

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K19335

研究課題名(和文) 深海魚を採る・飼う・調べる技術開発による日本の深海魚研究の地盤固めへの挑戦

研究課題名(英文) Preliminary studies to accelerate deep-sea fish research

研究代表者

宮崎 多恵子 (Miyazaki, Taeko)

三重大学・生物資源学研究所・准教授

研究者番号：60346004

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,700,000円

研究成果の概要(和文)：採集されたヨコエソの体長組成は50 mmと60 mm台が多く、これ以降のサイズは個体数が急減した。体長と性との関係は、80 mm以上は雌、50 mm以下は雄、50 mm以上80 mm未満は雄と間性が混在したことから、本種の性転換サイズは50～80 mmと推定された。生殖腺重量指数(GSI)は、精子を持つ雄は0.63～1.96で体長ならびに体重と正の相関が示された。一方、卵巣完熟期の雌のGSIは1.06～14.26の範囲で体重と相関した。これらの結果から、人工授精に供する場合、雄は50 mm前後、雌は80 mm以上で体重10 g以上が適当であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

深海魚の人工授精による飼育を実現するには、船上で成熟した雌雄を開腹し、新鮮な精子と卵を入手する必要があるが、深海魚の成熟サイズについては未知である。本研究ではヨコエソを対象に生殖腺を組織学的に解析し、本種の体サイズと性、ならびに成熟度の関係を明らかにした。本結果により採集直後の膨大な数の生物標本から成熟した雌雄の選別が可能となり、人工授精を好条件で実施することにより深海魚の卵発生や個体発生に関する研究の展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：The body length composition of the *Sigmops gracilis* collected was dominated by 50 and 60 mm, with larger sizes rapidly declining in numbers. As for the relationship between body length and sex, females were found above 80 mm, males below 50 mm, and intersex was mixed between 50 mm and 80 mm. Therefore, the size of the sex change of this species was estimated to be 50-80 mm. The Gonadal somatic index (GSI) ranged from 0.63 to 1.96 for spermatozoa-bearing males and was positively correlated with body length and weight. On the other hand, the GSI of females at ovarian maturity ranged from 1.06 to 14.26 and correlated with body weight. These results suggest that males should be around 50 mm and females 80 mm or more and weighing 10 g or more are appropriate for artificial insemination.

研究分野：Fish physiology

キーワード：深海魚 ヨコエソ 成熟 生殖腺

## 1. 研究開始当初の背景

高感度カメラや潜水探査機などの技術進歩によって深海魚の写真や映像を見る機会が増えたものの、彼らの行動生態、生理応答、個体発生等の詳細に関してはいまだ謎に包まれている。深海魚を飼育展示している施設もあるが、研究者が自由な発想で研究できるほど数に余裕はない。人為的管理下で深海魚を定期的に飼育することが可能になれば様々な実験をデザインできるが、入手、飼育、さらに研究となると、一研究機関がすべての作業を担うことは技術的・設備的に非常に難しい。本課題は深海魚に関する研究を加速させることをねらいとし、「採る」「飼う」「調べる」専門家によるプロジェクトチームを組織し、大学練習船の漁労・海洋観測装備と水族館の高性能水槽設備を最大限に活用することにより、深海魚を「採る・運ぶ」を行い、適切な環境で「飼う」を試行し、標本を余すことなく「研究する」ことに挑戦した。

## 2. 研究の目的

### (1) 光波長と行動

深海魚が生息する水深は光量が少なく、彼らの眼は光に対して非常に敏感である。また深海魚の波長感度は深海の中心波長である 500 nm 付近に存在している。これらの知見、並びに予備実験で得た深海魚の視覚特性に関するデータをもとに、人には見えるが魚には見えない「光」で水槽を照明すれば、深海魚のストレスを軽減できると考えられる。そこで天然から採集したアカムツを水槽に馴致した後、異なる波長の光で照明した際に現れる行動を分類するとともに、それらの発現頻度を解析し、魚の波長に対するストレスを評価した。

### (2) 脳外形と感覚

魚類の脳外形は、種が得意とする感覚を処理する部位に肥大や膨隆が観察される。深海に存在する光は微弱であり、深海魚の中には、眼径が著しく大きく少ない光を最大限に取り込むもの、あるいは眼球内に輝板を持ち光を反射利用するものなどがおり、視覚に依存して生活している種も多い。一方で、眼が小さく、視覚以外の嗅覚や側線感覚、あるいは聴覚に依存しているものもいる。そこで深海魚の脳外形から、種がいずれの感覚をとくに利用しているかを推定した。

