

東京大学 大学院新領域創成科学研究科

自然環境学専攻 海洋環境学コース 海洋生物圏環境学分野

平成23年度 修士論文

水温がクロマグロ卵仔魚の
ふ化・成長・生残に与える影響

Effects of water temperature on hatch, growth
and survival during egg and larval stages of
Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*)

2012年1月27日提出

2011年度3月修了

指導教員 木村 伸吾 教授

47-106618 中嶋 泰三

目次

第一章 緒論

1-1. クロマグロ資源の現状	1
1-2. クロマグロの産卵場、回遊	2
1-3. クロマグロの初期発生	3
1-4. 地球温暖化に伴う海洋環境の変化が海洋生態系に及ぼす影響	4
1-5. 初期減耗の脅威	5
1-6. 水温とクロマグロ初期発生の関係	5
1-7. 目的	6

第二章 材料と方法

2-1. 飼育実験	7
2-2. 孵化最適水温	8
2-3. 成長率測定	9
2-4. 統計解析	10

第三章 結果

3-1. 卵径、卵の比重および浸透圧	11
3-2. 卵の発生段階、孵化時間、孵化率、奇形率および生残率に及ぼす水温の影響	11
3-3. 孵化最適水温	13
3-4. 成長率	13

第四章 考察

4-1. 卵径、卵の比重および浸透圧	14
4-2. 水温が卵の発生速度、孵化率、奇形率および生残率に及ぼす影響	16
4-3. 卵の発生段階に及ぼす水温の影響	19
4-4. 孵化最適水温	20
4-5. 成長率に及ぼす水温の影響	21

第五章 総括

謝辞	24
引用文献	25
図表	31

第一章 緒論

1-1. クロマグロ資源の現状

世界の主要なマグロ属魚類の漁獲は、年間200万トン程度であり、そのうちクロマグロ *Thunnus orientalis* の漁獲量は2009年において1.9万トンと推定されている（水産庁 2011a）。本種は、その肉質の良さからマグロ属の中で最も高値で取引されており、近年の需要増加は、クロマグロ初競りにおける価格が年々更新され続けていることから推測できる。2011年の東京築地市場の初競りでは、2010年の北海道戸井産3249万円を優に超え、大間産が史上最高値5649万円を付けた。近年のクロマグロ産業として一つの例を挙げると、総合商社もその潤沢な資産を活かし、買い付けのみならず相次いでクロマグロ養殖事業に参入している。国際的に漁獲規制が広がる中、産学連携の体制で天然の稚魚を使わない完全養殖として事業化を進めており、2010年度に初めて出荷が可能となった（熊井 2010）。今後、効率良く育てる技術やノウハウを蓄積し続け、採算性を高めたうえで本格的な事業として展開し、世界的に増大するクロマグロ需要に対応していくことが期待されている（熊井ほか 2010）。しかしながら、現在我が国は世界で生産される主要マグロ類の3分の1程度を消費しているため、正規に登録された漁船、蓄養場によって生産されたマグロであることの確認やIUU (Illegal, Unreported and Unregulated) 漁船により漁獲されたマグロの輸入防止等、今後とも世界最大のマグロ消費国・漁業国として、持続的利用に向けた国際的な役割を果たす責任がある。

本種の持続的利用に関わる厳しい議論の中で、1995年には北太平洋に生息するマグロ類及びマグロ類似種の保存と合理的利用のための科学的調査及び協力の拡充を目的に、マグロ類の国際的な資源管理機関として、北太平洋におけるマグロ類およびマグロ類似種に関する国際科学委員会（Interim Scientific Committee for Tuna and Tuna-like Species in the North Pacific Ocean : ISC）が設立され、クロマグロの資源量について科学的調査を行うようになった。また、2004年に中西部太平洋マグロ類委員会（Commission for the Conservation and Management of Highly Migratory Fish Stocks in the Western and Central Pacific Ocean : WCPFC）が、中西部太平洋における高度回遊性魚類（クロマグロ、カツオ、キハダ、ミナミマグロなど）資源の長期的保存および持続可能な利用を確保することを目的として設立された。ISCによるクロマグロの最新の資源評価では2008年での本種の資源水準は中位、その動向は横ばいであるものの、同漁獲圧が続く場合、将来の資源水準は減少する可能性が高いことが指摘され、とくに若齢魚に対する漁獲圧をこれ以上増加させるべきではないとの提案がなされた（ISC 2008）。2010年3月には、絶滅のおそれのある野生動植物の種の国際取引に関する条約（Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora ; CITES）取締約国会議において、タイセイヨウクロマグロの国際取引や公海からの持ち込みを禁止すべきとの提案がなされた。この提案は否決されたが、それを受けて日本政府は2010年5月に、沖合漁業で産卵前の幼魚の漁獲制限や沿岸漁業で漁獲実績の提出を義務化するなど資源管理を強化することを発表した（水産庁 2010）。また、2010年12月に行われたWCPFC年次会合では、2011年及び

2012年に適用される措置として、漁獲努力量を2002年から2004年の水準を下回るように管理すること、とくに0～3歳魚の漁獲量を減少させるようにすることを求める保存勧告を採択した（水産庁 2011a）。

以上のように、本種に関してその需要や国際的な資源管理強化の傾向が近年強まっており、より適切な供給、高精度な資源評価や資源変動機構の解明に繋がる基礎的知見が不可欠である。

1-2. クロマグロの産卵場、回遊

クロマグロはスズキ目サバ亜目サバ科に属し、日本近海を中心として太平洋の温帯海域に広く分布している(Bayliff 1994) (図 1)。

本種は多回産卵を行い、主に日本の南方～台湾の東沖で 4～7 月に産卵が行われる（上柳 1967、Chen *et al.* 2006）（図 1）。日本海の佐渡沖合海域における仔魚の採集報告から、7～9 月にかけて日本海でも産卵するとされている（沖山 1974、Tanaka *et al.* 2007）。また、耳石日輪解析と漁業データに基づき、7～8 月の日本海での産卵は平均 24%、大きな年には 40%の割合で資源に寄与しており、これまで考えられていたよりも日本海での産卵規模は大きいと考えられるようになってきている（伊藤 2009）。マリーンランシング計画（農林水産技術会議事務局 1980）の一環として 1980 年から 1988 年に行われた調査以降、約 20 年ぶりに日本海から南西諸島沖にわたるクロマグロ仔稚魚広域調査が2011年5月から10月にかけて水産庁により実施され、宮古島から沖縄本島にかけての海域で仔魚が多数採集される一方、日本海の隠岐から能登半島にかけた海域でも採集された。近年の日本海における産卵を裏付ける結果となった（水産庁 2011b）。

南西諸島付近の産卵場で孵化した仔魚は、黒潮や対馬海流によって日本近海へと輸送され、0～1 歳魚は日本海または太平洋沿岸を夏期に北上し、冬期に南下する（Inagake *et al.* 2001、Itoh *et al.* 2003、藤田 2004）。2～3 歳魚は北太平洋、とくに北西太平洋を主な分布域とし、個体によって差はあるが春季に黒潮続流域を西進、夏季に三陸沖を黒潮分派に沿って北上し、秋季に親潮前線に沿って東進、冬季に日付変更線付近で黒潮続流域に向かって南下、という海洋構造に応じた時計回りの回遊パターンを示す（Inagake *et al.* 2001）。標識放流や漁獲による情報から、本種の未成魚の一部は太平洋を横断して東部太平洋に渡り、北米西岸沖を南北に季節回遊をしながら数年滞在した後、産卵のために西部太平洋に回帰するものもあることが知られている（Itoh *et al.* 2003、Block *et al.* 2005、Boustany *et al.* 2010）。このように、本種は分布域が極めて広範囲に存在する高度回遊性魚種であることから、日本のみならず国際的にも重要な漁業資源である。

1-3. クロマグロの初期発生

多くの海産硬骨魚類は分離浮性卵を産出する。このタイプの卵は、1個体の雌魚から1回の産卵につき $10^3 \sim 10^8$ のオーダーで放卵される（岩井 1991）。一部の例外種を除いてほとんどのものが球形である。サイズは種により異なるが、直径0.5～1mmものものが最も多く（Ahlgren and Moser 1980）、水産上有用な魚種の中ではサバ科魚類のほか、タイ科魚類やハタ科魚類などがこのタイプである。本種に関しては、産卵数は体重330kgで約3000万粒と推定されているが（升間 2006）、成熟過程には個体差があるため、正確な数を求めることは困難である。受精直後の卵は多くの海産硬骨魚類と同様に、無色透明、球形の分離浮性卵で、1個の透明な油球を持つ。24℃で養成個体により産卵された受精卵の平均卵径および平均油球形は、それぞれ0.97mm、0.25mmと報告されている（宮下 2002）。他のマグロ属魚類の卵径は、タイセイヨウクロマグロでは1.00～1.12mmと本種に比べてやや大きく（Gordoa *et al.* 2009）、キハダでは0.97mmと本種とほぼ同じ値を示している（Margulies *et al.* 2007）。

本種の卵発生における各段階は他の硬骨魚と大差はない。サバ科魚類に共通して見られるように、卵黄は無色透明で、囲卵腔は非常に狭く、卵膜に亀裂などがなく無構造である（宮下 2002）。受精が起こると卵は活性化され、囲卵腔が形成される。その後、胚盤が隆起し、卵は発生を始める（岩井・柏木 1989）。卵割は動物極側に集まった胚盤のみで行われ、多数の小割球からなる桑実期に達し、さらに分割が進むに連れ胚盤は卵黄を覆い、胚盤葉と呼ばれるようになる。その後、胞胚期を経て、胚盤葉は卵黄を覆うように広がり、胚環を形成する。さらに胚盤葉の被胞が広がると、胚盤葉周辺部に陥入が起こり、囊胚期となる。陥入後、原口閉鎖期を経て Kupffer 胞が出現すると、胚盤は、外胚葉、中胚葉、内胚葉と分化し、それぞれの胚葉から器官が分化する。外胚葉からは神経系形成期を経て、眼胞や耳胞が分化し、中胚葉からは、体節および側板が分化する。体節と側板の間には中間細胞が生じ、心臓や色素胞などに分化する。クロマグロでは 24℃ で、受精後約 20 時間後に後頭部を中心に小さな黒色素胞が多数発現し、次第に全身に散在するようになる（宮下 2002）。その後心拍を開始し、孵化に至る。飼育環境下では、本種の受精卵は水温 24℃では 34 時間程度、26℃では 30 時間程度で孵化をする（宮下 2002、加藤 2008、溝呂木 2010）。孵化期の前に口腔や体表などに多数発生した単細胞の孵化腺から分泌されるコリオナーゼと呼ばれる孵化酵素の作用により、卵膜が軟化することで胚は卵膜を押し破ることが可能となり、孵化が成立する（Hagenmaier 1974）。孵化直後の仔魚は全長 2.8mm で、約 50 時間後に卵黄をほぼ吸収し、ワムシ類 *Brachionus plicatilis* sp. complex を摂食し始める（升間 2006）。

受精卵は卵割を始めて孵化するまでは、外界からの栄養物質の補給はなく、発生エネルギーに用いられるエネルギーは主として卵黄物質の転換によって供給される。魚卵では胚体形成に必要な物質はほとんど卵黄中に含まれており、単位重量当たりの卵黄から、どれだけの胚体が形成されるか、すなわち卵黄利用効率を知ることは魚卵のエネルギー代謝に関連して重要な問題であるとされている。孵化以前の段階では、胚の分割、分化、形態形成と、発生の進行に伴

って卵黄構成物質の一部を消費して、タンパク質の合成が行われる。

卵の化学成分組成には魚種間差があり、例えばニホンウナギ *Anguilla anguilla* 卵では、乾重量あたり約 50%もの高い脂質を含有しており、キタカワカマス *Esox lucius* の卵ではタンパク質含量が高く乾重量あたり約 80%もある (Kamler 1992)。さらに、タンパク質、遊離アミノ酸、トリグリセライド、リン脂質および糖質は単独あるいは複合で、沿岸魚類卵の胚発生中のエネルギー源として用いられる (Kamler 1992)。クロマグロに関しては、卵発生中にトリグリセライドがその他エネルギー源よりも急激に変化していることから、主要なエネルギー源として重要な役割をもつことが明らかになっている (宮下 2002)。

1-4. 地球温暖化に伴う海洋環境の変化が海洋生態系に及ぼす影響

海洋構造は季節的、経年的な変動とは別に、数年スケールのエルニーニョ (El Niño) やラニーニャ (La Niña)、数十年スケールのレジームシフト (regime shift)、さらに大きなスケールの地球温暖化などに代表される地球規模の海洋気象変動によっても大きく影響される。これらの変動現象は、産卵海域の水塊構造を変化させ、親魚の回遊行動や稚仔魚の輸送環境に影響を及ぼし、資源量変動を左右する重要な要因となっていることから (Lehodey *et al.* 1997)、地球規模の海洋気象変動と海洋生物の資源量変動の間には密接な関係が見出されている。

地球温暖化による海洋環境の変化を考えた場合に、海洋は温暖化気体の吸収と温室効果によって発生した熱を吸収する二つの重要な役割を担っている。この役割によって温暖化の進行を緩和しているとともに、海洋中の二酸化炭素濃度と水温が上昇している。水温に着目すると、海洋自体は全球平均ではここ 40 年間で 0.037°C 上昇しているにすぎないが、海洋が吸収した熱量が一気に大気に放出された場合を想定すると、海水と大気の比熱および体積の違いから、大気は海洋の約 1056 倍、すなわち約 40°C も上昇する計算になるため、莫大な熱量を海洋が吸収していることが分かっている (Sabine *et al.* 2004, Levitus *et al.* 2005)。しかし、このように海洋が熱を吸収していると言っても、一様に昇温しているわけではなく、海流などの循環によって熱の再配分が行われているため、水温変化は海域に依存している。

サンマ *Cololabis saira* における、温暖化影響予測によって (Ito *et al.* 2010)、サンマは温暖化に伴い餌が減少することにより、成長が悪くなり、小型化することが予想されている。しかし、成長が悪くなることで秋期から冬季にかけての南下回遊が遅れ、主産卵場である黒潮域に 1 年目に戻らなくなるという予測結果となった。このため、産卵場での餌条件は逆に良くなり、産卵量が増えることが予想された。サンマ仔魚の生残は水温が高いほうが良いという観測結果も示されており、個体数は増加することが予想された。また、クロマグロにおいては、IPCC の温暖化シナリオ (Special Report Emissions Scenarios ; SRES) の A2 シナリオに基づき大気海洋結合モデル (Model for Interdisciplinary Research on Climate ; MIROC) (Hasumi and Emori 2007) により算出された予測データを用いて、地球温暖化が本種の産卵および仔魚の生残に及

ぼす影響を検討している。その結果、産卵海域の大部分が孵化や仔魚の生残に適さない水温に達することが予測された (Kimura *et al.* 2010)。

このように、地球温暖化に代表される長期的な変動は海洋生物資源に影響を与えることが予測されており、水温変動をはじめとする海洋環境変動に対する海洋生物の応答機構を解明していく必要がある。

1-5. 初期減耗の脅威

一般的に、海洋では表層回遊魚は初期減耗が大きく、海洋環境の僅かな変化による仔魚期の生残率の増減で、翌年の資源量が激変することが知られているため、初期減耗は魚類の資源量の変動を左右する重要な要因であり、その減耗機構の解明は水産資源の重要な研究課題となっている。

日本近海におけるマイワシ *Sardinops melanostictus*、カタクチイワシ *Engraulis japonicus*、タイセイヨウダラ *Gadus morhua*などで、仔魚期の後半に高成長を可能とした個体が選択的に生き残り、成魚群を形成していることが明らかにされている (Watanabe *et al.* 1995, Takahashi and Watanabe 2004, Meekan and Fortier 1996)。クロマグロに関しても、天然海域で採集された仔魚の解析から、資源への加入には受精から孵化後2週間ほどの期間における成長速度の違いが大きな影響を及ぼすと指摘されている (Tanaka *et al.* 2006)。

Kitagawa *et al.* (2010) では、産卵場がクロマグロ卵仔魚輸送過程に及ぼす影響を、粒子追跡データを用いて検討することで、石垣島南部が最も好適な産卵場であることを示した (Kitagawa *et al.* 2010)。本種にとっての好適な産卵海域は極めて限定された狭い海域にあるうえ、限られた時期にのみ産卵が行われるため、この海域における僅かな水温変動は、クロマグロ卵仔魚の大量減耗に繋がることが危惧される。

