

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26660161

研究課題名(和文)エイ類(トビエイ亜目)発生初期の胚が極めて短期間休眠することの実証的研究

研究課題名(英文)An empirical study on embryonic diapause occurring in the early developmental stage of sting rays

研究代表者

山口 敦子(YAMAGUCHI, Atsuko)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・教授

研究者番号：10310658

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：トビエイ亜目を中心に定期的なフィールド調査を行い、細胞レベルでの胚の発生段階を詳細に調べるとともに、親魚の成熟状態や胎仔への栄養供給について明らかにした。そのうち、アカエイについてはほぼ完全なデータセットを揃えることに成功した。これまでアカエイについては胚休眠期がなく、極めて短い妊娠期間を経て胎仔の発達が完了し、出産されると考えていたが、実際には受精後まもないステージ1の段階で胚の発生は突然休止して休眠卵となり、短期の胚休眠期を経て発生が再開された後はステージ9の発育段階まで一気に到達し、出産に至ることが判明し、ごく短期間の胚休眠期が存在することが初めて明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We conducted field surveys in the East China Sea to collect adult stingrays with embryos. The stages of embryonic development were examined at the cellular level in detail, as well as the nutritional supplies to embryos in the uterus of adult females. Meanwhile, we succeeded in arranging nearly complete data sets of *Dasyatis akajei*. Previously, it was thought that embryonic diapause does not occur in some species of stingrays such as *D. akajei* and that the development of the embryos is completed in a very short pregnancy period followed by birth. However, in this study, we observed that embryonic diapause occurred at developmental stage 1, i.e., a very early embryonic stage. After a short-term diapause, the embryos developed to stage 9 very quickly. To the best of our knowledge, this is the first study that revealed the presence of a very short embryonic diapause in sting rays.

研究分野：水圏生産科学

キーワード：胚休眠 繁殖 板鰓類 エイ類 胎仔

1. 研究開始当初の背景

当初、日本の沿岸域で増加傾向にあるナルトビエイ等のエイ類が漁業被害を引き起こしていることを背景に、エイ類増加の一つの根拠を「胚休眠」という特異な繁殖戦略に求め、海洋温暖化がエイの再生産に与える影響と環境への適応戦略の解明を目指して研究を開始した。「胚休眠」とは陸上の昆虫類や爬虫類などで見られる戦略である。それは、限られた生物が進化の過程で獲得してきた大変興味深いシステムであり、海洋生物では今のところごく一部の板鰓類のみで見られる現象である。研究代表者は、過去に採択された科研究・基盤研究(B)で、エイ類発生初期に見られた数ヶ月にも及ぶ長期間の胚休眠やその後の急激な胎仔の成長についての実態解明を行い、胚休眠の生態的意義と環境への適応戦略を明らかにした。しかし、そもそも分類学的に近縁な種の間でも、胚休眠を持つ種と持たない種が混在しており、それがエイ目の異なる科をまたいで見られたことに大きな疑問を持っており、詳細な研究をつづけるうちに、休眠しないと思われていた種にも極めて短期間の胚休眠が起こっている可能性に気付いた。

そこで、全ての胎生エイ類が発生初期に休眠する、という新たな仮説を立て、それを実証するための課題に取り組むことにした。

2. 研究の目的

本研究では、上記の背景に基づき、様々な発達ステージにあるエイ類の卵と胎仔をフィールド研究により精力的に収集するため、受精から発生開始までの短い期間に高い頻度で調査を行い、その間の胚の発生状況について電子顕微鏡などにより詳細に観察することで、「トビエイ亜目のエイ類発生初期に極めて短期間の胚休眠が起こる」ことを実証し、無意味にさえ見える短期間の胚休眠の生態学的・進化学的意義について考察すること

を目的とした。

3. 研究の方法

日本の中では暖水域を好む種と冷海域を好む種が同所的に生息し、トビエイ亜目の種多様性が高い有明海および東シナ海を主なフィールドに、トビエイ亜目のうち、胚休眠を持つことがわかったナルトビエイやトビエイ等、胚休眠期がないと考えていたアカエイやイズヒメエイ等の定期的な採集を行った。研究代表者らがこれまでに培ってきた技術に基づき、受精卵や胎仔を現場で採集し、直ちにパラホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド固定液で固定した。胎仔の形態の発達を詳細に記載、記録して各ステージに区分した。子宮および卵巣や精巣の組織学的観察等により、交尾・受精・排卵・出産時期を特定、各エイの繁殖生態を解明した。固定した受精卵は共焦点レーザー顕微鏡などにより細胞レベルまで詳しく観察した。休眠卵の構造的特徴を記載するとともに発生の中の段階で休眠に至るのかを推定する。休眠卵の出現時期および期間、採集日ごとの休眠卵の出現頻度等を解析し、休眠期間、休眠および成長再開のタイミング、胎仔の成長期間を明らかにする。以上の結果をまとめ、トビエイ亜目にごく短期間の胚休眠があることの実証に挑戦した。

4. 研究成果

(1) トビエイ亜目の採集とそれらの子宮・受精卵と胎仔の採集・固定

有明海を中心とした海域で定期的な採集調査を行った結果、トビエイ亜目のうち、アカエイ等の胚休眠を持たないと考えていた種を得ることができた。特に、アカエイについては交尾・受精後から胎仔の発育初期の間に高い頻度で調査を行ったことで、休眠期と発生再開時期にあると思われる胎仔を持つ個体を十分に採集することができ、本課題の

