

令和元年6月4日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14974

研究課題名(和文)閉鎖的水域におけるタイ科魚類の浮遊卵をモデルとした魚卵生態遺伝情報の開拓

研究課題名(英文)Genetic and ecological study on pelagic eggs as a model Sparidae species in semi-enclosed field

研究代表者

海野 徹也(Umino, Tetsuya)

広島大学・生物圏科学研究科・教授

研究者番号：70232890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：閉鎖的の海域をフィールドとして、タイ科魚類クロダイの浮遊卵をモデルに、魚卵の生態および遺伝情報を収集した。広島湾において、卵は均質に分布しておらず、マガキ養殖場付近で高密度であった。よって、クロダイはカキ筏を産卵場として利用していると思われた。卵数法によって広島湾のクロダイ親魚数を推定すると、約800～1000万尾となった。採取した授精卵の発生段階を特定し、受精時間を推定することで産卵時間を推定したところ、産卵のピークは午後6～8時と考えられた。産卵時間に採集した受精直後の卵は遺伝変異に富み、有効親魚数 N_e は無大となった。受精卵の減耗率は比較的高く、0.9/dayと推定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マダイやクロダイなどのタイ科魚類は、瀬戸内海を中心に重要種となっており、資源管理のための産卵生態などの情報蓄積が必要である。本研究は、タイ科魚類、特にクロダイ受精卵をモデルとして、遺伝生態学的な情報の収集を試みた。その結果、これまで未知であった卵密度、産卵時間、卵数法による推定親魚数、有効親魚数、受精卵の減耗率などの情報が得られ、卵仔稚学の新規研究分野の牽引に貢献できた。一方、産卵場や産卵時間などの情報はクロダイ資源の持続的利用に有益である。本研究がモデルとなって、海産魚の産卵生態の解明が活性化することを期待したい。

研究成果の概要(英文)：To get the basic knowledge of spawning biology such as spawning durations, ground and time of the black sea bream in Hiroshima Bay, we collected pelagic eggs using submersible pump and NORPAC net. Black sea bream eggs appeared at late-April and then settled down at early-July. The peaks of egg density in the bay were marked at early-May to mid-May. Based on the horizontal egg distribution, egg density in outer bay was much higher than that of inner bay. Particularly, significantly lower egg density at inmost bay area suggested that adults avoid the low salinity area for spawning grounds. On the contrary, high egg density recorded near the oyster farming area suggested that black sea bream utilize abundant oyster rafts as main spawning grounds. The majority of 1-cell stage eggs appearance around sunset supported semi-nocturnal spawning behavior of black sea bream.

研究分野：水産増殖学

キーワード：タイ科魚類 クロダイ 分離浮遊卵 産卵場 産卵時間 減耗 遺伝 閉鎖的の水域

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

資源生態学分野において、産まれて間もない発育初期の海産仔稚魚の初期減耗については、被食、摂餌不足による飢餓、もしくは、飢餓による被食圧の増大などが主な要因とされている。この定説は 20 世紀初頭に Hjort (1914) に提唱されたもので、海産魚の生態研究は仔稚魚を中心に論議されてきた。しかしながら、仔魚ではなく、卵の減耗についてどうであろう。仔魚のような遊泳力が欠如し、しかも、鉛直運動能に乏しい分離浮遊卵では、短期間といえども、研究者の想像を超える淘汰が存在することが予想される。ただし、資源レベルで個体数が最も多い魚卵の生態情報については、卵の種同定が困難なこと、研究に必要な卵数の確保が困難なことから、これまで未開拓と言っても過言ではない。

本研究は、閉鎖的水域において、タイ科魚クロダイが産した浮遊卵をモデルとして、魚卵に潜む未着手・未開拓・未知の遺伝生態情報を、DNA 定量および多型分析を駆使することで解明しようとする、先導的、かつ、挑戦的萌芽研究である。また、本研究では広島湾という特徴的な閉鎖的領域をフィールドとする。恵まれた研究材料とフィールドは特色豊かな研究の象徴であり、挑戦的研究のブレークスルーになると考えている。

学術面においては、小型の浮遊卵の生態遺伝情報へアプローチしようとする試みは世界的にも前例がない先駆的なものである。理由は、卵の種同定法が確立されていないことである。さらに、仮に卵の種同定が可能になったとしても、システムチックに卵発生段階を推定する手法も確立されていない。

