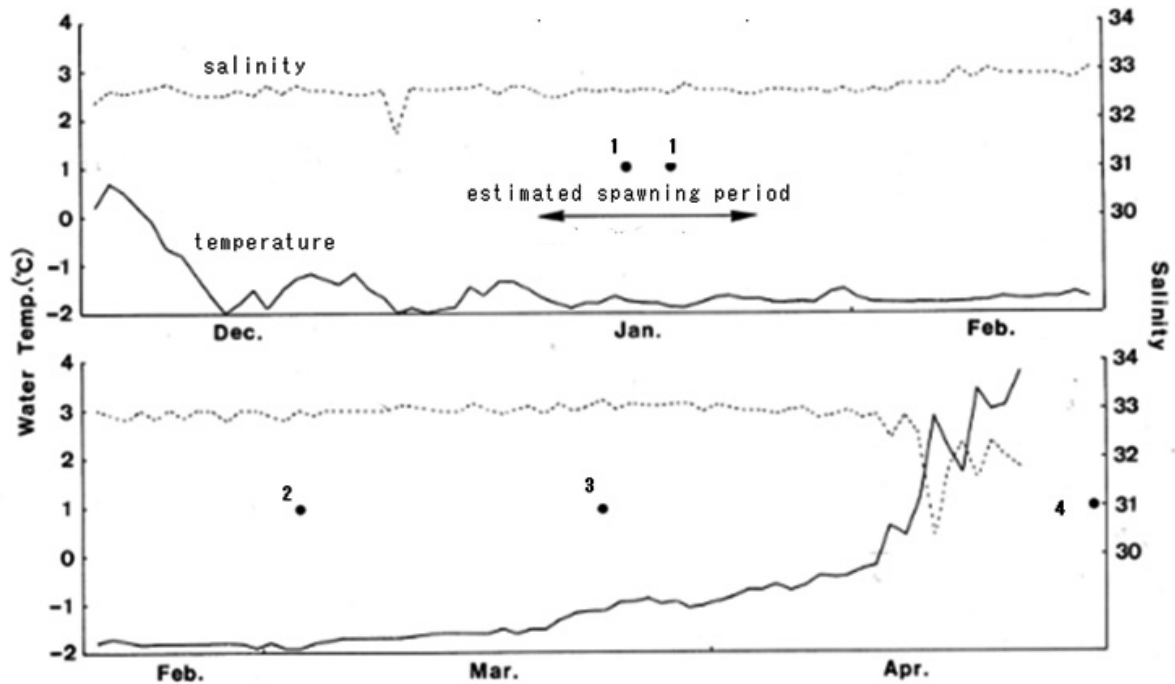


Fig. 13 Daily changes of temperature and salinity in Lake Saroma from Dec.1987 to Apr.1988.

Dots indicate investigation of artificially fertilized eggs.

1: Setting of the baskets and transplantation. 2 and 3: Sampling from the basket and bottom. 4: The end of the investigation. Salinity was measured by electric conductivity.

地蒔きを行った地点 (Fig.1) の底質は、外観的には砂質でその粒度は、st.1では粒径0.5～1.0mmの粗粒砂、st.2では0.25～0.50mmの中粒砂がほとんどを占めており、0.125mm以下の極粗粒砂やシルトはわずかであった。Table 3に、サロマ湖自然環境下における卵の発育状況を示した。

受精後43～51日目の3月3日に地蒔き、およびバスケットから回収した卵は、いずれの発生段階においても胚体の長さは卵黄の1.5周以上あり、眼胞の色素は沈着が進んでいるなど、胚体形成の後期 (stage IV～V) に相当していた。さらに、3月24日に一部回収した卵 (受精後66日目) では、眼胞色素がほぼ完全に沈着しているなど、stage Vの段階に達していた。融氷後の4月27日 (受精後100日) には、バスケット内からは卵も仔魚も発見されなかった (Table 3)。

サロマ湖を含むオホーツク海東部におけるコマイ産卵期の推定 能取湖とサロマ湖から得られた漁獲物について、雌の成熟度を外観から調べた。能取湖の雌46個体のうち、1月11日にはほぼ2/3が完熟期・放卵期であった。一方、67個体を調べた1月18日のサロマ湖では成熟期のものが多く、完熟・放卵個体はわずかであった。このうち、未成熟の個体は、体長が小さいため1齢の未成魚とみなした (Fig.14)。1月11日から26日までの期間中に媒精のための親魚採集を行った結果、すべての採集標本の中に完熟

Table 3 Summary of the investigation carried out at Lake Saroma in 1988.

A:transplantation, B:incubation baskets

Method and st.	Measured materials	Percent of fertilization	Dates of testing	Incubation period(day)	Observed stage
A-1(st.1)	Not measured	Not measured	Jan.13-Mar.3	51	stage IV～V
A-2(st.2)	311	84.1	Jan.21-Mar.3	43	stage IV～V
B-1(st.2)	375	88.3	Jan.16-Mar.3	48	stage IV～V
B-2(st.2)	341	86.9	Jan.19-Mar.24	66	stage V
B-2(st.2)			Jan.19-Apr.27	100	Eggs or larvae were not found

個体と排卵個体が混ざっていた。

考 察

本研究では、飼育実験によって水温と発生速度、ふ化仔魚の動態、さらに、卵発生後期の卵に様々な組み合わせによる水温と塩分の変化を与えて、ふ化までの間に、どのような水温と塩分変化が最適なのかを調べた。前報 (陳ら, 2018) の実験と合わせて50%所要ふ化日数と水温の関係式が導き出され、発生がより進んだ段階ほど水温上昇の影響を受けてふ化が促進されやすいことがわか

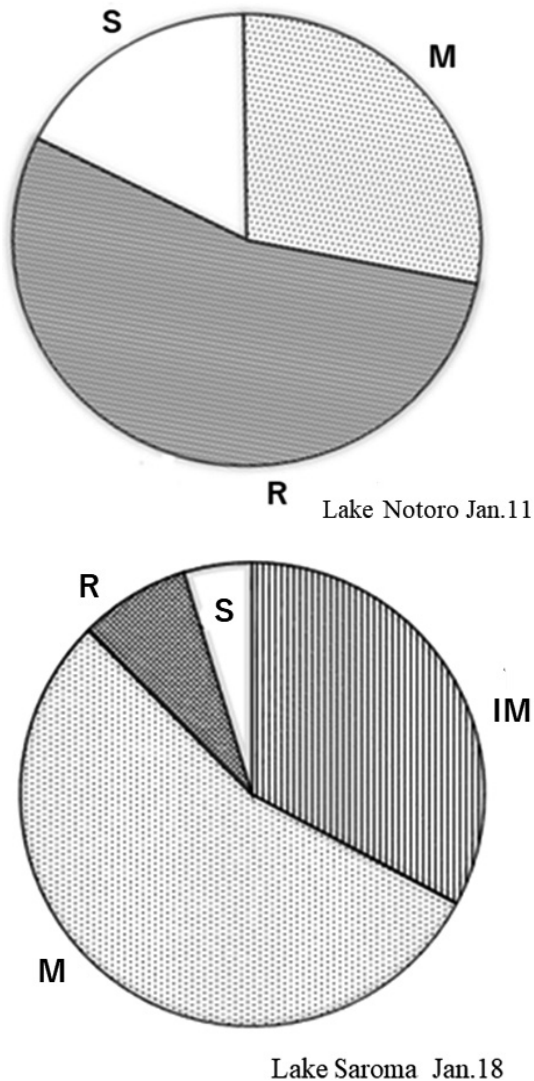


Fig. 14 Matured ratio of saffron cod captured from Lake Notoro and Lake Saroma in 1988. I M:Immature stage, M:Mauration stage, R:Ripe stage, S:Spent stage.

った。Fig. 11における対照区の発生傾向から、発生が進んだ状態のまま氷点下の低水温にさらされ続けると、卵のふ化が抑制されてふ化率が低下する。前報（陳ら、2018）で報告したように、水温上昇が非常に緩やかもしくは一定である実験環境においては、ふ化が抑制され、ふ化率も低下すること、さらに、低温条件が継続すると、卵中で卵黄を吸収したままで死亡する可能性が高まると考えられた。

一般に、沈性卵を産む多くの海産魚類の繁殖場および卵・稚仔の発育場としての沿岸環境は、外洋に比べて1次生産量が高く、かつ初期の餌料環境が好適であることが知られている。一方、天候の長期的あるいは短期的な変化に伴う水温、塩分、溶存酸素量などの急激な変化、

あるいは波浪や潮汐などの物理的変動にさらされる海域でもある。このため、沿岸産卵種の中には、各々の産卵期もしくはふ化時期に特有な海況変動に対応して、その生残を有利にする適応的側面を持つものが多い（Dando, 1984）。Pokrovskaya（1960）は、長年にわたるコマイの産卵場調査において、初冬の気温低下が早く、結氷もその影響で早く始まる年には産卵期も早まること、逆に暖冬傾向の年には産卵期が遅れることを報告している。この知見は、コマイの卵発生が氷点下近くの水温条件下で進行することを裏付けている。つまり、コマイの産卵が行われる厳冬の亜寒帯域から極域にかけての浅海域や汽水域では、結氷によってその下の環境が低温で安定した状態に保たれている。例えば、サロマ湖における冬季の結氷下の水温と塩分は、その経日変化にみられるように物理的に極めて安定した環境であった。このような環境は、コマイのような沈性卵で多産型のタラ科魚種にとって、その卵の生残を高める方向に寄与しているものと考えられる。また、本種の血漿中には、マイナスの水温条件下で生息する極域の魚類に特有な不凍結性糖タンパクが存在し、しかもこの成分は冬季に限り濾過排出されず、高い濃度を保っていることが知られている（Kitagawa *et al.*, 1990）。これらのことから、本種が極域に適応した再生産機構を有していると考えられる。

冬期（12月）から春期（4月下旬）にかけての産卵場の環境調査、地蒔きおよび卵飼育バスケットによる現場での卵発生試験を行い、野外における結氷条件下での卵発生を調べた。その結果、地蒔きおよび卵飼育バスケット中の発生卵は、いずれも受精後約50日前後でstage IV～Vに、66日でstage V（胚は卵黄を1.7～1.8周し、眼胞には色素が完全に沈着している）に達しているなど、飼育実験と類似した発生過程を示した。さらに、調査終了日には卵や仔魚が認められず、全てふ化したと推定された。したがって、仔魚のふ化時期は、4月上旬から中旬にかけてのプラスの水温への上昇変動期に合致していたと考えられる。これらのことから、コマイの卵からふ化に至るまでの発生は、結氷下の安定した環境下で卵の時期を過ごし、春の水温上昇期に一斉にふ化すると考えられる。本研究の飼育実験からも、コマイが融氷に伴う水温の急激な上昇とともに一斉にふ化することが示唆された。また、前報のように、コマイのふ化直後の仔魚の中には口と肛門が開き、かつ胸鰭が発達している個体が確認されるなど、自発的な摂食に移行できる段階にあるとみなすことができる。このような本種の卵の発生や仔魚のふ化のメカニズムを含む繁殖様式は、他の外洋性タラ科魚類とはかなり異なることから、サロマ湖や厚岸湖などの環境変化を利用した戦略をとっていると考えられる。

漁獲物や採卵用親魚の成熟度調査の結果から、オホーツク海東部湖沼においても、産卵期は根室湾や厚岸湖(陳ら, 2005)と大差なく、1月中旬を中心に10~20日程度であると推定された。また、サロマ湖内における受精卵の垂下および地蒔き調査の結果からも、サロマ湖内におけるコマイのふ化日数は、この海域の産卵期の長さを考慮にいれて80~100日程度と推算された。主な産卵場である根室湾では、融氷後の4月27日と28日に卵黄吸収直後とみられる仔魚が採集されている(北海道区水産研究所, 1986)。水温と卵黄吸収過程との関係を調べた実験による卵黄吸収日数(Fig. 10)と現場海域の推定水温が4月下旬で2~3℃、および体長5~7mmであることなどから、この根室湾で採集された仔魚はふ化後10~20日以降のものと考えられた。このことと根室湾海域の産卵期間(陳ら, 2005)を考慮にいと、ふ化に要する日数は、サロマ湖と同様80~100日程度と推測された。また、根室湾では5月下旬には、およそ4℃で8~12mmに達しており、十分な摂餌可能なサイズまで成長していることがうかがわれる(Dunn and Vinter, 1984)。

Cushing (1975) は、亜寒帯沿岸域における春季の一次生産の急激な増大と、それに続く動物プランクトン幼体の出現がほぼ一致することを指摘している。また、一般に海水が発達すると、しばしばその下部にice algae群集の増殖がみられるが、これらの群集が融氷時に流出して春季の一次生産の増大をもたらす可能性が指摘されてきた(Smith, 1985)。特にオホーツク海沿岸は、海水中のice algaeが春季の融氷期に海水中に放出され、クロロフィルaを増大させspring bloomを引き起こす(西野, 2009; 西野ら, 2014)。コマイ仔魚も、生残を高めるため、春季の海況変化に伴う一次生産増大、摂餌環境の出現にタイミングを合わせてふ化し、ふ化直後から摂餌できるように、その発育とふ化の機構を発達させているものと思われる。しかしながら逆に、このような春季における環境変動にともなう餌生物の出現と仔魚のふ化のずれが生じた場合、その後の年級群の多寡に影響を与える可能性も考えられる。例えば、繁殖群の多くが2齢魚の単一年級群で支えられている道東海域(陳・桜井, 1993)における年間の漁獲量は、1970年から1981年にかけて170~4,500tの間で変動している(金丸, 1982)など、年級群による発生量の違いが漁獲量に顕著に反映されていることがうかがわれる。したがって、春季の海況変動と仔魚の出現における時期的なずれの有無を調べることは、今後本種の資源変動などの特性を解明する上で重要と思われる。

本研究から、コマイのような沿岸性の多産型タラ科魚類が、ただ単に大量の卵を産出することによってのみ次

世代の生残を高めているのではなく、海況変動の少ない環境での繁殖様式と、春季におけるふ化様式などの環境適応機構を働かせていることを示唆する結果が得られた。特に、水温の変化がふ化を左右する主要因であることを明らかにした。ただし、春季の融氷や日長が長くなることにともなう底層における照度の増大や、海水中に存在する高塩分水であるブラインによる塩分濃度の一時的増大(西野, 2009)もふ化に対して影響をおよぼす可能性があり、興味ある課題として残されている。また、卵バスケットの垂下と地蒔きを行った地点は、シルトよりも砂礫の多い場所である(西浜・干川, 1992)。コマイのような弱粘性性沈性卵を産む種類にとって、産卵基質となる底質の物理的性質は水温と共に卵の生残を左右する重要な意義をなすと考えられ、この点に関しても今後明らかにする必要がある。

謝 辞

本研究を実施するに当たり、資料採集等にご協力いただいたサロマ湖養殖漁業協同組合、サロマ湖養殖漁業協同組合サロマ湖養殖調査研究センターの職員の方々、および英文校閲と貴重な助言をいただいたDharmamony Vijai博士に深く感謝の意を表す。

引用文献

- 陳 二郎, 桜井泰憲. コマイの年齢と成長. 北水試研報 1993; 42: 251-264.
- 陳 二郎, 吉田英雄, 桜井泰憲. 北海道周辺海域におけるコマイの成熟, 生殖周期及び産卵期の特徴. 北水試研報 2005; 68: 45-64.
- 陳 二郎, 吉田英雄, 桜井泰憲. コマイ卵及び仔魚の正常発生過程. 北水試研報 2018; 93: 59-67.
- Cushing DH. *Marine ecology and fisheries*. Cambridge, Oxford, 1975.
- Dando PR. Reproduction in estuarine fish. In: Potts GW, Wootton RJ (eds). *Fish reproduction, Strategies and tactics* Academic Press, 1984; 155-170.
- Dunn JR, Vinter BM. Development of the Saffron cod, *Eleginus gracilis*, with comments on the identification of Gadid larvae in Pacific and Arctic Waters contiguous to Canada and Alaska. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1984; 41: 304-318.
- 日暮 忠, 田内森三郎. 魚卵の孵化日数と温度との関係. 水講誌報 1925; 21: 21-28.
- 北海道区水産研究所. 北海道周辺海域に分布するスケ

- トウダラ並びに底魚類の資源量調査報告（昭和57,58年度）。1986：276pp.
- 金丸信一. 根室湾海域のコマイ (*Eleginus gracilis*)資源の特性. 根室湾海域総合開発事業調査報告書. 北海道区水産研究所. 1982：93-98.
- Kitagawa Y, Ogawa M, Fukuchi M. On the kidney of the saffron cod, *Eleginus gracilis* and its cold adaptation. *Proc. NIPR Symp. Polar Biol.* 1990；3：71-75.
- 西浜雄二, 干川 裕. サロマ湖における底泥の粒度組成と有機炭素含有率の分布. 北水試研報 1992；39：1-9.
- 西野康人. オホーツク海の氷海生態系 ～海水がもたらす恵み～. 養殖2009；4：62-64.
- 西野康人, 佐藤智希, 谷口 旭. オホーツク海沿岸能取湖の2008年結氷期における海洋環境とクロロフィルaの動態. 東京農大集報 2014；59(3):177-183.
- Pokrovskaya TN. Geographic variability in the biology of the navaga. *Trudy Inst. Okeanol.* 1960；31:19-110 (in Russian) .
- Smith WO, Nelson DM. Phytoplankton bloom produced by a receding ice edge in the Ross Sea. Special coherence with the density field. *Science* 1985；227：163-166.

