

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K12419

研究課題名(和文) 魚類の拡散的アロモン初同定：抑制物質放出による外来魚の席卷仮説

研究課題名(英文) Study for first identification of diffusely released allomones in fishes

研究代表者

佐藤 香織(鶴井香織)(TSURUI-SATO, Kaori)

琉球大学・農学部・准教授

研究者番号：00598344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：同種や他種の個体の成長を化学物質の放出により促進・抑制させる現象をアレロパシ-といい、植物では多くの事例がある。一方、動物では化学物質の環境中への放出を介した他個体の成長抑制についての知見は、社会性昆虫などの種内相互作用の例にほぼ限られる。カダヤシの成魚雌は、同種雌の成長や繁殖を抑制する水溶性の化学物質を放出するとされるが、他種への影響は不明であった。本研究の結果、カダヤシ成魚雌が放出する化学物質は、同種稚魚の成長と同種成魚の繁殖に負の影響を与えるだけでなく、他種(グッピー)の稚魚の生存率を低下させる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果により、動物ではこれまで見過ごされていた「環境に放出する化学物質による種間競争」が魚類で発見された。このことにより、水中の生態系において、化学物質を介した種間相互作用も重要である可能性が見出された。カダヤシは世界的な侵略的外来種として知られ、旺盛な捕食行動により在来種を駆逐するなど生態系に悪影響を与えているとされる。カダヤシの放出物質がグッピーの稚魚の死亡率を上昇させたという本研究結果から、カダヤシのような侵略的外来魚は捕食だけでなく放出化学物質により在来生物を駆逐し席卷していったという可能性が浮上した。これらの発見は、水圏生態系の理解を深めることを通じ、外来生物問題解決に資する。

研究成果の概要(英文)：The phenomenon of promoting or inhibiting the growth of individuals of conspecifics or other species through the release of chemical substances is called allelopathy, and there are many examples of this phenomenon in plants. On the other hand, in animals, most of the known examples of suppression of other individuals through the release of chemicals into the environment are limited to intraspecific interactions such as social insects. Adult female mosquitofish are reported to release water-soluble chemicals that inhibit growth and reproduction in conspecific females, but the effects of these chemicals on other species were unknown. The results of this study suggest that water-soluble chemicals released by adult female mosquitofish may negatively affect juvenile growth and adult reproduction in the conspecific, as well as reduce survival of juveniles of other species (guppies).

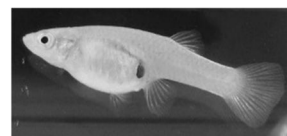
研究分野：行動生態学

キーワード：外来魚 カダヤシ アロモン 水溶性化学物質

## 1. 研究開始当初の背景

あらゆる生物は他者と何らかの競争関係にある。競争において相手を抑制する手段の1つとして、相手に害をおよぼす化学物質の放出がある。一部の植物では、葉や根から化学物質を放出することで同種や他種の発芽や発育などを阻害するアレロパシー(他感現象)がよく知られている。植物アレロパシーは植物生態学において、植物群集の形成や優占種の遷移等、生態学的に重要なダイナミクスを駆動するメカニズムの1つとみなされている。動物でも、女王アリによる働きアリの産卵抑制物質、ゼブラフィッシュのメスによる他メスの繁殖抑制物質、オオヒキガエルのオタマジャクシによる卵の発育抑制物質(毒)等が知られている。しかし、動物が放出する化学物質の生態学的理解は種内関係に限られている。

世界的な侵略的外来種であるカダヤシ *Gambusia affinis* という小型魚類のメスも、同種メスの発育や繁殖を抑制する水溶性の化学物質を放出する(Lutneskya & Adkins 2003)が、その生理的な作用特性や他種への影響は未解明である。外来植物のセイタカアワダチソウがかつての日本の草地を優占したのは、放出された化学物質が不特定多数の他種を抑制し、セイタカアワダチソウ以外の植物が姿を消したためとされる(藤井 1990)。一方、魚を含む動物では直接相手に向ける行動が顕著であるためか、化学物質の放出による他種との相互作用の重要性は見過ごされてきた。我々は、外来種が在来種に対し無差別に攻撃し生態系を破壊する普遍的なメカニズムの1つとして、抑制的化學物質の放出が動植物を問わずあると考えた。



