

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 22 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20780142

研究課題名 (和文) 単性生殖を営むシオミズツボワムシの世代間で変化する現象の解明

研究課題名 (英文) Study on asexually transgenerational alteration in the rotifer

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)

軽度の酸化ストレス処理によってシオミズツボワムシの酸化ストレス耐性は向上し、その際、ペルオキシダーゼやセリンプロテアーゼの遺伝子転写産物量の発現が増大することが分かった。また、ツボワムシ属の複数種には、それぞれ特異的な酸化ストレス耐性があることを明らかにした。さらに、高い水温条件下において次世代の繁殖能が抑制されうることを発見した。これらの成果は、単性生殖を営む個体の一生および世代間で変化する生活史特性やストレス耐性を理解する上で重要である。

研究成果の概要 (英文)

Extrinsic moderate oxidation was found to enhance the rotifer's ability to survive under lethal oxidative condition, and some molecules such as peroxidase, serine protease, and unidentified enzyme were identified to contribute to the phenomenon. The project has also established a reliable method to evaluate the oxidative stress tolerance, and revealed the species-specific tolerance between temperate and tropic *Brachionus* species. Temperature was found to cause transgenerational alteration in not only life history parameters, but also unidentified physiological condition which may determine the offspring quality.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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，単性生殖，生活史特性

1. 研究開始当初の背景

食糧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必須である。陸上での食糧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させ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* (以下、ワムシ) だけである。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相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と考えられる。問題が起こった場合は、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。すなわち、ワムシの大量培養は多大な労力を要し、仔稚魚の餌を確保できなくなる危険を常にともなっている。

2. 研究の目的

環境要因が変わると個体の生活史特性が変異し、これがワムシ個体群の爆発的な増殖や停滞を引き起こす。好適な環境下では短い世代時間で活発に繁殖し、個体群は爆発的に増殖する。一方、環境条件が悪化した場合は、個体が繁殖を抑制するために個体群の増殖は停滞する。ワムシが繁殖を抑制すると寿命は2倍以上にも長くなり、同時にストレス耐性も高くなる。順調に増殖する個体群は環境のストレスに対して脆弱になるため、軽度の環境条件の変化によって大量斃死が引き起こされるものと考えられる。

ワムシ個体群の爆発的な増殖は単性生殖によるものである。単性生殖では、遺伝的に同一の仔虫が生まれる。一方、単性生殖を営む親虫とその仔虫は性質が異なることが分かってきた。まず、親世代に飢餓を経験させると、仔世代の飢餓耐性が高くなることが分かった。さらに、熱や酸化といった物理的なストレスに対する耐性も向上することが明らかとなった。このことは、遺伝的に同一であっても、ワムシ個体群の内在的な性質が世代を経る過程で変化することを意味する。そこで本課題は、単性生殖を営むワムシの世代間で変化する現象を解明し、さらにその機構を明らかにすることで、ワムシ個体群の生理状態を把握し、安定した大量培養の技術に資することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 種特異的な酸化ストレス耐性の検証

酸化剤である juglone の投与実験を行うために、溶媒および juglone の有効濃度を検討した。続いて、ツボワムシ属 *Brachionus* の 2 種の酸化ストレス耐性を比較した。

#### (2) 酸化ストレス耐性の経時的変化

Juglone を低濃度で 1 時間に亘って処理した後、1~48 時間の回復時間を設けた。その後、致死的な高濃度で処理して生存時間を求めた。続いて、処理によって発現が誘導される分子を cDNA サブトラクションで探索した。

#### (3) 経験水温の影響

異なる水温で複数世代のワムシを飼育し、繁殖や寿命といった生活史特性値に及ぼす影響を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 種特異的な酸化ストレス耐性の検証

Juglone の投与濃度が 2  $\mu$ M 以上の場合、1 時間以内に死亡した。一方、0.2  $\mu$ M 以下では 24 時間以上に亘って生存した。亜熱帯地域に由来する *B. rotundiformis* は、温帯由来の *B. plicatilis* よりも高い酸化ストレス耐性を有することが分かった (図 1)。

