



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	バイオロギング手法を用いた太平洋ニシンの集団産卵に関する研究
Author(s)	関, 恭佑
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第16731号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16731
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99576
Type	doctoral thesis
File Information	SEKI_Kyosuke_summary.pdf, 全文の要約



学位論文内容の要約/Dissertation Summary

博士（環境科学）

氏名/Applicant 関 恭佑

学位論文題名/Title of Dissertation

バイオリギング手法を用いた太平洋ニシンの集団産卵に関する研究

(A study on group spawning behavior of Pacific herring *Clupea pallasii* using bio-logging methods)

【第1章 序論】

集団産卵とは「産卵期に形成される、時空間的に個体が集中した状況下において、複数の個体が連続的に配偶子を放出するイベント」と定義することができる。集団産卵は水産有用種を含む多くの魚種で見られる産卵様式であり、これまで様々な手法を用いて調べられてきた。一方で行動学的な知見は限定的であり、多くは目視観察に依存してきた。一般的に目視観察では詳細な行動を捉えることができるが、集団産卵においてはイベントの発生が偶発的かつ多数の個体が密集するため、特に個体の行動に着目して行動を定量化することが難しい。しかし、集団内では個々が自身の繁殖成功を最大化させるために行動していることが想定されるため、集団産卵のメカニズムを理解するためには個体レベルで行動を計測することが求められる。

太平洋ニシン *Clupea pallasii*（以下、ニシン）は大規模な集団産卵を行う。本種は北米、日本を含む高緯度のアジア諸国等、冷水域に分布する重要な水産資源である。春から冬にかけて数十から数百万尾を超える規模で沿岸部に来遊し、藻場に産卵する。したがって個体数の確保が比較的容易であり、水槽・野外実験にて複数個体での産卵行動を再現・観測できる点で行動計測のモデルとして適している。本種の産卵特性に関する知見は古くから蓄積されており、毎年同じ群れが同じ産卵場所に繰り返し来遊する傾向があるため、地域ごとに産卵場の位置や環境条件、サンプリングによる個体のデータが数多く蓄積されている。生殖生理学の分野でも研究例は多く、オス由来のフェロモンが他の個体の放精・放卵を誘発させることで大規模な集団産卵になると報告されている。目視による行動観察では、産卵の際は、まず産卵基質（海藻）の周辺を遊泳し、基質に腹部を当てて確認する行動が確認されている。その後は雌雄がペアを作らずに放精・放卵し、その際に基質に対して生殖突起を擦りつける特徴が明らかとなっている。こうした行動が個体ごとに追跡出来れば、集団産卵がどのように開始され、持続し、収束していくのかを紐解くカギになると考えられる。しかし現状では同一個体を持続的に観察したり、他個体との比較を行ったりすることは困難である。これは、複数個体が密集して入り乱れる集団産卵特有の状況に加え、ニシン類は雌雄間で外見的な差がほとんどないこと、そして産卵の進行に伴い精子によって水中が白濁し、視界が遮られることが大きな要因である。この課題に対して魚体に記録計（ロガー）を装着するバイオリギング手法が有効である。近年はロガーの小型化・廉価化が進み、ニシンのような小型魚類・複数個体への応用が可

能となった。そこで本研究では複数個体のニシンにロガーを装着し、水槽内で集団産卵を再現することで、行動の時系列変化や個体の行動特性を明らかにすることを目的とした。

本章を第1章とし、第2章では集団産卵における産卵イベントの開始から収束までの行動の時系列変化について可視化した。大型実験水槽で、複数個体にロガーを装着したうえで集団産卵を誘発させ、どのような推移で産卵イベントが進行するのかを明らかにした。第3章では、より詳細に個々の行動を解釈できるように、小型の水槽で集団産卵イベントを誘発させ、複数カメラによる映像と加速度データを対応付けることで行動分類モデルを作成した。第4章では、前章で得られた行動分類モデルを再び大型実験水槽の実験データに適用し、大規模な集団産卵イベントで、個々が放精・放卵をするタイミングを調べた。その後、モデルによって抽出された放精・放卵が、体サイズや雌雄によって異なるのかを調べた。第5章の総合考察では、得られた結果を踏まえ、本種の産卵生態について考察し、今後本種および他の魚種において期待される研究の展望について検討した。

