

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K18736

研究課題名(和文)水産ベントスの資源量変動に対する浮遊幼生期の減耗過程の影響解明

研究課題名(英文)A study of the mortality process in the planktonic larval stage of marine benthos and its effect on their population dynamics

研究代表者

入江 貴博(Irie, Takahiro)

東京大学・大気海洋研究所・助教

研究者番号：30549332

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：海産ベントスの個体群への加入量を予測するための手法を確立することを目指して、実証研究と理論研究を平行して進めた。浮遊幼生の飼育実験を行い、異なる温度条件で作られた幼生殻の標本を得た。黒潮流域の複数の産地に赴き、野外で浮遊期を経験した個体の幼生殻とDNAを収集した。次世代シーケンシング技術を利用して得た対象種の全ゲノム情報を解析する過程で、副産物として同種のミトコンドリアDNAの全情報が得られたため、これを原著論文として報告した。さらに、野外で無作為にサンプリングされた個体の中立遺伝情報から判明した個体間の近親関係から、その年の加入個体数を推定するための統計学的アルゴリズムの改訂を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋生物の個体群動態を決める重要な要因のひとつとして、孵化から個体群への加入までに起こる死亡があるが、この期間に起こる斃死は、個体を取り巻く環境の温度に大きな影響を受ける。本研究で得られた成果は、孵化から加入までに経験した温度を幼生期の殻から推定する手法の確立に大きく貢献した。また、幼生期の分散経路を推定するために必要な、集団遺伝情報の収集に成功した。今後の研究の進展により、海洋環境からその年の加入の規模を正確に予測することを可能とする数理モデルの構築が期待される。この目的を達成する上での副次的な成果として、海産無脊椎動物の分散生態、石灰化、系統進化に関する知見の増大に貢献した。

研究成果の概要(英文)：We made a progress in both empirical and theoretical approaches aiming to establish a novel method for predicting the recruit abundance into benthic populations of marine benthos. Shell specimens of planktonic larvae were prepared for geochemical analysis, by conducting a rearing experiment with multiple thermal regimes. DNA samples and shell specimens were collected at several localities along the Kuroshio current. We published an original paper reporting the complete mtDNA sequences of the focal species, which was obtained as a byproduct of our project using a next generation sequencer. We are also preparing a manuscript to report a newly developed statistical algorithm for estimating the recruit abundance from the neutral genomic information of the population.

研究分野：水産資源解析学

キーワード：ベリジャー幼生 ベントス 温度 動的エネルギー収支 中立遺伝情報

1. 研究開始当初の背景

(1) 水産資源の加入量変動：資源量変動のメカニズムは小型浮魚類で詳しく研究され、多くの魚種で、その年の加入量を定める仔魚期の生残率が最も重要な要素であることが知られている。小型浮魚類において研究が成功している理由のひとつは、耳石の分析から個体が経験した成長と温度の履歴を再現できる点にある。貝類・棘皮動物・甲殻類などの海産ベントスの資源量変動に関する研究は、魚類と比較して明らかに遅れており、浮魚の研究から得られた知見がどの程度あてはまるのかもよくわからない。海産ベントスの資源量変動を説明・予測するためには、幼生が斃死することなく、適切な生息地に着底する確率を予測するためのモデルの開発が必須である。モデルへ入力する成長や経験環境履歴の情報を得るためには、魚類における耳石の代替物として、貝類の幼生が持つ幼生殻を利用することが有効である。

(2) 幼生期の分散とメタ個体群の形成：海産無脊椎動物の発生様式は、浮遊幼生期を持つ間接発生型と持たない直接発生型に大別される。低緯度で漁獲の対象となっているベントスの大半は間接発生型であり、幼生は海流に乗って受動的に分散するため、長期の浮遊期を持つ種は、広大な分布域を有することが多い(例：インド・太平洋の熱帯～温帯に広く分布)。着底後の個体の交配集団をひとつの個体群として考えた時に、全分布を構成する個々の個体群は、幼生期の分散によって遺伝的なつながりを保っていることになる。生態学では、このような移動・分散によって遺伝的につながっている複数の個体群を包括してメタ個体群と呼ぶ。海産無脊椎動物のメタ個体群において、ある個体群から別の個体群間への個体の移出入を定量化する手法は、現時点で存在しない(古典的な集団遺伝学的手法で定量化されるのは個体群間の遺伝距離)。同様に、着底後のある個体に着目したときに、その個体がどの個体群に由来するのかを推定する手法も確立していない。

