

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06183

研究課題名(和文) 養殖候補種の稚仔期の成長を支える餌料解明のための分子生態学的アプローチ

研究課題名(英文) Molecular ecological approaches to elucidate the natural diet of larvae and juveniles in potential aquaculture species

研究代表者

若林 香織 (Wakabayashi, Kaori)

広島大学・統合生命科学研究所(生)・准教授

研究者番号：20725147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：水産有用魚介類の摂餌生態は、養殖用餌料/飼料の開発を支える基礎的な知見となる。本研究は、ウチワエビ類をモデルとして、天然での食性を高解像度で理解することを目的としている。漁獲直後のエビから放出された糞粒を採取し、COI遺伝子領域をマーカーとするDNAメタバーコーディング法により、試料内に認められる餌料生物を可能な限り下位の分類群まで同定した。全41個体からバーコーディングの結果を得、複数種の魚類、エビ類、刺胞動物等が検出された。ウチワエビは動きが遅く、海底を匍匐して生活するため、生きた状態のこれらの動物を襲撃するというよりは、海底に沈んだ瀕死個体を見つけて機会的に利用していると推察できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

養殖用種苗が継続的に摂食し効率的に成長する餌料の探索には、天然の食性を知ることが有効である。本研究では、近年海産動物の食性解析にもしばしば用いられる方法である糞に含まれるDNAのメタバーコーディング解析をウチワエビに適用し、本種が利用する天然の餌料を種レベルで理解することに成功した。さらに、その利用頻度から本種には緩やかな選好性があることも示唆された。

研究成果の概要(英文)：Feeding ecology of fishery-important species provides fundamental knowledge in support of developing aquaculture feeds. The aim of this study is to understand the natural diets of fan lobsters at molecular level. Fecal pellets released from the lobsters just after landing were sampled and subjected to the analysis of food organisms found in the fecal pellets. DNA metabarcoding using the COI gene region as a marker was applied to identify the food organisms to the lowest possible taxa. The results from a total of 41 individuals of Japanese fan lobster demonstrated that multiple species of fishes, shrimps, and cnidarians were utilized as diet by the lobsters. Since the Japanese fan lobster moves slowly and lives on the sea bed, it can be inferred that they opportunistically target dead/weak body of those animals on the sea bed and feed on them rather than attacking those animals in their living state.

研究分野：水圏生産科学

キーワード：摂餌生態 DNAメタバーコーディング 天然餌料 大型甲殻類 養殖

### 1. 研究開始当初の背景

魚介類は重要な食用生物資源の一つである。世界人口の増加や健康志向の高まりなどにより、魚介類の世界需要は年々拡大している。我々は主に漁船漁業による天然資源の捕獲によって食用魚介類を生産してきたが、天然資源への極端な依存は魚介類の繁殖力低下を招き、水産業のみならず水圏生態系全体の持続的な発展を阻む危険がある。天然資源への依存度を下げつつ漁業生産を維持する方法の一つが、養殖による魚介類の人工的な生産である。国際連合食糧農業機関によると、世界の魚介類生産量に占める養殖の貢献は 1990 年頃から急速に伸び、現在では生産量の約半分を養殖が占め、2030 年までに 60%を超えることが目標となっている。この達成に向け、現有の養殖技術の改善と並行して、新しい魚種の養殖技術開発が期待されている。

養殖は、親魚から受精卵を得て、胚や幼生を人工的に飼育して稚仔 (= 種苗) を生産する種苗生産と、種苗を出荷サイズまで畜養する種苗育成の 2 つの過程に大別される。個体の入手から出荷までを人工的に管理する養殖では、種苗生産技術が確立されても、それに続く種苗育成技術が整備されなければ、食用魚介類の生産向上につながらない。生産性を左右する要素の一つが栄養条件である。種苗が継続的に摂食し効率的に成長する餌料の探索には、天然の食性を知ることが有効である。水産分野で伝統的に実施される消化管内容物の検鏡による食性解析は、時間と種同定のための膨大な知識を要する割に把握できる情報が少ない。一方、安定同位体比の分析は体を構成する栄養の由来を調べるのに役立つが、餌生物の具体的な種の同定には適さない。短時間かつ高解像度で対象種の食性や栄養状態を把握することが、これからの養殖技術革新の鍵となる。