【第2章 ニシンの集団産卵における行動の時系列変化の可視化】

本種は産卵期になると沿岸部に来遊し、満月や新月の大潮に同調して集団産卵に至るが、複数の個体が同調するという特性を踏まえると、個体レベルの行動を議論する前に、まずは集団全体として行動が変化していく過程を把握することが不可欠である。そこで本章では、集団内の行動の時系列変化を調べることを目的として、複数個体にロガーを装着したうえで大型実験水槽にて集団産卵を再現し、行動を可視化した。2023年4月19日、20日に北海道標津町の沿岸の定置網にて、成熟したニシンを確保した。2日間のサンプリングの後、4月20日に活魚輸送車を用いて10時間かけて函館市国際水産・海洋総合研究センターまで輸送し、当施設の大型実験水槽（幅10 m ×長さ5 m ×水深3.4 m）に、ニシン911尾を収容した。実験中は産卵の様子を観察するため、水槽内に水中カメラを2台設置し、水槽全体の様子を予備的に記録するため、水槽の外に赤外線機能を搭載したネットワークカメラを設置した。本種の産卵は夜間に発生することが多いため、水槽内は暗視下にするのが望ましいが、カメラでの撮影および装着具の色から個体の識別が可能となるよう、水中カメラの画角に限りて微弱な照明を設置した。さらにニシンの産卵基質として、水槽の底から1mの位置に高さ約1 mの円柱型の人工海藻を4本沈めた。収容した911尾のうち57尾（オス17尾、メス40尾）には3軸加速度データロガー（axy5 Depth, TechnoSmArt; 空中重量3.5 g）を外部装着法によって装着した。ロガーは加速度25 Hz、深度・水温を1 Hzの頻度で記録するように設定した。取得した加速度データは、既往研究で報告されている基質へのアプローチや深度変化などの行動を定量的に解析するため、Pitch、Roll、Surge、テイルビート、ODBA、平均遊泳深度、遊泳範囲（一定時間で個体が遊泳していた深度の範囲を表す）の7つのパラメータに着目して解析した。本種の一連の産卵行動は、事前の観察および予備的な実験結果から、数分から数十分の時間スケールで変化することが確認されていたため、本章では瞬間的な変動を平滑化しつつ、行動の時系列変化を捉える目的で、各パラメータは機械的に5分ごとに集計した。解析期間はロガー装着の馴致を終えた4月21日19時から、翌日の人為的操作が起きる朝5時までとした。Pitch、Roll、Surgeは5分ごとの標準偏差を算出し、テイルビート、ODBA、平均遊泳深度は5分ごとの平均値を算出した。遊泳範囲は5分間ごとの最大水深と最小水深の差として算出した。その後算出した7つのパラメータをそれぞれ独立した目的変数、時間を説明変数、個体IDをランダム効果とする一般化加法モデル（GAM）を構築

し、時間に対する予測線を算出することで、7つのパラメータがそれぞれ時間とともにどのように変化するか評価した。さらに行動の周期を検討するため、各パラメータの予測線との自己相関を調べた。