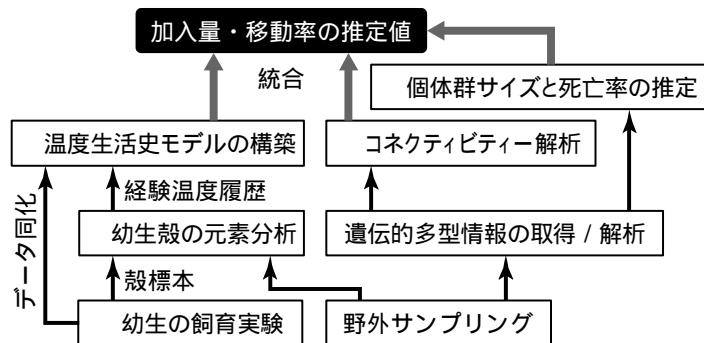
(3) 幼生期の経験水温と加入成功率の関係：孵化を終えた幼生が浮遊生活の途中で死亡する要因については、過去に定量的な研究が存在しない。理論的には、被食や感染といった種間関係に起因する死亡の他に、高温による代謝の上昇に餌収入が追いつかないことで生じる斃死リスクも無視できない。野外での被食率や感染死亡率を実際にモニタリングすることは技術的にほぼ不可能であると思われるが、後者の斃死リスクについては推定できる可能性がある。そのためには個体が経験した水温履歴の情報が重要となるが、そのための技術の確立は、生物地球化学の分野において、この70年間で精力的に続けられてきた。軟体動物では、殻の化学組成(微量元素比・酸素安定同位体比)が石灰化時の温度と相関を示すことが知られており、実際に個体の経験水温を復元する目的でも頻りに利用されている。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目的は、浮遊幼生期を持つ海産ベントスの個体群への加入量を確率的に推定するための数理モデルを構築することにある。加入量の変動は、水産生物の資源量を左右する重要な決定因子である。個体群への加入の成功率は、生誕から加入までに起こる移動や死亡といった事象の関数として定式化されるものの、これらの事象を野外で直接的に定量化することは技術的に極めて困難である。これは、浮遊幼生期のサイズが微小であることに加えて、広大な海洋で著しく低い密度で分散しており、野外では浮遊中の幼生を見つけ出すことすら難しいためである。従って本研究では、個体群への加入に成功した個体(つまり成体)の標本を分布域内の多数の地点から採集して、その標本を分析することで、上述の推定に必要な情報を取り出すための枠組みの構築を目指す。

3. 研究の方法

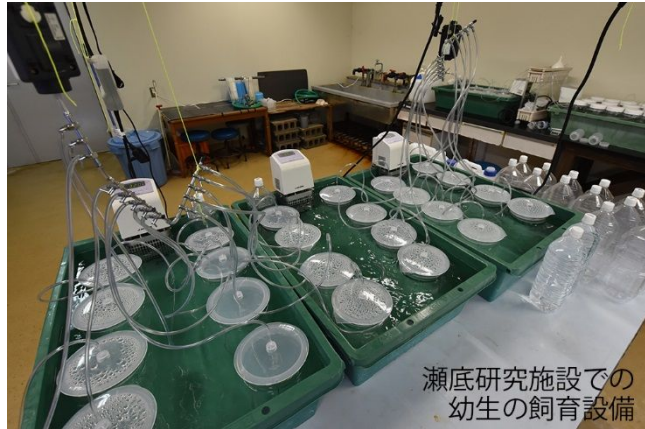
腹足類の浮遊幼生を対象に、以下の5段階のアプローチを進める(右図)。幼生の飼育実験を行い、異なる温度条件下での呼吸量や摂餌量の測定を行った上で、浮遊期間中に形成された幼生殻を保存する。浮遊幼生の成長、発生、エネルギー収支の温度依存性を明示的に取り扱うことのできる温度生活史モデルを構築する。野外で採集された貝殻標本を切断することで得られた幼生殻の微量元素分析を実施することで、幼生期に経験された温度履歴を推定する。次世代シーケンサーを用いて得られたゲノムワイドの核ゲノム中立多型情報から個体群間のコネクティブティを定量化するために必要な技術的基盤を確立する。さらに、遺伝的多型のピックデータからスクリーニングされた個体間の近縁関係に基づいて、対象個体群の死亡率を推定するための統計的手法の確立を目指す。以上のアプローチの対象種として、本研究ではインド・太平洋の低緯度潮間帯に生息する腹足類である *Monetaria annulus* ハナ