### 2. 研究の目的

DNA メタバーコーディングは、近年生態学分野でよく利用され、生態系における食物網構造を高解像度で理解できる方法として注目されている。陸上動物の食性解析にしばしば用いられ、技術開発がなされてきたが、最近では海洋動物に対しても有効であることが確かめられている。DNA メタバーコーディング法では、従来法と同様に解剖によって抽出する消化管内容物を DNA 抽出のための試料とすることもできるが、とくに絶滅が危惧されその保全が喫緊の課題となっている動物に対しては、糞を試料とすることで動物を傷つけることなく食性を理解できる利点があり、アシカ (Berry *et al.*, 2017) やカブトガニ (Lee *et al.*, 2021) などで用いられた実績がある。

本研究では、しばしば生態系の高次捕食者として位置づけられる水産重要魚介類について、分子生態学的手法で対象種の天然餌料を網羅的に理解することを目的とした。モデルとして用いた魚介類は、主に西日本で漁獲・消費される大型甲殻類の一種であるウチワエビ (*Ibacus ciliatus*) である。ウチワエビは近年、高級水産物の一つとして位置づけられ、市場では 5,000 円/kg 程度の高値で取引されることもある。現在流通するウチワエビはすべて天然由来で、本種の養殖は実現していない。特に底生期 (稚エビ ~ 成体) については食性などの生態に関する知見がほぼ皆無である。

#### (参考)

Tina E. Berry, Sylvia K. Osterrieder, Dáithí C. Murray, Megan L. Coghlan, Anthony J. Richardson, Alicia K. Greal, Michael Stat, Lars Bejder, Michael Bunce (2017) DNA metabarcoding for diet analysis and biodiversity: A case study using the endangered Australian sea lion (*Neophoca cinerea*). *Ecology and Evolution*, **7**, 5435-5453.

Bo Yee Lee, Kaori Wakabayashi, Simon Yung Wa Sin, Susumu Ohtsuka and Ling Ming Tsang (2021) DNA metabarcoding revealed interspecific dietary difference and prey selectivity in juvenile horseshoe crabs *Carcinoscorpius rotundicauda* & *Tachypleus tridentatus* from Hong Kong. *Frontiers in Marine Science, section Marine Molecular Biology and Ecology*, **8**, e752806.

### 3. 研究の方法

2021 年 1 月 ~ 2023 年 2 月に、山口県下関市で水揚げされたウチワエビ (図 1) を生きたまま広島大学へ輸送した。後腸内に残存する糞を滅菌ピンセットで採取し、グラインディングボールを入れたプラスチックチューブに入れ、DNA 抽出まで -30 °C で保存した。糞試料を凍結乾燥後、ピーズショッカーを用いて粉碎し、市販のキットを用いて粉碎試料から DNA を抽出した。DNA 溶液の濃度を調整した後、2-step tailed PCR 法を用いて糞に含まれる生物の COI 領域を増幅した。1st PCR では、ウチワエビの DNA が増幅されるのを抑制するために、本種に特異的に作用するブロッキングプライマーを使用した。2nd PCR により、インデックス配列を挿入したプライマーを使ってサンプルを識別した。得ら

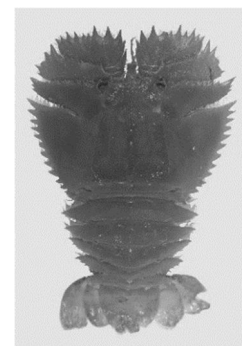


図 1. ウチワエビ.

