

博士論文

タイヘイヨウサケ属の降河および遡上行動の調節機構に関する  
行動生理学的研究

Behavioral and physiological study in control mechanisms of  
downstream and upstream behaviors in Pacific salmon, *Oncorhynchus* spp.

国立大学法人 横浜国立大学大学院  
環境情報学府

三浦 剛

Go Miura

2013年9月

# タイヘイヨウサケ属の降河および遡上行動の調節機構に関する行動生理学的研究

## 目次

論文要旨 3

序章 7

第1章 内分泌学的手法を用いた降河行動の調節機構の探索 11

1.1 降河行動を引き起こす外部環境因子の探索 11

1.1.1 研究方法 12

1.1.2 結果 14

1.2 降河行動の調節機構の解明に向けた検証実験 17

1.2.1 水温低下刺激に対するコルチゾル応答—研究方法 18

1.2.2 水温低下刺激に対するコルチゾル応答—結果 22

1.2.3 水温低下刺激に対する降河行動の発現—研究方法 26

1.2.4 水温低下刺激に対する降河行動の発現—結果 28

1.2.5 コルチゾルおよびサイロキシンの降河行動発現に対する影響—研究方法 31

1.2.6 コルチゾルおよびサイロキシンの降河行動発現に対する影響—結果 32

1.3 降河行動の発現に対する内因的要因の関与 34

1.3.1 研究方法 34

1.3.2 結果 36

1.3 考察 39

第2章 降海型と河川型の水温低下刺激に対する感受性 47

2.1 降海型と河川型の水温低下刺激に対する感受性の違い 47

2.1.1 研究方法 47

2.1.2 結果 50

2.2 性ホルモンが水温低下刺激に対する感受性に及ぼす影響 52

2.2.1 研究方法 52

2.2.2 結果 56

2.3 河川性3魚種の水温低下刺激に対するの感受性の違い 59

2.3.1 研究方法 59

2.3.2 結果 63

2.4 考察 65

第3章 バイオテレメトリー手法を用いた遡上行動の調節機構の探索 69

3.1 研究方法 70

3.2 結果 74

3.3 考察 78

第4章 総合考察 83

4.1 タイヘイヨウサケ属の降河および遡上行動の調節機構 83

4.2 タイヘイヨウサケ属の回遊行動調節機構を踏まえた資源増殖へのアプローチ 84

謝辞 87

引用文献 89

## 論文要旨

タイヘイヨウサケ属には、河川で生まれ河川と海の間での通し回遊を行う降海型と、終生を河川内の一定区域内で過ごし通し回遊は行わない河川型が存在する。このうち降海型は、河川で成長した後に、銀化変態と呼ばれる生理的变化に続き降河行動を発現し、群れとなって河川を降る（降河回遊）。降河行動の後に海域進出した降海型は北洋を回遊して成長し、性成熟とともに生まれた川へと回帰し、母川内を遡上行動により産卵域まで遡上する（遡上回遊）。種によっては、降河回遊を示すが海域進出はせず、河川中下流域で成長した後、上流域へ向けた遡上回遊を行う個体も存在する。本研究では降海型と河川型の境界は河川を降河および遡上するか否かとし、上記のような個体も降海型と定義した。

本属の中で系統的に起源に近いサクラマス *Oncorhynchus masou* などでは、降海型と河川型の種内多型がみられ、系統的により後から派生したシロザケ *O. keta* などに比べ、降海型の降河回遊期までの河川生息期間が長い傾向にある。そのため我が国のサクラマス降海型の孵化放流事業は、放流種苗の全魚が降海型とならない、降河回遊期までの減耗が大きいなどの問題を含んでおり、資源量の増加に結びついていない。この問題の解決に向け、人工的に生育させた降海型種苗を降河回遊期に放流する技術（スマルト放流）が採用されているが、技術改善の余地は大きい。また、資源量を維持していくためには天然繁殖保護も重要とされ、これらの方策を組み合わせる必要がある。これらの背景から本研究では、タイヘイヨウサケ属のうちサクラマスを含む河川への依存度が比較的高い種において、降河および遡上行動の調節機構を解明することを目的とした。前者はスマルト放流に関して、減耗を抑え種苗を速やかに降河させる放流技術に寄与することが、また後者は天然繁殖保護に関して、親魚遡上の促進に寄与することがそれぞれ期待される。

第1章では、内分泌学的手法を用いて降河行動の調節機構を探索した。サクラマスでは、ストレスホルモンの一種コルチゾルの投与により降河行動が促進されることが報告されている。また、甲状腺ホルモンの一種サイロキシンも行動発現に関与することが示されている。これらのホルモンの変動を指標に、降河行動の発現に関わる環境要因を調べた。

2005～2010年に岩手県気仙川にて、サクラマスの経時的な採捕を行うとともに、種々の外部環境因子を観測することで、本種の血中コルチゾル、サイロキシン量に影響を及ぼす環境要因を探索した。結果、いずれのホルモン量も、降河回遊期の降海型が、同時期の河川型および降河回遊期以前の夏、秋の個体よりも高い値を示した。また降海型のコルチゾル量は、低気圧、降雨、水温低下といった刺激に応じて上昇すると示唆され、これらの中では水温低下刺激が最も重要な刺激と考えられた。サイロキシン量は、コルチゾル量とは異なり累積降雨量の増加、高気圧などに依りて上昇すると考えられた。各ホルモンの上昇が引き起こされるこれらの環境下で、降河行動が促進される可能性が考えられた。

次に野外採集の結果を受け、河川内で起こりうる大きさの水温低下刺激が、①コルチゾル上昇を引き起こすか否か、②降河行動を引き起こすか否か、および③コルチゾルとサイロキシンの降河行動への関与、を検証する水槽実験を行った。結果、①サクラマス 0+年魚では

1.5 °C、*O.mykiss* の降海型スチールヘッドトラウト 2+年魚では 1.0 °C の水温低下刺激に対して血中コルチゾル量が上昇した。一方で、*O.mykiss* の河川型ニジマス 1+年魚では 1.0 °C の水温低下刺激に対する血中コルチゾル量の上昇は確認されなかった。②サクラマス 0+年魚では 2.0 °C、スチールヘッドトラウト 1+年魚では 1.5 °C、ギンザケ *O. kisutch* 0+年魚では 1.0 °C の水温低下刺激によって、それぞれ回流水槽内での降河行動が誘起された。③ギンザケ 0+年魚のコルチゾル投与魚およびサイロキシン投与魚は、水温低下刺激に関わらず降河行動を発現した。これらから、本属の降河行動は水温低下刺激によるコルチゾル上昇が引き金となって発現すると示唆された。さらに、コルチゾルに加えサイロキシンにも、降河行動を促進する働きがあると考えられた。

他方、降河行動発現に対する個体間作用などの内的要因の関与について調べた。魚類の個体間作用は環境水を介した間接的な接触によっても起こるとされる。そこで、個体間作用が降河行動に影響を及ぼしているか否かを解明する端緒として、回流水槽内にサクラマス 0+年魚を収容し、年長魚（1+年魚）の飼育水、コルチゾル溶存水、サイロキシン溶存水を流した際の行動を観察した。結果、いずれによっても実験魚の降河行動が誘起され、サイロキシン溶存水の場合には血中サイロキシン量の上昇も確認された。これより、年長魚の存在や、溶存コルチゾル、サイロキシンを媒体とした個体間作用が、降河行動発現に関与する可能性が考えられた。

第 2 章では、なぜ降海型のみが降河行動を発現するのかについて考えた。第 1 章から、水温の低下が降海型の降河行動を引き起こすと考えられた。一方で、性ホルモンの 1 種テストステロンは降河行動の発現を抑制することが知られている。そこで、水温低下に対する感受性大きさが降河行動発現の有無につながっているとの仮説のもと、①水温低下に対する感受性は降海型が河川型より高いか否か、②この感受性に対するテストステロンの影響、を検証するため 2 つの実験を行った。

①スチールヘッドトラウトとニジマスで水温低下時の体温低下を比較するとともに、②スチールヘッドトラウトのテストステロン投与魚と未投与魚でも同様の比較を行った。30 分間で 3 °C の水温低下刺激を与えると、①スチールヘッドトラウトの体温はニジマスよりも早く低下したが、死魚ではこの差はなくなった。また肥満度は、スチールヘッドトラウト（肥満度 1.24）の方がニジマス（同 1.52）よりも小さかった。②テストステロン投与魚の体温は、未投与魚よりも緩やかに低下した。これらの結果から、降海型は水温低下刺激に対する感受性が河川型よりも大きいと考えられ、この差は、肥満度が小さい、血中テストステロン量が低い、といった降海型の形態的・生理的特性に起因すると示唆された。この感受性の大きさが、降河行動の発現の有無につながっていると考えられた。

また、コイ（肥満度 2.33）、ウグイ（同 1.47）、およびウナギ（同 0.17）間で同様の体温比較を行ったところ、コイはウグイよりも緩やかな体温低下を示した一方で、ウナギはコイと同等の体温低下を示した。これらの結果は、魚類の体温変動には肥満度などの物理的要因と、ホルモンなどの生理的要因の双方が関わっていることを示唆している。

第 3 章では、バイオテレメトリー手法を用いて本属の遡上行動の調節機構の探索を行った。2010～2012 年に宮城県広瀬川にて、サクラマス（主に河川内のみで降河・遡上回遊を行う退行型スマルト）に超音波発信機を装着して、河川内での行動を追跡するとともに、種々の外部環境因子を観測することで、遡上行動の発現に影響を及ぼす環境要因を調べた。2010 年は 5 尾中 3 尾、2011 年は 15 尾中 10 尾、2012 年は 12 尾中 7 尾から遡上データが得られた。これらの個体は、いずれも放流後、放流地点よりも上流へと遡上していた。遡上行動の大半は 6～8 月上旬にみられ、データが示す平均および最大遡上距離はそれぞれ 7.9 km および 17.0km だった。実験魚の受信日時は、降雨に伴う河川水位の変動時、水温が 24～25 °C を上回るようになった直後、満月時のいずれかと重なっていたことから、これらの環境条件により遡上行動が促進される可能性が考えられた。今後、検証実験等によってさらなる要因の抽出を行うことで、遡上行動の調節機構の詳細が明らかになると期待される。

第 4 章では、本研究で示唆された、降河および遡上行動の調節機構に関する知見をまとめるとともに、これらの資源増殖への応用について検討した。降河行動に関しては、降海型は水温低下刺激に対する感受性が河川型より高く、この刺激による血中コルチゾル量上昇をきっかけに降河行動を発現すると示唆された。そのため、スマルト放流では、放流時に魚に対して水温低下刺激が加わるような水温環境、放流時期、および放流時間帯の選定が効果的と考えられる。一方、遡上行動の発現には河川水位変動、水温上昇、月齢が関与すると示唆された。自然繁殖・保護に向け、親魚の遡上行動を適正に発現させるためには、水温や月齢を考慮した河川流量の管理が望ましいと考えられる。

本属の降河および遡上行動には、いずれも水温の関与が示唆された。また、これらの間の海域での回遊行動は、生息水温が常に一定の範囲内に収まるように行われることが示されている。そのため一連の通し回遊行動は、水温変動刺激に対する行動的体温調節、すなわち適水温からの逸脱刺激に対する逃避行動により成り立っている側面があると考えられる。



## 序章

### タイヘイヨウサケ属の生活史

タイヘイヨウサケ属 *Oncorhynchus* spp.は、北半球の環太平洋地域の河川およびこれらの地域に囲まれた大洋を主な分布域とするサケ目サケ科の魚類である。本属を含むサケ科魚類には生活史の多型がみられる。すなわち、河川で生まれ河川と海の間で通し回遊 (Anadromous migration) を行う降海型 (Migratory form) と、終生を河川内で過ごし通し回遊を行わない河川型 (Non-migratory form) が存在する。両者はいずれも稚魚期 (Alven) から幼魚期 (Juvenile) にかけてを河川内で縄張りを形成して過ごし、この段階の個体は体側に明瞭な斑点模様 (パーマーク) がみられることからパー (Parr) と総称される。降海型はパーを経て、春の訪れとともに縄張りを解除し群れとなって河川を降る (降河行動; Downstream behavior)。さらに、降河行動に先立ち銀化変態 (Smoltification) と呼ばれる生理的変化が起こり、体表にグアニンが沈着することによる体色の銀白色化、鰓の塩類細胞の発達に伴う海水適応能の獲得などがみられる (金子, 2002; McCormick et al., 1998)。このような段階にある個体はパーと区別してスモルト (Smolt) と総称し、スモルト段階に起こるこれら一連の生理・生態・行動的变化を降河回遊 (Downstream migration) と呼ぶ。降河回遊の後に大洋へ出た降海型は、オホーツク海およびベーリング海などで成長し (浦和, 2000)、性成熟とともに生まれた川へと戻ってきて (母川回帰; Homing migration)、河川内を産卵域まで遡上する (遡上行動; Upstream behavior)。

本属は大きく分けると 8 種からなる (図 1)。降海型の出現頻度は種によって大きく異なり、カラフトマス *O. gorbuscha* やシロザケ *O. keta* など系統的に後から派生した種では全魚が降海型となる一方で、サクラマス *O. masou* やニジマス *O. mykiss* (降海型をスチールヘッドトラウトと呼ぶ) などの系統的に起源に近い種では、河川環境への依存度が大きく降海型と河川型が混在する傾向にある (Murata et al., 1996)。本属の起源は淡水種と考えられていることから (Gross, 1987; Munakata, 2012)、進化の過程で通し回遊を行う降海型の形質が出現したと考えられ、一見すると適応度は属内では降海型の方が高いように思える。しかしながら種内多型が見られるサクラマスなどでは、必ずしもその傾向が当てはまらない。

サクラマスでは、降海型は一回繁殖である一方、河川型は多回繁殖という両掛戦略をとる (松田, 2004)。河川環境の年ごとの変動が大きい場合には、両掛戦略をとる河川型の適応度が高まると考えられる。また本種の降海型と河川型の出現頻度は緯度によって大きく異なる。すなわち北海道の河川では大半の個体が降海型となり、河川型となるのは成熟コストが小さい少数のオス個体のみである (久保, 1980)。これに対し、本州を南下するにつれて降海型の出現頻度は小さくなる傾向にある。これには河川と海域の生産力が大きく関わっていると考えられ、温暖で生産力の大きい河川ではこれを利用する河川型の出現が多くなり、河川が生産力が乏しい寒冷地では生産力の大きい海域へ進出する降海型の出現が多くなると言われる (Gross, 1987; 松田, 2004)。これらのことから、本種を含む系統的



に起源に近いグループの種の両表現型の適応度は、河川環境に大きく左右される側面があると考えられる。

また、種内多型がみられる種では、降海型と河川型が二極化しているわけではなく、これらの中間形質、すなわち河川内のみで回遊を行う個体、および沿岸海域のみで回遊を行う個体も存在する (Kiso, 1995)。本研究では、河川内の一定区域で終生を過ごすもののみを河川型と定義し、上述した降河・遡上行動により少なからず回遊を行う個体は海域への進出の有無に関わらず降海型に含まれると定義した。降海型の回遊行動の調節機構は、回遊距離に関係なく共通していると考えられている (木曾、1995)。

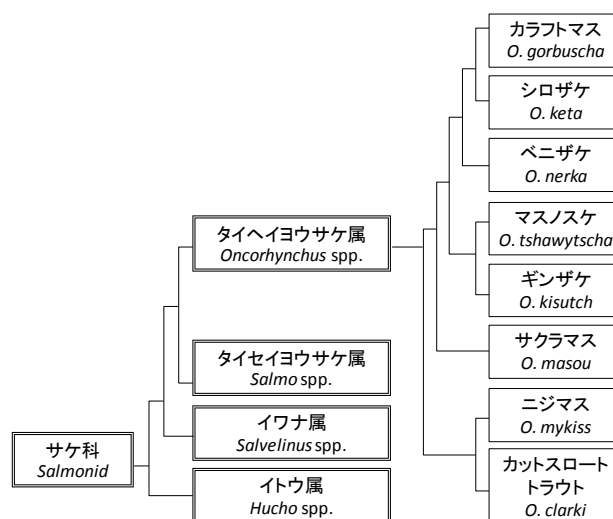


図 1. タイヘイヨウサケ属の分岐系統図 (Murata et al., 1996 をもとに作成)。

### タイヘイヨウサケ属の資源増殖

本属の河川型は、ニジマスやサクラマスを中心に内水面の養殖対象種あるいは遊業資源として親しまれている (河村、2008)。一方の降海型は、日本の沿岸漁業資源として重要な位置を占めている (永田・山本、2004)。さらに近年では、通し回遊の生態的特性に着目し、川と海の間での物質循環の担体あるいは環境の指標種として位置づける考え方も強まっている (帰山、2005)。降海型は、環太平洋各地の河川に由来する系群が、アラスカ湾やベーリング海等の北洋で一同に集まって回遊することから (浦和、2000)、国際漁業資源として、NPAFC (北太平洋河性魚類委員会) などによる国際的な協力体制のもと資源が管理されている (永沢、2012)。

日本では本属の中でもシロザケが最も漁獲量が多く、広く知られている種といえる。本種は生後数カ月で全魚が降河回遊を行い、3~5年魚の秋に母川回帰して河川中流域で産卵を行い一生を終える (真山、2004)。日本での本種の孵化放流事業は 1880 年代に始まり、1970 年代以降から成果が出はじめ、近年では漁獲の半数以上を孵化放流魚が占め資源量の

安定に寄与している（永田・山本、2004）。

一方で、サクラマスは日本周辺海域での漁獲量は 1980 年代以降減少傾向にある（FAO 資料）。サクラマスには種内多型がみられるほか、降海型では孵化から降河回遊まで 1 年半を要する（Machidori & Kato, 1985）。また約 1 年間の海洋生活ののち、回帰親魚は春に遡上行動を開始し、数か月かけて河川の上流・支流域まで達し産卵を行うことから（木曾、1995）、河川の生産力や環境への依存度がシロザケに比べて大きいと考えられる。

本種の孵化放流事業はシロザケと同時期に無給餌稚魚の放流により開始されたが、放流後の減耗率が大きく思うような成果につながらなかった。その後 1970 年代に入り、短期間給餌を行った稚魚の放流や、スマルトの放流、当歳魚（Underyearling）を秋に放流する（0+秋放流）技術などが導入され始めた。スマルト放流は人工的に生育させた 1+年魚（Yearling）のスマルトを降河回遊期に河川へ放流する手法であり、0+秋放流はスマルトの前段階にあたる当歳魚のペアを秋に放流する手法である。両者は無給餌稚魚放流と異なり河川の実産力に関わらず資源を添加できる手法であり、回帰率も高く、資源回復が急務の河川では非常に効果的な方法とされている（真山ら、1985；真山ら、1988）。北米やヨーロッパでは、特にスマルト放流が主流となっている（Larsson, 1980；Johnson, 1982）。近年日本では、これら 3 種の放流方法を用いた孵化放流事業が行われているが、本種の漁獲量増加には結びついておらず、技術改善の余地は大きいと考えられる。

また上述のように、サクラマスは産卵期の数か月前から河川進入を開始し遡上行動を行うことから、遡上親魚から孵化放流用の卵を得るためには、シロザケと異なり、採捕した遡上親魚を長期間蓄養下で催熟コントロールする必要があり大きなコストを要する。そのため現在では、遡上親魚以外に、継代飼育した親魚（池産親魚）も用いられている（真山、2008）。しかしながら、本種は自らが生まれた河川に遡上する母川回帰性が非常に強く、河川個体群の遺伝的独立性が高いとされるため（Okazaki, 1986；鈴木ら、2000）、池産親魚から得た卵を用いた放流の際には放流魚による遺伝的攪乱の可能性が含まれ、放流量や放流河川の選定は慎重に行う必要がある（真山、1993）。

これらより、サクラマスの資源増殖には上述の 3 種の方法による孵化放流事業のほかに、遺伝資源の保全のためにも天然繁殖保護を行い、これらの方策を有機的に組み合わせる必要があると考えられる（真山、2008）。天然繁殖保護に関しては、河川内での越夏場所や産卵環境として、大きな瀬淵構造や植物被覆、湧水性の河床の保護が必須であることが知られている（田子ら、2000；Edo & Suzuki, 2003；田子、2006）。しかし現在では、護岸工事に加え堰堤などの河川工作物の施工やそれに伴う河川水量の減少が多く、河川で見られるため、上述の環境を保護するのみでは不十分であり、現代の河川環境下で遡上親魚を越夏場所および産卵場所へ適切に導く方策が必要といえる。

また、サクラマスで降海型の資源量が減少傾向にあることには、表現型の適応度が関わっている可能性も考えられる。前述のように河川への依存度が高いサクラマスでは、河川環境が不安定な場合には両掛け戦略をとる河川型の適応度が高まると考えられる（松田、

2004)。このような点からも、適正な河川環境による降海型の天然繁殖保護は重要と考えられる。

これらの背景を踏まえ本研究では、主にサクラマスを含む河川依存度が高い系統的に起源に近い種において、降河および遡上行動の調節機構を解明することを目的とした。前者は、最も効果的な放流手法とされるスマルト放流に関して、放流種苗の減耗を抑えるような放流技術に寄与することが、また後者は、天然繁殖保護に関して、親魚の遡上行動の促進に寄与することがそれぞれ期待できる。研究には、特に降河回遊に関する既往研究の積み重ねがある内分泌物質の動態に着目した生理学的手法、および小型発信機を個体に取り付け行動や生理データを遠隔測定するバイオテレメトリー手法（遠隔生物測定手法）を用いた。

## 第1章 内分泌学的手法を用いた降河行動の調節機構の探索

欧米におけるサケ科魚類の孵化放流事業の主流はスマルト放流であり (Larsson, 1980 ; Johnson, 1982)、種苗の育成・放流技術の向上に向けた降河回遊の生理機構に関する内分泌学的知見は多い。銀化変態に関しては、多くの生物種で変態を促進するホルモンとして知られる甲状腺ホルモンの1種サイロキシン (Thyroxine) や、成長に関わる成長ホルモン (Growth hormone) 等の関与が示唆されている (Dickhoff et al., 1982 ; Yamauchi et al., 1984 ; Young et al., 1989 ; 金子, 2002)。また金子 (2002) や Ban (2005) は、海洋生活のための海水適応能の獲得や体表の銀白色化には副腎皮質ホルモンの1種コルチゾル (Cortisol) が関与すると報告している。これら降河回遊に関わるとされるホルモンは、いずれも降河回遊期に季節的な上昇を示すことから (山内・高橋, 1987 ; Clarke & Hirano, 1995 ; Björnsson, 1997 ; Dickhoff et al., 1997)、降河行動の発現にも何らかの影響を及ぼすことが予想される。

Grau et al. (1981) は降河回遊期の新月時に、スマルトの血中サイロキシン量が急上昇する現象を確認し、これを機に降河行動が発現するのではないかと報告した。以降、サイロキシンと降河行動の関係性に関する研究が多く行われているが、サイロキシンが降河行動の発現を直接制御する確証は得られていない (Iwata et al., 2003 ; Ebbesson et al., 2008)。行動調節に関与するホルモンは、その働きから **Trigger** と **Requirement** に大別でき、前者は行動発現を直接制御するスイッチとして、後者は行動発現の基盤をつくる必要条件として働くものを指す (Munakata & Kobayashi, 2010)。そのため現在では、サイロキシンは降河行動の **Requirement** として働き、行動発現に必要な生理・生態の獲得に関与すると考えられている (Ojima & Iwata, 2007)。一方で近年、コルチゾルの投与によってサクラマスの降河行動が促進することが Munakata et al. (2007) により示され、コルチゾルが降河行動の **Trigger** として働くと示唆された。本研究では、コルチゾルを降河行動の発現因子と見立て、このホルモンの動態を指標に、降河行動の調節機構を解明することを目指した。

### 1.1 降河行動を引き起こす外部環境因子の探索

降河行動は限られた期間に群れで一斉に行われることから (McCormick et al., 1998 ; 岩田・小島, 2006)、何らかの環境要因が降河行動の発現因子と目されるコルチゾルの上昇を引き起こすことで、降河行動発現が起こると考えられる。しかしながら、スマルトの血中コルチゾル量の変動が自然界でどのように調節されているのかは十分明らかになっていない。コルチゾルは、ストレス刺激に呼応して血中量が上昇するストレス応答因子として知られている (Barton, 2002)。そのため、魚にとってストレスとなる何らかの環境変化に伴いコルチゾル量が上昇し、その結果降河行動が誘発されるとの仮説を立てた。本実験では、サクラマス幼魚の野外採集を行い、血中コルチゾル量の変動に関与する外部環境要因の探索を行った。加えて降河行動の **Requirement** と考えられるサイロキシンの動態も調べた。

### 1.1.1 研究方法

岩手県南東部を流れる気仙川（全長約 43 km）の上流、中流、下流域にて（図 3）、春期（2005 年 3 月 1～3、8～10、16～19 日、2006 年 3 月 1～3、7～10、14～16 日、2007 年 3 月 6、7、13～16 日、2008 年 3 月 5～7、12～15 日、2009 年 3 月 1～4、12～14 日、2010 年 3 月 3～5、11、12 日）、夏期（2009 年 8 月 24～28 日）、および秋期（2005 年 9 月 25、26、28 日）にサクラマスの野外採集を行った（2005 および 2006 年の春期調査と秋期調査には筆者は加わっていない）。春期調査では 1+年魚、夏期および秋期調査では 0+年魚を対象とし、魚体に与えるストレスが比較的小さいと考えられる釣獲により、9:00～18:00 まで経時的に採捕を行った。

採捕魚には 50 ppm ベンゾカイン溶液で麻酔をかけ、ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、東京）；注射針（NN-2332R；テルモ株式会社、東京））を用いて尾柄部から採血した。その後、頭部打撃により死亡させ、標準体長、体重、性別、生殖腺重量を計測し、肥満度（ $100 \times \text{体重} / (\text{標準体長})^3$ ）、および生殖腺重量指数（GSI； $100 \times \text{生殖腺重量} / \text{体重}$ ）を算出した。血液サンプルは遠心分離（6000 rpm、7 分間）させ血漿成分のみを取り出し、-78 °C で冷凍保管した。

春期調査では、外見からパーカスモルトかを判別した（図 2；体色の銀白色化、背鰭および尾鰭先端の黒化が進んでいるものをスモルトとした；久保、1974）。夏期および秋期調査では 1+年魚と思われる個体も混獲された。0+年魚と 1+年魚の判別は、木曾（1995）を参考に、標準体長の基準を夏期調査では 11.0 cm、秋期調査では 12.0 cm とし、これ未満の個体を 0+年魚と定義した。

採捕期間中は、外部環境因子（月齢、気圧、降水量、日照時間、水温）の観測を並行して行った。気圧、降水量、日照時間は気象庁が Web ページ上で公開している陸前高田および住田観測所のデータを用いた。水温は、採捕中に河川内へ水温計を設置して随時計測するとともに、上流および下流域の河床に水温計ロガー（TB132-05+37 Stow away TidbiT Temp Logger；Onset Computer Corporation, Pocasset, MA, USA）を設置することで得た。

血液サンプル中のコルチゾル濃度およびサイロキシン濃度は、放射免疫測定法（Radioimmunoassay；RIA；Redding et al., 1984；Feist and Schreck, 2002）あるいは時間分解蛍光免疫測定法（Time-resolved fluoro immune assay；TR-FIA；Yamada et al., 2002；Sato et al., 2000）を用いて測定した（RIA によるホルモン量測定には筆者は加わっていない）。



図 2. 岩手県気仙川で採捕したサクラマス 1+年魚。上がパー、下がスマルトと定義した個体。スマルトはパーマークが消失して体色が銀白色を呈し、背鰭や尾鰭の先端が黒色化している。また、スマルトはパーより肥満度が小さい傾向にある。

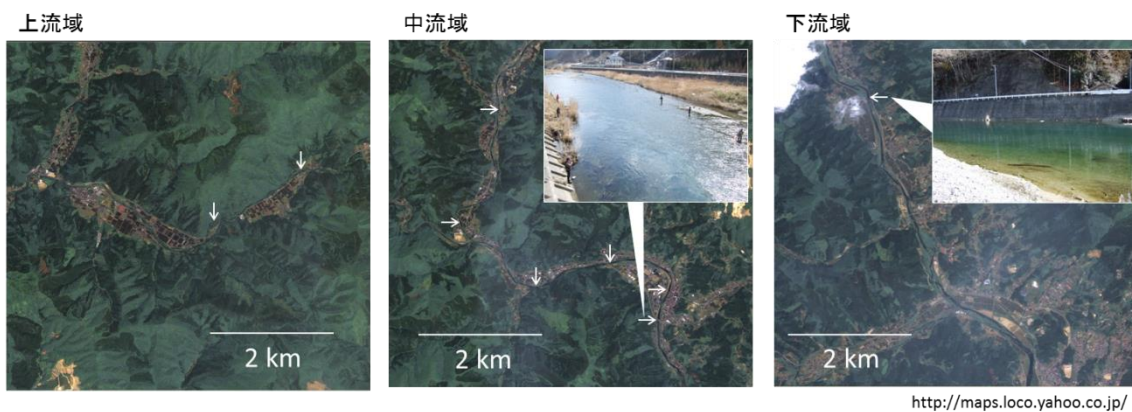
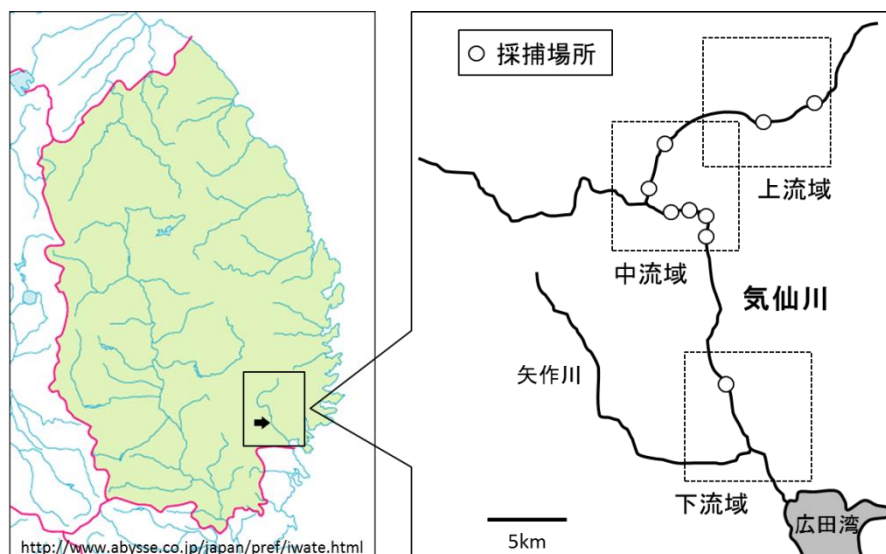


図 3. 岩手県気仙川でのサクラマス野外採集の採捕場所。航空写真は、右上の白地図上の破線で囲まれた範囲（上流域、中流域、下流域）を示す。白地図上の白丸（○）および航空写真上の矢印が詳細な採捕地点を示している。

### 1.1.2 結果

夏期および秋期調査は上流および中流域のみで行い、採捕魚は全てパーだった。春期調査では、上流域では1+年魚パーが、中流および下流域では1+年魚スマルトが多く採捕された(表1; 本論文の図表のデータは補足がない限り平均値±標準誤差を表す)。春期調査での採捕魚は、夏期および秋期調査での採捕魚に比べ肥満度およびGSIが小さく、またスマルトは体重、肥満度、およびGSIがパーに比べ有意に小さかった。春期調査での性比は、オス:メスがパーでは166:130、スマルトでは25:568だった。

血中ホルモン量には季節および成長段階による違いが見られた(図4)。コルチゾル量は、スマルトがパー(夏期、秋期、春期)に比べ高い値を示した。サイロキシン量は、スマルトが他より有意に高い値を示すとともに、季節の進行に伴う上昇もみられた。

春期のスマルトでの血中ホルモン量の日間あるいは日内の時間帯ごとの値を比較すると、いずれでも有意な差がみられた(図5、6)。スマルトの血中コルチゾル量あるいはサイロキシン量を目的変数、採捕時の気圧、降水量、水温、時間帯、採捕日の日照時間、採捕時点から24時間前までの総降水量、新月か否かを説明変数とした重回帰分析を行うと(表2)、いずれのホルモン量についての回帰式でも修正済決定係数は比較的小さい値となった(表3、4)。しかし各変数の標準偏回帰係数およびP値から、コルチゾル量は降水量、および採捕した時間帯とは正の、採捕時の気圧、および水温とは負の関係にあると検出された。サイロキシン量は採捕時の気圧、および24時間前までの総降水量とは正の、採捕した時間帯、および新月とは負の関係にあると検出された。また水温変動に着目し、1日の中の上昇期と下降期でのホルモン量を比較すると、スマルトのコルチゾル量は水温下降期に有意に高い値を示し、サイロキシン量は水温の上昇期に高い値を示した(図7)。また、スマルトのコルチゾル量の個体差は非常に大きかった。

これらの結果から、スマルトのコルチゾル上昇には水温や気圧、降雨といった複数の環境要因が関与すると考えられた。またサイロキシンは、コルチゾルとは異なる環境要因によって血中量の変動すると示唆された。

表1. 気仙川で採捕したサクラマス(サケ)の季節、成長段階、採捕場所毎の個体数、標準体長(BL)、体重(BW)、肥満度(CF)、および生殖腺重量指数(GSI)。秋期調査のGSI計測は成熟個体でのみ行ったため、成熟個体の平均値を示す(†)。春期調査で採捕されたパーとスマルトの間ではBW、CF、およびGSIに有意差( $p<0.05$ )がみられた。

Season	Stage	N			BL (cm)	BW (g)	CF (%)	GSI (%)	Sampling date
		Up	Mid	Down					
Summer	0+ Parr	3	10	0	10.2±0.16	15.4±0.95	1.45±0.05	4.95±1.48	Aug. 24~28, 2009
Fall	0+ Parr	11	41	0	10.5±0.14	17.3±0.58	1.47±0.02	13.47±0.23†	Spt. 25~28, 2005
Spring	1+ Parr	163	57	78	13.2±0.12	30.5±0.91 b	1.25±0.01 b	0.32±0.01 b	Mar. 1~19, 2005~2010
	1+ Smolt	23	90	483	13.0±0.05	25.3±0.33 a	1.12±0.004 a	0.25±0.006 a	

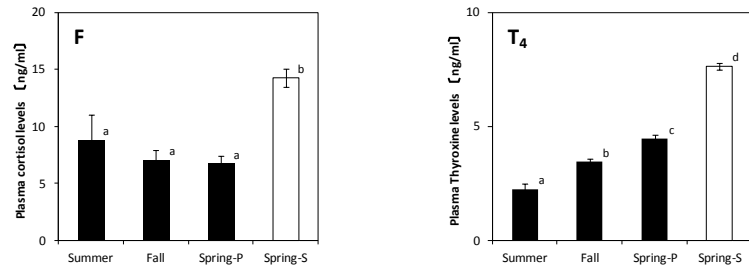


図 4. 気仙川で採捕したサクラマスの血中コルチゾル (F) およびサイロキシン量 (T<sub>4</sub>) の調査時期および成長段階ごとの違い。P と S はそれぞれパーとスマルトを示す。有意差が見られるものに異なるアルファベットを付した。