まず、水中カメラから得られたデータを観察した結果、20時20分ごろ3尾のニシンが海藻に生殖突起を基質に擦り付ける様子が観察され、その5 – 10分後には推定20 – 30尾のニシンから同様の行動を確認することができた。配偶子の放出はほとんど確認できなかったが、生殖突起を基質へ擦り付けている様子は既往研究の報告とよく一致したため、放精・放卵であると判断した。その後多くの個体が海藻に群がったため個体数のカウントは出来なかったが、ロガーを装着した個体からも基質周辺の遊泳、基質への確認行動、放精や放卵を観察することができた。実験開始から約2時間後の20時10分以降は、水槽内の白濁によって行動を識別が困難となった。次に、ロガーのデータについては装着した57尾のニシンのうち、データが欠損していた個体を除く53尾（オス15尾、メス38尾）を解析対象とした。GAMの結果から、7つ全てのパラメータで解析開始時刻の約1時間20分後である20時20分から徐々に加速度変化が大きくなり始め、その後約30 – 40分後の21時頃、全てのパラメータの値が最大となった。その後それぞれの値は減少したが、単調に減少するわけではなく、増減を繰り返しながら徐々に収束していった。各パラメータの予測線を自己相関分析して、コレログラムを作成した結果、全てのコレログラムで有意な自己相関がみられ、全てのパラメータの結果をまとめると、予測線の周期は105 – 210分であると算出された。

本実験では、集団産卵の行動の時系列変化を明らかにするため、3軸加速度データロガーから算出した7つのパラメータの変化に着目した。目視観察で放精・放卵を確認した20:20以降にすべてのパラメータで値が大きく変化しており、基質周辺の遊泳や確認行動、および放精・放卵に伴う尾びれの動きや姿勢変化が反映されたと考えられた。本種は放精の際に放出されるフェロモンが他個体の放精・放卵行動を誘発することが報告されている。本実験では30 – 40分間でフェロモンが他個体に作用し、同調的に行動が変化したと考えられた。またフェロモンへの応答を調べた既往研究では、時間の経過（およそ120分）でフェロモンへの応答が弱まり、再度の応答には高濃度のフェロモン暴露または一定の時間経過が必要であることが報告されている。したがって、本研究でみられた105 – 210分の行動の周期性は、フェロモンへの感受性の低下と、一定時間の経過によって再び同様の行動の誘発が生じたことが要因であると考えられた。

【第3章 機械学習を用いた産卵時の行動分類】

前章では、バイオリギング手法を用いて本種の集団産卵の時系列変化を可視化した。しかし、集団内で放精・放卵が生じたタイミングについては解析した7つのパラメータから特定することは出来なかった。しかし、本種の産卵メカニズムを解明するためには、複数個体が同調して放精・放卵をしている状況下で、個々の放精・放卵が生じるタイミングまで明らかにすることが望まれる。バイオリギング手法では特定の行動を抽出するために、目視情報と目的とする行動の加速度の特徴を照合させる手段が用いられている。これにより、ロガーデータの変化と行動を関連付けることが出来れば、目視情報がない状況下でもロガーデータの解析結果のみから行動の特定が可能となっている。こうした加速度データと実際の行動の照合には、手動で閾値を設定する手法もあるが、対象とする種や行動によっては、観測データを教師データとして、機械学習アルゴリズムを構築する手法

が用いられている。この手法はニシンのような体サイズおよび行動の変化が小さい場合に特に有力であり、閾値による手動分類よりも精度の高い分類を行うことができる。以上より、第3章では個体の放精・放卵行動を抽出するモデルを構築することを目的とする。目的を達成するために、目視観察可能な個体数によるニシンの小規模な集団産卵を再現し、その際に目視観察による行動のラベリングとロガーにより収集した加速度データを用いて機械学習モデル、今回は分野で幅広く用いられているランダムフォレスト (RF; Random Forest) モデルを構築した。

