

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24780179

研究課題名(和文) 震災後の宮城県松島湾におけるマガキ養殖場の餌料環境調査と再生への取り組み

研究課題名(英文) Food environment of cultured oyster in Matsushima Bay, Japan

研究代表者

西谷 豪 (Nishitani, Goh)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：70450781

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)：宮城県松島湾から合計516個体の二枚貝浮遊幼生を単離し、遺伝子同定によって合計33種の二枚貝浮遊幼生を検出した。その中で特に出現率の高かった7種を識別するマルチプレックスPCR法を確立したことによって、PCRと電気泳動のみで松島湾に出現する浮遊幼生を種ごとに識別して動態を把握することが可能となった。現場に生息するマガキ親個体の餌料生物を解析した結果、サイズは15-335 μ mの範囲で粒子が観察され、特に20-70 μ mの粒子が80-90%を占めていた。珪藻、渦鞭毛藻、ポリド藻、従属栄養性鞭毛虫、繊毛虫、ホヤ、紅藻、カイアシ類の遺伝子が検出された。

研究成果の概要(英文)：Totally 516 natural bivalve larvae collected from Matsushima Bay were isolated and identified by molecular methods. A multiplex PCR assay has been developed that enables simultaneous detection of seven bivalve larvae species on the basis of differences in the lengths of the PCR products. The gut contents were analyzed to clarify the potential food sources of the adult oyster. Using universal primer and gene cloning, sequences of suspended phytoplankton, such as diatom *Thalassiosira* spp. and dinoflagellate *Scrippsiella trochoidea*, were mainly detected with other sequences of Bolidophyceae, sea squirts, red algae, ciliates, and copepoda.

研究分野：海洋分子生態学

キーワード：宮城県松島湾 二枚貝幼生 種判別 餌料環境

1. 研究開始当初の背景

2011年3月の東日本大震災により、東北沿岸域の養殖産業は壊滅的な被害を受けた。宮城県松島湾も例外ではなく、津波の影響によりマガキの養殖棚は全て破壊され、出荷最盛期であったマガキも全て流出した。これまで、松島湾のマガキは優良な種ガキ(幼生)として日本全国に流通し、各湾で育成と出荷が行われてきた。すなわち、松島湾のマガキ消失は日本のマガキ生産量が大幅に減少することを意味している。さらに例年カキを中心に賑わう松島の観光業への被害も甚大である。

申請者はこれまでプランクトンの分類・増殖生理・分子生態を中心に研究を進めてきた。現場海域にどのようなプランクトンが生息し、その密度がどのように変動しているかを詳細に調査し、またプランクトンの細胞内から餌生物のDNAを抽出して解析することで、それまで不明であった餌料種を特定することを専門の1つとしている。

このような申請者のバックグラウンドを踏まえ、本研究ではまず形態が類似する二枚貝幼生の判別法開発を試みた。松島湾では養殖されているマガキ以外にも30種類近くの二枚貝幼生が出現する。この中からマガキ幼生の計数を正確に行うことは、マガキの種苗を出荷している松島湾にとっては、重要な意味を持つ。

また、養殖マガキの餌料環境(マガキがどのようなプランクトン種を食べているのか)を解明することも目的とした。これまでマガキ(あるいは他の二枚貝類)はプランクトンを食べて成長すると言われているが、実際にどの種を食べているのか、それに選択性はあるのか等、ほとんど分かっていない。近年、オキアミや甲殻類の体内から全DNAを抽出し、腹腔内の餌生物を特定する研究例が幾つかあるが、マガキなどの二枚貝類ではほんの数例であり、日本沿岸域では研究例が無い。そこで本研究では、マガキの親個体と幼生がそれぞれどのような餌料を摂食しているのか、顕微鏡観察と遺伝子解析を用いて明らかにする。餌料が判明すれば、現場海域における餌料量の変化を捉えることが可能になり、陸上での種苗生産現場においてもより有効な餌料を提供できると期待される。