マルチプレックスPCR法による北海道北部に生息するイカナゴ属魚類の種判別簡易化の検討

後藤陽子^{*1}, 甲斐嘉晃², 堀本高矩¹, 坂口健司³, 美坂 正¹

¹北海道立総合研究機構稚内水産試験場

²京都大学フィールド科学研究教育センター舞鶴水産実験所

³北海道立総合研究機構中央水産試験場

Multiplex PCR-based molecular identification of *Ammodytes* species (Perciformes: Ammodytidae) caught in northern Sea of Japan, Hokkaido, Japan

YOKO GOTO^{*1}, YOSHIKI KAI², TAKANORI HORIMOTO¹, KENJI SAKAGUCHI³ and TADASHI MISAKA¹

¹ Wakkanai Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Wakkanai, Hokkaido 097-0001*

² Maizuru Fisheries Research Station, Field Science Education and Research Center, Kyoto University, *Maizuru, Kyoto 625-0086,*

³ Central Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Yoichi, Hokkaido 046-8555, Japan*

Japanese sand lances (*Ammodytes* spp.) are among the most important fish resources around northern Hokkaido. In this region, three sand lance species (western sand lance *A. japonicus*, Arctic sand lance *A. hexapterus*, and peaceful sand lance *A. heian*) are known to be sympatrically distributed. Therefore, to accurately evaluate the status of resource distribution of this genus, it is necessary to thoroughly understand their distributional characteristics. In this study, using multiplex PCR, which can easily identify species, as indicated in previous studies, an easier and more rapid method of identifying species belonging to this genus was developed. Using this method, the western and Arctic sand lances could be easily differentiated. However, the precise identification of peaceful sand lance species was slightly difficult with this technique. This technique was shown to be useful for initially screening the species from samples. This study suggested that for understanding the distributional characteristics of these species in Hokkaido, detailed sampling of each area in each season is necessary.

キーワード：イカナゴ *Ammodytes japonicus*, オオイカナゴ *A. heian*, キタイカナゴ *A. hexapterus*, 種判別, マルチプレックスPCR法

北海道周辺海域においてイカナゴ属魚類(*Ammodytes* spp.)は、宗谷海峡東部で沖合底びき網、利尻・礼文島周辺海域ですくい網、後志周辺海域で稚魚が敷網で漁獲され、各地域における重要な水産資源となっている(星野, 2010; 岡本ら, 2017; 美坂, 2017)。これまで、宗谷海峡に分布するイカナゴ属魚類には、イカナゴ(*A. japonicus*)およびキタイカナゴ(*A. hexapterus*)とさらにそれらのハイブリッドが存在するとされ(田中, 2004)、これらは同時期に混在して漁獲されることから、主に耳石輪紋の形状から2種の判別がなされてきた(田

中, 2004)。

しかし近年, Orr *et al.* (2015) による環太平洋北部隣接海域に分布するイカナゴ類の形態学・分子生物学的研究により、宗谷海峡には前述の2種に加え、オオイカナゴ(*A. heian*)が分布することが明らかとなった。種ごとの資源評価を行うためには、これら3種の分布特性の把握が必要であるが、外部形態による3種の識別は困難とされている(Orr *et al.*, 2015)。甲斐・美坂(2016)およびTanaka *et al.* (2016)は、ミトコンドリアDNAのCOI領域における塩基配列に着目し、それぞれマルチプレッ

Table 1 List of primer pairs used in this study

Primer name	Sequence 5'-3'	Product size (bp)	Reference
AmjpnF	GTACGGCTCACACAAATAAAGGTCTT	about 500	Kai & Misaka (2016)
AmhexF	AGGGTGGGAGGAGTCAAAAGGTC	about 300	Kai & Misaka (2016)
Reverse	GGCACCCCTTTATCTAGTATT		Orr <i>et al.</i> (2015)
L-M-12S	ACAAACTGGGATTAGATACCCCACTATGCC	1,526	Matsui <i>et al.</i> (2012)
H-A-16S	GTTTTTGGTAAACACGCGAGGCTTATGTTTGCCG		Matsui <i>et al.</i> (2012)
F	CTCCTGCAGGGTCAAAGAAG	638	Orr <i>et al.</i> (2015)
R	GGCACCCCTTTATCTAGTATT		Orr <i>et al.</i> (2015)

クスPCR法, PCR-RFLP法によって, 塩基配列の解読が不要なイカナゴ類の種判別法を開発した。

一般に, 資源評価のためには多数の漁獲物標本を生物測定することが必要であり, 北海道のイカナゴ属魚類についても年間千尾以上の生物測定が行われている (坂口, 2016; 美坂, 2017)。そのため, 多数標本の種判別を行う場合は, より簡便・安価に判別可能な手法が望ましい。甲斐・美坂 (2016) では, DNA抽出キットを用いることにより簡便に総DNAの抽出を行っているが, Tanaka *et al.* (2016) ではTruett *et al.* (2000) によるHotSHOT法に基づく組織片のライセート調整法 (Tanaka *et al.*, 2014) を用い, 総DNAを抽出することなく実験を行っている。しかし, Tanaka *et al.* (2016) で行われたPCR-RFLP法では, 0.1 - 2.1%程度, イカナゴとオオイカナゴが判別できないハプロタイプが存在することが示された。そこで本研究では, 簡便且つ安価な種判別法の確立を目指し, 組織片からのダイレクト法およびDNAの簡易抽出法であるライセート調整による, マルチプレックスPCR法の有効性を検討した。

試料及び方法

DNA簡易抽出法の検討

1. 供試標本 甲斐・美坂 (2016) により, あらかじめ塩基配列に基づき種が判別されている, 2015年に宗谷海峡において漁獲されたイカナゴ, キタイカナゴおよびオオイカナゴのエタノール保存肉片を用い, 粗DNAの簡易抽出法について検討した。

2. サンプル調整法 ポジティブコントロール用総DNAの抽出には, DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN社製) を用い, プロトコルに従いそれぞれ20-50μgの総DNAを得た。

サンプルには手順をより省略した手法を比較検討することを目的とし, 1: 肉片約10mg, 2: 肉片約10-50mgをアルカリ溶液で溶解したものを使用した。1については,

肉片を採取しPBSにて2回洗浄してエタノールを除去した後, ホモジナイザーにより手動で軽く肉片を粉碎した。2については, 肉片に50mM NaOH 180μl を添加し, ボルテックスにて攪拌後, 85または95℃のブロックヒーターにて10分インキュベートした。溶解液に1M Tris - HCl (pH 8.0) 20μlを添加し, ボルテックスにて攪拌後, 12,000rpm にて5分遠心し, 上清 (粗DNA) をテンプレートとした。本手法は, Takara社によるクルードサンプルからのライセート調整法 (http://lifescience.toyobo.co.jp/user_data/pdf/products/KFX-201.pdf: 2017年10月27日) およびTanaka *et al.* (2014) に準拠した。

PCR用プライマーは, イカナゴおよびキタイカナゴそれぞれに特異的なプライマー (甲斐・美坂, 2016) とポジティブコントロール用魚類共通ユニバーサルプライマー (Matsui *et al.*, 2012) を使用した (Table 1)。マルチプレックスPCRの設計は, 甲斐・美坂 (2016) に準拠し, 以下の通りとした。反応液の組成は, 1.0μlのDNA溶液またはホモジナイズした肉片総量, 5.0μlの KAPA2G Robust HS ReadyMix with dye (KAPA BIOSYSTEMS社), 5pmolに調整した各プライマー (各0.5μlのAmjpnF とAmhexF, 1.0μlのリバースプライマー [Orr *et al.*, 2015], 各0.5μlのL-M-12S とH-A-16S) とし, 1.0μlの超純水を加えて総量を10μlとした。Eppendorf社製PCRマスターサイクラー-nexus gradient によるPCR条件は, 94℃ 5分の熱変成後, 94℃ 15秒, 58℃ 15秒, 72℃ 30秒を30サイクルとし, 最後に72℃ 7分の伸長を行った。得られたPCR産物は1.5% TBEアガロースゲル (ニッポンジーン社 Agarose S) にGelRed (Biotium社) を100mlあたり8μl添加したものを使用して, TBE緩衝液により電気泳動し, 得られた泳動像を観察した。

漁獲物の種判別法の検討

1. 試料の収集 2016年4月から11月にかけて, 北海道のイカナゴ魚類の主産地である後志南部海域 (島牧村沖合), 後志北部海域 (余市町沖合), 利尻島周辺海域, 宗

Table 2 Specimens of *Ammodytes* species examined in this study, caught in 2016

Sampling group	Date	Fishing type	Number of samples		Average body length (mm)	±S.D.	Body length range (mm)	
Sea of Japan								
South Shiribeshi (Shimamaki)							min.	max
	13-Apr	scoop net	50		19.1	3.8	12	25
	6-May	lift net	50		31.4	6.6	16	45
	23-May	lift net	50		31.7	2.3	26	38
North Shiribeshi (Yoichi)								
	2-May	lift net	50		40.4	3.6	30	47
Rishiri Island								
	23-Apr	dip net	50		183.1	11.3	161	206
	19-May	dip net	50		209.4	11.1	190	243
Sea of Okhotsk								
Soya Strait (Off the east of Cape Soya)								
	23-May	sledge net	1		166			
	3-Jun	otter trawl	50		216.4	19.4	181	260
	12-Jul	otter trawl	50		193.2	14.4	158	216
	8-Aug	otter trawl	50		199.9	16.4	176	267
Sarufutsu								
				Mar. total				
	18-Mar	scallop beam trawl	2	43	166.2	16.9	124	198
	23-Mar	scallop beam trawl	6					
	24-Mar	scallop beam trawl	2					
	25-Mar	scallop beam trawl	11					
	26-Mar	scallop beam trawl	11					
	27-Mar	scallop beam trawl	9					
	28-Mar	scallop beam trawl	2					
				Apr. total				
	20-Apr	scallop beam trawl	2	2	121.5	2.1	120	123
				May total				
	6-May	scallop beam trawl	1	14	175.9	19.1	157	224
	16-May	scallop beam trawl	2					
	20-May	scallop beam trawl	1					
	21-May	scallop beam trawl	4					
	23-May	scallop beam trawl	7					
				Jun. total				
	4-Jun	scallop beam trawl	7	29	174.3	18.7	128	212
	6-Jun	scallop beam trawl	4					
	7-Jun	scallop beam trawl	1					
	8-Jun	scallop beam trawl	6					
	14-Jun	scallop beam trawl	1					
	15-Jun	scallop beam trawl	1					
	29-Jun	scallop beam trawl	9					
				Jul. total				
	6-Jul	scallop beam trawl	10	39	174.2	26.0	82	203
	21-Jul	scallop beam trawl	29					
	19-Sep	scallop beam trawl	28	28	161.3	18.2	125	198
	3-Nov	scallop beam trawl	22	22	148.7	29.4	93	185

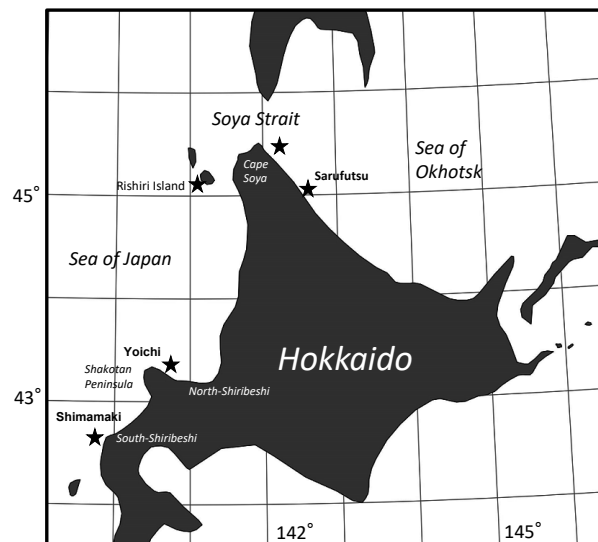


Fig.1 1 Map of Hokkaido showing sampling localities of *Ammodytes* spp.

★: sampling site

谷海峡東部海域, および猿払村沖合海域 (Fig.1) において漁獲されたイカナゴ属魚類629個体を実験に供した (Table 2)。

収集した試料のうち, 利尻島, 猿払および宗谷海峡東部海域の一標本については, 漁獲後測定時まで冷凍保存とし, 測定前に常温にて解凍した。後志 (余市・島牧) の試料については, デジタルキャリパーで肉体長を0.01mm単位で計測後, 直ちに全身を70%エタノールにて常温保存した。その他海域の試料については, 測定板を用いて1mm単位で肉体長を計測後, 筋肉片1個体につき2g程度採取し, 99.9%エタノール中にて分析時まで常温保存した。

2. 漁獲物の種判別法の検討 前述のDNA簡易抽出法の検討結果を踏まえ, 宗谷海峡東部海域で6月に漁獲された標本50個体について, DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN社) により総DNAを抽出し, 別途10 - 50mg程度の試料についてアルカリ溶液によるライセート調整を行った。総DNAについては, 分析時まで-20℃にて冷凍保存とし, ライセート試料については, 分析時まで4℃にて保存した。これらのPCR条件および泳動法については, 前述のとおりである。

総DNAをテンプレートとした試料のうち, 明瞭なバンドが得られなかった標本について, Orr *et al.* (2015) および甲斐・美坂 (2016) に従い, 塩基配列の解読を行い, 種を決定した。その際の条件は, 以下の通りとした。Orr *et al.* (2015) により設計されたプライマーを使用し (Table 2), COI領域638bpをPCR法により増幅した。DNAテンプレートに1.0μl, 5pmolプライマー各1.0μl, 5.0μl

のKAPA2G Robust HS ReadyMix with dyeに超純水を2.0μl加え, 総量を10μlとした。PCR反応は, 94℃で5分熱変成後, 94℃ 15秒, 62℃ 15秒, 72℃ 30秒を30サイクル後, 72℃で7分の伸長を行った。得られたPCR産物をExoSAP-IT (Affymetrix) を用いてプロトコルに従い精製し, BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (アプライドバイオシステムズ) とDNAシーケンサー (310 Genetic Analyzer, アプライドバイオシステムズ) を用いて塩基配列を決定した。MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016) を用いてTamura and Nei (1993) の距離を求め, 近隣結合法 (Saitou and Nei, 1987) により系統樹を構築した。各分岐の信頼度の評価には, 同じアルゴリズムを使った1,000回の繰り返しによるブートストラップ法 (Felsenstein, 1985) を用いた。得られた系統樹をもとに, 本研究で用いた個体について種を同定した。

北海道周辺海域における漁獲物の種判別 全標本について, ライセート調整法によって抽出した粗DNAをPCR分析し, 各地の漁獲物を種判別した。PCR条件および泳動法については, 前述のとおりである。

結 果

DNA簡易抽出法の検討 DNeasy Blood & Tissue Kit により抽出した総DNA, 肉片およびライセート調整法による粗DNAを試料としたPCRの結果, 総DNAについては, 目的とする位置にバンドが得られたことが確認され, ポジティブコントロールとして使用可能であることが示された (Fig.2)。また, ライセート調整粗DNAについても, ポジティブコントロールと同様の結果が得られたが, 肉片からのダイレクトPCRについては, DNAの増幅が確認されなかった (Fig.2)。

漁獲物の種判別法の検討 宗谷海峡東部海域の6月標本について, ライセート調整法により抽出した粗DNAのマルチプレックスPCR結果を, 総DNA抽出による結果と比較したところ, 両手法において種判別結果が一致したものは, 全50試料中30個体であった (60%)。また, 結果が一致しなかったか, もしくは種が判別できなかった20個体は, 目的とするイカナゴおよびキタイカナゴそれぞれの特異的バンド位置にバンドが確認されたものであった (Fig.3)。これらはユニバーサルプライマーによるバンドと比較して色が薄いことから, アニーリング時における非特異反応の可能性が考えられた。そこで, PCRにおける最初の熱変成温度を93 - 95℃の間に0.1℃ずつ変化させて設計し, その他条件は同様にグラディエントPCRを行ったが, 結果は同様であった。また, テンプレートの濃度について, 2 - 10倍まで希釈し, それぞ

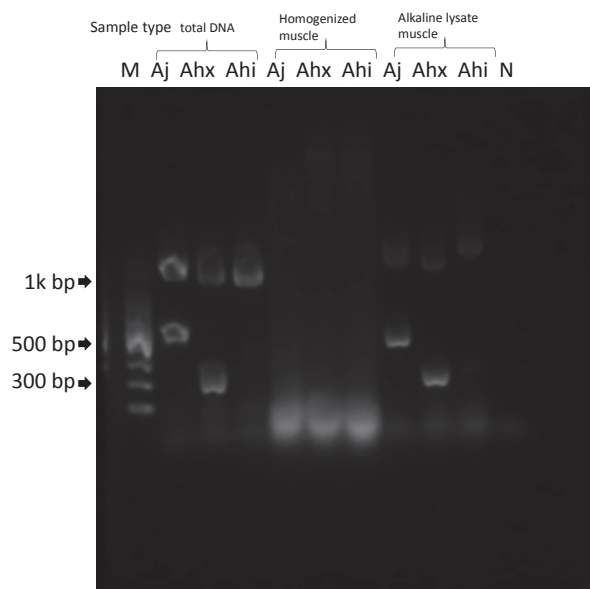


Fig.2 Multiplex PCR amplification of DNA from three *Ammodytes* species, *A. japonicus*: Aj, *A. hexapterus*: Ahx, and *A. heian*: Ahi. M: molecular-weight size marker for total DNA (isolated from muscles using a kit), homogenized muscles (muscle samples were homogenized manually), alkaline muscle lysate (crude DNA from muscle lysates was extracted with hydroxide and Tris-HCl), N: negative control (UPDW).