本実験は2回に分けて行った。1回目は2022年3月18 - 19日に函館港内で釣獲した成熟したニシン10尾 (メス5尾, オス5尾)、2回目は2022年5月16 - 17日に北海道標津町の沿岸の定置網にて漁獲された成熟個体16尾 (メス4尾, オス12尾) を供試魚として用いた。これらの供試魚は、円形水槽 (1回目: 直径170cm, 高さ60 cm, 容量約1 t; 2回目: 直径170cm, 高さ80 cm, 容量約1.2 t) にて実験に用いるまで飼育した。実験はニシンの集団産卵の環境条件として考えられる大潮の、2022年3月18日 (1回目) および2022年5月16日 (2回目) に実施した。実験中は産卵基質として、プラスチック製の人工海藻 (縦100 cm×横100 cm) を水槽の底面に敷き詰めた。実験中は水槽全体を俯瞰できるように画角を調整したカメラと、一部を集中して撮影するカメラを合計4台設置して個体の行動を記録した。実験終了後、コマ送り再生して観察し個体のIDと行動の種類、行動の開始時刻と終了時刻を記録した。行動の種類に関しては、既往研究と事前の目視観察を踏まえ、「通常遊泳、ダッシュ、旋回行動、確認行動、放精・放卵行動」の5つに分類した。行動の開始時刻と終了時刻に関しては、1秒単位で記録し、該当する行動が1秒以上続く場合には分割して分類した。ロガーは、1回目の実験では9尾 (オス5尾, メス4尾)、2回目の実験では5尾 (オス3尾, メス2尾) に2章と同じロガーを装着した。各軸の加速度の生データ、それぞれの静的加速度と動的加速度、活動量の指標となるODBAとVeDBAの計11個のパラメータについて、5種の行動ラベリングに該当する時間の統計値を算出し、教師データの変数とした。この際の統計値には、データの変数を増やすために平均値、標準偏差、尖度、歪度、最大値、最小値の6つを用いた。加えて放精・放卵時の尾びれの動きを評価するために、Z軸方向の動的加速度であるSwayおよびそれを微分した加加速度において高速フーリエ変換をして卓越周波数を求めた。以上、11個のパラメータそれぞれで算出した6つの統計値、すなわち合計66個の変数と、2つの卓越周波数の変数を合わせた合計68個の変数をRFモデルの構築に使用した。RFのモデル作成には、統計解析ソフトRの“*ranger*”パッケージを使用し、ラベリングした個体の行動は統合し70%を学習用、30%を精度検証用にランダムに分割した。精度検証として、5つのそれぞれの行動について、目視観察の結果とモデルからの予測値を対応させた混合行列を作成し、真陽性、真陰性、偽陽性、偽陰性の数から適合率、再現率、F₁スコアを算出した。

1回目の実験では開始から2.5時間目視観察が可能であったが、以降はエアレーションの影響で水槽が泡立ち、観察ができなくなった。2回目の実験ではエアレーションを停止し、実験開始から14時間観察を継続することができたため、1回目の実験よりも多くの教師データを得ることができた。2回の実験から合計16.5時間の動画データを観察し、合計9尾 (オス6尾, メス3尾) から1190回の配偶子の放出を記録した (放精625回、放卵565回)。通常遊泳については、激しい姿勢の変化や旋回行動をせずに泳いでいる時間帯を10秒間抜き出し、1秒単位に区切って用い、180回の教師データを取得した。ダッシュは39回、旋回行動は951回、確認行動は149回の教師データを取得した。これらを教師データとしてランダムフォレストモデルを作成し、モデルの精度を検証した。その結

果、放精・放卵行動はどの指標においても非常に高い値を示し（適合率0.90、再現率0.96、F₁スコア0.93）、5つの分類対象行動の中で最も良好な分類性能を示した。また、旋回行動（適合率0.88、再現率0.91、F₁スコア0.90）および通常遊泳（適合率0.88、再現率0.90、F₁スコア0.89）についても、高い分類精度が得られた。一方、ダッシュ（適合率1.00、再現率0.08、F₁スコア0.14）と確認行動（適合率0.44、再現率0.11、F₁スコア0.18）については、低い精度となった。

RFを用いた行動分類は、多くの生物で行われており、魚類ではヒラマサ*Seriola lalandi*やレモンザメ*Negaprion brevirostris*などの大型魚類で適用されている。これらの研究では、行動の種類によって精度が変動している。例えば、通常遊泳や体擦り行動（寄生虫を除去するために魚体を擦り付ける行動）など、特定の軸の加速度変化が、他の行動に比べて極端に大きいまたは小さい行動において、高い精度（F₁スコア0.8 – 0.9）を示す傾向がある。本実験においても、ダッシュや確認行動は精度が低い結果となったが、目的とする放精・放卵行動については精度が安定していた。したがって、本モデルを2章で取得したデータに適用することで、より詳細に個々の放精・放卵行動の時系列変化が明らかにできると考えられた。また、教師データを増やして汎用性を高めることで、水槽実験だけでなく野外実装も視野に入れ、産卵場所や産卵環境の特定へ役立てることが期待される。