ピラダカラを用いた。

#### 4. 研究成果

(1)幼生の飼育実験：琉球大学瀬底研究施設に長期滞在して、浮遊幼生の飼育を繰り返し実施した。水産増養殖の分野では、摂餌をしながら成長するタイプの浮遊幼生期を伴う種は、卵黄栄養型の種と比較して、種苗生産技術の確立により多くの困難が伴うことが知られている。これは、孵化から着底に至るまでの期間に大量死が起こるため、その発生を抑えるためには、幼生の飼育密度、餌の種類、給餌頻度、換水頻度、水温、飼育槽内での水流管理、感染症の予防といった数多くのパラメータを探索的に最適化する必要がある。本研究の対象種でも、幼生飼育中の大量死が頻発したため、浮遊珪藻類、真眼点藻類、二枚貝卵磨砕物を組み合わせた給餌プロトコルの模索にかなりの時間と労力を消費した。条件の異なる様々なトライアルを繰り返した結果から、幼生の大量死は飼育槽内で繁殖した微生物による感染が原因である可能性が高く、加熱殺菌した海水による換水をかなり高頻度で繰り返しても、この感染症の発生を抑えることは極めて難しいという結論に至った。この感染症は抗生物質を利用することで回避できる可能性を示唆する予備的な成果を得たものの、その添加量、添加頻度、耐性菌の出現を抑えるための工夫といった最終的な飼育プロトコルの確立は、今後の課題となった。ただし、孵化後10日ほどの飼育はかなりの確率で成功するため、異なる水温で飼育した幼生殻の標本は得ることができた。これは当初の研究計画を進める上での必要条件を満たすものの、その後の大量死の発生を鑑みると、必ずしも適切な飼育環境が再現されているという確信が持てないため、これらの標本を分析することで得られるデータを論文として発表することは差し控える。幼生飼育に関する成果の一部は、2018年に日本生態学会誌(68: 1-15)に掲載された総説で紹介した。



(2)温度生活史モデルの構築：個体の生活史(成長・生存・生殖)を統合的に記述する理論的な枠組みは、歴史的には数理生物学者や生活史進化を専門とする進化生態学者によって整備されてきた。本研究では、浮遊幼生に関する生活史のモデルを取り扱うに先だって、2017年に「生活史モデリングの理論的基礎」という和文総説を執筆した(月刊海洋49:413-422)。但し、この総説で紹介した歴史的なモデルは、その式を構成する要素の中に、生活史形質の温度依存性を明には含んでいない。今世紀になって提唱された動的エネルギー収支モデル(DEB model)や生態学代謝理論(MTE model)は、温度が生命現象に与える影響を考慮しているものの、これらのモデルは、それぞれ実証的に必ずしも定量可能でないパラメータを多く含む、熱力学的な仮定への依存度が高すぎる、といった問題を有する。これらの問題は、外温動物における生活史の温度依存性を分類群横断的に研究している実証研究者にとっても、系の理解を妨げる要因となっている。筆者は2018年から2019年にかけて、水棲生物の代謝スケール理論を扱っている英国の実証研究者と断続的に共同研究を進める機会を得た。具体的には、代謝生態学の分野から過去に出版された重要な論文を選び出し、その内容の理解を共有した上で、定量可能なパラメータのみによって構成され、実証的アプローチとの親和性が高いモデルの構築という作業を進めた。現在、この作業の成果を論文として発表するための準備を進めている。