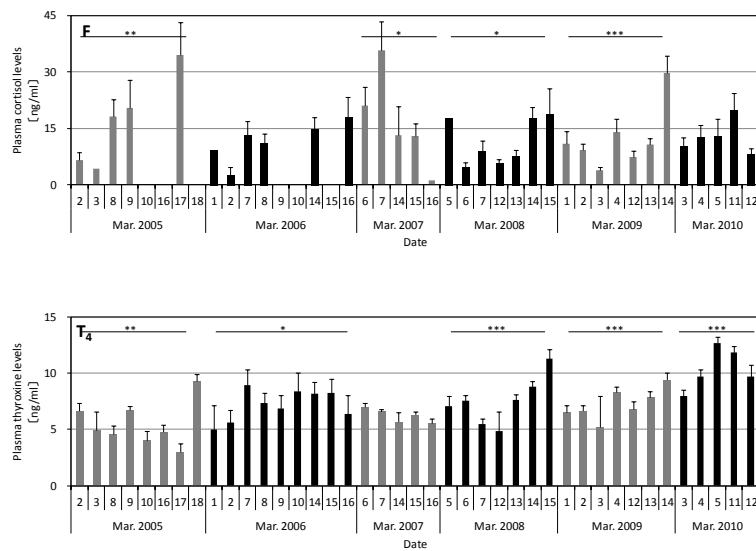


図 5. 春期調査で採捕したサクラマスのスマルトの血中コルチゾル (F) およびサイロキシン量 (T<sub>4</sub>) の日ごとの違い。有意な変動を示していた年は\* ( $p<0.05$ )、\*\* ( $p<0.01$ )、および\*\*\* ( $p<0.001$ ) で示した。

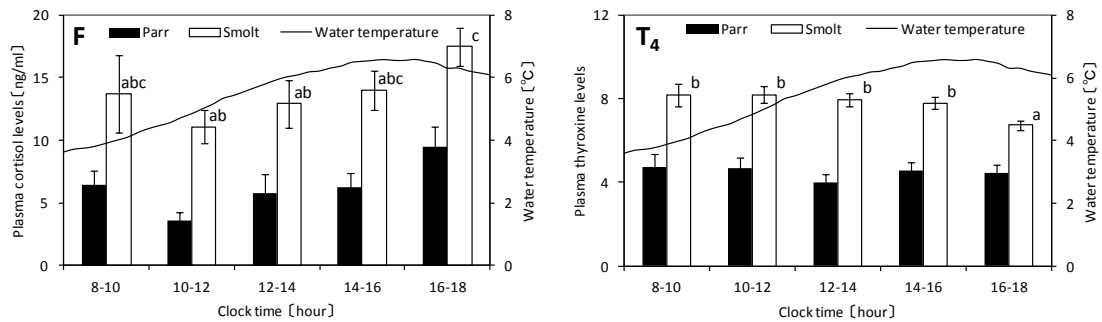


図 6. 春期調査で採捕したサクラマスのパーとスマルトの血中コルチゾル (F) およびサイロキシン量 (T<sub>4</sub>) の時間帯による違いと水温の日周変動。スマルトの血中量について、有意差 ( $p<0.05$ ) がみられるものに異なるアルファベットを付した。



表 2. 春期調査で採捕したサクラマスノモルトの血中コルチゾルおよびサイロキシンの変動要因を調べるために行った重回帰分析に用いた説明変数と、その設定方法。

変数	設定方法
Pressure	採捕時の気圧の値 [hPa]
Precipitation	採捕時 (10 分単位) の降水量の値 [mm/10min]
Water temperature	採捕時の水温の値 [°C]
Time	採捕時間を 8:00~9:59、10:00~11:59、12:00~13:59、14:00~15:59、16:00~17:59 に分け、それぞれに 1、2、3、4、5 のカテゴリカル変数を設定した
Sunlight	採捕日の日照時間 [h/day]
24h-Precipitation	採捕時 (1 時間単位) から過去 24 時間の総降水量 [mm/24h]
New moon	採捕日が新月に該当するかその前後 1 日に含まれる場合は 1、そうでない場合は 0 のダミー変数を設定した

表 3. 春期調査で採捕したサクラマスノモルトの血中コルチゾル量を目的変数とした重回帰分析の結果。RPC は偏回帰係数、Std-RPC は標準偏回帰係数を表す。

Adjusted R<sup>2</sup>=0.18

Parameter	PRC	Std-PRC	Std-Error	P-value
Pressure	-0.82	-0.36	0.10	2.85E-7
Precipitation	39.30	0.22	7.55	3.31E-16
Water temperature	-2.36	-0.16	0.65	3.43E-4
Time	2.60	0.18	0.64	4.95E-5
Constant term	843.43		98.22	1.19E-16

表 4. 春期調査で採捕したサクラマスノモルトの血中サイロキシンを目的変数とした重回帰分析の結果。RPC は偏回帰係数、Std-RPC は標準偏回帰係数を表す。

Adjusted R<sup>2</sup>=0.10

Parameter	PRC	Std-PRC	Std-Error	P-value
Pressure	0.07	0.15	0.02	0.004
Water temperature	-0.02	-0.008	0.13	0.87
Time	-0.39	-0.14	0.12	0.001
Sunlight	-0.10	-0.08	0.05	0.07
24h-Precipitation	0.12	0.26	0.02	6.49E-7
New moon	-2.00	-0.14	0.57	4.53E-4
Constant term	-58.85		23.56	0.01

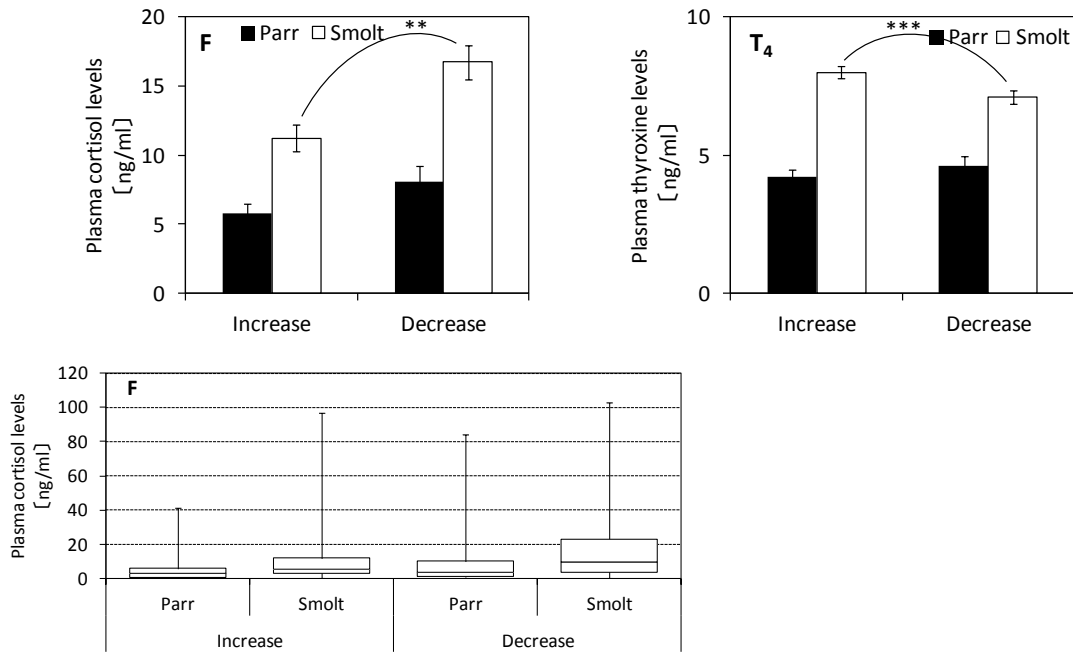


図 7. 春期調査で採捕したサクラマスのパーとスモルトの血中コルチゾル (F) およびサイロキシン量 (T<sub>4</sub>) の、河川水温の上昇期 (Increase) と下降期 (Decrease) の値。コルチゾル量については、ボックスプロットも図示した。スモルトではいずれのホルモン量でも有意差 (\*\*:  $p < 0.01$  ; \*\*\*:  $p < 0.001$ ) がみられた。

## 1.2 降河行動の調節機構の解明に向けた検証実験

前節の野外採集の結果から、降河行動の Trigger と考えられるコルチゾルは、低気圧時、降雨時、および水温低下時等に上昇すると示唆された。本種を含むタイヘイヨウサケ属およびタイセイヨウサケ属のスモルトの降河行動は、夕方から夜間にかけて、あるいは降雨や雪融けの流入時に多く見られることが知られている (Hoar, 1951; 佐々木ら, 1993; Iwata, 1995; Riley et al., 2002)。夕方以降の時間帯では水温が日周期的な低下を示し、降雨によっても河川水温の低下が生じることから、本研究では水温低下刺激がコルチゾル上昇を介して降河行動の発現に大きく関わるとの仮説を立てた。

この仮説を検証するため、水温低下刺激が①コルチゾル上昇を引き起こすか否か、②降河行動発現を引き起こすか否か、を調べる水槽実験を行った。また、③降河行動におけるコルチゾルの Trigger としての働き、およびサイロキシンの Requirement としての働きを確認するため、これらのホルモンを投与した魚の行動観察を行った。各実験の際に加えた水温低下刺激は、実験設備により異なるが、降雨や雪融けの流入が見られる際に起こりうる程度の水温低下を想定した。これらの実験の概要を表 5 にまとめた。

サクラマスは日本の在来種だが、本属にはニジマスなど太平洋をはさんだ北米原産の種も存在する。これらの種は継続的な進化のもと派生したもので (Murata et al., 1996)、属

内の回遊調節機構は共通している可能性がある。そこで上述した仮説検証実験では、サクラマス以外に、北米産のニジマス（降海型をスチールヘッドトラウトと呼ぶ）、ギンザケ *O. kisutch*、およびマスノスケ *O. tschawytscha* を対象とし、属内での調節機構の共通性にも言及することとした。

表 5. 仮説検証実験の概要。

仮説	検証実験の概要	該当実験
①水温低下刺激がコルチゾル上昇を引き起こす	飼育水の水温を短期的に低下させた際の血中コルチゾル量を調べる	実験 1-1 ～1-3
②水温低下刺激が降河行動を引き起こす	回流水槽内で、飼育水の水温を短期的に低下させた際の行動を観察する	実験 2-1、 2-2
③コルチゾルとサイロキシンが、それぞれ降河行動の Trigger と Requirement として働く	回流水槽内で、各ホルモンを投与した魚の行動を観察する(飼育水の水温を低下させる)	実験 3

### 1.2.1 水温低下刺激に対するコルチゾル応答—研究方法

表 5 の仮説①、水温低下刺激がコルチゾル上昇を引き起こすか否かの検証実験を行った。実験は、タイヘイヨウサケ属 4 魚種をそれぞれ複数尾飼育した環境（実験 1-1）、サクラマスを複数尾飼育および単独飼育した環境（実験 1-2）、および *O. mykiss* の河川型ニジマスと降海型スチールヘッドトラウトをそれぞれ単独飼育した環境（実験 1-3）で行った。複数尾を同一空間で飼育した場合には、個体間作用により実験魚の血中コルチゾル量が上昇することも予想されるため（Ejike & Schreck, 1980）、複数尾飼育と単独飼育の双方の環境で実験を行った。

#### 実験 1-1 ニジマス、スチールヘッドトラウト、ギンザケ、マスノスケの複数飼育時の水温低下刺激に対するコルチゾル応答

実験には、Oregon Hatchery and Research Center (OHRC ; Alsea, OR, USA) で飼育されていたニジマス、ギンザケ、マスノスケ、および Alsea Hatchery (Alsea, OR, USA) で飼育されていたスチールヘッドトラウト（全て 0+年魚パー、2 倍体）を用いた（図 8）。

2009 年 9 月 15 日、ニジマス、マスノスケ、および Alsea Hatchery から移送してきたスチールヘッドトラウトを、OHRC の屋内に設置した順致用蓋付円型 FRP（ガラス繊維強化プラスチック）水槽（直径 100 cm、水深 66 cm）へ、魚種別に 5.2 L/尾の密度（約 100 尾）で収容した。9 月 16 日にはギンザケを同様に収容した。水槽内には、OHRC に隣接して流れる Fall Creek から汲み上げた河川水を流量 13—14 L/min で常時流し、オーバーフローにより排水した。水温は 10—14 °C、明期/暗期は 10/14 時間、給餌は体重の 2%量のペレ

ット (Bio Oregon, Longview, WA, USA) を 1 日 2 回 (7:00、16:00) に分けて与えた。実験開始まで、ニジマスは 2 日間、ギンザケは 3 日間、マスノスケは 6 日間、およびスチールヘッドトラウトは 8 日間順致した。

いずれの魚種でも、以下の手順で実験を行った。

実験開始日、15:00 に順致水槽から魚を 7 尾取り出し、MS-222 溶液 (150 mg/L、重炭酸溶液を用い pH 7.0 に調整) を用いて麻酔をかけ、ヘパリン処理 (100 units/ml) をしたシリンジ (注射筒 (SS-01T; テルモ株式会社、東京); 注射針 (NN-2332R; テルモ株式会社、東京)) を用いて尾柄部から採血した。その後、標準体長および体重を計測して肥満度を算出した。これをストック群 (Stock 群; S 群) とし、これ以外の群のサンプリングも同様の方法で行った。S 群のサンプリング後、10 個の蓋付円形 FRP 水槽 (直径 100 cm、水深 66 cm) へ、順致水槽から魚を 8 尾 (ニジマス、マスノスケ) あるいは 10 尾 (ギンザケ、スチールヘッドトラウト) ずつ移し、順致時と同様の条件で飼育した (図 8)。

2 日後 (ニジマス: 9 月 19 日、ギンザケ: 9 月 21 日、マスノスケ: 9 月 23 日、スチールヘッドトラウト: 9 月 25 日)、9:00 に 1 個の水槽に収容した魚のサンプリングを行い、これをイニシャル群 (Initial 群; I 群) とした。I 群は水温変動開始直前の状態を表すグループとなる。同時刻に、3 つの水槽へ冷却した河川水 (8.5—9.5 °C) を、別の 3 つの水槽へは加温した河川水 (15—16 °C) を加えて、9:45 までの 45 分間で水槽内の温度を約 1.5 °C 低下あるいは上昇させ、これらを低温群 (Cold 群; C 群) および高温群 (Hot 群; H 群) とした。両群とも 9:45 以降は、流入水の温度を調節し水槽内の水温を一定に維持した。残りの 3 つの水槽へは処理を加えず、常温群 (Ambient 群; A 群) とした。水温変動開始から 1 時間後 (10:00)、2 時間半後 (11:30)、および 3 時間後 (12:00) に、C 群、H 群、A 群各 1 つずつの水槽からサンプリングを行った (図 9)。得られた血液は、遠心分離 (9000 rpm、5 分間) し血漿成分のみを抽出してから -78 °C で冷凍保存し、後に TR-FIA により血中コルチゾル量を測定した。



図 8. 実験 1-1 に用いたニジマス (左上)、スチールヘッドトラウト (右上)、ギンザケ (左下)、およびマスノスケ (右下) と、実験に用いた蓋付円形 FRP 水槽。

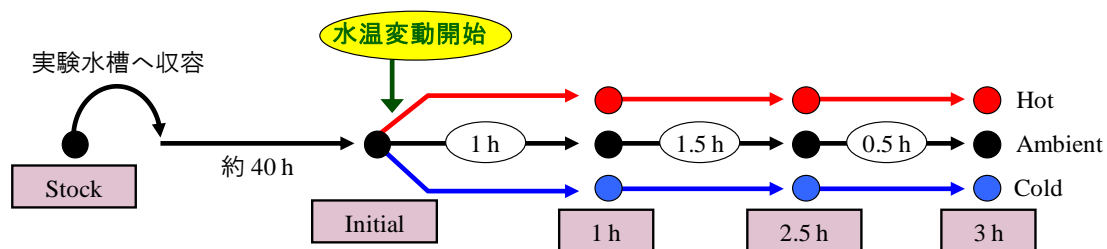


図 9. 実験 1-1 での各群と時間に伴う水温変動プロファイルの概略図。

### 実験 1-2 サクラマス複数の複数および単独飼育時の水温低下刺激に対するコルチゾール応答

実験は、菅原養魚場（宮城県）で飼育されていたサクラマス 0+年魚パーを用い、宮城教育大学にて行った。

2009 年 9 月下旬、菅原養魚場より輸送したサクラマスを、角型アクリル水槽（180 cm × 60 cm、水深 60 cm）へ収容した。水槽内の水はオーバーフローにより濾過槽（75 × 50 cm、水深 25 cm）へ排水し、そこから水中ポンプ（Rio+1700；神畑養魚株式会社、兵庫）によって再び水槽内に流入させた。また、外部濾過機（パワーボックス 45；コトブキ工芸株式会社）とエアレーションを設置するとともに、クーラー（GCX-200；ジェックス株式会社、大阪）を通し水温が 18 °C を上回らないようにした。水の交換は、ごく少量の水道水を 1 日 8 時間程度、水槽内に加え続けることで行った。給餌は、体重の 2% 量のさけます用ペレットを 1 日複数回に分けて与えた。

複数飼育環境下での実験は 11 月 17、19、24、および 26 日に開始し、水温低下処理と水温上昇処理を 2 回ずつ行った。20:00 に実験魚 18 尾を取り出し、3 つの黒色プラスチック水槽（60 × 40 cm、水深 15 cm）へ 6 尾ずつ収容した（図 10）。魚は水槽内に沈めた水切りカゴの内側に収容し、水槽には水中ポンプ（ニュースペースパワーフィット S；水作株式会社、東京）とエアレーションを設置して、水を水槽内で循環させた。水温は 14—17 °C とした。収容後は黒色アクリル板でふたをして 2 日間馴致し、給餌は収容日翌日の 14:00 に行った。

収容日から 2 日後、14:00 に 1 つの水槽から実験魚を取り出し、50 ppm ベンゾカイン溶液へ入れて麻酔をかけ、ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、東京）；注射針（NN-2332R；テルモ株式会社、東京））を用いて尾柄部から採血した。その後、標準体長および体重を計測し肥満度を算出するとともに、頭部打撃により死亡させ生殖腺重量を計測して GSI を算出した。これらはイニシャル群（Initial 群；I 群）とした。同時刻に、残った水槽の一方にはセラミックヒーター（1、2 回目）、またはペットボトルで作成した氷（3、4 回目）を水きりカゴの外側に入れ、水温を 30 分間で約 1.5 °C 上昇あるいは低下させた。これらは高温群（Hot 群；H 群）および低温群（Cold 群；C 群）とした。もう一方の水槽には処理を加えず常温群（Ambient 群；A 群）とした。水

水温変動開始から1時間半後の15:30に、これらの群をI群と同様にサンプリングした。

単独飼育環境下での実験は12月9日および14~16日に開始し計4回行った。14:00に実験魚6尾を取り出し、3つの黒色プラスチック水槽へ2尾ずつ仕切りを隔てて収容した(図10)。収容後は黒色アクリル板でふたをし、1日馴致した。水温は10—11℃とし、この間の給餌は行わなかった。

翌日14:00に、複数飼育での実験と同様の方法で、1つの水槽には水温低下処理を、1つの水槽には水温上昇処理を加え、水温を30分間で約1.5℃低下あるいは上昇させた。これらはC群およびH群とし、もう1つの水槽には処理を加えずA群とした。水温変動開始から1時間半後の15:30に、これらの群をサンプリングした。また2010年1月14日、実験魚6尾を3つの実験水槽へ収容して1日馴致し、水温変動処理を加えずに翌日12:00にサンプリングしたものを本実験のI群とした。

12月24日および30日、馴致水槽から4尾の実験魚を取り出して直ちにサンプリングし、これらを両実験のストック群(Stock群; S群)とした。得られた血液は、遠心分離(6000rpm、7分間)し血漿成分のみを抽出してから-78℃で冷凍保存し、後に血中コルチゾル量をTR-FIAにより測定した。

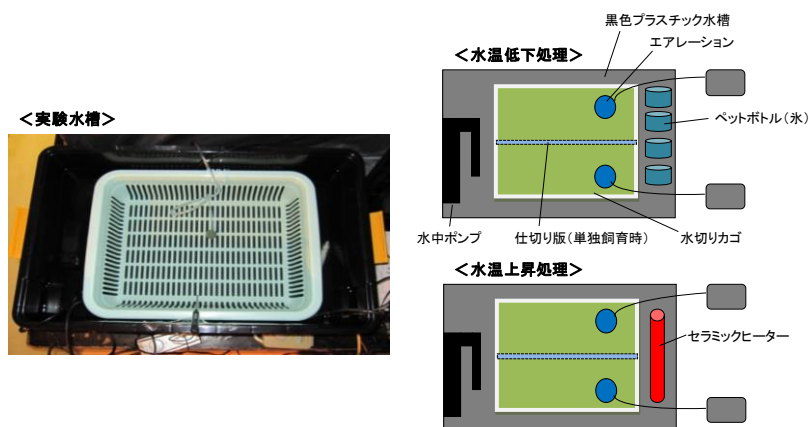


図10. 実験1-2に用いた実験水槽(左)と実験水槽の概略図(右)。

### 実験1-3 ニジマスおよびスチールヘッドトラウトの単独飼育時の水温低下刺激に対するコルチゾル応答

実験には、OHRCで飼育されていたニジマスの1+年魚とスチールヘッドトラウトの2+年魚(いずれも2倍体)を用いた(図11)。これらの魚は、Fall Creekから汲み上げた河川水を掛け流しにした屋外の円型FRP水槽(直径2m、水深1m)にて、体重の2%量のペレット(Bio Oregon, Longview, WA, USA)を1日2回(7:00、16:00)に分けて与えられ飼育されていた。

2011年3月12、13、15、および16日にニジマス、3月11、14、18、および19日にス

チールヘッドトラウトを用いた実験を開始し、いずれの魚種でも水温低下処理と水温上昇処理を2回ずつ行った。実験開始日、14:00～16:00に屋外水槽から標準体長および体重が比較的近いニジマスあるいはスチールヘッドトラウトを11尾取り出し、室内に設置した11個の蓋付円型FRP水槽（直径2 m、水深1 m）へ1尾ずつ収容し、1日順致した。実験水槽にはFall Creekから汲み上げた河川水を流量12—13 L/minで流し、オーバーフローにより排水した。水温は6—8 °Cとし、給餌は行わなかった。魚の収容後は直ちに消灯し、翌8:00に再び照明をつけた。

収容翌日、13:00に3個または4個の水槽から魚を取り出し、MS-222溶液（150 mg/L、重炭酸溶液を用いpH 7.0に調整）に入れて麻酔をかけ、ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、東京）；注射針（NN-2332R；テルモ株式会社、東京））を用いて尾柄部から採血した。その後、標準体長および体重を計測し肥満度を算出するとともに、頭部打撃により死亡させ生殖腺重量を計測してGSIを算出した。これらはイニシャル群（Initial群；I群）とし、これ以外の群のサンプリングも同様の方法で行った。同時刻に、4個の水槽へ冷却（5—7 °C）あるいは加温（12—13 °C）した河川水を流入し、水温を1時間で約1.0 °C低下あるいは上昇させた。これらの魚は低温群（Cold群；C群）および高温群（Hot群；H群）とした。残りの4個または3個の水槽には処理を加えず、常温群（Ambient群；A群）とした。水温変動開始から1時間後の14:00に3群をサンプリングした。得られた血液は、遠心分離（9000 rpm、5分間）し血漿成分のみを抽出してから-78 °Cで冷凍保存し、後に血中コルチゾル量およびサイロキシン量をTR-FIAにより測定した。



図 11. 実験 1-3 に用いたニジマス（左）とスチールヘッドトラウト（右）。

## 1.2.2 水温低下刺激に対するコルチゾル応答—結果

### 実験 1-1 ニジマス、スチールヘッドトラウト、ギンザケ、マスノスケの複数飼育時の水温低下刺激に対するコルチゾル応答

血中コルチゾル量は、全魚種でS群は低値（5 ng/ml以下）であったが、それ以外の群では有意に異なった（図 12）。I群およびA群の結果に着目する。ニジマス以外の3魚種では、水温変動処理を与えないA群の血中コルチゾル量が実験開始時のI群に比べて有意に上昇する時間帯が見られた。またニジマスでは、2時間半後のA群がH群に比べ有意に高い値

を示した。水温変動の影響を評価するには、I群およびA群のコルチゾル量は落ち着いていることが望ましく、そうでなければ実験で確認されたコルチゾル量変動が水温変動に起因していたのか否かが不明確となる。特定の時間帯のみに着目することで、水温低下刺激の影響が示唆される結果もあるが（スチールヘッドトラウトおよびマスノスケの2時間半後と3時間後のデータ）、本実験では水温低下刺激に対するコルチゾル応答に言及することは難しいと考えられる。

表 6. 実験 1-1 に用いた 4 魚種の標準体長 (BL)、体重 (BW)、および肥満度 (CF)。

Species	N	BL (cm)	BW (cm)	CF (%)	Sampling date
Rainbow trout	87	7.5±0.08	7.4±0.23	1.68±0.01	Spt. 19
Steelhead trout	107	11.8±0.08	12.5±0.44	1.30±0.01	Spt. 25
Coho salmon	107	8.5±0.05	8.7±0.15	1.38±0.01	Spt. 21
Chinook salmon	87	12.6±0.15	26.5±0.95	1.24±0.01	Spt. 23

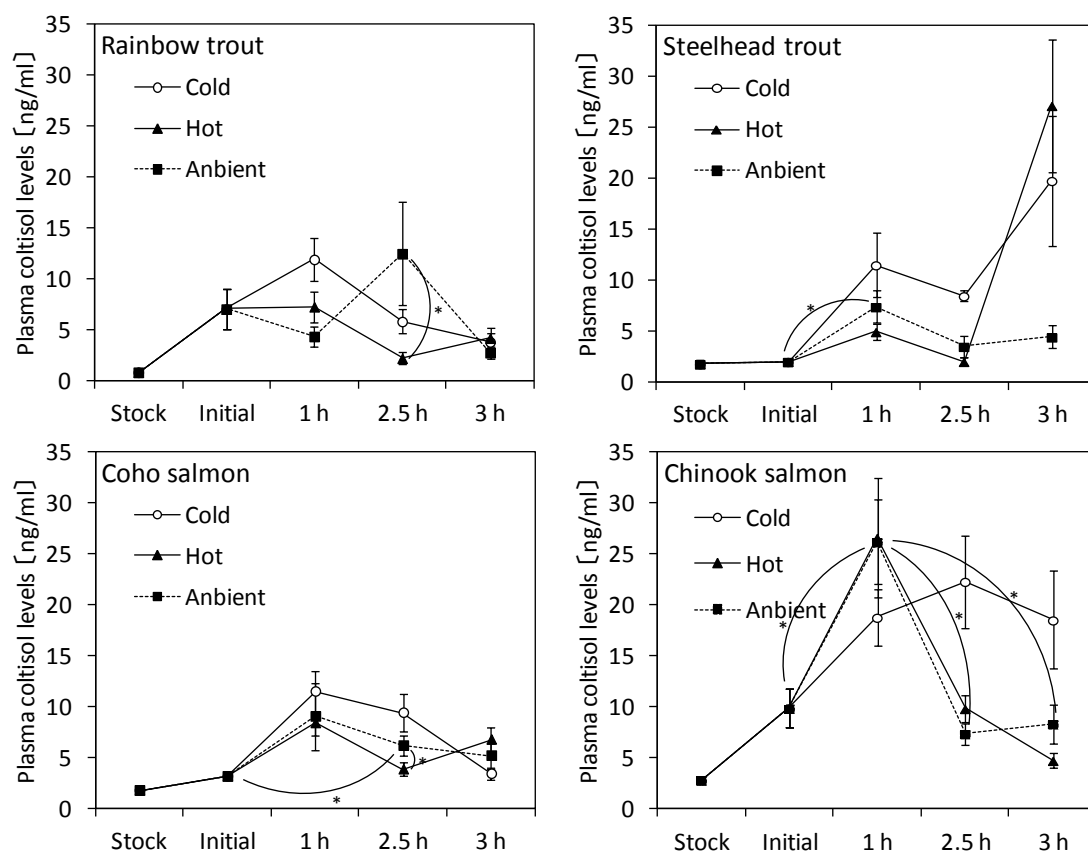


図 12. 実験 1-1 でのニジマス (Rainbow trout)、スチールヘッドトラウト (Steelhead trout)、ギンザケ (Coho salmon)、およびマスノスケ (Chinook salmon) の水温低下および水温上昇刺激に対する血中コルチゾル量の応答。Initial 群および Ambient 群について、弧でつないだ値の間には有意差 ( $p < 0.05$ ) がみられた。



### 実験 1-2 サクラマスの複数および単独飼育時の水温低下刺激に対するコルチゾル応答

複数飼育での実験では、I 群の血中コルチゾル量が A 群より有意に高い値を示したことから (図 13)、実験 1-1 と同様に水温変動に対するコルチゾル応答に言及することは難しい。

単独飼育での実験では、S 群、I 群、および A 群がいずれでも低値 (5 ng/ml 以下) だった一方、水温低下刺激を与えた C 群と水温上刺激を与えた H 群の血中量は実験開始時の I 群に対し有意に高い値を示した (図 13)。C 群および H 群では群内のばらつきも比較的大きかった。

表 7. 実験 1-2 に用いたサクラマスの標準体長 (BL)、体重 (BW)、肥満度 (CF) および生殖腺重量指数 (GSI)。

Experiment	N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	GSI (%)	Sampling date
Stock	8	10.2±0.21	13.6±1.09	1.28±0.06	0.26±0.07	Dec. 24,30
Multiple	72	9.2±0.09	9.9±0.27	1.27±0.02	0.26±0.02	Nov. 19,21,26,28
Single -A,C,H	24	10.4±0.11	14.1±0.44	1.24±0.02	0.17±0.04	Dec. 10,15~17
-I	6	8.4±0.09	8.31±0.58	1.38±0.06	0.34±0.09	Jan. 15

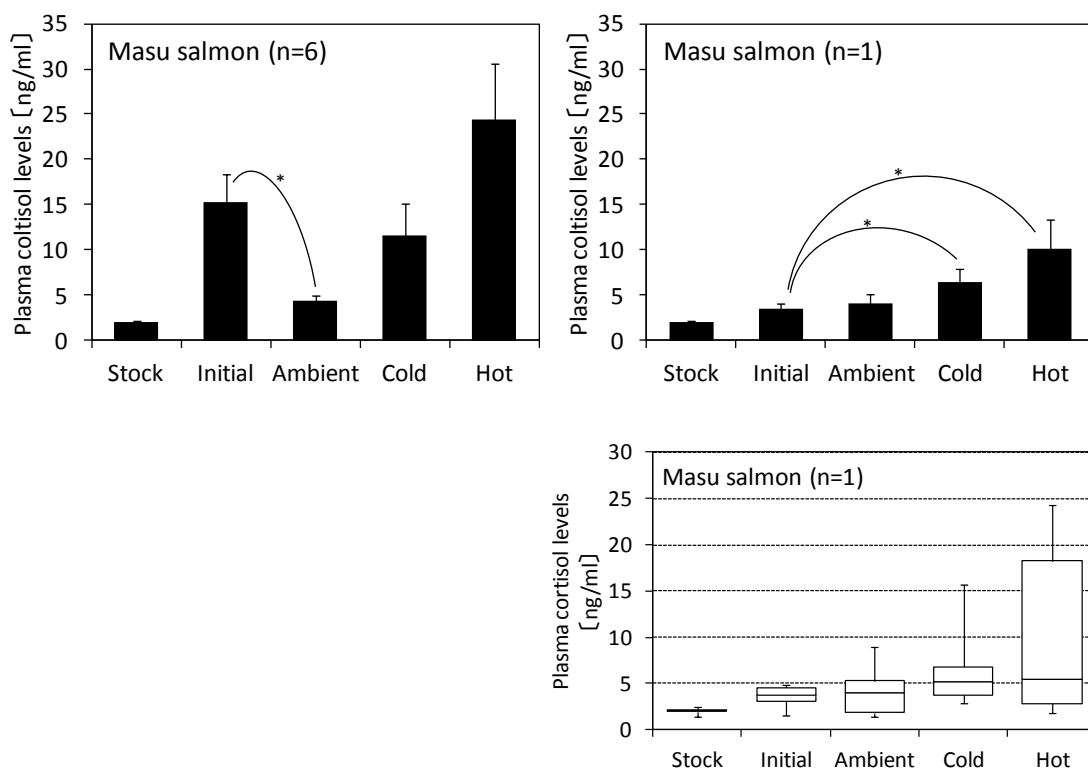


図 13. 実験 1-2 での複数飼育 (n=6) および単独飼育環境下 (n=1) でのサクラマスの水温低下および水温上昇刺激に対する血中コルチゾル量の応答。有意差は\* ( $p < 0.05$ ) で示した。単独飼育環境下での実験結果についてはボックスプロットも図示した。

### 実験 1-3 ニジマスおよびスチールヘッドトラウトの単独飼育時の水温低下刺激に対する コルチゾル応答

河川型のニジマスでは、全処理群間で有意なホルモン量の差はみられなかった。一方の降海型のスチールヘッドトラウトでは、血中コルチゾル量は、水温低下処理を与えた C 群が実験開始時の I 群に対し有意に高い値を示した (図 14)。また血中サイロキシン量は、C 群が I 群および水温変動処理を与えない A 群よりも有意に低い値を示した。

表 8. 実験 1-3 に用いたニジマスおよびスチールヘッドトラウトの標準体長 (BL)、体重 (BW)、肥満度 (CF) および生殖腺重量指数 (GSI)。魚種間で有意差 ( $p < 0.05$ ) がみられる場合は異なるアルファベットを付した。

Species	N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	GSI (%)	Sampling date
Rainbow trout	52	23.5±0.17a	185.0±4.24a	1.42±0.01b	0.08±0.01a	Mar. 13,14,16,17
Steelhead trout	52	25.6±0.33b	209.2±8.47b	1.21±0.01a	0.57±0.13b	Mar. 12,15,19,20