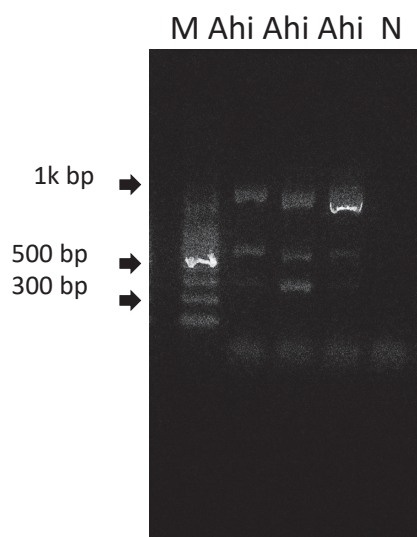


Fig.3 Multiplex PCR amplification of DNA from *Ammodytes heian* (Ahi) showing two nonspecific bands. M: molecular-weight size marker, N: negative control (UPDW). Species identification for these samples was performed by sequencing.

れPCRを行ったが、泳動結果は同様であった。そこで、総DNAをテンプレートとしたPCRにおいて比較的濃色な2本のバンドが見られた7個体について、シーケンスによる種同定を行った結果、これらは全てオオイカナゴ

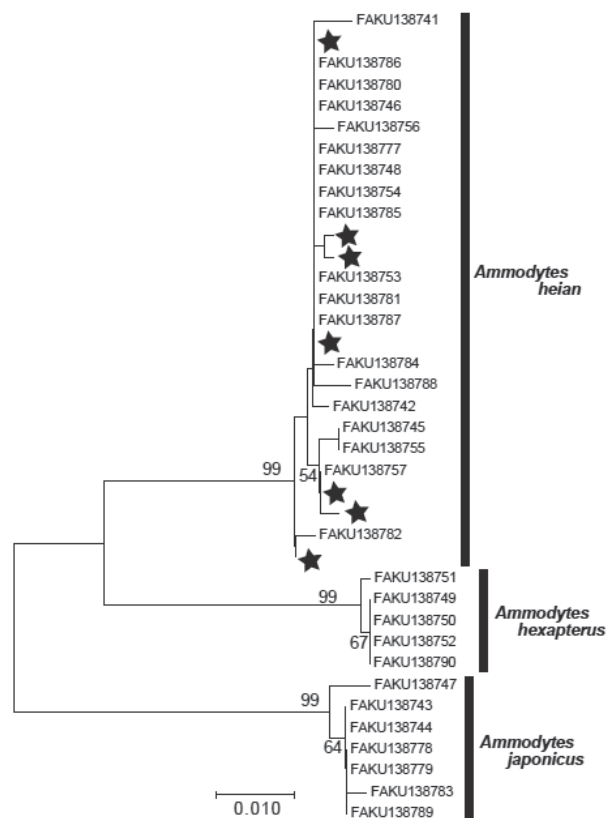


Fig.4 Trees constructed using the neighbor-joining method (Saitou and Nei, 1987) based on sequences of *Ammodytes* spp. Numbers on branches indicate bootstrap support. FAKU13***: specimen registered by Kai and Misaka (2016), ★: unidentified samples analyzed by multiplex PCR

であった (Fig.4)。さらに、ライセート調整試料のテンプレートを超純水にて2倍希釈し、同様にPCRを行ったところ、ほとんどの個体がオオイカナゴの泳動パターンを示した。

通常のオオイカナゴタイプの泳動パターン以外に、バンドが不鮮明もしくは2本みられたものを“オオイカナゴ”と定義した場合、両手法における結果が全て一致した。

北海道北部沿岸域における漁獲物の種判別 全試料について、ライセート調整による粗DNAをテンプレートとしたPCRにより種判別を行った。PCRはそれぞれ全試料について2回以上実施し、同じ結果が2回以上得られたものを種判別結果として採用した。ライセート調整試料については、得られるDNA濃度が一定でないことから、複数回実験を行う必要があった。実験2回のみで種が確定した個体は、全629個体中、229個体 (36.4%) であった (Table 3)。種別にみると、イカナゴおよびキタイカナゴでは、種の確定まで4回以上実験を要した個体は、それぞれ48個体 (18.1%), 2個体 (9.5%) と少なかった

Table 3 Number of times of experiment conduction to identify *Ammodytes* spp. N: number of identified species among the three *Ammodytes* spp. When the same result was obtained more than twice in the experiments with each sample, the species was determined.

Experiment times	<i>A. Japonicus</i>		<i>A. hexapterus</i>		<i>A. heian</i>		un identified
	N	%	N	%	N	%	N
2	137	51.7	9	42.9	83	24.4	
3	80	30.2	10	47.6	112	32.9	
≥4	48	18.1	2	9.5	145	42.6	3
total	265		21		340		3

のに対し、オオイカナゴでは145個体（42.6%）と非常に多かった。これは、オオイカナゴの試料を泳動した際に、イカナゴおよびキタイカナゴ特異の位置に非特異のバンドがみられることが多かったことによる。また、使用したテンプレートに含まれるDNA量が少ないかもしくは多かった場合には、魚類共通ユニバーサルプライマー（ポジティブコントロール）による増幅も確認されないことが多かった。これらについては、テンプレート濃度を調整し、ポジティブコントロール位置にバンドが得られたものについて、オオイカナゴと特定した。最終的に、複数回実験を繰り返しても判別不可能であった個体については、総DNAを抽出して同様の実験を行うことで種判別に至った。これらは全てオオイカナゴであった。また稚魚試料のうち3個体について、魚体が極端に小さかったこともあり、試料が不足したため種判別に至らなかった。

全試料中イカナゴは265個体、キタイカナゴは21個体、オオイカナゴは340個体で、オオイカナゴが最も多かった（Table 3, 4）。海域別にみると、キタイカナゴはオホーツク海の宗谷海峡東部および猿払村沖合海域で得られた標本からのみ出現し、日本海の後志南・北部および利尻島の標本からは出現しなかった（Table 4）。後志南部では、5月6日に得られた標本では、イカナゴ（34%）よりオオイカナゴ（67%）が多かったが、それ以外の時期は同程度であった。後志北部ではイカナゴ（22%）よりオオイカナゴが多かった（78%）。利尻島で得られた標本については、4月標本では、イカナゴ（30%）よりオオイカナゴ（70%）の方が多かったが、5月標本では同数であった。宗谷海峡東部海域については、1個体のみしか得られなかった5月を除き、月別に3種の出現頻度が異なり、キタイカナゴは6月の標本からのみ出現した（8%）。また、8月の標本では、イカナゴの割合が78%と高かった。猿払村沖合海域については、標本収集期間を通じてオオイカナゴの方がイカナゴより多い傾向があったが、9月に漁獲された標本については、キタイカナゴが

Table 4 Number of identified *Ammodytes* species using multiplex PCR

Sampling area	Date/Month	Number of samples	Result of species identification			
			<i>A. Japonicus</i>	<i>A. hexapteru</i>	<i>A. heian</i>	un identified
Sea of Japan						
South Shiribeshi (Shimamaki)						
	13-Apr	50	22		25	3
	6-May	50	17		33	
	23-May	50	27		23	
North Shiribeshi (Yoichi)						
	2-May	50	11		39	
Rishiri Island						
	23-Apr	50	15		35	
	19-May	50	25		25	
Sea of Okhotsk						
Soya Strait (Off the east of Cape Soya)						
	23-May	1			1	
	3-Jun	50	29	4	17	
	12-Jul	50	27		23	
	8-Aug	50	39		11	
Sarufutsu						
	Mar.	43	12	1	30	
	Apr.	2			2	
	May	14	4		11	
	Jun.	29	13		16	
	Jul.	39	11	4	24	
	Sep.	28	6	12	10	
	Nov.	22	7		15	

多く出現した（42.8%）。したがって、同一海域において漁獲された試料についても、採集された日によって種組成が異なることが示された。

考 察

漁獲物の種判別法の検討 本研究の結果、総DNAを抽出することなく、マルチプレックスPCR法により簡易的にイカナゴ属3種を判別する手法が確立された。本手法では、作業の簡素化と時間短縮により、専門的な技術を要しない試料の前処理や大量試料の迅速な診断が可能となった。特にイカナゴおよびキタイカナゴについては、適正な量の肉片を使用することにより、ほぼ正確に判別することが可能であった。したがって、RFLP法において報告されているイカナゴとオオイカナゴの混同（Tanaka *et al.*, 2016）といった誤判別は避けることができる。また、田中（2004）による耳石形状に基づいた種判別法では、キタイカナゴタイプの耳石にもオオイカナゴ、イカナゴがそれぞれ含まれる上、タイプの判別が困難な耳石がみられる（堀本・美坂、私信）。一方、本手法においては、オオイカナゴに非特異バンドがみられることが多く、判別が困難な場合が多かった。しかし、このような試料については、塩基配列による種判別および総DNAを抽出した試料をテンプレートとした場合の種判別結果から、ほぼオオイカナゴであると考えられた。したがって、本手法により、イカナゴ、キタイカナゴ、「未確定を含むオオイカナゴ」として1次スクリーニングを

ほぼ確実に行うことが可能となった。

後志南部・北部海域の試料については、すべて体長50mmに満たない個体（稚魚）であり、これらは魚体の一部を切除して実験に供したが、骨・内臓などを含んでおり、成体の肉片試料と同じ条件では良好な結果が得られにくかった。要因としてライセート調整試料に含まれるDNA量が比較的少なかったことが考えられたため、PCR時のテンプレート量を2倍にするなど適宜調整する必要がある。稚魚については本手法を用いるより、総DNAを抽出した方がむしろ迅速な判別が可能であると判断された。

北海道北部沿岸域における漁獲物の種判別 本研究の結果、海域や採集日により種組成が異なることが示された。後志南部海域では、5月上旬に得られた標本を除き、イカナゴとオオイカナゴはほぼ同じ割合でみられたが、北部海域で得られた標本は、オオイカナゴがイカナゴより多かった。星野（2010）は、後志周辺海域には、積丹半島先端周辺と寿都～島牧の2海域に本種の主要な産卵場が存在し、北部海域と南部海域で漁獲される稚魚資源の産卵海域が異なる可能性を指摘している。本研究の結果から、これらの産卵場間では親魚の種組成が異なる可能性が考えられた。また、5月上旬の標本では、後志南部海域と後志北部海域で類似した種組成となっていた。後志北部海域については、1標本のみの結果であるため、他の時期の種組成についても検討する必要がある。加えて、星野（2010）による稚魚のふ化日組成および成長についても、種判別結果をもとに再検討することで、両海域における資源動態についてより詳細に把握することが可能となる。

利尻島および宗谷海峡東部海域では、採集時期により種組成が異なっていた。また、日本海の試料からはキタイカナゴは出現せず、イカナゴおよびオオイカナゴの組成比が変化するのみであったが、オホーツク海ではキタイカナゴが優占的に出現する時期があった。本研究から、いずれの海域でも採集日により種組成が変化することが示された。このことは同じ海域内においても種組成が位置や時期に応じて変化することを示唆している。そのため種別に資源評価や生態研究を行うためには、サンプリングの回数をできるだけ多くする必要がある。

謝 辞

標本の収集に際し、稚内機船漁業協同組合、猿払村漁業協同組合、余市郡漁業協同組合、島牧漁業協同組合、宗谷地区水産技術普及指導所利尻支所および後志地区水産技術普及指導所岩内支所により多大なるご協力を賜っ

た。また、研究の遂行にあたり、稚内水産試験場山口幹人調査研究部長はじめ職員一同ならびに契約職員諸氏には有益な助言および協力を賜った。記して謝意を表す。

引用文献

- Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 1985; 39: 783–791.
- 星野昇. 後志北部海域沿岸におけるイカナゴ稚魚漁業の特徴について. 北水試研報 2010; 78: 51–58.
- 甲斐嘉晃, 美坂正. 日本産イカナゴ属魚類の簡便な遺伝的識別方法の開発. タクサ 2016; 41: 1–7.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 2016; 33: 1870–1874.
- Matsui S, Nakayama K, Kai Y, Yamashita Y. Genetic divergence among three morphs of *Acentrogobius pflaumii* (Gobiidae) around Japan and their identification using multiplex haplotype-specific PCR of mitochondrial DNA. *Ichthyological Research* 2012; 59: 216–222.
- 美坂正. イカナゴ類（宗谷海峡海域）. 2016年度資源評価書. (<http://www.fishexp.hro.or.jp/exp/central/kanri/SigenHyoka/Kokai/>) 2017 (2017.11.1)
- 岡本俊, 加賀敏樹, 山下紀生, 船本鉄一郎. 平成28（2016）年度イカナゴ類宗谷海峡の資源評価. 平成28年度魚種別系群別資源評価. (<http://abchan.fra.go.jp/digests28/details/2851.pdf>) 2017 (2017.10.24)
- Orr JW, Wildes S, Kai Y, Raring N, Nakabo T, Katugin O, Guyon J. Systematics of north Pacific sand lances of the genus *Ammodytes* based on molecular and morphological evidence, with the description of a new species from Japan. *Fishery Bulletin* 2015; 113: 129–156.
- Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 1987; 4: 406–425.
- 坂口健司. イカナゴ. 「平成27年度道総研中央水産試験場事業報告書」 北海道立総合研究機構水産研究本部, 余市. 2016; 35–36.
- Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 1993; 10: 512–526.
- Tanaka C, Shirotori F, Sato M, Ishikawa M, Shinoda A, Aoyama J, Yoshinaga T. Genetic identification method for two subspecies of the Indonesian short-finned eel,

- Anguilla bicolor*, using an allelic discrimination technique. *Zool. Stud.* 2014; 53: 57.
- Tanaka C, Aoki R, Ida H, Aoyama J, Takeya Y, Inada M, Uzaki N, Yoshinaga T. Molecular genetic identification of Japanese sand lances using mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit 1 restriction fragment length polymorphism. *Fish. Sci.* 2016; 82: 887–895.
- 田中伸幸. 耳石を用いたイカナゴ属2種の種判別 (短報). 北水試研報 2004; 67: 109–111.
- Truett GE, Heeger P, Mynatt RL, Truett AA, Walker JA, Warman ML. Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and TRIS (HotSHOT). *Biotechniques* 2000; 29: 52–54.

サケ回帰親魚の体腔液中の冷水病原菌*Flavobacterium psychrophilum*濃度（短報）

畑山 誠*, 藤原 真, 水野伸也

北海道立総合研究機構さけ・ます内水面水産試験場

The concentration of *Flavobacterium psychrophilum* in the ovarian fluid of returning chum salmon (Short paper)

MAKOTO HATAKEYAMA*, MAKOTO FUJIWARA and SHINYA MIZUNO

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

We determined the concentration of *Flavobacterium psychrophilum* in the ovarian fluid of returning chum salmon that were captured from 6 rivers in Hokkaido, Japan. The detection rate of the bacterium ranged from 28%–90% of the samples from each river. The concentration found in each specimen was below 7 log CFU/mL. The incidence of specimens carrying a high concentration of this bacterium tended to be low. We also examined the effects that different sample storage methods had on the concentration of viable bacteria. Incubating samples at 4 °C for 24 h resulted in a reduction in bacterial concentration. Freezing and thawing produced an approximately 90% reduction. These results indicate that bacterial counts based on CFU may lead to underestimation depending on the method of specimen storage.