魚類遺伝学、資源生態学、卵仔稚学における新しい視点と原理を提供し、「魚卵生態遺伝情報学」という未開拓分野の確立に挑む。

2. 研究の目的

海産魚の生態研究は成魚や仔稚魚を中心に論議されてきた。しかし、資源レベルで個体数が最も多い魚卵の生態情報については、卵の種同定が困難なことや、研究に必要な卵数の確保が困難なことから、これまで未開拓である。

本研究は、閉鎖的水域においてタイ科魚類クロダイの浮遊卵をモデルとして、魚卵に潜む未着手・未開拓・未知の遺伝生態情報を、DNA 定量および多型分析を駆使することで解明しようとする挑戦的萌芽研究である。具体的には、浮遊卵の発生段階をシステムチックに推定できる手法を DNA 多型および定量解析によって確立する。フィールドでは採集した受精卵を用いて 親魚資源量 (卵密度と N_e)、産卵場や産卵時間の解明、卵発生段階による減耗率の推定、DNA 多型解析による遺伝子流動 (ジーンフロー) の把握、浮遊卵の捕食者の特定や減耗要因の解明を試みる。

得られた研究成果をベースとして、最終的には瀬戸内海のタイ科魚類の産卵場の保全などに役立てたいと考えている。

3. 研究の方法

- (1) 広島湾の 10~15 定点で、水中ポンプによる浮遊卵の採集を行う。卵の採集定点は広島湾の内外に選定し、4~6 月に数回行う。採卵水深は、2, 5, 10, 15m の 4 段階とする。得られた卵と仔魚は直ちにエタノール固定する。ラボに持ち帰った卵塊のうち、1 mm 前後の球形卵をソーティングする。
- (2) 春季に採集したクロダイ卵は数千粒の採集が予想される。採集卵に対して、モノクローナル抗体による抗原抗体反応と化学発光を行い、クロダイ卵を判別する。
- (3) DNA 量によって、受精卵の発生段階を推定する方法を確立する。クロダイについては最寄りの水産研究センターで飼育されている親魚群より、発生段階毎の卵を採集する。次に、各発生段階の受精卵のからの最適な DNA の抽出を検討する。抽出方法は、通常フェノールクロロホルム法、キレックス法、市販 DNA 抽出キットを試行する。得られた DNA を用いて、260nm における吸光度をナノドロップ (テルモ社製) により調べ、DNA 量と発生段階の関係を把握する。DNA 量と発育段階毎の検量線を作製し、フィールド調査に活用する。
- (4) 受精直後の受精卵 (第一卵割前後) に対しては、マイクロサテライト DNA のフラグメント解析ではアリル型を解析し、有効アリル数、ヘテロ接合体率などのパラメータ解析により遺伝変異の保有量を調べる。
- (5) クロダイの卵密度から産卵場や親魚資源量の情報を得る。また、採集卵の卵発育段階より産卵時間の解明や減耗率の推定を試みる。遺伝変異のパラメーターから有効親魚数 N_e を解析する。

4. 研究成果

- (1) クロダイ卵が確認されたのは両年とも 4 月中旬で、その後、急激に採集卵量が上昇し、4 月下旬~5 月上旬にかけてピークに達した。両年とも海水温が約 17℃ に上昇した直後に採卵量が急激に増加したことから、本種の産卵には水温が大きく関与している可能性が示唆された。広島湾の湾口部と湾外部で卵の採卵量を比較すると、湾口部の採卵量は湾外部の約 10 倍に達した。湾外は湾内に比べて塩分が安定しており、水温・塩分共に高いことが要因と考えられる。