れた DNA ライブラリーの塩基配列を次世代シーケンサーMiSeq で解読した。各試料から得られた塩基配列（リード配列）の品質を確認した後、BLAST（NCBI）を用いて相同配列を検索した。相同性が 97%以上の配列のみを収集し、データベースに紐づく生物種の情報から、ウチワエビが漁獲の直前に摂餌した餌生物を同定した。

#### 4. 研究成果

解析を試みた 44 試料中、41 のウチワエビ糞試料において、ウチワエビ以外の生物に由来する COI 領域のリード配列を得た。全部で 93 OTUs が検出され、それらは 19 門（動物 7 門、植物 2 門、バクテリア 3 門、その他 7 門）に分類できた。得られた総リード数は 176,930 であった。これらを生物種ごとに分類し、リード配列の比率を調べたところ、ウチワエビ糞中には魚類、甲殻類、および刺胞動物が高い頻度で出現し、軟体動物、棘皮動物、紐形動物が稀に検出された（図 2）。

魚類では底生魚を中心に少なくとも 11 種が認められた。異なる分類群に属する様々な魚種が検出された一方で、特定の魚種が高頻度に検出されることはなかったことから、ウチワエビには特定の魚種を選択的に摂餌する習性はないと考えられる。遊泳性の魚類と高い相同性を示すリード配列も見つかることから、斃死後に海底に沈降したこれらの魚体がウチワエビによって捕食されていると推察される。

刺胞動物では、海底に固着する花虫類のほかに、浮遊生活を送る世代を持つ鉢虫類も検出された。深海性の大型甲殻類が表層から沈降するクラゲを捕食することが知られているが（たとえば Sweetman *et al.*, 2014）、ウチワエビも同様の摂餌生態を持つ可能性が考えられる。甲殻類では、小型の底生エビ類やオキアミ類のほか、1 試料において、カイアシ類が複数種検出された。この試料には刺胞動物も認められた。ウチワエビが直接カイアシ類を摂餌したとは考えにくく、餌として摂取した刺胞動物が胃内に保持していたカイアシ類を間接的に取り込んだものと予想される。

一方、軟体動物は頭足類、二枚貝類、巻貝類のいずれも認められたが、上記の動物に比べて検出頻度は低かった。本研究では、下関港に所属する沖合底曳網漁船の操業期間中（晩秋～初夏）に水揚げされるウチワエビを調査対象としたため、季節的に消長する動物の出現が制限された可能性がある。とくにイカ類がほとんど検出されなかった背景には、イカ類の産卵時期、産卵場所、および底曳網の操業海域などの複雑な要因が潜在するのかもしれない。

さらに、ウチワエビが生息する海底に豊富に存在すると考えられる環形動物はまったく検出されなかった。これらの結果は、ウチワエビは幅広い食性の機会捕食者であると同時に、緩やかな選好性を持つことを示唆する。

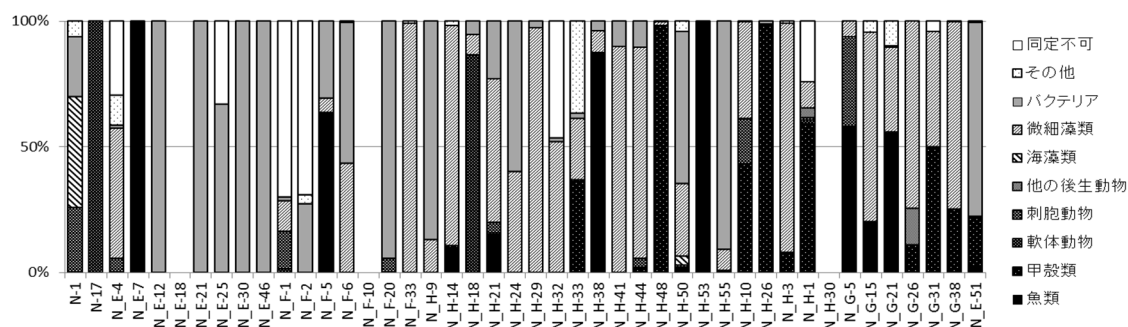


図 2. ウチワエビの糞から検出された OTU リード配列の頻度。

#### (参考)

Andrew K. Sweetman, Craig R. Smith, Trine Dale, Daniel O. B. Jones (2014) Rapid scavenging of jellyfish carcasses reveals the importance of gelatinous material to deep-sea food webs. *Proceedings of the Royal Society B*, **281**, 20142210.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------