【第4章 集団産卵における雌雄差と体サイズ差の検証】

生殖生理の分野における既往研究から、精子が賦活化するメカニズムや雌雄の配偶子の特徴が調べられてきた。例えば、精子は体外に放出された後その場に漂い、付近の卵に由来するタンパク質を受けると受精に向けた一連の運動を活発化する。またオスは放精の際に、他個体の産卵行動を誘発するフェロモンを同時に放出する。これらのことから、オスの集団が先に放精し、受精可能な精子が水中に十分にある状況下で、メスの集団が放卵していると考えられてきた。また、本種の精子は極めて特殊な性質をもち、海水中に放出されてから24–48時間経過しても受精能力を維持することができる。こうした配偶子の特徴から、集団産卵内での配偶子放出のタイミングや頻度について、雌雄で異なる可能性がある。加えて、一般的に魚類では体サイズが大きくなるにつれて保有する卵数が多くなることが知られている。本種においても雌雄ともに、体サイズが大きくなるにつれて生殖腺の重量が大きくなることが報告されているため体サイズによって放精数または放卵数に違いが生じる可能性がある。そこで本章では、性別および体サイズが個体の放精・放卵タイミングや放精・放卵回数に与える影響について明らかにすることを目的とした。これを達成するために、第3章で構築した行動分類のモデルを第2章で得られた加速度データに適用した。

本章では、2章で使用した2023年の水槽実験で得られた、ニシン53尾（オス15尾、メス38尾）のデータを解析に使用した。データの解析期間は2章と同様、4月21日19時から翌朝5時までの10時間とした。全解析期間内において、1秒単位の時間窓を0.4秒ずつスライドさせながら、3章と同様の68個の変数を算出した。これらを3章で構築したRFモデルに適用し、放精・放卵行動を抽出した。放精・放卵行動が抽出されなかった個体は以降の解析から除外し、抽出された個体を対象として、雌雄や体サイズで比較を行った。各個体で抽出回数、集中時間（行動発生時刻の四分位範囲）、開始時間（最初に行動が抽出された時刻）の3つの指標を算出した。各指標は独立した応答変数とし、それぞれに対して一般化線形モデルを作成した。説明変数としては性別、体サイズの指標として尾

叉長 (FL; Fork Length)、またはその両方を含む複数のモデルを作成し、最も当てはまりの良いモデルを選択した。

はじめに解析対象とした53尾のうち、50尾 (オス14尾、メス36尾) から、放精・放卵行動が抽出された。オスからは1 – 109回の放精、メスからは1 – 328回の放卵が抽出された。一般化線形モデルの結果、抽出回数と集中時間については、どちらも性別のみを説明変数とするモデルが最適であった。オスはメスよりも配偶子放出の回数が少なく、短時間で集中的に放精していたのに対し、メスは短時間で放卵する個体と、長時間かけて放卵を続ける個体が存在した。オスは他の個体の放精・放卵を誘発させるため、オスが短時間で集中的に放精することは他個体の産卵行動を誘発させるうえで有効であると考えられた。また別の既往研究では、精子の密度が受精率に影響することが報告されているため、オスは自身の精子を集中的に放出して精子濃度を高めることで受精率を高めていることが示唆された。メスにおいても、オスの放精に合わせて放卵することで受精率を高められることが考えられるが、精子は長時間受精能力を維持できるため (柳町, 1957c)、十分な精子濃度が維持されている条件下では、長時間にわたって放卵を継続しても受精が成立し得る。このことから、メスは短時間で放卵を終える個体に加えて、比較的長時間にわたって放卵を継続する個体が存在したと考えられた。