### (3) 体サイズと成熟

深海魚の採集では、曳網時の網内での加圧、揚収時の水深変化に伴う水圧・水温の急激な変化が魚体への大きな負担となり、個体はほぼ瀕死の状態で船上に上がってくる。仮に良好な状態であったとしても、成魚を飼育環境に馴致し、餌付けすることは極めて難しい。人工授精による深海魚の飼育を実現することができれば、発生から成体までの様々なステージにおける多様な研究の展開が期待できる。人工授精を実施するには船上で成熟個体を開腹し、新鮮な精子と卵を入手する必要があるが、深海魚の成熟サイズについては未知である。そこで最も入網個体が多いヨコエソを対象に生殖腺の組織学的解析を行い、体サイズと成熟との関係を調査した。

### (4) ロドプシン遺伝子と波長感度

水中に入射した太陽光は、ごく浅い水深で長波長光と紫外光が急激に吸収減衰し、深い水深には青緑域の光が残存する。魚の網膜ロドプシンの最大吸収波長 ( $\lambda_{\max}$ ) は種が生息する水塊に分布する波長域によく一致することが知られており、深い水深を生活圏とする種は 480 nm 付近に、浅海域に分布する種は 500~510 nm に  $\lambda_{\max}$  を持つ。ロドプシン  $\lambda_{\max}$  のシフトはアミノ酸配列のキーサイトにおける残基置換により生じることから、同アミノ酸配列から  $\lambda_{\max}$  推定値を得ることができる。深海魚は日周鉛直移動を行う種も多く、視覚適応している水深を推定する上でロドプシン  $\lambda_{\max}$  は有効である。ここではハダカイワシ類を対象に、ロドプシン遺伝子全長配列を決定し、 $\lambda_{\max}$  推定値を比較することにより種の生息水深を評価した。

## 3. 研究の方法

### (1) 深海魚の採集

水深約 200 m の海底谷辺縁部においては深海性魚類を釣りにより採集した。200~1000 m 深については漁網による生物採集を行い、Ocean Research Institute (ORI) 円錐型プランクトンネットと Isaacs-Kidd Midwater Trawl (IKMT) ネットを試験した。

### (2) 揚収後の深海魚の取り扱い

船上に暗幕で覆った 0.8 トン FRP 水槽 2 基を準備し、冷凍した海水ペットボトルを投入することにより採集水深の水温に調整した。揚収された魚は船上で蘇生を試みた。鰓が膨張した個体については総排泄口から脱気処理を行い、また眼球突出を生じた魚についてはカゴに収容して水深約 30 m に垂下して 1~2 時間放置することにより突出緩和を試験した。小型の魚類やプランクトンについては、クーラーボックス内にトスロンバケツを収容し、周囲に冷凍ペットボトルを置くことにより水温ならびに暗条件管理を行った。なお、採集水深の水温は調査海域で事前に

Conductivity Temperature Depth profiler (CTD) による観測を行い把握した。

### (3) アカムツの行動実験

海底谷にて釣りにより採集したアカムツを船上で蘇生処理し、7 個体を水族館バックヤードの水槽に搬入した。魚が摂餌するまで約 50 日間かけて飼育環境に馴致させた。同個体を用い、水族館における深海魚展示技術の向上を図る目的で異なる波長光に対するアカムツの反応行動を解析した。水槽の照明に白色、赤色 (632 nm)、緑色 (516 nm)、青色 (460 nm) LED を用い、各波長下における魚の行動を 24 時間ビデオで連続記録した。録画をもとに魚の特徴的行動を分類するとともに、それぞれの出現時間を解析した。

### (4) 深海魚の脳外形および消化管組織の解析

深海魚を船上でホルマリンまたはブアン氏液に浸漬した。開頭して脳を曝露し、背側面から観察される各脳部の大きさを比較・評価することにより、種が得意とする感覚を推定した。消化管については組織解剖学的解析を行い食性との関連を評価・検討した。

### (5) ヨコエソ生殖腺の組織学

深海魚の人工繁殖に向けてた基盤づくりのため、水深 600 m から得られた深海魚を外形質ならびに mtDNA 解析により種分類し、最も個体数が多かったヨコエソを用いて生殖腺の発達・成熟と標準体長・体重 (湿重量) との関係組織解剖学的に解析した。解析には計 114 個体のヨコエソを使用した。

### (6) ロドブシン遺伝子の単離

ハダカイワシ類の網膜 total RNA をテンプレートに RT-PCR と RACE を行い、ロドブシン全長配列を決定した。得られた配列をアミノ酸に翻訳し、 $\lambda_{max}$  に影響を及ぼすキースイトにおけるアミノ酸置換を解析することにより各魚種の推定  $\lambda_{max}$  を求めた。