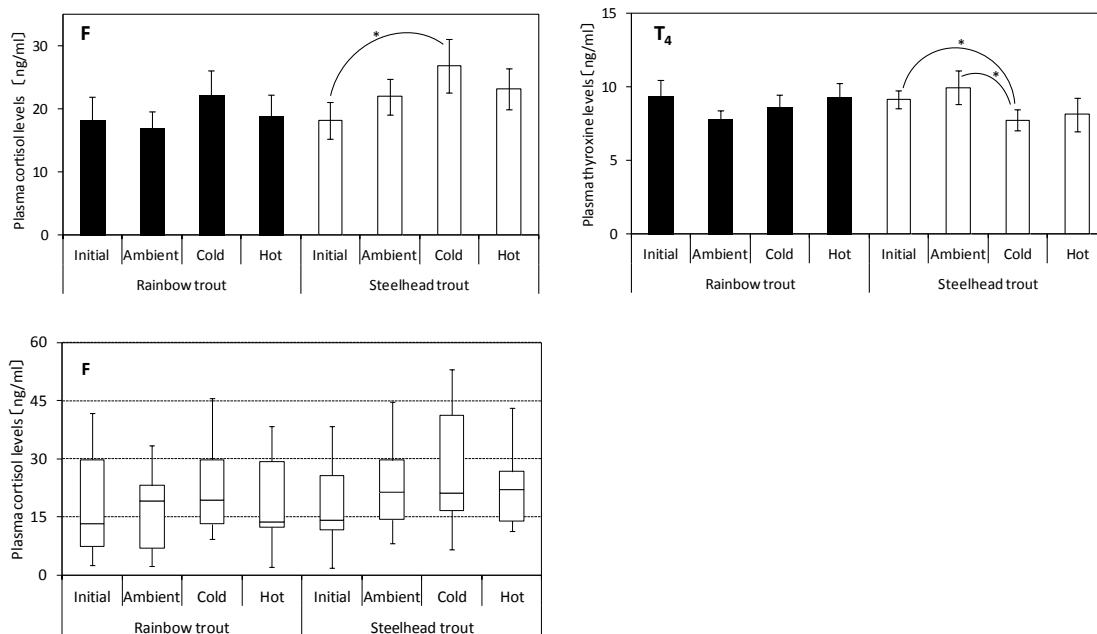


図 14. 実験 1-3 でのニジマスおよびスチールヘッドトラウトの水温低下および水温上昇刺激に対する血中コルチゾル (F) およびサイロキシン量 (T<sub>4</sub>) の応答。コルチゾル量についてはボックスプロットも図示した。有意差は\* ( $p < 0.05$ ) で示した。

実験 1-1~1-3 より、サクラマスとスチールヘッドトラウトでは、水温低下刺激が血中コルチゾル量上昇を引き起こすことが明らかになった一方で、河川型のニジマスではこのような傾向は小さかった。これらの結果は、表 5 の仮説①を支持するものと考えられる。

また、サクラマスは水温上昇刺激に対してもコルチゾル量上昇を示し、スチールヘッドトラウトでは血中サイロキシン量が水温低下時に低い値を示した。

### 1.2.3 水温低下刺激に対する降河行動の発現—研究方法

表 5 の仮説②、水温低下刺激が降河行動の発現を引き起こすか否かの検証実験を行った。実験は、サクラマスを単独飼育した環境（実験 2-1）、およびスチールヘッドトラウトを複数尾収容した環境（実験 2-2）で行った。前節で水温低下刺激に対するコルチゾル上昇が明瞭に確認されたのは単独飼育環境下のみだったが、実際の河川での降河行動は群れで行われる傾向にあるため（岩田・小島、2006）、単独飼育と複数尾飼育の双方の環境で実験を行った。

#### 実験 2-1 サクラマスの単独飼育時の水温低下刺激に対する降河行動の発現

実験には、実験 1-2 と同様のサクラマス（0+年魚パー）を用い、宮城教育大学にて行った。実験魚は実験開始まで実験 1-2 と同様の条件で飼育した。

実験は 2009 年 12 月 28～30 日および 2010 年 1 月 5 日に計 4 回行った。10:00 に 2 個の実験水路（アクリル水槽（150×60 cm、水深 22 cm）内にアクリル板を用いて作成）それぞれに 1 尾の実験魚を収容した（図 15）。水路内の水温は 11—14 °C とし、水は濾過槽（45 cm×35 cm、水深 18 cm）へオーバーフローで排出した後、2 個の水中ポンプ（Rio+1700、Rio+1100；神畑養魚株式会社、兵庫）で 100 L タンク（LT-100；コダマ樹脂工業株式会社、岐阜）へポンプアップされた後、ヘッドタンク（60 cm×30 cm、水深 20 cm）を經由し、塩ビパイプ（径 20 mm）で作成した 2 つの散水管から水路の低層へ流入するように循環させた。2 時間馴致した後の 12:00 に、ろ過槽からポンプアップした水の流入先をヘッドタンクへ切り替えることで 100L タンクを循環からははずし、さらに 4 時間馴致した。この間に一方の 100 L タンクへペットボトルで作成した氷を入れ、タンク内の水を冷却させた。もう一方のタンクには、空のペットボトルを入れた。

計 6 時間馴致した 16:00 に、100 L タンク内の水をヘッドタンクに流入させ、一方の水路の水温を 20 分間で約 2.0 °C 低下させた。水温低下処理を与えた水槽の魚は低温群（Cold 群；C 群）、水温低下処理を与えていない水槽の魚は常温群（Ambient 群；A 群）とした。その後 30 分間は 100L タンク内の水の流入量を調節し、水槽内の水温を一定に維持した。16:50 に実験魚を水路から取り出し、50 ppm ベンゾカイン溶液へ入れて麻酔をかけ、ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、東京）；注射針（NN-2332R；テルモ株式会社、東京））を用いて尾柄部から採血した。その後、標準体長および体重を計測し肥満度を算出するとともに、頭部打撃により死亡させ性別を調べた。

実験魚の行動はビデオカメラで撮影し、水温を低下させていた 20 分間およびその前の 10 分間と後の 20 分間の計 50 分間について、降河および遡上行動頻度（水路の片道区間を一

方からもう一方まで移動した延べ数)を計測した。得られた血液は、遠心分離(6000 rpm、7 分間)し血漿成分のみを抽出してから-78 °Cで冷凍保存し、後に血中コルチゾル量をTR-FIAにより測定した。

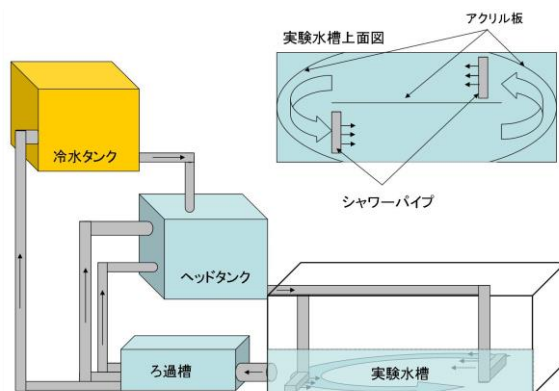


図 15. 実験 2-1 に用いた実験水槽の概略図。

## 実験 2-2 スチールヘッドトラウトの複数飼育時の水温低下刺激に対する降河行動の発現

実験には、OHRC で飼育されていたスチールヘッドトラウトの 1+年魚スモルト (2 倍体) を用い、OHRC にて行った。実験魚は、Fall Creek から汲み上げた河川水を掛け流しにした室内の回流水槽 (0.8×6.1 m、水深 33 cm) で、水温 10—14 °C、明期/暗期が 11/13 時間、給餌は体重の 2%量のペレット (Bio Oregon, Longview, WA, USA) を 1 日 2 回 (7:00、16:00) に分けて与えられ飼育されていた。

2008 年 5 月 15~23 日に、水温低下処理と水温上昇処理を 4 回ずつ行った。9:00 に 2 個の回流水槽 (0.8×6.1 m、水深 33 cm) それぞれに 10 尾のスチールヘッドトラウトを収容し、7 時間半順致させた (図 16)。水路内の 2 端からは塩ビパイプでできた散水管から、河川水を流量 34 L/min で流入させた。また水路を黒色のビニールシートで覆い、魚から実験実施者が見えないようにした。

馴致後の 16:30、一方の水路への流入水を、冷却あるいは加温させた河川水に切り替え、30 分間で水温を約 1.5 °C 低下あるいは上昇させた。これらの魚は低温群 (Cold 群; C 群) および高温群 (Hot 群; H 群) とし、水温変動処理を加えていない水路の魚は常温群 (Ambient 群; A 群) とした。その後の 30 分間は、流入水の温度を調節し水槽内の水温を一定に維持した。17:30 に実験魚を水路から取り出し、MS-222 溶液 (150 mg/L、重炭酸溶液を用い pH 7.0 に調整) へ入れて麻酔をかけ、ヘパリン処理 (100 units/ml) をしたシリンジ (注射筒 (SS-01T; テルモ株式会社、東京); 注射針 (NN-2332R; テルモ株式会社、東京)) を用いて尾柄部から採血した。

実験中の魚の行動はビデオカメラで撮影し、水温を変動させていた 30 分間およびその前

後の 30 分間の計 90 分間について、降河および遡上行動頻度を計測した。得られた血液は、遠心分離（9000 rpm、5 分間）し血漿成分のみを抽出してから-78 °Cで冷凍保存し、後に血中コルチゾルおよびサイロキシシン量を TR-FIA により測定した。



図 16. 実験 2-2 に用いた回流水槽。周囲を黒いビニールシートで覆い、右写真のように水を流入させた。

#### 1.2.4 水温低下刺激に対する降河行動の発現—結果

##### 実験 2-1 サクラマスの単独飼育時の水温低下刺激に対する降河行動の発現

水温低下刺激を与えた C 群では、水温低下開始前に比べ、それ以後の降河行動頻度が有意に増加した（図 17）。遡上行動頻度には有意な変動はみられず、降河行動頻度よりも低い傾向にあった。一方の水温変動刺激を与えなかった A 群ではこのような降河行動頻度の変化はみられなかった。行動が落ち着くことはなかったが、ビデオカメラの映像では方向性を持った移動はほとんど見られず、行動活性が C 群に比べてやや高いという印象であった。血中コルチゾル量は、C 群に高値（35.6ng/ml および 27.4 ng/ml）を示す個体が含まれたが両群間で有意差はなかった（図 18）。

表 9. 実験 2-1 に用いたサクラマスの標準体長（BL）、体重（BW）、肥満度（CF）および生殖腺重量指数（GSI）。

N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	GSI (%)	Sampling date
8	9.9±0.15	12.7±0.36	1.33±0.03	0.31±0.07	Dec. 28~30, Jan. 5

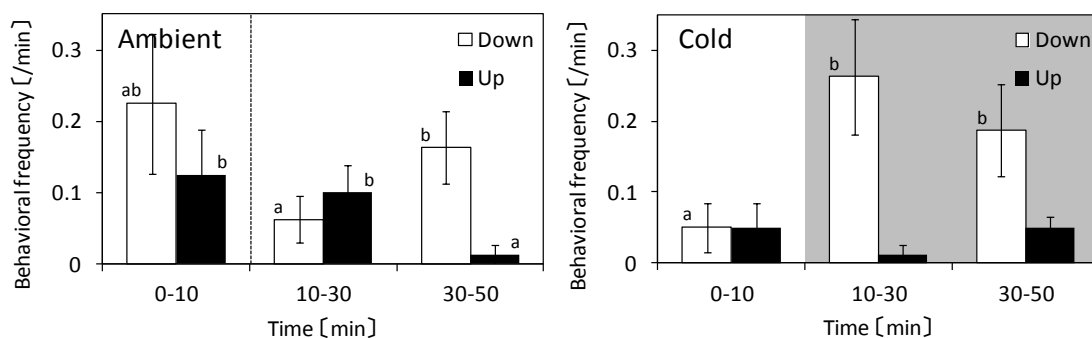


図 17. 実験 2-1 でのサクラマスの水温低下刺激に対する降河 (Down) および遡上行動頻度 (Up) の変化。各行動頻度は 1 分間あたりの平均値を示す。C 群での水温低下開始後の時間帯は色を変えて示した。各行動頻度に時間に伴う有意差 ( $p < 0.05$ ) が見られる場合は異なるアルファベットで示した。

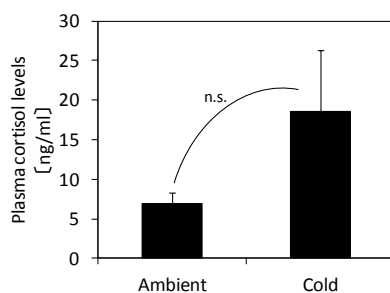


図 18. 実験 2-1 での各群のサクラマスの血中コルチゾル量。両群間での有意差はなかった。

### 実験 2-2 スチールヘッドトラウトの複数飼育時の水温低下刺激に対する降河行動の発現

水温低下刺激を与えた C 群では、水温低下開始前に比べ、それ以後の降河行動頻度が有意に増加した (図 19)。水温上昇刺激を与えた H 群では、水温が上昇していた時間帯 (30~60 分) でのみ降河行動頻度が増加したが、C 群よりは低かった。A 群では実験を通して降河行動頻度は低かった。またすべての群で、遡上行動頻度は常に低かった。ビデオカメラの映像から、集団で降河行動を発現していたのは C 群のみで、A 群や H 群では少数の個体が水路の一定区域を陣取り他個体の進入を防ぐ縄張り行動が頻繁に観察された。各群の血中コルチゾルおよびサイロキシン量に有意差はなかった (図 20)。

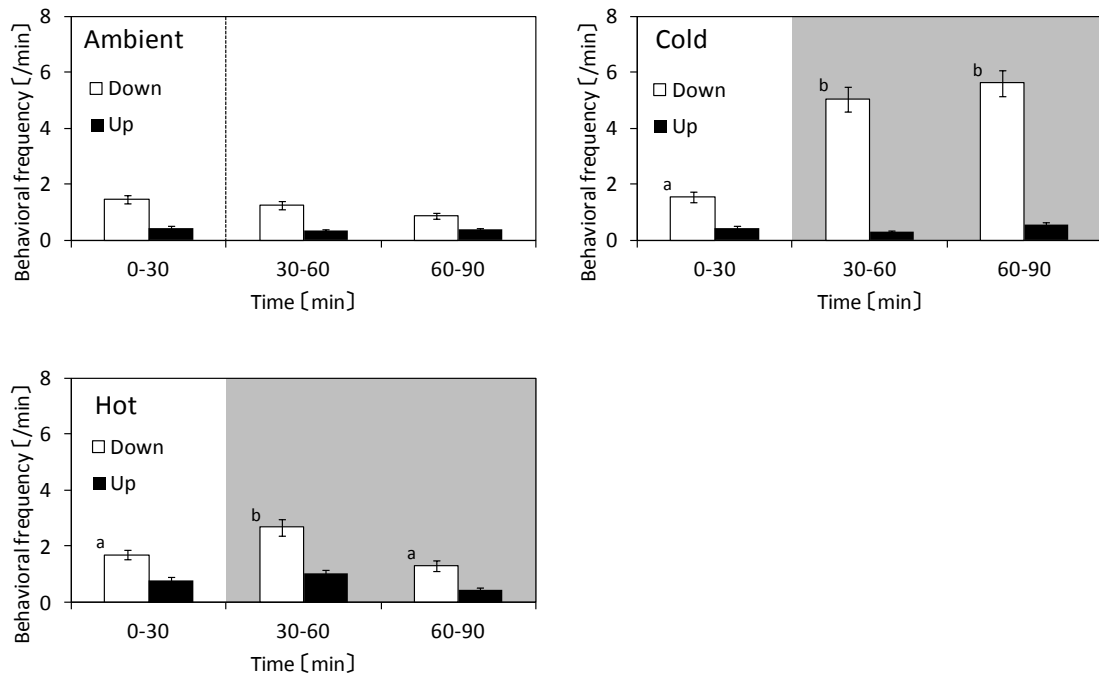


図 19. 実験 2-2 でのスチールヘッドトラウトの水温低下および水温上昇刺激に対する降河 (Down) および遡上行動頻度 (Up) の変化。各行動頻度は 1 分間あたりの平均値を示す。水温変動処理後の時間帯は色を変えて示した。各行動頻度に時間に伴う有意差 ( $p < 0.05$ ) が見られる場合は異なるアルファベットで示した。

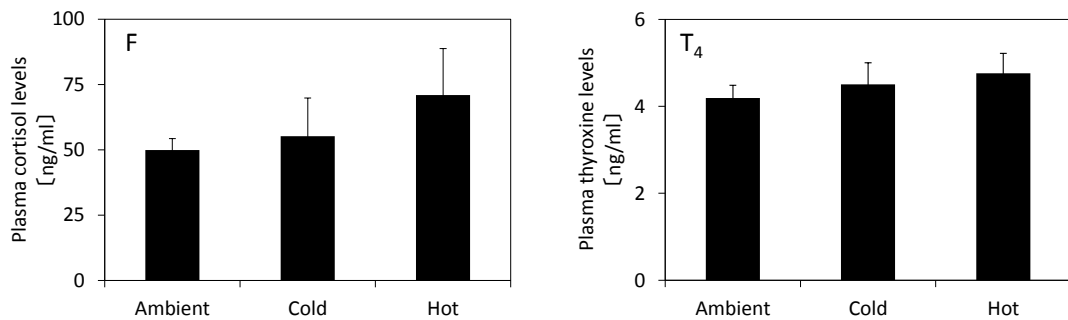


図 20. 実験 2-2 での各群のスチールヘッドトラウトの血中コルチゾル (F) およびサイロキシン量 (T<sub>4</sub>)。三群間での有意差はなかった。

実験 2-1、2-2 より、水温低下刺激がサクラマスおよびスチールヘッドトラウトの降河行動を引き起こすことが明らかになった。これらの結果は、表 5 の仮説②を支持するものと考えられる。

またスチールヘッドトラウトでは、水温上昇刺激によっても降河行動が発現したが、水温低下刺激に比べその程度は小さかった。

### 1.2.5 コルチゾルおよびサイロキシンの降河行動発現に対する影響—研究方法

表 5 の仮説③、コルチゾルおよびサイロキシンが、それぞれ降河行動の Trigger および Requirement として働くか否かの検証実験を行った。血中サイロキシン量が低い段階と考えられる 0+年魚パーのギンザケのコルチゾル投与魚、サイロキシン投与魚、およびホルモン未投与魚を用い、前節と同様の行動観察を行った。

### 実験 3 ギンザケのコルチゾルおよびサイロキシン投与魚の降河行動の発現

Oregon State University の Smith Farm にて、ギンザケの 0+年魚パーを用いて実験を行った。

2007 年 10 月、Munakara et al (2007) の手法により、実験魚へコルチゾルまたはサイロキシンの腹腔内投与を行った。0.5 mg のコルチゾルあるいはサイロキシンを含んだコレステロールペレット（直径 3 mm、厚さ 1 mm）を、それぞれ 55 尾の実験魚の腹腔内に投与し、コルチゾル投与群（F 群）およびサイロキシン投与群（T<sub>4</sub> 群）とした。また、賦形剤のみのコレステロールペレットを 110 尾の実験魚の腹腔内に投与し、これらはホルモン投与魚に対し対照群（Control 群；C 群）とした。F 群、T<sub>4</sub> 群、および C 群はそれぞれ円型 FRP 水槽（直径 86 cm、水深 41 cm）で約 3 週間順致した。

実験は 11 月 8～25 日に、F 群対 C 群および T<sub>4</sub> 群対 C 群の 2 組の組み合わせで 4 回ずつ行った。9:00 に F 群あるいは T<sub>4</sub> 群と C 群各 7 尾を、2 個の回流水槽（0.6×2.5 m、水深 15 cm）へ分けて収容した。水路内の 2 端からは、塩ビパイプで作成した散水管から井戸水（12—13 °C）を流量 16.8 L/min で流入させ、水流は 6—7 cm/sec（0.7 BL/sec）、照度は 60 lux とした。また冷却機を隣接させ、冷却した井戸水を塩ビパイプを経由して流量 10.8 L/min で流入できるようにした。水槽内で 4 時間順致した後の 13:00、冷却水の流入を開始し、その後の 25 分間で水路内の水温を約 1.0°C 低下させた。14:00 に実験魚を水路から取り出し、MS-222 溶液（150 mg/L、重炭酸溶液を用い pH 7.0 に調整）へ入れて麻酔をかけ、ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、東京）；注射針（NN-2332R；テルモ株式会社、東京））を用いて尾柄部から採血した。

冷却機自体の影響を調べるため、上述の 2 組の組み合わせ以外に、水路内に C 群を 7 尾収容し、冷却機を通すが水温を下げている水を流入させた実験も各水路で 1 回ずつ行った。これらの魚は C 群と区別するため常温群（Ambient 群；A 群）とした。

実験魚の行動はビデオカメラで撮影し、水温を低下させていた 25 分間とその前後の 25 分間の計 75 分間について、降河および遡上行動頻度を計測した。得られた血液は、遠心分離（9000 rpm、5 分間）し血漿成分のみを抽出してから -78 °C で冷凍保存し、後に血中コルチゾル量および血中サイロキシン量を TR-FIA により測定した（筆者は本実験の実施には関わっておらず、行動データの解析およびホルモン量測定を行った）。



## 1.2.6 コルチゾルおよびサイロキシンの降河行動発現に対する影響—結果

### 実験3 ギンザケのコルチゾルおよびサイロキシン投与魚の降河行動の発現

ホルモン未投与魚のC群では、水温低下時(25~50分)にその前後よりも高い降河行動頻度を示した(図21)。コルチゾルおよびサイロキシンを投与したF群およびT<sub>4</sub>群では、水温低下前からC群よりも有意に高い降河行動頻度を示し、水温低下時も同様の水準が維持された。両群の高い降河行動頻度は、実験魚の収容時から継続して見られていた。A群の降河行動頻度は常に低く、また全群で実験を通して遡上行動頻度は低かった。ビデオカメラの映像では、いずれの群でも実験魚間の攻撃行動はほとんど確認されず、集団でまとまった定位・行動を示す傾向にあった。

血中コルチゾル量はコルチゾル投与を施したF群で最も高く、次いでT<sub>4</sub>群とC群が高く、水温低下刺激を与えていないA群が最も低い値を示した(図22)。血中サイロキシン量はサイロキシン投与を施したT<sub>4</sub>群が最も高く、次いでA群が高く、F群およびC群は最も低い値を示した。

本実験の結果、コルチゾルおよびサイロキシンの投与により、各ホルモンの血中量が上昇し、降河行動の発現頻度が水温低下刺激の有無に関わらず増加することが示され、これら2つのホルモンはいずれも降河行動発現に関わることが確認できた。また、サイロキシンが低値の魚でも降河行動を発現することが示された。

これより、表5の仮説③について、コルチゾルとサイロキシンはいずれも降河行動発現に関わることが明らかになったが、後者の働きはRequirementとは異なることを示す結果が得られた。

また、ホルモン未投与魚の血中コルチゾル量および行動から、水温低下刺激に対するコルチゾル量の上昇、降河行動の発現(表5の仮説①、②)が確認できた。

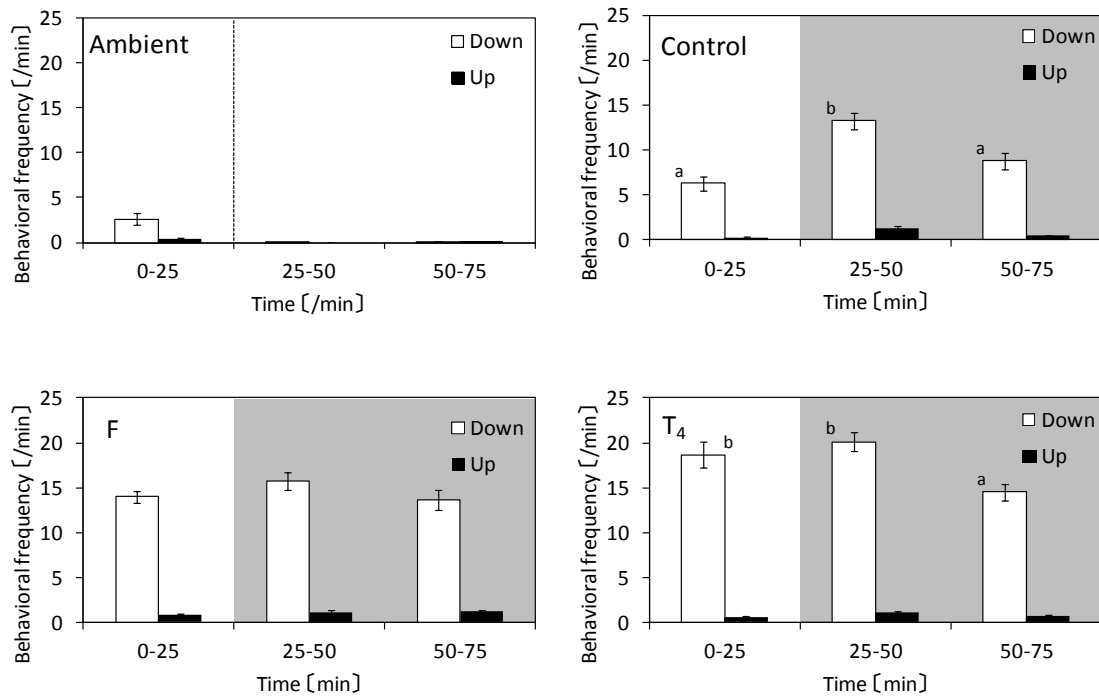


図 21. 実験 3 でのギンザケのホルモン未投与魚、コルチゾル投与魚 (F)、サイロキシシン投与魚 (T<sub>4</sub>) の水温低下刺激に対する降河 (Down) および遡上行動頻度 (Up) の変化。各行動頻度は 1 分間あたりの平均値を示す。水温低下開始後の時間帯は色を変えて示した。各群の降河行動頻度に時間に伴う有意差 ( $p < 0.05$ ) が見られる場合は異なるアルファベットで示した。

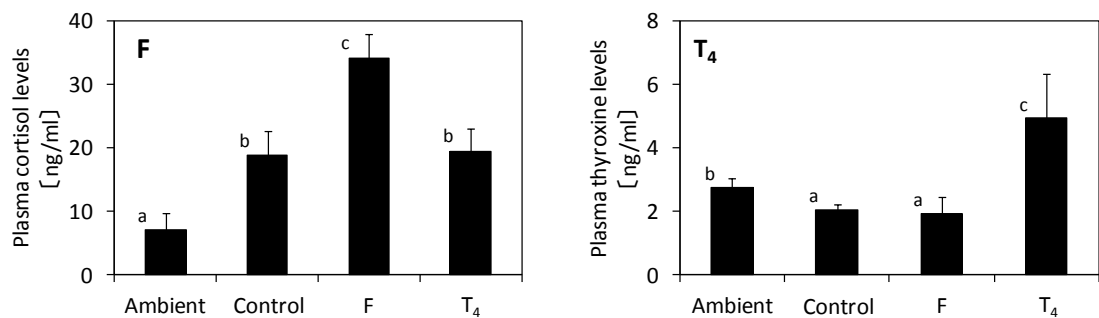


図 22. 実験 3 でのギンザケのホルモン未投与魚、コルチゾル投与魚 (F)、サイロキシシン投与魚 (T<sub>4</sub>) の血中コルチゾル (F) およびサイロキシシン量 (T<sub>4</sub>)。有意差 ( $p < 0.05$ ) を異なるアルファベットで示した。

### 1.3 降河行動の発現に対する内因的要因の関与

前節までの一連の仮説検証実験から、水温低下という外因的な環境刺激、およびコルチゾルやサイロキシンの降河行動発現に対する関与が確認できた。一方で、降河行動の発現には外因的な要因の他に魚自身の内因的な要因も関与する可能性が考えられる。そこで本節ではここまでの流れとは一線を画し、この内因的な要因の影響の解明に向けた試みについて述べる。

内因的な要因の1つに個体間作用が挙げられる (Banks, 1969)。種内多型がみられる傾向にあるサクラマス在生活史の分化には幼魚期の成長が関わっており、ここで優位になり縄張りを形成できた個体は河川型へ、縄張りを形成できなかった個体は成熟に必要な成長量が得られず降海型になりやすい (Takami et al., 1998、棟方・三浦、2008)。縄張りをめぐり争いで劣位となった個体は、慢性的なストレス状態に陥り血中コルチゾル量が上昇することが確認されており (Ejike & Schreck, 1980)、前節の複数飼育環境下での実験でも、個体間作用が原因と考えられる血中コルチゾル量の上昇が確認された。そのため個体間作用は、生活史の分化にのみでなく、ホルモン上昇を介して降河行動の発現にも関与するのではないかと考えた。

個体間作用は、物理的接触や視覚刺激に限らず、尿などに由来する化学物質を受容することによっても起こる (Yambe et al., 2003 ; Yambe et al., 2006)。またニジマスでは、ストレスを受けた個体の皮膚抽出物が他個体の血中コルチゾル量を上昇させると報告されている (Toa et al., 2004)。そのため、優位個体の存在や、降河回遊期に群れとなった降海型間でのこのような作用が、降河行動の発現に関わっている可能性が考えられる。

魚類は環境水中に溶存するホルモンを受容することから (岡田、2004)、ホルモンが間接的な個体間作用の媒体としての役割を担っているかもしれない。魚の分泌物中にコルチゾルやサイロキシンといったホルモンが存在するか否かは現時点では不明だが、環境水を介した個体間作用の降河行動発現に対する影響を解明する端緒として、年長魚の飼育水、環境水中に溶存するコルチゾル (以上実験 4-1) およびサイロキシン (実験 4-2) が降河行動発現に関与するか否かを検証する実験を行った。

#### 1.3.1 研究方法

##### 実験 4-1 サクラマスの年長魚 (1+年魚) 飼育水および溶存コルチゾルに対する降河行動の発現

実験は、菅原養魚場 (宮城県) で飼育されていたサクラマスを用いて、宮城教育大学にて行った。2010年10月中旬、菅原養魚場より輸送したサクラマス 0+年魚パーおよび 1+年魚パーを、角型アクリル水槽 (180 cm × 60 cm、水深 60 cm) および円型アクリル水槽 (直径 78 cm、水深 60 cm) へそれぞれ収容した。水槽内の水の循環・交換および給餌は実験 1-2 と同様とした。

11月16~19日、年長魚飼育水の影響の観察実験を計4回行った。10:00にサクラマス 0+

年魚を、2個の実験水路（アクリル水槽（150×60 cm、水深 22 cm）内にアクリル板を用いて作成）へそれぞれ 5 尾ずつ収容した（図 23）。水路内の水温は 17—19 °C とし、水は濾過槽（45 cm×35 cm、水深 18 cm）へオーバーフローで排水された後、2 個の水中ポンプ（Rio+1700、Rio+1100；神畑養魚株式会社、兵庫）によってヘッドタンク（60 cm×30 cm、水深 20 cm）へポンプアップされ、そこから塩ビパイプ（径 20 mm）で作成した 2 つの散水管から水路の低層へ流入するように循環させた。

5 時間馴致した後の 15:00、一方の水路のヘッドタンクへサクラマス 1+年魚 2 尾を収容し、この水路の魚をドミナント群（Dominant 群；D 群）とした。もう一方は対照群（Control 群；C 群）とした。16:30 に実験魚を水路から取り出し、50 ppm ベンゾカイン溶液へ入れて麻酔をかけ、ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、東京）；注射針（NN-2332R；テルモ株式会社、東京））を用いて尾柄部から採血した（採血は 11 月 18 および 19 日の実験でのみ行った）。その後、標準体長および体重を計測し、頭部打撃により死亡させ性別を調べた。実験魚の行動はビデオカメラで撮影し、年長魚収容後の 90 分間および収容前の 30 分間の計 120 分間について、降河および遡上行動頻度、および攻撃行動（Aggressive behavior）頻度（他個体を追いかける等の攻撃的な行動の延べ数）を計測した。

11 月 22 および 24 日には、溶存コルチゾルの影響の観察実験を計 2 回行った。水路への馴致までの手順は前述と同様とし、15:00 に一方の水路のヘッドタンクへコルチゾル溶存水を加え、この水路の魚をコルチゾル群（Cortisol 群；F 群）とした。コルチゾル溶存水は、コルチゾル 0.19 g ( $5.24 \times 10^{-4}$  mol) を 70%エタノール 4.5 ml で溶解し、1 日静置してアルコール分を揮発させた後、脱イオン水（DW）で全量 90ml に調製し、質量パーセント濃度を 0.2% とした。水路内を循環する水の総量は 190 L であるため、飼育水中のコルチゾル濃度は 1 mg/L ( $2.76 \times 10^{-6}$  mol/L) となる。もう一方の水路のヘッドタンクには、同様の処理を加えた溶媒のエタノールと DW のみを加え、対照群（Control 群；C 群）とした。

サンプリングおよび行動計測は、前述と同様の方法で行った。得られた血液は、遠心分離（6000 rpm、7 分間）し血漿成分のみを抽出してから -78 °C で冷凍保存し、後に血中コルチゾル量およびサイロキシン量を TR-FIA により測定した。

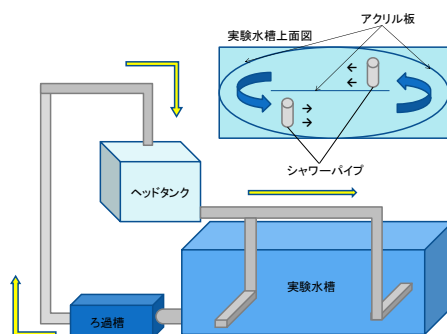


図 23. 実験 4-1 および 4-2 に用いた実験水槽の概略図。

## 実験 4-2 サクラマスのサイロキシン溶存水に対する降河行動の発現

実験は、加美殖産（宮城県）で飼育されていたサクラマス 0+年魚を用い、宮城教育大学にて行った。2011 年 12 月初旬、加美殖産より輸送した実験魚を円型アクリル水槽（直径 78 cm、水深 60cm）へ収容した。飼育水の循環・交換および給餌は実験 1-2 と同様とした。

実験は 12 月 19、21、および 22 日に計 3 回行った。10:00 に実験 4-1 と同様の 2 個の実験水路へ実験魚を 5 尾ずつ収容した（図 23）。水路内の水温は 9—14 °C とした。5 時間馴致した後の 15:00、一方の水路のヘッドタンクへサイロキシン溶存水を加え、この水路の魚をサイロキシン群（Thyroxine 群；T<sub>4</sub> 群）とした。サイロキシン溶存水は、サイロキシン 190 mg ( $2.45 \times 10^{-4}$  mol) を 4 M NaOH 0.44 ml に溶解し、DW で全量 190 ml に調製した。水路内を循環する水の総量は 190 L であるため、飼育水中のサイロキシン濃度は 1 mg/L ( $1.29 \times 10^{-6}$  mol/L) となる。もう一方の水路のヘッドタンクには、溶媒の NaOH と DW のみを加え、対照群（Control 群；C 群）とした。

16:00 に実験魚を水路から取り出し、50 ppm ベンゾカイン溶液へ入れて麻酔をかけ、ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、東京）；注射針（NN-2332R；テルモ株式会社、東京））を用いて尾柄部から採血した。その後、標準体長および体重を計測し、頭部打撃により死亡させ性別を調べた。

実験魚の行動はビデオカメラで撮影し、サイロキシン溶存水流入後の 60 分間および流入前の 30 分間の計 90 分間について、降河、遡上、および攻撃行動頻度を計測した。得られた血液は、遠心分離（6000 rpm、7 分間）し血漿成分のみを抽出してから -78 °C で冷凍保存し、後に血中コルチゾルおよびサイロキシン量を TR-FIA により測定した。

### 1.3.2 結果

#### 実験 4-1 サクラマスの年長魚（1+年魚）飼育水および溶存コルチゾルに対する降河行動の発現

D 群では、年長魚飼育水の流入直後からの 30 分間（30～60 分）に降河および遡上行動頻度が他の時間帯より有意に高い値を示し、この際の降河行動頻度は遡上行動頻度より有意に高かった（図 24）。一方で攻撃行動頻度は、年長魚を入れた直後からの 60 分間（30～60 分および 60～90 分）で低下した。D 群の対照群では、降河および攻撃行動頻度は実験を通して有意な変動がなく、遡上行動頻度は実験開始直後の 30 分間（0～30 分）で他の時間帯より有意に高い値を示した。