2. 研究の目的

本研究の目的は主に2つである。1つ目は形態が類似する二枚貝幼生時期において、形態あるいは遺伝子をもとに種判別を可能として計数すること。2つ目は、養殖マガキ(幼生および成体)が好む餌料プランクトン種を解明することである。

3. 研究の方法

(1) マガキ幼生の判別方法の開発

松島湾内の3地点(水深3-4m)においてサンプリングを開始したのは2012年6月から

である。目合い75 μ mのプランクトンネットで水深2mから表層までを鉛直曳きすることにより、二枚貝の浮遊幼生(D型から付着直前個体まで)を採取した。倒立顕微鏡下で浮遊幼生を1個体ずつ写真撮影後に単離してPCRチューブに入れ、核18S rDNA、核28S rDNA、ミトコンドリア16S rDNA、ミトコンドリアCOI領域(種によっていずれか1つの領域、あるいは複数領域)を解析することによって種を同定した。この結果から、形態観察による種の識別が可能かどうかを検討した。また得られた遺伝子情報を元にして、松島湾で出現する主要な7種の二枚貝をターゲットにしたマルチプレックスPCR法を確立した。その後2013年5月のサンプルからは、上記方法を用いて二枚貝浮遊幼生の現場動態の把握を試みた。

(2) マガキ体内から餌生物のDNAを検出

海中には多種多様なプランクトンが存在しているが、マガキの幼生や親個体が実際の現場で何を餌にしているのか、そしてその餌の取り込みに選択性はあるのかについては、マガキの生態を知る上で非常に興味深い研究課題である。そこで本研究では、松島湾に生息するマガキの幼生(主に夏季)および養殖されている成体(主に冬季)を採取し、その体内から餌生物のDNAを取り出し解析することによって、何を食べていたのかを種レベルで特定した。

4. 研究成果

(1) 松島湾から合計516個体の二枚貝浮遊幼生を単離し、遺伝子同定によって合計33種の二枚貝浮遊幼生を検出した。その中でも特に主要な種は、マガキ(*Crassostrea gigas*)、ホトトギスガイ(*Musculista senhousia*)、フナクイムシ(*Teredo navalis*)、カキ不明種(*Ostrea* sp.)、ムラサキガイ(*Mytilus galloprovincialis*)、アサリ(*Ruditapes philippinarum*)、ニオガイ科不明種(*Barnea* sp.)であり、単離した516個体のうち430個体(83%)が上記7種で占められていた。上記浮遊幼生の形態は僅かながら各自の特徴を持ち、ある程度の確立であれば形態のみで識別が可能であるように思われた。

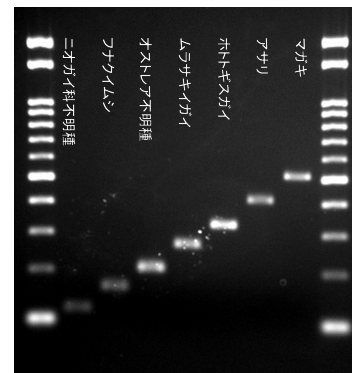


図1 開発したマルチプレックスPCR

また、上記7種を識別するマルチプレックスPCR法を確立したことによって(図1)、PCRと電気泳動のみで松島湾に出現する浮遊幼生を種ごとに識別して動態を把握することが可能となった(図2)(論文投稿中)。

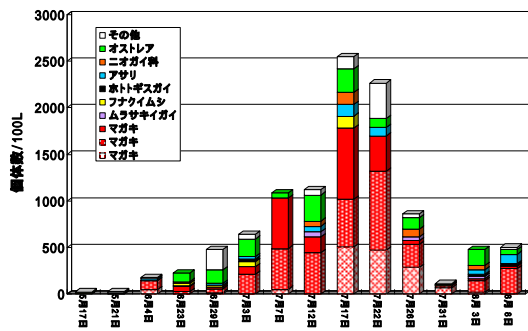


図2 2013年の松島湾における二枚貝幼生の出現動態

しかしこの手法は簡易であるといっても、実際に現場で(漁師や水試の方にとって)この手法を用いることは困難であると予想されたため、幼生時形態のわずかな相違を示した下敷きを作成し、関係各位に配布を行った(図3)。