1-6. 水温とクロマグロ初期発生の関係

水温と初期発生の関係は、サバ *Scomber scombrus* L.、タイセイヨウダラ、カンパチ *Seriola dumerili*、スズキ *Lateolabrax japonicus*、シマアジ *Pseudocaranx dentex*など非常に多種多様な魚種で研究されている (Worley 1933, Laurence *et al.* 1976, 平田ほか2009, Makino *et al.* 2003, 川辺ほか 1991)。クロマグロ卵の孵化に及ぼす水温の影響について、宮下 (2000)、加藤 (2008) は飼育水温23~28℃までは孵化率が90%以上であり、それ以上では孵化率が下がることを述べており、溝呂木 (2010) では全ての温度区で孵化率が加藤 (2008) の結果より10%以上低く、さらに孵化率は産卵水温に依存して変化することを示唆している。飼育水温と孵化所要時間の関係では、宮下 (2000)、加藤 (2008) では水温の転換点が確認されたが溝呂木 (2010) では確認されなかった。生残率に及ぼす水温の影響については、各飼育水温の生残率は実施年によって値のばらつきが大きく、特に孵化後の生残率はそれがさらに顕著となっている (加藤 2008, 溝呂木 2010)。水温と仔魚の成長の関係については、加藤 (2008) は成長率の指標として用い

られている核酸比に着目し、飼育水温23℃では有意に低い値を示し低成長であること、26℃では高い値を示し有意に高成長であるとしている。しかし、溝呂木（2010）は、そういった傾向は検証されず、核酸比は孵化直後から孵化後3日齢までの卵黄仔魚の成長の指標に用いることは困難であり、卵黄吸収率や体サイズ、重量などから総合的に評価する必要があるとしている。

また、卵の発生段階と水温の関係については、シロギス *Sillago japonica* (Oozeki *et al.* 1985) や、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* (柏木ほか, 1992)、マダイ *Pagrus major* (木下・道津 1989)、ニジマス *Oncorhynchus mykiss* (Ineno *et al.* 2005) など多くの魚種で発生段階において高温に接触する実験によって確かめられているが、クロマグロでは既往研究で成された例はない。

上述したように、水温とクロマグロ初期発生との関係は、依然として基礎的知見が不十分であり、その関係性を明らかにすることは、種苗生産や増殖技術開発だけでなく天然の資源変動予測においても重要であると考えられる。

1-7. 目的

既往研究から、クロマグロ卵仔魚の成長・生残は水温に大きく影響を受けることが分かっており（加藤 2008、溝呂木 2010）、さらに地球温暖化に伴う海洋環境変動は、クロマグロの初期生活史においては負の効果を及ぼすことが示唆されている（山岡 2008、Kimura *et al.* 2010）。このようにクロマグロの初期生活史と水温を代表とする海洋環境との間には密接な関係性があり、産卵から仔魚期における特徴の把握、海洋環境とクロマグロ卵仔魚の関係を明らかにすることができれば、より詳細な資源変動機構の解明に繋がると考えられる。また、クロマグロの産卵は限定された時期および海域でのみ行われ、発生初期の卵や孵化直後の仔魚は極めて狭い水温帯でのみ生息が可能であることから、地球温暖化による海洋環境変動としての水温変化は遊泳能力に乏しい卵仔魚の成長や生残に影響を与え、将来の資源への変動にも繋がることが懸念される。加入量の大量減耗を回避するには、水温と本種初期発生との関係性を具体的に明らかにする必要がある。

そこで、本研究では地球温暖化によって生じる環境変動として水温に着目し、水温がクロマグロ卵仔魚の孵化・成長・生残に与える影響を検討することを目的とした。

第二章 材料と方法

2-1. 飼育実験

2-1-1. 飼育環境、採卵および飼育方法

鹿児島県奄美大島の南に位置する加計呂麻島にある独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所奄美庁舎（以下奄美センター）において、2010年6月19日から7月2日と2011年7月14日から8月2日に飼育実験を行った。奄美センターでは、2枚の仕切り網で囲まれた湾内（沖田浦）の約14haの海面に、直径40m円形筏4基、20m円形筏4基、10m円形筏8基が設置され、クロマグロ親魚が年齢別に養殖されている。2010年は6月から3歳魚生簀において産卵が確認された。卵は、採卵集用ネットを用いて採卵し、それを実験に供した。なお、2011年は奄美センターにおいて実験に供するだけの十分な量の卵を確保することができなかったため、（株）奄美養魚において採卵された卵を実験に供した。供試卵は、海水とともにポリエチレン容器に入れて、奄美センター内の実験室に迅速に運び込んだ。浮上した受精卵と沈下した未受精卵に分離した後、受精卵のみを採集し、そこで予め産卵水温に設定した濾過海水を入れた6穴プレート（穴径33.5mm、深さ16.7mm）に20粒ずつ、1温度区に対して2穴、合計12穴に収容した。その後、2010年では温度設定を行った各インキュベーター（CN25C：三菱電機エンジニアリング）内に、2011年では水冷によって温度設定を行った水槽（ZC-200：ゼンスイ株式会社、マイクロパワーセットブラック110W：コトブキ）にプレートを設置した。飼育設定水温は、2010年では23、24、25、26、27、28、30℃の7温度区、2011年では23、24、25、26、27、28、29℃の7温度区とした。実験終了までの各区の水温変動は2010年では $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 以内、2011年では $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 以内であった。死卵および死亡仔魚は水質を汚濁するため適宜除去し、その都度濾過海水も適宜交換した。本研究で使用した受精卵の産卵日時および水温を測定項目とともに表1に示す。

2-1-2. 卵径、卵の比重および浸透圧

卵径、卵の比重、浸透圧の測定は2011年7月14日18時30分、7月27日18時に採卵した卵を用いて行った。産卵時の表面海水温は2011年7月14日では 26.9°C 、2011年7月27日では 27.9°C であった。なお、卵径、卵の比重および浸透圧は全て水温 26°C において飼育した卵を用いて測定した。卵径は4時間おきに任意に選択した卵10粒を実体顕微鏡下で計測し、孵化まで経時的に記録した。比重は、May（1974）の方法と同様に、中性浮力塩分を測定した。すなわち、塩分を1psu間隔に調整した15～25psuの海水各50mLを入れた50mLファルコンチューブに、卵50～100個を投入して静置し、各ファルコンチューブ内の試供卵の80%以上が底に沈下せずに浮遊しているファルコンチューブのうちで塩分が最も低いものを中性浮力塩分とし、測定した温度を基に補正を行った。浸透圧は、Lønning and Davenport（1980）の方法と同様に、卵全体について測定した。すなわち、0.9%食塩水で洗浄後、濾紙とキムワイプによって卵表面の水分を

除去したもの100～200個をエッペンチューブに入れてホモジナイザーで入念に圧縮潰卵した後、12000rpmで10分間遠心分離し、細胞、卵黄、および卵腔液の各成分からなる混合上澄み液を2つに分けて凍結保存し、東京大学大気海洋研究所に持ち帰り、測定に供した（VAPRO 蒸気圧法オズモメーター5520型）。測定はいずれも3回ずつ行い、3つの値にほとんど差がないことを確認して平均値を求めた。

2-1-3. 卵の発生段階、孵化時間、孵化率、奇形率および生残率に及ぼす水温の影響

卵の発生段階に及ぼす水温の影響は、2011年7月27日18時に産卵された受精卵を用いて実験を行った。実験開始時の表面海水温は、27.9℃であった。孵化時間、孵化率、奇形率および生残率は、2010年6月26日11時40分および2011年7月14日18時に採卵した受精卵を用いて2回行った。表面海水温は、それぞれ26.5℃、26.9℃であった。

卵の発生段階に及ぼす水温の影響を調べるため、発生段階ごとに水温を変化させ、水温の影響として各奇形率を測定した。水温25℃と29℃で飼育する卵をコントロールとして飼育し、25℃から29℃に変化させる卵を産卵経過後8時間、12時間、16時間の3段階に区画し、飼育した。孵化後、水温の影響として、2-1-3で言及した2種類を奇形個体とみなし、奇形率を算出した。1区画につき6穴プレートを2つ、合計240粒を試供卵とした。

孵化時間は、それぞれ実態顕微鏡下で受精卵を観察し、50%の仔魚が孵化した時間とした。生残率は4時間おきに経時的に記録し、1回目、2回目ともに孵化後120時間、孵化後4日程度まで飼育を続けた。奇形率は、脊索が屈曲している個体と短躯個体の2種類を奇形個体と定義し、その出現を孵化直後の仔魚において実態顕微鏡下で調べた。また、孵化率、奇形率および生残率は以下の式を用いて算出した。

$$\text{孵化率 (\%)} = (\text{全孵化仔魚数} / \text{総卵数}) \times 100$$

$$\text{奇形率 (\%)} = (\text{奇形仔魚数} / \text{全孵化仔魚数}) \times 100$$

$$\text{生残率 (\%)} = ((\text{総卵数} - \text{死亡仔魚数} - \text{死卵数}) / \text{総卵数}) \times 100$$

2-2. 孵化最適水温

孵化最適水温を、卵発生に必要な活性化エネルギー（卵の代謝効率）といった生理的な面を考慮し決定することとした。卵や魚がある温度で順応しているとき、その体内では物理化学的に反応が進行しているはずである。その反応の速度定数は次のようなArrheniusの式で表される（田村 1977）。

$$k = Ae^{\frac{-E}{RT}}$$

kは水温一定時の卵発生速度定数、Aは温度に無関係な定数、Eは活性化エネルギー（卵の代謝効率）、Rは気体定数、Tは温度を示す。さらに、この式を自然対数の形にすると、以下のように変形される。

$$\ln(k) = \frac{-E}{R} \frac{1}{T} + \ln(A)$$

これは、反応速度を孵化に要した時間を用いて算出し、卵発生の代謝速度に置き換えた式である。この式は、 $\ln(k)$ と $1/T$ が直線の式で回帰できることを示しており、傾きが卵の代謝効率であり、傾きが小さいほど卵発生の代謝効率が高いことを表している。このアレニウスプロットを本実験の結果に適用した。横軸に各実験区の水温の逆数、縦軸に孵化に要した時間の逆数の対数値を算出し、プロットした。各プロットを階層型クラスター解析により分類を行い、各分類群を直線回帰した。さらに、回帰直線の傾きの差の検定を行い、代謝効率の転換点を検証した。最後に、孵化率を考慮し、高代謝効率かつ高孵化率である水温を孵化最適水温とした。ただし、代謝効率の転換点を検出できない場合は孵化率、奇形率をから求めた。

2-3. 成長率測定

孵化直後の仔魚は非常に小型で水温差によって生じる成長の差を実体顕微鏡で検出することは非常に困難であるため、単位重量あたりのDNA量を成長率とし検討した。2011年において、23～29℃で飼育し、RNAlater（Ambion AM7024）で保存した正常個体の仔魚を用いて、単位重量あたりのDNA量を、以下の式により算出した。

$$\text{単位重量あたりのDNA量} = \frac{\text{仔魚一尾の全 DNA 量}}{\text{仔魚重量}}$$

DNA量はCaldarone *et al.* (2001) に従い蛍光法で定量した。1尾ずつ1.5mLマイクロチューブに移し、150μLのsarcosil Tris-EDTA buffer (2% sarcosil, 5mM Tris-HCl, 0.5mM EDTA, pH7.5) を加え60分振とうした後、1.35mLのTris-EDTA buffer (5mM Tris-HCl, 0.5mM EDTA, pH7.5) を加え、14000Gの超遠心を15分間行った。上澄みとして抽出された核酸は、DNA、RNAが混在しているため、RNase (Sigma-Aldrich R6513) を用いてRNAを分解した後に、臭化エチジウム (2μmg/mL) で蛍光染色し、Fluorescence microplate reader (コロナ電気 SH-9000Lab) でEx. 530nm、Em. 630nmにてDNAの蛍光度を測定した。予め濃度の分かっているDNAの蛍光度から近似直線を描き、サンプル内のそれぞれの濃度を求めた。実験の標準試料には、子牛胸腺から精製したDNA (Sigma-Aldrich D4764) を用いた。

2-4. 統計解析

アレニウスプロットの階層型クラスター解析には、全てのプロット間の距離を計算し傾向の近いグループで分類するWard法を用いた。回帰直線の傾きの差の検定は共分散分析 (ANCOVA) で有意差検定を行った。

卵径、卵の比重・浸透圧、孵化率、成長率の比較には、分散の均一性の検定としてBartlett検定、分散が等しい場合は分散分析として分散分析 (ANOVA)、Post-hoc検定としてTukey-Kramer法で、分散が等しくない場合はKruskal-Wallis検定、Post-hoc検定としてSteel-Dwass法で有意差検定を行った。卵の比重と浸透圧の比較にはスピアマンの順位相関を用いた。また、全ての検定において信頼区間は95%とした。全ての統計解析には統計処理ソフトRを使用した。

第三章 結果

3-1. 卵径、卵の比重および浸透圧

産卵後、4時間ごとに採集した卵の卵径・比重・浸透圧の平均値を算出した結果を図2に示す。卵径について、ばらつきは見られるものの、産卵12時間後にかけて徐々に減少し、その後再び増大する傾向が認められた。卵径は産卵12時間後において顕著に低い値を示し ($0.936 \pm 0.027 \text{ mm}$)、産卵後直後の卵径 ($0.983 \pm 0.026 \text{ mm}$) を除く全ての時間における卵径と有意差が認められた (Steel-Dwass test; $p < 0.05$)。また、産卵直後の卵径は、6月14日では $1.000 \pm 0.032 \text{ mm}$ で、6月27日では $0.967 \pm 0.026 \text{ mm}$ であった。測定した卵径の内、最小は 0.91 mm (産卵12時間)、最大は 1.05 mm (産卵24時間後) であった。

産卵直後における卵の比重は現場海水の比重 (1.024 g/cm^3) よりも 0.007 g/cm^3 小さかった。その後、ばらつきは見られるものの、卵発生が進むに伴い比重は増大を始め、孵化直前には海水の比重よりも 0.003 g/cm^3 小さい値となった。産卵0時間経過後の比重 ($1.016 \pm 0.0003 \text{ g/cm}^3$) と産卵24時間経過後の比重 ($1.021 \pm 0.0013 \text{ g/cm}^3$) で有意差が認められた (Tukey-Kramer法; $p < 0.05$)。また、産卵後経過時間と比重の間には正の相関が認められた。 ($r = 0.903$, $p < 0.05$, $n = 14$)

卵の浸透圧は、産卵直後から産卵16時間後まで、 $349 \sim 386 \text{ mOsm/kg}$ と比較的小さく、産卵20時間後は、 $386 \sim 422 \text{ mOsm/kg}$ と増大した。産卵20時間後、産卵24時間後の浸透圧とその他の全ての時間における浸透圧で有意差が認められた (Tukey-Kramer法; $p < 0.05$)。

比重と浸透圧の間には弱い正の相関が示唆されたが、有意な相関は確認できなかった ($r = 0.469$, $p = 0.090$, $n = 14$)。

3-2. 卵の発生段階、孵化時間、孵化率、奇形率および生残率に及ぼす水温の影響

3-2-1. 卵の発生段階に及ぼす水温の影響

水温を変化させずに飼育した仔魚の奇形率は、 25°C で 11.6% 、 29°C では 20% であった。一方、産卵8時間後に 25°C から 29°C に水温変化させた場合は、奇形率 20.4% 、12時間後に水温変化させた場合は 20.4% となり、 29°C で飼育した場合の奇形率とほぼ同じ値となった。しかし、16時間後に水温変化させた場合は 15.0% となり、 25°C で飼育した場合の値に近づいた (図3)。このことから、本種はレンズ形成期 (産卵16時間後) までに高水温に晒された場合に水温から受ける影響が大きく、産卵後16時間が経過しているのであれば、高水温の影響は比較的軽減できることが分かった

3-2-2. 孵化時間

23～30℃の水温範囲で飼育したときの孵化時間を図4に示す。孵化に要する時間は、飼育水温が高くなるにしたがって減少する傾向が認められた。また、飼育水温と孵化開始までの所要時間の関係は、次式のような回帰式で表すことができた。

$$2010年：T = -1.9167\theta + 77.973 \quad (r = 0.989)$$

$$2011年：T = -1.8822\theta + 75.736 \quad (r = 0.967)$$

$$T：孵化開始までの所要時間（hrs） \quad \theta：飼育水温（℃）$$

ここで、2011年における孵化所要時間と水温の関係は、26℃付近で交差する2本の直線で表すことができた。23～26℃および26～29℃の間で最小二乗法による回帰式を求めたところ、それぞれ-2.60と-1.29の傾きを持つ2つの直線が得られた（図5）。

また、2010年と2011年の結果より、飼育水温と孵化に要する時間の間には強い相関関係が認められたことから、水温が孵化所要時間に与える影響は極めて大きいと考えられる。

3-2-3. 孵化率

2010年では、いずれの水温で飼育した卵も75%以上の孵化率であった（図6）。飼育水温23、24、25、26℃では90%以上の高い孵化率が認められたが、28℃では80%以下と有意に減少した（Steel-Dwass test; $p < 0.05$ ）。

2011年では、いずれも85%以上の孵化率であった（図6）。飼育水温23、24℃ではおよそ95%の高い孵化率が認められたが、28℃では85%と有意に減少した（Tukey-Kramer法; $p < 0.05$ ）。

