

生理学的基盤を指標としたイカナゴの新しい資源管理法の確立 (その2)

代表研究者 阿見彌典子 北里大学海洋生命科学部 講師
共同研究者 吉永龍起 北里大学海洋生命科学部 准教授

[研究目的]

2019年度は(1)栄養状態に応じて繁殖するかどうかが決まる時期は11月末であり、(2)12月初旬に性成熟を促進する脳ホルモンが一定量に達していることが繁殖の必要条件であることが分かった。一方、この基準値を超えて繁殖が可能となったとしても、栄養状態が劣った個体は卵数が減少して質(栄養分)が低下し、結果的に孵化した仔魚の生残率が悪くなると予想される。したがって、資源管理に必須な加入量を求めるためには、卵質を加味して仔魚の生残率を予測することが重要である。そこで2020年度は、親魚の栄養状態と脳ホルモンの量が卵の数と大きさに及ぼす影響を明らかにし、イカナゴの資源変動の動態を予測する新たな方法の確立を目指した。

[研究方法]

<実験1>

2020年4月に愛媛県斎灘で採集され、6月まで国立研究開発法人水産研究・開発機構 瀬戸内海区水産研究所で飼育されたイカナゴを用いた。給餌量に差をつけて高肥満度群と低肥満度群を作出した。北里大学海洋生命科学部に搬入し、高肥満度群(n=約400)と低肥満度群(n=約150)をそれぞれ自然水温・日長条件下で飼育した。サンプリングは9-12月にかけて実施した(計6回;n=6-16)。麻酔の処理後、全長、標準体長、体重の測定、生殖腺と脳の摘出、および採血を行った。生殖腺はヘマトキシレン・エオシン染色にて発達状態を観察した。また、孕卵数および卵径も計数した。さらに、脳内において性成熟を促進するホルモン(生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン;以下、GnRHと略す)と、血液中のテストステロン量をそれぞれ時間分解蛍光免疫測定法により測定した。

<実験2>

実験1の飼育実験を行った際に、低肥満度群と高肥満度群では飼育管理の際に生じる人為的な刺激に対する反応が異なる可能性が見出された。そこで、水槽内を網で掻き回す攪乱刺激を与えて、肥満度の違いが刺激に対する反応に及ぼす影響を比較した。なお、肥満度の違いは頭部に対する体高の高さで判断した。

<実験3>

肥満度の異なるメス親魚に由来する仔魚の生残率を比較するため、人工授精を試みた。本年度は、安定したイカナゴの人工授精および仔魚飼育の方法とともに、ミトコンドリアDNA(調節領域)の解析によるメス親判定技術について検討した。

[結果と考察]

<実験 1>

肥満度は観察期間を通じて、高肥満度群で高かった。生殖腺重量比 (GSI) も 11/6 以降は高肥満度群で有意に高くなった (図 1)。12/21 に観察した生殖腺は、オスでは 2 群ともに排精期に達していた。一方メスでは、高肥満度群では観察した 9 個体全てが第三次卵黄球期まで達していたのに対し、低肥満度群では 7 個体中の 1 個体だけであり、ほとんど未熟な個体であった。高肥満度群の脳内 GnRH 量は、9/8 から 12/21 にかけて常に高い値を示し、12/7, 21 では有意に高くなった (図 2)。一方、低肥満度群では明瞭な変化は認められなかった。高肥満度群の血中テストステロン量は、脳内 GnRH 量および GSI の変化と連動して 12 月末にかけて高くなる傾向を示した (図 3)。一方、低肥満度群では若干の増減を繰り返しつつも成熟との関連は認められなかった (図 3)。

高肥満度群において孕卵数は体長と正の相関が認められ、肥満度が高い個体ほど孕卵数は多くなる傾向が示された。脳内 GnRH 量と孕卵数に関しては、観察例数は限られているものの、12/7 には負の相関が認められたが (図 4)、12 月 21 日では認められなかった。一方、テストステロン量と孕卵数には相関はなかった。脳内 GnRH 量が多いほど孕卵数は少なくなったことは、性成熟の進行を制御する内分泌経路である「脳-下垂体-生殖腺系」が変調したためと考えられる。一般に、魚類では最終成熟までは卵巢内にできるだけ多くの卵を保持するものの、最終成熟期に近づいて卵のサイズが大きくなると腹腔内に納められる数が制限されるため、卵の退行や吸収により数は減少する (隆島, 1986)。本研究においても、イカナゴの卵径は 12 月の月上旬から下旬にかけて大きくなり、卵数は減少する傾向を示した。また、孕卵数と卵径は 12/7 では負の相関の傾向があるが 12/21 では正の相関を示したことからも、12 月上旬に脳ホルモンと連動して卵数の最終調整期に入ると考えられた。以上をまとめると、繁殖スキップする個体の出現状況は成熟期の約 3 ヶ月前には予想できること、および脳内 GnRH 量から産卵量を予測できる可能性が見いだされた。

<実験 2>

観察開始時の遊泳個体のうち高肥満個体は 37%、低肥満個体は 28% であった。刺激後では、高肥満群の遊泳個体はいなくなったのに対し、低肥満群のそれらは 75% に増加した (図 5)。この結果は、低肥満群は刺激後も遊泳し続け、さらに潜砂していた個体のうち低肥満の個体のみが遊泳を開始したことを示し、肥満度によって行動に差が生じることが示唆された。

<実験 3>

搾出法により人工授精を行い、卵を全て摘出した卵除去体重を測定した。この値と受精前に計測した体長と体重から肥満度を求めた。オス 1 個体から得られた精子で、最大で 4 個体のメスの卵を受精させることができた。また、これまでに 1 ヶ月齢を過ぎるまで飼育を継続できている (2021 年 2 月 24 日時点)。また、人工授精に用いた計 39 個体の親魚は、ミトコンドリア DNA 調節領域 (約 500 b.p.) の塩基配列の違いにより識別できた (図 6)。以上のことから、親個体の肥満度の違いが、孵化率や斃死率およびその後の成長に与える影響を明らかにするための研究基盤を確立できた。遺伝情報に基づ

いた厳密な個体識別が可能のため、複数の親に由来する仔魚を同一水槽内の均一な環境下で飼育することができる。これにより、メス親魚の肥満度に加えて、脳ホルモンの量や、繁殖スキップ経験の有無など多岐にわたる要因を考慮した加入量予測の手法の確立に繋がるものと考えられる。

【結論】

2年間の研究により、イカナゴのメスは栄養状態が悪いと繁殖スキップを行うことが確認された。また、スキップするか否かが決定される時期は、昨年度に示唆された11月より前の9月（夏眠開始直後）であることが示唆された。さらに、成熟期である12月上旬においては、成熟を制御する上位ホルモンである GnRH の動態から孕卵数を予測できる可能性が見いだされた。また、肥満度の低下は刺激に対する応答を鈍らせるため、天然では被食逃避に不利となるものと考えられた。すなわち、餌環境の悪化は（1）繁殖の抑制、（2）産卵量の減少、（3）被食の増大、など多岐にわたり資源の減少を引き起こしうることを実験的に証明できた。本課題では、さらに人工授精および親魚判別の技術開発により、今後の研究に重要となる研究基盤を整備することもできた。現段階では、瀬戸内海のイカナゴに生じうる現象を生理学的な側面に明らかにしたに過ぎない。今後は、実際に自然環境下の個体群を対象として調べていくことで、資源変動の動態を予測する精度を高め、これに基づいた管理策の立案が可能となる。生理学的な解析によるイカナゴ資源の評価は、今後、より効果的な大阪湾圏域の海域再生対策を考える上で重要な情報を生み出すと考えられる。

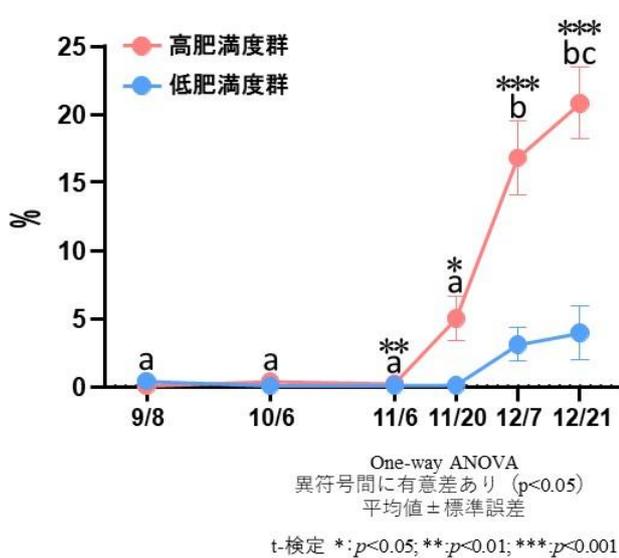


図 1. 各群における GSI の変化

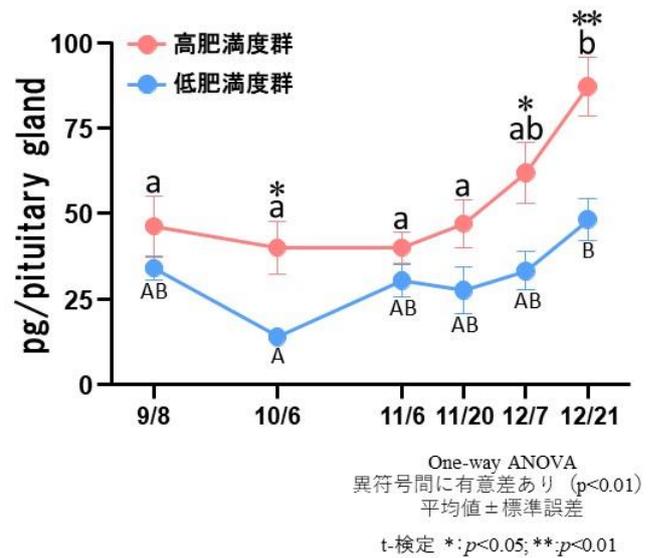


図 2. 各群における GnRH 量の変化

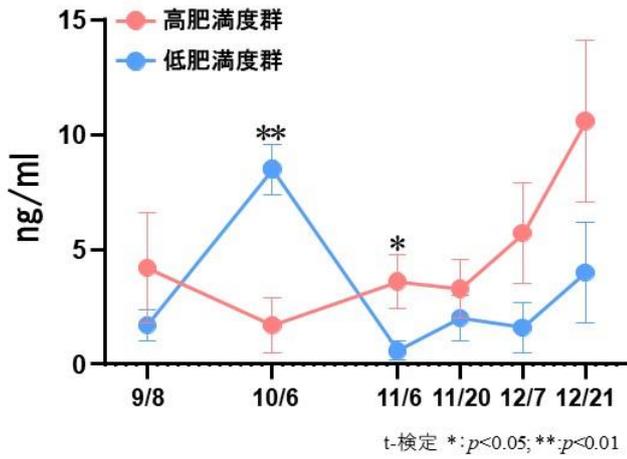


図3. 各群におけるテストステロン量の変化

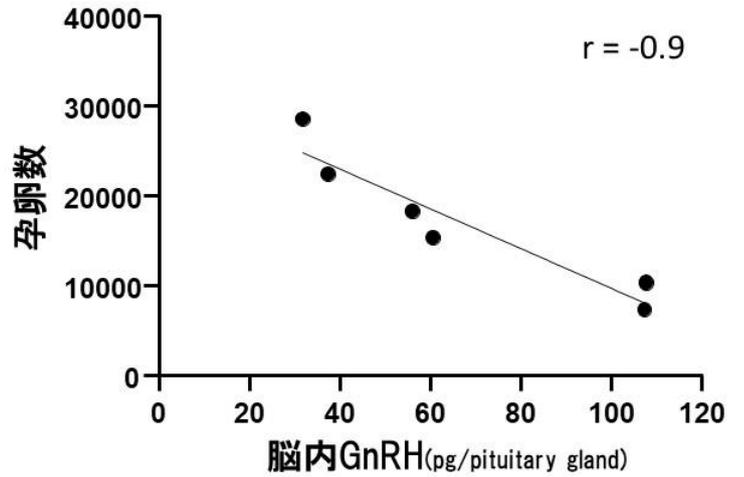


図4. 高肥満度群での孕卵数とGnRH量の関係(12月7日)

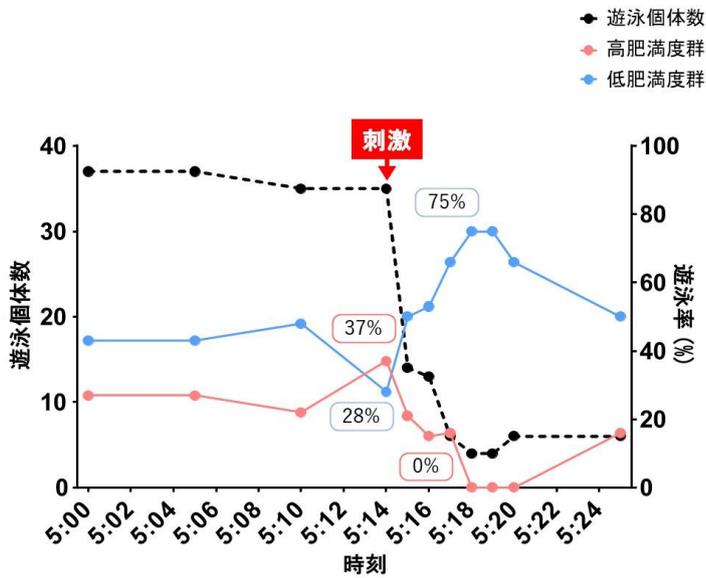


図5. 刺激に対する異なる2つの肥満度群の遊泳割合の変化

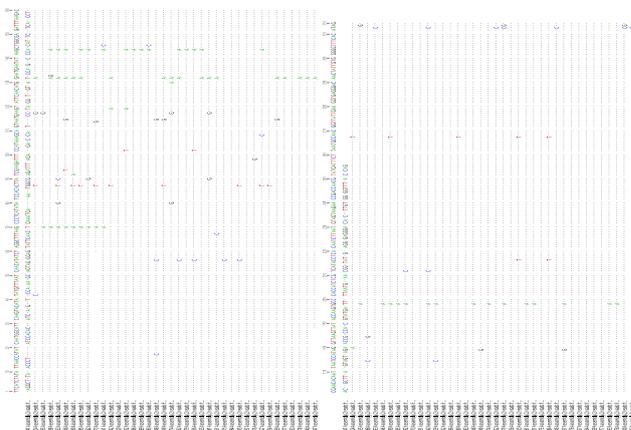


図6. 親魚のミトコンドリアDNA調節領域(約500 b.p.)の塩基配列の比較