図3 本研究で作成した下敷き(A4サイズ表裏で2枚)

(2) 現場に生息するマガキの親個体と幼生の餌料生物を解析した。まず、宮城県松島湾から採取したマガキ親個体の腸管を解剖し、その中の粒子サイズを顕微鏡下にて測定した結果、15-335 μmの粒子が観察され、特に20-70 μmの粒子が80-90%を占めていた(図4)。

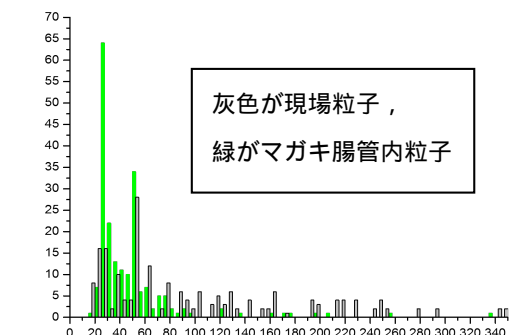


図4 横軸が粒子サイズ(μm)、縦軸が頻度

それらの粒子をフィルター上に捕集し、DNA抽出後に遺伝子解析を行った結果、珪藻の*Thalassiosira*や渦鞭毛藻の*Scrippsiella*などが主であることが判明した。その他、ポリド藻、従属栄養性鞭毛虫、繊毛虫、ホヤ、紅藻、カイアシ類の遺伝子も検出され、マガキ親1個体から最大33種類の餌生物が検出された(図5)(論文執筆中)。

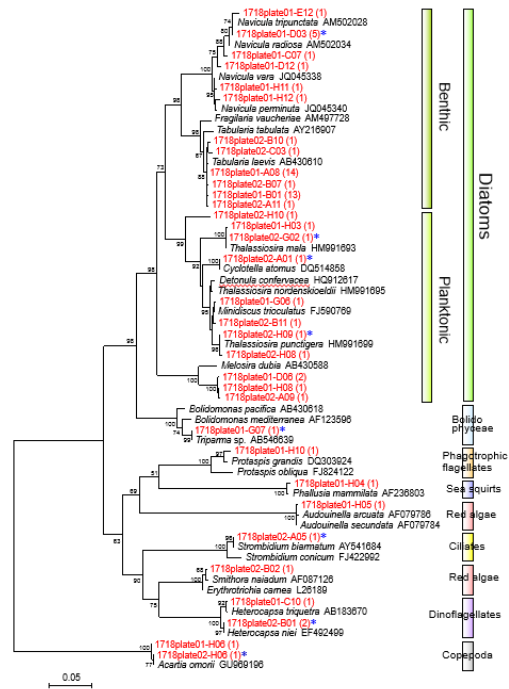


図5 マガキ腸管内から検出した餌生物(本研究で得られたDNA配列を赤字で示す)

現在、松島湾から得たマガキ幼生60個体から合計800個の遺伝子配列を解析している最中であり、今後、幼生に必要な餌生物の種類が明らかになると期待される。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

西谷 豪(東北大院農)・渡辺允浩・渡辺 茂(宮城県漁協)「マガキを中心とした二枚貝浮遊幼生の分類とその応用について」平成25年度日本水産学会東北支部大会 岩手県盛岡市 2013年11月8-9日

西谷 豪(東北大院・農)・渡辺允浩・渡辺 茂(宮城県漁協)「宮城県松島湾における二枚貝浮遊幼生の分類と動態に関する研究」日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会 宮城県仙台市 2013年9月27-30日

Goh Nishitani, Yoshinari Endo 「Food sources of pacific oyster in the sanriku coasts, northeastern Japan」ASLO Aquatic Sciences

Meeting 2012, Shiga, Japan July 8-13, 2012

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

平成 25 年度日本水産学会東北支部大会支部
長賞受賞

6. 研究組織

(1)研究代表者(単独)

西谷 豪(NISHITANI, Goh)

東北大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：70450781