カダヤシのメス(5cm程度)

## 2. 研究の目的

本研究の当初の目的は次の3つであった：カダヤシメスが環境中に放出する抑制的化學物質の作用機構の理解 物質が他種に及ぼす影響の評価 物質の単離・同定。補助事業期間内ではとについて成果を得た。については、今後の課題とし、長期的には、外来種による化學物質の放出が外来種の席巻と生態系の破壊に与える影響を解明し、外来種問題の解決に寄与することに繋げたい。

## 3. 研究の方法

### 飼育実験

沖縄島に野生化したカダヤシと、沖縄島でカダヤシと競争関係にある野生化グッピーを使用し、カダヤシの雌が放出する物質の影響を飼育実験で評価した。4L水槽で、カダヤシの成魚雌2匹(物質を出させる魚)と「物質」に暴露される個体を、水のみ出入りする不透明な容器で隔離して飼育した。

本研究では、3つの暴露実験を行なった：実験

カダヤシの稚魚から成熟するまでの115日間暴露、実験 カダヤシの若い処女雌を14日間暴露、実験 グッピーの稚魚を成熟するまで115日間暴露。飼育実験では、毎日、乾燥飼料(ひかりクレストグッピー、キョーリン株式会社)を与え、食べ残しを除去した。水質の悪化を防ぐため、週一回10%の水換えを行った。飼育実験の後、実験個体の体長と体重の計測および解剖実験を行った。体長は電子ノギスで口吻の先から尾鰭の付け根までの長さを測定した。体重は、電子天秤で生重量(g)を測定した。解剖実験では、対象個体を氷冷麻酔したのち、腹を切開し、肝臓と卵巣を摘出した。肝臓と卵巣は電子天秤で生重量(g)を測定した。

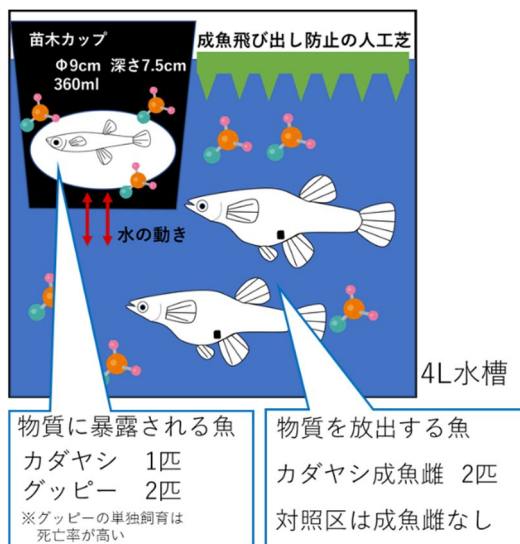


図1. 飼育実験の方法

### 統計解析

実験のカダヤシが成熟するまでの115日間の稚魚への暴露実験の解析では、まず、体長・体重・卵巣重量・成熟卵数・肝臓重量をそれぞれの処理間で比較した。次に、各個体の体サイズの違いを考慮するため、4項目の体重に対する比を処理間で比較した。各項目は、体長/体重、卵巣重量/体重×100(GSI)、成熟卵数/体重、肝臓重量/体重×100(HSI)である。検定方法は Brunner-

Munzel permutation 検定を使用し、有意水準をホルム法で補正した。

実験のカダヤシ若い処女メスに対する 14 日間の暴露実験では、各個体の体サイズの違いを考慮するため、成長量（実験後体長から実験前体長を差し引いたもの）、卵巣重量、成熟卵数、肝臓重量について、体重を説明変数に加えた 4 つの一般化線形混合モデル GLMM により暴露処理の効果を解析し、有意水準をホルム法で補正した。目的変数を成長量、卵巣重量、成熟卵数、肝臓重量のいずれか、説明変数を処理、体重、処理と体重の交互作用、ランダム効果を実験シリーズとし、誤差構造にポアソン分布を指定した。これらモデルにおいて過分散が認められた場合、誤差構造を負の二項分布としたモデルで再解析した。また、交互作用が有意で無かった場合は、当初のモデルから交互作用を抜いたモデルで再解析した。結果的に上記の 4 つのモデル全てにおいて交互作用が有意で無かったため、4 つ全ての解析において、説明変数は処理と体重の 2 つとなった。