キーワード：サケ, 冷水病, *Flavobacterium psychrophilum*, 体腔液, 卵内感染

Flavobacterium psychrophilum (Bernardet *et al.*, 1996) は冷水病の原因菌である。本疾病がサケ科魚類増養殖にもたらす損失は国際的に大きく、日本では多くのサケ科魚類の他、アユ*Plecoglossus altivelis*でも報告がある (Borg, 1960; Wakabayashi *et al.*, 1994; Lorenzen *et al.*, 1997; Izumi and Aranishi, 2004)。Misaka and Suzuki (2007) は北海道内のサケ*Oncorhynchus keta*の回帰親魚を調査し、その体腔液から*F. psychrophilum*が高率に分離されることを報告している。また、Hatakeyama *et al.* (2013) は、北海道内のある河川に回帰した親魚群とその親魚群由来の稚魚群から、同じ遺伝子型の*F. psychrophilum*が高率に分離されたことから、何らかの様式で本菌が親魚から稚魚へ伝播した可能性がある」と報告している。サケ科魚類回帰親魚の冷水病感染はサケのほかギンザケ*O. kisutch*, マスノスケ*O. tshawytscha*, 大西洋サケ*Salmo salar*で報告があり、これらの感染親魚より得られた卵、精液を人工授精した場合、しばしば卵内感染が起こるとされている (Brown *et al.*, 1997; Taylor, 2004; Cipriano, 2005)。これら

の報告は、北海道内のサケ増殖事業においても、*F. psychrophilum*の卵内感染の危険性は否定できないことを示唆している。*F. psychrophilum* の卵内感染の機序については、ニジマス*O. mykiss*を用いた実験から、本菌が受精時あるいは吸水時に卵門より侵入し、胚発生を阻害することなく卵内で増殖する現象と理解されている (Kumagai and Nawata, 2010a)。この卵内感染は受精時、卵周辺の*F. psychrophilum*生菌濃度が高いほど高率に起こるとされているため (Kumagai and Nawata, 2010a; 小原ら, 2010)、雌親魚の体腔液中の生菌濃度が卵内感染のリスクを考察する上で重要と考えられるが、これまでに北海道内のサケ回帰親魚の体腔液中の生菌濃度を測定した事例はない。また、病原体保有状況調査において、現場での試料採取から実験室での検査までに輸送等による経過時間がある場合、冷蔵あるいは凍結等の何らかの方法で試料を保存することになるが、特に病原体の濃度測定を目的とした調査では、試料の保存方法が病原体濃度に与える影響を把握する必要がある。そこで、本研究では2012年、2013

年に道内の6河川で捕獲され、孵化場にて蓄養されていたサケ雌親魚を対象に体腔液中の*F. psychrophilum*生菌濃度を測定し、あわせて保存のための冷蔵や冷凍が体腔液中の生菌濃度に与える影響について基礎的な実験を行った。

材料および方法

サケ雌親魚の体腔液中の*F. psychrophilum*生菌濃度
2012年および2013年、北海道内の6河川で捕獲され、それぞれの孵化場で蓄養されていたサケ雌親魚を対象に、体腔液中の*F. psychrophilum*生菌濃度を測定した。体腔液は1河川あたり60個体から個体別に、Yoshimizu *et al.* (1985)の方法に従い採取し、実験室（さけます・内水面水産試験場、北海道恵庭市）までは冷蔵（約4 °C）で輸送した。その後、体腔液は実験室にて滅菌生理食塩水で10倍階段希釈し、各希釈10 µLを改変サイトファーガ寒天培地（Wakabayashi and Egusa, 1974）に滴下し、15 °Cで7日間培養した。目視にて発育が確認できた培地上の黄色のコロニーは、プライマーPSY-G1FおよびPSY-G1Rを用いたPCR法（Izumi and Wakabayashi, 2000）により他種のコロニーを除外した上、それぞれ希釈倍率とコロニー数から*F. psychrophilum*生菌濃度を測定した（検出限界: 3 log CFU/mL）。

保存方法が*F. psychrophilum*生菌濃度に与える影響 冷蔵、凍結がサケ体腔液中の*F. psychrophilum*生菌濃度に与える影響について、次のとおりの実験を行った。*F. psychrophilum*標準株（NCIMB1947）を300 mLの三角フラスコを用い、30 mLの改変サイトファーガ液体培地（前出寒天培地の寒天を除いた組成）で15 °C、5日間振盪培養した。培養後、4 °C、8,000 × gで10分間、遠心分離し、上澄の液体培地を除いた。沈殿物として得られた菌体は滅菌生理食塩水に再び懸濁したのち、4 °C、8,000 × gで遠心分離し、上澄の生理食塩水を除いた。これらの作業により洗浄した菌体は、メンブレンフィルター（ポアサイズ0.45 µm）を用い濾過滅菌したサケ体腔液（20個体分のプール）に懸濁し、試験用の菌液とした。この菌液は初発の生菌濃度を体腔液の検査と同様の方法で測定するとともに、1.5 mLのチューブに1 mLずつ分注し、4 °Cで冷蔵、あるいはドライアイス上で凍結した。冷蔵状態の菌液は2, 4, 6, 24, 48時間後に前述と同様の方法で生菌濃度を測定した。ドライアイス上で凍結した菌液は、48時間後に室温で再融解した。この凍結と再融解を1および2回繰り返す、それぞれ再融解後に速やかに生菌濃度を同様に測定した。

結果および考察

サケ体腔液中の*F. psychrophilum*生菌濃度測定について、調査対象とした6河川（A, B, C, D, E, F）における体腔液採取日、採取から検査までのおおよその冷蔵時間、*F. psychrophilum*の検出率をTable 1に示す。体腔液採取から検査までの冷蔵時間は、概ね4, 6, 30時間だった。どの河川のサケ雌親魚からも2012年と2013年の両年で*F. psychrophilum*が検出されており、その検出率は28%から90%だった。河川Dの検出率は、2012年で90.0%, 2013年で88.3%と、両年共に6河川の中で最も検出率が高かった。採取年別、河川別の生菌濃度の頻度分布をFig. 1に示す。いずれも生菌濃度は7 log CFU/mL未満だった。全体的には高濃度なものほど出現頻度は低かったが、採取年別、河川別にみると2012年採取分では河川Dにおいて、2013年採取分では河川Aおよび河川Cにおいて、3 log CFU/mL台よりも4 log CFU/mL台の出現頻度が高かった。また、6 log CFU/mLを超える濃度の個体は2012年採取分では河川Dと河川E、2013年採取分では河川Bと河川Dで確認された。

保存のための冷蔵や冷凍が体腔液中の*F. psychrophilum*生菌濃度に与える影響について検証した実験結果をTable 2に示す。冷蔵が体腔液中の*F. psychrophilum*生菌濃度に及ぼす影響について、4 °Cで2時間から48時間静置した場合、生菌濃度は少なくとも6時間後までは大きく変化しなかったが、24時間後では初発濃度の概ね25%に、48時間後では初発濃度の4%に低下した。また、体腔液の凍結保存を想定した実験では、ドライアイスによ

Table 1 Relationships between the source river, date of sampling, sample storage time, and rate of fish found positive for *F. psychrophilum*

River*	Sampling date	Storage time**	No. of positive fish/No. of fish examined (%)
A	5 Oct. 2012	6 h	35/60 (58.3)
	16 Oct. 2013	6 h	47/60 (78.3)
B	31 Oct. 2012	30 h	25/60 (41.7)
	29 Oct. 2013	30 h	46/60 (76.7)
C	22 Oct. 2012	4 h	22/60 (36.7)
	28 Oct. 2013	4 h	45/60 (75.0)
D	25 Oct. 2012	4 h	54/60 (90.0)
	24 Oct. 2013	4 h	53/60 (88.3)
E	22 Oct. 2012	30 h	34/60 (56.7)
	21 Oct. 2013	30 h	17/60 (28.3)
F	24 Oct. 2012	30 h	25/60 (41.7)
	22 Oct. 2013	30 h	27/60 (45.0)

*: Code of river where chum salmon were captured

** : Storage time at 4 °C before examination (Approx.)

る1回の凍結と再融解により、生菌濃度は初発濃度の10%に、これを2回繰り返した場合は初発濃度の0.6%に低下するという結果を得た。凍結が生物に与える障害について、氷晶が細胞に与える物理的障害、氷晶の成長過程において氷晶外に作られる濃縮した水溶液が細胞に与える化学的障害が知られている（藤川, 2012）。このことか

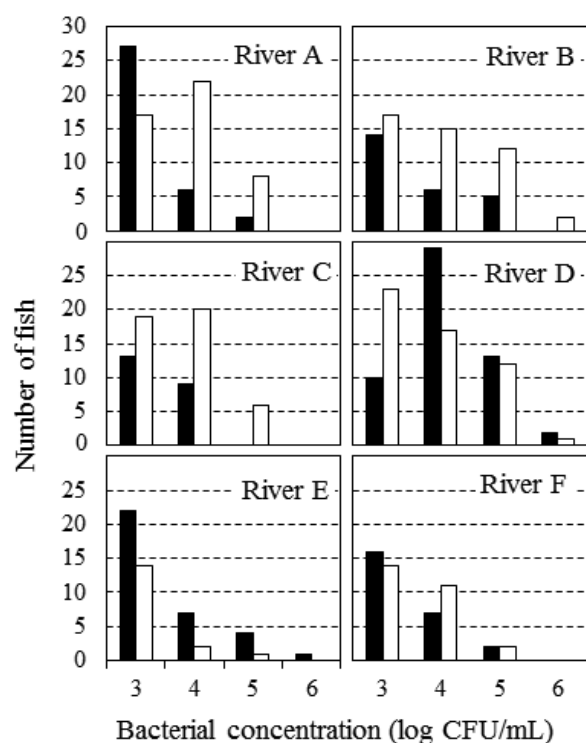


Fig.1 The frequency distribution of *F. psychrophilum* concentration measured in the ovarian fluid of returning chum salmon captured from the river. Black and white columns indicate the results from 2012 and 2013, respectively.

Table 2 The effect of storage conditions on the concentration of *F. psychrophilum* in ovarian fluid

Storage condition		Concentration of <i>F. psychrophilum</i> (log CFU/ml)
Incubation at 4 °C		
Incubation time	0 h	7.8
	2 h	7.8
	4 h	7.7
	6 h	7.8
	24 h	7.2
	48 h	6.4
Freezing and thawing*		
Number of Cycles	None	7.8
	Once	6.8
	Twice	5.6

*: Freezing on dry ice for 48 h followed by thawing at room temperature

ら、液体中の細菌を冷凍する場合についても、氷晶の形成に関係がある冷凍時の経時的温度変化、細胞内外の水溶液成分等により、細菌の生存率は大きく異なると考えられる。今回は、現場での体腔液の簡易な保存、採取から概ね2日以内の実験室での検査を想定し、実験を設定したが、生菌濃度を保持する最適な体腔液の凍結保存については更なる検討が必要と考えられる。

*F. psychrophilum*濃度と卵内感染の関係について、ニジマスを用いた実験では、体腔液の生菌濃度が6 log CFU/mL以上の場合に卵内感染が確認され、濃度が高いほど卵内感染は高率に起きるとされている（Kumagai and Nawata, 2010a）。また、全国の養殖場にて実際に飼育されていたニジマス、アメマス *Salvelinus leucomaenis*、ギンザケ、サクラマス *O. masou*、ヒメマス *O. nerka* の調査事例では、個体別にみた場合、ニジマス、ギンザケ、サクラマスの体腔液中には6 log CFU/mLを超える生菌濃度で *F. psychrophilum* が確認されたが、精液については、どの魚種でも4.5 log CFU/mL以下であったため、精液中の本菌が卵内感染に関与する可能性は低いと考察されている（Kumagai and Nawata, 2011）。本研究においては、全調査河川のサケ回帰親魚で *F. psychrophilum* が検出されたことから、本菌は北海道のサケに広くまん延し、稀には Kumagai and Nawata (2010a) が卵内感染を確認した生菌濃度である6 log CFU/mLを超える濃度で体腔液中に存在することがわかった。また、冷蔵時間が体腔液中の *F. psychrophilum* 生菌濃度に与える影響について検証した実験結果から、今回の北海道内各河川におけるサケ回帰親魚の生菌濃度の測定において、輸送に30時間程度の冷蔵時間を要した体腔液では、時間相当分の濃度の低下があった可能性がある。

実際のサケの人工授精においては、複数の雌親魚から得られた卵を一つの容器内で授精する方法が採用されており、今回の生菌濃度の頻度分布（Fig. 1）に冷蔵時間相当分の濃度低下を考慮しても、多くの場合6 log CFU/mLを下回る平均的な濃度下で授精作業が反復されていると考えられる。しかし、前述のとおり、受精時の生菌濃度が高いほど卵内感染率（卵内感染を受けた受精卵/全受精卵）は高いとされていることから（Kumagai and Nawata, 2010a）、*F. psychrophilum* の卵内感染は確率的な現象と考えられ、6 log CFU/mLを下回る濃度であっても、実験作業上、検出が不可能な低い率で卵内感染が発生している可能性は否定できない。また、河川Dは両年共に検出率が最も高く、生菌濃度も高い傾向があったことから、卵内感染の危険性は道内一様ではない可能性がある。小原ら（2010）は未受精卵を等調液により洗浄することで、受精時に混入する菌数を減少させ、卵内感染

を防除する方法を提案している。また、有機ヨード剤を含む等調液で未受精卵の洗浄を行った場合、殺菌効果が加わり、更に大きく卵内感染率を低減できるとの報告もある (Kumagai and Nawata, 2010b)。今後も体腔液中の *F. psychrophilum* 生菌濃度を測定し、地域別にリスクを評価し、必要に応じて、これら防除方法をサケの人工授精作業に応用することで北海道内のサケ増殖事業における冷水病原菌の卵内感染の危険性は大きく低減できるものと考えられる。

謝 辞

本研究の実施にあたり、北海道内の各管内さけます増殖事業協会の皆様に多大なご協力を頂きました。ここに記して厚くお礼申し上げます。

引用文献

- Bernardet JF, Segers P, Vancanneyt M, Berthe F, Kersters K, Vandamme P. Cutting a Gordian knot: emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family *Flavobacteriaceae*, and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (basonym, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tait 1978). *Int. J. Syst. Microbiol.* 1996; 46: 128–148.
- Borg AF. Studies on myxobacteria associated with diseases in salmonid fishes. *Wildl. Dis.* 1960; 8: 1–85.
- Brown LL, Cox WT, Levine RP. Evidence that the causal agent of bacterial cold-water disease *Flavobacterium psychrophilum* is transmitted within salmonid eggs. *Dis. Aquat. Org.* 1997; 29: 213–218.
- Cipriano RC. Intraovum infection caused by *Flavobacterium psychrophilum* among eggs from captive Atlantic salmon broodfish. *J. Aquat. Anim. Health* 2005; 17: 275–283.
- 藤川清三. 生物の凍結に関する基礎研究. 低温生物工学会誌 2012; 58: 1–7.
- Hatakeyama M, Misaka N, Mizuno S, Koide N. Genotyping of *Flavobacterium psychrophilum* isolated from chum salmon *Oncorhynchus keta* in Hokkaido, Japan. *Fish Pathol.* 2013; 48: 135–138.
- Izumi S, Aranishi F. Plasmid profiling of Japanese *Flavobacterium psychrophilum* isolates. *J. Aquat. Anim. Health* 2004; 16: 99–103.
- Izumi S, Wakabayashi H. Sequencing of *gyrB* and their application in the identification of *Flavobacterium psychrophilum* by PCR. *Fish Pathol.* 2000; 35: 93–94.
- 小原昌和, 小川滋, 笠井久会, 吉水守. 養殖サケ科魚類の人工採卵における等調液洗卵法の除菌効果. 水産増殖 2010; 58: 37–43.
- Kumagai A, Nawata A. Mode of the intra-ovum infection of *Flavobacterium psychrophilum* in salmonid eggs. *Fish Pathol.* 2010a; 45: 31–36.
- Kumagai A, Nawata A. Prevention of *Flavobacterium psychrophilum* vertical transmission by iodophor treatment of unfertilized eggs in salmonids. *Fish Pathol.* 2010b; 45: 164–168.
- Kumagai A, Nawata A. Concentration of *Flavobacterium psychrophilum* in the ovarian fluid and milt of cultured salmonids. *Fish Pathol.* 2011; 46: 116–119.
- Lorenzen E, Dalsgaard I, Bernardet JF. Characterization of isolates of *Flavobacterium psychrophilum* associated with cold-water disease or rainbow trout fry syndrome I: phenotypic and genomic studies. *Dis. Aquat. Org.* 1997; 31: 197–208.
- Misaka N, Suzuki K. Detection of *Flavobacterium psychrophilum* in chum salmon *Oncorhynchus keta* and virulence of isolated strains to salmonid fishes. *Fish Pathol.* 2007; 42: 201–209.
- Taylor PW. Detection of *Flavobacterium psychrophilum* in eggs and sexual fluids of Pacific salmonids by a polymerase chain reaction assay: implications for vertical transmission of bacterial coldwater disease. *J. Aquat. Anim. Health* 2004; 16: 104–108.
- Wakabayashi H, Egusa S. Characteristics of myxobacteria associated with some freshwater fish diseases in Japan. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 1974; 40: 751–757.
- Wakabayashi H, Toyama T, Iida T. A study on serotyping of *Cytophaga psychrophila* isolated from fishes in Japan. *Fish pathol.* 1994; 29: 101–104.
- Yoshimizu M, Kimura T, Winton JR. An improved technique for collecting reproductive fluid samples from salmonid fishes. *Prog. Fish-Cult.* 1985; 47: 199–200.