#### (2) 酸化ストレス耐性の経時的変化

軽度の酸化ストレス処理によって、シオミズツボワムシの酸化ストレス耐性が向上することが分かった (図 2)。また、juglone 処理によってペルオキシダーゼやセリンプロテアーゼの遺伝子転写産物量の発現が増大することが分かった。

#### (3) 経験水温の影響

高い水温でシオミズツボワムシを培養した場合、次世代は低い水温の条件下で繁殖が抑制される傾向が認められた。

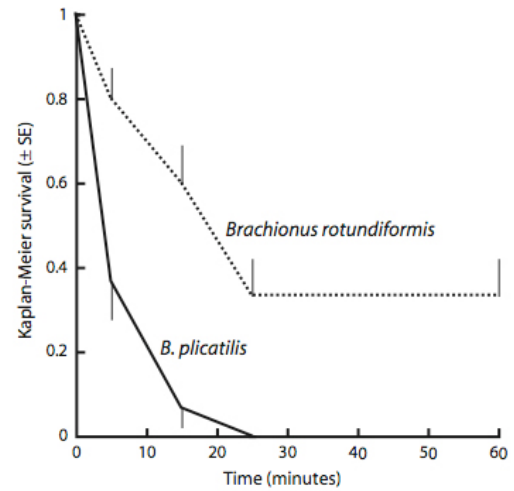


図 1. 種特異的な酸化ストレス耐性

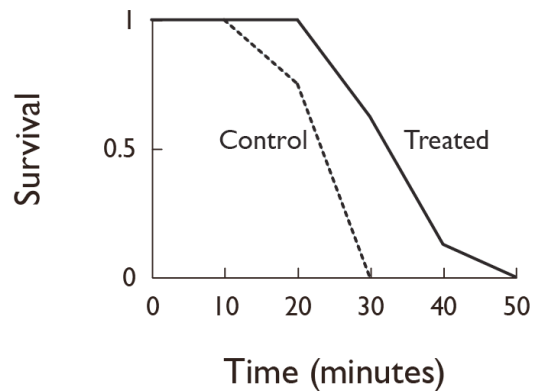


図 2. 酸化ストレス耐性の向上

### 5. 主な発表論文等

#### 【雑誌論文】(計 2 件)

- (1) 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 (印刷中). 査読あり
- (2) Tanaka C, Hashimoto Y, Nakao S, Yoshinaga T (2009). Effect of juglone on the survival time of *Brachionus* (Rotifera): species-specific tolerance against oxidative stress, Fish. Sci., 75, 191-194. 査読あり

【学会発表】(計 6 件)

- (1) 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 年度日本水産学会春季大会. 神奈川 (2010 年 3 月).
- (2) Yoshinaga T. Harmful and beneficial effects of oxidation on the ageing of the rotifer. The 12th International Conference on Rotifera. Berlin, Germany (Aug. 2009).
- (3) 吉永龍起, 長塚俊幸, 田中千香也, 橋本祥明. 酸化ストレスがシオミズツボワムシの遊泳速度に及ぼす影響. 平成 21 年度日本水産学会春季大会. 東京 (2009 年 3 月).
- (4) 橋本祥明, 田中千香也, 吉永龍起. ツボワムシ属の酸化ストレス耐性に関する研究-I. 種間の比較. 平成 21 年度日本水産学会東北支部大会. 山形 (2008 年 11 月).
- (5) 田中千香也, 橋本祥明, 吉永龍起. ツボワムシ属の酸化ストレス耐性に関する研究-II. ホルミシス効果. 同上.
- (6) Tanaka C, Yoshinaga T. Hormesis in the rotifer. 5th World Fisheries Congress. Yokohama, Japan (Oct. 2008).

【図書】(計 2 件)

- (1) 吉永龍起. 生活史. 塚本勝巳編, 魚類生態学の基礎. 恒星社厚生閣, 東京 (印刷中).
- (2) 吉永龍起. 寿命と老化. 塚本勝巳編, 魚類生態学の基礎. 恒星社厚生閣, 東京 (印刷中).

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