(3)貝殻の地球化学的分析：水温を21~34の6水準に定めた飼育実験から得られた成貝殻について、温度と酸素同位体比の関係を調べた。その結果、酸素同位体比は温度に対して負の直線的な依存性を示すことが明らかとなった。この関数関係は、二枚貝や腹足類の他種について過去に報告された結果から大きくは逸脱しなかったものの、軟体動物の分類群間で式の互換性を認めることは難しいことが確認された。また、貝殻のSr/Caは温度に対して指数関数的な増加関数を示したが、同じ温度で飼育された個体間でもSr/Caのばらつきは非常に大きくなることが明らかとなった。野外で採集された貝殻の縦断面を削り出し、幼生殻のSr/Caを1nmの分解能で分析走査電子顕微鏡によって平面測定した。この測定値を上述の成貝殻に関する温度とSr/Caの関数関係にあてはめると、幼生殻が形成された環境の温度は37以上と推定された。浮遊幼生が外洋で37以上の海域に留まり続けたという可能性は低いいため、この推定値は過大評価であると思われる。従って、幼生期の経験水温を幼生殻のSr/Caから推定するためには、幼生を複数の水温条件で飼育した上で、幼生殻Sr/Caの温度に対する関数関係を新たに推定する必要がある。以上の成果の一部は、Geochimica et Cosmochimica Acta誌に投稿した原著論文の原稿中で詳細に報告している(現在、二回目の査読中)。

(4)NGSを用いた集団遺伝解析：次世代シーケンサー(NGS)を用いて、黒潮流域の5地点から年ご

とに採集された個体のゲノムワイドなジェノタイピングを行うことで、集団内の核ゲノム多型に関するピックデータを得た。このデータセットから中立マーカ―を選び出し、ジェノタイピングエラーと連鎖の影響を考慮した上で個体群間のコネクティビティーを推定するための作業を現在進めている。このバイオインフォマティック解析を進めるにあたって、Hiseq X ten System (Illumina 社) を用いて同種の全ゲノム配列を決定した。このアノテーションデータの中に同種の mtDNA 完全配列が発見されたため、その内容を共同研究者が論文として報告した(Fukumori et al. 2019 Mitochondrial DNA Part B 4: 2305-2307)。核ゲノムの全配列については、現在、論文として発表する準備を進めている。