2010年、2011年共に温度上昇に伴い、孵化率が減少する傾向が確認された。

3-2-3. 奇形率

2010年の奇形率は、23、25、26℃で5%以下と低く、27℃以上で水温の上昇に伴い増大した。30℃では26.7%と最も高かった（図7）。2011年における奇形率は、23、24℃で5%以下と低く、25、26、27、28℃では20%以上と非常に高い値を示した（図7）。

2010年、2011年共に温度上昇に伴い、奇形率が増大する傾向が確認されたが、増大の傾向や発生頻度が両年で異なることが分かった。

3-2-4. 生残率

2010年、2011年ともに産卵140時間後まで飼育した（図8）。2010年における生残率は、23、25、26℃では産卵56時間後まで80%以上の高い値が認められた。23、25℃では、その後産卵140時間後まで70%以上の高い値を維持していたが、26℃では産卵後56時間から72時間後にかけて大きく減少し、40%となり、100時間以後は20%程度で推移していた。27、28、30℃では産卵直後から減少し続け、30℃では産卵72時間で、27℃、28℃では産卵100時間後に全ての個体が斃死した。

2011年では、23、24、25、26、27°Cでは産卵56時間後まで70%以上の高い値が認められた。23°Cは産卵140時間後まで70%以上の高い値が認められたが、24、25、26、27°Cでは産卵56時間以後に推移減少し、27°Cでは産卵124時間、26°Cでは産卵140時間後に全ての個体が斃死した。28°Cでは産卵直後から減少し続け、産卵100時間後には全ての個体が斃死した。また、開口期である産卵約70時間を経過すると、各温度区生残率10%程度の差を保ち、推移減少した。

2010年、2011年の結果より、卵仔魚の生残は水温が高い程、その影響を強く受けることが示唆された。

3-3. 孵化最適水温

水温の逆数と孵化時間の逆数の対数を取り、卵の代謝効率を表したアレニウスプロットを図9に示す。全ての階層型クラスター解析の結果、2011年は25°C以下とそれ以上の2グループに分類することができ、各々の回帰式は次式で表すことができる。

$$25^{\circ}\text{C以下} : y = -27.4x - 0.343 \quad (r = 0.997)$$

$$26^{\circ}\text{C以上} : y = -17.1x - 0.757 \quad (r = 0.974)$$

$$y : \log(1/\text{孵化所要時間}) \quad x : 10^3 \times 1/\text{水温}$$

代謝効率の転換点は24.8°Cとなった。また回帰直線の傾きの差の検定により転換点で有意差を検討したところ、有意な差が認められた ($p < 0.001$)。そこで代謝効率が高く、孵化率も高い傾きの転換点を2011年の孵化最適水温を24.8°Cと決定した。

一方同様に、2010年ではクラスター解析により26°C以下とそれ以上の2グループに分類することができ、各々の回帰式は次式で表すことができた。

$$26^{\circ}\text{C以下} : y = -17.5x - 0.776 \quad (r = 0.989)$$

$$27^{\circ}\text{C以上} : y = -20.2x - 0.657 \quad (r = 0.996)$$

しかし代謝効率の転換点を導くことはできず、回帰直線の傾きの差の検定によって有意な差を認めることはできなかった。そこで孵化率が高く、奇形率が低い26°Cを孵化最適水温と決定した。

3-4. 成長率

2011年において23~28°Cで飼育した孵化直後の仔魚のDNA量を測定した。28°Cにおいて $6.41 \pm 1.62 \text{ ng}/\mu\text{g}$ と最も高い値を示し、25°Cにおいて $3.76 \pm 0.85 \text{ ng}/\mu\text{g}$ と最も低い値を示した。仔魚の単位重量当たりのDNA量と水温の間に、有意な差が認められた (ANOVA; $p < 0.05$) (図10)。23、24、25°Cで飼育した仔魚の単位重量当たりのDNA量と26、28°Cのそれぞれにおいて有意差が認められた (Tukey-Kramer法; $p < 0.05$)。また、相対的に単位重量当たりのDNA量の値が低い25°C以下と、その値が高い26°C以上の2グループに分類し検討したところ、2グループ間で有意な差が認められた (t検定; $p < 0.05$)。

第四章 考察

4-1. 卵径、卵の比重および浸透圧

卵径

クロマグロ卵発生の一つの基礎的知見として、クロマグロの卵径を測定した。

まず、産卵直後の卵径を2011年6月14日と6月27日で比較すると、6月14日に水温26.9°Cで産卵された卵径の平均値(±標準偏差)は、 $1.000 \pm 0.032 \text{ mm}$ であり、6月27日に水温27.9°Cで産卵された産卵直後の卵径の平均値は、 $0.967 \pm 0.026 \text{ mm}$ であった。宮下(2002)では、産卵水温27°Cにおける卵径の平均値は、0.98mm、産卵水温28°Cでは0.97mmとしているため、後者の値は、概ね本研究での値と同等である。一般的に、産卵水温の上昇に伴い、卵径が減少することがシロギス *Sillago japonica* (柏木ほか 1985) やカタクチイワシ *Engraulis japonicus* (Imai and Tanaka 1987)、キュウセン *Halichoeres poecilopterus* (木村・桐山 1992) などで認められており、とくにImai and Tanaka (1987) では水温制御または自然条件下でカタクチイワシを飼育し、産卵させて得た結果から、卵サイズをコントロールする主要な要因は水温であると結論付けている。クロマグロにおいても、その傾向が示唆されており(宮下 2002)、本研究においても同様に産卵水温が上昇すると卵径が減少する傾向が認められたことから、水温が本種の卵径を決定している要因の一つであることを強く支持していると考えられる。その他の要因を検討すると、Ware (1977) は、仔魚の餌生物の平均サイズが小型化し、その生物量が増加すると太平洋マサバの卵径が減少したことから、卵径の減少は、生物学的要因によって説明できると結論付けている。本研究では、奄美センターでの生簀における仔魚の餌生物の平均サイズを検討していないため、生物学的要因によって本種の卵径が変化することは確認できないが、今後はそのような要因も考慮することで、クロマグロ卵の知見を蓄積していきたい。

水温26°Cで飼育した卵径の経時的変化については、産卵後12時間経過後までに卵径が徐々に小さくなるが、その後増大する様子が観察された。飼育水温26°Cにおける産卵12時間後の発生段階は、原口閉鎖期の段階であり(宮下ほか 2002、溝呂木 2010)、卵割が始まってから原口閉鎖期にかけて卵径を減少させることによって器官形成を効率よく行うことができ、その後、器官形成が成されるにつれ卵径が増大することで、円滑に孵化に至ることができると考えられる。しかし、この現象のメカニズムは現在まだ分かっていないため、今後の検討課題としたい。また、今回は卵10粒から平均卵径を求めたため、この結果は測定誤差により生じたものである可能性を払拭できないため、今後サンプルサイズを大きくし、精度の良い結果を求めたい。

卵の比重

分離浮性卵の発生過程に伴う比重の変化は魚種によって異なる。田中（1995）によるとクロマグロ卵の比重は産卵18時間後から24時間後の孵化直前に、急激に比重が増大することを報告している。本研究では、クロマグロ卵の比重は産卵直後から孵化にかけて時間に比例して増大したが、田中（1995）で報告された増減の傾向は顕著には認められなかった。これは、飼育水温が異なるため、発生に伴う卵の浸透圧調節の速度が異なることや、田中（1995）の密度成層水柱法を用いて測定を行っていないことなどが原因として挙げられる。他種と比較すると、マサバ *Scomber scombrus* 卵では本研究結果と同様に時間に比例して増大するが (Coombs 1981)、イシダイ *Oplegnathus fasciatus* (Tanaka 1990) のような卵発生中に比重が顕著に減少することとはなかった。

飼育水温と比重の関係について成された既往研究があり、マイワシ卵の比重において、水温21℃では産卵24時間後まで 1.022 ± 0.002 で推移しており変化は見られないが、その後急激に増大を始め孵化時までの数時間で 1.025 ± 0.002 となった。しかし、水温が変化すると卵の発生速度と比重が変化するため、水温16.6℃と低くなると、結果は比重の増大を始めてから孵化までの時間が長く、孵化時には 1.027 ± 0.002 となった（田中 1993）。このように、卵の比重は飼育水温によってその増減の傾向や値も変わることが予想されるため、今後はクロマグロにおいても飼育水温を生残率等と同様に23～28℃と変化させ比重を測定し、水温が比重に与える影響を検討する必要がある。そうすることで、実際の海洋環境下においても卵の流され方・散らばり方を予測することができ、本研究で求めた生残率を考慮することで、卵仔魚の生残を予測することができると考えられる。

卵の浸透圧

分離浮性卵も比重と同様、浸透圧も発生過程に伴い変化することがいくつかの魚種で知られている (Kjøsvik and Lonning 1983)。クロマグロの浸透圧については既往研究が存在せず、本研究が初の測定結果となった。クロマグロ卵の浸透圧は、発生段階の途中まで低浸透圧で、産卵16時間から20時間にかけて急激に増大し、孵化時には最高値（405mOsm）に達したが、孵化にかけて全卵の浸透圧が環境水のそれより1/2以下であった。産卵16時間から20時間の急激な増大は、器官形成の後半に卵膜が孵化酵素によって軟化し、環境水への透過性が増大したために起こるものと推定される（田中 1993）。全卵の浸透圧が環境水より1/2以下であることは、タイセイヨウタラ *Gadus morhua* と同じで (Davenport et al. 1981)、分離浮性卵は水分の組成率が高く、それにより環境水よりも比重が小さくなり海水表面を浮遊するためである (Craig and Harvey 1987)。

近藤ら（2001）は、卵の比重と浸透圧の相関関係を認めているが、本研究では強い相関関係を認めることはできなかった。しかし、本研究でも孵化前に両者の値が増大していることは確かであり、浸透圧調節を行うことで比重も変化させていることが示唆される。Mangor-Jensen

(1987) は卵の比重は卵黄および卵の皮下腔に存在する低張の組織液によって維持されており、浸透圧調節が卵の比重に対して強く関与していることを示唆している。本研究では、胚・卵黄の浸透圧を別々に測定していないため、両要因が比重にどのように関わっているかは不明であるため、今後の検討課題としたい。

本研究では卵径、比重、浸透圧を測定することで、クロマグロ卵発生の一つの基礎的知見として意義のある結果を得ることができた。今後は、前述したが、生残率等と同様に23～28℃と変化させて各々を測定することで水温が各要因に与える影響を調べる必要がある。さらに、環境変動として地球温暖化に伴う水温変化を考え、本研究結果である各水温の生残率を用いてクロマグロ卵仔魚の生残モデルを構築し、資源変動予測を行いたいと考えている。その際に、海の水平流は鉛直的には均一ではないので、卵や仔魚においてもその比重による鉛直移動によって流れを乗り換え、水平方向へ移動するため(川合 1976)、生残モデルを構築する上でも様々な水温における比重・浸透圧の値を測定することは、卵仔魚の鉛直分布に関する定量的な情報であり、それらの流され方・散らばり方を推測する際に重要な知見となる。

4-2. 水温が卵の発生速度、孵化率、奇形率および生残率に及ぼす影響

卵の発生速度

溝呂木(2010)は、卵質の影響や26～30℃の狭い水温帯で実験を実施したため、水温と孵化開始までの所要時間の関係において、その回帰式に明瞭な傾きの転換点は認められなかったとしているが、本研究では2011年に明瞭な転換点が確認された。宮下(2000)、加藤(2008)においても明瞭な転換点が確認されており、いずれも25～26℃の間に存在している。このような孵化までの到達時間における境界温度の存在が、他種においてもサバ *Scomber scombrus* (Worley 1933)、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* (安永 1988)、スズキ *Lateolabrax japonicus* (Makino et al. 2003)、オニオコゼ *Inimicus japonicus* (渡辺ら 2004) など多くの魚類で報告されており、ある水温を境に発生速度が遅くなることが知られている。この現象は、境界温度の前後で卵内の酵素あるいは触媒反応系に質的变化が生じるためと考えられている(山本 1943、安永 1988)。

ここで、水温が発生速度に及ぼす影響を検討するため、Van't Hoffの Q_{10} 値について考える。 Q_{10} 値とは、ある温度での生体の反応速度と、それより10℃高い温度での反応速度の比で、反応速度に及ぼす水温の影響の指標となる値であるとされている(山本 1943)。以下に式を示す。

$$Q_{10} = \frac{V_{t+10}}{V_t}$$

t は水温、 V_t は水温 t における速度、 V_{t+10} は $(t+10^\circ)$ の時の速度を表す。また、本研究では23～29℃と、7℃の温度範囲で行ったため、 Q_{10} をSnyderの式で換算した。

$$Q_{10} = \left(\frac{V_2}{V_1} \right)^{\frac{10}{t_2 - t_1}}$$

V_2 は水温 t_2 における速度、 V_1 は水温 t_1 における速度を表す。

本研究において、 Q_{10} 値は23～29℃の範囲において2.012であった。本結果は、ほぼ同水温で行ったオニオコゼ ($Q_{10}=1.23$, 24～30℃) (渡辺ら 2004)、キジハタ *Epinephelus akaara* ($Q_{10}=2.08$, 24～30℃) (萱野・尾田 1991)、ゼブラフィッシュ *Brachydanip rerio* ($Q_{10}=1.40$, 24～32℃) (Robert and Leo 1968) より高く、クロマグロ卵の発生速度はオニオコゼやキジハタよりも水温変化の影響を受けやすいと考えられる。換言すると、孵化開始までの所要時間が水温に影響を受けて他種よりも急激に変化することを意味している。これを自然環境下において仮定すると、孵化に適した水温帯を外れて産卵された場合、同時に孵化開始時期も著しく変化するため、孵化に適した所要時間を経ることができず、その後の生残にも影響すると考えられる。

また、本種の Q_{10} 値は23～26℃では2.330、26～29℃では1.737であり、低温側で高く高温側で低いことから、この前後において、前述した卵内の反応系の変化が裏付けられた。

孵化率

本研究におけるクロマグロ卵の孵化率は、2010年、2011年ともに低温側では、23℃で90%以上の高い孵化率がみられ、高温側では、30℃でも70%以上の孵化率がみられた。ここで、加藤 (2008)、溝呂木 (2010) における孵化率とその産卵水温を合わせて図11にまとめた。柏木ら (1989) は孵化限界水温を50%以上の孵化率がみられる水温と定義しており、それに従うと、本研究と既往研究から孵化限界水温の上限は32℃程度になる。本研究では最低飼育水温を23℃で行ったため、それ以下の孵化率を測定することができなかったが、宮下 (2000) によると、22℃では70%、20℃では孵化率20%と急激に低下していることから孵化限界水温の下限は21℃程度であるとしている。以上より孵化限界水温幅は21～32℃ (温度幅11℃) 程度であると示唆された。これは、シマアジ *Pseudocaranx dentex* の20～24℃ (温度幅4℃) (川辺ほか 1991) より広く、マダイ *Pagrus major* の14～31℃ (温度幅17℃) より狭く (岩井・柏木 1989)、ヒラメの11.2～20.6℃ (温度幅9.4℃) (岩井・柏木 1989) などと同等な値となった。

2008年奄美における孵化率の変化の傾向が、他の年の傾向と異なっていた。2008年奄美では産卵水温が30.3℃と極端に高いため、その影響を受け、24℃での孵化率も極端に低くなったことが示唆される。柏木ら (1989) によるとシロギスでは孵化限界水温は産卵水温に依存して変化することを示唆しており、これがクロマグロにも当てはまる可能性がある。

2008 年、2009 年の葛西における孵化率は、他の年の奄美における孵化率よりも全温度区において 10%程度低い値を示しているが、この原因は葛西臨海水族園における水槽内の海水の水質にあると考えられ、中でも高濃度に存在していた硝酸態窒素である可能性が高いと示唆される。飼育環境に対する耐性が高いオーストラリアで養殖魚として広く流通しているスズキ目 Terapontidae 科魚類 *Bidyanus bidyanus* の幼魚では、硝酸態窒素濃度が 1.43mg/L 以上で低成長となり、16.2mg/L 以上で低生残となることが報告されている (Frances *et al.* 1998)。一方、葛西の水槽内の海水中硝酸態窒素濃度が $20.67 \pm 4.03 \text{ mg/L}$ であり極めて高い値を示した (溝呂木 2010)。本研究では奄美センターの海中硝酸態窒素濃度を測定していないため、正確に比較することはできないが、この濃度が本種受精卵の孵化率に及ぼす影響は極めて大きいと考えられる。

奇形率

本研究におけるクロマグロ仔魚の奇形率は、2010年では27°Cから緩やかに増加したが、2011年では2010年と比較すると25°C以上では異常に高い値を示した。2011年は採卵場所・親魚が2010年と異なるため、それゆえに卵質の良し悪しや採卵場所から実験場所である奄美センターまでの運搬で生じる負の影響等の原因が考えられる。