## 4. 研究成果

### (1) 曳網水深および漁具の選択

ORI と IKMT を試験した結果、同じ曳網速度 (2 ノット) であれば採集された生物の損傷状態に違いは無かったことから、間口が広く入網個体数が期待できる IKMT が適当であると判断された。曳網は「深海」の定義である 200 m と、これより深い 500 m 及び 1000 m 層で実施し、最も多種多様な深海魚が採集されるのは 500 m 付近であることがわかった。同水深層からはホテイエソ、ハダカイワシ、ムネエソ類が採集された。1000 m 層の曳網では魚類の入網は少なく、刺胞動物や節足動物が大半を占めた。

### (2) 深海魚の蘇生

海底付近の水温約 7°C と同程度に調整した水槽内で魚の総排泄口からシリンジによる脱気処理を行ったところ約 8 割の個体が蘇生した。また揚収時に眼球突出を生じた魚については水深約 30 m に垂下して放置したところ、突出を緩和することに成功した。眼球突出した眼を解剖して組織解析したところ、眼の白濁は眼球皮膜と角膜の間に生じており、角膜と眼球内部には異常がないことがわかった。

### (3) アカムツの行動と光波長

バックヤード水槽での馴致飼育期間における魚の行動としては、日昼はほぼ静止していたが、夜間は水槽の底砂を掻いて穴を掘る行動が観察された。活動量は赤色または黄色照明で低く、緑色と昼光色で高い傾向があった。白色、および赤、緑、青色 LED 下における魚の特徴的行動は 7 種類に分類され、これらの出現時間を解析した結果、赤色光下では立ち泳ぎの出現頻度が有意に高く、緑色光下では急に遊泳方向を切り替える突発遊泳が頻出した。本種の網膜視細胞と視物質遺伝子を解析したところ、複錐体細胞が網膜全体に分布し、配列が異なる 2 種類の緑オプシン遺伝子が単離されたことから、本種は緑色光に対する感受性が高いと考えられた。したがって緑色光下での突発遊泳は忌避反応であると推察された。

### (4) 深海魚の脳外形と得意な感覚

ヨコエソとオニハダカの脳は嗅球が発達していた。前者の胃は食いだめができる形状であり、消化管組織は後者において吸収上皮細胞が長く、相対的な吸収面積が大きかった。これらの結果から、小型な後者は少ない摂餌量を補填するために消化管の吸収効率を上げて必要な栄養を得ていると推察された。一方、ホホジロトカゲギスとトカゲハダカの脳は視蓋が発達していた。大型化する前者は胃の筋層が厚く、腸は腸絨毛が長くひだ状で吸収効率が高い特徴を示したことから、大きな餌生物の消化吸収に適していると考えられた。

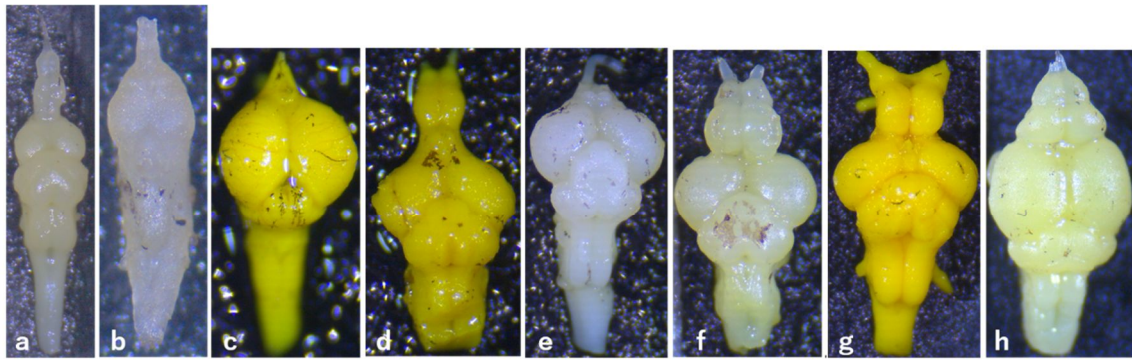


図1. 深海魚の脳背側面写真。 a, ヨコエソ; b, オニハダカ; c, ムネエソ; d, ホウライエソ; e, ホホジロトカゲギス; f, トカゲハダカ; g, ホテイエソ; h, セキトリイワシ。