粒子追跡実験を用いた北海道日本海におけるサケ幼稚魚の北上移動に関する考察（短報）

小山達也^{*1}, 品田晃良², 黒田 寛³, 宮腰靖之¹

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中央水産試験場

³国立研究開発法人水産研究・教育機構北海道区水産研究所

Consideration on northward transport of juvenile chum salmon in the Sea of Japan off Hokkaido based on particle-tracking experiments (Short paper)

TATSUYA KOYAMA^{*1}, AKIYOSHI SHINADA², HIROSHI KURODA³ and YASUYUKI MIYAKOSHI¹

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

² Central Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Yoichi, Hokkaido 046-8555*

³ Hokkaido National Fisheries Research Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency, *Kushiro, Hokkaido 085-0802, Japan*

Using particle-tracking experiments, based on a high-resolution ocean model, we examined the northward transport of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*), released into the Sea of Japan, by assuming that the particles represented juvenile chum salmon, which were transported passively by ocean currents. The experiments were undertaken for the two brood year classes of juvenile chum salmon; the 2009 brood year class released in the spring of 2010, which showed the lowest return rate among the 2007 to 2010 brood year classes, and the 2007 brood year class released in the spring of 2008, which showed the highest return rate. A remarkable difference in the distribution of the particles was observed between the two brood year classes; i.e., for the 2009 class, particles were transported across a wider range in offshore waters, and the timing at which particles were transported into the Okhotsk Sea through the Soya Strait was delayed. Moreover, the ambient sea water temperature experienced by the particles was lower for the 2009 year class. These results indicated that the post-release transport of juvenile chum salmon by ocean currents was remarkably different between the two years and it may contribute to the low return rate of the 2009 class on the Sea of Japan side of Hokkaido.

キーワード：サケ幼稚魚，北上移動，北海道日本海，粒子追跡実験

北海道日本海沿岸のサケ *Oncorhynchus keta* の来遊数は全道の1割未満と少ないがこの海域にとっては秋の主要な漁業資源として重要であり，同地域のサケ資源向上に向けた期待は大きい。北海道立総合研究機構（以下，道総研）さけます・内水面水産試験場では，日本海のサケの資源構造を詳しく把握するため，2010年から日本海沿岸のサケ捕獲河川の大部分で年齢組成調査を行っているが，その調査結果を用い2007年級から2010年級の回帰尾数を推定したところ，調査した全ての河川で2009年級の

回帰尾数が著しく少ないという結果が得られた（小山ら，2017）。各河川のサケの回帰状況には放流魚の種苗性など，個別の要因も影響すると思われるが，2009年級では日本海沿岸のすべての河川で近年としてはかなり少ない回帰尾数にとどまっていることから，降海後の日本海の沿岸環境がサケの生き残りに厳しい条件であったと考えるのが妥当であろう。しかし，2009年級の日本海沿岸のサケ低回帰の原因について明確な見解は示されておらず，この資源変動の要因を究明することは北海道日本海のサ

ケ資源向上に繋がるものと考えられる。

海洋生活初期の生残がサケの回帰来遊に大きく影響すると言われていることから (Healey, 1982; Bax, 1983; Pearcy, 1992), その時期の海洋環境をモニタリングすることが重要と考えられる。オホーツク中東部からえりも以東太平洋については降海した稚魚が経験する沿岸水温と資源変動の間に一定の関連性が見いだされている (Nagata *et al.*, 2017)。しかし, Nagata *et al.* (2017) は, 暖流の影響が強い日本海区については沿岸水温という環境因子だけでは資源の増減に関わる原因を特定するのは難しいと指摘している。一方, サケの回帰尾数と沿岸流速の関係性を指摘した事例もあるが (水産総合研究センター, 2015), 北海道日本海のサケ資源の変動要因に関する理解はまだ十分とは言い難い。

近年, 海洋流動モデルの出力を利用した粒子追跡実験が盛んに行われており, 遊泳力の弱い稚仔魚などを粒子と仮定して, その輸送経路や経験水温をトレースすることで, 初期生活史の生残過程の変動機構を解明する取り組みが行われている。国立研究開発法人水産研究・教育機構北海道区水産研究所 (以下, 北水研) と道総研中央水産試験場は北海道の水産海洋研究に粒子追跡実験を活用するため, 「高解像度北海道沿岸モデルを用いた粒子追跡システムの水産海洋研究への適用」に関する共同研究を行っており, 北海道の様々な漁業資源生物の生態解明に有益な結果が得られている (品田・黒田, 2016)。本研究では, 高解像度北海道沿岸モデルの再解析値を用いた粒子追跡実験において, 粒子をサケ幼稚魚とみなし, 日本海に降海した後のサケの北上移動中の位置や経験水温, さらに宗谷海峡からオホーツク海へ輸送される頻度や時期の検証を行った。特に, 日本海の全ての河川で回帰尾数が近年としては多かった2007年級と少なかった2009年級について検証した。

材料と方法

沿岸を含めた海洋におけるサケ幼稚魚の移動をシミュレーションするにあたっては高解像度北海道沿岸モデルの出力を用いた粒子追跡実験を行った (Kuroda *et al.*, 2014)。粒子追跡システムの基盤となる海洋モデルは, 水産機構海況予測システムFRA-ROMS (Kuroda *et al.*, 2017) を北海道周辺 (北緯38.49° から47.01°, 東経138.89° から148.21° の範囲) において1/50° の水平格子幅で高解像度化したモデルで, Kuroda *et al.* (2014) で用いた海洋モデルを基盤としている。Kuroda *et al.* (2014) で用いたモデルからの変更点は, 側面境界が南に拡大されていること, また, 日々の現実的な気象外力や河川流量

でモデルが駆動され, 約100 km以上の空間規模をもつ中規模変動はFRA-ROMSの再解析値により修正されていることであり, これにより北海道周辺における日々の海況が再現される。本研究の粒子追跡実験には高解像度北海道沿岸モデルの6時間平均出力を用いた。なお, 粒子追跡には北水研と道総研の共同研究で開発した汎用的な粒子追跡システムを利用し, 本システムに実験期間, 粒子の初期配置位置, 水深および粒子の鉛直移動等の設定を入力することで, 粒子の位置や経験水温を追跡することが可能である。本研究では, 粒子をサケ幼稚魚とみなし, 能動的には遊泳せず, 受動的に輸送されると仮定して, 放流後, すなわち粒子を海中に投入後の粒子位置を追跡した。粒子の投入場所としては, 北海道日本海沿岸において地理的に中央に位置し, また, サケ増殖河川として典型的な放流規模 (毎年約650万尾) および河川規模である余市川の河口域をモデルとして選定した。粒子追跡実験の開始月日は2007年級と2009年級が降海する2008年と2010年の余市川において最後の放流を行った4月下旬の中日, 4月26日とした。沿岸におけるサケ稚魚は渚滞で成長した後に沖合に移動し北上回遊することから (Nagata *et al.*, 2007; 永田・宮腰, 2013), 粒子の投入場所は, 余市川の河口からもっとも沿岸に位置し, 1/50° の水平格子幅の区画で粒子を配置できる北緯43.2105° から43.2205°, 東経140.8395° から140.8495° のおよそ2 km四方の区域とし, 676個の粒子を初期配置した。追跡する実験期間は60日間とした。サケ幼稚魚の遊泳層は海表面付近であることから (Moulton, 1997), 粒子初期配置の深度は0.75mとし, 鉛直方向の拡散はせず一定水深を移動する設定で実験を行った。

日本海からオホーツク海へ移動した粒子の判定は粒子の置かれている経度について宗谷岬の位置する東経141.9364° を基準に西側と東側に区分することにより行った。

結 果

粒子追跡実験を開始した3日後, 1週間後の粒子の位置をFig. 1に示した。実験開始3日後には, 粒子は2008年には石狩湾沿岸に, 2010年には投入地点より北方25 kmを中心とする石狩湾沖合に運ばれた。実験開始1週間後には, 2008年は粒子の多くが留萌から羽幌沿岸にまで達したのに対し, 2010年は増毛沖の移動に留まり兩年の間で相違がみられた。実験開始から1週間における粒子の毎日の経験水温の平均値をFig. 2に示した。各個別における粒子の経験水温は2008年が7.85~10.47℃, 2010年が5.66~7.77℃の範囲であり, 2008年は8℃前後の水温の場

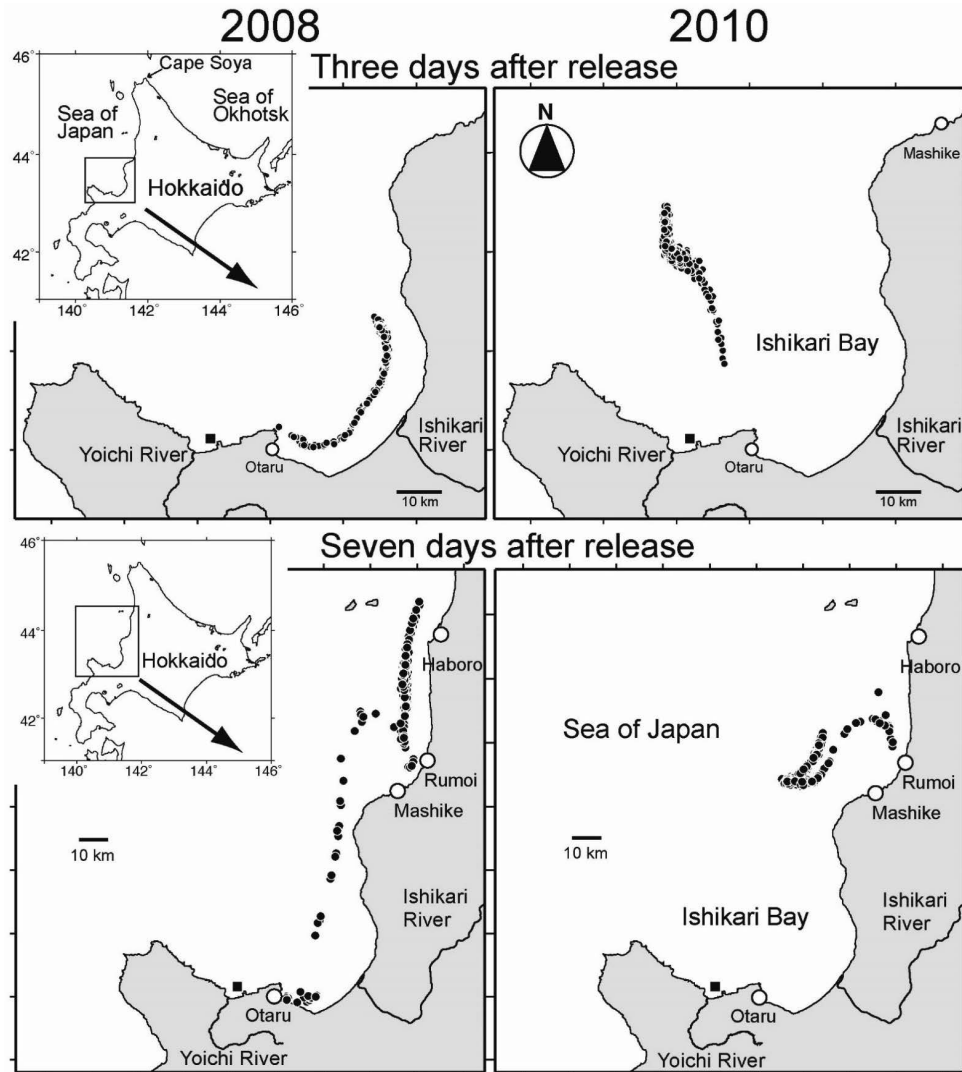


Fig. 1 Distribution of particles released into the coastal area of Yoichi on April 26 simulated by the particle-tracking experiments. Closed squares indicate release locations of particles.

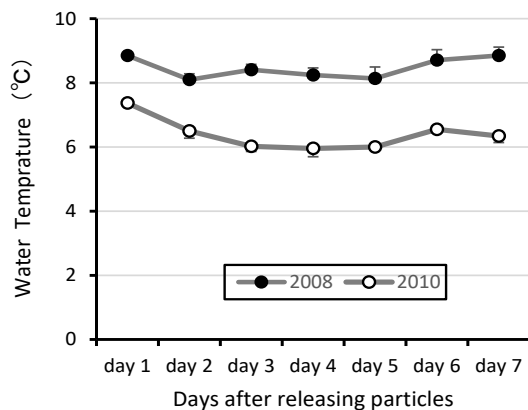


Fig. 2 Ambient sea water temperature experienced by the particles during the initial 7 days of the tracking experiments.

所に位置していたのに対し、2010年は6℃前後と低い水温を経験していた。

余市沿岸に投入した676個の粒子について、5月以降の宗谷岬の東西の分布状況、および、それぞれの粒子が経験した水温をFig.3に示した。宗谷岬東側のオホーツク海への移入状況を見ると2008年は5月31日には88.3%が移入したのに対して、2010年ではオホーツク海へ流入した粒子は6月10日でも55%に過ぎず、明らかに2010年が2008年より遅くオホーツク海に移入した。また、2010年では粒子追跡実験で捉えきれない域外に向かう粒子も28.7%と多くみられ、これらはサハリン西側にあたる日本海の北方域に位置していた。粒子の経験水温はオホーツク海においては両年で大きな違いは見られなかった(日別経験水温平均値の範囲2008年: 5.93~10.32℃, 2010年: 6.11~11.88℃)。一方、日本海に分布している粒子では2010年が2008年よりも低い水温を経験していたが、6

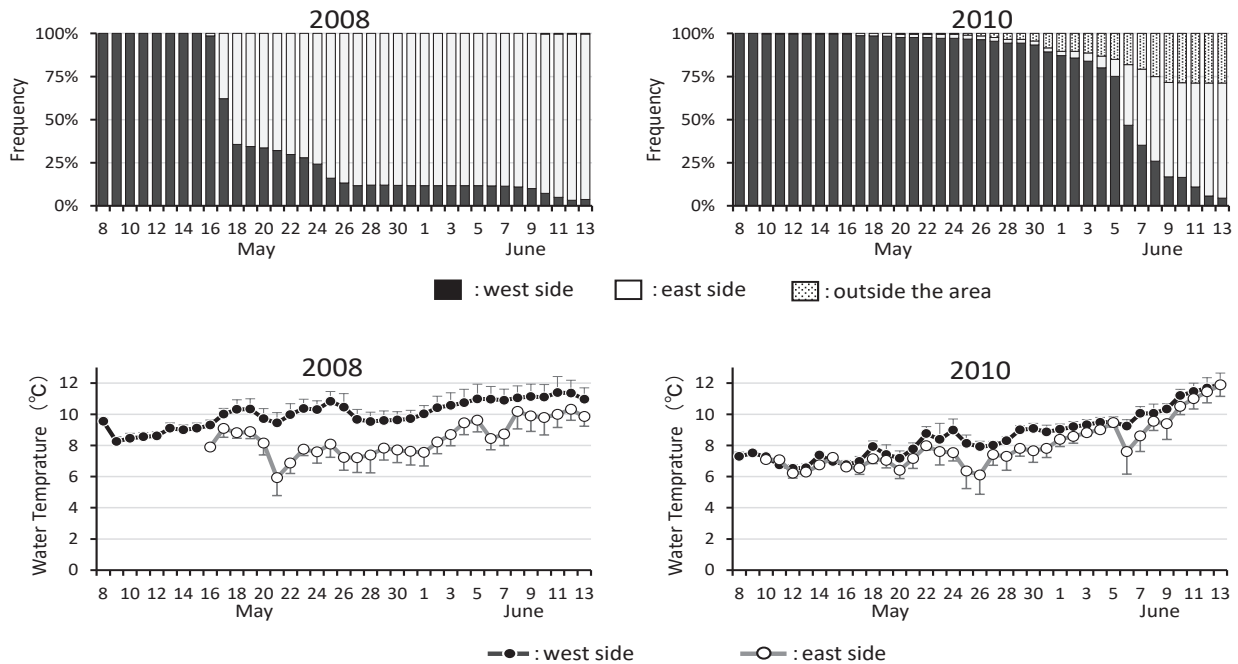


Fig. 3 Frequency of particles located in the east and west of the Cape Soya (upper panels) and sea water temperature experienced by the particles (lower panels) simulated by the particle-tracking experiments. Error bars indicate standard deviations.