F 群では、コルチゾル溶存水の流入直後からの 30 分間（30～60 分）で、降河、遡上、および攻撃行動頻度がいずれも他の時間帯より有意に高い値を示した。降河行動頻度と遡上行動頻度は同程度だった。F 群の対照群では、実験を通していずれの行動頻度にも有意な変動はみられなかった。

各群の血中コルチゾル量およびサイロキシン量には有意な差はなかったが、D 群および F 群では、それぞれの対照群よりも血中コルチゾル量の高い個体が多く含まれていた（図 25）。

表 10. 実験 4-1 に用いたサクラマスの特徴 (標準体長 (BL)、体重 (BW)、および肥満度 (CF))。

N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	Sampling date
60	11.7±0.11	15.3±0.46	0.96±0.01	Nov. 16, 17, 18, 19, 22, 24

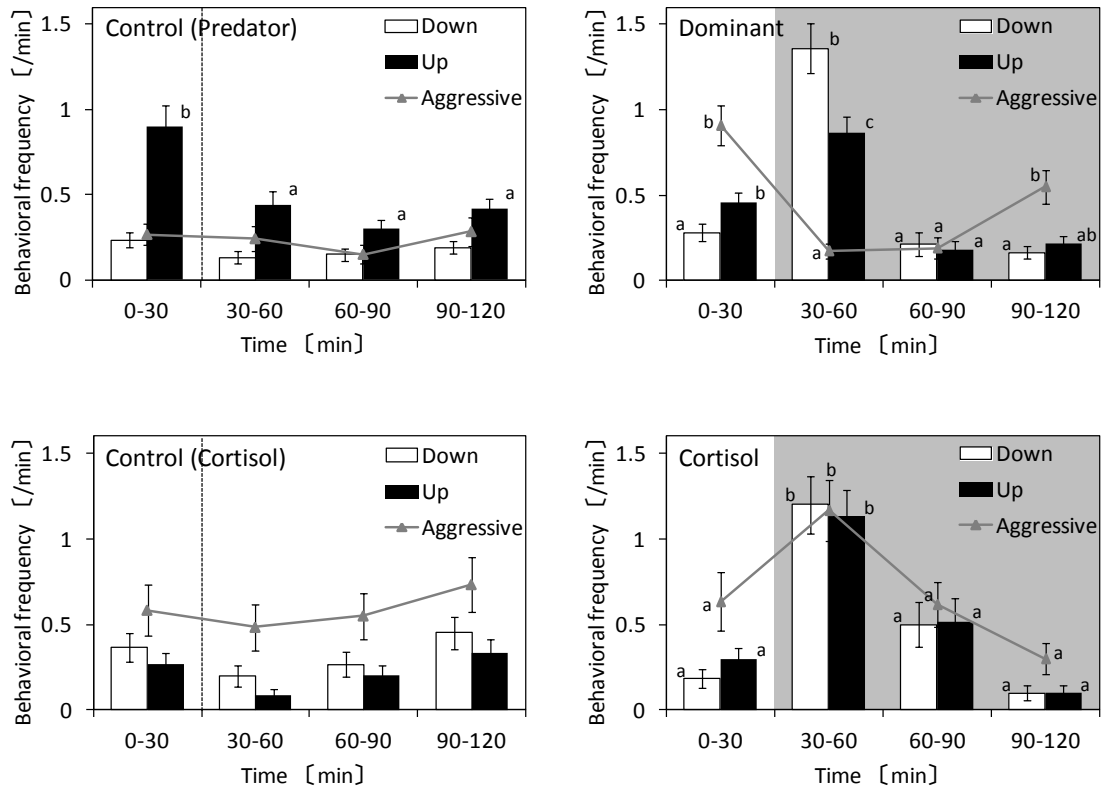


図 24. 実験 4-1 でのサクラマスの年長魚 (1+年魚) 飼育水およびコルチゾル溶存水の流入に対する降河 (Down)、遡上 (Up)、および攻撃行動頻度 (Aggressive) の変化。各行動頻度は 1 分間あたりの平均値を示す。処理水流入後の時間帯は色を変えて示した。各群の降河、遡上、攻撃行動頻度に時間に伴う有意差 ( $p < 0.05$ ) が見られる場合は異なるアルファベットで示した。

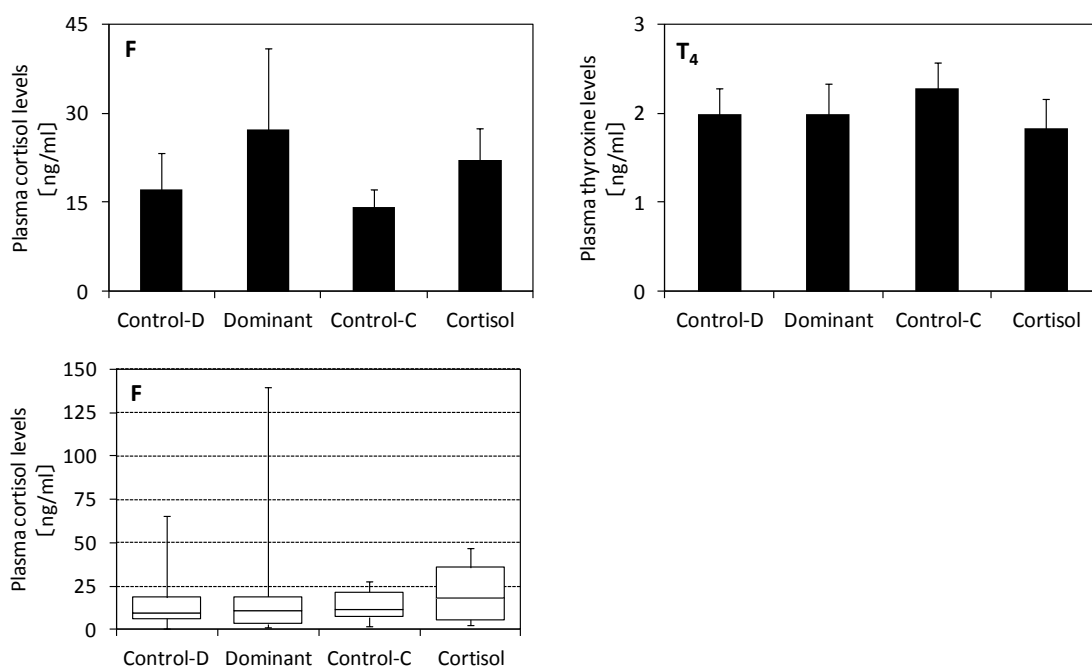


図 25. 実験 4-1 でのサクラマスの年長魚 (1+年魚) 飼育水およびコルチゾル溶存水流入後の血中コルチゾル量 (F) およびサイロキシン量 (T<sub>4</sub>)。コルチゾル量については、ボックスプロットも図示した。

#### 実験 4-2 サクラマスのサイロキシン溶存水に対する降河行動の発現

T<sub>4</sub> 群では、サイロキシン溶存水の流入後に、それ以前に比べて高い降河および遡上行動頻度を示した (図 26)。また降河行動頻度はサイロキシン溶存水の流入直後から 60 分以降の時間帯 (90~120 分) でさらに増加した。一方、攻撃行動頻度は比較的低値であったが、サイロキシン溶存水の流入後に増加し、サイロキシンの流入直後から 60 分以降の時間帯 (90~120 分) でさらに増加した。C 群では、降河行動頻度には有意な変動はなく、遡上行動頻度は最後の 30 分間 (90~120 分) で有意に減少した。攻撃行動頻度は実験を通して T<sub>4</sub> 群よりも高く、最後の 30 分間 (90~120 分) で有意に上昇した。血中コルチゾル量に有意差は見られなかったが、血中サイロキシン量は T<sub>4</sub> 群が C 群よりも有意に高かった (図 27)。

表 11. 実験 4-2 に用いたサクラマスの標準体長 (BL)、体重 (BW)、および肥満度 (CF)。

N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	Sampling date
30	13.1±0.23	27.5±1.30	1.20±0.02	Dec. 19, 21, 22

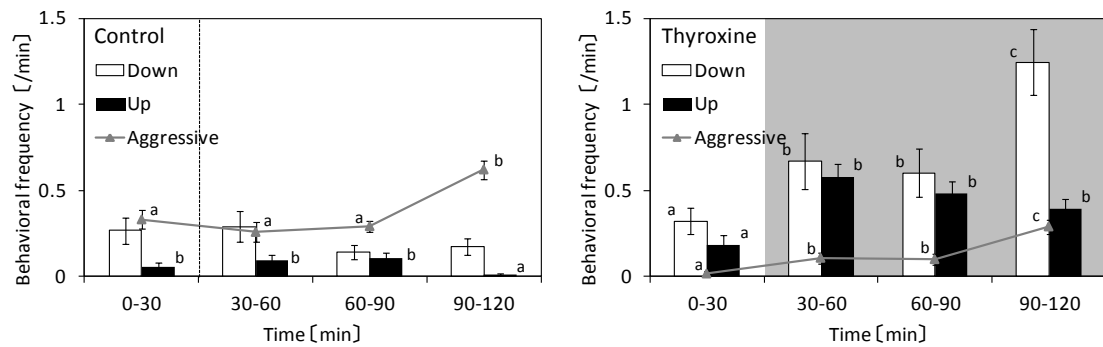


図 26. 実験 4-2 でのサクラマスの子ロキシン溶存水の流入に対する降河 (Down)、遡上 (Up)、および攻撃行動頻度 (Aggressive) の変化。各行動頻度は 1 分間あたりの平均値を示す。サイロキシン溶存水流入後の時間帯は色を変えて示した。各群の降河、遡上、攻撃行動頻度に時間に伴う有意差 ( $p < 0.05$ ) が見られる場合は異なるアルファベットで示した。

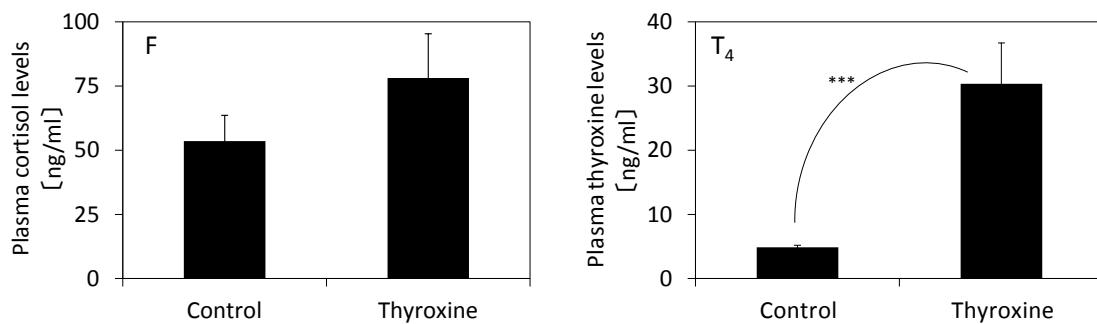


図 27. 実験 4-2 でのサクラマスの子ロキシン溶存水流入後の血中コルチゾル (F) およびサイロキシン量 ( $T_4$ )。血中サイロキシン量について、 $T_4$  群は C 群に比べ有意 ( $p < 0.001$ ) に高い値を示した。

以上の実験から、年長魚 (1+年魚) の飼育水は 0+年魚の降河行動発現に関わる可能性が示された。また、コルチゾルおよびサイロキシン溶存水はいずれも降河行動発現に関わることが示唆され、サイロキシン溶存水は血中サイロキシン量の上昇をも引き起こすことが考えられた。

### 1.3 考察

#### 降河行動発現を引き起こす外部環境因子の探索

岩手県気仙川での野外採集の結果、スモルトの血中コルチゾル量はパー (夏期、秋期、春期) に比べて高く、また低気圧時、降雨時、低水温時、および時間の経過とともに上昇



することが示唆された。コルチゾル上昇に関わるとされた因子間の相互関係を考えると、気圧の低下は降雨あるいは降雪などの天候につながると考えられる。降雨によっては河川水質の変化が生じると考えられ、その一つには降雨そのものや雪融けの流入に伴う水温低下が挙げられる。また春期調査時は、1日の最高水温が14:00~16:00の間に記録されることが多く、これ以降の時間帯では時間の経過とともに日周期的な水温低下が生じており、この刺激が時間経過との関係性に寄与していたのかもしれない。Thorpe et al. (1987) はタイセイヨウサケ *Salmo salar* の幼魚のコルチゾル動態について、降河回遊期のスマルトにおける特徴的な上昇に加え、この時期のスマルトは夕方から夜間にかけて継続的に高い値を示すと報告しており、これは本結果を支持している。重回帰分析では各因子の変動ベクトルは考慮しなかったが、水温に関して上昇期と下降期に分けて比較すると、スマルトのコルチゾル量は水温下降期に高い値を示していた。スマルトの血中コルチゾル量上昇には複数の環境要因の関与が考えられたが、本研究では上述した種々の環境因子変動が最終的につながる水温低下刺激が重要な要因となるのではないかと考えた。

サケ科魚類の降河行動は、降雨や雪融けの流入時に多く発現すると報告されている(佐々木ら、1993; Iwata, 1995)。また降河行動は、一日の中では昼間よりも夕方から夜間の時間帯にかけて多く見られることも知られている(Hoar, 1951; Solomon, 1981; 岩田・小島、2006)。これらの状況下ではいずれも水温低下が生じると考えられることから、毎日普遍的に生じるとともに気象変動によっても引き起こされる河川水温の低下刺激が、コルチゾル上昇を介して降河行動の発現を調節しているという一つの仮説がみえてくる。降河回遊期の春は、水温がサクラマスに適水温よりも低い傾向にあり(日本水産資源保護協会、1983)、気温の日周変動幅が冬から春に向けて増大することに伴い水温の低下幅も大きくなる(棟方・大浪、2007)。また雪融けの流入も春に限定して起こる現象といえる。このような春に特徴的にみられる適水温を下回る低水温下での水温低下刺激が、魚にとって大きなストレスとなり、降河行動発現に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、コルチゾルの上昇は照度の低下など水温低下以外の要因によっても引き起こされるとの知見もあり(Nichols & Weisbart, 1984; Ebbesson et al., 2008)、確かに夕方や悪天候時には照度の低下もみられる。そのため、水温低下刺激が降河行動を引き起こすか否かを確認するためには、再現実験等による検証が必要だろう。

一方サイロキシンに関しては、コルチゾルと同様に降河回遊期のスマルトで高値を示すことが確認された。この現象はこれまでも多くのタイヘイヨウサケ属の種で確認されており(Dickhoff et al., 1982; Iwata, 1995)、降河回遊における形態的あるいは行動的な変化にサイロキシンが関与していることを示唆するものと考えられる(Yamauchi et al., 1984; McCormick et al., 1998; Ojima & Iwata, 2007)。またスマルトは、他の時期の魚や同時期のパーに比べ肥満度が小さかった。おそらくは、冬期の低水温に伴う摂餌や代謝の停滞が原因と考えられる。サイロキシンは個体の恒常性維持に関与することが知られるため(小林ら、2002)、降河期の血中サイロキシン量の上昇には冬期の成長抑制が関わって

いる可能性が考えられる。

スマルトの血中サイロキシン量は、高気圧時、1日の中でより早い時間帯、過去24時間以内に降雨があった場合、そして新月ではない時期に上昇すると示唆された。また水温の変動ベクトルとの関係を見ると、水温の上昇期に高い値を示していた。水温や気圧との関係性から、サイロキシンはコルチゾルとは異なる要因により調節されている、また2つのホルモンの間には負のフィードバックが存在する可能性が考えられる。また採捕時の降雨の有無ではなく過去の降雨との相関があったことは、降雨に伴う水質変化の中でも、コルチゾルとは対照的に長期的な現象として表れる変化が関与することを示唆する。Iwata et al. (2003) は、河川内の濁度の増加がサイロキシン上昇を引き起こすことを示しており、このような要因の関与が考えられる。一方で、Grau et al. (1981) が示した新月との関係性は見られず、日内の変動に関しても報告例は僅少である(河村、2012)。ただし、サイロキシンは降河行動の Requirement と考えられ(Ojima & Iwata, 2007)、スマルトでは他の時期・成長段階に比べ総じて高い値を示していたことから、スマルトでの血中サイロキシン量の短期的な変動が、降河行動発現にどの程度寄与するのかは不明であり、今後明らかにすべき課題である。

ここまでの議論は、野外採集から得られた結果の平均値にもとづき行ってきた。しかしながら自然界では、全ての個体が同一の傾向を示すことは多くなく、少なからず集団内ではばらつきが見られる。野外採集の結果では、水温下降期のスマルトの血中コルチゾル量(図7)は、平均値が11.2 ng/ml だったが最大値は102.8 ng/ml、最小値は0 ng/ml に等しい程度と集団内のばらつきが非常に大きかった。コルチゾル量上昇が水温低下刺激に起因すると仮定すると、この結果は、スマルトの水温低下刺激に対する感受性は群内で大きく異なることを意味する。そのため、同一の水温低下刺激に対しても、降河行動を発現する個体と発現しない個体が存在すると考えられる。また採捕されたスマルトでは、肥満度や体側のパーマークの消失具合も異なっており、銀化変態の進行度にも集団内で差があったと考えられることから、この差がコルチゾル応答のばらつきに関わっていた可能性も考えられる。今後は、スマルトかパーかという二極的な理解にとどまらず集団内の個体差も考慮していくことで、降河行動発現に至るまでの河川内での実態をより鮮明に捉えることができると考えられる。

### 降河行動発現に対する水温低下刺激の影響

野外採集の結果から導出された「河川水温の低下がコルチゾル上昇を介して降河行動を引き起こす」という仮説の検証実験を行った結果、①水温低下刺激により降海型の血中コルチゾル量が上昇する、②水温低下刺激により降河行動の発現頻度が増加する、③コルチゾルおよびサイロキシンがいずれも降河行動の発現に関与する、ことが明らかとなった(表12)。以降、各検証実験の詳細に言及する。

表 12. 仮説検証実験の結果。

仮説	検証実験の概要	検証結果
①水温低下刺激がコルチゾル上昇を引き起こす	飼育水の水温を短期的に低下させた際の血中コルチゾル量を調べる	○
②水温低下刺激が降河行動を引き起こす	回流水槽内で、飼育水の水温を短期的に低下させた際の行動を観察する	○
③コルチゾルとサイロキシンが、それぞれ降河行動の <b>Trigger</b> と <b>Requirement</b> として働く	回流水槽内で、各ホルモンを投与した魚の行動を観察する(飼育水の水温を低下させる)	△ (後述)

①水温低下刺激に対するコルチゾル上昇の検証では、複数を同時飼育した環境下では、対照群の血中量が不安定となり、水温変動による影響を適正に評価することができなかった。コルチゾルは、縄張り争い等の個体間作用により劣位になった個体で上昇することが知られる (Ejike & Schreck, 1980)。また限定空間では、個体間の争いが激しくなると言われる (山岸ら、1981)。これら実験で用いた魚はすべて縄張り形成を示す 0+年魚パーの段階であったことから、実験水槽内では実験魚間の個体間作用が生じ、これにより水温変動刺激に関わらずコルチゾル量に変動していたと考えられる。

個体間作用の影響を排除した単独飼育環境下での実験では、サクラマスおよび降海型のスチールヘッドトラウトで水温低下刺激に伴うコルチゾル上昇が確認できた一方、河川残留性の強いニジマスでは水温変動に対する顕著なコルチゾル応答はみられなかった。そのため、降海型では水温低下刺激に対する感受性が河川型より高いと考えられた。降河回遊期の河川水温は一般的にサケ科魚類幼魚の適水温よりも低く (日本水産資源保護協会、1983)、この状況下での水温低下は適水温からのさらなる逸脱を意味する。この刺激に対する感受性が高いことが、降河行動を発現するか否かの行動的な性質につながっているのかもしれない。

これらの結果から前述の仮説①を支持する結果が得られたが、サクラマス (実験 1-2) では水温上昇刺激に対してもコルチゾル上昇が確認されたことから、本種では水温低下のみに限らず水温上昇も含めた水温変動刺激によってコルチゾル量が上昇するという可能性が残る。サクラマスの最適水温範囲は8~11℃であるのに対し (日本水産資源保護協会、1983)、実験時の飼育水温は10~11℃と最適水温の範囲内だった。そのため、本種を用いた実験に限っては水温の上昇刺激も適水温からの逸脱刺激となり、ストレスホルモンであるコルチゾルの上昇が引き起こされた可能性が考えられる。生理的高水温による血中コルチゾルの上昇は、これまでにマスノスケでも報告されている (Quigley & Hinch, 2006)。あるいは、本実験に用いたサクラマスは屋内の安定した環境下で飼育し、そこでは短期的な水温変動刺激はほとんどなかったことから、水温の変化自体がストレスとなっていたことも考えら

れる。

一連の実験から、最適水温やこれを下回る水温環境下では、降海型で水温低下刺激に伴うコルチゾル上昇がみられることが明らかとなった。一方で、どの程度の水温低下の場合に反応するかという閾値に関してはまだ検討の余地があり、水温環境が最適水温を上回る場合に関しても、本実験の結果のみからは言及できない。しかしながら、降河回遊期の春の水温は一般に本属の最適水温よりも低い傾向にあるとともに、降雨や雪融けの流入によって大幅な水温低下が引き起こされることから、このような水温低下刺激によっては降河型（スマルト）のコルチゾル上昇が引き起こされると考えられる。なお、本実験でも野外採集の結果と同様、水温変動刺激に対するコルチゾル応答には個体差が見られたことから、水温低下刺激に対する感受性は、個体ごとに何らかの要因によって異なると考えられる。

②水温低下刺激に対する降河行動発現の検証では、サクラマスおよびスチールヘッドトラウトで水温低下刺激を加えた際に降河行動頻度が増加したことから、仮説を支持する結果が得られたといえる。またスチールヘッドトラウトでは、水温上昇時にも降河行動発現が増加したが、水温低下時に見られた集団での行動発現には至っておらず、水温上昇刺激の降河行動に対する影響は小さいと考えられる。実験時の水温環境は、サクラマスを用いた実験では最適水温と同等かそれよりもやや高い水温、スチールヘッドトラウトを用いた実験では最適水温の範囲内だった。そのため、降河行動の発現は最適水温を上回る環境下でも生じることが示唆された。これら 2 魚種の血中コルチゾル量は、いずれも各実験魚群の間で有意な差は見られなかった。サクラマスに関しては、サンプル数が少なかったことが大きな要因と考えられる（各群のサンプルサイズは 4 尾）。しかし、水温低下刺激を加えた C 群には血中コルチゾル量が高い個体が多く含まれており（35.6 ng/ml および 27.4 ng/ml）、これらの魚の血中量は水温低下刺激に伴い上昇していた可能性も考えられる。スチールヘッドトラウトに関しては、少数の個体が一定区域を陣取って他個体の進入を防ぐ縄張り行動が頻繁に観察されたことから、水温変動刺激に加え個体間作用も血中コルチゾル量に影響を及ぼしていたと考えられる。

これらの実験から、血中コルチゾル量との関係性は不明瞭だったが、水温低下刺激によって降河行動が誘発されることが明らかとなった。水温低下刺激は、サクラマスでは 20 分で 2 °C、スチールヘッドトラウトでは 30 分で 1.5 °C としたが、降河行動の増加は水温低下処理の開始直後からみられたことから、0.5 °C にも満たないような小さい変動幅の水温低下にも魚は反応していたと考えられる。そのため、河川内では降雨や雪融けによる比較的大きな水温低下刺激のみに限らず、日周期的な水温低下刺激に対しても降河行動を発現することが考えられる。これまで水温低下に一致した降河行動の発現は、カラフトマスやタイセイヨウサケの野外観測データにも見受けられたが（Solomon, 1978 : 佐々木ら、1993）、これらの研究の主眼は水温以外の環境因子の変動だったこともあり、水温低下に着目した研究例はほとんど見受けられない。このような中で、本研究で水温低下刺激が降河行動の発現に関わることを抽出できた意義は大きいといえる。

③コルチゾル、およびサイロキシンの降河行動への関与は、ギンザケのホルモン投与魚を用いた実験から、いずれのホルモンも降河行動の発現に関わることが示唆された。これらのホルモン投与魚での高い降河行動頻度は、水路への収容時から継続していたものだった。収容時の降河行動の発現はホルモン未投与魚でも見られたが、こちらでは収容後 2 時間程度で収まっていた。おそらくは、収容時のストレスにより血中コルチゾル量が上昇したことが降河行動発現につながり、時間とともに水路内の環境に適応するにつれ行動が収まったのではないかと考えられる。そのため、コルチゾルを投与した魚では投与に伴う高いコルチゾル量が降河行動を直接引き起こしていたと推察される。一方でサイロキシンが降河行動を直接制御するという知見はこれまでにないため (Iwata, 2005; 岩田・小島, 2008)、これを投与した魚では、サイロキシンが収容時のストレスにより発現した降河行動を長時間継続させるよう働いていたと考える方が妥当だろう。また、本実験に用いたギンザケは 0+年魚パーであり、サイロキシンの血中量は比較的低い段階にあったと考えられる (Dickhoff et al., 1982 ; Iwata, 1995)。サイロキシン投与を行っていない魚でも降河行動頻度の増加が確認されたことから、サイロキシンは必ずしも降河行動の発現に必要ではないと示唆された。

本実験の結果から、コルチゾルとサイロキシンはいずれも何らかの形で降河行動の発現に関わっていることまでは明らかとなった。これ以降は推察の域を出ないが、コルチゾルに関しては収容直後の行動や Munakata et al. (2007) の既往研究の結果もふまえ、おそらく降河行動の **Trigger** として行動発現を直接制御していた可能性が高いと考えられる。一方サイロキシンに関しては、当初は降河行動の **Requirement** としての働きを示すことを予想したが、仮説とは異なり、降河行動の発現に必ずしも必要ではないものの行動を長時間継続させる促進作用を有するのではないかと考えられる。タイセイヨウサケやサクラマスでは、降河回遊に先駆けて 0+年魚パーの秋にある程度河川を降河する例 (越冬回遊と呼ばれる ; Autumn downstream migration) も示されている (宮腰ら, 2007 ; Pinder et al., 2007 ; Riley, 2007)。越冬回遊はコルチゾルのみの作用によって生じ、降河回遊では水温低下に伴い上昇するコルチゾルの **Trigger** としての作用に加え、季節上昇を示すサイロキシンの行動促進作用が加わることで、河口まで到達する大規模な移動につながるのかもしれない。

一連の仮説検証実験から、降海型 (スマルト) では、水温低下刺激に対するコルチゾル上昇を介して降河行動が発現するという一連の機構が内在すると考えられる。コルチゾル上昇や降河行動発現を引き起こす水温低下刺激の大きさに関しては、降雨や雪融けの流入が見られる際に生じる比較的大きな水温低下のみに限らず、日周的にみられる緩やかな水温低下でも同様の作用を有すると考えられたが、スマルト内での水温低下刺激に対する感受性の個体差は大きく、降河行動の発現につながる水温低下刺激の大きさは個体ごとに異なることが示唆された。また、降河行動の発現には水温環境が魚の最適水温よりも低い水温であることが重要と考えられた。野外採集の対象としたサクラマスのみに限らず、水槽実験に用いたスチールヘッドトラウトやギンザケといった北米産の近縁種でも同様の機構

が内在することが示唆されたことから、タイヘイヨウサケ属のうち系統的に起源に近く種内多型がみられる種では、太平洋をはさんで分布域が異なっているにもかかわらず降河行動の調節機構は共通していると考えられる。

### 降河行動発現に対する内因的要因の影響

降河行動発現に関わる内因的要因の探索の端緒として、年長魚飼育水、溶存コルチゾル、溶存サイロキシンの降河行動に対する影響を調べたところ、これらすべてが行動発現に関わっていることを示唆する結果が得られた。

年長魚（1+年魚）飼育水では、流入によってサクラマス（0+年魚）の攻撃行動が減少した一方、降河および遡上行動の頻度が増加し、特に降河行動頻度が高い値を示した。この結果から、本種では、視覚を伴わない飼育水を介した上位個体との間接的な接触が、降河行動発現に影響を及ぼすことが明らかとなった。サクラマスやニジマスでは、他個体の尿や皮膚分泌物が行動・生理に影響を及ぼすことが示されているため（Yambe et al., 2003 ; Toa et al., 2004 ; Yambe et al., 2006）、年長魚に起因したこれらの物質が実験魚の行動を調節していたと推察される。本結果を実際の河川に置き換えると、縄張り争い等の直接的な個体間作用がなくとも優位個体の存在を環境水から察知した場合には、これから逃れるような行動をとることが考えられる。また、実験魚の攻撃行動は年長魚飼育水の流入以降停滞していた一方で、血中コルチゾル量の群内のばらつきは大きかった。血中量が高値を示した個体では、飼育水を介して年長魚の存在を察知したことがストレスにつながっていたことも考えられる。本実験で用いた魚は0+年魚ペアであったが、同様の行動・ホルモン量変動を降河回遊期のスマルトも呈する可能性があり、年長魚など優位個体の存在もスマルトの降河行動発現のきっかけとなりうると考えられる。

溶存コルチゾルに関しては、流入とともに降河行動が増加したが、同時に遡上・攻撃行動の増加も見られた。そのため、溶存コルチゾルは降河行動を含めすべての行動の活性化に寄与することが考えられた。血中コルチゾル量は高値を示す個体もみられたが、攻撃行動の発現も多かったことから、コルチゾル上昇が溶存コルチゾルを取り込むことで生じたのか否かに言及することは難しく、どのような機構によって降河行動が発現したのかは不明だった。

溶存サイロキシシンに関しては、実験魚の血中サイロキシシン量の結果から体内への取り込みが行われていたと考えられる。実験魚の降河行動の発現は時間の経過とともに増加していたことから、溶存サイロキシシンは降河行動の発現に関わっていることが考えられ、飼育水中から取り込まれることで体内に蓄積したサイロキシシンが降河行動発現に何らかの形で寄与することで、徐々に行動頻度が増加したのではないかと考えられる。これまでにも、魚類が環境水中のサイロキシシンの受容することは示されており、ホルモン投与の一手法としても用いられていることから（岡田、2004）、血中のサイロキシシンは体内での産出と外部からの受容の双方に由来すると考えられる。降河行動の大半は群れで行われることから（岩

田・小島、2006)、これらの個体間でサイロキシンを媒体とした行動発現の同調が行われていることも推察される。本実験の次の段階として、降河回遊期におけるサクラマス尿中および河川水中のサイロキシン濃度を調べることで、降河行動発現に対する個体間作用の影響に迫ることができると思われる。

本章から、タイヘイヨウサケ属のスマルトでは、適水温を下回るような低水温下における降雨、雪融けの流入、水温の日周期的な低下等に因る水温低下刺激が、血中コルチゾル量の上昇を介して降河行動発現を引き起こす一つの要因であることが示唆された。またコルチゾルは降河行動発現の引き金として働きを、サイロキシンは降河行動を促進させる働きを有すると考えられ、これら 2 種のホルモンの相互作用によって大規模な降河行動が成り立っていると推察される。一方で、降河行動の発現には優位個体の存在や水中に溶存するホルモンも関与すると示唆された。今後、スマルト内での個体差を加味した上で水温低下に伴う一連の降河行動の調節機構の証明を目指すとともに、サイロキシンの変動要因や、個体間作用等の影響を精査することで、降河行動の全貌がより明らかになると期待される。

## 第2章 降海型と河川型の水温低下刺激に対する感受性

タイヘイヨウサケ属のうち、サクラマスなどの種内多型がみられる種では、降海型と河川型が降河回遊期まで同一の河川環境で生育する（棟方・三浦、2009）。前章から、水温低下刺激がコルチゾル上昇を介して降河行動を引き起こすと示唆されたことから、降海型では水温低下刺激に対する感受性が河川型よりも高いと予想される。魚類は外温動物だが、例外的に内温性を有する種以外でも（Block et al, 1993）、体温は必ずしも周囲の水温と一致しない。すなわち、周囲の水温の変動時には体温が水温よりも緩やかな変動を示すことが、ニジマス、キンギョ *Carassius auratus*、ホッキョクイワナ *Salvelinus alpinus L.*などで確かめられている（黒木、1967；Spigarelli et al., 1977；Christiansen et al., 1991）。降海型の水温低下刺激に対する感受性は河川型よりも高いとすれば、水温低下時の体温変動は降海型の方がより急激になると考えられるが、これらの表現型間での体温変動を比較した例はこれまでにみられない。

本章では、なぜ降海型のみが降河行動を発現するのかという疑問について、その原因は水温低下刺激に対する感受性にあると仮定し、降海型と河川型の水温低下時の体温変動を比較するとともに、その差に影響を及ぼす要因の検証を試みた。本章の各実験に用いた水温低下刺激は、感受性の差を明確にするために、河川内で起こりうる水温低下刺激よりも大きい変動幅とした（30分で3.0℃の水温低下）。

### 2.1 降海型と河川型の水温低下刺激に対する感受性の違い

タイヘイヨウサケ属 *O. mykiss* の降海型スチールヘッドトラウトと河川型ニジマスを用い、水温低下刺激を与えた際の体温変動を観測し、前者がより急激な体温低下を示すか否かを検証した。また、体温低下の差の要因は、体型の違いなどにもとづく物理的なものか、それとも生理的なものかを調べるために、死魚でも同様の比較を行った。物理的要因により体温低下が規定されているとすれば、死魚での体温低下は生きた状態と同等と予想される。一方で生きた状態と異なれば何らかの生理的要因の関与が考えられる。体温計測は、温度情報が計測可能な超音波式小型発信機（V9TP-1L、直径9mm×40mm、水中/空気中重量2.7/5.2g；Vemco Inc., Halifax, NS, Canada）を実験魚の腹腔内に挿入することで遠隔的に行う、バイオテレメトリー手法を用いた。

#### 2.1.1 研究方法

##### 実験1 スチールヘッドトラウトとニジマスの水温低下刺激に伴う体温変動の観測

実験は、OHRCにて、第1章実験1-3と同様のスチールヘッドトラウトおよびニジマスを用いて行った。

2011年3月9日、屋外水槽から標準体長および体重が近いスチールヘッドトラウトとニジマスを4尾ずつ選んで取り出し、MS-222溶液（150mg/L、重炭酸溶液を用いpH7.0に調整）に入れて麻酔をかけた。標準体長および体重の計測後、外科手術用メス（#14；株式