実験のグッピー稚魚が成熟するまでの 115 日間の暴露実験では、生存時間分析 (Log-rank 検定) を用い、処理間で生存日数を比較した。当初は と同様に、体長・体重・卵巣重量・成熟卵数・肝臓重量を処理間で比較する計画であったが、暴露処理区において実験期間中に死亡した個体が多く十分な数のデータが得られなかったため体長・体重・卵巣重量・成熟卵数・肝臓重量を処理間比較は実施しなかった。

#### 4. 研究成果

##### カダヤシの稚魚から成熟するまでの 115 日間の暴露

実験の結果、暴露区では体長・体重・卵巣重量・成熟卵数・肝臓重量が有意に小さくなり、先行研究 (Lutneskya & Adkins 2003) の結果が再現された (暴露区, n=12; 対照区, n=15; 全て 0.1% 水準で有意, ホルム法; 図 2)。一方で、体重を考慮した指標 (GSI, HIS など) を用いた解析では処理間に有意な差は無かった (全て 5% 水準で有意でない, ホルム法)。これらのことから、カダヤシの稚魚が物質に暴露されると、体サイズの成長抑制により間接的に繁殖形質が抑制されると考えられた。また、本研究では Lutneskya & Adkins (2003) において調査されていなかった肝臓重量についても調査した。その結果、カダヤシ稚魚は、カダヤシ成魚メスの化学物質に長期間暴露されることによって、肝臓重量も縮小することが新たに判明した (図 2)。

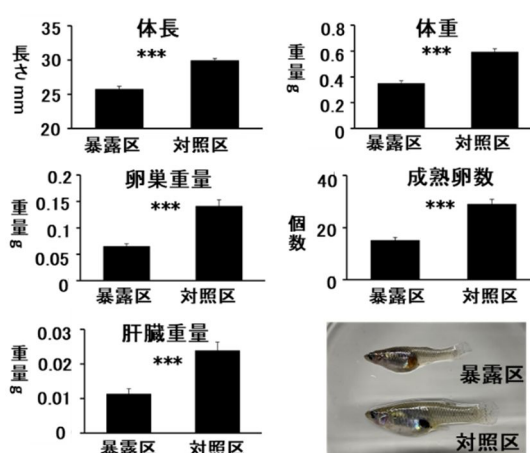


図 2. カダヤシの稚魚から成熟するまでの 115 日間暴露の結果。

\*\*\* : p<0.001 after Holm method

##### カダヤシの若い処女雌に対する 14 日間の暴露

体重を説明変数に組み込んだ一般化線形混合モデルにより暴露の効果を解析した結果、暴露区では保有する成熟卵数の有意な減少が認められた (暴露区, n=23; 対照区, n=20; p<0.05, ホルム法; 図 3)。このことから、カダヤシの若い成魚雌に物質を暴露すると繁殖が抑制されることが分かった。この現象を引き起こした至近メカニズムとして、卵の成熟が遅延した可能性や、卵巣卵の再吸収 (e.g. 飢餓状態のカタクチイワシ, Hunter and Macewicz, 1985) の可能性があるが、詳細の解明は今後の課題である。また、若いカダヤシ処女メスは物質の暴露により、保有する成熟卵数が減少したが、一方で、卵巣重量は処理間で差がなかったこのことから、暴露区の個体は「大卵少産」の戦術をとる可能性が示唆された。これらを総合すると、可能性の 1 つとして、暴露区の個体は、競争相手が少ない状況 (暴露開始前) に生産した小さな卵を再吸収し、大きな卵を再生産するよう急速に戦術を変化させたというストーリーが浮上する。今後、成熟卵の大きさの測定や出産された稚魚の大きさを測定するなど直接的な証拠を得る必要がある。