月中旬には2010年が2008年よりも高くなった（日別経験水温平均値の範囲2008年: 8.25～11.39℃, 2010年: 6.53～11.93℃）。

考 察

東屋ら（2015）は、東北太平洋沿岸から北海道沿岸に至るサケ稚魚の移動をシミュレートした粒子実験において、移動要因を海流による受動的移動のみにしたケースと海流による受動的移動に加え自泳による能動的移動の両方の効果を取り入れたケースを比較した場合、東北沿岸から北海道の日高や太平洋東部沿岸に達するには自泳による能動的な移動が必要なことを報告している。本研究における日本海を北上移動する粒子の移動実験では、オホーツク海に多くの粒子が流入したのは2008年では5月中下旬、2010年では6月であった（Fig. 3）。真山ら（1982）は、4月中下旬に石狩川河口域に分布したサケ標識魚が6月上中旬に宗谷岬の東側で採捕された事例を報告している。本研究では粒子の能動的移動を考慮しなかったが、真山ら（1982）による野外での観察結果と時期的に大きな違いはみられなかった。一方、北上回遊する石狩川産サケ稚魚は留萌、宗谷地方のごく沿岸帯を通過すると報告されているが（真山ら, 1982）、日本海ではサケ幼稚魚の北上移動経路は十分明らかとなっていない。粒子実験では沿岸から離れ沖合に移動する例も見られることから、

沖合に移動する経路についてもモデル実験を参考にして検証する必要がある。

北海道日本海の流れの流向流速についてはホタテガイ浮遊幼生の分布移動を明らかにすることを目的に流向流速計を深度10 mから20 mに設置して調査されている（北海道立総合研究機構中央水産試験場, 2011～2013）。その結果、小樽沖では風には関係なく東向きの流れの頻度が高い。一方、増毛以北の沿岸部では北上流が卓越しており、その流れを駆動させる力は主に風であることが示唆されている。本研究における粒子実験では、実験開始後3日目の位置が両年で大きく異なり、2010年では小樽沖における東向きの流れに従うことなく石狩湾の沖合に移動した（Fig. 1）。2010年4月27日～4月29日の小樽市における風向風速は東または東南東の風で最大風速7.7～11.7m/sを示していたが（気象庁 <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>）、サケ稚魚の遊泳層に設定した表層ではこうした風の影響を強く受けた可能性がある。粒子投入1週間後を見ると、2008年には粒子はより北方に移動したが、この事象も風に影響されたものと考えられる。一方、粒子投入後1週間の粒子の経験水温は2008年が8℃以上、2010年が6℃前後であり、2008年がサケ幼稚魚の適水温により合致していたと言える。2010年の水温は沿岸も2008年より低く、粒子の経験水温は沖合に運ばれることでさらに低くなった可能性も考えられるが、いずれにせよ、2010年には海水温が低く、粒子に

は沖合へと輸送する力が強く働いたことが明らかとなった。

宗谷海峡を通して日本海からオホーツク海へと流れる宗谷暖流の駆動力は海峡の両側、日本海北部とオホーツク海南西部の水位差であることが明らかにされている(青田ら, 1993)。オホーツク海は日本海に比較し栄養塩に富み餌生物の観点から日本海より良好な環境であることが指摘されている (Kobayashi *et al.*, 2015)。サケ幼稚魚にとって好適な水温であれば、早い時期にオホーツク海に流入することがサケ幼稚魚の生き残りに関し有利に働くものと考えられるが、本研究の粒子実験では粒子のオホーツク海への流入は2010年が2008年よりもかなり遅れる結果となった。また、実験で投入した約700個の粒子のうちの約3割が粒子モデルの域外である日本海北方のサハリン西岸に逸脱し、それらのオホーツク海への流入は不可能と考えられた。このように、粒子実験における2010年の日本海での北上移動や水温、オホーツク海への流入状況をみると、この年はサケ幼稚魚の生き残りに不利な条件であった可能性が示唆され、このことが北海道日本海での2009年級の低い回帰(小山ら, 2017)をもたらしただ可能性がある。

最近の海面水温情報については国土交通省気象庁が発信している気象衛星「ひまわり」による画像を通しウェブからリアルタイムに入手することが可能である(http://www.data.jma.go.jp/gmd/kaiyou/data/db/kaikyo/daily/sst_HQ.html)。加えて、潮流については日本海区水産研究所が発信しているJADEシステムの利用で予測も可能である(<http://jade2.dc.affrc.go.jp/jade2/>)。これら情報によりサケ稚魚の放流タイミングを適切に管理すれば、放流後のサケ幼稚魚の減耗を最小限に抑え、ひいては回帰資源量の増大に貢献するものと考えられる。これらを補完説明する過去の事象、すなわち、年級別回帰資源量と海洋環境の関係を把握する必要があるが、放流後のサケ幼稚魚が経験する海洋環境を捉えるのに粒子追跡実験は大変有意義なツールといえる。本研究では2カ年分の粒子実験を行い比較したに過ぎないが、海区全体におけるサケ親魚の回帰資源量のモニタリングを継続することで実験例がさらに集積され、今後、さらにサケ年級別回帰資源量とサケ稚魚放流後の海洋環境の関連性について検討する材料が整うことを期待したい。

謝 辞

サケ稚魚を模した粒子追跡には、道総研と北水研の共同研究『高解像度北海道沿岸モデルを用いた粒子追跡システムの水産海洋研究への適用』(平成26～32年度)で

開発した粒子追跡システムを利用しました。また、本調査は公益社団法人北海道さけ・ます増殖事業協会からの受託研究「秋サケ資源低迷の原因を解明するためのモニタリング調査」の一環として進めました。

引用文献

- 青田昌秋, 石川正雄, 山田俊郎. 宗谷海峡の流れについて. 低温科学. 物理篇 1989; **47**: 147-160.
- 東屋知範, 黒田 寛, 鶴沼辰哉, 横田高士. 流体モデルなどによるサケ稚魚の回避条件の検証. 平成 26 年度太平洋サケ資源回復調査委託事業調査報告書 2015; 40-44.
- Bax NJ. Early marine mortality of marked juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) released into Hood Canal, Puget Sound, Washington, in 1980. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1983; **40**: 426-435.
- 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.
- 北海道立総合研究機構中央水産試験場. 日本海ホタテガイ採苗不振対策研究. 平成21～23年度道総研中央水産試験場事業報告書, 余市. 2011～2013.
- Kobayashi Y, Takatsu T, Yamaguchi H, Joh M. Comparisons of diet and nutritional conditions in *Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles between two nursery grounds off northern Hokkaido, Japan. *Fish Sci.* 2015; **81**: 463-472.
- 小山達也, 下田和孝, 青山智哉, 飯嶋亜内, 卜部浩一, 藤原 真, 宮腰靖之. 北海道日本海側河川に遡上したサケの最近の年級別回帰尾数(資料). 北海道立水産試験場研究報告 2017; **92**: 47-58.
- Kuroda H, Takahashi D, Mitsudera H, Azumaya T, Setou T. A preliminary study to understand the transport process for the eggs and larvae of Japanese Pacific walleye Pollock *Theragra chalcogramma* using particle-tracking experiments based on a high-resolution ocean model. *Fish. Sci.* 2014; **80**: 127-138.
- Kuroda H, Setou T, Kakehi S, Ito S, Taneda T, Azumaya T, Inagake D, Hiroe Y, Morinaga K, Okazaki M, Yokota T, Okunishi T, Aoki K, Shimizu Y, Hasegawa D, Watanabe T. Recent advances in Japanese fisheries science in the Kuroshio-Oyashio region through development of the FRA-ROMS ocean forecast system: overview of the reproducibility of reanalysis products. *Open J. Ma. Sci.* 2017; **7**: 62-90.

真山 紘, 加藤 守, 関 二郎, 清水幾太郎. 石狩川産サケの生態調査-I 1979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 1982; **36**: 1-17.

Moulton LL. Early marine residence, growth, and feeding by juvenile salmon in northern Cook Inlet, Alaska. *Alaska Fish. Res. Bull.* 1997; **4**: 154-177.

永田光博, 宮腰靖之. ふ化事業の光と影-持続的資源管理に向けて. 「サケ学大全 (帰山雅秀, 永田光博, 中川大介編著)」北海道大学出版会, 札幌. 2013; 151-156.

Nagata M, Miyakoshi Y, Ando D, Fujiwara M, Sawada M, Shimada H, Asami H. Influence of coastal seawater temperature on the distribution and growth of juvenile

chum salmon, with recommendations for altered release strategies. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 2007; **4**: 223-235.

Nagata M, Miyakoshi Y, Fujiwara M, Kasugai K, Ando D, Torao M, Saneyoshi H, Irvine JR. Adapting Hokkaido hatchery strategies to regional ocean conditions can improve chum salmon survival and reduce mortality. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 2017; **6**: 73-85.

Pearcy WG. Ocean Ecology of North Pacific Salmonids. University of Washington Press, Seattle, 1992; 179 pp..

品田晃良, 黒田 寛. 高解像度沿岸モデルの可能性と現在の取組. 黒潮の資源海洋研究2016; **17**: 6.

水産総合研究センター. サケの来遊数の推定と放流方法を検討. FRA NEWS 2015; **45**: 4-5.

北海道、噴火湾東部海域における麻痺性貝毒原因プランクトン *Alexandrium tamarense* の出現と環境要因、特に河川流量との関係について (資料)

吉田秀嗣*, 金森 誠

北海道立総合研究機構函館水産試験場

Link between abundance of toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamarense*, and certain environmental factors, particularly river runoff, in eastern part of Funka Bay, Hokkaido (Note)

HIDETSUGU YOSHIDA* and MAKOTO KANAMORI

Hakodate Fisheries Institute, Hokkaido Research Organization, Hakodate, Hokkaido 040-0051, Japan

キーワード: *Alexandrium tamarense*, 鉛直安定度, 河川流量, 噴火湾, ホタテガイ, 麻痺性貝毒

Alexandrium tamarense は、麻痺性貝毒の原因種として知られている有毒渦鞭毛藻である (松山ら, 2013)。日本沿岸では北海道宗谷岬周辺海域を北限、九州八代海を南限として分布する (板倉, 2007)。北海道の南西部に位置する噴火湾では、海底土中で越冬していたシストから発芽した *A. tamarense* は、1~4月に海中に出現し始め、4~6月に出現のピークを迎え、8月には消失する。また、年間最高細胞密度は、深度0mの表層で見られることが多い (吉田ら, 2016)。

吉田ら (2016) は、噴火湾で *A. tamarense* が100細胞L⁻¹以上出現する年の特徴として、降水量が多く、表層での鉛直安定度が高いことを示した。降水量が多いことは、融雪水および降雨が河川を通じて湾内へ流入する淡水量も多いことを示唆し、塩分低下により鉛直安定度を増大させると考えられている。ただし、湾内に流入する河川流量については把握されておらず、河川流量と *A. tamarense* 発生との関係把握が重要課題とされている。また、吉田・金森 (2017) は、噴火湾東部海域 (豊浦町から室蘭市の海域) では麻痺性貝毒によるホタテガイの出荷規制は、*A. tamarense* が110細胞L⁻¹以上出現した年に高い頻度で措置されることを示した。

本稿では、噴火湾東部海域において、*A. tamarense* 110細胞L⁻¹以上の出現と河川流量等との関係を整理し、河川流量等のデータを用いて麻痺性貝毒によるホタテガイ出荷規制を事前に予測できるか否かを検討するための基

礎資料を得ることを目的とした。

材料と方法

解析には、1992~2013年3~6月の *A. tamarense* 細胞密度、水温、塩分、透明度、河川流量、気温、最深積雪、降水量および日照時間のデータを用いた。*A. tamarense* 細胞密度、水温、塩分、透明度については、噴火湾東部海域で唯一貝毒プランクトン調査が継続されている洞爺湖町沖1マイル、水深約30mの調査点 (図1) で月1~2回実施された結果を旬ごとに整理した (北海道, 1993-2010; 地方独立行政法人北海道立総合研究機構・北海道, 2011-2014)。ただし、透明度については1999年以前のデータはなかった。また、水温、塩分および深度から密度 (UNESCO, 1981) を計算し、次式から鉛直安定度 (Sverdrup *et al.*, 1942) を求めた。

鉛直安定度 = $10^{-3} \times (\text{下層と上層の密度差} ; \sigma_t) / (\text{深度の差} ; m)$

鉛直安定度の値は高いほど、成層が発達し、水柱が鉛直的に安定していることを示す。なお、本稿では鉛直安定度の増加、減少の他に、調査間で 0.03×10^{-3} 以内の増減を「小変動」とした。

河川流量については、^{スッキベツ}貫気別川と^{オサル}長流川 (図1) の観測データが得られた (社団法人北海道土木協会, 1993~2009; 北海道ホームページ, Internet web, Download

from: (<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/kn/sbs/ijinopeiji.htm>) (2016.12.1))。両河川ともに2級河川であるが、観測所は貫気別川では河口から1.0kmの地点にあるのに対し、長流川では29.4kmと離れていることから、長流川の流量は湾内へ流入する流量とは異なっている可能性が高い。本稿では、淡水の供給量の指標として、長流川の観測地の信頼性は低いので、貫気別川の観測地を使用した。

気象に関する気温、最深積雪、降水量および日照時間については、大岸観測所（図1）におけるアメダスデータを用いた（気象庁ホームページ, Internet web, Download from: (<http://www.data.jma.go.jp/gmd/risk/obs-dl/index.php>) (2017.2.1~2017.8.21))。これら河川流量、海洋環境および気象データについて、*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現した年と出現しなかった年の特徴を整理した。なお、本稿では1992~2013年の平均値を平年と表現する。

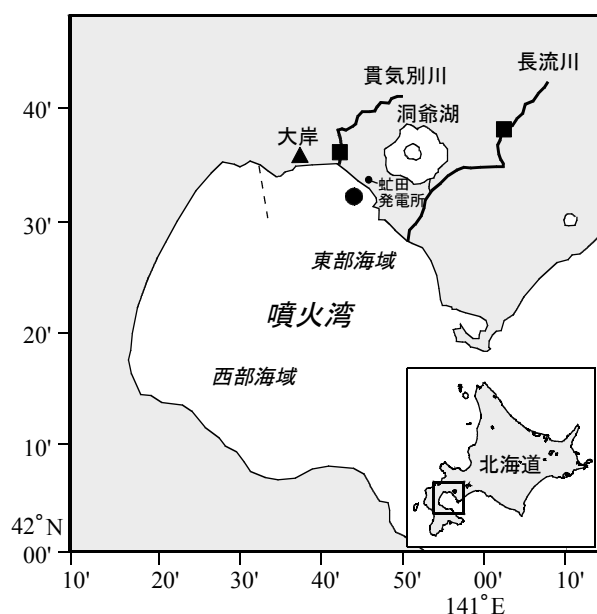


図1 貝毒プランクトン調査点（●）、河川流量観測所（■）およびアメダス大岸観測所（▲）の位置
破線は噴火湾東部と西部海域の境界を示す。

結果と考察

*Alexandrium tamarense*が最初に110細胞 L^{-1} 以上出現した時期、深度、水温および塩分 1992~2013年の22カ年のうち、9カ年で*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上(110~1,130細胞 L^{-1})出現した(表1)。*A. tamarense*が最初に110細胞 L^{-1} 以上出現した時期は、5月が5カ年で最も多く、4月と6月はそれぞれ2カ年だった。その時の深度は、深度0mが6カ年、複数の深度で出現したが深度0mで最も細胞密

度が高かった年が2カ年だった。2013年6月のみ深度0mでは*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現せず、深度15mと20mで出現した。*A. tamarense*が最初に110細胞 L^{-1} 以上出現した水温は4.5~14.4℃、塩分は25.65~32.61の範囲だった。

表1 *Alexandrium tamarense*が最初に110細胞 L^{-1} 以上出現した時期、深度、細胞密度、水温および塩分

調査年月日	深度 (m)	<i>A. tamarense</i> (細胞数 L^{-1})	水温 (°C)	塩分
1994/5/9	0	220	8.0	30.49
1995/5/8	0	240	9.0	30.69
2002/6/17	0	280	14.4	31.53
2004/4/19	0	420	5.9	32.20
2006/5/22	0	1,130	11.6	25.65
2006/5/22	5	180	9.5	31.74
2006/5/22	10	180	7.8	32.01
2006/5/22	15	110	6.8	32.33
2006/5/22	25	220	4.5	32.61
2009/4/20	0	240	6.8	32.56
2010/5/24	0	300	10.1	31.09
2010/5/24	5	280	10.0	31.12
2010/5/24	10	120	9.5	31.57
2010/5/24	15	110	9.7	31.67
2011/5/9	0	150	7.1	30.88
2013/6/3	(0)	(40)	(14.3)	(29.50)
2013/6/3	15	170	9.4	32.03
2013/6/3	20	140	8.1	32.28

注) 表中の括弧内の数字は、*A. tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だった時のデータを示す。

河川流量の季節変化 貫気別川の1、2月の流量データは結氷により無かった。平年の旬平均流量は、3月上旬の $5.9m^3 \cdot s^{-1}$ から融雪に伴い増加し、4月中旬の $24.7m^3 \cdot s^{-1}$ をピークとし、6月上旬には $7.7m^3 \cdot s^{-1}$ に減少した(図2)。6月上旬以後は $6.3 \sim 9.1m^3 \cdot s^{-1}$ の範囲にあった。

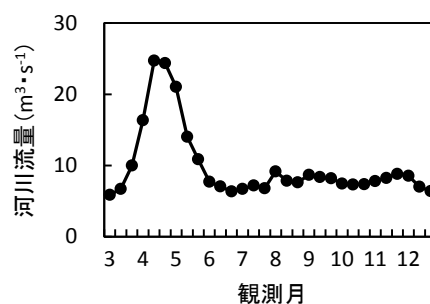


図2 貫気別川における1992~2013年の旬平均流量
注) 「雨量・水位・流量年表」のデータを用いた。

*Alexandrium tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 以上だったケースの河川流量および海洋環境の特徴