会社フタバ、東京) を用いて腹部を約 10 mm 切開し、そこから超音波発信機 (V9TP-1L) を腹腔内へ挿入した (図 28)。使用した発信機は、69 kHz の超音波により ID と周囲の温度情報をそれぞれ 3 分間隔で送信する。その後、手術口を医療用絹製縫合糸 (3 号; 株式会社ハシモト、東京) と縫合針 (外科強弯弾 3 号; 松吉医科器械株式会社、東京) を用いて 1 針縫い、円型 FRP 水槽 (直径 84 cm、水深 64 cm) へ収容した (図 29)。水槽には、OHRC に隣接して流れる Fall Creek から汲み上げた河川水を流量 35—36 L/min で掛け流してオーバーフローにより排水し、水温は 7.0—11.0 °C、明期/暗期は 11/13 時間とし、体重の 2 % 量のペレット (Bio Oregon, Longview, WA, USA) を 1 日に 2 回 (7:00、16:00) に分けて給餌した。水槽内には、水温計測のために水温計ロガー (MDS-MkV/T; JFE アドバンテック株式会社、兵庫) を尿管を用いて水深 10 cm と 60 cm に設置するとともに、発信機から送信される情報を受信するための受信機 (VR2W-69 kHz; Vemco Inc., Halifax, NS, Canada) を水面へ設置した。この環境で、実験魚の手術口が治癒するまで 11 日間馴致飼育した。

3 月 20 (14:30)、21 (9:30、14:00)、および 22 日 (7:00、11:30) に以下の水温変動処理を与え、その際の体温変動を観測した。まず、加温した汲み上げ河川水 (12.0—13.0 °C) を実験水槽内へ流入させ、30 分間で水温を 7.3—9.1 °C から 10.3—11.1 °C まで約 3.0 °C 上昇させた。その後、実験魚の体温を安定させるため加温水の流入量を調節し水槽内の温度を 1 時間一定に維持した後、流入水を通常温度の河川水 (7.3—9.1 °C) に切り替え、30 分間で水温を 7.3—9.1 °C まで約 3.0 °C 低下させた (図 30)。

計 5 回の処理を終えた 3 月 22 日午後、実験魚を実験水槽から取りだし、MS-222 溶液 (350 mg/L、重炭酸溶液を用い pH 7.0 に調整) へ入れて麻酔死させた。標準体長と体重を計測した後、網目 5 mm のナイロンネットで各実験魚を包み、個体間の接触がないよう再び水槽内の中層に吊るした (図 29)。そして死魚の体温低下を観測するため、前述と同様の水温変動処理を 2 回 (17:30、21:00) 与えた。

体温計測は水温低下開始直後から 90 分間行い、1~43 分間隔 (不均一) で体温データが得られた。また水温データは同様の時間に 1 分間隔で得られた。これらのデータを用い、処理ごとに各個体の体温と水温の低下モデルを推定した。最小二乗法を用いて、2~4 次の体温および水温低下モデルのパラメータを推定し、各モデルの赤池情報量基準 (Akaike Information Criterion; AIC) を算出して、AIC が最小となるモデルを選択した (図 31)。そして、選択されたモデルを用い、水温低下開始直後からの 30 分間について 5 分ごとに温度および温度低下の傾きを求めた。



図 28. 実験 1 での発信機挿入手術の様子（左）と、術後の傷口（右）。



図 29. 実験 1 に用いた円型 FRP 水槽（左）と、死魚の体温計測時の水槽内の様子（右）。

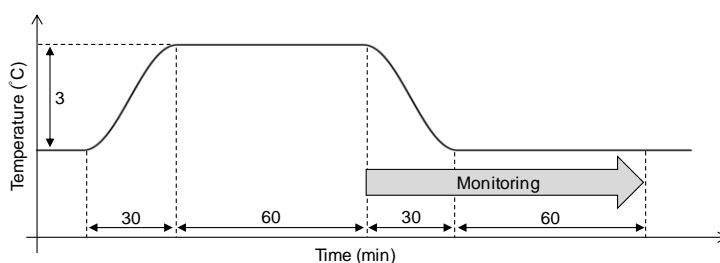


図 30. 実験 1 における水温変動処理のプロファイルと体温計測期間 (Monitoring)。水温低下開始直後からの 90 分間で体温計測を行った。

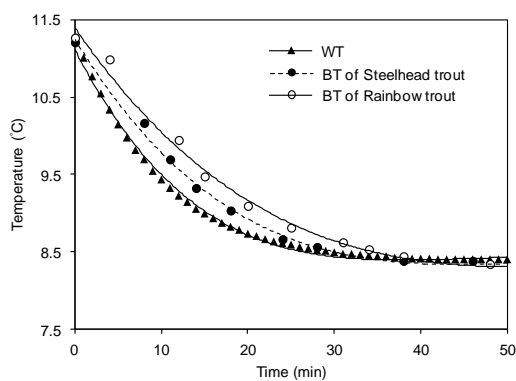


図 31. 実験 1 で得られた水温 (WT)、スチールヘッドトラウトの体温 (BT of Steelhead trout ; 1 例)、およびニジマスの体温データ (BT of Rainbow trout ; 1 例) と、それらから求めた温度低下モデル。

## 2.1.2 結果

### 実験 1 スチールヘッドトラウトとニジマスの水温低下刺激に伴う体温変動の観測

実験前および実験後のいずれでも、スチールヘッドトラウトの肥満度はニジマスよりも有意に小さかった (表 13)。生魚での実験では、スチールヘッドトラウトの体温と水温の間には有意な差が見られなかった一方で、水温低下開始 10 分後および 15 分後にニジマスの体温は水温よりも有意に高い値を示した (図 32)。体温低下の傾きは、水温低下開始 10 分後および 20 分後で、スチールヘッドトラウトがニジマスよりも有意に大きい値を示した。またスチールヘッドトラウトの中で No. 3 の個体は肥満度が比較的大きく、他の個体よりも体温低下の傾きが小さい傾向にあった。

死魚での実験では、スチールヘッドトラウトの体温は水温低下開始 5 分後～25 分後で、ニジマスの体温は水温低下開始 10 分後～20 分後で、それぞれ水温よりも有意に高かった (図 33)。スチールヘッドトラウトとニジマスの間では、体温および体温低下の傾きのいずれにも有意差はなかった。

表 13. 実験 1 に用いたスチールヘッドトラウトとニジマスの発信機挿入手術時 (Initial data) および実験終了時 (Final data) の標準体長 (BL)、体重 (BW)、および肥満度 (CF)。両者の肥満度に見られた有意差を\* ( $p<0.05$ ) および\*\* ( $p<0.01$ ) で示した。

Group	N	BL (cm)	BW (g)	CF	Sampling date
Initial data					
Steelhead trout	4	25.9±0.43	229.3±20.09	1.31±0.06	Mar. 9
Rainbow trout	4	24.9±0.25	234.5±11.29	1.52±0.03 *	Mar. 9
Final data					
Steelhead trout	4	26.0±0.46	218.6±16.02	1.24±0.04	Mar. 22
Rainbow trout	4	25.6±0.40	254.5±14.77	1.52±0.04 **	Mar. 22

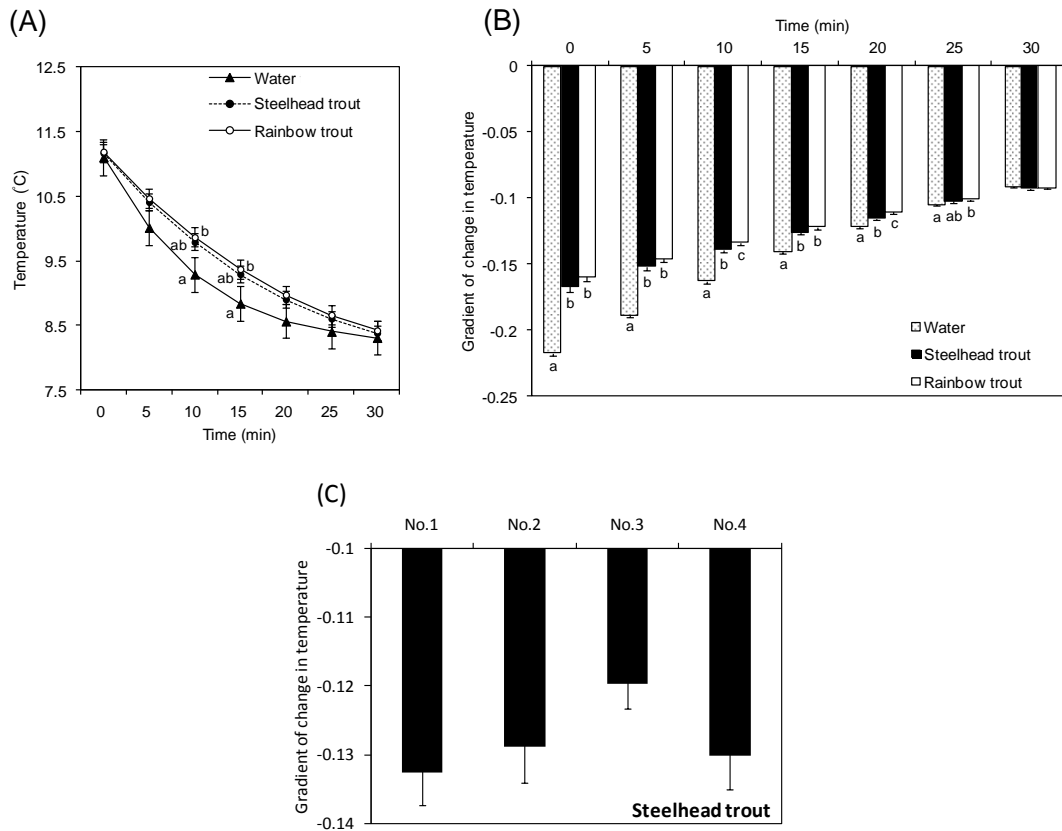


図 32. 実験 1 での生魚時のスチールヘッドトラウトとニジマスの水温低下時の体温変動 (A)、体温変動の傾き (B)、およびスチールヘッドトラウトの個体ごとの体温変動の傾き (C)。(A) および (B) の各時間において、有意な差 ( $p < 0.05$ ) を異なるアルファベットで示した。

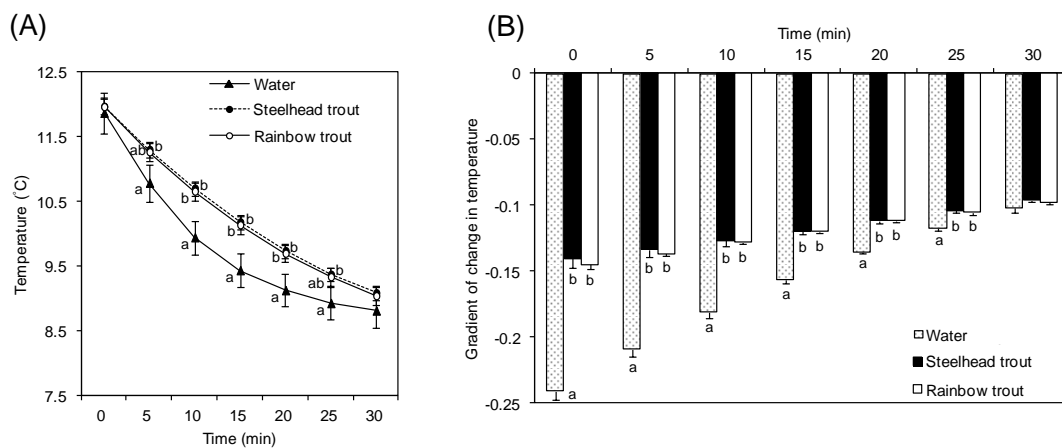


図 33. 実験 1 での死魚時のスチールヘッドトラウトとニジマスの水温低下時の体温変動 (A) および体温変動の傾き (B)。各時間において、有意な差 ( $p < 0.05$ ) を異なるアルファベットで示した。

生魚ではスチールヘッドヘッドトラウトがニジマスよりも早い体温低下を示したが、死魚間では体温低下の差が消失することが確かめられた。この結果は、両者の間で異なった肥満度に起因する物理的要因以外に、何らかの生理的要因が生魚での体温低下の差に影響を及ぼしていたことを示唆している。

## 2.2 性ホルモンが水温低下刺激に対する感受性に及ぼす影響

サクラマスやタイセイヨウサケでは、河川生活期に大きな成長量を示し早熟となった個体が河川型になりやすいとされる (Bagliniere & Maisse, 1985 ; Thorpe, 1986 ; Munakata & Kobayashi, 2010)。またこれらの種の降海型スモルトでは、降河行動の発現がテストステロン (Testosterone) や 11-KA (11-ketoandrostendione) といった性ホルモンの投与により抑制されると報告されている (Berglund et al., 1994 ; Munakata et al., 2000, 2001)。そのため、これらの性ホルモンが降河行動を引き起こす水温低下刺激に対する感受性を抑える生理的要因として働いている可能性が考えられる。そこで、スチールヘッドトラウトのテストステロン投与魚と未投与魚で水温低下時の体温変動を比較し、テストステロンに水温低下時の体温低下を抑える働きがあるか否かを検証した。

### 2-2-1 研究方法

#### 実験 2-1 スチールヘッドトラウトの水温低下刺激に伴う体温変動へのテストステロンの影響

実験には、水産総合研究センター増養殖研究所日光庁舎で飼育されているスチールヘッドトラウトの 2+年魚を用いた (図 34)。これらの魚は、水温 9.5—10.0 °C の湧水を掛け流しにした屋外のコンクリート池 (2 m × 8 m、水深 50 cm) で、1 日に体重の 2% 量のペレット (にじます育成用 7P レッド ; 株式会社科学餌料研究所、群馬) を 2 回に分けて与えられ飼育されていた。

2011 年 5 月 27 日、コンクリート池から標準体長および体重が比較的近いスチールヘッドトラウトを 14 尾選別し、7 尾ずつに分けて屋内に設置した 2 個の円型 FRP 水槽 (直径 120 cm、水深 40 cm) へ収容した。水槽には、水温 9.5—10.0 °C の湧水を流量 21—22 L/min で掛け流し、オーバーフローにより排水させた。一方の水槽に収容した魚へ、Ikuta et al. (1987) を参考に餌を用いたテストステロンの経口投与 (25 µg/g) を施し、テストステロン群 (Testosterone 群 ; T 群) とした。テストステロン餌は、0.1 g のテストステロン (和光純薬工業株式会社、大阪) を 200 mL の 99 % エタノールに溶解した後、屋外で 4kg のペレットに霧吹きを用いてまんべんなく噴霧し、数十分間天日干ししてエタノールを揮発させることで作成した。もう一方の水槽に収容した魚は対照群 (Control 群 ; C 群) とした。T 群にはテストステロン餌を、また C 群にはテストステロンを噴霧していない通常の餌を、週 5 日 (月～金曜日) 体重の 2% 量を 1 日 2 回に分けて与えた。

6月7日、T群およびC群からそれぞれ4尾の魚を無作為に選び、ベンゾカイン溶液(50 ppm)に入れて麻酔をかけた。麻酔下で、標準体長および体重を計測した後、外科手術用メス(#14;株式会社フタバ、東京)を用いて腹部を約10 mm切開し、そこから超音波発信機(V9TP-1L)を腹腔内へ挿入した。その後、手術口を医療用絹製縫合糸(3号;株式会社ハシモト、東京)と縫合針(外科強弯弾3号;松吉医科器械株式会社、東京)を用いて1針縫い、T群では標識のため脂鰭を切除してそれぞれの水槽へ戻した。その後、手術前と同様の条件で50日間、順致飼育およびT群へのテストステロン投与を行った。

7月27日、T群およびC群を実験水槽(直径120 cm、水深20 cm)へ移した(図34)。水温を計測するために水温計ロガー(MDS-MkV/T)を凧糸を用いて水深5 cmと20 cmに設置し、発信機から送信される情報を受信するための受信機(VR2W-69 kHz)を水面へ設置した。またエアレーションを施すとともに、2個の水中ポンプ(Rio+1700;神畑養魚株式会社、兵庫)を水槽内側面の対称となる位置に設置し15—16 cm/sの水流をつけた。実験水槽への収容後は、給餌を通常の餌に統一した。

7月27(15:00、19:30)、28(10:00、14:30)、および29日(8:00)に以下の水温変動処理を与え、その際の体温変動を観測した。まず実験水槽への湧水の流入を止め、投げ込み式ヒーター(CTP-3000;東京理化学器械株式会社、東京)を用いて加温した湧水(23.0—24.5 °C)を、ウォータータンクを使用して流量1.0—1.5 L/minで滴下し、30分間で水温を12.5—13.0 °Cまで約3.0 °C上昇させた。その後の1時間、加温水の流入量を調節し水槽内の温度を一定に維持した後、通常温度の湧水を流量15—16 L/minで加え30分間で水温を9.5—10.0 °Cまで約3.0 °C低下させた。

計5回の処理を終えた7月29日に、水槽から実験魚を取り出しベンゾカイン溶液(50 ppm)へ入れて麻酔をかけた。ヘパリン処理(100 units/ml)をしたシリンジ(注射筒(SS-01T;テルモ株式会社、東京);注射針(NN-2038R;テルモ株式会社、東京))を用いて実験魚の尾柄部から採血した後、頭部打撃により死亡させ標準体長、体重、および生殖腺重量を計測した。採集した血液は直ちに遠心分離(9000 rpm、5分間)させて、血漿成分のみを抽出してから-78°Cで冷凍保存し、後に血中テストステロン量を測定キット(RIDASCREEN Testosterone; R-Biopharm AG, Germany)を用いて測定した。

実験から得られた体温および水温データの解析は実験1と同様の方法で行った。



図 34. 実験 2-1 に用いたスチールヘッドトラウト（左上）、実験終了時の発信機挿入手術による傷口（右上）、および実験水槽（左下、右下）。

#### 実験 2-2 スチールヘッドトラウトに対する餌を用いたテストステロン経口投与の影響

実験 2-1 での実験魚の血中テストステロン量は、対照魚がテストステロン投与魚よりも高い値を示し（後述の結果参照；表 14）、ホルモン投与の効果に疑問が残ったため、実験 2-1 と同様の手法でテストステロン投与の再実験を行い、血中量への影響を確認することにした。

実験には、水産総合研究センター増養殖研究所日光庁舎で飼育されているスチールヘッドトラウト 2+年魚（実験 2-1 と同じ成長段階）を用いた。これらの魚は、水温 9.5—10.0 °C の湧水を掛け流しにした屋内のコンクリート池（2 m×8 m、水深 50 cm）で、1 日に体重の 2 % 量のペレット（にじます育成用 3P；株式会社科学餌料研究所、群馬）を 2 回に分けて与えられ飼育されていた。

2012 年 10 月 25 日、コンクリート池からスチールヘッドトラウトを 27 尾選別し、2 つの角型 FRP 水槽（150 m×100 cm、水深 25 cm）へ収容した（図 35）。これらの水槽には水温 9.5—10.0 °C の湧水を掛け流しオーバーフローにより排水させた。翌日 10 月 26 日、水槽から無作為に 20 尾の魚を取り出し、ベンゾカイン溶液（50 ppm）を用いて麻酔をかけた後、ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、東京）；注射針（NN-2138R；テルモ株式会社、東京））を用いて尾柄部から採血した。採血後は頭部打撃により死亡させ、標準体長および体重を計測して肥満度を算出するとともに、性別と生殖腺重量を計測し GSI を算出した。これらの魚はランダム群とした。

10 月 26 日、ランダム群のサンプリング後、コンクリート池からスチールヘッドトラウトを 50 尾選別し水槽へ追加した。上述のサンプリングで用いなかった 7 尾と合わせた計 57 尾の魚から 40 尾を無作為に取り出し、ベンゾカイン溶液（50 ppm）を用いて麻酔をかけた。ヘパリン処理（100 units/ml）をしたシリンジ（注射筒（SS-01T；テルモ株式会社、

東京) ; 注射針 (NN-2138R ; テルモ株式会社、東京)) を用いて尾柄部から採血した後、外科手術用メス (#14 ; 株式会社フタバ、東京) を用いて各実験魚の腹部を約 3 mm 切開し、そこから PIT タグ (BIO9HG01、直径 2.1 mm×9 mm、重量 0.06 g ; BIOMARK Inc., Boise, ID, USA) を腹腔内へ挿入した。リーダー (HS6103L3 ; BIOMARK Inc., Boise, ID, USA) を用い PIT タグ情報を読み取ることで、実験魚の個体認識が可能になる。その後標準体長、体重を計測し、20尾ずつ2つの実験水槽へ収容して、一方をテストステロン群 (Testosterone 群 ; T 群)、もう一方を対象群 (Control 群 ; C 群) とした。T 群では標識のため、収容前に脂鱗を切除した。

実験魚を水槽内で 6 日間順致させた後、11 月 1 日から餌によるテストステロンの経口投与 (25 µg/g) を開始した。テストステロン餌は、0.125 g のテストステロン (和光純薬工業株式会社、大阪) を 200 mL の 99 %エタノールに溶解した後、屋外で 5 kg のペレットに霧吹きを用いてまんべんなく噴霧し、数十分間天日干ししてエタノールを揮発させることで作成した。T 群にはこのテストステロン餌を、C 群には通常の餌を、週 5 日 (月～金曜日) 1 日に体重の 2 %量を複数回に分けて与えた。これを 11 月 26 日の午前中まで継続した。

11 月 26 日午後以降は給餌を通常の餌に統一し、11 月 28 日に実験魚から採血を行った。この段階で生存していた T 群 6 尾および C 群 5 尾を取り出し、ベンゾカイン溶液 (50 ppm) を用いて麻酔をかけた後、ヘパリン処理 (100 units/ml) をしたシリンジ (注射筒 (SS-01T ; テルモ株式会社、東京) ; 注射針 (NN-2138R ; テルモ株式会社、東京)) を用いて尾柄部から採血した。採血後は標準体長および体重を計測して肥満度を算出するとともに、延髄を切断した後に性別と生殖腺重量を計測し GSI を算出した。血液は直ちに遠心分離 (6000 rpm、7 分間) させ、血漿成分のみを抽出し -78°C で冷凍保存させ、後に血中テストステロン量を TR-FIA により測定した。



図 35. 実験 2-2 に用いた角型 FRP 水槽 (写真上側)。



## 2.2.2 結果

### 実験 2-1 スチールヘッドトラウトの水温低下刺激に伴う体温変動へのテストステロンの影響

T 群と C 群の間で、標準体長、体重、および肥満度に有意差はなかったが、血中テストステロン量はホルモン投与を行っていた T 群 ( $0.26 \pm 0.05$ ) が C 群 ( $8.78 \pm 3.41$ ) より有意に低い値を示した (表 14)。

表 14. 実験 2-1 に用いた各群のスチールヘッドトラウトの発信機挿入手術時 (Initial data) および実験終了時 (Final data) の標準体長 (BL)、体重 (BW)、肥満度 (CF)、生殖腺重量指数 (GSI)、および血中テストステロン量 (Plasma T level)。両群の血中テストステロン量には有意差 (\* ;  $p < 0.05$ ) がみられた。

Group	N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	GSI (%)	Plasma T levels (ng/ml)	Sampling date
Initial data							
Control	4	34.9±0.40	539.0±23.68	1.27±0.06	-	-	Jun. 7
T-treated	4	35.1±0.51	592.5±20.14	1.23±0.03	-	-	Jun. 7
Final data							
Control	4	35.7±0.42	643.0±24.32	1.42±0.08	0.72±0.20	8.78±3.41 *	Jul. 29
T-treated	4	35.7±0.51	602.7±29.70	1.36±0.04	0.71±0.10	0.26±0.05	Jul. 29

この結果、ホルモン投与が血中量上昇につながっていないと考えられたため、本実験での体温解析の結果を示す前に、まず実験 2-2 のホルモン投与再実験の結果を示す。

## 実験 2-2 スチールヘッドトラウトに対する餌を用いたテストステロン経口投与の影響

ランダム群および T 群と C 群のホルモン投与開始前の血中テストステロン量は、2 尾の排精オス (52.8 ng/ml、18.0 ng/ml) を除き総じて低い値であった (表 15、図 36)。T 群と C 群の実験前後の血中テストステロン量を比較すると、T 群でのみ実験後の有意な上昇がみられた (表 15)。

表 15. 実験 2-2 で用いた各群のスチールヘッドトラウトの標準体長 (BL)、体重 (BW)、肥満度 (CF)、生殖腺重量指数 (GSI)、および血中テストステロン量 (Plasma T level)。T 群および C 群のうちホルモン投与期間中に死亡した魚は、実験開始時のデータをランダム群に含めた。また、ランダム群のうち未成熟であった個体は Immature、排精オスの個体は Precocious として分けて示した。T 群ではホルモン投与後に血中テストステロン量が有意 (\* ;  $p < 0.05$ ) に上昇した。

Group	N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	GSI (%)	Plasma T levels (ng/ml)	Sampling date
Initial data							
immature	47	32.4±0.45	468.9±18.72	1.35±0.01	0.10±0.02	0.96±0.08	Oct. 26
precocious	2	34.4±0.40	600.8±21.40	1.48±0.001	2.71±0.02	35.4±17.45	Oct. 26
Control	5	35.2±1.24	609.7±58.91	1.38±0.03	-	1.42±0.17	Oct. 26
T-treated	6	30.0±1.06	364.0±41.46	1.32±0.04	-	1.26±0.21	Oct. 26
Final data							
Control	5	35.9±1.07	645.3±66.88	1.37±0.04	0.10±0.05	0.54±0.20	Nov. 28
T-treated	6	30.8±1.14	393.3±48.22	1.33±0.05	0.15±0.05	27.93±8.07 *	Nov. 28

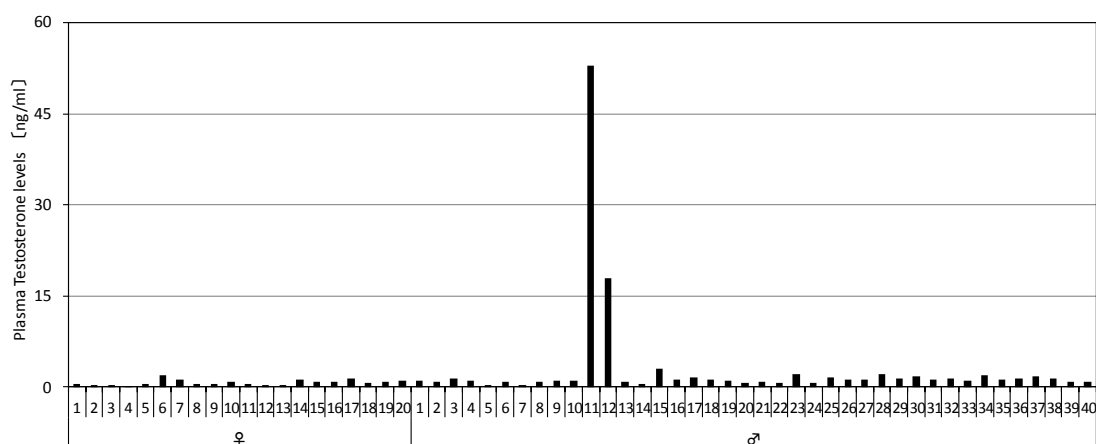


図 36. 実験 2-2 で用いたスチールヘッドトラウトのランダム群、およびホルモン投与開始前の T 群と C 群の個体ごとの血中テストステロン量。血中量が 10ng/ml を上回っている個体 (オスの No.11 および No.12) はいずれも排精していた。

実験 2-2 の結果、実験魚の血中テストステロン量は排精オスを除くと比較的low値で、ばらつきも小さかった。また、餌によるテストステロンの経口投与が血中テストステロン量を確実に上昇させることが明らかとなった。これらの状況証拠を踏まえると、同様の方法のホルモン投与を行った実験 2-1 でも、投与魚の血中量が高くなっていたはずである。そのため、実験 2-1 での両群の血中テストステロン量から (表 14)、この実験では操作のいずれかの段階 (水槽への収容、テストステロン餌の投与等) で T 群と C 群が入れ替わっていた可能性が高いと判断した。これを受け、以降実験 2-1 について、血中テストステロン量が高い方を T 群、低い方を C 群と置き換えて体温解析結果を示す。

T 群および C 群の体温は、いずれも水温低下開始 5 分後～30 分後で水温よりも有意に高かった (図 37)。また、血中テストステロン量が高い T 群の体温は、水温低下開始 15 分後～30 分後で C 群の体温より有意に高かった。体温低下の傾きは、水温低下開始 25 分後に T 群が C 群より有意に小さい値を示した。また T 群の No. 3 は群内の他の個体よりも体温低下の傾きが小さく、血中テストステロン量は最も高かった (17.4 ng/ml)。

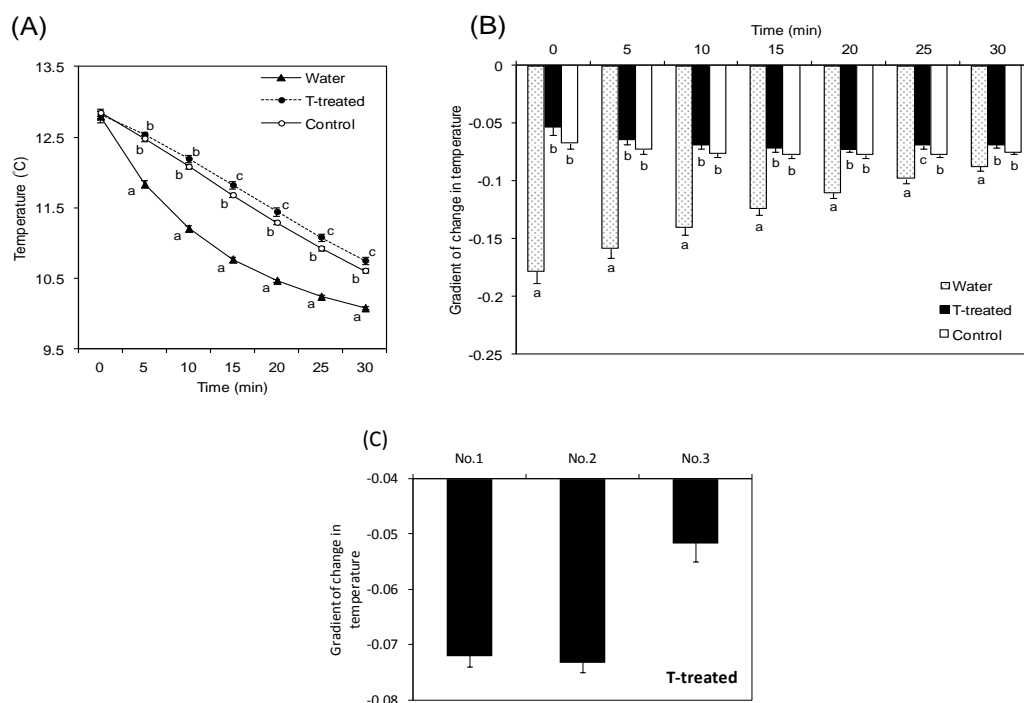


図 37. 実験 2-1 でのスチールヘッドトラウトのテストステロン投与魚および未投与魚の水温低下時の体温変動 (A)、体温変動の傾き (B)、およびテストステロン投与魚の個体ごとの体温変動の傾き (C; No.4 はデータ数が異なるため図示していない)。(A) および (B) の各時間において、有意な差 ( $p < 0.05$ ) を異なるアルファベットで示した。

これらの結果から、スチールヘッドトラウトでは、血中テストステロン量の増加によって水温低下時の体温低下が緩やかになると示唆された。テストステロンは体温低下に影響を及ぼす生理的要因の一つと考えられた。

## 2.3 河川性3魚種の水温低下刺激に対するの感受性の違い

前節までの実験から、*O. mykiss* では降海型の水温低下時の体温低下は河川型よりも急激で、この差には肥満度に起因する物理的要因に加え、生理的要因が影響を及ぼしていると示唆された。本節ではサケ科魚類以外の魚種に目を向け、これらでも水温低下時の体温低下に対する肥満度の影響、および生理的要因の影響がみられるか否かを調べた。実験には、肥満度が大きく異なる河川性の3魚種（コイ科コイ属コイ *Cyprinus carpio*、ウナギ科ウナギ属ウナギ *Anguilla japonica*、およびコイ科ウグイ属ウグイ *Tribolodon hakonensis*）を用い、前節と同様の方法で水温低下時の体温変動を比較した。

### 2-3-1 研究方法

#### 実験 3-1 コイとウナギの水温低下刺激に伴う体温変動の観測

一色うなぎ漁業協同組合で飼育されていたウナギ（サイズ 3P；生後 10 カ月）、およびアミューズパーク名取りんくう店で飼育されていたコイ（年齢不明）を用い、宮城教育大学にて実験を行った（図 38）。

2011 年 8 月 29 日、一色うなぎ漁業協同組合から約 1 日かけて輸送された 10 尾のウナギを、塩ビパイプ（径 40～50 mm）とともに 1 つの実験水路（アクリル水槽（50×60 cm、水深 22 cm）内にアクリル板を用いて作成）へ収容した（図 38）。水路内には、2 個の水中ポンプ（Rio+800；神畑養魚株式会社、兵庫）を水路内側面の対称な位置に設置し水流をつけた。また水路内 2 か所にはエアレーションを設置した。水温は 19.0—22.0 °C とし、水路内の水は濾過槽（45 cm×35 cm、水深 18 cm）へオーバーフローで排出させた後、水中ポンプ（Rio+1700；神畑養魚株式会社、兵庫）を用いて再び水路内へと流入させた。

8 月 31 日、アミューズパーク名取りんくう店からコイ 4 尾を約 1 時間かけて輸送し、上記と同様のもう 1 つの実験水路へ収容した。収容直後には、2 つの水路へメチレンブルー水溶液（三栄製薬株式会社、東京）を加え薬浴を行った。両魚種への給餌にはさけます用ペレットおよびミミズを用いたが、ウナギでは飼育期間を通して摂餌している様子は観察されなかった。実験魚収容後は、100 L タンク（LT-100；コダマ樹脂工業株式会社、岐阜）に水道水を貯め、カルキ抜き（GX-30；ジェックス株式会社、大阪）を入れて約 1 日半汲み置きし、これを 2 日に 1 回の頻度で両水路へ少量ずつ流し、溢れた水は濾過槽より排水することで水の交換を行いながら馴致飼育した。

9 月 2 日、コイは標準体長が大きい順に 3 尾、ウナギは無作為に 3 尾、それぞれ水路から取り出し、ベンゾカイン溶液（50 ppm）に入れ麻酔をかけた。それ以外のコイおよびウナギは予備魚とし、1 つの水路にまとめて収容し、後述の実験 3-2（コイとウグイの比較）ま

で同様の環境条件で飼育を続けた。麻酔下で、標準体長および体重を計測した後、外科手術用メス（#14；株式会社フタバ、東京）を用いて各実験魚の腹部を約 10 mm 切開し、そこから超音波発信機（V9TP-1L）を腹腔内へ挿入した。その後、手術口を医療用絹製縫合糸（3号；株式会社ハシモト、東京）と縫合針（外科強弯弾 3号；松吉医科器械株式会社、東京）を用いて 1 針縫い、2 種を 1 つの実験水路へ収容し 8 日間順致した。水路内には、水温を計測するために水温計ロガー（MDS-MkV/T）を風糸を用いて水深 5 cm と 20 cm に設置し、発信機から送信される情報を受信するための受信機（VR2W-69 kHz）を水面へ設置した。順致飼育中の 9 月 8 日、発信機挿入を行った実験魚を収容した水路にクーラー（GXC-200；ジェックス株式会社、大阪）を設置して、この日から水温を 18.0—20.0 °C とし、水路内の片側のカーブ区間には日陰を作成した。9 月 10 日には、メチレンブルーを水路内に流し薬浴を行った。