計画を遂行するのに必要な子宮、子宮絨毛、受精卵および胎仔等の試料とデータを採集することができた。また、胚休眠を持つナルトビエイやトビエイ等の採集も継続し、胚休眠についての理解を深めた。以下、ここでは主にアカエイで得られた結果をもとに記述することとする。

(2) 雌の繁殖周期

雌の生殖腺重量指数 (GSI) には明確な季節変化が認められ、4月にピークに達することがわかった。また、卵巣内卵径は9月に最も小さく、4月に最大となった。4月には子宮内卵を有する雌も観察されている。出生後間もない最小の胎仔は7月に出現したことから、出産の時期は7月～8月にかけて、妊娠期間は最長でも3ヶ月であると推定された。

(3) 雄の繁殖周期

雄の生殖腺重量指数 (GSI) にも雌と同様の季節変化が認められ、9月に最大となった。雄の生殖様式と交尾時期について明らかにするため、精巣の組織学的観察を行った。初めに精巣の構造とその成熟様式を明らかにした上で、精巣を7つの成熟段階に区別し、最も進んだ成熟段階の出現頻度を月別に調べたところ精子の形成時期が明らかになり、精嚢内には精液が長期におよび観察されたことから、交尾期は9月～5月にかけて長期に及ぶと推定された。

(4) 胎仔の発達段階

妊娠中の雌 96 個体から子宮内卵または胎仔を採集できた。子宮の大きさや重量は雌のサイズとともに大きくなる傾向が見られた。一つの卵殻内には複数の子宮内卵が収まっており、それらは脆くて柔らかく、淡黄色から黄色であった。個々の卵の形態は様々で、その表面にはいくつもの隆起が見られた。胎

仔は6月～8月にかけて観察され、胎仔の発育期間は約2か月であると推定された。胎仔の形態学的特徴などを詳細に記述し、ステージ1～9の発育段階に区別した。妊娠中期にあたるステージ6では外卵黄嚢が再吸収され、同時に、子宮壁には絨毛糸が発達することも確認できた。

(5) 胚休眠期

妊娠期間中に出現した各ステージの胎仔の出現状況について調べたところ、妊娠期間の約半分はステージ1の発生初期の卵のままであることが確認できた。ステージ2に達すると胚の発生は極めて速く進み、胎仔は劇的な発達を遂げた後に出産されることがわかった。本研究の結果、胚休眠期を持たないと考えられていた本種にも極めて短期間の胚休眠期がある可能性が示唆された。このことから、妊娠期間が極めて短く胚休眠期を持たないと考えられていたトビエイ亜目の他のエイ類についても同様にごく短期間の胚休眠期が存在する可能性が高くなった。これらの胎生エイ類の発生に関する研究は野外でのみ実行可能である上、ごく短期間の胚休眠期を経て劇的な胎仔の発達を示すことから、その休眠期を捉えるのは相当な困難が伴う。しかし、エイ類の繁殖様式に関する知識を新たにするためにも、今後の更なる研究が必要である。また、これらのごく短期間の休眠期がどのような生態的意義を持つのかなど、今後明らかにすべき課題も見つかった。

なお、本研究の成果は論文にまとめ、現在国際誌に投稿中である。

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 8 件)

山口敦子：日本臨床分子形態学会・学術集会・特別講演「水の中の脊椎動物・魚類に見られる生殖の多様性～胎生のサメ・エイ類を中心に」くまもと県民交流会パレア(熊本県熊本市)2016年9月23日(招待講演)

山口敦子：第48回水環境フォーラム山口・特別講演「ナルトビエイの長期生態モニタリング - 貝類の食害に関連して - 」山口県セミナーパーク(山口県山口市)2016年1月30日(招待講演)

山口敦子：親子で考える理系の夢への挑戦「海洋のいきものについて教育・研究する仕事とは？」内閣府・国・地方連携会議ネットワークを活用した男女共同参画推進事業(長崎国際大学(長崎県佐世保市)2015年12月20日)

山口敦子：リケジョ育成プログラム 夢セミナー「大学で海の生物について研究する仕事とは？」対馬高校(長崎県対馬市)2015年8月22日

山口敦子：長崎産婦人科臨床懇話会「サメ・エイ類に見られる繁殖の多様性～妊娠・発生・胎仔の成長を中心に」長崎市ワシントンホテル(長崎県長崎市)2015年4月18日(招待講演)

山口敦子・古満啓介：板鰐類シンポジウム2014「有明海およびその周辺海域におけるナルトビエイの長期生態モニタリング」東京大学農学部弥生会館一条ホール(東京都文京区)2014年12月4日

原康二郎・古満啓介・山口敦子：板鰐類シンポジウム2014「東シナ海北部におけるガンギエイの生態学的特性」東京大学農学部弥生会館一条ホール(東京都文京区)2014年12月4日

Furumitsu, K., and A. Yamaguchi: Reproductive aspects of the pale-edged stingray, *Dasyatis zugei*, in Ariake

Bay, Japan. Joint Meeting of Ichthyologists and Herpetologists, 2014. Aug 2, Chattanooga, Tennessee, USA.

〔図書〕(計 1 件)

山口敦子・古満啓介：サメ・エイ類。水産海洋ハンドブック(竹内俊郎ほか編)生物研究社、東京(2016)PP662

〔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：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 敦子(YAMAGUCHI, Atsuko)
長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・教授
研究者番号：10310658

(2) 研究分担者

古満 啓介(FURUMITSU, Keisuke)
長崎大学・水産学部・助教
研究者番号：30554266

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

WYFFELS, Jennifer