

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 9 日現在

機関番号： 32607  
研究種目： 若手研究（B）  
研究期間： 2010～2011  
課題番号： 22780182  
研究課題名： ツボワムシ属の隠蔽種が引き起こす増殖阻害の解明  
研究課題名： Population stagnant growth caused by cryptic species of *Brachionus plicatilis* species complex

研究代表者

吉永龍起（YOSHINAGA TATSUKI）  
北里大学・海洋生命科学部・講師  
研究者番号： 30406912

研究成果の概要（和文）

海産仔稚魚の初期餌料であるシオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* は、遺伝的に異なる種から構成される複合種として扱われている。本課題は、種間で生じる競争が引き起こす増殖不良の実態を解明することを目的とした。COI 遺伝子座の変異によりツボワムシ属複合種は 5 群に分かれた。奄美株は東アジア、小浜株は北米産とそれぞれ近縁であった。続いて、両株の生活史特性を比較した結果、小浜株は *r*-戦略型、奄美株は *K*-戦略型に分類され、ツボワムシ属は生活史特性が大きく異なる株によって構成されることが明らかとなった。こうした生活史の違いが両株間で競合を引き起こし、増殖阻害の原因になりうる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）

Rotifer *Brachionus plicatilis* has been an indispensable zooplankton as a live-food in aquaculture since 1960s. Three types of L, S and SS have been recognized based on their body size, but recent studies revealed that *B. plicatilis* consists of genetically-isolated species/strains, called species complex. Based on substitutions in the COI locus, the specimens examined in this study were classified into 5 genetically-isolated strains. Subsequently, the two strains of the L-type, Amami and Obama strain, were further investigated to compare their life-history parameters. The Amami strain showed relatively faster growth and maturation, but had lower starvation resistance than the Obama strain. These differences in their life-history suggested that the Amami and Obama strains could be considered to be *r*- and *K*-strategists, respectively. Such different adaptive behaviors between the two strains can cause the competition in the mass-culture, and resulted in the stagnant growth or even collapse of the population.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,600	780	3,380
2011年度	500	150	650
総計	3,100	930	4,030

研究分野：水産学

科研費の分科・細目：水産学一般

キーワード：シオミズツボワムシ，初期餌料，隠蔽種

1. 研究開始当初の背景

食料危機は人類が今世紀中に直面する深刻な問題である。この問題の解決には、食資源の絶対量を増やすことが不可欠である。陸上での食料生産がほぼ限界に達していることから、水産資源の増産が期待される。栽培漁業とは、初期減耗が激しい水産動物の仔稚期の生残を人為的に高め、その後は天然で成長したものを漁獲して人間の食料とする技術である。“多産多死”の典型である海産魚類を人為的に“多産少死”にすることで、理論的には無限大の資源を期待できる。

孵化したばかりの仔稚魚に適した餌料は、シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* だけである（以下、ワムシ）。しかし、ワムシの大量培養では増殖不良や大量斃死といった問題がしばしば起こる。ワムシの大量培養は、数十トンの大型の水槽に餌である植物プランクトンを大量に入れた過度に富栄養な条件で行う。こうした培養では、溶存酸素やアンモニア態窒素の濃度に加え、原生動物の混入やバクテリア叢の変化など様々な環境条件が変化する。こうした変化が増殖不良を引き起こす原因であるものの、複数の要因が絡み合うために安定化は難しい。そこで、担当者が長年の経験からその都度に対応してワムシの確保に努めているのが現状である。すなわち、ワムシの大量培養は多大な労力を要し、かつ仔稚魚の餌を確保できなくなる危険を常にもなっている。

2. 研究の目的

初期餌料として用いられているシオミズツボワムシには、形態的に類似するものの遺伝的には分化した複数の種（隠蔽種）が含まれていることが分かってきた。実際、単一種と見なされていた *B. plicatilis* は少なくとも10種の隠蔽種を含み、現在では便宜的に *B. plicatilis complex*（複合種）として扱われている分布域の異なる種は、それぞれ水温や塩分濃度などの増殖特性が異なっている。ツボワムシ属の分類が整理され、個々の種の増殖特性が明らかとなれば、種苗生産が対象とする様々な魚種の飼育条件に合致したワムシを利用できるようになる。しかしこうした利点の一方で、隠蔽種の存在はワムシの大量培養において問題を引き起こす可能性がある。