9 月 11（12:30）、12（13:30）、13（14:30）、14（13:00）、および 15 日（13:30）に水温低下処理を与え、その際の実験魚の体温低下を観測した。実験に用いる冷却水（水温 5.0—6.0 °C）は、実験開始の半日前からカルキ抜きを入れ汲み置きした水道水を、投げ込み式クーラー（NEOCOOL-BD21；ヤマト科学株式会社、東京、100T；株式会社井内盛栄堂（現アズワン株式会社）、大阪）とペットボトルで作成した氷を用いて冷却させることで作成した。この冷却水を、水温低下処理の 1 時間前からごく少量ずつ水路内へ流し、水温を一定に維持させた（この操作を行わないと、水温が日内変動により上昇する）。水温低下時は水路内に設置した水温計を見ながら、冷却水の流入量を調節し 30 分で水温を 19.0—20.0 °C から 16.0—17.0 °C まで約 3.0 °C 低下させた。その後、冷却水の流入量を再びごく少量にして 2 時間水温を一定に維持させた。

計 5 回の処理後の 8 月 16 日、水路から実験魚（ウナギのみ；後述）を取り出し、ベンゾカイン溶液（50 ppm）へ入れて麻酔死させた。死魚は網目 5 mm のナイロンネットで 1 尾ずつ包み、個体間の接触がないよう水路内の中層に吊るした。そして死魚の体温低下を観測するため、上述と同様の水温低下処理を 2 回（14:30、20:00）与えた（1 回目の処理後は水道水を水路内へ流して水温を 19.0 °C まで上昇させ、その後 2 回目の処理を行った）。2 回の処理後、水路から死魚を取り出し、標準体長、体重、および生殖腺重量を計測し肥満度および GSI を算出した。

発信機挿入したコイは全て実験期間中に死亡したため（9 月 14～16 日の各日に 1 尾ずつ死亡）、麻酔処理は行っていない。14 日および 15 日に死亡したコイは、その日の実験後に水路から取り出して冷凍保存し、16 日に流水解凍して死魚での実験に供した。16 日に死亡したコイは、冷凍させずにそのまま水路へ入れておき死魚での実験に供した。

実験から得られた体温および水温データの解析は実験 1、および 2-1 と同様の方法で行った。

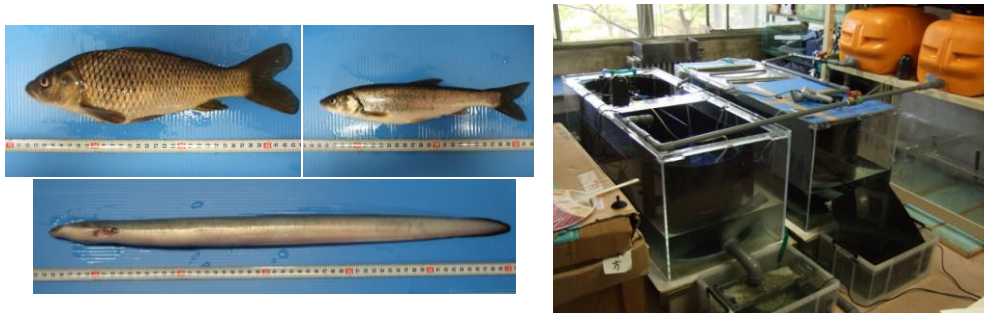


図 38. 実験 3-1 および 3-2 に用いたコイ（左上）、ウナギ（左下）、およびウグイ（中上）と、実験水路（右）。

### 実験 3-2 コイとウグイの水温低下刺激に伴う体温変動の観測

実験 3-1 から継続して飼育したコイ、および宮城県広瀬川および一迫川で採捕したウグイ（年齢不明）を用い、宮城教育大学にて実験を行った（図 38）。

2011 年 10 月 11、12、および 14 日に宮城県広瀬川で、10 月 15 および 16 日に宮城県一迫川で、ウグイを計 6 尾釣獲した（図 39、40）。広瀬川産のウグイは採捕後ただちに実験水路（実験 3-1 と同様）へ収容し、一迫川産のウグイは 10 月 17 日までエアレーションを施してクーラーボックス（50 cm×25 cm、水深 30 cm）内で順致したのち水路へ収容した。給餌にはさけます用ペレットを用いた。

10 月 17 日、コイとウグイを用いた実験を開始した。ウグイ 6 尾を実験水路から取り出し、ベンゾカイン溶液（50 ppm）に入れ麻酔をかけた。標準体長および体重を計測した後、実験 3-1 と同様の方法で発信機（V9TP-1L）の挿入手術を行い、実験水路へ戻して 2 週間順致した。順致期間中の 10 月 18 および 21 日に計 2 尾のウグイが死亡したため、これらの魚は死亡確認した時点で実験水路から取り出した。10 月 20 日、コイ 1 尾にウグイと同様の方法で発信機挿入手術を行った。発信機は 10 月 18 日に死亡したウグイから取り出したものを使用した。手術後はウグイと同一の水路に収容し順致した。順致期間の水温は 17.0—19.0 °C とした。10 月 30 日にはメチレンブルーを水路内に流し薬浴を行った。

10 月 31 日（13:00）、11 月 1（13:30）、2（13:00）、3（13:30）、4（13:00）、7（15:00）、および 8 日（13:30）に実験 3-1 と同様の方法で水温低下処理を与え、その際の体温低下を観測した。また、11 月 9 日（14:30、17:30、20:30）には実験 3-1 と同様の方法で死魚の体温低下を観測した。水路内の温度は実験 3-1 よりも低かったため、冷却水の温度は 3.5—5.0 °C とした。また死魚での実験の 1 回目および 2 回目の処理後には、25.0 °C に温めた加温水（水道水に沸騰した湯を加えることで作成）を水路内に流し、水温を 17.0—18.0 °C まで上昇させた。実験期間中に死亡した魚はいなかった。

実験から得られた体温および水温データの解析は実験 1、2-1、および 3-1 と同様の方法で行った。

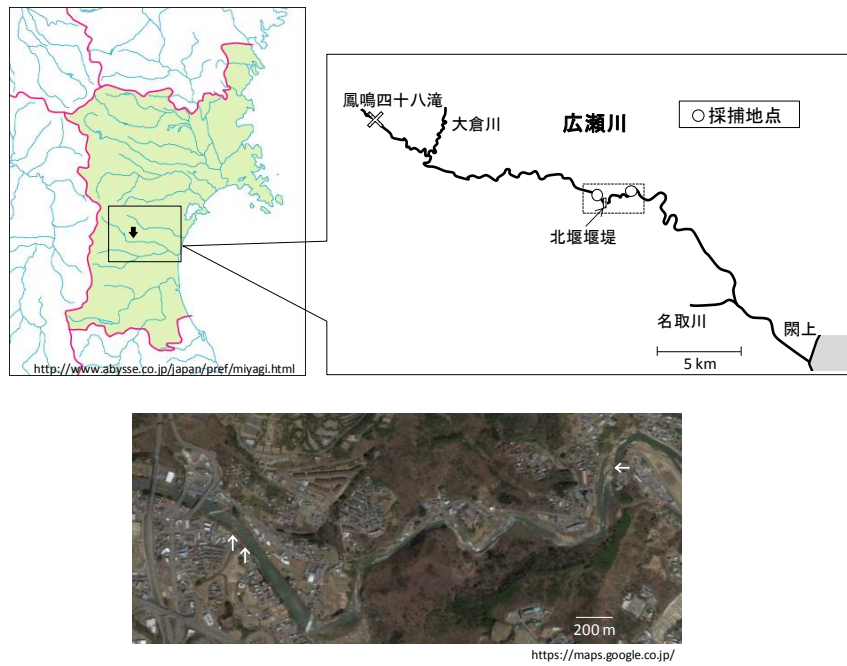


図 39. 宮城県広瀬川でのウグイの採捕場所。航空写真は、白地図上の破線で囲まれた範囲を示す。白地図上の白丸（○）および航空写真上の矢印が採捕場所を示している。

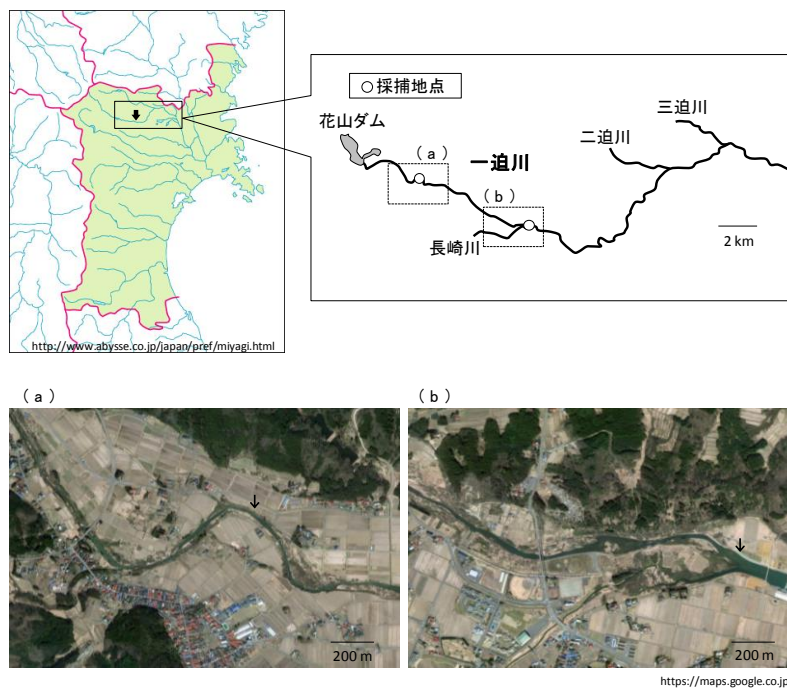


図 40. 宮城県一迫川でのウグイの採捕場所。航空写真は、白地図上の破線で囲まれた範囲を示す。白地図上の白丸（○）および航空写真上の矢印が採捕場所を示している。

## 2.3.2 結果

### 実験 3-1 コイとウナギの水温低下刺激に伴う体温変動の観測

肥満度は、コイがウナギよりも大きかった (表 16)。生魚では両魚種の体温はいずれも水温低下開始 5 分後～30 分後で水温よりも有意に高かった (図 41)。コイとウナギの間では、体温および体温低下の傾きのいずれでも有意差が見られなかった。死魚では、両魚種の体温はいずれも水温低下開始直後～30 分後で水温よりも有意に高かった (図 42)。またコイがウナギよりも、水温低下開始 5 分後～30 分後で体温が有意に高く、水温低下開始直後～30 分後で体温低下の傾きが有意に小さかった。

本実験では、生魚では両魚種間に体温低下の差はみられなかったが、死魚ではコイがウナギに比べて緩やかな体温低下を示した。

表 16. 実験 3-1 に用いたコイとウナギの発信機挿入手術時 (Initial data) および実験終了時 (Final data) の標準体長 (BL)、体重 (BW)、肥満度 (CF)、および生殖腺重量指数 (GSI)。

Species	N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	GSI (%)	Sampling date
Initial data						
Common carp	3	28.8±1.59	638.3±87.7	2.66±0.30		2 Sep.
Japanese eel	3	54.8±1.25	315.0±12.6	0.19±0.001		2 Sep.
Final data						
Common carp	3	30.3±1.49	652.3±95.4	2.33±0.14	7.04±3.43	16 Sep.
Japanese eel	3	57.6±1.10	329.0±5.6	0.17±0.01	0.06±0.02	16 Sep.

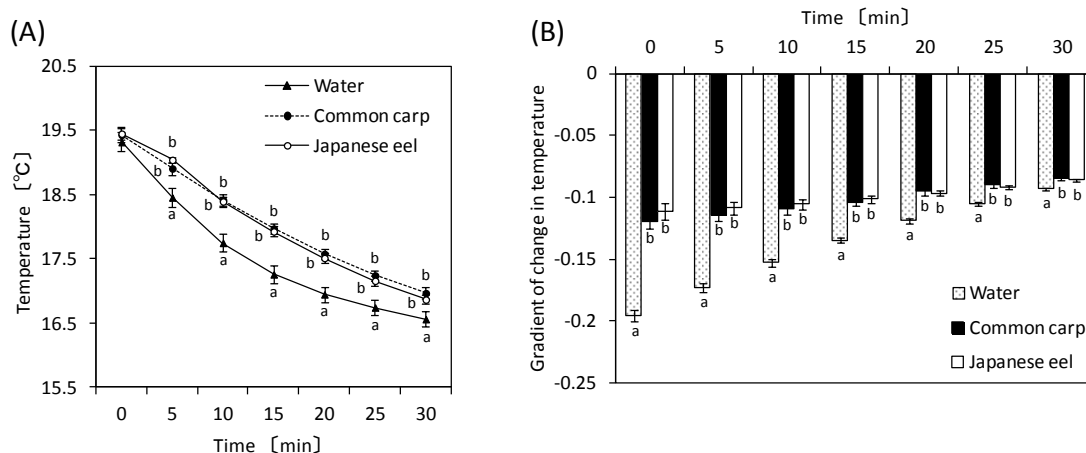


図 41. 実験 3-1 での生魚のコイとウナギの水温低下時の体温変動 (A) および体温変動の傾き (B)。各時間において、有意な差 ( $p < 0.05$ ) を異なるアルファベットで示した。



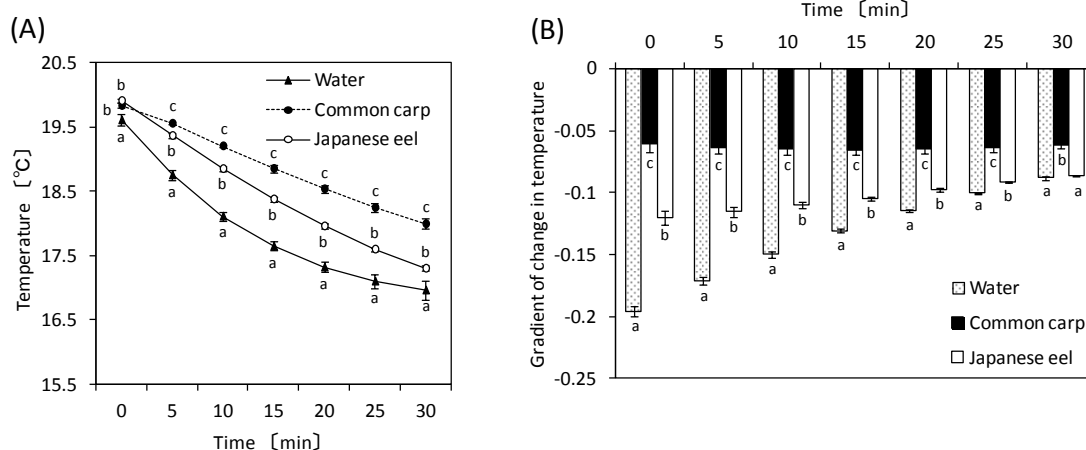


図 42. 実験 3-1 での死魚のコイとウナギの水温低下時の体温変動 (A) および体温変動の傾き (B)。各時間において、有意な差 ( $p < 0.05$ ) を異なるアルファベットで示した。

### 実験 3-2 コイとウグイの水温低下刺激に伴う体温変動の観測

肥満度は、コイがウグイよりも大きかった (表 17)。生魚では、コイの体温は水温低下開始 5 分後～25 分後で、ウグイの体温は水温低下開始 5 分後～15 分後で、それぞれ水温より有意に高かった (図 43)。コイとウグイの間では、体温は水温低下開始 10 分後～25 分後でコイがウグイよりも有意に高かった。体温低下の傾きは、水温低下開始 20 分後以外のすべてで、コイがウグイよりも有意に小さかった。

死魚では、コイの体温は水温低下開始 5 分後～30 分後で、ウグイの体温は水温低下開始 5 分後～25 分後で、それぞれ水温よりも有意に高かった (図 44)。また、コイがウグイよりも水温低下開始 5 分後～30 分後で体温が有意に高く、水温低下開始直後～30 分後で体温低下の傾きが有意に小さかった。

本実験では生死の状態に関わらずコイがウグイよりも緩やかな体温低下を示した。

表 17. 実験 3-2 に用いたコイとウグイの発信機挿入手術時 (Initial data) および実験終了時 (Final data) の標準体長 (BL)、体重 (BW)、肥満度 (CF)、および生殖腺重量指数 (GSI)。

Species	N	BL (cm)	BW (g)	CF (%)	GSI (%)	Sampling date
Initial data						
Common carp	1	24.9	400.0	2.59	-	17 Oct.
Japanese dace	4	20.6±1.51	129.3±27.2	1.41±0.01	-	17 Oct.
Final data						
Common carp	1	25.2	414.0	2.59	2.93	9 Nov.
Japanese dace	4	20.6±1.61	134.8±30.0	1.47±0.01	1.25±0.39	9 Nov.

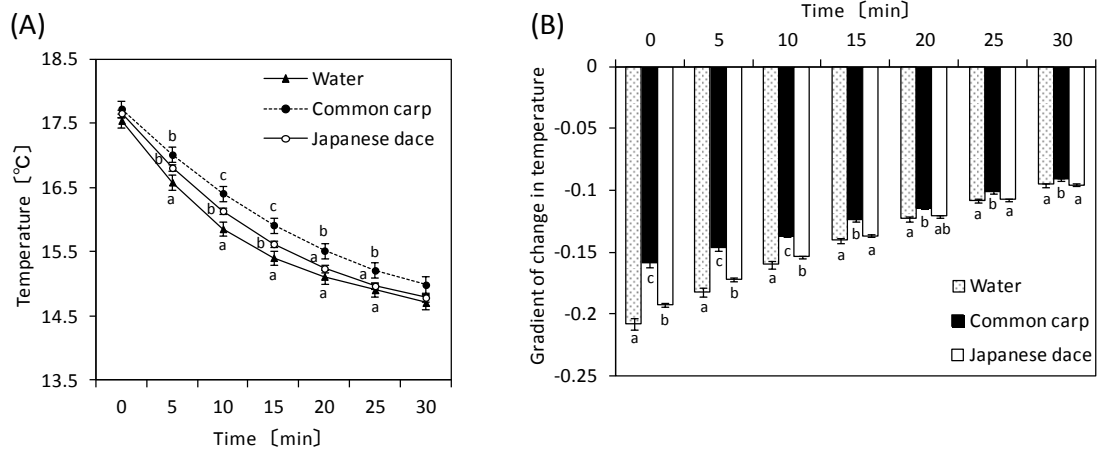


図 43. 実験 3-2 での生魚のコイとウグイの水温低下時の体温変動 (A) および体温変動の傾き (B)。各時間において、有意な差 ( $p < 0.05$ ) を異なるアルファベットで示した。

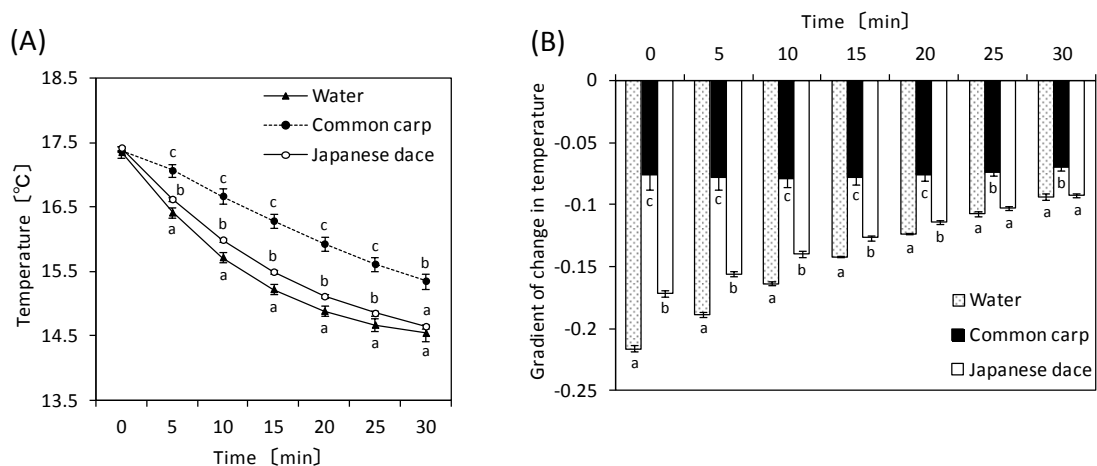


図 44. 実験 3-2 での死魚のコイとウグイの水温低下時の体温変動 (A) および体温変動の傾き (B)。各時間において、有意な差 ( $p < 0.05$ ) を異なるアルファベットで示した。

コイとウナギの比較では、肥満度が大きく異なる両魚種間で生魚時の体温低下に差がなかったことから、体温低下への生理的要因の関与が示唆された。またコイとウグイの比較では、生死に関わらず両魚種間の体温低下に差がみられたことから、物理的要因が体温低下に大きく影響を及ぼしていたと考えられる。

## 2.4 考察

### 体温変動に影響を及ぼす物理的要因

スチールヘッドトラウトとニジマスと比較では、水温低下刺激に対しスチールヘッドトラウトがより大きな体温低下の傾きを示した。この結果は、降河行動の発現に関わる水温

低下刺激に対する感受性、スチールヘッドトラウトでより高いことを示唆している。スチールヘッドトラウトはニジマスに比べ肥満度が小さく、また群内でもより肥満度の小さい個体が多い体温低下の傾きを示す傾向にあったことから、肥満度の差が体温低下の差に関わるのではないかと考えた。タイセイヨウサケや *O. mykiss* を含むタイヘイヨウサケ属の降海型は、銀化変態の進行に伴い河川型よりも肥満度が小さくなることが知られている (Ewing et al., 1994; Sigholt et al., 1998; Beckman et al., 2003; McCormick et al., 2003)。

大きさや体型が大きく異なる 8 魚種 (*O. mykiss* を含む) の体温変動を調べた Spigarelli et al. (1977) は、水温の急低下 (変化幅 8~10°C) 時の体温低下速度は体重と負の相関関係にあると述べている。一方で本研究では、体重に有意差のない同一魚種の異なる表現型間で、肥満度が水温低下時の体温低下に関与すると示唆された。一般に、肥満度の減少は単位体積当たり表面積の増加と同意であり、この値は体表面での物理的な熱交換効率に大きく影響を及ぼすとれされる (Stevens & Fry, 1970; Neil & Stevens, 1974; Spigarelli et al., 1977)。そのため、スチールヘッドトラウトで見られた急激な体温低下は、単位体積当たり表面積に由来する体表面での熱交換率の大きさに起因するのではないかと考えた。

しかしながら、実験魚を麻酔死させた状態で体温変動を比較すると、スチールヘッドトラウトとニジマスの間の水温低下時の体温低下の差はなくなった。この結果から、表現型間の体温低下の差には、上述した肥満度の差に伴う物理的要因 (体表面での熱交換率) 以外に、生きていることによって生じる何らかの生理的要因が関わっていることが明らかとなった。これを踏まえ、体温低下に影響を及ぼす生理的要因を探索した。

### 体温変動に影響を及ぼす生理的要因

サクラマスおよびタイセイヨウサケでは、河川生活期に大きな成長を示し性成熟に達した個体は、降河回遊を行わず河川上流域に留まり河川型となる傾向がある (Thorpe, 1986; Takami et al., 1998; 棟方・三浦, 2009)。またこれらの種では、テストステロンや 11-KA といった性ホルモンがスモルトの降河行動発現を抑制すると報告されている (Berglund et al., 1994; Munakata et al., 2000, 2001)。そこで本研究では、これらの性ホルモンが降河行動発現に関わる水温低下刺激に対する感受性にも影響を及ぼしているのではないかと考え、スチールヘッドトラウトのテストステロン投与魚と未投与魚を用い、水温低下時の体温変動を比較した。しかしながらこの実験では、実験魚の血中テストステロン量が投与魚よりも未投与魚で高いという予想に反する結果が得られ、ホルモン投与の効果に疑問が生じた。そこでまず、なぜこのような結果が得られたかについて考えた。

このような結果の理由には以下の 3 つが考えられた。

- ①実験結果が示すとおり、スチールヘッドトラウトにテストステロンを投与すると血中量が減少する。
- ②ホルモン投与の影響はなく、かつ個体間の血中量のばらつきが大きく、未投与群に血中量が高い (あるいは投与群に血中量が低い) 個体が多く含まれた。

③実験操作のいずれかの段階で、投与群と未投与群の取り違えが生じていた（ホルモン投与は血中量上昇を引き起こす）。

原因究明のため、体温計測に用いたスチールヘッドトラウトと同じ成長段階の魚の血中テストステロン量を調べると、個体間でのばらつきは極めて小さく、血中量は比較的低かった（最大 2.8 ng/ml）。2尾のみ他個体より大幅に高い値を示したが、これらはいずれも排精オスであった。排精オスは外見による区別が容易であり、体温計測に用いた魚の中に排精オスは含まれていなかった。またテストステロン投与の再実験を行うと、投与魚でのみ血中テストステロン量が有意に上昇した。これらの結果から、想定した原因①、②の可能性は低く、おそらく③の実験のいずれかの段階で実験魚の取り違えが生じていたことが、体温計測に用いた魚の血中テストステロン量結果の原因だったと考えられる。具体的には、馴致期間（ホルモン投与期間）には投与群と未投与群を別々の水槽に収容し、投与群にのみテストステロン餌を与えていたが、この段階での魚の入れ違えあるいは餌の与え違え等の操作ミスがあったと推察される。

そこで再現実験（実験 2-2）の結果を踏まえ、体温計測実験（実験 2-1）では血中テストステロン量に即し、高い方を投与群、低い方を未投与群とみなして考察を行うこととする。このように考えると、両群間では肥満度に差はなかったが、テストステロンがスチールヘッドトラウトの体温低下を抑制することを示唆する結果が得られたといえる。

魚類の体温変動に関わる生理的な要素には、鰓での換水や血流の循環などが挙げられ、呼吸に伴う鰓での大きな熱損失によって魚類の外温性が成り立つとされる（Block et al., 1993 ; 塚本, 2002）。鰓での換水の際には、血液と水の間で熱交換が行われ、これにより冷された血液が体組織を低温に保つ。そのためテストステロンは、呼吸速度や、呼吸速度に関わる有酸素力、血流などへの影響を介して、体温低下を抑制していたと推察される。しかしながら本実験と同様の研究例はなく、テストステロンと外温性との関係についても知見がないため、今後は実験結果の再現性を含めテストステロンの影響を精査する必要があるだろう。

ここまでをまとめると、降河行動を引き起こす外部環境因子と考えられた水温低下刺激に対し、スチールヘッドトラウトがニジマスよりも急激な体温低下を示した。その一方で、死んだ状態ではこの差はなくなり、またテストステロンを投与したスチールヘッドトラウトでは未投与魚よりも緩やかな体温低下を示した。これらのことから、降海型では河川型よりも水温低下時の体温低下が急激であり、これには肥満度の差に伴う物理的要因に加え、テストステロンなどの生理的要因が関与していることが明らかとなった。サケ科魚類の降海型は、銀化変態に伴い肥満度が減少し、河川型となる個体よりも血中テストステロン量が低いことから、水温低下刺激に対する感受性が高まっていて、これが降海型のみが川を降るといふ現象の一因になっていると推察される。

### 河川性 3 魚種の体温変動に影響を及ぼす物理的要因と生理的要因

コイとウナギの比較では、生魚では体温低下に差が見られなかったのに対し、死魚ではコイがウナギより緩やかな体温低下を示したことから、生理的要因がコイの体温低下を促進している、あるいはウナギの体温低下を抑制していることが明らかとなった。両魚種で、生魚と死魚の体温低下過程を比べるとコイでその差がより大きいことから、前者が大きな要因となっていたと考えられる。生きてることによって呼吸や血流循環に伴う熱交換が行われ、これらが水温低下時のと体温低下を促進していると考えられる (Block et al., 1993; 塚本, 2002)。特にコイは肥満度が大きいため、死魚での体表面のみでの熱交換は非常に効率が悪く、生理活動に伴う熱交換の影響が顕著に表れたのだと予想される。

またウナギに着目すると、肥満度が極めて小さいにもかかわらず、体温変動はコイと同等であったため、体温低下は肥満度の割に緩やかだったと言えるかもしれない。実験に用いたウナギは生後 1 年に満たないものであり、性成熟はしておらず血中テストステロン量は低値だったと考えられる。そのため、種の違いに伴う循環器構造や体組成の違いが、水温低下時の体温低下に影響していたと考えられる。具体例として、細長い独特の体型であるがゆえに他魚種に比べて鰓での熱交換効率が悪いことが考えられる。ウナギは降河回遊魚であり、河川内で成長したのち海へと降河し産卵場 (西マリアナ海嶺付近とされる) まで海域を回遊する (金子, 2002)。海域での移動距離は約 3000 km に達し、大きな高低差のある海底を進んでいくと考えられている。このような環境下では水深差に伴う水温変動を経験すると考えられ、ウナギの緩やかな体温低下はこのような回遊生態に適応したものなのかもしれない。

コイとウグイの比較では、生死の状態に関わらずウグイがコイよりも急激な体温低下を示した。コイとウグイは同じコイ科魚類であり、循環器構造や体組成は近いと考えられ、Spigarelli et al. (1977) や本章のニジマスとスチールヘッドの比較 (実験 1) で示唆された体重や肥満度の違いが、生きていた状態での体温低下にも大きく影響していたと考えられる。ウグイはコイに比べて回遊性が強く、河川内の広い範囲に分布する。河川内にとどまらずサケ科魚類と同様に通し回遊を行う個体も存在する (オオガイと呼ばれる)。ニジマスとスチールヘッドトラウトの比較でも回遊性の強いスチールヘッドトラウトがより急激な体温低下を示していた。ウグイの回遊行動が水温変動によって調節されるか否かは明らかではないが、サケ科魚類と同様にコイ科魚類でも水温変動に対する感受性が大きいほど回遊性が強くなる傾向にあるのかもしれない。

これらのことから、魚類の体温変動には、物理的要因と生理的要因の双方が関わっており、これらの寄与度は種によって異なると考えられた。体温低下速度、すなわち水温低下に対する感受性の回遊行動への関与は非常に興味深く、サケ科魚類以外の種でも回遊行動において水温が重要な役割を担っているのかもしれない。

### 第3章 バイオテレメトリー手法を用いた遡上行動の調節機構の探索

日本では、タイヘイヨウサケ属のうち特にサクラマス資源増殖に向けた天然繁殖保護に関して、河川内の越夏場所や産卵環境が明らかにされ、その保護・造成が重要とされてきた(田子, 2000; Edo & Suzuki, 2003; 田子ら, 2006)。しかし現在では、護岸工事や堰堤等の河川工作物の施工、これに伴う河川水量の減少などが多くの河川で見られるため、上述の環境の保護に加え、人工的に改変された現代の河川環境下で、遡上魚を越夏場所および産卵場所へ適切に導くための方策も必要と考えられる。このためには、遡上行動の詳細を把握することが重要といえる。

母川へ回帰したサケ科魚類の遡上実態の調査は、これまで死骸確認や産卵床調査といった目視調査により行われてきたが、この手法では遡上時の魚の行動の把握は難しい。一方で近年、北米のサケ科魚類の行動研究を中心にバイオテレメトリーの技術が発展してきた。この手法は、調査個体に装着した発信機からの発信情報をもとに、調査個体の位置・移動経路・行動範囲を長期間モニタリングできることが最大の利点であり、保全管理政策へ寄与する有効な調査方法として注目を集めている(Cooke, 2008)。バイオテレメトリーには超音波と電波を利用した2つのシステムがあり、このうち前者は、河川内に設置した受信機付近を通過した魚のIDと時間を記録できるものであり、長期間にわたり比較的少ない労力で複数個体の行動を定量的に把握できることが利点である(有賀ら, 2009; 林田ら, 2012)。一方の后者は、アンテナにより電波を受信しリアルタイムに魚の位置や遊泳速度を特定できるが、調査個体の移動に合わせた追跡を基本とするため、追跡が長期間・広範囲に及ぶ場合には調査者の負担が大きくなる(米山ら, 1999)。本研究では、超音波システムのバイオテレメトリー手法を用い、遡上行動の追跡調査を行うこととした。

サケ科魚類の祖先は河川型とされ、降海型は河川型が回遊範囲を進化とともに広げていった結果生じた形質と考えられている(Gross, 1987)。そのため、降海型と河川型が同一河川に生息するサクラマスでは、表現型が二極化しているわけではなく、これらの中間の形質、すなわち河川内のみで比較的長い距離を回遊する個体も存在すると考えられる。木曾・小坂(1990)や木曾(1995)は、北日本にてこのような個体の存在を確認しており、退行型スモルト(Regressive smolt)と名付けている。退行型スモルトは、降河回遊を発現するが、降河行動途中で河川中・下流域に留まり、そこで生育したのち産卵のため再び上流域へ遡上するとされる(久保, 1974; Munakata, 2012)。このようなサクラマスの多様な回遊生態は、継続的な変異により生じたものであり、回遊を調節するメカニズムは種内で共通していると考えられることから(木曾, 1995)、本研究ではこのような個体も降海型に含まれると定義した。

バイオテレメトリー手法を用いた行動追跡の多くは、河川工作物等の生態への影響の評価を目的としたものが多く(林田ら, 2012)、遡上行動と外部環境要因の関係を詳細に調べた例はこれまでに少ない。しかしながら、サケ科魚類の時空間的な移動、およびこれを調節する環境要因を解明することは、効果的な資源管理や種の保全において必要不可欠であ

る (Riley et al., 2002)。本研究では、遡上行動に影響を及ぼす外部環境要因の特定を目的とし、超音波テレメトリーシステムを用いたサクラマス<sup>1</sup>の遡上行動追跡を行った。海域での回遊を経た回帰親魚の標本を河川内で得ることは非常に困難であるため、本実験では回遊メカニズムが同一と考えられる退行型スモルトを対象とした。

### 3.1 研究方法

#### 実験 バイオテレメトリー手法を用いたサクラマスの遡上行動追跡実験

調査河川は、宮城県名取川水系広瀬川（河口から遡上上限まで全長 41 km）とした。2010 年 7 月 7～12 日に 5 尾、2011 年 5 月 28 日～8 月 4 日に 15 尾、および 2012 年 6 月 4～11 日に 12 尾のサクラマス（2010 年および 2012 年は全て退行型スモルト、2011 年は回帰親魚と思われる個体が含まれる）を、中流域で釣獲した（図 45、図 46；筆者は 2010 年の実験には加わっていない）。採捕後、ベンゾカイン溶液（50 ppm）を用いて麻酔をかけ、標準体長および体重を計測し、外科手術用メス（#14；株式会社フタバ、東京）を用いて腹部を約 7 mm 切開し、そこから音波発信機（V6L-4L, 180kHz-R64K, 60sec-230day、直径 6.3 mm × 16.5 mm、水中/空気中重量 0.5/1.0 g、；Vemco Inc., Halifax, NS, Canada）を腹腔内へ挿入した。その後、手術口を医療用絹製縫合糸（3 号；株式会社ハシモト、東京）と縫合針（外科強弯弾 3 号；松吉医科器械株式会社、東京）を用いて 1 針縫った。脂鱗を切除した後、円型アクリル水槽（直径 78 cm、水深 60cm）へ収容し、遊泳能力が回復するまで一晩～4 日間順致した。水槽内の水はオーバーフローにより濾過槽（75×50 cm、水深 25 cm）へ排水し、そこから水中ポンプ（Rio+1700；神畑養魚株式会社、兵庫）によって再び水槽内に流入するよう循環させた。また、外部濾過機（パワーボックス 45；コトブキ工業株式会社）とエアレーションを設置するとともに、クーラー（GCX-200；ジェックス株式会社、大阪）を設置し水温を 17～19 °C にした。水の交換は 1 日 8 時間程度、水道水をごく少量ずつ水槽内に加え続けることで行った。順致期間中の給餌は行わなかった。