ここで、溝呂木 (2010) における奇形率の結果を合わせて図12に示す。葛西での奇形率は兩年ともに水温の上昇に伴い増大する傾向にあるが、奄美センターでの奇形率と比較すると顕著に高い。これは、葛西と奄美における卵質の差異と、前述した硝酸態窒素濃度等の水質の差異が主要な要因であると考えられる。また、溶存酸素濃度について考慮すると、分離性浮性卵は海水に比べて比重が小さく、密集層を形成するため、間隙水中で溶存酸素濃度の影響が強く (服部 2004)、シマアジ *Pseudocaranx dentex* では受精卵の観察によって溶存酸素濃度の低下に伴い奇形が引き起こされることが報告されている (澤田ほか 2008)。このようなことから、溶存酸素濃度、硝酸態窒素濃度等の水質と卵質の両方の影響によって奇形個体の出現が左右されていることが示唆された。奇形個体は早期に死滅してしまうため、卵仔魚を高生残率にするには、水質と卵質の両要因を考慮して飼育する必要があることが分かった。

本研究では、脊索屈曲個体や短軀個体といった肉眼で確認できる奇形を奇形個体として計測したが、Koumoundouros (1997) らはゴウシュウマダイ *Sparus auratus* の尾鰭に着目し、ねじ曲がりの有無、または非対称な尾鰭であるか否かという2点において奇形個体を測定した。このような奇形を本研究では定義していないため、今後は仔魚の透明骨格標本を作成し、顕微鏡下で確認し観察することで、厳密な意味での奇形個体の測定が期待できると考えられる。また、骨格奇形の発症システムは、遺伝子解析を通じて、ビタミンAやレチノイン酸が脊索に奇形を発生させること、軟骨の主成分で硬質タンパク質あるコラーゲンの代謝異常によって奇形が発生することが分かっている (鈴木 2000)。しかしながら、奇形の発症システムは未だ解明

されていない点が多く、仔魚の高生残・高成長のための一つの手立てとして、水温がどのように奇形発症に関わっているのかを解明していく必要がある。

生残率

2010年、2011年ともに孵化後5日程度まで飼育した。宮下（2006）によると、飼育水槽の大きさによって孵化後仔魚の生残率は著しく異なることを指摘しており、孵化後経過日数が増えるにつれてその影響も強くなる傾向にある。20m³と40m³の水槽では孵化後5日において、生残率は30%も異なることが分かっている。この原因としては仔魚本来の活力による影響も大きいと思われるが、水質、飼育水の流動など多くの要因が複雑に絡み合って生残率を決定している（宮下 2006）。本研究では6穴プレートという超閉鎖空間で飼育を行っているため、水槽の影響はさらに強いことが予想され、開口期遊泳力を持ち始める開口期以後はさらにその影響が強くなると考えられる。そこで、比較的遊泳力を持たず、開口期以前である孵化後1日経過後の仔魚の生残率を図13に示す。なお、孵化後の仔魚に及ぼす水温の影響をできるだけ忠実に表すように、奇形個体を除いた孵化時の仔魚の生残率を100%として、孵化後生残率を示した。23℃では99%、24℃では94%、25℃では95%、26℃では87%、27℃では75%、そして28℃になると53%となり、高水温になると顕著に減少した。以上より、孵化後においても高水温の影響を受け、生残率が低下することが示唆された。

4-3. 卵の発生段階に及ぼす水温の影響

魚卵の発生は短時間のうちに大きな形態変化を伴って進行する。この発生に伴う魚卵の水温変化に対する耐性とその影響を明らかにすることは、卵の孵化飼育の水温管理等の種苗生産技術だけでなく、海洋環境における卵の生残可能性に関わり天然の資源変動予測をする上で重要である。しかし、これまでクロマグロについては、発生段階における水温変化に対する耐性とその影響を調べる実験は行われておらず、本研究において調べることにした。既往研究では、クロマグロ卵における飼育水温別の各ステージへの到達時間が調べられている（溝呂木2010）。高水温で飼育を行うと原口閉鎖期とレンズ形成期に要する時間が著しく変化が生じることから、この発生段階において水温変化に対する影響を受けやすいことが示唆されている。そこで、本研究では原口閉鎖期前後に着目し、産卵経過後8時間から16時間まで4時間おきに水温を変化させ、水温の影響として奇形率の増減を測定した。

このような魚卵の発生段階における水温変化の影響は、他の多くの魚種で高温に接触する実験によって確かめられている。例えば、シロギス *Sillago japonica*では囊胚中期～原口閉鎖（眼胞形成）期までの時期が水温変化に弱く（Oozeki *et al.* 1985）、同様なことは大西洋産のタラ的一种 *Melanogrammus aeglefinus*卵でも知られている（Laurence *et al.* 1976）。また、イシガレイ *Kareius bicoloratus*では心拍期の始めで最も水温変化に耐性が弱く（Kiyono and Shinshima 1983）、ニジマスでは卵割期よりも原口閉鎖期が水温変化に対する耐性が弱いなど

(Ineno *et al.* 2005)、その時期および期間は魚種によって異なることも知られている(木下・道津 1989)。本種では、レンズ形成期(産卵16時間後)までに高水温に晒されると水温から受ける影響が大きくなり、産卵後16時間を過ぎるとその影響が軽減されたことから、イシガレイよりもシロギスや*Meaeglefinus aeglefinus*のタイプに類似していると判断される。また、得られた結果を実際の海洋環境下において考慮すると、輸送拡散の割合や輸流の関係から、1日以内に25°Cから29°Cになるのは非常に珍しいケースであるものの、黒潮縁辺部など急速に高水温になることが予想される海域で産卵された場合に卵は奇形を生じるが、産卵後おおよそ1日を経過しているのであれば、その影響は比較的軽減されることが分かった。

レンズ形成期など、原口閉鎖期前後に高水温に晒されることによって奇形個体が生じる原因としては、Hopkins and Dean (1975) はメダカ *Fundulus heteroclitus* で原口部卵黄の膨張による卵黄膜破裂が生じてしまうことや、Oozeki and Hirano (1985) はシロギスで囊胚形成速度の不均一化による細胞結合の破壊が生じてしまうことなどを報告している。また、卵発生に伴う酵素活性に着目した既往研究では、Love (1970) は、ニジマスの卵発生における筋肉の神経刺激に関与する酵素、アセチルコリンエステラーゼの活性がレンズ形成期に急激に増大したことや、本種に関しては器官分化および形成に機能する酵素活性が、Kupffer胞出現期(レンズ形成期)後、孵化にかけて急激に増加したことから(宮下 2002)、そのような期間に高水温に晒されると適切に酵素活性の調整ができないことが要因として挙げられる。

4-4. 孵化最適水温

溝呂木(2008)では孵化最適水温を決定する上で、孵化率が最大かつ奇形率が最小の温度を孵化適水温と決定したが、本研究では、新たにアレニウスプロットを作成し、卵発生に必要な活性化エネルギー(卵の代謝効率)を求め、生理的な面も考慮した。本研究で得られた結果と既往研究(宮下ほか2000、加藤2008、溝呂木2010)の結果を基に全ての年においてアレニウスプロットを用いた定義に従い、決定した孵化最適水温の比較を図14に示す。この図から、産卵水温が変化した場合においても、孵化最適水温は、約25°Cから26°Cの範囲に限定されていることが分かる。また、回帰式は産卵水温と孵化最適水温の相関を表しているが、宮下(2000)と奄美2011の結果を除いた場合、孵化最適水温は産卵水温に依存して変化せず、約26°Cに限定される。いずれにせよ、どのような水温で産卵が行われたとしても、卵は25°Cから26°Cの間で成育するのが最適であることが示唆された。産卵水温と孵化最適水温の関係を明確にするには、水温管理を行った水槽で親魚を生育し、様々な水温で産卵を行わせ、孵化最適水温を決定する必要があるが、現時点での技術では不可能であるため、図14のように既往研究と比較し、求めた。

他種においては、オーストラリアに生息するstriped trumpeter *Latris lineata* など、孵化最適水温はおおむね産卵水温と一致することが示されており(Michel and Arthur 1999)、シロギスにおいては孵化最適水温が産卵水温に依存して変化すると言われているが(岩井ら 1989)、本研

究では、図14を加味すると、産卵水温がたとえ26～30℃と高くなったとしても、孵化最適水温は25℃から26℃の範囲に限定されることが分かった。

4-5. 成長率に及ぼす水温の影響

一つの細胞に含まれる DNA 量は全て等しく、DNA 量が多いことは細胞数も多いことを意味する。そこで、仔魚の全 DNA 量を測定し、重量で割ることで単位重量あたりの DNA 量を求め、成長率とした。単位重量あたりの DNA 量が多いことは、細胞分裂がより早く進んでおり、成長率も高いことを意味している。タイセイヨウニシン *Clupea harengus* の仔魚においても仔魚の単位重量あたりの DNA 量が多いと、より良く成長していることを示している (Mathers *et al.* 1994)。本研究では、各水温で飼育した仔魚の単位重量あたりの DNA 量を測定し、26℃以上で成長率が高くなることが分かった。

一般に、孵化直後の仔魚の成長や栄養状態の評価には核酸比が用いられることが多いとされている。水温上昇に伴う核酸比の増加は、タイセイヨウダラ *Gadus morhua* (Caldarone *et al.* 2003)、ツノガレイ属 *Pseudopleuronectes americanus* (Buckley 1980)、イカナゴ属 *Ammodytes americanus* (Buckley 1984) など多くの魚種で確認されており、本種に関しても、摂餌開始後の仔魚で測定されているが (Tanaka *et al.* 2008)、溝呂木 (2010) では、孵化直後の仔魚の核酸比と水温の間に相関関係は認められず、飼育環境、水温による違いは検出されなかった。Buckley (1984) は、餌の量が十分な水温帯に生息する仔魚を比較する際は、水温のみが成長速度を決定する要因となり、成長のばらつきを説明することが可能であることから、核酸比を成長の指標として用いることは有効であると述べている。しかし、卵黄タンパクから魚体タンパクへの変換が成長を担っている発生途中の卵や卵黄吸収前の仔魚 (孵化直後から孵化後3日齢までの卵黄仔魚) では、成長の指標に核酸比を用いることは困難であるため (溝呂木 2010)、本研究では前述した単位重量あたりの DNA 量を用いた。今回は仔魚の湿重量のみを用いたため、今後は仔魚の乾重量を計測し、単位乾重量あたりの DNA 量を算出することで、より正確な成長率を求めることが可能であると考えられる。

第五章 総括

水温が孵化・成長・生残に与える影響

水温がクロマグロ卵仔魚の孵化・成長・生残に与える影響を総合的に判断するため、ここまで算出した孵化最適水温、成長率、生残率をまとめて図15に示す。成長率（仔魚1μgあたりのDNA量）を棒グラフ、孵化後1日経過後における生残率を折れ線グラフで示し、さらに孵化最適水温帯を背景に挿入した。図15から、孵化に適した水温であり、かつ仔魚が高成長、高生残である水温は26°C付近であることが示唆された。今後、環境変動として地球温暖化が生じ、産卵場の海水温が変化した場合においても、26°C付近の水温帯が卵仔魚にとって重要であり、卵仔魚の大量減耗を回避し、資源量を維持するためには、この水温帯で卵仔魚が生育する必要があることが分かった。

海洋環境変動と本研究で得られた結果の関係

海洋環境変動として、地球温暖化に伴う水温上昇が本研究で得られたクロマグロ卵仔魚の孵化・成長・生残に及ぼす影響を検討する。MIROC（Hasumi and Emori 2007）により算出された地球温暖化予測によると、2050年6月には30°C水塊が台湾近海に、28°C水塊が沖縄本島付近に達することが予測されているが（気象庁 2008）、本種の産卵水温帯は22-30°Cであることから、現在と同じ海域および時期で産卵を行う可能性は高い。しかし、本研究における孵化最適水温の結果から25~26°Cの水温帯が卵の孵化・生残に重要であるため、産卵場の海水温が変化した場合、その後の高生残は見込めない。さらに2100年6月には、南西諸島からフィリピン近海にかけての産卵場全体が30°Cに達すると予測されており、その環境で産卵された受精卵も、2050年以上にその後の高生残は見込めない。

ここで、本研究において発生段階ごとに水温変化を行った実験の結果から、産卵後おおよそ1日経過しているのであれば、高水温の影響は比較的軽減されることが分かった。そこで、仮にある特定の水温が低い所で生まれた場合を考えると、地球温暖化の影響で周りに高水温帯があった場合においても、おおよそ1日経過しているのであれば、高水温に耐えることができる。また、同じ海域および時期に産卵を行うが、その深度を変化させる場合を考える。クロマグロ卵の発生初期～中期における浮上速度は1.7~3.5mm/s（平均2.6mm/s）で（Tanaka *et al.* 1997）、マイワシの1.0~2.0mm/s（田中 1993）など他の多くの種よりも速く、発生後期になると比重が海水と近い値に変化するため浮上速度も遅くなる。このような浮上速度を考慮すると、表面海水よりも低水温である深い水深（約100m）で生む可能性があれば、高水温に耐え得る産卵16時間経過後まで低水温帯にいたことができると考えられる。近縁種のタイセイヨウクロマグロでは、天然環境で水深8~10mでの産卵が確認されているが（藤田 2004）、クロマグロにおいて、それより深い水深で産卵を行う可能性があるかもしれない。

以上より、本研究で得られた知見を合わせると一概に地球温暖化が生じて海水温が上昇した

からといっても、卵仔魚が低生残率になるとは断言することはできない。

天然海域における本種の産卵生態に関しては、未だ未解明な部分が多い上、その観察も極めて困難であるため報告されている例は少ない。今後、正確な産卵海域や先に言及した様に、より深い水深での産卵の有無を確認することが出来れば、地球温暖化に伴う本種の産卵海域変化、また孵化・成長・生残に及ぼす影響について予測することができ、ひいては資源量との関係を明らかにすることができると考えられる。

謝辞

本研究を行うにあたり、終始にわたってご指導、ご鞭撻いただいた東京大学大学院新領域創成科学研究科および大気海洋研究所の木村伸吾教授に深く感謝の意を表します。また、同じく北川貴士助教には研究の発端から多大なるご指導、ご配慮をいただきました。学生生活においても暖かいご支援を賜りましたことを重ねて御礼申し上げます。

水産総合研究センター・西海区水産研究所奄美庁舎の塩澤聡場長、田中庸介研究員をはじめとする職員の方々には、飼育実験を実施するに際し有益なご助言、実験室の提供をしていただき、心より感謝申し上げます。

東京大学大学院新領域創成科学研究科および大気海洋研究所の職員の皆様には激励とともに学生生活を有意義に送ることができるように支えて頂きました。修士課程での学生生活を支えていただいた、海洋生物圏環境学分野および生物海洋学分野の先輩諸氏および後輩の学生諸氏に厚くお礼申し上げます。最後に、いつも応援してくれた家族に心より感謝致します。

引用文献

- Ahlstrom, E. Moser, H. Characters useful in identification of pelagic marine fish eggs. Fisheries (Bethesda) **21**, 121-131 (1980).
- Bayliff, W.H. A review of the biology and fisheries for northern bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, in Pacific Ocean. FAO, Fish. Tech. Pap. **336**, 224-295 (1994).
- Block, B. A. Physiological ecology in the 21st century: advancements in biologging science. Integrative and comparative biology **45**, 305-20 (2005).
- Boustany, A.M., Matteson, R., Castleton, M., Farwell, C. Block, B.A. Progress in Oceanography Movements of pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) in the Eastern North Pacific revealed with archival tags. Progress in Oceanography **86**, 94-104 (2010).
- Buckley, L. J. Changes in ribonucleic and deoxyribonucleic acid and protein 10 content during ontogenesis in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* and effect of starvation. Fishery Bulletin, **77**, 703-708 (1980).
- Buckley, L. J. RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. Marine Biology **80**, 291-298 (1984).
- Caldarone, E. M., Wagner, M., St. Onge-Burns. Buckley, L. J. Protocol and guide for estimating nucleic acids in larval fish using a fluorescence microplate reader. Northeast Fisheries Science Center Reference Document, 1-11 (2001).
- Caldarone, E., StOnge-Burns, J. & Buckley, L. Relationship of RNA/DNA ratio and temperature to growth in larvae of Atlantic cod, *Gadus morhua*. Marine Ecology Progress Series **262**, 229-240 (2003).
- Chen, K. S., Crone, P. & Hsu, C.-C. Reproductive biology of female Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* from south-western North Pacific Ocean. Fisheries Science **72**, 985-994 (2006).
- Coombs, S. H. A Density-Gradient Column for Determining the Specific Gravity of Fish Eggs , with Particular Reference to Eggs of the Mackerel, *Scomber scombrus*. Marine Biology **106**, 101-106 (1981).
- Craik, J. C. A., Harvey, S.M. The causes of buoyancy in eggs of marine teleosts. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom **67**, 169-182 (1987).
- 藤田清 マグロの種類と生態. 小野誠一郎編. マグロの科学. 成山堂, 1-55 (2004).
- Frances, J., Allan, G.L., Nowak, B.F. The effects of nitrite on the short-term growth of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture **163**, 63-72 (1998).