### (5) ヨコエソの体サイズと成熟との関係

解析に供したヨコエソ計 114 個体は、標準体長 (SL) 32.03 ~ 103.51 mm, 体重 (W) 0.091 ~ 12.010 g の範囲であった。両者の関係は  $W=0.0246SL-0.9425$  (相関係数 0.94) で表された。体長組成は 50 mm と 60 mm 台が多く、これ以降のサイズは個体数が急激に減少した。個体の成熟度ならびに雌雄を判定するために、全体長範囲内から満遍なく選出した 41 個体について生殖腺の湿重量を測定するとともに組織解析を行ったところ、性組成は雄 16 個体、雌 15 個体、及び間性 10 個体であった。体長と性との関係は、80 mm 以上は雌、50 mm 以上 80 mm 未満は雄と間性が混在し、50 mm 以下は雄であった。このことからヨコエソの性転換サイズは 50 ~ 80mm と推定された。生殖腺重量指数は、精子を持つ雄は 0.63 ~ 1.96 の範囲であり、卵巣完熟期の雌は 1.06 ~ 14.26 の範囲であった。雄の成熟は体長ならびに体重と正の相関があり、雌は体重と相関を示した。体長と体重の関係を雌雄別に回帰すると、相関係数は雄 (0.93) のほうが雌 (0.73) より高かった。これらの結果から、人工授精に供する個体は、雄は標準体長 50 mm 前後、雌は 80 mm 以上で体重 10 g 以上が適当であることが示唆された。

### (6) ハダカイワシのロドプシン $\lambda_{max}$

2 亜科 11 種について解析を行い、各魚種から 1 種類ずつのロドプシン遺伝子が単離された。塩基配列の全長は 1035 ~ 1053bp の範囲で、これらは 345 ~ 351 残基のアミノ酸に翻訳された。アミノ酸配列の相同性は 83 ~ 88% と近縁種のロドプシンとしては比較の変異が起きていることがわかった。アミノ酸配列のキーサイトにおける変異から推定されたロドプシンの  $\lambda_{max}$  は 471 ~ 489 nm の範囲であった。Yokoyama et al. (2008) に基づくと、これらは深海型ロドプシン (約 480 ~ 485 nm) と中深層型ロドプシン (約 490 ~ 495 nm) に分類された。

表 1. ハダカイワシ類のロドプシンアミノ酸配列におけるキーサイトと推定された  $\lambda_{max}$ .

目	科/亜科	種名	$\lambda_{max}$ (nm)															
			推定値	実測値	83	96	102	122	183	194	195	253	261	289	292	317		
		<i>pigment f</i>	-	502 <sup>d</sup>	D	Y	Y	E	M	R	A	M	F	T	A	M		
ハダカイワシ目	ハダカイワシ科 トンガリハダカ亜科	ゴコウハダカ属 <i>sp.</i>	471	468 <sup>b</sup>	N	.	.	Q	.	N	V	.	.	.	S	.		
		ハダカイワシ属 <i>sp.</i>	489	483~490 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	V	.	.	.	.	.	.	
		ホソミオボロハダカ*	489	485 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
		カイヨウオボロハダカ	489	489 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
		セッキハダカ属 <i>sp.</i>	489	492 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
		ナガハダカ属 <i>sp.</i>	477	≈476 <sup>c</sup>	.	.	.	Q	L	.	.	.	.	.	.	S	.	
		ススキハダカ属 <i>sp.</i>	479	468 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	A	S	.
		ソコハダカ属 <i>sp.</i>	489	487 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	P	.	.	.	.	.	.	.
		ナンキョクダルマハダカ*	489	488 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.
		ミナミオオメハダカ*	489	488 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.
クレフトハダカ*	489	482 <sup>b</sup>	.	.	.	Q	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.		

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 宮崎多恵子・大島秀弥・森有平
2. 発表標題 タチウオの薄明期における視覚機能について
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴田澗・村下澄・宮崎多恵子
2. 発表標題 深海性魚類の脳外形と消化管組織
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mio Shibata, Taeko Miyazaki, Tetsuo Iwami, Hiroto Murase
2. 発表標題 Distribution depth of some pelagic and mesopelagic fishes in the Southern Ocean inferred from their eye and retinal morphology
3. 学会等名 The 12th Symposium on Polar Science (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大島秀弥・宮崎多恵子・森有平
2. 発表標題 タチウオの視覚機能と生態との関係
3. 学会等名 日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柴田 澗・西脇良祐・村下澄・大島秀弥・宮崎多恵子
2. 発表標題 今航海で採集された魚類の視覚特性について
3. 学会等名 開洋丸第10次南極海調査予備解析結果検討会
4. 発表年 2019年

〔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
研究分担者	中村 亨  (Nakamura Tohru)  (00402694)	三重大学・生物資源学研究科・助教    (14101)	

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
---------	---------