順致後、発信機を挿入した実験魚を St. R あるいは採捕場所付近に放流した（図 45）。河川流域には受信機（VR2W-180 kHz；Vemco Inc., Halifax, NS, Canada）をワイヤー（径 6 mm）および標識ロープを用いて設置し、放流魚の通過を観測した。設置場所は、2010 年は St. 1、2、4、5、2011 年は St. 4～8、および 2012 年は St. 3～7 とした（表 18、図 45、図 47）。受信機の設置は実験開始前に行ったが、例外として 2011 年は St. 6 へ 8 月 3 日、St. 7 へは 6 月 22 日に行った。また、2010 年は St. 1、2012 年は St. 6 で、受信機の流失を確認した。これを受け 2012 年 8 月 9～13 日のみ St. 5 の受信機を St. 6 へ移築した。受信機の設置は、2010 年は 12 月 2 日、2011 年は 12 月 15 日、および 2012 年は 12 月 16 日まで続した。

実験期間中は外部環境因子（気圧、降水量、水位、水温）の観測を行った。気圧および降水量は気象庁が Web ページ上で公開している仙台および新川観測所のデータを用い、水位は国土交通省が Web ページ上で公開している落合観測所のデータを用いた。水温は、2011

年および2012年のみ、水温計ロガー（2011年—TB132-05+37 Stow away TidbiT Temp Logger；Onset Computer Corporation, Pocasset, MA, USA、2012年—サーモクロンSLタイプ；株式会社KNラボラトリーズ、大阪）を受信機へ併設し、1時間間隔で観測した。

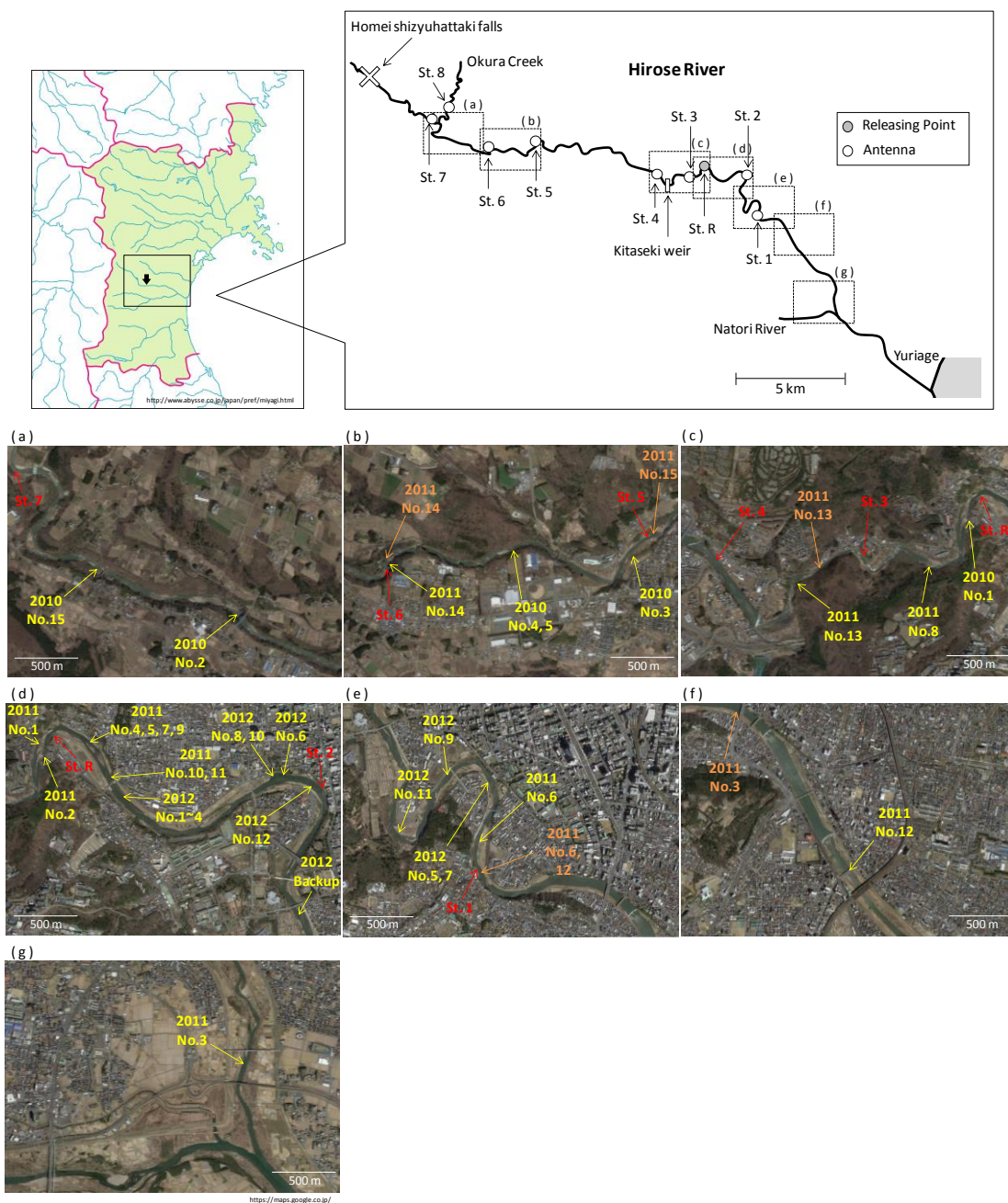
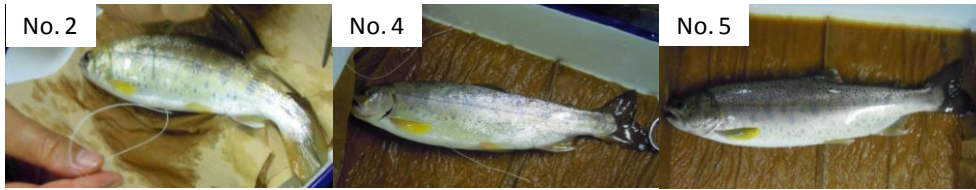


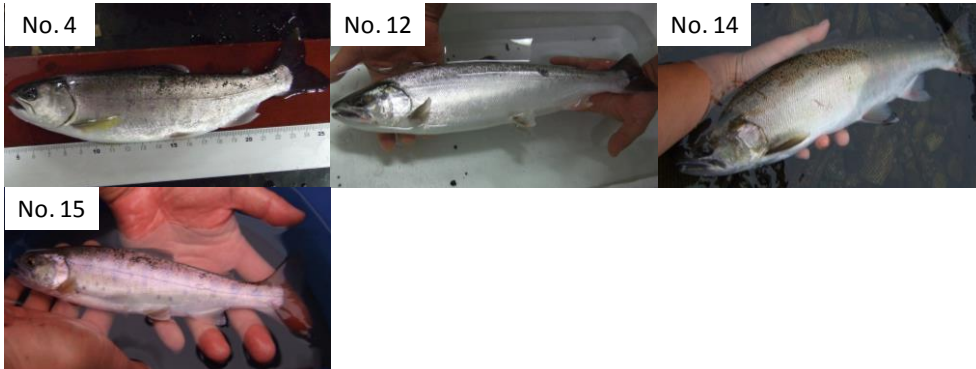
図 45. サクラマス追跡実験での実験魚の採捕場所（黄色）、放流場所（橙色）、および受信機の設置場所（赤色）。航空写真は、右上の白地図上の破線で囲んだ部分を示す。放流場所の表示がない個体（2010年 No. 1～5、2011年 No. 1、2、4、7～11、2012年 No. 1～12）は St. R に放流した。



2010年



2011年



2012年

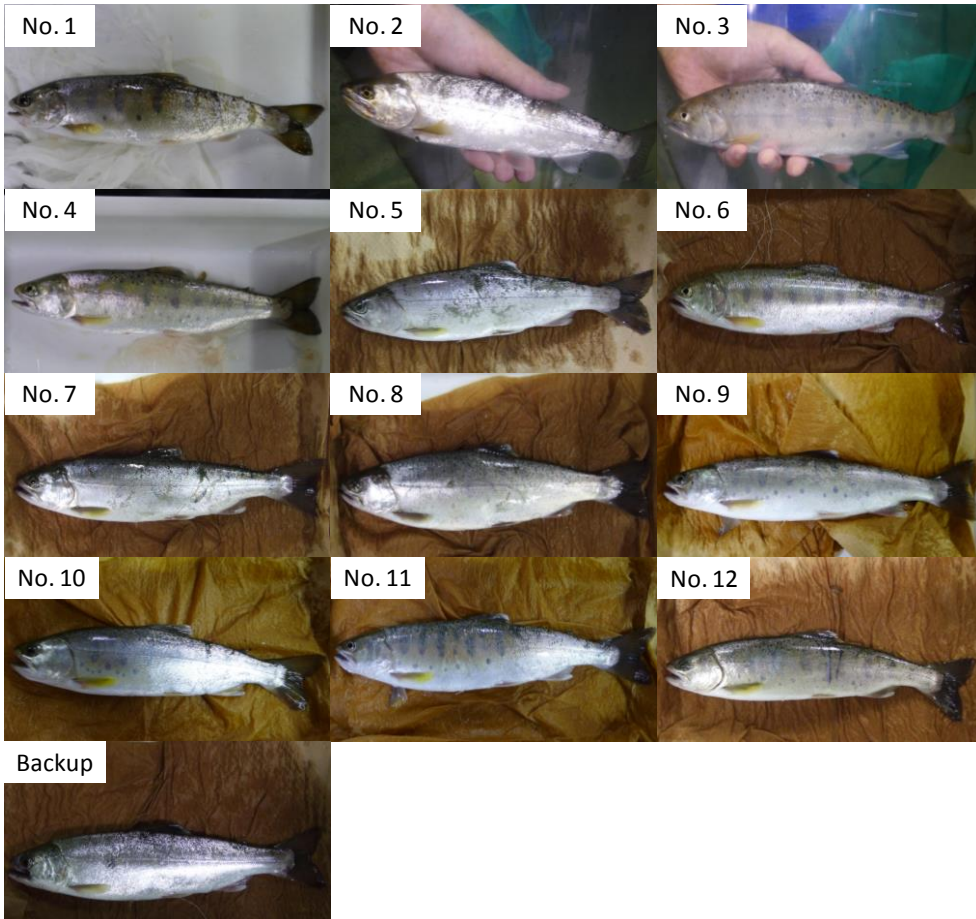


図 46. サクラマス追跡実験に用いた実験魚の外見。魚体撮影ができたもののみ示した。

表 18. サクラマス追跡実験での受信機設置場所 (St. 1~8) および放流場所 (St. R) の地名、河口からの距離、およびこれらの地点間の距離。

St.	地名	河口からの距離 (km)	St.間の距離 (km)
St. 1	壺屋	12.9	3.7
St. 2	澱	16.6	
St. R	牛越	19.1	2.5
St. 3	八幡	20.6	1.5
St. 4	折立	22.3	1.7
St. 5	鳴合	29.8	7.5
St. 6	柿崎	32.2	2.4
St. 7	熊ヶ根	36.1	3.9
St. 8	大倉川	37.3	5.1 (St. 6からの距離)

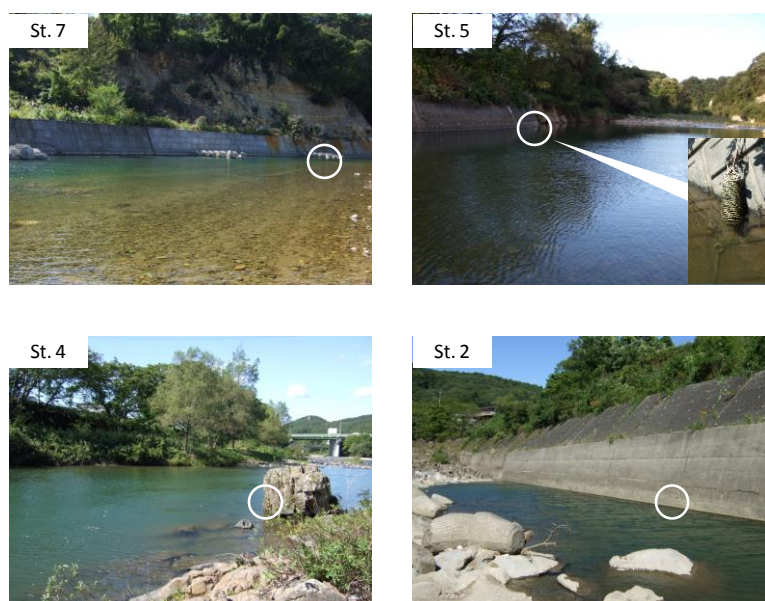


図 47. サクラマスの追跡実験での主な受信機設置場所の環境。丸印 (O) で示した部分の水中に受信機を設置した。

## 3.2 結果

### 実験 バイオテレメトリー手法を用いたサクラマスの遡上行動追跡実験

2010年は5尾中3尾、2011年は15尾中10尾、および2012年は12尾中7尾の放流魚からデータが得られた(表19)。これらの魚はいずれも、各自の放流場所よりも上流側の受信機のみで受信され、下流側の受信機では受信されなかった。2つ以上の受信機で受信された魚はいずれも、より下流側の受信機の通過日時の方が早かった。3シーズンに渡る実験で、5尾が広瀬川の最上流域のSt. 7まで到達し、4尾が主な放流場所のSt. Rから10.7 km上流のSt. 5まで到達し、また10尾が魚道設置してある北堰堰堤から200 m上流のSt. 3まで到達した。受信された魚の最大移動距離は17.0 km(4尾)、平均移動距離は $7.9 \pm 1.4$  km (mean $\pm$ SEM)であった。

受信機設置場所での滞在時間は、大半の個体で1~38分間と短時間だったが、例外として2011年No. 2はSt. 5に約2時間、2012年No. 1はSt. 3に約6時間、2012年No. 2はSt. 7に約33時間滞在した。また、2011年No. 14および15は受信機設置地点に放流したため(No. 14はSt. 6、No. 15はSt. 5)、それぞれの放流場所で約19時間および約14時間留まっていた。加えて2011年No. 14は、約3週間の期間をはさんで二度St. 7で受信された(表19)。

実験魚の移動の多くは放流直後から8月上旬までの間に見られ、また夜間よりも日中の時間帯に多い傾向があった。個体ごとに見ると、放流後1週間足らずで上流まで移動する魚と、放流後2週間以上下流側に滞在した後に上流へ移動する魚(2011年No. 7、9、13、14、2012年No. 2、7、8、10)に2分された(図48)。後者が受信された日時は、降雨やそれに伴う河川水位変動後(2011年No. 7、9、14、2012年No. 8)、水温が24~25°Cを上回るようになった直後(2011年No. 7、9、2012年No. 7、10)、および満月時(2011年No. 7、9、2012年No. 2、7、10)のいずれかと重なっていた。

これらの結果から、本実験では一部の放流魚の遡上行動が追跡できたといえる。遡上距離は個体ごとに大きく異なったが、追跡ができた個体は全魚がSt. 3より上流まで遡上していた。また、遡上行動に関わる外部環境要因には、降雨やそれに伴う河川水位の変動、季節的な水温上昇、および月齢(満月)が考えられた。

表 19. サクラマスの追跡実験に用いた実験魚の採捕日時、標準体長 (BL)、体重 (BW)、肥満度 (CF)、放流場所・日時、および放流後の各受信機設置場所の通過日時。St. R へ放流した個体以外の放流場所には、最も近い受信機設置地点を記した。1 時間 30 分以上にわたり継続して受信されていた場合は、下線で示すとともに最初に受信された時間を記した。-は通過データがないことを示し、N/A は受信機を設置していないことを示す。夜間 (19:00~翌 4:30) の通過は線で囲んだ。

ID	Capturing Time	Body size			Releasing Poi nt	Time	Time of passing of receiver				
		BL (cm)	BW (g)	CF (%)			St. 3 (Hachiman)	St. 4 (Oritate)	St. 5 (Naruai)	St. 6 (Kakizaki)	St. 7 (Kumagane)
2010											
1	18:30 Jul.7	18.8	101	1.52	R	16:00 Jul. 8	N/A	-	-	N/A	N/A
2	6:00 Jul.9	19.2	113	1.60	R	16:00 Jul.10	N/A	-	-	N/A	N/A
3	8:00 Jul.11	24.8	247	1.62	R	16:00 Jul.11	N/A	19:25 Jul.14	-	N/A	N/A
4	6:30 Jul.12	20.4	130	1.53	R	16:00 Jul.13	N/A	5:10 Jul.20	13:05 Jul.21	N/A	N/A
5	7:00 Jul.12	25.5	235	1.42	R	16:00 Jul.13	N/A	13:05 Jul.14	-	N/A	N/A
2011											
1	18:00 May24	20.0	131	1.63	R	17:00 Jun.1	N/A	-	-	-	-
2	17:30 May29	18.5	107	1.68	R	17:00 Jun.1	N/A	13:21 Jun.6	15:46 Jun.8	-	-
3	9:00 Jun.1	28.7	356	1.51	1	17:40 Jun.1	N/A	-	-	-	-
4	18:00 Jun.2	19.8	102	1.32	R	10:30 Jun.4	N/A	18:05 Jun.5	-	-	-
5	18:30 Jun.2	18.8	101	1.52	R	10:30 Jun.4	N/A	-	-	-	-
6	18:30 Jun.1	20.0	132	1.65	1	11:30 Jun.4	N/A	20:17 Jun.8	15:59 Jun.10	-	-
7	18:00 Jun.4	17.5	81	1.52	R	11:00 Jun.7	N/A	18:10 Jul.14	8:06 Jul.16	-	13:28 Jul.28
8	18:30 Jun.6	19.5	102	1.37	R	17:00 Jun.8	N/A	-	-	-	-
9	16:00 Jun.7	19.8	115	1.49	R	17:30 Jun.9	N/A	-	-	-	21:20 Jul.13
10	18:00 Jun.9	19.0	124	1.80	R	9:00 Jun.10	N/A	7:25 Jun.16	-	-	-
11	18:30 Jun.9	21.5	144	1.45	R	9:00 Jun.10	N/A	7:28 Jun.14	12:33 Jun.15	-	-
12	18:30 Jun.9	37.4	760	1.45	1	9:00 Jun.10	N/A	-	-	-	-
13	18:45 Jul.8	30.0	435	1.61	3	7:00 Jul.9	N/A	11:16 Jul.28	-	-	-
14	7:30 Aug.3	>40	>1000	-	6	11:30 Aug.3	N/A	-	-	4:57 Aug.7	10:15 Sep.23 12:41 Oct.15
15	18:30 Aug.4	19.8	-	-	5	19:20 Aug.4	N/A	-	19:20 Aug.4	-	-
2012											
1	17:00 Jun.4	23.2	215	1.72	R	13:40 Jun.6	22:30 Jun.6	14:59 Jun.7	-	-	-
2	17:00 Jun.4	21.6	140	1.39	R	13:40 Jun.6	6:06 Jun.28	13:20 Jun.28	4:27 Jun.30	-	5:21 Jul.6
3	18:40 Jun.5	19.5	105	1.42	R	13:40 Jun.6	-	-	-	-	-

ID	Capturing	Body size			Releasing	Time of passing of receiver					
	Time	BL	BW	CF	Poi	Time	St. 3	St. 4	St. 5	St. 6	St. 7
		(cm)	(g)	(%)	nt		(Hachiman)	(Oritate)	(Naruai)	(Kakizaki)	(Kumagane)
4	18:00 Jun.5	22.0	160	1.50	R	13:40 Jun.6	11:31 Jun.7	13:03 Jun.11	-	-	-
5	18:00 Jun.7	21.7	150	1.47	R	10:30 Jun.8	-	-	-	-	-
6	16:00 Jun.6	19.8	110	1.42	R	17:00 Jun.7	-	-	-	-	-
7	18:00 Jun.7	24.0	195	1.41	R	10:30 Jun.8	17:45 Jun.8	22:58 Jun.8	4:30 Aug.1	-	5:15 Aug.2
8	17:00 Jun.7	23.9	234	1.71	R	10:30 Jun.8	7:43 Jun.23	6:10 Jun.24	-	-	-
9	7:00 Jun.8	23.2	170	1.36	R	17:30 Jun.8	-	-	-	-	-
10	7:00 Jun.8	20.2	125	1.52	R	17:30 Jun.8	13:05 Aug.3	21:22 Aug.3	-	-	-
11	7:00 Jun.8	21.2	140	1.47	R	17:30 Jun.8	-	-	-	-	-
12	17:30 Jun.11	22.2	140	1.28	R	11:00 Jun.13	18:10 Jun.17	15:19 Jun.18	-	-	-
Backup	17:00 Jun.6	21.4	125	1.28	-	-	-	-	-	-	-

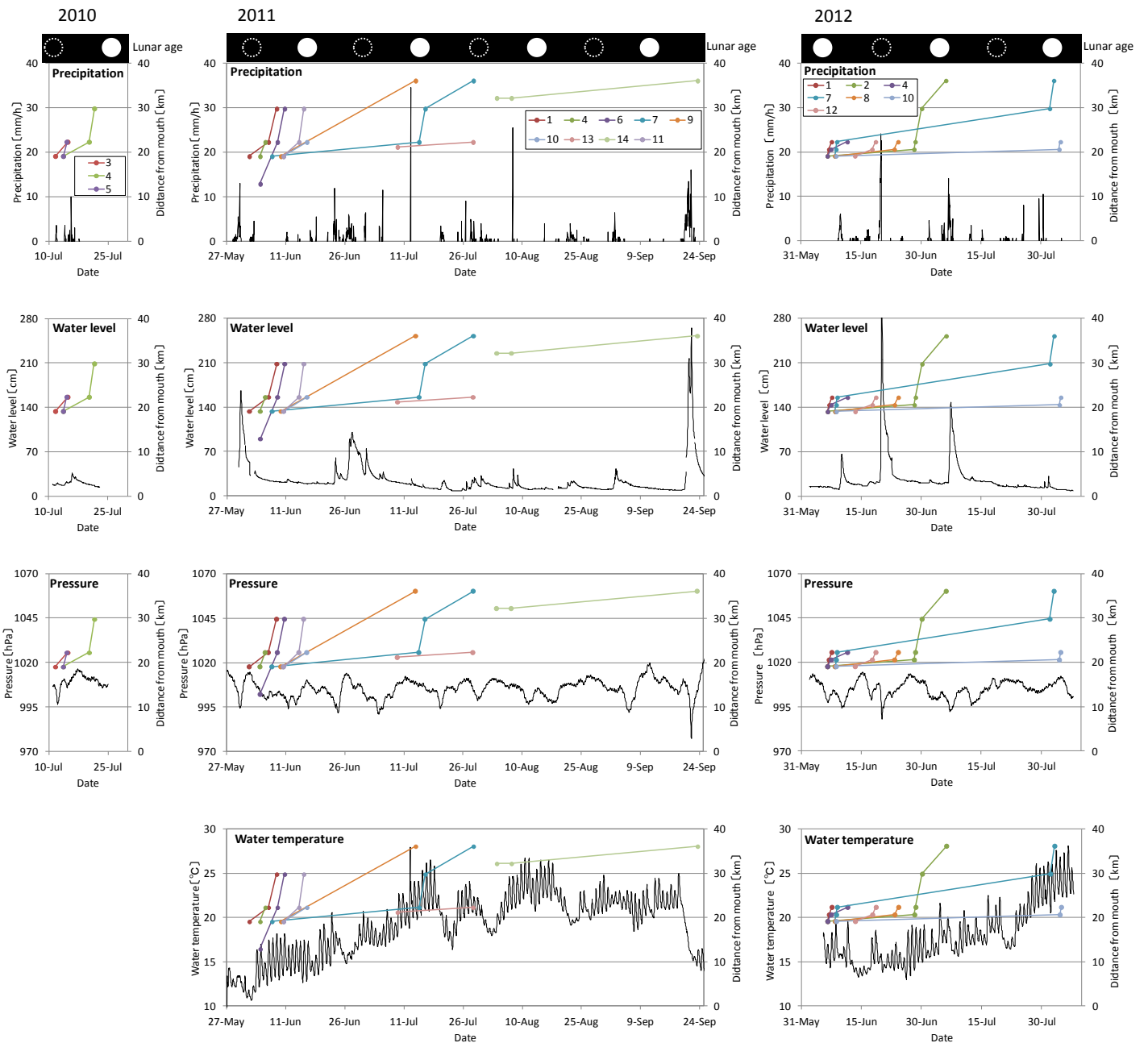


図 48. サクラマス の 追 跡 実 験 で の 実 験 魚 の 放 流 後 の 河 川 遡 上 の 過 程 と 、 月 齢 、 降 水 量 ( 新 川 観 測 所 ) 、 河 川 水 位 ( 落 合 観 測 所 ) 、 気 圧 ( 仙 台 観 測 所 ) 、 お よ び 河 川 水 温 ( St. 4 ) の 関 係 。 各 プ ロ ッ ト が 実 験 魚 が 受 信 機 を 通 過 し た 日 時 お よ び 受 信 機 の 河 口 か ら の 距 離 ( 第 2 軸 ) を 表 す 。

### 3.3 考察

#### サクラマスの上行動

本実験で追跡ができた個体は全体の約 60%だった。超音波バイオテレメトリーのシステム上、受信機で受信されなかった残り 40%弱の個体の詳細は不明である。しかし、放流場所よりも下流側の受信機で受信された例はなく、また追跡できた個体のうち、受信機での受信漏れがあったと考えられた魚は 1 例のみ (2011 年 No.9) であった。2012 年の実験では、放流場所の St. R から 1.5 km 上流の St. 3 を通過した個体は、その後すべて北堰堰堤を挟んでさらに上流側にある St. 4 をも通過していた。これらから状況証拠から受信されなかった魚は、終生を放流場所近辺で過ごしたか、発信機挿入に伴う負荷により死亡したあるいは遡上できなかったかのいずれかだったと推察される。追跡できなかった理由が前者だった場合には、サクラマスの河川内での回遊生態、産卵生態は極めて多様性に富んでいることが考えられる。一方で後者だった場合は、実験から得られた結果の解釈がやや複雑になる。すなわち、発信機挿入による負荷が非常に大きかったと考えられることから、追跡ができた個体にも大きな負荷がかかっていたことが予想され、実験で得られたデータは実験魚の正常な行動を反映したものではなかった可能性が生じる。発信機の挿入がなければより上流まで遡上可能だった、遡上途中で息絶えてしまった、などのことが起こっていたかもしれない。そのため、追跡データには魚の行動を過小評価している可能性が含まれることを考慮する必要がある。

実験魚は主に 6~8 月上旬にかけて遡上行動を行っていた。本種の降海型回帰親魚の河川遡上期は、2~9 月と長期にわたり、産卵期は 9~11 月とされる (佐野、1964 ; 久保、1980 ; 木曾、1995)。また遡上行動は、河川進入した後の越夏場所までの遡上と、越夏場所から産卵域までの遡上との 2 つから成るとされ (宮腰ら、2009)、後者は産卵期の直前に見られる傾向にある (真山、1992)。そのため、本実験で確認された遡上行動の大半は越夏場所へ向けたものだったと考えられる。一般的な河川では、上流域へ行くほど瀬淵構造や植物被覆といった越夏場所に適する環境が見られるが (田子、2000)、受信されなかった個体が意図的に遡上を行っていなかった場合には、放流場所付近の河川中流域でもサクラマスが越夏および産卵できる環境があったと考えられる。

また例外的に、2011 年 No. 14 は他個体よりも遅い 9 月下旬に St. 7 を通過していた。この魚の採捕・放流時期は 8 月上旬、場所は上流域の St. 6 であり、田子 (2000) が示す越夏場所に必要環境を満たす場所であった。そのため、本魚の遡上は越夏場所から産卵場所へ向けて行われたものだったと推察される。加えて本魚は、3 週間の期間をはさんで二度 St. 7 で受信された。宮腰ら (2009) や林田ら (2011) は、サクラマスが越夏場所から産卵場所に向かう際には、遡上行動のみでなく下流方向への移動も示すと報告しており、Shardlow et al. (1986) や Miyakoshi et al. (2003) は産卵期後特にオス個体は河川を降河する傾向があることを示している。二度目の受信はこれらのうちのいずれかを反映していたと考えられる。

実験魚の最終通過地点は複数の受信機に分散していたことから、広瀬川におけるサクラマスの産卵域は河川上流域のみに限らず St. 4～最上流部という広い範囲におよぶ、あるいは上流の越夏場所および産卵域へ向けた遡上途中に息絶えてしまった実験魚が多かったことが推察される。また、実験に用いた退行型スマルトは遡上行動を示す以前の 0+年魚の秋から 1+年魚の春にかけて、降海型スマルトと同様に孵化場所から下流へと降河行動を行う（久保、1974；木曾、1995）。冬期から実験魚の採捕を開始した 5—6 月までの期間は、主な採捕・放流場所とした St. R 付近ではサクラマスの幼魚がほとんど採捕できないことから、退行型スマルトの降河行動は St. R よりさらに下流まで行われていると考えられる。そのため、サクラマスの退行型スマルトは実験データが示した以上に長い距離を往来する河川内回遊を行っていた可能性が高いといえる。

### 遡上行動発現に関わる外部環境因子

サクラマスやシロサケ、カラフトマスの回帰親魚の遡上行動は、これまで経験則や現地調査から、降雨、流量、濁度、および照度などが増加した際に多く見られると言われてきた（Banks, 1968；真山・高橋、1977；真山、2002；Edo & Suzuki, 2003）。特に降雨は、濁度の増加や河川水位、流量の増加を引き起こすことから重要な要因と考えられる。本実験での各個体の遡上過程から、放流後数日以内に直ちに遡上を開始した個体以外に、放流場所付近に一定期間（2 週間以上）滞在したのち、ある時期に長距離の遡上を発現する個体がみられ、これら後者では何らかの刺激によって遡上行動発現のスイッチが入っていた可能性が考えられた。このような遡上は、①降雨による河川水位変動後、②水温の上昇（25℃付近）、③満月時といったタイミングのいずれかと重なっていた。

①降雨・河川水位に関しては、これまでの知見と非常に近い結果だが、水位の上昇期やピーク時よりも平水へと収束する段階で遡上を行う魚が多かった。Banks（1968）は流量の増加によって遡上のスイッチが入ると述べており、真山・高橋（1977）はシロザケの遡上親魚において降雨による河川水位の増減が遡上行動発現に関わると報告している。近年では河川流量を人工的に増やすことで親魚の遡上促進が確認された例も見られる（林田ら、2012；松本ら、2012）。しかし、魚の遊泳能力は体サイズに比例する傾向にあり、退行型スマルトはより大きな降海型回帰親魚に比べ早い流速下での遡上が困難になると考えられる。サクラマスの回帰親魚と考えられる大型の個体（2011 年 No. 14）では、実際に St. 7 を通過した際の水位は他の実験魚に比べ高かった（58 cm）。また発信機挿入に伴う負荷により、遊泳能力が低下していた可能性も考えられる。そのため本実験に用いた退行型スマルトでは、水位上昇によって遡上のスイッチが入るが水位のピーク時には流速が大きいために遡上できず、平水時の状態に近づき遡上可能な状態となってから遡上を開始していたことが、水位ピークと受信機通過との時間差につながっていたと考えられる。

②水温に関しては、サクラマスは、18—20℃を超えると食欲の低下を引き起こす一方（真山、1992；Inoue et al., 1997）、エネルギー消費は激しくなるため（Hasler et al., 2012）、



水温環境は不適とされる（鷹見・佐藤, 1998）。また生息限界は 25—26 °C とされ、この状況下では 1 週間と生存できないと言われる（Brett, 1952；鷹見・佐藤, 1998）。夏期には St. R 付近の水温はより上流の St. 4 に比べ最大で約 2°C 高くなることが報告されている（棟方・大浪, 2006）。さらに、河川上流域は大きな瀬淵構造や植物被覆に富みサクラマス of 越夏環境が揃っている一方（田子, 2000；Edo & Suzuki, 2003；田子ら, 2006；宮内ら, 2011）、St. R 付近は北堰堰堤での取水に伴う減水区間に該当し越夏環境に貧しいと考えられる（棟方・大浪, 2006）。そのため、水温が 24~25°C を上回るようになった直後に遡上を行った個体は、水温が生息限界に達したことをきっかけとし、これから逃れるように越夏場所を求めて遡上を発現したのではないかと考えられる。

③の満月時に関しては、月齢に伴う潮汐力の変動、あるいは夜間照度の増加が関係することを間接的に示唆すると考えられる。サケ科魚類は、月齢に伴う潮汐力による海水面変動を 1 つのきっかけとして河川進入を開始すると言われるが（Quin, 1990）、調査地の河川水位変動と月齢の間には相関はなく、調査区域に及ぶ潮汐力の影響はほとんどないと考えられる。本実験でみられた遡上は、満月時にのみ対応し新月との関係性は低かったことから、潮汐力そのものが関与している可能性は低いと考えられる。これに対して、夜間照度の増加は満月時のみにみられる現象である。実験魚の受信機設置場所の通過は夜間よりも日中に多い傾向にあり、サクラマスの遡上親魚では同様の昼行性の傾向が多く報告されている（Banks, 1969；米山ら, 1999；小池, 2000；宮内ら, 2011）。真山（2002）は、遡上親魚は早い流れの中で障害物を視覚で認識しながら遡上を行うために、他の外部環境刺激がなければ夜間より日中に遡上行動が活発化すると述べている。本実験で見られた遡上行動は、比較的短期間で長い距離を移動するものが多かったことから、夜間でもある程度の照度が見込め遡上しやすくなる満月時が遡上行動発現に適していたのかもしれない。本実験から得られたデータのうち、夜間の受信機設置場所の通過は満月時に多く、この結果も上述の仮説を支持していると考えられる。満月時の河川進入や遡上行動発現に関する報告は僅少であり（Kuparinen, 2009）、今後は再現性を含めて調べていく必要があるだろう。

また、放流後早期に遡上を開始した個体は、採捕以前の段階ですでに遡上のスイッチが入っていた遡上途中の個体だったと考えられ、遡上行動発現のタイミングは個体ごとに多岐にわたると予想される。サクラマスやタイセイヨウサケでは、テストステロンや 11-KA などの性成熟に伴い上昇する性ホルモンが遡上行動に関与するとの報告もあることから（Munakata et al., 2001、Munakata & Kobayashi, 2010）、性成熟の進行具合が遡上行動発現の個体差に関与しているのかもしれない。そのため、サクラマスの遡上行動発現は単一の刺激に依存しているわけではなく、多くの外部環境要因の変動と内的要因が複雑に関わり合って生じることが考えられる。なお水温上昇に限っては生理的なストレスを伴うことから、性成熟の進行度に関わらず魚を上流へと遡上させる強い刺激になっていると考えられる。