- Goardoa, A., Olivar, M. P., Arevalo, R., Viñas, J. Molí, B. and Illas, X. Determination of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) spawning time within a transport cage in the western Mediterranean. ICES Journal of Marine Science, **66**: 2205-2210 (2009).
- Hagenmaier, H.E. The hatching process in fish embryos. IV. The enzymological properties of a highly purified enzyme (chorionase) from the hatching fluid of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry **49**, 313-24 (1974).
- Hasumi, H. and Emori, S. K-1 technical report No. 1. In: K-1 Coupled GCM (MIROC) Description. <http://www.ccsr.u-tokyo.ac.jp/kyosei/hasumi/MIROC/tech-repo.pdf> (2004)
- 服部学 養殖マダいの脊椎骨異常に関する研究. Bull. Fish. Lab. Kinki Univ. **9**, 1-66 (2004).
- 平田喜郎・浜崎活幸・今井彰彦・照屋和久・岩崎隆志・浜田和久・虫明敬一 カンパチ仔魚の生残、成長、摂餌および鰾の開腔に及ぼす 光周期と水温の影響. 日本水産学会誌 **75**, 995-1003 (2009).
- Hopkins, S.R., Dean, J.M. The response of developmental stages of *Fundulus* to acute thermal shock. Physiological ecology of estuarine organisms 301-318 (University of South Carolina Press: Columbia, 1975).
- Imai, C., Tanaka, S. Effect of sea water temperature on egg size of japanese anchovy. Nippon Suisan Gakkaishi **53**, 2169-2178 (1987).
- Inagake, D., Yamada, H., Segawa, K., Okazaki, M., Nitta, A., Itoh, T. Migration of young bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck et Schlegel), through archival tagging experiments and its relation with oceanographic condition in the western North Pacific. Bull. Nat. Res. Inst. Far Seas Fish **38**, 53-81 (2001).
- Ineno, T., Tsuchida, S., Kanda, M., Watabe, S. Thermal tolerance of a rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* strain selected by high-temperature breeding. Fisheries Science **71**, 767-775 (2005).
- ISC Report of the eighth meeting of the international scientific committee for tuna and tuna-like species in the north pacific ocean. International Scientific Committee (2008).
- Itoh, T., Sachiko, T. Migration patterns of young Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) determined with archival tags. Fish. Bull. **101**, 514-534 (2003).
- 伊藤智幸 耳石日輪と 0 歳魚の体長別漁獲データから推定したクロマグロの産卵時期別資源寄与率. 日本水産学会誌 **75**, 412-418 (2009).
- 井口恵一朗 水生動物の卵サイズー 生活史の変異・種分化の生物学. 272 (2001).
- 岩井寿夫・柏木正章 発生と孵化管理 水族繁殖学. 195-237 緑書房: 東京 (1989).
- 岩井保 魚類概論 第二版. 183 恒星社厚生閣: 東京 (1991)
- Kamler, E. Early life history of fish. 83-84 Chapman & Hall: London (1992).

- 柏木正章・中村総之・岡田芳和・山田直博 シロギスの卵径の産卵期間中の周期的変化. 水産増殖 **33**, 134-138 (1985).
- 柏木正章・鄭亜光・岩井寿夫 キュウセン *Halichoeres poecilopterus* 卵の 発生に伴う高温耐性の変化. 三重大生物資源紀要 **5**, 91-95 (1991).
- 柏木正章・鄭亜光・岩井寿夫 ヒラメ *Paralichthys olivaceus* 卵の 発生に伴う高温耐性の変化. 水産増殖 **40**, 1-5 (1992).
- 加藤慶樹 クロマグロの初期生活史における物理環境と関連した生残機構に関する研究. 博士論文. 東京大学 (2008).
- 川合英夫 収束発散と海の粒々物理学. 155 (東京大学出版界: 東京, 1976).
- 川辺勝俊・村井衛・加藤憲司・隆島史夫 シマアジ卵発生に及ぼす水温の影響. 水産増殖 **39**, 211-216 (1991).
- 木村清志・桐山隆哉 キュウセン水槽内産出卵の卵径と孵化率, 孵化時間. 水産増殖 **40**, 87-92 (1992).
- Kimura, S., Kato, Y., Kitagawa, T., Yamaoka, N. Impacts of environmental variability and global warming scenario on Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) spawning grounds and recruitment habitat. Progress In Oceanography **86**, 39-44 (2010).
- 木下秀明 道津光生 マダイ卵の高温耐性. 水産増殖 **37**, 15-20 (1989).
- Kitagawa, T., Kato, Y., Miller, M. J., Sasai, Y., Sasaki, H., Kimura, S., The restricted spawning area and season of Pacific bluefin tuna facilitate use of nursery areas: A modeling approach to larval and juvenile dispersal processes. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **393**, 23-31 (2010).
- 気象庁 地球温暖化予測情報 第7巻 23-30 (2008年)
- Kiyono, M., Shinshima, K. Thermal tolerance of stone flounder. Nippon Suisan Gakkaishi **49**, 701-704 (1983).
- Kjøsvik, E., Lønning, S. Effects of egg quality on normal fertilization and early development of the cod, *Gadus morhua* L. Journal of fish biology **23**, 1-12 (1983).
- Koumoundouros, G., Gagliardi, F., Divanach, P., Boglione, C., Cataudella, S., Kentouri, M., Normal and abnormal osteological development of caudal fin in *Sparus aurata* L. fry. Aquaculture **149**, 215-226 (1997).
- 近藤茂則・吉岡基・柏木正章 シロギス卵の発生に伴う比重および浸透圧の変化. 日本水産学会誌 **67**, 743-744 (2001).
- 熊井英水・宮下盛・小野征一郎 クロマグロ完全養殖. 228 (成山堂: 東京, 2010).
- Laurence, G.C., Rogers, C.A. Effects of temperature and salinity on comparative embryo development and mortality of Atlantic cod *Gadus morhua* L. and haddock *Melanogrammus aeglefinus* (L.). J. Cons. int. Explor. Mer **36**, 220-228 (1976).

- Leonard G, W. Development of the egg of the mackerel at different constant temperatures. The Journal of General Physiology **16**, 841-857 (1933).
- Lehodey, P., Bertignac, M., Hampton, J., Lewis, A. and Picaut, J. El Niño Southern Oscillation and tuna in the western Pacific. Nature **389**, 715-717 (1997).
- Levitus, S., Antonov, J. & Boyer, T. Warming of the world ocean. 1955–2003. Geophysical Research Letters **32**, 1-18 (2005).
- Lønning, S., Davenport, J. The swelling egg of the long rough dab, *Hippoglossoides platessoides limandoides* (Bloch). Journal of Fish Biology **17**, 359-378 (1980).
- Lønning, S., Kjøsvisk, E. Osmotic and structural changes during early development of eggs and larvae of the cod, *Gadus morhua* L. Journal of Fish Biology **19**, 317-331 (1981).
- Love, M. R. The Chemical Biology of Fishes : With a Key to the Chemical Literature. (Academic Press: 1970).
- Makino, N., Matsumaru, Y., Tanaka, M. Effects of Temperature and Salinity on Egg Development of the Japanese Sea Bass, *Lateolabrax japonicus*. 水産増殖 **51**, 55-64 (2003).
- Mangor-Jensen, A. Water balance in developing eggs of the cod *Gadus morhua* L. Fish Physiology and Biochemistry **3**, 17-24 (1987).
- Margulies D., Suter, J. M., Hunt, S. L., Olson, R. J., Scholey, V. P., Wexler, J. B. Nakazawa, A. Spawning and early development of captive yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). Fishery Bulletin **105**, 249-265 (2007).
- 農林水産技術会議事務局 マリーナランチング計画. 1-154 (1980).
- Masaaki, K., Hideyuki, S., Takeo, T., Toshio, I. A Relationship between Egg Size and Rate in Japanese Whiting *Sillago japonica*. Nippon Suisan Gakkaishi **53**, 2105-2110 (1987).
- 升間主計・手塚信弘・小磯雅彦・神保忠・武部孝行・山崎英樹・尾花博幸・井手健太郎・二階堂英城・今泉均 養成クロマグロの産卵に及ぼす水温の影響. 水研センター研報 **4**, 157-171 (2006).
- Mathers, E.M., Houlihan, D.F. & Burren, L.J. RNA, DNA and protein concentrations in fed and starved herring. Marine Ecology Progress Series **107**, 223-231 (1994).
- May, R.C. Factors affecting buoyancy in the eggs of *Bairdiella icistia* (Pisces: Sciaenidae). Marine Biology **28**, 55-59 (1974).
- McMynn, R.G., Hoar, W.S. Effects of Salinity on the development of the Pacific Herring. Canadian Journal of Zoology **31**, 417-432 (1953).
- Meekan, M. G. and Fortier, L. Selection for fast growth during the larval life of Atlantic cod *Gadus morhua* on the Scotian Shelf. Marine Ecology Progress Series **137**, 25-37 (1996).

- Michel, B., Arthur J, R. Effects of temperature on the embryonic development of the striped trumpeter *Latris lineata*. *Aquaculture* **176**, 245-255 (1999).
- 宮下盛・田中祐志・澤田好史・村田修・服部亘宏・滝井健二・向井良夫・熊井英水 クロマグロ卵の発生と孵化に及ぼす水温の影響. *水産増殖* **48**, 199-207 (2000).
- 宮下盛 クロマグロの種苗生産に関する研究. 博士論文. 近畿大学 (2002).
- 宮下盛 種苗生産における浮上および沈降死. *日本水産学会誌* **72**, 947-948 (2006).
- 溝呂木奈緒 地球温暖化に伴う水温上昇がクロマグロの初期生残に及ぼす影響. 修士論文, 東京大学 (2010).
- 沖山宗雄 日本海におけるクロマグロ後期仔魚の出現. *日水研報* **25**, 89-97 (1974).
- Oozeki, Y., Hirano, R. Effects of Temperature Changes on the Development of Eggs of the Japanese Whiting *Sillago japonica* TEMMINCK et SCHLEGEL. *Bulletin Of The Japanese Society Of Scientific Fisheries* **51**, 557-572 (1985).
- Robert, C. S. Leo, G. Effect of temperature on early embryological development of the zebra fish, *Brachydanio rerio*. *Journal of Experimental Zoology* **169**, 43-52 (1968).
- Sabine, C.L., Feely, Richard A., Gruber, Nicolas, Key, Robert M., Lee, Kitack, Bullister, John L., Wanninkhof, Rik, Wong, C S., Wallace, Douglas W R., Tilbrook, Bronte., Millero, Frank J., Peng, Tsung-Hung, Kozyr, Alexander, Ono, Tsueno, Rios, Aida F. The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science* **305**, 367-71 (2004).
- 澤田好史・樋口和宏・芳賀穰・浦和寛・石橋泰典・倉田道・宮武弘史・片山茂和・瀬岡学 シマアジ胚発生に及ぼす低酸素と高二酸化炭素の影響. *日本水産学会誌* **74**, 144-151 (2008).
- 水産庁 太平洋クロマグロの管理強化についての対応について.
<http://www.jfa.maff.go.jp/j/press/kokusai/100511.html> (2010).
- 水産庁 平成 22 年度国際漁業資源の現況 クロマグロ. 1-8
http://kokushi.job.affrc.go.jp/H22/H22_04.html (2011a).
- 水産庁 太平洋クロマグロ仔稚魚分布調査の結果について.
<http://www.jfa.maff.go.jp/j/press/sigen/111101.html> (2011b).
- 萱野泰久・尾田正 キジハタ卵の発生に及ぼす水温の影響について. *水産増殖* **39**, 309-313 (1991).
- 鈴木徹 骨格の発生と奇形の発症システムー遺伝子解析を通じて分かったこと. *養殖研ニュース* **46**, 24-29 (2000).
- Takahashi, M. and Watanabe, Y. Growth rate-dependent recruitment of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* in the Kuroshio-Oyashio transitional waters. *Marine Ecology Progress Series* **266**, 227-238 (2004).
- 田村保 魚類生理学概論. 276 (恒星社厚生閣: 1977).

- Tanaka, Y. Changes in the egg and larval densities of striped beakperch (Pisces; Oplegnathidae) during development. *Memoirs of the Faculty of Agriculture of Kinki University* **23**, 19-24 (1990).
- Tanaka, Y., Satoh, K., Iwahashi, M. & Yamada, H. Growth-dependent recruitment of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the northwestern Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series* **319**, 225-235 (2006).
- Tanaka, Y., Mohri, M., Yamada, H. Distribution, growth and hatch date of juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the coastal area of the Sea of Japan. *Fisheries Science* **73**, 534-542 (2007).
- Tanaka, Y., Satoh, K., Yamada, H., Takebe, T., Nikaido, H., Shiozawa, S. Assessment of the nutritional status of field-caught larval Pacific bluefin tuna by RNA/DNA ratio based on a starvation experiment of hatchery-reared fish. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **354**, 56-64 (2008).
- 田中祐志 マイワシ卵の比重変化と鉛直移動. 沿岸海洋研究ノート **31**, 17-26 (1993).
- 田中祐志 養成クロマグロ卵の比重と浮上速度. 平成7年日本水産学会春季大会講演要旨集 61 (1995).
- 上柳昭治 マグロ類の産卵場について. 鮪漁業 **60**, 15-20 (1967).
- 渡辺憲一・貝田雅志・深谷利香子・伊藤東 オニオコゼ卵の発生に及ぼす水温の影響. 水産増殖 **52**, 23-28 (2004).
- Watanabe, Y., Zenitani, H., Kimura, R. Population decline of the Japanese sardine *Sardinops melanostictus* owing to recruitment failures. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **52**, 1609-1616 (1995).
- Ware, D.M. Spawning time and egg size of Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, in relation to the plankton. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **34**, 2308-2315 (1977).
- Worley, L.G. Development of the egg of the Mackerel at different constant temperatures. *The Journal of General Physiology* 841-857 (1933).
- Yamada, H., Matsumoto, T., Miyabe, N. Overview of the Pacific bluefin tuna fisheries. *Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT* **63**, 195-206 (2009).
- 山岡直樹 地球温暖化がクロマグロおよびウナギの初期生活史に与える影響. 修士論文. 東京大学 (2008).
- 山本時男 魚類の発生生理. 221 (養賢堂: 東京, 1943).
- 安永義暢 ヒラメ仔稚魚の生理生態に関する研究. 水工業研報告 **9**, 9-164 (1988).