1. *Alexandrium tamarense*が4月に110細胞 L^{-1} 以上出現し

たケース 4月中旬に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現した2004年および2009年の河川流量のピークは4月中旬で、両年ともにピーク時の流量は平年の0.8倍だった(図3左)。*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現する直前の4月上旬から中旬にかけての深度0-10m間の鉛直安定度は、両年ともに小変動だった(図3右)。

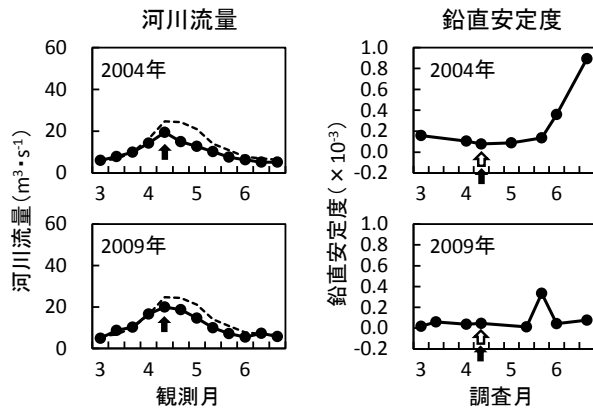


図3 *Alexandrium tamarense*が4月に110細胞 L^{-1} 以上出現したケースにおける貫気別川流量および深度0-10m間の鉛直安定度の推移

河川流量の図中の破線は平年値、矢印(黒)は流量のピーク時期を示す。鉛直安定度の図中の矢印(黒)は河川流量のピーク時期、矢印(白)は*A. tamarense*が最初に110細胞 L^{-1} 以上出現した時期を示す。注) 河川流量は「雨量・水位・流量年表」のデータを用いた。

両年に共通する他の海洋環境の特徴として、2004年および2009年4月中旬の透明度は、それぞれ17.5mと17.0m(4月中旬に調査があった年の平均10.9m)と高かった。また、深度0mでの水温は5.9℃と6.8℃(同平均5.2℃)、塩分は32.20と32.56(同平均30.96)と高かった。両年の4月中旬の河川流量が少なく、透明度、水温および塩分が高かったことは、4月中旬の調査前日から2週間前までの降水量がそれぞれ1mmと2.5mm(同平均21mm)と非常に少なかったことと関連している可能性がある。

噴火湾の*A. tamarense*の増殖には、鉛直的に安定した水理環境が必要であり(宮園, 2015)、さらに競合する珪藻の少ない環境も必要である(北海道立水産試験場, 2000)。また、シストから発芽した噴火湾産*A. tamarense*は、3℃以上で増殖可能であり、10~18℃で最大増殖速度を持つ(宮園, 2015)。2004年および2009年の4月は、鉛直的に安定した水理環境で、増殖可能な水温だった。さらに、透明度は高かったことから競合する珪藻が少ない環境と推察された。ただし、4月に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現した事例は2例しかなく、今後、事例を増やす必要がある。

2. *Alexandrium tamarense*が5月に110細胞 L^{-1} 以上出現したケース 5月上旬または下旬に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現した1994, 1995, 2006, 2010年および2011年の5ヵ年の河川流量のピークは、4月下旬または5月上旬だった(図4左)。河川流量のピーク時期から*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現した時期までの期間における、深度0-10m間の鉛直安定度は、1994, 2006, 2011年では増加し、1995, 2010年では小変動だった(図4右)。なお、1994年については、4月下旬の鉛直安定度のデータはなかったため、4月上旬のデータから判断した。

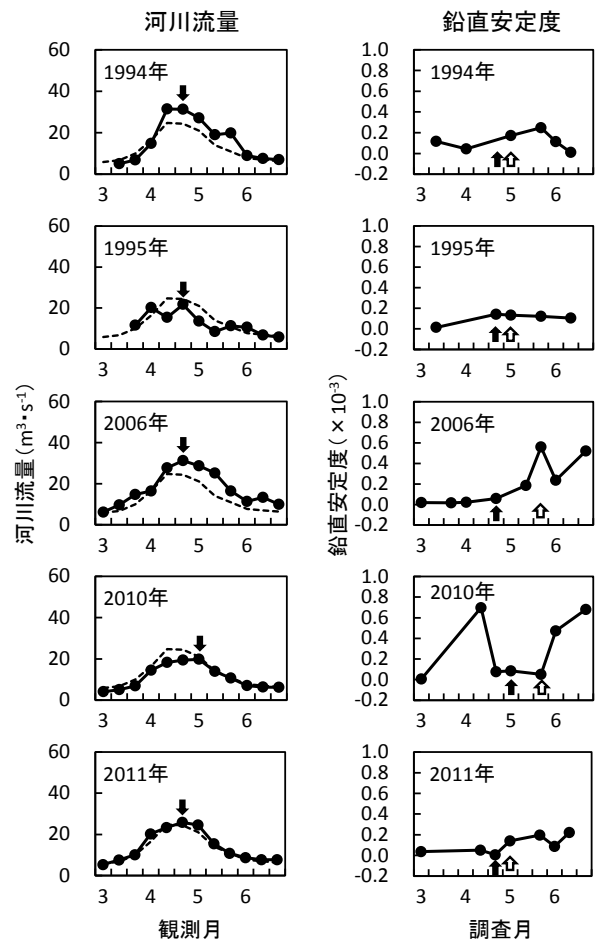


図4 *Alexandrium tamarense*が5月に110細胞 L^{-1} 以上出現したケースにおける貫気別川流量および深度0-10m間の鉛直安定度の推移

注) 図中の破線、矢印(黒、白)については、図3のキャプションを参照。1994年4月中旬と下旬の河川流量は、ほぼ同じだったため、1994年の流量のピーク時期は4月下旬のカテゴリーに含めた。河川流量は「雨量・水位・流量年表」のデータを用いた。

*Alexandrium tamarense*が最初に110細胞 L^{-1} 以上出現した5月上・下旬の深度0mの水温は7.1~11.6℃であり(表1)、最大増殖速度である10~18℃(宮園, 2015)の

下限値に近かった。

3. *Alexandrium tamarense*が6月に110細胞 L^{-1} 以上出現したケース 6月上旬または中旬に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現した2002年および2013年の2事例については、河川流量のピーク時期や深度0-10m間の鉛直安定度の変動に共通する特徴は見出せなかった(図5)。また、透明度、水温および塩分でも共通する特徴は見出せなかった。2013年については*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現した深度は15~20mと深かった(表1) こともあり、今後、このケースについては、河川流量と鉛直安定度とは異なる視点から*A. tamarense*の出現要因を検討する必要がある。

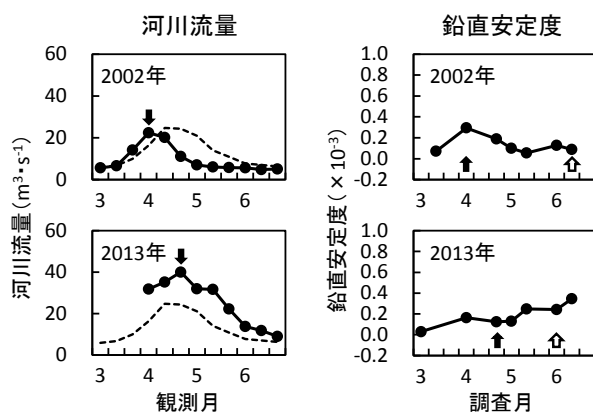


図5 *Alexandrium tamarense*が6月に110細胞 L^{-1} 以上出現したケースにおける貫気別川流量および深度0-10m間の鉛直安定度の推移
注) 図中の破線、矢印(黒、白)については、図3のキャプションを参照。河川流量は「雨量・水位・流量年表」のデータを用いた。

*Alexandrium tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だったケースの河川流量および海洋環境の特徴

*Alexandrium tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だった13カ年のうち、5カ年で河川流量が4~5月の間で急増したケースがみられた。河川流量の急増がみられなかった年では、7カ年で鉛直安定度が4~5月の間で減少し、1カ年で減少しなかったケースがみられた。

1. 河川流量が4~5月の間で急増し、*A. tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だったケース 1996, 1999, 2000, 2001および2012年の5カ年の河川流量のピークは4月中旬~5月上旬で、4~5月の間で河川流量が急増した期間がみられた(図6左)。その増加量は、平年では1.3~1.5倍であるのに対し、急増した年では2.5~8.0倍だった。これら5カ年の4~5月における深度0-10m間の鉛直安定度は、小変動、増加、減少がみられ一様ではなかった(図6右)。

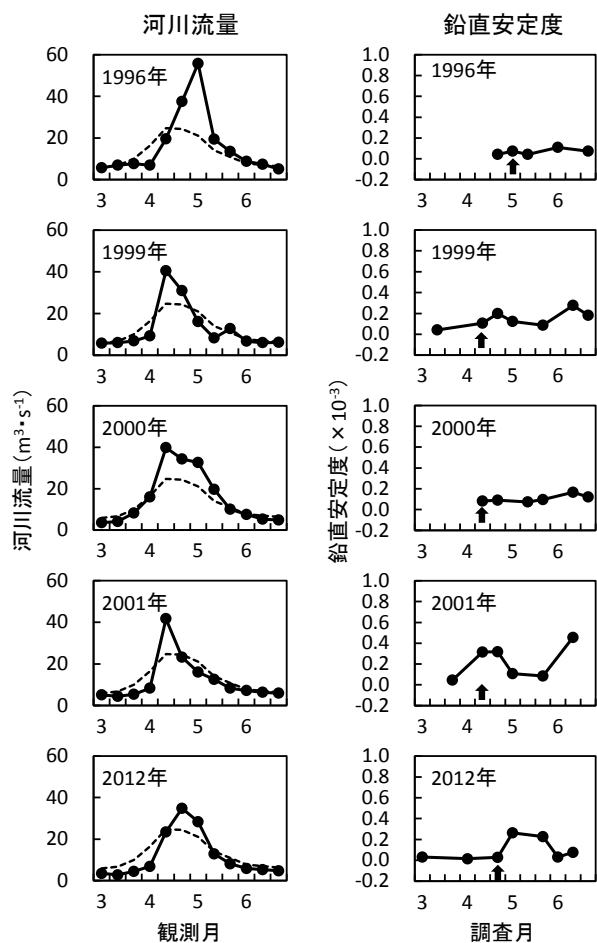


図6 貫気別川流量が4~5月の間で急増し、*Alexandrium tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だったケースにおける河川流量および深度0-10m間の鉛直安定度の推移
注) 図中の破線および矢印(黒)については、図3のキャプションを参照。河川流量は「雨量・水位・流量年表」のデータを用いた。

5カ年の4~5月における深度0mの水温は、2.9~11.2℃の範囲にあり、最大増殖速度となる水温(10~18℃: 宮園, 2015)またはその下限値に近い水温まで上昇した。今後、河川流量の急増が*A. tamarense*の出現を抑制するメカニズムを解明する必要がある。

2. 鉛直安定度が4~5月の間で減少し、*A. tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だったケース 1993, 1997, 1998, 2003, 2005, 2007および2008年の7カ年の河川流量のピークは4月上~下旬で、ピーク時の流量は平年の0.8~1.3倍の範囲にあった(図7左)。これら7カ年の4~5月における深度0-10mの鉛直安定度は、増加、減少、小変動がみられたが、7カ年ともに減少した期間があることが共通していた(図7右)。このような鉛直安定度の減少は、*A. tamarense*の増殖には鉛直的に安定した水理環境が必要である(宮園, 2015)と言う観点からは、増殖を抑制

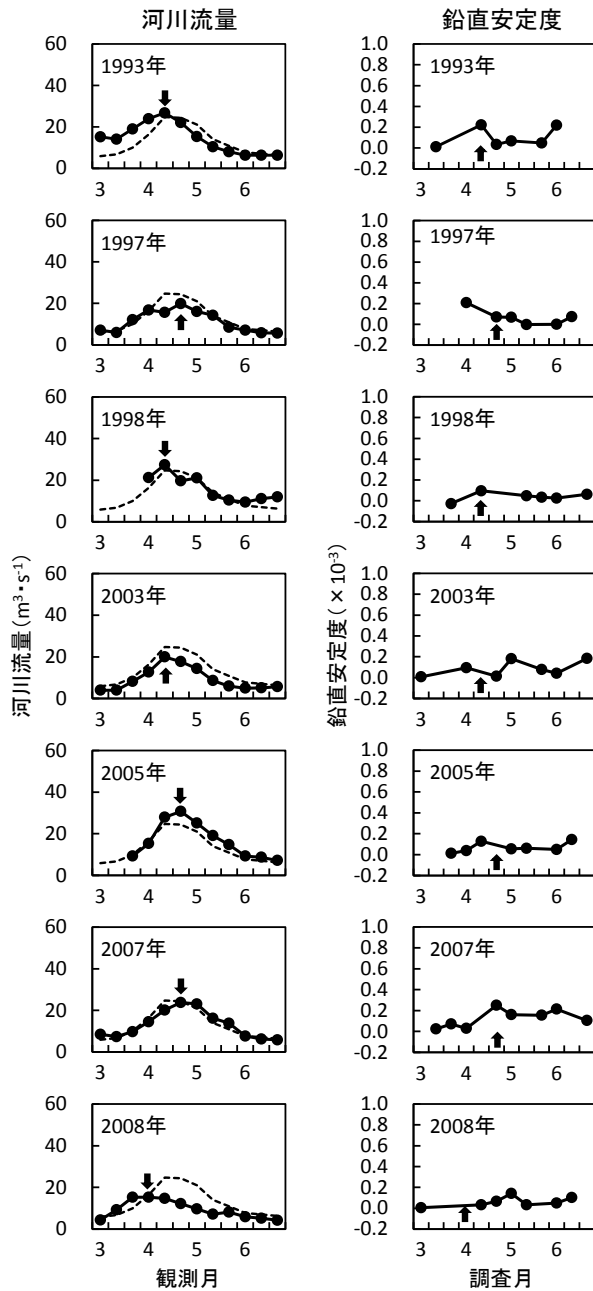


図7 鉛直安定度が4～5月の間で減少し、*Alexandrium tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だったケースにおける貫気別川流量および深度0-10m間の鉛直安定度の推移

注) 図中の破線および矢印(黒)については、図3のキャプションを参照。2008年3月下旬と4月上旬の河川流量は、ほぼ同じだったため、2008年の流量のピーク時期は4月上旬のカテゴリーに含めた。河川流量は「雨量・水位・流量年表」のデータを用いた。

する要因と考えられる。

7カ年の4～5月における深度0mの水温は、3.8～12.1℃の範囲にあり、最大増殖速度となる水温(10～18℃：宮園, 2015)またはその下限値に近い水温まで上昇した。

3. 鉛直安定度が4～5月の間で減少せず、*A. tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だったケース 4～5月に河川流量は急増せず、また鉛直安定度は減少しなかったにもかかわらず、*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現しなかった事例が1992年の1例でみられた(図8)。河川流量のピークは、平年より早い4月上旬だった。4～5月の深度0mの水温は4.0～12.2℃で、最大増殖速度となる水温(10～18℃：宮園, 2015)まで上昇した。*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現しなかった理由については不明であるが、3～5月の河川流量が最も少なかったことと関係している可能性がある。

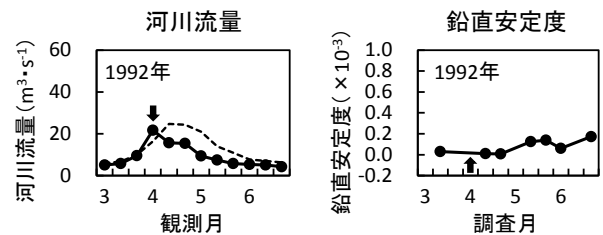


図8 鉛直安定度が4～5月の間で減少せず、*Alexandrium tamarense*の出現が110細胞 L^{-1} 未満だったケースにおける貫気別川流量および深度0-10m間の鉛直安定度の推移

注) 図中の破線および矢印(黒)については、図3のキャプションを参照。河川流量は「雨量・水位・流量年表」のデータを用いた。

河川流量のピーク時期と気象との関係 前述したように河川流量のピークは、4月に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現したケースでは4月中旬、5月に*A. tamarense*が出現したケースでは、それより遅い4月下旬または5月上旬だった。そこで、河川流量のピーク時期と気象状況(気温、最深積雪、降水量、日照時間)との関係を調べた(図9)。

1992～2013年の22カ年のうち、河川流量のピークが4月中旬だった8カ年の平均気温は、4月上旬までは平年とほぼ同じで(平年差-0.2～0.1℃)、4月中旬に平年を上回った。最深積雪は平年並み(雪解けは平年並み)だった。

河川流量ピークが4月下旬だった9カ年の平均気温は、4月中旬までは平年より0.2～0.6℃低く、4月下旬に平年を上回った。最深積雪は4月中旬まで平年を2～6cm上回った(雪解けは平年より遅かった)。