- (2) 春先から初夏における授精卵の密度の変化をみると、5月中旬に卵密度がピークを迎えた。一方、クロダイ親魚の GSI を調べたところ、その最大値は5月中旬から下旬となった。湾内の受精卵密度と親魚 GSI の変動傾向は概ね一致することが判明した。
- (3) 卵密度の高い定点は、共通点としてカキ養殖場が近くに存在した。広島湾クロダイはカキ筏周辺で盛んに産卵している可能性が示唆された。一方で、卵密度が著しく低かった定点は湾奥部で、クロダイ成魚が低塩分帯での産卵を回避している可能性が考えられた。水深で卵密度を比較すると、5m に比べて 10m で卵密度が高くなった。広島湾クロダイはカキ筏を中心に、水深 10m 以深で産卵している可能性が考えられた。
- (4) 平均卵密度を基に親魚数を推定すると、2016 年は約 800 万～1600 万尾、2017 年は約 430 万～850 万尾と推定された。過去の知見を踏まえると、広島湾の親魚数は減少していると考えられた。
- (5) 採集卵の発育段階を採集直後に観察し、その発生段階から産卵（受精時間）を推定した結果、クロダイの産卵時間のピークは午後 6～8 時と考えられた。産卵時間に採集した受精直後の卵を用いて、マイクロサテライト DNA 多型をパラメーターとして有効親魚数 N_e を推定した。その結果、受精卵は遺伝変異に富み、有効親魚数 N_e は無限大となった。
- (6) 広島湾におけるクロダイ卵の減耗率は比較的高く、0.108/h、0.9/day と推定された。魚卵採集時に採集される浮遊期の仔魚は、5月下旬から6月初旬～中旬に多くなった。また、サーフゾーンネットによる着底稚魚の採集では、7月初旬に着底のピークが認められた。これら仔稚魚の出現と耳石日周輪解析からすると、5月下旬に孵化した仔魚が同湾の新規加入群として機能している可能性が示唆された。
- (7) タイ科魚類は、瀬戸内海を中心に重要種となっており、資源管理のための産卵生態などの情報蓄積が必要である。本研究は、タイ科魚類、特にクロダイ受精卵をモデルとして、遺伝生態学的な情報の収集を試みた。その結果、これまで未知であった卵密度、産卵時間、卵数法による推定親魚数、有効親魚数、受精卵の減耗率などの情報が得られ、卵仔稚魚の新規研究分野の牽引に貢献できた。一方、産卵場や産卵時間などの情報はクロダイ資源の持続的利用に有益である。本研究がモデルとなって、海産魚の産卵生態の解明が活性化することを期待したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

河合賢太郎、岡崎隆真、筈野哲史、海野徹也、DNA 種同定による広島湾における分離浮遊卵の季節変化 日本水産学会誌、査読あり 83、2017、215-217

〔学会発表〕(計7件)

河合賢太郎、海野徹也、広島湾におけるクロダイ卵の出現と環境要因、平成 28 年度日本水産学会中国・四国支部例会、平成 28 年 10 月

河合賢太郎、海野徹也、広島湾におけるクロダイ卵の水平分布、平成 29 年度日本水産学会春季大会、平成 29 年 3 月

河合賢太郎、山下裕太郎、牟田圭司、津行篤士、海野徹也、広島湾クロダイの産卵と海洋環境の関係、第 29 回魚類生態研究会、平成 30 年 2 月

河合賢太郎、海野徹也、広島湾におけるクロダイの産卵場形成と海洋環境の関係、平成 30 年度日本水産学会春季大会、平成 30 年 3 月

河合賢太郎、藤田大樹、山下裕太郎、吉田悠馬、海野徹也、広島湾能美島西岸におけるクロダイ着底稚魚の年変動と生育環境平成、31 年度日本水産学会春季大会、平成 31 年 3 月

Kawai K and Umino T. Spatial distribution of pelagic eggs of the black sea bream *Acanthopagrus schlegelii* in Hiroshima Bay, Japan. The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International symposium “Fisheries Science for the Future Generations”. Tokyo University of Marine Science and Technology, Shinagawa campus, September 22-24, 2017

Kawai K, Umino T. Spawning biology of the Black sea bream *Acanthopagrus schlegelii* in Hiroshima Bay, revealed by spatiotemporal distribution of pelagic eggs. 4th CLIOTOP Symposium. National Ocean Taiwan University, Keelung, Taiwan. October 15-19, 2018.

〔その他〕

ホームページ等

研究のホームページ <https://home.hiroshima-u.ac.jp/umino/Welcome.html> で研究成果の一部を公開した。

6. 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名： 富山 毅

ローマ字氏名： Takeshi Tomiyama

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。