表 1. 本研究で使⽤した卵の産卵日時および水温と測定項目

	2010 年		2011 年	
	6 月 26 日	6 月 30 日	7 月 14 日	7 月 27 日
	11 時 40 分	11 時 20 分	18 時 30 分	18 時 00 分
産卵水温	26.5℃	26.9℃	26.9℃	27.9℃
卵径			✓	✓
卵の比重・浸透圧			✓	✓
孵化時間	✓	✓	✓	✓
孵化率	✓	✓	✓	
奇形率	✓		✓	✓
生残率	✓		✓	
卵の発生段階に おける水温の影響		✓		✓
成長率			✓	
設定水温	30、28、27、 26、25、23℃	24、26、30℃	28、27、26、25、 24、23℃	25、29℃

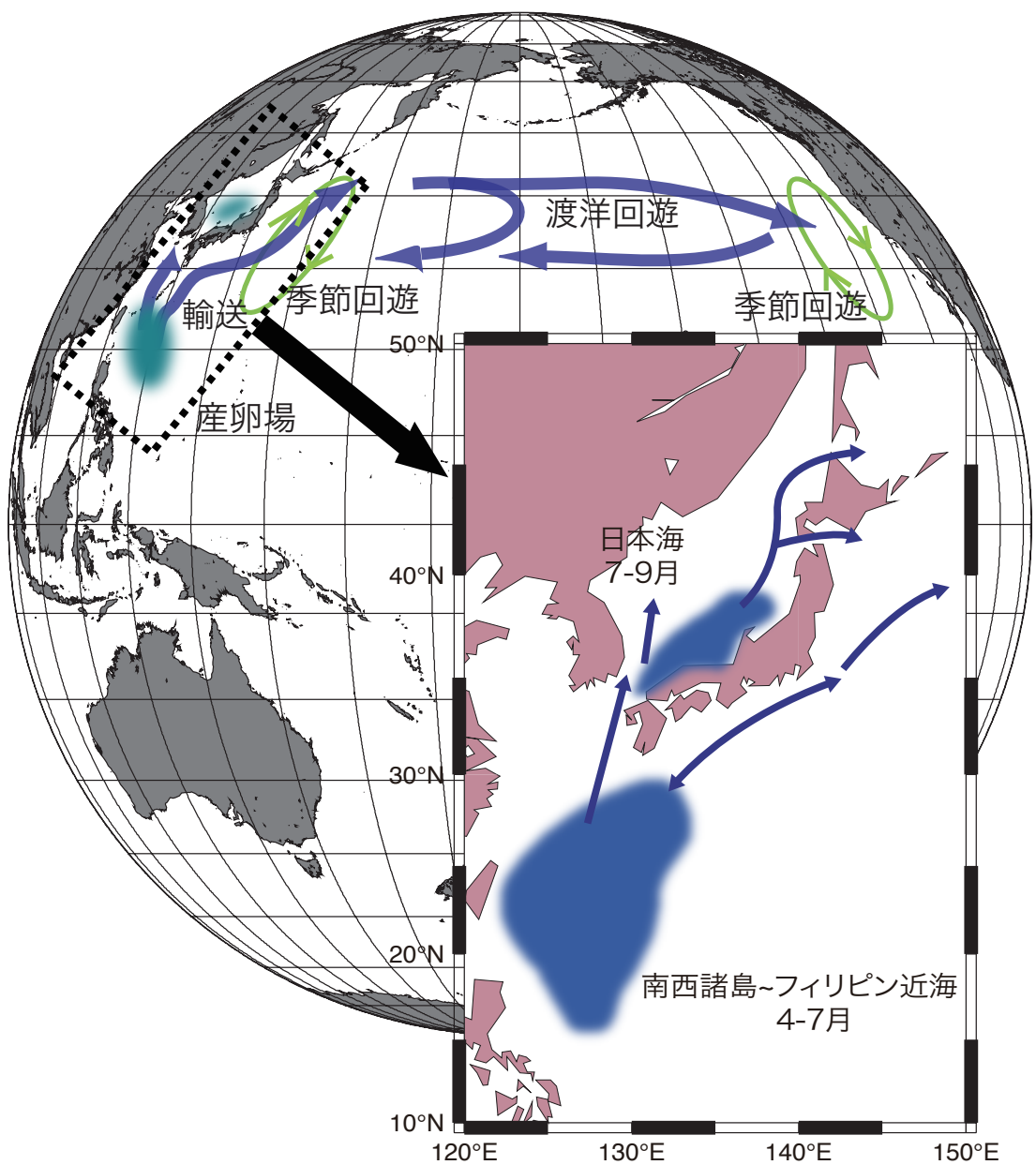


図1 クロマグロ (*Thunnus orientalis*) の回遊経路および産卵場 (Bayliff 1994、Yamada *et al.* 2009 を改変)

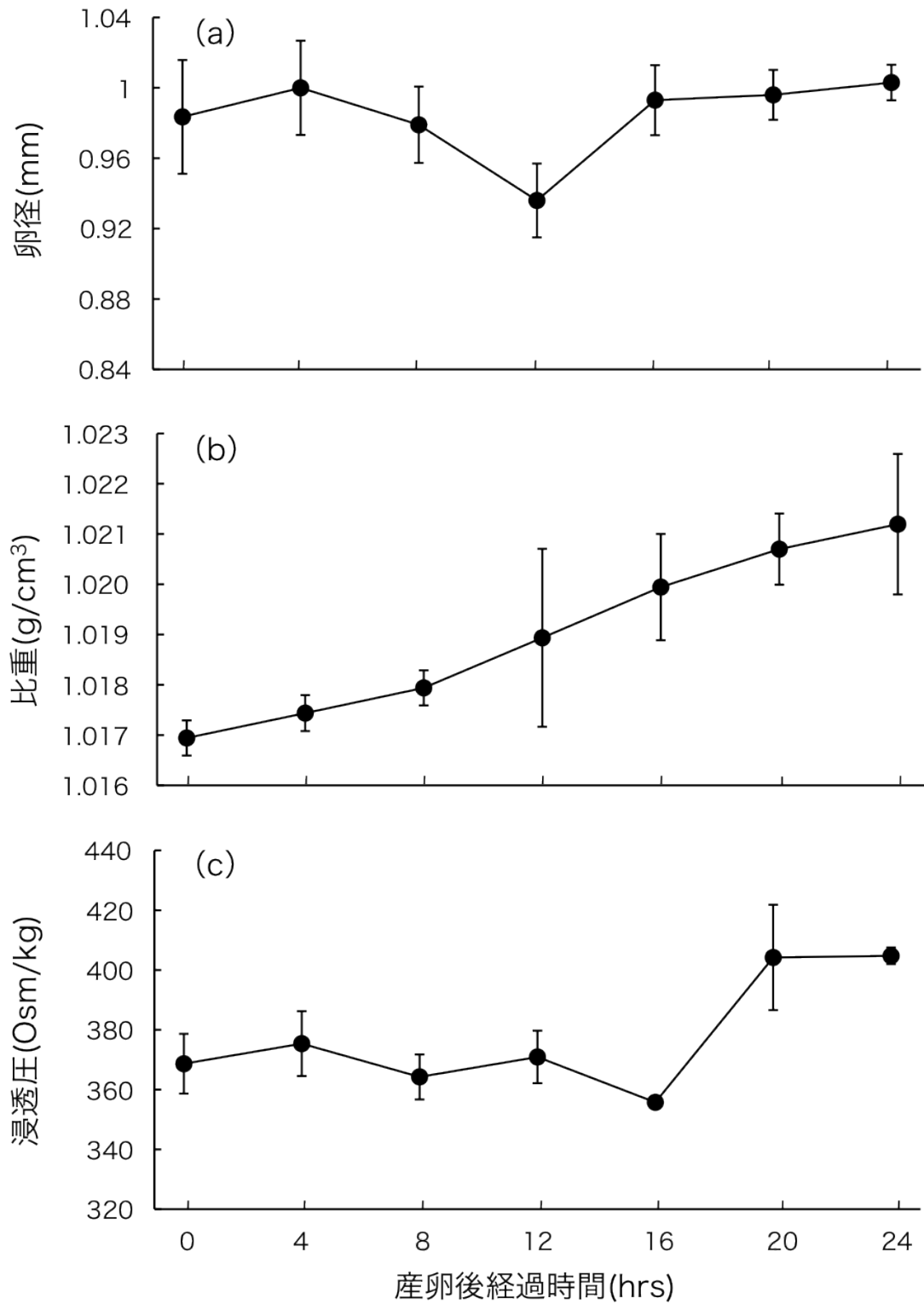


図2 産卵後経過時間と a：卵径、b：比重、c：浸透圧の関係

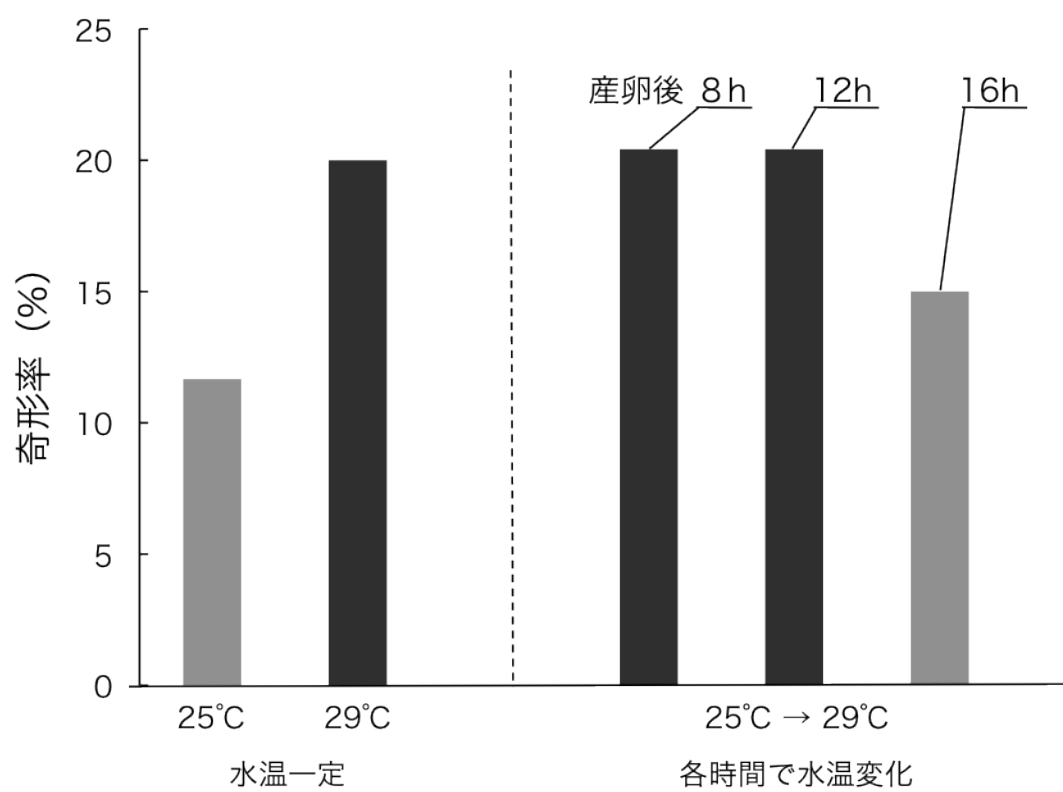


図3 水温一定で飼育した場合と、各発生段階ごとに水温変化させた場合の奇形率

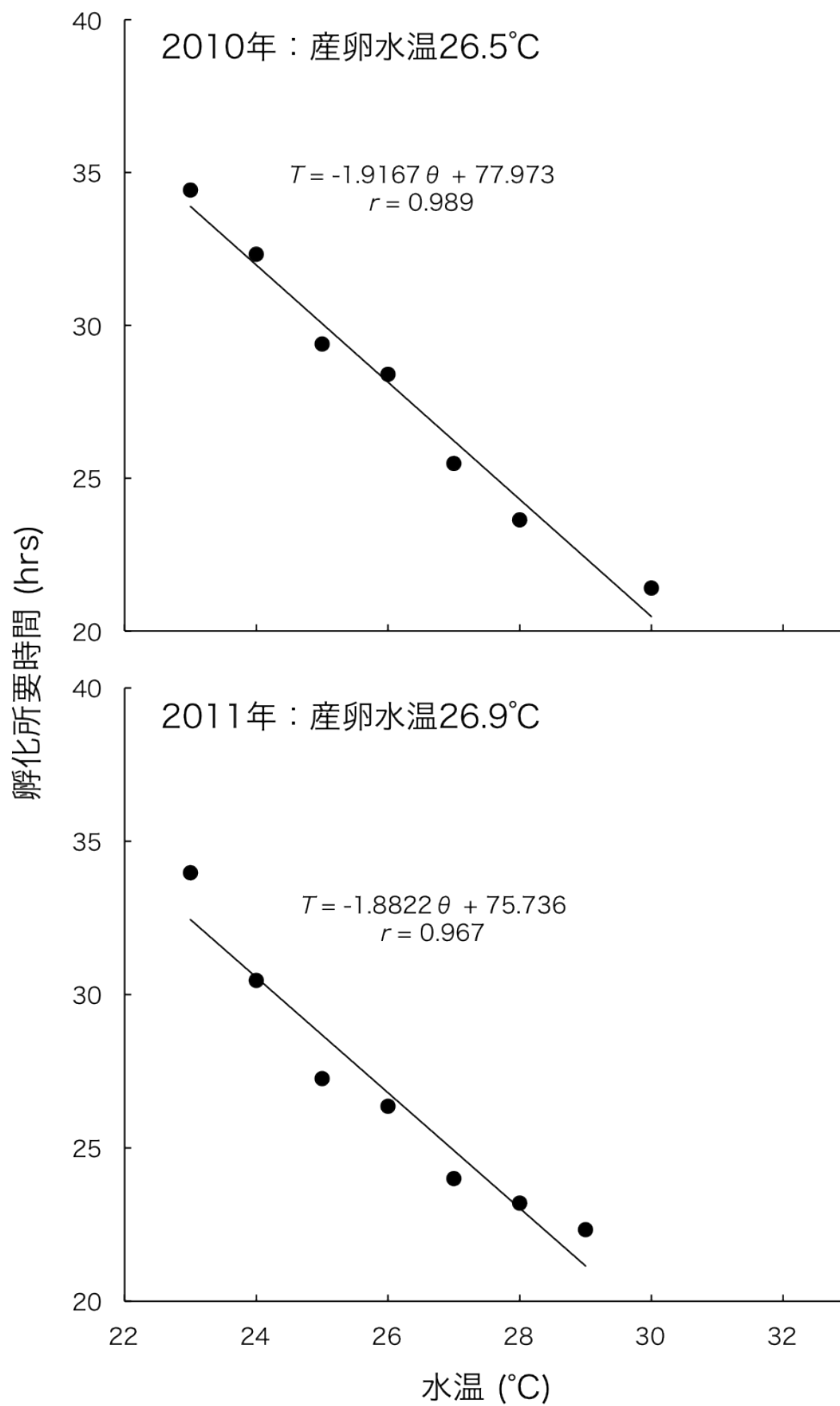


図4 水温と孵化所要時間の関係

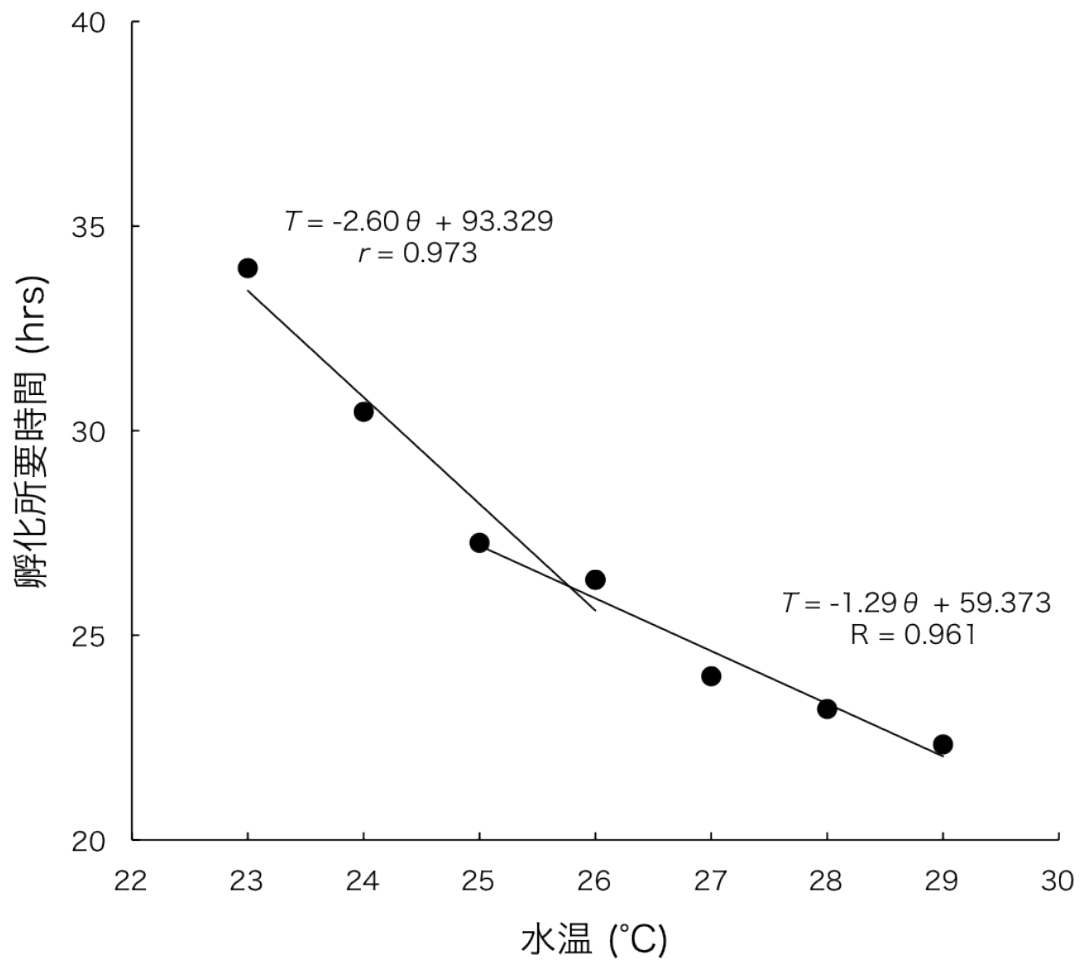


図5 水温と孵化所要時間の関係
(2011年、産卵水温26.9°C)