(5)中立遺伝情報に基づく資源量推定：中立遺伝情報からその集団の瞬間死亡率を推定するための統計的手法の開発に着手した。水産資源解析の分野では、無作為抽出によらない漁獲データに依存した資源量推定法に代わる次世代の手法として、世代をまたいだ標本の中立遺伝子情報に基づくクロスキン法(Close-Kin method)が最近になって開発され、既にミナミマグロなどの大型魚類を対象に資源量評価の現場では実用化されている。筆者は 2016 年に、この手法を説明する「中立遺伝マーカ―を用いた近親判別に基づく個体数推定の可能性」と題する和文総説を執筆した(月刊海洋 549:340-348)。本研究では、従来の方法に改良を加えて、標本中で検出された親子ペア数(#POP)や半兄弟ペア数(#HSP)の情報から、野外での個体数をベイズ推定するためのアルゴリズムを準備した。同一個体群を対象として、ある時点での資源量と一定時間が経過した後資源量を知ることができれば、その時間的区間の死亡率を推定することができる。この原理を利用して、NGS を用いた集団遺伝解析によって得られたデータから対象生物の死亡率を推定する枠組みを構築すべく、今後もこのアルゴリズムにさらに手を加え、その成果を可能な限り早期に論文として発表することを目指す。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 入江貴博	4. 巻 49
2. 論文標題 生活史モデリングのための理論的基礎	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 月刊海洋	6. 最初と最後の頁 413-422
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 入江貴博	4. 巻 68
2. 論文標題 自然史と進化生態学をつなぐ海産腹足類の研究(1) - 貝殻種内変異と形態分類	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.18960/seitai.68.1_1">https://doi.org/10.18960/seitai.68.1_1</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takahiro Irie and Naoko Morimoto	4. 巻 483
2. 論文標題 Intraspecific variations in shell calcification across thermal window and within constant temperatures: experimental study on an intertidal gastropod <i>Monetaria annulus</i>.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Marine Biology and Ecology	6. 最初と最後の頁 130-138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jembe.2016.07.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 入江貴博	4. 巻 549
2. 論文標題 中立遺伝マーカーを用いた近親判別に基づく個体数推定の可能性	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 月刊海洋	6. 最初と最後の頁 340-348
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroaki Fukumori, Hajime Itoh, and Takahiro Irie	4. 巻 4
2. 論文標題 The mitochondrial genome of the gold-ringed cowry <i>Monetaria annulus</i> (Mollusca: Gastropoda: Cypraeidae) determined by whole-genome sequencing.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mitochondrial DNA Part B: Resources	6. 最初と最後の頁 2305-2307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/23802359.2019.1627946	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Takahiro Irie, Atsushi Suzuki
2. 発表標題 Estimation of growing temperatures using biogeochemical tracers in calcium carbonate shells: An application to the ecological study on phenotypic plasticity of body size in an intertidal gastropod.
3. 学会等名 Marine Evolution 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahiro Irie
2. 発表標題 Quantifying the temperature-driven body size variation in the wild populations of intertidal gastropods.
3. 学会等名 The 3rd Workshop on Trait-Based Approaches to Ocean Life (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takahiro Irie
2. 発表標題 Complexity of life history adaptation in marine invertebrates
3. 学会等名 International & Transdisciplinary Workshop on Advanced Future Studies: Exploring A Unified View Beyond Complexity (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahiro Irie
2. 発表標題 Inducible defense revisited: the fishy relationship between crabs and snails.
3. 学会等名 Joint Symposium by Carcinological Society of Japan and Malacological Society of Japan (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takahiro Irie
2. 発表標題 Latitudinal clines of conchological traits in marine gastropods.
3. 学会等名 The 65th Annual Meeting of the Ecological Society of Japan
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 入江貴博
2. 発表標題 生活史モデリングの基礎と応用
3. 学会等名 東京大学大気海洋研究所共同利用研究集会「2016年度海洋生態系モデリングシンポジウム」
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 入江貴博
2. 発表標題 海産ベントスの生活史：種内変異の研究からわかること
3. 学会等名 第64回日本生態学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takahiro Irie and Atsushi Suzuki
2. 発表標題 Estimation of the variance component due to the temperature-size rule in wild populations of an intertidal gastropod with determinate growth.
3. 学会等名 SEB 2019 Annual Meeting: Is global warming causing animals to shrink? Evidence, Mechanisms and Models (Satellite Symposium) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Irie
2. 発表標題 Dispersal footprint on water: Availability of Sr concentration of larval shells in widely distributed gastropods.
3. 学会等名 54th European Marine Biology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江貴博・天野伶・小川展弘
2. 発表標題 腹足類胎殻中のSr濃度に基づく浮遊幼生期の経験温度履歴の復元可能性
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

入江貴博 <a href="http://cod.aori.u-tokyo.ac.jp/irie/indexj.htm">http://cod.aori.u-tokyo.ac.jp/irie/indexj.htm</a>
---



## 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
研究協力者	鈴木 淳  (Suzuki Atsushi)	国立研究開発法人産業技術総合研究所  (82626)	
研究協力者	酒井 一彦  (Sakai Kazuhiko)	琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授  (18001)	
研究協力者	福森 啓晶  (Fukumori Hiroaki)	琉球大学・熱帯生物圏研究センター・JSPS PD  (18001)	