申請者は、ツボワムシ属の複数種が混在すると増殖が抑制されることを発見した。このことは、種苗生産の現場において複数種のワムシが混在すると増殖不良が引き起こされることを意味する。一方、大規模な水槽でワムシを培養する種苗生産施設においては、水槽間で起こりうる混入を完全に防ぐことは技術的に困難である。したがって、種間で起こる増殖阻害の実態を把握し、潜在する危険を事前に排除することが必要である。以上の背景の下、ツボワムシ属ワムシの分類を再検討し、増殖阻害を引き起こす組み合わせとその原因を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 3-1. 分類の再検討

複合種として扱われているツボワムシ属の実態を把握するため、ミトコンドリア DNA のサイトクロームオキシダーゼ I 遺伝子座の塩基配列を基にした分類を行った。既報のプライマ対を用いた PCR で COI 遺伝子座の部分塩基配列 (600 塩基対) を増幅し、さらに塩基配列を決定した。

#### 3-2. 生活史特性の比較

形態的特徴が酷似しているものの遺伝的に分化していることが分かった L 型の奄美株と小浜株について、個別培養により生活史特性を決定した。塩分濃度は 4 psu と 16 psu の 2 段階として、水温は 25°C した。産仔数と生存を観察し、繁殖と寿命のパターンを決定した。

#### 3-3. 飢餓応答の比較

上記の奄美株と小浜株について、2 種類の飢餓応答試験を行った。まず、3 日齢まで給餌した後に絶食させて、その後の繁殖と生存を求めた。次に、孵化直後の仔虫を完全な絶食条件下で飼育し、生存時間を求めた。

### 4. 研究成果

#### 4-1. 分類の再検討

本研究で解析した 6 株、およびデータベースに登録されたツボワムシ属 (L 型) の相同遺伝子の配列を比較したところ、大きく分けて 5 つのクラスタに分類された (図 1)。これらのうち、奄美株と小浜株はそれぞれ東アジアおよび米国原産の株と近縁であることが分かった。奄美株と小浜株には COI 遺伝子座の演繹アミノ酸配列においても変異が存在し、遺伝的に隔離されているものと考えられた。

#### 4-2. 生活史特性の比較

小浜株の 16 psu における寿命は  $9.5 \pm 2.5$  日であり、奄美株のそれ ( $12.4 \pm 3.7$  日) と比べて有意に短くなった。また、小浜株は若

齢期に集中して産仔することが分かった (図 2)。一方、生涯産仔数は小浜株の 25 個体に対して奄美株は 28.9 個体と有意に多くなった。4 psu においても、2 株の生活史特性はほぼ同様のパターンを示した。

#### 4-3. 飢餓応答の比較

3 日齢で絶食させた場合、小浜株の寿命 ( $7.6 \pm 1.4$  日) は奄美株のそれ ( $10.3 \pm 1.4$  日) と比べて有意に短くなった。生涯産仔数は 17 個体前後で両株間に有意な差は認められなかったものの、絶食後に小浜株は繁殖しなかったのに対し、奄美株では繁殖が認められた。絶食条件下における 2 株の生存時間は約 4.5 日であり、差は認められなかった。すなわち、2 株の飢餓応答の違いはエネルギー量の差によるものではなく、繁殖に対する投資パターンの違いによるものと考えられた。