遡上行動に関しては野外観測しか行っておらず、そこから得られたデータ間の相関関係のみから調節機構を推察するにとどまった。野外では種々の環境要因の変動の重複が多く見られ、実際にどの要因が真に影響を及ぼしていたかに言及することは難しかった。遡上行動の調節機構の詳細を明らかにするためには、本実験で抽出された種々の環境要因が、実際に遡上行動を引き起こすか否かを検証する再現実験を行っていく必要があるだろう。



## 第4章 総合考察

### 4.1 タイヘイヨウサケ属の降河および遡上行動の調節機構

タイヘイヨウサケ属のうち、河川への依存度が比較的高く系統的に起源に近いグループに属するサクラマスでは、コルチゾルが降河行動の発現因子と報告されている (Munakata et al., 2007)。第1章で行ったサクラマスの野外採集調査の結果から、スモルトの血中コルチゾル量は水温の低下時、低気圧時、および降雨等の気象状況時に高い値を示すと示唆された。この結果を踏まえ、特に水温低下に着目した検証実験 (第1章実験1~3) を行うと、サクラマスのほか、北米産でサクラマスの近縁種のスチールヘッドトラウトおよびギンザケでも、水温低下刺激に伴い血中コルチゾル量上昇や降河行動発現がみられることが明らかとなった。これらの結果から、水温低下刺激に伴うコルチゾル上昇が引き金となって降河行動が引き起こされるという調節機構が内在することが示唆された。また降河回遊期には、スモルトで血中サイロキシン量も上昇することが確認され、ホルモン投与魚を用いた検証実験 (第1章実験3) からはサイロキシンが降河行動の発現に関与することが示唆されたが、詳細な機構の解明にまでは至らなかった。

これまで、降河行動の発現には様々な環境要因が関与すると示されてきたが (Iwata, 1995 ; McCormick et al., 1998 ; Munakata, 2012)、本研究では魚にとって最も普遍的な刺激ともいえる水温変動 (水温低下) の関与を示すことができた (黒木, 1967)。河川水温の変動幅は一般に冬期で小さく、降河行動が見られる秋 (越冬回遊) や春 (降河回遊) には大きい傾向がある (棟方・大浪, 2006)。サクラマスの最適水温範囲は 8~11 °Cとされており (日本水産資源保護協会, 1983)、春や秋にはこの範囲よりも水温が低いことから、低水温下での水温低下という最適水温を大きく逸脱する刺激が生じると考えられ、これがコルチゾル上昇を引き起こすストレスとなり降河行動を引き起こすと推察される。また、このような降河行動の調節機構は、種や分布域が異なっても、冒頭で述べたグループ内で共通していることが考えられた。

第2章実験1および2からは、降河行動の発現が降海型のみでみられるのは、降海型の水温低下刺激に対する感受性 (体温の低下しやすさ) が高いためであり、これには銀化変態に伴う肥満度の減少や、未成熟であるがゆえの低い血中テストステロン量が関わっていると考えられた。第1章で行った野外採集調査や検証実験では、河川型と降海型 (スモルト) 間の差以外に、スモルトの中でも水温低下に対する感受性にばらつきがみられた。このようなスモルト内の個体差にも、肥満度などの要因が関わっている可能性が考えられる。

第3章では、遡上行動に関して、宮城県広瀬川におけるサクラマス退行型スモルト (降海型に含まれる) の行動様式を示すことができた。遡上行動の発現には、河川水位の変動、水温上昇 (24~25°C)、および満月といった環境要因が関わりと考えられた。本研究では、これらの要因が実際に行動発現を引き起こすか否かの検証実験には至っていないため、これは今後の課題とする。上記3つの要因は遡上発現に至るまでのプロセスが多少異なり、二分できると考えられる。すなわち、河川水位の変動と満月は遡上に好適な環境条件と考

えられる一方で、水温上昇は魚に対する生理的ストレスと考えられ、これからの逃避が結果的に遡上行動の発現につながっていたのではないかと推察される。これは水温低下刺激に対する降河行動の発現機構と共通性がみられる。

シロサケやサクラマスは降河型は、河川を降河した後に海域でも回遊を行うが、海域では夏期にはオホーツク海やベーリング海へと北上して索餌を行い、冬期には日本近海や北西太平洋、あるいはアラスカ湾へ南下して越冬するという南北間の移動（索餌回遊）を行っていることが明らかにされている（浦和、2000；真山、2005）。森田（2011）は、この行動により生息域の水温が四季を通して一定の範囲内で安定すると述べている。本属の回遊行動の調節機構には、種々の外的・内的要因が複雑に関わり合いながら影響を及ぼしていると考えられるが、その一つには水温という魚にとって不偏的な刺激が挙げられ、自身の適水温と環境水温との差に応じた行動的体温調節によって回遊の方向や回遊時期が決められているのかもしれない。

## 4.2 タイヘイヨウサケ属の回遊行動調節機構を踏まえた資源増殖へのアプローチ 降河回遊の調節機構から

サクラマス資源の早期回復・安定化のためにはスマルト放流が効果的とされ（真山、2008）、技術改善に向けた試みが行われている。スマルト種苗の生産では、成長量をコントロールする方法が確立しつつある。放流適期に関しては、放流後の海域での回遊の正常化という視点から沿岸海水温を参考に決められていたが、これに加え、近年では気象条件や河川の増水を考慮すべきといった意見もある（河村、2012）。放流した種苗は後に河川を降っていくが、捕食者による減耗があることを考慮すると（Kawamura et al., 2000）、放流種苗の降河行動は集団で速やかに行われることが望ましい。1970年代に見られた日本産シロザケの回帰率の向上は放流時期の適正化など放流時の技術改善がその主要因と考えられていることから（永田・山本、2004；真山、2008）、放流技術の向上はサクラマスのスマルト放流においても非常に重要だろう。特にサクラマスでは、放流時期を誤れば放流種苗が降河行動を発現せず、河川内に留まることも考えられる。

スマルト化や降河行動発現に関わるコルチゾルやサイロキシンの血中量をモニターし、このような生理的情報をもとに放流時期を定めれば、良好な成果が得られるのかもしれないが、この方法は現実的でない。本研究では、サクラマスをはじめとするタイヘイヨウサケ属のスマルトは、水温低下刺激に対する感受性が高い傾向にあり、この刺激に伴う血中コルチゾル量上昇をきっかけに降河行動を発現することが示唆された。この結果は、放流種苗の降河行動を同調させるには水温環境に留意することが必要であることを示している。

具体策として、河川水温を観測し、それよりも数℃高い水温で飼育あるいは放流場所への輸送を行うことで、放流と同時に種苗を水温低下刺激にさらすことが可能と考えられる。放流する日時に関しては、降雨やそれに伴う雪融けの流入時とすることで水温低下刺激が強まると考えられる。また1日の中で河川水温がピークに達するのは14:00~16:00頃であ

り、それ以降から翌日の夜明けまでは水温は低下を示す（棟方・大浪、2006）。そのため、水温ピーク以降の時間帯に放流を行うことで、より長い時間水温低下刺激が魚体に加わり、降河行動の同調・促進が起こると考えられる。これまでの知見からも、スモルトの降河行動は夜間にかけて活発化することが知られており（Hoar, 1951 ; Solomon, 1981 ; 岩田・小島、2006）、河口に集まる海鳥類からの捕食圧を避けるという観点からも夕方から日没にかけての時間帯がもっとも適していると判断される（Kawamura et al., 2000）。

しかしながら本研究では、スモルトでは水温低下刺激に対する感受性に個体差があることも示唆された。そのため、ここまで述べた処理を行ったとしても、降河行動を発現しない種苗が存在する可能性がある。スモルトの感受性の個体差の詳細を明らかにすることが、スモルト放流の技術向上に向けた次の課題だと考えられる。

### 遡上回遊の調節機構から

シロザケの孵化放流事業では、河川で捕獲した遡上親魚から直ちに採卵を行って受精させ、半年後には孵化仔魚を無給餌放流する。また、現在本種では漁獲量の約半数が孵化場魚により支えられていると考えられる（永田・山本、2004）。河川生活期の長いサクラマスは孵化放流の場合には、シロザケと異なり、幼魚の飼育や遡上親魚の蓄養、池産魚の飼育等が必要となり大きなコストを要する。そのため、サクラマスでは資源量が回復した後も資源量維持を孵化放流事業のみに依存していくことは、現実的には難しいと考えられる。サケ科魚類の主要生産国の北米やロシアでは、日本のような「増殖＝放流」という考え方はなく、人工孵化放流は天然再生産を補完する手段と見なされている（真山、2008）。サクラマスの天然繁殖保護の重要性は日本でも古くから提唱されており（佐野、1964）、これを孵化放流と併用していくことが今後は必要と考えられる。また適応度といった観点からも、河川環境が不安定な場合には河川型の適応度が高まることが考えられる（松田、2004）。降海型の資源量を維持していくためには、河川環境を適正に保つことが必要と考えられる。

本研究では、サクラマス退行型スモルトの行動追跡から、遡上行動の発現は河川水位の変動、25℃を上回る水温上昇、および満月時といったタイミングでみられることが示唆された。このうち特に河川水位（流量）の変動に関しては、遡上行動にとって重要な環境要因だと述べている研究例が多い（Banks, 1968 ; 真山・高橋、1977 ; 真山、2002）。北海道の後志利別川では、ダム放水を施す流量管理によりサクラマス回帰親魚の遡上が増加したことが報告されている（林田ら、2012 ; 松本ら、2012）。このような流量管理手法は弾力的管理と呼ばれている（Young et al., 2011）。本実験で用いた退行型スモルトよりも大型な降海型回帰親魚では、より遡上時に水位の影響を受けることも考えられる。そのため、河川工作物の設置や河川流量の減少によって遡上が困難となっている環境下で、親魚を上流の越夏場所や産卵域まで導くためには、上述のような弾力的管理によって河川水量を管理することが効果的と考えられる。遡上時期は河川ごと、あるいは個体ごとに異なる予想されるが、遡上行動を同調させより効率的に発現させるという意味では満月時に合わせて、

また高水温による生存への影響を避けるという意味では、サクラマスの場合には河川水温が生息限界の 25 °Cを上回るような場合に、人為的に河川水位の上昇刺激を与えることが望ましいと考えられる。

## 謝辞

博士課程での指導教官であった横浜国立大学環境情報研究院の松田裕之教授には、本研究が私自身の持ち込みのテーマであったにもかかわらず、快く受け入れてくださり、研究を進めるにあたっては温かいご指導と先を見据えた多くのご助言を賜りました。

修士課程までの指導教官であった宮城教育大学教育学部の棟方有宗准教授には、博士研究においても引き続き研究計画の立案や実験手法の手ほどきを賜りました。

岩手県気仙川での野外採集調査では、気仙川漁業協同組合の故佐々木正一理事に便宜をはかっていただき、宍戸明氏には実験魚採捕に多大なる協力をいただきました。米国オレゴン州での実験では、Oregon State University, Department of Fisheries and Wildlife の Carl B. Schreck 教授、および Oregon Hatchery Research Center の David L.G. Noakes 教授にご教示を賜りました。また同施設の Ryan Couture 氏、Joseph O'Neil 氏、Joyce Mahr 氏に協力を賜りました。水産総合研究センター増養殖研究所日光庁舎での実験では、同施設の矢田崇博士にご教示賜りました。飼育魚の管理および水槽設営に尽力された武藤光司氏、中村英史氏に感謝いたします。宮城教育大学での実験では、実験魚の入手に際し、菅原養魚場、加美殖産、アミューズパーク名取りんくう店の関係者の方々に便宜をはかっていただきました。宮城教育大学教育学部（当時）の遠藤拓海氏、鈴木千尋氏、丹野祥子氏、豊田恵美氏、中村直樹氏には実験に協力いただくとともに貴重なデータを提供していただきました。宮城県広瀬川での行動追跡実験では、宮城県水産業振興課、広瀬・名取川漁業協同組合の伊藤勝氏に便宜をはかっていただきました。実験の遂行にあたっては東北大学生命科学研究科三浦彩氏に協力いただくとともに、佐藤信善氏、堺淳氏、菅原正徳氏には実験魚採捕に多大なる協力をいただきました。これらの方々に、深甚の謝意を表し感謝申し上げます。

研究の遂行にあたり、同期生の柴田泰宙氏、Sorgog 氏をはじめとする横浜国立大学環境情報学府 MNM 研究室のメンバー・卒業生の方々には、惜しめない協力とご助言、励まし、癒しをいただきました。本論文の作成にあたりご指導、ご助言を賜った、横浜国立大学環境情報研究院小池文人教授、中井里史教授、益永茂樹教授の各位に深く感謝申し上げます。

本研究の一部は、社団法人水産資源・海域環境保全研究会、財団法人斉藤報恩会、横浜国立大学環境情報研究院共同研究プロジェクト、および横浜国立大学国際学術交流事業からの助成を受けて行われました。

最後に、研究に対する深い理解をいただき、終始私を支えてくださった宮城の家族、友人に心から感謝申し上げます。





## 引用文献

- 有賀誠, 津田裕一, 藤岡紘, 本多健太郎, 光永靖, 三原孝二, 宮下和士, 2009. 石狩川におけるシロザケ *Oncorhynchus keta* の遡上行動—テレメトリーシステムの利用—. 応用生態工学 12, 119–130.
- Bagliniere, J.L., Maisse, G., 1985. Precocious maturation and smoltification in wild Atlantic salmon in the American massif, France. *Aquaculture* 45, 249–263.
- Ban, M., 2005. Synergistic effects of thyroxine and cortisol on the seawater tolerance of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Bull. Natl. Salmon Resources Center* 7, 117–121.
- Banks, J.W., 1968. A review of the literature on the upstream migration of adult salmonids. *J. Fish Biol.* 1, 85–136.
- Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.* 42, 517–525.
- Beckman, B.R., Larsen, D.A., Dickhoff, W.W., 2003. Life history plasticity in Chinook salmon: relation of size and growth rate on autumnal smolting. *Aquaculture* 222, 149–165.
- Berglund, I., Lundqvist, H., Fångstam, H., 1994. Downstream migration of immature salmon (*Salmo salar*) smolts blocked by implantation of the androgen 11-ketoandrostenedione. *Aquaculture* 121, 269–276.
- Björnsson, B.T., 1997. The biology of salmon growth hormone: from daylength to dominance. *Fish Physiol. Biochem.* 17, 9–24.
- Block, B.A., Finnerty, J.R., Stewart, A.F.R., Kidd, J., 1993. Evolution of endothermy in fish: mapping physiological traits on molecular phylogeny. *Science* 26, 210–213.
- Brett, J.T., 1952. Temperature tolerance in young Pacific salmon, genus *Oncorhynchus*. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 9, 265–323.
- Christiansen, J.S., Johnsen, H.K., Jobling, M., 1991. The combined effects of ambient temperature and enforced sustained swimming activity on body temperature of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *J. Therm. Biol.* 16, 351–355.
- Clarke, W.C., Hirano, T., 1995. Osmoregulation. In: Groot, C., Margolis, L., Clarke, W.C. (Eds), *Physiological ecology of Pacific salmon*, UBC Press, Vancouver, pp. 319–377.
- Cooke, S.J., 2008. Biotelemetry and biologging in endangered species research and animal conservation: relevance to regional, national, and IUCN Red List threat assessments. *Endangered Species Res.* 4, 165–185.
- Dickhoff, W.W., Beckman, B.R., Larsen, D.A., Duan, C., Moriyama, S., 1997. The role of growth in endocrine regulation of salmon smoltification. *Fish Physiol. Biochem.* 17,

9-24.

- Dickhoff, W.W., Folmar, L.C., Mighell, J.S., Mahnken, C.V.W., 1982. Plasma thyroid hormones during smoltification of yearling and underyearling coho salmon and yearling chinook salmon and steelhead trout. *Aquaculture* 28, 39-48.
- Ebbesson, L.O.E., Björnsson, B.T., Ekstrom, P., Stefansson, S.O., 2008. Daily endocrine profiles in parr and smolt atlantic salmon. *Comp. Biochem. Physiol. A* 151, 698-704.
- Edo, K., Suzuki, K., 2003. Preferable summering habitat of running adult masu salmon in the natal stream. *Ecol. Res.* 18, 783-791.
- Ejike, C., Schreck, C.B., 1980. Stress and social hierarchy rank in coho salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.* 109, 423-426.
- Ewing, R.D., Barratt, D., Garlock, D., 1994. Physiological changes related to migration tendency in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 121, 277-287.
- Feist, G., Schreck, C.B., 2002. Ontogeny of the stress response in chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Fish Physiol. Biochem.* 25, 31-40.
- Grau, E.G., Dickhoff, W.W., Nishioka, R.S., Bern, H.A., Folmar, L.C., 1981. Lunar phasing of the thyroxine surge preparatory to seaward migration of salmonid fish. *Science* 211, 607-609.
- Gross, M., 1987. Evolution of diadromy in fishes. *Am. Fish. Soc. Symp.* 1, 14-25.
- Hasler, C.T., Cooke, S.J., Hinch, S.G., Guimond, E., Donaldson, M.R., Mossop, B., Patterson, D.A., 2012. Thermal biology and bioenergetics of different upriver migration strategies in stock of summer-run Chinook salmon, *J. Therm. Biol.* 37, 265-272.
- 林田寿文, 新居久也, 春日慶一, 2012. バイオテレメトリーシステムを用いた魚類の遡上行動解析. 平成 23 年度国土交通省国土技術研究会.
- Hoar, W.S., 1951. The behaviour of chum, pink and coho salmon in relation to their seaward migration. *J. Fish. Res. Board Can.* 8, 241-263.
- Ikuta, K., Aida, K., Okumoto, N., Hanyu, I., 1987. Effects of sex steroids on the smoltification of masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 65, 99-110.
- Inoue, M., Nakano, S., Nakamura, F., 1997. Juvenile masu salmon (*Oncorhynchus masou*) abundance and stream habitat relationships in northern Japan. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 54, 1331-1341.
- Iwata, M., 1995. Downstream migratory behavior of salmonids and its relationship with cortisol and thyroid hormones: A review. *Aquaculture* 135, 131-139.
- 岩田宗彦, 小島大輔, 2006. サケの降河回遊行動. *海洋と生物* 28, 22-30.
- 岩田宗彦, 小島大輔, 2008. サケ科魚類の降河行動の解発まで. *比較内分泌学* 34, 82-85.

- Iwata, M., Tsuboi, H., Yamashita, T., Amemiya, A., Yamada, H., Chiba, H., 2003. Function and trigger of thyroxine surge in migration chum salmon *Oncorhynchus keta* fry. *Aquaculture* 222, 315–329.
- Johnson, S.L., 1982. A review and evaluation of release strategies for hatchery reared coho salmon. *Or. Dep. Fish Wildl. Fish Division Inf. Rep.* 82-5, 1–47.
- 帰山雅秀, 2005. 水辺生態系の物質輸送に果たす遡河回遊魚の役割. *日本生態学会誌* 55, 51–59.
- 金子豊二, 2002. 浸透圧調節・回遊. 会田勝美, 編, 魚類生理学の基礎, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 215–232.
- 河村博, 2008. 漁業と漁法 サクラマス. 湖沼と河川環境の基盤情報整備事業報告書「豊かな自然環境を次世代に引き継ぐために サクラマス、ビワマス、地方種」, 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 105–118.
- 河村博, 2012. サクラマス *Oncorhynchus masou masou* のスマルト化に関する生理生態学的研究およびその増殖事業への応用(学位論文). *北水試研報* 81, 57–116.
- Kawamura, H., Kudo, S., Miyamoto, M., Nagata, M., Hirano, K., 2000. Movements, food and predators of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) entering the coastal Sea of Japan of northern Hokkaido in warm and cool years. *N. Pac. Andr. Fish Comm.* 2, 33–41.
- 木曾克裕, 1995. 本州北部太平洋岸の河川を母川とするサクラマスの生活史の研究. *中央水研研報* 7, 1–188.
- 木曾克裕, 小坂淳, 1992. 三陸地方南部の河川におけるサクラマスの降海型と河川残留型の卵巣発達. *日本水産学会誌* 58, 1785–1791.
- 小林牧人, 金子豊二, 会田勝美. 内分泌. 会田勝美, 編, 魚類生理学の基礎, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 128–154.
- 小池利通, 2000. 加治川におけるサクラマスの遡上速度と時間帯. *新潟県内水面水産試験場調査研究報告* 24, 10–18.
- 久保達郎, 1974. サクラマス幼魚の相分化と変態の様相. *北海道さけ・ますふ化場研究報告* 28, 9–26.
- 久保達郎, 1980. 北海道のサクラマスの生活史に関する研究. *北海道さけ・ますふ化場研究報告* 34, 1–95.
- Kuparinen, A., O'Hara, R.B., Merilä, 2009. Lunar periodicity and the timing of river entry in Atlantic salmon *Salmo salar*. *J. Fish Biol.* 74, 2401–2408.
- 黒木敏郎, 1967. 魚類の感覚とその水産への応用に関するシンポジウム 魚と水温刺激. *日本水産学会誌* 33, 264–274.
- Larsson, P.Ø., 1980. Smolt rearing and the Baltic salmon fishery. In: Thorpe, J.E. (Edts.), *Salmon ranching*, Academic press, London, pp. 157–186.

- Machidori, S., Kato, F., 1984. Spawning populations and marine life of masu salmon (*Oncorhynchus masou*). Int. North. Pac. Fish. Comm. Bull., 43, 1–138.
- 松田裕之, 2004. ゼロからわかる生態学 環境・進化・持続可能性の科学. 共立出版株式会社, 東京.
- 松本勝治, 岩崎政司, 林田寿文, 2012. 美利河ダムにおける魚類遡上状況について. 第55回北海道開発技術研究発表会.
- 真山紘, 1992. サクラマス *Oncorhynchus masou* (Brevoort) の淡水域の生活および資源培養に関する研究. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 46, 1–156.
- 真山紘, 1993. サクラマスのスマルト放流に関する生態学的検討—河川の自然環境とサクラマス資源—. 魚と卵 162, 9–18.
- 真山紘, 2002. サクラマス親魚の産卵期における遡上の日周変動. さけ・ます資源管理センター研究報告 5, 21–26.
- 真山紘, 2004. さけ・ます類の河川遡上生態と魚道. さけ・ます資源管理センターニュース 13, 1–13.
- 真山紘, 2008. サクラマス 国における取り組み. 湖沼と河川環境の基盤情報整備事業報告書「豊かな自然環境を次世代に引き継ぐために サクラマス、ビワマス、地方種」, 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 157–178.
- 真山紘, 野村哲一, 大熊一正, 1988. 越冬前の秋期に放流されたサクラマス *Oncorhynchus masou* 標識魚のスマルト降海と親魚としての回帰. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 42, 21–36.
- 真山紘, 野村哲一, 大熊一正, 松村幸三郎, 1985. 尻別川におけるサクラマスのスマルト放流試験—1981年春放流標識魚の回帰—. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 39, 1–16.
- 真山紘, 小野郁夫, 平澤勝秋, 2005. 北海道の河川に放流された標識サクラマスの海洋における回遊生態. さけ・ます資源管理センターニュース 14, 1–9.
- 真山紘, 高橋敏正, 1977. サケ・マス親魚の生態調査-I 千歳川におけるサケ親魚のそ上活動の日周変動(1). 北海道さけ・ますふ化場研究報告 31, 21–28.
- McCormick, S.D., Hansen, L.P., Quin, T.P., Saunders, R.L., 1998. Movement, migration, and smolting of atlantic salmon (*Salmo salar*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 55, 77–92.
- McCormick, S.D., O’Dea, M.F., Moeckel, A.M., Björnsson, B.T., 2003. Endocrine and physiological changes in Atlantic salmon smolts following hatchery release. Aquaculture 222, 45–57.
- 宮腰靖之, 松枝直一, 武蔵悟一, 菅原敬展, 田中慶子, 坂本準, 高橋史久, 2009. 尻別川本流域におけるサクラマスの遡上時期. 北海道水産孵化場研報 63, 15–19.
- Miyakoshi, Y., Takami, T., Takeuchi, K., Omori, H., Nagata, M., 2003. Sampling of masu salmon, *Oncorhynchus masou*, spawners on the spawning grounds: is carcass sampling effective as a mark-recovery method? Fish. Manag. Ecol. 10, 273–275.

- 宮腰靖之, 矢部浩規, ト部浩一, 真野修一, 川村洋司, 山下彰司, 2007. 晩秋の後志利別川におけるサクラマス幼魚の河川内移動—スクリーントラップを用いて秋に魚類を採捕した初めての試み—. 寒地土木研究所月報 646, 9–16.
- 宮内康行, 北口裕一, 福澤博明, 戸叶恒, 桑田博, 2011. 超音波発信機によるサクラマス親魚の行動追跡. SALMON 情報 5, 9–11.
- 森田健太郎, 2011. 外洋性サケの生息水温と温暖化. 北海道新聞夕刊, 2011年7月25日.
- Munakata, A., 2012. Migratory behaviors in masu salmon (*Oncorhynchus masou*) and the influence of endocrinological factors. Aqua-BioSci. Monogr. 5, 29–65.
- Munakata, A., Amano, M., Ikuta, K., Kitamura, S., Aida, K., 2000. Inhibitory effects of testosterone on downstream migratory behavior in masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Zool. Sci. 17, 863–870.
- Munakata, A., Amano, M., Ikuta, K., Kitamura, S., Aida, K., 2001. The involvement of sex steroid hormones in downstream and upstream migratory behavior of masu salmon. Comp. Biochem. Physiol. B 129, 661–669.
- Munakata, A., Amano, M., Ikuta, K., Kitamura, S., Aida, K., 2007. Effects of growth hormone and cortisol on the downstream migratory behavior in masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Gen. Comp. Endocrinol. 150, 12–17.
- Munakata, A., Amano, M., Ikuta, K., Kitamura, S., Aida, K., 2012. Involvement of sex steroids and thyroid hormones in upstream and downstream behaviors in masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Aquaculture 362–363, 158–166.
- Munakata, A., Kobayashi, M., 2010. Endocrine control of sexual behavior in teleost fish. Gen. Comp. Endocrinol. 165, 456–468.
- 棟方有宗, 三浦剛, 2009. サクラマスのライフサイクルの調節機構の解明と教材化. 宮城教育大学紀要 43, 105–112.
- 棟方有宗, 大浪達郎, 2006. 広瀬川中流域における水温の日周・季節変動 ～水温変化が魚類の分布・生息に及ぼす影響～. 宮城教育大学紀要 41, 53–62.
- Murata, S., Takasaki, N., Saitoh, M., Tachida, H., Okada, N., 1996. Details of retropositional genome dynamics that provide a rationale for a generic division: the distinct branching of all the pacific salmon and trout (*Oncorhynchus*) from the atlantic salmon and trout (*Salmo*). Genetics 142, 915–926.
- 永沢亨, 2012. さけ・ます類の漁業と資源調査(総説), 平成23年度国際漁業資源の現状, 水産庁・水産総合研究センター, 東京, 56-1–56-5.
- 永田光博, 山本俊昭, 2004. サケ属魚類における「人工孵化」の展望. 前川光司, 編, サケ・マスの生態と進化, 文一総合出版, 東京, pp. 213–242.
- Neil, W.H., Stevens, E.D., 1974. Thermal inertia versus thermoregulation in “warm” turtles and tunas. Science 184, 1008–1010.

- Nichols, D.J., Weisbart, M., 1984. Plasma cortisol concentration in atlantic salmon, *Salmo salar*: episodic variations, diurnal changes, and short term response to adrenocorticotrophic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 56, 169–176.
- 日本水産資源保護協会, 1983. 環境条件が魚介類に与える影響に関する主要要因の生理: 漁場環境調査資料, 日本水産資源保護協会, 東京.
- Ojima, D., Iwata, M., 2007. The relationship between thyroxine surge and onset of downstream migration in chum salmon *Oncorhynchus keta* fry. *Aquaculture* 273, 185–193.
- 岡田のぞみ, 2004. 変態期ヒラメの眼の移動における周辺組織の発達と甲状腺ホルモンの役割. 京都大学博士論文.
- Okazaki, T. 1986. Genetic variation and population structure in masu salmon *Oncorhynchus masou* of Japan. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 52, 1365–1376.
- Pinder, A.C., Riley, W.D., Ibbotson, A.T., Beaumont, W.R.C., 2007. Evidence for an autumn downstream migration and the subsequent estuarine residence of 0+ year juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L., in England. *J. Fish Biol.* 71, 260–264.
- Quigley, J.T., Hinch, S.G., 2006. Effects of rapid experimental temperature increases on acute physiological stress and behavior of stream dwelling juvenile chinook salmon. *J. Therm. Biol.* 31, 429–441.
- Quin, T.P., 1990. Current controversies in the study of salmon homing. *Ethol. Ecol. Evol.* 2, 49–63.
- Redding, J.M., Patirio, R., Schreck, C.B., 1984. Clearance of corticosteroids in yearling coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, in freshwater and seawater after stress. *Gen. Comp. Endocrinol.* 54, 433–443.
- Riley, W.D., 2007. Seasonal downstream movements of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L., with evidence of solitary migration of smolts. *Aquaculture* 273, 194–199.
- Riley, W.D., Eagle, M.O., Ives, S.J., 2002. The onset of downstream movement of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in a chalk stream. *Fish. Manag. Ecol.* 9, 87–94.
- 佐野誠三, 1964. サクラマス of 生態と繁殖保護. 魚と卵 104, 1–7.
- 佐々木義隆, 山下幸悦, 中島幹二, 1993. 二雁別川におけるカラフトマス稚魚の降河行動. 北海道水産孵化場研報 47, 15–20.
- Satoh, R., Yamada, H., Chiba, H., Kambegawa, A., Iwata, M., 2000. Seasonal changes in thyroidal response to thyroid-stimulating hormone in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish. Sci.* 66, 174–176.
- Shardlow, T.F., Webb, T.M., Lightly, D.T., 1986. Chinook salmon escapement estimation on the Campbell and Quinsam Rivers in 1984: accuracy and precision of mark/

- recapture techniques using tagged salmon carasses. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 1507, (52).
- Sigholt, T., Åsgård, T., Staurnes, M., 1998. Timing of parr-smolt transformation in Atlantic salmon (*Salmo salar*): effects of changes in temperature and photoperiod. Aquaculture 160, 129–144.
- Solomon, D.J., 1978. Migration of smolts of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and sea trout (*Salmo trutta* L.) in a chalkstream. Environ. Biol. Fishes 3, 223–229.
- Solomon, D.J., 1981. Smolt migration in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and sea trout (*Salmo trutta*). Proceedings of Salmon and trout migratory behavior symposium, 196–203.
- Spigarelli, S.A., Thommes, M.M., Beiting, L.T., 1977. The influence of body weight on heating and cooling of selected Lake Michigan fishes. Comp. Biochem. Physiol. A 56, 51–57
- Stevens, E.D., Fry, F.E.J., 1970. The rate of thermal exchange in a teleost, *Tilapia mossambica*. Can. J. Zool. 48, 221–226.
- 鈴木研一, 小林敬典, 松石隆, 沼知健一, 2000. ミトコンドリア DNA の制限酵素切断型多型解析から見た北海道内におけるサクラマス の 遺 伝 的 変 異 性 . 日 本 水 産 学 会 誌 35, 385–393.
- 田子泰彦, 2000. 神通川と庄川におけるサクラマス親魚の遡上生態. 日本水産学会誌 66, 44–49.
- 田子泰彦, 辻本良, 村木誠一, 2006. 維持流量設定後における神三ダム直下の大きな淵での水温と溶存酸素量の改善. 応用生態工学 9, 63–71.
- Takami, T., Aoyama, T., Nagata, M., Miyamoto, M., Ohkubo, S., Kawamura, H., 1998. Individual growth and life-history divergence of juvenile masu salmon (*Oncorhynchus masou*) in a northern Japanese stream. Sci. Rep. Hokkaido Fish Hatchery 52, 21–29.
- 鷹見達也, 佐藤弘和, 1998. サクラマス幼魚の食欲におよぼす高水温の影響および致死水温. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 52, 79–82.
- Thorpe, J.E., 1986. Age at first maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: fresh water period influences and conflicts with smolting. Can. Spec. Pub. Fish. Aquat. Sci. 89, 7–14.
- Thorpe, J.E., McConway, M.G., Miles, M.S., Muir, J.S., 1987. Diel and seasonal changes in resting plasma cortisol levels in juvenile atlantic salmon, *Salmo salar* L. Gen. Comp. Endocrinol. 65, 19–22.
- Toa, D.G., Afonso, L.O.B., Iwama, G.K., 2004. Stress response of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to chemical cues released from stressed conspecifics. Fish.



- Physiol. Biochem. 30 103–108.
- 塚本勝巳, 2002. 遊泳. 会田勝美, 編, 魚類生理学の基礎, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 109–127.
- 浦和茂彦, 2000. 日本系サケの回遊経路と今後の研究課題. さけ・ます資源管理センターニュース 5, 3–9.
- Yamada, H., Satoh, R., Ogoh, M., Takaji, K., Fujimoto, Y., Hakuda, T., Chiba, H., Kambegawa, A., Iwata, M., 2002. Circadian changes in serum concentrations of steroids in japanese charr *Salvelinus leucomaenis* at the stage of final maturation. Zool. Sci. 19, 891–898.
- 山岸宏, 松島敏之, 中村将, 1981. サケ稚魚の攻撃行動について. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 35, 25–31.
- Yamauchi, K., Koide, N., Adachi, S., Nagahama, Y., 1984. Changes in seawater adaptability and blood thyroxine concentrations during smoltification of the masu salmon, *Oncorhynchus masou*, and the amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*. Aquaculture 42, 247–256.
- 山内皓平, 高橋浩哉, 1987. 回遊行動とホルモン. 森沢正昭, 会田勝美, 平野哲也, 編, 回遊魚の生物学, 学会出版センター, 東京, 156–171.
- Yambe, H., Kitamura, S., Kamio, M., Yamada, M., Matsunaga, S., Fusetani, N., 2006. L-Kynurenine, and amino acid identified as a sex pheromone in the urine of ovulated female masu salmon. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 15370–15374.
- Yambe, H., Munakata, A., Kitamura, S., Aida, K., Fusetani, N., 2003. Methyltestosterone induces male sensitivity to both primer and releaser pheromones in the urine of ovulated female masu salmon. Fish. Physiol. Biochem. 28, 279–280.
- 米山洋一, 渡辺勝栄, 内田建哉, 富田政勝, 関泰夫, 星野正邦, 傳田正利, 東信行, 1999. 電波を利用したサクラマス追跡調査. 新潟県内水面試験場調査研究報告 23, 1–9.
- Young, G., Björnsson, B.T., Prunet, P., Lin, R.J., Bern, H.A., 1989. Plasma levels of prolactin and growth hormone during parr-smolt transformation of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Aquaculture 82, 382–383.
- Young, P.S., Cech, J.J., Thompson, L.C., 2011. Hydropower-related pulsed-flow impacts on stream fishes: a brief review, conceptual model, knowledge gaps, and research needs. Rev. Fish Biol. Fish. 21, 713–731.