開始時間についてはFLと性別の両方含むモデルが最適であった。FLと開始時間には有意な関係がみられ、FLが小さい個体は放精・放卵を開始した時刻が早かったのに対し、FLが大きい個体では、早くに放精・放卵を始める個体と、遅れて反応する個体の双方が確認された。一方で、開始時間と性別の主効果には有意な関係はみられなかった。これに関して、既往研究ではオスの放精が産卵イベント開始に影響を与えることは強く示唆されているが、本結果に基づくと、本種の集団産卵では最初の数個体の放精で他の個体への行動誘発が十分であるか、または最初は雌雄関係なく数匹の個体が徐々に放精・放卵を始め、一定以上のフェロモン濃度となったら、複数個体の放精・放卵が誘発され大規模な集団産卵に至るものと考えられた。FLと開始時間との関係については、体サイズとフェロモンの応答性・群れの構成・年齢の影響など、様々な要因が考えられたが、いずれの仮説においても先行知見が乏しく、現時点で結論を導き出すことは難しいと考えられた。

このように、放精・放卵のタイミングは、雌雄の生殖生理学的な違いから説明できるものもあれば、FLとの関係のように解釈が難しい結果も得られた。こうした結果を解釈するためには、耳石による年齢査定、脊椎などから個体の系群の特定、さらに排卵時期など生理学データを組み合わせる必要がある。こうした研究の発展で本種の産卵メカニズムの更なる解明が期待される。

【第5章 総合考察】

本研究では、大型の実験水槽および小型の円形水槽内で太平洋ニシンの集団産卵を誘発させ、その際集団産卵中の複数匹に装着したロガーのデータ解析から、集団産卵の行動の時系列変化を可視化することができた。2章の結果から、一連の産卵行動が周期的に増減を繰り返しながら収束することが示された。4章では放精・放卵が集中する時間において雌雄で違い認められ、オスの方が短時間で集中的に放精し、メスはオスと同様の短時間集中だけではなく、長時間にわたり放卵する個体がみられた。こうした本種の行動学的な特徴は野外でどのような意義をもつのだろうか。一般的に、集団産卵にはベネフィットとコストが伴うとされており、ニシンでは集団で放精・放卵するこ

とで多くの個体と交配し、遺伝的な多様性を高めることがベネフィットであると考えられてきた。一方で、集団で産卵をすることでより多くの捕食生物を引き付けてしまうため、他の生物による被食は大きなコストになっていると推察することができる。加えて近縁種の大西洋ニシンでは、産み付けられた卵の密度が高いと卵塊の内側の卵への酸素供給が不足し、死亡率が上昇することが示されており、これも集団の形成に伴うコストと解釈できる。本研究で得られた結果は、こうしたコストを回避する方向に働く可能性がある。周期的な行動の変化や長時間の放卵は結果的に卵や配偶子の一局集中を避けることにつながり、局所的な環境悪化や被食リスク、あるいは卵密度の過剰上昇に伴う生残率低下を緩和する可能性がある。このようにニシンの産卵行動には、集団で産卵するベネフィットとコストの両方を調整するようなメカニズムが存在している可能性がある。ただしこうした仮説を裏付けるために、こうした行動が繁殖成功や生存率にどの程度結びついているのかを検証することが求められる。

集団産卵を行う魚類は、詳細な産卵様式は魚種によってさまざまであるが、非常に多くの種が該当する。行動学的な研究が進んでいる種は限られているが、集団産卵をする魚類はニシンの他にも数多く存在し、それぞれ異なった行動様式が存在する。それぞれの様式の中で、個体は自身の繁殖成功が最大となるように行動すると予測されるため、集団産卵のメカニズムを解明するためには、個体ベースでの行動計測は欠かすことができない。本研究は、計測が難しい集団産卵をする小型魚のニシンを対象として、個体レベルで産卵行動を定量化した初めての研究例であり、今後はニシンをはじめ多様な魚種で集団内の産卵行動を追跡し、個々の行動様式が繁殖成功にどのように結びついているのかを明らかにしていくことで、集団産卵の更なるメカニズムの解明が期待される。