河川流量ピークが5月上旬だった2カ年の平均気温は、5月上旬まで平年より0.2～2.0℃低く、最深積雪は4月中旬まで平年を1～19cm上回った(雪解けは平年より遅く、積雪は深かった)。また、3月中旬以後の降水量は平年を上回る傾向がみられ、日照時間は平年を下回る傾向がみられた。

これらのことから、4～5月に低温の時期が長引くと雪

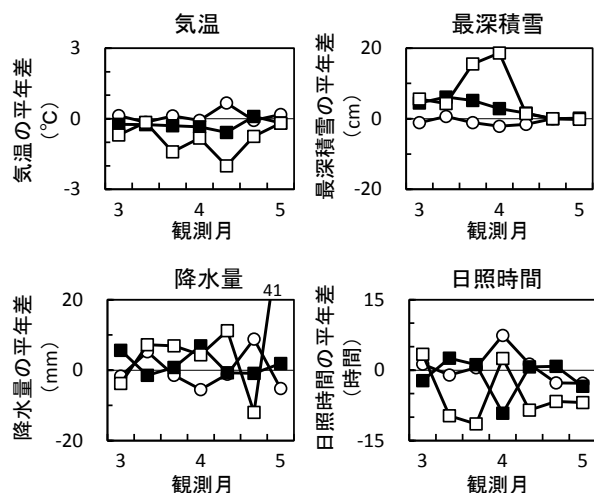


図9 大岸観測所における気温、最深積雪、降水量および日照時間の平年差

○：4月中旬に貫気別川の流量ピークがあった年の平均値，■：4月下旬に流量ピークがあった年の平均値，□：5月上旬に流量ピークがあった年の平均値。注）気象庁のデータを用いた。

解けが遅くなり、河川流量のピーク時期も遅くなると考えられる。

*Alexandrium tamarense*が4月または5月に110細胞 L^{-1} 以上出現したケースと出現しなかったケースにおける河川流量の違い 河川流量のピークが4月中旬にあり、4月に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現したケースと出現しなかったケース（河川流量が急増したケースを除く）の河川流量を比較した（図10a）。110細胞 L^{-1} 以上出現したケースの河川流量は、出現しなかったケースより少なく、4月上旬まで平年前後で推移し、110細胞 L^{-1} 以上が出現した4月中旬には平年を下回った。一方、110細胞 L^{-1} 以上出現しなかったケースの河川流量は、4月上旬まで平年を上回り、4月中旬は平年並みだった。

河川流量のピークが4月下旬または5月上旬にあり、5月に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現したケースと出現しなかったケース（河川流量が急増したケースを除く）の河川流量を比較した（図10b）。前述したように鉛直安定度は、前者は小変動または増加だったので、それぞれ別に河川流量を求めた。後者の鉛直安定度は減少期間を有する。河川流量は、特に4月中旬から5月下旬までの間では、110細胞 L^{-1} 以上出現し、鉛直安定度が小変動だったケースでは平年以下、鉛直安定度が増加したケースでは平年を上回った。一方、110細胞 L^{-1} 以上出現しなかったケースでは、平年前後で推移していた。

このように、4月または5月に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現したケースと出現しなかったケースでは、河川流量の推移は異なっていた。

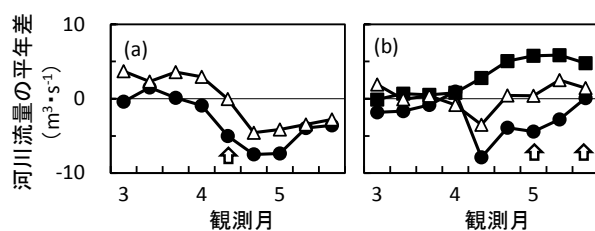


図10 *Alexandrium tamarense*が4月または5月に110細胞 L^{-1} 以上出現したケースと出現しなかったケースにおける貫気別川流量の平年差

a：4月中旬に河川流量ピークがあった年の平均値
●：4月に*A. tamarense*が出現したケース，△：*A. tamarense*が出現しなかったケース

b：4月下旬～5月上旬に河川流量ピークがあった年の平均値

●：5月に*A. tamarense*が出現したケース（鉛直安定度は小変動），■：5月に*A. tamarense*が出現したケース（鉛直安定度は増加），△：*A. tamarense*が出現しなかったケース

図中の矢印（白）は*A. tamarense*が最初に110細胞 L^{-1} 以上出現した時期を示す。注）河川流量は「雨量・水位・流量年表」のデータを用いた。

まとめ 噴火湾東部海域では、*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現すると、麻痺性貝毒により高頻度でホタテガイの出荷は規制される（吉田・金森,2017）。本稿では、4月に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現したケースと5月にそれが出現したケースでは、後者の方が河川流量のピーク時期は遅いという特徴を得た。また、4月または5月に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現したケースと出現しなかったケースでは、河川流量の推移は異なっていた。さらに、4～5月の間で河川流量が急増したケースでは、*A. tamarense*110細胞 L^{-1} 以上の出現はみられなかった。これらのことから、河川流量のピーク時期や推移の違いは、麻痺性貝毒発生の事前予測に利用可能と考える。ただし、6月に*A. tamarense*が110細胞 L^{-1} 以上出現したケースについては、河川流量に共通する特徴はみられず、また、110細胞 L^{-1} 以上の出現が深度15～20mと深い場合もみられ、河川流量による予測は困難と考える。

噴火湾における麻痺性貝毒発生の事前予測には、*A. tamarense*細胞密度（吉田・金森, 2017）および降水量（吉田ら, 2016）の他、河川流量の利用の可能性を示した。噴火湾には44河川が流入するが（長谷川・磯田, 1997）、流量資料があるのは噴火湾東部海域に流入する貫気別川、長流川と噴火湾西部海域に流入する遊楽部川（ユウラク川）の3河川と少ない。一方、噴火湾沿いには7カ所のアメダス観測所（室蘭、伊達、洞爺湖温泉、大岸、長万部、八雲、森）が存在する。4～5月に低温の時期が長引くと雪解けが遅くなり、河川流量のピーク時期も遅くなると推察されるなど、気象データは河川流量のピーク時期や急

増の指標となるので、麻痺性貝毒発生の事前予測には、7カ所の気象データの有効活用も期待される。

謝 辞

北海道貝毒プランクトンモニタリング調査に携わった水産技術普及指導所および水産試験場の職員の皆様に感謝いたします。

引用文献

地方独立行政法人北海道立総合研究機構・北海道. 平成22～25年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書. Internet web. Download from: (<http://www.hro.or.jp/list/fisheries/research/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s220000000dgw.html> (2011～2014)) (2016.4.1)

長谷川伸彦, 磯田豊. 噴火湾の水収支. 海と空 1997; 73: 113-121.

北海道. 平成4年度～平成16年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書. 札幌. 1993～2006.

北海道. 平成17～21年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書. Internet web. Download from: (<http://www.hro.or.jp/list/fisheries/research/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s220000000dgw.html> (2007～2010)) (2016.4.1)

北海道. 雨量・水位・流量年表 平成20～平成25年. Internet web. Download from: (<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/kn/sbs/ijinopeiiji.htm>) (2016.12.1)

北海道立水産試験場. 北海道沿岸における貝毒の研究(貝

毒プロジェクト報告書). 北海道立水産試験場技術資料. 余市. 2000; 3: 69pp.

板倉 茂. 7. 現場海域における*Alexandrium*属の個体群動態. 「貝毒研究の最先端－現状と展望 (今井一郎, 福代康夫, 広石伸互編)」恒星社厚生閣, 東京. 2007; 76-84.

松山幸彦, 上田拓史, 上野俊士郎, 久保田信, 鈴木紀毅, 木元克典, 佐野明子, 副島美和, 濱岡秀樹, 中島篤巳. 「日本の海産プランクトン図鑑 第2版 (末友靖隆編)」共立出版, 東京. 2013.

宮園 章. 北海道, 噴火湾における麻痺性貝毒原因プランクトン, *Alexandrium tamarense*の生態学的研究 (学位論文). 北水試研報 2015; 87: 1-70.

Sverdrup HU, Johnson MW, Fleming RH. *The Oceans: Their physics, chemistry, and general biology*. Prentice-Hall, New York. 1942.

社団法人北海道土木協会. 雨量・水位・流量年表 平成5～平成19年. 札幌. 1993～2009.

UNESCO. Tenth report of the joint panel on oceanographic tables and standards. *UNESCO Technical Papers in Marine Science* 1981; 36: 25pp.

吉田秀嗣, 金森 誠, 佐藤政俊. 北海道, 噴火湾における麻痺性貝毒原因プランクトン*Alexandrium tamarense*のブルーム形成要因について (資料). 北水試研報 2016; 89: 27-40.

吉田秀嗣, 金森 誠. 北海道, 噴火湾におけるホタテガイの麻痺性貝毒発生を予想するための*Alexandrium tamarense*細胞密度の有効性について (資料). 北水試研報 2017; 91: 19-30.

北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する生物海洋学的研究（学位論文）

嶋田 宏

夏季北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガイ漁場では、およそ4年に1回の頻度で麻痺性貝毒が発生し、まれに高毒化して多大な経済損失をもたらすケースがあるため、毒化機構の解明ならびに貝毒発生予測手法の構築を目的として本研究を行った。本海域における麻痺性貝毒プランクトン*Alexandrium tamarense*の出現すなわちホタテガイの毒化は、日本海とオホーツク海の水位差が駆動する宗谷暖流の一時的弱勢時に沖合の表層低塩分水が沿岸に流入して発生することを解明した。この結果に基づき、試験調査船による*A. tamarense*分布調査とインターネットを利用した日本海（稚内）とオホーツク海（網走）の水位差監視を組み合わせた貝毒発生予測手法を構築、実用化した。

A553 北水試研報 93, 1-49 2018

コマイ卵および仔魚の正常発生過程

陳 二郎, 吉田英雄, 桜井泰憲

厚岸湖から採取したコマイ親魚から受精卵を得て、2℃の水温条件下における卵発生を観察し、これに基づいて発育期間を7段階に区分した。コマイのふ化日数は長く、心臓が鼓動を開始してからふ出に至るまでの期間が全発育期のかなりの部分を占めていた。加えて、ふ化直後の仔魚の大半は、形態形成がかなり進んだ状態にあることが確認された。受精卵を0～8℃の水温条件下（塩分33～34）および8.2～32.6の塩分条件下（水温0℃前後）で飼育し、ふ化までの生残率を調べた結果、4℃以上、塩分13～20において低ふ化率・仔魚の形態異常がみられ、卵の正常発生に適切な水温、塩分は2℃以下、20～25以上であると結論された。また、2℃における卵黄吸収日数は、約2週間であった。

A555 北水試研報 93, 59-67 2018

北海道北部海域に分布するホッケの資源量減少にともなう体サイズの変化とその親魚量への影響

坂口健司, 鈴木祐太郎, 秦 安史, 浅見大樹, 高嶋孝寛

北海道北部海域に分布するホッケの親魚量の推定方法を改善するため、資源量の減少にともなう体重と1歳魚の成熟率の変化を調べた。0歳時の加入尾数が少なくなった2009年級以降、0-4歳の体重が重くなる傾向が見られた。2009年級以降の少ない加入尾数では、1歳魚の成熟率は上限の1.0にほぼ達していた。体重および1歳魚の成熟率を年別に推定して求めた2010-2016年の親魚量は、これらを一定と仮定して求めた親魚量の1.27-1.46倍と多く推定された。ホッケの体サイズおよび成熟率の変化を考慮することで親魚量の推定方法が改善されることが考えられた。

A554 北水試研報 93, 51-57 2018

水温・塩分濃度の変化がコマイ卵の後期卵発生過程とふ化に及ぼす影響

陳 二郎, 吉田英雄, 桜井泰憲

サロマ湖で採取したコマイ受精卵を用いて、卵発生に対する水温および塩分の影響を調べた。50%ふ化日数と水温との間において、指数関係式が導きだされた。また、発生後期の卵を-1.3℃から1.3℃および3.3℃まで加温もしくはこれに塩分希釈を加えたところ、加温した区でよりふ化率が顕著に高くなり、発生がより進んだ段階ほど水温上昇の影響を受け、ふ化が促進されることが考えられた。結氷中のサロマ湖において、人工受精卵を氷下のプラスチックメッシュバスケットに収容もしくは地蒔きし、天然海域における卵発生を調査した。実験期間中のサロマ湖の水温は融氷と共に上昇し、塩分はやや下降していた。融氷後の4月下旬にはすべてふ化したと推定され、産卵からふ化までの期間は80～100日程度と考えられた。

A556 北水試研報 93, 69-79 2018

マルチプレックスPCR法による北海道北部に生息するイカナゴ属魚類の種判別簡易化の検討

後藤陽子, 甲斐嘉晃, 堀本高矩, 坂口健司, 美坂 正

イカナゴ属魚類(*Ammodytes* spp.)は主要な漁業資源である。北海道周辺海域にイカナゴ属魚類はイカナゴ(*A. japonicus*), キタイカナゴ(*A. hexapterus*) およびオオイカナゴ(*A. heian*)の3種が同所的に分布することが知られている。種ごとの資源評価を行うには、これら3種の簡便な種判別方法を確立することが重要である。本研究では、先行研究により開発されたマルチプレックスPCR法を用いた種判別方法を検討した。その結果、本手法は生物測定時の1次スクリーニング手法として有効であることが示された。

A557 北水試研報 93, 81-88 2018

サケ回帰親魚の体腔液中の冷水病原菌*Flavobacterium psychrophilum*濃度 (短報)

畑山 誠, 藤原 真, 水野伸也

道内の6河川で捕獲されたサケ雌親魚を対象に体腔液中の冷水病原菌濃度を測定し、あわせて保存方法が体腔液中の生菌濃度に与える影響について実験を行った。道内の冷水病原菌の検出率は28%から90%だった。濃度はいずれも7 log CFU/mL未満で、高濃度な個体ほど出現率は低い傾向にあった。また、実験では、体腔液を4°Cで保存した場合、経過時間24時間後に冷水病原菌の減少が確認され、また、凍結・再融解によっても、生菌濃度は初期濃度の約10%に減少したことから、体腔液の保存方法によっては菌濃度を過少評価する可能性があると考えられた。

A558 北水試研報 93, 89-92 2018

粒子追跡実験を用いた北海道日本海におけるサケ幼稚魚の北上移動に関する考察 (短報)

小山達也, 品田晃良, 黒田 寛, 宮腰靖之

高解像度北海道沿岸モデルを用いた粒子追跡実験を行い、北海道日本海における放流直後のサケ幼稚魚を粒子と仮定して、その北上回遊経路、経験水温および宗谷海峡からオホーツク海へ流入する時期を、回帰が良好であった2007年級と低調であった2009年級について検証した。その結果、2007年級にあたる2008年の粒子は実験開始直後から沿岸を大きく離れずに移動したのに対して2009年級にあたる2010年は沖合に運ばれる移動を示した。また、放流直後に経験する水温は、2010年が2008年に比べ2°Cほど低かった。さらに、オホーツク海へ流入する時期をみると、2008年は5月下旬に大部分が流入したのに対し、2010年は6月中旬でも6割が流入したに留まった。このような放流後の稚魚に係る移動と経験水温の違いが、2007年級と2009年級のサケ回帰尾数の違いに影響した可能性があるものと考えられた。

A559 北水試研報 93, 93-98 2018

北海道、噴火湾東部海域における麻痺性貝毒原因プランクトン*Alexandrium tamarense*の出現と環境要因、特に河川流量との関係について (資料)

吉田秀嗣, 金森 誠

ホタテガイ出荷規制の事前予測に関する基礎資料を得ることを目的に、*Alexandrium tamarense*の出現と河川流量等との関係を検討した。噴火湾東部海域では*A. tamarense*が110細胞L⁻¹以上出現すると、麻痺性貝毒により高頻度でホタテガイの出荷は規制される(吉田・金森, 2017)。本稿では4月に*A. tamarense*が110細胞L⁻¹以上出現したケースと5月にそれが出現したケースでは、後者の方が河川流量のピーク時期は遅いという特徴を得た。また、4月または5月に*A. tamarense*が110細胞L⁻¹以上出現したケースと出現しなかったケースでは、河川流量の推移は異なっていた。さらに、4~5月に河川流量が急増したケースでは、*A. tamarense*110細胞L⁻¹以上の出現はみられなかった。

A560 北水試研報 93, 99-105 2018

水産研究本部図書出版委員会

委員長 夏目 雅史
委員 三橋 正基 蛸谷 幸司 赤池 章一
山口 幹人 森 立成 宮腰 靖之
事務局 木村 稔 池田 秀樹 野俣 洋

水産研究本部出版物編集委員会

委員長 木村 稔
委員 志田 修 星野 昇 馬場 勝寿 清水 洋平
辻 浩司 武田 忠明 宮腰 靖之 春日井 潔
佐々木義隆 中島美由紀
事務局 池田 秀樹 野俣 洋 (作業補助：大下 芹香)

北海道水産試験場研究報告 第93号

2018年3月15日発行 ISSN:2185-3290

編集兼 北海道立総合研究機構水産研究本部
発行者 〒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 株式会社 総北海
〒065-0021 札幌市東区北21条東1丁目4番6号
電話 011(731)9500