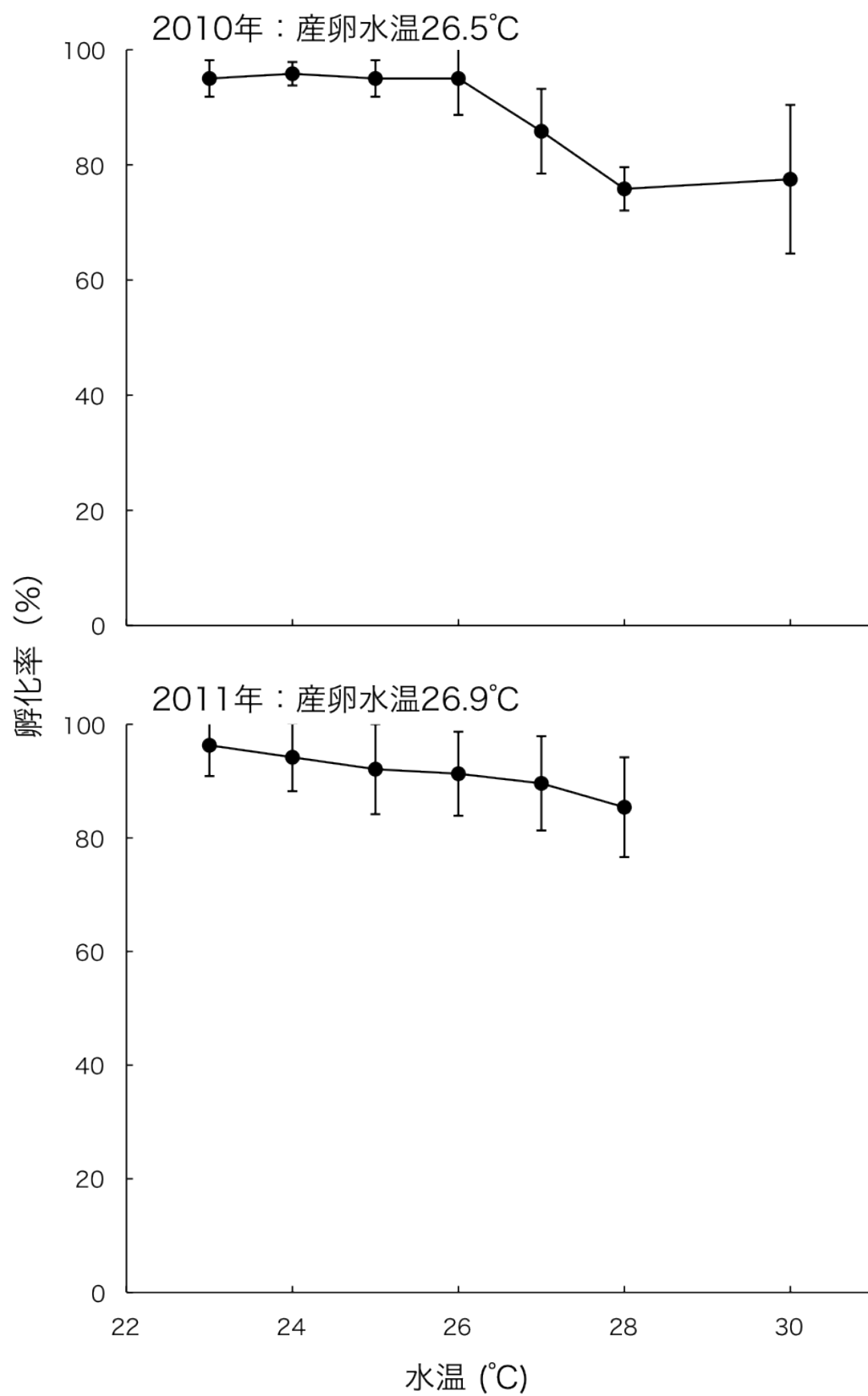


図6 水温と孵化率の関係

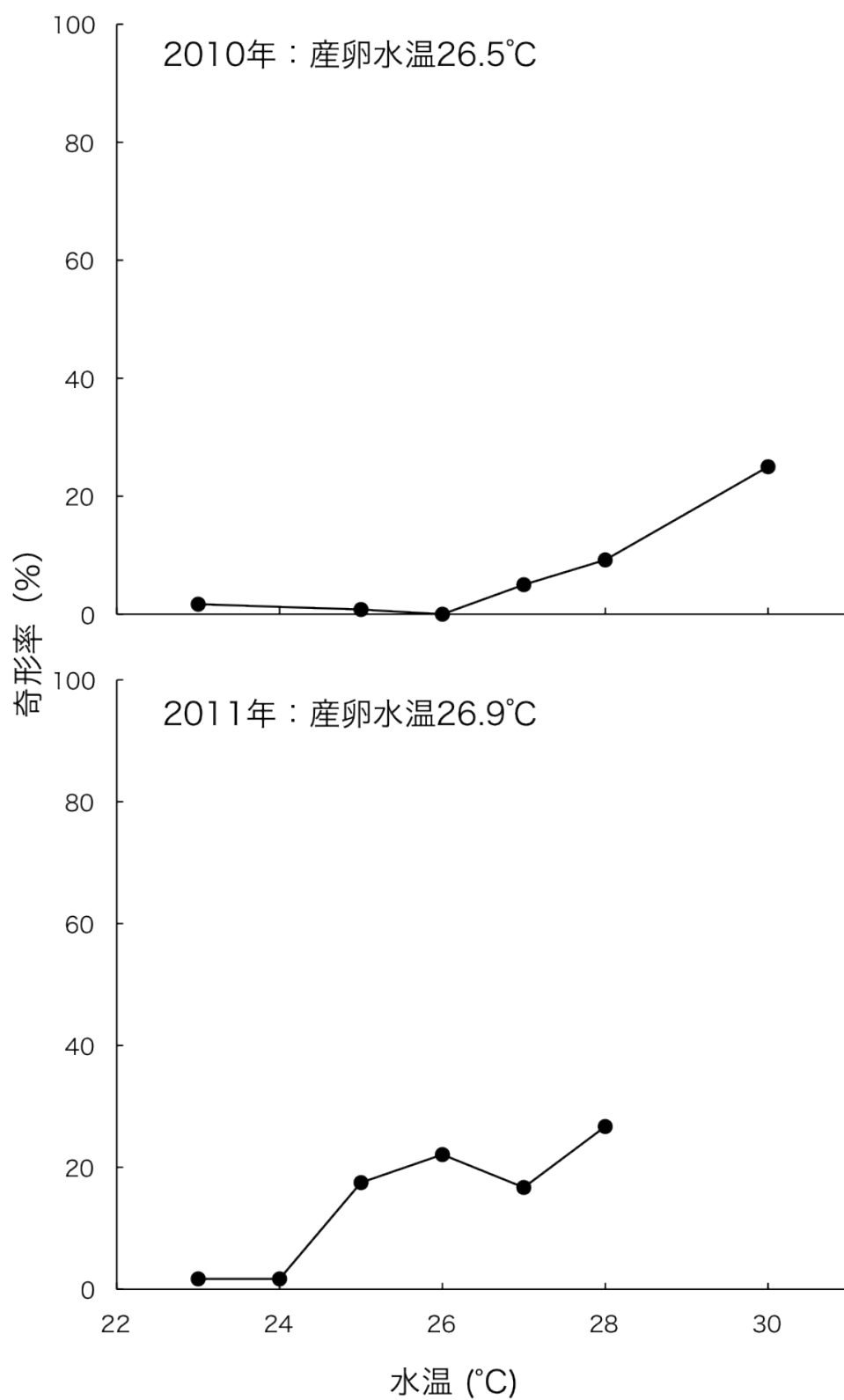


図7 水温と奇形率の関係

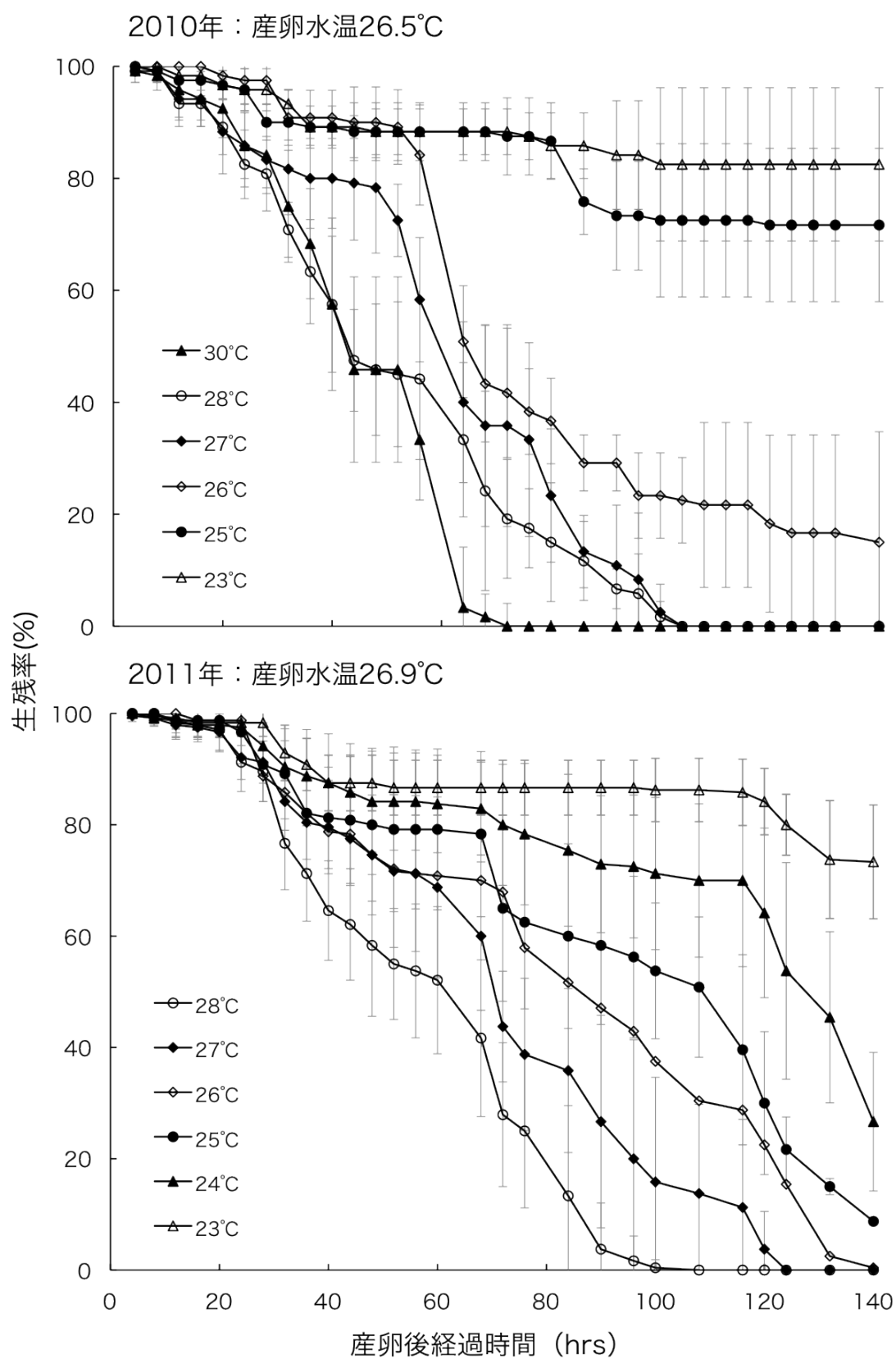


図8 受精卵の水温別生存率の時間変化

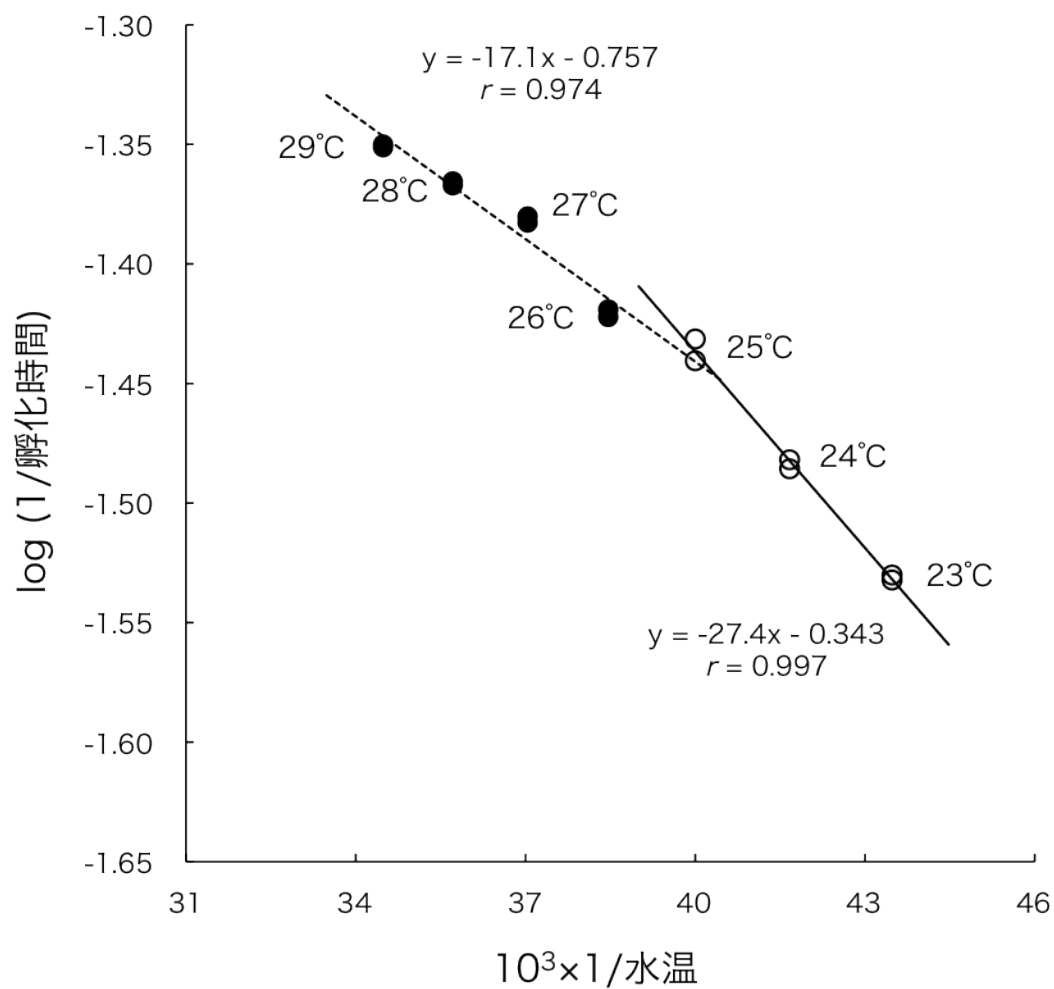


図9 2011年におけるアレニウスプロット

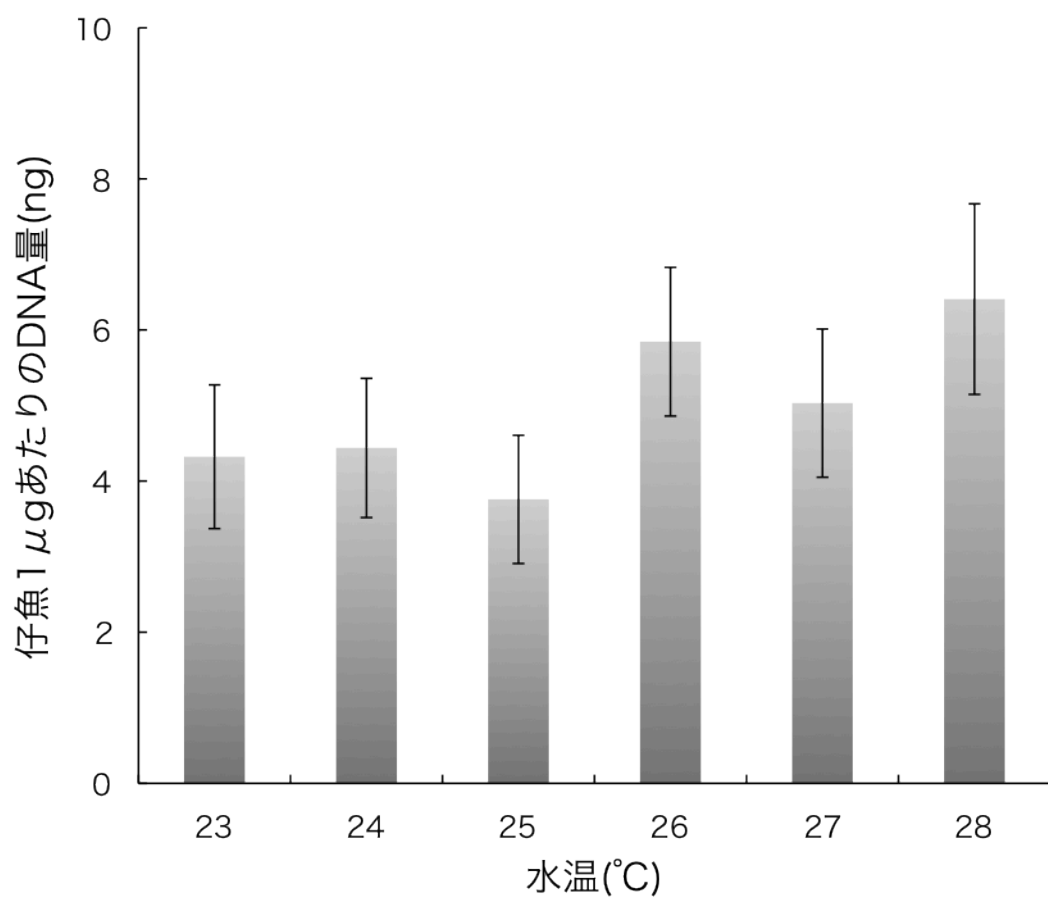


図10 水温と単位重量あたりのDNA量の関係