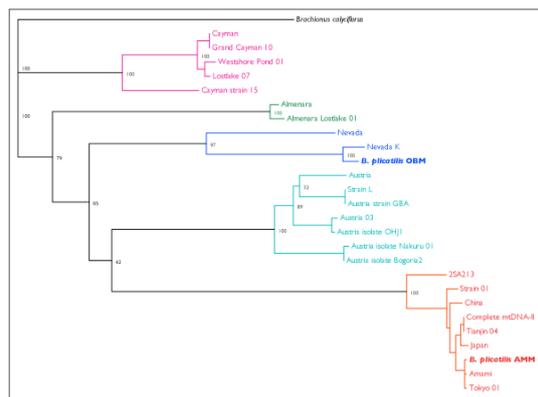


図 1. ツボワムシ属複合種の分子系統樹

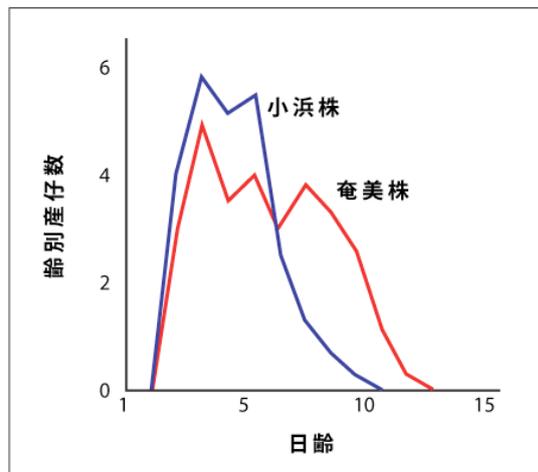


図 2. 奄美株と小浜株の齢別産仔数

## 5. 主な発表論文等（研究代表者に下線）

〔雑誌論文〕（計 6 件）

- (1) Yoshinaga T, Miller MJ, Yokouchi K, Otake T, Kimura S, Aoyama J, Watanabe S, Shinoda A, Oya M, Miyazaki S, Zenimoto K, Sudo R, Takahashi T, Ahn H, Manabe R, Hagihara S, Morioka H, Itakura H, Machida M, Ban K, Shiozaki M, Ai B, Tsukamoto K (2011). Genetic identification and morphology of naturally spawned eggs of the Japanese eel *Anguilla japonica* collected in the western North Pacific. *Fish. Sci.* 77, 983-992.
- (2) Miller MJ, Yoshinaga T, Aoyama J, Otake T, Mochioka N, Kurogi H, Tsukamoto K (2011). Offshore spawning of Conger myriaster in the western North Pacific: evidence for convergent migration strategies of anguilliform eels in the Atlantic and Pacific. *Naturewissenschaften*, 98, 537-543.
- (3) Tsukamoto K, Chow S, Otake T, Kurogi H, Mochioka N, Miller MJ, Aoyama J, Kimura S, Watanabe S, Yoshinaga T, Shinoda A, Kuroki M, Oya M, Watanabe T, Hata K, Ijiri S, Kazeto Y, Nomura K, Tanaka H (2011). Oceanic spawning ecology of freshwater eels in the western North Pacific. *Nature Communications*, 10.1038/ncomms1174.
- (4) Shinoda A, Aoyama J, Miller MJ, Otake T, Mochioka N, Watanabe S, Minegishi Y, Kuroki M, Yoshinaga T, Yokouchi K, Fukuda N, Sudo R, Hagihara S, Zenimoto K, Suzuki Y, Oya M, Inagaki T, Kimura S, Fukui A, Lee TW, Tsukamoto K (2011). Evalu-

ation of the larval distribution and migration route of the Japanese eel in the western North Pacific. *Rev. Fish Biol. Fisheries*, 21, 591-611.

- (5) Kaneko G, Yoshinaga T, Yanagawa Y, Ozaki Y, Tsukamoto K, Watabe S (2011). Calorie restriction-induced maternal longevity is transmitted to their daughters in a rotifer. *Func. Ecol.*, 25, 209-216.
- (6) 吉永龍起 (2010). シオミズツボワムシの生活史特性と個体群の大変動. *日本水産学会誌* 76, 617-620.

〔学会発表〕（計 4 件）

- (1) 島崎 航, 田中千香也, 小磯雅彦, 吉永龍起. シオミズツボワムシ複合種 2 株の生活史特性. 平成 24 年度日本水産学会春季大会. 東京 (2012 年 3 月).
- (2) 田中千香也, 小磯雅彦, 吉永龍起. 酸化耐性を指標としたワムシ個体群の増殖不調の予知. 平成 24 年度日本水産学会春季大会. 東京 (2012 年 3 月).
- (3) 吉永龍起, 臼井健洋, 石塚 光, 田中千香也, 小磯雅彦. 酸化および低水温耐性試験によるワムシ個体群の増殖不良の予測. 平成 23 年度日本水産学会秋季大会. 長崎 (2011 年 9 月).
- (4) 吉永龍起. 初期餌料生物シオミズツボワムシの個体数変動に関する研究. 平成 22 年度日本水産学会東北支部例会. 宮城 (2011 年 2 月).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉永龍起 (YOSHINAGA TATSUKI)

北里大学・海洋生命科学部・講師

研究者番号 : 30406912

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし