

Early life history of mangrove killifish *Rivulus marmoratus* reared in the laboratory
(マングローブ・キリフィッシュ *Rivulus marmoratus* の飼育環境下での初期生活史)

長崎大学大学院生産科学研究科

Grageda Maria Vivian Camacho

(グラヘダ・マリア・ビビアン・カマチョ)

マングローブ・キリフィッシュ (*Rivulus marmoratus* Poey: family Rivulidae) は、特異な繁殖生態 (自家受精によるクローン産出) と飼育の容易さから、これまで毒性試験、ガン研究および遺伝研究に用いられてきた。海産魚類の実験動物として、本種の有用性が長く指摘されてきたものの、その基礎生物学的な知見、特に初期生活史に関する知見は非常に少ない。本研究では、*R. marmoratus* の初期生活史を明らかにするために、一定の飼育環境下 (水温 25 ± 1 , 塩分 17 ppt) で、(1) 初期成長と発育の記載、(2) 遺伝的に異なる 2 クローン株の生活史特性値の比較、(3) 2 クローン株の摂餌関連形質の個体発生過程の比較、および (4) 餌料種が成長と行動に与える影響の比較を実施した。

初期成長および初期発育

成長、形態形質・計数形質、骨格および色素胞の発達について形態学的な観察を行った。多くの形態形質の相対成長に見られる変曲点、および脊椎骨と鰭条の定数化と化骨状況から、稚魚期はふ化後 20 日令 (体長 9.8 mm) 以降と判断された。体長はふ化 (体長 4.4 mm) から稚魚 (体長 9.8 mm) まで急激に増加し、以後体長 16 mm まで緩やかな増加を示した。仔魚期 (体長 4.4-9.7 mm) には脊椎骨、背鰭・臀鰭・尾鰭鰭条数はすでに定数に達していたが、胸鰭および腹鰭鰭条数は定数に達していなかった。脊椎骨と各鰭条の化骨は稚魚期 (体長 9.8-16.6 mm) に完了した (以上第 2 章)。組織学的な観察により、体長 4.2-6.3 mm では卵黄が存在し、体長 6.4 mm 以降で完全に吸収されることがわかった。ふ化時点で咽頭歯、食道、腸管は分化を始めており、粘液固有層と杯細胞をもつ腸管は、3 つの区間 (anterior, middle, posterior) に分けられた。体長 7.8 mm 以降では、腸管の形状そのものに変化は見られず、粘液固有層と杯細胞が増加した。以上の形態および組織学的な観察により、本種の初期発育段階を次の 4 相に定義した: phase A (混合摂餌期; 体長 4.2-6.3 mm), B (外部栄養開始期; 体長 6.4-7.7 mm), C (変態期; 体長 7.8-9.7 mm), および D (稚魚期; 体長 9.8 mm 以降) (以上第 4 章)。

2 クローン株間の生活史特性値の比較

由来の異なる2つのクローン株 (PAN-RS と DAN) の間で、初期成長と繁殖戦略が異なることが分かった。産卵数は PAN-RS の方が多く、性比を見ると DAN の方が高い頻度で一次雄を産出した。PAN-RS の初期成長は DAN より早いことが分かった。しかし、成熟日令、ふ化までの日数、卵径、形態および計数形質 (脊椎骨数と鰭条数) には株による違いは見られなかった。PAN-RS の高い産卵数はふ化仔魚の生残率を高めるための戦略と考えられた。一方、DAN は、小さい体サイズで成熟することで繁殖成功率を高める戦略をとっていると考えられた (以上、第3章)。

2 クローン株の摂餌関連形質の個体発生過程の比較

初期成長の変異に関わる機構を調べるために、摂餌関連形質の個体発生過程を調べた。高成長・多産の PAN-RS は、低成長・少産の DAN よりも早期に各々の発育段階に到達した。消化酵素活性を発育段階ごとに比較したところ、クローン株間の差は見いだせなかった。一方、行動を調べてみると、DAN は摂餌成功率と単位時間あたりの摂餌数が PAN-RS より高かった。これらのことから、DAN は摂餌効率が低いために PAN-RS より成長が劣ると考えられた。さらに、DAN は遊泳活動度が高く、このことも低成長の一因と考えられた (以上、第4章)。

餌料種が成長と行動に与える影響

カイアシ類 *Acartia tsuensis* (D1; 104-732 μm) とアルテミア *Artemia franciscana* (656-906 μm ; D2: 未強化および D3; ドコサヘキサエン酸 (DHA) 強化) をそれぞれ餌料として与え、これらが *R. marmoratus* の初期成長と行動に与える影響を調べた。単位時間あたりの摂餌数は、実験期間 (20 日令まで) を通じて、餌料による差はなかった。ところが、10 日令までは D1 区の仔魚の成長が早く、実験終了時の 20 日令では成長の逆転が起き、D3 区の体長が最も大きくなった。給餌前の遊泳活動度は、10 日令では D1 区がもっとも低かった。10 日令までの D1 区の高成長は、DHA 含有量の高い *A. tsuensis* の体サイズがこの発育段階の仔魚に適していたことと、魚の活動度の低さに起因し、20 日令までに成長の逆転が起こったのは、魚の餌サイズ選択性が、より大きい餌サイズに移行したためと考えた (以上第5章)。

本研究によりマングローブ・キリフィッシュの初期生活史を初めて詳細に記載することが出来た。さらに、遺伝的要因と環境要因の双方が、マングローブ・キリフィッシュの初期成長、行動、産卵数、性比といった生活史特性値に変異をもたらすことが明らかになった。本研究は、*R. marmoratus* の生物学的な基礎知見を提供するばかりでなく、水産増養殖研究における飼育技術改良や育種研究などのモデル生物としての可能性を示した。