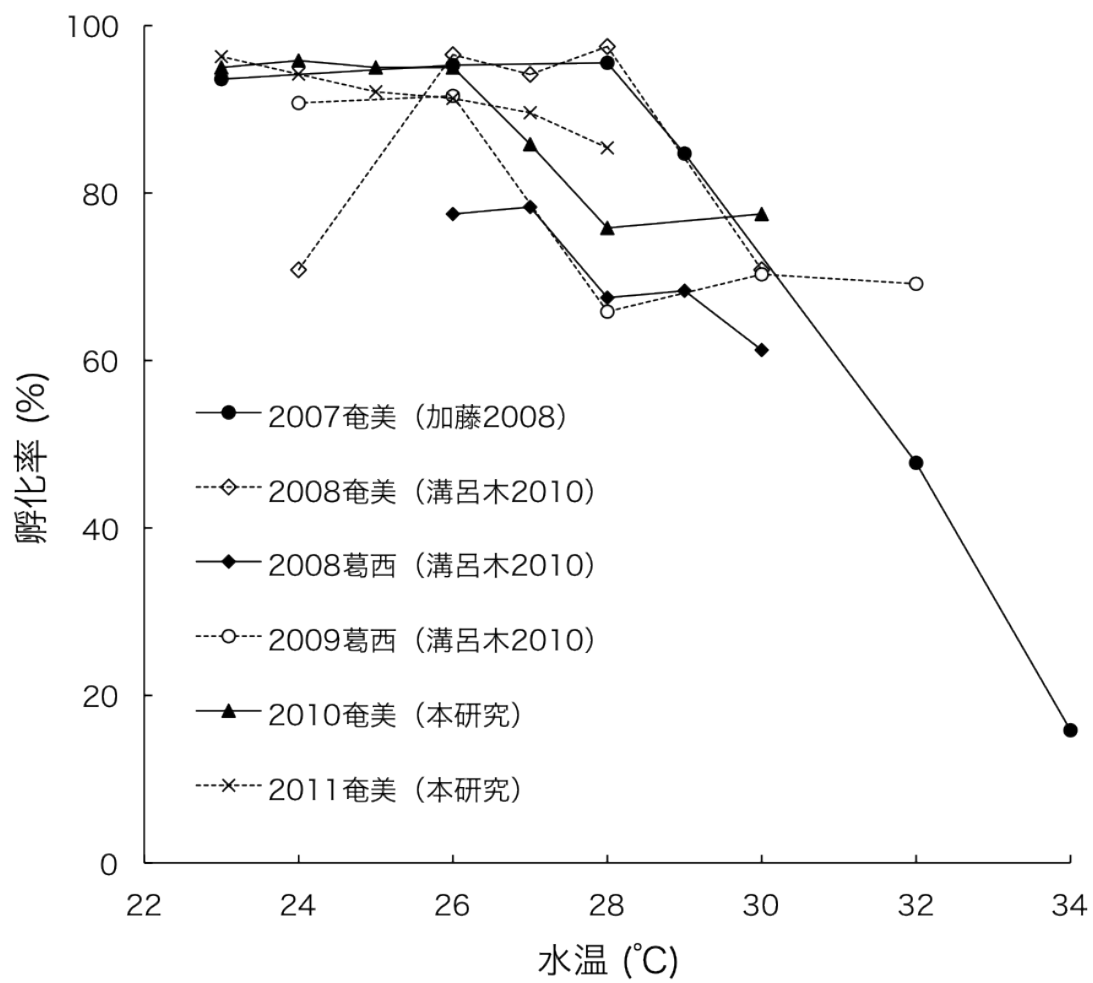


図11 各年ごとの水温と孵化率の関係

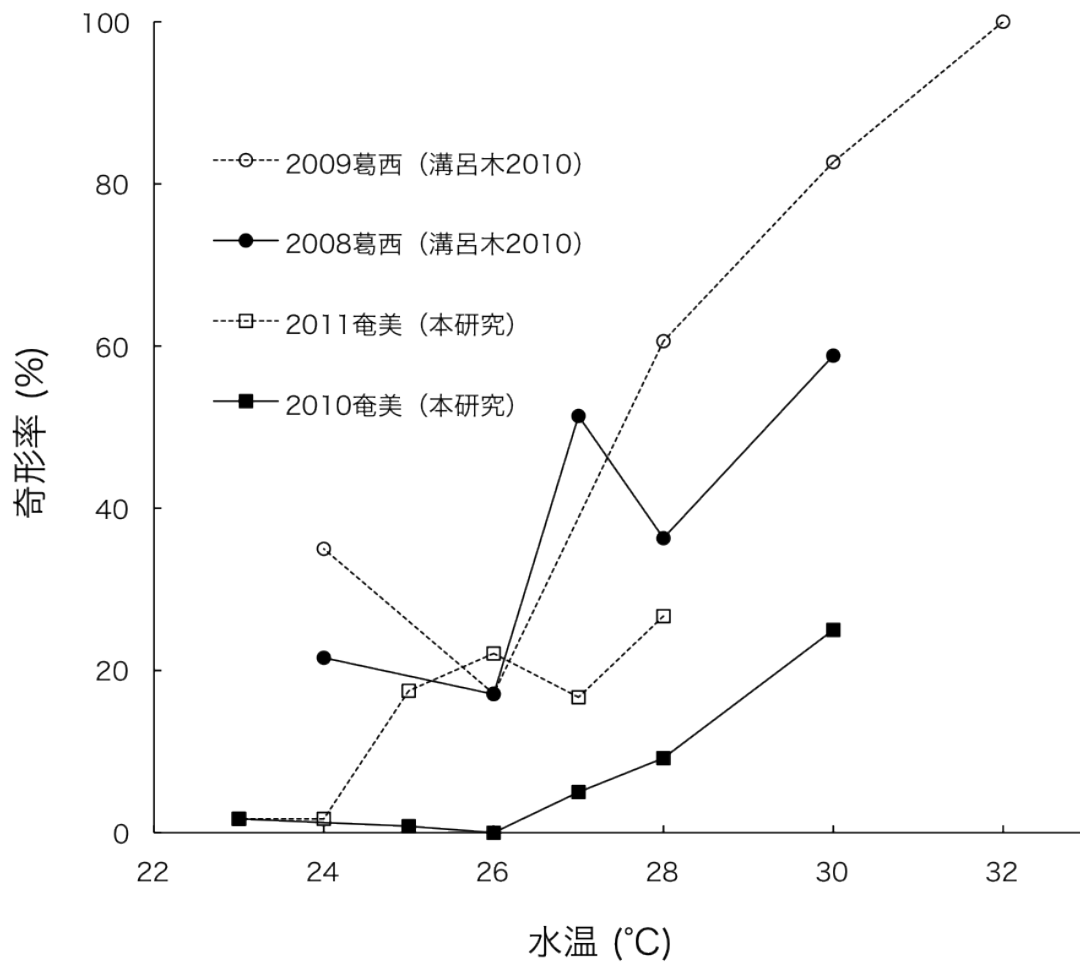


図12 各年ごとの水温と奇形率の関係

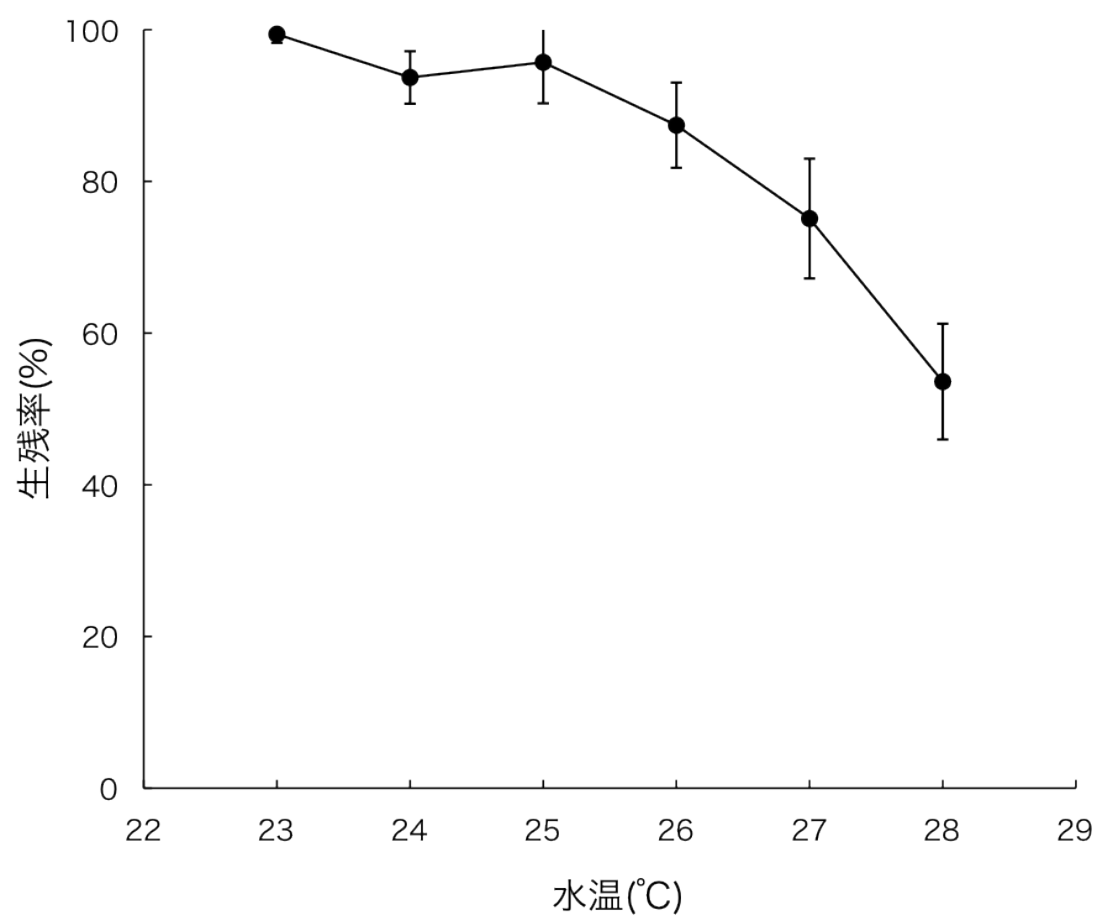


図13 水温と孵化1日後の正常個体の生存率の関係

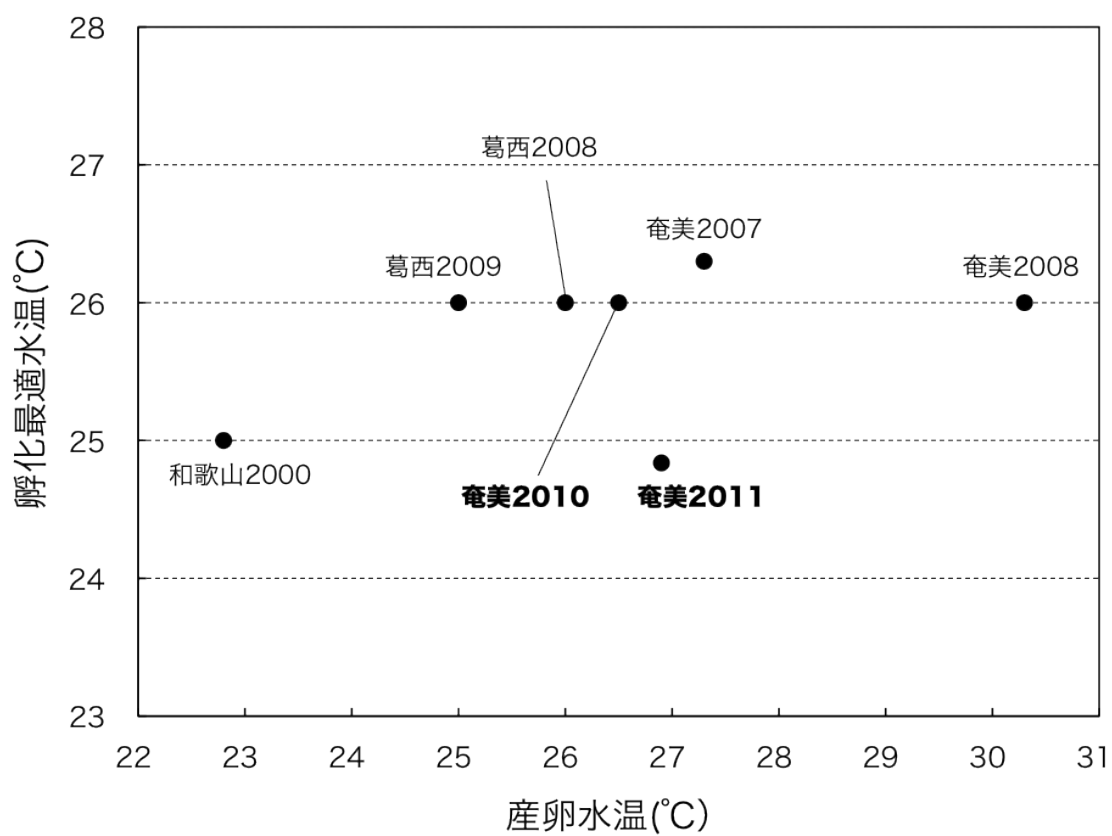


図14 産卵水温と孵化最適水温の関係

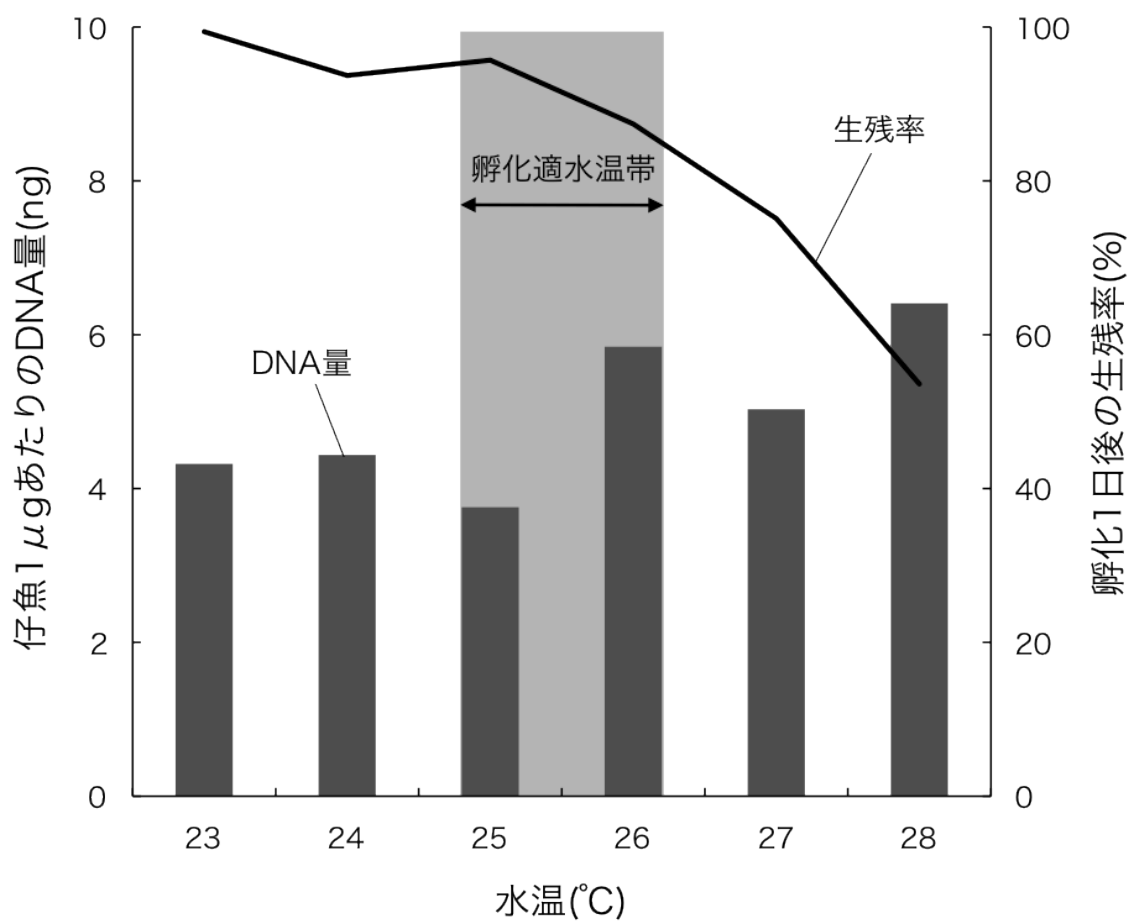


図15 水温とクロマグロ卵仔魚の孵化・成長・生残の関係