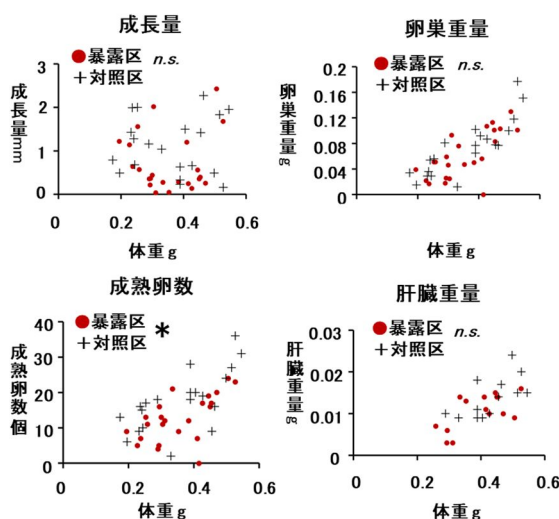


図 3. カダヤシの若い処女雌を 14 日間暴露した結果。

\* : p<0.05 after Holm method

### グッピーの稚魚から成熟するまでの115日間の暴露

実験の結果、生き残った個体数は暴露区で5匹、コントロール区は9匹だった。生存時間分析の結果、グッピー稚魚は暴露区で生存時間が有意に短くなった（暴露区, n=12; 対照区, n=12;  $p < 0.05$ ; 図4）。115日の実験期間中に生存時間分析の結果、暴露区は対照区に比べ有意に生存日数が短くなった（ $p=0.03$ ）。サンプルサイズが小さいため検定は行わなかったが、体長についても、暴露区の方が対照区より小さくなる可能性がうかがわれた（暴露区, 18.61mm, n=3; 対照区, 23.18mm, n=6）。

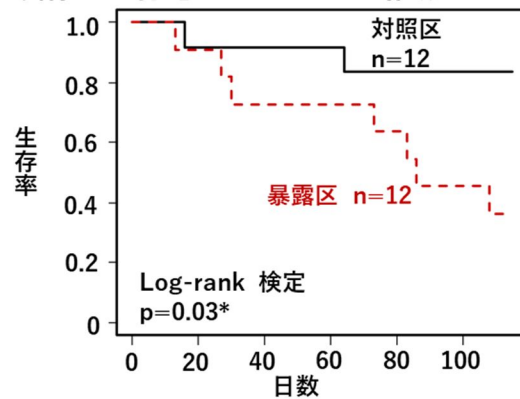


図4. グッピーの稚魚を成熟するまで115日間暴露した結果.

### 結論と展望

以上を総合すると、カダヤシ成魚雌が放出する化学物質は、同種の成長と成熟後の繁殖に負の影響を与え、他種稚魚の生存率を低下させる可能性が示唆された。

今回の実験手法では、物質を放出する魚と物質に暴露される魚を同居させているため、物質以外の要因（音や振動など）が影響した可能性を排除できない。今後、カダヤシ成魚雌の飼育水のみを暴露する再現実験を実施し、物質の作用について確証を得る必要がある。また、物質の単離・同定を今後進める必要がある。

### 引用文献

1. 藤井義晴 (1990) 植物のアレロパシー. 化学と生物 28 (7): 471-478
2. Hunter, J. R., & Macewicz, B. J. (1985). Rates of atresia in the ovary of captive and wild northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull, 83(2), 119-136.
3. Lutnesky, M. M., & Adkins, J. W. (2003). Putative chemical inhibition of development by conspecifics in mosquitofish, *Gambusia affinis*. Environmental Biology of Fishes, 66, 181-186.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shingo Fujimoto, Kaori Tsurui-Sato, Naotaka Katsube, Haruki Tatsuta, Kazuki Tsuji	4. 巻 -
2. 論文標題 Alternative reproductive tactics in male freshwater fish influence the accuracy of species recognition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ece3.7267	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鶴井香織, 藤本真悟, 出岐大空, 立田晴記, 辻和希
2. 発表標題 卵胎生魚間の繁殖干渉：グッピーによるカダヤシの駆逐
3. 学会等名 日本生態学会第69回全国大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎展・鶴井香織・辻和希
2. 発表標題 カダヤシ雌が放出する化学物質は同種雌だけでなく他種にも悪影響を及ぼす？
3. 学会等名 第71回日本生態学会大会.
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	辻 瑞樹 (TSUJI Mizuki)  (20222135)	琉球大学・農学部・教授   (18001)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	柏田 祥策  (KASHIWADA Shosaku)  (20370265)	東洋大学・生命科学部・教授    (32663)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関